

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

***CHLORELLA VARIABILIS* TÜRÜ MİKROALGIN BÜYÜMESİNE VE  
YAĞ İÇERİĞİNE ETKİ EDEN PARAMETRELERİN BELİRLENMESİ**

**NECLA ALTIN**

**KOCAELİ 2017**

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ




*CHLORELLA VARIABILIS* TÜRÜ MİKROALGIN BÜYÜMESİNE VE  
YAĞ İÇERİĞİNE ETKİ EDEN PARAMETRELERİN BELİRLENMESİ

NECLA ALTIN

Doç. Dr. Başar UYAR  
Danışman, Kocaeli Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Nurcan KAPUCU  
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniversitesi

Doç. Dr. Didem SALOĞLU DERTLİ  
Jüri Üyesi, Yalova Üniversitesi

  
.....  
  
.....  
  
.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 29.12.2017

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimimin sonuna gelmiş bulunuyorum. Öncelikle öğrenimim süresince bana ilgisini ve desteğini hiç esirgemeyen, büyük bir sabır ve titizlikle bilgi ve tecrübelerini aktararak gelişmemi sağlayan, inandığım ve güvendiğim değerli danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Başar UYAR'a, tez çalışmam boyunca ilgisini ve yardımlarını benden asla esirgemeyen, laboratuvar birikimlerinden ve deneyimlerinden yararlandığım bu zorlu süreçte yeri geldiğinde hocam, yeri geldiğinde çok yorulduğum zamanlarda beni ayağa kaldırıp destek olup bana bir abi olan Araştırma Görevlisi Togayhan KUTLUK'a, bu süreçte benden desteğini esirgemeyen, motivasyonumu her zaman yüksek tutmaya çalışan, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan sevgili ablam Bahar KUTLUK'a, diğer branşlarda eğitimimde bana yardımcı olan bütün hocalarıma, bu sürece beraber başladığım her zaman benimle birlikte olup bana destek olan sevgili arkadaşlarım Zeynep PEKCAN ve Elif ŞAN'a ve ismini sayamadığım bütün herkese çok teşekkür ederim. Ayrıca, tez çalışmam esnasında benimle birlikte olup cesaret veren, bana inanıp maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, asla beni yalnız bırakmayan hayatımdaki en değerli varlığım ailem; annem, babam ve ablama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kasım -2017

Necla ALTIN

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ÖZET .....	ix
ABSTRACT .....	x
GİRİŞ.....	1
1. GENEL BİLGİLER .....	3
1.1. Mikroalgler.....	3
1.2. Mikroalglerin Büyümesine Etki Eden Faktörler .....	6
1.2.1. Sıcaklık.....	6
1.2.2. pH.....	7
1.2.3. Karbondioksit.....	8
1.2.4. Işık.....	8
1.2.5. Karıştırma .....	10
1.2.6. Besin maddesi.....	10
1.2.7. Tuzluluk .....	12
1.2.8. Biyolojik faktörler .....	12
1.3. Üretim Sistemleri .....	12
1.3.1. Fotobiyoreaktörler.....	12
1.3.2. Açık kültür sistemleri.....	13
1.3.3. Kapalı kültür sistemleri.....	14
1.3.4. Borusal fotobiyoreaktörler .....	16
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	17
3. MATERYAL .....	27
3.1. Kültüre Alınan Mikroalg Türü .....	27
3.2. Kültür Ortamı .....	28
3.3. Deney Düzenegi (Metot).....	29
3.4. Cihazlar .....	29
4. YÖNTEM .....	31
4.1. Azot Konsantrasyonunun Etkisi .....	31
4.2. Demir Konsantrasyonunun Etkisi.....	32
4.3. Potasyum Di Hidrojen Fosfat (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) Konsantrasyonunun Etkisi .....	32
4.4. Farklı Azot Kaynağı ve Konsantrasyonlarının Etkisi.....	33
4.5. Fotobiyoreaktör Yükseklik/Çap Oranının Etkisi .....	34
5. YAPILAN ANALİZLER .....	35
5.1. Optik Yoğunluk Ölçümü.....	35
5.2. pH Ölçümü .....	35
5.3. Sıcaklık Ölçümü .....	35
5.4. Hasat.....	36
5.5. Kurutma .....	36
5.6. Yağ Miktarının Hesaplanması (Lipit Analizi) .....	37
5.7. Yağ Asidi Bileşimi.....	37
5.8. Büyüme Hızı ve İkiye Katlanma Süresi Hesaplanması .....	38
6. BULGULAR .....	39

6.1. Farklı Azot Konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> Türü Mikroalgin Büyüme ve Yağ İçeriğine Etkisi .....	39
6.2. Farklı Demir Konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> Türü Mikroalgin Büyüme ve Yağ İçeriğine Etkisi .....	43
6.3. Farklı Potasyum Dihidrojen Fosfat Konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> Türü Mikroalgin Büyüme ve Yağ İçeriğine Etkisi .....	46
6.4. Farklı Konsantrasyonlardaki Farklı Azot Kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> Türü Mikroalgin Büyüme ve Yağ İçeriğine Etkisi .....	50
6.5. Fotobiyoreaktör Yükseklik/Çap Oranının <i>Chlorella variabilis</i> Türü Mikroalgin Büyüme ve Yağ İçeriğine Etkisi .....	63
6.6. Yağ Asidi Bileşimi .....	67
7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	69
KAYNAKLAR .....	72
EKLER .....	79
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER .....	90
ÖZGEÇMİŞ .....	91



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	1.1.	Bazı mikroalg türlerinin yapısındaki bileşenlerin yüzdelik oranları.....	6
Şekil	1.2.	Yaygın olarak kullanılan mikroalg türlerinin sıcaklık toleransları .....	7
Şekil	1.3.	Bazı mikroalg kültürlerinde kullanılan fotoperiyot zamanları ve ışık şiddetleri.....	9
Şekil	1.4.	Mikroalgler için yaygın kullanılan sentetik besin ortamları .....	12
Şekil	1.5.	Açık kültür sistemleri .....	14
Şekil	1.6.	Açık kültür sistemleri (a-b) .....	14
Şekil	1.7.	Kapalı kültür sistemleri (a-b).....	15
Şekil	1.8.	Dikey konumlu borsal fotobiyoreaktör .....	16
Şekil	1.9.	Yatay konumlu borsal fotobiyoreaktör .....	16
Şekil	2.1.	Farklı sıcaklıklarda <i>S. platensis</i> 'in büyüme oranı.....	19
Şekil	2.2.	(a-b) Nitrat (a) ve fosfat (b) konsantrasyonlarının protein üretimine etkisi.....	19
Şekil	2.3.	Farklı nitrat konsantrasyonlarının pH 7'deki hücre sayısına etkisi.....	20
Şekil	3.1.	<i>Chlorella variabilis</i> .....	27
Şekil	3.2.	Deneysel çalışmada kullanılan ekipmanlar (a) Jenway 6800 UV-VIS spektrofotometre, (b) Mettler Toledo Seven Easy S20-K pH metre cihazı, (c) Hermle Z 446 santrifüj cihazı, (d) Mikropipetler, (e) New Brunswick Scientific Innova 40 R orbital çalkalamalı inkibatör (f) Hassas terazi .....	30
Şekil	5.1.	Jenway 6800 UV-VIS spektrofotometre .....	35
Şekil	5.2.	Mettler Toledo Easy S-20K pH metre cihazı.....	35
Şekil	5.3.	Hermle Z 446 santrifüj cihazı.....	36
Şekil	5.4.	<i>Chlorella variabilis</i> kültürüne kurutma işlemi.....	36
Şekil	5.5.	Yağ analizi için çözücü eklenmiş alglerin süzülmesi .....	37
Şekil	6.1.	Farklı azot konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (1.set).....	40
Şekil	6.2.	Farklı azot konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (2.set).....	40
Şekil	6.3.	Farklı azot konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> kültür ortamı pH'ına etkisi (1.set) .....	42
Şekil	6.4.	Farklı azot konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> kültür ortamı pH'ına etkisi (2.set) .....	42
Şekil	6.5.	Farklı demir konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (1.set).....	43
Şekil	6.6.	Farklı demir konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (2.set).....	44

Şekil	6.7.	Farklı demir konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> kültür ortamı pH'ına etkisi (1.set) .....	45
Şekil	6.8.	Farklı demir konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> kültür ortamı pH'ına etkisi (2.set) .....	46
Şekil	6.9.	Farklı potasyum dihidrojen fosfat konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (1.set).....	47
Şekil	6.10.	Farklı potasyum dihidrojen fosfat konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (2.set).....	47
Şekil	6.11.	Farklı potasyum dihidrojen fosfat konsantrasyonlarının kültür ortamı pH'ına etkisi (1.set) .....	49
Şekil	6.12.	Farklı potasyum dihidrojen fosfat konsantrasyonlarının kültür ortamı pH'ına etkisi (2.set) .....	49
Şekil	6.13.	%25 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (1.set).....	51
Şekil	6.14.	%25 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (2.set).....	51
Şekil	6.15.	%25 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (1.set) .....	53
Şekil	6.16.	%25 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (2.set) .....	53
Şekil	6.17.	%50 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (1.set).....	54
Şekil	6.18.	%50 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (2.set).....	54
Şekil	6.19.	%50 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (1.set) .....	56
Şekil	6.20.	%50 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (2.set) .....	56
Şekil	6.21.	%75 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (1.set).....	57
Şekil	6.22.	%75 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (2.set).....	57
Şekil	6.23.	%75 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (1.set) .....	59
Şekil	6.24.	%75 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (2.set) .....	59
Şekil	6.25.	%100 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (1.set).....	60
Şekil	6.26.	%100 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (2.set).....	60
Şekil	6.27.	%100 N konsantrasyonu kullanımında N kaynağının ortam pH'ına etkisi (1.set) .....	62
Şekil	6.28.	%100 N konsantrasyonu kullanımında N kaynağının ortam pH'ına etkisi (2.set) .....	62
Şekil	6.29.	Fotobiyoreaktör yükseklik/çap oranının etkisinin deney düzeneği.....	63

Şekil	6.30. Fotobiyoreaktör L/D oranının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (1.set).....	64
Şekil	6.31. Fotobiyoreaktör L/D oranının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi üzerine etkileri (2.set).....	64
Şekil	6.32. Fotobiyoreaktör yüksek/çap oranının ortam pH'ına etkisi (1.set) .....	66
Şekil	6.33. Fotobiyoreaktör yüksek/çap oranının ortam pH'ına etkisi (2.set) .....	66





## TABLolar DİZİNİ

Tablo	1.1.	Açık ve kapalı algal sistemlerin avantajları ve dezavantajları .....	15
Tablo	2.1.	<i>Ellipsoidion sp.</i> 'de azot kaynağının spesifik büyüme hızı ve toplam lipit içeriğine etkisi. ....	18
Tablo	2.2.	Türlere ait biyokütle miktarlarının karşılaştırılması.....	23
Tablo	2.3.	Türlere ait lipit miktarlarının karşılaştırılması .....	23
Tablo	3.1.	<i>Chlorella variabilis</i> 'in sistemattteki yeri .....	27
Tablo	3.2.	BG11 besi ortamı (1000 ml için).....	28
Tablo	4.1.	N miktarlarının g cinsinden değerleri .....	31
Tablo	4.2.	Fe miktarlarının g cinsinden değerleri .....	32
Tablo	4.3.	Kullanılan azot kaynaklarının miktarları .....	33
Tablo	6.1.	Farklı azot konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesine ve yağ içeriklerine etkisi .....	41
Tablo	6.2.	Farklı demir konsantrasyonlarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyüme hızına ve yağ içeriklerine etkisi .....	45
Tablo	6.3.	Farklı konsantrasyonlarda potasyum dihidrojen fosfat stres koşullarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesine ve yağ içeriğine etkisi .....	48
Tablo	6.4.	%25 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi.....	52
Tablo	6.5.	%50 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi.....	55
Tablo	6.6.	%75 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi.....	58
Tablo	6.7.	%100 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının <i>Chlorella variabilis</i> 'in büyümesi ve yağ içeriği üzerine etkileri .....	61
Tablo	6.8.	Fotobiyoreaktör yükseklik/çap oranının <i>Chlorella variabilis</i> türü mikroalgin büyüme ve yağ içeriğine etkisi .....	65
Tablo	6.9.	N kaynağı olarak %100 konsantrasyona sahip NH <sub>4</sub> Cl kullanılan kültür ortamındaki <i>Chlorella variabilis</i> türü mikroalgin yağ asidi bileşimi.....	67
Tablo	6.10.	N kaynağı olarak %100 konsantrasyona sahip NaNO <sub>3</sub> kullanılan kültür ortamındaki <i>Chlorella variabilis</i> türü mikroalgin yağ asidi bileşimi.....	67
Tablo	6.11.	N kaynağı olarak %25 konsantrasyona sahip NH <sub>4</sub> Cl kullanılan kültür ortamındaki <i>Chlorella variabilis</i> türü mikroalgin yağ asidi bileşimi.....	67
Tablo	6.12.	N kaynağı olarak %100 konsantrasyona sahip CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O kullanılan kültür ortamındaki <i>Chlorella variabilis</i> türü mikroalgin yağ asidi bileşimi.....	67
Tablo	6.13.	N kaynağı olarak %25 konsantrasyona sahip CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O kullanılan kültür ortamındaki <i>Chlorella variabilis</i> türü mikroalgin yağ asidi bileşimi.....	68
Tablo	6.14.	%50 konsantrasyona sahip Fe kullanılan kültür ortamındaki <i>Chlorella variabilis</i> türü mikroalgin yağ asidi bileşimi .....	68

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$((\text{NH}_2)_2\text{CO-N})$	: Üre
$(\text{NH}_4\text{NO}_3)$	: Amonyum nitrat
$^{\circ}\text{C}$	: Sıcaklık (Celcius)
BG-11	: Blue Green besin ortamı
C	: Karbon
$\text{CO}_2$	: Karbondioksit
D	: Biyoreaktör çapı
Fe	: Demir
$\text{KNO}_3$	: Potasyum Nitrat
L	: Biyoreaktör yüksekliği
M	: Molar
mM	: Milimolar
N	: Azot
NaCl	: Sodyum Klorür
$\text{NaNO}_3$	: Sodyum Nitrat
$\text{NH}_4\text{Cl}$	: Amonyum Klorür
$\text{NO}_2$	: Nitrit
P	: Fosfor
$P_{\text{max}}$	: Verimlilik
$X_{\text{max}}$	: Maksimum hücre konsantrasyonu

## **CHLORELLA VARIABILIS TÜRÜ MİKROALGIN BÜYÜMESİNE VE YAĞ İÇERİĞİNE ETKİ EDEN PARAMETRELERİN BELİRLENMESİ**

### **ÖZET**

Bu çalışmada *Chlorella variabilis* türü mikro algin büyümesine ve yağ içeriğine etkisini incelemek amacıyla, farklı azot konsantrasyonları, farklı demir konsantrasyonları, farklı azot kaynakları, farklı potasyum dihidrojen fosfat konsantrasyonları ve fotobiyoreaktörün yükseklik/çap oranının etkisi laboratuvar koşullarında çalışılmıştır. Farklı N konsantrasyonları ile yapılan çalışmalarda en iyi sonuçlara %25 N sınırlaması olan örnekte ulaşılmıştır. Bu koşullar altında maksimum hücre konsantrasyonu  $X_{max}=0,66$  g/L ve yağ oranı %25,6 olarak hesaplanmıştır. Farklı demir konsantrasyonları ile yapılan çalışmada BG-11 besin ortamındaki demir kaynağının konsantrasyonu kadar demir içeren örnekte en iyi büyümenin gerçekleştiği belirlenmiştir. Maksimum spesifik büyüme hızı  $\mu_{max}=0,042$  saat<sup>-1</sup> ve maksimum hücre konsantrasyonu  $X_{max}=0,23$  g/L olarak bulunmuştur. Farklı potasyum dihidrojen fosfat konsantrasyonları ile yapılan çalışmada 0,005 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> içeren örnekte %12,3 ile en yüksek yağ oranına ulaşılmıştır. 0,1431 g/L<sup>-1</sup> ile en yüksek biyokütle miktarı da 0,005 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> içeren örnekte bulunmuştur. Farklı N kaynakları ve konsantrasyonları ile yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, *Chlorella variabilis* türü mikroalg için inorganik azot kaynaklarından NO<sub>3</sub>-N ve NH<sub>4</sub>-N ile büyüme ve biyokimyasal yapısı açısından benzer sonuçlar elde edilmiştir. CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O'nin ise bu tür için uygun bir N kaynağı olmadığı düşünülmektedir. Fotobiyoreaktörün yükseklik/çap oranının etkisinin incelendiği çalışmalarda en yüksek biyokütle miktarına 1,021 g/L<sup>-1</sup> ve %21,10 ile en yüksek yağ oranına L/D=3 olan biyoreaktörde ulaşılmıştır. Fotobiyoreaktörün yükseklik/çap oranının artmasıyla biyokütle miktarının da yaklaşık olarak 2 kat arttığı belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Chlorella variabilis*, Lipit içeriği, Mikroalg, N stresi.

## DETERMINATION OF PARAMETERS THAT AFFECT GROWTH AND OIL CONTENT OF MICROALGAE *CHLORELLA VARIABILIS*

### ABSTRACT

In this study, different nitrogen concentrations, different nitrogen types, different concentrations of potassium dihydrogen phosphate and height / diameter ratio of photobioreactor were studied in laboratory conditions in order to investigate their effect on the growth and fat content of *Chlorella variabilis*. In studies with different concentrations of N, the best results were achieved under 25% N limitation. Under these condition, the maximum cell concentration was calculated as  $X_{\max} = 0,66 \text{ g / L}$  and the fat ratio was 25.,6%. In studies conducted with different iron concentrations, it was determined that the best growth was achieved in the sample that contained as much iron as the original BG-11 nutrient medium suggested. The maximum specific growth rate was found to be  $\mu_{\max} = 0,042 \text{ hr}^{-1}$  and the maximum cell concentration was  $X_{\max} = 0,23 \text{ g / L}$ . In the study with different concentrations of potassium dihydrogen phosphate, the highest fat percentage of 12,3% was reached in the sample containing 0,005 g / L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . The highest biomass was found to be 0,1431 g / L<sup>-1</sup> in the sample containing 0,005 g / L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . When studies with different N sources and concentrations were evaluated, similar results were obtained with  $\text{NO}_3^-$ -N and  $\text{NH}_4$ -N, however  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$  is not considered to be a suitable N source for this microalgae species. In studies investigating the effect of height / diameter ratio of the photobioreactor, the highest biomass (1,021 g / L) and the highest oil ratio (21,10%) was reached when  $H / D = 3$ . It has been determined that the biomass quantity increased approximately twice as the height / diameter ratio of the photobioreactor increased.

**Keywords:** *Chlorella variabilis*, Lipit Content, Microalgae, N stress.

## GİRİŞ

Petrol kaynaklı yakıtların, enerji kaynağı olarak kullanılması çevreyi olumsuz yönde etkilemektedir, bunun yanında petrol bazlı kaynakların artan enerji talebini önümüzdeki yüzyıllarda karşılayamayacağı öngörülmektedir. Bu yüzden hayvansal, bitkisel ve atık yağlardan üretilen biyodizel çalışmaları hız kazanmıştır. Ancak bu yağların şu anki miktarları biyodizel taleplerini karşılamakta yetersiz kalır. Bu nedenle bilim adamları alternatif ve yenilenebilir enerji arayışlarına hız vermektedirler. Bu kaynaklardan bir tanesi de, yaşayan ya da yakın zamanda yaşamış organik maddelerden yakıt elde edilmesi ya da diğer endüstriyel amaçlarla kullanılması olarak tanımlanan biyokütle enerjisidir. Biyokütle enerji çeşitleri olarak biyodizel, biyoyakıt (biyoenerji) biyoetanol, biyometanol (biyogaz), biyohidrojen sayılabilir.

Son yıllarda mikroalglerden biyokütle eldesi önem kazanmıştır. Mikroalglerin hammadde olarak seçilmesinin birçok sebebi vardır. Hızlı büyüyüp kolay üretilmesi, yüksek yağ içeriğine sahip olmaları, tarımsal bitkiler gibi endüstriler arasında rekabete girmemesi, çeşitli çevre koşullarına kolay adapte olmaları bu sebepler arasında sayılabilir. Dünyada algal biyodizel üretimi alanında özellikle Avrupa ülkeleri arasında rekabet olup çok yüksek miktarlarda yatırımlar yapılmaktadır. Ülkemizde de bu alanda çalışmalar başlamış ve sanayi üniversite işbirlikleriyle devam etmektedir. Araştırmacılar tarım alanları ve su kaynakları üzerinde daha az baskı yaratan, daha verimli ve daha gelişime açık bir yöntem olan mikroalgler üzerine yoğunlaşmaya başlamıştır. Alternatif bir enerji kaynağı olarak gündeme gelmesinden çok daha önce mikroalglerin enerji kaynağı olarak kullanılması birçok araştırmacı tarafından yıllardır önerilmektedir (Thomsen, 2010).

1970'li yıllarda değişik enerji kaynakları arayışı ile birlikte güneş enerjisi, dünyanın ilgisini üzerinde toplamıştır. Algler, güneş enerjisini en etkin kullanan canlılardır ve bu nedenle de farklı mikroalg türlerinde yeni bileşenlerin keşfedilmesi amacıyla mikroalg üretim teknolojisine ilgi giderek artmaktadır.

Son yıllarda, tek hücreli alglerden elde edilen yağ ve yağ asidi ürünleri oldukça dikkat çekmiştir. İlk olarak Solar Enerji Araştırma Enstitüsü biyoyakıt olarak algal yağların kullanımı üzerinde durmuştur (Neenan ve diğ., 1986).

Son zamanlarda artan petrol fiyatları ve fosil yakıtların kademeli olarak tükenmesi nedeniyle mikroalgal yakıt üretimi büyük ilgi görmektedir. Enerji kaynağı olarak yenilenebilir, toksik olmayan, biyodizel yakıt kaynağı mikroalglerden yararlanma olanakları konusunda çalışmalar sürdürülmektedir. Bu amaçla yağ içeriği ve büyüme hızı yüksek mikroalg türlerinin belirlenmesi çalışmalarının yanında, hücre içinde mevcut yağ içeriğinin artırılmasını uyaran stres koşullarının belirlenmesi araştırmaları pek çok ülkede sürdürülmektedir (Converti ve diğ., 2009; Damiani ve diğ., 2010, Uslu ve diğ., 2011).

Son on yılda alternatif yeni yakıt kaynakları bulmak için yoğun araştırmalar yapılmıştır. Biyokütleden elde edilen yenilenebilir enerji kaynağı olarak biyodizel en iyi adaydır (Ahn ve diğ., 2012; Tran ve diğ., 2012). Biyodizel halen hayvansal yağlar, bitkisel yağlar, ayçiçeği yağı, hurma yağı, kolza tohumu yağı ve atık yağlardan üretilebilir (Ahn ve diğ., 2012; Tran ve diğ., 2012). Fakat biyodizel üretimine arz edilenden daha fazla talep olduğundan, alternatif biyokütle kaynakları gerekmektedir. Mikroalgler biyodizel üretimi için en değerli alternatif hammadde kaynağıdır.

Algal lipitlerin gelecek için umut verici uygulamaları her zaman düşünülmelidir. Gelecekte bazı alg türleri yenilenebilir enerji kaynağı olarak kullanılacaklardır. Mikroalglerden yakıt eldesi yeni bir fikir olmamakla birlikte, son yıllarda artan petrol fiyatları, küresel ısınmanın nedenlerinden biri olan yakıtlardan çıkan gazların zarar verici özellikleri ve su sıkıntısı konuya ilgiyi giderek arttırmıştır. Biyodizel kanıtlanmış bir yakıttır. Elli yıldan daha fazladır biyodizel kullanımı ve üretim teknolojisi bilinmektedir. Yeni bir kaynak olarak düşünülen mikroalgler, tek başına biyodizel için kullanılabilir (Chisti, 2007).

Bu tez çalışmasında *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesine ve yağ içeriğine etki eden farklı azot konsantrasyonlarının, farklı demir konsantrasyonlarının, farklı azot kaynaklarının, fotobiyoreaktör yükseklik/çap oranının ve farklı konsantrasyonlardaki potasyum dihidrojen fosfatın etkisi laboratuvar koşullarında çalışılmış ve elde edilen sonuçlar literatür ile karşılaştırılmıştır.

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Mikroalgler

Algler çok uzun yıllardan beri farklı alanlarda kullanılmakta olup; hücrelerinde biriktirdikleri protein, vitamin, yağ asitleri, karbonhidrat, mineral ve pigment, hidrokarbon, polisakkarit, antibiyotik ve daha birçok metabolitleri nedeniyle insanlar tarafından başlıca besin desteği olmak üzere değişik amaçlarla kullanılmaktadırlar. Bu nedenle II. Dünya savaşından bu yana Amerika Birleşik Devletleri, Japonya, İngiltere, Almanya ve Norveç gibi gelişmiş ülkelerde mikroalglerin besinsel zenginliklerinden yararlanılmaktadır (Becker, 1994).

Mikroalglerden yararlanmak için insanoğlu 100 yılı aşkın bir süredir araştırmalar yapmaktadır. Alg kültürleriyle ilgili ilk çalışmalarda hedeflenen esas amaç, tek hücre proteinini elde etmektir. İlk olarak 1890 yılında Beijerinck *Chlorella vulgaris*'in agar üzerinde kolonilerini elde etmiş ve kültürünü yapmıştır. O yıllarda alg kültürleriyle tek hücre protein üretiminin dünyadaki protein açığını kapatacak büyük bir alternatif olduğuna inanılıyordu. Dolayısıyla konuya sadece bu açıdan yaklaşmış olması sebebiyle, çalışmalar belli bir noktaya kadar gelmiş ve arzu edilen sonuçlar elde edilemeyince hayal kırıklığına uğranmıştır (Gökpınar, 1991). 1919 yılında Otto Warburg, *Chlorella* kültürü üzerindeki araştırmaları daha da geliştirmiştir. 1940-1950 yıllarında Almanya ve Japonya'daki daha sonra ise ABD'deki araştırmacılar fototrofik mikroalglerin üretiminde temel kültür özelliklerini çalışmışlardır. Böylelikle, alg kültürlerinin sahip olduğu pek çok avantajının (yüksek fotosentetik verim, yıl boyunca işlem yapma olanağı, yüksek bitkisel protein içeriği vs.) olduğu tespit edilmiştir. (Gökpınar, 1991). Halen bir çok mikroalg türünün kimyasal kompozisyonları ve metabolizmaları üzerindeki çalışmalar devam etmektedir.

Mikroalgler karbondioksit ve güneş ışığını kullanarak yağ üretebilmeleri, bununla birlikte saatler içerisinde bölünerek çoğalabilmeleri ve yıl boyunca üretilebilmeleri sebebiyle kara bitkilerinden daha fazla ürün verimliliğine sahip organizmalardır. Bu fotosentetik canlılar fotosentez sonucu ortama oksijen vermektedirler. Olumsuz çevre koşullarına karşı metabolizmalarında değişiklikler yapabilmektedirler.

Chlorophyceae sınıfına ait *Chlorella* ve *Neochloris* türlerinin besin eksikliği olan ortamda kültüre alınmaları ile kuru hücre ağırlıklarında yağ oranlarını %60'a çıkardıkları belirlenmiştir (Siaut ve diğ., 2007).

Çevresel koşullar ile birlikte kültür ortamında kullanılan besleyici elementler ve konsantrasyonları mikroalg büyüme ve biyokimyasal yapı üzerinde değişikliklere neden olabilmektedir. (Brown ve diğ., 1993). Azot kaynağı ve farklı konsantrasyonlarının mikroalglerin büyüme ve biyokimyasal yapıları üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (Gökpınar,1991; Valenzuela-Espinoza ve diğ., 1999; Xu ve diğ., 2001).

Algal biyoteknolojideki gelişmelere karşın mikroalg türlerinin kültürlerinde çeşitli güçlüklerle karşılaşmaktadır. Mikroalg kültürlerinde canlı kütlenin biyokimyasal kompozisyonu, çevresel faktörler, besi ortamı, sıcaklık, tuzluluk, pH ve ışık gibi büyüme koşullarına bağlıdır (Sukenik, 1991).

Mikroalgler organik madde sentezini gerçekleştirmek için Karbon (C), Azot (N) ve Fosfor (P) gibi temel elementlere gereksinim duyarlar (Davis, 1977). Azot, enzim ve proteinlerin yapıtaşı olduğu için, yağ asitleri sentezi, algal hücrelerin protein fonksiyonları ve yapılaşmasında gereklidir. Azot kaynakları ve konsantrasyonları, alg kültürlerinde büyümeyi ve biyokimyasal kompozisyonu etkilemektedir. Azot atomu karbonhidratlar ve yağlar üzerinde etkilidir. Bunun yanı sıra N sınırlaması hücrenel yağ asitleri ve hücrenel büyüme ile ilişkili olduğundan, yağ asitleri bakımından zenginleştirmede N sınırlaması etkilidir (Shifrin ve Chisholm, 1981; Sukenik ve diğ., 1989). Mikroalg kültürlerinde hücreler tarafından kullanılabilen en önemli azot kaynakları nitrat azotu, amonyum azotu ve üre azotudur (Gökpınar,1991; Levasseur ve diğ., 1993; Grobbelaar, 2000).

Mikroalgal kütleden yağ eldesi konusunda dünyanın pek çok ülkesinde çalışmalar gizlilikle devam etmektedir. Yağ içeriği yüksek tür arayışının yanı sıra mevcut türler içerisinde yağ içeriğinin artırılması olanakları da araştırılmaktadır. Mikroalgal hücrelerin üretiminde hasat işlemi, kültürünün nispeten maliyetli olması gibi sorunlar ile birlikte kara bitkilerinden avantajlarının fazla olmasından dolayı ve hepsinden önemlisi suyu en verimli kullanan sistemler olmaları nedeniyle araştırmacıların konuya ilgisini giderek arttırmaktadır (Chisti, 1980-1981; Nagle ve Lemke., 1990; Sawayama ve diğ., 1995).



Converti ve diğ. 2009 yılında yaptıkları çalışmada biyodizel üretimi için *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella vulgaris*'in sıcaklık ve azot konsantrasyonlarının büyüme ve lipit içeriğine etkisini incelemişler ve sıcaklığın 20°C'den 25 °C'ye çıkarılmasıyla *Nannochloropsis oculata* türünde lipit içeriğinin iki katına çıktığını belirtmişlerdir.

Azot kaynağı ve düzeylerinin, algal kültürlerde büyüme ve biyokimyasal kompozisyonu etkileyen en önemli faktörlerden biri olduğu bilinmektedir (Xu ve diğ., 2001). Azot sınırlaması ile büyüyen bir çok mikroalg türünde lipit içeriğinin arttığı gözlenmiştir.

Mikroalg üretimi genellikle diğer tarım bitkilerinin üretimine göre daha maliyetlidir. Fotosentetik büyüme için ışık, karbondioksit, su ve inorganik tuzlara ihtiyaç vardır. Sıcaklık 20-30°C arasında olmalıdır. Biyodizel üretiminde bu pahalı sistemin üretim maliyetlerinin minimize edilmesi güneş ışığı, deniz suyu ve yanan fosil yakıtlardan çıkan karbondioksitin kullanılması ile sağlanabilir. Alg üretiminde kullanılan ortam azot, fosfor, demir gibi başlıca elementleri içermektedir (Grobbelaar, 2004). Deniz suyu bahsedilen bu elementler ile beraber çok sayıda mikro besin elementini içermektedir. Denizel mikroalglerin üretiminde bu elementlerin olması üretim maliyetini düşürebilmektedir. Biyodizel üretimi için gerekli olan karbondioksit fosil yakıtlardan çıkan gazdan temin edilebilir. Bu karbondioksitin maliyeti çok düşüktür ya da hemen hemen hiç yoktur (Sawayama ve diğ., 1995).

Mikroalglerin 50000'den fazla türü olduğu tahmin edilmektedir, ancak yaklaşık 30000'e yakın tür belirlenebilmiştir. Mikroalglerin yapısında başlıca lipitler (%4-55), karbonhidratlar (%6-57), proteinler (%10-63) olmak üzere birçok bileşen yer almaktadır. Bazı mikroalg türlerinin de ayrıca %70'den (kuru ağırlık bazında) fazla lipit içerdiği rapor edilmiştir. Mikroalg'in kimyasal kompozisyonu çoğunlukla türe ve kültür şartlarına göre değişiklik göstermektedir. Bazı mikroalg türlerinin yapısındaki bileşenlerin yüzdelik oranları Şekil 1.1'de verilmiştir.

Mikroalg	Bileşenler (% kuru ağırlık olarak)		
	Karbonhidrat	Protein	Lipit
<i>Chlorella vulgaris</i>	6-10	25-30	30-40
<i>Scenedesmus obliquus</i>	10-17	50-56	12-14
<i>Spirulina platensis</i>	8-14	46-63	4-9
<i>Pavlova lutheri</i>	11,7	28,8	37
<i>Isochrysis sp.</i>	26,7	21,5	31,9
<i>Chlorella protothecoides*</i>	15,4	10,2	55,2
<i>Prymnesium parvum</i>	25-33	28-45	22-38
<i>Dunaliella salina</i>	32	57	6
<i>Porphyridium cruentum</i>	40-57	28-39	9-14
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	17	48	21
<i>Chlamydomonas sp. JSC4</i>	33,2	17,9	41,1

\*Büyüme işaretli türde heterotrofik, diğer türlerde ototroftir

Şekil 1.1. Bazı mikroalg türlerinin yapısındaki bileşenlerin yüzdeler oranları

## 1.2. Mikroalglerin Büyümesine Etki Eden Faktörler

Mikroalglerin üretiminde, biyolojik, biyolojik olmayan ve işletme parametrelerinden kaynaklanan birçok faktör etkili olmaktadır. Işık, sıcaklık, besin maddesi, oksijen, karbondioksi, pH, tuzluluk ve toksik kimyasallar biyolojik olmayan faktörlerdendir. Bakteri, fungi virüs gibi patojenler ve diğer alg türlerinden kaynaklanan rekabet ortamı ise biyolojik faktörler içerisinde yer almaktadır. Ayrıca karıştırma, seyreltme oranı, hasat sıklığı, gibi işletme parametreleri de mikroalgal büyümeyle üretimini etkilemektedir (Mata ve diğ., 2010).

### 1.2.1. Sıcaklık

Sıcaklık, mikroalg gelişimini, özellikle hücre morfolojisi ve fizyolojisini etkileyen önemli faktörlerdendir (Raeesossadati ve diğ., 2014). Genellikle, yüksek sıcaklıklar metabolizma hızını artırırken, düşük sıcaklıklar mikroalgal büyümeyi engellemektedir. Mikroalg hücrelerindeki enzimler, optimum sıcaklık şartlarında en yüksek aktiviteye sahiptir. Optimum sıcaklık değerleri mikroalg türüne göre değişiklik göstermekle birlikte ışık yoğunluğu gibi çevresel faktörlerden de etkilenmektedir. Mikroalgler, 5- 35°C gibi geniş sıcaklık değerlerinde gelişebilmektedir (Rashid ve diğ.,2014). Ancak birçok mikroalg türü için optimum büyüme sıcaklığı 20-30°C arasındadır. Sıcaklık, aynı zamanda mikroalgler için bir fiziksel stres faktörüdür. Hücrenin lipit kompozisyonu, besin maddesi alımı, karbon fiksasyonu ve büyüme hızı sıcaklıktan etkilenmektedir.

Sakamoto ve diğ., (1998) *Synechococcus sp.* PCC 7002 ile yaptığı çalışmada, en kısa ikilenme süresini (3,5 saat) 38°C sıcaklıkta bulmuştur

Chokshi ve diğ., (2015) *Acutodesmus dimorphus* ile yaptıkları çalışmada en iyi büyümenin 35°C'de gerçekleştiğini ve bünyesinde %22,7 lipit, %33,7 karbonhidrat ve %38 protein biriktirebildiğini ifade etmiştir.

Converti ve diğ., (2009) *N. oculata* ile yaptıkları çalışmada, optimum sıcaklık şartlarında (25°C), lipit üretiminin iki katına çıktığını belirlemiştir.

Yaygın olarak kullanılan mikroalglerin sıcaklık toleransları aşağıda gösterilmiştir (Şekil 1.2).

Mikroalg	Kültür Sıcaklığı, °C
<i>Chlorella sp. ADE5</i>	30±2
<i>Spirulina platensis</i>	25±1
<i>Botryococcus braunii</i>	26±1
<i>Desmodesmus sp. EJ9-6</i>	24±1
<i>Desmodesmus communis</i>	18-25
<i>Chlorella zofingiensis</i>	25±1
<i>Coccomyxa actinabiotis</i>	24±2
<i>Platymonas subcordiformis</i>	25
<i>Chlorella vulgaris</i>	22±2
<i>Anabaena sp. PCC 7120</i>	30
<i>Chodatella sp.</i>	25
<i>Scenedesmus obliquus</i>	30±3
<i>Chaetoceros sp.</i>	35
<i>Monoraphidium sp. SB2</i>	25-35

Şekil 1.2. Yaygın olarak kullanılan mikroalg türlerinin sıcaklık toleransları

### 1.2.2. pH

pH değeri, mikroalglerin metabolik aktivitelerini değiştirmektedir. pH, besin alımı ile doğrudan ilişkilidir. Karbondioksit ve nitrat alımında pH yükselirken, amonyak alımında düşmektedir (Rashid ve diğ., 2014). Genel olarak, pH 10- 11'in üzerinde, mikroalglerin gelişimi inhibe olmaktadır. Ancak, bazı türler asidik veya alkali şartlarda da optimum gelişim gösterebilirler. Örneğin, *Spirulina platensis* ve *C. Littorale* türleri için optimum pH değeri sırasıyla 9 ve 4 olarak belirlenmiştir (Zeng ve diğ., 2011)

Mikroalgler pH değişimlerine duyarlı organizmalardır. Genel olarak pH: 7-9 aralığı alglerin üretimi için uygun olup diğer türlerin üremesini engelleyici etki yapmaktadır.

Başka bir çalışma *Chlorella vulgaris* ile yapılmış ve geniş bir pH aralığında çalışmışlardır (pH: 5,0, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5 ve 8,0). Biyokütle büyümesi ve lipit birikimi için maksimum pH: 7,5 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte pH: 3,0, 4,0 ve 11,0 bu tür için aşırı bulunmuştur. pH: 9,5'te mikroalgin yetişmediği ve topaklanmaların olduğunu belirtmişlerdir (Sakarika ve diğ., 2016).

### 1.2.3. Karbondioksit

Karbondioksitin mikroalgler üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmalar ile karbondioksit oranı arttıkça büyümeyi teşvik ettiği, lipit içeriğini arttırdığı ancak %5 karbondioksit oranının üzerine çıkıldığında olumsuz etki yarattığı bildirilmiştir (Tsuzuki ve diğ., 1990; Yongmanitchai ve Ward, 1991; Yang ve Gao, 2003).

*Scenedesmus obliquus* ile yapılan bir çalışmada ise %15 karbondioksitin büyümeyi teşvik ettiği ve mikroalg türlerinin karbondioksite olan duyarlılığının türler arasında ne kadar değişkenlik gösterdiği rapor edilmiştir (Kaewkannetra ve diğ., 2012).

Tsuzuki ve diğ., (1990) *Chlorella vulgaris* türü ile yaptıkları çalışmalarında artan CO<sub>2</sub> miktarının yağ asitlerinin oranını da arttırdığını belirlemişler.

### 1.2.4. Işık

Fotosentez ışığa bağımlı bir süreç olduğundan dolayı mikroalglerin ihtiyacı olan bir enerji kaynağıdır. Yetersiz veya aşırı ışık varlığı mikroalglerin büyümesini durdurabilir veya kısıtlayabilir (Chang ve diğ., 2016). Yapılan çalışmalar neticesinde ışığın mikroalglerin gelişmesinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur.

Işık, mikroalglerin fotosentetik etkinliğini doğrudan etkilemektedir. Fotosentetik etkinlik, fotoototrofik gelişim süresince ışık enerjisinin kimyasal enerjiye dönüştürülmesi olarak ifade edilmektedir. Fotosentetik etkinlik, ışık spektrumuna göre farklılık göstermektedir. Mikroalgler fotosentez için genellikle, 400- 700 nm dalga boyundaki ışığı kullanırlar. Absorbe edilen dalga boyu mikroalg türüne bağılı olarak değişebilmektedir. Örneğin, yeşil mikroalgler fotosentez sırasında klorofil (yeşil) pigmentleri ile en iyi 450-475 nm ve 630-675 nm aralığındaki ışık enerjisini absorbe etmektedir. Mikroalglerin büyüme hızı ve lipit üretimleri aydınlatma düzeyine göre değişebilmektedir. Aşırı ışık yoğunluğu fotooksidasyon ve

fotoinhibisyona neden olabilirken, düşük ışık seviyeleri büyüme sınırlayıcı olabilmektedir. Bu sebeple, mikroalg gelişiminde, ışığın hangi şiddetinde yeterli doygunluğa ulaştığı, ışık kullanım verimliliğinin belirlenmesinde önemli bir faktördür. Genel olarak, birçok fotosentetik mikroorganizmanın doygunluğa ulaştığı aydınlatma düzeyi yaklaşık  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  olduğu rapor edilmiştir. Şekil 1.3'te bazı mikroalg kültürlerinde kullanılan fotoperiyot zamanları ve ışık şiddetleri verilmiştir.

Mikroalg	Aydınlık/karanlık döngü (saat)	Aydınlatma düzeyi ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )
<i>Chlorella vulgaris</i>	14/10	250
<i>Tetraselmis suecica</i>	12/12	125
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	12/12	125
<i>Chlorococcum sp. RAP-13</i>	13/11	40
<i>Scenedesmus obliquus</i>	14/10	250
<i>Desmodesmus sp. EJ9-6</i>	15/9	120
<i>Nannochloropsis oculata</i>	24/0	150
<i>Cheatoceros sp.</i>	16/8	40
<i>Spirulina platensis</i>	12/12	27
<i>Botryococcus braunii-TN101</i>	16/8	30

Şekil 1.3. Bazı mikroalg kültürlerinde kullanılan fotoperiyot zamanları ve ışık şiddetleri

Sharma ve diğ., (2011) yaptıkları çalışmada, aydınlatma düzeyini  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  'den  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  'ye çıkardıklarında mikroalglerin spesifik büyüme hızının üç kat arttığını ifade etmiştir. Mikroalglerin gelişiminde etkili olan faktörlerden bir tanesi de fotoperiyot zamanıdır. Fotoperiyot, mikroalglerin gün içinde maruz kaldığı aydınlık/karanlık saatleri ifade etmektedir.

Wahidin ve diğ., (2013) *Nannochloropsis sp.* ile fotoperiyot zamanının mikroalg gelişimine ve lipit üretimine etkisini araştırmış, en iyi sonuçları (maksimum hücre konsantrasyonu:  $6,5 \times 10^7$  hücre $\cdot\text{ml}^{-1}$ , lipit: %31,3 kuru ağırlık) 18 saat aydınlık 6 saat karanlık döngüde bulmuştur.

Lee ve diğ., (2015) karbon giderimi için fotoperiyot süresi içerisinde, karanlık döngünün uzatılmasının avantaj, azot ve fosfor giderimi için dezavantaj olduğunu ifade etmiştir. Ayrıca, Lee ve diğ., mikroalgal biyokütle üretimi için aydınlık sürenin uzun tutulmasının avantajlı olacağını belirtmiştir.

### 1.2.5. Karıştırma

Karıştırma, mikroalgler için önemli bir büyüme parametresidir. Optimum karıştırma, ışık, sıcaklık ve gazların (O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub>) homojen dağılımı için gerekmektedir. Ayrıca, mikroalglerin çökmesini önlemek ve besin maddelerinin kullanımını artırmak için karıştırma gereklidir. Karıştırma işlemi yavaş olursa, mikroalgal kültür içerisinde karanlık bölgeler oluşabilir. Ayrıca, anaerobik bölgeler oluşarak, mikroalglerin gelişimini etkileyebilir. Karıştırma hızlı olursa, kesme gerilmesinden dolayı mikroalgal hücreler zarar görebilir. Karıştırma işlemi, mekanik karıştırıcılar (ör. çark, karıştırma kolu), mekanik pompalar veya gaz (hava veya diğer gaz karışımları) dağıtıcı sistemler ile yapılabilir. Çoğunlukla, mekanik karıştırıcılar açık sistemlerde kullanılırken, pompalar ve gaz dağıtıcılar kapalı sistemlerde kullanılmaktadır.

### 1.2.6. Besin maddesi

Karbon, azot ve fosfor mikroalglerin yetiştirilmesinde gerekli olan başlıca besin maddeleridir. Ayrıca eser miktarda silika, kalsiyum, magnezyum, potasyum, demir, mangan, sülfür, çinko, bakır, kobalt gibi mikro besin maddelerine ihtiyaç vardır.

Azot: Azot, mikroalg'in büyüme, çoğalma ve diğer fizyolojik aktiviteleri için gerekli olan elementlerden bir tanesidir. Mikroalgler azotu nitrat, nitrit, amonyum ve üre formunda kullanmaktadır. Mikroalglerin hangi azot formunu kullanacağı türe göre değişmekle birlikte, büyük çoğunluğu azot kaynağı olarak amonyumu tercih etmektedir. Mikroalgler, genellikle öncelik sırasına göre amonyum > üre > nitrat > nitriti kullanırlar. Birçok çalışmada, azot sınırlayıcı büyüme şartlarında mikroalglerin, daha fazla lipit biriktirebildikleri ifade edilmiştir.

Radakovits ve diğ., mikroalglerin azot sınırlayıcı şartlarda çoğalmayı yavaşlatarak bünyelerinde lipit depolamaya başladıklarını ifade etmiştir.

Zhila ve diğ., (2005) azot eksikliğinin mikroalglerin yapısındaki lipit türlerini değiştirdiğini rapor etmiştir.

Guo ve diğ., (2014) mikroalg türlerine göre azot eksikliğinin mikroalglerin lipit üretimi üzerindeki etkilerinin değişebileceğini ifade etmiştir.

Schenk ve diğ., (2008) birçok alg türünün normal şartlarda yaklaşık %10-30 (kuru ağırlık) arasında yağ içerdiğini, azot sınırlayıcı şartlarda yağ üretiminin 2-3 katına çıkabileceğini ifade etmiştir. Breuer ve ark., *Chlorella vulgaris*, *Chlorella zofingiensis*,

*Neochloris oleoabundans* ve *Scenedesmus obliquus* türlerinin azot sınırlayıcı büyüme şartlarında kuru ağılık olarak %35'den fazla lipit biriktirebildiğini rapor etmiştir.

**Fosfor:** Fosfor, mikroalglerin önemli bir bileşenidir. Fosfolipit, nükleik asit veya nükleotit gibi temel hücre bileşenleri içerisinde bulunmaktadır. Ayrıca fosfor, hücre gelişimi ve mikroalg metabolizması için gerekli bir besin maddesidir. Enerji transferi, hücre sel sinyal iletimi, fotosentez ve solunum gibi hücre sel metabolik süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Mikroalgler üzerinde, fosforun farklı formlarının metabolik mekanizması değişmektedir. Örneğin, ortofosfatlar mikroalgler tarafından kolay absorbe edilmekte ve mikroalg gelişimine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Fosfor, mikroalglerin lipit üretimini de etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda, fosfor sınırlayıcı şartlarda mikroalglerin lipit üretimlerinin arttığı görülmüştür.

Liang ve diğ., (2013) *Chlorella sp.* ile yaptıkları çalışmada, düşük fosfor konsantrasyonlarında mikroalglerin lipit içeriklerinin ve lipit üretimlerinin arttığını ifade etmiştir.

**Diğer Besin Maddeleri:** Mikroalglerin yetiştirilmesinde, temel besin maddeleri (karbon, azot, fosfor)'nin dışında eser miktarda silika, kalsiyum, magneyum, potasyum, demir, bakır, çinko gibi mikro besin maddelerine de ihtiyaç vardır. Ancak, mikro besin maddelerinin çoğu, yüksek konsantrasyonlarda birçok mikroalg türü için toksik etki oluşturmaktadır. Ayrıca, mikro besin maddelerinin bazıları, diğer temel elementler ile çökelti oluşturarak, bu elementlerin kullanılabilirliğini azaltmaktadır. Örneğin, pH 9-11 arasında fosfor, kalsiyum fosfat olarak çökelmektedir. Mikroalglerin büyüme hızı ve hücre sel bileşimi, besin ortamının içeriğine bağlı olarak önemli ölçüde değişmektedir. Mikroalglerin yetiştirilmesinde, doğal ve yapay besin ortamları kullanılmaktadır. Doğal besin ortamları daha ucuz olmalarına rağmen, mikroalglerin gelişimi için yeterli miktarda gereken besin maddelerini içermemeleri sebebiyle tercih edilmemektedir. Yapay besin ortamları içerisindeki besin maddeleri ve konsantrasyonları mikroalg türüne göre değişmektedir (Rashid ve diğ., 2014). Mikroalgler için yaygın kullanılan sentetik besin ortamları Şekil 1.4'te verilmiştir.

<b>Mikroalg</b>	<b>Besin ortamı</b>
<i>Chlorella zofingiensis</i>	BG-11, Kuhl
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	F/2 , Walne
<i>Nannochloropsis oculata</i>	F/2 , Erdshriber
<i>Nannochloropsis salina</i>	ASW, BG-11, Walne
<i>Chlorella vulgaris</i>	Bold Basal, BG-11, Convey
<i>Dunaliella salina</i>	De Walne's, F/2
<i>Spirulina platensis</i>	Zarrouk, SOT
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Detmer's, BG-11, KC
<i>Anabaena sp.</i>	Arnon, Fogg's, BG-11
<i>Tetraselmis suecica</i>	Walne, F/2

Şekil 1.4. Mikroalgler için yaygın kullanılan sentetik besin ortamları

### 1.2.7. Tuzluluk

Tuzluluk, mikroalgal biyokütle üretimini etkileyen faktörlerden bir tanesidir. Her mikroalg türünün kültürasyonu için gereken optimum tuzluluk değeri değişmektedir. *Synechococcus sp.*, *Nannochloropsis salina*, *Chlorococcum littorale*, ve *Botryococcus braunii* gibi deniz mikroalgleri, yüksek tuzlu büyüme ortamında daha iyi gelişebilmektedir. *Chlorella vulgaris* ve *Microcystisa eruginosa* gibi tatlı su mikroalgleri ise daha az tuzlu besin ortamında gelişebilmektedir

### 1.2.8. Biyolojik faktörler

Mikroalg kültürasyonunda küf, maya, mantar, bakteri ve istenmeyen algler tarafından biyolojik kontaminasyon meydana gelebilmektedir. Azot, fosfor gibi besin maddelerinin bu mikroorganizmalar tarafından tüketilmesi mikroalgal büyümeyi inhibe edebilmektedir. Biyolojik kontaminasyon, sıcaklık, pH, ışık gibi çevresel faktörler geçici olarak değiştirilerek önlenir (Mata ve diğ., 2010). Örneğin, *Chytridium sp.* gibi yüksek aerobik şartlarda gelişen parazit mantarların kontaminasyonunu, günlük 1 saat gibi kısa zaman diliminde oksijen seviyesini düşürerek kolayca önlemek mümkündür (Munoz ve diğ., 2006).

## 1.3. Üretim Sistemleri

### 1.3.1. Fotobiyoreaktörler

Fototrofik mikroorganizmaların üretimi için kullanılan teknik tasarımlardan oluşan sistemler fotobiyoreaktörler (PBR) olarak adlandırılır. Bu sistemlerin çeşitli tasarımları dikkate alınarak üretim verimliliği ve ekonomik olarak uygulanabilirliği araştırılmalıdır.



Fotobiyoreaktör tasarımı amaç güneş enerjisi gibi yüksek seviyeli ışık kaynağının optimal kullanımı için kültür sistemlerinin yapılmasıdır (Richmond, 1982). Mikroalgal üretimde ışık yolu uzunluğu, optimum hücre yoğunluğu ve aydınlık/karanlık döngüsü doğrudan etkilidir.

Ticari mikroalg üretiminin başarısı birçok etkene dayanmaktadır; bunlardan biri büyük çaplı alg kültür sistemlerinde az harcamayla verimli ürün elde etme yolunun geliştirilmesidir. Ancak bu gelişim yavaş bir süreçte devam etmektedir. Büyük ölçekli kültür sistemlerinde ışığın etkin kullanımı, sıcaklık, alg kültüründe hidrodinamik dengeyi sağlama, kültürün devamını sağlayabilme gibi ana hususların karşılaştırılması gerekmektedir. Sonuçta ekonomik bir sonuca ulaşmak temel hedeftir. Alg kültür teknolojisi üzerine araştırmacılar yeni biyoreaktör tasarım çalışmalarını devam ettirmektedirler. Mikroalglerin yetiştiriciliğinde kullanılan sistemler; açık sistemler, (Şekil 1.5, 1.6) kapalı sistemler, (Şekil 1.7) borsal fotobiyoreaktörlerdir (Şekil 1.8, 1.9).

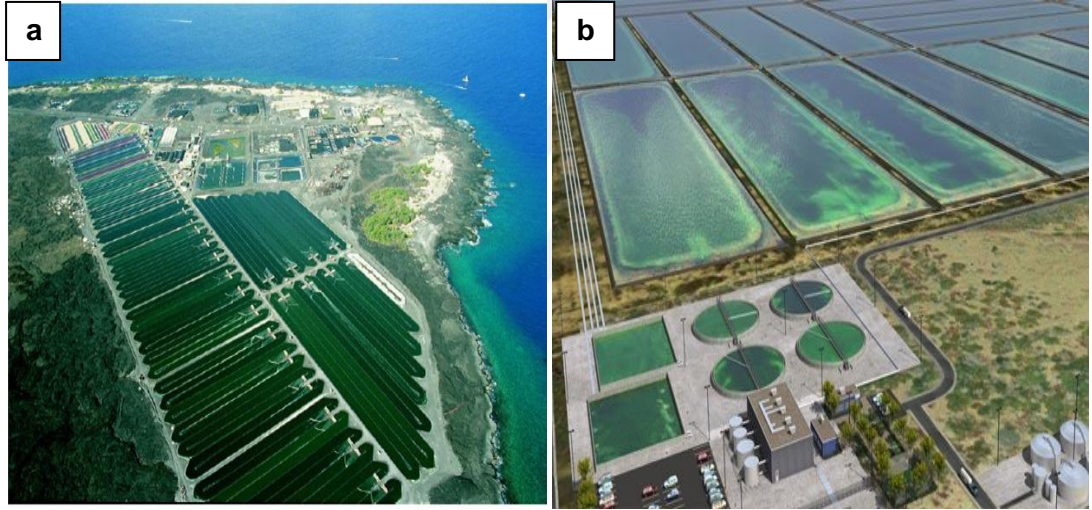
### **1.3.2. Açık kültür sistemleri**

Açık kültür sistemlerine tanklar, kanal havuzlar, dairesel havuzlar, karıştırılmayan büyük havuzlar ve doğal göller örnek olarak gösterilebilirler (Sukatar, 2002). Mikroalg kültürleri üzerine yapılan ilk çalışmalarda genellikle kapalı sistemler kullanılsa da, bu sistemlerin pahalı olması ve genişletilmelerinin zor olması nedeniyle, ticari işletmeler genellikle açık sistemleri tercih etmektedir (Yılmaz, 2006). Açık havuzların yapım ve işletme maliyetleri kapalı fotobiyoreaktörlere göre daha düşük olsa da bu kültür sistemlerinin bazı dezavantajları vardır. Açık sistemlerde buharlaşmayla büyük miktarda su kaybı olmaktadır. Açık havuzlarda mikroalgler karbondioksiti verimli olarak kullanamaz ve biyokütle üretimi sınırlı kalır. Ayrıca bu tür sistemler bakteri kontaminasyonuna açık oldukları için, sadece kontaminasyona dirençli alg türleri üretilmektedir (Sukatar, 2002).

Dış mekânlardaki mikroalg üretim sistemlerinin iç mekandaki sistemlere göre en önemli ve en belirgin farkı, alg kültürlerinin doğrudan çevre etkilerine maruz bırakılmasıdır. Günümüzde mikroalgleri yetiştirmek için kullanılan kültür sistemleri genel olarak yeterli gelişmemiştir.



Şekil 1.5. Açık kültür sistemleri

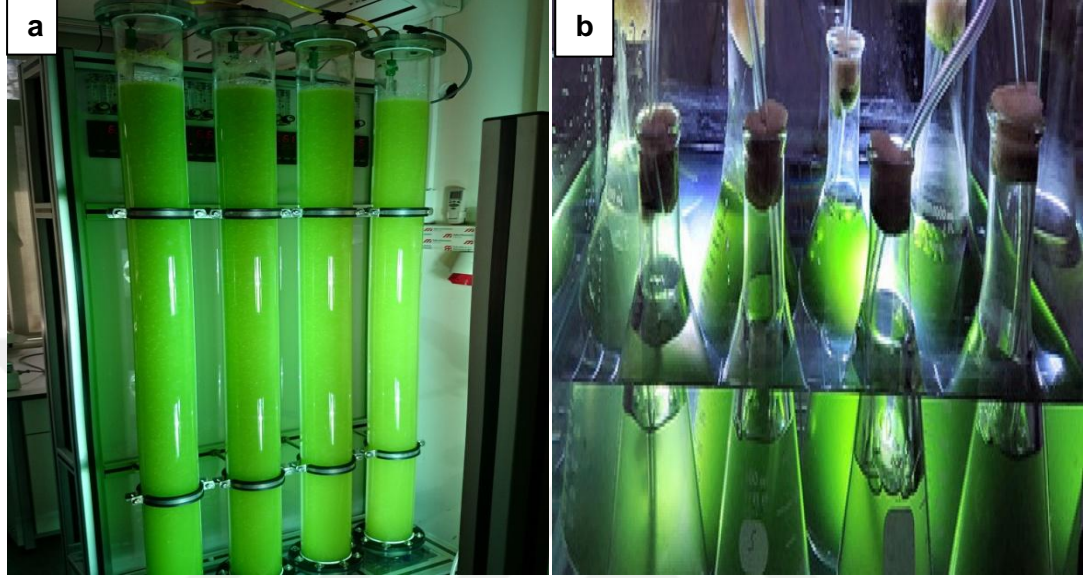


Şekil 1.6. Açık kültür sistemleri (a-b) (URL-1)

### 1.3.3. Kapalı kültür sistemleri

Kapalı reaktörlerin mikroalg üretiminde kontaminasyonu önlemek ve yüksek yoğunluktaki ışığın etkin kullanımı ile yüksek üretim sağlamak, ısı kontrolü ve dış mekanda tasarlanan kapalı biyoreaktörlerde güneş ışığının kullanılabilme özelliği gibi birçok avantajı vardır. Kirlilik riskinin önlenmesi çok daha geniş türlerin üretilbileceği ve dış ortamda da biyoreaktörlerin kullanılabilmesi anlamına gelmektedir. Kapalı fotobiyoreaktörlerde kültür ortamını kontrol etmek kolaylaşmaktadır. Böylece elde edilen ürün istenilen kalite ve verimlilikte olabilmektedir (Chrismadha and Borowitzka, 1994).

Kapalı kültür sistemlerine örnek olarak; torbalar, tanklar, asansörlü fotobiyoreaktörler, içten aydınlatmalı fotobiyoreaktörler, ince panel fotobiyoreaktörler, çift havalandırma sistemli fotobiyoreaktörler, borsal gösterilmektedir (Şekil 1.4).



Şekil 1.7. Kapalı kültür sistemleri (a-b)

Açık ve kapalı algal sistemlerin avantaj ve dezavantajları tablo 1.2.'de gösterilmektedir.

Tablo 1.1. Açık ve kapalı algal sistemlerin avantajları ve dezavantajları

Parametreler	Açık Sistemler	Kapalı Sistemler
Kontaminasyon riski	Aşırı yüksek	Düşük
Alan ihtiyacı	Yüksek	Düşük
Su kayıpları	Aşırı yüksek	Hemen hemen yok
CO <sub>2</sub> kayıpları	Yüksek	Hemen hemen yok
Kültüre edilen türlerin çeşitliliği	Birkaç alg türüyle sınırlıdır.	Yüksektir. Hemen hemen tüm mikroalg türleri kültüre edilebilir.
Standardizasyon	Mümkün değil	Mümkündür
Hava şartlarına bağımlılık	Yağış sırasında tam olarak üretim mümkün değildir.	Kapalı konfigürasyonlar aynı zamanda kötü hava şartlarında da üretime müsaade ettiği için önemli değildir
Üretim sırasındaki biyokütle konsantrasyonu	Düşüktür. 0,1-0,2 g/L	Yüksektir. 2-8 g/L
Proseslerin randımanı	Düşüktür. Düşük konsantrasyonlardan dolayı büyük hacimler akar.	Yüksektir. Yüksek konsantrasyonlardan dolayı küçük hacimler akar.

#### 1.3.4. Borusal fotobiyoreaktörler

Borusal fotobiyoreaktörler farklı çaplara sahip, cam ya da farklı malzemelerden yapılan borulardan oluşan sistemlerdir. Uzunlukları ise 10 m ile 100 m ye kadar olabilir. Bu sistemler geniş alanlara kurulur ve pahalı sistemlerdir. Boruların işletilmesi zordur. Bu sistemler borulardan oluşur ve boruların birleşmede oluşturdukları tasarım zorlukları ve steril işletimleri dezavantaj oluşturur. Üretim ise orta düzeyde gerçekleşir (Borowitzka, 1996).

Ticari ölçekli mikroalg üretimi için genelde üretim çiftlikleri, üretimin kontrol altında tutulabilmesi, üretimi önceden tahmin edebilme, yer-işçilik bakımından ekonomik yararlar sağlamaları nedeniyle borusal fotobiyoreaktörleri tercih etmektedir. Tamamıyla kapalı sistem olarak tasarlanan borusal fotobiyoreaktörler, farklı şekillerde oluşturulmuş, çeşitli büyüklük ve uzunluktaki şeffaf borulardan meydana gelir (Tredici,1999) ve yoğun mikroalg üretimi için uygun bir potansiyel oluşturur (Gudin ve Chaumont 1983, Torzillo ve diğ., 1986). Şekil 1.5 ve 1.6' da dikey ve yatay konumlu borusal fotobiyoreaktörler gösterilmiştir.



Şekil 1.8. Dikey konumlu borusal fotobiyoreaktör



Şekil 1.9. Yatay konumlu borusal fotobiyoreaktör

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Richardson ve diğ., 1969 yılında yaptıkları çalışmada N kısıtlamasının alg yapısı ve büyümesi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. *Chlorella sp.*'de %3 oranında bir N kısıtlaması ile toplam yağ asitlerinde belirgin bir şekilde artışın olabileceğini göstermişlerdir.

Tsuzuki ve diğ., (1990) tarafından yapılan başka bir çalışmada *Chlorella vulgaris* kullanılarak artan CO<sub>2</sub> miktarının yağ asitlerinin oranını da arttırdığı belirlenmiştir.

Loseva ve diğ., (1998) tarafından yapılan bir diğer çalışmada aşırı sıcaklığın (45°C) ve yüksek NaCl konsantrasyonlarının (450 mM) *Chlorella* hücreleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Belirli aralıklarda yüksek sıcaklık ve belirli oranlarda yüksek tuz (NaCl) uygulanmış ve daha sonraki süreçte normal şartlar sağlanmıştır. Böylelikle *Chlorella* hücrelerinin değişimleri gözlenmiştir. Bu şekilde mikroorganizmanın stres koşullarına adaptasyon süreci belirlenmeye çalışılmıştır.

Mandalam ve diğ., 1998 yılında yaptıkları çalışmada *Chlorella vulgaris*' in üretiminde geliştirilmiş N-8 (Vonshak, 1986) ortamı kullanılmıştır. N-8 ortamında kullanılan bazı elementlerin oranlarını değiştirerek çalışmalar yapmışlardır. Bu ortamda kullanılan demir (Fe), magnezyum (Mg), potasyum (K), kükürt (S) ve azot (N) değerlerini farklı kompozisyonlarda deneyerek M-8 ortamını elde etmişlerdir. M-8 ortamında, KNO<sub>3</sub>; 3 katı, MgSO<sub>4</sub>. 7 H<sub>2</sub>O; 8 katı kullanılmış ve demir kaynağı olarak da FeSO<sub>4</sub>. 7 H<sub>2</sub>O ilave edilmiştir. Burada N-8 ortamıyla gerçekleştirilen çalışmalarda mikroorganizma büyümesi 7-12 gün sürmüştür, M-8 ortamında ise 24 gün sürmüştür. Potasyum, magnezyum ve demir' in *Chlorella vulgaris*' in büyümesini etkilediği belirtilmiştir.

Illman ve diğ., 2000 yılında azot kısıtlamalı ortamda yetiştirilen beş farklı *Chlorella* türünün (*C. Vulgaris*, *C. Emersonii*, *C. Protothecoides*, *C. Sorokiniana*, *C. Minutissima*) çoğalmasını incelemişlerdir. Algler 2 L'lik biyoreaktörlerde yetiştirilmiş ve en iyi büyümenin 0,99 d<sup>-1</sup> büyüme oranı ile *C. Vulgaris*'te belirlenmiştir. Düşük azotlu ortamdan diğer dört türe göre *C. Emersonii*'nin daha çok etkilendiği hızlı bir şekilde büyüme gösterdiği ve yaklaşık 3 kat daha fazla hücre ürettiği belirlenmiştir.

*C.Sorokiniana* haricindeki tüm türlerde, hücreler düşük azotlu ortamda ekildiğinde lipit içeriğinin yaklaşık olarak 2 kat arttığı belirlenmiştir.

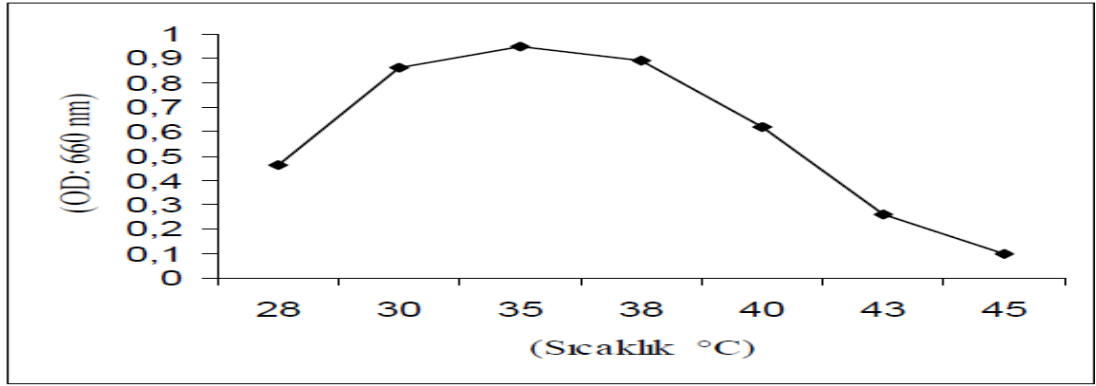
Xu ve diğ., 2001 yılında *Ellipsoidion sp.*'de farklı azot kaynaklarının [nitrat azotu ( $\text{NO}_3^-$ -N), amonyum azotu ( $\text{NH}_4^+$ -N), Üre azotunun ( $(\text{NH}_2)_2\text{CO-N}$ )] büyümeye ve yağ asidi kompozisyonuna etkilerini incelemiştir.  $\text{NO}_3^-$ -N ve  $\text{NH}_4^+$ -N ile hazırlanan ortamda büyüme hızında önemli bir farklılık görülmezken, üre-N ile hazırlanan ortamda büyüme hızının daha yavaş olduğu belirtilmiştir. Yağ asitlerinin  $\text{NO}_3^-$ -N ve  $\text{NH}_4^+$ -N ile hazırlanan besi ortamlarında daha fazla olduğunu belirlemiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. *Ellipsoidion sp.*'de azot kaynağının spesifik büyüme hızı ve toplam lipit içeriğine etkisi (Veriler üç deney ve iki ölçüm ortalamasıdır) (Xu ve diğ., 2001).

N kaynağı	N içermeyen	$\text{NaNO}_3$	$\text{NH}_4\text{Cl}$	Üre
Spesifik Büyüme Oranı	0,17±0,01	0,29±0,01	0,31±0,01	0,28±0,01
Toplam Lipit İçeriği	7,99±0,21	27,6±0,35	3,33±0,3	21,5±0,51

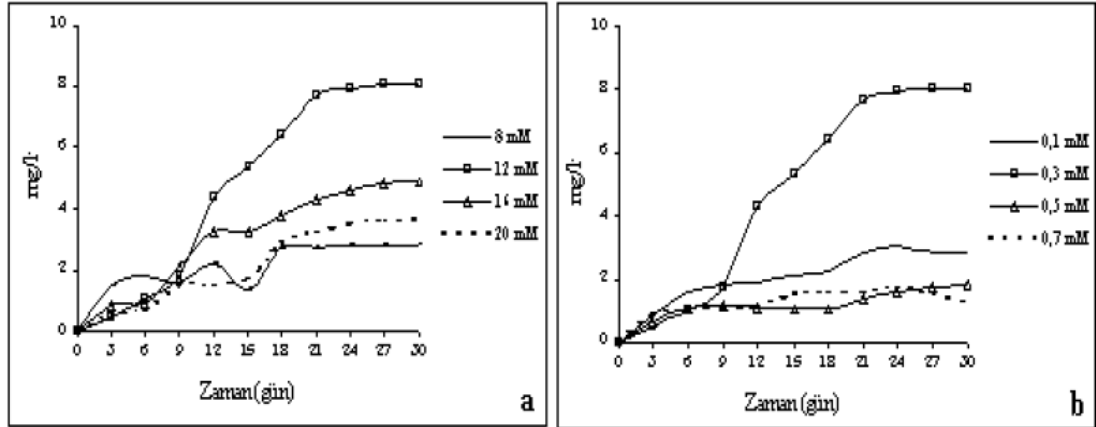
Renaud ve diğ., 2002 yılında 4 farklı alg türünü (*Cryptomonas sp.*, *Chaetoceros sp.*, *Isochrysis sp.*, *Rhodomonas sp.*) 5 farklı sıcaklık derecesinde (25, 27, 30, 33 ve 35°C), %25 tuzluluk, pH:8, 12:12 aydınlık/karanlık döngüsünde kültüre almışlar ve kimyasal bileşimi ile yağ bileşimini incelemiştir. Hücreler 25°C'de kültürlendiğinde en yüksek lipit oranı %16,8 ile *Chaetoceros sp.*'da belirlenmiştir. Ancak 27-30°C'lerde en yüksek lipit oranı %21,7 ile *Isochrysis sp.* belirtilmiştir.

Edis Kuru ve diğ., 2003 yılında *Spirulina platensis*'in 2000 lux ışık şiddetinde ve 28°C- 45°C sıcaklık aralığında büyümesini araştırmışlardır. Sıcaklık artışında büyüme, yağ ve yağ asitlerinin içeriklerindeki değişimleri incelemiştir. Sıcaklık 43°C olduğu zaman protein içeriğinin %20 azaldığı, yağlarda %45, karbonhidratlarda ise %32 artma gözlenmiştir. *Spirulina platensis*'in büyümesi ve biyokimyasal özellikleri için en uygun sıcaklığın 35°C olduğu saptanmıştır (Şekil 2.1).

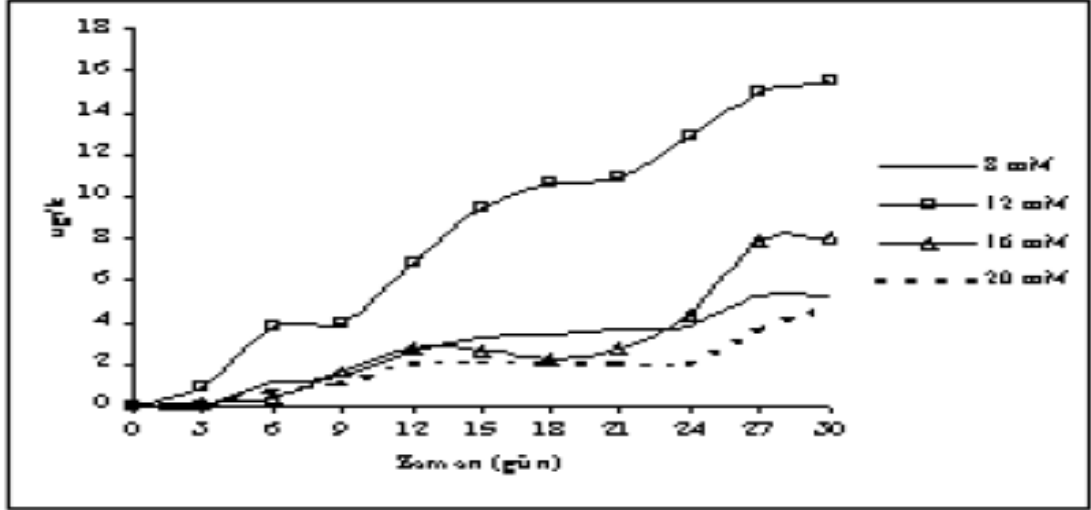


Şekil 2.1. Farklı sıcaklıklarda *S. platensis*'in büyüme oranı (Koru ve ark., 2003).

Muammer Balcı ve diğ., 2006 yılında *Scenedesmus obliquus* türünün büyümesine ve protein üretimine farklı nitrat (8, 12, 16 ve 20 mM) ve fosfat (0,1, 0,3, 0,5 ve 0,7 mM) konsantrasyonlarının etkisini incelemiştirler. Farklı pH'larda (pH:7 ve pH:8) ve  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de kesikli olarak kültüre alınmıştır. Her iki pH'da da nitrat ve fosfat konsantrasyonlarının hücre sayısı ve protein üretimini önemli oranda etkilediği saptanmıştır. En yüksek hücre sayısına ( $15,5 \times 10^6$ ) ve protein konsantrasyonuna (8,08 mg/L) pH:7 12 mM nitrat ve 0,3 mM fosfat konsantrasyonunda olduğunu belirlemiştirler (Şekil 2.2. a-b, Şekil 2.3.).



Şekil 2.2. (a-b) Nitrat (a) ve fosfat (b) konsantrasyonlarının protein üretimine etkisi



Şekil 2.3. Farklı nitrat konsantrasyonlarının pH 7'deki hücre sayısına etkisi.

Yaşar Durmaz ve diğ., 2006 yılında *Dunaliella salina* türü mikroalgin farklı tuz derişimlerinin büyümesi üzerine etkisi incelenmiştir. Besin ortamı olarak AS-100 besin ortamı, tuz kaynağı olarak NaCl kullanılmıştır. 0,62M, 0,85M, 1,28M, ve 1,71M tuz derişimlerinde sürekli aydınlatma ve  $20 \pm 1$  °C sıcaklıkta kültürler yapılmıştır. *Dunaliella salina*'nın yüksek tuz konsantrasyonunda gelişimini sürdürebildiği gözlenmiştir. En yüksek hücre konsantrasyonu 1,71M NaCl'de  $5,87 \times 10^6$  hücre/mL'ye ulaşmıştır. Bu çalışmada *Dunaliella salina* türünün yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanıklı olduğu hatta gelişimini sürdürebileceği saptanmıştır.

Gökpinar ve diğ., 2007 yılında *Nannochloropsis* türü mikroalgin borsal fotobiyoreaktörde büyüme özelliklerini incelemiştir. Denemelerde 600 litre hacimli ve 3 cm çapa sahip borsal fotobiyoreaktörler kullanılmıştır. Tuzluluk oranı %35-37 aralığında sabit tutulmuş, *Nannochloropsis* sp.'nin hem kesikli hem de sürekli modda büyümesi incelenmiştir. Sistem kış döneminde olmasından dolayı günlük 7 saat gibi düşük bir aydınlatma süresine sahip olmasına rağmen iyi bir büyüme olduğu gözlenmiştir. Sonuçta dış ortamdaki borsal bir fotobiyoreaktörde şeffaf naylon torbalarda yapılan kültürlere kıyasla daha verimli çalıştığı saptanmıştır.

Converti ve diğ., 2009 yılında *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella vulgaris*'in lipit içeriği ve büyümesi üzerinde farklı N konsantrasyonlarının ve sıcaklığın etkilerini incelemiştir. Sıcaklığın 20°C'den 25°C'ye yükseltilmesiyle *Nannochloropsis oculata* lipit içeriği iki katına (%7,90'dan %14,92'ye ) çıkarken, 25°C'den 30°C'ye sıcaklığın artmasıyla *Chlorella vulgaris* için bu değer neredeyse yarıya (%14,71'den %5,90) düşmüştür. Ortamdaki N konsantrasyonunun %75 oranında azaltılmasıyla



lipit oranı *Nannochloropsis oculata* için %7,90'dan %15,31'e yükselmiş, *Chlorella vulgaris* için ise %5,90'dan %16,41'e yükselmiştir.

Oh ve diğ., 2009 yılında *Porphyridium cruentum*'un farklı büyüme koşullarında (12:12 aydınlık/karanlık döngüsü CO<sub>2</sub> C kaynağı, 6:18 aydınlık/karanlık CO<sub>2</sub> C kaynağı, 18:6 aydınlık/karanlık CO<sub>2</sub> C kaynağı, karanlık koşullar altında (24 saat karanlık) C kaynağı glukoz ve gliserol) kültüre alınıp, lipit birikimi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. En yüksek lipit birikimi %19,3 ile 12:12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde belirlenmiştir. C kaynağı olarak gliserol'ün kullanıldığı grupta en düşük hücre konsantrasyonu ve %2,2 ile lipit üretiminin en düşük seviyesini göstermiştir. Glikozun bu tür için uygun bir C kaynağı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 35°C'ye kıyasla 25°C'de daha yüksek lipit birikimi elde edilmiştir. 2,1 g/L ile 12:12 ve 18:6 saat aydınlık/karanlık döngüsünde en yüksek biyokütle miktarı elde edilmiştir.

Arief Widjaja ve diğ., 2009 yılında tatlı su alglerinden *Chlorella vulgaris*'in lipit içeriğini artırmak amacıyla CO<sub>2</sub> konsantrasyonunun, nitrojen azalmasının ve hasat zamanının yanı sıra ekstraksiyon yönteminin etkisini incelemişlerdir. Mikroalg Biyokütleden algal yağ ekstraksiyonu sırasında kurutma sıcaklığının sadece lipit kompozisyonunu değil, aynı zamanda lipit içeriğini de etkilediğini bulmuşlardır. Düşük sıcaklıklarda kurutmanın en iyi sonucu vermesine karşın 60°C'de kurutma ile toplam lipit içeriği az miktarda azalırken lipit kompozisyonunun korunduğunu belirlemişlerdir. Artan CO<sub>2</sub> konsantrasyonu büyümeyi arttırmış ve lipit verimliliğinde önemli rol oynamıştır. Yüksek CO<sub>2</sub> konsantrasyonunda, normal beslenme sırasında doğrusal fazın sonunda hasatın en yüksek verimliliğini verdiği saptanmıştır. Azot kısıtlaması nedeniyle büyüme çok yavaş olduğunda daha yüksek lipit içeriğinin elde edildiğini belirlemişlerdir.

Damiani ve diğ., 2010 yılında yaptıkları çalışmada *Haematococcus pluvialis* farklı stres koşullarına (yüksek ışık, yüksek ışık-N eksikliği) maruz bırakarak lipit içeriğine etkilerini incelemişlerdir. Yüksek ışık-N eksikliği koşuluna kıyasla yüksek ışık koşulunda büyüme oranının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. N-eksikliği ve yüksek ışık yoğunluğunda lipit oranı %15,61'den %32,99'a arttığı saptanmıştır.

Subhasha Nigam ve diğ., 2011 yılında farklı N konsantrasyonlarının *Chlorella pyrenoidosa* büyüme ve lipit birikimi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Kültür ortamı olarak Fogg besin ortamını kullanmışlardır. Kültürler 24 saat flüorasan aydınlatma ve 25°C'lik sıcaklıkta inkübatörde gerçekleştirilmiştir. N kaynağı olarak

KNO<sub>3</sub>'ün farklı konsantrasyonları (0, ½, ¼) kullanılmıştır. Ortamdaki orijinal KNO<sub>3</sub> konsantrasyonu 0,2 g/L'dir. Bir N kaynağı yokluğunda herhangi bir büyüme gözlenmemiştir. 24. gün sonunda 0.4 g/L KNO<sub>3</sub> olan kültürde 0,315 g/L ile maksimum biyokütle konsantrasyonu gözlenmiştir. Nitrat konsantrasyonunun düşmesi ile lipit içeriğinin arttığı gözlenmiştir. N kaynağı konsantrasyonu 0,2 g/L'den 0,1 g/L'ye düşürülmesiyle lipit içeriği %15'ten %18'e yükselmiştir. N kaynağı konsantrasyonu 0,05 g/L KNO<sub>3</sub> olduğunda lipit içeriği en yüksek değeri olan %26'ya keskin bir artış göstermiştir.

Bulut Mutlu ve diğ., 2011 yılında 5 farklı ortamda (%50 N(-), %100 N(-), %50 N-P(-), %50 P(-), ve Nitrit (NO<sub>2</sub>) eklemesinde *Chlorella vulgaris*'in laboratuvar şartlarında kültüre alıp, lipit, protein ve biyokütle miktarlarındaki değişimleri incelemiştir. En yüksek lipit içeriği %35,6 ile %100 N(-) kısıtlamasının olduğu grupta saptanmıştır. En düşük protein içeriği %13,01 ile yine aynı grupta belirlenirken, en yüksek protein içeriği %50,8 ile kontrol grubunda belirlenmiştir. NO<sub>2</sub> ilavesinin olduğu grupta 0,12 g/L ile en düşük biyokütle saptanmıştır.

Leyla Uslu ve diğ., 2011 yılında laboratuvar şartlarında %50 ve %100 N eksiltmesinin *Spirulina platensis*'deki lipit, protein ve biyokütle içerikleri üzerindeki etkilerini incelemiştir. 26 ± 2 °C'lik sabit sıcaklık 16:8 aydınlık/karanlık ve sürekli havalandırma şartlarında en yüksek lipit içeriği %17,05 ile %100 N kısıtlaması yapılan hücrelerde belirlenirken %5,6 protein ve 1,00 g/L biyokütle elde edilmiştir.

Leyla uslu ve diğ., 2012 yılında 3 farklı mikroalg türünde (*Isochrysis affinis galbana* (Prymnesiophyceae), *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) ve *Porphyridium cruentum* (Rhodellophyceae)) N kısıtlamasının lipit içeriğine ve büyüme üzerine etkilerini incelemiştir. %50 N kısıtlaması ile her iki tür için %30-31 lipit içeriği belirlenmiştir. N kısıtlamasının bu türler üzerinde lipit içeriğini arttırdığı saptanmıştır. Fakat azotun tamamen kısıtlandığı ortamda *Porphyridium cruentum* %11,23 lipit oranı bulunmuş ve diğer iki türe kıyasla çok düşük olduğu gözlenmiştir (Tablo 2.1-2.2).

Tablo 2.2. Türler'e ait biyokütle miktarlarının karşılaştırılması

Biyokütle miktarları (g/L)			
Tür	Kontrol	%50 N (-)	%100 N (-)
<i>I. affinis galbana</i>	0,900±0,02 <sup>a</sup>	0,755±0,03 <sup>a</sup>	0,703±0,04 <sup>a</sup>
<i>P. tricornutum</i>	1,061±0,02 <sup>b</sup>	0,978±0,02 <sup>b</sup>	0,922±0,05 <sup>b</sup>
<i>P. cruentum</i>	1,177±0,01 <sup>c</sup>	1,177±0,01 <sup>c</sup>	0,938±0,04 <sup>c</sup>

<sup>a,b,c</sup> harfleriyle sembolize edilen satırlar ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0,05), (n=3)

Tablo 2.3. Türler'e ait lipit miktarlarının karşılaştırılması

Lipit içerikleri (%)			
Tür	Kontrol	%50 N (-)	%100 N (-)
<i>I. affinis galbana</i>	15,05±0,6 <sup>a</sup>	30,91±1 <sup>a</sup>	23,90±1 <sup>a</sup>
<i>P. tricornutum</i>	20,05±0,7 <sup>b</sup>	30,18±1 <sup>b</sup>	24,03±0,1 <sup>b</sup>
<i>P. cruentum</i>	7,44±0,2 <sup>c</sup>	9,50±0,9 <sup>c</sup>	11,23±0,4 <sup>c</sup>

<sup>a,b,c</sup> harfleriyle sembolize edilen satırlar ortalamaları arasında istatistiksel olarak fark vardır (p<0,05), (n=3)

Li Fen Wu ve diğ., 2013 yılında sıcaklık, N kaynakları ve potasyumun *Monoraphidium* sp. SB2 hücre büyümesi ve lipit birikimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Potasyum nitrat (KNO<sub>3</sub>) ile elde edilen biyokütlenin diğ er azot kaynakları (Amonyum klorür(NH<sub>4</sub>Cl), Amonyum nitrat (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>)) ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. *Monoraphidium* sp. SB2 25- 35 °C'de iyi gelişme olurken, 40 °C'de büyüme olumsuz etkilenmiştir. En yüksek lipit içeriği %32,9 ile 25 ° C' de elde edilmiş ancak en yüksek biyokütle konsantrasyonu 650 mg/L ve lipit verimliliği 29 mg/Ld<sup>-1</sup> 30 °C' de belirlenmiştir.

Li ve diğ., 2013 yılında yaptıkları çalışmada, *Chlorella protothecoides* mikro alg türünü hetetrofik ve azot kısıtlamalı ortamda kültüre alarak yağ üretimini incelemişlerdir. Azot kısıtlamalı ortamın mikroorganizma yağ içeriğine etkisine belirgin bir fark yaratmadığını ancak genetik transformasyon ile 240 saatlik kültür sonunda kuru kütlelerin %72 si kadar yağ elde edilebilirliğini belirlemişlerdir.

Fei-Fei Chu ve diğ., 2013 yılında yaptıkları çalışmada azot açlığı koşulları altında fosforun rolünü araştırmak için 5 tip ortamda ( azot eksikliği, fosfor eksikliği, azot ve fosfor eksikliği, azot eksikliği –fosfor sınırlaması ve kontrol grubu) *Chlorella vulgaris*'in lipit üretimini incelemişlerdir. Azot eksikliği koşullarında yeterli fosforla

biyokütle veriminin kontrol grubuyla ( yeterli beslenme ile) benzer olduğu ve bunun sonucunda maksimum lipit verimliliğinin 58,39 mg L<sup>-1</sup> gün<sup>-1</sup> olduğu görülmüştür. Bu çalışmada *Chlorella vulgaris*'in azotlu koşullar altında lipit üretiminde fosforun önemli bir rol oynadığını ve atık suyun fosfor giderimini mikroalg yoluyla biyodizel üretimi ile birleştirmeye yönelik bir potansiyeli olduğunu belirtmişlerdir.

Xiaoyi Guo ve diğ., 2015 yılında yaptıkları çalışmada ışık yoğunluğu ve N/P besin maddelerinin *Chlorella sp.*'de lipit üretimi ve yağ asitleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada kontrol ortamı (CM), N/P zengin ortamı (NPM), N zengin ortamı (NM) ve P zengin ortamı (PM) içeren farklı ışık yoğunluklarında (80, 160, 240 ve 320 µmol/m<sup>2</sup>s) *Chlorella sp.* ekimi gerçekleştirmişlerdir. Kontrol grubu ve 320 µmol/m<sup>2</sup>s ışık yoğunluğunda oldukça yüksek (%7,5) doymamış yağ asidi içeriği (UFA) ve doymamış yağ asidi / toplam yağ asidi (UFA/TFA) oranı 0,73 olarak bulunmuştur. Ayrıca 320 µmol/m<sup>2</sup>s PM' de yetiştirilen *Chlorella sp.* biyoyakıt üretimi için daha uygun olan yüksek TFA içeriği (%7,3) saptamışlardır.

Izabela Krzeminska ve diğ., 2015 yılında yaptıkları çalışmada farklı ışık yoğunluklarının (35, 130 ve 420 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> ) *Chlorella protothecoides* SAG-211-7b'deki lipit ve biyokütle üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Işık yoğunluğundaki artışı spesifik büyüme hızının artması ile ilişkilendirmişlerdir. Işık yoğunluğunun artması ile toplam lipit içeriği %24,8'den %37,5'e yükselmiştir. Yüksek ışık yoğunluğunun (420 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) Büyüme oranının yanı sıra biyokütle katlanma süresini geliştirdiğini ve düşük ışık yoğunluklarına kıyasla *Chlorella protothecoides* SAG-211-7b lipit birikimini arttırdığını, ve üretilen lipitlerin uygun bir aydınlatma stratejisi altında biyodizel için uygun bir malzeme olduğunu bildirmişlerdir.

Najafabadi ve diğ., 2015 yılında çeşitli C kaynakları (CO<sub>2</sub>, şeker kamışı), besin maddesi yetersizliği ve azot kısıtlaması altında *Chlorella vulgaris*'in biyokütle ve lipit verimi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. İki aşamalı bir süreç kullanmışlardır. Besin maddesi yeterli derecede (1. evre) karbon kaynakları sağlanarak biyokütle verimliliğinin arttığını, ancak lipit içeriğindeki artışın az olduğunu gözlemlemişlerdir. Azot açlığı koşulu uygulanarak (2. evre), karbon kaynaklarının sağlanması lipit ve yağ asidi içeriğinde önemli bir artışa neden olduğu belirtilmiştir. CO<sub>2</sub> kullanımı en yüksek hücre yoğunluğuna neden olurken, şeker kamışının diğer karbon kaynakları

kadar etkili olmadığı saptanmıştır. Ancak daha düşük fiyatı dikkate alınarak, algal lipit verimliliği için uygun bir karbon kaynağı olarak düşünülebileceğini belirtmişlerdir.

Çağla Sönmez ve diğ., 2016 yılında *Micractinium* sp. and *Scenedesmus* sp.'nin biyokütle ve lipit verimliliklerini incelemişlerdir. Bunun için orta Anadolu'da tipik olarak sıcak bir yaz gününü taklit eden laboratuvar şartlarında çalışmışlardır. 30 °C gündüz/ 16 °C gece 16:8 aydınlık/karanlık döngüsünde denemeler yapılmıştır. 30 gündüz/ 16 °C gece döngüsünde *Micractinium* sp. and *Scenedesmus* sp.'nin lipit verimlilikleri sırasıyla 30/21 mgL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup> ve 6/7 mgL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Ayrıca N ve P kısıtlı koşullar altında *Micractinium* sp. üretilmiş ve P-yokluğunda 85,4 ± 2 mgL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup> ile en yüksek lipit üretkenliği elde edilmiştir. P-yokluğunda oleik asit miktarının da 8 kat arttığı saptanmıştır.

Sakarika ve diğ., 2016 yılında *Chlorella vulgaris*'in büyümesini destekleyebilen pH aralığını araştırmak ve spesifik olarak heterotrofik koşullarda yetiştirilebilen mikroalgin büyümesi için optimum pH'ı ve pH'nın lipitlerin birikimi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Geniş bir pH aralığında (5,0-8,0) çalışmışlardır. Kükürt kısıtlaması altında biyokütle büyümesi ve lipit birikimi için optimum pH değeri 7,5 olarak bulunmuştur. Maksimum büyüme hızı 0,541 gün<sup>-1</sup> ve maksimum toplam lipit içeriği %53,43 g g<sup>-1</sup>Dw olarak bulunmuştur. Bununla birlikte pH değeri 3,0, 4,0 ve 11,0 bu tür için aşırı bulunmuştur. pH: 9,5'te mikroalgin yetişmediği ve topaklanmaların olduğu gözlenmiştir.

Sakarika ve diğ., 2017 yılında (1) kükürt ilavesinin biyokütle büyümesine etkisini, (2) sülfür, fosfor ve azot sınırlamasının *Chlorella vulgaris* SAG-211-11b lipit birikimi üzerine etkisini incelemişlerdir. Kükürt ilavesinin son biyokütle konsantrasyonunu 4 kat arttırdığı gözlemlenmiştir. En yüksek lipit içeriği (%53,43 ± 3,93 g g<sup>-1</sup>Dw ) kükürt kısıtlaması altında bulunmuştur. Besin ortamı olarak glikoz eklemesi yapılan BG-11 besin ortamı kullanılmıştır. Azot gereksiniminin diğer mikroalgler ile karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük olduğu saptanmıştır.

Andrew C. Eloka ve diğ., 2017 yılında 4 farklı mikrolag türü (*Chlorella vulgaris*, *Dunaliella*, *Scenedesmus quadricauda* ve *Synechococcus* spp.) kullanılarak biyokütleden lipit üretimi üzerinde CO<sub>2</sub> izolasyonunun miktar ve miktarlarının etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada en iyi biyokütle üreticisi *Chlorellavulgaris* olmuştur. (X<sub>max</sub>: 5400 mgL<sup>-1</sup> P<sub>max</sub>: 35,1 mg L h<sup>-1</sup>). Burada biyokütle verimliliği P<sub>max</sub>, maksimum hücre konsantrasyonu X<sub>max</sub>'tir. *Chlorella vulgaris* %27 ile

en yüksek lipit içeriğini gösterirken, *Synechococcus spp.*%11,72 ile en düşük lipit verimini gösterdiğini belirlemişlerdir.

Tiyoporn Luangpipat ve diğ., 2017 yılında 5 farklı mikroalg türünü (*Chlorella vulgaris*, *Choricystis minor*, *Neochloris sp.*, *Pseudococcomyxa simplex*, *Scenedesmus sp.*) deniz suyu ve tuzlu suda yetiştirme ve lipit üretme yetenekleri açısından araştırmışlardır. Deniz suyunda sadece *Chlorella vulgaris*'in geliştiği ve lipitler olduğunu tespit etmişlerdir. *Chlorella vulgaris*'in deniz suyuna toleranslı türleri olduğundan besin maddelerince yeterli deniz suyundaki lipit verimliliğinin  $37 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  geçtiğinin ve bunun tatlı suya kıyasla yaklaşık 2 misli daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. *Choricystis minor* gibi diğer mikroalgler daha yüksek lipit üretkenliklerine ( $45 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) sahip olsa da deniz suyunda başarılı olmadığını belirtmişlerdir. Sürekli aydınlatılmış kültürlerle karşılaştırıldığında 12/12 aydınlık-karanlık bir döngünün *Chlorella vulgaris*'in verimliliğini %30 oranında düşürdüğünü ancak biyokütlenin lipit içeriğini etkilemediğini gözlemlemişlerdir. *Chlorella vulgaris*'in tatlı sudaki çoğalması kapsamlı bir şekilde incelenirken, deniz suyunda detaylı bir çalışma yapılmamıştır. Deniz suyundaki çalışmalar, biyoyakıtlar için gelecekte büyük ölçekli algal yağın üretilmesi için gereklidir. Küresel olarak az miktarda tatlı su bulunduğundan, deniz suyunun ucuza ve büyük miktarlarda bulunduğu belirtilmiştir.

### 3. MATERYAL

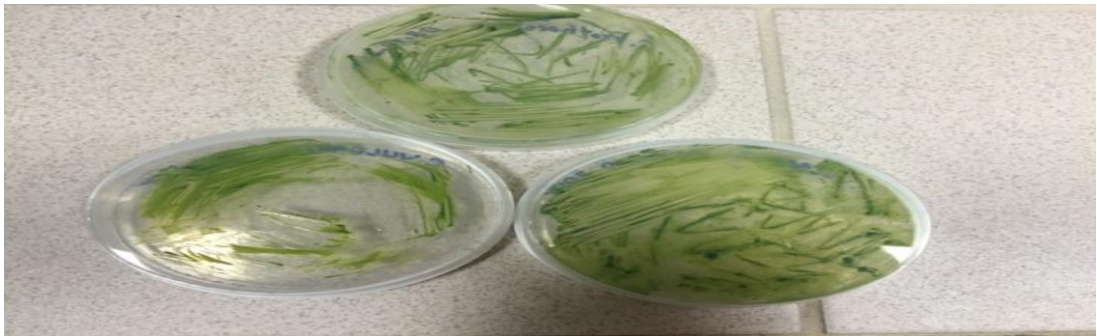
#### 3.1. Kültüre Alınan Mikroalg Türü

*Chlorella variabilis* Chlorellaceae familyasının bir üyesidir. Araştırmada kullanılan yeşil algler grubuna ait *Chlorella variabilis* İstanbul Medeniyet Üniversitesi moleküler biyoloji ve genetik bölümünden temin edilmiştir. *Chlorella variabilis*'in sistematigi Tablo 3.1'de gösterilmektedir.

Tablo 3.1. *Chlorella variabilis*'in sistematikteki yeri

Alem	Protista
Bölüm	Chlorophyta
Sınıf	Chlorophyceae
Takım	Chlorococcales
Aile	Oocystaceae
Cins	<i>Chlorella</i>
Tür	<i>Variabilis</i>

Çalışmalarımızda kullanılan *Chlorella variabilis* Şekil 3.1' de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. *Chlorella variabilis*

*Chlorella* yeşil agler grubunda yer alır. Bilinen en eski canlılardan ve besin kaynaklarından biridir. Genellikle 5-8,5 µm çapında küresel bir görünüme sahiptir (Prescott,1962). *Chlorella sp.* tek hücreli olmasına karşın vitamin, protein, mineral, nükleik asit (RNA, DNA), enzimleri bünyesinde biriktiren en önemli mikroalgdir. Ayrıca, demir, iyot, çinko, magnezyum, fosfor ve kalsiyum da içermektedir. %50-60 oranında protein bulunduran *Chlorella sp.* klorofil'in doğada en yüksek oranlı kaynağıdır. Sığır karaciğerinde bulunan miktardan daha fazla B<sub>12</sub> vitamini içermektedir (Jensen,1987, Singh, 1998). *Chlorella sp.* yağ asitlerinin çoğunluğunu doymamış yağ asitleri oluşturmaktadır. Doymamış yağ asitlerinin oranı %80'e kadar ulaşmaktadır.

### 3.2. Kültür Ortamı

*Chlorella variabilis* için Blue-Green (BG-11) besin ortamı kullanılmıştır. BG-11 besin ortamının bileşimi Tablo 3.2'de verilmiştir. Kullanılan kimyasallar Sigma-Aldrich ve Merck firmasından temin edilmiş olup analitik saflıktadır. Gerekli tüm kimyasal malzemeler ve vitaminler saf suda çözülerek kültür ortamları hazırlanmıştır. Hazırlanan besin ortamı 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril hale getirilmiştir.

Tablo 3.2. BG11 besi ortamı (1000 ml için)

Kimyasal	Miktar (g)
NaNO <sub>3</sub>	1,5000
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,0400
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,0750
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,0360
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,0029
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,0200
Citric acid	0,0060
Ferric citrate	0,0060
Vitamin	0,0200

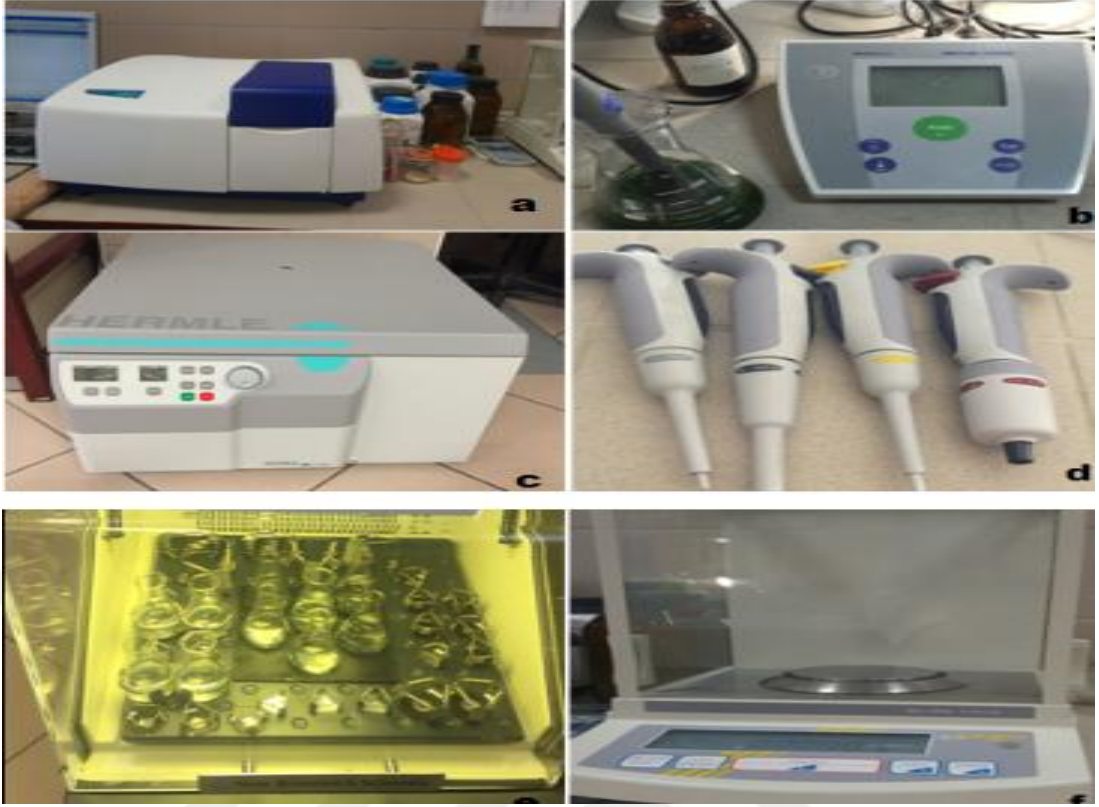


### 3.3. Deney Düzeneği (Metot)

Farklı biyoreaktörlerde, farklı stres koşullarının *Chlorella variabilis*'in büyümesine ve yağ içeriğine etkisini incelemek için deney setleri hazırlanmış ve deneyler Kocaeli Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Aksi belirtilmediği sürece aşığıdaki proses koşullarında çalışılmıştır: Kùltürlerin aydınlatılması 3,80 klùx yüzey ışık şiddeti sağlayacak 7W 2400K değerine sahip OSRAM marka led ampùller ile sürekli olarak sağlanmış (24 saat). Çalışmalar boyunca sıcaklık  $25 \pm 2$  °C olacak şekilde sabit tutulmuştur. Bütün kùltürlere hacimlerinin %3'ü kadar alg aşılması yapılmıştır. Kullanılan bütün cam malzemeler 121 °C' de 2 saat etüvde (NÜVE EV 018) bekletilerek steril hale getirildikten sonra kullanılmıştır.

### 3.4. Cihazlar

Cam malzemelerin kurutulması, steril hale getirilmesi için NÜVE marka EV 018 model etüv kullanılmıştır. Mikroorganizmanın optik yoğunluğunun ölçümleri Jenway 6800 UV-VIS spektrofotometrede yapılmıştır. MettlerToledo Seven Easy S20-K pH metre cihazı ile pH ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Kùltür ortamının hazırlanması için USF ELGA distile su cihazı (USF ELGA kompozit filtrelili) kullanılmıştır. Ayrıca Brand Transfer pette S otomatik mikropipetler (100µL, 1000µL, 5mL) Kern ABJ 320-4 analitik terazi, New Brunswick Scientific Innova 40 R orbital çalkalamalı inkübatör, hasat edilen küçük hacimli mikroorganizmanın çöktürülmesi için Hettich Mikro 220 R santrifüj cihazı, büyük hacimli mikroorganizmaların çöktürülmesi için Hermle Z 446 santrifüj cihazı, ışık şiddeti ölçümü için Extech HD450 ışık ölçer cihazları kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Deneysel çalışmada kullanılan ekipmanlar (a) Jenway 6800 UV-VIS spektrofotometre, (b) MettlerToledo Seven Easy S20-K pH metre cihazı, (c) Hermle Z 446 santrifüj cihazı, (d) Mikropipetler, (e) New Brunswick Scientific Innova 40 R orbital çalkalamalı inkibatör (f) Hassas terazi

## 4. YÖNTEM

### 4.1. Azot Konsantrasyonunun Etkisi

*Chlorella variabilis*'in büyümesine ve yağ içeriğine farklı N konsantrasyonlarının etkisinin incelendiği deneysel yöntem şu şekildedir; Azot kaynağı olarak BG-11 besin ortamındaki  $\text{NaNO}_3$  kullanılmıştır. Denemeler 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. 250 ve 500 mL cam erlenler reaktör olarak kullanılmıştır. 250 mL de kültüre alınan örnekler  $25 \pm 2^\circ \text{C}$ ' de 200 devir/dakika'da çalışan çalkalamalı inkibatörde gerçekleştirilmiştir. Hacimlerin küçük olmasından dolayı ayrıca bir havalandırmaya ihtiyaç duyulmamıştır. 500 mL'de kültüre alınan örneklerin havalandırması TETRA APS 300 marka 300lt/saat kapasiteli hava pompası ile yapılmıştır. Hava pompasından çıkan hava 0,45  $\mu$  delikli şırınga filtresinden geçirilip steril hale getirildikten sonra reaktörlere verilmiştir. N miktarlarının g cinsinden değerleri Tablo 4.1'te verilmiştir.

Tablo 4.1. N miktarlarının g cinsinden değerleri

250 mL erlenler		500 mL erlenler	
%N	Miktar (g)	%N	Miktar (g)
0	0	0	0
25	0,09375	25	0,1875
50	0,1875	50	0,3750
75	0,2813	75	0,5625
100	0,3750	100	0,7500

#### 4.2. Demir Konsantrasyonunun Etkisi

*Chlorella variabilis*'in büyümesine ve yağ içeriğine farklı Fe konsantrasyonlarının etkisinin incelendiği denemeler 2 tekrarlı olarak yapılmıştır. Fe kaynağı olarak BG-11 besin ortamındaki Ferric citrate kullanılmıştır. 100 mL'lik 5 adet *Chlorella variabilis* kültürleri yapılmıştır. Bütün biyoreaktörlerde eşit hacimlerde kültürler bulunmaktadır. Denemeler  $25 \pm 2$  °C'de ve 145 devir/dakika'da çalışan çalkamalı inkibatörde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada hacimlerin küçük olmasından dolayı ayrıca bir havalandırmaya gerek duyulmamıştır. Fe miktarlarının g cinsinden değerleri Tablo 4.2'te verilmiştir.

Tablo 4.2. Fe miktarlarının g cinsinden değerleri

100 mL Erlenler	
%Fe	Miktar (g)
0	0
25	$1,5 \times 10^{-4}$
50	$3,0 \times 10^{-4}$
75	$4,5 \times 10^{-4}$
100	$6,0 \times 10^{-4}$

#### 4.3. Potasyum Di Hidrojen Fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) Konsantrasyonunun Etkisi

*Chlorella variabilis*'in büyümesine ve yağ içeriğine farklı konsantrasyonlardaki  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  etkisinin incelendiği çalışma koşulları şu şekilde gerçekleştirilmiştir. Denemeler 2 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  BG-11 besin ortamında 0,04 g/L idi. 0,005 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,020 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,080 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve 0,16 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  konsantrasyonları kullanılmıştır. Çalışmadaki örnekler 125 mL olacak şekilde biyoreaktörlerde kültüre alınmıştır. Bütün biyoreaktörlerde eşit hacimlerde kültürler bulunmaktadır. Örnekler 145 devir/dakika'da çalışan çalkalamalı inkibatörde gerçekleştirilmiştir. Hacimlerin küçük olmasından dolayı ayrıca bir hava pompası ile havalandırmaya ihtiyaç duyulmamıştır.

#### 4.4. Farklı Azot Kaynağı ve Konsantrasyonlarının Etkisi

Farklı azot kaynaklarının ( $\text{NaNO}_3\text{-N}$  (Sodyum nitrat),  $\text{NH}_4\text{Cl-N}$  (Amonyum klorür),  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O-N}$  (üre)) farklı konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis*'in büyümesine ve yağ içeriğine etkisinin araştırıldığı çalışmalar şu şekilde yapılmıştır. Farklı azot kaynaklarının etkisi için 4 ayrı çalışma yapılmıştır. 1. çalışmada BG-11'deki azot kaynağının ( $\text{NaNO}_3$ ) konsantrasyonu kadar (1,5 g/L) azot kaynağı içeren kültürler hazırlanmıştır. 2. çalışmada BG-11'deki azot kaynağının %25'i kadar (0,0375 g/L), 3. çalışmada BG-11'deki azot kaynağının %50'si (0,075 g/L), 4. çalışmada BG-11'deki azot kaynağının %75'si (0,225 g/L) kadar azot içeren kültürler hazırlanmıştır. Denemelerdeki bütün kültürler eşit hacimde olacak şekilde hazırlanmıştır. 1. çalışmadaki örnekler 500 mL hacimli biyoreaktörlerde gerçekleştirilmiştir. Havalandırma TETRA APS 300 marka 300lt/saat kapasiteli hava pompası ile sağlanmıştır. Hava pompasından çıkan hava 0,45  $\mu$  delikli şırınga filtresinden geçirilip steril hale getirildikten sonra reaktörlere verilmiştir. 2.,3. ve 4. çalışmadaki örnekler 200 mL hacimli biyoreaktörlerde 145 devir/dakika'da çalışan çalkamalı inkibatörde gerçekleştirilmiştir. Bu 3 çalışmada hacimler küçük olduğu için hava pompası ile ayrıca bir havalandırmaya ihtiyaç duyulmamıştır. Çalışmalarda kullanılan azot kaynaklarının miktarları Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Kullanılan azot kaynaklarının miktarları

1.Çalışma (500mL)	2.Çalışma (200mL)	3.Çalışma (200mL)	4. Çalışma (200mL)
Besin ortamı kadar N kaynağı	Besin ortamının %25'i kadar N kaynağı	Besin ortamının %50'si kadar N kaynağı	Besin ortamının %75'i kadar N kaynağı
$\text{NaNO}_3= 0,75$ g	$\text{NaNO}_3= 0,075$ g	$\text{NaNO}_3= 0,15$ g	$\text{NaNO}_3= 0,225$ g
$\text{NH}_4\text{Cl}= 0,75$ g	$\text{NH}_4\text{Cl}= 0,075$ g	$\text{NH}_4\text{Cl}= 0,15$ g	$\text{NH}_4\text{Cl}= 0,225$ g
$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}= 0,75$ g	$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}=0,075$ g	$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}= 0,15$ g	$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}= 0,225$ g

#### 4.5. Fotobiyoreaktör Yükseklik/Çap Oranının Etkisi

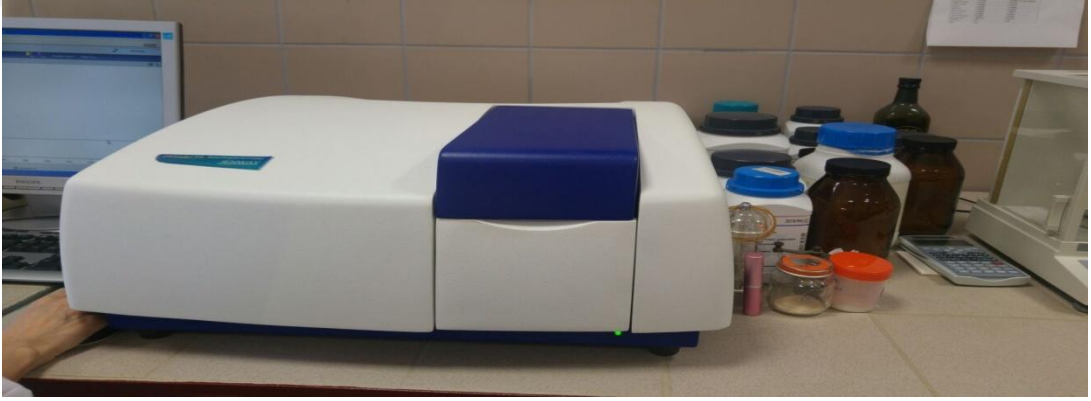
Araştırmanın bu bölümünde farklı yükseklik/çap (L/D) oranına sahip silindir şeklindeki biyoreaktörlerin *Chlorella variabilis*'in büyümesine ve yağ içeriğine etkisi incelenmiştir. Denemeler 2 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Besin ortamı olarak BG-11 kullanılmıştır. Kullanılan silindir şeklindeki biyoreaktörlerin çapı: 9 cm yükseklikleri ise, 9, 18 ve 27 cm'dir. Buna göre fotobiyoreaktör yükseklik/çap oranları sırasıyla 1, 2 ve 3'tür. Biyoreaktörlerin hacimleri sırasıyla 573, 1145 ve 1717 mL'dir. Örnek hesaplama ekte verilmiştir (EK-A).

Kültürlerin havalandırılması TETRA APS 300 marka 300lt/saat kapasiteli hava pompası ile yapılmıştır. Hava pompasından çıkan hava 0,45 µ delikli şırınga filtresinden geçirilip steril hale getirildikten sonra reaktörlere verilmiştir.

## 5. YAPILAN ANALİZLER

### 5.1. Optik Yoğunluk Ölçümü

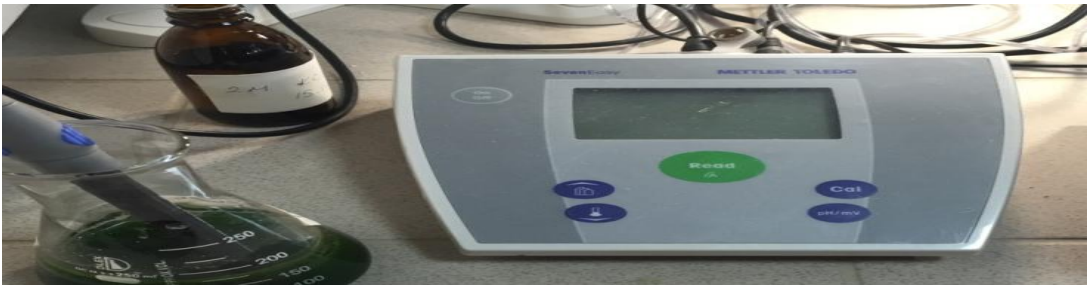
Optik yoğunluk (OD) ölçümleri steril mikropipetler yardımıyla her denemeden 3 mL alınarak yapılmıştır. Kuvars küvetlere koyulan örnekler için 600 nm dalga boyunda spektrofometrede (Jenway 6800 UV-VIS spektrofotometre) ölçümler alınmıştır (Şekil 5.1). Şahit örnek olarak saf su kullanılmıştır. Optik yoğunluk değerleri 1,00 değerini geçtiği zaman örnekler seyreltilerek okumalar yapılmıştır.



Şekil 5.1. Jenway 6800 UV-VIS spektrofotometre

### 5.2. pH Ölçümü

pH ölçümleri Mettler Toledo Easy S-20K pH metre cihazı ile yapılmıştır (Şekil 5.2).



Şekil 5.2. Mettler Toledo Easy S-20K pH metre cihazı

### 5.3. Sıcaklık Ölçümü

Bütün örneklerin sıcaklıkları dijital termometre ile ölçülmüştür.

#### 5.4. Hasat

Kültürlerde logaritmik evrenin bitimi, duraklama evresinin izlenmesi optik yoğunluk değerlerine göre yapılmıştır. Denemelerin sona erdirilmesinden sonra büyük hacimde olan örnekler için, büyük hacimler için kullanılan santrifüj cihazı (Hermle Z 446 santrifüj cihazı), daha küçük hacimler için küçük hacimler için uygun olan santrifüj cihazı (Hettich Mikro 220 R santrifüj cihazı) kullanılmıştır. Büyük hacimli örnekler 4000 rpm' de 30 dakika, küçük hacimli örnekler 6000 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüj edilmiştir (Şekil 5.3).



Şekil 5.3. Hermle Z 446 santrifüj cihazı

#### 5.5. Kurutma

Santrifüj edilen yaş mikroorganizmalar santrifüj tüplerinde kurutucu yardımıyla sabit ağırlığa kadar kurutulmuştur (Şekil 5.4).



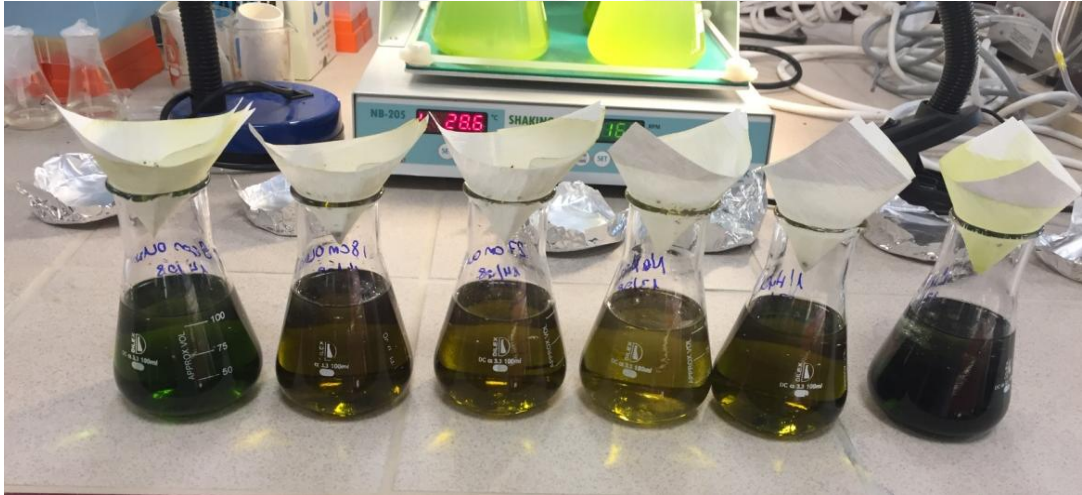
Şekil 5.4. *Chlorella variabilis* kültürüne kurutma işlemi



## 5.6. Yağ Miktarının Hesaplanması (Lipit Analizi)

Lipit analizi Bligh ve Dyer (1959) uyguladığı yöntemine göre yapılmıştır. 0,2 gram homojenize edilmiş alg örnekleri 105 °C'de 2 saat etüvde bekletilip darası alınmış beherlere koyulmuştur. Bu örneklerin üzerine 120 mL metanol-kloroform (1/2 oranında) karışımı eklenmiştir. Daha sonra bu örnekler üzerine %0,4'lük CaCl<sub>2</sub> çözeltisi eklenmiştir. Bu örnekler 3 saat 200 rpm'de mekanik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra darası alınmış erlenlere süzgeç kağıdı yardımı ile süzümüştür (Şekil 5.5). Bu erlenler ağızları hava almayacak şekilde kapatılarak 1 gün boyunca bekletilip, ertesi gün metanol-su karışımından oluşan üst tabaka ayrılmıştır. Erlenlerin içinde kalan kloroform-lipit kısmından kloroform uçurularak kalan lipit oda sıcaklığına kadar soğutulup, hassas terazide tartılmıştır. Lipit oranının hesaplanmasında Denklem (5.1) kullanılmıştır.

$$\text{Lipit miktarı (\%)} = \frac{[\text{Beher Darası(g)} + \text{Lipit(g)}] - [\text{Beher Darası (g)}]}{\text{Lipit(g)}} \times 100 \quad (5.1)$$



Şekil 5.5. Yağ analizi için çözücü eklenmiş alglerin süzülmesi

## 5.7. Yağ Asidi Bileşimi

Yağ asidi bileşimi alev iyonizasyon dedektörü (FID) ve 30 m x 320 µm x 0.25 µm kapiler kolon (CARBOWAX 20M) ile donatılan 7820 Agilent marka gaz kromatografi ile belirlenmiştir. Dedektör sıcaklığı 280 °C ve split oranı 1:50'dir. Kolon sıcaklığı, 50 °C'de 1 dakika beklemeden sonra dakikada 25 °C/dk. artışla 200 °C'ye 3 °C/dk artışla 230 °C'ye ulaşarak bu sıcaklıkta 18 dakika bekletilerek 40 °C/dk artışla 280 °C'ye çıkılarak ve bu sıcaklıkta da 3 dakika kalacak şekilde programlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır.

Örnek hazırlama: 0,1 g yağ örneği, 10 ml'lik cam tüp içerisine tartılarak ve üzerine 5 ml hekzan ilave edilmiş ve 3 dakika vortekste karıştırılmıştır. Karıştırma sonrası üzerine 0,1 ml 2N KOH eklenip, vorteks karıştırıcıda 30 saniye karıştırılmıştır. Karışım 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.

### 5.8. Büyüme Hızı ve İkiye Katlanma Süresi Hesaplanması

Hesaplamalar aşağıdaki denklemler ile yapılmış ve örnek hesaplama ekte gösterilmiştir (EK-C).

Hücre sayısından Spesifik büyüme hızı ( $\mu$ ) Denklem (5.2)'ye göre bulunmuştur;

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1} \quad (5.2)$$

Formülde  $X_2$  ve  $X_1$ , üstel (logaritmik) büyüme evresinde  $t_2$  ve  $t_1$  zamanlarındaki biyokütle konsantrasyonlarını belirtir.

Hücrelerin ikiye katlanma süresi aşağıdaki Denklem (5.3) yardımıyla bulunmuştur;

$$\text{Hücresinin ikiye katlanma süresi} = \frac{\ln(2)}{\mu_{\max}} \quad (5.3)$$

## 6. BULGULAR

Kocaeli Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarında *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesine ve yağ içeriğine etkisini belirlemek amacıyla; azot stresi, demir stresi, potasyum dihidrojen fosfat etkisi, farklı azot kaynaklarının etkisi ve fotobiyoreaktörün yükseklik/çap oranının etkisi incelenmiştir.

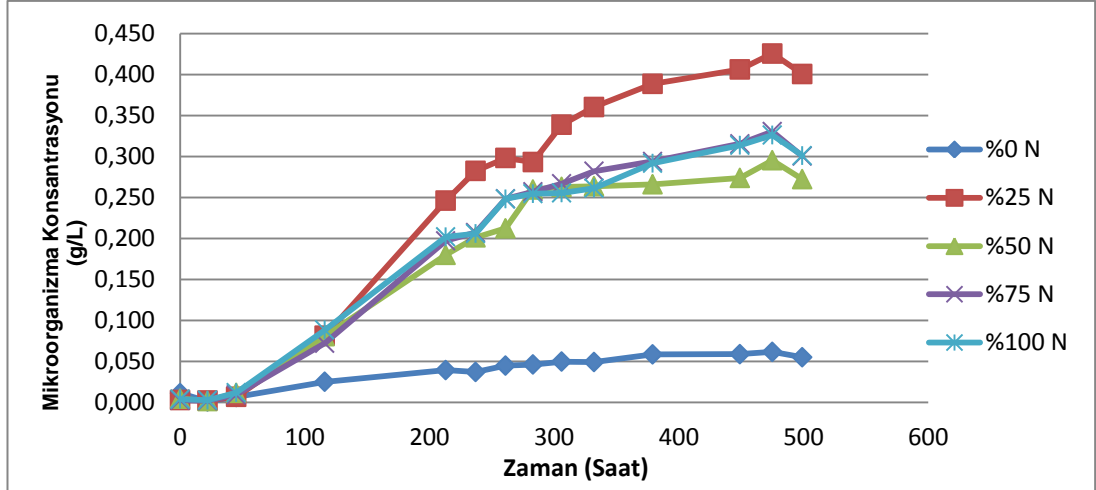
### 6.1. Farklı Azot Konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis* Türü Mikroalgin Büyüme ve Yağ İçeriğine Etkisi

Mikroalglerin fototrofik üretimlerinde gerekli besinler, toplam tuz konsantrasyonu, karbon kaynağı, azot kaynağı, potasyum, magnezyum, sodyum, sülfat ve fosfat gibi ortamda bulunması gereken elementlerdir. Mikroalglerin büyümesi ve yağ içeriği besin ortamına uygulanan strese göre değişiklikler gösterebilir. Büyümeyi ve yağ içeriğini azaltabilir ya da arttırabilir. Azot kaynağı ve düzeylerinin, algal kültürlerde büyüme ve biyokimyasal kompozisyonu etkileyen en önemli faktörlerden biri olduğu bilinmektedir (Xu ve diğ., 2001). Azot sınırlaması ile büyüyen bir çok mikroalg türünde lipit içeriğinin arttığı gözlenmiştir.

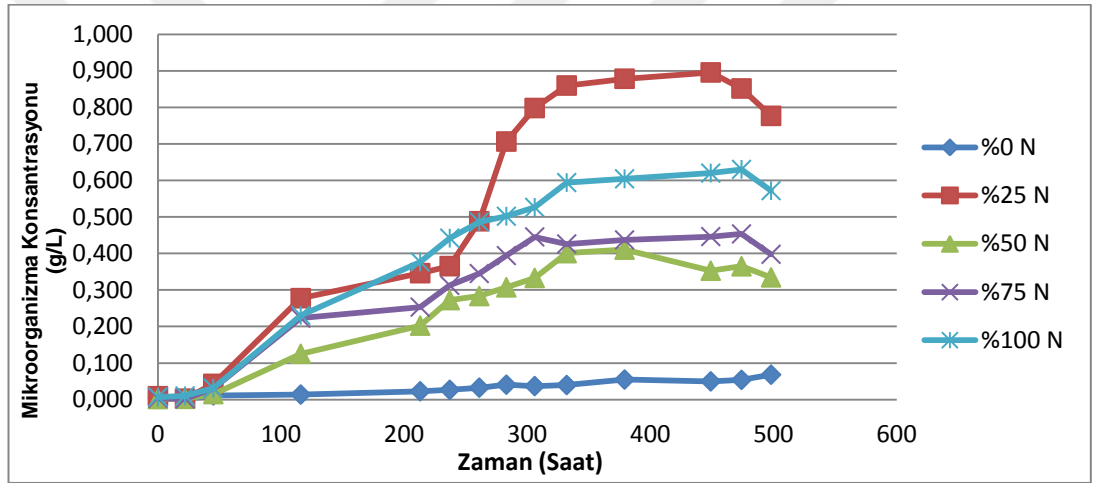
Konuyla ilgili literatür 2. bölümde (önceki çalışmalar) de verilmiştir.

Literatürde farklı azot konsantrasyonu stresinin *Chlorella variabilis* mikro alg türünün büyümesine ve lipit içeriğine etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle başka türler ile yapılan çalışmalar ile karşılaştırma yapılmıştır.

Büyüme ve yağ içeriğini arttırmak için besin ortamında (BG11) farklı oranlarda azot sınırlaması yapılmıştır. Bu oranlar yüzde 0, 25, 50, 75 ve 100 olacak şekilde ayarlanmıştır. Örneğin %25 azot sınırlaması besin ortamındaki olması gereken azot kaynağının (1,500 g/L NaNO<sub>3</sub>) yüzde 25'i kadardır. Besin ortamı şebeke suyu kullanılarak hazırlanmıştır. Mayıs 2017 ISU şebeke suyu verilerine göre şebeke suyunda 0,012 mg/L nitrit bulunmaktadır (EK-B). Farklı N konsantrasyonu ile 2 set olacak şekilde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Şekil 6.1 ve 6.2 farklı N konsantrasyonlarının mikroorganizma büyümesi üzerine etkileri verilmiştir.



Şekil 6.1. Farklı azot konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (1.set)



Şekil 6.2. Farklı azot konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (2.set)

Şekil 6.1'de görüldüğü gibi 283. saate kadar büyüme devam etmektedir. 283. saatten sonra %25 N sınırlaması olan örnek dışındaki örneklerde durağan fazda bir büyüme gözlenirken, %25 N sınırlaması olan örnek 475. saate kadar büyümeye devam etmiştir. 475. saatten sonra bütün örneklerde ölüm fazının başladığı belirlenmiştir.

Şekil 6.2 2. seti ifade etmektedir. 306. saate kadar bütün örneklerin büyümeye devam ettiği, 306. saatten itibaren %50, %75 ve %100 N sınırlaması olan örneklerin durağan faza geçtiği belirlenmiştir. %25 N sınırlaması olan örnek ise 332. saate kadar büyümeye devam etmiş ve 332. saatten itibaren durağan faza geçmiştir. Bütün örneklerde 474. saatten sonra ölüm fazının başladığı belirlenmiştir. Her iki

sette de %0 N sınırlaması olan örnekte gerçekleşen büyümenin şebeke suyundaki nitritten kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tablo 6.1'de farklı azot konsantrasyonu streslerinin *Chlorella variabilis*'in büyüme hızına ve yağ içeriklerine etkisi gösterilmiştir. Tablodaki değerler iki setin ortalaması olarak hesaplanmıştır.

Çalışmalar sonucunda Tablo 6.1'de gösterildiği gibi en yüksek hücre konsantrasyonu ( $X_{max}= 0,66$  g/L) ve maksimum spesifik büyüme hızına  $\mu_{max}=0,031$  saat<sup>-1</sup> büyüme oranı ile %25 N sınırlamasında ulaşılmıştır. Bu koşulda hücrelerin 2'ye katlanma süresi 22 saat olarak belirlenmiştir.

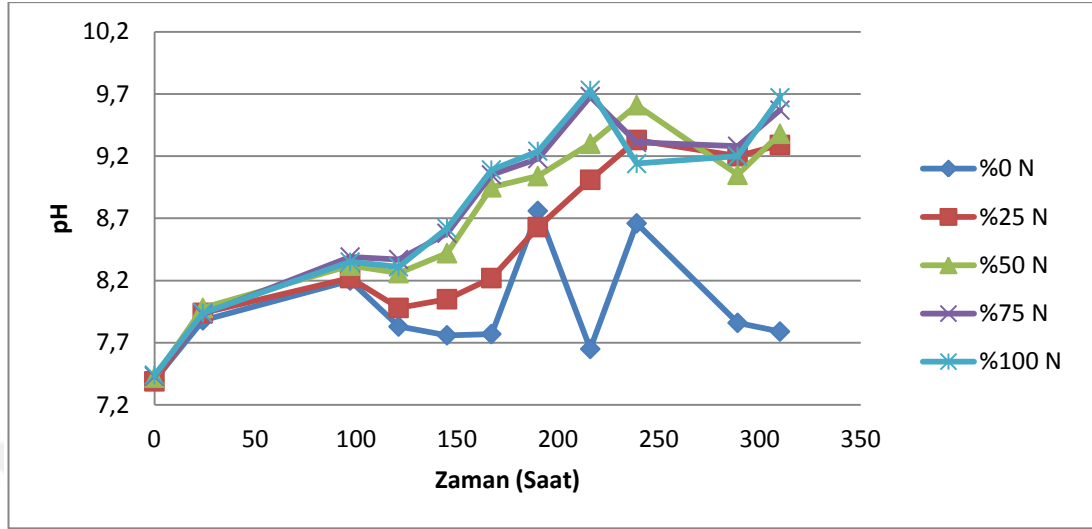
Ortamdaki N konsantrasyonunun %25 olması durumunda *Chlorella variabilis*'in yağ oranı %25,6 olarak bulunmuştur. Azot sınırlamasının olmadığı örnek ile karşılaştırıldığında %6 oranında bir artma olduğu belirlenmiştir. (%19,6'dan %25,6'ya yükselmiştir).

Burada maksimum hücre konsantrasyonu ( $X_{max}$ ) herhangi bir t anında elde edilen maksimum hücre konsantrasyonudur. Biyokütle miktarı ise elde edilen en son kütle ile absorbans değerinin çarpılıp hesaplanması ile bulunmuştur. Her ikisinin de birimleri g/L'dir.

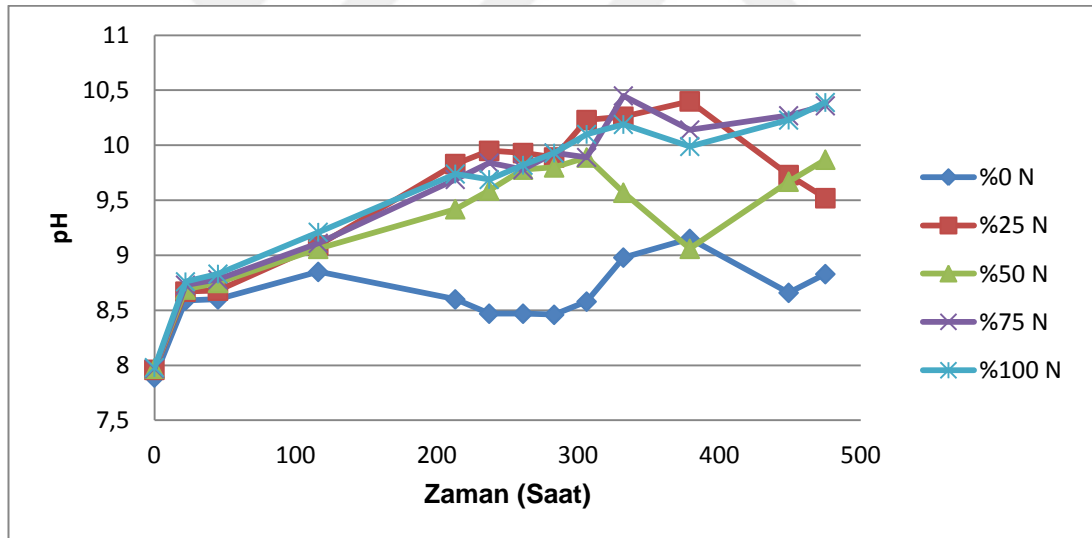
Tablo 6.1. Farklı azot konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis*'in büyümesine ve yağ içeriklerine etkisi

Azot Stresi %	$X_{max}$ (g/L)	$\mu_{max}$ (h <sup>-1</sup> )	Biyokütle miktarı (g/L)	Yağ içeriği (%)	Yağ miktarı (g/L)	Hücrelerin iki'ye katlanma süresi (saat)	Yağ verimliliği (mg/Lgün)
0	0,065	0,005	0,007	Analizlenemedi. (Örnek miktarı az)	Analizlenemedi. (Örnek miktarı az)	141	
25	0,66	0,031	0,102	25,6	0,026	22	1,248
50	0,35	0,012	0,117	23,2	0,027	58	1,296
75	0,39	0,019	0,108	18,9	0,021	36	1,008
100	0,48	0,018	0,115	19,6	0,023	37	1,104

Yapılan her bir set için günlük olarak pH ölçümleri yapılmıştır. pH değişimlerine ait grafikler Şekil 6.3 ve 6.4'te verilmiştir.



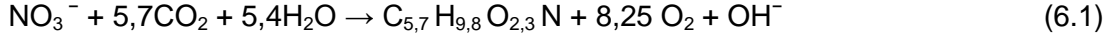
Şekil 6.3. Farklı azot konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis* kültür ortamı pH'ına etkisi (1.set)



Şekil 6.4. Farklı azot konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis* kültür ortamı pH'ına etkisi (2.set)

Başlangıçta 7,30-7,50 aralığında ölçülen pH değerleri 289. saate kadar yükselmiş bundan sonraki saatlerde ise 8,50-9,70 aralığında sabit kalmıştır. Sıcaklık ise  $25 \pm 2$  °C olarak ölçülmüştür.

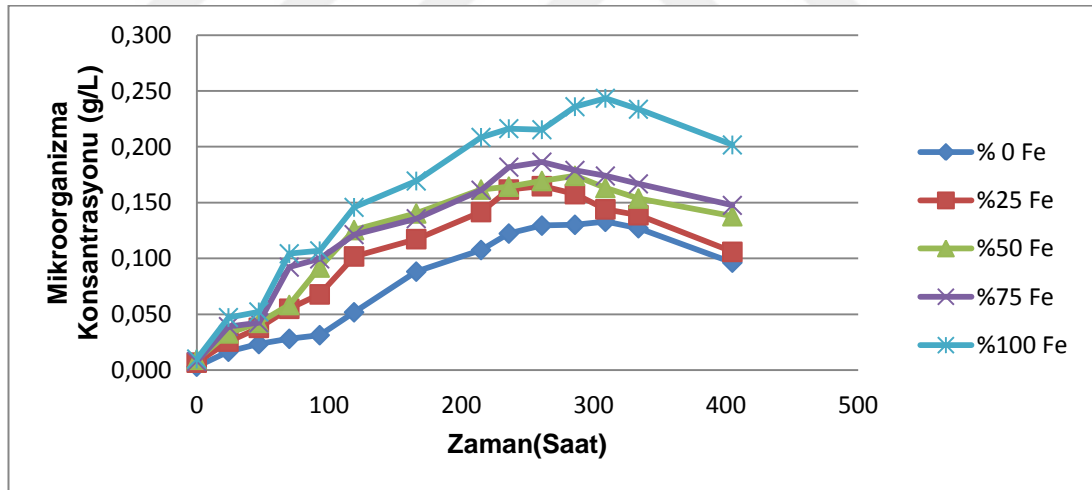
Mikroalglerin nitratı kullanması durumunda pH artmaktadır. Teorik olarak bir mol nitrat kullanıldığında, 1 mol  $\text{OH}^-$  üretilmektedir (Rashid ve diğ., 2014, Song ve diğ., 2011). Bu reaksiyon, aşağıda verilmiştir (6.1).



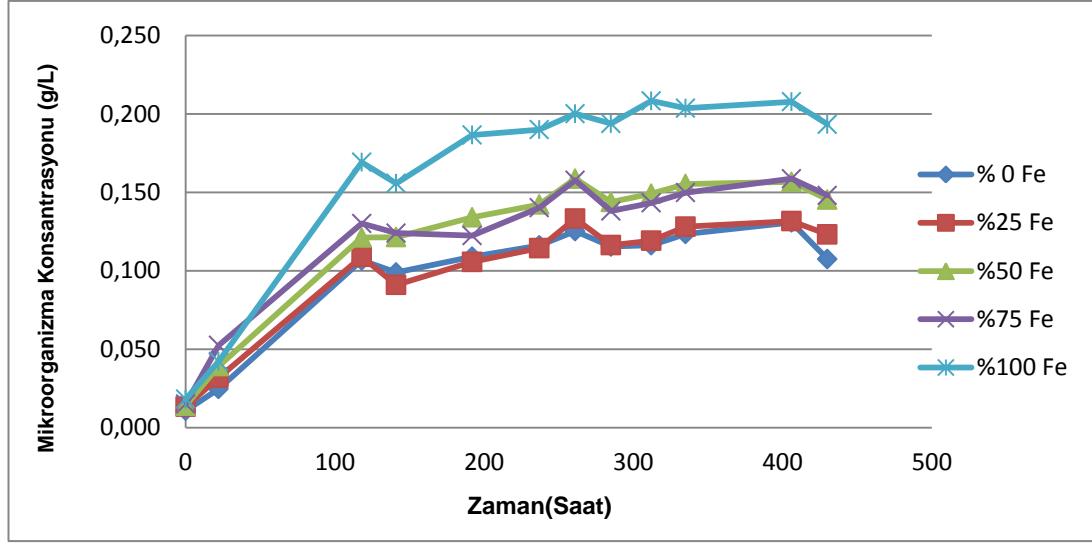
Nitrat kullanımı ile ortamın pH'ı ve mikroalgal gelişim arasında doğrusal bir ilişki vardır. Nitrat'ın fazla kullanılması durumunda pH artarak 10'un üzerine çıkabilir ve mikroalg gelişimini etkileyebilmektedir. Bu sebeple, azot kaynağı olarak amonyum ve nitratın kullanılması durumunda pH'ın ayarlanması gerekmektedir.

## 6.2. Farklı Demir Konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis* Türü Mikroalgin Büyüme ve Yağ İçeriğine Etkisi

Büyüme ve yağ içeriğini arttırmak için besin ortamında (BG11) farklı oranlarda demir sınırlaması yapılmıştır. Bu oranlar yüzde 0, 25, 50, 75 ve 100 olacak şekilde ayarlanmıştır. Örneğin %25 demir sınırlaması besin ortamındaki olması gereken demir kaynağının (0,0060 g/L Ferric citrate) yüzde 25'i kadardır. Besin ortamı şebeke suyu kullanılarak hazırlanmıştır. Mayıs 2017 ISU şebeke suyu verilerine göre şebeke suyunda demir yoktur (EK-B). Şekil 6.5 ve 6.6'da farklı demir konsantrasyonlarının mikroorganizma büyümesi üzerine etkileri verilmiştir.



Şekil 6.5. Farklı demir konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (1.set)



Şekil 6.6. Farklı demir konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (2.set)

Farklı demir konsantrasyonu ile 2 set olacak şekilde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Şekil 6.5'te gösterildiği gibi 236. saate kadar devam eden büyüme, daha sonra duraklama-gerileme evresine girmiştir. 405. saatten sonra ise ölüm fazının başladığı belirlenmiştir.

Şekil 6.6 2. seti ifade etmektedir. Büyüme 261. saate kadar hızlı, sonrasında ise yavaş devam etmiştir. Şekil 6.5 ve 6.6'da gösterildiği gibi demir konsantrasyonları besin ortamındaki olması gereken demir miktarı kadar olduğunda büyümenin daha iyi olduğu gözlenmiştir. Bu yüzden en yüksek hücre konsantrasyonuna  $X_{max}=0,23$  g/L ve maksimum spesifik büyüme hızına  $\mu_{max}=0,042$  saat<sup>-1</sup> ile %100 demir konsantrasyonu ile hazırlanan (demir sınırlamasının olmadığı BG-11 besin ortamındaki olması gereken demir miktarı kadar demirin bulunduğu ortam) ortamda büyüyen mikroorganizmada bulunmuştur. Bu koşuldaki hücrelerin ikiye katlanma süresi 16 saattir. %Yağ içeriği karşılaştırıldığında %21,9 ile %50 demir sınırlamasının olduğu durumda bulunmuştur. %50 demir kısıtlaması olması durumunda olmayan duruma göre yağ içeriği %4,5 oranında artarak %21,9 değerine ulaşmıştır (%17,4'ten %21,9'a). %50 demir sınırlamasının olduğu örnekte yağ oranı %4,5 oranında daha fazla çıkmasına rağmen büyüme oranı ve süresi göz önünde bulundurulduğunda bu oranın tolere edilebileceği belirlenmiştir.

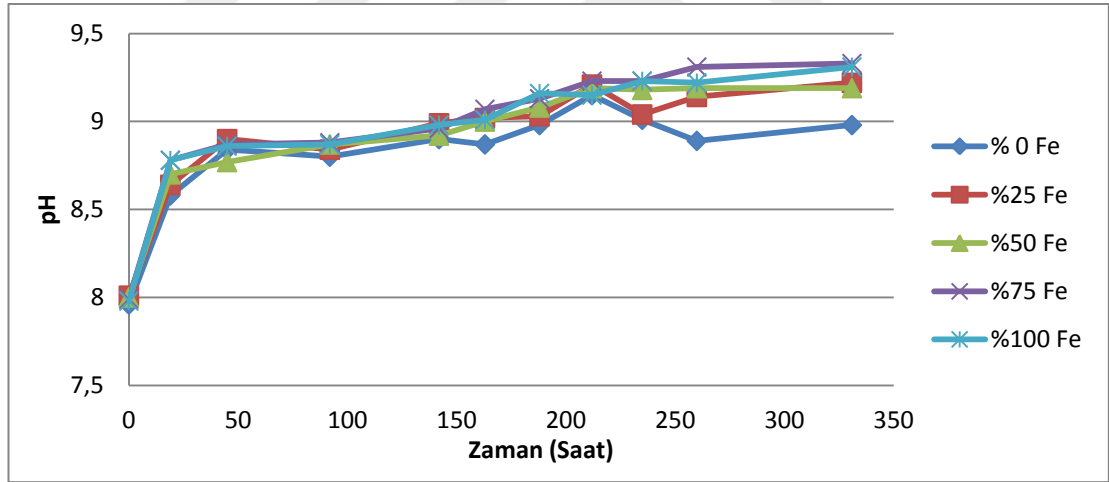
Tablo 6.2' de farklı demir konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis*'in büyüme hızına ve yağ içeriklerine etkisi gösterilmiştir. Tablodaki değerler iki setin ortalaması olarak hesaplanmıştır.



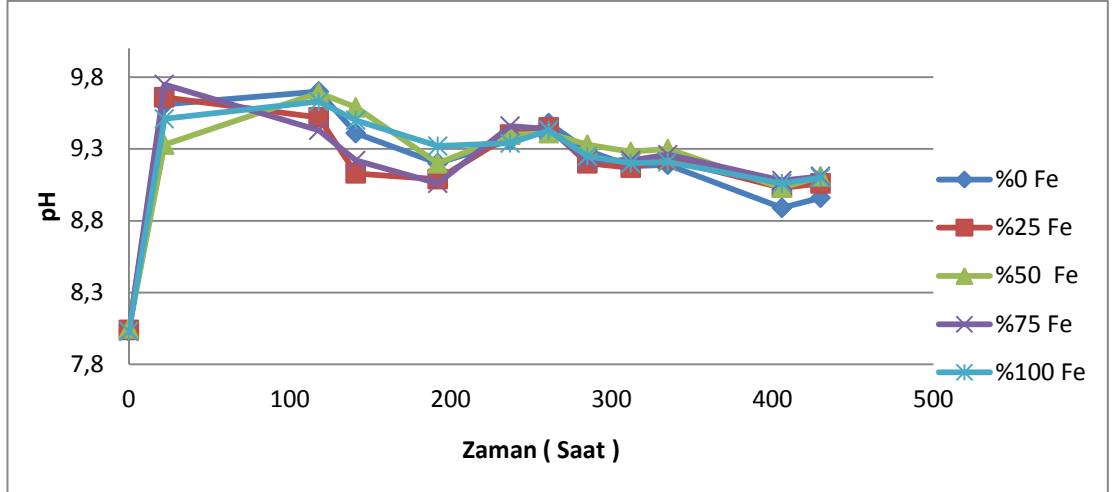
Tablo 6.2. Farklı demir konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis*'in büyüme hızına ve yağ içeriklerine etkisi

Demir Stresi %	$X_{max}$ (g/L)	$\mu_{max}$ ( $h^{-1}$ )	Biyokütle miktarı (g/L)	Yağ İçeriği (%)	Yağ miktarı (g/L)	Hücrelerin iki'ye katlanma süresi (saat)	Yağ verimliliği (mg/Lgün)
0	0,132	0,017	0,028	10,7	0,003	41	0,17
25	0,149	0,021	0,028	14,8	0,004	32	0,22
50	0,167	0,017	0,037	21,9	0,008	40	0,45
75	0,173	0,026	0,038	16,4	0,006	26	0,33
100	0,226	0,042	0,038	17,4	0,006	16	0,33

Yapılan her bir set için günlük olarak pH ölçümleri yapılmıştır. pH değişimlerine ait grafikler Şekil 6.7 ve 6.8'de verilmiştir.



Şekil 6.7. Farklı demir konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis* kültür ortamı pH'ına etkisi (1.set)



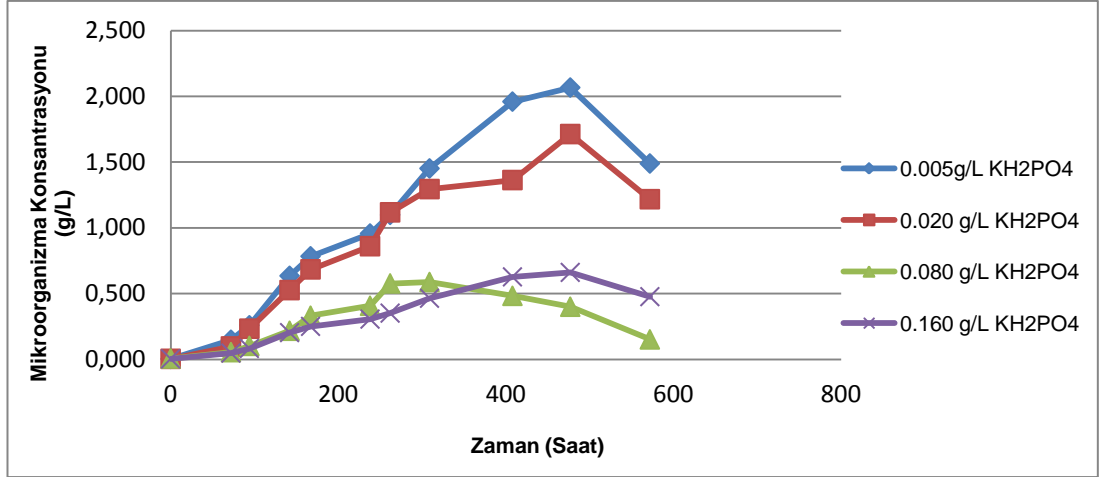
Şekil 6.8. Farklı demir konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis* kültür ortamı pH'ına etkisi (2.set)

Başlangıçta 7,80-8,10 aralığında ölçülen pH değerleri yaklaşık 24. saate kadar yükselmiş bundan sonraki saatlerde ise 8,50-9,70 aralığında sabit kalmıştır. Sıcaklık ise  $25 \pm 2$  °C olarak ölçülmüştür.

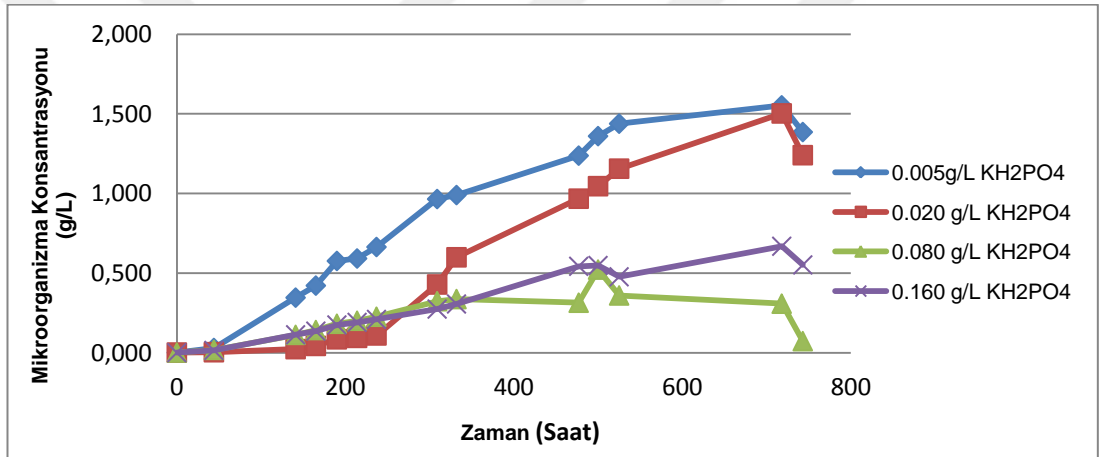
### 6.3. Farklı Potasyum Dihidrojen Fosfat Konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis* Türü Mikroalgin Büyüme ve Yağ İçeriğine Etkisi

Algler büyüme ve gelişimlerini sürdürebilmek için karbon kaynağının yanı sıra azot, fosfor, kükürt, potasyum, fosfat, magnezyum gibi elementlere de gereksinim duyarlar. Besleyici elementlerin sınırlaması mikroalg türlerinin büyümesine etki eden önemli faktörlerdendir.

Büyüme ve yağ içeriğini arttırmak için besin ortamında (BG11) farklı oranlarda potasyum dihidrojen fosfat sınırlaması yapılmıştır. Bu oranlar 0,005 g/L, 0,020 g/L, 0,080 g/L ve 0,160 g/L olarak belirlenmiştir. Yani 0,005 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  besin ortamında olması gereken (0,04 g/L)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 'ün %12,5'i kadardır. Besin ortamı şebeke suyu kullanılarak hazırlanmıştır. Şekil 6.9 ve 6.10'da farklı potasyum dihidrojen fosfat konsantrasyonlarının mikroorganizma büyümesi üzerine etkileri verilmiştir.



Şekil 6.9. Farklı potasyum dihidrojen fosfat konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (1.set)



Şekil 6.10. Farklı potasyum dihidrojen fosfat konsantrasyonlarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (2.set)

Farklı KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> konsantrasyonu ile 2 set olacak şekilde çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Şekil 6.9 ve 6.10). 1. seti gösteren Şekil 6.9'da 0,080 g/L ve 0,160 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> konsantrasyonuna sahip örnekler 309. saate kadar büyüme göstermiş ve 477. saatten sonra ölüm fazının başladığı belirlenmiştir. Konsantrasyonu 0,020 g/L olan örnekte 309. saate kadar, konsantrasyonu 0,005 g/L olan örnekte ise 477. saate kadar büyüme izlenmiştir ve bu iki konsantrasyona sahip örneklerde de 477. saatten sonra mikroorganizma konsantrasyonunun yavaşladığı belirlenmiştir.

Şekil 6.10 2. seti ifade etmektedir. Burada da 1. sette olduğu gibi 0,080 g/L ve 0,160 g/L konsantrasyona sahip örneklerde mikroorganizma benzer bir büyüme göstermiştir. 0,020 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> konsantrasyona sahip örnekteki mikroorganizma 237. saate kadar durağan fazda bir büyüme gösterirken, daha sonra 718. saate kadar hızlı bir şekilde büyümeye devam etmiştir. 0,005 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> konsantrasyonlu

örnekte ise 718. saate kadar düzgün bir büyüme eğrisi gözlenmiştir. Bütün konsantrasyonlardaki örneklerde de 718. saatten sonra ölüm fazının başladığı belirlenmiştir.

Her iki sette de gösterildiği gibi düşük konsantrasyon ile hazırlanan besin ortamında mikroorganizmadaki büyümenin daha iyi olduğu belirlenmiştir. En yüksek hücre konsantrasyonuna  $X_{max}= 1,81$  g/L, en yüksek yağ içeriğine (%12,3) ve maksimum spesifik büyüme hızına  $\mu_{max}=0,02$  saat<sup>-1</sup> büyüme oranı ile 0,005 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ile hazırlanmış besin ortamında elde edilmiştir. Hücrelerin ikiye katlanma süreleri ise sırasıyla; 34, 41, 52 ve 48 saat olarak bulunmuştur.

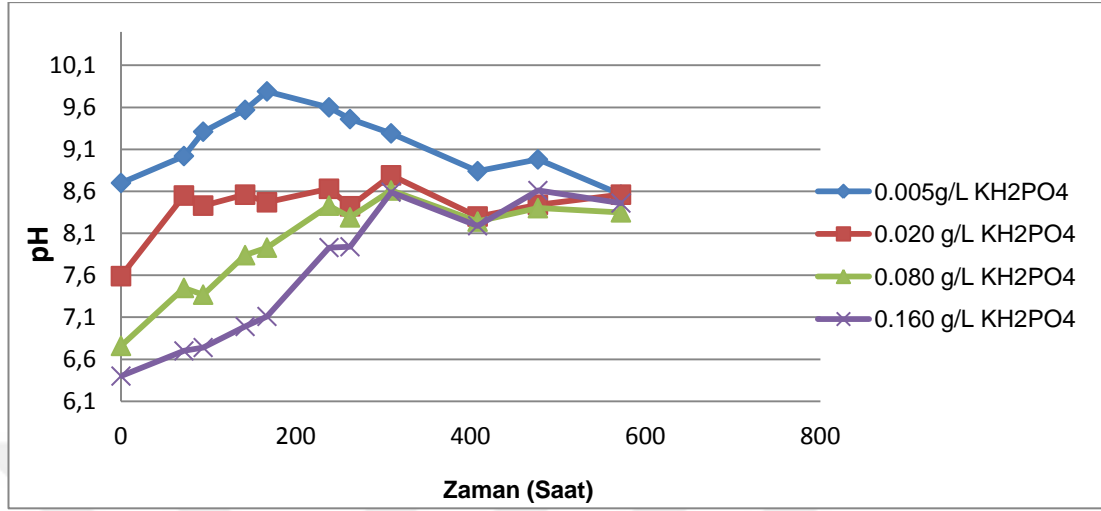
Farklı konsantrasyonlarda potasyum dihidrojen fosfat stres koşullarının mikroorganizma büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi Tablo 6.3'te verilmiştir.

Tablodaki değerler iki setin ortalaması olarak hesaplanmıştır.

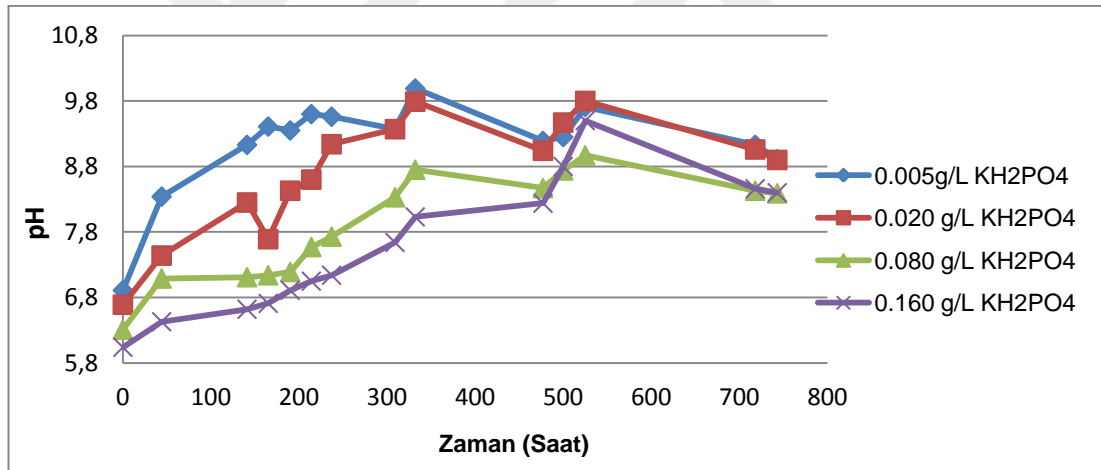
Tablo 6.3. Farklı konsantrasyonlarda potasyum dihidrojen fosfat stres koşullarının *Chlorella variabilis*'in büyümesine ve yağ içeriğine etkisi

<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Stresi</b>	<b>X<sub>max</sub> (g/L)</b>	<b>μ<sub>max</sub> (h<sup>-1</sup>)</b>	<b>Biyokütle miktarı (g/L)</b>	<b>Yağ içeriği (%)</b>	<b>Yağ miktarı (g/L)</b>	<b>Hücrelerin ikiye katlanma süresi (saat)</b>	<b>Yağ verimliliği (mg/Lgün)</b>
0,005 g/L	1,81	0,02	0,143	12,3	0,018	34	0,72
0,020 g/L	1,61	0,017	0,114	11,4	0,013	41	0,52
0,080 g/L	0,56	0,013	0,104	9,6	0,010	52	0,40
0,160 g/L	0,67	0,014	0,110	6,8	0,007	48	0,28

Yapılan her bir set için günlük olarak pH ölçümleri yapılmıştır. pH değişimlerine ait grafikler Şekil 6.11 ve 6.12 verilmiştir.



Şekil 6.11. Farklı potasyum dihidrojen fosfat konsantrasyonlarının kültür ortamı pH'ına etkisi (1.set)



Şekil 6.12. Farklı potasyum dihidrojen fosfat konsantrasyonlarının kültür ortamı pH'ına etkisi (2.set)

Başlangıçta 6,00-6,50 aralığında ölçülen pH değerleri 309. saate kadar yükselmiş bundan sonraki saatlerde ise düşme eğilimi göstermiştir. Yaklaşık olarak 500. Saatten sonra 8,50-9,20 aralığında sabit kalmıştır. Sıcaklık ise  $25 \pm 2$  °C olarak ölçülmüştür.

#### 6.4. Farklı Konsantrasyonlardaki Farklı Azot Kaynaklarının *Chlorella variabilis* Türü Mikroalgin Büyüme ve Yağ İçeriğine Etkisi

Azot kaynakları ve konsantrasyonları, alg kültürlerinde büyüme ve biyokimyasal yapıyı etkilemekte, miktarlarında değişikliklere sebep olmaktadır (Xu ve diğ., 2001, Lourenco ve diğ., 2002). Azotun çeşitli formları mikroalg kültürleri için uygundur. Kültürlerde hücreler tarafından kullanılabilen en önemli azot kaynakları nitrat azotu ( $\text{NO}_3^-$ -N), amonyum azotu ( $\text{NH}_4^+$ -N) ve üre azotu ( $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ -N)'dur (Gökpinar, 1991; Levasseur ve diğ., 1993; Grobbelaar, 2000).

Xu ve diğ., 2001 yılında *Ellipsoidion sp.*'de farklı azot kaynaklarının nitrat azotu ( $\text{NO}_3^-$ -N), amonyum azotu ( $\text{NH}_4^+$ -N), Üre azotu ( $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ -N) büyümeye ve yağ asidi kompozisyonuna etkilerini incelemişlerdir.  $\text{NO}_3^-$ -N ve  $\text{NH}_4^+$ -N ile hazırlanan ortamda büyüme hızında önemli bir farklılık görülmezken,  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ -N ile hazırlanan ortamda büyüme hızının daha yavaş olduğu belirtmişlerdir.

Li Fen Wu ve diğ., 2013 yılında sıcaklık, N kaynakları ve potasyumun *Monoraphidium sp.* SB2 hücre büyümesi ve lipit birikimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Potasyum nitrat ( $\text{KNO}_3$ ) ile elde edilen biyokütlenin diğer azot kaynakları (Amonyum klorür ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), Amonyum nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )) ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

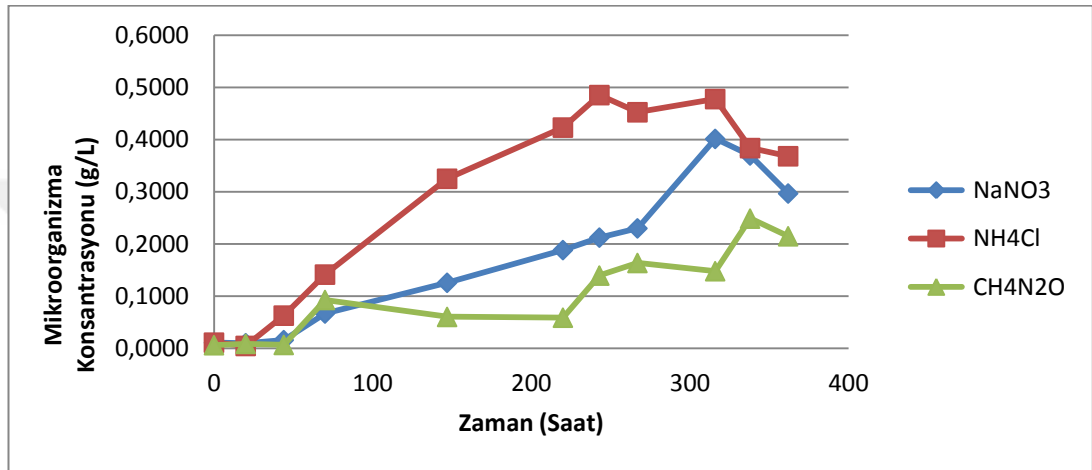
Li ve diğ. 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada *Neochloris oleoabundans* türü mikroalgte farklı azot kaynaklarını (nitrat, üre ve amonyum) kullanarak kültüre almış, hücre büyümesi ve lipit birikimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. En fazla biyokütle miktarı nitrat ile 2,5 g/L olarak bulunurken, en düşük büyüme ise 1,1 g/L ile amonyum ile hazırlanan ortamda bulunmuştur. En yüksek lipit oranının da %38 ile nitrat uygulamasında elde edildiğini belirtmişlerdir.

Bu yüzden, bu çalışmada *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme ve yağ içeriği üzerine farklı azot kaynaklarının ( $\text{NO}_3^-$ -N,  $\text{NH}_4^+$ -N ve  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ -N) ve azot sınırlamasının etkileri araştırılmıştır. Azot kaynağı olarak sodyum nitrat ( $\text{NaNO}_3$ ), Amonyum klorür ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) ve üre ( $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ ) kullanılmıştır. Azot kaynaklarının oranları yüzde 25, 50, 75 ve 100 olacak şekilde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Yani azot kaynağının %25'i besin ortamındaki olması gereken azot kaynağının (örneğin 1,500 g/L  $\text{NaNO}_3$ ) yüzde 25'i kadardır. Besin ortamı şebeke suyu kullanılarak hazırlanmıştır. Yüzde 0 N sınırlamasının denenmemesinin nedeni daha önce %0 N

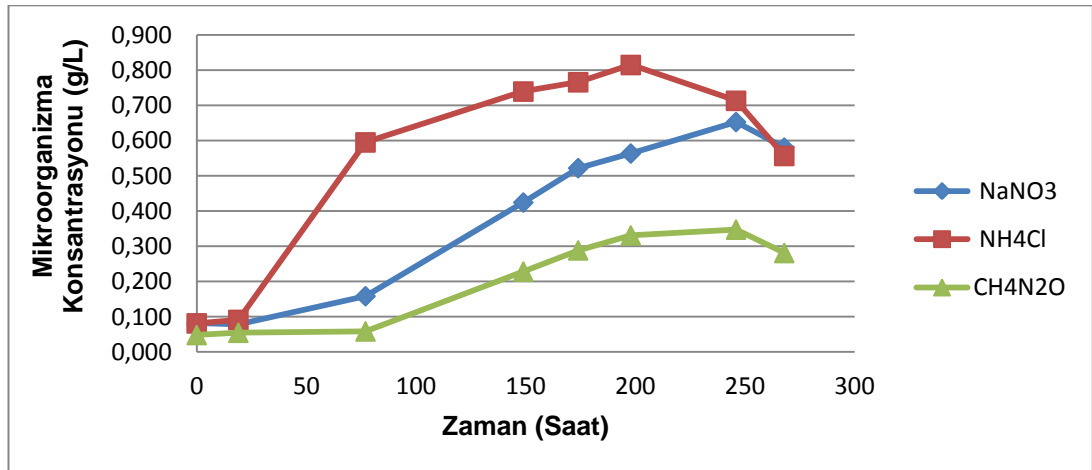
sınırlaması ile hazırlanan besin ortamında mikroorganizmanın herhangi bir büyüme göstermemesidir.

Farklı azot kaynaklarının farklı konsantrasyonları ile yapılan çalışmalar 2'şer set olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Şekil 6.13 ve 6.14'de %25 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri verilmiştir.



Şekil 6.13. %25 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (1.set)



Şekil 6.14. %25 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (2.set)

1. seti ifade eden Şekil 6.13'te gösterildiği gibi %25 NaNO<sub>3</sub> ve %25 NH<sub>4</sub>Cl ile hazırlanan besin ortamındaki mikroorganizma 316. saate kadar hızlı bir büyüme göstermiştir. %25 CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O kullanımında ise 70. saatten 220. saate kadar durağan fazda büyüme göstermiş, 220. saatten sonra çok az miktarda bir büyüme izlemiştir.

Şekil 6.14 2. seti ifade etmektedir. Bu sette de 1. sette olduğu gibi %25 NaNO<sub>3</sub> ve %25 NH<sub>4</sub>Cl olan örneklerde düzgün bir büyüme gözlenirken, %25 CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O olan örnek 77. saate kadar durağan fazda büyüme göstermiş, 77. saatten 246. saate kadar az miktarda büyüme gözlenmiştir. 1. sette 316. saat, 2. sette ise 246. saatten itibaren ölüm fazının başladığı belirlenmiştir.

%25 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi aşağıdaki Tablo 6.4'te verilmiştir. Tablodaki değerler iki setin ortalaması olarak hesaplanmıştır.

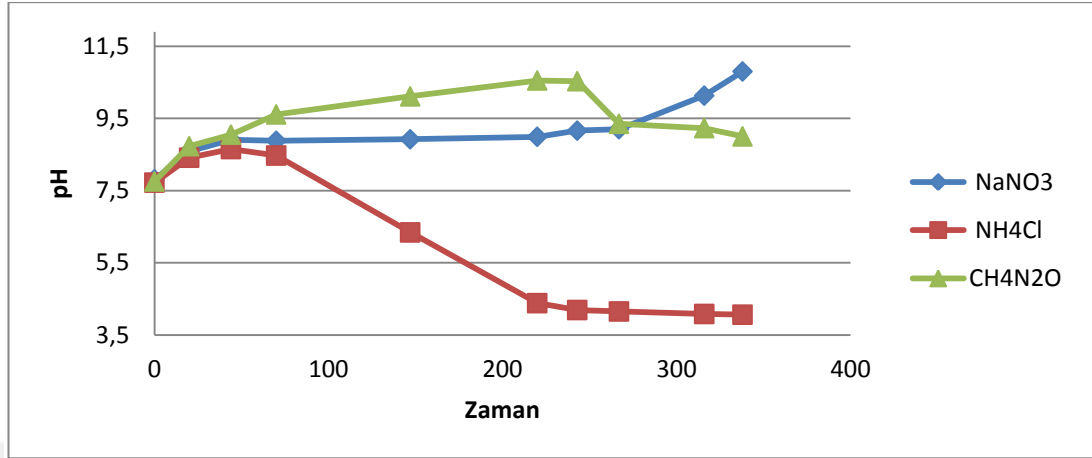
%25 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarında en yüksek hücre konsantrasyonuna  $X_{max}= 0,65$  g/L ve maksimum spesifik büyüme hızına  $\mu_{max}= 0,033$  saat<sup>-1</sup> büyüme oranı ile NH<sub>4</sub>Cl ile hazırlanan besin ortamında belirlenmiştir. Yağ miktarlarında ise belirgin bir fark görülmemiştir. %25 konsantrasyonda kullanılan azot kaynakları ile yağ içeriği %18-21 aralığında olmuştur. Hücrelerin 2'ye katlanma süresi sırasıyla; 36, 21 ve 72 saattir.

Tablo 6.4. %25 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

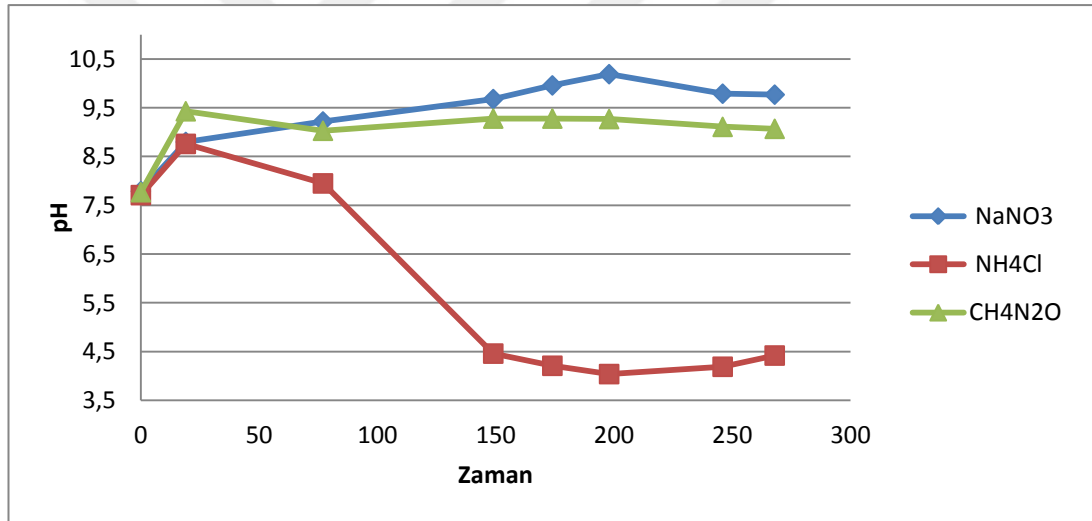
Farklı N kaynakları %25 Stresi	$X_{max}$ (g/L)	$\mu_{max}$ (h <sup>-1</sup> )	Biyokütle miktarı (g/L)	Yağ içeriği (%)	Yağ miktarı (g/L)	Hücrelerin iki'ye katlanma süresi (saat)	Yağ verimliliği (mg/Lgün)
NaNO <sub>3</sub>	0,53	0,009	0,058	20,4	0,012	72	0,96
NH <sub>4</sub> Cl	0,65	0,033	0,041	17,7	0,007	21	0,56
CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O	0,29	0,019	0,072	21,5	0,016	36	1,28



Yapılan her bir set için günlük olarak pH ölçümleri yapılmıştır. pH değişimlerine ait grafikler Şekil 6.15 ve 6.16'da verilmiştir.



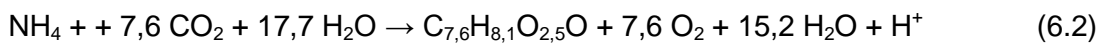
Şekil 6.15. %25 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (1.set)



Şekil 6.16. %25 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (2.set)

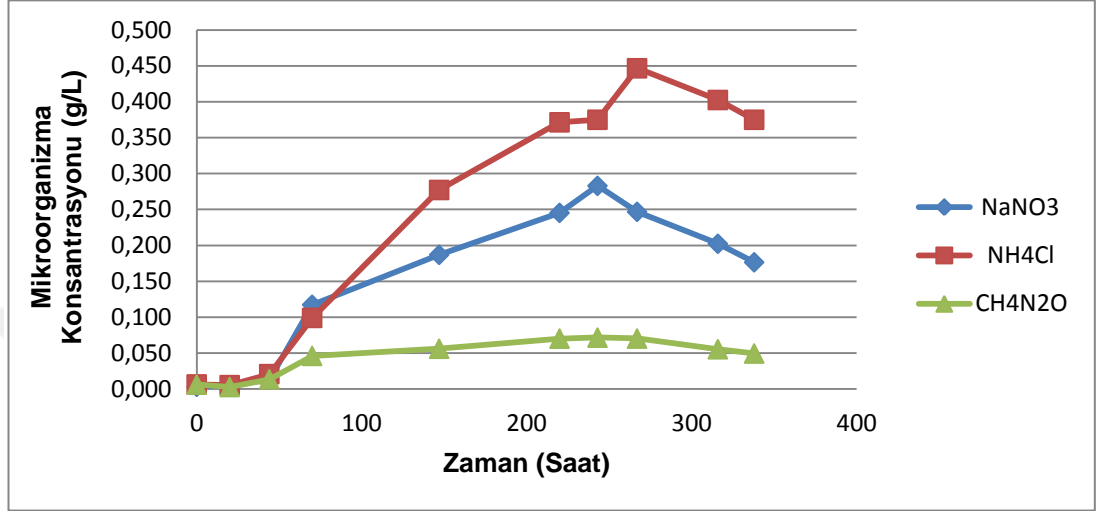
Başlangıçta 7,50-7,80 aralığında ölçülen pH değerleri bütün örneklerde 20. saate kadar yükselmiştir. Daha sonraki saatlerde ise NH<sub>4</sub>Cl ile hazırlanan besin ortamındaki örneklerin pH'ı NH<sub>4</sub>Cl'nin hafif asidik etki göstermesinden dolayı düşme eğilimi göstermektedir. NaNO<sub>3</sub> ve CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O ile hazırlanan örneklerin pH'ı ise 9,00-9,40 aralığında sabit kalmıştır.

Mikroalglerin amonyumu kullanması durumunda H<sup>+</sup> iyonu açığa çıkarak pH azalmaktadır. Bu reaksiyon, aşağıda verilmiştir (6.2).

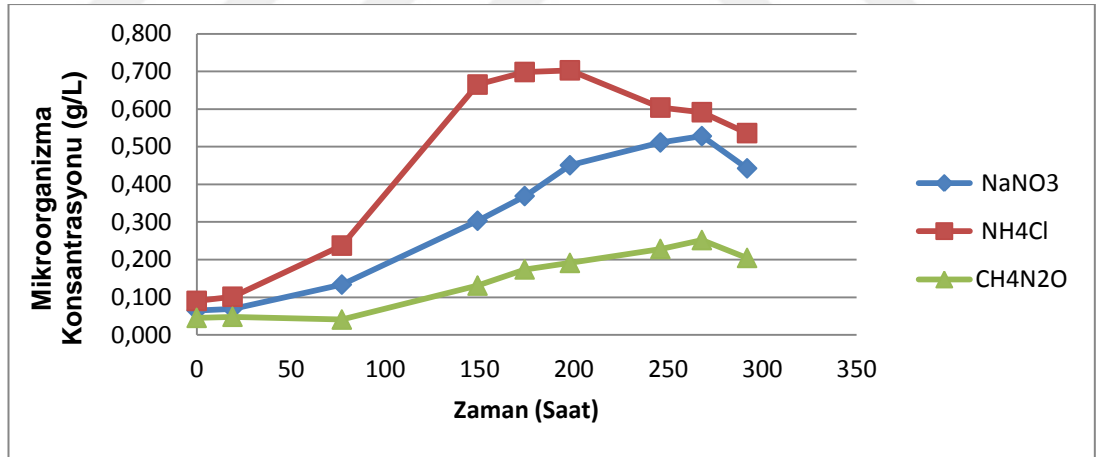


Amonyumun fazla kullanılması durumunda pH (<6) düşerek bazı mikroalg türlerinin gelişimini durdurabilir.

%50 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri Şekil 6.17 ve 6.18' de verilmiştir.



Şekil 6.17. %50 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (1.set)



Şekil 6.18. %50 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (2.set)

1. seti ifade eden grafik Şekil 6.17'de gösterilmektedir. %50 CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O ile hazırlanan besinde ortamında mikroorganizma 70. saatten itibaren durağan fazda bir büyüme göstermektedir. %50 NaNO<sub>3</sub> ve %50 NH<sub>4</sub>Cl ile hazırlanan ortamda mikroorganizma 243. saate kadar büyümeye devam etmiştir. 267. saatten sonra 3 örnekte de ölüm fazının başladığı belirlenmiştir.

Şekil 6.18 2. seti ifade etmektedir. %50 CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O ile hazırlanmış ortamda mikroorganizma durağan fazda bir büyüme göstermektedir. %50 NaNO<sub>3</sub> ile hazırlanmış ortamda mikroorganizma 268. saate kadar, %50 NH<sub>4</sub>Cl ile hazırlanmış ortamda ise 149. saate kadar düzgün bir büyüme gözlenmiştir. 268. saatten sonra mikroorganizma konsantrasyonunun azaldığı belirlenmiştir.

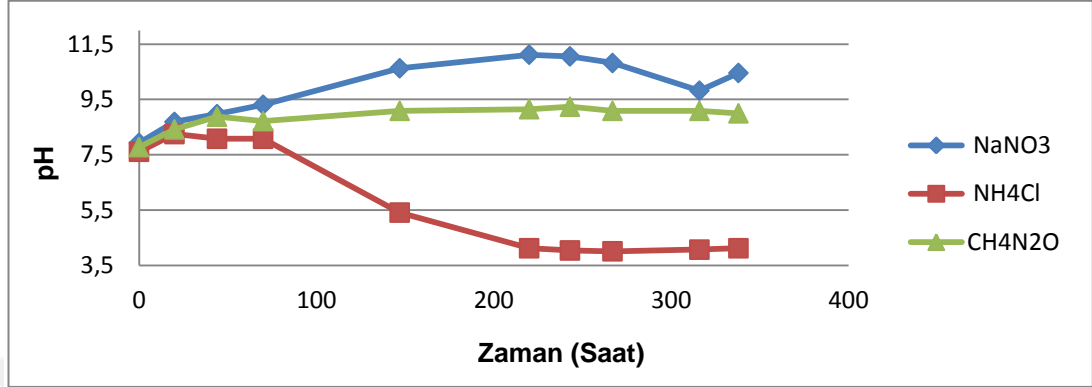
%50 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi Tablo 6.5'te verilmiştir. Tablodaki değerler iki setin ortalaması olarak hesaplanmıştır.

%50 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarında en yüksek hücre konsantrasyonu  $X_{max} = 0,58$  g/L ve maksimum spesifik büyüme hızı  $\mu_{max} = 0,037$  saat<sup>-1</sup> büyüme oranı ile %50 NH<sub>4</sub>Cl ile hazırlanan besin ortamında belirlenmiştir. Hücrelerin 2'ye katlanma süresi 18 saat ile NH<sub>4</sub>Cl hazırlanan ortamda gerçekleşmiştir. Diğer süreler ise sırasıyla; 72 ve 106 saattir. En düşük büyüme hızına rağmen en yüksek yağ miktarına (%34,1) CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O ile hazırlanan ortamda bulunmuştur.

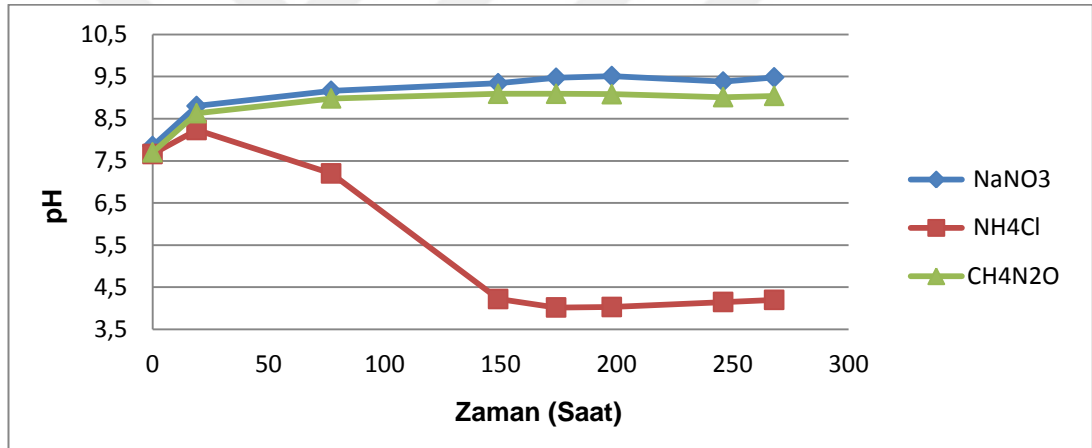
Tablo 6.5. %50 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Farklı N kaynakları %50 Stresi	$X_{max}$ (g/L)	$\mu_{max}$ (h <sup>-1</sup> )	Biyokütle miktarı (g/L)	Yağ içeriği (%)	Yağ miktarı (g/L)	Hücresinin 2'ye katlanma süresi (saat)	Yağ verimliliği (mg/Lgün)
NaNO <sub>3</sub>	0,41	0,009	0,080	25,6	0,021	72	1,68
NH <sub>4</sub> Cl	0,58	0,037	0,035	25,6	0,009	18	0,72
CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O	0,16	0,007	0,038	34,1	0,013	106	1,04

Yapılan her bir set için günlük olarak pH ölçümleri yapılmıştır. pH değişimlerine ait grafikler Şekil 6.19 ve 6.20'de verilmiştir.



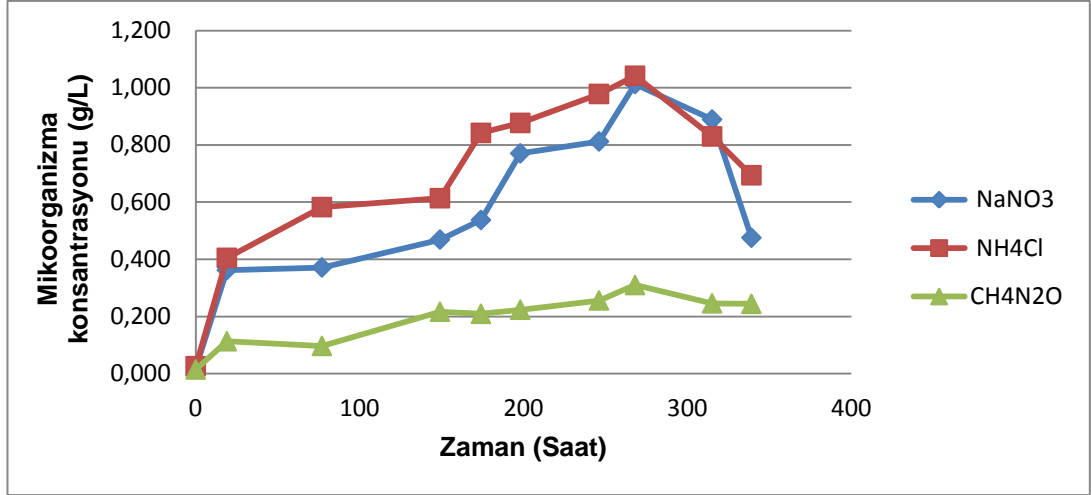
Şekil 6.19. %50 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (1.set)



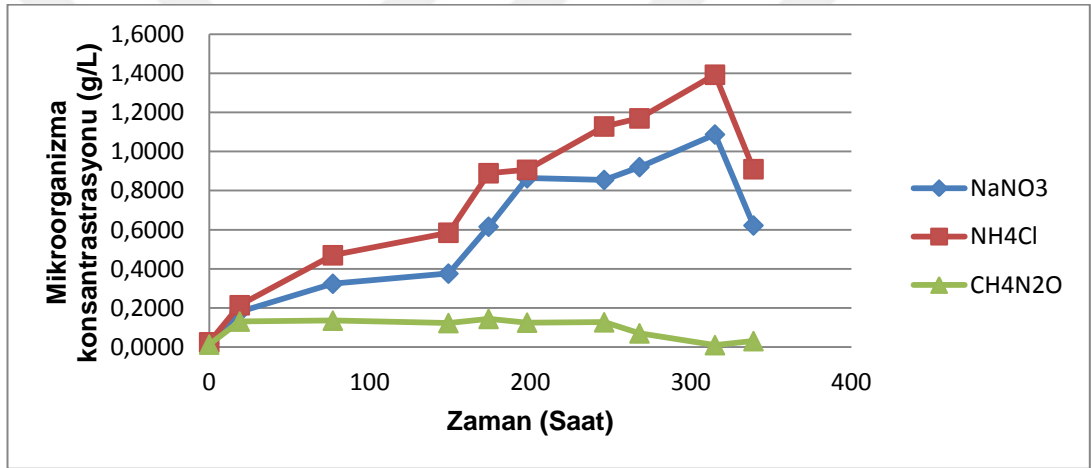
Şekil 6.20. %50 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (2.set)

Başlangıçta 7,50-7,90 aralığında ölçülen pH değerleri bütün örneklerde 20. saate kadar yükselmiştir. Daha sonraki saatlerde ise NH<sub>4</sub>Cl ile hazırlanan besin ortamındaki örneklerin pH'ı NH<sub>4</sub>Cl'nin hafif asidik etki göstermesinden dolayı düşme eğilimi göstermektedir. 220. saatten sonra 4,00-4,10 aralığında sabit kalmıştır. NaNO<sub>3</sub> ve CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O ile hazırlanan örneklerin pH'ı ise 70. saatten 8,50-9,50 aralığında sabit kalmıştır.

%75 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri Şekil 6.21 ve 6.22'de verilmiştir.



Şekil 6.21. %75 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (1.set)



Şekil 6.22. %75 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (2.set)

1. seti ifade eden grafik Şekil 6.21'de gösterilmektedir. %75  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$  ile hazırlanan besin ortamında durağan fazda bir büyüme gözlenmiştir. %75  $\text{NaNO}_3$  ve %75  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ile hazırlanan besin ortamında mikroorganizma 19. saate kadar hızlı bir büyüme göstermiş, daha sonra dalgalanmalar olsa da 268. saate kadar ilerleyen bir büyüme izlenmiştir. 268. saatten itibaren ise mikroorganizma konsantrasyonunun azaldığı gözlenmiştir.

Şekil 6.22 2. seti ifade etmektedir. %75  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$  ile hazırlanan ortamda mikroorganizma durağan fazda bir büyüme göstermiş fakat 268. saatten sonra mikroorganizma konsantrasyonu giderek 0'a yaklaşmış ve ölüm fazı evresi 339. saatte tamamen sona ermiştir. %75  $\text{NaNO}_3$  ve %75  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ile hazırlanan ortamda mikroorganizma 315. saate kadar düzgün bir büyüme göstermiştir.

%75 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi Tablo 6.6'da verilmiştir.

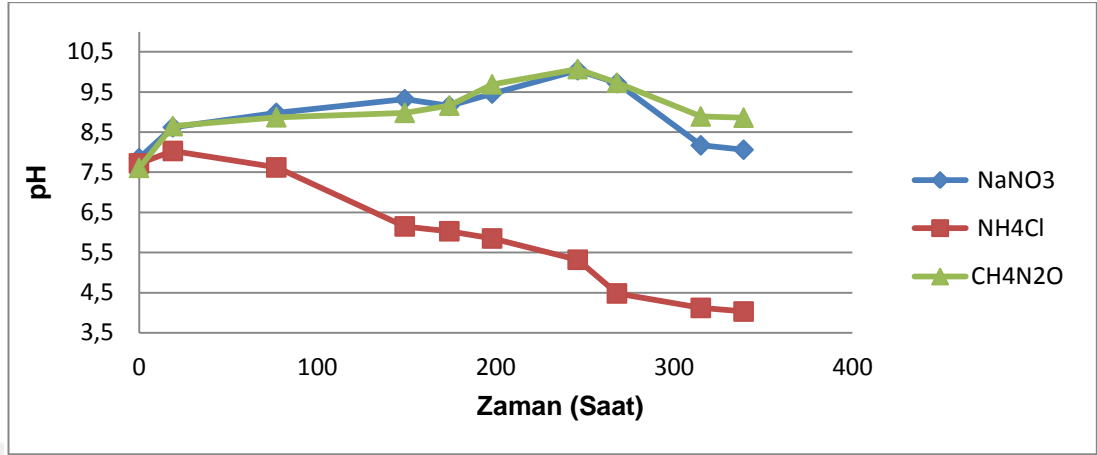
Tablodaki değerler iki setin ortalaması olarak hesaplanmıştır.

%75 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarında en yüksek hücre konsantrasyonu  $X_{max}= 1,22$  g/L, maksimum spesifik büyüme hızı  $\mu_{max}= 0,013$  saat<sup>-1</sup> ile NH<sub>4</sub>Cl ile hazırlanan ortamda belirlenmiştir. Hücrelerin 2'ye katlanma süreleri sırasıyla; 81, 53 ve 99 saat olarak bulunmuştur. Yağ miktarlarında ise belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. %75 konsantrasyonda kullanılan azot kaynakları ile yağ içeriği %21-28 aralığında olmuştur.

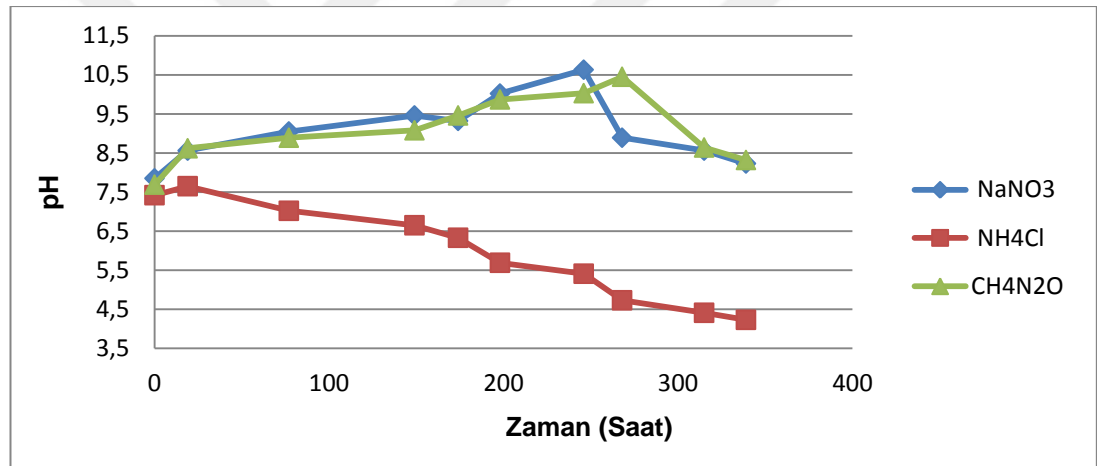
Tablo 6.6. %75 N sınırlamasının olduğu farklı N kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyüme hızına ve yağ içeriğine etkisi

Farklı N kaynakları %75 Stresi	$X_{max}$ (g/L)	$\mu_{max}$ (h <sup>-1</sup> )	Biyokütle miktarı (g/L)	Yağ içeriği (%)	Yağ miktarı (g/L)	Hücrelerin iki'ye katlanma süresi (saat)	Yağ verimliliği (mg/Lgün)
NaNO <sub>3</sub>	1,05	0,009	0,069	22,9	0,016	81	1,28
NH <sub>4</sub> Cl	1,22	0,013	0,038	21,7	0,008	53	0,64
CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O	0,23	0,007	0,055	27,8	0,015	99	1,20

Yapılan her bir set için günlük olarak pH ölçümleri yapılmıştır. pH değişimlerine ait grafikler Şekil 6.23 ve 6.24'te verilmiştir.



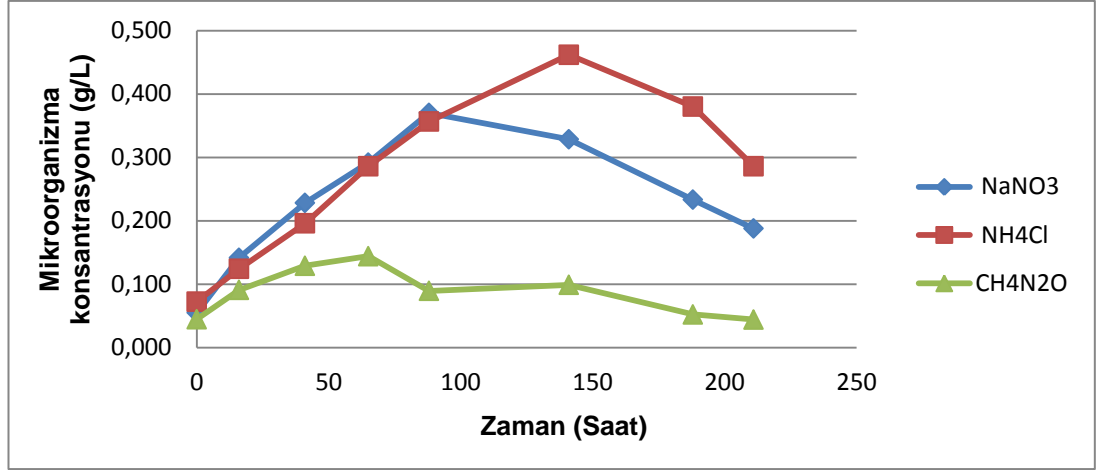
Şekil 6.23. %75 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (1.set)



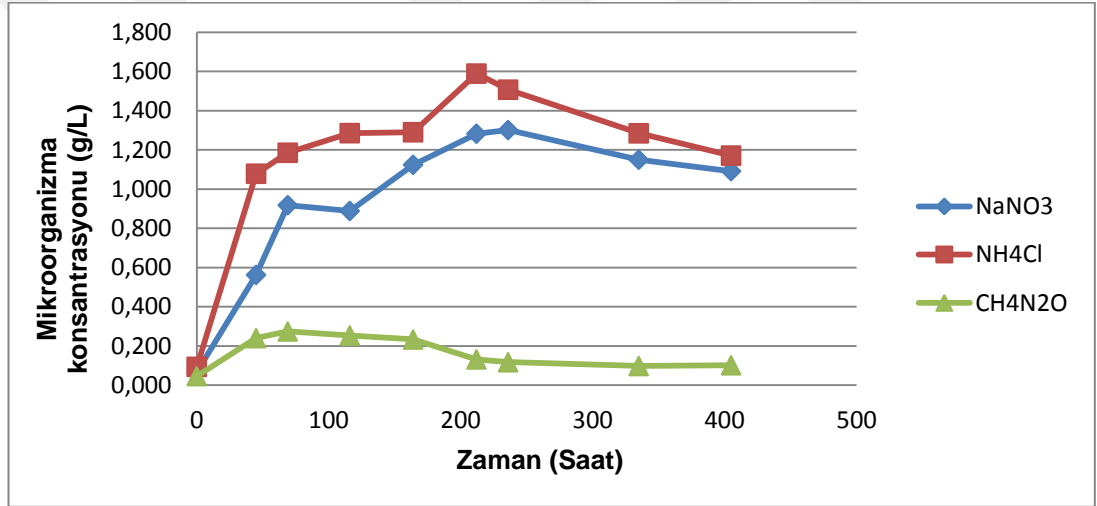
Şekil 6.24.%75 konsantrasyondaki N kaynağının ortam pH'ına etkisi (2.set)

Başlangıçta 7,40-7,90 aralığında ölçülen pH değerleri bütün örneklerde 20. saate kadar yükselmiştir. Daha sonraki saatlerde ise NH<sub>4</sub>Cl ile hazırlanan besin ortamındaki örneklerin pH'ı NH<sub>4</sub>Cl'nin hafif asidik etki göstermesinden dolayı düşme eğilimi göstermektedir. NaNO<sub>3</sub> ve CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O ile hazırlanan örneklerin pH'ı ise yaklaşık 20. saatten 8,80-9,20 aralığında sabit kalmıştır.

%100 konsantrasyona sahip (N sınırlamasının olmadığı BG-11 besin ortamındaki N kaynağının konsantrasyonu kadar N içeren) farklı azot kaynaklarının mikroorganizma büyümesi üzerine etkileri Şekil 6.25 ve 6.26'da verilmiştir.



Şekil 6.25. %100 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (1.set)



Şekil 6.26. %100 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (2.set)

1. seti ifade eden Şekil 6.25'te gösterildiği gibi  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ile hazırlanan ortamda mikroorganizma 141. saate kadar hızlı bir büyüme göstermektedir.  $\text{NaNO}_3$  ile hazırlanan ortamda 88. saate,  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$  ile hazırlanan ortamda ise 65. saate kadar bir büyüme gözlenmiştir. 141. saatten sonra her 3 ortamda da mikroorganizma konsantrasyonunun azaldığı gözlenmiştir.

Şekil 6.26 2. seti ifade etmektedir.  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$  ile hazırlanan ortamdaki mikroorganizma durağan fazda bir büyüme göstermiştir.  $\text{NaNO}_3$  ve  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ile hazırlanan besin ortamında 69. saate kadar hızlı bir büyüme gözlenirken, 69. saatten sonra dalgalanmalar olsada 236. saate kadar büyüme devam etmiştir. 236. saatten sonra ölüm fazının başladığı belirlenmiştir.



%100 konsantrasyona sahip (N sınırlamasının olmadığı BG-11 besin ortamındaki N kaynağının konsantrasyonu kadar N içeren) farklı azot kaynaklarının mikroorganizma büyümesi üzerine etkileri Tablo 6.7'de gösterilmiştir.

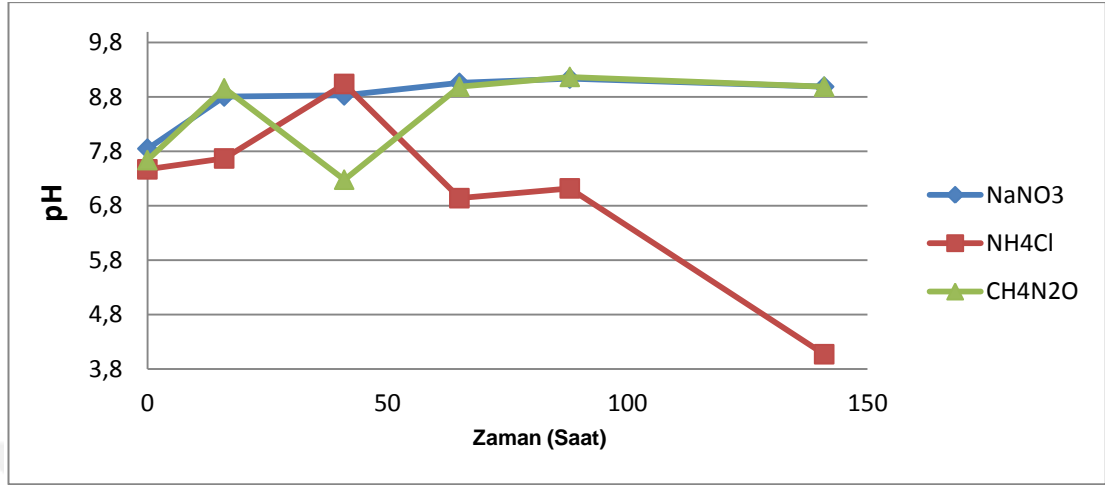
Tablodaki değerler iki setin ortalaması olarak hesaplanmıştır.

%100 N konsantrasyonu kullanılması durumunda ( besin ortamındaki olması gereken N kaynağındaki kadar N içeren) ortamda en yüksek hücre konsantrasyonuna  $X_{max}= 1,03$  g/L, maksimum spesifik büyüme hızına  $\mu_{max}= 0,036$  saat<sup>-1</sup> büyüme oranı ve %14 yağ içeriği ile NH<sub>4</sub>Cl ile hazırlanan besin ortamında ulaşılmıştır. Hücrelerin 2'ye katlanma süreleri sırasıyla; 23, 19 ve 42 saattir. Yağ miktarlarında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.

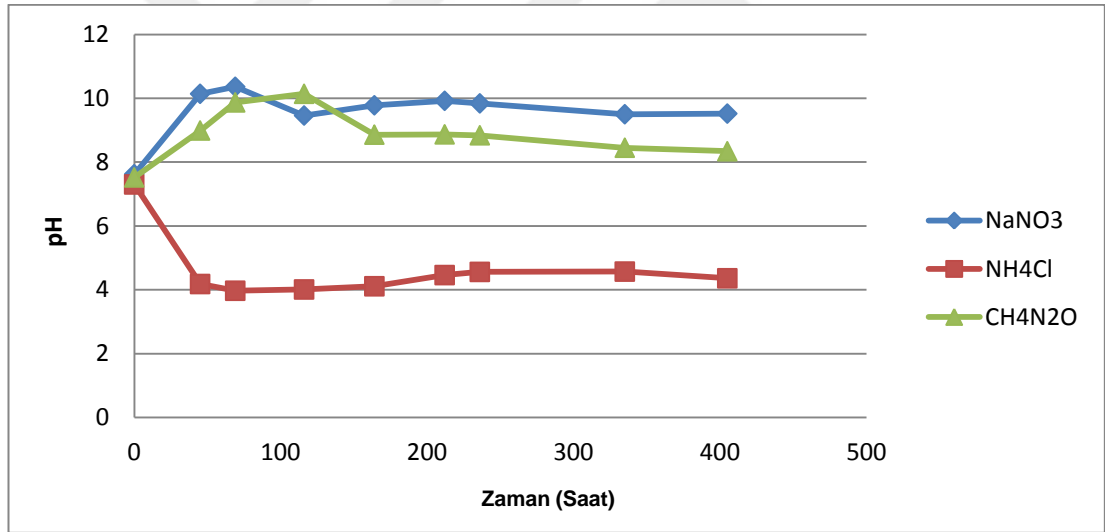
Tablo 6.7. %100 konsantrasyona sahip farklı azot kaynaklarının *Chlorella variabilis*'in büyümesi ve yağ içeriği üzerine etkileri

Farklı N kaynakları %100 Stresi	$X_{max}$ (g/L)	$\mu_{max}$ (h <sup>-1</sup> )	Biyokütle miktarı (g/L)	Yağ içeriği (%)	Yağ miktarı (g/L)	Hücrelerin iki'ye katlanma süresi (saat)	Yağ verimliliği (mg/Lgün)
NaNO <sub>3</sub>	0,84	0,029	0,44	15,2	0,070	23	4,20
NH <sub>4</sub> Cl	1,03	0,036	0,23	13,9	0,032	19	1,92
CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O	0,21	0,016	0,43	16,4	0,071	42	4,26

Yapılan her bir set için günlük olarak pH ölçümleri yapılmıştır. pH değişimlerine ait grafikler Şekil 6.27 ve 6.28'de verilmiştir.



Şekil 6.27. %100 N konsantrasyonu kullanımında N kaynağının ortam pH'ına etkisi (1.set)



Şekil 6.28. %100 N konsantrasyonu kullanımında N kaynağının ortam pH'ına etkisi (2.set)

Başlangıçta 7,50-7,90 aralığında ölçülen pH değerleri  $\text{NaNO}_3$  ve  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$  ile hazırlanan örneklerde 65. saate kadar yükselmiştir.  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ile hazırlanan besin ortamındaki örneklerin pH'ı  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 'nin hafif asidik etki göstermesinden dolayı düşme eğilimi göstermektedir. 45. saatten itibaren 4,00-4,50 aralığında sabit kalmıştır.  $\text{NaNO}_3$  ve  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$  ile hazırlanan örneklerin pH'ı ise 116. saatten 8,30-9,20 aralığında sabit kalmıştır.

Farklı N kaynakları ve konsantrasyonları ile yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, *Chlorella variabilis* türü mikroalg için inorganik azot kaynaklarından  $\text{NO}_3\text{-N}$  ve  $\text{NH}_4\text{-N}$  ile büyüme ve biyokimyasal yapısı açısından benzer sonuçlar elde edilmiştir.  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$  ile hazırlanmış besin ortamındaki mikroorganizmadaki yağ içeriği diğer 2 N kaynağına göre bir miktar yüksek bulunmuş olsa da büyüme süreleri ve maksimum büyüme oranları göz önüne alındığında  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ 'nin bu tür için uygun bir N kaynağı olmadığı tespit edilmiştir.  $\text{NO}_3\text{-N}$  ve  $\text{NH}_4\text{-N}$  ile hazırlanan ortamlarda ise büyüme sürelerinin, büyüme oranlarının benzer olması ve yağ içeriğinde çok belirgin bir fark olmamasından dolayı bu küçük farkın tolere edilebileceği düşünülmektedir.

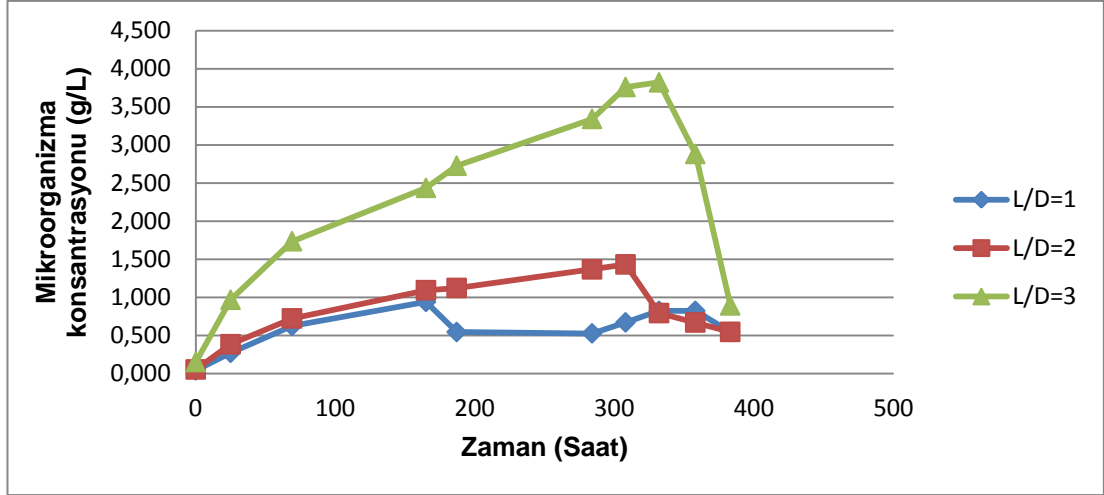
### 6.5. Fotobiyoreaktör Yükseklik/Çap Oranının *Chlorella variabilis* Türü Mikroalgin Büyüme ve Yağ İçeriğine Etkisi

Araştırmanın bu bölümünde laboratuvar koşullarında bulunan farklı yükseklik ve aynı taban yarıçapına sahip silindir şeklindeki biyoreaktörlerin *Chlorella variabilis*'in büyümesine ve yağ içeriğine etkisi araştırılmıştır. Farklı yüksekliklere sahip biyoreaktörlerde kültürü yapılan *Chlorella variabilis*'in maksimum büyüme oranı ve yükseklik/çap oranının ilişkisi incelenmek istenmiştir. Çalışmalar 2 set olacak şekilde yapılmıştır. Deney düzeneği aşağıdaki resimde gösterilmektedir ( Şekil 6.29).

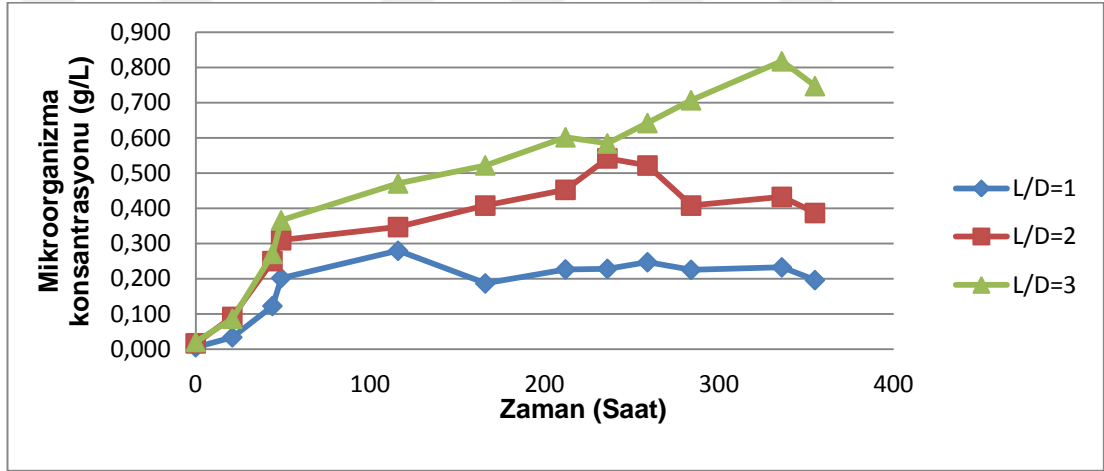


Şekil 6.29. Fotobiyoreaktör yükseklik/çap oranının etkisinin deney düzeneği

Fotobiyoreaktör yükseklik/çap oranının (L/D) *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesi üzerine etkileri Şekil 6.30 ve 6.31'de gösterilmektedir. L: Biyoreaktör yüksekliği D: Biyoreaktör çapı



Şekil 6.30. Fotobiyoreaktör L/D oranının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (1.set)



Şekil 6.31. Fotobiyoreaktör L/D oranının *Chlorella variabilis*'in büyümesi üzerine etkileri (2.set)

1. seti ifade eden Şekil 6.30'da gösterildiği gibi L/D=1 olan biyoreaktör 187. saate kadar bir büyüme göstermiş, bu saatten sonra ise durağan fazda büyümeye devam etmiştir. L/D=2 olan biyoreaktör 308. saate kadar, L/D=3 olan biyoreaktör ise 332. saate kadar büyümeye devam etmiştir. L/D=3 olan biyoreaktörde ki hızlı düşüş beklenmezken bu durumun ölçüm hatasından kaynaklandığı düşünülmektedir. 332. saatten sonra 3 biyoreaktörde de ölüm fazının başladığı gözlenmiştir.

Şekil 6.31 2. seti ifade etmektedir. Bu sette de her 3 biyoreaktörde 49. saate kadar hızlı bir büyüme göstermektedir. Daha sonra yüksekliği L/D=1 olan biyoreaktör 166. saatten itibaren durağan fazda büyümeye devam etmiştir. L/D=2 olan biyoreaktör 259. saate, L/D=3 olan biyoreaktör ise 336. saate kadar büyümeye devam etmiştir. 3 biyoreaktörde de 336. saatten sonra ölüm fazının başladığı belirlenmiştir.

Fotobiyoreaktör yükseklik/çap oranının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme ve yağ içeriğine etkisi Tablo 6.8'de gösterilmiştir.

Tablodaki değerler iki setin ortalaması olarak hesaplanmıştır.

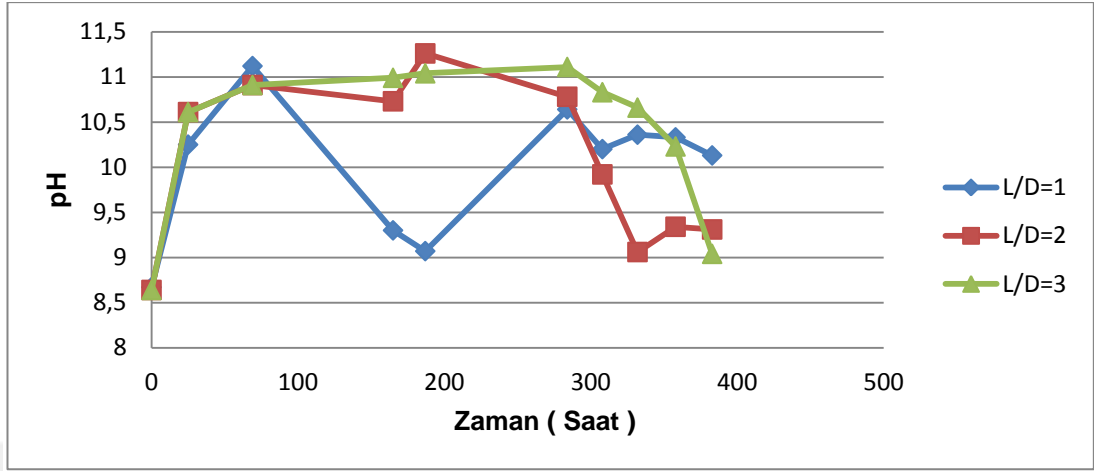
Yükseklik/çap oranının incelenmesi çalışmalarında 2,32 g/L ( $X_{max}$ ) ile en yüksek hücre konsantrasyonuna L/D=3 olan biyoreaktörde ulaşılmıştır. Maksimum spesifik büyüme hızına ( $\mu_{max}$ ) 0,046 büyüme oranı ile L/D=1 olan biyoreaktörde belirlenmiştir. Yağ içerikleri %17-21 aralığında olmuştur. Hücrelerin 2'ye katlanma süreleri sırasıyla; 15, 17 ve 18 saattir.

En yüksek biyokütle miktarına 1,02 g/L ile L/D=3 olan biyoreaktörde ulaşılmıştır. Diğer biyoreaktörlerdeki mikroorganizmanın biyokütle miktarları ise sırasıyla; 0,26 ve 0,51 g/L olarak saptanmıştır. Bu çalışmada yükseklik/çap oranı arttıkça biyokütle miktarlarının da yaklaşık olarak 2 kat arttığı bulunmuştur.

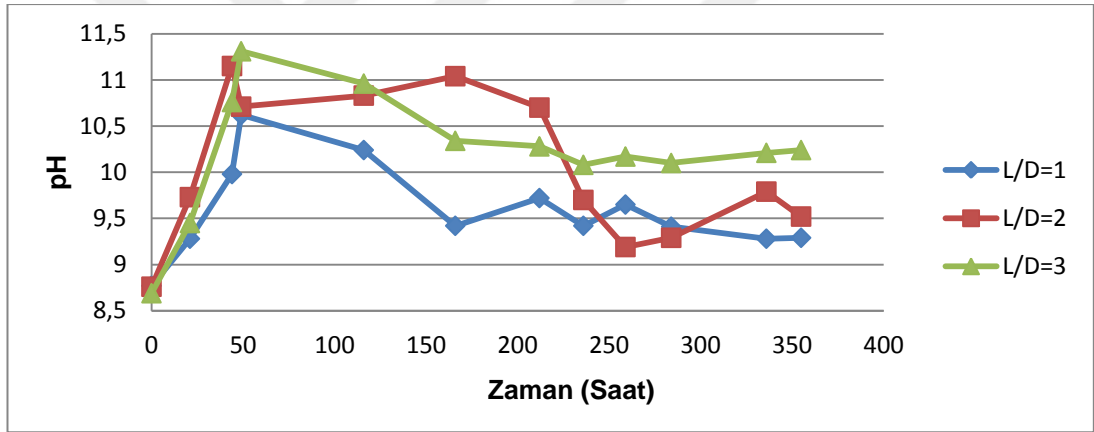
Tablo 6.8. Fotobiyoreaktör yükseklik/çap oranının *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyüme ve yağ içeriğine etkisi

L/D oranı	$X_{max}$ (g/L)	$\mu_{max}$ ( $h^{-1}$ )	Biyokütle miktarı (g/L)	Yağ içeriği (%)	Yağ miktarı (g/L)	Hücrelerin iki'ye katlanma süresi (saat)	Yağ verimliliği (mg/Lgün)
1	0,61	0,046	0,26	17,9	0,046	15	2,76
2	0,99	0,039	0,51	17,1	0,087	17	5,22
3	2,32	0,038	1,02	21,1	0,22	18	13,2

Yapılan her bir set için günlük olarak pH ölçümleri yapılmıştır. pH değişimlerine ait grafikler Şekil 6.32 ve 6.33 verilmiştir.



Şekil 6.32. Fotobiyoreaktör yüksek/çap oranının ortam pH'ına etkisi (1.set)



Şekil 6.33. Fotobiyoreaktör yüksek/çap oranının ortam pH'ına etkisi (2.set)

Başlangıçta 8,70 civarında ölçülen pH değerleri yaklaşık 69. saate kadar yükselme eğilimi göstermiştir. 69. saatten sonra dalgalanmalar oluşsa bile çalışmaların sonuna kadar pH 10,0-10,50 aralığında değişiklik göstermektedir.

## 6.6. Yağ Asidi Bileşimi

Tez çalışması boyunca elde edilen örneklerin yağ asidi bileşimi analizleri yapılmıştır. Bazı örnekler yetersiz olduğundan dolayı analiz sonuçları elde edilememiştir. Yeterli miktarlardaki örneklerin kromatografi grafikleri ekte (EK-E) yağ asidi bileşimleri ise aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 6.9. N kaynağı olarak %100 konsantrasyona sahip NH<sub>4</sub>Cl kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	% Bileşim
C4:0 Bütirik asit	44,50
C14:1 Miristoloik asit	15,71
C16:0 Palmitik asit	39,79

Ortalama molekül ağırlığı: 568,48 g/mol

Tablo 6.10. N kaynağı olarak %100 konsantrasyona sahip NaNO<sub>3</sub> kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	% Bileşim
C4:0 Bütirik asit	57,17
C16:0 Palmitik asit	42,83

Ortalama molekül ağırlığı: 518,68 g/mol

Tablo 6.11. N kaynağı olarak %25 konsantrasyona sahip NH<sub>4</sub>Cl kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	% Bileşim
C14:0 Ministrik asit	39,08
C15:0 Pentadekonoik asit	46,08
C17:0 Margarik asit	14,84

Ortalama molekül ağırlığı: 761,32 g/mol

Tablo 6.12. N kaynağı olarak %100 konsantrasyona sahip CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	% Bileşim
C15:0 Pentadekonoik asit	39,40
C16:0 Palmitik asit	63,60

Ortalama molekül ağırlığı: 792,03 g/mol

Tablo 6.13. N kaynağı olarak %25 konsantrasyona sahip CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	% Bileşim
C14:1 Miristoloik asit	16,18
C15:0 Pentadekonoik asit	51,40
C17:0 Margarik asit	9,20
C18:2 Linoleik asit	23,22

Ortalama molekül ağırlığı: 791,74 g/mol

Tablo 6.14. %50 konsantrasyona sahip Fe kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* türü mikroalgin yağ asidi bileşimi

Yağ asidi	% Bileşim
C6:0 Kaproik asit	23,90
C10:0 Kaprik asit	3,38
C14:0 Ministrik asit	19,88
C14:1 Miristoloik asit	9,87
C15:0 Pentadekonoik asit	42,97

Ortalama molekül ağırlığı: 654,52 g/mol

Sıcaklık, ışık yoğunluğu gibi parametrelerin yanı sıra besin içeriği ve farklı konsantrasyonlarının yağ içeriği kompozisyonu etkilediği belirlenmiştir.

Rodolfi ve diğ., 2003 yılında yaptıkları çalışmada 4 farklı mikroalg türünü (2 deniz türü ve 2 tatlı su türü) azot eksikliğinde kültüre almışlardır ve yağ asidi kompozisyonunun azot ve fosfor eksikliğinde kuru ağırlığının %50 ve daha fazlasına ulaştığını belirlemişlerdir.

Düşük sıcaklıkların bazı alglerin doymamış 18:0 C'lu yağ asiti sentezini artırdığı bilinmektedir. Örneğin *Dunaliella*'nın yağ asidi kompozisyonundaki değişikliklerin nedeni de yine düşük sıcaklık olarak açıklanmıştır. Kırmızı alg *Porphyridium cruentum* optimum kültür sıcaklığı olan 25 °C' de total yağ asitlerinin % 36'sı civarında arachidonic asit içeren en zengin doğal kaynaktır. Düşük sıcaklıklarda (16 °C) bu miktar % 60'a çıkabilir (Chisti, 2007).



## 7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yeşil algler grubuna ait *Chlorella variabilis* türü mikroalgin büyümesini ve yağ içeriğini arttırmak için farklı stres koşullarının ve fotobiyoreaktörün yükseklik/çap oranının etkisi incelenmiştir.

Farklı N sınırlamalarında; %25 N sınırlaması ile hazırlanan besin ortamında büyüyen mikroorganizmanın maksimum spesifik büyüme hızının ( $\mu_{max}= 0,031$  saat<sup>-1</sup>) ve maksimum hücre konsantrasyonunun ( $X_{max}=0,66$  g/L) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yağ içeriğinin %100 N sınırlamasının olduğu ( N sınırlamasının olmadığı BG-11 besin ortamındaki N kaynağının konsantrasyonu kadar N içeren ) örnek ile karşılaştırıldığında %6 oranında daha yüksek olduğu belirlenmiştir. (%19,6'dan %25,6'a çıkmıştır). Yağ miktarlarında çok keskin bir farklılık gözlenmese de hücrelerin kendini iki'ye katlama süreleri ve kullanılan N konsantrasyonları düşünüldüğü zaman bundan sonraki çalışmaların %25 N sınırlamasında yapılmasının daha uygun olduğu düşünülmektedir.

Daha önce yapılan çalışmalarda da N konsantrasyonlarının sınırlamasında % lipit miktarının arttığı belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada düşük azotlu ortamda 5 farklı *Chlorella* türünün (*C. Vulgaris*, *C. Emersonii*, *C. Protothecoides*, *C. Sorokiniana*, *C. Minutissima*) değişimleri incelenmiştir ve en iyi büyümenin  $0,99$  d<sup>-1</sup> büyüme oranı ile *Chlorella vulgaris*'te olduğu saptanmıştır. 5 tür içinden *C. Emersonii*'nin daha çok etkilendiği ve daha hızlı bir büyüme gösterdiği belirlenmiştir. *C. Sorokiniana* dışındaki tüm türlerin düşük azotlu ortamda kültüre alındığında yağ içeriklerinin yaklaşık olarak 2 kat arttığı saptanmıştır. (Illman ve diğ., 2000)

Başka bir çalışmada ortamdaki azot miktarının %75 oranında azaltılması ile *Nannochloropsis oculata*'nın lipit oranı %7,90'dan %15,31'e, ve *Chlorella vulgaris*'in lipit oranının ise %5,90'dan %16,41'e yükseldiğini belirtmişlerdir (Converti ve diğ., 2009).

Lipit üretimi her tür için farklı faktörlerin etkisiyle olmaktadır, ancak genel olarak N eksikliğinde lipit miktarlarında artışlar gözlenmektedir. Laboratuvar koşullarında %25 N eksikliğinde elde edilen %25,6 yağ içeriğinin dışarı ortamdaki açık havuzlarda, fotobiyoreaktörlerde daha büyük hacimlerde denenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Büyüme ve yağ içeriğine Fe konsantrasyonlarının nasıl etki ettiğini araştırmak için farklı Fe konsantrasyonları ile çalışmalar yapılmıştır. BG-11 besin ortamındaki Fe kaynağının konsantrasyonu kadar (0,006 g/L) demir içeren besin ortamında büyüyen mikroorganizmada maksimum spesifik hızı ( $\mu_{max}= 0,042 \text{ saat}^{-1}$ ) ve maksimum hücre konsantrasyonuna ( $X_{max}= 0,23 \text{ g/L}$ ) ulaşılmıştır. En yüksek yağ miktarına %21,9 ile %50 Fe sınırlamasının olduğu örnekte ulaşılmıştır. Demir sınırlamasının olmadığı örnek ile karşılaştırıldığında %4,5 oranında daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ancak büyüme oranı ve büyüme süreleri göz önüne alındığında bu oranın tolere edilebileceği düşünülmektedir.

Mandalam ve diğ., 1998 yılında yaptıkları çalışmada *Chlorella vulgaris*' in üretiminde geliştirilmiş N-8 (Vonshak, 1986) ortamındaki bazı elementlerin oranlarını değiştirerek çalışmalar yapmışlardır. Bu ortamda kullanılan demir (Fe), magnezyum (Mg), potasyum (K), kükürt (S) ve azot (N) değerlerini farklı kompozisyonlarda deneyerek M-8 ortamını elde etmişlerdir. M-8 ortamında,  $\text{KNO}_3$ ; 3 katı,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ ; 8 katı kullanılmış ve demir kaynağı olarak da  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$  ilave edilmiştir. M-8 ortamındaki büyüme 24 gün sürmüştür. Potasyum, magnezyum ve demir' in *Chlorella vulgaris*' in büyümesini etkilediği belirtilmiştir.

Mikroalglerin büyümesi için N dışında fosfat, fosfor, magnezyum, kükürt gibi temel elementlere de gereksinim duyarlar.

Muammer Balcı ve diğ.,(2006) farklı pH larda (pH:7 ve pH:8) , farklı nitrat (8, 12, 16 ve 20 mM) ve fosfat (0,1, 0,3, 0,5 ve 0,7 mM) konsantrasyonlarında *Scenedesmus obliquus* türü mikroalgin büyümesini incelemişler ve pH:7, 12 mM nitrat ve 0,3 mM fosfat konsantrasyonunda  $15,5 \times 10^6$  ile en yüksek hücre sayısına ulaşmışlardır.

Yaptığımız çalışmada farklı konsantrasyonlardaki  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  etkisinin *Chlorella variabilis* üzerindeki etkileri araştırılmıştır. En yüksek hücre konsantrasyonuna ( $X_{max}= 1,81 \text{ g/L}$ ) ve en yüksek biyokütle miktarına (0,143 g/L) 0,005 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  konsantrasyonuna sahip besin ortamında büyüyen mikroorganizmada ulaşılmıştır. Düşük konsantrasyona sahip  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ile hazırlanan besin ortamında mikroorganizmanın daha iyi büyüdüğüne ve yağ miktarının diğer konsantrasyonlara göre daha yüksek (%12,3) olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Farklı azot kaynakları ve konsantrasyonları alg kültürlerinde büyümeyi etkilemekte ve miktarlarında değişikliklere neden olmaktadır (Xu ve diğ., 2001, Lourenco ve diğ., 2002). Mikroalg kültürlerinde kullanılan en önemli azot kaynakları Amonyum klorür,

Sodyum nitrat ve üredir (Gökpınar,1991; Levasseur ve diğ., 1993; Grobbelaar., 2000).

Yapılan bir çalışmada *Neochloris oleoabundans* türü mikroalgde farklı azot kaynaklarını (nitrat, üre ve amonyum) kullanarak, hücre büyümesi ve lipit birikimi üzerine etkilerini incelemişlerdir. En fazla biyokütle miktarı 2,5 g/L ile N kaynağı olarak nitrat kullanılan örnekte bulunmuştur. En yüksek lipit oranı da %38 ile nitrat uygulanan örnekte saptanmıştır (Li ve diğ., 2008).

Yaptığımız çalışmada farklı azot kaynakları (Amonyum klorür, Sodyum nitrat ve üre) ve farklı konsantrasyonlarının (%25, 50, 75 ve 100) *Chlorella variabilis*'in büyümesi ve lipit içeriği üzerindeki etkileri laboratuvar ortamında çalışılıp araştırılmıştır. Farklı azot kaynakları ve farklı konsantrasyonları ile yapılan çalışmalar birlikte değerlendirildiği zaman *Chlorella variabilis* türü mikroalg için  $NO_3-N$  ve  $NH_4-N$  ile hazırlanan kültürlerde mikroorganizmanın benzer bir büyüme gösterdiği belirlenmiştir. Bütün konsantrasyonlardaki  $CH_4N_2O$  ile hazırlanmış örneklerdeki yağ miktarı diğer 2 N kaynağına göre bir miktar yüksek olsa da, büyüme süreleri ve büyüme oranları değerlendirildiğinde ürenin bu tür için çok da uygun bir N kaynağı olmadığı düşünülmektedir.  $NO_3-N$  ve  $NH_4-N$  ile hazırlanan ortamlardaki mikroorganizmanın büyüme süreleri ve büyüme oranlarının benzer özellik göstermesinden dolayı yağ içeriğindeki çok belirgin olmayan bu farkın tolere edilebileceği öngörülmektedir.

Çalışmaların son bölümünde fotobiyoreaktör yükseklik/çap oranının *Chlorella variabilis* üzerinde büyüme ve yağ içeriğine nasıl etki ettiği laboratuvar ortamında araştırılmak istenmiştir. Farklı yükseklik (9, 18 ve 27 cm) ve aynı taban çapına sahip (D=9 cm) silindir şeklindeki biyoreaktörler kullanılarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar sonucunda en yüksek biyokütle miktarına (1,02 g/L) ve en yüksek yağ içeriğine (%21,1) L/D=3 olan biyoreaktörde ulaşılmıştır. Çalışmalar sonucunda fotobiyoreaktör yükseklik/çap oranı arttıkça biyokütle miktarlarında da yaklaşık olarak 2 kat arttığı belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

Ahn J. W., Hwangbo K., Lee S. Y., Choi H. G., Park Y. I., Liu J. R., Jeong W. J., A New Arctic *Chlorella* Species for Biodiesel Production, *Bioresource technology*, 2012, **125**, 340-343.

Andrew C. E., Freddie L. I., Effects of CO<sub>2</sub> Sequestration on Lipit and Biomass Productivity in Microalgal Biomass Production, *Applied Energy*, 2017, **195**, 1100–1111.

Balcı M., Çelekli A., Deveci A., Eyüboğlu F., *Scenedesmus obliquus* Türünün Gelişimine Klorofil-a ve Protein Üretim Kapasitesine pH, Nitrat ve Fosfat Konsantrasyonlarının Etkisi, *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 2006, Bolu, Türkiye, 24-26 Mayıs 2006.

Becker E.W., *Microalgae Biotechnology and Microbiology*, 2 rd, ed., Cambridge University Press, Cambridge, 1994.

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.

Borowitzka M. A., Closed Algal Photobioreactors Design Considerations for Large-Scale Systems, *Journal of Marine Biotechnology*, 1996, **4**, 185-191.

Brown M. R., Garland C. D., Jeffrey S. W., Jameson I. D., Leroi J. M., The Gross and Amino Acid Compositions of Batch and Semi-Continuous Cultures of *Isochrysis sp.*(Clone T. ISO) *Pavlova Lutheri* and *Nannochloropsis Oculata*, *Journal of Applied Phycology*, 1993, **5**(3), 285-296.

Chang H. X., Huang Y., F, Q., Liao Q., Zhu X., Kinetic Characteristics and Modeling of Microalgae *Chlorella Vulgaris* Growth and CO<sub>2</sub> Biofixation Considering the Coupled Effects of Light Intensity and Dissolved Inorganic Carbon, *Bioresource technology*, 2016, **206**, 231-238.

Chinnasamy S., Ramakrishnan B., Bhatnagar A., Das, K. C., Biomass Production Potential of a Wastewater Alga *Chlorella Vulgaris* ARC 1 under Elevated Levels of CO<sub>2</sub> and Temperature, *International journal of molecular sciences*, 2009, **10**(2), 518-532.

Chisti, An Unusual Hydrocarbon, *J Ramsay Society*, 1980–81, **24**(6), 27–28.

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

Chokshi K., Pancha I., Trivedi K., George B., Maurya R., Ghosh A., Mishra S., Biofuel Potential of the Newly Isolated Microalgae *Acutodesmus Dimorphus* under Temperature Induced Oxidative Stress Conditions, *Bioresource technology*, 2015, **180**, 162-171.

Choudhary M., Jetley U. K., Khan M. A., Zutshi S., Fatma T., Effect of Heavy Metal Stress on Proline, Malondialdehyde, and Superoxide Dismutase Activity in the Cyanobacterium *Spirulina Platensis-S5*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, **66**(2), 204-209.

Chrimadha T., Borowitzka M. A., Effect of Cell Density and Irradiance on Growth, Proximate Composition and Eicosapentaenoic Acid Production of *Phaeodactylum Tricornutum* Grown in a Tubular Photobioreactor, *Journal of Applied Phycology*, 1994, **6**(1), 67-74.

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., Casazza A. A., Ortiz E. Y., Perego P., Del Borghi M., 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 Process Intensification*, 2009, **48**(6), 1146-1151.

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

Davis A. R., *Principles of Oceanography*, 1<sup>st</sup> ed., University of South Florida Aquafarms, Florida, 1977.

Durmaz Y., Azot Kaynakları ve Konsantrasyonlarının *Nannochloropsis Oculata* (Droop, 1955) (Eustigmatophyceae)'nin Büyüme ve Pigment Kompozisyonuna Etkisi, *E.Ü Su Ürünleri Dergisi*, 2006, **23**(3-4), 295-299.

Gökpinar Ş., Effect of Change of Temperature on Inorganic Nitrogen Assimilation of Five Important Sea Flagellat in Aquaculture, Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Enstitüsü, İzmir, 1991, 20260.

Gökpinar Ş., Göksan T., Cirik S., Özbaş B., *Nannochloropsis* sp.(Eustigmatophyta)'nin Kış Döneminde Tubular Fotobiyoreaktörde Büyüme Özelliği, *Su Ürünleri Dergisi*, 2015, **24**(3), 233-237.

Grobbelaar J. U., Algal Nutrition–Mineral Nutrition, *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*, 2004, 95-115.

Grobbelaar J. U., Nedbal L., Tichý V., Influence of High Frequency Light/Dark Fluctuations on Photosynthetic Characteristics of Microalgae Photoacclimated to Different Light Intensities and Implications for Mass Algal Cultivation, *Journal of applied phycology*, 1996, **8**(4), 335-343.

Gudin C., Chaumont D., Solar Biotechnology Study and Development of Tubular Solar Receptors for Controlled Production of Photosynthetic Cellular Biomass, *Proceedings of the Workshop and EC Contractor's Meeting in Capri*, 1983, 184-193.

Guo F., Wang H., Wang J., Zhou W., Gao L., Chen L., Dong Q., Zhang W., Liu T., Special Biochemical Responses to Nitrogen Deprivation of Filamentous Oleaginous Microalgae *Tribonema* sp, *Bioresource technology*, 2014, **158**, 19-24.

Guo X., Su G., Li Z., Chang J., Zeng X., Su, Y., Lin L. Light Intensity and N/P Nutrient Affect the Accumulation of Lipid and Unsaturated Fatty Acids by *Chlorella* sp, *Bioresource technology*, 2015, **191**, 385-390.

Illman A. M., Scragg A. H., Shales S. W., Increase in *Chlorella* Strains Calorific Values when Grown in Low Nitrogen Medium, *Enzyme and microbial technology*, (2000), **27**(8), 631-635.

Jensen B., *Chlorella Gem of the Orient*, 2 rd ed., Bernard Jensen, CA USA, 1987.

Kaewkannetra P., Enmak P., Chiu T., The Effect of CO<sub>2</sub> and Salinity on the Cultivation of *Scenedesmus Obliquus* for Biodiesel Production, *Biotechnology and bioprocess engineering*, 2012, **17**(3), 591-597.

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.

Krzemińska I., Piasecka A., Nosalewicz A., Simionato D., Wawrzykowski J., Alterations of the Lipid Content and Fatty Acid Profile of *Chlorella Protothecoides* under Different Light Intensities, *Bioresource technology*, 2015, **196**, 72-77.

Laurenz T., How Green are Algae Farms for Biofuel Production?, *Biofuels*, 2010, **1**(4), 515-517.

Lee C.S., Lee S. A., Ko S. R., Oh H. M., Ahn C. Y., Effects of Photoperiod on Nutrient Removal, Biomass Production, and Algal-Bacterial Population Dynamics in Lab-Scale Photobioreactors Treating Municipal Wastewater, *Water research*, 2015, **68**, 680-691.

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.

Li M., Hu C., Zhu Q., Chen L., Kong Z., Liu Z., Copper and Zinc Induction of Lipid Peroxidation and Effects on Antioxidant Enzyme Activities in the Microalga *Pavlova Viridis* (Prymnesiophyceae), *Chemosphere*, 2006, **62**(4), 565-572.

Liang K., Zhang Q., Gu M., Cong W., Effect of Phosphorus on Lipid Accumulation in Freshwater Microalga *Chlorella* sp, *Journal of applied phycology*, 2013, **25**(1), 311-318.

Loseva N. L., Alyabyev A. J., Rachimova G. G., Estrina R. I., The Effect of High Temperature and Salt on the Metabolic Heat Rate of *Chlorella* Cells. *Thermochimica acta*, 1998, **309**(1-2), 129-131.

Luangpipat T., Chisti Y., Biomass and Oil Production by *Chlorella vulgaris* and Four other Microalgae Effects of Salinity and other Factors, *Journal of Biotechnology* 2017, **257**, 47-57.

Mandalam R., Palsson B., Elemental Balancing of Biomass and Medium Composition Enhances Growth Capacity in High-Density *Chlorella* Metabolizing Enzymes and Lipid Peroxidation, *Biotechnology and Bioengineering*, 1998, **82**(1), 83-98.

Mata T. M., Martins A. A., Caetano N. S., Microalgae for Biodiesel Production and other Applications, A Review, *Renewable Sustainable Energy Reviews*, 2010, **14**(1), 217-232.

Muñoz R., Guieysse B., Algal–Bacterial Processes for the Treatment of Hazardous Contaminants, A review, *Water Research*, 2006, **40**(15), 2799-2815.

Mutlu Y. B., Isik O., Uslu L., Koç K., Durmaz Y., The Effects of Nitrogen and Phosphorus Deficiencies and Nitrite Addition on the Lipit Content of *Chlorella Vulgaris* (Chlorophyceae), *African Journal of Biotechnology*, 2011, **10**(3), 453-456.

Naqle N., Lemke P., Production of Methyl Ester Fuel from Microalgae, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1990, **24**(1), 355-361.

Najafabadi H. A., Malekzadeh M., Jalilian F., Vossoughi M., Pazuki G., Effect of Various Carbon Sources on Biomass and Lipit Production of *Chlorella vulgaris* During Nutrient Sufficient and Nitrogen Starvation Conditions, *Bioresource Technology*, 2015, **180**, 311–317.

Neenan B., Feinberg D., Hill A., Mcintosh R., Terry K., *Fuels from Microalgae, Technology Status Potential and Research Requirements*, 2 rd ed., Solar Energy Research, institute, Singapore, 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 S. H., Han J. G., Kim Y., Ha J. H., Kim S. S., Jeong M. H., Lee S. Y. Lipit Production in *Porphyridium Cruentum* Grown under Different Culture Conditions, *Journal of bioscience and bioengineering*, 2009, **108**(5), 429-434.

Prescott G. W., Ecology of Alaskan Freshwater Algae II. Introduction: General Considerations, *Transactions of the American Microscopical Society*, 1963, **82**(1), 83-98.

Qiang L., Du W., Liu D., Perspectives of Microbial Oils for Biodiesel Production, *Applied microbiology and biotechnology*, 2008, **80**(5), 749-756.

Qiang H., Faiman D., Richmond A., Optimal Tilt Angles of Enclosed Reactors for Growing Photoautotrophic Microorganisms Outdoors, *Journal of fermentation and bioengineering*, 1998, **85**(2), 230-236.

Raesossadati M. J., Ahmadzadeh H., McHenry M. P., Moheimani N. R., CO<sub>2</sub> Bioremediation by Microalgae in Photobioreactors: Impacts of Biomass and CO<sub>2</sub> Concentrations, Light, and Temperature, *Algal Research*, 2014, **6**, 78-85.

Rashid N., Ur Rehman M. S., Sadiq M., Mahmood T., Han J. I., Current Status, Issues and Developments in Microalgae Derived Biodiesel Production, *Renewable Sustainable Energy Reviews*, 2014, **40**, 760-778.

Renaud S. M., Thinh L. V., Lambrinidis G., Parry D. L., Effect of Temperature on Growth, Chemical Composition and Fatty Acid Composition of Tropical Australian Microalgae Grown in Batch Cultures, *Aquaculture*, 2002, **211**(1), 195-214.

Richardson B., Orcutt D. M., Schwertner H. A., Martinez C. L., Wickline, H. E., Effects of Nitrogen Limitation on the Growth and Composition of Unicellular Algae in Continuous Culture, *Applied microbiology*, 1969, **1** (2), 245-250.

Richmond A. E., Soeder C. J., Microalgaculture, *Critical Reviews in Biotechnology*, 1986, **4**(3), 369-438.

Sakamoto T., Bryant D. A., Growth at Low Temperature Causes Nitrogen Limitation in the Cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002, *Archives of Microbiology*, 1998, **169**(1), 10-19.

Sakarika M., Kornaros M., Kinetics of Growth and Lipids Accumulation in *Chlorella Vulgaris* During Batch Heterotrophic Cultivation: Effect of Different Nutrient Limitation Strategies, *Bioresource Technology*, 2017, **243**, 356–365.

Sakarika M., Michael K., Effect of pH on Growth and Lipid Accumulation Kinetics of the Microalga *Chlorella Vulgaris* Grown Heterotrophically under Sulfur Limitation, *Bioresource technology*, 2016, **219**, 694-701.

Sawayama S., Inoue S., Dote Y., Yokoyama S. Y., CO<sub>2</sub> Fixation and Oil Production Through Microalga, *Energy Conversion and Management*, 1995, **36**(6), 729-731.

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, *Bioenergy Research*, 2008, **1**(1), 20-43.

Sharma Y. C., Singh B., Korstad J., A Critical Review on Recent Methods Used for Economically Viable and Eco-Friendly Development of Microalgae as a Potential Feedstock for Synthesis of Biodiesel, *Green Chemistry*, 2011, **13**(11), 2993-3006.

Shifrin N. S., Sallie W. C., Phytoplankton Lipids: Interspecific Differences and Effects of Nitrate, Silicate and Light-Dark Cycles, *Journal of phycology*, (1981), **17**(4), 374-384.

Siaut M., Heijde M., Mangogna M., Montsant A., Coesel S., Allen A., Bowler C., Molecular Toolbox for Studying Diatom Biology in *Phaeodactylum Tricornutum*, *Gene*, 2007, **406**(1), 23-35.

Singh A., Singh S. P., Bamezai R., Perinatal Influence of *Chlorella Vulgaris* (E-25) on Hepatic Drug Metabolizing Enzymes and Lipid Peroxidation, *Anticancer research*, 1998, **18**(3A), 1509-1514.

Song W., Rashid N., Choi W., Lee K., Biohydrogen Production by Immobilized *Chlorella* sp. Using Cycles of Oxygenic Photosynthesis and Anaerobiosis, *Bioresource Technology*, 2011, **102**(18), 8676-8681.

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

Sukatar A., Alg Kültür Yöntemleri, *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi*, 2002, **184**, 103-105.



Sukenik C. Y. A., Berner T., Regulation of Fatty Acid Composition by Irradiance Level in the Eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp, *Journal of Phycology*, 1989, **25**(4) 686-692.

Torzillo G., Pushparaj B., Bocci F., Balloni W., Materassi R., Florenzano G., Production of *Spirulina* Biomass in Closed Photobioreactors, *Biomass*, (1986), **11**(1), 61-74.

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 Immobilized Burkholderia Lipase, *Bioresource technology*, 2012, **108**, 119-127.

Tredici M.R. Photo Bioreactors, *Encyclopedia of Bioprocess Technology*, 1999, 395-419.

Tsuzuki M., Ohnuma E., Sato N., Takaku T., Kawaguchi A., Effects of CO<sub>2</sub> Concentration During Growth on Fatty Acid Composition in Microalgae, *Plant physiology*, 1990, **93**(3), 851-856.

URL-1: <http://www.organic soul.com/algae-and-the-military-a-biofuel-for-war/> (Ziyaret tarihi: 23 Ocak 2017).

Uslu L., Isik O., Koç K., Göksan T., The Effects of Nitrogen Deficiencies on the Lipid and Protein Contents of *Spirulina Platensis*, *African Journal of Biotechnology* (2011) **10**(3), 386-389.

Wahidin S., Idris A., Shaleh S.R.M., The Influence of Light Intensity and Photoperiod on the Growth and Lipid Content of Microalgae *Nannochloropsis* sp, *Bioresource technology*, 2013, **129**, 7-11.

Wichien Y., Owen P. W., Growth of and Omega-3 Fatty Acid Production by *Phaeodactylum Tricornutum* under Different Culture Conditions, *Applied and environmental microbiology*, (1991), **57**(2), 419-425.

Widjaja Arief., Lipid Production from Microalgae as a Promising Candidate for Biodiesel Production, *Makara Journal of Technology*, 2010, **13**(1), 47-51.

Wu Li F., Chen P. C., Lee C M., The Effects of Nitrogen Sources and Temperature on Cell Growth and Lipid Accumulation of Microalgae, *International Biodeterioration & Biodegradation* 2013, **85**, 506-510.

Xu N., Zhang X., Fan X., Han L., Zeng C., Effects of Nitrogen Source and Concentration on Growth Rate and Fatty Acid Composition of *Ellipsoidion* sp.(Eustigmatophyta), *Journal of Applied Phycology*, 2001, **13**(6), 463-469.

Yang Y., and Gao K., Effects of CO<sub>2</sub> concentrations on the freshwater microalgae, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyta), *Journal of Applied Phycology*, (2003), **15**(5), 379-389.

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

Yongmanitchai W., Ward O. P., Growth of and Omega-3 Fatty Acid Production by *Phaeodactylum Tricornutum* under Different Culture Conditions, *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, **57**(2), 419-425.

Zeng X., Danquah M.K., Chen X.D., Lu Y., Microalgae Bioengineering: From CO<sub>2</sub> Fixation to Biofuel Production, *Renewable Sustainable Energy Reviews*, 2011, **15**(6), 3252-3260.

Zhila N.O., Kalacheva G.S., Volova T.G., Influence of Nitrogen Deficiency on Biochemical Composition of the Green Alga *Botryococcus*, *Journal of Applied Phycology*, 2005, **17**(4), 309-315.

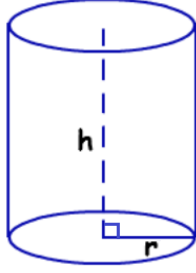




**EKLER**

## EK-A Silindirin Hacim Hesabı

Silindirin Hacmi aşağıdaki gibi hesaplanmaktadır.



Hacim = taban alanı x yükseklik

$$V = \pi \cdot r^2 \cdot h$$

r: taban yarıçapı

h: silindirin yüksekliği

$$h = 9 \text{ cm}$$

$$r = 4.5 \text{ cm}$$

$$V = \pi r^2 h$$

$$V = \pi (4.5)^2 \cdot 9 = 573 \text{ cm}^3 = 573 \text{ mL}$$

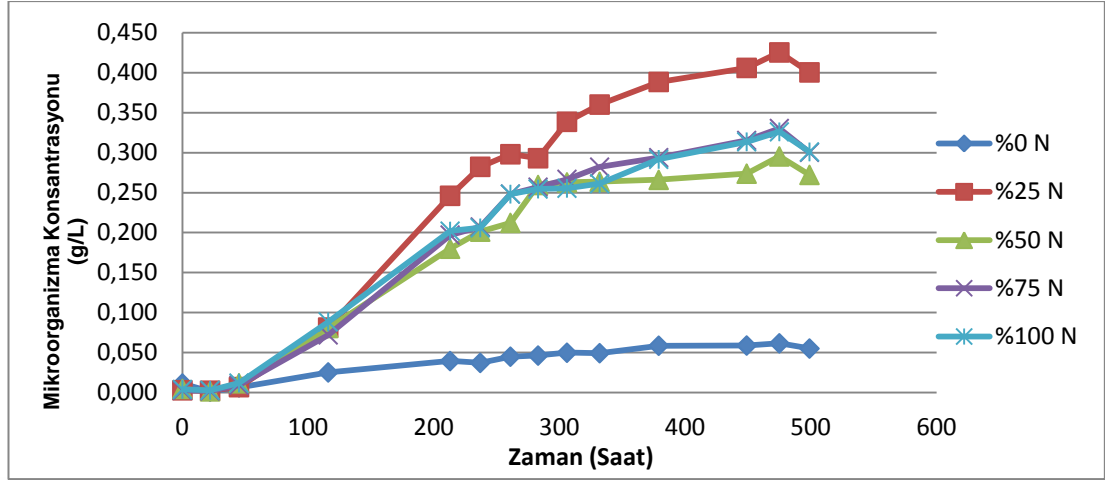
## EK-B Kocaeli İSU Analiz Raporları (2017)

### 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

EK B.1. Kocaeli İSU Analiz Raporları 2017 Değerleri

## EK-C Maksimum Spesifik Büyüme Hızının Hesaplanması



Şekil C.1. Farklı N konsantrasyonlarının mikroorganizma büyümesi üzerine etkileri

Maksimum spesifik hücre büyüme hızını bulmak için ( $\mu$ ) grafikte doğrusal olan noktalar seçilerek hesaplama yapılır. Örneğin %25 N sınırlamasının olduğu eğriyi kullanarak hesap yapılırsa; 213 ve 116 saatleri aralığında doğrusal bir büyüme gözlenmektedir.

$$\mu = \frac{\ln(0,2461) - \ln(0,0813)}{213 - 116} = 0,0114 \text{ h}^{-1}$$

## EK-D Hücrelerin İkiye Katlanma Süresinin Hesaplanması

Hücrelerin ikiye katlanma süresi aşağıdaki formülle bulunmuştur;

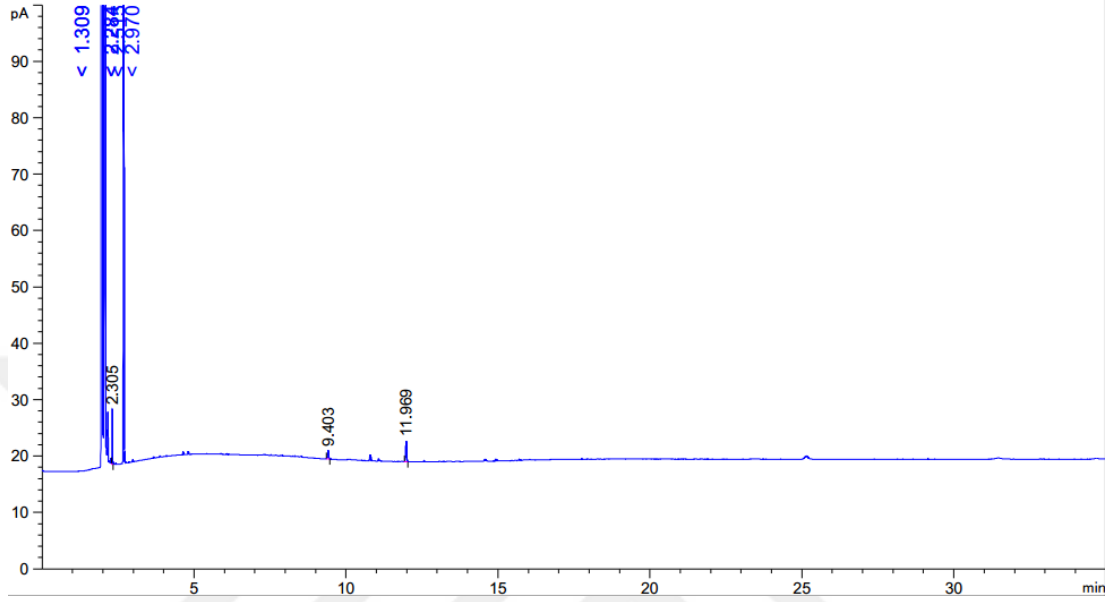
$$\text{Hücrenin ikiye katlanma süresi} = \frac{\ln(2)}{\mu_{\max}}$$

$$\text{Hücrenin ikiye katlanma süresi} = \frac{\ln(2)}{0,0114} = 22 \text{ saat}$$



## EK-E Yağ Asidi Bileşimi Analizi GC Kromatogramı

N kaynağı olarak %100 NH<sub>4</sub>Cl kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı



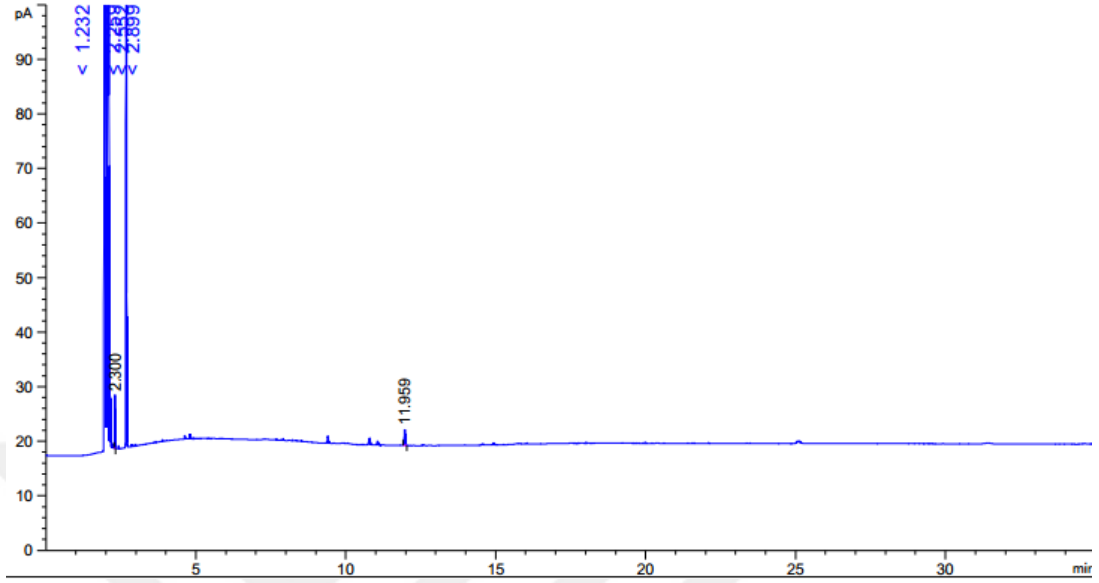
Şekil E.1. N kaynağı olarak %100 NH<sub>4</sub>Cl kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı

Tablo E.1. N kaynağı olarak %100 NH<sub>4</sub>Cl kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi

#	Time	Area	Height	Width	Area%
1	2.305	9.9	9.8	0.0168	44.497
2	9.403	3.5	1.5	0.0361	15.711
3	11.969	8.8	3.7	0.0382	39.792



N kaynağı olarak %100 NaNO<sub>3</sub> kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı

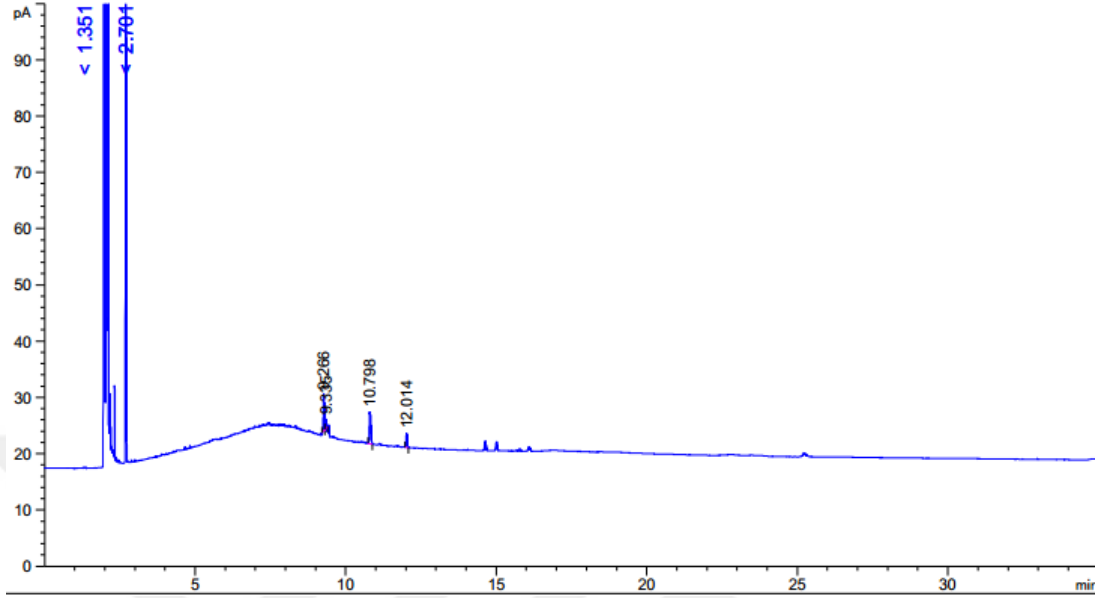


Şekil E.2. N kaynağı olarak %100 NaNO<sub>3</sub> kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı

Tablo E.2. N kaynağı olarak %100 NaNO<sub>3</sub> kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi

#	Time	Area	Height	Width	Area%
1	2.3	9.5	9.6	0.0155	57.169
2	11.959	7.1	2.9	0.0383	42.831

N kaynağı olarak %25 konsantrasyona sahip NH<sub>4</sub>Cl kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı

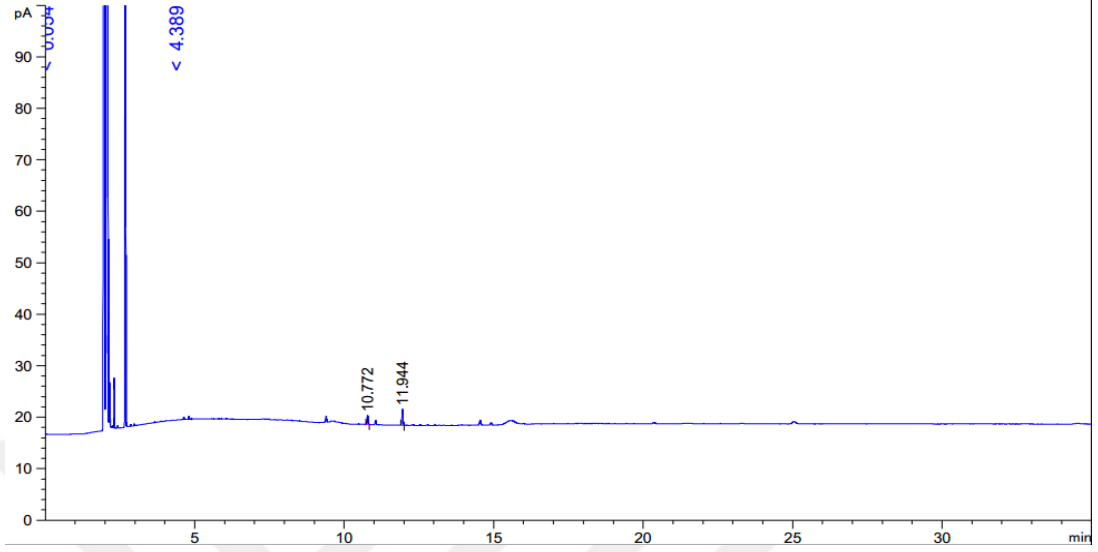


Şekil E.3. N kaynağı olarak %25 konsantrasyona sahip NH<sub>4</sub>Cl kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı

Tablo E.3. N kaynağı olarak %25 konsantrasyona sahip NH<sub>4</sub>Cl kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi

#	Time	Area	Height	Width	Area%
1	9.266	14.4	6.5	0.0347	34.343
2	9.335	2	1.7	0.0224	4.741
3	10.798	19.4	5.7	0.0526	46.075
4	12.014	6.2	2.6	0.0383	14.841

N kaynağı olarak %100 CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı

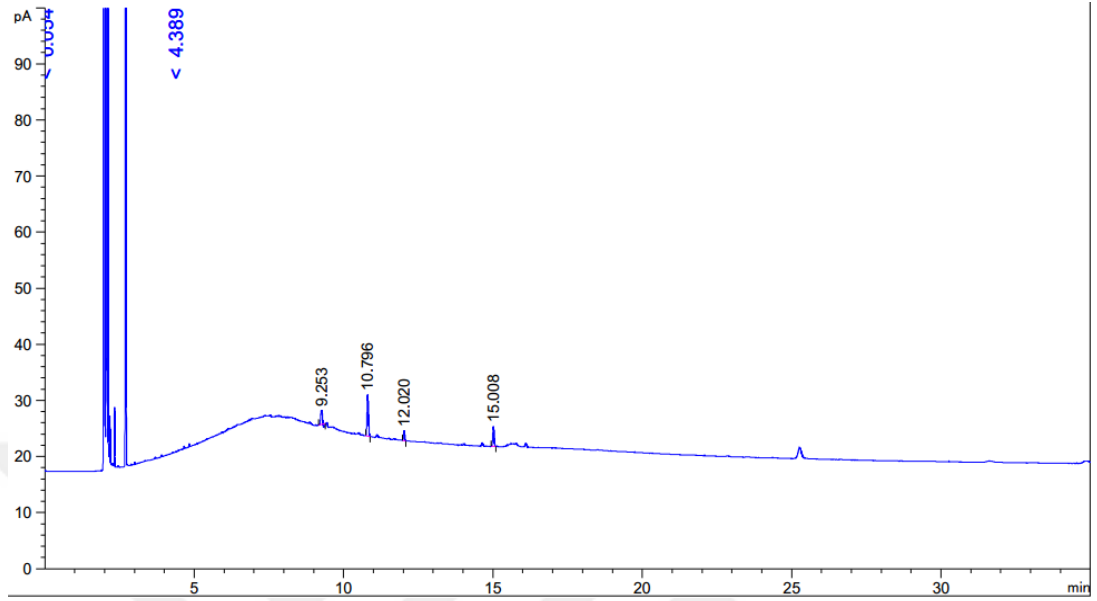


Şekil E.4. N kaynağı olarak %100 CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı

Tablo E.4. N kaynağı olarak %100 CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi

#	Time	Area	Height	Width	Area%
1	10.772	4.4	1.7	0.0397	36.399
2	11.944	7.7	3.1	0.0388	63.601

N kaynağı olarak %25 konsantrasyona sahip CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı

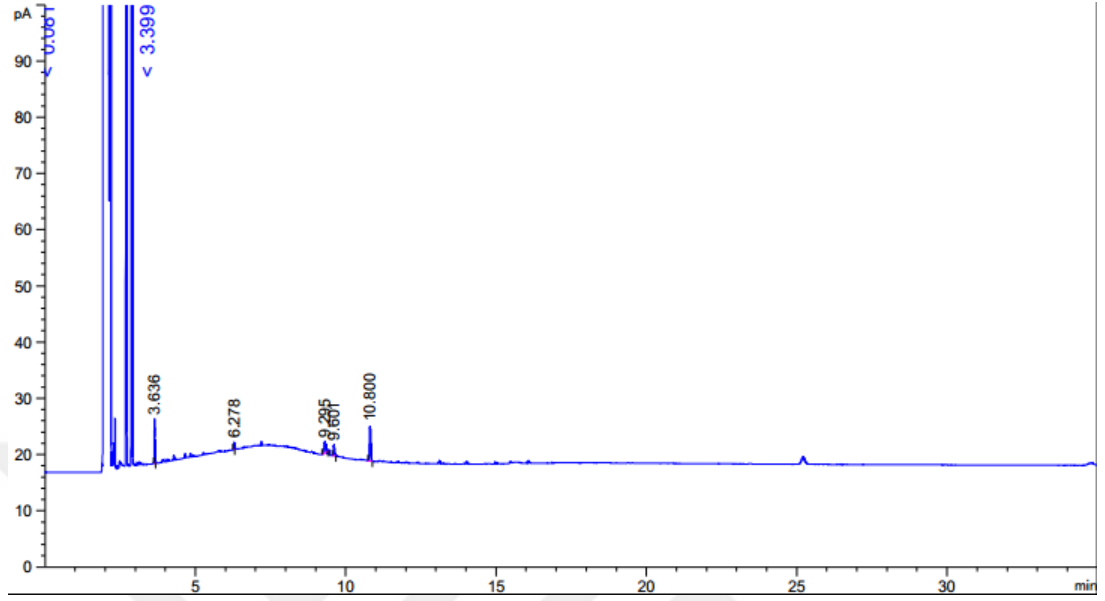


Şekil E.5. N kaynağı olarak %25 konsantrasyona sahip CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı

Tablo E.5. N kaynağı olarak %25 konsantrasyona sahip CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi

#	Time	Area	Height	Width	Area%
1	9.253	7.7	2.5	0.0568	16.179
2	10.796	24.4	7.4	0.0494	51.402
3	12.02	4.4	1.8	0.0388	9.201
4	15.008	11	3.5	0.0496	23.218

%50 konsantrasyona sahip Fe kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı



Şekil E.6. %50 konsantrasyona sahip Fe kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi kromatogramı

Tablo E.6 %50 konsantrasyona sahip Fe kullanılan kültür ortamındaki *Chlorella variabilis* mikroalginin yağ asidi bileşimi

#	Time	Area	Height	Width	Area%
1	3.636	10.4	7.9	0.0203	23.899
2	6.278	1.5	1.2	0.0187	3.376
3	9.295	8.6	2	0.0633	19.884
4	9.601	4.3	1.9	0.0344	9.873
5	10.8	18.7	6.2	0.0481	42.968

## **KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER**

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

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

**Altın N.**, Kutluk T., Kapucu N, Synthesis of Biofuel From Waste Filter Coffee Spents by Environmentally Friendly Processes, *International Advanced Researches & Engineering Congress-2017*, Osmaniye, Turkey, 16-18 November 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 ( 3 rd ITWCCST)* Bakü, Azerbaycan, 10-13 September 2017.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Necla Altın, 1991 yılında Balıkesir’de doğmuştur. İlk, orta ve lise öğrenimini İstanbul’da tamamladı. 2010 yılında Mersin Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu Kimya teknolojisi bölümünü okul üçüncüsü olarak bitirmiştir. 2015 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği bölümünden mezun oldu. Aynı yıl Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır.

