

ANABAENA SP.'NİN PİGMENT İÇERİKLERİ ÜZERİNE GLUKOZ VE SUKROZUN ETKİSİ

Gülten Ökmen*, Onur Türkcan

Özet

Karbon ve azot siyanobakterilerde pigmentleri etkileyen en önemli çevresel faktörlerdir. Bu çalışmada, glukoz ve sukroz bu türde pigment içeriklerini farklı şekilde etkilemiştir. Çalışmanın amacı *Anabaena* sp. nin klorofil *a*, fikosiyanın, allofikosiyanın ve β - karoten içerikleri üzerine farklı glukoz ve sukroz konsantrasyonlarının (10- 320mM) etkilerini araştırmaktır. Maksimum klorofil *a*, fikosiyanın, allofikosiyanın ve β - karoten içerikleri 40mM sukroz konsantrasyonunda saptanmıştır. Ancak bu türün pigment içerikleri sukrozun yüksek konsantrasyonları ile kısmen baskılanmıştır, oysa tüm pigment içerikleri 320mM sukroz konsantrasyonunda tamamen baskılanmıştır. Pigment içerikleri 20mM glukoz konsantrasyonuna kadar stimüle edilmiş, ancak bu pigmentler artan glukoz konsantrasyonları tarafından inhibe edilmiştir. Sukroz, bu çalışmada pigment üretimi için uygun karbon kaynağı olarak bulunmuştur. *Anabaena* pigmentlerinin glukoz ve sukroz uygulamaları üzerine çok az bilgi bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Anabaena, pigment içeriği, glukoz, sukroz

GİRİŞ

Modern gıda endüstrisi ucuz, sağlıklı ve daha uygun ürünlerin artması için çalışmaktadır. Cezbedici gıdaların görünümü gıda endüstrisinde önemli amaçlardan biridir. Gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak gıda renklendiricilerinin kullanımı, gıda üreticileri ve tüketicilerinin her ikisi için de işlenmiş gıdanın kabul edilebilirliğini belirlemede son derece yararlıdır (1, 2). Doğal maddelerin istihdamının pazarlama avantajlarına bağlı olarak son yıllarda gıda maddelerinde doğal pigmentlerin kullanımını artmış ve sentetik pigmentlerin zararlı etkilerine yönelik tüketicinin endişeleri de artmıştır. Bir çok suni sentetik renklendirici, ki bunlar gıda da, boya da, kozmetik ve ilaç üretim proseslerinde yaygın olarak kullanılmıştır, çeşitli zararlı etkileri mevcuttur. Sentetik pigmentlerin kötü etkisini engellemek için, doğal kaynaklardan pigmentlerin üretimine yönelik sürecin geliştirilmesi dünya çapında ilgi bulmaktadır. İnsanlar ve çevre üzerinde endüstriyel yan ürünlerin ve sentetik pigmentlerin zararlı etkileri hakkında yakınmalar sayesinde gıda, boya, kozmetik ve ilaç üretim süreçlerinde doğal pigmentlerin kullanımı son yıllarda artmıştır (3).

* Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Türkiye. Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: gultenokmen@gmail.com

Pigmentler birçok endüstri için önemli özellikleri sahip bileşiklerdir. Gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak, renk artırıcı olarak, antioksidant olarak kullanılmaktadır. Pigmentler geniş bir renk yelpazesine sahip olup ve bir kısmı suda çözünmektedir (4). Genellikle bitki ve hayvansal kaynaklardan daha stabil ve çözünür olduğu için mikrobiyal pigmentler sanayinin ilgi alanına girmektedir (5). Mikroorganizmalar hızlı gelişebilir, yüksek verim elde edilebilir, ve yıl boyunca ürün üretebilmektedir (6).

Mikroorganizmalar karotenoidler, melaninler, flavinler, kuinonlar, prodigiosinler ve çok özel olarak monascinler, violasein veya indigo gibi farklı pigmentleri üretmektedirler (7). Mikrobiyal pigmentler daha güvenli ve bitki ve hayvanlardan elde edilen doğal pigmentlere nazaran daha ekonomik bir alternatiftir. Kimyasal boyaların aksine, bunların pek çoğu kanser alerjiler vb. gibi hastalıklara neden olmadığı, hatta antibiyotik ya da anti-kanser özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Gıda sınıfı olarak birkaçı sertifika almıştır. Bunlar, diğer doğal boyalar ile karşılaştırıldığında üretmek için kolay ve ekonomiktir. Günümüzde endüstrisi artık gıda ve diğer sanayi uygulamaları için bazı mikrobiyal pigmentleri üretebilmektedir (8).

Gıda sınıfı pigment olarak mavi ve yeşil renk gıda endüstrisinde çok azdır. Bakterilerde mor ve mavi pigment az yaygındır. Violasein (mor pigment) *Chromobacterium*, *Janthinobacter* and *Iodobacter*'da bulunmuştur (9). Indigoidin (mavi pigment) *Erwinia*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium* ve *Vogesella* cinslerine ait bakterilerde bulunmuştur. Siyanobakteriler her iki renge de sahiptir. Siyanobakteriler biyo-gübre olarak yararlanılmasına rağmen, ve biyokimyasal potansiyelleri, özellikle fikobiliproteinler değerli bileşikler olarak üretimi önemlidir. (10). Siyanobakteriler klorofilin bir türüne sahiptirler, klorofil *a*; siyanobakterilerin diğer fotosentetik pigmentleri çeşitli fikobiliproteinlerdir (c-fikoeritrin, c-fikosiyenin, ve allofikosiyenin) ve karotenoid (ekhinonon, a-karoten, ve miksoksantofil) (11, 12).

Klorofil siyanobakteriler ve yüksek bitkiler tarafından fotosentez için kullanılan yeşil pigmenttir. Bu pigment reçel, jöle, şeker, dondurma ve diğer çeşitli ürünlerde kullanılmaktadır, ancak klorofil renklendirici olarak sınırlı kullanımı bulunmaktadır (13). Fikosiyenin, Japonya ve Çin'de sakız, şeker, süt ürünleri, reçel, dondurma, alkolsüz içecekler gibi gıda ürünlerinde ve ayrıca kozmetikte doğal renklendirici olarak kullanılmaktadır (14). Son yıllarda yapılan bir çalışmada, fikosiyenin gardenya ve indigodan daha parlak mavi bir renklendirici olarak kabul edilmiş, jöle, sakız ve kaplamalı yumuşak şekerlerde parlak mavi rengi sağlamak amacı ile kullanıldığı bildirilmiştir (15).

Karotenoidler doğal gıda renklendiricisi ya da akuakültürde yem katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır (16). β -karoten vazgeçilmez bir besin ve doğal bir gıda boyası maddesi olarak pazarda yüksek talebe sahiptir, kozmetiklere katkı maddesi ve aynı zamanda sağlıklı bir gıda olarak da hizmet vermektedir (17). β -karoten, rutin olarak alkolsüz içecekler, peynirler ve tereyağı veya margarinlerde kullanılmaktadır. Pro-vitamin A aktivitesi nedeniyle bu karotenoidler iyi, güvenli ve gerçekten olumlu sağlık etkilerinden dolayı kabul görmektedirler (18). Çeşitli alglerin, bakterilerin, bazı filamentli fungus, mayaların karotenoidleri ürettikleri rapor edilmiştir (7, 19-23).

Pigmentin rengi kültür koşulları, pH değeri ve substrat içindeki karbon ve azot kaynakları tarafından etkilenmektedir (24, 25). Bu konu üzerinde çok az çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, gelişim, klorofil-a, β -karoten, fikosiyenin ve allofikosiyenin içerikleri üzerine karbon kaynağı olarak sukrozun etkileri incelenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Test organizmaları ve kùltivasyon

Siyanobakteriyel kùltür Dr. Gülten Ökmen'in önceki çalışmalarından elde edilmiştir, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Türkiye. Bu, *Anabaena* sp. GO4'ü kapsamaktadır. Stok kùltür daha önce tarif edildiği gibi azotsuz BG- 11 besiortamı içinde geliştirilmiştir (26). Sıcaklık 25 ± 2 °C'de tutulmuş ve kùltür soğuk beyaz ışık altında geliştirilmiştir. Logaritmik büyüme fazındaki hücreler kùltürlerden toplanmış ve deneyler için inokulum olarak kullanılmıştır. Deneyler 25ml serum şişeleri içinde 10ml ortam inoküle edilmiş olarak, kesikli kùltürler de tasarlanmıştır. Kùltür ortamı 1N NaOH ve 1N HCl ile pH 8'e ayarlanmıştır. Aydınlatma 600 lüks soğuk beyaz ışık ile sağlanmıştır (12, 27).

Pigment içerikleri üzerine glukoz ve sukrozun etkisi

Klorofil-a, β -karoten, fikosiyenin ve allofikosiyenin içerikleri üzerine glukoz ve sukrozun farklı konsantrasyonlarının (10- 320mM) etkisi *Anabaena* sp. GO4 üzerinde denenmiştir. Deneysel kùltürler aşağıda tarif edildiği gibi aynı koşullar altında 10ml azotsuz BG- 11 ortamı içeren 25ml serum şişeleri içinde geliştirilmiştir. Rippka (1988)' ya göre, kùltürler 25 ± 2 °C' de steril bir sıvı ortam içinde, 30 gün süre ile soğuk beyaz ışık (600 lüks) altında geliştirilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, kùltürlerin klorofil-a (Chla), β -karoten, fikosiyenin (PC) ve allofikosiyenin (APC) içerikleri aşağıda tarif edilen teknikler ile saptanmıştır.

Uygun kontrol sistemleri her bir deneyde glukoz içermeyenleri kapsamıştır. Kontrol ve uygulama kùltürleri yukarıda da belirtildiği gibi aynı sıcaklık ve ışık yoğunluğu altında inkübasyona bırakılmıştır. Tüm deneyler üçlü paralel halinde çalışılmış ve ortalama değerleri verilmiştir.

Analitik metotlar

Kuru ağırlığın saptanması

Santrifüj edilmiş kùltürlerin pelletleri distile su ile üç kez yıkanmış, daha sonra 70 °C'de 12h sabit ağırlığa kadar kurutulmuş ve kuru ağırlıkları ölçülmüştür (26, 28).

Klorofil-a içeriğinin saptanması

Porra ve diğerleri (29) tarafından tavsiye edilen spektrofotometrik yöntem (Shimadzu UV-1201V, Japonya) tayin için kullanılmıştır. Klorofil-a içerikleri ıslak ağırlıklar üzerinden hesaplanmıştır. Tüm pigment ekstraksiyonu hiçbir pigment kalmayınca kadar tekrarlanmıştır.

β -karoten içeriğinin saptanması

β - karoten içeriklerini saptamak için, santrifüj edilmiş kùltürlerin pelletleri 4 °C'de 4 ml saf metanol ile homojenize edilmiş, ultrasonike edilmiş ve 24 saat boyunca karanlıkta inkübe edilmiştir. Hücre özütleri daha sonra, hücre tortularını uzaklaştırmak için 20.000xg'de 30 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Karoten içerikleri heptan köre karşı 436nm'de spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Elde edilen değerler Anonymous (30) tarafından

verilen formülde hesaplanmıştır. β -karoten içerikleri kuru ağırlıklar üzerinden hesaplanmıştır. Tüm pigment ekstraksiyonu hiçbir pigment kalmayınca kadar tekrarlanmıştır.

Fikosiyanin ve allofikosiyanin içeriklerinin saptanması

Kültürlerin fikobiliprotein miktarlarını saptamak için aşağıdaki işlem sırası izlenmiştir; analizin başlangıcında denemelerde kullanılacak çözelti hazırlanmış (15g/ L NaNO_3 lı distile su) ve 25'er litrelik akvaryumlar içersinde geliştirilen biyomas hasat edilmiştir. Analiz için uygun miktarlarda numune tartılarak ve cam beher içerisine alınmıştır. Bunun üzerlerine 100 ml NaNO_3 çözeltisi eklendikten sonra, 2 saat süreyle karıştırıcıda bekletilmiştir. Tüplere 5'er ml örnek alınıp 3500- 5000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir (31). Fikosiyanin ve allofikosiyanin içerikleri kuru ağırlıklar üzerinden hesaplanmıştır. Tüm pigment ekstraksiyonu hiçbir pigment kalmayınca kadar tekrarlanmıştır.

İstatistiksel uygulamalar

Tüm deneyler, 3 tekrarlı yapılmıştır. Bu çalışmada sunulan veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.

SONUÇLAR

Bu çalışmada, bir siyanobakter çalışılmış ve *Anabaena* sp. GO4'ün pigment içerikleri üzerine farklı glukoz ve sukroz konsantrasyonlarının etkileri saptanmıştır. *Anabaena* sp. farklı sukroz konsantrasyonlarının varlığında kulture edildiğinde, pigment içerikleri üzerinde farklı etkileri görülmüştür. Sukrozun farklı konsantrasyonları ile muamele edilmiş *Anabaena*'nın pigment içerikleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Siyanobakteriyel türün en yüksek pigment içerikleri 40mM sukroz konsantrasyonunda saptanmıştır. Bu çalışmada, siyanobakteriyel türün tüm pigmentleri 40mM sukroz konsantrasyonunda stimüle olmuştur, ancak kültürün pigment içerikleri 80mM sukroz konsantrasyonunda kısmen inhibe olmuştur. Ancak türün tüm pigment içerikleri 320mM sukroz konsantrasyonunda tamamen baskılanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. *Anabaena* sp. GO4 suşunun pigment içerikleri üzerine sukrozun etkisi

Konsantrasyon (mM)	Klorofil içeriği (mg/ml)	β -Karoten içeriği (mg/L)	Fikosiyanin içeriği (mg/ml)	Allofikosiyanin içeriği (mg/ml)
Kontrol	0,01 $\pm$ 0,0006	0,66 $\pm$ 0,035	0,26 $\pm$ 0,014	0,04 $\pm$ 0,0022
10	0,02 $\pm$ 0,0005	1,00 $\pm$ 0,033	0,39 $\pm$ 0,013	0,06 $\pm$ 0,0020
20	0,02 $\pm$ 0,0005	1,16 $\pm$ 0,028	0,46 $\pm$ 0,011	0,07 $\pm$ 0,0017
40	0,02 $\pm$ 0,0004	1,41 $\pm$ 0,026	0,55 $\pm$ 0,010	0,08 $\pm$ 0,0016
80	0,02 $\pm$ 0,0004	1,28 $\pm$ 0,022	0,50 $\pm$ 0,008	0,07 $\pm$ 0,0014
160	0,002 $\pm$ 0,0006	0,17 $\pm$ 0,04	0,07 $\pm$ 0,015	0,01 $\pm$ 0,0024
320	-	-	-	-

(-): Gelişim yok

Farklı glukoz konsantrasyonlarının pigment içerikleri üzerine etkisi incelendiğinde, elde edilen veriler Tablo 2’ de verilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen verilere göre, tüm pigment içerikleri başlangıç konsantrasyonlarında (10 ve 20mM) stimüle olurken, 40mM ve üstü konsantrasyonlarda tamamen inhibe olmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. *Anabaena* sp. GO4 suşunun pigment içerikleri üzerine glukozun etkisi

Konsantrasyon (mM)	Klorofil içeriği (mg/ml)	β -Karoten içeriği (mg/L)	Fikosiyenin içeriği (mg/ml)	Allofikosiyenin içeriği (mg/ml)
Kontrol	0,008 $\pm$ 0,0005	0,51 $\pm$ 0,028	0,20 $\pm$ 0,011	0,03 $\pm$ 0,0017
10	0,013 $\pm$ 0,0001	0,55 $\pm$ 0,48	0,22 $\pm$ 0,18	0,03 $\pm$ 0,029
20	0,012 $\pm$ 0,0003	0,75 $\pm$ 0,017	0,30 $\pm$ 0,0067	0,05 $\pm$ 0,001
40	-	-	-	-
60	-	-	-	-
160	-	-	-	-
320	-	-	-	-

(-): Gelişim yok

Her iki karbon kaynağı karşılaştırdığında, klorofil *a* içerikleri her iki karbon kaynağında benzer değerler göstermiş ancak sukrozun 160mM konsantrasyonuna kadar tolerans saptanmıştır. En yüksek β - karoten içerikleri sukroz konsantrasyonlarından elde edilmiş ve 160mM sukroz konsantrasyonuna kadar tolerans tayin edilmiştir. Fikosiyenin içeriklerin de ise, glukozun sukrozdan daha fazla stimüle ettiği belirlenmiş ancak yüksek sukroz konsantrasyonlarında bile fikosiyenin içeriği saptanmıştır. Allofikosiyenin içeriklerinde ise, glukozun stimüle edici etkisi olduğu belirlenmiş ancak yüksek sukroz konsantrasyonlarına (160mM) karşı toleranslı olduğu dikkat çekmiştir (Tablo 1 ve 2).

TARTIŞMA

Bakteriler tarafından sentezlenen biyopigmentler gıda sınıfı pigment olarak muazzam verimliliğe sahiptir. Siyanobakterilerin büyüme ve metabolizmasını etkileyen çevresel faktörler üzerine çalışmalar gereklidir çünkü bunlar belli biyosentetik ürünlerin hücresel metabolizmasını ve optimizasyonunu kontrol etmek için katkı sağlamaktadırlar. Siyanobakterilerde karbon kaynaklarının etkisi üzerine bilgi eksiktir. Bu nedenle, glukoz ve sukroz bu çalışma için seçilmiştir.

Bu çalışmada, *Anabaena*’nın pigment içeriklerinin tümü 40 mM sukroz konsantrasyonuna kadar stimüle olmuştur (Tablo 1). Önceki çalışmalar, *Serratia* ATCC 21639 tarafından prodigiosin üretimini siklodekstrinin stimüle ettiğini göstermiştir (32). Ayrıca, dulcitol ve laktoz Nima suşu vasıtası ile prodigiosinin üretimi için iyi karbon kaynaklarıdır (33). Yapılan bir

çalışmada farklı karbon kaynaklarına karşı test organizmasının yanıtı hakkında ilginç sonuçlar ortaya koymuştur. Test organizmasının gelişimi büyük ölçüde sukroz tarafından stimüle olmuştur (34). Önceki çalışmalar aktinomisetlerin organik bileşiklerin bozunma ve geri dönüşümüne katkıda bulunduklarını ve aynı zamanda ortaya çıkan farklı karbon kaynaklarının *Streptomyces* tarafından melanin üretimi için kullanıldığını ileri sürmüştür (35).

Bu çalışmadan elde edilen verilere göre, tüm pigment içerikleri başlangıç glukoz konsantrasyonlarında (10 ve 20mM) stimüle olurken, 40mM ve üstü konsantrasyonlarda tamamen inhibe olmuştur. Bu suşun pigment içerikleri artan sukroz konsantrasyonlarından baskılanarak etkilenmiştir (Tablo 1 ve 2). Oller (36), glukoz ve sorbitolün prodigiosin sentezi üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğunu bildirmiştir. *Chlorella* yeşil alginin fotoheterotrofik kültüründe, PSII inaktivasyonu benzer şekilde meydana gelmiştir (37). Muhtemelen glukoz ile fotosentezin inhibisyonu için sebep PSI'e solunum zincirinden elektron transferi olduğu düşünülmektedir, ki bu PSII'den gelen elektron akışı azaltır (38).

Bu çalışmadan elde edilen veriler, *Anabaena* sp. GO4' ün pigment içerikleri üzerine glukoz ve sukrozun inhibitör veya stimüle edici etkisi hakkında bilgi sağlamaktadır. Pigmentasyon üzerine karbon kaynağının etkileri incelenmiş ve her iki karbon kaynağının optimum aralığı saptanmıştır. BG-11' de büyüme ve pigmentasyon için optimum şart 40mM sukroz olduğu bulunmuştur, bu yüzden gıda sınıfı pigmentler için bu karbon kaynağının uygun olduğu düşünülmektedir. Pigment içerikleri üzerine karbon kaynaklarının hareket mekanizmasının daha iyi anlaşılması için, siyanobakterilerde karbon kaynaklarının biyokimyasal hedeflerin daha fazla çalışılmasına ihtiyaç vardır.

REFERANSLAR

- 1) Spears, K. (1988). Developments in food colourings: the natural alternatives. Trends in Biotechnol. 6: 283-288.
- 2) Griffiths, JC. (2005). Coloring Food and beverages. Food Technol. 59 (5): 38-44.
- 3) Unagul, P., Wongsu, P., Kittakoop, P., Intamas, S., Srikiti-Kulchai, P., Tanticharoen, M. (2005). Production of red pigments by the insect pathogenic fungus *Cordyceps unilateralis* BCC 1869. J Ind Microbiol Biotechnol. 32: 135-140.
- 4) Durán, N., Teixeira, MFS., de Conti, R., Esposito, E. (2002). Ecological-friendly pigments from fungi. Crit Rev Food Sci Nut. 42(1):53-66.
- 5) Gunasekaran, S., Poorniammal, R. (2008). Optimization of fermentation conditions for red pigment production from *Penicillium* sp. under submerged cultivation. Afr J Biotechnol. 7(12):1894-1898.
- 6) Jiang, Y., Li, HB., Chen, F., Hyde, KD. (2005). Production potential of water-soluble *Monascus* red pigment by a newly isolated *Penicillium* sp. J Agric Technol. 1(1): 113-126.
- 7) Dufossé, L. (2009). Microbial Pigments. In: Schaechter M, ed. Encyclopedia of Microbiology. 3rd Edition. 457-471.
- 8) Venil, CK., Lakshmanaperumalsamy, P. (2009). An Insightful Overview on Microbial Pigment, Prodigiosin. Electro J Biol. 5(3): 49-61.
- 9) Moss, MO. (2002). Bacterial pigments. Microbiologist. 10-12.
- 10) Ascencio, F., Gama, NL., De Philipis, R., Ho, B. (2004). Effectiveness of *Cyanothece* spp. and *Cyanospira capsulata* exocellular polysaccharides as antiadhesive agents for blocking attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric cells. Folia Microbiol. 49: 64-70.

- 11) Fay, P. (1983). The Blue Greens. In: Arnold E, ed. The Institute of Biology's Studies in Biology. London. 160-88
- 12) Fogg, GE., Stewart, WDP., Fay, P., Walsby, AE. (1973). Culture, nutrition and growth. In: Lewin RA, ed. The Blue Green Algae. Academic Press, London, NewYork. 129-142.
- 13) Mortensen, A. (2006). Carotenoids and other pigments as natural Colorants. Pure Appl Chem. 78 (8): 1477–1491.
- 14) Sekar, S., Chandramohan, M. (2008). Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization. J Appl Phycol. 20: 113–136
- 15) Jespersen, L., Strømdahl, LD., Olsen, K., Skibsted, LH. (2005). Heat and light stability of three natural blue colorants for use in confectionery and beverages. Europ Food Res Technol. 220: 261–266
- 16) Benemann, JR. (1992). Microalgae aquaculture feeds. J Appl Phycol. 4: 233-245.
- 17) Raja, R., Hemaiswarya, S., Rengasamy, R. (2007). Exploitation of *Dunaliella* for b-carotene production. Appl Microbiol Biotech. 74: 517-523.
- 18) Baker, R., Gunther, C. (2004). The role of carotenoids in consumer choice and the likely benefits from their inclusion into products for human consumption. Trends Food Sci Tech. 15: 484-488.
- 19) Johnson, EA., Schroeder, WA. (1995). Microbial Carotenoids. In: Fiecher A, ed. Advances Biochemical Engineering Biotechnology. New York: Berlin Heidelberg. 119-178.
- 20) Ninet, L., Renaut, J. (1979). Carotenoids. In: Pappler HJ, Perimen D, eds. Microbial Technology. 2nd ed. New York: Academic Press. 529-544.
- 21) Goodwin, TW. (1980). Fungi. In: Goodwin TW, ed. The Biochemistry of the Carotenoids, Plants. 2nd ed. London: Chapman and Hall. 257-290.
- 22) Oren, A. (2005). A Hundred Years of *Dunaliella* Research 1905-2005. Saline Systems. 1(2): 1-14.
- 23) Aksu, Z., Eren, AT. (2007). Production of Carotenoids by Isolated Yeast of *Rhodotorula glutinis*. Biochem Engineer J. 35(2): 107-113.
- 24) Kunz, B., Ober, P. (1987). *Monascus* fermentate: a new dietetic raw material. Bioengineering. 3: 18-26.
- 25) Danuri, H. (2008). Optimizing Angkak pigments and lovastatin production by *Monascus purpureus*. Hayati J Biosci. 15(2): 61-66.
- 26) Castenholz, RW. (1988). Culturing methods for cyanobacteria. Methods Enzymol. 167: 68-93.
- 27) Rippka, R. (1988). Isolation and purification of cyanobacteria. Methods Enzymol. 167: 3-27.
- 28) Cappuccino, JG., Sherman, N. (2001). Microbiology A Laboratory Manual. Sixth Edition, Benjamin Cummings, S. Francisco, pp 119.
- 29) Porra, RJ., Thompson, WA., Kriedemann, PE. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standarts by atomic absorption spectroscopy. Biochim Biophys Acta. 975: 384-394.
- 30) Anonymous (2002). Analysis of Beta-Carotene and Total Carotenoids from *Spirulina*. Spirulina Pacifica Technical Bulletin#003b. Cyanotech Corporation.
- 31) Boussiba, S., Richmond, AE. (1979). Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. Arch Microbiol. 120: 155–159.
- 32) Bar, R., Rokem, JS. (1990). Cyclodextrin-stimulated fermentation of prodigiosin by *Serratia marcescens*. Biotechnol Lett. 12: 447-448.

- 33) Sole, M., Francia, A., Rius, N., Loren, JG. (1997). The role of pH in the glucose effect on prodigiosin production by non-proliferating cells of *Serratia marcescens*. Lett Appl Microbiol. 25: 81-84.
- 34) Khanafari, A., Khavarinejad, D., Mashinchian, A. (2010). Solar salt lake as natural environmental source for extraction halophilic pigments. Iran J Microbiol. 2(2): 103-109.
- 35) Sunanda, K., Uma, K., Apparao, A. (2009). Characterization of marine *Streptomyces* from Visakhapatnam coast. Drug Invent Today. 1(2): 78-80.
- 36) Oller, AR. (2005). Media effects of sugars on pigmentation and antibiotic susceptibility in *Serratia marcescens*. Sci Technol Transac Missouri Acad Sci. 2: 243-246.
- 37) Chemeris, YK., Hek, OJ., Venediktov, PS. (1992). Inactivation of Photosystem II during Heterotrophic Growth of *Chlorella* Initiated by Glucose Metabolites. Sov Plant Physiol. 39: 421-427.
- 38) Schreiber, U., Endo, T., Mi, HL., Asada, K. (1995). Quenching Analysis of Chlorophyll Fluorescence by the Saturation Pulse Method: Particular Aspects Relating to the Study of Eukaryotic Algae and Cyanobacteria. Plant Cell Physiol. 36: 873-882.