

**LİPİT İÇEREN MİKRO ALGLERİN (*Chlorella emersonii* ve
Botryococcus braunii) ATIKSULARIN İLERİ ARITIMINDA
KULLANIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esra İLHAN

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

Programı: Çevre Teknolojileri

Danışmanı: Doç. Dr. Yusuf SAATÇI

OCAK- 2015

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LİPİT İÇEREN MİKRO ALGLERİN (*Chlorella emersonii* ve *Botryococcus braunii*)
ATIKSULARIN İLERİ ARITIMINDA KULLANIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esra İLHAN

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

Programı: Çevre Teknolojileri

Danışmanı: Doç. Dr. Yusuf SAATÇI

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 26.010.2015

Ocak – 2015

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LİPİT İÇEREN MİKRO ALGLERİN (*Chlorella emersonii* ve *Botryococcus braunii*)
ATIKSULARIN İLERİ ARITIMINDA KULLANIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esra İLHAN

(121112105)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 26.01.2015
Tezin Savunulduğu Tarih:

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Yusuf SAATÇI (F.Ü)
Diğer Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Vesile YILDIRM (F.Ü)

Yrd. Doç. Dr. Engin GÜRTEKİN (F.Ü)

Ocak -2015

ÖNSÖZ

Öncelikle yüksek lisans eğitimim boyunca bana yardımını esirgemeyen, büyük bir sabır ve titizlikle bilgi ve tecrübelerini aktararak kendimi geliştirmemi sağlayan değerli danışman hocam, Sn. Doç. Dr. Yusuf SAATÇI'ya teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmam esnasında yardımlarını gördüğüm, laboratuvar deneyim ve birikimlerinden yararlandığım bölümümüzün değerli hocalarına, her zaman yanımda olan değerli meslektaşım Demet KILINÇ ÖZTÜRK'e ve Çevre Teknikeri Hacı Seyit ZENCİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam esnasında benimle birlikte olup cesaret veren, bana inanıp maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, asla beni yalnız bırakmayan hayatımdaki en değerli varlığım aileme teşekkürlerimi sunarım.

Esra İLHAN
ELAZIĞ-2015

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	III
SUMMARY	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	V
TABLolar LİSTESİ.....	VI
RESİMLER LİSTESİ.....	VII
1. GİRİŞ	1
1.1. Biyodizel	2
1.2. Mikroalgler Hakkında Genel Bilgiler	3
1.3. Mikroalg Üretimine Etki Eden Parametreler	4
1.4. Mikroalglerin Biyodizel Üretiminde Kullanılması	5
1.5. Mikroalglerin Diğer Kullanım Alanları	9
1.6. Mikroalglerle İlgili Literatürdeki Çalışmalar	10
2. MATERYAL VE METOT	14
2.1. Mikroalg Türleri ve Kültür Ortamları	14
2.2. Atık Su	15
2.3. Foto-biyoreaktörlerin Dizaynı ve İşletilmesi	16
2.4. Analizler ve Analiz Yöntemleri	17
2.4.1. Klorofil A Tayini	19
2.4.2. Toplam Lipit Tayini	19
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	22
3.1. pH	22
3.3. Nutrient Uzaklaştırma Verimi	28
3.3.1. TOK Giderimi	28
3.3.2. Toplam Fosfor (TP) Giderimi	30
3.3.3. Amonyum Azotu (NH ₄ ⁺ -N) Giderimi	31
4. SONUÇLAR	33
KAYNAKLAR.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	41

ÖZET

Bu çalışma biyodizel üretimi için potansiyel bir aday olarak atıksularda lipit içeren *Chlorella emersonii* ve *Botryococcus braunii*' in mümkün olan gelişmelerini analiz etmeyi amaçlamaktadır. Aynı zamanda mikroalglerin bitki besin maddeleri giderim verimlilikleri de araştırıldı. Her bir deney laboratuvarında ortalama 25 °C sıcaklıkta 13 günlük periyotlar halinde yapıldı. Bu şartlar altında sentetik atık sular için *C.emersonii* ve *B. braunii*'nin lipit içeriklerinin biyomas kuru ağırlığı başına sırasıyla, % 36-52, % 24-36 olduğu ortaya konuldu. Sonuçlar 13 günlük sürekli kültür çalışmaları ile sentetik atıksularla yapılan çalışmalarda *B.braunii*' nin amonyum azotu, toplam fosfor ve toplam organik karbonu sırasıyla % 81-97, % 74-99 ve % 67-84 giderildiğini ve *C. emersonii* için amonyum azotu, toplam fosfor ve toplam organik karbonun sırasıyla % 82-94, % 81-96 ve % 74-83 uzaklaştırılabileceğini gösterdi.

Bulgularımıza göre *B. braunii* ve *C. emersonii* biyodizel üretimi için önemli miktarlarda lipit içermektedir. Aynı zamanda atık sulardan yüksek besin maddesi uzaklaştırma yeteneğine sahiptir. Bu sebeplerden dolayı bu türler hem atık suların üçüncül arıtımı için hem de biyodizel üretimi için kullanılabilirler.

Anahtar Kelimeler: Atık Su, Mikroalg, Biyodizel, Üçüncül Arıtım, Bitki Besin Maddeleri Giderimi, Lipit Üretimi

SUMMARY

The Use in of Advanced Treatment of Wastewater of Lipids Containing Microalgae (*Chlorella emersonii* and *Botryococcus braunii*)

This work aims to analyze the possibility of growing lipid containing microalgae *Chlorella emersonii* and *Botryococcus braunii* in wastewater as a potential candidate for biodiesel production.

In this study, the growth performances of *C.emersonii* and *B. Braunii* were determined in the laboratory with synthetic wastewater. Nutrient removal efficiencies of microalgae were also investigated. Each trial was done for a period of 13 days in the laboratory at average 25 °C. Under these conditions, results for synthetic wastewater revealed average lipid contents of *C.emersonii* ve *B. braunii* 37-43 % and 31-34 % of dry-weight (dwt) biomass, respectively. The results showed that by the end of a 13-day continuous culture, *B.braunii* could remove ammonia nitrogen, total phosphorus, and total organic carbon (TOC) by % 81-97, % 94-99 and % 60-83, respectively from synthetic wastewater and the results also showed, *C. emersonii* could remove ammonia nitrogen, total phosphorus, and total organic carbon (TOC) by 82-93 %, 93-98% and 62-81 % respectively from synthetic wastewater.

According to our findings, *B.braunii* and *C. emersonii* contains significant amounts of lipids for biodiesel production. At the same time high nutrient removal from wastewater is provided. For this reasons, these species both for the tertiary treatment of wastewater and for biodiesel production can be used.

Key words: Wastewater, Microalgae, Biodiesel, Tertiary Treatment, Nutrient Removal, Lipid Production.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Biyodizel üretim zinciri	8
Şekil 2.1.	Boru tipi foto- biyoreaktörün şematik görünümü	16
Şekil 2.2.	a) <i>C. emersonii</i> b) <i>B. braunii</i> için A_{658} nm de absorbans ile alg kütlesi kuru ağırlığı ilişkisi.....	18
Şekil 3.1.	Sentetik atıksularla yapılan çalışmalarda işletme süresince pH değişimi	23
Şekil 3.2.	İşletme süresince hücre yoğunluğu değişimi	24
Şekil 3.3.	İşletme süresince Klorofil a değişimi	24
Şekil 3.4.	<i>C. emersonii</i> için hücre yoğunluğu ile Klorofil a ilişkisi	24
Şekil 3.5.	<i>B. braunii</i> için hücre yoğunluğu ile Klorofil a ilişkisi.....	25
Şekil 3.6.	İşletme süresince yapılan çalışmalarda elde edilen lipit konsantrasyonları ...	26
Şekil 3.7.	Hücre kuru ağırlığına bağlı olarak elde edilen lipit yüzdeleri	27
Şekil 3.8.	<i>C. emersonii</i> için hücre yoğunluğu ile toplam lipit üretimi ilişkisi.....	27
Şekil 3.9.	<i>B. braunii</i> için hücre yoğunluğu ile toplam lipit üretimi ilişkisi.....	28
Şekil 3.10.	İşletme süresince TOK konsantrasyonu ve verimleri.....	29
Şekil 3.11.	İşletme süresince TP konsantrasyonundaki değişim ve verimler	31
Şekil 3.1.	İşletme süresince NH_4^+ -N konsantrasyonundaki değişim	32

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1.1.	Çeşitli bitkilerin ve mikroalglerin yağ içerikleri ve birim alandan alınan verim.....	3
Tablo 1.2.	Mikroalg üretimine etki eden parametreler için genelleştirilmiş değerler.	5
Tablo 2.1.	Yapılan analizlerde kullanılan BG11 çözeltilisinin içeriği.....	14
Tablo 2.2.	Yapılan analizlerde kullanılan A5+Co çözeltisi	14
Tablo 2.3.	Sentetik atıksuyun bileşenleri ve konsantrasyonu.....	15
Tablo 2.4.	Foto-biyoreaktörde rutin olarak izlenmiş olan parametreler	18
Tablo 3.1.	Sentetik atık sularla yapılan çalışmalarda işletme süresince pH değişimi.....	22
Tablo 3.2.	İşletme süresince hücre yoğunluğu ve klorofil a değişimi.	23
Tablo 3.3.	Toplam lipit ve kuru ağırlık başına % lipit değişimleri.....	25
Tablo 3.4.	Sentetik atıksularla yapılan çalışmalarda TOK konsantrasyonları ve verimleri.....	29
Tablo 3.5.	İşletme süresince TP giderimi ve giderim verimleri.	30
Tablo 3.6.	İşletme süresince NH_4^+ -N giderimi ve verimleri.	32

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. a) <i>C. emersonii</i> ve <i>B. braunii</i>	15
Resim 2.2. Kullanılan deney düzeneği	17
Resim 2.3. TOC analizi için kullanılan numuneler	19
Resim 2.4. Mikroalglerin lipit içeriğinin belirlendiği deney düzeneği.....	21

1. GİRİŞ

Günümüzde, nüfus yoğunluğundaki artış beraberinde fosil yakıta bağlı enerji ihtiyacını ve tüketimini de arttırmaktadır. Buna bağlı olarak atmosferde sera gazlarının birikimi artmakta ve iklim değişikliği gibi küresel problemlere neden olmaktadır. Bu nedenle bilim adamları alternatif ve yenilenebilir enerji arayışlarına hız vermektedirler. Bu kaynaklardan bir tanesi de, yaşayan ya da yakın zamanda yaşamış organik maddelerden yakıt elde edilmesi ya da diğer endüstriyel amaçlarla kullanılması olarak tanımlanan biyokütle enerjisidir. Biyokütle enerji çeşitleri olarak biyodizel, biyoyakıt (biyoenerji) biyoetanol, biyometanol (biyogaz), biyohidrojen sayılabilir. Alternatif biyokütle kaynağı olarak kanalizasyon, tarımsal ve endüstriyel atıklar, yenilebilir ve yenilemeyen yağ, bitkiler(mısır, şeker kamışı, soya fasulyesi, palmiye) kullanılırken, son yıllarda mikroalglerden biyokütle eldesi önem kazanmıştır. Mikroalglerin hammadde olarak seçilmesinin birçok sebebi vardır. Hızlı büyüüp kolay üretilmesi, yüksek yağ içeriğine sahip olmaları, tarımsal bitkiler gibi endüstriler arasında rekabete girmemesi, çeşitli çevre koşullarına kolay adapte olmaları, fazla CO₂ miktarını uzaklaştırması ve sera gazlarını azaltması bu sebepler arasındadır. Dünyada algal biyodizel üretimi alanında özellikle Avrupa ülkeleri arasında rekabet olup çok yüksek miktarlarda yatırımlar yapılmaktadır. Ülkemizde de bu alanda çalışmalar başlamış ve sanayi üniversite işbirlikleriyle devam etmektedir.

Birleşmiş Milletlere sunulan Sera Gazı Envanteri Raporları'na göre Türkiye'nin sera gazı emisyonu, 1990 ile 2007 yılları arasında %118,8 oranında artmıştır. Birleşmiş Milletler İklim Değişikliği Çerçeve Sözleşmesi (1997) kapsamında imzalanan ve 2005 yılında yürürlüğe giren Kyoto Protokolüne 2009 yılı Ağustos ayında taraf olan Türkiye, bu hızlı artış oranı sebebiyle, protokolde 2012 yılı sonrası için öngörülecek yükümlülükleri karşılayamama ve bunun sonucunda da ağır yaptırımlara maruz kalma riski taşımaktadır (Petrol Platformu Derneği, 2009).

Küresel iklim değişikliğine büyük ölçüde neden olan fosil yakıtların atmosfere yaydıkları aşırı karbonu yeniden kaynağına, yani biyokütleyle hapsederek küresel karbon dengesini yeniden kurma olanağı sağlayan biyokütle enerjisi, diğer yenilenebilir enerji kaynaklarına göre daha çevreci bir seçenek oluşturmakta ve bu sebeple her geçen yıl gelişim göstermektedir (Ladanai ve Vinterback, 2009).

Araştırmacılar tarım alanları ve su kaynakları üzerinde daha az baskı yaratan, daha verimli ve daha gelişime açık bir yöntem olan mikroalgler üzerine yoğunlaşmaya

başlamıştır. Alternatif bir enerji kaynağı olarak gündeme gelmesinden çok daha önce mikroalglerin enerji kaynağı olarak kullanılması birçok araştırmacı tarafından yıllardır önerilmektedir (Thomsen, 2010).

Bu tez çalışmamızda, hem atık suların ileri arıtımını gerçekleştirmek, hem de hasat edilen mikroalglerin lipid üretim potansiyellerini belirlemek amacıyla *C.emersoni* ve *B. braunii* türü mikro alglerle silindir tipi foto-biyoreaktörlerde laboratuvar şartlarında çalışılmıştır. Elde edilen bulgular ile literatür değerleri kıyaslanmıştır.

1.1. Biyodizel

Biyodizel, hayvansal veya bitkisel yağlar gibi yenilenebilir kaynaklardan elde edilen alternatif bir dizel yakıtıdır. “Biyo” kökü biyolojik esaslı olduğunu, “dizel” kelimesi ise dizel yakıtı olduğunu gösterir (Howell, 1997). Biyodizel, bitkisel ve hayvansal yağlar gibi yenilenebilir biyolojik kaynaklardan elde edilen alternatif bir dizel yakıt olduğundan biyolojik olarak parçalanabilir ve toksik değildir. Bununla birlikte düşük emisyon oranına sahip olduğundan dolayı, çevre açısından da faydalıdır. Biyodizelin biyolojik olarak parçalanabilmesi, zehirleyici etkisi bulunmaması ve düşük emisyon profili, yüksek setan sayısı, yüksek oksijen içeriği, kükürt ve aromatik içermemesi, üstün yağlama yeteneği onu cazip kılan özellikleri olarak sıralanabilir (Altun vd., 2008). Biyodizel üretimi için hammadde olarak genellikle yağ asidi içeriği fazla olan bitkiler tercih edilir. Enerji kaynağı olarak yenilenebilir, toksik olmayan biyodizel yakıt kaynağı mikroalglerden yararlanma olanakları konusunda çalışmalar sürdürülmektedir. Bu amaçla yağ içeriği ve büyüme hızı yüksek mikroalg türlerinin belirlenmesi çalışmalarının yanında, hücre içinde mevcut yağ içeriğinin arttırılmasını uyaran stres koşullarının belirlenmesi araştırılmaları da sürdürülmektedir.

Kullanılan hammaddeler elde edilen biyodizelin kalitesinde önemli bir etkindir. Avrupa’da biyodizel hammaddesi olarak kanola yağı, Amerika’da ise soya yağı yaygın olarak kullanılmaktadır. Türkiye’de ayçiçek ve pamuk yağı ise üretilen yağların başında gelmektedir (Alptekin vd., 2008). Bunun yanında soya fasulyesi, pamuk tohumu, hayvansal yağlar, kanola, hindistan cevizi de kullanılmaktadır. Bitkisel yağların dizel yağlar olarak kullanımında çeşitli yapısal avantaj ve dezavantajlar mevcuttur. Başlıca avantajları; (a) doğal-taşınabilir ve sıvı olması, (b) iç enerjisi, (c) yenilenebilirliği, (d) elde edilebilirliğidir. Dezavantajları ise; (a) yüksek vizkozite, (b) düşük uçuculuk, (c)

doymamış hidrokarbon zincirlerinin reaktifliğidir. Aşağıda Çeşitli bitkilerin ve mikroalglerin yağ oranları verilmiştir (Tablo 1.1).

Tablo 1.1. Çeşitli bitkilerin ve mikroalglerin yağ içerikleri ve birim alandan alınan verim.

Mikroalg	% Yağ Oranı	Ürün	Yağ verimi (L / ha)
<i>Botryococcus branunii</i>	25-75	Mısır	202
<i>Chlorella sp.</i>	28-32	Soya fasulyesi	539
<i>Cryptheconidium cohnii</i>	20	Kanola	1426
<i>Cylindrodheca sp.</i>	16-37	Jatropha	2268
<i>Nitzschia sp.</i>	45-47	Hindistan cevizi	3223
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30	Palmiye yağı	7142
<i>Schizochytrium sp.</i>	50-77	Mikroalg	70558-164418

1.2. Mikroalgler Hakkında Genel Bilgiler

Mikroalgler prokaryotik veya ökaryotik fotosentetik mikroorganizmalardır. Mikroalgler tek hücreli veya basit çok hücreli yapısı nedeniyle zor şartlarda yaşarlar ve çok hızlı büyüyebilirler (Li vd., 2008). Mikroalglerin 30.000'den daha fazla türlerinin olduğu düşünülmektedir, fakat 50 tür için sınırlı sayıda çalışma ve analiz yapılmıştır (Richmond, 2004). Mikroalgler, güneş enerjisini kimyasal enerjiye dönüştürmek için fotosentezi kullanarak, birkaç günde bütün bir büyüme döngüsünü tamamlayarak çoğalırlar (Sheehan vd., 1998). Mikroalgler, hemen her yerde büyüyebilirler ve büyüme oranları yeterli havalandırma ve belirli beslenme ve bazı basit besinler gerektirmektedir (Aslan ve Kapdan, 2006; Renaud, 1999). Birçok mikroalg türleri, önemli miktarlarda lipitleri biriktirebilme yeteneğine sahiptir (Sheehan vd., 1998). Böylece yüksek yağ verimine katkıda bulunurlar. Bu tür alglerde biriken ortalama lipit içeriği %1 ve %70 arasında değişir. Fakat bazı türlerde lipit içeriği belirli koşullar altında kuru ağırlığının % 80'ine ulaşılabilir (Li vd., 2008; Chisti, 2007, Spolaore vd., 2006).

Birçok araştırma ve makaleler mevcut diğer hammaddeler ile karşılaştırıldığında biyodizel üretimi için mikroalg kullanımının birçok avantajını sunmaktadır (Chisti, 2007, Tsukahara ve Sawayama, 2005). Pratik açıdan bakıldığında mikroalg yetiştirmek kolaydır, kolay besin elde etmek için ve insan tüketimi için uygun olmayan sularda az veya hiç ilgilenmeden kendiliğinden büyüyebilir.

Bu nedenle mikroalg üretimi için CO₂ kaynağı olarak büyük bir potansiyele sahip olan endüstriyel işlem biriminden baca gazı emisyonları kullanmak, CO₂ azaltmak için önemlidir ve sera gazı emisyonunu azaltma stratejisi için çok umut verici bir alternatiftir.

Farklı mikroalg türleri çeşitli çevre koşullarında yaşamaya adapte olabilir. Bu nedenle, belirli büyüme özellikleri veya yerel ortamlarda en iyi çalışan mikroalg türünü bulmak mümkündür. Uygun koşullarda mikroalgler, baca gazındaki karbondioksitin giderimi ve su arıtımını sağlarken, aynı zamanda içerdikleri lipid miktarına bağlı olarak biyodizel üretiminde kullanılabilirler.

1.3. Mikroalg Üretimine Etki Eden Parametreler

Algal büyümesini etkileyen en önemli parametreler; besin kalitesi ve miktarı, ışık, pH, türbülans, tuzluluk ve sıcaklıktır. Optimum parametreler ve tolerans aralıkları türe özgüdür. Bazı önemli parametreler Tablo 1.2’de verilmiştir. Işık yoğunluğu çok önemli bir rol oynar. Kültürlerin bulunduğu tankın derinliği ve kültür yoğunluğu da çok etkili bir rol oynamaktadır. Kültürlerin bulunduğu tankın yüksekliği fazla olursa ve hücre konsantrasyonu yoğun olursa ışık yoğunluğunu arttırmak gerekmektedir. Işık kaynağı, doğal veya yapay olabilir. Yapay aydınlatma sağlanarak mikroalg üretilecekse, günlük aydınlatma süresi en az 18 saat olmalıdır (Coutteau, 1996).

Mikroalgler metabolizmalarına ve fizyolojik aktivitelerine doğrudan etkili olabilecek sıcaklık değişimlerine hemen tepki gösterirler. Bu nedenle, üretimi yapılacak türler optimum sıcaklıkta uygun sistemde üretimi yapılmalıdır. Sıcaklığın etkisi hücre solunumu sırasında görülür. Sıcaklık arttığında solunum hızı artar, artan solunum ise biyokütle kayıplarını arttırır. Sıcaklık, mikroalglerin kimyasal kompozisyonları üzerinde de etkili olur.

Mikroalg tanklarında sıcaklık, ışık gibi parametrelerin optimum seviyelerinin sağlanması için karıştırma çok önemli bir rol üstlenmektedir. Karıştırma, alglerin sedimentasyonunu önleyerek, reaktör içindeki mikroalg hücrelerinin homojen dağılımını sağlar. Böylece mikroalglerin reaktörler içindeki tüm hücreleri ışık ve besin maddelerinden eşit oranda faydalanmasını sağlar ve termal tabakalaşma önlenmiş olur. Aynı zamanda kültür ortamı ve hava arasındaki gaz transferinin düzenlenmesi sağlanır (özellikle açık gölet kültürlerinde).

Tablo 1.2. Mikroalg üretimine etki eden parametreler için genelleştirilmiş değerler.

Parametreler	Aralık	Optimum
Sıcaklık (C)	16-40	18-24
Tuzluluk (g/l)	12-40	20-24
Işık yoğunluğu (lux)	1000-10000	2500-5000
Fotoperiyot (gündüz/gece saat)	-	16:8 (en az) ve 24:0 (en fazla)
pH	7-9	8.2-8.7

Mikroalg üretimine etki eden diğer bir parametre ise pH'dır. Her tür, spesifik olarak belirli bir pH aralığında üreyebilir. Birçok alg kültüründe pH 7-9 aralığındadır. Optimum aralık ise 8,2-8,7 arasında değişir. Kültür için uygun pH'nın sağlanamaması, hücrelerin parçalanarak içeriğinin bulunduğu ortama geçmesiyle kültür ölümlerine yol açar. Bu sorun kültürün havalandırılmasıyla aşılabılır. Çok yoğun olan kültürlerde, zamanla pH artışı meydana gelir (Coutteau, 1996).

1.4. Mikroalglerin Biyodizel Üretiminde Kullanılması

Karasal bitkilere kıyasla yüksek yağ biriktirme kabiliyetine ve fotosentetik verime sahip olmaları mikroalgleri biyodizel üretimi için ilgi çekici kılmaktadır. Bir tür yenilenebilir enerji kaynağı olan biyodizelin mikroalglerden üretilmesi, artan küresel enerji ihtiyacına cevap verilebilme ve kısmen de olsa atmosferdeki gereğinden fazla karbondioksiti fotosentez yoluyla tutarak, küresel ısınmanın önlenmesine katkıda bulunma potansiyeline sahiptir. Ayrıca üretimi sırasında içme suyu kaynakları üzerinde karasal enerji bitkileri gibi büyük bir tehlike oluşturmeyen mikroalgler, doğadaki azot ve fosfor gibi kirleticileri atık su arıtımı yoluyla giderme avantajı da sağlamaktadır.

Mikroalglerin biyodizel üretimi için kullanılmasının diğer bir avantajı da birçok alg türünün yüksek CO₂ konsantrasyonlarında hızlı büyüme kabiliyetine sahip olması ve bu sayede etkin bir şekilde atık baca gazlarından CO₂ özümsemesine olanak sağlamasıdır (1 kg kuru mikroalg kütlelerinin üretimi sırasında 1,83 kg CO₂ havadan özümseir) (Brennan ve Owende, 2010). Öte yandan bu tip uygulamalarda alg türlerinin değişik seviyelerdeki CO₂ ve termik santral baca gazlarında sıkça bulunan NO_x ve SO_x türlerine ve değişik sıcaklık değerlerine olan toleransının incelenmesi de gereklidir.

Algler karbon kaynağının yanı sıra azot, fosfor, kükürt gibi temel elementlere de ihtiyaç duyduğundan, bir maliyet problemi daha ortaya çıkmaktadır. Bu sorunla ilgili kentsel atık sular ve bazı gıda işleme sanayi atık sularında bulunan besin elementlerinin algler tarafından kullanımları çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Ancak çeşitli ağır

metallerin ve sentetik organik kirleticilerin alglerin üreme hızına ve yağ yapısına olan olası etkilerinin incelenmesi gereklidir. Akademik literatürde bu konu hakkında yayınlanan çoğu araştırma, sadece besinlerin belirli oranda karıştırılarak hazırlandığı saf kültürlerin kullanıldığı temel ve laboratuvar ölçekli düzeneklere dayanmaktadır. Şimdiye kadar biyodizel üretmek amacıyla mikroalg yetiştirilmesi sürecinde biyolojik olarak arıtılmış atık su kullanılması metoduna sadece sayılı çalışmada başvurulmuştur (Pittman, vd., 2011).

Su, CO₂ ve besin elementlerinin yanı sıra alg üretiminde en önemli etmen, alglerin inorganik maddelerden organik madde sentezi için kullandığı ışık enerjisidir. Literatürde çeşitli amaçlar için alglerin yetiştirilmesiyle ilgili uygulamalardaki sorunları aza indirmek amacıyla doğal ya da yapay ışığın kullanıldığı çeşitli sistem tasarımları mevcuttur. Açık sistemler olan çeşitli havuzlar ve çeşitli kapalı sistem foto-biyoreaktör tasarımları üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Lee, 2001; Ugwu, vd., 2008).

Mikroalgler, biyodizel, metan, hidrojen, etanol gibi yenilenebilir yakıtların birkaç türü için diğerleri arasında geri dönüşümlüdür. Biyodizel CO, hidrokarbon, SO_x ve partiküler maddenin emisyonlarını azaltırken, dizel yakıtlara göre kükürt içermez ve iyi bir performans sergiler.

Biyodizel üretiminde kullanılan karasal bitkilerle kıyaslandığında, tüm yıla yayılabilen bir üretim olanağına sahip olan mikroalglerin çeşitli avantajları gözlemlenmiştir. Örneğin, karasal alan gereksinimi açısından, kuru ağırlıklarının %20-%50'lik kısmını yağ olarak biriktirebildikleri için en yüksek biyodizel üretim verimine sahip olan kolza bitkisinin 1.190L/ha'lık biyodizel üretim kapasitesine karşı 12.000 L/ha'lık bir kapasiteye ulaşabilmektedirler (Brennan ve Owende, 2010). Ayrıca mikroalglerin logaritmik üreme fazındaki ikiye katlanma süreleri 3,5 saate kadar kısalabilmektedir. Karasal bitkilerin ikiye katlanma süresi bu süreden çok daha uzundur (Chisti, 2007).

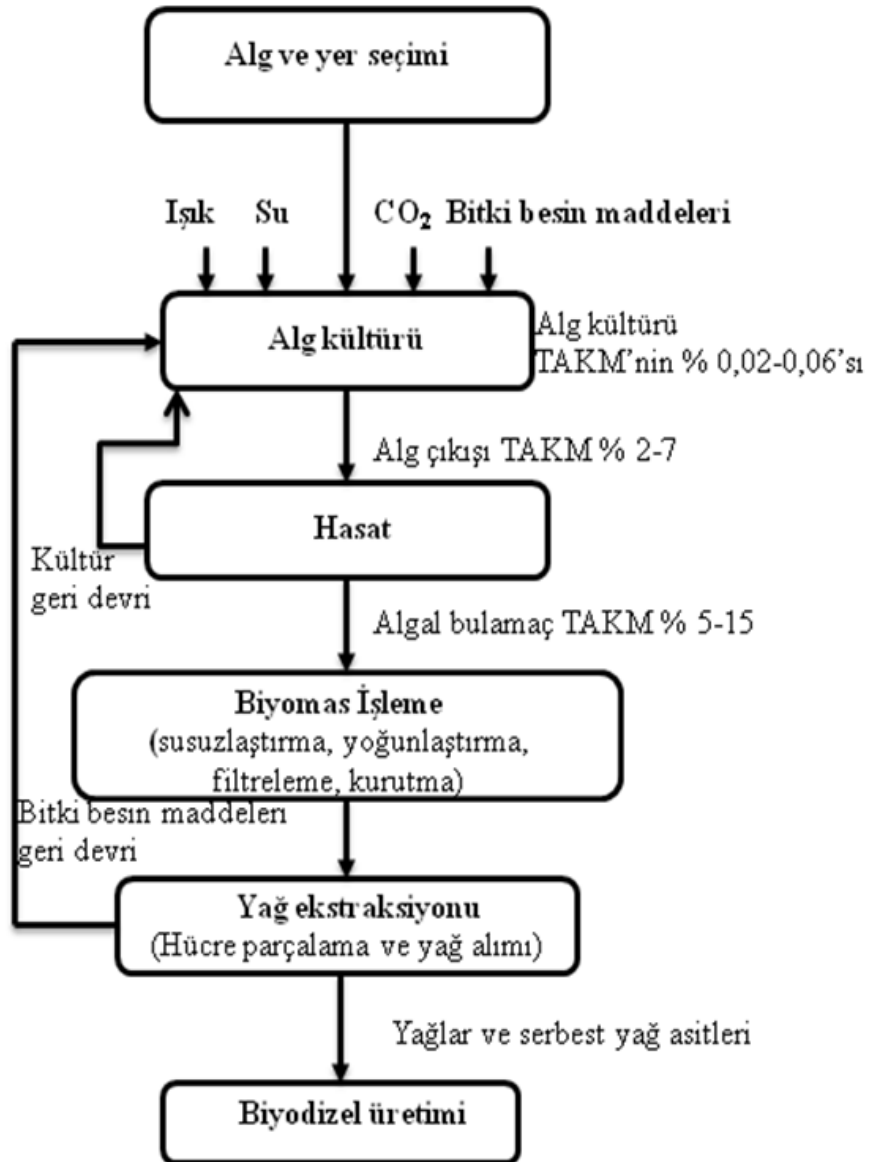
Açık havuzlu sistemlerin düşük maliyetleri nedeniyle daha çok ilgi çekmesine karşın kapalı sistemlerin yavaş büyüyen alglerin sistemi kontamine etmelerini önleyerek daha iyi bir kontrol sağladığı ayrıca daha iyi kütle transferi ve düşük su gereksinimi ile çok daha yüksek yoğunluklu biyokütle elde edildiği bildirilmiştir. Ancak laboratuvar ölçeğinde başarılı olmuş birkaç tasarıma rağmen pilot düzeyde sınırlı sayıda uygulama mevcuttur. Sürecin başarısı için alg kütlelerinin sudan başarılı ve düşük maliyetli bir yöntemle ayrılması yani hasat işlemi oldukça önemlidir. Hiçbir yaygın endüstriyel yaklaşım (filtrasyon, santrifüj, microstraining, vb.) büyük ölçekli mikroalg ayırımı için ekonomik ve uygun bir

yöntem olamamıştır. Geleneksel topaklaştırma ve çöktürme (gravity separation) yöntemi küçük ve çabuk büyüyen algler için uygun değildir; ayrıca pahalı çöktürücülerin (Koagülantlar) kullanılmasını gerektirir ki bu alg kütlesinin kirlenmesine neden olarak bir sonraki yağdan ayırıştırma basamağını oldukça zorlaştırır. Belli koşullar altında algler tarafından üretilen polimerli enzimler alglerin kendiliğinden kümeleşmesini (self-aggregation) sağlar, fakat bu endüstriyel ölçekte kullanılamayacak bir metottur (Garcia vd., 2000).

Alglerden yağ ayırma işlemi öncesi gerçekleştirilen biyokütlenin kurutulması işlemi belki de en fazla enerji gerektiren ve bu yüzden en pahalı olan işlemdir. Sadece kurutma işlemi biyodizel üretimi için gerekli olan toplam enerjinin %84'üne tekabül eder. Örneğin kurutma yöntemleri içinde en az ihtiyaç duyulan yöntemlerden biri olan belt kurutucular (belt dryer) bile, kurutma işlemi sırasında %90 katı oranına ulaşabilmek için her bir kilo katı madde başına 13,8 MJ ısı enerjisine ihtiyaç duyar. Güneş ışığıyla kurutma ise devamlı olarak önerilmesine rağmen uygulanabilirliği tam olarak kanıtlanamamış bir yöntemdir. Bunun yanı sıra güneş ışığı ile kurutma sırasında yağ yapısının kararlılığının korunup korunmadığı halen şüphelidir (Lardon vd., 2009).

Mikroalglerin enerji kaynağı olarak metabolizmalarında, depo ürünlerinde, membran bileşenlerinde yağ asidi ve lipit mevcuttur. Alglerin biyodizel üretiminde bir hammadde olarak kullanılması durumu söz konusudur. Alglerden optimum bir verim elde etmek için havuzlarda veya biyoreaktörlerde büyük miktarda CO₂ olması gerekmektedir. Toplam baca gazı emisyonu ortalama olarak %13 olan bir termik santralin baca gazı emisyonu havuz ve biyoreaktörlerle birleştirilirse, CO₂ havuzlarda veya biyoreaktörlerde bulunan algler tarafından asimile edilebilir. Böylece kullanılan su ile aynı zamanda CO₂ geri dönüşümü yapılmış olur. Yeterli derecede güneş ışığının bulunduğu her yerde alg büyütülebilir. Bazı algler tuzlu suda da büyütülebilir. Bütün algler protein, karbonhidrat, lipit ve değişen oranlarda nükleik asitler içerirler. Alg bünyesinde bulunan yağ asitlerinin yüzdeleri alg türüne göre değişebilmekle beraber alg bünyesinde bulunan yağ asitleri kendi kütlelerinin % 40'ı kadarını oluşturabilmektedir. Alg yağının en önemli ayırt edici özelliği ise biyodizel verimidir. Bazı tahminlere göre ise alg yağının verimi bitkisel yağların veriminden 200 kat daha fazla olduğu yönündedir. Yaklaşık olarak alglerden 46 ton yağ/hektar/yıl elde edilebilir. Bazı tür algler ağırlığının % 50'si kadar biyodizel üretilebilir.

Mikroalglerden biyodizel üretiminin ekonomik olabilmesi için öncelikle kurutmadan kaynaklanan maliyetin düşürülmesi gerekmektedir. Mikroalglerden biyodizel üretim sürecinin son basamağı transesterifikasyon (biyodizele dönüştürme) işlemidir ve bu işlem, akademik literatürdeki tanımına göre, kurutulmuş alg kütesinden hegzan veya benzeri bir çözücü aracılığıyla yağın ayrıştırılmasını takip eder. Literatürde, genellikle çözücü ve alg kütesi arasında 1:1 hacimsel oran olduğu ve ayrıştırma verimliliğinin %70'e kadar olduğu bildirilmektedir. Mikroalg büyümesi için belirli koşullara bağlı olarak mikroalg türlerinin seçimi ile başlayan ve tasarım veya yetiştirme sistemlerinin uygulaması ile devam eden alglerden biyodizel oluşum zincirinin aşamalarının şematik gösterimi Şekil 1.1'de verilmiştir.



Şekil 1.1. Biyodizel üretim zinciri.

Yağ geri kazanma işlemi (alglerin sudan ayrıştırılması, kurutma ve son olarak yağın ayrıştırılması) tüm proses için gereken toplam enerjinin % 90'a varan kısmına ihtiyaç duyduğu için, yeni yapılacak çalışmaların bu işlemde kaynaklanan maliyeti azaltmaya yönelik olması önerilmektedir (Lardon vd., 2009).

Prosesle ilgili zorluklar büyük oranda sürecin toplam maliyetinin yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle çoğu araştırmacı tarafından petrol bazlı dizelle ekonomik olarak rekabet edebilmek için biyodizel için mikroalg üretim maliyetinin ciddi şekilde düşürülmesinin gerekliliğine dikkat çekilmektedir (Li vd., 2008).

Mikroalglerden verimli biyodizel üretmek için özellikle ekim, hasat ve işletme teknikleri dikkate alınmalıdır. Biyodizel üretimi için mevcut süreçler hücrelerin yetiştirme ortamı, büyüyen mikroalglerin hasat edilmesi ve sonra lipidlerin çıkarılmasını takip etmektedir. Sonra biyodizel, diğer biyoyakıtlar, biyoyakıt besin depoları için kullanılan teknolojiler ve var olan süreçlere benzer süreçlerle üretim yapılmaktadır. Son zamanlarda biyoyakıt üretimi için diğer olasılıklar, transesterifikasyon reaksiyonunun yerine termal bozulma veya trigliseridin yarılanmasını içeren termal parçalama, diğer organik bileşikler, bazen moleküller, yeni alkanlar, alkelenler, aromatikler ve karboksilik asitler olarak belirtilmektedir (Bahadur vd., 1995; Babu, 2008).

1.5. Mikroalglerin Diğer Kullanım Alanları

Mikroalg, biyodizel, metan, hidrojen, etanol gibi yenilenebilir yakıtların birkaç türü için diğerleri arasında geri dönüşümlüdür. Biyoyakıt için mikroalgin kullanımı başka amaçlara da hizmet edebilir. Bunlar:

❖ Alg biyolojik bağlanması ile endüstrilerin baca gazlarından gelen CO₂ temizlenebilir (Wang vd., 2008). Biyodizel üretilirken şirket veya proseslerin sera gazı emisyonları azalabilir.

❖ Besin olarak su kirleticilerini kullanarak büyüyen alg NH₄⁺, NO₃, PO₄ gidermesiyle atık su temizlenir (Wang vd., 2008).

❖ Yağ çıkarıldıktan sonra geride kalan yosun biyokütle, etanol, metan, mikroalglerde N:P oranı veya sadece enerji için yanması nedeniyle organik gübre olarak da kullanılabilir.

❖ Olumsuz koşullarda da büyüyebilirler ve besinlere olan ihtiyaçları azdır. Mevsimsel hava değişimlerinden bağımsız tarımsal amaçlar için uygun olmayan alanlarda

büyüyebilirler. Böylece ekilebilir arazi kullanımı için rakipsizdir ve kültür ortamı olarak tatlı su kullanımı gerektirmeyen atık sular kullanılabilir.

❖ Mikroalg türlerine bağlı olarak farklı sanayi sektörlerinde ki değerli uygulamaları ile saf kimyasallar ve yağlar gibi çoklu doymamış yağ asitleri, petrol, doğal boyalar, şekerler, pigmentler, antioksidanlar, yüksek değerlikli biyoaktif bileşikler ve diğer saf kimyasallar ve biyokütleler elde edilebilir (Li vd., 2008; Raja vd., 2008).

❖ Yüksek değerlikli biyolojik türevlerinin bu çeşitliliği nedeniyle birçok ticari uygulamaların mümkün olmasıyla mikroalg, kirliliğin önlenmesinde, biyoyakıt, kozmetik ile ilaç, beslenme ve gıda katkı maddeleri de dâhil olmak üzere biyoteknoloji alanlarında çok sayıda katkı sağlamaktadır. (Rosenberg ve Oyler, 2008; Raja vd., 2008).

Eğer atıksu ve baca gazı arıtımı gibi süreçlerle mikroalg birleştirilirse, mikroalgden diğer biyolojik ürünler ve biyodizelin üretimi çevresel olarak daha da sürdürülebilir, düşük maliyetli ve kararlı olabilir. Aslında çeşitli çalışmalar çevresel uygulamalar ile birleştirilmiş değerli ürünlerin üretimi mikroalgin kullanımını kanıtlamaktadır (Bilanovic vd., 2009; Jacob-Lopes vd., 2009).

Karbon tasarrufu açısından biyodizel üretimi için mikroalg kullanılarak karbon emisyonlarını önemli ölçüde azaltılmaktadır. Çünkü CO₂, algin fotosentez ve büyüme sürecinde tutularak bünyeye alınır. Böylece hem CO₂ emisyonları azaltılır hem de mikroalgin büyümesi sağlanarak mikroalgin biyodizele dönüşümü yapılır.

1.6. Mikroalglerle İlgili Literatürdeki Çalışmalar

Loseva ve ark., 1998 yılında, sıcaklığın ve tuz oranının *Chlorella* hücreleri oranına etkisini inceledikleri çalışmalarında yüksek sıcaklık(45°C) ve yüksek NaCl (450 µM) stres faktörleri uygulamalarından sonra *Chlorella* büyümesini incelemişlerdir. Bunun için belirli aralıklarda yüksek sıcaklık ve yüksek NaCl uygulamaları yapılmış ve bu süreçten sonra tekrar normal koşullar sağlanarak *Chlorella* hücrelerinin durumu gözlenmiştir. Böylelikle canlının stres faktörlerine adaptasyon sürecinin uzunluğu ortaya çıkarılmıştır.

Yüksek verimli alg kültürü elde etmek için en uygun azot-fosfor oranı araştırılması yapılmış ve baskın olan türlerin *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Monoraphidium* olduğu görülmüştür (Mostert ve ark, 1987). Yapılan bir dizi çalışmalarda, tek hücreli tatlı su mikroalgi *Chlorella* türlerinin biyosorpsiyon ile atıksudan azot ve fosfor gideriminde yüksek bir potansiyele sahip olduğu görülmüştür (Corelli, 1999; Dönmez vd., 1999).

Zeiler (1995) tarafından yürütülen laboratuvar çalışmaları, yeşil alg *monoruphidiumminutum* kullanılmıştır. Çünkü bu alg önemli miktarda biyokütle üretmek için hammadde olarak yüksek miktarda CO₂ kullanır ve bunun yanı sıra kükürt ve azot oksitlerden verimli bir şekilde yararlanabilmektedir. Çalışmalarda üretim için birçok önemli parametre ve besin seviyelerinin içeriği tespit edilmiştir (Zeiler vd., 1995). Yeşil alg *Chlorophyta* kullanma karasal bitkilerden 10-15 kat daha büyük güneş enerjisini bünyesine aldığı ve CO₂ alma yeteneğine de sahip olduğu gözlenmiştir

Illman ve ark. (2000) ise, yürüttükleri çalışmaları eksik azot uygulamasının farklı *Chlorella* türlerinde büyüme ve lipid içeriğine etkisini incelemişlerdir. Buna göre; hem normal koşullarda hem de düşük N uygulamasında *C. vulgaris*'in çalışılan diğer dört türe göre en iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada 5 türün kültüre alındığı bioreaktör tanklarına N eksik besli ortamları hazırlanmış ve kontrol gruplarıyla karşılaştırılmıştır. *C. emersonii*'nin bu uygulamadan diğer türlere göre daha fazla etkilendiği ve hücre sayısındaki artışın diğer türlere göre en fazla olduğu ortaya çıkartılmıştır. Ayrıca 5 farklı *Chlorella* üründe belirlenen % lipid değerlerinin *C. sorokiniana* dışındaki diğer dört türde (*C. vulgaris*; *C. minutissima*; *C. emersonii*, *C. protothecoides*) yaklaşık olarak 2'şer katarttığı belirlenmiştir. *C. sorokiniana*'da ise bu değer hemen hemen kontrol grubu ile aynı düzeyde kalmıştır.

Zhila ve ark. (2005), *B. braunii* türünü %75 N sınırlamasında, 10:14 aydınlık-karanlık periyodu uygulayarak ve %1 CO₂ vererek kültüre alıp; büyüme ve lipid kompozisyonunu gözlemişlerdir. Yirmi günlük çalışmanın sonunda kontrol ortamıyla karşılaştırıldığında, günlük biyomas %6,8'den %2,9'a düşerken, lipid oranı ise %21'e yükselmiştir.

Satoh ve ark. (2010), yeni bir mikroalg türü olan *Pseudochoricystis ellipsoidea* (*Trebouxiophyceae*)'yı 5-10 gün boyunca normal besli yerinde kültüre alarak maksimum hücre yoğunluğunu elde etmiş ve sonra N sınırlamasının olduğu ortamda, 8 gün boyunca kültüre alarak lipid ve yağ asitleri değişimine bakmışlardır. Normal besli yerinde kültüre alınan türün lipid oranı %32, N sınırlaması yapılan ortamda ise %26 olduğunu ve aynı zamanda N sınırlaması yapılan ortamda hidrokarbon ve trigliserid miktarında artışlar olduğunu bildirmişlerdir.

Widjaja (2009), *C. vulgaris* türünü farklı büyüme koşullarında kültüre alarak biyomas ve lipid miktarını belirlemeye çalışmıştır. Çalışmada ilk olarak normal besli ortamında türü kültüre almış ve logaritmik artış evresinin sona ermesiyle N' u tamamen çekilmiş ortamda

7 ve 17 gün süreyle kültüre alarak biyomas ve lipit miktarını belirlemiştir. Biyomas ve lipit oranı 17 gün boyunca N eksilmesi uygulanan ortamda daha fazla bulunmuştur. İkinci grup çalışmada farklı oranlarda CO₂ ilavesi yaparak biyomas ve lipit miktarı belirlenmiştir. 0 ile 20 ml/dakika arasındaki CO₂'in büyümeyi arttırdığı, 50 - 200 ml/dakika CO₂'in ise büyümeyi yavaşlattığı belirlenmiştir. Aynı şekilde normal besi ortamı ve 17 gün azot kısıtlaması yapılan kültürler verilen 20 ml/dakika CO₂ 'in lipit oranını artırdığı bildirilmiştir.

Patil (1990), *Ankistrodesmus falcatus* ve *Scenedesmus quadricauda* alglerinin atık su arıtımındaki rollerini araştırmıştır. Sonuçlara göre sekiz günlük bir sürede *Scenedesmus quadricauda* % 85 ile % 95 fosfat giderimi, % 70 ila % 80 civarında NH₃-N giderimi, % 70 civarında BOI giderimi sağlamıştır. *A. falcatus* ise % 80 fosfat giderimi, % 60 civarında NH₃-N giderimi, % 70 civarında BOI giderimi sağlamıştır. Su ortamından azot ve fosforu arıtmak için *C. vulgaris* kullanarak azot için % 72 ve fosfor için de % 28 giderme verimi elde etmişlerdir (8 mg/ L NH₄⁺'den 3 mg/ L NH₄⁺'e ve 1,5-3,5 mg/ L PO₄). *Nannochlois*, *Botryococcus brauni* ve siyanobakter *Phormidium bohneri* besin giderim kapasiteleri de incelenmiştir (Martinez vd., 2000; Olguin vd., 2003; Jimenez-Perez vd., 2004; An vd., 2003; Dumas vd.,1998; Laliberte vd., 1997). Diğer bir çalışmada ise azot ve fosforu arıtmada mikroalg etkinliği belirlenmiştir.

Başka bir çalışmada ise çevre kirliliğini azaltmak için atıksu arıtma tesislerinde *Chlorella sp.* ve *Scenedesmus sp.* üzerinde araştırma yapılmıştır. Bu kültürler çeşitli inorganik azot, CO₂ ve tuzluluk kaynakları ile laboratuvar BG11 ortamında 29-50 gün yetiştirilmiştir (Stainier vd., 1971). Diğer bir çalışmada ortamda NaNO₃ konsantrasyonundaki azalma ve alg metabolizma ürünlerindeki artış, biyokütle sayısında hafif bir azalmaya yol açmıştır. Ancak N konsantrasyonunun artışı hücrelerin lipit muhteviyatının azalmasına yol açmıştır (Hsieh ve Wu 2009; Yeesang 2011). Hsieh ve Wu (2009) kritik üre konsantrasyonunu 0,1 g/L olarak gözlemlemiştir. Bu miktarda biyokütle yoğun olarak büyümekte ve daha yüksek yağ içeriği var olmaktadır. Ayrıca üre *Chlorella* kültürlerinde en iyi azot kaynağı olduğu bildirilmiştir (Becker, 1994).

Aynı zamanda N oranını % 75 oranında azalttıklarında lipit oranının *N. oculata*'da % 7,9'dan % 15,31'e ve *C. vulgaris*'de % 5,9'dan % 16,41'eyükseldiğini bildirmişlerdir. Rodolfi ve ark. (2009), 30 farklı türü laboratuvar ortamında lipit ve biyomas miktarını belirlemek amacıyla kültüre almışlar; bunlardan biyomas ve lipit oranı yüksek olan 4 türü

(2 deniz ve 2 tatlı su türü) dış ortamda 20 L' lik düz alveolar panel reaktörde N eksikliğinde kültüre alarak biyomas ve lipit oranını incelemişlerdir. Denizel türlerden *Nannochloropsis sp.*'nin N eksiltmesi yapılan ortamda lipit içeriğini %60'a çıkardığını belirlemişlerdir.

Raghavan ve ark. (2008), *C. calcitrans*'ı laboratuvar koşullarında farklı sıcaklık (20-25°C), farklı tuzluluk (%25-30) ve CO₂ ile havalandırma koşullarında kültüre alıp; büyüme, karbonhidrat, lipit ve protein değerlerini belirlemişlerdir. Bu araştırmada biyomas değerleri karbondioksit ilavesinden etkilenirken, tuzluluk ve sıcaklık değişiminden çok az etkilenmiştir. Karbondioksit eklemesi protein değerini artırırken, karbonhidratı düşürmüş, lipit oranını değiştirmemiştir. Yüksek tuzlulukta karbonhidrat artış göstermiş, protein ve lipit oranlarında düşüşler olmuştur. Düşük sıcaklıkta da lipit ve karbonhidrat değerleri artarken, protein etkilenmemiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Mikroalg Türleri ve Kültür Ortamları

C.emersonii, Shihira ve Krauss (1965), kültürü (Kültür No: 211/8G) ve *B.braunii* Kützing (1849) kültürü (Kültür No: 807/2), Culture Collection of Algae and Protozoa'dan (İngiltere) temin edildi. (<http://www.ccap.ac.uk>) (Resim 2.1).

Her iki mikroalg kültürü, aşağıdaki bileşimleri ve konsantrasyonları verilen BG11 ve A5+Co kültür ortamında çoğaltıldı (<http://www.ccap.ac.uk>). BG11 çözeltisinin içeriği Tablo 2.1' de verilmiştir. Kullanılan A5+Co çözeltisi ise Tablo 2.2' de verilmiştir.

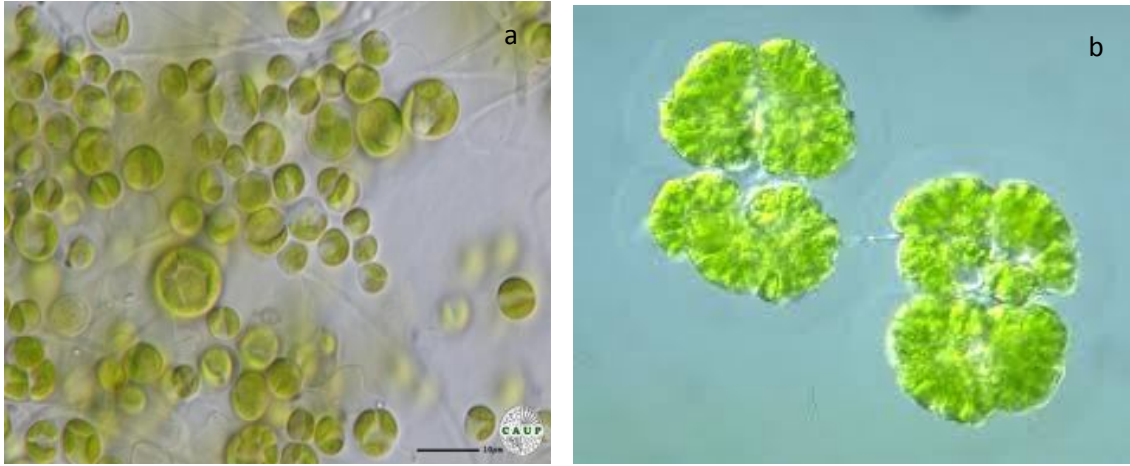
Tablo 2.1.Yapılan analizlerde kullanılan BG11 çözeltisinin içeriği

Kullanılan Kimyasallar	Miktar
NaNO ₃	15 g/L
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,004 g/L
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,075 g/L
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,036 g/L
Na ₂ CO ₃	0,02 g/L
sitrik asit	0,006 g/L
demir amonyum sitrat	0,006 g/L
EDTA	0,001 g/L
A5+Co	1 ml/L

Tablo 2.2.Yapılan analizlerde kullanılan A5+Co çözeltisi

Kullanılan Kimyasallar	Miktar(g/L)
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ .H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,222
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,079
Na ₂ MO ₄ .2H ₂ O	0,390
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,049

Alg kültürleri hacimce % 20 oranında alınarak içerisinde 100 ml BG11 besi yeri bulunan erlenmayerlere aşılandı. Alg kültürleri içeren erlenmayerler soğuk flöresan ışıkla (3000 lüks ışıklandırma şartlarında) 30 °C de çalışan ve 20 devir/dk karıştırma hızına sahip inkübatörde yerleştirilerek, çoğaltıldı. Üstsel büyüme hızını tamamlayan ve durgun faza ulaşan alg kültürleri, kolon şeklindeki havalandırmalı foto-biyoreaktörlerin aşılmasında kullanıldı. Kullanılan mikroalgler Resim 2.1 (a) ve (b)'de görülmektedir.



Resim 2.1. Çalışmada kullanılan mikroalgler; a) *C. emersonii* b) *B. braunii*

2.2. Atık Su

Deneyde kullanılan atıksu, dalgalanmaları minimize etmek için laboratuarda sentetik olarak hazırlanmıştır. Tablo 2.3'de sentetik atık suyun bileşenleri ve konsantrasyonu verilmiştir. Bu çözeltiye 1 ml/L A5+Co çözeltisi ilave edilmiştir. Çözelti 105 °C de 20 dakika sterilize edildikten sonra oda sıcaklığına getirilerek kullanılmıştır. Sentetik atıksuyun pH değeri 7,0-8,0 aralığında olup, toplam organik karbon (TOK), toplam fosfor (TP) ve amonyum azotu konsantrasyonları ise sırasıyla ortalama 78 mg/L, 3,8 mg/L ve 20 mg/L olarak bulunmuştur.

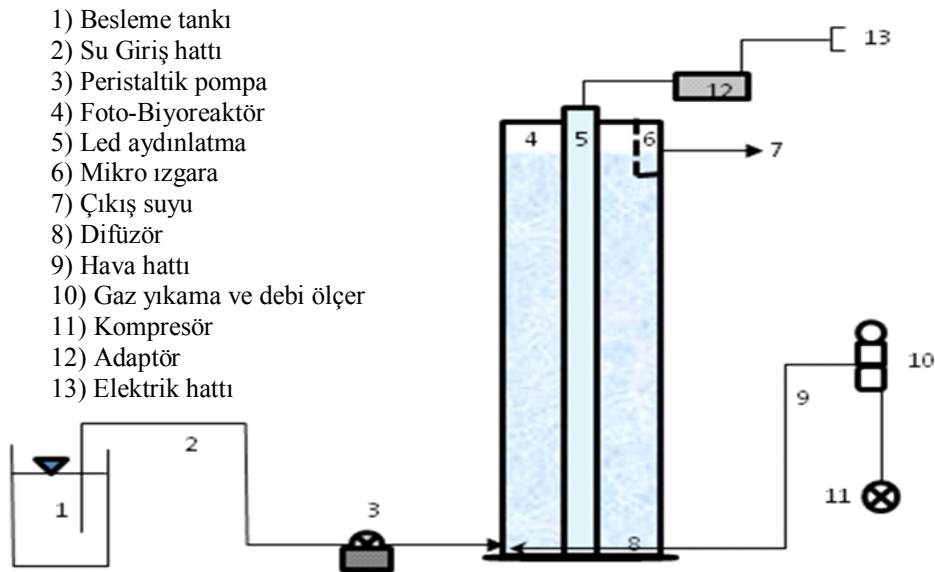
Tablo 2.3. Sentetik atık suyun bileşenleri ve konsantrasyonu

Bileşenler	Miktar (g/L)
Glikoz	0,4125
NH ₄ Cl	0,078
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,013
KH ₂ PO ₄	0,018
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,043
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0,005

2.3. Foto-biyoreaktörlerin Dizaynı ve İşletilmesi

Bu çalışma kapsamında fleksi-glas malzemeden imal edilen ve 6,0 L etkili hacme sahip, laboratuvar ölçekli 2 adet havalandırmalı boru tipi foto-biyoreaktör kullanılmıştır (Şekil 2.1). Reaktör 1, *C. emersonii* ve Reaktör 2, *B. braunii* ile işletilmiştir (Resim 2.2). Sistem bir besleme tankı, 2 adet foto-biyoreaktör, hava besleme hatları gaz akışı kontrol sistemleri (2 adet flowmeter), kontrol vanaları ve atıksu besleme hatları ile aydınlatma tertibatından oluşmaktadır. Besleme suyu kanallı bir peristaltik pompa (Watson Marlow, 205S/CA12) vasıtasıyla verilmiştir. Sisteme verilen hava laboratuvarda kurulu bulunan merkezi kompresör tarafından sağlanmıştır. Verilen hava sterilize edilmiştir. Verilen hava, algler için gerekli oksijen ile karbondioksiti sağlamak ve karışımı sürdürmek amacıyla, reaktörün birim hacmi başına hacimce 0,5 L/dakika olacak şekilde ayarlanmıştır.

Kültür ortamında çoğaltılmış olan tam karışımli algal biyokütleden 0,5 g/L (reaktörün birim hacmi başına) alınarak sterilize edilmiş olan atık suya aşılama yapılmıştır. Alg içeren foto-biyoreaktörler led aydınlatmalı soğuk ışıqla (3000 lüks ışıqlandırma şartlarında) 30 °C de ve 12 saat karanlık 12 saat aydınlık dönem uygulamasıyla işletmeye alınmıştır. Foto-biyoreaktörler, hidrolik bekleme süresi (HBS) = 1 gün olacak şekilde sürekli günlük hazırlanan atıksu ile beslenmiştir. Sistemlere atıksu besleme debisi 125 ml/saat olacak şekilde ayarlanmıştır. Sistem 13 gün süreyle işletilmiştir. Tüm deneyler iki kez yapılmış ve ortalamaları alınmıştır.



Şekil 2.1. Boru tipi foto- biyoreaktörün şematik görünümü



Resim 2.2. Kullanılan deney düzeneği

2.4. Analizler ve Analiz Yöntemleri

Örnekler foto-biyoreaktörlerden günlük olarak alındı. Alg hücrelerinin spektrofotometrede optimize edilen şartlarda absorbanları ölçüldü ve bu değerler günlük hücre yoğunluğu olarak hesaplandı. Şekil 2.2 (a) ve (b) de alg türleri kuru ağırlıkları ile absorban değerleri arasındaki doğrusal ilişki verildi. Şekil 2.2 de görülen denklemlerden;

C. emersonii için, Kuru ağırlık (g/L) = $0,5452 \times A_{658} + 0,0027$ $R^2=0,9929$ ve

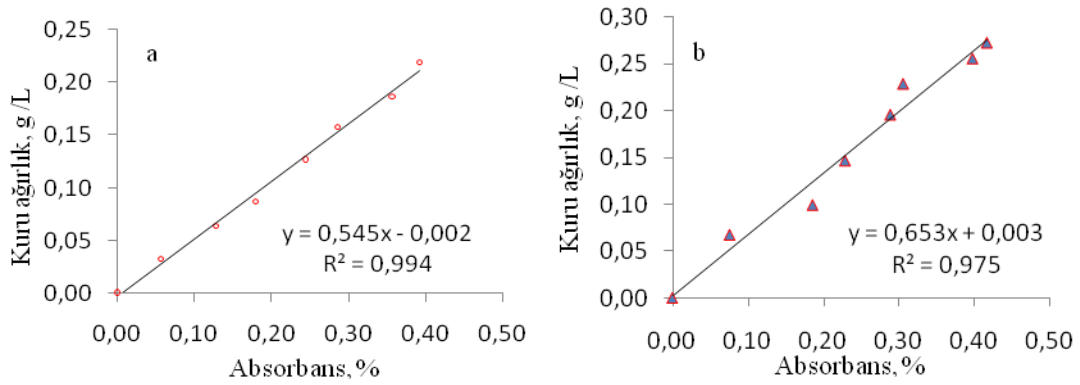
B.braunii için, Kuru ağırlık (g/L) = $0,6538 \times A_{658} - 0,00032$ $R^2=0,9751$

olarak bulunmuştur.

Reaktör çıkışından alınan numunelerde, TOK, TP ve $\text{NH}_4^+\text{-N}$ konsantrasyonlarını belirlemek için örnekler 10 dakika süre ile 10000 devir/dk hızda santrifüjlendi. Çalışma süresince TP (Kit no: 14543) konsantrasyonu test kitleri kullanılarak spektrofotometre ile belirlendi. Çalışmada pH ve sıcaklık değerleri multi parametre cihazı (Metler Toledo – Seven Multi) ile ölçüldü. Çözünmüş oksijen değerleri Oxi 3301 Set (WTW) cihazı ile ölçüldü. TOK tayini için TOC – VCPN kullanıldı. Çalışma süresince kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır. Bu çalışmada sistemin girişi, çıkışı ve foto-

biyoreaktörlerden alınan numunelerde Tablo 2.4’ te belirtilen analizler yapıldı. TOC analizi için kullanılan numuneler Resim 2.3 ‘ te gösterilmiştir.

Sürekli çalışan biyoreaktörde kesikli biyoreaktörde yapılan kontrolden daha yüksek derecede kontrol sağlandığından ve biyokütle konsantrasyonu değişen seyreltme oranları ile kontrol edilebildiğinden (Williams, 2002) sistem sürekli beslemeli olarak işletilmiştir.



Şekil 2.2. a) *C. emersonii* b) *B. braunii* için A_{658} nm de absorbans ile alg kütlesi kuru ağırlığı ilişkisi.

Tablo 2.4. Foto-biyoreaktörde rutin olarak izlenmiş olan parametreler

Reaktöre beslenen suda	Debi (L/gün), TOK, TP, amonyum azotu , pH.
Reaktörde	Klorofil a, hücre yoğunluğu, TOK, TP, amonyum azotu, pH, Sıcaklık.
Çıkış suyunda	TOK, TP, amonyum azotu ve pH



Resim 2.3. TOC analizi için kullanılan numuneler.

2.4.1. Klorofil A Tayini

Kültürlerin bulunmuş olduğu sentetik atık su ile beslenen iki reaktörden 10 ml numune alınıp tüplere konulmuştur. Tüpler 3000 rpm de 25 °C sıcaklıkta ve 1 dk süresince santrifüj edilmiştir. Tüplerin üzerinde kalan fazla su alınmış olup tüpe 5 ml % 100 aseton konulmuştur. Standard metotlara göre (APHA, AWWA and WPCF, 1989) hazırlanan örneklerin absorbansları 664, 647 ve 630 nm dalga boyunda UV spektrofotometre kullanılarak belirlenmiş ve aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (Toyub vd., 2008);

$$\text{Korofil A (mg/l)} = 11.85 (A_{664}) - 1.54 (A_{647}) - 0.08 (A_{630})$$

2.4.2. Toplam Lipit Tayini

Alg hücreleri hasat edildikten sonra 4 °C de 10 dakika süre ile 10000 devir/dk hızda santrifüjlenmiştir. Üstteki duru sıvı boşaltılıp, hücre peletleri deiyonize su ile yıkanıp 80 °C de kurutulmuştur. Alg hücreleri içerisinde bulunan toplam lipidlerin ekstraksiyonu ve miktarını belirlemek için aşağıdaki işlemler yapılmıştır (Cristie, 1990; Kates, 1988; Saatci vd., 2003);

1. 50 mg alg biyokütlesi örneğine 10 ml metanol ilave edilerek 1 dakika süre ile karışım homojenleştirilmiştir.

2. Bu karışıma 20 ml kloroform ilave edilerek 2 dakika bekletilmiştir.

3. Karışım bir Buchner hunisinden Nuçe erlenine çift kat mavi bant filtre kağıdı kullanılarak hafif vakum altında süzümüştür..

4. Filtre kağıdı tam olarak kurumadan (2:1 v/v) 20 ml kloroform- metanol karışımı ile yıkanmıştır.

5. Süzme işleminden sonra, toplam süzüntü 100 ml lik ayırma hunisine alındı. Erlen içerisinde kalan bulaşmalar 10 ml kloroform-metanol (2:1 v/v) ile yıkanarak ayırma hunisine aktarılmıştır.

6. Ayırma hunisi içerisindeki lipit ekstraktının % 25'i kadarına % 0.088 lik potasyum klorür çözeltisi ilave edilerek iyice karıştırıldı. Berrak iki fazın ayrılması için 12 saat dinlendirmeye bırakılmıştır.

7. Alttaki kloroform fazının bulanık olması durumunda, ekstakt tekrar (1:1 v/v) metanol + % 0.88 lik potasyum klorür çözeltisi ile yıkanıp ve 12 saat bekletilmiştir.

8. Alttaki kloroform fazı temiz 100 ml'lik rodajlı bir erlene alınarak susuz sodyum sülfat ile muamele edildi. Böylece eser miktardaki su uzaklaştırılmıştır.

9. Tamamıyla saf lipit bileşenlerden ibaret olan kloroform fazı bir cam huniden Whatman No:1 filtre kâğıdı ile süzölmüştür.

10. Daha sonra kloroform fazı 40 °C de hafif vakum altında kuruluğa kadar buharlaştırılıp hacmi taze kloroform ile 50 ml ye tamamlanarak, 50 ml lik balon jojeler ile gerekli analizler yapılana kadar -25 °C de muhafaza edilmiştir. Deney düzeneği aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Resim 2.4).

Toplam lipit miktarını belirlemek için 50 ml hacimdeki lipit ekstraktından 20 ml alınarak, darası alınmış alüminyum tartı kabına (Mettler) konuldu ve çözücüsü azot akımı altında tamamen uçuruldu. Daha sonra içerisinde fosfor pentaoksit (P₂O₅) bulunan desikatör içerisinde 1 saat süre ile bekletilerek sabit tartıma getirildi. Sabit tartıma gelen alüminyum kaplar hassas terazide tartılarak ve kabın darası çıkartılarak 20 ml çözücüdeki lipit miktarı miligram olarak belirlendi. Daha sonra litre atık sudaki toplam lipit miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Toplam lipit, mg/L} = (50 \times A / 20) \times 1000 / 100 \text{ veya,}$$

$$\text{Toplam lipit, mg/L} = 25 \times A$$



Resim 2.4. Mikroalglerin lipid içeriğinin belirlendiği deney düzeneği.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

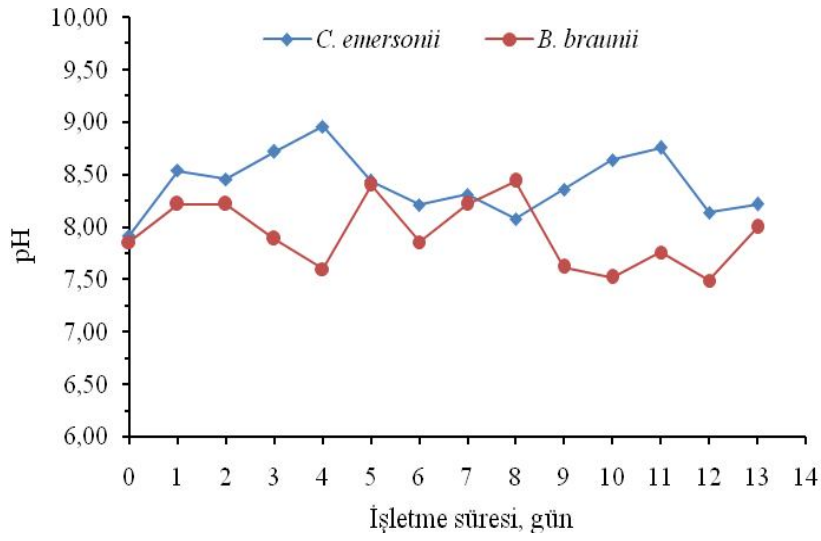
3.1. pH

Çalışmanın ilk aşamasında besi yerlerinde çoğaltılmış olan algler foto-biyoreaktörde sentetik atık suya aşılanarak işletmeye alınmıştır. İşletme süresince pH, hücre yoğunluğu, klorofil a, biyokütlede toplam lipit ve alglerin % lipit içerikleri izlenmiştir. *C.emersonii* ve *B.braunii* türü mikro algler için 13 gün işletme periyodu uygulanmış ve analizler üçer defa yapıp ortalamaları alınmıştır. Sentetik atıksularla yapılan çalışmalar süresince, her iki alg türü için foto-biyoreaktördeki pH değişimleri Tablo 3.1’de sunulmuştur.

Tablo 3.1. Sentetik atıksularla yapılan çalışmalarda işletme süresince pH değişimi.

Günler	<i>C. emersonii</i>	<i>B. braunii</i>
0	7.92	7.86
1	8.54	8.22
2	8.46	8.22
3	8.72	7.89
4	8.96	7.6
5	8.44	8.4
6	8.21	7.86
7	8.31	8.22
8	8.08	8.44
9	8.36	7.62
10	8.64	7.52
11	8.76	7.76
12	8.14	7.49
13	8.22	8.00

Sentetik atıksularla yapılan çalışmalarda başlangıç pH değerleri 7,92-7,86 iken çalışma süresince 7,49-8,44aralığında seyretmiştir (Şekil 3.1). *C.emersonii* ve *B.braunii* türü mikro algler için pH değişimleri incelendiğinde, pH değişimini alg türünden ziyade reaktör şartlarının etkilediği söylenebilir.



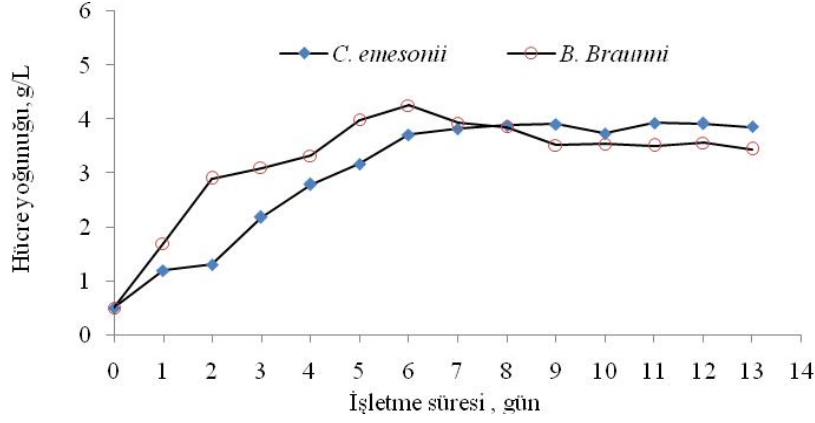
Şekil 3.1. Sentetik atıksularla yapılan çalışmalarda işletme süresince pH değişimi.

3.2. Mikroalglerin Büyüme Hızı, Klorofil a ve Lipit İçeriklerinin Belirlenmesi

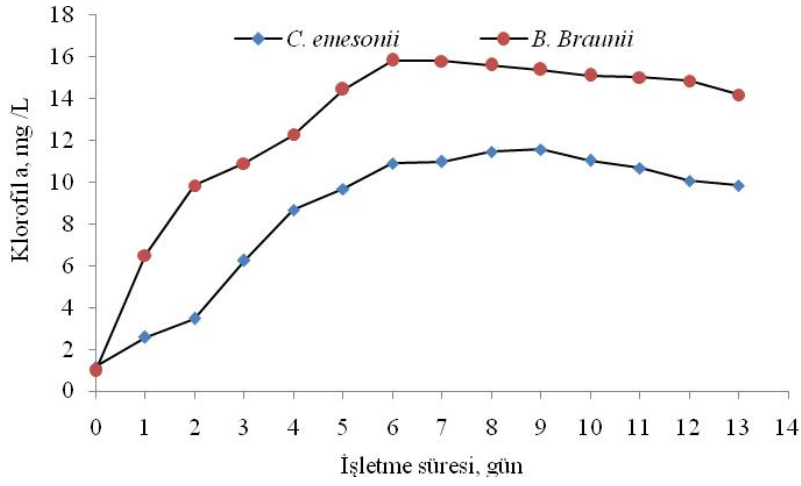
C. emersonii ve *B. braunii* türü mikro alglerin algal büyüme hızı ile klorofil a konsantrasyonunu belirlemek için alınan günlük alg numunelerinde, hücre yoğunluğu ve buna bağlı olarak klorofil a içerikleri Tablo 3.2. de sunulmuştur.

Tablo 3.2. İşletme süresince hücre yoğunluğu ve klorofil a değişimi.

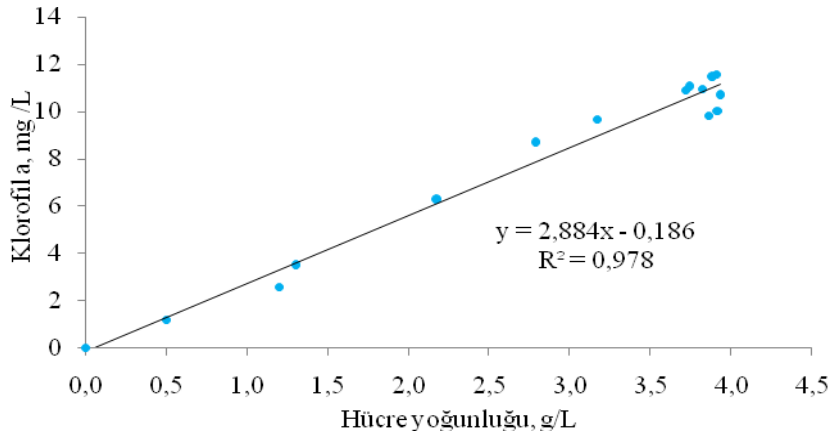
Gün	<i>C. emersonii</i>		<i>B. braunii</i>	
	Hücre yoğunluğu, g/L	Klorofil a, mg/L	Hücre yoğunluğu, g/L	Klorofil a, mg/L
0	0.5	1.16	0.5	0.96
1	1.2	2.57	1.7	6.48
2	1.3	3.46	2.9	9.82
3	2.18	6.24	3.1	10.88
4	2.79	8.66	3.32	12.26
5	3.17	9.67	3.99	14.41
6	3.72	10.89	4.26	15.81
7	3.82	10.96	3.93	15.78
8	3.89	11.44	3.86	15.59
9	3.91	11.56	3.52	15.36
10	3.74	11.02	3.54	15.08
11	3.93	10.66	3.51	15.01
12	3.92	10.04	3.56	14.83
13	3.86	9.82	3.44	14.16



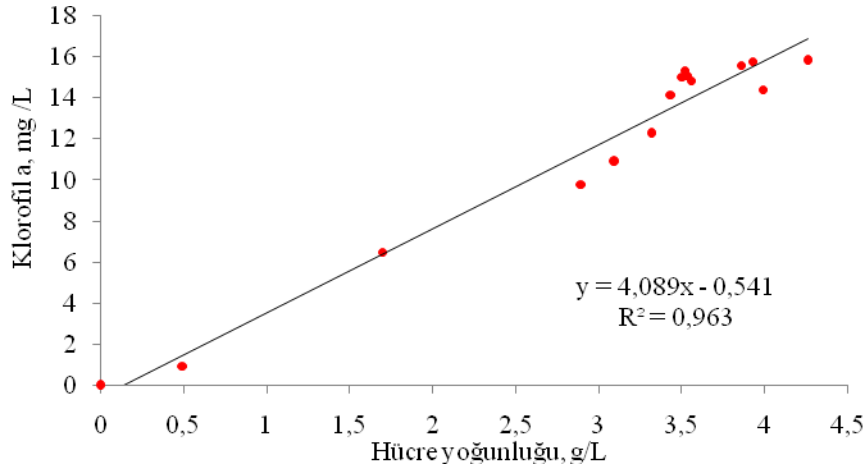
Şekil 3.2. İşletme süresince hücre yoğunluğu değişimi.



Şekil 3.3. İşletme süresince klorofil a değişimi.



Şekil 3.4. *C. emersonii* için hücre yoğunluğu ile Klorofil a ilişkisi.



Şekil 3.5. *B. braunii* için hücre yoğunluğu ile Klorofil a ilişkisi.

Sentetik atıksularla yapılan çalışmalarda işletme süresince hasat edilen alglerin toplam lipit içerikleri belirlenmiş ve kuru ağırlık başına lipit yüzdeleri hesaplanmıştır. Aynı zamanda birim hacim başına elde edilen toplam lipit miktarları tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.3 de görülmektedir.

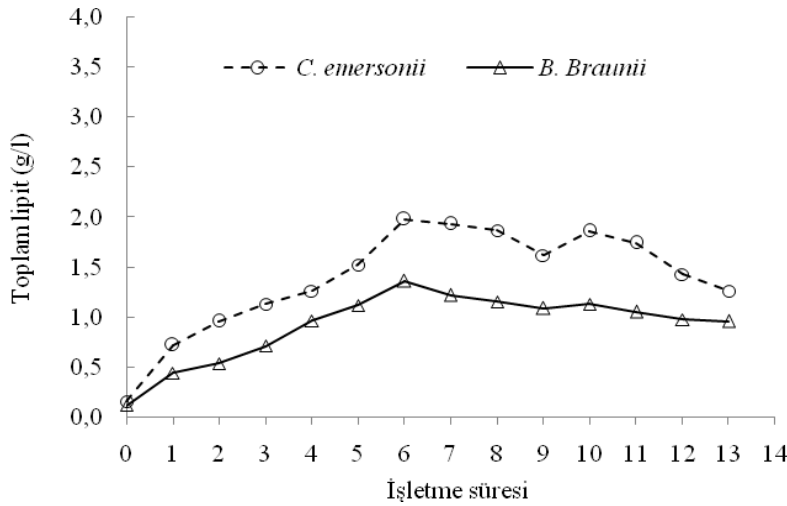
Tablo 3.3. Toplam lipit ve kuru ağırlık başına % lipit değişimleri.

Gün	<i>C. emersonii</i>		<i>B. braunii</i>	
	T. Lipit, g/L	%	T. Lipit, g/L	%
0	0.16	32.00	0.12	24.00
1	0.72	42.35	0.44	36.83
2	0.96	33.10	0.54	41.62
3	1.13	36.57	0.71	32.71
4	1.26	38.02	0.96	34.51
5	1.52	38.14	1.12	35.24
6	1.98	46.48	1.36	36.65
7	1.93	49.11	1.22	31.89
8	1.87	48.45	1.16	29.77
9	1.62	46.02	1.09	27.91
10	1.86	52.54	1.13	30.29
11	1.74	49.57	1.05	26.79
12	1.43	40.17	0.98	25.00
13	1.26	36.63	0.96	24.87

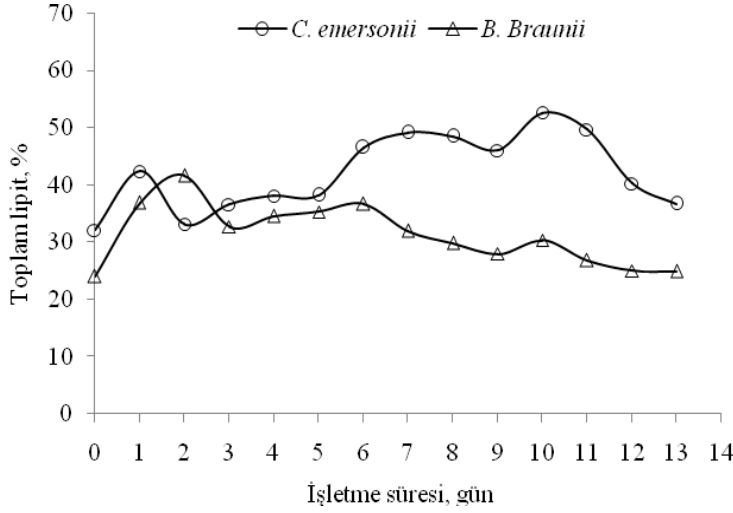
Bulgularımıza göre, çalışmamızın ilk günlerinde mikroalglerin lipit konsantrasyonları 0,16-0,12 g/L ile başlayıp ilk 5 günde 1,52-1,12 g/L ye kadar yükselmiştir. Bu durum bize reaktördeki hücre yoğunluğunun artışına paralel olarak lipit konsantrasyonunun da arttığını gösterir. Ortalama 5-10. günlerde lipit konsantrasyonları her iki alg türü için de artmış ancak daha sonra bir azalma görülmüştür. Bu durum, uzun işletme dönemlerinde reaktörde hücre yoğunluğunun artışının yavaşlaması ve dolayısıyla birim hacimden elde edilebilecek lipit konsantrasyonunun da benzer şekilde gerçekleştiğini gösterir.

İşletme periyodunda 5. gününün üzerindeki uzun işletme dönemlerinde reaktörün birim hacmi başına üretilen lipit miktarları kararlı halde sürdürülmesine karşın, mikroalglerin kuru ağırlıkça lipit yüzdeleri farklılıklar göstermiştir. Başlangıçta *C.emersonii* ve *B.braunii* için kuru ağırlıkça % lipit içerikleri sırasıyla % 32 ve % 24 iken, 5. günün sonunda bu değerler sırasıyla ortalama % 38 ve % 35 değerlerine kadar yükselmiştir. Daha sonraki dönemlerde ise lipit içerikleri *C.emersonii* ve *B.braunii* için sırasıyla % 36-52 ve % 24-36 oranlarında belirlenmiştir.

Sentetik atıksularla yapılan çalışmalarda *C.emersonii* ve *B.braunii* için elde edilen lipit konsantrasyonları ile hücre yoğunluğuna bağlı lipit yüzdeleri Şekil 3.6 ile Şekil 3.7 de görülmektedir.



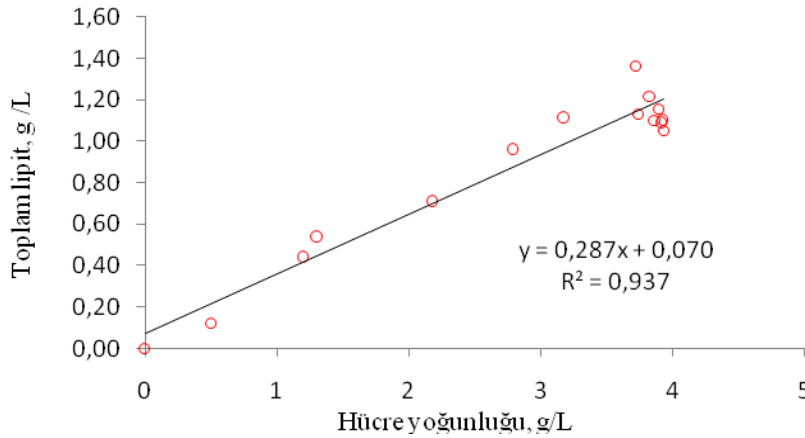
Şekil 3.6. İşletme süresince yapılan çalışmalarda elde edilen lipit konsantrasyonları.



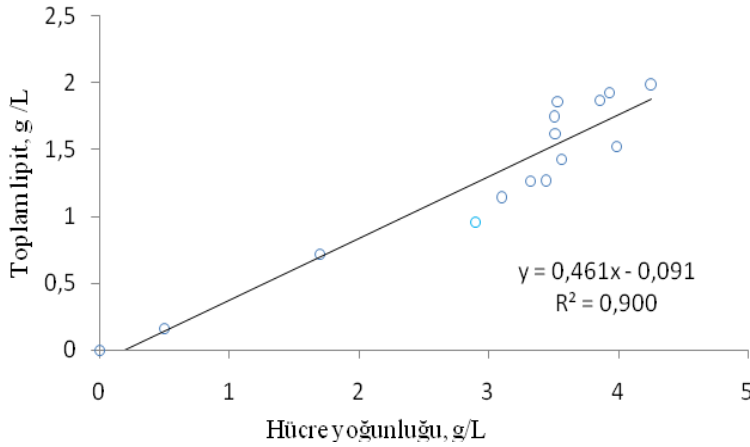
Şekil 3.7. Hücre kuru ağırlığına bağlı olarak elde edilen lipit yüzdeleri.

Her iki şekilden de görüleceği üzere sistemde üretilen toplam lipit ve mikroalg hücresi içeriğindeki lipit yüzdesi açısından *C.emersonii* türü mikroalglerin bariz şekilde üstünlüğü bulunmuştur. Bu sonuçlardan *B.braunii* 'un daha iyi büyüme gösterdiği, *C.emersonii* türü mikroalglerin ise daha yüksek oranda lipit içerdiği söylenebilir. Her iki mikroalg türü, foto-biyoreaktördeki hücre yoğunluğunun yüksek düzeylere ulaşmasından sonra lipit içeriklerini artırmıştır. Bu durum yüksek biyokütle yoğunluğunun alglerin lipit biriktirme kapasitesini artırdığı şeklinde yorumlanabilir.

Çalışma süresince elde edilen bulgulardan, üretilen günlük biyokütleyle bağlı olarak mikroalglerin lipit içeriği ilişkisi araştırılmış ve sonuçlar Şekil 3.8 ve Şekil 3.9 da verilmiştir.



Şekil 3.8. *C.emersonii* için hücre yoğunluğu ile toplam lipit üretimi ilişkisi.



Şekil 3.9. *B.braunii* için hücre yoğunluğu ile toplam lipit üretimi ilişkisi.

C. emersonii türü mikroalglerin hücre yoğunluğu ile birim hacimden üretilebilecek toplam lipit miktarı arasında doğrusal bir ilişkinin ($y=0,2877x-0,0702$) bulunduğu ve aralarında düşük düzeyde bir kolerasyon olduğu ($R = 0,968$) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.8). Bu durumda üretilen her g/L hücre *C. emersonii* kuru ağırlığı başına ortalama olarak 0,36 g lipit üretilebilmektedir. *B.braunii* türü mikroalgler de ise bu ilişki ($y=0,4614x-0,0917$) şeklinde daha iyi bir kolerasyon ($R = 0,949$) bulunmuştur (Şekil 3.9). Yukarıdaki denklemlere göre, üretilen her g/L hücre *B.braunii* ağırlığı başına ortalama olarak 0,55 g lipit üretilebilmektedir.

3.3. Nutrient Uzaklaştırma Verimi

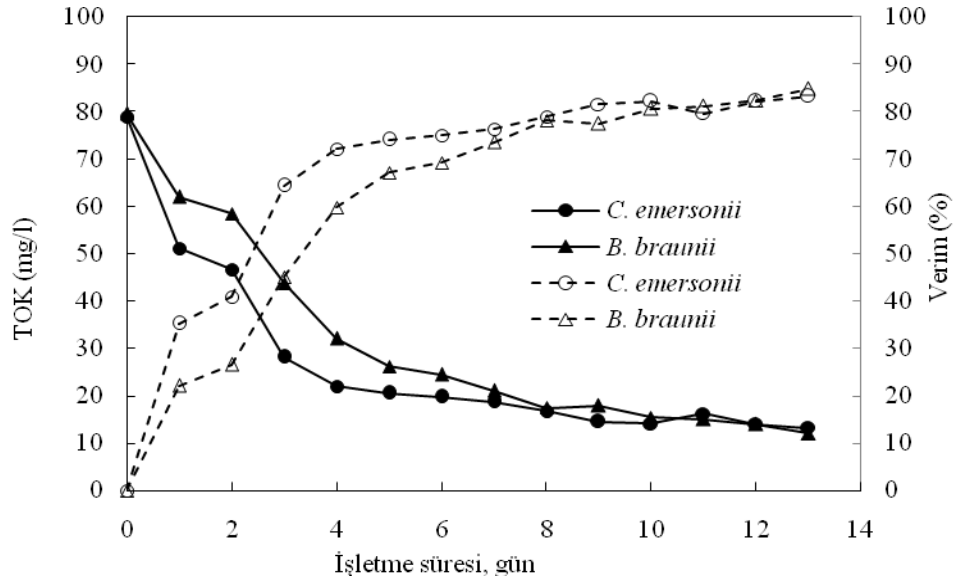
Sentetik atıksularla yapılan çalışmalarda foto-biyoreaktörde organik madde ve bitki besin maddelerinin giderimi incelenmiştir. Bu kapsamda *C. emersonii* ve *B.braunii* türü mikroalglerin toplam organik karbon (TOK), toplam fosfor (TP) ve amonyum azotu (NH_4^+-N) uzaklaştırma verimleri günlük olarak izlenmiştir.

3.3.1. TOK Giderimi

C. emersonii ve *B.braunii* türü mikroalglerin bulunduğu reaktörlerde başlangıç TOK konsantrasyonu 78,84 mg/L olacak şekilde sentetik atıksu ile sistem işletmeye alınmıştır. Her iki mikroalg türü için TOK konsantrasyonlarının günlük değişimi ile TOK verimleri Tablo 3.4 ile Şekil 3.10'da verilmiştir.

Tablo 3.4. Sentetik atıksularla yapılan çalışmalarda TOK konsantrasyonları ve verimleri.

Gün	<i>C. emersonii</i>		<i>B. braunii</i>	
	Kons., mg/L	Verim, %	Kons., mg/L	Verim, %
0	78.92	0	79.61	0
1	51.11	35.24	61.99	22.13
2	46.65	40.89	58.45	26.58
3	28.14	64.34	43.77	45.02
4	22.02	72.10	32.05	59.74
5	20.51	74.01	26.22	67.06
6	19.76	74.96	24.49	69.24
7	18.72	76.28	21.03	73.58
8	16.68	78.86	17.44	78.09
9	14.53	81.59	17.92	77.49
10	14.06	82.18	15.44	80.61
11	16.15	79.54	15.05	81.10
12	14.04	82.21	14.02	82.39
13	13.25	83.21	12.06	84.85



Şekil 3.10. İşletme süresince TOK konsantrasyonu ve verimleri.

Elde edilen bulgulara göre çalışma süresince, her iki mikroalgın hücre yoğunluğu artışına paralel olarak önemli oranda TOK giderimi sağladıkları tespit edildi. Çalışma başlangıcının ilk birkaç günü TOK giderimi yüksek düzeyde gerçekleşmemiştir. Başlangıçta iki alg türü için sırasıyla % 36-22 iken bu değerler 5. günün sonunda %74-67

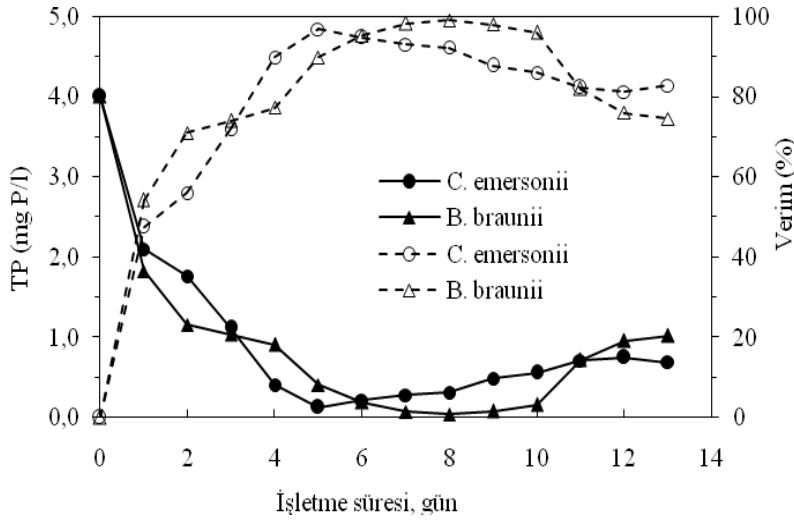
ye kadar yükselmiştir. TOK verimi sürekli artış göstermiştir. Bu durum reaktörlerde hücre yoğunluğu konsantrasyonunun yeterli olmamasından kaynaklanmış olabilir. Kararlı işletme (5-13. günler) şartlarında oldukça yüksek verimler elde edilmiştir. *C. emersonii* türü mikroalgler, *B.braunii* türü mikroalglerle göre daha iyi TOK verimi sağlamışlardır. Her iki alg türü için 5. günden sonra TOK verimleri sırasıyla % 74-83 ve % 67-84 oranlarında gerçekleşmiştir.

3.3.2. Toplam Fosfor (TP) Giderimi

Foto-biyoreaktörlerin çıkışından günlük olarak alınan numunelerde alg türlerinin fosfor giderme verimleri belirlenmiştir. Çalışma süresince sentetik atık suyun fosfor konsantrasyonu 4 mg/L olacak şekilde sabit tutulmuştur. Çıkış sularından alınan numunelerin fosfor konsantrasyonları ile her iki alg türünün fosfor giderim verimleri Tablo 3.5 ile Şekil 3.11’de toplu olarak verilmiştir.

Tablo 3.5. İşletme süresince TP giderimi ve giderim verimleri.

Gün	<i>C. emersonii</i>		<i>B. braunii</i>	
	Kons., mg/L	Verim, %	Kons., mg/L	Verim, %
0	4	0.00	4	0
1	2.1	47.50	1.83	54.25
2	1.76	56.00	1.16	71.00
3	1.12	72.00	1.04	74.00
4	0.41	89.75	0.91	77.25
5	0.13	96.75	0.41	89.75
6	0.213	94.68	0.19	95.25
7	0.28	93.00	0.07	98.25
8	0.31	92.25	0.04	99.00
9	0.49	87.75	0.08	98.00
10	0.56	86.00	0.16	96.00
11	0.71	82.25	0.72	82.00
12	0.75	81.25	0.96	76.00
13	0.69	82.75	1.02	74.50



Şekil 3.11. İşletme süresince TP konsantrasyonundaki değişim ve verimler.

İşletme safhasının ilk 5 gününde fosfor giderimi her iki alg türünde de kademeli olarak artış göstermiştir. Başlangıçta *C. emersonii* ni % 47 , *B.braunii* ise % 54' lük bir TP giderim verimi sağlamıştır. 5. günden itibaren istenilen düzeye ulaşmıştır. Kararlı işletme şartlarında (5-13. gün aralığında) *C. emersonii* ve *B.braunii* türü mikro alglerin toplam fosfor (TP) verimi sırasıyla % 81-96 ve % 74-99 aralığında gerçekleşmiştir.

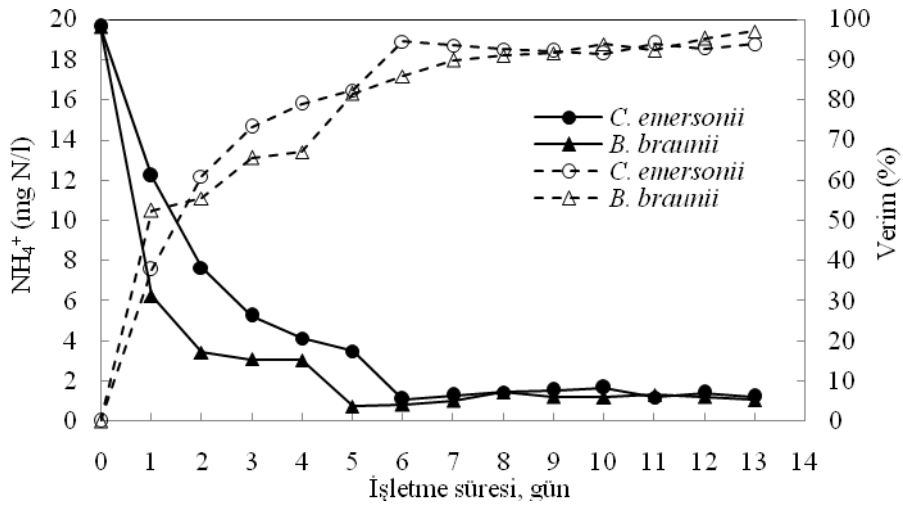
İlk 5 günlük işletme süresince hücre gelişimine paralel olarak düşük oranlarda TP giderimi sağlanmış ve *B.braunii* türü mikro alglerin klorofil a değerlerine paralel olarak daha iyi fosfor giderimi sağladığı görülmektedir. Ancak, fosfor giderme verimi açısından bu kapsamda *C. emersonii* ile *B.braunii* türü mikro alglerin benzerlik göstermiştir. Aynı zamanda fosforun uzaklaştırma veriminin sistemdeki biyokütle artışıyla paralel gerçekleştiği görülmektedir.

3.3.3. Amonyum Azotu ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) Giderimi

Sentetik atıksularla yapılan çalışmalarda işletme süresince $\text{NH}_4^+\text{-N}$ giderimi ve verimleri Tablo 3.7 ile Şekil 3.13'de görülmektedir. Amonyum azotu giderme verimi de toplam fosfor gibi başlangıçtaki düşük biyokütle nedeniyle düşük düzeyde gerçekleşmiştir.

Tablo 3.6. İşletme süresince NH_4^+ -N giderimi ve verimleri.

Gün	<i>C. emersonii</i>		<i>B. braunii</i>	
	Kons., mg/L	Verim, %	Kons., mg/L	Verim, %
0	19.64	0	19.64	0
1	12.22	37.78	6.25	52.50
2	7.66	61.00	3.42	55.50
3	5.25	73.27	3.09	65.50
4	4.12	79.02	3.06	66.95
5	3.48	82.28	0.75	81.55
6	1.09	94.45	0.84	85.80
7	1.28	93.48	1.02	89.90
8	1.46	92.57	1.46	91.05
9	1.55	92.11	1.22	91.70
10	1.67	91.50	1.19	93.90
11	1.18	93.99	1.33	92.30
12	1.42	92.77	1.21	95.25
13	1.21	93.84	1.06	97.00



Şekil 3.12. İşletme süresince NH_4^+ -N konsantrasyonundaki değişim.

İşletme aşamasının başlangıcında *C. emersonii* % 37, *B. braunii* % 52' lik bir NH_4^+ -N giderim verimi sağlamışlardır. Çalışmanın 5. gününden itibaren beklenen verimler elde edilmiştir. *C. emersonii* ve *B. braunii* türü mikro alglerin uygun hücre yoğunluklarında amonyum azotu giderme verimleri sırasıyla % 82-94 ve % 81-97 oranında gerçekleşmiştir. Amonyum azotu giderme verimleri açısından her iki alg türü arasında önemli bir farkın olmadığı söylenebilir.

4. SONUÇLAR

Lipit içeren *C. emersonii* ve *B. braunii* türü mikro alglerin atık suların ileri arıtımında kullanılabilirliği ve biyogaz üretim potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmada, 13 günlük bir çalışma periyodu kullanılmıştır. Besi yerlerinde çoğaltılmış olan algler, foto-biyoreaktörde sentetik atık suya aşılanarak sistem işletmeye alınmıştır

Çalışmamızda, başlangıç pH değerleri 7,92-7,86 iken çalışma süresince 7,49-8,44 aralığında seyretmiştir. *C. emersonii* ve *B. braunii* türü mikro algler için pH değişimleri incelendiğinde, pH değişimi arasında önemli farklar görülmemiştir. Chojnacka (2004)'ya göre mikroalgler, metabolizma ile ilgili büyüme stokiyometrisine bağlı olarak değişen pH'a göre de ayırt edilebilmektedirler. Williams (2002) ise sadece organik karbon veya substrat, vitaminler, tuzlar ve besinler algleri büyütmek için değil, aynı zamanda oksijen, CO₂, pH, sıcaklık, ışık şiddeti gibi işletme parametreleri arasındaki dengelerin alg gelişiminde etkili olduklarını vurgulamıştır. Coutteau (1996), her türün spesifik bir pH aralığında üreyebileceğini ve bir çok alg kültürünün pH 7-9 aralığında gelişim gösterdiğini belirtmektedir. Ancak, optimum parametreler ve tolerans aralıkları türe özgü olduğunu savunmuştur. Çalışmalarda oluşturulan ortam koşulunda uygun değer olan parametre, başka bir ortam için optimum olmayabilir. Aynı araştırmacı uygun pH aralığının ise 8,2-8,7 arasında değiştiğini, çok yoğun olan kültürlerde zamanla pH artışı meydana gelebileceğini ve bu sorunun kültürün havalandırılmasıyla aşılabileceğini belirtmektedir. Yaptığımız çalışma da benzer pH aralığında gerçekleşmiştir.

Sentetik atıksularla yapılan çalışmalarımızda, her iki türün ilk 5 günlük süreçte hızlı bir büyüme gerçekleştirdiği, 6-8. günlerde büyüme hızının yavaşladığı, 9-13. günlerde ise büyüme hızının azaldığı tespit edilmiştir. *C.emersonii* ve *B.braunii* türü mikro alglerin işletme süresince hücre yoğunlukları karşılaştırıldığında, *B.braunii* türü mikroalglerin başlangıç periyodunda daha hızlı geliştiği görülmektedir.

Bulgularımıza göre, her iki alg türünün 0,5 g/L'lik hücre yoğunluğundaki ortalama klorofil a konsantrasyonları 2-11 mg/L, 6-15mg/L olarak tespit edilmiştir. Çalışma süresince *B.brauni* türü mikroalglerin klorofil a konsantrasyonunun *C. emersonii* türü mikroalglerden daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda *C.emersonii* ve *B.braunii* için lipit içeriği sırasıyla % 36-52 ve % 24-36 oranlarında belirlenmiştir. Weldy ve Huesemann (2007), ise çalışmalarında *D. salina*'yı kullanarak ,iki farklı ışık yoğunluğunda ve N sınırlaması yaparak foto-biyoreaktör

sistemde kültüre alıp; lipit oranının değişimine bakmışlardır. Yüksek ışık ve N eksilmesinin olduğu kültürde büyüme fazının başında %16 olan lipit oranının durgunluk fazının başında %44'e yükseldiğini ve sadece yüksek ışık altında bu oranın %38'lerde kaldığını bildirmişlerdir. Converti ve ark. (2009), biyodizel üretimi için *N. oculata* ve *C. vulgaris*'i farklı N konsantrasyonları ve farklı sıcaklıklarda kültüre alarak yaptıkları çalışmada, *N. oculata*'da sıcaklığı 20°C'den 25°C'ye yükselttiklerinde lipit oranının %7,9'dan %14,92'ye arttığını ve *C. vulgaris*'de sıcaklığı 25°C'den 30°C'ye yükselttiklerinde ise lipit oranının %14,71'den %5,9'a düştüğünü belirtmişlerdir. Biz çalışmamızda daha yüksek değerlere ulaştık.

C. emersonii ve *B. braunii* türü mikroalglerin bulunduğu reaktörler başlangıç TOK konsantrasyonu 78,84 mg/L olacak şekilde sentetik atıksu ile sistem işletmeye alınmıştır. Sentetik atık sularla yapılan çalışmalar süresince, her iki mikroalgin biyomas artışına paralel olarak önemli oranda TOK giderimi sağladıkları tespit edilmiştir. *C. emersonii* ile *B. braunii* türü mikroalglerin benzer TOK giderimi sağladığı tespit edilmiştir. Her iki alg türü için TOK verimleri sırasıyla % 74-83 ve % 67-84 oranlarında gerçekleşmiştir.

Çalışmamızda giriş fosfor konsantrasyonu 4 mg/L olacak şekilde sabit tutulmuştur. Kararlı işletme şartlarında (6-13. gün aralığında) *C. emersonii* ve *B. braunii* türü mikroalglerin toplam fosfor (TP) verimi sırasıyla % 81-96 ve % 74-99 aralığında gerçekleşmiştir. Fosfor giderme verimi açısından da *C. emersonii* ve *B. braunii* türü mikroalgler benzerlik göstermiştir. Literatürde, Aslan ve Kapdan (2006) yaptıkları çalışmada su ortamından azot ve fosforu arıtmak için *C. vulgaris* kullanmış, azot için % 72 ve fosfor için % 28 giderme verimi elde etmişlerdir (8 mg/ L NH_4^+ 'den 3 mg/L NH_4^+ 'e ve 1,5-3,5 mg/ L PO_4). *C. emersonii* ve *B. braunii* ile yapılan bu çalışmamızda daha iyi TP giderim verimleri elde edilmiştir.

Aynı zamanda işletme süresince NH_4^+ -N verimleri de toplam fosfor gibi başlangıçtaki düşük biyokütle nedeniyle düşük düzeyde gerçekleşmiştir. İşletme aşamasının 5. gününden itibaren beklenen verimlere ulaşılmıştır. *C. emersonii* ve *B. braunii* türü mikroalglerin uygun hücre yoğunluklarında amonyum azotu giderme verimleri ise sırasıyla % 82-94 ve % 81-97 oranında gerçekleşmiştir. Bu güne kadar yapılan bu tip çalışmalarda; evsel atık su arıtma tesisinin ikincil arıtımından çıkan su alg yetiştirme besiyeri olarak kullanılmış ve *B. braunii*'nin bu sularda azot gideriminde etkili olduğu ve büyümesini sürdürdüğü açıklanmıştır (Sawayama vd, 1992). Sonuçlarımız da bunu doğrulamıştır.

Sonuç olarak, *C. emersonii* ve *B.braunii* türü mikro algler ile yapılan foto-biyorektr çalışmalarında çok yüksek oranlarda TOK, amonyum azotu ve fosfor verimleri sağlanmıştır. Hasat edilen alglerden kuru ağrılıklarının % 26-52'si kadar lipit elde edilmiştir. Bu alg türlerinin kullanımı ile hem atık suların ileri arıtımı gerçekleştirilmiş ve hem de biyodizel üretimi için uygun miktarlarda lipit elde edilmiştir. İleri çalışmalarda baca gazları karbondioksit kaynağı olarak kullanılabilir. Böylece hava kirliliğine sebep olan karbondioksit elimine edilebildiği gibi, su kalitesi değişimlerine neden olan azot ve fosfor alg biyokütlesine dönüştürülebilir. Lipit içeren alglerin kullanılması halinde bu alglerden biyodizel üretiminde faydalanılabilir. Ancak elde edilen lipitlerin yağ asitleri bileşimi ve miktarların tespiti ve biyodizel üretimine uygunluğu araştırılmalıdır. Ayrıca hasat edilen biyokütle, tek hücre proteini olarak kullanılabilirliği de incelenmelidir. Böylece hem atık minimizasyonu sağlanacak hem de alg üretiminden ticari bir kazanç elde edilebilecektir.

KAYNAKLAR

- Alptekin, E., Çanakcı, M.,** (2008). “Farklı Hammaddelerden Üretilen Metil Ester Ve Gliserinin Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi”, *J. Fac. Eng. Arch. Gazi Univ.*, 23(3):549-556.
- Altun, Ş., Öner, C.,** (2008). “Hayvansal İç Yağlardan Transesterifikasyon Reaksiyonu İle Biyodizel Üretilmesi”, *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, 116-120.
- Aslan S., Kapdan I.K.,** (2006). Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*; 28(1): 64–70.
- Babu B.V.,** (2008). Biomass pyrolysis: a state-of-the-art review. *Biofuels Bioproducts Biorefinin*; 2(5):393–414.
- Bahadur N.P., Boocock D.G.B., Konar S.K.,** (1995). Liquid hydrocarbons from catalytic pyrolysis of sewage sludge lipid and canola oil: evaluation of fuel properties. *Energy Fuels*; 9:248–56.
- Becker, E.W.,** (1994). *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press, p. 304. ISBN- 13: 978-0521350204
- Bilanovic D., Andargatchew A., Kroeger T., Shelef G.,** (2009). Freshwater and marine microalgae sequestering of CO₂ at different C and N concentrations response surface methodology analysis. *Energy Conversion and Management*;50:262–7.
- Brennan, L. and Owende, P.** (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.
- Chiristie, W.W.,** (1990). *Gas Chromatography and Lipids*, The Oily Press, Glasgow, 302 p.
- Chisti Y.,** (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*;25(3): 294–306.
- Chojnacka K., Marquez-Rocha F.J.,** (2004). Kinetic Stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. *Biotechnology*;3(1):21–34.
- Corelli D. L.,** (1999). Phosphorus: A Rate Limiting Nutrient in Surface Waters, *Poultry Science*, 78: 674–682.
- Coutteau, P.,** (1996). Micro-algae, p. 7-48. *In: Lavens, P. & Sorgeloos, P. (Eds.). Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper 361. FAO, Rome.*

- Dönmez, G., Aksu, Z.,** (2002). Removal of chromium(VI) from saline wastewaters by *Dunaliella* species. *Process Biochem.* 38, 751–762.
- Dumas A., Laliberte G., Lessard P., Noue J.,** (1998). Biotreatment of fish farm effluents using the cyanobacterium *Phormidium bohneri*. *Aquaculture Engineering* ;17:57–68.
- Garcia, J., Hernandez-Marine, M. and Mujeriego, R.** (2000). “Influence of phytoplankton composition on biomass removal from high rate oxidation lagoons by means of sedimentation and spontaneous flocculation”. *Water Environmental Resources* 72(2): 230- 237.
- Hsieh, C.H., Wu W.T.,** (2009). Cultivation of microalgae for oil production with acultivation strategy of urea limitation. *Bioresource Technology* 100 (17), 3921–3926.
- Howell, S.,** (1997). “U.S. Biodiesel Standards An Update of Current Activities”, SAE Paper971687.
- Illman, A.M., Scragg A.H., ve Shalles, S.W.,** (2000). increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium.
- Jacob-Lopes E., Scoparo C.H.G., Lacerda L.M.C.F., Franco T.T.,** (2009). Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. *Chemical Engineering and Processing*; 48(1): 306–10.
- Jimenez-Perez M.V., Sanches-Castillo P., Romera O., Fernandez-Moreno D., Perez-Martinez C.,** (2004). Growth and nutrient removal in free and immobilized planktonic green algae isolated from pig manure. *Enzyme and Microbial Technology*; 34:392–8.
- Kates, M.,** (1988). *Techniques of Lipidology; Isolation, Analysis and Identification of Lipids*, 2. nd Revised Edition, Newyork, 278.
- Ladanai, S. and Vinterback, J.** (2009). “Global Potential of Sustainable Biomass for Energy”. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences. p32.
- Laliberte G., Lessard P., Noue J., Sylvestre S.,** (1997). Effect of phosphorus addition on nutrient removal from wastewater with the cyanobacterium *Phormidium bohneri*. *Bioresource Technology* ;59:227–33.
- Lardon, L, Helias, B. Steyer, J., and Bernard, O.** (2009). “Life-cycle assessment of biodiesel production from microalagae”. *Environmental Science and Technology*. 43(17): 6475–6481.

- Lee, Y.K.** (2001). "Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential". *Journal of Applied Phycology*. 13(4): 307-315.
- Li Y., Horsman M., Wu N., Lan C.Q., Dubois-Calero N.,** (2008). Biofuels from microalgae. *Biotechnology Progress*.
- Li Y., Wang B., Wu N., Lan C.Q.,** (2008). Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid production of *Neochloris oleoabundans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Loseva, N.L., Alyabyev, A.J., Rachimova, G.G., ve Esrtina, R.I.,** (1998). The effect of high temperature and salt on the metabolic heat rate of *Chlorella* cells. *Thermochimica Acta* 309: 129-131.
- Martinez M.E., Sanchez S., Jimenez J.M., El Yousfi F., Munoz L.,** (2000). Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*;73(3):263–72.
- Mostert, E.S.,** (1987), The Influence of Nitrogen and Phosphorus on Algal Growth and Quality in Outdoor Mass Algal Cultures, *Biomass*. 13, 219- 233.
- Olguin E.J., Galicia S., Mercado G., Perez T.,** (2003). Annual productivity of *Spirulina* (*Arthrospira*) and nutrient removal in a pig wastewater recycle process under tropical conditions. *Journal of Applied Phycology*; 15:249–57.
- Patil, H.S.,** (1990). The role of *Ankistrodesmus falcatus* and *Scenedesmus quadricauda* in Sewage Purification, *Bioresource Technology*; 37, 121-126.
- Petrol Platformu Derneği** (2009). "Kyoto Protokolü Bilgi Notu". 7 s. İnternet sitesi: http://www.petform.org.tr/images/yayinlar/ozel_raporlar/petform_kyoto_protokolu_bilgi_notu.pdf.
- Pittman, J. K., Dean, A. P. and Osunkedo, O.** (2011). "The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources". *Bioresource Technology*. 102(1): 17-25.
- Raghavan, G., Haridevi, C.K., Gopinathan, C.P.,** (2008). Growth and proximate composition of the *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. *Aquaculture Research*, 39: 1053-1058.
- Raja R., Hemaiswarya S., Kumar N.A., Sridhar S., Rengasamy R.,**(2008). A perspective on the biotechnological potential of microalgae. *Critical Reviews in Microbiology* ;34(2):77–88.

- Renaud S.M., Thinh L.V., Parry D.L.,** (1999). The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture. *Aquaculture*;170:147–59.
- Richmond A.,** (2004). Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Blackwell Science Ltd.
- Rosenberg J.N., Oyler G.A., Wilkinson L., Betenbaugh M.J.,** (2008). A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution. *Current Opinion in Biotechnology*; 19(5):430–6.
- Saatci, Y., Arslan, E.I., Konar, V.,** (2003). Removal of Fatty Materials (Total Lipid and Fatty Acids) in UASB Reactor, *Bioresource Technology*, 87, 269-272.
- Satoh, A., Kato, M., Yamato, K., Isimbashi, M., Sekiguchi, H., Kurano, N., Miyachi, S.,** (2010). Characterization of the Lipid Accumulation in a New Microalgal Species, *Pseudochoricystis ellipsoidea* (Trebouxioophyceae). *Journal of the Japan Institute of Energy*, 89: 909-913.
- Sawayama S., Minowa T., Yokoyama S.Y.,** (1999). Possibility of renewable energy production and CO₂ mitigation by thermochemical liquefaction of microalgae. *Biomass and Bioenergy*;17(1):33–9.
- Sheehan J., Dunahay T., Benemann J., Roessler P.,** (1998). A 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.
- Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A.,** (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*;101(2): 87–96.
- Stainier R. Y., Kunisawa R., Mandel M., Choen B.,** (1971). Purification and properties of a unicellular bluegreen alga (order *Chroococcales*). *Bacteriological Reviews*, Vol. 35, pp. 171-205.
- Thomsen, L.** (2010). “How ‘green’ are algae farms for biofuel production”. *Biofuels*. 1(4): 515-517.
- Toyub, M. A., Miah, M. I., Habib, M. A. B. and Rahman, M. M.,** (2008). Growth Performance and Nutritional Value of *Scenedesmus Obliquus* Cultured in Different Concentrations of Sweetmeat Factory Waste Media, *Bang. J. Anim. Sci.* 37 (1) : 86 – 93.
- Tsukahara K., Sawayama S.,** (2005). Liquid fuel production using microalgae. *Journal of the Japan Petroleum Institute*; 48(5):251–9.

- Ugwu, C.U., Aoyagi, H. and Uchiyama, H.** (2008). “Photobioreactors for mass cultivation of algae”. *Bioresource Technology* . 99(10): 4021-4028.
- Wang B., Li Y., Wu N., Lan C.Q.,** (2008). CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*; 79(5):707–18.
- Weldy, C.S. and Huesemann, M.,** (2007). Lipid production by *Dunaliella salina* in batch culture: effects of nitrogen limitation and light intensity, U.S. Department of Energy Journal of Undergraduate Research, 7(1): 115– 122.
- Widjaja, A.,** (2009). Lipid production from microalgae as a promising candidate
- Williams J.A.,** (2002). Keys to Bioreactor selection. *CEP Magazine*; 34–41.
- Yeesang C. and Cheirsilp B.,** (2011). Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand, *Bioresource Technology*, 102, (3),3034-3040.
- Zeiler K.G., Heacox D.A., Toon S.T., Kadam K.L., Brown L.M.,** (1995). Use of microalgae for assimilation and utilization of carbon dioxide from fossil fuel-fired power plant flue gas. *Energy Conversion and Management*;36(6–9):707–12.
- Zhila, N.O., Kalacheva, G.S. and Volova, T.G.,** (2005). Effect of nitrogen limitation the growth and lipid composition of the green algae *B. braunii* Kütz IPPAS H-252. *Russian Journal of Plant Physiology*, 52(3): 357-365 *Microbial Technology*. 27: 631-635.

ÖZGEÇMİŞ

06.11.1990 tarihinde doğdu. İlk ve Orta Öğrenimini Malatya’da tamamladı. 2008 yılında Fırat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümünde öğrenim görmeye hak kazandı. 2012 bahar döneminde öğrenim gördüğü üniversiteden mezun oldu. 2012-2013 eğitim-öğretim yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliğinde Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Yabancı dili İngilizce’ dir.