



T.C.  
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI



**AZOT KONSANTRASYONLARININ  
MİKROALG GELİŞİMİ VE  
BİYOKİMYASAL KOMPOZİSYONU  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**SOLMAZ KARABULUT**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KIRŞEHİR**

**2023**



T.C.  
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI



**AZOT KONSANTRASYONLARININ  
MİKROALG GELİŞİMİ VE  
BİYOKİMYASAL KOMPOZİSYONU  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**Solmaz KARABULUT**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Dr. Öğr. Üyesi ÖZLEM AYDIN**

**II. DANIŞMAN**

**Prof. Dr. İLKAY AÇIKGÖZ ERKAYA**

**KIRŞEHİR**

**2023**

**KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŐMASI**  
**ETİK BEYANI**

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. ..../...../2023

Öğrenci  
Solmaz KARABULUT

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa No
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b>	<b>I</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>III</b>
<b>ÖZET</b>	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>V</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>VI</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>VII</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>VIII</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Amaç	3
<b>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b>	<b>4</b>
2.1 Mikroalgler ile İlgili Çalışmalar	4
<b>3. MATERYAL VE METOT</b>	<b>13</b>
3.1. Materyal	13
3.1.1. Mikroalg türü ve sistematikteki yeri	13
3.1.2. BG-11 besin ortamı	14
3.2. Metot	15
3.2.1. Deney düzeneklerinin kurulması	15
3.2.2. Deney seti	17
3.2.3. Deney süresince yapılan analizler	17
3.2.3.1. Hücre sayımları	17
3.2.3.2. Kuru ağırlık	18
3.2.3.3. Pigment analizleri	18
3.2.3.4. Optik yoğunluk	18
3.2.4. Deney sonrasında yapılan analizler	19
3.2.4.1. Hasat işlemi	19
3.2.4.2. Lipit ve yağ asidi analizi	19
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA</b>	<b>21</b>
4.1. Hücre Sayısı	21
4.2. Kuru Ağırlık	22
4.3. Pigment Miktarının Tespiti	24
4.4. Optik Yoğunluk	25

4.5. Spesifik Büyüme Oranı	28
4.6. Yağ Asidi Profili	30
4.7.Lipit Analizi	31
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>35</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b>	<b>37</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>43</b>

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde beni yönlendiren, bilimsel katkıları ve tecrübeleri ile tüm laboratuvar deneyimlerimde, kavramsal ve literatürel araştırmalarımında çalışmalarına aktif olarak katılan, datalar ve tezin sunumu dahil her aşamasında desteklerini esirgemeyen ve öğrencileri olmaktan onur duyduğum saygıdeğer danışman hocalarım Sayın Prof. Dr. İlkey AÇIKGÖZ ERKAYA'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Özlem AYDIN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin verilerinin değerlendirilmesinde tecrübelerinden destek aldığım Doç. Dr. Dilek YALÇIN'a ve yağ analizlerinin gerçekleştirilmesindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Deniz AYAS'a teşekkürü bir borç bilirim.

Süreçte dahil olmak üzere tüm hayatım boyunca bana inanan, güvenen, her daim yanımda olan annem Fadime KARABULUT'a, babam Ramazan KARABULUT'a, kız kardeşim Büşra KARABULUT'a, teşekkürü borç bilirim. Desteklerini her zaman üzerimde hissettiğim canım kuzenlerim Merve AKÇAKAYA ve Merve DÜZYOL'a sonsuz teşekkürler.

Kasım, 2023

Solmaz KARABULUT

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS

#### AZOT KONSANTRASYONLARININ MİKROALG GELİŞİMİ VE BİYOKİMYASAL KOMPOZİSYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Solmaz KARABULUT

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Özlem AYDIN  
Yıl: 2023, Sayfa: 43  
Jüri: Dr. Öğr. Üyesi Özlem AYDIN  
Prof. Dr. İlkay AÇIKGÖZ ERKAYA  
Prof. Dr. Tülay ÖZER  
Prof. Dr. Belgin ERDE  
Prof. Dr. Semra BENZER  
İkinci Danışman Prof. Dr. İlkay AÇIKGÖZ ERKAYA

Bu çalışmada, *Monoraphidium contortum* türü kullanılarak bir besi ortamında farklı konsantrasyonlardaki azot miktarlarının biyokütle artımı ve hücre içi biyokimyasal kompozisyonunda meydana getirdiği değişiklikler incelenmiştir. *Monoraphidium contortum* türü, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir. BG-11 besin ortamı % 0 N, % 25 N, % 50 N, % 75 N ve % 100 N olacak şekilde 5 farklı azot konsantrasyon modifikasyonu uygulanmıştır. Yetiştirilen kültürlerden 250 mL alınarak, söz konusu 5 farklı modifiye BG-11 besi ortamına ekimleri yapılmıştır. Kültürler  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta, 16:8 aydınlık/karanlık fotoperiyodunda ( $50\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) yetiştirilmiştir. Biyomas gelişiminin incelenmesinde, hücre yoğunlukları, kuru ağırlık, klorofil-a, karotenoid ve yağ asidi tespitleri yapılmıştır. *Monoraphidium contortum*'un maksimum yüzde lipit içeriği % 32.11 ile (% 50 N) ortamında yetişen kültürden elde edilirken en düşük lipit miktarı ise (% 100 N) ortamında % 14.56 olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Monoraphidium contortum*, Azot sınırlaması, Biyomas, Lipit

## ABSTRACT

### MSc THESIS

# EFFECT OF NITROGEN CONCENTRATIONS ON MICROALGAE GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION

Solmaz KARABULUT

KIRŞEHİR AHI EVRAN UNIVERSITY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF ADVANCED TECHNOLOGIES

**Supervisor:** Assist. Prof. Dr. Özlem AYDIN  
Yıl: 2023, Sayfa:43

**Juries:** Assist. Prof. Dr. Özlem AYDIN  
Prof. Dr. İlkay AÇIKGÖZ ERKAYA  
Prof. Dr. Tülay ÖZER  
Prof. Dr. Belgin ERDEM  
Prof. Dr. Semra BENZER

**Co-Supervisor** Prof. Dr. İlkay AÇIKGÖZ ERKAYA

In this study, the changes in biomass increase and intracellular biochemical composition caused by different concentrations of nitrogen in a nutrient medium using the *Monoraphidium contortum* species were examined. *Monoraphidium contortum* species was obtained from Kırşehir Ahi Evran University Cultural Collection. 5 different nitrogen concentration modifications were applied to the BG-11 nutrient medium as 0 % N, 25 % N, 50 % N, 75 % N and 100 % N. 250 mL of the grown cultures were taken and planted in 5 different modified BG-11 nutrient media. Cultures were grown at 23±2°C in a 16:8 light/dark photoperiod (50 µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>). In examining biomass development, cell densities, dry weight, chlorophyll-a, carotenoids and fatty acids were determined. While the maximum percentage lipid content of *Monoraphidium contortum* was obtained from the culture grown in (50 % N) medium of 32.11%, the lowest lipid amount was determined as 14.56 % in (100 % N) medium.

**Key Words:** *Monoraphidium contortum*, Nitrogen limitation, Biomass, Lipid



## TABLolar DİZİNİ

### Sayfa No

<b>Tablo 3.1.</b>	BG-11 besin ortamı içeriği.....	<b>14</b>
<b>Tablo 3.2.</b>	BG-11 Trace Metal Solüsyonu.....	<b>15</b>
<b>Tablo 4.1.</b>	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki hücre sayıları (hücre/mL).....	<b>21</b>
<b>Tablo 4.2.</b>	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki kuru ağırlık değerleri (g/mL).....	<b>23</b>
<b>Tablo 4.3.</b>	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki klorofil-a miktarları ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).....	<b>24</b>
<b>Tablo 4.4.</b>	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki karotenoid miktarları ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).....	<b>25</b>
<b>Tablo 4.5.</b>	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki optik yoğunluk değerleri.....	<b>26</b>
<b>Tablo 4.6.</b>	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki spesifik üreme oranı.....	<b>28</b>
<b>Tablo 4.7.</b>	Beş farklı %N konsantrasyon ortam bileşimi için ortalama biyokütle üretkenliği (kuru ağırlık) ve (hücre sayısı).....	<b>29</b>
<b>Tablo 4.8.</b>	Monoraphidium contortum'un 5 farklı (N) konsantrasyonundaki üreme performansı.....	<b>30</b>
<b>Tablo 4.9.</b>	Monoraphidium contortum'un yağ asidi profili (%).....	<b>31</b>
<b>Tablo.4.10.</b>	Monoraphidium contortum'un lipit miktarı (%).....	<b>31</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 3.1.	Monoraphidium contortum türü mikroskop görüntüsü .....	13
Şekil 3.2.	Monoraphidium contortum üretimi.....	15
Şekil 3.3.	Monoraphidium contortum deney düzeneği (ilk ekim günü).....	16
Şekil 3.4.	Monoraphidium contortum düzeneği (29. gün).....	16
Şekil 3.5.	Monoraphidium contortum hasat işlemi.....	20
Şekil 4.1.	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki hücre sayıları (hücre/mL).....	22
Şekil 4.2.	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki kuru ağırlık değerleri (g/mL).....	23
Şekil 4.3.	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki klorofil-a miktarları ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).....	24
Şekil 4.4.	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki karotenoid miktarları ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).....	25
Şekil 4.5.	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki optik yoğunluk değerleri.....	26
Şekil 4.6.	Kültürlerin optik yoğunluk (nm) ve hücre konsantrasyonu (hücre/mL) arasındaki korelasyon.....	27
Şekil 4.7.	Monoraphidium contortum kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki spesifik üreme oranı.....	29

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$^{\circ}C$	: Santigrat derece
<i>C,N,P</i>	: Karbon, azot, fosfor
<i>mg/L</i>	: Miligram/litre
$\mu g/L$	: Mikrogram/litre
<i>M</i>	: Molar
<i>mM</i>	: Milimolar
<i>nm</i>	: Nanometre

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
<b>BBM</b>	: Bold Basal Medium
<b>BG-11</b>	: Blue-Green Medium
<b>FA</b>	: Yağ asitleri
<b>TAG</b>	: Triaçilgliserol
<b>MUFA</b>	: Tekli doymamış yağ asitleri
<b>SFA</b>	: Doymuş yağ asitleri
<b>PUFA</b>	: Çoklu doymamış yağ asitleri
<b>pH</b>	: H iyonu derişiminin 10 tabanında (-) logaritması
<b>Chl-a</b>	: Klorofil-a

## 1. GİRİŞ

Algler, dünya üzerindeki fotosentetik aktivitenin yaklaşık yarısını gerçekleştiren, esas olarak sucul ortamlarda bulunan fotosentetik organizmalardır. Alglerin küresel karbon döngüsündeki rolü, fotosentetik işlemler aracılığıyla atmosferik karbondioksitin (CO<sub>2</sub>) organik bileşiklere dönüştürülmesi ve bu sürecin sucul ekosistemlerle olan etkileşimiyle belirginleşir. Fotosentez sırasında, algler güneş ışığını kullanarak karbondioksiti ve suyu şeker gibi organik bileşiklere çevirir. Bu süreç, dünyadaki fotosentetik faaliyetlerin yaklaşık yüzde 50'sini oluşturur ve küresel karbon döngüsünde kritik bir öneme sahiptir. Mikroalgler, tüm akuatik ekosistemlerde en bol ve yaygın bulunan, ışık enerjisi ve inorganik besinleri tüketen ve lipitler, karbonhidratlar, proteinler ve pigmentler gibi biyokütle açısından zengin katma değerli ürünler üreten foto-ototrofik organizmalardır (Markou ve Nerantzis, 2013). Bu canlılar aynı zamanda sucul ortamlarda gıda zincirinde önemli bir role sahip olup, farklı alg türlerinin farklı pigment çeşitliliği de dikkate değerdir. Bu çeşitlilik, fotosentez kapasiteleri ve çevresel uyumları açısından önem taşımaktadır. Alg grupları arasındaki pigment farklılıkları, fotosentezde kullanılan ışık dalga boylarını ve bu organizmaların yaşadıkları sucul ortamlarla olan etkileşimlerini yansıtır. Pigment çeşitliliği ve farklı alg türlerinin özellikleri, alglerin ekolojik adaptasyon ve fotosentetik kapasiteleri hakkında önemli bilgiler sunar.

Fotosentetik pigment dağılımları, hücre duvarı, kamçı gibi hücre yapılanmalarındaki çeşitliliğin yanısıra, hücrelerin biyokimyasal içerikleri ve makromoleküler kompozisyonlarında özellikle, üretim ve depolama ürünlerindeki çeşitlilikten dolayı da mikroalgler bilimsel araştırmalarda güncel ilgi odağı olabilmektedir. Mikroalgler, hızlı büyümeleri, yüksek üreme hızları ile biyoteknoloji alanında ilaç ve kozmetik sanayi, su ürünleri yetiştiriciliği, atık suların arıtımı gibi birçok alanda hammadde olarak kullanılmaktadırlar (Stephens ve ark., 2010).

Mikroalglerin, zengin protein içeriklerinin yanı sıra, yağ içeriği açısından da avantajlı oldukları bilinmektedir. Çevresel faktörlere bağlı olarak mikroalglerin yağ oranlarında önemli ölçüde artış gözlemlenmiştir. Algler ayrıca, özellikle mikroalglerin protein ve yağ açısından zengin içerikleri sayesinde biyoteknolojik araştırmalarda değerli bir kaynak olarak ön plana çıkar. Çevresel faktörlerin mikroalglerin yağ içeriğini etkileyebildiği ve bu durumun, özellikle enerji üretimi ve besin maddesi elde etme açısından potansiyel olarak avantajlı olduğu belirtilmiştir (Cirik ve Gökpınar, 2006).

Alglerin biyodizel üretiminde potansiyel bir kaynak olarak değerlendirilmesi, onların güneş enerjisini verimli bir şekilde kullanma ve kimyasal enerjiye dönüştürme kapasitesine dayanmaktadır. Bu özellikleri, özellikle artan enerji ihtiyacı ve çevresel sürdürülebilirlik kaygıları çerçevesinde önem kazanmaktadır.

Algler, bu bağlamda, yenilenebilir enerji kaynakları arasında dikkat çekmektedir. Yüksek yağ içeriği ve hızlı büyüme hızları sayesinde, algler biyodizel üretiminde etkili bir hammadde olabilir. Ayrıca, alglerin karbondioksiti emme kapasitesi, atmosferdeki karbondioksit miktarını azaltarak sera etkisi ve küresel ısınma üzerinde olumlu bir etki yaratma potansiyeline sahiptir.

İnsanlık tarihinin gelişim süreci ve nüfus artışı, fosil yakıtlara olan bağımlılığın sürdürülemez olduğunu göstermektedir. Fosil yakıtların kısıtlı doğası ve bu yakıtların kullanımının atmosferdeki karbondioksit miktarını artırarak sera etkisi yaratması ve böylece küresel ısınmayı tetiklemesi, alternatif enerji kaynaklarına yönelik araştırmaları zorunlu kılmaktadır.

Mikroalgal türler hem biyoyakıtların hem de yüksek değerli metabolitlerin potansiyel kaynağıdır ve üretimleri uygun koşullardaki büyüme parametrelerine bağlı olarak belirlenebilir. Mikroalgler, içinde buldukları ortamın fiziko-kimyasal stres faktörleri altında lipit üretimini artırma eğilimleri göstermektedir. Lipit üretimini arttırmak için kullanılan en yaygın stres faktörleri sıcaklık, ışık yoğunluğu, azot ve fosfor kaynaklarıdır. Sıcaklık, mikroalgal türlerin büyüme hızını, net lipit verimliliğini ve yağ asidi profillerini büyük oranda etkileyen bir stres faktörüdür. Fotosentez ve beraberinde fotoperiyodla mikroalglerin büyümesi için kritik bir faktördür. 100–200  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  arasındaki ışık şiddetleri mikroalg üretimi için yaygın olarak kullanılır. Işık yoğunluğunu 200'den 400  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 'ye çıkarmak mikroalglerde büyüme oranını artırır. Örneğin, ışık yoğunluğundaki artışla *Chlorella vulgaris* ve *Scenedesmus* sp. türlerinde lipit verimliliği düşükten yükseğe doğru artmıştır (Minhas ve ark., 2016). Mikroalglerin yağ içeriği % 1-40 arasında değişmektedir ve hatta belirli koşullar sağlandığında % 80'lere kadar ulaşmaktadır (Çakmak Elibol, 2013). Mikroalgler tarafından üretilen lipit, 14-20 karbonlu olan ve biyo-yakıt eldesi için kullanılan depolama lipitleri (polar olmayan lipitler) ve 20 karbonlu olup gıda olarak kullanılan, membran lipitleri olarak bilinen yapısal lipitler (polar lipitler) olmak üzere iki kategoriye ayrılabilir. Depolama lipitleri esasen, ağırlıklı olarak doymuş yağ asitleri (FAs) ve biyodizel ve gliserol üretmek için bazı doymamış

FA'lardan yapılan TAG (Triaçil gliserit) formundaki nötral lipitlerdir. Hücrede nötr lipitlerin birikmesinin, nişasta veya karbonun lipitlere dönüştürülmesi yoluyla gerçekleştiğini, ancak dönüşümün mikroalgal suşlara bağlı olduğunu, farklı suşların, lipitlerin sentezlenmesi için karbon akışını karbonhidrat yolundan iletmek için farklı bir mekanizmaya sahip olduğu belirtilmektedir (Minhas ve ark., 2016). Lipit biyosentezi karmaşık bir süreç olduğundan, sadece spesifik lipitlerin üretimini arttırmakla kalmaz, aynı zamanda mikroalglerdeki toplam lipit üretimini de artırır. Kültür ortamındaki tüm makro besinler içinde, mikroalglerdeki toplam kuru maddenin % 1-10'unu oluşturan azot (Wijffels ve ark., 2010), nicel olarak çeşitli alglerde büyüme ve lipit birikimini etkileyen en önemli besindir. Mikroalglerin stres koşulları altında depoladıkları lipitler çoğunlukla nötral lipitlerdir ve bunların büyük bir kısmı TAG (Triaçilgliserol)'lerdir ve bu moleküller de günümüzde biyodisel ham maddesi olarak kullanılırlar (Çakmak Elibol, 2013).

Alglerin biyodizel üretimindeki rolü, fosil yakıtlara bir alternatif olarak, enerji üretimindeki sürdürülebilirliği artırma ve çevresel etkileri azaltma potansiyeliyle geleceğin enerji kaynakları arasında önemli bir yere sahip olabilir. Bu bağlamda, alglerin biyodizel üretimi için kullanılması, enerji güvenliğinin sağlanması ve çevresel sorunların hafifletilmesi açısından stratejik bir yaklaşım olarak değerlendirilebilir.

### **1.1. Amaç**

Bu çalışmanın amacı, modifiye BG-11 besin ortamında, farklı azot ve fosfor oranları altında *Monoraphidium contortum* türünün büyüme ve lipit içeriğini araştırmaktır. Bu amaçla, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Mikroalg Alg Kültür Koleksiyonu'ndan seçilen *Monoraphidium contortum* türünün azot sınırlamalarında lipit miktarı ve yağ asidi kompozisyonu incelenmiştir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bu çalışmanın içeriği ile ilgili daha önce yapılmış olan çalışmalar incelenmiş ve elde edilmiş bulgu ve sonuçların genel bir değerlendirilmesi yapılmıştır.

### 2.1. Mikroalgler ile İlgili Çalışmalar

Choi ve ark. (2023) tarafından yapılan çalışmada, tübüler fotobiyoreaktörde süt endüstrisinden kaynaklanan ikincil atık su kullanılarak, *Monoraphidium contortum*'un biyomas ve lipit oranları tespit edilmiştir. Mikroalg türü *Monoraphidium contortum* (CCMA UFSCar 701) Sao Paulo Eyaletinin (Brezilya) Kuzey Sahili'ndeki koruluk alandaki tatlı sudan izole edilmiş, Bold Basal Medium ortamında kültüre alınmıştır. Kontrol grubu olarak kullanılan BBM'de lipit oranı ise % 39.33 olarak tespit edilmiştir. Atık su deneylerinden elde edilen sonuçların da *Monoraphidium contortum*'un biyokütlesinin, biyodizel için hammadde olarak kullanılabilir mükemmel bir aday olduğu ifade edilmiştir.

Lin ve ark. (2021), Çin'deki Dongfeng Gölü'nden izole edilen *Monoraphidium* sp. HDMA-01 mikroalgal suşunu, yüksek amonyum ortamı kullanarak üretmişlerdir. HDMA-01, TAP ortamında asetik asit ve amonyum kullanarak 7 gün içinde hücrelerin  $2 \times 10^7$  mL<sup>-1</sup> yoğunluğuna ulaştığı tespit edilmiştir. HDMA-01, amonyum için güçlü bir tolerans göstermiştir. Bu çalışmada 14 mM'lik yüksek bir amonyum konsantrasyonunda, HDMA-01'de, benzer yetiştirme koşulları altında diğer *Monoraphidium* suşları arasında en yüksek olan 78.9 mg L<sup>-1</sup> gün<sup>-1</sup> ve 13.8 mg L<sup>-1</sup> gün<sup>-1</sup> maksimum biyokütle ve lipit üretkenliği elde edilmiştir. İdeal yağ asidi profili ile birlikte HDMA-01, yüksek amonyum toleranslı biyoteknolojide ve biyodizel hammaddesi olarak kullanılan umut verici bir tür olarak geliştirme için büyük bir potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir.

Namitha ve ark. (2021), *Monoraphidium* sp. ve *Chlorella sorokiniana*'nın büyüme optimizasyonunu, kalite parametrelerini ve biyodizel üretimi için uygunluğunu araştırmışlardır.

Sing ve ark. (2020), izole ettikleri *Monoraphidium* sp. türünü BG-11 ortamında 1.5 g L<sup>-1</sup> NaNO<sub>3</sub> ve 0.0 g L<sup>-1</sup> NaNO<sub>3</sub> (azot tükenmiş) içeren ortamlarda, başlangıç optik yoğunluğu (OD750) 0.1 olarak, 10 gün boyunca 25°C'de 16:8 saat aydınlık/karanlık fotoperiyotlarında ve 150 µE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> ışık yoğunluğunda yetiştirmişlerdir. Yeni izole

edilen bu türün  $0.20 \text{ d}^{-1}$  büyüme oranı ve  $60.56 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  biyokütle üretkenliği ile hızlı büyüyen bir tür olduğu belirtilmiştir. lipit miktarı ( $\text{mg g}^{-1}$ ) normal azot ve azot tükenmiş ortamda sırasıyla  $165.7 \pm 3.59$  ve  $266.3 \pm 7.57$  olarak tespit edilmiştir.

Hawrot-Paw ve ark. (2020), somon yetiştiriciliğinden kaynaklanan tuzlu atıksu kullanarak *Monoraphidium* sp. biyokütlesini üretme kapasitesini belirlemişlerdir. Deneyler tübüler fotobiyoreaktörlerde  $23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de, 16:8 saat aydınlık/karanlıkta, Led aydınlatma altında gerçekleştirilmiştir. Biyokütle konsantrasyonunun atık suda ve F/2 ortamında sırasıyla  $3.79$  ve  $1.47 \text{ g L}^{-1}$ ; lipi lipit d içeriğinin  $\% 18.53 \pm 0.83$  ve  $20.80 \pm 1.25$  olduğu tespit edilmiştir.

Cruz ve ark. (2019) yaş *Monoraphidium* sp.'den ekstrakte edilen biyo-yağın lipit profilini ortaya koymuşlardır. *Monoraphidium* sp.'nin ıslak biyokütlesinden ortalama olarak yaklaşık  $\% 10$  biyo-yağ elde edilmiştir.

Lin ve ark. (2019), Chengfeng Gölü'nden (Çin) izole edilen *Monoraphidium* sp. (HDMA-20)'nin, ALA ve eikosatetraenoik asit (ETA, C20:4 $\omega$ 3) ile yüksek  $\omega$ -3 PUFA içeriği (toplam lipitin  $\% 63.4$ 'ü) biriktirdiğini tespit etmişlerdir. Alg türü BG-11 ortamında,  $28 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de ve 16:8 saat aydınlık/karanlık döngüde üretilmiştir. Sağlanan ototrofik koşullar altında HDMA-20'nin biyokütle verimliliği  $36.3 \text{ mg L}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ 'e ulaşmış ve lipit içeriği kuru ağırlığın  $\% 22.6$ 'sını oluşturmuştur.

Pikoli ve ark. (2019)'nin yaptığı çalışmada Endonezya'nın Güney Tangerang bölgesindeki iki büyük gölden dört mikroalg izole edilmiş ve BG-11 besin ortamında 18 günlük bir gözlem periyodu içinde, 14. günde  $10^8 \text{ mL}^{-1}$ 'den fazla hücreye ulaşan benzer büyüme potansiyeli gösterdikleri belirtilmiştir. Bu türlerden *Monoraphidium* sp. türünün lipit içeriği  $\% 66.72$  ve biyokütlesi  $1.3 \text{ g L}^{-1}$ 'e ulaşmıştır. Ayrıca izole edilen türlerin yağ asidi metil esterlerinin yüzdesinin  $>\%60$ - $80$ 'e ulaştığı ve biyodizel hammaddesi olarak geliştirilme potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir.

Pineda ve ark. (2019), farklı  $\text{CO}_2$  konsantrasyonları ( $\% 0.03$ ;  $2.5$ ;  $5.0$ ;  $7.5$  ve  $10$ ) altında *Monoraphidium contortum* türünün biyokütle oluşumu, lipitlerin üretkenliği, nitrat ve fosfat tüketimi, lipit profili ve elde edilen biyodizelin kalitesini ölçmüşlerdir. BBM ortamında  $21^\circ\text{C}$ 'de, 16:8 saat ışık/karanlık döngüsünde oluşturulan deney koşulları altında biyokütlenin ( $529.26 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) ve lipitlerin ( $37.52 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) maksimum üretkenliği,  $\%7.5 \text{ CO}_2$ 'li ortamdaki *Monoraphidium contortum* tarafından elde edilmiştir.



Lipitler, bir transesterifikasyon reaksiyonu yoluyla biyodizele dönüştürülmüş ve *Monoraphidium contortum* yağından elde edilen biyodizelin ana bileşenlerinin oleik ve palmitik asit olduğu tespit edilmiştir. Yakıt özellikleri tahmin edilmiş ve Amerikan Test Malzemeleri Standardı (ASTM 6751:2006) ve Avrupa Birliği Standartları (EN 14214:2008) biyodizel sınırları içinde bulunmuştur. *Monoraphidium contortum* ile elde edilen sonuçların, yeterli kalitede biyodizele dönüşümünü doğruladığı belirtilmiştir.

Ajayan ve ark. (2018) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, *Monoraphidium contortum* türü için kültürler, çeşitli konsantrasyonlarda  $\text{NaNO}_3$  (N1-0.125; N2-0.5; N3-1.0  $\text{g L}^{-1}$ ) ve  $\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$  (P1-0.0187+0.0437; P2-0.0375+0.0875; P3-0.15+0.35  $\text{g L}^{-1}$ ) ve kontrol olarak BBM, sırasıyla litre başına 0.25g  $\text{NaNO}_3$ , 0.075g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  ve 0.175g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  içerecek şekilde hazırlanmıştır. Fosfat konsantrasyonu, ortamın tüm değişen nitrat konsantrasyonlarında sabit tutulmuştur. Her konsantrasyon için eşit alg miktarı (litrede hücre  $\times 10^4$ ) eklenmiştir. Deneyle, Bold Basal Medium (BBM) ortamında, 28°C sıcaklıkta, floresan lambalarla 2000 lux ışık şiddeti ve 12/12 saat ışık/karanlık döngüsünde kontrollü koşullarda yapılmıştır. Maksimum hücre konsantrasyonu sırasıyla P1 (Fosfat) ve N1 (Nitrat) setlerinde  $47.2 \times 10^5$  ve  $14.4 \times 10^5$  hücre  $\text{mL}^{-1}$  olarak gözlenmiştir. En yüksek spesifik büyüme ( $0.192 \mu\text{d}^{-1}$ ) P1'de gözlenmiş ve en yüksek toplam lipit içeriği ise sırasıyla % 30.5 ve % 28 ile P1 ve N1 konsantrasyonunda elde edildiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlardan *Monoraphidium contortum*'un biyokimyasal içerikleri ve yağ asidi profilinin katma değer açısından ümit verici bir tür olduğu belirtilmiştir.

Ayuwaningsih ve ark. (2018), lipit kaynağı olarak *Monoraphidium* sp., *Chlorella sorokiniana* ve *Scenedesmus obliquus*'tan oluşan karışık yeşil mikroalg kültürünün lipit verimliliğine nitrojen kaynağı olarak üre gübresinin etkisini analiz etmişlerdir. Araştırmada kültürler, 1.5 L'lik bir cam fotobiyoreaktörde yetiştirilmiştir. Kültür koşulları, pH 6.0, 27 °C, 150 mL/sn hava akışlı havalandırma, 2400 lux'te ve azot kaynağı olarak kullanılan üre miktarı (gram) 0.0; 0.5; 1.0 olarak sağlanmıştır.

Lin ve ark. (2018), Çin'deki Ming Gölünden izole edilen *Monoraphidium* sp. türünün yüksek oranda  $\alpha$ -Linolenik asit (toplam lipitlerin % 39.2'si) içerdiğini tespit etmişlerdir. Alg kültürleri BG-11 ortamında, 28 °C'de ve  $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  aydınlatmada (16 saat ışık: 8 saat karanlık döngü) yetiştirilmiştir. Ayrıca yüksek lipit içeriği (kuru ağırlığın % 28.5'i), orta düzeyde biyokütle üretkenliği ( $31.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ ) ve umut verici

bir lipit profili ile karakterize edilen *Monoraphidium* sp.'nin biyodizel üretimi için iyi özellikler sergilediği ve bir besin takviyesi olarak büyük bir potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir.

Şezanka ve ark. (2017)'nin bu çalışmasında, Antarktika'nın buzla kaplı bir gölünden izole edilen, soğuğa adapte olmuş bir *Monoraphidium* suşu, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) üretimi için test edilmiştir. Suş, ortalama sıcaklığın 10.0 °C ve ortalama ışık yoğunluğunun PAR 32  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  olduğu, Orta Avrupa'nın erken kış koşulları altında 150 L'lik bir dış mekan ince katmanlı fotobiyoreaktörde yetiştirilmiştir. Pilot ekimin 22 günü boyunca büyüme oranı 0.341  $\text{gün}^{-1}$  değerine ulaşmış ve lipit üretkenliği 162  $\text{mgL}^{-1} \text{gün}^{-1}$  olduğu belirlenmiştir. 16:4 ve 18:4 asitlerin oranı toplam yağ asitlerinin % 19.1'i ve % 34.7'si olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçların bu suşun düşük sıcaklıklı biyoteknoloji çalışmaları için uygun olduğunu gösterdiğini belirtmişlerdir.

Sassi ve ark. (2017), alglerin yetiştirilmesinde düşük maliyetli alternatif bir yetiştirme ortamı olarak biyodizel yıkama suyunu kullanmışlardır. Biyodizel endüstriyel yıkama sularında büyüme kapasitelerini değerlendirmek için biyodizel üretiminde kullanım potansiyeli olan 11 mikroalg türü yetiştirilmiştir. Bu türler arasından *Monoraphidium contortum*, *Ankistrodesmus* sp., *Chlorococcum* sp. ve tanımlanamayan bir Chlorophyceae türünün etkili bir şekilde büyüdüğü tespit edilmiştir. *Monoraphidium contortum*'un en yüksek büyüme kapasitesini gösteren ve ikinci en yüksek yağ asidi içeriğine (267.9  $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ ) sahip tür olduğu belirtilmiştir.

Zhao ve ark. (2016), çalışmada *Monoraphidium* sp. QLY-1'de biyokütle ve lipit birikimini artırmak için heterotrofik yetiştirme ve foto-kimyasal modülatör indüksiyonunu içeren iki aşamalı bir strateji geliştirmişlerdir. Çin'in Yunnan Platosu'ndaki Qilu Gölü'nden izole edilen *Monoraphidium* sp. QLY-1, ilk olarak % 22.47'lik bir lipit içeriği ile yüksek biyokütle konsantrasyonu (5.54  $\text{g L}^{-1}$ ) elde etmek için heterotrofik olarak yetiştirilmiştir. Daha sonra farklı kimyasal içeriklerle hazırlanan besin ortamlarına aktarılmıştır. Sonuçlar, 3 günlük fotoindüksiyondan sonra lipit içeriğinin % 36.68'e yükseldiğini göstermiştir. Azot eksikliği, 20  $\text{g L}^{-1}$  NaCl ve 5 mM glisin betain ile tedavi edilen alg hücrelerinde lipit içeriğinin sırasıyla 1.21; 1.32 ve 1.29 kat arttığı belirtilmiştir.

Del Rio ve ark. (2015), hem kesikli hem de sürekli kültür altında önceden seçilmiş on mikroalgin yağ asidi profili ve yağ asidi üretkenliğini değerlendirmişlerdir. Kesikli kültür altında benzer yağ biriktirme potansiyeline sahip olan suşlar arasında sürekli kültürde farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Kesikli kültürlerle, 25°C'de, 115  $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  sağlayan floresan lambalarla aydınlatma sağlanmıştır. 10 mM nitrat içeriğe sahip besin ortamında, %1 CO<sub>2</sub> ile takviye edilmiş hava verilmiş ve 7 günlük kesikli kültürlerde analizler yapılmıştır. Çalışılan türlerden *Monoraphidium braunii*'den 4.08 gL<sup>-1</sup> biyomas ve kuru ağırlığının % 20.39 yağ asidi elde edilmiştir. Farklı oranlarda azot içerikli sürekli kültürlerde, bu türe ait değerler daha düşük gözlenmiştir.

Díaz ve ark. (2015), tarafından yapılan çalışma ise, pilot bir tesiste açık fotobiyoreaktörlerde *Monoraphidium sp.*'nin lipit üretimi üzerinedir. Kültivasyon, ASM-1 ortamında başlangıç pH'ı 8.0 olacak şekilde, 19 gün boyunca günde ortalama 8 saat sirkülasyon ve havalandırma ile başlatılmıştır. Sonuç olarak, *Monoraphidium sp.*'nin toplam lipit içeriğinin % 30.58 ve büyüme oranı  $0.74 \pm 0.01$  ile  $0.68 \pm 0.02$  arasında olduğu tespit edilmiştir.

Shrivastav ve ark. (2015), tarafından *Monoraphidium sp.* türünün lipit içeriği, yağ asidi profilleri, biyokütlesi ve lipit üretkenliği, çeşitli CO<sub>2</sub> konsantrasyonları ve farklı nitrojen kaynakları kullanılarak ototrofik yetiştirme koşullarında incelenmiştir. Hücre büyümesi için optimum azot kaynağını ve *Monoraphidium sp.*'nin lipit birikimini araştırmak için, sodyum nitrat (NaNO<sub>3</sub>) 17.6 mM, potasyum nitrat (KNO<sub>3</sub>) 17.6 mM, amonyum klorür (NH<sub>4</sub>Cl) 17.6 mM ve üre 8.8 mM olmak üzere farklı nitrojen kaynakları, daha önce hiçbir nitrojen kaynağının eklenmediği BG-11 ortamına eklenmiştir. Kültürler, bir çalkalama inkübatöründe 25 °C'de floresan ışığı altında yetiştirilmiştir. İzole edilen *Monoraphidium sp.*'nin % 28.92'lik yüksek lipit içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. Alg hücrelerinin lipit profili, üre kullanılarak yetiştirme ile biyodizel üretimi için uygun bir yağ asitleri dağılımı sergilemiştir. Bu nedenle, *Monoraphidium sp.*'nin biyodizel üretimi için umut verici bir hammadde olduğu belirtilmiştir.

Bohnenberger ve Crossetti (2014), biyodizel üretimi için lipitlerin kullanılmasına yönelik bir bakış açısıyla, tatlı su mikroalg türlerinin lipit içerikleri üzerindeki sıcaklık ve besinlerin etkisini araştırmışlardır. İki *Monoraphidium contortum* suşu, *Chlorella vulgaris* ve *Desmodesmus quadricauda* ve *Microcystis aeruginosa* suşu, ASM-1'den modifiye edilmiş beş farklı kültür ortamında (Kontrol olarak yüksek konsantrasyonlarda

P (0.8244 gL<sup>-1</sup>) ve N (1.7000 gL<sup>-1</sup>); Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub> ve NH<sub>2</sub>P0<sub>4</sub>'ün sırasıyla Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve KCl ile değiştirilmesiyle (P-eksik); sınırlayıcı olmayan bir ara konsantrasyonda P (0.06 gL<sup>-1</sup>); NaNO<sub>3</sub>'ün NaCl ile değiştirilmesiyle (N-eksik); ve sınırlayıcı olmayan bir N (0.005 gL<sup>-1</sup>) ara konsantrasyonu biyomas ve lipit oranlarındaki değişim incelenmiştir. Ayrıca kültürler daha sonra sekiz gün (n=3) boyunca 13°C, 25°C (kontrol) ve 37°C sıcaklıklara maruz bırakılmıştır. En yüksek toplam lipit verimlerinin, özellikle nitrojen stresi altında ve düşük sıcaklıktaki koşullarda gözlemlendiği belirtilmiştir.

Chonsongkram ve ark. (2014), bu araştırmada on üç yeşil mikroalg türünü NS III besi ortamında, 30 °C'de, 16:8 saat aydınlık/karanlıkta (10-12 klux ışık yoğunluğu) ve 7 gün boyunca % 2 CO<sub>2</sub> ile desteklenmiş havalandırmada yetiştirmiştir. Bu türlerden *Monoraphidium* sp. IFRPD No. 1003 suşu, 28. günde 8.857 ve 2.760 gL<sup>-1</sup>; *Monoraphidium* sp. IFRPD No. 1067 suşu ise, 30. günde 8.633 ve 1.563 gL<sup>-1</sup> maksimum biyokütle ve lipit konsantrasyonu sağlamıştır.

Dhup ve Dhawan (2014), Yeni Delhi, Hindistan'daki tatlı su birikintisinden izole edilen *Monoraphidium* sp. türünün, lipit verimliliği ve yağ asidi profili, altı farklı nitrojen konsantrasyonunda karşılaştırmışlardır. Kültürler BG-11 ortamında, 16:8 aydınlık ve karanlık koşullarda 16 rpm'de yetiştirilmiştir. Test edilen konsantrasyonlardan 0.36 gL<sup>-1</sup> nitrat konsantrasyonuna sahip kültürlerin, uygun biyodizel özelliklerine sahip tüm yağ asidi bileşimlerinin (SFA = 37.22, MUFA = 39.19, PUFA = 23.60) optimum içeriği ile daha yüksek lipit üretkenliği (0.18 g/l/gün) sergilediği tespit edilmiştir.

Patidar ve ark. (2014), tarafından gerçekleştirilen çalışmada mikсотrofik büyüme ve CO<sub>2</sub>/hava/baca gazı kullanılarak fotobiyoreaktörde ototrofik-mikсотrofik ve ototrofik büyüme, izole edilmiş *Monoraphidium minutum* türünde çalışılmıştır. Düşük derecede doymamış yağ kalitesine (42.06-103.99) sahip, doymuş yağ asidi bakımından zengin (% 30.92-68.94) ve biyodizel üretimi açısından potansiyel bir aday olduğu belirtilmiştir. Optimum glikoz, fruktoz, mikroalgal biyodizel atık kalıntısı ve sodyum asetat beslemeli mikсотropik koşullar altında daha yüksek toplam lipit (% 22.80-46.54) ile biyokütle üretkenliği (80.3-303.8 mgL<sup>-1</sup> gün<sup>-1</sup>) gösterdiği tespit edilmiştir.

Tale ve ark. (2014), Nisargruna biyogaz tesislerinin atık sularından beş mikroalg izole etmişlerdir. Bunlardan *Monoraphidium* sp. KMN5, BBM ortamında, 25°C'de, 1000 lüks ışık yoğunluğu altında 16:8 saatlik aydınlık ve karanlık döngüde 28 gün sonunda

kuru ağırlığının %  $34.93 \pm 3.95$ 'lik yüksek lipit içeriği ve  $0.65 \pm 0.05$  gL<sup>-1</sup>'lik orta derecede biyokütle birikimi göstermiştir. Sonuç olarak, bir biyogaz tesisinin atık sularını kullanarak biyodizel üretimi için potansiyeli olan bir tür olduğu belirtilmiştir.

Zhao ve ark. (2014), tarafından lipit üretkenliğini artırmak için *Chlorella* sp. U4341 ve *Monoraphidium* sp. FXY-10 türlerinin birlikte üretimi çalışılmıştır. Tekli yetiştirme ile karşılaştırıldığında, iki mikroalgin birlikte yetiştirilmesinin, toplam biyokütle ve toplam lipit verimini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiş ve lipit üretkenliğini geliştirdiği belirtilmiştir ( $29.52$  mgL<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>). Yağ asidi bileşimleri, farklı kültürlerde önemli ölçüde farklılık göstermiştir. Birlikte yetiştirmede C18 yağ asitlerinin içeriği, özellikle oleik asit (% 32.45) ve linolenik asit (% 10.03) için tekli yetiştirmeye kıyasla önemli ölçüde artmıştır. Ayrıca, birlikte yetiştirmede yüksek doymuş ve tekli doymamış yağ asitleri (% 55.85) elde edilmiştir.

Bogen ve ark. (2013a), bu çalışmada 17 cinse ait 30 mikroalg suşunu, fotoototrofik büyüme koşullarında biyokütle verimliliği, lipit miktarı, lipit kalitesi ve biyokütle parçalanabilirliği açısından incelemiştir. Bunlar arasında *Monoraphidium contortum* maksimum büyüme sırasında yüksek biyokütle üretkenliği ve lipit profili ile sıvı biyoyakıt üretimi için umut verici bir aday olarak tanımlanmıştır. Nötr lipit üretimi, *Monoraphidium contortum*'da nitrojen eksikliği olan koşullar tarafından güçlü bir şekilde uyarılmış ve %  $20.4 \pm 2.2$ 'ye kadar biriktiği tespit edilmiştir.

Bogen ve ark. (2013b) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise, *Monoraphidium neglectum*, nitrojen açlığı altında % 20.9 nötr lipit, % 30 (kuru ağırlık) toplam lipit içeriğine sahip, ağırlıklı olarak C18:1 ve C16:0 yağ asitlerinden oluşan, uygun büyüme özelliklerine ve ayrıca ham petrol üretimi için yüksek potansiyele sahip bir tür olarak tanımlanmıştır. Genom dizilimi ve triaçilgliserol oluşumu için anahtar enzimler açıklanmıştır.

García ve ark. (2013), *Monoraphidium contortum*, *Tetraselmis suecica* ve *Chlorella minutissima*'da hücre büyümesi, nitrat tüketimi, lipit üretimi ve yağ asidi bileşimi üzerindeki nitratın etkisini araştırmışlardır. Bunları belirlemeye yönelik deneyler, sodyum nitratın üç farklı konsantrasyonunda ( $57$ ,  $113$  ve  $225$  mgL<sup>-1</sup>) gerçekleştirilmiştir. Mikroalgal kültürler, Bold Basal besin ortamında,  $25 \pm 1$ °C'de 1 vvm steril sürekli hava akımı altında, 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyodu ve

yaklaşık  $80 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  ışık yoğunluğunda tutulmuştur (neon soğuk beyaz floresan lamba ile). *Monoraphidium contortum*'un maksimum biyomasları üç farklı sodyum nitrat konsantrasyonunda sırasıyla 0.2; 0.44 ve  $0.80 \text{ gL}^{-1}$  olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, sodyum nitrat içeriği  $225 \text{ mg'dan } 57 \text{ mgL}^{-1}$ 'e düştüğünde *Monoraphidium contortum*'un lipit içeriğinin önemli ölçüde arttığı ve % 9.6'dan % 32.6'ya çıktığı belirlenmiştir.

Sathya ve Srisudha (2013), Hindistan'ın Madurai bölgesi tatlı su kütlelerinden izole edilen bazı mikroalg türlerinin biyomas ve lipit içeriklerini tespit etmişlerdir. Türler, Chu10 besi ortamında 12:12 saat aydınlık/karanlık fotoperiyotta, 2000 lux ışık yoğunluğu ve  $25^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta kültüre edilmiştir. Yüksek lipit içeriği *Chlamydomonas* sp. - G15 (% 33.4), *Monoraphidium contortum* - G7 (% 29.8) ve *Pseudomuriella* sp. - G9'da (% 28.7) durağan faz döneminde gözlenmiştir.

Yang ve ark. (2013), *Monoraphidium* 3s35 alg suşundan ekstrakte edilen uzun zincirli alkollerin bileşimini ve özelliklerini araştırmışlardır. Bu çalışmada biyokütle üretimi, farklı yetiştirme yöntemleri kullanılarak optimize edilmiştir. Yetiştirme koşulları için BG-11 ortamı,  $26^{\circ}\text{C}$  sıcaklık, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık periyotta,  $100.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ışık yoğunluğu sağlayan floresan lamba kullanılmıştır. Havalandırılmış büyüme koşulu altında, bu suştan, % 37.26 kuru ağırlık ve  $576 \text{ mgL}^{-1}$  biyokütle elde edilmiştir. Ekstraktların ana bileşikleri esas olarak karbon zincir uzunluğu 12 ila 20 arasında olan uzun zincirli alkollerdir (% 89.24). *Monoraphidium* 3s35, petrodizel benzeri yakıt için önemli bir katkı maddesi olarak kullanılabilen  $\text{C}_{17}$  ve  $\text{C}_{20}$  alkanların % 9.73'ünü üretmiştir.

Yu ve ark. (2012), bu çalışmada Çin'in Yunnan Eyaletindeki Fuxian tatlı su Gölü'nden izole edilen *Monoraphidium* sp. FXY-10 türünün morfolojik ve genomik karakterizasyonunu belirleyerek tanımlamışlardır. Türün lipit üretkenlikleri, yağ asidi profili ve mikroalg geri kazanım verimliliği araştırılmış ve ototrofik ve heterotrofik koşullar altında karşılaştırılmıştır. Ototrofik kültürler, BG-11 ortamında,  $25^{\circ}\text{C}$ 'de, beyaz floresan lambalar ile  $70 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$  ışık yoğunluğu altında, sürekli aydınlatma, ve 120 rpm çalkalamalı ortamda tutulmuştur. Heterotrofik kültür için karanlıkta  $25^{\circ}\text{C}$ 'de 120 rpm'de çalkalanarak BG-11 sıvı ortamına  $10 \text{ g L}^{-1}$  glikoz ilave edilmiştir. Ototrofik koşullar altında FXY-10 (% 56.8), heterotrofik koşullar altında yetiştirilmeye göre (% 37.56) daha yüksek bir hücresel lipit içeriği sergilemiştir. Bununla birlikte, heterotrofik koşullar altında büyüyen FXY-10, ototrofik koşullar altındakine kıyasla lipit üretkenliğinde 20

kattan fazla artış sergilediği tespit edilmiştir. Ayrıca, heterotrofik kültür koşulları altında FXY-10'un daha yüksek doymuş ve tekli doymamış yağ asitleri (% 77.5) elde edilmiştir. Yerçekimi sedimantasyonu, 24 saat boyunca çöktükten sonra heterotrofik hücrelerin % 97.9 mikroalg geri kazanım verimliliğine dayanan hasat biyokütle yöntemi olarak önerilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda *Monoraphidium* sp. FXY-10 türünün, biyodizel üretimi için potansiyel bir hammadde olduğu belirtilmiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Mikroalg türü ve sistematikteki yeri

Bu çalışmada kullanılan *Monoraphidium contortum* (Thuret) Komárková-Legnerová türü, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Mikroalg Kültür Koleksiyonu (KAEU-MAK)'ndan temin edilmiştir. Tür Ankara ili, Hacettepe Üniversitesi Beytepe kampüsü içerisindeki tatlı su göletinden izole edilmiştir. Türün sistematikteki yeri Algaebase veri tabanından alınmıştır (Guiry in Guiry, ve Guiry, 2023). *Monoraphidium contortum* türünün fotoğrafları Olympus BX53 marka mikroskop ile çekilmiş ve Şekil 3.1'de verilmiştir.

Phylum: Chlorophyta

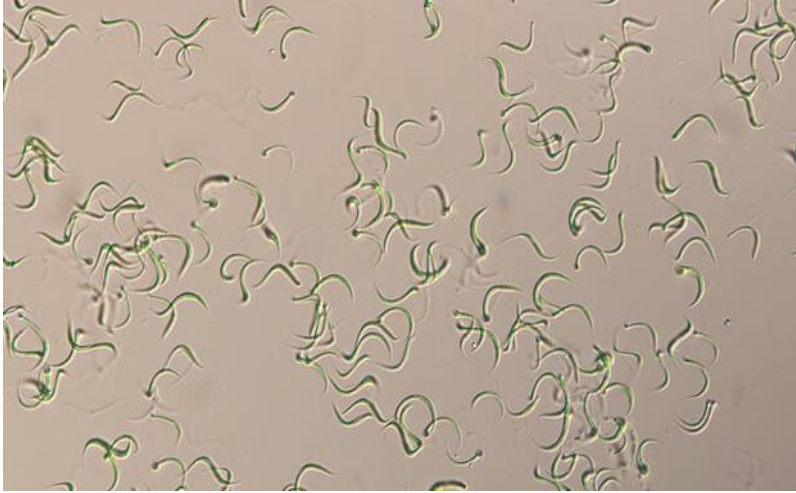
Subphylum: Chlorophytina

Class: Chlorophyceae

Order: Sphaeropleales

Family: Selenastraceae

Genus: *Monoraphidium*



Şekil 3.1. *Monoraphidium contortum* türü mikroskop görüntüsü

*Monoraphidium contortum* türünde hücreler 1-2.2 –(5.2) µm genişliğinde, 7-40 (-45) µm uzunluğundadır. Hücreler dar iğ şeklinde, düz veya daha çok hafifçe bükülmüş



veya spiral (1.5 spirale kadar) olarak bükülmüş olup, kademeli olarak uçlara doğru daralır (John ve ark., 2002).

### 3.1.2. BG-11 besin ortamı

Bu çalışmada kullanılan BG-11 ortamı, Mikroalg Kültürü Laboratuvarında biyokütle üretiminin elde edilmesi için optimum koşullar sağlanarak hazırlanmıştır. BG-11 besin ortamı kimyasal içerikleri Tablo 3.1 ve Tablo 3.2’de verilmiştir (Andersen, 2005).

**Tablo 3.1.** BG-11 besin ortamı içeriği

No	Bileşen	Miktar	Stok Solüsyon Konsantrasyonu	Son Konsantrasyon
1	NaNO <sub>3</sub>	10 mL/L	30 g/200 mL dH <sub>2</sub> O	17.6 mM
2	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10 mL/L	0,8 g/200 mL dH <sub>2</sub> O	0.23 mM
3	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	10 mL/L	1.5 g/200 mL dH <sub>2</sub> O	0.3 mM
4	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	10 mL/L	0.72 g/200 mL dH <sub>2</sub> O	0.24 mM
5	Citric Asit·H <sub>2</sub> O	10 mL/L	0.12 g/200 mL dH <sub>2</sub> O	0.031 mM
6	Ferric Ammonium Citrate	10 mL/L	0.12 g/200 mL dH <sub>2</sub> O	0.021 mM
7	Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	10 mL/L	0.02 g/200 mL dH <sub>2</sub> O	0.0027 mM
8	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	10 mL/L	0.4 g/200 mL dH <sub>2</sub> O	0.19 mM
9	BG-11 Trace Metal Solüsyonu	1 mL/L	-	

BG-11 ortamında Tablo 3.1’de belirtilen kimyasal maddeler, 900 ml saf suya belirtilen sırada ve oranlarda eklenmiş ve saf su ile 1000 ml’ye tamamlanmıştır. Stok solüsyonlar +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

BG-11 Trace Metal Solüsyonu için de Tablo 3.2’deki kimyasal maddeler 900 ml saf suya belirtilen oranlarda eklenmiş, sonrasında 1000 ml’ye tamamlanmış ve sonrasında buzdolabında +4 °C’de tutulmuştur. Hazırlanan Trace Metal Solüsyonundan, BG-11 besin ortamınının 1 L’si için 1 mL eklenmiştir. Besin ortamlarının sterilizasyonu, JSR

JSAC-60 marka otoklav da 121 °C’de 20 dakika otoklavlanarak sağlanmıştır. Kullanılan cam malzemelerin sterilizasyonu, Nüve marka FN500 sterilizatörde 180 °C’de en az 60 dakika bekletilerek yapılmıştır.

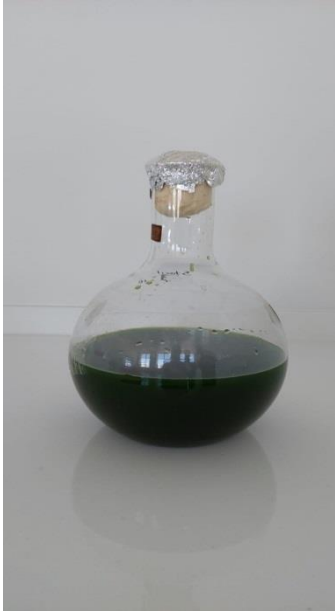
**Tablo 3.2.** BG-11 Trace Metal Solüsyonu

No	Bileşen	Miktar	Son Konsantrasyon
1	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.86 g/L	46 mM
2	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.81 g/L	9 mM
3	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.22 g/L	0.77 mM
4	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.39 g/L	1.6 mM
5	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.079 g/L	0.3 mM
6	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	49.4 mg/L	0.17 mM

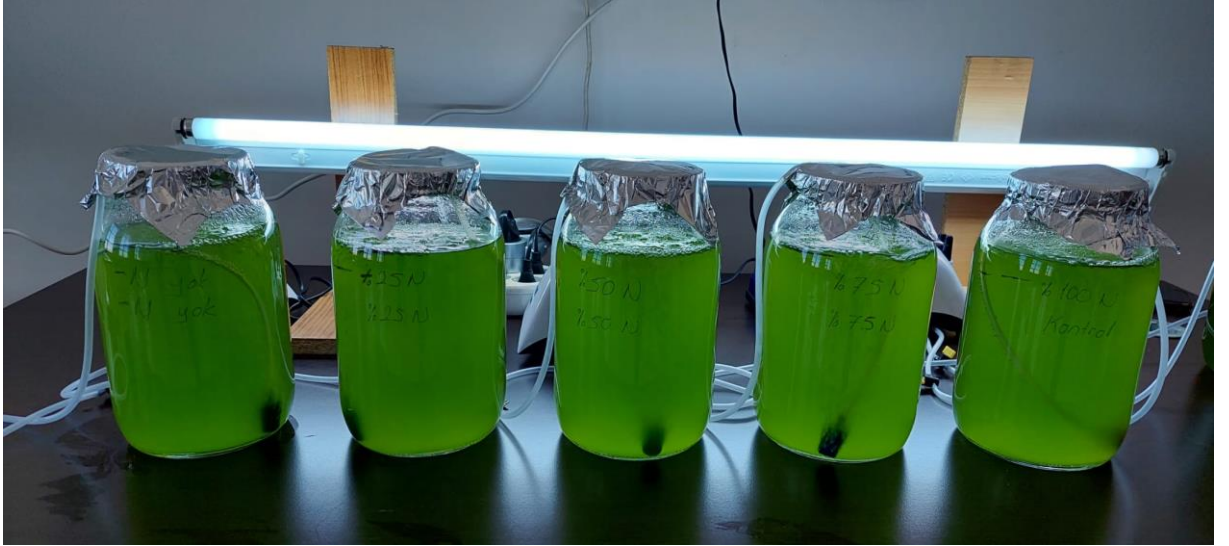
### 3.2. Metot

#### 3.2.1. Deney düzeneklerinin kurulması

*Monoraphidium contortum* türü kesikli kültür sisteminde yetiştirilmiştir. Deneylerde kullanmak için gerekli olan kültür hacmi önce 50 mL’lik erlenden, hacmi arttırmak amacıyla aşamalı olarak 250, 500, 750, 1000, 1500 mL ve 3000 mL’lik erlenlerde BG-11 besin ortamında çoğaltılmıştır (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2.** *Monoraphidium contortum* üretimi



**Şekil 3.3.** *Monoraphidium contortum* deney düzeneği (ilk ekim günü)

Mikroalg türünün kültüre edilmesinde Şekil 3.3 ve Şekil 3.4’de görüldüğü gibi floresan lambalı düzenek kurulmuştur. Kültür koşulları 16 saat aydınlık-8 saat karanlık periyodunda,  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık şiddetinde,  $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  sıcaklık aralığında ve besin ortamı pH’ı 6.8 olacak şekilde ayarlanmıştır. Kültürlere hava, akvaryum motoru ile sağlanmıştır.



**Şekil 3.4.** *Monoraphidium contortum* düzenegi (29. gün)

### 3.2.2. Deney seti

BG-11 besin ortamı (kontrol-1L) hazırlanırken, Tablo 3.1'deki her stok solüsyonundan 10'ar mL ve 1 mL metal solüsyonu eklenmiş ve saf su ile 1L'ye tamamlanmıştır. Besin ortamlarının pH düzeyi 1 M HCl kullanılarak 6.8 olacak şekilde ayarlanmıştır. Deneylerde 3 L'lik cam kavanozlar kullanılmış ve sterilizasyon işleminden geçirilmiştir. Deneyler için değiştirilen azot içerikleri ise aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

1. N yok: Besin ortamına 1 no'lu stok solüsyonundan (NaNO<sub>3</sub>) eklenmemiştir.

2. %25 N: 1 no'lu stok solüsyonundan (NaNO<sub>3</sub>) % 25 oranında ilave edilmiştir.

3. %50 N: 1 no'lu stok solüsyonundan (NaNO<sub>3</sub>) % 50 oranında ilave edilmiştir.

4. %75 N: 1 no'lu stok solüsyonundan (NaNO<sub>3</sub>) % 75 oranında ilave edilmiştir.

5. Kontrol grubu; Normal stok solüsyon konsantrasyonları kullanılarak BG-11 besin ortamı hazırlanmıştır

Hazırlanan beş farklı azot içeriğine sahip besin ortamından 3 L'lik kavanozlar içerisine 2250 mL besin ortamı ve üretilen *Monoraphidium contortum* kültüründen 250 mL eklenmek üzere deney seti oluşturulmuştur.

### 3.2.3. Deney süresince yapılan analizler

*Monoraphidium contortum* türü biyomasındaki artışın ölçülmesi, hücre sayımları, kuru ağırlık, klorofil-a ve optik yoğunluklarının tespitiyle elde edilmiştir.

#### 3.2.3.1. Hücre sayımları

Hücre yoğunlukları, Thoma lamındaki 16 kareye düşen hücrelerin sayımıyla tespit edilmiştir. Hücre sayımları ekim işleminin başlangıcında ve her iki günde bir yapılmıştır. Hücre yoğunlukları (Guillard ve Sieracki 2005)'e göre aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\text{Hücre sayısı} = \frac{16 \text{ kareye düşen toplam hücre sayısı} \times 4000 \text{ (1 karenin hacmi)}}{16}$$

#### 3.2.3.2. Kuru ağırlık

Kuru ağırlıkların tespiti için, *Monoraphidium contortum* kültürlerinden steril koşullar gözetilerek 10'ar mL örnek alınmıştır. Örnekler, 5000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlenmiş, süpernatant atılmış ve daha sonra 20 mL distile su ile yıkanmıştır. Örneklerin süzülmesi işlemi için, kullanılan Whatman GF/C filtre kağıtları 105°C'de 1 saat etüvde tutulmuş, sonrasında soğutulmuş ve darası alınmıştır. Bir su trombu yardımıyla oluşturulan vakum sayesinde filtre kağıdından *Monoraphidium contortum* türü süzülmüştür. Kurutma işleminden sonra hassas terazide tartılmış ve kuru ağırlık miktarları hesaplanmıştır (Vonshak, 1997).

### 3.2.3.3. Pigment analizleri

Mikroalg örneklerinin biyokütlesinin klorofil-a analizleri metanol metodu kullanılarak yapılmıştır (Hipkins ve Baker, 1986). Azot oranları farklı olarak hazırlanan beş deney grubundan her seferinde alınan 15 mL'lik örnek Whatman GF/C kağıdından bir su trompu kullanılarak süzülmüştür. Whatman GF/C kağıdı üzerinde kalan süzüntü ile birlikte 50 mL'lik mavi kapaklı cam şişelere alınmıştır. Üzerlerine 14 mL % 96'lık metanol eklenerek, 70 °C'de, su banyosunda bekletilmiştir. Bu işleminden sonra 5 dk. karanlıkta bırakılmış ve Whatman GF/A kağıdından tekrar süzülerek, süzüntü hacmi ölçülmüştür. Biochrom Libra S70 marka spektrofotometrede elde edilen süzüntünün 665 ve 750 nm dalga boylarındaki değerleri tespit edilmiştir.

Klorofil-a miktarı ise;

$$\mu\text{gr Chl-a/L} = 13,6 \times A.v / d.V$$

$$d = 1 \text{ cm}$$

$$V = \text{Başlangıçta süzülen numune miktarı}$$

$$v = \text{Son olarak elde edilen süzüntü miktarı}$$

A = Absorbans (Not: Eğer 750 nm'de okunan değer 0'dan büyükse, bu değer 665 nm'deki değerden çıkarılarak A elde edilir.)

Toplam karotenoidi belirlemek için spektrofotometrede 480 nm dalga boyunda ölçümler yapılmış ve formüle uygulanmıştır (Yalcin, 2020).

$$\text{Toplam karotenoid } (\mu\text{g L}^{-1}) = D480 \times 10$$

### 3.2.3.4. Optik yoğunluk

Mikroalglerin maksimum absorbans değeri, optik yoğunluk (OD) ile büyüme eğrisinin tespiti için kullanılır (Yalcin, 2020). Optik yoğunluk için her örneklemede 3 mL örnek homogen bir dağılım sağlandıktan sonra steril koşullar bozulmadan alınmıştır.

Biochrom Libra S70 marka spektrofotometrede 190-1100 nm dalga boyunda tarama yapılmış ve maksimum absorbans değeri 684 nm olarak tespit edilmiştir. Optik yoğunluk için 684 nm'deki değerler kaydedilmiştir.

### **3.2.4. Deney sonrasında yapılan analizler**

#### **3.2.4.1. Hasat işlemi**

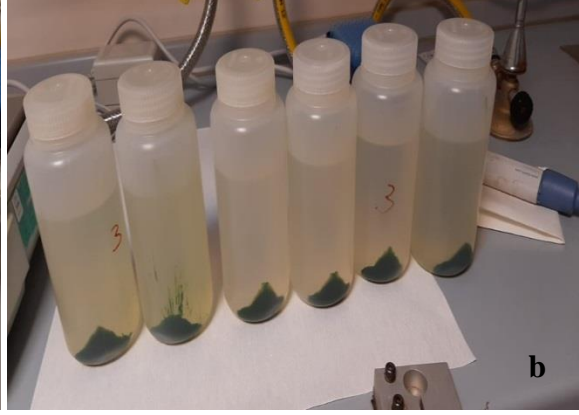
Kültürlerin logaritmik artış fazından sonra, kontrol ve deney gruplarına ait örneklerin hasat işlemi ODTÜ Merkezi Laboratuvarında, 9000 rpm de 30 dk santrifüj edilerek yapılmıştır (Şekil 3.5 a-b). Santrifüj edilen örnekler, etüvde 40 °C'de 24 saat süreyle kurutulmuştur.

#### **3.2.4.2. Lipit ve yağ asidi analizi**

Lipit analizi, Bligh ve Dyer (1959) metoduna göre yapılmıştır. 0.2 g homojenize örnek üzerine 120 ml metanol/kloroform (1/2) eklenmiş ve karıştırılmıştır. Sonrasında örneklere 20 mL % 0.4'lük CaCl<sub>2</sub> solüsyonundan eklenmiş, süzme kağıdından darası alınmış balon jodelere süzdürülmüştür. Balon jodeler, ağızları hava almayacak şekilde kapatılıp, 1 gece karanlık bir ortamda bekletilmiş ve ertesi gün metanol-sudan oluşan üst tabaka bir ayırma hunisi yardımıyla alınmıştır. Balonların içinde kalan kloroform-lipit kısmından kloroform 60 °C'de su banyosunda uçurulmuştur. Bu işlemlerden sonra balon jodeler, etüvde 1 saat 90 °C'de bekletilmiş ve içerisindeki kloroformun tamamen uçması sağlanmıştır. Desikatör içerisinde oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve hassas terazide ölçümler yapılmıştır. Lipit oranının hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{Lipit miktarı (\%)} = \left[ \frac{\text{Ekstrakte edilen lipit miktarı (g)}}{\text{mikroalg örnek miktarı (g)}} \right] \times 100$$

Eksrakte edilmiş lipitten, yağ asidi metil esterlerinin tespiti, Ichihara ve ark. (1996) metoduna göre yapılmıştır. 25 mg eksrakte edilmiş lipit örneği üzerine 4mL 2M'lık KOH ve 2mL n-heptan ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 2 dakika vortekste karıştırıldıktan sonra, 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve sonrasında heptan tabakası gaz kromatografisinde analiz edilmiştir. Bu analizler, Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.5. a-b. *Monoraphidium contortum* hasat işlemi

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

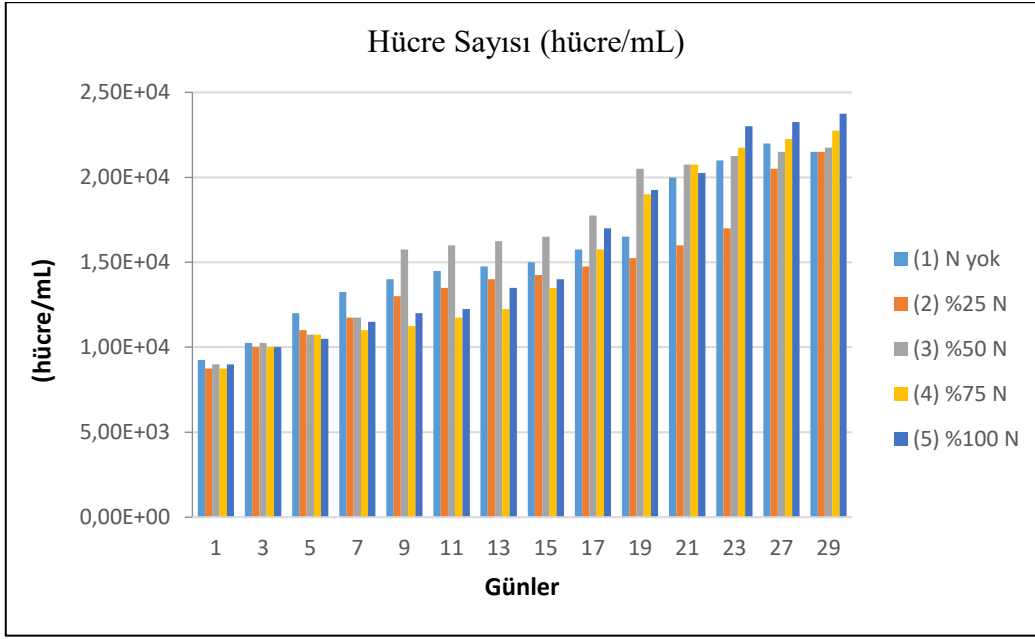
### 4.1. Hücre Sayısı

Kültürlerin başlangıç hücre sayıları ( $8.75 \times 10^3$  –  $9.25 \times 10^3$  hücre/mL) arasındadır. Tablo 4.1’de çalışma periyodu boyunca, N (azot) miktarı değiştirilerek modifiye edilmiş besin ortamlarındaki toplam hücre sayısındaki artışlar gösterilmiştir. Çalışmanın 29. gününde [(5) %100 N] kültür koşulundaki *Monoraphidium contortum* kültürünün ( $2.38 \times 10^4$  hücre/mL) en yüksek hücre sayısına sahip olduğu, en düşük hücre sayısının ise ( $2.15 \times 10^4$  hücre/mL) ile [(1) N yok ve (2) %25 N] kültür koşullarında olduğu bulunmuştur. Diğer besin ortamı koşullarında ise hücre sayıları  $2.18 \times 10^4$  ile  $2.28 \times 10^4$  (hücre/mL) arasında tespit edilmiştir (Şekil 4.1).

**Tablo 4.1.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki hücre sayıları (hücre/mL)

Günler	Kültür Koşulları ve Hücre Sayıları (hücre/mL)				
	(1) N yok	(2) %25 N	(3) %50 N	(4) %75 N	(5) %100 N
1	$9.25 \times 10^3$	$8.7 \times 10^3$	$9.00 \times 10^3$	$8.75 \times 10^3$	$9.00 \times 10^3$
3	$1.03 \times 10^4$	$1.00 \times 10^4$	$1.03 \times 10^4$	$1.00 \times 10^4$	$1.00 \times 10^4$
5	$1.20 \times 10^4$	$1.10 \times 10^4$	$1.08 \times 10^4$	$1.08 \times 10^4$	$1.05 \times 10^4$
7	$1.33 \times 10^4$	$1.18 \times 10^4$	$1.18 \times 10^4$	$1.10 \times 10^4$	$1.15 \times 10^4$
9	$1.40 \times 10^4$	$1.30 \times 10^4$	$1.58 \times 10^4$	$1.13 \times 10^4$	$1.20 \times 10^4$
11	$1.45 \times 10^4$	$1.35 \times 10^4$	$1.60 \times 10^4$	$1.18 \times 10^4$	$1.23 \times 10^4$
13	$1.48 \times 10^4$	$1.40 \times 10^4$	$1.63 \times 10^4$	$1.23 \times 10^4$	$1.35 \times 10^4$
15	$1.50 \times 10^4$	$1.43 \times 10^4$	$1.65 \times 10^4$	$1.35 \times 10^4$	$1.40 \times 10^4$
17	$1.58 \times 10^4$	$1.48 \times 10^4$	$1.78 \times 10^4$	$1.58 \times 10^4$	$1.70 \times 10^4$
19	$1.65 \times 10^4$	$1.53 \times 10^4$	$2.05 \times 10^4$	$1.90 \times 10^4$	$1.93 \times 10^4$
21	$2.00 \times 10^4$	$1.60 \times 10^4$	$2.08 \times 10^4$	$2.08 \times 10^4$	$2.03 \times 10^4$
23	$2.10 \times 10^4$	$1.70 \times 10^4$	$2.13 \times 10^4$	$2.18 \times 10^4$	$2.30 \times 10^4$
27	$2.20 \times 10^4$	$2.05 \times 10^4$	$2.15 \times 10^4$	$2.23 \times 10^4$	$2.33 \times 10^4$
29	$2.15 \times 10^4$	$2.15 \times 10^4$	$2.18 \times 10^4$	$2.28 \times 10^4$	$2.38 \times 10^4$





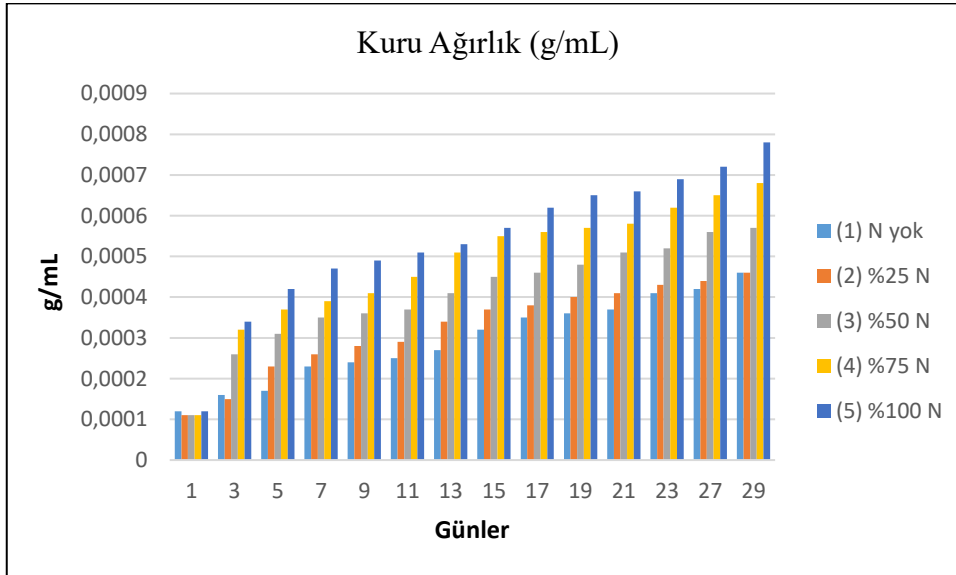
**Şekil 4.1.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki hücre sayıları (hücre/mL)

#### 4.2. Kuru Ağırlık

Kültürlerin kuru ağırlıkları ve hücre sayımları eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiş ve kuru ağırlıkları Tablo 4.2 ve Şekil 4.2’de verilmiştir. Çalışmanın 29. gününde [(5) %100 N] modifiye besi ortamında yetişen kültürlerde en yüksek kuru ağırlık (0.00078 g/mL) tespit edilirken, en düşük kuru ağırlıklar [(1) N yok ve (2) % 25 N] kültürlerinde (0.00046 g/mL) olarak ölçülmüştür. Diğer iki ortamda ise [(3) % 50 N]’de 0.00057 g/mL ve [(4) %75 N]’de 0.00068 g/mL’dir.

**Tablo 4.2.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki kuru ağırlık değerleri (g/mL)

Günler	Kültür Koşulları ve Kuru Ağırlık Değerleri (g/mL)				
	(1) N yok	(2) %25 N	(3) %50 N	(4) %75 N	(5) %100 N
1	0.00012	0.00011	0.00011	0.00011	0.00012
3	0.00016	0.00015	0.00026	0.00032	0.00034
5	0.00017	0.00023	0.00031	0.00037	0.00042
7	0.00023	0.00026	0.00035	0.00039	0.00047
9	0.00024	0.00028	0.00036	0.00041	0.00049
11	0.00025	0.00029	0.00037	0.00045	0.00051
13	0.00027	0.00034	0.00041	0.00051	0.00053
15	0.00032	0.00037	0.00045	0.00055	0.00057
17	0.00035	0.00038	0.00046	0.00056	0.00062
19	0.00036	0.0004	0.00048	0.00057	0.00065
21	0.00037	0.00041	0.00051	0.00058	0.00066
23	0.00041	0.00043	0.00052	0.00062	0.00069
27	0.00042	0.00044	0.00056	0.00065	0.00072
29	0.00046	0.00046	0.00057	0.00068	0.00078



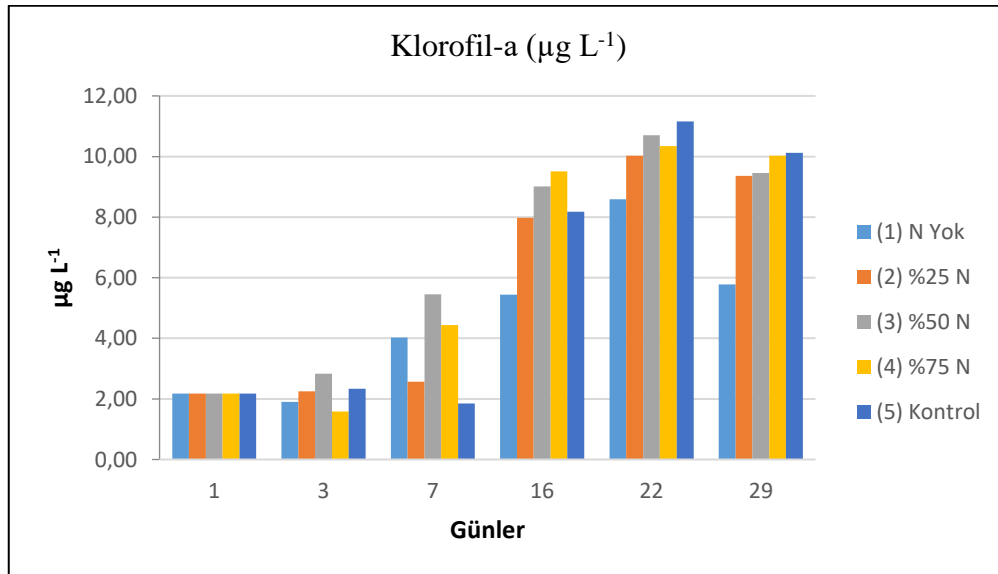
**Şekil 4.2.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki kuru ağırlık değerleri (g/mL)

### 4.3. Pigment Miktarının Tespiti

Beş farklı azot konsantrasyonunun uygulandığı *Monoraphidium contortum* kültürlerinde en yüksek klorofil-a konsantrasyonu [(5) %100 N] koşulda yetişen kültürde ( $10.12 \mu\text{g L}^{-1}$ ) olarak ölçülürken 29.günün sonunda en düşük değer [(1) N yok] kültüründe ( $5.78 \mu\text{g L}^{-1}$ ) bulunmuştur (Tablo 4.3 ve Şekil 4.3).

**Tablo 4.3.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki klorofil-a miktarları ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )

Günler	Kültür Koşulları ve Klorofil-a Değerleri ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )				
	(1) N yok	(2) %25 N	(3) %50 N	(4) %75 N	(5) %100 N
1	2.18	2.18	2.18	2.18	2.18
3	1.9	2.25	2.83	1.58	2.34
7	4.03	2.57	5.45	4.44	1.85
16	5.44	7.98	9.01	9.51	8.18
22	8.59	10.03	10.7	10.34	11.16
29	5.78	9.36	9.46	10.03	10.12

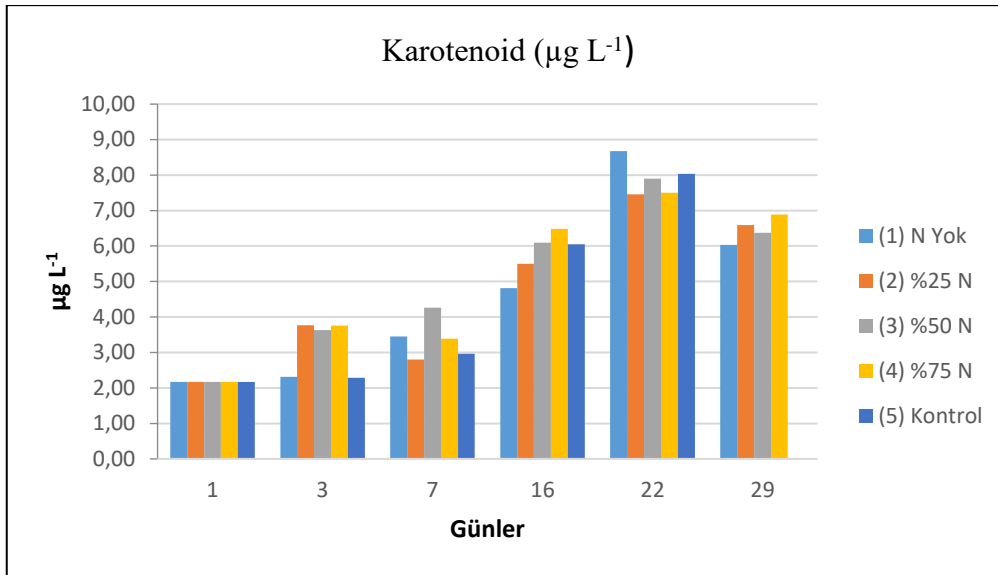


**Şekil 4.3.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki klorofil-a miktarları ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )

Farklı kültür ortamlarındaki toplam karotenoid miktarında en yüksek [(4) %75 N] ortamında ( $6.89 \mu\text{g L}^{-1}$ ) en düşük ise [(1) N yok] ortamında ( $6.03 \mu\text{g L}^{-1}$ ) olarak ölçülmüştür (Tablo 4.4 ve Şekil 4.4).

**Tablo 4.4.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki karotenoid miktarları ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )

Günler	Kültür Koşulları ve Karotenoid Değerleri ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )				
	(1) N yok	(2) %25 N	(3) %50 N	(4) %75 N	(5) %100 N
1	2.17	2.17	2.17	2.17	2.17
3	2.31	3.77	3.63	3.76	2.29
7	3.45	2.8	4.26	3.39	2.96
16	4.81	5.5	6.09	6.48	6.05
22	8.67	7.46	7.9	7.5	8.03
29	6.03	6.59	6.37	6.89	6.22



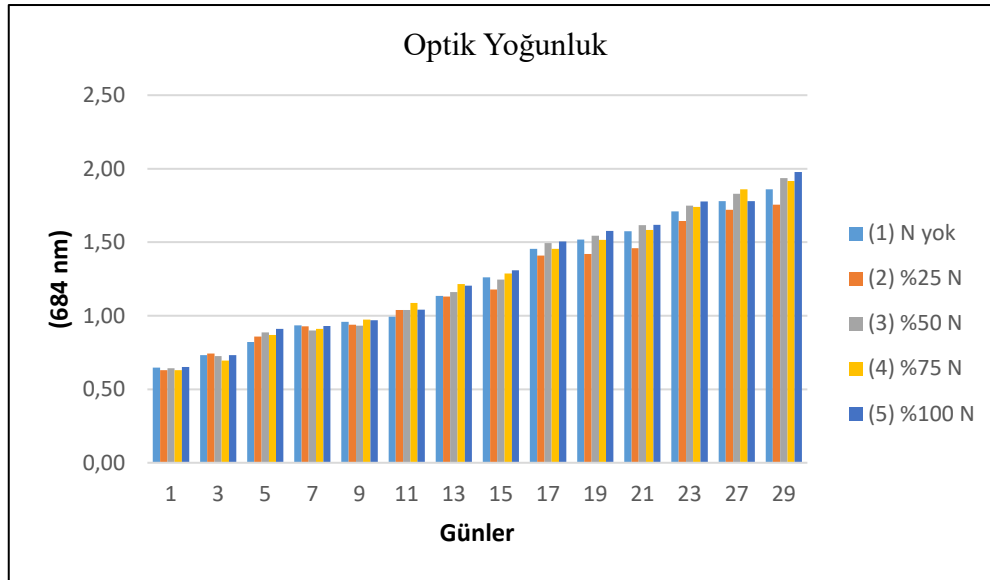
**Şekil 4.4.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki karotenoid miktarları ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )

#### 4.4. Optik Yoğunluk

Kültürlerin optik yoğunlukları da ekimin yapıldığı ilk günden çalışmanın sonlandırıldığı güne kadar hücre sayımları ve kuru ağırlıklarla birlikte ölçülmüştür. Çalışmanın 29. gününde ve 684 nm absorbansta en yüksek optik yoğunluk [(5) %100 N] nolu kültürde (1.98), en düşük [(2) % 25 N] nolu kültürde (1.75) olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.5 ve Şekil 4.5).

**Tablo 4.5.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki optik yoğunluk değerleri

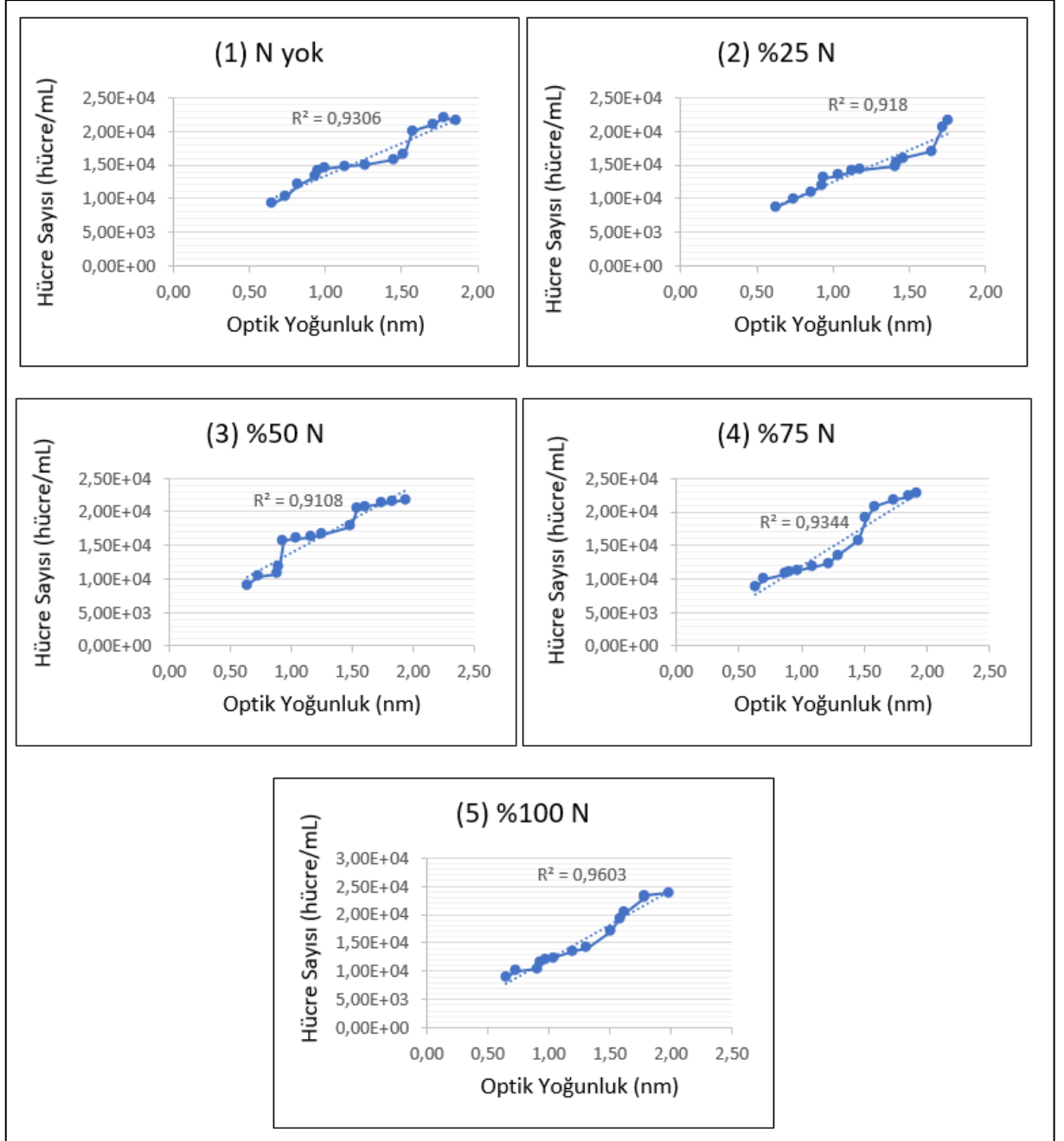
Günler	Kültür Koşulları ve Optik Yoğunluk Değerleri				
	(1) N yok	(2) %25 N	(3) %50 N	(4) %75 N	(5) %100 N
1	0.65	0.63	0.64	0.63	0.65
3	0.73	0.74	0.73	0.70	0.73
5	0.82	0.86	0.89	0.87	0.91
7	0.93	0.93	0.90	0.91	0.93
9	0.96	0.94	0.93	0.97	0.97
11	0.99	1.04	1.04	1.09	1.04
13	1.14	1.13	1.16	1.21	1.21
15	1.26	1.18	1.25	1.29	1.31
17	1.46	1.41	1.49	1.46	1.51
19	1.52	1.42	1.54	1.52	1.58
21	1.58	1.46	1.62	1.58	1.62
23	1.71	1.64	1.75	1.74	1.78
27	1.78	1.72	1.83	1.86	1.78
29	1.86	1.75	1.94	1.92	1.98



**Şekil 4.5.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki optik yoğunluk değerleri

Kültürlerin absorbans ve hücre konsantrasyonları arasındaki ilişki için kalibre edilmiş veriler Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Optik yoğunluk (nm) ve hücre konsantrasyonu

(hücre/mL) arasındaki korelasyon (Pearson) lineardır. Bulunan bu değerler: (1) N yok ( $R^2=0.9306$ ), (2) % 25 N ( $R^2=0.918$ ), (3) % 50 N ( $R^2=0.9108$ ), (4) % 75 N ( $R^2=0.9344$ ), (5) % 100 N ( $R^2=0.9603$ ) şeklinde hesaplanmıştır.



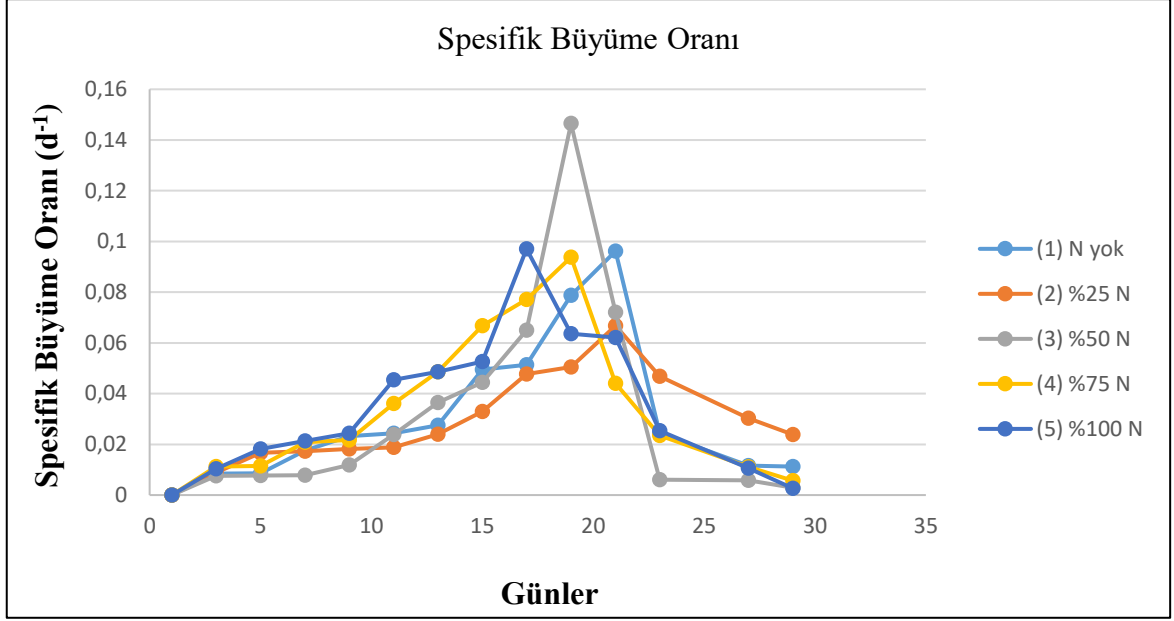
**Şekil 4.6.** Kültürlerin optik yoğunluk (nm) ve hücre konsantrasyonu (hücre/mL) arasındaki korelasyon

#### 4.5. Spesifik Büyüme Oranı

Hem kontrol hem de % N oranının değiştirilerek hazırlanan besin kültür ortamlarında yetiştirilen *Monoraphidium contortum* için büyüme eğrileri Şekil 4.7’de verilmiştir. Alg büyüme oranı [(3) % 50 N] modifiye besi ortamında ve 19.günde ( $0.1465 \text{ d}^{-1}$ ) ile en yüksek bulunmuş ve ikilenme süresi ( $4.7 \text{ d}^{-1}$ ) olarak hesaplanmıştır. En düşük oran 21. günde ( $0.0667 \text{ d}^{-1}$ ) ile [(2) % 25 N] modifiye besi ortamında bulunmuş ve ikilenme süresi ( $10.3 \text{ d}^{-1}$ ) olarak belirlenmiştir (Tablo 4.6).

**Tablo 4.6.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki spesifik üreme oranı

Günler	Kültür Koşulları ve Spesifik Büyüme Oranı ( $\text{d}^{-1}$ )				
	(1) N yok	(2) %25 N	(3) %50 N	(4) %75 N	(5) %100 N
1	0	0	0	0	0
3	0.0084	0.0088	0.0076	0.0112	0.0103
5	0.0085	0.0166	0.0077	0.0114	0.0181
7	0.0175	0.0172	0.0078	0.0208	0.0212
9	0.0232	0.0181	0.0119	0.0217	0.0243
11	0.0243	0.0188	0.0238	0.0361	0.0454
13	0.0275	0.0241	0.0365	0.0485	0.0485
15	0.0495	0.0329	0.0444	0.0667	0.0526
17	0.0513	0.0476	0.0650	0.0770	0.0971
19	0.0788	0.0505	0.1465	0.0938	0.0636
21	0.0962	0.0667	0.0721	0.0441	0.0621
23	0.0244	0.0468	0.0060	0.0235	0.0253
27	0.0116	0.0303	0.0057	0.0111	0.0106
29	0.0112	0.0238	0.0029	0.0056	0.0027
$\mu_{\text{max}}$ :	0.0962	0.0667	0.1465	0.0938	0.0971
İkilenme süresi	7.2	10.3	4.7	7.3	7.1



**Şekil 4.7.** *Monoraphidium contortum* kültürlerinin 5 farklı (N) konsantrasyonundaki spesifik üreme oranı

*Monoraphidium contortum* türünün yetiştirildiği beş farklı modifiye besi ortamı bileşimi için ortalama biyokütle verimi [ $P_{\text{Biyokütle}}$  ( $\text{gL}^{-1} \text{d}^{-1}$ )] Tablo 4.7’de gösterilmektedir. Maksimum  $P_{\text{Biomass}}$  miktarı [(5) %100 N] kültüründe 0.000041 iken bunu sırasıyla [(4) %75 N]’te 0.000032 ( $\text{gL}^{-1} \text{d}^{-1}$ ), [(3) %50 N]’te 0.000026 ( $\text{gL}^{-1} \text{d}^{-1}$ ), [(1) N yok] ve [(2) %25 N]’te 0.000017 ( $\text{gL}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) olarak takip etmiştir. Tablo 4.7’de de açıkça görüldüğü gibi ml/L/gün cinsinden maksimum biyokütle verimi (hücre sayısı) bakımından [(3) %50 N] kültüründe  $1.08 \times 10^3$  (hücre/ml/L/gün) en yüksek iken [(2) %25 N] kültüründe en düşük  $7.62 \times 10^2$  (hücre/ml/L/gün) olarak ölçülmüştür.

**Tablo 4.7.** Beş farklı % N konsantrasyon ortam bileşimi için ortalama biyokütle üretkenliği (kuru ağırlık) ve (hücre sayısı)

	(1) N yok	(2) %25 N	(3) %50 N	(4) %75 N	(5) %100 N
Volumetrik Biyomas Verimi ( $\text{gL}^{-1} \text{d}^{-1}$ )	0.000017	0.000017	0.000026	0.000032	0.000041
Verim (hücre/ml/L/gün)	$9.52 \times 10^2$	$7.62 \times 10^2$	$1.08 \times 10^3$	$1.00 \times 10^3$	$1.00 \times 10^3$



Tablo 4.8’de çalışma periyodu boyunca *Monoraphidium contortum* türünün farklı azot konsantrasyonlarındaki üreme ve gelişme performansları toplu olarak verilmiştir.

**Tablo 4.8.** *Monoraphidium contortum*’un 5 farklı (N) konsantrasyonundaki üreme performansı

	(1) N yok	(2) %25 N	(3) %50 N	(4) %75 N	(5) %100 N
Başlangıç hücre sayısı (gün 1, hücre/mL)	9.25 x 10 <sup>3</sup>	8.75 x 10 <sup>3</sup>	9.00 x 10 <sup>3</sup>	8.75 x 10 <sup>3</sup>	9.00 x 10 <sup>3</sup>
Final Hücre Sayısı (gün 29, hücre/mL)	2.15 x 10 <sup>4</sup> ± 3.26 x 10 <sup>2</sup>	2.15 x 10 <sup>4</sup> ± 3.26 x 10 <sup>2</sup>	2.18 x 10 <sup>4</sup> ± 2.48 x 10 <sup>2</sup>	2.28 x 10 <sup>4</sup> ± 1.79 x 10 <sup>2</sup>	2.38 x 10 <sup>4</sup> ± 2.90 x 10 <sup>2</sup>
Başlangıç optik yoğunluk	0.65	0.63	0.64	0.63	0.65
Final optik yoğunluk	1.86 ± 0.05	1.75 ± 0.05	1.94 ± 0.05	1.92 ± 0.04	1.98 ± 0.06
Üreme Oranı (gün <sup>-1</sup> )	0.0962	0.0667	0.1465	0.0938	0.0971
İkilenme (gün <sup>-1</sup> )	7.2	10.3	4.7	7.3	7.1
Verim (hücre/ml/L/gün)	9.52 x 10 <sup>2</sup>	7.62 x 10 <sup>2</sup>	1.08 x 10 <sup>3</sup>	1.00 x 10 <sup>3</sup>	1.00 x 10 <sup>3</sup>
Başlangıç kuru ağırlık (gün 1, g L <sup>-1</sup> )	0.00012	0.00011	0.00011	0.00011	0.00012
Final kuru ağırlık (gün 29, gL <sup>-1</sup> )	0.00046 ± 0.000027	0.00046 ± 0.000027	0.00057 ± 0.000022	0.00068 ± 0.000022	0.00078 ± 0.000022
Ortalama biyomas verimi P <sub>Biyomas</sub> (gL <sup>-1</sup> gün <sup>-1</sup> )	0.000017	0.000017	0.000026	0.000032	0.000041

Veriler, üç denemenin ortalama ± standart sapması olarak verilmiştir. Ortalama değerler, n = 3.

#### 4.6. Yağ Asidi Profili

*Monoraphidium contortum*’un yağ asidi bileşimleri Tablo 4.9’da verilmiştir. Tablodan da görülebileceği gibi bu yağ asitleri [Palmitik asit (C16:0), Stearik asit (C18:0), Palmitoleik asit (C16:1), Oleik asit (C18:1n9c), Linolelaidik asit (C18:2n6t),  $\alpha$ -Linolenik asit (C18:3n3), Gamma linolenik asit (C18:3n6), Dokosaheksaenoik asit (C22:6n3)] olarak tespit edilmiştir.

**Tablo 4.9.** *Monoraphidium contortum*'un yağ asidi profili (%)

Yağ Asitleri (%)	(1) N yok $\bar{X} \pm s_x$	(2) %25 N $\bar{X} \pm s_x$	(3) %50 N $\bar{X} \pm s_x$	(4) %75 N $\bar{X} \pm s_x$	(5) %100 N $\bar{X} \pm s_x$
Palmitik asit (C16:0)	28.58±1.49 <sup>a</sup>	36.45±2.73 <sup>bc</sup>	34.15±1.22 <sup>ab</sup>	45.80±0.84 <sup>d</sup>	40.60±1.49 <sup>c</sup>
Stearik asit (C18:0)	12.24±2.25 <sup>ab</sup>	18.47±0.58 <sup>c</sup>	10.30±0.70 <sup>a</sup>	25.56±0.83 <sup>d</sup>	13.62±0.86 <sup>b</sup>
<b>ΣSFA</b>	<b>40.83</b>	<b>54.91</b>	<b>44.45</b>	<b>71.36</b>	<b>54.22</b>
Palmitoleik asit (C16:1)	1.29±0.34 <sup>ab</sup>	0.90±0.28 <sup>a</sup>	2.12±0.11 <sup>b</sup>	1.01±0.17 <sup>a</sup>	1.19±0.22 <sup>a</sup>
Oleik asit (C18:1n9c)	8.96±1.40 <sup>b</sup>	6.18±0.54 <sup>a</sup>	16.66±0.58 <sup>d</sup>	6.96±0.08 <sup>a</sup>	13.62±0.55 <sup>c</sup>
<b>ΣMUFA</b>	<b>10.25</b>	<b>7.08</b>	<b>18.78</b>	<b>7.97</b>	<b>14.82</b>
Linolelaidik asit (C18:2n6t)	2.18±0.28 <sup>a</sup>	1.77±0.30 <sup>a</sup>	2.39±0.17 <sup>a</sup>	3.21±0.22 <sup>b</sup>	2.06±0.13 <sup>a</sup>
Linoleik asit (C18:2n6c)	5.93±0.45 <sup>a</sup>	5.21±0.35 <sup>a</sup>	6.13±0.17 <sup>a</sup>	5.18±0.32 <sup>a</sup>	5.11±0.30 <sup>a</sup>
α-Linolenik asit (C18:3n3)	6.59±1.01 <sup>bc</sup>	3.30±0.17 <sup>a</sup>	7.90±0.12 <sup>c</sup>	5.08±0.22 <sup>b</sup>	6.13±0.25 <sup>b</sup>
Gamma linolenik asit (C18:3n6)	0.74±0.14 <sup>a</sup>	2.57±0.49 <sup>b</sup>	0.83±0.08 <sup>a</sup>	2.05±0.16 <sup>b</sup>	0.77±0.10 <sup>a</sup>
Dokosaheksaenoik asit (C22:6n3)	2.05±0.25 <sup>b</sup>	2.33±0.47 <sup>b</sup>	0.51±0.13 <sup>a</sup>	1.29±0.16 <sup>a</sup>	0.79±0.10 <sup>a</sup>
<b>ΣPUFA</b>	<b>17.49</b>	<b>15.18</b>	<b>17.77</b>	<b>16.81</b>	<b>14.87</b>
<b>ΣIdentified</b>	<b>68.57</b>	<b>77.17</b>	<b>81.00</b>	<b>96.14</b>	<b>83.90</b>
<b>Unidentified</b>	<b>31.43</b>	<b>22.83</b>	<b>19.00</b>	<b>3.86</b>	<b>16.10</b>

Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05). n=3  
 $\bar{x} \pm s_x$  ortalama±Standart sapma

#### 4.7. Lipit Analizi

Kültürlere ait (%) lipit miktarı Tablo 4.10'da verilmiştir. Buna göre en yüksek lipit miktarı % 32.11 ile (% 50 N) ortamında yetişen kültürden elde edilirken en düşük lipit miktarı ise (%100 N) ortamında % 14.56 olarak tespit edilmiştir.

**Tablo 4.10.** *Monoraphidium contortum*'un Lipit Miktarı (%)

	(1) N yok	(2) %25 N	(3) %50 N	(4) %75 N	(5) %100 N
<b>Lipit (%)</b>	24.61	18.02	32.11	20.18	14.56

Artan dünya nüfusu ve yüksek kaliteli besin takviyelerine olan talebin artmasıyla birlikte, yakın gelecekte katma değeri yüksek biyolojik ürünler için umut verici bir kaynak sağlayan çeşitli doğal ortamlardan yeni mikroalg suşlarının keşfedilmesi gerekmektedir. Mikroalglerin doğal katma değeri yüksek biyolojik ürünleri sentezleme yeteneği, bu fotosentetik hücre fabrikalarını önemli bir kaynak haline getirmiştir. Ayrıca, bu tür biyoaktif moleküller, nutrasötik ve kozmetik endüstrilerinde büyük ilgi görmektedir (Singh ve ark., 2020).

Günlük ihtiyaçların karşılanması için yenilenemeyen enerji kullanımının 100 yılı aşkın süredir sürekli ve hızlı bir artış göstermesi, yenilenebilir kaynaklara dayalı alternatif enerji kaynakları arayışını tetiklemiştir. Dünya çapında en büyük enerji talebi yakıt olduğundan, biyoyakıt geliştirmek için yoğun çaba sarf edilmektedir. En yaygın biyoyakıtlar, sırasıyla dizel ve benzinin yerini alan biyodizel ve biyoetanoldür. Bitkisel ve hayvansal yağlardan biyodizel üretmek mümkün olsa da, bu ürünleri elde etmek için geniş arazi uzantıları gereklidir. Dolayısıyla diğer mahsullerle rekabet veya biyoçeşitlilikte azalma ile sonuçlanmaktadır. Biyodizel kaynağı olarak mikroalgler gibi alternatiflere ihtiyaç vardır (Pineda-Camacho ve ark., 2019). Bu tek hücreli fototroflar, daha hızlı büyüme oranlarına, daha fazla yağ içeriğine ve çevredeki olumsuz koşullara daha iyi uyum sağladıklarından orijinal biyodizel kaynakları olan bitkisel yağlara göre çeşitli avantajlara sahiptir. Ayrıca, sürekli koşullar altında yetiştirilebilirler ve biyokütlelerindeki CO<sub>2</sub>'i doğrudan sabitleme kapasiteleri sera etkisine neden olan gazların azaltılmasına katkıda bulunur (Shin ve ark., 2018).

Bu çalışmada, mikroalg suşu, Hacettepe Üniversitesi Beytepe kampüsündeki göletten izole edilmiştir. Bu tür çevresel bölgelerden izole edilen mikroalgler, biyotik ve/veya abiyotik stres koşulların üstesinden gelmek ve bu koşullara uyum sağlamak için olumsuz koşullarda spesifik metabolitler üreten habitatlarına ve genetik mimarisine özgü daha yüksek adaptasyon kabiliyeti göstermektedirler. Bu nedenle sürdürülebilir kalkınma için bu tür mikroalg suşlarının potansiyelini değerlendirmek ve analiz etmek önemli bir yaklaşım haline gelmiştir.

Besleyici ortamın bileşimi, mikroalglerin hem büyüme hızı hem de nihai biyokütle konsantrasyonu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Alg büyümesi için ortamda N, P, K, Mg, Ca, S, Fe, Cu, Mn ve Zn gibi çok sayıda makro ve mikro besin gereklidir. Genel olarak büyüme ve hücre içi biyokimyasal döngüler N ve P'nin ortamda

bulunmasına bağlıdır (Yalcin, 2020). Bu çalışmada odak noktamız, biyoyakıtların ve katma değeri yüksek biyolojik ürünlerin üretimi için besin stresini belirlemek ve optimize etmektir. Bu çalışmada BG-11 besiyeri 5 farklı şekilde modifiye edilerek *Monoraphidium contortum* kültürlerinin besin yoksunluğuna maruz kaldıklarında üremeleri, pigment miktarı, lipit ve yağ asidi miktarındaki değişimler incelenmiştir.

Çalışmada kullanılan mikroalg *Monoraphidium contortum* kültürlerinin kuru ağırlıkları ve hücre sayımları eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın 29. gününde [(5) %100 N] kültür koşulundaki *Monoraphidium contortum* kültürünün hücre sayısının ( $2.38 \times 10^4$  hücre/mL) ve kuru ağırlığı (0.00078 g/mL) ile en yüksek olduğu tespit edilmiştir. [(1) N yok ve (2) % 25 N]'de yetişen kültürlerde hücre sayısı ( $2.15 \times 10^4$  hücre/mL), kuru ağırlık (0.00046 g/mL) olarak en düşük ölçülmüştür. Başlangıç ekimini takiben tüm mikroalglerin büyümesi artmış, belirgin bir adaptasyon aşaması gözlenmemiştir. Diğer kültür koşullarında bunların arasında değerler tespit edilmiştir. Ekim işlemini takiben *Monoraphidium contortum* kültürlerinin büyüme oranı [(3) % 50 N] modifiye besi ortamında ve 19. günde ( $0.1465 \text{ d}^{-1}$ ) ile en yüksek bulunmuş ve ikilenme süresi ( $4.7 \text{ d}^{-1}$ ) olarak hesaplanmıştır. En düşük oran 21. günde ( $0.0667 \text{ d}^{-1}$ ) ile [(2) % 25 N] modifiye besi ortamında bulunmuş ve ikilenme süresi ( $10.3 \text{ d}^{-1}$ ) olarak belirlenmiştir. Büyüme gözlem süresinin sonuna doğru yavaşlama eğilimi göstermiş ve sonrasında kültürler durağan faza girmiştir. En hızlı büyüme oranı veya üstel fazın inkübasyonun başlangıcından 19. güne kadar meydana geldiği görülmüştür. Bir gecikme fazının olmaması, aktivasyonun önceki üç aşamasının tüm kültürlerde adaptasyon fazını azaltmayı başardığını göstermektedir, yani hücreler taze ortama girer girmez büyümüşlerdir. Ayrıca, büyüme 25. günlerden itibaren düşme eğiliminde olup, bu da ortamdaki çevresel koşulların artık büyümeyi desteklemediğini göstermektedir. Singh ve ark., (2020) tarafından yapılan çalışmada *Monoraphidium* sp. kültürünün üreme oranı  $0.20 \text{ d}^{-1}$ , biyomas üretimi  $60.56 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen sonuçların daha verimli olduğu görülmektedir.

Besinden yoksun bir ortamda, stres günler boyunca devam ettikçe toplam klorofil miktarının 29. günde yapılan ölçümlerde azaldığı gözlenmiş ve bunun da hücre yaşlanması belirtilerinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Klorofil moleküllerinin formlarında dört nitrojen molekülü içermesi muhtemeldir. Ikaran ve ark., (2015) bunun nedeninin nitrojen yokluğunda organellerin belirli bileşikler sentezlemesini çok daha zor hale getirdiğinden kaynaklandığını belirtmiştir. Bu çalışmada da beş farklı azot

konsantrasyonunun uygulandığı *Monoraphidium contortum* kültürlerinde en yüksek klorofil-a konsantrasyonu [(5) %100 N] koşulda yetişen kültürde ( $10.12 \mu\text{g L}^{-1}$ ) olarak ölçülürken 29. günün sonunda en düşük değer [(1) N yok] kültüründe ( $5.78 \mu\text{g L}^{-1}$ ) bulunmuştur. Karotenoid miktarları da benzer şekilde 29. günde yapılan ölçümde düşüş göstermiştir. Farklı kültür ortamlarındaki toplam karotenoid miktarında en yüksek [(4) %75 N] ortamında ( $6.89 \mu\text{g L}^{-1}$ ) en düşük ise [(1) N yok] ortamında ( $6.03 \mu\text{g L}^{-1}$ ) olarak ölçülmüştür (Tablo 4.4 ve Şekil 4.4). Bojović ve Stojanović (2005), ortamdaki N ve P'nin sınırlandırılmasının/yokluğunun pigmentin bileşimini etkileyebileceğini, klorofil ve karotenoid konsantrasyonunu değiştirebileceğini ve sonuç olarak fotosentez oranını değiştirebileceğini bildirmiştir.

Mikroalgler, hücre kuru ağırlığının % 50'sinden fazlasını, çoğunlukla depolama lipitleri olarak triaçilgliseroller (TAG'ler) formunda olmak üzere lipitlerde biriktirme yeteneğine sahiptir. Bununla birlikte, optimize edilmiş büyüme koşulları altında, TAG'ler yalnızca küçük miktarlarda üretilir; hücreler yalnızca besin sınırlaması (nitrat ve fosfat), sıcaklık, pH veya hafif stres gibi büyümeyi sınırlayan stres koşulları altında büyük miktarlarda TAG biriktirir. Besin sınırlaması altında lipit birikimi iyi bilinen bir olgudur (Shrivastav ve ark., 2015).. Azot, mikroalg gelişimi için gerekli bir besindir. BG-11 ortamında, nitrojen başlıca  $17.6 \text{ mM}$ 'de bulunan sodyum nitrat formundadır. *Monoraphidium contortum*'da hangi nitrojen kaynağının en yüksek büyümeyi ve lipit üretkenliğini belirlemek için organizma, farklı nitrojen kaynakları ile modifiye edilmiş BG-11 ortamında büyütülmüştür. Beş farklı modifiye besi ortamında yetişen kültürlerin yağ asidi kompozisyonlarına bakıldığı zaman en yüksek değerler şu şekilde tespit edilmiştir: Palmitik asit (C16:0) (%75 N) ortamında % 45.80, Stearik asit (C18:0) (%75 N) ortamında % 25.56, Palmitoleik asit (C16:1) (%50 N) ortamında % 2.12, Oleik asit (C18:1n9c) (% 50 N) ortamında % 16.66, Linolelaidik asit (C18:2n6t) (%75 N) ortamında % 3.21, Linoleik asit (C18:2n6c) (% 50 N) ortamında % 6.13, Gamma linolenik asit (C18:3n6) (%25 N) ortamında % 2.57, Dokosaheksaenoik asit (C22:6n3) (%25 N) ortamında % 2.33. Mikroalglerin çoğundan elde edilen lipitlerin yağ asidi profili, biyodizel üretmek için kullanılan bitkisel yağların profiline benzer şekilde palmitik asit (C16:0) ve oleik asit (C18:1) ağırlıklıdır (Pineda-Camacho ve ark., 2019). *Monoraphidium contortum* bu çalışmada yüksek konsantrasyonlarda palmitik asit (C16:0) ve oleik asit (C18:1) sergilemiştir, bu da türün yüksek kaliteli biyodizel üretme yeterliliğini kanıtlamaktadır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mikroalglerin besin yoksunluğu koşullarında hücre içi lipit miktarını artırdığına dair yapılan araştırmalar, bu organizmaların stres yanıtı mekanizmalarını ve biyokimyasal adaptasyonlarını önemli ölçüde aydınlatmaya başlamıştır. Belirli mikroalg türlerinin azot veya fosfor gibi temel besin maddelerinin kısıtlı olduğu ortamlarda hücre içi lipit birikimini artırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu artış, hücrenin enerji depolama kapasitesinin artması ve metabolik yolların lipit sentezine yönelik olarak yeniden düzenlenmesiyle ilişkilendirilmiştir. Besin yoksunluğunun hücre içi lipit birikimini teşvik eden biyokimyasal sinyalleri tetiklediği ve bu durumun, mikroalglerin biyodizel üretimi gibi uygulamalarda potansiyel olarak kullanılabilir yüksek enerji içerikli lipitlerin elde edilmesi açısından önem taşıdığını ortaya koymuştur. Bu çalışmada *Monoraphidium contortum* türü, ekimi takiben 29. günde % 50 azot (N) içeren ortamda yetiştirildiğinde maksimum lipit içeriğine (% 32.11) ulaşmıştır, buna karşılık % 100 N içeren ortamda ise lipit miktarı % 14.56 olarak kaydedilmiştir. Modifiye edilen BG-11 besin ortamlarında yetiştirilen *Monoraphidium contortum*'un toplam lipit içerikleri değerlendirildiğinde, diğer mikroalg türlerine göre belirgin bir şekilde yüksek olduğu görülmektedir. Bu çalışmada da *Monoraphidium contortum*'un lipit birikimi, besin seviyeleri ve kültür durumuyla ilgili streslerden ve özellikle mikroalgler için en kritik besin maddesi olan azottan etkilenmiştir. Bu bulgular, mikroalglerin biyoteknolojik kullanımı ve yenilenebilir enerji kaynakları olarak değerlendirilmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Mikroalglerin besin yoksunluğuna maruz kaldığında hücre içi lipit miktarını artırması üzerine yapılan çalışmalar, bu canlıların enerji depolama mekanizmalarının ve metabolik adaptasyonlarının anlaşılmasında önemli bir kilometre taşı oluşturmaktadır. Bu adaptasyon, mikroalglerin biyodizel üretimi gibi yenilenebilir enerji kaynaklarına dönüştürülmesinde stratejik bir avantaj sunar ve gelecekte sürdürülebilir enerji çözümlerine katkıda bulunabilecek potansiyeli işaret etmektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- Ajayan, K.V., Manaswini, P.S., & Harilal, C.C., (2018). Effect of nitrate and phosphate levels on biochemical contents and fatty acid methyl esters profile of *Monoraphidium contortum* (Thuret), *Eco Chronicle*, 13(2), 51-59.
- Andersen, R.A., (2005). *Algal culturing techniques*, Elsevier Academic Press, New York.
- Ayuwaningsih, I.P., Melati Ferianita Fachrul, M.F., & Rinantiingsih, A., (2018). Increasing lipid content from biomass of microalgae to produce biofuels with optimization of nitrogen source, *MATEC Web of Conferences* 197, 13011. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201819713011>
- Bligh, E. G. & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917.
- Bogen, C., Klassen, V., Wichmann, J., Russa, M., Doebbe, A., Grundmann, M.L., Uronen, P., Kruse, O., Jan H., & Mussnug, J.H., (2013a). Identification of *Monoraphidium contortum* as a promising species for liquid biofuel production, *Bioresource Technology*, 133:622-626, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.164>
- Bogen, C., Al-Dilaimi, A., Albersmeier, A., Wichmann, J., Grundmann, M., Rupp, O., Lauersen, K.J., Blifernez-Klassen, O., Kalinowski, J., Goesmann, A., Mussnug, J.H., & Kruse, O., (2013b). Reconstruction of the lipid metabolism for the microalga *Monoraphidium neglectum* from its genome sequence reveals characteristics suitable for biofuel production, *BMC Genomics*, 14:926. <https://10.1186/1471-2164-14-926>
- Bohnenberger, J.E., & Crossetti, L.O., (2014). Influence of temperature and nutrient content on lipid production in freshwater microalgae culture, *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 86(3): 1239-1248. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201420130136>
- Bojovic, B. & Stojanovic J. (2005). Chlorophyll and carotenoid content in wheat cultivars as a function of mineral nutrition, *Archives of Biological Sciences*, 57:283-290. <https://doi.org/10.2298/ABS0504283B>



- Choi, N., Nunes I.V.O., Ohira, G.O.M., Carvalho, J.C.M., & Matsudo, M.C., (2023). Evaluation of *Monoraphidium contortum* for the tertiary treatment of dairy industry wastewater and biomass production with nitrogen supplementation, *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 46:265–271. <https://doi.org/10.1007/s00449-022-02831-8>
- Chonsongkram J., Pan-utai W., Tareen A.K., Sultan, I.N., Sunpamongkolchai, W., & Parakulsuksatid, P., (2014). Screening of high-lipid content microalgae for biodiesel production, *The 26th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference*, 13-20.
- Cirik, S., Gökpınar Ş. (2006). *Plankton Bilgisi ve Kültürü*. Ege Üniversitesi Yayınları, Su Ürünleri Fakültesi Yayın No:47, Bornova- İzmir, 274 s.
- Cruz, Y.R., Díaz, G.C., Borges, V.S., Leonett, A.Z.F., Carliz, R.G., Rossa, V., Silva, V.M.E.S., Viegas, C.V., Aranda, D.A.G., & Oliveira, L.B., (2019). Bio-Oil Extracted of Wet Biomass of the Microalga *Monoraphidium* sp. for Production of Renewable Hydrocarbons, *Journal of Power and Energy Engineering*, 7, 80-90. <https://doi.org/10.4236/jpee.2019.71005>
- Çakmak Elibol, Z., 2013, *Mikroalgelerde Nötral Lipid İçeriğinin Artırılması Üzerine Bir Araştırma*, Doktora Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, , s. 1–168.
- Del Rio, E., Armendariz, A., Garcia-Gomez, E., Garcia-Gonzalez, M., & Guerrero, M.G., (2015). Continuous culture methodology for the screening of microalgae for oil, *Journal of Biotechnology*, 195(10), 103-107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.12.024>
- Dhup, A., & Dhawan, V., (2014). Effect of nitrogen concentration on lipid productivity and fatty acid composition of *Monoraphidium* sp., *Bioresource Technology*, 152, 572-575. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.068>
- Díaz, G.C., Cruz, Y.R., Carliz, R.G., de Paula, R.C.V., Aranda, D.A.G., Dario, M.A.G., Marassi, G.S. & Furtado, N.C., (2015). Cultivation of Microalgae *Monoraphidium* sp., in the Plant Pilot the Grand Valle Bio Energy, for Biodiesel Production, *Natural Science*, 7, 370-378. <http://dx.doi.org/10.4236/ns.2015.7704>

- García, D.S., Isidro, A.R., Garrido, T.L.V., Ortiz, C.M.F., Gómez, B.C., & Urbinal, E.C., (2013). Effect of nitrate on lipid production by *T. suecica*, *M. contortum*, and *C. minutissima*, *Central European Journal of Biology*, 8(6), 578-590. <http://dx.doi.org/10.2478/s11535-013-0173-6>
- Guillard R.R.L., Sierachiki M.S. (2005). *Counting cells in cultures with the light microscope*. In: Andersen RA, editors. *Algal culturing techniques*, London: Elsevier Academic Press. 239-252.
- Guiry in Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2023). *AlgaeBase, World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway*, Erişim Linki: [https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species\\_id=27719](https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=27719), Erişim Tarihi: 22 Temmuz 2023.
- Hawrot-Paw, M., Koniuszy, A. & Gałczyńska, M., (2020). Sustainable Production of *Monoraphidium* Microalgae Biomass as a Source of Bioenergy, *Energies*, 13, 5975. <http://dx.doi.org/10.3390/en13225975>
- Ichihara, K.I., Shibahara, A., Yamamoto, K., & Nakayama, T. (1996). An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. *Lipids*, 31(5), 535-539.
- Ikarán, Z., Suárez-Alvarez, S., Urreta, I. & Castañón, S. (2015), The effect of nitrogen limitation on the physiology and metabolism of *Chlorella vulgaris* var L3, *Algal Research*, 10: 2015, 134-144,
- John, D.M., Whitton, B.A., & Brook, A.J., (2002). *The Freshwater Algal Flora of the British Isles An Identification Guide to Freshwater and Terrestrial Algae*, Cambridge University Press, UK.
- Lin, Y., Song, G., Ling, H., Ge, J., & Ping, W., (2021). Isolation of a high-ammonium-tolerant *Monoraphidium* sp. and evaluation of its potential for biodiesel production, *Process Biochemistry*, 111, 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.11.010>
- Lin, Y., Ge, J., Ling, H., Zhang, Y., Ling, H., Yan, X., & Ping, W., (2019). *Monoraphidium* sp. HDMA-20 is a new potential source of  $\alpha$ -linolenic acid and eicosatetraenoic acid, *Lipids in Health and Disease*, 18(56), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12944-019-0996-5>

- Lin, Y., Ge, J., Ling, H., Zhang, Y., Yan, X., & Ping, W., (2018). Isolation of a novel strain of *Monoraphidium* sp. and characterization of its potential for  $\alpha$ -linolenic acid and biodiesel production, *Bioresource Technology*, 267, 466–472. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.081>
- Markou, G., Nerantzis, E., (2013). Microalgae for high-value compounds and biofuels production: are view with focus on cultivation under stress conditions, *Biotechnol. Adv.* 8,1532–1542. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.07.011>
- Minhas, A.K., Hodgson, P., Barrow, C.J. & Adholeya, A., (2016). A Review on the assessment of stres conditions for simultaneous production of microalgal lipid and carotenoids, *Frontiers in Microbiology Review*, 7 (546), 1–19.
- Namitha, B., Sathish, A., Kumar, P.S., Nithya, K., & Sundar, S., (2021). Micro algal biodiesel synthesized from *Monoraphidium* sp., and *Chlorella sorokiniana*: Feasibility and emission parameter studies, *Fuel*, 30,121063. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121063>
- Patidar, S.K., Mitra, M., George, B., Soundarya, R., & Mishra, S., (2014). Potential of *Monoraphidium minutum* for carbon sequestration and lipid production in response to varying growth mode, *Bioresource Technology*, 172, 32–40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.070>
- Pikoli, M.R., Sari, A.F., Solihat, N.A., & Permana, A.H., (2019). Characteristics of tropical freshwater microalgae *Micractinium conductrix*, *Monoraphidium* sp. and *Choricystis parasitica*, and their potency as biodiesel feedstock, *Heliyon* 5, e02922. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02922>
- Pineda-Camacho, G., Guillén-Jiménez, F.M., Pérez-Sánchez, A., Raymundo-Núñez, L.M., & Mendoza-Trinidad, G., (2019). Effect of CO<sub>2</sub> on the generation of biomass and lipids by *Monoraphidium contortum*: A promising microalga for the production of biodiesel, *Bioresource Technology Reports*, 8: 100313. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100313>
- Řezanka, T., Nedbalová, L., Lukavský, J., Strížek, A., & Sigler, K., (2017). Pilot cultivation of the green alga *Monoraphidium* sp. producing a high content of polyunsaturated fatty acids in a low-temperature environment, *Algal Research*, 22, 160–165. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2016.12.017>

- Sassi, P.G.P., Calixto, C.D., Santana, J.K.S., Sassi, R., Sassi, C.F.C., & Abrahão, R., (2017). Cultivation of freshwater microalgae in biodiesel wash water, *Environmental Science and Pollution Research*, 24:18332–18340. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9351-4>
- Sathya, S., & Srisudha, S.,(2013). Isolation and identification of freshwater microalgal strains potential for biofuel production, *International Journal of Recent Scientific Research* 4(9), 1432- 1437.
- Shin, Y.S., Choi, H.I., Choi, J.W., Lee, J.S., Sung, Y.J., & Sim, S.J. (2018). Multilateral approach on enhancing economic viability of lipid production from microalgae: A review. *Bioresource Technology*, 258, 335–344. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.002>
- Singh, R., Paliwal, C., Nesamma, A.A., Narula, A., & Jutur, P.P., (2020). Nutrient Deprivation Mobilizes the Production of Unique Tocopherols as a Stress-Promoting Response in a New Indigenous Isolate *Monoraphidium* sp., *Frontiers in Marine Science*, 7, 575817. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.575817>
- Shrivastav, A., Mishra, S.K., Suh, W.I., Farooq, W., Moon, M., Kim, T.H., Kumar, K., Choi, G.G., Park, M.S., & Yang, J.W., (2015). Characterization of newly isolated oleaginous microalga *Monoraphidium* sp. for lipid production under different conditions, *Algal Research*, 12, 289–294. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2015.08.015>
- Stephens, E., Ross, I.L., Mussnug, J.H., Wagner, L.D, Borowitzka, M.A., Posten, C., Kruse, O. & Hankamer, B., (2010). Future prospects of microalgal biofuel production systems, *Trends Plant Science*, 15, 554–564.
- Tale, M., Ghosh, S., Kapadnis, B., & Kale, S., (2014). Isolation and characterization of microalgae for biodiesel production from Nisargruna biogas plant effluent, *Bioresource Technology*, 169, 328–335. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.017>
- Wijffels, R.H., Barbosa, M.J. & Eppink, M.H.M., (2010). Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels. *Biofuels. Bioprod. Biorefin.*, 4, 287–295. <http://dx.doi.org/10.1002/bbb.215>

- Vonshak A.,1997. *Morphology, Ultrastructure and Taxonomy Of Arthrospira (Spirulina) Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*. The Basic Concept. *Spirulina platensis* (Arthrospira), Editor: L. Tomoselli, 1-15.
- Yalcin, D., (2020). Growth, lipid content, and fatty acid profile of freshwater cyanobacteria *Dolichospermum affine* (Lemmermann) Wacklin, Hoffmann, & Komárek by using modified nutrient media. *Aquaculture International*, 28:1371–1388. <https://doi.org/10.1007/s10499-020-00531-2>
- Yang, X., Xin Dai, X., Rui Zhang, R., Shao, C., Geng, S., Chen, G., Liu, X., & Wang, G., (2013). Long chain alcohols derived from the microalga *Monoraphidium*, *Advances in Energy Research*, 1(2), 107-116. <http://dx.doi.org/10.12989/eri.2013.1.2.107>
- Yu, X., Zhao, P., He, C., Li, J., Tang, X., Zhou, J., & Huang, Z., (2012). Isolation of a novel strain of *Monoraphidium* sp. and characterization of its potential application as biodiesel feedstock, *Bioresource Technology*, 121, 256–262. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.07.002>
- Zhao, P., Yu, X., Li, J., Tang, X., & Huang, Z., (2014). Enhancing lipid productivity by co-cultivation of *Chlorella* sp. U4341 and *Monoraphidium* sp. FXY-10, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 118(1), 72e77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2013.12.014>
- Zhao, Y., Li, D., Ding, K., Che, R., Xu, J.W., Zhao, P., Li, T., Mab, H., & Yu, X., (2016). Production of biomass and lipids by the oleaginous microalgae *Monoraphidium* sp. QLY-1 through heterotrophic cultivation and photo-chemical modulator induction, *Bioresource Technology*, 211, 669–676. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.160>

## ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı:	Solmaz KARABULUT
Uyruğu:	TC
Orcid Numarası:	0009-0005-8730-4932

EĞİTİM BİLGİLERİ	
<b>Lisans</b>	
Üniversite:	Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fakülte:	Mühendislik Fakültesi
Bölümü:	Gıda Mühendisliği
Mezuniyet Yılı:	2015
<b>Yüksek Lisans</b>	
Üniversite:	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü:	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı:	İleri Teknolojiler
Mezuniyet Yılı:	2023
<b>Doktora</b>	
Üniversite:	
Enstitü:	
Anabilim Dalı:	
Mezuniyet Yılı:	

Tezden Üretilen Makaleler ve Bildiriler
<b>Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler</b> .....
<b>Uluslararası Konferans ve Sempozyumlarda Sunulan Bildiriler</b> Karabulut, S. Aydın Ö., Açıkgöz Erkaya, İ., (2023). Besi ortamındaki farklı azot konsantrasyonlarının mikroalg <i>Monoraphidium contortum</i> 'un biyokütle üretimine etkilerinin tespit edilmesi, Isarc 5.International Göbeklitepe Scientific Studies Congress, 06-07 Mayıs, 2023, sayfa, 377.
<b>Ulusal Hakemli Dergilerde Yayınlanan makaleler</b> .....
<b>Ulusal Konferans ve Senpozyumlarda Sunulan Bildiriler</b> .....