

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MİKROALGAL BÜYÜMENİN NİTRAT SENSÖRÜYLE TAKİBİ

NİHAT ERDEM BALKANLI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. İBRAHİM İŞILDAK**

İSTANBUL, 2017

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİKROALGAL BÜYÜMENİN NİTRAT SENSÖRÜYLE TAKİBİ

Nihat Erdem BALKANLI tarafından hazırlanan tez çalışması 9/11/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK

Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Musa TÜRKER

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Fatma Gülen İSKENDER

İstanbul Teknik Üniversitesi

ÖNSÖZ

“Mikroalgal Büyümenin Nitrat Sensörüyle Takibi” başlıklı bu çalışma; Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Bilgi ve tecrübeleriyle tez çalışmam boyunca bana yol gösteren değerli danışman hocam Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK’a teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenim hayatım boyunca beni yönlendiren, bilgi ve deneyiminden faydalandığım değerli hocam Doç. Dr. Didem ÖZÇİMEN’e teşekkürlerimi sunarım.

Yrd. Doç .Dr. Özlem Tavukçuoğlu’na, Ar. Gör. Tuğba ÖZER ve beni destekleyen tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatımın her anında maddi ve manevi desteklerini aldığım, sonsuz özveri ve fedakârlıkla beni bu günlere getiren aileme en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Ekim, 2017

Nihat Erdem BALKANLI

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	vi
KISALTMA LİSTESİ.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
ÇİZELGE LİSTESİ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Orijinal Katkı.....	3
BÖLÜM 2	
ALGLER.....	4
2.1 Makroalgler	4
2.2 Mikroalgler	5
2.2.1 Mikroalglerin yetiştirilme sistemleri	6
2.2.2 Mikroalglerin yetiştirilmesinde etki eden parametreler	10
2.2.2.1 Besin (nutrient)	11
2.2.2.2 Makro nutrientler	11
2.2.2.3 Mikro nutrientler	13
BÖLÜM 3	
SENSÖRLER.....	14
3.1 Biyosensörler	16
3.1.1 Elektrokimyasal sensörler.....	17

3.1.1.1	Potansiyometrik sensörler	17	
3.1.2	Amperometrik sensörler	17	
3.2	İyon Seçici Sensörler	17	
3.3	Referans Elektrotlar	19	
3.4	Sensörlerin Kullanım Alanları.....	20	
BÖLÜM 4			
DENEYSEL ÇALIŞMA			22
4.1	Materyal.....	22	
4.1.1	<i>Chlorella minutissima</i>	22	
4.1.2	Besin ortamı.....	23	
4.1.3	Kullanılan cihazlar	24	
4.2.	Yöntem(Biyokütle verimliliği ve etki eden faktörlerin analizi)	25	
BÖLÜM 5			
DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA			27
5.1	Mikroalgal Büyüme Üzerine Nutrient Etkisinin İncelenmesi.....	27	
5.2	Mikroalgal Büyüme Ortamı İle İlgili Parametrelerin Ölçülmesi	29	
5.2.1	Mikroalgal Büyüme ve Nitrat İlişkisi	30	
5.2.2	Mikroalgal Büyüme ve Tuzluluk İlişkisi	30	
5.2.3	Mikroalgal Büyüme ve İletkenlik-Direnç İlişkisi.....	31	
5.2.4	Mikroalgal Büyüme ve Çözünmüş Oksijen İlişkisi.....	33	
5.2.5	Mikroalgal Büyüme ve pH İlişkisi	33	
BÖLÜM 6			
SONUÇ VE ÖNERİLER			36
KAYNAKLAR			38
EK-A.....			43
MİKROALG BÜYÜME ORTAMINDA İYON SEÇİCİ NİTRAT SENSÖRÜ ÖLÇÜMLERİ.....			43
ÖZGEÇMİŞ.....			61

SİMGE LİSTESİ

A	Absorbans (soğurma) değeri
w/w	Ağırlıkça
Lux	Aydınlanma şiddeti
v/v	Hacimce
L	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
cm ³	Santimetreküp
g	Gram
°C	Santigrat cinsinden sıcaklık derecesi
rpm	Karıştırma hızı, dakikada dönme sayısı
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

DO	Çözünmüş Oksijen
OD	Optical Density
pH	Power of Hydrogen
TDS	Toplam Çözünmüş Katı

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1 Makroalgler	5
Şekil 2. 2 Mikroalgler	6
Şekil 2. 3 Alglerin açık sistemlerde yetiştirilmesi	7
Şekil 2. 4 Havuzda yetiştirilen algler	8
Şekil 2. 5 Fotobiyoreaktör tipleri	9
Şekil 2. 6 Fotobiyoreaktörde mikroalgin yetiştirilmesi	10
Şekil 2. 7 Nitratın hücre içindeki dönüşümü	12
Şekil 3. 1 Biyosensörün şematik gösterimi	15
Şekil 3. 2 Biyosensörün yapısı	15
Şekil 3. 3 Konsantrasyonu bilinen potansiyele karşılık gösterilen kalibre eğrisi	18
Şekil 4. 1 <i>Chlorella minutissima</i> 'nın mikroskop altındaki görüntüsü	23
Şekil 5. 1 <i>Chlorella minutissima</i> 'nın farklı oranlarda hazırlanan besin ortamındaki hasat görüntüleri.....	27
Şekil 5. 2 <i>Chlorella minutissima</i> 'nın büyüme grafiği	29
Şekil 5. 3 <i>Chlorella minutissima</i> 'nın büyüme ve nitrat ilişkisi	30
Şekil 5. 4 <i>Chlorella minutissima</i> 'nın büyüme ve toplam çözünmüş katı ilişkisi.....	31
Şekil 5. 5 <i>Chlorella minutissima</i> 'nın büyüme ve tuzluluk ilişkisi	31
Şekil 5. 6 <i>Chlorella minutissima</i> 'nın büyüme ve iletkenlik ilişkisi.....	32
Şekil 5. 7 <i>Chlorella minutissima</i> 'nın büyüme ve direnç ilişkisi	32
Şekil 5. 8 <i>Chlorella minutissima</i> 'nın büyüme ve ortamdaki çözünmüş oksijen ilişkisi.....	33
Şekil 5. 9 <i>Chlorella minutissima</i> 'nın büyüme ve pH ilişkisi.....	34
Şekil 5. 10 Özel nitrat seçici biyosensörlerin görüntüsü	34

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2. 1 Alg yetiştirme sistemlerinin karşılaştırılması	6
Çizelge 4. 1 BG 11 besiyeri içeriği	23
Çizelge 4. 2 İz elementi solüsyon bileşikleri	24
Çizelge 4. 3 Deney parametreleri ve seviyeleri	25
Çizelge 4. 4 Deneysel tasarım matrisi.....	26
Çizelge 5. 1 <i>Chlorella minutissima</i> mikroalginin deneysel tasarım parametreleri ve biyokütle verimliliği	28
Çizelge 5. 2 Özdeş elektrotların günlük olarak ölçmüş olduğu nitrat miktarları.....	35

MİKROALGAL BÜYÜMENİN NİTRAT SENSÖRÜYLE TAKİBİ

Nihat Erdem BALKANLI

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK

Mikroalgler yeni nesil hammadde kaynakları olup, özellikle son yıllarda küresel ısınma ve asit yağmurları gibi çevresel sorunlara neden olan fosil kaynaklara alternatif olarak biyodizel, biyoetanol ve biyochar gibi çeşitli biyoyakıtların eldesinde kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca mikroalgler, içerdikleri değerli biyoaktifler sayesinde; ilaç, gıda, yem ve kozmetik gibi farklı alanlarda da değerlendirilmektedirler. Mikroalgler sadece uygun koşullarda büyüeyebilen mikroorganizmalardır. Mikroalglerin yetiştirilmesinde pH, sıcaklık, ışık şiddeti, nutrient solusyonundaki makro (azot, fosfor, karbon) mikro (kalsiyum, demir, silika, kükürt, kalsiyum, magnezyum, sodyum, potasyum ve klor, bazı vitaminler ve iz elementler) elementlerin oranları önemli parametrelerdir. Bu parametrelerin hassas takibi çok önemlidir. Son yıllarda bu parametrelerin büyümeyle eş zamanlı olarak hassas takibi için özel olarak cihazlar ve sensörlerin geliştirilmesi üzerine çalışılmaktadır.

Chlorella minutissima bir mikroalg türüdür. *Chlorella minutissima* hızlı bir büyüme oranına sahip ökaryotik hücreli bir alg olup, özellikle yağ içeriğinin yüksekliğinden dolayı biyodizel başta olmak üzere, biyoetanol gibi farklı tipteki biyoyakıtlarında üretiminde değerlendirilmektedir. Bu tez çalışmasında, *Chlorella minutissima* türü mikroalglin biyokütle verimi üzerine nitrat, karbonat ve fosfat miktarının etkisi Box behnken tasarım metodu kullanılarak istatistiksel olarak incelenmiş ve mikroalglin en

yüksek biyokütle verimi için optimum koşullar belirlenmiştir. Bu çalışma için özel olarak iyon seçici potansiyometrik nitrat sensörü üretilmiş ve böylece çalışmada mikroalg üretimi boyunca nutrient solüsyonundaki nitrat konsantrasyonundaki değişim hassas olarak ölçülerek gerçek zamanlı olarak takip edilmiştir. Ayrıca mikroalg büyümesi boyunca pH, sıcaklık, çözünmüş oksijen, tuzluluk, iletkenlik, direnç ve toplam çözünmüş katı madde ölçümünde yapılmış ve mikroalg büyümesiyle bu değerlerin değişimi birbiriyle ilişkili olarak yorumlanmıştır.

Mikroalg biyokütle veriminin nitrat, karbonat ve fosfat miktarındaki artışla arttığı görülmüştür. Ayrıca mikroalg büyürken besin solusyonundaki nitrat konsantrasyonunun azaldığı, toplam katı madde, iletkenlik, tuzluluk, çözünmüş oksijen değerlerinin zamanla azaldığı ve direnç değerinin ise arttığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Chlorella minutissima*, mikroalg, nitrat seçici sensör, potansiyometri

MONITORING MICROALGAL GROWTH VIA NITRATE SENSOR

Nihat Erdem BALKANLI

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK

Microalgae are new generation feedstocks for the production of various biofuels such as biodiesel, bioethanol and biochar which are alternative for fossil fuels that cause environmental problems such as global warming and acid rains. Besides, microalgae are utilized in different usage areas like food, animal feed, pharmaceutical and cosmetic industry because of their valuable bioactive compounds. Microalgae are microorganisms that can grow only in the optimum conditions. The proportions of macro (nitrogen, phosphorus, carbon) and micro (calcium, iron, silica, sulfur, calcium, magnesium, sodium, potassium and chlorine, some vitamins and trace elements) elements in nutrient solution and pH, temperature, and light intensity are significant parameters for the growth of microalgae. Sensitive measurement of these elements is very important. In recent years, the development of devices and sensors has been studied specifically for sensitive measurement of these parameters during microalgal growth.

Chlorella minutissima are fast growing microalgae species used for the production of different biofuels such as biodiesel and bioethanol because of their high lipid and carbohydrate content. In this study, effect of nitrate, carbonate and phosphate levels in the growth medium on biomass yield of microalgae were investigated statistically by

using Box-Behnken design method, and optimum conditions are determined for the highest biomass yield of microalgae. An ion selective potentiometric nitrate sensor was specially produced for this study and nitrate concentration in the nutrient medium was measured sensitively during microalgal growth simultaneously. In addition to this, pH, temperature, dissolved oxygen, salinity, conductivity, resistance and total dissolved solids were measured and relationship between these parameters and microalgal growth was evaluated.

It was seen that biomass yield increased with the increase in the amounts of nitrate, carbonate and phosphate. Also it was found that, as nitrate amount decreased, dissolved oxygen, salinity, conductivity, and total dissolved solids increased during microalgal growth.

Keywords: *Chlorella minutissima*, microalgae, nitrate selective sensor, potentiometry



1.1 Literatür Özeti

Algler birçok alanda kullanılan yeni nesil hammadde kaynaklarıdır. Son yıllarda dünya nüfusundaki artışın sonucu olarak enerji ihtiyacının artması ve kullanılan fosil enerji kaynaklarının küresel ısınma ve asit yağmurları gibi çevresel sorunlara neden olmalarından dolayı [1] , ve fosil yakıtların rezervlerinde tükenmeye başlaması bilim adamlarını alternatif temiz enerji kaynaklarını araştırmaya itmiştir, ve bu alternatif temiz enerji kaynaklarından olan biyoyakıtların eldesinde alglerin kullanımı son yıllarda karşımıza çıkmaktadır [2]. Algler biyodizel, biyoetanol ve biyochar gibi çeşitli biyoyakıtların eldesinde kullanılmaya başlanmıştır. Algler kendi içinde makroalgler ve mikroalgler olmak üzere ikiye ayrılır.

Alglerin önemli bir enerji kaynağı hammaddesi olarak görülmesinin en büyük sebebi ise bitkiler soya, mısır gibi enerji kaynaklarında olduğu gibi yiyecek için mi enerji için mi üretim rekabeti sorununun olmamasıdır [3]. Alglerin diğer önemli çevresel etkisinde, atık sularda alg yetiştiriciliği ile hem endüstriyel hemde şehirsal atık suların azaltılması sağlanmaktadır [4].

Ayrıca mikroalgler, içerdikleri değerli biyoaktifler sayesinde; ilaç, gıda, yem ve kozmetik gibi farklı alanlarda da değerlendirilmektedirler. Makroalgler daha çok ilaç ve gıda sanayisinde kullanılmaktadır, mikroalglerin ise yağ üretimi makroalglere göre daha fazla olduğundan biyoyakıt enerji kaynağı olarak daha fazla kullanılmaktadırlar [5].

Alg yetiştiriciliğinde açık ve kapalı sistemler olmak üzere 2 farklı sistemde üretim yapılabilmektedir. Ancak bu sistemlerin kendi içlerinde avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Yetiştirme sistemi seçiminde algin cinsine ve türüne göre ve yetiştirilecek olan sistemin avantaj ve dezavantajlarına göre uygun yetiştirilme sistemi seçilmektedir [5].

Mikroalgler sadece uygun koşullarda büyüeyebilen mikroorganizmalardır [6]. Mikroalglerin yetiştirilmesinde pH, sıcaklık, ışık şiddeti, nutrient solusyonundaki makro (azot, fosfor, karbon) ve mikro (kalsiyum, demir, silika, kükürt, kalsiyum, magnezyum, sodyum, potasyum ve klor, bazı vitaminler ve iz elementler) elementlerin oranları önemli parametrelerdir. Bu parametrelerin hassas takibi çok önemlidir. Son yıllarda bu parametrelerin büyümeyle eş zamanlı olarak hassas takibi için özel olarak cihazlar ve sensörlerin geliştirilmesi üzerine çalışılmaktadır [7].

Sensörler fiziksel olguları elektrik sinyallerine dönüştüren cihazlardır. Mekanik duyu organları da diyebileceğimiz bu cihazlar, çalışma şekillerine göre ve dönüştürücü adı verilen yapılarına göre çeşitlere ayrılmaktadır. Termal, mekanik, kimyasal, akustik, radyoaktif sensörler ve biyosensörler bunlardan bazılarıdır. İlgi alanımıza giren biyosensörler genel olarak, biyolojik yapıdaki analitleri hisseden sensörler veya reseptör birimi biyomoleküler yapıda olan sensörlerdir [8].

Sonuç olarak, yukarıda da belirtildiği üzere, mikroalglerin büyümesi esnasında nutrientlerin miktarları, pH, sıcaklık, ışık şiddeti, çözülmüş oksijen ve karbondioksit miktarı gibi parametrelerin etkisi çok önemli olup, bu parametrelerin doğru ölçülmesi ve optimum değerlerin bulunması çok büyük önem arz etmektedir. Bu bağlamda bu tez çalışması için özel olarak üretilen, çok hassas ölçüm yapacak iyon seçici potansiyometrik nitrat sensörü kullanılması bu alanda literatüre büyük katkı sağlayacaktır.

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında, *Chlorella minutissima* türü mikroalgin biyokütle verimi üzerine nitrat, karbonat ve fosfat miktarı parametrelerinin etkisi Box behnken tasarım metodu kullanılarak istatistiksel olarak incelenmiş ve mikroalgin en yüksek biyokütle için optimum koşullar belirlenmiştir. Bu çalışma için özel olarak iyon seçici potansiyometrik

nitrat sensörü üretilmiş ve böylece çalışmada mikroalg üretimi boyunca nutrient solüsyonundaki nitrat konsantrasyonundaki değişim hassas olarak ölçülerek gerçek zamanlı olarak takip edilmiştir. Ayrıca mikroalg büyümesi boyunca pH, sıcaklık, çözülmüş oksijen, tuzluluk, iletkenlik, direnç ve toplam çözülmüş katı madde ölçümünde yapılmış ve mikroalg büyümesiyle bu değerlerin değişimi birbiriyle ilişkili olarak yorumlanmıştır.

1.3 Orijinal Katkı

Mikroalglerin büyümesi esnasında nutrientlerin miktarları, pH, sıcaklık, ışık şiddeti, çözülmüş oksijen ve karbondioksit miktarı gibi parametrelerin etkisi çok önemli olup, en iyi üretimi sağlayabilmek için bu parametrelerin doğru ölçülmesi ve optimum değerlerin bulunması çok büyük önem arz etmektedir. Bu bağlamda bu tez çalışması için özel olarak üretilen iyon seçici potansiyometrik nitrat sensörü kullanılarak *Chlorella minutissima* türü mikroalgin üretiminde biyokütle verimliliğinin nitrat miktarıyla birlikte nasıl değiştiği hassas bir şekilde takip edilmiş ve yapılan istatistiksel çalışmayla da bu mikroalg türünün üretilmesinde optimum değerler belirlenmiştir. Hem ulusal hemde uluslararası literatürde özel olarak üretilmiş nitrat sensörüyle mikroalg büyümesinin takibinin yapıldığı ve *Chlorella minutissima* türü mikroalgin büyümesine nitrat, karbonat ve fosfat miktarlarının istatistiksel olarak ayrıntılı değerlendirildiği herhangi bir bilimsel çalışma bulunmamaktadır. Bu bağlamda tez çalışması literatüre orjinal katkı yapacaktır.

ALGLER

Algler yeni nesil hammadde kaynaklarıdır. Biyoyakıt üretiminde sıklıkla kullanılırlar. Soya ve mısır gibi diğer biyoyakıt üretim hammaddeleriyle kıyaslandığında, üretim verimlilikleri daha fazla olduğundan ve hızla çoğalabildiklerinden dolayı biyodizel ve biyoetanol gibi sıvı yakıtların üretiminde günümüzde daha fazla kullanılmaktadır [9, 10, 11]. Algler makroalgler ve mikroalgler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Mikroalgler yüksek yağ içeriği nedeniyle biyoyakıt üretiminde makroalglere göre daha fazla tercih edilirler. Ayrıca algler, içerdikleri değerli biyoaktifler sayesinde ilaç, gıda, yem ve kozmetik gibi farklı alanlarda da değerlendirilmektedirler [10].

2.1 Makroalgler

Makroalgler hem karasal hemde sucul ortamda büyüeyebilen canlılardır. Geçmiş yıllarda karasal makroalglerin üzerinde çalışmalar yürütölmekteydi, fakat günümüzde teknoloji geliştikçe su ortamında yaşayan makroalglerin üzerinde de çalışmaya başlandı [12]. Makroalgler su ortamında fotosentez ile doğadaki oksijen üretiminin büyük miktarını tek başına karşılamaktadır. Makroalgler biyoyakıt olarak kullanılmasının yanısıra içerdiği birçok biyoaktif madde içeriğinden dolayı gıda ve kimyasal üretiminde de kullanılmaktadır. Makroalgler bir yandan da sudaki ağır metalleri, fosfat ve azot gibi maddeleri tutabildiğinden su filtrasyon sistemlerinde de kullanılabilirler [13].

Makroalgler (Şekil2.1) çok fazla çeşitliliğe sahiptir. Ancak genellikle kullanılan ve üzerinde çalışmalar yapılmış olan türler: Chlorophyta, Heterokontophyta, Rhodophyta'dır [13]. Makroalgler fotosentez yapabiliş kendi besinini üretebildiğinden

dolayı yaşadığı ortamda genellikle de denizler, göller gibi sucul ortamlarında planktonlarla birlikte besin zincirinin en başında yer almaktadır [14].



Şekil 2. 1 Makroalgler [15]

2.2 Mikroalgler

Mikroalgler çok basit canlılar olup, çekirdekli veya çekirdeksiz olarak ayrılabilen, güneş enerjisini kullanarak fotosentez yoluyla kendisine besin sağlayabilen ve karbondioksiti oksijene çevirebilen önemli organizmalardır. Mikroalglerin fotosentez ile ürettiği organik besinlerin hasat ile geri kazanımı kolay olduğundan ve mikroalglerin üretiminde de diğer enerji bitkilerine göre daha az yerde ve daha hızlı şekilde üremesi sayesinde kullanımı günümüzde daha fazla artmıştır [16].

Mikroalglerin fotosentez ile organik besin üretimi yaparken, diğer enerji bitki türlerine göre oksijen üretiminin daha fazla olması günümüzde mikroalglerin üzerindeki çalışmaların artmasına katkıda bulunmuştur [17].

Mikroalgler (Şekil2.2) hem enerji kaynağı olarak hem içerdiği biyoaktifler sayesinde gıda, ilaç, kimya sanayisinde kullanılmaktadır. Mikroalglerin açık veya kapalı sistemlerde üretilmesiyle ele geçen yüksek miktardaki biyokütle ile birçok biyoenerji türü (biyoetanol, biyodizel, biochar ve biyogaz) ve kimyasal üretimi (etanol, metanol, metan gazı) biyorafineri yaklaşımıyla gerçekleştirilebilir [18].



Şekil 2. 2 Mikroalgler [15,19]

2.2.1 Mikroalglerin yetiştirilme sistemleri

Mikroalgler doğada sulu ortamlarda açık alanlarda büyümektedir. Ancak doğal ortamlarında saf (aksenik) tek bir kültürün yetiştirilmesi gibi bir seçenek yoktur. İstenilen bir mikroalg türünün saf kültürünü elde edebilmek için yetiştirilme sistemlerinde üretimi yapılmaktadır. Bu yetiştirilme sistemleri açık ve kapalı sistemler olarak adlandırılmaktadır. Her ikisinin de avantaj, dezavantajlarına ve üretilecek alg miktarına göre sistemlerin birinde üretim yapılabilir [20],[21]. Çizelge 2.1’de iki sistem karşılaştırılmıştır [22].

Çizelge 2. 1 Alg yetiştirme sistemlerinin karşılaştırılması [22]

	AÇIK SİSTEMLER	KAPALI SİSTEMLER
Kontaminasyon riski	Aşırı yüksek	Düşük
Alan ihtiyacı	Yüksek	Düşük
Su kayıpları	Aşırı yüksek	Yok
CO₂ kayıpları	Yüksek	Yok
Tür çeşitliliği	Sınırlı	Her çeşit
Standardizasyon	Mümkün değil	Mümkün
Hava şartlarına bağımlılık	Yağmurda üretim olmaz	Önemli değil
Üretimdeki konsantrasyon	Düşük 0,1-0,2 g/l	Yüksek 2-8 g/l
Randıman	Düşük	Yüksek

Mikroalglerin üretim sistemlerinin seçiminde sistemin kurulumunda sıcaklık, karıştırma, sisteme su besleme gibi durumlarda kullanılan enerjinin miktarının da önemli bir etkisi bulunmaktadır [23]. Yetiştirilme sürecinde diğer organizmalarla kontamine olma riskinde en düşük seviyede olması istenmektedir. Bu parametrelerin uygunluğuna bakılarak açık veya kapalı sistem de yetiştirilme yapılmaktadır [24].

Mikroalgler fotosentez yaparak büyümektedir, bu yüzden havuzlarda, kanallarda ve reaktörlerde güneş enerjisini alabilmesi için sistemin derinliği en fazla 20-30 cm olmalıdır. Algler büyüdükçe yüzeydekiler güneş enerjisini alırken alt tarafta kalan mikroalgler yüzeydeki mikroalglerden dolayı güneş enerjisi alamayıp ölmektedir. Bundan dolayı sistemin derinliği düşük tutulacak veya fotobiyoreaktörde kullanılan gibi ek olarak sisteme homojen dağılacak şekilde ışık verilmelidir [25].

Mikroalglerin yetiştirilmesinde önemli unsur; mikroalgin büyümesine yönelik parametrelerine uygun ve üretilecek miktara uygun, kullanılacak sıcaklığın suyun karıştırma mekanizmasının en az harcama ile en karlı şekilde üretilmesine uygun olarak yetiştirilme sistemleri seçilmesidir [26]. Alglerin açık sistemlerde yetiştirilmesi Şekil 2.3'te gösterilmiştir [27].



Şekil 2. 3 Alglerin açık sistemlerde yetiştirilmesi [27].

Açık havuzlarda bir çark yardımıyla suyun hareketliliği sağlanır, tüm havuz boyunca akımla beraber algler çökmeden havuzda üremeye devam ederler. Büyüme sonucunda tek bir bölgeden hasat yapılabilmektedir [26].

Açık sistem üretimi kendi içinde geniş açık havuzlar, dairesel havuzlar, kanal havuzları, doğal göller ve geniş havuzlar olarak sınıflandırılır. Açık sistemin kapalı sistem yetiştirmeye göre avantajları şunlardır [28];

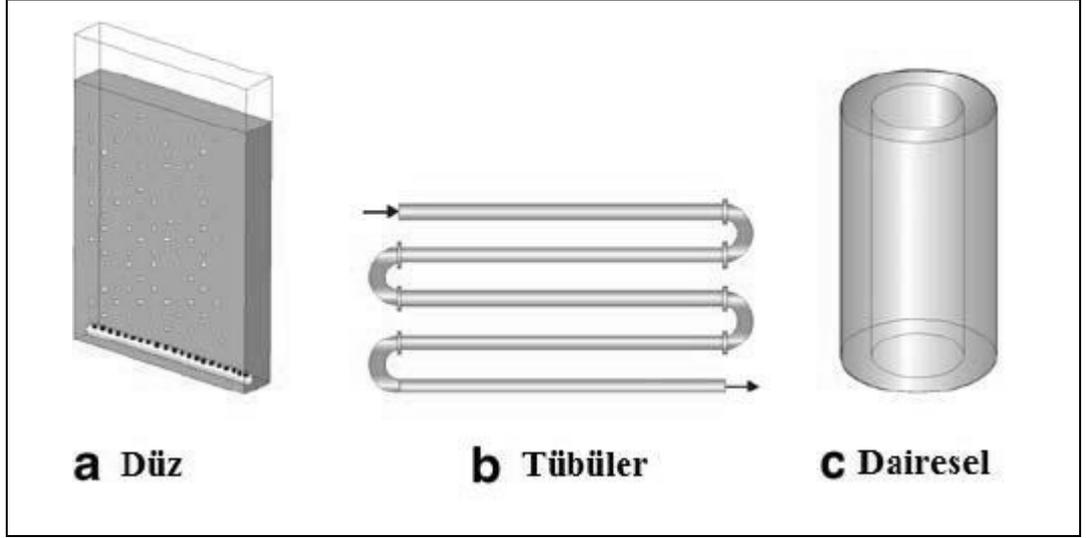
- Yüksek miktarda alg üretimi rahatlıkla yapılabilir.
- Sistemin su ihtiyacını deniz veya göllerden daha az maliyetle elde edebilme imkanı vardır.
- Mikroalgin istediği optimum sıcaklık koşulunu sağlamak için fazladan bir ısıtma için enerji harcanmamaktadır. Bulduğu ortamın sıcaklığında olur.
- Kapalı sistemde yetiştirmeye göre daha az maliyetlidir [28].

Açık sistemlerin dezavantajları ise sıcaklık kontrolünün yapılamaması, kontamine riskinin kapalı sistemlerde olduğundan fazla olması, fazla ve geniş arazilerde (Şekil 2.4) olduğundan açık sistemlerde hasat edilmesinin kapalı sistemlere göre zor olmasıdır [29].



Şekil 2. 4 Havuzda yetiştirilen algler [30]

Mikroalglerin yetiştirilmesinde açık havuzların yanı sıra kapalı sistemler olarakta reaktörlerde, tanklarda, plastik büyük çantalarda da alg yetiştiriciliği yapılabilmektedir (Şekil 2.5). Farklı birçok dizaynda yapılmış ve denenmiş olan reaktörler vardır. Bunlar düz, dairesel ve tübüler biyoreaktörlerdir [31].

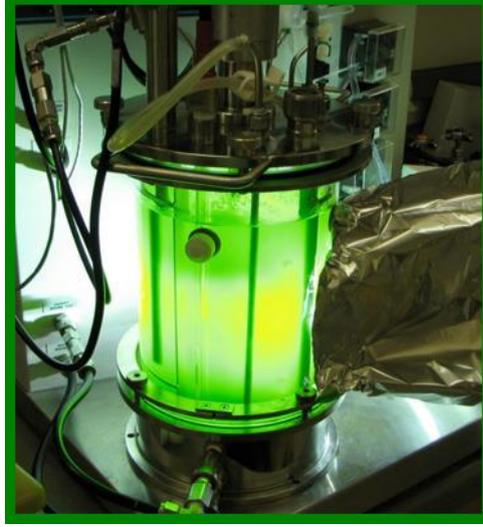


Şekil 2. 5 Fotobiyoreaktör tipleri [32]

Reaktörlerin (Şekil 2.6) açık sistem havuz yetiştiriliğine göre birçok avantajı vardır:

Bunlar;

- Sıcaklık, nütrient gibi parametreler kontrol edilerek üretim yapılabilmektedir.
- Kontamine riski açık sistemlere göre daha azdır.
- Açık sistemlere göre daha az alanda daha fazla üretim yapılabilmektedir [28].



Şekil 2. 6 Fotobiyoreaktörde mikroalgin yetiştirilmesi [33]

2.2.2 Mikroalglerin yetiştirilmesinde etki eden parametreler

Mikroalglerin büyümesinde birçok parametre etki eder. Bu parametreler;

- a. Işık yoğunluğu
- b. Sıcaklık
- c. Karbondioksit
- d. Tuzluluk
- e. Ph
- f. Çözünmüş oksijen
- g. Nutrientler

Işık yoğunluğu mikroalglerin büyümesinde büyük bir etkiye sahiptir. Işığın yoğunluğu mikroalgin büyümesinde ve gelişmesinde büyük bir etki göstermektedir. Mikroalgler içerdikleri klorofille ışıktan aldığı enerjiyi kimyasal enerjiye dönüştürür [34].Ortamda ışık yoğunluğu arttıkça mikroalglerdeki yağ oranıda artmaktadır [35].

Sıcaklık etkisi de ışık yoğunluğunun etkisine benzer etki göstermektedir. Optimum sıcaklık koşullarını sağladığımızda en yüksek biyokütle üretimi yapılır. Optimum koşullarına göre daha düşük sıcaklıklarda tutulduğunda mikroalglerin lipid üretiminde artış olur [36].

Mikroalgler büyüme için fotosentez yapmalı ve bu fotosentez büyüme ortamındaki çözünmüş karbondioksiti kullanarak büyümeyi sağlamaktadır. Mikroalgin büyümesi için suda çözünmüş olan optimum değerlerde karbondioksit bulunmalıdır[37].

Besiyerindeki tuzluluk oranı mikroalgin osmatik basıncını etkiler ve mikroalgin oluşturduğu bazı metabolitlerin oluşmasını sağlamaktadır. Besi ortamındaki tuzluluk oranı mikroalgin fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerini etkilemektedir [38]. Tuzluluk stresi yapıldığı takdirde mikroalgin lipid içeriği artmaktadır [39].

Mikroalg türlerinin birçoğu için uygun pH aralığı 7 ile 9 arasındadır. Mikroalgler ölmeye başladığında pH değerini düşürür ve uygun aralıktan daha aşağıda bir pH değeri besin ortamının etkinliğini azaltır [40].

Mikroalglerin aydınlanma süreleri tüm gün ışık altında tutulmuyorsa (24:0 değilse), karanlıkta bırakıldıklarında fotosentez yapamadıkları için ortamdaki çözünmüş oksijeni kullanmak zorundadır. Bu durumda çözünmüş oksijenin optimum değeri karanlıkta etkisini göstermektedir [40].

2.2.2.1 Besin (nutrient)

Alglerin yetiştirilmesinde besin solüsyonunda birçok gerekli nutrient vardır. Bu nutrientlerden bazıları çok fazla miktarda kullanılır. Bu nutrientlere makro nutrientler denir. İz miktarda kullanılan elementler ise mikro nutrientler olarak anlandırılır [41].

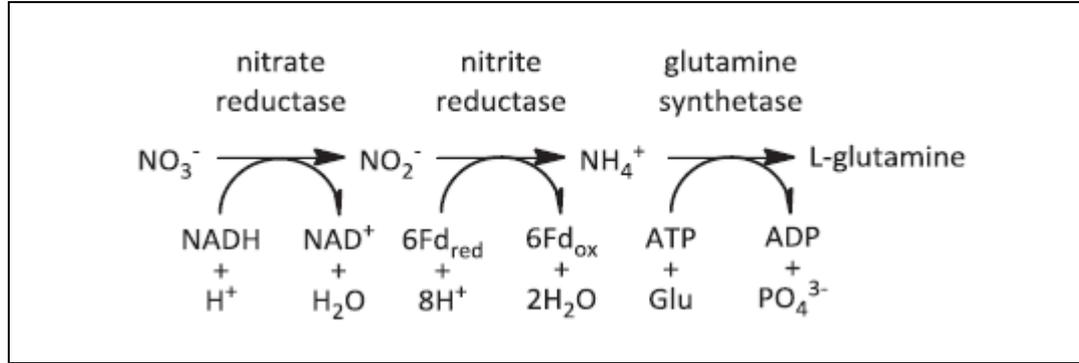
2.2.2.2 Makro nutrientler

Makronutrientler alglerin büyümesi için fazla miktarda ihtiyaç duyduğu elementlerdir. Bunlar azot, karbon ve fosfat'tır.

Mikroalgler azotu büyümesinde aminoasit ve protein gibi yapıtaşları oluşturmak için kullanırlar. Besiyerinde azot kaynağı olarak nitrat, nitrit, amonyak ve azot gazı kullanılır. Mikroalgler azot kaynağı olarak atık suları kullandığında, atık sular azot kaynağınca zengin olduğundan hem mikroalg büyümesine fayda hemde çevresel korumayı sağlamaktadırlar [41].

Azot, bulunduğu kaynağından mikroalgin membranına oradanda plazmaya geçiş yapar. Anorganik azot hücre içinde organik azota dönüşür. Organik azotlar protein yapılar,

aminoasitler, enerji transfer molekülleri (ATP, ADP) ve genetik moleküllere (DNA, RNA) dönüşür [41].



Şekil 2. 7 Nitratın hücre içindeki dönüşümü

Şekil 2.7 nitratın mikroalg hücresi içindeki parçalanmasını göstermektedir. Mikroalgler azot kaynağını yapıtaşı oluşturmak için kullanmaktadır. Besin solüsyonunda azot stresi oluşturulursa lipid üretiminde artış gözlenmektedir. Nitratın nitrat redüktazıyla indirgenmiş (NADH) 'a dönüşmesiyle 2 elektron aktararak nitratın nitrite dönüşmesi, nitritin de nitrit redüktazı ile amonyağa dönüşümü olur, bu reaksiyonda toplam 6 elektron açığa çıkmaktadır. Amonyagında hücre içi sıvıda aminoaside dönüşümü gösterilmiştir [41].

Çoğu biyokimyasal maddelerin kısıtlanması sıklıkla çoklu doymamış yağ asitleri oluşturmaktadır (PUFA): (EPA),(DHA) gibi yağ asitleri. Nitrat ve fosfor gibi minerallerin diyetinde veya farklı oranlarda denenmesi sonucunda yağ oranlarında protein oranlarında değişim gözlenmektedir. Besin solüsyonundaki makro nutrientlerin C:N:P oranları biyokütledeki lipid, protein, karbonhidrat oranlarında değişimi gözlenmektedir [42, 43].

Besin solüsyonunda karbon kaynağı olarak kullanılan bileşikler karbonat, glukoz, karbondioksit gazı, nişasta gibi bileşiklerdir. Ancak besin solüsyonunda karbon nutrientinin kontrolü zordur. Açık sistemlerde çalışıldığında, havadaki karbondioksit, sudaki çözülmüş karbondioksite dönüştüğünden karbondioksitin kontrolü diğer nutrientlere göre daha zor olup, bu sebepten dolayı besin ortamındaki mikroalglerin karbon stresine sokulmasıda daha zordur [44].

Fosfor, nükleik asit, protein, aminoasit, karbonhidrat metabolizmasının enerjisi için önemli bir rol oynamaktadır. Mikroalg metabolizması sırasında fosfor H_2PO_4 , HPO_4 şeklinde olur, bunlar fosforilasyon yoluyla adenin trifosfat (ATP), adenin difosfata (ADP) dönüşerek metabolizmaya enerji üretimini sağlamaktadır [45]. Işıktan aldığı enerji ile yaptığı fotosentez ile mitokondride oksidasyonda elektron taşınmasıyla enerji üretimini gerçekleştirmektedir [46].

2.2.2.3 Mikro nutrientler

Birçok mikro nutrient yüksek konsantrasyonlarda toksik olmasına rağmen mikroalgler iz miktarda bu nutrientlere gereksinim duymaktadır. Mikro nutrientler mikroalg metabolizması ve enzim aktivitesi için az miktarda ihtiyaç duymasına rağmen büyük bir etkisi vardır. Mikro nutrientler kalsiyum, demir, silika, kükürt, kalsiyum, magnezyum, sodyum, potasyum ve klor gibi elementlerdir, çoğu tür mikroalg besin solüsyonundaki demirleri ve silisyumu toksik olmasına rağmen absorbe eder [44].

Mikroalglerin sudaki ağır metalleri kullanmasının avantajı olarak algler ağır metal içeren suları filtre ederek ağır metal miktarını azaltmaktadır [44].

Mikroalgleri yetiştirmek için solüsyona genellikle boron (diatomlar ve mavi-yeşil alglerin özellikle önemlidir), manganez, bakır, çinko, molibden, vanadyum, kobalt, nikel ve selenyum (bazı dinoflagellatlar için özellikle önemlidir) iz elementleri ilave edilir. Bazı mikroalgler de özellikle B12 vitamini ve diğer B serisi vitaminlerini gerektirir[9].

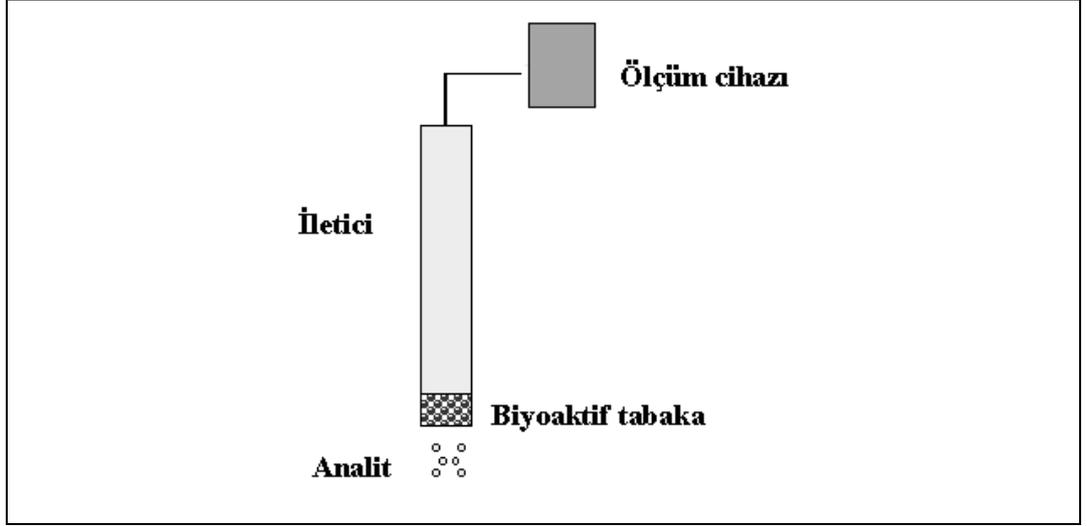
BÖLÜM 3

SENSÖRLER

Sensörler fiziksel olguları elektrik sinyallerine dönüştüren cihazlardır. Mekanik duyu organlarında diyebileceğimiz bu cihazlar, çalışma şekillerine göre ve dönüştürücü adı verilen yapılarına göre çeşitlere ayrılmaktadır. Termal, mekanik, kimyasal, akustik, radyoaktif sensörler ve biyosensörler bunlardan bazılarıdır. İlgili alanımıza giren biyosensörler genel olarak, biyolojik yapıdaki analitleri hisseden sensörler veya reseptör birimi biyomoleküler yapıda olan sensörlerdir [8]. Biyosensörler genellikle biyolojik, kimyasal, toksik maddelerin tespit edilmesi için kullanılmaktadır. Tanıma sisteminin asıl amacı, ölçülecek olan analit için sensöre yüksek oranda seçicilik sağlamaktır [7].

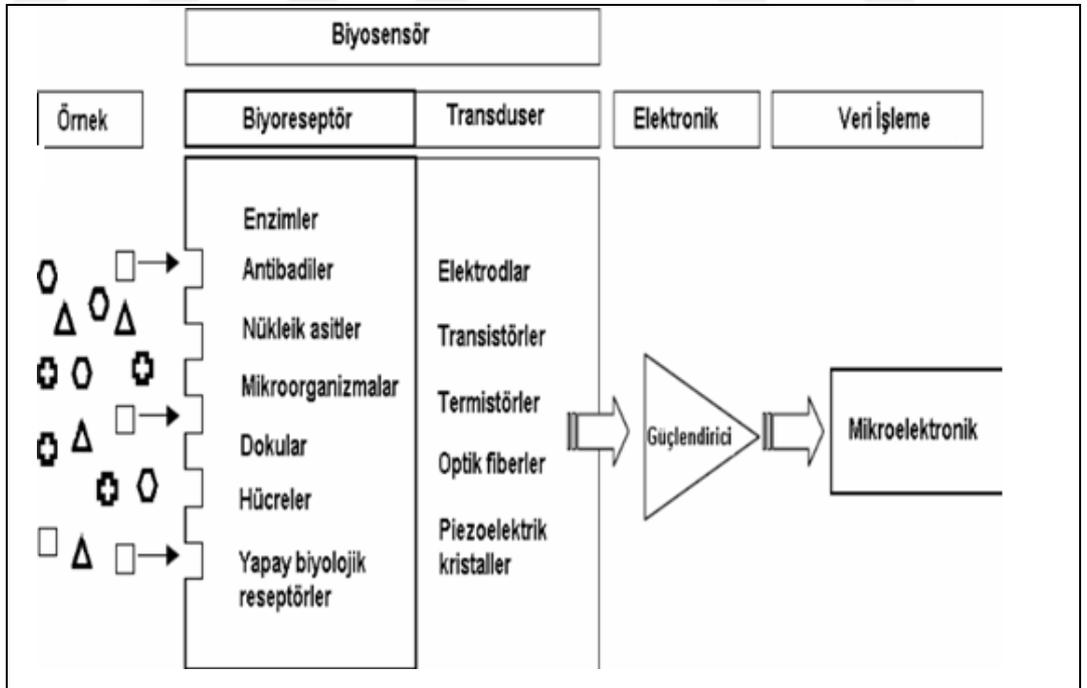
Biyosensör biyolojik olarak önemli olan elementlerin bulunması için kullanılan bir biyomedikal araçtır. Biyosensörde biyolojik tanıma kısmı, dönüştürücü, sinyal işlemci parçalarından oluşan 3 ana bölüme ayrılır [47].

Kimyasal sensörler genellikle iki temel bileşen içermektedir. Bunlar kimyasal molekül tanıma sistemi veya biyolojik tanıma sistemi ve fizikokimyasal dönüştürücüdür(Şekil3.1) [7].



Şekil 3. 1 Biyosensörün şematik gösterimi [48]

Tanırma sistemi kontrastı belirli analiti kimyasal veya fiziksel çıkış sinyaline çevirir. Tanırma sisteminin asıl amacı, ölçülecek olan analit için biyosensöre seçicilik kazandırmaktır [7]. Bu amaçla tasarlanmış olan biyosensörler, biyolojik tanırma elemanları, istenen moleküle spesifik bir bağlanma afinitesine sahip olan algılayıcı substrat üzerinde hareketsizleştirilmesi, bileşiklerin spesifik etkileşimini uyarlama imkanı nedeniyle genellikle oldukça seçicidir [49].



Şekil 3. 2 Biyosensörün yapısı [50]

Biyosensörde kullanılan genel tanıma elemanları: enzim, antikor, hücreler ve reseptörlerdir. Bunların arasından en çok kullanılanı enzimlerdir [50].

Analiz maddenin saptanması için farklı tipte dönüştürücü kullanılır. bu dönüştürücüler elektrokimyasal (potansiyometrik, ampermetrik, voltametrik), kalorimetrik, optik, akustik, pizoelektrik gibi dönüştürücüler kullanılır [51].

Yüksek yüzey alanı, yüksek aktivite, kolay dağılıbilirlik ve hızlı üretimi biyosensörün üretilmiş olduğu malzemenin karakteristik özelliğinden kaynaklanır. Biyosensör teknolojisi biyoloji, fiziksel, kimyasal bilimlerin katkısıyla gelişmiştir [52].

3.1 Biyosensörler

Biyosensörler biyolojik algılama materyalleri ve uygulanan dönüştürme araçları temel alınarak çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir [50].

Biyoalgılama Materyalleri Temel Alınarak Yapılan Sınıflandırma:

Biyosensörler kullanılan biyoalgılama materyalleri mekanizmalarına göre olarak üç farklı gruba ayrılabilir: biyoafinite, biyokatalitik, mikrop esaslıdır. Biyokatalitik esaslı gruba, enzim dahildir; biyoafinite esaslı grup, antikorlar, algılayıcılar ve nükleik asitlerden oluşmakta mikrop esaslı grup, hücreler, mikroorganizmalar, organeller ve dokudan oluşmaktadır [53].

- İmmuno Sensörler
- Nükleik Asit Prob Sensörleri
- Mikrop Esaslı veya Hücre Esaslı Sensörler
- Doku Esaslı ve Organeller Esaslı Sensörler

Dönüştürücü esaslı sınıflandırma:

Dönüştürücüler, biyolojik ajan ile analitin etkileşmesi ile gerçekleşmiş olan fizikokimyasal sinyali elektrik sinyaline dönüştürerek, sinyalin güçlenerek okunabilir şekle girmesini sağlar [54].

Bu sınıflandırılmada, optik, izoelektrik, kalorimetrik, elektrokimyasal (amperometrik ve potansiyometrik) sensörler olarak temel başlıklarla sınıflandırılabilir [54].

3.1.1 Elektrokimyasal Sensörler

3.1.1.1 Potansiyometrik sensörler

Potansiyometrik ölçümler net akım akışı olmayan bir elektrot sürecinden oluşur. Elektrot üzerinde önemli miktarda gerilim oluşumuyla sonuçlanan bir elektrot yüzeyinde yük yoğunluğu birikim prensibine dayanarak çalışır [55].

Potansiyometrik cihazlar, elektrokimyasal bir hücrede referans elektrod ile karşılaştırıldığında çalışma elektrodunda bir şarj potansiyelinin birikmesini ölçer [55]. Kısacası potansiyometri, elektrokimyasal reaksiyondaki iyon aktivitesi hakkında bilgi vermektedir [56]. Potansiyometrik ölçümlerde, elektrokimyasal gerilimi ölçmektedir. Bu gerilimi de Nerst denklemi (Denklem 3.1) ile verilmektedir [57], [58].

$$E = E_0 + [RT/(nF)] \ln a \quad (3.1)$$

E = V birimi ile ölçülen gerilim

E₀ = a = 1 mol l⁻¹ için standart gerilim

R = gaz sabiti

T = K biriminde sıcaklık

F = Faraday sabiti

n = elektron transfer sayısı

a = ilgili iyonun nispi aktivitesi

3.1.2 Amperometrik sensörler

Karşıt elektrot ile çalışma elektrodu arasında denge gerilimine dışarıdan farklı bir gerilim uygulanırsa sistem dengeye ulaşmaya çalışır. Bununla birlikte aynı zamanda elektrot tepkimesi olur. İki elektrot arasından akım geçer. Çalışma elektrotu yükseltgenen, indirgenen katyon olabilir veya yüksüz bileşik, anyon olabilir [59], [60].

3.2 İyon Seçici Sensörler

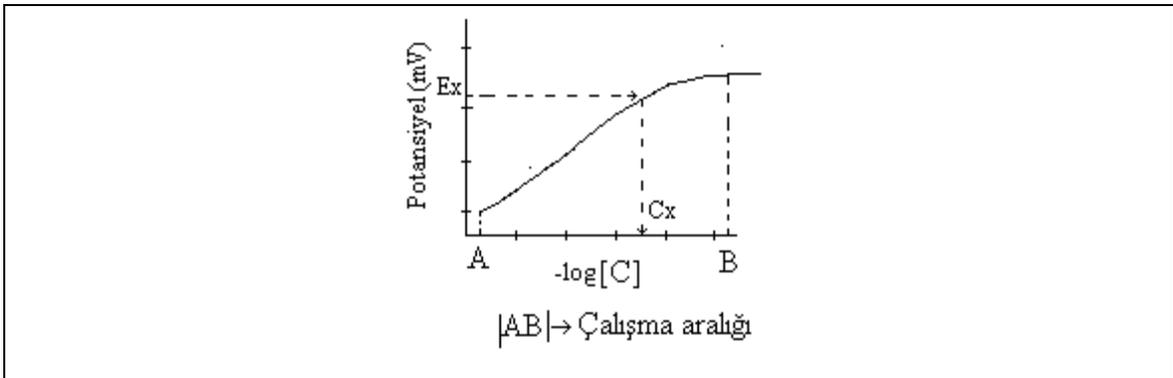
Tek iyon seçici davranan sensörlere iyon seçici sensör adı verilmektedir. Bu tip sensörler analit olarak serbest iyon aktiviteleri vardır. Sensörün ölçmüş olduğu iyon ile çözeltideki konsantrasyon doğru orantılı olduğu gözlenir. Bu sayede iyon seçici sensör kullanıp çözeltide kullanılan elektrodun seçici olduğu iyon konsantrasyonu ölçülebilir. Sensörün iyon seçicilik özelliğini membranın özelliğine bağlıdır. İyon seçici

sensörlerde en önemli etkiyi sensörün kaplanmış olduğu membran göstermektedir. Membran sadece istenilen iyon geçişi sağladığı takdirde potansiyel bir fark oluşarak elektrokimyasal bir denge oluşmaktadır. Sensörde bu potansiyel farkı ölçerek ölçmüş olduğumuz çözeltideki sadece istediğimiz iyonun konsantrasyonunu hesaplayabilir [61].

İyon-seçici sensörlerin birçok alt sınıfı vardır. Bunlar:

- Kaplama tel sensör
- Sıvı-hal iyon-seçici sensör
- Cam iyon-seçici sensör
- Kompozit sensör
- Gaz ve enzim sensör
- İyon-seçici alan etki transistörleri
- Sıvı-membran iyon-seçici sensör (polimer-membran elektrotlar)

İyon-seçici sensörde istenilen iyonun konsantrasyonunu hesaplamak için kalibrasyon eğrisi ile yapılmaktadır. Konsantrasyonu bilinen sabit çözeltiler ile kalibre eğrisi alınarak istediğimiz çözeltideki konsantrasyonunu hesaplayabiliriz. Şekilde 3.3 görüldüğü gibi bir kalibre eğrisinde bilinen potansiyelle karşılık gelen bilinmeyen konsantrasyonu hesaplayabiliriz [62].



Şekil 3. 3 Konsantrasyonu bilinen potansiyelle karşılık gösterilen kalibre eğrisi

3.3 Referans Elektrotlar

Pek çok elektroanalitik uygulamalarda elektrotlardan birinin yarı-hücre potansiyelinin bilinmesi, sabit olması ve ortamdaki çözeltinin bileşiminden etkilenmemesi arzu edilir. Buna uygun bir elektrota " referans elektrot" denir [62].

Referans elektrot kolay hazırlanır, potansiyeli küçük akımların bulunması durumunda sabit ve tekrarlanabilir [63].

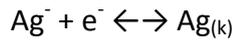
Elektrokimyasal ölçmeler rapor edilirken hangi referans yarı-hücresinin kullanıldığı belirtilmelidir; bu bilgi, elde edilen değeri, herhangi bir diğer referans yarı-hücre ile elde edilen ölçme değeriyle kıyaslama olanağı sağlar [63].

Referans elektrotlar üç grup altında toplanabilir:

- Redoks Elektrotları
- Birinci Tip Elektrotlar

Potansiyel, doğrudan çevre ile elektrot yüzeyindeki bir reaksiyon tarafından tayin edilir; reaksiyon dengededir. Bu gruptaki elektrotlar iki fazlı sistemlerdir (katı elekt-rot ve sıvı çevre), çözeltideki bileşenlere göre dönüşümlüdür. [64]

Örnek: $Ag | Ag^+$

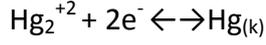


- İkinci Tip Elektrotlar

Potansiyel, çözeltideki anyon ve tuz fazı arasındaki dönüşümlü reaksiyon tarafından tayin edilir.

Potansiyel ölçümlerde yaygın olarak kalomel ve gümüş/gümüş klorür ($Ag/AgCl$) referans elektrotlar kullanılmaktadır. Kalomel elektrot, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta standart hidrojen elektroduna karşı 244 mV civarında potansiyel veren bir civa/civa klorür ($Hg/HgCl$) yarı hücresi olarak tanımlanabilir. Kalomel elektrotta gerçekleşen reaksiyon aşağıda verilmiştir [65].





Nenst eşitliği kullanılacak olursa;

$$E = E_1^0 - 0,0592/2 \log[\text{Cl}^-]^2 \quad (3.2)$$

Ortamdaki klor iyonu konsantrasyonunda azalma meydana gelirse, $\text{Hg}_2\text{Cl}_2(k)$ çözünerek ortama klor iyonunu verir bu şekilde konsantrasyonun sabit kalır. Elektrot potansiyeliklor iyonu konsantrasyonuna bağlı olduğu gözlenir (Denklem (3.2)) elektrot potansiyeli sabit kalır [65].

Civa / civa sülfat ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{SO}_4$)

Bakır / bakır sülfat ($\text{Cu}/\text{CuSO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$)

Civa / civa oksit (Hg/HgO)

3.4 Sensörlerin Kullanım Alanları

Biyosensörler; gıda maddeleri, metabolitler, vitaminler, antibiyotikler, ilaçlar gibi organik maddeler, bazı anorganik bileşikler yanında enzimler, virüsler ve mikroorganizmaların tayininde kullanılırlar. Bunların dışında BOD, toksisite ve mutajenite testlerinde de başarı ile uygulanmaktadır [55].

Biyosensörler tıp, tarım, gıda, eczacılık, çevre kirliliği, savunma ve birçok endüstriyel aktivitede özellikle otomasyon, kalite kontrolü, durum tespiti ve enerji saklanmasında çok önemli rol oynarlar. Bugüne kadar 180'den fazla farklı madde için biyosensör hazırlanmış olup bunlarda ancak 25 kadarı ticari olarak üretilmektedir. Biyosensörler için mümkün uygulama alanları şöyledir [60].

- Proses kontrolü
- Çevre koruma ve kirlilik kontrolü
- Gıda üretim ve analizi
- Bakteriyel ve viral diyagnostik
- Biyoreaktör kontrol ve analitiđi
- Askeri uygulamalar

- Maden işletmelerinde toksik gaz analizleri
- Tarla tarımı, bağ-bahçe tarımı ve veterinerlik
- Klinik diyagnostik, biyomedikal sektör



DENEYSEL ÇALIŞMA

4.1 Materyal

4.1.1 *Chlorella minutissima*

Çalışmada *Chlorella minutissima* türü mikroalg kullanılmıştır. Bu mikroalg türünün sınıfı aşağıda belirtilmiştir:

Alem: Protista (Bitkiler ve Hayvanlar)

Bölüm: Chlorophyta (Yeşil algler)

Sınıf: Chlorophyceae

Takım: Chlorococcales

Aile: Oocystaceae

Cins: Chlorella

Tür: *Chlorella minutissima*



Şekil 4. 1 *Chlorella minutissima*' nın mikroskop altındaki görüntüsü (X100)

Chlorella minutissima hızlı bir büyüme oranı ile tek hücreli ökaryotik alg ve biyokütle üretimi için yaygın olarak kullanılan mikroalg (Şekil4.1) türüdür. Chlorophyta bölümüne ait *Chlorella minutissima* küresel şekilde olup, klorofil a ve b'ye sahiptir, kamçısı yoktur ve bitkiler gibi nişasta sentezler. *Chlorella minutissima* aminoasitler ve çoklu doymamış yağ asitleri bakımından da zengindir, bu özelliği mikroalgi sağlık sektöründe, gıdalar ve ilaçlarda potansiyel olarak yararlı kılar. Potansiyel alg türleri arasında, *Chlorella minutissima* yüksek lipid içeriğine (kuru ağırlık biyokütle %10-57) sahiptir ayrıca atık suların arıtılması çalışmalarında kullanılmaktadır [66].

4.1.2 Besin ortamı

Bu çalışmada BG 11 Besiyeri içeriği kullanılmıştır. Bu ortam tatlı su mavi yeşil algleri için genel bir ortamdır. Besiyeri içeriği hazırlanırken 829 ml saf suya Çizelge 4.1'deki bileşikler ilave edilip, 1M NaOH ve HCl ile pH değeri 7.1' e optimize edilmektedir.

Çizelge 4. 1 BG 11 besiyeri içeriği [67].

ml	Stok solüsyonu	g/1000 H ₂ O
100	NaNO ₃	15.0
10	K ₂ HPO ₄	4.0
10	MgSO ₄ .7H ₂ O	7.5
10	CaCl ₂ .2H ₂ O	3.6
10	C ₆ H ₈ O ₇	0.6
10	Amonyum ferrik sitrat	0.6
10	Na ₂ EDTA	0.1
10	Na ₂ CO ₃	2.0
1	İz elementi solüsyonu	-

Çizelge 4. 2 İz elementi solüsyon bileşikleri [67].

Bileşik	Miktar (g)
H ₃ BO ₃	2.86
MnCl ₂ .4H ₂ O	1.81
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.222
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.39
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.079
Co(NO ₃) ₂ 6H ₂ O	0.0494

4.1.3 Kullanılan cihazlar

Çalışmada mikroalglerin büyütülmesinde ışık kaynağı olarak iki adet OSRAM L marka (18 W/77) fluora pembe ışıklı floresan lamba kullanılmış olup kullanılan cihazların listesi ise aşağıda verilmiştir:

- Analitik Terazı (KERN PFB)
- Stok Kültür Saklama Dolabı (Arçelik)
- Spektrofotometre (PG 60 Instrument UV-Vis Spektrofotometre)
- Santrifüj (Sigma 2-16KL)
- İnkübatör (Kerman Lab)
- Mültimeter (Haaglande)
- Nitrat sensörü (El yapımı)

4.2. Yöntem

Çalışmada üretilen mikroalglerin biyokütle verimlilikleri hesaplanmış olup, biyokütle verimliliğine nitrat, karbonat ve fosfat parametrelerinin etkisi Box Behnken Analizi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Dizayn analizinde azot miktarı 0.1875, 0.75, 1,3125 g/l; karbon miktarı 0.025, 0.1, 0.175 g/l ve fosfat miktarı 0,05, 0,2, 0,35 g/l seviyelerinde kullanılmıştır. Bu üç faktörün seviyeleri ve çeşitli kombinasyonlarından oluşan 15 deneme noktası sırasıyla Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4' te gösterilmiştir.

Çizelge 4. 3 Deney parametreleri ve seviyeleri

Değişken birimleri	Faktörler	Seviye		
		x	Düşük (-1)	Orta(0)
NaNO ₃ miktarı (g/l)	X ₁	0.1875	0.75	1.3125
Na ₂ CO ₃ miktarı (g/l)	X ₂	0.0025	0.1	0.175
KH ₂ PO ₄ miktarı (g/l)	X ₃	0.05	0.2	0.35

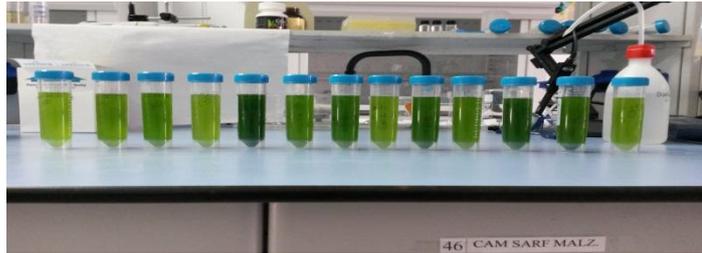
Çizelge 4. 4 Deneysel tasarım matrisi

Deney	NaNO₃	Na₂CO₃	KH₂PO₄
1	1	0	-1
2	0	1	1
3	0	0	0
4	-1	1	0
5	-1	0	1
6	1	0	1
7	-1	0	-1
8	1	1	0
9	0	-1	-1
10	0	1	-1
11	1	-1	0
12	-1	-1	0
13	0	-1	1
14	0	0	0
15	0	0	0

DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1 Mikroalgal Büyüme Üzerine Nutrient Etkisinin İncelenmesi

Mikroalgal büyümesi üzerine çeşitli makro nütrientlerin etkisi literatür bölümünde belirtildiği üzere oldukça fazladır. Çalışmada azot, fosfor ve karbon kaynağı olan nutrientlerin etkisini incelemek amacıyla Çizelge 4.3'te belirtildiği gib alt ve üst seviye sırasıyla 0.185-1.3125 g, 0,05-0.35g ve 0,025-0.175g olacak şekilde hazırlanan besin ortamlarında mikroalgler büyütülmüştür (Şekil5.1). Farklı seviyelerdeki parametrelerin büyümeye etkisini görmek için, farklı koşulda üretilen mikroalgler santirifüjde hasat edildikten sonra kurutularak tartılmış ve biyokütle verimlilik değerleri hesaplanmış olup, Çizelge 5.1.'de sunulmuştur.



Şekil 5. 1 *Chlorella minutissima*'nın farklı oranlarda hazırlanan besin ortamındaki hasat görüntüleri

Çizelge 5. 1 *Chlorella minutissima* mikroalginin deneysel tasarım parametreleri ve biyokütle verimliliği (g/l)

Deney no	NaNO ₃	Na ₂ CO ₃	KH ₂ PO ₄	Biyokütle verimi
1	1,3125	0,1	0,05	0,041
2	0.75	0.175	0,35	0,024
3	0.75	0.1	0,2	0,025
4	0.1875	0.175	0,2	0,014
5	0,1875	0.1	0,35	0,045
6	1,3125	0,1	0,35	0,042
7	0,1875	0.1	0,05	0,018
8	1,3125	0.175	0,2	0,022
9	0,75	0,025	0,05	0,042
10	0,75	0,175	0,05	0,036
11	1,3125	0,025	0,2	0,042
12	0,1875	0.025	0,2	0,038
13	0.75	0,025	0,35	0,024
14	0.75	0,1	0,2	0,025
15	0.75	0,1	0,2	0,025

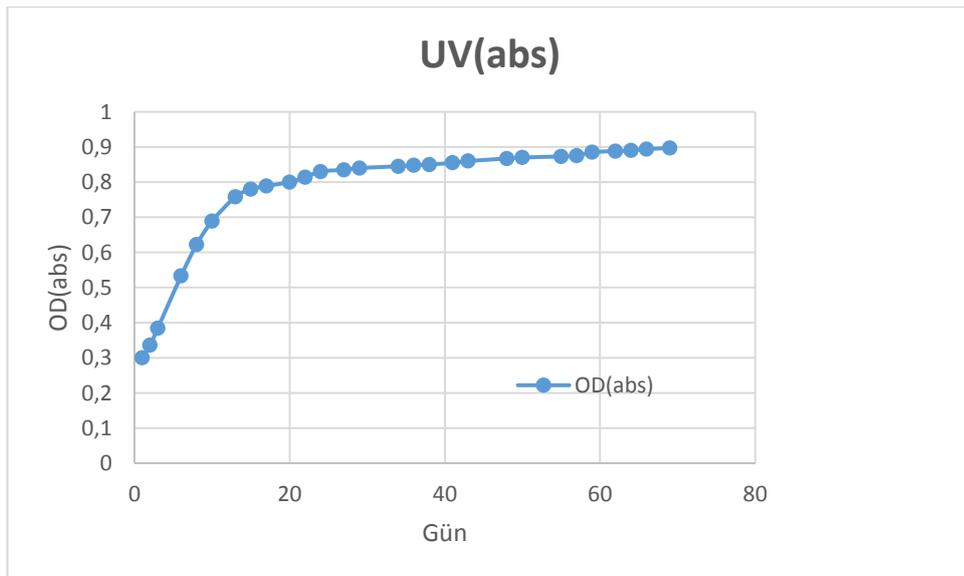
Box-Behnken deneysel tasarım modelinden elde edilen deneysel sonuçlar ve giriş değişkenleri arasındaki etkileşimin denklemi aşağıda verilmiştir:

$$Y=0.035667+0.10469.X_1+0.21444.X_2+0.021296.X_3 \quad (5.1)$$

Denklem 5.1'ten görüldüğü üzere nitrat (X_1), karbonat (X_2) ve fosfat (X_3) parametrelerinin biyokütle verimi üzerine etkisi pozitifdir. En yüksek etkinin karbonat miktarı olduğu, sonra sırasıyla nitrat ve fosfat nitrat şeklinde olduğu görülmüştür. Deneysel tasarım denkleminin R^2 değeri 0.9974 olarak hesaplanmıştır.

5.2 Mikroalgal Büyüme Ortamı İle İlgili Parametrelerin Ölçülmesi

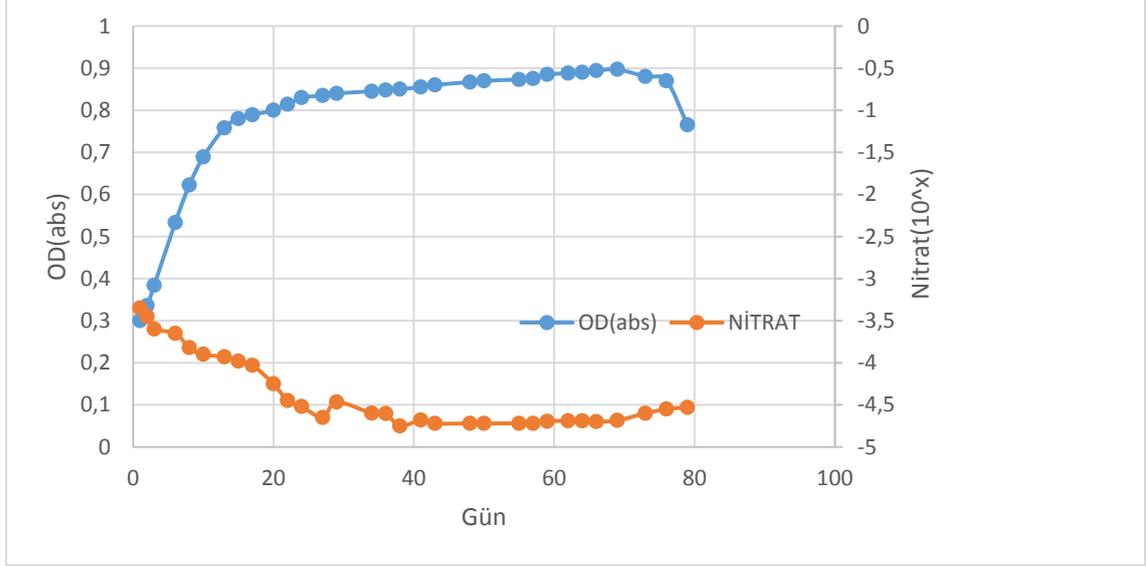
Chlorella minutissima mikroalginin büyüme grafiği Şekil 5.2' de verilmektedir. UV spektroskopisinde 680 nm'de 75 gün boyunca ölçüm alınmış olup, mikroalg büyümesinde logaritmik büyüme fazının 15. güne kadar sürdüğü, daha sonra yavaş büyüme gösterip 40. günden sonra durgun faza girdiği ve 70. Günden sonrada ölüm fazına geçtiği görülmektedir(Şekil 5.1). Ayrıca mikroalg büyümesi boyunca pH, sıcaklık, çözülmüş oksijen, tuzluluk, iletkenlik, direnç ve toplam çözülmüş katı madde ölçümde yapılmış ve mikroalg büyümesiyle bu değerlerin değişimi birbiriyle ilişkili olarak aşağıda yorumlanmıştır. Sıcaklık (24⁰C) büyüme boyunca inkübatör ortamında sabit tutulabilmiştir.



Şekil 5. 2 *Chlorella minutissima*' nın büyüme grafiği

5.2.1 Mikroalgal Büyüme ve Nitrat İlişkisi

Reaktördeki algler gün geçtikçe çoğalması için nutrient olan nitratı kullanıp büyüdüğünden dolayı nitrat oranı azalmakta, OD'de ölüm fazına geçtikten sonra ise nitrat kullanımı olmadığından nitrat miktarında azalma görülmemektedir. Bu noktadan sonra nitrat miktarı sabitlenmiştir.



Şekil 5.3 *Chlorella minutissima*'nın büyüme ve nitrat ilişkisi

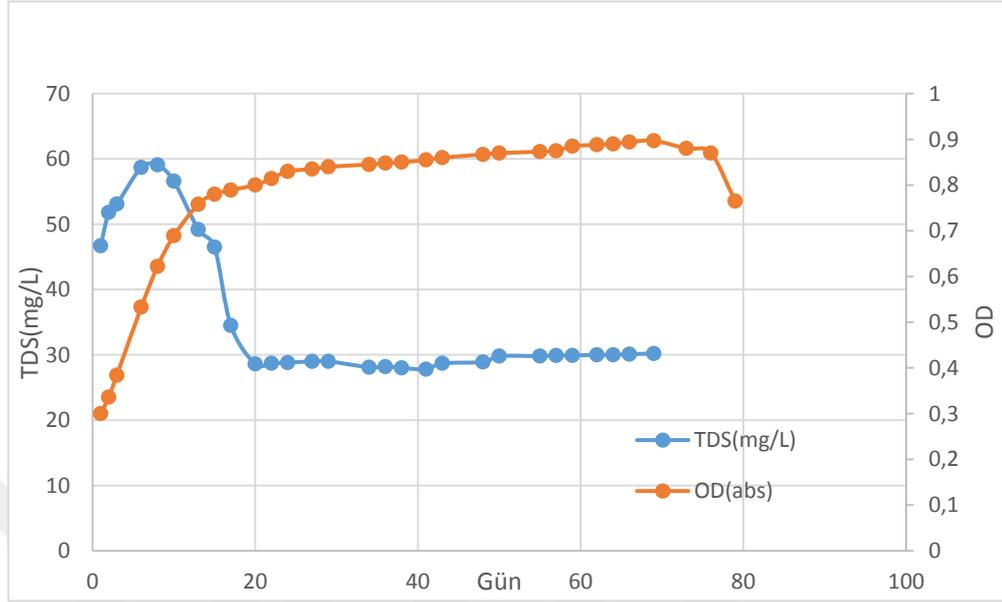
Şekil 5.3'de görüldüğü gibi mikroalglerin büyümesine ters orantılı olarak besin ortamındaki nitrat miktarında azalma görülmektedir.

5.2.2 Mikroalgal Büyüme ve Tuzluluk İlişkisi

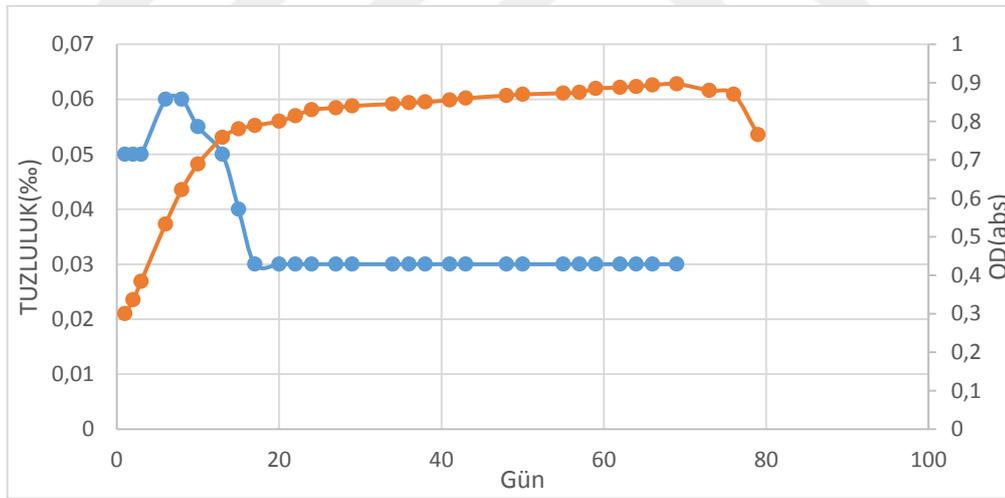
Şekil 5.4'te görüldüğü üzere, mikroalg büyüme grafinde lag faz süresince ortamdaki toplam çözünmüş katının ve doğal olarak tuzluluğunun sabit kaldığı, ancak logaritmik faz büyümesine geçen mikroalgin besin ortamındaki toplam çözünmüş katıyı kullanmaya başladığı ve ortamdaki besin ortamındaki toplam çözünmüş katının sürekli olarak azaldığı, ancak durgun faza yaklaşıldığında ise artık ortamdaki besin ortamındaki toplam çözünmüş katının sabit kaldığı düşünülmektedir [35].

Şekil 5.5'te görüldüğü üzere, mikroalg büyüme grafinde lag faz süresince ortamdaki tuzluluk sabit kaldığı, ancak logaritmik faz büyümesine geçen mikroalgin ortamda tuz iyonlarını kullanmaya başladığı ve ortamdaki tuz iyonlarının sürekli olarak azaldığı,

ancak durgun faza yaklaşıldığında ise artık ortamdaki tuzluluğun sabit kaldığı düşünölmektedir [47].



Şekil 5. 4 *Chlorella minutissima*'nın büyüme ve toplam çözünmüş katı ilişkisi



Şekil 5. 5 *Chlorella minutissima*'nın büyüme ve tuzluluk ilişkisi

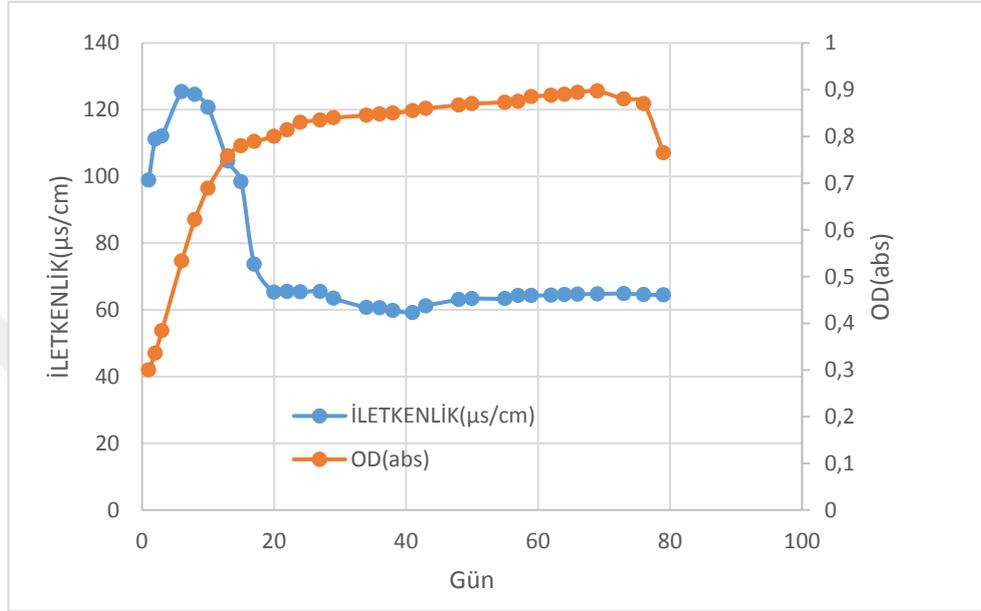
5.2.3 Mikroalgal Büyüme ve İletkenlik-Direnç İlişkisi

Şekil 5. 6'da *Chlorella minutissima*'nın büyüme ve iletkenlik ilişkisi, Şekil 5.7'de *Chlorella minutissima*'nın büyüme ve direnç ilişkisi verilmiştir.

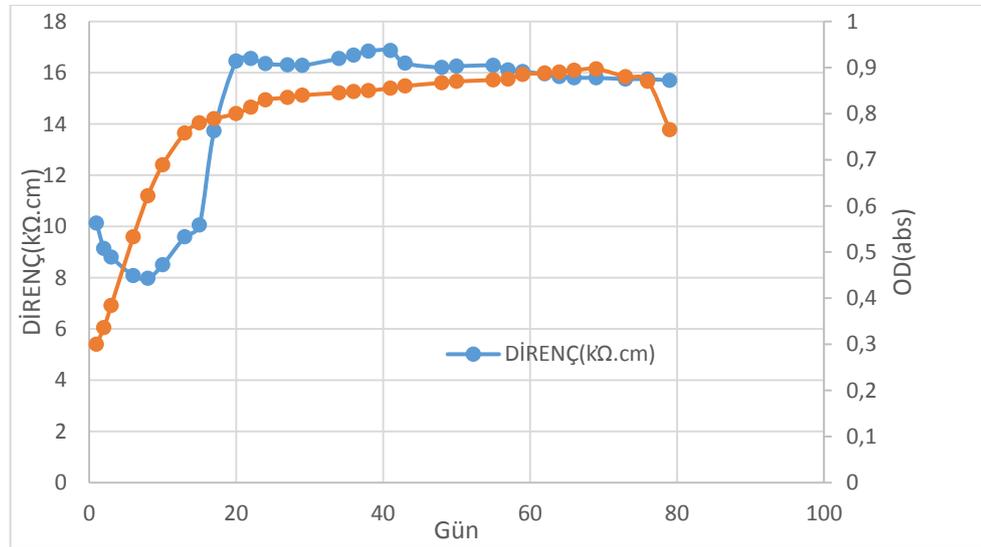
Mikroalg büyürken, besin ortamında çözünmüş katıların (TDS) ve tuzluluğun azalmasına bağılı olarak ortamda çözünmüş iyon miktarıda azalmaktadır. Elektriksel

iletkenlik çözeltide çözünmüş ve iyon haline gelmiş elementler sayesinde sağlanmaktadır. İyon miktarının azalmasına bağlı olarak elektrik iletkenliğinin de azaldığı gözlenmiştir.

İletkenliğin azalması ona ters orantılı olan direnci arttırmaktadır. Besin ortamında iletkenlik ve direncin ters orantılı olduğuda gözlenmiştir [7].



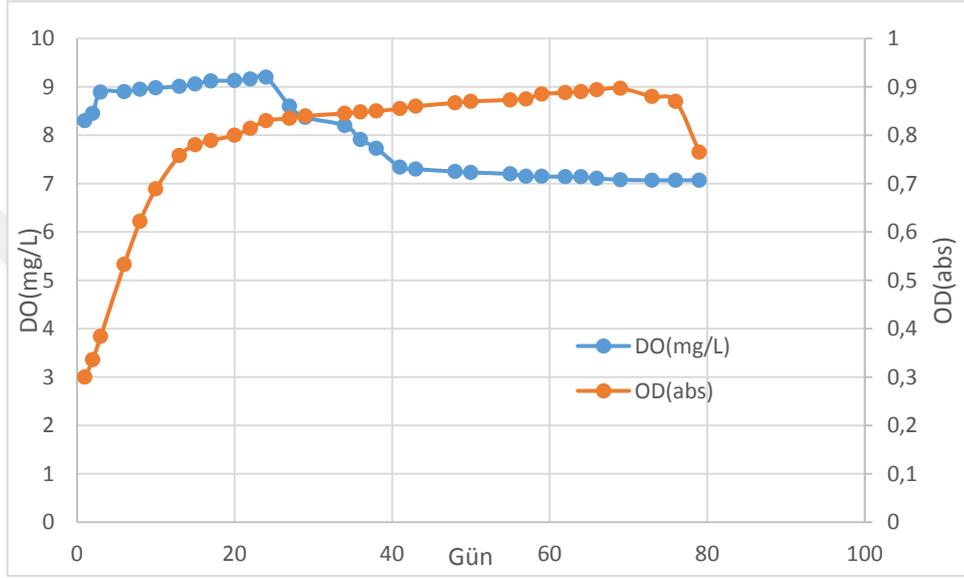
Şekil 5. 6 *Chlorella minutissima*'nın büyüme ve iletkenlik ilişkisi



Şekil 5. 7 *Chlorella minutissima*'nın büyüme ve direnç ilişkisi

5.2.4 Mikroalgal Büyüme ve Çözünmüş Oksijen İlişkisi

24 saatlik aydınlık ortamda büyütülen mikroalglerin sayıları artarken yapmış olduğu fotosentezden dolayı çözünmüş oksijen (DO) oranını ilk başta az miktarda yükseltip, ölüm fazına doğru ilerlediklerinde ise OD grafiğine (Şekil 5.8) paralel olarak bu fazda fotosentez yapamadıklarından ötürü çözünmüş oksijen miktarında azalma görülmüştür [52].

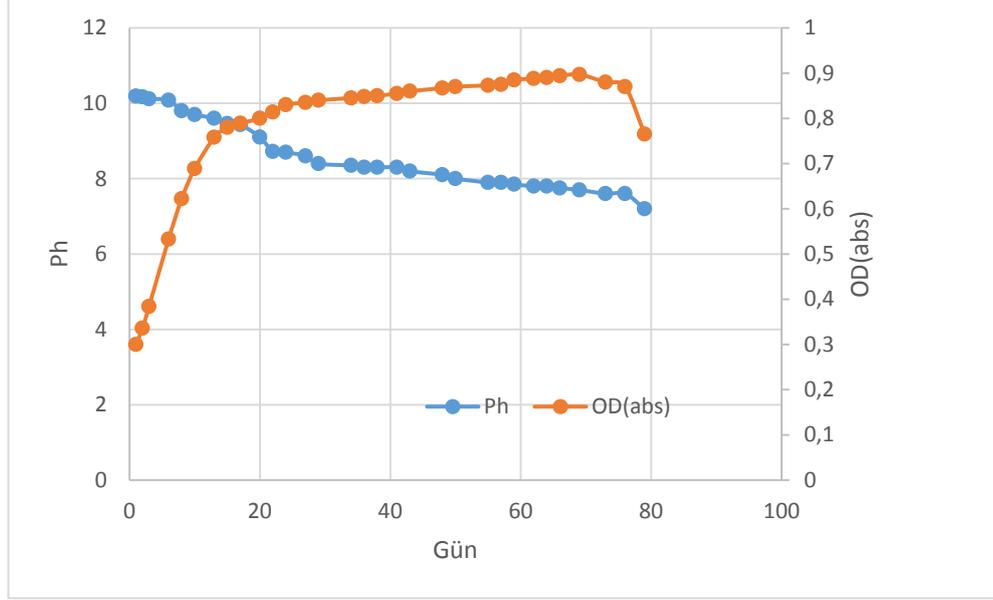


Şekil 5. 8 *Chlorella minutissima*'nın büyüme ve ortamdaki çözünmüş oksijen ilişkisi

5.2.5 Mikroalgal Büyüme ve pH İlişkisi

Besin yerindeki mikroalgler büyüme fazındayken ortamdaki çözünmüş karbonatı kullandığından ortam pH değeri düşmektedir. Ancak 40 gün sonrasında ortamdaki nutrientler bittiğinden dolayı mikroalgler durgun faza ve sonrasında ölüm fazına geçtiği (Şekil 5.8) için ortam pH'ı sabit bir değere ulaşır.

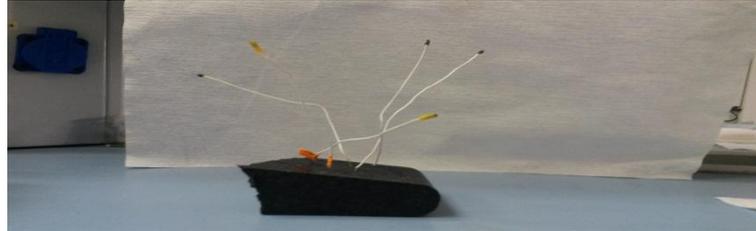
Çözünmüş karbonat besin yerinde bikarbonata dönüşerek H/OH değiştirerek ortamda OH iyonu fazlalığı yarattığından dolayı pH'ı daha fazla bazikleştirir.



Şekil 5. 9 Chlorella minutissima' nın büyüme ve pH ilişkisi

5.3. Elektrot Performansı

Hazırlanan elektrotun potansiyometrik davranışı, konsantrasyonu 10^{-6} - 10^{-1} M arasında değişen standart nitrat çözeltileri kullanılarak test edildi. Hazırlanan elektrotların (Şekil 5.10), diğer iyonlar yanında nitrat iyonuna karşı seçici olduğu, hızlı ve tekrarlanabilir cevap sergilediği gözlemlenmiştir.



Şekil 5. 10 Özel nitrat seçici biyosensörlerin görüntüsü

Çizelge 5.1'de, 10^{-5} - 10^{-1} M konsantrasyon aralığındaki standart nitrat çözeltilerine (düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona ve sonra tekrar düşük konsantrasyona doğru) sırasıyla daldırılan özdeş elektrotların potansiyometrik davranışı görülmektedir.

Çizelge 5.2'de mikroalg büyümesinde logaritmik büyüme fazının 15. güne kadar sürdüğü, daha sonra yavaş büyüme gösterip 40. günden sonra durgun faza girdiğinden dolayı nitrat miktarlarında büyüme fazına göre daha az kullandığı görülmüştür.

Çizelge 5. 2 Özdeş elektrotların günlük olarak ölçmüş olduğu nitrat miktarları

Gün	Tarih	Miktar (Molarite)
1.Gün	17.01.2017	$10^{-1,04}$
3.Gün	19.01.2017	$10^{-3,4489}$
4.Gün	20.01.2017	$10^{-3,6}$
7.Gün	23.01.2017	$10^{-3,612}$
9.Gün	25.01.2017	$10^{-3,618}$
11.Gün	27.01.2017	$10^{-3,624}$
13.Gün	30.01.2017	$10^{-3,643}$
15.Gün	01.02.2017	$10^{-3,7045}$
17.Gün	03.02.2017	$10^{-3,92}$
20.Gün	06.02.2017	$10^{-4,6153}$
22.Gün	08.02.2017	$10^{-4,6222}$
24.Gün	10.02.2017	$10^{-4,6666}$
27.Gün	13.02.2017	$10^{-5,2554}$
29.Gün	15.02.2017	$10^{-5,4667}$
31.Gün	17.02.2017	$10^{-5,5986}$
34.Gün	20.02.2017	$10^{-5,9926}$
36.Gün	22.02.2017	$10^{-5,9932}$
55.Gün	13.03.2017	$10^{-4,6809}$
57.Gün	15.03.2017	$10^{-4,5209}$

SONUÇ VE ÖNERİLER

- Çalışmanın sonucunda nitrat (X_1), karbonat (X_2) ve fosfat (X_3) parametrelerinin mikroalg biyokütle verimi üzerine etkisinin pozitif olduğu, en yüksek etkinin karbonat miktarı olduğu, sonra sırasıyla nitrat ve fosfat nitrat şeklinde olduğu görülmüştür.
- Mikroalg büyümesi incelenirken 75 gün boyunca UV spektroskopisinde her gün ölçüm alınmış olup, mikroalg büyümesinde logaritmik büyüme fazının 15. güne kadar sürdüğü, daha sonra yavaş büyüme gösterip 40. günden sonra durgun faza girdiği ve 70. Günden sonrada ölüm fazına geçtiği görülmektedir.
- Mikroalglerin nitrat kullanımını takip ederken, büyümeyle ters orantılı olarak mikroalg tarafından büyürken kullanıldığı için besin ortamındaki nitrat miktarında azalma görülmüştür.
- Mikroalg büyüme grafiğinde lag faz süresince ortamdaki toplam çözünmüş katının ve doğal olarak tuzluluğunun sabit kaldığı, ancak logaritmik faz büyümesine geçen mikroalgin besin ortamındaki toplam çözünmüş katıyı kullanmaya başladığı ve ortamdaki besin ortamındaki toplam çözünmüş katının sürekli olarak azaldığı, ancak durgun faza yaklaşıldığında ise artık ortamdaki besin ortamındaki toplam çözünmüş katının sabit kaldığı düşünülmektedir.
- Mikroalg büyürken, besin ortamında çözünmüş katıların (TDS) ve tuzluluğun azalmasına bağlı olarak ortamda çözünmüş iyon miktarıda azalmaktadır. İyon miktarının azalmasına bağlı olarak elektrik iletkenliğinin de azaldığı

gözlenmiştir. İletkenliğin azalması ona ters orantılı olan direnci arttırmaktadır. Besin ortamında iletkenlik ve direncin ters orantılı olduğu gözlenmiştir.

- 24 saatlik aydınlık ortamda büyütülen mikroalglerin sayıları artarken yapmış olduğu fotosentezden dolayı çözünmüş oksijen (OD) oranını ilk başta az miktarda yükseltip, ölüm fazına doğru ilerlediklerinde ise OD grafiğine paralel olarak bu fazda fotosentez yapamadıklarından ötürü DO miktarında azalma görülmüştür.
- Besin ortamındaki mikroalgler büyüme fazındayken ortamdaki çözünmüş karbonatı kullandığından ortam pH değeri düşmektedir. Ancak 40 gün sonrasında ortamdaki nutrientler bittiğinden dolayı mikroalgler durgun faza ve sonrasında ölüm fazına geçtiği için ortam pH'ı sabit bir değere gelmektedir. Çözünmüş karbonat besin yerinde bikarbonata dönüşerek H/OH oranını değiştirerek ortamda OH iyonu fazlalığı yarattığından dolayı pH'ı daha fazla bazikleştirmiştir.
- Çalışmada sonuç olarak sensörlerin mikroalg büyümesini incelemede önemli rol oynadığı görülmüş ve çalışmada kullanılan nitrat sensöründen başka farklı elementler için geliştirilmiş sensörlerinde büyüme ortamındaki değişimleri takip açısından birarada ve otomasyon sistemiyle kullanımının mikroalglerin yetiştirilmesinin daha optimum ve ekonomik olarak gerçekleşmesini sağlayacağı düşüncesine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Alam, F., Date, A., Rasjidin, R., Mobin, S., Moria, H., ve Baqui, A., (2012). "Biofuel from algae-Is it a viable alternative?", *Procedia Engineering*, 49: 221-227.
- [2] Scott, S. A., Davey, M. P., Dennis, J. S., Horst, I., Howe, C. J., Lea-Smith, D. J., ve Smith, A. G., (2010). " Biodiesel from Algae: Challenges and Prospects.", *Current Opinion in Biotechnology*, 21(3): 277-286.
- [3] Campbell, M. N., (2008). "Biodiesel: Algae as a Renewable Source for Liquid Fuel.", *Guelph Engineering Journal*, 1(1): 2-7.
- [4] Pathak, C., Mandalia, H. C., ve Rupala, Y. M., (2012). "Biofuels: Indian Energy Scenario", *Research Journal of Recent Sciences*.
- [5] Chisti, Y., (2007). "Biodiesel from Microalgae.", *Biotechnology Advances*, 25(3): 294-306.
- [6] Pienkos, P. T., ve Darzins, A. L., (2009). "The Promise and Challenges of Microalgal-derived Biofuels.", *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 3(4): 431-440.
- [7] Lee, Y. H., Mutharasan R., (2005) "Biosensors" ,*Sensor Technology Handbook.*, J. S. Wilson, Newnes Inc., 161-180.
- [8] Foulds, N. C., ve Lowe, C. R., (1988). "Immobilization of Glucose Oxidase in Ferrocene-Modified Pyrrole Polymers", *Analytical Chemistry*, 60(22): 2473-2478.
- [9] Grobbelaar, J. U., (2004). "Algal Nutrition–Mineral Nutrition." *Handbook of Microalgal Culture, Biotechnology and Applied Phycology*, 95-115.
- [10] Shay, E.G., (1993). "Diesel Fuel from Vegetable Oils: Status and Opportunities." ,*Biomass Bioenergy*, 4: 227-242.
- [11] Hossain, ABM Sharif.,(2008). "Biodiesel Fuel Production from Algae as Renewable Energy." ,*American journal of Biochemistry and Biotechnology*, 4.(3): 250-254.

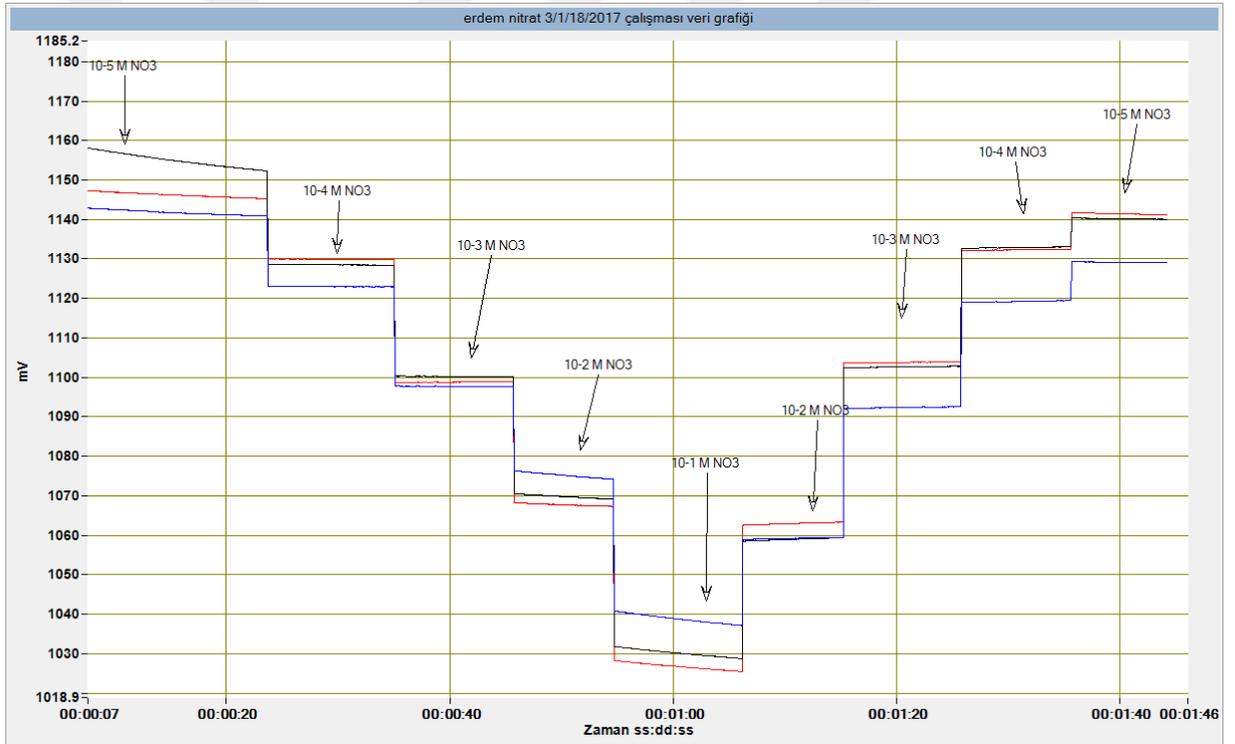
- [12] Sudhakar, M. P., et al., (2017). "Biosaccharification and ethanol production from spent seaweed biomass using marine bacteria and yeast.", *Renewable Energy*, 105 133-139.
- [13] Parekh, R. G., Maru, L. V., Dave, M. J., (1977). "Chemical Composition of Green Seaweeds of Saurashtra Coast", *Botanica Marina*, 20(6): 359-362.
- [14] Bird, M. I., Wurster, C. M., de Paula Silva, P. H., Bass, A. M., ve De Nys, R. (2011). "Algal Biochar–Production and Properties." ,*Bioresource Technology*, 102(2): 1886-1891.
- [15] Lemesle, V., ve Gouzé, J. L. (2005). "A Biochemically Based Structured Model for Phytoplankton Growth in the Chemostat.", *Ecological Complexity*, 2(1): 21-33.
- [16] Sasson, A., (1997). "Microalgal Biotechnologies: Recent Developments and Prospects for Developing Countries", *Biotec Publication*, 2542: 76.
- [17] Lin, C., Chou, T., Wu, J., (2013). "Biodiversity of Soil Algae in the Farmlands of MidTaiwan", *Biological Studies*, 54: 41.
- [18] Ansari, F. A., Shriwastav, A., Gupta, S. K., Rawat, I., ve Bux, F., (2017). "Exploration of Microalgae Biorefinery by Optimizing Sequential Extraction of Major Metabolites from *Scenedesmus obliquus*.", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 56(12): 3407-3412.
- [19] Vergara-Fernández, A., Vargas, G., Alarcón, N., ve Velasco, A. (2008). "Evaluation of Marine Algae as a Source of Biogas in a Two-Stage Anaerobic Reactor System.", *Biomass and Bioenergy*, 32(4): 338-344.
- [20] Oswald, W.J., (1988)." Large-Scale Algal Culture Systems (Engineering Aspects)." In: Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J. (Eds.), *Microalgal Biotechnology* , Cambridge University Press, Cambridge, 357–394.
- [21] Pulz, O., (1994). "Open-Air and Semi-Closed Cultivation Systems for the Mass Cultivation of Microalgae.", In: Phang, S.M., Lee, K., Borowitzka, M.A., Whitton, B. (Eds.), *Algal Biotechnology in the Asia–Pacific Region*. Institute of Advanced Studies, University of Malaya, Kuala Lumpur, 113–117.
- [22] Demirbas, A., (2010). "Use of Algae as Biofuel Sources.", *Journal of Energy Conversion and Management*, 2738-2749.
- [23] Fuentes, MM Reboloso.,(1999). "Outdoor Continuous Culture of *Porphyridium Cruentum* in a Tubular Photobioreactor: Quantitative Analysis of the Daily Cyclic Variation of Culture Parameters.", *Journal of Biotechnology*, 70.(1): 271-288.
- [24] Mata, Teresa M., Antonio A. Martins, and Nidia S. Caetano., (2010). "Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: a Review." ,*Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14.(1) :217-232.
- [25] Borowitzka, Michael A.,(1999). "Commercial Production of Microalgae: Ponds, Tanks, Tubes and Fermenters.", *Journal of Biotechnology*, 70.(1) : 313-321.

- [26] Laws, E.A., Terry, K.L., Wickman, J., Chalup, M.S., (1983). "A Simple Algal Production Systems Designed to Utilize the Flashing Light Effect.", *Biotechnol. Bioeng.*, 25: 2319–2335.
- [27] Tredici, M. R., ve R. Materassi.,(1992). "from Open Ponds to Vertical Alveolar Panels: the Italian Experience in the Development of Reactors for the Mass Cultivation of Phototrophic Microorganisms.", *Journal of Applied Phycology* ,4.(3) : 221-231.
- [28] Wen., Zhiyou., ve Michael Ben Johnson., (2009). "Microalgae as a Feedstock for Biofuel Production."
- [29] Jorquera., (2010). "Comparative Energy Life-Cycle Analyses of Microalgal Biomass Production in Open Ponds and Photobioreactors.",Orlando, et al , *Bioresource technology*, 101.(4): 1406-1413.
- [30] Gimenez-Bonafé., (2002). "Chromatin Condensation, Cysteine-Rich Protamine, and Establishment of Disulphide Interprotamine Bonds During Spermiogenesis of *Eledone Cirrhosa* (Cephalopoda)." *European Journal of Cell Biology* Pepita, et al 81.(6): 341-349.
- [31] Grima, E. Molina., (2003). "Recovery Of Microalgal Biomass and Metabolites: Process Options and Economics." *Biotechnology Advances*, 20.(7): 491-515.
- [32] Akyurt, İ., ve Yiğit Ş., (2010). "Planktonlar ve Fotobiyoreaktörler.", *The Black Sea Journal of Sciences*,1.2: 83-92.
- [33] Zhang., Kai., Norihide Kurano., ve Shigetoh Miyachi., (2002). "Optimized Aeration by Carbon Dioxide Gas for Microalgal Production and Mass Transfer Characterization in a Vertical Flat-Plate Photobioreactor.", *Bioprocess and Biosystems Engineering* 25.(2): 97-101.
- [34] Solovchenko, A. E., Khozin-Goldberg, I., Didi-Cohen, S., Cohen, Z., ve Merzlyak M. N., (2008). "Effects of Light Intensity and Nitrogen Starvation on Growth, Total Fatty Acids and Arachidonic Acid in the Green Microalga *Parietochloris incisa*", *Journal of Applied Phycology*, 20.(3): 245–251.
- [35] Pal, D., Khozin-Goldberg, I., Cohen, Z., ve Boussiba, S., (2011). "The Effect of Light, Salinity, and Nitrogen Availability on Lipid Production by *Nannochloropsis* sp." ,*Applied Microbiology and Biotechnology*, 90.(4):1429–1441.
- [36] Xin, L., Hong-ying, H., ve Yu-ping, Z., (2011). "Growth and Lipid Accumulation Properties of a Freshwater Microalga *Scenedesmus* Sp. Under Different Cultivation Temperature", *Bioresource Technology*,102.(3):3098–3102.
- [37] Li, X., Přibyl, P., Biřov'a, K., (2013). "the Microalga *Parachlorella Kessleri*—a Novel Highly Efficient Lipid Producer", *Biotechnology and Bioengineering*,110. (1):97–107.
- [38] Richmond, A., (1986). "Cell Response to Environmental Factors", in *CRC Handbook of Microalgal Mass Culture*, A. Richmond, Ed., CRC Press, Florida, Fla, USA, 89–95.

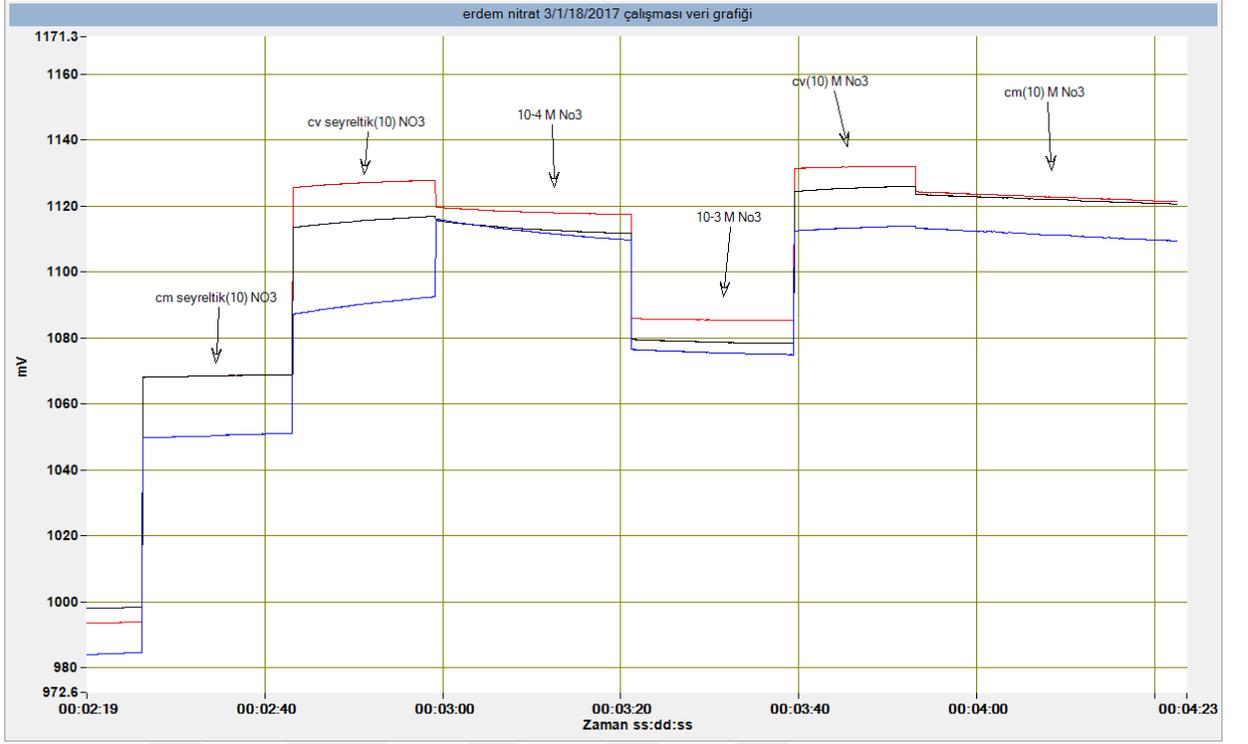
- [39] Yang, H., He, Q., Rong, J., Xia, L., ve Hu, C., (2014). "Rapid Neutral Lipid Accumulation of the Alkali-Resistant Oleaginous Monoraphidium Dybowskii LB50 by NaCl Induction," *Bioresource Technology*,172:131–137.
- [40] Sukatar, A., (2002). "Alg Kültür Yöntemleri.", Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi. 184: 46-64, 103-105.
- [41] Maestrini, SY., Robert, JM., Leftley, JW., Collos.,(1986). "Y.Ammonium Thresholdsfor Simultaneous Uptake of Ammonium and Nitrate Byoyster-Pondalgae.",*Journal of Experimental,MarineBiology and Ecology*;102:75–98.
- [42] Hessen, D.O., (1990). "Carbon, Nitrogen and Phosphorus Status in Daphnia at Varying Food Conditions.", *Journal of Plankton Research*, 12: 1239–1249.
- [43] Cai, Ting., Stephen, Y. Park, ve Yebo, Li., (2013). "Nutrient Recovery from Wastewater Streams by Microalgae: Status and Prospects.", *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 19: 360-369.
- [44] Mehta, SK., Gaur, JP., (2005)."Use of Algae for Removing Heavy Metal Ions from Wastewater: Progress and Prospects",*Critical Reviews in Biotechnology*;25:113–52.
- [45] Martinez,M.E.,Jimenez,J.M.,ElYousfiF.,(1999)."Influence of Phosphorus Concentration and Temperature on Growth and Phosphorus Uptake by the Microalga Scenedesmus Obliquus.", *BioresourceTechnology*,67:233–40.
- [46] Kuenzler,EJ., (1965)."Glucose-6-Phosphate Utilization by Marinealgae.",*Journal of Phycology*,1:156–64.
- [47] Yogeswaran, U., Chen, S.M., (2008). "A Review on the Electrochemical Sensors and Biosensors Composed of Nanowires as Sensing Material", *Journal of Sensors*,8:290-313.
- [48] Jung, Dirk, Michelangelo, P., ve Martin Hartmann., (2009). "Formation of Cross-Linked Glucose Oxidase Aggregates in Mesocellular Foams.", *Journal of Materials Science*, 44.24:6747.
- [49] Chaubey, A., Malhotra, B. D., (2002)."Mediated Biosensors", *Biosensors ve Bioelectronics*, 17(6-7): 441–456.
- [50] Eggins, B., (2002)."Chemical Sensors and Biosensors",*Analytical Techniques in the Sciences*, John Wiley& Sons, West Sussex, 73-80.
- [51] Sharma S. K., Sehgal N., Kumar A., (2003) "Biomolecules for Development of Biosensors and their Applications", *Current Applied Physics*,7-316.
- [52] Kim, K. H. (2013). "Single-Walled Carbon Nanotube Aerogels: Synthesis, Characterization", *Application (Doctoral dissertation, Carnegie Mellon University)*.
- [53] Rogers, K. R., ve M. Mascini., (1998). "Biosensors for Field Analytical Monitoring. ",*Field Anal. Chem. Technol.* 2: 317-331.
- [54] Heinemann, W. R., C. W. Anderson, ve H. B. Halsall., (1979). "Immunoassay by Differential Pulse Polarography.", *Sci. Wash.* 204: 865-866.

- [55] D’Orazio, P., (2003).” Biosensors in Clinical Chemistry.”, *Clinica Chimica Acta*, 334(1-2): 41–69.
- [56] Bakker, E.; Pretsch, E., (2005). “Potentiometric Sensors for Trace-Level Analysis.”, *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 24(3): 199–207.
- [57] Buerk, D., (1993) “Biosensors. Theory and Applications.”, Technomic Publishing, Lancaster.
- [58] Munoz, J., Jimenez, C., Bratov, A., Bartroli, J., Alegret, S., Dominguez, C., (1997).” Biosens.”, *Bioelectron.*,12.(7): 577–585.
- [59] Granero, A.M., Pierini, G.D., Robledo, S.N., Nezio, M.S. Di., Fernández, H., Zon, M.A., (2016). “Simultaneous Determination of Ascorbic and Uric Acids and Dopamine in Human Serum Samples Using Three-Way Calibration With Data from Square Wave Voltammetry”, *Microchem. J.*, 129 : 205–212.
- [60] Eggins, B.R., (2002). “Chemical Sensors and Biosensors.”, John Wiley & Sons Ltd. ,*Water Environ. Res.*, 64.(4): 641–647.
- [61] Kwon, K. H., Paeng, K.J., Lee, D. K., Lee I. C., Hong U. S., Cha G. S., (1994). “Neutral Carrier-based Ion-Selective Electrode with Similar Sensitivity to Different Monovalent Cations as a Detector in Ion Chromatography”, *Journal of Chromatography A*, 688: 350-356.
- [62] IUPAC, Analytical Chemistry Division, Commission on Electroanalytical Chemistry., (1994). “Recommendations for Nomenclature of Ion-selective Electrodes”, *Pure Appl. Chem.*, 66: 2527-2536.
- [63] Krantz-Rülcker, C., Stenberg, M., Winquist, F., Lundström, I., (2001) “Electronic Tongues for Environmental Monitoring Based on Sensor Arrays and Pattern Recognition: a Review”, *Anal. Chim. Acta*, 426: 217–226.
- [64] Valle, M. del., (2010) . “Electronic Tongues Employing Electrochemical Sensors”, *Electroanalysis*, 22: 1539–1555.
- [65] Fibbiol, M. i., Morf, W.E., Badertscher, M., De Rooij, N.F., Pretsch E., (2000). “Potential Drifts of Solid-Contacted Ion-Selective Electrodes Due to Zero-Current Ion Fluxes Through the Sensor Membrane”, *Electroanalysis*, 12: 1286–1292.
- [66] Wang, J., Zhang, X., Chen, Y., Sommerfeld, M. ve Hu, Q., (2008). “Toxicity Assessment of Manufactured Nanomaterials Using the Unicellular Green Alga *Chlamydomonas Reinhardtii*”, *Chemosphere*, 73: 1121-1128.
- [67] Allen, Mary Mennes., (1968) "Simple Conditions for Growth of Unicellular Blue-Green Algae on Plates.", *Journal of phycology*, 4.1: 1-4.

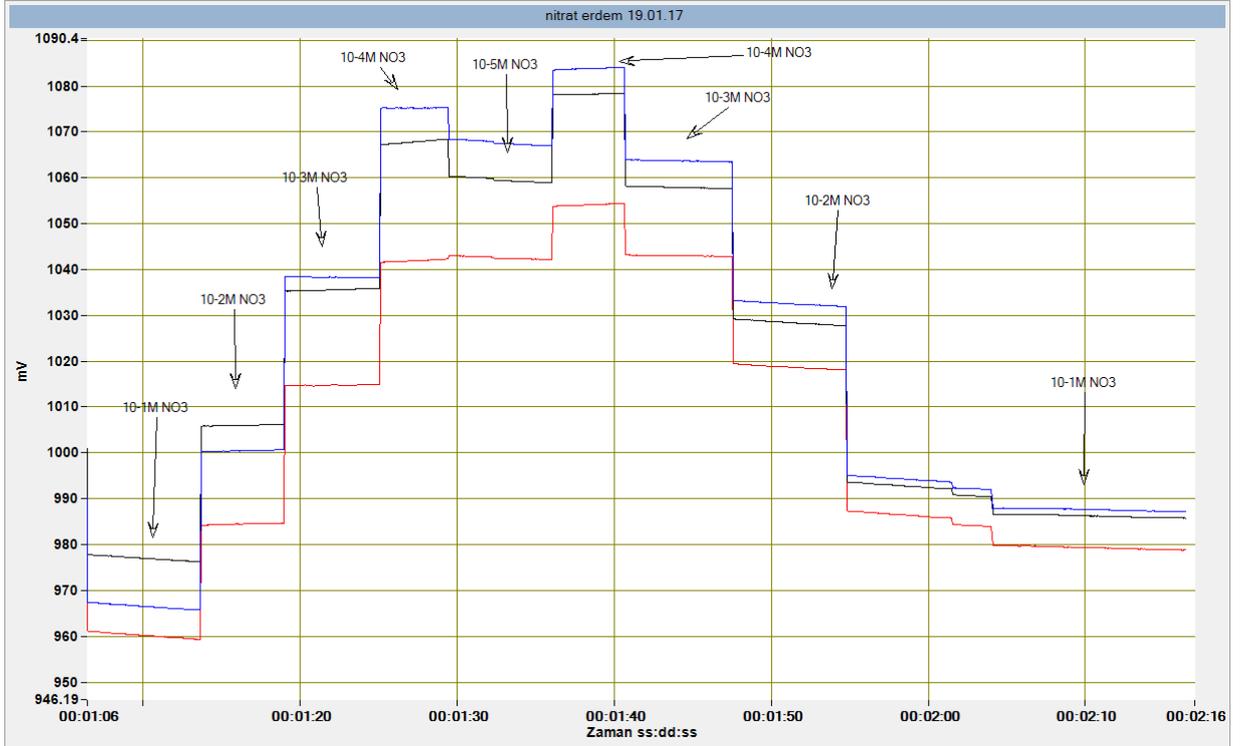
MİKROALG BÜYÜME ORTAMINDA İYON SEÇİCİ NİTRAT SENSÖRÜ ÖLÇÜMLERİ



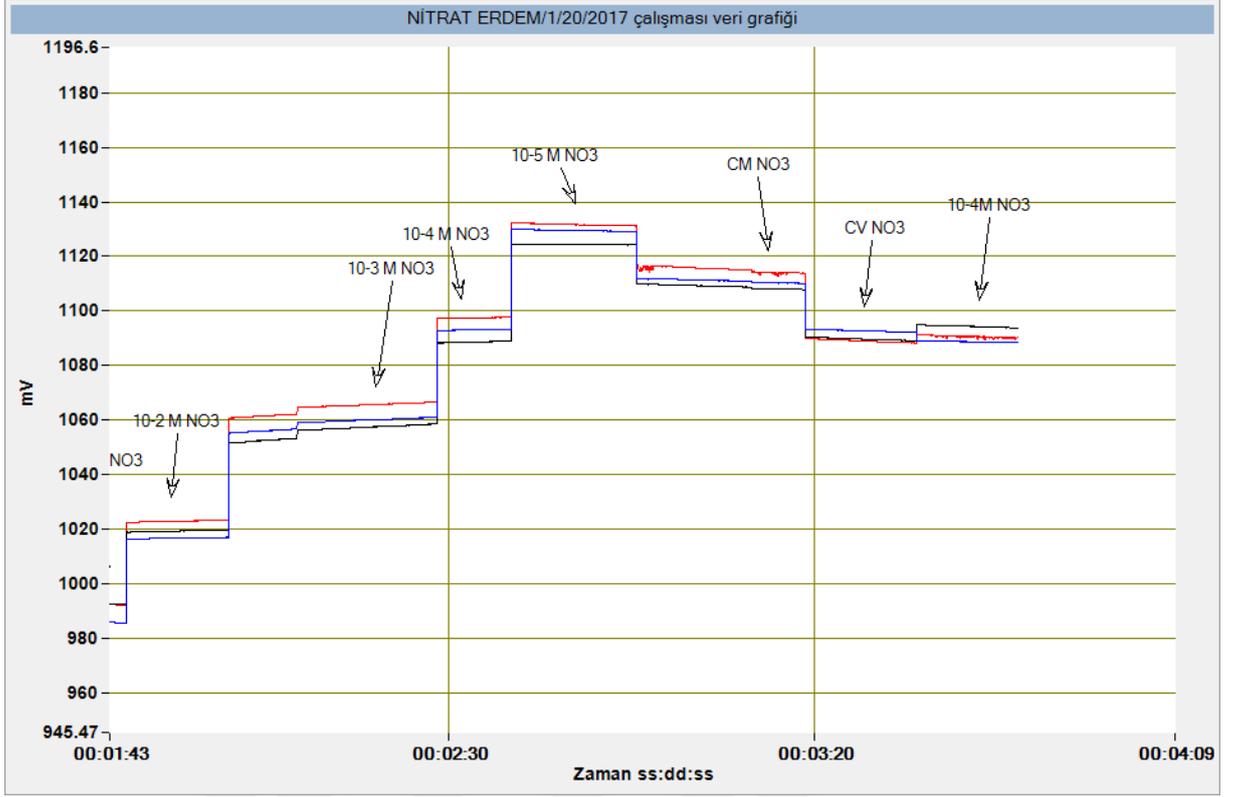
Şekil A.1(a) 17.01.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



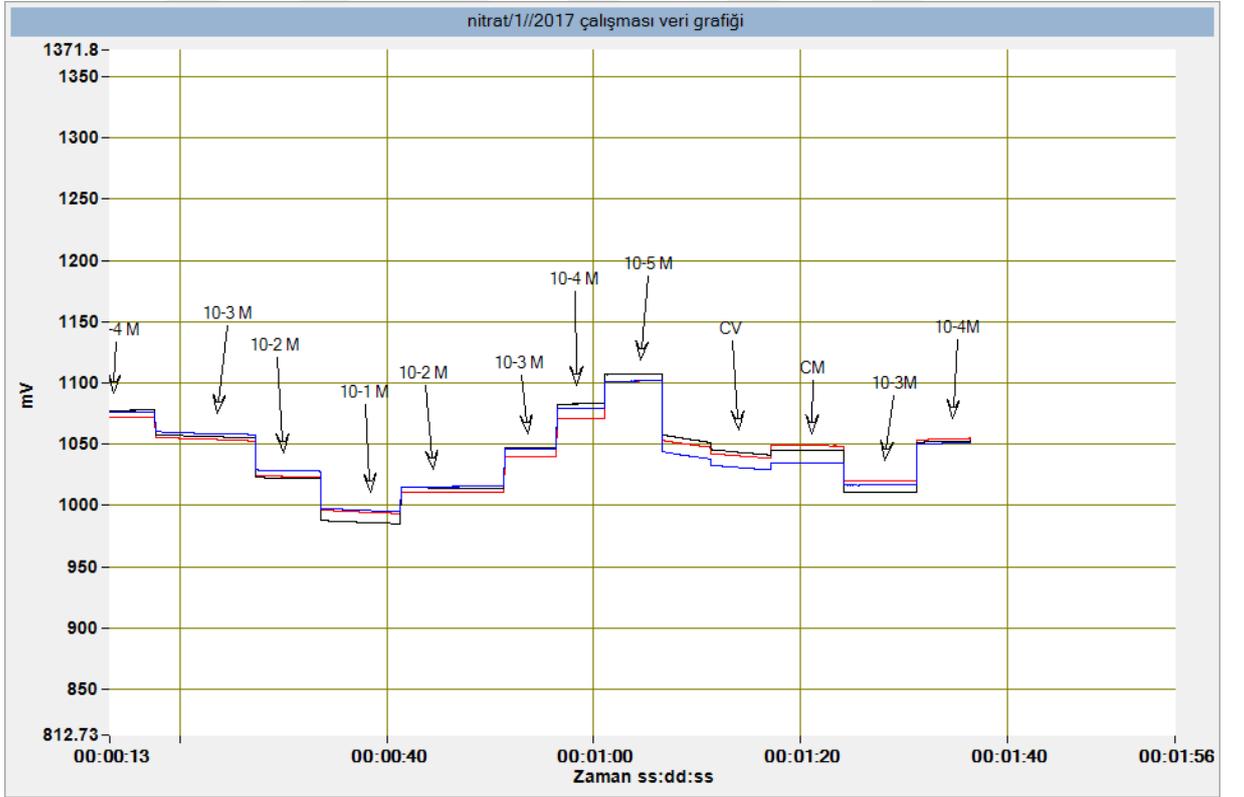
Şekil A.1(b) 17.01.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



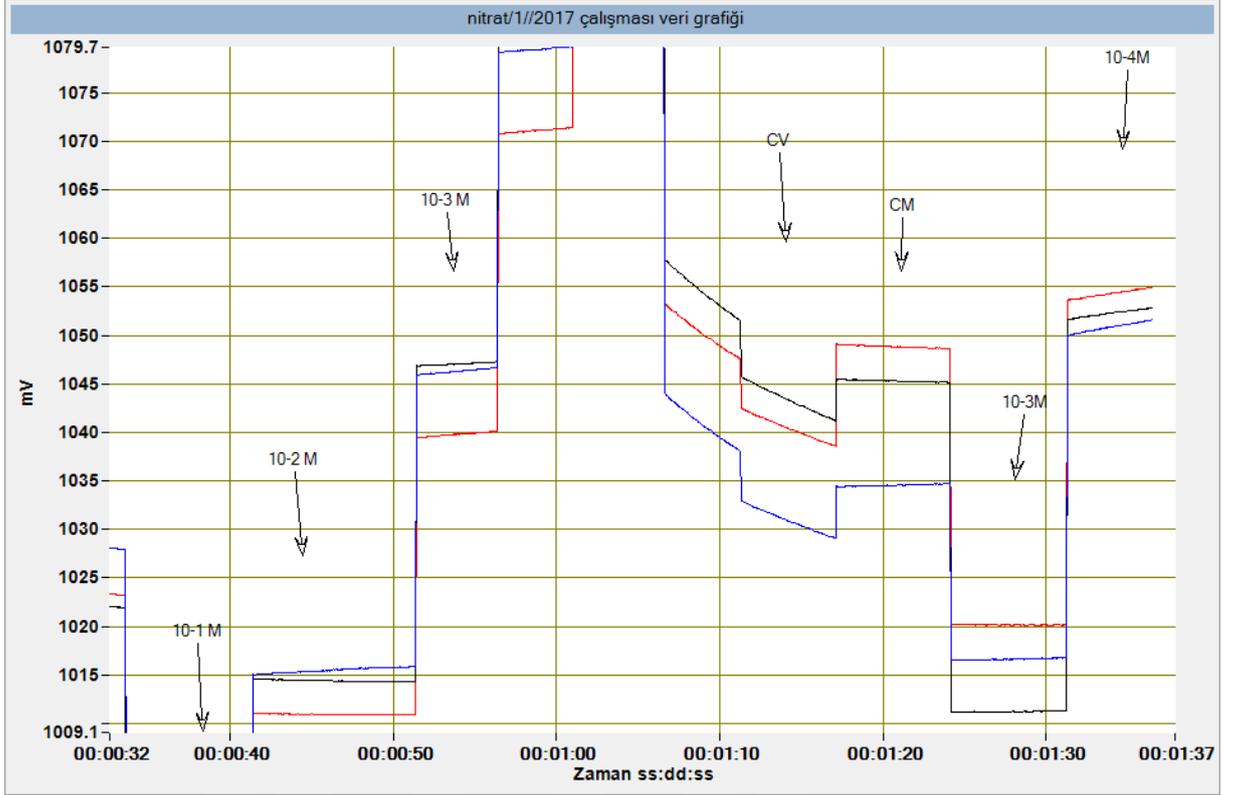
Şekil A.2(a) 19.01.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



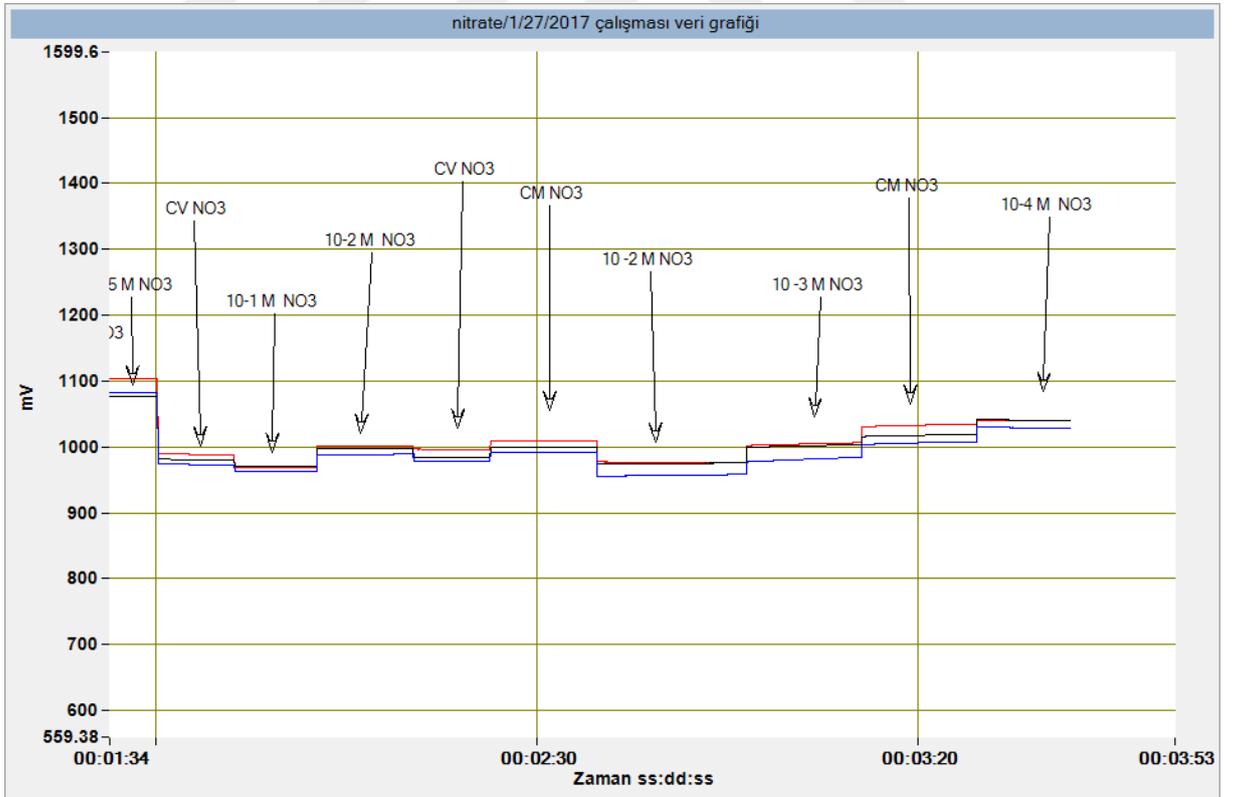
Şekil A.3(b) 20.01.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



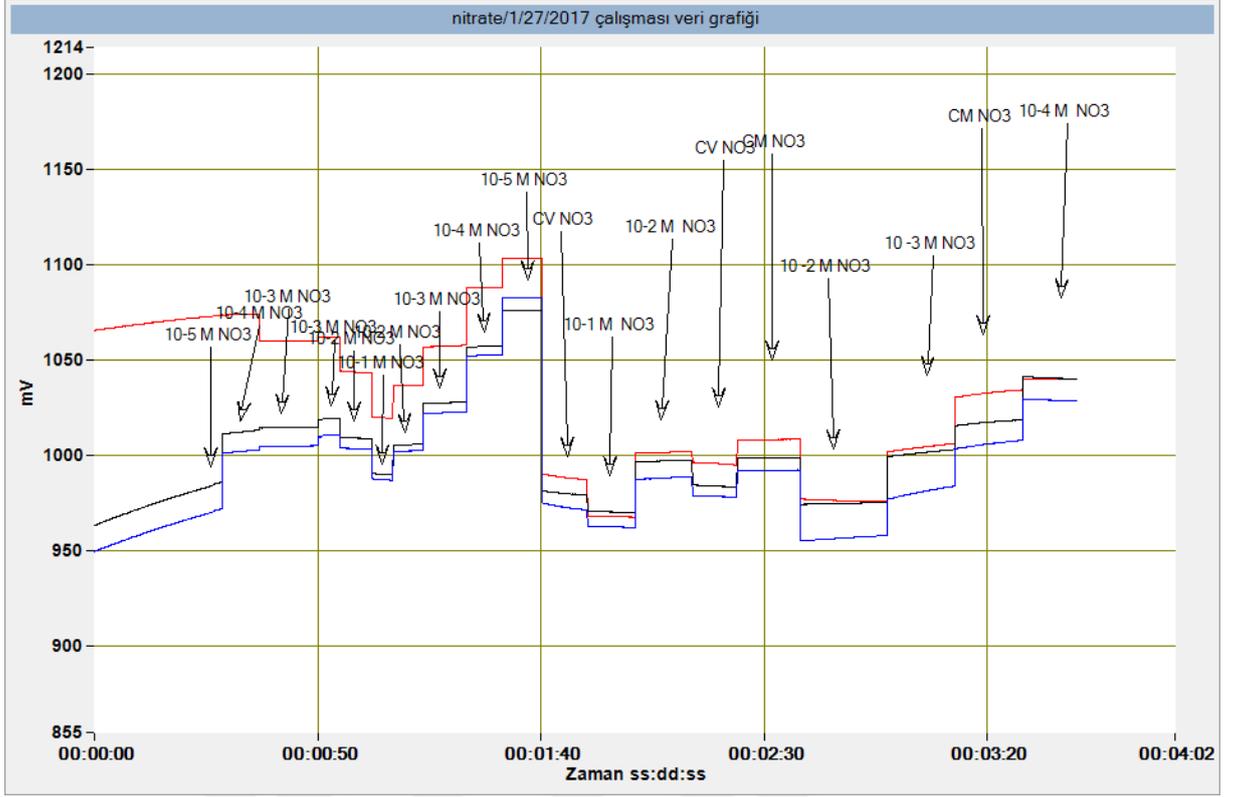
Şekil A.4(a) 23.01.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



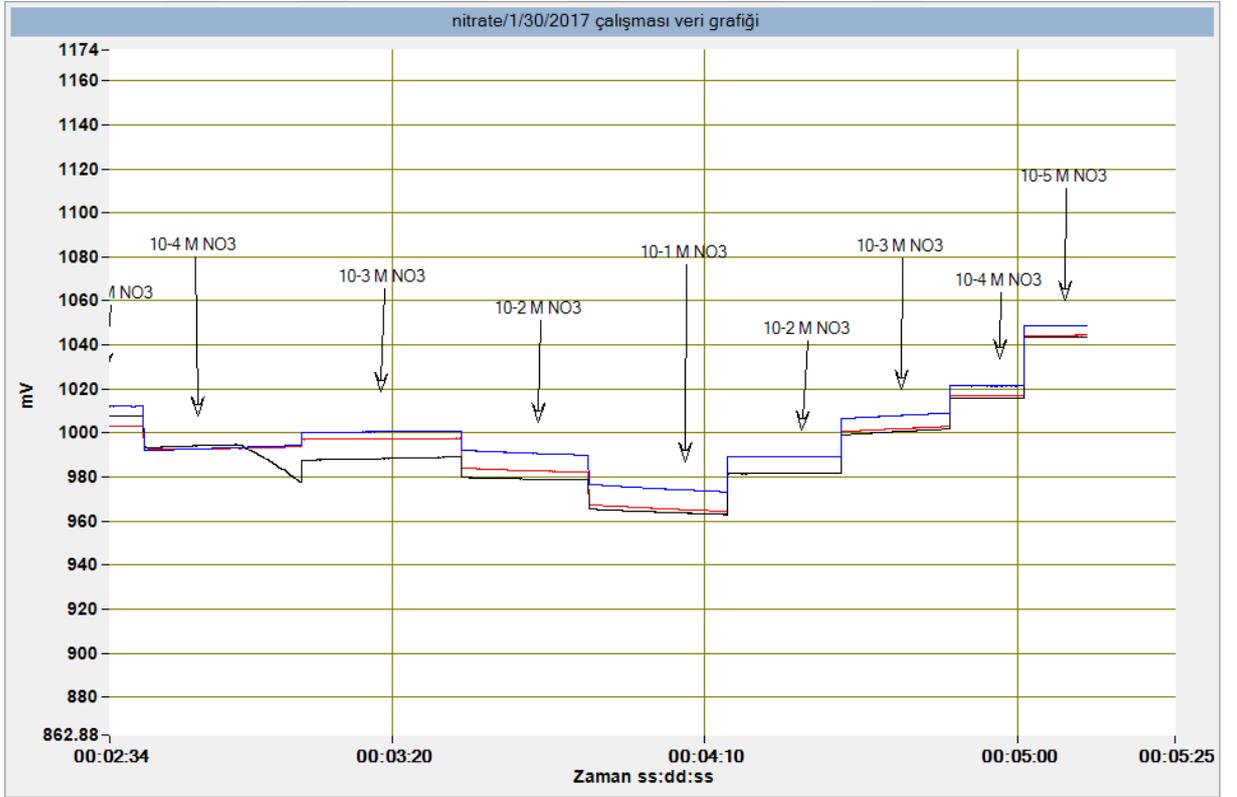
Şekil A.4(b) 23.01.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



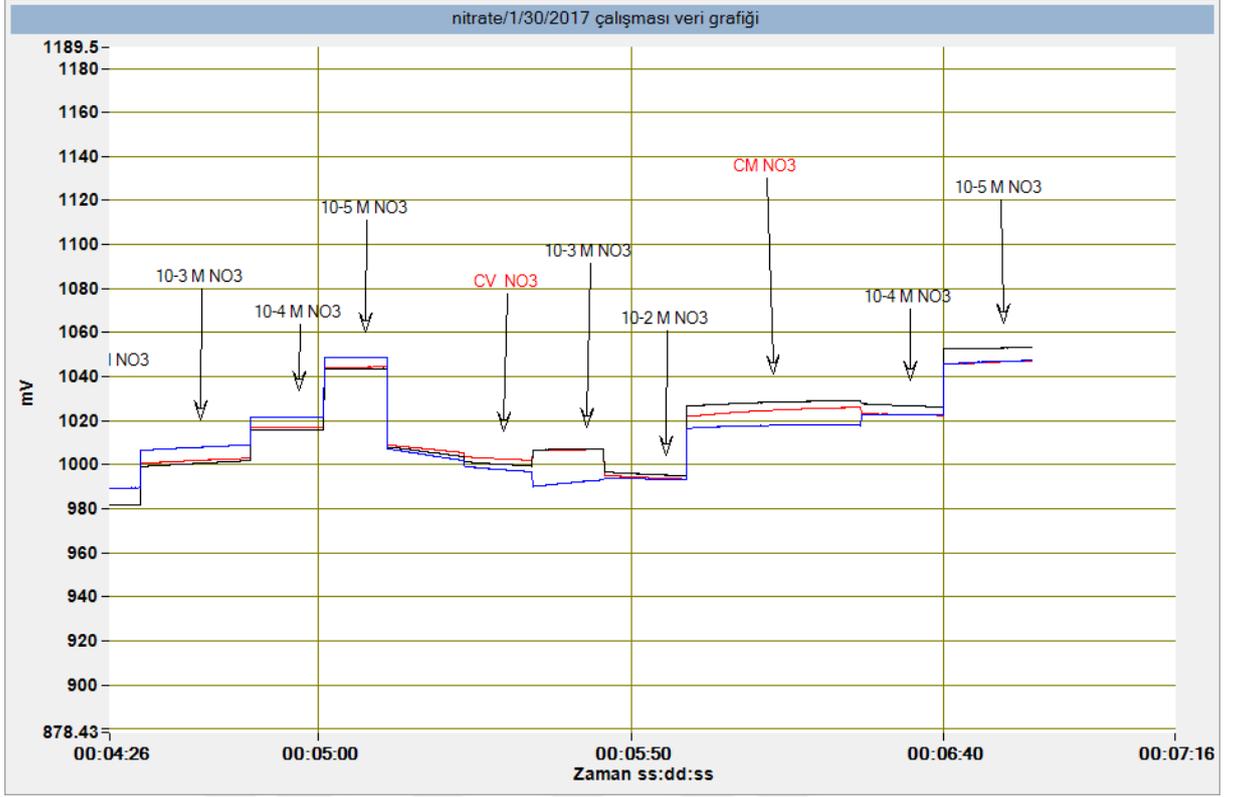
Şekil A.5(a) 27.01.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



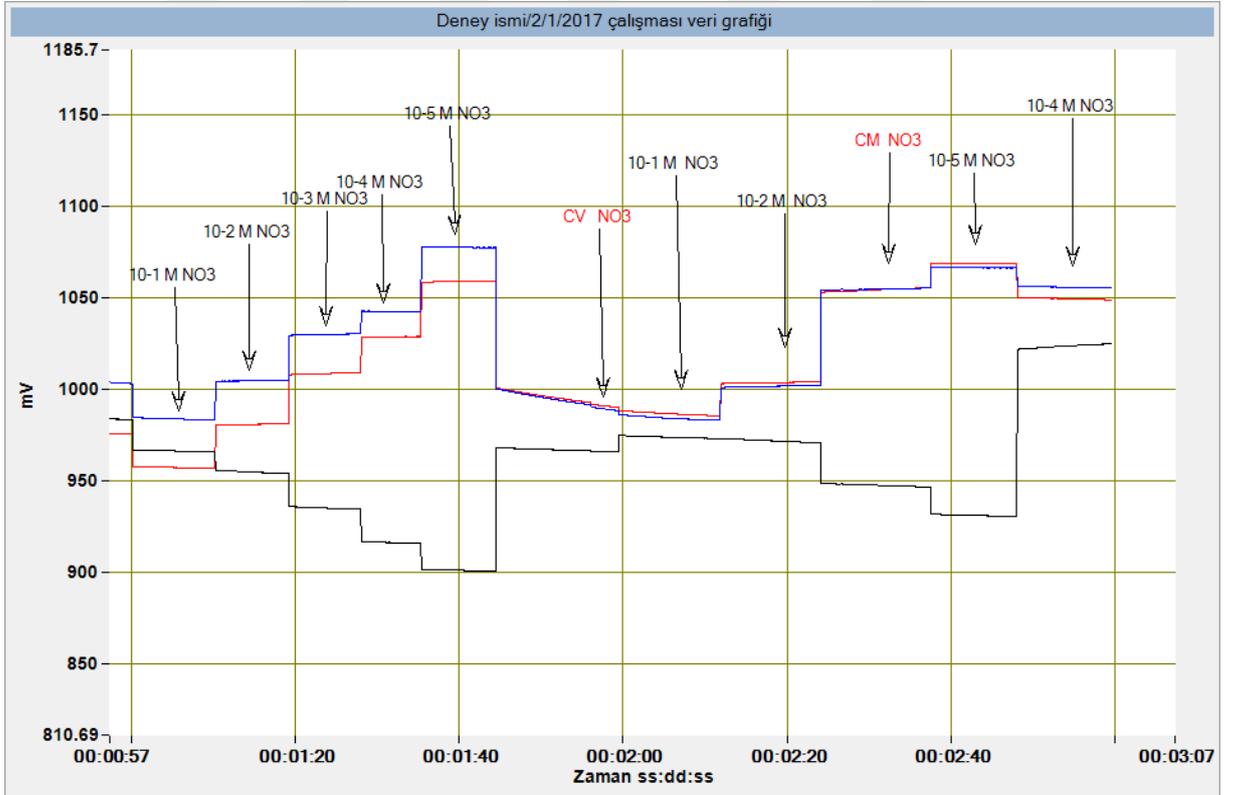
Şekil A.5(b) 27.01.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



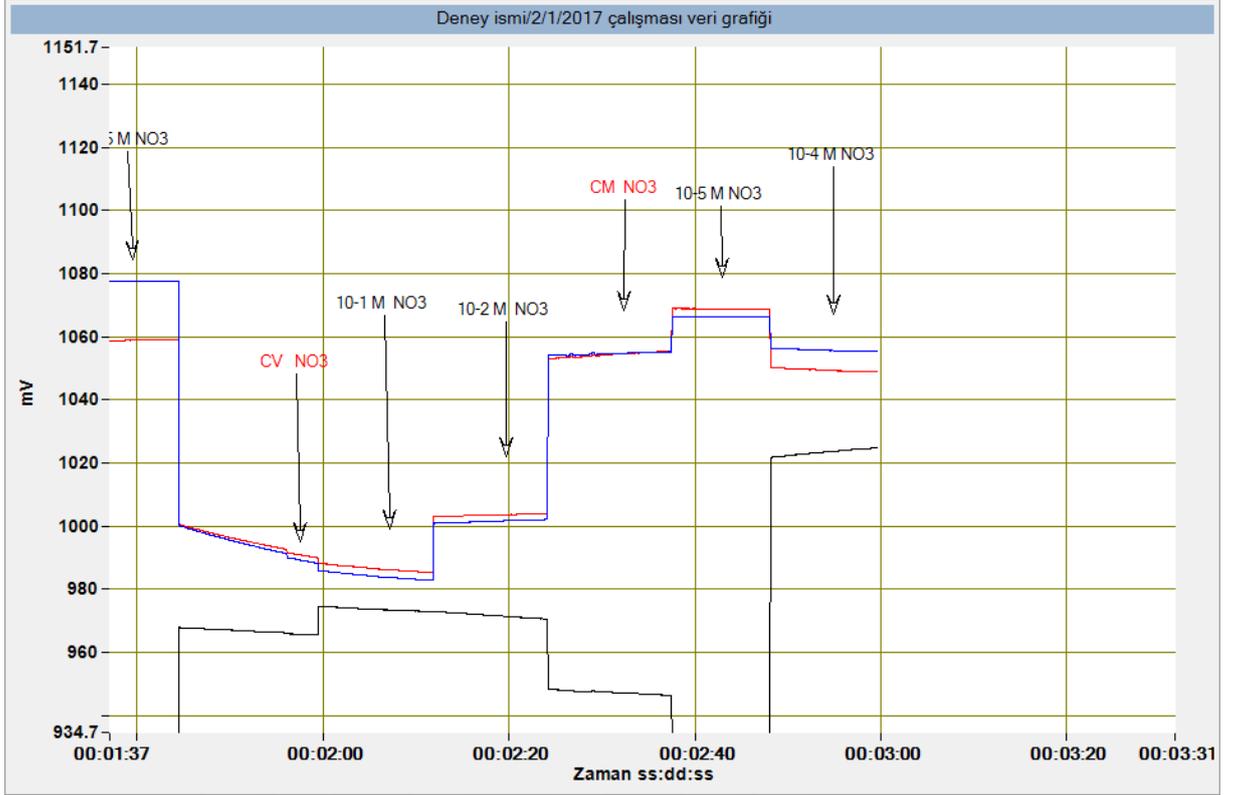
Şekil A.6(a) 30.01.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



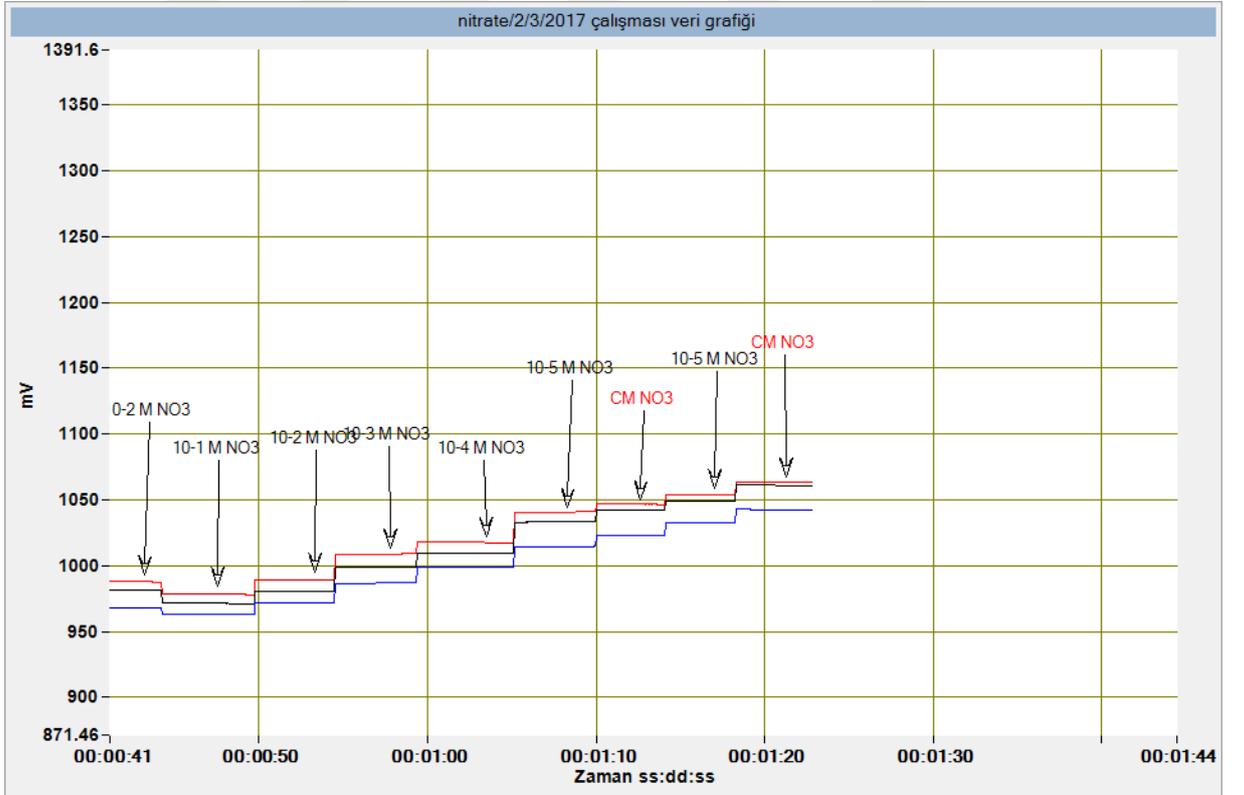
Şekil A.6(b) 30.01.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



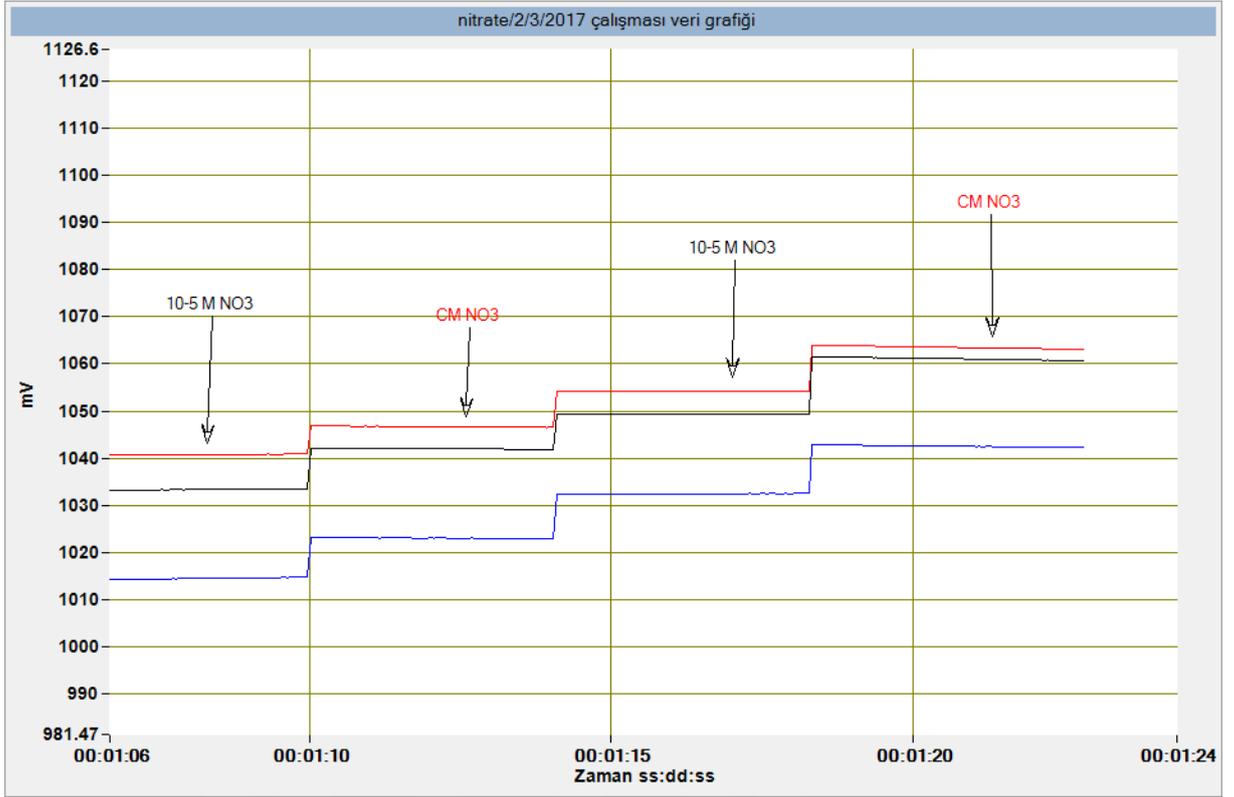
Şekil A.7(a) 01.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



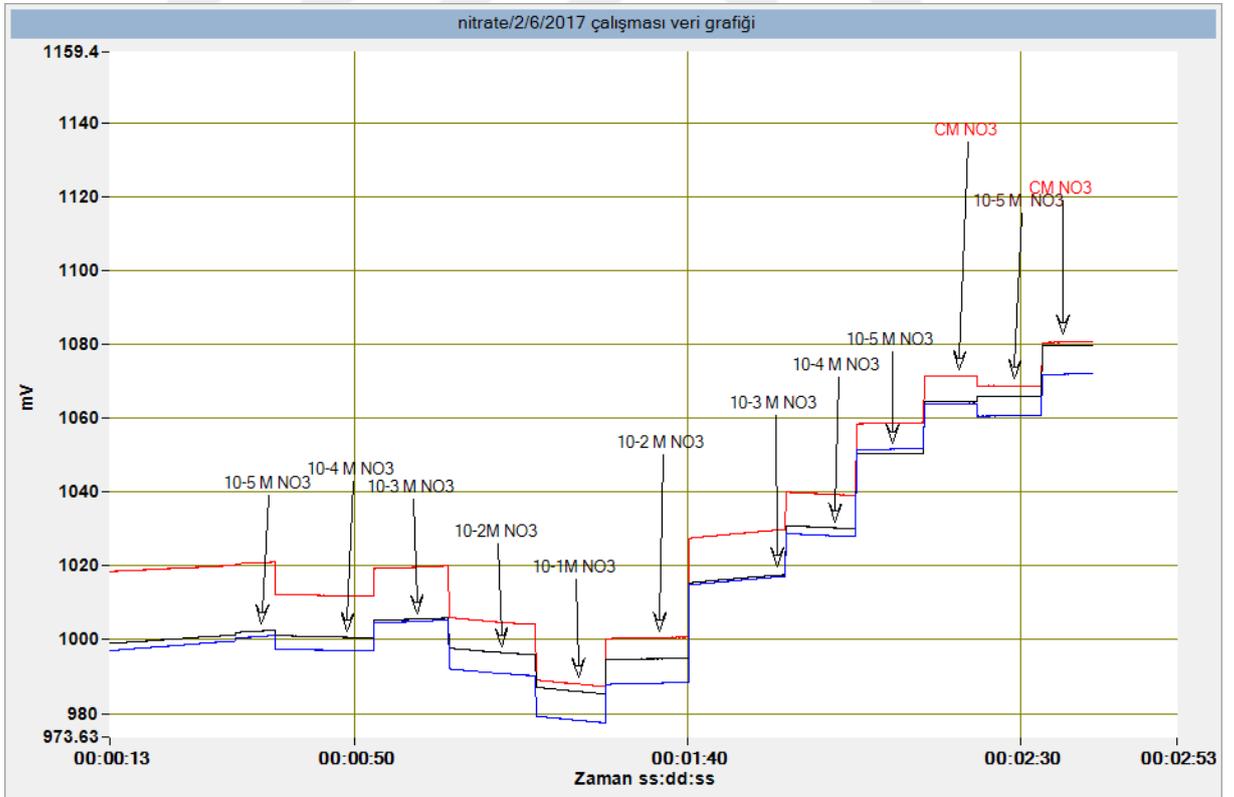
Şekil A.7(b) 01.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



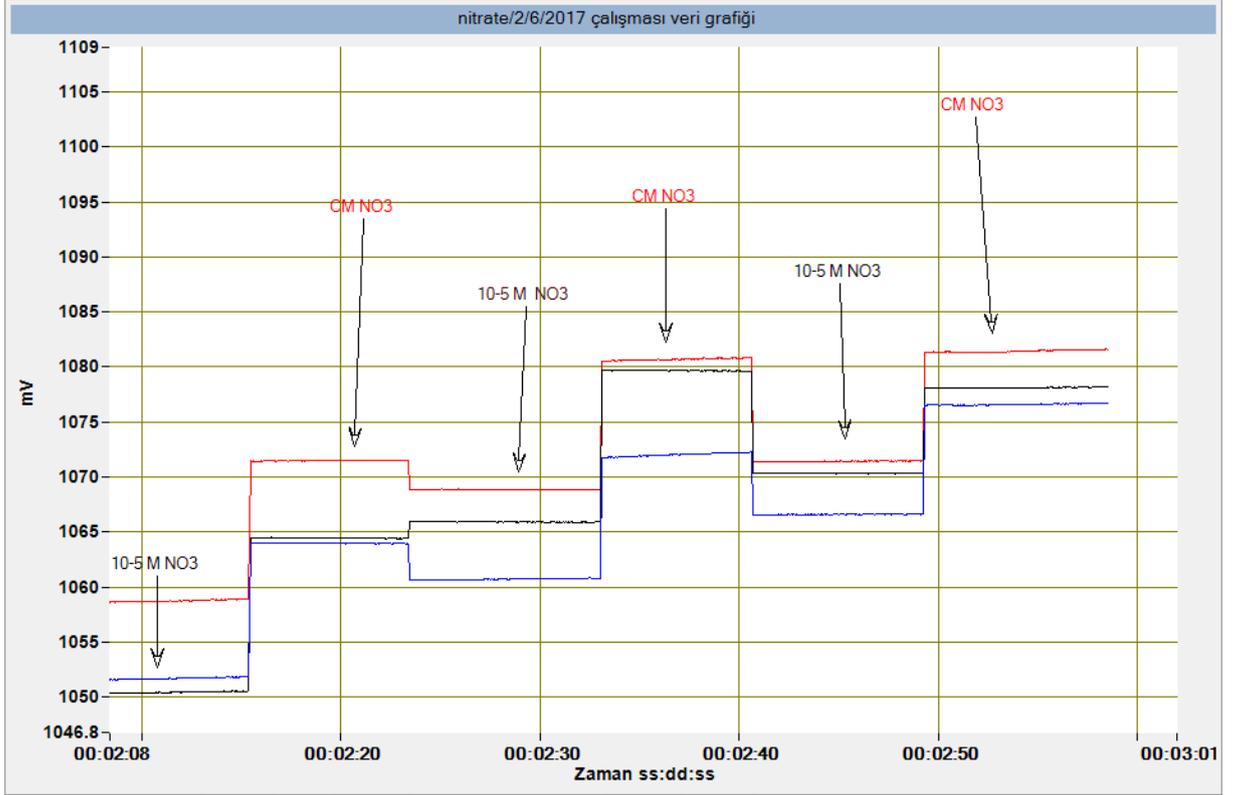
Şekil A.8(a) 03.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



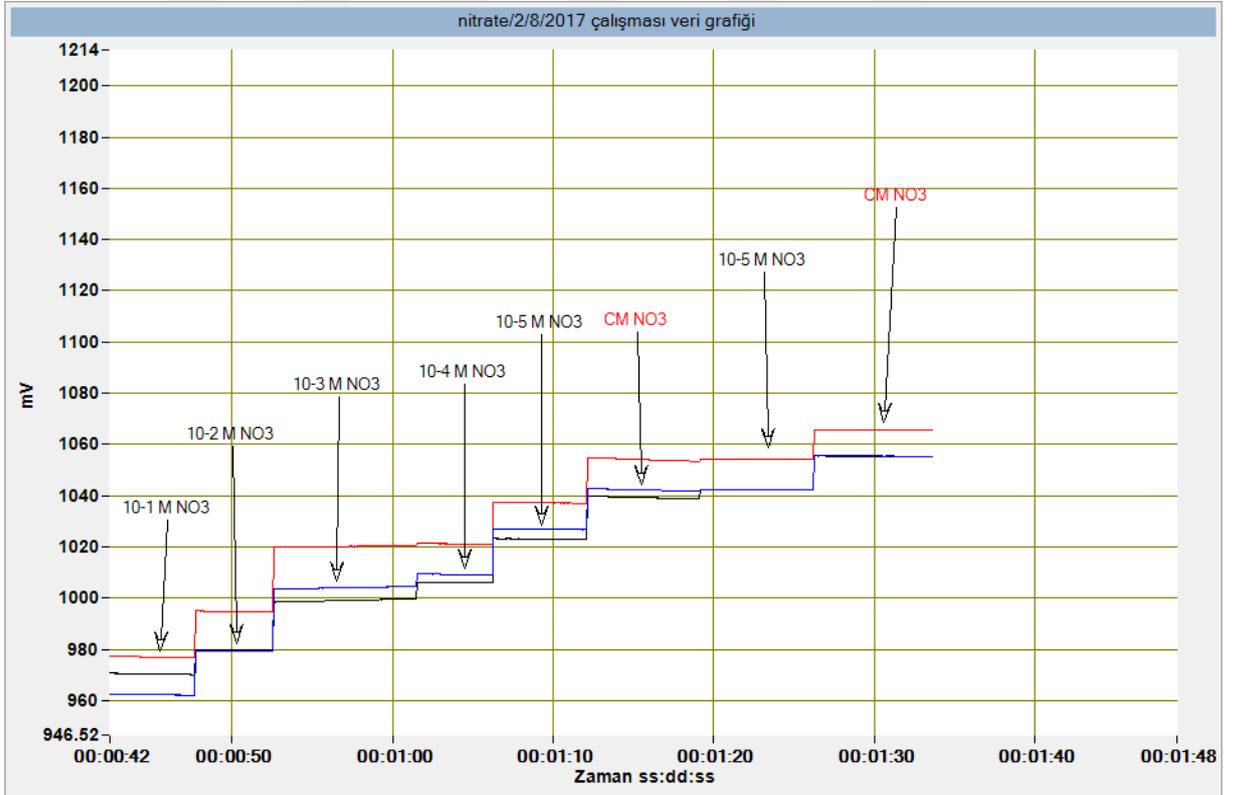
Şekil A.8(b) 03.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



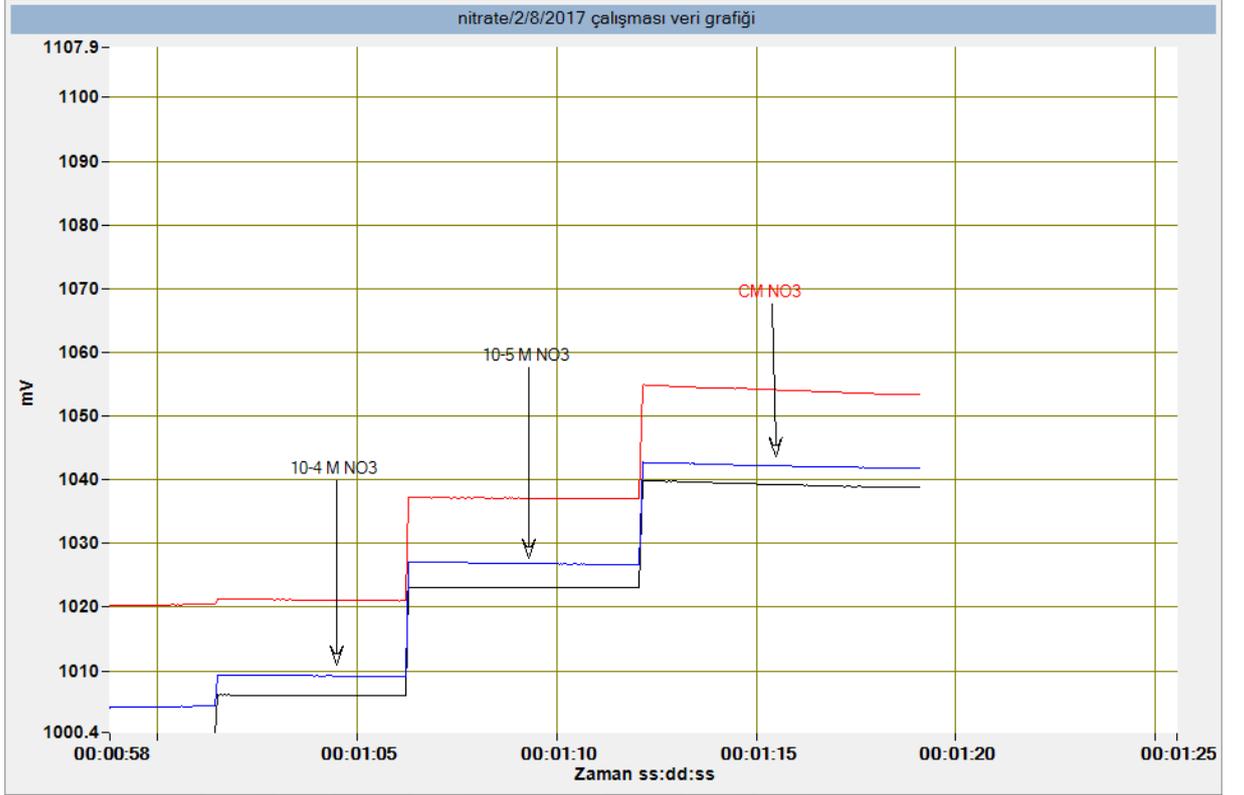
Şekil A.9(a) 06.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



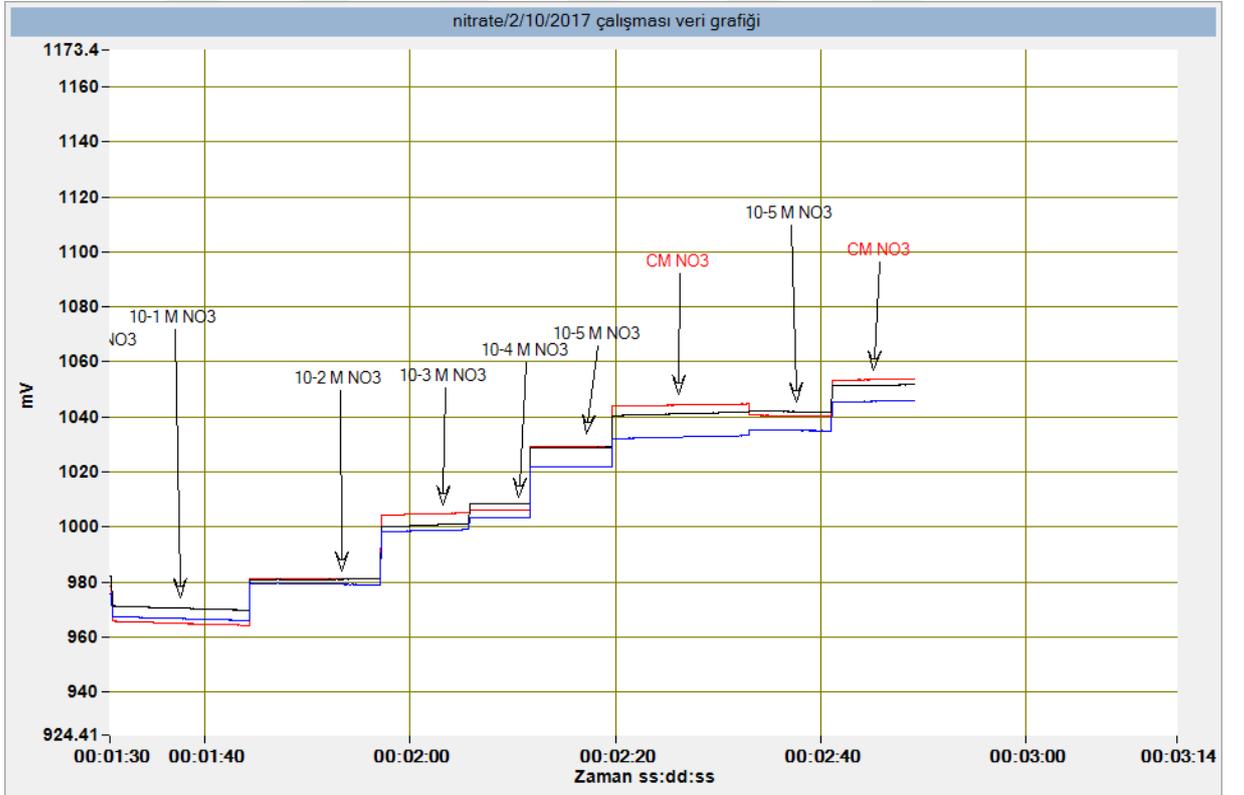
Şekil A.9(b) 06.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



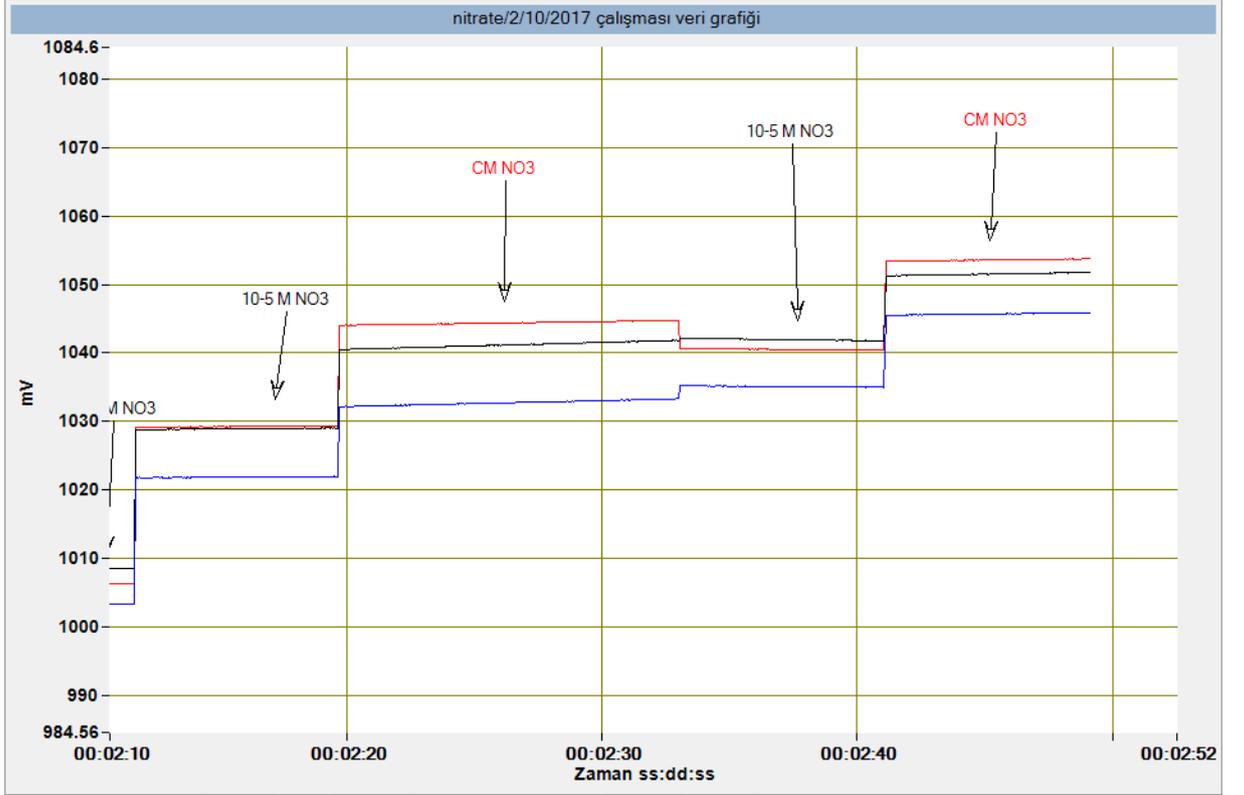
Şekil A.10(a) 08.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



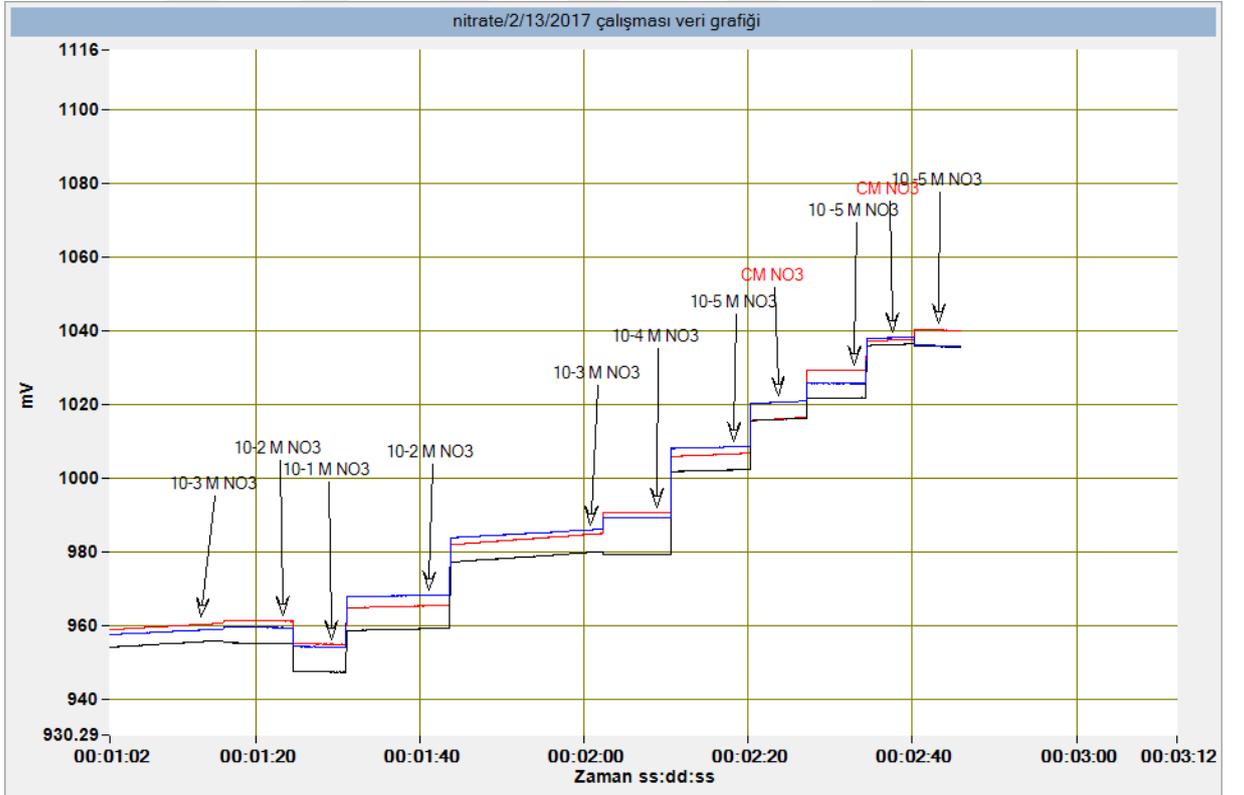
Şekil A.10(b) 08.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



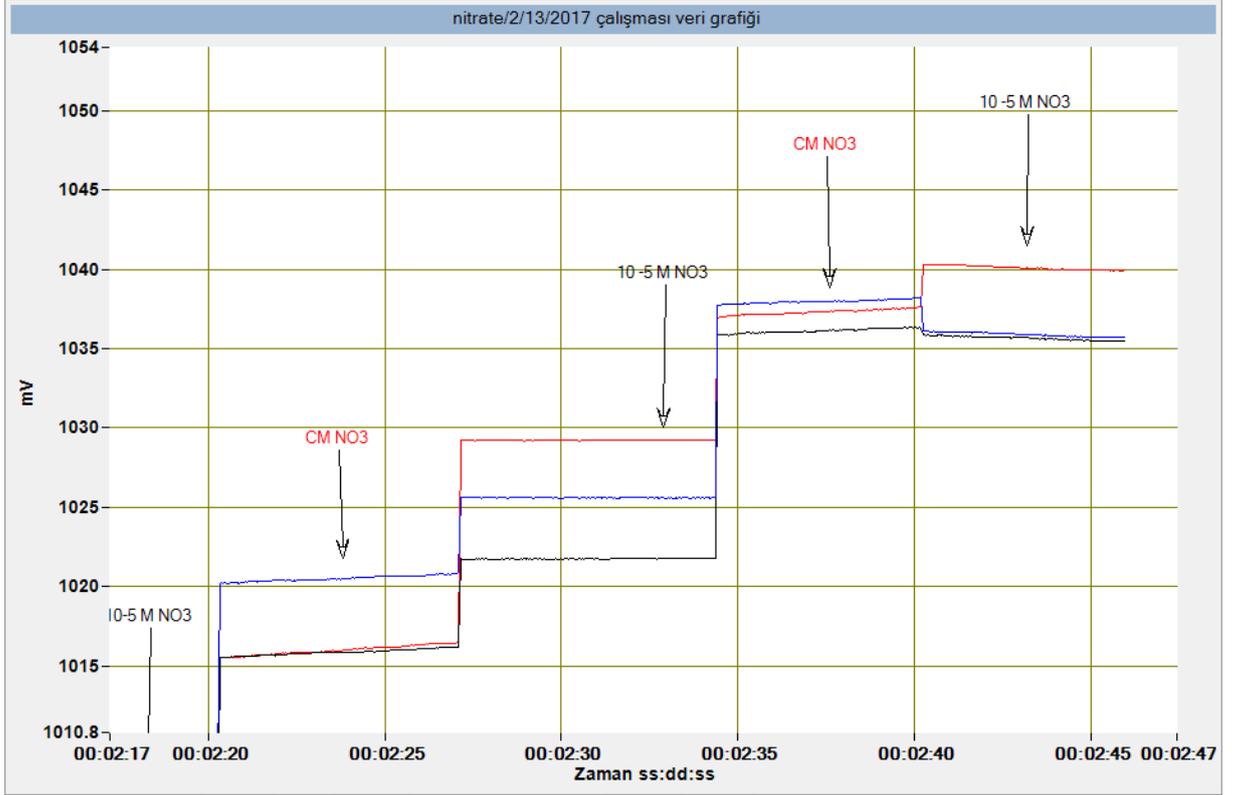
Şekil A.11(a) 10.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



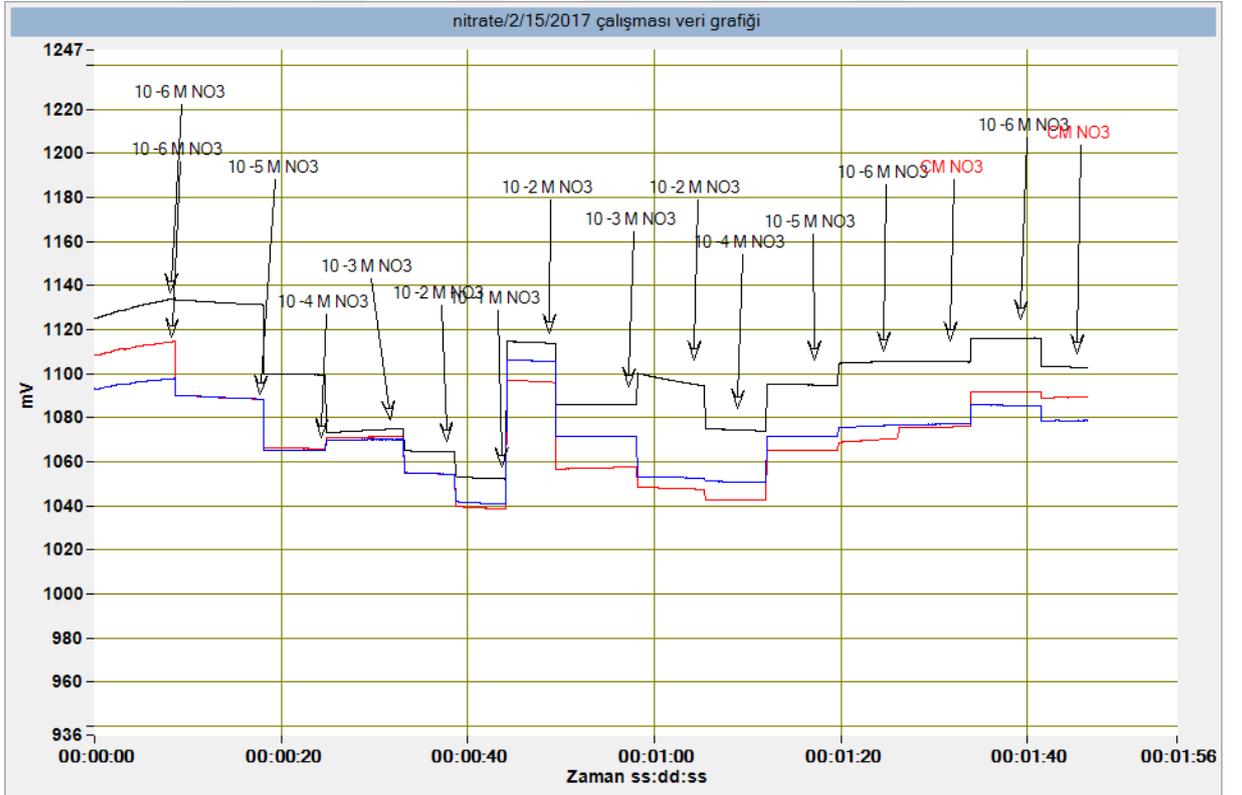
Şekil A.11(b) 10.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



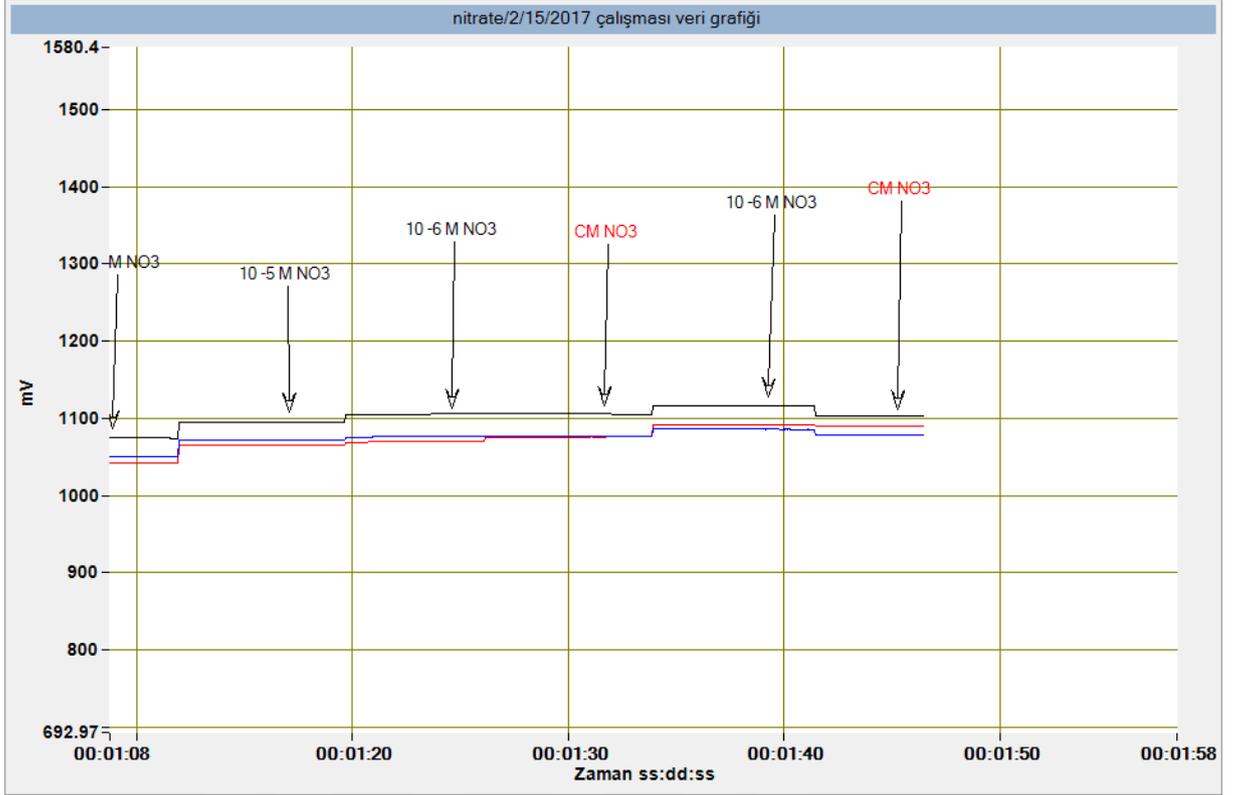
Şekil A.12(a) 13.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



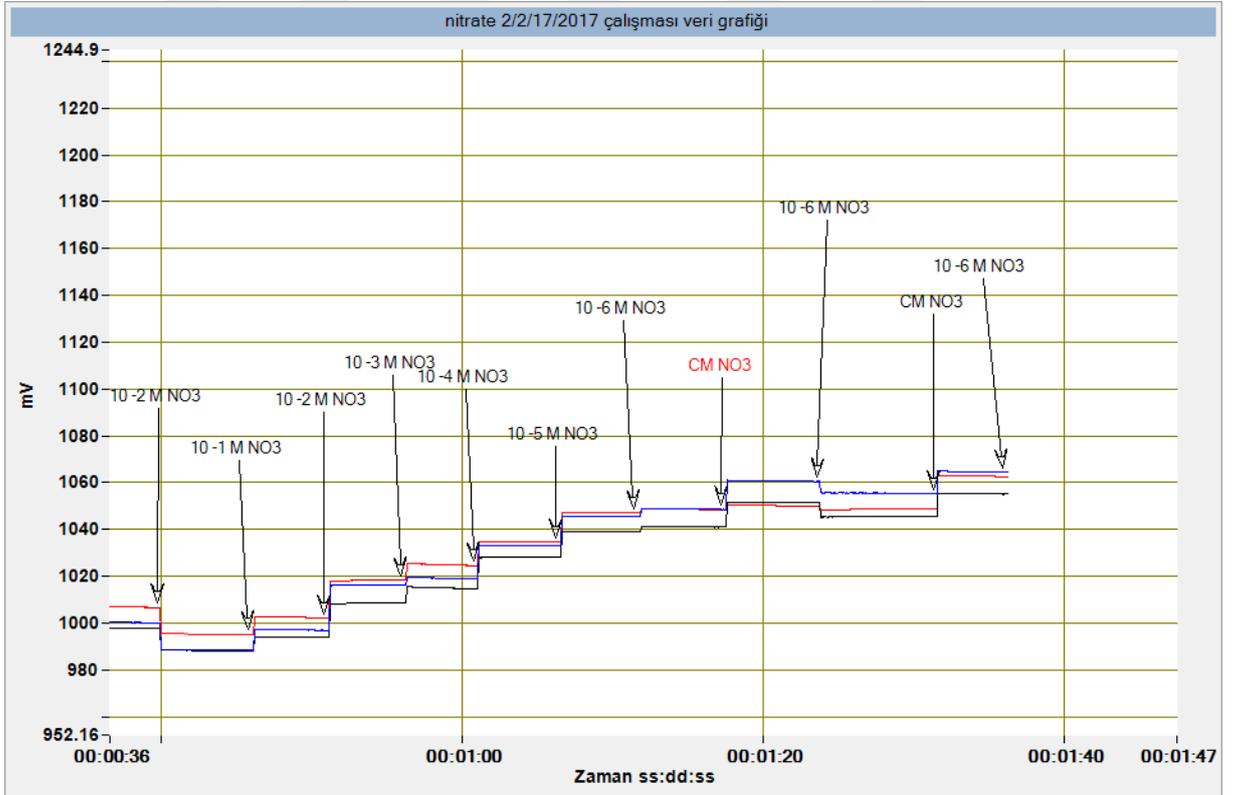
Şekil A.12(b) 13.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



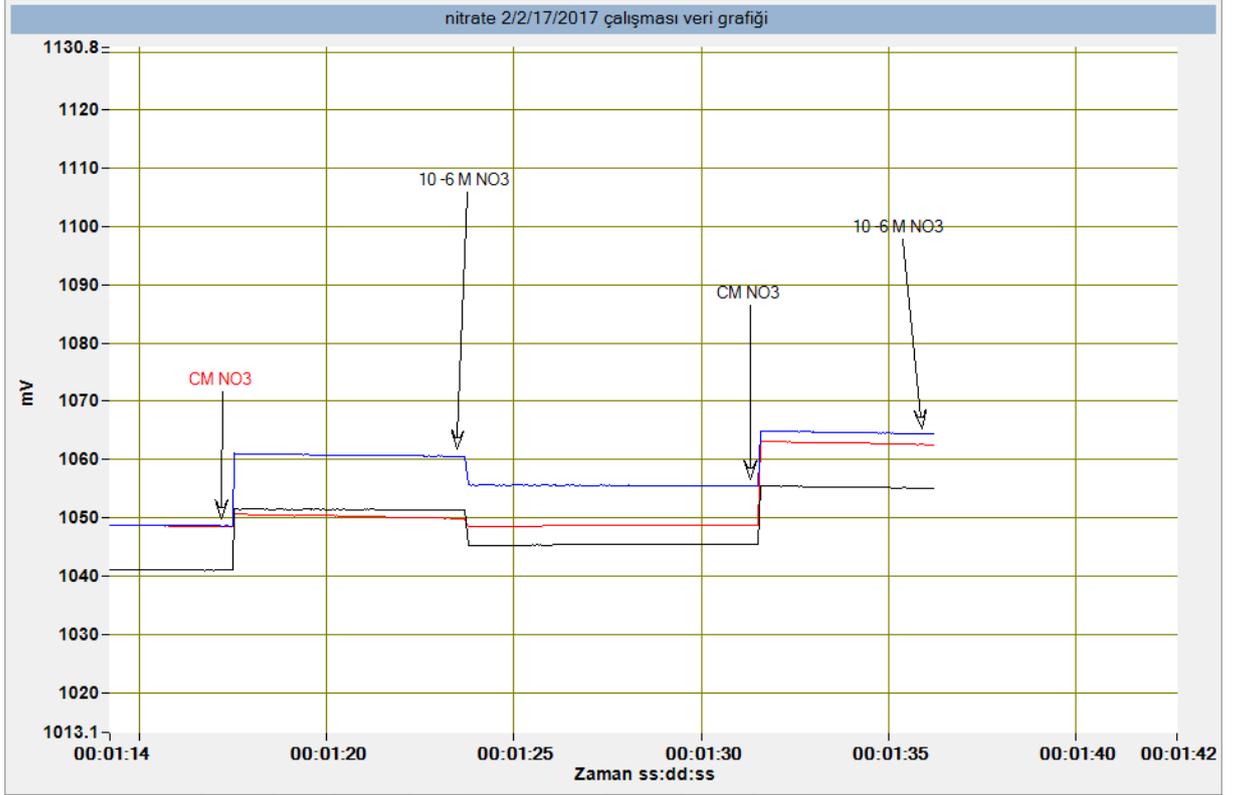
Şekil A.13(a) 15.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



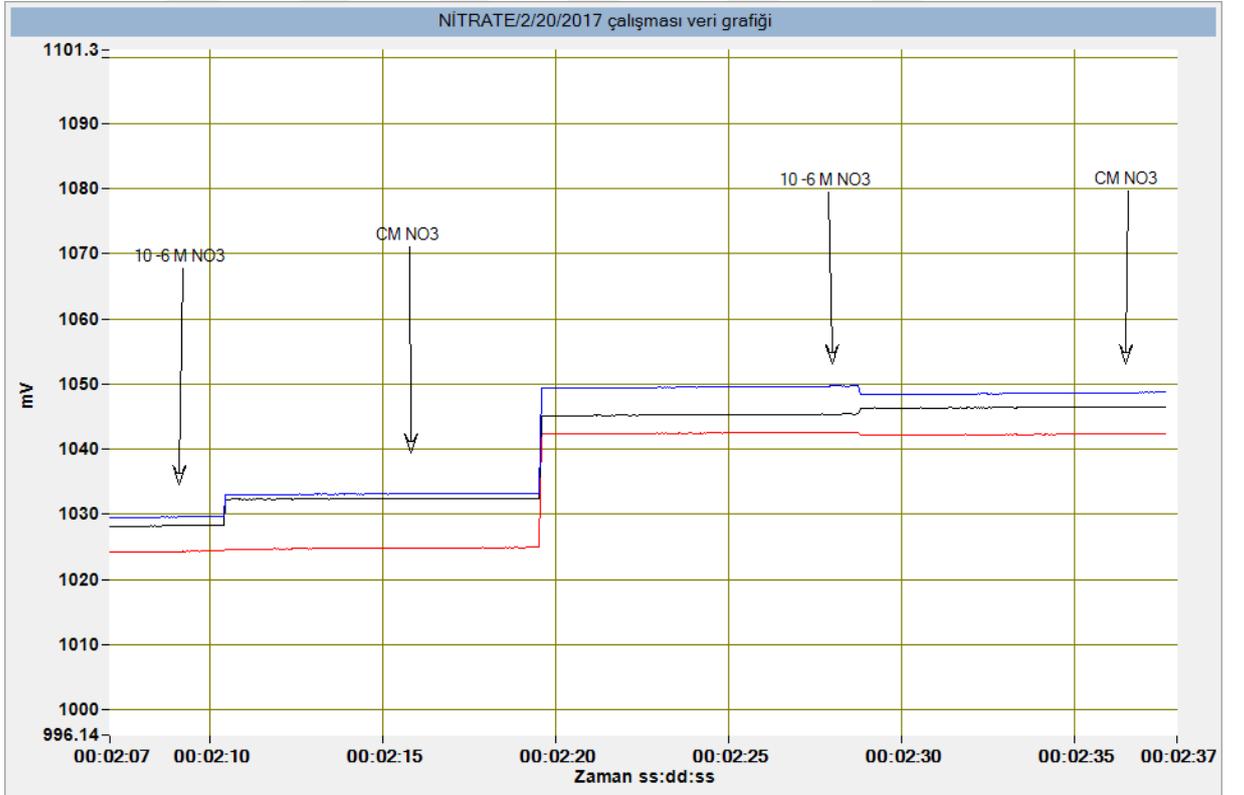
Şekil A.13(b) 15.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



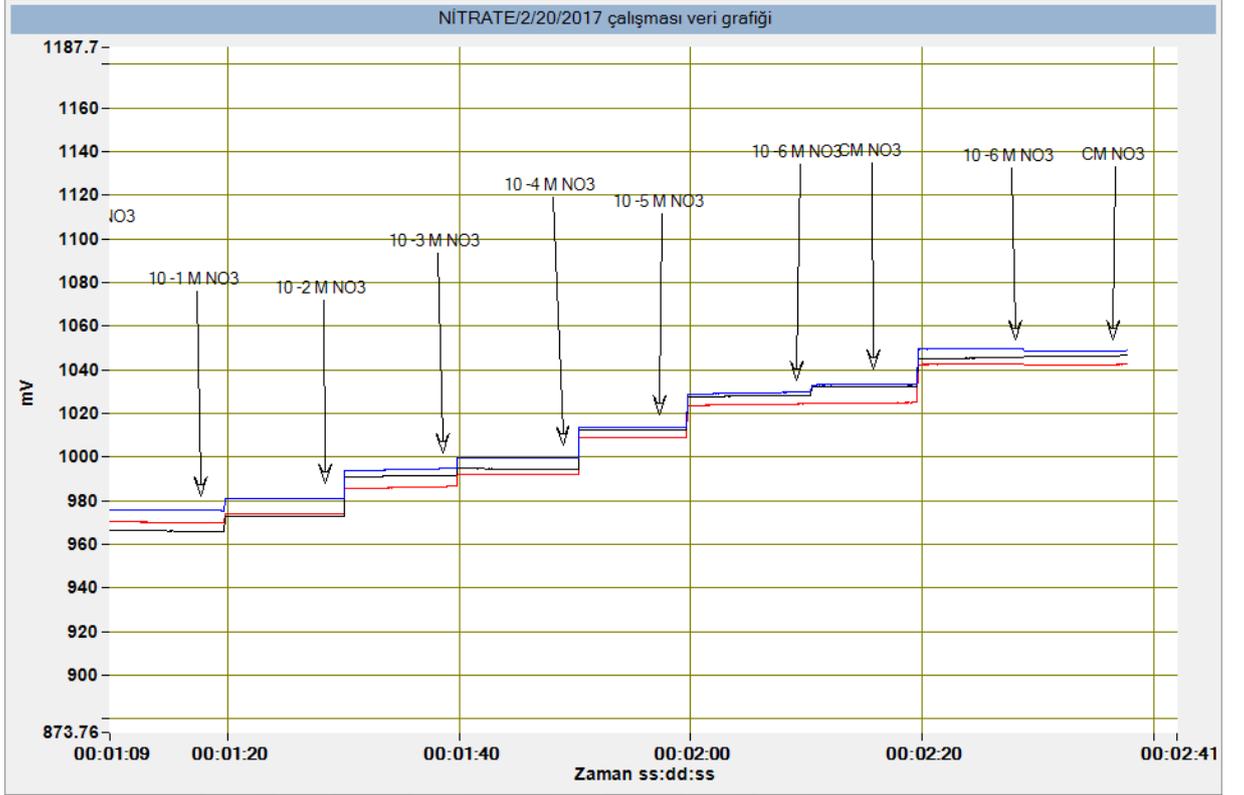
Şekil A.14(a) 17.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



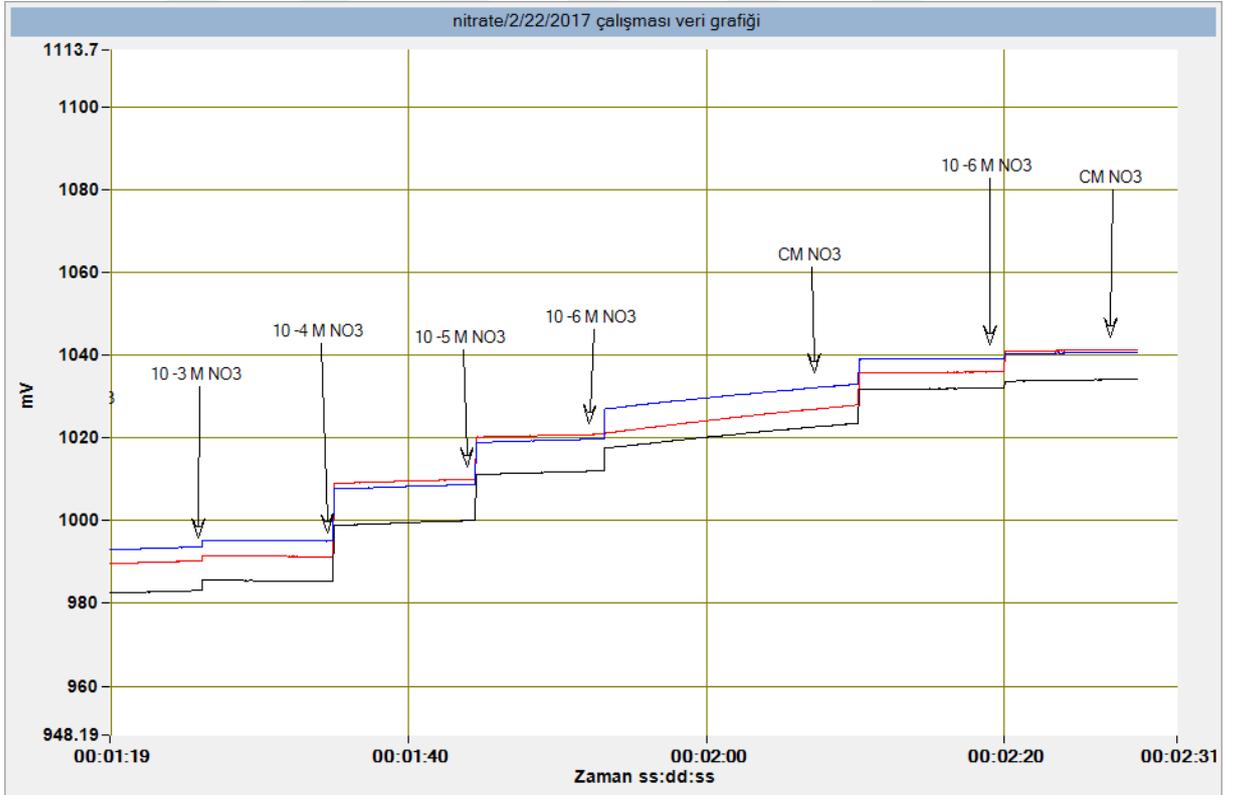
Şekil A.14(b) 17.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



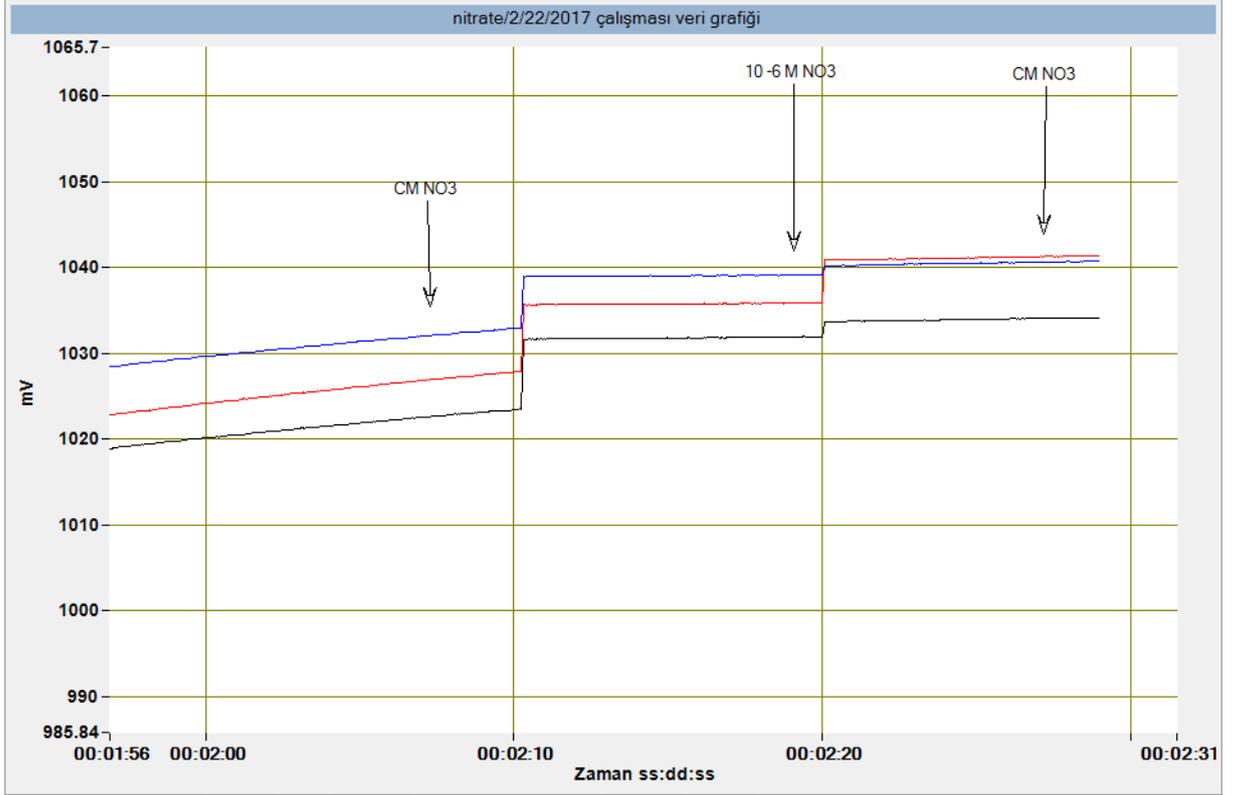
Şekil A.15(a) 20.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



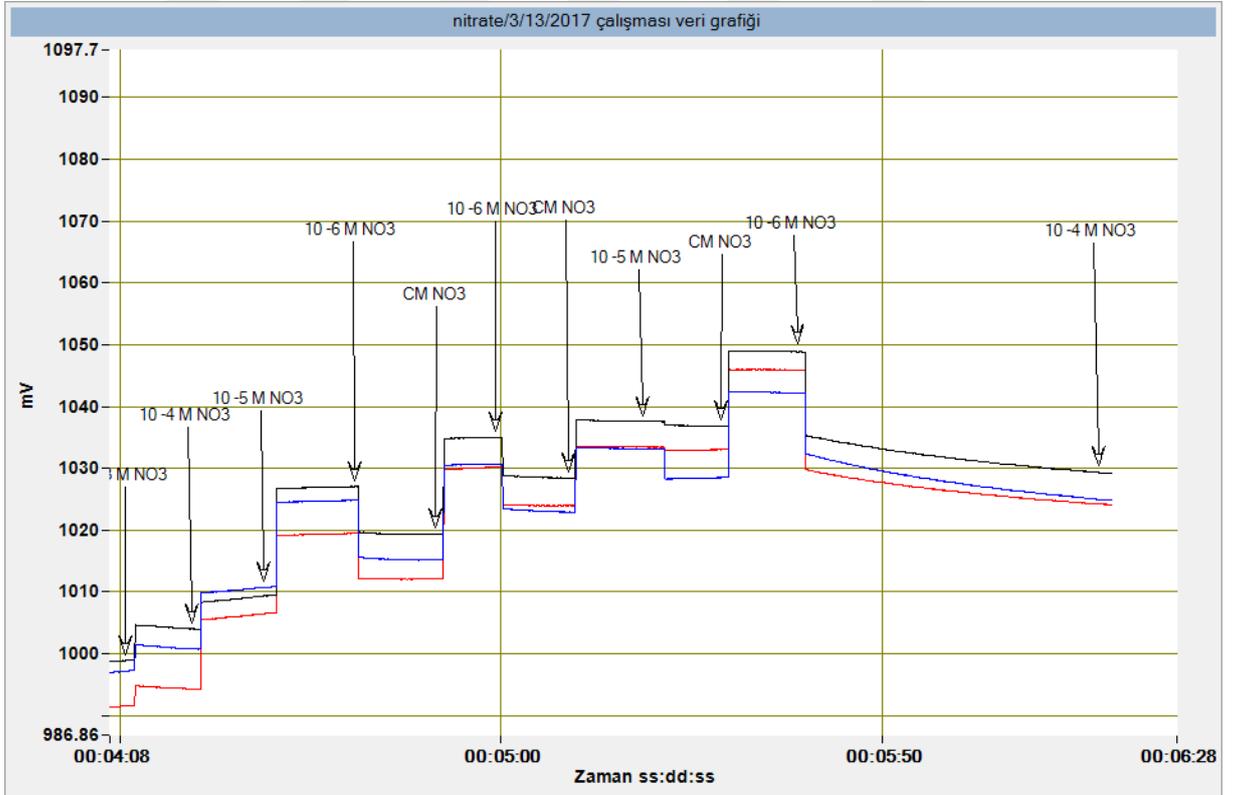
Şekil A.15(b) 20.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



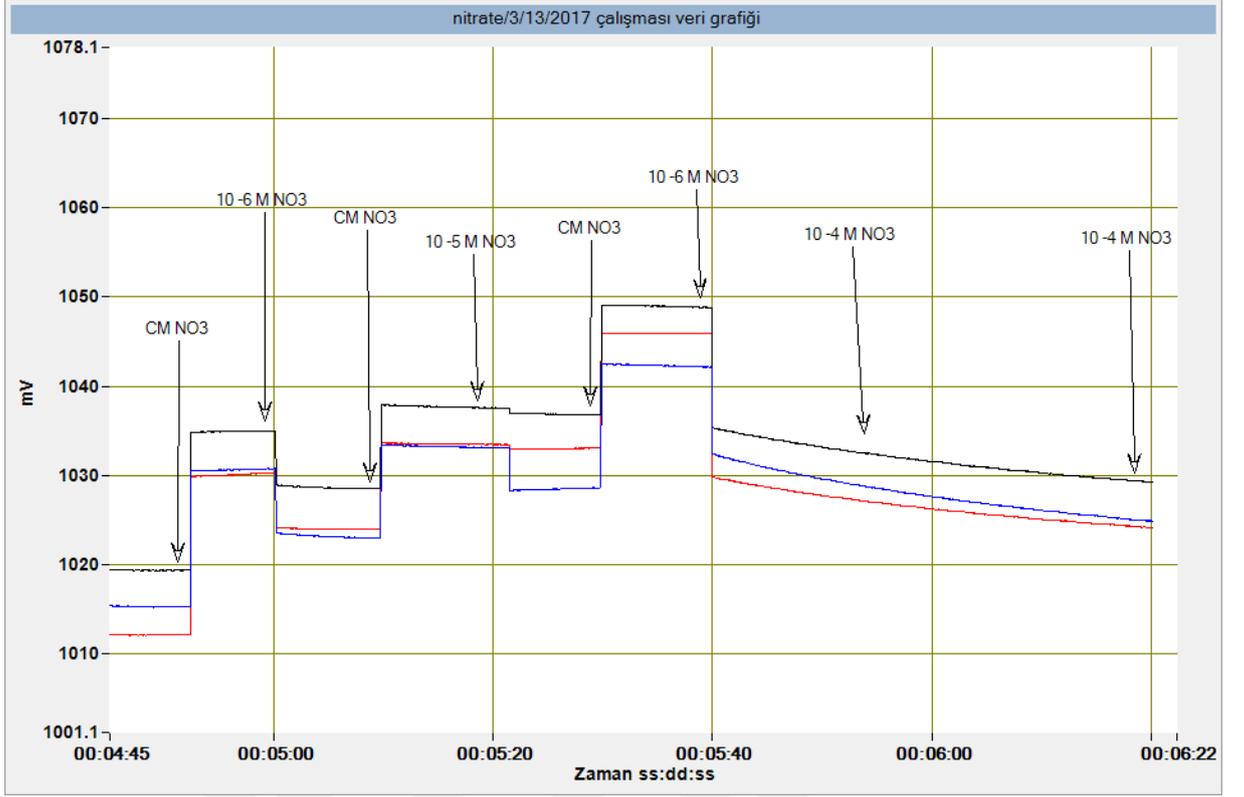
Şekil A.16(a) 22.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



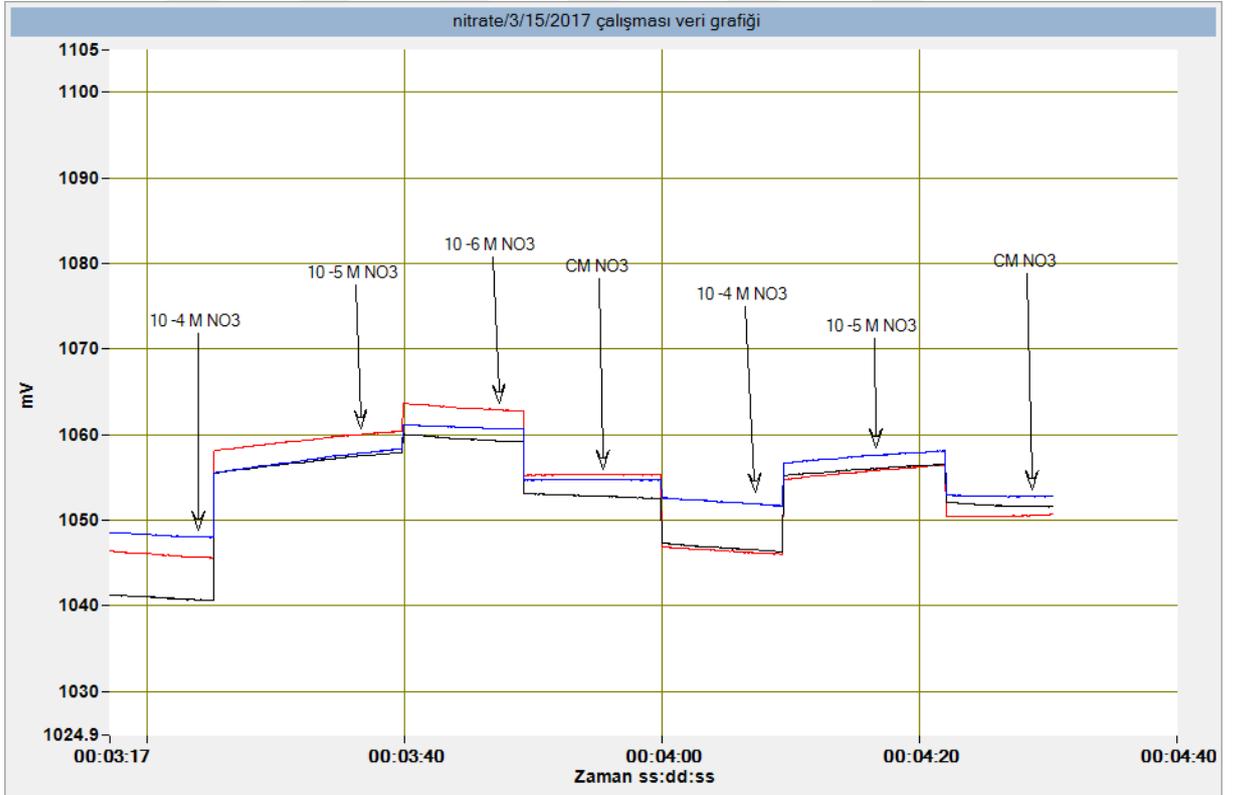
Şekil A.16(b) 22.02.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



Şekil A.17(a) 13.03.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 1



Şekil A.17(b) 13.03.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği 2



Şekil A.18(a) 15.03.2017 tarihindeki mikroalg büyüme ortamında nitrat sensörü ölçüm grafiği

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Nihat Erdem BALKANLI
Doğum Tarihi ve Yeri : 11/05/1992 , Antalya
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : nihاتبalkanli@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Kimya	İstanbul Üniversitesi	2015
Lise	Fen Bilimleri	Ergün Öner Mehmet Öner A.D.L	2010

YAYINLARI

1. **Balkanlı, N. E.**, Işıldak, İ., Özçimen, D., Erci, V., İnan, B. (2017, Mayıs). "Relationship Investigation Between Lipid Accumulation and Nitrogen Consumption of C.minutissima Using Special Designed Nitrate Sensor", 107th AOCS Annual Meeting & expo, Orlando, Florida-USA.