

Su Ürünleri Dergisi J.Fish.Aquat.Sci.	Cilt No.18/1 Vol.18/1	Özel Sayı Suppl.	129 - 138 129 - 138	İzmir – Bornova 2001 İzmir – Bornova 2001
--	--------------------------	---------------------	------------------------	--

Türkiye'nin Kıyılarından Toplanan *Gracilaria verrucosa*(Hudson) Papenfuss Kırmızı Yosunlarından Elde Edilen Agar'ın Özellikleri

Mesut Yenigül

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir, Türkiye.

Abstract : *Characteristics of agar isolated from red algae Gracilaria verrucosa collected from Turkish coasts.* Seven samples of *G.verrucosa* collected from four provinces of Turkey. The agar yield, gel strength, gelation and melting temperatures were determined. Sulfate contents were also analyzed. The crude agar content was between 17 and 38% of the dry weight of algae. Alkaline pretreatment of *Gracilaria* sp.yielded agars which had gel strength nearly doubled to 1250 N.m⁻² as compared to the untreated algae, while relative concentrations of sulfate tend to decrease by as much as 50% as determined by IR spectroscopy. Floridean starch of the crude agars were hydrolyzed by using amylase from *Aspergillus oryzae* and glucose/galactose ratio of unmodified and modified agars were found as 0.130 and 0.015 as determined by GC technique. The changes of the agars according to season gave quite remarkable results as far as agar yield, sulfate, 3,6-AHG and gel strength are concerned.

Key Words : Agar, *Gracilaria verrucosa* sp. red algae, seaweeds, seaweeds polysaccharides

Özet : Türkiye'nin dört farklı bölgesinden toplanan *Gracilaria verrucosa* papenfus kırmızı algleri ile çalışılmıştır. Agar verimi, jel sertliği, jelleşme ve erime sıcaklıkları tayin edilmiştir. İlaveten sulfat içerikleri analizlenmiştir. Alglerin ham agar içerikleri kuru yosun esas alınarak hesaplandığında %17 ile %38 arasında değişmektedir. *Gracilaria* sp.nın alkali önışlemi ile jel sertliklerinde iki kata varan artışlarla 1250 N.m⁻² düzeylerine ulaşılmıştır. Bu sırada sulfat içerikleri %50 ye varan oranlarda düşüş göstermiştir. Ham agarın floridan nişasta içeriği *Aspergillus oryzae*'den izole edilen amilaz enzimi ile hidrolizlenmiş ve glikoz/galaktoz oranları GC tekniği ile tayin edildiğinde 0.130 den 0.015 e değişim göstermiştir. Agar verimi, sulfat, 3,6-AHG ve jel sertliği mevsimsel olarak incelendiğinde oldukça dikkati çeken sonuçlar alınmıştır.

Anahtar Kelimeler : agar, *Gracilaria verrucosa*, kırmızı deniz yosunları, algler, alg polisakaritleri

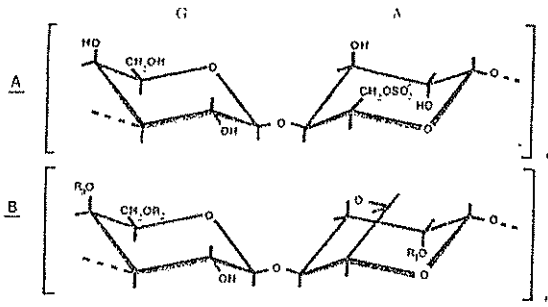
Giriş

Bir biyopolimer olarak agar, *Gelidium* sp., *Gracilaria* sp., *Ahnfeltia* sp. ve *Pterocladia* sp. gibi yosunlardan ekstrakte

edilir ve biyoteknoloji gibi gelişmiş alanlarda gittikçe artan oranlarda kullanılır. Agar idealize agaroz molekülleri ile sulfat, metoksil ve piruvat substitusyonlarının değişik pozisyonlarda

yer almış bileşiklerinden oluşur (Araki, 1966; Duckworth ve Yaphe 1971). Agarın heterojen yapısının tayini için birçok çalışma vardır (Minghou ve diğ. 1985, 1988; Yang ve Liu 1988; Truang ve diğ. 1988; Lahaye ve diğ. 1986; Lahaye ve Yaphe, 1988). Alkali, birçok sulfat esterinin hidrolizlenmesine neden olur ve 3,6-anhidro köprüleri oluşur (Cragie ve

Leigh 1978). Agaroz bir agar fraksiyonu olarak en düşük yük yoğunluğuna sahiptir ve suda çözünebilen doğrusal bir polisakarittir. β -(1→4) bağlı D-galaktopiranoz ile α -(1→3) bağlı 3,6-anhidro-L-galaktoz birimlerinin seçenekli dizilişi ile oluşur (Araki, 1966, Şekil 1).



Şekil 1. Agarın disakarit tekrarlanan birimleri

A: Agarobiozun biyolojik kökeni B: Agarobioz

- 1) $R_1 = R_2 = R_3 = H$, agarobioz (1 →3- β -galaktopiranozil-(1 →4)-3,6-anhidro- α -L-galaktopiranoz
- 2) $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = CH_3$, 6-O-metil agarobioz
- 3) $R_1 = CH_3$, $R_2 = R_3 = H$, 2-O-metil agarobioz
- 4) $R_1 = R_2 = CH_3$, $R_3 = H$, 2,6-di-O-metil agarobioz
- 5) $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = SO_3$, agarobioz 4-sulfat
- 6) $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = SO_3$, agarobioz 6-sulfat
- 7) $R_1 = H$, $CH_3C(O)COOH$, agarobioz 4,6-piruvat

Fraksiyonlama çalışmaları yüksek jelleşme potansiyeline sahip olan agarozun zayıf jelleşme gösteren yüklü agaropektinden ayrılması

amacıyla yapılır (Araki, 1966). Metillenmiş agarın sıcak etanol-su karışımlarında fraksiyonlu ekstraksiyonu ile ayrılabilceğini Guiseley belirtmiştir (Guiseley, 1970). Agar polisakaritlerinin yük yoğunluklarının farklılığı, anyon değiştirici kromatografik tekniklerinin kullanımına yol açmıştır (Duckworth ve Yaphe 1971a, 1971b).

Kırmızı alglerin agar üretimi için yıllık dünya hasat miktarı 180.000 ton taze Gelidium sp, Gracilaria sp, ve Pterocladia sp olarak verilmiştir. Böylece 11.000 ton agar elde edilmekte ve bunun parasal değeri 160 milyon dolar olmaktadır (Indergard ve Jensen 1991, Tablo 1). Hasat edilen yaklaşık 200.000 ton taze yosunun büyük bir kısmı doğal yataklardan elde edilmektedir. Gelidium cinsleri en iyi hammadde olarak bilinirler fakat Gracilaria daha fazla miktarda toplanmakta ve gittikçe artan miktarlarda üretilmektedir.

Tablo 1. Alglerin ve alg ürünlerinin üretim miktarları ve değerleri

Ürünler	Değeri (milyon dolar)	Ürün (ton/yıl)	Hammadde(yaş), ton/yıl
Alginat <u>Macrocystis sp. Laminaria sp.</u> <u>Ascophyllum nodosum,</u> <u>Durvillaea sp. Lessonia sp.</u>	230	27.000	500.000
Agar <u>Gelidium sp. Gracilaria sp.</u> <u>Gelidiella sp. Pterocladia sp.</u>	160	11.000	180.000
Carragenan <u>Eucheuma sp. Chondrus</u> <u>crispus,</u> <u>Gigartina sp. Furcellaea</u> <u>lumbricalis,</u> <u>Hypnea sp.</u>	100	15.500	250.000
Alg yemleri <u>Ascophyllum nodosum,</u> <u>Fucus sp.</u>	5	10.000	50.000

Gracilaria verrucosa(Hudson) Papenfuss, uzun yıllar Türkiye sahillerinde hasadı yapılan en önemli alg türüdür ve doğrudan Japonya'ya ihraç edilir. *Gelidium* cinsleri, yavaş yetişen alglerdir ve bu nedenle miktar olarak sınırlıdır. Gıda amaçlı kullanımlarından başka agaroz ilaç endüstrisinde, aşuların, hormonların ve enzimlerin ayırma ve saflandırılmalarında tüketilir(Jensen 1993).

Materyal ve Yöntem

Gracilaria algleri ülkenin farklı yörelerinden toplanmıştır fakat hacimsal olarak en fazla yetiştikleri yer İzmit körfezidir. Bu körfez 50 km uzunluğunda, 2-10 km genişliğinde ve sıcaklıklar kışın 9 °C, yazın ise 23 °C ye kadar ulaşır. Suyun pH değeri yaklaşık 7 ve tuzluluğu ise kışın ‰23, yazın ise ‰37 olarak ölçülmüştür.

Agar, literatürde verilen yöntem uyarınca ekstrakte edilmiştir(Duckworth ve diğ.1971, Şerbetçioğlu ve Yenigül 1990). Agar çözeltileri E.Ü.Gıda mühendisliği bölümünden temin edilen ve A. Orzae den izole edilen amilaz enzimi 6600 U/ml ile 50 °C de ve pH, 5.5-6.0 da işlenerek Floridan nişastanın hidrolizi gerçekleştirilmiştir. Dondurma, eritme ve izopropilalkol ile çöktürme ile hidrolizlenmiş nişasta agardan uzaklaştırılmıştır. Glikoz/galaktoz oranları, Packard GC Model 439 ile analizlenmiştir. Bu amaçla SE30 (%10) yüklenmiş cam kolon kullanılmıştır. Agar örnekleri alkali işleme tabi tutulmuşlar ve yapısal değişimleri incelenmiştir(Whyte ve Englar 1980). Agar filmlerinin çözücü döküm yöntemi ile hazırlanıp Infrared Spektrofotometresi (Shimadzu Model 470) ile analizlenmiştir. 930/2920 cm-1orani 3,6 Anhidrogalaktoz, 1250/2920

cm⁻¹ oranı toplam sulfat için hesaplanmışlardır(Rochas ve diğ. 1986). Sulfatın gravimetrik tayini, organik maddelerin HNO₃-HClO₄ karışımı ile bozundurulduktan sonra BaCl₂ ile çöktürülmeleri ile yapılmıştır.

üzerine yerleştirilen çelik bilyenin kontrollu ısıtma koşullarında (2 °C/dak) jelin içine gömüldüğü sıcaklık olarak ölçülmüştür.

Bulgular

%1.5 agar içeren jellerin jel sertlikleri Instron universal test cihazı ile ölçülmüştür. Sonuçlar 3 testin ortalaması alınarak değerlendirilmiştir.

Jelleşme sıcaklıkları kontrollu soğutulan (2 °C/dak) agar jellerine 5mm çaplı çelik bilyelerin katılması ve bunların jel içine gömülmedikleri sıcaklık ölçülerek tayin edilmişlerdir. Jel erime sıcaklıkları ise jel

Kuru alg esas alınarak ham agar verimleri Tablo 2 de görüldüğü gibi %17 ile %38 arasında değişim göstermektedir. Ham agarların jel sertlikleri 330 ile 750 N.m⁻² arasında değişim göstermişler, özellikle Tuzla ve Şakran bölgelerinden toplanan alglerin en yüksek jel sertliklerine sahip oldukları gözlenmiştir(765-714N.m⁻²)

Tablo 2. Türkiye'nin değişik bölgelerinden toplanan alglerin agarlarının verimleri ve kalitelerini belirleyen özellikleri

Bölge	Agar verimi%	Jel sertliği N.m ⁻²	Jelleşme, °C	Erime, °C	3,6-AHG%	Sulfat,%
İzmit	25.0	336(336)	34.0(33.0)	73.5(75.5)	24.2(26.4)	2.8(2.6)
İzmit	38.3	357(673)	34.5(36.0)	74.5(82.6)	26.2(27.4)	5.8(4.2)
Tuzla	35.6	765(1265)	34.0(39.0)	74.5(84.5)	30.0(33.1)	5.3(2.1)
Bostanlı	28.5	173(337)	39.5(42.0)	83.5(82.5)	37.5(39.1)	5.7(3.1)
Bandırma	25.5	337(510)	32.5(34.0)	82.0(84.0)	26.9(32.5)	4.9(2.8)
Şakran	17.1	714(1275)	38.5(35.0)	76.1(78.0)	24.4(33.0)	3.7(3.2)
Standart agarlar:						
Difco Bacto agar		1785	35.0	79.8	35.2	2.5
Oxoid agar No:1		3733	36.0	89.9	37.9	0.9

Sulfat esterlerinin hidrolizi ile anhidrogalaktoz içeriğinin yükselmesi jel sertliklerinin artışına neden olmaktadır. Sulfat içerikleri %2.8 ile 5.8 arasında değişim gösterirken alkali işlemi bu değerleri %1.2 ile 3.1 aralığına çekmektedir. IR spektrumlarında 1250cm⁻¹ bandı toplam sulfatı temsil etmektedir ve bu bandın 2920 cm⁻¹ C-H bandına oranı toplam sulfat esterinin miktarı hakkında fikir vermektedir. Gracilaria sp.nın alkali işlemi ile agar jellerinin sertlikleri 330

N.m⁻² den 660 N.m⁻² ye artış göstermiştir. Tuzla ve Şakran agarları 1250 N.m⁻² jel sertliği ile dikkatleri çekmektedir ve olasılıkla ekolojik koşullar etkin olmaktadır. Ticari üretimlerde alkali işlemi bu nedenle standart bir işlem olarak gerçekleştirilmektedir(Tablo 3). Alkali işlemi ile jelleşme sıcaklıklarında yükselme ve fakat jel erime sıcaklıklarında düşme gözlenmektedir. Metilasyonun artışı ile daha yüksek

jelleşme sıcaklıkları elde edileceği pozisyonlarında metilasyon ile 100 °C nin Guiseley tarafından ileri üzerinde jel erime sıcaklıklarına sürülmüştür(Guiseley 1970). Gerçekten erişildiğini belirtmişlerdir(Falshaw ve diğ. de Falshaw ve arkadaşları 2 ve 6 1998).

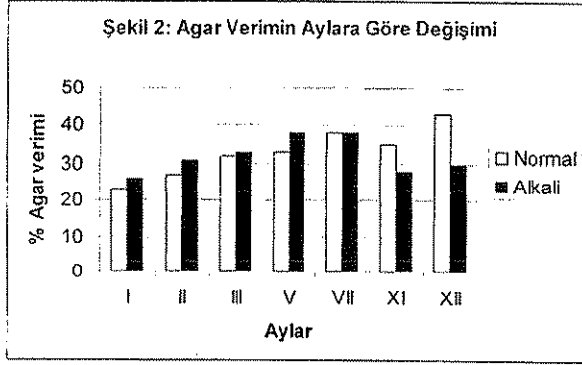
Tablo 3. Alkali işlem görmüş *Gracilaria* sp. Agar'larının özellikleri

Özellik	İşlemsiz	%1 NaOH	%2 NaOH	%3 NaOH
Ekstraksiyon pH'ı	6	6.5	6.5	6.5
Agar verimi %	40.5	25.8	26.6	29.8
Jel sertliği, N.m ⁻²	330	330	660	660
Jelleşme sıcaklığı, °C	40	40.5	43.5	45.0
Jel erime sıcaklığı, °C	81	78.5	79.5	81.5

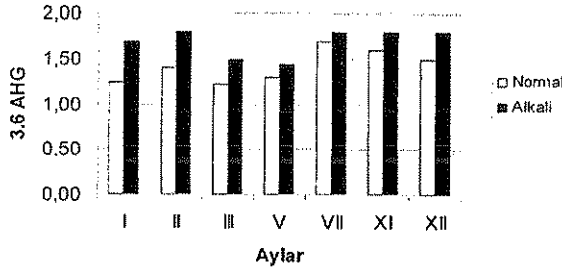
Floridan nişastasının agarın birçok özelliği yanında mekanik davranışlarını da etkilediği bilinmektedir(Levy ve Friedlander 1990). Amilaz işleminin glikoz/galaktoz oranını 0.130 dan 0.015 e düşürmesi ile jel sertlikleri 1150 den 1240 N.m⁻² ye çıkmıştır. Alkali hidroliz sonrası amilaz işlemi ile ulaşılan jel sertliği 1310 N.m⁻² olmaktadır.

Agarın mevsimsel olarak kalitesinin değişimi incelenmiş(Yenigül 1993), agar veriminin yaz aylarında en yüksek değeri olan %38 e ulaştığı ayrıca sulfat, 3,6-

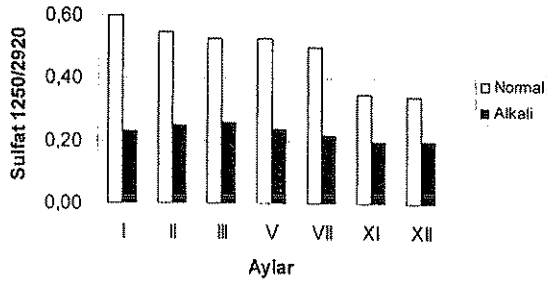
AHG ve jel sertliği değişimleri Şekil 2-5 verilmiş ve bunun literatür verileri ile uyumu gözlenmiştir(Whyte ve Englar 1981; Lahaye ve Yaphe 1988; Hoyle 1978; Villanova ve diğ.1999). Agar veriminin deniz suyu sıcaklığı ile ters orantılı bir ilişki içinde olduğu belirtilmiştir(Bird ve Ryther 1990; Christiansen ve diğ. 1987).Genç dokuların agarlarının L-galaktoz-6-sulfat yönünden zengin olduğu, yaşlanma ile metoksil ve alkali dayanıklı sulfat substitüsyonlarında artışlar gözlenmiştir(Cragie ve Wen 1984).

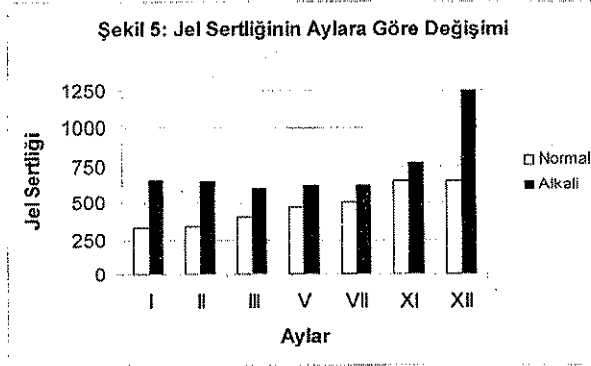


Şekil 3: 3.6 AHG'nin Aylara Göre Değişimi



Şekil 4: Sulfat İçeriğinin Aylara Göre Değişimi





3,6 AHG Ekim ayında maksimum gösterirken toplam sulfat minimuma erişmektedir. Bu değişime paralel olarak jel sertliği ekim-kasım aylarında maksimum göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç

Agar verimi alg cinsine bağlı olduğu kadar, hasat edildiği mevsime ve ekstraksiyon yöntemine göre değişim gösterir (Cragie ve Leigh 1978; Lahaye and Yaphe 1988). Bu çalışmada da görüldüğü gibi ekolojik koşullar özellikle agar kalitesini etkilemektedir.

Alkali işlenmiş agarın sulfat içeriğinin azalması fakat alkali stabil sulfat içeriklerinde düşük düzeyde değişim, alglerin olgunlaşma aşamasında L-galaktoz-6-sulfatın 3,6 AHG'a dönüşümünü gerçekleştirmektedir (Cote ve Hanisak 1986). Alkali stabil sulfatın galaktoz-4-sulfat şeklinde olduğu belirtilmiştir (Lahaye ve Yaphe 1988). Mevsimsel değişim açısından incelendiğinde alkali stabil sulfat düzeyi Ocak-Şubat aylarında maksimuma ulaşmaktadır.

Floridan nişastanın agar yapısı içinde istenmeyen bir yapı olduğu ve HNMR çalışmaları ile %5-7 düzeyinde bulunduğu

belirtilmektedir (Murano ve diğ. 1993). Dolayısıyla bu nişastanın hidrolizi bu çalışmamızla ortaya konduğu gibi jel sertliklerinde %10 düzeyinde bir iyileşmeye neden olmakla gerekli ve faydalı bir işlem olarak dikkatleri çekmektedir.

Gracilaria sp. agarının reolojik özelliklerinin bakteriyolojik agar ile karşılaştırıldığında yumuşak, plastik ve jelleşmesi orta derecede olmaktadır. Jelleşme özelliklerinde önemli derecede etkin olabilecek alkali işleminin ancak *Gracilaria chorda* ve *Gracilaria pseudoverrucosa* tiplerinde görülebildiği belirtilmektedir (Whyte ve Englar 1980). Buna rağmen modifikasyon çalışmaları ile *Gracilaria verrucosa* alglerinin 1300 N.m² düzeyinde jel sertliği göstermesi, Difco-Bacto agarın jel sertliği 1800 N.m² ile karşılaştırıldığında %40 kadar düşük olması, bakteriyolojik amaçlar dışında uygulama bulabileceği anlamına gelir. Diğer taraftan *Gracilaria* sp. agarının yüksek metoksil içeriği ve yüksek jelleşme sıcaklığı nedeniyle bakteriyolojik agar olarak sınıflandırılmayacağını belirten çalışmalar vardır (Murano 1995). Ayrıca *Gracilaria*'nın metoksil düzeyleri hakkında bir fikir vermesi açısından Rebello ve diğerleri tarafından yapılan bir ölçümden söz etmek yerinde olacaktır,

M. Yenigül

şöyle ki Çin *G.tenuistipitata* alginde metoksil % 4.9 olarak bulunmuştur(Rebello,J. ve diğ. 1997). Agarın jel sertliği ile performans ilişkisi incelenmiş ve iyi kalite bir agarın iz elementlerce zengin olan agar olduğu belirtilmiştir(Scholten 1998).

fonksiyonel bir ilişki içinde olduğu yakın zamanda incelenmiştir(Marinho ve diğ. 1998). Kontrollü ve organize hasat yapılması gerekliliği yanında bugün dünyanın yöneldiği kültür çalışmalarına hız verilmesi ülkemize önemli ölçüde döviz girdisi sağlayacaktır.

Diğer taraftan bilinçsiz bir şekilde yapılan hasat alg kaynaklarının kurumasına ve her geçen sene hızla azalan miktarlarda yosun toplanabilmesine neden olmaktadır.*Gracilaria* sp. alginin üreme döneminde hasat edilmemesi gerektiği ve agar kalitesinin üreme aşamaları ile

Sonuç olarak Türk *Gracilaria* sp. alglerinin elde edilen agarların özellikleri dikkate alındığında ticari önemleri yadsınamaz ve dünya arz talep durumu dikkate alınarak bu kaynakların iyi değerlendirilmesi gerekmektedir.

Kaynakça

- Araki C.,1966. Some recent studies on the polysaccharides of agarophytes.Proc. Int.seaweed Symp. 5; 3-19
- Brobst, K. M.,1972, Gas-liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives. Methods in Carbohydr. Chem.,6; 3-8.
- Cote, G.L. ve Hanisak, M.D., 1986, Production and properties of native agars from *Gracilaria tikvahiae* and other red algae. Bot., Mar., 29; 359-366.
- Cragie J.S. and Leigh C., 1978. Carrageenans and agars. In J.A.Hellebust and J.S.Cragie (eds)Handbook of phycological methods. Physiological and biochemical methods. Cambridge Univ. Press, 109-131.
- Cragie ,J. S. Ve Wen, Z. S.,1984. Effect of temperature and tissue age on gel strength and composition of agar from *Gracilaria tikvahiae*(Rhodophyceae),Can. J. Bot.62, 1765-1770.
- Duckworth, M. and Yaphe, W.1971, The structure of agar. I. Fractionation of complex mixture of polysaccharides. Carbohydr. Res.16; 189-197.
- Duckworth, M. , Hong, K.C ve Yaphe, W. 1971. The agar polysaccharides of *Gracilaria* species. Carbohydr. Res. 18; 1-9.
- Falshaw, R.,Furneaux, R.H., Stevenson, D.E.,1998. Agars from nine species of red seaweed in the genus *Cordia* (*Gracilariaceae*, Rhodophyta), Carbohydr. Res.,308(1-2), 107-115.
- Guiseley , K. B.,1970. The relationship between methoxyl content and gelling temperature of agar. Carbohydr. Res.,13; 247-256.

- Hoyle, M. D.,1978. Agar studies in two *Gracilaria* species from Hawaii. II. Seasonal aspect. *Bot. Mar.*,21, 347-352.
- Indergaard, M. ve Jensen, A.,1991. Utnyttelse av marin biomasse. Inst. For bioteknologi, NTH, Trondheim.
- Jensen, A., 1993. Present and future needs for algae and algal products. *Hydrobiologia*, 260/261, 15-23.
- Lahaye, M., ve Yaphe, W.,1989. The chemical structure of agar from *Gracilaria compressa*, *G. Cervicornis*, *G. Damaecornis* and *G. Domingensis*. *Bot. Mar.*,32; 369-377.
- Lahaye, M., Rochas, C., ve Yaphe, W.,1986. A new procedure for determining the heterogeneity of agar polymersin the cell walls of *Gracilaria* spp. *Can. J.,Bot.*, 64; 579-585.
- Lahaye, M., ve Yaphe, W.,1988.Effect of seasons on the chemical structure and gel strength of *Gracilaria pseudoverrucosa* agar(Rhodophyta). *Carbohydr. Polym.*, 8; 285-301.
- Minghou, J., Lahaye, M., ve Yaphe, W.,1985. Structure of agarfrom *Gracilaria* spp.(Rhodophyta) collected in the Peoples Republic of China. *Bot., Mar.*,28; 521-528.
- Marinho, S.E., Bourret, E.,Casabiancaa, M.L., Maury,L. 1998.Agar from the reproductive and vegetative stages of *Gracilaria bursa-pastoris*. *Bioresour. Technol.*,67(1), 1-5.
- Minghou, J., Lahaye, M., ve Yaphe, W.,1988. Structural studies on agar fractions extracted sequantially from Chinese red seaweeds, *Gracilaria sjeostedtii*, *G.textorii* and *G. Salicornia* using ¹³CNMR and IR spectroscopy. *Chin., J. Oceanol Limnol.*,6; 87-103.
- Murano, E., Toffanin, R.,Knutzen S. H.,Focher, B.,Rizzo, R., Paoletti, S.,1993, Evaluation of steam explosion as pretreatment in agar extraction from *Gracilaria dura* (C. Agardh) J. Agardh(*Gracilariaceae*, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 5, 417-424.
- Murano, M.,1995, Chemical structure and quality of agars from *Gracilaria* .. *J. Appl. Phycol.* 7(3), 245-54.
- Rebello, J., Ohno,M.,Ukeda,H.,Kusunose, H.,Sawamura, M.,1997. 3,6-anhydrogalactose, sulfate and methoxyl contents of commercial agarophytes from different geographical origins. *J. Appl. Phycol.*,9(4),367-370.

M. Yenigül

- Şerbetçioğlu, S., Yenigül, M., Kırmızı deniz yosunlarından agar ekstraksiyonunun optimum koşullarının saptanması. *Doğa-Tr. J. Of Eng.,and Env.,Sci.*,14, 568-578.
- Scholten, H.J., Pierik, R.L.M. 1998, Agar as a gelling agent, *Plant Cell Rep.*,17(3), 230-235.
- Villanova, R.D., Montano, N.E.; Romero, J.K.,Aliganga,A.K..A.,Enriquez, E.P.,1999. Seasonal variations in the yield, gelling properties and chemical composition of agars from *Gracilaria euchaeumoides* and *Gelidiella acerosa* from Phlippines. *Bot.Mar.*,42(2), 175-182.
- Whyte, J. N. C. ve Englar, J. R.,1980. Chemical composition and quality of agars in morphotypes of *Gracilaria* from British Columbia., *Bot.,Mar.*,23; 277-283.
- Whyte, J.N.C., Englar, J. R., Saunders, R. G. ve Lindsay, J. C. 1981. Seasonal variation in the biomass, quantity and quality of agar from the reproductive and vegetative stages of *Gracilaria verrucosa* type. *Bot. Mar.* 24, 493-501.
- Yang, S. S.,ve Liu, C. Y.,1988. Infrared spectroscopic studies of agar-agar extracted from *Gracilaria* cultivated in Taiwan. *J. Chin.,Agr.,Soc.*,26; 264-272.
- Yenigül, M.,1993. Seasonal changes in the chemical and gelling characteristics of agar from *Gracilaria verrucosa* collected in Turkey, *Hydrobiologia*, 260/261, 627-631.