

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**ALG KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARINDA BIYOMAS VERİMLİLİĞİNİ  
ARTTIRMA YÖNTEMLERİ**

**Meltem ALTUNÖZ HATİPOĞLU**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA  
2016**

**Her hakkı saklıdır**

## TEZ ONAYI

Meltem ALTUNÖZ HATIPOĞLU tarafından hazırlanan “Alg Kültürü Çalışmalarında Biyomas Verimliliğini Arttırma Yöntemleri” adlı tez çalışmasında 10/02/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. E. Olcay OBALI



### Jüri Üyeleri

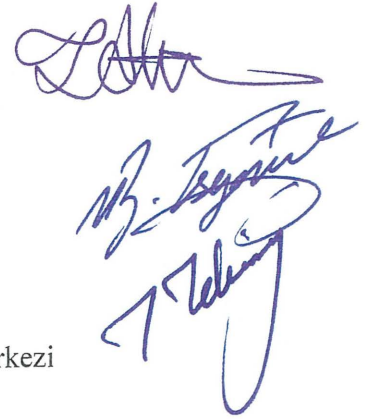
Başkan: Prof. Dr. Sibel ATASAĞUN  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. E. Olcay OBALI  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Tahir ATICI  
Gazi Üniversitesi Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı



Üye : Doç. Dr. M. Borga ERGÖNÜL  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Turgay TEKİNAY  
Gazi Üniversitesi, Yaşam Bilimleri Uygulama Araştırma Merkezi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim DEMİR  
Enstitü Müdürü

## ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

10.02.2016



Meltem ALTUNÖZ HATİPOĞLU

## ÖZET

Doktora Tezi

### ALG KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARINDA BİYOMAS VERİMLİLİĞİNİ ARTTIRMA YÖNTEMLERİ

Meltem ALTUNÖZ HATİPOĞLU

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. E. Olcay OBALI

Alg kültürlerinin biyomas verimliliğini artırma yöntemlerinin araştırıldığı bu çalışmada *Neochloris oleoabundans* Chantanachat ve Bold türü kullanılmıştır. *N.oleoabundans* türünün optimum büyüme ve gelişmesini izlemek için algal suşlar BG11 besiyeri, biyoatık olan tavuk gübresi besiyeri ve azot yoksunu BG11 besiyeri olmak üzere üç farklı mikroalgal besiyeri kullanılarak, beyaz, mavi ve kombine mavi ile kırmızı olmak üzere üç farklı dalga boyunda LED ışığa maruz bırakılmıştır. Uygulama sırasında mavi ışık tavuk gübresi ile birlikte kullanıldığında pigment ve toplam lipid içeriğinde olumlu değerlere ulaşılırken, kombine mavi ile kırmızı ışığın tavuk gübresi besiyerinde kullanılması yoluyla kayda değer konsantrasyon değerlerine ulaşılmıştır. Tavuk gübresi besiyerlerinde sabit mikroalgal hücre konsantrasyonu ve yükselen optik yoğunluk izlenmiştir ve bu durumda hücre boyutlarında büyüme olduğu izlenmiştir.

Mavi ve kombine mavi ile kırmızı ışığa maruz kalan, tavuk gübresi besiyerlerindeki suşlarda gelişen mikroalg hücrelerinin büyüklüklerinin diğer suşlara oranla daha yüksek olmasının aynı zamanda besiyerinin rengine de bağlı olduğu tahmin edilmektedir. Tavuk gübresi besiyerlerinin, BG11 ve BG11-N besiyerlerine göre daha koyu bir renkte olması, suşlara nüfuz eden ışığın difüzyonunu ve yayılımını etkilemektedir. Besiyerinin rengi daha koyu olduğu takdirde beyaz ışığın besiyeri tarafından da absorbe edildiği ve bu nedenle beyaz ışığa maruz kalan mikroalgal hücrelerin büyüklüklerinin daha az olabileceği tahmin edilmektedir. Aynı ışık yoğunluklarında olan mavi veya kombine mavi ile kırmızı ışığın, koyu renkli bir besiyeri tarafından daha az oranda absorbe edildiği ve bu suşlarda hücrelere nüfuz eden beyaz ışığın daha yüksek irradiasyon yoğunluğuna öncülük ettiği düşünülmektedir.

**Şubat 2016, 81 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Biyoatık, kırmızı ışık, LED ışık, mavi ışık, mikroalgal gelişme, *Neochloris oleoabundans*, tavuk gübresi

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### APPLICATIONS IN ALGAL CULTIVATION TO ENHANCE BIOMASS EFFICIENCY

Meltem ALTUNÖZ HATIPOĞLU

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

Supervisor: Prof. Dr. E. Olcay OBALI

In this study, the effect of three microalgal growth mediums which are BG11 medium, nitrogen deprived BG11 medium and poultry manure biowaste, as well as the effect of different wavelengths which are white, blue and blue combined with red light, respectively, for the optimum growth of *Neochloris oleoabundans* were monitored. In the course of the experiment, a significant concentration value and cell size was observed in chicken manure growth medium, under blue combined with red light, while the pigments content and the total lipid content were found to be remarkable in chicken manure medium exposed to blue light. By the constant microalgal cell concentration and the increasing optical density of the strains in chicken manure mediums, it is observed that the cell size of these strains are larger, which is corroborated by cell size measurements.

A possible explanation for the larger cell size of chicken manure medium strains under blue and blue combined with red light can be the opacity of the growth medium. The process of light diffusion and propagation inside the darker chicken manure medium is weaker compared to the BG11 medium; accordingly, blue or combined blue and red light irradiating with the same light density are less absorbed by a dark medium than white light leading to higher irradiation density to the cells.

**February 2016, 81 pages**

**Key Words:** Biowaste, blue light, chicken manure, light-emitting diodes, micro-algal growth, *Neochloris oleoabundans*, red light

## TEŞEKKÜR

Bu tezin sürdürülmüş olduğu Modena ve Reggio Emilia Üniversitesi'nde, her türlü destekleriyle yanımda olan Doç. Dr. Laura ARRU, Doç. Dr. Luca FORTI ve Dr. Onofrio PIRROTTA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen ailem; Fatma ALTUNÖZ, Hayati ALTUNÖZ, Aytekin ALTUNÖZ, Tayfun ALTUNÖZ ve Kemal HATİPOĞLU'na, çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübeleri ile bana destek olan danışmanım Prof. Dr. E. Olcay OBALI'ya (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) ve Tez İzleme Komite Üyeleri Prof. Dr. Sibel ATASAĞUN (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) ve Prof. Dr. Tahir ATICI'ya (Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek öğrenim hayatım boyunca bilgisini ve manevi desteğini benden esirgemeyen Prof. Dr. Ahmet ALTINDAĞ'a (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmalarım süresince desteğini gördüğüm Doç. Dr. Turgay TEKİNAY'a (Gazi Üniversitesi Yaşam Bilimleri Uygulama Araştırma Merkezi) ve Doç. Dr. M. Borga ERGÖNÜL'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması; 2 yıl süre ile Modena ve Reggio Emilia Üniversitesi'nde (İtalya) öğrenci değişim programı ile desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

Meltem ALTUNÖZ HATİPOĞLU

Ankara, Şubat 2016

## İÇİNDEKİLER

### TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR .....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	x
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	4
2.1 Biyoatık Kullanımı.....	4
2.1.1 Alg kültürlerinde biyoatık kullanımı .....	4
2.1.2 Biyoatık kullanımı ile algal biyo kütle üretimi .....	5
2.2 Büyüme Koşullarına Göre Algal Verimlilik .....	6
2.2.1 Fototrofik büyüme .....	8
2.2.2 Miksotrofik büyüme .....	9
2.2.3 Heterotrofik büyüme .....	9
2.3 Alglerin Işık Gereksinimleri .....	10
2.3.1 LED ışık kaynakları ve günümüzdeki kullanımı .....	12
2.4 Mikroalglerde Kloroplast ve Fotosentetik Pigmentler .....	14
2.4.1 Klorofil .....	15
2.4.2 Karotenoid .....	16
2.4.3 Fikobilinler .....	18
2.5 Fotosentez.....	21
2.5.1 Oksijenik Fotosentez.....	22
2.6 Mikroalglerde Absorbsiyon Spektrumu .....	23
2.7 Mikroalg Tabanlı Enerji.....	25
2.8 <i>Neochloris oleoabundans</i> .....	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1 Mikroalgal Suş.....	29

<b>3.2 Işık .....</b>	<b>30</b>
<b>3.3 Mikroalgal Besiyerleri .....</b>	<b>33</b>
<b>3.3.1 İşlenmiş tavuk gübresinin standardizasyonu .....</b>	<b>34</b>
<b>3.3.2 İşlenmiş tavuk gübresiyle hazırlanan besiyeri için yapılan hesaplamalar .....</b>	<b>35</b>
<b>3.3.3 Tavuk gübresi kullanılarak hazırlanan besiyerleri üzerinde yapılan ön hazırlıklar .....</b>	<b>35</b>
<b>3.4 Mikroalgal Hücre Konsantrasyonu.....</b>	<b>37</b>
<b>3.5 Mikroalgal Hücre Büyüklüğü .....</b>	<b>38</b>
<b>3.6 Optik Yoğunluk.....</b>	<b>38</b>
<b>3.7 Büyüme Oranı .....</b>	<b>38</b>
<b>3.8 Fotosentetik Pigment İçeriği .....</b>	<b>39</b>
<b>3.9 Toplam Lipid İçeriği.....</b>	<b>41</b>
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>43</b>
<b>4.1 Farklı Dalga Boylarının ve Farklı Besiyerlerinin algal gelişime etkileri .....</b>	<b>43</b>
<b>4.2 Hücre Konsantrasyonu.....</b>	<b>45</b>
<b>4.3 Optik Yoğunluk.....</b>	<b>50</b>
<b>4.4 Büyüme Oranı .....</b>	<b>53</b>
<b>4.5 Hücre Büyüklüğü .....</b>	<b>55</b>
<b>4.6 Fotosentetik Pigment İçeriği .....</b>	<b>57</b>
<b>4.7 Toplam Lipid İçeriği.....</b>	<b>59</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>61</b>
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>67</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>68</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>78</b>

## SİMGELER DİZİNİ

A	Avogadro numarası
c	Işık Hızı
h	Planck sabiti
n	Foton Akışı
T	Sıcaklık
W	Hücre konsantrasyonu
$\lambda$	Dalgaboyu

### Kısaltmalar

$\mu$ l	Mikrolitre
A	Absorbans
ATP	Adenozin trifosfat
BG 11	Blue Green 11
BG11 <sub>B</sub>	BG11 besiyeri, mavi ışık
BG11 <sub>BR</sub>	BG11 besiyeri, kombine mavi ve kırmızı ışık
BG11-N	Azot yoksunu Blue Green
BG11-N <sub>B</sub>	BG11-N besiyeri, mavi ışık
BG11-N <sub>BR</sub>	BG11-N besiyeri, kombine mavi ve kırmızı ışık
BG11-N <sub>W</sub>	BG11-N besiyeri, beyaz ışık
BG11 <sub>W</sub>	BG11 besiyeri, beyaz ışık
CM	Tavuk gübresi
CM <sub>B</sub>	CM besiyeri, mavi ışık
CM <sub>BR</sub>	CM besiyeri, kombine mavi ve kırmızı ışık
CM <sub>W</sub>	CM besiyeri, beyaz ışık
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
dk	Dakika
HCl	Hidroklorik asit
Kl- <i>a</i>	Klorofil <i>a</i>
Kl- <i>b</i>	Klorofil <i>b</i>
LED	Light Emitting diode
ml	Mililitre
NADPH	nikotinamid adenine dinukleotid fosfat oksidaz
NaOH	Sodyum Hidroksit
nm	Nanometre
OD	Optik yoğunluk
TÜRKAK	Türk Akreditasyon Kurumu

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Mikroalglerin potansiyel biyokütle dönüşüm Prosesleri .....	6
Şekil 2.2 Ototrof ve heterotrof organizmaların metabolizma prosesi .....	7
Şekil 2.3 Dalgaboylarına göre güç yoğunluğu spektrumları .....	11
Şekil 2.4 Fotosistem, indüklenmiş ışık eksitasyonunun anten kompleksinden reaksiyon merkezine akışı .....	23
Şekil 2.5 <i>Dunaliella tertiolecta</i> (Butcher 1959), <i>Skeletonema costatum</i> Greville (Cleve 1873), <i>Anacystis nidulans</i> Richter (Drouet ve Daily 1952) türlerine ait karakteristik absorbsiyon spektrumları.....	24
Şekil 2.6 Yeşil alg <i>Chlamydomonas</i> cinsinin klasik hücre döngüsü .....	28
Şekil 3.1 El yapımı algal kültürasyon prototipi .....	30
Şekil 3.2 Her bir dalga boyu için hazırlanan aydınlatma sistemleri .....	31
Şekil 3.3 LED ışık kaynaklarıyla çevrelenmiş Erlen meyer flasklar .....	32
Şekil 3.4 Tavuk gübresi besiyerinde yapılan ön çalışmalar .....	36
Şekil 3.5 Ön çalışmalarda yapılan algal kültürler .....	37
Şekil 3.6 Pigment ekstraksiyon işlemleri .....	40
Şekil 3.7 Algal hücrelerin 2 günlük periyodlarla ekstraksiyonları .....	40
Şekil 4.1 <i>Neochloris oleoabundans</i> ışık absorbands ölçümü .....	43
Şekil 4.2 Kültivasyonun 4.gününde <i>Neochloris oleoabundans</i> suşlarının ışık absorbands ölçümleri .....	44
Şekil 4.3 Kültivasyonun 6.gününde <i>Neochloris oleoabundans</i> suşlarının ışık absorbands ölçümleri .....	45
Şekil 4.4 CM besiyerlerinde 8 günlük büyüme süresinde ölçülen ışık absorbands değerleri .....	47
Şekil 4.5 Işık etkisi: Hücre konsantrasyonu, Optik yoğunluk, Büyüme oranı (6 günlük periyod).....	49
Şekil 4.6 BG11 besiyerinde gelişen suşlarda gözlenen hücre konsantrasyonu ve optik yoğunluk ölçümleri .....	50
Şekil 4.7 BG11-N besiyerinde gelişen suşlarda gözlenen hücre konsantrasyonu ve optik yoğunluk ölçümleri .....	51
Şekil 4.8 CM besiyerinde gelişen suşlarda gözlenen hücre konsantrasyonu ve optik yoğunluk ölçümleri .....	51
Şekil 4.9 Mavi LED ışık altında BG11, BG11-N ve CM besiyerlerinde hücre gelişimi.....	52

Şekil 4.10	Kombine mavi ile kırmızı LED ışık altında BG11, CM ve BG11-N besiyerlerinde hücre gelişimi .....	53
Şekil 4.11	BG11 besiyerlerinde gelişen suşların dalga boylarına göre büyüme oranları .....	54
Şekil 4.12	CM besiyerlerinde gelişen suşların dalga boylarına göre büyüme oranları .....	54
Şekil 4.13	BG11-N besiyerlerinde gelişen suşların dalga boylarına göre büyüme oranları .....	55
Şekil 4.14	Hücre büyüklüklerinin 6 günlük kültivasyon süresince artış oranları .....	56
Şekil 4.15	Hücre büyüklüklerinin 6 günlük kültivasyon süresindeki artış payları .....	56
Şekil 4.16	Işık etkisi: K1 <i>a</i> içeriği, K1 <i>b</i> içeriği, Karotenoid (ksantofil+karoten) içeriği (6 günlük periyod).....	58
Şekil 4.17	BG11, BG11-N ve CM besiyerlerinde gelişen suşların pigment içeril oranları .....	59
Şekil 4.18	On günlük kültivasyon sonucunda elde edilen lipid içeriği miktarları .....	60

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Alglerden elde edilen önemli ürünler. ....	2
Çizelge 2.1 Dual-Trofizm yapabilme özelliği gösteren mikroalg türleri. ....	8
Çizelge 2.2 Farklı ticari ışık kaynaklarının özellikleri ve elektrik tüketimi. ....	13
Çizelge 2.3 Bazı algal pigmentlerin kompozisyonu. ....	14
Çizelge 2.4 Klorofiller. ....	15
Çizelge 2.5 Karotenoidler. ....	17
Çizelge 2.6 Fikobilinler. ....	18
Çizelge 2.7 Divizyolarında göre algal pigmentler. ....	19
Çizelge 3.1 Deney koşullarının akronim listesi. ....	29
Çizelge 3.2 Farklı dalga boylarındaki LED ışık kaynaklarının verimlilikleri ....	32
Çizelge 3.3 BG11 besiyeri içerikleri. ....	34
Çizelge 3.4 Tavuk gübresi içeriği ....	35
Çizelge 4.1 BG11 besiyerinde gelişen alglerin hücre konsantrasyonları. ....	46
Çizelge 4.2 CM besiyerinde gelişen alglerin hücre konsantrasyonları ....	46
Çizelge 4.3 BG11-N besiyerinde gelişen alglerin hücre konsantrasyonları ....	47

## 1. GİRİŞ

Son yıllarda fosil kaynaklı olmayan enerji üretimine olan ilgi, başta Çin ve Amerika olmak üzere tüm Dünya'da hızlı bir şekilde artış göstermiştir. Bu tip enerji üretimi karbon kirliliğini engelleme ve halk sağlığını iyileştirme gibi alanlarda da önem taşımakta ve mikroalgler karbon kaynaklı olmayan yüksek enerji üretimi için önemli bir alternatif sunmaktadırlar. Mikroalglerden elde edilen en yaygın ürün biyodizeldir, ancak biyoetanol veya biyobutanol gibi yakıt tipleri (Hirano vd. 1997, Ellis vd. 2012, Harun vd. 2013), biyogaz (Passos vd. 2014, Klassen vd. 2015) ve biyoyağ (Hu vd. 2013, Kim vd. 2014, Boonma vd. 2015) gibi ürünler de elde edilebilmektedir. Mikroalgler aynı zamanda antioksidan (Xia vd. 2013), astaksantin (Giannelli vd. 2015, Hong vd. 2015) ve  $\beta$ -karoten (Varela vd. 2015), ayrıca vitamin (Fabregas ve Herrero 1990, Carballo-Cárdenas vd. 2003, Durmaz 2007) ve anti-kanser ilaç (Borowitzka 1995, Rickards vd. 1999) gibi ikincil metabolitlerin üretiminde, akuakültür uygulamalarında (Sirakov vd. 2015) veya hayvan besini olarak da kullanılmaktadır (Kotrbaček vd. 2015, Taelman vd. 2015), ayrıca zengin karbonhidrat, protein ve yağ asidi kaynaklarıdır (Çizelge 1.1).

Mikroalg hücrelerinin gelişimi ve hasatı uygulamalarında, ayrıca bunların endüstriyel düzeyde ekstraksiyonu veya proseslerinde düşük maliyetli yollar geliştirebilmek için birçok strateji geliştirilmektedir. Burada önemli olan nokta algal kültürasyonun daha verimli olabilmesi ve ayrıca en düşük ekonomik yollarla gerçekleştirilebilmesi için gerekli protokollerin optimize edilmesidir. Çoğunlukla ışık sınırlaması mikroalgal gelişimi etkileyen majör faktörlerden biridir. Fotosentetik organizmalar olarak, ışık sınırlaması mikroalglerin hücre yoğunluğunda farklılıklar yaratmakla kalmaz, aynı zamanda alg hücrelerinin maruz kaldığı ışığa karşı korunma davranışlarını da etkiler.

Çizelge 1.1 Alglerden elde edilen önemli ürünler (Priyadarshani ve Rath 2012)

<b>Pigmentler / Karotenoidler</b>	$\beta$ karoten, astaksantin, lutein, zeaksantin, kantaksantin, klorofil, fikosiyanın, fikoeritrin, fukoksantin
<b>Doymamış Yağ Asitleri (PUFA)</b>	DHA (C22:6), EPA (C20:5), ARA (C20:4), GAL (C18:3)
<b>Vitaminler</b>	A, B1, B6, B12, C, E, biotin, riboflavin, nikotinik asit, pantotenik asit, folik asit
<b>Antioksidanlar</b>	Katalaz, polifenoller, superoksit dismutaz, tokoferoller
<b>Diğer</b>	Antimicrobial, antifungal, antiviral ajan, toksin, aminoasit, protein, sterol, ışıktan korunma için MAA (mycosporine-like amino acids)

Bunların yanında ışığın dalga boyu mikroalgal kültürlerde başarının yakalanmasında anahtar rol oynayabilir. Özellikle biyoyakıt üretiminde, heterotrofik safha dahi göz önüne alındığında, mikroalgler çoğu zaman fotosentezi gerçekleştirmek için fotosentetik aktif ışınım gereksinim duyarlar. Mikroalg hücrelerinin yığın kültürleri üzerine yapılan birçok çalışmada, diğer bitkilerde de olduğu gibi kırmızı veya mavi ışığın büyümeye olan etkilerine odaklanılmıştır. En çok kullanılan dalga boylarının kırmızı, mavi veya bunların kombinasyonu şeklinde olduğu bilinmektedir (Carvalho vd. 2011, Koc vd. 2013, Schulze vd. 2014).

Dalga boyu uygulamalarının başarısı aynı zamanda seçilen alg türüne bağlıdır. Her bir farklı organizma, farklı dalga boylarında optimum büyüme gösterebilir. Başarılı bir algal kültürasyon; büyüme oranı, hücre büyüklüğü veya ikincil metabolit üretimi gibi parametrelerin artış gösterdiği durumlar anlamına gelmektedir. Bunların yanında birçok çalışmada spesifik dalga boylarında LED (light emitted diode) ışık kaynaklarının, arkasında floresan ışık kaynağı bulunduran sistemlere eklenmesi şeklinde kullanılmıştır. Bunun devamında ışık kaynağı zenginleştirme çalışmalarının, LED ışık kaynaklarında olduğu gibi düşük maliyetli sistemlerle gerçekleştirilmesinin uygun olduğu kanısına varılmıştır.

Bazı araştırmacılar mikroalg üretiminde zenginleştirilmiş dalga boyu spektrumununun etkisini dengelemek amacıyla daha dūřuk maliyette olan bŸyŸk ōlçekli algal kŸltŸrler Ÿzerinde alışmışlardır. Ayrıca kultivasyonda bir çeşit kaplama kullanarak gŸneř işığından spesifik dalgaboylarını iletme yoluyla, solar dalga boyunun manipulasyonunu sağlamışlardır (Michael vd. 2015).

Mikroalgal kŸltŸrlerde kullanılan besiyerinin maliyetinin dūřuk olması, mikroalg Ÿretiminin ōnemli noktalarından birisidir. Aynı zamanda mikroalglerin azot, fosfor veya metal iyonlarını uzaklaştırmak amaçlı atık su arıtımı alanında da kullanıldığı bilinmektedir (Wang vd. 2010, Pittman vd. 2011, Zhu vd. 2013, Lyon vd. 2015). Ayrıca mikroalglerin bu ōzellięi ile, biyoyakıt tabanlı Ÿretim birlikte kullanıldığında ōnemli oranda çevresel kazanım sağlanmaktadır. Bu yolla ifte avantaj elde edilmektedir: bir yandan kirleticilerin çevreye karşı negatif etkisi dūřŸrŸlerek atık yŸnetimi için sŸrdŸrŸlebilir zincir sağlanırken; diğer yandan atık maddelerin, besin değeri ve lipid oranı yŸksek mikroalgere kaynak olarak kullanılması sağlanmaktadır.

Bu çalışmada verimli işınımsal performans elde etmek için hem enerji tasarrufu sağlayan, hem de dūřuk maliyetli LED işık kaynakları seçilmiştir. Bununla birlikte BG11 besiyeri, azot yoksunu BG11-N besiyeri ve biyoatık olan tavuk gŸbresinden elde edilen besiyeri olmak Ÿzere 3 farklı besiyeri; mavi, kırmızı ve kombine mavi ile kırmızı dalgaboylarında 3 farklı işık kaynağı kullanılarak, *Neochloris oleoabundans* Chantanachat ve Bold kŸltŸr suşları Ÿzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ayrıca mikroalgal kŸltŸrlerde daha dūřuk maliyette, optimum algal bŸyŸme ve gelişimi sağlama yolları Ÿzerinde durulmuştur.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Biyoatık Kullanımı

Atık maddeler; gerektiğinde bazı kimyasal aktive edici ajanlarla da kullanılarak, kontrollü ortamlarda piroliz yoluyla, aktif karbona dönüştürülebilirler (Okada vd. 2003). Aktif karbonun öncül maddelerinden olan tarımsal organik atıkların, yenilenebilir ve nispeten daha düşük maliyetli oldukları bilinmektedir, ayrıca efektif olarak kullanımları için uygun hale getirilebilirler (Hirunpraditkoon vd. 2011). Bunun yanında yüksek karbon ve düşük inorganik içeriğe sahip olan, maliyeti düşük maddeler yine aktif karbon üretimine öncül olacak şekilde kullanıma uygun hale getirilebilirler (Ioannidou vd. 2005). Herhangi bir lignoselülozik biyokütle aktif karbon elde etmek amacıyla kullanılabilir. Kısaca aktif karbon, kimyasal, farmasötik ve gıda endüstrileri de dahil olmak üzere (Guo vd. 2009) sıvıdan gaz faza adsorbsiyon prosesinde oldukça önemli rol oynar (Valdés vd. 2002).

#### 2.1.1 Alg kültürlerinde biyoatık kullanımı

Algler ve akuatik biyokütle; jet yakıtı da dahil olmak üzere “üçüncü nesil” biyoyakıtta yeni bir yol açma potansiyelindedir. Mikroalglerin yüksek yağ oranı ve biyokütle verimliliği, yaygın kullanılabilirliği, tarım arazilerine kıyasla yok denilebilecek kadar düşük rekabette olmaları, yan ürünlerinin yüksek kalitesi ve çok yönlülüğü, CO<sub>2</sub> yakalamadaki etkili kullanımı gibi alanlardaki avantajları algal biyokütle üretiminin ne derece önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Alglerin ve akuatik biyokütlenin, atıksu arıtımı ve endüstriyel bitkiler alanında kullanıma uygunluğu, bunları umut veren ve ilgi çekici önemli kaynaklardan biri haline getirmektedir. Dolayısıyla bu organizmalar günümüzde tamamen sürdürülebilir düşük karbon ekonomisinde yerini almaktadırlar (<https://en.wikipedia.org>, 2015).

Çözünür azot ve fosforun salınımı algal üretimi tetikleyici bir faktördür ve doğal ortamlarda direkt olarak balık veya bir dizi proses sonrasında zooplankton ve

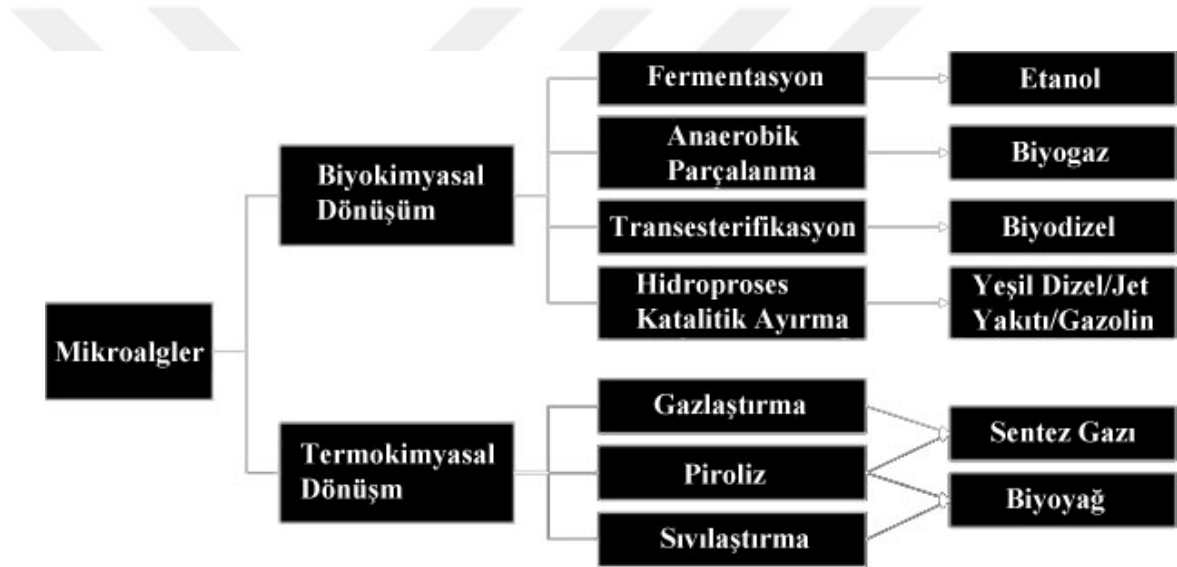
mikroorganizmalar tarafından tüketilmektedirler (detritus oluşumu) (Wohlfarth ve Schroeder 1979, Colman ve Edwards 1987). Detritusun tanımı genel olarak çözünmüş ve partikül haldeki ölü organik maddeler şeklinde yapılabilir. (Wetzel vd. 1972, Rich ve Wetzel 1978, Mann 1988, Velimirov 1991). Düşük alkalın sularda, gübre dekompozisyonu alglere karbondioksit salınımı ve dekompozisyon yoluyla önemli miktarda çözünmüş inorganik karbon (DIC: Dissolved inorganic carbon) kaynağı sağlamaktadır (McNabb vd. 1990). Aynı zamanda alkalın göllerde tavuk gübresinin yükleme oranları arttıkça nutrient sınırlaması karbondan azota doğru değişmektedir (Knud-Hansen vd. 1991).

Biyoatık proseslerinden kaynaklanan atık maddeler algal biyokütle üretimi için en önemli kaynaklardan biridir. Balık çiftliklerinin sularında azot ve fosfor konsantrasyonu daha azdır ve ayrıca diğer atık maddelerden daha az toplam organik karbon içermektedir. Bu durumun ise algal büyüme ve gelişmeyi kısıtladığı düşünülmektedir. Bilindiği üzere pH yükselmesi, çözeltilerde bulunan çözünmüş karbondioksitten yararlanarak meydana gelen fotosentez sonucu gözlenmektedir. Ayrıca atık sularda magnezyum konsantrasyonunun düşük olması algal büyüme ve gelişmeyi sınırlamaktadır (Park vd. 2010).

### **2.1.2 Biyoatık kullanımı ile algal biyokütle üretimi**

Enerji uygulamalarında kullanılmak üzere seçilecek olan alg türünün, yağ asidi kompozisyonunun uygun olması, yüksek büyüme oranı göstermesi ve yüksek kapasitede biyokütle ve lipid üretimine uygun olması gerekmektedir. Algal kültürlerde kullanıma uygun olan türün kültivasyonunun ve hasatının kolay olması, ayrıca hücrelerden elde edilen lipid veya metabolitlerin kolay ekstre edilebilmesi gerekmektedir. Tahminen dünya üzerindeki on milyon alg türünden, yalnızca 40.000 adeti teşhis edilmiştir. Bunların çoğunluğu fotoototroftur, ancak bazı cinsler heterotrofik koşullarda, karanlıkta da gelişmektedirler (Hu vd. 2008). Algal suş seçiminin spesifik bir hedefi ise mikсотrofik büyüme yapabilen türlerin kullanımını sağlamaktır. Atık suların en önemli özelliklerinden birisi organik karbon içeriyor olmasıdır ve bu mikсотrofik ortamların lipid üretimini arttırdığı kanıtlanmıştır (Wan vd. 2011).

Alglerin kültürü ve işlenmesi prosesinin sürdürülebilirliğini sağlamak için çözümlenmesi gereken bazı teknik problemlerle karşılaşmaktadır. Algal biyoyakıt üretiminde teknolojik zorlukları gözden geçirmek ve yaşam döngüsünün değerlendirilmesinin yanında, özellikle azot ve fosfor olmak üzere, nutrient kaynaklarının sağlanması da önem kazanmıştır. Biyogaz, biyodizel veya biyoyağ gibi ürünlerin elde edildiği bu proseslerde (Şekil 2.1) maliyet faktörleri de göz önünde tutulmuştur. Tarıma elverişsiz alanlarda gelişen mikroalglerde, eğer kültivasyon azot ve fosfor kaynağı sağlamak için gübreye ihtiyaç duyarsa, bu organizmalar gıda yetiştiricileriyle direkt olarak ortamda bulunan mevcut gübre için rekabete girerler (Peccia vd. 2013).



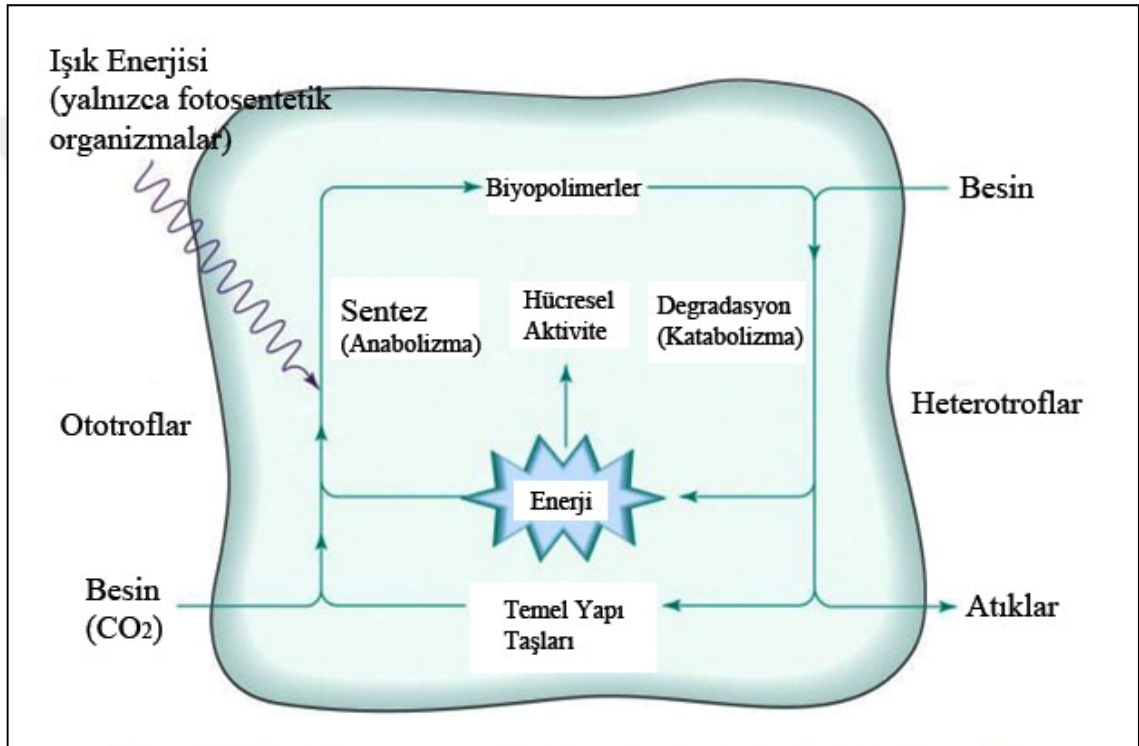
Şekil 2.1 Mikroalglerin potansiyel biyokütle dönüşüm prosesleri (Brennan ve Owende 2010, Pienkos ve Darzins 2009).

## 2.2 Büyüme Koşullarına Göre Algal Verimlilik

Sıcaklık, CO<sub>2</sub>, tuzluluk veya nutrient içeriği gibi parametrelerin mikroalg besiyerlerinde farklılıklar göstermesi, mikroalgal hücrelerin gelişimini ve buna bağlı olarak mikroalglerden elde edilen protein, yağ ve karbonhidrat miktarlarını etkilemektedir (Raghavan vd. 2008). Mikroalg kültürlerinden elde edilen ürünler fototrofik ve heterotrofik koşullara bağlı olarak değişmektedir. Buna bağlı olarak lipid ve

karbonhidrat oranları heterotrofik koşullarda, protein ise fototrofik koşullarda daha yüksek miktardadır (Xu vd. 2006).

Bazı algler ışığı enerji kaynağı olarak kullanan, ayrıca karbondioksit veya tuz gibi inorganik bileşikleri besin olarak kullanan ototrofik (fotosentetik) organizmalardır. Bazı algler ise heterotrofik (fotosentetik olmayan) organizmalardır, ayrıca nutrient gibi ek organik bileşiklere ve enerji kaynağına gereksinim duyarlar (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Ototorof ve heterotrof organizmaların metabolizma prosesi (Boyer 2006)

Bunlara ek olarak bazı algler ise kompleks besinsel bir spektrum kullanan mikсотrofik alglerdir. Bu algler hem fotoototrofik, hem de heterotrofik organizmalardır, fotosentez yapabilme yeteneğinin yanında, dış kaynaklı organik nutrientleri kullanma yeteneğine de sahiptirler (Liam ve Philip 2010).

Hem fototrofik, hem heterotrofik olan mikroalgler dual-trofi karakterine sahip olan spesifik alg türlerine dayanmaktadır. Dual-trofizm fototrofik ve heterotrofik büyüme ve

gelişmenin aynı alg türü üzerinde gözlenmesi olarak tanımlanmaktadır ve bu türlerden bazıları Çizelge 2.1’de gösterilmiştir (Zheng vd. 2012).

Çizelge 2.1 Dual-Trofizma yapabilme özelliği gösteren mikroalg türleri

Uygun Mikroalg Türleri	Referans
<i>Chlorella sorokiniana</i> Shihira ve R.W.Krauss	Chen ve Johns 1991
<i>Chlorella vulgaris</i> Beyerinck (Beijerinck)	Liang vd. 2009
<i>Chlorella protothecoides</i> Krüger	Yan vd. 2011
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> H.Chick	Chen 1996
<i>Chlorella saccharophila</i> (Krüger) Migula	Chen 1996
<i>Chlorella zofingiensis</i> Dönz	Liu vd. 2010b
<i>Tetraselmis suecica</i> (Kyllin) Butcher	Azma vd. 2011
<i>Scenedesmus obliquus</i> (Turpin) Kützing	Abeliovich ve Weisman 1978
<i>Scenedesmus acutus</i> Meyen	Shamala vd. 1982
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> P.A.Dangeard	Chen ve Johns 1995
<i>Euglena gracilis</i> Klebs	Ogbonna vd. 1999
<i>Haematococcus pluvialis</i> Flotow	Hata vd. 2001
<i>Nitzschia closterium</i> (Ehrenberg) W.Smith	Tan ve Johns 1996
<i>Navicula pelliculosa</i> (Kützing) Hilse	Tan ve Johns 1996

### 2.2.1 Fototrofik büyüme

Fototrofik büyüme sistemleri üzerine, heterotrofik ve mikсотrofik büyüme şekillerine oranla daha fazla sayıda çalışma yapılmıştır. Fototrofik alg kültürlerinin gölet veya havuz gibi açık sistemlerde veya fotobiyoreaktör gibi kapalı sistemlerde kullanımı yaygındır. Açık sistemler daha düşük maliyette olduğundan birçok araştırmacı tarafından tercih edilmektedir. Ancak açık sistemlerin en önemli dezavantajı istilacı türlerin veya böceklerin neden olduğu kontaminasyon tehlikesidir (Rusch ve Malone 1998, Theegala vd. 1999), aynı zamanda daha düşük karbondioksit kullanımı nedeniyle düşük biyokütle üretkenliği gözlenmektedir (Chisti 2007).

Açık havuz veya göletlere kıyasla fotobiyoreaktörlerle daha iyi bir kütle transferi sağlanır, ayrıca algal büyüme ve gelişme için daha verimli çevresel ışık penetrasyonu ve

daha yüksek hacimsel biyokütle üretkenliği sağlanmaktadır (Chisti 2007). Bununla birlikte fotobiyoreaktörlerin yapımı ve kurulumu nispeten yüksek maliyetlidir. Genel olarak fototrofik alg kültürleri; yetersiz ışık penetrasyonuna bağlı olarak algal biyokütleyi daha fazla maliyetli hale getiren, düşük üretkenliğe ve karbondioksit fiksasyonuna sahiptir (Li vd. 2008). Ticari fototrofik kültür sistemleri, maliyeti hafifleterek yüksek değerde ürün elde etmeyi amaçlamıştır (Borowitzka 1999, Olaizola 2003).

### **2.2.2 Miksotrofik büyüme**

Miksotrofik algler büyüme ve gelişmelerinde hem karbondioksit, hem de organik substratları kullanmaktadırlar ve doğal olarak büyüme oranları fototrofik alglerden daha yüksektir (Samejima ve Myers 1958a). *Spirulina platensis* (Gomont) Geitler gibi türler kullanılan, miksotrofik kültürlerde biyokütle konsantrasyonlarından elde edilen kuru madde miktarının, fototrofik kültürlerden elde edilenlerden yaklaşık 5 kat daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Chen ve Zhang 1997). Ayrıca gliserol ile beslenen miksotrofik mikroalg *Phaeodactylum tricorutum* Bohlin türünün biyokütle konsantrasyonu ve maksimum biyokütle üretkenliği fototrofik koşullarda gelişenlere göre sırasıyla yaklaşık 9 ve 8 kat oranında dikkate değer bir artış göstermiştir (Garcia vd. 2000).

Miksotrofik kültürlerde gelişen mikroalg türleri çoğu zaman, hala fototrofik büyüme gösteren mikroalglerdeki gibi ışığa gereksinim duyar. Bunun yanında miksotrofik kültürasyon kapalı, sterilize fotobiyoreaktörlerde yapılmalıdır. Düşük maliyetli açık sistemlerde, mikroalgere besin kaynağı olarak kullanılan organik substratlar potansiyel kontaminasyon riski oluşturmaktadırlar.

### **2.2.3 Heterotrofik büyüme**

Heterotrofik algler, organik substratları enerji ve karbon kaynağı olarak kullanabilme yeteneğindedirler. Bunun sonucunda heterotrofik alg kültürlerinin ışık sınırına bağlı kalmadan hızlı büyüme ve gelişme avantajları vardır, böylece büyük tanklarda

gelişimlerini sürdürebilme ve yüksek biyokütle konsantrasyonu sağlama yeteneğindedirler. Elde edilen yüksek konsantrasyondan biyokütleyi hasat etmek daha kolaydır. Glikoz ile beslenen yeşil alg *Chlorella protothecoides* türüyle yapılan çalışmada elde edilen biyokütle konsantrasyonunun yüksek oranda elde edildiği ve ayrıca bu kültür sistemlerinden dokosaheksaenoik asit gibi ticari nutrasötik üretimi yapıldığı bilinmektedir (Bailey vd. 2003). Bunların yanında heterotrofik alg kültür sistemlerinin kurulumu ve organik karbon substratlarının kaynağı daha yüksek maliyette olmaktadır.

### 2.3 Alglerin Işık Gereksinimleri

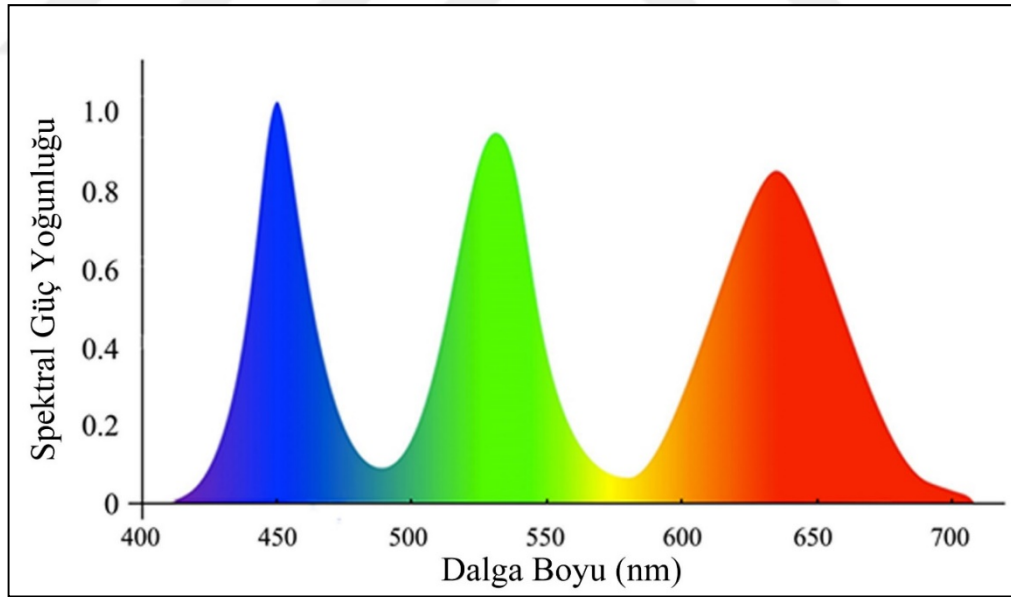
Işık yoğunluğu ve süresi direkt olarak algal büyüme, gelişme ve fotosentezi etkilemektedir. Mikroalgler üretken bir fotosentez gerçekleştirmek için aydınlık/karanlık rejimine ihtiyaç duyarlar. Fotokimyasal fazda adenosin trifosfat (ATP), nikotinamid adenin dinukleotid fosfat oksidaz (NADPH) üretimi için ışık ihtiyacı duyarlar ve ayrıca biyokimyasal fazda büyüme ve gelişme proseslerinde gereken başlıca molekülleri sentezlemek için karanlık periyoda ihtiyaç duyarlar (Cheirsilp ve Torpee 2012). Mikroalgal büyüme ve gelişmede fotoperiyodun, ışık yoğunluğunun ve dalga boyunun, sisteme ve algal türe en uygun şekilde seçilmesi algal büyüme konsantrasyonunda kritik bir öneme sahiptir. Ayrıca ışık yoksunluğu algal gelişimi sınırlamakta veya fotooksidasyon ve inhibisyona öncülük edebilmektedir (Carvalho vd. 2010, Khoeyi vd. 2011).

Mikroalgal büyüme ve gelişmede yüksek performans elde etmek için kullanılan enerjiye bağlı olarak ışık dağılımını yükseltmenin çeşitli yolları vardır. Bunlardan birisi ışığın biyokütle katmanlarına nüfuzunu daha iyi sağlamak iken, bir diğeri ise LED ışık kaynakları kullanarak, ışığın biyoreaktör gibi kapalı sistem içerisine homojen olarak dağılımını sağlamaktır (Posten 2009). LED ışıkların düşük maliyeti ise bu ışık kaynağının biyokütle eldesi için kullanımını avantajlı hale getirmektedir.

Tek hücreli bir yeşil alg olan *Chlamydomonas reinhardtii* türünün hücre döngüsü, aydınlık ve karanlık periyodlarının süresi değiştirilerek senkronize edilmiş, bu

koşullarda hücre büyüme ve gelişimi incelenmiştir (Lien ve Knutsen 1979). Aydınlıktan karanlığa geçiş işlemi bölünme fazının başlangıcını düzenlemektedir (Voigt ve Münzner 1987) ve ayrıca *C. reinhardtii* türünün hücre bölünmesinin, mavi ve beyaz ışıkta, kırmızı ve kızılötesi ışığa veya karanlığa kıyasla gecikerek gerçekleştiği bilinmektedir. Heterotrofik kültürlerde doz yanıtı eğrisi ve ışıkla indüklenen hücre bölünmesindeki gecikmenin dalga boyuna bağımlılığı hesaplanmıştır. Buna bağlı olarak mavi ışık reseptörünün var olduğu sonucuna varılmıştır (Münzner ve Voigt 1992). Mavi ışığa maruz kalmış geciken hücre bölünmesinin, hücre siklus düzenleyicisi siklin-CDK-kompleksinin ertelenmiş kinaz aktivitesi ile örtüştüğü belirlenmiştir (Oldenhof vd. 2004a).

Ayrıca Gaussian eğrisinde (Şekil 2.3) görüldüğü gibi mavi ışığın güç yoğunluğu spektrumunun grafikteki kapladığı alanın diğer dalgalara oranla daha düşüktür. Buna bağlı olarak mavi ışığın, beyaz ışığa kıyasla daha az enerji tüketimi yaptığı bilinmektedir (Şiffel ve Braunová 1999, Ferroni vd. 2009).



Şekil 2.3 Dalga boylarına göre güç yoğunluğu spektrumları (Şiffel ve Braunová 1999, Ferroni vd. 2009)

### 2.3.1 LED ışık kaynakları ve günümüzdeki kullanımı

LED ışık kaynaklarının, geleneksel bahçe bitkileri formlarının ışıklandırılmasında geniş bir kullanım alanı vardır. Boyutlarının küçük olması, dayanıklılığı, uzun ömürlü olması, yüksek ısı yaymaması ve hedef bitkinin vereceği tepkiye göre spesifik dalga boylarına ayarlanabilir olması LED ışık kaynaklarını bitki yetiştirme temelli alanlarda, diğer ışık kaynaklarına göre daha kullanışlı hale getirmiştir (Çizelge 2.2). Bu avantajlar; yeni, geliştirilmiş sistemlerle dalga boyunun bitki yetiştirme alanlarında daha verimli bir şekilde kullanımını sağlamaktadır.

Kırmızı LED ışık, fotosentez gücünü arttırmak için iki temel nedenle yaygın olarak kullanılmıştır. Bunlardan birincisi McCree eğrileri (Sager ve McFarlane 1997) ile kırmızı dalga boyunun (600 - 700 nm) bitki pigmentleri tarafından absorpsiyonunun verimini belirlemektir. İkinci neden ise kırmızı LED ışığın 660nm'de klorofil pigmentinin absorpsiyon pikine yakın bir noktada maksimum verim göstermesidir. Son zamanlarda görünür spektrumun mavi bölgesi (400 – 500 nm) üzerine de çalışmalar yapılmaktadır. İhtiyaç duyulan mavi ışığın miktarı veya farklı türlere göre optimal mavi ışığın belirlenmesi hala cevap bekleyen konular içerisindedir. Mavi ışık; bitkilerde gövde büyümesi (Cosgrove 1981), fototropizma (Blaauw ve Blaauw-Jansen 1970), su ilişkisi ve karbondioksit değişimini etkileyen stoma kontrolü (Schwartz ve Zeiger 1984) gibi önemli fotomorfojenik olaylarda rol oynamaktadır.

Çizelge 2.2 Farklı ticari ışık kaynaklarının özellikleri ve elektrik tüketimi (Chen vd. 2011)

Işık kaynağı tipi	Özellikleri	Operasyon Stabilitesi	Işık kaynağının tükettiği elektrik <sup>a</sup> (kw/h)
Ticari ışık kaynakları	Daha yüksek biyokütle üretkenliği ve stabilite, geniş aydınlatma alanı, düşük maliyet	Yüksek	40.32
LED ışık kaynakları (light emitting diode)	Daha düşük enerji tüketimi, daha düşük ısı yayılımı, uzun ömürlü olması, daha fazla sıklıkta açıp kapanmaya dayanıklı, daha yüksek stabilite, düşük maliyet	Yüksek	20.16
Optik fiber metal halojenürlü lamba (OF-MH)	Yüksek enerji tüketimi, daha küçük alan kaplar, homojen ve iyi ışık dağılımı, düşük kontaminasyon riski	Orta	36.0
Optik fiber solar enerji (OF-solar)	Düşük elektrik tüketimi, homojen ve iyi ışık dağılımı, az yer kaplama, düşük kontaminasyon riski, düşük maliyet	Düşük	1.0
Kombine LED/OF-solar ile rüzgar gücü/solar panel	Elektrik tüketimi yok, homojen ve iyi, az yer kaplama, düşük kontaminasyon riski	High	0

<sup>a</sup> 40L biyoreaktörlerde kullanılan ışık kaynaklarının elektrik tüketimi

Wisconsin grubu başlangıç çalışmalarında, kabul edilebilir bitki büyümesi için yüksek çıkışlı kırmızı LED ışık kaynaklarıyla birlikte, mavi ışık kaynağı kullanarak ışık kaynağı etkilerinin demonstrasyonunu gerçekleştirmişlerdir (Hoenecke vd. 1992). Daha sonra Kennedy Uzay Merkezi'nde yapılan çalışmalarda, buğday fideleri  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  foton kırmızı LED ışık altında filizlendirildiğinde klorofil gelişiminin başarısız olduğu gözlenmiştir, ancak  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  foton mavi ışık kaynağı ilave edildiğinde veya kırmızı ışığın etkisi düşürüldüğünde klorofil sentezinin gerçekleştiği gözlenmiştir (Tripathy ve Brown 1995).

## 2.4 Mikroalglerde Kloroplast ve Fotosentetik Pigmentler

Algler dahil oldukları divizyolara göre çeşitli pigmentler içermektedirler. Bu organizmalar klorofil-*a*'nın yanında; K1-*b*, K1-*c*, fukoksantin, peridinin, fikobilin veya fikoeritrin gibi pigmentler içermektedirler (Çizelge 2.3, 2.7).

Çizelge 2.3 Bazı algal grupların pigment kompozisyonu: (Dring 1982)

<b>Divizyo</b>	<b>Yaygın İsim</b>	<b>Major Yardımcı Pigment</b>
<b>Chlorophyta</b>	Yeşil Algler	klorofil- <i>b</i>
<b>Charophyta</b>	Charophytes	klorofil- <i>b</i>
<b>Euglenophyta</b>	Euglenoidler	klorofil- <i>b</i>
<b>Phaeophyta</b>	Kahverengi Algler	klorofil- <i>c1 + c2</i> , fukoksantin
<b>Chrysophyta</b>	Sarı – kahverengi veya altın sarısı – kahverengi algler	Klorofil- <i>c1 + c2</i> , fukoksantin
<b>Pyrrhophyta</b>	Dinoflagellatlar	Klorofil- <i>c2</i> , peridinin
<b>Cryptophyta</b>	Kriptomonadlar	klorofil- <i>c2</i> , fikobilinler
<b>Rhodophyta</b>	Kırmızı algler	fikoeritrin, fikosiyanin
<b>Cyanophyta</b>	Mavi yeşil algler	fikosiyanin, fikoeritrin

Kloroplast lamelinin en önemli komponentleri renkli organik bileşikler, fotosentetik pigmentlerdir. Ingenhousz ve Scherer (1795) bu konuyu renksiz bitki organlarının “havayı iyileştiremeyeceğini” ifade ederek desteklemiştir. Pigmentler görünür ışığı kuvvetle absorbe eden moleküllerdir. Bu tip absorpsiyon belirli bileşik sınıflarına bağlı olarak sınırlanmaktadır. Bitkilerin fotosentetik organları her zaman çeşitli pigmentler içermektedirler. Kloroplast pigmentleri üç major başlık altında incelenebilir: (1) Klorofiller, (2) Karotenoidler, (3) Fikobilinler

### 2.4.1 Klorofil

Klorofil-*a*; bacteriophyll (BKl) pigmenti taşıyan fotosentetik bakteriler haricinde, tüm fotosentez yapan hücrelerde bulunmaktadır. Kahverengi, kırmızı ve mavi yeşil algler gibi organizmalar da bu grubun içine girmektedir. Şimdiye kadar klorofil-*a* içermeyen fotosentez yapabilme yeteneğine sahip herhangi bir organizma kaydı yoktur. In-vivo çalışmalarında gözlenen klorofil-*a*'nın belirli kimyasal özellikleri, bu pigmentlerin (en azından bazı molekülleri) fotosentezde aktif rol oynadığını ve fotoenzim olarak görev yaptığını göstermiştir. Diğer tüm pigmentlerin, fiziksel enerji sağlayıcılar olarak görev yaptığı düşünülmektedir. Kl-*a* dışındaki pigmentler genellikle yardımcı pigment olarak adlandırılır (Oldenhof vd. 2006).

Klorofil-*b*; ikinci en yaygın klorofil çeşitidir. Lokal olarak oksitlenmiş bir Kl-*a* türevidir. Yüksek bitkiler, yeşil algler gibi organizmalar Kl-*a* pigmentine ek olarak Kl-*b* pigmenti de içerirler. Literatürde daha farklı klorofil tipi bileşikler de yer almaktadır. Bunlardan klorofil-*c* kahverengi algler ve diyatomelerde; klorofil *d* kırmızı alglerde; klorofil *e* altınsarı alglerde bulunmaktadır (Çizelge 2.4).

Yeşil bakteriler çoğu zaman “Chlorobium klorofil” olarak adlandırılırlar veya mor bakteri pigmenti olan bacteriophyll kalıntılarına ek olarak, “bacterioviridin” adını alırlar.

Çizelge 2.4 Klorofiller

Klorofil Tipi	Karakteristik Absorbsiyon Pikleri		Oluşum
	Organik solvent içerisinde, (nm)	Hücre içinde, (nm)	
Kl- <i>a</i>	420, 660	435, 670 – 680 (farklı formlarda)	Tüm fotosentetik pigmentlerde (bakteriler hariç)
Kl- <i>b</i>	453, 643	480, 650	Yüksek bitkiler ve yeşil alglerde
Kl- <i>c</i>	445, 625	Kırmızı band 645 nm dalga boyunda	Diyatome ve kahverengi alglerde

Çizelge 2.4 Klorofiller (Devam)

Klorofil Tipi	Karakteristik Absorbsiyon Pikleri		Oluşum
	Organik solvent içerisinde, (nm)	Hücre içinde, (nm)	
K1- <i>d</i>	450, 690	Kırmızı band 740 nm dalga boyunda	Bazı kırmızı alglerde
Chlorobium klorofil (Bacterioviridin)	İki formda: (1) 425, 650 (2) 432, 660	Kırmızı band 750 (veya 760) nm dalga boyunda	Yeşil bakterilerde
Bacteriophyll- <i>a</i> (BK1a)	365, 605, 770	Kırmızı band 800, 850 ve 890 nm dalga boyunda	Mor ve yeşil bakterilerde
Bacteriophyll- <i>b</i> (BK1b)	368, 582, 795	Kırmızı band 1.017 nm dalga boyunda	Rhodopseudomonas suşunda rastlanmış (mor bakteriler)

#### 2.4.2 Karotenoid

Fotosentez yapma kabiliyetinde olan tüm organizmalar karotenoid pigment çeşitlerini içermektedirler (Çizelge 2.5). Bu pigmentler çoğunlukla sarı veya turuncu renktedirler. Bunların renkleri normalde klorofil ile maskelenmiştir, ancak klorofil eksikliğinde (bitkilerin aurea varyeteleri) veya sonbaharda sarı pigmentler görünür hale gelmeye başlar, bazıları oksidasyon yoluyla turuncu ve hatta kırmızı renkte dahi görülebilmektedirler. Bunların yanında sonbaharda bazı yapraklarda görünen parlak kırmızı veya mor renkler, antosiyanin adlı başka bir pigment yoluyla gerçekleşmektedir.

Karotenoidlerin spesifik tipleri farklı bitki gruplarına göre değişiklik göstermektedir. Genel olarak iki major grup bulunmaktadır. Bunlar; karoten (hidrokarbon) ve karotenol (çoğu alkol, bazıları keton) olarak adlandırılırlar, ayrıca karotenoller ksantofil olarak da belirtilmektedirler. Diyatomeleler gibi kahverengi renkte olan organizmalar özel bir karotenole bağlı olarak fukoksantol olarak adlandırılırlar.

Çizelge 2.5 Karotenoidler

Karotenoid Tipleri	Karakteristik Absorbsiyon Pikleri, (nm)	Oluşum
<b>I. Karotenler</b>		
<b>α - Karoten</b>	Heksan içerisinde 420, 440, 470 nm dalga boylarında	Yaprak ve algler. Kırmızı alg ve Siphonales üyesi yeşil alglerde. Major karotendir
<b>β - Karoten</b>	Heksan içerisinde 425, 450, 480 nm dalga boylarında	Tüm bitkilerin temel karotenidir
<b>γ - Karoten</b>	Heksan içerisinde 440, 460, 495 nm dalga boylarında	Yeşil sulfur bakterilerinin major karotenidir, bazı bitkilerin içerisinde eser miktarda
<b>II. Karotenoller = Ksantofiller</b>		
<b>Luteol</b>	Etanol içerisinde 425, 445, 475 nm dalga boylarında	Yeşil yaprakların, yeşil alglerin ve kırmızı alglerin major karotenolü
<b>Violaksantol</b>	Etanol içerisinde 425, 450, 475 nm dalga boylarında	Yaprakların ikinci karotenolü
<b>Fucoksantol</b>	Heksan içerisinde 425, 450, 475 nm dalga boylarında	Diyatome ve kahverengi alglerin major karotenolü
<b>Spirilloxantol</b>	Heksan içerisinde 464, 490, 524 nm dalga boylarında	Mor bakteride yaygın

Chlorophyceae 2500 tür ve 350 cins ile en büyük grubu temsil eder. Çoğu tür tek hücreli veya filamentli tatlısu formundadır. Chlorella, Chlamydomonas, Dunaliella ve Haematococcus gibi en iyi bilinen cinslere ait türler bu gruba dahildir. Bazı türlerden uygun kültür koşullarında yüksek miktarda karotenoid eldesi sağlanabilir. *D.salina*

türünden yüksek miktarda  $\beta$  – karoten üretimi yapıldığı bilinmektedir (Suarez 1998). Diğer bir önemli karotenoid ise, akuakültürlerde besin değeri yüksek bir pigmentasyon kaynağı olan astaksantindir. Günümüzdeki çalışmalarda %3 oranında astaksantin biriktirebilen *H. pluviialis* türünün düşük maliyette üretimine odaklanılmıştır (Lorenz ve Cysewski 2000).

### 2.4.3 Fikobilinler

Kırmızı deniz alglerinde (Rhodophyceae) ve ilkel mavi-yeşil alglerde (Cyanophyceae) bulunan diğer bir önemli pigment ise fikobilindir (Çizelge 2.6). Bu pigmentler K1-a miktarına eşit veya bundan daha fazla miktarda bulunabilir, ayrıca kırmızı fikoeritrin ve mavi fikosiyanin şeklinde iki tiptir. Fikoeritrin görünür ışık spektrumunun ortasında ışık absorpsiyonunu geliştirme fonksiyonunu üstlenmektedir.

Çizelge 2.6 Fikobilinler

Fikobilin Tipleri	Absorpsiyon Pikleri	Oluşum
<b>Fikoeritrin</b>	Suda ve in vivo, 490, 546 ve 576 nm dalga boylarında	Kırmızı alglerde temel fikobilin, ayrıca bazı mavi-yeşil alglerde
<b>Fikosiyanin</b>	Suda ve in vivo, 618 nm dalga boyunda	Mavi-yeşil alglerin temel fikobilini, ayrıca kırmızı alglerde de bulunur
<b>Allofikosiyanin</b>	Fosfat tamponda, 654 nm dalga boyunda, ph 6.5	Mavi-yeşil alglerde ve kırmızı alglerde bulunur

Çizelge 2.7 Divizyolarına göre algal pigmentler (Round, 1973)

Algal Gruplar	Chlorophyta	Bryopsidophyceae	Euglenophyta	Xanthophyta	Crysophyta	Bacillariophyta	Phaeophyta	Dinophyta	Rhodophyta	Cyanophyta	Simge
<b>PİGMENTLER</b>											
Klorofil <i>a</i>	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	* Tüm cinslerde değil
Klorofil <i>b</i>	■	■	○								
Klorofil <i>c</i> <sup>5</sup>					○	○	○	○ <sup>5</sup>			
Klorofil <i>d</i>								○*			
Klorofil <i>e</i>				○	○						
<b>Karotenler</b>											
α Karoten	±○	●				±○	±○		±○		Yüksek bitkiler hariç * <i>Navicula torquatum</i>
β Karoten	●	○	● <sup>4</sup>	●	●	●	○	●	●	●	
γ Karoten	○										
<i>Karoten</i>	?	○				○*					
Flavesan										○	
<b>Ksantofiller</b>											
Lutein	●	○	● <sup>4</sup>	○	○	?	±○		■	±○	* Taraksantin?
Zeaksantin	○	○?	?						±○	○	
Violoksantin	○	○		○			○		○*		
Flavoksantin							±○				
Neoksantin	○	○	○	○			○				
Sifonein		■									
Sifonoksantin		○									
Fukoksantin				○	○	■	● <sup>1</sup>				Kromo-protein olarak gözlenir
Neofukoksantin A ve B						○	○				

Çizelge 2.7 Divizyolarına göre algal pigmentler (Round, 1973) (Devam)

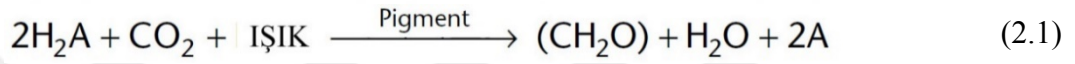
Algal Gruplar	Chlorophyta	Bryopsidophyc	Euglenophyta	Xanthophyta	Crysoophyta	Bacillariophyta	Phaeophyta	Dinophyta	Rhodophyta	Cyanophyta	Simge	
Diatoksantin						○	○				Afanin ve Kalorodin sinonimi	
Diadinoksantin						○	○	○				
Neodiadinoksantin								○				
Dinoksantin								○				
Neodinoksantin								○				
Peridinin								■				
Neoperidinin								○				
Myxoksantin										■		
Myxoksantofil										■		
Oscilloksantin										○		
Astaksantin	○*		○									<i>Haematococcus</i> , <i>Brachiomonas</i> ve <i>Protosiphon</i> türlerinde
Bilinmeyen Ksantofil			○*									
<b>Fikobilinler</b>												
R –fikoertirin									●		Cryptomonadlar da bulunur Cryptomonadlar da bulunur, ancak absorpsiyon piki farklıdır * <i>Porphyra naiadum</i> türünde bulunur * <i>Porphyra naiadum</i> türünde bulunur	
R -fikosiyanin									○			
C –fikoertirin										○		
C -fikosiyanin										●		
β fikoeritrin									○*			
Allofikosiyanin									○*			

●: Grubun major pigmentleri, ■: toplam pigment miktarının yarısından az miktarda olan pigment, ○: az miktarda bulunan pigmentler

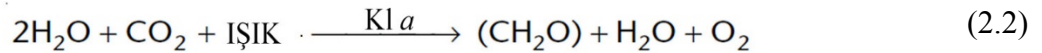
## 2.5 Fotosentez

Mikroalgler oksijenik fotoototrofik mikroorganizmalardır ve serbest oksijen varlığında enerji-zengini organik bileşiklerden karbondioksit metabolize etmek için güneş ışığını kullanmaktadırlar. CH<sub>2</sub>O ile temsil edilen organik bileşikler mikroalgal büyüme ve gelişme için gereken temel yapı taşlarıdır. Aşağıda verilen eşitlikte de görüldüğü gibi bu proses için ek substrat olarak H<sub>2</sub>O gerekmektedir.

Fotosentez oksidasyon – redüksiyon reaksiyonları şeklinde belirtilebilir (Eşitlik 2.1).



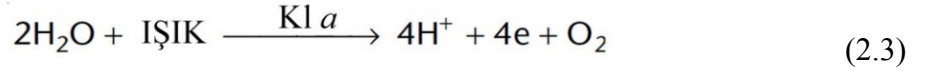
Burada belirtilen fotosentezde ışık substrat olarak verilmiştir, absorbe edilen ışığın enerjisi ürünlerde depo olmaktadır. Bazı aerobik fotoheterotrofları (Kolber vd. 2000) ve bazı istisna Prochlorophyta ve Cyanobacteria üyeleri de dahil olmak üzere tüm fotosentetik bakteriler yalnızca anaerobik koşullarda karbon fikse etme ve oksijen geliştirme yeteneğine sahiptirler. Bu organizmalarda “A” ile gösterilen bileşik; bir sülfür atomudur ve pigmentler bakterioklorofillerdir (Blankenship vd. 1995, van Niel 1941). Cyanobacteria, Prochlorophyta, ökaryotik algleri ve yüksek bitkileri temsil eden diğer tüm fotosentetik organizmalar oksijeniktir (Eşitlik 2.2).



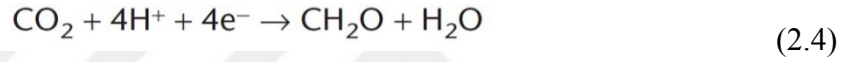
Klorofil-*a* en yaygın görülen bitki pigmentidir. Eşitlik 2.2’de klorofil a pigmenti, ışık enerjisini kullanarak suyu oksidize etme yoluyla bir reaksiyon veya reaksiyon serisini katalize etmektedir.

### 2.5.1 Oksijenik fotosentez

Eşitlik 2.3'te oksidasyon prosesi gösterilmektedir. Burada spesifik olarak elektronların, sudan moleküler oksijen formu şeklinde ekstre edilmesiyle, kısmi reaksiyon gözlenmektedir. Bu proses iki grup oksijenik fotosentez reaksiyonlarından bir tanesini temsil etmektedir.

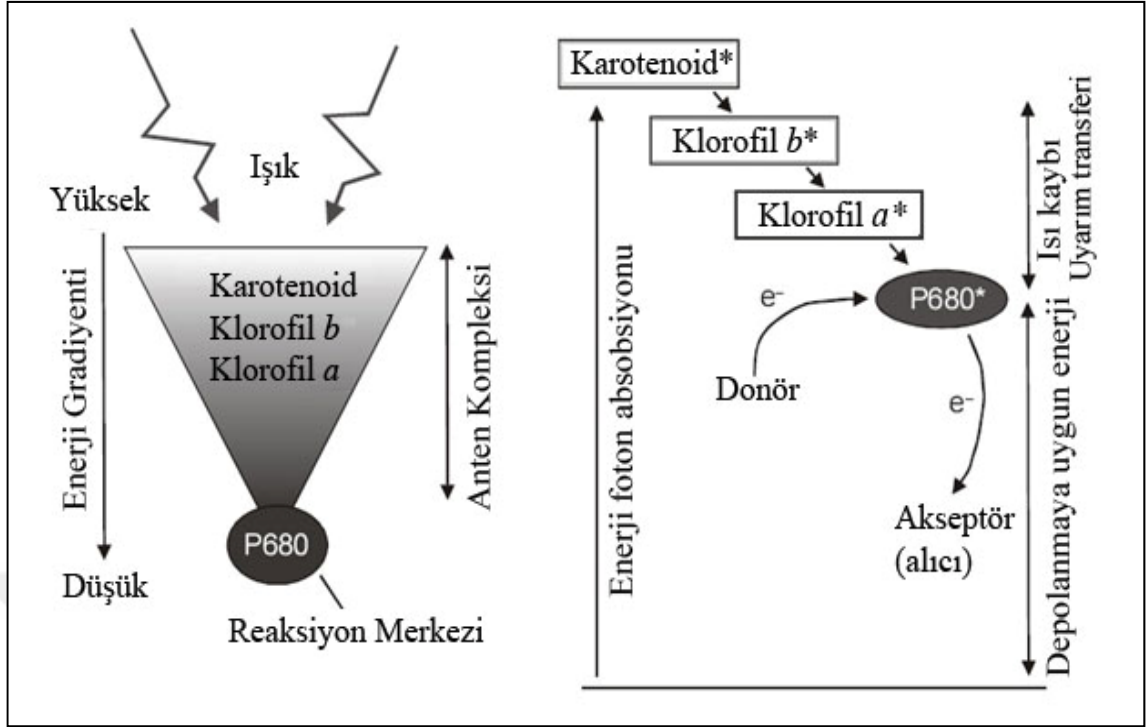


Diğer reaksiyon ise karbondioksitin redüksiyonuyla eşitlik 2.4'te gösterilmiştir.



Serbest elektronlar normal olarak biyolojik sistemlerde yer almazlar, eşitlik 2.3 ve 2.4'te gösterilen oksijenik reaksiyonlarda, belirgin bir şekilde görülmeyen orta düzey indirgeyici ajan formuna ihtiyaç duyulmaktadır. Bu indirgeyiciler ve süregelen mekanizma oksijenik fotosenteze ait proseslerdir (Falkowski ve Raven 2007).

Mikroalglerin ışık enerjisini ve fotonları absorbe etme, ayrıca kimyasal bağ formasyonlarıyla bunları kimyasal enerji olarak depolama yeteneğinde oldukları bilinmektedir. Fotosentetik apparatusun temel unitesi ise fotosistemdir. Foton gibi ışık enerjisi fotosistem anten kompleksinin karotenoid ve klorofil pigmentleriyle absorbe edilir.

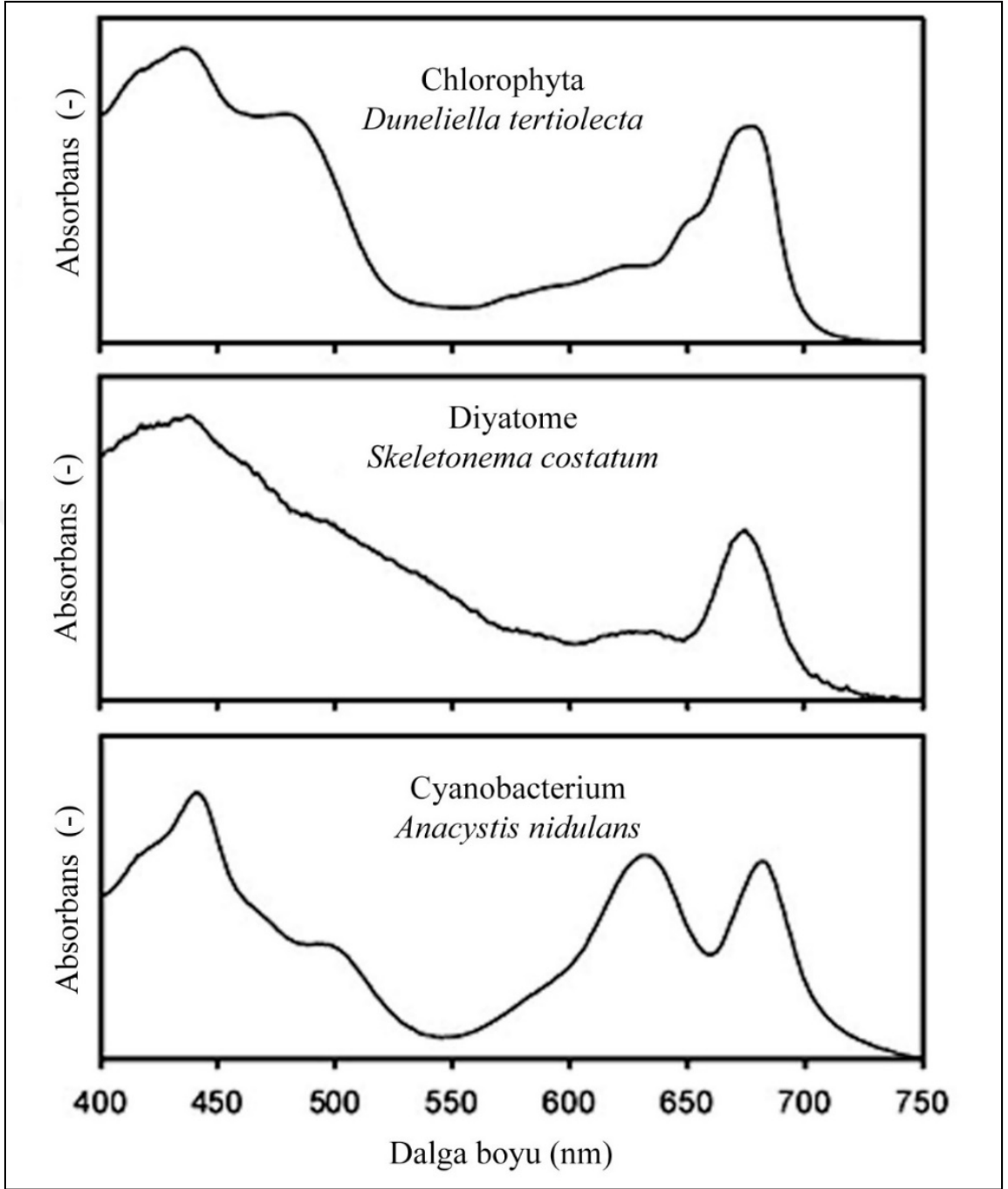


Şekil 2.4. Fotosistem, indüklenmiş ışık eksitasyonunun anten kompleksinden reaksiyon merkezine akışı, indüklenmiş ışık eksitasyon enerjisi "\*" ile belirtilmiştir (Janssen 2002).

Fotosistem II prosesinde eksitasyon enerjisi pigmentler aracılığıyla taşınmaktadır (P680) ve daha yüksek enerji seviyesine getirilmektedir (P680\*). Eksitasyonun yaklaşık % 95 ila 99 oranı reaksiyon merkezine transfer edilebilmektedir. Reaksiyon merkezinin içinde bulunan eksitasyon enerjisi, en yüksek enerji yüklü orbitalden aldığı elektronla reaksiyon merkezini aktive eder (P680→P680\*) ve alınan bir elektronu en düşük enerjili yüklenmemiş orbitale taşır (Şekil 2.4).

## 2.6 Mikroalglerde Absorbsiyon Spektrumu

Mikroalglerin absorpsiyon spektrumu divizyolara göre farklılıklar gösterir. Chlorophyta, Chrysophyta veya Cyanophyta üyelerinin absorpsiyon aralıkları farklıdır (Şekil 2.5). Algal kültürasyon sistemlerinde verimli bir biyokütle sağlamak için kullanılan ışık kaynaklarının dalga boylarının tür bazlı belirlenmesi gerekmektedir.



Şekil 2.5 *Dunaliella tertiolecta* Butcher, *Skeletonema costatum* Greville (Cleve) ve *Anacystis nidulans* Richter Drouet ve Daily türlerine ait karakteristik absorpsiyon spektrumları (Kromkamp ve Limbeek 1993)

## 2.7 Mikroalg Tabanlı Enerji

Dünyadaki en eski formlardan biri olan algler milyonlarca yıldır yaşamlarını sürdürmektedirler. Ayrıca alglerin insanlar tarafından kullanıma uygun hale getirilmesi uzun bir tarihe sahiptir. Alglerin ilk olarak besin kaynağı elde etmek için toplanması Çin’de 2500 yıl önce başlamıştır ve buradaki insanlar Nostoc gibi yenilebilen alglerin cinslerinin büyüme ve gelişmesini sağlamışlardır. Ancak alglerin biyoteknolojik olarak araştırılmasının çok uzun bir geçmişi yoktur. 200.000-800.000 arasında alg türü olduğuna inanılmaktadır, ancak bunların yalnızca binlercesi açıklanabilmiştir ve yüzlercesi kimyasal içerikleri için araştırılmış ve yine yüzlercesi endüstriyel miktarlarda kültüre edilmiştir (Miguel 2003).

Son 50 yılda mikrolagler üzerine yoğun araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Ayrıca ekonomik ve kullanışlı birçok önemli ürünün üretimi üzerine yoğunlaşmıştır. Büyük ölçekli ilk mikroalg kültür, Nihon Chlorella tarafından 1960’larda *Chlorella* kültürleri ile başlatılmıştır. İlk yağ krizinin baş gösterdiği 1970’lerde mikroalglerin yenilenebilir enerji için kullanımında bir artış görülmüştür (Spolaore 2006). NREL (The US National Renewable Energy Laboratory), Aquatik Türler Programı’nda (ASP: Aquatic Species Program) alternatif yenilenebilir yakıt eldesi için 1978’den 1996’ya kadar süregelen, mikrolaglerden elde edilen biyodizeli de içeren spesifik bir araştırma geliştirme programı oluşturulmuştur (Sheehan 1998). Bu programın esas amacı yağ içeren mikroalglerde lipid üretiminin biyoteknolojisini ve fizyolojisini araştırmaktır.

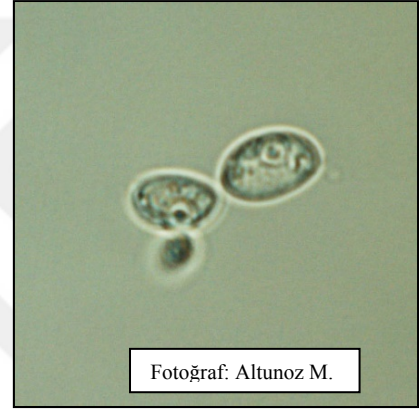
1987 – 1990 yılları arasında Rowell’de (New Mexico), 1000 m<sup>2</sup> büyüklüğünde iki tane göl üzerinde “dış ortam deney tesisleri” kurulmuştur ve mikroalgler kullanılarak düşük maliyette biyodizel üretiminin teknik olarak uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak gereken yüksek üretkenliğin sağlanması için uzun süreli araştırma ve geliştirme çalışmaları yapılması gerekmektedir. Bu programın diğer bir amacı ise, algal izolatlar arasında genetik çeşitliliğin sağlanması, gelişmiş algal suşların üretilmesi ve algal virüslerin potansiyel genetik etkilerini araştırmaktır. 1995 yılında, program başlangıç aşamalarından ileri gidmeden enerji departmanı bu programa sağlanan bütçeyi düşürmüştür (Sheehan 1998).

Son yıllarda ticari alg pazarında birçok firma mikroalgal kültüvasyona uygun biyoreaktörler gibi çeşitli sistemler geliştirmişlerdir (Barclay 2005, Behrens 2007, Kanel 1999). Günümüzde 37 firma alglerden yakıt eldesini araştırmaktadır (Torrey 2008), ve aynı zamanda bu konu üzerine yapılan araştırma geliştirme programlarına olan ilgi artmıştır.

## 2.8 *Neochloris oleoabundans*

### Sistematik

Empire	Ökaryotlar
Kingdom	Bitkiler
Subkingdom	Viridiplantae
Infrakingdom	Chlorophyta infrakingdom
Filum	Chlorophyta
Subfilum	Chlorophytina
Sınıf	Chlorophyceae
Ordo	Sphaeropleales
Aile	Neochloridaceae
Cins	Neochloris
Tür	<i>Neochloris oleoabundans</i> S.Chantanachat ve H.C.Bold



Fotoğraf: Altunoz M.

(Algaebase)

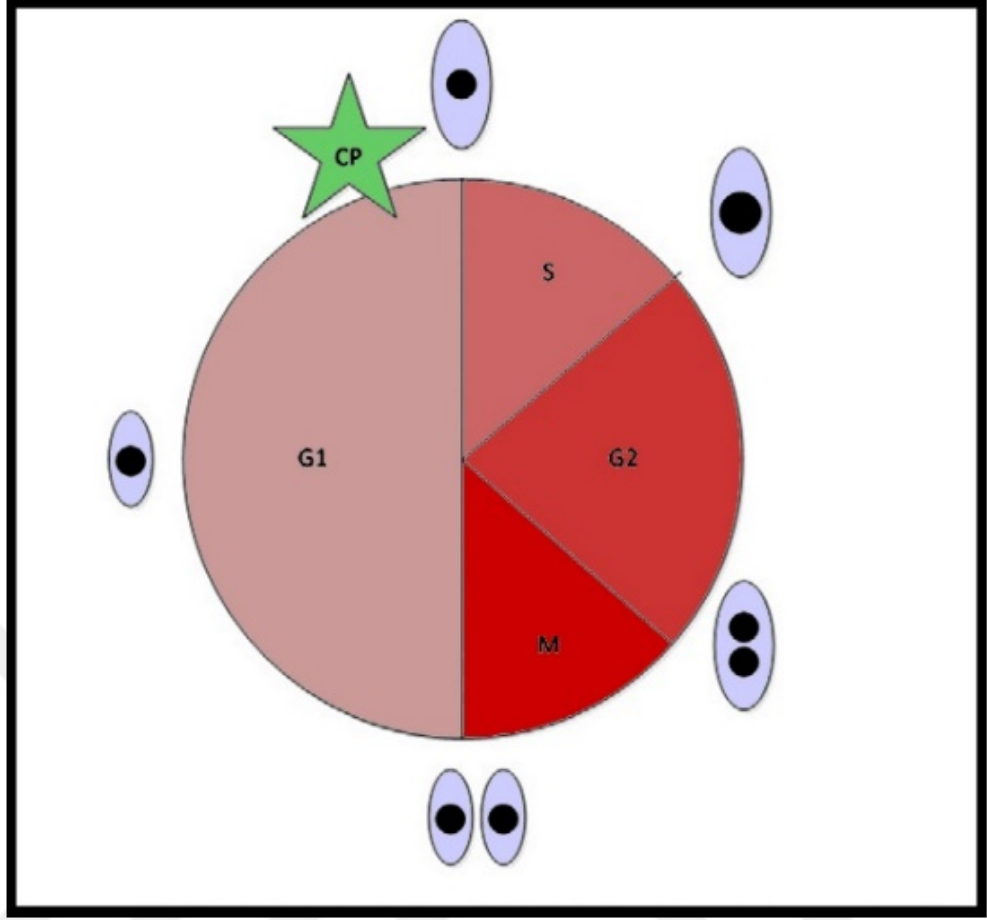
*Neochloris oleoabundans*, yüksek miktarda lipid depolama kabiliyetine sahip, bilinen en önemli mikroalg türlerinden birisidir (Tornabene vd. 1983, Chisti 2007, Li vd. 2008b, Pruvost vd. 2009). Ayrıca bu türün hücreleri azot açlığında kültüre edildiğinde lipid içeriğinde %40 oranında artış gözlenmiştir. Bu oranın ise %80'nini, 16-20 karbon aralığında temel doymuş yağ asitlerini oluşturur ve biyodizel üretiminde önemli rol oynayan trigliseritleri oluşturmaktadır (Tornabene vd. 1983, Li vd. 2008b).

Mikroalglerin morfolojik karakterleri hakkındaki bilgi mikroalgal uygulamalar için çoğu zaman kısıtlı kalmaktadır ve bu durum *N.oleoabundans* türü için de geçerlidir (Wijffels ve Barbosa 2011). Bu tür hakkında çok sayıda çalışma olmaması ile birlikte biyoyakıt üretiminde umut veren bir aday olarak bilinmektedir (Wang ve Lan 2011).

Ayrıca az sayıda çalışma bu türün lipid üretimiyle olan ilişkisi üzerine yoğunlaşmıştır (Li vd. 2008b, Gouveia ve Oliveira 2008, Gouveia vd. 2009).

*N. oleoabundans* çoğu zaman tatlısu organizması olarak tanımlanır ve genellikle Bristol GR veya buna yakın tatlısu besi ortamlarında kültüre edilir (Band vd. 1992, Gouveia vd. 2009, Levine vd. 2011, Giovanardi vd. 2013). Bristol besiyeri Bold (1949) tarafından hazırlanan Bristol içeriği baz alınarak geliştirilmiştir ve iyi bilinen bir tatlısu besi yeridir. Bu besiyerleri genel olarak fotosentetik yeşil alglerin gelişiminde kullanılmaktadırlar. BG 11 ise genel olarak tek hücreli alglerin kültürlerinde kullanılan besiyeridir (Stanier 1971). *N.oleoabundans* türü ilk olarak Suudi Arabistan'daki kum tepelerinden alınan kum örneklerinden izole edilmiştir ve halotolerant mikrolag olarak nitelendirilmiştir (Chantanachat ve Bold 1962). Daha sonra yapılan çeşitli çalışmalarda bu türün acısu ve tuzlu su besiyerlerinde de gelişme kabiliyeti olduğu gösterilmiştir. Buna bağlı olarak mikroalgin biyokimyasal kompozisyon, hücre büyüklüğü ve hücre morfolojisinde farklılıklar gözlenmiştir (Band vd. 1992, Baldisserotto vd. 2012, Popovich vd. 2012).

*Chlamydomonas* cinsinde verilen örnekteki gibi *N. oleoabundans* türünde de klasik hücre bölünmesi döngüsünde; büyüyen bir hücre tüm hücre içeriğini duplike eder ve bunları neredeyse aynı iki yavru hücre şekline getirir (Donnan 1985) (Şekil 2.6). Bir hücre döngüsü erken ve geç kararlılık olarak iki faza ayrılabilir. Erken kararlılık fazı (G1) hücre büyümesi, hücresel yapıların üretimi ve enerji rezervlerine akkümülyasyon gibi büyüme proseslerinde yükselme gözlemlendiği bir evredir. Bu faz enerjiye bağımlıdır ve mikroalg de fotosenteze bağımlıdır. Bu fazda gerçekleşen büyüme sırasında, belirli bir noktada alg hücrelerinin büyüklüğünün sınır düzeyine gelmesiyle, hücre bölünmesine öncülük eden olaylar dizisi tetiklenir. Bu sınır noktasına kararlılık noktası adı verilmektedir. Geç kararlılık periyodu (S, G2 ve M safhaları) ışık yoğunluğundan bağımsızdır ve erken kararlılık safhası sırasında depolanan enerji rezervleri kullanılarak karanlıkta gerçekleşebilir.



Şekil 2.6 Yeşil alg *Chlamydomonas* cinsinin klasik hücre döngüsü (Bisova vd. 2005)

Chlorococcales (Chlorellales) ve Volvocales üyelerine ait bazı algler çoklu büyüme prosesiyle ikiden fazla sayıda yavru hücreye bölünme kabiliyetine sahiptirler (Bisova vd. 2005). Geç kararlılık safhası süresince büyümeye izin veriliyorsa, hücreler daha fazla kararlılık noktalarına erişebilirler, böylelikle hücre döngüsünün sonunda çoklu yavru hücrelere bölünmüş olurlar (Zachleder vd. 1997, Bisova 2005). Prensip olarak yavru hücrelerin sayısı “ $2n$ ” ile gösterilmektedir, burada “ $n$ ” kararlılık noktalarına erişme sayısı ile hesaplanan ikiye katlanma sayısını göstermektedir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Mikroalgal Suş

Bu çalışmada *Neochloris oleoabundans* türü mikroalgal suş olarak kullanılmıştır. 14 günlük süre ile geliştirilen mikroalgal hücre süspansiyonlarından 1ml alınarak, 250 ml'lik Erlenmeyer şişelere, 100 ml besiyeri ile ekimler yapılmıştır (1% v/v). Başlangıçta ekilen hücre konsantrasyonu  $0.64 \times 10^6$  hücre/ml şeklindedir. Çalışma süresince yapılan tüm analizler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Deney süresince dokuz adet kültür koşulu oluşturulmuştur (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Deney koşullarının akronim listesi

Besiyeri	Işık Kaynağı	Akronim
BG11	Beyaz	BG11 <sub>W</sub>
BG11	Mavi	BG11 <sub>B</sub>
BG11	Mavi + Kırmızı	BG11 <sub>BR</sub>
Tavuk Gübresi	Beyaz	CM <sub>W</sub>
Tavuk Gübresi	Mavi	CM <sub>B</sub>
Tavuk Gübresi	Mavi + Kırmızı	CM <sub>BR</sub>
BG11 –N (azot yoksunu)	Beyaz	BG11-N <sub>W</sub>
BG11 –N (azot yoksunu)	Mavi	BG11-N <sub>B</sub>
BG11 –N (azot yoksunu)	Mavi + Kırmızı	BG11-N <sub>BR</sub>

### 3.2 Işık

Alg hücrelerinin optimal gelişimini sağlamak için gereken en uygun ışık dalga boyunu (rengini) belirlemek amacıyla başlangıç suşlarında spektrofotometrik ışık absorpsiyon eğrileri ölçülmüştür. Bu spektrofotometrik absorbans ölçümlerinin en önemli nedenlerinden biri sırasıyla mavi ve kırmızı dalga boyları arasında gözlenen absorbans eğrilerindeki pik noktalarının belirlenmesidir. Mevcut çalışmada enerji tasarrufu ve monokromatik aydınlatmanın kalitesini arttırmak amacıyla alg kültürlerini ışıklandırmada LED ışık kaynakları kullanılmıştır.



Şekil 3.1 El yapımı algal kültürasyon prototipi

Işık sistemlerinin ölçülerini doğru olarak hesaplayabilmek amacıyla çalışmada kullanılan her bir dalga boyunun (mavi, kırmızı, kombine mavi ile kırmızı) alg kültürasyonu için uygun görülen  $120 \mu\text{mol m}^2\text{s}^{-1}$  foton ışık şiddetine uygun gelecek şekilde hesaplamaları yapılmıştır (Khan vd. 1998, Marshall ve Hallegraeff 1999). Bu hesaplamalar doğrultusunda aşağıda gösterilen formül ile foton akısı ( $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ ) enerji akışına ( $\text{Wm}^2$ ) eşitlenmiştir (Eşitlik 3.1):

$$E = \frac{n \cdot c \cdot h \cdot A}{\lambda} \quad (3.1)$$

$n$ : Foton Akısı [ $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ ],  $c$ : Işık Hızı [m/s],  $A$ : Avogadro numarası [ $\text{mol}^{-1}$ ],  $h$ : Planck sabiti [Js],  $\lambda$ : Dalga boyu [m].



Şekil 3.2 Her bir dalga boyu için hazırlanan aydınlatma sistemleri

Genel olarak enerji tüketimi hesaplamaları ile mavi ışığın beyaz ışığa göre daha az enerji sarfettiği bilinmektedir (Çizelge 3.2). Tüm bu nedenlere bağlı olarak LED ışık kaynakları daha az maliyetli bir mekanizma olmaları ve enerji kazanımı bakımından daha avantajlı olmaları nedeniyle seçilmiştir, bunun sonucunda ise daha verimli ışınımsal performans elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada el yapımı bir prototip hazırlanmıştır (Şekil 3.1). Led ışık ile kaplanmış Erlenmeyer şişelerin çevreleri içeriye ışık sızmayacak ve dışarıdan ışık alması engellenecek şekilde alüminyum folyo ile kaplanmıştır (Şekil 3.2). Ayrıca şişelerin çevrelerine yerleştirilen LED ışık sistemlerinin dalga boyları herbir algal suş için ayrı ayrı hesaplanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.3 LED ışık kaynaklarıyla çevrelenmiş Erlenmeyer şişeler

Çizelge 3.2. Farklı dalga boylarındaki LED ışık kaynaklarının verimlilikleri (Philips Lumiled Katalog)

Renk	Dalga Boyu (nm)	Tipik Verimlilik (W/W)
Kırmızı	$620 < \lambda < 645$	0.39
Kırmızı-Turuncu	$610 < \lambda < 620$	0.29
Yeşil	$520 < \lambda < 550$	0.15
Siyan	$490 < \lambda < 520$	0.26
Mavi	$460 < \lambda < 490$	0.35
Beyaz	555 nm'de normalize edilmiş	0.22

Kullanılan ışık kaynaklarının dalgaboyları 436 nm (mavi), 665 nm (kırmızı) ve 6000K (beyaz) şeklinde kullanılmıştır. Deney düzeneğindeki Erlenmeyer şişeler içerisindeki

alg hücrelerinin maruz kaldıkları ışık dalgaboyları ise mavi, kombine mavi ile kırmızı ve beyaz olacak şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 3.3). Kombine mavi ve kırmızı dalga boylarının oranları ise sırasıyla 3:1 oranında yerleştirilmiştir. Kırmızı ve mavi ışığın verimlilik oranlarının diğer ışık dalga boylarına göre daha yüksek olduğu bilinmektedir (Çizelge 3.2).

### 3.3 Mikroalgal Besiyerleri

Standart BG11 algal besiyeri (Çizelge 3.3) (Rippka 1988), azot yoksunu BG11-N besiyeri ve kurutulmuş tavuk gübresi süspansiyonu olarak toplamda üç farklı tipte besiyeri kullanılmıştır (Çizelge 3.1). BG11 besiyeri kontrol grubu olarak kullanılarak BG11-N ve CM besiyerlerinde gözlenen büyüme ve gelişme ışık etkisi de göz önünde tutularak karşılaştırılmıştır. CM besiyerinde kullanılan tavuk gübresi Türem Organik Gübre Tesisleri'nden elde edilmiştir. Üreticiden sağlanan Türk Akreditasyon Kurumu (TÜRKAK) tarafından resmi olarak onaylı tavuk gübresi analizine göre sağlanan nutrient içeriği miktarları bu besiyerinin optimizasyonunda kullanılmıştır.

Bu bilgiler doğrultusunda optimum algal büyümeyi sağlayan BG11 besiyerine uygun gelecek şekilde, kuru tavuk gübresinde gerekli dilüsyonlar yapılarak algal kültürasyon için en uygun şekilde besiyerleri hazırlanmıştır. Azot yoksunu BG11-N besiyeri ise azot kaynağı olarak  $\text{NaNO}_3$  kullanılmadan ve mevcut  $\text{MgSO}_4$  miktarında optimizasyon yapılarak hazırlanmıştır. Tüm besiyerlerinin pH değerleri optimum bir değer olan  $7.3 \pm 1$  şeklinde ayarlanmıştır. Tüm besiyerlerinin  $121^\circ$ 'de 15dk süre ile sterilizasyonu yapılmış ve orbital karıştırıcıda 150rpm'de (Heidolph Titramax 101, Germany), inkübatör içerisine yerleştirilmiştir (Isco SRL-FTD-250 Plus-Cooling Incubator, USA). Tüm suşlar  $26^\circ\text{C}$ 'de, 6 günlük süreyle, 8 saat karanlık, 16 saat aydınlığa maruz bırakılmıştır.

Çizelge 3.3 BG 11 besiyeri içerikleri (Rippka 1988)

<b>Komponent</b>	<b>Konsantrasyon</b>	
NaNO <sub>3</sub>	17.6 mM	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.23 mM	
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.3 mM	
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.24 mM	
Sitrik Asit·H <sub>2</sub> O	0.031 mM	
Ferrik Amonyum Sitrat	0.021 mM	
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	0.0027 mM	
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.19 mM	
BG11 Eser Metal Soluüsyonu	1 mL/L	
<b>BG11 Eser Metal Solüsyonu (1 mL/L)</b>	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	46 mM
	MnCl <sub>2</sub> •4H <sub>2</sub> O	9 mM
	ZnSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O	0.77 mM
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> •2H <sub>2</sub> O	1.6 mM
	CuSO <sub>4</sub> •5H <sub>2</sub> O	0.3 mM
	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> •6H <sub>2</sub> O	0.17 mM

### 3.3.1 İşlenmiş tavuk gübresinin standardizasyonu

İşlenmiş tavuk gübresinin TÜRKAK onaylı içerik bilgileri, optimum algal büyüme için gereken besiyeri koşulları için standardizasyon yapılmasını sağlamıştır (Çizelge 3.4). Optimum algal büyüme ve gelişmeyi sağlayan besiyerinin nutrient bileşenlerinin moleküler ağırlıkları ve miktarları hesaplanarak, tavuk gübresinin standardizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.4 Tavuk Gübresi İçeriği

<b>Komponent</b>	<b>Konsantrasyon (%)</b>
Toplam Organik Madde	% 62
Toplam Azot	% 2.3
Organik Azot	% 1.9
Humik + Fulvik Asit	% 30.9
Toplam Organik Karbon	% 19.6
Toplam P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	% 4.8
Toplam (N + P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	% 7.1

### **3.3.2 İşlenmiş tavuk gübresiyle hazırlanan besiyeri için yapılan hesaplamalar**

İşlenmiş kuru tavuk gübresi dilüsyonlarını optimal algal besiyeri koşullarına göre dengelemek için bir dizi hesaplama yapılmıştır. Optimum besiyerinin içerdiği nutrientlerin miktarları ve tipleri algal büyüme ve gelişme için oldukça önemlidir. Bu nedenle öncelikle tavuk gübresi dilüsyonlarında oransal nutrient hesaplamaları yapılarak işlemlere başlanmıştır. Bu hesaplamalarda nutrientleri oluşturan bileşiklerin kimyasal formülleri üzerinden 1 litrede bulunma oranları hesaplanmış ve bu hesaplara göre tavuk gübresi dilüsyonlarından besiyerleri hazırlanmıştır.

### **3.3.3 Tavuk gübresi kullanılarak hazırlanan besiyerleri üzerinde yapılan ön hazırlıklar**

Tavuk gübresi besiyerlerinin nutrient oranları optimum büyüme koşullarına sahip besiyeri olan BG11 besiyerine göre ayarlandıktan sonra, öncelikle HCl ve NaOH kullanılarak pH değerleri  $7.3 \pm 1$  şeklinde ayarlanmıştır. Gerekli dilüsyonlar yapılarak, pH ayarlamaları yapılan besiyerleri 121°'de 15dk süre ile sterilize edilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir. Aynı zamanda hazırlanan sıvı besiyerlerinin yanında, agarlı katı besiyerleri de hazırlanmıştır ve bu besiyerlerinde alg gelişimi izlenerek gerekli

kontroller sağlanmıştır. Bu işlemler sonucunda bir dizi protokol geliştirilerek, işlenmiş tavuk gübresi algal besiyeri olarak kullanılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Tavuk gübresi besiyerinde yapılan ön çalışmalar

Bu çalışmada kullanılan tavuk gübresi besiyerleri, ön çalışmalar sırasında doğal güneş ışığı ile sera ortamında, belirli sıcaklık ve fotoperiyodlarda mikroalgal besiyerlerinde kullanılmıştır. *Chlorella vulgaris*, *Neochloris oleoabundans* ve karışık mikroalgal kültür suşları bu ön çalışmalarda denenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Ön çalışmalarda yapılan algal kültürler (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü serası)

### 3.4 Mikroalgal Hücre Konsantrasyonu

Deney süreci boyunca algal hücre konsantrasyonları ışık mikroskobu (Nikon Corporation Instruments Company, Advanced Research Microscope Eclipse 80i, Japan) altında, 2 günlük periyotlarla Improved Neubauer hemositometre (McAteer ve Davis 1994) kullanılarak hesaplanmıştır. Hücre sayımları mikroalgal suşlardan alınan 1 ml örnekte gerekli dilüsyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Hücre konsantrasyonları (hücre/ml) aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır (Guillard, 1978) (Eşitlik 3.2, 3.3):

$$\text{Konsantrasyon} \left( \frac{\text{Hücre}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{Sayılan Toplam Hücre Sayısı}}{\text{Sayım Yapılan Kare Sayısı}} \times \text{Dilüsyon Faktörü} \times 10000 \quad (3.2)$$

$$\text{Dilüsyon Faktörü} = \frac{\text{Örnek Hacmi} + \text{Dilüsyon Sıvısının Hacmi}}{\text{Örnek Hacmi}} \quad (3.3)$$

### 3.5 Mikroalgal Hücre Büyüklüğü

Mikroalgal hücre büyüklükleri ışık mikroskobuna bağlı dijital görüntüleme sistemi yazılımında gerekli kalibrasyonlar sağlanarak gerçekleştirilmiştir. Çoğu sferik şekilli hücreye sahip alg türünde hücre boyları ve enlerinin eşit olduğu varsayılarak hücre büyüklükleri yaklaşık olarak eşit olan hücre boyu ve eni ölçümleriyle hesaplanmıştır (Verity vd. 1992, Sun ve Liu 2003). Herbir mikroalgal suş için en az 20 adet hücrenin boyutları ölçülmüştür. Hacim hesaplamaları yapıldıktan sonra ortalama hücre büyüklükleri elde edilerek Microsoft Excel üzerinde yapılan ortalama değer hesaplamaları kullanılarak tüm *N. oleoabundans* suşları birbirleri ile karşılaştırılmıştır.

### 3.6 Optik Yoğunluk

Bu deney koşullarında *N. oleoabundans* suşlarının supernatantlarının optik yoğunluğu, bu türe ait kırmızı ışık absorpsiyonunun maksimum pike ulaştığı 665nm dalga boyunda ölçülmüştür. Bu değer ön çalışmalarda *N. oleoabundans* ışık absorpsiyon değerleri dikkate alınarak belirlenmiştir. Bu değer kırmızı dalga boyundaki maksimum absorbansın gözlendiği dalga boyunun değeridir. Optik yoğunluk değerleri, hücre konsantrasyonuyla karşılaştırılarak, hücre boyutları hakkında bilgi edinilmiştir ve bu verinin hücre boyutlarının ışık mikroskobu altında ölçümü ve hücre sayımı ile doğruluğu kanıtlanmıştır.

### 3.7 Büyüme Oranı

Çalışmada kullanılan suşlarda gelişen mikroalglerin büyüme oranları hücre konsantrasyonları göz önüne alınarak (Guillard 1973) aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır (Eşitlik 3.4):

$$\text{Büyüme Oranı} = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1} \quad (3.4)$$

$W_1, W_2$ : Büyüme fazının sırasıyla başlangıcında ve sonunda ölçülen hücre konsantrasyonları (hücre/ml) ve  $T_1, T_2$ : Sırasıyla başlangıçta ve bitiş fazını gösteren zaman periyotları (Gün)

### 3.8 Fotosentetik Pigment İçeriği

Pigment içeriğinin hesaplanması için gerekli mikroalg örnekleri mikrofiber filtre kağıdı (Whatman, GF/C) ile süzme işlemi yapılarak elde edilmiştir. Pigment ekstraksiyonu için, mikroalg süspansiyonlar %90 metanol uygulaması ile 70°C'ye ayarlanmış termal blokta, 5 dakika süre ile bekletilmiştir (Şekil 3.6).

Bunu takiben örnekler porselen havanlarda ezilerek 5000rpm'de 5dk süre ile santrifuj edilmiştir (Şekil 3.7). Daha sonra elde edilen supernatantların absorbans ölçümü 350-800 nm spektrumları arasında spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir (The JASCO V-500/V-600 Series Instruments, Japan).

Klorofil-*a* (Kl-*a*), klorofil-*b* (Kl-*b*) ve karotenoid (K, karoten ve ksantofil) pigmentlerinin analitik hesaplamaları UV-Vis/NIR spektrofotometre ile, 470 nm, 652.4 nm ve 665.2 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Tüm değerlerde elde edilen ölçüm sonuçlarından 750 nm dalga boyunda elde edilen ölçüm değerleri çıkartılarak absorbans değerleri hesaplanmıştır (Ritchie 2006).



Şekil 3.6 Pigment ekstraksiyon işlemleri



Şekil 3.7 Algal hücrelerin 2 günlük periyotlarla ekstraksiyonları

Pigment içeriklerini hesaplamak için kullanılan formüller, solventin cinsine göre farklılıklar göstermektedir. Bu çalışmada solvent olarak metanol kullanılmıştır ve hesaplamalar metanole uygun olan formül kullanılarak yapılmıştır (Lichtenthaler ve Buschmann 2001).

Pigment içeriklerini hesaplamak için kullanılan formüller aşağıda verilen eşitliklerde gösterilmiştir (Eşitlik 3.5,3.6,3.7).

$$\text{Klorofil a} = (16.72 \times A_{665.2}) - (9.16 \times A_{652.4}) \quad (3.5)$$

$$\text{Klorofil b} = (34.09 \times A_{652.4}) - (15.28 \times A_{665.2}) \quad (3.6)$$

$$\text{Karotenoid} = \frac{[(1000 \times A_{470}) - (1.63 \times \text{Kl a}) - (104.96 \times \text{Kl b})]}{221} \quad (3.7)$$

(A: Absorbans)

### 3.9 Toplam Lipid İçeriği

Belirli hacimlerde alınan alg örnekleri falkon tüplere aktarılarak, vakumlu konsantrasyon cihazı (Eppendorf Concentrator 5301, Germany) kullanılarak yüksek buhar basıncı ile kurutulmuştur. Algal biyokütle; pH değeri 6.5 olan 50 mM fosfat tampon çözeltisi kullanılarak 15dk süre ile 4000 rpm'de, -80 °C'de santrifuj edilmiştir. Örnekler bu işlemlerden sonra liyofilizasyon cihazı kullanılarak (Edwards, Sanborn, NY, USA), 48 saat süre ile liyofilize edilmiştir. Ham algal yağ içeriği, 500 µl chloroform/methanol (2:1, v/v) kullanılarak, oda sıcaklığında 2 saat süre ile liyofilize hücre materyalinden elde edilmiştir. Daha sonra solventler kombine ekstraktlardan azot akışı ile uzaklaştırılmış ve artık maddeler hafif nafta içerisinde (b.p. 30-40 °C) çözüldükten sonra hafif petrole ile dengelenmiş silika jel 60 (0.063-0.200 mm, Merck) dolgulu kolon uygulaması yapılmıştır. Kolon hafif petrol ile ayrıştırılmıştır, yıkantı toplanmıştır ve sarımsı ayrışmış ham petrol elde edebilmek için kuruyana kadar azot akışı ile buharlaştırılmıştır. Sarımsı ayrışmış nafta elde etmek için kolona yapılan hafif petrol uygulaması ile birbirinden ayrılan toplam yıkanmış madde elde edilerek, azot akışı ile kuruyana kadar buharlaştırılmıştır. Tüm işlemlerden sonra kuru madde miktarları ölçülerek toplam lipid değerleri elde edilmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlardan elde edilen grafikler MATLAB 8.0 and Statistics Toolbox 8.1 (The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, United States) programları kullanarak hazırlanmıştır..

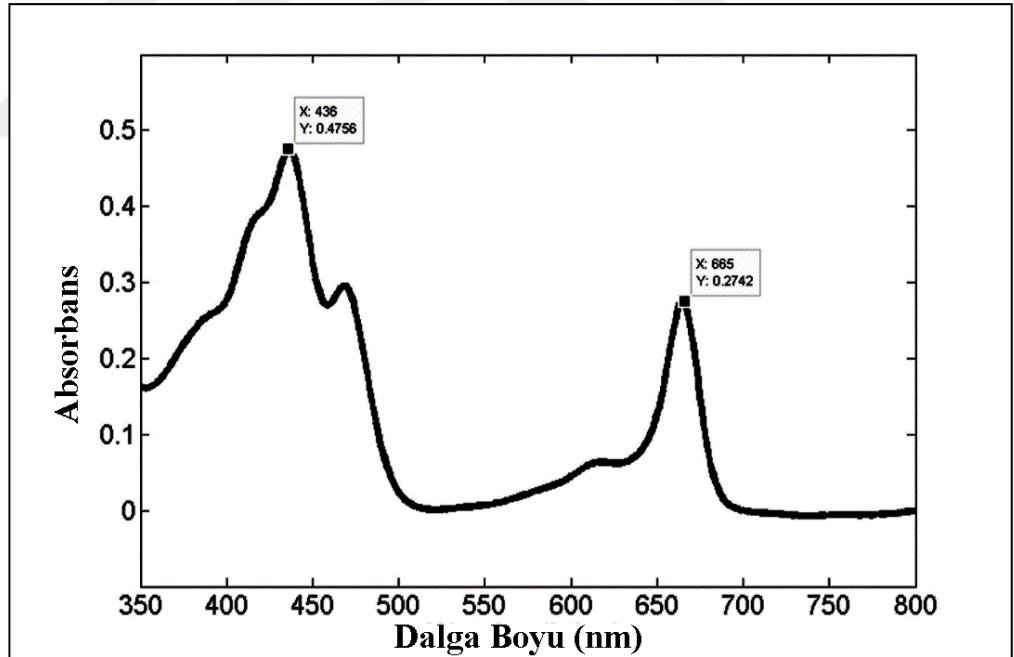


## 4. BULGULAR

### 4.1 Farklı Dalga Boylarının ve Farklı Besiyerlerinin Algal Gelişime Etkileri

Bu çalışmada 3 farklı mikroalgal besiyeri ve 3 farklı dalga boyunda ışık kaynağı kullanılarak bunların alg büyüme ve gelişmesine, hücre konsantrasyonuna, hücre büyüklüğüne, büyüme oranına, pigment içeriğine, toplam lipid içeriğine ve bunların birbirleriyle olan ilişkilerine olan etkileri incelenmiştir. Deney koşullarının kombinasyonlarıyla ilgili akronimler Çizelge 3.1’de gösterilmektedir.

Deneyin başlangıcından önceki ön çalışmalarda *N.oleoabundans* türünün absorpsiyon spektrumununun iki major pikinin mavi ve kırmızı alanlarda yer aldığı gözlenmiştir (Şekil 4.1).



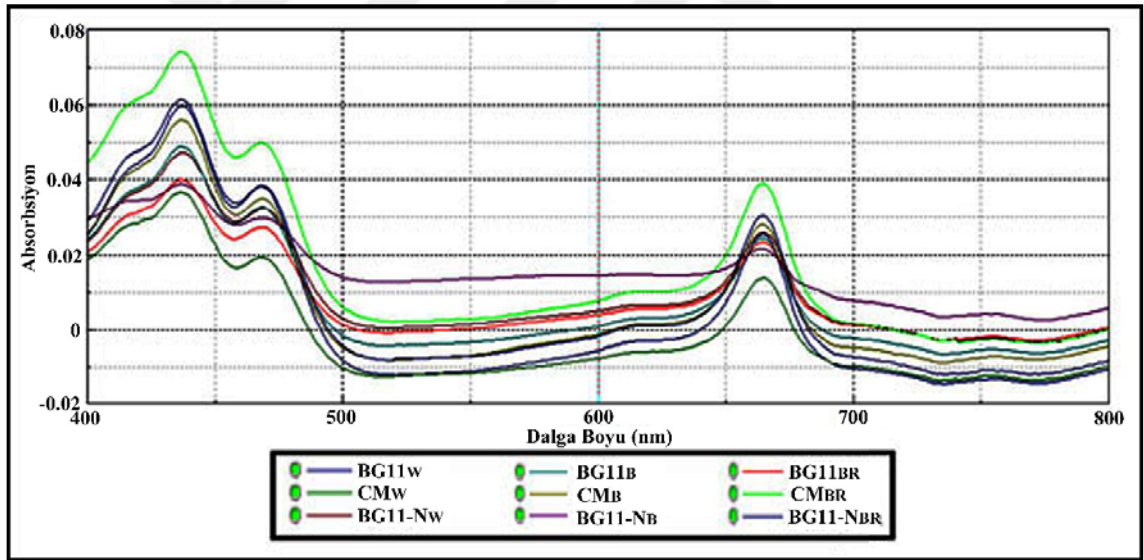
Şekil 4.1. *Neochloris oleoabundans* ışık absorpsiyon ölçümü

Kırmızı alandaki pik (650-700 nm) klorofil absorpsiyon bölgesini göstermektedir. Mavi alandaki ışık absorbe eden ve klorofillere enerji transfer eden diğer pik ise (400-500

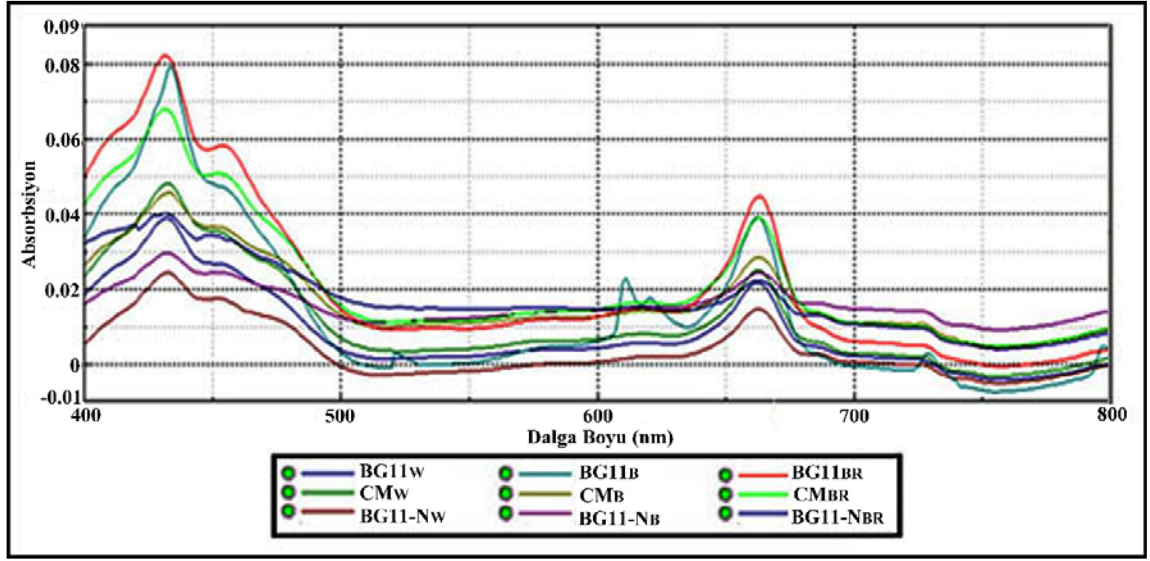
nm) daha çok karotenoid pigmentleri ile ilgilidir ve fotosentetik verimliliğe yardımcı olmaktadır.

Kültivasyonun 4.gününde *Neochloris oleoabundans* suşlarının ışık absorbans ölçümlerinde tavuk gübresi besiyerinin absorpsiyon değerinin yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2), ancak bunu takiben 6.günde ölçülen absorbans değerlerinde CM besiyerlerindeki değerler diğer besiyerlerine kıyasla azalma göstermiştir (Şekil 4.3).

Farklı dalgaboylarına maruz kalmış herbir besiyerinde gelişen mikroalg örneklerinin hücre konsantrasyonları, optik yoğunlukları ve büyüme oranları arasındaki ilişki Şekil 4.5'te gösterilmektedir. Ayrıca Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te kültivasyonun 4. ve 6. günlerinde *Neochloris oleoabundans* suşlarının ışık absorbans ölçümleri gösterilmektedir.



Şekil 4.2 Kultivasyonun 4.gününde *Neochloris oleoabundans* suşlarının ışık absorbans ölçümleri



Şekil 4.3 Kültivasyonun 6.gününde *Neochloris oleoabundans* suşlarının ışık absorbans ölçümleri

## 4.2 Hücre Konsantrasyonu

Gerekli dilüsyonlar yapıldıktan sonra Neubauer hemositometre ile ışık mikroskobu altında, her iki günde bir olmak üzere 6 gün boyunca sayımı yapılan mikroalgal hücrelerin konsantrasyonları hesaplanmıştır (Çizelge 4.1, 4.2, 4.3). Ayrıca hücre konsantrasyon değerleriyle suşların büyüme oranları hesaplanmıştır. Bilindiği üzere algal hücre konsantrasyonu biyokütle üretimi için oldukça büyük önem taşıyan bir parametredir. Mikroalgal hücre konsantrasyonu sonuçlarına göre, 4. günde BG11 besiyerlerinde en yüksek konsantrasyon mavi LED ışık altında, tavuk gübresi besiyerinde sırasıyla kombine kırmızı ile mavi ve mavi LED ışık altında en yüksek konsantrasyonlar görülmüştür. BG11-N besiyerlerinde ise en yüksek konsantrasyon 6. günde mavi ışık altında gözlenmiştir ve bu değer diğer besiyerlerine kıyasla genel anlamda düşük bir değerdir. Ayrıca  $CM_{BR}$  suşunun hücre konsantrasyonunun en yüksek olduğu değer, kontrol grubu olan  $BG11_w$  suşundaki maksimum konsantrasyon değerine ulaşmıştır.

Çizelge 4.1 BG11 besiyerinde gelişen alglerin hücre konsantrasyonları

<b>BG11<sub>w</sub></b>	Konsantrasyon (hücre/ml)	Zaman (gün)
BG11 besiyeri Beyaz Işık	640.000	<b>0</b>
	695.000	2
	1.930.000	4
	<b>7.725.000</b>	6
<b>BG11<sub>B</sub></b>	Konsantrasyon (hücre/ml)	Zaman (gün)
BG11 besiyeri Mavi Işık	640.000	<b>0</b>
	3.250.000	2
	<b>4.690.000</b>	4
	3.215.000	6
<b>BG11<sub>BR</sub></b>	Konsantrasyon (hücre/ml)	Zaman (gün)
BG11 besiyeri Mav+Kırmızı Işık	640.000	<b>0</b>
	1.030.000	2
	1.875.000	4
	<b>5.145.000</b>	6

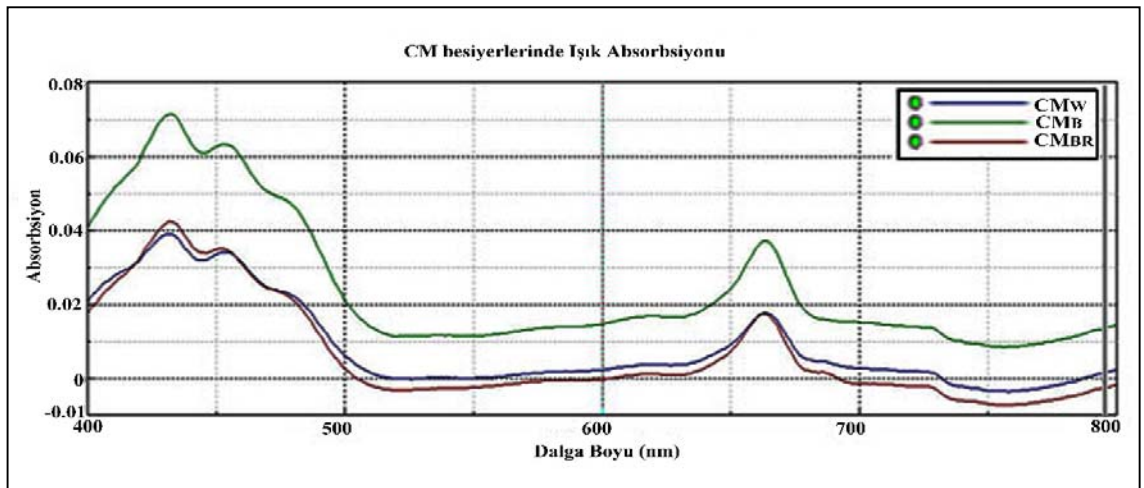
Çizelge 4.2 CM besiyerinde gelişen alglerin hücre konsantrasyonları

<b>CM<sub>w</sub></b>	Konsantrasyon (hücre/ml)	Zaman (gün)
CM besiyeri Beyaz Işık	640.000	<b>0</b>
	1.985.000	2
	2.975.000	4
	3.840.000	6
<b>CM<sub>B</sub></b>	Konsantrasyon (hücre/ml)	Zaman (gün)
CM besiyeri Mavi Işık	640.000	<b>0</b>
	3.490.000	2
	<b>4.360.000</b>	4
	3.855.000	6
<b>CM<sub>BR</sub></b>	Konsantrasyon (hücre/ml)	Zaman (gün)
CM besiyeri Mavi+kırmızı Işık	640.000	<b>0</b>
	2.525.000	2
	<b>7.725.000</b>	4
	650.000	6

Çizelge 4.3 BG11-N besiyerinde gelişen alglerin hücre konsantrasyonları

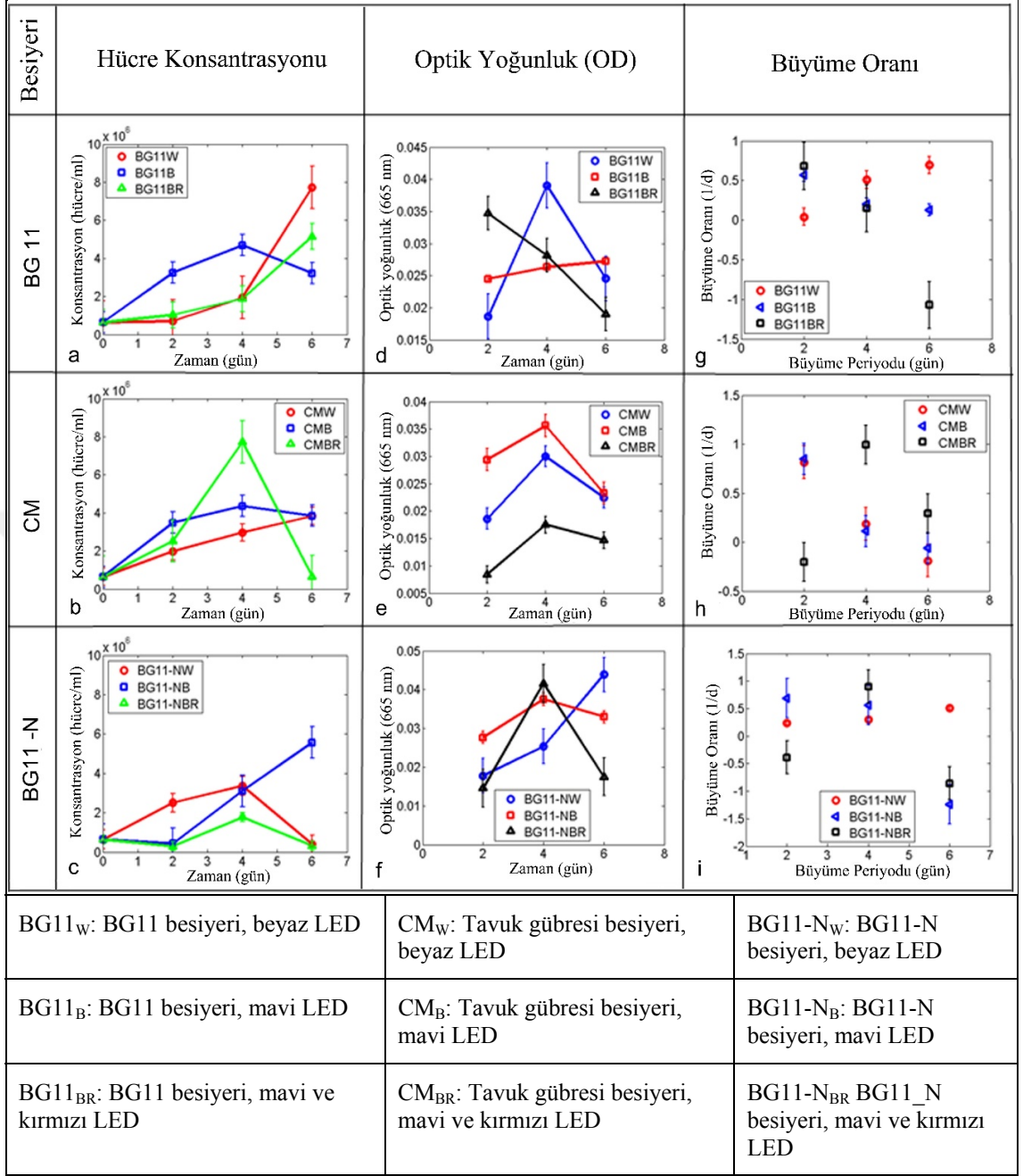
<b>BG11-N<sub>W</sub></b>	Konsantrasyon (hücre/ml)	Zaman (gün)
BG11-N	640.000	<b>0</b>
besiyeri Beyaz	2.505.000	2
Işık	<b>3.360.000</b>	4
	395.000	6
<b>BG11-N<sub>B</sub></b>	Konsantrasyon (hücre/ml)	Zaman (gün)
BG11-N	640.000	<b>0</b>
besiyeri Mavi	425.000	2
Işık	3.105.000	4
	<b>5.560.000</b>	6
<b>BG11-N<sub>BR</sub></b>	Konsantrasyon (hücre/ml)	Zaman (gün)
BG11-N	640.000	<b>0</b>
besiyeri	295.000	2
Mavi+kırmızı	<b>1.780.000</b>	4
Işık	320.000	6

Deney sonunda aynı ortamlarda 8 günlük süreyle tavuk gübresi besiyerinde gelişme gösteren mikroalgal suşlarda mavi ışığa maruz kalan suşun (CM<sub>B</sub>) ışık absorpsiyon değerinin yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. CM besiyerlerinde 8 günlük büyüme süresinde ölçülen ışık absorpsans değerleri

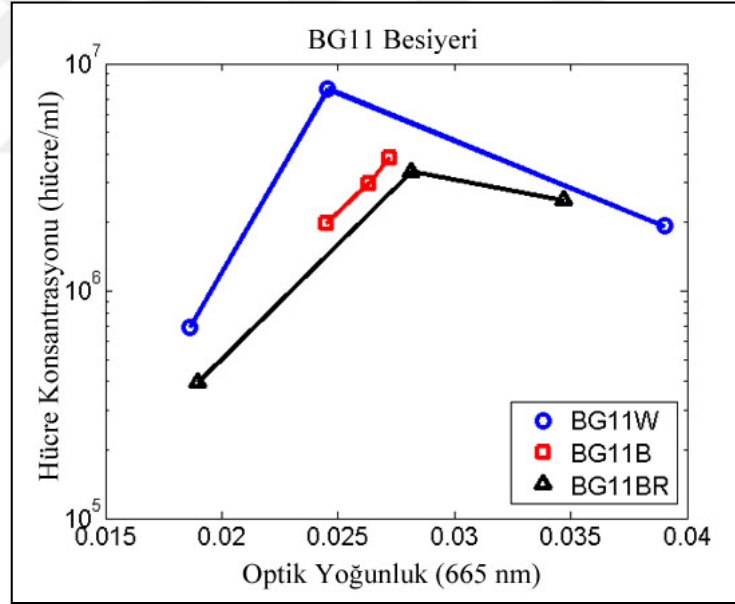
BG11 besiyerlerinde gelişen ve 3 farklı ışık kaynağına maruz kalan mikroalgal suşlar karşılaştırıldığında 6.günün sonunda BG11<sub>W</sub> suşunun en yüksek hücre konsantrasyon değerine sahip olduğu gözlenmiştir; ancak hücre konsantrasyon değerindeki en hızlı artış 4.günün sonunda BG11<sub>B</sub> besiyerinde mavi ışığa maruz kalmış suşlarda gözlenmektedir (Şekil 4.5.a). CM besiyerinde gelişen alg suşlarında en yüksek hücre konsantrasyon değeri 4.günün sonunda CM<sub>BR</sub> suşudur (CM<sub>W</sub> suşundan %14.42 daha yüksek) ve ayrıca tüm deney grupları arasında en yüksek değeri göstermektedir, bunu takiben 4.günden sonra ani bir düşüş gözlenmektedir (Şekil 4.5.b). BG11-N besiyerinde gelişen suşlar arasında karşılaştırma yapılacak olursa BG11-N<sub>W</sub> suşu büyümenin ilk fazında uygun bir büyüme koşulu olarak gözlenmiş olsa da, 4.gün sonrasında BG11-N<sub>B</sub> suşu diğer suşlardaki konsantrasyon değerlerinin aksine yükselmeye devam etmiştir. Sonuç olarak 4.günden sonra BG11-N<sub>B</sub> suşu, BG11-N<sub>W</sub> ve BG11-N<sub>BR</sub> suşları ile karşılaştırıldığında artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5.c).



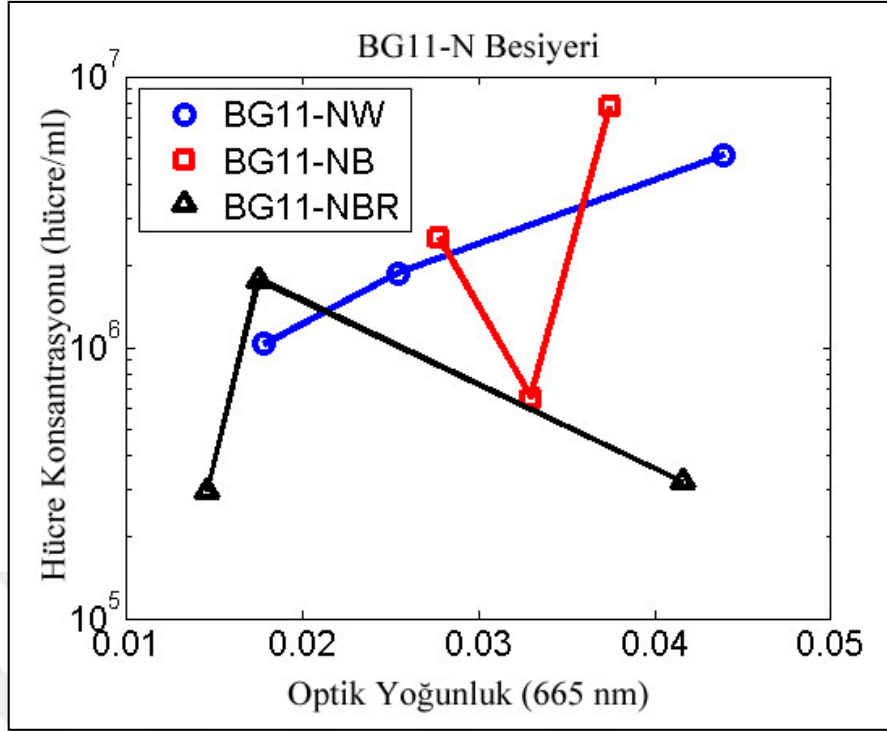
Şekil 4.5 Işık etkisi: Hücre konsantrasyonu, Optik yoğunluk, Büyüme Oranı (6 günlük periyot)

### 4.3 Optik Yoğunluk

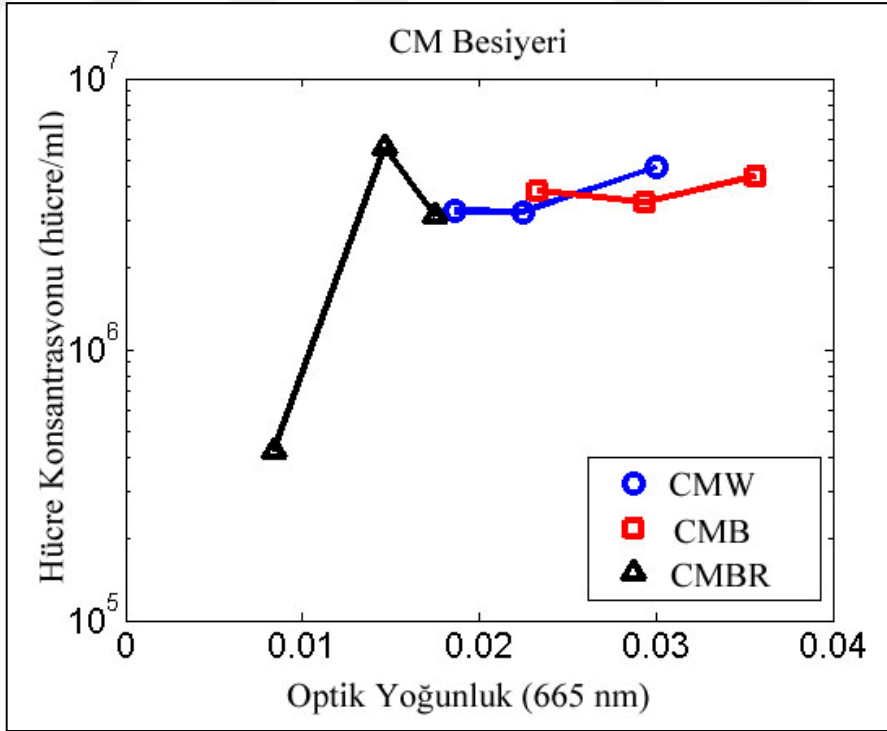
Çalışma süresince gözlenen en yüksek optik yoğunluk değeri 4.günün sonunda sırasıyla BG11<sub>W</sub> (Şekil 4.5.d), CM<sub>B</sub> (Şekil 4.5.e) ve BG11-N<sub>BR</sub> (Şekil 4.5.f) şeklinde gözlenmiştir. Bunun devamında CM<sub>B</sub> suşu 4.günden sonra, CM<sub>W</sub> ve CM<sub>BR</sub> suşlarına göre en yüksek optik yoğunluk değerine ulaşmıştır (Şekil 4.5.f). Optik yoğunluğun yüksek olduğu ancak hücre konsantrasyonunun düşük olduğu suşlarda hücre büyüklükleri daha yüksektir (Şekil 4.6, 4.7, 4.8). BG11 besiyerinde mavi ışık etkisinde hücre konsantrasyonu artışının optik yoğunluktan düşük olması, burada hücre bölünmesinin ertelendiğini ve hücre boyutlarında artış olduğunu göstermektedir (Şekil 4.6). BG11-N<sub>BR</sub> suşunda hücre skonsantrasyonu azalırken optik yoğunluğun arttığı belirgin bir şekilde gözlenmiştir (Şekilde 4.7). CM<sub>B</sub> suşunda ise mavi ışığın tavuk gübresi besiyeriyle olan başarı kombinasyonu gözlenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.6 BG11 besiyerinde gelişen suşlarda gözlenen hücre konsantrasyonu ve optik yoğunluk ölçümleri

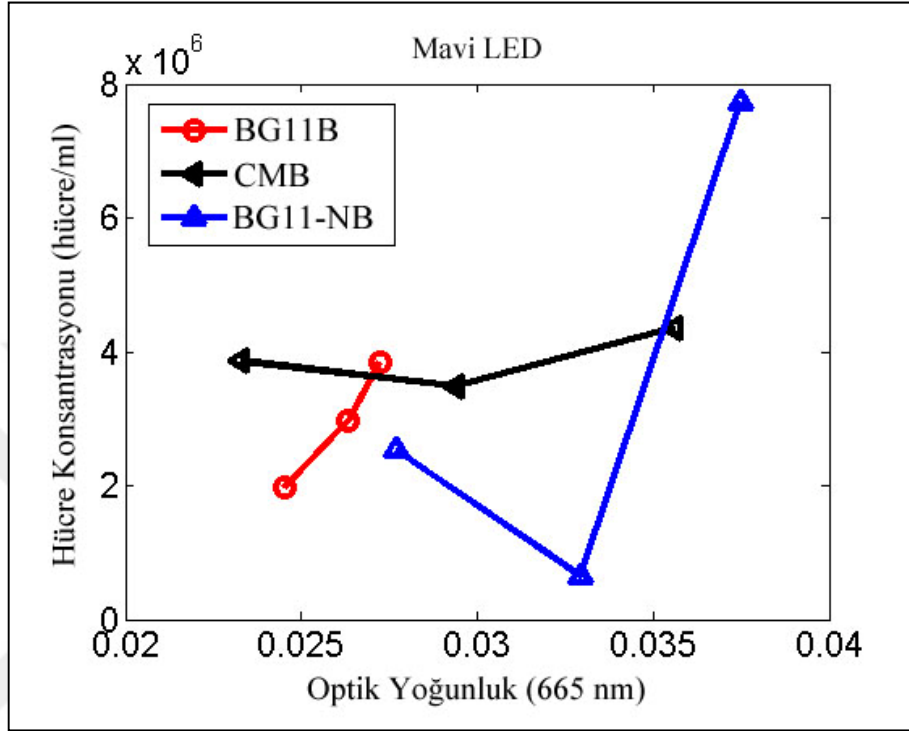


Şekil 4.7 BG11-N besiyerinde gelişen suşlarda gözlenen hücre konsantrasyonu ve optik yoğunluk ölçümleri



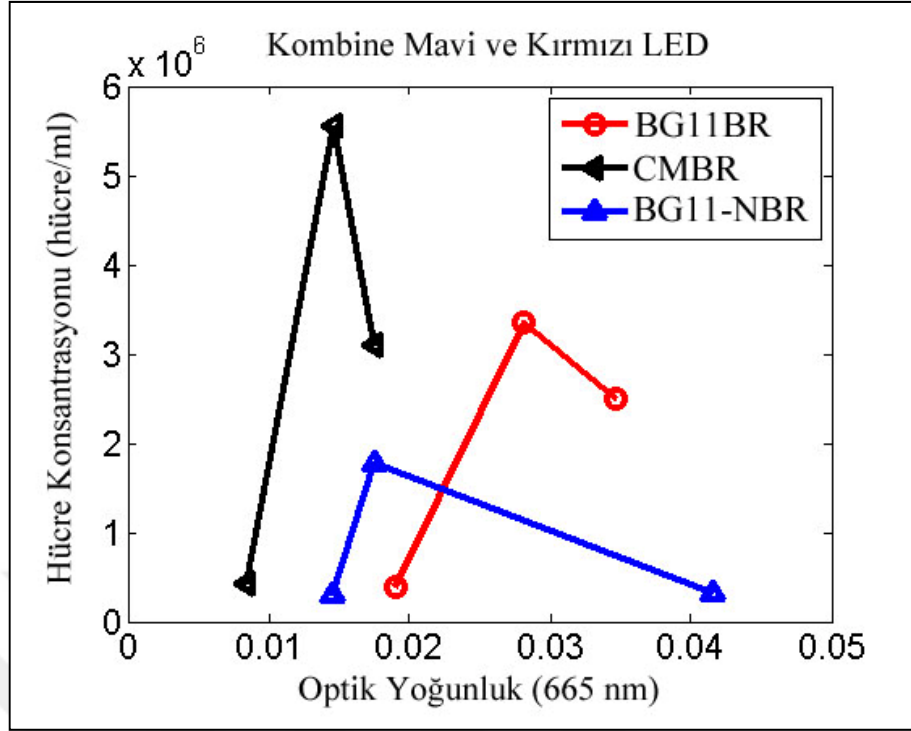
Şekil 4.8 CM besiyerinde gelişen suşlarda gözlenen hücre konsantrasyonu ve optik yoğunluk ölçümleri

Mavi LED ışık kaynağına maruz bırakılan üç farklı besiyerinde gelişen algal suşlar karşılaştırıldığında, mavi ışığın en verimli kombinasyonunun tavuk gübresi besiyeriyle olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 Mavi LED ışık altında BG11, BG11-N ve CM besiyerlerinde hücre gelişimi

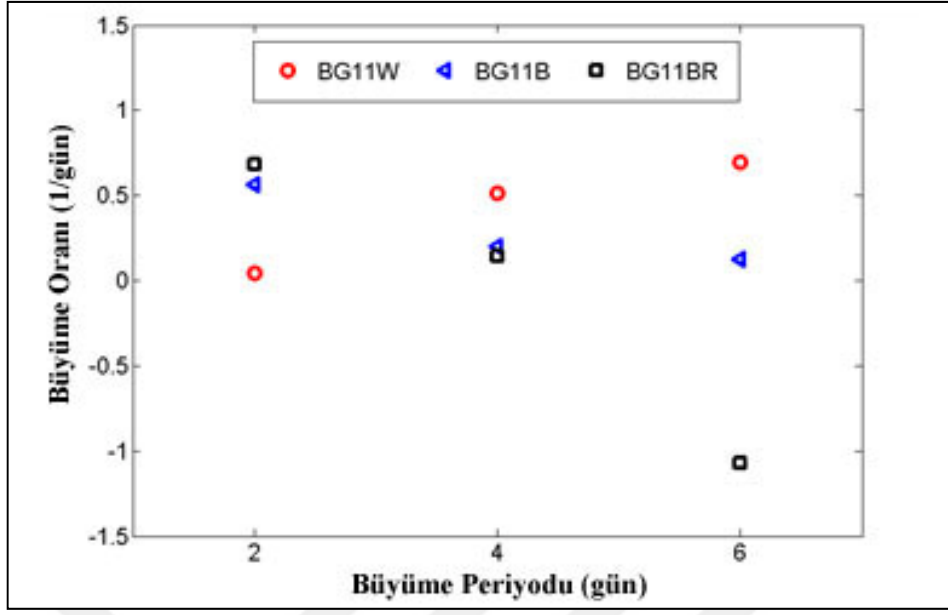
Şekil 4.9'ta gösterilen  $CM_B$  suşunun hücre konsantrasyonu sabitken, optik yoğunluğunda artış gözlenmiştir. Hücre sayısında artış yok iken optik yoğunlukta artış görülmesi hücre büyüklüklerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunun yanında tavuk gübresi besiyerinde ( $CM_{BR}$ ) kombine mavi ile kırmızı LED ışıkların kullanımında ( $CM_{BR}$ ) hücre konsantrasyonunda, diğer CM besiyerlerinde gelişen kültürlerle kıyasla daha hızlı bir artış gözlenmiştir (Şekil 4.10).



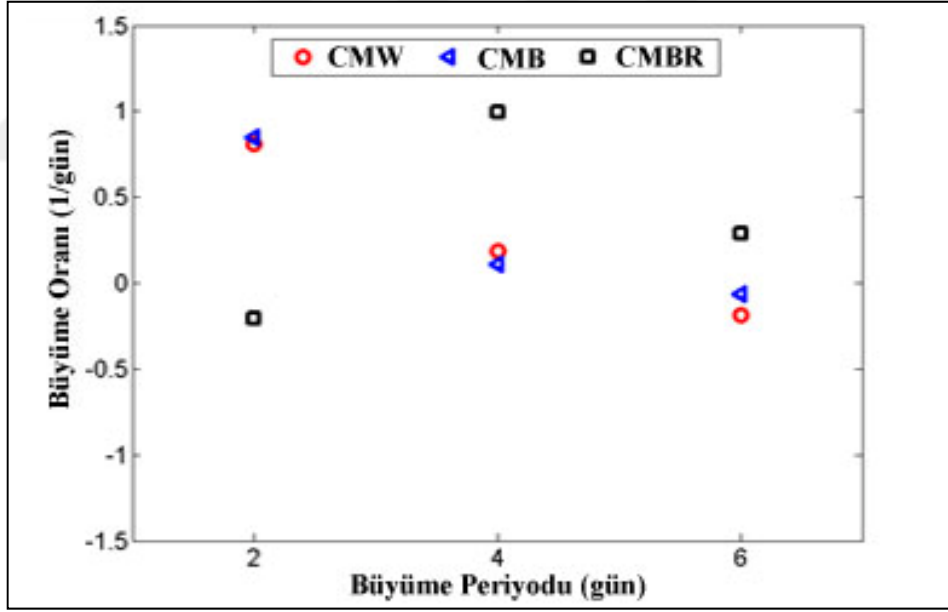
Şekil 4.10 Kombine mavi ile kırmızı LED ışık altında BG11, CM ve BG11-N besiyerlerinde hücre gelişimi

#### 4.4 Büyüme Oranı

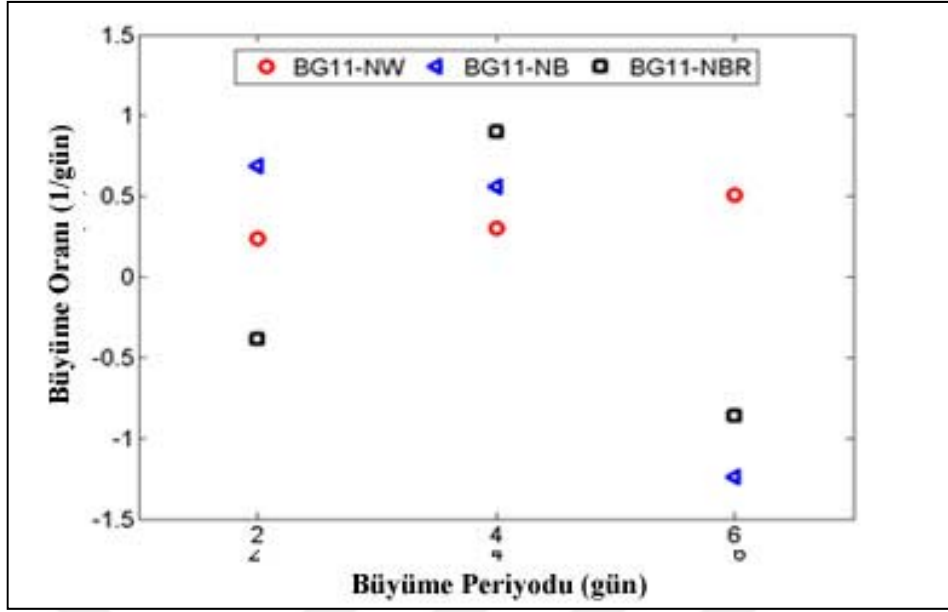
Yapılan çalışmada  $CM_W$  and  $CM_B$  suşlarında 2.günden 6.güne kadar büyüme oranında bir düşüş gözlenir, 4.gün itibariyle  $CM_{BR}$  and  $BG11-N_{BR}$  suşlarında bu değerin en yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5.h, 4.5.i). BG11 içerisinde gelişen algal suşlara ait büyüme oranının genel olarak diğer besiyerlerinde gelişenlere göre daha düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5.g). BG11-N ve CM besiyerlerinde kombine mavi ve kırmızı ışığa maruz kalan suşlarda, 4.günde diğer suşlara kıyasla daha iyi bir korelasyon olduğu saptanmıştır (Şekil 4.5.h, 4.5.i). Aynı zamanda  $BG11_{BR}$  suşu en yüksek büyüme oranı değerine 2.günde ulaşmıştır ve daha sonra deneyin sonuna kadar devamlı bir azalma göstermiştir (Fig. 4.5.g).



Şekil 4.11 BG11 besiyerlerinde gelişen suşların dalga boylarına göre büyüme oranları



Şekil 4.12 CM besiyerlerinde gelişen suşların dalga boylarına göre büyüme oranları

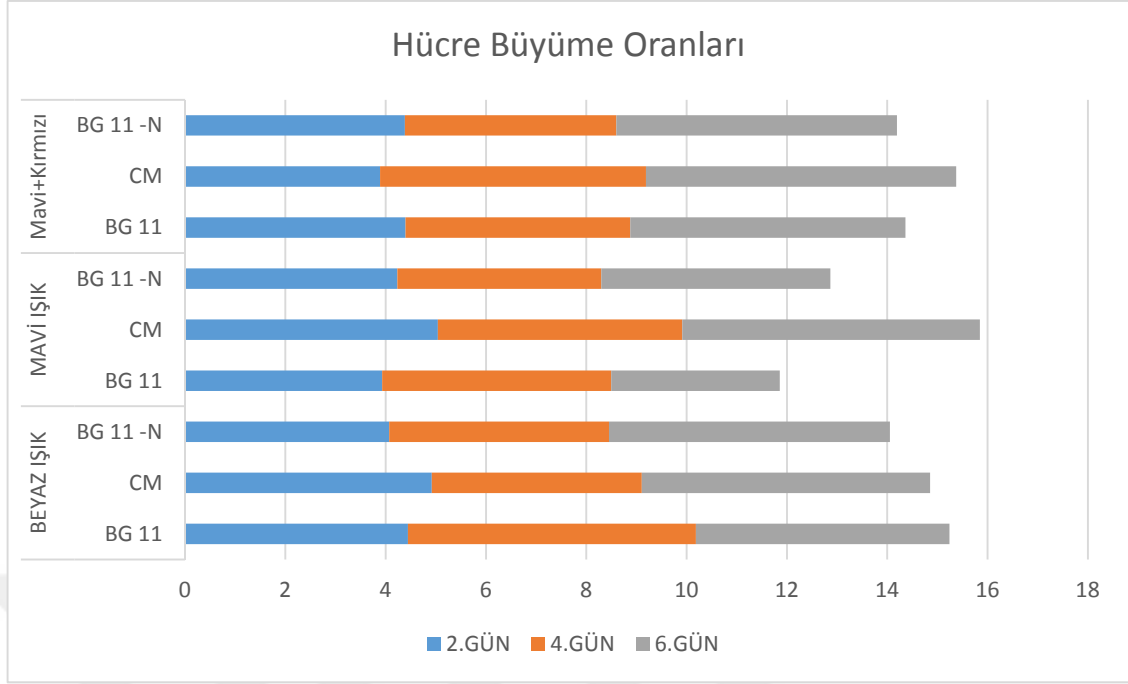


Şekil 4.13 BG11-N besiyerlerinde gelişen suşların dalga boylarına göre büyüme oranları

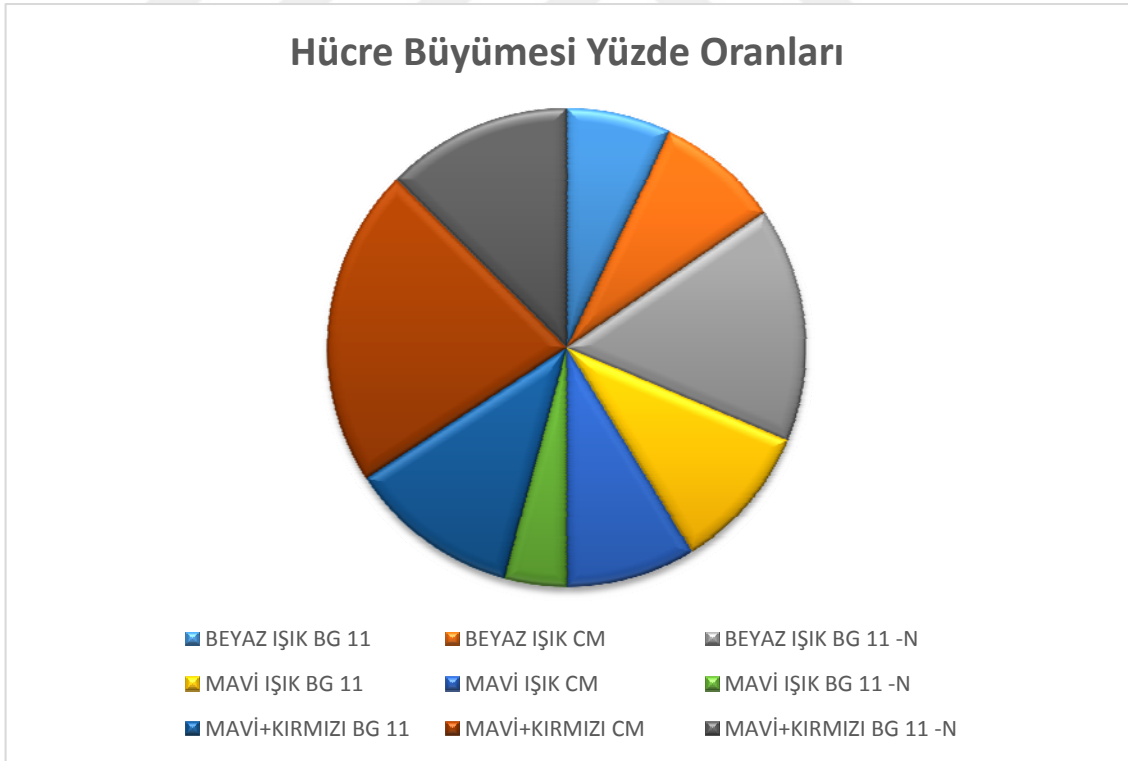
Ayrıca aynı besiyerlerine nüfuz eden farklı dalga boylarının mikroalgal büyüme oranına etkisi incelenmiştir (Şekil 4.11 – 4.12 – 4.13). Buna göre  $CM_B$  suşunun 4. Günde en yüksek değere ulaştığı görülmektedir (Şekil 4.12).

#### 4.5 Hücre Büyüklüğü

Algal hücre büyümesinin ilk safhasında (4.gün),  $CM_{BR}$  suşunun diğer suşlara kıyasla  $1.411 \mu m$  fark ile en yüksek hücre büyüklüğüne ulaştığı gözlenmiştir.  $CM_{BR}$  suşundaki hücre büyüklüğü 4. günden 6. güne kadar olan süreçte %37'lere varan,  $2.294 \mu m$ 'luk bir artışla en yüksek değere ulaşmıştır, bunu takiben  $CM_W$  ve  $CM_B$  suşlarında bu artış sırasıyla  $0.827 \mu m$  ve  $0.890 \mu m$  şeklinde gözlenmiştir.  $CM_B$  suşunda ise 6 günlük büyüme süresince en yüksek hücre büyüklüğü gözlenmiştir. Ayrıca 6 günlük kültürasyon süresince, BG11- $N_W$  and BG11- $N_{BR}$  suşları  $1.529 \mu m$  ve  $1.208 \mu m$ 'a denk gelen, sırasıyla %27 ve %21'lik önemli bir artış göstermiştir (Şekil 4.14 – 4.15).



Şekil 4.14 Hücre büyüklüklerinin 6 günlük kültürasyon süresince artış oranları

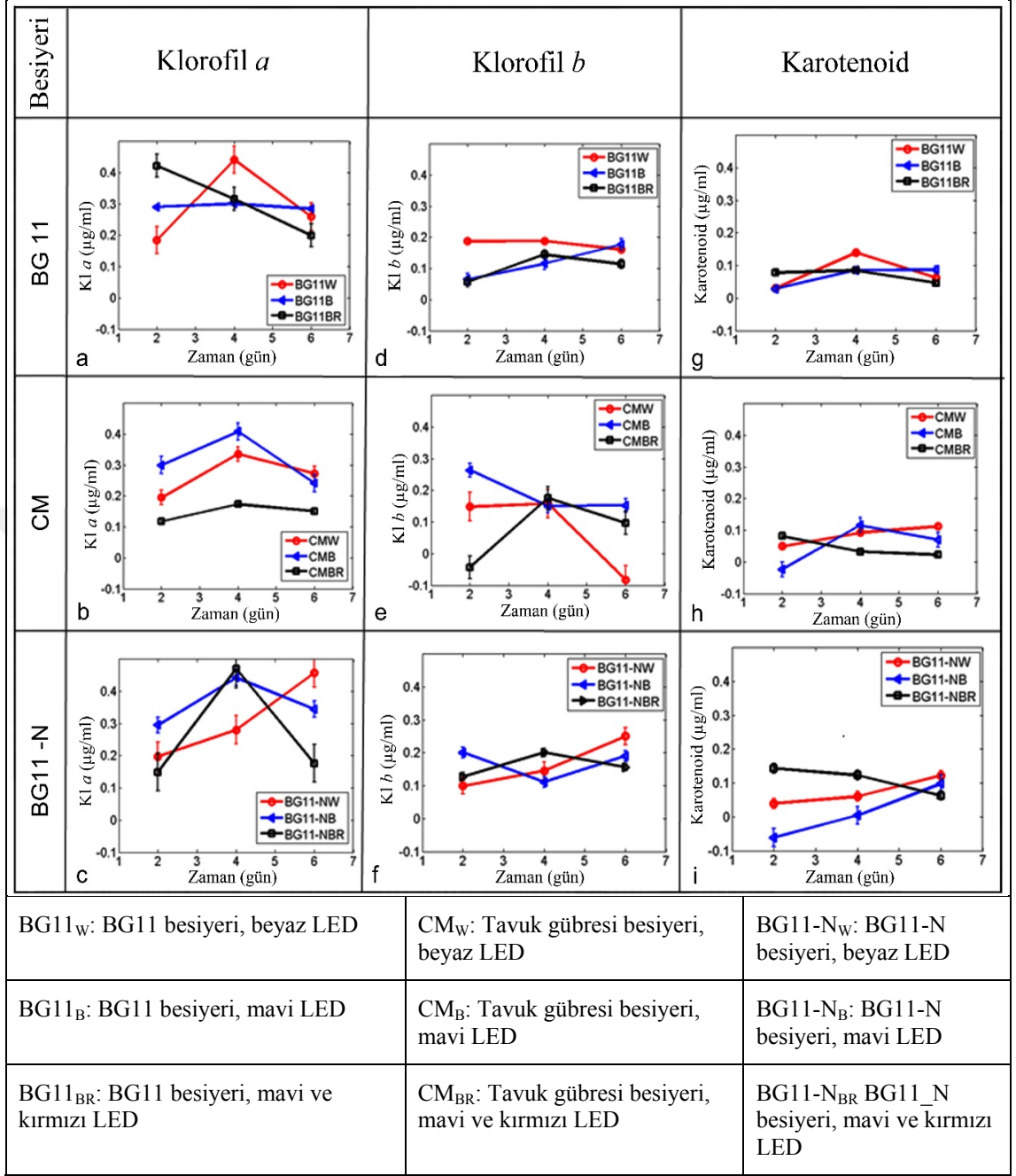


Şekil 4.15 Hücre büyüklüklerinin 6 günlük kültürasyon süresindeki artış payları

#### 4.6 Fotosentetik Pigment İçeriği

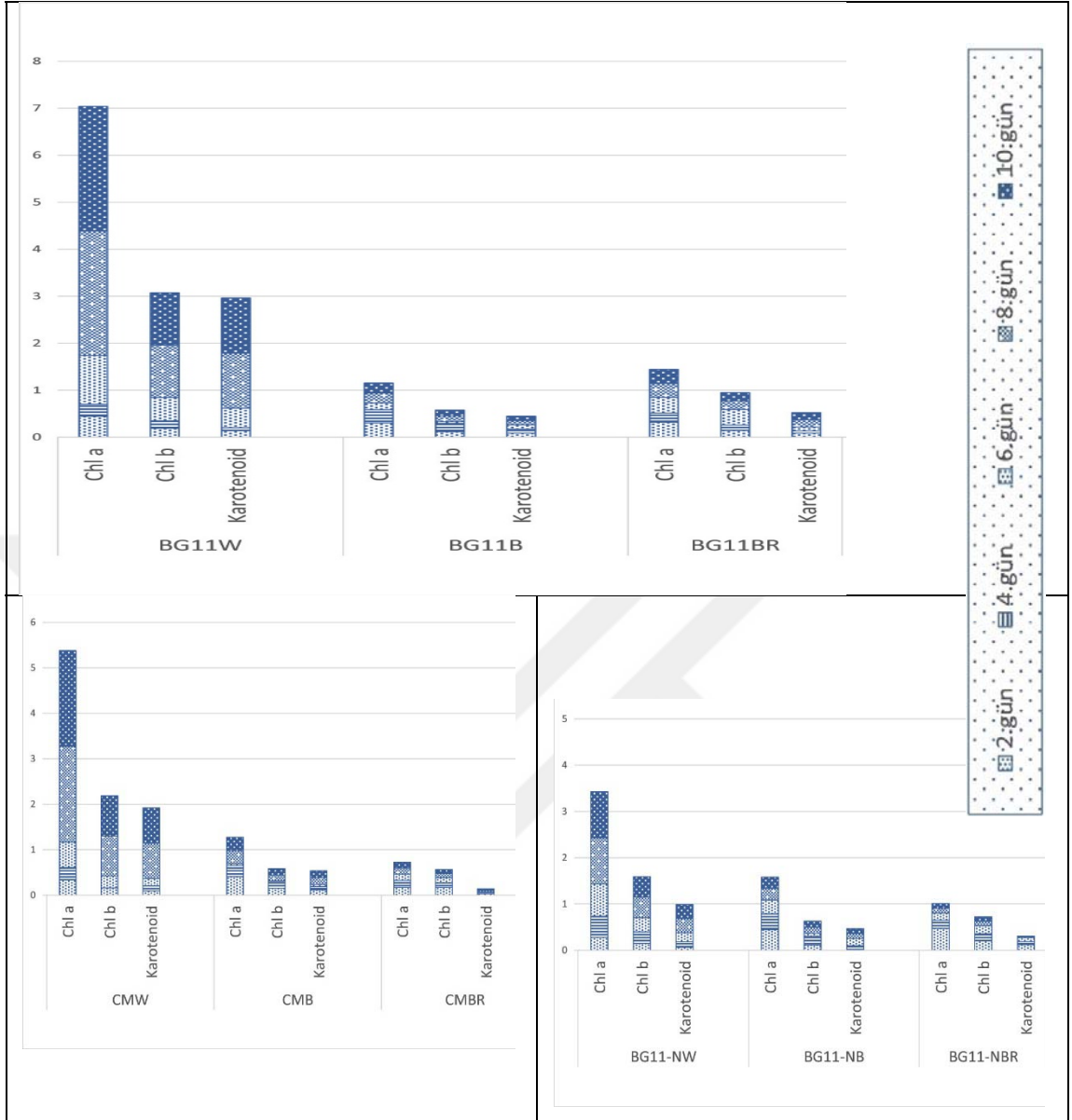
Kl-*a*, Kl-*b*, Karotenoid (karoten and ksantofil) pigmentlerinin içerikleri hesaplanmıştır (Şekil 4.16). Kl-*a* pigment miktarı; BG11<sub>W</sub> ve BG11<sub>BR</sub> suşlarında sırasıyla 4. ve 2.günden itibaren azalma göstermiştir, ancak BG11<sub>B</sub> suşunda 6 günlük büyüme periyodu boyunca sabit bir değerde ilerlemiştir. CM besiyerinde tüm dalgaboylarında ışığa maruz kalan suşlardaki Kl-*a* miktarı 4.günden sonra bir düşüş göstermiştir, maksimum pik 4.günde gözlenmiştir (Şekil 4.16.b). BG11-N besiyerlerinde gelişen mikroalg suşlarında, mavi ve kombine mavi ile kırmızı ışık kaynakları ilk 4 günlük büyüme süresinde Kl-*a* pigment miktarı açısından kaydadeğer bir gelişme göstermiştir. Aynı türden besiyerleri içerisinde gelişen ancak farklı tiplerde dalga boylarına maruz kalan suşlar karşılaştırılmıştır, buna göre Kl-*b* miktarları beyaz ışıkta en çok BG11 besiyeri üzerinde (BG11<sub>W</sub>), kombine mavi ve kırmızı ışık altında ise CM ve BG11-N besiyerlerinde (CM<sub>BR</sub>, BG11-N<sub>BR</sub>) en yüksek Kl-*b* değerleri elde edilmiştir (Şekil 4.16.d – 4.16.f.). CM<sub>W</sub>, CM<sub>B</sub>, CM<sub>BR</sub> suşlarında, deneyin 4.gününde hesaplanan Kl-*b* miktarları oldukça yakın değerler göstermiştir, önemli bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.16.e). BG11 besiyerinde gelişen alg suşlarında Kl-*b* miktarları genel olarak tüm deney gruplarına oranla daha düşük değerlerde gözlenmiştir (Şekil 4.16.d).

Fotosentetik pigment analizlerine göre, Kl-*a* içeriklerinin beyaz ışık altında gelişen suşlarda daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.17). Mavi ve kırmızı ışık kaynaklarının lipid ve biyokütle üretimine olumlu etkisi olduğu daha önce de belirtilmiştir. Dolayısıyla lipid veya biyokütle miktarının daha yüksek olduğu suşlarda fotosentetik pigment olan klorofil miktarının daha düşük olması veya bunun tam tersi rastlanılan bir durumdur.



Şekil 4.16 Işık etkisi: Kl-*a* içeriği, Kl-*b* içeriği, Karotenoid (ksantofil + karoten) içeriği (6 günlük periyot)

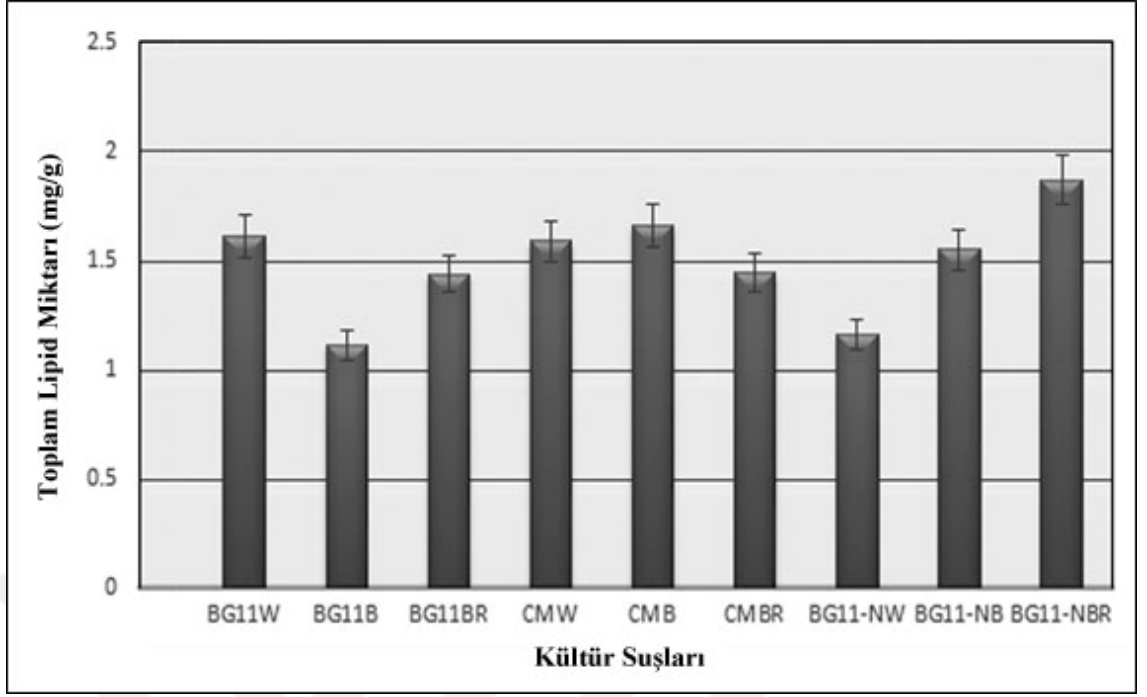
Kültivasyonun ilk günlerinde BG11-N<sub>BR</sub> suşundan elde edilen karotenoid miktarının yüksek olduğu gözlenirken (Şekil 4.13.i), BG11<sub>w</sub> ve CM<sub>B</sub> suşlarına ait karotenoid miktarlarındaki yakınlık bu çalışma için önemli bir bulgu olmuştur (Şekil 4.13.g - 4.13.h). Genel olarak CM ve BG11-N besiyerlerinde gelişen suşlarda, BG11 besiyerinde gelişenlere göre daha fazla karotenoid miktarı gözlenmiştir.



Şekil 4.17 BG11, BG11-N ve CM besiyerlerinde gelişen suşların pigment içerik oranları

#### 4.7 Toplam Lipid İçeriği

10 günlük algal gelişim sonucunda elde edilen toplam lipid miktarları analiz edilmiştir ve elde edilen sonuçlara göre BG11-N<sub>BR</sub> suşunda en yüksek lipid miktarı olduğu belirlenmiştir. Ancak bunu takiben sırasıyla CM<sub>B</sub>, BG11<sub>W</sub>, CM<sub>W</sub> ve CM<sub>BR</sub> suşlarında oldukça yüksek lipid miktarlarına rastlanmıştır (Şekil 4.18). Özellikle CM<sub>B</sub> suşunda rastlanan yüksek lipid miktarı yine bu çalışmanın önemli bir bulgusudur.



Şekil 4.18 10 günlük kültivasyon sonucunda elde edilen lipid içeriği miktarları

## 5. TARTIŞMA

LED ışık kaynakları tarafından gerçekleştirilen aydınlatma, yüksek performans ve kalitede monokromatik ışın yayılımını sağlamak ve enerji tasarrufu yapabilmek açısından, günümüzde önemli bir kullanım alanına sahiptir. Katı hal yarı iletkenliği tabanlı ışık kaynakları en çok verimlilik sağlanan ışınımsal teknolojiyi kapsamaktadır. Philips Lumiled tarafından 2012 yılında yayınlanan katalogda ışık renklerinin tipik verimlilikleri aydınlatma gücü fonksiyonu kullanılarak belirlenmiştir. Beyaz LED ışık kaynağının tipik verimliliği görünen ışık spektrumunun merkezine (555 nm) tekabül eden dalga boyuna dayanarak hesaplanmaktadır. Buna bağlı olarak beyaz ışık monokromatik değildir, ancak çoklu dalga boylarının kombinasyonudur ve 0.22 W/W değerine karşılık gelmektedir. Mavi LED ışık kaynağının (0.35 W/W) en düşük maliyette, en verimli ışık kaynağı olduğu kanıtlanmıştır. Tipik bir algal ışık absorpsiyon eğrisine bakıldığında, kırmızı (kırmızı ışığın tipik verimliliği 0.39 W/W) absorpsiyon piki daha düşük bir değerde gözlenirken, maksimum absorpsiyon piki mavi aralıkta yer almaktadır.

Tek hücreli yeşil mikroalgler (Chlorophyta üyeleri) ve yüksek bitkilerde kırmızı ışık karbonhidrat akümülyasyonunu etkilerken, protein sentezi ve enzimatik aktiviteler mavi ışıktan pozitif olarak etkilenmektedirler (Senge ve Senger 1991). Daha önceki çalışmalarda mavi ışığa maruz bırakılan 4 haftalık algal kültürlerde algal hücre konsantrasyonunun, kırmızı ışığa maruz bırakılanlardan daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Figueroa vd. 1995).

Bu çalışmada farklı besiyerlerinde gelişen ancak mavi ve kombine mavi ile kırmızı LED ışığa maruz kalan mikroalgal hücre konsantrasyonlarında, önemli farklılıklar gözlenmiştir. Kurutulmuş tavuk gübresinden elde edilen CM besiyeri, BG11 besiyerinin içerdiği nutrient oranına göre optimize edilmiştir. Ancak biyoatık olan tavuk gübresinden hazırlanan besiyerinin kalitesi normal olarak laboratuvar ortamında hazırlanan BG11 besiyerine göre daha düşüktür, bu nedenle alg hücrelerinin besin tuzlarını kullanım şekillerinde farklılıklar olduğu düşünülmektedir. Deneyin çoğunlukla 4.gününde gözlenen CM besiyerinde gelişen mikroalg hücresi konsantrasyonlarının,

optik yoğunluk ölçümlerinin, büyüme oranının, pigment içeriğinin veya lipid içeriğinin BG11 besiyerinde gelişen suşlara oranla daha düşük olması bu nedenle açıklanabilir. Buna bağlı olarak maliyet oranı oldukça düşük olan tavuk gübresi ile hazırlanan algal kültürasyonlarda besiyerinin yenilenmesi ile, ayrıca mevcut kültürlere azot kaynağı eklenerek bu durumun ortadan kaldırılacağı ve uygun maliyetle uzun süreli, özellikle yağın alg kültürlerinin devamının sağlanabileceği düşünülmektedir.

Mavi ışığın besiyerlerinden azot alınımı arttırdığı ve ikincil metabolit olan glisin, prolin gibi bazı metabolik aktiviteleri inhibe ettiği bilinmektedir (Kamiya ve Saitoh 2002). Aynı zamanda mavi ışık azot, amonyak veya üre gibi maddelerin de organizma tarafından alınımını etkilemektedir. Bu çalışmada CM besiyerlerinde gelişen mikroalgler, 4 ve 6. günler arasında azot alınımının yüksek olması nedeniyle kayda değer bir gelişme göstermişlerdir. Ancak bu durumun, kültürasyonun 4. veya 6. gününden sonra, azot eksikliği nedeniyle büyüme ve gelişmenin olumsuz yönde etkilenmesiyle optik yoğunluk, büyüme oranı veya pigment içeriği gibi değerlerin düşmesine neden olduğu düşünülmektedir.

Mavi ışık altında, yüksek azot Emilimi ile daha verimli gelişme gösteren alg kültürlerinin, iyileştirilmiş devamlı besiyerlerini sağlamak amacı ile tavuk gübresi ile hazırlanan besiyerlerine azot kaynağı takviyesi veya besiyeri yenilemesi yapılarak CM ve BG11-N besiyerlerinde gelişen alg kültürlerinin devamlılığının sağlanabileceği yorumu yapılabilir. Bu sonuçlara dayanarak mavi ve kombine mavi ile kırmızı ışık kaynaklarının tavuk gübresi besiyerlerinde kullanımının, *N. oleoabundans* tatlısu mikroalginin gelişiminde kullanılacak, uygun maliyetli bir kültür tekniği olduğu kanısına varılmıştır.

Her bir besiyerinin içeriğindeki farklı besi ortamı formülasyonlarına sahip nutrientler, mikroalgal hücrelerin büyüme dinamiklerini etkilemektedir. Hücre konsantrasyonu ve optik yoğunluk analizlerine göre, CM besiyerlerindeki kültür suşları sabit hücre konsantrasyonu değerleri gösterirken, yükselen optik yoğunluk değerleri göstermiştir. Bu durum azot açlığına da bağlı olarak (Davis vd. 2012) hücre büyüklüklerinde artış olduğunu kanıtlamıştır ve mikroskop çalışmalarında hücre boyları ölçülerek bu analizler

desteklenmiştir. CM besiyerinde gelişen mikroalgal suşlarda, CM<sub>BR</sub> suşunda gelişen mikroalgal hücre büyüklüğünde 4. ve 6. günler arasında, %37 oranına karşılık gelen 2.294 µm artış gözlenmiştir. Bu oran deney düzeneğindeki diğer algal suşların hücre büyüklük farklarına oranla önemli bir bulgudur. Buna bağlı olarak mikroalgal kültür koşullarında, tavuk gübresi ve kombine mavi ile kırmızı ışığın kullanımının mikroalgal hücre boyutlarında önemli bir artışa neden olduğu sonucuna varılmıştır. Deney süresi boyunca CM<sub>B</sub> suşunda en yüksek hücre büyüme oranı gözlenmiştir. Bu sonuç ise mavi ışığın tavuk gübresi suşlarında kullanılmasının hücre gelişimine olumlu bir etkisi olduğunu göstermektedir. Ayrıca azot eksikliği stresine maruz kalmış algal suşlarda hücre büyüklüklerinin BG11 gibi standart besiyerlerine oranla daha yüksek olduğu, yapılan analizlerden elde edilen sonuçlarda hücre konsantrasyonunun artmadan, optik yoğunluğun artmış olmasıyla da yorumlanabilmektedir.

Mavi ışığa maruz kalmış birçok alg türünde gece hücre bölünmesinin inhibe olduğu gözlenmiştir (Carroll vd. 1970, Voigt ve Münzner 1987, Van Dolah vd. 1996). Hücre döngüsünün diurnal (günlük) döngü ile senkronizasyonunun hücre büyüme ve gelişmesinde optimum ışık periyodunu sağladığı düşünülmektedir (Goto ve Johnson 1995). Aydınlik periyot süresince hücreler hareketlidir, bu nedenle hücre bölünmesi, su kolonunda pozisyon değişiminin daha az kritik olduğu karanlık periyotta gerçekleşmektedir (Kaiser 2001). Bunlara ek olarak karanlık periyotta hücre bölünmesi gerçekleşirken UV-etkili DNA hasarı da önlenmektedir (Nikaido ve Johnson 2000).

Kırmızı ve mavi ışığın hücre döngüsü üzerindeki etkisi diurnal döngü ile senkronize edilerek geliştirilebilir. Gün ortasında mavi ışık oranı maksimumdur, kararlılık noktası ve dolayısıyla hücre bölünmesi gecikir. Mavi ışık oranı düştüğünde ve kırmızı ışık oranı yükseldiğinde, mavi ışığın hücre döngüsündeki inhibisyon etkisi ortadan kalkar. Bu durum mavi ışık altında bölünemeyen hücrelerin döngüyü tamamlamasıyla boyutlarında artış olmasına izin verir. Aynı zamanda bu çalışmadan çıkarılan başka bir önemli sonuç ise yeni bir alt kültür başlangıcı yapılırken, gelişimin 3. veya 4. gününe kadar algal suşların azot stresine, aynı zamanda mavi ve kombine mavi ile kırmızı ışık kaynağına maruz bırakılmasının büyüme ve gelişmenin artırılmasında bir yöntem olarak kullanılmalıdır. Bu süreçten sonra CM besiyerinin yenilenmesi veya BG11-N

besiyerine azot kaynağı eklenmesi, çalışmada kullanılan *N. oleoabundans* türünün büyüme ve gelişmesini arttıracak kanısına varılmıştır.

Diğer yandan ışık kaynaklarının periyodik olarak değiştirilmesinin de devamlı mikroalgal hücre kültürü sistemlerinin verimliliğini arttıracak sonucuna varılmıştır. Buna örnek olarak kültür gelişiminin özellikle ilk safhalarında mavi ve kombine mavi ile kırmızı LED ışık kaynağı kullanımının ve yine daha sonra beyaz ışık kaynağına maruz bırakmanın veya bunu periyodik olarak tekrarlamının mikroalgal kültür sistemlerinin verimliliğini arttırılabileceği düşünülmektedir. Bu durumda RGB LED ışık kaynaklarının kullanımı bir yol olarak kullanılabilir.

Bu çalışma ayrıca mikroalg kültür sistemlerinde uygun olan hasat zamanının da önemini vurgulamıştır. Azot yoksunu yığın kültürlerdeki azot oranına göre hasatın 4. ve 6. günlerde gerçekleştirildiği bilinmektedir (Deng vd. 2011). Bu çalışmada da 4. ve 6. günlerde CM ve BG11-N besiyerleri kullanılan suşlarda, büyüme ve gelişme parametrelerinin analizler doğrultusunda daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ön çalışmalarda mikroalgal suşların lipid içeriklerinin miktar analizleri konusunda elde edilen sonuçların, azot yoksunu suşlarda, mevcut çalışmalara dayanarak daha yüksek olacağı beklenen bir sonuçtu. Buna bağlı olarak BG11-N<sub>BR</sub> suşundan elde edilen toplam lipid değerinin diğer suşlara oranla en yüksek olduğu gözlenmiştir. Bunun sonucunda başarılı bir kombinasyon olan azot yoksunluğu ile birlikte kombine mavi ve kırmızı ışık kullanımının toplam lipid miktarlarında artış sağladığı belirlenmiştir.

Bu çalışmanın en önemli sonuçlarından birisi CM<sub>B</sub> suşunda elde edilen toplam lipid miktarının kontrol grubu olan BG11<sub>W</sub> suşuna oranla yüksek bir değere sahip olmasıdır ve bunu sırasıyla CM<sub>W</sub> ve CM<sub>BR</sub> suşları takip etmektedir (Şekil 4.18). Ayrıca azot eksikliği stresindeki kültürlerde yüksek lipid içeriği elde etmede erken hasat döneminin önemli olduğu kanısına varılmıştır.

Açıkça nutrient eksikliği, büyüme koşulları ve kültür süresinden oluşan kültürasyon koşullarının manipulasyonu mikroalgal hücrelerden maksimum yağ üretiminin sağlanması açısından da kritik öneme sahiptir. *Isochrysis* cinsinde yapılan

araştırmalarda, azot eksikliğinde yüksek lipidve karbonhidrat akümülasyonu gözlenmiştir. Genel olarak nitrat eksikliği protein miktarını ve klorofil seviyesini düşürmektedir, buna karşılık karbonhidrat ve lipid oranları tre özel farklılıklar göstermektedir. Çevresel stres koşulları altında mikroalgdeki nötral lipid içeriği lipid depolarını tetikler. Bu nötral lipidler çoğunlukla düz zincir doymuş hidrokarbonlar değildir, ancak çoklu dallanmış zincir veya çoklu doymamış komponentlerdir (Thomas vd. 1984).

Mavi ve kombine mavi ile kırmızı işiğa maruz kalan, tavuk gübresi besiyerlerindeki suşlarda gelişen mikroalg hücrelerinin büyüklüklerinin diğer suşlara oranla daha yüksek olmasının aynı zamanda besiyerinin rengine de bağlı olduğu tahmin edilmektedir. Tavuk gübresi besiyerlerinin, BG11 ve BG11-N besiyerlerine göre daha koyu bir renkte olması, suşlara nüfuz eden işiğin difüzyonunu ve yayılımını etkilemektedir. Besiyerinin rengi daha koyu olduğu takdirde beyaz işiğin besiyeri tarafından da absorbe edildiği ve bu nedenle beyaz işiğa maruz kalan mikroalg hücrelerinin büyüklüklerinin daha az olabileceği tahmin edilmektedir. rnek olarak aynı işik yoğunluklarında olan mavi veya kombine mavi ile kırmızı işiğin, koyu renkli bir besiyeri (tavuk gübresi besiyeri gibi) tarafından daha az oranda absorbe edildiği ve bu suşlarda hücelere nüfuz eden beyaz işiğin daha yüksek aydınlatma yoğunluğuna öncülük ettiği düşünülmektedir.

Yeşil alglerden *Acetabularia mediterranea* türünde yapılan deneyde 2-3 hafta kırmızı işik altında ölüm gözlenmiştir, ancak günlük mavi işik atımına maruz bırakıldığında hücreler canlı tutulabilmiştir (Clauss 1970, Schmid 1984, Wennicke ve Schmid 1987). Benzer Şekilde *Dictyota dichotoma* türü mavi işik altında verimli büyüme gerçekleştirmiştir, ancak birkaç hafta kırmızı işiğa maruz bırakıldığında büyüme ve gelişme olumsuz Şekilde etkilenmiştir (Mller ve Clauss 1976). Tek hücreli yeşil algler ve yüksek bitkilerde metabolik olarak mavi işiğin protein sentezi ve enzim aktivasyonunu olumlu yönde etkilediği, kırmızı işiğin ise karbonhidrat akümülasyonunu olumlu yönde etkilediği bilinmektedir (Senger 1987, Ruyters 1987, Wada ve Kadota, 1989, Senge ve Senger 1991). Bunların yanında mavi işiğin kısa atımları, kırmızı işik altında gelişen, *Dictyota dichotoma*, *Laminaria spp.* and *Fucus spp.* gibi algerin doymuş

fotosentetik ürün oranını arttırdığı gözlenmiştir (Forster ve Dring 1992, Schmid ve Dring 1992a, b).

Aydınlatma için kullanılan beyaz led ışık, fosforu uyaran verimli mavi led ışığın beyaz ışığa dönüştürülmesi prosesine dayanmaktadır. Yüksek kalite LED ışık kaynakları uzun ömürleriyle (100.000 saat) daha düşük maliyete gelmektedirler ve ticari pazarda önemli bir yer kazanmıştır. Çok yakın bir gelecekte daha verimli bir aydınlatma için üç renkli LED ışıkların (RGB), kombine mavi LED ve fosfor ile yer değiştirebileceği ve bu teknolojinin renk kompozisyonunun dinamik kontrolüne izin vereceği düşünülmektedir. Kısaca ampül ve floresan tüpler yerine LED ışık kaynaklarının kullanılması, aydınlatma amaçlı elektrik gereksiniminin ciddi oranda düşmesine öncülük edecektir. Endüstriyel ekonomide tüketilen elektriğin %20-30 kadarı aydınlatma için kullanılmaktadır. Günümüzde eski aydınlatma teknolojilerini LED ışık teknolojisi ile değiştirmek oldukça önemli bir konu haline gelmiştir.

## 6. SONUÇ

Bu çalışmada; *N. oleoabundans* tatlisu mikroalginin kultivasyonunda, tavuk gübresi besiyeri ile mavi ışık kaynağının birlikte kullanımının, toplam yağ içeriğini arttırdığı gözlenmiştir. Ayrıca bu kombinasyonun hücre büyüme ve gelişiminin verimliliğini arttırmada maliyeti yüksek suni besiyerine, beyaz ışığa ve yüksek enerjili ışık kaynaklarına kıyasla en uygun maliyetteki teknik olduğu gözlenmiştir.

*N.oleoabundans* kültür koşullarında BG11w ve CM<sub>B</sub> suşlarına ait karotenoid pigmenti miktarlarının oldukça yakın düzeyde olması, karotenoid eldesi ile elde edilen ürünlerde algal kultivasyon sistemlerinde besiyeri olarak hayvansal gübre ve ışık kaynağı olarak ise LED ışık kaynağı kullanılmasının ciddi maliyet kazançları sağlayacağı tahmin edilmektedir.

Biyoatık olan tavuk gübresinin seyreltilerek mikroalgal besiyerlerinde kullanılması, suni besiyerlerine oranla ciddi bir maliyet kazancı sağlamaktadır. Bu kultivasyon sistemlerinde kullanılan ışık kaynağının mavi LED ışık kaynağı veya kombine mavi ile kırmızı LED ışık kaynağı şeklinde tasarlanmaları yine maliyet kazancını artırmaktadır. En düşük maliyetle en yüksek algal büyüme ve gelişmenin sağlanması ve bunun yığın kültür veya biyoreaktör gibi sistemlerde uygulamaya geçirilmesi algal kultivasyon teknikleri ve yenilenebilir enerji üretiminde, özellikle ticari alg üretimi alanında yeni yollar açacaktır.

## KAYNAKLAR

- Anonymous. 2007. The impact of a minimum 10% obligation for biofuel use in the EU-27 in 2020 on agricultural markets, impact assessment renewable energy roadmap. European Commission (EC), Directorate-General For Agriculture and Rural Development; March 2007.
- Anonymous. 2015, May 19. In Wikipedia, The Free Encyclopedia. Retrieved 00:05, January 20, 2016, from [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=European\\_Algae\\_Biomass\\_Association&oldid=663077895](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=European_Algae_Biomass_Association&oldid=663077895).
- Bailey, R.B., DiMasi, D., Hansen, J.M., Mirrasoul, P.J., Ruecker, C.M., Veeder, G.T., III, Kaneko, T. and Barclay, W.R. 2003. Enhanced production of lipids containing polyenoic 108 fatty acid by very high density cultures of eukaryotic microbes in fermentors, US patent, 6607900.
- Baldisserotto, C., Ferroni, L., Giovanardi, M., Pantaleoni, L., Boccaletti, L. and Pancaldi, S. 2012. Salinity promotes growth of freshwater *Neochloris oleoabundans* UTEX 1185 (Sphaeropleales, Neochloridaceae): morphophysiological aspects. *Phycologia*, 51:700–710.
- Band, C.J., Arredondo-Vega, B.O., Vazquez-Duhalt, R, and Greppin, H. 1992. Effect of a salt-osmotic upshock on the edaphic microalga *Neochloris oleoabundans*. *Plant Cell Environ*, 15:129–133.
- Barclay, W.R. 2005. Mixtures of omega-3 and omega-6 highly unsaturated fatty acids from euryhaline microorganisms. US Patent 6977167.
- Behrens, P.W., Thompson, J.M., Apt, K., Pfeifer, J.W., Wynn, J.P. and Lippmeier, C. 2007. Production of high levels of DHA in microalgae using modified amounts of chloride and potassium. US Patent 7163811.
- Bisova, K., Krylov, D.M. and Umen, J.G.. 2005. Genome-wide annotation and expression profiling of cell cycle regulatory genes in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol*, 137: 475–491.
- Bold, H.C. 1949. The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama* sp. nov. *Bull. Torrey Bot. Club*, 76: 101-108.
- Boonma, S., Chaiklangmuang S., Chaiwongsar, S., Pekkoh, J., Pumas, C., Ungsethaphand, T., Tongsir, S. and Peerapornpisa, Y. 2015. Enhanced carbon dioxide fixation and bio-oil production of a microalgal consortium. *Clean*, 43:761–766.
- Borowitzka, M.A. 1995. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. *J Appl Phycol*, 70(1):3-15.
- Borowitzka, M.A. 1998. Company news. *J Appl Phycol*, 10:417.

- Borowitzka, M.A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *J Biotechnol*, 70(1-3), 313-321.
- Boyer, R.F. 2006. Concepts in biochemistry. 3rd Edition. Hoboken, NJ: Wiley, cop.
- Brennan, L., Owende, P. 2010. *Renew. Sust. Energ. Rev*, 14: 557–577.
- Carballo-Cárdenas, E.C., Tuan, P.M., Janssen, M. and Wijffels, R.H. 2003. Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) production by the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica* in batch cultivation. *Biomol eng*, 20:139-147.
- Carroll, J.W., Thomas, J., Dunaway, C. and O'kelley, J.C. 1970. Light-induced synchronisation of algal species that divide preferentially in darkness. *Photochem Photobiol*, 12: 91–98.
- Carvalho, A.P. 2010. Light requirements in microalgal photobioreactors. Springer-Verlage.
- Carvalho, A.P., Silva, S.O., Baptista, J.M., Malcata, F.X. 2011. Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. *Appl Microbiol Biot*, 89:1275-1288.
- Chantanachat, S., Bold, H.C. 1962. Phycological studies. II. Some algae from arid soils. University of Texas Publications, 6218:1-74.
- Cheirsilp, B. and Torpee S. 2012. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation, *Bioresource Technology*, In Press, Corrected Proof, Available online 7 February 2012.
- Chen, C.Y., Yeh, K.L., Aisyah, R., Lee, D.J., and Chang, J.S. 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. *Bioresour Technol*, 102(1), 71-81.
- Chen, F., Zhang, Y. 1997. High cell density mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose for phycocyanin production using a fed-batch system. *Enzyme Microb Technol*, 20(3), 221-224.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv*, 25(3), 294-306.
- Clauss, H. 1970. Effect of red and blue light on morphogenesis and metabolism in *Acetabularia mediterranea*. In *Biology of Acetabularia* (Brachet, J. & Bonnotto, S., editors), 177-191. Academic Press, New York.
- Colman, J.A. and Edwards P. 1987. Feeding Pathways and Environmental Constraints in Waste-Fed Aquaculture Balance and Optimization. In: *Detritus and Microbial Ecology in Aquaculture*, Moriarty, D.J.W. and R.S.V. Pullin (Eds.). International Centre for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines, ISBN-13: 971-1022-29-x, pp: 240-281.
- Cosgrove, D.J. 1981. Rapid suppression of growth by blue light. *Plant Physiol*, 67:584–590.

- Donnan, L., Carvill, E.P., Gilliland, T.J. and John, P.C.L. The cell cycles of *Chlamydomonas* and *Chlorella*. *New Phytol*, 99 (1985) 1–40.
- Dring, M.J. 1982. The biology of marine plants. Cambridge University Press, Cambridge.
- Durmaz, Y. 2007. Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) production by the marine microalgae *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae) in nitrogen limitation. *Aquaculture*, 272:717-722.
- Ellis, J.T., Hengge, N.N., Sims, R.C., Miller, C.D. 2012. Acetone, butanol and ethanol production from wastewater algae. *Technology*, 111:491-495.
- Fabregas, J., Herrero, C. 1990. Vitamin content of four marine microalgae. Potential use as source of vitamins in nutrition. *J Ind Microbiol Biot*, 5:259-263.
- Falkowski, P.G., and Raven, J.A. 2007. *Aquatic Photosynthesis (Second Edition) (STU - Student edition ed.)*: Princeton University Press.
- Ferroni, L., Baldisserotto, C., Pantaleoni, L., Fasulo, M.P., Fagioli, P., and Pancaldi, S. 2009. Degreening of the unicellular alga *Euglena gracilis*: thylakoid composition, room temperature fluorescence spectra and chloroplast morphology. *Plant Biology*, 11:631–641.
- Forster, R.M. and Dring, M.J. 1992. Interactions of blue light and inorganic carbon supply in the control of light-saturated photosynthesis in brown algae. *Plant Cell Environ*, 15: 241-247.
- Garcia, M.C.C., Sevilla, J.M.F., Fernandez, F.G.A., Grima, E.M. and Camacho, F.G. 2000. Mixotrophic growth of *Phaeodactylum tricorutum* on glycerol: growth rate and fatty acid profile. *J Appl Phycol*, 12(3-5), 239-248.
- Giannelli, L., Yamada, H., Katsuda, T. and Yamaji, H. 2015. Effects of temperature on the astaxanthin productivity and light harvesting characteristics of the green alga *Haematococcus pluvialis*. *J Biosci Bioeng*, 119:345-350.
- Goto, K. and Johnson, C.H. 1995. Is the cell division cycle gated by a circadian clock? The case of *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Cell Biol*, 129: 1061–1069.
- Gouveia, L., Marques, A.E., Lopes da Silva, T and Reis, A. 2009. *Neochloris oleabundans* UTEX #1185: A suitable renewable lipid source for biofuel production. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 36:821–826.
- Guillard, R.R.L. 1973. Division rates. In *handbook of phycolgical methods: Culture methods and growth treatment*. University Press. Cambridge, London.
- Guillard, R.R.L. 1978. Counting slides. In *Phytoplankton Manual-Monographs on Oceanographic Methodology*. UNESCO, France.
- Guiry, M.D. and Guiry, G.M. 2016. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 31 January 2016.

- Guiry, W. in Guiry, M.D. and Guiry, G.M. 2016. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 29 January 2016.
- Guo, S., Peng, J., Li, W., Yang, K., Zhang, L., Zhang S., Xia, H. 2009. Effects of CO<sub>2</sub> activation on porous structures of coconut shell-based activated carbons. *Appl Surf Sci*, .
- Harun, R. and Yip, J.W.S. Thiruvankadam, S., Ghani, WAWAK, Cherrington, T. and Danquah, M.K. 2013. Algal biomass conversion to bioethanol – a step-by-step assessment. *Biotechnol J*, 9:73-86.
- Hirano, A., Ueda, R., Hirayama, S. and Ogushi, Y. 1997. CO<sub>2</sub> fixation and ethanol production with microalgal photosynthesis and intracellular anaerobic fermentation. *Energy*, 22:137-142.
- Hirunpraditkoon, S., Tunthong, N., Ruangchai A. and Nuithitiku, K. 2011. Adsorption capacities of activated carbons prepared from bamboo by KOH activation. *World Acad Sci Eng Technol*, 78:711–5.
- Hoenecke, M.E., Bula, R.J. and Tibbitts, T.W. 1992. Importance of blue photon levels for lettuce seedlings grown under red-light-emitting diodes. *HortScience*, 27:427–430.
- Hong, M.E., Hwang, S.K., Chang, W.S., Kim, B.W., Lee, J. and Sim, S.J. 2015. Enhanced autotrophic astaxanthin production from *Haematococcus pluvialis* under high temperature via heat stress-driven Haber–Weiss reaction. *Appl Microbiol Biot*, 99:5203-5215.
- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M. and Darzins, A. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. *Plant J*, 54: 621-639.
- Hu, Z., Zheng, Y., Yan, S., Xiao, B. and Liu, S. 2013. Bio-oil production through pyrolysis of blue-green algae blooms (BGAB): product distribution and bio-oil characterization. *Energy*, 52:119-125.
- Ingenhousz, J. and Scherer, A. 1795. *Joannis Ingen-Housz miscellanea physico-medica*.
- Ioannidou O. and Zabaniotou, A. 2007. Agricultural residues as precursors for activated carbon production – a review. *Renew Sustain Energy Rev*, 11:1966–2005.
- Janssen, M. 2002. Cultivation of microalgae: effect of light/dark cycles on biomass yield: publisher not identified.
- Kaiser, D. 2001. Building a multicellular organism. *Annu. Rev. Genet*, 35: 103–123.
- Kanel, J.S. and Guelcher, S.A. 1999. Method for rupturing microalgae cells. US Patent 6000551.

- Khan, S., Arakawa, O. and Onoue, Y. 1998. Physiological investigations of a neurotoxin producing phytoflagellate, *Chattonella marina* (Raphidophyceae). *Aquac Res*, 29:9-17.
- Khoeyi, Z., Seyfabadi, J. and Ramezanzpour, Z. 2011. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, Springer science+ Business Media.
- Kim, S.W., Koo, B.S. and Lee, D.H. 2014. A comparative study of bio-oils from pyrolysis of microalgae and oil seed waste in a fluidized bed. *Bioresour technol* 162:96-102.
- Klassen, V., Blifernez-Klassen, O., Hoekzema, Y., Mussnug, J.H. and Kruse, O. 2015. A novel one-stage cultivation/fermentation strategy for improved biogas production with microalgal biomass. *J Biotechnol*, 215:44-51.
- Knud-Hansen, C.F., McNabb, C.O., Batterson, T.R., Harahat, I.S., Sumatadinata, K. and Eidman, H.M. 1991. Nitrogen input, primary productivity and fish yield infertilized freshwater ponds in Indonesia. *Aquaculture* 94, 49-63.
- Koc, C., Anderson, G.A. and Kommareddy, A. 2013. Use of red and blue light-emitting diodes (LED) and fluorescent lamps to grow microalgae in a photobioreactor. *Isr J Aquacult*, 65:797-805.
- Kotrbaček, V., Doubek, J. and Doucha, J. 2015. The chlorococcalean alga *Chlorella* in animal nutrition: a review. *J Appl Phycol* 27:2173-2180.
- Levine, R.B., Costanza-Robinson, M.S. and Spatafora, G.A. 2011. *Neochloris oleoabundans* grown on anaerobically digested dairy manure for concomitant nutrient removal and biodiesel feedstock production. *Biomass Bioenerg*, 35:40–49.
- Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C.Q. and Dubois-Calero, N. 2008. Biofuels from microalgae. *Biotechnol Prog*, 24(4), 815-20.
- Liam, B. and Philip, O. 2010. Biofuels from microalgae--A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2): 557-577.
- Lichtenthaler, H.K. and Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons. Inc.
- Lien, T. and Knutsen, G. 1979. Synchronous growth of *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae): a review of optimal conditions. *J Phycol*, 15: 191–200.
- Lorenz, R.T. and Cysewski, G.R. 2000. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends Biotechnol* 18:160–167.
- Lyon, S., Ahmadzadeh, H. and Murry, M. 2015. Algae-based wastewater treatment for biofuel production: processes, species, and extraction methods. In: Moheimani NR, McHenry MP, de Boer K, Bahri PA (eds) *Biomass and Biofuels from*

- Microalgae, vol 2. Biofuel and Biorefinery Technologies, Springer International Publishing, pp 95-115.
- Guiry M.D. in Guiry, M.D. and Guiry, G.M. 2016. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 31 January 2016.
- Mann, K.H. 1988. Production and use of detritus in various freshwater, estuarine, and coastal marine ecosystems. *Limnol Oceanogr*, 33: 910–930.
- Marshall, J.A. and Hallegraeff, G.M. 1999. Comparative ecophysiology of the harmful alga *Chattonella marina* (Raphidophyceae) from South Australian and Japanese waters. *J Plankton Res* 21:1809-1822.
- McAteer, J.A. and Davis, J. 1994. Basic cell culture technique and the maintenance of cell lines. In *Basic Cell Culture: A Practical Approach*. Oxford University Press, UK.
- McNabb, C.O., Batterson, T.R, Premo, B.J., Knud-Hansen, C.F., Eidman H.M., Lin, C.K., Jaiyen, K., Hanson, J.E. and Chuenpagdee, R. 1990. Managing fertilizers for fish yield in tropical ponds in Asia. In: *Proceedings of the Second Asian Fisheries Forum* (ed. by RHinaro&I.Hanyu), pp. 169-172. Tokyo, Japan.
- Michael, C., del Ninno, M., Gross, M. and Wen, Z. 2015. Use of wavelength-selective optical light filters for enhanced microalgal growth in different algal cultivation systems. *Bioresource Technol*, 179:473-482.
- Miguel, O. 2003. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. *Biomolecular Engineering*, 20(4): 459-466.
- Moller, S. and Clauss, H. 1976. Aspects Of Photomorphogenesis In The Brown Alga *Dictyota Dichotoma*. *Z. Pflanzenphysiol.*, 78: 461-465.
- Nikaido, S.S. and Johnson, C.H. 2000. Daily and circadian variation in survival from ultraviolet radiation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Photochem. Photobiol.*, 71: 758–765.
- Okada, K., Yamamoto, N., Kameshima, Y. and Yasumori A. 2003. Porous properties of activated carbons from waste newspaper prepared by chemical and physical activation. *J Colloid Interface Sci*,262:179–93.
- Olaizola, M. 2003. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. *Biomol Eng*, 20(4-6), 459-466.
- Oldenhof, H., Bisova, K., Van Den Ende, H. and Zachleder, V. 2004a. Effect of red and blue light on the timing of cyclin-dependent kinase activity and the timing of cell division in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol. Biochem.*, 42:341–348.
- Oldenhof, H., Zachleder, V. and Van Den Ende, H. 2006. (Chlorophyta). *European Journal of Phycology*, 41(3), 313-320.

- Park, J., Jin, H., Lim, B., Park, K. and Lee, K. 2010. Ammonia removal from anaerobic digestion effluent of livestock waste using green alga *Scenedesmus* sp. *Bioresour Technol*, 101: 8649–8657.
- Passos, F., Uggetti, E., Carrère, H. and Ferrer, I. 2014. Pretreatment of microalgae to improve biogas production: A review. *Bioresour Technol*, 172:403-412.
- Peccia, J., Haznedaroglu, B., Gutierrez, J. and Zimmerman, J.B. 2013. Nitrogen supply is an important driver of sustainable microalgae biofuel production. *Trends Biotechnol*, 31(3): 134–138.
- Pienkos, P.T. and Darzins, A. 2009. The promise and challenges of microalgal-derived biofuels. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 3(4), 431-440.
- Pittman, J.K., Dean, A.P. and Osundeko, O. 2011. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresour Technol*, 102:17-25.
- Popovich, C.A., Damiani, M.C., Constenla, D., Martí'nez, A.M., Giovanardi, M., Pancaldi, S. and Leonardi, P.I. 2012. *Neochloris oleoabundans* grown in natural enriched seawater for biodiesel feedstock: evaluation of its growth and biochemical composition. *Bioresour Technol*, 114:287–293.
- Posten, C. 2009. Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae, *Eng. Life Sci*, 9 (3), pp. 165-177.
- Raghavan, G., Haridevi, C.K. and Gopinathan, C.P. 2008. Growth and proximate composition of the *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. *Aquac. Res*, 39: 1053-1058.
- Rich, P. H. and Wetzel, R. G. 1978. Detritus in the lake ecosystem, *Am Nat*, 112: 57–71.
- Rickards, R.W., Rothschild, J.M., Willis, A.C., de Chazal, N.M., Kirk, J., Kirk, K., Saliba, K.J. and Smith, G.D. 1999. Calothrixins A and B, novel pentacyclic metabolites from *Calothrix* cyanobacteria with potent activity against malaria parasites and human cancer cells. *Tetrahedron*, 55:13513-13520.
- Rippka, R. 1988. Isolation and purification of cyanobacteria. *Methods Enzymol*, 167, 3-27.
- Ritchie, R.J. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynth Res*, 89:27-41.
- Round, F.E. 1973. *The biology of the algae* / F. E. Round. London: Arnold.
- Rusch, K.A. and Malone, R.F. 1998. Microalgal production using a hydraulically integrated serial turbidostat algal reactor (HISTAR): a conceptual model. *Aquacult Eng*, 18(4), 251-264.
- Ruyters, G. 1987. Control of enzyme capacity and enzyme activity. In *Blue Light Responses: Phenomena and Occurrence in Plants and Microorganisms*, vol. II (Senger, H., editor), 71-88. CRC Press, Boca Raton, Florida.

- Sager, J.C. and McFarlane J.C. 1997. Radiation, p.1–29. In: Langhans, R.W. and T.W. Tibbitts (eds.). Plant growth chamber handbook. Iowa State Univ. Press: North Central Region Research Publication No. 340, Iowa Agriculture and Home Economics Experiment Station Special Report no. 99, Ames, IA.
- Samejima, H. and Myers, J. 1958a. Heterotrophic growth of *Chlorella pyrenoidosa*. *J Gen Microbiol*, 18, 107-17.
- Schmid, R. and D~NG, M.J. 1992a. Circadian rhythm and fast responses to blue light of photosynthesis in *Ectocarpus* (Phaeophyta, Ectocarpales). I. Characterization of the rhythm and the blue-light response. *Planta*, 187: 53-59.
- Schmid, R. 1984. Blue light effects on morphogenesis and metabolism in *Acetabularia*. In *Blue Light Effects in Biological Systems* (Senger, H., editor), 419-432. Springer-Verlag, Berlin.
- Schmid, R., Forster, R. and Dring, M.J. 1992b. Circadian rhythm and fast responses to blue light of photosynthesis in *Ectocarpus* (Phaeophyta, Ectocarpales). II. Light and CO<sub>2</sub> dependence of photosynthesis. *Plants*, 187: 60-66.
- Schulze, P.S., Barreira, L.A., Pereira, H.G., Perales, J.A. and Varela, J.C. 2014. Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production. *Trends Biotechnol* 32:422-430.
- Schwartz, A. and Zeiger, E. 1984. Metabolic energy for stomatal opening: Roles of photophosphorylation and oxidative phosphorylation. *Planta*, 161:129–136.
- Senge, M. and Senger, H. 1991. Adaptation of photosynthetic apparatus of *Chlorella* and *Ankistrodesmas* to blue and red light. *Bot. Acta*, 104: 139- 143.
- Senger, H. 1987. Blue light control of pigment synthesis-chlorophyn biosynthesis. In *Blue Light Responses: Phenomena and Occurrence in Plants and Microorganisms*, vol. I (Senger, H., editor), 75-85. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J. and Roessler, P. A. 1998. Look back at the U.S. Department of Energy's aquatic species program: biodiesel from algae. NREL/TP-580-24190, National Renewable Energy Laboratory, USA.
- Šiffel, P. and Braunová, Z. 1999. Release and aggregation of the light harvesting complex in intact leaves subjected to strong CO<sub>2</sub> deficit. *Photosynth Res* 61:217–226.
- Sirakov, I., Velichkova, K., Stoyanova, S. and Staykov, Y. 2015. The importance of microalgae for aquaculture industry. Review. In *J Fish Aquat Stud* 2:81-84.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. and Isambert, A. 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2): 87–96.

- Stanier, R.Y., Kunisawa R., Mandel M. and Cohen-Bazire, G. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). *Bacteriol Rev*, 35(2): 171-205.
- Suarez, G., Romero, T. and Borowitzka, M. 1998. Cultivo de la microalga *Dunaliella salina* en medio organico, In: *Anais IV Congesso latino-Americano II Reuniao Ibero-Americana VII reuniao Brasileira de Ficologia*.
- Sun, J. and Liu, D. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *J Plankton Res* 25:1331-1346.
- Taelman, S.E., De Meester, S., Van Dijk, W., da Silva, V. and Dewulf, J. 2015. Environmental sustainability analysis of a protein-rich livestock feed ingredient in The Netherlands: Microalgae production versus soybean import. *Resour Conserv Recy*, 101:61-72.
- Theegala, C.S., Malone, R.F. and Rusch, K.A. 1999. Contaminant washout in a hydraulically integrated serial turbidostat algal reactor (HISTAR). *Aquacult Eng*, 19(4), 223-241.
- Thomas, W.H., Seibert, D.L.R., Alden, M., Neori, A. and Eldridge, P. 1984. Yields photosynthetic efficiencies and proximate composition of dense marine microalgal cultures. III. *Isochrysis* sp. and *Monallantus salina* experiments and comparative conclusions. *Biomass*, 5: 299-316.
- Thomas, W.H., Tornabene, T.G. and Weissman, J. 1984. Screening for lipid yielding micro- algae: activities for 1983. SERI/STR-231-2207.
- Torrey, M. 2008. Algae in the tank. *International News on Fats Oils and Related Materials*, 19(7):432-7.
- Tripathy, B.C. and Brown C.S. 1995. Root-shoot interaction in the greening of wheat seedlings grown under red light. *Plant Physiol*, 107:407-411.
- Valdés, H., Sánchez-Polo, M., Rivera-Utrilla, J. and Zaror, C. A. 2002. Effect of Ozone Treatment on Surface Properties of Activated Carbon. *Langmuir*, 18(6), 2111-2116.
- Van Dolah, F.M., Leighfield, T.A. and Sugg, L.M. 1996. Cell cycle regulation in the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*: mitosis is coupled to the diurnal cycle by a blue light dependent signal. *Mt. Desert Is. Biol Lab Bull*, 35: 98-100.
- Varela, J.C., Pereira, H., Vila, M. and Leon, R. 2015. Production of carotenoids by microalgae: achievements and challenges. *Photosynth Res* 125:423-436.
- Velimirov, B. 1991. Detritus and the concept of non-predatory loss. *Arch. Hydrobiol.* 121: 1-20.
- Verity, P.G., Robertson, C.Y., Tronzo, C.R., Andrews, M.G., Nelson, J.R. and Sieracki, M.E. 1992. Relationships between cell volume and the carbon and nitrogen content of marine photosynthetic nanoplankton. *Limnol Oceanogr*, 37:1434-1446.

- Voigt, J. and Münzner, P. 1987. The *Chlamydomonas* cell cycle is regulated by a light/dark-responsive cell-cycle switch. *Planta*, 172: 463–472.
- Wada, M. and Kadota, A. 1989. Photomorphogenesis in lower green plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol Biol*, 40: 169-191.
- Wan, M., Liu, P., Xia, J., Rosenberg, J., George, A., Oyler, G., Betenbaugh, M. and Nie, Z. 2011. The effect of mixotrophy on microalgal growth, lipid content, and expression levels of three pathway genes in *Chlorella sorokiniana* *Appl Microbiol Biotechnol*, 91: 835–844.
- Wang L., Min, M., Li, Y., Chen, P., Chen, Y., Liu, Y., Wang, Y. and Ruan, R. 2010. Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. *Applied Biochem Biotech*, 162:1174-1186.
- Webster, J. R. and Benfield, E. F. 1986. Vascular plant breakdown in freshwater ecosystems. *Ann Rev Ecol Syst*, 17: 567–594.
- Wenicke, H. and Schmid, R. 1987. Control of the photosynthetic apparatus of *Acetabularia mediterranea* by blue light. *Plant Physiol*, 84: 1252- 1256.
- Wetzel, R.G. and Manny, B.A. 1972. Secretion of dissolved organic carbon and nitrogen by aquatic macrophytes. *Verh. int Ver Limnol*, 18: 162–170.
- Wohlfarth, G.W. and Schroeder, G.L. 1979. Use of manure in fish farming—A review. *Agricultural Wastes*, 1(4), 279-299.
- Xia, S., Wang, K., Wan, L., Li, A., Hu, Q. and Zhang, C. 2013. Production, characterization, and antioxidant activity of fucoxanthin from the marine diatom *Odontella aurita*. *Mar Drugs*, 11:2667-2681.
- Xu, H., Miao, X. and Wu, Q. 2006. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *Journal of Biotechnology*, Vol.126, pp. 499-507.
- Zachleder V., Schläfli O. and Boschetti A. Growth-controlled oscillation in activity of histone h1 kinase during the cell cycle of *Chlamydomonas reinhardtii* (chlorophyta)1. *J. Phycol*, 33 (1997) 673–681.
- Zheng, Y., Chi, Z., Lucker, B. and Chen, S. 2012. Two-stage heterotrophic and phototrophic culture strategy for algal biomass and lipid production. *Bioresour Technol*, 103(1), 484-488.
- Zhu, L., Wang, Z., Shu, Q., Takala, J., Hiltunen, E., Feng, P. and Yuan, Z. 2013. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. *Water Res*, 47:4294-4302.

## ÖZGEÇMİŞ



**İsim\Soyad** Meltem ALTUNÖZ HATIPOĞLU

**Uyruğu** T.C.

**Doğum yeri** Ankara, Türkiye

**Tarihi** 22.12.1982

**E-mail** altunozmeltem@gmail.com

### **Eğitim Durumu:**

Lise Ankara Kalaba Anadolu Lisesi

Lisans Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İzmir, Türkiye

Yüksek Lisans Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Doktora Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hidrobiyoloji Anabilim Dalı

Dipartimento di Scienze della Vita - Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, ITALY.

## YAYINLAR

### SCI Yayınlar

Florenzano, A., Mercuri, A.M., **Altunoz, M.** and Garcea E.A.A. 2016. "Palynological evidence of cultural and environmental connections in Sudanese Nubia during the Early and Middle Holocene". *Quaternary International*, ISSN 1040-6182, <http://dx.doi.org/10.1016/j.quaint.2016.01.001>.

**Altunoz M.**, Pirrotta O., Obali O., Forti L. and Arru L. 2015. Growth Dynamics of "*Neochloris oleoabundans* Exposed to Various Monochromatic LED Lights Using Poultry Manure Biowaste as Medium". *Journal of Applied Phycology*. (In submission, manuscript no: JAPH-D-15-00595)

### Hakemli Dergiler

**Altunoz M.**, Obali O., Atici T. and Arru L. 2015. "Seasonal Monitoring of algal flora in Pamukkale Travertines and Thermal Springs (Denizli-Turkey)". *Biological Diversity and Conversation*. (In submission, manuscript no: BioDiCon.511-1115)

### Uluslararası Kongreler

**Altunöz, M.** and Tonyalı B. 2013. "Seasonal Variety of Cyanophyta Flora in Hierapolis Travertine". *International Conference on Environmental Science and Technology (ICOEST'2013 - CAPPADOCIA)*, 17-21 June 2013. Nevşehir, Turkey.

Allesina G., Pedrazzi S., Arru L., **Altunöz M.**, Tartarini, P. 2016. "Uses of a Water-Algae-Syngas-Photo-Scrubber for gas upgrading and purification in small-scale gasifiers". The 24<sup>th</sup> European Biomass Conference and Exhibition, Amsterdam, Netherlands.

## **Ulusal Kongreler**

**Altunöz, E.M.** ve Obalı, O. 2011. The development of The Algae Species in and around the Kaklık Cave. FABA 2011 Symposium (Fisheries and Aquatic Sciences) 07-09 September, Samsun, Turkey.

**Altunöz, E.M.**, Buyurgan, Ö., Tunca, E., Fikirdeşici, Ş., Üçüncü, E. 2011. The Development of The Algae Species After Lemna minor Bioremediation in Cr, Pb and Cu Heavy Metal Concentrations. X. National Ecology and Environmental Congress, 3-5 October, Çanakkale, Turkey.

Yıldız, P. ve **Altunöz, E.M.** 2011. Monitoring of Biodiversity in Caves (Mencilis Cave - Karabük) that opened to tourism. V. National Speleology Symposium, 18-20 March, Ankara, Turkey.

## **Yer aldığı projeler**

Ankara Üniversitesi Çocuk Üniversitesi Su okulu. 2009 – 2013. Eğitimci

TUBITAK 110Y201 - Algal Flora Around the Travertines and Hot Water Springs in Pamukkale Private Environmental Protection Area – 2010 (Bursiyer – Yüksek Lisans Tezi)

Orman ve Su İşleri Bakanlığı – Sakarya Havzası Biyolojik İzleme – 2013/2014

Orman ve Su İşleri Bakanlığı – Gediz Havzası Biyolojik İzleme – 2013/2014

TUBITAK 112S047 - Revealing biomacromolecular targets by the original metal based on the antitumor drug design (2013-2015)

Orman ve Su İşleri Bakanlığı – Konya Havzası Biyolojik İzleme – 2014/2015

**Faaliyetler**

Türkiye Dağcılık Federasyonu Üyesi

Türkiye Sualtı Sporları Federasyonu Üyesi

