



## ***Desmodesmus communis* (E.Hegewald) E.Hegewald Mikroalgının Kültürü ve Biyokimyasal Özellikleri**

**Rıza Akgül\***

*Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Tefenni Meslek Yüksek Okulu, Hayvansal ve Bitkisel Üretim Bölümü, Posta Kodu Burdur, Türkiye*

### MAKALE BİLGİSİ

#### **Araştırma Makalesi**

Geliş 31 Mart 2017  
Kabul 06 Nisan 2017

#### **Anahtar Kelimeler:**

*Desmodesmus communis*

Mikroalg

Kültür

Besin

Protein

\*Sorumlu Yazar:

E-mail: rizaakgul@mehmetakif.edu.tr

### ÖZET

Bu çalışmada; Trakya Bölgesi iç sularından (Bahçedere Çayı, Tekirdağ, Türkiye) izole edilen, moleküler taksonomi yöntemleri ile tanımlaması yapılan KF470792 Kabul No'lu *Desmodesmus communis* (E. Hegewald) E. Hegewald (Sphaeropleales) mikroalg türü için kültür ortamı ve büyüme şartları belirlenmiştir. Bu mikroalg türü, belirlenen şartlar altında (besin, pH, sıcaklık, ışık yoğunluğu ve havalandırma) kültüre edilmiş ve durgunluk fazına ulaşan kültürden besinsel ve biyokimyasal analizler için yeterli miktardaki biyokütle hasat edilerek; toplam protein, toplam yağ miktarları ile yağ asitleri ve aminoasitleri, E vitaminleri çeşit ve miktarları belirlenmiştir. Türün BG11 besin ortamında (7,5 pH, 24±2°C, 500 ml/dak. havalandırma) 9,76x10<sup>5</sup> koloni/ml hücre yoğunluğuna, 0,762 g/l kuru biyokütle ağırlığına, 13,3 mg/l toplam klorofil a miktarına ulaştığı belirlenmiştir. Biyokütle üzerine yapılan biyokimyasal analizler sonucunda; ağırlıkça %42,59 toplam protein, %5,23 toplam yağ ve 3694,24 µg/yağ vitamin E miktarına sahip olduğu saptanmıştır. Yağ asitleri içinde en yüksek oranını %35,18 ile linolenik asit olduğu saptanmıştır. Aminoasitler içinde en yüksek miktarda bulunan glutamik asit, 46,9 mg/g olarak belirlenmiştir.

Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 5(4): 404-408, 2017

## **Culture of *Desmodesmus communis* (E.Hegewald) E.Hegewald and Its Determination of the Biochemical Properties**

### ARTICLE INFO

#### **Research Article**

Received 31 March 2017  
Accepted 06 April 2017

#### **Keywords:**

*Desmodesmus communis*

Microalgae

Culture

Nutrient

Protein

\*Corresponding Author:

E-mail: rizaakgul@mehmetakif.edu.tr

### ABSTRACT

In this study, culture medium and growth conditions were detected for *Desmodesmus communis* (E. Hegewald) E. Hegewald (Sphaeropleales) with KF470792 Accession Number that isolated from Thrace inland water (Bahçedere Stream, Tekirdağ, Turkey) and determined by molecular taxonomy techniques. The microalgae was cultured under detected conditions (nutrients, pH, temperature, light density and aeration) and when the culture was reached to stationary phase microalgae biomass was harvested for biochemical analysis. Total protein, total lipid, fatty acid and amino acid compositions, vitamin E amounts and variety were detected. Cell density was 9.76x10<sup>5</sup> colony/ml; dry biomass was 0.762 g/l; chlorophyll-a was 13.3 mg/l in BG11 culture medium (7.5 pH, 24±2°C, 500 ml/min. aeration). According to biochemical analysis; total protein amount was 42.59% (dw/w); total lipid amount was 5.23% (dw/w) and vitamin E amount was 3694.24 µg/g lipid. The most abundant fatty acid was linolenic acid (35.18%); amino acid was glutamic acid (46.9 mg/g).

## Giriş

Mikroalgal biyoteknoloji bilim dalının temelini oluşturan izolasyon ve kültür çalışmaları 1800'li yıllara dayanmaktadır (Johnston, 1976). Geçmişte eski tarihe dayanan bu çalışmalar kültürü yapılmak istenilen türün doğada az bulunması, tür izolasyonunun zor bir işlem olması, besin miktarlarının organizmanın ihtiyaçlarına göre ayarlanamaması, yine kültürü yapılmak istenen türün yaşam koşullarının çalışmalarda sınırlayıcı olması gibi zorluklar nedeniyle, mikroalgal biyoteknoloji alanında kullanılan tür sayısı düşük kalmıştır (Pringsheim, 1946). Mikroalgal biyoteknoloji çalışmaları 1950'li yıllardan beri özellikle *Chlorella*, *Scenedesmus* ve *Dunaliella* cinslerine ait türler ile yapılmaktadır. (Ben-Amotz ve Avron, 1983).

Dünya'da zengin bir mikroalg florası varken; üretimi yapılabilen ticari mikroalg tür sayısının sınırlı olması, günümüzde mikroalgal biyoteknolojinin gelişmesini engelleyen en önemli etkenlerden biridir. Ticari öneme sahip yeni mikroalglerin tespiti ve biyoteknolojik uygulamalarda kullanımına yönelik çalışmalar, bu alanın gelişmesine katkı sağlayacaktır. Mikroalglerin morfolojileri, taksonomisi, üremeleri ve en önemlisi ekonomik değerleri ile ilgili daha fazla bilgi elde edilecek ve bu bilgiler yorumlanarak teknolojiye aktarılacaktır. Böylece alglerin yeni kullanım alanları ortaya çıkabilecek veya var olanlar geliştirilebilecektir (Pringsheim, 1946). Bu çalışma ile mikroalgal biyoteknoloji alanında kullanılabilir, yeni mikroalg türlerinin ortaya çıkarılmasına yönelik yapılan çalışmalara hız verilmek istenmiştir. Bu amaçla, *Desmodesmus communis* (E. Hegewald) E. Hegewald mikro yeşil alg türünün iyi geliştiği kültür ortamı ve şartlarının belirlenmesi, bu şartlar altında yoğun kültürü yapılarak biyokütlenin elde edilmesi ve bu biyokütlenin toplam protein, toplam yağ, yağ asitleri, amino asitleri, vitaminE gibi biyokimyasal içeriğinin belirlenmesine çalışılmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### Mikroalgin morfolojik özellikleri

*D. communis* morfolojik olarak *Scenedesmus quadricauda* olarak tanımlanmıştır. Fakat daha sonraki moleküler taksonomik yöntemler ile kesin olarak *D. communis* olduğu ortaya çıkarılmış ve literatürde *S. quadricauda*, *D. communis* mikroalginin sinonimi olarak kabul edilmektedir. Prescott (1973)'e göre, *D. communis* (Sin. *S. quadricauda*) türü bir sırada bulunan 2-4-8 sayıda, oblong-silindirik hücrelerden oluşmuş, dıştaki hücrelerin iki ucunda da uzun ve kıvrılmış bir spin ve içteki hücrelerin spinsiz olmasıyla ayırt edilmektedir.

### Kültür Çalışmaları

Mikroalgin büyüme şartlarının ve uygun kültür ortamının belirlenmesi için farklı pH değerlerine sahip Blue Green Medium (BG11) (Rippka ve ark., 1979), Bold's Basal Medium (BBM) (Stein, 1973), Modifield Bold's Basal Medium (BINV) (Starr ve Zeikus, 1993) olarak üç ortam belirlenip steril şartlarda hazırlanmıştır.

Steril olan kültür ortamlarının her birinden 5 l hacimlerde erlenmeyerlere aktarıldı ve stok kültürden eşit hücre sayısında aşılama yapıldı. 5 litrelik aşılama sıvı kültürler, iklimlendirme dolabında 24±2°C'de sıcaklıkta, 200 µmol foton m<sup>-2</sup> sn<sup>-1</sup> ışık şiddetinde ve 12/12

(aydınlık/karanlık) fotoperiyodunda aydınlanma koşullarında kültürleri yapıldı. Karışım ve havalandırma işlemi, 500ml/dak. havalandırma kapasitesine sahip akvaryum pompaları ile yapıldı.

Kültürlerin gelişmelerini takip etmek için, hücre yoğunlukları, birinci günden itibaren takip edilerek, kültürün ölüm fazına girinceye kadarki süre içinde her iki günde bir, Thoma sayma kamarası ile tespit edildi. Aynı zamanda kuru biyokütle ve Strichland ve Parsons (1972)'e göre, klorofil *a* miktarları belirlenerek kültürlerin gelişmeleri takip edildi.

### Biyokütle Eldesi

Kültürün durgun faza geldiği 28. gün sonunda, kültür çalışmaları sona erdirildi. Sonraki biyokimyasal çalışmalarda kullanılacak biyokütleyi elde etmek için, en yüksek hücre yoğunluğu ve en yüksek kuru ağırlık oranına sahip kültür ortamından (BG11) hücreler hasat edildi. Hasat edilen biyokütle 50°C'deki vakumlu etüvde 3 saat kadar bekletilerek kurutuldu ve biyokimyasal analizlerde kullanmak üzere -20°C'de depolandı.

### Biyokimyasal Analizler

**Toplam protein miktarının belirlenmesi:** Toplam ham protein, Kjeldahl metoduna göre; yağ yakma, distilasyon, titrasyon şeklinde üç aşamada ve üç tekrarlı olarak yapıldı (AOAC 981.10; Ortiz ve ark., 2006; Yaich ve ark., 2011).

**Toplam yağ miktarının belirlenmesi:** Kurutulmuş materyale ait örnekten 1 g tartıldıktan sonra darası alınmış 250 ml'lik balon jöjeye aktarıldı ve üzerine 2:1 oranında hazırlanmış metanol:kloroform karışımından 20 ml eklendi ve sonraki aşamalar Bligh ve Dyer (1959) göre yapıldı.

**Yağ asitleri ve miktarlarının belirlenmesi:** Elde edilen mikroalg örneğine ait yağlar türevlendirilerek GC-MS'de analiz edilmiştir. Türevlendirme, 1,5 M metanolik HCl kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yağ asitleri analizi için, HP-88 (100\*0.250\*0.20 µm) kolonu kullanılmıştır. Tüm örneklerin yağ asidi kompozisyonu GC-MS sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Kolon başlangıç sıcaklığı 60°C olarak ayarlanmış, 1 dakika sonra dakikada 13°C'lik artışla 175°C'ye oradan da 4°C'lik artışlarla 215°C'ye çıkarılmıştır ve bu sıcaklıkta 35 dakika beklenmiştir. Enjektör ve dedektör sıcaklığı 250°C olarak ayarlanmıştır (Bardakçı ve Seçilmiş, 2006).

**Amino asitleri ve miktarının belirlenmesi:** Mobil faz A→10 mmol/l fosfat tampon solüsyonu ve diğer mobil faz B→Asetonitril olan örneklerde amino asit analizlerini yapmak için 1 ml/dak. akış oranında, kolon fırını sıcaklığının 40°C, Dedektör dalga boyunun 254 nm, enjeksiyon seviyesinin 20-30 µl, Teknokroma mediterranea sea 18 (150 mm X 4.6 mm i.d, 3µm) kolona sahip HPLC cihazı ile kullanılmıştır (Köse ve ark., 2011).

**E vitamini miktarının belirlenmesi:** Heptane:THF (95:5, v/v) fazındaki örneklerden, E vitamini analizi için RF detektör, CTO-10ASVp kolon fırını, iki kanallı gradient pompa (LC20AT), SIL 20ACHT autosampler, LC Solution bilgisayar programı ve Luna Silica (250\*4,6 mm, 5 µm) kolonlu, CBM: 20A CBM (communication bus module)'ya sahip HPLC cihazı kullanılmıştır (Lampi ve ark., 1999).

## Bulgular ve Tartışma

Kültür ortamlarındaki hücre yoğunlukları incelendiğinde, en yüksek BG11 kültür ortamında,  $9,76 \times 10^5$  koloni/ml hücre yoğunluğuna ulaştığı belirlenmiştir (Şekil 1). Bu sıvı kültür içindeki besleyici inorganik maddeler ve pH değeri *D. communis* türü mikroalg için diğer sıvı kültür ortamlarına göre daha uygun olduğu görülmüştür. Kültür gelişiminde en iyi yoğunluk 23. günde gözlenmiş, sonra durgunluk fazına girmiş ve bundan sonraki günlerde kültür ölüm fazına girerek hücre sayısı azalmaya başlamıştır.

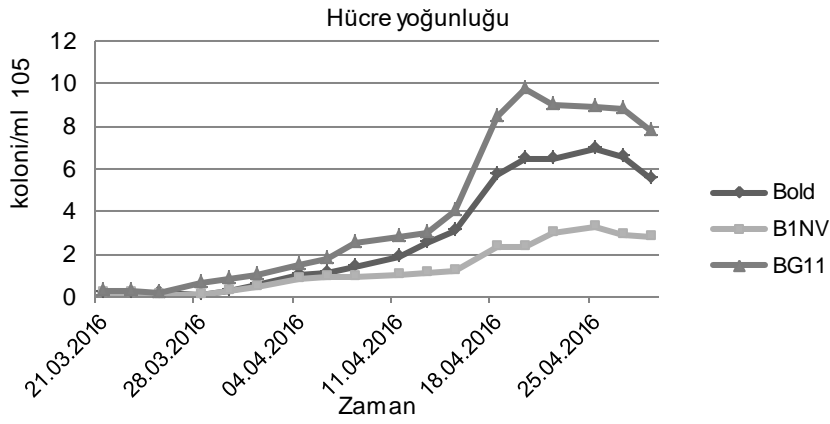
Rios ve ark. (2015), kültür ortamının *Desmodesmus* sp. mikroalginin büyümesi ve lipit depolaması üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında; BG11 ve Guillard f/2 medium ortamlarını kullanmışlar ve BG11 ortamında bu mikroalgin daha fazla hücresel yoğunluğa ulaştığını ve

daha yüksek lipit biriktirme kapasitesi gösterdiğini belirtmişlerdir.

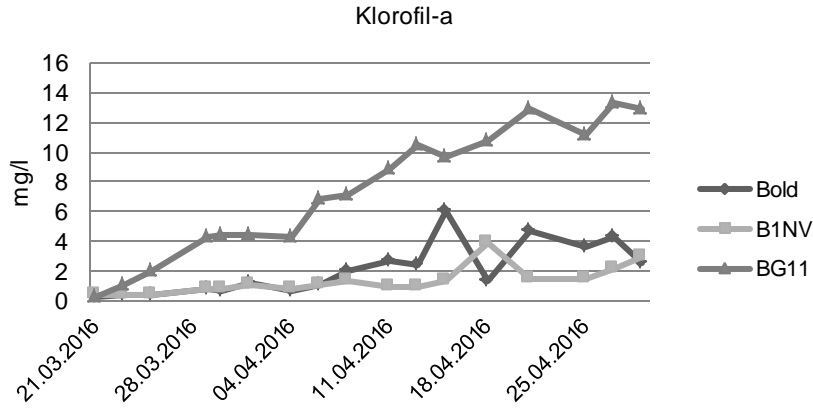
Kültür ortamlarındaki hücrelerin gelişimi hakkında en net bilgileri veren klorofil *a* miktarları (Şekil 2) ve kuru biyokütle ağırlıkları (Şekil 3) hesaplanmıştır. En yüksek klorofil *a* değerine 31. günde ve BG11 ortamında, 13,3 mg/l olarak belirlenmiştir. En yüksek kuru biyokütle miktarına 35. günde ve BG11 ortamında 0,76 g/l olarak saptanmıştır.

Biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere yeterli miktarda biyokütlenin elde edilmesi için, mikroalg hücreleri, en iyi gelişme gösterdiği BG11 sıvı kültür ortamında ve kültür şartları altında yoğun olarak kültürü yapıldı.

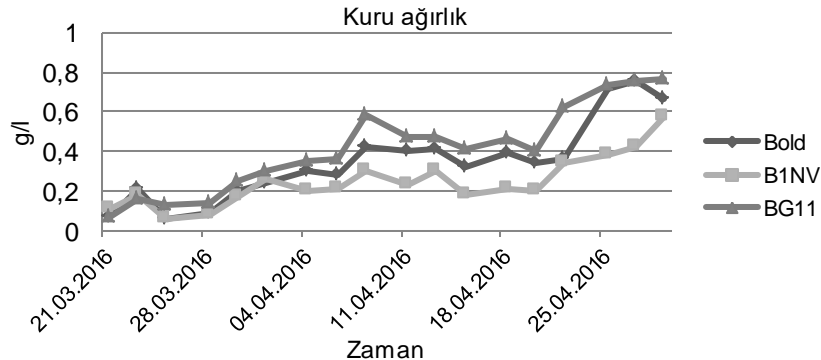
%42,59 toplam protein, %5,23 toplam yağ miktarı ve toplam E vitamini 3694,24 µg/yağ olarak tespit edilmiştir (Tablo 1).



Şekil 1 *D. communis* mikroalginin farklı kültür ortamlarındaki hücre yoğunluk grafiği



Şekil 2 *D. communis* mikroalginin farklı kültür ortamlarındaki klorofil a grafiği



Şekil 3 *D. communis* mikroalginin farklı kültür ortamlarındaki kuru ağırlık grafiği

Tablo 1 *D. communis* mikroalginin toplam protein, toplam yağ ve toplam tokoferol miktarları

Maddeler	Miktarlar
%Azot Miktarı/% Protein (%Azotx6,25) (% g)	7,88/42,59
Toplam Yağ (% g)	5,23
Toplam E vitamini ( $\mu\text{g}/\text{gyağ}$ )	3694,24

Tablo 2 *D. communis* mikroalginin amino asitleri ve miktarları

Amino asit	Miktarı (mg/g protein)
Arginine (11,7)	18,44
Serine (12,7)	5,62
Glycine (13,2)	25,46
Alanine (13,9)	1,53
Pyroline (14,4)	1,28
Valine (16,4)	1,27
Throline (17,2)	3,47
Methionine (17,4)	5,54
İsoleucine (17,8)	3,24
Leucine (18,8)	0,89
Phenyl alanine (19,4)	2,30
Tyrosine (20,6)	28,79
Aspartic (26,4)	21,66
Glutamic acid (26,8)	46,94
Histidine (27,2)	2,00
Lycine (27,9)	0,44

Tablo 3 *D. communis* mikroalginin yağ asitleri ve miktarları

R <sub>t</sub>	Yağ asidi	M
8.0	Caproic acid ME C6:0 %	0,01
10	Caprylic acid ME C8:0 %	0,02
11.7	Capric acid ME C10:0 %	0,05
13.9	Lauric acid ME C12:0 %	0,14
16.5	Myristic acid ME C14:0 %	2,14
18.3	İsothiocyanic acid ethyl ester %	0,02
18.5	Dodecanoic acid , 4-methyl ME %	-
18.6	10-undecenoic acid ME %	-
19.2	Tetradecanoic acid 12 methyl ME	0,18
19.5	Pentadecanoic acid ME C15:0 %	0,20
21.3	cis-10 pentadecanoic acid C15:1 %	0,19
22.5	Pentadecanoic acid, 14-methyl ME/C15:0 iso %	0,02
23.2	2-thio-2-methyl propionic acid ME %	-
24.9	Palmitic acid ME C16:0 %	18,75
25.7	7-hexenoic acid ME C16:1 C7 %	0,14
26.0	9-hexenoic acid ME C16:1 C9 %	2,09
27.1	Heptadecanoic acid ME C17:0 %	0,91
27.8	Hexanoic acid 14-methyl ME %	2,19
29.2	C17:0 iso %	0,24
30	7-Heptadecanoic acid ME/Cyclopropaneoctanoic acid 2-hexyl ME	0,15
30.3	7,10,13 hexadecatrienoic acid ME	1,62
33	Steric acid ME %	1,04
33.7	Oleic acid C18:1 n9c %	12,13
33.8	C18:1 t10, t11e 12 %	4,36
35.1	Linoleic acid ME C18:2 c9 c12 %	11,97
35.8	c18:2 t11 c15 %	0,04
37	Eicosanoic acid Me C20:0 %	0,00
37.2	Linolenic acid ME C18:3 (c9,c12,c15) %	35,18
40.3	Eicosadienoic acid ME C20:2 %	0,10
42.9	Eicosatrienoic acid ME (C20:3 3n6) %	0,26
43.6	Eicosatrienoic acid ME (C20:3 3n3) %	0,22
44.3	C20:4 %	0,47
46.4	C20:5 %	0,16
54.3	C22:6 %	0,22

M: Miktar (% gr yağ)

Aminoasitleri içinde en yüksek miktarda bulunan glutamik asit, 46,9 mg/g olarak belirlenmiştir. Daha sonra 28,79 mg/g tyrosine, 25,46 mg/g glycine gelmektedir (Tablo 2). Samek ve ark. (2013)'ün, kültürasyon metotlarının yeşil yaş su algleri ve siyanobakter amino asitleri kompozisyonu üzerine etkisi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında; *S. quadricauda* mikroalginde temel aminoasitlerden LYS amino asidinin 6,07±0,16; temel olmayan aminoasitlerden GLU aminoasidinin 9,85±0,52 değeri ile en yüksek miktarlarda bulunduğunu tespit ederek, aynı algde ham protein miktarını ise 52,49±1,93 (% kuru ağırlık) olarak bulmuşlardır.

Yağ asitleri içinde en yüksek %35,18 oranında linolenik asit, daha sonra %18,75 oranında palmitik asit ve %12,13 oranında oleik asit olduğu saptanmıştır (Tablo 3).

Taipale ve ark. (2013), mikroalglerde yağ asidi kompozisyonu ile ilgili yaptıkları çalışmalarında Chlorophyceae ve Trebouxiophyceae familyalarında en yaygın tespit edilen yağ asitlerini oleik asit (18:1ω9), alfa linolenik asit (ALA) ve palmitik asit (16:0) olarak bulmuşlardır. *Scenedesmus* cinsinde ise en bol bulunan yağ asidinin ALA olduğunu belirtmişlerdir.

El Semary (2011), *Desmodesmus* spp. izolatlarının yağ asidi kompozisyonunda en çok doymuş yağ asitleri, ardından tekli doymamış yağ asitlerinin baskın olduğunu ve en çok bulunan yağ asidinin palmitik asit (%54); onu takip eden palmitoleik asit (%23) olduğunu belirtmiştir.

Massimi ve Kirkwood (2016); şehir atık sularından izole ettikleri siyanobakteri ırkları ve Chlorophyta üyesi mikroalglerin biyodizel üretiminde kullanılabilirliklerini araştırmayı hedefledikleri çalışmalarında yağ asidi profillerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda *Desmodesmus* sp. ve *Scenedesmus* sp. mikroalglerinin toplam FAME lipit profilinin %80'inden fazlasının oleik asit olduğunu belirtmişlerdir. Çalışılan çoğu ırkta baskın doymuş yağ asidinin C16:0 palmitik asit; baskın doymamış yağ asidinin ise C18:1 oleik asit olduğunu ve bu yağ asitlerinin toplam yağ asidi profilinin ortalama %50'sini oluşturduklarını belirtmişlerdir.

Yağ asitleri profili ve miktarları yönünden, bu cins üyeleri üzerine yapılan araştırma sonuçlarına benzerlik göstermektedir.

E vitamini içindeki türevleri ve miktarları Tablo 4'te gösterilmiştir. En fazla alfa tokoferol olarak tespit edilmiştir. Toplam tokoferol miktarının yüksek bir miktarda olduğu belirlenmiştir. Safafar ve ark. (2015), endüstriyel atık sulardan izole ettikleri mikroalgler ile yaptıkları çalışmalarında; toplam tokoferol miktarının en fazla *Desmodesmus* ırkında (361,9±23,1  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) olduğunu bulmuşlardır. Yine aynı canlıda chlorophyll a miktarını ise 2993±14  $\mu\text{g}/\text{g}$  olarak tespit etmişlerdir. Atık sulardan izole edilen *Desmodesmus* sp. mikroalginin en fazla miktarda pigment, fenolik bileşikler, tokoferoller ürettiğini ve en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır.

Giulia Samori (2012), evsel atık sularda kültüre alınan *Desmodesmus communis* mikroalginde lipit biyosentezinin uyarılması üzerine yaptığı doktora tez çalışmasında; protein miktarını 15,8±1,7 (% w/w); lipit miktarını ise 11,7±0,5 (% w/w) olarak tespit etmiştir. En çok bulunan doymuş yağ asitlerini palmitik asit (16:0), onun ardından stearik asit (18:0) olarak belirtmiştir. En

fazla bulunan doymamış yağ asitleri ise oleik ve linoleik asit olarak ölçmüş ve birlikte toplam yağ asidi kompozisyonu içinde %54,3'lük bir orana sahip olduklarını belirtmiştir.

Bu alanda yakın akraba olan Chlorophyta mikroalg üyeleri ile yapılan araştırmalarda elde edilen veriler, bu çalışmada kullanılan Chlorophyta üyesi *D. communis* türünden elde ettiğimiz verilere; toplam protein, toplam yağ, yağ asitleri ve amino asit çeşit ve miktarları ve E vitamini yönleriyle benzerlik göstermektedir. Bu mikroalglerin her biri biyokimyasal içerik bakımından ve mikroalgal biyoteknolojide kullanılabilecek potansiyele sahip olduğu ve kültür şartlarının da belirlenmesi ile kolaylıkla kültürü yapılabilecek amaçlar için değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Tablo 4 *D. communis* mikroalginin tokoferol çeşitleri ve miktarları

Tokoferol Çeşitleri	Tokoferol Miktarları
Alpha (µg/g yağ)	3600,39
Beta (µg/g yağ)	-
Gamma (µg/g yağ)	63,36
Delta (µg/g yağ)	30,49
Toplam (µg/g yağ)	3694,24

#### Kaynaklar

- AOAC. 2000 Official Methods of Analysis. 17th Edition vol.II. Assoc. Off. Anal.Chem, Wash. D. C.,USA.
- Bardakçı B, Seçilmiş H. 2006. Isparta bölgesindeki gül yağının kimyasal içeriğinin GC-MS ve FTIR spektroskopisi tekniği ile incelenmesi. SDÜ fen edebiyat fakültesi fen dergisi (EDergi), 1: 64.
- Ben-Amotz A, Avron M. 1983. Accumulation of metabolites by halotolerant algae and its industrial potential. Ann. Rev. Microbiol, 37:95-119.
- Bligh EG, Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian journal of biochemistry and physiology, 37(8):911-917.
- El Semary NA., 2011. The polyphasic description of a desmodesmus spp. isolate with the potential of bioactive compounds production. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 15(2): 231-238.
- Johnston HW. 1976. The biological and economic importance of algae, part 4: The industrial culturing of Algae. Tuatara, 22(2):1-108.
- Köse S, Kaklıkkaya N, Koral S, Tufan B, Buruk KC, Aydın F. 2011. Commercial test kits and the determination of histamine in traditional (ethnic) fish products - evaluation against an EU accepted HPLC method. Food Chemistry, 125: 1490-1497.

- Lampi AM, Kataja L, Kamal-Eldin A, Piironen V. 1999. Antioxidant activities of A- and C-tocopherols in the oxidation of rapeseed oil triacylglycerols. J Am Oil Chem Soc, 76:749-755.
- Massimi R, Kirkwood AE. 2016. Screening microalgae isolated from urban storm- and wastewater systems as feedstock for biofuel. PeerJ 4:e2396.
- Ortiz J, Romero N, Robert P, Araya J, Lopez-Hernandez J Bozz C. 2006. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. Food Chemistry, 99: 98-104.
- Prescott GW. 1973. Algae of the western great lakes area. W.M.C. Brown Company Publishers, 977 pp.
- Pringsheim EG. 1946. Pure cultures of algae. Cambridge Press. London, 119 p.
- Rios L, Klein BC, Luz J L, Wolf Maciel MR, Maciel Filho R. 2015. Influence of culture medium on *Desmodesmus* sp. growth and lipid accumulation for biodiesel production. Chemical Engineering Transactions, 43: 601-606.
- Rippka R, Deruelles J, Waterbury JB, Herdman M, Stanier RY. 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. J Gen Microbiol, 111: 1-61
- Safar H, Wagenen J, Moller P, Jacobsen C. 2015. Carotenoids, phenolic compounds and tocopherols contribute to the antioxidative properties of some microalgae species grown on industrial wastewater. Mar. Drugs 13: 7339-7356.
- Samek D, Misurcova L, Machu L., Bunka F, Fiser M. 2013. Influencing of amino acid composition of green freshwater algae and cyanobacterium by methods of cultivation. Turkish Journal of Biochemistry, 38 (4):360-368.
- Samori G. 2012. Algal wastewater treatment and biomass production potential: Nutrient removal efficiency and cell physiological responses. allma matter studiiorum uniuersità dii bollogna, facoltà di scienze matematiche fisiche e naturali, dottorato di ricerca in, scienze ambientali: tutela e gestione delle risorse naturali, Ciclo XXIV, 05/A1-Botanica, BIO/01 - Botanica Generale.
- Starr RC, Zeikus JA. 1993. UTEX the culture collection of algae at the university of texas at austin. J. Phycol, 29: 1-106.
- Stein JR. 1973. Handbook of phycolgical methods: culture: methods and growth measurements. Cambridge Univ. Press, London. 7-24.
- Strickland JDH, Parsons T R A. 1972. Practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada Bull., 167, Ottawa, 310 p,
- Taipale S, Strandberg U, Peltomaa E, Galloway AWE, Ojala A, Brett MT. 2013. Fatty acid composition as biomarkers of freshwater microalgae: analysis of 37 strains of microalgae in 22 genera and in seven classes. Aquatic Microbial Ecology, 71: 165-178.
- Yaich H, Garna H, Besbes S, Paquot M, Blecker C, Attia H. 2011. Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia. Food Chemistry, 128: 895-901.