



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT EKSTRAKSİYONU İLE
EKSTRAKTE EDİLEN KÖKSÜZ SU MERCİMEĞİNİN
(*Wolffia arrhiza*) FİTOKİMYASALLARININ VE BİYOAKTİF
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

FARUK TOLGA ŞENGÜLENDİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

ORDU 2024

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Faruk Tolga ŞENGÜLLENDİ

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün B-2310 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT EKSTRAKSİYONU İLE EKSTRAKTE EDİLEN KÖKSÜZ SU MERCİMEĞİNİN (*Wolffia arrhiza*) FİTOKİMYASALLARININ VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

FARUK TOLGA ŞENGÜLLENDİ

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 121 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. BEYHAN TAŞ)

Lemnaceae familyası üyelerinden, suda serbest yüzen su bitkisi *Wolffia* (köksüz su mercimeği) dünyanın en küçük çiçekli bitkisidir. Güneydoğu Asya'nın bazı bölgelerinde gıda olarak tüketilen *Wolffia*, yüksek protein içeriğinden dolayı “su yumurtaları” olarak adlandırılır. Türkiye’de bu tür henüz tanınmamaktadır. Bu çalışmada, Yeşilırmak Deltası’ndaki (Samsun) sulak alanlardan toplanan *Wolffia arrhiza* kontrollü laboratuvar koşullarında farklı LED ışıklar (beyaz, kırmızı, mavi, mor) altında yetiştirilmiştir. Bitkinin nispi büyüme oranı, kuru madde ve kül analizi, element içeriği ve fotosentetik pigmentleri (klorofil ve karotenoid içeriği) analiz edilmiştir. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile elde edilen özütlerin in vitro antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile fitokimyasal içeriği analiz edilmiştir.

Farklı dalga boyu uygulamalarında, kırmızı LED ışık *W. arrhiza*’nın fotosentetik pigment içeriği, fenolik madde ve flavonoid miktarı ile antioksidan aktiviteyi artırmıştır. Beyaz LED ışık kuru madde miktarını (%20.69) ve büyüme oranı (0.732 gün⁻¹) artırmıştır. En yüksek protein içeriği (%55.3) mor LED ışık altında yetiştirilen *W. arrhiza*’da tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite analizinde, orta derecede *Bacillus cereus* üzerinde gözlenmiştir. *W. arrhiza*’nın SK-CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen özütlerinin hekzan ile hazırlanan solüsyonunda yapılan GC-MS analizi sonucunda, 43 farklı biyoaktif fitobileşen tanımlanmıştır. Farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*’nın beyaz, kırmızı, mor ve mavi LED’de sırasıyla 22, 37, 35 ve 43 adet fitokomponent tespit edilmiştir. *W. arrhiza*’nın kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol gibi diyetle en fazla bulunması gereken çok değerli fitosteroller içerdiği belirlenmiştir. Beyaz LED ışıkta %44, kırmızı LED ışıkta %37, mor LED ışıkta %39, mavi LED ışıkta %22 fitosterol kaydedilmiştir.

Bu çalışma köksüz su mercimeği *W. arrhiza*’nın SKE metoduyla elde edilen özütünün değerlendirmeye alındığı ilk araştırma olma niteliğindedir. Yapılan çalışma ile, farklı LED aydınlatmanın bitkide istenen miktarda ve çok çeşitli biyoaktif madde sentezleme yeteneklerinin artırılabilirliği görülmüştür. Ayrıca kullanılan SK-CO₂ ekstraksiyonu yöntemi ile çözücü kullanmaksızın daha fazla ve çeşitli sekonder metabolite erişimin sağlanması, alternatif gıda üretimi ve ilaç etken madde üretimi sahalarında umut verici gelişmelere yol açacak olduğu net bir şekilde ortaya

konmuştur. Köksüz su mercimeğinin üretiminin kolay, çevre dostu ve sürdürülebilir olması nedeniyle fonksiyonel gıda olarak kullanımı önemli bir potansiyel olarak görülmektedir. Süper gıda niteliğindeki köksüz su mercimeğinin nutrasötik özelliklerinin yanı sıra farmasötik özellikleri de umut vericidir ve değerlendirilmesi gerekir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan Aktivite, Fonksiyonel Gıda, GC-MS, Nutrasötik, Su Mercimeği, Süperkritik CO₂ Ekstraksiyonu, *Wolffia*.



ABSTRACT

INVESTIGATION OF PHYTOCHEMICALS AND BIOACTIVE PROPERTIES OF ROOTLESS DUCKWEED (*Wolffia arrhiza*) EXTRACTED BY SUPERCRITICAL CARBONDIOXIDE EXTRACTION

FARUK TOLGA ŞENGÜLLENDİ

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

MASTER THESIS, 121 PAGES

(SUPERVISOR: PROF. DR. BEYHAN TAŞ)

Wolffia (rootless duckweed), a free-floating aquatic plant from the Lemnaceae family, is the world's smallest flowering plant. *Wolffia*, consumed as food in some parts of Southeast Asia, are called "water eggs" due to their high protein content. This species is not yet recognized in Turkey. In this study, *Wolffia arrhiza* collected from wetlands in Yeşilırmak Delta (Samsun) was grown under different LED lights (white, red, blue, purple) under controlled laboratory conditions. The relative growth rate, dry matter and ash analysis, elemental content and photosynthetic pigments (chlorophyll and carotenoid content) of the plant were analyzed. In vitro antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained by supercritical carbon dioxide extraction were examined, and their phytochemical content was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

In different wavelength applications, red LED light increased the photosynthetic pigment content, phenolic substance and flavonoid amount and antioxidant activity of *W. arrhiza*. White LED light increased the amount of dry matter (20.69%) and growth rate (0.732 day^{-1}). The highest protein content (55.3%) was detected in *W. arrhiza* grown under purple LED light. In the antimicrobial activity analysis, moderate levels were observed on *Bacillus cereus*. As a result of GC-MS analysis performed on the hexane solution of extracts obtained by SC-CO₂ extraction of *W. arrhiza*, 43 different bioactive phytoconstituents were identified. 22, 37, 35 and 43 phytocomponents were tested in *W. arrhiza* grown under different LED lights, respectively, in white, red, purple and blue LEDs. It has been determined that *W. arrhiza* contains very valuable phytosterols such as campesterol, stigmasterol, β -sitosterol, which should be present in the diet in abundance. 44% phytosterol was recorded in white LED light, 37% in red LED light, 39% in violet LED light, and 22% in blue LED light.

This study is the first to evaluate the extract of rootless duckweed *W. arrhiza* obtained by the SCE method. The study showed that different LED lighting can increase the plant's ability to synthesize a wide variety of bioactive substances in the desired amount. In addition, it has been clearly demonstrated that providing access to more and more diverse secondary metabolites without using solvents with the SK-CO₂ extraction method used will lead to promising developments in the fields of alternative food production and pharmaceutical active ingredient production. Since rootless

duckweed is easy to produce, environmentally friendly and sustainable, its use as a functional food is seen as an important potential. In addition to the nutraceutical properties of rootless duckweed, which is a superfood, its pharmaceutical properties are also promising and need to be evaluated.

Keywords: Antioxidant Activity, pharmaceutical, Functional Food, GC-MS, Nutraceutical, Duckweed, Supercritical CO₂ Extraction, *Wolffia*.



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimi ve tez çalışmamın yürütülmesi ve yazımı süreçlerinin tamamında benden sabır, özveri, pozitif enerjisi ve güler yüzünü esirgemeyen başta danışman hocam Sayın Prof. Dr. Beyhan TAŞ'a; deneysel süreçler boyunca emek ve tecrübelerini paylaşan Sayın Doç. Dr. Melek ÇOL AYVAZ, Doç. Dr. Elif ÇİL, Prof. Dr. Ömer ERTÜRK'e ve MSc. Fatmagül MEMİŞ'e teşekkür ederim.

Aynı zamanda, manevi desteklerini her an üzerimde hissettiğim babam, annem, desteği ve sabrı ile o olmazsa bu çalışmanın tamamlanamayacağı eşim Melek ATA ŞENGÜLLENDİ'ye teşekkürü bir borç bilirim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	IV
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER	VII
ŞEKİL LİSTESİ	IX
ÇİZELGE LİSTESİ	X
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	XII
EKLER LİSTESİ	XIII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	11
2.1 Süper Kritik Ekstraksiyon Yöntemi	14
3. MATERYAL ve YÖNTEM	21
3.1 Köksüz Su Mercimeği <i>W. arrhiza</i>	21
3.2 Yöntemler.....	23
3.2.1 Örnek Toplama, Sterilizasyon ve Ön Kültür Çalışmaları	23
3.2.2 Farklı LED Işıklarda Köksüz Su Mercimeği Kültürü	23
3.2.3 Bitki Büyüme Deneyi.....	25
3.2.3.1 Bitki Büyüme Performansının Rölatif Büyüme Oranları (RGR), İkiye Katlama Süreleri (DT) ve Bağlı Büyüme Verileriyle İncelenmesi	25
3.2.4 Hasat ve Kurutma İşlemi.....	26
3.2.5 Nem Tayini, Kuru Madde ve Kül Analizi.....	27
3.2.6 Elementel Analiz.....	28
3.2.6.1 Toplam Azot ve Protein Analizi	29
3.2.7 Ekstraksiyon İşlemi (Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyon Sistemi)	29
3.2.8 Fotosentetik Pigment Analizi	33
3.2.9 Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Analizi	34
3.2.10 İn Vitro Antioksidan Aktivite Analizleri	35
3.2.10.1 Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi	35
3.2.10.2 Toplam Flavonoid Madde İçeriğinin Belirlenmesi	36
3.2.10.3 DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Serbest Radikali Süpürme Aktivitelerinin Belirlenmesi	36
3.2.10.4 Fe ⁺² ile Şelat Oluşturma Aktivitelerinin Belirlenmesi	37
3.2.11 İn vitro Antimikrobiyal Aktivite Analizleri	37
3.2.11.1 Test Organizmaları ve Besiyeri Ortamı	37
3.2.11.2 Agar Well Difüzyon Deneyi	37
3.2.12 İstatistiksel Analiz.....	38
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	39
4.1 <i>W. arrhiza</i> Biyokimyasal Analizleri	39
4.1.1 Fotosentetik Pigment Analizi Sonuçları.....	39
4.1.2 Nem Tayini, Kuru Madde ve Kül Analizi Sonuçları	42
4.1.3 Bitki Büyüme Performansının İnceleme Sonuçları	45
4.1.4 Elementel Analiz Sonuçları	50
4.1.5 Toplam Azot ve Protein Analiz Sonuçları	52
4.1.6 Fitokimyasal İçerik Analizi (GC-MS)	55

4.2 İnVitro Antioksidan Aktivite Analizleri	72
4.2.1 Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi	72
4.2.2 Toplam Flavonoid Madde Analiz Sonuçları	75
4.2.3 DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Serbest Radikali Süpürme Sonuçları	77
4.2.4 Fe ⁺² ile �elat Oluşturma Aktivite Sonuçları.....	79
4.3 İn vitro Antimikrobiyal Aktivite Analiz Sonuçları	80
5. SONUÇLAR VE �NER�LER.....	87
6. KAYNAKLAR.....	93
�ZGE�M��	121



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 Süperkritik Akışkan (SKA) Bölgesini Gösteren Faz Diyagramı.....	15
Şekil 2.2 Süperkritik Akışkan Teknolojisinin Özellikleri.....	17
Şekil 3.1 Su Mercimeği Familyası, Cinsi ve Türlerinin Şematik Gösterimi.	22
Şekil 3.2 <i>Wolffia arrhiza</i> (Orijinal).....	22
Şekil 3.3 İklim Dolabında Farklı LED Aydınlatma Koşullarında <i>Wolffia</i> Kültürü...	24
Şekil 3.4 <i>W. arrhiza</i> 'nın Liyofilizatörde ve Etüvde Kurutma İşlemleri.....	27
Şekil 3.5 <i>W. arrhiza</i> 'nın Yaş (Soldaki) ve Kuru (Sağdaki) Numuneleri	28
Şekil 3.6 Süperkritik CO ₂ Ekstraktör Sistemi (SUPEREX F-500)	31
Şekil 3.7 Ekstraksiyona Hazır Hale Getirilmiş Örneklerin İşlem Öncesi Tartımları	32
Şekil 3.8 Fotosentetik Pigment Analizi Aşamaları	33
Şekil 3.9 GC-MS Analizi Yapılan <i>Wolffia</i> Numuneleri	34
Şekil 4.1 Klorofil <i>a</i> , Klorofil <i>b</i> ve Toplam Klorofil (<i>a+b</i>) Değerlerini Gösteren Karşılaştırmalı Grafik.	40
Şekil 4.2 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın % Kuru Madde İçeriğinin Değişimi.....	43
Şekil 4.3 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın % Kül İçeriğinin Değişimi.....	44
Şekil 4.4 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> RGR Karşılaştırması	46
Şekil 4.5 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> DT Karşılaştırması	47
Şekil 4.6 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> DT Değerlerinin Değişimi...	48
Şekil 4.7 <i>Wolffia arrhiza</i> Klonları ile RGR Karşılaştırması	48
Şekil 4.8 <i>Wolffia arrhiza</i> Klonları ile DT Karşılaştırması	49
Şekil 4.9 <i>Wolffia arrhiza</i> 'nın Farklı LED Işıklarda Element İçeriğinin Değişimi	51
Şekil 4.10 <i>W. arrhiza</i> 'nın Farklı LED Işıklarda Ham Protein İçeriği.....	52
Şekil 4.11 <i>W. arrhiza</i> (Beyaz LED) kültürünün kromatogramı.....	56
Şekil 4.12 <i>W. arrhiza</i> (Kırmızı LED) Kültürünün Kromatogramı	57
Şekil 4.13 <i>W. arrhiza</i> (Mor LED) Kültürünün Kromatogramı	58
Şekil 4.14 <i>W. arrhiza</i> (Mavi LED) Kültürünün Kromatogramı	60
Şekil 4.15 Fitosterollerin Barsak Lümeninde LDL Kolesterol ile Emilim Rekabet..	63
Şekil 4.16 Gallik Asit Kalibrasyon Grafiği	72
Şekil 4.17 Kuersetin Kalibrasyon Grafiği.....	75
Şekil 4.18 <i>Klebsiella pneumoniae</i> (solda), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (sağda)	82
Şekil 4.19 <i>Candida albicans</i> (solda), <i>Citrobacter freundii</i> (sağda).....	82
Şekil 4.20 <i>Bacillus cereus</i> (solda), <i>Micrococcus luteus</i> (sağda).....	83
Şekil 4.21 <i>W. arrhiza</i> 'nın Farklı LED Işık Kültürlerindeki Analizlerin Isı Haritası Grafiği.....	85

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 Farklı Su Mercimeği Türlerindeki Esansiyel Amino Asitlerin Tahıl Taneleri, Baklagiller ve FAO Referansı ile Karşılaştırılması.....	6
Çizelge 2.1 Ekstraksiyon Metotlarının Karşılaştırması	18
Çizelge 3.1 Ekstraksiyon Önce ve Sonrası Miktar Ölçüm Değerleri	32
Çizelge 3.2 Fotosentetik Pigment İçeriğinin Hesaplanmasında Kullanılan Formüller	33
Çizelge 4.1 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın Fotosentetik Pigment İçeriği.....	39
Çizelge 4.2 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın Fotosentetik Pigment İçeriği	39
Çizelge 4.3 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın Pigment Oranları.....	40
Çizelge 4.4 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın Yaş ve Kuru Ağırlık Ölçüm Sonuçlarına Dayalı Nem ve Kuru Madde Miktarı.....	43
Çizelge 4.5 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın Kül Miktarı Analiz Sonuçları	43
Çizelge 4.6 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın 7 Günlük (t7) Yaş ve Kuru Ağırlıkları	45
Çizelge 4.7 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın Bağıl Büyüme Oranları (RGR).....	45
Çizelge 4.8 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın 1 Hafta Sonrasındaki Bağıl Bitki Büyümesi (RG)	46
Çizelge 4.9 Farklı LED ışıklarda yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın iki katına çıkma süresi (gün) (DT).....	47
Çizelge 4.10 <i>Wolffia arrhiza</i> 'nın N, C, H, S İçeriği	51
Çizelge 4.11 Farklı LED Işıktaki Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın % Azot ve Ham Protein Değer Karşılaştırması	52
Çizelge 4.12 N-Protein Dönüşüm Faktörleri Kullanılarak Farklı LED Işıktaki Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın Ham Protein İçeriği	52
Çizelge 4.13 Farklı Su Mercimeği Türlerinde % Ham Protein Miktarları	54
Çizelge 4.14 Beyaz LED Işıktaki Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın Fitokomponentleri	55
Çizelge 4.15 Kırmızı LED Işıktaki Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın Fitokomponentleri.....	56
Çizelge 4.16 Mor LED Işıktaki Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın Fitokomponentleri	58
Çizelge 4.17 Mavi LED Işıktaki Yetiştirilen <i>W. arrhiza</i> 'nın Fitokomponentleri.....	59
Çizelge 4.18 Farklı LED'lerde <i>W. arrhiza</i> Fitokomponent İçeriğinin Karşılaştırması	61
Çizelge 4.19 <i>W. arrhiza</i> 'nın Biyoaktif Bileşenlerinin Değerlendirme Tablosu	69
Çizelge 4.20 Toplam Fenolik Madde Miktarları	72
Çizelge 4.21 Bazı bitkilerin <i>W. arrhiza</i> ile Fenolik İçerik Karşılaştırması	73
Çizelge 4.22 Toplam Flavonoid Madde Miktarları	75
Çizelge 4.23 Su Mercimeği Türlerinin <i>W. arrhiza</i> ile Flavonoid Madde Karşılaştırması	76
Çizelge 4.24 <i>W. arrhiza</i> 'nın DPPH % Radikal Süpürücü Etkisi	77
Çizelge 4.25 Su Mercimeği Türlerinin <i>W. arrhiza</i> ile DPPH Radikali % Süpürme Antioksidan Testi Karşılaştırması.....	78
Çizelge 4.26 Ekstraktların Fe(II) İyonu ile Şelat Oluşturma Aktiviteleri ve DPPH Radikali Süpürme Yüzdeleri Karşılaştırmaları.....	79

Çizelge 4.27 Antioksidan Analizlerin Karşılaştırma Tablosu	80
Çizelge 4.28 <i>Wolffia arrhiza</i> Etanolik ve Metanolik Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	81
Çizelge 4.29 <i>W. arrhiza</i> Üzerinde Yapılan Analizlerde Ortaya Çıkan Tüm Sonuçların LED Işık Tipine Göre Karşılaştırmalı Dağılımları	86



SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µmol	: Mikromol
%	: Yüzde
AA	: Askorbik Asit
AAE	: Askorbik Asit Eşdeğeri
AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektroskopi
A°	: Absorbans
APX	: Askorbat Peroksidaz
cm	: Santimetre
CAT	: Katalaz
DPPH	: 1,1 –difenil-2 pikril-hidrazil
FCR	: Folin Ciocalteu Reaktifi
FRAP	: Demir III İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü
g	: Gram
GA	: Gallik Asit
GAE	: Gallit Asit Eşdeğeri
GC/MS	: Gaz Kromatografi Kütle Spektrometre
Kla	: Klorofil- <i>a</i>
Kla+b	: Toplam Klorofil
Klb	: Klorofil- <i>b</i>
kg	: Kilogram
KSM	: Köksüz Su Mercimeği
Kx+c	: Toplam Karotenoid
L	: Litre
m	: Metre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mmol	: Milimol
nm	: Nanometre
Ort.	: Ortalama
SOD	: Süperoksit Dismutaz
Std. sapma	: Standart Sapma
SK-CO₂	: Süperkritik Karbondioksit
TE	: Troloks Eşdeğeri
QT	: Kuersetin
QTE	: Kuersetin Eşdeğeri
PPFD	: Fotosentetik Foton Akısı Yoğunluğu

EKLER LİSTESİ

Sayfa

EK 1: 4 farklı LED ışık (beyaz, kırmızı, mor, mavi) etkisi altında yetiştirilen <i>W.arrhiza</i> kültürlerinin GC-MS analiz sonuç karşılaştırmaları	115
EK 2: 4 farklı LED ışık (beyaz, kırmızı, mor, mavi) etkisi altında yetiştirilen <i>W.arrhiza</i> kültürlerinde GC-MS analiz sonuçlarına göre tespit edilen en yüksek yüzde alan değerine sahip biyoaktif maddelerin kromatogram tabloları	117



1. GİRİŞ

Birleşmiş Milletler (BM)'in 2015 yılında yaptığı bir çalışmaya göre (DeSA, 2015) dünya nüfusunun 2050'de 9.7 milyar, 2100 yılında ise 11.2 milyar olacağı göz önüne alınırsa, nüfusa bağlı artan gıda talebini hem nicelik hem de nitelik olarak karşılamak için sağlanacak gıda arzı doğal kaynakların aşırı kullanılmasına (toprak, su, fosil yakıtlar gibi) ve tükenmesine yol açacaktır. Günümüzde, yaklaşık bir milyar insan yetersiz beslenme sorunuyla karşı karşıyadır. BM Gıda ve Tarım Örgütü'ne (Food and Agriculture Organization, FAO) göre, 2050 yılına kadar dünya nüfusunu doyurmak için tarımsal üretimin %70 oranında artırılması gerekmektedir (Odegard ve van der Voet, 2014). FAO, yetersiz beslenme, obezite ve iklim değişikliği sendromunun 21. yüzyılda insan ve gezegen sağlığı için en büyük zorluk olduğu tezini desteklemektedir (Da Silva, 2019; Swinburn ve ark., 2019). Küresel Açlık Endeksi (Global Hunger Index, GHI) araştırmaları, açlığın özellikle Afrika ve Güneydoğu Asya gibi birçok ülkede %30'ların üzerinde olduğunu işaret etmektedir. Bu nedenle geleceğe yönelik gıda ve protein yetersizliği kaygıları bulunmaktadır (GHI, 2020). Büyüyen ve artarak kentleşen dünya nüfusu için daha çok gıda üretilmesi gerekmektedir. Bu süreç, 2030'a kadar daha önce hiç olmadığı kadar bir aciliyette tahıl verimini ikiye katlamak ve et üretiminde %75 artış sağlamak gerektiğini göstermektedir (Gökırmaklı ve Bayram, 2018).

Küresel ısınmanın etkilerinin giderek artmasıyla kutup buzulları eridiğinde deniz seviyesinin hızla yükseleceği tahmin edilmektedir. Deniz seviyesinde ve altında toprağa sahip olan Hollanda, Almanya, Danimarka gibi ülkelerin topraklarının deniz suları ile kaplanacağı ve tuzlanacağı için verimsizleşeceği düşünüldüğünde bunun da gıda üretimini azaltacağı ve belki de dünyada açlık krizine neden olabileceği düşünülmektedir (Akın, 2006). Ayrıca, mevcut CO₂ konsantrasyonu koşullarında kışlık buğday ve mısır verimlerinin 2020, 2050 ve 2080 yıllarında artacağı öngörülmektedir. Ancak, kışlık buğdayın vernalizasyon süresi ve toplam bitki gelişme süresinin kısıllanacağı, CO₂ konsantrasyonunun tek başına artmasının ise mısır gelişimini ve verimini etkilemeyeceği belirtilmektedir (Tezcan ve ark., 2011).

İnsanların protein ihtiyacını karşılamak için, hayvan yetiştiriciliği, özellikle metan salımı ve aşırı su kullanımı nedeniyle, küresel iklim değişikliği sorununa katkı

sağlamaktadır. Hayvansal gıdalar, gıdayla alınan proteinin %37'sini ve kalorinin %18'ini sağlar. Ancak, bu gıdalar tarımsal alanların %83'ünü kaplamakta ve gıda kaynaklı sera gazı emisyonlarının %58'ine neden olmaktadır (Poore ve Nemecek, 2018; Tamburino ve ark., 2020). Bu durum, hayvansal ürünlerin “karbon ayak izi” ve “su ayak izi”nin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.

Verimli toprakların bitkisel üretime uygun sınırına ulaşılmış olması, artan nüfusla birlikte kişi başına düşen tarımsal alan miktarının azalmasına neden olmaktadır. Topraklarda tuzlanma, alkalileşme, asitleşme, mineral besin elementi eksikliği, kirlenme, erozyon, sıkışma ve organik madde kaybı gibi çeşitli kimyasal ve fiziksel sorunlar bulunmaktadır. Yapılan tahminlere göre, bitkisel üretim altında bulunan 1.47 milyar hektar toprağın %38'i bozulma sürecindedir. Nüfus baskısı nedeniyle, tarım alanı açmak için tropik yağmur ormanlarının yakılması ve su kaynaklarının kirlenmesi, bu süreci daha da sıkıntıya sokmaktadır (Ağaoğlu ve ark., 2003). Gıda sektörü, küresel sera gazı emisyonlarının %26'sını oluşturmaktadır. Bu emisyonların yaklaşık %31'i hayvancılık ve balıkçılık sektöründen kaynaklanmaktadır (Poore ve Nemecek, 2018). Ayrıca, ekilebilir arazilerin %33'ü hayvan yemi üretimi için, %26'sı ise otlatma için kullanılmaktadır. Dolayısıyla, günümüz ve gelecek nesiller için sağlıklı, güvenilir, çevre dostu ve sürdürülebilir gıda kaynaklarına ihtiyaç vardır. Aynı zamanda, nitelikli ve ucuz gıda kaynaklarına herkes erişebilmelidir. Çeşitli besin değerlerine sahip, yüksek nitelikli, lezzetli geleneksel ürünler oldukça pahalıdır ve gelecekte bu ürünlere erişim daha da zor olacaktır. Bu sebeplerle, hayvansal yağ içeriği sakıncalarından uzak, makro, mikro, iz elementler, vitamin ve mineraller içeren, karbonhidrat ve protein değerleri yüksek, besleyici, sağlıklı, maliyeti ucuz, çevre dostu ve sürdürülebilir bitkisel gıda kaynaklarına ihtiyaç vardır. Hayvansal ürünlerin aşırı tüketimi sınırlandırılarak bitki bazlı proteinlerle beslenme insan diyetine yerleştirilmeli ve bu konuda köklü değişikliklere gidilmelidir.

FAO tarafından rapor edilen Lemnaceae üyeleri, mısır ve soya fasulyesinin sırasıyla 6-9 ve 2.5-3.5 kuru ton/hektar/yıl oranlarına kıyasla, yılda 13-38 kuru ton/hektar oranında büyüyecek endüstriyel mahsuller vaat etmektedir (Fourounjian ve ark., 2021).

Fonksiyonel gıdaların şu an ve gelecekte önemli bir pazar payına sahip olacağı öngörülmektedir. Sağlıklı gıda, fonksiyonel gıda, nütresötikler, medikal gıda, zenginleştirilmiş gıda, diyet gıda gibi çeşitli kavramlar, dünya genelinde sağlığı koruma ve iyileştirme potansiyeli nedeniyle giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Bu tür gıdaların üretimi son yıllarda hızla artmıştır ve tüketicilerin sağlık odaklı tercihleri bu trendi desteklemektedir (Alaşalvar ve Pelvan, 2009). Alternatif protein olarak kullanılacak kaynağın maliyet, bulunabilirlik/yaygınlık, yeni ürünlere dahil edilmeye uygunluk ve fonksiyonel özellikleri gibi faktörlerini değerlendirdiğimizde, dünyanın makro sorunlarına mikro çözümler olarak su mercimeklerinden (Lemnaceae) “*Wolffia*” yüksek bir katkı sağlama potansiyele sahiptir. Market Analysis Report (2022)’e göre, 2021 yılında küresel protein takviyeleri pazarı 20.47 milyar dolar büyüklüğündedir. Bu pazarın 2030 yılına kadar %8.5’luk bileşik yıllık büyüme oranıyla genişlemesi beklenmektedir. Su mercimeği pazarının bu süreçte çeşitli gelişim fırsatları sunması öngörülmektedir (Diwan, 2023). Son yıllarda sağlık bilinci yüksek tüketicilerin ve fitness merkezlerinin artışı, protein takviyeleri pazarına ivme kazandırmıştır. Y kuşağı arasında protein takviyelerine olan ilgi de artmaktadır. Hayvan bazlı protein takviyeleri, 2021 yılında protein takviyeleri pazarında %65’in üzerinde bir gelir payına sahipken, protein tozları %60’ın üzerinde bir gelir payıyla lider konumdadır. Ancak hayvan bazlı proteinlerin fiyat artışı, üreticileri daha ekonomik alternatifler aramaya yöneltmektedir. Bu durum bitki bazlı proteinlerin popülaritesini artırmakta ve geleneksel bitkiler değişik sektörlerde temel hammadde olarak önemini korumaktadır. Gelişen yaşam tarzları ve sağlıklı beslenme trendleri, protein takviyelerine olan talebi artırarak pazarın büyümesine katkı sağlamaktadır. Bu durumda, su mercimeği önemli bir alternatif kaynak olarak değerlendirilebilir. *Wolffia* insan gıdası olarak gelecek vadeden bir protein kaynağıdır. *Wolffia* türleri Laos, Kamboçya ve Tayland gibi Asya ülkelerinde birçok nesilden beri insan gıdası olarak kullanılmaktadır. Landolt ve Kandeler Bangladeş’te *Wolffia globosa*’nın çocukların beslenmesinde kullanıldığına tanık olmuşlardır (Landolt ve Kandeler, 1987b).

Küresel beslenme ürün üreticisi Glanbia şirketi Nisan 2020’de yaptığı anket çalışmasında, COVID-19’un ABD’deki tüketicilerin gıda ve beslenme ürünlerine olan etkisini inceledikleri çalışmaya göre, sağlıklı kalmak ve bağışıklığı artırmak amacıyla protein bar tüketen katılımcıların yüzdesi 1. haftada %21’den 2. haftada %23’e

yükselmiştir. Ayrıca, içmeye hazır protein içecekleri tüketiminin COVID-19 salgınından sonra önemli ölçüde arttığı da belirtilmiştir.

Sorun sadece gıda (protein) eksikliği de değildir. İki yılı aşkın süren COVID-19 pandemisi ile, insanların daha sağlıklı olması için bağışıklık sistemlerinin kuvvetli olması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Ayrıca kanser, önemli bir sağlık sorunudur. Yine, Parkinson, Alzheimer, diyabet, obezite gibi rahatsızlıkların toplumda görülme sıklığı giderek artmaktadır. Bundan dolayı diyetlerimizde kullandığımız ürünlerin hem nutrasötik hem de farmasötik içeriği, özellikle antioksidan kapasitesi yüksek olmalıdır. İşte tam da bu sorunları karşılamada, su mercimeklerinin en minik üyesi süper gıda *Wolffia*, içerdiği 200 çeşit polifenol ile günümüz ve gelecek nesiller için sağlıklı, güvenilir, sürdürülebilir, çevre dostu ve umut verici bir gıda kaynağıdır (Yaskolka Meir ve ark., 2021). Ancak, biyoteknoloji ürünü olarak büyük potansiyeline rağmen, *Wolffia* ile ilgili temel araştırmalar henüz dünya genelinde çok yeni bir konudur, Türkiye’de ise hiç bilinmemektedir. Ülkemiz insanı, alışkanlıklarından ve ürün çeşitliliğinin fazlalığından dolayı bitki bazlı (tahıl/bakliyat) beslenmeye daha yatkındır. Ancak, bitkisel alternatif proteinler kapsamında “alg (yosun) bazlı” proteinler dünya genelinde kullanılmakta iken, proteince zengin olan algler ve su mercimekleri gibi su bitkileri ülkemiz diyetlerinde henüz yerini almamıştır.

Dünya yüzeyinin büyük bir kısmının su ile kaplı olması suyun bolluğunu ima etse de, içilebilir su kaynaklarının oranı çok düşüktür (Akın ve Akın, 2017). Bu durum dünya genelinde birçok insanın yeterli içme suyuna erişimde zorluk çektiğini göstermektedir. Örneğin, 1 milyardan fazla insan yeterli su bulamazken, 2.4 milyar insanın sağlıklı içme suyuna erişemediği tespit edilmiştir (Mengü ve Akkuzu, 2008). Dünya nüfusunun hızla artması, sanayinin ve teknolojinin gelişmesi gibi faktörler, içilebilir su kaynaklarının azalmasına yol açmaktadır. Ayrıca, çevre bilinci eksikliği de bu durumu daha da kötüleştirmektedir (Akın ve Akın, 2007; Yılmaz ve Peker, 2013). Gelecek on yıllarda, çoğunlukla büyük kentlerde su kıtlığının artması beklenmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ise gıda üretimi için su gereksinimi %17 artacaktır ve toplam su tüketiminde %40’lık bir artış öngörülmektedir (Orhon ve ark., 2023). Yukarıda izah edilen durumlar, bitkisel gıda güvenliğini günümüzde ve gelecekte tehdit etmektedir. Yüksek protein içeriğine sahip olan *Wolffia*, hidroponik sistemlerde kolayca üreyebilen, hasadı kolay ve yıl boyu havuz sistemlerinde sürekli

üretilebilir, ürüne dönüştürülebilir potansiyele sahiptir. Yüksek değerlikli ve fazla miktarda ürün elde etmek için, çok büyük arazilere ihtiyaç duyulmaz, klasik tarım ürünleri ve hayvan yetiştiriciliğinde kullanılan sudan çok daha az suya ihtiyaç duyulur, atık madde üretmez, fotosentezde kullanılan CO₂ küresel iklim değişikliğinin azalmasında etkilidir. Bu bakımdan *Wolffia* yetiştiriciliği çevre dostu ve sürdürülebilirdir.

Protein kaynağı olarak *Wolffia* kullanan insanlar yüksek kaliteli besin alırken, daha sağlıklı bir bünyeye sahip olacaklardır. Çünkü su mercimekleri proteinin yanı sıra, polifenoller, diyet lifleri, mineraller (biyoyararlı Fe ve Zn dahil), omega 3, folik asit, A vitamini, B vitamini kompleksi ve B₁₂ vitamini bakımından yüksek içeriğe sahiptir. Hayvansal ürünlerin azaltılıp, bitki bazlı beslenmede fitokimyasallar, protein ve diyet lifleri ile zengin *Wolffia* gibi bitkilerin kullanılması diyabet, obezite, kanser, kardiyovasküler sorunlar gibi birçok hastalığın tedavisine umut olacaktır.

Bilim dünyasında su mercimeklerine olan ilgi son 20 yılda artmıştır. Ancak, yayınlarda daha çok *Lemna* üzerine odaklanılmıştır ve bu tür üzerinde toplam 4957 bilimsel çalışma yayımlanmıştır. *Wolffia*'nın 311, *Wolffia arrhiza*'nın incelendiği yayın sayısı ise sadece 138'dir (Web of Science, 08.07.2024 tarihi itibarıyla). Dolayısıyla, akademik camiada gözden kaçan bu türün dünyada çok az Türkiye'de ise hiç çalışılmamış olması araştırmanın özgün yönüdür.

Su mercimeği, alternatif protein kaynağı olarak kullanılabilecek potansiyeli olan, bazı Güneydoğu Asya ülkelerinde uzun yıllardır diyetlerde sebze olarak tüketilen önemli bir üründür (Bhanthumnavin ve McGarry, 1971). Bu bitkilerin, gelecekteki gıda ürünleri için bitki bazlı bir bileşen ve hayvan etini daha sağlıklı ve daha uygun fiyatlı proteinle değiştirme potansiyeline sahip sürdürülebilir alternatif bir protein kaynağı olarak düşünülebileceği belirtilmektedir (Appenroth ve ark., 2018c; Sree ve ark., 2019). *W. arrhiza*, bitki bazlı protein kaynaklarından yosun bazlı ve tahıl bazlı protein kaynaklarına alternatif olabilecek değerli bir üründür. Çünkü, bu bitkinin büyüme potansiyeli çok yüksek, sebze gibi tüketilebilir, bu sayede diyetlere kolaylıkla katılabilir ve ürün hem taze hem de kuru olarak değerlendirilir.

Bazı su mercimeği türleri, FAO referanslarını karşılayan tüm temel amino asitleri sağlayan ve insan vücudunun büyümesini ve gelişimini destekleyebilen yüksek

protein içeriği (%45'e kadar) içerir. Su mercimeği proteini insan vücudunun ihtiyaç duyduğu amino asitlerin tamamını sağlayabilir. Dokuz esansiyel amino asidin (EAA) yanı sıra çeşitli esansiyel olmayan amino asitleri de içerir. Su mercimeğindeki bireysel amino asit içeriği, WHO'nun tavsiyelerini karşılayabilir (Xu ve ark., 2012; Appenroth ve ark., 2017a). Su mercimeğindeki bireysel amino asit içeriği türler arasında da farklılık gösterir. Su mercimeğindeki EAA içerikleri FAO referansı ile karşılaştırıldığında daha üstün olduğu görülmektedir (Appenroth ve ark., 2018c; Xu ve ark., 2023). Çizelge 1.1'de buğday, mısır, pirinç, soya, nohut ve mercimek gibi tahıl taneleriyle karşılaştırıldığında, belirli su mercimeği türlerinin EAA bileşimleri özetlenmektedir.

Çizelge 1.1 Farklı Su Mercimeği Türlerindeki Esansiyel Amino Asitlerin Tahıl Taneleri, Baklagiller ve FAO Referansı ile Karşılaştırılması (g/100 g Protein)

Amino asit	Trp	Thr	Ile	Leu	Lys	Met	Phy	Val	His
<i>L. minör</i>	4.24	5.13	5.67	9.6	5.93	1.38	6.01	6.43	2.65
<i>L. gibba</i>	Yok	3.2	3.87	7.15	4.13	0.83	4.45	4.96	1.89
<i>S. polyrhiza</i>	Yok	3.45	3.75	6.85	4.3	0.83	4.2	4.4	2.15
<i>L. punctata</i>	Yok	3.31	3.76	6.88	4.26	1.07	4.38	4.71	1.9
<i>W. columbiana</i>	Yok	2.55	3.06	5.83	3.37	0.87	3.6	3.49	1.18
FAO	1.4	2.8	4.2	4.8	4.2	2.2	2.8	0,9	1.9
Nohut	1.1	3.15	3.51	6.35	6	1.39	5.06	3.71	2.03
Mısır	0.1	3.8	3.6	12.3	2.8	2.1	4.9	5.1	3.1
Mercimek	1	3.9	4.7	7.9	7.6	0,9	5.4	5.4	3.1
Pirinç	1.2	3.6	4.3	8.3	3.6	2.3	5.3	6.1	2.3
Soya	1.4	4.1	4.6	7.7	6.3	1.3	4.9	4.7	2.6
Buğday	1.3	2.7	3.9	6.8	2.2	1.6	5	4.4	2.4

Su mercimeğinin protein, yağ ve nişasta içeriği açısından zengin olduğu bilinmektedir (Baek ve ark., 2021). *W. arrhiza*'nın ortalama protein veriminin 2.080 kg/ha/yıl olduğu bildirilmiştir ki bu değer, ortalama protein verimleri sırasıyla 303, 229, 71 ve 179 kg/ha/yıl olan soya fasulyesi, fındık, pirinç ve mısırdan çok daha yüksektir (Bhanthumnavin ve McGarry, 1971). Su mercimeğinin biyokütle üretimi 106 t/ha/yıl kuru ağırlığa kadar ulaşabilir (Zhao ve ark., 2015). Su mercimeği *W. arrhiza* yüksek protein verimi potansiyeli gösterir, ancak su mercimeği nadiren soya taneleri içinde büyük oranda yer alan lektin içerir. Lektin, bağırsak mukozasındaki epitelyal hücreler üzerindeki glikoprotein reseptörlerine bağlanması nedeniyle besin emilimi sırasında iyi bilinen bir anti-besindir (Liener, 1994). Besin emilimini artırmak amacıyla pişirme, ekstrüzyon, kavurma ve buharda pişirme gibi birçok bitki

proteinindeki anti-besin maddelerini azaltmak için termal işlemler gereklidir (Hamad ve ark., 2019; Xiong ve ark., 2019). Oysa insan gıdası olarak kullanılan su mercimeği için bu kadar enerji ve maliyete gereklilik yoktur.

Su mercimeği ayrıca fonksiyonel özellikler ve besin sağlayan nişasta, selüloz, eser miktarda hemiselüloz ve pektin gibi çok yönlü karbonhidratlar içerir. Ek olarak su mercimeği mineraller, vitaminler ve fitokimyasallar, özellikle de lutein ve β -karoten açısından zengindir ve bunlar birçok kronik hastalık riskinin azalmasıyla pozitif olarak ilişkilidir. Su mercimeği, buğday ununun kısmi ikamesi yoluyla geleneksel tahıl bazlı gıdalarda veya fonksiyonel bileşenler olarak proteinlerin ve fitokimyasalların ekstraksiyonu için kullanılabilir.

Su mercimeği hızlı büyüme gösteren, biyokütlesini her 16 saat ile 24 saat arasında ikiye katlayan, küçük, yüzen bir su bitkisidir (Appenroth ve ark., 2010). Su mercimekleri, kutup bölgeleri dışında dünyanın tüm coğrafi bölgelerinde göl, gölet gibi durgun ve yavaş akan sularda minik bitkiler olarak yetişebilirler (Bhanthumnavin ve McGarry, 1971). Klonal büyüme (anne/kız yapraklar) sayesinde hızlı büyür ve uygun koşullar altında biyokütlesini 2-3 günde ikiye katlayabilir (Said ve ark., 1979). Su mercimeği büyümesi ve biyokütle birikimi, su durumu (besin konsantrasyonu, sıcaklık ve pH), ışık, fotoperiyot (maruz kalma süresi, yoğunluğu) ve rüzgar hızı gibi çevresel faktörlerden etkilenir (Liu ve ark., 2018). Ayrıca gübre açısından zengin ortamın ve artan ışık yoğunluğunun/fotoperiyodun, *Lemna minor* ve *Lemna aequinoctialis* gibi türlerin büyümesini ve nişasta birikimini arttırdığı bildirilmiştir (Yin ve ark., 2015; Chakrabarti ve ark., 2018).

BM, 2050 yılına kadar dünya nüfusunun %68'inin kentlerde yaşayacağını öngörmektedir (UN-Habitat, 2020). Son zamanlarda, kentsel tarım veya dikey tarım gibi alternatif yöntemlere olan ilgi artmaktadır. Bu durum, bitki büyümesi için kapalı alanlarda nasıl optimal koşullar sağlanacağı sorusunu gündeme getirmektedir. Işık, bitki büyümesi için kritik bir çevresel faktördür ve modern tarım uygulamalarında LED (Light Emitting Diode) teknolojisi, akkor, floresan, metal halojenür gibi diğer geleneksel lamba teknolojilerine göre ön plana çıkmış ve daha fazla tercih edilmektedir. Son yıllarda, bitki yetiştiriciliğinde yenilikçi LED teknolojisinin kullanımı önemli bir gelişme göstermiştir. LED sistemleri, aydınlatma kontrolünde

yeni olanaklar sunarak bitki yetiştiriciliğinde verimliliği ve kaliteyi artırmayı hedeflemektedir. Geleneksel aydınlatma sistemlerine göre daha enerji verimli olan LED'ler, bitki gelişimi ve fizyolojisi üzerinde büyük etkiye sahip olan ışık spektrumunu hassas bir şekilde ayarlamak için idealdir. Bitki gelişimi ve fizyolojisi, büyüme ortamının ışık spektrumundan güçlü bir şekilde etkilenir. Bu nedenle, LED aydınlatmanın kullanımı, bitkilerin farklı büyüme aşamalarında optimal fizyolojik tepkilerini anlamak için yapılan yeni araştırmaları teşvik etmektedir (Taş ve Şengüllendi, 2022; Taş ve Şengüllendi, 2023). Son yıllarda, LED aydınlatmanın bitki yetiştiriciliğindeki kullanımı yoğun bir ilgi görmektedir. Özellikle enerji maliyetlerinin yüksek olduğu koşullarda ve kapalı alanlarda yapılan üretimlerde, LED'lerin enerji verimliliği ve kontrol edilebilir ışık spektrumu sağlaması büyük avantajlar sunmaktadır. Bu özellikler, kontrollü yetiştirme ortamlarının optimize edilmesini sağlayarak, tarım dışı alanlarda yetiştirilen ürünlerin verimliliğini, kalitesini ve maliyetini artırabilir (Fylladitakis, 2023).

LED teknolojisi, özellikle uzay araştırmaları için geliştirilen bitki yetiştirme sistemleriyle başlayarak, bitki fizyolojisi üzerindeki etkilerini anlamak için önemli bir araştırma alanı oluşturmuştur. Özellikle kırmızı LED'lerin (660 nm) bitki fotosentetik foton akışını desteklemede etkili olduğu gözlemlenmiştir (Massa ve ark., 2008). Yorio ve ark. (2001)'nın ıspanak, turp, patates ve Goins ve ark. (1997)'nin buğday üzerinde yaptığı ilk çalışma sonuçları, normal büyüme ile fotosentez için mavi ışığa ihtiyaç olduğunu ortaya çıkarmıştır. LED'ler üzerine ayrıntılı araştırmalar, yüksek güçlü mavi LED'lerin geliştirilmesini sağlamıştır. Birçok çalışma, farklı oranlarda kırmızı ve mavi ışıkların spektral kombinasyonlarının, sera koşullarında çeşitli bitkilerin etkili bir şekilde yetiştirilmesinde kullanılabileceğini göstermiştir (Mizuno ve ark., 2009; Johkan ve ark., 2010).

Bitki aydınlatma sistemlerinde PAR, PPF ve PPFD olmak üzere 3 temel parametre vardır. PAR (photosynthetically active radiation-sentetik aktif radyasyon), fotosentezi uyaran, gözle görülür ışığın (400-700 nm) dalga boyu aralığıdır. PAR, "metrik" bir ölçü birimi olmamakla beraber, fotosentezi uyarmak ve sürdürmek için gereken ışığın dalga boyu aralığını tanımlar (Barnes ve ark., 1993; Durazzo ve Durazzo, 2021). PPF (photosynthetic photon flux-fotosentetik foton akısı), ışık kaynağının PAR aralığında saniyede ürettiği foton sayısıdır. Birimi mikromol/saniye

($\mu\text{mol/s}$)’dir. PPF değeri bitkiye düşen foton sayısının bir ölçüsü değildir, ışık kaynağının verimliliğini ifade eder. PPFD (photosynthetic photon flux density- fotosentetik foton akısı yoğunluğu), PAR aralığında, saniyede bitki yüzeyine düşen fotosentetik aktif fotonların sayısını belirtir ve birimi mikromol/metrekaare/saniye ($\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$)’dir. Diğer bir deyişle, bitkiye ulaşan yararlı ışığın miktarını ifade eder. PPFD bir yüzeye ne kadar ışık düştüğünün, PPF ise tek bir ışık kaynağının her yöne yaydığı PAR miktarının bir ölçüsüdür.

Uzay çalışmalarında, biyorejeneratif yaşam destek sistemlerinde, değerlendirilebilecek niteliklere de sahip olan *Wolffia*’nın bu özellikleri çalışmanın yenilikçi yönüdür (Arslan Günal ve Taş, 2022). “*Wolffia* bazlı” alternatif protein soya, nohut, buğday, yulaf ve pirinçten elde edilen bitki bazlı proteinlerden çok daha ucuz, yıl boyu üretilebilir, sürdürülebilir ve çevre dostudur. Yine, böcek bazlı ve laboratuvar bazlı alternatif protein kaynaklarından da daha ekonomik ve daha verimlidir. Ayrıca, böcek bazlı ve laboratuvar bazlı proteinlerden daha çok tercih edilir, çünkü insanların damak tadı ve kültürel alışkanlıklarına uygundur. Bu özellikler, su mercimeklerinin diğer ürünlere göre üstün yönleridir.

Bu tez çalışmasında, kontrollü koşullarda, farklı LED ışıklar (beyaz, kırmızı, mavi, mor) altında yetiştirilen köksüz su mercimeği *W. arrhiza*’nın biyokimyasal özelliklerinin ve etkilerinin kapsamlı analizlerle incelenmesi amaçlanmıştır. Farklı LED ışıklar altında abiyotik strese tabi tutulan köksüz su mercimeğinin büyüme performansı, fotosentetik pigmentleri, element içeriği, kuru madde ve kül içeriği, süperkritik karbondioksit (SK-CO₂) ekstraksiyonu ile elde edilen özütlerinden GC-MS analizi ile fitokomponentleri ve in vitro antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Hasat edilen ürünlerin ekstraksiyonu için “süperkritik ekstraksiyon” (SKE) teknolojisi kullanılmıştır. SKE sisteminin enerji maliyeti düşük, çözücü olarak kalıntı bırakmayan çözenlerin kullanıldığı, dolayısıyla ekstraksiyon verimi ve kalitesi yüksek bir teknolojidir. Bu çalışmanın özgün yönlerinden biri de *Wolffia* bitkisinden SK-CO₂ ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen özütlerden analizlerin yapılmasıdır. Literatürde, bu bitkinin ekstraksiyonunda SKE yönteminin kullanılarak herhangi bir çalışmanın yapılmadığı görülmektedir. Bu ekstraksiyon yöntemi ile *Wolffia*’nın fitokimyasalları ve bunların potansiyel biyoaktif etkileri ortaya konmuş olacaktır.

Mevcut tez çalışmasının başlıca hedefleri şunlardır:

- Farklı LED ışıkları bitki yetiştiriciliğinde kullanarak; bu ışıkların bitkinin gelişimine, biyokimyasal ve biyoaktif özelliklerine etkisini değerlendirmek,
- Köksüz su mercimeğinin fotosentetik pigment içeriğini, in vitro antioksidan ve antimikrobiyal etkilerini analiz ederek farmasötik özelliklerini belirlemek,
- Köksüz su mercimeğinin değerli fitokimyasallarını ve nutrasötik özelliklerini tespit etmek; bitki bazlı beslenmede özellikle vegan ve vejetaryenler için önemli bir alternatif protein kaynağı olarak değerlendirilmesini sağlamak,
- Sürdürülebilir bir gelecek için çevre dostu, iyi bir ürün, iyi bir üretim, daha iyi bir beslenme ve daha iyi sağlık için köksüz su mercimeğinin değerini ve önemini bilimsel yöntemlerle ortaya koymak; pazar ürünü olacak şekilde, bitki bazlı beslenmede önemli bir alternatif protein kaynağı ve fonksiyonel gıda ürünü olarak ülkemiz ekonomisine katkı sağlayacak potansiyele sahip bir biyokütle kaynağı olduğunu göstermektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bitkisel kaynaklı kimyasallar, modern tıpta alternatif bir tedavi yöntemi olarak giderek daha fazla ilgi görmektedir. Günümüzde uygulanan sentetik ilaç tedavilerinin potansiyel yan etkilerini azaltma çabalarıyla birlikte, bitkisel kaynaklı kimyasallar hem tıp alanında hem de ilaç endüstrisinde artan bir destek görmektedir (Inbaneson ve ark., 2012). Sentetik ilaçlarda kullanılan birçok etken madde aslında doğal bitkilerden izole edilen kimyasallarla benzerlik göstermektedir. Farmakolojik olarak sentezlenen ilaçların bile, etken maddelerinin önemli bir kısmı doğal bitkilerden elde edilmektedir. Tıbbi ve aromatik bitkiler özellikle baharat, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde uzun yıllardır kullanılmaktadır ve günümüzde de önemini korumaktadır (Ertürk ve ark., 2019).

Tatlı sularda yaşayan, yüzen yapraklı bitkilerden olan su mercimeği türleri, bilimsel çalışmalarda, tercih edilen özellikleriyle dikkat çekmektedir. Bu bitkiler, hızlı büyüme kapasiteleri, yüksek protein içerikleri, atık suları temizleme yetenekleri ve özellikle acı ve tuzlu sularda da başarılı bir şekilde gelişebilmeleri gibi özellikleriyle bilinirler. Bu nedenle, su mercimeği türleri su kaynaklarının yönetimi, atık su arıtımı ve sürdürülebilir tarım gibi alanlarda önemli bir rol oynamaktadır. Sucul bitkiler olan su mercimekleri dünyada 5 cins (*Landoltia*, *Lemna*, *Spirodela*, *Wolffia* ve *Wolffiella*) ve toplam 36 tür içerir (Sree ve Appenroth, 2020a). Su mercimekleri, alternatif protein kaynağı olarak kullanılabilecek potansiyeli olan, bazı Güneydoğu Asya ülkelerinde uzun yıllardır diyetlerde sebze olarak tüketilen önemli bir üründür (Appenroth ve ark., 2018b). Bu özelliğiyle, son yıllarda su mercimeğine olan ilgi artmaya başlamıştır. Bu bitkilerin, gelecekteki gıda ürünleri için bitki bazlı bir bileşen ve hayvan etini daha sağlıklı ve daha uygun fiyatlı proteinle değiştirme potansiyeline sahip sürdürülebilir, alternatif bir protein kaynağı olarak düşünülebileceği rapor edilmiştir (Appenroth ve ark., 2018b; Sree ve ark., 2019). Genel olarak, su mercimeği kuru ağırlığının yaklaşık %20-35'i kadar protein içerir (Appenroth ve ark., 2018a; Herawati ve ark., 2020; Yahaya ve ark., 2022). İçeriğindeki doymuş yağ asidi, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asidi miktarları insan beslenmesinde besin değerini artırabilir (Yan ve ark., 2013). Vejetaryen veya vegan beslenen insanlar için bitki bazlı protein kaynağı olarak *Wolffia*, “su yumurtaları” olarak adlandırılan, çok değerli, mucizevi bir gıdadır. *Wolffia*'nın kuru ağırlığının %40'ı protein, dinlenme fazı olan turionun yaklaşık %40'ı

nişastadır (Fujita ve ark., 1999; Czerpak ve Szamrej, 2003). Güncel bir çalışmada, *Wolffia*'nın protein içeriğinin önceki çalışmalardan daha yüksek olduğu (%50.89) belirlenmiştir (Hu ve ark., 2022). *Wolffia*, baklagiller gibi metionin hariç tüm temel aminoasitleri yüksek seviyede içermesinin yanı sıra, diyet mineralleri ve Ca, Mg, Zn gibi eser elementler ve B₁₂ vitamini ile lif içerir (Czerpak ve Szamrej, 2003).

Yapılan araştırmalarda bu bitkilerin toksikolojik ve yan etkilerinin olmadığı bildirilmiştir (Kaplan ve ark., 2019; Zeinstra ve ark., 2019). *W. arrhiza*'da antinutrisyonel faktör konsantrasyonları düşük olduğundan, besin olarak vücut tarafından kolayca emilebileceğini ve bunun da insan gıda kaynağı olarak potansiyelini göstermektedir (Prossidee ve ark., 2023). *Wolffia*, su mercimeklerinin en hızlı büyüyen ve dünyanın en küçük çiçekli bitkisi olarak insan beslenmesi için diğer türlere göre daha uygun olduğu bildirilmiştir (Appenroth ve ark., 2017b). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), üçüncü bir ülkeden geleneksel gıda olarak *W. arrhiza* ve *W. globosa*'nın taze sebze olarak AB pazarında yer alabileceği ve güvenlik endişesi yaratmadığı konusunda bir teknik rapor yayımlamıştır (EFSA, 2021).

Türkiye'de yayılış gösteren su mercimekleri listesinde *Wolffia* türü bildirilmemiştir (Coşkun ve ark., 2018). Miliç kıyı sulak alanı (Terme, Samsun) makrofitleri üzerinde yapılan araştırmada, Terme'deki sulak alandan *Wolffia arhiza* örnekleri toplanmış ve incelenmiştir (Taş ve Topaldemir, 2021). *W. arhiza*, Ordu Üniversitesi Hidrobiyoloji Laboratuvar'ında kültüre alınarak çoğaltılmıştır. Küçük olması nedeniyle bu türün Türkiye ve dünya sucul ekosistemlerinde gözden kaçması muhtemeldir. Bu nedenle akademik yayınlarda bu tür ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Dolayısıyla, akademik camiada gözden kaçan, dünyanın en küçük çiçekli bitkisi, fakat potansiyel ve fonksiyonel özellikleri en büyük olan *Wolffia*'nın yenilikçi çalışma alanlarında kapsamlı olarak değerlendirilmesi önem arz etmektedir.

Son yıllarda, tıbbi bitkilerden elde edilen aktif bileşikler üzerindeki araştırmalar önemli ölçüde artmıştır. Bu artışın temel nedenleri arasında bitkisel ilaçların çok yönlü etkileri, ekonomik ve kolay tedavi imkanları sunmaları, ayrıca bazı yeni sentetik bileşiklerin potansiyel tehlikeli yan etkileri gibi sorunlar yer almaktadır. Bu bağlamda, bitkiler mikrobiyolojik, farmakolojik ve biyolojik savunma mekanizmaları açısından kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır, özellikle biyolojik

savaşın gündemde olduğu günümüzde bu çalışmalar daha da önem kazanmaktadır (Aydın, 2012). Bitkilerin tıbbi özellikleri, içerdikleri farklı kimyasal bileşenlere dayanmaktadır ve bu bileşenler canlılar üzerinde çeşitli fizyolojik etkiler gösterebilir. Doğal bitki bileşikleri, antimikrobiyal, antioksidan, antienflamatuar, antitümoral, antikanser gibi özelliklerle ön plana çıkmaktadır (Bolotova, 2015).

Ülkemizde, bitkilerin kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal etkileri üzerine yapılan çalışmalar genellikle karasal bitkilerle sınırlı kalmıştır; ancak su bitkileri üzerindeki araştırmalar oldukça kısıtlıdır (Özbay, 2004; Gümüş, 2007; Tursun, 2012). Oysa su bitkileri, kara bitkilerinden farklı kimyasal bileşenler içerir ve bu nedenle insan beslenmesi açısından büyük önem taşır. Asya ve uzak doğu ülkelerinde su bitkileri üzerine yapılan çeşitli çalışmalar bu konunun önemini vurgulamaktadır (Deans, 2000; Pro ve ark., 2003; Bushmann ve Ailstock, 2006; Vasu ve ark., 2009; Piotrowska ve ark., 2010a; Dorman ve Oukarroum ve ark., 2013; Bolotova, 2015).

Serbest radikaller, hücrelerin kimyasal reaksiyonları sonucunda oluşabilen zararlı moleküllerdir. Bu radikaller, hücre içinde lipid peroksidasyonuna, DNA hasarlarına ve protein oksidasyonuna yol açabilirler (Sökmen ve ark., 2016). İnsan vücudunu serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden korumak için doğal ve fenolik bileşikler bakımından zengin bitkilerin faydalı olduğu bilinmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, fitonütrientlerin reaktif oksijen türlerine karşı koruyucu etkilerini göstermiştir. Birçok bitkinin koruyucu özelliklerinin, içerdikleri askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini), karotenoidler, glutatyon, flavonoidler ve fenolik asitler gibi doğal bileşiklerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu bağlamda, su bitkilerinin de benzer biyokimyasal özelliklere sahip olabileceği ve yeni bir kaynak olarak keşfedilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (İşbilir, 2008).

Geleneksel olarak yapılan sıvı-sıvı, kimyasal bazlı ekstraksiyonlarda oluşan tehlikeleri azaltmak için son yıllarda temiz, çevre ve insan sağlığı odaklı yeşil ekstraksiyon (green extraction) yöntemleri revaçtadır. Bu metodların içinde, bu özellikleri kendinde en iyi gösteren bir yöntem olan süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi, organik çözücü olmadan, düşük sıcaklıklarda ve yüksek basınçlarda yapılarak proses süresini kısaltmasıyla da öncü olan bir yöntemdir (Da Silva ve ark., 2016). Geleneksel olarak yapılan ekstraksiyon yöntemlerine göre çok daha avantajlı

olan süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi, akış hızının ayarlanabilmesi, sıcaklık ve basınç parametrelerini değiştirerek ekstrakte edilen bileşenlerin farklılaşması yönünden bileşiklerin değişmesi gibi mantıklı bir yöntem olması açısından yenilikçi bir yöntemdir. Ayrıca elde edilen ekstrakttan çözücünün basıncın düşmesi ile kolayca ayrılmasıyla, geleneksel yöntemlerdeki uzun ve yorucu işlemleri ortadan kaldırmıştır (Demir, 2015).

Geçtiğimiz yüzyılın ikinci yarısından itibaren, doğal olarak bitkilerde gelişen biyoaktif bileşenlerin ayrılması için alternatif olarak süperkritik akışkanlara olan ilgi artmaya başlamış ve devam etmektedir. Uçucu yağlar da dahil olmak üzere biyoaktif malzemeler genellikle ısıya dayanıklı olduğundan yüksek sıcaklıklarda bozunmaya eğilimlidir. Buhar damıtma gibi geleneksel ekstraksiyon yöntemi, biyoaktiflerin bu tür ekstraksiyonu için uygun değildir. Bu nedenle, süperkritik sıvı ekstraksiyon yöntemleri, biyolojik kaynaklardan aktif materyallerin ekstraksiyonunda büyük ilgi görmüştür (Yen ve ark., 2015; Wrona ve ark., 2017). Bu yöntemde olan ilginin temel sebebi, yapılan ekstraksiyonun ortam sıcaklıklarına yakın bir sıcaklıkta gerçekleşmesi ve böylece bitkideki biyoaktif bileşenlerin ısı etkisiyle bozunumunun en az indirilmesi sebebiyledir (Bertucco ve Franceschin, 2008).

2.1 Süper Kritik Ekstraksiyon Yöntemi

Pahalı organik çözücülerin kullanımı, ekstrakt içinde çözücü kalma riski, uzun ekstraksiyon süreleri ve bu süreçte oluşabilecek oksidasyon riskleri, bilim insanlarını alternatif yöntemlere yönlendirmiştir. Son yıllarda, süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon yöntemi çevre dostu olması, yüksek ekstraksiyon verimi sağlaması ve toksik etki yaratmaması gibi avantajlarıyla dikkat çekmektedir (Çolak ve Tülek, 2003; Avşar ve ark., 2014; Kaya ve Ergönül, 2015). Bu yöntemdeki oksidasyon riskinin düşük olması, elde edilen ürünlerin koku ve özellik bakımından diğer yöntemlerden üstün olmasını sağlamaktadır. Ayrıca, süperkritik akışkanlarla elde edilen ürünler genellikle yüksek saflıkta olup, bu özellikleri, diğer ekstraksiyon yöntemlerinden ayırmaktadır. Bu üstün özellikler, süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon yöntemini tercih edilir kılmaktadır (Özkan ve Biçer, 2001; Başer, 2010).

Süperkritik ekstraksiyon (SKE) yönteminin temel prensibi, süperkritik çözücülerin akışkan formunda kullanılmasıdır. Bir madde, kritik sıcaklık ve basınç

değerlerinin üzerine çıkarıldığında süper kritik akışkan (SKA) olarak adlandırılır (Şekil 2.1). Bu durumda, madde hem sıvı hem de gaz özellikleri sergiler. Yüksek sıcaklık ve düşük basınç altında, akışkanın yoğunluğu düşük olur ve gaz gibi davranırken; düşük sıcaklık ve yüksek basınç altında yoğunluğu artar ve sıvı gibi davranır (Başer, 2010).

Süper kritik sıvılar arasında azot oksit, amonyak, etan, bütan, triflorometan ve su gibi örnekler verilebilir (Ignat ve ark., 2011). Bu yöntem, diğer ekstraksiyon metotlarına kıyasla daha az toksik organik madde kullanımı ve daha kısa işlem süresi gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca, yüksek güvenlik ve seçicilik sunar. Ancak bu yöntemin uygulanması yüksek sermaye gerektirir (Cong-Cong ve ark., 2017).



Şekil 2.1 Süperkritik Akışkan (SKA) Bölgesini Gösteren Faz Diyagramı (Anonim, 2010).

Süperkritik koşullarda madde, sıvıların yüksek yoğunluk ve çözme gücüne sahip olmasının yanı sıra gazların düşük viskozite ve sıfır yüzey gerilimine sahip özelliklerini taşır (Büyüktuncel, 2012). Bu özellikler, katılarda kolay difüzyona ve istenilen derişime ulaşılmasına olanak tanırken, enerji tasarrufu sağlayan düşük viskozite sebebiyle pompalama işlemlerinde avantaj sağlar (Çolak ve Tülek, 2003). SKA'ların gaz ve sıvı özelliklerini bir arada taşıması, ekstraksiyon işlemlerinde maddelerin seçici olarak çıkarılmasını mümkün kılar (Başer, 2010; Kaya ve Ergönül,

2015). Bu özellikler, SKA'ların ekstraksiyon süreçlerinde diğer metotlara göre üstünlük sağlamasını sağlar.

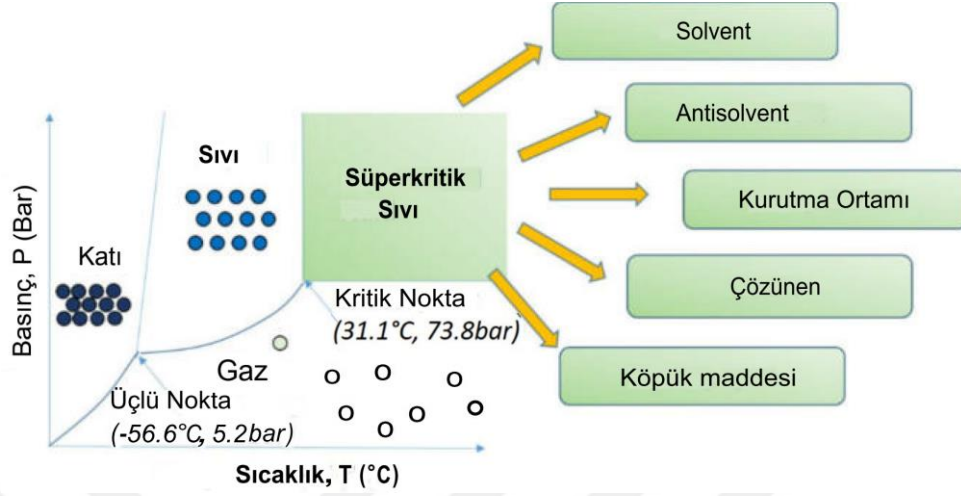
SKA'lar, difüzyon özellikleri bakımından gazlara benzemelerinin yanı sıra yoğunlukları açısından da sıvılara yakındırlar. Bu özellikler, sıcaklık ve basınç değişikliklerine bağlı olarak değişebilir ve bu durum SKA'ların çözme gücünü etkileyebilir. Özellikle toksik ya da patlayıcı olmayan ve maliyeti düşük SK-CO₂, petrol türevi çözücülerin yerine geçerek özellikle besin değeri yüksek özel yağların ekstraksiyonunda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. SKA ekstraksiyon işleminin düşük sıcaklıkta uygulanabilmesi ve çözücünün üründen kolay ve tamamen uzaklaştırılabilmesi, bu yöntemin sağladığı önemli avantajlardan biridir (Rizvi ve Clifford, 1994). Bu özellikler, SKA ekstraksiyonunun diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre tercih edilmesini sağlayan faktörler arasında yer almaktadır.

Gıda alanındaki uygulamaları; çay ve kahveden kafein ayrılması, çeşitli esansiyel yağların üretimi, kolesterol uzaklaştırılması, acı tat giderme ve pektin esteraz enzimi inaktivasyonu başlıca kullanımı olarak gösterilebilir. Difüzyon kontrol modeli, çeşitli bitkisel materyallerden SKA ekstraksiyonu süreçlerinin kinetiğini anlamak ve optimize etmek için kullanılmaktadır. Örneğin, su keneviri ile yapılan çalışmalarda SKA kullanılarak oleorezin ekstraksiyonu, ayçiçeği küspesinden çeşitli bileşenlerin elde edilmesi, havuçtan β -karoten ekstraksiyonu ve zeytin küspesinden yağ ekstraksiyonu gibi süreçlerde difüzyon kontrol modeli uygulanmıştır. Bu modeller, SKA ekstraksiyonunun etkinliğini artırmak ve ürün kalitesini optimize etmek için kullanılan değerli araçlardır (Subra ve ark., 1998; Esquivel ve ark., 1999; Campos ve ark., 2005; Bäuml ve ark., 2010).

SKE ile elde edilen siyah çay artıklarından elde edilen polifenol ekstraktlarının, geleneksel ekstraksiyon işlemiyle elde edilenlere kıyasla daha temiz ve polifenoller açısından daha zengin olduğu bulunmuştur (Mushtaq ve ark., 2017).

SKE'deki çalışma basıncı, ekstraksiyon prosedürünün verimliliği ve dolayısıyla ürünün kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Majdoub ve ark. (2019), basıncın yabani havuçlardan elde edilen maddelerin doğası üzerindeki etkisini değerlendirdikleri bir çalışmada, artan çalışma basıncının (100 ila 300 bar aralığında),

ekstraktlarda daha yüksek geranil asetat ve β -bisabolen konsantrasyonuna yol açtığını bildirmişlerdir. Şekil 2.2’de SKA teknolojisinin özellikleri şematik olarak verilmiştir.



Şekil 2.2 Süperkritik Akışkan Teknolojisinin Özellikleri (Pattnaik ve ark., 2020)

Süperkritik akışkan özütlemesi (Sür, 2017);

- Kritik noktasına kolay ulaşılması ($T_c = 303.8 \text{ K}$, $P_c = 7.3 \text{ MPa}$),
- Yanıcı, patlayıcı ve zehirli olmaması,
- Kolaylıkla ayrıştırılabilmesi ve kalıntı oluşturmaması,
- Ucuz ve ticari olarak kolay erişilebilir olması,
- Kullanımının ve geri dönüşümünün kolaylığı,
- Çevreye dost olmasından ötürü çoğunlukla karbondioksit kullanılması.

İnorganik ve organik birçok bileşiğin incelendiği sıvılar arasında süperkritik karbondioksit (SK-CO₂) en yaygın seçim olarak bildirilmektedir. SK-CO₂ kullanmanın faydaları iyi bilinmektedir ve nispeten düşük kritik parametreler (31°C, 73.8 bar), kimyasal inertlik, sıfır veya düşük toksisite, yanmazlık, aşınmazlık ve GRAS tanımı (genel olarak güvenli olarak kabul edilir) gibi özellikleri Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (US FDA) ve Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu (EFSA) tarafından onaylanmıştır (Turner ve ark., 2001; Mendiola ve ark., 2007; Pan ve ark., 2012). Ayrıca, normal koşullar altında, CO₂ ekstraktan kolayca ayrılabilen ve böylece geri kazanılabilen bir gazdır, bu da maliyetini düşürür (Mendiola ve ark., 2007). Pek çok avantajına rağmen SK-CO₂ polar olmadığı için evrensel bir özütleyici değildir. Bu nedenle, yüksek polariteye sahip bileşiklerin

izolasyonu, düşük konsantrasyonda eklendiğinde sıvının hedef bileşiğe doğru çözme gücünü artıran değiştiriciler, yardımcı çözücüler ile desteklenmelidir (Herrero ve ark., 2010). SK-CO₂ durumunda, metanol ve etanol en sık bildirilenlerdir. Metanol daha etkilidir ve etanol ise daha az toksiktir (Lang ve Wai, 2001; Ramsey ve ark., 2009; Herrero ve ark., 2010). Biyokimyasal ürünler için kullanılan SKA'lar arasında yaygın olarak karbondioksit, etan, etilen, nitrozooksit, triflormetan, klortriflor metan, propan, propilen, amonyak ve hekzan gibi maddeler bulunmaktadır (Çolak ve Tülek, 2003; Başer, 2010). Çizelge 2.1'de ekstraksiyon yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları verilmiştir.

Çizelge 2.1 Ekstraksiyon Metotlarının Karşılaştırması (Büyüktuncel (2012)den uyarlanmıştır)

Ekstraksiyon Teknikleri	Avantajları	Dezavantajları
Katı-Sıvı, Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonları	➤ Fazla miktarda örnek ekstrakte edilebilir ➤ Matrikse bağlı değildir, yani farklı materyaller üzerinde uygulanabilir ➤ Uygulaması kolaydır ve genellikle düşük maliyetlidir ➤ Basit ekipmanlarla gerçekleştirilebilir	➤ Malzeme kullanımı fazla ➤ İşlem süresi uzun ➤ Ekstraksiyon sonrası ekstra işlem gerektirmesi
Yüksek Basıncılı Solvent Ekstraksiyonu	➤ Filtrasyona gerek yok ➤ Zaman kaybı yok ➤ Solvent kullanımı azdır ➤ Uygulaması kolay ➤ Otomasyonu kolay	➤ Maliyeti yüksek ➤ Ekstraksiyon matrikse bağımlıdır
Süper Kritik Sıvı Ekstraksiyonu	➤ Zaman kaybı yok ➤ Solvent kullanımı azdır ➤ Toksik değildir ➤ Çevre dostu sistem ➤ Düşük maliyetli madde kullanımı (CO₂) ➤ Otomasyonu kolay. ➤ Parametrelerin değişimi ile istenen maddenin ayırımına izin vermesi	➤ Yüksek maliyet ➤ Matriks yapısına bağımlı olması ➤ Sıvı madde ekstraksiyon zorluğu

SKE teknolojisi, ilaç ve diğer endüstriler için yeşil, çevre dostu bir platform olarak sektörde ivme yaratmış olsa da, teknolojinin potansiyel güvenlik yönleri asla göz ardı edilemez (Lucas ve ark., 2003). SK-CO₂'nin işlenmesi, insanlara yönelik potansiyel tehdit de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik tehlikelerle ilişkilidir ve bu nedenle gereken dikkati gerektirir. Tehlike türleri mekanik, kimyasal, biyolojik ve termodinamik içerebilir (Soares ve Coelho, 2012). SKE işlemi sırasında görev alan personel, tesisteki aşırı yüksek çalışma basıncı nedeniyle mekanik tehlikelere açıktır. Bu nedenle, personelin korunması için işlem ünitesinin özel kapalı bariyerlerle kapatılması tavsiye edilir. Ayrıca kapalı bölmede karbondioksit sızıntısı olması durumunda çevredeki oksijenin yerini alabileceğinden boğulmaya yol açabilir. Bu nedenle santral sahasına ve havadan ağır CO₂'nin birikebileceği diğer alanlara, özellikle yer altı bodrumlarına karbondioksit sensörlerinin kurulması tavsiye edilir. Personelin kazara yüksek basınçlı ortama maruz kalması kulak zarı ve akciğer hasarına neden olabilir (Soares ve Coelho, 2012). Bununla birlikte, ekipman tasarımcısına uygun şekilde danışılarak personelin kapsamlı ve dikkatli bir şekilde eğitilmesi, tehlike olaylarını önemli ölçüde iyileştirebilir. Kuşkusuz, temiz ve yeşil bir teknoloji olarak SKA teknolojisi, çevre dostu bir yaklaşımla iyileştirilmiş terapötik etkinlik ve stabiliteye sahip daha iyi ürünlerin geliştirilmesi için yollar yaratarak kimyasal işleme endüstrilerinde yeşil bir devrim yaratmak üzeredir.

Yeni LED aydınlatma sistemleri, tarımsal üretim için önemli bir ilerleme sunmaktadır. LED'lerin enerji verimliliği ve ışık dağılımı, geleneksel aydınlatma teknolojilerine umut verici bir alternatif sağlamıştır (Yazar Coşkun ve Çelen, 2024). LED'lerin spektral çıktısını ve ışık yoğunluğunu (PPF) hassas bir şekilde kontrol edebilme başka bir deyişle görünebilir ışık tayfının belirli bir bölümünde ışık yayma yetenekleri, bitkilerin farklı dalga boyları ve yoğunluklarına nasıl tepki vereceklerini anlamak açısından büyük önem taşımaktadır (Mitchell ve ark., 2015). Kısaca tek renk ışık üretebilmeleri aranan özelliklerin başında gelmektedir.

Abiyotik faktörler, özellikle ışık yoğunluğu ve spektral ışık dağılımı, bitki yetiştiriciliği üzerinde önemli etkilere sahiptir (Petersen ve ark., 2022). Örneğin, çok yüksek ışık yoğunluğu, bitkide doygunluğa neden olabilir, bu da bitkinin fotosentetik aktivitesini artırmaz (Landolt ve Kandeler, 1987a). Mavi ışıkla yetiştirilen bitkilerin kırmızı ışığa göre daha yüksek klorofil barındırdığı bildirilmiştir. Fakat, yapılan

alışmalar, abiyotik faktörlerin farklı su mercimeği türlerinde değişik sonuçlar çıkarabileceğini göstermiştir (Wedge ve Burris, 1982; Yin ve ark., 2015; Paolacci ve ark., 2018; Stewart ve ark., 2020).

Bunların yanısıra bitki yetiştiriciliğinde, farklı bitki türleri için optimal LED aydınlatma parametrelerinin olmaması LED ışık kullanımını engeller. Bu nedenle LED kullanımının etkin bir şekilde uygulanabilmesi için temel fotobiyolojik bilgiye ihtiyaç vardır (Yazar Coşkun ve Çelen, 2024).



3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Köksüz Su Mercimeği *W. arrhiza*

Su mercimeği, Lemnaceae familyasına ait suda serbest yüzen bitkilerdir. Tek çenekli, çiçekli bitkiler grubunun en küçük yapılı olanları bu familya içerisinde yer alır. Birkaç yapraktan oluşan basit bir morfolojiye sahiptirler. Ayrıca nadiren çiçek açarlar. Bu eşsiz su bitkileri, çiçek açma kapasitesine sahip olmalarına rağmen genellikle klon üreterek vejetatif yollarla çoğalırlar. Tipik olarak tropikal bölgelerden kuzey bölgelerine kadar değişen alanlarda, nispeten küçük ve sık su kütlelerinde yaşarlar (Landolt, 1986). Son zamanlardaki fizyolojik araştırmalardan bazıları, bu tür doğal varyansın sadece farklı su mercimeği türleri arasında değil, aynı zamanda tür içi, yani aynı türün dünyanın farklı coğrafi yerlerinden toplanan farklı klonları (ekotipleri) arasında da mevcut olduğunu göstermektedir (Kuehdorf ve ark., 2014; Ziegler ve ark., 2015a). Şekil 3.1’de görüldüğü üzere, *Lemnaceae* familyasında 36 farklı su mercimeği türü tanımlanmış ve taksonomik olarak beş cinse ayrılmıştır (*Spirodela*, *Landoltia*, *Lemna*, *Wolffiella* ve *Wolffia*) (Sree ve ark., 2016a; Bog ve ark., 2020). Morfolojik olarak *Spirodela*, *Landoltia* ve *Lemna* köklü, *Wolffiella* ve *Wolffia* köksüz su mercimeğidir (Landolt, 1986; Les ve ark., 2002). *Spirodela*, *Landoltia* ve *Lemna* türleri, yavru yaprakların ana yapraktan tomurcuklanabileceği iki yanal vejetatif keseye sahiptir ve birçok köke sahiptir, damar yapıları farklıdır ve vejetatif kese ile çiçeğin geliştiği çiçek boşluğu aynıdır. Aksine, *Wolffiella* ve *Wolffia* türlerinin sadece bir vejetatif kesesi vardır, kökleri yoktur, yaprağın üst tarafına açılan ve herhangi bir damar sistemi bulunmayan ayrı bir çiçek boşluğuna sahiptir (Sree ve Appenroth, 2020b).

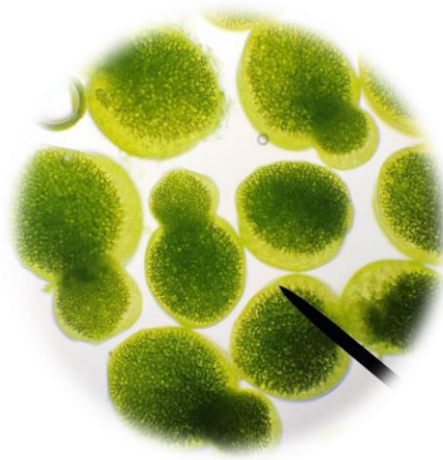
Bu türün taksonomik değerlendirmesi; Alem: Plantae – Şube: Spermatophyta – Sınıf: Monocotyledonae – Takım: Arales – Familya: Lemnaceae – Cins: *Wolffia* – Tür: *W. arrhiza* şeklindedir (Bog ve ark., 2020).

Family		Lemnaceae				
Genus	Spirodela	Landoltia	Lemna	Wolffiella	Wolffia	
Species	polyrhiza intermedia	punctata	disperma gibba japonica minor obscura turionifera trisolca aequinoctialis perpusilla tenera minuta valdiviana yungensis	caudata denticulata gladiata lingulata neotropica oblonga welwitschil hyalina repanda angusta	arrhiza columbiana cylindracea elongata globosa neglecta australiana borealis brasiliensis microscopica	

Şekil 3.1 Su Mercimeği Familyası, Cinsi ve Türlerinin Şematik Gösterimi (Sree ve Appenroth, 2020a).

Çalışma materyalimiz olan dünyanın en küçük spermatofiti köksüz su mercimeği (İng., rootless duckweed) *W. arrhiza* (L.) Horkel ex Wimm. türünün IUCN Tehdit Altındaki Türlerin Kırmızı Listesi'nde sınıflandırılması şu şekildedir: Plantae, Tracheophyta, Alismatales, Liliopsida, Araceae, *Wolffia*, *W. arrhiza*. Bu türün tehdit durumu en az endişe vericidir (LC) (Lansdown, 2019).

W. arrhiza, suda serbest yüzen, Türkiye için çok yeni, monoik bir su bitkisidir. Kökler indirgenmiştir, yaprak görevi gören frond adı verilen yapıları alglerin tallus yapısına benzer. Yarım küre veya tekne şeklinde, 1 mm civarında, üstten bakıldığında şişkin, içi su dolu kürecikler şeklinde suda yüzer durumdadırlar (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 *Wolffia arrhiza* (Orijinal)

3.2 Yöntemler

3.2.1 Örnek Toplama, Sterilizasyon ve Ön Kültür Çalışmaları

Bitki kültüründe kullanılan tüm malzemeler çalışması öncesi %1 (v/v) NaClO (çamaşır suyu) ile dezenfekte edilmiştir. Musluk suyuyla ve üç kez distile su (dH₂O) ile durulanan cam kaplar etüvde (Daihan, Wiseven) kurutulmuştur. Yeşilirmak Deltası'ndaki (Terme, Samsun) sulak alandan toplanan *W. arrhiza* örnekleri ODÜ Hidrobiyoloji Laboratuvarı'nda yabancı materyallerinden ayıklanarak temizlenmiş, çeşme suyuyla bolca yıkandıktan sonra dH₂O ile üç kez yıkanmıştır. Ardından %50'lik etil alkolde çok kısa bir süre (30-40 saniye) sterilizasyon işlemine tabi tutulup, tekrar üç kez dH₂O ile yıkanmış ve sentetik besiyerine aktararak çoğaltılmıştır.

W. arrhiza sentetik besiyeri olarak N-medium hazırlanmıştır (Appenroth ve ark. (1996). N-medium, su mercimeği yetiştirilmesi için önerilen en uygun ortamdır. Bu ortamı hazırlamak için aşağıdaki bileşikler kullanılarak stoklar hazırlanmıştır.

Stok 1: KH₂PO₄ (4.083 g/L),

Stok 2: Ca(NO₃)₂.4H₂O (47.23 g/L)

Stok 3: KNO₃ (161.8 g/L), H₃BO₃ (61.8 mg/L), MnCl₄.H₂O (514.5 mg/L), Na₂MoO₄.2H₂O (9.4 mg/L), MgSO₄.7H₂O (49.30 g/L)

Stok 4: FeNaEDTA (1.835 g/L)

Hazırlanan stoklar +4°C'de muhafaza edilmiştir. Bir litre besin ortamı hazırlamak için her stok solüsyondan 5 mL alınarak dH₂O ile bir litreye tamamlanmıştır. Hazırlanan ortam iyice karıştırılıp pH 5.5'e ayarlandıktan sonra, ortam 121°C'de 15 dak. otoklavda steril edilmiştir. Steril ortam soğuduktan sonra +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2 Farklı LED Işıklarda Köksüz Su Mercimeği Kültürü

Köksüz su mercimeği kültürü ve biyodeneyler ODÜ Hidrobiyoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Dört raflı steril iklim kabininde (Grotech/GR08, Unitroniks® Vision350™) hidroponik sistem kurularak *W. arrhiza*'nın yetiştirilmesi için iklimlendirme koşulları ayarlanmıştır. Ön kültür çalışmalarında floresan ışık, 16/8 aydınlık/karanlık fotoperiyot, 24±1°C sıcaklık ayarlanmış, 14 gün boyunca ön kültür yapılarak *Wolffia* çoğaltılmıştır. Sağlıklı gelişen bitkiler hasat edilip dH₂O ile

yıkandıktan sonra yeni bir steril küvette taze N-medium ortamına aktarılarak kültürler arttırılmıştır. Kontrollü koşullar altında haftalık büyüme takip edilmiştir. Biyodeney için, farklı raflarda, kırmızı+mavi (mor) LED, beyaz LED, mavi LED ve kırmızı LED altında, aynı iklimlendirme koşullarında *W. arrhiza* yetiştirme çalışmaları yapılmıştır.

Hu ve ark. (2022) *W. arrhiza* üzerinde yapmış olduğu çalışmada 110-130 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ foton akı yoğunluğu ve 25°C/20°C (aydınlık/karanlık) sıcaklıkta 16/8 saat (aydınlık/karanlık) fotoperiyot koşullarında yetiştirme yapmıştır. Kotowska ve ark. (2013) ise *W. arrhiza* kültürünü, 16/8 saatlik bir gündüz/gece döngüsüyle (100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ foton akışı) 25±0.5°C’de, beyaz floresan lamba desteğiyle kontrollü koşullar altında büyötmüştür. Mevcut çalışmamızda, literatür bilgilerine paralel olarak ışık yoğunluğu (PPFD) beyaz, kırmızı, mor ve mavi LED için 60-80 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ değerleri aralığında ayarlanmıştır. Geniş spektrumlu LED ışık kaynakları 16/8 saat (aydınlık/karanlık) fotoperiyotta çalıştırılmıştır. İklim dolabının sıcaklığı 24±0.5°C, bağıl nem %60’a ayarlanarak *W. arrhiza* yetiştirilmiştir.



Şekil 3.3 İklim Dolabında Farklı LED Aydınlatma Koşullarında *Wolffia* Kültürü

3.2.3 Bitki Büyüme Deneyi

3.2.3.1 Bitki Büyüme Performansının Rölatif Büyüme Oranları (RGR), İkiye Katlama Süreleri (DT) ve Bağlı Büyüme Verileriyle İncelenmesi

Köksüz su mercimeğinin büyüme hızları ve haftalık verimleri yaş ağırlık üzerinden hesaplanmıştır. (Ziegler ve ark., 2015b) tarafından tarif edilen yöntemle, bir gram yaş ağırlık ile başlayan bir haftalık kültivasyon süreci sonrasında verim, üstel büyüme yasasına göre belirlenmiştir. *W. arrhiza*'nın farklı LED ışıklar altında nispi büyüme oranlarını hesaplamak için, başlangıç yaş ağırlığı (YA) 1 gram olan örnekler 7 günün sonunda hasat edilmiştir. Yaş ağırlık ve sabit ağırlığa kadar etüvde kurutulduktan sonra kuru ağırlık (KA) üzerinden hesaplamalar yapılmıştır. Deneyler 3 tekerrürlü olarak yapılmış ve ortalamaları alınmıştır.

RGR, başlangıçta (t_0) ve daha sonraki t zaman (örn., 7 gün) noktalarında ölçülen x parametresinin (TA ve KA) değerleri kullanılarak aşağıdaki denklemde gösterildiği şekilde hesaplanmıştır (Naumann ve ark., 2007).

$$RGR (gün^{-1}) = (\ln x_{t7} - \ln x_{t0}) / t_7 - t_0 \quad (3.1)$$

Bu denklemde RGR, 1 günde birim zaman başına parametredeki artıştır. RGR bitki ağırlık artışlarına göre hesaplanmıştır (Hoffmann ve Poorter, 2002). Bu durumda RGR, denklem (1)'deki üs $RGR \cdot t$ olduğundan, zamanın karşılıklı boyutuna (1. gün) sahip olacaktır. Hesaplama, yaprak sayı artışı kullanıldığında (Lemon ve ark., 2001), RGR boyutu standart olarak 1. gündür.

Farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*'nın, nispi (göreceli) büyüme (RG), rölatif büyüme oranı (RGR) ve ikiye katlanma süresi (DT) yaş ağırlık değerine göre hesaplanmıştır.

Deney başlangıcında (t_0), kâğıt havlu ile nemi alınan *W. arrhiza* numuneleri hassas terazide tartımı yapıldıktan sonra alüminyum folyoya sarılıp 105°C'de etüvde (Daihan, Wiseven) 1 gece kurutulmuştur. Kurutma işleminden sonra örneklerin kuru ağırlık ölçümü yapılmıştır (Ziegler ve ark., 2015b).

Günlük büyüme oranı ve ikiye katlanma süresini belirlemek için yaş ağırlık (YA) değişkeni kullanılmıştır. Her tekrar için göreceli büyüme oranı aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır (Naumann ve ark., 2007). Bu formülde RGR, 1 günlük birim zaman başına parametre değerindeki artıştır; x , su mercimeğinin toplam yaş ağırlığı

(g); t_0 , başlangıç, t_n ise deney sonu zamanıdır (gün).

İki katına çıkma süresi DT (gün olarak) aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır:

$$DT = \ln 2 / RGR \quad (3.2)$$

W. arrhiza'nın bağıl bitki büyümesi "göreceli verim" (RG) aşağıdaki eşitlikten hesaplanmıştır (Ensley ve ark., 1994).

$$RG = (N_t - N_0) / N_0 \quad (3.3)$$

Burada N_t , t gününde bitki yaş ağırlığı ve N_0 , deneyin başlangıcındaki yaş ağırlığıdır.

3.2.4 Hasat ve Kurutma İşlemi

Yaş ağırlık ölçümü için, yıkama işlemlerinden geçirilen örnekler göz açıklığı 1 mm'den küçük elekten süzildikten sonra fazla nemi kâğıt havlu ile alınmış, sonra hassas terazide tartılmıştır. İnkubatörde kurutma işlemi için, önce kurutma kâğıdı üzerine serilip, oda sıcaklığında ve doğrudan ışık almayan ortamda fazla nemi uzaklaştırılan bitki örnekleri 40°C'ye ayarlı etüvde (Elektro-mag M420BP) sabit ağırlığa kadar (2-3 gün) kurutulmuştur.

SK-CO₂ ekstraksiyonu için, hasat edilen numunelerin fazla suyu kâğıt havlu ile alındıktan sonra kapalı polietilen bir kaba alınarak -21°C'de muhafaza edilmiştir. Bu numuneler Şekil 3.4'teki gibi liyofilizatörde (Labconco, Freezone 2.5) sabit ağırlığa kadar kurutulmuştur. Kuru örnekler mekanik öğütücüde (Waring 8011 EB Blender) parçalanıp toz haline getirildikten sonra vida kapaklı falkon tüplere aktarılıp, etiketlemesi yapıldıktan sonra analizlere kadar -21°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.4 *W. arrhiza*'nın Liyofilizatörde (Solda) ve Etüvde (Sağda) Kurutma İşlemleri

3.2.5 Nem Tayini, Kuru Madde ve Kül Analizi

W. arrhiza'nın % nem oranı ve % toplam kuru madde miktarı etüvde kurutularak standart metodlarla analiz edilmiştir (AOAC, 2000). Deney başlangıcında (t_0), kurutma kağıdında nemi alınan bitki örneklerinin hassas terazide (Radwag AS 220.R2) tartımı yapıldıktan sonra (TA, g) alüminyum folyoya sarılıp 105°C'de etüvde (Daihan, Wiseven) 1 gece boyunca kurutulmuştur. Kurutma işleminden sonra desikatöre alınıp oda sıcaklığına kadar soğutulularak kuru ağırlık (KA, g) ölçülmüştür (Ziegler ve ark., 2015a). Köksüz su mercimeğinin nem içeriği ve kuru madde miktarı aşağıdaki eşitliklerden yararlanarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Nem (su) (g/100 g) } = [(TA - KA) / TA] \times 100 \quad (3.4)$$

$$\% \text{ Toplam kuru madde miktarı (g/100 g) } = 100 - \% \text{ Nem miktarı ya da } \quad (3.5)$$

$$\% \text{ Toplam kuru madde miktarı (g/100 g) } = [KA (g) / TA (g)] \times 100 \quad (3.6)$$



Şekil 3.5 *W. arrhiza*'nın Yaş (Soldaki) ve Kuru (Sağdaki) Numuneleri

Ham kül analizi işlemleri AOAC (1990) yöntemine göre yapılmıştır. Kurutulup öğütülmüş örnekler porselen krozeler içinde tartılıp 550°C'ye ayarlı yakma fırınına yerleştirilmiştir. Numuneler gümüş gri bir renk alıncaya kadar ~3.5 saat yakılmıştır. Süre sonunda numuneler desikatörde soğutulduktan sonra hassas terazide tekrar tartım işlemi yapılmış ve % kül miktarı eşitlik 3.7'den yararlanarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Kül miktarı} = (\text{Son ağırlık} - \text{Dara}) \times 100 / [(\text{Dara} + \text{Numune}) - \text{Dara}] \quad (3.7)$$

3.2.6 Elementel Analiz

Farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*'nın makro element yüzdeleri (C, H, N, S) element analizörü (vario MICRO cube, Elementar, Germany) kullanılarak analiz edilmiştir. Her bir deney grubundan 1–2 mg kuru numune tartıldıktan sonra Ordu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'ndaki elementel analiz cihazına yerleştirilmiştir. Bu cihaz katı örneklerdeki organik ve anorganik maddelerde bulunan karbon (C), hidrojen (H), azot (N), ve kükürt (S) elementlerinin aynı anda tayin edilmesini sağlar. Bu cihazın temel çalışma prensibi, numunenin yüksek sıcaklıklarda (1200-1800°C) yakılmasına dayanır. İlk olarak, ince elenmiş kuru numune kalay kapsülde tartılır ve cihazın örnek haznesine yerleştirilir. Numune, yaklaşık 1200°C'de yakılarak kül haline getirilir. Gaz fazına geçen örnekteki dört element, cihazın detektörleri ile algılanarak analiz edilir. Gaz haline gelen numuneler, taşıyıcı inert gaz (helyum) ile kromatografi kolonuna gönderilir ve oksijen gazı ile yakılır. Kantitatif yanma işleminin eksiksiz gerçekleşmesi için gaz karışımı yükseltgen katalizör (CuO) bölgesine geçer ve daha sonra bakırın bulunduğu bir indirgenme bölgesinde karbon (CO₂), hidrojen (H₂O), azot (N₂) ve kükürt (SO₂) gazlarına dönüşür. Oluşan ve ayrılan gazlar birbirinden ayrılarak özel tutucu kolonlarda tutulur. Her birinin örnekteki

miktarı termal iletkenlik dedektörü (TCD) aracılığıyla belirlenir. Gazların miktarı ile orantılı elektrik sinyalleri elde edilir ve bu sinyaller, spektrumda elde edilen eğri alanlarıyla orantılı olarak numunenin elementel bileşim yüzdesini verir. Çalışmamızda, C, H, N ve S konsantrasyonları, bitki kuru ağırlıkları üzerinden Elementar Vario yazılımı kullanılarak yüzde olarak belirlenmiştir.

3.2.6.1 Toplam Azot ve Protein Analizi

Elementel analiz yapılarak farklı LED ışıklarda yetiştirilen numunelerin %N içeriği üzerinden protein hesaplaması yapılmıştır. Toplam azot (TN) içeriği Ordu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan bir CHNS analizörü (vario MICRO cube, Elementar, Germany) kullanılarak Dumas prosedürüne göre belirlenmiştir. Bu yöntemde 1–2 mg dondurularak kurutulmuş *Wolffia* yakılmış ve üretilen azot termal iletkenlik sensörü ile ölçülmüştür. Tüm azot formları yandığından, bu analiz organik, nitrat, nitrit ve amonyum azotunun toplamını verir (Devlamynck ve ark., 2020). Cihazda taşıyıcı gaz olarak helyum, referans standart olarak sülfanilamid kullanılmıştır. Farklı LED ışıklarda yetiştirilen köksüz su mercimeğinin kuru ağırlık bazında protein içeriği (% ham protein), %N değerinin 6.25 faktörü ile çarpılmasıyla ($N \times 6.25$) hesaplanmıştır (Kjeldahl, 1883; Casal ve ark., 2000). Bunun yanı sıra, güncel literatürlerde ifade edilen farklı N-protein dönüştürme faktörleri de kullanılarak *W. arrhiza*'nın ham protein değerleri karşılaştırılmıştır (Mariotti ve ark., 2008; Angell ve ark., 2016; Nieuwland ve ark., 2021).

$$\% \text{ Protein} = \% N \times 6.25 \quad (3.8)$$

3.2.7 Ekstraksiyon İşlemi (Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyon Sistemi)

Farklı LED ışıklarda yetiştirilen köksüz su mercimeği örnekleri hasat edilip toplandıktan sonra liyofilizatörde kurutulmuştur. Kurutulan numunelerin özütlerini elde etmek için SK-CO₂ ekstraksiyonu yöntemi kullanılmıştır.

“Süperkritik akışkan ekstraksiyon (SKE) sistemi” sistemi ekseriyetle “süperkritik karbondioksit ekstraksiyon sistemi” olarak tanınır. Esasen her maddenin süperkritik fazı vardır. Fakat kullanılabilirlik açısından en uygun gaz CO₂'dir. Çünkü CO₂ yanıcı, patlayıcı değildir, toksik zararları yoktur, gıda ile uyumu yüksektir, muadil çözücülere göre daha düşük kritik sıcaklık ve basınç değerleri ile çalışılabilmektedir (SUPEREX, 2022).

SK-CO₂ ekstraksiyon sistemi, bitkiden istediğimiz tüm bileşenleri yüksek saflıkta saflaştırabilen, çözücü olarak toksik çözenler yerine doğrudan CO₂ kullanan ve bu CO₂'yi tamamen rejenere ederek her ekstraksiyonda tekrardan aynı CO₂'yi kullanabilme özelliğine sahip olduğu için çözücü maliyeti en az olan teknolojik bir sistemdir. Aseton, metanol gibi gıda yapısında zararlı kalıntı bırakan, besin değerlerini olumsuz etkileyen çözenler kullanılmadan SK-CO₂ akışkan ekstraksiyon sistemi ile bitki ekstrakt verimi sağlıklı bir şekilde artırılır. Bu yöntemde biyoaktif bileşenlerin zarar görmemesi avantajının perde arkasında, ekstraksiyonun 32-60°C arası gibi düşük sıcaklıklarda yapılması, ekstraksiyon esnasında ve sonrasında özütün biriktirildiği ortamda oksijenle muamele olmaması vardır. Bu durum oksidasyon riskini ortadan kaldırır ve biyoaktif maddelerin özellikleri korunmuş olur.

Çoğu kimya endüstrisinden, ekstraksiyon için tehlikeli solventlerin kullanımıyla ilişkili riskler ve prosesler için yoğun sıcaklık gereklilikleri ile ilgili artan itirazlar, SK-CO₂ ekstraksiyonu gibi temiz ve yeşil bir teknolojiye olan ihtiyacı gerektirmektedir (Rodrigues ve ark., 2020). SK-CO₂ ekstraksiyonu, düşük viskoziteli ve yüksek yayımlı yeşil solventi (CO₂) kullanan temiz bir işlemdir. Teknik, yüksek seçiciliği, zaman tasarrufu ve sıfır yüzey gerilimi ile yüksek oranda sıkıştırılabilir durumu nedeniyle biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için yeni ortaya çıkan ve umut verici bir yeşil işlem olarak kabul edilmektedir (Yu ve ark., 2005b). Diğer ekstraksiyon yöntemlerinden farklı olarak SK-CO₂ ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktlar oldukça saftır, kirletici değildir ve toksik organik solventler içermez. Bunlar, biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için en makul seçenek olarak avantajlardan bazılarıdır (Vishnupriya ve ark., 2019). Bununla birlikte, düşük ekstrakt verimi, yüksek bakım maliyeti, teknik bilgi eksikliği ve eğitimli uzman gerekliliği, daha geniş kabul görmesini ve uygulanabilirliğini sınırlayan faktörlerden bazılarıdır.

Bu çalışma için laboratuvar tipi 500 mL'lik SK-CO₂ ekstraktör sistemi (SUPEREX F-500, Konya, Türkiye) kullanılmıştır (Şekil 3.6).

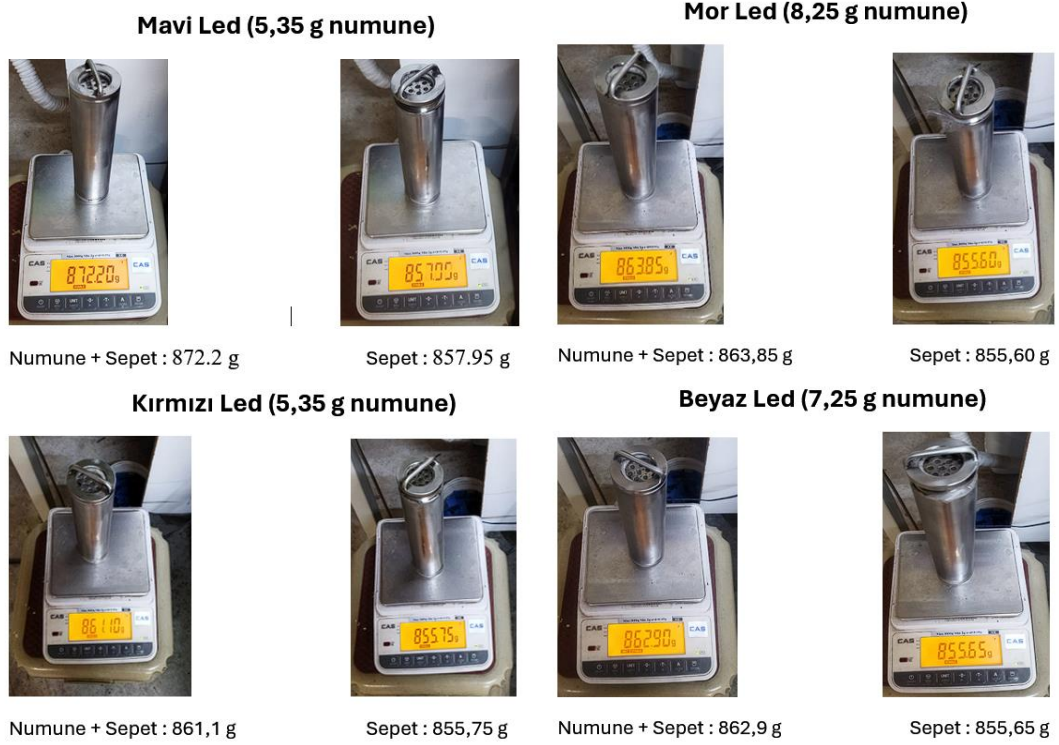


Şekil 3.6 Süperkritik CO₂ Ekstraktör Sistemi (SUPEREX F-500)

SK-CO₂ ekstraktör çalışma prosedürü: Yüksek basınca dayanıklı çelikten yapılmış ekstraktör kolonuna 15-20 g numune yerleştirilir. Ekstraktörün tabanına ve üstüne cam yünü konularak numune arasına yerleştirilir. Optimizasyon için 33 MPa basınç ve 40°C sıcaklıkta sonuçlar değerlendirilmiştir. Örnekteki biyoyararlı içeriklerin ekstraksiyonu için süre olarak 2 saat uygulanmıştır. Çalışma optimizasyonu için çözücülü ve çözücüsüz olmak üzere iki farklı sistem dizayn edilmiştir. Ön deneme sonuçları minimal çözücü kullanımının biyoaktif madde ekstraksiyon madde verimini artırdığı için nihai çalışmalarımızda %10 kosolvent etanol kullanılmıştır. CO₂ apolar bir çözücü olması sebebiyle genellikle yanında polar bir yardımcı çözücü (kosolvent) kullanılmaktadır. Gıda ve sağlık endüstrisinde kullanılması uygun olduğu için çözücü olarak etanol kullanılmıştır. Akış hızının düşük seçilmesinin nedeni ise CO₂'nin ekstraksiyon haznesinde *Wolffia* ile daha fazla temasını sağlamaktır. SK-CO₂ akışı 4 mL/dak. olarak ayarlanmıştır. Etanol akış hızı 0.2 mL/dak. olarak uygulanmıştır. SK-CO₂ ekstraksiyon koşulları, bazı modifikasyonlarla literatüre dayalı olarak uygulanmıştır. Bunun için bir ön çalışma planlanmıştır:

SK-CO₂ ekstraksiyon 1: 40°C, 34.5 MPa(345 bar), 2 saat, %10 etanol çözücülü

SK-CO₂ ekstraksiyon 2: 40°C, 33 MPa, 2 saat, çözücüsüz



Şekil 3.7 Ekstraksiyona Hazır Hale Getirilmiş Örneklerin İşlem Öncesi Tartımları

Çizelge 3.1 Ekstraksiyon Önce ve Sonrası Miktar Ölçüm Değerleri

Örnek	Mavi (g)	Beyaz (g)	Kırmızı (g)	(Mor) (g)
Ekstrakt öncesi	Metal sepet: 857.95	Metal sepet: 855,65	Metal sepet: 855,75	Metal sepet: 855,60
	Metal sepet+numune: 872.2	Metal sepet+numune: 862,9	Metal sepet+numune: 861,1	Metal sepet+numune: 863,85
	Numune: 14.25	Numune: 7,25	Numune: 5,35	Numune: 8,25
Ekstrakt sonrası	Dara: 13	Dara:12.85	Dara:12.9	Dara:12.95
	Dara+özüt: 13.082	Dara+özüt: 12.830	Dara+özüt: 12.944	Dara+özüt: 13.023
	Özüt: 0.082	Özüt: 0.02	Özüt: 0.044	Özüt: 0.073

Basınç, ekstraksiyon işleminin verimini ve seçiciliğini etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Basıncı sabit bir sıcaklıkta artırmak, çözünürlüğü artırır (Rovetto ve Aieta, 2017). Karğılı ve Aytaç (2022) yaptığı bir çalışmada, görece yüksek sıcaklıkta (60°C), ancak farklı basınçlarda (15MPa ve 33MPa), basıncın artmasıyla birlikte örnek çözünürlüğü artmış ve böylece verim %6.54'ten %8.44'e yükselmiştir. Yine daha düşük sıcaklıkta 40°C'de basıncın artmasıyla verim %6.90'dan %9.68'e yükseldiği gözlenmiştir. Sabit bir basınçta sıcaklık artırıldığında, SKA'nın yoğunluğu

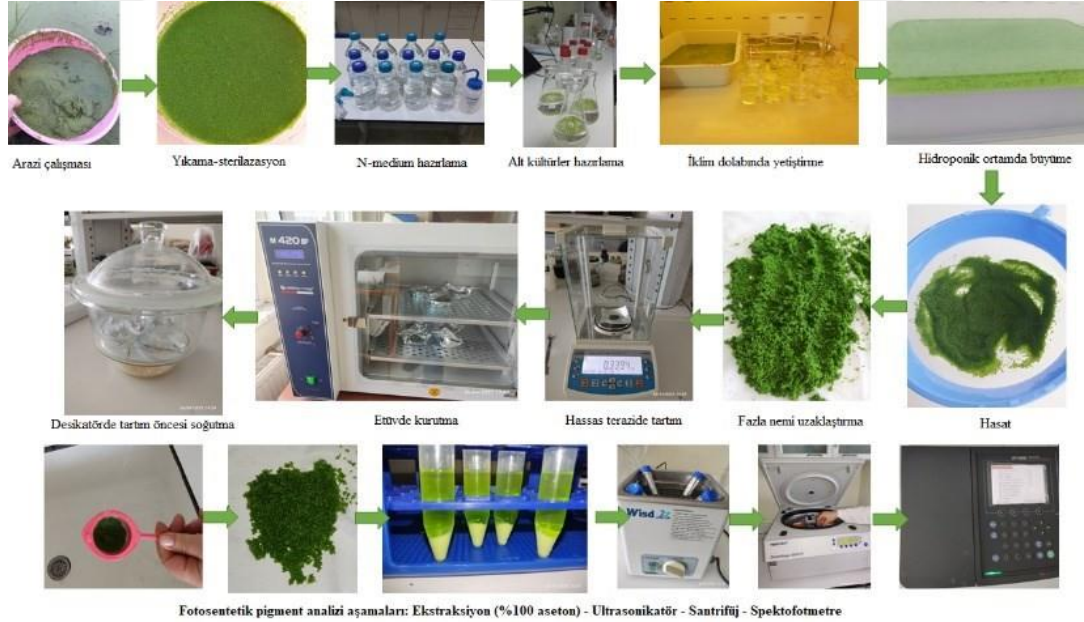
azalır ve çözünürlüğü artar (Perrotin-Brunel ve ark., 2010). Aynı çalışmada 33 MPa, 40°C, ağırlıkça %2.0 etanolle yapılan ekstraksiyonda en yüksek verimin %9.68 olduğu görülmüştür. Bu koşullarda SK-CO₂ yüksek ekstraksiyon basıncı nedeniyle iyi bir çözücü gücüne sahiptir. Ayrıca, çözücünün (etanolün) varlığı SK-CO₂ çözme gücünü artırır (Rovetto ve Aieta, 2017; Gallo-Molina ve ark., 2019).

3.2.8 Fotosentetik Pigment Analizi

Bitki dokusundaki pigmentlerin içeriklerinin araştırılması, bitkinin fotosentez kapasitesini değerlendirmede temel kriterdir. Bu çalışmada, *W. arrhiza*'nın klorofil *a* (kl *a*), klorofil *b* (kl *b*), toplam klorofil (kl *a+b*), ve toplam karotenoid (Kar *x+c* karotenoid=ksantofil+β karoten) içeriği aseton ekstraksiyonu yapıldıktan sonra spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Fotosentetik Pigment İçeriğinin Hesaplanmasında Kullanılan Formüller

Çözücü	Formül
Aseton (%100)	$Kl_a = 11.24 \times A_{661.6} - 2.04 \times A_{644.8}$
	$Kl_b = 20.13 \times A_{644.8} - 4.19 \times A_{661.6}$
	$Kl_{a+b} = 7.05 \times A_{661.6} + 18.09 \times A_{644.8}$
	$K_{x+c} = 1000 \times A_{470} - 1.90 \times Kl_a - 63.14 \times Kl_b / 214$



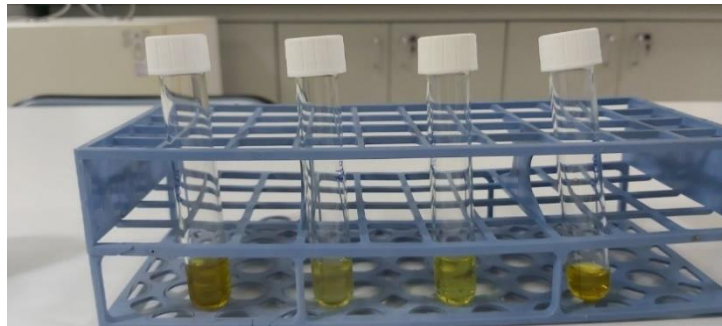
Şekil 3.8 Fotosentetik Pigment Analizi Aşamaları

Köksüz su mercimeği numunelerine (10 mg kuru örnek) 3 mL çözücü (saf aseton) eklenerek porselen havanda homojenize edilmiştir. Feofitin oluşumunu engellemek için ortama 100 mg MgCO₃ ilave edilmiştir. Ekstrakt 15 mL falkon tüpe

alınmış, havana 1.5 mL çözücü eklenerek havan ve havan topu yıkanarak tüpe aktarılmıştır. Son hacim çözücü ile 5 mL'ye tamamlanmıştır. Ekstraksiyonu daha etkili kılmak için kapaklı santrifüj tüplerine alınan numuneler oda sıcaklığında 15 dak. ultrasonik banyoda tutulmuştur. Numunelerin etrafı ışık almaması için alüminyum folyo ile sarılmıştır. Vorteksle karıştırılan numuneler 3000 devir/dak.'da, 10°C'de, 10 dak. santrifüjlenmiştir (Şekil 3.8) . Süpernatant kuvars spektrofotometre küvetlerine (3 mL, 1 cm) aktarılıp, aseton kör olarak okutulduktan sonra, Çizelge 3.2'de gösterilen denklemdaki dalga boylarında spektrofotometrede (UV-1800 SHIMADZU) çözeltilerin absorbans değerleri kaydedilmiştir. Safsızlıkları düzeltmek için 750 nm'de de ölçüm yapılmıştır. Emilim 0.2 ila 0.8 aralığında tutulmuştur (yoğunluk arttığında, örnek ekstraktlar ilgili çözücü ile seyreltilmelidir). Ölçülen absorbans değerlerinden $\mu\text{g/mL}$ cinsinden klorofil *a*, klorofil *b*, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarı Çizelge 3.2'deki eşitliklerden hesaplanmıştır (Lichtenthaler, 1987). Konsantrasyonu $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunan değerler, toplam kullanılan çözücü miktarı ile çarpılıp bitki dokusunun ağırlığına (mg) bölünerek klorofil miktarı $\mu\text{g/g}$ olarak da hesaplanmıştır.

3.2.9 Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Analizi

Farklı LED ışıklarda yetiştirilen ve SK-CO₂ ekstraksiyonu ile özütleri elde edilen *Wolffia* numunelerinin 2000 ppm'lik (2 mg/mL) hekzan çözeltileri hazırlanmıştır. Köksüz su mercimeğinin fitokimyasal bileşenlerini analiz etmek için gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS) kullanılmıştır. Kalitatif analizler Ordu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan Shimadzu GC-MS-QP2010 Ultra model cihazda yapılmıştır. Analiz sonucunda tespit edilen bileşenler NİST11 ve W9N11 kütüphanesi ile karşılaştırılarak tanımlanmıştır.



Şekil 3.9 GC-MS Analizi Yapılan *Wolffia* Numuneleri

Analiz MS dedektör (Mass Spektrometre Detector) ve Restek-Rtx-5 kolonda (30m x 0.25 mm x 0.25 µm) 60°C // 310°C kolon sıcaklığında gerçekleştirilmiştir (kolon akış hızı 2.12 mL/dak.). Basınç 100 kPA olarak ayarlanmıştır. Örnekler cihaza verilmeden önce kendi çözücüsü ile 1/10 oranında seyreltilmiştir. Otosempler cihaza 1 µL enjekte edilmiştir. Numunelerin değerlendirmesi % alan dağılımına göre kalitatif olarak yapılmıştır (benzerlik oranı min %65).

3.2.10 In Vitro Antioksidan Aktivite Analizleri

Köksüz su mercimeği *W. arrhiza*, farklı LED ışıklarda yetiştirilip hasat edildikten sonra liyofilizatörde kurutulmuş ve SK-CO₂ ekstraksiyonu ile özütler elde edilmiştir. SK-CO₂ ekstraksiyonu özütleri farklı LED ışıklarda yetiştirilen bitki numunelerinde farklı çıktığı için, en az özüt miktarına sahip beyaz LED özütlerine göre, 2.9 mg/mL olacak şekilde metanollü stok konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Bu stoklardan 1200 µL'lik (1.2 mL) çözeltiler hazırlanarak antioksidan aktivite analizleri yapılmıştır.

3.2.10.1 Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi

Ekstraktların toplam fenolik madde içeriği, antioksidan tespit çalışmalarında yaygın olarak kullanılan Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) metodu gıdaların antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde basit, tekrarlanabilir ve güvenilir bir yöntemdir. *W. arrhiza* numunelerinin metanolik ekstraktlarının toplam fenolik içeriği, Singleton ve Rossi (1965) tarafından geliştirilen metodun modifiye edilmesiyle, FCR'ye dayanan yöntemle göre belirlenmiştir. Fenolik maddeler, FCR'nin içerdiği fosfomolibdik-fosfotungistik çözeltilisini indirger ve bu indirgeyici özellikleri sayesinde mavi bir kompleks oluşur. Bu mavi renk, spektrofotometrik olarak ölçülür. Numunelerin toplam fenolik madde içerikleri, doğal bir antioksidan olan ve yaygın olarak kullanılan gallik asidin (GA) hazırlanan standart kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır. GA'nın 0.125 mg/mL'lik çözeltisi su içinde hazırlanmış ve uygun konsantrasyonlarda olacak şekilde (0.001-0.01 mg/mL) stok çözeltiden farklı hacimlerde alınarak deneme koşullarında gerçekleştirilen işlem sonucunda konsantrasyon-absorbans grafiği çizilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.

Pipetleme işlemi şu sırayla yapılmıştır: GA ya da numune üzerine metanol ilavesi yapılarak tüm tüplerdeki hacimler eşitlendikten (100 µL) sonra 1/10 (v/v) oranında FCR'den 600 µL ilave edilip karıştırılır ve 10 dakika inkübasyonun ardından

500 µL %2'lik Na₂CO₃ eklenir. Karışımlar, 1 saat süreyle oda sıcaklığında karanlıkta bekletildikten sonra absorbanslar 760 nm dalga boyunda, saf suya karşı spektrofotometrede okunur. Standart grafiğe ait grafik denklemi kullanılarak tüm numunelerin toplam fenolik madde miktarları, gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden mg GAE/g olarak hesaplanır.

3.2.10.2 Toplam Flavonoid Madde İçeriğinin Belirlenmesi

Köksüz su mercimeği ekstraktlarının flavonoid içeriği kuersetin eşdeğeri (QTE) olarak belirlenmiştir. Bu amaçla ekstraktların ve bir seri konsantrasyonda (0.002-0.02 mg/mL) olacak şekilde kuersetinin değişen hacimleri üzerine son hacimler eşit (100 µL) olacak şekilde etanol ilave edildikten sonra 30'ar µL %5'lik AlCl₃ ve NaNO₂ ilave edilmiş ve karıştırma işleminin ardından karışımlar 5 dak. bekletilmiştir. Süre sonunda her bir tüpe 200 µL 1 M NaOH eklenmiştir. Son hacmin 1200 µL olmasını sağlayacak kadar su ilavesini takiben ekstrakt ya da kuersetin içermeyecek şekilde hazırlanan tüpe karşı tüm tüp içeriklerinin absorbansları spektrofotometrede 510 nm'de okunmuştur. Kuersetinin farklı konsantrasyonları için okunan absorbans değerlerinden yararlanarak konsantrasyon-absorbans grafiği çizilmiştir. Ekstraktların flavonoid içerikleri bu grafiğin doğru denkleminden yararlanılarak kuersetin eşdeğeri olarak (mg QE/g ekstrakt) belirlenmiştir (Kim ve ark., 2003).

3.2.10.3 DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Serbest Radikali Süpürme Aktivitelerinin Belirlenmesi

Köksüz su mercimeği ekstraktlarının DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) serbest radikal temizleme aktivitesini incelemek amacıyla, taze olacak şekilde, çözeltinin 517 nm'deki absorbansının 1.0-1.2 arasında olmasına özen gösterilerek metanolik DPPH çözeltisi hazırlanmıştır. Bu radikal, herhangi bir antioksidan madde ile reaksiyona girdiği zaman indirgenme sonucu mor renk tonu azalmakta ve absorbansın düşüşüne sebep olmaktadır. Absorbsiyon gücü azalması, yakalanan elektron sayısı ile doğrudan bağlantılıdır. Mevcut amaca yönelik, antioksidan aktiviteyi incelemek istediğimiz ekstraktların 125 µg/mL'lik kısımlarının üzerine DPPH çözeltisi eklenmiş ve oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dak. bekletilmiştir. Süre sonunda UV spektrometrede 517 nm'de numunelerin absorbansı metanole karşı okunarak DPPH radikalini süpürme aktivitesi, yüzde olarak ifade edilecek şekilde, 3.9 eşitliğinden yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}})] \times 100 \quad (3.9)$$

Bu eşitlikte; A, absorbans; A_{kontrol} , numune içermeyecek, ancak aynı hacimde numune çözücüsü içerecek şekilde hazırlanan karışım; $A_{\text{örnek}}$, numune içerecek şekilde hazırlanan karışımı temsil etmektedir.

3.2.10.4 Fe^{+2} ile Şelat Oluşturma Aktivitelerinin Belirlenmesi

Wolffia numunelerinin süper kritik ekstraktlarının Fe^{+2} iyonları ile şelat oluşturma yeteneklerini değerlendirmek amacıyla, ferrozin- Fe^{+2} kompleks oluşumunu inhibe edebilme güçleri Dinis ve ark. (1994) tarafından kullanılan yöntemle araştırılmıştır. Bu amaçla ekstraktların 25 $\mu\text{g/mL}$ 'lik kısımları 2 μM $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinin 50 μL 'si ile karıştırılmıştır ve 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona tabi tutuldu. Daha sonra, karışıma 5 μM ferrozin ((3-(2-Piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazine-p,p'-disülfonik asit monosodium hidrat tuzu) çözeltisinden 100 μL ilave edilip 10 dakika daha inkübe edilmiştir. Karışımların absorbans değerleri, numune içermeyecek diğer tüm bileşenleri içerecek şekilde hazırlanan kör çözeltiye karşı 562 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Aynı işlem, şelatlayıcı olarak bilinen EDTA kullanılarak da tekrarlanmıştır ve elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Ferrozin- Fe^{+2} kompleksinin inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Metal şelatlama (\%)} = [(Abs_{\text{kontrol}} - Abs_{\text{örnek}}) / Abs_{\text{kontrol}}] \times 100 \quad (3.10)$$

3.2.11 İn vitro Antimikrobiyal Aktivite Analizleri

3.2.11.1 Test Organizmaları ve Besiyeri Ortamı

Antimikrobiyal analizler için çalışmamızda 2 Gram-pozitif bakteri (*Micrococcus luteus* NRRLB-1018, *Bacillus cereus* ATCC®10876) 3 Gram-negatif bakteri (*Citrobacter freundii* ATCC® 43864™, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* ATCC® 13883™ ve *Pseudomonas aeruginosa* NRRL B-2679) ve 1 maya mantarı (*Candida albicans* ATCC® 10231™) suşları kullanılmıştır. Kontrol için gentamicin antibiyotiği kullanılmıştır. Mikrobiyal analizler için Mueller Hinton (Merck 1.05437) agar besiyeri kullanılmıştır.

3.2.11.2 Agar Well Difüzyon Deneyi

SKE'den elde edilen *W. arrhiza* etanol ve metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir (Hudzicki, 2009). Bakteri suşları Muller Hinton Broth ortamına aşılanarak $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 'de 24 saat,

fungus suşları da Sabouraud Dextrose Broth ortamına aşılanarak $25\pm0,1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübe edilmiştir. Kullanılacak olan besiyerleri, çalışmaya başlamadan önce otoklavda sterilize edildikten sonra $45-50^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulduktan sonra, agar besiyerleri 90 mm çapındaki steril petri kutularına steril mezür ile 20 mL olacak şekilde dağıtılmıştır. Besiyerinin homojen dağılımı sağlanmıştır. Çalışmaya başlanmadan önce Biosan marka McFarland denstrometrisi ile besiyeri içerisindeki mikroorganizma yoğunlukları bakteriler için 0.5, funguslar için 1 değerinde ayarlanmıştır. Hazırlanan besiyerlerine hazır bakteri stoklarından 100 µL ilave edilerek steril eküvyon çubuklarla boşluk kalmayacak şekilde en az 3 farklı yöne yayma ekimi yapılmıştır. Bakteri ekimi yapılan besiyerlerin üzerine mikroptan arındırılmış koşullarda steril punch yardımıyla kuyucuklar açılmış ve kuyucuklara 30 µL ekstreler eklendikten sonra zon çaplarının etkilenmemesi için petriler hareketsiz bekletilmiştir. İnkübasyon, organizmanın optimum gelişim sıcaklığında (bakteriler için 37°C , funguslar için 25°C) gerçekleştirilmiştir. Bakteriler için 1 gün, funguslar için 2 gün sonra zon çapları kumpas ile ölçülmüştür (Yiğit, 2003). İki tekrarlı gerçekleştirilen çalışmada zon çaplarının aritmetik ortalaması alınarak standart antibiyotikle (inhibisyon zon çapları) karşılaştırıldı. 20 mm ve üstü inhibisyon zon çapı yüksek antimikrobiyal aktivite, 20-15 mm orta düzey antimikrobiyal aktivite, 15 mm'nin altı ise etkisiz olarak değerlendirilmiştir (Çil ve ark., 2021).

3.2.12 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 26.0 yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Veriler tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutulup, gruplar arasındaki farklar $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde Tukey testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 *W. arrhiza* Biyokimyasal Analizleri

4.1.1 Fotosentetik Pigment Analizi Sonuçları

Farklı LED ışıklar altında yetiştirilen *W. arrhiza*'nın fotosentetik pigment içeriği (klorofil *a*, klorofil *b*, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktar) analiz sonuçları Çizelge 4.1'de µg/mL olarak, Çizelge 4.2'de mg/g olarak verilmiştir.

Çizelge 4.1 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Fotosentetik Pigment İçeriği (µg/mL)

Numuneler	Klorofil <i>a</i>	Klorofil <i>b</i>	Toplam klorofil	Toplam karotenoid
Beyaz	0.73	1.3	2.03	0.46
Kırmızı	0.77	1.33	2.11	0.46
Mor	0.74	1.15	1.88	0.46
Mavi	0.75	0.99	1.74	0.46
Ort.	0.75	1.19	1.94	0.46

Çizelge 4.2 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Fotosentetik Pigment İçeriği (mg/g)

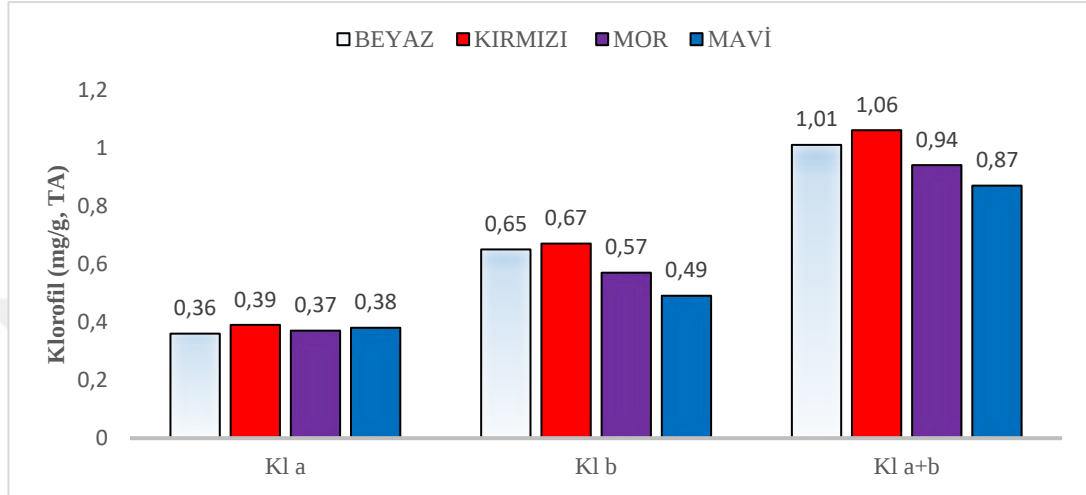
Numuneler	Klorofil <i>a</i>	Klorofil <i>b</i>	Toplam klorofil	Toplam karotenoid
Beyaz	0.36	0.65	1.01	0.23
Kırmızı	0.39	0.67	1.06	0.23
Mor	0.37	0.57	0.94	0.23
Mavi	0.38	0.49	0.87	0.23
Ort.	0.38	0.6	0.97	0.23

Farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*'nın klorofil *a* pigment içeriği Kırmızı > Mavi > Mor > Beyaz olarak kaydedilmiştir. Klorofil *b* pigment içeriği Kırmızı > Beyaz > Mor > Mavi şeklinde sıralanmıştır. Toplam klorofil içeriği Kırmızı > Beyaz > Mor > Mavi şeklinde kaydedilirken, toplam karotenoid içeriğinin dört farklı LED ışıkta yetiştirilen *W. arrhiza*'da eşit dağılım gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3'te *W. arrhiza*'nın fotosentetik pigmentlerinden klorofil *a*'nın klorofil *b*'ye, toplam klorofil miktarının toplam karotenoid değerlerine oranı gösterilmiştir. Kl-*a* / Kl-*b* oranı sırasıyla Mavi > Mor > Kırmızı > Beyaz olarak belirlenmiştir. Toplam klorofil miktarının toplam karotenoid değerlerine oranlaması yapıldığında Kırmızı > Beyaz > Mor > Mavi sıralaması oluşmuştur.

Çizelge 4.3 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Pigment Oranları (mg/g)

Numuneler	Kl a/Kl b	Kl a+b/Kar (x+c)
Beyaz	0.55	4.39
Kırmızı	0.58	4.61
Mor	0.65	4.09
Mavi	0.78	3.78



Şekil 4.1 Klorofil *a*, Klorofil *b* ve Toplam Klorofil (*a+b*) Değerlerini Gösteren Karşılaştırmalı Grafik

Çalışmamızda mavi ve mor LED ışıkla aydınlatmada klorofil *b* ve klorofil (*a+b*) değerleri kırmızı ve beyaz LED ışıkla aydınlatmaya göre daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum sağlam fotosentetik aygıtın, karanlığa adaptasyondan sonra P515 sinyalinin yavaş bozulması (yüksek membran bütünlüğü) ve aydınlatmadan sonra hızlı bozulması (yüksek ATP-sentaz aktivitesi) ile açıklanmıştır (Schreiber ve Klughammer, 2008; Zhang ve ark., 2014). Domates bitki yapraklarını mavi ve mor ışıkla aydınlatma, tilakoid lümeninin daha fazla asitlenmesine neden olmaktadır. Bu sebeple ATP-sentaz yoluyla lümeninden stromaya proton transfer hızı büyük ölçüde engellenmektedir (Yang ve ark., 2018).

Su mercimeğinde ışığa alışma sürecinde pigment konsantrasyonlarında değişiklikler meydana gelir. Spektrofotometrik olarak ölçülen toplam klorofil ve karotenoidler, ışık seviyesinden, tür özelliklerinden, kalıtımlarından ve habitat ışık ortamından etkilenmiştir (Smith ve ark., 2024).

PSII ve PSI'nin mavi ve mor ışık altındaki hasar derecesi, kırmızı ışık veya kırmızı-mavi ışık kombinasyonu altındakinden daha yüksektir. Mavi ve mor ışık, fotosentetik verimliliği önemli ölçüde azaltır (Yang ve ark., 2018). Çoğu bitki

türü için kırmızı radyasyon, elektromanyetik spektrumun en verimli şekilde emilen bölgesidir. Klorofil sentezine ve mahsul verimini kontrol eden faktörlerin düzenlenmesine katkıda bulunarak fotosentetik reaksiyonların çoğunu yönlendirmeye hizmet eder (Park ve Runkle, 2018). Kırmızı ışık genellikle bitkilerin büyüme hızı ve kuru ağırlık artışı ile ilişkilendirilir. Kırmızı ışık, bir bitkinin çiçeklenmeye geçişini geciktirebilir, hatta tamamen engelleyebilir ve biyokütlelerini önemli ölçüde artırmalarına olanak tanır (Tarakanov ve ark., 2012). Kırmızı ışığın belirli bitkilerin toplam biyokütlesini artırdığı kanıtlanmıştır (Lee ve ark., 2016; Pinho ve ark., 2017).

Bitkiler fotosentez sırasında ışık toplayan pigmentler aracılığıyla güneş radyasyonundan belirli dalga boylarını emer. Bu farklı ışık dalga boyları, stoma, kloroplast gelişimi, pigment içeriği, fotosistemlerin aktivitesi ve ilgili enzimi etkileyerek fotosentetik süreci doğrudan düzenleyebilir ve fotoreseptör aracılı sinyal yoluyla çok sayıda işlevsel kimyasalın üretimini ve metabolizmasını uyararak dolaylı olarak fotosentezi düzenleyebilir. Son araştırmalardaki böyle bir örnek, mavi ışık fotoreseptörünün fotosentezin geri bildirim düzenlemesini aracılık edebileceğini buldu (Chen ve ark., 2004; Petroutsos ve ark., 2016; Allorent ve Petroutsos, 2017).

Fotoperiyodik reaksiyonlar çoğunlukla ışık spektral bileşimine, özellikle de kırmızı ve uzak kırmızı ışığın oranına ve bitki fotoperiyodizminin düzenlenmesi için önemli olan spektrumdaki mavi ışığın oranına bağlıdır (Ito ve ark., 2014; Liao ve ark., 2014). Mavi ışık dalga boyu genellikle stomaların açılmasından sorumludur (Frechilla ve ark., 2000; Kinoshita ve ark., 2001).

Beyaz ışık ve yüksek PPFD altında bitki yetiştirirken, spektrumun yeşil kısmı yaprağın daha derinlerine ulaşır ve fotosentezi kırmızı veya mavi ışıktan bile daha güçlü bir şekilde artırır (Terashima ve ark., 2009).

Araştırmacılar, ışık yoğunluğu ve kalitesi hassas bir şekilde kontrol edilirse kırmızı ve mavi ışığın ürün üretimini en üst düzeye çıkarabileceğini bulmuşlardır (Jishi ve ark., 2016; Zheng ve Van Labeke, 2017). Mavi radyasyon, kırmızı kadar verimli bir şekilde emilmese de verimli fotosentetik reaksiyonların çoğunu yürütmek için kırmızı ile birlikte çalışır. Araştırmalar, mavi radyasyonun kırmızıyla eşleştirildiğinde fotosentez oranının arttığını göstermiştir (Snowden ve ark., 2016). Bitki büyümesinin

farklı aşamalarında belirli kırmızı ve mavi dalga boyları oranlarının optimal olduğu çıkarımı, birbiriyle örtüşen birçok çalışmayla kanıtlanmıştır (Nelson ve Bugbee, 2015; Snowden ve ark., 2016; Magagnini ve ark., 2018).

İnsanlar ve hayvanlar karotenoidleri sentezleme yeteneğinden yoksundur ve diyet alımı gereklidir. Bununla birlikte, karotenoidlerin emilimi ve genel metabolizması, karotenoidlerin sindirilebilirliğini ve biyoyararlanımını doğrudan etkileyen algerin morfolojik yapısı da dahil olmak üzere birçok faktörden etkilenebilir (Demarco ve ark., 2022).

Piotrowska ve ark. (2010b) *W. arrhiza*'yı Pb ve Cd gibi ağır metalleri kullanmak suretiyle kimyasal stres altında bırakarak yapmış oldukları çalışmada, fotosentetik mekanizmayı koruyan karotenoid seviyesinin arttığını rapor etmiştir. Klorofili korumada rol oynayan karotenoidler, serbest radikalleri söndürmek veya temizlemek ile hücreye, hücre zarına ve ağır metal tarafından indüklenen bitkinin ana genetik bileşimine verilen zararı azaltmak için antioksidan görevi de görür (Artetxe ve ark., 2002). Çalışmamızda karotenoid değerleri tüm ışık tiplerinde aynı sonuçları vermiş olup farklı LED ışıkların kimyasal stres faktörleri gibi karotenoid değerlerinde farklılaşmaya sebep olmadığı söylenebilir.

Aydınlatma sisteminin optimizasyonu, ışık formülünün oluşturulması ve ışık ortamı yönetim stratejisi, fotosentetik verimliliği en üst düzeye çıkararak biyokütle birikimini artırabilir ve fotosentetik ürünlerin birikimini büyük ölçüde artırabilir. Bu durum *W. arrhiza* gibi potansiyeli yüksek ürün verimliliği için önemlidir. Bu sonuçlar, LED aydınlatmanın farklı dalga boylarının ısı dağılımını, enerji dağılımını, döngüsel elektron transferini ve fotosentetik elektron taşıma zincirinin aktivitesini özel olarak düzenlediğini gösterir.

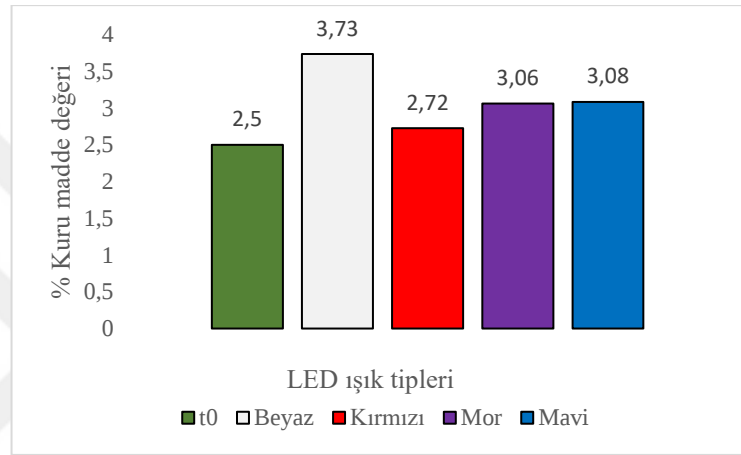
4.1.2 Nem Tayini, Kuru Madde ve Kül Analizi Sonuçları

Dört farklı LED ışıktaki yetiştirilen köksüz su mercimeğinin su içeriği ve kuru madde miktarı hesaplamalarına göre, % nem içerikleri sırasıyla Kırmızı > Mor > Mavi > Beyaz olarak belirlenmiştir (Şekil 4.2). % kuru madde miktarı ise sırasıyla Beyaz > Mavi > Mor > Kırmızı olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Yaş ve Kuru Ağırlık Ölçüm Sonuçlarına Dayalı Nem ve Kuru Madde Miktarı (%)

Numune	YA (g)	KA(g)	%Su (nem)	%Kuru madde
t0	1.00	0.03	97.5	2.5
Beyaz	1.82	0.07	96.27	3.73
Kırmızı	1.84	0.05	97.28	2.72
Mor	3.01	0.09	96.94	3.06
Mavi	2.98	0.09	96.92	3.08
Ort.	2.13	0.07	96.93	3.07

KA: Kuru ağırlık, YA: Yaş ağırlık

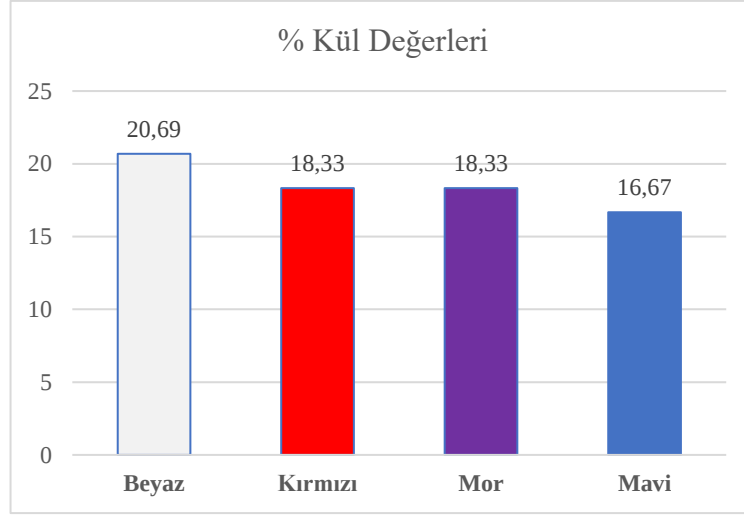


Şekil 4.2 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın % Kuru Madde İçeriğinin Değişimi

Çizelge 4.5'te farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*'nın % kül miktarı analiz sonuçları (550°C/3.5 saat) verilmiştir. Numunelerin % kül içerik sıralaması Beyaz > Kırmızı ≥ Mor > Mavi şeklinde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Kül Miktarı Analiz Sonuçları (%)

Numune Adı	Dara (g)	Dara + Numune (g)	Son Tartım (g) (Dara +Numune)	Kül Miktarı (%)
Beyaz	31.29	31.87	31.41	20.69
Kırmızı	25.77	26.37	25.88	18.33
Mor	24.06	24.66	24.17	18.33
Mavi	28.22	28.82	28.32	16.67



Şekil 4.3 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın % Kül İçeriğinin Değişimi

Hu ve ark. (2022) *W. arrhiza* üzerinde yapmış olduğu çalışmada, % nem içeriğini %95.18 olarak belirtmiştir, mevcut çalışmamızda ise % nem içeriği (kırmızı, mavi, mor, beyaz) ortalaması %96.93 çıkmıştır.

Su mercimekleri yüksek oranda su içerdiği için kuru madde verimi düşüktür, ancak bu durum yüksek büyüme oranı ile telafi edilmektedir. Çünkü su mercimeği biyomasının iki katına çıkma süreleri oldukça kısadır (Sree ve ark., 2015b).

Bitkinin su içeriğinin %95'ten fazla olduğu, yüksek su içeriğine sahip olması nedeniyle *Wolffia*'nın uzay çalışmalarında mürettebatın hem gıda hem de metabolik su ihtiyacını karşılamada destek olabileceği belirtilmiştir (Arslan Günal ve Taş, 2022).

Appenroth ve ark. (2017a) *W. microscopica* türünün kül oranını %16.5, Hu ve ark. (2022) *W. arrhiza*'nın kül oranını %11.93 olarak açıklamıştır. Çalışmamızda *W. arrhiza*'nın kül içeriği (kırmızı, mavi, mor, beyaz) ortalama değeri %18.50'dir. Kül analizi çalışma sonucumuz, inorganik madde içeriğinin yukarıda ifade edilen literatür çalışmalarından daha yüksek olmasını, daha fazla organik bileşen sentezlendiğinin göstergesidir. Farklı LED ışık etkisi *W. arrhiza*'nın metabolizması üzerinde etkili olmuş ve daha iyi fotosentez yapmasını sağlamıştır.

4.1.3 Bitki Büyüme Performansının İnceleme Sonuçları

Bir hafta süren deneme sonucunda farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*'nın yaş ve kuru ağırlıkları ile RGR ve RG değerleri Çizelge 4.6-4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.6 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın 7 Günlük (t7) Yaş ve Kuru Ağırlıkları (g)

7. gün YA ve KA verileri (gram ağırlık)										
	t0	Beyaz		Kırmızı		Mor		Mavi		
	YA	KA	YA	KA	YA	KA	YA	KA	YA	KA
1	1	0,025	1,909	0,064	1,815	0,051	2,890	0,086	3,115	0,094
2	1	0,025	1,930	0,077	1,755	0,050	3,011	0,093	3,054	0,096
3	1	0,025	1,625	0,064	1,940	0,051	3,116	0,098	2,780	0,086
Ort.	1	0,025	1,821	0,068	1,836	0,050	3,006	0,092	2,983	0,092
Std.sapma	0	0,000	0,171	0,007	0,094	0,001	0,113	0,006	0,178	0,005

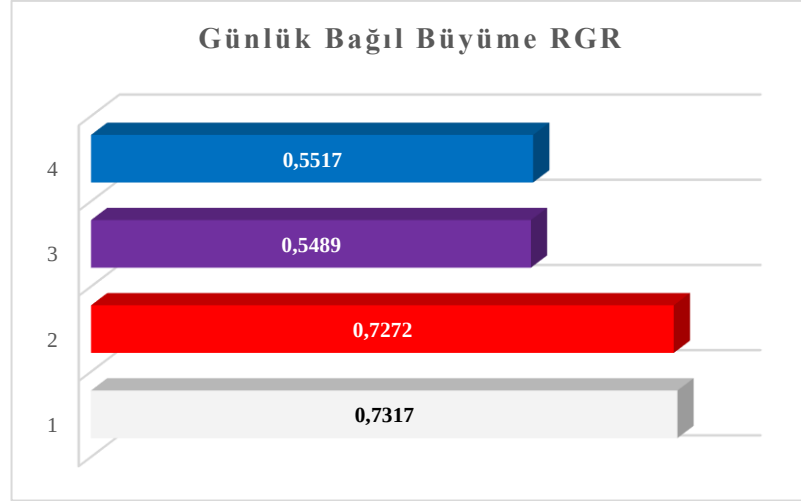
Çizelge 4.7 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Bağıl Büyüme Oranları (RGR) (gün⁻¹)

	YA	KA	YA	KA	YA	KA	YA	KA
Tekrar	Beyaz		Kırmızı		Mor		Mavi	
1	0,711	0,132	0,731	0,100	0,561	0,174	0,537	0,188
2	0,707	0,159	0,745	0,097	0,548	0,186	0,544	0,192
3	0,777	0,133	0,705	0,098	0,537	0,193	0,574	0,175
Ortalama	0,732	0,141	0,727	0,099	0,549	0,185	0,552	0,185
Std.sapma	0,039	0,016	0,020	0,001	0,012	0,010	0,020	0,009

Şekil 4.4 ve 4.5'te farklı LED ışıklarda köksüz su mercimeğinin bağıl büyümesindeki değişim görülmektedir. Çizelge 4.7 incelendiğinde Mor ve mavi LED ışıklar, beyaz ve kırmızı LED ışıklara göre daha yüksek büyüme oranları göstermektedir.

Tek Yönlü ANOVA testi ile yapılan değerlendirmelere göre YA için p-değeri < 0.001, KA için p-değeri < 0.001'dir. Her iki durumda da p-değeri 0.05'ten küçük olduğundan, farklı ışık renkleri arasında hem YA hem de KA için istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu söyleyebiliriz. Bu, ışık renginin *W. arrhiza*'nın büyümesi üzerinde önemli bir etkisi olduğunu gösterir.

Korelasyon analizi yapıldığında, YA büyüme oranı ile KA büyüme oranı arasında orta düzeyde negatif bir ilişki olduğu ortaya çıkmaktadır.



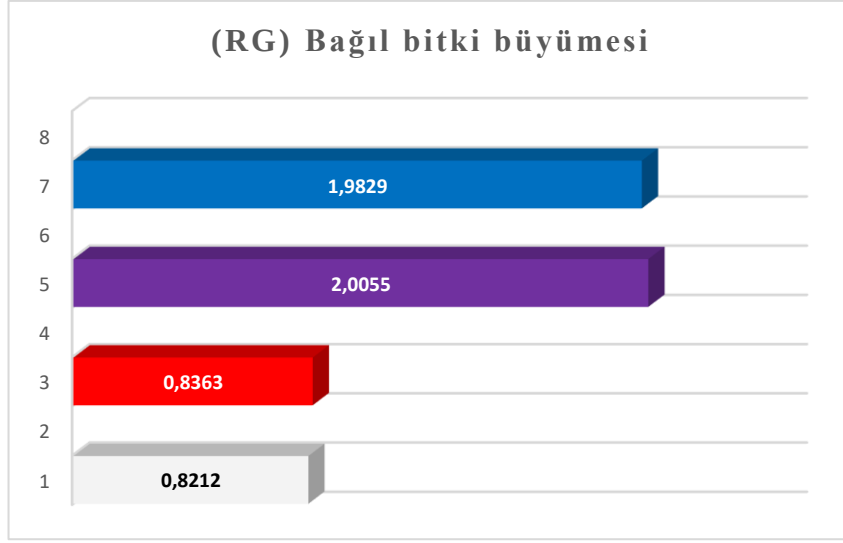
Şekil 4.4 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza* RGR Karşılaştırması

Çizelge 4.8 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın 1 Hafta Sonrasındaki Bağıl Bitki Büyümesi (RG)

Tekrar	(RG) Bağıl bitki büyümesi $RG = (N_t - N_0)/N_0$			
	Beyaz	Kırmızı	Mor	Mavi
1	0.909	0.815	1.890	2.115
2	0.930	0.755	2.011	2.054
3	0.625	0.940	2.116	1.780
Ort.	0.821	0.836	2.006	1.983
Std.sapma	0.171	0.094	0.113	0.178

En yüksek ortalama büyüme mor LED ışıktadır (2.006), en düşük ortalama büyüme beyaz LED ışıktadır (0.821) görülmektedir.

En yüksek standart sapma mavi LED ışıktadır (0.178), en düşük standart sapma kırmızı LED ışıktadır (0.094) görülmektedir. Bu veriler ışığında, mavi LED ışıktaki büyüme oranlarının daha değişken, kırmızı LED ışıktaki ise daha tutarlı olduğu söylenebilir.



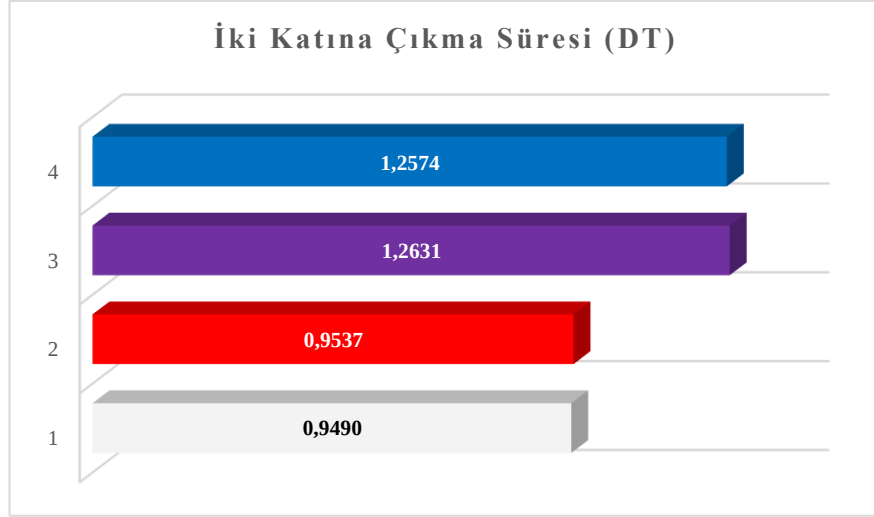
Şekil 4.5 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza* DT Karşılaştırması

Bu sonuçlar, farklı LED ışık renklerinin bitki büyümesi üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$, $p < 0.001$). Sonuç olarak, mor ve mavi LED ışıkların *W. arrhiza*'nın büyümesini daha fazla teşvik ettiği, beyaz ve kırmızı LED ışıkların ise mor ve naviden daha az etkili olduğu görülmektedir. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır.

Deney sürecinde köksüz su mercimeğinin ikiye katlanma (DT) süresi hesaplanmıştır (Çizelge 4.9). Şekil 4.6'da ise farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*'nın iki katına çıkma süresi (DT) değerlerinin değişimi görülmektedir.

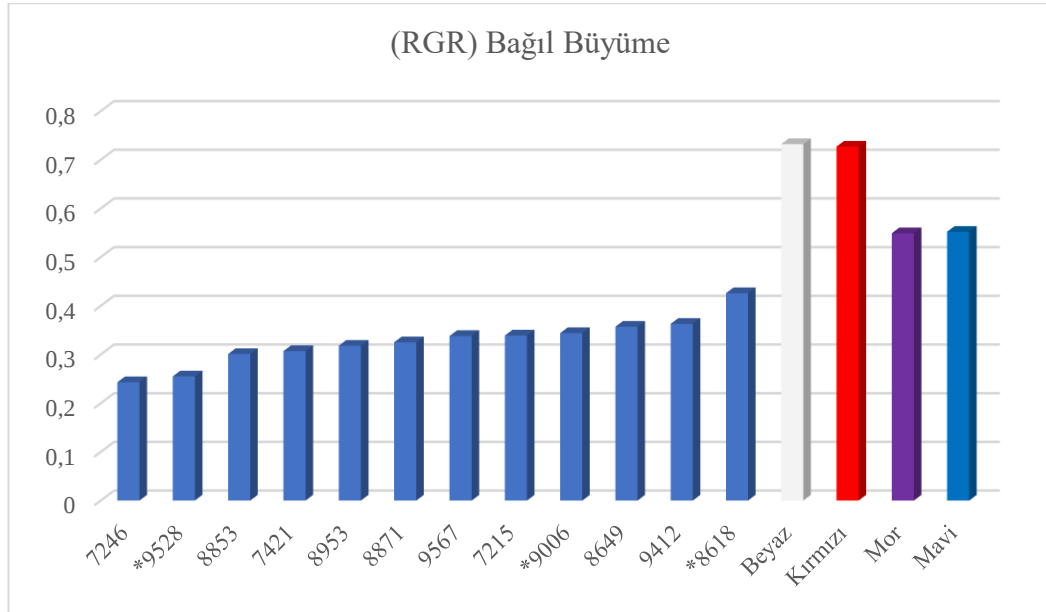
Çizelge 4.9 Farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*'nın iki katına çıkma süresi (gün) (DT)

	YA	KA	YA	KA	YA	KA	YA	KA
Tekrar	Beyaz		Kırmızı		Mor		Mavi	
1	0.974	5.255	0.948	6.941	1.235	3.973	1.290	3.685
2	0.980	4.354	0.930	7.123	1.265	3.725	1.275	3.619
3	0.892	5.224	0.983	7.040	1.290	3.585	1.207	3.963
Ortalama	0.949	4.944	0.954	7.035	1.263	3.761	1.257	3.756
Std. sapma	0.049	0.511	0.027	0.091	0.028	0.196	0.044	0.183



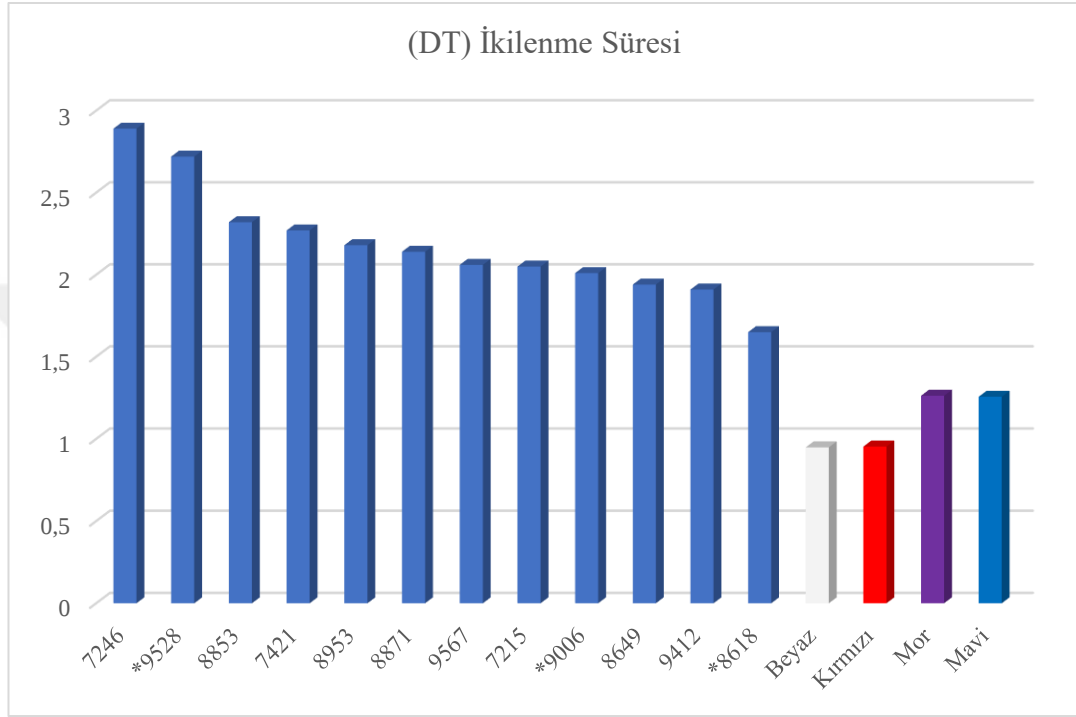
Şekil 4.6 Farklı LED Işıklarda Yetiştirilen *W. arrhiza* DT Değerlerinin Değişimi

W. arrhiza 'nın 3 klonu (8618, 9006, 9528) üzerinde yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada Ziegler ve ark. (2015a), RGR değerleri sırasıyla 0.426, 0.344, 0.255 gün⁻¹, 9 klonun karşılaştırıldığı başka bir çalışmada ise en yüksek RGR değeri 9412 klonunda 0.363 gün⁻¹, en düşük RGR değeri ise 7246 klonunda 0.243 gün⁻¹ olarak bildirilmiştir (Sree ve ark., 2015c). Mevcut çalışmamızda ise en düşük RGR değeri mor LED ışık kültüründe 0.549 gün⁻¹, en yüksek RGR değeri beyaz LED ışık kültüründe 0.732 gün⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.7 *Wolffia arrhiza* Klonları ile RGR Karşılaştırması

Güneş ışığının aksine, LED'ler gibi yapay ışık kaynakları genellikle kızıl ötesinden yoksundur (Kalaitzoglou ve ark., 2019). Mavi renkli bir protein pigmenti olan fitokrom, kırmızı dalga boyundaki ışıktaki aktif, kızılötesi ışıklarda ise inaktif formda bulunur. Dolayısıyla, *Wolffia*'nın sebze olarak üretimi hedefleniyorsa, hidroponik sistemlerde kırmızı LED ve beyaz LED ışık altında verim elde edilebilir.



Şekil 4.8 *Wolffia arrhiza* Klonları ile DT Karşılaştırması

İki katına çıkma süresi (gün) (DT) değerlendirildiğinde, *W. arrhiza*'nın yine 3 klonundaki (8618, 9006, 9528) değerler sırasıyla 1.65, 2.01, 2.72 olup (Ziegler ve ark. (2015a), diğer 9 klon arasındaki en yavaş büyüme DT değeri 7246 klonunda 2.89, en düşük DT değeri ise 9412 klonunda 1.65 olarak bildirilmiştir (Sree ve ark., 2015a). Mevcut çalışmamızda *W. arrhiza*'nın en yüksek DT değeri 1.263 ile mor LED ışık kültüründe, en düşük DT değeri ise 0.949 ile beyaz LED ışık kültüründe görülmüştür. Farklı ve tek tip LED ışıkla abiyotik stres koşulu altında yetiştirilen *W. arrhiza*'nın normal ışık şartları altında yetiştirilenlere göre %58 ile %35 arasında daha iyi büyüebildiği görülmektedir (Şekil 4.4, Şekil 4.5). Kontrollü koşullarda su mercimeği büyüme oranı ışık yoğunluğuna, türlere ve orijinal habitat ışık ortamına bağlıdır (Smith ve ark., 2024). Farklı ışık kalitelerinin su mercimeklerinin büyümesini ve fizyolojik özelliklerini etkilediği bildirilmiştir. Ultra yüksek frekanslı elektromanyetik

radasyonla ışınlama, büyüme hızını ve biyokütleyi artırırken, kızılötesi ışınlama *L. minor* kültüründeki yaprak sayısını artırmıştır (Ol'shanskaya ve ark., 2018).

Su mercimeği vejetatif çoğalma yoluyla sürekli olarak büyür ve iki katına çıkma oranı, örneğin biyokütlesini 1 ila 3 gün gibi kısa bir sürede ikiye katlaması açısından en hızlı büyüyen bitkiler arasında yer alır (Ziegler ve ark., 2015a). Bu nedenle su mercimeği, insanlı uzay programı için potansiyel bir mürettebat gıda takviyesi veya atık su arıtımı olarak ilgi görmüştür (Bluem ve Paris, 2001; Polyakov ve ark., 2010).

Enerji verimli bitkisel biyokütle üretimi, bitki biyokütlesinin (özellikle antioksidan vitaminler) zayıf mikro besin kalitesine mal olur, bunun tersi de geçerlidir. Bu değiş tokuş, maksimum bitki büyümesini desteklemek için yeterli olan büyüme ışığı yoğunluğunun (PPFD), temel nedenlerden dolayı yüksek vitamin/antioksidan seviyelerini tetiklemek için yeterli olmamasından kaynaklanmaktadır (Polutchko ve ark., 2015). Aşırı PPFD'ye maruz kalmak, bitkileri aşırı ışıktan kaynaklanan hasarı önleyen koruyucu antioksidanlar biriktirmeye teşvik eder. Bununla birlikte, bu kadar fazla PPFD'nin fotosentezi olumsuz etkileme potansiyeli vardır ve yukarıdaki tanıma göre, büyümeyi en üst düzeye çıkarmak için gerekenden daha fazla ışık girdisini temsil eder, bu da bitki üretkenliğinin ışık kullanım verimliliğini azaltır.

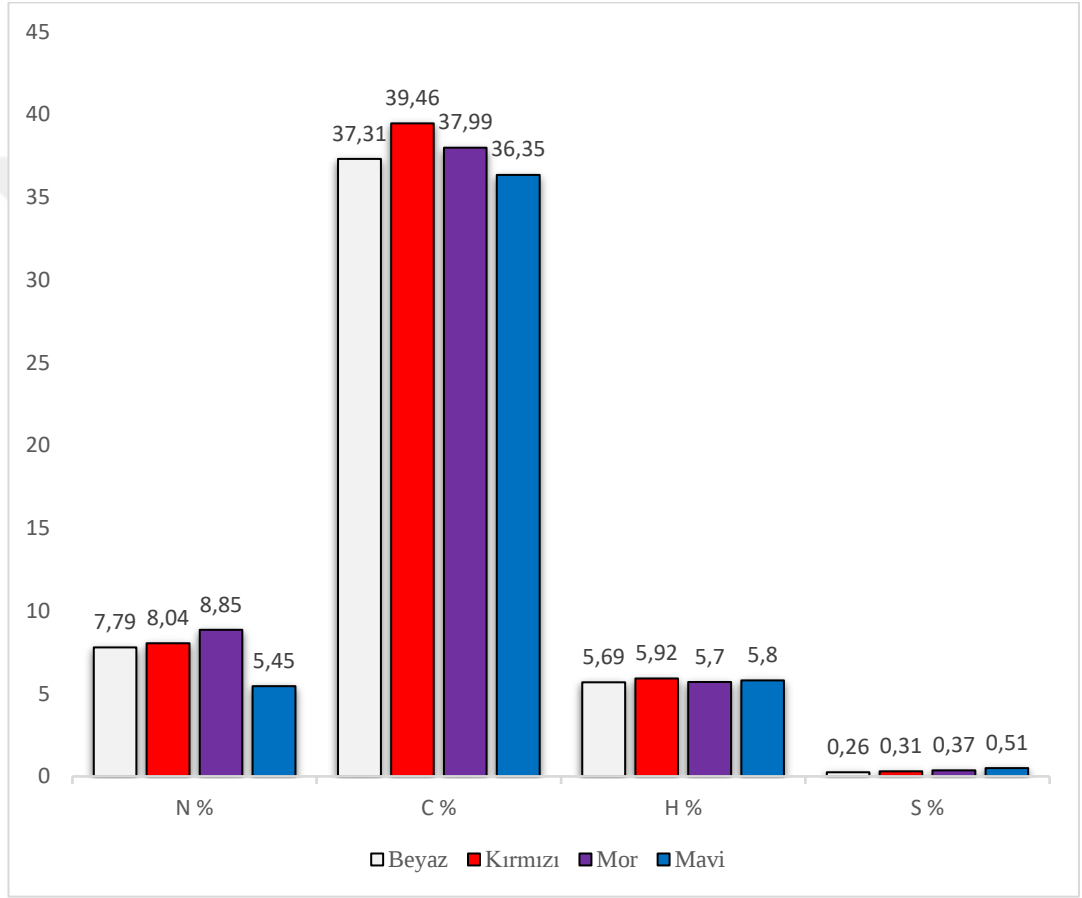
Ayrıca, çoğu bitki için, tek renkli ışıkla uzun vadeli büyüme, beyaz ışıkla karşılaştırıldığında üretkenliği azaltır ve PPFD düzeyi ne kadar yüksek olursa, fark da o kadar büyük olur. Bitkiler için en önemli spektral bantlar kırmızı ve mavidir (Berkovich ve ark., 2017).

4.1.4 Elementel Analiz Sonuçları

Elementel analiz cihazı ile yapılan element analizlerinde köksüz su mercimeği *W. arrhiza*'nın C, H, N ve S elementleri içeriği (%) incelenmiştir (Çizelge 4.10). Karbon (C) elementi en fazla %39.46 ile kırmızı LED kültüründe, sonra sırasıyla mor LED (%37.99), beyaz LED (%37.31) ve mavi LED (%36.35) kültürlerinde değerler okunmuştur. Hidrojen (H) elementi en fazla %5.92 ile kırmızı LED kültüründe, sonra sırasıyla mavi LED (%5.80), mor LED (%5.70) ve beyaz LED (%5.69) kültürlerinde kaydedilmiştir. Azot (N) elementi en fazla %8.85 ile mor LED kültüründe, sonra sırasıyla kırmızı LED (%8.04), beyaz LED (%7.79) ve mavi LED (%5.45)

kültürlerinde tespit edilmiştir. Sülfür (S) elementi ise en fazla %0.51 ile mavi LED kültüründe, sonra sırasıyla mor LED (%0.37), kırmızı LED (%0.31) ve beyaz LED (%0.26) kültürlerinde tespit edilmiştir.

Dört farklı LED ışıktaki yetiştirilen *W. arrhiza*'nın element içerikleri karşılaştırıldığında, N ve S içeriği mor ışıktaki, C ve H içeriği ise kırmızı ışıktaki en yüksek değerleri içerdiği görülmektedir (Şekil 4.9). Farklı LED ışıklarda yetiştirilen köksüz su mercimeğinin element içeriğindeki değişim Şekil 4.9'da görülmektedir.



Şekil 4.9 *Wolffia arrhiza*'nın Farklı LED Işıklarda Element İçeriğinin Değişimi

Çizelge 4.10 *Wolffia arrhiza*'nın N, C, H, S İçeriği (%)

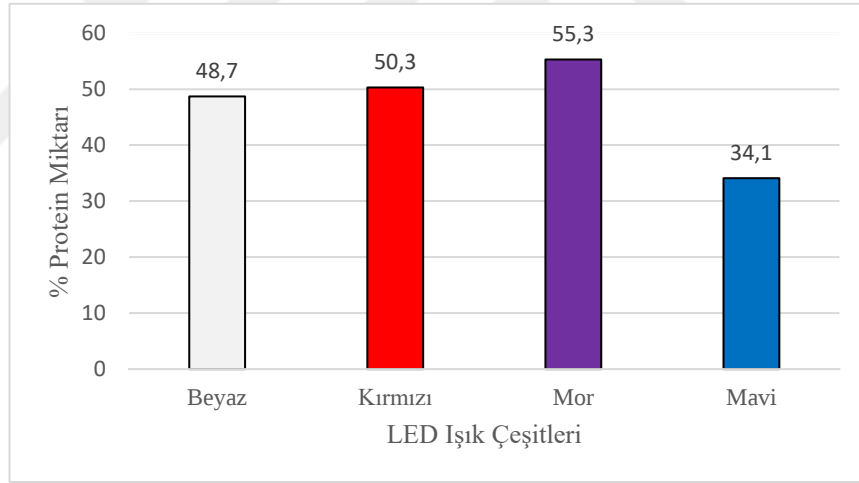
Numuneler	Ağırlık	N (%)	C (%)	H (%)	S (%)
Beyaz	1.0040	7.79	37.31	5.69	0.26
Kırmızı	1.1540	8.04	39.46	5.92	0.31
Mor	1.4120	8.85	37.99	5.70	0.37
Mavi	1.3800	5.45	36.35	5.80	0.51

4.1.5 Toplam Azot ve Protein Analiz Sonuçları

Farklı LED ışıklarda yetiştirilen köksüz su mercimeğinin kuru ağırlık bazında protein içeriği (% ham protein), %N değerinin 6.25 faktörü ile çarpılmasıyla ($N \times 6.25$) hesaplanmıştır (Çizelge 4.11). Hesaplamalar neticesinde %N ve % ham protein sıralaması Mor > Kırmızı > Beyaz > Mavi olarak tespit edilmiştir. Köksüz su mercimeğinin % protein içeriğindeki değişim Şekil 4.10'da görülmektedir. Bazı literatürlerdeki farklı katsayılar da değerlendirilerek protein içeriği hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 1.11 Farklı LED Işıktaki Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın % Azot ve Ham Protein Değer Karşılaştırması

Numuneler	% Azot	% Protein
Beyaz	7.79	48.7
Kırmızı	8.04	50.3
Mor	8.85	55.3
Mavi	5.45	34.1
Ort	7.53	47.1



Şekil 4.10 *W. arrhiza*'nın Farklı LED Işıklarda Ham Protein İçeriği

Çizelge 4.12 N-Protein Dönüşüm Faktörleri Kullanılarak Farklı LED Işıktaki Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Ham Protein İçeriği (%)

Işık kaynağı	Ham protein (%)					Ort.
	TN (%)	TN*6.25	TN*5.8	TN*5.6	TN*5	
Beyaz	7.79	48.7	45.2	43.6	39	44.1
Kırmızı	8.04	50.3	46.6	45	40.2	45.5
Mor	8.85	55.3	51.3	49.6	44.3	50.1
Mavi	5.45	34.1	31.6	30.5	27.3	30.9

TN: Dumas metoduyla analiz edilen toplam azot içeriği (organik, amonyum, nitrit ve nitrat azotu) (TN*6.25: Kjeldahl katsayısı (Kjeldahl, 1883), TN*5.8: (Nieuwland ve ark., 2021), TN*5.6: (Mariotti ve ark., 2008), TN*5: (Angell ve ark., 2016).

Su mercimeklerinin protein kaynağı olarak potansiyelini doğru bir şekilde değerlendirmek için güvenilir kantitatif yöntemlere ihtiyaç vardır. Protein analizi genellikle %N değerinin 6.25'lik dönüşüm faktörü olarak katsayı ile çarpılmasıyla hesaplanmaktadır (Kjeldahl azotu (Kj-N) yöntemi). Ayrıca, doğrudan ekstraksiyon yoluyla da protein analizleri gerçekleştirilebilmektedir, ancak Kjeldahl yöntemi yaygın olarak tercih edilmektedir (Taş ve Şengüllendi, 2023).

Köksüz su mercimeği (*W. arrhiza*) için Kj-faktörü olarak 5.7–5.8 arasında bir değer önerilmektedir (Nieuwland ve ark., 2021). Çizelge 4.11'de görüldüğü gibi, bu değerler kullanıldığında, % protein miktarı Kj-N faktörüne göre daha düşük çıkmaktadır. *W. arrhiza*'nın % protein içeriği sıralaması Mor > Kırmızı > Beyaz > Mavi şeklindedir. Bitkinin yetiştiği koşullar, genetik varyasyonlar ve diğer faktörler, Kjeldahl faktörü değerini etkileyebilir. Bu nedenle, protein hesaplamaları yapılırken doğru Kjeldahl faktörünü kullanmak için uygun literatür kaynaklarına başvurulmalıdır (Taş ve Şengüllendi, 2023).

Taş ve Şengüllendi (2023) tarafından yapılan bir çalışmada, doğal ortamda yetişen *W. arrhiza*'nın toplam azot (TN) içeriğinin kırmızı LED ışık altında %318.8, mavi LED ışık altında %262.5 ve mor LED ışık altında %243.8 oranında arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca, LED ışıklara kıyasla beyaz floresan ışık altında yetiştirilen *W. arrhiza*'nın TN içeriğinin daha az olduğunu, ancak yine de doğal ortamdakinden %162.5 oranında daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada doğal, floresan, kırmızı, mavi, mor LED ışıktaki yetiştirilen örneklerin % protein değerleri sırasıyla %10, %24, %41.6, %36.1, %34 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda ise Çizelge 4.11 görüldüğü gibi beyaz, kırmızı, mavi ve mor LED ışıklarda yetişen *W. arrhiza*'nın % protein içeriği sırasıyla %48.7, %50.3, %55.3 ve %34.1 olarak hesaplanmıştır. Açıkça görülmektedir ki çalışmamızda uzun süre boyunca LED ışık altında yetiştirilerek abiyotik strese tutulan *W. arrhiza*'nın protein içeriği özellikle kırmızı LED etkisi altında %21, mavi LED etkisi altında %53.2 kadar daha artmıştır. Besin içeriğinin araştırıldığı bir çalışmada, kimyasal bileşimin ve protein içeriğinin tür ve büyüme koşullarından etkilenebileceği ifade edilmiştir. Su mercimeği protein içeriğinin, farklı su mercimeği türlerinin ve klonlarının yetiştirme koşullarının optimize edilmesiyle, kuru ağırlığın %40'ına yakına ulaşmasıyla kolayca manipüle edilebileceği belirtilmektedir (Yu ve ark., 2011).

Farklı su mercimeklerinin % ham protein miktarları üzerine yapılmış çalışmalar Çizelge 4.13'te karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.13 Farklı Su Mercimeği Türlerinde % Ham Protein Miktarları

Su mercimeği	Protein (%)	Literatür
<i>Wolffia arrhiza</i>	50.89	Hu ve ark. (2022)
<i>Wolffia globosa</i>	27.41	Akkarajeerawat ve ark. (2024)
<i>Wolffia columbiana</i>	36.5	Rusoff ve ark. (1980)
<i>Lemna minor</i>	45.0	Nasseri ve ark. (2011)
<i>Lemna gibba</i>	35.0	Appenroth ve ark. (2017)
<i>Lemna gibba</i>	25.2	Rusoff ve ark. (1980)
<i>Spirodela polyrhiza</i>	29.1	Rusoff ve ark. (1980)
<i>Spirodela punctata</i>	28.7	Rusoff ve ark. (1980)
<i>W. arrhiza</i> (Mor LED)	55.3	Mevcut Çalışma
<i>W. arrhiza</i> (Kırmızı LED)	50.3	Mevcut Çalışma
<i>W. arrhiza</i> (Beyaz LED)	48.7	Mevcut Çalışma
<i>W. arrhiza</i> (Mavi LED)	34.1	Mevcut Çalışma

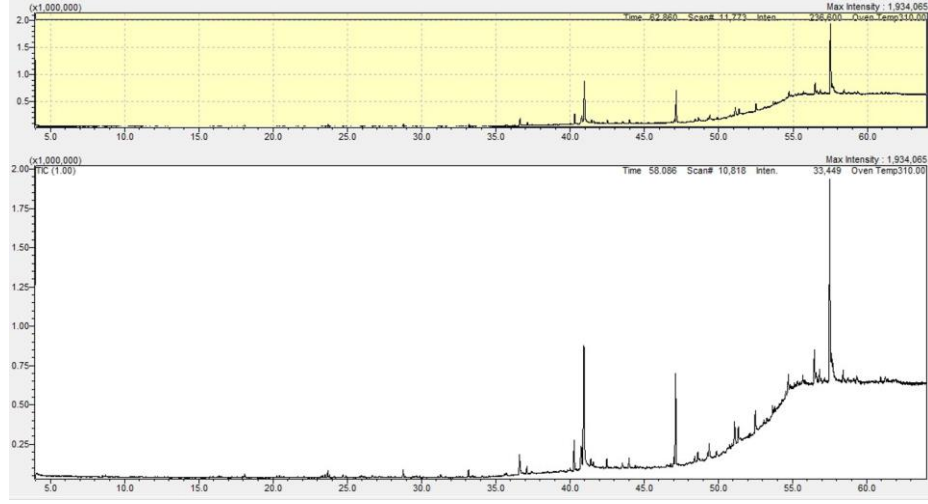
Hu ve ark. (2022) *W. arrhiza* için ham protein oranını %50.89 olarak belirlemişlerdir. Bir tarım çiftliğinde yetiştirilmiş *W. globosa*'nın ham protein oranının %27.41 olduğu ifade edilmiştir (Akkarajeerawat ve ark., 2024). Başka bir su mercimeği türü olan *Lemna minor*'un kuru ağırlık bazında %45'e kadar protein seviyesine sahip olduğu belirtilmiştir (Nasseri ve ark., 2011). *Lemna sp.*'de protein içeriği %20 ila %35 arasında değişmektedir (Çizelge 4.13). Bununla birlikte *Lemna gibba*'da %35'e kadar (Appenroth ve ark., 2017a), *L. gibba*, *S. polyrhiza* ve *Wolffia* için sırasıyla %25.2, %29.1 ve %36.5 protein içeriği rapor edilmiştir (Rusoff ve ark., 1980). Yüksek protein içeriği ve yeterli düzeyde esansiyel amino asitler ve vitaminler nedeniyle su mercimeği türleri, alternatif protein üretimi için bitki bazlı cazip bir seçenektir. Su mercimekleri, özellikle köksüz su mercimeği, veganlar ve vejetaryenlerin yanı sıra herkesin doğrudan tüketebileceği fonksiyonel özelliklere sahiptir. Su mercimekleri içinde köksüz su mercimeği *W. arrhiza* protein içeriğiyle değerli bir üründür. LED aydınlatma sistemleri ile de su mercimeği protein içeriğinin arttırılabileceği mevcut çalışma ile gösterilmiştir. Mor LED aydınlatma ile *W. arrhiza*'da en yüksek değerde ham protein içeriği elde edilmiştir (%55.3). Bu değer su mercimeği türleri arasında en yüksek değerdir.

4.1.6 Fitokimyasal İçerik Analizi (GC-MS)

Köksüz su mercimeği *W. arrhiza*'nın SK-CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen kuru özütlerinin hekzan ile hazırlanan solüsyonunda yapılan GC-MS analizi sonucunda, 43 farklı biyoaktif fitobileşen tanımlanmıştır. Bitkide steroidler, flavonoidler, terpenoidler, yağ asitleri ve farklı ester bileşik türleri dahil olmak üzere çeşitli bileşiğin varlığı ortaya çıkarılmıştır. GC-MS analizleri sonucunda, farklı LED ışık etkisi altında yetiştirilen *W. arrhiza*'nın beyaz, kırmızı, mor ve mavi LED'de sırasıyla 22, 37, 35 ve 43 adet biyoaktif madde içerdiği tespit edilmiştir. Elde edilen fitokimyasalların listesi Çizelge 4.14-4.17'de verilmiştir. En az biyoaktif madde beyaz LED ışıkta yetiştirilen kültürde tespit edilmiştir. Bu kültürde üç biyoaktif madde bağıl % olarak dikkat çekmektedir (≥ 5). En yüksek % alana sahip madde **%33.9** ile Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)- olarak belirlenmiştir. Bu maddeden sonra **%19.7** oranında Cyclododecyne ve **%11.8** oranında Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl- maddeleri tespit edilmiştir.

Çizelge 4.14 Beyaz LED Işıktaki Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Fitokomponentleri

Pik No	Alınma Zamanı (Dk)	Bağıl Oran (%)	Bileşen İsmi
1	36.62	2.7	n-Hexadecanoic acid
2	40.30	3.7	9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)-
3	40.78	3.7	9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z,Z)-
4	40.96	19.7	Cyclododecyne
5	41.42	0.9	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
6	41.59	0.5	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-
7	42.50	0.8	Eicosyl trifluoroacetate
8	43.54	0.6	2-Nonadecanone, O-methyloxime
9	47.13	11.8	Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl-
10	48.42	0.8	Pentacosane
11	48.64	0.9	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester
12	49.39	1.7	Benzeneethanamine, N-[(pentafluorophenyl)methylene] -.beta.,3,4-tris [(trimethylsilyl)oxy]-
13	51.11	3.8	Adenin, 3-(p-florobenzil)-
14	51.36	1.3	Docosanedioic acid, dimethyl ester
15	52.50	2.1	Docosa-2,6,10,14,18-pentaen-22-al, 2,6,10,15,18-pentamethyl-, all-trans
16	54.73	1.9	2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-heptadeca-3,7,11,15-tetraenyl)-cyclohexanol
17	58.42	1.0	9-O-Pivaloyl-N-acetylcolchinol
18	56.62	1.2	Ergostanol
19	56.83	1.2	22,23-Dibromostigmaterol acetate
20	57.51	33.9	Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate],(3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)-
21	57.65	3.7	Pregnane-3,17,20-triol, cyclic 17,20-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.beta.,20S)-
22	57.74	1.9	Fucosterol



Şekil 4.11 *W. arrhiza* (Beyaz LED) kültürünün kromatogramı.

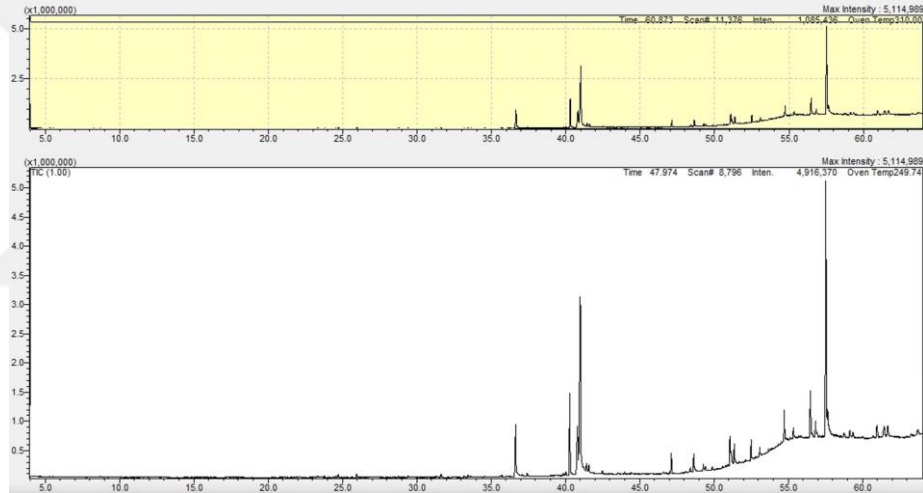
Kırmızı LED ışıktaki yetiştirilen kültürde 5 biyoaktif madde bağıl % olarak dikkat çekmektedir (≥ 5). *W. arrhiza*'nın kırmızı ışık ekstresinde en yüksek % alana sahip maddeler sırasıyla **%30.2** Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S), **%25.4** Cyclododecyne, **%6.9** 9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)-Cyclopropane, **%6.6** 9,12-Octadecadienoyl chloride ve **%5.8** n-Hexadecanoic acid maddeleridir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15 Kırmızı LED Işıktaki Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Fitokomponentleri

Pik No	Ablonma Zamanı (dak)	Bağıl Oran (%)	BİLEŞEN İSMİ
1	23.34	0.1	3-Buten-2-one, 4-(2,5,5-trimethyl-3-oxatricyclo [5.1.0.0(2,4)]oct-4-yl)-, [1.alpha.,2.alpha.,4.alpha.(E),7.alpha.]
2	23.81	0.1	4-Amino-5-methyl-2(1H)-pyrimidinethione
3	24.56	0.1	1,8(2H,5H)-Naphthalenedione, hexahydro-8a-methyl-, cis-
4	24.72	0.2	Pyrazol-5(4H)-one, 1-acetyl-4-allyl-3-methyl-
5	25.96	0.3	Cyclohexyl propylphosphonofluoridate
6	31.64	0.3	2,5,5,8a-Tetramethyl-4-methylene-6,7,8,8a-tetrahydro-4H,5H-chromen-4a-yl hydroperoxide
7	33.45	0.2	Dichloroacetic acid, undec-2-enyl ester
8	33.63	0.1	Heptadecyl heptafluorobutyrate
9	36.66	5.8	n-Hexadecanoic acid
10	37.44	0.2	Hexadecanoic acid, ethyl ester
11	39.87	0.2	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester
12	40.03	0.3	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-
13	40.30	6.9	9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)-
14	40.82	6.6	9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z,Z)-
15	41.01	25.4	Cyclododecyne
16	41.43	0.6	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
17	41.59	0.6	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-
18	42.50	0.2	Bacteriochlorophyll-c-stearyl
19	47.13	1.7	Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl-
20	48.42	0.4	Pentacosane
21	48.64	1.3	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester
22	49.28	0.4	Phthalic acid, di(6-methylhept-2-yl) ester

Çizelge 4.15 Kırmızı LED Işıktaki Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Fitokomponentleri (devamı)

Pik No	Alıkonma Zamanı (dak)	Bağlı Oran (%)	BİLEŞEN İSMİ
23	49.42	0.3	Cyclohexyl methylphosphonothionofluoridate
24	49.89	0.2	Hexacosane
25	51.10	3.6	Heptacosane
26	51.17	1.1	Linolenic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester (Z,Z,Z)-
27	51.37	1.2	Docosanedioic acid, dimethyl ester
28	52.51	1.2	Docosa-2,6,10,14,18-pentaen-22-al, 2,6,10,15,18-pentamethyl-, all-trans
29	53.08	0.5	Nonacosane
30	54.74	2.1	3-O-Acetyl-6-methoxy-cycloartenol
31	55.35	0.8	dl-.alpha.-Tocopherol
32	61.45	1.4	Trihexadecyl borate
33	56.84	1.2	22,23-Dibromostigmasterol acetate
34	57.53	29.6	Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate],(3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)-
35	57.66	3.0	(-)-(2S,8Ar)-(camphorsulfonyl)oxaziridine
36	59.15	0.6	Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-, 3-phenyl-2-propenoate
37	60.97	1.4	2,3-5,6-Bis(1,5-octanediyl)-2,5-dibora-1,4-dioxane

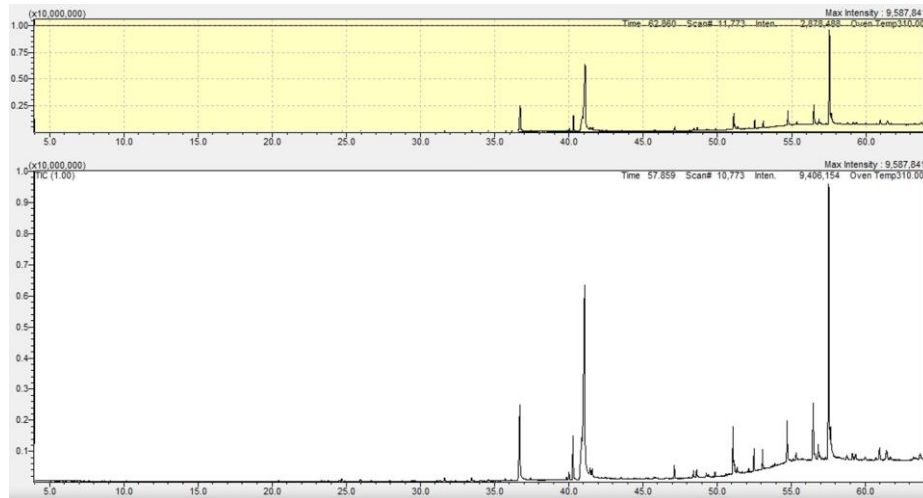


Şekil 4.12 *W. arrhiza* (Kırmızı LED) Kültürünün Kromatogramı

Mor LED ışık kültüründe 4 biyoaktif madde bağlı % olarak dikkat çekmektedir (≥ 5). *W. arrhiza*'nın mor ışık ekstresinde en yüksek % alana sahip fitokimyasallar sırasıyla **%31.2** Cyclododecyne, **%27.5** Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S), **%7.8** n-Hexadecanoic acid ve **%6** oranında 5-Nonadecen-1-ol'dür (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16 Mor LED Işıktaki Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Fitokomponentleri

Pik No	Alıkonma Zamanı (Dk)	Bağıl Oran (%)	BİLEŞEN İSMİ
1	24.72	0.1	Pyrazol-5(4H)-one, 1-acetyl-4-allyl-3-methyl-
2	31.64	0.2	2,5,5,8a-Tetramethyl-4-methylene-6,7,8,8a-tetrahydro-4H,5H-chromen-4a-yl hydroperoxide
3	36.71	7.8	n-Hexadecanoic acid
4	37.43	0.1	Hexadecanoic acid, ethyl ester
5	39.87	0.2	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester
6	40.03	0.5	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-
7	40.30	2.9	9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)-
8	40.90	6.0	5-Nonadecen-1-ol
9	41.09	31.2	Cyclododecyne
10	41.45	1.0	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
11	41.60	0.7	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-
12	47.13	0.9	Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl-
13	48.42	0.4	Pentacosane
14	48.64	0.5	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethyl ester
15	49.28	0.2	Phthalic acid, di(6-methylhept-2-yl) ester
16	49.88	0.3	Hexacosane
17	51.10	3.4	Heptacosane
18	51.17	0.8	Cyclododecyne
19	51.37	0.3	Docosanedioic acid, dimethyl ester
20	52.15	0.2	Octacosane
21	52.51	1.2	Docosa-2,6,10,14,18-pentaen-22-al, 2,6,10,15,18-pentamethyl-, all-trans
22	53.08	1.0	Nonacosane
23	54.74	2.7	3-O-Acetyl-6-methoxy-cycloartenol
24	55.36	0.6	dl-.alpha.-Tocopherol
25	63.72	0.6	Hexatriacontyl pentafluoropropionate
26	56.62	0.4	Epiergostanol
27	56.84	0.9	22,23-Dibromostigmasterol acetate
28	57.55	27.5	Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate],(3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)-
29	57.67	3.9	(-)-(2S,8Ar)-(camphorsulfonyl)oxaziridine
30	58.75	0.4	25-Nor-9,19-cyclolanostan-24-one, 3-acetoxy-24-phenyl-
31	59.15	0.6	Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-, 3-phenyl-2-propenoate
32	59.35	0.6	Pregnane-3,11,17,20-tetrol, cyclic 17,20-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.beta.,11.beta.,20R)-
33	60.01	0.3	Fumaric acid, di(tetradec-3-enyl) ester
34	60.97	1.2	2,3-5,6-Bis(1,5-octanediy)l-2,5-dibora-1,4-dioxane
35	61.45	1.3	Trihexadecyl borate

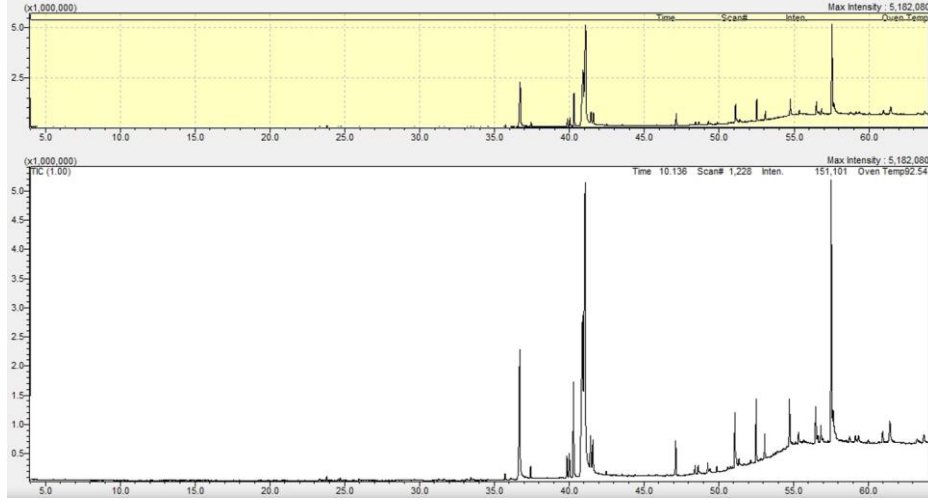


Şekil 4.13 *W. arrhiza* (Mor LED) Kültürünün Kromatogramı

Mavi LED ışıktaki yetiştirilen kültürde 4 biyoaktif madde bağıl % (≥ 5) olarak dikkat çekmektedir. *W. arrhiza*'nın mavi ışık ekstrelerinde en yüksek % alana sahip maddeler sırasıyla **%27.8** Cyclododecyne, **%16.4** 5-Nonadecen-1-ol, **%15.3** Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl) boronate], (3.alpha., 5.alpha., 11.beta., 20S) ve **%8.9** n-Hexadecanoic acid maddeleridir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17 Mavi LED Işıktaki Yetiştirilen *W. arrhiza*'nın Fitokomponentleri

Pik No	Alıkonma Zamanı (Dk)	Bağıl Oran (%)	BİLEŞEN İSMİ
1	23.81	0.2	4-Amino-5-methyl-2(1H)-pyrimidinethione
2	24.72	0.1	Pyrazol-5(4H)-one. 1-acetyl-4-allyl-3-methyl-
3	35.73	0.2	Hexadecanoic acid, 15-methyl-, methyl ester
4	36.71	8.9	n-Hexadecanoic acid
5	37.44	0.5	Hexadecanoic acid, ethyl ester
6	39.87	0.9	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester
7	40.03	1.1	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-
8	40.30	4.4	9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)
9	40.91	16.4	5-Nonadecen-1-ol
10	41.09	27.8	Cyclododecyne
11	41.44	2.1	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-
12	41.60	1.6	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-
13	42.50	0.2	Acetic acid, chloro-, hexadecyl ester
14	43.55	0.1	2-Nonadecanone, O-methylxime
15	47.13	1.5	Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl-
16	48.42	0.3	Pentacosane
17	48.64	0.3	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester
18	49.28	0.4	Phthalic acid, di(6-methylhept-2-yl) ester
19	49.41	0.2	Cyclohexyl methylphosphonothionofluoridate
20	49.88	0.2	Hexacosane
21	50.62	0.1	3-n-Butylthiophene-1,1-dioxide
22	51.09	2.8	Heptacosane
23	51.17	0.4	Cyclododecyne
24	51.36	0.3	Docosanedioic acid, dimethyl ester
25	52.15	0.1	Octacosane
26	52.51	2.1	Docosa-2,6,10,14,18-pentaen-22-al, 2,6,10,15,18-pentamethyl-, all-trans
27	53.08	0.8	Nonacosane
28	54.75	2.1	2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-heptadeca-3,7,11,15-tetraenyl)-cyclohexanol
29	55.35	0.6	dl-.alpha.-Tocopherol
30	63.72	0.5	Hexatriacontyl pentafluoropropionate
31	56.63	0.4	Tritriacontane
32	56.84	0.9	22,23-Dibromostigmastanol acetate
33	63.25	0.2	Z,Z-6,27-Hexatriacontadien-2-one
34	57.53	15.3	Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha., 5.alpha., 11.beta., 20S)
35	57.66	1.7	(-)-(2S,8Ar)-(camphorsulfonyl)oxaziridine
36	57.74	0.7	22,23-CYCLOPROPANE-CHOLESTEROL
37	57.85	0.3	.beta.-Amyrin
38	58.75	0.3	Ergostane-3,5,6,12,25-pentol, 25-acetate, (3.beta., 5.alpha., 6.beta., 12.beta.)
39	59.15	0.3	Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)-, 3-phenyl-2-propenoate
40	59.35	0.4	Pregnane-3,11,17,20-tetrol, cyclic 17,20-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha., 5.beta., 11.beta., 20R)-
41	60.01	0.2	Stearic acid, 9-hexadecenyl ester, (Z)
42	60.97	0.7	2,3,5,6-Bis(1,5-octanediy)l-2,5-dibora-1,4-dioxane
43	61.46	1.5	Trihexadecyl borate



Şekil 4.14 *W. arrhiza* (Mavi LED) Kültürünün Kromatogramı

İncelenen 4 farklı LED ışık numune ekstraktlarındaki ortak maddeler % alan değerlerine göre (≥ 1) sırasıyla Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21- [(1,1 - dimethylethyl) boronate], (3.alpha., 5.alpha., 11.beta., 20S) (Campesterol), Cyclododecyne, n-Hexadecanoic acid, Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl, 9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z), Docosa-2,6,10,14,18-pentaen-22-al, 2,6,10,15,18-pentamethyl-, all-trans, 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)'dir.

Ayrıca “Heptacosane” maddesi kırmızı, mor ve mavi LED ışık altında sırasıyla %3.6, %3.4, %2.8 seviyelerinde, “Trihexadecyl borate” maddesi kırmızı, mor ve mavi LED ışık altında sırasıyla %1.4, %1.3, %1.5 seviyelerinde ve “(2S,8Ar)-(camphorsulfonyl)oxaziridine” maddesi kırmızı, mor ve mavi LED ışık altında sırasıyla %3, %3.9, %1.7 seviyelerinde tespit edilmiş iken, beyaz LED ışık sonuçlarında bu maddelere rastlanmamıştır. Yine Pregnane-3,11,17,20-tetrol, cyclic 17,20-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.beta., 11.beta.,20R) (campesterol) maddesine kırmızı LED ışık numunelerinde rastlanmamıştır (Çizelge 4.18).

“9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z,Z)” maddesi sadece beyaz ve kırmızı LED numunelerinde, “Ergostanol (Epiergostanol)” maddesi ise sadece beyaz ve mor LED numunelerinde kaydedilmiştir. Bununla beraber, “5-Nonadecen-1-ol” bileşeni beyaz ve kırmızı LED numunelerinde, “3-O-Acetyl-6-methoxy-cycloartenol” bileşeni beyaz ve mavi LED numunelerinde, “2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-heptadeca-

3,7,11,15-tetraenyl)-cyclohexanol (solanesol)” bileşeni ise kırmızı ve mor LED numunelerinde tespit edilememiştir (Çizelge 4.18).

Sadece beyaz LED ışık kültüründe Fucosterol %1.9, Ergostanol (Epiergostanol) %1.2, 9-O-Pivaloyl-N-acetylcolchinol%1, Eicosyl trifluoroacetate %0.8, Octadecamethylcyclononasiloxane (Benzeneethanamine, N-[(pentafluorophenyl) methylene]-.beta.,3,4-tris[(trimethylsilyl)oxy]) %1.7 ve Adenin, 3-(p-florobenzil) %3.8 seviyelerinde kaydedilirken; sadece kırmızı LED ışık kültüründe Bacteriochlorophyll-c-stearyl %0.2, sadece mavi LED ışık kültüründe ise oranında beta.-Amyrin %0.3, oranında 3-n-Butylthiophene-1,1-dioxide %0.1 ve %0.4 oranında da Tritriacontane maddelerinin bulunduğu görülmüştür.

Çizelge 4.18’de tüm LED ışık tiplerinde *W. arrhiza* fitokomponentlerinin karşılaştırması yapılmıştır.

Çizelge 4.18 Farklı LED’lerde *W. arrhiza* Fitokomponent İçeriğinin Karşılaştırması

	Biyoaktif Maddeler	Beyaz (%)	Kırmızı (%)	Mor (%)	Mavi (%)
1	Campesterol [Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)]	37.6	30.1	28.1	16
2	Cyclododecyne	19.7	25.4	31.2	28.2
3	n-Hexadecanoic acid	2.7	5.8	7.8	8.9
4	9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z,Z)-	3.7	6.6	0	0
5	5-Nonadecen-1-ol	0	0	6	16.4
6	Heptacosane	0	3.6	3.4	2.8
7	Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl-	11.8	1.7	0.9	1.5
8	Phytol Isomer (9-Octadecene, 1,1-dimethoxy)	3.7	6.9	2.9	4.4
9	Solanesol [(2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-heptadeca-3,7,11,15-tetraenyl)-cyclohexanol)]	1.9	0	2.7	2.1
10	Stigmastanol-(23(Z)-Ethylcholestanol)	0	3	3.9	1.7
11	Adenin, 3-(p-florobenzil)-	3.8	0	0	0
12	Fucosterol	1.9	0	0	0
13	Ergostanol (Epiergostanol)	1.2	0	0.4	0
14	Octadecamethyl cyclononasiloxane	1.7	0	0	0
15	9-O-Pivaloyl-N-acetylcolchinol	1	0	0	0
16	Biyoaktif Madde Çeşidi	22	37	35	43

Bütün numunelerde en yüksek yüzde pik alanını gösteren ve dikkat çekici olan maddeler “Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)-” ve “Cyclododecyne” dir.

Fitosteroller bitki sterolleridir. Diyetle en bol bulunan fitosteroller betasitosterol, kampesterol ve stigmasteroldür. Bunlar yapısal olarak kolesterolle ilişkilidir, ancak insanlar tarafından yapılmaz. İnsanlarda fitosterollerin tek kaynağı diyetdir ve diyetdeki fitosterollerin emilimi sınırlıdır. Diyetdeki kolesterolün yaklaşık %50’si emilirken, diyetdeki kampesterolün %20’sinden azı ve diyetdeki betasitosterolün %7’sinden azı emilir (Bradford ve Awad, 2005).

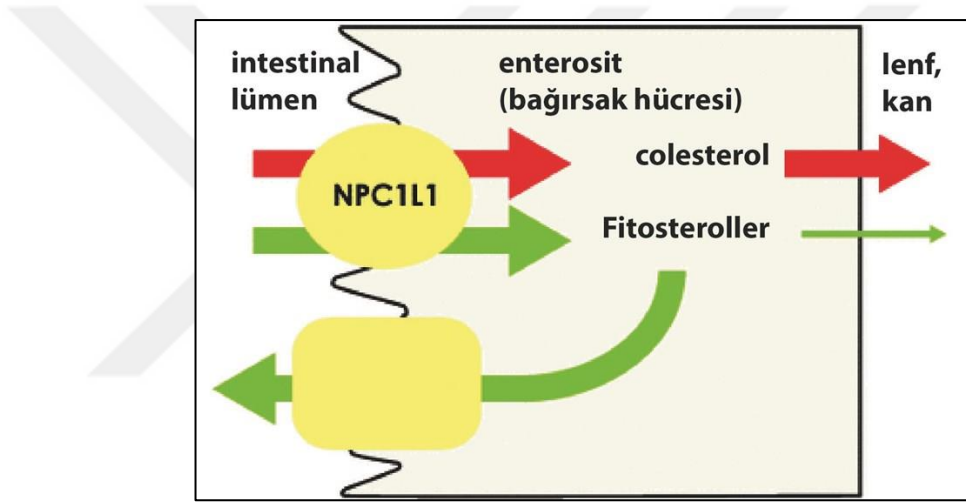
Fitosteroller, kolesterol seviyelerini düşürme özelliğine sahiptir. Bu bitkisel steroller, doğada yağlı meyvelerde, kuruyemişlerde ve yağlarda bulunur. Kimyasal yapıları kolesterole benzerdir. İnsan vücudunda fitosteroller ve kolesterol, bağırsakta aynı emilim mekanizmasını kullanmak için rekabet eder. Bu nedenle, diyetle alınan fitosterol miktarı arttığında kolesterol emilimi azalır (Berge ve ark., 2002).

Kotowska ve ark. (2018) floresan ışık altında yetiştirmiş olduğu *W. arrhiza*’nın etanolik ekstresinde kampesterol (%2,6), stigmasterol (%5,4), β -sitosterol (%24,8) tespit etmiştir. Aynı çalışmada metanolik ekstrede ise %0,3 kampesterol, %0,6 stigmasterol ve %3,2 β -sitosterol tespit edilmiştir. Mevcut çalışmamızda farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*’nın kampesterol içeriği beyaz %37,6, kırmızı %30,1, mor %28,1, mavi %16; stigmasterol içeriği beyaz %1,2, kırmızı %1,2, mor %0,9, mavi %0,9; β -sitosterol içeriği beyaz %37,6, kırmızı %30,1, mor %28,1, mavi %16 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.18).

Pregnan türevleri, hormona bağlı farklı hastalıkların tedavisi için ajanlar olarak incelenir. Bu steroidlerin biyolojik önemi, kansere karşı potansiyel kullanımlarına dayanmaktadır (Silva-Ortiz ve ark., 2016). Bazı steroidler tıbbi amaçlar için kullanılırken, diğerleri anabolik steroidler olarak adlandırılan kas gelişimini teşvik etmek için kullanılır (Giorgi ve ark., 1999; Sevin ve ark., 2005). Mevcut çalışmamızda *W. arrhiza*’nın GC-MS analizinde pregnan içeriği %16 ila %37,16 aralığında tespit edilmiştir. En yüksek pregnan beyaz LED ışıkta yetiştirilen örneklerde tespit edilirken, sıralama Beyaz > Kırmızı > Mor > Mavi şeklinde olmuştur. W9N11 kütüphanesinde “Stigmast-5-en-3 β -ol (β -sitosterol)” olarak adlandırılan bu bileşen NIST11

kütüphanesindeki “Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)-”nin karşılığı olup bir fitosteroldür. Fitosteroller bitkilerde bulunan steroidlerdir. Bitki hücre zarları tipik olarak, β -sitosterol ile stigmasterol en bol ve yaygın olan sterollerin karmaşık bir karışımını içerir (Kuksis ve ark., 1976).

Sitosterol ve kampesterol dahil olmak üzere bitki kökenli steroller (fitosteroller), yapısal olarak kolesterole benzer, ancak ince bağırsaktan yaklaşık 10 kat daha düşük net emilim ve kolesterolden belirgin şekilde daha düşük dolaşım konsantrasyonları (Şekil 4.15’de görüldüğü gibi) sergilerler (Salen ve ark., 1970; Heinemann ve ark., 1993).



Şekil 4.15 Fitosterollerin Barsak Lümeninde LDL Kolesterol ile Emilim Rekabeti (Anonim, 2024)

W. arrhiza’da tespit edilen β -sitosterol (Stigmast-5-en-3-ol), insan vücudundaki kolesterol emilimini engelleyebilir ve böylece plazmadaki kolesterol seviyelerini azaltabilir. β -Sitosterolün ayrıca kanser hücrelerinin aktivitesini azalttığı, prostat bezi sağlığını desteklediği ve insan vücudundaki bağışıklığı güçlendirdiği de bilinmektedir (Ye ve ark., 2010).

β -sitosterol (Stigmast-5-en-3-ol) kanserojen kaynaklı kolon kanserini azaltır. Anti-enflamatuar, antipiretik, antiartritlik, antiülser, insülin salgılatıcı etkiler gösterir. β -sitosterol esas olarak kolesterol düşürücü özelliği ile bilinir ve kullanılır. Çalışmalar, fitokimyasalın başka sağlık yararları olabileceğini de göstermiştir; iyi huylu prostat büyümesinin semptomlarını hafifletmek, kanser riskini azaltmak ve antioksidan

aktivitesi sayesinde oksidatif hasarı önlemek (Patra ve ark., 2010). Bu fitosterol, insülin benzeri bir etki gösterir, yani mevcut kolesterol düşürücü etkinliğinden ayrı olarak glikoz taşınmasını uyarmaktadır. Bu nedenle, bir antidiyabetik ajan olarak faydalı bir rol oynayabilir (Sujatha ve ark., 2010). β -sitosterol kalp hastalıkları ve yüksek kolesterol tedavisinde kullanılır. Bağışıklık sistemini güçlendirmek, soğuk algınlığı ve grip, kolon kanseri, rahim ağzı kanseri, HIV/AIDS, romatizma gibi hastalıkların artrit, tüberküloz, alerji, sedef hastalığının yanı sıra safra taşları için, fibromiyalji, migren, baş ağrısı, sistemik lupus eritematozus (SLE), astım, bronşit, saç dökülmesi ve kronik yorgunluk sendromu önlenmesinde de kullanıldığı rapor edilmiştir (Sharma ve ark., 2016).

Çizelge 4.18’de görüldüğü üzere sitosterol veya stigmasterol diğer bitki sterolleridir (çalışmamızda stigmastanol-sitostanol olarak %5.31 kaydedilmiştir). Çalışmalarda bu maddenin kolesterol emilimini bloke ederek kandaki kolesterol seviyelerini azalttığı ve dolayısıyla antiaterojenik olduğundan bahsedilmektedir (Lees ve ark., 1977; Jones ve ark., 1999;). Ayrıca, bitki sterolleri memeli bağışıklık sisteminin düzgün çalışması için (Bouic ve ark., 1996) ve kanser önleyici veya anti-tümör ajanları olarak önemli olabilir ve özellikle sitosterolün anti-enflamatuvar ve antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Ovesnaâ ve ark., 2004; Bradford ve Awad, 2005). Bunlar ve diğer bitki sterolleri, genellikle başlıca diyet sterolleri olduklarından, memeli dokularında da bulunur (Nes ve McKean, 1977).

Kampesterol, sitosterol ve stigmasterol çok çeşitli bitkilerin ana bileşenleridir ve genellikle bir arada bulunurlar. Stigmasterol, stigmast-5-en-3-ol, (3β) ve ergost-5-en-3-ol, (3β) gibi *Ganoderma boninense* ile enfekte olmuş palmye yağı kök numune örneklerinde steroidal bileşiklerin en yüksek konsantrasyonu, bitki büyüme düzenleyicileri olarak işlev görmek için (Faure ve ark., 2009) ve sıcaklık değişiklikleri için bitki zarlarının akışkanlığını kontrol etmenin (Piironen ve ark., 2000) dışında bitki savunma metabolitleri olarak hareket etme ile ilgilidir. Bitki hücresi, patojen saldırısı sırasında bitki savunma tepkisini tetikler ve sterol biyosentezinde yer alan genlerin ekspresyonunun artmasına yol açan sinyal olaylarını başlatarak stigmasterol indüksiyonuna yol açar. Stigmasterol, stigmast-5-en-3-ol, (3β) ve ergost-5-en-3-ol, (3β) gibi 3 bileşiğin bitkide görülmesi, patojen enfeksiyon sonrası oluşan stresi ortadan kaldırmak için sentezlenen steroidal bileşikler olduğu

bulunmuştur (Wang ve ark., 2012). Bu biyokimyasal bileşenlerin yüksek değerlerde çıkmasını, kendi çalışmamızda uyguladığımız abiyotik stres faktörüne (LED ışık) bağlayabiliriz.

Kotowska ve ark. (2013) *W. arrhiza* üzerinde yaptığı araştırmalarda, sitosterol içeriğinin türe göre belirlendiği bildirmiştir. Çalışmada ana bileşenler sitosterol (%53), kampesterol (%18) ve stigmasterol (%15) ve ardından D5-avenasterol (%11) olarak belirlenmiştir. Su mercimeği fitosterol içeriği yüksek bitkilerden biri gibi görünmektedir (Kotowska ve ark., 2013).

W. microscopica antioksidan olarak karotenoidler ve tokoferoller içermektedir (Sree ve ark., 2016b). *W. globosa*'nın anti-enflamatuvar ve antioksidan aktiviteleri fitosterollerin, karotenoidlerin ve tokoferollerin varlığının bir sonucudur. Appenroth ve ark. (2018a) *W. arrhiza* ve *W. globosa*'nın farklı klonları üzerinde yaptıkları çalışmada, fitosterol içeriğinin yalnızca türe değil, klonların kökenine de bağlı olduğunu ifade etmişlerdir.

Bitkisel gıda bazlı diyetlerin postmenopozal kadınlarda serum fitosterol düzeylerini artırıp artırmayacağının değerlendirildiği bir çalışmada, 11 ila 16 hafta boyunca, kalori değişikliği olmaksızın, kabuklu yemişler, tohumlar ve soyadan zengin diyetler tüketen deneklerin serum beta-sitosterolünde %20'ye kadar artışlar sergilenmiş; bu diyet kaynaklarından elde edilen fitosterollerin biyoyararlanımını doğrulamıştır (Muti ve ark., 2003).

W9N11 kütüphanesinde “9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-(CAS) methyl linolenate” olarak adlandırılan bileşen NIST11 kütüphanesindeki “Cyclododecyne” olup sikloalkin sınıfına aittir. Çalışmamızda bu bileşik en yüksek beyaz LED ışık örneğinde %31.2, en düşük beyaz LED ışık örneğinde %19.7 oranında kaydedilmiştir (Çizelge 4.14). Bu grubun bileşikleri, düşük moleküler ağırlıklı hidrofilik maddelerin bakteri hücrelerine taşınmasını bloke ederek bakterileri öldürür (Lloyd ve ark., 1988). Analjezik, anestezik, alerjenik, antibakteriyel, antiepileptik, antienflamatuvar, antioksidan, antipiretik (ateş düşürücü), antisalmonella, antiseptik, antistafilokok gibi yetenekleri de dikkat çekicidir (Kalaivani ve ark., 2012). Hipokolesterolemik kanser önleyici, hepatoprotektif, nematisit, böcek ilacı, antihistaminik antiegzemik, antiakne, 5-Alfa redüktaz inhibitörü, antiandrojenik,

antiartritik, antikoroner, böcek öldürücü özelliklerini de eklemek mümkündür (Hema ve ark., 2011).

W9N11 kütüphanesinde “9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)-” olarak adlandırılan bileşen NIST11 kütüphanesindeki “Phytol Isomer” olup aldehit sınıfına aittir. Bu biyoaktif bileşikler, anti-kanser, anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal, anti-diyabetik vb. gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptir (Sasidharan ve ark., 2011; Ajila ve ark., 2010; Mahendran ve ark., 2012; Nakashima ve ark., 2014; Alencar ve ark., 2018). Fitol, sentetik E ve K vitamini formlarının üretiminde öncül olarak kullanılabilen bir asiklik diterpen alkoldür. Fitol ile yapılan birçok çalışma, bu molekülün antimikrobiyal, sitotoksik, antitümör, antimitojenik, antiaterojenik, antidiyabetik, lipid düşürücü, antispazmodik, antiepileptik, antinosiseptif, antioksidan, antienflamatuvar, anksiyolitik, antidepresan, immünoadjuvan, antidiüretik, antiinflamatuvar ve antikarsinojenik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Alencar ve ark., 2018; Muniandy ve ark., 2018). Gıda katkı maddesi olarak ve tıbbi alanlarda yaygın olarak kullanılan fitolün, in vitro ve fareler üzerinde yapılan in vivo çalışmalarda, parazitlere karşı (antistozomal) etkili olduğu bildirilmiştir (De Moraes ve ark., 2014).

Hexadecanoic acid (yağ asidi metil esteri) hayvan, bitki ve mikroorganizmalardaki en yaygın doymuş yağ asididir. Çalışmamızda bu bileşik en yüksek mavi LED ışık örneğinde %8.9, en düşük beyaz LED ışık örneğinde %2.7 oranında kaydedilmiştir (Çizelge 4.17). Antienflamatuvar, antioksidan, ürik asit üretimini engeller, idrar asitleştirici, sabun hammaddesi, kozmetik, antifibrinolitik, hemolitik, yağlayıcı, nematisit ve antidepresan gibi özellikleri tanımlanmıştır (Rahman ve ark., 2014). Ayrıca antifungal, antioksidan, hipokolesterolemik, nematisit, anti-androjenik, hemolitik, 5-Alfa redüktaz inhibitörü, güçlü antimikrobiyal ajan, antimalaryal ve antifungaldır (Zito ve ark., 2010; Hema ve ark., 2011). n-Hexadekanoik asit veya diğer adıyla palmitik asit, hayvan, bitki ve mikroorganizmalarda bulunan bir grup doymuş uzun zincirli yağ asididir. Organizmalar için metabolize edilir ve hidrolize uğrayabilen ester bağları olan alifatik polyesterlere aittir (Dawes, 1988). Asitleştirici, araşidonik asit inhibitörü, aromatik amino asit dekarboksilaz aktivitesini artırır, ürik asit üretimini inhibe eder, idrar asitleştirici, anafilaktik, arilamin N asetiltransferaz inhibitörü, norepinefrin

üretimini azaltır, nükleer ve sitozol androjen geri alımını düşürücü şekilde düzenler, tümör nekroz faktörü, Myo-nöro-stimülatörün (sinir-kas elektriksel uyarı) üretimini engelleyici özelliklerinden bahsedilmiştir (Hassan Mohammad ve ark., 2021).

Palmitik asit, sabun üretiminde, su geçirmez kaplamalarda, gıda katkı maddelerinde ve diğer bileşiklerde uygulama alanı bulur. Çevre dostu özellikleri onu biyoplastiklerde kullanıma oldukça uygun hale getirmektedir (Setyorini ve Dianursanti, 2021).

9,12-Octadecadienoic acid (yağ asidi metil ester) yaygın olarak stearik asit olarak adlandırılan oktadekanoik asit, hayvansal ve bitkisel yağlardan elde edilen doymuş yağ asitlerinin bir sınıfıdır. Oligosakkarit sağlayıcı, hepatoprotektif, antihistaminik, hipokolesterolemik, antiiekzemik, antioksidan ve antikanser özellikleri ile öne çıkmaktadır (Yu ve ark., 2005a; Akpuaka ve ark., 2013; Hassan ve ark., 2021)

Heptacosane (eicosane) maddesi en yüksek kırmızı LED ışık örneğinde %3.6, beyaz LED ışık örneğinde ise hiç oluşmamıştır. Heptacosane maddesinin antifungal, antitümör aktivite, antibakteriyel ve sitotoksik etkileri tanımlanmıştır (Chuah ve ark., 2018; Kumar ve ark., 2011). Yaşlanma karşıtı, antioksidan (Bhagat ve Bakthavatsalam, 2012; Vinjamuri ve Achar, 2017), çok güçlü antienflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkilerini ortaya koyan çalışmalar vardır (Okechukwu, 2020).

5-Nonadecen-1-ol beyaz LED ve kırmızı LED ışık kültürlerinde hiç oluşmazken, mor LED ışıkta %6, mavi LED ışıkta ise %16.4 seviyelerindedir (Çizelge 4.18). 5-Nonadecen-1-ol yüksek seviyelerde antioksidan, tümör baskılayıcı ve yaşlanma karşıtı maddelere sahiptir (Yang ve ark., 2022). Oligosakkarit sağlayıcı, antienflamatuvar, antimikrobiyal (Hassan ve ark., 2021), yüzey aktif maddesi (sürfaktan), yağlayıcı yağları, farmasötik ürünler yapmak için kullanılır (Sharma ve ark., 2016. Ak ve ark. (2016), bir mikroalg olan *Spirulina platensis*'i besin değeri yüksek ekmek yapma amacıyla, ekmek hamuruna katarak yaptığı bir çalışmada, 5-Nonadecen-1-ol'ün bileşimdeki en yüksek bileşen olduğu (%49.2) görülmektedir. *S. platensis* yüksek protein (%60-70) oranı, linoleik asit, B₁₂, C ve E vitamince zengin, Ca ve Fe kaynağı olarak çok değerli bir alternatif besin kaynağı olarak öteden beri bilinmektedir (Vonshak, 1997; Richmond, 2004; Morsy ve ark., 2014; Francezon ve

ark., 2021). Mevcut çalışmamıza göre, ilaç etken maddesi üretimi açısından bu değerli bileşeni elde etmek için doğru yetiştirme ortamı hiç şüphesiz mor LED aydınlatmadır.

Çalışmamızda dl-.alpha.-Tocopherol sadece kırmızı (%0.8) ve mavi (%0.6) LED ışık altına ortaya çıkmıştır. (Çizelge 4.15 ve Çizelge 4.17). Birçok çalışma, E vitamininin kronik hastalık riskinin azalmasıyla ilişkili olduğunu bildirmiştir. “**E vitamini**”nin en iyi bilinen işlevi, lipid peroksidasyonunun döngüsel yayılmasını önleyen zincir kırıcı bir antioksidan olmasıdır (Mustacich ve ark., 2007). Diğer açılardan sağlıklı kadınlarda 10 yıllık bir önleme niteliğinde olan kadın sağlığı çalışması, 600 IU E vitamininin kardiyovasküler mortaliteyi %24 oranında ve 65 yaş üstü kadınlarda %49 oranında azalttığı bildirilmiştir (Lee ve ark., 2005). E ve C vitaminleri ile antioksidan tedavi, hiperkolesterolemik hastalarda (Salonen ve ark., 2003) ve kalp transplantasyonunda koroner ve karotid arterlerin intimal kalınlığındaki aterosklerotik ilerlemeyi yavaşlatmıştır.

Solanesol (2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-heptadeca-3,7,11,15-tetraenyl)-cyclohexanol) bir terpen alkol olup, bitkilerde hem serbest hem de esterleşmiş formda bulunur ve birikimi genetik ve çevresel faktörlerden etkilenir. Solanesol, ilaç endüstrisinde koenzim Q10 ve K2 vitamini gibi ubikinon ilaçlarının sentezi için bir ara madde olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Solanesol antibakteriyel, antifungal, antiviral, antikanser, anti-enflamatuvar ve anti-ülser aktivitelere sahiptir ve solanesol türevleri ayrıca diğer biyoaktivitelere ek olarak antioksidan ve antitümör aktivitelere de sahiptir. Solanesol türevleri ayrıca kardiyovasküler hastalık, osteoporoz, edinilmiş bağışıklık yetersizliği sendromu ve yara iyileşmesinin tedavisinde de kullanılabilir (Yan ve ark., 2015). Solanesol türevlerinin kardiyovasküler hastalık, osteoporoz, edinilmiş bağışıklık eksikliği sendromu (AIDS) ve yara iyileşmesinin tedavisinde de kullanıldığı bildirilmiştir (Srivastava ve ark., 2009; Hu ve Wang, 2011; Wang ve ark., 2013a; Wang ve ark., 2013b). Saf solanesol oda sıcaklığında mumsu beyaz bir katıdır, polar olmayan veya zayıf polardır, optik olarak aktif değildir, suda çözünmez, metanol ve etanolde az çözünür ve hekzan, kloroform ve asetonda kolayca çözünür (Liu ve ark., 2010).

Sonuç olarak; kütle spektrum sonuçlarından, farklı LED ışıklarda yetiştirilen ve SK-CO₂ ekstraksiyonu yöntemiyle elde edilen *Wolffia* özütlerinin önemli sekonder metabolitler içerdiği ortaya çıkarılmıştır. *Wolffia* bitkisinin çok önemli farmakolojik aktivitelere sahip biyoaktif bir bileşik olan β -sitosterol ve fitolü yüksek oranlarda içerdiği, bunun yanı sıra farklı biyoaktif bileşiklere de sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu biyoaktif bileşikler hem farmakolojide kullanılabilme potansiyeline sahiptir hem de sağlıklı gıda olarak insan bağışıklığını artırabilecek niteliktedir. Fitokimyasallar ve yağ asitleri, farmakolojide (antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antikanserojen vb. ajanlar olarak) kullanmak için gerekli olan en önemli kaynaklardır. Çalışmamızda köksüz su mercimeği *Wolffia* bitkisinde çeşitli biyoaktif bileşiklerin mevcudiyeti, bu bitkinin geleneksel olarak Güney Doğu Asya’da uzun yıllardır tüketilmesini ve hatta çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanımını haklı çıkarmaktadır.

Farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*’nın GC-MS analizinde tespit edilen en önemli biyoaktif bileşenlerin yüzde alan değerleri, kimyasal sınıfları ve yetenekleri Çizelge 4.19’da ayrıntılı şekilde gösterilmiştir.

Çizelge 4.19 *W. arrhiza*’nın Biyoaktif Bileşenlerinin Değerlendirme Tablosu

	Bileşen	%	Menşei	Biyoaktivitesi ve Kullanım Alanları	Referanslar
1	Clionasterol Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1- dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S) Campesterol Ergost-5-En-3-Ol-	37.6	Fitosterol- β -sitosterol	Antioksidan, antienflamatuar, antipiretik, antiülser, antikanserojen, antidiyabetik ajan, bağışıklık sistemini güçlendirmek, soğuk algınlığı ve grip), HIV/AIDS, antiromatizma, tüberküloz, alerji, sedef hastalığının yanı sıra safra taşları için, fibromiyalji, migren, sistemik lupus eritematozus, astım, bronşit, saç dökülmesi ve kronik yorgunluk sendromu. Kolesterol emilimini azaltır. Kas gelişimini teşvik edici. Bitki savunma metaboliti üretimi.	(Sujatha ve ark., 2010; Venkata ve ark., 2012; Santos ve ark., 2013; Ghaneian ve ark., 2015; Sharma ve ark., 2016; Berge ve ark., 2002; Sevin ve ark., 2005; Wang ve ark., 2012; Piironen ve ark., 2000; Silva-Ortiz ve ark., 2016; Aboobucker ve Suza, 2019)

Çizelge 4.19 W.arrhiza'nın Biyoaktif Bileşenlerinin Değerlendirme Tablosu (devamı)

2	Cyclododecyne	31.2	Doymamış Yağ Asiti	Antibakteriyel, analjezik, anestezik, alerjenik, antibakteriyel, antiepileptik, antienflamatuvar, antioksidan, antipiretik, antisalmonella, antiseptik, antistafilokok, 5-alfa redüktaz inhibitörü, hipokolesterolemik, antikanserojen, hepatoprotektif, nematisit, antihistaminik antiegzemik, antiakne, antiandrojenik, antiartritik, antikoroner.	(Lloyd ve ark., 1988; Hema ve ark., 2011; Kalaivani ve ark., 2012)
3	5-Nonadecen-1-ol	16.4	Doymamış Alkoller	Antioksidan, tümör baskılayıcı, oligosakkarit sağlayıcı, antienflamatuvar, antimikrobiyal, yüzey aktif maddesi (sürfaktan), yağlayıcı yağları, farmasötik ürün hammaddesi, koku ve aroma endüstrisi, farmasötik uygulamalar	(Sharma ve ark., 2016; Hassan Mohammad ve ark., 2021; Yang ve ark., 2022)
4	n-Hexadecanoic Acid	8.9	Doymuş Yağ Asiti	Antioksidan, nematocidal, kolesterol düşürücü, antifungal, antienflamatuvar, antioksidan, ürik asit üretimini engelleyici aktivite, idrar asitleştirici, sabun hammaddesi, kozmetik, ayırıcı maddeler, antidepresan antifibrinolitik, hemolitik, yağlayıcı, nematisit ve	(Chandrasekaran ve ark., 2011; Rahman ve ark., 2014; Lalitha ve ark., 2015)
5	Solanesol	2.7	Terpen Alkol	Koenzim Q10 ve K2 vitamini ilaç sentezi, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antikanser, anti-inflamatuvar, antiülser, kardiyovasküler hastalık, osteoporoz, AIDS, nöroprotektif	(Hu ve Wang, 2011; Srivastava ve ark., 2009; Wang ve ark., 2013a; Wang ve ark., 2013b; Yan ve ark., 2015; Yan ve ark., 2019)
6	Phytol Isomer	6.9	Aldehit	Antimikrobiyal, sitotoksik, antitümör, antimitojenik, antiaterojenik, antidiyabetik, lipid düşürücü, anksiyolitik, antispazmodik, antiepileptik, antinosiseptif, antioksidan, antienflamatuvar, antidepresan ve immünoadjuvan.	(Ajila ve ark., 2010; Alencar ve ark., 2018; Mahendran ve ark., 2012; Nakashima ve ark., 2014; Sasidharan ve ark., 2011)

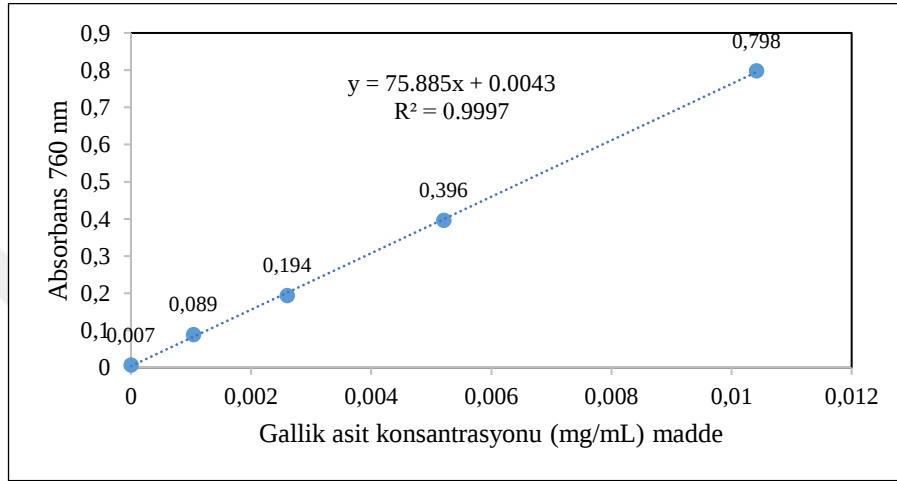
Çizelge 4.19 W.arrhiza'nın Biyoaktif Bileşenlerinin Değerlendirme Tablosu (devamı)

7	Cyclopropane	11.8	Sikloalkan	Siklopropan, halkalı yapısı nedeniyle yüksek esneklik içerir. Buda molekülün kimyasal reaktivitesini artırır. Bu özellikler nedeniyle, çeşitli kimyasal maddelerde ve sentezlerde önemli bir bileşik olarak kullanılır.	-
8	9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z,Z)-	6.6	Asidik klorür	Yağ asitlerinin ve diğer biyomoleküllerin sentezinde kullanılır.	-
9	Stigmastanol-Ethylcholestanol	3.9	Fitosterol	Bitki büyüme düzenleyicileri, bitki savunma metaboliti, anti-aterosklerotik kolesterol düşürücü, antiaterojenik, kolesterol akışını artırır, sitokin salgısını azaltır, kolesterolün diyetten emilimini engeller, karaciğerde kolesterol biyosentezini engeller.	(Kuksis ve ark., 1976; Lees ve ark., 1977; Jones ve ark., 1999; Faure ve ark., 2009)
10	Octadecatrienoic Acid	1.6	Doymamış Yağ Asiti	OMEGA 6, Anti-inflamatuar ajan, antikanser	(Devi ve Muthu, 2014; Manivannan ve ark., 2017)
11	Heptacosane	3.6	Alkanlar (parafinler)	Bitkisel balmumlarında, böcek balmumlarında ve bazı hayvansal yağlarda doğal olarak bulunur. Laboratuvar ve endüstriyel boyutta, heptakozan genellikle petrolden elde edilir.	-
12	Fucosterol-Stigmasta-5,24-Dien-3-Ol	1.9	Fitosterol	Kolesterol düşürücü aktivite, romatizmal hastalık tedavisi.	(Sujatha ve ark., 2010)
13	Ergostanol (Epiergostanol)	1.2	Fitosterol	Kozmetik ve Farmasötik Uygulamalar	-
14	Hexacosane	0.2	Doymuş Yağ Asiti	Petrol rafinerilerinde ve doğal gaz işleme tesislerinde Parafin Mumları ve Balmumları olarak üretilir.	-
15	Vitamin E (Tokoferol)	0.8	Vitamin	Cilt sağlığı, göz sağlığı ve hormonal düzen, antioksidan, bağışıklığı artırır, üreme sistemini düzenler.	-
16	2-Hexadecen-1-Ol	0.2	Terpen Alkol	Antioksidan ve antibakteriyel, anti-inflamatuar, kozmetiklerde, güzel kokularda, şampuanlarda koku bileşenidir.	(Carretero ve ark., 2008; Hidayathulla ve ark., 2018)

4.2 InVitro Antioksidan Aktivite Analizleri

4.2.1 Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi

Toplam fenolik madde içeriği analiz sonuçları, gallik asit konsantrasyonuna karşı elde edilen absorbansların grafiğe geçirilmesiyle elde edilen, Şekil 4.16'daki kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplanmıştır. Farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza* numunelerinin içerdikleri fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak Çizelge 4.20'de verilmiştir.



Şekil 4.16 Gallik Asit Kalibrasyon Grafiği

Çizelge 4.20 Toplam Fenolik Madde Miktarları

Numuneler	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/g numune)
Beyaz	4.7
Kırmızı	43.9
Mor	36.7
Mavi	17.4

W. arrhiza numunelerinin toplam fenolik madde miktarı en yüksek kırmızı LED numunesinde (43.9 mg GAE/g) tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla mor, mavi ve beyaz LED numuneleri takip etmiştir.

Mevcut çalışmamızda farklı LED ışıklar altında yetiştirilen *W. arrhiza*'nın toplam fenolik madde içerikleri ile doğal ışıklandırma kullanılarak yapılmış çalışmalardaki *W. arrhiza*'nın fenolik madde içerikleri karşılaştırıldığında; Hu ve ark. (2022) (7.57 mg GAE/g) ile Masavang ve ark. (2022) (18.68 mg GAE/g) tarafından elde edilen bulgulardan daha yüksek değerler elde edilmiştir (Çizelge 4.21). Özellikle

kırmızı ve mor LED ışıklandırma, köksüz su mercimeğinin fenolik madde miktarını artırmıştır.

Prosrıdee ve ark. (2023), *W. arrhiza* 'yı silindirik yatay karıştırma olacak şekilde, yoğunlaştırılmış LED ışık (200–600 $\mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$) şartlarında yetiştirdiklerinde, 55.28 mg GAE/g gibi yüksek fenolik içerik elde ettiklerini bildirmişlerdir (Çizelge 4.21). Buradan anlaşılmaktadır ki yoğunlaştırılmış kırmızı-mavi LED aydınlatma fenolik madde miktarını pozitif yönde doğrudan etkilemektedir. Mevcut çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar da bu konuda yapılmış az sayıdaki literatür çalışmalarını doğrulamaktadır.

Doğal ışık altında yetiştirilen farklı su mercimeği türlerinde yapılan analizlerde; *W. globosa* 'nın 40.83 mg GAE/g (Monthakantirat ve ark. (2022), 11.67 mg GAE/g (On-Nom ve ark. (2023) ve 191.47 mg GAE/g (Yadav ve ark. (2024), *Lemna gibba* 'nın ise 3 mg GAE/g (Saqrane ve ark. (2007) fenolik madde içerdikleri rapor edilmiştir (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21 Bazı bitkilerin *W. arrhiza* ile Fenolik İçerik Karşılaştırması

Su mercimeği	Fenolik İçerik (mg GAE/g)	Literatür
<i>Wolffia arrhiza</i>	7.57	Z. Hu ve ark. (2022)
<i>Wolffia arrhiza</i>	18.68	Masavang ve ark. (2022)
<i>Wolffia arrhiza</i>	55.28	Prosrıdee ve ark. (2023)
<i>Wolffia globosa</i>	40.83	Monthakantirat ve ark. (2022)
<i>Wolffia globosa</i>	11.67	On-Nom ve ark. (2023)
<i>Wolffia globosa</i>	191.47	Yadav ve ark. (2024)
<i>Lemna gibba</i>	3	Saqrane ve ark. (2007)
<i>Cinnamomum</i> türleri	(0.69-2.71)	Prasad ve ark. (2009)
Kızılcık	2.2	J. W. Yang ve Choi (2017)
Ahududu	1.4	J. W. Yang ve Choi (2017)
Çilek	0.7	J. W. Yang ve Choi (2017)
Yabani ahududu	0.9	J. W. Yang ve Choi (2017)
Böğürtlen	2.2	J. W. Yang ve Choi (2017)
Buğday	2.08	Gougoulas (2015)
Mısır	3.07	Gougoulas (2015)
Soya	2.1	Gougoulas (2015)
<i>W. arrhiza</i> (Mor LED)	36.7	Mevcut Çalışma
<i>W. arrhiza</i> (Kırmızı LED)	43.9	Mevcut Çalışma
<i>W. arrhiza</i> (Beyaz LED)	4.7	Mevcut Çalışma
<i>W. arrhiza</i> (Mavi LED)	17.4	Mevcut Çalışma

Birçok ikincil metabolit, güçlü antibakteriyel ve antioksidan özelliklere sahiptir ve ürünlerin biyolojik değerini etkiler. Işığın spektral bileşiminin ise fenoller, flavonoidler, karotenoidler ve antosiyaninler gibi ikincil metabolitlerin sentezini ve birikimini önemli ölçüde etkilediği ifade edilmektedir (Olle ve Viršile, 2013; Bian ve ark., 2015; Ouzounis ve ark., 2015).

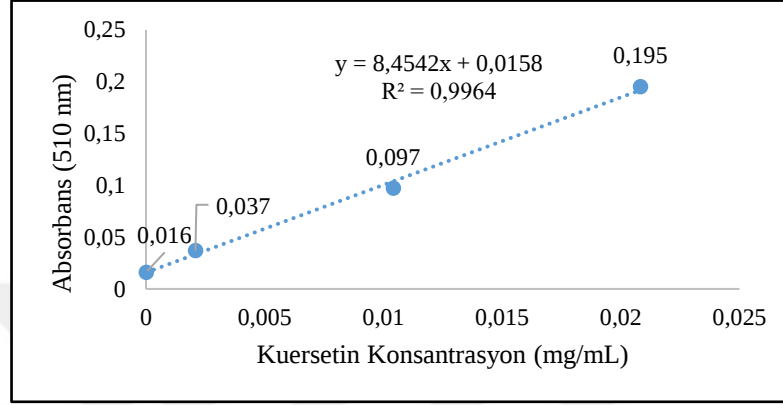
Bitkilerdeki başlıca ikincil metabolitler olan fenolik bileşikler, antibakteriyel, anti-enflamatuvar ve antioksidan aktivite de dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik işlevlerle ilişkilidir. *W. arrhiza*'daki yüksek miktarda fenolik bileşikler, besleyici özelliklerini ve yenilebilir potansiyellerini büyük ölçüde güçlendirmektedir (Hu ve ark., 2022).

W. arrhiza'daki toplam fenolik madde içeriği, *Cinnamomum* türleri (0.69-2.71 mg GAE/g kuru ağırlık) gibi yaygın tıbbi bitkiler ve tahıllardan çok daha yüksektir (Prasad ve ark., 2009). Çevremizde sıklıkla tükettiğimiz kızcılık (2.2 mg GAE/g), dut (2.1 mg GAE/g), ahududu (1.4 mg GAE/g), çilek (0.7 mg GAE/g), yabani ahududu (0.9 mg GAE/g), böğürtlen (2.2 mg GAE/g) gibi meyvelerle karşılaştırıldığında (Yang ve Choi (2017), mevcut çalışmadaki dört farklı LED ışıktaki yetiştirilen *W. arrhiza*'nın toplam fenolik içeriğinin çok daha yüksek olduğu görülmektedir. Temel hububatlardan buğday (2.08 mg GAE/g), mısır (3.07 mg GAE/g) ve soya (2.1 mg GAE/g) ile karşılaştırıldığında (Gougoulis (2015) da aynı şekilde *W. arrhiza*'nın çok değerli fenolik içeriğe sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 4.21).

Fenolik maddeler, bazı bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere karşı savunmada rol oynayan başlıca biyoaktif bileşikleridir (Samanta ve ark., 2011). Bu biyomoleküllerin kimyasal yapıları ve özelliklerinin insan sağlığı için gerekli olduğu, tamamlayıcı gıda ve ilaç olarak kabul edildiği bildirilmiştir (Ghasemzadeh ve Ghasemzadeh, 2011). Kırmızı et alımının sınırlandırılıp *W. globosa*'dan polifenol alımının artırılmasının, intrahepatik yağı önemli ölçüde azaltabileceği ifade edilmiştir (Yaskolka Meir ve ark., 2021). Fenollerin anti-inflamatuvar, antimikrobiyal, anestetik, antioksidan, anti-tüberküloz, antikanser, analjezik ve anti-Parkinson aktiviteye de sahip olduğu bilinmektedir (Kumar ve Mishra, 2018). Bu bilgilere göre, *W. arrhiza*, nutrasötik ve farmasötik potansiyeli dikkate alınması gereken değerli bir üründür.

4.2.2 Toplam Flavonoid Madde Analiz Sonuçları

Farklı LED ışıklarda yetiştirilen köksüz su mercimeği numunelerinin toplam flavonoid madde miktarları, farklı konsantrasyonlarda kuersetin (QT) kullanılarak hazırlanan standart çalışma grafiğinden elde edilen eğriden hesaplanmıştır (Şekil 4.17).



Şekil 4.17 Kuersetin Kalibrasyon Grafiği

Çizelge 4.22’de elde edilen sonuçlar gösterilmiştir. En yüksek flavonoid madde içeriği, fenolik madde gibi kırmızı LED ışık ortamında yetiştirilen numunede belirlenmiş, bunu sırasıyla mor, mavi ve beyaz ışık numuneleri takip etmiştir.

Çizelge 4.22 Toplam Flavonoid Madde Miktarları

Numuneler	Toplam Flavonoid Madde (mg QE/g numune)	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/g numune)
Beyaz	35.436	4.7
Kırmızı	220.450	43.9
Mor	201.850	36.7
Mavi	164.652	17.4

W. arrhiza’nın mevcut çalışmamızdaki toplam flavonoid madde değerlerini, doğal ışıklandırma kullanılarak yetiştirilmiş numunelerle karşılaştırdığımızda, Prosrıdee ve ark. (2023) 159.84 mg QE/g, Masavang ve ark. (2022) 58.40 mg QE/g, Hu ve ark. (2022) 41.2 mg QE/g; Suebsamran ve ark. (2023) ise taze *W. arrhiza*’da 13.19 mg QE/g, kuru *W. arrhiza*’da 26.45 mg QE/g flavonoid madde tespit etmişlerdir. *W. globosa* türünde yapılan analizlerde; bitkinin 38.99 mg QE/g (Monthakantirat ve ark. (2022), 91.54 mg QE/g (Yadav ve ark. (2024) ve 12.51 mg QE/g (On-Nom ve ark. (2023) flavonoid madde içerdiği bildirilmiştir (Çizelge 4.23). Mevcut çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar, özellikle kırmızı (220.450 mg QE/g) ve mor LED ışıkta

(201.850 mg QE/g) yetiştirilmiş *W. arrhiza*'nın literatürlerdeki diğer su mercimeği türlerinden oldukça yüksek değerlerde flavonoid madde içerdiği görülmektedir. Yaptığımız çalışma ile, LED aydınlatma altında sürekli yapılan su mercimeği yetiştiriciliğinin doğal ışıklandırma koşullarına göre fenolik ve flavonoid madde miktarını artırdığı gösterilmiştir.

Çizelge 4.23 Su Mercimeği Türlerinin *W.arrhiza* ile Flavonoid Madde Karşılaştırması

Su mercimeği	Flavonoid madde(mg QE/g)	Literatür
<i>Wolffia arrhiza</i>	41.2	Z. Hu ve ark. (2022)
<i>Wolffia arrhiza</i>	58.40	Masavang ve ark. (2022)
<i>Wolffia arrhiza</i>	159.84	Prosrdee ve ark. (2023)
<i>Wolffia arrhiza</i> (Taze)	13.19	Suebsamran ve ark. (2023)
<i>Wolffia arrhiza</i> (Kuru)	26.45	Suebsamran ve ark. (2023)
<i>Wolffia globosa</i>	91.54	Yadav ve ark. (2024)
<i>Wolffia globosa</i>	38.99	Monthakantirat ve ark. (2022)
<i>Wolffia globosa</i>	12.51	On-Nom ve ark. (2023)
<i>W. arrhiza</i> (Beyaz LED)	35.4	Mevcut Çalışma
<i>W. arrhiza</i> (Kırmızı LED)	220.5	Mevcut Çalışma
<i>W. arrhiza</i> (Mor LED)	201.85	Mevcut Çalışma
<i>W. arrhiza</i> (Mavi LED)	164.65	Mevcut Çalışma

Su mercimeği önemli bir flavonoid kaynağı olarak kabul edilir. Flavonoidler su mercimeğinde bol miktarda bulunur ve *L. punctata* gibi bazı su mercimeği türlerinde yeni flavonoidler tanımlanmıştır (Tsolmon ve ark., 2021). Flavonoidlerin antioksidan etkilerinin olduğu bilinmektedir ve tümörlerin başlatılmasını ve ilerlemesini engellediği gösterilmiştir (Kim ve ark., 1994). Biyoaktiviteleri nedeniyle flavonoidlerin, insan sağlığı uygulamaları için uygun olduğu düşünülmektedir (Xiao, 2017). Flavonoidler, anti-diyabetik, anti-inflamatuvar, anksiyolitik, anti-spazmodik, anti-mutajenik ve hepatoproteksiyon olarak belirtilmiştir (Courts ve Williamson, 2015). Ayrıca, flavonoid tüketiminin koroner kalp hastalığını azalttığı bildirilmiştir (Hertog ve ark., 1993). Bu özellikleriyle flavonoidler yaygın olarak bitkisel ilaç olarak kullanılmaktadır (Ngwa ve ark., 2020).

Çalışmamızda *Wolffia*'da tespit edilen yüksek fenolik ve flavonoid içerikler, bu bitkinin sağlığa faydalı, dikkat çekici bir gıda takviyesi olarak potansiyelini vurgulamaktadır. Fenolik ve flavonoid bileşiklerin çeşitli bitkilerde antioksidasyon aktivitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Lopez-Velez ve ark., 2003; Manach ve ark., 2004). Geleneksel ürünlerle karşılaştırıldığında, daha yüksek toplam fenolik ve

flavonoid seviyelerine sahiptir ve bu da onu potansiyel olarak değerli bir antioksidan kaynağı yapar (Prosrídee ve ark., 2023).

Toplam fenolik içerik ve toplam flavonoid içerik arasındaki istatistiksel ilişki incelendiğinde, bu iki değişken arasında çok güçlü pozitif bir korelasyon dikkat çekmektedir ($r \approx 0.9745$). Yani, toplam fenolik içerik arttıkça, toplam flavonoid içeriğin de artma eğiliminde olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.22 incelendiğinde toplam fenolik ve flavonoid madde içerikleri bakımından en verimli LED ışık renginin kırmızı olduğu, diğer LED ışıklarında bu madde içeriklerini artırdığı görülmektedir. Bu çalışmanın sonucu, Tipnee ve ark. (2017) tarafından *W. globosa* üzerinde yapılan anti-enflamatuvar ve antioksidan aktivitelerin fitosteroller, karotenoidler ve tokoferollerden kaynaklandığını bildiren çalışma ile uyumludur.

4.2.3 DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Serbest Radikali Süpürme Sonuçları

DPPH^{*} bulunduğu ortamdan elektron veya hidrojen alabilir. Serbest radikal süpürücü olarak bir bileşik ya da ekstraktın kabiliyetini test etmek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ortamda antioksidan bir maddenin bulunması durumunda DPPH radikalinin mor renginde bir azalma gerçekleşir ve hidrazin bileşiği olan DPPH oluşarak renk sarıya döner. Bu nedenle absorbans değerinde gerçekleşen bu azalma, ortamda DPPH radikalinin konsantrasyonunun azaldığını gösterir. Kararlı DPPH radikalinin kullanılması enzim inhibisyonu ve metal şelatlaşması gibi yan reaksiyonlar tarafından etkilenmediği için avantajlıdır (Khatua ve ark., 2013).

Farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza* numunelerinin DPPH analizi, 125 µg/mL’lik konsantrasyonları için süpürme aktivitesi (%) değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.22). En yüksek antioksidan aktiviteyi mor LED ışık numunesi gösterirken (%10.9), bunu sırasıyla kırmızı, mavi ve beyaz ışık numuneleri takip etmiştir.

Çizelge 4.24 *W. arrhiza*’nın DPPH % Radikal Süpürücü Etkisi

Numuneler	DPPH Süpürme Aktivitesi (%)
Beyaz	1.2
Kırmızı	9.2
Mor	10.9
Mavi	1.8

Su mercimekleriyle yapılan araştırmalarda; *W. arrhiza* üzerinde yapılan DPPH testi çalışmalarında, troloks eşdeğeri cinsinden, Masavang ve ark. (2022) 43.08 $\mu\text{mol TE/g}$, Hu ve ark. (2022) 62.89 $\mu\text{mol TE/g}$, Suebsamran ve ark. (2023) taze numunede 100.5 $\mu\text{mol TE/g}$, kuru numunede 251.9 $\mu\text{mol TE/g}$ DPPH aktivitesi belirlemişlerdir. *W. globosa* ile yapılan çalışmada ise 55.01 $\mu\text{mol TE/g}$ DPPH % süpürücü etki bildirilmiştir (On-Nom ve ark., 2023). Yine, Monthakantirat ve ark. (2022)’nın taze hazırlanmış ve kaynatılmış *W. globosa* ztleri ile yaptıkları bir çalışmada, 1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda, sırasıyla %75.8 ve %67.1 DPPH inhibisyonu gösterdiği bildirilmiştir. Mevcut alışmamızda özütlerin az olmasından kaynaklı olarak, 125 $\mu\text{g/mL}$ ’lik konsantrasyonda hazırlanan *W. arrhiza*’nın radikal giderme aktivitesi literatürlerdeki sonuçlarla kıyaslandığında düşüktür (izelge 4.25).

Çizelge 4.25 Su Mercimeği Türlerinin *W. arrhiza* ile DPPH Radikali % Süpürme Antioksidan Testi Karşılaştırması

Su mercimeği	% DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$)	Literatür
<i>Wolffia arrhiza</i>	62.89	Z. Hu ve ark. (2022)
<i>Wolffia arrhiza</i>	43.08	Masavang ve ark. (2022)
<i>Wolffia arrhiza</i> (Taze)	100.5	Suebsamran ve ark. (2023)
<i>Wolffia arrhiza</i> (Kuru)	251.9	Suebsamran ve ark. (2023)
<i>Wolffia globosa</i>	47.46	Yadav ve ark. (2024)
<i>Wolffia globosa</i> (Taze)	75.8 (1000 mg/mL)	Monthakantirat ve ark. (2022)
<i>Wolffia globosa</i> (Kaynamış)	67.1 (1000 mg/mL)	Monthakantirat ve ark. (2022)
<i>Wolffia globosa</i>	55.01	On-Nom ve ark. (2023)
<i>Wolffia globosa</i>	3.47 (0.6 mg/mL)	Tipnee ve ark. (2017)
<i>W. arrhiza</i> (Beyaz LED)	1.2 (125 mg/mL)	Mevcut alışma
<i>W. arrhiza</i> (Kırmızı LED)	9.2 (125 mg/mL)	Mevcut alışma
<i>W. arrhiza</i> (Mor LED)	10.9 (125 mg/mL)	Mevcut alışma
<i>W. arrhiza</i> (Mavi LED)	1.8 (125 mg/mL)	Mevcut alışma

Tipnee ve ark. (2017), standart şartlarda yetiştirilen *W. globosa*’nın 0.6 mg/mL konsantrasyondaki etanol ekstresinin %3.47, Yadav ve ark. (2024) %47.46 DPPH radikal giderme aktivitesi gösterdiğini rapor etmişlerdir. Mevcut alışmamızda, *W. arrhiza*’nın radikal giderme aktivitesi, 125 $\mu\text{g/mL}$ ’lik konsantrasyonda mor LED numunelerinin %10.9, kırmızı LED numunelerinin %9.2 gibi bir değer vermesi, abiyotik stres şartları altında ürettiği spesifik fitokimyasal bileşen miktarlarıyla ilişkili olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Köksüz su mercimeği, sahip olduğu antioksidan madde içerikleriyle DPPH radikal giderme aktivitesine sahiptir. Farklı ışık spektrumları bitkinin antioksidan içeriğini değiştirdiği için DPPH analizi sonuçları da farklılık göstermektedir.

4.2.4 Fe⁺² ile Şelat Oluşturma Aktivite Sonuçları

Demir, oksijen verisinde, solunumda ve birçok enzim aktivitesinde önemli bir role sahip olan hayati bir metaldir. Ancak demir aynı zamanda aşırı derecede reaktif bir metal olup, fenton tipi radikallerin hidroksil radikallerinin oluşumunda rol oynar. Hücre zarlarına yakın hücrelerde üretilen hidroksil radikalleri, membran fosfolipitlerinin doymamış yağ asitlerine saldırarak lipid peroksidasyonunu tetikler. Bu nedenle demir iyonlarının şelatlaşması, oksidatif stresi azaltma açısından oldukça önemli bir parametredir. Geçiş metalleri arasında demir, yüksek reaktivitesi nedeniyle lipid oksidasyonunda en önemli pro-oksidan olarak bilinmektedir. Aynı zamanda demir iyonları Fenton reaksiyonlarının oluşumunda rol oynar ve hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olur. Ortamda miktarı artan hidroksil radikalının DNA'ya zarar verdiği ve ileri süreçlerde genetik mutasyonlara ve kansere neden olduğu bilinmektedir. Bu süreçte devreye giren sekonder antioksidanlar, metal iyonlarıyla şelat oluşturarak ve Fenton reaksiyonlarını $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + \cdot OH + OH^-$ denklemiyle olduğu gibi inhibe ederek kanser oluşumuna ilerleyen bu süreci önleyebilir.

W. arrhiza numunelerinin 25 µg/mL'lik konsantrasyonları ile gerçekleştirilen analiz sonucunda, ortamda ferrozin ile birleşme yoluyla meydana çıkan rengin azalmasına göre şelatlaşan demir iyonu miktarlarından elde edilen sonuçlara göre (Çizelge 4.26) şelat oluşturma yüzdesi (%) en fazla mavi LED altında yetiştirilen *W. arrhiza* numunesinde tespit edilmiştir (%20.7). En düşük şelatlaşma aktivitesi ise (%1.8) beyaz LED numunesinde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.26 Ekstraktların Fe(II) İyonu ile Şelat Oluşturma Aktiviteleri ve DPPH Radikali Süpürme Yüzdeleri Karşılaştırmaları

Numuneler	Şelat oluşturma % (25 µg/mL numune)	DPPH %(125 µg/mL numune %inhibisyon)
Beyaz	1.840	1.230
Kırmızı	5.928	9.151
Mor	13.798	10.887
Mavi	20.646	1.772

W. arrhiza'nın antioksidan etkiye ve demir şelatlama aktivitesine sahip olduğunu gösteren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Su mercimekleri üzerine yapılmış farklı çalışmalar incelendiğinde; *L. minor*'un etanolik ekstresi ile yapılan Fe⁺² ile şelat oluşturma aktivitesi, 15 µg/mL'lik konsantrasyonda %61'lik bir oran tespit

edilmiştir (Gülçin ve ark., 2010). *L. minor* ile yapılan başka bir çalışmada, 25 µg/mL’lik etanolik konsantrasyonda %12’lik şelatlama tespit edilmiştir (Doğan ve ark., 2022). Mevcut çalışmamızda ise *W. arrhiza*’nın metanolik ektresinde (25 µg/ml’lik konsantrasyon) Fe⁺² ile şelat oluşturma aktivitesi farklı çalışma sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, nispeten yaklaşık sonuçlar göstermiştir. Su mercimekleri, antioksidan mekanizmaları aktive ederek besin emilimini etkileyen ağır metallerin stresini hafifletir (Zhou ve ark., 2019). *Wolffia*’nın yapısında oluşturabildiği doğal bileşiklerden gelen antioksidan aktiviteler, radikal temizleme, zincir kırma ve metal şelasyonu gibi birçok etki mekanizmasını gerçekleştirebilir. Bitki hammaddesinde bulunan çeşitli bileşik türleri sinerjik etki gösterebilir (Monthakantirat ve ark., 2022).

Su mercimekleri, aşırı ışığa maruz kaldığında hasarı önlemek için antioksidan biriktirir. Ancak, optimum ışık yoğunluğunun seçiminin ışık verimliliğini antioksidan içerikleriyle dengelediği öne sürülmüştür (Stewart ve ark., 2020).

Sonuçlar ışığında *W. arrhiza*’nın şelat oluşturmak için uygun işlevsel gruplara sahip olduğu düşünülebilir (Çizelge 4.27). Elde edilen sonuçlar, bu bitkinin, sudan metal uzaklaştırma (fitoremediasyon) kapasitesi ile ilgili yapılmış literatürlerle uyumaktadır (Arslan Günal, 2023; Piotrowska ve ark., 2010b).

Çizelge 4.27 Antioksidan Analizlerin Karşılaştırma Tablosu

Sıra	Antioksidan Analizler	B(1)	K(2)	M(3)	M(4)	Kriterler	Sıralama
1	Fenolik İçerik	4.7	44	36.7	17.4	Gallik Asit(GAE)	2 > 3 > 4 > 1
2	Flavonoid İçerik	35	220	202	165	Kuersetin(KE)	2 > 3 > 4 > 1
3	DPPH Süpürme	1.2	9.2	10.9	1.8	% Süpürme Oranı	3 > 2 > 4 > 1
4	Fe ⁺² Şelat Oluş.	1.84	5.93	13.8	20.65	% Şelat oluşturma	4 > 3 > 2 > 1

4.3 In vitro Antimikrobiyal Aktivite Analiz Sonuçları

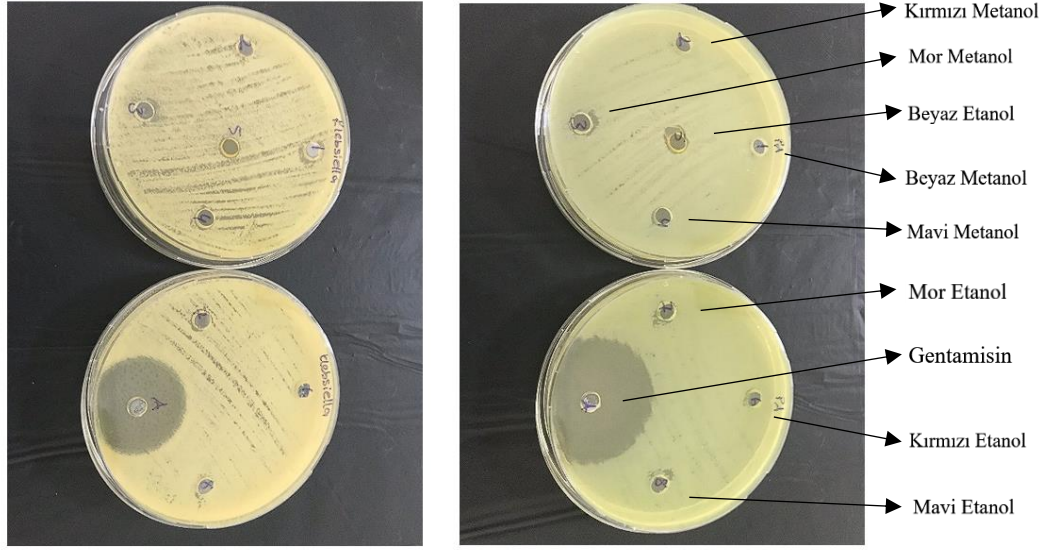
W. arrhiza’nın SK-CO₂ enkstraksiyonu özütlerinden etonollü ve metanollü numuneler hazırlanarak in vitro antimikrobiyal analizler yapılmıştır. Beyaz, kırmızı, mor ve mavi LED ışık numunelerinden elde edilen özütlerin miktarları farklı olduğu için, tüm stoklar en düşük özüt miktarı olan 2.9 mg/mL (kırmızı LED örneği) üzerinden hesaplanarak hazırlanmıştır. Farklı LED ışık numunelerinden 250 µL’lik çözelti hazırlanarak kuyucuklara 25 µL enjekte edilmiş ve mikroorganizmalar üzerindeki etkileri gözlenmiştir (Çizelge 4.28).

Üç Gram negatif bakteri, iki Gram pozitif bakteri ve 1 maya üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite testi sonucunda, tüm ekstraktlar kontrol antibiyotiğine kıyasla daha az inhibisyon etkisi göstermiştir. Fakat literatürde ≥ 20 mm'nin üzerindeki inhibisyon zon çapları “duyarlı”, $15 \text{ mm} \leq$ inhibisyon zon çapı $\leq 19 \text{ mm}$ “orta”, inhibisyon zon çapı $\leq 14 \text{ mm}$ “dirençli” olarak tanımlanır (Çil ve ark., 2021). Genel olarak antimikrobiyal etki değerlendirildiğinde, köksüz su mercimeği özütlerinden dikkat çekici bir antimikrobiyal etki gözlenmemiştir (Şekil 4.18, Şekil 4.19). Sadece Gram pozitif bakteri olan *Bacillus cereus* üzerinde mor LED ışıktaki yetiştirilen *W. arrhiza*'nın etanollü ekstraktı “orta” derecede etki göstermiştir (Şekil 4.20). Antimikrobiyal aktivitenin az kaydedilmesinin nedeni, hazırlanan etanollü ve metanollü solüsyonların içeriğindeki etken madde konsantrasyonunun düşük olmasıdır, çünkü SK-CO₂ ekstraksiyon özütlerinin az olması nedeniyle stok solüsyonların içeriği de azdır. Metanollü ve etanollü solüsyonların antimikrobiyal etkisini kendi arasında değerlendirdiğimizde, etanol ile hazırlanan örneklerin tamamının metanol ekstraktlarına göre daha iyi inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir. Yapılan ön çalışmada, *W. arrhiza* su ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi tespit edilmemiştir.

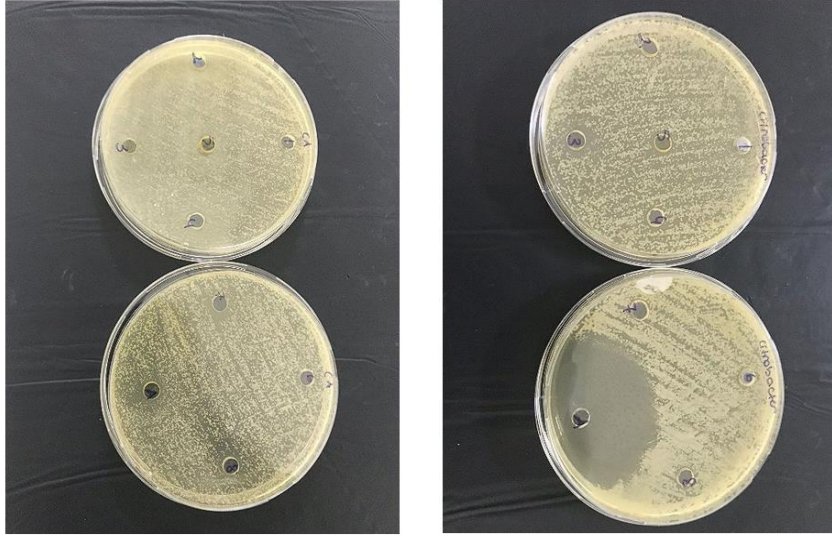
Çizelge 4.28 *Wolffia arrhiza* Etanolik ve Metanolik Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Mikroorganizma	İnhibisyon Zon Çapları (mm)								A/F
	Beyaz Metanol	Kırmızı Metanol	Mor Metanol	Mavi Metanol	Beyaz Etanol	Kırmızı Etanol	Mor Etanol	Mavi Etanol	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gr -)	0	0	9	7	8	0	9.5	8	38
<i>Citrobacter freundii</i> (Gr -)	0	0	11	0	0	0	9	8.5	48
<i>Micrococcus luteus</i> (Gr +)	0	11	10	12	9	13.5	10	11	50
<i>Bacillus cereus</i> (Gr +)	8.5	8	10	12	11	10	15	13	42
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (Gr -)	10	0	8	0	8.5	0	8	0	32
<i>Candida albicans</i> (fungus)	-	0	0	9	8	0	0	0	16.5

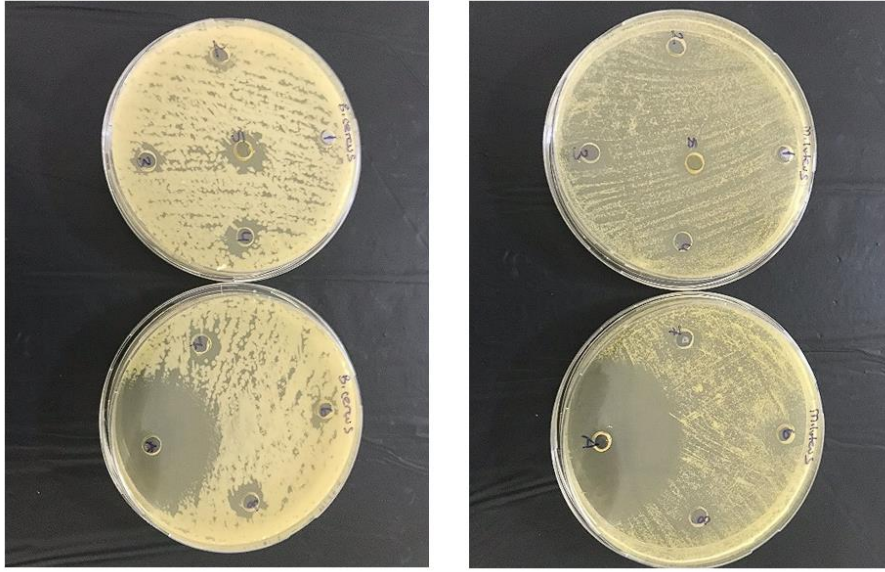
A/F: Antibiyotik/Fungisid (Gentamisin/Nistatin; 50 g/mL, 10⁻¹ seyreltilip, kuyucuklara 25 µL kullanılmıştır.



Şekil 4.18 *Klebsiella pneumoniae* (solda), *Pseudomonas aeruginosa* (sağda)



Şekil 4.19 *Candida albicans* (solda), *Citrobacter freundii* (sağda)



Şekil 4.20 *Bacillus cereus* (solda), *Micrococcus luteus* (sağda)

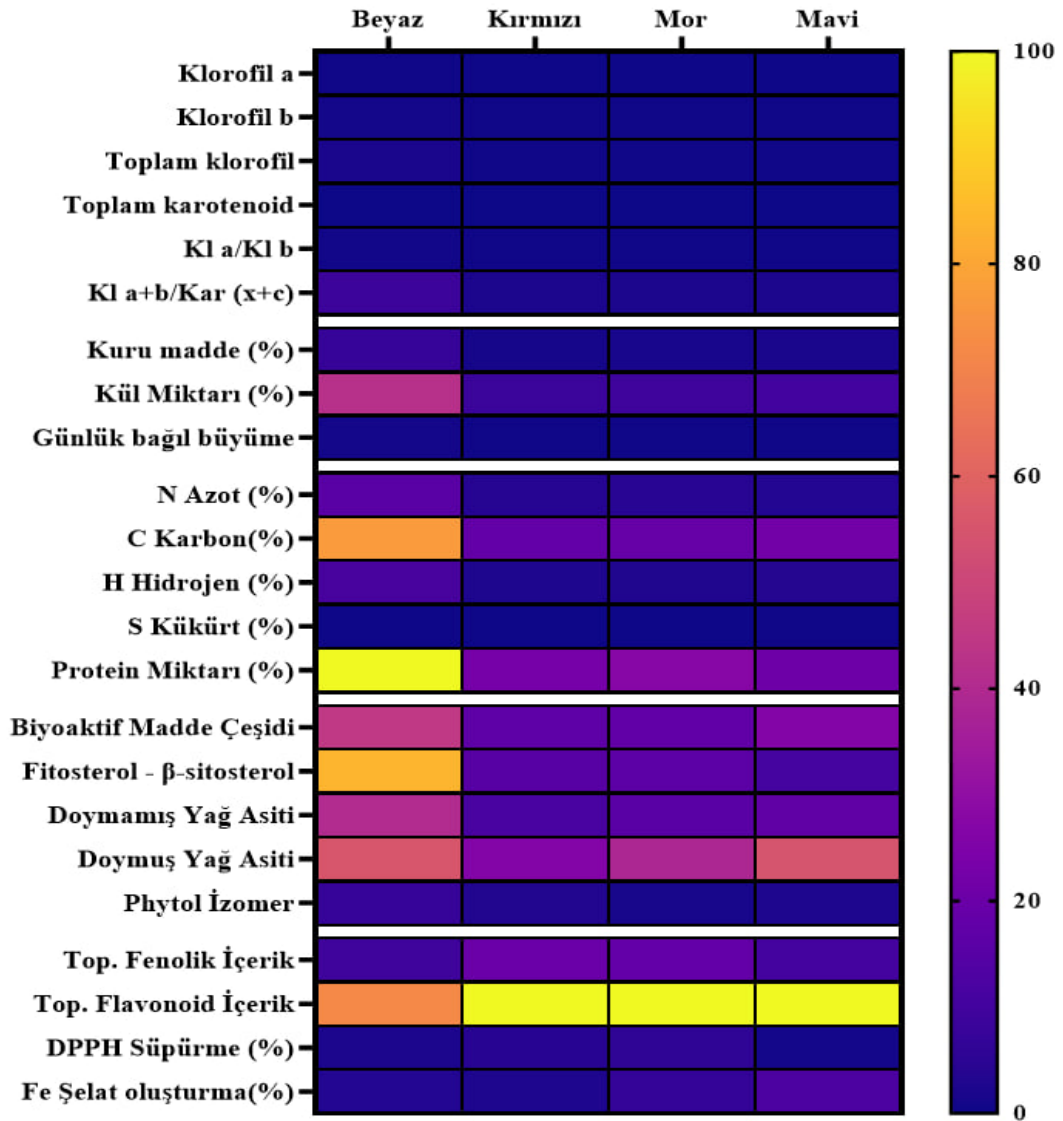
TEKNOFEST-2022 Biyoteknoloji İnovasyon Yarışması'nda *W. arrhiza* ile yaptığımız antimikrobiyal çalışmada, 20 mm ve üzerinde inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Beş Gram pozitif, beş Gram negatif ve iki maya üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite testi sonucunda, *Bacillus cereus*, *Salmonella enterocolica*, *Listeria monocytogenes* üzerinde antimikrobiyal etki bulunamazken, *Sacharomyces cerevisiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde düşük derecede antimikrobiyal etki tespit edilmiştir. Çalışmada tüm ekstraktlarda (etanol, metanol, aseton) en yüksek antimikrobiyal aktivite *Enterococcus faecalis* (Gram pozitif bakteri) üzerinde kaydedilmiştir. İnhibisyon zon çapı 28 mm ölçülen bu örnek floresan ışıkta yetiştirilen köksüz su mercimeğinin etanol özütüdür ve stok konsantrasyonu 17.1 mg/mL'dir (TEKNOFEST-2022, yayımlanmamış veri). Mevcut tez çalışmasında stok konsantrasyon 2.9 mg/mL olduğu için önceki çalışmaya göre antimikrobiyal etki daha az kaydedilmiştir. Enterokoklar fırsatçı patojenlerdir. Özellikle bağışıklığı baskılanmış konakçılarda toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilen çeşitli suşları vardır. Enterokokların neden olduğu enfeksiyonlar arasında endokardit, bakteriyemi ve idrar yolu enfeksiyonları bulunur (Poh ve ark., 2006). Bu tür, bakteriyemi gibi ciddi, ölümcül komplikasyonlara yol açabilir (Bose ve ark., 2015). Tespit edilen birçok tür arasında, *E. faecalis* ve *E. faecium*, enfeksiyona neden olabilen ve antimikrobiyal direnç tehdidi oluşturan en

yaygın türlerdir ve enfeksiyonların çoğundan *E. faecalis* sorumludur (Jett ve ark., 1994; Ruoff ve ark., 1990).

Candida albicans, hafif ağız hastalığından yaygın kandidiyazise kadar çok çeşitli hastalık belirtilerine neden olabilen fırsatçı bir patojendir (Demolsky ve ark., 2022). Bu mikroorganizmaya karşı kullanılan nistatin ve amfoterisin gibi antifungallerin yan etkileri ve mikroorganizmanın bu antifungallere karşı direnç oluşturduğu bildirilmiştir (Scheibler ve ark., 2017). TEKNOFEST çalışmamızda etanolik *Wolffia* ekstraktının (floresan ışık) *C. albicans* patojenine karşı etkili bir antifungal olduğu tespit edilmiştir (zon çapı 22 mm, nistatin 16.5 mm). Aynı zamanda metanol ve aseton özütlerinin de *C. albicans* üzerinde inhibitör etkileri kaydedilmiştir.

Birçok bakteri ve mantar türü insanlarda, hayvanlarda ve bitkilerde enfeksiyonlara neden olmaktadır. Antibakteriyel ve antifungal ilaçların aşırı kullanımı sonucunda mikrobiyal suşlar arasında antibiyotik direncinin gelişmesine yol açar. Mikroorganizmalara karşı şifalı bitkilerin kullanılması, bu tür enfeksiyonları tedavi etmek için daha ucuz ve zararsız bir alternatif sağlar (Ahmad ve ark., 2018). İleride yapılacak çalışmalarda, *W. arrhiza*'nın farklı çözücülerle hazırlanan daha yüksek ham özütleri kullanılarak umut verici antimikrobiyal aktiviteler elde edilebilir. Özellikle doğal kaynaklardan gelen, daha güvenli ve daha az direnç indükleyicisi olan yeni ilaçların üretimi açısından, bu tür araştırmaların geniş çapta yapılması önemlidir. Hatta hazırlanan özütler, antimikrobiyal ilaçlar üretmek için kullanılabilecek aktif bileşenleri elde etmek için saflaştırılabilir.

W. arrhiza üzerinde yapılan analizlerde ortaya çıkan tüm sonuçların LED ışık tipine göre hot plot heat map grafiği Şekil 4.21'de verilmiştir.



Şekil 4.21 *W. arrhiza*'nın Farklı LED Işık Kültürlerindeki Analizlerin Isı Haritası Grafiği

Çizelge 4.29'da farklı renk LED ışıklarda yetiştirilen kültürlerin paylaşılan tüm analiz sonuçları değerlendirildiğinde, her LED ışık tipinde farklı niceliklerin ön plana çıktığı görülmektedir. Bu durum beslenmeye yönelik biyoaktif bileşen ya da farmakolojide etken madde sentezi eldesinde kullanılabilecek değerli bilgiler ortaya koymaktadır. Buradaki sonuçların kullanımı, yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacak ve böylece çarpan etkinin artması sağlanacaktır.

Çizelge 4.29 *W. arrhiza* Üzerinde Yapılan Analizlerde Ortaya Çıkan Tüm Sonuçların LED Işık Tipine Göre Karşılaştırmalı Dağılımları

Numuneler	Beyaz	Kırmızı	Mor	Mavi
Klorofil a	0.36	0.39	0.37	0.38
Klorofil b	0.65	0.67	0.57	0.49
Toplam klorofil	1.01	1.06	0.94	0.87
Toplam karotenoid	0.23	0.23	0.23	0.23
Kl a/Kl b	0.55	0.58	0.65	0.78
Kl a+b/Kar (x+c)	4.39	4.61	4.09	3.78
Kuru madde (%)	3.73	2.72	3.06	3.06
Kül Miktarı (%)	20.69	18.33	18.33	16.67
Günlük bağıl büyüme	0.73	0.73	0.55	0.55
Azot (%)	7.79	8.04	8.85	5.45
Karbon(%)	37.31	39.46	37.99	36.35
Hidrojen (%)	5.69	5.92	5.70	5.80
Kükürt (%)	0.26	0.31	0.37	0.51
Protein Miktarı (%)	48.7	50.3	55.3	34.1
Biyoaktif Madde Çeşidi	22	37	35	43
Fitosterol - β -sitosterol	40.7	33.1	32.4	17.7
Doymamış Yağ Asiti	19.7	25.4	31.2	28.2
Doymuş Yağ Asiti	2,7	5,8	7,8	8,9
Phytol İzomer	3.7	6.9	2.9	4.4
Top. Fenolik İçerik	4.7	44	36.7	17.4
Top. Flavonoid İçerik	35	220	201	164
DPPH Süpürme (%)	1.2	9.2	10.9	1.8
Fe Şelat oluşturma(%)	1.84	5.93	13.8	20.65

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- *W. arrhiza*'nın farklı LED ışıklar altında yetiştirilen örneklerinde toplam klorofil değerleri sırasıyla kırmızı beyaz mor ve mavi renklerde okunmuştur. Kırmızı LED ışık bitkide daha fazla klorofil oluşumuna sebep olmuştur.
- Kuru madde içeriği değerlendirildiğinde en fazla beyaz LED ışık beyaz ışığın fotosentezi kırmızı ve maviye oranla daha güçlü bir şekilde artırdığı görülmüştür.
- Karotenoid değerleri tüm ışık tiplerinde aynı sonuçları vermiş olup farklı LED ışıkların kimyasal stres faktörleri gibi karotenoid değerlerinde farklılaşmaya sebep olmadığı söylenebilir.
- Bu sonuçlar, LED aydınlatmanın farklı dalga boylarının ısı dağılımını, enerji dağılımını, döngüsel elektron transferini ve fotosentetik elektron taşıma zincirinin aktivitesini özel olarak düzenlediğini gösterir.
- Aydınlatma sisteminin optimizasyonu, ışık formülünün oluşturulması ve ışık ortamı yönetim stratejisi, fotosentetik verimliliği en üst düzeye çıkararak biyokütle birikimini artırabilir ve fotosentetik ürünlerin birikimini büyük ölçüde artırabilir. Bu durum *W. arrhiza* gibi potansiyeli yüksek ürün verimliliği için önemlidir.
- Yüzde kül miktarı analiz sonuçları yüzde kuru değerleri ile doğru orantılı çıkmıştır. Beyaz ışık numunelerinde (%20.69) iken bunu kırmızı (%20.69) mor (%18.33) ve mavi LED (%18.33) ışık numuneleri takip etmiştir.
- Kül analizi çalışma sonucu, inorganik madde içeriğinin diğer çalışmalardan daha yüksek olması, daha fazla organik bileşen sentezlediğinin göstergesidir.
- Literatür çalışmaları ile karşılaştırıldığında devamlı olarak sabit LED aydınlatmasına maruz bırakılan *W. arrhiza* örneklerinin yoğun abiyotik stres faktörü altında olduğu kabul edilebilir. Bu şartlar altında metabolizmasında gerçekleştirdiği değişimler gereği daha iyi fotosentez yapabildiği söylenebilir.
- Günlük bağıl büyüme (RGR gün⁻¹) sonuçlarına göre en iyi büyüme ortamı beyaz LED (0.732) ışık, sonrasında küçük bir farkla kırmızı LED (0.727) ışık, daha sonra ise mor LED (0.549) ışıktır.

- 2 katına çıkma süresi (DT) sonuçları değerlendirildiğinde beyaz ve kırmızı LED ışık örneklerinin bir günden daha kısa bir sürede iki katına çıktığı söylenebilir.
- En yüksek standart sapma mavi LED ışıktaki (0,178), en düşük standart sapma kırmızı LED ışıktaki (0,094) görülmektedir. Bu veriler ışığında, mavi LED ışıktaki büyüme oranlarının daha değişken, kırmızı LED ışıktaki ise daha tutarlı olduğu söylenebilir.
- Farklı ve tek tip LED ışıkla abiyotik stres koşulu altında yetiştirilen *W. arrhiza* 'nın normal ışık şartları altında yetiştirilenlere göre %58 ile %35 arasında daha iyi büyüebildiği görülmektedir.
- *W. arrhiza* 'nın % protein içeriği sırasıyla mor (%55.3), kırmızı (%50.3), beyaz (%48.7) ve mavi (%34.1) olarak hesaplanmıştır. Açıkça görülmektedir ki çalışmamızda uzun süre boyunca LED ışık altında yetiştirilerek abiyotik strese tutulan *W. arrhiza* 'nın protein içeriği özellikle kırmızı LED ışık etkisi altında %21, mavi LED etkisi altında %53.2 kadar daha artmıştır.
- Elemental analiz sonuçlarına göre Karbon(C) ve Hidrojen(H) elementleri en iyi kırmızı LED ışık, Kükürt (S) elementi mavi LED ışık, Azot elementi ise mor LED ışık altında en yüksek değerler hesaplanmıştır.
- Sürekli olarak mor LED ışık altında yetiştirilen *W. arrhiza* örneklerinin %55.3 protein biriktirdiği hesaplanmıştır. Bu protein değeri normal ışık altında yapılan farklı deneysel çalışmalarla karşılaştırıldığında çok yüksek bir orandır. Alternatif protein kaynağı arayışında *W. arrhiza* mor LED ışık altında yetiştirilmesi verimli bir çözüm olacaktır.
- Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile hazırlanan özütlerin GC-MS analizleri yapılmıştır. GC-MS analizleri kapsamında incelenen 4 farklı LED ışık numune ekstraktlarındaki ortak maddeler % alan değerlerine göre (≥ 1) sırasıyla Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S) (Campesterol), Cyclododecyne, n-Hexadecanoic acid, Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl, 9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z), Docosa-2,6,10,14,18-pentaen-22-al, 2,6,10,15,18-pentamethyl-, all-trans, 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)'dir.

- *W. arrhiza*'nın kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol gibi çok değerli fitosteroller içerdiği belirlenmiştir. Diyetle en fazla bulunması gereken fitosteroller β -sitosterol, kampesterol ve stigmasteroldür.
- Kampesterol bileşeninin beyaz LED ışık altında yetiştirilen SK-CO₂ özütü, başka bir çalışmada floresan ışıktaki yetiştirilen etanolik ekstredeki miktarından 14 kat daha fazla oluşmuştur.
- *W. arrhiza* yapısında barındırdığı fitosteroller sayesinde kolesterolü düşürerek kalp sağlığını destekleyecek en iyi çözümlerden biridir.
- Mevcut çalışmamızda farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*'nın kampesterol içeriği beyaz %37.6, kırmızı %30.1, mor %28.1, mavi %16; stigmasterol içeriği beyaz %1.2, kırmızı %1.2, mor %0.9, mavi %0.9; β -sitosterol içeriği beyaz %37.6, kırmızı %30.1, mor %28.1, mavi %16 olarak belirlenmiştir. Bu biyokimyasal bileşenlerin yüksek değerlerde çıkmasını, uyguladığımız abiyotik stres faktörüne (LED ışık) bağlayabiliriz.
- Çalışmamızda beyaz LED ışıkta %44, kırmızı LED ışıkta %37, mor LED ışıkta %39, mavi LED ışıkta %22 fitosterol içerdiği belirlenmiştir. Çalışma öncesinde etanol, metanol ve aseton çözücülerini ile yapılan ekstraksiyon sonuçları ile süper kritik ekstraksiyon sonuçlarının farklı olduğu görülmektedir. Aynı zamanda doğal ışık ile floresan ışık altında yetiştirme ile farklı ışıklar altında yetiştirme arasında GC-MS analizleri açısından büyük farklar çıkmıştır. Özellikle fitosterol ve Alfa tokkoferol içeriklerinin ortaya çıkarılmasına ekstraksiyon yöntemi ve farklı çözücü kullanımı biyoaktif bileşen çeşidini ve yüzdesini doğrudan etkilediği görülmektedir.
- Çalışmamızda dl-.alpha.-Tocopherol sadece kırmızı (%0.8) ve mavi (%0.6) LED ışık altında ortaya çıkmıştır.
- Yüksek oranda fitosterol ve protein barındıran bitkilerden *W. arrhiza*, beslenme diyetlerinde kesinlikle yerini almalıdır.
- Çalışmamızda Cyclododecyne en yüksek beyaz LED ışık örneğinde %31.2, en düşük beyaz LED ışık örneğinde %19.7 oranında kaydedilmiştir.
- Hexadecanoic acid (yağ asidi metil esteri) hayvan, bitki ve mikroorganizmalardaki en yaygın doymuş yağ asididir. Çalışmamızda bu bileşik en

yüksek mavi LED ışık örneğinde %8.9, en düşük beyaz LED ışık örneğinde %2.7 oranında kaydedilmiştir

➤ Antifungal, antitümör aktivite, antibakteriyel ve sitotoksik etkileri ile öne çıkan Heptacosane (eicosane) maddesi en yüksek kırmızı LED ışık örneğinde %3.6, beyaz LED ışık örneğinde ise hiç oluşmamıştır.

➤ Antioksidan, tümör baskılayıcı ve yaşlanma karşıtı özellikleri bilinen 5-Nonadecen-1-ol beyaz ve kırmızı LED ışık kültürlerinde hiç oluşmazken, mor LED ışıkta %6, mavi LED ışıkta ise %16.4 seviyelerindedir. Mevcut çalışmamıza göre, ilaç etken maddesi üretimi açısından bu değerli bileşeni elde etmek için doğru yetiştirme ortamı hiç şüphesiz mor LED aydınlatma sahip olmalıdır.

➤ Kütle spektrum sonuçlarından, farklı LED ışıklarda yetiştirilen ve farklı organik çözücülerle SKE yöntemiyle elde edilen *Wolffia* özütlerinin önemli sekonder metabolitler içerdiği ortaya çıkarılmıştır. *Wolffia* bitkisinin çok önemli farmakolojik aktivitelere sahip biyoaktif bir bileşik olan β -sitosterol ve fitolü yüksek oranlarda içerdiği, bunun yanı sıra farklı biyoaktif bileşiklere de sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu biyoaktif bileşikler hem farmakolojide kullanılabilme potansiyeline sahiptir hem de sağlıklı gıda olarak insan bağışıklığını artırabilecek niteliktedir. Fitokimyasallar ve yağ asitleri, tıbbi özelliklerin (antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antikanserojen vb. ajanlar olarak) kullanılması için gerekli olan en önemli kaynaklardır. Çalışmamızda köksüz su mercimeği *Wolffia* bitkisinde çeşitli biyoaktif bileşiklerin mevcudiyeti, bu bitkinin geleneksel olarak Güney Doğu Asya'da uzun yıllardır tüketilmesini ve hatta çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanımını haklı çıkarmaktadır.

➤ En yüksek fenolik madde miktarı kırmızı LED numunesinde (43.918 mg GAE/g) tespit edilirken, bunu sırasıyla mor, mavi ve beyaz LED ışık örnekleri takip etmiştir.

➤ Çevremizde sıklıkla tükettiğimiz kıvılcık (2.2 mg/g), dut (2.1 mg/g), ahududu (1.4 mg/g), çilek (0.7 mg/g), yabani ahududu (0.9 mg/g), böğürtlen (2.2 mg/g) Yang ve Choi (2017) gibi meyvelerle karşılaştırıldığında kırmızı LED ışıkta yetiştirilen *W.arrhiza*'nın (43.9 mg/g) toplam fenolik içerik değerinin çok yüksek olduğu görülmüştür.

- Fenolik bileşikler bitkilerdeki temel ikincil metabolitler olup, antibakteriyel, antienflamatuar ve antioksidan aktivite dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik fonksiyonlarla ilişkili olduğu görülmektedir. *W. arrhiza*'daki yüksek miktarda fenolik bileşik içeriği, onun yenilebilir ve besleyici özelliklerini ve farmasötik etkilerini büyük ölçüde güçlendirmektedir.
- *W. arrhiza*'nın SK-CO₂ bitki ekstresinde toplam flavonoid madde miktarı en fazla yine kırmızı LED ışık (220.450 QE/g) olarak tespit edilmiştir (Kırmızı > Mor > Mavi > Beyaz).
- Çalışmamızda *W. arrhiza*'nın tespit edilen yüksek flavonoid içeriği, bu bitkinin sağlık yararları açısından dikkat çekici bir gıda takviyesi olarak potansiyelini vurgulamaktadır. Ayrıca çalışma sonucumuz, Tipnee ve ark. (2017)'nin *W. globosa* üzerinde yaptığı anti-enflamatuar ve antioksidan aktivitelerin fitosteroller, karotenoidler ve tokoferollerden kaynaklandığını bildiren çalışma ile uyumludur.
- Mevcut çalışmamızdaki toplam fenolik madde değerleri ve DPPH % süpürme sonuçları, standart şartlarda yetiştirilmiş *W. globosa* etanol ekstresi ile karşılaştırıldığında Tipnee ve ark. (2017) *W. arrhiza*'nın radikal giderme aktivitesi, abiyotik stres şartları altında ürettiği spesifik fitokimyasal bileşen miktarlarıyla ilişkili olabilir.
- Bu çalışmada, öncelikle Türkiye'de gelecek için umut verici bitki bazlı protein kaynağı olarak *Wolffia* bitkisinin daha iyi anlaşılması için değerli bileşenleri, biyoaktif özellikleri, üretimi, farmasötik ve nutrasötik önemi vurgulanmıştır. Nutrasötik pazarı şu anda yüksek etkili, milyarlarca dolarlık bir endüstridir ve önümüzdeki on yılda hızla büyümesi beklenmektedir. Farklı inovatif kullanım alanlarıyla değerlendirildiğinde (biyoaktif pigmentler, nütrientler, mineraller, lifler gibi) dünyanın en küçük spermatofiti olan köksüz su mercimeği *Wolffia* bitkisinin, ülkemiz ve dünya pazarı için nutrasötik pazarında ekonomiye büyük katkı sunacak değerli bir ürün potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.
- Dünyanın en küçük çiçekli bitkisi *Wolffia*'nın zengin protein içeriğinden ve fotosentetik pigmentlerinden dolayı fonksiyonel gıda olarak (nutrasötik), içerdiği değerli fitokimyasalların biyoaktif rollerinden dolayı da farmasötik olarak önemli aktivitelere sahip olduğu (antimikrobiyal, antifungal, antioksidan aktivite) tespit

edilmiştir. Dolayısıyla, Türkiye’de henüz tanınmayan *Wolffia* bitkisi, nutrasötik ve farmasötik olarak değerli bir üründür, etnobotanik olarak da kullanılabilme potansiyeli vardır.

➤ Farklı LED ışıklar altında yetiştirilen *Wolffia*’nın incelenen numunelerdeki zenginleştirilen fitokimyasal içerikleri, Süperkritik ekstraksiyon yönteminin sunmuş olduğu mucizevi, bileşene özel çalışma imkânı veren potansiyeli ile birleştiğinde etkin bileşiklerin izolasyonu ve karakterizasyonu yapılmış olacaktır. Bu maddelerinde in vitro ve in vivo etkileri üzerinde daha kapsamlı değerlendirmeler ile yeni drog geliştirme amaçlı çalışmalar ilerleyen süreçte mutlaka yapılmalıdır.

➤ Bu çalışma kapsamında birçok parametrenin araştırılmış olmasına rağmen, *W. arrhiza*’nın SKE metodu kullanılarak yeni ve umut verici nutrasötik protein kaynağı olarak etkinliğini ve potansiyelini kanıtlamak için özellikle aminoasit çeşitliliği ve mineral biriktirme kabiliyeti gibi diğer mekanizmaların daha fazla araştırılması gerekmektedir.

➤ Bu çalışma köksüz su mercimeği *W. arrhiza*’nın SKE metoduyla elde edilen özütünün değerlendirmeye alındığı literatürdeki ilk araştırma olma niteliğindedir.

6. KAYNAKLAR

- Anonim, (2010). Supercritical Fluid. <https://www.chemistrylearner.com/supercritical-fluid.html>. (Erişim tarihi: 27.06.2024).
- Anonim, (2024). Fitosteroller. Synevo Laboratuvarları. <https://synevo.com.tr/tr/Fitosteroller>. (Erişim tarihi: 15.05.2024).
- AOAC, (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Association Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, DC.
- AOAC, (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th edn. AOAC International, Md., USA.
- Ağaoğlu, S., Certel, M., Sarıca, M., Eser, V., Kılınçer, N., Ayanoğlu, F., . . . Bircan, R. (2003). Tübitak vizyon 2023 bilim ve teknoloji öngörüsü projesi tarım ve gıda paneli son rapor. *Tübitak, Ankara*.
- Ahmad, K., Ali, A., Afridi, WA., Somayya, R. & Ullah, MJ. (2018). Antimicrobial, hemagglutination and phytotoxic activity of crude ethanolic and aqueous extracts of *Seriphidium kurramense*. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 38(3), 433-438.
- Ajila, C., Rao, LJ. & Rao, UP. (2010). Characterization of bioactive compounds from raw and ripe *Mangifera indica* l. Peel extracts. *Food and Chemical Toxicology*, 48(12), 3406-3411.
- Ak, B., Avsaroglu, E., Isik, O., Özyurt, G., Kafkas, E. & Etyemez, M. (2016). Nutritional and physicochemical characteristics of bread enriched with microalgae *Spirulina platensis*. *Journal of Engineering Research and Application*, 6(9).
- Akın, G. (2006). Küresel ısınma, nedenleri ve sonuçları. *Ankara Üniversitesi Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi*, 46(2), 29-43.
- Akın, M. & Akın, G. (2017). Suyun önemi, Türkiye’de su potansiyeli, su havzaları ve su kirliliği. *Ankara Üniversitesi Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi*, 47(2), 105-118.
- Akkarajeerawat, S., Chauvanasmith, T. & Keatsirisart, C. (2024). The optimization of high-protein duckweed cultivation in eutrophicated water with mutualistic bacteria. *bioRxiv*, 2024.2002. 2005.578878.
- Akpuaka, A., Ekwenchi, M., Dashak, D. & Dildar, A. (2013). Biological activities of characterized isolates of n-hexane extract of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) leaves. *Nature and Science*, 11(5), 141-147.
- Alaşalvar, C. & Pelvan, E. (2009). Günümüzün ve geleceğin gıdaları fonksiyonel gıdalar. *Bilim ve Teknik*, 8, 26-29.
- Alencar, MV., Islam, MT., Ali, ES., Santos, JV., Paz, MF., Sousa, J. . . . Cavalcante, AA. (2018). Association of phytol with toxic and cytotoxic activities in an antitumoral perspective: A meta-analysis and systemic review. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 18(13), 1828-1837.

- Ali, MB., Khandaker, L. & Oba, S. (2009). Comparative study on functional components, antioxidant activity and color parameters of selected colored leafy vegetables as affected by photoperiods. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7(3-4), 392-398.
- Allorent, G. & Petroustos, D. (2017). Photoreceptor-dependent regulation of photoprotection. *Current opinion in plant biology*, 37, 102-108.
- Angell, AR., Mata, L., de Nys, R. & Paul, NA. (2016). The protein content of seaweeds: A universal nitrogen-to-protein conversion factor of five. *Journal of Applied Phycology*, 28(1), 511-524.
- Appenroth, K.-J., Krech, K., Keresztes, A., Fischer, W. & Koloczek, H. (2010). Effects of nickel on the chloroplasts of the duckweeds *Spirodela polyrhiza* and *Lemna minor* and their possible use in biomonitoring and phytoremediation. *Chemosphere*, 78(3), 216-223.
- Appenroth, K.-J., Sree, KS., Bog, M., Ecker, J., Seeliger, C., Böhm, V. . . . Tolzin-Banasch, K. 2018. Nutritional value of the duckweed species of the genus *Wolffia* (Lemnaceae) as human food. *Frontiers in Chemistry*, 6, 483.
- Appenroth, K.-J., Sree, KS., Böhm, V., Hammann, S., Vetter, W., Leiterer, M. & Jahreis, G. (2017). Nutritional value of duckweeds (Lemnaceae) as human food. *Food Chemistry*, 217, 266-273.
- Appenroth, K.-J., Teller, S. & Horn, M. (1996). Photophysiology of turion formation and germination in *Spirodela polyrhiza*. *Biologia plantarum*, 38, 95-106.
- Appenroth, K. J., Sree, KS., Bog, M., Ecker, J., Seeliger, C., Bohm, V., . . . Jahreis, G. 2018. Nutritional value of the duckweed species of the genus *Wolffia* (Lemnaceae) as human food. *Food Chemistry*, 6, 483.
- Appenroth, K. J., Sree, KS., Bohm, V., Hammann, S., Vetter, W., Leiterer, M. & Jahreis, G. (2017). Nutritional value of duckweeds (Lemnaceae) as human food. *Food Chemistry*, 217, 266-273.
- Arslan Günal, S. (2023). *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae) kullanarak belediye atık sularından nütrient elementlerin uzaklaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hidrobiyoloji Anabilim Dalı, Ordu.
- Arslan Günal, S. & Taş, B. (2022). Uzay çalışmalarında biyorejeneratif yaşam destek sistemleri için potansiyel bir tür: Dünyanın en küçük spermatofiti, köksüz su mercimeği (*Wolffia arrhiza*). International scientific research congress dedicated to the 30th anniversary of baku eurasia university. *Proceedings Book*, 305-316.
- Artetxe, U., García-Plazaola, J. I., Hernández, A. & Becerril, J. M. (2002). Low light grown duckweed plants are more protected against the toxicity induced by zn and cd. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40(10), 859-863.
- Avşar, G., Topallar, S., Özdemir, S. & Külekçi, B. (2014). Uçucu bileşen İçeren bitkilerden süperkritik ekstraksiyon yöntemi ile özütleme. 4. *Kozmetik Kimyası, Üretimi, Standardizasyonu Kongresi, Kimyagerler Derneği*, 14-16.
- Aydın, S. (2012). Giresun ilinden toplanan *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale (Parmeliaceae) ve *Rocella phycopsis* Ach. (Roccellaceae) likenlerinin

antibakteriyal ve antioksidan özelliklerinin araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Giresun.,

- Baek, G., Saeed, M. & Choi, HK. (2021). Duckweeds: Their utilization, metabolites and cultivation. *Applied Biological Chemistry*, 64, 1-15.
- Barnes, C., Tibbitts, T., Sager, J., Deitzer, G., Bubenheim, D., Koerner, G. & Bugbee, B. (1993). Accuracy of quantum sensors measuring yield photon flux and photosynthetic photon flux. *HortScience*, 28(12), 1197-1200.
- Başer, K. (2010). Tıbbi ve aromatik bitkisel ürünlerin üretimi ve kalite kontrolü. *Anadolu Üniversitesi Yayını No: 2109, Açıköğretim Fakültesi Yayını No: 1137*, 2010.
- Bäumler, ER., Crapiste, GH. & Carelli, AA. (2010). Solvent extraction: Kinetic study of major and minor compounds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(12), 1489-1495.
- Berge, KE., von Bergmann, K., Lutjohann, D., Guerra, R., Grundy, SM., Hobbs, H. H. & Cohen, JC. (2002). Heritability of plasma noncholesterol sterols and relationship to DNA sequence polymorphism in *abcg5* and *abcg8*. *Journal of Lipid Research*, 43(3), 486-494.
- Berkovich, YA., Erokhin, A., Smolianina, S., Prenger, J. & Levine, H. (2004). *Development and testing of a cylindrical led lighting unit for a conveyer-type salad production system* (0148-7191).
- Berkovich, YA., Konovalova, IO., Smolyanina, SO., Erokhin, AN., Avercheva, OV., Bassarskaya, EM. . . . Tarakanov, IG. (2017). Led crop illumination inside space greenhouses. *Reach*, 6, 11-24.
- Bertucco, A. & Franceschin, G. (2008). 10 supercritical fluid extraction of medicinal and aromatic plants: Fundamentals and applications. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, 169.
- Bhagat, D. & Bakthavatsalam, N. (2012). Influence of rice cultivars on the parasitization efficiency of *Trichogramma chilonis ishii* and *Trichogramma japonicum* Ashmead. *Journal of Biological Control*, 329–333-329–333.
- Bian, ZH., Yang, QC. & Liu, WK. (2015). Effects of light quality on the accumulation of phytochemicals in vegetables produced in controlled environments: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(5), 869-877.
- Bluem, V. & Paris, F. (2001). Aquatic modules for bioregenerative life support systems based on the cebas biotechnology. *Acta Astronautica*, 48(5-12), 287-297.
- Bog, M., Appenroth, KJ. & Sree, KS. (2020). Key to the determination of taxa of Lemnaceae: An update. *Nordic Journal of Botany*, 38(8).
- Bolotova, YV. (2015). Aquatic plants of the far east of Russia: A review on their use in medicine, pharmacological activity. *Bangladesh Journal of Medical Science*, 14(1), 9.

- Bose, M., Chatterjee, SS., Mukherjee, K., Das, S., Ghosh, C., Chakraborty, B. . . . Banerjee, M. (2015). Enterococcal urinary tract infection: An emerging threat. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, 4(17), 2898-2904.
- Bouic, P., Etsebeth, S., Liebenberg, R., Albrecht, C., Pegel, K. & Van Jaarsveld, P. (1996). Beta-sitosterol and beta-sitosterol glucoside stimulate human peripheral blood lymphocyte proliferation: Implications for their use as an immunomodulatory vitamin combination. *International journal of immunopharmacology*, 18(12), 693-700.
- Bradford, PG. & Awad, AB. (2005). 12 phytosterols: Bioactivity. *Nutrition and Cancer Prevention*, 251.
- Bushmann, PJ. & Ailstock, MS. (2006). Antibacterial compounds in estuarine submersed aquatic plants. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 331(1), 41-50.
- Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, (2), 209-242.
- Campos, LM., Michielin, EM., Danielski, L. & Ferreira, SR. (2005). Experimental data and modeling the supercritical fluid extraction of marigold (*Calendula officinalis*) oleoresin. *The Journal of Supercritical Fluids*, 34(2), 163-170.
- Casal, J., Vermaat, J. & Wiegman, F. (2000). A test of two methods for plant protein determination using duckweed. *Aquatic Botany*, 67(1), 61-67.
- Chakrabarti, R., Clark, WD., Sharma, JG., Goswami, RK., Shrivastav, AK. & Tocher, DR. (2018). Mass production of *Lemna minor* and its amino acid and fatty acid profiles. *Frontiers in Chemistry*, 6, 479.
- Chen, M., Chory, J. & Fankhauser, C. (2004). Light signal transduction in higher plants. *Annual Review of Genetics*, 38(1), 87-117.
- Chuah, XQ., Okechukwu, PN., Amini, F. & Teo, SS. (2018). Eicosane, pentadecane and palmitic acid: The effects in: In vitro: Wound healing studies. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8(10), 490-499.
- Cong-Cong, X., Bing, W., Yi-Qiong, P., Jian-Sheng, T. & Zhang, T. (2017). Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 15(10), 721-731.
- Coşkun, Ö., Aydın, D., Akiska, S., Özel, H. & Varol, T. (2018). Determination of the duckweed species in Turkey. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 20(1), 145-151.
- Courts, FL. & Williamson, G. (2015). The occurrence, fate and biological activities of c-glycosyl flavonoids in the human diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(10), 1352-1367.
- Czerpak, R. & Szamrej, I. (2003). The effect of β -estradiol and corticosteroids on chlorophylls and carotenoids content in *Wolffia arrhiza* (L.) wimm. (Lemnaceae growing in municipal bialystok tap tap t water. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12(6).
- Çil, E., Türkiş, S., Ayvaz, MÇ. & Kasurka, C. B. (2021). In vitro biological activity evaluation of ethanolic extract of *Melica uniflora* leaves. *Eskişehir Teknik*

Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri Ve Biyoteknoloji, 10(1), 17-26.

- Çolak, N. & Tülek, Y. (2003). Süperkritik akışkan ekstraksiyonu. *Gıda Teknolojileri Derneği*, 28(3).
- Da Silva, JG. (2019). Transforming food systems for better health. *The Lancet*, 393(10173), e30-e31.
- Da Silva, RP., Rocha-Santos, TA. & Duarte, AC. (2016). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 76, 40-51.
- Dawes, EA. (1988). Polyhydroxybutyrate: An intriguing biopolymer. *Bioscience Reports*, 8(6), 537-547.
- De Moraes, J., de Oliveira, RN., Costa, JP., Junior, AL., de Sousa, DP., Freitas, RM., . . . Pinto, PL. (2014). Phytol, a diterpene alcohol from chlorophyll, as a drug against neglected tropical disease *Schistosomiasis mansoni*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(1), e2617.
- Demarco, M., Oliveira de Moraes, J., Matos, ÂP., Derner, RB., de Farias Neves, F. & Tribuzi, G. (2022). Digestibility, bioaccessibility and bioactivity of compounds from algae. *Trends in Food Science & Technology*, 121, 114-128.
- Demir, E. (2015). Yaş çay ve siyah çay atıklarından bazı ekstraksiyon yöntemleriyle kafein ve kateşinlerin ayrılması. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Trabzon.
- Demolsky, WL., Sugiaman, VK. & Pranata, N. (2022). Antifungal activity of beluntas “indian camphorweed”(Pluchea indica) ethanol extract on *Candida albicans* in vitro using different solvent concentrations. *European Journal of Dentistry*, 16(03), 637-642.
- DeSA, U. (2015). World population prospects: The 2015 revision, key findings and advance tables. United nations department of economic and social affairs. *Population Division working paper no. ESA/P/WP*, 241.
- Devlamynck, R., de Souza, MF., Bog, M., Leenknegt, J., Eeckhout, M. & Meers, E. (2020). Effect of the growth medium composition on nitrate accumulation in the novel protein crop *Lemna minor*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 206, 111380.
- Dinis, T. C., Madeira, VM. & Almeida, LM. (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315(1), 161-169.
- Diwan, F. (2023). Duckweed and its broad-spectrum applications. *Climate Survival Solutions, Inc., and Climate Survival Solutions Pvt. Ltd*, 1-18.
- Doğan, SY., Atasagun, S. & Ergönül, MB. (2022). Determination of chemical content of *Lemna minor* l. By gc-ms and investigation of antioxidant activity. *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C Biology*, 31(1), 53-64.

- Dorman, HD. & Deans, SG. (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied Microbiology*, 88(2), 308-316.
- Durazzo, B. & Durazzo, B. (2021). Contemporary applications of light-emitting diodes in horticulture: A review on led lighting technology and the use of wavelength band and irradiance modulation to study plant photobiology. *no. March*, 0-14.
- EFSA. (2021). Safety of *Wolffia globosa* powder as a novel food pursuant to regulation (eu) 2015/2283. *EFSA Journal*, 19(12), e06938.
- Ensley, HE., Barber, JT., Polito, MA. & Oliver, AI. (1994). Toxicity and metabolism of 2, 4-dichlorophenol by the aquatic angiosperm *Lemna gibba*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 13(2), 325-331.
- Ertürk, Ö., Taş, B. & Şen, Ş. (2019). Su çiçeğinin (*Ranunculus sphaerospermus* Boiss. & Blanche) antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin incelenmesi. 3. Uluslararası UNİDOKAP Karadeniz Sempozyumu, "Sürdürülebilir Tarım ve Çevre", 21-23 Haziran 2019, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, sempozyum kitabı, 411-418.
- Esquivel, M., Bernardo-Gil, M. & King, M. (1999). Mathematical models for supercritical extraction of olive husk oil. *The Journal of Supercritical Fluids*, 16(1), 43-58.
- Faure, D., Vereecke, D. & Leveau, JH. (2008). Molecular communication in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 321(1-2), 279-303.
- Fourounjian, P., Slovin, J. & Messing, J. (2021). Flowering and seed production across the Lemnaceae. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2733.
- Francezon, N., Tremblay, A., Mouget, J.-L., Pasetto, P. & Beaulieu, L. (2021). Algae as a source of natural flavors in innovative foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(40), 11753-11772.
- Frechilla, S., Talbott, L. D., Bogomolni, RA. & Zeiger, E. (2000). Reversal of blue light-stimulated stomatal opening by green light. *Plant and Cell Physiology*, 41(2), 171-176.
- Fylladitakis, ED. (2023). Controlled led lighting for horticulture: A review. *Open Journal of Applied Sciences*, 13(2), 175-188.
- Gallo-Molina, A. C., Castro-Vargas, HI., Garzón-Méndez, WF., Ramírez, JAM., Monroy, ZJR., King, JW. & Parada-Alfonso, F. (2019). Extraction, isolation and purification of tetrahydrocannabinol from the *Cannabis sativa* L. Plant using supercritical fluid extraction and solid phase extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 146, 208-216.
- Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31), 6697-6703.
- Giorgi, A., Weatherby, RP. & Murphy, PW. (1999). Muscular strength, body composition and health responses to the use of testosterone enanthate: A double blind study. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 2(4), 341-355.

- Goins, GD., Yorio, NC., Sanwo, M. & Brown, C. (1997). Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (leds) with and without supplemental blue lighting. *Journal of Experimental Botany*, 48(7), 1407-1413.
- Gougoulas, N. (2015). Study on polyphenols content and antioxidative properties of whole grain flours from some cereal and leguminous crops. *Oxidation Communications*, 38(1), 46-54.
- Gökırmaklı, Ç. & Bayram, M. (2018). Gıda için gelecek öngörülere: Yıl 2050. *Akademik Gıda*, 16(3), 351-360.
- Gülçin, İ., Kireççi, E., Akkemik, E., Topal, F. & Hisar, O. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of an aquatic plant: Duckweed (*Lemna minor* L.). *Turkish Journal of Biology*, 34(2), 175-188.
- Gümüş, G. (2007). Deniz marulunun kimyasal kompozisyonunun araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Ana Bilim Dalı, İzmir.
- Hamad, SA., Mustafa, AI., Magboul, BI., Qasem, AA. & Ahmed, IAM. (2019). Nutritional quality of raw and cooked flours of a high β -glucan sorghum inbred line. *Journal of Cereal Science*, 90, 102857.
- Hassan Mohammad, M., Kanagasabai, V., Nandini, M., Prabhu, K., Rao, M., Kalaivannan, J. & Janaki, C. (2021). The GC-MS analysis of ethyl acetate extract of one herbal plant, *Crotalaria pallida*. *Nveo-Natural Volatiles & Essential Oils Journal Nveo*, 6791-6801.
- Heinemann, T., Axtmann, G. & von Bergmann, K. (1993). Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *European journal of clinical investigation*, 23(12), 827-831.
- Hema, R., Kumaravel, S. & Alagusundaram, K. (2011). GC/MS determination of bioactive components of *Murraya koenigii*. *Journal of American Science*, 7(1), 80-83.
- Herawati, V. E., Pinandoyo, P., Darmanto, Y., Rismaningsih, N., Windarto, S. & Radjasa, OK. (2020). The effect of fermented duckweed (*Lemna minor*) in feed on growth and nutritional quality of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(7).
- Herrero, M., Mendiola, JA., Cifuentes, A. & Ibáñez, E. (2010). Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2495-2511.
- Hertog, MG., Feskens, EJ., Hollman, PC., Katan, MB. & Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen elderly study. *Lancet*, 342(8878), 1007-1011.
- Hoffmann, WA. & Poorter, H. (2002). Avoiding bias in calculations of relative growth rate. *Annals of Botany*, 90(1), 37-42.
- Hu, J. & Wang, L. (2011). The research progress of vitamin k2 for the prevention and treatment of osteoporosis. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 17, 1112-1114.

- Hu, Z., Fang, Y., Yi, Z., Tian, X., Li, J., Jin, Y. . . . Huang, Y. (2022). Determining the nutritional value and antioxidant capacity of duckweed (*Wolffia arrhiza*) under artificial conditions. *Lwt*, 153, 112477.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American Society for Microbiology*, 15(1), 1-23.
- Ignat, I., Volf, I. & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821-1835.
- Inbaneson, S. J., Sundaram, R. & Suganthi, P. (2012). In vitro antiplasmodial effect of ethanolic extracts of traditional medicinal plant *Ocimum* species against *Plasmodium falciparum*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(2), 103-106.
- İşbilir, ŞS. (2008). Yaprakları salata-baharat olarak tüketilen bazı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Edirne.
- Ito, A., Saito, T., Nishijima, T. & Moriguchi, T. (2014). Effect of extending the photoperiod with low-intensity red or far-red light on the timing of shoot elongation and flower-bud formation of 1-year-old japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). *Tree Physiology*, 34(5), 534-546.
- Jett, BD., Huycke, MM. & Gilmore, MS. (1994). Virulence of enterococci. *Clinical microbiology reviews*, 7(4), 462-478.
- Jishi, T., Kimura, K., Matsuda, R. & Fujiwara, K. (2016). Effects of temporally shifted irradiation of blue and red LED light on cos lettuce growth and morphology. *Scientia Horticulturae*, 198, 227-232.
- Johkan, M., Shoji, K., Goto, F., Hashida, S.-n. & Yoshihara, T. (2010). Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. *HortScience*, 45(12), 1809-1814.
- Jones, PJ., Ntanos, FY., Raeini-Sarjaz, M. & Vanstone, C. A. (1999). Cholesterol-lowering efficacy of a sitostanol-containing phytosterol mixture with a prudent diet in hyperlipidemic men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(6), 1144-1150.
- Kalaitzoglou, P., Van Ieperen, W., Harbinson, J., Van der Meer, M., Martinakos, S., Weerheim, K. . . . Marcelis, LF. (2019). Effects of continuous or end-of-day far-red light on tomato plant growth, morphology, light absorption, and fruit production. *Frontiers in Plant Science*, 10, 322.
- Kalaivani, C., Sathish, SS., Janakiraman, N. & Johnson, M. (2012). GC-MS studies on *Andrographis paniculata* (Burm. F.) wall. Ex nees-a medicinally important plant. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant*, 2(1), 69-74
- Kaplan, A., Zelicha, H., Tsaban, G., Yaskolka Meir, A., Rinott, E., Kovsan, J. . . . Shai, I. (2019). Protein bioavailability of *Wolffia globosa* duckweed, a novel aquatic plant - a randomized controlled trial. *Clinical Nutrition*, 38(6), 2576-2582.

- Kargılı, U. & Aytaç, E. (2022). Evaluation of cannabinoid (cbd and thc) content of four different strains of cannabis grown in four different regions. *European Food Research and Technology*, 248(5), 1351-1364.
- Kaya, D. & Ergönül, P. G. (2015). Obtaining methods of volatile oils. *Journal of Food*, 40(5), 303-310.
- Khatua, S., Roy, T. & Acharya, K. (2013). Antioxidant and free radical scavenging capacity of phenolic extract from *Russula laurocerasi*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(4), 156-160.
- Kim, DO., Jeong, SW. & Lee, CY. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321-326.
- Kim, SY., Kim, JH., Kim, SK., Oh, MJ. & Jung, MY. (1994). Antioxidant activities of selected oriental herb extracts. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(6), 633-640.
- Kinoshita, T., Doi, M., Suetsugu, N., Kagawa, T., Wada, M. & Shimazaki, K. (2001). Phot1 and phot2 mediate blue light regulation of stomatal opening. *Nature*, 414(6864), 656-660.
- Kjeldahl, J. (1883). Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. *Zeitschrift Für Analytische Chemie*, 22(1), 366-382.
- Knight, SL. & Mitchell, CA. (1983). Enhancement of lettuce yield by manipulation of light and nitrogen nutrition. *HortScience*, 108(5), 750-754.
- Knight, SL. & Mitchell, CA. (1988). Effects of CO₂ and photosynthetic photon flux on yield, gas exchange and growth rate of lactuca sativa l. 'Waldmann's green.'. *Journal of Experimental Botany*, 39(200), 317-328.
- Kotowska, U., Karpinska, J., Kapelewska, J., Kowejsza, EM., Piotrowska-Niczyporuk, A., Piekutin, J. & Kotowski, A. (2018). Removal of phthalates and other contaminants from municipal wastewater during cultivation of *Wolffia arrhiza*. *Process Safety and Environmental Protection*, 120, 268-277.
- Kotowska, U., Piotrowska, A., Isidorova, AG., Bajguz, A. & Isidorov, VA. (2013). Gas chromatographic-mass spectrometric investigation of the chemical composition of the aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 42, 181-187.
- Kuehdorf, K., Jetschke, G., Ballani, L. & Appenroth, KJ. (2014). The clonal dependence of turion formation in the duckweed *Spirodela polyrhiza*—an ecogeographical approach. *Physiologia Plantarum*, 150(1), 46-54.
- Kuksis, A., Marai, L., Myher, JJ. & Geher, K. (1976). Identification of plant sterols in plasma and red blood cells of man and experimental animals. *Lipids*, 11(8), 581-586.
- Kumar, A. & Mishra, AK. (2018). Biological importance of phenol derivatives as potent bioactive compound: A review. *Letters in Organic Chemistry*, 15(4), 251-264.

- Kumar, V., Bhatnagar, A. & Srivastava, J. (2011). Antibacterial activity of crude extracts of *spirulina platensis* and its structural elucidation of bioactive compound. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(32), 7043-7048.
- Landolt, E. (1986). Biosystematic investigations in the family of duckweeds (Lemnaceae)(Vol. 2.) The family of Lemnaceae-a monographic study. vol. 1. *Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der ETH*, 71, 1-563.
- Landolt, E. & Kandeler, R. (1987a). Biosystematic investigations in the family of duckweeds (Lemnaceae), vol. 4: The family of Lemnaceae-a monographic study, Vol. 2 (phytochemistry, physiology, application, bibliography). *Veroeffentlichungen des Geobotanischen Instituts der ETH, Stiftung Ruebel* (95).
- Landolt, E. & Kandeler, R. (1987b). *The family of Lemnaceae: A monographic study. Vol. 2: Geobotanischen Institutes der ETH*.
- Lang, Q. & Wai, C. M. (2001). Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies - a practical review. *Talanta*, 53(4), 771-782.
- Lee, IM., Cook, NR., Gaziano, J. M., Gordon, D., Ridker, PM., Manson, JE. ... & Buring, JE. (2005). Vitamin E in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: the Women's Health Study: a randomized controlled trial. *Jama*, 294(1), 56-65.
- Lee, MJ., Son, KH. & Oh, MM. (2016). Increase in biomass and bioactive compounds in lettuce under various ratios of red to far-red led light supplemented with blue led light. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 57, 139-147.
- Lees, AM., Mok, HY., Lees, RS., McCluskey, MA. & Grundy, SM. (1977). Plant sterols as cholesterol-lowering agents: Clinical trials in patients with hypercholesterolemia and studies of sterol balance. *Atherosclerosis*, 28(3), 325-338.
- Lefsrud, MG., Kopsell, DA., Augé, RM. & Both, A. (2006). Biomass production and pigment accumulation in kale grown under increasing photoperiods. *HortScience*, 41(3), 603-606.
- Lemon, GD., Posluszny, U. & Husband, BC. (2001). Potential and realized rates of vegetative reproduction in *Spirodela polyrhiza*, *Lemna minor*, and *Wolffia borealis*. *Aquatic Botany*, 70(1), 79-87.
- Les, DH., Crawford, DJ., Landolt, E., Gabel, JD. & Kimball, RT. (2002). Phylogeny and systematics of Lemnaceae, the duckweed family. *Systematic Botany*, 27(2), 221-240.
- Li, Z. (2002). Vertical column and system of columnar soilless culture (scsc) and its application to cultivation of lettuce (*Capitata* L.). *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 8(2), 142-147.
- Liao, Y., Suzuki, K., Yu, W., Zhuang, D., Takai, Y., Ogasawara, R., . . . Fukui, H. (2014). Night break effect of led light with different wavelengths on floral bud differentiation of *Chrysanthemum morifolium* Ramat 'jimba' and iwa no hakusen. *Environmental Control in Biology*, 52(1), 45-50.

- Lichtenthaler, HK. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in Enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382): Elsevier.
- Liener, IE. (1994). Implications of antinutritional components in soybean foods. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 34(1), 31-67.
- Liu, Y., Wang, X., Fang, Y., Huang, M., Chen, X., Zhang, Y. & Zhao, H. (2018). The effects of photoperiod and nutrition on duckweed (*Landoltia punctata*) growth and starch accumulation. *Industrial Crops and Products*, 115, 243-249.
- Liu, Y., Yong, G., Xu, Y., Zhu, D., Tong, H. & Liu, S. (2010). Simultaneous determination of free and esterified fatty alcohols, phytosterols and solanesol in tobacco leaves by gc. *Chromatographia*, 71, 727-732.
- Lloyd, WJ., Broadhurst, AV., Hall, MJ., Andrews, KJ., Barber, WE. & Wong-Kai-In, P. (1988). Cyclohexane triones, novel membrane-active antibacterial agents. *Antimicrobial Agents Chemother*, 32(6), 814-818. doi:10.1128/AAC.32.6.814
- López-Vélez, M., Martínez-Martínez, F. & Del Valle-Ribes, C. (2003). The Study of Phenolic Compounds as Natural Antioxidants in Wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(2), 233-244.
- Lucas, S., Alonso, E., Sanz, J. & Cocero, M. (2003). Safety study in a supercritical extraction plant. *Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology*, 26(4), 449-461.
- Magagnini, G., Grassi, G. & Kotiranta, S. (2018). The effect of light spectrum on the morphology and cannabinoid content of *Cannabis sativa* l. *Medical Cannabis and Cannabinoids*, 1(1), 19-27.
- Mahendran, AR., Aust, N., Wuzella, G., Müller, U. & Kandelbauer, A. (2012). Bio-based non-isocyanate urethane derived from plant oil. *Journal of Polymers and the Environment*, 20, 926-931.
- Majdoub, S., El Mokni, R., Muradalievich, AA., Piras, A., Porcedda, S. & Hammami, S. (2019). Effect of pressure variation on the efficiency of supercritical fluid extraction of wild carrot (*Daucus carota* subsp. *maritimus*) extracts. *Journal of Chromatography B*, 1125, 121713.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.
- Mariotti, F., Tomé, D. & Mirand, P. P. (2008). Converting nitrogen into protein beyond 6.25 and jones' factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(2), 177-184.
- Masavang, S., Winckler, P., Tira-umphon, A. & Phahom, T. (2022). New insights into moisture sorption characteristics, nutritional composition, and antioxidant and morphological properties of dried duckweed *Wolffia arrhiza* (L.) Wimm. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(5), 2135-2143.
- Massa, GD., Kim, HH., Wheeler, RM. & Mitchell, CA. (2008). Plant productivity in response to led lighting. *HortScience*, 43(7), 1951-1956.

- Mendiola, JA., Herrero, M., Cifuentes, A. & Ibañez, E. (2007). Use of compressed fluids for sample preparation: Food applications. *Journal of Chromatography A*, 1152(1-2), 234-246.
- Mengü, GP. & Akkuzu, E. (2008). Küresel su krizi ve su hasadı teknikleri. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(2), 75-85.
- Mitchell, CA., Dzakovich, MP., Gomez, C., Lopez, R., Burr, JF., Hernández, R. . . . Runkle, ES. (2015). Light-emitting diodes in horticulture. *Horticultural Reviews*: 43, 1-88.
- Mizuno, T., Amaki, W. & Watanabe, H. (2009). Effects of monochromatic light irradiation by LED on the growth and anthocyanin contents in leaves of cabbage seedlings. In *VI International Symposium on Light in Horticulture 907* (pp. 179-184).
- Monthakantirat, O., Chulikhit, Y., Maneenet, J., Khamphukdee, C., Chotritthirong, Y., Limsakul, S. . . . Daodee, S. (2022). Total active compounds and mineral contents in *Wolffia globosa*. *Journal of Chemistry*, 2022(1), 9212872.
- Morsy, O., Sharoba, A., El-Desouky, A., Bahlol, H. & Abd El Mawla, E. (2014). Production and evaluation of some extruded food products using *Spirulina* algae. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, 52(4), 329-342.
- Muniandy, K., Gothai, S., Tan, WS., Kumar, SS., Mohd Esa, N., Chandramohan, G., . . . Arulselvan, P. (2018). In vitro wound healing potential of stem extract of *Alternanthera sessilis*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018(1), 3142073.
- Mushtaq, M., Sultana, B., Akram, S., Anwar, F., Adnan, A. & Rizvi, SS. (2017). Enzyme-assisted supercritical fluid extraction: An alternative and green technology for non-extractable polyphenols. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409, 3645-3655.
- Mustacich, DJ., Bruno, RS. & Traber, MG. (2007). Vitamin e. In *Vitamins & hormones* Academic Press. 76, 1-21.
- Muti, P., Awad, AB., Schünemann, H., Fink, CS., Hovey, K., Freudenheim, JL. . . . Berrino, F. (2003). A plant food-based diet modifies the serum β -sitosterol concentration in hyperandrogenic postmenopausal women. *The Journal of Nutrition*, 133(12), 4252-4255.
- Nakashima, T., Iwatsuki, M., Ochiai, J., Kamiya, Y., Nagai, K., Matsumoto, A. . . . Takahashi, Y. (2014). Mangromicins a and b: Structure and antitrypanosomal activity of two new cyclopentadecane compounds from *Lechevalieria aerocolonigenes* k10-0216. *The Journal of Antibiotics*, 67(3), 253-260.
- Nasseri, A., Rasoul-Amini, S., Morowvat, MH. & Ghasemi, Y. (2011). Single cell protein: Production and process. *American Journal of Food Technology*, 6(2), 103-116.
- Naumann, B., Eberius, M. & Appenroth, KJ. (2007). Growth rate based dose-response relationships and EC-values of ten heavy metals using the duckweed growth inhibition test (ISO 20079) with *Lemna minor* L. clone St. *Journal of Plant Physiology*, 164(12), 1656-1664.

- Nelson, JA. & Bugbee, B. (2015). Analysis of environmental effects on leaf temperature under sunlight, high pressure sodium and light emitting diodes. *PLoS One*, 10(10), e0138930.
- Nes, WR. & McKean, ML. (1977). *Biochemistry of steroids and other isopentenoids*: University Park Press.
- Ngwa, W., Kumar, R., Thompson, D., Lyerly, W., Moore, R., Reid, TE. . . . Toyang, N. (2020). Potential of flavonoid-inspired phytomedicines against covid-19. *Molecules*, 25(11), 2707.
- Nieuwland, M., Geerdink, P., Engelen-Smit, NP., Van Der Meer, IM., America, AH. Mes, JJ. . . . Mulder, WJ. (2021). Isolation and gelling properties of duckweed protein concentrate. *ACS Food Science & Technology*, 1(5), 908-916.
- Odegard, I.Y. & van der Voet, E. (2014). The future of food-scenarios and the effect on natural resource use in agriculture in 2050. *Ecological Economics*, 97, 51-59.
- Okechukwu, PN. (2020). Evaluation of anti-inflammatory, analgesic, antipyretic effect of eicosane, pentadecane, octacosane, and heneicosane. *Asian Journal of Pharamatheutical and Clinical Research*, 13(4).
- Ol'shanskaya, L., Politaeva, N., Aref'eva, O. & Valiev, RS. (2018). Intensification of biomass cultivation process of *Lemna minor* at physical exposure. *Nature Environment and Pollution Technology*, 17(2), 619-624.
- Olle, M. & Viršile, A. (2013). The effects of light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. *Agricultural and Food Science*, 22(2), 223-234.
- On-Nom, N., Promdang, P., Inthachat, W., Kanoongon, P., Sahasakul, Y., Chupeerach, C. . . . Temviriyankul, P. (2023). *Wolffia globosa*-based nutritious snack formulation with high protein and dietary fiber contents. *Foods*, 12(14), 2647.
- Orhon, D., Sözen, S., Üstün, B., Görgün, E. & Karahan, G. (2023). Su yönetimi ve sürdürülebilir kalkınma. *Çevre ve Sürdürülebilir Kalkınma Paneli, İstanbul*, 40.
- Oukarroum, A., Barhoumi, L., Pirastru, L. & Dewez, D. (2013). Silver nanoparticle toxicity effect on growth and cellular viability of the aquatic plant *Lemna gibba*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(4), 902-907.
- Ouzounis, T., Rosenqvist, E. & Ottosen, CO. (2015). Spectral effects of artificial light on plant physiology and secondary metabolism: A review. *HortScience*, 50(8), 1128-1135.
- Ovesná, Z., Vachálková, A. & Horváthová, K. (2004). Taraxasterol and beta-sitosterol: new naturally compounds with chemoprotective/chemopreventive effects. *Neoplasma*, 51(6), 407-414.
- Özbay, H. (2004). Kırmızı eğrelti *Azolla*: Biyolojisi ve tarımda kullanımı. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 3, 590-601.

- Özkan, AEG. & Biçer, A. (2001). XV. Ulusal Kimya Kongresi, İstanbul, 2001 km-s10.
- Pan, JL., Wang, HM., Chen, CY. & Chang, JS. (2012). Extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* by supercritical carbon dioxide fluid with ethanol modifier. *Engineering in Life Sciences*, 12(6), 638-647.
- Paolacci, S., Harrison, S. & Jansen, MA. (2018). The invasive duckweed *Lemna minuta* kunth displays a different light utilisation strategy than native *Lemna minor* linnaeus. *Aquatic Botany*, 146, 8-14.
- Park, Y. & Runkle, ES. (2018). Spectral effects of light-emitting diodes on plant growth, visual color quality, and photosynthetic photon efficacy: White versus blue plus red radiation. *PLoS One*, 13(8), e0202386.
- Patra, A., Jha, S., Murthy, P., Manik, SA. & Sharone, A. (2010). Isolation and characterization of stigmast-5-en-3 β -ol (β -sitosterol) from the leaves of *Hygrophila spinosa* T. Anders. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(2), 95-100.
- Pattnaik, S., Arun, G. & Swain, K. (2020). Supercritical fluid technologies: A green solvent approach for pharmaceutical product development. *Advanced Nanotechnology and Application of Supercritical Fluids*, 1-14.
- Pettai, H., Oja, V., Freiberg, A. & Laisk, A. (2005). The long-wavelength limit of plant photosynthesis. *Febs Letters*, 579(18), 4017-4019.
- Petersen, F., Demann, J., Restemeyer, D., Olf, HW., Westendarp, H., Appenroth, KJ., & Ulbrich, A. (2022). Influence of light intensity and spectrum on duckweed growth and proteins in a small-scale, re-circulating indoor vertical farm. *Plants*, 11(8), 1010.
- Petroutsos, D., Tokutsu, R., Maruyama, S., Flori, S., Greiner, A., Magneschi, L. ... & Minagawa, J. (2016). A blue-light photoreceptor mediates the feedback regulation of photosynthesis. *Nature*, 537(7621), 563-566.
- Piironen, V., Lindsay, DG., Miettinen, TA., Toivo, J. & Lampi, AM. (2000). Plant sterols: Biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 939-966.
- Pinho, P., Jokinen, K. & Halonen, L. (2017). The influence of the led light spectrum on the growth and nutrient uptake of hydroponically grown lettuce. *Lighting Research & Technology*, 49(7), 866-881.
- Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska-Żyłkiewicz, B. & Zambrzycka, E. (2010). Changes in growth, biochemical components, and antioxidant activity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae) exposed to cadmium and lead. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58, 594-604.
- Poh, C., Oh, H. & Tan, A. (2006). Epidemiology and clinical outcome of enterococcal bacteraemia in an acute care hospital. *Journal of Infection*, 52(5), 383-386.
- Polutchko, S., Stewart, J. & Demmig-Adams, B. (2015). Integrative view of the nutrition of the eye. *Nutraceuticals and Functional Foods in Human Health and Disease Prevention*, 407-418

- Polyakov, YS., Musaev, I. & Polyakov, SV. (2010). Closed bioregenerative life support systems: Applicability to hot deserts. *Advances in Space Research*, 46(6), 775-786.
- Poore, J. & Nemecek, T. (2018). Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. *Science*, 360(6392), 987-992.
- Prasad, K. N., Yang, B., Dong, X., Jiang, G., Zhang, H., Xie, H. & Jiang, Y. (2009). Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(4), 627-632.
- Pro, J., Ortiz, JA., Boleas, S., Fernández, C., Carbonell, G. & Tarazona, JV. (2003). Effect Assessment of Antimicrobial Pharmaceuticals on the Aquatic Plant *Lemna minor*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(2), 290-295.
- Prosradee, K., Oonsivilai, R., Tira-Aumphon, A., Singthong, J., Oonmetta-Aree, J. & Oonsivilai, A. (2023). Optimum aquaculture and drying conditions for *Wolffia arrhiza* (L.) Wimm. *Heliyon*, 9(9), e19730.
- Rahman, MM., Ahmad, SH., Mohamed, MTM. & Ab Rahman, MZ. (2014). Antimicrobial compounds from leaf extracts of *Jatropha curcas*, *Psidium guajava*, and *Andrographis paniculata*. *The Scientific World Journal*, 2014(1), 635240.
- Ramsey, E., Qiubai, S., Zhang, Z., Zhang, C. & Wei, G. (2009). Mini-review: Green sustainable processes using supercritical fluid carbon dioxide. *Journal of Environmental Sciences*, 21(6), 720-726.
- Richmond, A. (Ed.). (2004). Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology: *Blackwell science*, Oxford, 577pp
- Rizvi, SS. & Clifford, A. (1994). Supercritical fluid processing of food and biomaterials: *Blackie Academic & Professional*, 1, London, 257pp.
- Rodrigues, JS., do Valle, CP., Uchoa, AFJ., Ramos, DM., da Ponte, FAF., de Sousa Rios, MA., . . . Ricardo, NMPS. (2020). Comparative study of synthetic and natural antioxidants on the oxidative stability of biodiesel from tilapia oil. *Renewable Energy*, 156, 1100-1106.
- Rovetto, LJ. & Aieta, NV. (2017). Supercritical carbon dioxide extraction of cannabinoids from *cannabis sativa* L. *The Journal of Supercritical Fluids*, 129, 16-27.
- Ruoff, KL., De La Maza, L., Murtagh, MJ., Spargo, JD. & Ferraro, MJ. (1990). Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(3), 435-437.
- Rusoff, LL., Blakeney, EW. & Culley, DD. (1980). Duckweeds (Lemnaceae family): a potential source of protein and amino acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(4), 848-850.
- Said, MZM., Culley, DD., Standifer, LC., Epps, EA., Myers, RW. & Boney, SA. (1979). Effect of harvest rate, waste loading, and stocking density on the yield of duckweeds. In *Proceedings of the World Mariculture Society* (Vol. 10, No. 1-4, pp. 769-780). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.

- Salen, G., Ahrens, EH. & Grundy, SM. (1970). Metabolism of β -sitosterol in man. *The Journal of clinical investigation*, 49(5), 952-967.
- Salonen, RM., Nyyssönen, K., Kaikkonen, J., Porkkala-Sarataho, E., Voutilainen, S., Rissanen, TH. ... & Poulsen, HE. (2003). Six-Year Effect of Combined Vitamin C and E Supplementation on Atherosclerotic Progression. *Circulation*, 107(7), 947-953.
- Samanta, A., Das, G., ve Das, S. K. 2011. Roles of flavonoids in plants. *Carbon*, 100(6), 12-35.
- Saqrane, S., Ouahid, Y., El Hassni, M., El Hadrami, I., Bouarab, L., del Campo, FF., . . . Vasconcelos, V. (2007). Phytotoxic effects of cyanobacteria extract on the aquatic plant *Lemna gibba*: Microcystin accumulation, detoxication and oxidative stress induction. *Aquatic Toxicology*, 83(4), 284-294.
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, KM. & Latha, L. (2011). Extraction, Isolation And Characterization Of Bioactive Compounds From Plants' Extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1-10.
- Scheibler, E., Garcia, MCR., Medina da Silva, R., Figueiredo, MA., Salum, FG. & Cherubini, K. (2017). Use of nystatin and chlorhexidine in oral medicine: Properties, indications and pitfalls with focus on geriatric patients. *Gerodontology*, 34(3), 291-298.
- Setyorini, AI. & Dianursanti, D. (2021). Isolation and optimization of polyhydroxybutyrate from *Chlorella vulgaris* using NaClO and ultrasonication aided chemical pretreatment methods. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2344, No. 1). AIP Publishing.
- Sevin, G., Arun, MZ. & Üstünes, L. (2005). Androjenler ve anabolik steroidler. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences*, 1(35), 78-89.
- Sharma, S., Kumari, A. & Sharma, M. (2016). Comparative GC-MS analysis of bioactive compounds in methanolic extract of *Calotropis gigantea* (L.) WT Aiton leaf and latex. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(11), 1823-1827.
- Silva-Ortiz, AV., Bratoeff, E., Ramírez-Apan, MT., García-Becerra, R., Ordaz-Rosado, D., Noyola-Martínez, N. . . . Barrera, D. (2016). Synthesis and biological activity of two pregnane derivatives with a triazole or imidazole ring at c-21. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 159, 8-18.
- Singleton, VL. & Rossi, JA. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Smith, KE., Cowan, L., Taylor, B., McAusland, L., Heatley, M., Yant, L. & Murchie, EH. (2024). Physiological adaptation to irradiance in duckweeds is species and accession specific and depends on light habitat niche. *Journal of Experimental Botany*, 75(7), 2046-2063.

- Snowden, MC., Cope, KR. & Bugbee, B. (2016). Sensitivity of seven diverse species to blue and green light: Interactions with photon flux. *PLoS One*, 11(10), e0163121.
- Soares, V. & Coelho, G. (2012). Safety study of an experimental apparatus for extraction with supercritical CO₂. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 29, 677-682.
- Sree, K. & Appenroth, KJ. (2020a). Worldwide genetic resources of duckweed: Stock collections. *The Duckweed Genomes*, 39-46.
- Sree, KS., Bog, M. & Appenroth, KJ. (2016). Taxonomy of duckweeds (Lemnaceae), potential new crop plants. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(5), 291-302.
- Sree, KS., Dahse, HM., Chandran, JN., Schneider, B., Jahreis, G. & Appenroth, KJ. (2019). Duckweed for human nutrition: No cytotoxic and no anti-proliferative effects on human cell lines. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(2), 223-224.
- Sree, KS., Sudakaran, S. & Appenroth, KJ. (2015a). How fast can angiosperms grow? Species and clonal diversity of growth rates in the genus *Wolffia* (Lemnaceae). *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(10), 204.
- Srivastava, S., Raj, K., Kharea, P., Bhaduria, AP., Chanderb, R., Raghubirc, R. ... & Prabhud, SR. (2009). Novel hybrid natural products derived from solanesol as wound healing agents. *Indian Journal of Chemistry*, 48, 237-247.
- Stewart, JJ., Adams III, WW., Escobar, CM., López-Pozo, M. & Demmig-Adams, B. (2020). Growth and essential carotenoid micronutrients in *Lemna gibba* as a function of growth light intensity. *Frontiers in Plant Science*, 11, 480.
- Subra, P., Castellani, S., Jestin, P. & Aoufi, A. (1998). Extraction of β -carotene with supercritical fluids: Experiments and modelling. *The Journal of Supercritical Fluids*, 12(3), 261-269.
- Suebsamran, I., Dachyong, A., Tira-Umphon, A., Soubsub, K. & Phahom, T. (2023). Structural change kinetics, drying characteristics, antioxidant properties, and the correlation between quality parameters of dried duckweed (*Wolffia arrhiza* (L.) wimm) affected by different levels of microwave power. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(9), 4371-4379.
- Sujatha, S., Anand, S., Sangeetha, K., Shilpa, K., Lakshmi, J., Balakrishnan, A. & Lakshmi, B. (2010). Biological evaluation of (3 β)-stigmast-5-en-3-ol as potent anti-diabetic agent in regulating glucose transport using in vitro model. *International Journal of Diabetes Mellitus*, 2(2), 101-109.
- Sür, A. (2017). Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile ekstrakte edilen menengiç (*Pistacia terebinthus* L) ekstraktının ve yağının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 140s.
- Swinburn, BA., Kraak, VI., Allender, S., Atkins, VJ., Baker, PI., Bogard, JR. . . . Devarajan, R. (2019). The global syndemic of obesity, undernutrition, and climate change: The lancet commission report. *The Lancet*, 393(10173), 791-846.

- Tamburino, L., Bravo, G., Clough, Y. & Nicholas, K. A. (2020). From population to production: 50 years of scientific literature on how to feed the world. *Global Food Security*, 24, 100346.
- Tarakanov, I., Yakovleva, O., Konovalova, I., Paliutina, G. & Anisimov, A. (2012). Light-emitting diodes: on the way to combinatorial lighting technologies for basic research and crop production. In *VII International Symposium on Light in Horticultural Systems* 956 (pp. 171-178).
- Taş, B. & Şengüllendi, FT. (2022, November). Effect of different led lights on the element content of rootless duckweed. In *7th Asia Pacific International Modern Sciences Congress* (pp. 163-173).
- Taş, B. & Şengüllendi, FT. (2023). Farklı led ışıklar altında yetiştirilen köksüz su mercimeğinin (*Wolffia arrhiza*) Dumas yöntemi kullanılarak ham protein içeriğinin belirlenmesi. *Aquatic Research*, 6(3), 189-200.
- Taş, B. & Topaldemir, H. (2021). Assessment of aquatic plants in the Miliç coastal wetland (Terme, Samsun, Turkey). *Review of Hydrobiology*, 14(1).
- Tazawa, S. (1999). Effects of various radiant sources on plant growth (part 1). *Japan Agricultural Research Quarterly*, 33, 163-176.
- Terashima, I., Fujita, T., Inoue, T., Chow, WS. & Oguchi, R. (2009). Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: Revisiting the enigmatic question of why leaves are green. *Plant and Cell Physiology*, 50(4), 684-697.
- Tezcan, A., Atılgan, A. & Öz, H. (2011). Seralarda karbondioksit düzeyi, karbondioksit gübrelemesi ve olası etkileri. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6(1), 44-51.
- Tipnee, S., Jutiviboonsuk, A. & Wongtrakul, P. (2017). The bioactivity study of active compounds in *Wolffia globosa* extract for an alternative source of bioactive substances. *Cosmetics*, 4(4), 53.
- Tsolmon, B., Fang, Y., Yang, T., Guo, L., He, K., Li, G.-Y. & Zhao, H. (2021). Structural identification and uplc-esi-qtof-ms2 analysis of flavonoids in the aquatic plant *Landoltia punctata* and their in vitro and in vivo antioxidant activities. *Food Chemistry*, 343, 128392.
- Turner, C., King, JW. & Mathiasson, L. (2001). Supercritical fluid extraction and chromatography for fat-soluble vitamin analysis. *Journal of Chromatography A*, 936(1-2), 215-237.
- Tursun, N. (2012). Bazı su yabancı otlarının bazı kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 15(4), 37-46.
- Vasu, K., Goud, JV., Suryam, A. & Charya, MS. (2009). Biomolecular and phytochemical analyses of three aquatic angiosperms. *African Journal of Microbiology Research*, 3(8), 418-421.
- Vinjamuri, S. & Achar, S. (2017). Comparison of phytochemical components in leaves and stems of *Exacum bicolor* Roxb. by GCMS. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(7), 2134.

- Vishnupriya, M., Ramesh, K., Sivakumar, P., Balasubramanian, R. & Sircar, A. (2019). Kinetic and thermodynamic studies on the extraction of bio oil from *Chlorella vulgaris* and the subsequent biodiesel production. *Chemical Engineering Communications*, 206(3), 409-418.
- Vonshak, A. (1997). *Spirulina platensis arthrospira*: Physiology, cell-biology and biotechnology: CRC press.
- Wang, K., Senthil-Kumar, M., Ryu, C.-M., Kang, L. & Mysore, KS. (2012). Phytosterols play a key role in plant innate immunity against bacterial pathogens by regulating nutrient efflux into the apoplast. *Plant Physiology*, 158(4), 1789-1802.
- Wang, Q., Wang, S., Gu, Q., Tao, S., Tao, T. & Rong, J. (2013). The research progress of vitamin K2 and treatment of osteoporosis. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 19, 655-658.
- Wang, X., Zhang, Y., Zhang, G. & Yin, Z. (2013). Improved extraction of solanesol from tobacco waste by enzymatic cell wall breaking. *Chinese Journal of Biotechnology*, 29(11), 1706-1710.
- Wedge, RM. & Burris, JE. (1982). Effects of light and temperature on duckweed photosynthesis. *Aquatic Botany*, 13, 133-140.
- Wrona, O., Rafińska, K., Możeński, C. & Buszewski, B. (2017). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plant materials. *Journal of AOAC International*, 100(6), 1624-1635.
- Xiao, J. (2017). Dietary flavonoid aglycones and their glycosides: Which show better biological significance? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(9), 1874-1905.
- Xiong, Y., Zhang, P., Luo, J., Johnson, S. & Fang, Z. (2019). Effect of processing on the phenolic contents, antioxidant activity and volatile compounds of *Sorghum* grain tea. *Journal of Cereal Science*, 85, 6-14.
- Xu, J., Shen, Y., Zheng, Y., Smith, G., Sun, XS., Wang, D., . . . Li, Y. (2023). Duckweed (Lemnaceae) for potentially nutritious human food: A review. *Food Reviews International*, 39(7), 3620-3634.
- Xu, J., Zhao, H., Stomp, AM. & Cheng, JJ. (2012). The production of duckweed as a source of biofuels. *Biofuels*, 3(5), 589-601.
- Yadav, NK., Patel, AB., Debbarma, S., Priyadarshini, MB. & Priyadarshi, H. (2024). Characterization of bioactive metabolites and antioxidant activities in solid and liquid fractions of fresh duckweed (*Wolffia globosa*) subjected to different cell wall rupture methods. *ACS Omega*, 9(18), 19940-19955.
- Yahaya, N., Hamdan, NH., Zabidi, AR., Mohamad, AM., Suhaimi, MLH., Johari, M. AAM. ... & Yahya, H. (2022). Duckweed as a future food: Evidence from metabolite profile, nutritional and microbial analyses. *Future Foods*, 5, 100128.
- Yan, N., Liu, Y., Gong, D., Du, Y., Zhang, H. & Zhang, Z. (2015). Solanesol: A review of its resources, derivatives, bioactivities, medicinal applications, and biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*, 14, 403-417.

- Yan, Y., Candreva, J., Shi, H., Ernst, E., Martienssen, R., Schwender, J. & Shanklin, J. (2013). Survey of the total fatty acid and triacylglycerol composition and content of 30 duckweed species and cloning of a $\delta 6$ -desaturase responsible for the production of γ -linolenic and stearidonic acids in *Lemna gibba*. *BMC Plant Biology*, 13(1), 1-14.
- Yang, X., Xu, H., Shao, L., Li, T., Wang, Y. & Wang, R. (2018). Response of photosynthetic capacity of tomato leaves to different led light wavelength. *Environmental and Experimental Botany*, 150, 161-171.
- Yang, JW. & Choi, IS. (2017). Comparison of the phenolic composition and antioxidant activity of Korean black raspberry, Bokbunja, (*Rubus coreanus* Miquel) with those of six other berries. *CyTA-Journal of Food*, 15(1), 110-117.
- Yang, Z., Xie, J., Huang, F., Yang, Y., Zhang, X. & Yue, B. (2022). GC-MS analysis of chemical constituents and determination of the total antioxidant capacity of adult powder of *Periplaneta americana*. *Entomological Research*, 52(2), 68-76.
- Yaskolka Meir, A., Tuohy, K., von Bergen, M., Krajmalnik-Brown, R., Heinig, U., Zelicha, H. ... & Shai, I. (2021). The metabolomic-gut-clinical axis of Mankai plant-derived dietary polyphenols. *Nutrients*, 13(6), 1866.
- Yazar Coşkun, E. & Çelen, İH. (2024). Sebze tarımında LED aydınlatma kullanımı. *Bahçe*, 53(1), 35-46.
- Ye, JC., Chang, WC., Hsieh, DJY. & Hsiao, MW. (2010). Extraction and analysis of β -sitosterol in herbal medicines. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(7), 522-527.
- Yen, HW., Yang, SC., Chen, CH. & Chang, JS. (2015). Supercritical fluid extraction of valuable compounds from microalgal biomass. *Bioresource Technology*, 184, 291-296.
- Yiğit, N. (2003). Örümcek zehirlerinin antimikrobiyal aktivitesi. *Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(3), 1-9.
- Yılmaz, ML. & Peker, HS. (2013). Su kaynaklarının türkiye açısından ekono-politik önemi ekseninde olası bir tehlike: Su savaşları. *Çankırı Karatekin Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 3(1), 57-74.
- Yin, Y., Yu, C., Yu, L., Zhao, J., Sun, C., Ma, Y. & Zhou, G. (2015). The influence of light intensity and photoperiod on duckweed biomass and starch accumulation for bioethanol production. *Bioresource Technology*, 187, 84-90.
- Yoshida, H., Mizuta, D., Fukuda, N., Hikosaka, S. & Goto, E. (2016). Effects of varying light quality from single-peak blue and red light-emitting diodes during nursery period on flowering, photosynthesis, growth, and fruit yield of everbearing strawberry. *Plant Biotechnology*, 33(4), 267-276.
- Yorio, NC., Goins, GD., Kagle, HR., Wheeler, RM. & Sager, JC. (2001). Improving spinach, radish, and lettuce growth under red light-emitting diodes (leds) with blue light supplementation. *Hort Science*, 36(2), 380-383.
- Yu, FR., Lian, XZ., Guo, HY., McGuire, PM., Li, RD., Wang, R. & Yu, FH. (2005). Isolation and characterization of methyl esters and derivatives from *Euphorbia*

- kansui* (Euphorbiaceae) and their inhibitory effects on the human SGC-7901 cells. *The Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 8(3), 528-35.
- Yu, G., Liu, H., Venkateshan, K., Yan, S., Cheng, J., Sun, X. & Wang, D. (2011). Functional, physiochemical, and rheological properties of duckweed (*Spirodela polyrhiza*) protein. *Transactions of the ASABE*, 54(2), 555-561.
- Yu, W., Shu, B. & Zhao, Y. (2005). Supercritical CO₂ extraction of resveratrol and its glycoside piceid from chinese traditional medicinal herb *Polygonum cuspidatum*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(3), 489-492.
- Zeinstra, GG., Somhorst, D., Oosterink, E., Fick, H., Klopping-Ketelaars, I., Van Der Meer, IM. & Mes, JJ. (2019). Postprandial amino acid, glucose and insulin responses among healthy adults after a single intake of *Lemna minor* in comparison with green peas: A randomised trial. *Journal of Nutritional Science*, 8, e28.
- Zhang, G., Liu, Y., Ni, Y., Meng, Z., Lu, T. & Li, T. (2014). Exogenous calcium alleviates low night temperature stress on the photosynthetic apparatus of tomato leaves. *PLoS One*, 9(5), e97322.
- Zheng, L. & Van Labeke, MC. (2017). Long-term effects of red-and blue-light emitting diodes on leaf anatomy and photosynthetic efficiency of three ornamental pot plants. *Frontiers in Plant Science*, 8, 917.
- Zhao, Z., Shi, H.-j., Wang, M.-l., Cui, L., Zhao, H. & Zhao, Y. (2015). Effect of nitrogen and phosphorus deficiency on transcriptional regulation of genes encoding key enzymes of starch metabolism in duckweed (*Landoltia punctata*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 86, 72-81.
- Zhou, Q., Li, X., Lin, Y., Yang, C., Tang, W., Wu, S. . . . Lou, W. (2019). Effects of copper ions on removal of nutrients from swine wastewater and on release of dissolved organic matter in duckweed systems. *Water Research*, 158, 171-181.
- Ziegler, P., Adelmann, K., Zimmer, S., Schmidt, C. & Appenroth, KJ. (2015). Relative in vitro growth rates of duckweeds (Lemnaceae)-The most rapidly growing higher plants. *Plant Biology*, 17, 33-41.
- Zito, P., Sajeve, M., Bruno, M., Maggio, A., Rosselli, S., Formisano, C. & Senatore, F. (2010). Essential oil composition of stems and fruits of *Caralluma europaea* br. (Apocynaceae). *Molecules*, 15(2), 627-638.



EKLER

EK 1: 4 farklı LED ışık (beyaz, kırmızı, mor, mavi) etkisi altında yetiştirilen *W.orrhiza* kültürlerinin GC-MS analiz sonuç karşılaştırmaları

NIST11.lib (BEYAZ)					NIST11.lib (KIRMIZI)						
Peak#	Ret.Time	Area%	Name	CAS #	No	Peak#	Ret.Time	Area%	Name	CAS #	No
20	57,51	33,9	Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)-	30888-37-0	1	34	57,529	30,2	Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)-	30888-37-0	1
4	40,96	19,7	Cyclododecyne	1129-90-4	2	15	41,005	25,4	Cyclododecyne	1129-90-4	2
1	36,62	2,7	n-Hexadecanoic acid	57-10-3	3	9	36,655	5,8	n-Hexadecanoic acid	57-10-3	3
3	40,78	3,7	9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z,Z)-	7459-33-8	4	14	40,821	6,6	9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z,Z)-	7459-33-8	4
					5	25	51,095	3,6	Heptacosane	593-49-7	5
9	47,13	11,8	Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl-	0-00-0	6	19	47,129	1,7	Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl-	0-00-0	6
					7						7
2	40,30	3,7	9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)-	15677-71-1	8	13	40,298	6,9	9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)-	15677-71-1	8
21	57,65	3,7	Pregnane-3,11,17,20-triol, cyclic 17,20-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.beta.,20S)-	30882-55-4	9						9
15	52,50	2,1	Docosa-2,6,10,14,18-pentaen-22-al, 2,6,10,15,18-pentamethyl-, all-trans	0-00-0	10	28	52,505	1,2	Docosa-2,6,10,14,18-pentaen-22-al, 2,6,10,15,18-pentamethyl-, all-trans	0-00-0	10
					11	30	54,736	2,1	3-O-Acetyl-6-methoxy-cycloartenol	0-00-0	11
			23(Z)-ETHYLCHOLESTANOL		12	35	57,655	3,0	(-)-(2S,8Ar)-(camphorsulfonyl)oxaziridine	104372-31-8	12
5	41,42	0,9	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	60-33-3	13	16	41,433	0,6	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	60-33-3	13
					14	38	61,454	1,4	Trihexadecyl borate	4.11.2665	14
16	54,73	1,9	2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-heptadeca-3,7,11,15-tetraenyl)-cyclohexanol	0-00-0	15						15

EK 1: 4 farklı LED ışık (beyaz, kırmızı, mor, mavi) etkisi altında yetiştirilen *Warrhiza* kültürlerinin GC-MS analiz sonuç karşılaştırmaları (devamı)

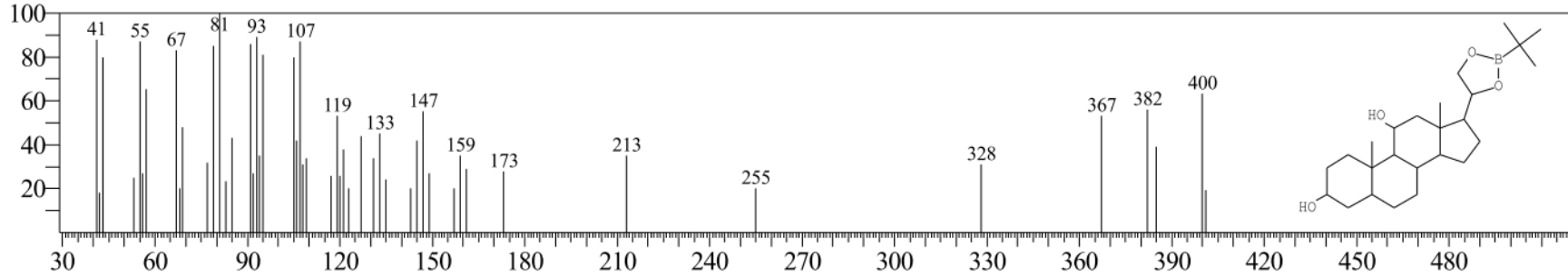
NIST11.lib(MOR)						NIST11.lib(MAVI)					
Peak#	Ret.T ime	Area%	Name	CAS #	No	Peak#	Ret.T ime	Area%	Name	CAS #	No
28	57,55	27,5	Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)-	30888-37-0	1	34	57,53	15,3	Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)-	30888-37-0	1
9	41,09	31,2	Cyclododecyne	1129-90-4	2	10	41,09	28,2	Cyclododecyne	1129-90-4	2
3	36,71	7,8	n-Hexadecanoic acid	57-10-3	3	4	36,71	8,9	n-Hexadecanoic acid	57-10-3	3
					4						4
17	51,10	3,4	Heptacosane	593-49-7	5	22	51,09	2,8	Heptacosane	593-49-7	5
12	47,13	0,9	Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl-	0-00-0	6	15	47,13	1,5	Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl-	0-00-0	6
8	40,90	6,0	5-Nonadecen-1-ol	0-00-0	7	9	40,91	16,4	5-Nonadecen-1-ol	0-00-0	7
7	40,30	2,9	9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)-	15677-71-1	8	8	40,30	4,4	9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)-	15677-71-1	8
32	59,35	0,6	Pregnane-3,11,17,20-tetrol, cyclic 17,20-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.beta.,11.beta.,20R)-	30882-63-4	9	40	59,35	0,4	Pregnane-3,11,17,20-tetrol, cyclic 17,20-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.beta.,11.beta.,20R)-	30882-63-4	9
21	52,51	1,2	Docosa-2,6,10,14,18-pentaen-22-al, 2,6,10,15,18-pentamethyl-, all-trans	0-00-0	10	26	52,51	2,1	Docosa-2,6,10,14,18-pentaen-22-al, 2,6,10,15,18-pentamethyl-, all-trans	0-00-0	10
23	54,74	2,7	3-O-Acetyl-6-methoxy-cycloartenol	0-00-0	11						11
29	57,67	3,9	(-)-(2S,8Ar)-(camphorsulfonyl)oxaziridine	104372-31-8	12	35	57,66	1,7	(-)-(2S,8Ar)-(camphorsulfonyl)oxaziridine	104372-31-8	12
10	41,45	1,0	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	60-33-3	13	11	41,44	2,1	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	60-33-3	13
35	61,45	1,3	Trihexadecyl borate	4.11.2665	14	43	61,46	1,5	Trihexadecyl borate	4.11.2665	14
					15	28	54,75	2,1	2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-heptadeca-3,7,11,15-tetraenyl)-cyclohexanol	0-00-0	15

EK 2: 4 farklı LED ışık (beyaz, kırmızı, mor, mavi) etkisi altında yetiştirilen *W. arrhiza* kültürlerinde GC-MS analiz sonuçlarına göre tespit edilen en yüksek yüzde alan değerine sahip biyoaktif maddelerin kromatogram tabloları

Hit#:1 Entry:218612 Library:NIST11.lib

SI:75 Formula:C₂₅H₄₃BO₄ CAS:30888-37-0 MolWeight:418 RetIndex:0

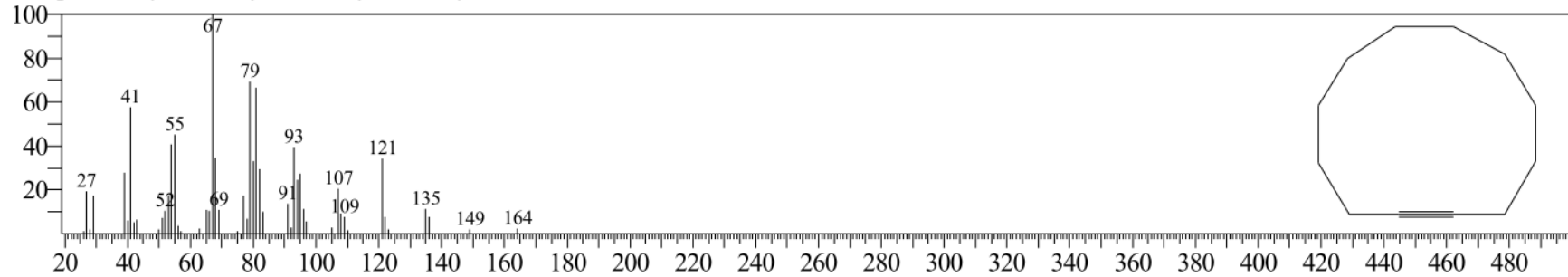
CompName: **Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[(1,1-dimethylethyl)boronate]**, (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20S)- **5.alpha.-Pregnane-3.alpha.,11.beta.,20.t**



Hit#:1 Entry:34220 Library:NIST11.lib

SI:85 Formula:C₁₂H₂₀ CAS:1129-90-4 MolWeight:164 RetIndex:0

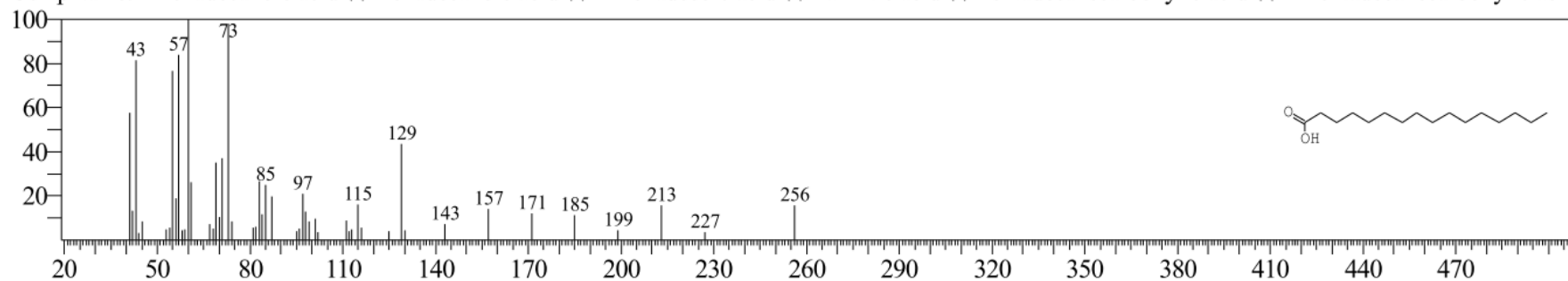
CompName: **Cyclododecyne** **1-Cyclododecyne** #



Hit#:1 Entry:107666 Library:NIST11.lib

SI:94 Formula:C₁₆H₃₂O₂ CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:1968

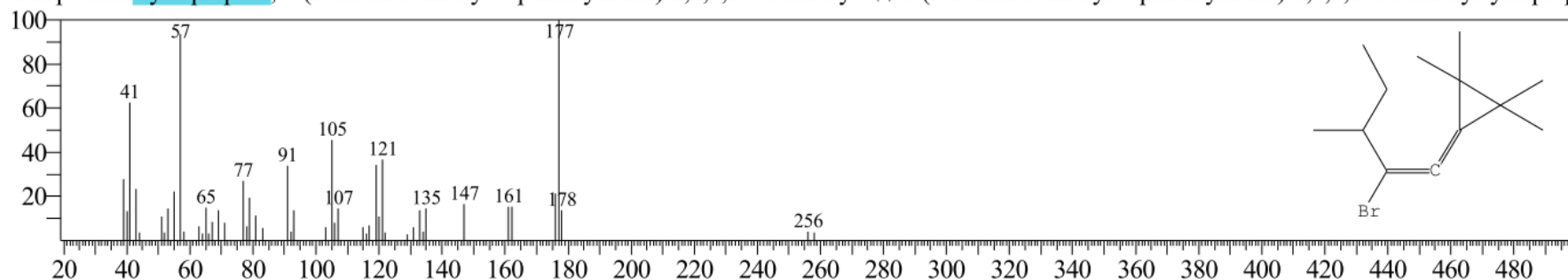
CompName:n-Hexadecanoic acid \$\$ Hexadecanoic acid \$\$ n-Hexadecoic acid \$\$ Palmitic acid \$\$ Pentadecanecarboxylic acid \$\$ 1-Pentadecanecarboxylic acid



Hit#:1 Entry:107139 Library:NIST11.lib

SI:54 Formula:C₁₃H₂₁Br CAS:0-00-0 MolWeight:256 RetIndex:0

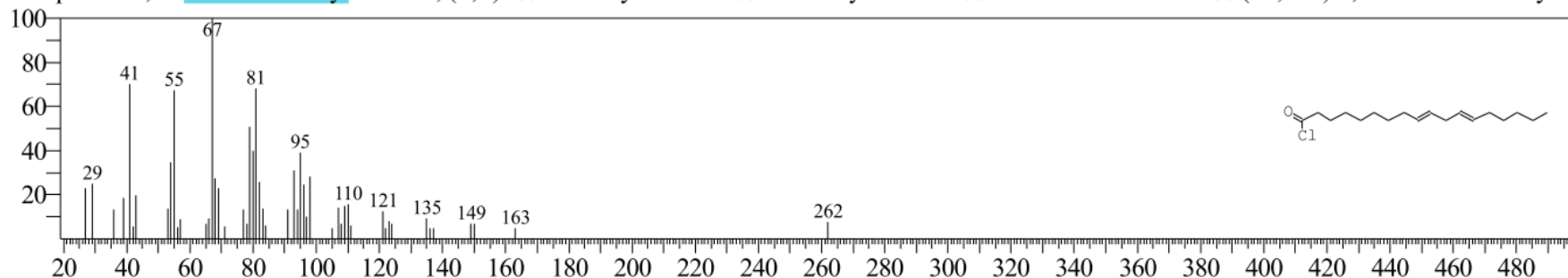
CompName:Cyclopropane, 1-(2-bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-2,2,3,3-tetramethyl- \$\$ 3-(2-Bromo-3-methyl-1-pentenylidene)-1,1,2,2-tetramethylcycloprop:



Hit#:1 Entry:143061 Library:NIST11.lib

SI:87 Formula:C₁₈H₃₁ClO CAS:7459-33-8 MolWeight:298 RetIndex:2139

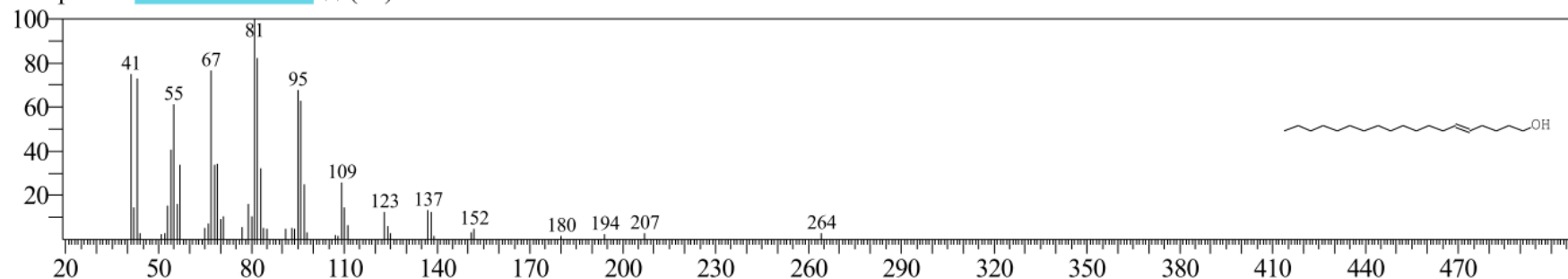
CompName:9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z,Z)- \$\$ Linoleoyl chloride \$\$ Lineoleoyl chloride \$\$ Linoleic acid chloride \$\$ (9E,12E)-9,12-Octadecadienoyl ch



Hit#:1 Entry:129560 Library:NIST11.lib

SI:85 Formula:C₁₉H₃₈O CAS:0-00-0 MolWeight:282 RetIndex:2161

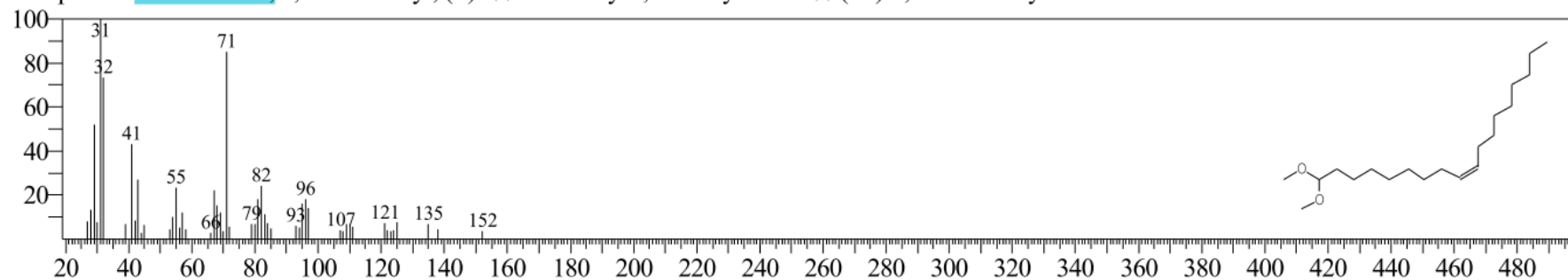
CompName:5-Nonadecen-1-ol \$\$ (5E)-5-Nonadecen-1-ol #



Hit#:1 Entry:154935 Library:NIST11.lib

SI:83 Formula:C₂₀H₄₀O₂ CAS:15677-71-1 MolWeight:312 RetIndex:2105

CompName:9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)- \$\$ Olealdehyde, dimethyl acetal \$\$ (9Z)-1,1-Dimethoxy-9-octadecene #

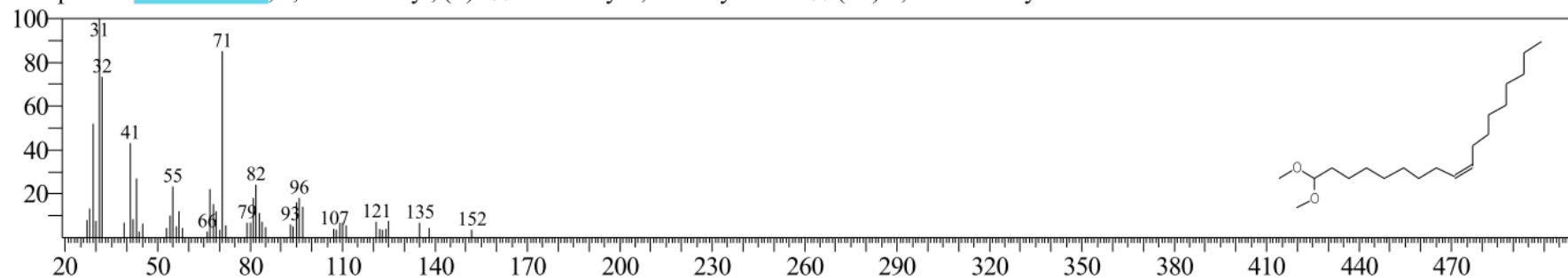


120

Hit#:1 Entry:154935 Library:NIST11.lib

SI:83 Formula:C₂₀H₄₀O₂ CAS:15677-71-1 MolWeight:312 RetIndex:2105

CompName:9-Octadecene, 1,1-dimethoxy-, (Z)- \$\$ Olealdehyde, dimethyl acetal \$\$ (9Z)-1,1-Dimethoxy-9-octadecene #



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Faruk Tolga ŞENGÜLLENDİ
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
Telefon	
E-Posta Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Atatürk Üniversitesi
Fakülte	Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi
Bölümü	Biyoloji Eğitimi/Öğretmenliği
Mezuniyet Yılı	10.06.2001
Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	09.09.2024

Yayınlar
Taş, B., Şengülendi, F.T. (2023). Farklı LED ışıklar altında yetiştirilen köksüz su mercimeğinin (<i>Wolffia arrhiza</i>) Dumas yöntemi kullanılarak ham protein içeriğinin belirlenmesi. <i>Aquatic Research</i> , 6(3), 189-200. https://doi.org/10.3153/AR23019
Taş, B., Şengülendi, F.T. (2022). Algal biyoteknoloji: Besleyici ve fonksiyonel gıdalar. <i>Ziraat, Orman ve Su Ürünleri Alanında Yeni Trendler</i> , Duvar Yayınları, 125-149.
Taş, B., Şengülendi, F. T. (2022). <i>Effect of different led lights on the element content of rootless duckweed</i> . Paper presented at the 7th Asia Pacific International Modern Sciences Congress.
Şengülendi, F.T. (2019). Akıllı Otonom Kavşak Yönetim Sistemi- Ulusal 3. Fen Liseleri Kongresi – Ankara – Türkiye

Projeler
✓ “Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu ile Ekstrakte Edilen Köksüz Su Mercimeğinin (<i>W. arrhiza</i>) Fitokimyasallarının ve Biyoaktif Özelliklerinin İncelenmesi”. Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, B-2310 nolu proje - Araştırmacı
✓ Sürdürülebilir Gelecek İçin, Yenilikçi, Çevre Dostu, Umut Verici Bir Alternatif Protein Kaynağı: Su Yumurtaları (<i>Wolffia</i>) - (Teknofest Türkiye Finali 2022) - Yarışmacı
✓ Deprem Erken Tespit Uyarı Sistemi (Detus) - (Teknofest Türkiye Finali 2021) - Danışman
✓ Deprem Erken Tespit Uyarı Sistemi (Detus) - Tübitak 2204 Lise Öğrencileri Araştırma Projeleri Yarışması Samsun Bölge Finali 2022 - Danışman
✓ Ekmeğin Ozon Gazı Etkisinde Antifungal Etkisinin İncelenmesi-Tübitak 2204 Lise Öğrencileri Araştırma Projeleri Yarışması Samsun Bölge Finali 2014 - Danışman
✓ STEM Eğitici Eğitimi – Oka- 2019 - Proje yürütücüsü
✓ 4006-Tübitak Bilim Fuarı – Atakum Bilsem - 2023 - Danışman
✓ 4006-Tübitak Bilim Fuarı – Çarşamba Fen Lisesi - 2019 - Danışman
✓ 4006-Tübitak Bilim Fuarı - Çarşamba Fen Lisesi - 2014 – Danışman