KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

FARKLI CHLORELLA TÜRLERİNİN BİYODİZEL VE ATIK SU ARITIMINDA KULLANILMAK ÜZERE ÜRETİMİ

TOGAYHAN KUTLUK

KOCAELİ 2019

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

FARKLI CHLORELLA TÜRLERİNİN BİYODİZEL VE ATIK SU ARITIMINDA KULLANILMAK ÜZERE ÜRETİMİ

TOGAYHAN KUTLUK

Dr. Öğr. Üyesi Nurcan KAPUCU Danışman,	Kocaeli Üniversitesi	.....
Doç. Dr. Didem SALOĞLU DERTLİ Jüri Üyesi,	Yalova Üniversitesi	.....
Doç. Dr. Başar UYAR Jüri Üyesi,	Kocaeli Üniversitesi	.....
Prof. Dr. Sevil YÜCEL Jüri Üyesi,	Yıldız Teknik Üniversitesi	.....
Dr. Öğr. Üyesi Meltem YILDIZ Jüri Üyesi,	Kocaeli Üniversitesi	.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 15.02.2019

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bilim adamı, öğrendikleri ve deneyimleri ile güç kazanır. Gücünü, gözlemlerini açıkça söylemekten alır. Açıklık ve şeffaflık verdiği kararlardır. Eğer aldığı kararlarda adaletli ise erdemli olur. Eğer verdiği kararlarda olgunluk bulursa eksiksiz olur. Bilim adamı bu özellikleri ile ölümsüz olur. Bilim adamı, doğada gerçekleşen olayların nedenini açıklamak için kendine sorular sorar mantıklı bir açıklama bulmak için didinir durur. Açıkladıkça anlar bilim insanı Tanrı'ya götürür.

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi 2017/060 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Danışmanım Dr. Nurcan Kapucu'ya ve Eşim Bahar Gürkaya Kutluk'a ve tez çalışmam boyunca yanımda olan herkese sonsuz sevgi ve saygılarımla

Oğlum Togay Atlas'a

Ocak-2019 Togayhan KUTLUK

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
TABLOLAR DİZİNİ ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xii
ÖZET xiii
ABSTRACT xiv
GİRİŞ 1
1. GENEL BİLGİLER 3
1.1. Mikroalgler 3
1.2. Mikroalg Üretim Sistemleri 7
1.3. Mikroalglerin Üretimine Etki Eden Parametreler 9
1.3.1. Aydınlatmave ışık döngüsü 9
1.3.2. Sıcaklık 10
1.3.3. Karıştırma 10
1.3.4. Besin 10
1.3.5. pH 10
1.4. Mikrolagler Varlığında Atık Suların Arıtılması 11
2. KONU İLE İLGİLİ LİTERATÜRDE YER ALAN ÇALIŞMALAR 13
3. MALZEME VE YÖNTEM 23
3.1. Mikroalg Türleri 23
3.2. Kültür Ortamı 23
3.3. Cihazlar 24
3.4. Deneysel Yöntem 25
3.4.1. Stok kültürlerin üretimi 25
3.4.2. Işık yoğunlunun mikroorganizma büyüme üzerine etkisi ve en uygun fotobiyoreaktör kalınlığının belirlenmesi. 26
3.4.3. Azot sınırlamasının (stres) farklı tür mikroalglerin büyüme ve yağ içeriğine etkisi 27
3.4.4. Farklı ışık kaynaklarının ve aydınlık-karanlık döngüsünün mikroorganizma büyüme ve yağ üretimin üzerine etkisi 27
3.4.5. Farklı ışık şiddetlerin mikroalg kültürlerinin büyümesi ve yağ üretimine etkisi (Fototrof) 28
3.4.6. Heterotrof ve miksotrof koşulların mikroalg kültürlerinin büyümesi ve yağ üretimine etkisi 29
3.4.7. *Chlorella variabilis* ve *Chlorella ESP-6* türü mikroalglerin farklı endüstriyel atık sularını arıtımında kullanımı 30
3.4.8. Mikroorganizmların hasat işlemi 31
3.4.9. Mikroorganizmların kurutma işlemi 31
3.5. Analiz Yöntemleri 31
3.5.1. Mikroalglerin optik yoğunluk ölçümü 31
3.5.2. Mikroalglerin pH ve sıcaklık ölçümü 32
3.5.3. Yağ miktarı tayini 32
3.5.4. Yağ asidi bileşimi tayini 33
3.5.5. Mikroorganizma büyüme hızı ve hücre ikilenmesüresinin belirlenmesi 33
3.5.6. Setan sayısı belirlenmesi 34
3.5.7. Mikroorganizma derişimi ve yağ üretkenliği hesabı 34

4. BULGULAR VE TARTIŞMA 35
4.1. Işık Yoğunlunun Mikroorganizma Büyüme Üzerine Etkisi Ve En Uygun Fotobiyoreaktör Kalınlığının Belirlenmesi 35
4.2. Azot Sınırlamasının (Stres) Farklı Tür Mikroalglerin Büyüme Ve Yağ İçeriğine Etkisi 36
4.3. Farklı Işık Kaynaklarının Mikroalg Büyümesi Ve Yağ Üretimi Üzerine Etkisi 54
4.4. Aydınlık-Karanlık Döngüsünün Mikroalglerin Büyüme Ve Yağ Üretimine Etkisi 65
4.5. Farklı Işık Şiddetlerin Mikroalg Kültürlerinin Büyümesi Ve Yağ Üretimine Etkisi 75
4.6. Heterotrof Ve Miksotrof Koşulların Mikroalg Kültürlerinin Büyümesi Ve Yağ Üretimine Etkisi 88
4.6.1. Heterotrof koşullar 88
4.6.2. Miksotrof koşullar 101
4.7. *Chlorella Variabilis* Ve *Chlorella ESP-6* Türü Mikroalglerin Farklı Endüstriyel Atık Sularını Arıtma Potansiyellerinin İncelenmesi 113
4.7.1. Beyaz eşya endüstrisi atıksularının arıtılabilirliğinin incelenmesi 114
4.7.2. Gazlı içecek endüstrisi atıksularının arıtılabilirliğinin *Chlorella variabilis* türü mikroalg varlığında incelenmesi 131
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 138
KAYNAKLAR 141
EKLER 150
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER 168
ÖZGEÇMİŞ.. 176

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. *Chlorella variabilis* 6
Şekil 1.2. Mikroalg üretiminde kullanılan havuz tipi açık sitemler (a) ve fotobiyoreaktörler (b) 7
Şekil 1.3. Mikroalg üretiminde kullanılan boru (a), torba (b) ve tank tipi (c) fotobiyoreaktörler 8
Şekil 3.1. Mikroalg türlerinin katı kültür ortamı 23
Şekil 3.2. Araştırmalarda kullanılan cihazlar 25
Şekil 3.3. Stok kültürlerin üretimi 26
Şekil 3.4. Farklı ışık yoğunluklarında *C.variabilis* kültür üretimi deney düzeneği 26
Şekil 3.5. Azot kısıtlaması deney düzeneği 27
Şekil 3.6. Farklı ışık yoğunluklarında mikroalglerin kültür üretimi deney düzenekleri 28
Şekil 3.7. Aydınlık-karanlık döngüsünde mikroalglerin kültür üretimi deney düzenekleri 28
Şekil 3.8. Işık şiddeti etkisinin incelendiği mikroalglerin kültür üretimi deney düzeneği 29
Şekil 3.9. Yağ miktarı analizi 32
Şekil 4.1. *Chlorella variabilis*'e ait farklı ışık yoğunluklarında büyüme eğrileri 35
Şekil 4.2. Fotobiyoreaktör kalınlığının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 36
Şekil 4.3. Azot sınırlamasının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi (Şebeke suyu ile hazırlanan BG-11) 37
Şekil 4.4. Azot sınırlamasının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi (Saf su ile hazırlanan BG-11) 38
Şekil 4.5. Azot sınırlamasının *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 38
Şekil 4.6. Azot sınırlamasının *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 39
Şekil 4.7. *Chlorella variabilis*'e ait farklı azot kısıtlamalarında sıcaklık değişimleri (Şebeke suyu) 42
Şekil 4.8. *Chlorella variabilis*'e ait farklı azot kısıtlamalarında sıcaklık değişimleri (Saf su ile hazırlanan BG-11 ortamında) 43
Şekil 4.9. *Chlorella ESP-6*'ya ait farklı azot kısıtlamalarında sıcaklık değişimleri 43
Şekil 4.10. *Chlorella protothecoides*'e ait farklı azot kısıtlamalarında sıcaklık değişimleri 44
Şekil 4.11. *Chlorella variabilis*'e ait farklı azot kısıtlamalarında pH değişimleri (Şebeke suyu ile hazırlanan BG-11 ortamında) 44
Şekil 4.12. *Chlorella variabilis*'e ait farklı azot kısıtlamalarında pH değişimleri (Saf su ile hazırlanan BG-11 ortamında) 45
Şekil 4.13. *Chlorella ESP-6* 'e ait farklı azot kısıtlamalarında pH değişimleri 45
Şekil 4.14. *Chlorella protothecoides*'e ait farklı azot kısıtlamalarında pH değişimleri 46

Şekil 4.15. Farklı azot kısıtlamalarında elde edilen en yüksek hücre derişimleri 53
Şekil 4.16. Farklı azot kısıtlamalarında elde edilen en yüksek yağ içerikleri……..…….....53
Şekil 4.17. Farklı azot kısıtlamalarında elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri .....……..54
Şekil 4.18. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi.....55
Şekil 4.19. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi.....55
Şekil 4.20. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi.....56
Şekil 4.21. *Chlorella variabilis*'e ait farklı ışık kaynaklarında sıcaklık değişimleri.....60
Şekil 4.22. *Chlorella ESP-6*'ya ait farklı ışık kaynaklarında sıcaklık değişimleri.....60
Şekil 4.23. *Chlorella protothecoides*'e ait farklı ışık kaynaklarında sıcaklık değişimleri.....61
Şekil 4.24. *Chlorella variabilis*'e ait farklı ışık kaynaklarında pH değişimleri.....62
Şekil 4.25. *Chlorella ESP-6*'ya ait farklı ışık kaynaklarında pH değişimleri.....62
Şekil 4.26. Farklı ışık kaynakları altında *Chlorella protothecoides* kültürünün pH değişimleri.....63
Şekil 4.27. Farklı ışık kaynakları etkisindeki mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri.....64
Şekil 4.28. Farklı ışık kaynakları etkisindeki mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ içerikleri.....64
Şekil 4.29. Farklı ışık kaynakları etkisindeki mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri.....65
Şekil 4.30. Aydınlık karanlık döngüsünün *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi.....66
Şekil 4.31. Aydınlık karanlık döngüsünün *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi.....66
Şekil 4.32. Aydınlık karanlık döngüsünün *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi.....67
Şekil 4.33. *Chlorella variabilis*'e ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde sıcaklık değişimleri.....70
Şekil 4.34. *Chlorella ESP6*'ya ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde sıcaklık değişimleri.....70
Şekil 4.35. *Chlorella protothecoides*'e ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde sıcaklık değişimleri 71
Şekil 4.36. Chlorella variabilis'e ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde pH değişimleri 72
Şekil 4.37. Chlorella ESP-6'ye ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde pH değişimleri 72
Şekil 4.38. *Chlorella protothecoides*'e ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde pH değişimleri.....73
Şekil 4.39. Farklı ışık çevrimleri etkisinde mikroorganizmalardan elde edilen en yüksek hücre derişimleri 74
Şekil 4.40. Farklı ışık çevrimleri etkisinde mikroorganizmalardan elde edilen en yüksek yağ içerikleri.....74
Şekil 4.41. Farklı ışık çevrimleri etkisinde mikroorganizmalardan elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri 75

Şekil 4.42. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 76
Şekil 4.43. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 76
Şekil 4.44. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 77
Şekil 4.45. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella variabilis* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri 80
Şekil 4.46. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri 80
Şekil 4.47. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri 81
Şekil 4.48. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella variabilis* türü mikroalgin pH değişimleri 81
Şekil 4.49. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin pH değişimleri 82
Şekil 4.50. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin pH değişimleri 82
Şekil 4.51. Farklı ışık şiddetleri etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri 86
Şekil 4.52. Farklı ışık şiddetleri etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ içerikleri 87
Şekil 4.53. Farklı ışık şiddetleri etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ içerikleri 87
Şekil 4.54. Heteretrof koşulların *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 88
Şekil 4.55. Heteretrof koşulların *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 89
Şekil 4.56. Heteretrof koşulların *Chlorella protohecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 89
Şekil 4.57. Heteretrof koşullarda *Chlorella variabilis* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri 92
Şekil 4.58. Heteretrof koşullarda *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri 92
Şekil 4.59. Heteretrof koşullarda *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri 93
Şekil 4.60. Heteretrof koşullarda *Chlorella variabilis* türü mikroalgin pH değişimleri 93
Şekil 4.61. Heteretrof koşullarda *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin pH değişimleri 94
Şekil 4.62. Heteretrof koşullarda *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin pH değişimleri 94
Şekil 4.63. Heteretrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri 100
Şekil 4.64. Heteretrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ içerikleri 100
Şekil 4.65. Heteretrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen yağ verimlilikleri 101
Şekil 4.66. Miksotrof koşulların *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 101
Şekil 4.67. Miksotrof koşulların *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 102
Şekil 4.68. Miksotrof koşulların *Chlorella protohecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi 102

Şekil 4.69. Miksotrof koşullarda *Chlorella variabilis* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri 105
Şekil 4.70. Miksotrof koşullarda *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri 105
Şekil 4.71. Miksotrof koşullarda *Chlorella protohecoides* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri 106
Şekil 4.72. Miksotrof koşullarda *Chlorella variabilis* türü mikroalgin pH değişimleri 106
Şekil 4.73. Miksotrof koşullarda *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin pH değişimleri 107
Şekil 4.74. Miksotrof koşullarda *Chlorella protohecoides* türü mikroalgin pH değişimleri 107
Şekil 4.75. Miksotrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri 112
Şekil 4.76. Miksotrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ içerikleri 113
Şekil 4.77. Miksotrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri 113
Şekil 4.78. *Chlorella variabilis*'e ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında büyüme eğrileri 114
Şekil 4.79. *Chlorella variabilis*'e ait beyaz eşya fabrikası endüstriyel atık su seyrelme oranlarında büyüme eğrileri 115
Şekil 4.80. *Chlorella ESP-6*'ya ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında büyüme eğrileri 115
Şekil 4.81. *Chlorella ESP-6*'ya ait beyaz eşya fabrikası endüstriyel atık su seyrelme oranlarında büyüme eğrileri 116
Şekil 4.82. Chlorella variabilis'e ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında sıcaklık değişimleri 120
Şekil 4.83. *Chlorella variabilis*'e ait beyaz eşya fabrikası endüstrtiyel atık su seyrelme oranlarında sıcaklık değişimleri 120
Şekil 4.84. *Chlorella ESP-6*'ya ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında sıcaklık değişimleri 121
Şekil 4.85. *Chlorella ESP-6*'ya ait beyaz eşya fabrikası endüstriyel atık su seyrelme oranlarında sıcaklık değişimleri 121
Şekil 4.86. *Chlorella variabilis*'e ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında pH değişimleri 122
Şekil 4.87. *Chlorella variabilis*'e ait beyaz eşya fabrikası endüstriyel atık su seyrelme oranlarında pH değişimleri 122
Şekil 4.88. *Chlorella ESP-6*'ya ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında pH değişimleri 123
Şekil 4.89. *Chlorella ESP-6*' ya ait beyaz eşya fabrikası endüstriyel atık su seyrelme oranlarında pH değişimleri 123
Şekil 4.90. Beyaz eşya endüstrisi evsel ve endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis*'den elde edilen en yüksek hücre derişimleri 129
Şekil 4.91. Beyaz eşya endüstrisi evsel ve endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis*'den elde edilen en yüksek yağ içerikleri 129
Şekil 4.92. Beyaz eşya endüstrisi evsel ve endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis*'den elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri 130
Şekil 4.93. Beyaz eşya endüstrisi evsel ve endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella ESP-6*'dan elde edilen en yüksek hücre derişimleri 130

Şekil 4.94. Beyaz eşya endüstrisi evsel ve endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella ESP-6*'dan elde edilen en yüksek yağ içerikleri.....131
Şekil 4.95. Beyaz eşya endüstrisi evsel ve endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella ESP-6*'dan elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri 131
Şekil 4.96. *Chlorella variabilis*'e ait gazlı içecek fabrikası atık su seyrelme oranlarında büyüme eğrileri 132
Şekil 4.97. *Chlorella variabilis*'e ait gazlı içecek fabrikası atık su seyrelme oranlarında kültür süresince sıcaklık değişimleri 134
Şekil 4.98. *Chlorella variabilis*'e ait gazlı içecek fabrikası atık su seyrelme oranlarında kültür süresince pH değişimleri 135
Şekil 4.99. Gazlı içecek endüstrisi endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis*'den elde edilen en yüksek hücre derişimleri.....136
Şekil 4.100. Gazlı içecek endüstrisi endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen Chlorella variabilis'den elde edilen en yüksek yağ içerikleri..... 137
Şekil 4.101. Gazlı içecek endüstrisi endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis*'den elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri..... 137

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Yaygın rastlanan mikroalg türlerinin lipit içeriği ve verimlilikleri 4
Tablo 1.2. Yaygın rastlanan mikroalg türlerinin karbonhidrat ve protein miktarları...5
Tablo 1.3. Açık sistemler ile kapalı sistemlerin avantaj ve dezavantajları. 9
Tablo 2.1. Endüstriyel atık suların arıtımında mikroalglerin kullanımı 19
Tablo 2.2. Farklı mikroalg türlerinin heteretrof büyümelerinin incelendiği araştırmalar 20
Tablo 2.3. Farklı mikroalg türlerinin miksotrof büyümelerinin incelendiği araştırmalar 21
Tablo 3.1. BG11 besi ortamı (1000 ml için) 24
Tablo 3.2. Beyaz eşya fabrikası evsel atık su değerleri.....30
Tablo 3.3. Beyaz eşya fabrikası endüstiyel atık su değerleri 31
Tablo 3.4. Gazlı içeçek fabrikası endüstriyel atık su değerleri 31
Tablo 4.1. Farklı azot stres koşullarının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi (Şebeke suyu ile hazırlanan BG-11 ortamında) 40
Tablo 4.2. Farklı azot stres koşullarının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi (Saf su ile hazırlanan BG11 ortamında).....40
Tablo 4.3. Farklı azot stres koşullarının *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 41
Tablo 4.4. Farklı azot stres koşullarının *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 41
Tablo 4.5. *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi 48
Tablo 4.6. *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi.....49
Tablo 4.7. *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi (%75 N kısıtlı) 49
Tablo 4.8. Farklı tür mikroalglerin setan sayıları 52
Tablo 4.9. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 57
Tablo 4.10. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella ESP-6* büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi.....58
Tablo 4.11. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella protothecoides* büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi.....58
Tablo 4.12. Farklı aydınlık karanlık çevrimlerinde *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 68
Tablo 4.13. Farklı aydınlık karanlık çevrimlerinin *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 68
Tablo 4.14. Farklı aydınlık karanlık çevrimlerinde *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 68
Tablo 4.15. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 78
Tablo 4.16. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi.....78
Tablo 4.17. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 79
Tablo 4.18. Işık etkisi (4 Klüks) altında yetiştirilen *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi.....84

Tablo 4.19. Işık etkisi (4 Klüks) altında yetiştirilen *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi....84
Tablo 4.20. Işık etkisi (4 Klüks) altında yetiştirilen *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi 85
Tablo 4.21. Heteretrof koşulların *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi....90
Tablo 4.22. Heteretrof koşulların *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi....90
Tablo 4.23. Heteretrof koşulların *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 91
Tablo 4.24. Heteretrof koşullarda (2g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi....96
Tablo 4.25. Heteretrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi....96
Tablo 4.26. Heteretrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi....96
Tablo 4.27. Heteretrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi....97
Tablo 4.28. Heteretrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi 97
Tablo 4.29. Heteretrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi 97
Tablo 4.30. Miksotrof koşulların *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi....103
Tablo 4.31. Miksotrof koşulların *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi....103
Tablo 4.32. Miksotrof koşulların *Chlorella protohecoides* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 104
Tablo 4.33. Miksotrof koşullarda (2g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi....108
Tablo 4.34. Miksotrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi....109
Tablo 4.35. Miksotrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi....109
Tablo 4.36. Miksotrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi....109
Tablo 4.37. Miksotrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi 110
Tablo 4.38. Miksotrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi 110
Tablo 4.39. Evsel atıksulardaki seyrelmenin *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 117
Tablo 4.40. Endüstriyel atıksulardaki seyrelmenin *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 117
Tablo 4.41. Evsel atıksulardaki seyrelmenin *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 118
Tablo 4.42. Endüstriyel atıksulardaki seyreltmenin *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi 118

Tablo 4.43. Beyaz eşya endüstrisi evsel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağ asidi bileşimi.....124
Tablo 4.44. Beyaz eşya endüstrisi endüstriyel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağ asidi bileşimi.....125
Tablo 4.45. Beyaz eşya endüstrisi evsel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağ asidi bileşimi 125
Tablo 4.46. Beyaz eşya endüstrisi endüstriyel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağ asidi bileşimi 126
Tablo 4.47. Beyaz eşya endüstrisi evsel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda mikroalgler ile arıtım sonrası analiz değerleri *(Chlorella variabilis)* 127
Tablo 4.48. Beyaz eşya endüstrisi endüstriyel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda mikroalgler ile arıtım sonrası analiz değerleri *(Chlorella variabilis)* 127
Tablo 4.49. Beyaz eşya endüstrisi evsel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda mikroalgler ile arıtım sonrası analiz değerleri *(Chlorella ESP-6)*.....128
Tablo 4.50. Beyaz eşya endüstrisi endüstriyel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda mikroalgler ile arıtım sonrası analiz değerleri *(Chlorella ESP-6)*.....128
Tablo 4.51. Gazlı içecek endüstrisi atıksulardaki seyrelmenin *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi.....132
Tablo 4.52. Gazlı içecek endüstrisi atıksuda %20 seyrelme olduğu durumda *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağ asidi bileşimi 133
Tablo 4.53. *Chlorella variabilis* ile gazlı içecek endüstrisi atıksuyu arıtım sonrası KOİ giderimi 135
Tablo 4.54. *Chlorella variabilis* ile gazlı içecek endüstrisi atıksuyu arıtım sonrası toplam P giderimi 135

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Fe ($C_6H_6O_7$)	: Demir sitrat
$C_6H_8O_7$	: Sitrik asit
°C	: Sıcaklık (Celcius)
BG-11	: Blue Green besin ortamı
C	: Karbon
CO_2	: Karbondioksit
Fe	: Demir
KOİ	: Kimyasal oksijen ihtiyacı
KNO_3	: Potasyum Nitrat
M	: Molar
mM	: Milimolar
N	: Azot
NaCl	: Sodyum Klorür
$NaNO_3$	: Sodyum Nitrat
NH_4Cl	: Amonyum Klorür
NO_2	: Nitrit
P	: Fosfor
TKN	: Toplam kjeldahl Azotu
TAG	: Triaçilgliseridleri
X_{max}	: Maksimum hücre derişimi

FARKLI CHLORELLA TÜRLERİNİN BİYODİZEL VE ATIK SU ARITIMINDA KULLANILMAK ÜZERE ÜRETİMİ

ÖZET

Bu çalışmada farklı türde (*Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6, Chlorella protothecoides*) mikroalglerin laboratuar ortamındaki üretim koşulları incelenmiş, yağ üretkenliğini arttırmaya etki eden çevresel ve kimyasal parametreler araştırılmıştır. Mikroalg üretimi için tasarlanan en uygun fotobiyoreaktör kalınlığı, besin ortamına uygulanan azot kısıtlaması(stres), farklı ışık kaynaklarının ve şiddetlerinin etkileri, aydınlık-karanlık döngüsü etkileri ile heteretrof ve miksotrof koşulların etkileri araştırılmıştır. Aynı zamanda en uygun şartlarda yetiştirilen mikroalglerden elde edilen yağların yağ asidi dağılımları incelenmiş, biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Deneysel çalışmalar sonucunda, en uygun fotobiyoreaktör kalınlığı 8 cm'yi geçmeyecek şekilde tasarlanmıştır. Azot kısıtlamasının *Chlorella variabilis* ve *Chlorella ESP-6* türü mikroalglerin yağ içeriklerini artırdığı, *Chlorella protothecoides* türü için ise etkisi olmadığı belirlenmiştir. Her tür mikroalg için 4Klüks ışık şiddetinde led aydınlatma ile miksotrof koşullarda yetiştirilmesi ile en yüksek mikroorganizma derişimi *C.variabilis, C.ESP-6* ve C.*protothecoides* için sırasıyla, 0,84, 0,41 ve 0,95 g/L olarak, yağ verimliliği ise sırasıyla, $6{,}4 \times 10^{-3}$, $2{,}7 \times 10^{-3}$, $11{,}8 \times 10^{-3}$ g/Lxgün olarak elde edilmiştir. Sürekli aydınlatma *Chlorella variabilis* ve *C. protothecoides* türleri için uygun bulunurken, *C.ESP-6* için 14h aydınlık 10h karanlık döngüsü uygun olarak belirlenmiştir. Ayrıca, *Chlorella variabilis* ve *C. ESP-6* türü mikroalglerin beyaz eşya ve gazlı içecek endüstrisi atıksularının arıtılmasında kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Sonuç olarak mikroalg üretim koşullarının değerlendirilerek amaca uygun yetiştirilmesi aynı zamanda mikroalglerin atıksu arıtımında etkin olarak kullanılması gelecek uygulamalar için umut verici olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Arıtma, *Chlorella* Türleri, Mikroalg, Yağ Asidi, Yağ İçeriği.

PRODUCTION OF DIFFERENT CHLORELLA SPECIES USED IN BIODIESEL AND WASTE WATER TREATMENT

ABSTRACT

In this study, the production conditions of different types of microalgae (*Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6, Chlorella protothecoides*) were investigated and the environmental and chemical parameters affecting the oil productivity were investigated. The most suitable photobioreactor thickness designed for microalgae production, nitrogen restriction (stress) applied to the nutrient media, effects of different light sources and intensity, effects of light-dark cycle and heterotrophic and mixotrophic conditions were investigated. At the same time, the fatty acid distribution of the oils obtained from the microalgae grown under the optimum conditions were examined and their usability as a source of raw materials in biodiesel production were evaluated. As a result of experimental studies, optimum photobioreactor thickness is designed not to exceed 8 cm. *Chlorella variabilis* and *Chlorella ESP-6* microalgae have increased oil content with nitrogen restriction and it has been found that it has no effect for *Chlorella protothecoides* species. For all types of microalgae, the highest microorganism concentration (g / L) as a result of mixotrophic cultivation with led illumination at a intensity of 4 Klux (0,84 (C. var.), 0,41, (C.ESP-6), 0,95 (C .proth.)) and oil yield (g / Lxday) ((6,4x10^{-3} (C. var.), 2,7x10^{-3} (C.ESP-6), 11,8x10^{-3} (C.proth.)). Constant illumination for *Chlorella variabilis* and *Chlorella protothecoides* while *Chlorella ESP-6* is suitable for 14 h bright 10 h dark cycle. In addition, white goods and fizzy drink industry wastewater tratment ability of *Chlorella variabilis* and *Chlorella ESP-6* wastewater have been investigated. As a result, the microalgae cultivation conditions and wastewater treatment abilities are promising for future applications.

Keywords: Wastewater Treatment, *Chlorella* Species, Microalgae, Fatty Acid, Lipit Content.

GİRİŞ

Petrol kaynaklı yakıtların, enerji kaynağı olarak kullanılmasının çevreye olumsuz yönde etkileri tartışılmaktadır. Bununla birlikte gelecekte petrol kökenli kaynakların artan enerji talebini karşılayamayacağı düşünülmektedir. Bu yüzden hayvansal, bitkisel ve atık yağlardan üretilen biyodizel çalışmaları hız kazanmıştır. Ancak hammadde kaynağı olarak düşünülen bu yağların miktarları biyodizel taleplerini karşılamakta yetersiz kalır. Çevre dostu proseslerle yenilenebilir kaynaklardan üretilmesi, toksik olmaması, güvenli kullanımı, biyolojik olarak bozunması ve karbon emisyonunu değiştirmemesi, düşük emisyon özelliklerine sahip olması nedeniyle biyodizelin önemi giderek artmaktadır. Bu özellikler, deniz taşıtlarında, milli parklar ve ormanların yanında, hava kirliliğinin yüksek olduğu kentlerde, kent içi taşımacılıkta biyodizel kullanımını ideal yapmaktadır. Biyodizel hammaddesi olarak kullanılacak yağlar temel olarak üçe ayrılır. Birinci nesil yağlar, yiyecek maddesi olarak kullanılan yağlar ve bunların atık halleridir. İkinci nesil yağlar, kastor, jatropha gibi besin kaynağı olarak kullanılmayan bitkilerin yağlarıdır (Kutluk, 2013). Üçüncü nesil yağlar ise mikroalgler gibi biyokütlesinde yağ biriktiren mikroorganizmalardan elde edilen yağlardır. Biyodizel temel olarak dört yöntemle elde edilir bunlar; seyreltme, mikroemülsiyon, piroliz ve transesterleşme yöntemleridir. Biyodizel, yaygın olarak yağların kısa zincirli alkollerle transesterleşme tepkimesi sonucunda üretilir. Bu tepkime asidik, alkali ve enzimatik katalizörler ile gerçekleştirilir. Asidik katalizörler korozif yapılı ve yavaş tepkime verdiği için çok tercih edilmemektedir. Alkali katalizörler ise düşük, sıcaklık ve basınçta yüksek biyodizel dönüşümü sağlamalarına karşın sabunlaşma tepkimelerineneden olarak verimi düşürür (Taher, 2011). Enzimatik katalizör olarak kullanılan lipazların tercih edilme nedeni, düşük sıcaklıkta çalışabilmeleri, yağ moleküllerini parçalayabilmeleri ve tutuklanarak üründen ayrılıp tekrar kullanımının gerçekleştirilebilmesidir. Üretimde katalizör olarak enzimlerin kullanımı, ılımlı tepkime koşulları ile alternatif bir yöntem olmaktadır. Yan ürün gliserinin biyodizelden ayrılması kolay ve atık su miktarı daha azdır. Enzimlerin pahalı olması üretimin ticarileşmesini kısıtlamaktadır. Ancak gelişen genetik mühendisliği teknikleri kullanılarak elde edilen enzimlerin uygun desteklere tutuklanmasıyla maliyet azaltılabilir (Kutluk, 2013).

Mikroalgler, hücre içinde barındırdıkları protein, karbonhidrat, yağ asitleri, vitamin, mineral, pigmentler ve önemli bileşikleri nedeniyle insanlar tarafından başlıca besin desteği olmak üzere değişik amaçlarla kullanılmaktadırlar (Neenan,1986). Biyodizel üretimi için hammadde kaynağı olarak mikroalglerden yararlanma konusunda çalışmalar özellikle Avrupa ülkelerinde artmaktadır. Bu amaçla yağ içeriği ve büyüme hızı yüksek mikroalg türlerinin belirlenmesi çalışmalarının yanında, hücre içinde mevcut yağ içeriğinin arttırılmasını uyaran stres koşullarının belirlenmesine yönelik araştırmalar giderek artmaktadır. İlk olarak Solar Enerji Araştırma Enstitüsü biyoyakıt olarak algal yağların kullanımı üzerinde durmuştur (Bulut, 2009). Mikroalgler karasal bitkiler gibi güneş ışığı ve karbondioksiti kullanarak lipit biriktirebilirler. Hızlı ve kararlı çoğalmaları nedeniyle bitkilerinden daha fazla ürün verimliliğine sahip organizmalardır. Bu fotosentetik canlılar fotosentez sonucu oksijen üretmektedirler. Ayrıca olumsuz çevre koşullarına karşı tepki olarak metabolizmalarında değişikliğe gidebilirler. *Chlorella* ve *Neochloris* türlerinin besin eksikliği olan ortamda kültüre alınmaları ile kuru hücre ağırlıklarının %60'ına kadar lipit biriktirebilirler (Siaut, 2007). Mikroalgler, hızlı ve geniş çaplı üretilebildiği için diğer yağ kaynaklarına göre avantajlıdır. Ayrıca mikroalgler, yağ bitkilerine göre birim biyokütlelerinde daha fazla yağ bulundururlar. Mikroalglerin büyümesi için ışık, karbondioksit, su ve inorganik tuzlara gereksinim vardır. Sıcaklık 20 ºC ile 30 ºC aralığında olmalıdır. Kuru ağırlıklarının yaklaşık % 50'sini karbon oluşturmakta olup, bu karbonun tümü karbondioksitden karşılanmaktadır (Miron ve diğ., 2003).

Bu tez çalışmasında, farklı türde *(Chlorella variabilis, Chlorella protothecoides, Chlorella ESP-6)* mikroalglerin üretim koşulları incelenmiş yağ verimliliğini arttırmaya yönelik üretim koşullara etki eden çevresel ve kimyasal etkiler (Besi ortamı, uygulanan azot kısıtlaması, farklı ışık şiddetleri ve aydınlık-karanlık döngüsü, vb.) araştırılmıştır. Aynı zamanda mikroalglerden elde edilen yağların biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Çalışmaya ek mikroalglerin farklı tür atık su arıtma yetenekleri incelenmiş ve arıtma sonunda elde edilen mikroalg yağlarının biyodizel üretiminde hammade olarak kullanılabilirliği de araştırılmıştır.

1. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde mikroalgler, üretim prosesleri, üretime etki eden parametreler, atık su ortamında kullanımlarına ilişkin ön bilgiler verilecektir.

1.1. Mikroalgler

Mikroalgler ilk olarak 1970'li yıllarda enerji kaynağı olarak değerlendirilmiş, fakat üretim maliyeti ve teknik kısıtlamalar ticari gelişimini sınırlamıştır. 1980'li yıllardaki araştırma-geliştirme ve teknoloji alanındaki gelişmeler mikroalglerin ticari potansiyelinin araştırılmasına olanak sağlamıştır (Tran ve diğ., 2012). Mikroalgler; prokaryotik ya da ökaryotik, fotosentetik yapıya sahip, dünya üzerindeki en eski mikroorganizmalardan biri olarak kabul edilir. Tek hücreli ya da basit çok hücreli yapılarından dolayı zor şartlarda çok hızlı büyüyebilirler (Lam ve Lee, 2011). Bahsedilen mikroalgler, çapı 2 µm'den küçük olan mikroorganizmalardır. Mikroalgler atmosferdeki CO_2'in büyük bir kısmını sabitleme yeteneğine sahiptir, ayrıca atmosferdeki oksijenin yaklaşık %40-50'sine katkıda bulunurlar. Mikrolagler fotosentez yoluyla üretilen küresel biyokütlenin yalnızca %0,2'sini oluşturmalarına rağmen, küresel sabitlenmiş organik karbonun yaklaşık %50'sini sağlamaktadırlar (Darzins ve diğ., 2010). Mikroalglerin protein ve karbonhidrat içerikleri kuru biyokütle ağırlıklarına göre yaklaşık %50'e kadar çıkmakta, maksimum lipit içeriği ise ağırlıkça %40'a gelmektedir. *Chlorella* türü mikroalgler, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella variabilis,Chlorella stigmatophora*, *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella zofingiensis* ve *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorellaprotothecoides,Chlorella ESP-6* olarak sıralanabilir. Mikroalglerin türüne ve üretim koşullarına göre içerdikleri lipit bileşimleri değişiklik göstermektedir. *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin içerdiği lipit miktarı da diğer türlere göre yüksektir (Singh ve Gu, 2010). Mikroalgal lipitler, yüksek enerji içeriğine sahiptir. Bazı mikroalg türleri triaçilgliseridleri (TAGs) içerir. Bu lipitler, yağlı tohumlu bitkilerinden elde edilen TAGs'e benzer olup biyodizele dönüştürülebilirler. Tablo 1.1'de yaygın rastlanan farklı mikroalg türlerinin içerdikleri lipit miktarları Tablo 1.2' de ise karbonhidrat ve protein miktarları verilmiştir.

Tablo 1.1. Yaygın rastlanan mikroalg türlerinin lipit içeriği ve verimlilikleri (Elcik ve Çakmakçı, 2017; Singh ve Gu, 2010)

Mikroalg türü	Maksimum Yağ içeriği (%)	Yağ verimliliği (mg/L.gün)
Chlorella emmersonii	63,0	50,0
Chlorella protothecoides	58,7	1214
Chlorellasorokiniana	22,0	44,7
Chlorella vulgaris	58,0	40,0
Chlorella sp.	48,0	42,1
Chlamydomonas rheinhardii	17,0	48,0
Chlorococcum sp. UMACC 112	19,3	53,7
Dunaliella salina	32,0	57,0
Scenedemus quadricauda	18,4	35,1
Scenedemus F&M-M19	19,6	40,8
Scenedemus sp. DM	21,1	53,9
Tetraselmis sp. F&M-M34	41,7	43,4

Tablo 1.2. Yaygın rastlanan mikroalg türlerinin karbonhidrat ve protein miktarları (Altın, 2017)

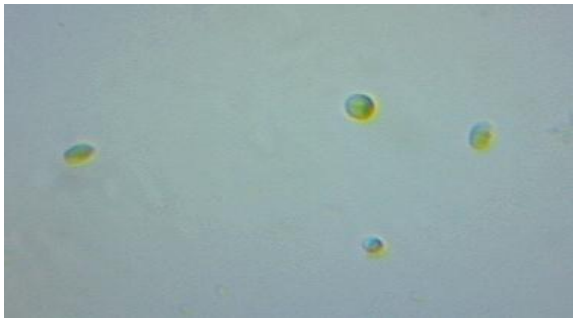
Mikroalg türü	Karbonhidrat (%)	Protein (%)
Chlorella vulgaris	6-10	25-30
Scenedemus obliquus	10-17	50-56
Spirulina platensis	8-14	46-63
Pavlova lutheri	11-13	28-31
Isochyrsis sp.	26-28	21-24
Chlorella prothecoides	15-17	10-12
Prymnesium parvum	25-33	28-45
Dunaliella salina	32-33	57-60
Porphyridium cruentum	32-33	17-19
Chlamydomonas rheinhardii	17-20	48-50
Chlamydomonas sp.	33-35	17-20

Chlorella mikroalg türlerinin genel sistematiği aşağıdaki gibidir (URL-1).

- Alem: *Protista* (Bitkiler ve Hayvanlar)
- Bölüm: *Chlorophyta* (Yeşil algler)
- Sınıf: *Trebouxiophyceae*
- Takım: *Chlorococcales*
- Aile: *Chlorellaceae*
- Cins: *Chlorella*
- Tür: *Chlorella variabilis,protothecoides, ESP-6*

Chlorella, tek hücrelidir. Bünyesinde, vitamin, protein, mineral, aminoasitler, nükleik asitler (RNA, DNA), temel yağ asitleri, enzimler ve karotenoid barındırır. Hücre % 50-60 oranında proteinden oluşmakta olup klorofil'in doğada bilinen en yüksek kaynağıdır. Ayrıca demir, iyot, çinko, magnezyum, fosfor ve kalsiyum içerir. *Chlorella*, sığır karaciğerinin içermekte olduğu B_{12} vitamininden daha fazla B_{12} vitamini içermektedir (Bulut, 2009). Hücreler genellikle 5-8,5 µm çapındadır. İsmini, Latince'de 'küçük, taze yeşil' anlamına gelen klorofilden alır. Bilinen en eski

canlılardan ve besin kaynaklarından biridir. İlk saf kültürü Hollandalı mikrobiyolog M. J. Beijerinck tarafından 1890 yılında yapılmıştır. Şekil 1.1 *Chlorella variabilis*'in 1500 kat büyütülerek çekilen mikroskop görüntüsüdür.

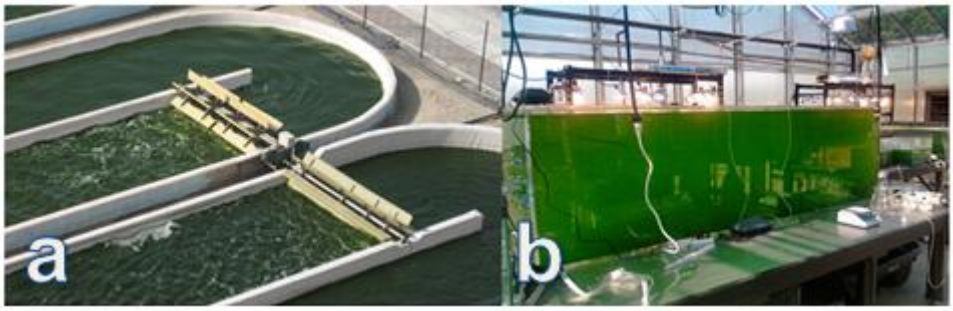


Şekil 1.1. Chlorella variabilis

Yenilenebilir enerji kaynakları arasında yer alan biyokütleden biyodizel üretimi yüksek potansiyeli olan bir yöntemdir. Üçüncü nesil yağlar, tek hücre yağ üreten mikrororganizmalardan (bakteri, maya, fungi, algal türler) elde edilirler. Bunlar arasında algal türler, mavi-yeşil algler, algler ve diatomlar olmak üzere sınıflandırılırlar. Mikroalgler, tatlı sulardan çok tuzlu ortama kadar birçok sucul ortamda yaşayabilirler. Güneş enerjisini kullanarak organik bileşenleri üretirler ve atmosferdeki karbondioksit seviyesini düşürürler. Yetiştirilmeleri için tarım arazilerine gerek yoktur. Açık havuz ya da biyoreaktörlerde temiz, tuzlu veya atık sularda yetiştirilebilirler. Nakliye ve hasat maliyetleri düşüktür. Algal yağın içerdiği yüksek oranda bulunan çoklu doymamış yağlar algal biyodizelin soğuk havalarda donmasını geciktirir (Schenk ve diğ., 2008). Algal biyodizel sülfür içermez, toksik değildir ve yüksek derecede biyobozunurdur. Bu nedenlerden dolayı mikroalgler, yüksek fotosentetik etkinlikleri, büyüme hızları ve verimlilikleriyle biyodizel üretimi için en çok gelecek vaadeden lipit kaynağıdırlar (Huang ve diğ., 2010). Mikroalgler proteinler, lipitler, karbonhidratlar, karotenoidler ve vitaminler gibi önemli metabolitleri bünyesinde ürettikleri için çeşitli endüstriyel alanlarda kullanımı vardır. Sağlık, gıda, yem sanayi, kozmetik bunlardan başlıca endüstirlerdir. Bunun yanı sıra son yıllarda mikroalgal yağların enerji üretiminde hammadde olarak kullanılması ile ilgili çalışmalar artmıştır.

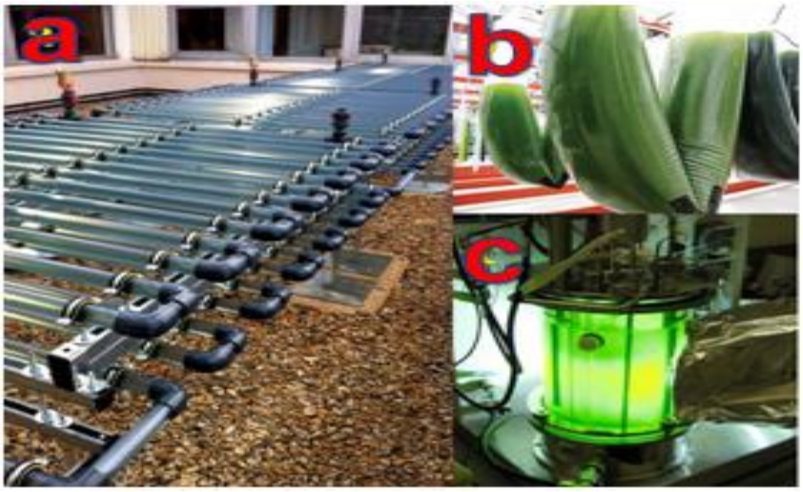
1.2. Mikroalg Üretim Sistemleri

Mikroalgler, havuz, göl gibi açık sistemlerde ya da kontrollü kapalı sistemlerde üretilebilirler. Bazı mikroalg türleri, koşulların çok özel olduğu durumlarda (yüksek tuz ya da alkali) açık üretim için uygundurlar. Bu sistemlerin avantajı düşük yatırım ve üretim maliyetine sahip olmaları ve kolay düzenlenebilmeleridir. Bunun yanı sıra, açık sistemlerde buharlaşmadan dolayı sıvı kaybı olmakta, kontaminasyona maruz kalabilmekte ve olumsuz çevre koşulları nedeniyle biyokütle üretimi sınırlamaktadır. Bu tür sistemlerde kontaminasyona dirençli türlerin kullanılması gerekmektedir (Altın, 2017). Şekil 1.2'de açık havuz ve fotobiyoreaktör görülmektedir.



Şekil 1.2. Mikroalg üretiminde kullanılan havuz tipi açık sitemler (a) ve fotobiyoreaktörler (b)

Diğer taraftan kapalı sistem olarak fotobiyoreaktörler kullanılabilmektedir. Kapalı sistemler yüksek yatırım ve işletme maliyeti gerektirmekle beraber kontrollü bir şekilde üretim yapılabilmesine böylece yüksek verim alınmasına olanak sağlarlar. Mikroalg üretimine etki eden başlıca faktörler, pH, sıcaklık, karbondioksit dağılımı ve sterilitedir. Ayrıca heterotrofik üretim için kontrollü fermentörler yaygın olarak kullanılmaktadır (Aydın, 2014, Miao ve Wu, 2006). Kapalı sistemler panel, boru, torba ve tank tipi olmak üzere üretim amacına uygun olarak tasarlanabilirler. Şekil 1.3'de boru torba ve tank tipi fotobiyoreaktörler görülmektedir.



Şekil 1.3. Mikroalg üretiminde kullanılan boru (a), torba (b) ve tank tipi (c) fotobiyoreaktörler

Sonuç olarak farklı işletme koşullarına sahip farklı sistemlerde mikroalg üretimi yapılabilmektedir. Fotobiyoreaktör seçiminde önemli olan üretilecek mikroorganizma türü ve istenen üründür. Örneğin biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanılacak mikroalg yağı elde edilmesinde açık havuzlar ve büyük hacimler daha verimli olacaktır. Diğer yandan tıbbı sektörde ve gıda maddesinde kullanılacak mikroalg üretimi için daha stabil koşulları sağlayan özel tip fotobiyoreaktörler seçilmelidir. Tablo 1.3 ’de açık ve kapalı sistemlerin en önemli avantaj ve dezavantajları görülmektedir.

Bazı mikroalg türlerinin ototrof yerine heterotrof üretimi ile bünyesinde değerli ürünlerin (yağ, karbonhitrat, protein) miktarı arttırılabilir. Heterotrofik mikroalgler, karanlık ortamda organik karbonu kullanarak büyüme gösterirler (Elcik ve Çakmakçı, 2017).

Miksotrof mikroalgler hem ototrof hem de heterotrof beslenmenin birleşimi özelliğini taşırlar. Karbon kaynağı olarak ortamda bulunan hem organik karbonu hem de inorganik karbonu kullanırlar (Xu ve Wu, 2006). Miksotrofik biyoreaktör ortamına glikoz, galaktoz, mannoz, fruktoz, sükroz ve laktoz gibi organik karbon substratları eklenmektedir. Enerji organik karbondan elde edilir ve hücre üretiminde kullanılır, aynı zamanda ışık enerjisinden elde edilen kimyasal enerji hücre metabolizması için depolanmaktadır. Ortamın pH’ı üretim veya yetiştirme koşullarına göre değişmektedir. Örneğin ototrofik kültürlerde mikroalgler inorganik karbonu kullanır ve hidroksil üretirler bu nedenle pH’ı yükselir. Heterotrofik kültürlerde ise mikroalgler organik karbonu kullanarak CO_2 üretirler bu nedenle ortamın pH’ı düşmektedir.

Miksotrofik kültürlerde her iki mekanizmada gerçekleştiği için ortam pH'ı değişiklik (artar veya azalır) gösterir. (Kim ve diğ., 2013).

Tablo 1.3. Açık sistemler ile kapalı sistemlerin avantaj ve dezavantajları (Altın, 2017).

Parametreler	Açık Sistemler	Kapalı Sistemler
Sterilizasyon	Düşük	Yüksek
Üretim alanı	Yüksek	Düşük
Buharlaşma kaybı	Yüksek	Düşük
Havalandırma	Doğal	Ayarlanabilir
Maliyet	Düşük	Yüksek
Ortam koşulları	Bağımlı	Bağımsız
Biyokütle verimi	Düşük	Yüksek

1.3. Mikroalglerin Üretimine Etki Eden Parametreler

Hücre büyümesine etki en önemli parametreler; besin kalitesi ve miktarı, ışık, pH, karıştırma, tuzluluk ve sıcaklıktır. Birçok faktör birbirine bağlı olabilir. Çalışmalarda oluşturulan ortam koşulunda en uygun olan parametre, başka bir çalışma için uygun olmayabilir (Vonshak, 2004). Mikroalgler farklı koşullarda üretilebilmektedirler. Fototrof (ışık enerjisi kullanarak), heteretrof (enerji gereksinimini ortamda bulunan bir karbon kaynağından alarak), miksotrof (ışık enerjisi ve karbon kaynağı kullanarak enerji elde edebilen) bu koşullardan başlıcalarıdır. Mikroalgler ortamdaki karbonu farklı organik bileşklerden (glikoz, sakaroz vb.) temin edebilir. Heterotrof üretimlerde gliserol en yeygın olarak kullanılan bileşiktir.

1.3.1. Aydınlatma ve ışık döngüsü

Fotosentetik organizmaların canlılığını sürdürebilmeleri için zorunlu bir parametredir. Fotosentetik büyüme her bir hücrenin kullandığı ışık enerjisiyle orantılıdır. Dolayısıyla ışığın en uygun seviyede tutulması gerekir. Işık yoğunluğu kültür ortamının derinliği ve yoğunluğu ile ilişkilidir. Örneğin derinliği ve hücre yoğunluğu fazla olan bir kültürde, ışık yoğunluğunu arttırmak gerekir (Vonshak, 2004). Işık yoğunluğunun mikroorganizma üzerine fotoinhibisyon etkisi de mevcuttur.

1.3.2. Sıcaklık

Mikroalgler farklı sıcaklık aralıklarında yaşayabilirler. Metabolizmalarına ve fizyolojik aktivitelerine doğrudan etkili olan sıcaklık değişimlerine tepki gösterirler. Sıcaklığın etkisi hücre solunumu sırasında görülür. Sıcaklık arttığında solunum hızı artar, artan solunum biyokütle kayıplarını arttırır. Mikroalgler türleri için en yaygın sıcaklık 20 ile 30°C arasındadır ve türlere göre farklılık göstermektedir (Miron ve diğ., 2003, Vonshak, 2004).

1.3.3. Karıştırma

Kültür ortamında iyi bir karışma olmaz ise kültürler birbiri üzerine çöker veya reaktörün kenarlarına tutunabilir. Karıştırma, alglerin çökmesini önleyerek, kültürün içindeki hücrelerin homojen olarak dağılım göstermesine yardımcı olur. Böylece tüm hücrelerin, ışık ve besin maddelerinden eşit oranda yararlanması sağlanır, tabakalaşma ve çeperlerde yapışma önlenir. Mikroalglerin karbondioksiti eşit miktarda emilimi kolaylaşır (Vonshak, 2004).

1.3.4. Besin

Mikroalglerin çoğalabilmesi için tuz (tuzlu su türleri için gerekli), karbon, azot, potasyum, magnezyum, sodyum, sülfat ve fosfat gibi büyüme ortamda bulunması zorunlu iz elementlere gereksinim vardır. Bunların yanısıra ortama büyümeyi takviye edici diğer organik bileşikler veya elementler de (demir, vitamin ve hormon) eklenebilir (Vonshak, 2004).

1.3.5. pH

Mikroalg üretimine etki eden önemli bir parametre ise pH'dır. Her tür, belirli bir pH aralığında üreyebilir. Bir çok mikroalg türü için bu aralık 7-9 civarındadır. Optimum aralık ise 8,2-8,7 arasında değişir (Altın, 2017). Uygun pH'nın sağlanamaması, hücrelerin parçalanarak içeriğinin ortama geçmesine ve kültürün ölümüne yol açar. Kültürün havalandırılmasıyla bu sorunun önüne geçilir. Yoğun kültürlerde, zamanla pH artışı olur. pH uygun miktarlarda ortama eklenen CO_2 ile uygun aralıkta tutulur (Zeng ve diğ., 2011).

1.4. Mikrolagler Varlığında Atık Suların Arıtılması

Şehir, sanayi ve tarımsal faliyetler sonucu her yıl büyük miktarda atık su oluşmaktadır. Atık sular arıtılmadığında yer altı sularına karışarak kirlilik oluşturmaktadır. Atık sulardaki azot derişimi 1,9 mg / L'den daha yüksek seviyeye ulaştığında mikroalglerin çoğalabilmesi için uygun ortam şartları sağlanmış olmaktadır (Brown ve Simpson, 2001). Aynı zamanda su yüzeyindeki güneş ışığından da yararlanıldığında mikroalglerin fotosentez yapmaları sağlanmış olur. Mikroalgler fotosentez yaptıklarında oksijen sentezlerler bu oksijen sudaki diğer canlılar için yaşam kaynağı olmaktadır. Biyolojik (aktif çamur) arıtma azot giderimi için en çok kullanılan yöntemdir. Atık su arıtma tesislerinde azotu biyolojik olarak uzaklaştırmak için nitrifikasyon ve denitrifikasyon işlemleri bulunmaktadır. Bu işlemde, amonyak-oksitleyici de dahil olmak üzere nitrifikasyon bakterileri (nitrit-oksitleyici bakteriler) kullanılmaktadır. Toplam amonyak gramı başına oksitlenmesi için 4,57 gram oksijen gereklidir. Atık su arıtma tesislerinde bu işlem için mekanik havalandırma olup, tesisin toplam enerji ihtiyacının % 75'ini oluşturmaktadır (Pittman, 2011). Ayrıca atık su da bulunan uçucu bileşiklerinde kaçma riski ile birlikte arıtma sonunda oluşan aktif çamur biyolojik arıtmanın en büyük yan ürünüdür. 1 milyon litre atık su arıtılırken aynı zamanda 100 kg aktif çamur üretilir. Oluşan aktif çamuru bertaraf etmek için yüksek enerji ve geniş araziler gerekmektedir (Athanasoulia ve diğ., 2012). Mikroalgler fotosentetik basit hücreli organizmalardır. Yaklaşık 24 saatte biyokütle sayılarını ikiye katlayabilirler. Hızlı büyümeleri, zorlu koşullara uyum sağlayarak çoğalmaları onlara atık su ortamında yetiştirilmeleri için avantaj sağlar. Şu anda mikroalgler ile bakterilerin bir arada kullanıldığı açık heteretrofik sitemlerde arıtım çalışmalar sürdürülmektedir. Bu sistemlerde atık sulardaki bakteriler ile mikroalgler arasında simbiyotik bir ilişki vardır. Mikroalgler bakterilerin ürettiği karbondioksiti alarak fotosentez yaparlar aynı zamanda bakteriler için oksijen üretirler. Bakteriler ile mikroalgler arasında bu çevrim olurken bakteriler atık sulardaki organik bileşikleri tüketir mikroalgler de azot ve fosforu tüketirler. Böylece arıtma kendiliğinden tamamlanmış olur (Jia ve Yuan, 2016). Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Alg Kökenli Biyoyakıtlar Ajansina göre mikroalg varlığında atık su artıma teknolojisi mevcut geleneksel arıtma teknolojilerine göre daha az maliyetli ve avantajlı bir sistem olarak tanımlanmaktadır (URL-2). Atık sular kaynağına göre farklı özelliktedirler. Bunları birbirinden ayıran en önemli özellikler kimyasal (kimyasal oksijen ihityacı, biyolojik oksijen ihtiyacı, pH,

alkalinite, azot, fosfor) ve fiziksel (koku, renk, toplam katı madde) özellikleridir. Atık su kirliliği genelde üç kaynaktan gelir:

Evsel /belediye, şehir, tarımsal ve endüstriyel kaynaklardır. Atık suyun kaynağına göre mikroalglerin çoğalmalarını engelleyecek farklı tehditler bulunabilir. Örneğin tarımsal faliyetler sonucu ve yağmur sularının oluşturduğu sızıntı ile atık sularda çok miktarda suda çözünmeyen organik bileşikler ve toprakla birlikte bulanıklıklar olabilir. Bulanıklık ve kirleticiler ışığın mikroalgler tarafından emilimini güçlendirerek fotosentezi doğrudan etkiler böylece mikroalgler çoğalamayarak arıtma yapamayabilirler. Endüstriyel kaynaklı atık sularda da zehirli kimyasal kirleticiler ve ağır metaller bulunabilir. Bunlar mikroalgleri zehirleyerek yaşamsal faliyetlerini azaltabilir (Jia ve Yuan, 2016). Mikroalgler varlığında atık su arıtımı canlı hücre kullanımı (biyosorpsiyon), ölü hücre (adsorbsiyon) kullanımı şeklinde olabilir. Mikroalglerin adsorpsiyon ve biyosorpsiyon yeteneği, alg hücrelerinin bir bileşeni olan aljinat polimeri üzerindeki bağlanma bölgelerinin varlığına ve yapısına bağlı olarak değişebilir.

2. KONU İLE İLGİLİ LİTERATÜRDE YER ALAN ÇALIŞMALAR

Besin kısıtlaması:

Mikroalglerin fototrofik olarak üretimleri için ortamdaki toplam tuz derişimi, karbon ve azot kaynağı önemlidir. Bunun yanısıra potasyum, mağnezyum, sodyum, sülfat ve fosfat gibi diğer majör elementler ile ortamda bulunması zorunlu iz elementlerin tür ve derişimleri de önemlidir. Hücrelerin yağ içeriği besi ortamana uygulanan strese göre de değişiklik göstererek artabilir ya da azalabilir.

Kurhan 2012 yılında yaptığı çalışmada, farklı derişimlerde hümik ve fulvik asit içeren BG-11 ve Zarrouk besi ortamlarında *Chlorella vulgaris* ve *Spirulina platensis* mikroalglerinin gelişme sürecinde; pH, hücre derişimi, protein miktarı ve ortak pigmentler olan klorofil-a ile karotenoid miktarı belirlenmiştir. Ayrıca *Spirulina platensis*'in sahip oldugu fikosiyanin miktarı da takip edilmiştir. *Spirulina platensis* hümik asit denemesinde en yüksek protein derişimine 21.günde, etilendiamintetraasetikasit (EDTA) içeren kontrol grubunda ulaşılmıştır. Diğer gelişme parametreleri olan klorofil-a, toplam karotenoid ve fikosiyanin miktarları protein miktarına paralel olarak aynı günde kontrol grubunda en yüksek değerlerine ulaşmışlardır. BG-11 besi ortamında da benzer sekilde EDTA yerine hümik ve fulvik asitler farklı derişimlerde eklenerek iki ayrı deneme yapılmıştır. *Chlorella vulgaris* 30 mg/L fulvik asit içeren ortamda, kontrol grubuna eş miktarda protein ve pigment derişimine ulaşmıştır. *Chlorella vulgaris* fulvik asit denemesinde hücre bileşenlerinin en yüksek değerlerine ulaştığı gün 14.gün olarak belirlemiştir.

Bulut 2009'da yaptığı çalışmada, besin eksikliği ve farklı azot kaynağı faktörlerinin *Chlorella vulgaris* türünde yağ içeriği ve protein miktarına olan etkilerini belirlemiştir. *Chlorella vulgaris* 8'er litrelik cam kavanozlarda kültüre alınmıştır. Kültürlerin bulunduğu ortam sıcaklığı 22 ±2 ºC olarak ayarlanmış ve 80 µmol m^{-2} s^{-1} ışık şiddeti uygulanmıştır. Kültürlere kompresör aracılığı ile havalandırma sağlanmıştır. Denemenin başladığı günden itibaren günlük olarak pH, optik yoğunluk ölçümleri yapılmış, kuru madde ve klorofil-a analizleri yapılarak miktarları belirlenmiştir. Kültüre % 50 N, % 100 N, % 50 P + % 50 N , % 50 P eksikliği ve Nitrit eklemesi yapılmıştır. Sonuç olarak, on güne ait protein ve lipit içerikleri sırası ile kontrol grubunda % 51 ve % 13, % 50 N eksikliğinde % 2,4 ve % 17, % 100 N eksikliğinde

% 13, % 35,6 , % 50 P + % 50 N eksikliğinde % 21,4, % 20,518, % 50 P eksikliğinde % 38,1, % 16,7 ve Nitrit eklemesinde % 41, % 13 olarak bulunmuştur. En yüksek yağ içeriği % 100 N eksikliği uygulanan grupta saptanmış olup bu gruba ait kuru madde ve klorofil-a değerleri sırası ile 0,18 g L^{-1} ve 9,252 mg L^{-1} olarak belirlemiştir

Richardson ve diğ., 1969 yılında yaptıkları çalışmada azot eksikliğinin tek hücreli algin yapısı ve büyümesi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Azot stresi (eksikliği) neticesinde *Chlorella sp*'nin % 3 oranında azot stresi ile 6. günde maksimum yağ asidi üretmesinin mümkün olduğu belirlenmiştir.

Azot eksikliğinin farklı *Chlorella* türlerinde (*C. Vulgaris, C. Emersonii, C. Protothecoides, C. Sorokiniana, C. Minutissima*) büyüme ve lipit içeriğine etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada 2 L fotobiyoreaktörlerde gerçekleştirilmiş hem normal koşullarda hem de düşük azot kısıtlamasında *C. vulgaris*'in çalışılan diğer dört türe göre en iyi hücre çoğalması (0,99 g/L) gösterdiği belirlenmiştir (Ilman ve diğ., 2000).

Uslu ve diğ., 2012 yılında yaptıkları çalışmada ise azot eksikliğinin farklı mikroalg (*Phaeodactylum tricornutum, Isochrysis, Affinis galbana, Porphyridium cruentum)* yağ içeriğine etkisi araştırılmıştır. Azot eksikliği %50 olduğu durumda ilk iki tür için %31 yağ içeriği elde edilmiştir. Fakat *Porphyridium cruentum* kullanımında azot eksikliğinin mikroorganizma büyüme ve yağ üretimine belirgin bir etkisinin olmadığı vurgulanmıştır.

Damiani ve diğ., 2010 yılında yaptıkları çalışmada *Haematococcus pluvialis* farklı koşullarda (azot ve ışık şiddeti kısıtlaması) kültüre alınmış ve yağ üretimine etkilerini incelemişlerdir. Yüksek ışık-azot sınırlamalı koşuluna kıyasla yüksek ışıkta büyüme oranının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Düşük azot derişiminde yüksek ışık şiddetinde lipit oranının %15,61'den %32,99'a arttığı saptanmıştır.

Tetraselmis sp. Türü ile F/2 besi ortamını kullanarak ve farklı azot stresinde mikroalgin yağ içeriğinin incelendiği çalışmada, mikroalg yağı biyodizel üretim tepkimesinde kullanmak üzere çözücü (kloroform-metanol) ekstraksiyonu ile elde edilmiştir. Besin ortamının azot eksikliğinde mikroalg yağ içeriği 508 mL/g olarak belirlenmiştir (Teo ve diğ., 2014a).

Wang ve diğ., 2016 yılında yaptıkları çalışmada *Chlorella protothecoides* kullanarak tuz stresi ile osmotik şoka uğratılan hücrelerdeki yağ içeriğini araştırmışlardır. Bu

amaçla BG-11 besi ortamına 97. saatin sonunda logaritmik büyüme fazında 10-50 g/L derişimlerde NaCl eklenmiştir. En yüksek yağ içeriğine (%41) 30 g/L NaCl varlığında ulaşılmış, stressiz koşullar altında ise %20 yağ içeriği belirlenmiştir.

Converti ve diğ., 2009 yılında yaptıkları çalışmada, *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella vulgaris* türü mikroalgleri yetiştirerek yağ içeriklerini arttırmayı hedeflemişlerdir. Besi ortamı koşullarını değiştirmeden sadece sıcaklık 20°C 'den 25°C 'ye artırdıklarında *N.oculata* türünün yağ içeriğinin %7,90'dan %14,92'ye yükseldiğini aynı zamanda *C. Vulgaris* türünün sıcaklığının 25 °C'den 30 °C'ye arttırdığında %14,71 olan yağ içeriğinin %5,90'a kadar düştüğünü belirlemişlerdir.

Sıcaklık koşulu sabit tutularak her iki besi yerindeki azot derişimini %75 düşürdüklerinde yağ içerikleri sırasıyla *N. Oculata* ve *C.vulgaris* için %7,91'den %15,31'e ,%5,90'dan %16,41'e yükseldiğini belirlemişlerdir.

Chlorella variabilis türü mikroalgin büyümesine ve lipit içeriğine azot kısıtlamasının, farklı azot kaynaklarının [inorganik (NO_3-N ve NH_4-N), organik üre], demir ve potasyum dihidrojen fosfat derişimleri ile fotobiyoreaktör yükseklik/çap (L/D) oranının etkileri araştırılmıştır. %25 azot kısıtlaması ile en yüksek mikroorganizma derişimi (0,66 g/L) ve en yüksek yağ içeriği (%25,6) elde edilmiştir. BG-11 besin ortamının 0,006 g/L derişime kadar demir içermesi durumunda 0,23 g/L hücre elde edilmiştir. 0,005 g/L KH_2PO_4 kullanılarak 0,14 g/L hücre derişimi ve %12,3 lipit içeriği , L/D oranının 3 olmasıyla ise 1 g/L hücre derişimi ve %21 lipit içeriği elde edilmiştir. NH_4-N ve NO_3-N varlığında benzer sonuçlar elde edildiği ürenin ise bu tür için uygun olmadığı belirlenmiştir. Fotobiyoreaktörün yükseklik/çap oranının artmasıyla biyokütle miktrarının yaklaşık 2 kat arttığı gözlenmiştir (Altın, 2017).

Chu ve diğ., 2013 yılında yaptıkları çalışmada farklı ortamlarında (azot eksikliği, fosfor eksikliği, azot ve fosfor eksikliği) *Chlorella vulgaris*'in yağ üretim davranışını incelemişlerdir. Azot eksikliği uygulanan koşullarında ortamda yeterli fosfor olması ile birlikte maksimum yağ (58,39 mg L^{-1} $gün^{-1}$) üretimi belirlenmiştir.

Nigam ve diğ., 2011 yılında *Chlorella pyrenoidosa* türü mikroalgin azot (KNO_3) kısıtlamasının büyüme ve yağ üretimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Fogg besin ortamı kullanılarak florasan lamba aydınlatılmasıyla mikroorganizma 25 °C'de 24 saat kültüre alınmıştır. Ortamda olması gereken azot miktarı 0,2 g/L'dir. Azot yokluğuğunda az büyüme olmuş 24. gün sonunda maksimum hücre (0,4 g/L) derişimi elde edilmiştir. Azot kaynağı derişimi 0,2 g/L'den 0,1 g/L'ye azalması ile

yağ içeriği %15'ten %18'e yükselmiştir. En yüksek yağ içeriği (%26) %75 azot kısıtlamalı ortamda elde edilmiştir.

Işık kaynağı etkisi:

Hulberg ve diğ., 2014 yılında yaptıkları çalışmada, 6 farklı ışık kaynağının (sarı, kırmızı, mavi, yeşil, beyaz ve mor ışık) *Chlorella vulgaris* mikroalg türünün büyümesi üzerine etkilerini araştırmışlar, sarı, kırmızı ve beyaz ışığın etkisinde büyümenin gerçekleştiği, en yüksek büyüme hızına ise beyaz ışıkta ulaştıklarını belirlemişlerdir.

Farklı dalga boylarının mikroalg büyümesi üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla, *Nannochloropsis oculata ile* kırmızı (680 nm), beyaz, mavi (470 nm) ve yeşil led (550 nm) ışıklar (Das ve diğ.,2011), *Nannochloropsis sp*. ve *Tetraselmis sp*. türü mikroalgler ile mavi, kırmızı, led ışıklar ve beyaz floresan ışık (Teo ve diğ., 2014b), *Chlorella vulgaris türü ile mavi, parlak beyaz, yeşil ve kırmızı ışık* (Blair ve diğ., 2014.) kullanılarak incelemeler yapılmış, her üç çalışmada da mavi ışıkta büyüme en fazla olmuştur.

Pirinç 2014, yaptığı çalışmada, *Nannochloropsis oculata*, *Tetraselmis chuii*, *Dunaliella salina*, *Chlorella sp*. mikroalg türleri ile farklı ışık kaynaklarında (floresan, sarı, beyaz, kırmızı, mavi led ve ekonomik ampul), en yüksek hücre yoğunluğu, *Nannochloropsis oculata* için, ekonomik ampul ve floresan lamba kullanımında elde edilirken, *Tetraselmis chuii* için floresan ve sarı led, *Dunaliella salina* için ekonomik ampul, *Chlorella sp*. için ise ekonomik ampul kullanımı uygun olmuştur. Ek olarak, mavi ışık gibi kısa dalga boylu ışıkların fotosentez için daha fazla enerji gerektirdiğini ve fotoinhibisyona neden olduğunu belirtmiştir.

Dunaliella salina sp., *Palmellopsis muralis,* mikroalg türleri üzerine farklı ışık kaynaklarının (kırmızı, sarı, mavi, beyaz) büyüme üzerine etkilerini inceleyen bir diğer çalışmada, iki mikroalg türü için de beyaz led ışık etkisi altında en yüksek büyüme hızına ulaştığı belirlenmiştir (Gezici., 2012).

Işık döngüsü etkisi:

Fotosentez için sürekli aydınlatma yapılması bazı araştırmalara göre hücreler üzerinde olumsuz sonuçlara neden olmaktadır. Bu olumsuz koşulu engellemek için fotosentez yapan mikroalg hücrelerinin kendilerini yenileyebilmeleri için, karanlık periyoda ihtiyaç olduğu vurgulanmaktadır (Wu ve Merchuk., 2001).

Chlorella salina türü mikroalg türü ile yapılan bir diğer çalışmada, 500 lüx ışık şiddetinde 200 litrelik fotobiyoreaktörde 12 saat gece 12 saat gündüz aydınlatma uygulanarak 15 günde maksimum hücre derişimi elde edilmiştir. Besi ortamı olarak Walne kullanılmıştır. Çalışmanın diğer aşamasında mikroalgin yağından lipaz katalizli biyodizel üretimine etki eden parametreleri araştırmışlardır. Kullanılan lipazın özelliği ve kaynak mikroorganizması belirtilmemiştir (Surendhiran ve diğ., 2013).

Renaud ve diğ., 2002' de yaptıkları çalışmada *Isochrysis sp*., *Chaetoceros sp*., *Rhodomonas sp*. ve *Cryptomonas sp*. mikroalg türlerini 12:12 aydınlık-karanlık periyodu uygulayarak kültüre alıp; kimyasal bileşimleri ile yağ asitleri bileşimlerini incelemişlerdir. 25°C'de *Chaetoceros sp*. %16,8 değerinde en yüksek lipit içeriğine sahipken, 27-30°C'lerde en yüksek lipit içeriği %21,7 ile *Isochrysis sp*.'de belirlenmiştir.

B. braunii mikroalg türünü %75 N sınırlamasında, 10:14 aydınlık-karanlık periyodu uygulayarak büyüme ve lipit üretim miktarını gözlemleyen bir başka çalışmada, 20 gün sonunda sürekli aydınlatılan kültüre göre günlük biyokütle %6,8'den %2,9'a düşerken, lipit oranı ise %21'e yükseldiği belirlenmiştir (Zhila ve diğ., 2005).

Krzeminska ve diğ., tarafından 2015 yılında yapılan çalışmada *Chlorella protothecoides* türü kullanılarak aydınlık/karanlık döngülerinin (12/12 h, 16/8 h, 24/0 h) büyüme hızına ve lipit içeriğine etkileri araştırılmış, en yüksek mikroorganizma derişimine 16/8 aydınlık/karanlık döngüsünde ulaşılmış, en yüksek yağ içeriği ise 24 saat aydınlık döngüsünde azot kısıtlaması olmaksızın elde edilmiştir.

Farklı ışık döngülerinin *P. Cruentum* mikroalgin büyümesi üzerine etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada, aydınlık-karanlık periyodu (12/12 h, 6/18 h, 0/24 h) ve CO_2 karbon kaynağının, mikroalg yağ miktarının değişimine etkilerini araştırmışlardır. En fazla lipit oranı %19,3 ile 12:12 aydınlık-karanlık periyodu uygulanan grupta belirlenirken; en düşük lipit %2,2 ile sürekli karanlık ortamda, maksimum biyokütle ise 2,1g/L ile 12:12 ve 18:6 periyod uygulanan gruplarda olduğu belirlenmiştir (Oh ve diğ., 2009).

Uslu 2012' de yaptığı çalışmasında *I. affinis galbana*, *P. tricornutum* ve *P. cruentum* türlerini, 16:8 saat aydınlık-karanlık etkisi altında farklı azot derişimlerinde hazırlanan F/2 ve Si-F/2 besin ortamlarında kültüre almıştır. Azot kısıtlaması her türde klorofil a değerlerinde azalma, lipit oranında ise artışa neden olmuştur. En

fazla lipit elde edilen türleri, %50 azot kısıtlaması durumunda %30,9 lipid ve 0,75 g/L biyokütle ile *I. affinis galbana*, %30,2 lipid ve 0,98 g/L biyokütle ile *P. tricornutum*'da oldukları belirlenmiştir. En fazla biyokütlenin elde edildiği *P. cruentum*'da lipid içeriği diğer iki türe göre oldukça düşük olmuştur.

Gezici 2012 yaptığı çalışmada iki farklı mikroalg türü (*Palmellopsis muralis Dunaliella salina sp*.) üzerine, aydınlık karanlık döngüsünün mikroorganizma büyüme üzerine etkileri incelenmiştir. Deneysel çalışmalar sonucunda her iki tür içinde 24 saat sürekli aydınlık koşulunda en yüksek biyokütle içeriği elde edildiği belirlenmiştir.

Eduardo ve diğ., 2009 *Aphanothece microscopicanageli* türü mikroalgi 0:24, 2:22, 4:20, 6:18, 8:16, 10:14, 12:12, 14:10, 16:8, 18:6, 20:4, 22:2 ve 24:0 (karanlık:aydınlık) döngüsünün biyokütle miktarı üzerine etkilerini araştırdığı bir diğer çalışmada en yüksek mikroorganizma derişimi (0,770 g/L) 24 saat aydınlık döngüsünde elde edilmiştir.

Koru ve Cırık 2003 yılında yaptıkları çalışmada *Spirulina platensis*'in 2000 lux ışık şiddetinde ve 28 ºC- 45 ºC sıcaklık aralığında büyüme davranışını incelemişlerdir. Sıcaklık 43 °C sıcaklıkta protein içeriğinin %20 azalmış, lipit içeriği %45, karbonhitrat içeriği ise %32 artmıştır. *Spirulina platensis*'in büyümesi ve biyokimyasal özellikleri için en uygun sıcaklığın 35 ºC olduğu belirtilmiştir.

*Micractinium*sp. ve *Scenedesmus*sp.'nin biyokütle ve yağ üretimlerinin incelendiği diğer bir çalışmada, kültür koşulları 30 ºC gündüz/ 16 ºC gece 16:8 aydınlık/karanlık döngüsü kullanılmıştır. 30 ºC gündüz/ 16 ºC gece döngüsünde mikroalglerin yağ verimlilikleri sırasıyla 30.21 $mgL^{-1}d^{-1}$ ve 6.7 $mgL^{-1}d^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Azot ve fosfor kısıtlamalı koşullarda *Micractinium* sp. çoğalmış ve fosfor kısıtlamasında 85,4 2 $mgL^{-1}d^{-1}$ ile en yüksek yağ ieçeriği elde edilmiştir. Aynı zamanda oleik asit miktarının da 8 kat artmıştır (Sönmez ve diğ., 2016).

Atık su arıtımı ile ilgili çalışmalar:

Mikroalgler atık sularda zengin olarak bulunan organik elementleri (C,N,P) tüketerek büyüyebilirler ve aynı zamanda atık suyu arıtırlar. Arıtma sonunda elde edilen biyokütleden değerli ürünler (yağ, protein,karbonhidrat) elde edilebilinir. Örneğin elde edilen yağlar alternatif yakıtların üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanım potansiyeline sahiptirler. Literatürde tez çalışmasında kullanılan üç farklı mikroalg

türünün atık su arıtma yeteneğini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Farklı mikroalg türleri ile yapılan bazı çalışmalar Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Endüstriyel atık suların arıtımında mikroalglerin kullanımı

Atıksu	Mikroalg	Giderim kapasitesi	Biyokütle üretimi	Yağ içeriği	Kaynak
Odun kağıt	(*Chlorella, Chlorococcum,* *Chlamydomonas, Pandorina,*	%COD :60 %85	Etkin değil	Etkin değil	Tarlan ve diğ.,2002
Soya Fasulyesi Endüstrisi	*C. pyrenoidosa*	%TN:88 %COD: 78	0.64 $g^{-1}d^{-1}$	0.40 $g^{-1}d^{-1}$	Hongyang ve diğ.,2011
Domuz eti	*C. pyrenoidosa*	TN: %83 TP: %75	0.04 $g^{-1}d^{-1}$	6,3 $g^{-1}d^{-1}$	Wang ve diğ., 2008
Bira	*C.vulgaris* (UTEX-265) *Chlorella sp.*	TN: %88 TP: %80	2.28 $g^{-1}d^{-1}$	108 $mg^{-1}d^{-1}$	Farooq ve diğ., 2013
Peynir altı	*Scenedesmus obliquus*	$NO^{3-}$and NH_4 ppm	5 $g^{-1}d^{-1}$	19.2 $mg^{-1}d^{-1}$	Girard ve diğ., 2014
Taichung Sanayi bölgesi atık suları	*Chlamydomonas sp TAI-2*	NH_4%100	1.34 g l^{-1}	0.34 g l^{-1}	Wu ve diğ., 2012
Mandıra	*Chlamydomonas polypyrenoideum*	COD: %80 P: %69 N:%62 NH_3 %63	3.8 g l^{-1}	1.6 g l^{-1}	Kothari ve diğ., 2013
Peynir altı endüstrisi	*C.Vulgaris*	N: > 0.5 g l^{-1}	5.8-8.3 g l^{-1}	1.1 g l^{-1}	Mitra ve diğ., 2012
Sitrk asit üretim tesisi	*C.Vulgaris* *C9-JN2010*	COD: %94 N: %94 P:%91 NH_4 %10	0.765 g l^{-1}	255mg^{-1}	Li ve diğ., 2013

Heteretrof ve miksotrof yetiştirme ile ilgili çalışmalar arasında Liang ve diğ., 2009 yılında *Chlorella vulgaris*'de farklı büyüme koşullarında yağ içeriğindeki değişimi araştırmışlardır. Kültürler ototrofik ve heterotrofik olarak büyümeye alınmışlar, ototrofik büyüme ile daha yüksek yağ içeriği (%38) heterotrofik büyümede ise glukoz, asetat ve gliserol kullanımı ile çok daha az yağ üretimi olduğunu belirtmişlerdir.

Literatürde bazı mikroalg türlerininin büyümeleri ve yağ üretim mekanizmalarını inceleyen önemli çalışmalar heteretrof ve miksotrof koşullar için sırasıyla Tablo 2.2 ve 2.3'de verilmiştir.

Tablo 2.2. Farklı mikroalg türlerinin heteretrof büyümelerinin incelendiği araştırmalar

Mikroalg	Karbon kaynağı	Amaç	X_{max} ($g.l^{-1}$)	Yağ içeriği (%)	Kaynak
Chlorella protothecoides	Gliserol	Biyodizel	5,2	50,3	Xiong ve diğ., 2008
Chlorella protothecoides	Gliserol	Biyodizel	12,8	48,7	..i ve diğ., 2007
Crypthecodiniu cohnii	Gliserol	Dokosaheksaenoik asit	83	42	Swaaf ve diğ., 2003
Crypthecodinium cohnii	Gliserol	Dokosaheksaenoik asit	10,9	56	Swaaf ve diğ., 2003
Chlorella	Gliserol	Dokosaheksaenoik asit	116,2	-	Qu ve diğ., 2008
Galdieria sulphuraria	Gliserol	Fikosiyanin	109	-	Graverholt ve Eriksen, 2007
Chlorella protothecoides	Gliserol	Biyodizel	45,2	54,2	Chen ve Walker, 2011
Chlorella sorokiniana	*Asetat Bütirat*	-	2,23	-	Turon ve diğ., 2015
Chlorococcum sp. RAP13	*Süt endüstri*	Biyodizel	0,8	42	Beevi ve Sukumaran, diğ.,2015

Tablo 2.3. Farklı mikroalg türlerinin miksotrof büyümelerinin incelendiği araştırmalar

Mikroalg	Karbon kaynağı	Amaç	X_{max} ($g.l^{-1}$)	Yağ içeriği (%)	Kaynak
Spirulina platensis	Glikoz ve Asetat	-	2,7 ve 1,8	-	Chen ve diğ., 1996
Spirulina Sp.	Melas	-	2,9	-	Andrade ve Costa, 2007
Chlorella vulgaris	Gliserol	Bioyakıt	4,54	12,20	Jeong ve Sung-Whan, 2015
Botryococcus braunii	Gliserol	Bioyakıt	4,62	13,11	Jeong ve Sung-Whan, 2015
Scenedesmus sp.	Gliserol	Bioyakıt	5,42	9,30	Jeong ve Sung-Whan, 2015
Chlorella vulgaris	Glikoz	Bioyakıt	8,35	Artmış	Roostaei ve diğ., 2018
Scenedesmus dimorphus			3,78	Azalmış	
Chlorella kessleri	*Glikoz*	Biodizel	9,0	50	Hanafy ve diğ., 2013

Biyodizel üretimi ile ilgili çalışmalar:

Biyodizel üretiminde mikrobiyal yağların hammadde olarak kullanılması son yıllarda öne çıkmaktadır. Konu ile ilgili olarak literatürde kimyasal katalizli biyodizel üretimi üzerine çeşitli çalışmalar yer almaktadır. Fakat mikroalg üretimi ve yağından enzimatik biyodizel üretimi üzerine yapılmış sınırlı sayıda çalışma vardır.

Kimyasal (Sülfirik asit) katalizörlüğünde yapılan bir çalışmada *Chlorella Protothecoides* alg yağı ile %80 yağ asidi metil ester (YAME) içeriği elde edilmiştir (Xu ve diğ., 2006).

Aynı mikroalg türü kullanılarak yapılan bir diğer çalışmada potasyum hidroksit katalizörlüğünde %96 YAME içeriği elde edilmiştir (Yılmaz ve diğ., 2012).

Nannochloropsis oculata türü mikroalg yağının kullanımında ise heterojen katalizör (CaO ve MgO destekli alümina) varlığında %97 olmuştur (Umdu ve diğ., 2009).

Xiong ve diğ., 2008 ’de yaptıkları çalışmada heteretrofik koşullarda üretilen *Chlorella Protothecoides* alg yağı ve metanol ile ticari tutuklu lipaz *Candida sp.*varlığında 12 saatlik transesterleşme tepkimesi sonucu %98 YAME içeriği elde etmişlerdir. Ancak ortama eklenen katalizör miktarı kütlece %75 gibi yüksek bir orandadır. Yüksek miktarda lipaz kullanılması ekonomik değildir.

Chlorella vulgaris yağı (yağ içeriği %40 w/w) ile ticari tutuklu *Penicillium expansum* ve Novozyme 435 lipazları katalizörlüğünde yapılan başka bir çalışmada 48 saat sonunda YAME içeriği, her bir lipaz türü için çözücü olarak iyonik sıvı kullanıldığında sırasıyla %90 ve %86 olarak, ter-bütanol kullanıldığında ise %48 ve %44 olarak elde edilmiştir. İyonik sıvılar verimi artırmakla beraber, üretim maliyetini de büyük oranda artırmaktadırlar (Lai ve diğ., 2012).

Chlorella vulgaris alg türü fotobiyoreaktörde üretilmiş ve alg yağı ekstrakte edilerek yapılan bir diğer çalışmada, ticari tutuklu *Burkholderia sp.* lipazı katalizörlüğünde alg yağı ve parçalanmış alg biyokütlesi (yağ içeriği %63) ile yapılan biyodizel üretimleri sonucunda sırasıyla, %72 ve %97 YAME içeriği elde edilmiştir (Tran ve diğ., 2012).

Shafiee ve diğ., 2015’de yaptıkları çalışmada *Chlorella vulgaris* alg yağını kullanarak, Novozyme 435 katalizörlüğünde etil asetat ile esterleşmesini incelemişler ve etil asetat/yağ mol oranı 13:1 olacak şekilde 40 °C sıcaklık ve 72 saatlik tepkime sonucunda %66.71 YAME içeriği elde etmişlerdir.

Nannochloropsis oceanica türü mikroalg yağının *Candida antarctica* lipazı katalizörlüğünde ter-bütanol çözücü (yağ/çözücü 1/7 w/w) varlığında metanol (alkol/yağ mol oranı12/1w/w) ile 4 saat 25 °C sıcaklıkta transesterleşmesi sonucunda %99 YAME içeriği elde edilmiştir (Wang ve diğ., 2014).

Bu tez çalışması kapasamında çalışmada üç farklı mikroalg türünün farklı çevresel ve kimyasal etkiler altında yağ üretim potansiyelleri ve büyüme davranışları incelenmiştir. Elde edilen farklı yağ asidi bileşimine sahip yağların biyodizel üretiminde hammadde olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Mikroalg Türleri

Araştırmalarda kullanılan mikroalg türleri olan *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6* İstanbul Medeniyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nden *Chlorella protothecoides* Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü'nden temin edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan mikroalg türlerinin temsili katı kültür ortamı Şekil 3.1' de verilmektedir.

Şekil 3.1. Mikroalg türlerinin katı kültür ortamı

3.2. Kültür Ortamı

Çalışmada kullanılan tüm mikroalg kültürleri oda sıcaklığında petri kaplarında saklanmaktadır. Katı ortam Blue-Green (BG-11) kültür ortamına 15g/L agar eklenerek elde edilmektedir. Sıvı stok kültür üretimleri yine BG-11 besin ortamında yapılmıştır. BG-11 besin ortamında olması gereken kimyasallar Tablo 3.1'de verilmiştir. Kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma-Aldrich ve Merck firmasından satın alınmıştır. Stok kültürlerin besi ortamı saf su ile hazırlanmış ve 121 ºC'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Tablo 3.1. BG11 besi ortamı (1000 ml için)

Kimyasal	Miktar (g)
Sodyum nitrat ($NaNO_3$)	1,5000
Potasyum di hidrojen fosfat (KH_2PO_4)	0,0400
Magnezyum sülfat hepta hidrat ($MgSO_4.7H_2O$)	0,0750
Kalsiyum klorür di hidrat ($CaCl_2.2H_2O$)	0,0360
Borik asit (H_3BO_3)	0,0029
Sodyum karbonat (Na_2CO_3)	0,0200
Sitrik asit ($C_6H_8O_7$)	0,0060
Demir(III) sitrat ($C_6H_5FeO_7$)	0,0060
Vitamin	0,0200
*Agar	15

*Katı besin ortamı için

3.3. Cihazlar

Çalışmalarda kullanılan tüm cihazlar Kocaeli Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü Biyoteknoloji Laboratuarının altyapısında bulunmaktadır. Mikroorganizmaların optik yoğunluk ölçümleri Jenway 6800 UV-VIS spektrofotometre, sıcaklık ve pH ölçümleri MettlerToledo Seven Easy S20-K pH metre yardımıyla yapılmıştır. Analizlerde ve stok kültür besi yeri hazırlamada kullanılan saf su Minipore Dest model saf su cihazından temin edilmiştir. Ayrıca otomatik mikropipetler (100µL, 1000µL, 5mL) (Brand), analitik terazi (Kern 320), orbital çalkalamalı inkübatör New (Brunswick Scientific Innova 40), küçük ve büyük hacimli mikroorganizma çöktürme işlemlerinde sırasıyla Hettich Mikro 220 R ve Hermle Z 446 santrifüj cihazları, ışık şiddeti ölçümlerinde Extech HD450 marka ışık ölçer cihazları kullanılmıştır. Ayrıca mikroorganizmalardan elde edilen yağların yağ asidi bileşimleri tayininde Agillent 7820A model gaz kromotgrafi cihazı kültürlerin karışmasını sağlamak amacı ile IKA marka ısıtıcılı manyetik karıştırıcılar kullanılmıştır. Kullanılan cihazlar şekil 3.2’de görülmektedir.

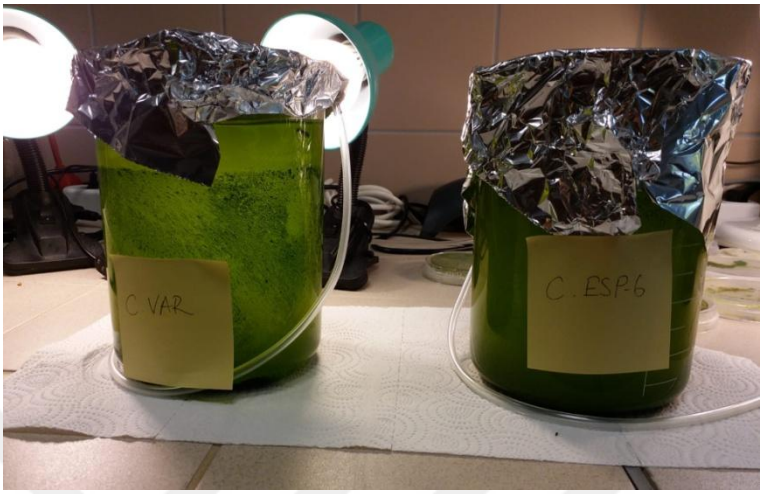
Şekil 3.2. Araştırmalarda kullanılan cihazlar (a) Hermle Z 446 santrifüj (b) Minipure saf su cihazı,(c) MettlerToledo Seven Easy S20-K pH metre, (d) Kern hassas terazi,(e) New Brunswick Scientific Innova 40 R orbital çalkalamalı inkibatör (f) Mikropipet, (g) Agill ent 7820A Gaz kromotografisi, (h) Extech ışık yoğunluk ölçer, (ı) IKA manyetik karıştırıcı, (j) Jenway 6800 UV-VIS spektrofotometre.

3.4. Deneysel Yöntem

3.4.1. Stok kültürlerin üretimi

Katı ve sıvı besi ortamı pH değerleri başlangıçta 7,08 olacak şekildedir. Kültürlerin aydınlatılması 3,80 Klüx yüzey ışık şiddeti sağlayan 7W 2400K değerine sahip OSRAM marka led ampüller kullanılarak 24 saat süre ile sağlanmıştır. Kültür üretimi boyunca sıcaklık 25 ± 2 ºC olacak şekilde sabittir. Sıvı kültürlere hacimlerinin %6'sı kadar alg aşılaması yapılmıştır.Katı kültürlere ise steril L tipi bagetler yardımı ile önceki kültürlerden alınıp çizerek aşılama yapılmıştır. Sıvı kültürlere hava beslemesi (10L/saat) hava pompası ile sağlanmıştır. Sıvı stok kültür üretim düzeneği Şekil 3.3'de görülmektedir. Sıvı kültrlerin belirli zaman aralıklarında UV

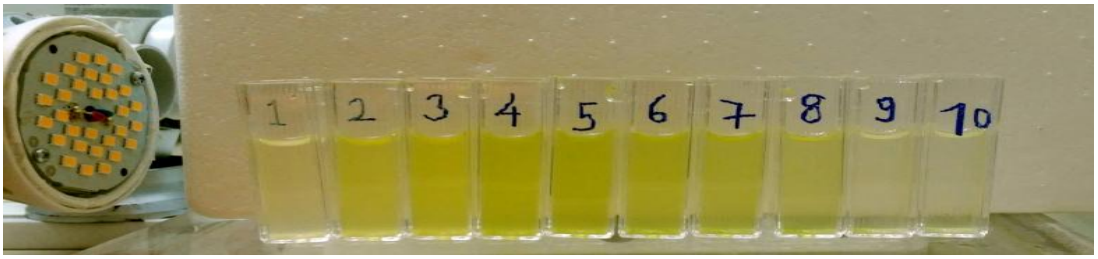
spektrofotometre yardımı ile 600 nm de absorbansları ölçülmüştür.Duraklama evrelerinde kültürler yenilenmiştir. Katı kültür petri ortamları yaklaşık ayda bir yenilenmiştir.



Şekil 3.3. Stok kültürlerin üretimi

3.4.2. Işık yoğunlunun mikroorganizma büyüme üzerine etkisi ve en uygun fotobiyoreaktör kalınlığının belirlenmesi.

Işık şiddetinin *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızı üzerine etkisinin araştırılması amacı ile 2 ml hacminde genişliği 1 cm olan spektrofotometre küvetleriard arda dizilerek kullanılmıştır. BG-11 besi ortamı varlığında aydınlatma 7W 2400K değerinde sahip led ampül ile sağlanmıştır. Oda sıcaklılığında gerçekleştirilen deney düzeneği şekil 3.4'de görülmektedir. Işık ilk küvetten 2,25 cm uzaklıkltadır. Belirli aralıklar ile UV-VIS spektrofotometre ile 600nm'de absorbans, Mettler Toledo pH metre ile sıcaklık ve pH ölçümü yapılarak büyüme izlenmiştir.



Şekil 3.4. Farklı ışık yoğunluklarında C.variabilis kültür üretimi deney düzeneği (1: 80 Klüks, 2: 50 Klüks, 3: 36 Klüks, 4: 25 Klüks, 5: 17 Klüks, 6: 12 Klüks, 7: 8.5 Klüks, 8: 6.4 Klüks, 9: 4.5 Klüks, 10: 3.6 Klüks)

3.4.3. Azot sınırlamasının (stres) farklı tür mikroalglerin büyüme ve yağ içeriğine etkisi

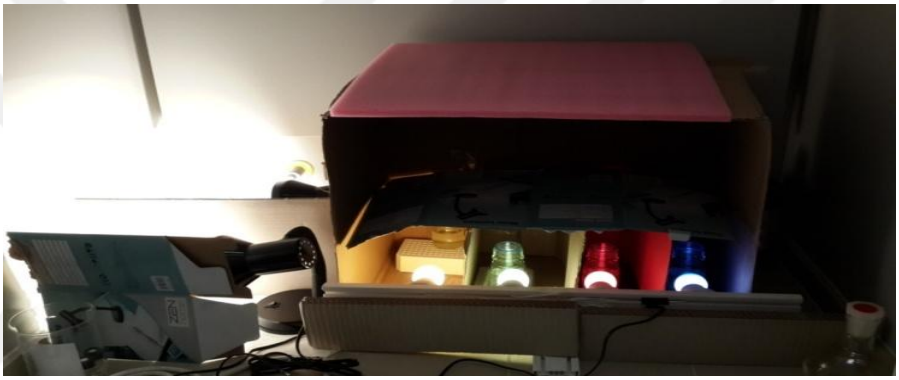
Farklı mikroalg türleri (*Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6, Chlorella protothecoides*) 250'şer mililitrelik cam erlenlerde 100 ml sıvı hacmi kullanılarak kültüre alınmıştır. Kültür ortamına hacimce %6 oranında aşılama yapılmıştır. Kültürlerin bulunduğu besi ortamında (BG-11) mikroorganizmanın ürettiği yağ içeriğini arttırması amacıyla farklı oranlarda (%0-25-50-75-100) azot (N) kısıtlaması uygulanmıştır. Azot sınırlaması BG-11 besi ortamında bulunması gereken (1,5r/L) azot kaynağınınbelirli yüzdelerde ortama verilmesidir. Örneğin %75 azot kısıtlı bir ortam içerisinde %25 (0,375 g/Lt) azot kaynağı bulunmaktadır. Deney düzeneği Şekil 3.5'de görülmektedir. Kültürlere IKA marka manyetik karıştırıcıda 200 devir/dk. karıştırma sağlanmıştır. Ortam sıcaklığı 25 ± 2 ^{o}C'dir. Havalandırma TETRA marka hava pompaları ile 10L/h olacak şekilde yapılmıştır. Aydınlatma 7W 2400K değerinde sahip 4 adet OSRAM marka led ampül ile sağlanmıştır. Belirli zaman aralıklarında 600 nm'de absorbans ölçülerek büyüme izlenmiştir. Kültür 15 gün sürmüştür.

Şekil 3.5. Azot kısıtlaması deney düzeneği

3.4.4. Farklı ışık kaynaklarının ve aydınlık-karanlık döngüsünün mikroorganizma büyüme ve yağ üretimin üzerine etkisi

Farklı ışık kaynaklarının mikroorganizma türlerinin büyüme hızı üzerine etkisinin araştırılması amacı ile mikroalgler 100 ml hacminde otoklav şişelerinde 95 ml sıvı kültüre alınmışlardır. Kültürler de karıştırma yoktur ve havalandırma yüzeyden olacak şekilde doğaldır. Besi ortamı BG-11'dir ve azot kısıtlaması olmadan

kullanılmıştır.Kültür ortamına hacimce %6 oranında aşılama yapılmıştır. Aydınlatma şiddeti 3 Klüks değerlerine sahip Osram marka led 3,16 Klüks General Elektrik marka tungsten ve aydınlatma değerleri, 0,81 Klüks, 0,22 Klüks, 0,32 Klüks, 0,82 Klüks olan sırasıyla yeşil,sarı,mavi,kırmızı Philips marka ampüller ile sağlanmıştır. Deney düzeneği Şekil 3.6' da görülmektedir. Aydınlık karanlık döngüsünün (12:12, 10:14, 14:10) (aydınlık:karanlık) mikroorganizmaların büyüme ve yağ içeriğine üzerine etkileri 3 Klüks led ampül varlığında denenmiştir. Fujika marka mekanik zaman ayarlı prizler kullanılarak döngüler sağlanmıştır. Aydınlık-karanlık döngüsü deney düzeneği Şekil 3.7' de görülmektedir. Belirli aralıklar ile UV-VIS spektrofotometre ile 600nm'de absorbans, Mettler Toledo pH metre ile sıcaklık ve pH ölçümü yapılarak büyüme izlenmiştir.



Şekil 3.6. Farklı ışık yoğunluklarında mikroalglerin kültür üretimi deney düzenekleri

Şekil 3.7. Aydınlık-karanlık döngüsünde mikroalglerin kültür üretimi deney düzenekleri

3.4.5. Farklı ışık şiddetlerin mikroalg kültürlerinin büyümesi ve yağ üretimine etkisi (Fototrof)

Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella variabilis*, *Chlorella protothecoides* ve *Chlorella ESP-6* türlerinin büyüme hızı ve yağ üretimi üzerine etkisinin araştırılması amacı ile mikroalgler 100 ml hacminde otoklav şişelerinde 95 ml sıvı kültüre alınmışlardır.

Kültürler de karıştırma yoktur ve havalandırma yüzeyden olacak şekilde doğaldır. Besi ortamı olarak BG-11 kullanılmıştır.Kültür ortamına hacimce %6 aşılama yapılmıştır. Aydınlatma ise Orsam marka led ampüller ile sağlanmıştır. Farklı ışık şiddetleri (0,8 Klüks, 2 Klüks, 3 Klüks ve 4 Klüks)) ampüllerin uzaklaştırılması ve/veya yakınlaştırılması ile sağlanmıştır. Deney düzenekleri başka kaynaktan ışık almayacak şekilde kapalı odalarda yapılmıştır. Işık şiddetleri Extech HD 450 marka lüksmetre ile ölçülmüştür. Deney düzeneği Şekil 3.8'de görülmektedir. Belirli aralıklarla UV-VIS spektrofotometre ile 600nm'de absorbans, Mettler Toledo pH metre ile sıcaklık ve pH ölçümü yapılarak büyüme izlenmiştir.

Şekil 3.8. Işık şiddeti etkisinin incelendiği mikroalglerin kültür üretimi deney düzeneği

3.4.6. Heterotrof ve miksotrof koşulların mikroalg kültürlerinin büyümesi ve yağ üretimine etkisi

Heterotrof ve miksotrof koşulların *Chlorella variabilis*, *Chlorella protothecoides* ve *Chlorella ESP-6* türlerinin büyüme hızı ve yağ üretimi üzerine etkisinin araştırılması amacı ile mikroalgler 100 ml hacminde erlenlerde 75 ml sıvı kültüre alınmışlardır. Kültürler de karıştırma yoktur ve havalandırma yüzeyden olacak şekilde doğaldır. BG 11 kültür ortamına hacimce %6 aşılama yapılmıştır. Aydınlatmada Orsam marka led ampüller ile sağlanmıştır.Heteretrof koşullar için besi ortamlarına sırası ile 2 ve 5 g/L derişimlerde saf gliserol eklenmiştir. Miksotrof koşullarda aydınlatma şiddeti 4 klüks olacak şekilde Osram marka led ampüller ile ayarlanmıştır.Deney düzenekleri başka kaynaktan ışık almayacak şekilde kapalı odalarda yapılmıştır. Belirli aralıklarla UV-VIS spektrofotometre ile 600nm'de absorbans, Mettler Toledo pH metre ile sıcaklık ve pH ölçümü yapılarak büyüme izlenmiştir.

3.4.7. *Chlorella variabilis* ve *Chlorella ESP-6* türü mikroalglerin farklı endüstriyel atık sularını arıtımında kullanımı

Beyaz eşya ve gazlı içecek endüstrisi atık sularının arıtım potansiyeli incelemek amacı ile mikroalgler 250'şer mililitrelik cam erlenlerde 200 ml kültür hacminde, INNOVA 40 marka çalkalamalı inkübatörde, 200 rpm çalkalama hızında, 27 °C'de kültüre alınmıştır. Besi ortamı laboratuarda hazırlanan BG11 yerine arıtma amacı ile kullanılan farklı endüstriyel tesislerden ve bu tesislerin evsel atık sularından temin edilmiştir. Atık sular doğrudan üretim sonucunda depolama tankından alınmıştır. Beyaz eşya fabrikasına ait evsel atık su özellikleri Tablo 3.2'de endüstriyel atık su özellikleri ise Tablo 3.3'de verilmiştir. Gazlı içecek tesisleri endüstriyel atıksu özellikleri Tablo 3.4'de verilmiştir. Arıtım için *Chlorella variabilis veChlorella ESP-6*türü mikroalgler kullanılmıştır. Tesislerden de alınan atık sular besi ortamı olarak kullanılmadan önce 4000 rpm de 20 dakika santrifüj edilerek içindeki katı safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Daha sonra farklı oranlarda (% 0-10-20-30-40-50) şebeke suyu ile seyreltilerek besi ortamı haline getirilmiştir. Seyreltmenin amacı atık sularda yüksek derişimlerde varolabilen bileşenlerin mikroorganizma çoğalması üzerine olumsuz etkilerinin önüne geçmek ve başlangıçta ortama uyum sağlamasını kolaylaştırmak içindir. Kültürlerde, belirli aralıklarla UV-VIS spektrofotometre ile 680nm'de absorbans, Mettler Toledo pH metre ile sıcaklık ve pH ölçümü yapılarak büyüme izlenmiştir.Kültür sonunda mikroalgler santrifüj ile atık su (besi ortamı) ndan ayrılarak yağ miktarı analizleri ve yağ asidi bileşim tayinleri yapılmıştır. Arıtım sonrası atık sularkarakterizasyon için ilgili işletmelerin atık su çevre analiz laboratuarlarına gönderilerek analiz edilmişlerdir.

Tablo 3.2. Beyaz eşya fabrikası evsel atık su değerleri

Parametre	mg/L
KOİ	1736
TKN	65,7
Toplam P	11,4

Tablo 3.3. Beyaz eşya fabrikası endüstiyel atık su değerleri

Parametre	mg/L
Bakır	0,05
Krom (C+6)	0,01
Kadmiyum	0,1
Sülfür	2
Toplam P	20

Tablo 3.4.Gazlı içeçek fabrikası endüstriyel atık su değerleri

Parametre	mg/L
TKN	17,9
KOİ	4520
Top P	14,5

3.4.8. Mikroorganizmların hasat işlemi

Kültürlerde logaritmik evrenin bitimi ve duraklama evresinin izlenmesi, optik yoğunluk değerlerine göre yapılmıştır. Deneyin sona erdirilmesinden hemen sonra santrifüj yardımı ile kültürler 4000 rpm de 5 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Büyük ölçekli üretimlerde (>500 ml) (Hermle Z 446 santrifüj cihazı), küçük ölçekli(<500 ml) üretimlerde Hettich Mikro 220 R santrifüj cihazları kullanılmıştır.

3.4.9 Mikroorganizmların kurutma işlemi

Santrifüj edilen yaş mikroorganizmalar santrifüj tüplerinde 60 ºC' de altı saat süre ile Visewen marka etüvde sabit tartıma ulaşıncaya kadar kurutulmuştur**.**

3.5. Analiz Yöntemleri

3.5.1. Mikroalglerin optik yoğunluk ölçümü

Steril 1 ml'lik mikropipet yardımı ile kültür ortamından örnekler alınmıştır. Örnekler hacimleri 3 ml olan kuvars küvetlere aktarılarak optik yoğunluk (OD) değerleri atık su arıtım ortamları için 680 nm, diğer araştırmalar için 600nm dalga boyunda spektorofometrede (Jenway 6800 UV-VIS spektrofotometre) ölçülmüştür. Referans

numune olarak saf su kullanılmıştır. Optik yoğunluk değerleri 1,00 absorbans değerini geçtiğinde örnekler hacimce belirli oranlarda seyreltilerek ölçümler yapılmıştır.

3.5.2.Mikroalglerin pH ve sıcaklık ölçümü

Kültür ortamı pH ve sıcaklık ölçümleri MettlerToledo Seven Easy S20-K pH metre yardımı ile yapılmıştır. Cihazın probu behere daldırılarak okumalar yapılmıştır.

3.5.3.Yağ miktarı tayini

Yağ analizleri Dyer, 1959 yöntemine göre yapılmıştır. 0,2g örnek üzerine 20 ml % 0,4'lük $CaCl_2$ çözeltisi, 120 ml metanol/kloroform çözeltisi (1/2 v/v) oranında eklendikten sonra manyetik karıştırıcıda 3 saat süre ile karıştırılmıştır. Daha sonra süzme kağıdı (Watman No:1) ile süzülen örnekler, 105 °C'de 2 saat etüvde bekletilip darası alınmış olan cam kaplara süzdürülmüştür. Balonlar ağızları hava almayacak şekilde kapatılıp 1 gece karanlık bir ortamda bekletilmiş ve ertesi gün metanol-sudan oluşan üst tabaka ayırma hunisi yardımıyla ayırılmıştır. Kalan kloroform yağ kısmından 60 °C'de kurutularak uzaklaştırılmıştır. Daha sonra balonlar etüvde 1 saat süreyle 90 °C'de bekletilerek içerisindeki kloroformun tamamının uçması sağlanmış ve desikatör içerisinde oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Hassas terazide tartım yapılmıştır. Yağ miktarının hesaplanmasında Denklem (3.1) kullanılmıştır. Yağ analizi süzme deney düzeneyi Şekil 3.9'da görülmektedir.

$$x = \frac{[\text{Beher darası (g)} + \text{Lipit (g)}] - [\text{Beher darası (g)}]}{\text{Örnek miktarı (g)}} \times 100 \qquad (3.1)$$

Şekil 3.9. Yağ miktarı analizi

3.5.4.Yağ asidi bileşimi tayini

Yağ asidi bileşimi alev iyonizasyon dedektörü (FID) ve 30 m x 320 µm x 0.25 µm kapiler kolon (CARBOWAX 20M) ile donatılmış olan GC 7820 Aggilent marka gaz kromotogrofi cihazı kullanılarak tayin edilmiştir. Dedektör sıcaklığı 280ºC ve split oranı 1:50'dir. Kolon sıcaklığı, 50 ºC'de 1 dakika bekletildikten sonra dakikada 25ºC artışla 200ºC'ye 3ºC artışla 230ºC'ye ulaşılarak bu sıcaklıkta 18 dakika bekletilmiştir. Daha sonra dakikada 40ºC artışla 280ºC'ye çıkılmış ve bu sıcaklıkta 3 dakika bekletilerek analiz sonlandırılmıştır. Toplam analiz süresi 35 dakika sürmektedir. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır. Yağ asitleri bileşiminin tayini için yağlar öncelikle metil esterleri haline getirilmiştir. Analiz edilecek örneğin hazırlanması için 0,1 g yağ örneği, 20 ml'lik cam tüp içerisine tartılarak ve üzerine 10ml n-heptan ilave edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra üzerine 100 µl 2N metanolde çözünmüş KOH eklenip, vorteks karıştırıcıda 30 saniye karıştırılmıştır. Karışım 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek metil esterleri içeren üst fazın ayrılması sağlanmıştır Üst fazdan 1µl enjeksiyon yapılmıştır (David ve diğ., 2005). Örnek hesaplama Ekte gösterilmiştir (EK- B).

3.5.5.Mikroorganizma büyüme hızı ve hücre ikilenmesüresinin belirlenmesi

Farklı koşullarda yetiştirilen mikroalglerin spesifik büyüme hızları Denklem (3.2)'ye göre hesaplanmıştır. Örnek hesaplama Ekte gösterilmiştir (EK- C).

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1} \qquad (3.2)$$

Formülde X_2 ve X_1, logaritmik (üstel) büyüme evresinde t_2 ve t_1 zamanlarındaki biyokütle derişimlerini belirtmektedir.

Mikroalg hücrelerinin ikilenme (doubling time (DT)) Denklem (3.3)'e göre hesaplanmıştır. Örnek hesaplama Ekte gösterilmiştir (EK- D).

$$DT = \frac{\ln(2)}{\mu_{max}} \qquad (3.3)$$

μ_{max} Denklem (3.2) yardımı ile bulunan spesifik büyüme hızıdır.

3.5.6.Setan sayısı belirlenmesi

Mikroalglerden elde edilen yağların yağ asitleri setan sayıları Denklem 3.4'e göre hesaplanmıştır (Klopfenstein, 1982). Örnek hesaplama Ekte gösterilmiştir (EK- E).

Setan sayısı=58,1+[(1,4)*(n-8)]-15,9xçift bağ sayısı (3.4)

Formülde n karbon sayısını belirtmektedir.

3.5.7. Mikroorganizma derişimi ve yağ üretkenliği hesabı

Mikroorganizma derişimi Denklem 3.5'e göre hesaplanmıştır. Örnek hesaplama Ekte gösterilmiştir (EK- F).

Xmax (g/L) = AxB (3.5)

$A = [(X_{max} \times 1000_{ml})/V_c]$

$B = A/Abs_f$

Vc = Kültür hacmi

Abs_f = 600 nm' de kültür sonu absorbans değeri

Lipit üretkenliği Denklem 3.6' ya göre hesaplanmıştır. Örnek hesaplama Ekte gösterilmiştir (EK- E).

$(X_{max}/D_{Kültür\ süresi}) \times L_{myi}$ (3.6)

Xmax (g/L) :Kültür sonunda elde edilen en yüksek mikroorganizma derişimi

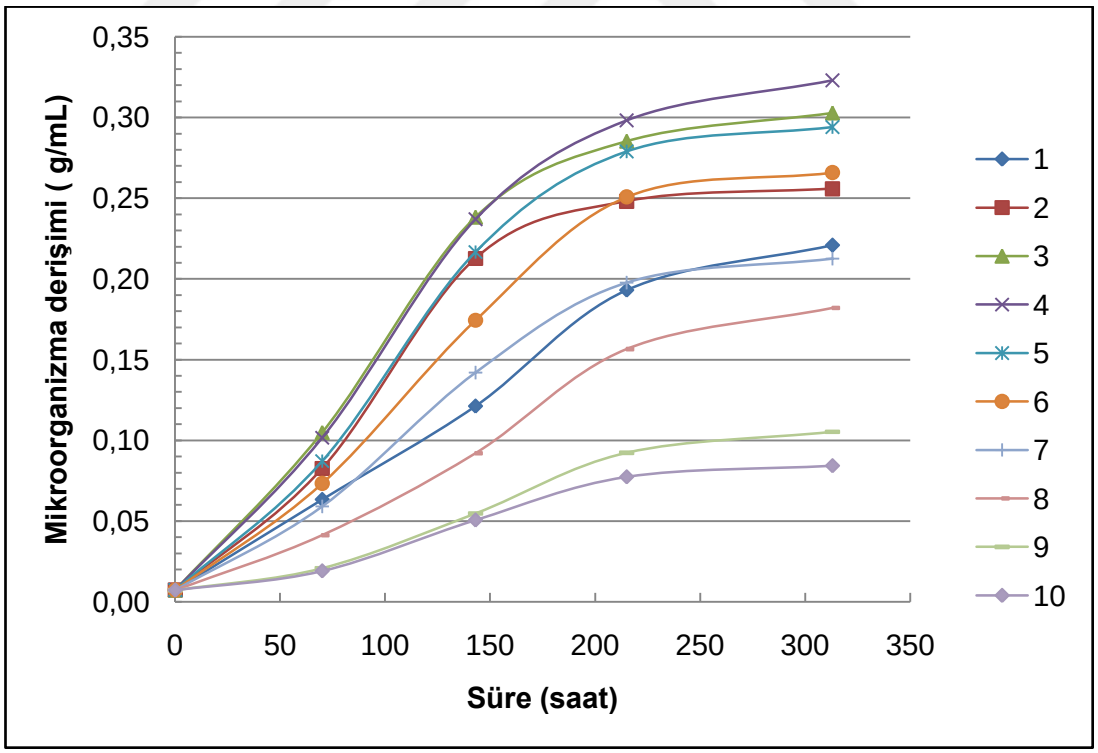
$D_{Kültür\ zamanı}$ = Kültür süresi (gün)

L_{myi} = Mikroorganizma yağ içeriği (%)

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

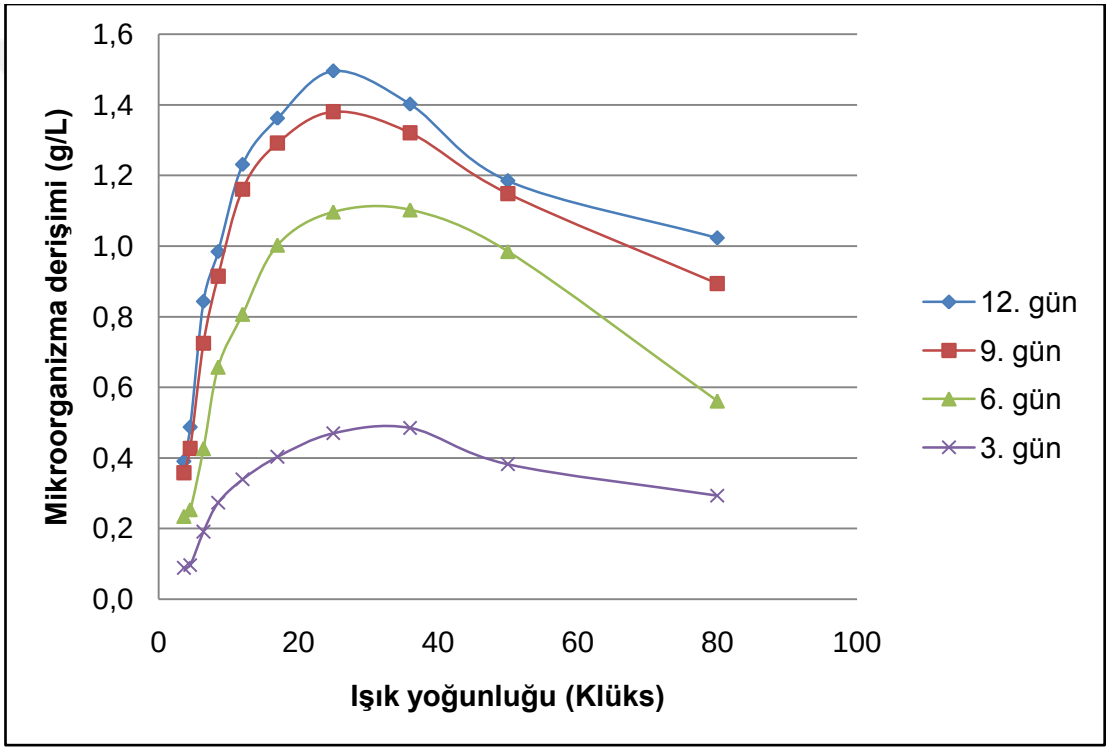
4.1. Işık Yoğunlunun Mikroorganizma Büyüme Üzerine Etkisi ve En Uygun Fotobiyoreaktör Kalınlığının Belirlenmesi

Işık, fotosentetik organizmaların yaşamları için önemlidir. Büyümenin gerçekleşebilmesi için ortamda yeterli bir ışık kaynağı olması gerekmektedir. Işık yoğunluğu kültür ortamındaki yoğunluk ile ilişkilidir. Hücre derişimi yüksek olan kültürde, iyi bir fotosentez için ışık yoğunluğunun arttırılması gerekmektedir (Vonshak ve diğ., 2004). Aynı zamanda fazla ışığınmikroorganizma üzerine fotoinhibisyon etkisi yaptığı bilinmektedir. Işık şiddetinin mikroorganizma büyüme hızı üzerine etkisinin araştırılması amacı ile sistem den 3.,6.,9.,12. günlerde örnekler alınarak 600 nm de absorbans ölçümleri yapılmıştır. Mikroorganizma büyüme eğrisi Şekil 4.1' de görülmektedir.



Şekil 4.1. *Chlorella variabilis*'e ait farklı ışık yoğunluklarında büyüme eğrileri. (1: 80 Klüks, 2: 50 Klüks, 3: 36 Klüks, 4: 25 Klüks, 5: 17 Klüks, 6: 12 Klüks, 7: 8.5 Klüks, 8: 6.4 Klüks, 9: 4.5 Klüks, 10: 3.6 Klüks)

Işık şiddetinin artması ile mikroorganizma derişimi önce artmış maksimum mikroorganizma derişimine (X_{max}=0,32 g\mL) 25 Klüks ışık yoğunluğunda ulaşılmış daha sonra azalmıştır. Şekil 4.2. ışık şiddetinin sırasıyla 80 Klüks ve 3,6 Klüks olan birinci ve sonuncu reaktörde inhibisyon etkisi ve ışığın yetersiz kaldığı açıkça görülmektedir. Deneysel sonuçlarına göre maksimum reaktör kalınlığı 8 cm yigeçmeyecek şekilde tasarlanmalıdır. Işığın reaktöre olan uzaklığı kullanılan ışık kaynağına göre değişmektedir. Bu çalışma için uzaklık 4 cm'dir. Literatürde yapılan benzer bir çalışmada ışık yoğunluğunun *Chlorella sorokiniana* türü mikroalgin büyüme üzerine etkisi incelenmiş ve maksimum fotobiyoreaktör kalınlığı 6 cm olması gerektiği belirtilmiştir (Das ve diğ., 2013)

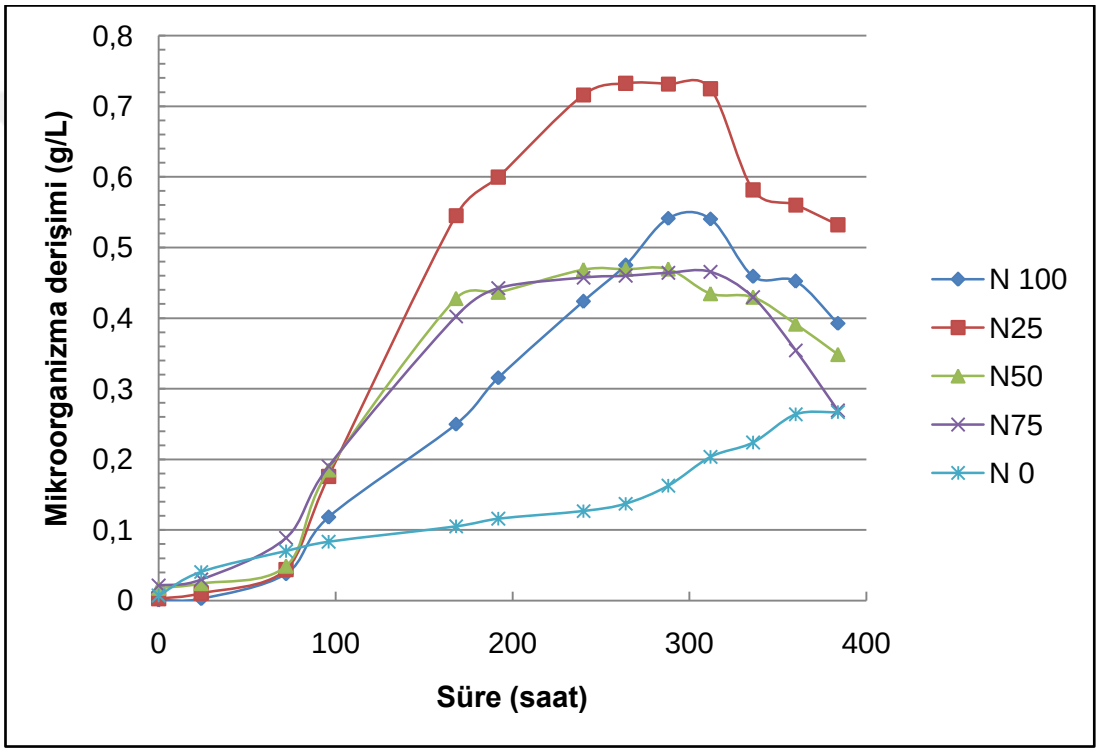


Şekil 4.2. Fotobiyoreaktör kalınlığının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi

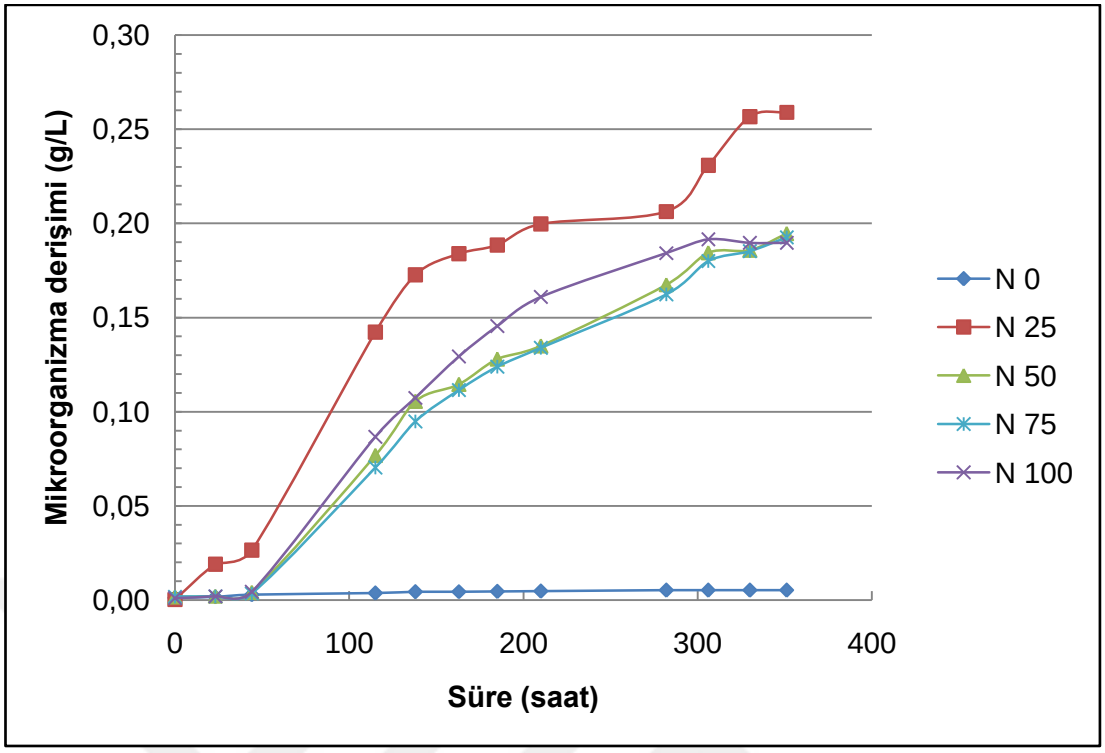
4.2. Azot Sınırlamasının (Stres) Farklı Tür Mikroalglerin Büyüme ve Yağ İçeriğine Etkisi

Mikroalglerin fototrofik üretimlerinde, karbon, azot, potasyum, magnezyum, sodyum, sülfat ve fosfat ortamda bulunması zorunlu elementlerdir. Büyümeyi destekleyici maddeler (vitaminler, hormonlar vb.) ortamda bulunabilirler (Fay, 1992). Mikroalglerin yağ içeriği besin ortamına uygulanan stere göre değişiklik gösterir, azalabilir veya artabilir. Mikroalglerin büyüme ve yağ üretimini incelemek amacı ile

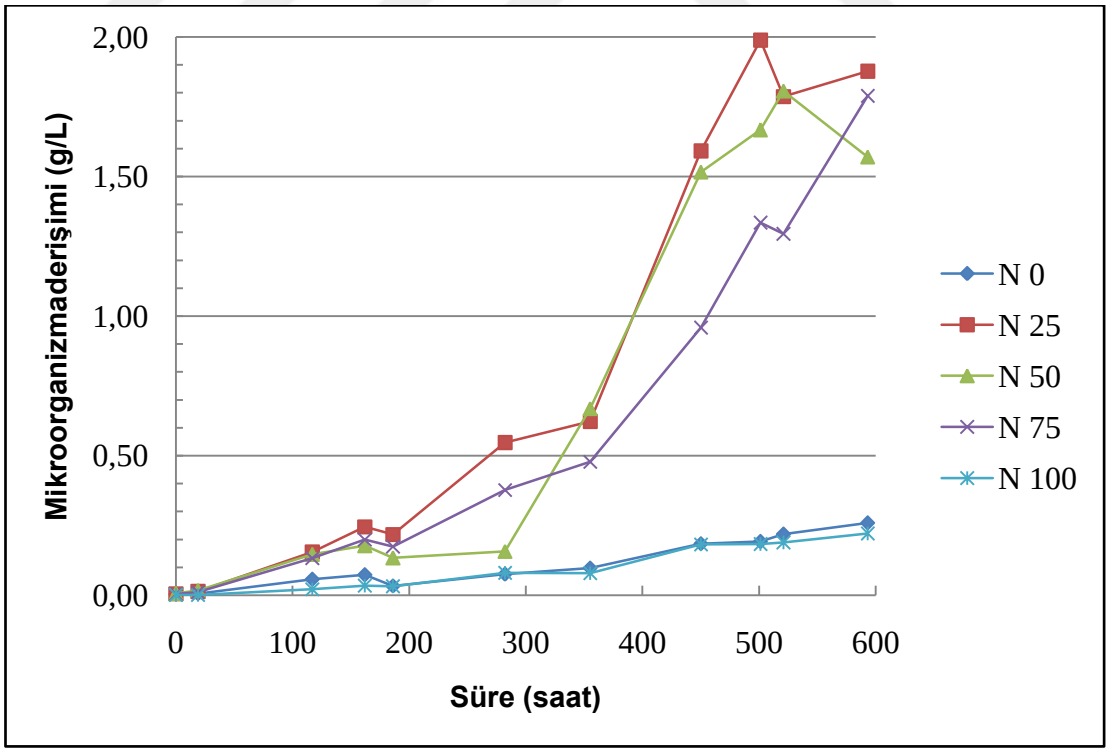
besi ortamına (BG11) farklı oranlarda azot eklenmiştir. Bu oranlar % 0,25,50,75,100 yüzde olacak şekilde ayarlanmıştır. Örneğin %25 azot, besi ortamında bulunması gereken azot kaynağının (1,5g/L) %25'i kadarıdır. Besi ortamı şebeke suyu ile hazırlanmıştır. Haziran 2015-Mart 2017 ayı İSU şebeke suyu verilerine göre şebeke suyunda sırasıyla 0,015, 0,009 mg/L nitrit bulunmaktadır İSU 2017 analiz raporları EK-A'da verilmiştir. Şekil 4.3 ve 4.4'te sırasıyla *Chlorella variabilis* için şebeke suyu ve saf su ortamlarında Şekil 4.5 ve 4.6' da sırasıyla *Chlorella ESP-6* ve *Chlorella protothecoides* için şebeke suyu ile hazırlanan besi ortamlarında farklı azot sınırlamalarının mikroalgin büyüme üzerine etkileri verilmiştir.



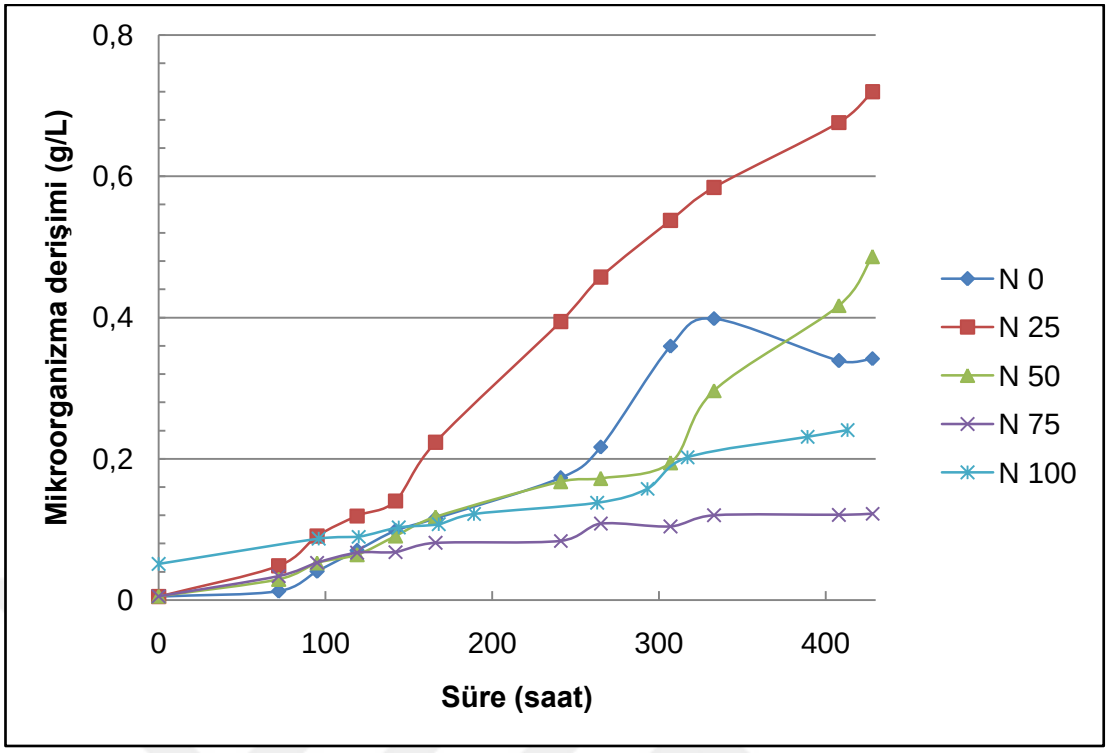
Şekil 4.3. Azot sınırlamasının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi (Şebeke suyu ile hazırlanan BG-11)



Şekil 4.4. Azot sınırlamasının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi (Saf su ile hazırlanan BG-11)



Şekil 4.5. Azot sınırlamasının *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi



Şekil 4.6. Azot sınırlamasının *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi

Chlorella variabilis ortamda hiç azot (N0) bulunmadığında büyüme diğer ortamlara nazaran 360. saate kadar yavaş ilerlemiştir. Bu saatten sonra durgunluk fazına geçmiştir. Bu ortamda mikroalglerin şebeke suyundan aldıkları nitriti tükettikleri açıktır. Diğer tüm ortamlarda büyüme farklı hızlarda da olsa 168. saate kadar paralel olarak devam etmiş bu saatten sonra %50(N50) ve %75(N25) kısıtlı ortamlarda durgunluk fazına geçerek 312. saatin sonunda ölüm fazına geçtiği görülmektedir. Diğer ortamlarda 330. saate kadar büyümenin gerçekleştiği bu saatten sonra mikroorganizmanın durgunluk fazına geçtiği açıkça görülmektedir. Saf su ile hazılananan ortamda azot yokluğunda büyüme yok denecek kadar azdır. Ortamda hiç azot bulunmadığında (N0), bir başka deyiş ile %100 azot sınırlamalı ortamda büyüme diğer ortamlara nazaran 590. saate kadar yavaş ilerlemiştir. Bu ortamda mikroalgler şebeke suyundan aldıkları nitriti tükettikleri düşünülmektedir. *Chlorella ESP-6* için azot kısıtlamasının mikroorganizma büyümesi üzerine önemli bir parametre olduğu belirlenmiştir. Diğer tüm ortamlarda büyüme, farklı hızlarda 500. saate kadar devam etmiş bu saatten sonra durgunluk fazına geçilmiştir. Bu saatten sonra mikroorganizma durgun faza geçmiştir. *Chlorella protothecoides* için, 265. saate kadar tüm ortamlarda farklı büyüme hızlarında gerçekleşmiştir. %75 azot sınırlı ortamda diğer ortamlara göre daha hızlı büyüme gerçekleşmiştir. %100 azot

sınırlamalı kültürde 333. saatten sonra şebeke suyundan gelen azot ortamda bitince ölüm fazına geçtiği görülmektedir. Bu saatten sonra %75 ve %50 sınırlı azot ortamı hariç diğer kültürlerin durgunluk fazına geçtikleri görülmektedir. Her üç mikroalg türü için %75 azot kısıtı (N25) daha fazla hücre çoğalmasına neden olmuştur.

Tablo 4.1 ve 4.2' de sırasıyla şebeke suyu ve saf su ortamında *Chlorella variabilis* için, Tablo 4.3 ve 4.4'de sırasıyla *Chlorella ESP-6 ve Chlorella protothecoides* için farklı azot kısıtlamalarında elde edilen hücre derişimi, çoğalma hızı, ikilenme süresi, yağ içerik ve verimlilik değerleri verilmektedir.

Tablo 4.1. Farklı azot stres koşullarının Chlorella variabilis türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi (Şebeke suyu ile hazırlanan BG-11 ortamında)

Azot miktarı (%)	$X_{max\ (g/L)}$	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	0,54	0,010	69	15	5,40
25	0,73	0,016	43	32	15,5
50	0,47	0,011	63	26	8,14
75	0,46	0,010	66	24	7,36
100	0,26	0,003	231	12	2,02

Tablo 4.2. Farklı azot stres koşullarının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi (Saf su ile hazırlanan BG11 ortamında)

Azot miktarı (%)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	-	-	-	-	-
25	0,26	0,044	15,74	35	6,20
50	0,19	0,040	17,30	27	3,51
75	0,19	0,044	15,75	25	3,25
100	0,19	0,043	16,12	14	1,82

Tablo 4.3. Farklı azot stres koşullarının *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Azot miktarı (%)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	0,26	0,0067	103	39	4,05
25	1,98	0,0098	70	10	7,92
50	1,80	0,0086	80	17	10,08
75	1,78	0,0073	94	14	9,96
100	0,22	0,0088	78	14	1,23

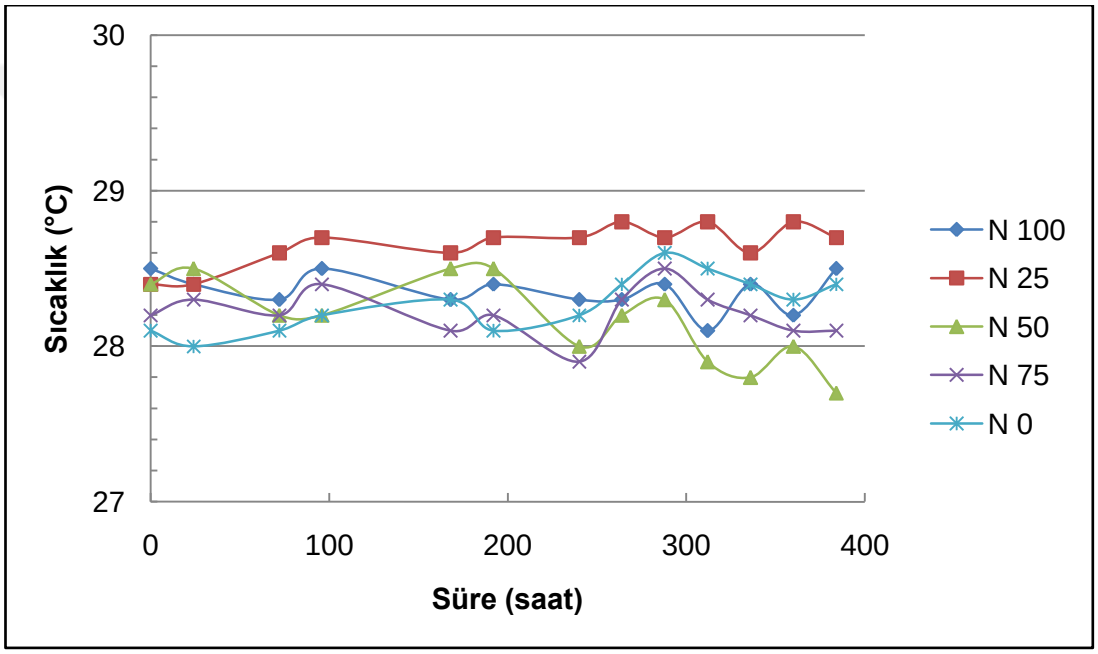
Tablo 4.4. Farklı azot stres koşullarının *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Azot miktarı (%)	$X_{max\ (g/L)}$	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme Süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	0,34	0,0067	103	51	10,02
25	0,72	0,0193	36	53	22,40
50	0,49	0,0109	63	50	14,40
75	0,12	0,0071	97	49	3,45
100	0,35	0,0019	364	52	10,7

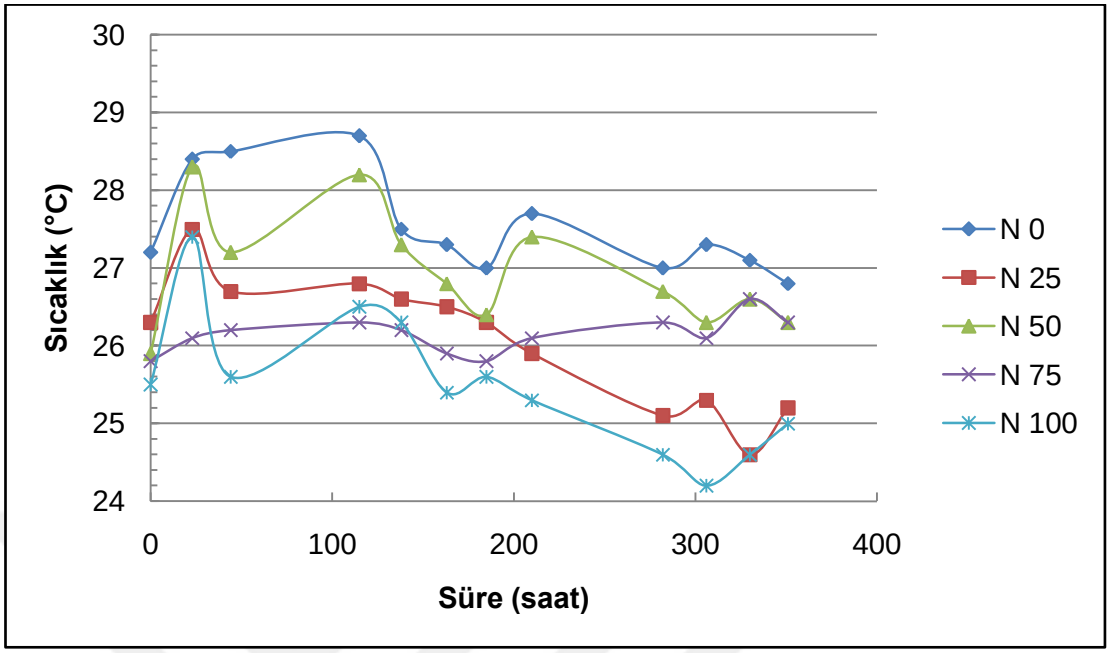
Chlorella variabilis için şebeke suyu ile hazırlanan ortamda Tablo 4.1'de farklı azot streslerinde 15 günlük kültür sonucunda mikroalgin büyüme hızları, ikilenme süreleri, yağ içerikleri ve yağ verimlilikleri görülmektedir. Yağ verimlilikleri azot stresinin artması ile artmış %75 N stresi ile en yüksek değere ($15,5x10^{-3}$g/Lgün) ulaştıktan sonra artan N stresi ile azalmıştır. En yüksek mikroorganizma derişimine *şebeke suyu ile hazırlanan ortamında* (X_{max}= 0,73 g/L), yağ içeriğine (%32) büyüme hızına (μ_{max}= $0,016h^{-1}$) %75 azot kısıtlı ortamda, saf su ile hazırlanan ortamda en yüksek hücre derişimine (X_{max}= 0,26 g/L) ve en yüksek yağ içeriği (%35) %75 azot kısıtlı ortamda elde edilmiş, en yüksek büyüme hızına (μ_{max}= $0,044^{h-1}$) %25 azot kısıtı etkisinde elde edilmiştir. *Chlorella ESP-6 için* en yüksek mikroorganizma

derişimine (X_{max}= 1,78 g/L),büyüme hızına (μ_{max}= 0,0098h^{-1}) %75 azot kısıtlı ortamda ulaşılırken, en yüksek yağ içeriğine(%39) azot sınırı olmayan koşullarda ulaşılmıştır. Bu tür için azot sınırlaması yağ içeriğini azaltmıştır. *Chlorella protothecoides* için azot sınırlamasının mikroorganizma yağ içeriğine etkisene rastlanmamıştır. 18 günlük kültür sonucunda en yüksek mikroorganizma derişimi ve yağ verimliliği (X_{max}= 0,72g/L), (22,4x10^{-3} g/Lgün) büyüme hızı (μ_{max}= 0,0193h^{-1}) ve yağ içeriği (%53) %75 azot sınırlanan kültürde elde edilmiştir.

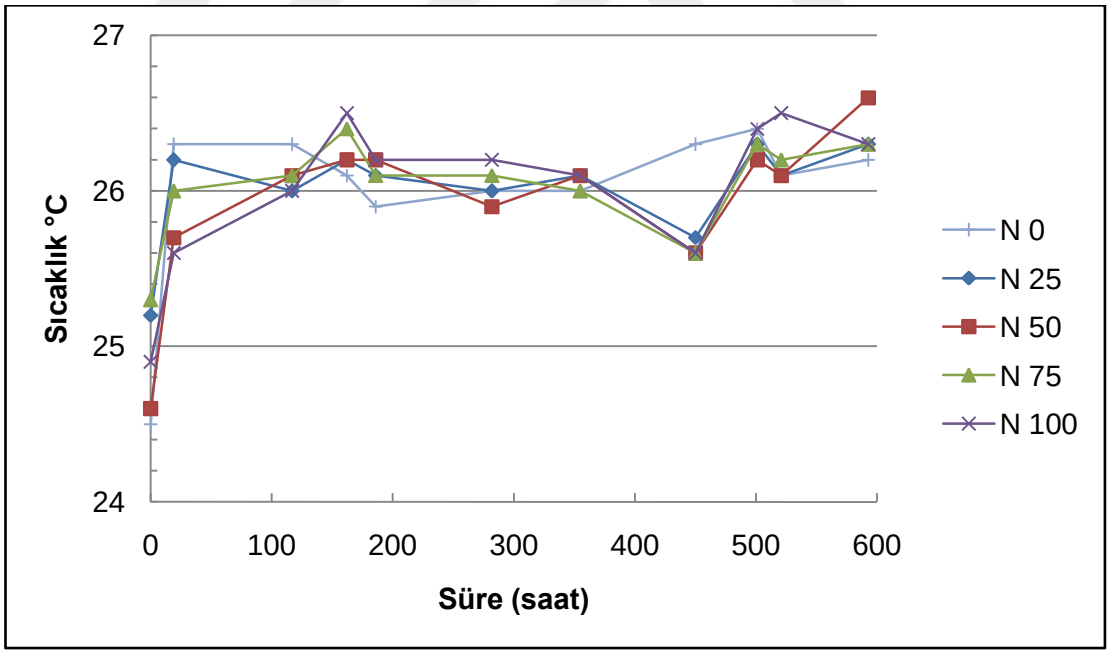
Şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10'da kültür süresince sıcaklık değişimleri Şekil 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14'de pH değişimleri verilmektedir.



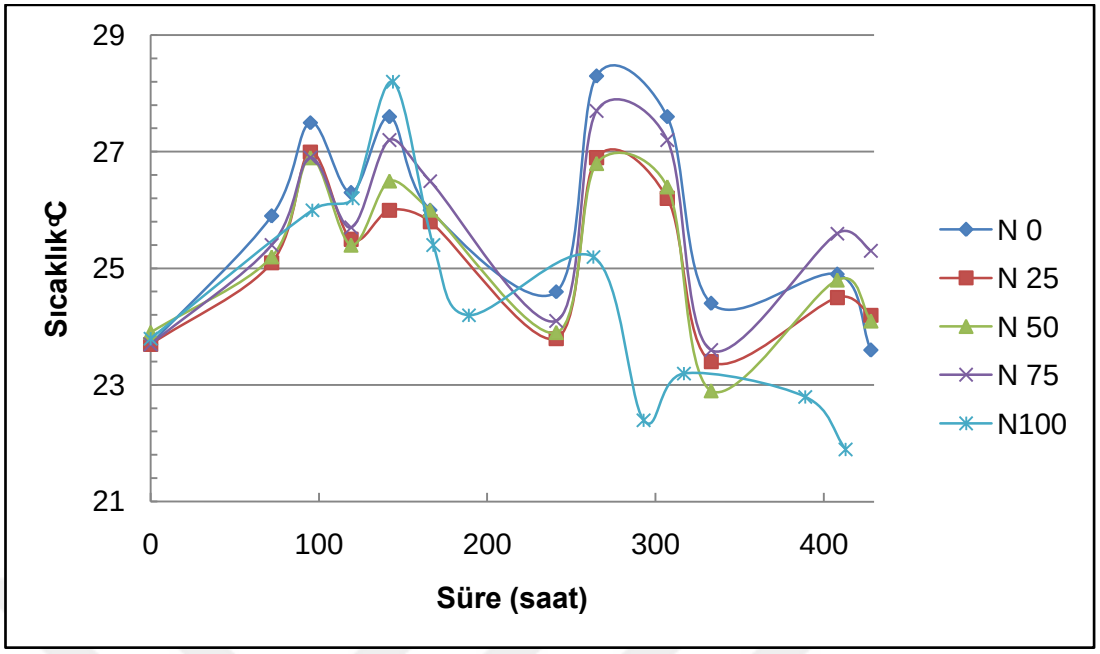
Şekil 4.7. *Chlorella variabilis* 'e ait farklı azot kısıtlamalarında sıcaklık değişimleri (Şebeke suyu)



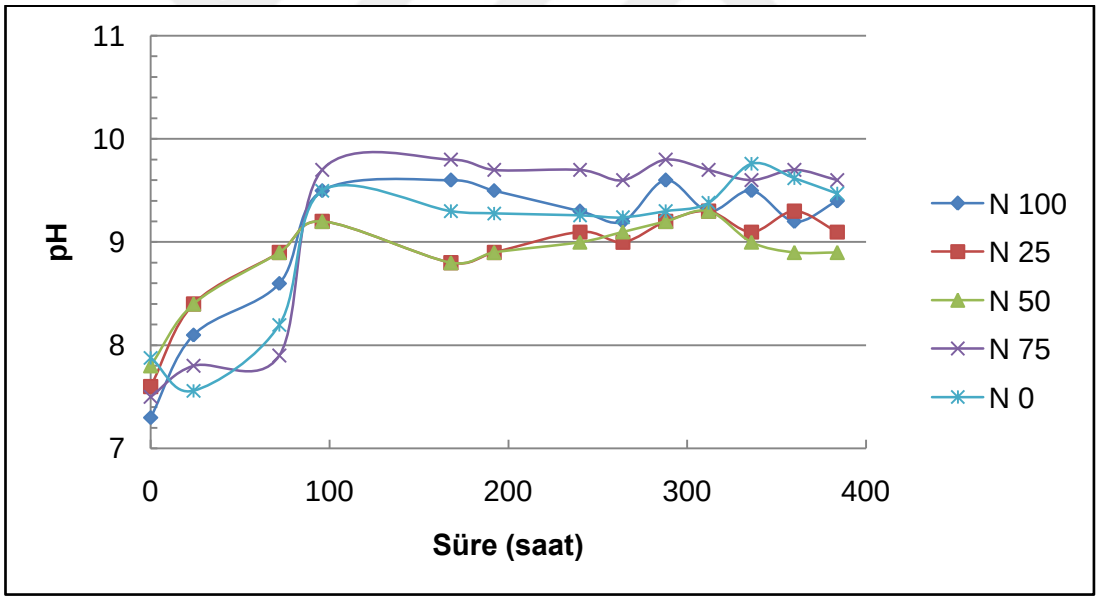
Şekil 4.8. *Chlorella variabilis* 'e ait farklı azot kısıtlamalarında sıcaklık değişimleri (Saf su ile hazırlanan BG-11 ortamında)



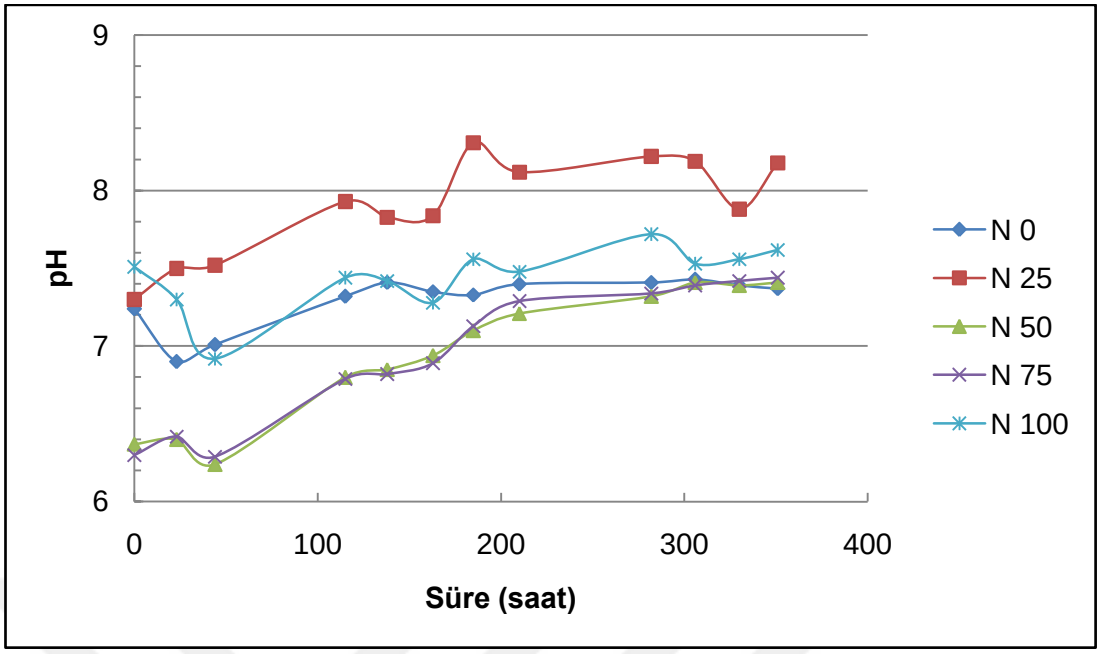
Şekil 4.9. *Chlorella ESP-6* 'ya ait farklı azot kısıtlamalarında sıcaklık değişimleri



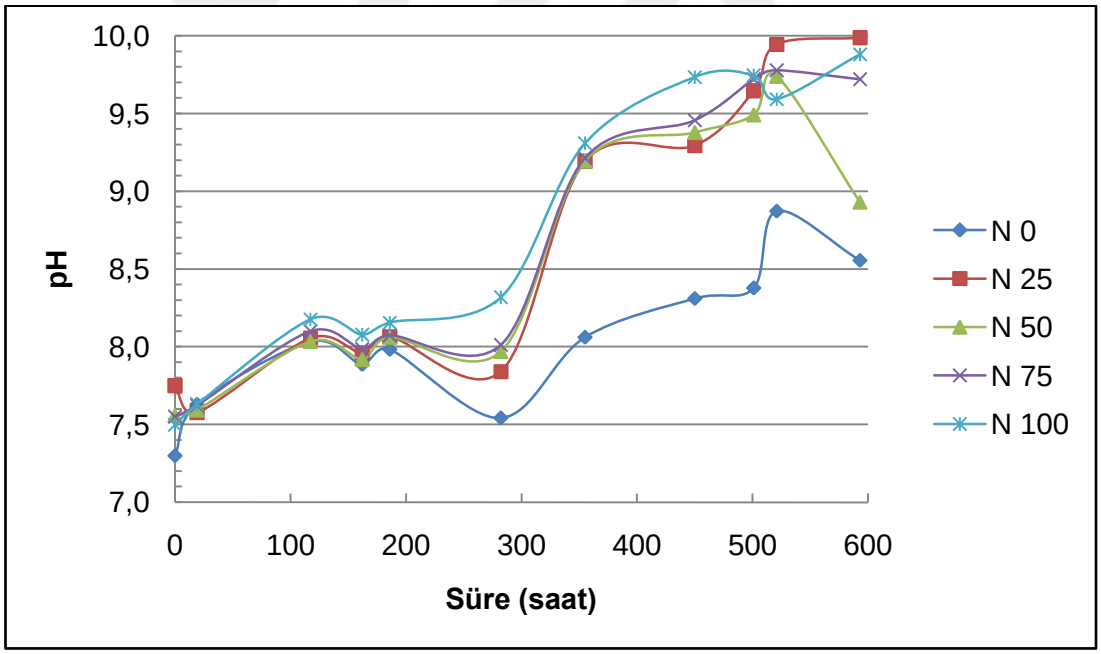
Şekil 4.10. *Chlorella protothecoides*'e ait farklı azot kısıtlamalarında sıcaklık değişimleri



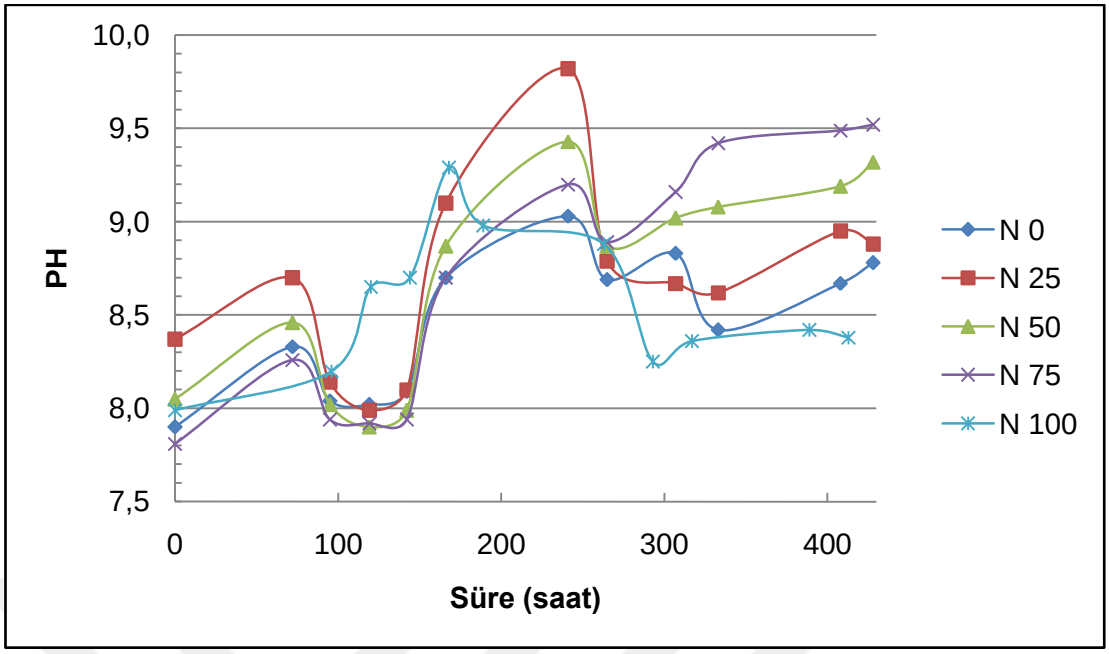
Şekil 4.11. *Chlorella variabilis* 'e ait farklı azot kısıtlamalarında pH değişimleri (Şebeke suyu ile hazırlanan BG-11 ortamında)



Şekil 4.12. *Chlorella variabilis* 'e ait farklı azot kısıtlamalarında pH değişimleri(Saf su ile hazırlanan BG-11 ortamında)



Şekil 4.13. *Chlorella ESP-6* 'e ait farklı azot kısıtlamalarında pH değişimleri



Şekil 4.14. *Chlorella protothecoides* 'e ait farklı azot kısıtlamalarında pH değişimleri

Şekil 4.8 ve 4.12'de saf su ortamında hazırlanan kültür ortamlarının sırasıyla *Chlorella variabilis için,* sıcaklık ve pH değişimleri görülmektedir. Kültürlerin başlangıç sıcaklıkları 25,2 ± 0,2°C olarak ölçülmüşütür. Kültür süresince sıcaklık gündüz ölçülen değerleri her ortam için 26°C ile 24°C arasında değişim göstermiştir. Kültürler 24 saat led ampüller ile aydınlatılmaktadır. Şebekede yaşanan elektrik kesintileri ile ampüller zaman zaman sönmüş ve sonra tekrar yanmıştır. Bu nedenle ortamda sıcaklık dalgalanmaları yaşanmıştır. Kültür süresince pH değerlerinde büyümeye bağlı olarak artış gözlenmiş ve 282. saatten sonra küçük dalgalanmalar ile 7,5 ile 8,5 arasında değişim göstermiştir.

Ototrofik kültürlerde mikroalgler inorganik karbonu kullanır ve ortama hidroksil verirler. Bu nedenle ortam pH'ının yükselmesi ve belirli bir zaman sonrası sabit olması beklenir. Şekil 4.5'den görüldüğü gibi başlangıçta ortam pH'ı her kültür için 7,6 ile 7,8 arasında değişmektedir. 96. saate kadar pH'larda artış gözlenmiş bu saatten sonra 9,1 ile 9,8 arasında değişim göstermiştir.

Chlorella ESP-6 için kültürlerin başlangıç sıcaklıkları 24,5 ± 0,2°C olarak ölçülmüşütür. Kültür süresince sıcaklık değerleri her ortam için 26°C ile 24,5 °C arasında değişim göstermiştir (Şekil 4.9). Kültürler 24 saat led ampüller ile aydınlatılmaktadır. Buharlaşmadan dolayı kültürlerin haciminde zamanla kayıplar oluşmaktadır. Bu kayıpları engellemek içinşebeke suyundan hacmi kaybı kadar su eklemesi yapılmaktadır. Bu eklemeler sırasındaki sıcaklık dalgalanmaları 450. saate

açıkça görülmektedir. Kültürlerin başlangıç pH'ı 7,3 ile 7,7 arasında değişmektedir (Şekil 4.13). Zamanla farklı azot sınırlamalı ortamlarda nitratr ve nitriti tüketirken pH değerlerinde artışlar gözlenmiştir. Ölüm fazına geçen kültürlerde örneğin azot sınırlamasının olmadığı (N0) ve yarı yarıya olduğu (N50) ortamlarda pH keskin bir şekilde düşüş göstermiştir

Kültürlerin başlangıç sıcaklıkları *Chlorella protothecoides* için, 23,6 ± 0,2°C olarak ölçülmüşütür. Kültürlerde 100. Saate kadar sıcaklık artmış daha sonrada kültür süresince sıcaklık değerleri her ortam için 28°C ile 24,5°C arasında değişim göstermiştir (Şekil 4.10). Kültürlerde şebeke suyu ilaveleri sıcaklık dağılımlarına neden olmuştur.Kültürlerin başlangıç pH'ı 7,5 ile 8,5 arasında değişmektedir (Şekil 4.14). Zamanla her ortamda 100. saate kadar pH değerlerinde artışlar gözlenmiştir. Farklı azot varlıklarında kültürlerde 300. saatten sonra pH'lar 8,5 ile 9,5 arasında değişim göstermiştir.

Pek çok mavi-yeşil alglerin önemli özelliklerinden biri de bunların atmosferik azotu (N_2) yakalama (fiske etme) kabiliyetleridir. Azot bağlayan mavi yeşil algler/siyanobakteriler nitrogenazlarını oksijenden korumak için değişik stratejiler geliştirmişlerdir. Bazı mikroalg türleri bu güçlüğü yenebilmek için, "heterosist" adı verilen özel hücreler üretirler. Azot fikse eden mavi-yeşil alg türleri ve "heterosist" adı verilen az sayıda özelleşmiş hücre ile N_2 yakalarlar. Azot bağlanması heterosistler içinde gerçekleşmektedir. Heterosistin hücre duvarı oldukça kalın olduğu için oksijen bu duvardan içeri geçememekte ve nitrogenaz enzimi çalışabilmektedir. Bazı mikroalg türlerinde azot fiksasyonu, serbest oksijenin %10'dan daha az olduğu zaman en iyi biçimde gerçekleşir (Bohme ve diğ., 1998 ,Adams ve diğ., 2000). Bir başka bulgu da heterosist ve normal olarak nitrogenaz oluşturmayan türlerde nitrogenazı kodlayan genlerin varlığının saptanmış olmasıdır. Bu türler enzimi sentezleyebilir ve koşullar anaerobik olduğunda N_2 tutabilmektedirler (Keeton ve diğ., 2004). Çalışılan koşullar altında *Chlorella variabilis* türünün havadaki serbest azotu yakalama özelliği olmadığı düşünülmektedir.

Şebeke suyundan hazırlanan BG-11 besi ortamında yetiştirilen mikroalglerde aynı azot sınırlamasında (N75) saf su ile hazırlanan besi ortamına göre daha yüksek yağ ve mikroorganizma kuru kütlesi elde edildiğinden dolayı bundan sonraki çalışmalarda besin ortamlarının hazırlanmasının şebeke suyu ile yapılmasına karar verilmiştir.

Mikroalglerin yağ asidi bileşiminin ve ürettiği yağ miktarının türlere göre değiştiği bilinmektedir. Yağ asidi bileşimleri veya profilleri de yetiştirilen ortamın fiziksel(ışık, sıcaklık) ve kimyasal (besi ortamında bulunan bileşikler) şartlarına bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Genellikle mikrolg türlerinin sahip olduğu yağ asitleri C12 ile C22 arasında değişim göstermektedir. Bazı türlerde üst sınır C24'e kadar çıkabilmektedir (Halim ve diğ., 2012).

Azot sınırlamasının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ üretimine etkisiniinceleyen tek çalışmada, en yüksek mikroorganizma derişimine (0,112 g/L) ve yağ içeriğine (%25,6) %75 N kısıtlamalı BG-11 ortamında ulaşıldığı belirtilmiştir (Altın, 2017).

Şebeke suyundan hazırlanan ve %75 N kısıtlı besi ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi Tablo 4.5'de verilmiştir. Tablo 4.6'da ve 4.7'de sırasıyla *Chlorella ESP-6 (%50 N kısıstlı) ve Chlorella protothecoides (%75 N kısıtlı)* için verilmiştir. Yağ asidi bileşim kromatogramları EK-G'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C14:0 (Miristik)	7,65
C15:0 (Pentadeklik)	7,31
C16:0 (Palmitik)	28,2
C17:0 (Margarik)	4,15
C18:1 (Oleik)	9,36
C18:2 (Linoleik)	26,08
C18:3 (Linolenik)	17,25
Doymuş	47,31
Doymamış	52,69

Tablo 4.6. *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C6:0 (Hekzanoik)	10,8
C15:0 (Pentadeklik)	15,6
C17:0 (Margarik)	22,3
C20:0 (Arakhidik)	51,3
Doymuş	100
Doymamış	0

Tablo 4.7. *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi (%75 N kısıtlı)

Yağ asidi	Bileşim (%)
C14:0 (Miristik)	1,50
C15:0 (Pentadeklik)	13,70
C16:0 (Pentadekanoik)	2,80
C16:1 (Palmit oleik)	25,40
C18:0 (Stearik)	5,30
C18:1 (Oleik)	7,30
C18:2 (Linoleik)	11,06
C20:0 (Arakhidik)	32,10
Doymuş	67,30
Doymamış	32,70

Chlorella variabilis için, yağ asidi bileşimi C14 ile C18 arasında değişmektedir. Yağın ortalama molekül ağırlığı 836,6 g/mol, setan sayısı baskın yağ asidi C16:0'a göre 69,3 olarak belirlenmiştir. *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi incelendiğinde C20:0 (Arakhidik) asidin baskın olduğu görülmektedir. Denklem 3.4' e göre setan sayısı arakhidik aside göre hesaplanmış, 74,9 olarak belirlenmiş yağın ortalama molekül ağırlığı ise 849,1 g/mol olarak hesaplanmıştır. Setan sayısı oldukça yüksekdir. Bu yağdan elde edilecek metil veya etil esterlerin (biyodizel) kolay tutuşabileceği ve hızlı yanabilecaği beklenmektedir.

Chlorella protothecoides için C20:0 (Arakhidik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir. İkinci baskın yağ asidi C16:1(Palmit oleik)'dir. Setan sayısı baskın yağ asidi C20:0'a göre 74,9, yağın ortalama molekül ağırlığı ise 870,2 g/mol olarak hesaplanmıştır. Bu tür içinde setan sayısının oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bu yağdan elde edilecek metil veya etil esterlerin (biyodizel) kolay tutuşabileceği ve hızlı yanabilecaği beklenmektedir.

Piorreck ve diğ., 1984 yılında yaptıkları çalışmada, azot sınırlamasının *Porphyridium cruentum türü mikroalgin* toplam yağ içeriğini iki katına arttırdığını belirlemişlerdir. Ayrıca çalıştıkları *Chlorela fuska* türü mikroalg için artan ışığın C16 ve C18 yağ asitlerinin oluşumunu arttırdığını belirlemişlerdir. Mikroalgin yağ asidi bileşimi üzerine değişen CO_2 miktarlarının etkielerini incelemişlerdir. Havada bulunan CO_2(%1) ile ototrofik yetiştirilen mikroalgde 16:0, 16:3, 16:4, 18:2 ve 18:3 C'lu yağ asitlerinin olduğunu belirlemişlerdir. Karbon kaynağı olarak glikoz eklenen ortamda mikroalg yetiştirilmesi ile 16:4 C'lu yağ asidi oluşmamış 18:3 C'lu yağ asidi azalmış ve diğer yağ asitleri ise artmıştır.

Chisti 2007'de yaptığı çalışmada *Dunaliella*'nın yağ asidi bileşimindeki değişimlerindüşük sıcaklıkta yetişmesinden kaynaklandığını belirlemişlerdir.

Chlorophyceae'de linoleik asit (18:3) miktarı baskın iken *Bacillariophyceae*'de palmitik asit (16:0), hexadeceonik asit (16:1) ve polyenoik asit (C20) baskındır. *Porphyridium sp*., türü mikroalgde palmitik (16:0), oleik (18:1) ve linoleik asitler (18:2) kadar araşidonik asitin (C20) yüksek olduğu literatürde belirtilmektedir. Kırmızı alg türü olan *Porphyridium cruentum* 25 ºC yetiştirildiğinde toplam yağ asitlerinin % 36'sı kadar araşidonik asit içerdiği belirtilmektedir. Yetiştirme sıcaklığı 16 ºC'ye düşürüldüğünde bu miktar % 60'a kadar artabildiği belirlenmiştir. *Chrysophyt* türlerinin dokosanoik asitce (C22) zengin olduğu belirtilmektedir. *Dinophyceae*türü mikroalgin yağ asidi bileşimi C16 ile C22 arasında değişmektedir. (Chisti ve diğ.,2007, Bulut, 2009).

Biyodizel yakıtlar genellikle, bitkisel yağların metanol ile transesterleşmesi ile elde edilen yağ asidi metil esterleri (YAME) olarak sınıflandırılır. Yağ asitleri karbon zincir uzunluğuna ve çift bağ sayısına göre adlandırılmakta, doymuş yada doymamış olabilmektedir. Yağ asitleri doymuş veya doymamış olabilmektedir. Setan sayısı, dizel motorda kullanılacak yakıtın ateşleme kalitesini belirleyen en önemli özelliklerden biridir. Bitkisel kökenli yağların esterlerinin setan sayısı dizel yakıttan

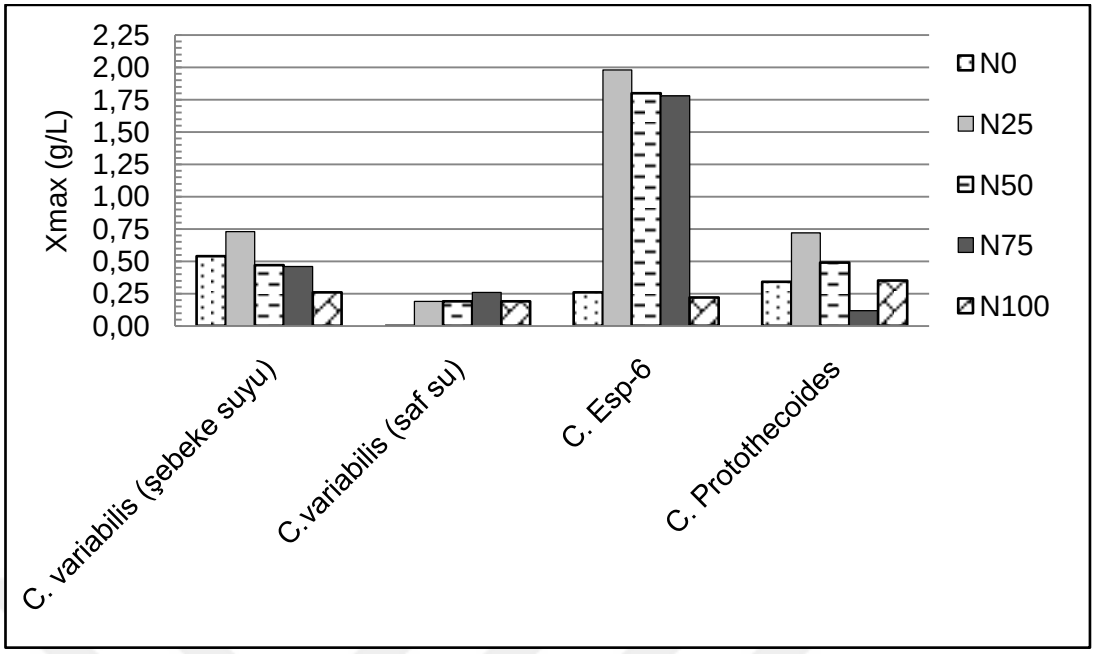
daha yüksektir (Krisnangkura, 1980). Dizel yakıtın setan sayısı 55 ile 60 arasındadır. Biyodizeldeki yağ asitlerinin karbon sayısı arttıkça, setan sayısı da buna göre artar. Biyodizeldeki setan sayısı 55 ile 75 arasında değişmektedir, biyodizelin setan sayısı görüldüğü üzere dizelden fazladır (Klopfenstein, 1982). Setan sayısı yüksek olan yakıt kolay tutuşabilir ve hızlı bir şekilde yanabilir.

Chlorella variabilis türü mikroalgin yağ asidi bileşimi incelendiğinde %75 azot sınırlı koşullarda üretilen mikroalg yağının setan sayısı denklem 3.4'e göre 40,3 olarak hesaplanmıştır. Hesaplamadan baskın yağ asidi linoleik asit (C18:2) temel alınmıştır. Kültür koşulları değiştirilerek elde edilen yağın yağ asidi bileşimi değiştirilebilmektedir. Literatürde *Chlorella variabilis ve ESP-6* türleri için mikroalgin yağ asidi bileşimini inceleyen çalışmaya rastlanmamıştır.

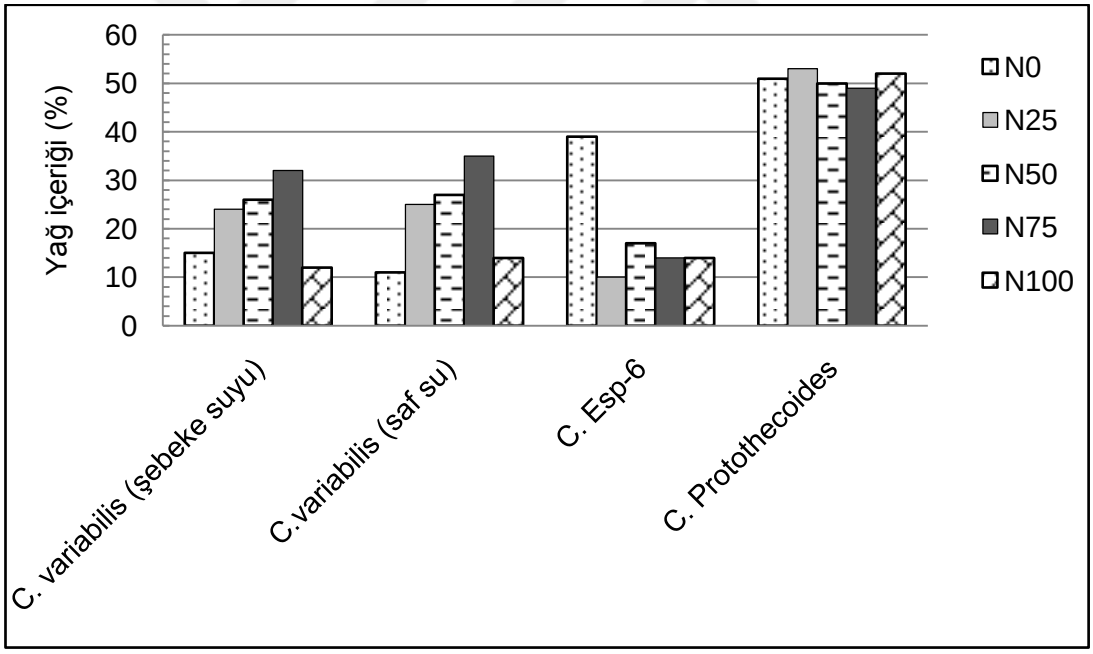
Literatürde *Chlorella protothecoides*'in azotlu ve azotsuz bold bazal besin ortamında büyümesi ve yağ içeriğine etkileri araştırılmış, deneysel çalışmaların azotlu ortamda azot yoksun ortama göre büyüme daha hızlı olmuş ve daha yüksek hücre derişimine ulaştıklarını raporlamışlardır. Bold bazal besin ortamının yağ içeriğine etkisinin belirli bir fark yaratmadığı, yağ içeriği 9 günlük kültür sonrasında kuru kütlenin %48'i kadar belirlenmiştir (Yücel ve diğ., 2016). *Chlorella protothecoides* heteretrofik ve azot kısıtlamalı ortamda kültüre alınmış, azot kısıtlamasının yağ içeriğine belirgin bir etkisi olmamış, ancak genetik düzenleme ile 240 saatlik kültür sonunda kuru kütlenin %72'i kadar yağ elde edilmiştir (Li ve diğ., 2013). Farklı tür mikroalglerin setan sayıları Tablo 4.8'de verilmektedir. Farklı oranlarda azot kısıtlamasında mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri Şekil 4.15'de yağ içerikleri ve yağ verimlilikleri ise sırasıyla Şekil 4.16 ve 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Farklı tür mikroalglerin setan sayıları (İslam ve diğ. , 2013)

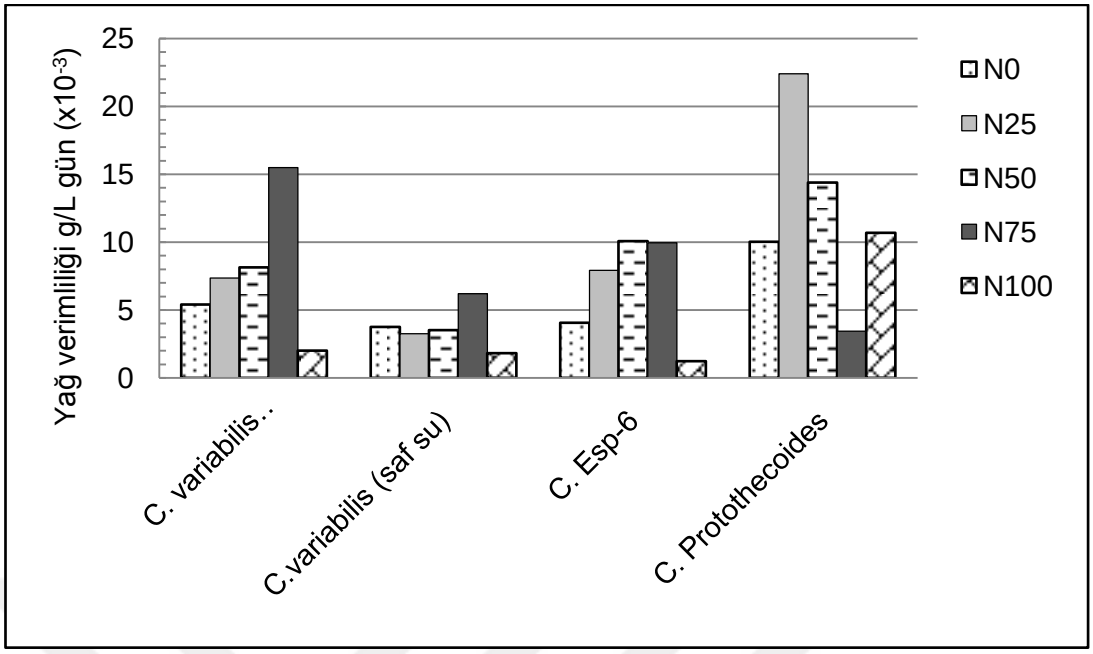
Mikroalg	Setan Sayısı
Ankistrodesmus falcatus	53,2
Ankistrodesmus fusiformis	50,8
Kirchneriella lunaris	45,9
Chlamydomonas sp.	66,9
Chlamydocapsa bacillus	51
Coelastrum microporum	55,4
Desmodesmus brasiliensis	55,6
Scenedesmus obliquus	65,5
Pseudokirchneriella subcapitata	56,7
Chlorella vulgaris	63,8
Botryococcus braunii	55,1
Botryococcus terribilis	61,7
Nannochloropsis oculata	55,0
Extubocellulus sp.	57,8
Biddulphia sp.	52,5
Phaeodactylum tricornutum	47,3
Picochlorum sp.	44
Amphidinium sp.	39,5
Scenedesmus dimorphus	32,9
Franceia sp.	27,7
Mesotaenium sp.	28,3



Şekil 4.15. Farklı azot kısıtlamalarında elde edilen en yüksek hücre derişimleri



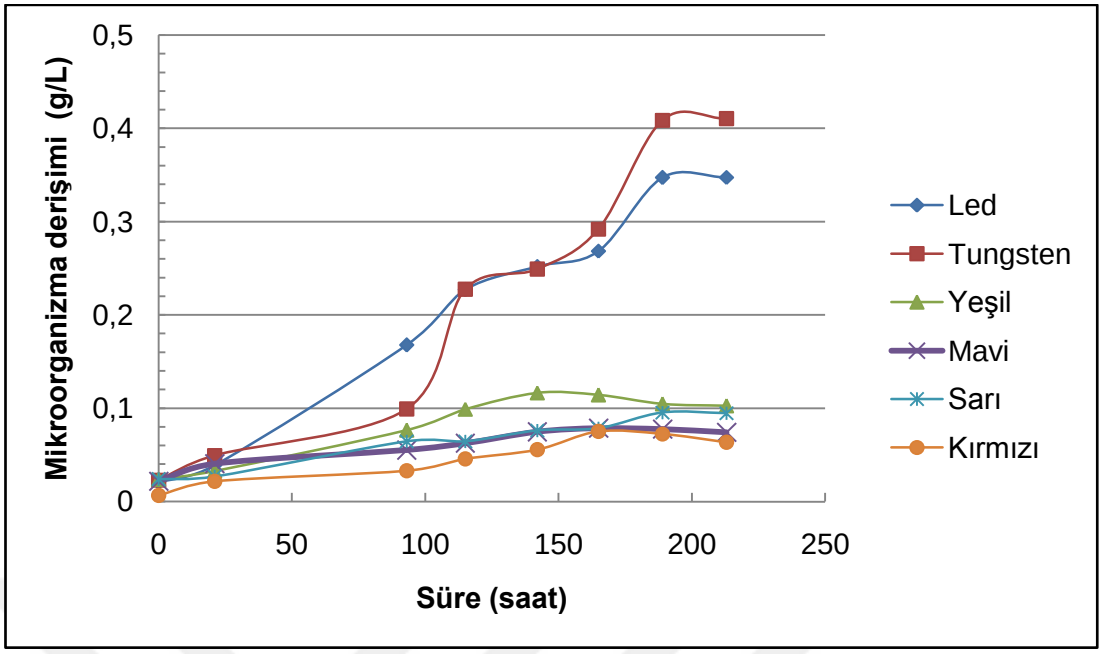
Şekil 4.16. Farklı azot kısıtlamalarında elde edilen en yüksek yağ içerikleri



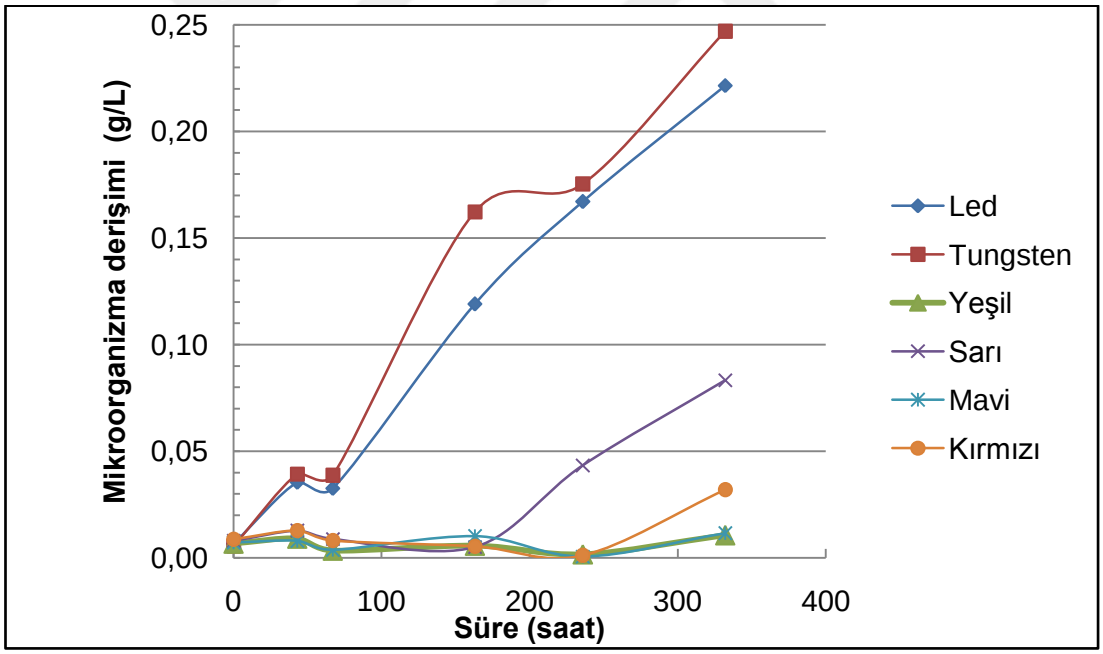
Şekil 4.17. Farklı azot kısıtlamalarında elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri

4.3 Farklı Işık Kaynaklarının Mikroalg Büyümesi ve Yağ Üretimi Üzerine Etkisi

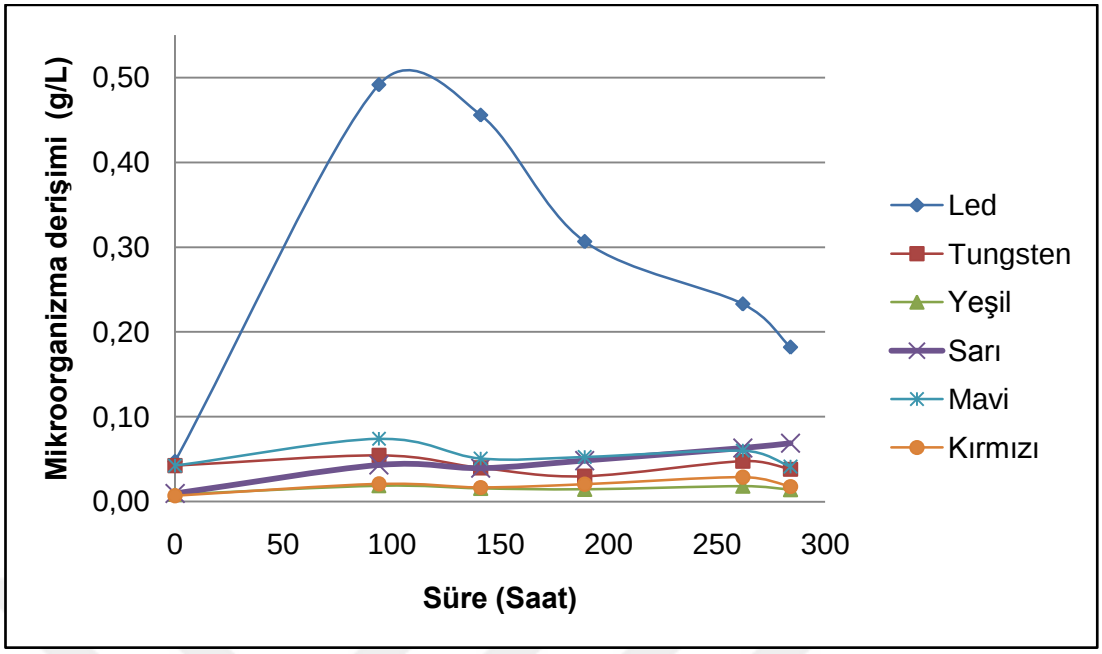
Işık, fotosentetik organizmaların yaşamlarını sürdürebilmeleri için zorunludur. (Vonshak, 2004). Mikroalglerin büyüyerek yüksek hücre derişimi elde edilecek şekilde büyütülmeleri için ışık kaynağı türe göre eniyileştirilmelidir. Farklı ışık kaynaklarının mikroalglerin büyümesine ve yağ üretimine etkisini araştırmak amacı ile BG11 besi ortamı aydınlatma şiddeti 3 Klüks olan Orsam marka led ve General Elektrik marka tungsten, aydınlatma şiddeti 3,16 Klüks, 0,81 Klüks,0,22 Klüks, 0,32 Klüks, 0,82 Klüks olan sırasıyla yeşil, sarı, mavi, kırmızı Philips marka ampüller ile aydınlatılmıştır. Kültürlerde herhangi bir azot sınırlaması uygulanmamıştır. Farklı ışık kaynakları etkisindeki *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella prothocoides* için büyüme eğrileri sırasıyla Şekil 4.18, 4.19 ve 4.20'de görülmektedir.



Şekil 4.18. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi



Şekil 4.19. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi



Şekil 4.20. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi

Chlorella variabilis için, Şekil 4.18'den açıkça görüldüğü üzere led ve tungsten ışık etkileri altında mikroorganizma büyümesi farklı hızlarda 115. saate kadar artmıştır. Bu saatten 165. saate kadar mikroorganizma derişimi sabit kalmış, 165. saatten sonra büyüme 189. saate kadar bir miktar daha artarak bu saatten sonra durgun faza geçmiştir. Diğer ışık (yeşil, mavi, sarı, kırmızı) etkilerinde mikroorganizma büyümesinin oldukça yavaş olduğu gözlenmiş,hücre derişimleri 115. saaten sonra durgun faza geçmiş 165. saaten sonra ölüm fazına geçmiştir. Led ve tungsten aydınlatma hariç diğer tüm kaynaklardan sağlanan ışık enerjisi mikroorganizma büyümesi için yeterli olmamıştır.

Chlorella ESP-6 için, led ve tungsten ışık etkisi altında 333. saate kadar farklı büyüme hızlarında çoğalmayı sürdürmüşlerdir. Diğer ışık etkileri altında kültür edilen mikroalglerde büyüme yok denecek kadar azdır. Sarı ışık etkisi altında mikroorganizma nispeten diğer büyüme gösteremeyen türlere göre az da olsa büyüme göstermiştir (Şekil 4.19).

Chlorella protothecoides türü mikroalg led ışık etkisi altında 100. saate kadar hızlı bir büyüme göstermiş,daha sonra durgunluk fazına geçerek kısa bir süre sonra da (20 saat) ölüm fazına geçmiştir. Diğer ışık etkileri altında kültür edilen mikroalglerde büyüme yok denecek kadar azdır (Şekil 4.20). Tungsten lamba ışık kaynağının bu tür üstüne fotoinhibisyon etkisi yapmış olduğu düşünülmektedir, aynı zamanda

tungsten lamba varlığında oluşan yüksek sıcaklık (36 °C) büyüme üzerine olumsuz etki gösterdiği düşünülmektedir. Farklı ışık kaynaklarının büyüme hızları ve yağ içeriklerine etkileri *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella protothecoides* için sırasıyla Tablo 4.9, 4.10 ve 4.11'de verilmiştir.

Tablo 4.9. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Işık kaynağı / Işık şiddeti (Klüks)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/L.gün ($x10^{-3}$)
Led (3,00)	0,35	0,022	31,5	15,2	5,91
Tungsten (3,16)	0,41	0,041	16,9	14,5	6,60
Yeşil (0,81)	0,10	0,012	57,7	13,9	1,54
Sarı (0,22)	0,09	0,012	57,7	14,9	1,49
Mavi (0,32)	0,07	0,004	173	13,8	1,07
Kırmızı (0,82)	0,06	0,005	138,6	15,2	0.067

Tablo 4.10. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella ESP-6* büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Işık kaynağı (klüks)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
Led (3,00)	0,22	0,030	23,1	17,0	2,7
Tungsten (3,16)	0,25	0,035	19,8	13,9	4,5
Yeşil (0,81)	-	-	-	-	-
Sarı (0,22)	0,08	0,014	49,5	13,8	0,7
Mavi (0,32)	-	-	-	-	-
Kırmızı (0,82)	-	-	-	-	-

Tablo 4.11. Farklı ışık kaynaklarının *Chlorella protothecoides* büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Işık kaynağı (klüks)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
Led (3,00)	0,18	0,025	27,7	45,2	6,8
Tungsten (3,16)	0,04	0,003	231	43,1	1,4
Yeşil (0,81)	-	-	-	-	-
Sarı (0,22)	-	-	-	-	-
Mavi (0,32)	-	-	-	-	-
Kırmızı (0,82)	-	-	-	-	-

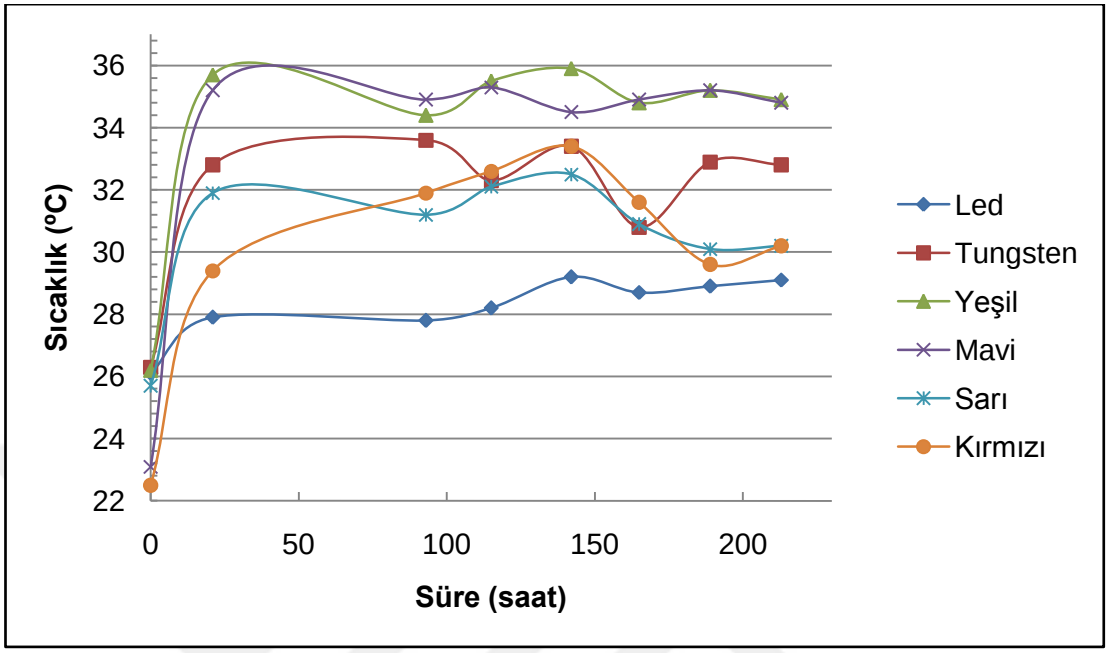
Chlorella variabilis için, 12 günlük kültür sonucunda en yüksek hücre derişimine (0,41g/L), büyüme hızına (μmax= 0,041h^{-1}) ve yağ verimliliğine (6,60 g/L.gün.10x^{-3}) tungsten lamba ile (3,16 Klüks) ulaşıldığı Tablo 4.9'da görülmektedir. Aynı zamanda farklı ışık kaynaklarının mikroorganizma yağ içeriğine belirgin bir etkisine rastlanmamıştır. *Chlorella variabilis* için literatürde farklı ışık kaynaklarının mikroorganizma büyüme ve yağ içeriğine etkisine ilişkin çalışmaya rastlanmamıştır.

Farklı tür mikroorganizmalar ile farklı ışık etkilerinde çalışmalar mevcuttur. 6 farklı ışık kaynağının (sarı, kırmızı, mavi, yeşil, beyaz ve mor ışık) *Chlorella vulgaris* mikroalg türünün büyümesi üzerine etkileri araştırılmış, sarı, kırmızı ve beyaz ışığın etkisinde büyüme gerçekleşmiş en yüksek büyüme hızı ise beyaz ışıkta elde edilmiştir (Hulberg ve diğ., 2014). Blair ve diğ,. 2014'de yaptıkları çalışmada ise, farklı dalga boylarına sahip ışıkların (mavi, parlak beyaz, yeşil ve kırmızı) *Chlorella vulgaris* büyümesi üzerine etkilerini incelemiş, kırmızı ve yeşil dalga boyuna sahip ışıklara kıyasla, mavi ışıkta yüksek büyüme hızı elde ettiklerini bildirmişlerdir.

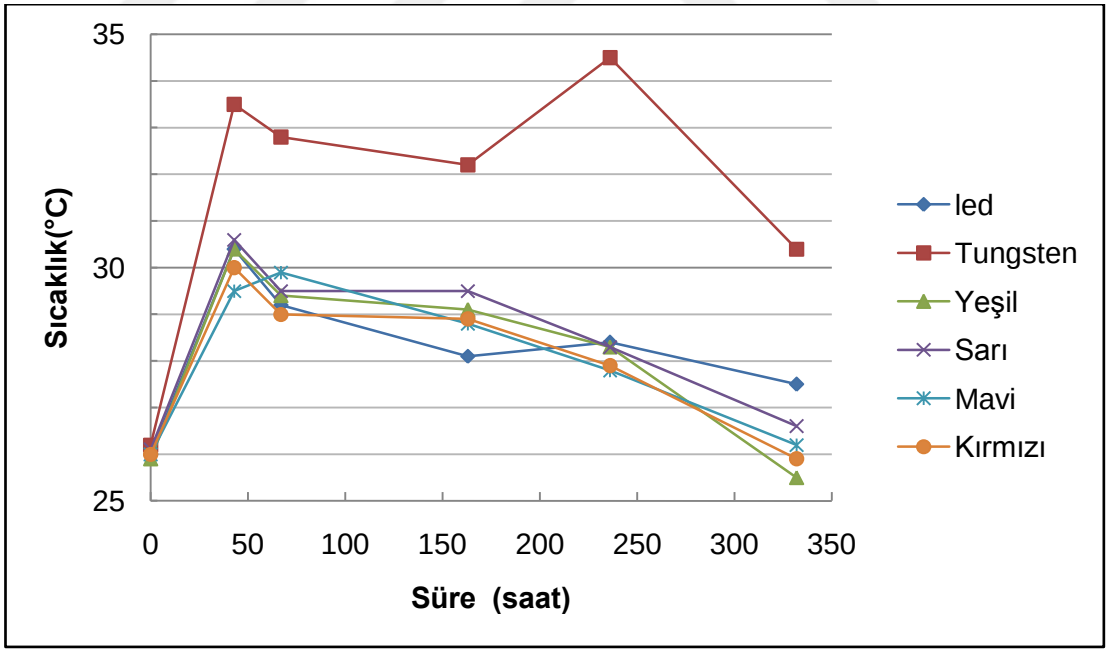
14 günlük kültür sonucunda, *Chlorella ESP-6 için* en yüksek mikroorganizma derişimine (Xmax= 0,25 g/L), büyüme hızına (μ_{max}= 0,035h^{-1}) ve yağ verimliliğine (4,5 x10^{-3} g/L.gün.10x^{-3}) tungsten lambada ulaşılmıştır. Aynı zamanda farklı ışık şiddetlerinin mikroorganizma yağ içeriğine belirgin bir etkisine rastlanmamış ve en yüksek yağ içeriği (%17) led lamba (3 Klüks) ışık şiddetinde sürekli aydınlatmada ulaşılmıştır. Diğer ışık etkilerinde büyüme olmadığı için hesaplama yapılmamıştır. Bu tür için literatürde farklı ışık kaynaklarının mikroorganizma büyüme ve yağ içeriğinin etkisine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. *Chlorella ESP-6* türü *Chlorella variabilis* türüne göre düşük yoğunluklu ışık şiddetlerine karşı dirençsiz olduğunu göstermiştir. Literatürde *Dunaliella salina sp*. ve *Palmellopsis muralis* mikroalglerin büyümesi üzerine farklı ışık kaynaklarının (kırmızı,sarı,mavi,beyaz) etkileri araştırılmış, her iki mikroalg türü için de beyaz led ışık etkisi altında en yüksek büyüme hızına ulaştıklarını belirlenmiştir (Gezici, 2012).

Chlorella protothecoides için, 12 günlük kültür sonucunda, en yüksek mikroorganizma derişimine (Xmax= 0,18 g/L), büyüme hızına (μ_{max}= 0,025h^{-1}), yağ içeriğine (%45) ve yağ verimliliğine (6,8x10^{-3} g/L.gün) led lamba (3 Klüks) ışık şiddetinde sürekli aydınlatmada ulaşılmıştır. *Chlorella protothecoides* türü *çalışmada* kullanılan diğer türlere göre belirgin bir büyümeyi sadece led ışık etkisinde göstermiştir. Bu tür için farklı ışık şiddetlerinin mikroorganizma yağ içeriğine belirgin bir etkisine rastlanmamış aynı zamanda en yüksek yağ içeriğine (% 45) led lamba (3 Klüks) ışık şiddetinde sürekli aydınlatmada ulaşılmıştır. *Chlorella protothecoides* için literatürde farklı ışık kaynaklarının mikroorganizma büyüme ve yağ içeriğine etkisine ilişkin sınırlı sayıda çalışmalar vardır. Krzeminska ve diğ., 2015 yılında yaptıkları çalışmada 35, 130, 420 µmol ışık şiddetleri etkisi altında yetiştirilen kültürlerde ışık şiddetinin artması ile büyüme hızı ve buna paralel olarak yağ içerikleri %24'den %37,5'e artığını belirlemişlerdir. Farklı ışık kaynakları kullanımında *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6, Chlorella protothecoides* için kültür ortamı sıcaklık

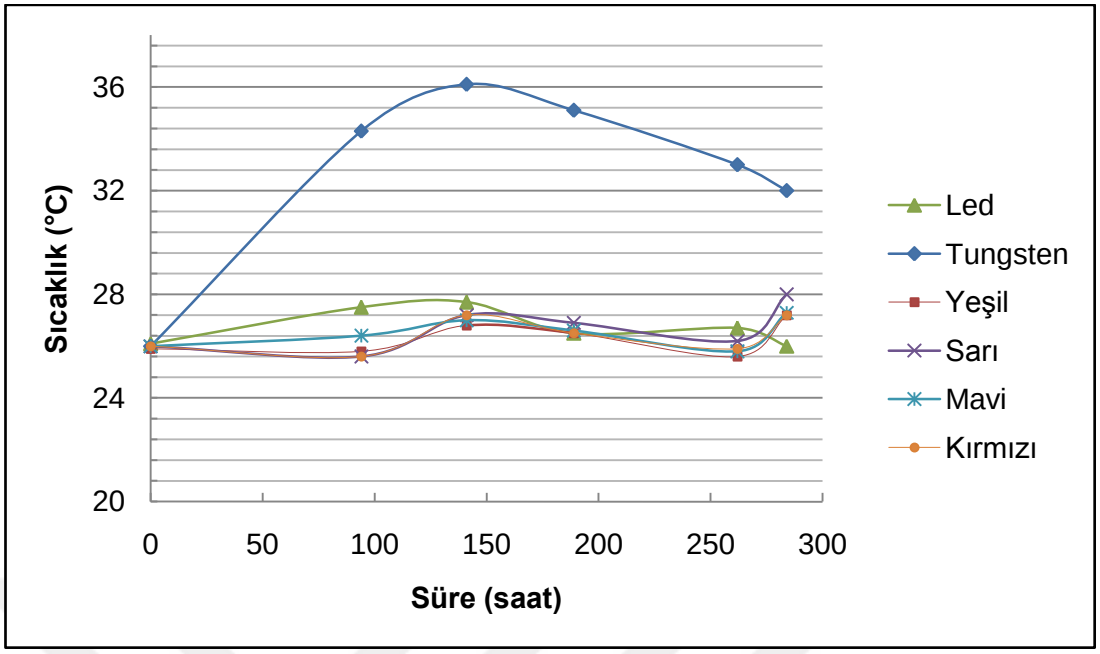
değişimleri sırasıyla, Şekil 4.21, 4.22 ve 4.23'de, pH değişimleri ise sırasıyla Şekil 4.24, 4.25 ve 4.26'da verilmiştir.



Şekil 4.21. *Chlorella variabilis*'e ait farklı ışık kaynaklarında sıcaklık değişimleri



Şekil 4.22. *Chlorella ESP-6* 'ya ait farklı ışık kaynaklarında sıcaklık değişimleri

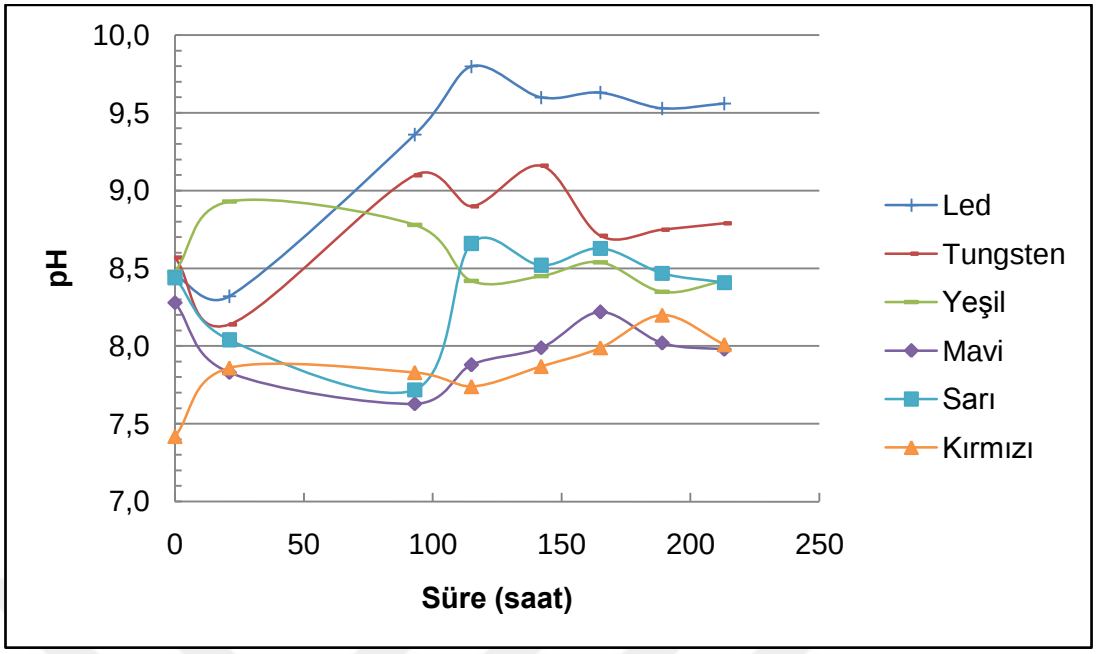


Şekil 4.23. *Chlorella protothecoides*'e ait farklı ışık kaynaklarında sıcaklık değişimleri

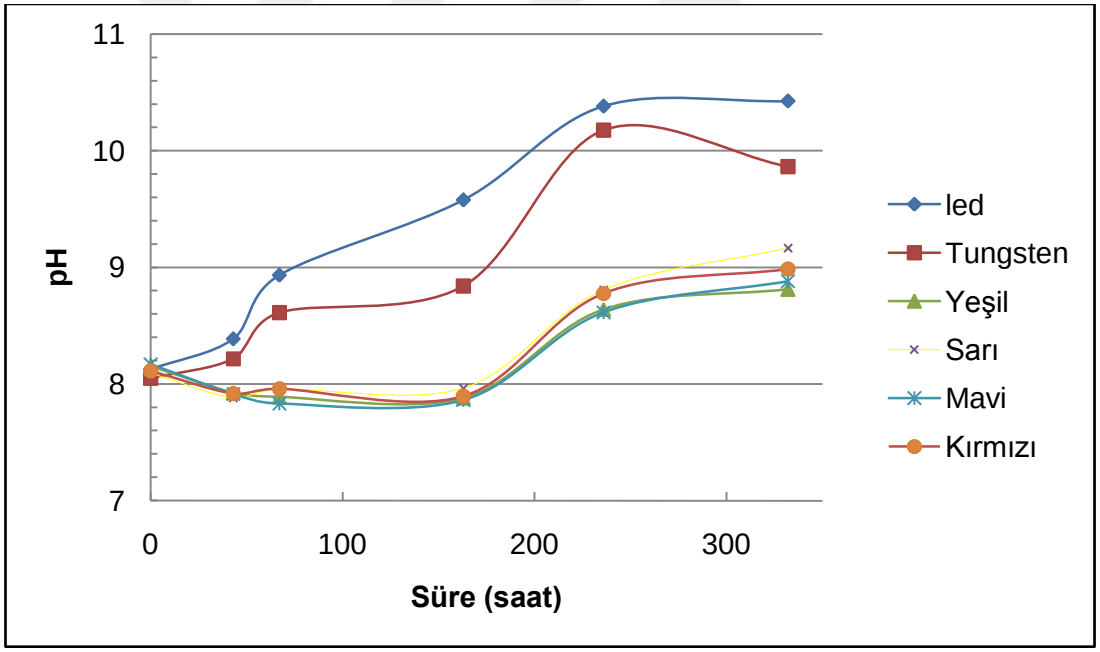
Chlorella variabilis için, kültürlerin başlangıç sıcaklıkları 22 ile 26,5°C olarak ölçülmüş, sıcaklıklar, 21. saate kadar sıcaklık sağlanan ışık etkileri ile hızla artmış, bu saatten sonrada kültür süresince sıcaklık değerleri her ortam için 27,5°C-36 °C arasında değişim göstermiştir. Şekil 4.15'den anlaşıldığı üzere led ışık kaynağı hariç diğer tüm kaynaklar sıcaklık artışına neden olmuştur. Sıcaklığın artması ile birlikte mikroalglerin büyümelerininde yavaşladığı bilinmektedir(Şekil 4.21).

Chlorella ESP-6 için, başlangıç sıcaklıkları 25 ± 0,2°C olarak ölçülmüştür. Kültürlerde 43. saate kadar sıcaklık sağlanan ışık etkileri ile hızla artmış, bu saaten sonrada kültür süresince sıcaklık dağılımı her ortam için 28°C ile 34°C arasında değişim göstermiştir (Şekil 4.22). Kültürlerde zamanla buharlaşma ile sıvı kaybı olmuştur. Belirli aralıklar ile ortamlara şebeke suyu beslemesi yapılmıştır. Bu işlemin sıcaklık dalganmalarına neden olduğu düşünülmektedir.

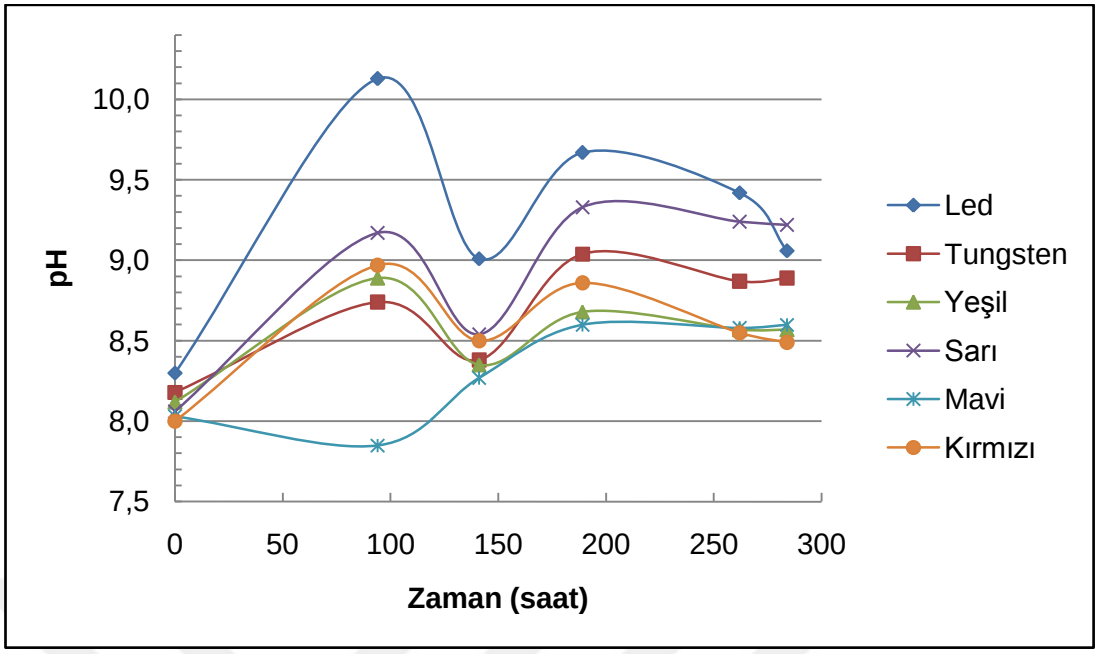
Chlorella protothecoides için, başlangıç sıcaklığı 25,5°C derecedir. Tungsten lamba etkisinde kültürün sıcaklığı zamana bağlı olarak giderek artmıştır. 120. saaten itibaren ortamın sıcaklığını azaltmak amacıyla havalandırma sağlanmıştır. Fakat sıcaklığı 32°C nin altına indirmek mümkün olmamıştır. Diğer kültür sıcaklıkları 26°C-28°C arasında değişim göstermişlerdir (Şekil 4.23).



Şekil 4.24. *Chlorella variabilis'*e ait farklı ışık kaynaklarında pH değişimleri



Şekil 4.25. *Chlorella ESP-6* 'ya ait farklı ışık kaynaklarında pH değişimleri



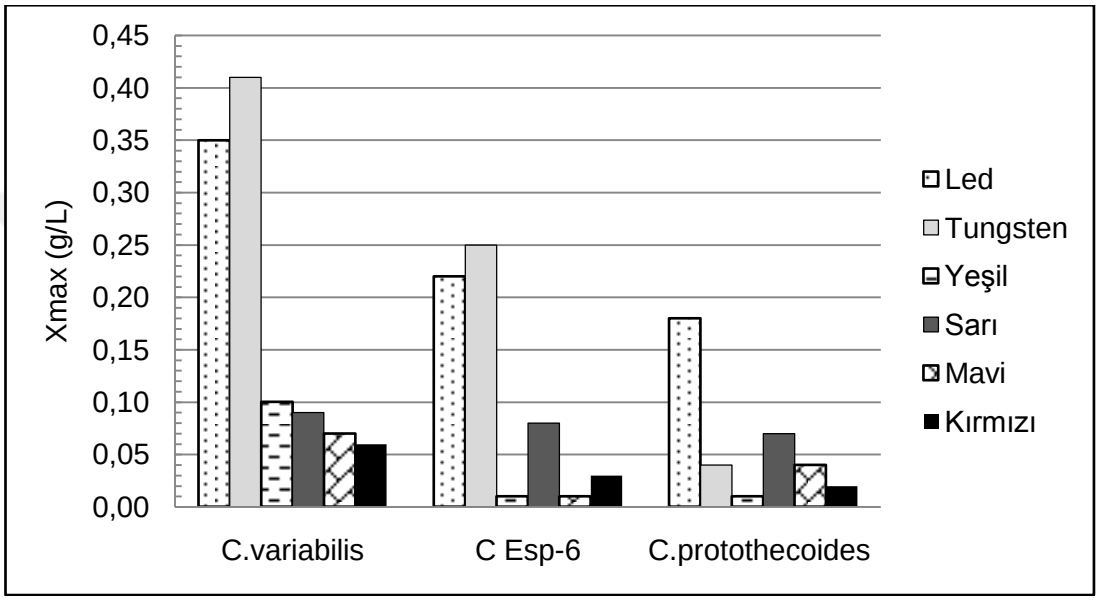
Şekil 4.26. Farklı ışık kaynakları altında *Chlorella protothecoides* kültürünün pH değişimleri

Chlorella variabilis, besi ortamına uyum sağlamaya çalışmıştır. Başlangıçta pH değerleri kırmızı ve yeşil ışık kaynağı hariç diğer tüm ışık kaynaklarında azalmıştır (Şekil 4.24). Tüm ortamlarda 115. saate kadar pH dalgalanmaları görülmüş olup bu saatten sonra sabit kalmışlardır. En yüksek pH 9,25 olarak led ışık etkisi altında ölçülmüştür. Büyüme ile birlikte mikroorganizmanın ortam pH değeri 10,5 -11 değerlerine kadar çıkabilmektedir.

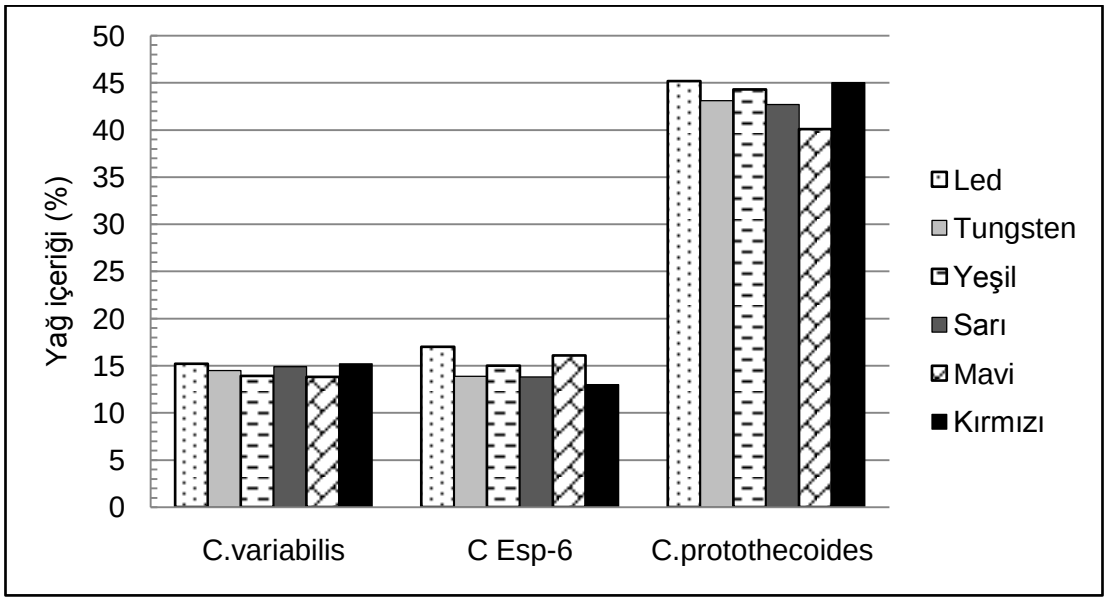
Chlorella ESP-6 için, 163. saate kadar led ve tungsten lamba ışık etkisindeki mikroorganizmalar hariç diğer tüm farklı ışık etkilerindeki mikroorganizmalara ışık şiddetinin az geldiği Şekil 4.25'den anlaşılmaktadır. Işığın yeterli olduğu kültürler fotosentez yaparak ortam pH'ını yükseltmişlerdir. Işığın yetersiz olduğu kültürler ise oksijeni tüketmiş ve pH'larda azalma olmuştur. En yüksek pH 10,45 olarak led ışık etkisi altında ölçülmüştür. Büyüme ile birlikte mikroorganizmanın ortam pH'ı 10,5 -11 değerlerine kadar çıkabilmektedir.

Chlorella protothecoides için, kültürlerde 94. saate kadar mavi ışık kaynağı hariç ışığın yeterli geldiği diğer kültürlerde büyümeye bağlı olarak pH artması gözlenmiştir. Mavi ışık etkisi yetersiz geldiğinden büyüme olmamıştır. Kültürlerde pH değerlerinde dalgalanmalar olmuştur. Bu dalgalanmaların belirli zaman aralıklarında ortama eklenen şebeke suyundan kaynaklandığı düşünülmektedir. En yüksek pH 10,13 olarak led ışık etkisi altında ölçülmüştür (Şekil 4.26). Enerji kaynaklarının

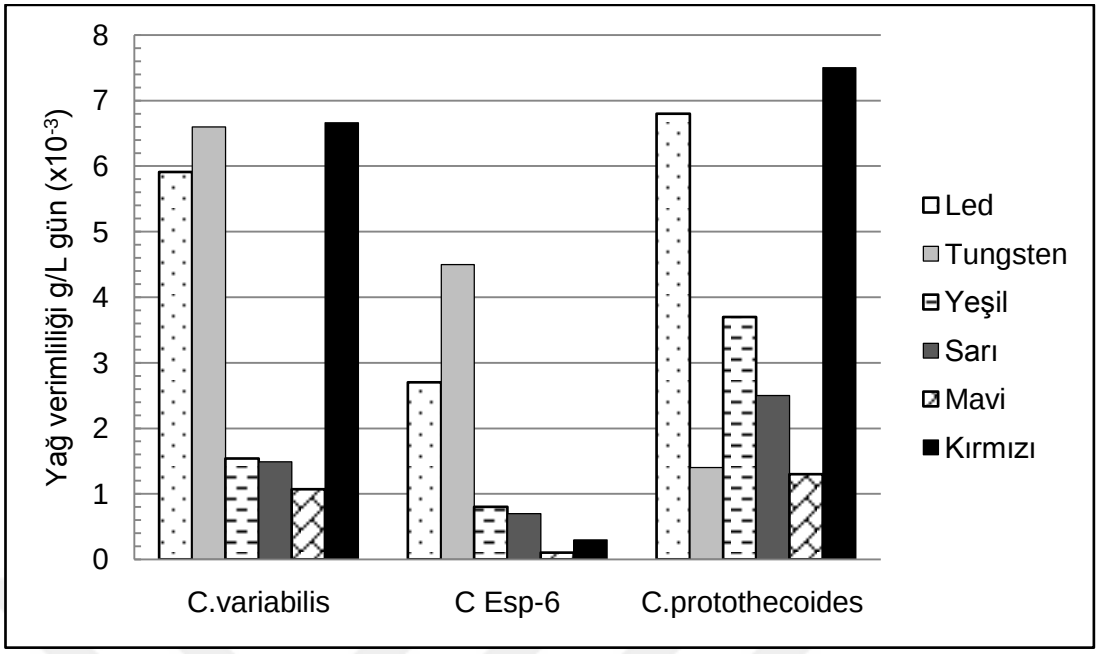
giderek azaldığı ve tüketim fiyatlarının giderek arttığı dünyada ürün maliyetleri bu nedenle etkilenmektedir. Aynı zamanda led lambaların tungsten lambalara nazaran daha uzun ömürlü olması, daha az ısı yayması ve harcadığı elektrik enerjisinin düşük olması nedeniyle maliyet düşürmek için daha sonraki çalışmalar 7W 2400K led lambalar varlığında yapılmıştır. Farklı ışık kaynakları etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri Şekil 4.27'de yağ içerikleri ve yağ verimlilikleri ise sırasıyla Şekil 4.28 ve 4.29'da verilmiştir.



Şekil 4.27. Farklı ışık kaynakları etkisindeki mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri



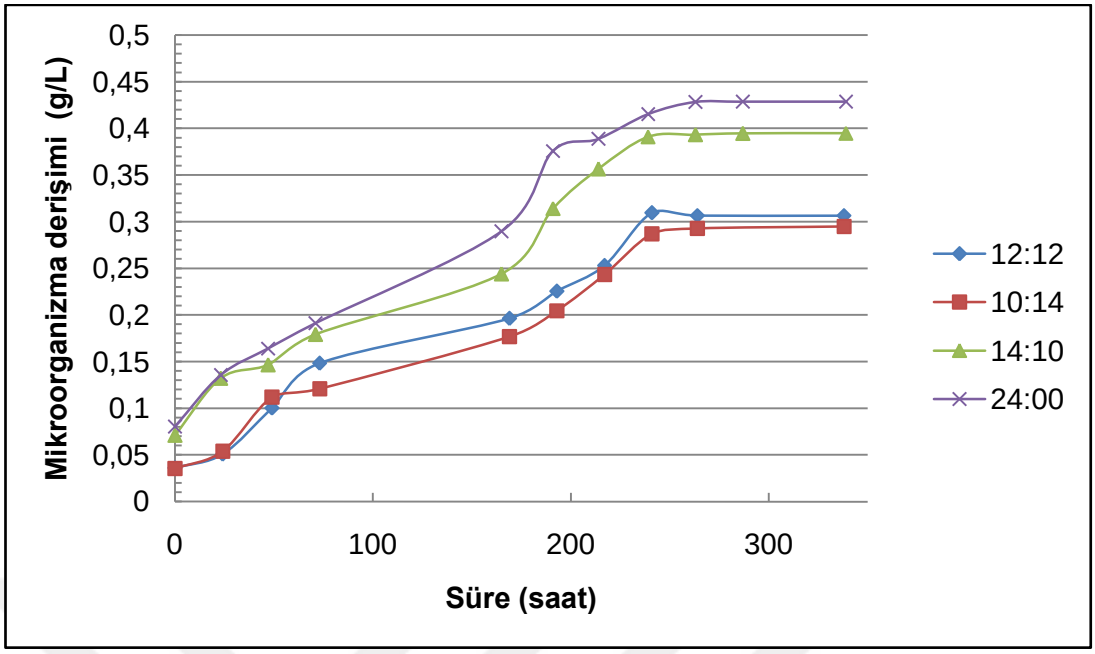
Şekil 4.28. Farklı ışık kaynakları etkisindeki mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ içerikleri



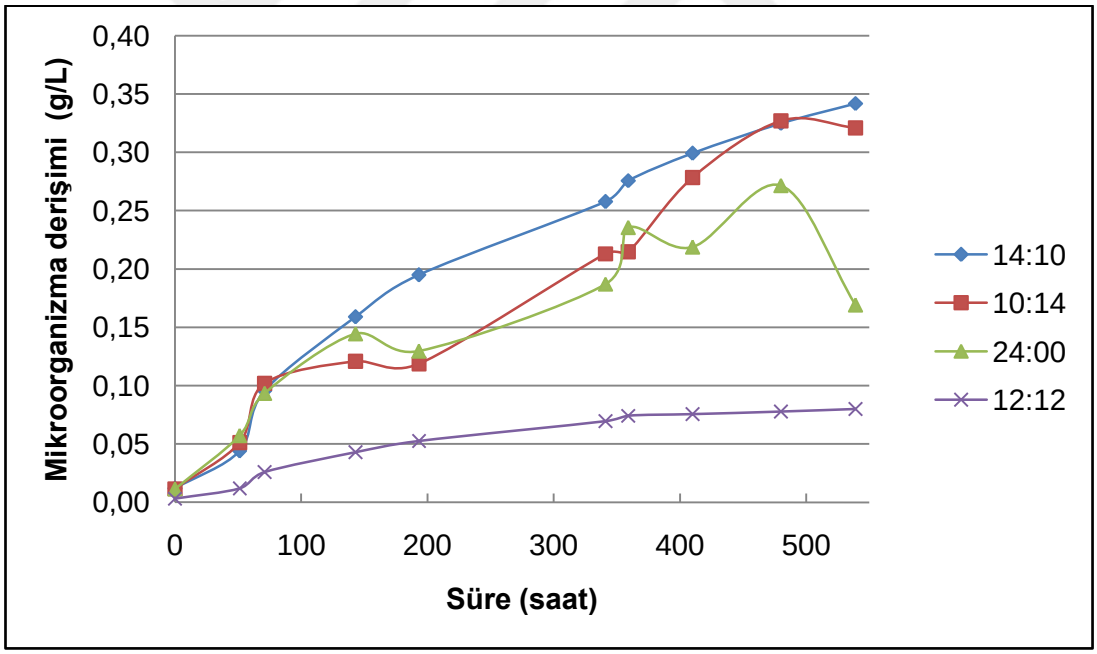
Şekil 4.29. Farklı ışık kaynakları etkisindeki mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri

4.4 Aydınlık-Karanlık Döngüsünün Mikroalglerin Büyüme ve Yağ Üretimine Etkisi

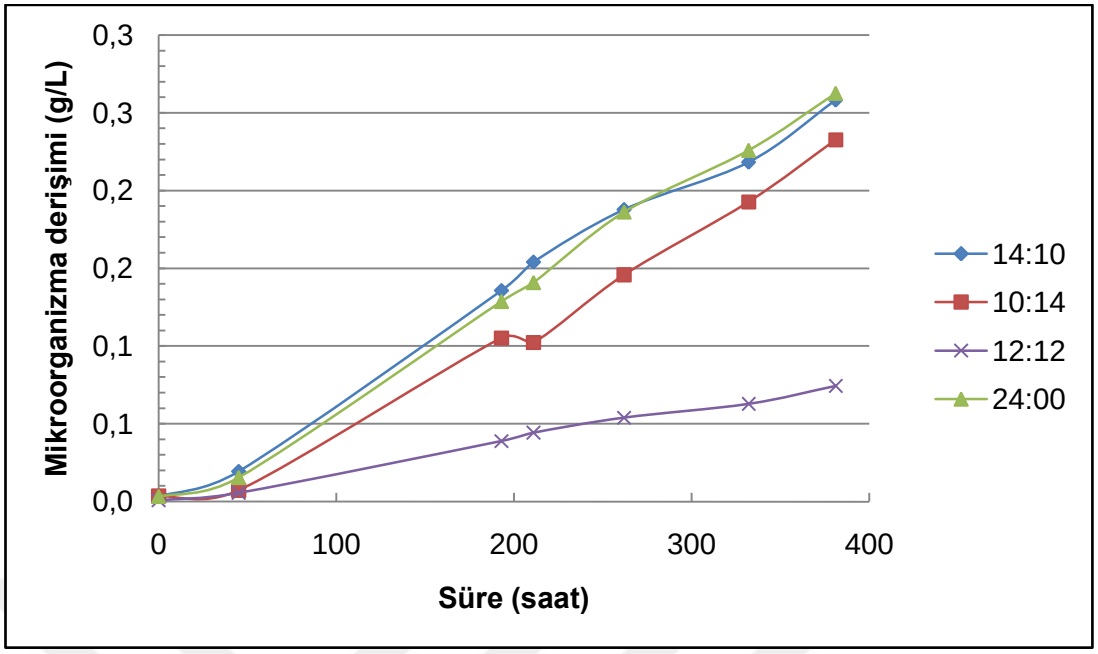
Fotosentez için sürekli aydınlatma yapılması bazı araştırmalara göre hücreler üzerinde olumsuz sonuçlara neden olmaktadır (Wu ve diğ., 2001). Bu olumsuz koşulu engellemek için fotosentez yapan mikroalg hücrelerinin kendilerini yenileyebilmeleri için, karanlık periyoda ihtiyaç olduğu vurgulanmaktadır. Fotosentez yapan mikroalg hücrelerinin kendilerini yenileyebilmeleri için, karanlık periyoda ihtiyaç olduğu bilinmektedir. Bu nedenle alg yetiştiriciliğinde 6-18 saat arasında değişen karanlık periyodlar yada kısa aralıklarla yanıp sönen ışıklar kullanılmaktadır. Mikroalglerin uzun süreli karanlık periyodlarda maruz kalmaları halinde oksijen ve karbonhidrat tüketimi yapacakları için biyokütle veriminde azalma olacağı belirtilmektedir (Molina ve diğ., 2001). Bazı tür mikroalgler için ise sürekli aydınlatma yüksek biyokütle verimi için önemlidir (Koç ve diğ., 2010). Aydınlık-karanlık döngüsünün mikroorganizma büyüme hızı üzerine etkisinin araştırılması amacı ile 100 ml'lik otoklav şişelerinde 3 Klüks ışık şiddetinde, BG 11 besi ortamında azot kısıtlaması olmadan, her üç mikroalg türü kültüre alınmıştır. *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella prothocoides* için büyüme eğrileri sırasıyla şekil 4.30, 4.31 ve 4.32'de görülmektedir.



Şekil 4.30. Aydınlık karanlık döngüsünün *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi



Şekil 4.31. Aydınlık karanlık döngüsünün *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi



Şekil 4.32. Aydınlık karanlık döngüsünün *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi

Chlorella variabilis için, tüm aydınlık karanlık döngüleri etkisinde 241. saate kadar mikroorganizma büyüme evresini tamamlayarak bu saatten sonra durgunluk fazına geçtiği Şekil 4.30'dan anlaşılmaktadır.

Chlorella ESP-6 için, 14:10 ve 10:14 döngüleri etkisinde 410. saate kadar mikroorganizma farklı büyüme hızlarında gelişim göstermiştir. Bu saatin sonunda 24 saat aydınlatılan kültürde mikroorganizmanın ölüm fazına geçtiği görülmektedir. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık etkisi bu mikroalg türünün büyümesi üzerine etkisi sınırlayıcıdır (Şekil 4.31).

Chlorella protothecoides için 12:12 döngü etkisi hariç diğer döngülerin etkisi altındaki kültürlerde döngülerin mikroorganizma büyümesi üzerine belirgin bir etkisi yoktur (Şekil 4.32). Bu evrelerde büyüme benzer hızlarda olmuştur. 24 saat aydınlık evre ile 14:10 etkisinde mikroorganizma büyümesi hemen hemen aynıdır. Enerji verimliliği açısından 14 aydınlık 10 karanlık döngüsü uygun görülmektedir. Büyüme hızları ve yağ içerikleri Tablo 4.12, 4.13 ve 4.14' de farklı ışık kaynaklarında sırasıyla *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella protothecoides* için verilmiştir.

Tablo 4.12. Farklı aydınlık karanlık çevrimlerinde *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Işık çevrimi (aydınlık:karanlık) (h:h)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
10:14	0,31	0,022	31,5	15,4	3,41
12:12	0,29	0,029	23,9	16,2	3,35
14:10	0,39	0,016	43,3	15,6	4,34
24:00	0,43	0,010	69,3	20,2	6,20

Tablo 4.13. Farklı aydınlık karanlık çevrimlerinin *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Işık çevrimi (aydınlık:karanlık) (h:h)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
10:14	0,39	0,004	173	12	2,1
12:12	0,08	0,001	693	24	0,9
14:10	0,34	0,001	693	22	3,4
24:00	0,27	0,002	346	22	2,7

Tablo 4.14. Farklı aydınlık karanlık çevrimlerinde *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Işık çevrimi (aydınlık:karanlık) (h:h)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
10:14	0,23	0,18	3,9	43	6,2
12:12	0,07	0,13	5,3	39	1,7
14:10	0,24	0,13	5,3	45	6,8
24:00	0,26	0,14	5,0	48	7,8

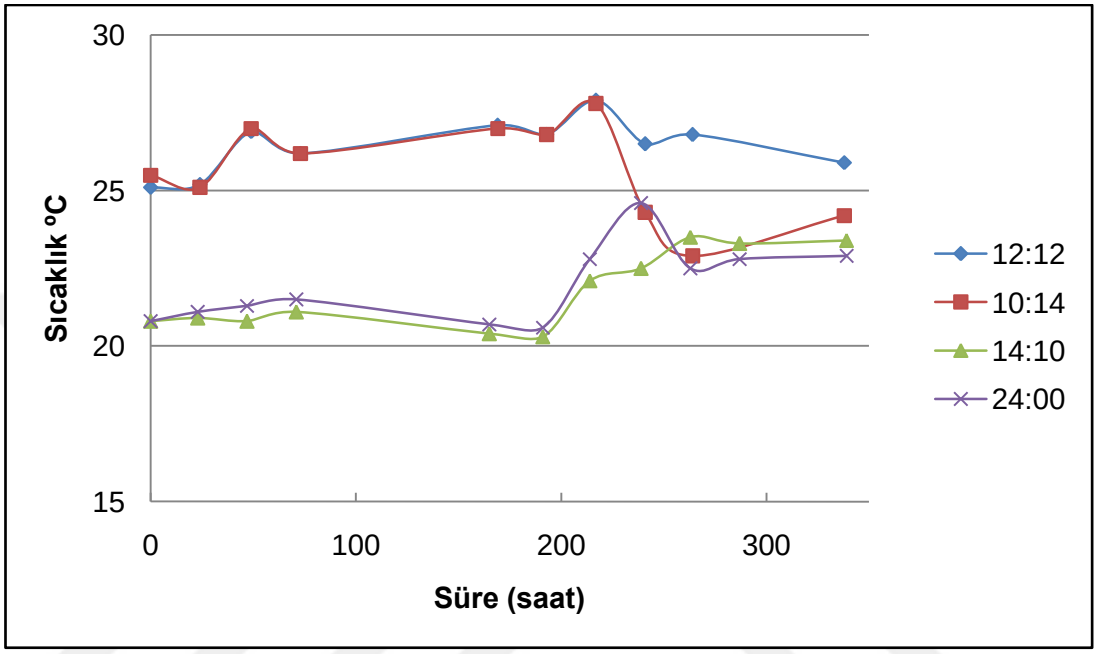
Chlorella variabilis için, 14 günlük kültür sonucunda en yüksek mikroorganizma derişimine (X_{max}=0,43 g/L) 24 saat aydınlatılan kültürde, büyüme hızına (μ_{max}= 0,029 h^{-1}) 12:12 etkisi altında elde edilmiştir (Tablo 4.12).Aydınlık-karanlık döngüsünün hücre büyüme üzerine etkisi mikroalg türüne göre farklılık gösterdiği bilinmektedir. *Chlorella variabilis* türü için hem yağ içeriği (%20,2) bakımından hem de yağ verimliliği (6,20 g/Lgünx10^{-3}) bakımından 24 saat aydınlıkda kültür edilmesi sonraki çalışmalar için uygun görülmüştür.

Chlorella ESP-6 için, 22 günlük kültür sonucunda en yüksek mikroorganizma derişimine (X_{max}=0,39 g/L) büyüme hızına (μ_{max}= 0,004h^{-1}) 14 saat aydınlık 10 saat karanlık etkisi altındaki kültürde elde edilmiştir (Tablo 4.13). *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin 14 aydınlık-10 karanlık ve 10 aydınlık 14 aydınlık döngülerinde birinde yüksek mikroorganizma derişimi elde etmek amacı ile aydınlatılması uygun bulunmuştur. Farklı döngülerin mikroorganizma yağ içeriğine belirgin bir etkisine rastlanmamıştır. En yüksek yağ verimliliğne (3,4 g/Lgünx10^{-3}) 14:10 ışık çevriminde elde edilmiştir. Aydınlık-karanlık döngüsünün hücre büyümesi üzerine etkisinin mikroalg türüne göre farklılık gösterdiği bilinmektedir. *Chlorella ESP-6* türü *Chlorella variabilis* türüne göre oldukça yavaş büyüyen bir mikroalg türüdür.

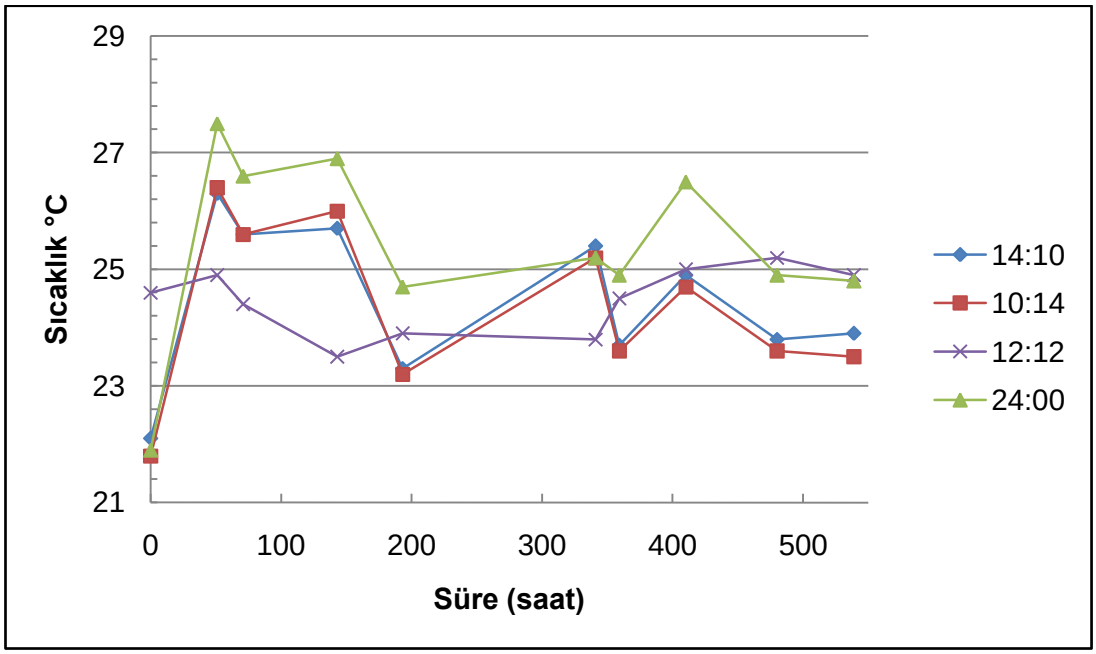
Chlorella protothecoides için, en yüksek mikroorganizma derişimine (X_{max}=0,26 g/L) ve en yüksek yağ verimliliğine (7,8x10^{-3}) 24 saat aydınlık etkisindeki kültürde ulaşılmıştır. *Chlorella protothecoides* diğer türlere göre oldukça hızlı büyüyen bir tür olduğunu göstermiştir. Kültür sonunda yüksek mikrorganizma derişimleri elde etmek için 24 saat aydınlık bu mikroalg türü için uygun olduğu söylenebilir. Literatürde aydınlık karanlık döngüsünün protothecoides türü mikroalgin büyüme ve yağ içeriğine etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Literatürde 3 mikroalg türü için aydınlık karanlık çevrimleri etkisinde büyüme davranışını ve yağ üretkenliğini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Farklı mikroorganizma türleri ile yapılan bir çalışmalar bulunmaktadır. Renaud ve diğ., 2002'de yaptıkları çalışmada *Isochrysis sp*., *Chaetoceros sp*., *Rhodomonas sp*. ve *Cryptomonas sp*. türlerini 12:12 aydınlık-karanlık periyodu uygulayarak kültüre alıp; kimyasal bileşimi ile yağ asidibileşimiincelemişlerdir. 25°C'de *Chaetoceros sp*. %16,8 ile en yüksek yağiçeriğine sahipken, 27-30°C'lerde en yüksek yağ içeriği %21,7 ile *Isochrysis sp*. türünde elde edilmiştir. Zhila ve diğ., 2005'de yaptıkları çalışmada sie *B. braunii* mikroalg türünü %75 azot sınırlamasında, 10:14 aydınlık-karanlık periyodu uygulayarak büyüme ve yağ içeriğini araştırmışlardır. Yirmi günlük

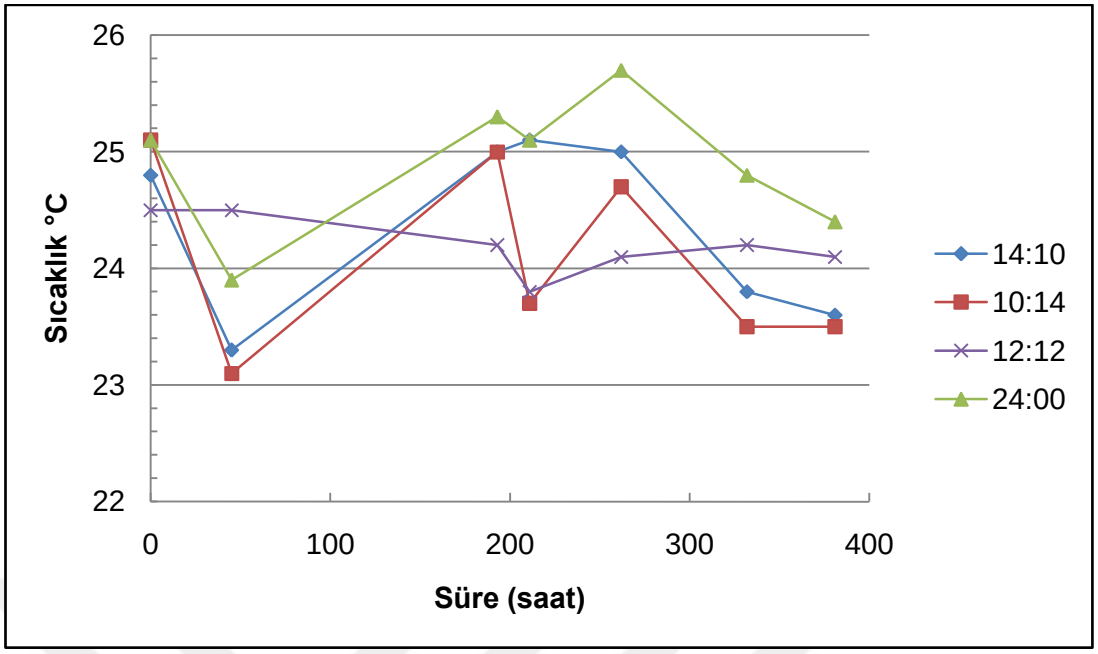
kültürün sonunda sürekli aydınlatılan kültüre göre günlük biyokütle %6,8'den %2,9'a düşerken, yağ içeriği ise ise %21'e yükselmiştir. Mikroorganizmaların kültür süresince sıcaklık değişimleri Şekil 4.33, 4.34 ve 4.35'de pH değişimleri Şekil 4.36, 4.37 ve 4.38'de sırasıyla *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6, Chlorella protothecoides* için verilmiştir.



Şekil 4.33. *Chlorella variabilis*'e ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde sıcaklık değişimleri



Şekil 4.34. *Chlorella ESP6*'ya ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde sıcaklık değişimleri

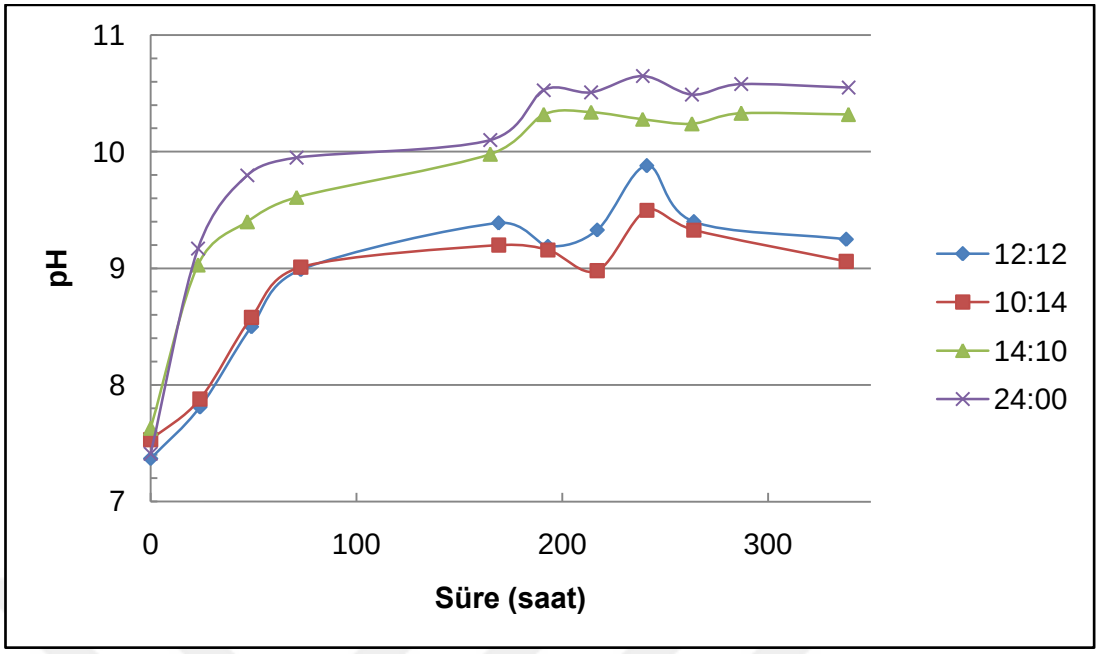


Şekil 4.35. *Chlorella protothecoides'*e ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde sıcaklık değişimleri

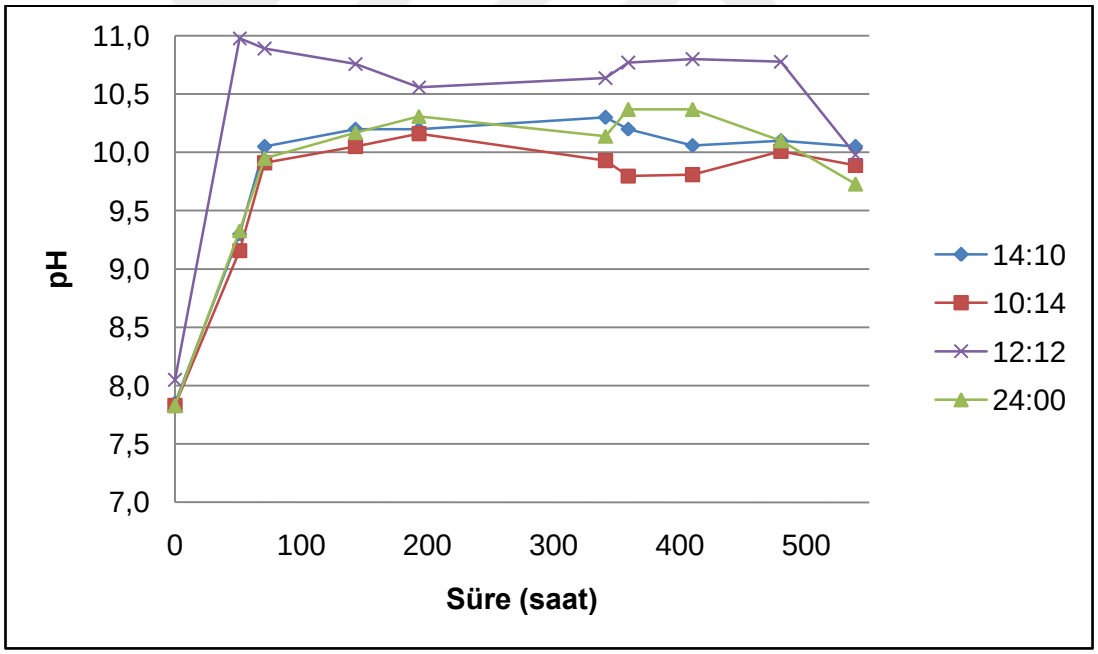
Chlorella variabilis kültürlerin başlangıç sıcaklıkları 20± 0,2 ile 25± 0,2 °C olarak ölçülmüşütür. Kültür boyunca ışıkların kapanıp açılması ile sıcaklıklarda dalgalanmalar gözlenmiştir (Şekil 4.27). Kültürlerin pH değerleri başlangıç pH 7,5 değerinde her bir kültür için 73. saate kadar artış göstermiştir (Şekil 4.33).

Chlorella ESP-6 için kültürlerin, 71. saate kadar sıcaklığı artmış bu saaten sonra kültür sonuna kadar ise dalgalanmalar olmuştur. Sıcaklık dalgalanmalarının aydınlık karanlık döngülerinde ışıkların açılıp kapanmasından kaynaklandığı öngörülmektedir (Şekil 4.34). Sürekli aydınlatılan kültürde ise dalgalanmaların ortama belirli aralıklar ile sıvı kaybının önlenmesi amacıyla eklenen şebeke suyunun sıcaklığından kaynaklandığı öngörülmektedir. Kültür sıcaklıkları ortalama 23°C ile 27°C arasında dalgalanmıştır.

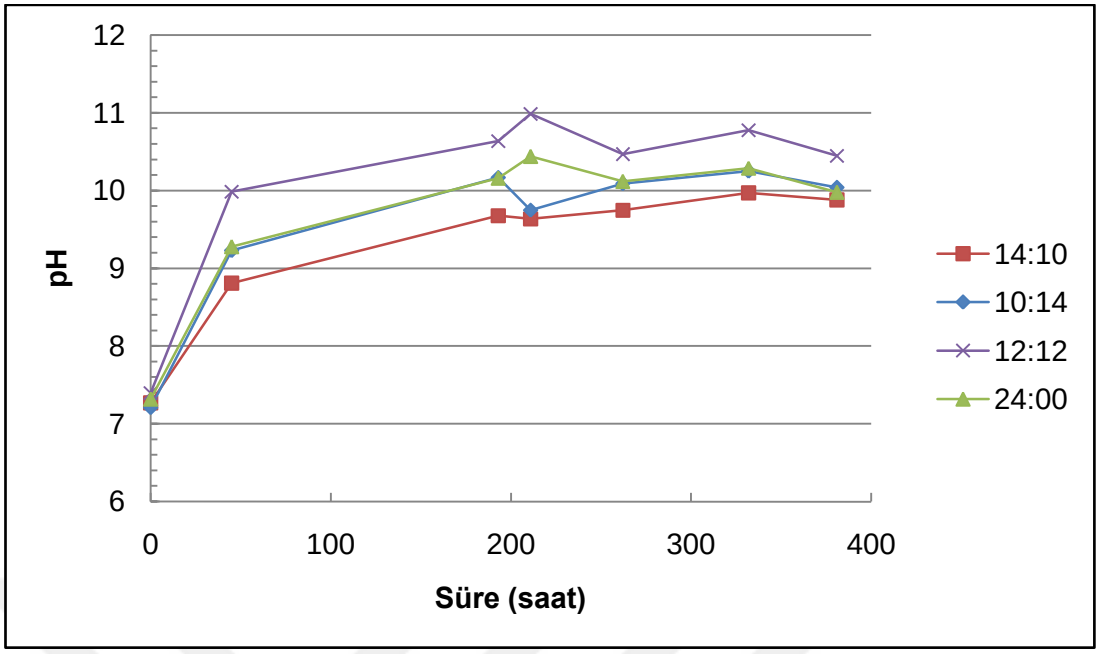
Chlorella protothecoides için, kültürlerde 45. saate kadar sıcaklık azalmıştır bu saaten itibaren kültür sonuna kadar dalgalanmalar olmuştur. Sıcaklık dalgalanmaları aydınlık karanlık döngülerinde ışıkların açılıp kapanmasından kaynaklandığı öngörülmektedir (Şekil 4.35). Sürekli aynlatılan kültürde ise ortama belirli aralıklar ile sıvı kaybının önlenmesi amacıyla eklenen şebeke suyunun sıcaklığından kaynaklandığı öngörülmektedir. Kültür sıcaklıkları ortalama 23°C- 25,5°C aralığında değişmiştir.



Şekil 4.36. *Chlorella variabilis'e* ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde pH değişimleri



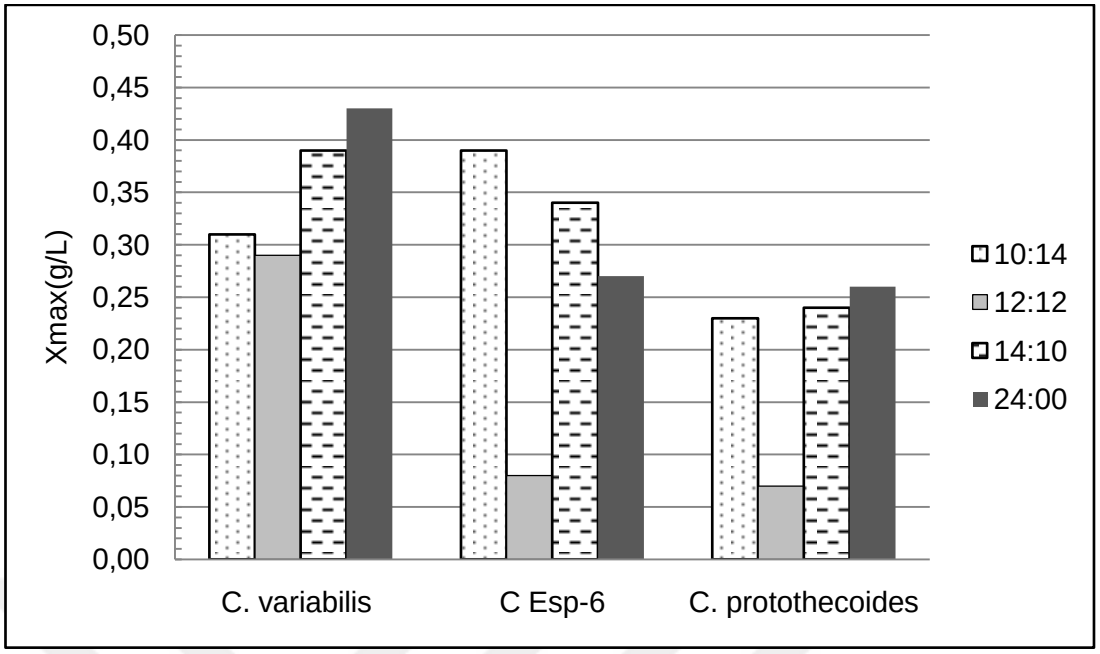
Şekil 4.37. *Chlorella ESP-6*' ye ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde pH değişimleri



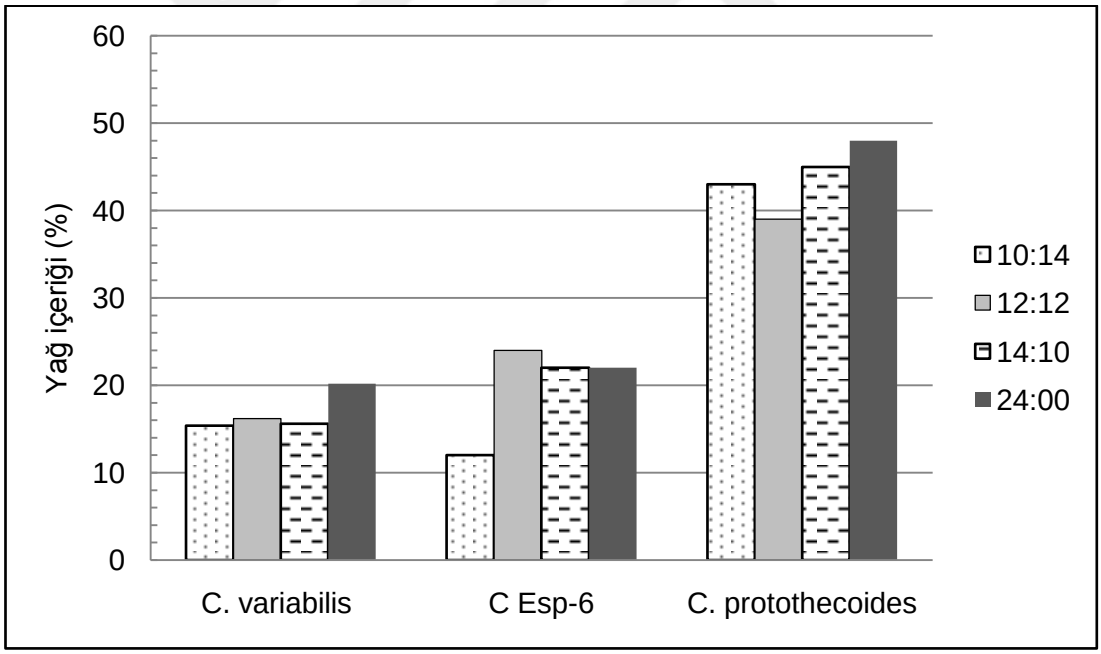
Şekil 4.38. *Chlorella protothecoides*'e ait farklı aydınlık karanlık döngülerinde pH değişimleri

Mikroorganizmalar aydınlık devrelerde fotosentez yaparak karanlık devrelerde oksijen ve karbonhidrat tüketimi yaparak ortam pH'ını artırmış ve azaltmıştır. *Chlorella* variabilis için duraklama evrelerinde pH değerleri 9,5 ile 10,5 arasında değişim göstermişlerdir (Şekil 4.36). *Chlorella* ESP-6 kültürlerin pH değerleri başlangıç pH 7,85 değerinden her bir kültür için 71. Saate kadar artış göstermiştir. pH'ın aydınlık evrelerde arttığı karanlık evrelerde azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.37). Duraklama evrelerinde pH değerleri 9,5 ile 10,9 arasında değişim göstermişlerdir.

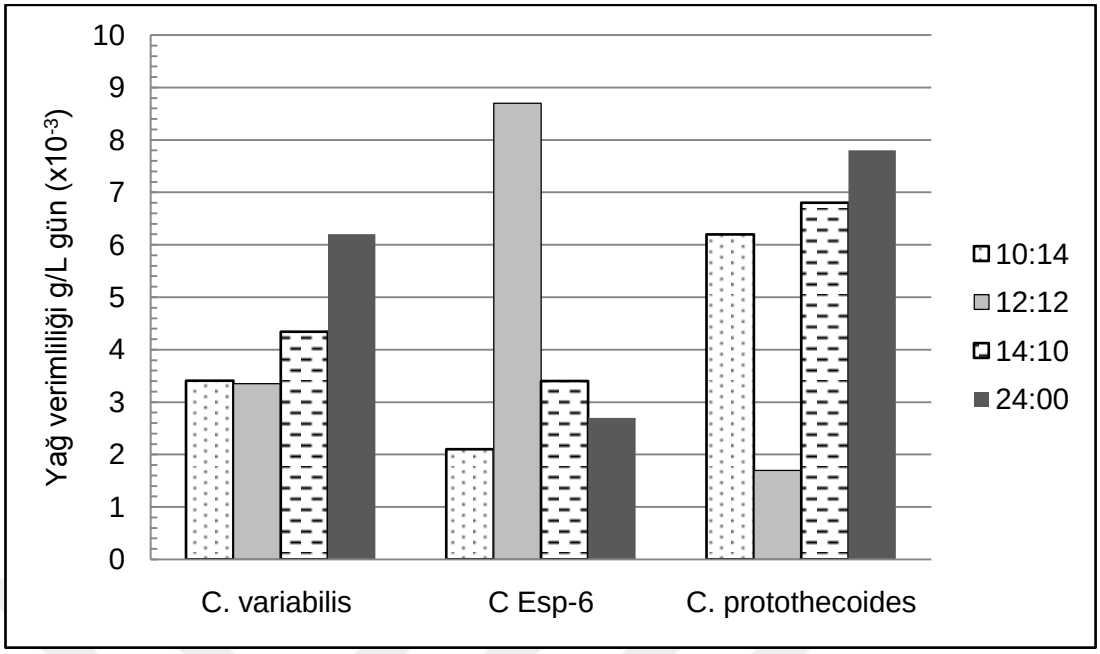
Chlorella protothecoides için duraklama evrelerinde pH değerleri 9,8 ile 10,8 arasında değişim göstermişlerdir (Şekil 4.38). Farklı ışık çevrimleri etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri Şekil 4.39'da yağ içerikleri ve yağ verimlilikleri ise sırasıyla Şekil 4.40 ve 4.41'de verilmiştir.



Şekil 4.39. Farklı ışık çevrimleri etkisinde mikroorganizmalardan elde edilen en yüksek hücre derişimleri



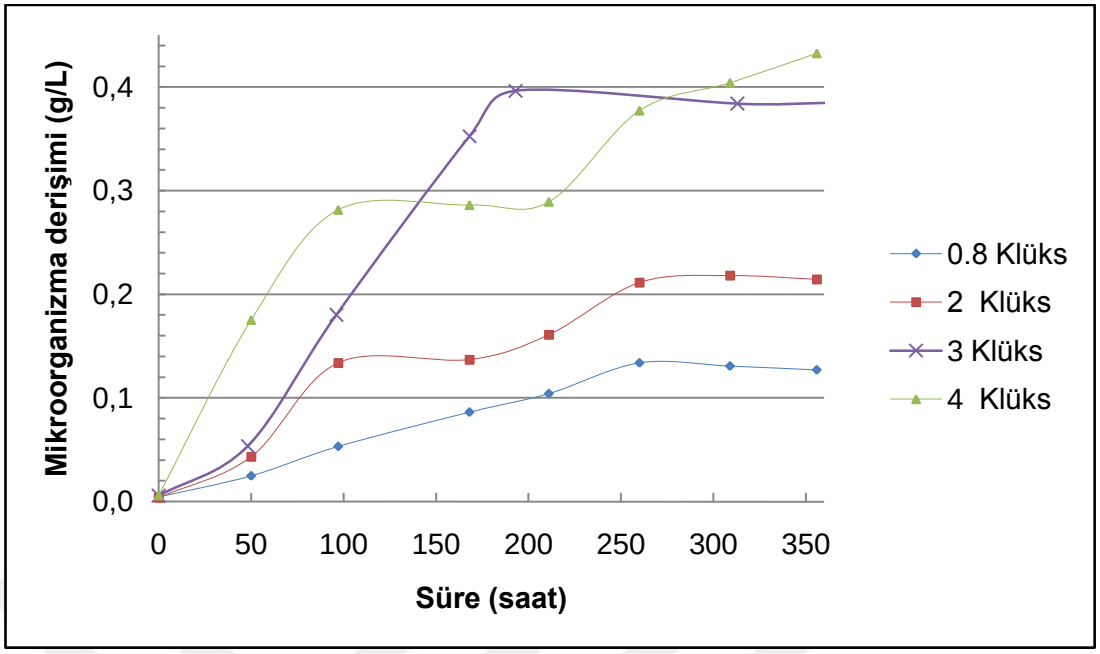
Şekil 4.40. Farklı ışık çevrimleri etkisinde mikroorganizmalardan elde edilen en yüksek yağ içerikleri



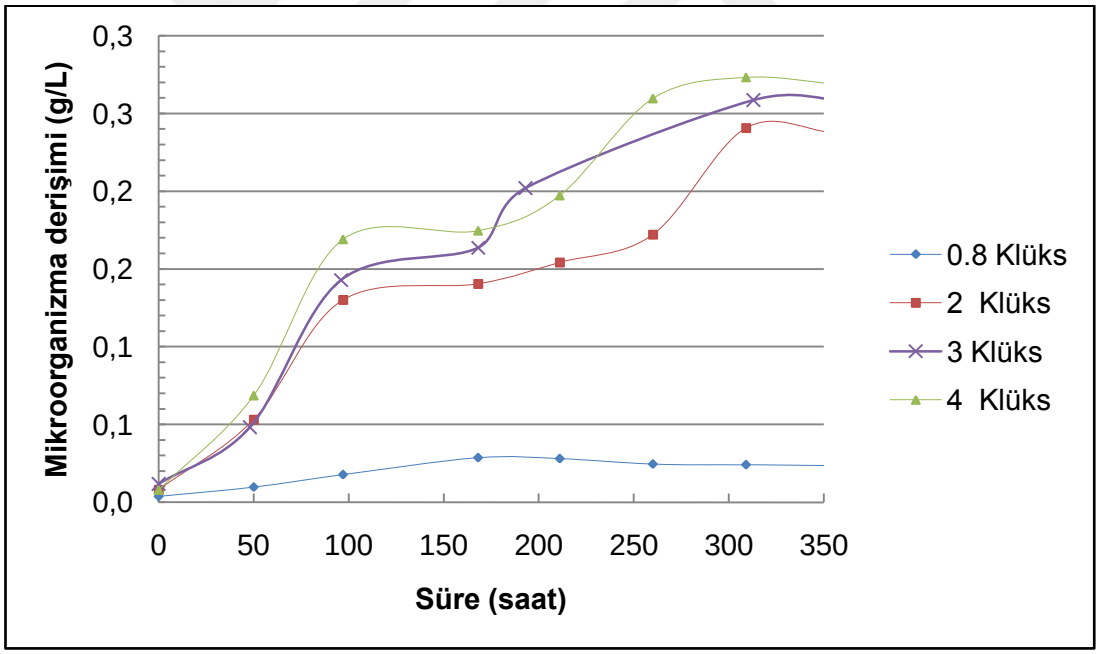
Şekil 4.41. Farklı ışık çevrimleri etkisinde mikroorganizmalardan elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri

4.5. Farklı Işık Şiddetlerin Mikroalg Kültürlerinin Büyümesi ve Yağ Üretimine Etkisi

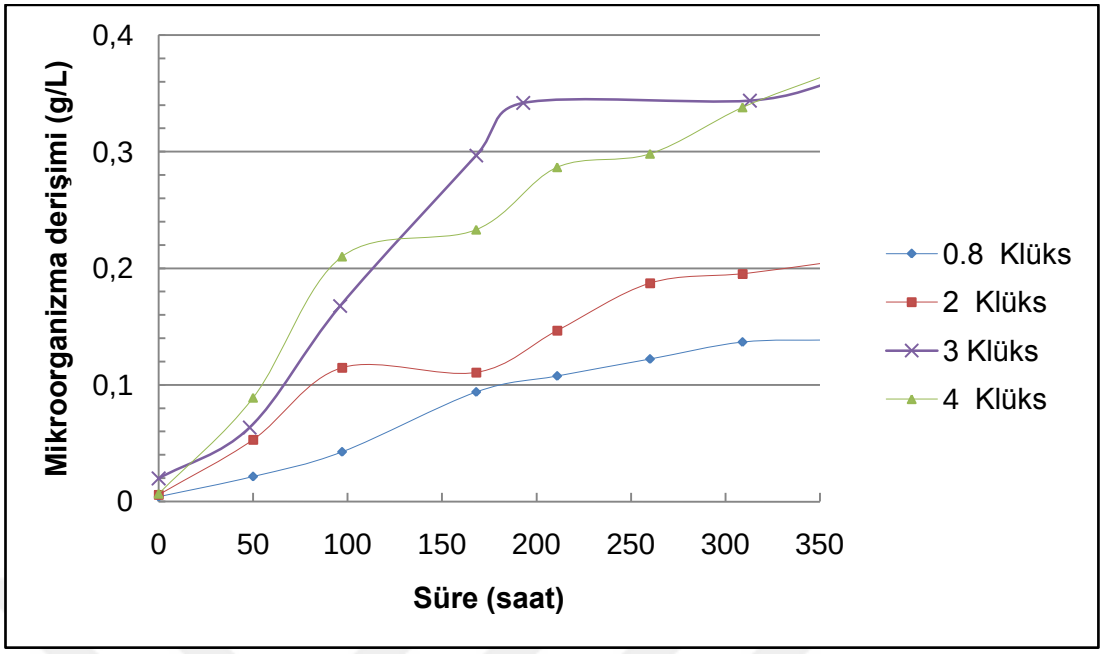
Mikroalgler, fotosentezle karbondioksit ve suyu karbonhidrat ve oksijene dönüştürmek için yeterli miktarda enerji kaynağına ihtiyaç duyarlar. Bu enerji kaynağı ışıktır. Fotosentez verimi ışığın üç önemli karaktristik özelliğine bağlı olarak değişmektedir. Bunlar yoğunluk, spektral kalite ve fotoperiyotdur (Richmond ve diğ., 2013) Düşük ışık yoğunluğu fotosentezde yetersiz kalabilir Ayrıca yüksek ışık yoğunluğuda fotosentez üzerine inhibisyon etki yaratabilmektedir. Bu bölümde LED ışık kaynağı kullanılarak, farklı ışık şiddetlerinin (0,8-2-4 Klüks) mikroalglerintürlerinin büyümesi ve yağ üretimi üzerine etkileri araştırılmıştır. *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella prothocoides* için farklı ışık şiddetleri etkisinde büyüme eğrileri sırasıyla şekil 4.42, 4.43 ve 4.44'de verilmiştir.



Şekil 4.42. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi



Şekil 4.43. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi



Şekil 4.44. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi

Chlorella variabilis için, sağlanan ışık şiddetinin artması ile büyüme artmıştır. 0,8 Klüks mikroalgin fotosentez yapması için yeterli olmamıştır. 0,8 Klüks ışık etkisi altındaki mikroorganizma 260. saate kadar yavaş da olsa gelişim gösterdiği logaritmik büyüme fazından açıkça anlaşılmaktadır. Bu saatten sonra mikroorganizma durgunluk fazına geçmiştir. 2,3 ve 4 klüks ışık şiddeti atkisindeki mikroorganizmalar 97. saate kadar logaritmik olarak büyüme göstermişlerdir. Bu saten 150. saate kadar geçen sürede laboratuar ortamı hava şartlarından dolayı kültür ortamı sıcaklığında 23°C den 28°C dereceye kadar artış gözlenmiştir. Mikroorganizmalar bu arada durgunluk evresine geçmişlerdir. 150. saten sonra dışarıdan yapılan müdahale ile (kalorifer kapamak ve cam açmak) ortam sıcaklığı düşürülmüştür. Mikroorganizmalar tekrar logaritmik büyüme göztermişlerdir. 260 saaten sonra ortamdaki besinlerin azaldığı ve metabolitlerin artması ile durgunluk fazına geçmişlerdir.

Chlorella ESP-6 için, 0,8 Klüks ışık şiddeti büyüme için yeterli olmağı açıkça görülmektedir. Düşük ışık yoğunluğunda yeteri kadar fotosentez yapılamamıştır. Işık şiddetinin artırılmasına bağlı olarak mikroorganiza büyümesi hızlanmıştır. 97. saate kadar farklı büyüme hızlarında mikroorganizmalar büyüme göstermişlerdir. Ortam sıcaklığındaki artış büyümeyi sınırlamıştır. 97. saaten sonra 200. saate kadar mikroorganizmalar durgunluk ortama uyum evresi geçirmişlerdir. Ortam sıcaklığının 23°C civarlarına düşmesi ile logaritmik olarak büyümeye devam etmişlerdir.

Chlorella protothecoides için ışık şiddetinin artması ile mikroorganizma büyümesi artmıştır. 15 günlük kültür sonucunda en yüksek mikroorganizama derişimine X_{max} (0,36 g/L) , mikroorganizma çoğalma hızına μ_{max} (0,018 h^{-1}) 4 Klüks ışık etkisinde ulaşılmıştır. Büyüme hızları ve yağ içerikleri Tablo 4.15, 4.16 ve 4.17' de farklı ışık şiddetleri etkisinde sırasıyla *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella protothecoides* için verilmiştir.

Tablo 4.15. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Işık şiddeti (Klüks)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0,8	0,13	0,017	40,7	26	2,3
2	0,21	0,024	28,8	18	2,5
3	0,38	0,026	26,7	19	4,8
4	0,43	0,025	27,7	18	5,2

Tablo 4.16. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

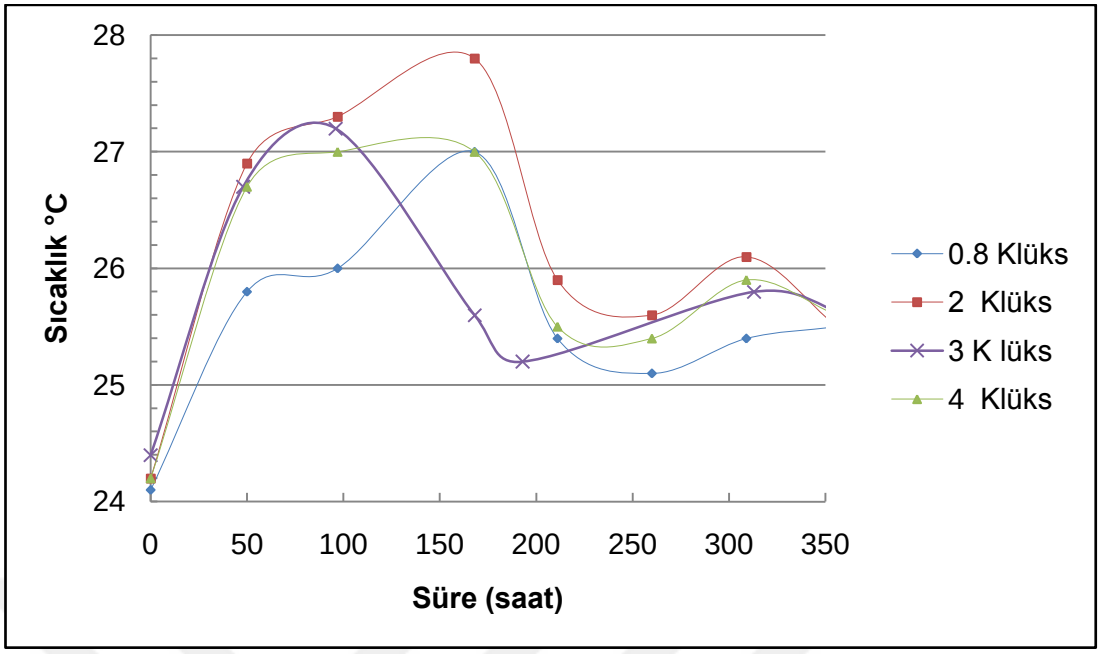
Işık şiddeti (klüks)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0,8	0,05	0,013	53,3	10	0,3
2	0,23	0,0312	22,2	14	2,15
3	0,26	0,0032	21,6	15	2,27
4	0,26	0,0328	21,1	16	2,80

Tablo 4.17. Farklı ışık şiddetlerinin *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

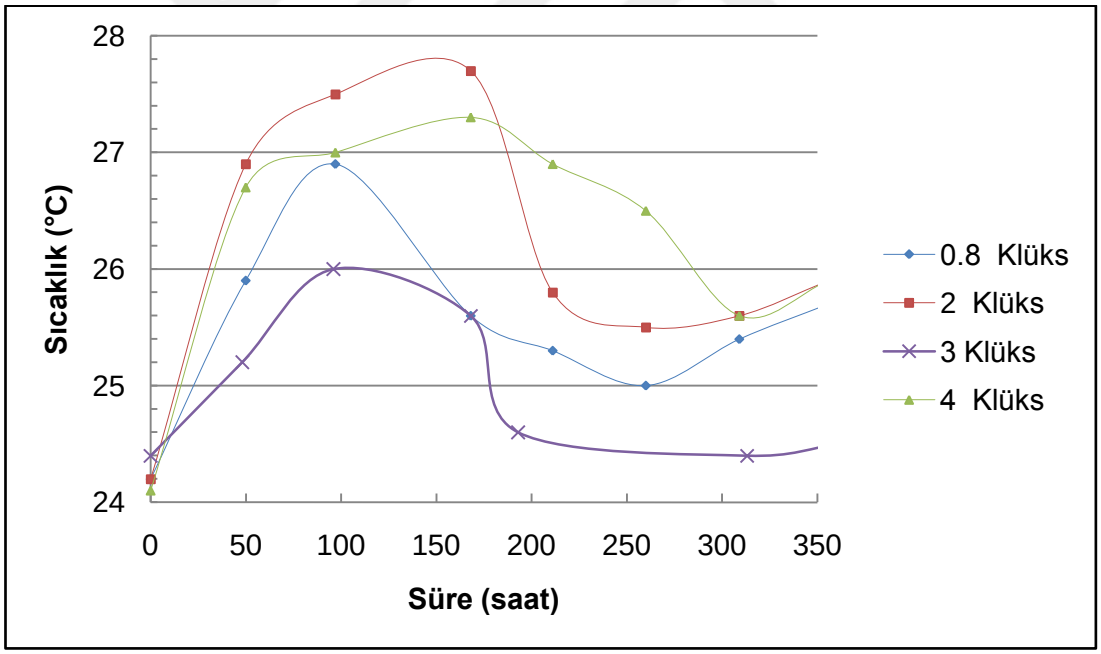
Işık şiddeti (klüks)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0,8	0,14	0,015	46,2	31	2,9
2	0,20	0,016	42,2	29	3,9
3	0,36	0,017	40,7	30	7,2
4	0,36	0,018	35,5	30	7,2

15 günlük kültür sonucunda *Chlorella variabilis* için, en yüksek mikroorganizma derişimine (X_{max}=0,43 g/L) ve yağ üretkenliğine (5,2x10^{-3} g/L.gün) 4 Klüks ışık şiddeti etkisi altında kalan kültürde ulaşılmıştır. Işık şiddetinin azalması ile mikroorganizma fotostrese girerek metabolizmadaki yağ içeriğini %18'den %26'ya kadar yükseltmiştir. 0,8 klüks ışık şiddeti etkisi altındaki mikroorganizmada en yüksek yağ içeriği (%26) elde edilmiştir.

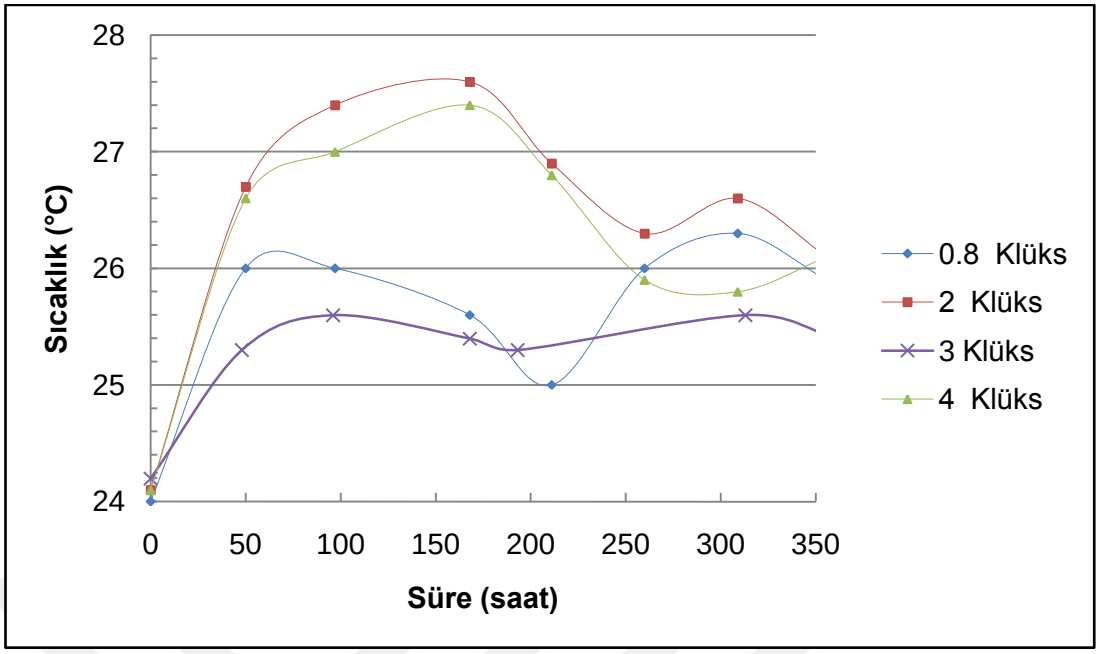
Chlorella ESP-6 için en yüksek mikroorganizma derişimine (0,26 g/L), yağ içeriğine (%16) ve yağ verimliliğine (2,8x10^{-3} g/L.gün) 4 Klüks ışık yoğunluğu etkisindeki mikroorganizmada elde edilmiştir.*Chlorella ESP-6 türü mikroalgin Chlorella variabilis* türüne göre yaklaşık 2 kat daha az yağ üretkenliğine sahip olduğu ayrıca belirlenmiştir. *Chlorella variabilis* türünde gözlenen fotostrese bağlı olarak yağ içeriğine artış *ESP-6* türünde gözlenmemiştir. *Chlorella protothecoides,* artan ışık şiddetine bağlı olarak mikroorganizma yağ verimliğide artış göstermiştir. kullanılan diğer mikroalg türlerinden en yüksek yağ verimliliği (7,5 x10^{-3} g/Lgün) ile bu türde elde edilmiştir. En yüksek mikroorganizma derişimine (0,36 g/L) ve yağ içeriğine (%30) 4 Klüks ışık şiddetinde elde edilmiştir. Mikroorganizmaların kültür süresince sıcaklık değişimleri Şekil 4.45, 4.46 ve 4.47'de pH değişimleri Şekil 4.48, 4.49 ve 4.50'de sırasıyla *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6, Chlorella protothecoides* için verilmiştir.



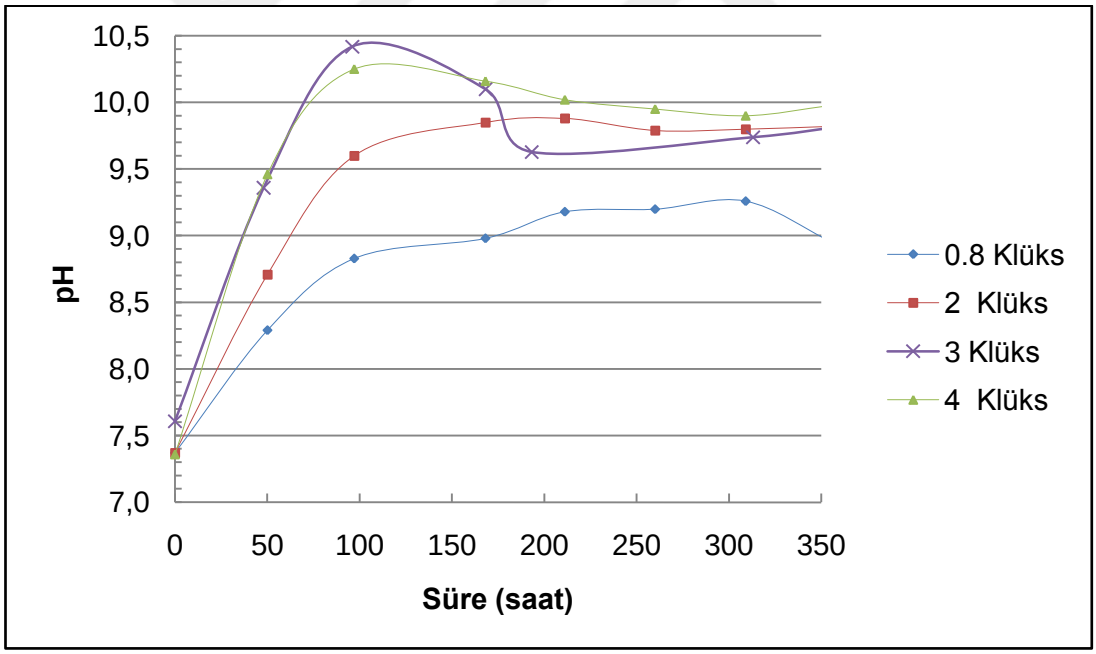
Şekil 4.45. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella variabilis* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri



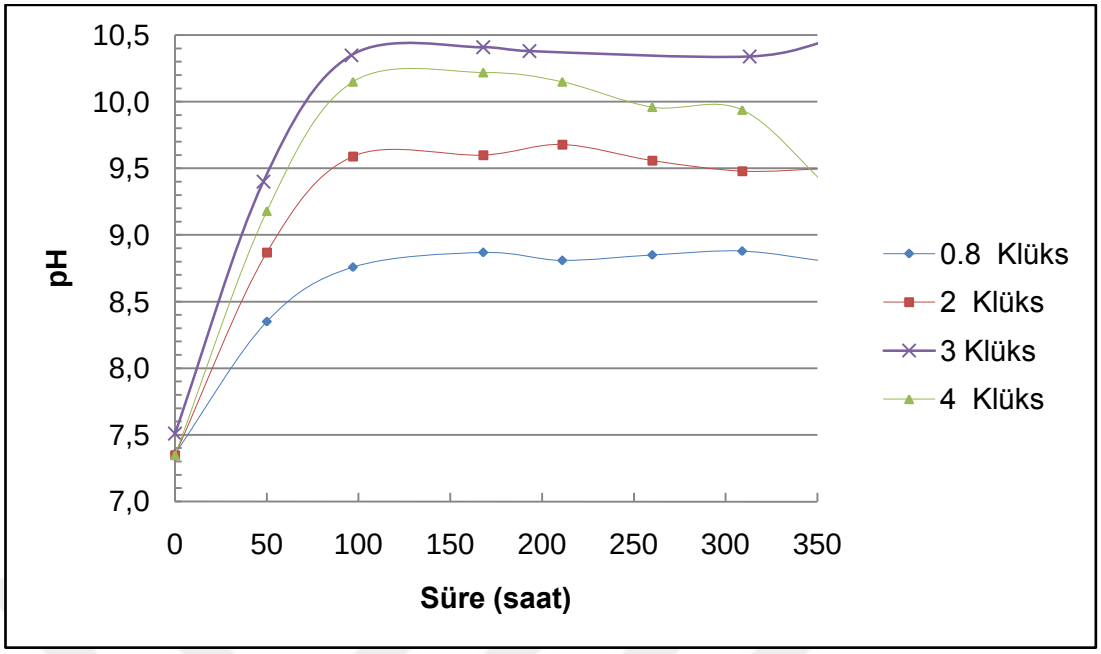
Şekil 4.46. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri



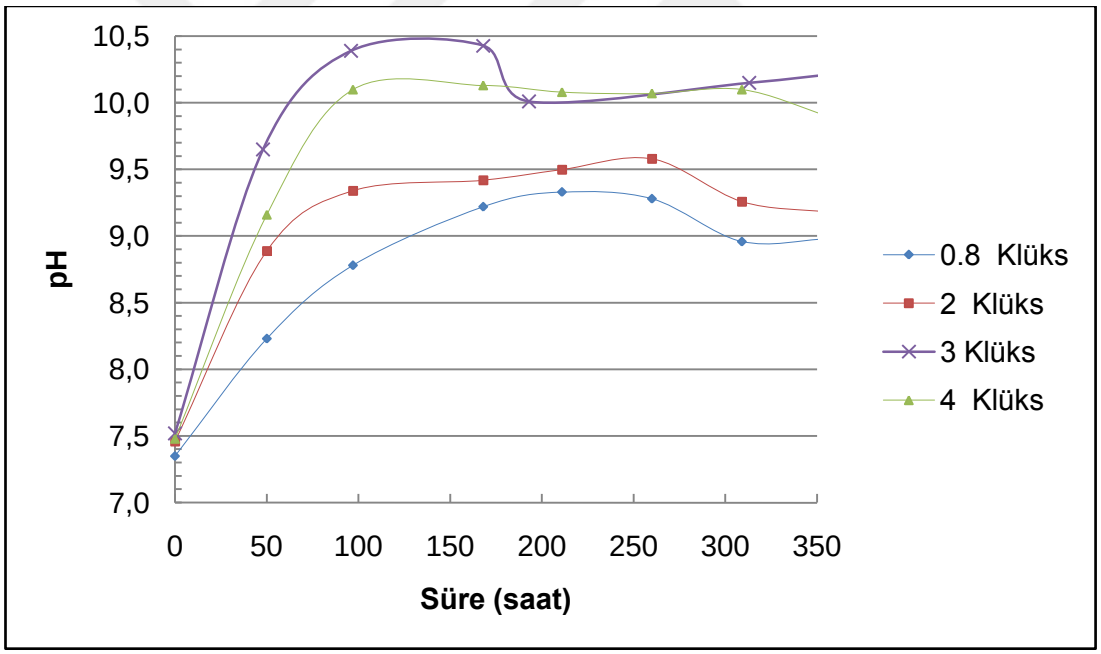
Şekil 4.47. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri



Şekil 4.48. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella variabilis* türü mikroalgin pH değişimleri



Şekil 4.49. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin pH değişimleri



Şekil 4.50. Farklı ışık şiddetlerinde *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin pH değişimleri

Chlorella variabilis türünde 150. saate kadar çevre şartlarına bağlı olarak ortam sıcaklığı artmıştır. Sıcaklıktan kaynaklanan buharlaşmadan dolayı kültürlerde sıvı kaybı olmuştur (Şekil 4.45). Aynı zamanda fotosentez ve büyümeye bağlı olarak pH değerleri başlangıç pH değeri 7,4'den farklı aralıklarda artmıştır. Kültürlerin pH değerleri 9 ile 10 arasında salınım göstermişlerdir (Şekil 4.38). Ortama şebeke suyu

eklenerek ve çevre şartlarını değiştirerek (cam açma, kalorifer kapama) ortam sıcaklığı azaltılmıştır.

Chlorella ESP-6, ortam sıcaklığına bağlı olarak 100. saate kadar sıcaklık artış göstermiştir (Şekil 4.46). Sıcaklığın artmasına bağlı olarak kültürlerde büyümenin yavaşladığı bilinmektedir. Bu saten snra dışarıdan yapılan müdahaleler ile ortam sıcaklığı mikroalgler için uygun olan sıcaklık (25-26°C) aralığında değişim göstermiştir. Ortamların pH değerleri zamanala büyümeye bağlı olarak artmıştır. 100 saatten sonra ise her 8,5 ile 10 arasında dalgalanmalar göstermiştir (Şekil 4.49). Fotosenteze bağlı büyüme ne derece hızlı ve yüksek ise pH artışı da o derece yüksek ve dengeli olmaktadır. 0,8 Klüks ışık etkisi altında mikroorganizmanın oldukça yavaş büyüme gösterdiği düşük pH salınımlarından anlaşılmaktadır. Kültürlerin pH değerleri 9 ile 10 arasında salınım göstermişlerdir.

Chlorella protothecoides kültürünün sıcaklık dağılımları *Chlorella variabilis ve Chlorella ESP-6* kültürleri ile benzer davranışlar göztermiştir. Ortam sıcaklığına bağlı olarak 100. Saate kadar sıcaklık artış göstermiştir (Şekil 4.47). Buna bağlı olarak büyümenin yavaşladığı Şekil 4.44'den görülmektedir. Bu saatten sonra çevre şartlarının değişmesi ile değişm ortam sıcaklığı mikroalgler için uygun olan sıcaklık (25-26°C) aralığında değişim göstermiştir. Fotosentez yapan ışık etkisi altındaki mikroalg kültürlerinde büyümeye bağlı olarak ortam pH'ının artması beklenir. 100 saatten sonra ise her 8,5 ile 10 arasında dalgalanmalar göstermiştir. 4 Klüks ışık etkisinde yetiştirilen mikroalglerin yağ asidi bileşimleri, *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella protothecoides* için sırasıyla Tablo 4.18, 4.19 ve 4.20'de verilmiştir. Yağ asidi bileşim kromatogramları EK-G'de gösterilmiştir.

Tablo 4.18 . 4 Klüks ışık etkisi altında yetiştirilen *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C14:0 (Miristik)	20,62
C15:0 (Pentadeklik)	27,40
C17:0 (Margarik)	6,43
C18:1 (Oleik)	6,35
C18:2 (Linoleik)	7,60
C18:3 (Linolenik)	7,18
C20:1 (Erusik)	24,42
Doymuş	54,45
Doymamış	45,55

Tablo 4.19. 4 Klüks ışık etkisi altında yetiştirilen *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C14:0 (Miristik)	8,56
C15:0 (Pentadeklik)	13,70
C16:0 (Palmitik)	11,36
C17:0 (Margarik)	9,20
C18:2 (Linoleik)	18,44
C18:3 (Linolenik)	36,60
C20:0 (Arakhidik)	2,32
Doymuş	44,96
Doymamış	55,04

Tablo 4.20. 4 Klüks ışık etkisi altında yetiştirilen *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C15:0 (Pentadeklik)	16,56
C16:1 (Palmitikoleik)	54,60
C17:0 (Margarik)	12,87
C18:2 (Linoleik)	6,63
C18:3 (Linolenik)	6,34
Doymuş	29,43
Doymamış	70,57

4 klüks ışık şiddeti varlığında yetiştirilen *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi incelendiğinde C15:0 (Pentadeklik), C20:1 (Erusik) ve C14:0 (Miristik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir. Denklem 3.4'e göre setan sayısı baskın yağ asidi C15:0'a göre 52 olarak yağın ortalama molekül ağırlığı ise 855,8 g/mol olarak hesaplanmıştır. Bu koşullarda elde edilen alg yağının setan sayısı yüksek olduğu tahmin edilmektedir.

Chlorella ESP-6 yağ asidi bileşimi incelendiğinde C18:3 (linolenik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir. Setan sayısı baskın yağ asidi C18:3'a göre 24,4 olarak yağın ortalama molekül ağırlığı 838,9 g/mol olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen alg yağının setan sayısı diğer mikrolag türü olan *Chlorella variabilis'*den elde edilen yağın setan sayısından oldukça düşüktür.

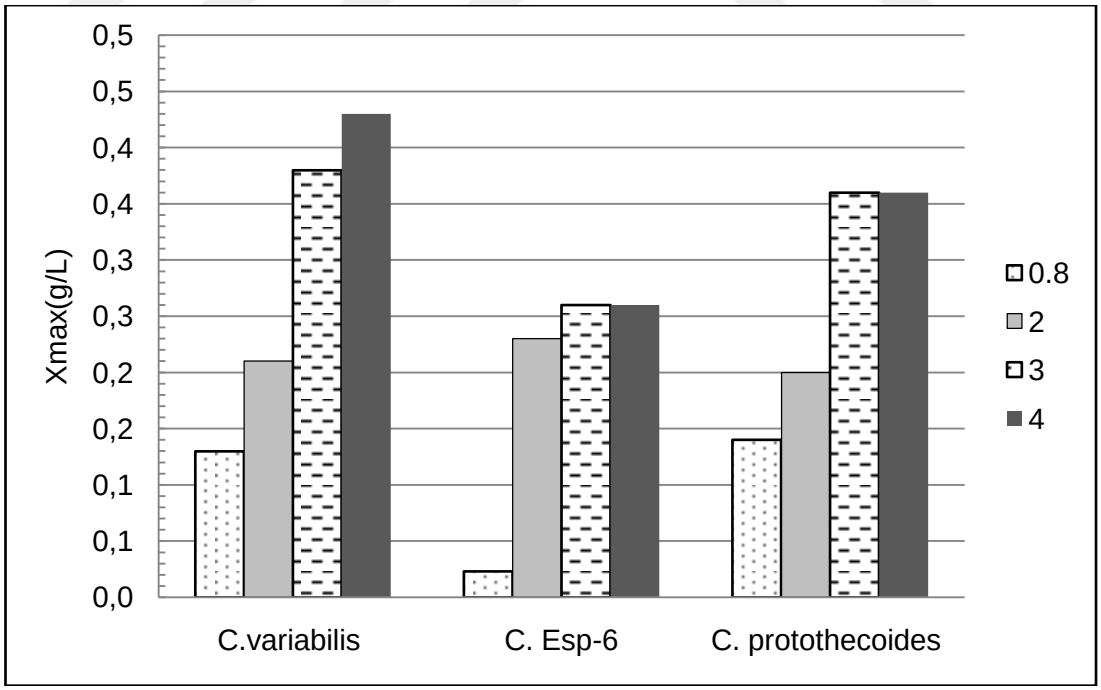
Chlorella protothecoides yağ asidi bileşimi, C18:1 (palmitoleik) asitce zengin olduğu görülmektedir (Tablo 4.20). Setan sayısı baskın yağ asidi C16:1'e göre incelendiğinde 53,4 olarak, yağın ortalama molekül ağırlığı ise 813,4 g/mol olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen alg yağının setan sayısı diğer mikrolag türü olan *Chlorella variabilis* ile benzer olduğu görülmektedir. Bu yağlardan elde edilecek biyo yakıtın yanma ve kolay tutuşabilme kabiliyetinin yüksek olması beklenmektedir. Petrol kökenli dizel yakıtın da setan sayısının 50 civarlarında olduğu ve üretici firmalara göre değiştiği bilinmektedir. Setan sayısı yüksek olan bir yakıt motor yanma odasındakolay tutuşabileceğinden ses yapmaz ayrıca emisyon değerleri düşüktür. *Chlorella variabilis* ve *Chlorella ESP-6* türü mikroalglerin farklı ışık şiddetleri etkisisnde yağ üretim yeterliliğini ve yağ asidi bileşimilerini inceleyen bir

çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. *Chlorella protothecoides* için sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

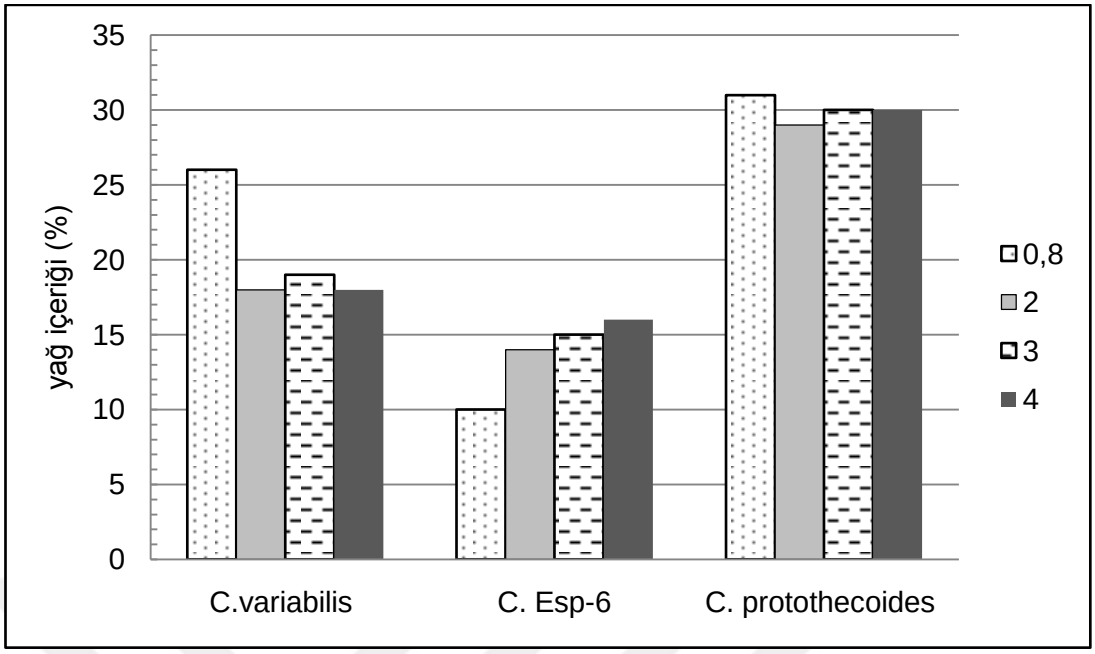
Krzeminska ve diğ., 2015 yılında yaptıkları karşılaştırılabilir bir çalışmada farklı ışık şiddetleri etkisi altında yetiştirdikleri *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin yağ içeriğine ve yağ asidi bileşimlerine etkisini incelemişlerdir. Artan ışık şiddeti ile birlikte büyüme hızı artmış buna bağlı olarak yağ içeriğide %25'den %38'e yükselmiş, C16-C18 yağ asitleri %70'den %90'a artış göstermiş,linolenik (C18:3) asit ise belirgin bir şekilde azalmıştır.

Katayama ve diğ., 1967'de yaptıkları çalışmada *Chlorella protothecoides* artan ışık şiddeti etkisinde yetiştirilen mikroalgin oleik asit miktarının azaldığını ayrıca linolenik asit miktarınında fotosentetik aktiviteye bağlı olarak arttığını belirlemişlerdir.

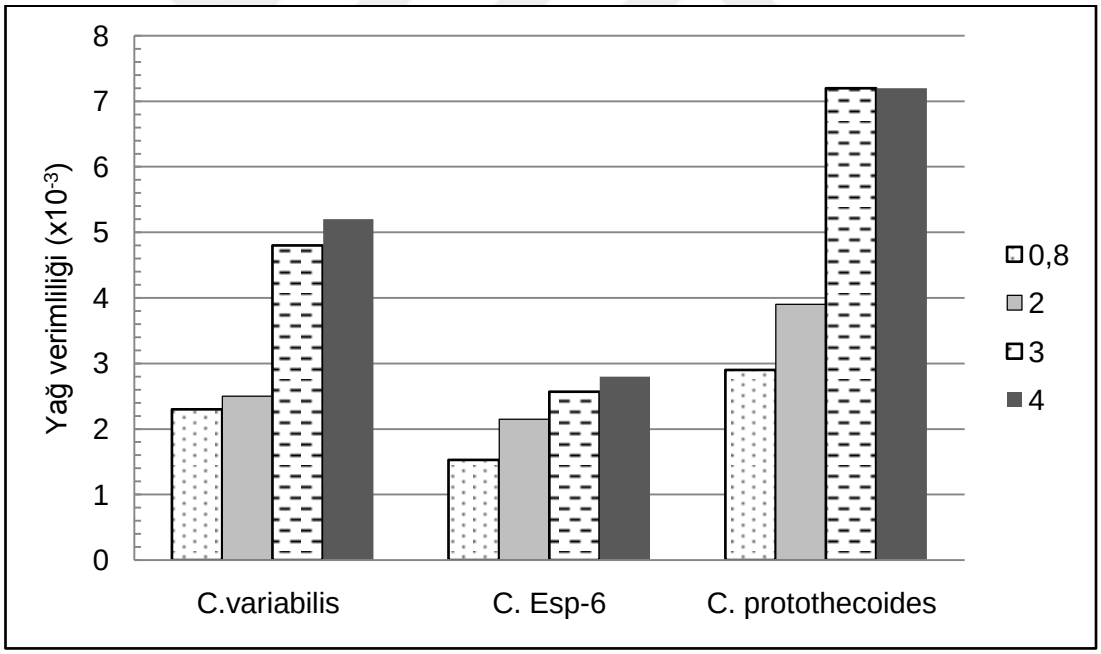
Khoeyı ve diğ., 2014'de yaptıkları *Chlorella vulgaris* mikroalgi ile yaptıkları çalışmada çoklu ve tekli doymamış yağ asitlerinin artan ışık şiddeti etkisinde azaldığını belirlemişlerdir. Farklı ışık şiddetleri etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri Şekil 4.51'de yağ içerikleri ve yağ verimlilikleri ise sırasıyla Şekil 4.52 ve 4.53'de verilmiştir.



Şekil 4.51. Farklı ışık şiddetleri etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri



Şekil 4.52. Farklı ışık şiddetleri etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ içerikleri



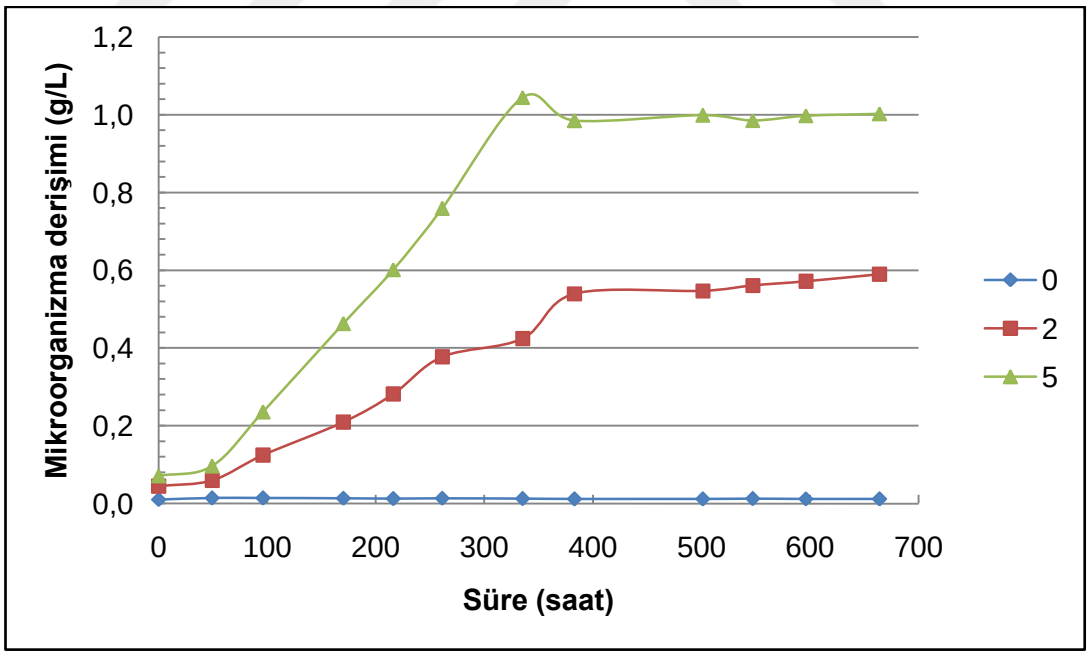
Şekil 4.53. Farklı ışık şiddetleri etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ içerikleri

4.6. Heterotrof ve Miksotrof Koşulların Mikroalg Kültürlerinin Büyümesi ve Yağ Üretimine Etkisi

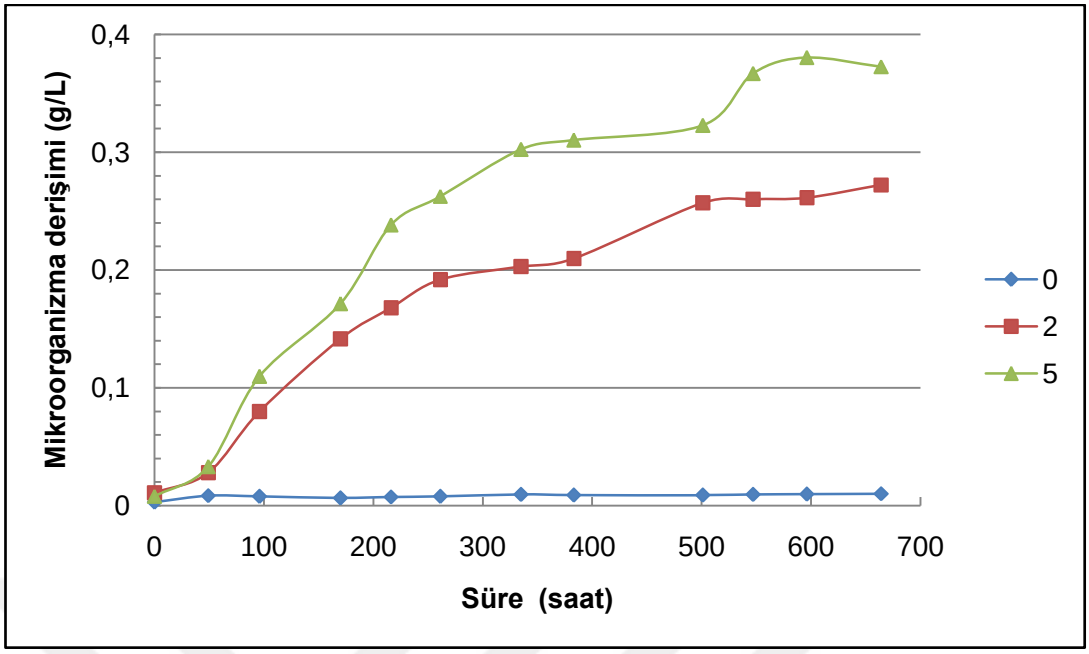
4.6.1. Heterotrof koşullar

Mikroalglerin diğer mikroorganizmalara kıyasla yüksek miktarda mikrobiyal yağ içerdiği bilinmektedir. Bu neden ile biyoyakıt eldesinde hammade kaynağı olarak kullanılabililiği araştırmaları son yıllarda giderek artmıştır. Enerji maliyetlerini düşürmek ve endüstriyel uygulamalar için klasik fotosentez kültür modeline kıyasla, mikroalglerin daha yüksek oranda yağ biriktirmesine izin veren uygun büyüme ve üretim koşulları altında bir fermanter ile kontrol edilen heterotrofik kültürler araştımacıların ilgi odağı olmuştur.

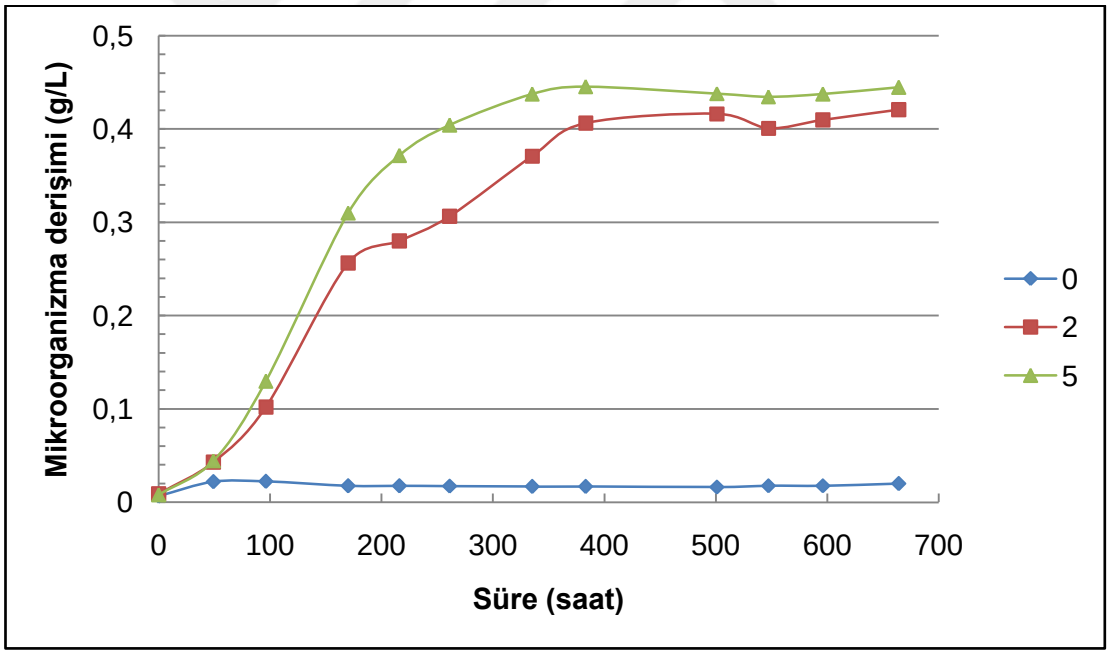
Heterotrof koşulların mikroalglerin büyüme hızı ve yağ üretimi üzerine etkisinin karşılaştırılması amacı ile mikroalgler 100 ml erlenlerde kültüre alınmışlardır. Besi ortamlarına sırası ile 2,5 g/L saf gliserol eklenmiştir. *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella prothocoides* heterotrof koşullar etkisinde büyüme eğrileri sırasıyla Şekil 4.54, 4.55 ve 4.56'da verilmiştir.



Şekil 4.54. Heteretrof koşulların *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi



Şekil 4.55. Heteretrof koşulların *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi



Şekil 4.56. Heteretrof koşulların *Chlorella protohecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi

Chlorella variabilis için. Şekil 4.56'dan görüldüğü üzere heteretrof koşulların etkisinde besi ortamındaki karbon kaynağının artması mikroorganizma büyüme üzerine olumlu yönde etkilemiştir. Karbon kaynağı (gliserol) olmayan kültürde büyüme yok denecek kadar azdır. Mikroorganizma ortamda ışık ve herhangi bir karbon kaynağı olmadığından dolayı fotosentez yapamayarak büyüme için gerekli

olan enerjiyi elde edememiştir. Ortamda 2g/L ve 5 g/L gliserol olan kültürlerde farklı hızlarda büyüme 335. saate kadar gözlenmiştir. Bu saatten sonra mikroorganizma durağan faza geçmiştir.

Chlorella ESP-6 için, besin ortamındaki karbon kaynağının artması mikroorganizma büyümesi üzerine olumlu yönde etkilemiştir. Karbon kaynağı (gliserol) olmayan kültürde büyüme yok denecek kadar azdır. Mikroorganizma gerekli enerjiyi temin edemeyerek büyüyememiştir.

Heteretrof koşulların etkisinde besi ortamındaki karbon kaynağının artması *Chlorella protohecoides mikroalginin* büyümesi üzerine olumlu etkilemiştir. Gliserol olmayan kültürde diğer kültürlerdeki gibi büyüme gözlenmemiştir.. Ortamda 2g/L ve 5 g/L gliserol olan kültürlerde farklı hızlarda büyüme 400. saate kadar gözlenmiştir. Bu saatten sonra mikroorganizma durağan faza geçmiştir. Heterotrof koşullar etkisinde büyüme hızları, yağ içerikleri ve verimlilikleri Tablo 4.21, 4.22 ve 4.23' de sırasıyla *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella protothecoides* için verilmiştir.

Tablo 4.21. Heteretrof koşulların *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Gliserol miktarı (g/L)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	-	-	-	-	-
2	0,590	0,0065	106	19	4,000
5	1,000	0,0085	82	20	7,140

Tablo 4.22. Heteretrof koşulların *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Gliserol miktarı (g/L)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	-	-	-	-	-
2	0,270	0,024	28,5	23	2,2
5	0,372	0,025	27,7	23	3,05

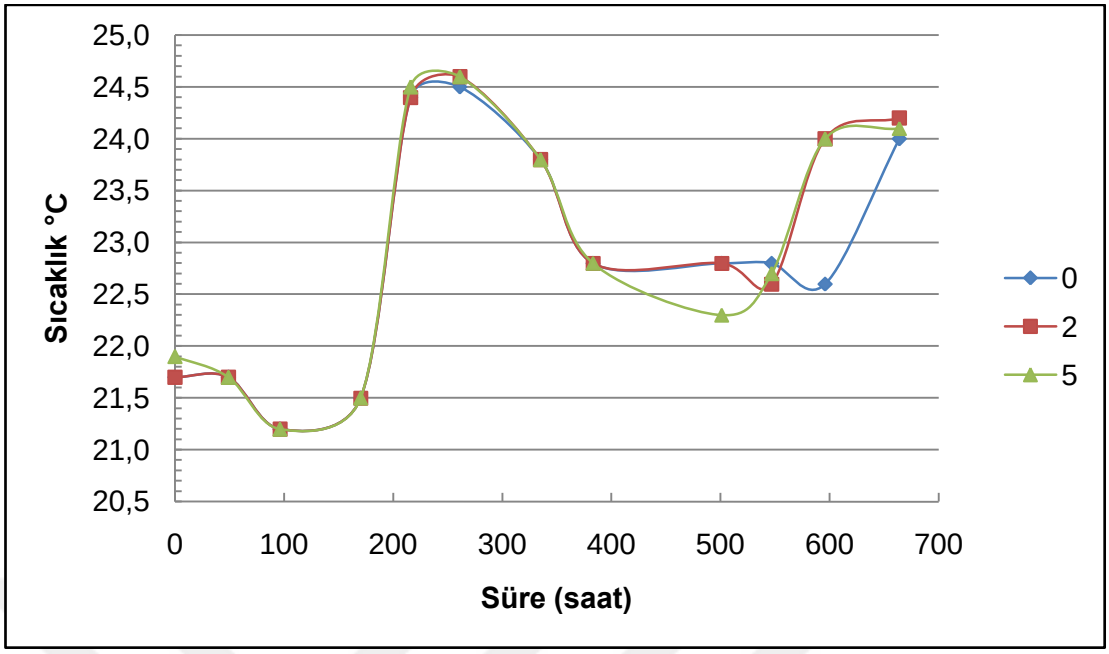
Tablo 4.23. Heteretrof koşulların *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Gliserol miktarı (g/L)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	-	-	-	-	-
2	0,420	0,018	38,5	30	4,50
5	0,444	0,022	31,5	32	5,07

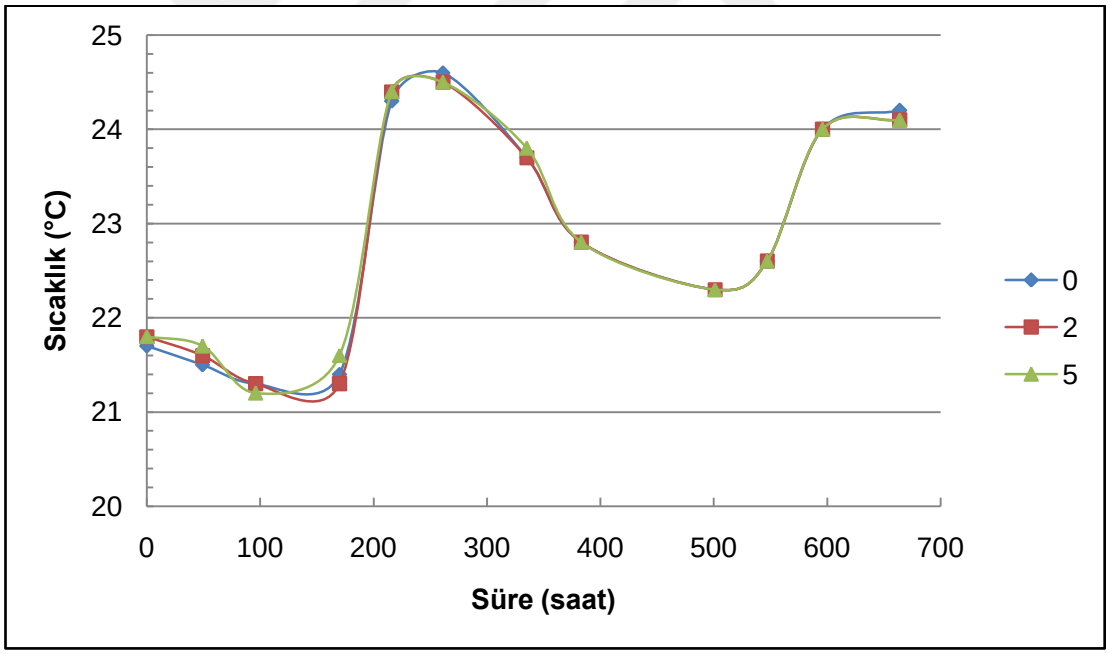
28 günlük kültür sonucunda *Chlorella variabilis* için, en yüksek mikroorganizma derişimine X_{max}(1g/L) en yüksek mikroorganizma büyüme hızına μ_{max} (0,0085 h^{-1}) ve yağ verimliliğine (7,14 g/Lgünx10^{-3}) 5 g/Lgliserol bulunan kültürde elde edilmiştir.

Chlorella ESP-6 için, ortamda 2g/L ve 5 g/L gliserol olan kültürlerde farklı hızlarda büyüme 500. saate kadar gözlenmiştir. Bu saatten sonra mikroorganizma durağan faza geçmiştir. 28 günlük kültür sonucunda en yüksek mikroorganizma derişimine X_{max}(0,37g/L) en yüksek mikroorganizma büyüme hızına μ_{max} (0,025 h^{-1}) ve yağ verimliliğne (3,05 g/Lgünx10^{-3}) 5 g/L gliserol bulunan kültürde elde edilmiştir. Besi ortamında artan gliserol miktarına bağlı olarak hücrenin ikiye katlama süreside hızlanmıştır. *Chlorella variabilis* türü mikroalgin heteretrof koşullarda incelendiği bir önceki çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ortamda karbon kaynağının arttırılması ile her iki mikroorganizmada gelişim ve hücre büyümesi artmıştır fakat kültür sonucunda *Chlorella ESP-6* türü mikroalgden *Chlorella variabilis* türüne göre yaklaşık %60 daha az kuru kütle elde edilmiştir. Aynı zamanda heteretrofik koşullarda *Chlorella ESP-6* türü *Chlorella variabilis* türü mikroalgine göre 10 kat daha fazla büyüme hızına sahip olduğu söylenebilir.

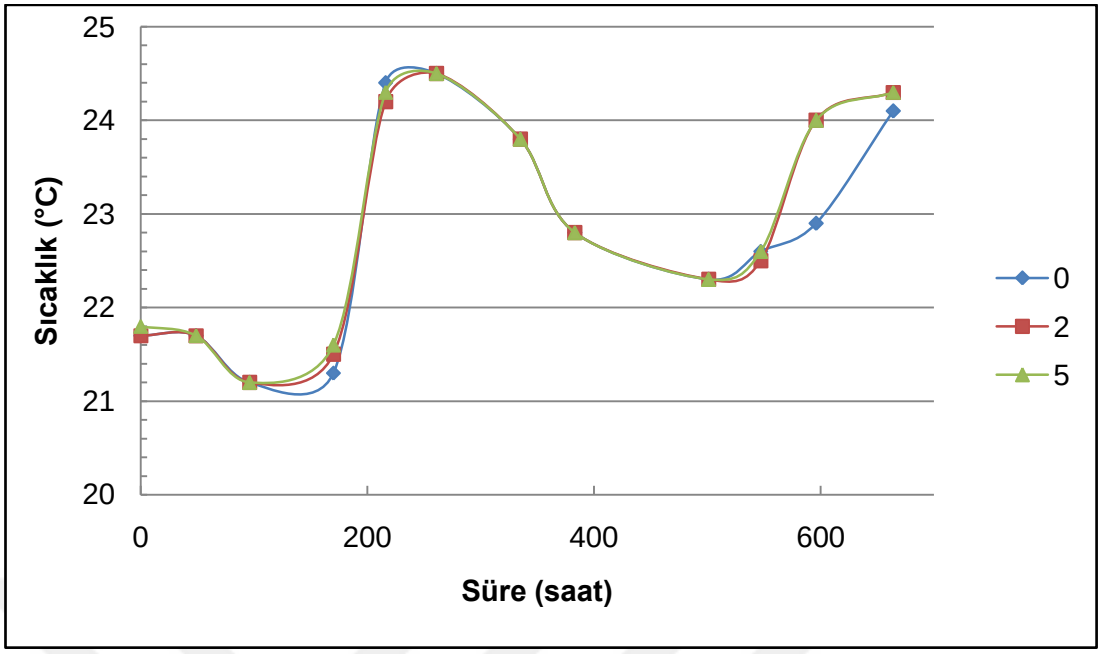
Chlorella protothecoides için en yüksek mikroorganizma derişimine X_{max} (0,44g/L) en yüksek mikroorganizma büyüme hızına μ_{max} (0,022 h^{-1}) ve yağ verimliliğine (5,07 g/Lgünx10^{-3}) 5 g/L gliserol bulunan kültürde elde edilmiştir. Mikroorganizmaların kültür süresince sıcaklık değişimleri Şekil 4.57, 4.58 ve 4.59'da pH değişimleri Şekil 4.60, 4.61, ve 4.62 'de sırasıyla *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6, Chlorella protothecoides* için verilmiştir.



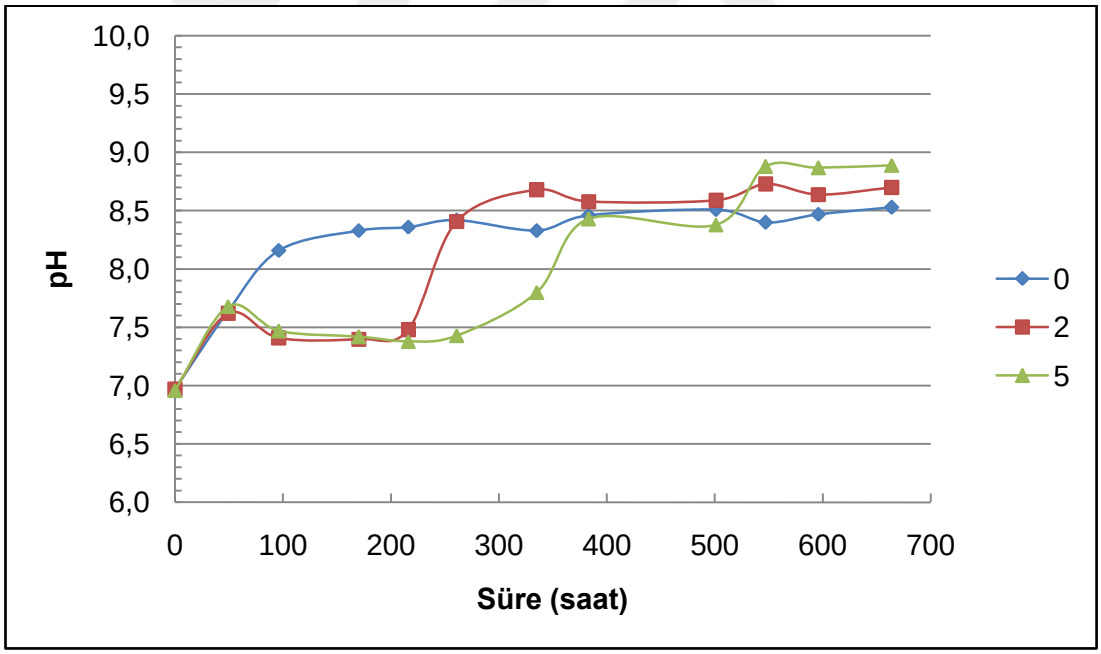
Şekil 4.57. Heteretrof koşullarda *Chlorella variabilis* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri



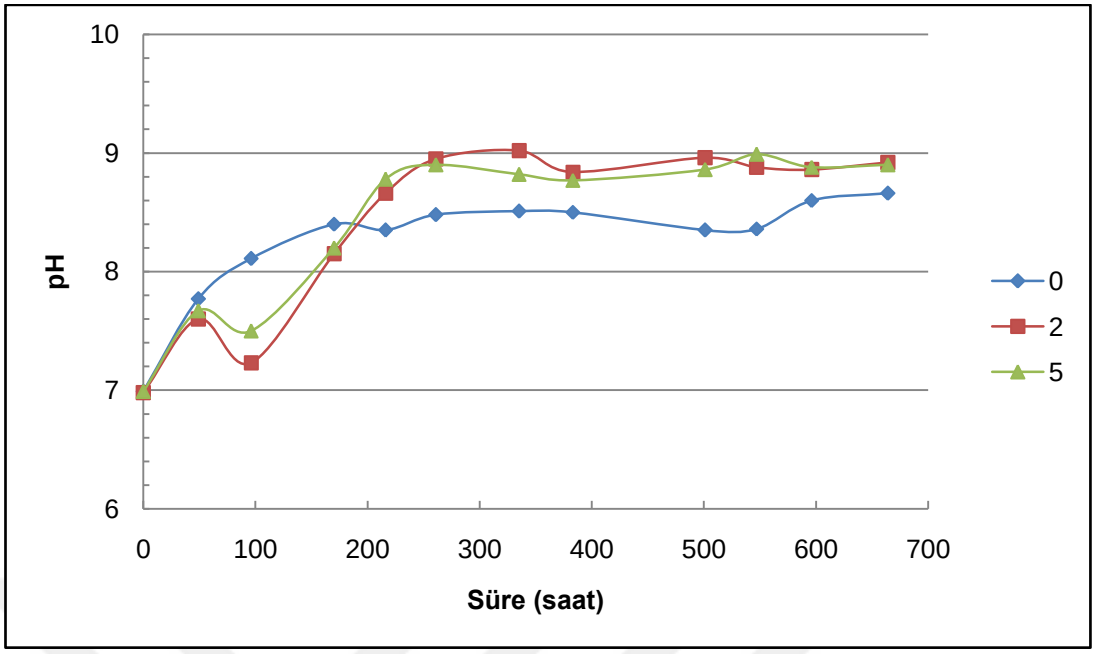
Şekil 4.58. Heteretrof koşullarda *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri



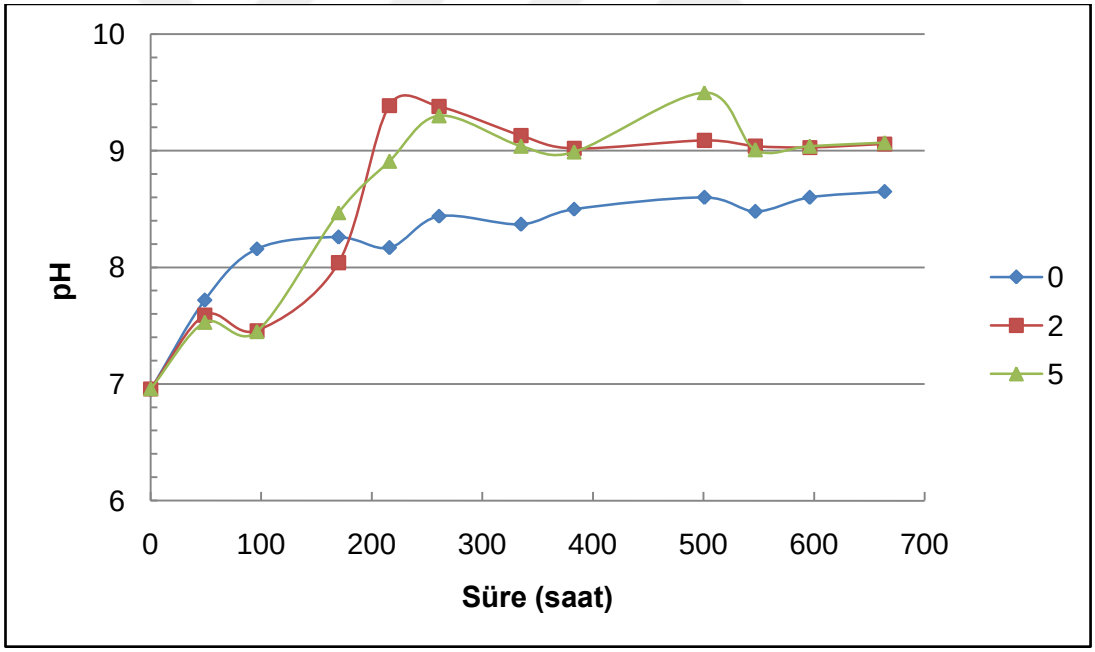
Şekil 4.59. Heteretrof koşullarda *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri



Şekil 4.60. Heteretrof koşullarda *Chlorella variabilis* türü mikroalgin pH değişimleri



Şekil 4.61. Heteretrof koşullarda *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin pH değişimleri



Şekil 4.62. Heteretrof koşullarda *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin pH değişimleri

Chlorella variabilis için, sıcaklık dağılımları her kültür için benzer davranışlar göztermiştir. Başlangıçta ortam sıcaklığı 21°C ile 22°C arasındadır. Kültürler de ortam sıcaklığına bağlı olarak 200. saate kadar sıcaklık artış göstermiştir (Şekil 4.57). Bu saatten sonra çevre şartlarının değişmesi ile değişm ortam sıcaklığı mikroalgler için uygun olan sıcaklık (23-25°C) aralığında değişim göstermiştir. Heteretrof kültürlerde ortam pH'ının azalması beklenir fakat büyümeye bağlı

olarakda artabilir. Şekil 4.60'dan açıkça görüldüğü üzere her ortam için mikroorganizma pH değerlerinde 300 saate kadar artış gözlenmiştir. Bu saaten sonra kültür sonuna kadar tüm ortam pH değerleri 8,5 ile 9 arasında dalgalanmıştır.

Chlorella ESP-6 için, sıcaklık dağılımları her kültür için benzer davranışlar göztermiştir. Başlangıçta ortam sıcaklığı 21°C ile 22°C arasındadır. Kültürler de ortam sıcaklığına bağlı olarak azalmış sonra 220. Saate kadar sıcaklık artış göstermiştir. Bu saatten sonra çevre şartlarının değişmesi ile ortam sıcaklığı mikroalgler için uygun olan sıcaklık (23-25°C) aralığında değişim göstermiştir (Şekil 4.58). Mikroorganizma ortam pH değişimleri heteretrofik kültürlerde beklenen pH değerlerinde artma veya azalmalar şeklinde olmuştur. 2-5 g/L gliserol bulunduran kültürler için ortam pH değerleri 96. saate kadar azalmıştır (Şekil 4.61). Bu evrede ortamda bulunan karbon tüketimi fotosentezden hızlı olduğu söylenebilir. Bu saten sonra 216. saate kadar pH artış göstermiş ve kültür sonuna kadar 9,0 civarlarında salınımlar göstermiştir. Bu evrede fotsentez ve organik karbon kaynağı (gliserol) kullanımları eşit olduğu söylenebilir. Gliserolden yoksun ortamda pH değeri 216. saate kadar artış göstermiştir. Bu saten kültür sonuna kadar ise hafif bir azalma göstererek 9,5 civarlarında salınım göstermiştir.

Chlorella protothecoides türü için benzer davranışlar gözlenmiştir. Başlangıçta ortam sıcaklığı 21°C ile 22°C arasındadır. Kültürler de ortam sıcaklığına bağlı olarak azalmış sonra 220. saate kadar sıcaklık artış göstermiştir. Bu saatten sonra çevre şartlarının değişmesi ile değişm ortam sıcaklığı mikroalgler için uygun olan sıcaklık (23-25°C) aralığında değişim göstermiştir (Şekil 4.59). Mikroorganizma ortam pH değişimleri heteretrofik kültürlerde beklenen pH değerlerinde artma veya azalmalar şeklinde olmuştur. Şekil 4.60'dan görüldüğü üzere ortamda 2-5 g/L gliserol bulunduran kültürler için ortam pH değerleri 96. saate kadar azalmıştır. Bu evrde ortamda bulunan karbon tüketimi fotosentezden hızlı olduğu söylenebilir. Bu saten sonra 216. saate kadar pH artış göstermiş ve kültür sonuna kadar 9,0 civarlarında salınımlar göstermiştir. Bu evrede fotsentez ve gliserol kullanımları eşit olduğu söylenebilir. Gliserolden yoksun ortamda pH değeri 216. saate kadar artış göstermiştir. Bu saten kültür sonuna kadar ise hafif bir azalma göstererek 8,5 civarlarında salınım göstermiştir. 2 ve 5 g/L gliserol içeren heteretrof koşullarda yetiştirilen mikroalglerin yağ asidi bileşimleri, *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella protothecoides için* sırasıyla Tablo 4.24, 4.25, 4.26, 4.27, 4,28 ve 4,29 'da verilmiştir. Yağ asidi bileşim kromatogramları EK-G'de gösterilmiştir.

Tablo 4.24. Heteretrof koşullarda (2g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C6:0 (Hekzanoik)	5,27
C14:0 (Miristik)	68,40
C15:0 (Pentadeklik)	5,10
Diğer	21,23
Doymuş	78,7
Doymamış	21,3

Tablo 4.25. Heteretrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C14:0 (Miristik)	42,34
C16:1 (Palmitoleik)	11,0
C:24:0 (tetrakosanoik)	37,95
Diğer	8,71
Doymuş	80,29
Doymamış	19,71

Tablo 4.26. Heteretrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C18:3 (Linolenik)	6,1
C20:0 (Arakhidik)	93,9
Doymuş	93,6
Doymamış	6,1

Tablo 4.27. Heteretrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C22:0 (Eurik)	3,9
C24:0 (Tetrakosanoik)	96,1
Doymuş	100
Doymamış	0

Tablo 4.28. Heteretrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C14:0 (Miristik)	20,4
C15:0 (Pentadekanoik)	2,0
C20:1 (Eikosenoik)	1,5
C22:0 (Behenik)	76,1
Doymuş	98,5
Doymamış	1,5

Tablo 4.29. Heteretrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C15:0 (Pentadekanoik)	47,5
C20:4 (Dokosadioneik)	52,5
Doymuş	47,5
Doymamış	52,5

Ortamda 2 g/L gliseol içeren heteretrof koşullarda *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi incelendiğinde C14:0 (Miristik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir. Denklem 3.4' e göre setan sayısı baskın yağ asidi C14:0'a göre incelendiğinde 66,5 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığıda 704,3 g/mol olarak belirlenmiştir. 5 g/L gliseol içeren ortamda elde edilen yağın yağ asidi bileşimi incelendiğinde diğer

ortama göre C14:0 (Miristik) asit miktarında belirli bir azalma buna karşın C24:0 (tetrakosanoik) asit miktarında artış belirlenmiştir. Bu asit miktarlarının birbirine yakın olduğu fakat yağ asidi bileşiminin C14:0 (Miristik) asitce zengin olduğu (%42,34) belirlenmiştir. Denklem 3.4' e göre setan sayısı baskın yağ asidi C14:0'a göre incelendiğinde 66,5 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığıda 774,63 g/mol olarak belirlenmiştir. Besin ortamında bulunan karbon kaynağı miktarı arttıkça yağ asitlerinin yüksek molekül ağılıklı asitlere doğru gelişme gösterdiği ve buna bağlı olarak ortalama molekül ağırlığının da arttığı belirlenmiştir.

Chlorella ESP-6 için, 2 g/L gliseol içeren heterorof koşullarda yağ asidi bileşimi incelendiğinde C20:0 (Arakhidik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir. Setan sayısı baskın yağ asidi C20:0'a göre incelendiğinde 74,9 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığıda 969,4 g/mol olarak belirlenmiştir. 5 g/L gliseol içeren ortamda elde edilen yağın yağ asidi bileşimi incelendiğinde diğer ortama göre C18:2 (Linolenik) ve C20:0 (arakhidik) asitlerin kaybolduğu buna karşın C22:0 (Behenik) C24:0 (tetrakosanoik) asitlerin miktarlarında artış C24:0 (Tetrakosanoik) asitce zangin (%96.1) olduğu belirlenmiştir. Sayısı baskın yağ asidi C24:0'a göre incelendiğinde 80,5 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığıda 1140,5 g/mol olarak belirlenmiştir. Besin ortamında bulunan karbon kaynağı miktarı arttıkça yağ asitlerinin yüksek molekül ağılıklı asitlere doğru gelişme gösterdiği ve buna bağlı olarak ortalama molekül ağırlığının da arttığı belirlenmiştir. Aynı durum *Chlorella variabilis* türü mikroalg içinde gözlenmiştir.

Ortamda 2 g/L gliseol içeren miksotrof koşullarda *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi incelendiğinde C22:0 (Behenik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir. Setan sayısı baskın yağ asidi C22:0'a göre incelendiğinde 77,2 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığıda 879,44 g/mol olarak belirlenmiştir. 5 g/L gliseol içeren ortamda elde edilen yağın yağ asidi bileşimi incelendiğinde diğer ortama göre C22:0 (Behenik) C14:0 (Miristik) ve C20:1 (Eikosenoik) asitlerin kaybolduğu buna karşın C15:0 (Pentadekanoik) asidin miktarında artış ve çoklu doymamış yağ asidi C20:4 (Tetrakosanoik) asidin belirginleştiği ve miktarınca zengin (%52,5) olduğu gözlenmiştir. Setan sayısı her iki yağ asidine göre incelendiğinde ortalama 45,2 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığıda 906,7 g/mol olarak belirlenmiştir. Besin ortamında bulunan karbon kaynağı miktarı arttıkça yağ asitlerinin yüksek molekül ağılıklı asitlere doğru gelişme gösterdiği ve buna bağlı olarak ortalama molekül ağırlığının da arttığı belirtilmektedir (Ferreira ve diğ., 2017, Katayama ve diğ., 1967). Mikroalg yağlarında çoklu doymamış yağ asitleri istenmeyen durumdur. Buna karşın

Yüksek karbon sayılı doymuş yağ asitleri tercih edilmelidir. Elde edilen bu yağın setan sayısı düşük olduğundan biyodizel için hammadde kaynağı olarak kullanılması uygun görülmemektedir.

Literatürde farklı mikroalg kültürlerinin heterofik koşullarda üretimi ve yağ asidi bileşimlerini inceleyen çalışmalarda besin ortamındaki karbon kaynak miktarı arttıkça yağ üretimnin arttığı ve doymuş yağ asitlerinin belirginleşerek miktarının arttığı belirtilmektedir (Choi ve diğ., 2015) Literatürde *Chlorella variabilis ve ESP-6* türü mikroalgin heteretrof koşulların yağ üretimini ve yağ asidi bileşimine etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Fotootototrofik kültürde elde edilen düşük biyokütle verimi, biyokütle hasat maliyetini arttırmaktadır. Hasat maliyetini düşürmek için fototrofik kültürüe ek olarak miksotraofik kültürler değerlendirilir. Miksotrofik kültürde hem ışık kaynağı hemde ortama eklenen alternatif bir karbon kaynağı (şeker, organik asit vb.) mikroorganizma büyümesini önemli ölçüde etkiler (Wei ve diğ., 2009).

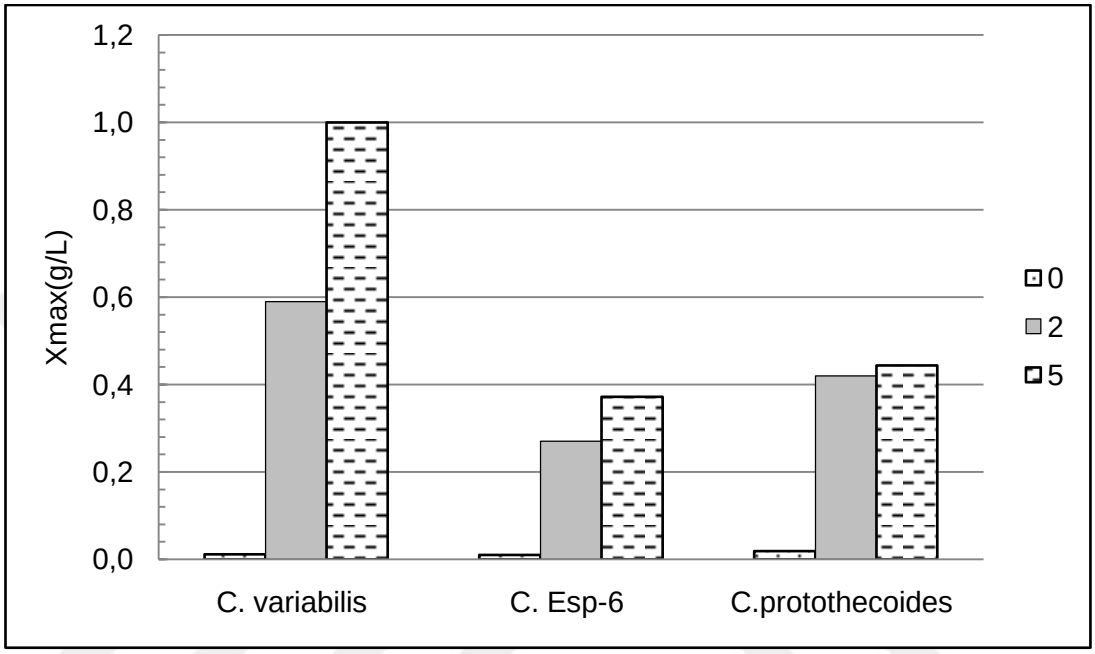
Mitra ve diğ., 2012'de yaptıkları çalışmada *Chlorella vulgaris* türü mikroalgi etanol karbon kaynağı olacak şekilde heteretrof koşullarda büyüme ve yağ üretim davranışını incelemişlerdir. 25 günlük kültür sonucunda türün daha fazla yağ ürettiğini ve yüksek karbon kaynağı bulunduran ortamlarda heteretrofik koşullarda belirlemişlerdir.

Ren ve diğ., 2013'de yaptıkları diğer bir çalışmada ise *Scenedesmus sp.* mikroalgin heteretrof koşullarda ve fruktoz glikoz ve asetat içeren farklı ortamlarda büyüme ve yağ içeriğini aynı zamanda biyodizel elde edilen yağın biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanılabilriliğini araştırmışlardır. Deneysel çalışmalar en uygun karbon kaynağı glikoz (10 g/L) olduğu durumda en yüksek mikroorganizma derişimi X_{max}(0,6 g/L) olduğunu belirlemişlerdir. Mikroorganizma yağ içeriğini de %43 olarak beleirlemişlerdir.

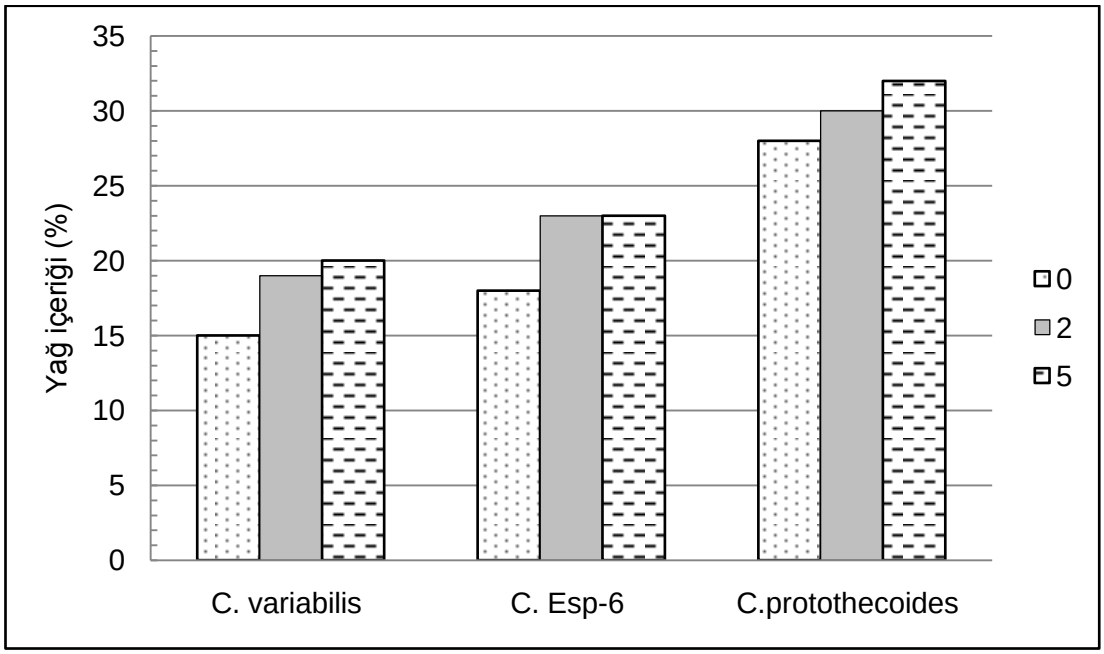
Chen ve diğ., 2011 yılında yaptıkları çalışmada *Chlorella protothecoides* türü mikroalgi hetetrotrof ortamda 14,6 g/L gliserol varlığında mikroorganizma üzerine koşulların etkilerini araştırmışlardır. Deneysel çalışmalar sonucunda 8 günlük kültür sonucunda 23,5 gram kuru kültür elde ettiklerini ayrıca mikroorganizmanın yağ üretkenliğinin 3 g/L.gün olarak belirlediklerini vurgulamışlardır.

Karşılaştırılabilir bir diğer çalışma ise Fei ve diğ., 2015'de yaptıkları çalışmadır. Çalışmada *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin gliserol varlığında heterofik

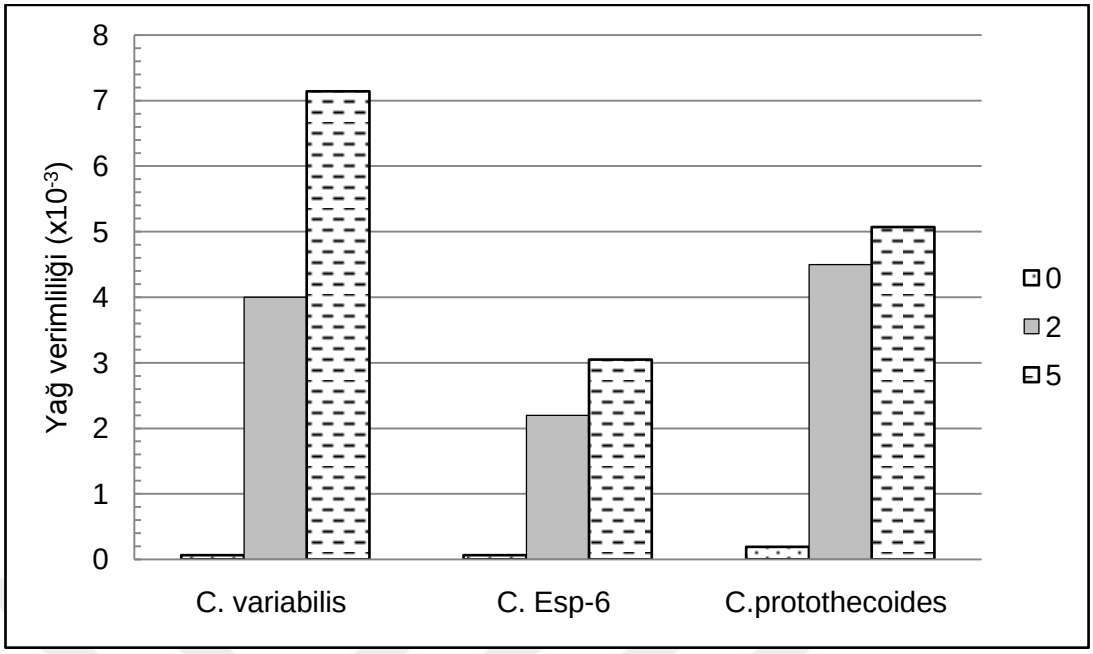
büyümesinde en yüksek yağ içeriğini %47 olarak belirlemişlerdir. Ayrıca mikroorganizma yağ içeriğinin artması veya azalması yönünde bir etkisine rastlamamışlardır. Heterotrof koşullarda mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri Şekil 4.63'te, yağ içerikleri ve yağ verimlilikleri ise sırasıyla Şekil 4.64 ve 4.65'te verilmiştir.



Şekil 4.63. Heteretrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri



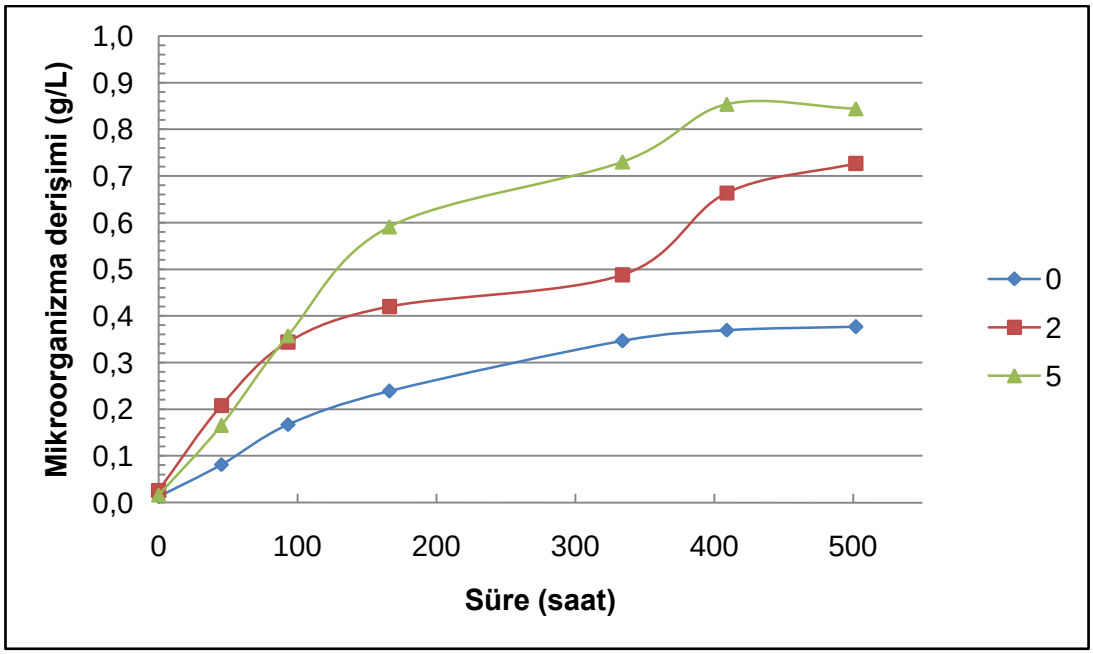
Şekil 4.64. Heteretrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ içerikleri



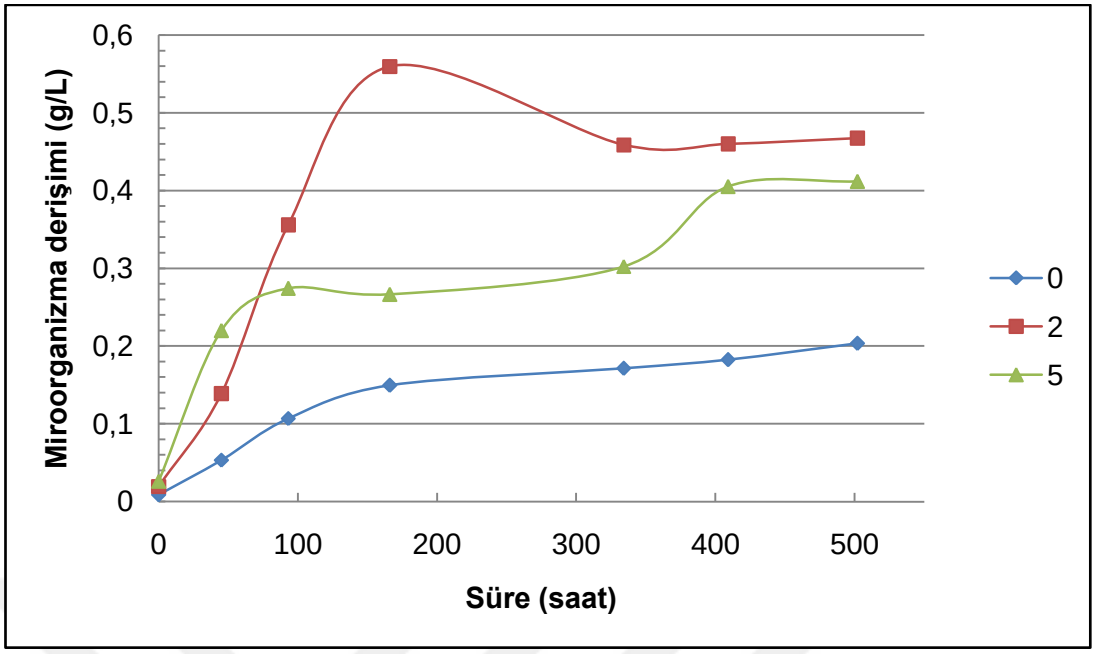
Şekil 4.65. Heteretrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen yağ verimlilikleri

4.6.2. Miksotrof Koşullar

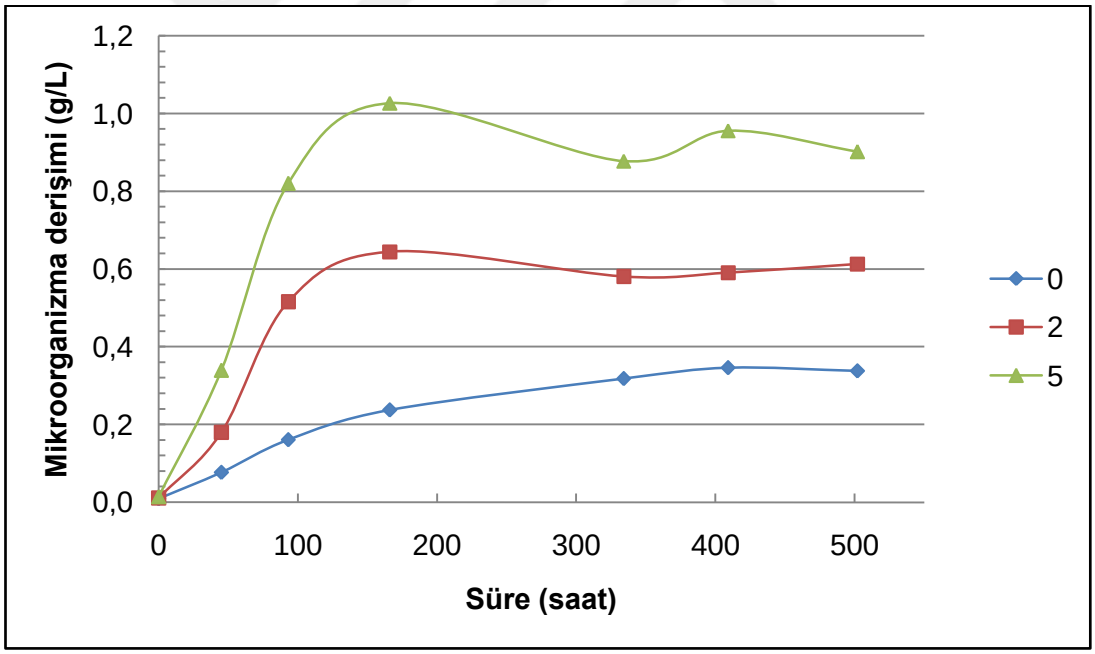
Heterotfof koşullara ek miksotrof koşullarda kültürlere 4 Klüks aydınlatma sağlanmıştır. *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella prothocoides* miksotrof koşullar etkisinde büyüme eğrileri sırasıyla Şekil 4.66, 4.67 ve 4.68'de verilmiştir.



Şekil 4.66. Miksotrof koşulların *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi



Şekil 4.67. Miksotrof koşulların *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi



Şekil 4.68. Miksotrof koşulların *Chlorella protohecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi

Chlorella variabilis için, besin ortamındaki karbon kaynağının (gliserol) artması mikroorganizma büyüme üzerine olumlu yönde etkilediği Şekil 4.66'da görülmektedir. Karbon kaynağından yoksun kültürde ışık enerjisinden dolayı büyüme ototrof kültüre göre daha iyi olmuştur. Miksotrof ortamda mikroorganizma karbonu kullanırken hemde fotosentez yaparak büyümüştür. Her ortamda büyüme

farklı hızlarda büyüme 400. saate kadar gözlenmiştir. Bu saatten sonra mikroorganizma durağan faza geçmiştir.

Gliserol miktarının artması *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyümesi üzerine 2 g/L'ye kadar olumlu yönde etkisi olduğu belirlenmiştir. Gliserol miktarı 5 g/L olduğu durumda mikroorganizmanın üzerine substrat inhibisyonu etkisi açıkça görülmektedir. Tüm ortamlarda büyüme farklı hızlarda büyüme 166. saate kadar gözlenmiştir. Bu saatten kültür sonuna kadar mikroorganizmanın durağan fazda seyir ettiği görülmektedir (Şekil 4.67).

Chlorella protohecoides için, tüm ortamlarda büyüme farklı hızlarda büyüme 166. saate kadar gözlenmiştir. Bu saatten kültür sonuna kadar mikroorganizmanın durağan fazda seyir ettiği görülmektedir. Miksotrof koşullar etkisinde büyüme hızları, yağ içerikleri ve verimlilikleri Tablo 4.30, 4.31 ve 4.32'de sırasıyla *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella protothecoides* için verilmiştir.

Tablo 4.30. Miksotrof koşulların *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Gliserol miktarı (g/L)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	0,377	0,0176	39,3	13	2,3
2	0,726	0,0275	25,2	15	5,2
5	0,844	0,0330	20,9	16	6,4

Tablo 4.31. Miksotrof koşulların *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Gliserol miktarı (g/L)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	0,203	0,017	40,7	20	1,93
2	0,467	0,020	34,7	17	3,78
5	0,411	0,014	49,5	14	2,74

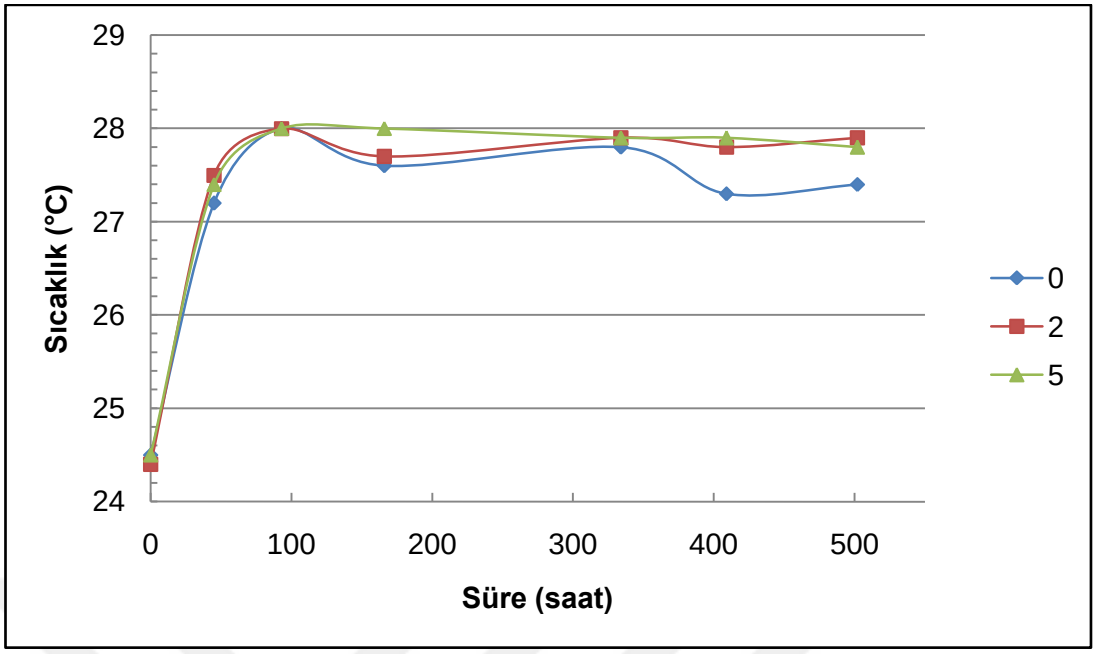
Tablo 4.32. Miksotrof koşulların *Chlorella protohecoides* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Gliserol miktarı (g/L)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	0,338	0,015	46,2	25	4,02
2	0,644	0,022	31,5	27	8,28
5	0,956	0,070	10,0	26	11,8

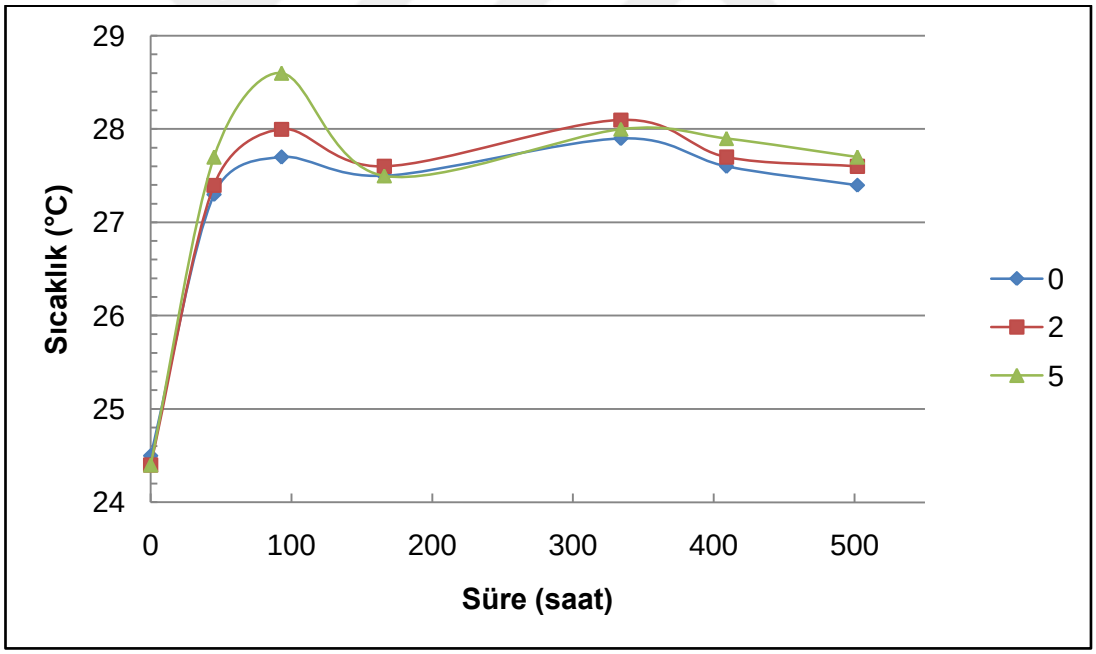
21 günlük kültür sonucunda *Chlorella variabilis* için en yüksek mikroorganizma derişimine X_{max}(0,84 g/L) en yüksek mikroorganizma büyüme hızına μ_{max} (0,033 h^{-1}) ve yağ verimliliği'ne (6,4 x 10^{-3} g/L.gün) 5 g/L gliserol bulunan kültürde elde edilmiştir. Besi ortamında artan gliserol miktarına bağlı olarak hücrenin ikiye katlama süreside hızlanmıştır.

Chlorella ESP-6 için ortamında artan gliserol miktarına bağlı olarak hücrenin ikiye katlama süreside hızlanmıştır. En yüksek yağ verimliliği'ne (3,78 x 10^{-3} g/L.gün) 2 g/L gliserol içeren miksotrof kültürde elde dilmiştir. Ayrıca en yüksek spesifik büyüme hızı (μ_{max}= 0,020 h^{-1}) olarak aynı ortamda elde edilmiştir. Miksotrofik kültürlerde heteretrof kültüre göre daha hızlı büyüme gerçekleşmiştir. Ayrıca kültür sonunda yaklaşık %50 daha fazla mikoorganizma miktarı elde edilmiştir.

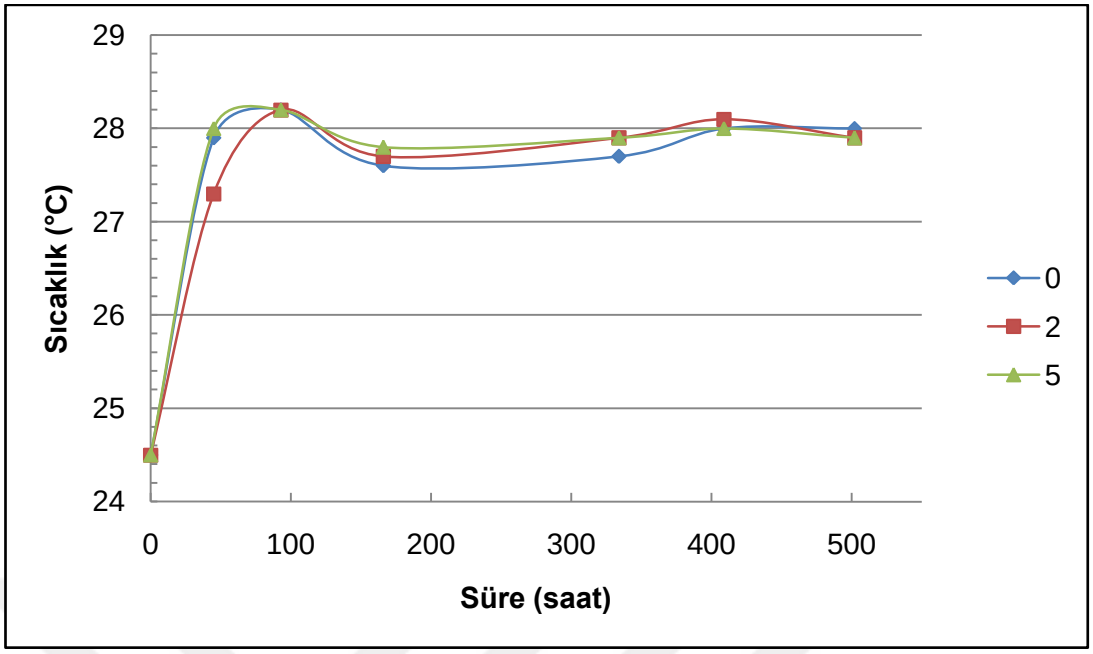
Chlorella prototocoides için, en yüksek mikroorganizma derişimine X_{max}(0,956g/L) en yüksek mikroorganizma büyüme hızına μ_{max} (0,07 h^{-1})5 g/L gliserol bulunan kültürde elde edilmiştir. Besi ortamında artan gliserol miktarına bağlı olarak hücrenin ikiye katlama süreside hızlanmıştır. En yüksek yağ verimliliği'ne (11,8 x 10^{-3} g/L.gün) 5 g/L gliserol içeren miksotrof kültürde elde dilmiştir. Miksotrofik kültürlerde heteretrof kültüre göre daha hızlı büyüme gerçekleşmiştir. Ayrıca kültür sonunda yaklaşık 1,5 kat daha fazla mikoorganizma elde edilmiştir. Bu türün *Chlorella* ESP-6 türüne göre substrat direnci olduğu söylenebilir. Mikroorganizmaların kültür süresince sıcaklık değişimleri Şekil 4.69, 4.70 ve 4.71'de pH değişimleri Şekil 4.72, 4.73 ve 4.74'te sırasıyla *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6, Chlorella protothecoides* için verilmiştir.



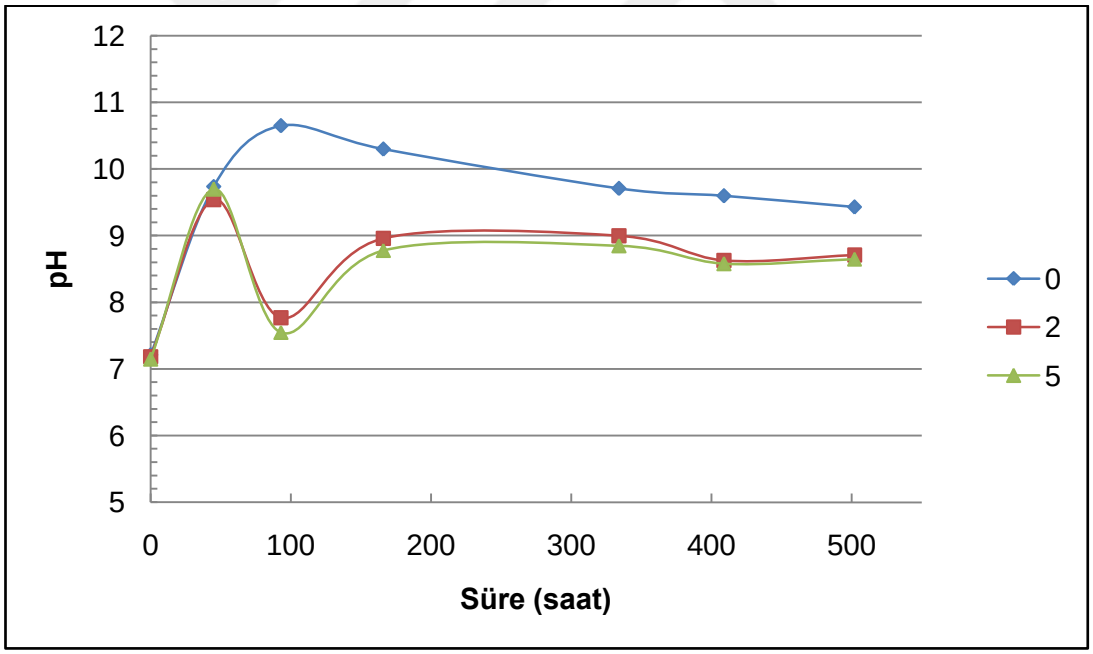
Şekil 4.69. Miksotrof koşullarda *Chlorella variabilis* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri



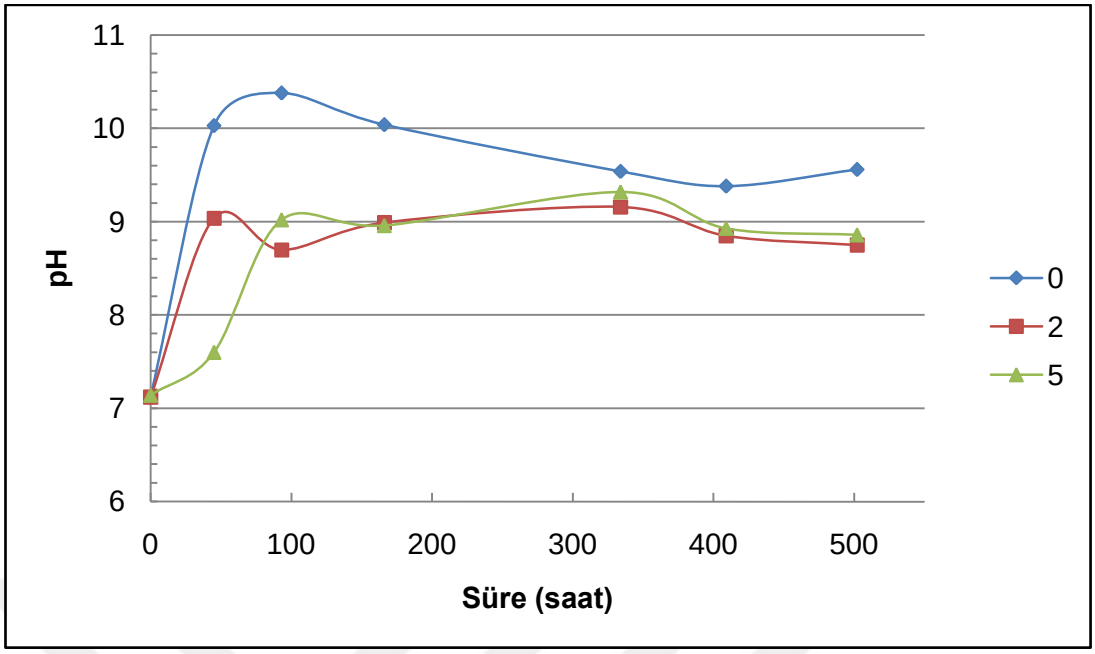
Şekil 4.70. Miksotrof koşullarda *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri



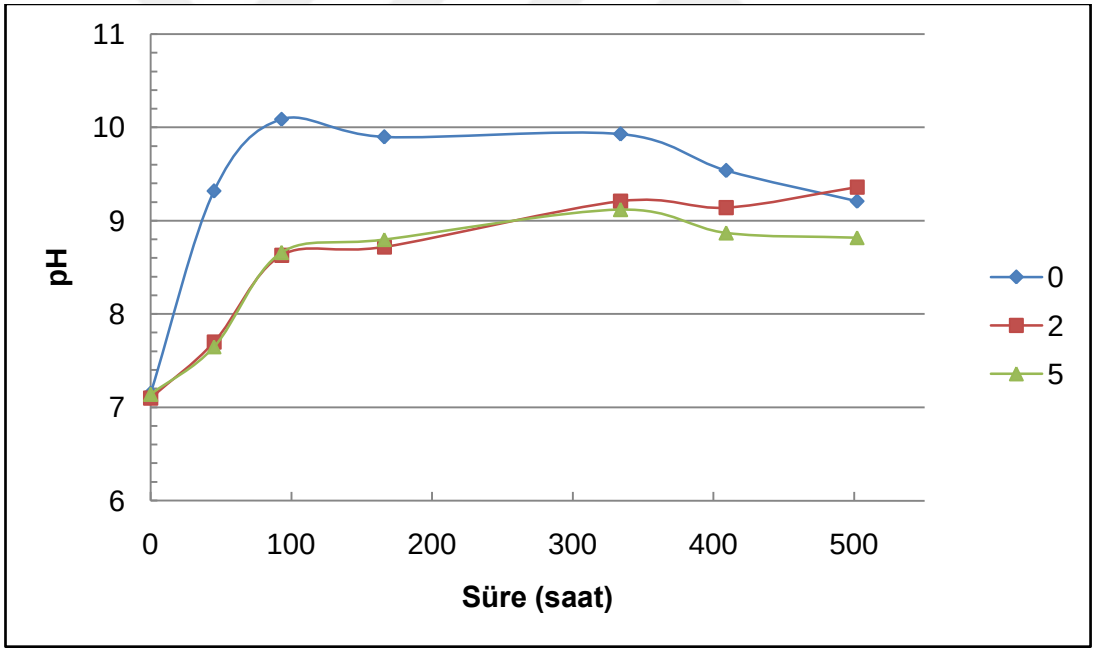
Şekil 4.71. Miksotrof koşullarda *Chlorella protohecoides* türü mikroalgin sıcaklık değişimleri



Şekil 4.72. Miksotrof koşullarda *Chlorella variabilis* türü mikroalgin pH değişimleri



Şekil 4.73. Miksotrof koşullarda *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin pH değişimleri



Şekil 4.74. Miksotrof koşullarda *Chlorella protohecoides* türü mikroalgin pH değişimleri

Chlorella variabilis için, sıcaklık dağılımları her koşul için benzer davranışlar göstermiştir. Başlangıçta ortam sıcaklığı 24 °C ile 25 °C arasındadır. Kültürlerde sıcaklık ortam sıcaklığına bağlı olarak 100. saate kadar artış göstermiştir, bu saatten sonra 27 °C ile 28 °C arasında salınım göstermiştir (Şekil 4.69). Miksotrofik kültürlerde hücre gelişimi için aynı zamanda hem organik hem de inorganik karbon tüketilmektedir. Bu nedenle ortamın pH değeri değişkenlik (artma ve azalma)

gösterebilmektedir. Ortamda 2-5 g/L gliserol bulunduran kültürler için ortam pH değerlerinde 93 saate kadar azalma gözlenmiştir. Bu evrde ortamda bulunan karbon tüketimi fotosentezden hızlı olduğu söylenebilir. Bu saten sonra 166. Saate kadar pH artış göstermiş ve kültür sonuna kadar 8,5 civarlarında salınımlar göstermiştir. Bu evrede fotsentez ve organik karbon kaynağı (gliserol) kullanımları eşit olduğu söylenebilir. Gliserolden yoksun ortamda pH değeri 93 saate kadar artış göstermiştir. Bu saaten kültür sonuna kadar ise hafif bir azalma göstererek 9,5 civarlarında salınım göstermiştir (Şekil 4.72).

Chlorella ESP-6 için, başlangıçta ortam sıcaklığı 24°C ile 25°C arasındadır. Sıcaklık ortam sıcaklığına bağlı olarak 100. saate kadar artmış Kültür sonuna kadar ise 27 ile 28°C arasında değişim göstermiştir (Şekil 4.70). Ortamların pH değerleri 100. saate kadar artmış göstermiştir. Miksotrofik kültürlerde ortam daki karbon metablizma tarafından yıkıldığında pH derğlerinin azalması beklenir. 2-5 gliserol bulunduran ortamlarda pH değerlerinin gliserol olmayan ortama göre düşük olmasının sebebidir. 100. Saaten sonra pH değerlerinde hafif bir düşüş gerçekleşmiştir. *Chlorella protohecoides* içinde benzer sıcaklık ve pH değişimleri gözlenmiştir. Miksotrof koşullar etkisisnde mikroalglerin yağ asidi bileşimleri, *Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6 ve Chlorella protothecoides ve 2-5 g/L gliserol varlığında* sırasıyla Tablo 4.33, 4.34, 4.35, 4.36, 4,37 ve 4,38 ’da verilmiştir. Yağ asidi bileşim kromatogramları EK-G’de gösterilmiştir.

Tablo 4.33. Miksotrof koşullarda (2g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C15:0 (Pentadeklik)	85,5
Diğer	14,5
Doymuş	85,5
Doymamış	14,5

Tablo 4.34. Miksotrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C6:0 (Hekzanoik)	2,63
C12:0 (Lauric)	9,49
C:14:0 (Miristik)	59,96
C14:1 (Tetradekanoik)	27,92
Doymuş	69,08
Doymamış	27,92

Tablo 4.35. Miksotrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C6:0 (Hekzanoik)	23,4
C16:0 (Palmitik)	40,6
C18:1 (Oleik)	36,0
Doymuş	64,0
Doymamış	36,0

Tablo 4.36. Miksotrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C10:0 (Dekanoik)	19,0
C12:0 (Laurik)	26,8
C16:0 (Palmitik)	16,3
C16:1 (Palmitoleik)	4,1
C18:3 (Linoleik)	6,8
C24:0 (Tetrakosanoik)	27,0
Doymuş	89,1
Doymamış	10,9

Tablo 4.37. Miksotrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C14:0 (Miristik)	9,8
C15:1 (Pentadekanoik)	11,6
C17:0 (Margarik)	13,8
C17:1 (Heptadekanoik)	14,7
C24:0 (Tetrakosanoik)	50,1
Doymuş	73,7
Doymamış	26,3

Tablo 4.38. Miksotrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C16:0 (Palmitik)	62,4
C18:1 (Oleik)	37,6
Doymuş	62,4
Doymamış	37,6

Chlorella variabilis için, ortamda 2 g/L gliserol içeren miksotrof koşullarda elde edilen yağın yağ asidi bileşimi incelendiğinde C15:0 (Pentadeklik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir. Denklem 3.4'e göre setan sayısı baskın yağ asidi C15:0'a göre incelendiğinde 67,9 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığıda 765,3 g/mol olarak belirlenmiştir. 5 g/L gliserol içeren ortamda elde edilen yağın yağ asidi bileşimi incelendiğinde diğer ortama göre C15:0 (Pentadeklik) asit miktarında belirli bir azalma buna karşın C14:0 (Miristik) ve C14:1 (tetradekanoik) asitlerin belirginleşerek miktarlarında artış belirlenmiştir. Bu yağ asidi bileşiminin C14:0 (Miristik) asitce zengin olduğu (%59,96) belirlenmiştir. Setan sayısı baskın yağ asidi C14:0'a göre incelendiğinde 66,5 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığıda 704,35 g/mol olarak belirlenmiştir.

Ortamda 2 g/L gliserol içeren miksotrof koşullarda *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi incelendiğinde C16:0 (Palmitik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir. Setan sayısı baskın yağ asidi C16:0'a göre incelendiğinde 69,3 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığı ise 737,26 g/mol olarak belirlenmiştir. 5 g/L gliseol içeren ortamda elde edilen yağın yağ asidi bileşimi incelendiğinde diğer ortama göre yağ asitleri çeşitliliğinde artış gözlenmiştir. C24:0 (Tetrakosanoik) ve C12:0 (Laurik) asitce zangin ve biribirlerine yakın olduğu belirlenmiştir. Setan sayısı baskın bu yağ asitlerine göre incelendiğinde ortalama 72,1 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığıda 809,43 g/mol olarak belirlenmiştir. Besin ortamında bulunan karbon kaynağı miktarı arttıkça yağ asitlerinin çeşitliliğinde artış gösterdiği belirlenmiştir. Benzer durum *Chlorella variabilis* türü mikroalgin heteretrof koşullarda yetiştirldiği durum için de gözlenmiştir. Elde edilen bu yağların setan sayısının yüksek olması nedeni ile biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanılmaları uygun olduğu öngörülmektedir.

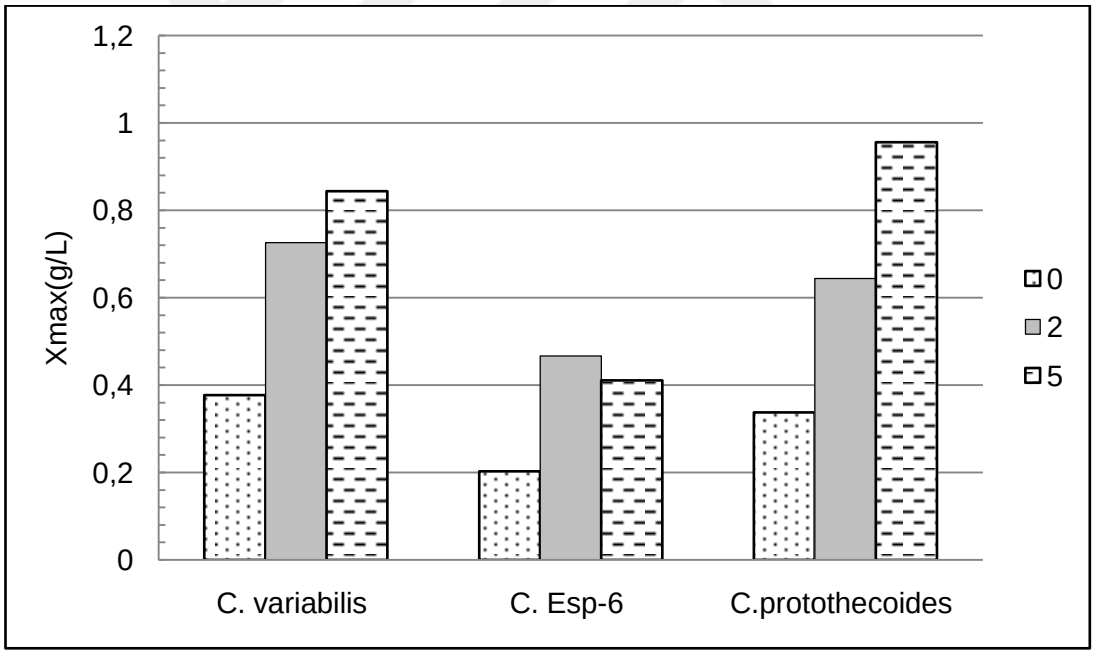
Chlorella protothecoides için, 2 g/L gliseol içeren miksotrof koşullarda elde edilen yağın yağ asidi bileşimi incelendiğinde C24:0 (Tetrakasioik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir. Setan sayısı baskın yağ asidi C24:0'e göre incelendiğinde 80,5 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığıda 999,68 g/mol olarak belirlenmiştir. 5 g/L gliseol içeren ortamda elde edilen yağın yağ asidi bileşimi incelendiğinde diğer ortama göre yağ asitleri çeşitliliği azalmıştır. C16:0 (Palmitik) asitce zangin ve biribirlerine yakın olduğu belirlenmiştir. Denklem 3.4'e göre setan sayısı baskın bu yağ asidine göre incelendiğinde 69,3 olarak ayrıca ortalama molekül ağırlığıda 837,38 g/mol olarak hesaplanmıştır. Besin ortamında bulunan karbon kaynağı miktarı arttıkça yağ asitlerinin çeşitliliğinde azalma olduğu gözlenmiştir. Benzer durum aynı türün heteretrof koşullarda yetiştirldiği durum için de gözlenmiştir. Elde edilen bu yağların setan sayısının yüksek olması nedeni ile biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanılmaları uygun olduğu öngörülmektedir. Literatürde çalışmada kullanılan üç farklı tür içinde miksotrof koşulların yağ üretimini ve yağ asidi bileşimine etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Farklı alg kültürleri ile farklı miksotrof koşullarda yapılan benzer çalışmalar mevcuttur. İncelenen çalışmalarda besin ortamındaki karbon kaynak miktarı arttıkça yağ üretimnin arttığı belirtilmektedir (Barclay ve diğ., 1994) .

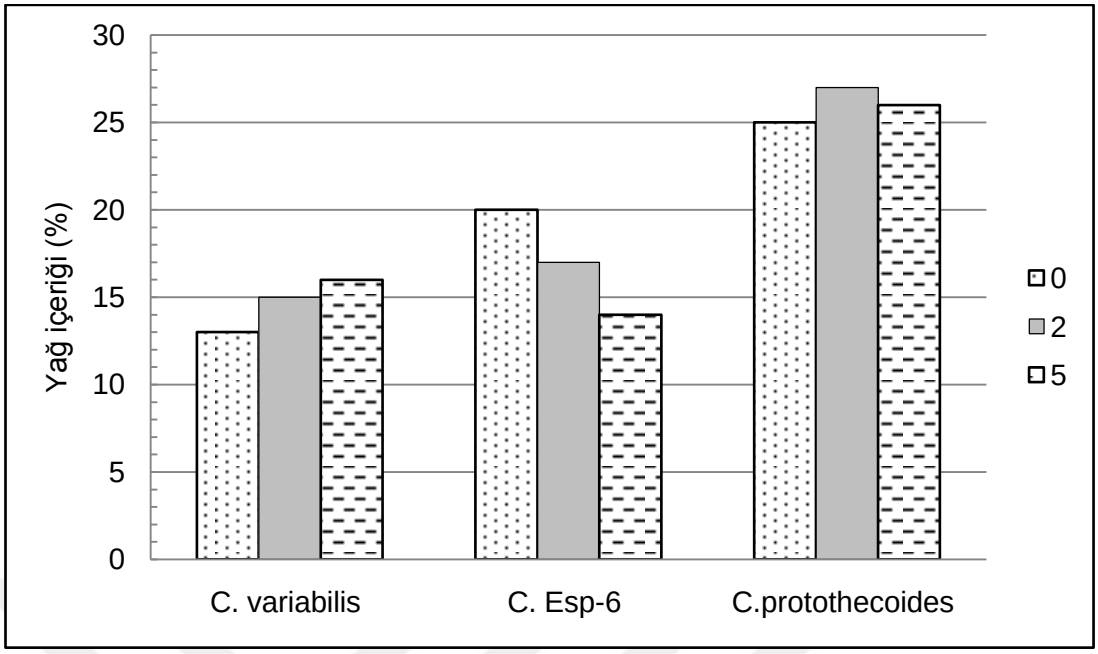
Hanafy ve diğ., 2013'de yaptıkları çalışmada ortama eklenen glikoz miktarının (0,5-8 g/L) *Chlorella kesleri* türü mikroalgin miksotrofik koşullarda büyümesi ve yağ

üretimine etkilerini araştırmışlardır. 21 günlük kültür sonucunda ortamda artan glikoz miktarının substrat inhibisyonu yaptığına ve en yüksek mikroorganizma konsantrasyona ortamda 0,5 g/L glikoz varlığında ulaştıklarını belirlemişlerdir.

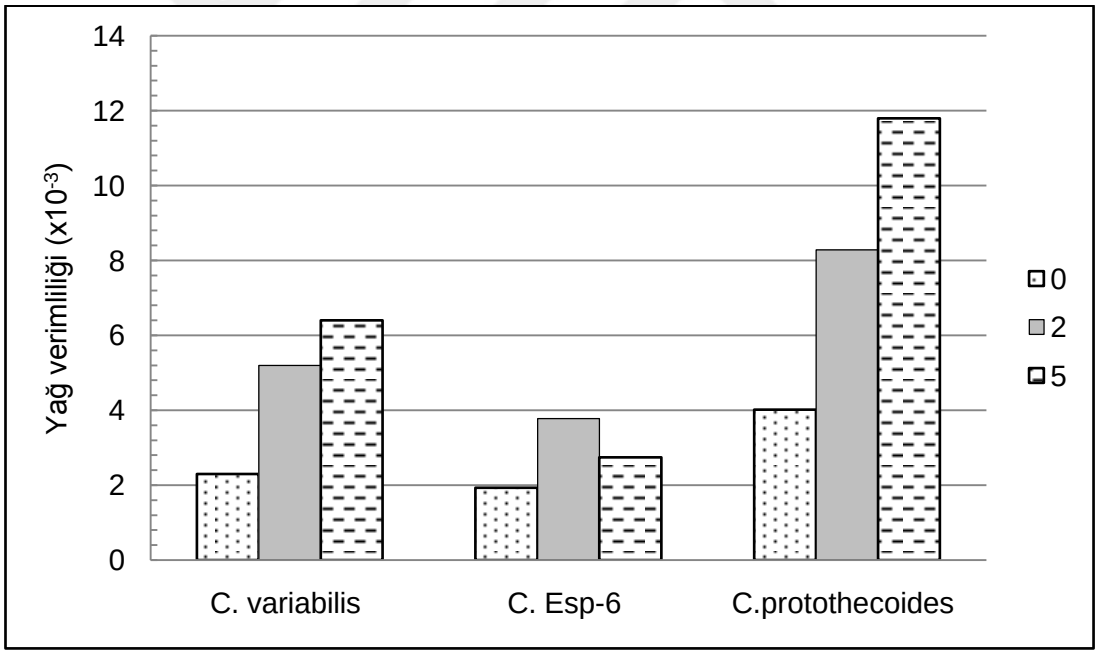
Chojnacka ve diğ., 2004 yılında *Spirulina sp.* türü mikroalg ile yaptıkları çalışmada heteretrof ve miksotrof ortamda glikoz varlığında mikroalgin büyümesi ve yağ üretimini incelemişlerdir. Deneysel çalışmaların sonucunda heterofik ve fototrofik kültürlere göre daha hızlı büyüme gösterdiğini ve daha fazla kütle elde edildiğini vurgulamışlardır. Miksotrof ortamda yetişen mikroorganizmalardan heterof ortama göre yaklaşık %50 daha fazla kuru kütle elde edilmiştir. Ortamda gliserol miktarının artması ile mikroorganizma üzerine substrat inhibisyonu etkili olmuştur. Diğer yandan artan vizkosite ile birlikte mikroorganizmaların ortama sıkıştığı literatürde belirtilmektedir (Ferreira ve diğ., 2017, Chojnacka ve diğ., 2004). Miksotrof koşullarda mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri Şekil 4.75'de yağ içerikleri ve yağ verimlilikleri ise sırasıyla Şekil 4.76 ve 4.77'de verilmiştir.



Şekil 4.75. Miksotrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek hücre derişimleri



Şekil 4.76. Miksotrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ içerikleri



Şekil 4.77. Miksotrof koşullar etkisinde mikroalglerden elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri

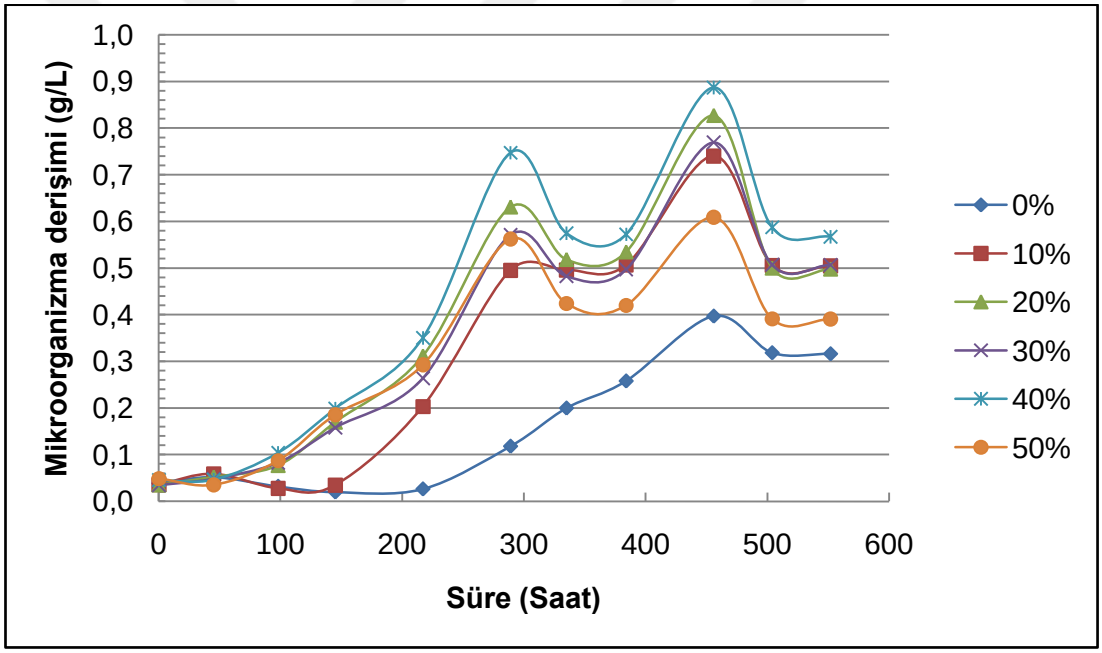
4.7. *Chlorella Variabilis* Ve *Chlorella ESP-6* Türü Mikroalglerin Farklı Endüstriyel Atık Sularını Arıtma Potansiyellerinin İncelenmesi

Geleneksel arıtma teknikleri, atık suda bulunan toplam azot ve fosforun sadece bir kısmını arıtabilmektedirler. Arıtım sürecini geliştirmek için mevcut sistemlere ilave

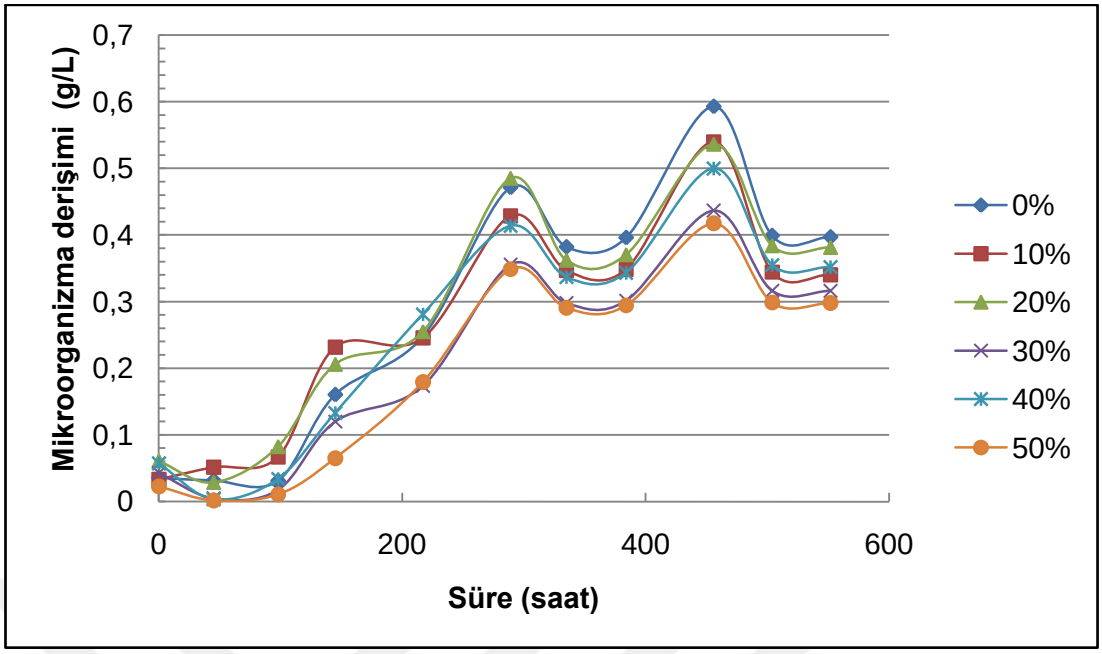
işlemler yapılmaktadır. Bu nedenle, yeni gelişmelere ve sistemlere hala ihtiyaç vardır ve biyolojik sistemler talebe cevap vermek için ideal sistemlerdir.

4.7.1. Beyaz eşya endüstrisi atıksularının arıtılabilirliğinin incelenmesi

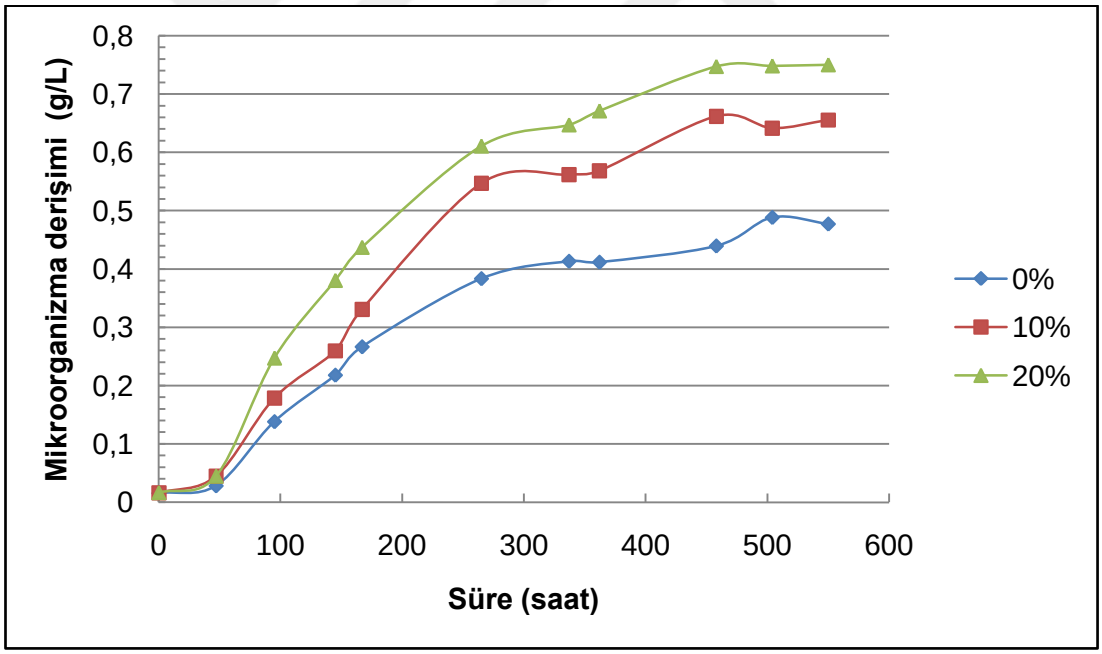
Mikroalglerin beyaz eşya fabrikası evsel ve endüstriyel atık sularını arıtım potansiyelini incelemek amacı ile aşılama öncesinde atık sular farklı oranlarda şebeke suyu ile seyreltilmiştir. Seyrelmenin amacı atık sulardaki olumsuz koşulların (pH, ağır metal, vb.) mikroalglerin büyümesi üzerine olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak ve ortama uyumlarınısağlamaktır. Farklı oranlarda seyreltilmiş evsel ve endüstriyel atıksu ortamlarında mikroalgin büyüme davranışları *Chlorella variabilis* türü için sırasıyla Şekil 4.78 ve 4.79'de,*Chlorella ESP-6* için sırasıyla,Şekil 4.80 ve 4.81'de verilmiştir.



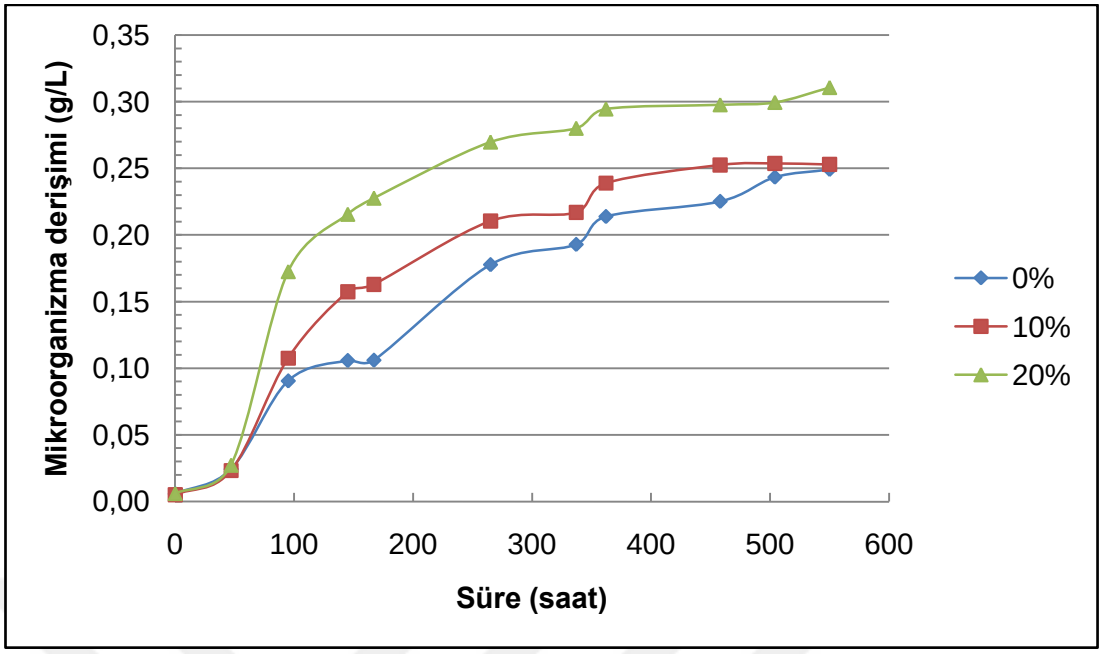
Şekil 4.78. *Chlorella variabilis*'e ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında büyüme eğrileri



Şekil 4.79. *Chlorella variabilis*'e ait beyaz eşya fabrikası endüstriyel atık su seyrelme oranlarında büyüme eğrileri



Şekil 4.80. *Chlorella ESP-6*'ya ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında büyüme eğrileri



Şekil 4.81. *Chlorella ESP-6*'ya ait beyaz eşya fabrikası endüstriyel atık su seyrelme oranlarında büyüme eğrileri

Beyaz eşya evsel atık su kullanımında, *Chlorella variabilis* için atıksulardaki seyrelme işleminin mikroorganizma büyümesi üzerine olumlu yönde etkisi Şekil 4.78'den açıkça görülmektedir. Hücre derişimi, seyrelme oranının %40 değerine kadar artırılması ile artmış, daha sonra artan seyrelme ile değeri düşmüştür. Herbir seyrelme oranında mikroorganizmalar farklı hızlarda 289. saate kadar büyüme göstermiş, daha sonra kirletici besinlerin azalması ile büyüme azalmıştır. 384. saaten sonra 456. saate kadar olan büyüme artışı buharlaşma ile hacim kaybı olan kültür oratmına çeşme suyu ile besleme yapılmasından kaynaklandığı söylenebilir. Mikroalgler eklenen çeşme suyundaki nitriti tüketerek az da olsa büyüme göstermişlerdir. Endüstriyel atık su kullanımında ise seyrelmenin hücre büyümesine olan katkısı evsel atık suya kıyasla daha az olmuştur (Şekil 4.79). Aynı kaynaktan alınan atık sular *Chlorella* ESP-6 ile atık su ortamları %20 oranına kadar seyreltilerek kullanılmıştır. Her iki atık su ortamında da seyrelmenin artmasıyla hücre derişimleri bir miktar artmıştır. Her bir seyrelme oranında mikroorganizmalar farklı hızlarda 458. saate kadar büyüme göstermiş, daha sonra kirletici besinlerin azalması ile büyümedurgunluk fazına geçmiştir.

Her iki tür mikroalg ile evsel atık su ortamlarında elde edilen hücre derişimleri,endüstriyel atık su ortamlarında elde edilen değerlerden daha yüksek değerlerde (*C. variabilis* için %40 seyreltme ile 0,88 g/L, *C. ESP-6* için %20 seyreltme ile 0,75 g/L) olmuştur (Şekil 4.78 ve 4.80).

Evsel ve endüstriyel atık su ortamlarında büyüme hızları, yağ içerikleri ve verimlilikleri *Chlorella variabilis* için Tablo 4.39 ve 4.40'da, *Chlorella ESP-6 i*çin Tablo 4.41 ve 4.42'de verilmiştir.

Tablo 4.39. Evsel atıksulardaki seyrelmenin *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Seyrelme (%)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	0,397	0,004	175	29	5,0
10	0,740	0,024	82	13	4,2
20	0,827	0,008	82	24	8,6
30	0,769	0,007	97	21	7,0
40	0,887	0,008	88	19	7,3
50	0,609	0,006	105	22	5,8

Tablo 4.40. Endüstriyel atıksulardaki seyrelmenin *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Seyrelme (%)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	0,593	0,005	115	23	5,9
10	0,539	0,006	115	28	6,6
20	0,536	0,005	138	26	6,0
30	0,436	0,005	138	30	5,7
40	0,500	0,005	138	30	6,5
50	0,417	0,004	173	31	5,6

Tablo 4.41. Evsel atıksulardaki seyrelmenin *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Seyrelme (%)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	0,480	0,030	23	19	4,0
10	0,655	0,027	26	20	4,5
20	0,750	0,035	20	13	4,3

Tablo 4.42. Endüstriyel atıksulardaki seyreltmenin *Chlorella ESP-6* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Seyreltme (%)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	0,250	0,027	26	21	2,3
10	0,252	0,032	22	28	3,0
20	0,310	0,038	18	24	3,2

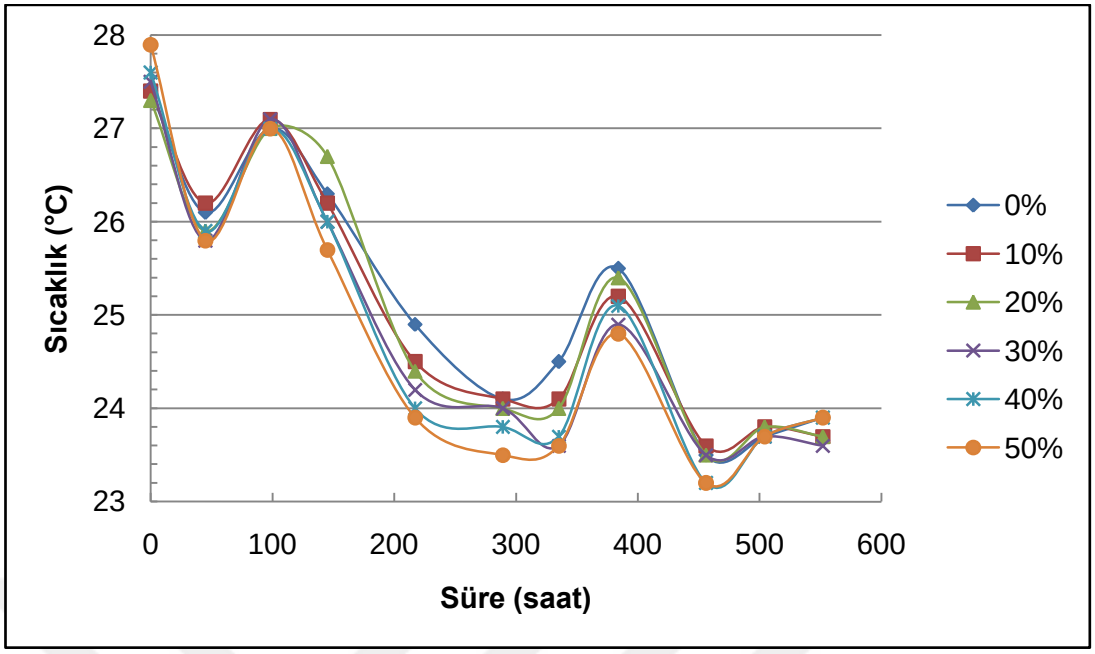
Evsel atık sularda, *Chlorella variabilis* için, en yüksek mikroorganizma derişimi (0,88g/L) %40 seyrelmede elde edilmiştir. Ortamın seyreltilmesiyle, büyüme iki kat hızlanarak μ_{max}=0,008 h^{-1}değerinde olmuş, yağ içerikleriise seyreltilmeyen ortama göre düşmekle birlikte yağ verimlilik değerlerinde bir miktar artış olmuştur (Tablo 4.39). Seyreltme ile yağ içerikleri %19-24 aralığında, verimlilik ise 5,8-8,6g/L.gün aralığında değişmiştir. En yüksek yağ verimliliği (8,6 x 10^{-3} g/L.gün) ve %20 oranında seyreltilen ortamda elde edilmiştir. Endüstriyel atık su kullanımında ise, en yüksek mikroorganizma derişimi (0,59 g/L) seyretme olmaması durumunda eldeedilmiştir. Atık sularda bulunan ağır metaller mikroalg hücre metabolizmasını yavaşlatmış, seyrelme işlemi mikroorganizma büyüme ve yağ verimliliğine belirgin bir etki göstermemiş (Tablo 4.40), tüm ortamlar için büyüme hızı μ_{max}=0,006 h^{-1} değerinde olmuştur. Ortamın seyreltilmesi ile yağ içerikleri artmakla beraber yağ verimlilik değerlerinde fazla değişim olmamıştır. Seyreltme ile yağ içerikleri %26-31 aralığında, verimlilik ise 5,6-6,6 g/L.gün aralığında değişmiş, en yüksek yağ verimliliği (6,6 x 10^{-3} g/L.gün) %10 seyrelme durumunda elde edilmiştir. Evsel atıksu

ortamında mikroalg gelişimi endüstriyel artık su ortamına göre daha hızlı gerçekleşmiş, lipid verimliliği de daha yüksek olmuştur. *Chlorella variabilis* türü mikroalg beyaz eşya endüstrisi evsel ve endüstriyel atık su ortamlarına uyum sağlamıştır.

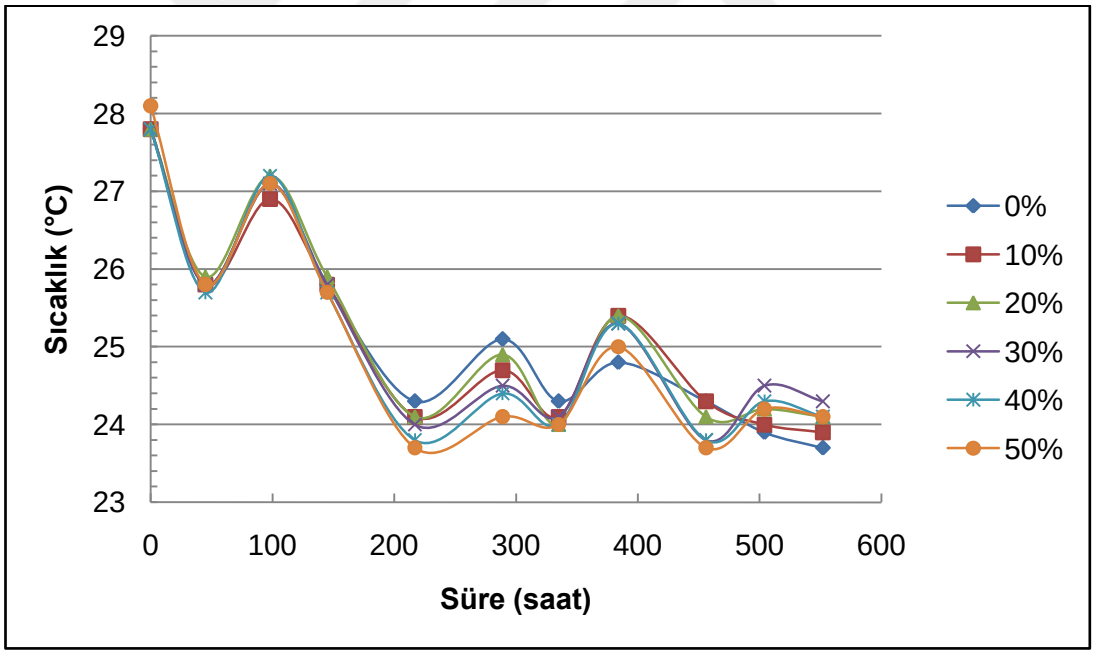
Evsel atık sularda*, Chlorella ESP-6* için, seyreltme işlemi hücre derişimini az miktarda artırmış, yağ verimliğini ise fazla değiştirmemiş, en yüksek hücre derişimi (0,75 g/L) %20 seyreltme ile, en yüksek yağ verimliliği (4,5 x 10^{-3} g/L.gün) ise %10 seyreltme ile), elde edilmiştir. Seyreltme ile çoğalma hızı fazla değişmemiş, μ_{max}=0,035 h^{-1} mertebesinde olmuştur. *Chlorella ESP-6* türü mikroalg beyaz eşya endüstrisi evsel atık su ortamına uyum sağlamıştır. Endüstriyel atık su ortamında evsel atık su ortamına benzer bir büyüme hızı gözlenmiş, ancak elde edilen hücre derişimleri daha düşük değerlerde olmuştur. En yüksek yağ verimliliği (3,2 x 10^{-3} g/L.gün) ve en yüksek spesifik büyüme hızı (μ_{max}= 0,038 h^{-1}) %20 seyrelme olan kültürde elde edilmiştir.*Chlorella variabilis'e benzer olarak Chlorella ESP-6* için seyrelme ile, yağ verimlilik değerleri fazla değişmemekle beraber yağ içerikleri seyreltilmeyen ortama göre daha yüksek değerlerde olmuştur (Tablo 4.42).

Sonuç olarak her iki tür mikralg için evsel ve endüstriyel atık sularda seyrelme işleminin fazla olumlu bir etkisine rastlanmamıştır. Etkin ve ekonomik bir arıtma için atık suyun seyrelme işlemine tabi tutulmadan direkt arıtılması uygun görülmüş, bu nedenle seyreltilen ortamlarda yağ asidi bileşimi analiz edilmemiştir.

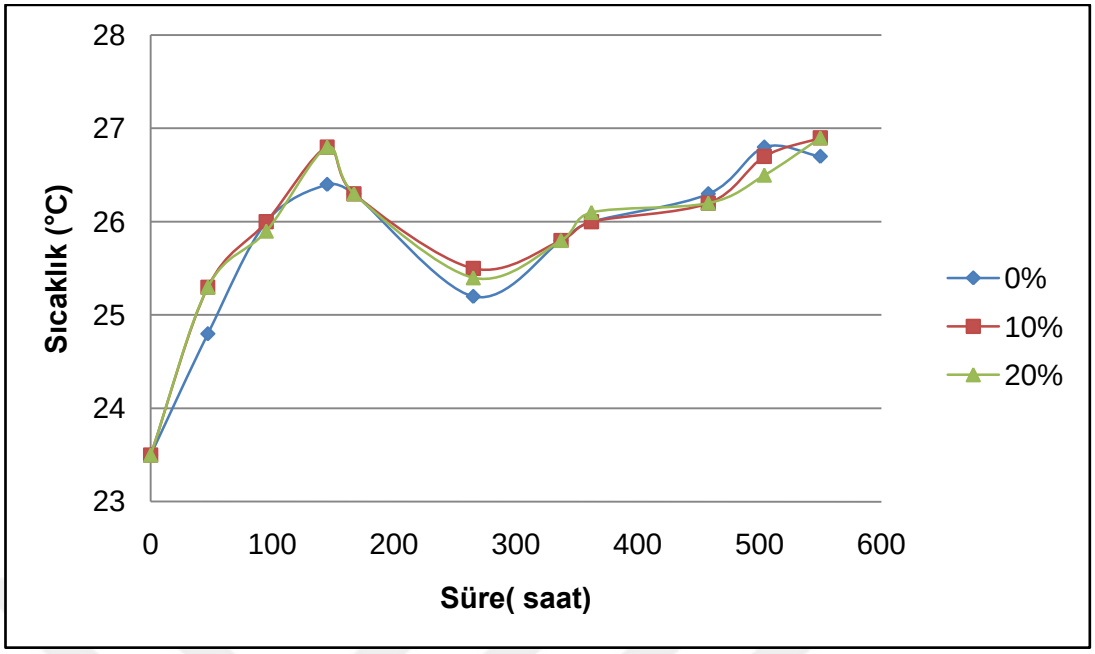
Evsel ve endüstriyel atık su ortamlarında mikroorganizmaların kültür süresince sıcaklık değişimleri *Chlorella variabilis* için Şekil 4.82 ve 4.83'de, *Chlorella ESP-6, için ise* 4.84 ve 4.85'de, ortamların pH değişimleri ise *Chlorella variabilis* için Şekil 4.86 ve 4.87, *Chlorella ESP-6 için ise* 4.88 ve 4.89'da verilmiştir.



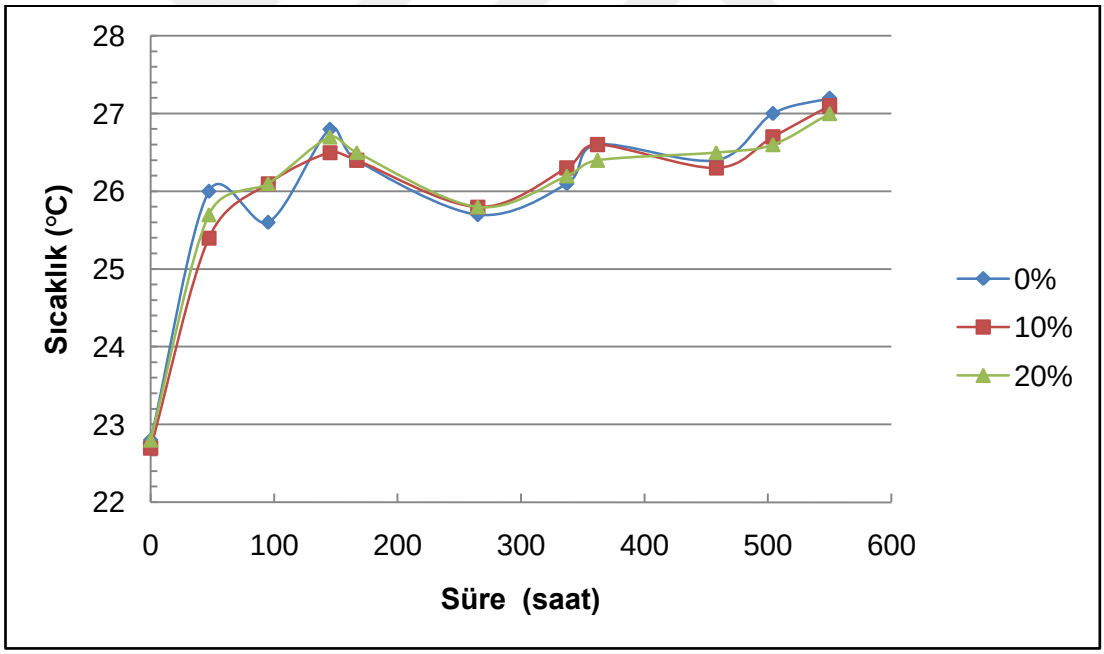
Şekil 4.82. *Chlorella variabilis*'e ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında sıcaklık değişimleri



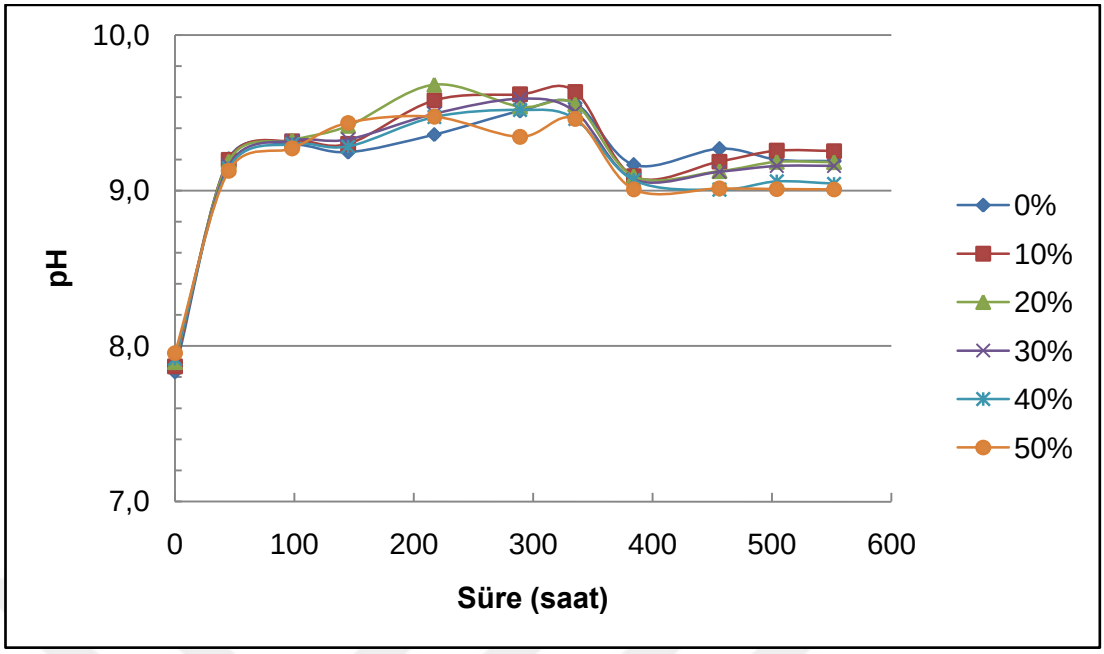
Şekil 4.83. *Chlorella variabilis*'e ait beyaz eşya fabrikası endüstriyel atık su seyrelme oranlarında sıcaklık değişimleri



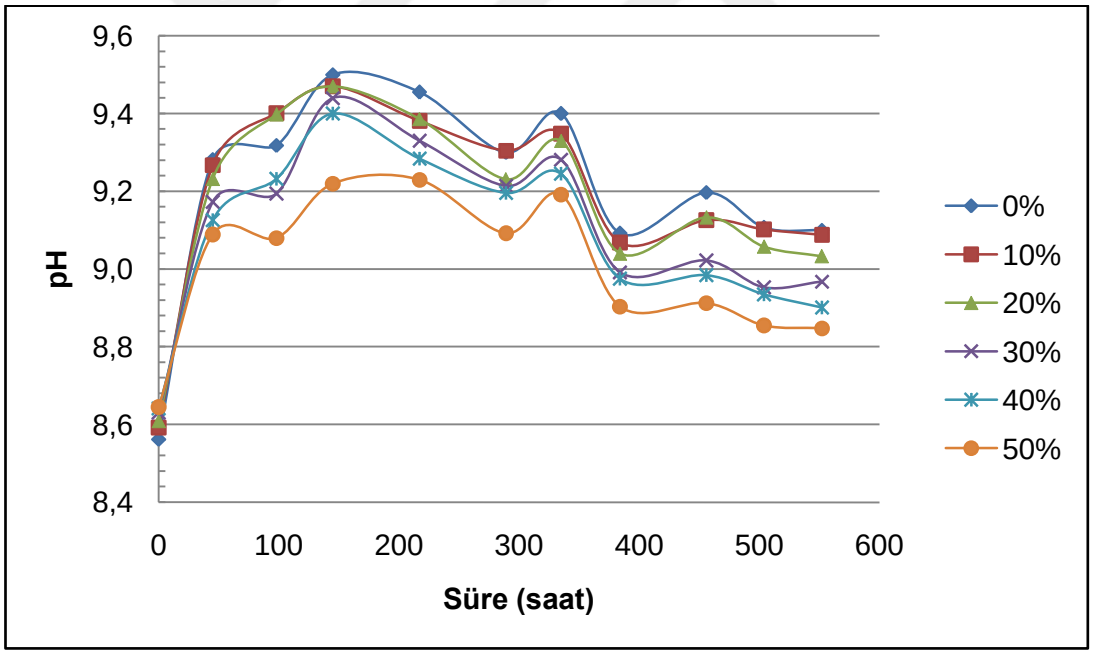
Şekil 4.84. *Chlorella ESP-6*'ya ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında sıcaklık değişimleri



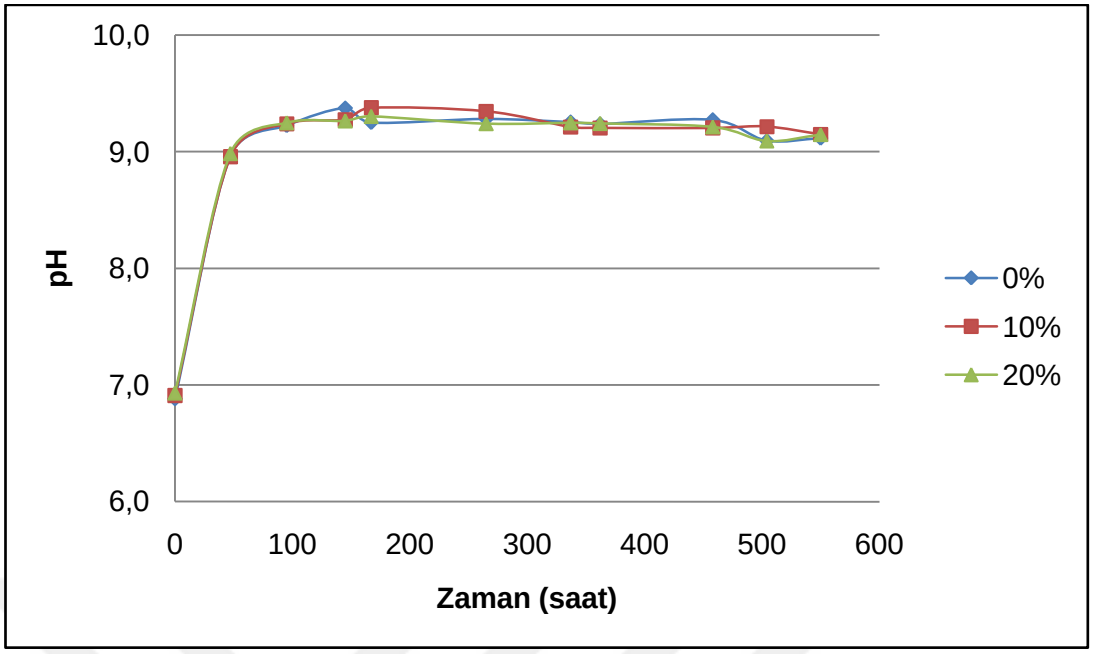
Şekil 4.85. *Chlorella ESP-6*'ya ait beyaz eşya fabrikası endüstriyel atık su seyrelme oranlarında sıcaklık değişimleri



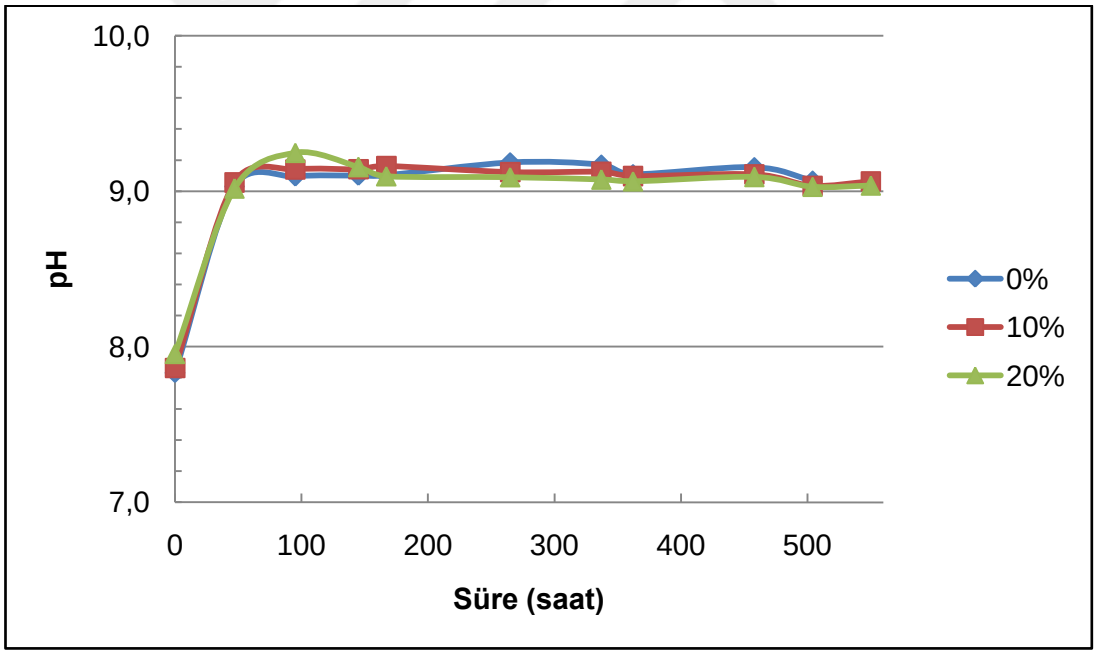
Şekil 4.86. *Chlorella variabilis*'e ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında pH değişimleri



Şekil 4.87. *Chlorella variabilis*'e ait beyaz eşya fabrikası endüstriyel atık su seyrelme oranlarında pH değişimleri



Şekil 4.88. *Chlorella ESP-6*'ya ait beyaz eşya fabrikası evsel atık su seyrelme oranlarında pH değişimleri



Şekil 4.89. *Chlorella ESP-6*'ya ait beyaz eşya fabrikası endüstriyel atık su seyrelme oranlarında pH değişimleri

Chlorella variabilis evsel ve endüstriyel atık sularda kültürlerde sıcaklık yaşanan elektrik kesintileri doğrultusunda zaman zaman azalmıştır. 456. saaten sonra 24 °C civarında dalgalanmıştır (Şekil 4.82 ve 4.83). Kültürlerde ortam pH değerleri 145. saate kadar artış göstermiştir. 145. saaten sonra pH değerlerinde hafif bir düşüş gerçekleşmiştir ve 9 civarlarında dalgalanmıştır (Şekil 4.86 ve 4.87).

Chlorella ESP-6 için, kültürlerin başlangıç değerleri 23,5°C'dir. 145. saate kadar sıcaklık ortam sıcaklığına bağlı olarak 26,8°C'ye kadar artmış, bu saaten sonra buharlaşma ile kayıpları önlemek amacı ile ortama eklenen çeşme suyu nedeni ile düşmüş ve sonra tekrar artmıştır. Kültür sonuna kadar 27°C'ye yükselmiştir (Şekil 4.84 ve 4.85). Kültürlerde ortam pH değerleri 47. saate kadar artış göstemiştir. Bu saaten sonra en yüksek pH değeri 9,3'e kadar yükselerek sonrasında 9 ile 9,5 arasında değişim göstermiştir (Şekil 4.88-89).

Beyaz eşya fabrikası evsel ve endsütriyel atık su ortamlarında seyreltme işlemi yapılmadan yetiştirilen mikroalglerin yağ asidi bileşimleri, *Chlorella variabilis* için Tablo 4.43 ve 4.44'de*, Chlorella ESP-6* için ise Tablo 4.45 ve 4.46'da verilmiştir. Yağ asidi bileşim kromotogramları ise EK-G'de gösterilmiştir.

Tablo 4.43. Beyaz eşya endüstrisi evsel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C6:0 (Hekzanoik)	8,3
C8:0 (Kaprilik)	0,8
C10:0 (Kaprik)	0,7
C14:0 (Miristik)	3,4
C15:0 (Pentadekanoik)	10,3
C 17:0 (Margarik)	25,8
C 17:1 (Heptadekanoik)	5,0
C18:1 (Oleik)	3,4
C 18:2 (Linoleik)	42,3
Doymuş	49,3
Doymamış	50,7

Tablo 4.44. Beyaz eşya endüstrisi endüstriyel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C6:0 (Hekzanoik)	14,8
C16:0 (Palmitik)	38,9
C17:0 (Margarik)	2,7
C18:1 (Oleik)	7,7
C18:2 (Linoleik)	35,9
Doymuş	56,4
Doymamış	43,6

Tablo 4.45. Beyaz eşya endüstrisi evsel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C16:0 (Palmitik)	18,5
C18:1 (Oleik)	43,0
C18:2 (Linoleik)	38,5
Doymuş	18,5
Doymamış	81,5

Tablo 4.46. Beyaz eşya endüstrisi endüstriyel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	Bileşim (%)
C14:0 (Miristik)	10,4
C14:1 (Miristoleik)	4,0
C15:0 (Pentadekanoik)	12,3
C17:0 (Margarik)	16,4
C18:2 (Linoleik)	28,3
C18:3 (Linolenik)	23,4
C20:0 (Arakhidik)	5,2
Doymuş	44,3
Doymamış	55,7

Evsel atık su ortamında *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi incelendiğinde C18:2 (Linoleik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.43). Buna göre setan sayısı 40,3 olarak, yağın ortalama molekül ağırlığı ise 800,07 g/mol olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu yağın doymamış yağ asidi (C18:2) setan sayısı dizelin setan sayısından oldukça düşüktür. Biyodizel hammaddesi olarak kullanılacak yağın doymuş yağ asitlerinin yüksek olması beklenir. Endüstriyel atıksu ortamında elde edilen yağın ise, C16:0 (Palmitik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.44). Setan sayısı 69,3 olarak, yağın ortalama molekül ağırlığı ise 780,08 g/mol olarak belirlenmiştir. Evsel atık sular da yetiştirilen mikroalglerden elde edilen yağın aksine setan sayısı yüksek olduğundan biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullnılması uygundur.

Chlorella ESP-6 için, evsel atık suda mikroalgin yağ asidi bileşimi incelendiğinde C18:1 (Oleik) asitce zengin olup (Tablo 4.45), setan sayısının 56,2 olduğu yağın ortalama molekül ağırlığı ise 944,88 g/mol olduğu belirlenmiştir. Endüstriyel atık su ortamında ise mikroalgden elde edilen yağın doymamış yağ asitlerince C18:2 (Linoleik), C18:3 (Linolenik) zengin olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.46). Setan sayısı 40,3, yağın ortalama molekül ağırlığı ise 836,86 g/mol olarak belirlenmiştir. Evsel atık sularda yetiştirilen mikroalglerden elde edilen yağın aksine setan sayısı düşük olduğundan biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanılması uygun olmadığı belirlenmiştir. Biyodizel üretiminde kullanılacak hammaddenin setan

sayısının yüksek olması ve doymuş yağ asitlerince zengin olması istenir. Atık su ortamı çeşitli organik kirleticileri barındırmaktadır. Mikroalgler bu kürleticilerden beslenerek büyürler. Ortamda besin çeşitliliğine göre mikroorganizma stres altında olmadan da ürettiği yağ asitleri çeşitlilik gösterebilir (Zhang ve diğ., 2017).

Evsel ve endüstriyel atık sularda seyrelme olmadığı durumlarda arıtma giderim değerleri *Chlorella variabilis* için Tablo 4.47 ve 4.48'de, *Chlorella ESP-6* için Tablo 4.49 ve 4.50'de verilmiştir.

Tablo 4.47. Beyaz eşya endüstrisi evsel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda mikroalgler ile arıtım sonrası analiz değerleri *(Chlorella variabilis)*

Parametre	Arıtım öncesi (mg/L)	Arıtım sonrası (mg/L)	Arıtım giderimi %
KOİ	1736	252	85
TKN	65,7	2,24	97
Toplam P	11,4	0,8	93

Tablo 4.48. Beyaz eşya endüstrisi endüstriyel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda mikroalgler ile arıtım sonrası analiz değerleri *(Chlorella variabilis)*

Parametre	Arıtım öncesi (mg/L)	Arıtım sonrası (mg/L)	Arıtım giderimi %
Bakır	0,05	0,010	80
Krom	0,01	0,005	50
Kadmiyum	0,10	0,003	97
Sülfür	2,00	0,010	99
Toplam P	20,00	1,600	92

Tablo 4.49. Beyaz eşya endüstrisi evsel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda mikroalgler ile arıtım sonrası analiz değerleri (*Chlorella ESP-6*)

Parametre	Arıtım öncesi (mg/L)	Arıtım sonrası (mg/L)	Arıtım giderimi %
KOİ	1736	120	93
TKN	65,7	2,32	96
Toplam P	11,4	0,7	94

Tablo 4.50. Beyaz eşya endüstrisi endüstriyel atıksuyu seyrelme olmadığı durumda mikroalgler ile arıtım sonrası analiz değerleri *(Chlorella ESP-6)*

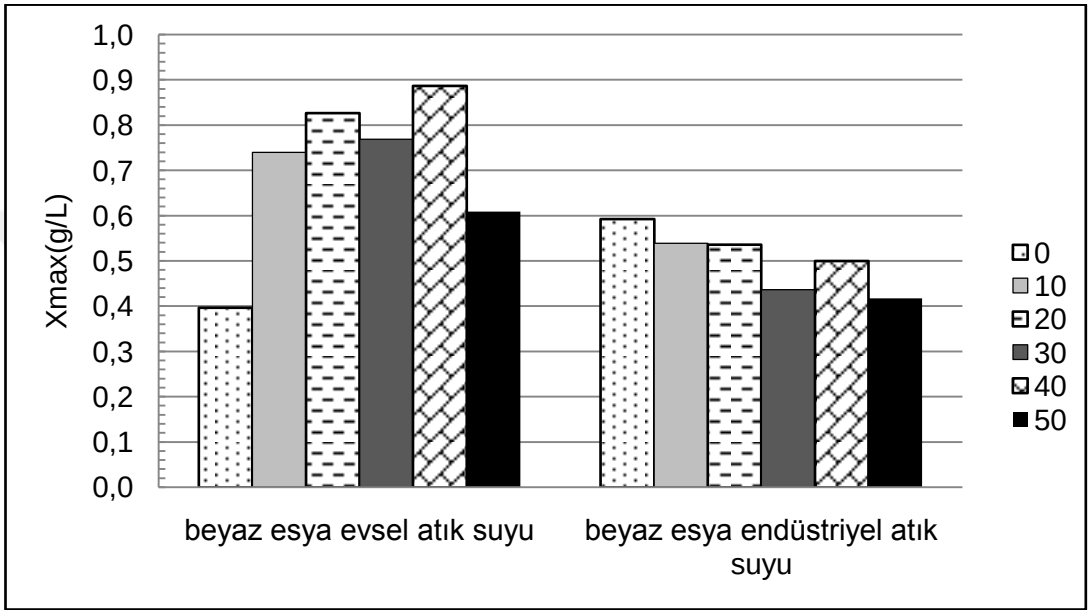
Parametre	Arıtım öncesi (mg/L)	Arıtım sonrası (mg/L)	Arıtım giderimi %
Bakır	0,05	0,010	80
Krom	0,01	0,003	70
Kadmiyum	0,10	0,003	97
Sülfür	2,00	0,010	99
Toplam P	20,00	2,400	88

Evsel atık sular için, mikroalglerin atıksu ortamında bulunan fosfor ve azotu besin olarak kullandıkları ve buna bağlı olarak atık suyu önemli ölçüde arıttığı Tablo 4.47 ve 4.48 ’de görülmektedir. Azot ve fosfor giderimi, *Chlorella variabilis* varlığında arıtım sonunda sırasıyla, 85% %98 oranında olmuş, *Chlorella ESP-6* kullanımında ise bu değerler sırasıyla 93% ve %99 değerine ulaşmıştır. *Chlorella ESP-6* türü *Chlorella variabilis* türüne göre az da olsa daha verimli bir arıtım gerçekleştirdiği söylenebilir. Bununla birlikte arıtım sonrasında *Chlorella ESP-6* türü kullanımında daha az mikroorganizma kütlesi elde edilmiştir.

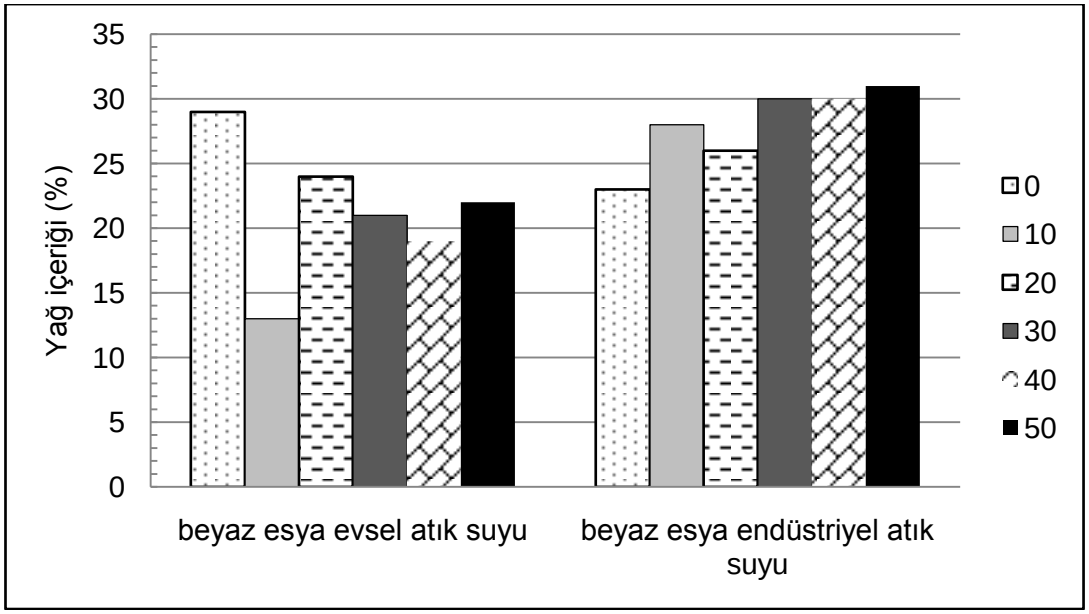
Endüstriyel atık sular için, mikroalglerin atıksu ortamında bulunan fosfor ve sülfür besin olarak kullanırken yanında atık suda bulunan kirletici ağır metalleri de (bakır, krom^{+6}, kadmiyum) bünyesine absorbladığı buna bağlı olarak atık suyu önemli ölçüde arıttığı Tablo 4.49 ve 4.50’den görülmektedir. *Chlorella ESP-6* varlığında, arıtım sonunda başlangıç değere göre 80%, %50, %97, %99 oranında sırasıyla bakır, krom^{+6}, kadmiyum, sülfür ve ayrıca %92 oranında toplam fosfor giderimi elde edilmiştir. *Chlorella ESP-6* varlığında ise 80%, %70, %70, %50 ağır metal ve %88

oranında toplam fosfor giderimi elde edilmiştir. Literatürde iki türün atık su arıtımında kullanılması, yağ üretimini ve yağ asidi bileşimine etkisini inceleyen karşılaştırmalı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

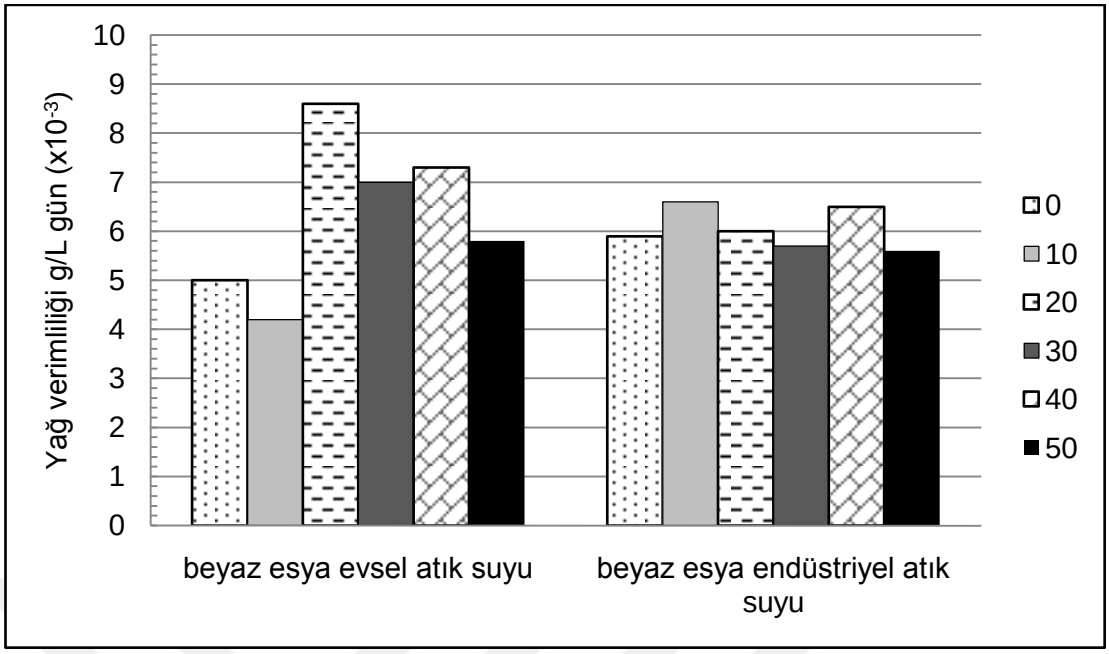
Beyaz eşya endüstrisi atık sularından elde edilen hücre derişimleri, yağ içerikleri ve yağ verimlilikleri *Chlorella variabilis* için sırasıyla Şekil 4.90, 4.91 ve 4.92'de, *Chlorella ESP-6* için ise sırasıyla, 4.93, 4.94 ve 4.95'de verilmiştir.



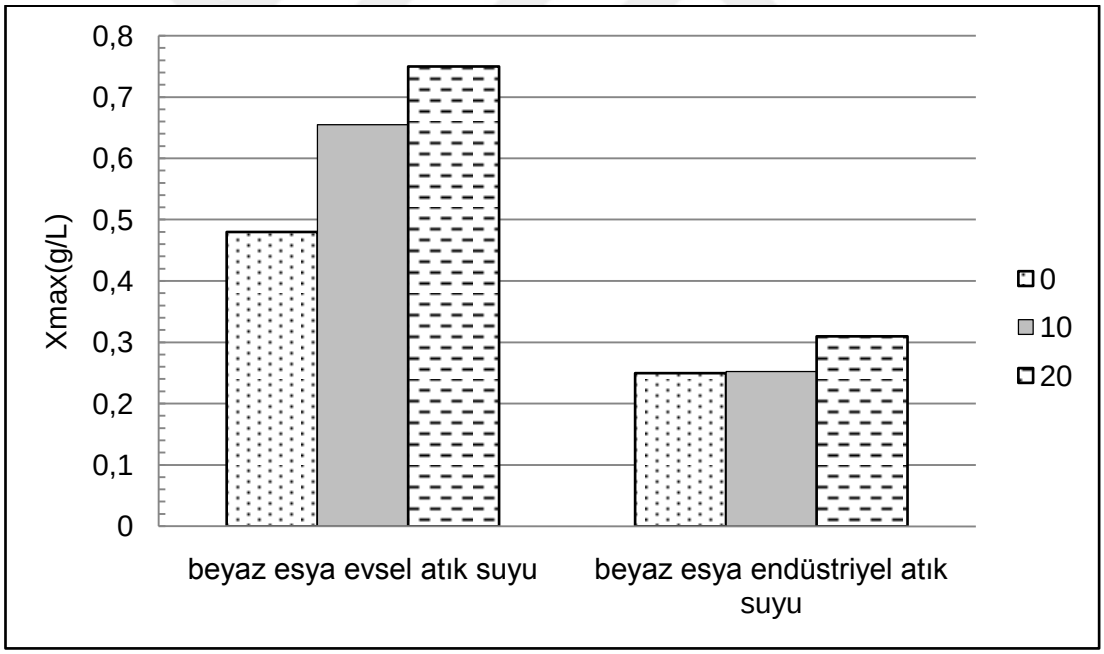
Şekil 4.90. Beyaz eşya endüstrisi atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis* hücre derişimleri



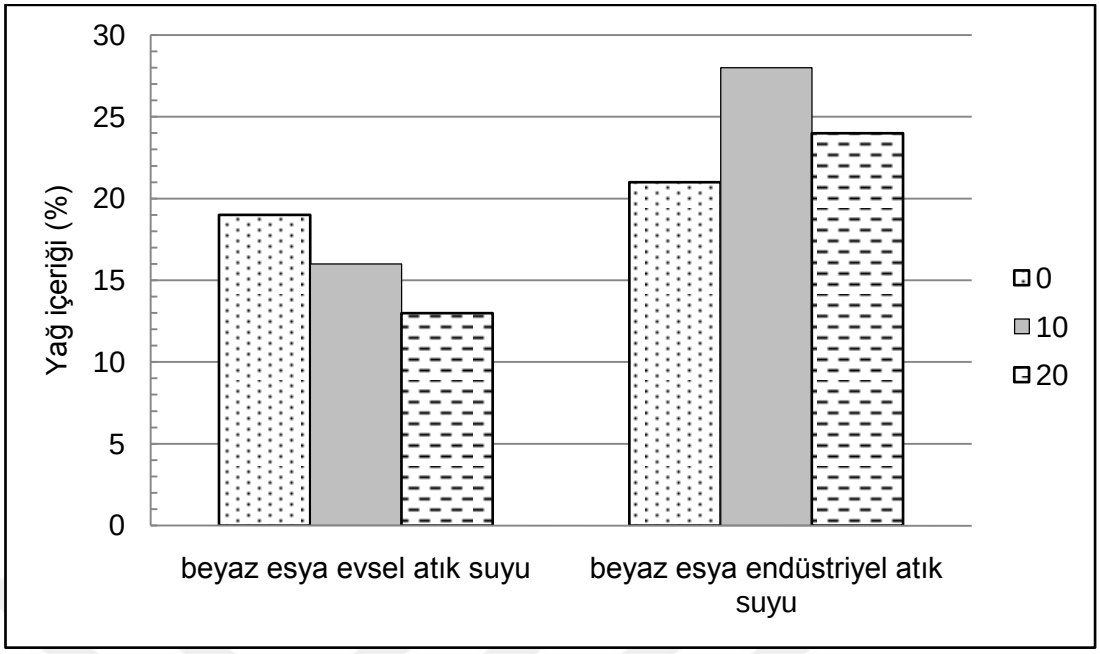
Şekil 4.91. Beyaz eşya endüstrisi atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis* yağ içerikleri



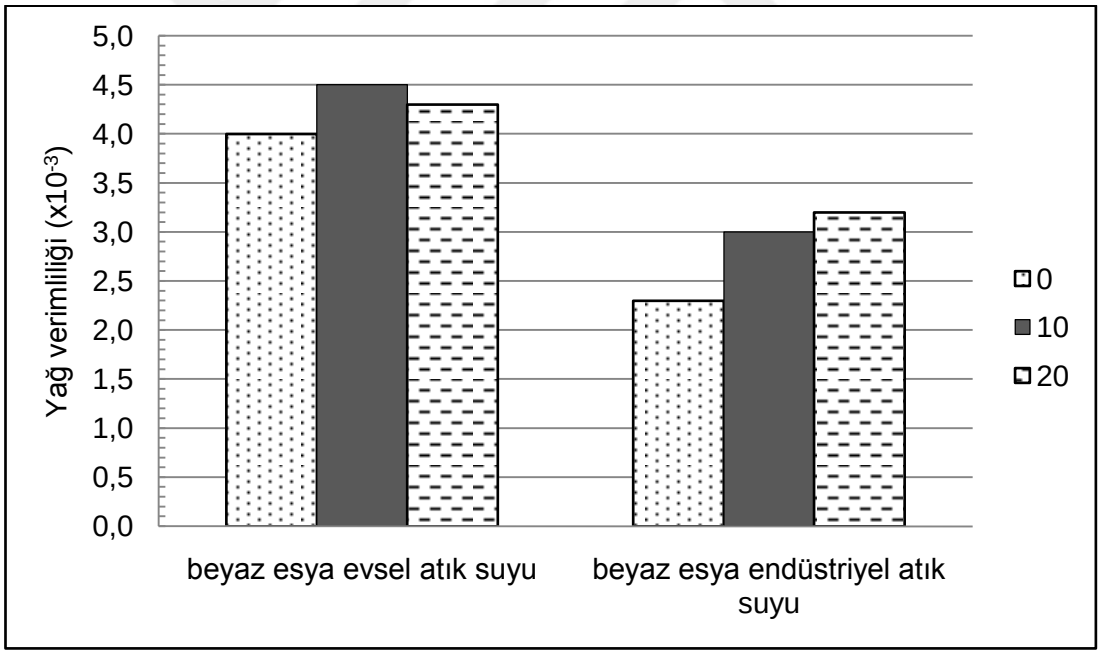
Şekil 4.92. Beyaz eşya endüstrisi atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis* yağ verimlilikleri



Şekil 4.93. Beyaz eşya endüstrisi atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella ESP-6* hücre derişimleri



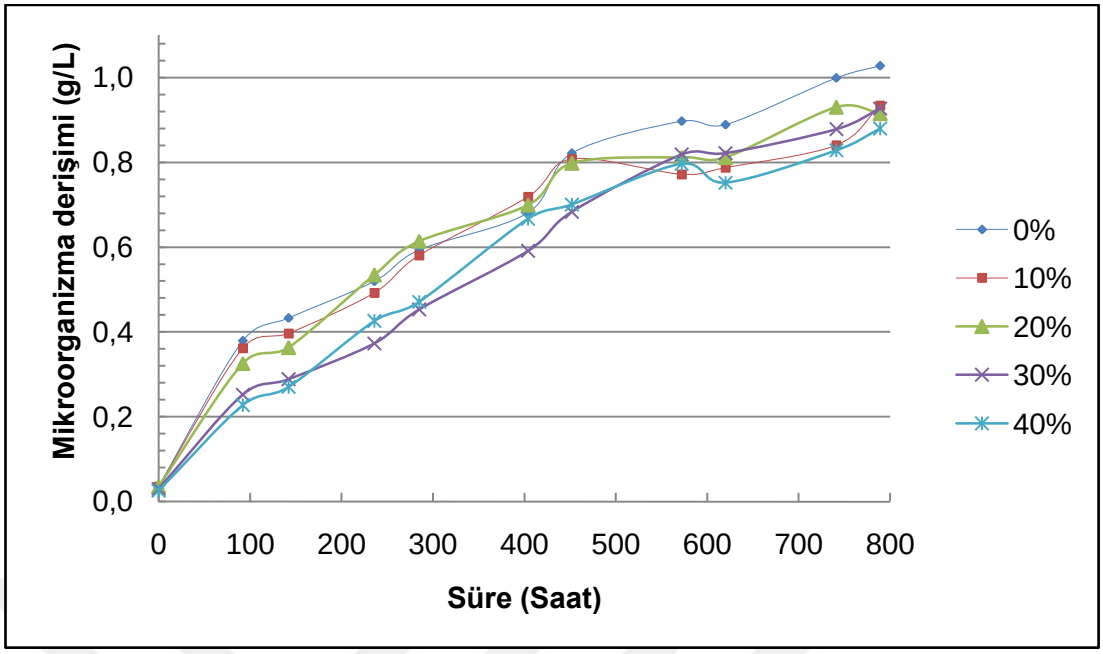
Şekil 4.94. Beyaz eşya endüstrisi atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella ESP-6* yağ içerikleri



Şekil 4.95. Beyaz eşya endüstrisi atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella ESP-6* yağ verimlilikleri

4.7.2. Gazlı içecek endüstrisi atıksularının arıtımı

Chlorella variabilis türü mikroalgin gazlı içecek endüstrisi atık sularını arıtım potansiyelini incelemek amacı ile aşılama öncesinde atık sular farklı oranlarda seyreltilmiş, bu ortamlardamikroalgin büyüme davranışları Şekil 4.96'da verilmiştir.



Şekil 4.96. *Chlorella variabilis'e* ait gazlı içecek fabrikası atık su farklı seyrelme oranlarında büyüme eğrileri

Herbir seyrelme oranında mikroorganizmalar benzerhızlarda 741. saate kadar büyüme göstermişlerdir. Bu saaten itibaren mikroorganizma duraklama evresine geçmiştir. Duraklama evresinin başında sistem sonlandırılmıştır. Tablo 4.51'de gazlı içecek endüstirisi atık suyu arıtım sonucu elde edilen hücre derişimleri, yağ içerikleri ve yağ verimlilikleri görülmektedir.

Tablo 4.51. Gazlı içecek endüstrisi atıksulardaki seyrelmenin *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Seyrelme (%)	X_{max} (g/L)	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin ikilenme süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	1,03	0,0026	266	3,7	1,0
10	0,93	0,0034	203	11	3,0
20	0,92	0,0029	239	14,0	4,0
30	0,93	0,0040	173	14,23	4,0
40	0,88	0,0030	181	14,60	3,0

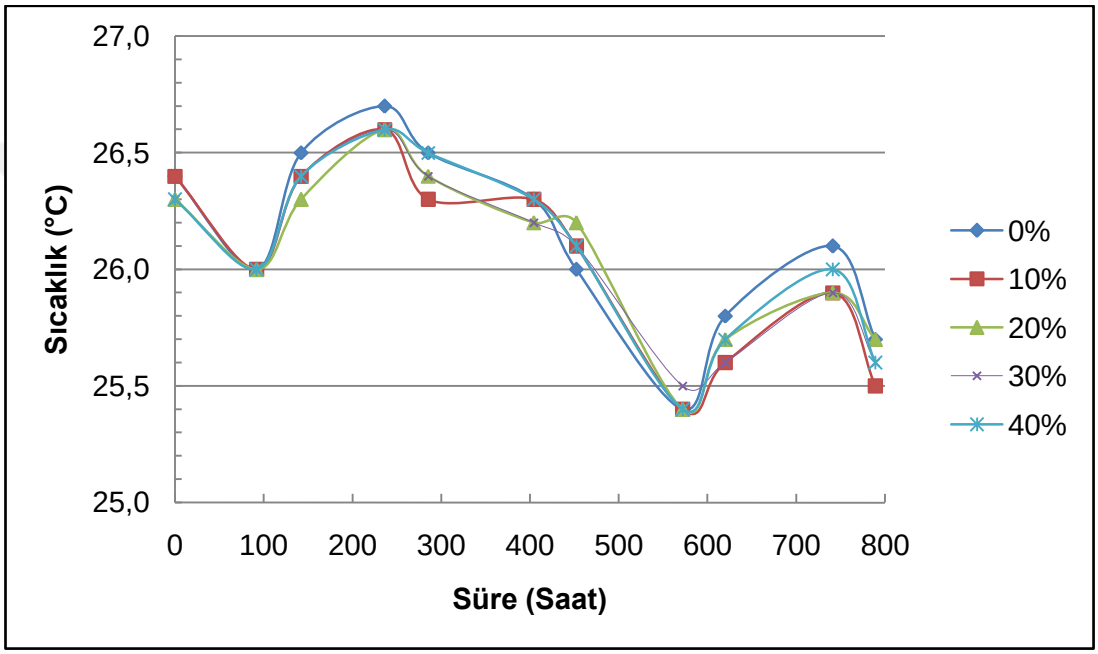
Atık sudaki seyreltmenin hücre derişimi ve çoğalma hızına belirgin bir etkisine rastlanmamış, mikroalgler atıksuda seyreltme olmadan dahi ortama uyum sağlayarak büyümüş, büyüme hızı 0,003 h^{-1} mertebesinde olmuştur.Benzer davranış beyaz eşya endüstrisi atıksuyunda da gözlenmiştir. Deneysel çalışmalar sonucunda en yüksek mikroorganizma derişimine (1,03 g/L) seyrelme olmadığı durumda ulaşılmıştır. Seyreltme ile yağ içeriği ve yağ verimliliği biraz artmış, verimlilik $3x10^{-3}$-4 x 10^{-3} g/L.gün aralığında olmuştur..Bu sonuçlara göre atık su %20 seyreltilerek kullanılabilir. *Chlorella variabilis* türü mikroalg gazlı içecek endüstrisi atık su ortamına uyum sağlamıştır. Elde edilen yağın yağ asidi bileşimi Tablo 4.52'de verilmiştir. Yağ asidi bileşim kromotogramı EK-G'de gösterilmiştir.

Tablo 4.52. Gazlı içecek endüstrisi atıksuda %20 seyrelme olduğu durumda *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağ asidi bileşimi

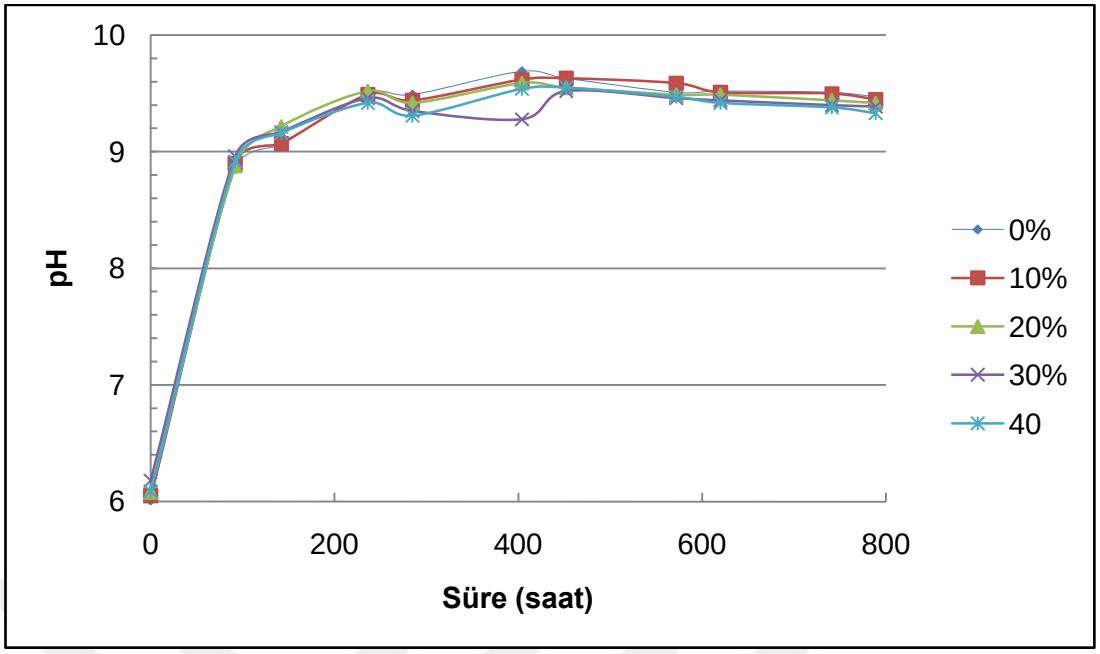
Yağ asidi	Bileşim (%)
C16:0 (Palmitik)	16,4
C17:0 (Margarik)	2,0
C17:0 (Heptadekanoik)	5,0
C18:0 (Stearik)	2,8
C18:1 (Oleik)	37,3
C18:2 (Linoleik)	1,1
C18:3 (Linolenik)	34,6
C20:1 (Eikosionik)	0,8
Doymuş	26,2
Doymamış	73,8

%20 seyreltilen ortamda yetiştirilen me olduğu *Chlorella variabilis* yağ asidi bileşimi incelendiğinde C18:1 (Oleik) asitce zengin olduğu belirlenmiştir. Buna göre setan sayısı 56,2 olarak, yağın ortalama molekül ağırlığı ise 874,7 g/mol olarak belirlenmiştir. Setan sayısının perol kökenli dizele göre yakın olmasından dolayı biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullnılması uygun olduğu öngörülmektedir.

Her bir seyrelme ortamı için sıcaklık başlangıç değerleri 26,4°C'dir. Kültür süresince ortam sıcaklığına bağlı olarak sıcaklık zaman zaman azalmış ve yükselmiştir (Şekil 4.97). Kültür süresince yaşanan elektrik kesintileri (ışıkların sönmesi ve tekrar yanması) sıcaklık dalgalanmalarına neden olmuştur. Bu sıcaklık dalgalanmalarında mikroorganizmaların büyümesinin etkilenmediği büyüme eğrilerinden anlaşılmaktadır (Şekil 4.96). Kültürlerde başlangıçta 6 olan ortam pH değerleri 92. saate kadar artış göstemiş, daha sonra en yüksek pH değeri 9,4'e kadar yükselip sonrasında 9 ile 9,5 arasında değişim göstermiştir (Şekil 4.98).



Şekil 4.97. *Chlorella variabilis*'e ait gazlı içecek fabrikası atık su seyrelme oranlarında kültür süresince sıcaklık değişimleri



Şekil 4.98. *Chlorella variabilis*'e ait gazlı içecek fabrikası atık su seyrelme oranlarında kültür süresince pH değişimleri

Arıtma sonrasında atık suda farklı seyrelme oranlarında KOİ, Toplam P değerleri sırasıyla Tablo 4.53 ve 4.54'te verilmiştir.

Tablo 4.53. *Chlorella variabilis* ile gazlı içecek endüstrisi atıksuyu arıtım sonrası KOİ giderimi

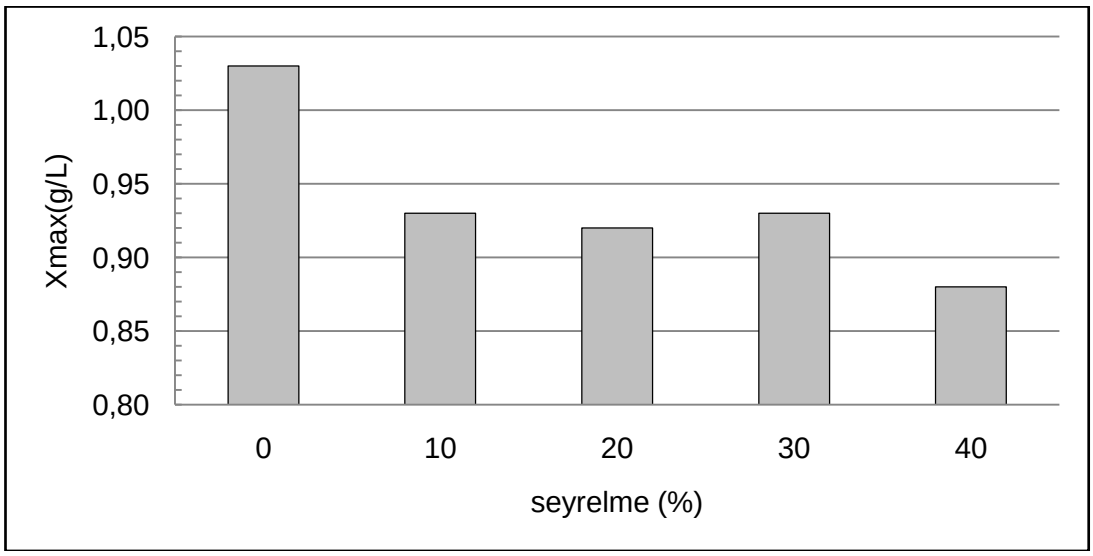
Seyrelme (%)	Arıtım öncesi (mg/L)	Arıtım sonrası (mg/L)	Arıtım giderimi %
0	4520	1620	65
10	4068	1500	63
20	3616	1600	56
30	3164	1530	52
40	2712	1470	46

Tablo 4.54. *Chlorella variabilis* ile gazlı içecek endüstrisi atık suyu arıtım sonrası Toplam P giderimi

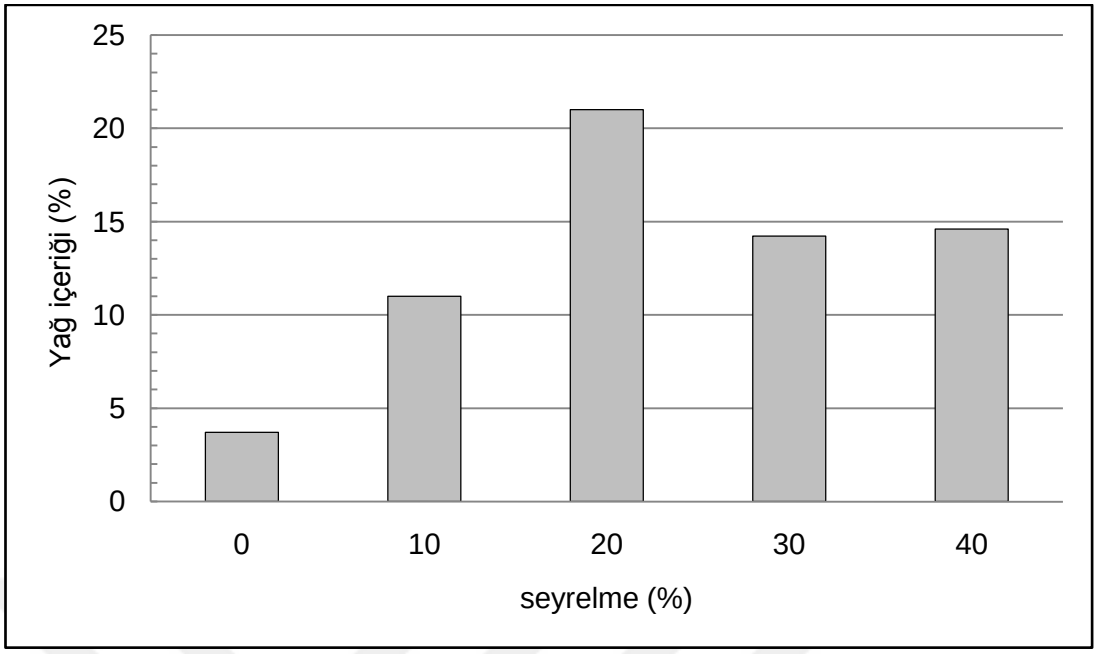
Seyrelme (%)	Arıtım öncesi (mg/L)	Arıtım sonrası (mg/L)	Arıtım giderimi %
0	14,5	3,38	77
10	13,05	3,00	77
20	11,6	3,18	73
30	10,15	2,62	74
40	8,7	2,32	73

Chlorella variabilis atıksu ortamında bulunan fosfor ve azotu besin olarak kullandıkları ve arıtmanın gerçekleştiği Tablo 4.52'den açıkça görülmektedir. Arıtım sonucunda başlangıç değere göre her bir seyrelme oranında ortalama %70 fosfor, %60 toplam azot giderimi gerçekleşmiştir. Ayrıca %65 oranında KOİ giderimi sağlanmıştır. Gazlı içecek endüstrisi atık sularının mikroalgler varlığında ön arıtma işlemi olarak arıtılması uygun çevreci süreç olarak öngörülmektedir.

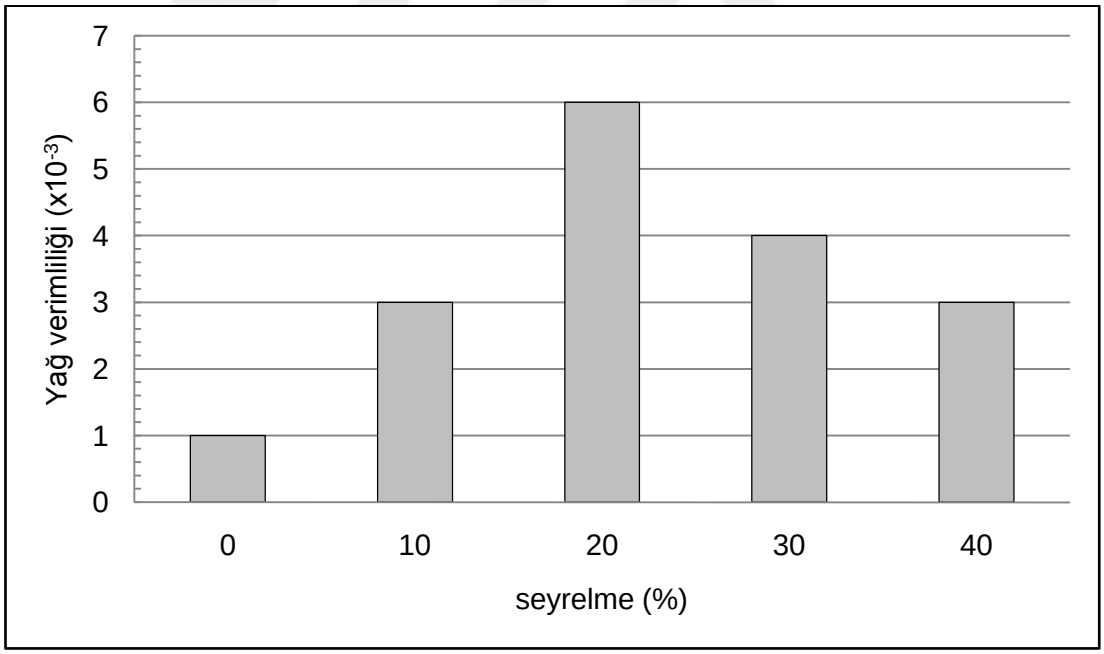
Literatürde *Chlorella variabilis* türü mikroalgin atık su arıtımında kullanılması, yağ üretimini ve yağ asidi bileşimine etkisini inceleyen karşılaştırmalı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Arıtma sonucunda *Chlorella variabilis'*den elde edilen en yüksek hücre derişimleri, yağ içerikleri ve yağ verimlilikleri sırasıyla Şekil 4.99, 4.100 ve 4.101'de verilmiştir.



Şekil 4.99. Gazlı içecek endüstrisi endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis*'den elde edilen en yüksek hücre derişimleri



Şekil 4.100. Gazlı içecek endüstrisi endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis*'den elde edilen en yüksek yağ içerikleri



Şekil 4.101. Gazlı içecek endüstrisi endüstriyel atık su ortamında yetiştirilen *Chlorella variabilis*'den elde edilen en yüksek yağ verimlilikleri

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada farklı türlerde *(Chlorella variabilis, Chlorella protothecoides, Chlorella ESP-6)* mikroalglerin yağ üretkenliğini arttırmaya yönelik üretim koşulları incelenmiştir. Besin ortamı, uygulanan azot kısıtlaması, farklı ışık şiddetleri ve aydınlık-karanlık döngüsü, vb. çevresel ve kimyasal etkiler araştırılarak uygun koşullar belirlenmiştir. Aynı zamanda mikroalglerden elde edilen yağların biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Çalışmaya ek olarak mikroalglerin (*Chlorella variabilis, Chlorella ESP-6)* farklı tür atık su arıtma kabiliyetleri de incelenmiştir. Arıtma sonucu elde edilen mikroalg yağlarının biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanılabilirliği de araştırılmış ve aşağıda verilen değerlendirmeler yapılmıştır;

Reaktör, maksimum kalınlığı 8 cm'yi geçmeyecek şekilde tasarlanmalıdır.

Azot stresinin mikroalglerin büyüme ve yağ üretimi üzerine etkisi incelendiğinde *Chlorella variabilis* ve *Chlorella ESP-6* için %75 kısıtlı azot ortamında en yüksek yağ içeriği elde edilmiştir*. Chlorella protothecoides* mikroalgi için azot sınırlamasının mikroalg yağ içeriğine belirgin bir etkisine rastlanmamıştır. Yüksek mikroorganizma ve yağ verimi istendiğinde *Chlorella variabilis ve Chlorella ESP-6* türü mikroalglerinin en az %75 azot sınırlı koşullarda yetiştirilmesi önerilmektedir.

Farklı ışık kaynaklarının mikroalglerin büyümesine ve yağ içeriğine etkisi incelendiğinde her bir mikroorganizma için en yüksek mikroorganizma derişimine ve yağ verimliliğine ışık şiddeti 3 Klüks olan led ışık kaynağında ulaşılmıştır. Diğer ışık kaynakları fotosentez ve büyüme için yetersiz kalmıştır. Işık şiddetinin en az 3 Klüks en fazla 4 Klüks olacak şekilde sağlanması önerilmektedir.

Aydınlık-karanlık döngüsünün (12 saat aydınlık- 12 saat karanlık, 10 saat aydınlık-14 saat karanlık ve 14 saat aydınlık-10 saat karanlık) etkisi incelendiğinde, *Chlorella variabilis* ve *Chlorella protothecoides* için en yüksek mikroorganizma derişimi ve yağ verimliliği 24 saat aydınlatılan kültürlerde elde edilmiştir. *Chlorella ESP-6* için en yüksek mikroorganizma derişimi 14 saat aydınlık 10 saat karanlık uygulanan

kültürlerde elde edilmiştir. *Chlorella variabilis* ve *Chlorella protothecoides* türünün sürekli aydınlatılması yüksek mikroorganizma miktarı ve yağ verimi için önerilmektedir.

Farklı ışık şiddetlerinin (0.8-2-4 Klüks) mikroalglerin büyümesine ve yağ içeriğine etkileri incelendiğinde, tüm kültürler için en yüksek mikroorganizma derişimine ve yağ verimliliğine 4 Klüks ışık şiddetinde aydınlatılan kültürlerde ulaşılmıştır. Bu koşullar altında sadece *Chlorella ESP-6 t*üründen elde edilen alg yağının doymamış yağ asitlerince zengin olduğu, ayrıca setan sayısının düşük olmasından dolayı biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanımının uygun olmadığı öngörülmüştür.

Heteretrof ve miksotrof koşulların mikroalglerin büyümesi ve yağ içeriğine etkileri incelendiğinde miksotrof koşullarda en yüksek mikroorganizma derişimi ve yağ verimliliği elde edilmiştir. *Chlorella variabilis* ve *Chlorella protothecoides* için heteretrof ve miksotrof koşullarda ortamda 5 g/L saf gliserol varlığında en yüksek mikroorganizma derişimi ve yağ verimi elde edilmiştir. Ayrıca elde edilen yağların yağ asidi dağılımları incelendiğinde biyodizel hammadde kaynağı olarak kullanılması uygun görülmektedir. *Chlorella ESP-6* türü için ortamda gliserol miktarı arttıkça substrat inhibisyonu etkileri açıkça görülmüştür, en yüksek mikroorganizma derişimi ve yağ verimi ortamda 2 g/L saf gliserol varlığında elde edilmiştir. Elde edilen yağın biyodizel hammadde kaynağı olarak kullanılması uygun bulunmuştur. Ortamda bulunan karbon kaynağı arttıkça her bir mikroalg türünün yüksek karbonlu doymuş yağ asitlerini sentezledikleri belirlenmiştir.

Çeşitli endüstriyel atıksuların mikroalgler varlığında arıtılabilirliği incelendiğinde *Chlorella variabilis* ve *Chlorella ESP-6* türü mikrolaglerin beyaz eşya ve gazlı içecek endüstrisi atıksularının artımında etkin rol oynadığı aynı zamanda arıtım sonrasında elde edilen mikroalg yağlarının biyodizel üretiminde hammadde kaynağı olarak kullanılabilirliğinin uygun olduğu anlaşılmıştır.

Ayrıca tez çalışması döneminde mikroalglerin artan ortam sıcaklığında büyümelerinin yavaşladığı gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan mikroalglerin Kasım ve Nisan ayları arasında daha yüksek verimle büyüdükleri, yaz aylarında ise sıcaklığın artması ile büyümelerinin yavaşladığı gözlenmiştir.

Mikroalglerden elde edilecek yağların miktarlarının ve yağ asidi dağılımlarının ortamın fiziksel ve kimyasal şartlarına göre değişiklik gösterdiği belirlenmiştir.

Doğada hali hazırda bulunan mikroalglerin değerlendirilmesi ve katma değeri yüksek çevre dostu ürünlerin üretilmesi gelecek çalışmalar için ümit verici olmuştur.

KAYNAKLAR

Adams D.G., Heterocyst Formation In Cyanobacteria, *Current Opinion in Microbiology*, 2000, **3**, 618–624.

Altın N., *Chlorella Variabilis* Türü Mikroalgin Büyümesine ve Yağ İçeriğine Etki Eden Parametrelerin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2017, 511154.

Andrade M. R., Costa J. A. V., Mixotrophic Cultivation Of Microalga *Spirulina Platensis* Using Molasses As Organic Substrate*, Aquaculture*, 2007, **264**, 130–134.

Athanasoulia E., Melidis P., Aivasidis A., Optimization of Biogas Production from Waste Activated Sludge Through Serial Digestion, *Renewable Energy*, 2012, **47**, 147–151.

Axelsson M., Gentili F., A Single-Step Method for Rapid Extraction of Total Lipids from Green Microalgae, *Plos One*, 2014, **9**, 1-6.

Aydın G., Alg Yağından Lipaz Katalizli Biyodizel Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2014, 354566.

Azcan Y., Yılmaz O., Microwave Irradiation Application in Biodiesel Production from Promising Biodiesel Feedstock: Microalgae (*Chlorella protothecoides*), *Proceedings of the World Congress on Engineering and Computer Science* Congress, San Francisco, USA, October 24-26, 2012.

Barclay W. R., Meager K. M., Abril J. R., Heterotrophic Production of Long Chain Omega-3 Fatty Acids Utilizing Algae and Algae-Like Microorganisms, *Journal of Applied Phycology*, 1994, **6**, 123-129.

Beevi U. S., Sukumaran R. K., Cultivation of The Fresh Water Microalga *Chlorococcum Sp. RAP13* in Sea Water For Producing Oil Suitable for Biodiesel, *Journal of Applied Phycology*, 2015, **27**, 141-147.

Blair M. F., Kokabian B., Gude V. G., Light And Growth Medium Effect nn *Chlorella Vulgaris* Biomass Production, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2014, **2**, 665–674.

Bligh E. G., Dyer W. J., A Rapid Method of Total Lipit Extraction and Purification, *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 1959, **37**(8), 911-917.

Bohme H.,Regulation Of Nitrogen Fixation in Heterocyst-Forming Cyanobacteria, *Trends Plant Science*, 1998, **3**, 346–351.

Brown T., Simpson J., Managing Phosphorus Inputs To Urban Lakes: I. Determining the Trophic State of Your Lake, *Watershed Protection Techniques*, 2001, **3**, 771–781.

Bulut Y.,*Chlorella'*da *(Chlorophyceae)*Yağ Miktarının Arttırma Olanaklarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi,Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2009, 244237.

Chen F., Zhang Y., Guo S., Growth And Phycocyanin Formation of *Spirulina Platensis* inPhotoheterotrophic Culture, *Biotechnology Letters*, 1996, **18**(5), 603–608.

Chen H. Y., Walker T H., Biomass and Lipid Production of Heterotrophic Microalgae *Chlorella Protothecoides* by Using Biodiesel-Derived Crude Glycerol, *Biotechnology Letters*, 2011, **33**, 1973-1977.

Chisti Y., Biodiesel from Microalgae, *Biotechnology Advances* 2007, **25**(3), 294-306.

Choi H. J., Yu S. W., Influence of Crude Glycerol on The Biomass And Lipid Content of Microalgae, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2015, **29**, 506-513.

Chojnacka K., Noworyta A., Evaluation of Spirulina Sp. Growth Inphotoautotrophic,Heterotrophic and Mixotrophic Cultures, *Enzyme Microbial Technology*, 2004,**34**(5), 461–465.

Chu F. F., Chu P. N., Cai P. J., Li W. W., Lam P. K., Zeng R. J., Phosphorus Plays an Important Role in Enhancing Biodiesel Productivity of *Chlorella Vulgaris* under Nitrogen Deficiency, *Bioresource technology*, 2013, **134**, 341-346.

Converti A., Alessandro A., Casazza E., Ortiz P. P., Borghi M. D., Effect of Temperature and Nitrogen Concentration on the Growth and Lipid Content of *Nannochloropsis Oculata* And *Chlorella Vulgaris* For Biodiesel Production, *Chemical Engineering and Processing*, 2009, **48**, 1146–1151.

Dalay C M., İmamoğlu E., Öncel S., Mikroalgal Biyokütle Üretimi için Düşük Maliyetli Fotobiyoreaktör Tasarımı, Tübitak 1001 araştırma projesi 104M354, 2008.

Damiani M. C., Popovich C. A., Constenla D., Leonardi P. I., Lipit Analysis in *Haematococcus Pluvialis* to Assess Its Potential Use as a Biodiesel Feedstock, *Bioresource technology*, 2010, **101**(11), 3801-3807.

Darzins A., Pienkos P., Edye L., Current Status and Potential for Algal Biofuels Production, *Bioenergy Task,* 2010,**39**,1-15.

Das P., Lei W., Aziz S. S., Obbard J. P., Enhanced Algae Growth in Both Phototrophic and Mixotrophic Culture Under Blue Light, *Bioresource Technology*, 2011, **102**, 3883–3887.

David F., Sandra P., Vickers A. K., Column selection for the analysis of fatty acids methyl esters, *Application Agilent Technolojies*, 2005, 1-5.

Demirbas A, Demirbas M. F., Importance Of Algae Oil as a Source of Biodiesel, *Energy Conversion and Management*, 2011,**52**,163–170.

Eduardo J.,L, Carlos H. G. S., Lucy M. C., Ferreira L., Telma T. F, Effect Of Light Cycles (Night/Day) On CO_2 Fixation and Biomass Production by Microalgae in Photobioreactors, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification,* 2009, **48,** 306–310.

Elcik H., Çakmakcı M., Mikroalg Üretimi Ve Mikroalglerden Biyoyakıt Eldesi, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University,* 2017, **32**, 795-820.

Farooq W., Lee Y. C., Ryu B. G., Kim B. H., Kim H. S, Choi Y. E., Yang J. W., Two-Stage Cultivation Of Two *Chlorella Sp*. Strains by Simultaneous Treatment of Brewery Wastewater and Maximizing Lipid Productivity, *Bioresource Technology*, 2013, **132,** 230–238.

Fay P., Oxygen Relations Of Nitrogen Fixation in Cyanobacteria, *Microbiology Reviews*, 1992, **56**, 340–373.

Ferreira S. P., Holz J. C. P., Lisboa C. R., Costa J. A. V., Fatty Acid Profile of *Chlorella* Biomass Obtained by Fed Batch Heterotrophic Cultivation, I*nternational Food Research Journal,* 2017*,***24**(1), 284-291.

Gezici M., Biyodizel Üretimine Uygun Mikroalglerin Gelişimine Bazı Yetiştirme Parametrelerinin Etkisinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2012, 312009.

Girard J., Roy M., Ben M., Gagnon J., Faucheux N., Heitz M., Tremblay R, Deschenes J., Mixotrophic Cultivation of Green Microalgae *Scenedesmus Obliquus* on Cheese Whey Permeate for Biodiesel Production, *Algal Research*, 2014, **5**, 241–248.

Graverholt O., Eriksen N., Heterotrophic High-Cell-Density Fed-Batch and Continuous-Flow Cultures of *Galdieria Sulphuraria* and Production of Phycocyanin, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, **77** (1), 69–75.

Halim R., Danquah M. K., Webley P. A., Extraction of Oil from Microalgae for Biodiesel Production: A review*, Biotechnology Advances*, 2012, **30**(3), 709-732.

Hanafy A., Hamza R. A., Sara H. S., Abd-Elwahid Mervet. H. H., The Characteristics of Biomass Production and Lipid Accumulatıon of *Chlorella Kessleri* Growth Under Mixotrophic and Heterotrophic Conditions, *The Egyptian Journal of Experimental Biology*, 2013, **9**(1), 19-26.

Hongyang S., Yalei Z., Chunmin Z., Xuefei Z., Jinpeng L., Cultivation Of *Chlorella Pyrenoidosa* in Soybean Processing Wastewater, *Bioresource Technology*, 2011, **21**, 9884–9890.

Huang G., Chen F., Wei D., Zhang X. W., Chen G, Biodiesel Production by Microalgal Biotechnology, *Applied Energy*, 2010,**87**,38–46.

Hultberg M., Jönsson H. L., Bergstrand K. J., Carlsson A. S., Impact of Light Quality nn Biomass Production And Fatty Acid Content In The Microalga *Chlorella Vulgaris*, *Bioresource Technology*, 2014, **159**, 465–467.

Islam M.A., Magnusson M., Brown R. J., Ayako G. A., Nabi N., Heimann K., Microalgal Species Selection for Biodiesel Production Based on Fuel Properties Derived from Fatty Acid Profiles, *Energies*, 2013, **6**, 5676-5702.

Izabela K., Agata P., Artur N., Diana S., Jacek W., Alterations of The Lipid Content and Fatty Acid Profile of *Chlorella Protothecoides* Under Different Light Intensities, *Bioresource Technology*, 2015, **196**, 72–77.

Choi H-J, Yu S-W, Influence of Crude Glycerol on The Biomass And Lipid Content of Microalgae, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2015, **29**(3), 506-513.

Jia H., Yuan Q., Removal of Nitrogen from Wastewater Using Microalgae and Microalgae–Bacteria Consortia, *Cogent Environmental Science*, 2016, **2**, 127-135.

Katayama M., Benson A. A., Alpha-Linoleate and Photosynthetic Activity in *Chlorella Protothecoides*, *Plant Physiology*, 1967, **3**, 308-313.

Keeton W. T., Gould J. L., Gould C. G., *Genel Biyoloji (Biological Science),* 2, Beşinci baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 2004.

Khoeyi Z. A., Seyfabadi J., Ramezanpour Z., Effect of Light Intensity and Photoperiod on Biomass and Fatty Acid Composition of The Microalgae, *Chlorella Vulgaris*, *Aquaculture International*, 2012, **20**, 41-49.

Kim T. H., Lee Y., Han S. H., Hwang S.J., The Effects of Wavelength and Wavelength Mixing Ratios on Microalgae Growth And Nitrogen, Phosphorus Removal Using *Scenedesmus Sp*. For Wastewater Treatment, *Bioresource Technology*, 2013, **130**, 75-80.

Klopfenstein W. E., Estimation of Cetane Index for Esters of Fatty Acids, *Journal of American Oil Chemists Society*, 1982, **59**(12), 531–533.

Koç C., Koç A. B., Uysal Ö., Vatandaş M., Led Lambalarının Mikroalg Üretimi için Fotobiyoreaktörlerde Işık Kaynağı Olarak Kullanımı*, 26. Tarımsal Mekanizasyon Ulusal Kongresi,* 2010, Hatay,Türkiye, 22-23 Eylül 2010.

Kok B., Experiments on Photosynthesis by *Chlorella* in Flashing Light, Editors: Burlew, J. S., *Algal Culture From Laboratory To Pilot Plant*, Carnegie Institution of Washington, USA, 63-158, 1953.

Kommareddy A., Anderson G., Study Of Light As a Parameter in The Growth of Algae in a Photo-Bio Reactor (PBR), *An ASAE Meeting*, Las Vegas,USA, 24-25 September 2003.

Koru E., Cirik S., Spirulina Platensis (Cyanophyceae) Mikroalg'inin Büyümesine ve Bazı Biyokimyasal Özelliklerine Sıcaklığın Etkisi,E.Ü *Su Ürünleri Dergisi*, 2003, **20**(3-4), 419-422.

Kothari R., Prasad R., Kumar V., Singh D. P., Production of Biodiesel from Microalgae Chlamydomonas Polypyrenoideum Grown on Dairy Industry Wastewater, *Bioresource Technology*, 2013, **144,** 499–503.

Krisnangkura K., A Simple Method for Estimation of Cetane Index of Vegetable Oil Methyl Esters, *Journal of American Oil Chemists Society*,1980, **63**(4), 552–553.

Krzeminska I., Nawrocka A., Piasecka A., Jagielski P., Tys J., Cultivation of *Chlorella Protothecoides* in Photobioreactors: The Combined Impact of Photoperiod and CO_2 Concentration, *Engineering Life Science*, 2015, **15,** 533–541.

Kurhan Ş., Fulvik Ve Humik Asidin *Chlorella Vulgaris* ve *Spirulina Platensis* Gelişmesine Etkisinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2012, 318201.

Kutluk T., Bitkisel Atık Yağlardan Tutuklanmış Lipaz Katalizli Biyodizel Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2013, 342546.

Lai J. Q., Hu Z L., Wang P. W., Yang Z., Enzymatic Production of Microalgal Biodiesel in İonic Liquid [Bmım][PF 6], *Fuel,* 2012, **95**, 329-333.

Lam M.K., Lee K.T., Microalgae Biofuels: A Critical Review of İssues, Problems and the Way Forward, *Biotechnology Advances*, 2012,**30**, 673-690.

Li C., Yang H., Xia X., Li Y., Chen L., Zhang M., Zhang M., Wang W., High Efficient Treatment of Citric Acid Effluent by *Chlorella Vulgaris* and Potential Biomass Utilization, *Bioresource Technology*, 2013, **127**, 248–255.

Li X., Xu H., Wu Q., Large-Scale Biodiesel Production From Microalga *Chlorella protothecoides* Through Heterotrophic Cultivation in Bioreactors, Department of Biological Sciences and Biotechnology, Tsinghua University, Beijing, 2007.

Li Y., Yuan Z., Mu J., Chen D., Feng B., Proteomic Analysis of Lipid Accumulation in *Chlorella Protothecoides* Cells by Heterotrophic N Deprivation Coupling Cultivation, *Energy Fuels*, 2013, **27**, 4031−4040.

Liang Y., Sarkany N., Cui Y., Biomass And Lipid Productivities Of *Chorella Vulgaris* Under Autotrophic, Heteretrophic and Mixotrophic Growth Conditions, *Biotechnology Letters*, 2009, **31**, 1043-1049.

Ilman A. M., Scragg A. H., Shales S. W., Increase İn *Chlorella* Strains Calorific Values When Grown in Low Nitrogen Medium, *Enzyme and Microbial Technology*, 2000, **27**, 631-635.

Mata T. M., Martins A. A., Caetano N. S., Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2010, **14**, 217–232.

Miao X., Wu Q., Biodiesel Production From Heterotrophic Microalgal Oil, *Bioresource Technology*, 2006, **97**, 841–846.

Mitra D., Van Leeuwen H. J., Lamsal B., Heterotrophic/Mixotrophic Cultivation of Oleaginous *Chlorella Vulgaris* on Industrial Co-Products, *Algal Research*, 2012, **1**(1), 40–48.

Molina E. J., Fernandez F. G., Acien Y., Tubular Photobioreactor Design for Algal Cultures, *Journal of Biotechnology*, 2001, **92**, 113-131.

Neenan B., Feinberg D., Hill A., Mcintosh R., Terry K., *Fuels from Microalgae: Technology Status, Potential, And Research Requirements,* 2nd. Ed., Solar Energy Research Institute, 231-255, 1986.

Nigam S., Rai P. M., Sharma R., Effect of Nitrogen on Growth and Lipit Content of *Chlorella pyrenoidosa, American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 2011, **7**(3), 126-131.

Oh H. S., Han J. G., Kim Y., Ha J. H., Kim S. S., Jeong M. H., Jeong H. S., Kım N. Y., Cho J. S., Yoon W. B., Lee S. Y., Kang D. H., Lee H. Y., Lipid Production in Porphyridium Cruentum Grown Under Different Culture Conditions, *Journal Of Bioscience And Bioengineering*, 2009, **108,** 429-434.

Piorreck M., Baasch K. H.,Pohl P., Biomass Production, Total Protein, *Chlorophylls*, Lipids and Fatty Acids of Freshwater Green and Blue-Green Algae Under Different Nitrogen Regimes, *Phytochemistry,* 1984,**23**(2), 207-216.

Pittman J. K., Dean A. P., Osundeko O., The Potential Of Sustainable Algal Biofuel Production Using Wastewater Resources, *Bioresource Technology*, 2011, **102**, 17–25.

Pirinç P., Bazı Deniz Mikroalglerinin (*nannochloropsis oculata*, *tetraselmis chuii*, *chlorella sp*. ve *dunaliella salina*) Kültüründe Işık ve Tuzluluk Konsantrasyonunun Büyüme ve Biyokimyasal Yapısına Etkisinin Araştırılması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2014, 371449.

Qu C. B., Wu Z. Y., Shi X. M., Phosphate Assimilation by *Chlorella* and Adjustment of Phosphate Concentration in Basal Medium for Its Cultivation, *Biotechnology Letters*, 2008, **30**, 1735-1740.

Rattanaphra D., Srinophakun P., Biodiesel Production from Crude Sunflower Oil and Crude Jatropha Oil Using Immobilized Lipase, *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 2010, **43**, 104-108.

Ren H.Y., Liu B.F., Ma C., Zhao L., Ren N.Q., A New Lipid-Rich Microalga *Scenedesmus Sp*. Strain R-16 Isolated Using Nile Red Staining: Effects of Carbon And Nitrogen Sources and Initial ph on The Biomass and Lipid Production, *Biotechnology And Biofuels*, 2013, **6**, 143-147.

Renaud M. S., Thınh V. L., Lambrınıdıs G., Parry L. D., Effect of Temperature on Growth, Chemical Composition and Fatty Acid Composition of Tropical Australian Microalgae Grown in Batch Cultures, *Aquaculture*, 2002, **211,** 195-214.

Richardson B., Orcutit H. A., Schwertner C. L., Effects of Nitrogen Limitation on the Growth VE Composition of Unicellular Algae in Continuous Culture, *Applied Mıcrobiology*, 1969, **18**, 245-250.

Roostaei J., Zhang Y., Gopalakrishnan K., Alexander J. O., Mixotrophic Microalgae Biofilm: A Novel Algae Cultivation Strategy for Improved Productivity and Cost-Efficiency of Biofuel Feedstock Production, *Scientific Reports*, 2018, **8**, 1-10.

Miron A.S.,Garcia M.C.C., Gomez A.C.,Camacho F.G., Grima E.M., Chisti Y., Shear Stress Tolerance and Biochemical Characterization of *Phaeodactylum Tricornutum* in Quasi Steady State Continuous Culture in Outdoor Photobioreactors, *Biochemical Engineering Journal*, 2003, **16**, 287–297.

Schenk P. M., Thomas-Hall S. R., Stephens E., Marx U. C., Mussgnug J. H., Posten C., Kruse O., Hankamer B., Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production, *Bioenergineering Research,* 2008,**1**,20–43.

Selena D., Miranda M., Daniel F., Arsalon A. H., Serdar O., Faisal S., Debalina S., Mahmoud M. El-H., A Review of Biodiesel Production from Microalgae, *Clean Technology Environmental Policy*, 2017, **19,** 637–668.

Shafiee R. A., Fatemeh T., Omid T., Aliasghar K., Parvin S., Enzymatic Production of Biodiesel from Microalgal Oil using Ethyl Acetate as an Acyl Acceptor, *Journal of Oleo Science*, 2015, **64**, 69-74.

Shao P., Meng X., He J., Sun P., Analysis Of İmmobilized *Candida Rugosa* Lipase Catalyzed Preparation of Biodiesel From Rapeseed Soapstock, *Food and Bioproducts Processing*, 2008, **86**, 283-289.

Siaut M., Heijde M., Mangogna M., Monstat A., Coesel S., Allen A., Manfredonja A., Falciatore A., Bowler C., Molecular Toolbox for Studying Diatom Biology in *Phaeodactylum Tricornutum*,*Gene*, 2007,**149**, 23-35.

Singh J., Gu S., Commercialization Potential of Microalgae for Biofuels Production, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2010,**14**, 2596–2610.

Sönmez C., Elcin E., Akın D., Oktem H. A., Yucel M., Evaluation of Novel Thermo-resistant *Micractinium* and *Scenedesmus sp.* for Efficient Biomass and Lipit Production under Different Temperature and Nutrient Regimes, *Bioresource technology*, 2016, **211**, 422-428.

Surendhiran D., Vijay M., Interesterification of Marine Microalga *Chlorella salina* Oil with Immobilized Lipase as Biocatalyst Using Methyl Acetate as an Acyl Acceptor, *International Journal of Environment and Bioenergy*, 2013, **8**, 68-85.

Şahin Y., Akyurt İ., Planktonlar Ve Fotobiyoreaktörler, *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi,* 2010,**1**, 83-92.

Taher H., Al-Zuhair S., Al-Marzouqi A H., Haik B., Farid M., Enzymatic Biodiesel Production of Microalgae Lipids Under Supercritical Carbon Dioxide: Process Optimization And Integration, *Biochemical Engineering Journal*, 2014, **90**, 103–113.

Taher H., Al-Zuhair S., Al-Marzouqi A. H., Haik Y., Farid M. M., A Review of Enzymatic Transesterification of Microalgal Oil-Based Biodiesel Using Supercritical Technology, *Enzyme Research*, 2011, **21**, 1-24.

Tarlan E., Dilek F. B., Yetis U., Effectiveness Of Algae In The Treatment of A Wood-Based Pulp And Paper Industry Wastewater, *Bioresource Technology*, 2002, **84**,1–5.

Teo C. L., Atta M., Bukhari A., Taisir M., Yusuf A. M., Idris A., Enhancing Growth and Lipid Production of Marine Microalgae for Biodiesel Production via The Use of Different LED Wavelengths, *Bioresource Technology*, 2014a, **162**, 38–44.

Teo C. L., Jamaluddin H., Mohd Z. N. A., Idris A., Biodiesel Production via Lipase Catalysed Transesterification of Microalgae Lipids from *Tetraselmis Sp.*, *Renewable Energy* , 2014b, **68**, 1-5.

Tran D T., Yeh K L., Chen C. L., Chang J S., Enzymatic Transesterification of Microalgal Oil from *Chlorella Vulgaris ESP-31* for Biodiesel Synthesis Using İmmobilized *Burkholderia* Lipase, *Bioresource Technology*, 2012, **108**, 119–127.

Turon V., Baroukh C., Trably E., Latrille E., Fouilland E., Steyer J. P., Use of Fermentative Metabolites for Heterotrophic Microalgae Growth: Yields And Kinetics, *Bioresource Technology*, 2015, **175**, 342–349.

Umdu E. S. M., Tuncer E. S.,Transesterification of *Nannochloropsis Oculata* Microalga`S Lipid to Biodiesel on Al_2O_3 Supported Cao and Mgo Catalysts, *Bioresource Technology*, 2009,**100**, 2828-2831.

URL-1: http://www.genome.jp/kegg-bin/show_organism?org=cvr (Ziyaret Tarihi: 30.11.2018)

URL-2 https://www1.eere.energy.gov/bioenergy/pdfs/algal_biofuels_roadmap.pdf (Ziyaret tarihi: 25 Kasım 2018).

Uslu L., Besleyici Element Kompozisyonundaki Değişikliklerin Mikroalglerde Yağ İçeriğine Etkisi, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,Adana, 2011, 287219.

Vonshak A., Torzillo G., Environmental Stress Physiology, Editor: Richmond A., *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology,* Blackwell Science, Australia, 2004, 57-82.

Wang B., Li Y., Wu N., Lan C.Q., CO_2 Bio-Mitigation Using Microalgae, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008, **79**(5), 707–718.

Wang C.Y., Fu C.C., Liu Y.C., Effects Of Using Light-Emitting Diodes on The Cultivation of *Spirulina Platensis*, *Journal of Biochemical Engineering*, 2007, **37**, 21-25.

Wang T., Ge H., Liu T., Tian X., Wang Z., Guo M., Chu J., Zhuang Y., Salt Stress Induced Lipid Accumulation in Heterotrophic Culture Cells of *Chlorella Protothecoides*: Mechanisms Based on The Multi-Levelanalysis of Oxidative Response, Key Enzyme Activity and Biochemical Alteration, *Journal of Biotechnology*, 2016, **228**, 18–27.

Wang Y., Liu J., Gerken H., Zhang C., Hu Q., Li Y., Highly-Efficient Enzymatic Conversion of Crude Algal Oils into Biodiesel, *Bioresource Technology*, 2014, **172**, 143–149.

Wei A., Zhang X, Wei D, Chen G, Wu Q, Yang ST. Effects of Cassava Starch Hydro Lysate on Cell Growth and Lipid Accumulation of The Heterotrophic Microalgae *Chlorella Protothecoides*, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology,* 2009, **36**(11), 1383-1389.

Wu Z., Shi X., Optimization For High-Density Cultivation of Heterotrophic *Chlorella* Based on A Hybrid Neural Network Model,*Letters in Applied Microbiology*, 2007,**44**,13–18.

Wu L. F., Chen P. C., Huang A. P., Lee C. M., The Feasibility of Biodiesel Production By Microalgae Using Industrial Wastewater, *Bioresource Technology*, 2012, **113**, 14–18.

Wu X., Merchuk J. C., A Model İntegrating Fluid Dynamics in Photosynthesis and Photoinhibition Processes, *Chemical Engineering Science*, 2001, **56**, 3527-3538.

Xıao M., Intan R., Obbard J. P., Biodiesel Production from Microalgae Oil-Lipid Feedstock via Immobilized Whole-Cell Biocatalysis, Division Of Environmental Science & Engineering, National University Of Singapore, 2014.

Xiong W., Li X., Xiang J., Wu Q., High-Density Fermentation Of Microalga *Chlorella Protothecoides* in Bioreactor for Microbio-Diesel Production, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008, **78**, 29-36.

Xu H, Miao X, Wu Q, High Quality Biodiesel Production From a Microalga *Chlorella Protothecoides* by Heterotrophic Growth in Fermenters, *Journal Of Biotechnology*, 2006, **126**, 499–507.

Yılmaz H. K., Mikroalg Üretimi için Fotobiyoreaktör Tasarımları, *EÜ Su Ürünleri Dergisi* 2006, **23**(1-2), 327-332.

Ying Y., Shao P., Jiang S., Sun P., Artificial Neural Network Analysis of Immobilized Lipase Catalyzed Synthesis of Biodiesel from Rapeseed Soapstock, *Computer and Computing Technologies in Agriculture II*, 2009, **295**, 1239-1249.

Yücel S., Terzioğlu P., Boğoçlu E. M., Çelikkol M., Changes in the Cell Growth, Lıpıd Content and Lipid Profile of *Chlorella Protothecoides* Under Dıfferent Mediums, *Sigma J Engineering & National Science*, 2016, **34,** 183-190.

Zeng X., Danquah M.K., Chen X.D., Lu Y., Microalgae Bioengineering: from CO_2 Fixation to Biofuel Production, *Renewable Sustainable Energy Reviews*, 2011, **15**(6), 3252-3260.

Zhang B., Ogden K., Recycled Wastewater From Anaerobic Digestion of Lipid Extracted Algae as a Source of Nutrients, *Fuel*, 2017, **210**, 705–712.

Zhıla N. O., Kalacheva G. S., Volova T. G., Effect of Nitrogen Limitation the Growth and Lipid Composition of The Green Algae *Botryococcus Braunii Kütz Ippas H-252*, *Russsian Journal Of Plant Physiology*, 2005, **52**, 357-365.

EKLER

EK-A

Kocaeli İSU Analiz Raporları (2017)

SU ANALİZ RAPORLARI

Ay	pH	Serbest Klor	Bulanıklık	Alüminyum	Demir	Mangan	Nitrit	Amonyum	Sertlik	Koliform	E.Koli
Ocak	7,55	0,54	0,18	0,018	0,00	0,007	0,008	0,01	116	0	0
Şubat	7,53	0,54	0,20	0,019	0,00	0,008	0,008	0,01	107	0	0
Mart	7,55	0,54	0,20	0,021	0,00	0,007	0,009	0,01	108	0	0
Nisan	7,52	0,55	0,15	0,032	0,00	0,007	0,008	0,01	109	0	0
Mayıs	7,52	0,54	0,15	0,034	0,00	0,007	0,012	0,01	117	0	0
Haziran	7,58	0,54	0,16	0,040	0,00	0,008	0,012	0,01	110	0	0
Temmuz	7,47	0,54	0,17	0,048	0,00	0,008	0,012	0,00	111	0	0
Ağustos	7,46	0,54	0,16	0,054	0,00	0,007	0,012	0,00	118	0	0
Eylül	7,46	0,53	0,14	0,053	0,00	0,008	0,010	0,00	120	0	0
Ekim	7,43	0,52	0,17	0,048	0,00	0,010	0,011	0,00	112	0	0

Şekil A.1. Kocaeli İSU Analiz Raporları 2017 Değerleri

EK- B

Yağ Asidi Yüzde Bileşimi Ve Ortalama Molekül Ağırlığı Hesaplanması

Yağ Asidi Yüzde Bileşimi;

$$\% = \frac{100\text{x Oapa}}{\sum \text{YAPA}}$$

Oapa = Oleik asit pik alanı

∑YAPA = Toplam yağ asitleri pik alanı

Oapa = Oleik asit pik alanı

$$\%OA = \frac{100\text{x } 7896}{10000} = 78{,}96$$

Yağın Ortalama Molekül Ağırlığı;

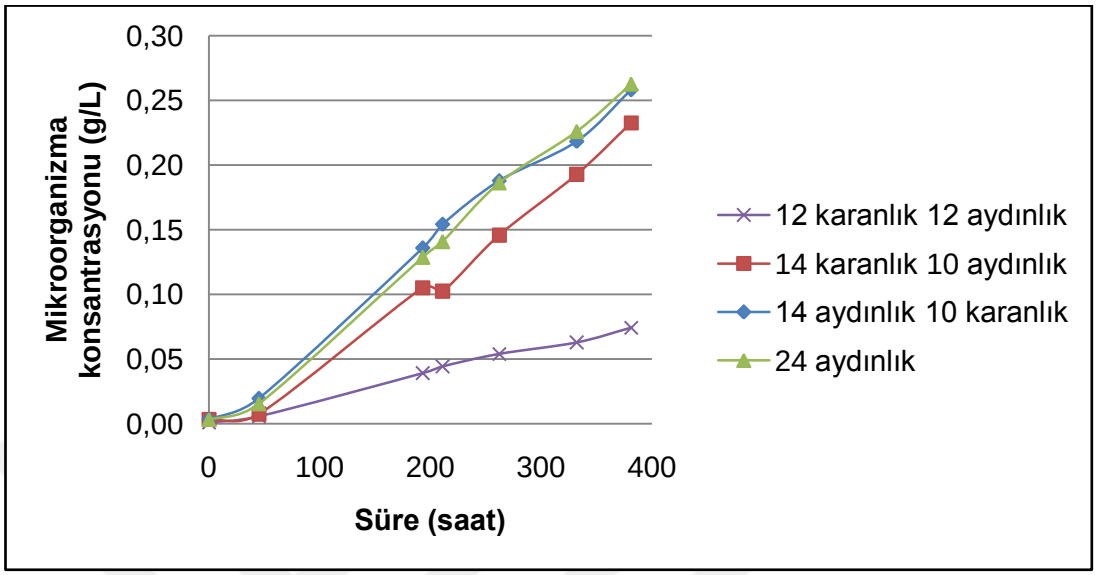
$[MA_{YA1}x(\%)+MA_{YA2}x(\%)+MA_{YA3}x(\%)+\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots+MA_{YAn}x(\%)] - [3XH_2O+\text{Gliserol}]$

Yağ asidi	Bileşim (%)	Molekül ağırlığı (Ma (g/mol))
C16:0 (Palmitik)	18,5	256,430
C18:1 (Oleik)	43,0	282,468
C18:2 (Linoleik)	38,5	280,452
Su	-	18
Gliserol	-	92,09

[256,430 x 18,5)+(282,468 x 43)+(280,452 x 38,5)]-[3X18]+92,09= 944,88 g/mol

EK-C

Maksimum Spesifik Büyüme Hızının Hesaplanması



Şekil C.1. Aydınlık karanlık döngüsünün *Chlorella protothecoides* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkisi

Maksimum spesifik hücre büyüme hızını bulmak için (μ) grafikte doğrusal olan noktalar seçilerek hesaplama yapılır. Örneğin 14 saat aydınlık 10 saat karanlık etkisinin olduğu eğri kullanarak hesap yapılırsa; 45. ve 193. saatleri aralığında doğrusal bir büyüme gözlenmektedir.

$$\mu = \frac{ln(0{,}136) - ln(0{,}0195)}{193 - 45} = 0{,}0131\ \mathrm{h}\ -1$$

EK-D

Hücrelerin İkilenme Süresinin Hesaplanması

Hücrelerin iki'ye katlama süresi aşağıdaki formülle bulunmuştur;

$$\text{Hücrenin iki'ye katlama süresi} = \frac{\ln(2)}{\mu_{max}}$$

$$\text{Hücrenin iki'ye katlama süresi} = \frac{\ln(2)}{0{,}0131} = 53 \text{ saat}$$

EK-E

Setan sayısı hesabı

C16:1 (Palmitikoleik) asit miktarınca zengin yağın setan sayıbı hesabı:

$$\text{Setan sayısı}=58.1+\frac{2.8\ (16-8)}{2}-15.9x1=53.4$$

Formülde n karbon sayısını belirtmektedir.

EK-F Mikroorganizma derişimi ve lipit üretkenliği hesabı

Tablo F.1. Miksotrof koşulların *Chlorella protohecoides* türü mikroalgin büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Gliserol miktarı (g/L)	$X_{max\ (g/L)}$	μ_{max} (h^{-1})	Hücrelerin iki'ye katlama süresi (saat)	Yağ İçeriği (%)	Yağ verimliliği g/Lgün ($x10^{-3}$)
0	0,338	0,015	46,2	25	4,02
2	0,644	0,022	31,5	27	8,28
5	0,956	0,070	10,0	26	11,8

$(X_{max}/D_{Kültür\ süresi}) \times L_{myi}$

Xmax (g/L) :Kültür sonunda elde edilen en yüksek mikroorganizma derişimi : 0,956

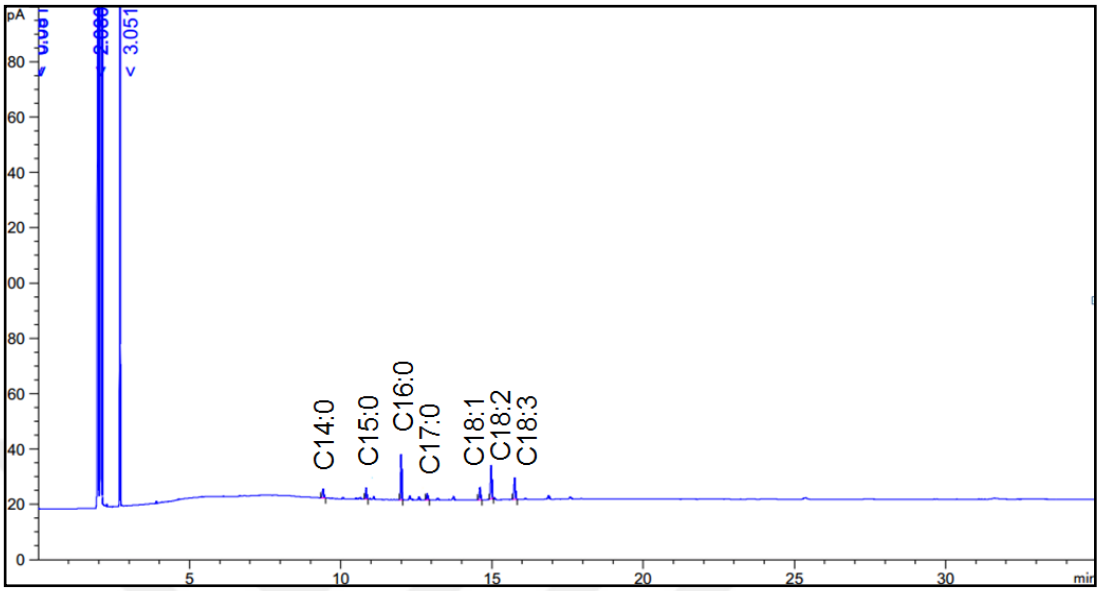
$D_{Kültür\ zamanı}$ = Kültür süresi (gün) =21 gün

L_{myi} = Mikroorganizma yağ içeriği (%) = 26

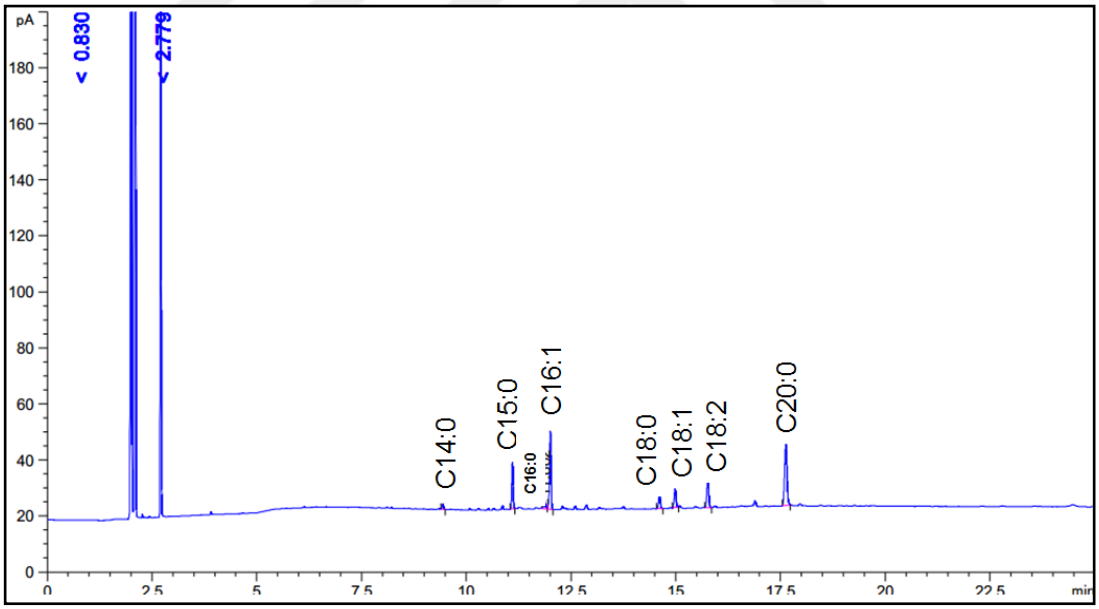
$$\text{Yağ verimliliği} = \frac{0,956}{21} \times \frac{26}{100} = 11.8x10^{-3}$$

EK-G

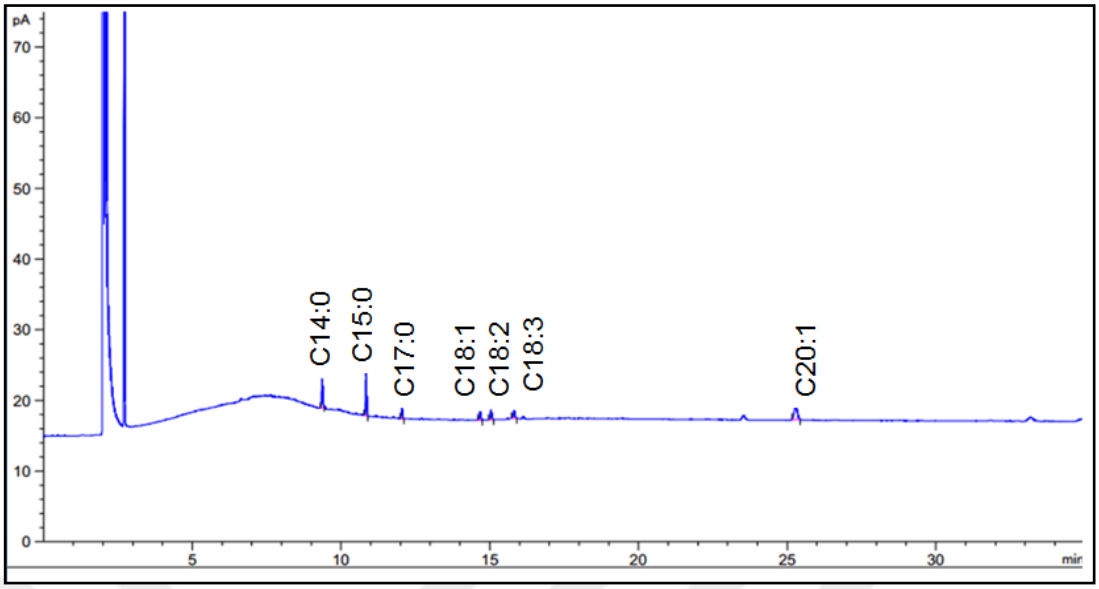
Yağ Asidi Bileşimi Analizi GC Kromatogramı



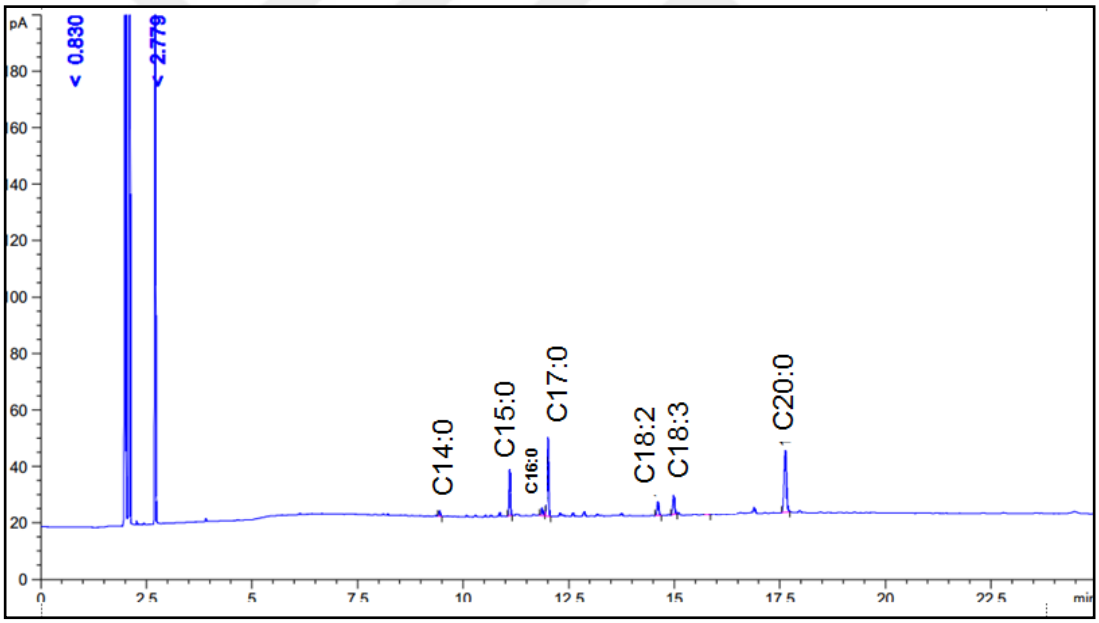
Şekil G.1. *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşim GC kromatogramı



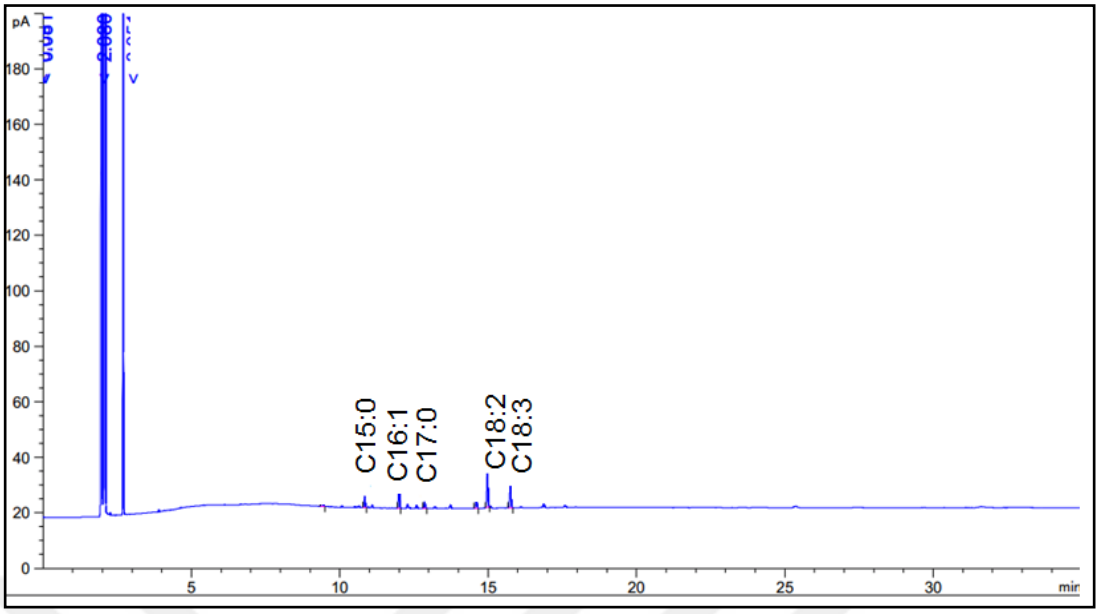
Şekil G.2. *Chlorella prothecoides* türü mikroalgin yağ asidi bileşim GC kromatogramı



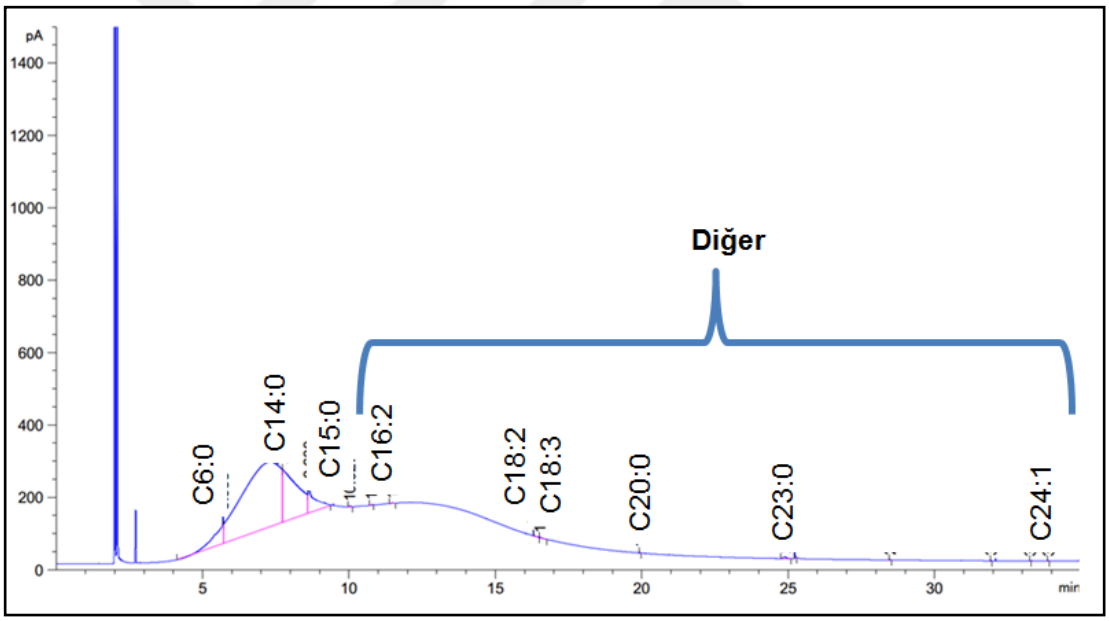
Şekil G.3. klüks ışık etkisi altında yetiştirilen *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



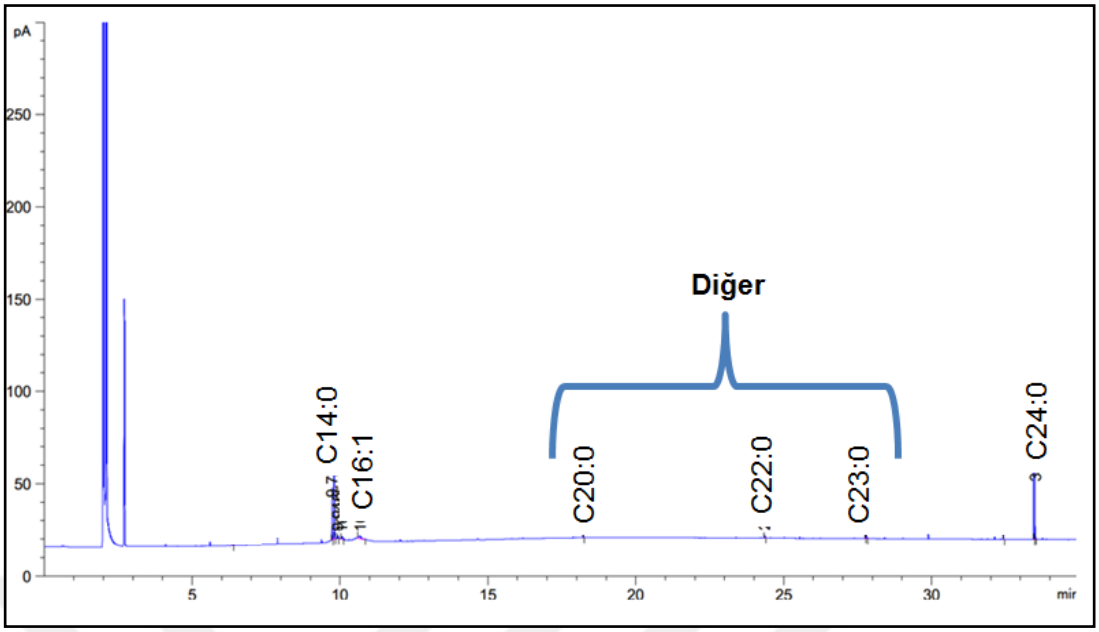
Şekil G.4. 4 klüks ışık etkisi altında yetiştirilen *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



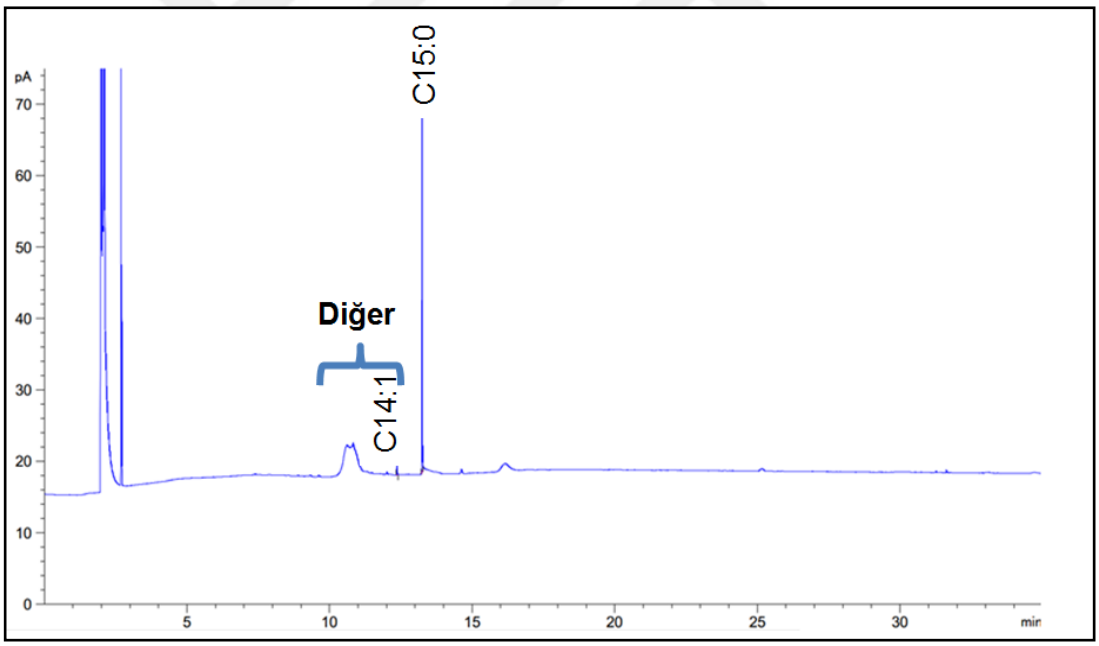
Şekil G.5. 4 klüks ışık etkisis altında yetiştirilen *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



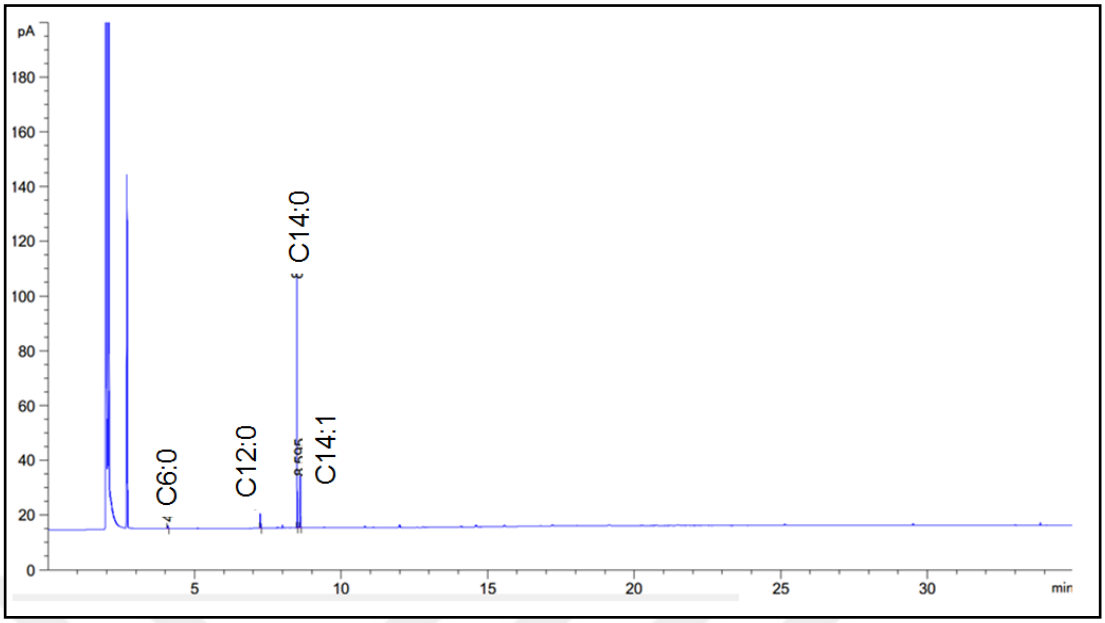
Şekil G.6. Heteretrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



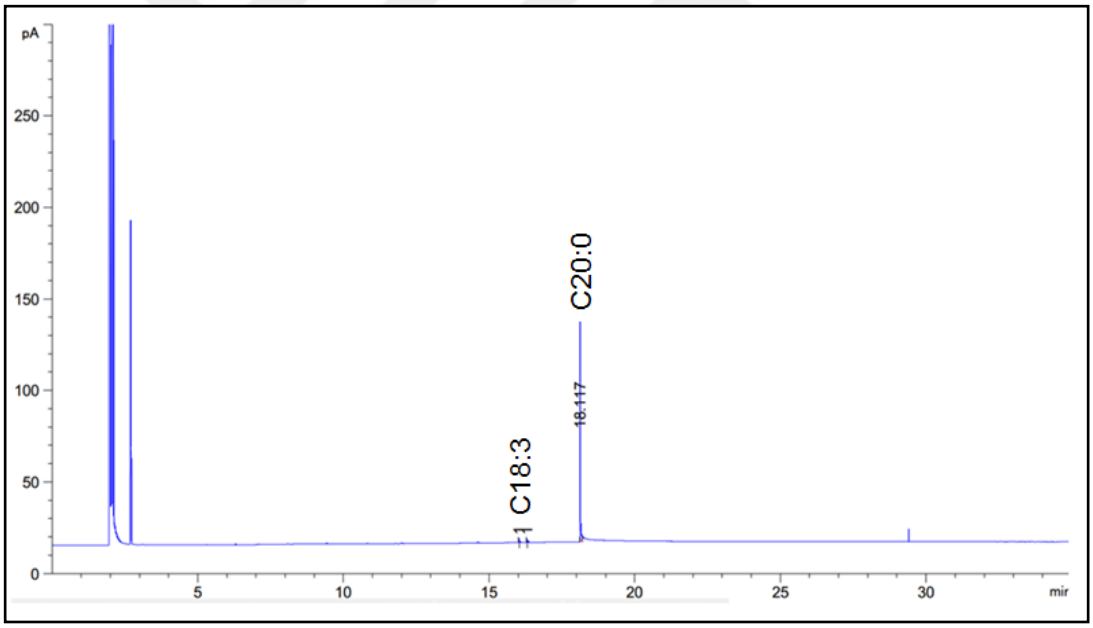
Şekil G.7. Heteretrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



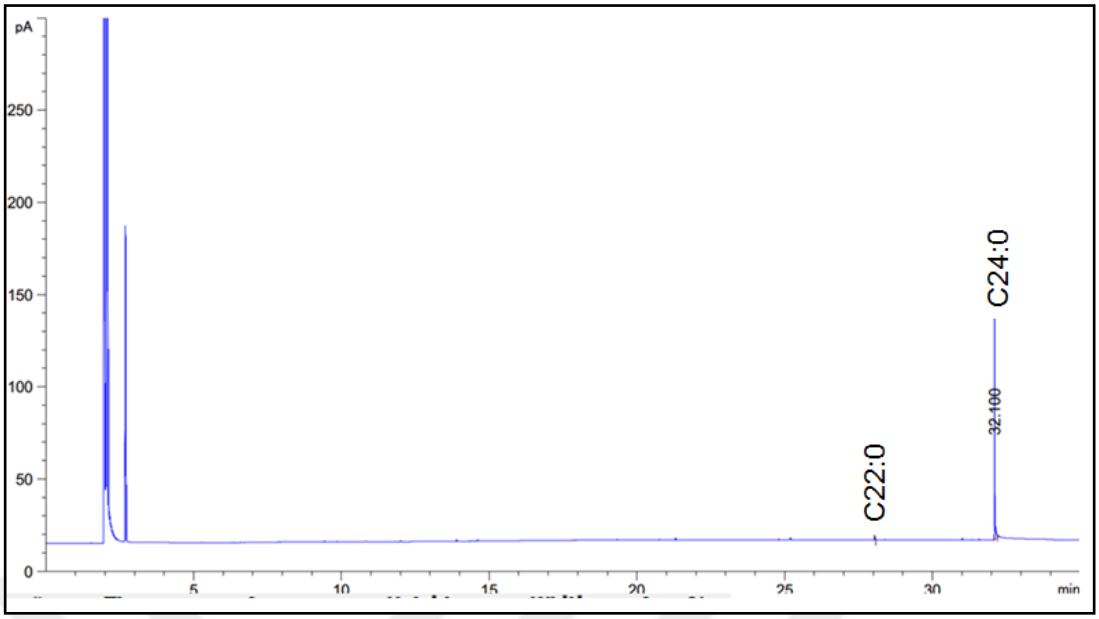
Şekil G.8. Miksotrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



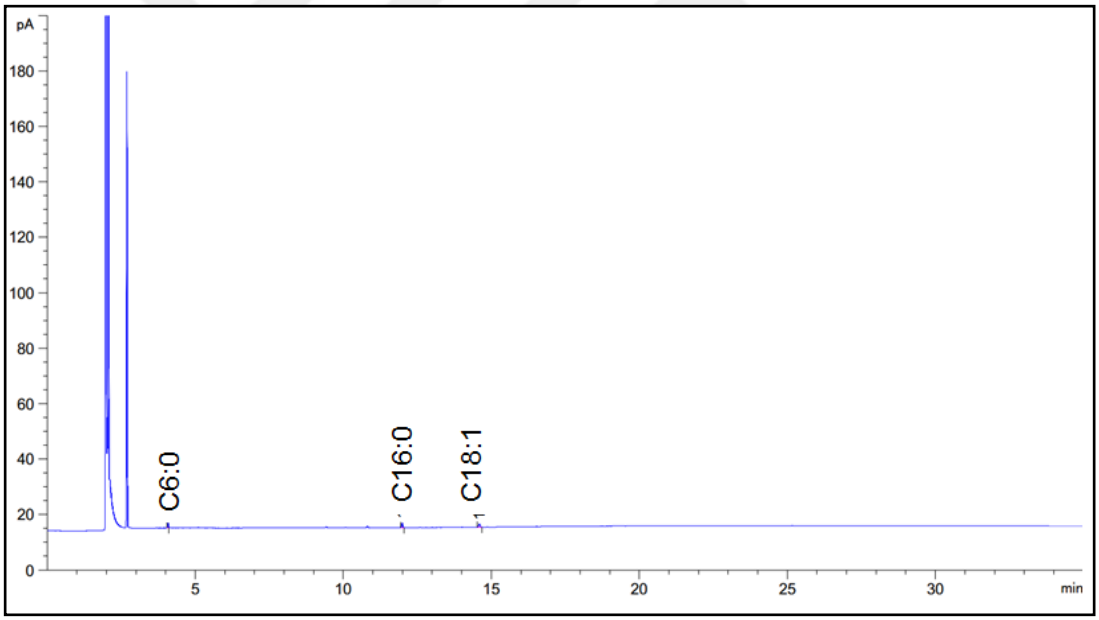
Şekil G.9. Miksotrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



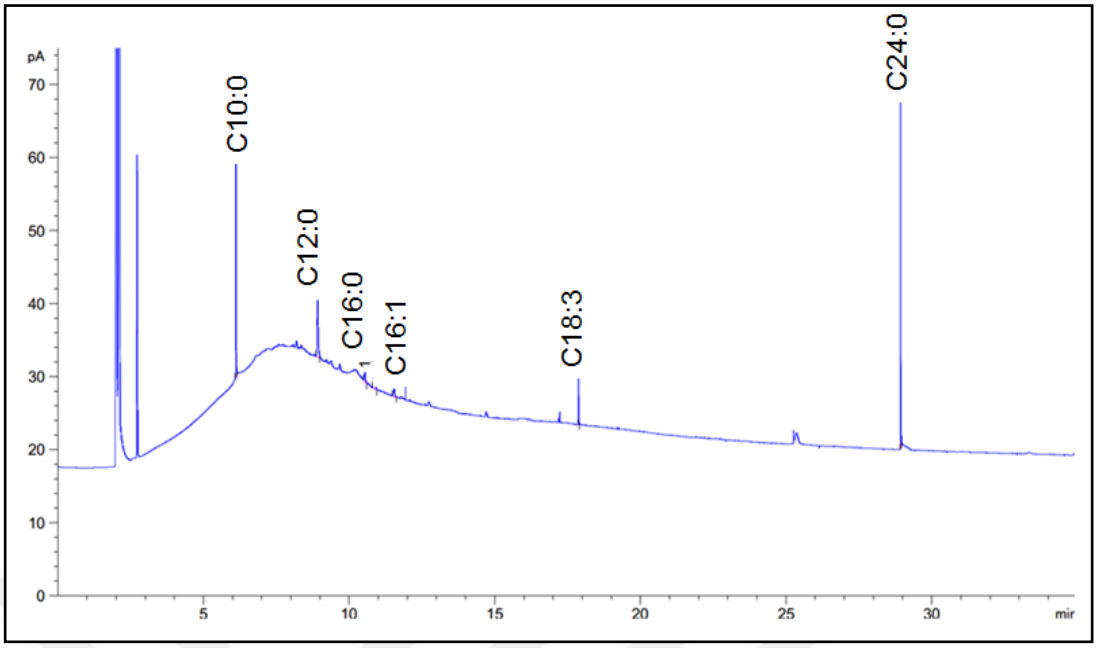
Şekil G.10. Heteretrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



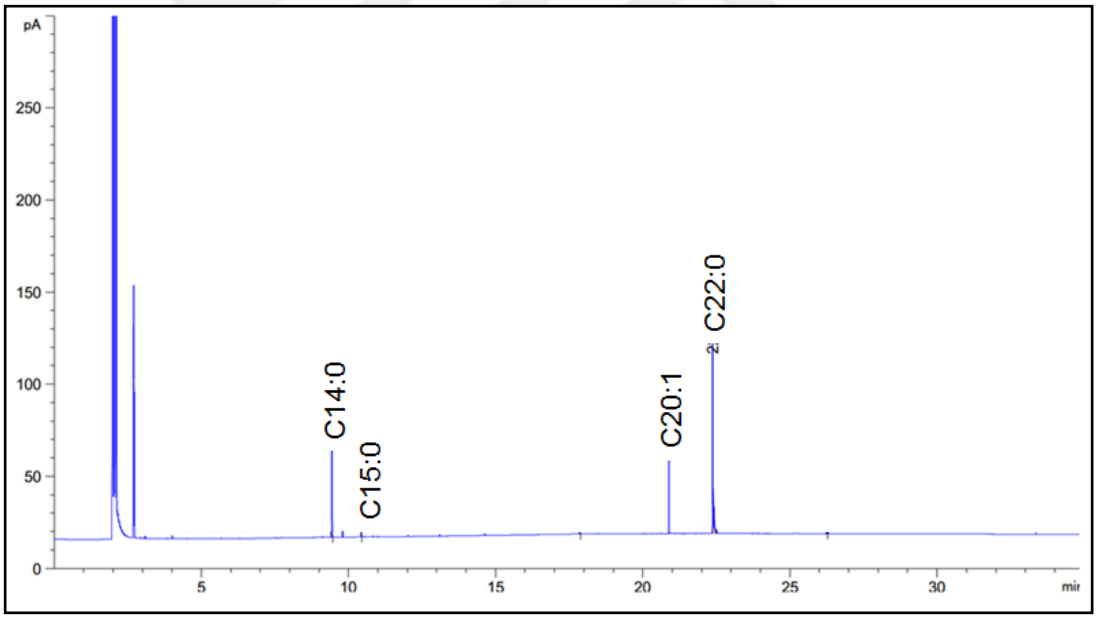
Şekil G.11. Heteretrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



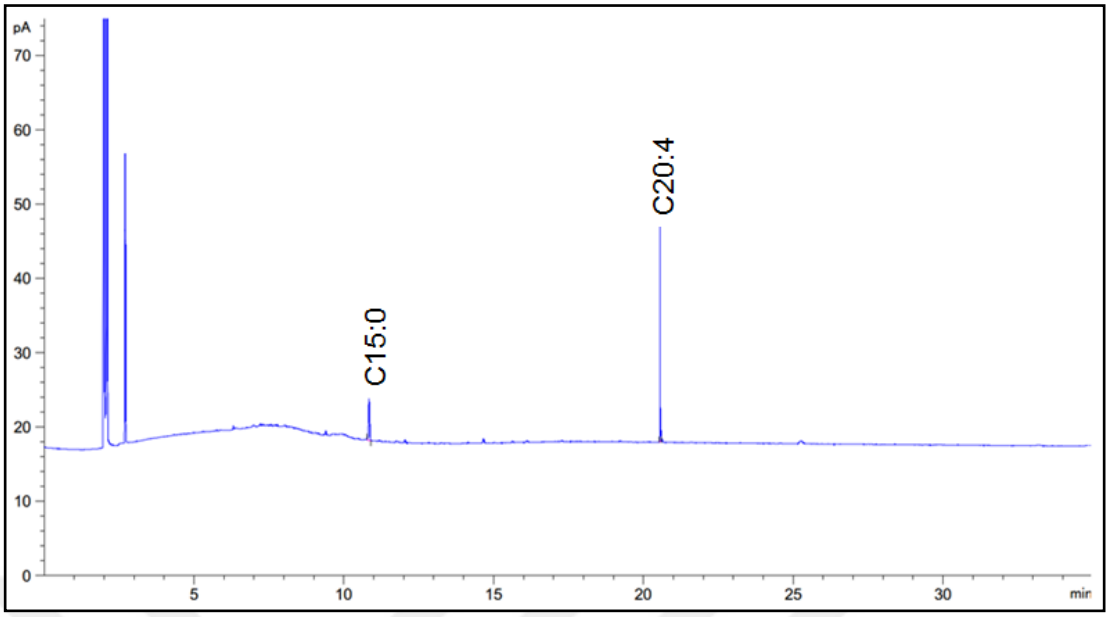
Şekil G.12. Miksotrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



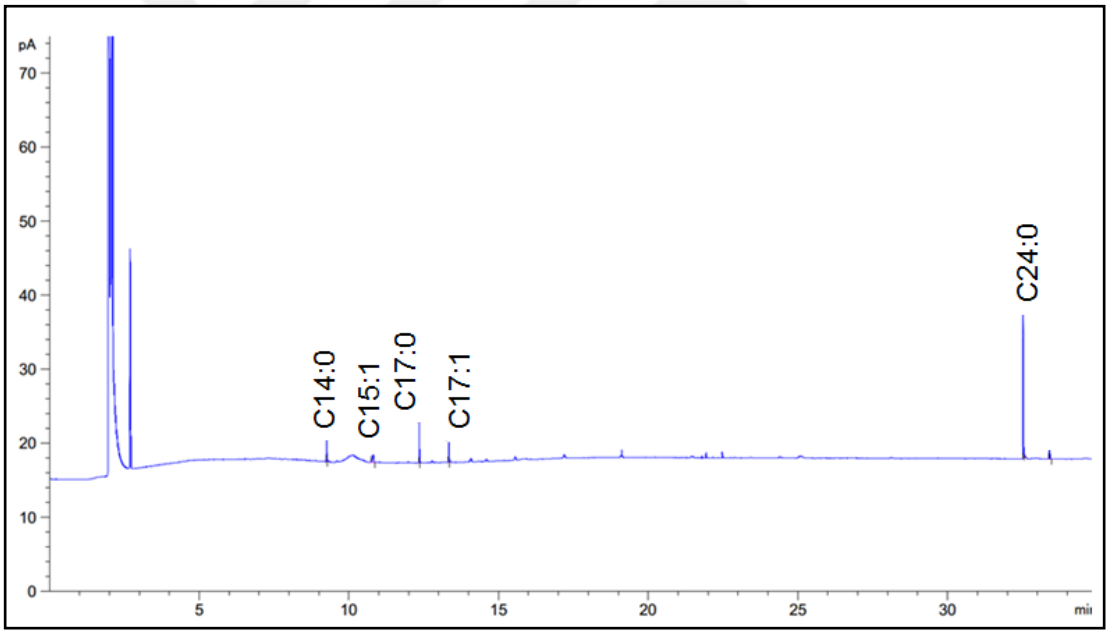
Şekil G.13. Miksotrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



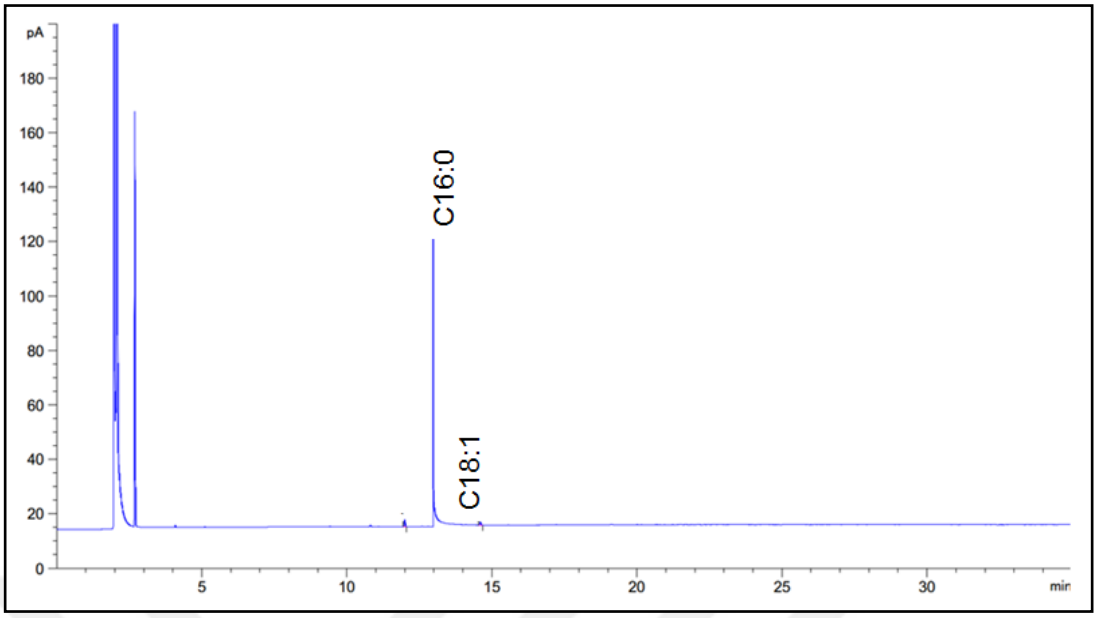
Şekil G.14. Heteretrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



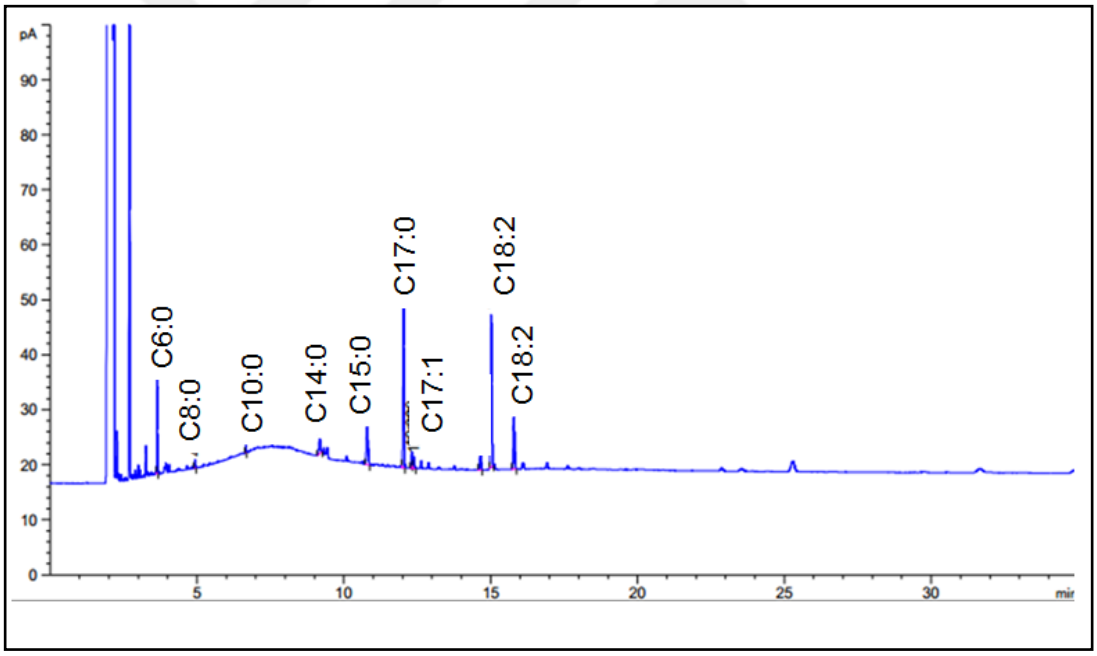
Şekil G.15. Heteretrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



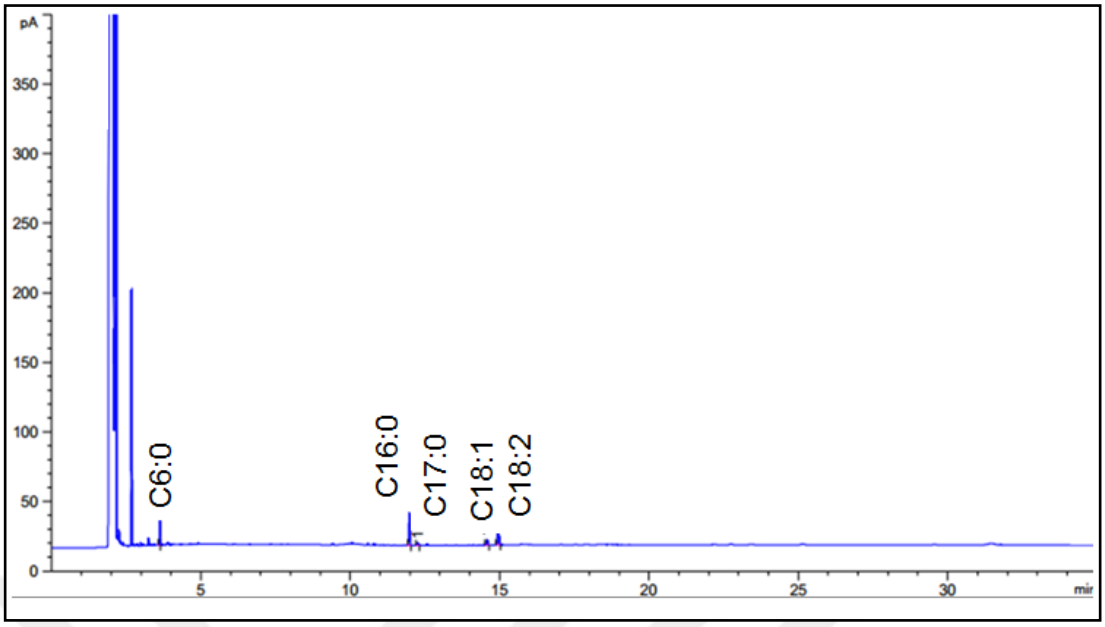
Şekil G.16. Miksotrof koşullarda (2 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



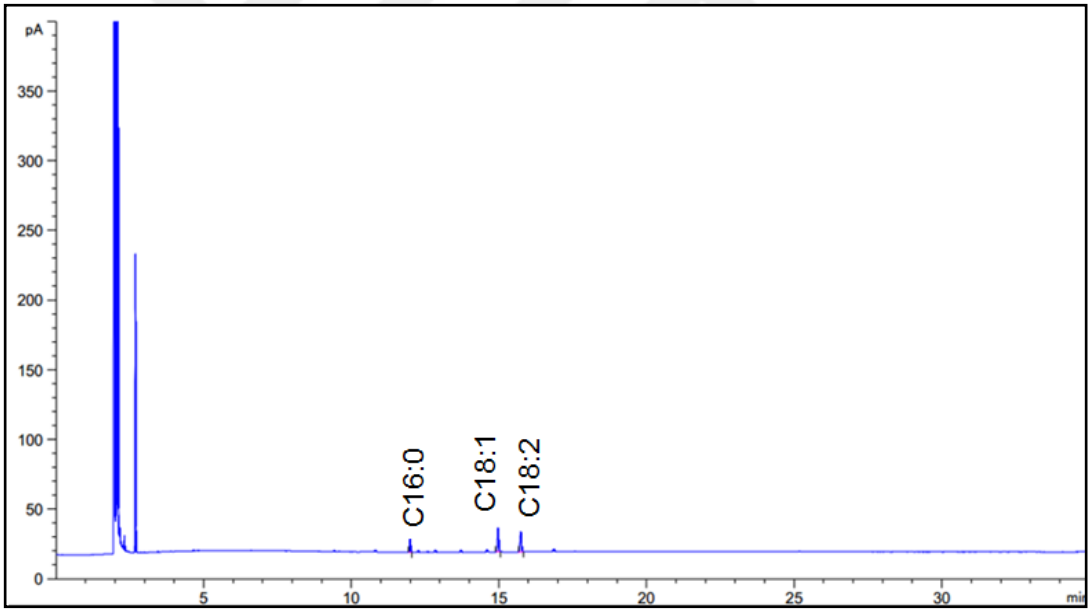
Şekil G.17. Miksotrof koşullarda (5 g/L gliserol) *Chlorella protothecoides* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



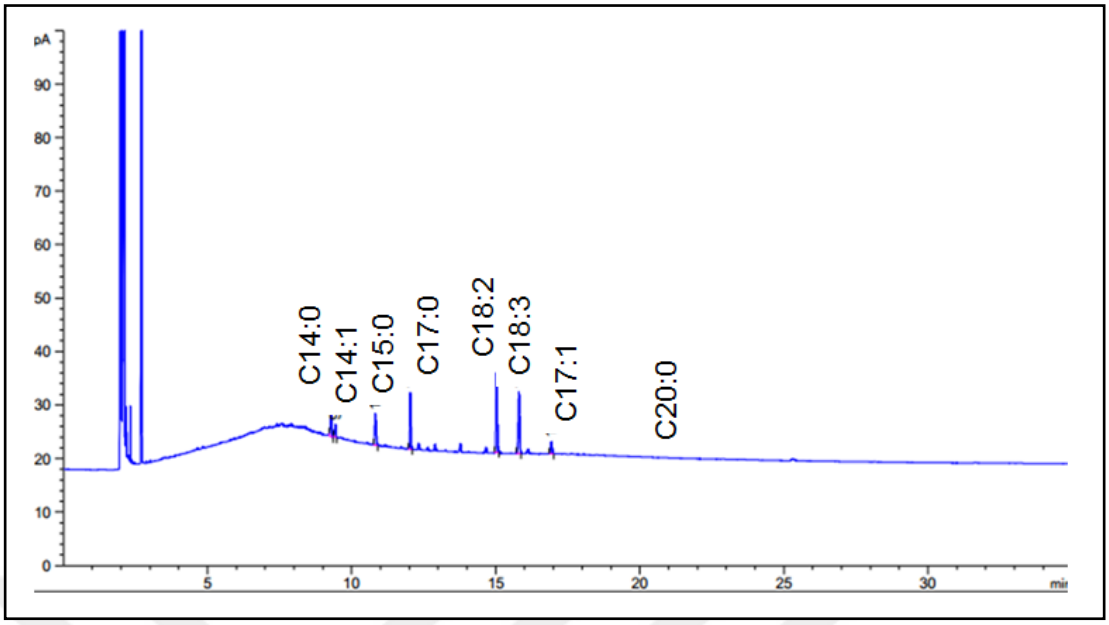
Şekil G.18. Beyaz eşya endüstrisi evsel atık suyu seyrelme olmadığı durumda *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



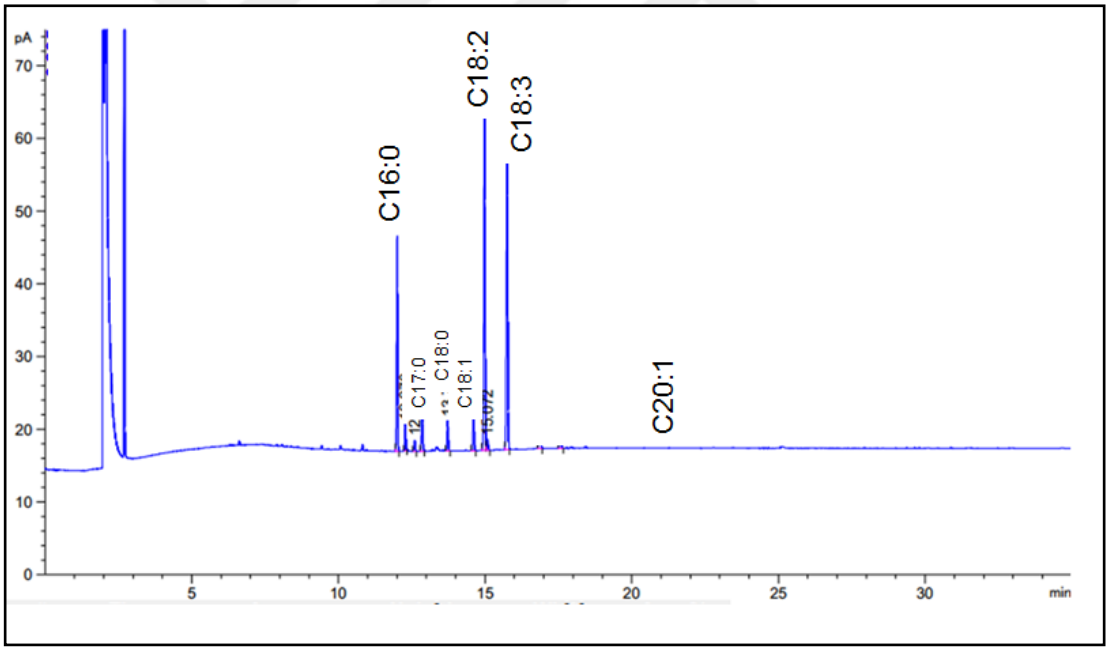
Şekil G.19. Seyreltilmemiş beyaz eşya endüstrisi atık suyunda *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



Şekil G.20. Seyreltilmemiş beyaz eşya endüstrisi evsel atık suyunda durumda *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



Şekil G.21. Seyrelmemiş beyaz eşya endüstrisi atık suyunda *Chlorella ESP-6* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi



Şekil G.22. Gazlı içecek endüstrisi atık suyu %20 seyrelme olduğu durumda *Chlorella variabilis* türü mikroalg yağının yağ asidi bileşimi

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

SCI Kapsamındaki Yayınlar

Çoban O., Bora M.Ö., **Kutluk T.,** Comparative study of volcanic particle and calcium carbonate filler materials in HDPE for thermal and mechanical properties, *Polymer Composıtes, 2018,* DOI:10.1002/pc.24883.

Bora M.Ö., Çoban O., **Kutluk T**., Akagündüz E., The Use Of Volcanıc Partıcles In Hdpe Offers Alternatıve Fıllıng Materıal Agaınst Caco3. Part II— Scratch Propertıes, *Polymer Composıtes,* 2018, DOI: 10.1002/pc.25044.

Çoban O., Bora M.Ö., **Kutluk T.,** Özkoç G., Mechanical and thermal properties of volcanic particle filled PLA/PBAT composites, *Polymer Composıtes,*2018,**39**(3), 1500-1511.

Çoban O., Bora M.Ö., **Kutluk T.,** Fidan S., Sınmazçelik T., Heat Treatment Effect on Thermal and Thermomechanical Properties of Polyphenylene Sulfide Composites Reinforced with Silane Treated Volcanic Ash Particles, *Polymer Composıtes*, 2018, **39** (5), 1612-1619.

Çoban O., Bora M.Ö., Fidan S., **Kutluk T.,** Sınmazçelik T., Heat Treatment Effect on Solid Particle Erosion Properties of Polyphenylene Sulfide Composites Reinforced with Silane Treated Volcanic Ash Particles, *Polymer Composıtes*, 2018, **39** (5), 1638-1646.

Bora M.Ö., Çoban O., **Kutluk T**., Fidan S., Sınmazçelik T., "The Influence of Heat Treatment Process on Mechanical Properties of Surface Treated Volcanic Ash Particles/Polyphenylene Sulfide Composites, *Polymer Composites,* 2018, **39** (5), 1604- 1611.

Çoban O., Bora M.Ö., **Kutluk T.,** Fidan S., Sınmazçelik T., Effect of Silane as Coupling Agent on Dynamic Mechanical Properties of Volcanic Ash Filled PPS Composites, *Acta Physıca Polonıca A*, 2016, **129** (4), 492-494.

Bora M.Ö.,Çoban O., Fidan S., **Kutluk T**., Sınmazçelik T., Surface Modification Effect Of Volcanic Ash Particles Using Silane Coupling Agent On Mechanical Properties Of Polyphenylene Sulfide Composites, *Acta Physıca Polonıca A*, 2016, **129** (4), 495-497.

Kutluk T., Çoban O., Bora M.Ö., Fidan S., Sınmazçelik T., Silane Coupling Efficiency On Thermal Properties Of Volcanic Ash Filled Pps Composites, *Acta Physıca Polonıca A*, 2016, **129** (4), 498-500.

Diğer Yayınlar

Altın N., **Kutluk T.,** Uyar B., Kapucu N, Effect Of Different Nitrogen Sources On The Growth And Lipid Accumulation Of *Chlorella Variabilis*, *Journal of Applied Biological Sciences*, 2018, **12** (2), 38-40.

Uyar B., **Kutluk T.,** Kapucu N.,*Effect Of Lıght Intensıty On The Growth Of Chlorella Variabilis*, *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi,* 2016, **18** (1), 49-55.

Kutluk T., Kutluk G. B., Kapucu N., Effects Of Catalyst Loading And Reusability On Transesterfication Of Waste Sunflower Oil Using Immobilized Lipase *Thermomyces Lanuginosa*,*Journal of Selçuk University Natural and Applied Science*, 2014, 927-930.

Boran K., Aşıcı,M., **Kutluk T.,** Kapucu N, The Effect of pH on Cross-Binding of Lipases with Glutaraldehyde, *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 2014, **1**(1), 51-53.

Kutluk G. B., Akbin H. M., **Kutluk T.,** Kapucu N., Survey Of Buffer Solution And Ph Effect On Immobilization Of Lipozyme TL 100L On Celite, *Journal of Selçuk University Natural and Applied Science*, 2014, 917-926.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceeedins) basılan bildiriler.

Kutluk B. G., **Kutluk T.,** Uyar B., Kapucu N., Butyl esters synthesis from waste cooking oil fatty acids as a green product for lubrication, *Internatİonal Eurasİan Conference On Scİence, Engİneerİng And Technology,* Ankara, Turkey, 22-23 November 2018.

Kutluk T., Uyar B., Kapucu N., Lipid productivity of microalgae *Chlorella variabilis* under the different light cycles, *Internatİonal Eurasİan Conference On Scİence, Engİneerİng And Technology,* Ankara, Turkey, 22-23 November 2018.

Kutluk B. G., **Kutluk T.,** Uyar B., Kapucu N., Waste Frying Oils Management: Production Of Biolubricants By Environmentally Friendly Processes, *Internatıonal Marmara Science And Social Sciences Congress,* Kocaeli, Turkey, 23-25 November 2018.

Ünügül T., **KutlukT.,** Kapucu N., Atık Kahve Yağlarının Değerlendirilmesi için Çevre Dostu Proses: Biyoyağlayıcı,*Internatıonal Marmara Science And Social Sciences Congress,* Kocaeli, Turkey, 23-25 November 2018.

Çömek S., Ergene F., **Kutluk T.,** Oktor K., Uyar B., Kapucu, N., Simultaneous White Goods Wastewater Treatment And Lipid Production Using Microalgae *Chlorella ESP-6*, *International Symposium on Urban Water and Wastewater Management*, Denizli, Turkey, 25-27 October 2018.

Erdoğdu D., Budak E., **Kutluk T.,** Oktor K., Kapucu N., Investigation Of Leachate Treatment Ability Of Different Green Microalgae Species, *International Symposium on Urban Water and Wastewater Management*, Denizli, Turkey, 25-27 October 2018.

Kutluk B. G., **Kutluk T.,** Uyar, B., Kapucu, N., Optimization Of Enzymatic Reaction Parameters Of Trimethylolpropane Esters From Biodiesel Via Response Surface Methodology (RSM), 1*1. Euroasian Biochemical Approaches & Technologies Congress*, Antalya, Turkey, 27-30 October 2018.

Özer İ., **Kutluk T.,** Uyar B., Kapucu N., Microalgae Growth And Lipid Production In Fizzy Drink Wastewater Media *1. Euroasian Biochemical Approaches & Technologies Congress*, Antalya, Turkey, 27-30 October 2018.

Kutluk T., Küçükgacal N., Kapucu N., Karides Atıklarının Enzimatik Deproteinizasyonu Ve Kitosan Üretimi, *VII. Polymer Science and Technology Congress with International Participation*, Eskişehir, Turkey. 9-12 September 2018.

Kutluk T., Kodal M., Kapucu N., Özkoç G., Enzymatic Synthesis Of Microalgal Fatty Acid Esters As A Potential Plasticizing Agent For Poly (Lactic Acid) (PLA) Applications,*VII. Polymer Science and Technology Congress with International Participation*, Eskişehir, Turkey. 9-12 September 2018.

Aydoğdu H., Kodal M.,**Kutluk T.,** Kapucu N., Özkoç G., Alg Yağı İle Plastikleştirilmiş PLA'nın Mekanik, Isıl Ve Morfolojik Özelliklerinin İncelenmesi, *VII. Polymer Science and Technology Congress with International Participation*, Eskişehir, Turkey. 9-12

Altın N., **Kutluk T.,** Uyar B., Kapucu N., Effect Of Ferric Citrate Concentration On Growth And Lipid Production Of Microalgae *Chlorella Variabilis*, *1st International Technology Sciences and Design Symposium*, Giresun, Turkey. 28-30 June 2018.

Kutluk G. B.,, **Kutluk T.,** Kapucu N., Synthesis Of Bioesters From Waste Sunflower Oil Biodiesel Using A Biocatalytic Route, *1st International Technology Sciences and Design Symposium*, Giresun, Turkey. 28-30 June 2018.

Ünügül T., **Kutluk T.,** Kapucu N., Espresso Kahve Atıklarının Enzimatik Biyoyağlayıcı Üretiminde Değerlendirilmesi, *3.Uluslararası Mühendislik Mimarlık ve Tasarım Kongresi*, Kocaeli, Turkey, 4-5 Mayıs 2018.

Hasanoğlu S., **Kutluk T.,** Kapucu N., Metal Endüstrisi Atık Sularının Chlorella Türü Mikroalg İle Arıtılabilirliğinin İncelenmesi, *3.Uluslararası Mühendislik Mimarlık ve Tasarım Kongresi*, Kocaeli, Turkey, 4-5 Mayıs 2018.

Ünügül T., **Kutluk T.,** Kapucu N. Enzymatic Hydrolysis Of Waste Filter Coffee Ground Oils,*7th International Molecular Biology And Biotechnology Congress*, Konya, Turkey. 25-27 April 2018.

Altın N., **Kutluk T.,** Uyar B., Kapucu N., Effect Of Different Nitrogen Source On Growth And Lipid Accumulation *Microalgae Chlorella Variabilis*, *7th International Molecular Biology And Biotechnology Congress*, Konya, Turkey. 25-27 April 2018.

Altın N., **Kutluk T.,** Uyar B., Kapucu, N., Investigation Of Different Potassium Dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4) Quantities On Growth And Lipid Production Of Microalgae *Chlorella Variabilis*, *International Eurasian Conference On Biological And Chemical Sciences* , 26-27 April 2018 Ankara, Turkey.

Kutluk T., Kapucu N., Responses In Growth And Lipid Accumulation Of Chlorella ESP-6 To Nitrogen Starvation, *International Eurasian Conference On Biological And Chemical Sciences* , Ankara, Turkey, 26-27 April 2018

Kutluk T., Altın N., Kapucu N, Synthesis of Biofuel From Waste Filter Coffee Spents by Environmentally Friendly Processes, *International Advanced Researches Engineering Congress*, Osmaniye,Turkey, 16-18 November 2017.

Kutluk T., Oktor K., Kapucu N., *Chlorella Variabilis* Türü Mikroalgin Maya Endüstrisi Atık Suyunu Arıtma Potansiyelinin Ve Yag İçeriginin İncelenmesi, *19.Uluslararası Katılımlı Ulusal Biyoteknoloji Kongresi, Eskişehir, Turkey,* 1-3 December 2017.

Uyar B., **Kutluk T.,** Uyar Ö. G. E., Kapucu N., Growth And Lipid Production Of Two Microalgae Strains In Pilot Scale (35 L) Panel Photobioreactors, *4th Internatıonal Conference on Computational and Experimental Science and Engineering*, Antalya, Turkey, 4-8 October 2017.

Altın N., **Kutluk T.,** Uyar B., Kapucu N., Investigation of Different Light Source On Growth and Lipit Production Mechanism for Various Microalgae Species, *4th Internatıonal Conference on Computational and Experimental Science and Engineering*, Antalya, Turkey, 4-8 October 2017.

Kutluk G. B., **Kutluk T.,** Kapucu N., Biolubricant Production From Waste Edible Oil Biodiesel Via Immobilized *Thermomyces Lanuginosus* Lipase Catalysis, *International Advanced Researches Engineering Congress*, Osmaniye,Turkey, 16-18 November 2017.

Oktor K., **Kutluk T.,** Kapucu N., Atıksu Yönetımıne Alternatıf Yaklasım: Mikroalg İle Arıtım, *2. Uluslararası Mühendıslıkmımarlık Ve Tasarım Kongresi*, Kocaeli,Turkey, 11-13 May 2017.

Kodal M., **Kutluk T.,** Özkoç G., Effects Of Green Mıcroalgae On The Non-Isothermal Crystallızatıon Kınetıcs Of Poly(Lactıc Acıd)(Pla), *V. Uluslararası Polimerik Kompozitler Sempozyumu,* İzmir, Turkey, 1-4 November 2017.

Çelık D., **Kutluk T.,**Oktor K., The Green Chemıstry Analysis Of Baker's Yeast Process Wastewater Treatment With Microalgae, *3rd Internatıonal Conference On Envıronmental Science And Technology*, Budapest, Hungary, 19-25 October 2017.

Altın N., Oktor K., **Kutluk T.,** Kapucu N., Işık Y., Baker's Yeast Wastewater Treatment Using Microalgae, 3 rd International Turkish World Conference on Chemical Sciences and Technologies, Bakü, Azerbaycan, 10-13 September 2017.

Altın N., **Kutluk T.,** Uyar B., Kapucu N., Effcet Of Different Parameters on Growth Of Microalgae Chorella Variabilis, *International Conference on Advence in science and Art*, Istanbul, Turkey, 29-31 March 2017.

Pekcan Z., **Kutluk T.,** Kapucu N., A General Overvıew On Enzymatıc Synthesıs Of Gluconıc Acıd, *Internatıonal Conference On Advances In Scıence And Arts*, Istanbul, Turkey, 29–31 March 2017.

Kutluk G.,B., **Kutluk T.,** Kapucu N., Alternatıve Approach To Waste Edıble Oil Management: Bıolubrıcant Productıon Vıa Green Processes, *Internatıonal Conference On Advances In Scıence And Arts*, Istanbul, Turkey, 29–31 March 2017.

Bora M.,Ö., Çoban O., **Kutluk T.,** Akagündüz E., Scratch Deformation Characteristics Of Calcium Carbonate Filled High Density Polyethylene Composites, *International Conference on Advances and Innovations in Engineering*, Elazığ, Turkey, 10-12 May 2017.

Çoban O., Bora M.,Ö., **Kutluk T.,** A Study On Thermal Behavior Of Volcanic Particle Filled High-Density Polyethylene, *International Conference on Advances and Innovations in Engineering*, Elazığ, Turkey, 10-12 May 2017.

Çoban O., Bora M.,Ö., **Kutluk T.,** Özkoç G., The Influence Of Volcanıc Partıcles On Mechanıcal Propertıes Of Poly (Lactıc Acıd)/Poly (Butylene Adıpate-Coterephthalate) Blends,*16th International Materials Symposium,* Denizli, Turkey,12-14 October 2016

Kutluk T., Uyar B., Kapucu N., Effect Of Nitrogen Restriction On Synthesis Of Microalge Oil *Chrolella Variabilis*, *10th international clean energy Symposium*, İstanbul, Turkey, 24-26 th October, 2016.

Kutluk T., Uyar B., Kapucu N., Synthesis Of Trimethylolpropane Ester From Waste Edible Oil FFAs, *10th international clean energy Symposium*, İstanbul, Turkey, 24-26 th October, 2016.

Kutluk T., Çoban O.,, Bora M.,Ö., Özkoç G., A Study On Thermal Propertıes Of Volcanıc Partıcle Fılled Poly(Lactıc Acıd)/Poly(Butylene Adıpate-Co-Terephthalate) Composıte, *16th International Materials Symposium,* Denizli, Turkey,12-14 October 2016.

Kutluk T., Kapucu N., Organic Solvent And Temperature Tollerance Of Lipase For FAME Synthesis, *International Black Sea Congress on Environmental Science* Giresun,Turkey, 31th August-3th September, 2016.

Guler F., Karasungur N., **Kutluk T.,** Uyar B., Kapucu N., A Study On Biocatalytic Hydrolysis Of Waste Edible Oil, *International Black Sea Congress on Environmental Science* Giresun,Turkey, 31th August-3th September, 2016.

Kutluk T., Kapucu N., Hydrolysis Of Microalgae Oil *Chlorella Protothecoides* Via Biocatalysis, *1st International Catalysis Congress*, Bursa, Turkey, 27-30 April 2016.

Kutluk T., Kapucu N., Which Catalyst Is Better For Biodiesel Production Process From Waste Edible Oil Enzyme Or Chemical? A Crosscheck, *1st International Conference on Green Chemistry and Sustainable Technologies*, İzmir, Turkey, 30th September-4 October 2015.

Kutluk T., Kapucu N., High Conversion Of Biodiesel From Microalgae Oil By Cross-Linked Lipase Aggregates, *1st International Conference on Green Chemistry and Sustainable Technologies*, İzmir, Turkey, 30 September-4 October 2015.

Kutluk T., Uyar B., Demir T., Kapucu N., Effect Of Light Intensity On The Growth Of *Chlorella Variabilis*, *7th Bioengineering Congress*, İzmir, Turkey 19-21 November 2015.

Kutluk T., Bora M.,Ö., Çoban O., Fidan S., Sınmazçelik T., Surface Modification Effect Of Volcanic Ash Particles Using Silane Coupling Agent On Mechanical Properties Of Polyphenylene Sulfide Composites, *5th International Advances in Applied Physics and Materials Science Congress & Exhibition*, Muğla, Turkey 16-19 April 2015.

Kutluk T., Çoban O., Bora M.,Ö., Fidan S., Sınmazçelik T., Effect of Silane as Coupling Agent on Dynamic Mechanical Properties of Volcanic Ash Filled PPS

Composites, 5th International Advances in Applied Physics and Materials Science Congress & Exhibition, Muğla, Turkey, 16-19 April 2015.

Kutluk T., Çoban O., Bora M.,Ö., Fidan S., Sınmazçelik T., Silane Coupling Efficiency On Thermal Properties Of Volcanic Ash Filled PPS Composites, *5th International Advances in Applied Physics and Materials Science Congress & Exhibition*, Muğla, Turkey 16-19 April 2015.

Kutluk T., Çoban O., Bora M.,Ö., Fidan S., Sınmazçelik T., Silane Coupling Agent Effect On Solid Particle Erosion Behavior Of Volcanic Ash Filled PPS Composites, *5th International Advances in Applied Physics and Materials Science Congress & Exhibition*, Muğla, Turkey, 16-19 April 2015.

Kutluk T., Kutluk G. B., Kapucu N., Production Of Biolubricants From Oleic Acid Via Enzymatic Process, *7th International Ege Energy Symposium and Exhibition*, Uşak, Turkey, 18-20 June 2014.

Kutluk T., Kutluk G. B., Kapucu N., Effects Of Different Solvent Types On The Production Of Fatty Acid Methyl Esters From Waste Edible Oil Via Enzymatic Process, *7th International Ege Energy Symposium and Exhibition*, Uşak, Turkey,18-20 June 2014.

Kutluk T., Gürkaya Kutluk B., Kapucu N., Examination Of Methanol Inhibition Effect On Biodiesel Production Via Enzymatic Processes From Waste Comestible Oil, *International "Enzymes for Biocatalysis" Workshop*, İstanbul, Turkey, 3-5 June 2014.

Kutluk T., Gürkaya Kutluk B., Kapucu N., Investigation Of Different Support Materials For Lipase Immobilization, International "Enzymes for Biocatalysis" Workshop, İstanbul, Turkey, 3-5 June 2014.

Kutluk T., Aydın G., Kapucu N., Examination Of Alcohol İnhibition Effect On Biocatalyst For Biodiesel Production From Microalgae Oil, "Enzymes for Biocatalysis" Workshop, İstanbul, Turkey, 3-5 June 2014

Kutluk T., Kutluk G. B., Akbin, H.M., Kapucu N., Survey Of Buffer Solution And Ph Effect On Immobilization Of Lipozyme TL 100L On Celite, *2nd international Conference on Environmental Science and Technology*, Antalya, Turkey, 14-17 May 2014.

Kutluk T., Kutluk G. B., Kapucu N., Effects Of Catalyst Loading And Reusability On Transesterfication Of Waste Sunflower Oil Using Immobilized Lipase *Thermomyces Lanuginosa*, *2nd international Conference on Environmental Science and Technology*, Antalya, Turkey, 14-17 May 2014.

Kutluk T., Kutluk G. B., Kapucu N., Bioterorism, *National Safety Congress*, Kocaeli, Turkey, 8-10 October 2013.

Kutluk T., Kutluk G. B., Kapucu N., Enzymatic Transesterification Of Algae Oil From *Chlorella Protothecoides*, *Advanced Meterials World Congress*, İzmir, Turkey, 16-19 September 2013.

Kutluk T., Kutluk G. B., Kapucu N., Immobilization Of *Thermomyces Lanigunosa* And *Candida Artartica* Lipases Onto Calcinated Eggshell, *Advanced Meterials World Congress,* İzmir,Turkey, 16-19 September 2013.

Kutluk T., Kutluk G. B., Uyar B., Kapucu N., Lipase Catalyzed Production Of Trimethylolpropane Esters, *The international Conference on Environmental Science and Technology*, Nevşehir, Turkye, 18-21 June 2013.

Kutluk T., Kutluk G. B., Uyar B., Kapucu N., Enzymatic Production Of Biodiesel From Waste Cooking Oil, *The international Conference on Environmental Science and Technology*, Nevşehir, Turkey, 18-21 June 2013.

Kutluk T., Kutluk G. B., Uyar B., Kapucu N., Çevre Dostu Polimerlerin Enzimatik Sentezi, *1. Uluslararası Plastik & Kauçuk Teknolojileri Sempozyumu ve Ürün Sergisi*, Ankara,Turkey, 29-31 Mayıs 2013.

Kutluk T., Kutluk G. B., Uyar B., Kapucu N., Doğal Polimer Kitosana Lipaz Tutuklama, *1. Uluslararası Plastik & Kauçuk Teknolojileri Sempozyumu ve Ürün Sergisi*, Ankara, Turkey, 29-31 Mayıs 2013.

Kutluk T., Kutluk G. B., Uyar B., Kapucu N., *Biodiesel Production by Immobilized Lipase From Vegetable Waste Oil*, *19th International Energy Environment Fair and Conference*, İstanbul, Turkey, 24-26 Nisan 2013.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

Kutluk T., Kapucu N., Trioleinin Lipaz Katalizli Transesterleşme İle Biyodizel Üretim Prosesinin Aspen 7.2 Versiyon Program İle Simulasyonu, 13.Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, Van, Türkiye, 3-6 Eylül 2018.

Kutluk T., İlgen O., Biyodizel İçeriğinin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi İle Belirlenmesi,*12.Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi*, İzmir, Türkiye, 23-26 Ağustos 2016.

Karasungur N., Guler F., **Kutluk T.,** Uyar B., Kapucu N., Atık Yagdan Lipaz Katalizli Yağ Asitleri Sentezi,*12.Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi*, İzmir,Türkiye,23-26 Ağustos 2016.

Kutluk T., Aydın G., Kapucu N., Organik Çözücülerin Mikroalg Yağından Lipaz Katalizli Transesterleşme Tepkimeuna Etkilerinin İncelenmesi, *18. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi*, Konya,Türkiye, 18-19 Aralık 2015.

Kutluk T., Kapucu N, *Chlorella Protothecoides* Mikroalg Yağı Enzimatik Hidrolizi, *18. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi*, Konya, Türkiye, 18-19 Aralık 2015.

Kutluk T., Kalkan E.,M., Kapucu N.,Deniz V., Biyodizel Ne Kadar Yeşil ? *Yabited 2. Bitkisel Yağ Kongresi*, Tekirdağ, Türkiye, 7-9 Mayıs 2015.

Kutluk T., Kapucu N., Bitmek Bilmeyen Tartışma; Atık Kızarma Yağları Ve Biyodizel,*Yabited 2. Bitkisel Yağ Kongresi*, Tekirdağ, Türkiye, 7-9 Mayıs 2015.

Boran K., Aşıcı M., **Kutluk T.,**Kapucu N., Glutaraldehit İle Lipazların Çapraz Bağlanmasına Ph Etkisi, *Bitirme Tezi Kimya Öğrenci Kongresi,*İstanbul , Türkiye, 20-22 Ağustos 2014.

Boran K., Aşıcı M., **Kutluk T.,**Kapucu N., *Chlorella Protothecoides*Alg Yağından Biyodizel Üretimi İçin Çapraz Bağlanmış *Thermomyces Lanuginosus* Lipazı

Kullanımı, *Uluslar arası Enerji ve Güvenlik Kongresi*, Kocaeli, Türkiye, 23-24 Eylül 2014.

Boran K., Aşıcı M., **Kutluk T.,**Kapucu N., Alg Yağından Yağ Asidi Metil Esterlerinin (YAME) Biyokatalitik Üretimi, *Uluslar arası Enerji ve Güvenlik Kongresi,* Kocaeli, Türkiye, 23-24 Eylül 2014.

Kutluk T., İlgen O., Biyodizel İçeriğinin Kırılma İndisi İle Belirlenmesi *11. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi*, Eskişehir, Türkiye, 2-5 Eylül 2014.

Kutluk T., Kutluk G. B., Kapucu N., Lipaz Katalizörlü Biyodizel Üretimi İçin Farklı Nesil Yağların Karşılaştırılması, *11. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi*, Eskişehir, Türkiye, 2-5 Eylül 2014.

Kutluk T., Aydın G., Kapucu N., Tutuklanmış Lipazlarla Mikroalg Yağından Biyodizel Üretimi, *11. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi*, Eskişehir, Türkiye, 2-5 Eylül 2014.

Kutluk T., Aydın G., Kapucu N., *Thermomyces Lanuginosus* Lipazının Çapraz Bağlanmasında Tutuklama Ph'ının Etkisi, *11. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi,* Eskişehir, Türkiye, 2-5 Eylül 2014.

Kutluk T., Aydın G., Kapucu N., Investigation Of Perlite As A Support Material For Enzyme İmmobilization*5. Ulusal Kataliz Kongresi,* Adana, Türkiye, 23-26 Nisan 2014.

Kutluk T., Kutluk G. B., Kapucu N., Lipase Catalyzed Production Of Green Products From Renewable Resources, *5. Ulusal Kataliz Kongresi,*Adana, Türkiye, 23-26 Nisan 2014.

Kutluk T., Kutluk G. B., Kapucu N., Enzim Biyoreseptörler, *Biyo&Nano Teknoloji Kongresi*, İstanbul, Türkiye, 1-3 Ekim 2013.

Kutluk T., Kutluk G. B., Uyar B., Kapucu N., Oleyik Asit Polyol Esterlerin Biyokatalitik Üretimi, *10. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi*, İstanbul, Türkiye, 3-6 Eylül 2012.

ÖZGEÇMİŞ

Togayhan Kutluk, 29 Mart 1983 yılında İstanbul Şişli'de dünyaya gelmiştir. İlkokulu, Donanma İlkokulu'nda 1994 yılında tamamlamıştır. Orta öğrenimini Özel Seymen İlköğretim Okulu'nda 1998'de tamamlamıştır. Lise öğrenimini 2001 yılında Beşiktaş Lisesi'nde tamamladıktan sonraLisans derecesini 2009'da Kocaeli Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nden, Yüksek Lisans derecesini 2013'de Kocaeli Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nden almıştır. Askerlik hizmetini 331. kısa dönem olarak Kırklareli 55. Mekanize Piyade Tugayı Topçu Taburu 3. Batarya'da çavuş rütbesi ile 24 Mayıs 2010 tarihinde tamamlamıştır. 2010-2011 yılları arasında Prista Oil Madeni Yağlar Tic.A.Ş.'de Kalite Kontrol Mühendisi olarak çalışmıştır.15 Ocak 2012 tarihinden bugüne kadar Kocaeli Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya devam etmektedir. Temel çalışma alanları: biyoteknoloji, yenilenebilir enerji teknolojileri, enzimatik biyodizel üretim prosesleri, enzim tutuklama ve mikroalglerdir. Togayhan Kutluk, Bahar Gürkaya Kutluk ile evlidir ve Togay Atlas Kutluk isimli bir erkek çocuk sahibidir.