

**T.C.  
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Neochloris aquatica* STAR MİKROALGININ KÜLTÜRÜ VE  
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Fatima S. R. ELBARASI**

**Danışman  
Jüri Üyesi  
Jüri Üyesi**

**Doç. Dr. Soner BİLEN  
Yrd. Doç. Dr. Ekrem MUTLU  
Yrd. Doç. Dr. Rıza AKGÜL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANABİLİM DALI**

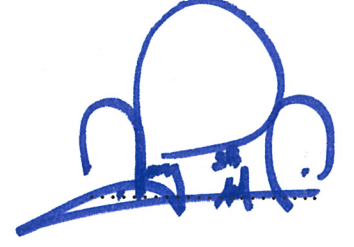
**KASTAMONU – 2017**

## TEZ ONAYI

**Fatima S. R. ELBARASI** tarafından hazırlanan "*Neochloris aquatica* Star Mikroalginin Kültürü ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi" adlı tez çalışması aşağıdaki jürilerin önünde savunulmuş ve oybirliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsün Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

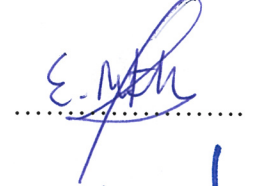
Danışman

Doç. Dr. Soner BİLEN  
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Ekrem MUTLU  
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Rıza AKGÜL  
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi



10/07/2017

Enstitü Müdür V.

Doç. Dr. Mehmet Altan KURNAZ



## TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

Fatima S. R. ELBARASİ



## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### *Neochloris aquatica* STAR MİKROALGINİN KÜLTÜRÜ VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Fatma S. R. ELBARASI  
Kastamonu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Soner BİLEN

**Özet:** Bu çalışmada, daha önce kültürü çalışılmamış olan *Neochloris aquatica* mikroalginin klasik mikroalg kültür ortamlarında kültürü denenmiştir. Bu maksatla, *Neochloris aquatica* modifiye edilmiş Bold's temel kültür ortamı (B1NV), Bold's temel kültür ortamı (BBM), mavi yeşil kültür ortamı (BG11) ve yeni kültür ortamına (OM) benzer şartlar altına ekilmiştir. Çalışma sonunda B1NV'de ortalama  $2,63 \times 10^6$  hücre/ml, BBM'de ortalama  $2,51 \times 10^6$  hücre/ml, OM'de ortalama  $0,8 \times 10^6$  hücre/ml ortalama hücre/ml yoğunluğa ulaştığı gözlenmiştir. Bu ortamlara alternatif olarak hazırlanan BG11 ortamında hücre yoğunluğunun  $2,95 \times 10^6$  hücre/ml ile en yüksek yoğunluğa ulaştığı tespit edilmiştir. Çalışılan örnek BG11 ortamında 0,684 gr/L kuru ağırlığına ulaşmıştır. Kültür gelişiminde en iyi yoğunluk 26. günde gözlenmiştir. Kültür 26. günde durgunluk fazına girmiş ve bundan sonraki günlerde kültür ölüm fazına girerek hücre sayısı azalmaya başlamıştır. Tüm bu veriler değerlendirildiğinde, *Neochloris aquatica*'nın BG11 ortamında, ticari önemi olduğu düşünülen ve biyoteknolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılan mikroalg türleri kadar hücre yoğunluğuna ulaştığı saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Neochloris aquatica*, mikroalg, kültür ortamı, biyoteknoloji

**2017, 32 sayfa**

**Bilim Kodu: 101**

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### CULTURE OF *Neochloris aquatica* STAR AND ITS DETERMINATION OF THE BIOCHEMICAL PROPERTIES

Fatma S. R. ELBARASI  
Kastamonu University  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Soner BİLEN

**Abstract:** In this study, culture possibilities of *Neochloris aquatica* microalgae that uncultured previously in some classical culture media was investigated. With this aim, *Neochloris aquatica* was inoculated into different culture media such as Modified Bold's Basic Culture Media (B1NV), Bold's Basic Culture Media (BBM), Blue green culture media (BG11) and new culture media (OM) in similar conditions. At the end of the study, it was observed that the cell density was reached to  $2.63 \times 10^6$  cell /ml in B1NV,  $2.51 \times 10^6$  cell /ml in BBM and  $0.8 \times 10^6$  cell/ml in OM groups. In BG11, alternative culture media instead of other media, cell density was reached with its highest value up to  $2.95 \times 10^6$  cell/ml. In BG11 culture media, dry weight of the studied sample was 0.684 gr/l. The best improvement in the culture was observed at the 26th day of the study. After 26th day of the study, the culture was entered its constant phase and after this day, the culture entered its dead phase and the cell count started to decrease. All this data showed that *Neochloris aquatica* in BG11 media was reached its aimed cell density that is expected in biotechnological studies.

**Key Words:** *Neochloris aquatica*, microalgae, culture media, biotechnology

**2017, 32 Pages**

**Science Code: 101**

## TEŞEKKÜR

Bu tez alıŐması sırasında ilgi ve sabrından dolayı değerli danıŐmanım sayın **Doç. Dr. Soner BİLEN**'e, tez konusunun belirlenmesinde ve sŸrdŸrŸlmesinde desteğini esirgemeyen sayın **Yrd. Doç. Dr. Rıza AKGŸL**'e tezin son haline gelmesinde katkılarında dolayđ değerli jŸri Ÿyelerine, aldığım eğitim için yaptıkları destekten dolayđ Libya HŸkŸmeti'ne teŐekkŸrŸ borç bilirim.

Fatima S. R. ELBARASĐ  
Kastamonu, Temmuz, 2017

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ .....	x
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
TABLOLAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Algere Genel Bakış.....	4
1.2. Boyut ve Şekil .....	5
1.3. Alglerde Divisyonlar .....	6
1.4. Algal Büyümeyi Etkileyen Faktörler .....	6
1.4.1. Işık.....	6
1.4.2. pH.....	7
1.4.3. Sıcaklık.....	7
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	8
3. YÖNTEM.....	13
3.1. Materyal .....	13
3.2. Kültür Deneyleri .....	13
3.2.1. Optimum Sıvı Nutrient Ortamının Saptanması.....	13
3.3. Kültür Gelişimi .....	15
3.3.1. Kuru Biyokütlenin Miktarının Belirlenmesi .....	15
3.3.2. Klorofil-a Miktarının Tayini .....	16
3.3.2.1. Hücrelerin Ayrılması .....	16
3.3.2.2. Ekstraksiyon .....	16
3.3.2.3. Dalga Boylarını Ayırma .....	17
3.3.2.4. Pigmentlerin Hesaplanması .....	17

3.4. Biyokütlenin Elde Edilmesi .....	18
3.5. Biyokimyasal Analizler.....	18
3.5.1. Ham Protein Analizi.....	18
3.5.2. Yaş Yakma.....	18
3.5.3. Distilasyon .....	19
3.5.4. Titrasyon .....	19
3.5.5. Ham Yağ İçeriğinin Saptanması .....	19
3.5.6. Yağ Asitleri Kompozisyonunun Belirlenmesi .....	20
4. BULGULAR.....	22
4.1. Hücre Yoğunluğu.....	22
4.2. Biyokimsal Özellikler .....	24
5. SONUÇ ve ÖNERİLER .....	26
KAYNAKLAR .....	29
ÖZGEÇMİŞ .....	32



## KISALTMALAR DİZİNİ

AB	Avrupa Birliđi
AOAC	Association of Official Analytical Chemis
BBM	Bold 's Temel Ortamı
BG11	Mavi Yeşil Kültür Ortamı
BOI	Biyolojik Oksijen İhtiyacı
B1NV	Modifiye Edilmiş Bold's Temel Kültür Ortamı
C	Santigrat
Cr	Krom
Ç.O	Çözünmüş Oksijen ml
DDT	Dikloro Difenol Trikloroethan
DSİ	Devlet Su İşleri
KOİ	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
L	Litre
N	Normalite
NTU	Nephelometric Turbidity Units
OM	Yeni Kültür Ortamı
PPM	Miyonda bir
YSA	Yapay Sinir Ağları
°	Derece
µg	Mikrogram

## FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Fotoğraf 1.1. Volvocine algleri (Leliaert, Smith, Moreau, Herron, Verbruggen vd., 2012) .....	1
Fotoğraf 3.1. 200 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ sn}^{-1}$ ışık şiddetinde ve 12/12 (eşit gün) ışık periyotunda aydınlanma koşullarında kültürleri yapıldı. Karışım ve havalandırma işlemi; 500ml/dk. ....	15
Fotoğraf 3.2. Su örnekleri, por ölçüsü 0.55 $\mu\text{m}$ olan Whatman GF/C süzgeç kağıdında süzülmüştür.....	16
Fotoğraf 3.3. Tam ekstraksiyon için karanlık bir buzdolabına 20-24 saat için yerleştirilen tüpler.....	17

## GRAFİKLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Grafik 4.1. Grafik 4.1. Kültür ortamlarının klorofil-a değerleri .....	22
Grafik 4.2 Kültür ortamlarının klorofil-a değerleri (mg/L) .....	23
Grafik 4.3. Kültür ortamlarının kuru ağırlık değerleri (gr/L) .....	24



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 1.1. Farklı şekillerdeki algler (Bellinger, 1992).a; Selenastrum, b; hareketli tek hücre, c; haraketsiz koloni, d; Secenedesmus, e; hareketli koloni, f; Pandoria, g; Voloks, h; Bölümlenmi filament, i; Cladopho.....	5
Şekil 1.2. Algal dividyon .....	6



## TABLÖLAR DİZİNİ

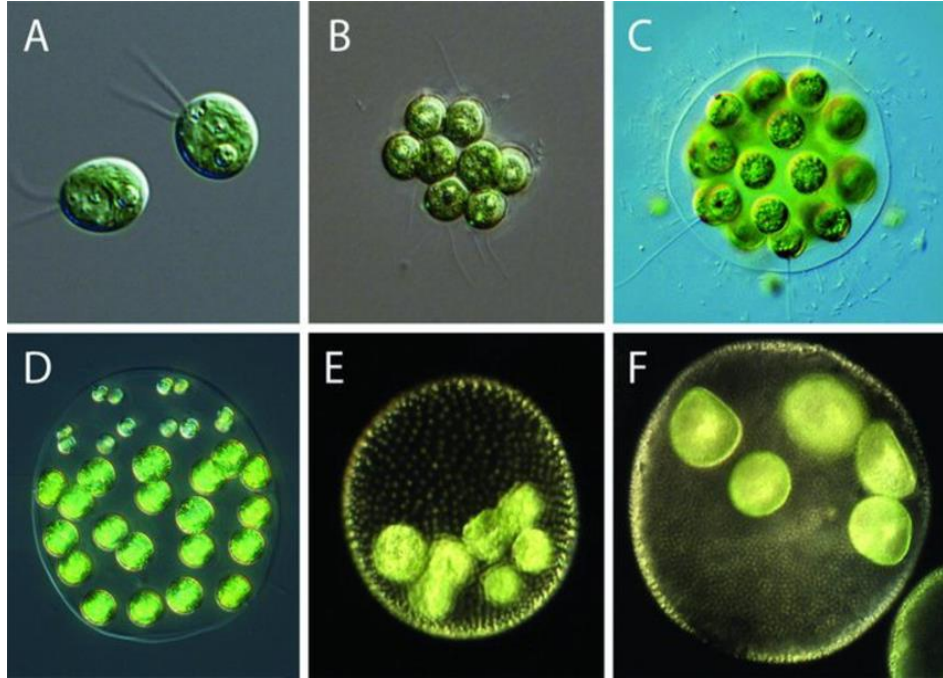
	<b>Sayfa</b>
Tablo. 3.1 Kùltür ortamlarının besin kompozisyonu (mg/L).....	14
Tablo. 4.1 <i>Neochloris aquatic</i> star alginin amino asit kompozisyonu .....	25
Tablo 4.2. <i>Neochloris aquatic</i> star alginin yağ asidikompozisyonu.....	25



## 1. GİRİŞ

Yeşil algler ki içlerinde en çok bilinen adıyla *Chlorella vulgaris*, Chlorophyceae familyasında yer alıp dünyanın var olduğu ilk günden beri varlığını sürdürmektedir. Fosil kayıtlar bundan 2,5 milyar yıl önce bu alglerin varlığını kanıtlamaktadır. Mikroalgler atmosferden aldıkları CO<sub>2</sub>'i oksijene çevirerek atmosferde hayatın başlamasını sağlamıştır. Günümüzde ise algler tüm dünyada hernevi su kaynağında yayılım göstermekte ve en olumsuz ortamlarda bile yaşamlarını sürdürmektedirler.

Chlorella, mavi yeşil alg, ilk olarak 1919 yılında fotosentez çalışmalarında kullanılmaya başlanmış, daha sonra araştırmacılar tarafından besin içerikleri ve besin ihtiyaçları gibi çalışmalar devam ettirilirken, sonraları bu alglerin protein ve yağ içeriklerinin belirlenmesi ile endüstriyel boyutlarda üretimine geçilmiştir. Mavi yeşil algler bitkilerin aksine içerdikleri zengin mineral kaynakları ile ve sürekli üretimlerinin yapılabilmesi ile iyi bir protein kaynağı olarak ve ucuz ve kaliteli besin olarak üretilmeye başlanmıştır.



Fotoğraf 1.1. Volvocine algleri (Leliaert, Smith, Moreau, Herron, Verbruggen, vd. 2012)

*Chlorella*'nın üretimi ile ilgili olarak sorunların çözülmesiyle birlikte mavi yeşil alg üretimi büyük bir sektör halini almıştır. Bu konuda üretim ile ilgili olarak ilk patent Kloetze Almanya'da alınmıştır (Sirenko ve Pulz, 2000). Günümüzde alg üretiminde yıllık olarak sadece *Chlorella vulgaris* üretiminde 500 milyon dolar gelir elde edilmiştir. Buna ek olarak mavi yeşil alglerin 30 farklı türünün üretimi yapılmakta ve bu ürünler gıda olarak tüketildiği gibi aynı zamanda kozmetik sanayisinde de kullanılmaya devam etmektedir (Mobin ve Alam, 2017).

Daha önceden belirtildiği üzere mavi yeşil algler günümüzde hayvan ve insan gıdası için protein kaynağı oluşturmaktadır. Mikro alglerin protein içerikleri çok yüksek olup, özellikle yüksek yapılı bitkiler ile kıyaslandığında, teorik olarak da başarılı bir yiyecek kaynağı olmaktadır. Bununla birlikte mikro alg üretiminde yaşanan biokütle sorununun birincil problemi oluşturmaktadır.

Protein sindirilebilirliğinin artmasına paralel olarak her daim üretimde maliyetlerin düşmesi söz konusu olmamaktadır. Farklı üretim tekniklerinin uygulanması alg üretiminde hatırlanması gereken önemli noktalardan biri alg hücre kalitesini düşürdüğü gibi besinsel içeriğini de olumsuz etkilemektedir.

Üretim maliyetlerini düşürmenin bir yolu, sera gazı üretiminin de azalmasını sağlayacak olan, foto bioreaktörlerin kullanılarak fosil yakıt gücü elde edilmesidir. Güç istasyonlarındaki CO<sub>2</sub> üretimi ki sera gazı etkisini en çok oluşturan gazdır, mikro alg kültürü için kolaylıkla kullanılabilir ve böylece üretim maliyetleri de paralel olarak düşebilir. Bu aynı zamanda küresel olarak CO<sub>2</sub> emisyonunu da azalmaya neden olacaktır (Kremer vd., 2004). Aynı zamanda atık su arıtımında mikro alg kullanımı, mikro alglerin iki farklı şekilde kullanımını ortaya koyacaktır. Mikro algler kirli sulardaki fosfat, nitrat ve diğer maddeleri besin kaynağı olarak kullanmakta ve suyun temizlenmesine yardımcı olmaktadır (Craggs vd., 1996).

Günümüzde çağın hatalıkları olarak bilinen kanser, yüksek yağlanma ve sistemik yüksek tansiyon tedavisinde birçok ilaç geliştirilmiş olmamakla beraber ilaçların bu sorunları tam anlamıyla çözememesi yada yan etkileri önemli eksiler olarak gözlenmektedir. Bu bağlamda yeni ilaçların geliştirilmesi ve doğal ürünleri dönülmesi bir alternatif olarak ortaya çıkmaktadır. Mikro alglerden *Chlorella*

*vulgaris* bu bağlamda potansiyel ürün olarak ortaya çıkmaktadır. Chlorellanın bağışıklık yanıtı uyardığı gayet iyi bilinmekte, birçok kanser tümörüne karşı önleyici etki göstermekte, yüksek tansiyon ve kalp hastalıklarına iyi geldiği gibi kolesterol seviyelerini de azalttığı bilinmektedir. Ayrıca bu ürünlerin yumurta tavuklarında yumurtlamayı da arttırdığı bilinmektedir.

Mikro algler aynı zamanda doymamış yağ asitleri, glikoproteinler ve diğer maddeler için taşıyıcı besin katkısı olarak görev almakta ve insan ve hayvan sağlığını olumlu etkilemektedir. Hayvan yetiştiriciliğinde yem katkısı olarak hayvanların daha iyi beslenmesi sağlayacak ürünler aranmaktadır. Bununla birlikte geliştirilen ürünlerin hayvan sağlığı açısından önemi kontrol edilmelidir. Yeşil mikro alglerdeki yüksek nükleik asit içeriği hayvan üretiminde ürik asit üretiminin artması ile gut hastalığı benzeri hastalıklara neden almakta ve hatta bu ürünlerin tüketilmesi ile insan sağlığına da olumsuz etkiler gösterebilmektedir. Bu bağlamda yüksek alglerin çok fazla tüketilmesi insan sağlığı açısından da olumsuz olabilir.

Diğer önemli bir nota, mikro alglerin farmokinetik kullanımlarına olan ilginin artmasıdır. Ayrıca mikro alg üretimi küresel CO<sub>2</sub> üretimi sorununun da bir çözüm olarak gündeme gelebilir.

Bu çalışmada günümüzde büyük öneme haiz olan mikro alg üretiminde kullanabilecek daha ekonomik bir tür olabilecek star mikroalginin kültür koşullarının belirlenmesi ve besin içeriklerinin belirlenerek üretiminin uygunluğu tartışılmıştır. Çalışmada kullanılan *Neochloris aquatica* taksonunun canlı sisematiğindeki yeri ve taksonomik grupları aşağıda belirtilmiştir.

**Empire:** Eukaryota

**Kingdom:** Plantae

**Subkingdom:** Viridiaeplantae

**Phylum:** Chlorophycophyta

**Class:** Chlorophycophyta

**Order:** Sphaeropleales

**Family:** Neochloridaceae



**Genus:** Neochloris

**Species:** aquatica

### 1.1. Alglere Genel Bakış

Alg kelimesi latin orjinli olup su yosunu anlamına gelmektedir (Bellinger ve Sige, 2010). Bu terim farklı morfoloji ve filogenide olan prokaryot ve ökaryotları tanımlamaktadır. Mikro alglar küçük, fotosentetik, heterotrofik yada fototrofik ve tek hücreli veya kolni oluşturan sucul bitkiler olarak tanımlanabilir (Susan, Harrison, Griffiths, Caryn, Hille 2004).

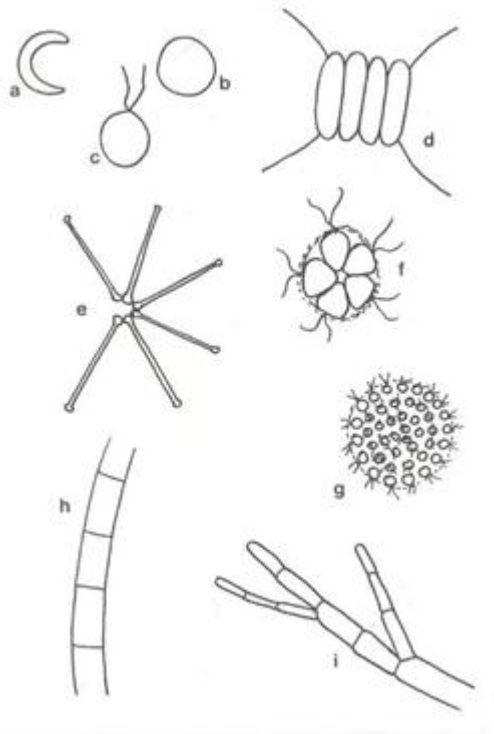
Mikro alglarin ototrofik organizmalar olması inorganik kaynaklardan besin üretmelerini sağlamaktadır ve ayrıca fotosentez yapmaları ışık enerjisini karbondioksit kullanarak kompleks yapılar oluşturmalarını sağlamaktadır. Bazı alglar hererotrofik olup esansiyel kompleks molekülleri sağlamasını kolaylaştırarak (Bellinger ve Sige, 2010) fotogrofi olarak isimlendirilen işlemi gerçekleştirerek hücre osmotrofisi yaparak organik moleküllerin organizmaya alınmasının sağlarlar (Graham ve Wilcox, 2000). Bununla birlikte birçok mikro alg türü hem osmotrofi hemde fotogrofi olaylarını gerçekleştirerek inorganik ve organik molekülleri kullanmakta bu iki hadiseyi de gerçekleştirmeleri durumunda miksotrofi olarak isimlendirilmektedir.

Şuana kadar milyonlara türü ve varyetesi olduğuna inanılan mikro alglarin 75500 türü belirlenmiş ve 44000 adedi isimlendirilmiştir (Guiry, 2012). Alglarin özellikle Heterokontopyha ve Chlorophta divisyonları buldukları sucul ortamları muazzam bir şekilde değiştirip çok iyi biyoindikatör tür olarak ele alınmaktadırlar. Bazı alglarin zehirli toksinler ürettiği ve tatlarının son derece kötü olduğu da bilinmektedir. Ötrofik göllerde yeşil alglar en yaygın olan türlerdir. Ötrofik göllerde bulunan Cyanobakteriler ise küresel olarak toksinleri dolayısıyla problem oluşturmaktadır. Göllerinin dünya çapında % 75'inin Cyanobakteri içermesi nedeniyle güvenlik seviyesi ve risk analizinde önemli bir yer tutar hale gelmiştir (Mosley, Manssor, Milow ve Salleh, 2012).

## 1.2. Boyut ve Şekil

Tek hücreli mikro metre boyutlarında yada 50 metre uzunluğundaki kelpeler ele alındığında, algal türlerin birçok farklı boy ve şekilde olduğu görülebilmektedir. Normal doğalarında çevre üremelerine ve gelişmelerine yardımcı olmaktadır insan aktiviteleri büyümelerini sınırlandırmaktadır (Graham ve Wilcox, 2000). Alglerin planktonik olarak bulunmaları büyüklüklerinin sınırlandırmakta, prokaryotik tek hücreli olanları 1 µm den koloni oluşturan mavi-yeşil alglerde ise 2000 µm'ye ulaşabilmektedir. Bentik ortamda yaşayan alglerde boyutlar çok değişkenlik göstermekte filamentli olanlarda boyutları santimetrelere kadar çıkabilmektedir.

Şekil 1' de farklı boyut ve şekillerde olan alglere örnekler gösterilmiştir. Bu bağlamda küre şekillerinden flagellalı olanlara kadar çok fazla değişkenlik göze çarpmaktadır.

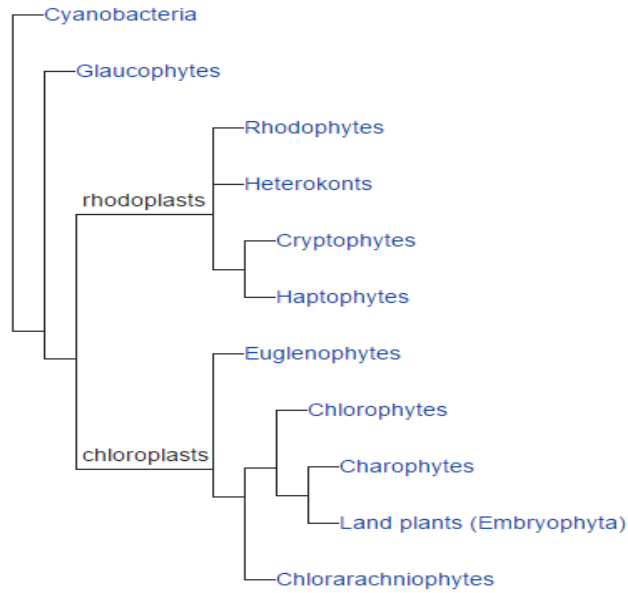


Şekil 1.1. Farklı şekillerdeki algler (Bellinger, 1992).a; Selenastrum, b; hareketli tek hücre, c; haraketsiz koloni, d; Secenedesmus, e; hareketli koloni, f; Pandoria, g; Voloks, h; Bölümlenmi filament, i; Cladophora.

Alglerde hareketlilik genel olarak flagella ile olmakla birlikte bazı alglerde hareket salgıladıkları organik bir madde olan müsilaj ile olmaktadır. Müsil aynı zamanda koloninin büyüklüğü ve şeklini de belirlemektedir. Algal türlerin tür isimlerinin belirlenmesinde büyüklük ve şekil öneliyken, gaz alışveriş yöntemleri, ışık emilimleri, hücre yapısı ve büyüme oranı, hareketlilik ve zooplanktonlar tarafında yenmeleri de tür ayırımında kullanılan önemli özelliklerdir (Bellinger ve Sige, 2010).

### 1.3. Alglerde Divisyonlar

Algler, görünüş, biyokimya, mikroskopik görünüş ve sitoloji özellikleri ile 10 ana grup altında toplanmaktadır (Graham ve Wilcox, 2010). Algere ait olan bu gruplar ve alt divisyonlar Şekil 1.2.'de verilmiştir.



Şekil 1.2. Algal divisyon

### 1.4. Algal Büyüme Etkileyen Faktörler

#### 1.4.1. Işık

Tüm bitkilerde olduğu gibi mikro algler fotosentez yoluyla inorganic maddeleri organik maddelere dönüştürürler. Bu reaksiyonlarda ışık ana enerji kaynağı olup yoğunluğun, spektral kalitenin ve fotoperiyodun dikkate alınması gerekir. Işık geçirgenliği önemli bir rol oynarken, türlerin ihtiyaçları son derece değişkenlik göstermekte, bu durum türün yaşadığı derinliğe ve hücre konsantrasyonların göre değişim göstermektedir (1000 lux küçük erlenler için, 5000-10000 lux yoğun üretim için). Işık doğal olarak güneşten yada floresanlardan sağlanabilir. Çok yüksek ışık şiddeti fotosentezi kısıtlanmasına neden olabilir. Ayrıca yüksek ışığın neden olabileceği fazla ısınmadan da kaçınılmalıdır. Floresan tüpler özellikle üretimde istenen dalga boyları olan mavi ve kırmızı ışık spektrumlarını yaydığı için tercih edilirler. Yapay olarak yapılan ışıklandırmanın en az 18 saat olması gerekmektedir. Tüm uyarlamalar yapılırken türün ışık istekleri dikkate alınmalı ve her türün farklı ortamlarda gelişmeyi tercih ettiği göz ardı edilmemelidir.

#### **1.4.2. pH**

Algal türler için pH daima 7 ve 9 arasında seyretmelidir. Bununla birlikte optimum seviye 8,2-8,7 arasında değişmektedir. Tam kültür üretimi esnasında meydana bir çok hücrel yıkım nedeniyle pH'ın sürdürülebilir olarak devam etmedi özellikle istenen aralıklarda, son derece zordur. Bu bağlamda kültürü devam ettirilmesi için havalandırmaya gerek duyulmaktadır. Yüksek yoğunluklu alg kültürü yapabilmek için sisteme karbondioksit girilmesi pH üzerinde azalmalara neden olmaktadır ki bu da alglerin büyümesi esnasında 9 olması gereken pH'nın kontrol altında tutulamamasına neden olmaktadır.

#### **1.4.3. Sıcaklık**

Plankton kültürleri için optimal sıcaklık, genel olarak 20 ile 24°C'dir. Ancak bu durum kültür ortamının yapısı, türler ve kültürlenilen gerilme ile çeşitlilik gösterebilir. Mikro alglerin çoğu genel olarak kültüre alınan tür, 16 ile 27°C arasındaki sıcaklıklara dayanabilir. 16°C'den daha düşük sıcaklıklar büyüme yavaşlarken, 35°C'den daha yüksek olanlar ortamlar ise ölümcüldür. İhtiyaç duyulması halinde deniz alglerine ait kültürler kültür yüzeyindeki soğuk su akışı ile ya da soğutulan havanın geçirilmesi ile kontrol edilerek soğutulabilir ve uygun ortam sağlanabilir.

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Tez konusu ile ilgili olarak çalışmalarımıza ışık tutacak yapılmış olan önceki çalışmaların bir kısmının içeriği ve sonuçları aşağıda özetlendiği gibidir. Giriş bölümünde bahsedildiği gibi mikro alglerin yoğun kültürü ile ilgili çalışmalar 120 yıl öncesine dayanmaktadır. Bununla birlikte bu alanda en güncel çalışmalar değerlendirilmiştir.

Bates, Tessier, Campbell ve Buffle (1982), yapmış oldukları çalışmada yarı sürekli kültürlerdeki *Chlamydomonas varzabius* ve *Scenedesmus subspicatus* taksonlarının çinko adsorpsiyonu ve taşınımını araştırmışlardır. Her iki alg türü için de EDTA ekstraksiyonundan sonra hücre içindeki taşınabilir çinko miktarını işlemsel olarak belirlemişlerdir. Metal alımının ortamdaki serbest çinko miktarıyla doğrusal bir ilişkide olduğunu tespit etmişlerdir.

Ohki ve Fujita (1982), yaptıkları çalışmada pelajik mavi-yeşil alglerden olan *Trichodesmium thiebautii* mikroalginin unialgal kültürü için gerekli olan şartları araştırmışlardır.

Wiltshire, Boersma, Möller ve Buhtz (2000), dayanıklı *S. obliquus* mikroalginden yağ asidi ve pigment elde etme etkinliği ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Kullandıkları ultrasound metodunun daha önce aynı amaç için kullanılan metoda göre yağ asidi ve pigment eldesinde iki kat daha etkili olduğunu görmüşlerdir. Ayrıca bu metodun *Cryptomonas erosa* (Cryptophyceae), *Cyclotella meneghiniana* (Bacillariophyceae), *Staurastrum paradoxum* (Cyanophyceae ) ve diğer pek çok alg için kullanılabilir olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Sanchez, Martinez ve Espinola (2000), yaptıkları çalışmada *Isochrysis galbana* denizel mikro alginin kültür ortamlarına bağlı olarak biyokimyasal değişkenliğini ve biyokütlesel üretimini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda ortamdaki besinsel şartların uygun olmasıyla yüksek değerdeki kinetik parametreler arasında paralel bir ilişki bulunamamıştır. Bununla beraber Ukeles ortamında büyüme parametreleri ile hücre yoğunluğu arasında uyumlu bir ilişki olduğunu belirtmişlerdir.

Fábregas, Domínguez, Regueiro, Maseda ve Otero (2000), *Haematococcus pluviialis* alginin sürekli kültürü için optimum büyüme şartlarını araştırmışlardır. Bu çalışmada kendileri tarafından oluşturulan ortamda *Haematococcus pluviialis* mikroalginin en iyi üreme gösterdiğini ve en çok astaksantin miktarının elde edildiğini tespit etmişlerdir.

Banerjee, Sharma, Chisti ve Banerjee (2002), yaptıkları çalışmada *Botryococcus braunii* mikroalginin yüksek miktarda yenilenebilir hidrokarbon kaynağı olduğunu belirlemişlerdir. Söz konusu algin bu özelliğinin onun biyoteknolojinin farklı alanlarındaki çalışmalarda, hidrokarbon ve diğer bileşiklerin üretilmesinde kullanılabilir kıldığını ifade etmişlerdir.

Rocha, Garcia ve Henriques (2003), *Nannochloropsis gaditana* denizel mikroalginin büyüme şartlarını araştırmışlardır. Bu algin yaşamını sürdürebilmesinin ortamdaki besleyicilere ve çoklu doymamış yağ asitleri, zeaksantin, astaksantin gibi pigmentler ve bazı değerli kimyasal bileşikleri üretebilme kapasitesine bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Pena-Castro, Martínez-Jerónimo, Esparza-García ve Canizares-Villanueva (2004), sürekli kültürlerdeki *Scenedesmus incrassatulus* mikroalginin; Cr (VI), Cd (II) ve Cu (II) ağır metallerinin tek, ikili ve üçlü karışımlarının bulunduğu, EDTA varlığı nedeniyle düşük serbest iyon aktivitesine sahip olan yapay atık sulu ortamlarda yetiştirilebilirliğini araştırmışlardır. *S. incrassatulus* algi test edilen ağır metalleri % 25-78 oranında absorbladığı fakat kesik kültürlerdeki yüksek pH nedeniyle bivalent metallerin alımında aynı başarının yakalanamadığını tespit etmişlerdir.

Rausch de Traubenberg ve Ah-peng (2004), ağır metallerin biyoindikator olarak kullanımı için *Fontinalis antipyretica* alginin klonlanmasına ve saflaştırılmasına ilişkin bir prosedür üretmeye çalışmışlardır. Çalışmanın sonunda metal biyoakümülatörü olarak kullanılabilen klonal ırkın sürekli bir kültürünü elde etmişlerdir.

El-Sheekh, Shouny, Osman ve El-Gammal (2005), yaptıkları çalışmada *Nostoc muscorum* ve *Anabaena subcylindrica* taksonlarının evsel ve endüstriyel atık

sularındaki ağır metal alınımının etkinliğini ve büyümeye etkilerini araştırmışlardır. Atık sulardan siyanobakteri kültürlerinin kullanımını ile bakır, kobalt, kurşun ve mangan gibi ağır metallerin absorbe edildiklerini tespit etmişlerdir.

Faisal, Hameed ve Hasnain (2005), Pakistan'ın çeşitli yörelerinden toplanan su ve toprak örneklerinden izole edilen tek hücreli siyanobakteriler, BG11, Bold Basal, Chu10 ve Gorham ortamlarında farklı pH, ışık ve sıcaklıklarda yetiştirmişler ve optimum büyüme şartlarını belirlemişlerdir. Bu süreçte, kromu 100-200 µg/ml miktarda ortamlara ekleyip kroma dayanıklı ırkları belirlemeye çalışmışlardır. Krom ağır metale dayanıklı bu ırkların, Cr<sup>+6</sup> iyonlarını, Cr<sup>+3</sup> iyonlarına indirgedikleri, optimum sıcaklığın farklı pH ortamlarında 30 °C olduğunu belirlemişlerdir.

Pratoomyot, Srivilas ve Noiraksar (2005), 10 adet mikroalg türünün durgun faz ve büyüme fazındaki yağ asidi kompozisyonunu tespit etmişlerdir. Çalışma sonunda, yağ asidi kompozisyonunun türden türe değişiklik gösterdiğini, Bacillariophyceae grubuna ait üyelerin her iki fazda da doymamış yağ asitlerini yüksek miktarda bulduklarını bulmuşlardır. Bunun yanında, Chlorophyceae ve Cyanophyceae grubu üyeleri çok miktarda yağ asidi içerirken, Prasinophyceae üyelerinin az miktarda içerdiklerini belirlemişlerdir.

Göksan ve Gökpınar (2005), *Haematococcus pluvialis* mikroalginin farklı ışık şiddetlerinde vejetatif büyüme özelliklerini araştırmışlardır. Beş farklı ışık şiddetinin (50, 100, 200, 400 ve 600 µmol foton m<sup>-2</sup> sn<sup>-1</sup>) uygulandığı denemede hücrelerin vejetatif safhada kültür edilebilmesi için optimal ışık şiddeti aralığı 50-200 µmol foton m<sup>-2</sup>sn<sup>-1</sup> olarak bulunmuş ve en iyi büyüme 200 µmol foton m<sup>-2</sup>sn<sup>-1</sup> lik şiddetinde gerçekleştiği gözlenmiştir. Hücre sayısı tüm gruplarda karanlık periyoda denk gelen 15. saatte ortalama 3.45 x 10<sup>4</sup> hücre ml<sup>-1</sup>'den 18. saatte 5.66 x 10<sup>4</sup> hücre ml<sup>-1</sup>'ye kadar yükselmiştir.

Dayananda, Sarada, Kumar ve Ravishankar (2006), yapmış oldukları çalışmada *Botryococcus braunii* mikroalginin farklı kültür ortamlarında hidrokarbon ve ekzopolisakkarit üretimi için ototrofik kültürünü yapmışlardır. Çalışma sonunda organizmanın farklı kültür ortamlarına alışabildiğini ve bu ortamlarda birden fazla metaboliti üretebildiğini tespit etmişlerdir.

Nakiboğlu ve Sevindir (2006), deri endüstrisi atık sularından kromun çeşitli alglerle biyosorpsiyonunu konu alan bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sürecinde deri endüstrisi atıksularında bulunan Cr (VI) ağır metal iyonlarının *Scenedesmus obliquus* ve *Chlorella sp.* maksimum biyosorpsiyon kapasiteleri araştırılmış ve maksimum biyosorpsiyon kapasiteyi sağlayacak reaktör işletme koşulları (optimum karıştırma süresi, optimum karıştırma hızı, optimum pH, optimum sıcaklık, optimum alg dozajı) belirlenmiştir.

Horvatic, Persic, Pavlic, Stjepanovic ve Has-Schon (2007), yaptıkları çalışmada *Chlorella kessleri* yeşil alginin büyümesi için gerekli olan besin maddelerini biyolojik yöntemlerle bulmaya çalışmışlardır. Kullanılabilir besin maddelerini belirlemişler ve Sakadas Gölü'ndeki azot ve fosfor sınırlamasının etkisini minyatürize edilmiş biyolojik ortamlarda araştırmışlardır.

Göksan, Ak ve Kılıç (2011), yaptıkları çalışmada vejetatif *Haematococcus pluvialis* Flotow kültürlerinde çeşitli inorganik azot bileşikleri, ışık şiddetleri, havalandırma hızları ve özellikle vitaminlerin etkileri araştırmışlardır. Çalışma sonunda, azot kaynakları arasında en iyi büyümeye  $\text{NaNO}_3$  (1,0 g/L) ve  $\text{KNO}_3$  (0,5 g/L)'da sırasıyla  $25,3$  ve  $26,3 \times 10^4$  hücre/ml hücre yoğunluklarına ulaşmışlardır. Vitamin denemelerinde, en yüksek hücre sayıları tiyamin, biyotin ve B12 için sırasıyla 0,1 (0,3  $\mu\text{M}$ ), 1,0 (4  $\mu\text{M}$ ) ve 0,1 mg/L (0,75  $\mu\text{M}$ ) konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. Ayrıca, vitamin karışımı yerine sadece tiyamin kullanımının yeterli olduğu bildirilmiştir. Hücre artışı, 20 ve 40  $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$ 'lik aydınlatma ile karşılaştırıldığında 75 ve 150  $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$  'de daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Havalandırma için ise optimum üzeri şiddetler büyümeyi azaltıp, hücre çapı ve pigment içeriğini artırırken, optimum hava akış hızı 1 lpm olarak tespit edilmiştir.

Ekonomik olarak mikroalglerin yanında makro alglerle de yapılan pek çok çalışma mevcuttur. Bunlardan bazı şöyle sıralanabilir.

Wen, Peng, Zhou, Lin, Lin vd. (2006), *Nostoc flagelliforme* türünün protein miktarının kuru kütleinin % 25,47'si olduğunu bildirmiştir. *N. spongiaeforme* türünün protein miktarının kuru ağırlığa oranı % 19,83 olduğunu belirlemiştir.



Fırat, Öztürk, Taşkın, Kurt (2007), yaptıkları çalışmada *Caulerpa rasemosa* alginin biyokimyasal içeriğini incelemişlerdir. Bunlardan bazıları evsimsel olarak belirlemişlerdir. Analiz sonuçlarında toplam su miktarı % 92,75-95,93, ham protein % 12,94-20,18, inorganik madde (kül) % 8,02-19,50 ve suda eriyebilir karbonhidrat 0,65-1,11mg/100 ml olduğu saptanmıştır.

Briones-Nagat, Martinez-Goss, Hori (2007), insan gıdası olarak tüketilen *Nostoc commune* türünün protein miktarının kuru kütlenin % 23 ila % 29'u arasında değiştiğini ve *N. commune* türünün Filipinler'de ve Japonya'da gıda olarak kullanıldığını bildirmiş ve yerel olarak göze çarpan bolluğu ve geleneksel tüketimiyle popülerliğinin arttığını bildirmişlerdir.

### 3. YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada Ergene Havzası'ndaki (Trakya) tatlı su kaynaklarından izole edilmiş olan *Neochloris aquatica* star mikro algi araştırma materyali olarak seçilmiştir.

#### 3.2. Kültür Deneyleri

##### 3.2.1. Optimum Sıvı Nutrient Ortamının Saptanması

Mikroalgin büyüme şartlarının ve uygun kültür ortamının belirlenebilmesi için daha önce değişik bilim adamlarınca yapılmış kültür çalışmalarından yararlanılmıştır. Tatlı sularda yayılış gösteren *Neocloridaceae* üyelerinin iyi gelişme gösterdiği, aynı zamanda bütün mikroalglerin gelişimi için hemen hemen bütün besin tuzlarının bulunduğu, farklı pH değerlerine sahip Mavi Yeşil Kültür Ortamı (BG11), Bold's Temel Kültür Ortamı (BBM), Modifiye Edilmiş Bold Kültür Ortamı (B1NV) ve çalışmada kullanılmak üzere Yeni Kültür Ortamı (OM) olmak üzere dört farklı kültür ortamı belirlenmiş ve tüm bu kültür ortamları steril şartlarda hazırlanmıştır (Tablo 3.1).

Mikroalg için hazırlanan bu dört ortamın yanında, BBM baz alınarak azot ve fosfat içeriğinin değişik oranlardaki konsantrasyonuna sahip, Bizim (Our) Medium (OM) adında, dördüncü sıvı kültürü hazırlanmıştır.

Dört farklı sıvı kültür ortamı hazırlandıktan sonra, her bir kültür ortamından deneme üretim alanı olarak kullanılacak olan 5 L hacimlerdeki erlenmayerlere aktarıldı (Şekil 3.1). Aşılama için stok şekilde bekletilen kültür kullanılarak steril şekilde her ortama  $10^5$  hücre/ml yoğunluğunda aşılama yapıldı. 5'er litrelik aşılama sıvı kültürler, iklimlendirme dolabında  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de sıcaklıkta,  $200 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{sn}^{-1}$  ışık şiddetinde ve 12/12 (eşit gün) ışık periyotunda aydınlanma koşullarında kültürleri yapıldı. Karışım ve havalandırma işlemi, 500 ml/dk havalandırma kapasitesine sahip akvaryum pompaları ile yapıldı.

Tablo 3.1. *Kültür ortamlarının besin kompozisyonu (mg/L)*

	BBM mg/L(Stein, 1973)	BGII mg/L (Rippka vd 1979)	B1NV mg/L (Stein, 1973)	OM mg/L
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	-	20	-	-
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,39	0,39	0,39	0,008
Nasio <sub>3</sub>	-	-	-	-
Na <sub>2</sub> EDTA	100	1	100	-
NaNO <sub>3</sub>	250	1500	250	500
NaCl	25	-	25	25
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	175	-	175	262,5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	75	40	75	112,5
KOH	62	-	62	-
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	75	75	75	75
Cacl.2H <sub>2</sub> o	25	36	25	25
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	-	-	-	-
Citic Acid	-	6	-	-
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86	2,86	2,86	-
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	4,98	-	4,98	-
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	-	-	0,194
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,222	0,222	0,222	-
ZnCL <sub>2</sub>	-	-	-	0,01
Mncl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1,81	1,81	1,81	0,082
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,079	0,08	0,079	-
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	-	-	-	0,004
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,0494	0,05	0,0494	-
Ammonium ferik-	-	6	-	-
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub>	-	-	-	-
Toprak su ekstratı	-	-	-	20ml
B12	-	-	1ml	-
Thiamine HCl	-	-	1ml	-
Biotin	-	-	1ml	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1ml	-	1ml	-
HCl	-	-	-	-
pH	7,1	7,5-8	6,7	8,0

Kültürlerin hücre yoğunlukları birinci günden itibaren takip edilerek, kültürün ölüm fazına girinceye kadarki süre içinde her iki günde bir, Thoma sayma kamarası kullanılarak üç tekrarlı şekilde hücre sayımları yapıldı.



Fotoğraf 3.1. 200  $\mu\text{mol}$  foton  $\text{m}^{-2}$   $\text{sn}^{-1}$  ışık şiddetinde ve 12/12 (eşit gün) ışık periyotunda aydınlanma koşullarında kültürleri yapıldı. Karıştırma ve havalandırma işlemi; 500ml/dk.

### 3.3. Kültür Gelişimi

#### 3.3.1. Kuru Biyokütlenin Miktarının Belirlenmesi

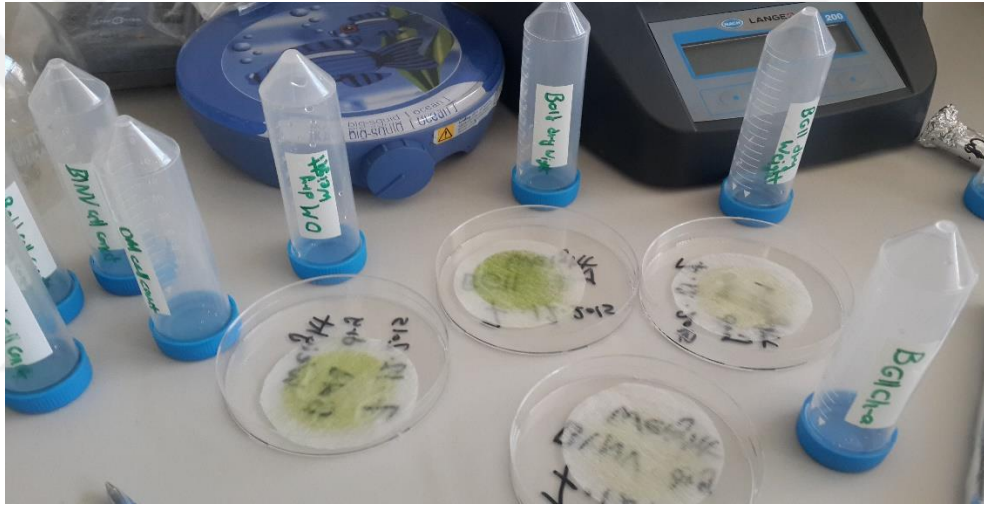
Kültürün gelişiminin izlenmesi, kuru biyokütle miktarının saptanması ile sağlanmıştır. Bunun için, iki günlük aralarla tüm kültür ortamlarından 20'şer ml mikroalg kültürü alınmıştır. Daha önce 105 °C'de 1 saat etüvde tutulmuş, desikatörde soğutulmuş ve darası alınmış 0,45 $\mu$  por açıklığındaki Whatman GF/C filtre kâğıtlarından, süzme düzeneği ve bir su trombu kullanılarak oluşturulan vakum yardımıyla örnekler süzlmüştür. Süzlmüş biomas üzerine HCl ile pH'ı 4'e ayarlanmış olan saf su dökülerek yıkanmıştır. Süzölüp yıkanan mikroalg bioması petri kapları içerisinde 65 °C'ye getirilen etüvde 2 saat tutularak kurutulmuş ve desikatöre alınmıştır. Oda sıcaklığına kadar soğumaları sağlanan örnekler daha sonra 0.0001 gr hassasiyetteki terazide tartılmıştır. Tartılan kuru biomas süzölen kültür hacmine oranlanarak 1 L içindeki biomas miktarları hesaplanarak, farklı kültür ortamlarındaki mikroalgin gelişim grafiği oluşturulmuştur (Gökpınar ve Büyükişık, 1994).

### 3.3.2. Klorofil-*a* Miktarının Tayini

Kültür yoğunluklarının tespiti için Klorofil-*a* miktarlarının saptanması yoluna gidilmiştir. Bunun için her kültür ortamından, 2 günlük aralarla 20 ml örnek alınarak MgCO<sub>3</sub> (0,3 mg/L) eklenmiş ve aşağıdaki işlemlerden geçirilerek klorofil-*a* miktarı tayin edilmiştir.

#### 3.3.2.1. Hücrelerin Ayrılması

Su örnekleri, por ölçüsü 0,55 µm olan Whatman GF/C süzgeç kâğıdında süzülmüştür.



Fotoğraf 3.2. Su örnekleri, por ölçüsü 0.55 µm olan Whatman GF/C süzgeç kâğıdında süzülmüştür.

#### 3.3.2.2. Ekstraksiyon

Neochloris hücrelerinin birikmiş olduğu süzgeç kâğıdı santrifüj tüpüne yerleştirilmiş ve 7 ml % 90'lık aseton ilave edilmiştir. Santrifüj tüpü kuvvetlice sallanarak süzgeç kâğıdının tamamen çözücü içinde çözünmesi sağlandı. Tam ekstraksiyon için tüpler 20-24 saat karanlık bir buzdolabına yerleştirilecek, hazırlanan kör tüp standart olarak kullanılmıştır. Ekstraksiyon periyodundan sonra örnekler buzdolabından alınarak ısınması için oda sıcaklığında bırakılmıştır. Eğer çözücü buharlaşırsa hacim 10 ml olacak şekilde % 90'lık aseton ilave edilerek dengelenmiştir. Örnekler ve kör tüp 5-10 dk 3000-5000 rpm'de santrifüj edilmiştir.



Fotoğraf 3.3. Tam ekstraksiyon için karanlık bir buzdolabına 20-24 saat için yerleştirilen tüpler.

### 3.3.2.3. Dalga Boylarını Ayırma

Santrifüj edildikten sonra, üstte kalan sıvı kısımdan 3 ml alınarak Hach Lange marka spektrofotometre cihazında 665, 645 ve 630 dalga boylarında absorbands değerleri ölçüldü. 10 mm'lik ışık yolu ve absorbands (D) ölçümleri kullanılarak mg/L'deki klorofil-*a* (Ca) konsantrasyonu aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır.

$$Ca = 11.6 D_{665} - 1.31 D_{645} - 0.14 D_{630} \quad (3.1)$$

### 3.3.2.4. Pigmentlerin Hesaplanması

Pigment konsantrasyonu ( $\text{mg/m}^3$ ) aşağıdaki eşitlikten yararlanılarak hesaplanmıştır (Stein, 1973).

$$\text{Klorofil a,b,c (mg/m}^3\text{)} = (C) \cdot (V_a) / (V_c) \quad (3.2)$$

( $V_a$ ): 1 ml'deki aseton çözücüsünün hacmi.

(C): Birinci eşitlikten elde edilen değer

( $V_c$ ) : Suyun orijinal hacmi

### **3.4. Biyokütlenin Elde Edilmesi**

Kültürün durgun faza geldiği 28. gün sonunda, kültür çalışmaları sona erdirilmiştir. Sonraki biyokimyasal çalışmalarda kullanılacak biyokütleyi elde etmek için, en yüksek hücre yoğunluğu ve en yüksek kuru ağırlık oranına sahip kültür ortamından (BG11) hücreler hasat edilmiştir. Hasat edilirken havalandırma kesilerek koagule olan mikroalglerin yerçekimi ile çökmeleri beklenmiştir. Çöken ve akvaryumun tabanında biriken yoğun kısım sifonlanarak 55 µm por açıklığına sahip plankton bezleri ile süzülmüştür. Hasat edilen biomas 50 °C'deki vakumlu etüvde 3 saat kadar bekletilerek kurutulmuştur. Hiçbir şekilde su içermeyen kuru örnekler biyokimyasal analizlerde kullanmak üzere -20°C'de bekletilmiştir. Elde edilen biyomasın bir kısmı kullanılarak biyokimyasal analizleri, yağ, yağ asitleri, protein, karbonhidrat, vitamin ve kül miktarları belirlenmiştir.

### **3.5. Biyokimyasal Analizler**

#### **3.5.1. Ham Protein Analizi**

Toplam ham protein, Kjeldahl metoduna (AOAC 2000) göre; yağ yakma, distilasyon, titrasyon şeklinde üç aşamada ve üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

#### **3.5.2. Yaş Yakma**

Kurutulup toz haline getirilen Neochloris kuru biyokütle örneğinden 0,5 gr tartılarak Kieldal tüplerine, konulmuştur. Örneklerin bulunduğu tüplere Kieldal protein katalizör tableti ilave edilmiş ve üzerlerine 15'şer ml'lik % 96'lık sülfirik asit eklenerek tüpler yağ yakma ünitesine yerleştirilmiştir. Örneklerin renkleri açık sarı-yeşil ya da renksiz oluncaya kadar, yaklaşık 2,5-3 saat yakma işlemine devam edilmiştir. Yakma ünitesinden çıkarılan örnekler soğumaya bırakılmış ve sonra örneklerin üzerine 20 ml saf su eklenmiş ve distilasyon işlemine geçilmiştir.

### 3.5.3. Distilasyon

250 ml'lik erlenlere konan son örnek, daha önce hazırlanan borik asit çözeltisinden, 1 l suya 40 gr H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, sonra 7ml metil red bomoxal gren 10 ml, 25 ml ilave edilip distilasyon ünitesinin çıkışına yerleştirilmiş ve NAOH ile distilasyona tabi tutulmuştur. Distilasyon esnasında ortamda bulunan azotu ölçmek için ise bir kör örnek hazırlandı.

### 3.5.4. Titrasyon

Distilasyon işlemi sonunda erlende biriken destilat, 0,1 N HCl ile rengi pembe renge dönünceye kadar titre edilip sarfiyat belirlenmiştir. Kör için 0,1 ml'lik HCl sarfiyatı olmuştur. Üç tekrar sonunda ortaya çıkan değerler aşağıdaki eşitlikle hesaplandı ve ortalama alındı.

$$\% N = \frac{14,01 \times (A-B) \times M \times 100}{G \times 10}$$

G x 10

(3.3)

$$\% \text{Protein} = \% N \times 6,25$$

A: Örnek için sarf edilen HCl miktarı

B: Kör için sarf edilen HCl miktarı

M: Asit molaritesi

g: Örnek miktarı

### 3.5.5. Ham Yağ İçeriğinin Saptanması

Kurutulan materyale ait örnekten 1 gr tartıldıktan sonra darası alınmış 250 ml'lik balon jøjeye aktarıldı ve üzerine 2:1 oranında hazırlanmış metanol:kloroform



karışımından 20 ml eklenmiştir. Ağız kapatılan örnek, oda sıcaklığında 15-20 dk manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra oluşan homojen karışımdaki yağ fazını almak için 15 dakika santrifüj edilmiştir (10000 rpm). Santrifüjden sonra falkon tüpleri içindeki karışıma % 0,9'luk 4 ml NaCl çözeltisi eklenmiştir. 1-2 dakika elle çalkalandıktan sonra tekrar santrifüjde düşük hızda (2000 rpm) santrifüj edilmiştir. Bu işlemler sonrasında oluşan en üstteki faz küçük organik polar moleküllerle birlikte gangliositleri barındırmaktadır. Eğer istenirse saklanıp, diğer özel analizler için kullanılabilir. En üstteki gangliositli faz sifon edilmiştir. Aşağıda kalan metanol:kloroform fazı örneğin toplam yağ miktarını tutmaktadır. Bu faz, daha önce darası alınmış 250 mL'lik balon jodelere sifonlanıp rotevaporatörde 60 °C'de uçurulmuştur. Ekstraksiyon balonu içindeki metanol ve kloroform uçurulduktan sonra 103 °C etüvde 3 saat bekletildikten sonra desikatörde soğutulmuş ve hassas terazide (0,0001gr) tartılmıştır (Folch, Lees, Stanley Slone, 1957).

Toplam yağ miktarı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır. Ham yağ miktarlarının tespiti için yapılan işlem üç defa tekrarlanmış olup, çıkan sonuçların ortalaması alınmıştır.

$$\text{Ham yağ miktarı (\%)} = [(t_s - t_i) / m] \times 100$$

m=Örnek ağırlığı

t<sub>i</sub>=Balon jodenin boş ağırlığı

t<sub>s</sub>=İşlemden sonra balon jodenin ve biriken yağın ağırlığı

### 3.5.6. Yağ Asitleri Kompozisyonunun Belirlenmesi

Örneklerin % yağ oranı hesaplandıktan sonra 250 ml'lik balon jodelerdeki örnekler esterleştirme işlemine tabi tutulmuştur. Önce 0,5 N metanolik NaOH (Merck)'tan 5ml ilave edildi ve balon joje geri soğutucu ile su banyosuna yerleştirildi. Esterleştirme işlemi sırasında örneğin taşmaması amacıyla içine kaynama taşı atıldı. Örnekler su banyosunda kaynamaya başladıktan 15 dakika sonra soğutucunun üzerinden 5ml BF<sub>3</sub> reaktifi eklendi, 5 dakika daha kaynatıldı ve 2ml n-heptan ilave

edilerek 1 dakika daha kaynatıldı. Örnek, soğutucudan çıkarıldıktan sonra 25ml'lik balon jojeye aktarıldı ve soğuduktan sonra oda sıcaklığında üzerine doymuş tuz çözeltisi ilave edildi. Böylece balon jodede iki faz oluştu. Üstteki heptan fazından mikropipetle 1-2 ml deney tüpüne alınarak analiz için saklandı. Yağ asidi analizleri Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda GS-MS aleti ile yapıldı.

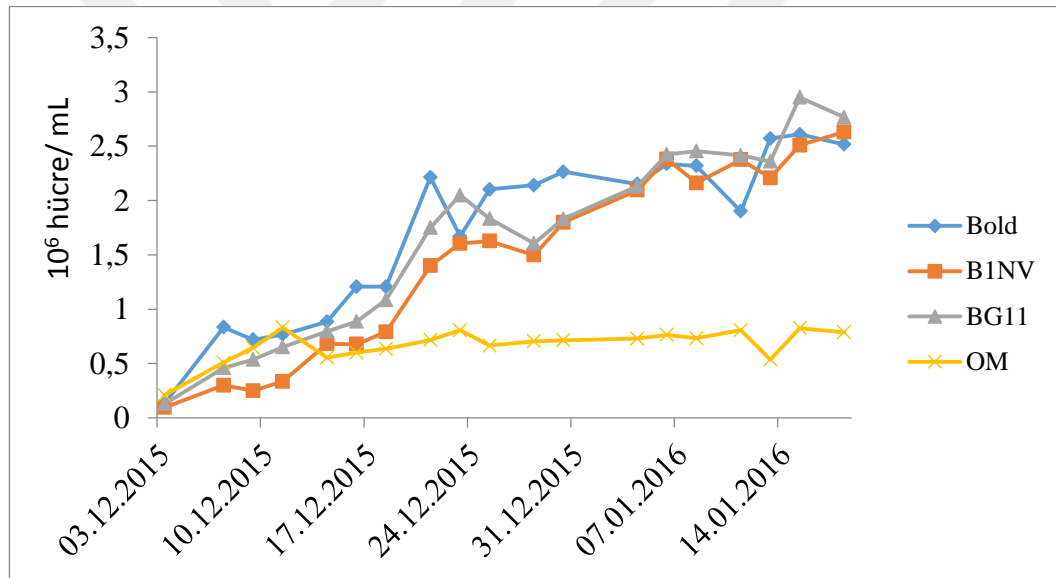


## 4. BULGULAR

Çalışmada taksonun maksimum büyüme gösterdiği ortamda (BG11) kültüre alınan *Neochloris aquatica* taksonunda hücre yoğunluğu, toplam ham yağ, toplam ham protein, yağ asitleri ve amino asit kompozisyonu araştırılmıştır.

### 4.1. Hücre Yoğunluğu

Çalışılan taksonun maksimum büyüme koşullarını belirlemek amacıyla BG11, B1NV, BBM ve OM ortamları kullanılmıştır. Belirlenen hücre yoğunluklarına ait değerler Grafik 4.1’de verilmiştir.



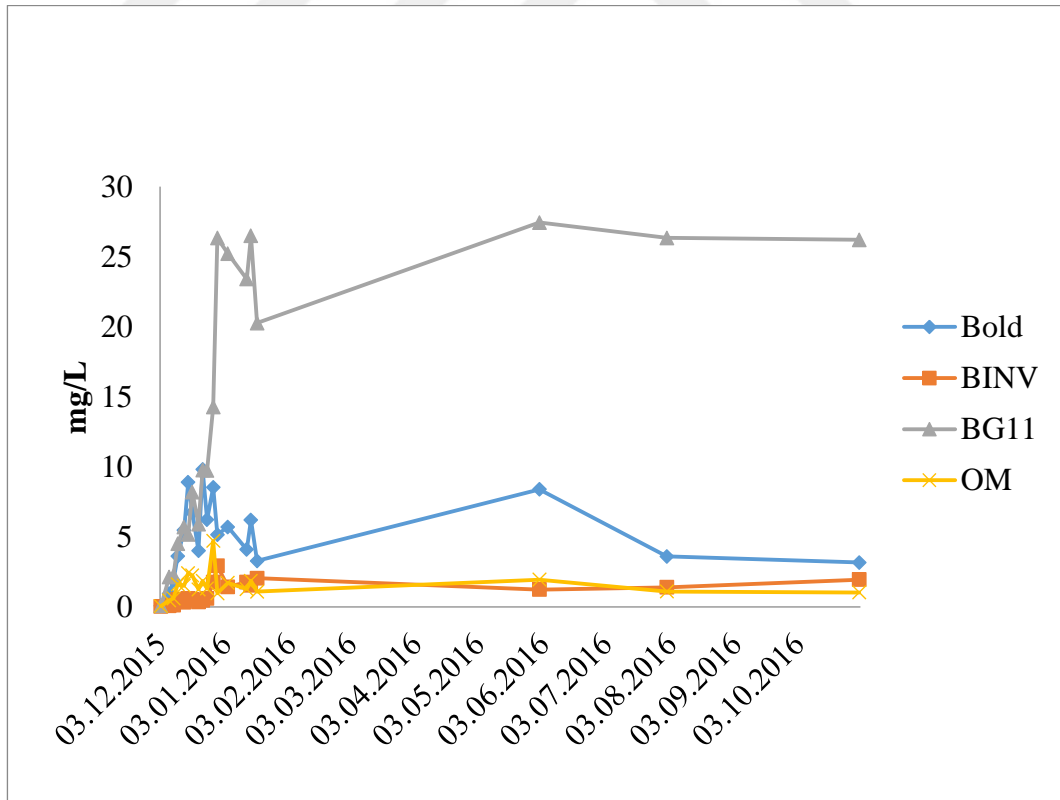
Grafik 4.1. Kültür ortamlarının klorofil-a değerleri

Çalışma sonuçlarına göre daha önce hiç çalışılmamış olan *Neochloris aquatica* taksonu klasik mikroalg kültür ortamlarında kültüre edildiğinde B1NV’de ortalama  $2,63 \times 10^6$  hücre/mL, BBM’de ortalama  $2,51 \times 10^6$  hücre/mL, OM’de ortalama  $0,8 \times 10^6$  hücre/mL yoğunluğa ulaştığı gözlenmiştir. Bu ortamlara alternatif olarak hazırladığımız BG11 ortamında  $2,95 \times 10^6$  ortalama hücre yoğunluğu ile taksonun hücre yoğunluğunun en iyi olduğu ortaya konmuştur.

Çalışılan örnek BG11 ortamında, 7.5-8 pH değerinde,  $24\pm 2$  °C’de ve sıcaklıkta, 200  $\mu\text{mol foton m}^{-2}\text{sn}^{-1}$  ışık şiddetinde ve 12/12 (eşit gün) ışık periyotunda aydınlanma koşullarında ve 500 mL/dk. havalandırma şartlarında  $2,95 \times 10^6$  hücre/ml yoğunluğuna ulaşmıştır. Bu yoğunluğa ulaşan kültürün kuru ağırlığı 0,684 gr/L olarak ölçülmüştür. Kültür gelişiminde en iyi yoğunluk 26. günde gözlenmiştir. Kültür 26. günde durgunluk fazına girmiş ve bundan sonraki günlerde kültür ölüm fazına girerek hücre sayısı azalmaya başlamıştır.

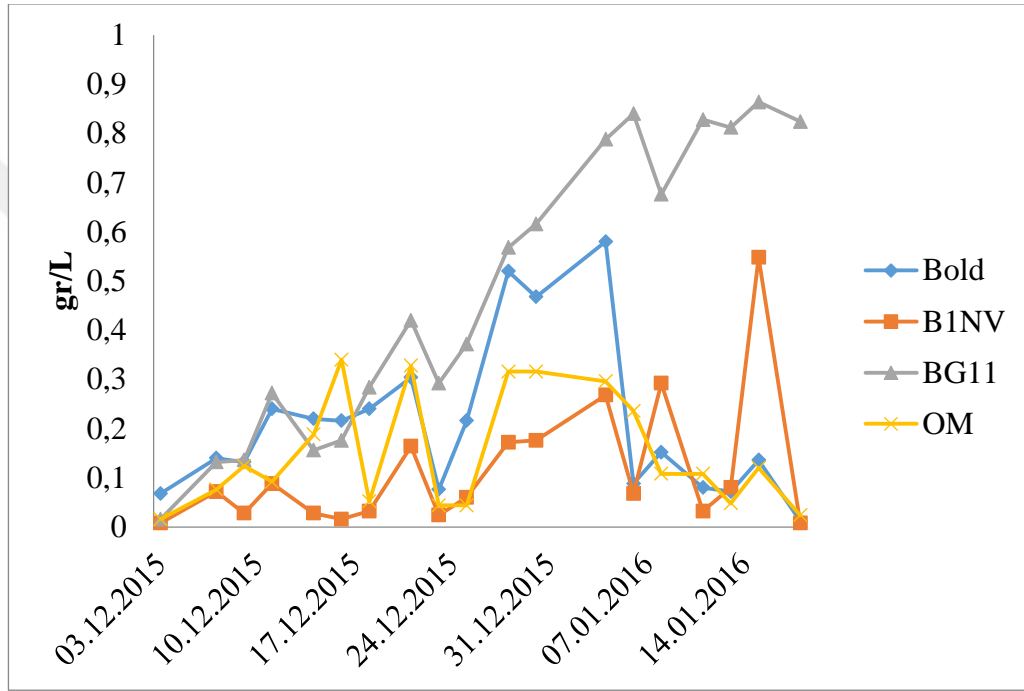
Tüm bu veriler değerlendirildiğinde; *Neochloris aquatica* taksonunun belirlenen kültür ortamında, ticari önemi olduğu düşünülen ve biyoteknolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılan mikro alg türleri kadar hücre yoğunluğuna ulaştığı saptanmıştır.

Oluşturulan kültür ortamlarındaki hücrelerin gelişimi hakkında en sağlıklı bilgileri veren klorofil-a miktarları ve kuru biyokütle ağırlıkları hesaplanmış ve sonuçlar Grafik 4.2’de özetlenmiştir.



Grafik 4.2. Kültür ortamlarının klorofil-a değerleri (mg/L)

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde en yüksek klorofil-a değerleri incelendiğinde en yüksek değerlerin Bold Temel Kültür Ortamında olduğu gözlenmektedir. Bunlara ek olarak kültür ortamlarının kuru ağırlıkları değerlendirildiğinde en yüksek kuru ağırlığın klorofil miktarına benzer olarak BBM içerisinde kültüre alınan grupta tespit edilmiştir (Grafik 4.3).



Grafik 4.3.Kültür ortamlarının kuru ağırlık değerleri (gr/L)

#### 4.2. Biyokimyasal Özellikler

Çalışması yapılan mikroalgin, besinsel değerinin (toplam protein, toplam yağ) insan ve hayvanlar tarafından sıklıkla tüketilen pek çok besin maddesine ve yoğun kültürleri yapılan çoğu mikroalge göre daha fazla ticari öneme sahip olduğu görülmektedir. Bu bağlamda çalışma sonunda star alginin protein içeriği % 49,27, ham yağ içeriği % 7,62 olarak tespit edilmiştir. Star algine ait aminoasit içerikler, Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. *Neochloris aquatic* star alginin amino asit kompozisyonu.

Bileşen	(mg/g)
Arginine (11,7)	20,84
Serine (12,7)	19,06
Glycine (13,2)	12,06
Alanine (13,9)	0,93
Pyroline (14,4)	4,27
Valine (16,4)	1,00
Throline (17,2)	6,15
Methionine (17,4)	7,54
İsoleucine (17,8)	1,57
Leucine (18,8)	2,65
Phenyl alanine (19,4)	5,60
Tyrosine (20,6)	36,09
Aspartic (26,4)	18,70
Glutamic acid (26,8)	38,90
Histidine (27,2)	2,05
Lycine (27,9)	0,35

Çalışma verilerine göre amino asit içerikleri değerlendirildiğinde star mikro alginin Glutamik asit, tyrosine ve arginin açısından son derece yüksek olduğu gözlenmektedir. Bununla birlikte en düşük konsantrasyon % 0,93 ile alanine olarak tespit edilmiştir.

Kültürü yapılan hücrelerin yağ asidi kompozisyonu Tablo 4.2’de ifade edilmiştir.

Tablo 4.2. *Neochloris aquatic* star alginin yağ asidi kompozisyonu.

Rt	Bileşen	
8.0	Caproic acid ME C6:0 %	0,00
10	Caprylic acid ME C8:0 %	0,01
11.7	Capric acid ME C10:0 %	0,02
13.9	Lauric acid ME C12:0 %	0,13
16.5	Myristic acid ME C14:0 %	3,81
18.3	İsothiocyanic acid ethyl ester %	0,03
18.5	Dodecanoicacid , 4-methyl ME %	-
18.6	10-undecenoic acid ME %	-

19.2	Tetradecanoic acid 12 methyl ME	1,68
------	---------------------------------	------

Tablo 4.2'nin devamı

19.5	Pentadecanoic acid ME C15:0 %	0,26
21.3	cis-10 pentadecanoic acid C15:1 %	0,02
22.5	Pentadecanoic acid, 14-methyl ME/C15:0 iso %	0,51
23.2	2-thio-2-methyl propionic acid ME %	-
24.9	Palmitic acid ME C16:0 %	13,14
25.7	7-hexenoic acid ME C16:1 C7 %	0,34
26.0	9-hexenoic acid ME C16:1 C9 %	1,14
27.1	Heptadecanoic acid ME C17:0 %	1,54
27.8	Hexanoic acid 14-methyl ME %	4,94
29.2	C17:0 iso %	0,31
30	7-Heptadecanoic acid ME/Cyclopropaneoctanoic acid 2-hexyl ME	4,89
30.3	7,10,13 hexadecatrienoic acid ME	6,10
33	Stearic acid ME %	2,12
33.7	Oleic acid C18:1 n9c %	9,41
33.8	C18:1 t10, t11e 12 %	3,98
35.1	Linoleic acid ME C18:2 c9 c12 %	19,40
35.8	c18:2 t11 c15 %	0,92
37	Eicosanoic acid Me C20:0 %	0,00
37.2	linolenicacid ME C18:3 (c9,c12,c15) %	18,96
40.3	Eicosadienoic Acid ME C20:2 %	0,11
42.9	Eicosatrienoic Acid ME (C20:3 3n6) %	0,41
43.6	Eicosatrienoic Acid ME (C20:3 3n3) %	0,50
44.3	C20:4 %	0,37
46.4	C20:5 %	0,26
54.3	C22:6 %	0,22

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, daha önce kültürü çalışılmamış olan *Neochloris aquatica* mikro alginin klasik mikro alg kültür ortamlarında kültürü denenmiştir ve bu işlemin gerçekleştirilebilmesi için B1NV, BBM, BG11 ve çalışmada kullanılmak üzere tarafımızdan dizayn edilen yeni kültür ortamı (OM) kullanılmıştır. Çalışılan örnek BG11 ortamında 0,684 gr/L kuru ağırlığına ulaşmıştır. Kültür gelişiminde en iyi yoğunluk 26. günde gözlenmiştir. Kültür 26. günde durgunluk fazına girmiş ve bundan sonraki günlerde kültür ölüm fazına girerek hücre sayısı azalmaya başlamıştır. Tüm bu veriler değerlendirildiğinde, *Neochloris aquatica*'nın BG11 ortamında, ticari önemi olduğu düşünülen ve biyoteknolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılan mikro alg türleri kadar hücre yoğunluğuna ulaştığı saptanmıştır.

Alglerin biyokimyasal kompozisyonları son derece değişkenlik göstermektedir. Bu durum alg türüne bağlı olduğu gibi aynı zamanda kültür ortamı tarafından da etkilenmektedir (Leonardos ve Lucas, 2000; Martínez-Fernández, Acosta-Salmon, Southgate, 2006). Bu durum büyüme fazı ve çevresel etkenler tarafından da etkilenebilmektedir (Valenzuela-Espinosa vd., 2002). Valenzuela-Espinosa vd. (2002) yapmış oldukları çalışmada çalışmamıza benzer olarak *Cladophore sp.* Türünde yaptıkları farklı kültür ortamlarının ilgili algin vitamin ve mineral konsantrasyonu fosfor içeriklerinde ve ham materyal kompozisyonunda değişimler meydana getirdiğini ortaya koymuşlardır.

Önceki çalışmalarda mikro alglerin besin içeriklerinin ortam şartlarına bağlı olarak değişim gösterdiği belirlenmiştir. Khuantrairong ve Traichaiyaporn (2009) yapmış oldukları çalışmada fosfor içeriğinin *Cladophore sp.* Üretiminde kültür ortamı içerisindeki miktarının artışına paralel olarak artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Benzer olarak Leonardos ve Lucas (2000), fosforun *Chaetoceros muelleri* mikro algi üzerinde protein içeriklerinin fosfor miktarına bağlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda en yoğun hücre kültürü BG11 ile elde edilmiştir. Bu bağlamda en yoğun fosfor içeriğinin bu kültür sıvısı içerisinde olduğu söylenebilir. Elenkov vd., (1996) yine kültür ortamının önemli bir etken olduğunu bildirmişlerdir. Bu bağlamda çalışmamızdan farklı olarak tuzlu su ortamında salinete yoğunluklarının



*Cladophora vagubunda* lipid içeriklerinde değişim meydana getirdiğini ifade etmişlerdir. Benzer olarak Alfimov ve Proshkina-Lavrenko (1961), *C. siwaschensis* yüksek tuz yoğunlukları içerisinde bakıldığında karkas analizinde yüksek oranda kalsiyum ve fosfor ürettiklerini tespit etmişlerdir.

Auer ve Canale (1982) su içerisindeki P oranını artmasına paralel olarak *Cladophora* türünün dokulardaki P içeriğinin de arttığını tespit etmişlerdir. Benzer sonuçlar *C. linum* için de tespit edilmiştir (Menendez vd 2004).

Tüm bu veriler değerlendirildiğinde *Neochloris aquatica* star mikro alginin üretiminde kullanılabilir dört farklı kültür ortamı tespit edilmiştir. Bunların içerisinde en verimli olarak göze çarpan BG11'dir. Bunlara ek olarak ulaşılan hücre sayısı ve kuru madde ağırlıkları bu mikro algin biyoteknolojik çalışmalarda kullanılabilirliğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- AOAC (2000). Official methods of analysis of AOAC International.
- Banerjee, A., Sharma, R., Chisti, Y., Banerjee, U.C. (2002). *Botryococcus braunii*: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Critical Reviews in Biotechnology*, 22(3), 245-79.
- Bates, S.S., Tessier, A., Campbell, P.G.C., Buffle, J. (1982). Zinc adsorption and transport by *Chlamydomonas variabilis* and *Scenedesmus subspicatus* (Chlorophyceae) grown in semicontinuous culture. *Journal of Phycology*, 18, 521–529.
- Bellinger, E.G., Sigeo, D.C. (2010). Freshwater Algae: Identification and use as bioindicators. *John Wiley & Sons, Ltd.*, 271
- Briones-Nagata, M. P., Martinez-Goss, M. R., Hori, K. (2007). A comparison of the morpho-cytology and chemical composition of the two forms of the Cyanobacterium, *Nostoc commune* Vauch., from the Philippines and Japan. *Journal of Applied Phycology*, 19(6), 675-683.
- Craggs, R.J., Adey, W.H., Jenson, K.R., John, M.S.S., Green, F.B., Oswald, W. J. (1996). Phosphorus removal from wastewater using an algal turf scrubber. *Water Science and Technology*, 33(7), 191-198.
- Dayananda, C., Sarada, R., Kumar, V., Ravishankar, G.A. (2004). Isolation and characterization of hydrocarbon producing green alga *Botryococcus braunii* from Indian freshwater bodies. *Electronic Journal of Biotechnology*, 10(1).
- El-Sheekh, M.M., El-Shouny, W.A., Osman, M.F.H., El-Gammal, W.E. (2005). Growth and heavy metals removal affinity of *Nostoc muscorum* and *Anabaena subcylindrica* in sewage and industrial wastewater effluent. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19, 357–365.
- Faisal, M., Hameed, A., Hasnain, S. (2005). Chromium-resistant bacteria and cyanobacteria: impact on Cr (VI) reduction potential and plant growth. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(11-12), 615-621.
- Fábregas, J., Domínguez, A., Regueiro, M., Maseda, A., & Otero, A. (2000). Optimization of culture medium for the continuous cultivation of the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(5), 530-535.
- Fırat, C., Öztürk, M., Taşkın, E., Kurt, K. (2007). *Caulerpa racemosa* J. Agardh'nın (Chlorophyceae) (Forsskål) biyokimyasal içeriği. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 24(1-2 ), 89-91.

- Folch, J., Lees, M., Stanley Sloane, G.H. (1956). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- Göksan, T., Ak, I., Kiliç, C. (2011). Growth characteristic of the alga *Haematococcus pluvialis* Flotow as affected by nitrogen source, vitamin, light and aeration. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11, 377-383.
- Göksan T., Ak İ., Gökpınar Ş. (2010). An alternative approach to the traditional mixotrophic cultures of *Haematococcus pluvialis* flotow (Chlorophyceae). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20, 1276-1282.
- Gökpınar, Ş., Büyükkışık, B. (1994) Cultures of microalgae: 2. Culture methods. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 11(42-43-44), 95-105.
- Göksan, T., Gökpınar, Ş. (2005). *Haematococcus pluvialis* flotow (Chlorophyceae)'un farklı ışık şiddetlerinde vejetatif büyüme özellikleri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 22(1-2), 21-24.
- Graham, L.E., Wilcox, L.W. (2000). Algae. 'Algae', *University of Wisconsin, PrenticeHall Inc.*
- Guiry, M.D. (2012). How many species of algae are there? *Journal of Phycology*, 48(5), 1057-1063.
- Horvatic, J., Persic, V., Pavlic, Z., Stjepanovic, B., Has-Schon, E. (2007). Toxicity of metals on the growth of *Raphidocelis subcapitata* and *Chlorella kessleri* using microplate bioassays. *Fresenius Environmental Bulletin*, 16(7), 826.
- Kramer, D.M., Avenson, T.J., Kanazawa, A., Cruz, J.A., Ivanov, B., Edwards, G. E. (2004). The relationship between photosynthetic electron transfer and its regulation. *chlorophyll a fluorescence*, 251-278.
- Leliaert, F., Smith, D.R., Moreau, H., Herron, M.D., Verbruggen, H., Delwiche, C.F., Clerck, O. (2012). Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31, 1-46.
- Leonardos, N., Lucas, I.A.N. (2000). The nutritional value of algae grown under different culture conditions for *Mytilus edulis* L. larvae. *Aquaculture*, 182, 301-315.
- Martínez-Fernández, E., Acosta-Salmón, H., & Southgate, P. C. (2006). The nutritional value of seven species of tropical microalgae for black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*, L.) larvae. *Aquaculture*, 257(1), 491-503.
- Mobin, S., Alam, F. (2017). Some promising microalgal species for commercial applications: A review. 1st International Conference on Energy and Power, ICEP2016, 14-16 December 2016, RMIT University, Melbourne, Australia. *Energy Procedia* 110 ( 2017 ) 510 – 517

- Mosleh, M.A.A., Manssor, H., Malek, S., Milow, P., Salleh, A. (2012). A preliminary study on automated freshwater algae recognition and classification system. Eleventh International Conference on Bioinformatics (InCoB2012): Bioinformatics. BMC Bioinformatics 2012 13(Suppl 17):S25
- Nakipoğlu, T., Sevindir, H. C. (2006). Deri endüstrisi atık sularından kromun çeşitli algilerle biyosorpsiyonu. *SDÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 10(2), 284-29.
- Ohki, K., Fujita, Y. (1982). Laboratory culture of the pelagic bluegreen alga *Trichodesmium thiebautii*: conditions for unialgal culture. *Marine Ecology*, 7, 185–190.
- Pena-Castro, J. M., Martinez-Jerónimo, F., Esparza-García, F., Canizares-Villanueva, R. O. (2004). Heavy metals removal by the microalga *Scenedesmus incrassatulus* in continuous cultures. *Bioresource Technology*, 94(2), 219-222.
- Pratoomyot, J., Srivilas, P., Noiraksar, T. (2005). Fatty acids composition of 10 microalgal species. *Songklanakarın Journal of Science and Technology*, 27(6), 1179-1187.
- Rausch de Traubenberg, C., Ah-Peng, C. (2004). A Procedure to purify and culture a clonal strain of the aquatic moss fontinalis antipyretica for use as a bioindicator of heavy metals. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46(3), 289–295.
- Rocha, J. M., Garcia, J. E., Henriques, M. H. (2003). Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. *Biomolecular Engineering*, 20(4), 237-242.
- Sánchez, S., Martínez, M., & Espinola, F. (2000). Biomass production and biochemical variability of the marine microalga *Isochrysis galbana* in relation to culture medium. *Biochemical Engineering Journal*, 6(1), 13-18.
- Sirenko, L., Pulz, O. (2000) Influence of algae on physiological and biochemical process in plants, Abstracts of the 4th European workshop on biotechnology of microalgae, Bergholz-Rehbrücke, Germany.
- Susan, T.L, Harrison, M.L., Griffiths, N.L., Caryn, V., Hille, R.P.V. (2004). Microalgal culture as a feedstock for bioenergy, chemicals, and nutrition. *Knovel*, 577-589.
- Wen X, Peng C, Zhou H, Lin Z, Lin G, Chen, S. Li, P. (2006). Nutritional composition and assessment of *Gracilaria lemaneiformis* Bory. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48(9), 1047-1053.
- Wiltshire, K.H., Boersma, M., Möller, A., Buhtz, H. (2000). Extraction of pigments and fatty acids from the green alga *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae). *Aquatic Ecology*, 34(2), 119-126.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Fatima S. R. ELBARASİ  
Doğum Yeri ve Yılı : 24.05.1986 Benghazi, LİBYA  
Medeni Hali : Evli  
Yabancı Dili : Arapça, İngilizce  
E-posta : [fatamelbarasi@gmail.com](mailto:fatamelbarasi@gmail.com)



### Eğitim Durumu

Lise : High School Science, Libya, 2007  
Lisans : Medical Laboratories, 2010