

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

*Dunaliella* **TÜRLERİNİN BOYA GİDERİM VE BİYOMAS ÜRETİM  
KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**Aşkın KAÇKA**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA  
2010**

**Her hakkı saklıdır**

## ÖZET

Doktora Tezi

### *Dunaliella* TÜRLERİNİN BOYA GİDERİM VE BİYOMAS ÜRETİM KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Aşkın KAÇKA

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Bu çalışmada Tuz Gölü (Konya-Türkiye)'nden izole edilmiş olan dört adet *Dunaliella* cinsine ait izolat kullanılmıştır. *Dunaliella* türleri, Johnson sıvı besi yerinde %20 tuz konsantrasyonunda ve farklı pH'larda denenerek renk giderim kapasitelerine bakılmıştır. Azo boyaları olan Remazol Mavi, Reaktif Siyah B ve Reaktif Kırmızı RB kullanılmıştır. Farklı boya konsantrasyonlarının, biyomasın ve inkübasyon süresinin giderime etkisi araştırılmıştır. Tuz gölü suyu ile erlenlerde ve laboratuvar tipi tasarlanan açık havuzlarda biyomas üretimi konusu da araştırılmıştır. Boya giderici ve biyomas arttırma özelliği olan zeolitlerin de etkileri bu kapsamda değerlendirilmiş ve açık havuzda boya giderimine bakılmıştır. Tüm izolatlar en iyi giderimleri genel olarak pH 9'da gerçekleştirmiş ve başlangıç 50 ppm boya konsantrasyonunda en iyi giderim Remazol Mavi için T1, T3 ve T4 izolatları ile %58, Reaktif Siyah B için T1 izolatu ile %60,4 ve göreceli daha düşük giderimin gerçekleştiği Reaktif Kırmızı RB için T2 izolatu ile %34,2 olarak tespit edilmiştir. Boya konsantrasyon denemesinde de en yüksek giderim genelde 50 ppm boyada olmuştur. Biyomasın giderime etkisine bakıldığında 1, 10, 100 ve 200 x 10<sup>6</sup> h/100 ml başlangıç inokulum denemesinde en iyi giderimin 200 x 10<sup>6</sup> h/100 ml besi yeri deneyinde olduğu bulunsa da 100 x 10<sup>6</sup> h/100 ml besiyeri sonuçları da çok yakın bulunmuştur. Zeolitin Johnson besi yerindeki biyomasa etkisine bakıldığında 20 mg/l zeolit konsantrasyonunun kontrol grubuna göre %10 kadar daha fazla biyomas artışı sağladığı bulunmuştur. Oluşan bu biyomas artışı göl suyu ile yapılan denemelerde %57 olarak saptanmıştır. Açık havuzda biyomas arttırma çalışmasında T2 izolatu kullanılmış ve ölçek büyütme çalışması 4 L ve 40 L'lik açık tipi karıştırmalı havuzlarda denemeler yapılmış olup toplam hacimdeki kuru ağırlığa baktığımızda küçük havuzdan 5,56 g kuru ağırlık elde ederken, büyük havuzdan 19,2 g kuru ağırlık elde edilmiştir. 4 L'lik havuzda, başlangıç boya konsantrasyonu 50 ppm olan göl suyu kullanılarak yapılan denemede boyanın %88 oranında giderildiği ve benzer şartlarda erlenle yapılan Johnson sıvı besi yerindeki boya gideriminin %50 olduğu saptanmıştır.

**Eylül 2010, 100 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** *Dunaliella*, biyomas üretimi, azo boyaları, açık havuz, zeolit, tekstil atıkları, boya giderimi, mikroalg, endüstriyel mikroalgler, Tuz Gölü

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### DETERMINATION OF DYE REMOVAL AND BIOMASS PRODUCTION CAPACITY OF *Dunaliella* spp.

Aşkın KAÇKA

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Prof.Dr. Gönül DÖNMEZ

Four different *Dunaliella* spp. who were isolated from Tuz Lake (Konya-Turkey) were studied. *Dunaliella* spp. were inoculated in Johnson growth medium including 20 % salt concentration and this was tested in different pH values for azo dye removal. In this study we use the Remazol Blue, Reactive Black B and Remazol Red RB azo dyes and we tested the dye concentration, biomass and incubation time effect on dye removal. We use also the Tuz lake water for producing the biomass in erlenmayer flasks and laboratory type prepared open ponds. We use zeolites as a effect on dye removal and as a biomass increasing agent and we use zeolites in order to investigate the dye removal on laboratory type open ponds. Generally all strains have best dye removal capacity on pH 9. In 50 ppm initial dye concentration the best dye removal for Remazol Blue is 58 % which was realised by T1, T3 and T4 strains, for Reactive Black B is 60,4 % which was realised by T1 strain and for Reactive Red RB is 34,2 % which was realised by T2 strain. On dye concentration experiment the best removal was observed in 50 ppm. The effect of the biomass concentration on dye removal was tested for different initial inoculum quantities as a 1, 10, 100 and 200 x 10<sup>6</sup> cell/100 ml growth medium. The best dye removal was observed in “200 x 10<sup>6</sup> cell/100 ml growth medium” initial inoculum biomass concentration and “100 x 10<sup>6</sup> cell/100 ml growth medium” initial inoculum concentration capacity seems to be very near to “200 x 10<sup>6</sup> cell/100 ml growth medium” capacity. The effect of zeolites on biomass production experiment we observed the 20 mg/l zeolit have effect to increase the biomass for 10% compared to control group in erlenmayer flasks with Johnson growth medium and have effect to increase biomass for 57 % in open ponds with lake water. In open ponds we use to type as 4 L and 40 L capacity laboratory scale home made open ponds with paddle wheels to investigate the biomass production in terms of scale-up production. For this purpose we use strain T2. The productivity were reached in total volume for small pond as 5,56 g of dry weight and for big pond as 19,2 g of dry weight. In 4 L open pond we use the lake water in order to test the dye removal capacity in 50 ppm initial dye concentration and found 88 % of the dye was succesfully removed from open pond. In similar conditions we tested with Johnson growth medium in erlenmayer flasks and in this case dye removal was observed as 50 %.

**September 2010, 100 pages**

**Key Words :** *Dunaliella*, biomass production, azo dyes, open pond, zeolit, textile effluents, dye removal, microalgae, industrial microalgae, Tuz Lake.

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarımı yönlendiren, araőtırmalarımın her aőamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar beőeri iliőkilerde de engin fikirleriyle yetiőme ve geliőmeme katkıda bulunan danışman hocam sayın Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü)'e,

Çalıőmalarım kapsamında birlikte çalıőtıđım Biyoteknoloji laboratuvarındaki tüm arkadaşlarıma,

Çalıőmalarım süresince birçok fedakarlıklar göstererek beni destekleyen eőime ve bana moral kaynağı olan oğluma,

En derin duygularla teşekkür ederim.

Aşkın KAÇKA

Ankara, Eylül 2010

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1.GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 Mikroalglerin Yapıları, Özellikleri, Üretimleri ve Atıkların İyileştirilmesi İçin Kullanımları .....	3
2.1.1 Mikroalglerin yapıları, özellikleri ve sistematığı.....	3
2.1.2 Mikroalglerin fotobiyoreaktörler ve fermentörlerde üretimi.....	4
2.1.3 Mikroalglerin açık havuzlarda üretimi.....	6
2.1.4 Mikroalglerin hasat edilmesi, kurutulması ve ambalajlanma biçimleri.....	7
2.1.5 Mikroalg stok kültürlerinin sürdürülebilir olması için kontaminasyondan korunması ve dondurularak saklanması.....	9
2.1.6 Mikroalglerin atık gideriminde ve tekstil endüstrisindeki azo boyalarının gideriminde kullanılması.....	10
2.2 <i>Dunaliella</i> Türlerinin Biyomas Üretimi .....	15
2.2.1 <i>Dunaliella</i> türlerinin gelişmesi için gerekli olan ham maddeler.....	15
2.2.2 <i>Dunaliella</i> türlerinin üretimine çevresel faktörlerin etkisi.....	20
2.2.3 <i>Dunaliella</i> türlerinin üretimi için kullanılan kültür ortamları.....	22
2.2.4 <i>Dunaliella</i> türlerinin geniş çaplı üretim biçimleri.....	25
2.2.5 <i>Dunaliella</i> türlerinin ve diğer mikroalglerin biyomas artışına zeolitlerin etkisi.....	26
2.3 <i>Dunaliella</i> Türlerinin Endüstride Uygulama Alanları.....	27
2.3.1 <i>Dunaliella</i> türlerinin insan ve hayvan beslenmesindeki önemi.....	27
2.3.2 <i>Dunaliella</i> türlerinin su kültürü için önemi.....	29
2.3.3 <i>Dunaliella</i> türlerinden üretilen biyoaktif kimyasallar ve diğer yararlı maddeler.....	30
2.3.4 <i>Dunaliella</i> türlerinin kozmetik ve terapötik amacıyla kullanılması.....	32

2.3.5 Maliyet analizi.....	33
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>36</b>
3.1 Boya Giderimi.....	36
3.1.1 İzolasyon ve identifikasyon.....	36
3.1.2 Boyaların seçimi.....	36
3.1.3 pH'ın, boya konsantrasyonunun, biyomasın ve inkübasyon süresinin boya giderimine etkisi.....	36
3.1.4 Zeolitin boya giderimine etkisi.....	37
3.2 Biyomas Eldesi.....	37
3.2.1 Johnson besi yeri ile yapılan denemelerde zeolitin biyomasa etkisi.....	37
3.2.2 Göl suyu ile yapılan biyomas eldesi çalışmaları.....	37
3.2.3 Laboratuvar Tipi Açık Havuz Sistemi Tasarımı, Biyomas Üretimi ve Boya Giderimi.....	38
3.3 Analiz yöntemleri.....	39
3.3.1 Boyaların analizi.....	39
3.3.2 Optik yoğunluğun belirlenmesi.....	40
3.3.3 Hücre sayısının belirlenmesi.....	40
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>41</b>
4.1 Boya Giderim Çalışmaları .....	44
4.1.1 Remazol Mavi giderimine pH'ın etkisi.....	44
4.1.2 Reaktif Siyah B giderimine pH'ın etkisi.....	45
4.1.3 Reaktif Kırmızı RB giderimine pH'ın etkisi.....	46
4.2 Farklı Remazol Mavi Konsantrasyonlarında <i>Dunaliella spp.</i> 'nin giderimi.....	53
4.3 Farklı Başlangıç Hücre Konsantrasyonlarının (Biyomasın) Remazol Mavi Giderimine Etkisi.....	58
4.4 Başlangıç Yüksek Biyomashlı Ortamda T1 ve T4 İzolatının Taze Besi Yerindeki Remazol Mavi Giderimi.....	62
4.5 Zeolitin Johnson Besi Yerinde Biyomasa Etkisi.....	64
4.6 Remazol Blue'nun İlk 120 Saatlik Periyodta <i>Dunaliella spp.</i> ile Giderimi.....	65
4.7 Zeolit İçeren Johnson Besi Yerinde <i>Dunaliella sp.</i> 'nin Remazol Mavi Giderimine Etkisi.....	67
4.8 Tuz Gölü'nden Alınan Su Örneği İle Biyomas Çalışmaları.....	68

<b>4.9 Zeolitin Göl Suyundaki Biyomas Artışına Etkisi.....</b>	<b>71</b>
<b>4.10 Küçük (4 L) ve Büyük (40 L) Açık Havuz Denemeleri.....</b>	<b>72</b>
<b>4.11 Zeolitli Küçük (4 L) Açık Havuz Denemesi ve Erlen ile Zeolitli Ortamların Karşılaştırılması.....</b>	<b>76</b>
<b>4.12 Zeolitli Küçük (4 L) Açık Havuz ile Remazol Blue Giderimi Çalışması ve Erlendeki Verilerle Karşılaştırılması.....</b>	<b>78</b>
<b>5.TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>82</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>89</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>97</b>
<b>EK 1 Remazol Mavi, Reaktif Siyah B ve Remazol Kırmızı RB'nin standart eğrileri.....</b>	<b>97</b>
<b>EK 2 Hücre Sayısı Standart Eğrisi.....</b>	<b>99</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>100</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 <i>Dunaliella</i> suşlarının farklı pH'lardaki hücre sayıları (Lüx:1000, sürekli flöresan ışık, T: 20-22°C, NaCl: %15).....	42
Şekil 4.2 Farklı NaCl konsantrasyonlarının <i>Dunaliella</i> sp. T-2 izolatının gelişimine etkisi (pH 6, Lüx:1000, sürekli flöresan ışık, T: 20-22 °C) .....	42
Şekil 4.3 <i>Dunaliella</i> sp. T-4 izolatının farklı pH'lardaki gelişimi (Lüx:1000, sürekli flöresan ışık, T: 20-22°C, NaCl: %15). .....	43
Şekil 4.4 Remazol Mavi'nin optimum pH'da, izolatların 40. gündeki maksimum gideriminin karşılaştırılması.....	44
Şekil 4.5 Reaktif Siyah B'nin optimum pH'da, izolatların 42. gündeki maksimum gideriminin karşılaştırılması.....	45
Şekil 4.6 Reaktif Kırmızı RB'nin optimum pH'da, izolatların 28. gündeki maksimum gideriminin karşılaştırılması.....	46
Şekil 4.7 T1 izolatu ile yapılan Remazol Mavi giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	47
Şekil 4.8 T2 izolatu ile yapılan Remazol Mavi giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	47
Şekil 4.9 T3 izolatu ile yapılan Remazol Mavi giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	48
Şekil 4.10 T4 izolatu ile yapılan Remazol Mavi giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	48
Şekil 4.11 T1 izolatu ile yapılan Reaktif Siyah B giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	49
Şekil 4.12 T2 izolatu ile yapılan Reaktif Siyah B giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	49
Şekil 4.13 T3 izolatu ile yapılan Reaktif Siyah B giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	50
Şekil 4.14 T4 izolatu ile yapılan Reaktif Siyah B giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	50
Şekil 4.15 T1 izolatu ile yapılan Reaktif Kırmızı RB giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	51



Şekil 4.16 T2 izolatu ile yapılan Reaktif Kırmızı RB giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	51
Şekil 4.17 T3 izolatu ile yapılan Reaktif Kırmızı RB giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	52
Şekil 4.18 T4 izolatu ile yapılan Reaktif Kırmızı RB giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	52
Şekil 4.19 T1 izolatu'nun pH 9 ve %15 NaCl'de farklı Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklimdolabında).....	54
Şekil 4.20 T2 izolatu'nun pH 9 ve %15 NaCl'de farklı Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	55
Şekil 4.21 T3 izolatu'nun pH 9 ve %15 NaCl'de farklı Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	55
Şekil 4.22 T4 izolatu'nun pH 9 ve %15 NaCl'de farklı Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	56
Şekil 4.23 pH 9 ve %15 NaCl'de 50 ppm Remazol Mavi konsantrasyonlarında farklı izolatların boya giderimi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	56
Şekil 4.24 pH 9 ve %15 NaCl'de 75 ppm Remazol Mavi konsantrasyonlarında farklı izolatların boya giderimi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	57
Şekil 4.25 pH 9 ve %15 NaCl'de 100 ppm Remazol Mavi konsantrasyonlarında farklı suşların boya giderimi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	57
Şekil 4.26 İnkübasyon periyodunun 21. gününde pH 9 ve %15 NaCl'de farklı Remazol Mavi konsantrasyonlarında farklı izolatların boya giderimi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	58

Şekil 4.27 T1 izolatının pH 9 ve %15 NaCl'de farklı başlangıç biyomas miktarlarının 50 ppm Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	60
Şekil 4.28 T4 izolatının pH 9 ve %15 NaCl'de farklı başlangıç biyomas miktarlarının 50 ppm Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	60
Şekil 4.29 İnkübasyonun 21. gününde T1 izolatında pH 9 ve %15 NaCl'de başlangıç biyomasa göre Remazol Mavi giderimleri (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	61
Şekil 4.30 İnkübasyonun 21. gününde T4 suşunda pH 9 ve %15 NaCl'de başlangıç biyomasa göre Remazol Mavi giderimleri (T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	61
Şekil 4.31 21 günlük inkübasyonda yüksek biyomaslı ortamda T1 ve T4 izolatının taze besi yerindeki Remazol Mavi giderim eğrileri (pH 9; %15 NaCl; T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	63
Şekil 4.32 21 günlük inkübasyonda yüksek biyomaslı ortamda T1 ve T4 izolatının taze besi yerindeki Remazol Mavi giderim değerleri (pH 9; %15 NaCl; T: $30 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında).....	63
Şekil 4.33 T4 izolatının pH 9 ve %15 NaCl'de farklı zeolit boyut ve konsantrasyonlarında biyomas artışı (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	65
Şekil 4.34 T1 ve T4 izolatının pH 9 ve %15 NaCl'de ilk 120 saatlik sürede zeolitli ve zeolitsiz ortamda boya giderimi (T: $30 \pm 2$ °C; iklim dolabında;1000 lüks ışık şiddeti).....	66
Şekil 4.35 T4 zolatının pH 9 ve %15 NaCl'de farklı zeolit konsantrasyonlarında ortamdaki Remazol Mavi giderimine etkisi (T: $23 \pm 2$ °C; oda sıcaklığında;1000 lüks ışık şiddeti).....	67
Şekil 4.36 T1 izolatının göl suyunda, pH 9'da, farklı ortamlarda non-steril olarak gelişimi (T: $30 \pm 2$ °C; iklim dolabında;1000 lüks ışık şiddeti).....	69
Şekil 4.37 T2 izolatının göl suyunda, pH 9'da, farklı ortamlarda non-steril olarak gelişimi (T: $30 \pm 2$ °C; iklim dolabında;1000 lüks ışık şiddeti).....	69

Şekil 4.38 T4 izolatının göl suyunda, pH 9’da, farklı ortamlarda non-steril olarak gelişimi (T: $30 \pm 2$ °C; iklim dolabında;1000 lüks ışık şiddeti).....	70
Şekil 4.39 T1, T2 ve T4 izolatının 21.günde göl suyunda, pH 9’da, farklı ortamlarda non-steril olarak gelişimi sonucu oluşan biyomas miktarları (T: $30 \pm 2$ °C; iklim dolabında;1000 lüks ışık şiddeti).....	70
Şekil 4.40 T2 izolatının 21 günlük inkübasyonda göl suyunda, pH 9’da, gelişimi sonucu oluşan biyomas eğrileri (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	71
Şekil 4.41 T2 izolatının 21. günde, göl suyunda, pH 9’da, gelişimi sonucu oluşan biyomas miktarları (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	72
Şekil 4.42 T2 izolatının 4L’lik açık havuzda, göl suyunda pH 9’da gelişim eğrisi (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	73
Şekil 4.43 T2 izolatının 40L’lik açık havuzda göl suyunda pH 9’da gelişim eğrisi (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	73
Şekil 4.44 T2 izolatının 4 ve 40L’lik açık havuzda göl suyunda pH 9’da gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	74
Şekil 4.45 İkinci denemede T2 izolatının 4 L ’lik açık havuzda göl suyunda pH 9’da gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	75
Şekil 4.46 İkinci denemede T2 izolatının 40L ’lik açık havuzda göl suyunda pH 9’da gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	75
Şekil 4.47 İkinci denemede T2 izolatının 4 ve 40L’lik açık havuzda göl suyunda pH 9’da gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	76
Şekil 4.48 T2 izolatının 4L ’lik açık havuzda göl suyunda pH 9’da 20 mg/L zeolitli ortamda gelişim eğrileri (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	77
Şekil 4.49 T2 izolatının zeolitli ve zeolitsiz ortamda 4L ’lik açık havuzda göl suyunda pH 9’da gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	77

Şekil 4.50	T2 izolatının Zeolitli Johnson besiyerindeki Erlen, zeolitli ve zeolitsiz 4L 'lik açık havuzdaki gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti,göl suyunda pH 9'da ).....	78
Şekil 4.51	T2 izolatının 20 mg/l zeolitli göl suyunda 4L 'lik açık havuzda pH 9'da boya tüketim eğrisi (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	79
Şekil 4.52	T2 izolatının 21. gününde Zeolitli Erlen ve Zeolitli Küçük havuzdaki boya giderim yüzdeleri (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	80
Şekil 4.53	T2 izolatının 5. gününde Zeolitli Erlen ve Zeolitli Küçük havuzdaki boya giderim yüzdeleri (T: $23 \pm 2$ °C; 1000 lüks ışık şiddeti).....	81

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge: 2.1 <i>Dunaliella</i> cinsinin sınıflandırılmasında farklı alternatifler (Ben-Amotz vd. 2009).....	4
Çizelge: 2.2 Fermentör ile fotobiyoreaktörlerin karşılaştırılması (Andersen A.R. 2005).....	5
Çizelge 2.3 Fermentör ile fotobiyoreaktörün enerji bakımından karşılaştırılması (Andersen A.R. 2005).....	6
Çizelge: 2.4 Endüstriyel olarak üretilen bazı mikroalgler için temel üretim koşulları (Richmond A. 2004).....	7
Çizelge: 2.5 Modifiye Johnson Kültür Ortamı.....	23
Çizelge: 2.6 f/2 deniz suyu kültür ortamı.....	23
Çizelge: 2.7 ASW (sentetik deniz suyu) kültür ortamı.....	24
Çizelge 2.8 Bazı insan gıdası ve farklı alglerin % kuru ağırlık olarak besin bileşimi değerleri (Richmon A. 2004).....	28
Çizelge 2.9 DSÖ/FAO referansındaki konvansiyonel protein kaynaklarına göre bazı alglerin amino asit profilleri [(g/100 g protein olarak verilmiştir), (Richmon A. 2004)].....	28
Çizelge 2.10 <i>Dunaliella</i> türlerindeki produktivite: %3'lük fotosentez verimliliğine göre ortalama değerler (Ben-Amotz A. vd. 2009).....	31
Çizelge 4.1 İnkübasyon periyodu sonunda farklı boya konsantrasyonlarında oluşan Remazol Mavi giderimi.....	53

## 1. GİRİŞ

Gezegelimizde, son yüz yıldır yaşanan sanayi devriminde kullanılan fosil yakıtlarına bağlı olarak oluşan CO<sub>2</sub> emisyonu ve sıcaklık artışı iklim değişikliklerine sebep olmuştur. Görünen o ki yaşadığımız yüzyılın sonuna kadar da gezegenimizin sucul ve karasal ortamında sıcaklık artmaya devam edecektir. Bu durumda da insanlarda başta kanser olmak üzere enfeksiyon ve alerjiye bağlı hastalıkların daha da artacağı tahmin edilmektedir. CO<sub>2</sub> dengesinin en önemli unsurlarından biri deniz ve okyanuslardaki plankton popülasyonlarıdır. Nüfusun hızla çoğalması, gelişmekte olan ülkelerin gelişmiş olan ülkelerle arasındaki farkı kapatma çabaları, gıda ve enerji talebinde patlama oluşturmuştur. Bu durumun da mevcut ekolojik dengeyi iyice tehdit eder duruma gelmesi, insanlık ile tüm canlılar için yaşanabilir bir ortam oluşturmak temel hedefimiz gibi gözükmektedir. İnsanlığın sahip olduğu göz kamaştırıcı teknolojik birikim ile teknolojik geliştirmemizdeki hızı dikkate aldığımızda bu yüzyılın sonuna kadar evrendeki dünya benzeri yaşanabilir gezegenlerde yeni yaşam alanları oluşturup gezegenimizin ikinci plana itilmesi çok zor gibi gözükmektedir. Dolayısıyla dünyamızdaki ortak hedefimizi gerçekleştirmek için millet, ırk ve hükümetler üstü bir oluşuma ve yapılanmaya daha doğrusu yeni bir yaşam tarzına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yeni yaşam tarzı da doğayla iç içe olup, dengelerin korunduğu, insanla birlikte tüm canlı ve cansız ortama saygı ile yaklaşıldığı, yenilenebilir ve alternatif enerji kaynaklarının kullanımı, ekolojik tarımın tüm yeryüzüne yayıldığı, tüm doğal kaynakların dengeli bir şekilde kullanıldığı ve bunları yapabilmek için de en önemlisi bütün devletlerdeki eğitim doktrininin bu hedefler doğrultusunda yeniden planlanıp uygulandığı bir ortama ihtiyaç duyulmaktadır.

Yenilenebilir enerji kaynaklarının günümüzde birçok uygulama yöntemi bulunmaktadır. Bunların içerisinde en önemlilerden biri de mikroalglerin geniş çaplı üretimi ile elde edilen biyomastır. Biyomasın ucuz ve çok miktarda elde edilmesi hem CO<sub>2</sub> emisyonunun azaltılmasına hem de birçok uygulamada kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Uygulamaların başında enerji üretimi, insan ve hayvan beslenmesi, sıvı atıkların doğaya salıverilmeden önce iyileştirilmesi gelmektedir. Günümüzde açık havuzlarda üretilen en popüler algler *Chlorella*, *Spirulina*, *Dunaliella*, *Haematococcus* ve *Porphyridium*'dur. Endüstriyel olarak üretilen *Spirulina* ve *Chlorella*'dan sonra

toplam dünya mikroalg üretiminin ancak %10'unu *Dunaliella* oluşturmaktadır. Bu veri de son yirmi otuz yıldır gerçek anlamda endüstriyel olarak üretime başlanan *Dunaliella* için düşük bir oranı ifade etmektedir. Dolayısıyla gelecek yıllarda *Dunaliella*'nın geniş çaplı üretimi hem işletme bazında hem de yüzde bazında artması kaçınılmazdır. Ülkemizde ise bırakın *Dunaliella* üretimini yapan bir tesis bulmayı, üniversitelerde araştırma olarak bile çok az çalışma yapıldığı, yapılan literatür incelemelerinde tespit edilmiştir. Halbuki ülkemizin zengin göl ve deniz sularını elverişli iklim şartları ile birleştirdiğimizde endüstriyel olarak *Dunaliella* üretiminin teknik olarak yapılamaması için bir sebep bulunmamaktadır.

Yapılan tezin en önemli amacı yerel *Dunaliella* türleri ile laboratuvar tipi pilot aşamada gerçek göl suları kullanılarak *Dunaliella* türlerinden biyomas elde etmektir. Elde edilen biyomasın birçok uygulama alanı olduğu bilinmekte ve onlardan bir tanesi olan ve yine literatürde neredeyse hiç rastlanmayan *Dunaliella* türleri ile tekstil boya atıklarının iyileştirilmesi ve bu bağlamda *Dunaliella* türlerinin boya atıklarının iyileştirilme kapasiteleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Bu amaç doğrultusunda hem Johnson besi yeri kullanılarak steril ortamda biyomas eldesi ile boyaların giderimine bakılmış, hem de laboratuvar tipi üretilen iki farklı açık havuz sisteminde gerçek göl suları kullanılarak steril olmayan doğal ortamda *Dunaliella*'nın geniş çaplı üretimi ve boya giderimleri çalışılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Mikroalglerin Yapıları, Özellikleri, Üretimleri ve Atıkların İyileştirilmesi İçin Kullanımları

#### 2.1.1 Mikroalglerin yapıları, özellikleri ve sistematigi

Fikoloji ile uğraşan bilim adamları klorofil a içeren ve yapısı kök, gövde ve yapraklara farklılaşmayan tallus yapılı organizmaları alg olarak adlandırmaktadırlar. Bu gruba prokaryot olmalarına rağmen siyanobakteriler de dahildir. Beslenme biçimlerine göre mikroalgler ototrof, heterotrof ve miksotrof olarak üçe ayrılmaktadır. Mikroalgler dünyanın her yerinde bulunmaktadır. Ancak genelde sucul ortamlarda bulunmasına karşın birçok türü de toprak yüzeyinde yaşam alanı bulmaktadır. Hücre organizasyonlarına baktığımızda ise tek hücreli kamçılı veya kamçısız, kamçılı koloni veya kamçısız koloni, filamentli gibi morfolojik yapıları vardır. DNA'nın hücre içerisinde paketlenmesine göre prokaryot veya tek nükleüslü yada çok nükleüslü olmak üzere ökaryotik olabilirler. Hücre duvarı birçoğunda olmasına rağmen hücre duvarı içermeyenler (*Dunaliella* türleri) de mevcuttur. Süreç içerisinde birçok grup tarafında değişik şekillerde sistematize edilmesine karşın (Oren 2005, Garcia vd. 2007, Ben-Amotz vd. 2009), Richmond (2004)'a göre Lee'nin 1989'daki çalışmasında yapılan sistematik tanımlama geniş çevrelerce kabul edilmektedir.

Genel olarak ana bölüm ve sınıflar aşağıdaki gibidir:

#### Prokaryotlar

Cyanobacteria

Cyanophyta

Prochlorophyta

#### Ökaryotlar

Rhodophyta

Chlorophyta

Dinophyta

Chrysophyta

Prymnesiophyta



Bacillariophyta  
Xanthophyta  
Eustigmatophyta  
Phophidophyta  
Phaeophyta

Bunların arasında *Dunaliella* cinsinin bulunduğu taksonomik yapıya baktığımızda farklı merkezler ve kişiler tarafından takım düzeyinde farklı olarak isimlendirdiği görülmektedir. Aşağıdaki tablo (Ben-Amotz vd. 2009) üç farklı alternatifi içermektedir.

Çizelge 2.1 *Dunaliella* cinsinin sınıflandırılmasında farklı alternatifler (Ben-Amotz vd. 2009)

	1. Alternatif	2. Alternatif	3. Alternatif
Sınıf:	Chlorophyceae	“	“
Takım:	Chlamydomonales	Dunaliellales	Volvocales
Aile:	Dunaliellaceae	“	“
Cins:	Dunaliella	“	“

Son zamanlarda *Dunaliella*'nın taksonomik çalışmaları moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak yapıldığı rapor edilmiştir (Olmos J. vd. 2000, Raja R. vd. 2007, Rasoul-Amini S. vd. 2009).

### 2.1.2 Mikroalglerin fotobiyoreaktörler ve fermentörlerde üretimi

Kapalı üretim modeli olarak da tanımlanabilen fotobiyoreaktör ve fermentörlerde üretim kontrollü bir şekilde gerçekleştirilmektedir. Fotobiyoreaktörler enerjisini elektrik ile oluşturulan ışıktan alırken, fermentörlerde üretilen algler organik karbon kaynağından almaktadırlar. Alglerin bazıları mikсотrof olmasına karşın bazıları heterotrof özellik gösterir. Bazı türleri de (*Dunaliella* sp. gibi) sadece fototrofik olarak çoğalmaktadırlar. Birçok nokta önemli olmasına karşın heterotrofik üretim gerçekleşen fermentörlerdeki mikroalg üretimi fotobiyoreaktörlerdeki üretimden daha ucuzdur. Günümüzde moleküler biyolojideki teknikler kullanılarak obligat fototrof olan algler heterotrofa dönüştürülebilirler. Fotobiyoreaktörler, tüp ve silindirik sitemlerden konik yapılarla,

geniş çaplı dar cam plakalara kadar birçok çeşitlilikte tasarlanmışlardır. Tüm bu sistemler tasarlanırken ışığın nasıl sağlanacağı, alglerin nasıl karıştırılacağı, reaktörün hangi malzemeden yapılacağı, CO<sub>2</sub>'nin nasıl verilir O<sub>2</sub>'nin nasıl dışarı alınacağı ve pH ile sıcaklığın nasıl kontrol edileceği gibi soruların cevaplanmış olması gerekmektedir. Fotobiyoreaktörlerde yapı malzemesi olarak en çok cam ve akrilik kullanılmaktadır (Borowitzka 1999, Andersen 2005, Barsanti vd. 2006, Eriksen 2008).

Fotobiyoreaktörlerin aksine fermentörler 1 litreden 500.000 litre hacim kapasitesine kadar tasarlanabilmektedir. Ayrıca fermentörler sürekli ve kesikli kültür ortamı olarak da tasarlanabilirler. Aşağıdaki çizelgede fermentörler ile fotobiyoreaktörler karşılaştırılmıştır.

Çizelge 2.2 Fermentör ile fotobiyoreaktörlerin karşılaştırılması (Andersen 2005)

Özellik	Fotobiyoreaktör	Fermentör
Enerji kaynağı	Işık	Organik karbon
Hücre yoğunluğu/kuru ağırlık	Düşük	Yüksek
Gelişmeyi sınırlayan faktör	Işık	Oksijen
Hasat işlemi	Kültür daha sulu-daha karmaşık	Kültür daha sulu-daha basit
Tasarım geometrisi	Işık geçirgenliğine bağlı	Enerji kaynağından bağımsız
Parametrelerin kontrolü	Yüksek	Yüksek
Sterilite	Genellikle sanitasyon yapılı	Mutlak sterilizasyon gerekli
Tasarım işlemi	Laboratuvarda tasarlanabilir	Ticari olarak temin edilir
Teknoloji birikimi	Göreceli yeni	100 yıl kadar eski
Yapım maliyeti	Birim hacme göre yüksek	Birim hacme göre düşük
İşletme maliyetleri	Kg biyomas eldesine göre yüksek	Kg biyomas eldesine göre düşük
Alglerin uygulanması	Fotosentetik algler	Heterotrof algler

Örneğin, *Cryptocodinium cohnii* >100.000 litrelik fermentörlerde DHA(docosahexaenoic acid) üretimi için başarıyla kullanılmıştır. Kültür ortamı olarak inorganik tuzlar, glükoz ve maya ekstraktı kullanılmıştır. Biyomastan elde edilen toplam yağ asitlerinin %40'ını DHA oluşturmuştur. Su kültürü canlıları için besin kaynağı olarak kullanılan *Tetraselmis* türleri de fermentörlerde başarıyla üretilmiştir.

Aşağıdaki çizelge fotobiyoreaktör ve fermentörlerde kullanılan enerji ile oluşan biyomas arasındaki karşılaştırma görülmektedir.

Bu karşılaştırmadan da fermentörlerin biyomas üretimi açısından çok ekonomik olduğu, fotobiyoreaktörlerin ise ancak üretilen maddenin değerinin yüksek olması halinde ekonomik olabileceği görülmektedir (Andersen 2005).

Çizelge 2.3 Fermentör ile fotobiyoreaktörün enerji bakımından karşılaştırılması (Andersen 2005)

	<b>Fototrof</b>	<b>Heterotrof</b>
Enerji kaynağı	Işık	Glükoz
Enerji maliyeti	0,07 \$ / KW-saat	0,67 \$ / kg
Kg kuru ağırlık başına tahmini maliyet	11,22 \$	0,81 \$
Kg kuru ağırlık başına güncel fiyat	11,22 \$'dan daha az	2,01 \$
Verimlilik	0,4 g • L <sup>-1</sup> • gün <sup>-1</sup>	5,8 g • L <sup>-1</sup> • gün <sup>-1</sup>

### 2.1.3 Mikroalglerin açık havuzlarda üretimi

Mikroalglerden elde edilecek biyomasın ucuz olması için bunların 10.000 ila 100.000 litrelik hacimdeki açık havuzlarda üretilmesi gerekmektedir. Günümüzde açık havuzlarda üretilen en popüler algler *Chlorella*, *Spirulina*, *Dunaliella*, *Haematococcus* ve *Porphyridium*'dur. Açık havuzlardaki üretimin teknik detayları konusunda çok kısıtlı literatür bulunmasının sebebi bunların ticari sır olarak saklanmalarından kaynaklanmaktadır. Aşağıdaki çizelgede açık havuzlarda üretimi yapılan bazı mikroalglerin gelişmesi için gerekli olan parametreleri göstermektedir.

Çizelge 2.4 Endüstriyel olarak üretilen bazı mikroalgler için temel üretim koşulları (Richmond 2004)

Şartlar	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Dunaliella salina</i>	<i>Haematococcus pluvalis</i>	<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	<i>Spirulina platensis</i>
Doğal yaşam ortamı	Tatlı su	Yüksek tuzlu ortamlar	Tatlı su	Deniz	Alkali yada sodalı göller
Optimum tuzluluk (% [w/v] NaCl)	0	%22 (gelişme) %35 (karotenogenesis)	0	%3	%0-1
Maksimum tuzluluk (% [w/v] NaCl)	~ %1	%35	~ %1	~ %5	< %3
Optimum sıcaklık (°C)	~ 25	30-40	~ 18-22	~ 18-24	30-38
Optimum pH	6.5 – 7.5	~ 9.0	~ 7.0	~ 8.0	~ 9.0 (-10.0)
Genel olarak kullanılan kültür ortamları	Bolds basal	Modifiye Johnson	Bolds basal	Guillard f	Zarrouk

Açık havuzlar tasarlanırken birçok kriter göz önünde bulundurulmasına rağmen en önemlileri arasında havuz yapımı ile bakım/onarım maliyetleri ve alglerin en iyi gelişmesi için ışığın bol olduğu yerlerin seçilmesidir. Hacmi çok büyük, yüzeyi kaplanmamış ve karıştırma işlemi gerçekleştirilmeyen havuzlar Avustralya'da *Dunaliella*'nın üretimi amacıyla kullanılmıştır. Benzer metot birçok alg kültürü için uygun değildir. Bu alan 1 ha ile 200 ha arasında olup derinliği 20-30 cm kadardır. Daire şeklindeki havuzlar Japonya ve Tayvan'da *Chlorella*'nın üretimi için kullanılmıştır. Karıştırma işlemi dairenin merkezine kaideli bir kol ile yapılmaktadır. Bu sistem ile en fazla 10.000 m<sup>2</sup>'lik havuzlar yapılabilir. Günümüzde ise en çok kullanılan havuz tipi uçları yuvarlak, kürek tipi pedaller ile karıştırması yapılan dikdörtgen şeklindeki havuzlardır. *Dunaliella*, *Spirulina* ve *Haematococcus* bu tip havuzlarda geniş çaplı olarak üretilmektedir. Bu gibi havuzların büyüklüğü 1 ha kadar çıkabilmekte ve derinliği de 20-30 cm arasında olmaktadır (Becker 1994, Olaizola 2003, Richmond 2004, Andersen 2005, Becerra-Dorame vd. 2010).

#### 2.1.4 Mikroalglerin hasat edilmesi, kurutulması ve ambalajlanma biçimleri

İster fotobiyoreaktörlerde isterse açık havuzlarda yapılan üretim olsun mikroalglerden elde edilen biyokütlenin hasat edilip uygun metotla kurutulması ve ambalajlanması gerekmektedir. Tüm prosesi dikkate aldığımızda hasat işlemi mikroalglerin üretim

maliyetlerinin büyük bir yüzdesini oluşturmaktadır. Genelleştirilmiş bir hasat metodu yoktur. Her işletme kullandığı türe göre uygun bir metot geliştirerek şartları optimize etmektedir. Bu metotlara baktığımızda bazı ajanlar kullanılarak yapılan çöktürme işlemi ile mekaniksel olarak yapılan endüstriyel tipi santrifüjleme işlemidir. Bunların dışında da filtrasyon işlemi de mekaniksel işlem adı altında kullanılmaktadır. Çöktürme işleminde, pH ayarlaması ile yapılan çöktürme, katyonik polimerler ile yapılan çöktürme ve son zamanlarda biyoçöktürme yöntemleri de kullanılmaya başlanmıştır. Santrifügasyon kullanılarak yapılan çöktürme işleminin ise en önemli kısmını elektrik enerjisi ve yatırım maliyeti oluşturmaktadır. Genel olarak 1.000 g'den başlayarak 16.000 g'ye kadar farklı tipte santrifüjler kullanılmaktadır. Santrifüjün hızı istenen son ürünün yoğunluğuna göre ayarlanmaktadır. Bir diğer yöntem de filtrasyon olup mikro ve ultra filtrasyon diye iki tiptedir. Genelde > 20.000 litrelik hacimler için santrifügasyon, < 2.000 litrelik hacimler içinse filtrasyon işlemi kullanılması daha uygun olduğu görülmüştür (Becker 1994, Fernandes vd. 1997, Horiuchi vd. 2003, Richmond 2004, Andersen 2005).

Elde edilen biyomasın hızlıca işleme tabi tutulup kurutulması (sıcak bölgelerde birkaç saat içerisinde) gerekmektedir. Kurutma işleminde genelde püskürterek kurutma, ısıtarak kurutma, dondurarak kurutma (liyofilizasyon) ve güneşte kurutma gibi yöntemler kullanılmaktadır. İlk üç işlem *Dunaliella* türlerinin kurutulması için kullanılmış ve her üçü ile de  $\beta$ -karoten stabilitesi ve ürün bileşimi açısından benzer başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Borowitzka vd. 1988, Richmond 2004, Andersen 2005).

Düşük azot ve yüksek ışık şiddeti gibi stresli ortamlarda *Dunaliella* kuru ağırlığının %12'den fazlasını  $\beta$ -karoten oluşturmaktadır. *Dunaliella* türlerinden elde edilen  $\beta$ -karoten günümüzde piyasaya 3 çeşit olarak sunulmaktadır:

1-  $\beta$ -karoten ekstraktı

2-İnsan kullanımı için *Dunaliella* tozu

3-Hayvan kullanımı için uygun şartlarda kurutulmuş *Dunaliella* hücreleri

Ekstrakte edilmiş *Dunaliella*  $\beta$ -karoteni bitkisel yağlar içerisinde çözdürülerek (%1-20 arasındaki konsantrasyonlarda takdim edilir) birçok farklı gıdanın boyanması amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca yumuşak jel kapsülü olarak da kişisel tüketim için hazırlanmaktadır. Bu kapsüllerdeki  $\beta$ -karoten miktarı 5 mg kadardır. Düşük tuzlu olarak kurutulmuş ve toz haline getirilmiş *Dunaliella*, tablet yada kapsül haline getirilerek kullanılır. Her tablet 3-20 mg arasında tüm trans ve 9-cis  $\beta$ -karoten içermektedir. Tabletler şeker ile kaplamakta ve blister ambalajlara konarak oksidasyon oluşumu engellenmektedir. Doğrudan işleme tabi tutulmadan kurutulmuş *Dunaliella* ise ağırlığının %2'si kadar  $\beta$ -karoten içermektedir. Bu ürün ise hayvanların besinlerine katılarak kullanılmaktadır. A vitamini öncüsü olarak sığırcılıkta, tavukçulukta, balıkçılıkta, karideslerin beslenmesinde vs. yerlerde kullanılmaktadır. Doğal  $\beta$ -karotenin fiyatı özelliklerine bağlı olarak 300-3.000 \$ arasında değişmektedir (Richmond 2004).

#### **2.1.5 Mikroalg stok kültürlerinin sürdürülebilir olması için kontaminasyondan korunması ve dondurularak saklanması**

Dondurarak saklama tanımı, canlıların/hücrelerin çok düşük sıcaklıklarda (-130 °C'den daha düşük sıcaklıklarda) korunması ve çözdürüldüğünde tekrardan canlılık kazanması anlamına gelmektedir. Dondurma işlemi sırasında hücrelerde oluşan zarar bilinmekle birlikte dondurma mekanizması daha tam olarak anlaşılammıştır. Alg kültürlerinin sürdürülebilir olması çok önemlidir. Bu işlem hem zaman alıcı, hem de maliyetlidir. Çözdürme işlemi için %60'dan fazla canlılık gösteren alg türü için kullanılan dondurma metodu uygun yöntem olarak sayılmaktadır (Day vd. 1999, Tzovenis vd. 2004, Andersen 2005).

Yapılan çalışmada streptomisin ve ampisilinin ökaryotik alg kültürlerinden prokaryotları uzaklaştırmak için yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Araştırmacılar 25 mg  $\cdot$  l<sup>-1</sup> streptomisin ve 50 mg  $\cdot$  l<sup>-1</sup> ampisilinin *Dunaliella* sp.'deki gelişme ve fotosentezine olan etkilerini araştırdıklarında olumsuz bir yapı ile karşılaşmadıklarını görmüşlerdir. Dolayısıyla *Dunaliella* sp. kültürlerinin kontaminasyondan korunması ve arındırılması için bu miktarlar ve antibiyotiklerin kullanılmasının uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Kviderova ve Henley 2005).

Bir diğerk çalışmada *Chlorella vulgaris*, *Isochrysis galbana* ve *Dunaliella salina*'nın dondurma öncesi ve dondurma işlemleri, yavaş soğutma ve hızlı dondurma olacak şekilde iki farklı dondurarak saklama metodu araştırılmıştır. Dondurma sırasında hücrelerde oluşan stresi azaltmak amacıyla dimetil sülfoksid etken madde olarak kullanılmıştır. Yavaş soğutma amacıyla %5 içeren dimetil sülfoksidli ve etkensiz ortamlar programlı dondurucuya 1,5 °C • dak<sup>-1</sup> olacak şekilde -140 °C'ye kadar soğutulmuş ve ardından sıvı azot tankına alınmıştır. Hızlı dondurma amacıyla da etken madde oranları %10 ve %15 olarak kullanılmış ve hemen sıvı azot tankına alınmışlardır. Çalışma sonucunda yavaş soğutma işleminde her üç algde de kontrol grubuna göre canlılık oranları yüksek bulunmuştur (*Dunaliella salina*'da > %70). Etkensiz ortamda ise *Dunaliella salina*'da %52'lik bir canlılık gözlemlenmiştir. Hızlı dondurma işleminde de *Dunaliella sp.*'nin kontrole göre %70 canlılık gösterdiği görülmüştür (Guermazi vd. 2010).

#### **2.1.6 Mikroalglerin atık gideriminde ve tekstil endüstrisindeki azo boyalarının gideriminde kullanılması**

Atık sulardan bahsettiğimizde iki çeşit atık mevcuttur. Bunlar şehir atık suları ve endüstride oluşan atık sulardır. Endüstride oluşan sıvı atıkları genelde şeker rafinerileri, içki üretim fabrikaları, dondurulmuş gıda üretim işletmeleri, yağ üreticileri, ilaç fabrikaları, süt ve süt ürünleri üreten işletmeler, tekstil üretim fabrikaları, boya üreticileri, yakıt rafinerileri, petrokimya fabrikaları, metal üretme ve işleme gibi yerler atık olarak sıvı atık üretmektedirler. Bu gibi atıkların doğaya arıtılmadan salıverilmesi canlı hayatı geri dönüşsüz olarak yok edebilir. Besin zinciri ile özellikle insan dokularında biriken bu atıkların ajanları mutajenik, teratojenik ve karsinojenik etki gösterebilmektedirler. Sürekli olarak karıştırma yapılan yüksek yoğunluklu havuzlarda sıvı atık arıtımı mikroalgler kullanılarak başarı ile gerçekleştirilmiştir. Alg sistemi kullanılarak 15 cm • s<sup>-1</sup> karıştırma hızında ve 1,55 oksijenleme faktörü ile atıkların BOD miktarı %90 oranında arındırıldığı görülmüştür (Richmond 2004, Borowitzka ve Borowitzka 1988, Lefebvre ve Moletta 2006, Munoz ve Guieysse 2006, Zhuang vd. 2010).

Yapılan birçok çalışmada bakterilerin, fungusların ve alglerin hem canlı hem de ölü biyokütlelerinin ağır metaller, boyalar ve diğer endüstri atıklarını gidermede kullanıldığı ve başarılı sonuçlar elde edildiği birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (İbrahim vd. 1996, Knaap vd. 1999, Saçan ve Balcıoğlu 2001, Chen vd. 2003, Selvam vd. 2003, Toh vd. 2003, Forgacs vd. 2004, Aksu 2005, Aksu ve Tezer 2005, Munoz ve Guieysse 2006, Asma vd. 2006, Sadettin ve Donmez 2006, Aravindhan vd. 2007, Pandley vd. 2007, Daneshvar vd. 2007, Vijayaraghavan ve Yun 2008, Chen vd. 2009, Kaushnik vd. 2009).

Ölü fungal biyomasın (*Phanerochaete chrysosporium* ve *Funalia tragii*) tekstil boya giderimi verimliliğine bakılmış ve bu amaçla temas zamanı, başlangıç boya konsantrasyonu, ölü biyomas miktarı ve karıştırma süresi şartlarının boya giderimine olan etkileri araştırılmıştır. Toplam boyanın giderimi için 60 dakikalık bir zamanın gerekli olduğu bulunmuştur. Artan biyomas ağırlığının 1g>0,5g>0,2g>0,1g boya giderimini doğru orantılı olarak arttırdığı bulunmuştur. En iyi giderimin 150-200 rpm'de olduğu tespit edilmiştir (Asma vd. 2006).

Bir diğer çalışmada BG11 besi ortamı kullanılarak izole edilen termofilik siyanobakteriler ile reaktif boya biyobirikim çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla *Synechococcus* sp. ve *Phormidium* sp. kullanılmış ve boya olarak da Reaktif Siyah B, Remazol Mavi ve Reaktif Kırmızı RB boyaalarının giderimine bakılmıştır. Başlangıç pH'ı belirlemek amacıyla 25 mg • l<sup>-1</sup> boya konsantrasyonu denemelerinde en iyi giderimin Reaktif Kırmızı RB'de 9.5 ve diğerlerinde de 8.5 olarak belirlenmiştir. En iyi pH belirlendikten sonra boya birikim çalışmaları 45 °C'de 10 ila 78 mg • l<sup>-1</sup> arasındaki konsantrasyonlarda denemeler yapılmıştır. Çalışma sonucunda *Phormidium* sp.'nin *Synechococcus* sp.'ye göre daha yüksek oranda boya biyobirikimi sağladığı ve tüm denenen boya konsantrasyonlarında boyayı %13 ila %97 oranında bir verimlilikle biriktirdiği görülmüştür (Sadettin ve Dönmez 2006).

Bir diğer çalışmada *Chlorella vulgaris*, *Lyngbya lagerlerini*, *Nostoc linchi*, *Oscillatoria rubescens*, *Elkatothrix viridis* ve *Volvox aureus* gibi yeşil alg ve siyanobakterilerin metil kırmızısı, oranj II, G-kırmızısı (FN-3G), bazik katyonik ve bazik fuksin gibi boyaların



giderimlerine bakılmıştır. Çalışma sonucunda bu alglerin % 4 ila 95 arasında boya giderimini sağladığı belirlenmiştir. Boya giderimleri alg türüne, boyanın moleküler yapısına ve gelişme durumuna göre değiştiği tespit edilmiştir. Tüm alg türlerinin bazik katyonik ve bazik fuksin giderimine elverişli oldukları görülmüştür. Metil kırmızısının *Nostoc linchi* ve *Oscillatoria rubescens* ile %82'ye varana kadar boyayı giderdiği belirlenmiştir. Diğer taraftan oranj II ve G-kırmızısı gideriminin düşük olduğu bulunmuştur. *C.vulgaris*'in sırasıyla boyaların %43,7 ve %59,12'sini giderdiği belirlenmesine karşın *V.aureus*'un sadece %5,02 ve %3,25'i giderdiği belirlenmiştir (El-Sheekh vd. 2009).

Bir diğer araştırmada *Cosmarium* sp.'nin Malaşit yeşili için giderim çalışmalarına bakılmıştır. Kesikli sistemde kurulan deney düzeneğinde sıcaklık, pH, boya konsantrasyonu ve alg konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır. Başlangıç pH'ın en iyi 9'da olduğu bulunmuştur. 25 °C'de, 10 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda, inkübasyonun 210. dakikasında hem ölü hem de canlı hücrelerin sırasıyla %63 ve %74 oranında boyayı giderdiği görülmüştür. En iyi başlangıç biyomasın da  $4,5 \times 10^6$  hücre/ml olduğu bulunmuştur. 5-45 °C'de yapılan denemelerde sıcaklık artışıyla boya giderim hızının doğru orantılı olarak arttığı belirlenmiştir (Daneshvar vd. 2007).

Bir tatlı su algi olan *Pithophora* sp.'nin malaşit yeşili için yapılan giderim çalışmalarında pH 6'nın en iyi başlangıç pH olduğu ve boya gideriminin temas zamanı ile doğru orantılı bir şekilde arttığı görülmüştür (Kumar vd. 2006).

Kesikli sistemde, kurutulmuş *Chlorella vulgaris*'in Remazol Siyah, Remazol Kırmızı ve Remazol Altın Yeşil için biyosorbisyonu araştırılmıştır. Deney sonucunda başlangıç pH'ın 2 olduğu durumda en iyi giderimin olduğu görülmüştür. Sıcaklık etkisi olarak da en iyi giderimin Remazol Siyahı için 35 °C'de, Remazol Kırmızısı ve Remazol Altın Yeşili için ise maksimum giderimin 25 °C'de olduğu bildirilmektedir. Başlangıç boya konsantrasyonları Remazol Siyahı ve Remazol Kırmızısı için  $800 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 'ye kadar ve Remazol Altın Yeşili için  $200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 'ye kadar denenmiş ve maksimum giderimin Remazol Siyah'da olduğu ve bunun  $419,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  olarak gerçekleştiği bildirilmiştir (Aksu ve Tezer 2005).

Tekstil endüstrisi atıklarından izole edilen 27 çeşit halofilik ve halotolerant bakterinin izolasyonu sonucu 3 tanesinin azo boyaları gideriminde başarılı olduğu belirlenmiştir. Bu üç türün *Halomonas* cinsine ait olduğu tespit edilmiş ve üç farklı NaCl konsantrasyonlarında (%20'ye kadar), sıcaklıklarda (25-40 °C) ve pH (5-10)'da azo boya giderimine bakılmıştır. 4 günlük inkübasyon sonucunda boyaları hem tek tek hem de karışık olarak giderdiği, yüksek boya konsantrasyonlarında (5.000 ppm) canlılığını sürdürdüğü ve 10.000 ppm boyaya kadar tolerans gösterdiği tespit edilmiştir. Renk giderimi sonucunda oluşan renksiz bakteri kültürünün inaktif yüzey bağlanmadan ziyade biyodegradasyon yaptığı tespit edilmiştir. HPLC ile bakıldığında azo bağının öncelikle indirgendiği ardından da parçalandığı görülmüştür (Asad vd. 2007).

Yapılan bir diğer çalışmada *Aspergillus vesicolor*'un Remazol Mavisi giderimine bakılmış ve 800 mg/l'ye kadar olan boya konsantrasyonlarında pH 5'de %27,15 ve pH 6'da 28,95'ini ortamdaki uzaklaştırdığı bulunmuştur (Taştan vd. 2010).

Bir diğer çalışma grubunda aynı anda farklı boya ve boya ile ağır metallerin giderimi konusunda da çalışmalar yapılmıştır. Kesikli sistem kullanılarak *Phormidium sp.*'nin kullanıldığı deneyde Krom (IV) ve Reaktif Siyah B ve Remazol Mavisi boyalarının giderimi araştırılmıştır. Deney sonuçlarına bakıldığında ortamdaki 11,8 mg • l<sup>-1</sup> Remazol Mavi, 84,5 mg • l<sup>-1</sup> Reaktif Siyah B ve 5,8-19,9 mg • l<sup>-1</sup> Krom (IV)'u pH 8,5'de 45 °C'de tolere edebildiği görülmüştür (Sadettin ve Dönmez 2007).

Diğer birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalarda hem mikroalglerin hem de diğer mikroorganizmaların ağır metalleri gidermede de kullanılabileceği gösterilmiştir (Bayramoğlu vd. 2006, Marungrueng ve Pavasant 2007, Foster vd. 2008, Vilchez vd. 2008).

*Aspergillus niger*'in farklı pH'larda violet tekstil boyasının giderimine bakılmış ve bu amaçla biyoreaktör ortamında geliştirilen tür için başlangıç boya konsantrasyonu 500 mg • l<sup>-1</sup> olarak tasarlanmıştır. 2-11 arasında yapılan pH denemelerinde en iyi giderimin sırasıyla 24 h inkübasyon periyodunun sonunda pH 2'de %92,4; pH 3'de %64; pH 8'de

%91,4 ve pH 9'da %62,3 olduğu görülmüştür. 72 saatlik inkübasyonun sonunda pH 2,3,6,7,8 ve 9'da sırasıyla %98,9; 97,3; 94; 95; 97 ve 97,3 giderim olduğu belirlenmiştir (Abd El-Rahim vd. 2009).

Zeolitlerin biyoması artırdığı son zamanlarda çalışılsa da epey süredir zeolitlerin boya giderimine olan etkileri de birçok kesim tarafında araştırma konusu yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada tekstil endüstrisinde kullanılan üç farklı reaktif boya olan Reaktif siyah 5, Kırmızı 239 ve Sarı 176 boyası kullanılmıştır. Doğal zeolitler ve modifiye zeolitlerin kaynağı Türkiye'nin Gördes bölgesinden alınmıştır. Kırmızı, sarı ve siyah boyaların sırasıyla 111,89; 61 ve 84,5 mg • g<sup>-1</sup> bağlama kapasitesi gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçların da popüler bir adsorbent olan aktive edilmiş karbon ile de benzer sonuçları gösterdiği belirlenmiştir (Armağan vd. 2003).

Bir diğer çalışmada doğal zeolitler kullanılarak malaşit yeşilin ve Pb<sup>2+</sup> iyonlarının adsorbsiyonuna bakılmış. Malaşit yeşili'nde 5 x 10<sup>-5</sup> mol/g ve Pb<sup>2+</sup>'da ise 10 x 10<sup>-5</sup> mol/g adsorbsiyon olduğu bildirilmiştir (Wang ve Ariyanto 2007).

Doğal, değiştirilmiş ve yapay zeolitlerin yapılan birçok çalışmada boyları ve ağır metalleri gidermede önemli rol oynadıkları belirlenmiştir (Armağan vd. 2003, Benkli vd. 2005, Wang ve Zhu 2006, Wang vd. 2006, Alpat vd. 2008).

Bir diğer çalışmada *Chlorella vulgaris*'in tekstil atıklarının biyoremediasyonu için kullanıldığı ve bunun için yüksek oranlı alg havuzları kullanıldığı belirlenmiştir. Bu amaçla Supranol Kırmızısı 3BW boyası olan tekstil atıkları kullanılmıştır. Boya giderimi %41,8 – 50 arasında değişmekle birlikte havuzdaki NH<sub>4</sub>-N (%44,4-45,1), PO<sub>4</sub>-P (%33,1-33,3) ve COD (%38,3-62,3) oranında iyileştirildiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada yapılan bir diğer deneyde tekstil atık suyunun Bold Basal Mediyumu ile zenginleştirilmesi biyomas artışına sebep olmakla birlikte boya giderimi veya kirleticilerin indirgenmesinde artış olmadığı tespit edilmiştir (Lim vd. 2010).

Tuz gölünden izole edilen iki farklı *Dunaliella* cinsine ait izolatin Krom (IV) biyosorbsiyonuna olan etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla pH, farklı iyon ve tuz

konsantrasyonu kesikli sistem kulanılarak laboratuvar ortamında denenmiştir. Her iki süşun sorbent olarak kullanıldığı çalışmada maksimum Krom (IV) gideriminin pH 2’de olduğu belirlenmiştir. Tuz olmayan ortamda, 72 h’lik inkübasyon periyodu sonunda başlangıç krom (IV) konsantrasyonu 100 mg • l<sup>-1</sup> olan ortamda *Dunaliella* 1 ve *Dunaliella* 2’nin sırasıyla 58,3 ve 45,5 mg • g<sup>-1</sup> Krom (IV)’ü giderdiği belirlenmiştir. Aynı ortamda NaCl konsantrasyonu %20’ye çıktığında değerler düşmekte ve krom (IV)’ın giderimi sırasıyla 20,7 ve 12,2 mg • g<sup>-1</sup> sorbsiyonun azaldığı tespit edilmiştir (Dönmez ve Aksu 2002).

Mikroalglerin üretimi, mikroalglerden yararlı kimyasalların üretimi ve mikroalglerin atık giderimi ve diğer birçok uygulamada kullanıldığı, yeni ürün ile uygulamalar için büyük potansiyel içerdiği birçok araştırmacı tarafından çalışılmış ve somut sonuçlar ortaya çıkmıştır (Slokar vd. 1997, Shirai vd. 1998, Moreno-Garido vd. 2001, Capasso vd. 2003, Toh vd. 2003, Chidambara Murthy vd. 2005, Spolaore vd. 2006, Gordon vd. 2009, Harun vd. 2010, Jager vd. 2010, Sydney vd. 2010).

## **2.2 *Dunaliella* Türlerinin Biyomas Üretimi**

### **2.2.1 *Dunaliella* türlerinin gelişmesi için gerekli olan ham maddeler**

*Dunaliella* türlerinin gelişimi için bir çok inorganik maddenin gerekli olduğu bilinmektedir. Bu konuyla ilgili de birçok araştırma yapılmıştır (Borowitzka ve Borowitzka 1988’e göre Johnson vd. 1968, Van Aucken ve Mc Nulty 1973, Salagenau 1979, Spectrova vd. 1982). *Dunaliella* türlerinin çoğalması ve gelişmesi için gerekli olan bu maddeler aşığıda belirtilmiştir.

#### **Karbon**

Tüm *Dunaliella* türleri fototrof oldukları için inorganik bir karbon kaynağı olan CO<sub>2</sub>’ye ihtiyaç duyarlar. CO<sub>2</sub> alımı tatlı su türleri için pek bir problem oluşturmaz. Fakat halofilik türleri için önemli bir problem oluşturur. Çünkü bu tür sularda CO<sub>2</sub> konsantrasyonu çok düşüktür. İnorganik karbon miktarı ve farklı pH değerlerindeki

fotosentez hızı (indirekt olarak) birçok araştırma ile ölçülmüştür. Yapılan araştırmalar sonucunda *D.tertiolecta* ve *D.salina* türlerinin (muhtemelen diğer *Dunaliella* türleri de) hem CO<sub>2</sub>'yi hem de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>'ü inorganik karbon kaynağı olarak kullandığı tespit edilmiştir. İnorganik karbon verimliliği, halofilik olan *D.salina* için muhtemelen sınırlayıcı bir etken olmaktadır. Eğer büyüme ortamında çok fazla tuz varsa ve sıcaklık yüksek ise karbon çözünürlüğü azalmaktadır. Halbuki yaklaşık olarak %3 NaCl içeren deniz suyunda ise inorganik karbon çözünürlüğü < %50'dir. Yüksek tuzluluk ve pH'ta *D.salina* inorganik karbon kaynağı olarak CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> kullanır. Örnek olarak; %25'lik tuzlulukta, 25 °C'de, pH 9'da inorganik karbonun %99,9'u CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> sağlar ki bu da ortamdaki HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>'in oranını göstermektedir. Bundan başka *D.salina* düşük CO<sub>2</sub> konsantrasyonlarına da adapte olmaktadır. Böyle bir durumda Karbonik Anhidraz enziminin aktivitesi artmaktadır. Düşük CO<sub>2</sub>'li ortamlarda yetişen hücrelerin yüzeyinde karbonik anhidraz düzeyi artmakta ve ayrıca intrasellüler karbonik anhidraz aktivitesi de artmaktadır. *Dunaliella* sp.'nin gelişme ortamına inorganik karbon kaynağı (CO<sub>2</sub> veya NaHCO<sub>3</sub> gibi) eklenmesi *Dunaliella* sp.'nin gelişmesini teşvik etmektedir. Yalnız ortamdaki karbonatların çökmemesi (presipitasyonu) gerekmektedir. CO<sub>2</sub>'nin teşvik edici etkisi, üfleyerek ortama hava verildiğinde görülür. Bu olay pH'ı düşürerek besiyerindeki CO<sub>2</sub> konsantrasyonunu artırır. İnorganik karbonun verilmesi bazı *Dunaliella* türlerinin yüksek ışığa ve sıcaklığa toleranslarını artırmaktadır (Borowitzka ve Borowitzka 1988, Becker 1994).

## **Azot**

*D.salina*, *D.viridis* ve *D.tertiolecta* için en iyi azot kaynağı NaNO<sub>3</sub>'tür (Borowitzka Michael ve Borowitzka Lesley 1988'e göre Milko 1962, Grant 1968). Nitrit ve nitratların hücre tarafından alınması için ışık (Borowitzka Michael ve Borowitzka Lesley 1988'e göre Grant 1967) ve tampon sistem gereklidir. Diğer amonyum tuzları, örneğin; amonyum asetat, amonyum nitrat, amonyum sitrat ve amonyum klorid genel olarak daha düşük azot kaynakları olarak bilinmektedir. Bunların yüksek konsantrasyonlarda (>2,5 M) bulunması durumunda letal etki yapmaktadırlar. Nitrit ve nitratın hücreler tarafından alınması ortamın alkalizasyonuna sebep olurken, besi ortamına amonyum eklenmesi ise asidifikasyona sebep olmaktadır. Tamponlanma

yapılmamış sistemlerde ortam pH'nın kendi kendine değişmesi, alg büyümesini önemli oranda etkilemektedir (Becker 1994).

Organik azot kaynaklarından olan üre ve glutamin ise, inorganik azot kaynakları kadar etkili değildir. Laboratuvarında yapılan denemeler sonucunda en iyi organik azot vericisinin üre olduğu belirlenmiştir (Borowitzka Michael ve Borowitzka Lesley 1988'e göre Milko 1962, Pristavu ve Wegman 1978).

Açık hava *Dunaliella sp.* kültürlerinde ürenin N kaynağı olarak kullanılmasıyla yüksek biyomas elde edildiği bildirilmiştir. *D.tertiolecta*'nın gelişmesi için, N sınırlaması sabit tutulan uzun süreli kültürlerde, nitrat. amonyum ve ürenin aynı miktarda kullanıldığı ve her üçüyle de elde edilen verimin aynı olduğu belirlenmiştir (Borowitzka Michael ve Borowitzka Lesley 1988'e göre Goldman ve Reavey 1979).

Son zamanlarda bazı araştırmacılar, nitrat asimilasyonunun yetersiz olduğu bazı mutant *D.tertiolecta* türlerini izole etmişlerdir. Bunların bazılarında nitrat redüktaz aktivitesi tespit edilmemiştir ve dolayısıyla bu suşlar nitratlı ortamlarda gelişmemektedirler. Diğer bazı suşlar ise hem nitrit hem de nitrat redüktaz aktivitesi göstermediklerinden dolayı büyümeleri için mutlaka  $NH_4^{+}$ ya ihtiyaç duymaktadırlar (Becker 1994).

## **Fosfor**

*D.salina* ve *D.viridis*'in gelişmesi için gerekli olan optimum fosfat konsantrasyonu yaklaşık olarak  $0,02 - 0,025 \text{ g l}^{-1} \text{ K}_2\text{HPO}_4$ tür (Borowitzka Michael ve Borowitzka Lesley 1988'a göre Gibor 1956; Milko 1962). Yüksek fosfat konsantrasyonu ise gelişmeyi inhibe etmektedir ( $> 5 \text{ g l}^{-1}$ ). Eğer *D.tertiolecta*'nın gelişme ortamına fosfat yerine gliserofosfat eklenirse gelişme belirgin bir şekilde azalmaktadır (Borowitzka Michael ve Borowitzka Lesley 1988'a göre Mc Lachlan 1964).

## **Magnezyum ve kalsiyum**

Tüm diğer algler gibi *Dunaliella* türleri de büyümeleri için bu katyonlara gereksinim duymaktadırlar (Becker 1994). *Dunaliella* türleri  $Ca^{++}$  ve  $Mg^{++}$  katyonlarının değişiklik gösterdiği ortamlarda da bulunabilmektedirler. *Dunaliella viridis*'te ise  $Ca^{++} : Mg^{++}$  oranı 0,8 ila 20 arasında değişebilir ve bu değişiklikler büyümeye etki etmemektedirler. Bu gibi değişiklikler deniz suyunun buharlaşması ile de olmaktadır. Denizde yaşayan *Dunaliella tertiolecta* için optimum  $Ca^{++} : Mg^{++}$  oranı 4'tür ve yüksek  $Mg^{++}$  konsantrasyonlarında büyüme inhibe edilmektedir (Becker 1994, Borowitzka Michael ve Borowitzka Lesley 1988'a göre Bass – Becking 1930).

## **Sodyum**

Yapılan birçok araştırmada *Dunaliella*'nın birçok türlerinin gelişmeleri için sodyuma ihtiyaç duydukları belirlenmiştir (Becker 1994). Yapılan bir araştırmada *D.primolecta* ve *D.tertiolecta* türlerinin gelişme ortamına NaCl yerine  $MgSO_4$  eklenmesinin bu türlerin gelişmesinde herhangi bir engel oluşturmadığı belirlenmiştir. (Borowitzka A. Michael ve Borowitzka J. Lesley 1988'a göre So Fujii vd. 1983). Eğer ortama  $MgCl_2$  veya LiCl gibi tuzlar eklendiğinde, her ne kadar fotosentez devam etse de büyüme gözlemlenmemiştir.

*D.tertiolecta* ve *D.viridis*'in gelişme ortamına NaCl yerine sükröz konulduğunda büyümenin engellenmediği görülmüştür.

## **Klor ve sülfat**

*Dunaliella sp.* için gerekli anyonlar hakkında elimizde çok az bilgi bulunmaktadır. Klor ve sülfat eksikliğinde *D.salina*'nın gelişmesi inhibe edilmektedir . Eğer  $SO_4^{2-}$  yerine  $Cl^-$  eklenirse  $\beta$ -karoten akümüasyonu teşvik edilmiş olacaktır. Borowitzka ve Borowitzka 1988'a göre Massyuk (1965)'un bulgularında *D.salina*'nın büyümesi için gerekli olan optimum  $Cl^- : SO_4^{2-}$  oranı 3,2'dir. Maksimum  $\beta$ -karoten birikimi için ise gerekli olan oran 8,6'dır. Dolayısıyla buradan da anlaşıldığına göre anyon ve katyonların

besiyerindeki oranları ve kalitesi alglerin büyümesini etkilemektedir. Örneğin:  $MgSO_4$  *Dunaliella* spp.'lerin gelişmesini hızlandırırken,  $MgCl_2$  hızlandırmamaktadır.

## **Demir**

*Dunaliella* sp.'nin büyümesi için demirin düşük konsantrasyonlarda bulunması gerekmektedir. Tuzla doymuş bazı ortamlarda demir sınırlayıcı etken olabilmektedir. Kellatlaşmış demir kaynakları; demir sitrat, demir klorit ve demir sülfitten daha etkilidir (Becker 1994). *D.salina* ve *D.viridis* için gerekli olan optimum demir konsantrasyonu  $1,25 - 3,75 \text{ mg l}^{-1}$ 'dir. Yüksek demir konsantrasyonları ise büyümeyi engellemektedir. Besiyerine kellat ajan olarak Na-EDTA eklenmesi demirin hücre tarafından alınmasını sağlamaktadır (Borowitzka ve Borowitzka 1988'a göre Milko 1962).

## **İz elementler**

Her ne kadar birçok değişik iz elementler, örneğin, Zn, Cu, Mo ve V gibileri *Dunaliella* sp.'nin büyüme ortamına eklense de bu elementlerin gerekliliği hakkında hiçbir bilgiye sahip değiliz. Yapılan bir araştırmada *D.tertiolecta*'nın büyümesi için gerekli olan optimum Mn konsantrasyonu 0,105 ppm olarak belirlenmiştir. Bunun altındaki değerler büyümeyi engellediği gibi yüksek konsantrasyonlarda toksik etki göstermektedir (Borowitzka ve Borowitzka 1988). Becker (1994)'e göre Kobaltın  $B_{12}$  vitaminine bağlanması birçok alg için gereklidir.

## **Vitaminler**

*Dunaliella* türleri ve birçok alg türünün gelişmesi için vitamine gerek olmadığı bildirilmiştir (Borowitzka ve Borowitzka 1988'a göre Gibor 1956, Mc Lachlan 1959).



### 2.2.2 *Dunaliella* türlerinin üretimine çevresel faktörlerin etkisi

#### Işık

Işığın etkisi ancak *Dunaliella* sp. ve *Chlamydomonas* sp. gibi fotosentetik olarak gliserol üreten mikroorganizmalar için önem arz eder. Ben-Amotz ve Avron (1987) 'un yaptığı çalışmalarda *D. bardawile* ışığın etkisi ve besin sınırlamasından oluşan etkiler araştırılmıştır. Işıklendirme amacıyla farklı ışıklandırma gücüne sahip tungsten lambaları (5 ila 500 Wm<sup>-2</sup>) kullanılmıştır. Sonuçta ışık yoğunluğu arttıkça gliserol üretim yeteneğinin arttığı, düşük ışık yoğunluklarında azot eksikliğinin gliserol miktarını arttırdığı, yüksek ışık yoğunluğunda ise sınırlayıcı maddelerin eksikliğinin gliserol üretimini düşürdüğü gözlenmiştir.

#### pH

Alglerin bulunduğu ortamın pH'ı alglerin gelişmesine etki ettiği gibi metabolizmalarını da etkilemektedir. Bir deniz türü olan *D. tertiolecta*'nın optimum büyümesi için gerekli olan pH 6'dır. Halofilik türler olan *D. salina* ve *D. tertiolecta*'nın optimum büyümesi yaklaşık olarak pH 9'da gerçekleşmektedir (Borowitzka ve Borowitzka 1988, Kaçka ve Dönmez 2008.).

Optimum pH'ta ise genel olarak fotosentez düşüktür. Örnek olarak, Borowitzka ve Borowitzka 1988'a göre Wegmann ve Metzner (1971)'in yaptığı çalışmada *D. tertiolecta*'nın optimum olarak büyümesi için gerekli olan pH'ın 6, fotosentez için ise gerekli olan pH'ın 5 olduğu görülmüştür. Birçok *Dunaliella* türü ise çok geniş pH aralıklarına toleranslı olabilmektedir. Thakur (2000) tarafından yapılan denemelerde pH'ın *Dunaliella salina* türünün gelişimine etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonunda en iyi gelişmenin pH 8'de olduğu görülmüştür.

## Sıcaklık

*Dunaliella* türleri geniş sıcaklık aralıklarına toleranslıdırlar. Halofilik bir tür olan *D.salina*'nın  $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'den (Borowitzka Michael ve Borowitzka Lesley 1988'a göre Teodoresko 1906, Massyuk 1966) yaklaşık olarak  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar (Borowitzka Michael ve Borowitzka Lesley 1988'a göre Wegman, Ben-Amotz ve Avron 1980) hayatta kalabildiği rapor edilmiştir. Utah'taki Büyük Tuz Gölündeki *D.viridis* ve *D.salina*'nın  $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de değişmeden kalabildiği fakat  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de hareketini kaybettiği görülmüştür (Borowitzka ve Borowitzka 1988'ya göre Post 1977). Yapılan bir araştırmada *D.salina*'nın fotosentezi  $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de aktif bir şekilde azalmaktadır. Obligat psikrofilik olan *Dunaliella* spp. Antarktika'da da bulunmuştur (Borowitzka ve Borowitzka 1988'a göre Bunt, 1968). *D.parva* ve *D.tertiolecta*'nın sıcaklığa bağlı olan toleransının, bulunduğu ortamdaki NaCl konsantrasyonuna bağlı olduğu görülmüştür (Borowitzka Michael ve Borowitzka Lesley 1988'a göre Eppley ve Mocins 1963, Gimmler vd. 1978). Yüksek tuzluluğa adapte olmuş hücrelerin sıcaklığa direnç gösterdiği ve bunu da muhtemelen intrasellüler gliserol konsantrasyonunu arttırarak proteinleri korumakla yaptığı sanılmaktadır. İntrasellüler gliserolün yüksek düzeyde biriktirilmesi yeteneği de sıcaklığa bağlıdır.  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'nin üstündeki sıcaklıklarda ise tuzluluğa toleranslı olan *Dunaliella* türleri ve deniz türü olan *D.tertiolecta* gliserolü dışarıya sızdırarak kaybetmeye başlarlar. Bu olay muhtemelen plazma membran komponentlerinin konformasyonel değişikliğine bağlı olabilir (Borowitzka Michael ve Borowitzka Lesley 1988'a göre Wegmann vd. 1980). Türe bağlı olarak *D.salina*'nın optimum sıcaklık aralığı  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  ila  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  olduğu rapor edilmiştir. Yapılan bir araştırmada *D.viridis* için optimum yaşama sınırı  $14^{\circ}\text{C}$  -  $30^{\circ}\text{C}$  olduğu ve hayatta kalabilmesi için en üst limitin ise  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  olduğu tespit edilmiştir (Borowitzka ve Borowitzka 1988'a göre Gibor 1956, Borowitzka 1981).

## Ozmotik basıncı sağlayan madde

Tuzluluk veya ekstraselüler tuzluluğun yarattığı osmotik basınç genel olarak mikroorganizmaların hücre içerisinde gliserol veya diğer polihidroksi alkollerini depolamasına sebep olmaktadır. Gliserol üretiminde ekstraselüler basıncın belirleyici

özelliği çok fazladır. Jimenez (1991)'in yaptıkları araştırmada NaCl konsantrasyonunun *D.salina*'daki gliserol üretimine etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. 1M, 2M ve 3M NaCl konsantrasyonu içeren besi ortamları kullanılmış ve sonuçta hücre başına en yüksek gliserol veriminin 3M'de elde edildiği bulunmuştur.

Diğer taraftan Miyosaka ve İkeda (1997)'nin *Chlamydomonas* sp. üzerinde yaptıkları araştırmalarda artan ekstraselüler osmotik basıncın intraselüler gliserol miktarını artırdığı bulunmuştur. Fakat burada dikkat edilmesi gereken noktalardan biri de dış basınca karşın hücre içi gliserol miktarı artarken popülasyondaki büyümenin azalmasıdır (Kaçka ve Dömez 2008).

### **Besi ortamı kompozisyonu**

Besi ortamı kompozisyonu, kültürlerde en önemli fenomenlerden biridir. Thakur (2000)'in yaptıkları araştırmalarda NaHCO<sub>3</sub>'ün değişik konsantrasyonlarının *D. salina* üzerine etkisi incelenmiştir. Sonuçta en iyi büyüme, fotosentez ve solunumun 4 mM NaHCO<sub>3</sub>'te olduğu bulunmuştur.

### **2.2.3 *Dunaliella* türlerinin üretimi için kullanılan kültür ortamları**

*Dunaliella* türlerinin izolasyonu, laboratuvar ve pilot aşamadaki üretimleri için kullanılan kültür ortamları ve içerikleri aşağıdaki gibidir.

## Çizelge:2.5 Modifiye Johnson Kültür Ortamı

980 ml distile suya aşağıdaki miktarlar eklenir:

NaCl	Deney için gerekli olan tuzluluğu sağlayacak miktar kadar
MgCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	1,5 g
MgSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O	0,5 g
KCl	0,2 g
CaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O	0,2 g
KNO <sub>3</sub>	1,0 g
NaHCO <sub>3</sub>	0,043 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,035 g
Fe-solüsyonu	10 ml
Eser element sol.	10 ml

Fe solüsyonu (1 litre için):

Na <sub>2</sub> EDTA	189 mg
FeCl <sub>3</sub> • 6H <sub>2</sub> O	244 mg

Eser element solüsyonu (1 litre için):

H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	61,0 mg
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> • 4H <sub>2</sub> O	38,0 mg
CuSO <sub>4</sub> • 5H <sub>2</sub> O	6,0 mg
CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	5,1 mg
ZnCl <sub>2</sub>	4,1 mg
MnCl <sub>2</sub> • 4H <sub>2</sub> O	4,1 mg

Çizelge 2.6 f/2 deniz suyu kültür ortamı.

1 litre filtre edilmiş deniz suyuna aşağıdaki malzemeler eklenir:

NaNO <sub>3</sub>	75 mg
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> • H <sub>2</sub> O	5 mg
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> • 9H <sub>2</sub> O	30 mg
Thiamin-HCl	100 µg
Biotin	0,5 µg
Vitamin B12	0,5 µg
Eser element stok solüsyonu	1 ml

Eser element stok solüsyonu (1 litre için):

Na <sub>2</sub> EDTA	4,36 g
FeCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	3,15 g
MnCl <sub>2</sub> • 4H <sub>2</sub> O	180 mg
CuSO <sub>4</sub> • 5H <sub>2</sub> O	10 mg
ZnSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O	22 mg
CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	10 mg
NaMoO <sub>4</sub> • 2H <sub>2</sub> O	6 mg

Çizelge 2.7 ASW (sentetik deniz suyu) kültür ortamı.

1 litre distile suya aşağıdaki malzemeler eklenir:

NaCl	23,6 g
MgSO <sub>4</sub> • 6H <sub>2</sub> O	4,9 g
MgCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	4,1 g
CaCl <sub>2</sub>	1,1 g
KCl	75 mg
KNO <sub>3</sub>	303 mg
Na <sub>2</sub> EDTA	12 mg
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> • 9H <sub>2</sub> O	40 mg
Glisilglisin	660 mg
Tiamin-HCl	0,5 mg
Eser element solüsyonu	1,0 ml

Otoklav yapılmadan önce pH 8'e ayarlanır. Bağımsız olarak 0,456 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 ml distile suda hazırlanır ve otoklavlanarak inokülüm yapılmadan önce besi ortamına 10 ml/litre olarak ilave edilir.

Eser element solüsyonu (1 litre için):

H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,568 g
ZnCl <sub>2</sub>	0,624 g
CuCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O	0,268 g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> • 2H <sub>2</sub> O	0,252 g
CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	0,42 g
FeSO <sub>4</sub>	1,36 g
MnCl <sub>2</sub> • 4H <sub>2</sub> O	0,36 g
Na-tartarat	1,77 g

#### 2.2.4 *Dunaliella* türlerinin geniş çaplı üretim biçimleri

*Dunaliella* türlerinin geniş çaplı üretimleri 4 farklı biçimde yapılmaktadır:

1- Geniş Alanda Yapılan Üretim: Bu sistemde karıştırma işlemi yapılmamaktadır ve üretim sahasındaki kontrol mekanizması minimal düzeydedir. Zooplankton, amip ve bazı siliyat türlerinin bulaşmasını engellemek için üretim sahasında tuzluluk oranı çok yüksek tutulmaktadır. Neredeyse doygunluk derecesine ulaşan ortam tuzluluğunda *Dunaliella* türlerinin üremesi yavaş olmaktadır. Bu üretim sisteminde verim düşük olmakta (0,1 g  $\beta$ -karoten / m<sup>3</sup>) ve üretim için çok geniş alan kullanılmaktadır. İşletme maliyetlerinin de bu modelde diğerlerine göre oldukça düşük olduğu bildirilmiştir. Bu modelde dünyada Avustralya kıtasında sadece iki tesis üretim yapmaktadır (Borowitzka ve Borowitzka 1988, Becker 1994, Borowitzka 1999, Richmond 2004, Ben-Amotz vd. 2009).

2-Yoğun Üretim Sistemi: Bu üretim kontrollü havuzlarda yapılmaktadır ve hücrelerin gelişmesi ile ortamın kimyasal parametreleri sürekli kontrol edilmektedir. Üretim havuzları genelde uzunlamasına olup yüzeyi özel plastikle kaplanmıştır (PVC gibi). Kürek tipi pedallerle sürekli olarak karıştırılmaktadır. Havuzların alanı genelde 3000 m<sup>2</sup> olmaktadır. Bu gibi işletmeler ABD, İsrail, Çin ve Şili gibi ülkelerde bulunmaktadır. Örnek olarak 20 cm derinlikte ve 3000 m<sup>2</sup> (600 m<sup>3</sup>) boyutlarında olan bir havuzdan 5-15 g  $\beta$ -karoten / m<sup>3</sup> verim elde edilmektedir. Bu da havuzun tamamından 3-9 kg  $\beta$ -karoten elde edilmesine imkan sağlar. Günümüzde geniş çaplı yoğun üretim sistemlerinde (50.000 m<sup>2</sup>'lik havuzlarda) yıllık ortalama 200 mg  $\beta$ -karoten / gün / m<sup>2</sup> elde edilmekte, bu da yıllık olarak bir havuzdan 3650 kg  $\beta$ -karoten üretimi gerçekleştirilmektedir (Borowitzka ve Borowitzka 1988, Becker 1994, Lee 1997, Borowitzka 1999, García-González vd. 2003, Richmond 2004, Tafreshi ve Shariati 2006, Ben-Amotz vd. 2009).

3- Geniş Alan Üretimi ile Yoğun Üretim Sisteminin Arasında Kalan Ara Üretim Sistemi: Diğer bir deyişle yarı yoğun üretim sistemi olup günümüzde örneklerine Çin ve Avustralya'da rastlanmaktadır. 50.000 m<sup>2</sup>lik havuzlarda karıştırma yapılmadan ve kısmi kontrol uygulanarak yapılan üretim modelleridir (Richmond 2004).

4- Fotobiyoreaktörler ile Yapılan Yüksek Yoğunluklu Üretim Sistemi: Son 10-20 yılda yapılan çalışmalarda en iyi optimize koşullar kullanılarak maksimum  $\beta$ -karoten verimi elde edilmeye çalışılmıştır. Fotobiyoreaktör tiplerine baktığımızda, dar tipli, uzun tipli, plastik şeffaf borular, plastik torbalar vs. gibi tipler kullanılmıştır. Genel olarak bu tip üretimler laboratuvar ve pilot aşama üretimler dışına ekonomik sebeplerden dolayı çıkamamıştır. Bu amaçla birçok özel teşebbüs kurulmuş olsa da üretim ekonomik olmadığından dolayı tüm girişimciler bir süre sonra şirketlerini kapatmak zorunda kalmışlardır (Borowitzka ve Borowitzka 1988, Becker 1994, Lee 1997, Borowitzka 1999, Richmond 2004, Zhu ve Jiang 2007, Ben-Amotz vd. 2009).

Laboratuvar ortamında ayrıca *Dunaliella* türlerinin enkapsülasyon, immobilizasyon ve mikro kuyucuklu ortamlarda da başarı ile üretildiği bildirilmiştir (Joo vd. 2001, Nowack vd. 2005).

### **2.2.5 *Dunaliella* türlerinin ve diğer mikroalglerin biyomas artışına zeolitlerin etkisi**

Zeolitler doğada bol miktarda bulunan ucuz ham maddeler olup endüstride birçok alanda kullanılmaktadırlar. En önemli özellikleri bulunduğu ortamdaki iyon değişimini yapmakta ve özellikle ortam için toksik oluşturabilecek ajanları adsorbe ederek ortamın iyileştirilmesini sağlamasıdır (Fachini vd. 2004, Vasconcelos Teresa vd. 2004).

Zeolitlerin su kültürü üretimi için potansiyel teşkil ettiği bilinmektedir. Zeolitler, toksik iyonlar olan amonyum ve ağır metallerin sulardan uzaklaştırılmasını sağlayarak su kalitesini arttırmakta (Nieves vd. 2005'e göre Mumpton 1984, Jain vd 1996, Gomez-Villa vd. 2002), azot döngüsü ile ilgili proseslerde rol oynamakta (Nieves vd. 2005'e göre Lopez Ruiz ve Gomez Garrudo 1994) ve sucul canlıların diyetlerinde yer

aldıklarında somatik olarak ağırlıklarını arttırdığı belirtilmektedir (Nieves vd. 2005'e göre Perez vd. 1991, Lanari vd. 1996).

Ayrıca bazı sentetik zeolitlerin 5-100 mg • l<sup>-1</sup> oranında kullanıldıklarında diyatome kültürlerinin hücre konsantrasyonlarında ciddi biçimde artışa sebep oldukları belirlenmiştir (Nieves vd. 2005'e göre Voltolina vd. 1997, Nieves 2000, Nieves vd. 2000).

*Tetraselmis suecica* ve *Dunaliella tertiolecta* ile yapılan bir çalışmada doğal zeolitlerin biyomas artışına etkileri araştırılmıştır. Besi ortamına 5, 10 ve 20 mg • l<sup>-1</sup> konsantrasyonda zeolit eklenmiş ve kesikli kültürde inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyon sonucunda zeolitli ortam ile zeolitsiz ortam arasında benzer sonuçlar alınmakla beraber *Dunaliella tertiolecta*'nın gelişimine 20 mg • l<sup>-1</sup> konsantrasyondaki zeolitli ortamın olumlu yönde etki ettiği belirlenmiştir (Nieves vd. 2005).

Bir diğer çalışmada deniz mikroalgi olan *Emiliana huxleyi*'ne zeolitlerin etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla 0.025, 0.050 ve 0.10 g • l<sup>-1</sup> zeolit içeren doğal deniz suyu kullanılmıştır. Bunlara ilaveten 1 g • l<sup>-1</sup> içeren zeolitli ortam 30 dakika kadar karıştırılmış ve besi yerinde çözülmeyen zeolitler alınarak zeolitli solüsyon da deneyde kullanılmıştır. 0.025 ve 0.050 g • l<sup>-1</sup> zeolit içeren ortamların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında biyomas artışına etkisinin olmadığı ve 0.10 g • l<sup>-1</sup> zeolitli ortamın ise gelişmeyi düşürdüğü belirlenmiştir. Ancak 30 dakika karıştırma yapılarak hazırlanan deniz sulu zeolitli solüsyonun kontrol grubuna göre daha fazla hücre artışına sebep olduğu tespit edilmiştir (Fachini vd. 2004).

## **2.3 *Dunaliella* Türlerinin Endüstride Uygulama Alanları**

### **2.3.1 *Dunaliella* türlerinin insan ve hayvan beslenmesindeki önemi**

1950'lerden sonra tek hücre proteini (THP) olarak protein kaynağı için bakteri, maya ve alglerin kullanımı gündeme gelmiştir (Becker 1994, Beyatlı 1996, Becker 2007).



Günümüzde ticari olarak takdim edilen ürünler tablet, kapsül ve sıvı formda olmaktadır. Ayrıca algler bazı ülkelerde (Japonya gibi) pastalara, yoğurtlara ve bazı içeceklerle de katılarak ticari olarak satılmaktadır. *Dunaliella salina* da dahil olmak üzere insan beslenmesinde kullanılan bazı gıda ve alglerin besin değerleri aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 2.8 Bazı insan gıdası ve farklı alglerin % kuru ağırlık olarak besin bileşimi değerleri (Richmon 2004).

Besin Türü	Protein	Karbohidrat	Lipid
Ekmek Mayası	39	38	1
Et	43	1	34
Süt	26	38	28
Pirinç	8	77	2
Soya fasülyesi	37	30	20
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Synechococcus sp.</i>	63	15	11

Yine aşağıdaki tabloda protein miktarı itibari ile bazı alglerin içerdiği aminoasit değerlerini içeren veriler yer almaktadır.

Çizelge 2.9 DSÖ/FAO referansındaki konvansiyonel protein kaynaklarına göre bazı alglerin amino asit profilleri [(g/100 g protein olarak verilmiştir), (Richmon 2004)].

Kaynak	Ile	Leu	Val	Lys	Phe	Tyr	Met	Cys	Try	Thr	Ala	Arg	Asp	Glu	Gly	His	Pro	Ser
Yumurta	6.6	8.8	7.2	5.3	5.8	4.2	3.2	2.3	1.7	5.0	-	6.2	11.0	12.6	4.2	2.4	4.2	6.9
Soya	5.3	7.7	5.3	6.4	5.0	3.7	1.3	1.9	1.4	4.0	5.0	7.4	1.3	19.0	4.5	2.6	5.3	5.8
<i>C.vulgaris</i>	3.2	9.5	7.0	6.4	5.5	2.8	1.3	-	-	5.3	9.4	6.9	9.3	13.7	6.3	2.0	5.0	5.8
<i>D.bardawil</i>	4.2	11.0	5.8	7.0	5.8	3.7	2.3	1.2	0.7	5.4	7.3	7.3	10.4	12.7	5.5	1.8	3.3	4.6
<i>S.platensis</i>	6.7	9.8	7.1	4.8	5.3	5.3	2.5	0.9	0.3	6.2	9.5	7.3	11.8	10.3	5.7	2.2	4.2	5.1
<i>Aphanizomenon</i>	2.9	5.2	3.2	3.2	2.5	-	0.7	0.2	0.7	3.3	4.7	3.8	4.7	7.8	2.9	0.9	2.9	2.9

Görüldüğü gibi *Dunaliella bardawil* türünde hem esansiyel hem de esansiyel olmayan tüm aminoasitler mevcuttur.

İnsan ve hayvan beslenmesi konusunda en önemli unsurlardan bir tanesi de alg toksinleridir. Bunlardan ilki nükleik asitlerdir. Protein tavsiye kuruluna göre bir insanın günlük alglerden alacağı nükleik asit miktarı 2 g'ı geçmemelidir. Toplamda ise tüm besinlerden alacağı nükleik asit miktarı 4 gramı geçmemelidir. Alglerdeki nükleik asit miktarı %4-6 oranındadır. Dolayısıyla kişinin alacağı günlük alg miktarı 20 gramı yada kilogram ağırlığı başına 0,3 gramı geçmemelidir. Bir diğer konu da alglerden alınan proteinlerin sindirilebilir olması gerekmektedir (Beyatlı 1996, Richmon 2004).

### **2.3.2 *Dunaliella* türlerinin su kültürü için önemi**

Dünya gıda ihtiyacını karşılamak için su kültürü ürünlerinin üretimi önemli bir konudur ve son zamanlarda önemi artan hızla devam etmektedir. Mikroalgler balıkların, karideslerin ve diğer kabukluların beslenmesinde kullanıldığı gibi ürettikleri oksijen ile de çiftliklerdeki dengenin korunmasında önemli rol oynarlar. Mikroalgler; çift kabuklu yumuşakçalar (istiridye, deniz yıldızı, midye gibi), bazı larvalar (gastropodlar, karides larvaları) ve balıkların (sazan balığı) diyetlerinin ana elemanlarını oluştururlar. *Dunaliella* türleri de özellikle tuzlu su karidesinin besin kaynağı olan *Artemia*'ların beslenmesinde kullanılmaktadır. Genel olarak mikroalg katkılı besinlerin larvaların beslenmesinde ve gelişmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Borowitzka ve Borowitzka 1988).

Mikroalgler özellikle herbivor olan sucül canlıların beslenmesinde kullanılır. Yumuşakçalar bunlardan bir tanesi olup bunlar tüm hayatları boyunca sadece mikroalglerle beslenirler. Hem canlı hem de ölmüş mikroalgleri besin olarak kullanabilirler. Ancak canlı mikroalglerin en iyi gelişimi sağladığı görülmüştür. Dünya yumuşakça üretiminde Çin ön sıralarda yer almakta olup 1999 yılında 600.000 ton üretim gerçekleştirdiği bilinmektedir. Bu üretimi gerçekleştirebilmek için yaklaşık olarak 314 ton kuru ağırlıktaki mikroalge ihtiyaç duymaktadır. 1999'daki FAO verilerine baktığımızda dünya su kültürü için üretilen mikroalg miktarı yaklaşık olarak

1000 tondur ve bunun %62'si yumuşakça, %21'i karides ve %16'sı balık üretim çiftliklerinde kullanılmaktadır. Yapılan tahminlere göre 2020 yılına kadar sucul canlıların toplam üretimi  $220 \times 10^6$  ton olacağı ve bunun  $100 \times 10^6$  tonunun çiftliklerden elde edileceği tahmin edilmektedir (Richmon 2004).

### **2.3.3 *Dunaliella* türlerinden üretilen biyoaktif kimyasallar ve diğer yararlı maddeler**

Ekstremofil, çift kamçılı ve tek hücreli bir alg olan *Dunaliella* yüksek konsantrasyon tuz içeren ortamlarda hayatta kalıp yaşamsal fonksiyonlarını sürdürmesi için osmoregülasyonu sağlamak zorundadır. Bunun için de hücre içinde yüksek oranda gliserol üretmektedir. Ayrıca hücreleri yüksek ışık şiddetinden korumak için de yüksek oranda  $\beta$ -karoten üretmektedir. Hücre duvarının bulunmaması sebebi ile hücre zarının esnek yapısını sağlamak için hücre zarına uygun lipidler bulundurmaktadır (Phadwal ve Singh 2003, Çelekli ve Dönmez 2006, Kaçka ve Dönmez 2008).

Gliserol üretiminde kullanılan algler gelişmeleri için inorganik karbon kaynaklarına ve ışığa ihtiyaç duymaktadırlar. Algler gliserolü fotosentezin bir yan ürünü olarak üretmektedirler (Becker 1994).

*Dunaliella* türlerinin yüksek tuz konsantrasyonlarına tolerans yeteneği veya değişen tuz konsantrasyonlarına uyumu, içinde biriktirdiği uygun bir çözünen madde ile, yani gliserol ile sağlanmaktadır. Burada gliserol, osmoregülasyonu sağlayan çözünmüş bir ajan olarak görev yapmaktadır. Gliserol çok fazla çözünen bir polihidrik alkol olup, diğer çözünen polihidroksi alkollerle karşılaştırıldığında, metabolik olayları en az inhibe eden alkol olarak karşımıza çıkmaktadır. Gliserolün endüstride kullanım alanı çok geniş olup neredeyse tüm endüstri dallarında doğrudan veya dolaylı bir biçimde ham madde olarak kullanılmaktadır (Borowitzka ve Borowitzka 1988).

Düşük azot konsantrasyonu ve yüksek ışık şiddeti bazı *Dunaliella* türlerinde  $\beta$ -karoten birikmesine sebep olmaktadır. Bu gibi fizyolojik ortamlarda strese karşı oluşan  $\beta$ -karoten hücre içindeki klorofili maskeleyerek kloroplastın rengini, duruma bağlı olarak

portakal-kırmızıdan, sarı-yeşil ve yeşile kadar değiştirmektedir. Oluşan  $\beta$ -karoten stereoisomerlerine bakıldığında en yüksek oranda iki grubu öne çıkmaktadır. Bunlar tüm-trans ve 9-cis stereoisomerleridir. Genel olarak herhangi bir büyüme stresi (ki bu stres bölünmeyi yavaşlatan stres olduğunda) ışık altında  $\beta$ -karoten üretimi artmaktadır. Yüksek ışık ve tuz, düşük sıcaklık, ekstrem pH, besin yetersizliği ve uygun olmayan çevre şartları *Dunaliella*'daki  $\beta$ -karoten oluşumuna etki etmektedir.  $\beta$ -karoten uzun yıllardan beridir gıda boyası, provitamin A, kozmetikte, multivitamin preparatlarında ve son zamanlarda antioksidant olarak kullanılmaktadır (Salguero vd. 2003, Zhu ve Jiang 2007, Del Campo vd. 2007, Mojaat vd. 2008).

*Dunaliella* diğer *Chlorophyceae* üyeleri gibi 16 ve 18 karbonlu yağ asitlerini de üretmektedir. Açık havuzlarda *Dunaliella* produktivitesine baktığımızda (%3'lük fotosentez verimliliğine göre) aşağıdaki çizelgedeki gibi genel değerler elde edilmektedir.

Çizelge 2.10 *Dunaliella* türlerindeki produktivite: %3'lük fotosentez verimliliğine göre ortalama değerler (Ben-Amotz vd. 2009).

Verimlilik	
4,000 kcal/m <sup>2</sup> /gün	Günlük ortalama güneş yoğunluğu
120 kcal/m <sup>2</sup> /gün	%3'lük verimlilikte oluşan enerji
24g /m <sup>2</sup> /gün	Alg biyomas verimliliği
8 g/m <sup>2</sup> /gün	<i>Dunaliella</i> gliserol verimliliği (%30)
1,92 g/m <sup>2</sup> /gün	<i>Dunaliella</i> $\beta$ -karoten verimliliği (%8)
2,4 g/m <sup>2</sup> /gün	<i>Dunaliella</i> lipid verimliliği (%10)

Yapılan bazı çalışmalarda *Dunaliella salina*'nın tokoferol ve B serisi vitaminleri ürettikleri bilinmekle birlikte bu vitaminlerin hangi optimum koşullarda üretilebildikleri bilinmemektedir (Borowitzka ve Borowitzka 1988). Francavilla vd. (2010)'nin yaptıkları araştırmada *Dunaliella* türlerinin fitosterollerini ürettiği ve bunların da endüstrinin kullanımı için potansiyel ham maddeler olduğu rapor edilmiştir.

Günümüzde endüstriyel olarak kullanılan mikroalgler ile çalışılan en güncel konulardan biri de biyodizel üretimidir ve bu konuda son yıllarda çok fazla çalışma yapıldığı görülmektedir (Christi 2007, Gouveia vd. 2009, Mata vd. 2010, Huang vd. 2010).

### **2.3.4 *Dunaliella* türlerinin kozmetik ve terapötik amacıyla kullanılması**

Son yıllarda alglerden elde edilen birçok önemli ekstrakt kozmetik ve sağlık uygulamalarında kullanmaya başlanmıştır. Bunlara örnek olarak pigmentler (karotenoidler, fikobiliproteinler), enzimler, antibiyotik ajanları vs. sayılabilir. Genellikle günümüze kadar mikroalglerin terapötik olarak kullanımları özellikle uzak doğu ülkelerinde olmuştur ve içeriklerinin etkisi hakkında ise çok fazla bilimsel bilgiye sahip değiliz. Örneğin *Spirulina*'dan elde edilen enzimatik ekstrakt ile yapılan uygulamalarda cild metabolizmasını canlandırdığı ve ciltteki keratinleşmeyi engellediği rapor edilmiştir. Yine birçok algin ABD ulusal kanser enstitüsü tarafından yapılan çalışmada anti-tümör ve anti-enfektif etkileri araştırılmış ve bazılarının içerdiği bileşenlerin aktif olarak etki gösterdiği belirlenmiştir. Örneğin bazı ekstraktların HIV enfeksiyonundaki T-hücrelerini sitopatik etkisinden koruduğu in-vitro olarak görülmüştür (Richmond 2004).

B-karotenin dışında *Dunaliella* türlerinin ürettiği ve son zamanlarda önemi giderek anlaşılmaya başlayan iki karotenoid ise fitoen ve fitofluen'dir. Bunlar renksiz karotenoidler grubundan olup diğer karotenoidlerin biyosentezi yolunda öncü olarak oluşmaktadır. Bu pigmentler sadece elektromanyetik dalgaları ve UV ışınlarını absorbe etmektedirler. Genel itibari ile bu renksiz karotenoidlerin UV ışınlarının zararlı etkileri ve oksidatif harabiyete karşı doku ve hücreleri koruduğu belirlenmiştir. Bunların dışında anti enflamatuvar ve cildi hasardan koruyucu etkisinin de olduğu belirlenmiştir. Ciltde

özellikle melanine karşı pigmentasyonu yavaşlattığı ve bazı durumlarda engelleyerek cildin beyazlığını koruduğu görülmüştür. Alınan fitoenin lenfositlerde oksidatif strese bağlı oluşan DNA hasarını %42 oranında engellediği tespit edilmiştir. Fitoen ve fitofluenin *Dunaliella*'da tüm trans ve 9-cis stereoizomerleri bulunmaktadır. Bu pigmentlerin birçok çalışmada strese bağlı oluşan hidroksi (-OH) radikalleri söndürdüğü görülmüştür. Bu iki renksiz pigmentin *Dunaliella* hücreleri içinde üretilen β-karoten ve CoQ10'u da oksidatif hasardan koruduğu belirlenmiştir. Bu pigmentlerin renksiz oluşu ve birçok metabolik fonksiyonundan dolayı kozmetikte, eczacılıkta ve gıda takviyesi ürünlerde kullanılmaya başlanmış ve kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Ayrıca *Dunaliella bardawil* türünün arterosklerozise karşı koruyucu etkisinin olduğu yapılan hayvan modelleri çalışmalarında belirlenmiştir. Hücrelerin içerdiği yüksek orandaki β-karoten ile arterosklerozun ana süreci olan LDL oksidasyonunu azalttığı tespit edilmiştir (Ben-Amotz vd. 2009).

### **2.3.5 Maliyet analizi**

Mikroalglerin hücre içinden elde edilen metabolitlerin üretimi için şu temel aşamaların yapılması gerekmektedir:

- 1- Tek hücre kültürü olarak geniş çaplı üretimi
- 2-Oluşan biyomasın hasat edilmesi
- 3-Biyomastan istenen metabolitin ekstraksiyonu ve
- 4-Ekstraktın saflaştırılması

Biyomas üretimi tam kontrollü fotobiyoreaktörlerde yapılabildiği gibi açık havuzlarda da yapılabilmektedir. Kültür ortamları göreceli olarak çok sulu olduklarından genelde verim  $< 0,5 \text{ kg/ m}^3 / \text{gün}$  olarak oluşmaktadır. Bu verim miktarı da hasat işlemlerinin tüm biyomas üretimi maliyeti içinde %20-30'una tekabül etmekte olduğu görülmektedir. Hasat işlemleri genelde santrifügasyon, flokülasyon ve filtrasyon yöntemleri ile yapılmaktadır. Hasat işleminden sonra konsantre edilmiş hücreler zaman kaybetmeksizin kurutulmalıdır. Kurutma işlemi püskürterek, ısıtarak, güneşte bırakılarak yada liyofilize edilerek yapılabilmektedir. Püskürterek kurutma işlemi

genelde değerli ürünleri elde etmede kullanılmakta ve 1 ton kuru ağırlık için >1000 \$ harcanmaktadır. Hücrelerin parçalanması da önemli bir maliyet kalemini oluşturmaktadır. Maliyet kalemlerindeki en önemli işlemlerden biri ekstraksiyon ve aranan metabolitin saflaştırılması aşamaları oluşturmaktadır. Örneğin: EPA üretimi için tüm prosese baktığımızda toplam maliyetin %40'ını biyomas üretimi oluşturmakta iken, biyomas üretiminden sonraki tüm aşamaların geri kalan %60'luk maliyeti oluşturduğu görülmektedir (Grima vd. 2003).

Açık havuz tasarımında genel olarak arazi için yapılan giderin toplam proje harcamasının %5-10'unu oluşturduğu görülmektedir. Kürek tipi pedaller ile yapılan karıştırmayı dikkate aldığımızda ortalama 8 ha'lık bir alanı karıştırmak için 10 yıllık ömrü olan karıştırma sisteminin maliyeti her bir hektar başına yaklaşık olarak 20.000 \$ olmaktadır. Havuz dibinin plastik tabakalar ile düzgün kaplanması için de m<sup>2</sup> başına 9\$ harcanmaktadır. Havuzun derinliğine ve karıştırma hızına bağlı olarak harcanan enerji miktarı da 7-50 KWh/ha/gün olarak hesaplanmıştır (Borowitzka ve Borowitzka 1988).

Mikroalglerin üretiminde en önemli kısım biyomas üretimidir. Günümüzde tüm dünyada yaklaşık olarak yılda 10.000 ton kuru ağırlık mikroalg kültürü üretilmektedir. Bunun yarısını *Spirulina* oluşturmakta iken diğer yarısının büyük bir kısmı da *Chlorella*'dan ibarettir. *Dunaliella* üretimi ise toplam üretimin ancak %10'unu oluşturmaktadır. Genel olarak baktığımızda üretim maliyetleri (tesis maliyetleri, pazarlama öncesi işlemler, taşıma ve diğer giderler) kuru ağırlık üzerinden hesaplanmakta ve bu maliyet genel olarak *Spirulina* için 5\$ / kg, *Chlorella* için 10\$/kg ve *Dunaliella* için 20 \$/kg'dır. Verilen bu fiyatlar fikir vermesi açısından bildirilmiş olup üretimin yapıldığı bölge ve prosese göre değişiklik göstermektedir (Ben-Amotz vd. 2009).

Bu tez kapsamında, daha önceden Tuz Gölü'nden izole edilmiş *Dunaliella* türleri Johnson sıvı besi yerinde, %20 tuz konsantrasyonunda ve farklı pH'larda denenerek renk giderim kapasitelerine bakılmıştır. Besi yerindeki boya giderimi spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Remazol Mavi 600 nm'de, Reaktif Siyah 590 nm'de ve Reaktif Kırmızı 495 nm'de spektrofotometrik olarak saptanmıştır. Her izolat

için en iyi giderimin olduğu pH seçildikten sonra boya giderimine biyomasın ekisi, zeolitin ve zeolitlerle birlikte biyomasın etkisi, laboratuvar tipi tasarlanan açık havuzlardaki ortamda boya giderim çalışmaları araştırılmıştır.

Biyomas üretimi amacıyla ise Johnson besiyeri kullanıldığı gibi, Tuz Gölü'nden getirilen göl suyu da kullanılarak pilot aşamada *Dunaliella* türleri için optimum üreme şartları belirlenmiş ve steril olmayan şartlarda gerçek göl suyu kullanılarak algler test tüpünden erlenlere oradan da laboratuvar tipi açık havuzlara aktararak ölçek büyütme çalışması yapılmıştır. Verimi artırmak amacıyla zeolitlerin biyomasa etkisi hem Johnson besi yerinde hem de gerçek göl sularında araştırılmıştır.

Kaynak özetlerinden de anlaşılacağı gibi endüstride *Dunaliella* türlerinin geniş çaplı üretimi çok önemlidir. Endüstriyel olarak üretilen *Spirulina* ve *Chlorella*'dan sonra toplam dünya mikroalg üretiminin ancak %10'unu *Dunaliella* oluşturmaktadır. Bu veri de son yirmi otuz yıldır gerçek anlamda endüstriyel olarak üretime başlanan *Dunaliella* için düşük bir oranı ifade etmektedir. Dolayısıyla gelecek yıllarda *Dunaliella*'nın geniş çaplı üretimi hem işletme bazında hem de yüzde bazında artması kaçınılmazdır. Ülkemizde ise bırakın *Dunaliella* üretimini yapan bir tesis bulmayı üniversitelerde araştırma olarak bile çok az çalışma yapıldığı, yapılan literatür incelemelerinde tespit edilmiştir. Halbuki ülkemizin zengin göl ve deniz sularını elverişli iklim şartları ile birleştirdiğimizde endüstriyel olarak *Dunaliella* üretiminin teknik olarak yapılamaması için bir sebep bulunmamaktadır.

Yapılan tezin en önemli amacı yerel *Dunaliella* türleri ile laboratuvar tipi pilot aşamada gerçek göl suları kullanılarak *Dunaliella* türlerinden biyomas elde etmektir. Elde edilen biyomasın birçok uygulama alanı olduğu bilinmekte ve onlardan bir tanesi olan ve yine literatürde neredeyse hiç rastlanmayan *Dunaliella* türleri ile tekstil boya atıklarının iyileştirilmesi ve bu bağlamda *Dunaliella* türlerinin boya atıklarının iyileştirilme kapasiteleri belirlenmeye çalışılmıştır.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Boya Giderimi

##### 3.1.1 İzolasyon ve identifikasyon

Çalışmada Tuz gölünden (Konya – Türkiye) alınan örnekler sıvı ve %1,5 (15 g/l) agar içeren, %15 NaCl ve pH 6 değerlerine sahip Johnson besi ortamına ekilmiştir. Bu petrilere 1000 lüks sürekli ışık altında 20 – 22 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. 2 ay kadar sonra petrilereki olgunlaşan koloniler steril öze ile alınarak taze hazırlanmış olan ve 5 ml sıvı Johnson besi yeri içeren tüplere aktarılmıştır. İkinci aşamada tüplerdeki kolonilerin gelişmesi yaklaşık olarak 1 ay kadar sürmüştür. Bu süreç sonunda tüm tüplerden örnekler alınmış ve mikroskopik olarak incelemeye tabi tutulmuştur. Ayrıca tüm tüpler bakteriyel kontaminasyon açısından da teste tabi tutulmuştur. Bu amaçla Nutrient agarlı besi yeri hazırlanmış ve petrilere dökülmüştür. Saflaştırılan tek koloniler %20 NaCl içeren Johnson sıvı besiyerine ekilmiştir.

##### 3.1.2 Boyaların seçimi

Bu amaçla Remazol Mavi, Reaktif Kırmızı RB ve Reaktif Siyah B boya kullanıldı. Bu çalışmanın amacı, en iyi boya gideriminin hangi başlangıç pH’da olduğunu belirlemektir. Örnekler 6, 7, 8 ve 9 olmak üzere dört farklı pH’da, 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda 40 gün kadar inkübasyona bırakıldı. Örnekler 3 paralel olarak çalışıldı. 250 ml’lik erlenlerde 100 ml sıvı Johnson besiyerine 10 milyon hücre kadar ekim yapıldı. Örneklerin inkübasyonu sürekli ışık altında, iklim dolabında  $30 \pm 2$  °C’de yapıldı. Erlenler manuel olarak günde bir defa karıştırıldı.

##### 3.1.3 pH’ın, boya konsantrasyonunun, biyomasın ve inkübasyon süresinin boya giderimine etkisi

Daha önce yapılan denemelerde *Dunaliella* izolatlarının pH 6 ve pH 9’da en iyi gelişim gösterdiği bulunmasına rağmen boya giderimlerinde pH’ın farklı etki oluşturabilme ihtimalinden dolayı her üç boya için 4 farklı pH denemesi yapılmıştır ve en iyi

giderimin hangi pH'da olduğu belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca bu denemede hücrelerin hangi boyayı da en iyi giderdiği belirlenmiş ve sonraki denemelere sadece seçilen bir boya ile devam edilmiştir.

pH'ın etkisi belirlendikten sonra uygun pH seçilerek farklı boya konsantrasyonlarında giderim hızlarına bakılmıştır. Giderimin hızını yada daha kısa sürede daha fazla boyanın giderimini gerçekleştirmek amacıyla farklı başlangıç hücre konsantrasyonlarının boya giderimine etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca belirlenen başlangıç hücre konsantrasyonu ile inokülüm gerçekleştikten sonraki ilk 120 saatlik inkübasyon periyodunda boyanın giderim hızına bakılmıştır.

#### **3.1.4 Zeolitın boya giderimine etkisi**

Bu amaçla 10, 20 ve 50 mg/l besi yeri olacak şekilde Türk Zeolit firmasından temin edilen 0-1 mm ve 1-3 mm boyutlarındaki zeolit miktarları kullanılmıştır. Zeolitlerin, hem Johnson besi yerinde hem de Tuz gölü sularında biyomasa etkisi ve boya giderimine olan etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

### **3.2 Biyomas Eldesi**

#### **3.2.1 Johnson besi yeri ile yapılan denemelerde zeolitın biyomasa etkisi**

Bu amaçla steril Johnson besi yeri kullanılarak ve başlangıç şartları olarak daha önce tespit edilmiş şartlarda (pH ve NaCl) farklı Zeolit boyutlarının (0-1 mm ile 1-3 mm) ve miktarlarının (10, 20 ve 30 mg Zeolit / L besi yeri) biyomasa etkisi araştırılmıştır.

#### **3.2.2 Göl suyu ile yapılan biyomas eldesi çalışmaları**

Tuz gölünden alınan su örnekleri laboratuvara getirilerek öncelikle 1 gün kadar asılı bulunan parçacıkların çökmesi için bekletilmiştir. Bunda sonra sular kaba filtreden geçirilmiş ve denemelerde bu su kullanılmıştır. Göl suyu ile yapılan bütün denemeler

steril olmayan ortamda gerçekleştirilmiştir. Tuz gölünden alınan su örneği %32 tuz konsantrasyonuna sahip olduğundan öncelikle filtre edilmiş ve bu su 1/3 oranında damacana suyu ile sulandırılarak tuz konsantrasyonu yaklaşık olarak %20 civarına ayarlanmıştır. Aşağıdaki farklı şartlar ile pH 9'da, 50 milyon hücre başlangıç inokülüm miktarında T1, T2 ve T4 izolatları ile denemeler yapılmıştır.

Her üç izolat için 6 farklı ortam denenmiştir (GS = Göl suyu, d-su= damacana suyu):

- a) %100 Johnson besi yeri (non-steril olarak kontrol amacıyla)
- b) 2/3 GS + 1/3 d-su + Katkılar (NaHCO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KNO<sub>3</sub>, Fe-Solüsyonu ve Eser Element Solüsyonu Johnson besi yerindeki oranlar olarak eklenmiştir)
- c) 2/3 GS + 1/3 d-su
- d) %25 Johnson + %75 GS
- e) %50 Johnson + %50 GS
- f) %75 Johnson + %25 GS

### **3.2.3 Laboratuvar tipi açık havuz sistemi tasarımı, biyomas üretimi ve boya giderimi**

*Dunaliella* türlerinin açık havuzlarda üretimi günümüzde birkaç ülkede yapılmakta ve mikro alglerle yapılan biyomas üretim çalışmaları hem enerji eldesi hem de CO<sub>2</sub>'nin emisyonu açısından günden güne daha popüler hale gelmektedir.

Bu bağlamda laboratuvar tipi 4 L ve 40 L kapasiteli iki adet açık havuz sistemi tasarlanmıştır.

4 L kapasiteli havuz 40 x 20 x 8 cm (en x boy x yükseklik) 8mm et kalınlığı olan camdan yapılmıştır. Havuzdaki suyu karıştırmak üzere de uygun boyutlarda 4 kürekli pedalli su değirmeni tasarlanmış ve bunun için dakikada 0-70 devir yapabilecek ayarlanabilir motor sistemi eklenmiştir.

40 L kapasiteli havuz 100 x 50 x 12 cm (en x boy x yükseklik) 8mm et kalınlığı olan camdan yapılmıştır. Havuzdaki suyu karıştırmak üzere de uygun boyutlarda 4 kürekli

pedalli su değirmi tasarlanmış ve bunun için dakikada 0-70 devir yapabilecek ayarlanabilir motor sistemi eklenmiştir.

4 L'lik havuz sistemine erlenlerle yapılan deneme sonucunda Tuz gölü su örneğinde en iyi gelişim gösteren izolat (T2) ve ortamı (2/3 GS + 1/3 d-su + Katkılar, pH 9'da) ile deneme başlatılmıştır. Deney oda sıcaklığında, 30 devir / dakika karıştırma hızında ve 1000 lüks ışık şiddetinde başlatılmıştır. Buna ilaveten 4L'lik havuzdan elde edilen biyomas yine aynı şartlarda göl suyu ile 40 L'lik havuza aktarılarak ölçek büyütme denemeleri yapılmıştır.

Göl suyu ile yapılan biyomas arttırma çalışmalarında zeolitlerin etkisi de araştırılmıştır. Hem erlende hem de 4L'lik havuzlarda 20 mg/L zeolit konsantrasyonunda ve pH 9'da biyoması arttırma çalışmaları yapılmıştır.

Johnson besi yeri ile yapılan zeolitli ve biyomaslı Remazol Mavisi giderim çalışmalarından elde edilen bulgular dahilinde 4L'lik havuzda 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonu ve başlangıç hücre sayısı  $250 \times 10^6$  h/ 100 ml besi ortamı olacak şekilde pH 9'da, 30 devir/ dk karıştırma hızında boya giderim deneyi yapılmıştır.

### **3.3 Analiz Yöntemleri**

#### **3.3.1 Boyaların analizi**

İnkübasyon süresi boyunca belirli zaman aralıklarında alınan örnekler (4 ml) konik santrifüj tüplerine konarak 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj (Hettich zentrifugen EBA 12 model) edilmiştir. Shimadzu UV – 1201V Spektrofotometre, Johnson besiyeri ile analiz öncesinde sıfırlanmıştır. Boyaların analizinde üst sıvıdan 3 ml alınarak absorbans değeri 600 nm (Remazol Mavi için), 495 nm (Reaktif Kırmızı RB için) ve 590 nm (Reaktif Siyah B için) dalga boyunda okunarak ve her ölçüm zamanında yeni olarak hazırlanan standartlardan bir standart eğri oluşturularak örneklerdeki boya miktarları hesaplanmıştır.

Örnek standart eğrilerden birer tanesi EK 1'de verilmiştir.

### **3.3.2 Optik yoğunluğun belirlenmesi**

Kültürden alınan örneklerden yapılan inceleme sonucunda maksimum absorbansın 680 nm'lik dalga boyunda olduğu saptanmıştır. İnkübasyon süresi boyunca Johnson sıvı besiyerinde kültürlerin gelişmesi belirli aralıklarla bu dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Ayrıca optik yoğunluk değerleri hücre sayısının belirlenmesinde kullanılan standart eğrilerin hazırlanmasında da kullanılmıştır. 680 nm'lik optik yoğunluk değeri biyomas çalışmalarında hücrelerin gelişmesini takip etmek amacıyla kullanılmıştır.

### **3.3.3 Hücre sayısının belirlenmesi**

Farklı optik yoğunluk değerlerindeki sayısının belirlenmesi için optik yoğunluğu yaklaşık 2 olan sıvı alg kültürü seri dilüsyonlara tabi tutulmuştur. Her dilüsyonun optik yoğunluk değeri belirlendikten sonra üç defa Thoma lamı ile sayım yapılarak hücre sayısının ortalaması alınmıştır. Seyreltilmiş bu örneklerden elde edilen absorbanslara karşılık belirlenmiş olan ortalama hücre sayıları ile EK 2'de gösterilen bir standart eğri oluşturulmuştur. Bundan sonra bu standart eğri kullanılarak optik yoğunluk değerleri bulunan örneklerin hücre sayıları belirlenmiştir.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### İzolasyon ve İdentifikasyon

İzolasyon sonucu tüplerden alınan örnekler mikroskopik olarak incelemeye tabi tutulmuştur. Tüm tüplerdeki alglerin *Dunaliella* cinsine ait olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tüm tüpler bakteriyel kontaminasyon açısından da teste tabi tutulmuş ve yapılan ekim sonucunda her hangi bir kontaminasyona rastlanmamıştır.

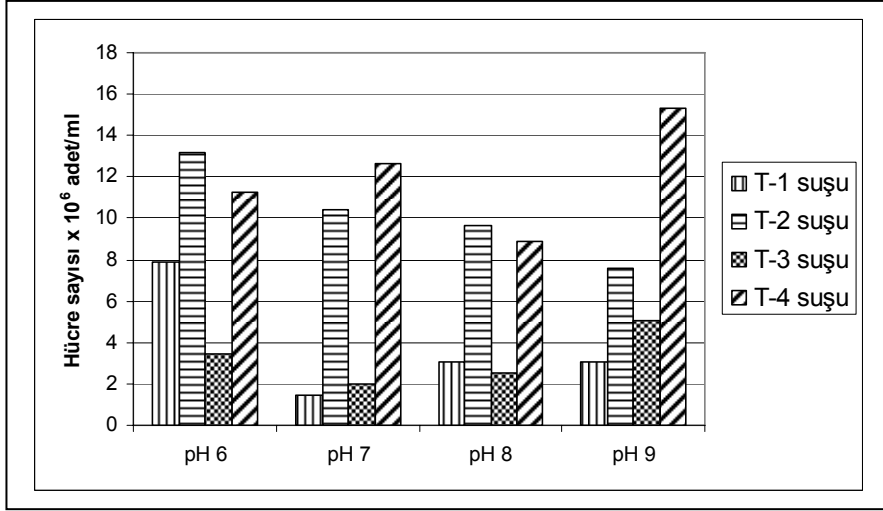
Bu süreçten sonra tüplerde gelişmiş olan algler 50 ml taze besiyeri içeren sıvı besi ortamına aktarılarak 20 – 22 °C’de 1000 lüks ışık altında inkübasyona tabi tutulmuştur ve 3 hafta içerisinde tüm erlenlerde üremenin varlığı tespit edilmiştir. Bu bağlamda T1, T2, T3, T4, 1,2,3,5,7,9,11,13,14,15,21,22 ile A,B,C,D,E,F,G,H,I ve K olmak üzere toplam 26 adet yeni izolat saf kültür olarak elde edilmiştir. Bu izolatlarda daha iyi gelişim gösteren 4 adet izolat ( T1, T2, T3 ve T4) boya giderimi ve biyomas çalışmalarında kullanılmıştır.

Saflaştırılan tek koloniler %20 NaCl içeren Johnson sıvı besiyerine ekilmiştir. İnkübasyon sonucu yapılan mikroskopik incelemelerde kültürler morfolojik yapılarına göre identifiye edilmiştir. İzolatların mikroskopik incelemelerinde bunların tek hücreli, yeşil renkte, hücre duvarı bulunmayan, bir adet büyükçe kupa şeklindeki kloroplastı olan ve iki eşit büyüklükteki kamçısı ile hareket eden *Dunaliella* cinsine ait oldukları tespit edilmiştir.

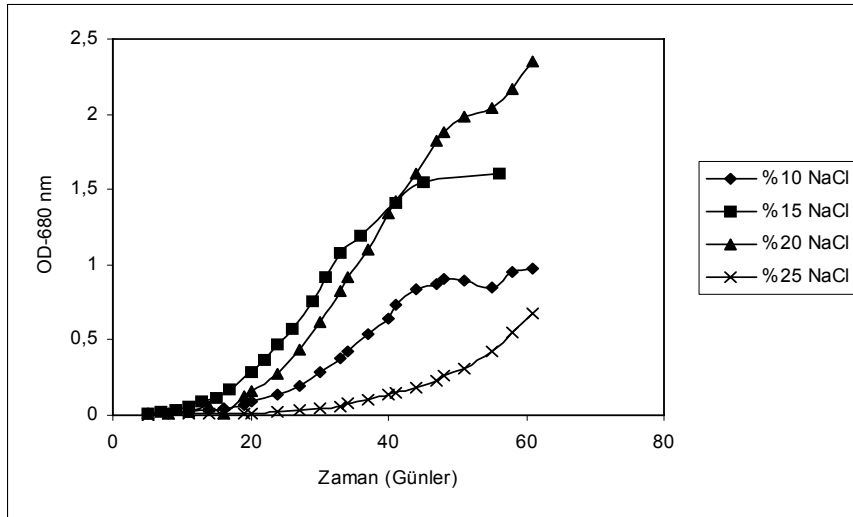
Tuz gölünden izolasyon çalışmaları ve bu izolasyonlar sonucu en iyi gelişim gösteren 4 farklı izolat kullanılarak 3 farklı boya gideriminin hangi başlangıç pH’da en iyi giderimi yaptığı belirlenmiştir. Bu bağlamda Remazol Mavi, Reaktif Kırmızı RB ve Reaktif Siyah B boyalarının sonuçlarına baktığımızda, genelde Remazol Blue boyasını en iyi giderdiği ve bunu pH 9’da yaptığı belirlenmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere Remazol Mavi boyası seçilmiştir.

### *Dunaliella* spp. seçimi

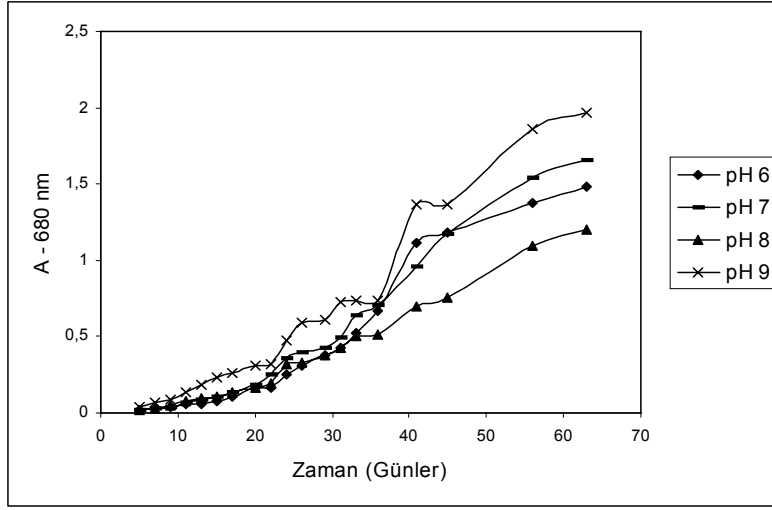
Daha önce yapılmış olan çalışmalarda *Dunaliella* cinsine ait türlerin %15 – 20 NaCl konsantrasyonunda ve pH 6 ile pH 9’da en iyi olarak geliştiği belirlenmişti. Aşağıdaki şekillerde bu durum açıkça görülmektedir.



Şekil 4.1 *Dunaliella* izolatlarının farklı pH'lardaki hücre sayıları (Lüx:1000, sürekli flöresan ışık, T: 20-22°C, NaCl: %15)



Şekil 4.2 Farklı NaCl konsantrasyonlarının *Dunaliella* sp. T-2 izolatının gelişimine etkisi (pH 6, Lüx:1000, sürekli flöresan ışık, T: 20-22 °C)



Şekil 4.3 *Dunaliella* sp. T-4 izolatının farklı pH'lardaki gelişimi (Lüx:1000, sürekli flöresan ışık, T: 20-22°C, NaCl: %15)

Daha önce yapılan denemelerde *Dunaliella* cinsine ait türlerin pH 6 ve pH 9'da en iyi gelişim gösterdiği bulunmasına rağmen boya giderimlerinde pH'ın farklı etki oluşturabilme ihtimalinden dolayı her üç boya için 4 farklı pH denemesi yapılmıştır ve en iyi giderimin hangi pH'da olduğu belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca bu denemede hücrelerin hangi boyayı da en iyi giderdiği belirlenmiş ve sonraki denemelere sadece seçilen bir boya ile devam edilmiştir.

pH'ın etkisi belirlendikten sonra uygun pH seçilerek farklı boya konsantrasyonlarında giderim hızlarına bakılmıştır. Giderimin hızını yada daha kısa sürede daha fazla boyanın giderimini gerçekleştirmek amacıyla farklı başlangıç hücre konsantrasyonlarının boya giderimine etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca belirlenen başlangıç hücre konsantrasyonu ile inokülüm gerçekleştikten sonraki ilk 120 saatlik inkübasyon periyodunda boyanın giderim hızına bakılmıştır.

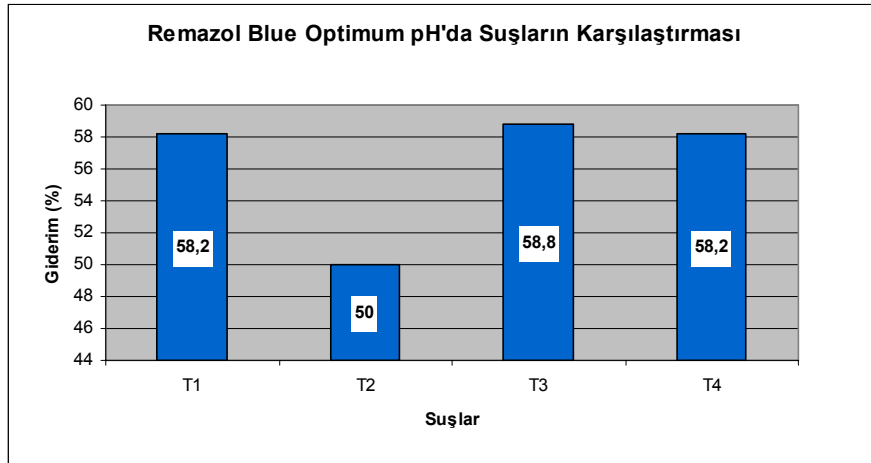


## 4.1 Boya Giderim Çalışmaları

Bu amaçla Remazol Mavisi, Reaktif Kırmızı RB ve Reaktif Siyah B boya ları kullanıldı. Bu çalışmanın amacı en iyi boya gideriminin hangi başlangıç pH'da olduğunu belirlemektir. Örnekler 6, 7, 8 ve 9 olmak üzere dört farklı pH'da, 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda 40 gün kadar inkübasyona bırakıldı. Örnekler 3 paralel olarak çalışıldı. 250 ml'lik erlenlerde 100 ml sıvı Johnson besiyerine 10 milyon hücre kadar ekim yapıldı. Örneklerin inkübasyonu sürekli ışık altında, iklim dolabında  $30 \pm 2^\circ \text{C}$ 'de yapıldı. Erlenler manüel olarak günde bir defa karıştırıldı.

### 4.1.1 Remazol Mavi giderimine pH'ın etkisi

Genel itibari ile tüm suşlar pH 9'da en iyi boya giderimini gerçekleştirmişlerdir. Boya giderimi, oluşan biyomasla doğru orantılıdır ve tüm suşlar pH 9'da biyomas olarak en fazla gelişmeyi göstermişlerdir. Tüm izolatlara baktığımızda 40 günlük inkübasyon periyodunun ilk 20 gününde, oransal olarak, ikinci 20 güne göre daha yüksek miktarda boya giderimi gerçekleşmiştir. İnkübasyon periyodu sonunda T1 izolatu 50 ppm başlangıç konsantrasyonun %58,2'sini kullanarak ortamdaki boyayı 20,9 ppm'e düşürmüştür. T2 izolatu %50'sini kullanarak ortamdaki boyayı 25 ppm'e, T3 izolatu %58,8'ini kullanarak ortamdaki boyayı 20,6 ppm'e ve T4 izolatu da %58,2'sini kullanarak ortamdaki boyayı 20,9 ppm'e düşürmüştür. Sonuç itibari ile T1, T3 ve T4 suşları pH 9'da en iyi boya giderimini sağlamışlardır.

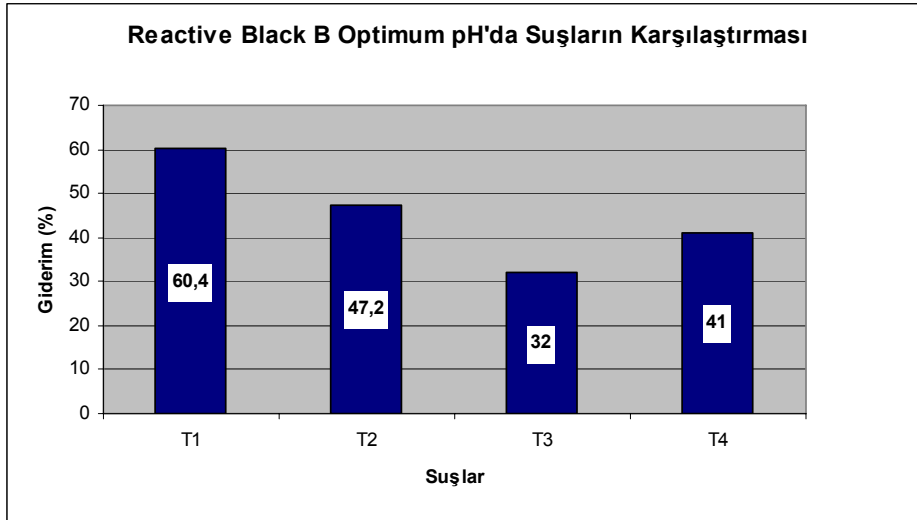


Şekil 4.4 Remazol Mavi'nin optimum pH'da, izolatların 40. günündeki maksimum gideriminin karşılaştırılması

#### 4.1.2 Reaktif Siyah B giderimine pH'n etkisi

Genel itibari ile tüm izolatlar pH 9'da en iyi boya giderimini gerçekleştirmiştir. Boya giderimi oluşan biyomasla doğru orantılıdır ve tüm izolatlar pH 9'da biyomas olarak en fazla gelişmeyi göstermiştir. Tüm izolatlara baktığımızda 40 günlük inkübasyon periyodunun ilk 20 gününde, oransal olarak, ikinci 20 güne göre daha yüksek miktarda boya giderimi gerçekleşmiştir.

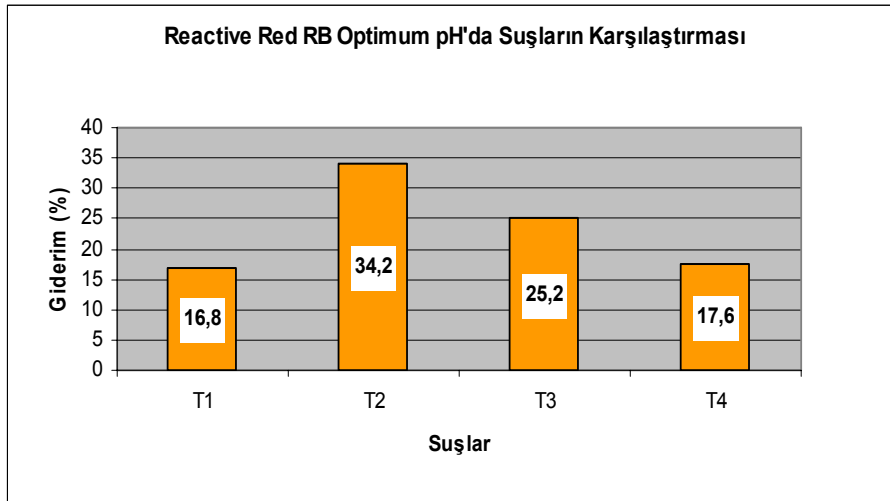
İnkübasyon periyodu sonunda T1 izolatu 50 ppm başlangıç konsantrasyonunun %60,4'ünü kullanarak ortamdaki boyayı 19,8 ppm'e düşürmüştür. T2 izolatu %47,2'sini kullanarak ortamdaki boyayı 26,4 ppm'e, T3 izolatu %32'sini kullanarak ortamdaki boyayı 34 ppm'e ve T4 izolatu da % 41'ini kullanarak ortamdaki boyayı 29,5 ppm'e düşürmüştür. Sonuç itibari ile T1 izolatu pH 9'da en iyi boya giderimini sağlamıştır.



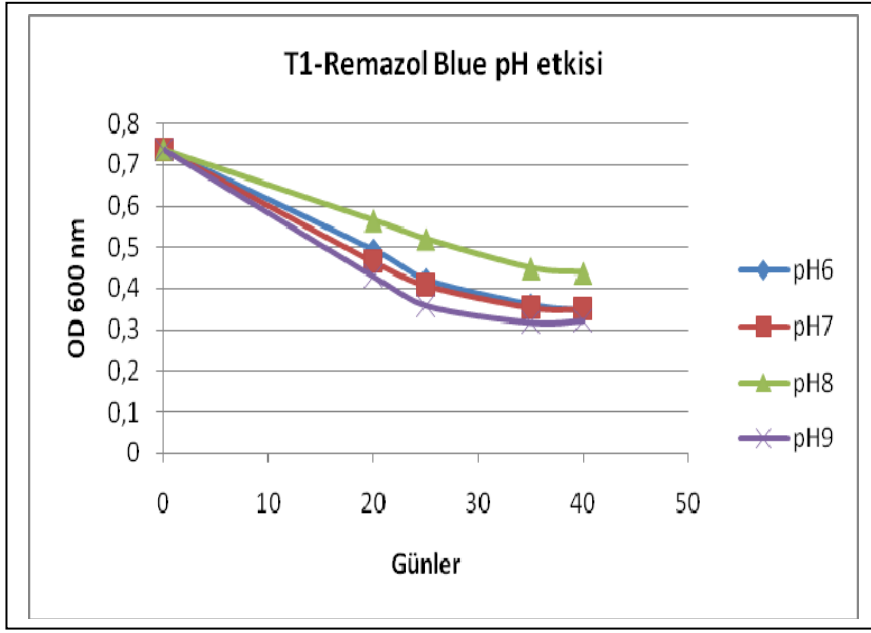
Şekil 4.5 Reaktif Siyah B'nin optimum pH'da, izolatların 42. gündeki maksimum gideriminin karşılaştırılması

#### 4.1.3 Reaktif Kırmızı RB Giderimine pH'ın etkisi

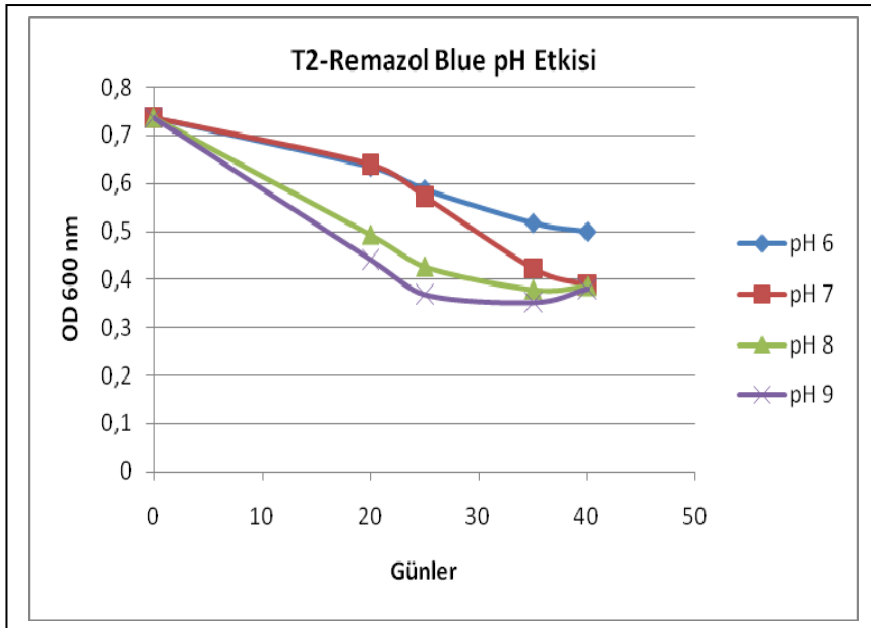
Diğer iki boyadan farklı olarak Reaktif Kırmızı RB gideriminde, ilk 20-30 günlük inkübasyonda giderim olduğu halde inkübasyonun ikinci 20 gününde her izolat için farklı olmak üzere desorbsiyon olayı görülmüştür. Biyomas artışı olmasına rağmen desorbsiyon olayı gerçekleşmiştir. İnkübasyon periyodu on gün daha uzatılarak 50. gün verileri alındığında ilk 20-30 günde giderimi yapılan boyanın, biyomas artışının devam etmesine rağmen desorbsiyon olayının devam ettiği görülmüştür. Bu bağlamda ilk 20-30 günlük periyoda baktığımızda T1, T3 ve T4 izolatlarının pH 6'da, T2 izolatının pH 9'da en iyi giderimi gerçekleştirdiği görülmüştür. 28. gün yapılan ölçümlere baktığımızda T1 izolatı 50 ppm başlangıç konsantrasyonunun %16,8'ini kullanarak ortamdaki boyayı 41,6 ppm'e, T2 izolatı %34,2'sini kullanarak ortamdaki boyayı 32,9 ppm'e, T3 izolatı %25,2'sini kullanarak ortamdaki boyayı 37,4 ppm'e ve T4 izolatı da % 17,6'sını kullanarak ortamdaki boyayı 41,2 ppm'e düşürmüştür. Sonuçta en iyi Reaktif Kırmızı RB boya giderimini T2 izolatı pH 9'da gerçekleştirmiştir.



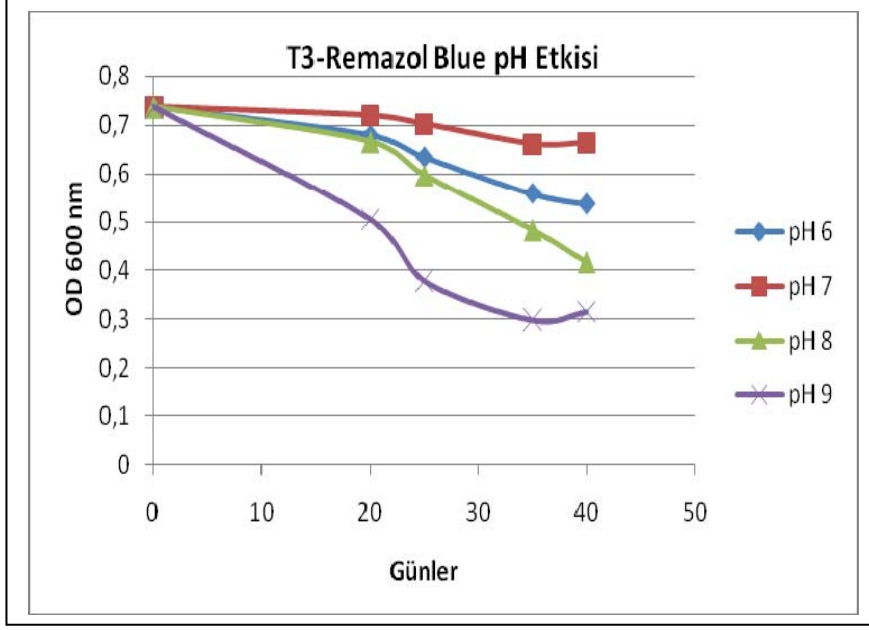
Şekil 4.6 Reaktif Kırmızı RB'nin optimum pH'da, izolatların 28. gündeki maksimum gideriminin karşılaştırılması



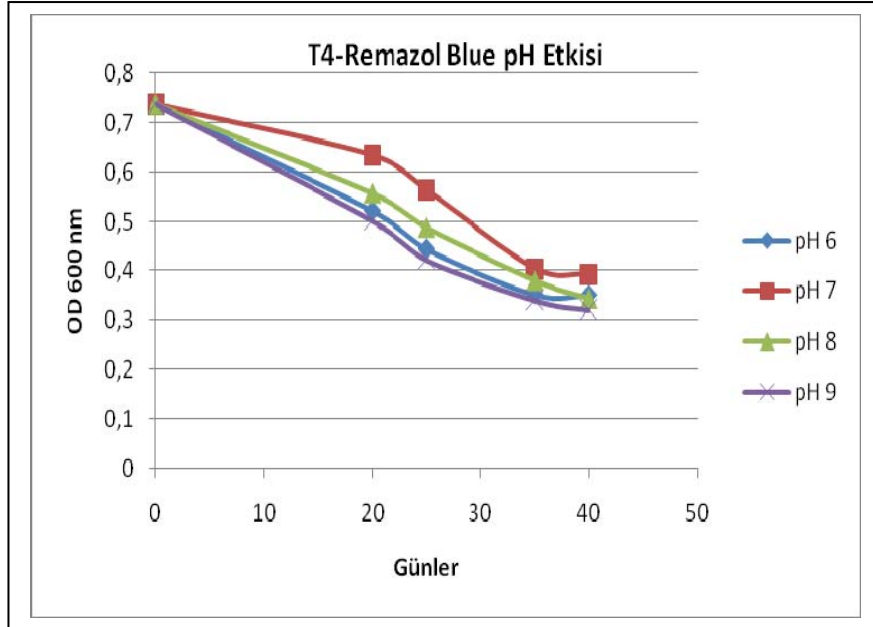
Şekil 4.7 T1 izolatu ile yapılan Remazol Mavi giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



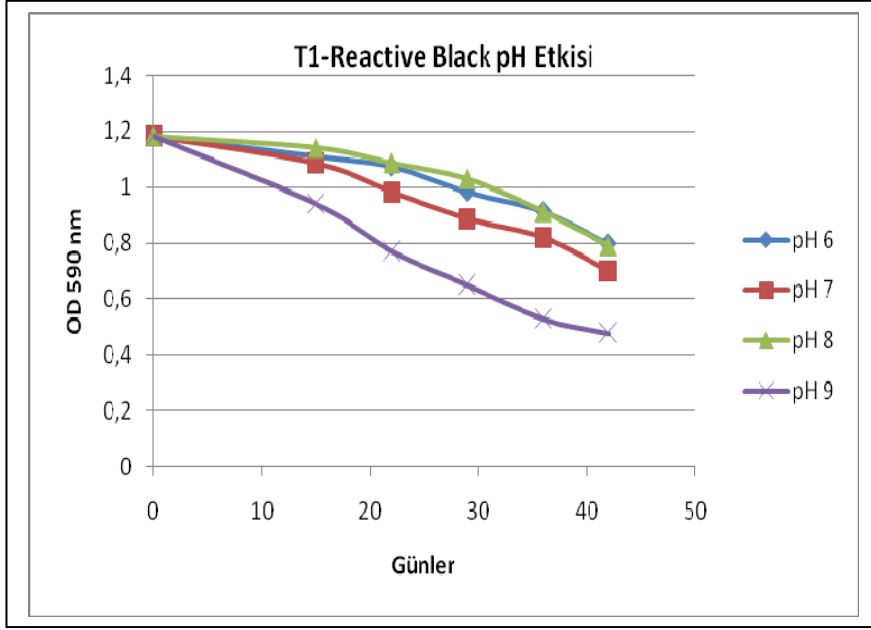
Şekil 4.8 T2 izolatu ile yapılan Remazol Mavi giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



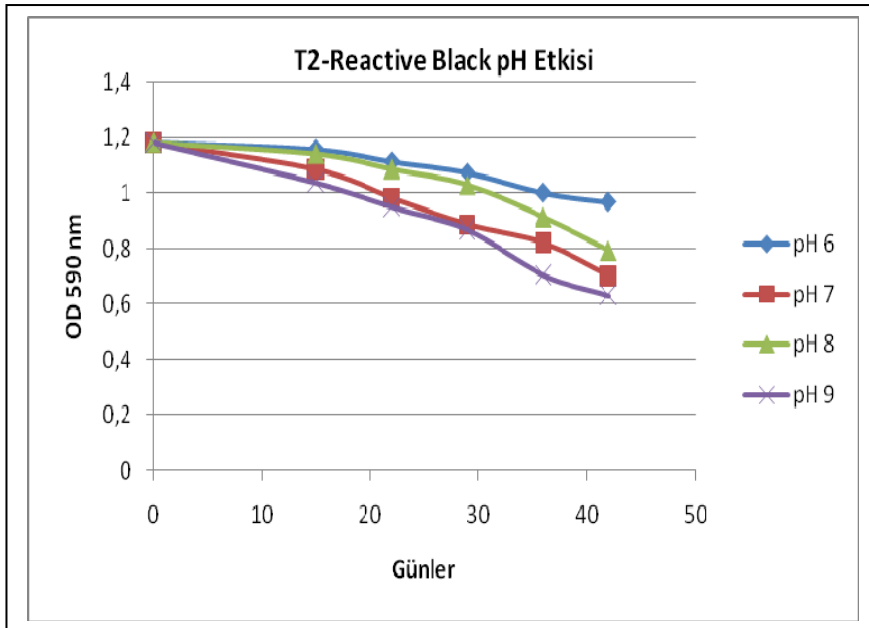
Şekil 4.9 T3 izolatu ile yapılan Remazol Mavi giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



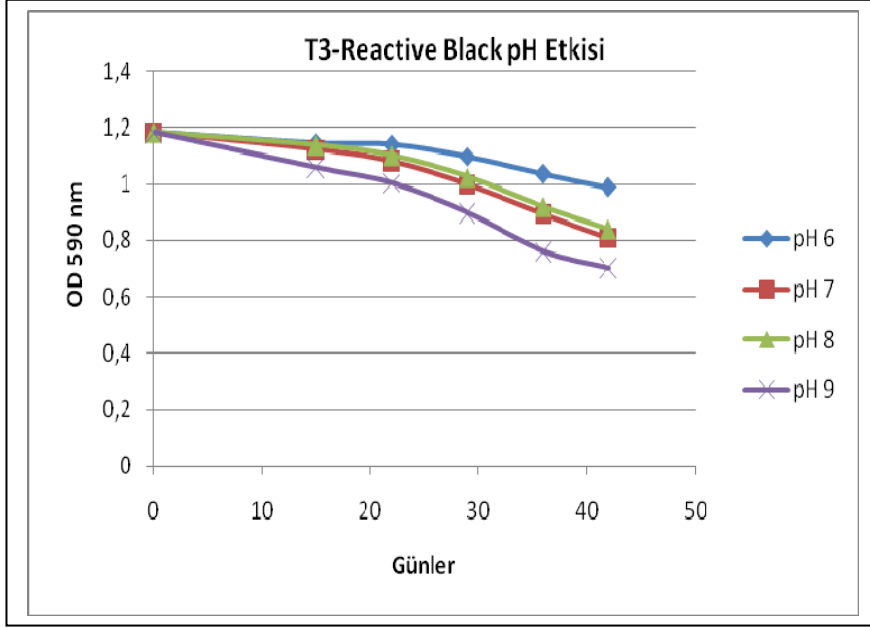
Şekil 4.10 T4 izolatu ile yapılan Remazol Mavi giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



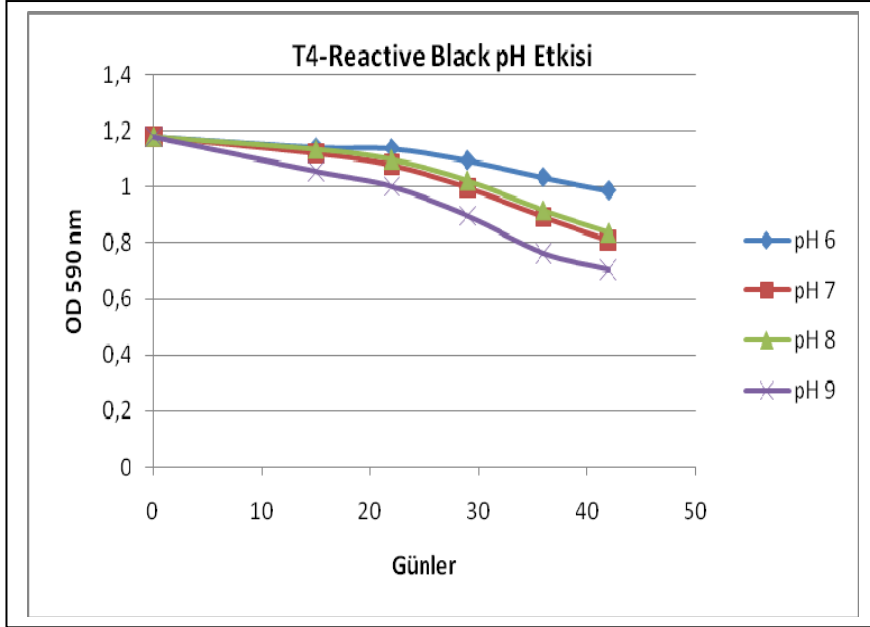
Şekil 4.11 T1 izolatu ile yapılan Reaktif Siyah B giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



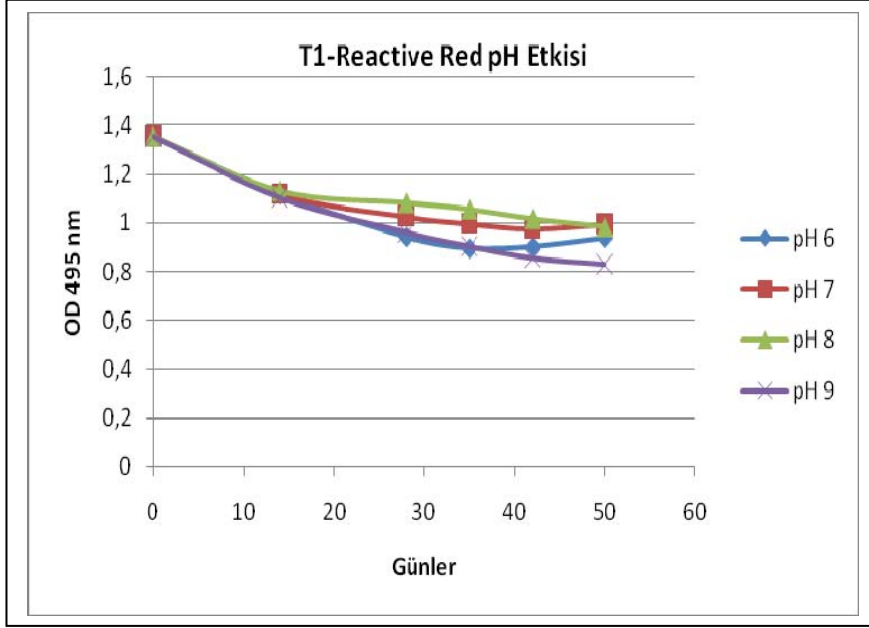
Şekil 4.12 T2 izolatu ile yapılan Reaktif Siyah B giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



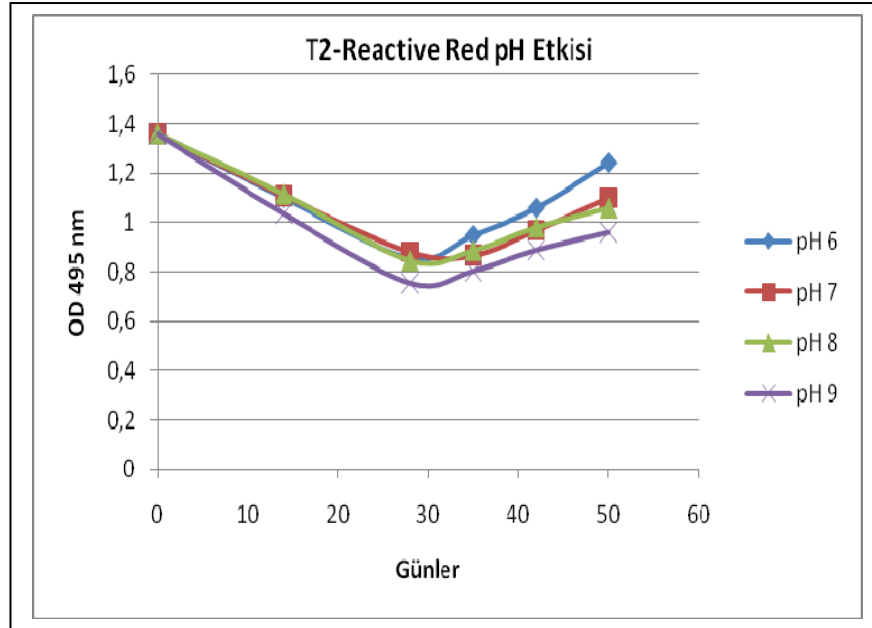
Şekil 4.13 T3 izolatu ile yapılan Reaktif Siyah B giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



Şekil 4.14 T4 izolatu ile yapılan Reaktif Siyah B giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)

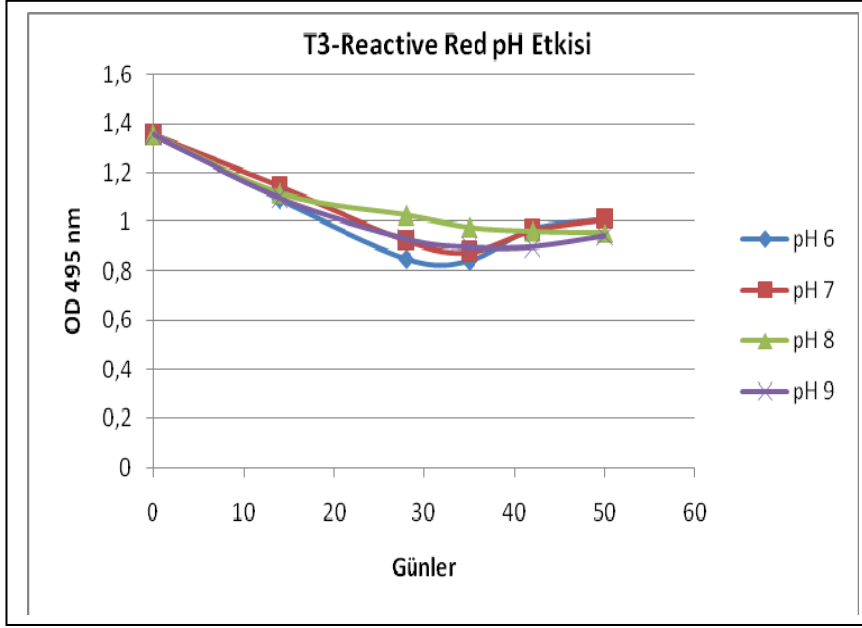


Şekil 4.15 T1 izolatu ile yapılan Reaktif Kırmızı RB giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)

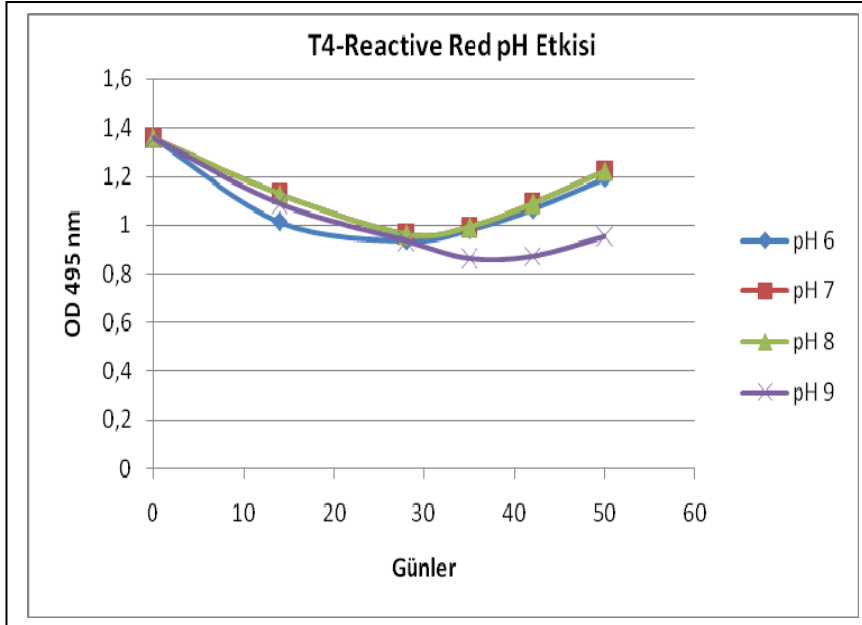


Şekil 4.16 T2 izolatu ile yapılan Reaktif Kırmızı RB giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)





Şekil 4.17 T3 izolatu ile yapılan Reaktif Kırmızı RB giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



Şekil 4.18 T4 izolatu ile yapılan Reaktif Kırmızı RB giderimine başlangıç pH'ın etkisi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)

#### 4.2 Farklı Remazol Mavi Konsantrasyonlarında *Dunaliella spp.*'nin Giderimi

Bu bağlamda 34 adet yeni izole edilmiş suşdan önceki deneyde kullanılan 4 adet izolat ( T1, T2, T3 ve T4) farklı Remazol Mavi konsantrasyonu giderimi çalışmalarında kullanılmıştır.

Bu amaçla 50, 75 ve 100 ppm konsantrasyonlarda, pH 9'da, 60 gün kadar inkübasyona bırakıldı. Örnekler 3 paralel olarak çalışıldı. 250 ml'lik erlenlerde 100 ml sıvı Johnson besiyerine 10 milyon hücre kadar ekim yapıldı. Örneklerin inkübasyonu sürekli ışık altında, iklim dolabında  $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de yapıldı. Erlenler manüel olarak günde bir defa karıştırıldı.

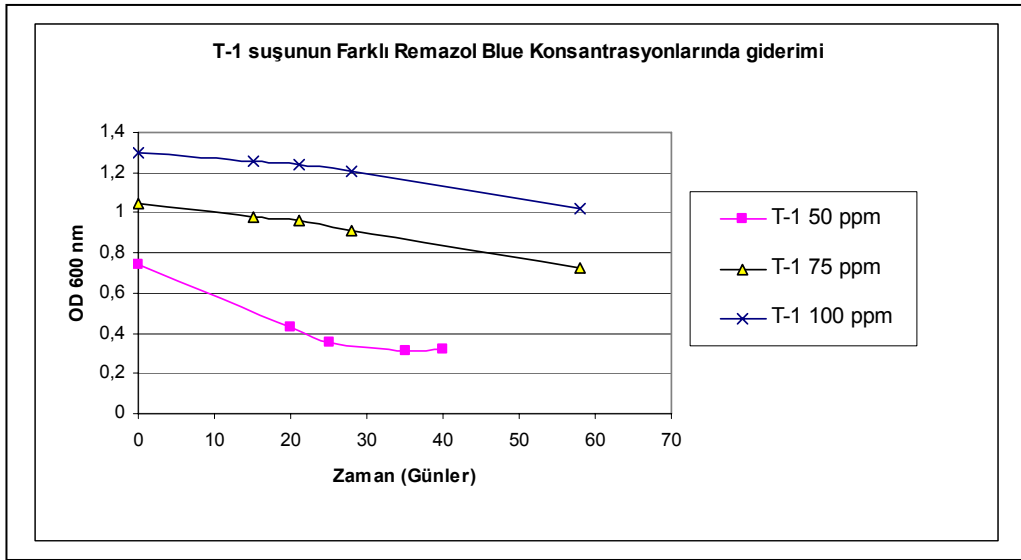
Genel itibari ile tüm suşlar aynı başlangıç boya konsantrasyonlarında benzer giderim eğrileri oluşturmuşlardır. 50 ppm'de, 75 ve 100 ppm'e göre giderimin hem daha hızlı olduğu ve sürenin daha kısa olduğu görülmüştür. Genellikle 30. güne kadar giderimin daha hızlı olduğu (eğim daha büyük) ve 30. günden itibaren yavaşladığı, hatta kimi şartlarda iyice duraksadığı aşağıdaki şekillerde de görülmektedir. İnkübasyon periyodu sonunda T1, T2, T3 ve T4 izolatları ile oluşan yüzde giderim ve miktarlar aşağıdaki çizelgede gibidir.

Çizelge 4.1 İnkübasyon periyodu sonunda farklı boya konsantrasyonlarında oluşan Remazol Mavi giderimi

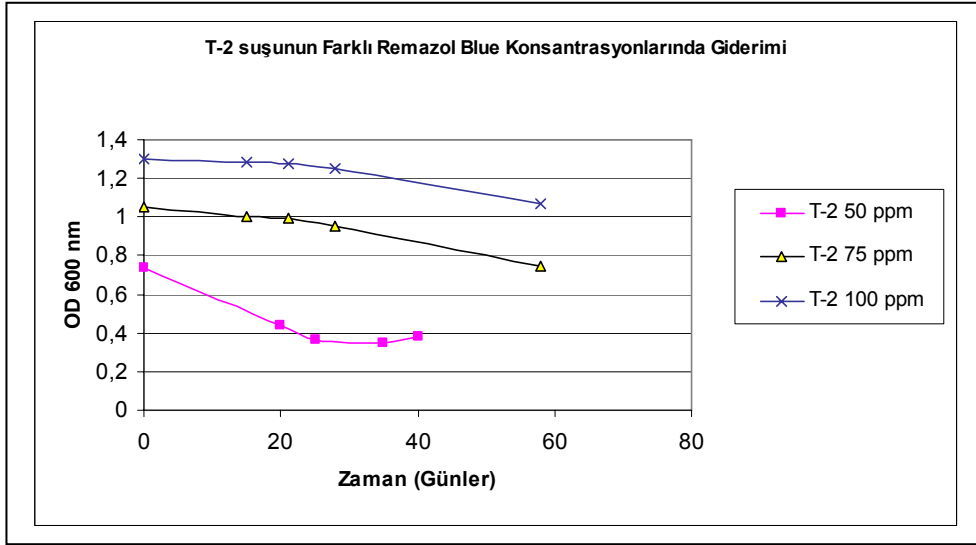
	Başlangıç Boya Miktarı (ppm)	Giderim (%)	Kalan Boya Miktarı (ppm)
T1	50	58,2	20,9
	75	32,2	50,8
	100	27,1	72,9
T2	50	50	25
	75	29,4	52,9
	100	23,1	76,9
T3	50	58,8	20,6
	75	20,8	59,4
	100	18,6	81,4
T4	50	58,2	20,9
	75	26,7	55
	100	24,4	75,6

Yukarıdaki çizelgeden de görüleceği gibi 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda en iyi giderimi T1, T3 ve T4 izolatları yapmıştır. 75 ppm ve 100 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda en iyi giderimi T1 izolatu yapmıştır.

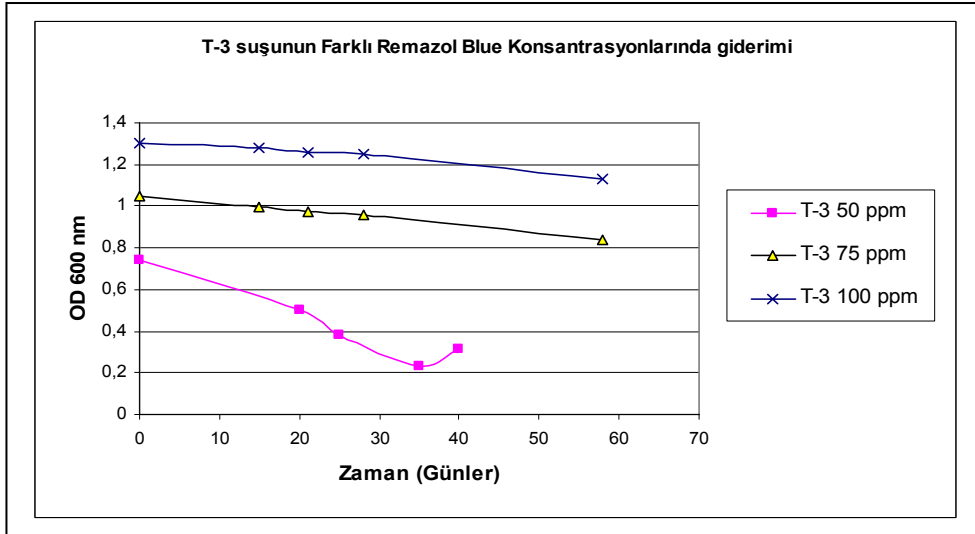
İnkübasyon peryodunun 21. gününde yapılan ölçümlerde de izolatlar içinde en iyi giderimlerin 50 ppm'de olduğu görülmüştür. Sonuç itibari ile yapılan denemelerde *Dunaliella spp.*'lerin zamana bağıli olarak en iyi giderimi 50 ppm konsantrasyonda yaptığı belirlenmiştir.



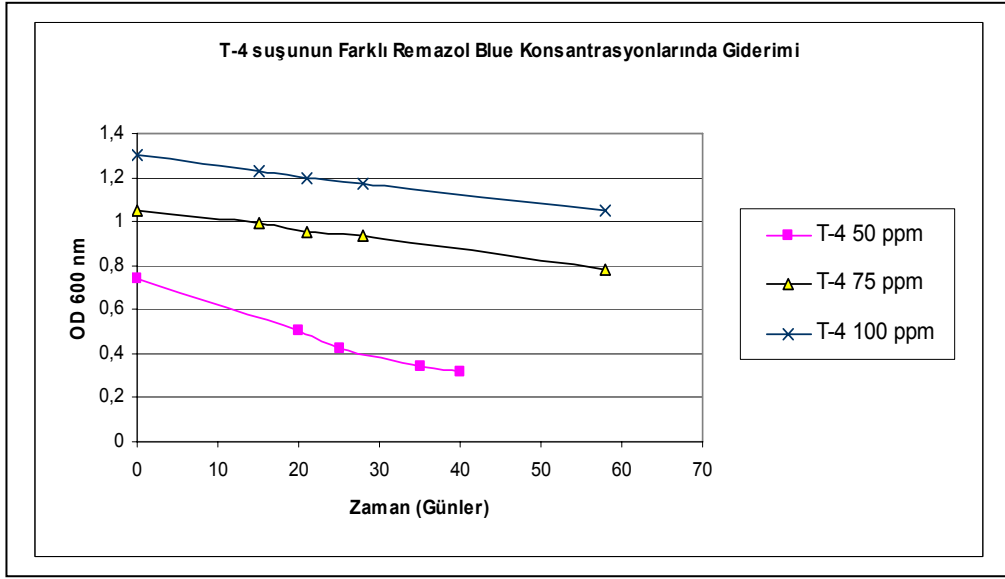
Şekil 4.19 T1 izolatının pH 9 ve %15 NaCl'de farklı Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



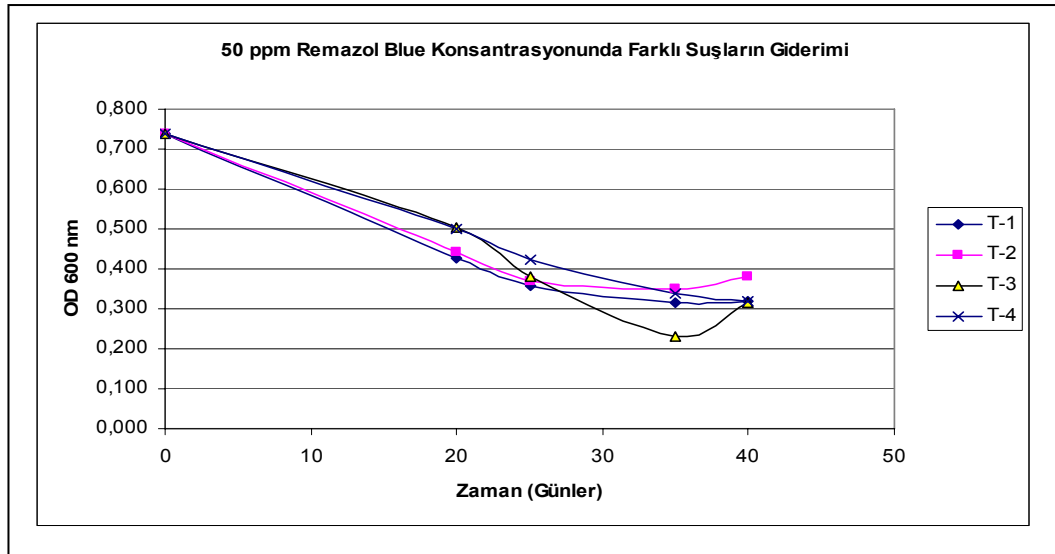
Şekil 4.20 T2 izolatının pH 9 ve %15 NaCl’de farklı Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



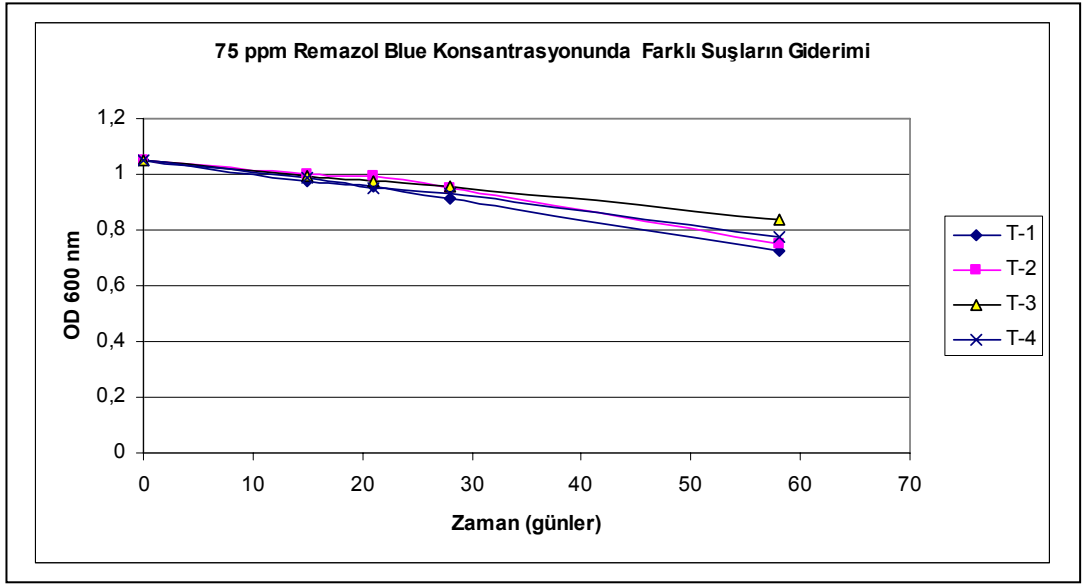
Şekil 4.21 T3 izolatının pH 9 ve %15 NaCl’de farklı Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



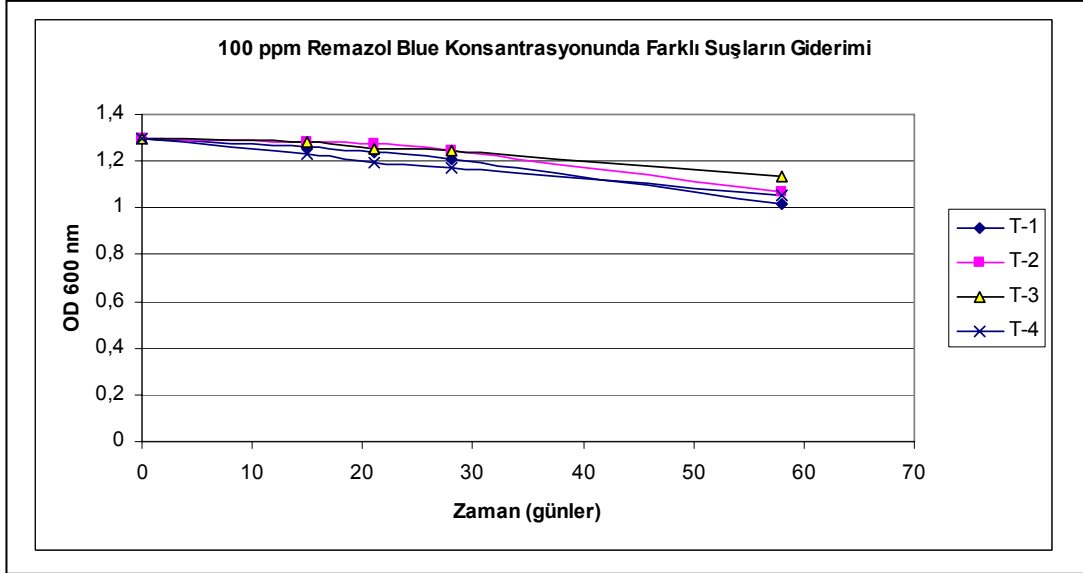
Şekil 4.22 T4 izolatının pH 9 ve %15 NaCl’de farklı Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



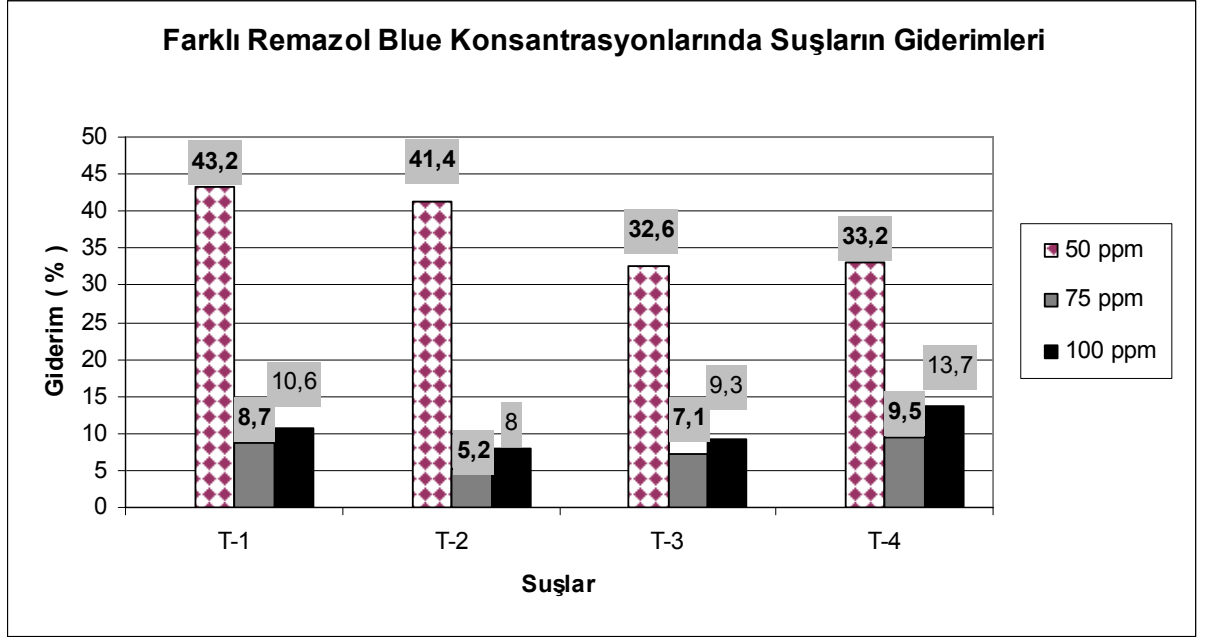
Şekil 4.23 pH 9 ve %15 NaCl’de 50 ppm Remazol Mavi konsantrasyonlarında farklı izolatların boya giderimi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



Şekil 4.24 pH 9 ve %15 NaCl'de 75 ppm Remazol Mavi konsantrasyonlarında farklı izolatların boya giderimi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



Şekil 4.25 pH 9 ve %15 NaCl'de 100 ppm Remazol Mavi konsantrasyonlarında farklı izolatların boya giderimi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



Şekil 4.26 İnkübasyon periyodunun 21. gününde pH 9 ve %15 NaCl’de farklı Remazol Mavi konsantrasyonlarında farklı izolatların boya giderimi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)

#### 4.3 Farklı Başlangıç Hücre Konsantrasyonlarının (Biyomasın) Remazol Mavi Giderimine Etkisi

Önceki yapılan denemelerde, T1 ve T4 izolatlarının iyi gelişme ve giderim gösterdiği belirlenmiş ve bu denemede her iki izolatın da biyomasın boya giderimine etkisini belirlemek amacıyla kullanılmasına karar verilmiştir. Bu amaçla 250 ml’lik erlenlerde 100 ml’lik sıvı Johnson besi yerine pH 9’da, %15 NaCl’de dört farklı konsantrasyonda başlangıç ekimi yapıldı. Örnekler 3 paralel olarak çalışıldı. Başlangıç hücre konsantrasyonu olarak;  $1 \times 10^6$ ,  $10 \times 10^6$ ,  $100 \times 10^6$  ve  $200 \times 10^6$  hücre ekildi. Remazol Mavi konsantrasyonu tüm erlenlerde aynı olup 50 ppm’dir. Örnekler  $30 \pm 2$  °C’de iklim dolabında sürekli ışık altında 60 gün kadar inkübasyona bırakıldı ve günde manüel olarak bir defa karıştırıldı.

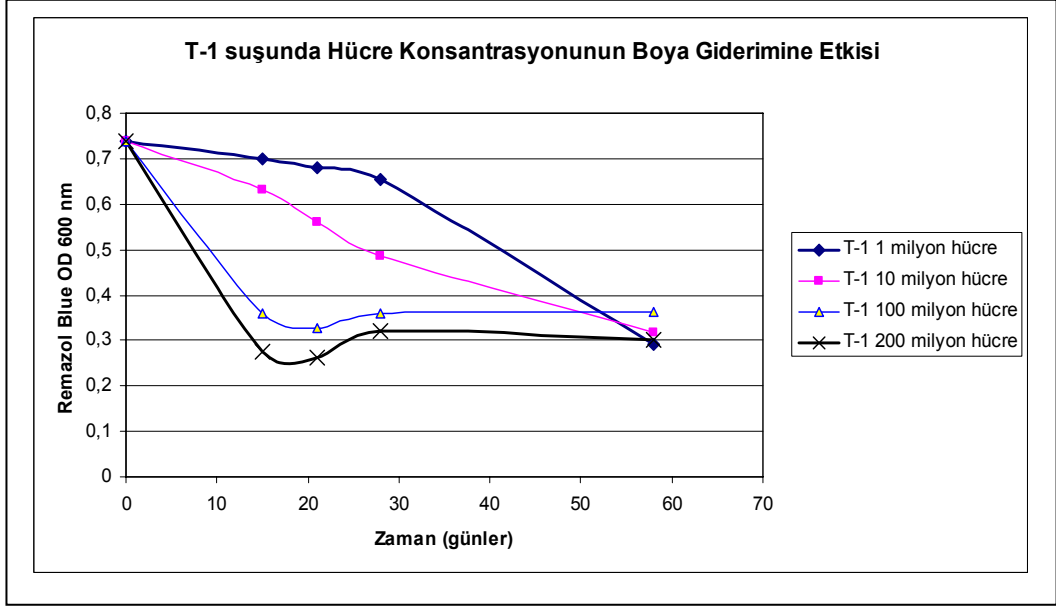
Genel itibari ile her iki izolat da artan başlangıç hücre konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak, giderimi doğru orantılı biçimde daha fazla yapmıştır. En düşük giderim  $1 \times 10^6$  hücre ile olurken, en yüksek giderim  $200 \times 10^6$  hücre ile olmuştur (inkübasyon periyodunun 30. gününde). Ancak  $100 \times 10^6$  ve  $200 \times 10^6$  hücre arasında 30. günün

sonunda hemen hemen benzer giderim eğrileri oluşmuştur. 30. günden itibaren  $100 \times 10^6$  ve  $200 \times 10^6$  hücreli örneklerde giderim iyice duraksamış,  $1 \times 10^6$  ve  $10 \times 10^6$  hücrelik örneklerde ise giderim daha hızlı bir şekilde artmış ve inkübasyon periyodunun sonuna doğru, az çok farklılıklar oluşmasına rağmen hemen hemen benzer giderimi gerçekleştirmişlerdir.

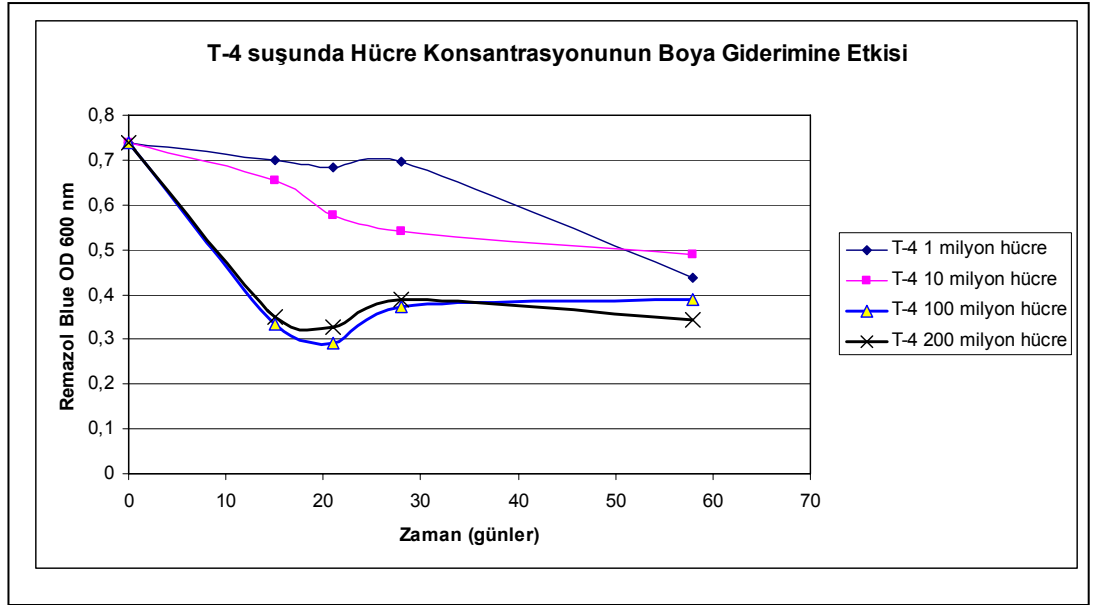
İnkübasyon periyodunun 21. gününde yapılan ölçümlerde;  $1 \times 10^6$  başlangıç hücre konsantrasyonunda 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunun, T1 izolatu % 4,8'ini kullanarak ortamdaki boyayı 47,6 ppm'e, T4 izolatu ise % 4,2'sini kullanarak ortamdaki boyayı 47,9 ppm'e düşürdüğü;  $10 \times 10^6$  başlangıç hücre konsantrasyonunda 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunun, T1 izolatu % 22,4'ünü kullanarak ortamdaki boyayı 38,8 ppm'e, T4 izolatu ise %20'sini kullanarak ortamdaki boyayı 40 ppm'e düşürdüğü;  $100 \times 10^6$  başlangıç hücre konsantrasyonunda 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunun, T1 izolatu %57,4'ünü kullanarak ortamdaki boyayı 21,3 ppm'e, T4 izolatu ise % 62,4'ünü kullanarak ortamdaki boyayı 18,8 ppm'e düşürdüğü;  $200 \times 10^6$  başlangıç hücre konsantrasyonunda 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunun, T1 izolatu % 67'sini kullanarak ortamdaki boyayı 16,5 ppm'e, T4 izolatu ise % 57,4'ünü kullanarak ortamdaki boyayı 21,3 ppm'e düşürdüğü görüldü.

Sonuç itibari ile her ne kadar başlangıç hücre konsantrasyonunun Remazol Mavi giderim hızına katkısının doğru orantılı olduğu görülse de 100 ve 200 milyon başlangıç hücreler arasında çok bariz bir fark olmadığından her ikisinin de giderimde kullanılabilceği görülmüştür. En yüksek giderimi ise T1 izolatu 200 milyon başlangıç hücre konsantrasyonu ile göstermiştir.

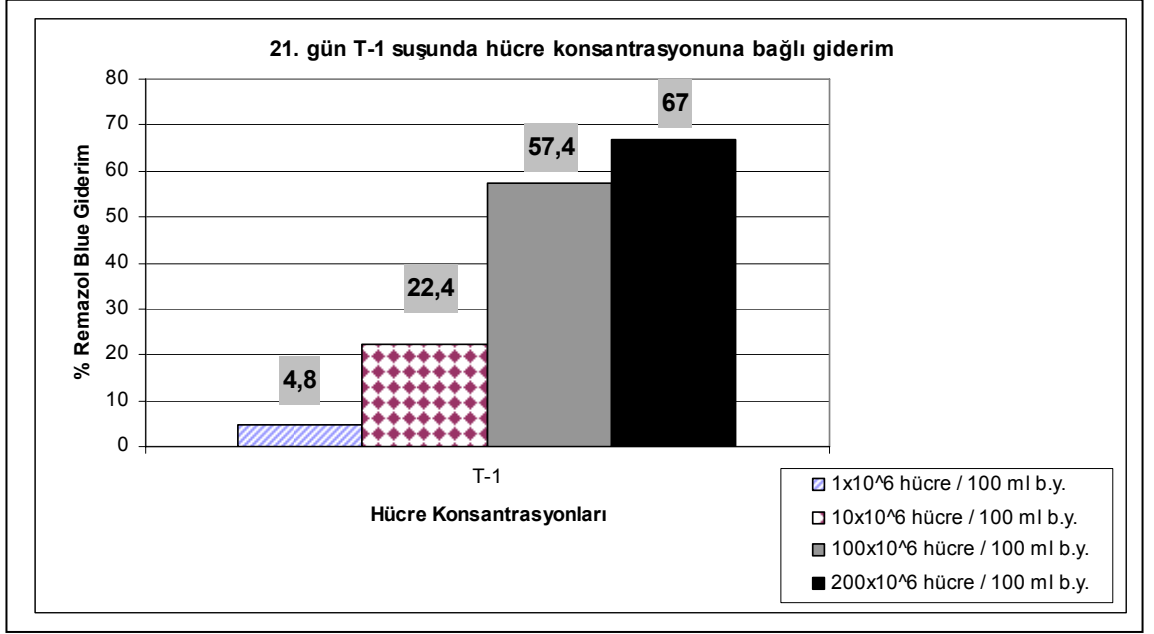




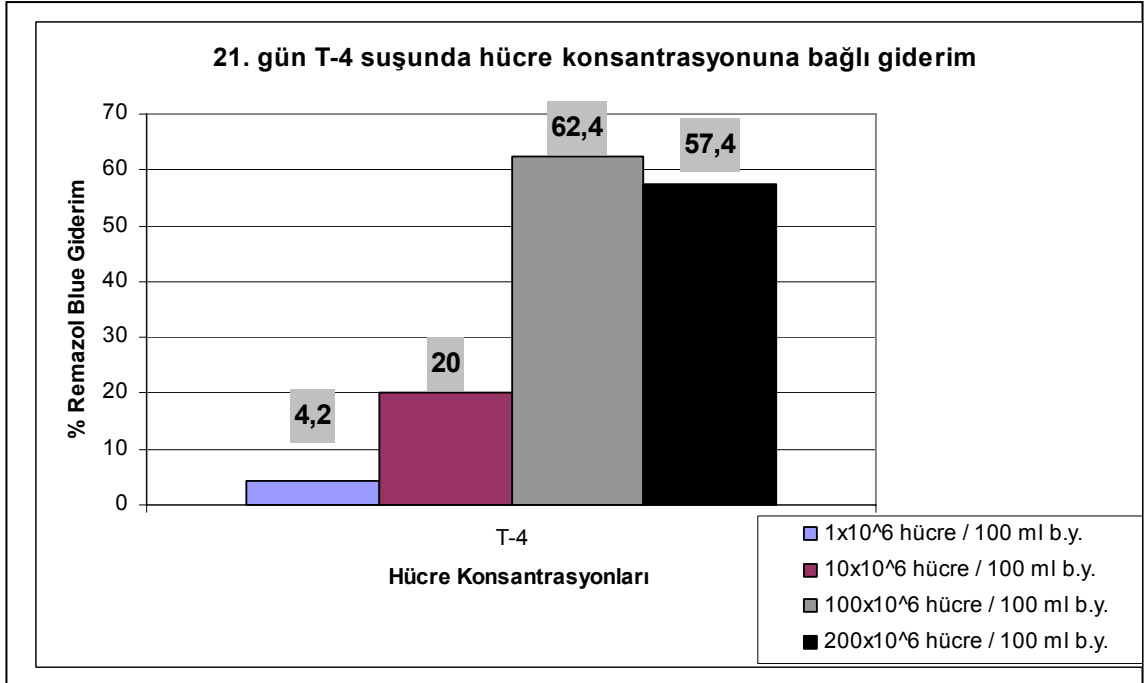
Şekil 4.27 T1 izolatu pH 9 ve %15 NaCl’de farklı başlangıç biyomas miktarlarının 50 ppm Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



Şekil 4.28 T4 izolatu pH 9 ve %15 NaCl’de farklı başlangıç biyomas miktarlarının 50 ppm Remazol Mavi konsantrasyonlarında boya giderimi (T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



Şekil 4.29 İnkübasyonun 21. gününde T1 izolatında pH 9 ve %15 NaCl'de başlangıç biyomasa göre Remazol Mavi giderimleri (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



Şekil 4.30 İnkübasyonun 21. gününde T4 izolatında pH 9 ve %15 NaCl'de başlangıç biyomasa göre Remazol Mavi giderimleri (T: 30 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)

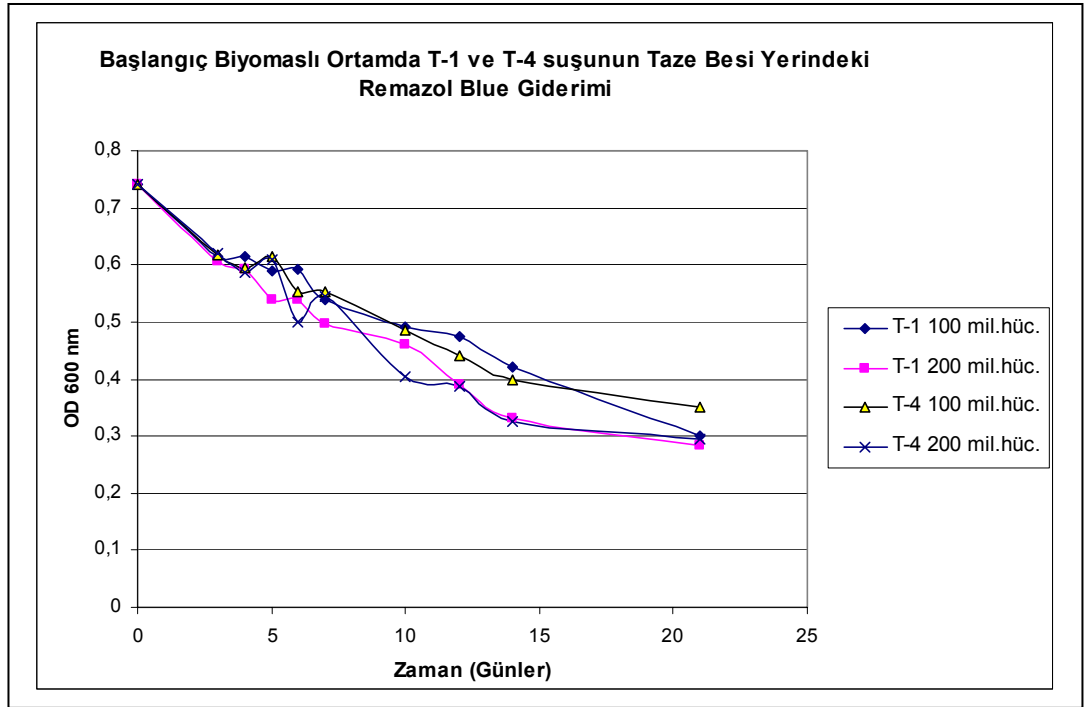
#### 4.4 Başlangıç Yüksek Biyomashlı Ortamda T1 ve T4 İzolatının Taze Besi Yerindeki Remazol Mavi Giderimi

Önceki yapılan denemede 60 günlük inkübasyon periyodunun 20 ila 30. gününe kadar (100 ve 200 milyon başlangıç hücre konsantrasyonunda) giderimin hızlıca yapıldığı, fakat 30. günden sonra duraksadığı tespit edilmiştir. Oluşan duraksamanın gelişmeye bağlı olarak metabolik atıklardan ve artan ortam stres şartlarından kaynaklanabileceğini dikkate alarak, tekrardan 100 ve 200 milyon hücre konsantrasyonunun T1 ve T4 izolatları için, taze hazırlanmış besi yerine hücreler santrifüj edilerek aktarılmış ve boya giderim hızları belirlenmeye çalışılmıştır.

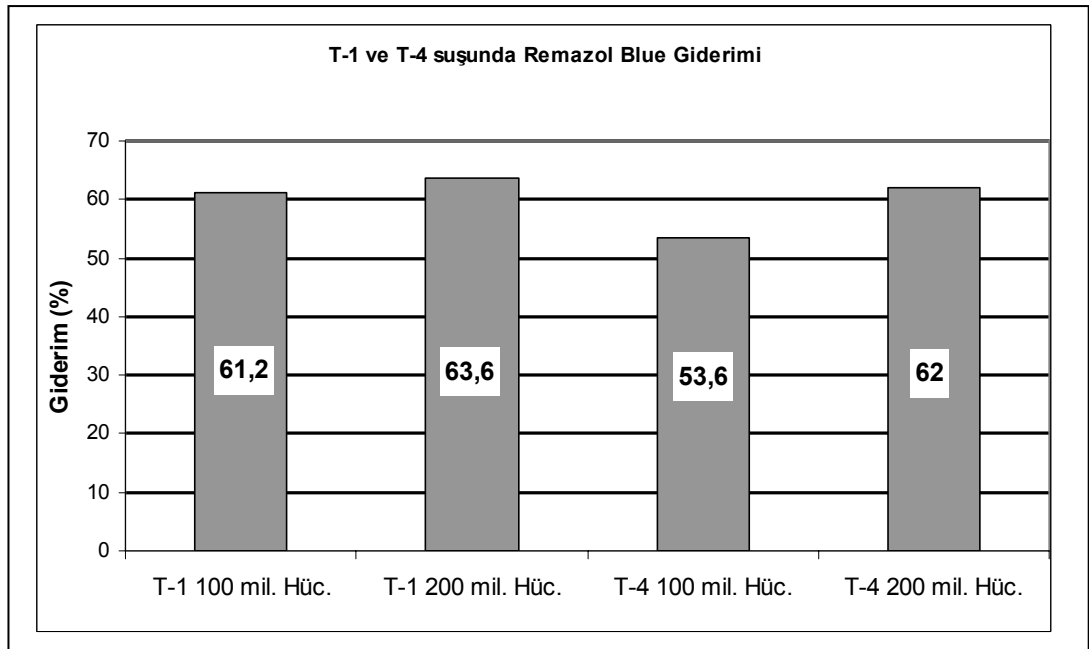
Bu amaçla 250 ml'lik erlenlerde 100 ml'lik sıvı Johnson besi yerine pH 9'da, %15 NaCl'de santrifüj edilmiş hücrelerin taze besi yerine ekimi yapıldı. Remazol Mavi konsantrasyonu tüm erlenlerde aynı olup 50 ppm'dir. Örnekler  $30 \pm 2$  °C'de iklim dolabında sürekli ışık altında 21 gün kadar inkübasyona bırakıldı ve günde manüel olarak bir defa karıştırıldı.

İnkübasyon periyodunun 21. gününde yapılan ölçümlerde, T1 izolatu, 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda,  $100 \times 10^6$  hücre başlangıç biyomas ile ortamdaki boyanın %61,2'sini kullanarak ortamdaki boyayı 19,4 ppm'e;  $200 \times 10^6$  hücre başlangıç biyomas ile ortamdaki boyanın %63,6'sını kullanarak ortamdaki boyayı 18,2 ppm'e düşürmüştür. T4 izolatu ise, 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda,  $100 \times 10^6$  hücre başlangıç biyomas ile ortamdaki boyanın %53,6'sını kullanarak ortamdaki boyayı 23,2 ppm'e;  $200 \times 10^6$  hücre başlangıç biyomas ile ortamdaki boyanın %62'sini kullanarak ortamdaki boyayı 19 ppm'e düşürmüştür.

Sonuç itibari ile 21. gün giderim değerlerine baktığımızda, 100 ve 200 milyon hücre kullanıldığında taze hazırlanmış besi yerine hücrelerin santrifüj edilerek ekilmesi ile olan stok besi yerinin taze besi yeriyle sulandırılması arasında belirlenen zaman dilimi için herhangi bir fark teşkil etmediği belirlendi.



Şekil 4.31 21 günlük inkübasyonda yüksek biyomaslı ortamda T1 ve T4 izolatının taze besi yerindeki Remazol Mavi giderim eğrileri (pH 9; %15 NaCl; T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)



Şekil 4.32 21 günlük inkübasyonda yüksek biyomaslı ortamda T1 ve T4 izolatının taze besi yerindeki Remazol Mavi giderim değerleri (pH 9; %15 NaCl; T:  $30 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti; iklim dolabında)

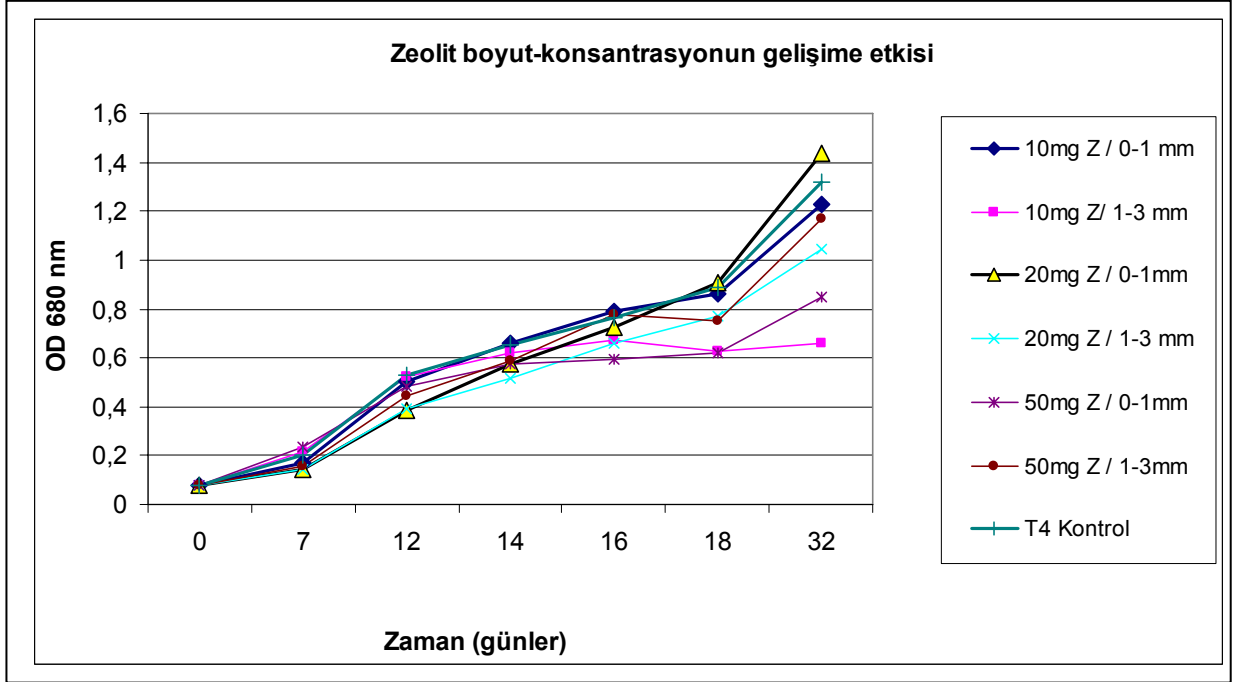
#### 4.5 Zeolitın Johnson Besi Yerinde Biyomasa Etkisi

Zeolitler doğal maddeler olup dünyanın her yerinde bulunurlar. Çok ucuz ham madde kaynaklarıdır. Dünyadaki zeolitler temel amino silikat kaynakları olarak bilinirler ve yüksek iyon değişim kapasitesine (katyon değişimi) sahiptirler. Zeolitlerin birçok kullanım alanı olmakla birlikte (çimento yapımı ve diğer inşaat işlemleri, ilaç yapımı vs. gibi) adsorpsiyon özelliklerinden dolayı ticari olarak en çok da ağır metal ve atık boya giderim işlemlerinde kullanılmaktadır.

Su kültürü işlemlerinde ise zeolitler sudaki amonyum ve diğer ağır metal iyonlarını tutarak, sudaki olası toksik etkiyi engelleyerek suyun kalitesini artırırlar. Ayrıca azot döngüsüne bağlı biyolojik proseste de rol oynamaktadırlar.

Bu amaçla biyomas artırıcı olması açısından T4 izolatu ile yapılan çalışmada 0-1 mm ve 1-3 mm boyutlarında olan ve 10, 20 ile 50 mg/L besi yeri olacak şekilde Johnson besi yerine doğal zeolitler katılarak denemeler yapılmıştır. Bu amaçla pH 9'da, 30 gün kadar inkübasyona bırakıldı. Örnekler 3 paralel olarak çalışıldı. 250 ml'lik erlenlerde 100 ml sıvı Johnson besiyerine 10 milyon hücre kadar ekim yapıldı. Örneklerin inkübasyonu sürekli ışık altında, oda sıcaklığı olan  $23 \pm 2$  ° C'de yapıldı. Erlenler manuel olarak günde bir defa karıştırıldı.

İnkübasyon periyodu sonunda, 0-1 mm boyutundaki zeolitlerde 1-3 mm'ye göre üremenin daha iyi olduğu görülmüştür. Johnson besi yerinde en iyi biyomas artışı 0-1 mm boyut, 20 mg/L ortamında sağlanmıştır. Süre sonunda kontrol grubu  $10,74 \times 10^6$  h/mL besi yeri hücre konsantrasyonuna erişirken, 20mg/L besi yeri ortamında geliştirilen T4 izolatu  $11,73 \times 10^6$  h/mL besi yeri hücre konsantrasyonuna ulaşmıştır. Bu da kontrol grubuna göre %10 kadar daha fazla bir biyomas artışı anlamına gelmektedir. İzolatu farklı ortamlardaki gelişim eğrisi aşağıdaki gibidir.



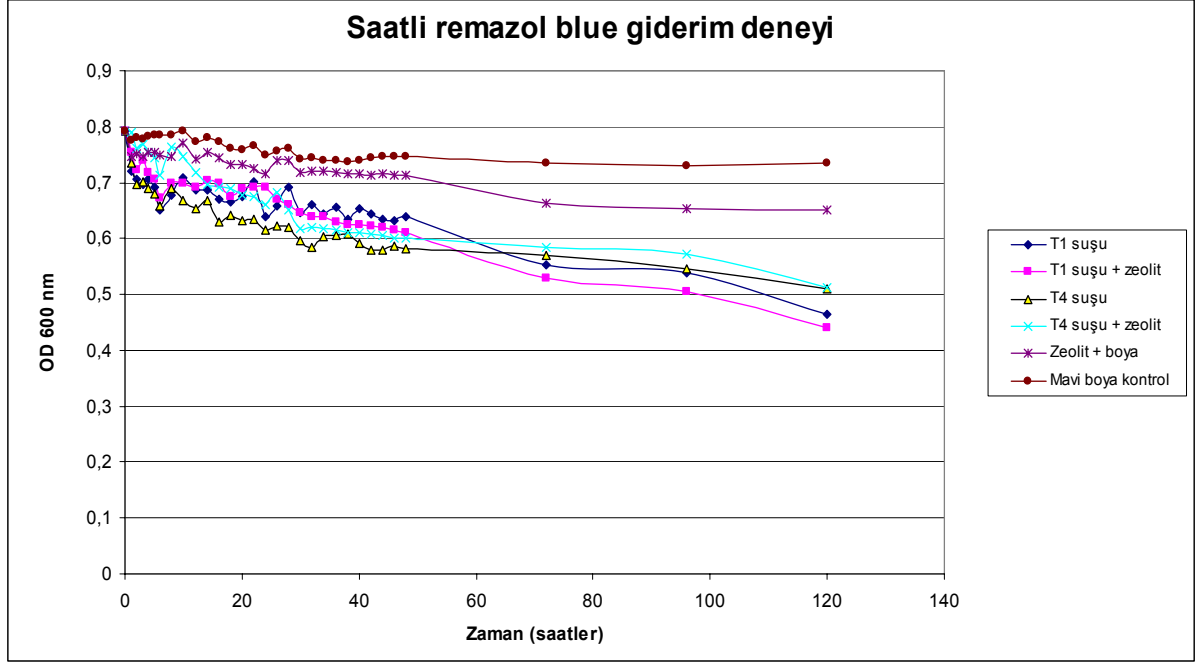
Şekil 4.33 T4 izolatının pH 9 ve %15 NaCl’de farklı zeolit boyut ve konsantrasyonlarında biyomas artışı (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)

#### 4.6 Remazol Mavi’nin İlk 120 Saatlik Periyodta *Dunaliella spp.* ile Giderimi

Önceki denemelerde başlangıç hücre konsantrasyonunun boya giderim hızına etkisini araştırmış ve 100 ile 200 milyon başlangıç inokülüm miktarının (100 ml besi yeri için) en iyi ortamlar olduğunu belirlemiştik. 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunun 21. gününde yapılan ölçümlerde T1 ve T4 izolatlarının 100 ve 200 milyon başlangıç hücre konsantrasyonlarında ortamdaki boyayı % 57,4 ila % 67 oranlarında kullandığı belirlenmişti.

Bu amaçla T1 ve T4 izolatu pH 9’da, 120 saat (5 gün) kadar inkübasyona bırakıldı. Örnekler 3 paralel olarak çalışıldı. 250 ml’lik erlenlerde 100 ml sıvı Johnson besiyerine 100 milyon hücre kadar ekim yapıldı. Örneklerin inkübasyonu sürekli ışık altında, iklim dolabında  $30 \pm 2$ °C’de yapıldı. Erlenler manuel olarak günde bir defa karıştırıldı.

Örnekler, sadece izolat, zeolit (20 mg/L) ile birlikte izolat, sadece zeolit (20 mg/L) ve boya kontrolleri olarak denendi.

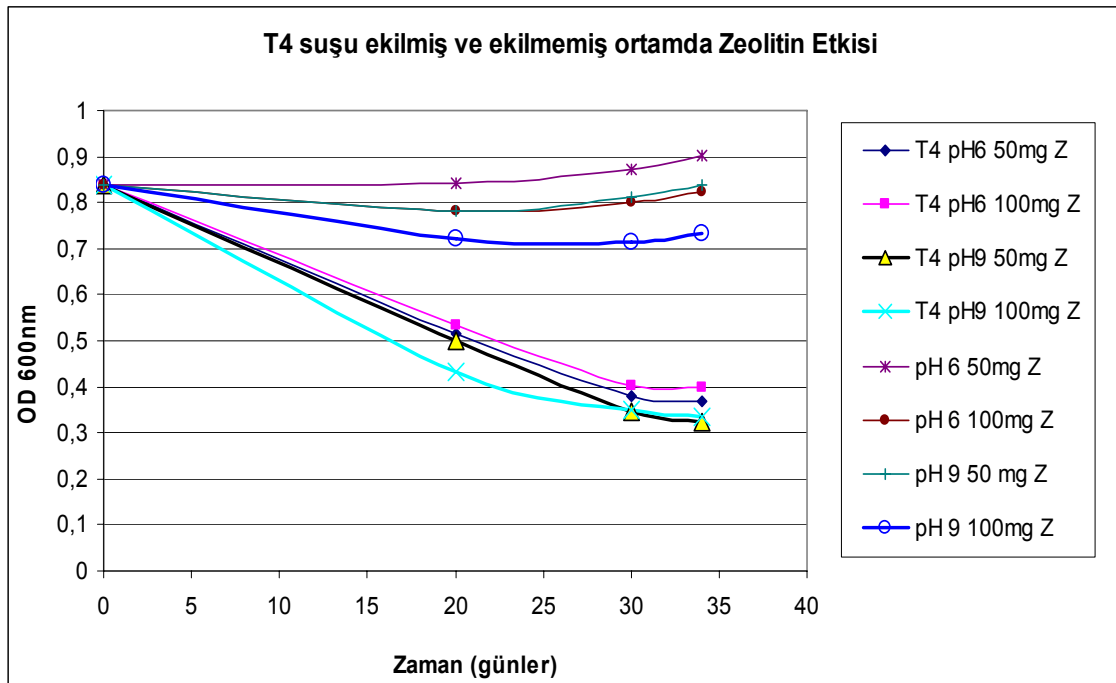


Şekil 4.34 T1 ve T4 izolatının pH 9 ve %15 NaCl'de ilk 120 saatlik sürede zeolitli ve zeolitsiz ortamda boya giderimi (T:  $30 \pm 2$  °C; iklim dolabında; 1000 lüks ışık şiddeti)

120 saatlik çalışma sonucunda ortamdaki başlangıç 50 ppm Remazol Mavi konsantrasyonunun T1 izolatı % 36,8'ini, Zeolitli T1 izolatı % 39,3'ünü, T4 izolatı % 29,8'ini ve Zeolitli T4 izolatı da % 29,8'ini giderdiği belirlenmiştir. Önceki deneyde 21. günün sonunda ortalama % 54,7 - % 67 sini giderdiği dikkate alarak *Dunaliella spp.*'nin toplam giderim kapasitesinin yaklaşık % 60'lık boyayı ilk 5 günde giderdiği ve giderimin 5.günden itibaren ise yavaşladığı görülmüştür.

#### 4.7 Zeolit İçeren Johnson Besi Yerinde *Dunaliella* sp.'nin Remazol Mavi Giderimine Etkisi

Bu amaçla T4 izolatu kullanılarak %15 NaCl'de, pH 6 ve 9'da, 50 mg/L ile 100 mg/L 0-1 mm boyutundaki Zeolit konsantrasyonlarında, başlangıç Remazol Mavi konsantrasyonu 50 ppm olan ve başlangıç inokulum miktarı 10 milyon hücre olan bir deneme yapılmıştır. İnkubasyon süresi 34 gün kadar tutulmuş ve inkubasyon sonucunda en iyi giderimin 50 mg/L Zeolit pH 9'da olduğu tespit edilmiştir. T4 izolatu 50 ppm olan başlangıç boya konsantrasyonunun %61,4'n kullanarak ortamdaki boyayı 19,3 ppm'e düşürmüştür.



şekil 4.35 T4 izolatu'nun pH 9 ve %15 NaCl'de farklı zeolit konsantrasyonlarında ortamdaki Remazol Mavi giderimine etkisi (T: 23 ± 2 °C; oda sıcaklığında; 1000 lüks ışık şiddeti)

Yukarıda belirtilmiş olan her üç deneye de baktığımızda zeolit'in hem biyoması artırıcı hem de boyayı giderme hızında artırıcı etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.



#### 4.8 Tuz Gölü'nden Alınan Su Örneği İle Biyomas Çalışmaları

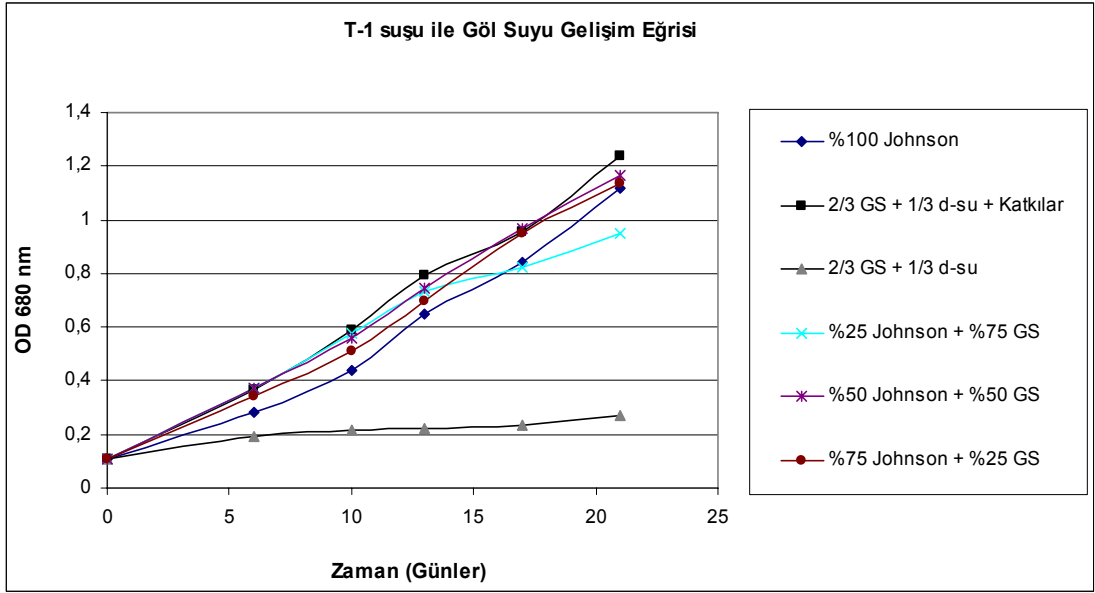
Laboratuvar tipi açık havuz üretimi öncesi erlenlerde non-steril olarak T1, T2 ve T4 suşlarının farklı ortamlar kullanılarak gelişimlerine bakılmıştır. Bu amaçla Konya'daki Tuz gölünden su örneği alınarak laboratuvar ortamında filtreden geçirilmiş ve aşağıdaki farklı ortamlarda denemek üzere kullanılmıştır. Tuz gölünden alınan su örneği (GS) yaklaşık olarak % 32 tuz oranına sahip olduğundan dolayı damacana su (d-su) ile non steril olarak 1/3 oranında sulandırılarak yaklaşık olarak tuz oranı % 20'ye ayarlanmıştır. pH'ı 9'a 2 M NaOH ile ayarlanmış ve başlangıç hücre konsantrasyonu da 50 milyon hücre olarak ekilmiştir.

Her üç izolat için 6 farklı ortam denenmiştir:

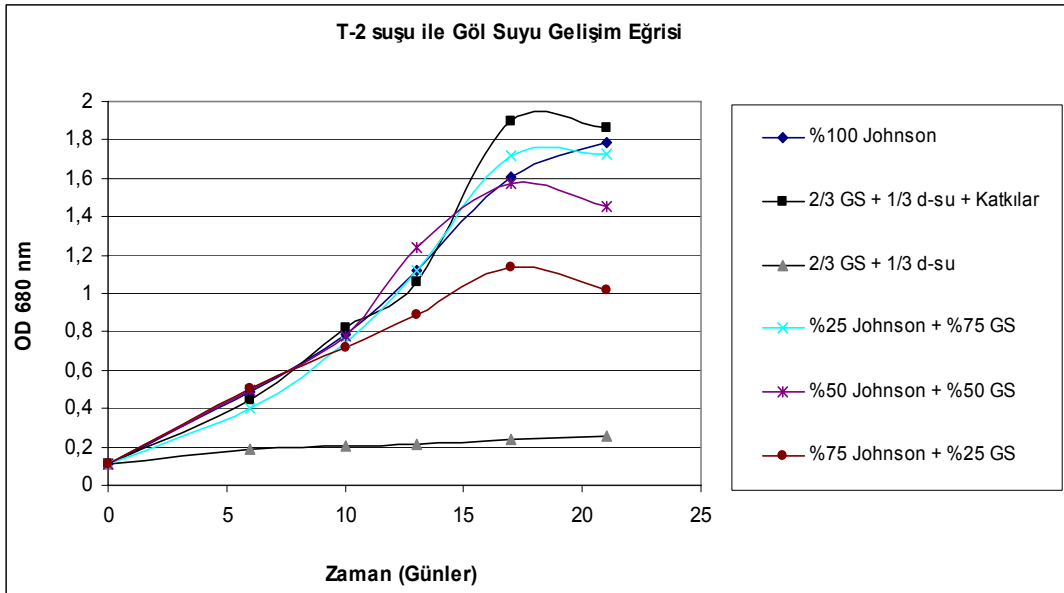
- a) %100 Johnson besi yeri
- b) 2/3 GS + 1/3 d-su + Katkılar (NaHCO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KNO<sub>3</sub>, Fe-Solüsyonu ve Eser Element Solüsyonu Johnson besi yerindeki oranlar olarak eklenmiştir)
- c) 2/3 GS + 1/3 d-su
- d) %25 Johnson + %75 GS
- e) %50 Johnson + %50 GS
- f) %75 Johnson + %25 GS

Örnekler 21 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda en iyi biyomas artışının T2 izolatı ile olduğu ve maksimum hücre konsantrasyonunun 2/3 GS + 1/3 d-su + Katkılar ortamında sağlandığı belirlenmiştir (15,33 x 10<sup>6</sup> hücre / ml). Bu miktar %100 Johnson besi yeri ortamında ise 14,71 x 10<sup>6</sup> hücre / ml olmuştur.

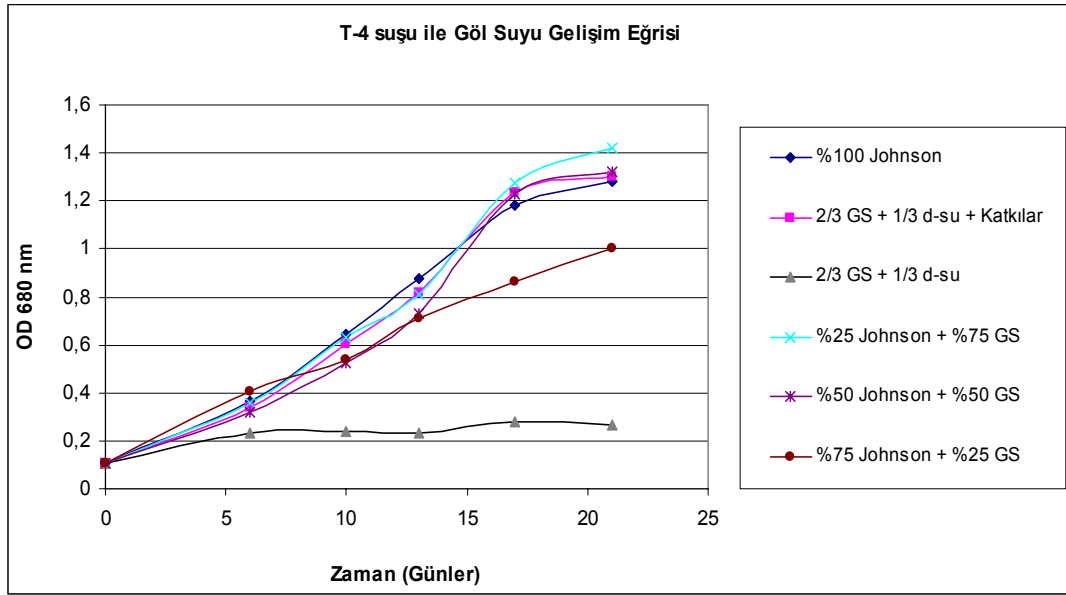
Aşağıdaki şekillerde T1, T2 ve T4 izolatlarının farklı ortamlardaki gelişim eğrilerini ile 21.günlük inkübasyon sonucunda her üç izolatın tüm ortamlardaki ulaştığı maksimum hücre sayıları görülmektedir.



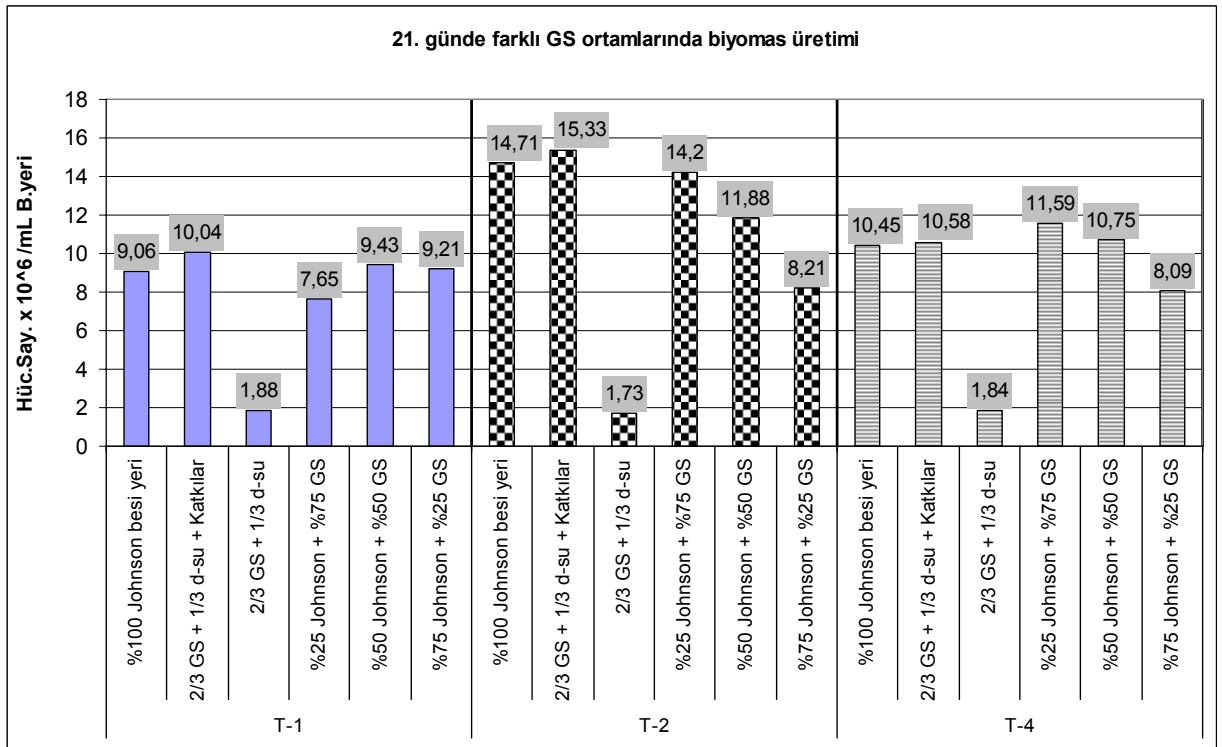
Şekil 4.36 T1 izolatının göl suyunda, pH 9’da, farklı ortamlarda non-steril olarak gelişimi (T:  $30 \pm 2$  °C; iklim dolabında;1000 lüks ışık şiddeti)



Şekil 4.37 T2 izolatının göl suyunda, pH 9’da, farklı ortamlarda non-steril olarak gelişimi (T:  $30 \pm 2$  °C; iklim dolabında;1000 lüks ışık şiddeti)



Şekil 4.38 T4 izolatının göl suyunda, pH 9'da, farklı ortamlarda non-steril olarak gelişimi (T:  $30 \pm 2$  °C; iklim dolabında; 1000 lüks ışık şiddeti)



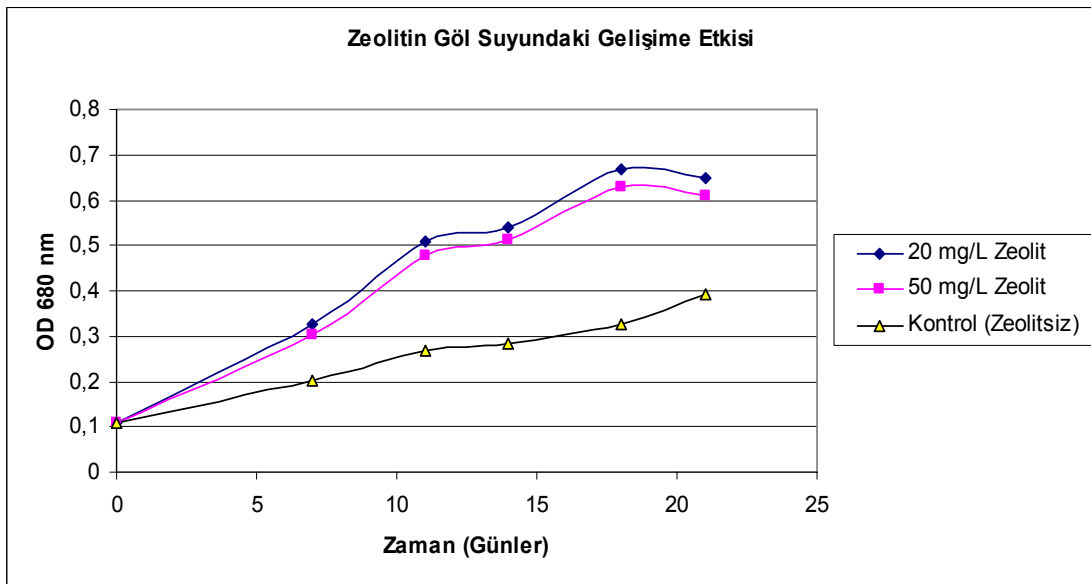
Şekil 4.39 T1, T2 ve T4 izolatının 21.günde göl suyunda, pH 9'da, farklı ortamlarda non-steril olarak gelişimi sonucu oluşan biyomas miktarları (T:  $30 \pm 2$  °C; iklim dolabında; 1000 lüks ışık şiddeti)

Buradaki çizelgeden de anlaşılacağı gibi her üç izolat arasında en iyi gelişmeyi T2 izolatu göstermiştir. Bu bağlamda T2 izolatu aşağıdaki yapılan diğer denemeler için de kullanılmıştır.

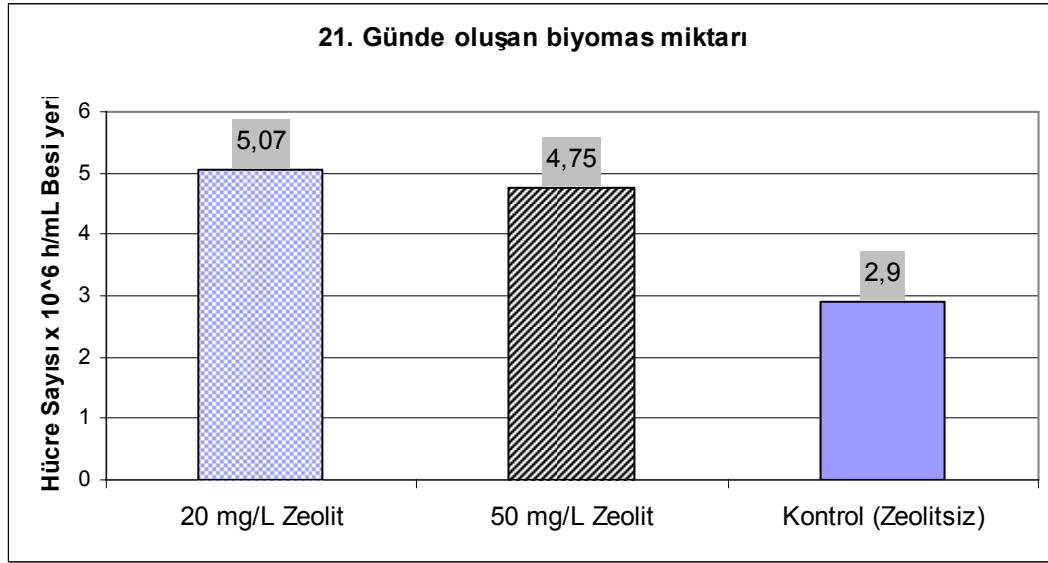
#### 4.9 Zeolitin Göl Suyundaki Biyomas Artışına Etkisi

Erlenlerde en iyi gelişim ortamı belirlendikten sonra yukarıda da anlatıldığı üzere Tuz gölünden alınan su örneği hazırlanmış ve yine erlenlerde zeolitin biyomasa etkisi araştırılmıştır. Johnson besi yeri ile yapılan denemelerde kontrol grubuna göre %10'luk artış sağlayan 20 mg/l zeolit konsantrasyonu bu amaçla kullanılmıştır. Ayrıca buna ilave olarak da 50 mg/l zeolit konsantrasyonu da aynı amaçla kullanılmıştır.

Deney 21 gün kadar oda sıcaklığında sürdürülmüştür. Aşağıdaki eğri ve çizelgede de görüldüğü üzere en yüksek biyomasın 20 mg/l zeolit konsantrasyonunda elde edildiği ve  $0,5 \times 10^6$  h/ml başlangıç hücre konsantrasyonu inkübasyon periyodunun sonunda  $5,07 \times 10^6$  h/ml konsantrasyona ulaşırken kontrol grubunda bu sayı  $2,9 \times 10^6$  h/ml olarak gerçekleşmiştir.



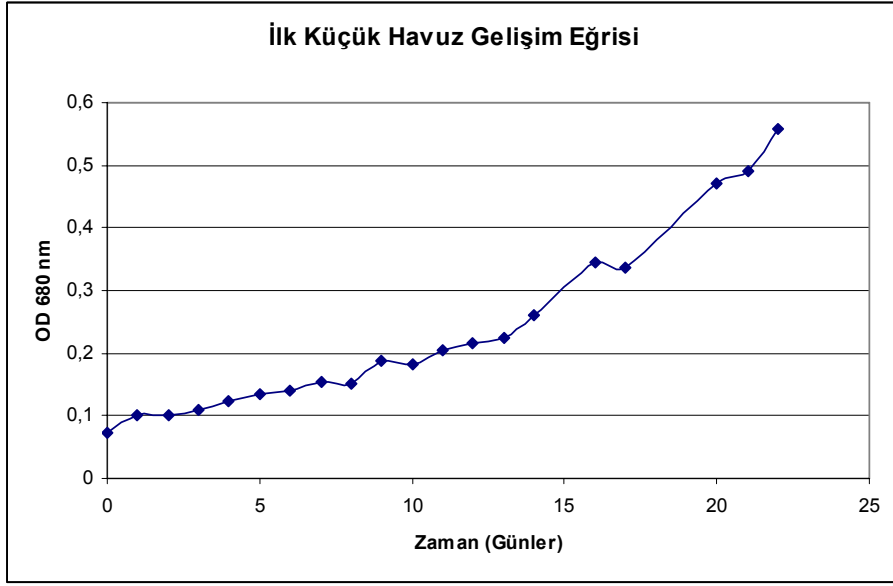
Şekil 4.40 T2 izolatinin 21 günlük inkübasyonda göl suyunda, pH 9'da, gelişimi sonucu oluşan biyomas eğrileri (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)



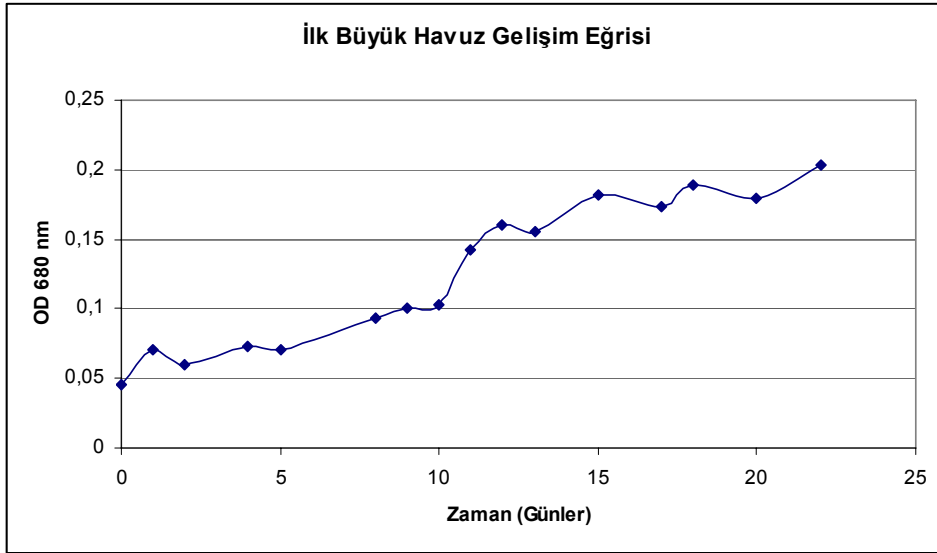
Şekil 4.41 T2 izolatının 21. günde, göl suyunda, pH 9'da, gelişimi sonucu oluşan biyomas miktarları (T: 23 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti)

#### 4.10 Küçük (4 L) ve Büyük (40 L) Açık Havuz Denemeleri

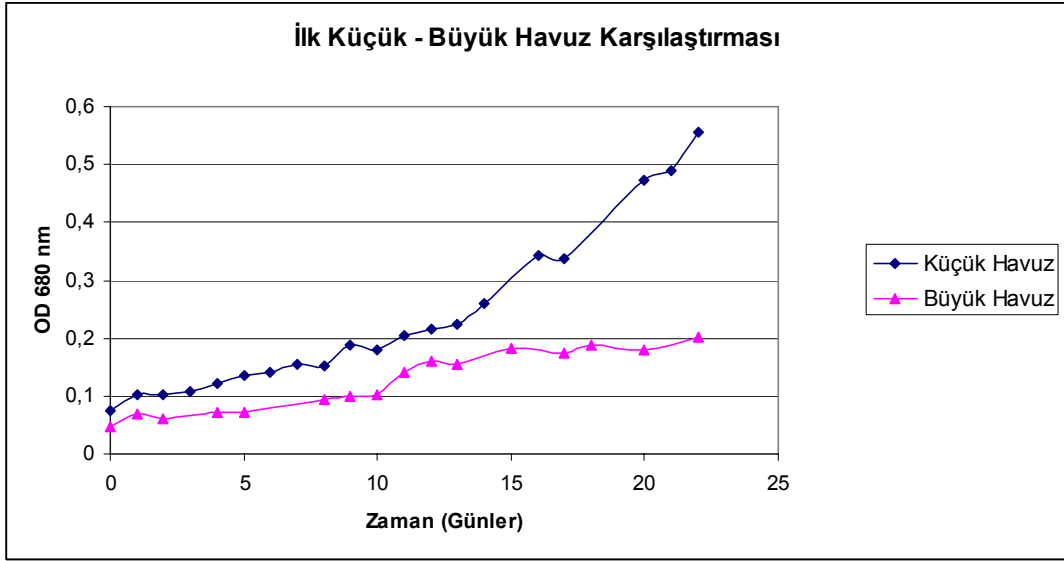
Bu amaçla erlenlerde belirtilen en iyi şartlar kullanılarak Tuz gölünde alınan su yukarıda da bahsedildiği gibi işleme tabi tutulmuş ve tamamen non steril olarak küçük havuzda, pH 9'da T2 izolatı ile biyomas üretim çalışmaları yapılmıştır. Karıştırma işlemi 30 devir/dakika (yada yaklaşık olarak 10 cm/s hızında ) şeklinde ayarlanmış ve oda sıcaklığında sürekli ışık altında 23 gün kadar inkübasyona bırakılmıştır. Denemeler sonucunda Küçük Havuzda oluşan biyomas büyük havuza aktarılarak ölçek büyütme işlemine (scale-up) gidilmiştir. Her iki havuzun inkübasyon periyodu sonucunda biyomasta belirgin artış gözlenmiştir. İki havuz kendi içerisinde karşılaştırıldığında havuz hacmi büyüdükçe birim zamanda elde edilen biyomasta düşüş olduğu ancak toplam verimliliğe bakıldığında biyokütle eldesinin daha fazla olduğu belirlenmiştir. İnkübasyon periyodunun sonucunda küçük havuzda son hücre konsantrasyonu  $4,3 \times 10^6$  h/ml iken büyük havuzda bu sayı  $1,3 \times 10^6$  h/ml olmuştur. Ancak toplam hacimdeki kuru ağırlığa baktığımızda küçük havuzdan 5,56 g kuru ağırlık elde ederken, büyük havuzdan 19,2 g kuru ağırlık elde edilmiştir. Aşağıdaki şekillerde küçük ve büyük havuzlardaki gelişim eğrilerini ve karşılaştırmaları görülmektedir.



Şekil 4.42 T2 izolatının 4L'lik açık havuzda, göl suyunda pH 9'da gelişim eğrisi (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)

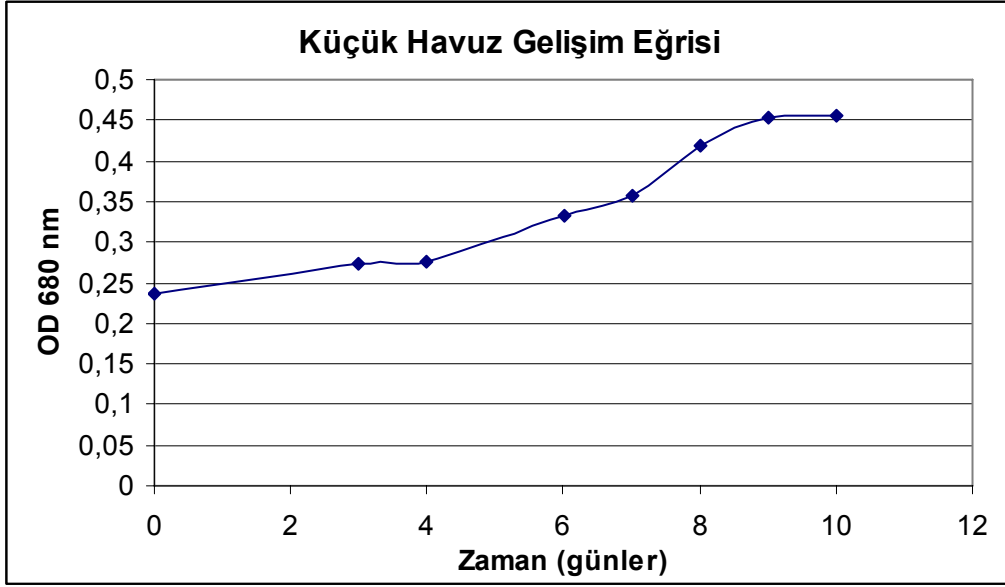


Şekil 4.43 T2 izolatının 40L'lik açık havuzda göl suyunda pH 9'da gelişim eğrisi (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)

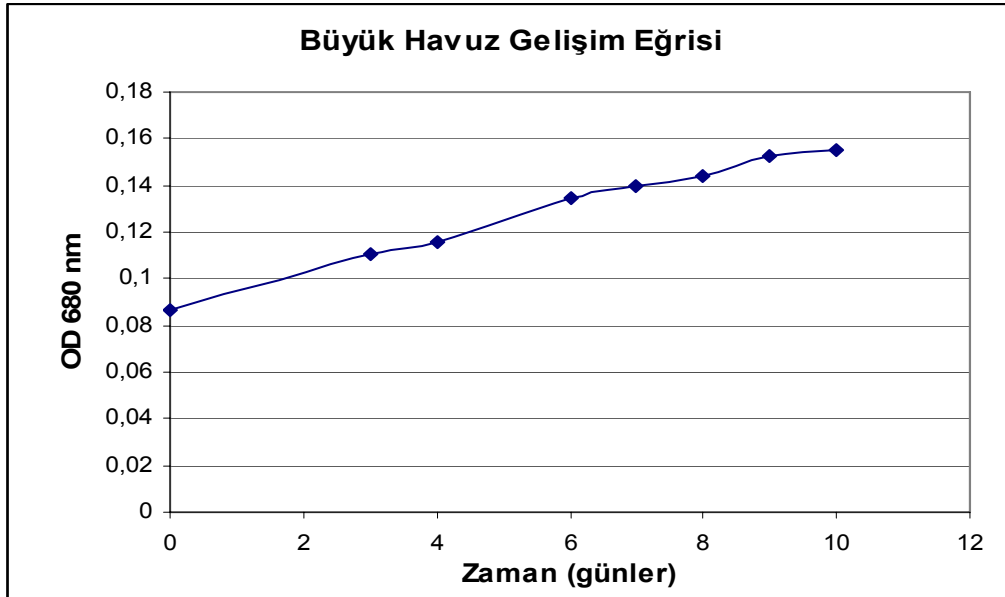


Şekil 4.44 T2 izolatının 4 ve 40L'lik açık havuzda göl suyunda pH 9'da gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)

Tekrardan tuz gölünden alınan örnekler ile aynı şartlarda ikinci denemeler de yapılmış ve aşağıdaki şekillerde görüldüğü gibi benzer sonuçlar elde edilmiştir. İkinci havuz denemesi için inkübasyon süresi 10 gün kadar gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon periyodunun sonunda küçük havuzdan toplam 4,5 g kuru ağırlık elde edilirken bu miktar büyük havuzda 14,3 g kadar gerçekleşmiştir.

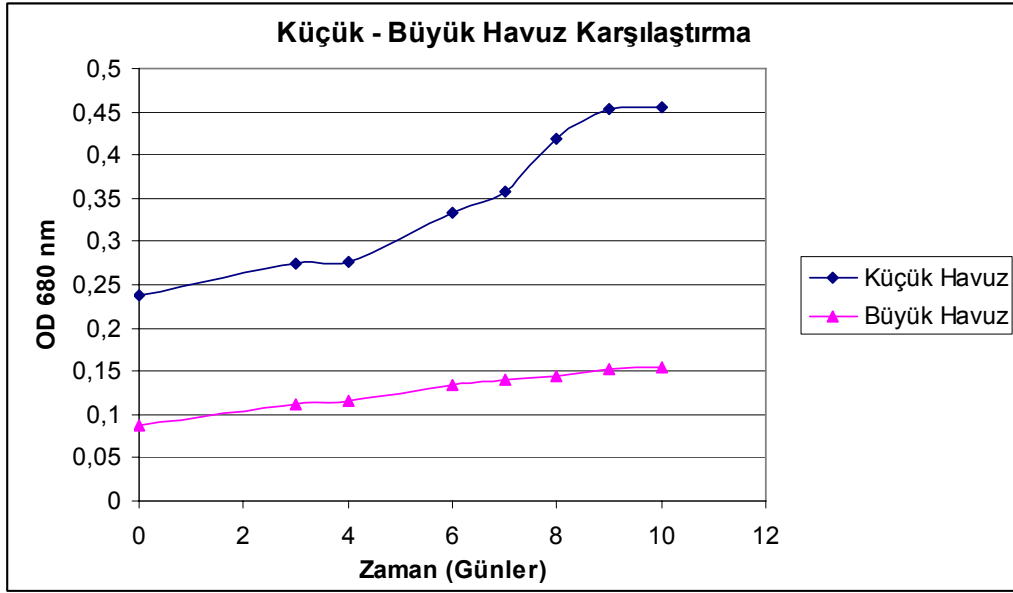


Şekil 4.45 İkinci denemede T2 izolatının 4 L 'lik açık havuzda göl suyunda pH 9'da gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)



Şekil 4.46 İkinci denemede T2 izolatının 40L 'lik açık havuzda göl suyunda pH 9'da gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)

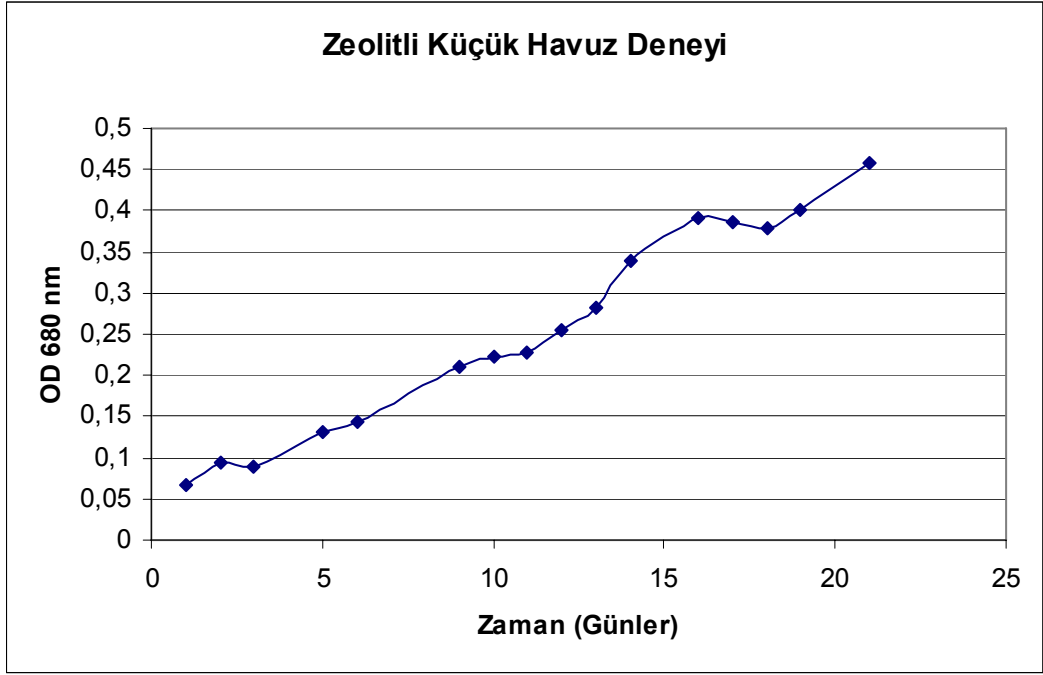




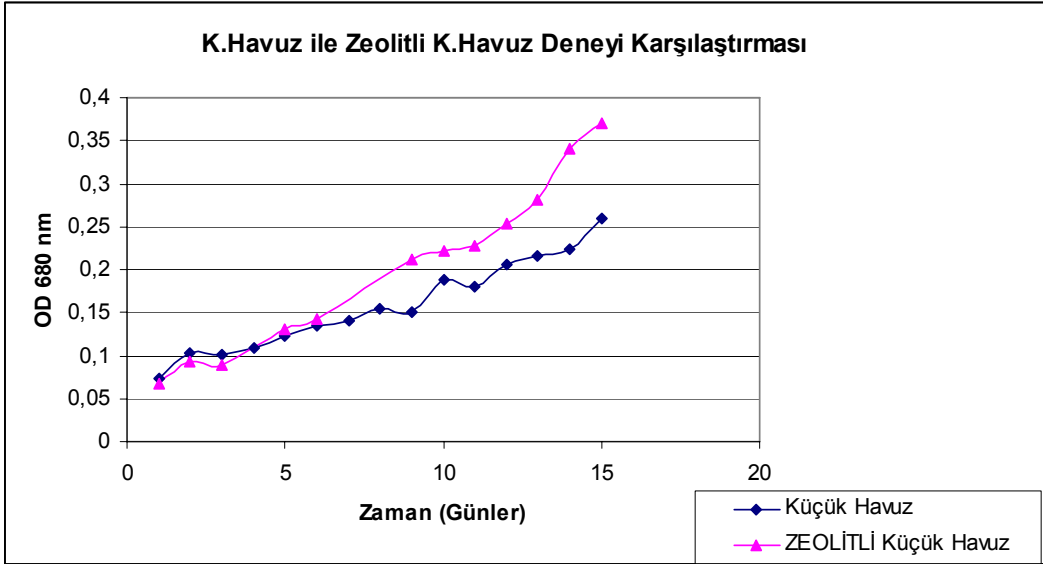
Şekil 4.47 İkinci denemede T2 izolatının 4 ve 40L'lik açık havuzda göl suyunda pH 9'da gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)

#### 4.11 Zeolitli Küçük (4 L) Açık Havuz Denemesi ve Erlen ile Zeolitli Ortamların Karşılaştırılması

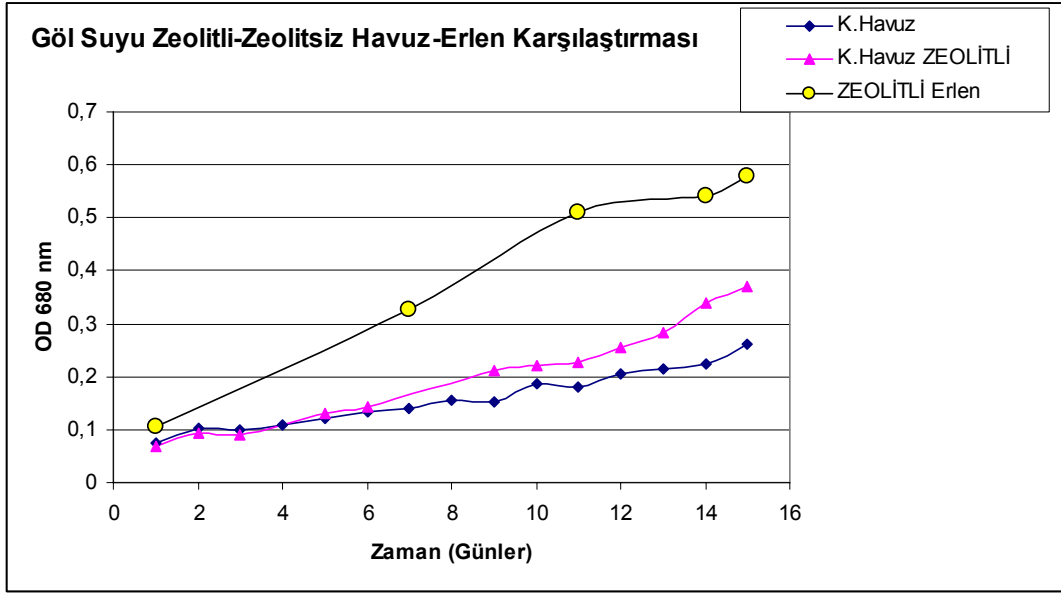
Bu amaçla yukarıdaki şartların aynısı uygulanarak hem Johnson besi yeri ile yapılan denemelerde hem de göl suyu ile yapılan erlendeki denemelerde en iyi gelişimin 20 mg/L zeolit ile olduğu bulunmuş ve açık havuzdaki denemede de Zeolit miktarı 20 mg/L olarak başlatılmıştır. 21 günlük inkübasyon periyodunun sonunda aşağıdaki şekildeki gibi gelişim sağlanmıştır. Ayrıca önceki yapılan denemelerle (göl suyu ile zeolitli erlen deneyi ve zeolitsiz küçük havuz deneyi) karşılaştırıldığında ise 15 günlük inkübasyon periyotları baz alındığındaki aşağıdaki gelişim eğrileri oluşmaktadır.



Şekil 4.48 T2 izolatının 4L 'lik açık havuzda göl suyunda pH 9'da 20 mg/L zeolitli ortamda gelişim eğrisi (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)



Şekil 4.49 T2 izolatının zeolitli ve zeolitsiz ortamda 4L 'lik açık havuzda göl suyunda pH 9'da gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)



Şekil 4.50 T2 izolatinin Zeolitli Johnson besiyerindeki Erlen, zeolitli ve zeolitsiz 4L 'lik açık havuzdaki gelişim eğrilerinin karşılaştırılması (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti, göl suyunda pH 9'da )

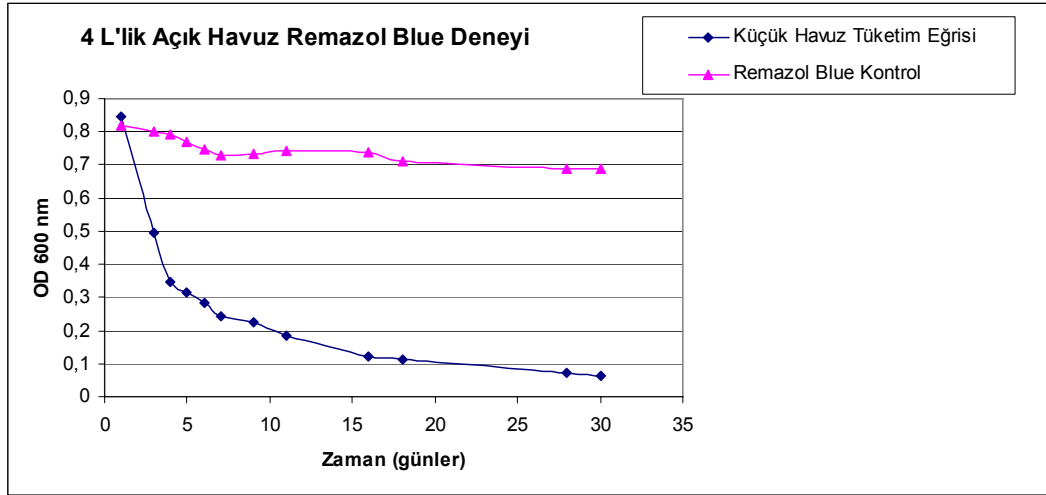
Şekillerden de anlaşılacağı gibi 20 mg/L zeolit miktarının 15 günlük inkübasyon periyodu sonucunda zeolit olmayan açık havuza göre daha iyi gelişim gösterdiği belirlenmiştir. İnkübasyon periyodu sonucunda zeolit olmayan küçük havuzdaki hücre konsantrasyonu  $1,79 \times 10^6$  h/ml iken, 20 mg/l zeolit içeren küçük havuzda bu sayı  $2,72 \times 10^6$  h/ml olmuştur.

Erlende yapılan zeolitli denemede inkübasyon sonucundaki biyomasın ( $4,5 \times 10^6$  h/ml) küçük havuzdan daha yüksek olması, denemenin kapalı bir ortamda ve 100 ml kadar hacimde yapılması ile ışıktan faydanın daha fazla sağlanmasından kaynaklandığı açıktır.

#### 4.12 Zeolitli Küçük (4 L) Açık Havuz ile Remazol Mavi Giderimi Çalışması ve Erlendeki Verilerle Karşılaştırılması

Yapılan bu deneme erlenlerde ve havuzlardaki yapılan denemelerin sonucunda elde edilen veriler ışığında tasarlanmıştır. En iyi gelişme ve boya gideriminin tespit edildiği ortamların sentezi yapılarak deney tasarlanmıştır. Bu bağlamda göl suyu kullanılarak, tuzluluk oranı %20'ye damacana suyu ile ayarlanmış ve katkıları ilave edilerek pH 9'da,

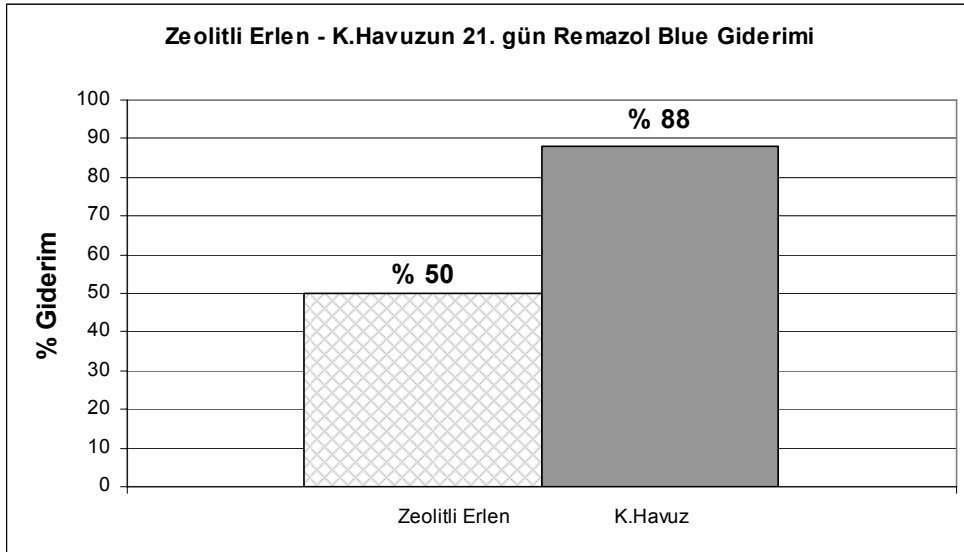
50 ppm başlangıç Remazol Blue konsantrasyonunda, 20 mg/l zeolit ilave edilerek, 30 devir/dakika (yada 10 cm/s hızında) karıştırma hızında deney başlatılmıştır. Başlangıç inokülüm miktarı da yaklaşık olarak 200 ila 250 x 10<sup>6</sup> hücre/ 100 ml besi ortamı şeklinde yapılmıştır. 30 günlük inkübasyon periyodu sonucunda boyanın yaklaşık olarak %92,6'sının tükendiği belirlenmiştir. Aynı süre içerisinde boyalı kontrolde ise spontane olarak boyanın % 16,1'inin parçalandığı belirlenmiştir. Aşağıdaki şekilde küçük havuzdaki Remazol Mavi gideriminin kontrole göre eğrisi yer almaktadır.



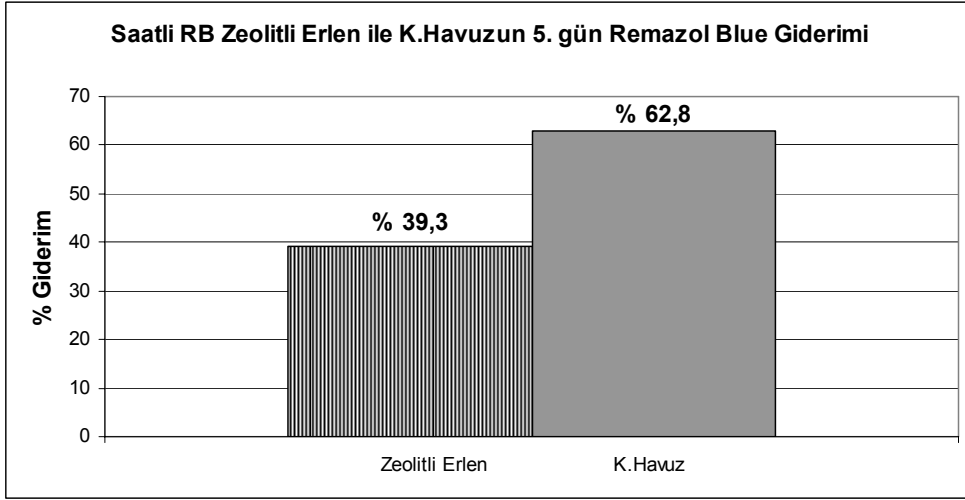
Şekil 4.51 T2 izolatının 20 mg/l zeolitli göl suyunda 4L 'lik açık havuzda pH 9'da boya tüketim eğrisi (T: 23 ± 2 °C; 1000 lüks ışık şiddeti)

21 günlük inkübasyon periyodu sonunda zeolitli küçük havuz verilerinin daha önce benzer şartlarda (tuzluluk, inokülüm miktarı, pH, başlangıç boya konsantrasyonu) erlende Johnson besi yeri ile yapılan zeolitli Remazol Mavi giderim çalışmalarıyla karşılaştırıldığında küçük havuzdaki giderimin (%88) erlendeki giderime göre (%50) çok daha fazla olduğu görülmektedir.

Ayrıca yukarıdaki eğriden de görüldüğü gibi ilk beş günlük inkübasyon sonucunda tüketimin çok hızlı olduğu ve ondan sonra da yavaşlamaya başladığı görülmektedir. Yine daha önceki deneme çalışmalarımızda saatli Remazol Mavi giderim deneyi benzer şartlarda yapılmış ve ilk beş günlük giderim fonksiyonuna bakılmıştır. Bu bağlamda ilk beş günlük inkübasyon sonucunda her iki deney karşılaştırıldığında zeolitli küçük havuzdaki giderimin (%62,8), zeolitli erlendeki giderime göre (%39,3) çok daha fazla olduğu görülmektedir. Aşağıdaki şekillerde 21. günün sonunda ve 5. günün sonunda oluşan karşılaştırma görülmektedir.



Şekil 4.52 T2 izolatının 21. gününde Zeolitli Erlen ve Zeolitli Küçük havuzdaki boya giderim yüzdeleri (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)



Şekil 4.53 T2 izolatının 5. gününde Zeolitli Erlen ve Zeolitli Küçük havuzdaki boya giderim yüzdeleri (T:  $23 \pm 2$  °C; 1000 lüks ışık şiddeti)

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

*Dunaliella* türleri ile ilgili boya giderimleri konusunda literatür anlamında pek tatmin edici bir çalışma bulunmamaktadır. Dolayısı ile elde edilen sonuçlar hem kendi içinde değerlendirilmiş ve varsa olası karşılaştırılabilir yapılabilecek özellikle diğer mikroalgler ile yapılan çalışmalarla karşılaştırmaya gidilmiştir.

Boya giderimine başlangıç pH'ın etkisini belirlemek amacıyla yapılan ilk çalışmalarda Remazol Mavisi ve Reaktif Siyahı için en iyi giderimin tüm denenen suşlar için pH 9'da olduğu ve bu da daha önce yapılmış olan *Dunaliella* gelişmesinde elde edilen başlangıç pH ile paralellik gösterdiği görülmektedir. pH 9'da hücrelerin en iyi geliştiği ve dolayısıyla canlı biyomasın en fazla arttığı gözlemlenmiş ve inkübasyon periyodu boyunca artan biyomas ile boya gideriminin doğru orantılı olarak (inkübasyon periyodunun ilk 20. gününe kadar) arttığı belirlenmiştir. İnkübasyon periyodunun ikinci 20 gününde ise birinci 20 günlük süre ile karşılaştırıldığında göreceli olarak boya gideriminin azaldığı ve periyodun sonuna doğru bile ortamdaki boyanın tamamen tükenmediği görülmektedir.

Diğer iki boyadan farklı olarak Reaktif Kırmızı RB gideriminde, ilk 20-30 günlük inkübasyonda giderim olduğu halde inkübasyonun ikinci 20 gününde her suş için farklı olmak üzere desorbsiyon olayı görülmüştür. Biyomas artışı olmasına rağmen desorbsiyon olayı gerçekleşmiştir. İnkübasyon periyodu on gün daha uzatılarak 50. gün verileri alındığında ilk 20-30 günde giderimi yapılan boyanın, biyomas artışının devam etmesine rağmen desorbsiyon olayının devam ettiği görülmüştür. Bu bağlamda ilk 20-30 günlük periyoda baktığımızda T1, T3 ve T4 izolatlarının pH 6'da, T2 izolatının pH 9'da en iyi giderimi gerçekleştirdiği görülmüştür. Yine diğer iki boya ile karşılaştırıldığında ilk 20-30 günlük inkübasyonda Reaktif Kırmızı RB'de göreceli olarak giderimin daha düşük olduğu görülmektedir. Reaktif Kırmızı RB ile ilgili göreceli daha düşük giderimin olduğu benzer sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından da farklı türler üzerinde de tespit edilmiştir (Sadettin ve Dönmez 2006, Aksu ve Tezer 2005).

En iyi başlangıç pH seçildikten sonra diğer boya deneylerini yapabilmek amacıyla olası kullanılabilir en iyi boyanın Remazol Mavisi olduğuna karar verilmiş (en fazla biyomasın bu boyada oluşması ve her dört suşun da en iyi giderimi pH 9'da yapması sebebi ile) ve boya 50, 75 ile 100 ppm başlangıç Remazol Mavisi boya konsantrasyonlarının giderime etkisi pH 9'da T1, T2, T3 ve T4 izolatları ile yapılmıştır. Genel itibari ile tüm izolatlar aynı başlangıç boya konsantrasyonlarında benzer giderim eğrileri oluşturmuşlardır. 50 ppm'de, 75 ve 100 ppm'e göre giderimin hem daha hızlı olduğu ve sürenin daha kısa olduğu görülmüştür. Genellikle 30. güne kadar giderimin daha hızlı olduğu (eğim değeri daha büyük) ve 30. günden itibaren yavaşladığı, hatta kimi şartlarda iyice duraksadığı Şekil 4.23-4.25'de görülmektedir. İnkübasyon periyodunun 21. gününde yapılan ölçümlerde de suşlar içinde en iyi giderimlerin 50 ppm'de olduğu görülmüştür. Sonuç itibari ile yapılan başlangıç boya konsantrasyonu denemelerinde *Dunaliella* spp.'lerin zamana bağlı olarak en iyi giderimi 50 ppm konsantrasyonda yaptığı belirlenmiştir (Bk. Şekil 4.19-4.22 ve 4.26). Ayrıca konsantrasyon deneyinde yeşil algler ve funguslar ile yapılan benzer çalışmalara göre (Aksu ve Tezer 2005, Taştan vd. 2010) *Dunaliella* türlerinin daha düşük boya konsantrasyonlarını tolere ettiği görülmektedir.

Farklı başlangıç hücre konsantrasyonlarının (Biyomasın) Remazol Mavi giderimine etkisini belirlemek amacıyla önceki yapılan denemelerden, T1 ve T4 izolatlarının iyi gelişme ve giderim gösterdiği belirlenmiş ve bu denemede her iki suşun da biyomasın boya giderimine etkisini belirlemek amacıyla kullanılmasına karar verilmiştir. Genel itibari ile her iki izolat da artan başlangıç hücre konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak, giderimi doğru orantılı biçimde daha fazla yapmıştır. En düşük giderim  $1 \times 10^6$  hücre ile olurken en yüksek giderim  $200 \times 10^6$  hücre ile olmuştur (inkübasyon periyodunun 30. gününde). Ancak  $100 \times 10^6$  ve  $200 \times 10^6$  hücre arasında 30. günün sonunda hemen hemen benzer giderim eğrileri oluşmuştur. 30. günden itibaren  $100 \times 10^6$  ( $100 \times 10^6$  hücre / 100 ml besi yeri ) ve  $200 \times 10^6$  ( $200 \times 10^6$  hücre /100 ml besi yeri) hücreli örneklerde giderim iyice duraksamış,  $1 \times 10^6$  ve  $10 \times 10^6$  hücrelik örneklerde ise giderim daha hızlı bir şekilde artmış ve inkübasyon periyodunun sonuna doğru, az çok farklılıklar oluşmasına rağmen hemen hemen benzer giderimi gerçekleştirmişlerdir. İnkübasyon periyodunun 21. gününde yapılan ölçümlerde  $100 \times 10^6$  başlangıç hücre



konsantrasyonunda 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunun, T1 izolatu %57,4'ünü kullanarak ortamdaki boyayı 21,3 ppm'e, T4 izolatu ise % 62,4'ünü kullanarak ortamdaki boyayı 18,8 ppm'e düşürdüğü;  $200 \times 10^6$  başlangıç hücre konsantrasyonunda 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunun, T1 izolatu %67'sini kullanarak ortamdaki boyayı 16,5 ppm'e, T4 izolatu ise %57,4'sini kullanarak ortamdaki boyayı 21,3 ppm'e düşürdüğü görülmüştür. Sonuç itibari ile her ne kadar başlangıç hücre konsantrasyonunun Remazol Blue giderim hızına katkısının doğru orantılı olduğu görülse de 100 ve 200 milyon başlangıç hücreler arasında çok bariz bir fark olmadığından her ikisinin de giderimde kullanılabileceği görülmüştür (Bk. Şekil 4.27-4.30). Daneshvar vd. (2007)'in yapmış olduğu *Cosmarium* sp. ile Malaşit yeşili giderimi çalışmasında başlangıç inokülüm miktarının önemi belirlenmiş ve en iyi başlangıç biyomasın da  $4,5 \times 10^6$  hücre / ml ( $450 \times 10^6$  hücre / 100 ml besi yeri) olduğu bulunmuştur.

Önceki yapılan denemede 60 günlük inkübasyon periyodunun 20 ila 30. gününe kadar (100 ve 200 milyon başlangıç hücre konsantrasyonunda) giderimin hızlıca yapıldığı, fakat 30. günden sonra duraksadığı tespit edilmiştir. Oluşan duraksamanın gelişmeye bağlı olarak metabolik atıklardan ve artan ortam stres şartlarından kaynaklanabileceğini dikkate alarak, tekrardan 100 ve 200 milyon hücre konsantrasyonunun T1 ve T4 izolatları için, taze hazırlanmış besi yerine hücreler santrifüj edilerek aktarılmış ve boya giderim hızları belirlenmeye çalışılmıştır.

İnkübasyon periyodunun 21. gününde yapılan ölçümlerde, T1 izolatu, 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda,  $100 \times 10^6$  hücre başlangıç biyomas ile ortamdaki boyanın %61,2'sini kullanarak ortamdaki boyayı 19,4 ppm'e;  $200 \times 10^6$  hücre başlangıç biyomas ile ortamdaki boyanın %63,6'sını kullanarak ortamdaki boyayı 18,2 ppm'e düşürmüştür. T4 izolatu ise, 50 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda,  $100 \times 10^6$  hücre başlangıç biyomas ile ortamdaki boyanın %53,6'sını kullanarak ortamdaki boyayı 23,2 ppm'e;  $200 \times 10^6$  hücre başlangıç biyomas ile ortamdaki boyanın %62'sini kullanarak ortamdaki boyayı 19 ppm'e düşürmüştür

Sonuç itibari ile 21. gün giderim değerlerine baktığımızda, 100 ve 200 milyon hücre kullanıldığında taze hazırlanmış besi yerine hücrelerin santrifüj edilerek ekilmesi ile olan stok besi yerinin taze besi yeriyle sulandırılması arasında belirlenen zaman dilimi için herhangi bir fark teşkil etmediği belirlendi (Bk. Şekil 4.31-4.32). Bu da boya giderimi konusunda metabolik atıklardan kaynaklanabilecek bir olumsuzluk olmadığını göstermektedir.

Zeolitlerin erlenlerde Johnson besiyerindeki giderimlerine baktığımızda, inkübasyon periyodu sonunda, 0-1 mm boyutundaki zeolitlerde 1-3 mm'ye göre üremenin daha iyi olduğu görülmüştür. Johnson besi yerinde en iyi biyomas artışı 0-1 mm boyut, 20 mg/L ortamında sağlanmıştır. Süre sonunda kontrol grubu  $10,74 \times 10^6$  h/mL besi yeri hücre konsantrasyonuna erişirken, 20 mg/L besi yeri ortamında geliştirilen T4 izolatu  $11,73 \times 10^6$  h/mL besi yeri hücre konsantrasyonuna ulaşmıştır. Bu da kontrol grubuna göre %10 kadar daha fazla bir biyomas artışı anlamına gelmektedir. Nieves vd. (2005)'in yaptığı benzer denemelerde de *Dunaliella tertiolecta* gelişmesi üzerine benzer biyomas artışının 20 mg/L zeolit ile olduğu tespit edilmiştir.

Yaptığımız boya giderim çalışmalarında giderim eğrilerine baktığımızda, ilk 5-7 günlük süreçlerde eğimin daha yüksek olduğunu tespit etmiştik. Bu amaçla saat başı örnekleme yapılarak ilk 48 saat ve onu takip eden 3 gün boyunca günlük ölçümler yapılarak Remazol Mavisi giderimlerine bakılmıştır. 120 saatlik çalışma sonucunda ortamdaki başlangıç 50 ppm Remazol Mavi konsantrasyonunun T1 izolatu % 36,8'ini, Zeolitli T1 suşu % 39,3'ünü, T4 suşu % 29,8'ini ve Zeolitli T4 izolatu da % 29,8'ini giderdiği belirlenmiştir. Önceki deneyde 21. günün sonunda ortalama % 54,7 - %67' sini giderdiği dikkate alarak *Dunaliella* spp.'nin toplam giderim kapasitesinin yaklaşık % 60'lık boyayı ilk 5 günde giderdiği ve giderimin 5. günden itibaren ise yavaşladığı görülmüştür.

Zeolit içeren Johnson besi yerinde *Dunaliella* sp.'nin Remazol Mavi giderimine olan etkisine baktığımızda inkübasyon sonucunda en iyi giderimin 50 mg/L Zeolit pH 9'da olduğu tespit edilmiştir. T4 izolatu 50 ppm olan başlangıç boya konsantrasyonunun %61,4'ünü kullanarak ortamdaki boyayı 19,3 ppm'e düşürmüştür. Bu da zeolitlerin hem

biyoması arttırmada hem de aynı anda boyayı gidermede kullanılabileceğini göstermektedir.

Tuz gölünden alınan su örnekleri ile erlenlerde, steril olmayan şartlarda farklı ortamlar denenerek biyomas üretmek için en iyi ortam belirleme çalışmasında  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$ , Fe-Solüsyonu ve Eser Element Solüsyonu Johnson besi yerindeki oranlar olarak eklenen grupta olduğu bulunmuştur. Sadece göl suyunun kullanıldığı ortamda başlangıçta üreme başladıysa da bir süre sonra besin sınırlamasından üremenin durduğu gözlemlenmiştir. Örnekler 21 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda en iyi biyomas artışının T2 izolatu ile olduğu ve maksimum hücre konsantrasyonunun  $2/3$  GS +  $1/3$  d-su + Katkılar ortamında sağlandığı belirlenmiştir ( $15,33 \times 10^6$  hücre / ml). Bu miktar %100 Johnson besi yeri ortamında ise  $14,71 \times 10^6$  hücre / ml olmuştur (Bk. Şekil 4.39).

Zeolitlerin erlenlerdeki etkisi belirlendikten sonra göl suyu ile en iyi ortam şartları kullanılarak yapılan deneyde Johnson besi yeri ile yapılan denemelerde kontrol grubuna göre %10'luk artış sağlayan 20 mg/l zeolit konsantrasyonu bu amaçla kullanılmıştır. Ayrıca buna ilave olarak da 50 mg/l zeolit konsantrasyonu da aynı amaçla kullanılmıştır.

Deney 21 gün kadar oda sıcaklığında sürdürülmüştür. En yüksek biyomasın 20 mg/l zeolit konsantrasyonunda elde edildiği ve  $0,5 \times 10^6$  h/ml başlangıç hücre konsantrasyonu inkübasyon periyodunun sonunda  $5,07 \times 10^6$  h/ml konsantrasyona ulaşırken kontrol grubunda bu sayı  $2,9 \times 10^6$  h/ml olarak gerçekleşmiştir (Bk. Şekil 2.40-2.41). Bu sonuçlar bize göl suyundaki olası toksik ve gelişmeyi sınırlayıcı maddelerin zeolitler tarafından adsorbe edildiği ve zeolit olmayan gruba göre daha büyük bir oranda biyomas eldesi oluştuğu görülmektedir. Bunun aksine Johnson besi yerinde besin kompozisyonunun optimum şartlarda olduğu dikkate alındığında biyomas artışının 20 mg/l zeolit ile en fazla %10 olması şaşırtıcı değildir.

Erlenler ile belirlenen en iyi şartlar kullanılarak gerçek göl suları ile laboratuvar tipi açık havuzlarda biyomas üretimi ve ölçek büyütme çalışmaları yapılmıştır. Denemeler

sonucunda Küçük havuzda oluşan biyomas büyük havuza aktararak ölçek büyütme işlemine gidilmiştir. Her iki havuzun inkübasyon periyodu sonucunda biyomasta belirgin artış gözlenmiştir. İki havuz kendi içerisinde karşılaştırıldığında havuz hacmi büyüdükçe birim zamanda elde edilen biyomasta düşüş olduğu ancak toplam verimliliğe bakıldığında biyokütle eldesinin daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç da, *Dunaliella* cinsine ait T2 izolatu ile endüstriyel olarak gerçek göl sularında üretimin yapılabileceğini göstermiştir. İkinci defa yapılan benzer denemede de benzer sonuçlar elde edilmesi hacim artırma işinin laboratuvar tipi açık havuzlarda başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini göstermektedir. Erlendeki Johnson besi yeri ve göl suyu ile yapılan zeolit denemesinde elde edilen olumlu sonuçlardan hareketle açık küçük havuzda da 20 mg/L zeolitli bir deneme yapılmıştır. 20 mg/L zeolit miktarının 15 günlük inkübasyon periyodu sonucunda zeolit olmayan açık havuza göre daha iyi gelişim gösterdiği belirlenmiştir. İnkübasyon periyodu sonucunda zeolit olmayan küçük havuzdaki hücre konsantrasyonu  $1,79 \times 10^6$  h/ml iken, 20 mg/l zeolit içeren küçük havuzda bu sayı  $2,72 \times 10^6$  h/ml olmuştur. Bu sonuç da zeolitsiz gruba göre biyomasta % 52'lik bir artış anlamına gelmektedir ki her üç denemenin de birbiri ile paralellik göstermesi sonucunda zeolitlerin biyomas artışına olan etkilerini net bir şekilde göstermektedir. Erlende yapılan zeolitli denemede inkübasyon sonucundaki biyomasın ( $4,5 \times 10^6$  h/ml) küçük havuzdan daha yüksek olması, denemenin kapalı bir ortamda ve 100 ml kadar hacimde yapılması ile ışıktan faydanın daha fazla sağlanmasından kaynaklandığı açıktır.

Garcia-Gonzales vd. (2003)'in İspanya'da yapmış oldukları *Dunaliella salina* ile geniş çaplı üretim çalışmasında yılın her ayı için değerler belirlenmiştir.  $3m^2$ 'lik yüzeye sahip ve ortalama 10 cm derinlikte, 19 rpm hızında karıştırması yapılan açık alandaki havuzlarda yaz mevsimi için elde edilen hücre yoğunluğu  $0,7 - 1,1 \times 10^6$  h/ml olarak bulunmuştur (yaz mevsimi için bir aylık ortalama hücre sayısı). Bizim çalışmamızda da T2 izotu ile benzer sonuçlar bulunmuş ve 21 günlük inkübasyonun sonunda, büyük havuzda ( $0,5 m^2$  yüzeye sahip, 30 rpm karıştırma hızında, 8 cm derinlikte ve 40 L hacimde),  $1,09 \times 10^6$  h/ml yoğunluğunda hücre elde edilmiştir. Benzer şartlarda küçük havuzda ( $0,125 m^2$  yüzeye sahip, 30 rpm karıştırma hızında, 4 cm derinlikte ve 4 L hacimde),  $3,55 \times 10^6$  h/ml yoğunluğunda hücre elde edilmiştir. Bu da havuzdaki

derinlik azaldıkça birim zamanda elde edilen hücre konsantrasyonunda artış olduğunu göstermektedir. Bunun ise ışıktan maksimum düzeyde faydalanmaktan kaynaklandığı açıktır. Derinlikle ilgili benzer sonuçlar Garcia-Gonzales vd. (2003)'in İspanya'da yapmış oldukları çalışmada da bulunmuştur.

Zeolitli küçük (4 L) açık havuz ile Remazol Mavi giderimi çalışması yapılmış ve önceden elde edilen erlendeki verilerle karşılaştırılması sonucunda boyanın yaklaşık olarak %92,6'sının tükendiği belirlenmiştir. Aynı süre içerisinde boyalı kontrolde ise spontane olarak boyanın % 16,1'inin parçalandığı belirlenmiştir. 21 günlük inkübasyon periyodu sonunda zeolitli küçük havuz verilerinin daha önce benzer şartlarda (tuzluluk, inokülüm miktarı, pH, başlangıç boya konsantrasyonu) erlende Johnson besi yeri ile yapılan zeolitli Remazol Mavi giderim çalışmalarıyla karşılaştırıldığında küçük havuzdaki giderimin (%88) erlendeki giderime göre (%50) çok daha fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca ilk beş günlük inkübasyon sonucunda tüketimin çok hızlı olduğu ve ondan sonra da yavaşlamaya başladığı görülmektedir. Yine daha önceki denemelerimizde saatli Remazol Mavi giderim deneyi benzer şartlarda yapılmış ve ilk beş günlük giderim fonksiyonuna bakılmıştır. Bu bağlamda ilk beş günlük inkübasyon sonucunda her iki deney karşılaştırıldığında zeolitli küçük havuzdaki giderimin (%62,8), zeolitli erlendeki giderime göre (%39,3) çok daha fazla olduğu görülmektedir.

Denemeler sonucunda, *Dunaliella* cinsine ait türlerin Tuz Gölü gibi yüksek tuzluluk oranına sahip göl sularında üretilebileceği, çünkü bu gibi sularda ekstrem koşulların mevcudiyetinden kontaminasyon problemi yaşanmadığı sonucuna varılmıştır. Zeolitlerin açık havuzlarda üretilecek *Dunaliella* türleri için hem ortamı iyileştirmede hem de biyoması arttırmada önemli olduğu sonucuna varılmıştır. *Dunaliella* türleri ile elde edilecek biyomasın azo boyalarından kaynaklanabilecek olan sıvı atıkları bertaraf etmede kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır. Ayrıca üretilecek *Dunaliella* sp. biyomasının birçok uygulama için kullanıldığı ve kullanılma potansiyeli içerdiği dikkate alındığında, ülkemizin sahip olduğu zengin göl ve deniz sularının kullanılarak ülke ekonomisine katma değer oluşturacağı, ekonomik dış açığın azaltılmasına katkıda bulunacağı, istihdam oluşturacağı ve mikroalg ihracat yolunu açarak hızla artan dünya mikroalg pazarından pay alabileceği sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Abd El-Rahim, W.M., El-Arady, O.A.M. and Mohammad, F.H.A. 2009. The effect of pH on bioremediation potential for the removal of direct violet textile dye by *Aspergillus niger*. *Desalination* 249: 1206–1211.
- Andersen, A.R. 2005. *Algal Culturing Techniques*. Elsevier Academic Press.
- Aksu, Z. and Tezer, S. 2005. Biosorption of reactive dyes on the green alga *Chlorella vulgaris*. *Process Biochemistry* 40: 1347–1361.
- Aksu Z. 2005. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. *Process Biochemistry* 40: 997–1026.
- Alpat, S.K., Özbayrak, Ö., Alpat, Ş. and Akçay, H. 2008. The adsorption kinetics and removal of cationic dye, Toluidine Blue O, from aqueous solution with Turkish zeolite. *Journal of Hazardous Materials* 151: 213–220.
- Aravindhan, R., Rao, J.R. and Nair, B.U. 2007. Removal of basic yellow dye from aqueous solution by sorption on green alga *Caulerpa scalpelliformis*. *Journal of Hazardous Materials* 142: 68–76.
- Armağan, B., Özdemir, O., Turan, M. and Çelik, M.S. 2003. The removal of reactive azo dyes by natural and modified zeolites. *J Chem Technol Biotechnol* 78:725–732.
- Armağan, B., Turan, M. and Çelik, M.S. 2004. Equilibrium studies on the adsorption of reactive azo dyes into zeolite. *Desalination* 170: 33-39.
- Asad, S., Amoozegar, M.A., Pourbabaee, A.A., Sarbolouki, M.N. and Dastgheib, S.M.M. 2007. Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. *Bioresource Technology* 98: 2082–2088.
- Asma, D., Kahraman, S., Cing, S. and Yesilada, O. 2006. Adsorptive removal of textile dyes from aqueous solutions by dead fungal biomass. *J. Basic Microbiol.* 46: 1, 3–9.
- Barsanti, L. and Gualtieri, P. 2006. *Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Bayramoğlu, G., Tuzun, I., Celik, G., Yilmaz, M. and Arica, M.Y. 2006. Biosorption of mercury(II), cadmium(II) and lead(II) ions from aqueous system by microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* immobilized in alginate beads. *Int. J. Miner. Process.* 81: 35–43.

- Becerra-Dorame, M., Lopez-Elias, J.A. and Martinez-Cordova, L.R. 2010. An alternative outdoor production system for the microalgae *Chaetoceros muelleri* and *Dunaliella sp.* during winter and spring in Northwest Mexico. *Aquacultural Engineering* 43: 24–28.
- Becker, E.W. 1994. *Microalgae biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press.
- Becker, E.W. 2007. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances* 25: 207–210.
- Ben – Amotz, A. 1987. Effects of Irradiance and Nutrient Deficiency on the Chemical Composition of *Dunaliella bardawil* Ben - Amotz and Avron (Volvocales, Chlorophyta). *J. Plant Physiol.* 131:479 - 487.
- Ben-Amotz, A., Polle Jürgen, E.W. and Subba Rao, D.V. 2009. *The Alga Dunaliella: Biodiversity, Physiology, Genomics and Biotechnology*. Science Publishers.
- Beyatlı, Y. 1996. *Biyoteknoloji ve Biyoprotein Üretimi*. Kükem Derneği Bilimsel Yayınları No.5.
- Benkli, Y.E., Can, M.F., Turan, M. and Çelik, M.S. 2005. Modification of organo-zeolite surface for the removal of reactive azo dyes in fixed-bed reactors. *Water Research* 39: 487–493.
- Borowitzka, A. M. and Borowitzka, J. L. 1988. *Micro-Algal Biotechnology*. Cambridge University Press.
- Borowitzka, M. A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology* 70: 313–321.
- Capasso, J. M., Cossio, B. R., Berl, T., Rivard, C.J. and Jimenez, C. 2003. A colorimetric assay for determination of cell viability in algal Cultures. *Biomolecular Engineering* 20:133-138.
- Chen, K.C., Wu, J.Y., Huang, C.C., Yu-Min Liang, Y.M. and Hwang, J.Sz-C. 2003. Decolorization of azo dye using PVA-immobilized Microorganisms. *Journal of Biotechnology* 101: 241-252.
- Chen, K.C., Wu, J.Y., Liou, D.J. and Hwang, J.Sz-C. 2003. Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains . *Journal of Biotechnology* 101: 57-68.
- Chen, C.Y., Kuo, J.T., Cheng, C.Y., Huang, Y.T., Ho, I.H. and Chung, Y.C. 2009. Biological decolorization of dye solution containing malachite green by *Pandora pulmonicola* YC32 using a batch and continuous system. *Journal of Hazardous Materials* 172: 1439–1445.

- Chidambara Murthy, K.N., Vanitha, A., Rajesha, J., Mahadeva Swamy, M., Sowmya, P.R. and Ravishankar, G.A. 2005. In vivo antioxidant activity of carotenoids from *Dunaliella salina* — a green microalga. *Life Sciences* 76: 1381–1390.
- Christi, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25: 294–306.
- Çelekli, A. and Dönmez, G. 2006. Effect of pH, light intensity, salt and nitrogen concentrations on growth and  $\beta$ -carotene accumulation by a new isolate of *Dunaliella* sp. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 22: 183–189.
- Daneshvar, N., Ayazloo, M., Khataee, A.R. and Pourhassan, M. 2007. Biological decolorization of dye solution containing Malachite Green by microalgae *Cosmarium* sp. *Bioresource Technology* 98: 1176–1182.
- Day, J.G., Benson, E. E. and Fleck, R.A. 1999. In vitro culture and conservation of microalgae: Application for aquaculture, biotechnology and environmental research. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 35:127-136.
- Del Campo, J. A., García-González, M. and Guerrero, M.G. 2007. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol* 74:1163–1174.
- Dönmez, G. and Aksu, Z. 2002. Removal of chromium(VI) from saline wastewaters by *Dunaliella* species. *Process Biochemistry* 38: 751-762.
- El-Sheekh, M.M., Gharieb, M.M. and Abou-El-Souod, G.W. 2009. Biodegradation of dyes by some green algae and cyanobacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation* 63: 699–704.
- Eriksen, N.T. 2008. The technology of microalgal culturing. *Biotechnol. Lett.* 30:1525–1536.
- Ertuğrul, S. Bakır, M. and Dönmez, G. 2008. Treatment of dye-rich wastewater by an immobilized thermophilic cyanobacterial strain: *Phormidium* sp. *Ecological Engineering* 32: 244–248.
- Fachini, A., Fernanda, M., Leal, C., Teresa, M. and Vasconcelos, S.D. 2004. Are zeolites capable of modifying the yield of marine micro-algae cultures? A case study with *Emiliana huxleyi* and a product of zeolitic nature. *Aquaculture* 237: 407–419.
- Fernandes, H.L., Veloso, V., Gouveia, L., Empis, J.M. and Novais, J.M. 1997. Mild method of pre-concentration of *Dunaliella salina* from culture medium. *Biotechnology Techniques* 11: 557–559.



- Francavilla, M., Trotta, P. and Luque, R. 2010. Phytosterols from *Dunaliella tertiolecta* and *Dunaliella salina*: A potentially novel industrial application. *Bioresource Technology* 101: 4144–4150.
- Forgacs, E., Cserhati, T. and Oros, G. 2004. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Environment International* 30: 953–971.
- Foster, S., Thomson, D. and Maher, W. 2008. Uptake and metabolism of arsenate by anoxic cultures of the microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Marine Chemistry* 108: 172–183.
- Garcia, F., Freile-Pelegri, Y. and Robledo, D. 2007. Physiological characterization of *Dunaliella* sp. (Chlorophyta, Volvocales) from Yucatan, Mexico. *Bioresource Technology* 98: 1359–1365.
- García-González, M., Moreno, J., Cañavate, J.P., Anguis, V., Prieto, A., Manzano, C., Florencio, F.J. and Guerrero, M.G. 2003. Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain. *Journal of Applied Phycology* 15: 177–184.
- Gordon, J. M. and Polle, J. E. W. 2007. Ultrahigh bioproductivity from algae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* DOI 10.1007/s00253-007-1102-x.
- Gouveia, L. and Oliveira, A.C. 2009. Microalgae as a raw material for biofuels production. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 36: 269–274.
- Grima, E. M., Belarbi, E.H., Acien Fernandez, F.G., Medina, A. R. and Chisti, Y. 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnology Advances* 20: 491–515.
- Guermazi, W., Sellami-Kammoun, A., Elloumi, J., Drira, Z., Aleya, L., Marangoni, R., Ayadi, H. and Maalej, S. 2010. Microalgal cryo-preservation using dimethylsulfoxide (Me<sub>2</sub>SO) coupled with two freezing protocols: Influence on the fatty acid profile. *Journal of Thermal Biology* 35: 175–181.
- Harun, R., Singh, M., Forde, G.M. and Danquah, M.K. 2010. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14: 1037–1047.
- Horiuchi, J.I., Ohba, I., Tada, K., Kobayashi, M., Kanno, T., and Kishimoto, M. 2003. Effective Cell Harvesting of the Halotolerant Microalga *Dunaliella tertiolecta* with pH Control. *J. Of Biosci. and Bioeng.* 95:412-415.
- Huang, G.H., Chen, F., Wei, D., Zhang, X.W. and Chen, G. 2010. Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Applied Energy* 87: 38–46.
- Ibrahim, M.B., Nigam, P., Singh, D. and Marchant, R. 1996. Decolorization of textile-dye containing effluents: A Review. *Bioresource Technology* 58: 217-227.

- Jäger, K., Bartók, T., Ördög, V. and Barnabás, B. 2010. Improvement of maize (*Zea mays* L.) anther culture responses by algae-derived natural substances. *South African Journal of Botany* 76: 511–516.
- Jimenes, C. and Niell Xavier, F. 1991. Influence of Temperature and Salinity on Carbon and Nitrogen Content in *Dunaliella viridis* Teodoresco Under Nitrogen Sufficiency. *Biosource Technology* 38: 91 - 94.
- Joo, D.S., Cho, M.G., Lee, J.S., Park, J.H., Kwak, J.K., Han, Y.H. and Bucholz, R. 2001. New Strategy for the cultivation of microalgae using microencapsulation. *J. Microencapsulation* 18: 567-576.
- Kaçka, A. and Dönmez, G. 2008. Isolation of *Dunaliella* spp. from a hypersaline lake and their ability to accumulate glycerol. *Bioresource Technology* 99: 8348–8352.
- Kaushik, P. and Malik, A. 2009. Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential. *Environment International* 35: 127–141.
- Knapp, J. S. and Newby, P. S. 1999. The decolorisation of a chemical industry effluent by white rot fungi. *Wat. Res.* 33: 575-577.
- Kviderova, J. and Henley, W.J. 2005. The effect of ampicillin plus streptomycin on growth and photosynthesis of two halotolerant chlorophyte algae. *Journal of Applied Phycology* 17: 301–307.
- Kumar, V.K., Ramamurthi, V. and Sivanesan, S. 2006. Biosorption of malachite green, a cationic dye onto *Pithophora sp.*, a fresh water algae. *Dyes and Pigments* 69: 102-107.
- Lee, Y.K. 1997. Commercial production of microalgae in the AsiaPacific Rim. *Journal of Applied Phycology* 9: 403–411.
- Lefebvre, O. and Moletta, R. 2006. Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: A literature review. *Wat.Res.* 40: 3671 – 3682.
- Lim, S.L., Chu, W.L. and Phang, S.M. 2010. Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. *Bioresource Technology* 101: 7314–7322.
- Marungrueng, K. and Pavasant, P. 2007. High performance biosorbent (*Caulerpa lentillifera*) for basic dye removal. *Bioresource Technology* 98: 1567–1572.
- Mata, T.M., Martins, A.A. and Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14: 217–232.

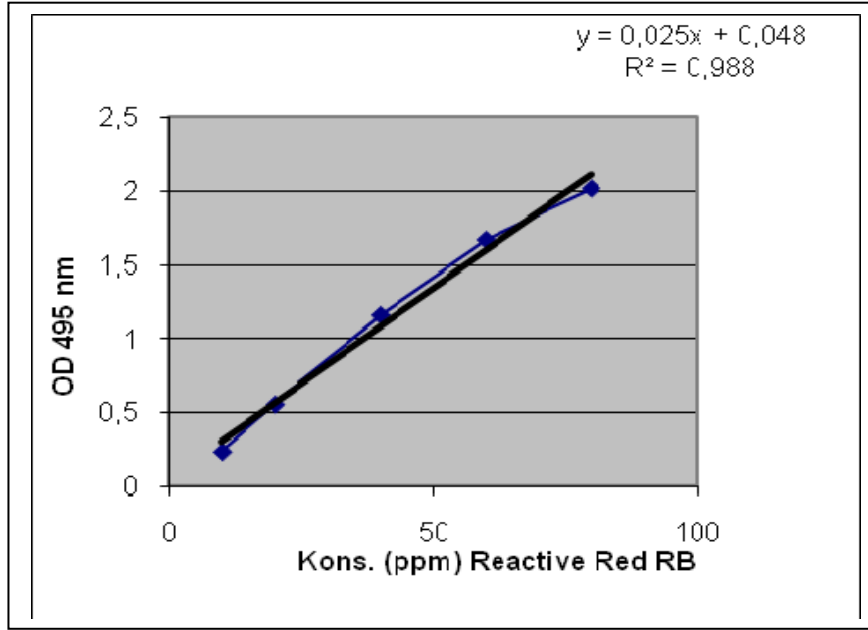
- Miyosaka H. and Ikeda K. 1997. Osmoregulation mechanism of the halotolerant green alga *Chlamydomonas*, Strain HS-5. *Plant Science*. 127: 91 - 96.
- Mojaat, M., Pruvost, J., Foucault, A. and Legrand, J. 2008. Effect of organic carbon sources and Fe<sup>2+</sup> ions on growth and  $\beta$ -carotene accumulation by *Dunaliella salina*. *Biochemical Engineering Journal* 39: 177–184.
- Moreno-Garrido, I. and Canavate, J.P. 2001. Assessing chemical compounds for controlling predator ciliates in outdoor mass cultures of the green algae *Dunaliella salina*. *Aquacultural Engineering* 24: 107–114.
- Munoz R. And Guieysse B. 2006. Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water research* 40: 2799 – 2815.
- Nieves, M., Voltolina, D. and Pina, P. 2005. Growth and biomass production of *Tetraselmis suecica* and *Dunaliella tertiolecta* in a standard medium added with three products of zeolitic nature. *Aquacultural Engineering* 32: 403–410.
- Nowack, E. C.M., Podola, B. and Melkonian, M. 2005. The 96-Well Twin-Layer System: A Novel Approach in the Cultivation of Microalgae. *Protist*, 156: 239—251.
- Olaizola, M. 2003. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. *Biomolecular Engineering* 20: 459-/466
- Olmos, J., Paniagua, J. and Contreras, R. 2000. Molecular identification of *Dunaliella* sp. utilizing the 18S rDNA gene. *Letters in Applied Microbiology* 30: 80–84.
- Oren, A. 2005. A hundred years of *Dunaliella* research: 1905–2005. *Saline Systems* 1:2 doi:10.1186/1746-1448-1-2.
- Pandley, A., Singh, P. and Iyengar, L. 2007. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration & Biodegradation* 59: 73–84.
- Phadwal, K. and Singh, P. K. 2003. Isolation and characterization of an indigenous isolate of *Dunaliella* sp. for  $\beta$ -carotene and glycerol production from a hypersaline lake in India. *J. Basic Microbiol.* 43: 423–429.
- Raja, R., Iswarya, S. H., Balasubramanyam, D. and Rengasamy, R.. 2007. PCR-identification of *Dunaliella salina* (Volvocales, Chlorophyta) and its growth characteristics. *Microbiological Research* 162: 168— 176.
- Rasoul-Amini, S., Ghasemi, Y., Morowvat, M.H. and Mohagheghzadeh, A. 2009. PCR amplification of 18S rRNA, single cell protein production and fatty acid evaluation of some naturally isolated microalgae. *Food Chemistry* 116: 129–136.

- Richmond, A. 2004. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Science Ltd.
- Sadettin, S. and Dönmez, G. 2006. Bioaccumulation of reactive dyes by thermophilic cyanobacteria. *Process Biochemistry* 41: 836–841.
- Sadettin, S. and Dönmez, G. 2007. Simultaneous bioaccumulation of reactive dye and chromium(VI) by using thermophilic *Phormidium* sp. *Enzyme and Microbial Technology* 41: 175–180.
- Saçan, M.T. and Balçioğlu, I.A. 2001. Bioaccumulation of Aluminium in *Dunaliella tertiolecta* in Natural Seawater: Aluminium–Metal (Cu, Pb, Se) Interactions and Influence of pH. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 66:214–221.
- Saçan, M.T. and Balçioğlu, I.A. 2006. A case study on algal response to raw and treated effluents from an aluminum plating plant and a pharmaceutical plant. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 64: 234–243.
- Salguero, A., de la Morena, B., Vigar, J., Vega, J. M., Vilchez, C. and Leon, R. 2003. Carotenoids as protective response against oxidative damage in *Dunaliella bardawil*. *Biomolecular Engineering* 20: 249-253.
- Selvam, K., Swaminathan, K. and Chae, K.S. 2003. Decolourization of azo dyes and a dye industry effluent by a white rot fungus *Thelephora* sp. *Bioresource Technology* 88: 115–119.
- Shirai, F., Kunii, K., Sato, C., Teramoto, Y., Mizuki, E., Murao, S. and Nakayama, S. 1998. Cultivation of microalgae in the solution from the desalting process of soy sauce waste treatment and utilization of the algal biomass for ethanol fermentation. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 14: 839-842.
- Slokar, Y. M. and Majcen Le Marechal, A. 1997. Methods of Decoloration of Textile Wastewaters. *Dyes and Pigments* 37: 335-356.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. and Isambert, A. 2006. Commercial Applications of Microalgae. *J. Biosci. Bioeng.* 101: 87-96.
- Sydney, E.B., Sturm, W., Cesar de Carvalho, J., Thomaz-Soccol, V., Larroche, C., Pandey, A. and Soccol, C.R. 2010. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. *Bioresource Technology* 101: 5892–5896.
- Tafreshi, A.H. and Shariati, M. 2006. Pilot culture of three strains of *Dunaliella salina* for  $\beta$ -carotene production in open ponds in the central region of Iran. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 22: –1006.

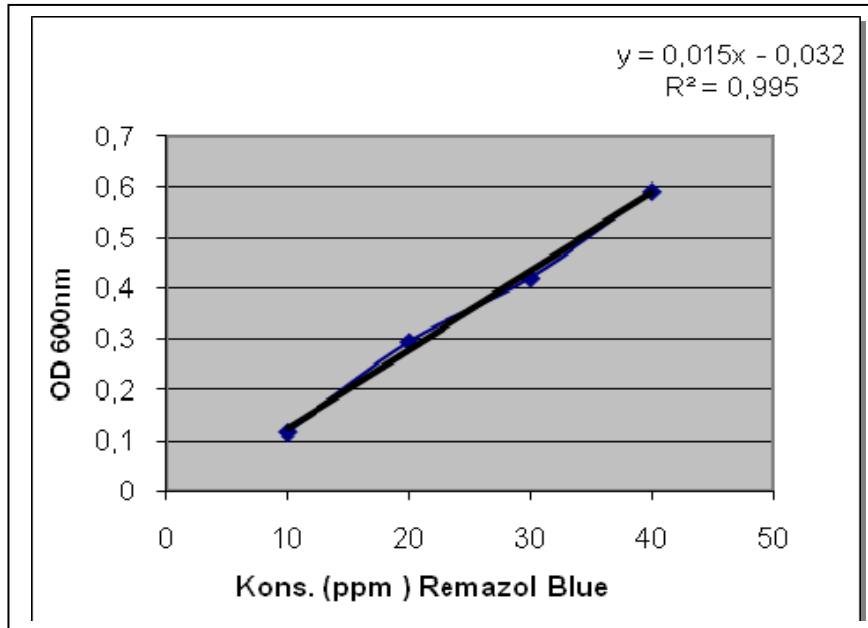
- Taştan, B.E., Ertuğrul, S. and Dönmez, G. 2010. Effective bioremoval of reactive dye and heavy metals by *Aspergillus versicolor*. *Bioresource Technology* 101: 870–876.
- Thakur A. 2000. Effect of pH and inorganic carbon concentration on growth, glycerol production, photosynthesis and dark respiration of *Dunaliella salina*. *Cytobios.* 102: 69 – 74.
- Toh, Y.C., Yen, J.J.L., Obbard, J.P. and Ting, Y.P. 2003. Decolourisation of azo dyes by white-rot fungi (WRF) isolated in Singapore. *Enzyme and Microbial Technology* 33: 569–575.
- Tzovenis, I., Triantaphyllidis, G., Naihong, X., Chatzinikolaou, E., Papadopoulou, K., Xouri, G. and Tafas, T. 2004. Cryopreservation of marine microalgae and potential toxicity of cryoprotectants to the primary steps of the aquacultural food chain. *Aquaculture* 230: 457–473.
- Wang, S. and Zhu, Z.H. 2006. Characterisation and environmental application of an Australian natural zeolite for basic dye removal from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials B136*: 946–952.
- Wang, S., Li, H., Xie, S., Liu, S. and Xu, L. 2006. Physical and chemical regeneration of zeolitic adsorbents for dye removal in wastewater treatment. *Chemosphere* 65: 82–87.
- Wang, S. and Ariyanto, E. 2007. Competitive adsorption of malachite green and Pb ions on natural zeolite. *Journal of Colloid and Interface Science* 314: 25–31.
- Vasconcelos, M. Teresa, S.D., López-Ruiz, J.L., Garcia, A., Leal M. Fernanda, C. and Fachini, A. 2004. Effect of zeolites on cultures of the marine micro-algae *Emiliania huxleyi*. *Aquacultural Engineering* 31: 205–219.
- Vijayaraghavan, K. and Yun, Y.S. 2008. Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances* 26 :266–291.
- Vilchez, C., Garhayo, I., Lobato, M. V. and Vega, J. M. 1997. Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal. *Enzyme and Microbial Technology* 20: 562-572.
- Zhu, Y.H. and Jiang, J.G. 2007. Continuous cultivation of *Dunaliella salina* in photobioreactor for the production of  $\beta$ -carotene. *Eur. Food Res. Technol.* DOI 10.1007/s00217-007-0789-3.
- Zhuang, X., Han, Z., Bai, Z., Zhuang, G. and Shim, H. 2010. Progress in decontamination by halophilic microorganisms in saline wastewater and soil. *Environ. Pollut.* doi:10.1016/j.envpol.2010.01.007.

## EKLER

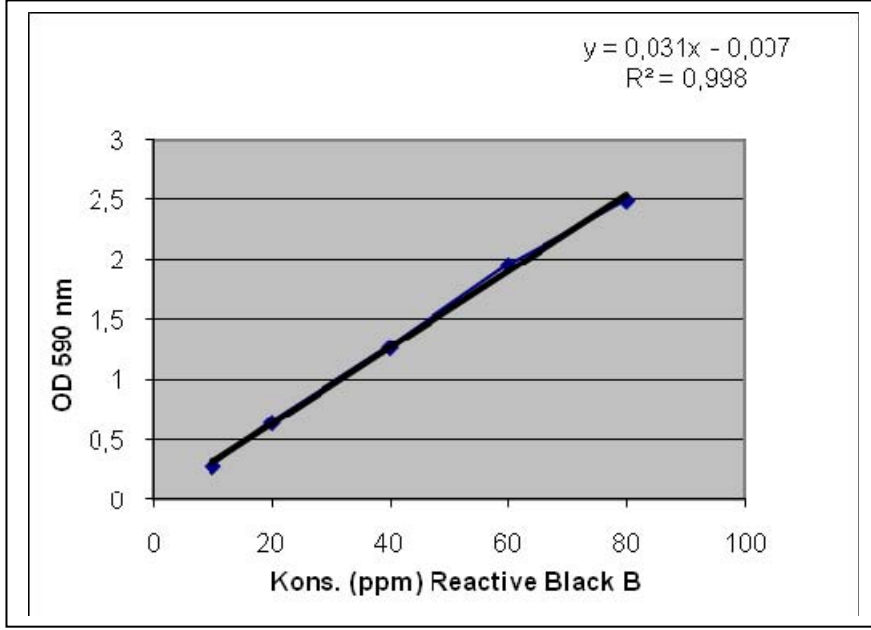
### EK 1 Remazol Mavi, Reaktif Siyah B ve Remazol Kırmızı RB'nin standart eğrileri



Şekil 1 Reaktif Kırmızı RB örnek standart eğrisi

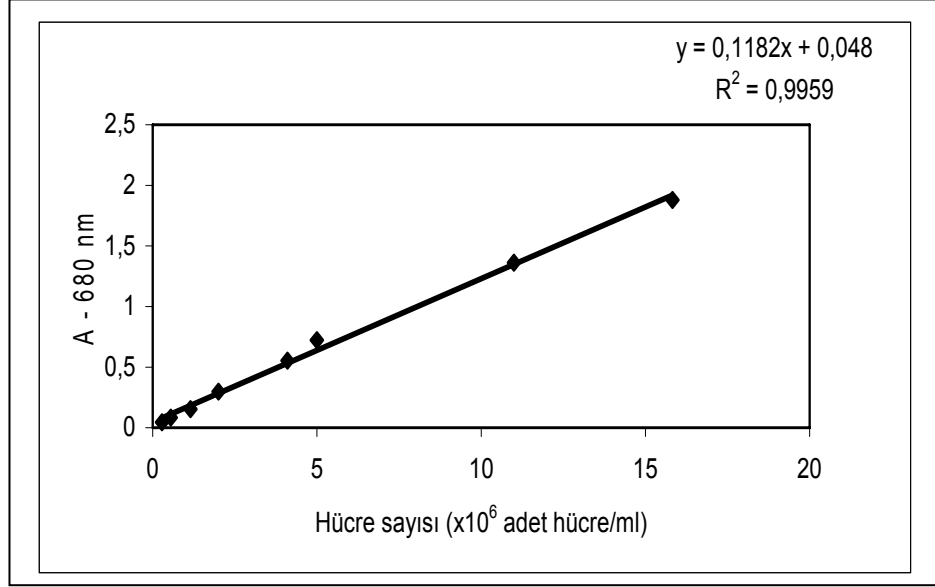


Şekil 2 Remazol Mavi örnek standart eğrisi



Şekil 3 Reaktif Siyah B örnek standart eğrisi

## EK 2 Hücre Sayısı Standart Eğrisi



Şekil 1 Hücre sayısı standart eğrisi



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Aşkın KAÇKA  
Doğum Yeri : Prizren/ KOSOVA  
Doğum Tarihi : 07.05.1977  
Medeni Hali : Evli ve bir çocuk babası  
Yabancı Dili : İngilizce, Sırpça, Hırvatça, Boşnakça, Arnavutça

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Jovanka Radivojevic Kica Fen Lisesi, Prizren - Kosova, 1995.  
Lisans : Gazi Üniversitesi Biyoloji Eğitimi Bölümü - Ankara, 2000.  
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı - Ankara, 2003.

### Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Tanı Medikal Ltd. Şti., Ankara, 2000-2003  
IBL Turkey Ltd. Ankara, (5 ay kadar Almanya Hamburg'da IBL International firmasında), 2003 – 2005.  
RTA Laboratuvarları Ltd. Şti., Kocaeli, 2005 – 2008.  
Ceylan Medikal Ltd. Şti., Sakarya, 2009 – halen devam ediyor.

### Yayımları (SCI ve diğer)

**Kaçka A.** and Dönmez G. 2008. Isolation of *Dunaliella spp.* from a hypersaline lake and their ability to accumulate glycerol. *Bioresource Technology* 99: 8348–8352.

Cakan, G., Bezirci, FB., **Kacka, A.**, Cesur, S., Aksaray, S., Tezeren, D., Saka, D. and Ahmed, K. 2008. Assessment of Diagnostic Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kit and Serological Markers in Human Brucellosis. *Jpn.J.Infect. Dis.* 61: 366 – 370.