

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**FUKOKSANTİN ÜRETİMİ İÇİN KİNETİK
MODELLEME VE CFD SİMULASYONU**

Bahar ASLANBAY

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Esra İMAMOĞLU

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 612.01.00

Sunuş Tarihi : 25.01.2017

Bornova-İZMİR

2017

Bahar Aslanbay tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “Fukoksantin Üretimi için Kinetik Modelleme ve CFD Simulasyonu” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 26.01.2017 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Yrd. Doç. Dr. Esra İMAMOĞLU

Üye : Prof. Dr. Meltem CONK DALAY

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ali Oğuz Büyükkileci

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Fukoksantin Üretimi için Kinetik Modelleme ve CFD Simulasyonu” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.... / / 20..

İmzası

Adı-Soyadı

ÖZET

FUKOKSANTİN ÜRETİMİ İÇİN KİNETİK MODELLEME VE CFD SİMULASYONU

ASLANBAY, Bahar

Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Esra İMAMOĞLU

Ocak 2017, 173 sayfa

Fukoksantin, *Chromophyta*, kahverengi algler, ve diatomlarda bulunan kahverengi renkte bir pigmenttir. Bu molekül antioksidan, anti-enflamatuar, anti-kanser, anti-obezite ve anti-diyabetik faaliyetleri gibi potansiyel biyoaktivite düzeylerine sahip olması bakımından büyük ilgi çekmektedir. *Phaeodactylum tricornutum* suşu yüksek miktarda fukoksantin taşıyan bir diatomdur ancak bu mikroalgden fukoksantin üretimi için yapılan çalışmalar az sayıdadır.

Mevcut çalışmada *P. tricornutum*'dan fukoksantin üretimi için optimum koşulların tespiti, büyüme ve ürün üretiminin kinetik modellenmesi ve fotobiyoreaktörlerde akış profilinin simülasyonu amaçlanmıştır. İlk olarak 1 L'lik şişelerde kimyasal ve fiziksel üretim parametreleri incelenmiş ve sonuç olarak 45 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde, 18 °C sıcaklıkta, F/2 besin ortamında ve 3 L/dk havalandırma hızında üretim optimize edilmiştir. Takiben karıştırmalı tank, panel ve hava kaldırmalı fotobiyoreaktör olmak üzere 2 L'lik 3 farklı fotobiyoreaktörde; sabit “hacimsel güç tüketim hızı”, “oksijen kütle transfer katsayısı” ve “karışma zamanı” olmak üzere 3 farklı ölçek büyütme stratejisi araştırılmıştır. En iyi fukoksantin verimi 2,22 mg/g hücre olarak “sabit hacimsel güç tüketim hızı” stratejisinin uygulandığı panel fotobiyoreaktörde elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ölçek büyütme stratejisi ile 7 L'lik panel fotobiyoreaktörde üretim gerçekleştirilmiş ve ulaşılan maksimum fukoksantin miktarı 4,11 mg/g hücre olarak belirlenmiştir. Online kontrolün sağlandığı 2 L'lik fotobiyoreaktörde üretimin biyokütle ve ürün açısından kinetik modellenmesi yapılmıştır. Ayrıca 2 L'lik fotobiyoreaktörler için akış profili ANSYS V7.1 ile simüle edilmiş ve fotobiyoreaktör tasarım parametreleri değerlendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Fukoksantin, *Phaeodactylum tricornutum*, CFD simülasyonu, kinetik modelleme



ABSTRACT**KINETICAL MODELLING AND CFD SIMULATION FOR
FUcoxANTHIN PRODUCTION**

ASLANBAY, Bahar

M.Sc. in Bioengineering

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Esra IMAMOGLU

January 2017, Page 173

Fucoxanthin is a brown pigment that found in *Chromophyta*, brown macroalgae and diatoms. This molecule has a great interest because it has potential bioactivity levels such as antioxidant, anti-inflammatory, anti-cancer, anti-obesity and anti-diabetic activities. *Phaeodactylum tricornutum* is a diatom that carries high amount of fucoxanthin as its major carotenoid but the studies about fucoxanthin production from this microalga are limited.

In this thesis, kinetical modelling of fucoxanthin production and simulation of fluid dynamics in photobioreactors were aimed. Firstly, chemical and physical production parameters were studied in 1 L bottles and as a result, production was optimized under the light intensity of $45 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ at 18°C , in F/2 nutrient medium and with the aeration rate of 3 L/. Subsequently, in three different photobioreactors as stirred tank, panel, airlift photobioreactors with the volume of 2 L, three different scale up strategies as constant “volumetric power consumption rate”, “oxygen mass transfer coefficient”, “mixing time” were studied. The best fucoxanthin yield was obtained as 2,22 mg/g cell at panel photobioreactor with “constant volumetric power consumption rate” strategy. In the aspect of the results obtained, production was carried out with a 7 L panel photobioreactor using constant P/V scale up strategy and maximum fucoxanthin amount was found 4,11 mg/g cell. A 2 L photobioreactor provided by online control was used for kinetic modeling of biomass and product. In addition, the flow profile for the 2 L photobioreactor was simulated with ANSYS V17.1 and photobioreactor design parameters were evaluated.

Keywords: Fucoxanthin, *Phaeodactylum tricornutum*, CFD simulation , kinetical modelling.



TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bana her zaman destek olan, bilgi ve birikimini her alanda benimle paylaşan, üzerimdeki emeği saymakla bitmeyen danışmanım Yrd. Doç Dr. Esra İMAMOĞLU'na bütün kalbimle teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarım sırasında desteğini ve bilgisini asla esirgemeyen Dr. Zeliha DEMİREL'e, İrem DENİZ'e ve yardımlarından dolayı Prof. Dr. Meltem CONK DALAY'a ve Yrd. Doç. Dr. Ali Oğuz BÜYÜKKİLECI'ye teşekkürü bir borç bilirim. 115M014 projesi kapsamında sağladığı finansal destekten dolayı TUBİTAK'a teşekkür ederim. Başta Algal Biyoteknoloji Laboratuvarı olmak üzere tüm Biyomühendislik Bölümü üyelerine çok teşekkür ederim.

Her ne kadar uzakta da olsalar varlıklarını daima yanımda hissettiğim sevgili ailem; annem Şafiye ASLANBAY, babam Fevzi ASLANBAY ve kardeşim Pınar ASLANBAY'a en içten dileklerle teşekkür ederim. Bu zorlu süreçte beni yalnız bırakmayan, hayatta her alanda olduğu gibi burada da bana destek olan yol arkadaşım Gökhan GÜLER'e tüm kalbimle teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xxvi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxx
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1 Diatom	3
2.2 <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	4
2.2.1 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> 'un tarihçesi ve sistematığı	4
2.2.2 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> 'un genel özellikleri ve kompozisyonu.....	6
2.2.3 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> 'un hücre biyolojisi ve morfolojisi	10
2.2.4 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> 'un karotenoid içeriği.....	14
2.3 Fukoksantin	16
2.3.1 Fukoksantin yapısı.....	17
2.3.2 Fukoksantin tarihçesi	18

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

2.3.3 Fukoksantin kullanım alanları ve piyasa analizi	18
2.3.5 Fukoksantin kaynakları	24
2.4 Mikroalgal Biyokütle Üretimi.....	25
2.4.1 Mikroalg üretim sistemleri.....	26
2.4.2 Fotobiyoreaktör çeşitleri	27
2.4.3 Ölçek büyütme	30
2.4.4 Mikroalg üretimine etki eden parametreler.....	33
2.5 Kinetik Modelleme	36
2.5.1 Mikroalg büyüme hızının kinetik modellemesi	37
2.5.2 Mikroalgal ürün üretiminin kinetik modellemesi	46
2.6 Simulasyon.....	47
2.6.1 Hesaplamalı akış dinamiği (CFD).....	48
3. MATERYAL ve METOT	52
3.1 Materyal	52
3.1.1 Mikroalg.....	52
3.1.2 Kültür Ortamları.....	52
3.1.3 Işık Kaynakları.....	54

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.1.4 Ekipmanlar.....	54
3.2. Metot.....	55
3.2.1 Stok kültür hazırlanması	55
3.2.2 İnokulum hazırlanması	55
3.2.3 Üretim koşulları	55
3.2.4 Fotobiyoreaktöre geçişte ölçek büyütme “ t_m , P/V , k_{La} ” teorisi hesaplamaları	60
3.2.5 Hidrodinamik parametreler ve sıvı reolojisi hesaplamaları.....	62
3.2.6 Ölçek büyütme çalışmalarında ışık şiddetinin belirlenmesi	69
3.2.7 Analitik ölçümler	69
3.2.8 Kinetik formülasyonlar	72
3.2.9 Mikroalgal kinetik modelleme.....	72
3.2.10 Hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu	76
4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA	87
4.1 Küçük Ölçekte (1000 mL Şişelerde) Üretim.....	87
4.1.1 Farklı ışık şiddetlerinin <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimine etkisi	87
4.1.2 Farklı besin ortamlarının <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimine etkisi.....	90

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4.1.3 Farklı havalandırma hızlarının <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimine etkisi	92
4.1.4 Farklı sıcaklık koşullarının <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimine etkisi ...	95
4.1.5 Farklı stres ortamlarının <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimine etkisi	99
4.2 Fotobiyoreaktör (2000 mL) Üretimleri	101
4.2.1 Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi .	102
4.2.2 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi...	107
4.2.3 Panel fotobiyoreaktörde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi.....	113
4.3 Yüksek Verimli Fotobiyoreaktörde Orta Ölçek Üretimleri	118
4.3.1 7 L hacimli panel fotobiyoreaktörde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi	119
4.3.2 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi için ölçek büyütme teorisinin doğrulanması.....	122
4.4 Fotobiyoreaktör Üretimlerinde Kinetik Modelleme	124
4.4.1 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> diatomunun ışığa bağlı kinetik modellemesi	124
4.4.2 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> diatomunun besin konsantrasyonuna bağlı kinetik modellemesi.....	126
4.4.3 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> diatomunun besin konsantrasyonu ve ışığa bağlı kinetik modellemesi.....	128

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4.5 Fotobiyoreaktör Üretimlerinde Hesaplamalı Akış Dinamiği (CFD) Simülasyonu	130
4.5.1 Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktör için hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu	131
4.5.2 Panel fotobiyoreaktör için hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu.....	139
4.5.2 Hava kaldırılmalı fotobiyoreaktör için hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu	146
5. ÖNERİLER.....	153
EK AÇIKLAMALAR	154
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	155
ÖZGEÇMİŞ	173



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Oval <i>P. tricornutum</i> 'un oval morfolojideki hücrelerinin SEM görüntüleri A. Sadece yarık boyunca silis oluşumu B. Yarık dahil hücrenin belirli bölgelerinde silis oluşumu C. Tüm hücre kabuğunda silis oluşumu	11
2.2 İğsi <i>P. tricornutum</i> hücrelerinin oval morfolojideki hücrelere dönüşümü: A-B. İğsi hücreler içerisinde primer oval hücre oluşumu, C-F. Primer oval hücrenin bölünmesi ve yavru oval hücrelerin oluşumu, G. İğsi hücrenin hücre çeperinin kırılmasıyla oval hücrenin salınımı.....	12
2.3 Triradyat formundaki <i>P. tricornutum</i> hücrelerinin oval morfolojiye dönüşümü: A. Triradyat hücre, B. Protoplazmada primer oval hücre oluşumu, C-D. Oval hücrenin triradyat hücre içerisinde yavru hücrelere bölünmesi.....	13
2.4 MEP yoluyla ile IPP ve DMAPP sentezi.....	15
2.5 Diatomlarda DMAPP molekülünden karotenoid sentez yoluyla.....	16
2.6 Fukoksantin molekülü yapısı.	17
2.7 Hava kaldırılmalı fotobiyoreaktör çeşitleri.....	29
2.8 Mikroalg kültürlerinde hücrelerin büyüme profili.....	38
2.9 Işığın fotosentez hızı üzerine etkisi	42
3.1 Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde yapılan <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimleri.....	57
3.2 Hava kaldırılmalı fotobiyoreaktörde yapılan <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi.....	58

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

3.3	Panel fotobiyoreaktörde yapılan <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi.....	58
3.4	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> 'dan orta ölçekli fukoksantin üretimi.....	59
3.5	Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörün CAD modeli a)izometrik görünüm; b) ön görünüm	77
3.6	Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörün sayısal ağ analizi: a)izometrik görünüm, b) $z=0$ düzlemindeki kesit görünümü, c)çark etrafındaki elemanlar, d)hava difüzörü etrafındaki elemanlar	77
3.7	Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörün yakınsama grafiği.....	80
3.8	Panel fotobiyoreaktörün CAD modeli a) izometrik görünüm; b) ön görünüm.....	81
3.9	Panel fotobiyoreaktörün sayısal ağ analizi: a)izometrik görünüm, b) $z=0$ düzlemindeki kesit görünümü, c)deliklerin etrafındaki elemanlar, d)oksijen probu ile delikler etrafındaki elemanlar	81
3.10	Panel fotobiyoreaktörün yakınsama grafiği	83
3.11	Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörün CAD modeli a) izometrik görünüm b) ön görünüm.....	84
3.12	Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörün sayısal ağ analizi: a)izometrik görünüm, b) $z=0$ düzlemindeki kesit görünümü, c)deliklerin etrafındaki elemanlar, d) problemlerin etrafındaki elemanlar	85
3.13	Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörün yakınsama grafiği	86

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

- 4.1 Farklı ışık şiddetlerinde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı; d) klorofil-c miktarı, (■) 30 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (◆) 45 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (▲) 65 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 88
- 4.2 Farklı ışık şiddetlerinde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için fukoksantin miktarı: (■) 30 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (◆) 45 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (▲) 65 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 88
- 4.3 Farklı besin ortamlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı; d) klorofil-c miktarı, (■) ASP, (◆) F/2, (▲) Conway91
- 4.4 Farklı besin ortamlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için fukoksantin miktarı: (■) ASP, (◆) F/2, (▲) Conway91
- 4.5 Farklı havalandırma hızlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi93
- 4.6 Farklı havalandırma hızlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı; d) klorofil-c miktarı, (■) 1 L/dk, (◆) 2 L/dk, (▲) 3 L/dk.....93
- 4.7 Farklı havalandırma hızlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için fukoksantin miktarı: (■) 1 L/dk, (◆) 2 L/dk, (▲) 3 L/dk.....94
- 4.8 Farklı sıcaklık değerlerinde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı; d) klorofil-c miktarı, (■) 18 °C, (◆) 24 °C, (▲) 28 °C96
- 4.9 Farklı sıcaklık değerlerinde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için fukoksantin miktarı: (■) 18 °C, (◆) 24 °C, (▲) 28 °C96

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

- 4.10 Üretim sırasında değiştirilen sıcaklığın büyüme profili üzerine etkisi: a) hücre sayımı; b) türbidite (600 nm), (■)7. gün sonrasında 28°C’de gerçekleştirilen üretim; (♦)13 gün boyunca 18°C’de gerçekleştirilen üretim.....98
- 4.11 Üretim sırasında değiştirilen sıcaklığın fukoksantin birikimi üzerine etkisi, (■)7. gün sonrasında 28°C’de gerçekleştirilen üretim; (♦)13 gün boyunca 18°C’de gerçekleştirilen üretim 98
- 4.12 Farklı stres ortamlarının *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite(OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı; d) klorofil-c miktarı, (■)N-Free, (♦)P-Free, (▲)NP-Free, (●)Kontrol 100
- 4.13 Farklı stres ortamlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için fukoksantin miktarı: (■)N-Free, (♦)P-Free, (▲)NP-Free, (●)Kontrol..... 101
- 4.14 Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* üretimleri.....102
- 4.15 Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı, (▲) sabit P/V, (♦) sabit t_m , (■) sabit k_{La} 104
- 4.16 Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin fukoksantin üretimi, (▲) sabit P/V, (♦) sabit t_m , (■) sabit k_{La}104
- 4.17 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* üretimleri.....107
- 4.18 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı, (■) sabit k_{La} , (o) sabit t_m , (♦) sabit P/V 109

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

- 4.19 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin fukoksantin üretimi: (■) sabit kLa, (o) sabit tm, (♦) sabit P/V109
- 4.20 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde gözlemlenen *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin çökmesi sorunu.....110
- 4.21 Panel fotobiyoreaktörlerde *Phaeodactylum tricornutum* üretimleri.....113
- 4.22 Panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı, (■) sabit kLa, (o) sabit tm, (♦) sabit P/V115
- 4.23 Panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin fukoksantin üretimi: (■) sabit kLa, (o) sabit tm, (♦) sabit P/V115
- 4.24 7 lt hacimli panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi.....120
- 4.25 7 lt'lik panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı.....121
- 4.26 7 lt'lik panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin fukoksantin üretimi121
- 4.27 *Phaeodactylum tricornutum* üretimi: a) hücre sayımı; b) fukoksantin miktarı, (■) 1 L şişe, (○) 2 L panel fotobiyoreaktör, (♦) 7 L panel fotobiyoreaktör122
- 4.28 *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin ışığa bağlı kinetik modellemesi: a) hücre konsantrasyonu b) fukoksantin miktarı.....124

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

- 4.29 *Phaoedactylum tricornutum* hücrelerinin besine bağlı kinetik modellemesi:
a) hücre konsantrasyonu b) fukoksantin miktarı..... 127
- 4.30 *Phaoedactylum tricornutum* hücrelerinin besin konsantrasyonuna ve ışığa bağlı kinetik modellemesi: a) hücre konsantrasyonu b) fukoksantin miktarı.....129
- 4.31 Karıştırmalı tank fotobiyoreaktör için bozukluk (skewness) değeri eleman sayıları: Tet4 (kırmızı): dört yüzlü (tetrahedral) elemanlar, Wed5 (yeşil): üçgen prizma elemanları 131
- 4.32 Duvar çeperlerinde oluşan Yplus değerleri..... 133
- 4.33 Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde akış hızı profili: a)Z=0 düzlemindeki hız büyüklüğü, b) Z=0 düzlemindeki hız vektörleri, c) Z=0 düzlemindeki eksenel hız, d) Z=0 düzlemindeki radyal hız.....135
- 4.34 ZX düzleminde 3 farklı bölgede radyal hız dağılımı a) Alt çarkı kesen düzlem, b)İki çark arasında tam ortadan kesen düzlem, c Üst çarkı kesen radyal düzlem136
- 4.35 Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde türbülans akış profili: a)Z=0 düzlemindeki türbülans kinetik enerji, b) Z=0 düzlemindeki eddy (türbülans) viskozite dağılımı, c)karıştırıcılarda oluşan duvar kayma dağılımı.....138
- 4.36 Tank içerisindeki akım çizgileri, a) alt karıştırıcının oluşturduğu akım, b) üst karıştırıcının oluşturduğu akım.....139
- 4.37 Panel fotobiyoreaktör için sayısal ağ kalite elemanları, a)Bozukluk (skewness) değeri dağılımı, b) ortogonal kalite dağılımı..... 140

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

4.38 Hava baloncuklarının panel fotobiyoreaktör içinde zamana göre dağılımı a) 0,5 sn, b) 1 sn, c) 1,5 sn, d) 2 sn.....	142
4.39 Panel fotobiyoreaktörde havanın sıvı içerisindeki zamana bağlı hacim oranı; a) 0,5 sn, b) 1 sn, c) 1,5 sn, d) 2 sn.....	143
4.40 Panel fotobiyoreaktörde akışkan yüzeysel hızı ve sıvının hareketini gösteren vektörlerin dağılımı ; a) 0,5 sn, b) 1 sn, c) 1,5 sn, d) 2 sn.....	144
4.41 Panel fotobiyoreaktörün 4 farklı bölgesinden alınan kesitlerdeki hız değişimi; a) Hava hızı, b) Akışkan yüzeysel hızı.....	145
4.42 Panel fotobiyoreaktörde türbülans akış profili; a) $z=0$ düzleminde türbülans kinetik enerji dağılımı, b) $z=0$ düzleminde eddy viskozitesi dağılımı.....	146
4.43 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör için sayısal ağ kalite elemanları, a) Bozukluk (skewness) değeri, b) Ortogonal kalite dağılımı.....	147
4.44 Hava baloncuklarının hava kaldırmalı fotobiyoreaktör içinde zamana göre dağılımı a) 1 sn, b) 2 sn, c) 3 sn, d) 4 sn.....	148
4.45 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde havanın sıvı içerisindeki zamana bağlı hacim oranı; a) 1 sn, b) 2 sn, c) 3 sn, d) 4 sn.....	149
4.46 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde akışkan yüzeysel hızı ve sıvının hareketini gösteren vektörlerin dağılımı ; a) 1 sn, b) 2 sn, c) 3 sn, d) 4 sn.....	150
4.47 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörün 4 farklı bölgesinden alınan kesitlerdeki hız değişimi; a) Hava hızı, b) Akışkan yüzeysel hızı.....	151

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)Sayfa

4.48 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde türbülans akış profili; a) $z=0$ düzleminde türbülans kinetik enerji dağılımı, b) $z=0$ düzleminde eddy viskozitesi dağılımı.....	152
--	-----



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> 'un amino asit analizi	7
2.2 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> 'un yağ asit içeriği	8
2.3 <i>Phaeodactylum tricornutum</i> 'un mineral içeriği	9
2.4 Fukoksantin üreten şirketler ve ülkelere göre dağılımı	19
2.5 Fukoksantin kaynakları ve organizmalardaki miktarı	25
2.6 Mikroalg üretiminde açık ve kapalı sistemlerin karşılaştırması	27
2.7 Mikroalg hücre büyümesinde çoklu faktör etkisini gösteren modeller	46
3.1 F/2 Kültür Ortamının Kompozisyonu.....	52
3.2 Conway Kültür Ortamının Kompozisyonu.....	53
3.3 ASP Kültür Ortamının Kompozisyonu.....	53
3.4 Kullanılan ekipman markaları ve özellikleri	54
3.5 Karıştırmalı tank fotobiyoreaktör boyutları ve konfigürasyonları.....	63
3.6 Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörler için kullanılan hidrodinamik denklemler	64
3.7 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör için boyutlar ve tasarım parametreleri	65
3.8 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör için hidrodinamik denklemler	66
3.9 Panel fotobiyoreaktör boyutları ve konfigürasyonları.....	67

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Sayfa

3.10	Panel fotobiyoreaktörler için kullanılan hidrodinamik denklemler	68
3.11	Karıştırmalı tank fotobiyoreaktör simülasyonunda seçilen çözüm parametreleri	79
4.1	Farklı ışık şiddetlerinde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi için elde edilen kinetik değerler	89
4.2	Farklı besin ortamlarına <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi için elde edilen kinetik değerler	92
4.3	Farklı havalandırma hızlarında <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi için elde edilen kinetik değerler	94
4.4	Farklı sıcaklık değerlerinde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi için elde edilen kinetik değerler	97
4.5	Farklı stres ortamlarında <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi için elde edilen kinetik değerler	101
4.6	Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörlerde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> için kullanılan havalandırma ve karıştırma hızları	103
4.7	Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> için hesaplanan kinetik değerler	105
4.8	Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> için hesaplanan hidrodinamik parametreler.....	106
4.9	Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörlerde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> için kullanılan havalandırma hızları	108

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Sayfa

4.10 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> için hesaplanan kinetik değerler	111
4.11 Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> üretimi için hidrodinamik parametreler ve sıvı reolojisi	112
4.12 Panel fotobiyoreaktörlerde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> için kullanılan havalandırma hızları	114
4.13 Panel fotobiyoreaktörde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> için hesaplanan kinetik değerler	116
4.14 Panel fotobiyoreaktörde <i>Phaeodactylum tricornutum</i> için hesaplanan hidrodinamik parametreler	117
4.15 Farklı fotobiyoreaktör konfigürasyonlarında ve farklı ölçek büyüme teorileriyle gerçekleştirilen <i>P. tricornutum</i> üretimlerinde 7. günün sonunda birim hücre başına elde edilen fukoksantin (mg/g) miktarları	118
4.16 Fukoksantin üretiminde ölçek büyütme sonuçları	123
4.17 <i>P. tricornutum</i> için ışığa bağlı kinetik modelleme sonucu tahmin edilen parametre değerleri ve maksimum sapma oranları	125
4.18 <i>P. tricornutum</i> için besine bağlı kinetik modelleme sonucu tahmin edilen parametre değerleri ve maksimum sapma oranları	127
4.19 <i>P. tricornutum</i> için besin konsantrasyonuna ve ışığa bağlı kinetik modelleme sonucu tahmin edilen parametre değerleri ve maksimum sapma oranları	130



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler Açıklama

T_m	Karışma süresi
k_{La}	Oksijen transfer katsayısı
P/V	Hacimsel güç tüketimi
μ	Spesifik büyüme hızı

Kısaltmalar Açıklama

CFD	Computitonal Fluid Dynamics (Hesaplamalı Akışkan Dinamiği)
EPA	Eikasopentanoik asit
DMMAP	Dimetilallil difosfat
IPP	İzopentenil pirofosfat
MEP	2-C-metil-D-eritritol 4-fosfat
EGEMACC	Ege Üniversitesi Mikroalg Kültür Koleksiyonu

1.GİRİŞ

Günümüzde küresel ısınma, artan nüfus miktarı, mevcut kaynakların hızla tükenmesi ve doğal olana yönelimin artmasıyla pek çok alanda alternatif kaynak arayışları söz konusudur. Özellikle sağlık, gıda ve yakıt alanlarında hem çevreci hem de maliyeti daha düşük olan tükenmesi zor seçenekler üzerine araştırmalar her geçen gün artmaktadır. Bu alternatif kaynaklardan biri de alglerdir. Makro ve mikro boyutta olabilen algler sucul ortamlarda kolaylıkla yetişebilen ve zengin içeriği sayesinde üzerinde çalışılan organizmalardan biridir. Ayrıca doğadaki karbon ve oksijen çevriminde birincil rol almalarından dolayı önem taşımaktadırlar. Özellikle makroalgler ekolojik dengenin korunumunda daha büyük bir etkiye sahip olduğundan diğer alanlarda mikroalglerin kullanımı tercih edilmektedir.

Ökaryotik fitoplanktonda bulunan mikroalgler arasında denizel üretimin %40 oranla büyük çoğunluğu diatomlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Diatomlar zengin yağ içeriği, çeper yapıları, sahip oldukları karotenoidler gibi potansiyel avantajlara sahip olmasına rağmen sadece birkaç türü biyoteknolojik çalışmalarda kullanılmaktadır. Bu türlerden biri de *Phaeodactylum tricornutum*'dur.

Phaeodactylum tricornutum mikroalgi yaygın olarak tuzlu ve denizel ortamlarda yaşayan, yetiştirilmesi kolay bir diatomdur. Pek çok biyoteknolojik alanda *P. tricornutum* mikroalgiyle çalışmalar yürütülmektedir. Bu çalışmalardan gelecek vaad eden önemli bir kısmı mikroalgin zengin içeriği ile ilgilidir. Yüksek büyüme hızı göstererek karotenoid ve yağ asitlerini yüksek miktarda üretmesi gıda, farmasötik, biyoyakıt, akuakültür ve kozmetik alanlarında yaygın olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Bu zengin içeriğinde bulunan ana karotenoid fukoksantin pigmentidir.

Fukoksantin, kahverenkli bir pigment olup güçlü bir antioksidan, etkili yağ yakma potansiyeli sayesinde anti-obezite etkisi, anti-enflamatuvar, anti-diyabetik, anti-kanser, kardiyovasküler sistemi koruyucu etkilerinin bulunduğu bilinmektedir. *P. tricornutum*'da klorofil ile kompleks oluşturan fukoksantin pigmenti ışığın toplanmasını sağlayarak fotosentetik aktiviteyi arttırmaktadır.

Özellikle yenilebilir kahverengi makroalglerde yüksek miktarda bulunan fukoksantin mikroyalglerden eldesi üzerine çalışmalar sınırlı sayıdadır.

Bu bilgiler doğrultusunda, mevcut tezin amacı bir mikroyalg olan *Phaeodactylum tricornutum*'dan fukoksantin üretimi ve bu üretimin kinetik modellemesi ve simölasyonudur. Çalışma kapsamında öncelikle küçük ölçekte mikroyalg üretim koşulları optimize edilmiştir. Ardından 3 farklı ölçek büyütme metodolojisi kullanılarak 3 farklı fotobiyoreaktörde üretimler gerçekleştirilmiş ve en uygun fotobiyoreaktör tipi ile ölçek büyütme parametresi belirlenmiştir. Seçilen ölçek büyütme parametresi ve fotobiyoreaktör ile orta ölçek üretimine geçilmiştir. Elde edilen veriler ışığında *P. tricornutum*'un büyüme kinetiği ve ürün oluşumu modellenerek üretimin matematiksel ifadesi ortaya konulmuştur. Son olarak fotobiyoreaktörlerde gerçekleştirilen üretimler için Hesaplı Akışkan Dinamiği (HAP-CFD) programı kullanılarak simölasyon işlemleri gerçekleştirilmiş ve üretim sırasında akışkan profili ortaya konularak tasarım parametreleri değerlendirilmiştir.

2.LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Diatom

Diatomlar, okyanus fitoplanktonunda en yaygın bulunan kahverengi, tek hücreli mikro alg türü olup oluşumlarına dair ilk güvenilir kanıtlar 185 milyon yıl öncesine dayanmaktadır. Ancak yapılan araştırmalar sonucunda diatom türlerinin bu tarihten çok daha öncesinde var olduğu, kayıtlarının ise evrimsel süreçte kaybolduğu düşünülmektedir (Benavides et al., 2013; Kooistra and Medlin, 1996; Sims et al., 2006). Uzun yıllar boyunca varlığını sürdüren diatomlar yaklaşık 100-200 bin tür ile en geniş çeşitliliğe sahip olan mikro alg türlerindendir. Okyanuslar, göller, denizler ve özellikle nemli yüzeyler bu mikro alglerin yaşaması için son derece elverişli ortamlardır (Mann and Vanormelingen, 2013; Hopkins et al., 2016). Ekolojik dengenin korunumunda büyük role sahip olduğu bilinen diatomlar dünyada yıllık biokütle üretiminin yaklaşık %25'ine sahiptir. Aynı zamanda denizel ortamdaki pek çok biyolojik elementin %40'ının üretimi diatomlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Fotosentetik aktiviteleri ve okyanusun derinliklerinde yaşayabilme özellikleri sayesinde karbon ve oksijen döngüsünün okyanusal alanda devamı açısından önemli organizmalardır (Gundermann et al., 2013; Benavides et al., 2013; Sarthou et al., 2005). Biyolojik elementlerden özellikle silikon döngüsünde de en önemli kısım diatomlara aittir. Diğer mikro alglerde hücre çeperinin ana bileşenleri organik materyaller ya da kalsiyum karbonat iken diatomların çeperleri karakteristik olarak silikondan oluşmaktadır. “Früstül” adı verilen bu çeperlerin sentezi sırasında suda bulunan çözünmüş silikat diatomlar tarafından silikona dönüştürülür ve diatom yapısında oluşan silikon tekrar çözünmüş silikata dönüşebilme potansiyeline sahiptir (Katz et al. 2016; Yoll and Tyrell, 2003). Yapılarında bulunan silikonun nanoteknoloji ve biyoteknoloji alanında kullanımı son derece yaygındır. Mikro boyutlarda üretilen sensörler sayesinde tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi, ilaç taşıyım sistemlerinde diatomlardan yararlanılması, biyopolimerlerin eldesi ve ekolojik sorunların analiz ve çözümüne katkı sağlaması diatomların son dönemde gündemde olmasını sağlayan sebeplerden bazılarıdır (Bradbury, 2004; Jo et al., 2016). Tüm bunların yanı sıra yüksek üreme hızı gösteren diatomlar içeriklerinde bulunan karotenoidler açısından da zengin bir mikro alg türüdür. Yapılarında bulunan klorofil-a ve klorofil-c pigmentleri diatomların ana karotenoidi olan

fukoksantin ile birlikte fukoksantin-klorofil kompleksini oluşturarak fotosentetik aktivitelerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Bu kompleks canlıda fotosentez için ışığın toplanmasını ve iletimini sağlayan önemli bir yapıdır. Diatomlarda bulunan diğer karotenoidler; β -karoten, diadinoksantin, diatoksantin, violoksantin, anteraksantin ve zeaksantindir. (Kuczynska et al., 2015; Kuczynska and Rzeminska, 2016; Eilers et al., 2016).

Diatomların üretimi ve farklı alanlarda kullanımına dair geliştirilebilecek daha pek çok alan olmasına ve tür sayısındaki çeşitliliğine rağmen bu mikro alg türü ile yapılan çalışmalar halen yeterli olmamakta ve az sayıda türü kapsamaktadır. *Phaeodactylum tricornutum* da özellikle mikrobiyoloji ve genetik çalışmalarda üzerinde durulan bir mikroalgdir. Genetik çalışmalardan çok bu diatomun içerdiği karotenoidler açısından kayda değer sonuçlar elde edileceği yapılan incelemeler sonucunda görülmektedir.

2.2. *Phaeodactylum tricornutum*

Phaeodactylum tricornutum denizel ortamda yaşayan tek hücreli kahverengi renkte bir diatomdur. Biyoaktif bileşenler açısından zengin içeriği, hızlı üreme potansiyeli ve kolay üretim koşulları ile ticari kullanım açısından büyük avantaja sahip bir türdür. Bunun yanında tüm genom dizisi bilinen ikinci diatom olması nedeniyle model organizma olarak moleküler biyoloji alanında kullanımı da son derece yaygındır.

2.2.1. *Phaeodactylum tricornutum*'un tarihçesi ve sistematığı:

1897 yılında Von Knut Bohlin denizel ortamdan aldığı örneklerle, sadece *P. tricornutum* türünü içeren *Phaeodactylum* cinsini ilk defa tanımlamıştır. Tanımlanan organizma yıldız şeklinde 3 uzantıya sahip, merkezinde sarı-kahverengi renk pigmentleri içeren ve çeperi zayıf silisten oluşan bir yapıdır. Bu tanımlamayla mikroalgin triradiat olarak adlandırılan Y şeklindeki formu taksonomik sınıflandırmada yer almıştır (Lewin, 1958; Johansen, 1991).

Mikroalgin izolasyonu ve yetiştirilmesi ile ilgili yapılan ileri çalışmalar sırasında iğsi, oval ve triradiat formunda 3 farklı morfotipte hücre ile karşılaşılmıştır. Ancak mevcut olan morfolojik farklılıklar taksonomisinin belirlenmesinde uzun süre zorluklarla karşılaşılmamasına neden olmuştur. 1910 yılında Allen ve Nilson denizel bir ortama sahip olan üretim sıvısından izole

ettikleri *P. tricornutum* benzeri türü iğsi yapılarının *N. closterium* mikroalgine benzemesi dolayısıyla “*Nitzschia closterium f. minutissima*” olarak tanımlamışlardır. İzole edilip tanımlanan türler Plymouth Marine Laboratuvarında korunarak dünya çapında pek çok çalışmada kullanılmıştır (Lewin et al., 1958; Wilson, 1946). Bu çalışmaların birinde D. P. Wilson mikroalgin üremesi sırasında iğsi, triradiat ve hac benzeri hücrelerin yoğunluğunda yüksek artış olduğunu gözlemlemiştir. Ayrıca zayıf yapıdaki silisli çeperin *Nitzschia* ile örtüşmediği ve bu hücrelerin Bohlin tarafından tanımlanan triradiat formundaki *P. tricornutum* hücreleri ile benzer olduğu kanıtlanmıştır. Böylelikle *P. tricornutum* türünün oval, iğsi, triradiat ve hac benzeri 4 farklı morfotipe sahip olduğu yani pleomorfik karakterizasyonu ilk kez tanımlanmıştır. Ancak hac benzeri *Phaeodactylum* mikroalgine nadir rastlanmaktadır. (He et al., 2014; Lewin et al., 1958; Wilson, 1946).

Mevcut ilerlemelere rağmen taksonomik pozisyon ile ilgili şüpheler uzun süre boyunca devam etmiştir. Hücrelerin morfolojik açıdan benzerliği, bölünme sırasında diatomlar ile ortak noktaların varlığı türlerin tanımlanmasını kolaylaştırırken zayıf silisli çeper yapısı mevcut şüpheleri arttırmış, yeni araştırmalara öncülük etmiştir (Hendey, 1954; Martin-Jezequel and Tesson, 2012). Lewin tarafından 1958 yılında yapılan çalışmalar *P. tricornutum* mikroalginin taksonomisini belirlenmesinde önemli dönüm noktalarından biridir. Bu sınıflandırmayla hücrelerin sahip olduğu kahverengi renkli pigment bileşenleri, yapısında bulunan lökosin ve hücrelerin kendiliğinden silika çeperini üretmesi mikroalgin “Chrysophyta” şubesine ve “Bacillariophyceae” sınıfına ait olduğunu göstermiştir. Ancak Lewin silisli çeperdeki oluşumun *Cymbella* spp. türü ile de yüksek benzerlik gösterdiğini fark etmiş ve cinsinin Cymbellaceae olarak değiştirilebileceğini belirtmiştir. Halen yaşanan ikilemler dolayısıyla *P. tricornutum*ün taksonomik sınıflandırılmasında yeni bir alt takım oluşturulmuş ve “Phaeodactylinae” olarak tanımlanmıştır (Lewin, 1958; Gebre 2016; Round et al., 1990).

Devam eden pek çok çalışma sonucunda *P. tricornutum* mikroalginin nihai sınıflandırılmasına 2004 yılında Medlin ve Kaczmarska tarafından diatomların taksonomik pozisyonlarının yeniden düzenlenmesi adına yapılan çalışmada ulaşılmıştır (Medlin and Kaczmarska, 2004; Martin-Jezequel and Tesson, 2012). Sonuç olarak *P. tricornutum* Bohlin’in sistematikteki yeri şu şekildedir;

Şube: Bacillariophyta

Sınıf: Bacillariophyceae

Takım: Bacillariales

Alt takım: Phaeodactylinae

Aile: Phaeodactylaceae

Cins: Phaeodactylum

Tür: *Phaeodactylum tricornutum* (Gebre, 2016).

P. tricornutum mikroalginin izolasyonu ve taksonomik sınıflandırması tanımlandıktan sonra üretimi, içeriğinin tanımlanması, metabolitlerin üretimi ve farklı alanlarda kullanımına dair pek çok çalışma yürütülmüştür. Bunlardan en önemlisi 2008 yılında mikroalgin tüm genom dizisinin belirlenmesidir. Bowler ve arkadaşları *P. tricornutum* diatomunun tüm genom dizisini tanımlamış ve sonuçları genom dizisi belirlenen ilk diatom olan *Thalassiosira pseudonana* ile karşılaştırmıştır. Diatomların milyonlarca yıl öncesine dayanan varlıkları göz önünde bulundurulduğunda, *P. tricornutum* mikroalginin tüm genom dizisinin belirlenmesi pek çok diatom fizyolojisi ve genetiği için model olması dolayısıyla son derece önemlidir (Bowler et al., 2008; Prestegard et al., 2015).

2.2.2. *Phaeodactylum tricornutum*'un genel özellikleri ve kompozisyonu:

Phaeodactylum tricornutum mikroalgi tek hücreli, doğada 3 farklı morfolojide bulunan ve silisli hücre çeperine sahip bir diatomdur. Hücreler özellikle tuz içeriği yüksek olan denizel ortamlarda yaşamaktadır ve böylece başka mikroorganizmalar tarafından kontaminasyon riski düşmektedir. Yüksek büyüme hızına sahip olan *P. tricornutum* kolay üretim koşulları ve zengin içeriği ile sıkça üzerine çalışmalar yapılan bir diatomdur.

Biyokimyasal içeriği göz önünde bulundurulduğunda kuru ağırlık bazında %17 ile 22 arasında değişen yüksek kül içeriğine sahip mikroalglerden biridir (Buono et al., 2016). Diğer bileşenler açısından organizmanın içeriği üretim ortamına, ışık, sıcaklık gibi dışsal faktörlere ve özellikle mikroalgin yaşam döngüsündeki büyüme evresine bağlı olarak yüksek farklılık göstermektedir. Başlıca bileşenlerinden biri olan protein miktarı kuru ağırlığın %20'si ile %70'i arasında değişmekte olup yüksek miktarlarda proteinin büyüme evresinde olan genç hücrelerde üretildiği saptanmıştır. Çoğalması sırasında durgun faza ulaşan

mikro alg üretimlerinde protein seviyesinde düşüş gözlemlenmektedir (Buono et al., 2016; Matos et al., 2016; Gatenby et al., 2003; Kim et al., 2012).

Yüksek protein seviyesi göz önünde bulundurulduğunda mikroalgin amino asit içeriğinin bilinmesi maksimum yarar sağlanması açısından önemlidir. Tüm genom dizilimi tespit edilmiş olan *P. tricornutum*'un sahip olduğu amino asitler Çizelge 2.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 2.1. *Phaeodactylum tricornutum*'un amino asit analizi (Tibbets et al., 2015; Willis et al., 2014).

Zorunlu Aminoasitler		Zorunlu olmayan Aminoasitler	
Amino Asit	Miktarı (g/100 g protein)	Amino Asit	Miktarı (g/100 g protein)
Treonin	4,8	Aspartik Asit	11,6
Valin	5,1	Serin	6,8
Metiyonin	2,7	Glutamik Asit	18,8
İzolösin	4,6	Pirolin	7,1
Lösin	8,2	Glisin	5,5
Fenilalanin	4,8	Alanin	6,9
Histidin	1,5	Sistin	1,5
Lizin	6,4	Tirozin	3,4
Arjinin	5,7		
Triptofan	2,6		

Phaeodactylum mikroalginin kompozisyonun belirlenmesi ile ilgili araştırmalar daha çok içeriğindeki yağ asit miktarının ve çeşitlerinin tespiti yönünde ilerlemiş ve elde edilen sonuçlarla zengin yağ içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Bu durum *P. tricornutum* mikroalgini özellikle biyodizel üretimi açısından önemli bir organizma haline getirmiştir. Hücrelerin lipid içeriği %5-%20 arasında değişmektedir ve sahip oldukları yağ asidi içeriği Çizelge 2.2'de gösterilmektedir.

Çizelge 2.2. *Phaeodactylum tricornutum*'un yağ asit içeriği (Benavides et al., 2013; Domergue et al., 2003; Ohse et al., 2014; Patil et al., 2007; Santos-Ballardo et al., 2016; Siron et al., 1989).

Yağ Asidi (%)	Minimum	Maksimum	Ortalama
C12:0 (Laurik Asit)	0,4	1,1	0,75
C14:0 (Miristik Asit)	5,3	7,37	6,33
C15:0 (Pentadekanoik Asit)	0,17	1,38	0,77
C16:0 (Palmitik Asit)	2,05	29,96	16
C16:1n (Pamitoleik Asit)	18,6	43	30,8
C16:3 (α -Linoleik Asit)	0,4	10,4	5,4
C18:0 (Stearik Asit)	0,14	10,6	5,37
C18:1n (Oleik Asit)	0,92	4,7	2,81
C18:2	0,64	3,57	2,1
C20:3n	0,49	1,73	1,1
C20:5n (EPA)	13,03	58,38	35,7
C22:6n (DHA)	0,2	2,4	1,3
C24:0	0,16	3,11	1,63
Doymuş Yağ Asitleri	14,2	21,08	17,64
Mono-Doymamış Yağ Asitleri	23,56	24,09	23,82
Poli-Doymamış Yağ Asitleri	54,42	61,44	57,93

Çizelge 2.2'den görüldüğü üzere *P. tricornutum* mikroalgi yağ asit içeriği bakımından en yüksek poli-doymamış yağ asitlerinden biri olan eikosapentaenoik asiti (EPA) içermektedir. EPA insan sağlığı üzerinde anti-enflamatuvar, tümör büyümesini inhibe edici, kalp-damar hastalıklarını önleyici ve daha pek çok olumlu etkiye sahip olmakla birlikte akuakültürde de yaygın kullanılmaktadır. Bu yağ asidinin üretiminin endüstriyel boyuta taşınımında *P. tricornutum* önemli kaynaklardan biri olup bu yağ asidinin mikroalgdeki miktarının artırımını amaçlayan pek çok çalışma mevcuttur (Fernandez et al., 1999; Gao, 2004). *P. tricornutum* mikroalgi EPA'nın yanında az miktarda omega-3 yağ asidi olan dokosaheksanoik asit(DHA) de içermektedir. Bu bileşen de insan sağlığı ve akuakültür açısından öneme sahip bir yağ asidi olup temelde balık yağından elde edilmektedir. Ancak balık için alternatif üretim kaynaklarının bulunması ve

miktar artırılması üzerine çalışılan bir konu olup *P. tricornutum* bu açıdan değerlendirilmektedir (Hamilton et al., 2014; Qiao et al., 2016).

P. tricornutum mikroalginin karbonhidrat içeriği üretim koşulları ile farklılık göstermekte olup %15-30 arasında değişmektedir. Karbonhidrat analizi yapıldığında elde edilen ana karbonhidratlar; mannoz ve ramnozdur. Mannoza *Phaeodactylum* 'un hücre duvarı katmanlarından ekzopolisakkarit olarak glukorinik asit ile birlikte salgılanmaktadır. Bunların yanında ksiloz, glikoz, galaktoz ve fukoz bu mikroalgde bulunan diğer karbonhidratlardandır (Buono et al., 2016; Gatenby et al., 2005; Gügi et al., 2015; Reboloso-Fuentes et al., 2000; Templeton et al., 2012).

Vitamin içeriği açısından zayıf olan *P. tricornutum*, 0,29-0,96 ng/mg B12, 5-15 ng/mg tiamin ve 0,45-1,70 ng/mg biyotin içermektedir (Werner, 1977). Vitaminlerin yanında insan gıdalarında besin olarak kullanılabilecek lifler açısından da *P. tricornutum* zengin bir mikroalgdir. Matos ve arkadaşlarının 6 farklı mikroalgin kimyasal kompozisyonun belirlenmesi amacıyla yaptığı çalışmada lif içerikleri %5,6 ile %18,3 arasında değişmiş ve *Phaeodactylum* %13,2 ile en yüksek lif içeriğine sahip mikroalglerden biri olmuştur (Matos et al., 2016).

Mikroalgin içeriğinin belirlenmesinde çalışmalar yapılan diğer bir bileşen mineral kompozisyonudur. *P. tricornutum* mikroalginin sahip olduğu minerallerden en yüksek miktardakileri potasyum (K), sodyum (Na) ve kalsiyum (Ca)'dur. Bu minerallerin miktarları üretim koşulları ile birlikte değişmekle birlikte ortalama değerleri Çizelge 2.3'de gösterilmektedir.

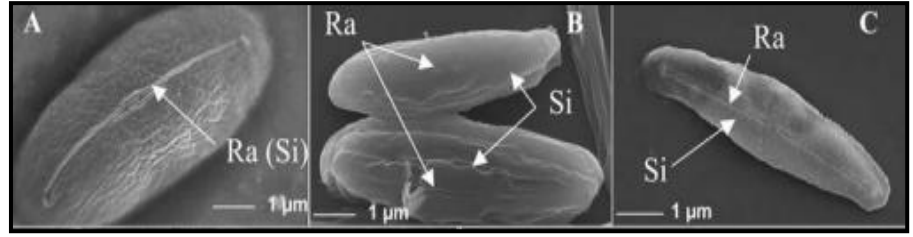
Çizelge 2.3. *Phaeodactylum tricornutum*'un mineral içeriği (Reboloso-Fuentes et al., 2000; Tibbetts et al., 2015).

Mineral	Ortalama Miktar (%)
Kalsiyum	1,1
Potasyum	2,05
Sodyum	2,04
Fosfor	0,72
Kükürt	1,21
Magnezyum	0,63
Bakır	0,01
Demir	0,47
Manganez	0,03
Çinko	0,37

2.2.3. *Phaeodactylum tricornutum*'un hücre biyolojisi ve morfolojisi:

P. tricornutum diğer diatomlardan farklı olarak pleomorfik karakteristiğe sahip olup doğada oval, iğsi Y şeklinde yapılarda ve nadiren hac benzeri olmak üzere 4 değişik morfolojide bulunmaktadır. Hac benzeri yapıdaki hücrelere nadiren rastlanmaktadır ve bu hücrelerle gerçekleştirilen çalışmalar az sayıdadır.

- **Oval morfortip:** Hücreler genel olarak 8 µm uzunluğunda, 3-4 µm genişliğindedir ve oval şekle sahiptir. 3 morfortip arasında silisli bir kabuğa sahip olan tek çeşittir ancak silis yapısı diğer diatomlara oranla daha az ve zayıf polimerize silisik asit halindedir (Lewin, 1958; Wilson, 1946). Merkezi (radyal simetri-centric) türlerde silis miktarı, SiO₂ formda ağırlıklı olmak üzere toplam ağırlığın %25'iken oval *P. tricornutum* hücrelerinde polimerize olmuş halde %2'lik bir orana sahiptir (Martin-Jezequel and Tesson, 2012; Tesson et al., 2009). Çeperdeki silis miktarı ve yapısı çevresel koşullara ve genotipik özelliklere bağlı olarak değişmektedir. Genellikle tüm kabuğu saran bir silis çeper görülebileceği gibi hücre üzerindeki yarık (rafe) boyunca bir katman halinde de oluşabilmektedir (Şekil 2.1). Hücreler yapışkan kümeler halinde hareketsiz agregatlar oluştururlar ya da yavaş kayma hareketi gösterirler (Lewin, 1958; Tesson et al., 2009). Hücrelerin iç kısmı kromatofor adı verilen sarı-kahverengi renkli pigment içeren yapı ile tamamen kaplı vaziyettedir. Bu yapılardan her birinde ışığın kırılmasını sağlayarak fotosentezde görev alan globüler kısımlar bulunmaktadır. Dış kabuğunda ise içte daha ince olan organik kısım ve dışta yarık (rafe) şeklindeki katmanı içeren silisli çeper bulunmaktadır. Yüksek sedimentasyon hızı ve yüzeyden kayma özellikleri sayesinde bentik ortamlara kolayca adapte olabilirler. Stres koşulları altında yaşamlarını daha kolay sürdürebildikleri gibi koşullar büyüme için ideal noktaya geldiğinde diğer morfolojilere dönüşüm sağlayabilmektedirler.

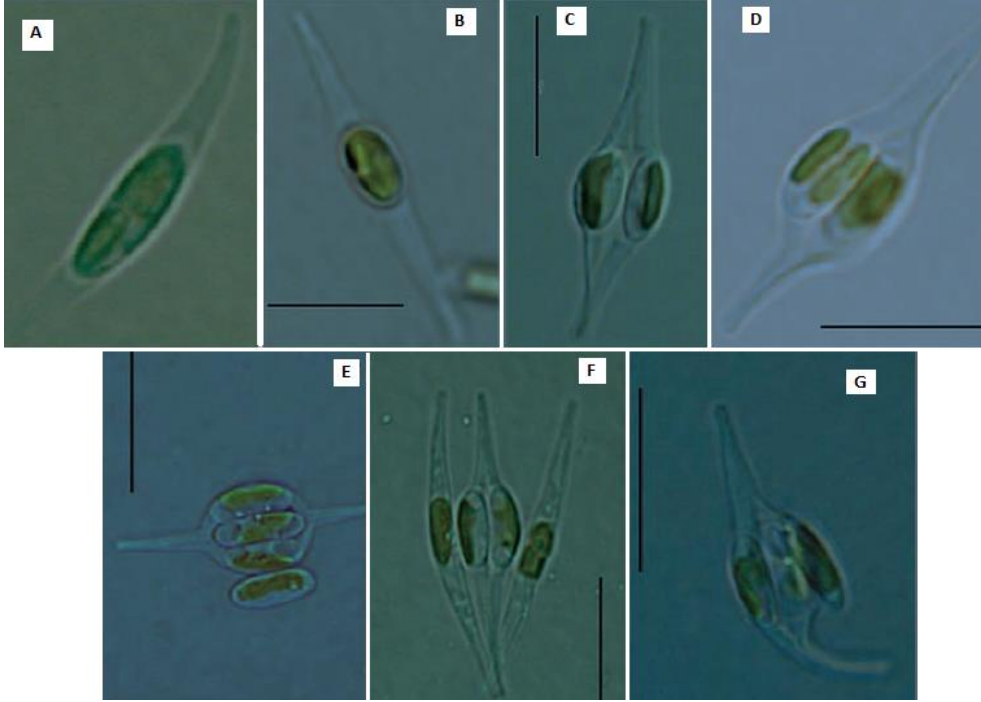


Şekil 2.1. *P. tricornutum*'un oval morfolojideki hücrelerinin SEM görüntüleri A. Sadece yarık boyunca silis oluşumu B. Yarık dahil hücrenin belirli bölgelerinde silis oluşumu C. Tüm hücre kabuğunda silis oluşumu (Tesson et al., 2009).

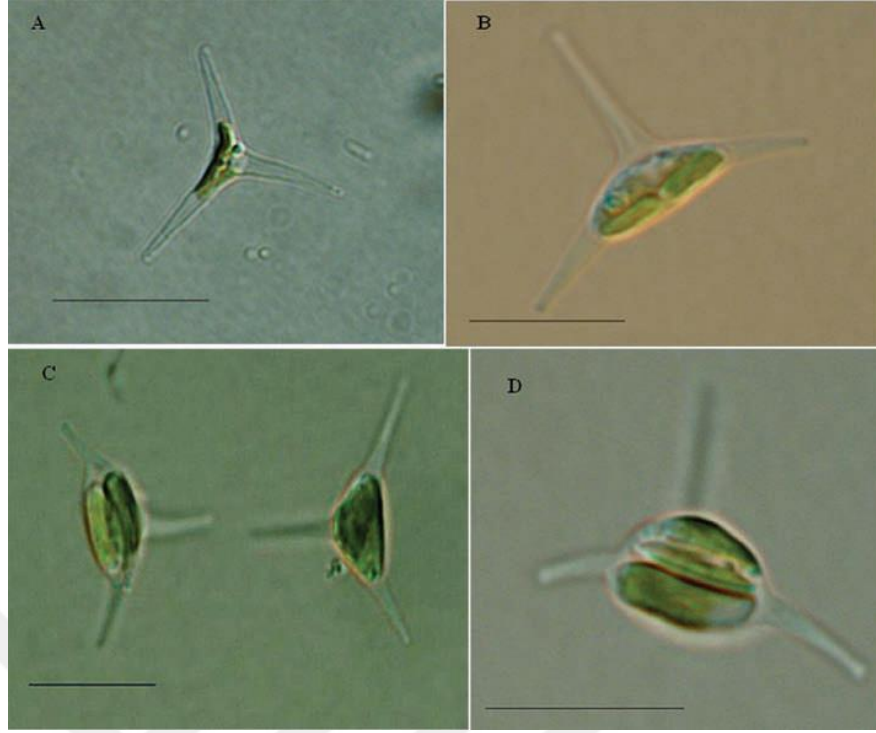
- **İğsi morfortip:** Bu morfolojideki hücreler 25-35 µm uzunluğunda ortası hafif şişmiş vaziyette olup, uçlara doğru incelen eğimli kollara sahiptirler. Ortada bulunan şişkin kısımda çekirdek ve 1 ya da 2 adet kromatofor bulunur. Hücre duvarı dışta ve içte organik katman ortada ise silisli tabakanın bulunduğu 3 katmandan oluşmaktadır. İçteki tabakada fibriller materyallerin bulunduğu matris yapısı mevcuttur ve polianyonik polisakkaritleri içermektedir. Dıştaki tabakanın yapısında kıvrımlar ve renksiz çıkıntılar görülmektedir. Bu renksiz çıkıntıların yüzeydeki zayıf polimerize haldeki silis olabileceği düşünülmektedir. Ortada bulunan katman ise oval hücrelerden farklı olarak silikat formunda silisi daha yoğun içermektedir. Silis içeriği %5 SiO₂ ve %1,26 zayıf polimerize silis şeklindedir. Ayrıca bu katmandaki silis oluşumu da oval hücrelerden farklı olarak epitekada iki kapak (kabuk) arasında bir bağlantı şeklinde oluşabileceği gibi yaşlı hücrelerde hipotekada da görülebilmektedir. Genellikle hareketsiz olan bu hücreler çevresel koşulların olumsuz olduğu durumlarda oval morfolojiye dönüşüm gösterebilirler. Oval hücrelerden farklı olarak planktonik çevreye daha kolay uyum sağlamaktadırlar.
- **Y şeklinde (triradiate) morfortip:** Hücreler yapısal olarak iğsi hücrelere benzemekle birlikte onlardan farklı olarak 2 yerine 3 adet kola sahiptir. Kolların uzunlukları genelde birbirinden farklıdır ve bu uzunluk 6-8 µm arasında değişmektedir. Hücre duvarının yapısı, içeriği ve hücre içi kompozisyonu iğsi hücrelerle aynıdır.

P. tricornutum mikroalgi doğada yaygın olarak bu 3 farklı morfolojide bulunmakla birlikte değişen çevresel koşullara göre hücre şekilleri transforme olabilmektedir. Hücreler için optimum koşulların sağlandığı ortamlarda iğsi ve Y şeklindeki yapılar çoğunlukta; besin, ışık, tuzluluk gibi stres koşulları altında oval hücrelere dönüşüm görülmektedir. İğsi ve triradiyat hücrelerden oval hücre

oluşumu benzer yapıda gerçekleşmektedir. Stres koşullarına maruz kalan hücrelerde merkezde bulunan şişkin kısım genişleyerek birincil oval hücreler meydana gelir. Sonrasında hücreler iki yavru oval hücreyi oluşturmak üzere bölünürler. Bu yavru hücreler ana hücrenin bağlantı noktasında koparak bölünmesiyle iki ayrı oval hücre oluşturabileceği gibi, ana hücre bölünmeden içerisinde daha çok sayıda oval hücre oluşumu görülebilmektedir (Şekil 2.2.). (Martin-Jezequel and Tesson, 2012; De Martion et al., 2011).



Şekil 2.2. İğsi *P. tricornutum* hücrelerinin oval morfolojideki hücrelere dönüşümü: A-B. İğsi hücreler içerisinde primer oval hücre oluşumu, C-F. Primer oval hücrenin bölünmesi ve yavru oval hücrelerin oluşumu, G. İğsi hücrenin hücre çeperinin kırılmasıyla oval hücrenin salınımı (Martin-Jezequel and Tesson, 2012).



Şekil 2.3. Triradiyat formundaki *P. tricornutum* hücrelerinin oval morfolojiye dönüşümü: A. Triradiyat hücre, B. Protoplazmada primer oval hücre oluşumu, C-D. Oval hücrenin triradiyat hücre içerisinde yavru hücelere bölünmesi (Martin-Jezequel and Tesson, 2012).

P. tricornutum hücrelerinin hücre duvarı yapısı temelde aynı olmakla birlikte bu üç morfolojideki hücrelerde bazı farklılık göstermektedir. Frustule adı verilen hücre duvarı diğer diatomlarda da görüldüğü şekilde 3 katmandan oluşmaktadır. Ancak bu katmanlarda diğer diatomlardan farklı olarak silis kompozisyonu daha düşük, organik element içeriği ise daha yüksektir. Frustule yapısı teka denilen üst üste iki kapsül içerir. Dışta daha geniş olan ve hücrenin korunmasında etkili olan epiteka, içte ise protoplastı saran hipoteka katmanları mevcuttur. Frustule’da en ince katman içteki hücre sitoplazması ile doğrudan ilişkili olan organik katmandır (diatopetum). İğsi hücrelerde kalınlığının yaklaşık 3 nm olduğu görülmüştür. İkinci katman organik bileşenleri içeren silisli yapının bulunduğu kısımdır ve yaklaşık 5 nm kalınlığındadır. En dışta ise 7 nm ile en kalın ve yine organik yapıya sahip, polisakkaritlerin salgılanmasıyla önemli hale gelen tabaka vardır. 3 farklı hücre çeşidinde de epiteka katmanında silis oluşumu görülmektedir ancak oval morfolojide diğer ikisinden farklı olarak hücrenin üst yüzeyinde kabuk oluşturarak değişik formlarda porlu silis çeper yapısı mevcuttur (Borowitzka and Volcani, 1978; Gügi et al., 2015; Martin-Jezequel and Tesson, 2012; Tesson et al., 2009b).

P. tricornutum mikroalginin hücre duvarının içeriğini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalar sonucunda diğer diatomlardaki frustule içeriği ile benzer bileşenler olduğu görülmüştür. Hücre çeperindeki ana bileşen polisakkaritlerdir. En yoğun miktarda bulunan polisakkarit ise sülfat grubu bağlanmış glukoramnan olarak tespit edilmiştir. Yoğun polisakkarit içeriğinin yanı sıra peptid miktarı da morfolojiye bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte %10 ile %50 arasında değişmektedir. Ayrıca analizler sonucunda hücre duvarında yüksek yağ içeriği ve fosfor elementi de belirlenmiştir (Gügi et al., 2015; Martin-Jezequel and Tesson, 2012; Sadava and Volcani, 1977; Tesson et al., 2009).

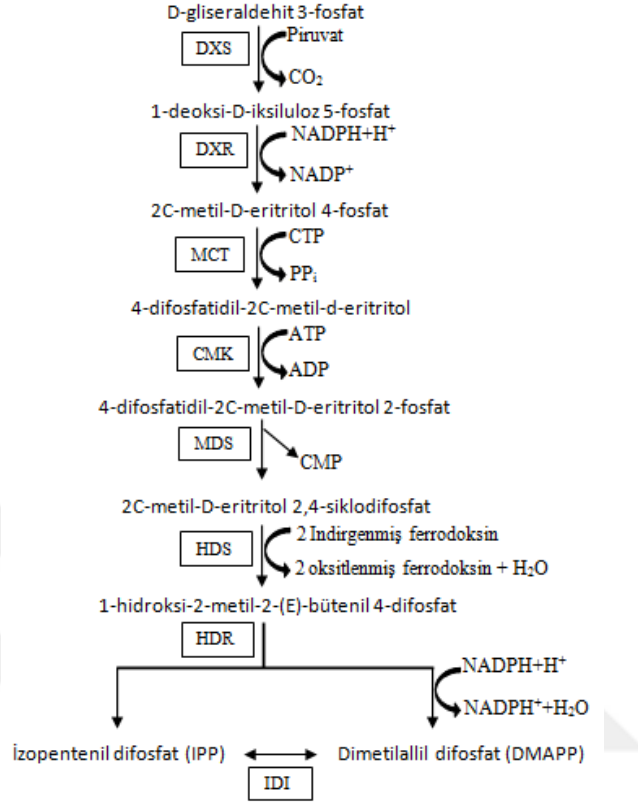
2.2.4. *Phaeodactylum tricornutum*'un karotenoid içeriği:

Karotenoidler, bitkiler, algler ve bazı mikroorganizmalar tarafından üretilen, 700'den fazla çeşidi bulunan; gıda, kozmetik, akuakültür sektörlerinde yaygın olarak kullanılan bileşenlerdir. Mikro algler, yüksek üreme hızı, kolay üretim süreci ve yüksek içeriğe sahip oluşu dolayısıyla ideal bir karotenoid kaynağıdır. Diatomlar klorofil ve karotenoidler olmak üzere 2 pigment grubu içermektedir. Klorofiller fotosentez sırasında ışık enerjisinin toplanmasında önemli bir role sahip olup diatomlarda sadece klorofil-a ve klorofil-c şeklinde bulunmaktadır. Karotenoid içeriği de analiz edilmiş ve ksantofil sınıfına ait 7 adet karotenoid belirlenmiştir. Bu karotenoidler; diadinoksanin, diatoksantin, violaksantin, anteraksantin, zeaksantin, β -karoten ve fukoksantindir (Kuczyńska et al., 2015; Kadono et al., 2015; Fu et al., 2015).

P. tricornutum'un tüm genom dizisinin belirlenmesiyle karotenoidlerin sentez yolları ayrıntılı olarak incelenmiştir. Karotenoidler dimetilallil difosfat (DMAPP) ve izopentenil pirofosfat (IPP) izoprenoid prekürsör moleküllerinden sentezlenmektedir. Bu öncül moleküller diatomlarda ve pek çok fotosentetik organizmada 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfat (MEP) yolağında üretilip ardından karotenoid üretimi bu iki molekül üzerinden yürümektedir (Bertrand, 2010; Kadono et al., 2015).

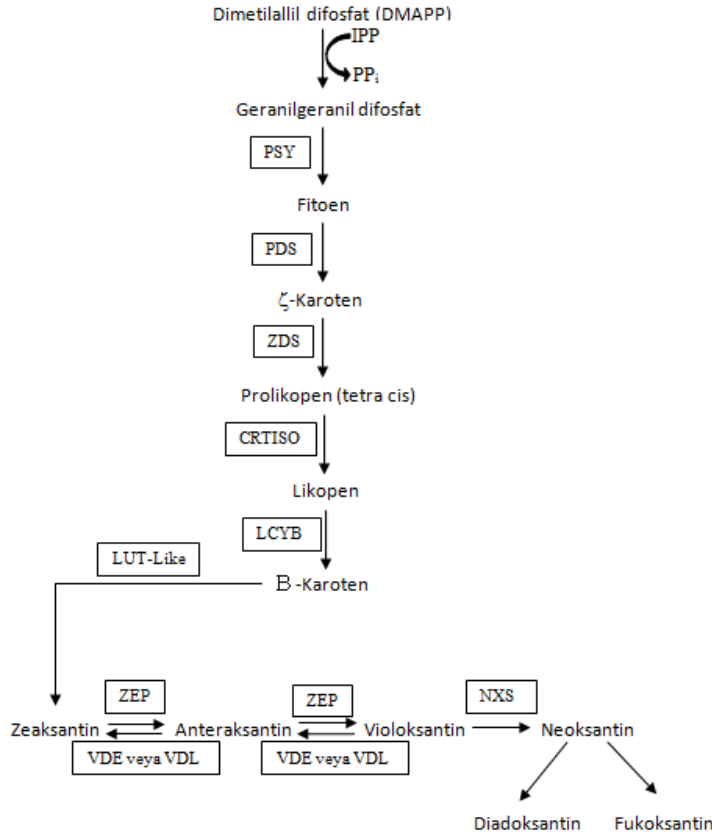
MEP yolağı ile DMAPP ve IPP moleküllerinin sentezi Şekil 2.4'de gösterilmektedir. Bu yolak gerekli enzimlerin varlığında D-gliseraldehit-3-fosfat ile piruvatın kondansasyonu ile başlamaktadır. Katalitik reaksiyonlar sonucu üretilen DMAPP izopentenil difosfat: dimetilallil difosfat izomeraz (IDI) enzimi ile izomeri olan IPP molekülüne dönüşebilmektedir. Bu yolak sırasında önemli

işlevleri olan enzimlerden herhangi biri diatomlardan izole edilmemiştir ancak bu enzimlerin sentezlenmesinden sorumlu genlerin *P. tricornutum* ve *T. pseudonana* diatomlarında varlığı tanımlanmıştır (Bertrand, 2010; Kadono et al., 2015; Kuczynska et al., 2015; Stonik and Stonik, 2015).



Şekil 2.4. MEP yoluğı ile IPP ve DMAPP sentezi. DXS: 1-deoksi-D-iksilukoz 5-fosfat sentaz, DXR: 1-deoksi-D-iksilukoz 5-fosfat redüktoizomeraz, MCT: 2C-metil-D-eritritol 4-fosfat sitidiltrasferaz, CMK: 4-difosfatidil-2C2metil-D-eritritol kinaz, MDS: 2C-metil-D-eritritol 2,4-siklodifosfat sentaz, HDS: 1-hidroksi-2-metil-2-E-butenil 4-difosfat sentaz, HDR: 1-hidroksi-2-metil-2-(E)-butenil 4-difosfat redüktaz, IDI: izopentenil difosfat: dimetilallil difosfat izomeraz (Bertrand, 2010; Kadono et al., 2015).

P. tricornutum da karotenoid sentezi detaylı olarak incelenmiş ve DMAPP molekülüyle fukoksantin ve diodaksantin pigmentlerine kadar ilerleyen karotenoid sentez yoluğı ortaya konmuştur. Bu yoluğın başlamasında fitoen sentaz enzimi reaksiyonun başlama hızını sınırlayarak önemli işleve sahiptir. Bu enzimin sentezinden sorumlu genler genom dizisi bilinen iki diatomda da belirlenmiştir. DMAPP veya IPP molekülleri ile başlayan karotenoid biyosentez yoluğı farklı ksantofillerin senteziyle devam etmektedir (Şekil 2.5) (Bertrand, 2010; Kadono et al., 2015; Kuczynska et al., 2015).



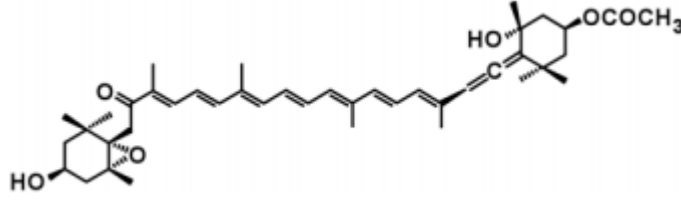
Şekil 2.5. Diatomlarda DMAPP molekülünden karotenoid sentez yolağı. PSY: fitoen sentaz, PDS: Fitoen desaturaz, ZDS: ζ- Carotene desaturaz, CRTISO: karotenoid izomeraz, LCYB: likopen β-siklaz, LUT-like: lutein eksiklik benzeri, ZEP: zeaksantin epoksidaz, NXS: Neoksantin sentaz, VDE: violaksantin de-epoksidaz, VDL: violaksantin de-epoksidaz-benzeri (Bertrand, 2010; Domonkos et al., 2013; Huysman et al., 2014; Kadono et al., 2015).

P. tricornutum mikroalgi ana karotenoid olarak fukoksantin ve diadoksantin pigmentlerini taşımaktadır. Yapılan çalışmalar ve analizler sonucunda β-karoten, zeaksantin, anteraksantin ve violoksantin karotenoidleri hücrede az miktarda bulunurken, fukoksantin ve diadoksantin toplam karotenoid içeriğinin büyük bir kısmını oluşturduğu görülmüştür. Özellikle fukoksantin ticari açıdan son derece önemli bir pigment olduğu göz önünde bulundurulduğunda bu mikroalgin üretimi, pigment içeriğinin artırılması, fukoksantin ekstraksiyonu, saflaştırılması ve kullanımı üzerine çalışmaların yapılması gündemde olan bir konudur.

2.3. Fukoksantin

Fukoksantin, kahverengi ya da turuncu renkte, genellikle yenilebilir makroalglerden elde edilen yaygın kullanım alanına sahip bir ksantofildir. Moleküler yapısında, polien zincir üzerinde bir allenik bağ, bir epoksit ve bir

konjüge karbonil grubu bulunmaktadır (Şekil 2.6). Bu yapısıyla diğer karotenoidlerden ayrılmakta olup benzersiz bir molekül dizilimi göstermektedir (Mikami and Hosokawa, 2013).



Şekil 2.6.Fukoksantin molekülü yapısı.

Fukoksantin doğada çoğunlukla kahverengi makroalglerde yüksek miktarda bulunurlar. Yenilebilir özellikte olan bu kahverengi alglerin kloroplastlarında konumlanarak fotosentez sırasında önemli işlev göstermektedir. Son zamanlarda farklı fukoksantin kaynakları arayışı karotenoid içeriği yüksek diatomların varlığını göstermiştir. Farklı kaynaklardan elde edilen fukoksantin gıda, kozmetik, sağlık ve akuakültür alanlarında kullanımı son derece yaygındır.

2.3.1. Fukoksantin yapısı

Fukoksantin [(3S,3'S,5R,5'R,6S,6'R,8'R)-3,5'-dihidroksi-8-okso-6',7'-didehidro-5,5',6,6',7,8-hekzahidro-5,6-epoksi-β, β-karoten-3'-il asetat] pigmentinin sahip olduğu benzersiz moleküler yapısı, bir allenik bağ, 9 konjüge çiftli bağ, bir 5,6-monoepoksit ve hidroksil, epoksi, karbonil ve karboksil grupları gibi oksijenik fonksiyonel gruplardan oluşmaktadır. Neoksantin, dinoksantin gibi karotenoidlerle benzer yapı gösterir, ancak β-karoten, lutein gibi karotenoidlere göre son derece farklıdır (Bonnett et al., 1969; Yan et al., 1999; Zhang et al., 2015).

Fukoksantin karakteristlik yapısının sonucu olarak stabilite sorunları ortaya çıkmıştır. Diğer karotenoidlerde de olduğu gibi değişen çevresel koşullara bağlı olarak degrade olma olasılığı yüksek bir pigmenttir. Özellikle fonksiyonel grupları içermesi dolayısıyla depolama sırasında ısı, ışık, oksijen, enzimler ve diğer oksitleyici moleküllerin varlığında degradasyon, oksidasyon ve izomerizasyon görülebilir. Saf bir fukoksantin varlığında depolama koşullarına dikkat edilmelidir (Mok et al., 2016; Zhang et al., 2015; Zhao et al., 2014).

2.3.2. Fukoksantin tarihçesi

Fukoksantin en bilinen kaynağı kahverengi makroalgler olup bu organizmaların yetiştirilip besin olarak tüketilmesi 2000 yıl öncesine dayanmaktadır. Özellikle Uzak Doğu ülkeleri başta olmak üzere pek çok bölgede beslenmede önemli bir yere sahip olan makroalgler, besin değeri ve vücut üzerindeki etkisi bilinmese de uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Fukoksantin ilk saflaştırılması ise 1914 yılında Wilstatter ve Page tarafından gerçekleştirilmiştir. İkili denizel ortamda yaşayan *Fucus*, *Dictyota* ve *Laminaria* kahverengi makroalglerden fukoksantin molekülünü izole etmişlerdir ve moleküler yapısı tanımlanana kadar diğer karotenoidlerde olduğu gibi C₄₀ formülasyonu ile gösterilmiştir (Bonnett et al., 1969; Peng et al., 2011).

Fukoksantin yapısının belirlenmesi ile ilgili çalışmalar ise 1930'lu yıllarda başlamıştır. Farklı metotlarla yapısındaki çiftli bağlar, epoksi formlar, molekül zinciri ayrıntılı olarak belirlenmiştir. Bugün bilinen detaylı fukoksantin yapısı ise 1990 yılında NMR analizi ile Englert ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (Bonnett et al., 1969; Englert et al., 1990; Peng et al., 2011).

İzole edilerek tanımlanan fukoksantin bu noktadan sonra sahip olduğu özellikleri, mevcut kaynakları ve etkileri araştırılmaya başlanmıştır. Özellikle yapılan denemelerle insan sağlığı üzerine olumlu etkileri gözlenmiş ve pek çok hastalıkta önleyici ya da tedavi edici özellikleri olduğu saptanmıştır. Ayrıca doğal bir ürün olması sayesinde gıdalarda renklendirici ya da katkı maddesi olarak kullanımı da potansiyel uygulama alanlarından biri olarak kaydedilmiştir.

2.3.4. Fukoksantin kullanım alanları ve piyasa analizi

Fukoksantin, ticari açıdan kullanımı son derece yaygın olan bir ksantofildir. Araştırmalar sonucunda bu molekülün, insan sağlığı üzerinde tanı ve tedavi amaçlı pek çok olumlu etkisinin var olduğu görülmüştür. Bu sebeple sağlık sektöründe ve ilaç sanayisinde fukoksantin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Bu alanlar dışında gıda sanayinde de gıda katkı maddesi ve doğal renklendirici olarak kullanımı mevcuttur. Ayrıca akuakültürde balık yemlerinde verimi arttırmak için katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Sahip olduğu özellikler sayesinde pek çok kullanım alanına sahip olan fukoksantin piyasası özellikle Uzak Doğu ülkelerinde çok gelişmiştir. Bu bölgelerde makroalg yetiştiriciliği ve bu alglerin ekstraksiyonu ile elde edilen fukoksantinlerin satışı yüksek pazar payına

sahiptir. Mikroalg kullanımıyla ticari fukoksantin üretimi alternatif bir yöntem olarak göz önünde bulundurulsa da üretimi yaygın değildir. Üreticiler genel olarak fukoksantini kapsül ya da toz halinde piyasaya sunmaktadır. Global markette yer edinmiş bazı fukoksantin üreticileri Çizelge 2.4’de gösterilmektedir. (Gammone et al., 2015; Kuczynska et al., 2015; Talero et al., 2015; Zhang et al., 2015).

Çizelge 2.4. Fukoksantin üreten şirketler ve ülkelere göre dağılımı (List of Companies in Worldwide, 2016; Tiwari, 2016; Global Companies, 2016).

Şirket Adı	Fukoksantin Kaynağı	Ülke
Oryza Oil & Fat Chemical Co. Ltd.	Laminaria Japonica	Japonya
PoliNat SL	Laminaria Japonica	İspanya
Agrochemi Co. Ltd.	Deniz yosunu	Japonya
Amicogen	Deniz yosunu	Güney Kore
Changsha Vigorous-Tech Co. Ltd.	Laminaria Japonica- Undaria pinnatifida	Çin
Beijing Ginko Group	Laminaria japonica- Cladosiphonokamuranus	Çin
Xian Rongsheng Biotechnology Co., Ltd.	Deniz yosunu	Çin
3w Botanical Extract Inc.	Deniz Yosunu	Çin
AHD International, LLC	Deniz Yosunu	U.S.A
Shaanxi Sciphar Natural Products Co., Ltd	Zostera Marina L.	Çin
DaXingAnLing Koralle Bioengineering Co., Ltd.	Undaria pinnatifida	Çin
Naturalin Bio-Resources Co., Ltd	Undaria pinnatifida	Çin
Nutra Green Biotechnology Co., Ltd	Laminaria japonica	Çin
AlgaNovo International Co., Ltd	N/A	Çin
Siena Naturals	Kahverengi makroalg	U.S.A
Yigeda Bio Technology Co., Ltd	Deniz yosunu	Çin
Shaanxi Ciyuan Biotech Co., Ltd	N/A	Çin
Ningbo Tianhong Biotech Co., Ltd	Deniz yosunu	Çin

Çizelge 2.4’den de görüldüğü üzere dünyadaki fukoksantin piyasasının büyük çoğunluğu Çin’de gerçekleşmektedir. Yüksek saflığa sahip fukoksantin piyasada gramı en az 9000 € olarak satışa sunulmaktadır. Bunun aksine fukoksantin içeren ekstraktların satış fiyatı 40-240 €/g olarak saf fukoksantinden

bir hayli düşüktür. Yüksek saflıktaki fukoksantin hem elde edilmesi zor hem de pek çok alanda yüksek yarar sağlaması nedeniyle fiyatındaki artış normal bir durumdur (Perez-Lopez et al., 2014).

2.3.4.1.Fukoksantin insan sağlığı üzerine etkisi

Yapılan çalışmalar ile fukoksantin sağlık üzerinde pek çok pozitif etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu olumlu etkilerden bazıları, antioksidan, anti-obezite, anti-enflamatuvar, diyabet riskini azaltıcı, antikanser, anti-aging ve sinir hücrelerini koruyucu gibi etkilerdir. Görülen pozitif sonuçlar ve yan etkilerinin minimum olması neticesinde fukoksantin sağlık ve ilaç sektörlerinde sıklıkla uygulanan bir bileşendir.

- **Fukoksantin ve antioksidan etkisi:** Oksidatif stres enerji dönüşümü sırasında oksijenin iki elektrondan birinin ayrılması ve oksijenin de elektron ihtiyacını başka bir molekülden karşılamasıyla oluşan oksidatif zarar olarak tanımlanabilir. Bu durum serbest radikallerin üretimi ile vücudun bu radikalleri nötralize edebilmesi arasındaki denge bozulduğu zaman görülmektedir. Antioksidanlar ise etraftaki serbest radikalleri süpürüp uzaklaştırarak ya da singlet oksijenleri söndürerek oksidatif strese karşı güçlü moleküllerdir. Oksidatif stresin yüksek olduğu ateroskleroz, Parkinson ve Alzheimer hastalıkları, akut miyokard enfarktüsü, kronik yorgunluk sendromu ve fibromiyalji rahatsızlıklarında antioksidan kullanımı son derece önemlidir. Fukoksantin sahip olduğu moleküler yapısı sayesinde diğer pek çok karotenoidten çok daha etkili bir antioksidandır. Antioksidatif etkinin molekül yapısındaki konjuge çift bağlar ile doğru orantılı olarak arttığı bilinmektedir. Fukoksantin antioksidan aktivitesini singlet oksijenleri söndürerek, serbest radikalleri süpürerek ve Na^+K^+ -ATPaz enzimini inhibe edip katalaz ve glutatyon transferaz enzimini uyararak gerçekleştirdiği görülmüştür. Na^+K^+ -ATPaz enziminin inhibisyonu ve glutatyon transferaz enziminin artışının lipid peroksidasyonunu önlediği yapılan bazı çalışmaların sonuçlarındandır (D'Orazio et al., 2012; Peng et al., 2011). Fukoksantin pigmentinin antioksidan olarak en karakteristik özelliklerinden birisi anoksik koşullarda da antioksidatif etki gösterebilmesidir. Hayvan hücrelerinin çoğunun düşük oksijen miktarına sahip olduğu düşünüldüğünde ideal bir antioksidan haline gelmektedir. Ayrıca çoğu antioksidan protein verici iken, fukoksantin elektron kaynağı olarak rol alıp serbest radikaller üzerinde yüksek etki göstermektedir. Etkili olduğu bilinen serbest radikaller DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), 12-DS

(12-doksil-stearik asit), AAPH (2,2'-azo-bis-(2-amidinopropan)dihidroklorid), ABTS (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonat) ve ABAP (2,2'-azo-bis-2-amidinopropan)'dır (Raposo et al., 2015; Zhang et al., 2015).

- **Fukoksantin ve anti-obezite etkisi:** Vücutta uzun süreli dengesiz yağ tüketimi, iç organlarda yağın birikimine yol açarak bireyde obezite, diyabet, hipertansiyon ve en nihayetinde kalp-damar hastalıklarına yol açabilmektedir. Obeziteye karşı etkili bir tedavi yöntemi arayışları uzun zamandır devam etmektedir ve bu çalışmalar sırasında fukoksantin anti-obezite etkisinin olduğu belirlenmiştir. Fukoksantin etki mekanizması plazmatik ve hepatik trigliseritlerin konsantrasyonunu düşürmek ve 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A redüktaz ve açıl-koenzim A gibi kolesterol düzenleyici enzimlerin aktivitesini azaltmak şeklinde gerçekleşmektedir. Pek çok çalışmada çok düşük dozlarda bile fukoksantin alımının vücut ağırlığını, yağ birikimini, organlarda görülen yağlanmayı, beyaz adipoz dokularda ağırlık artışını düşürdüğü görülmüştür. Ayrıca fukoksantin vücuttaki lipid miktarını düşürdüğü bilinen lipid metabolizmasını düzenleyen genin ekspresyonunu da etkilediği bilinmektedir. Fukoksantin farelerde hepatik asetilkola karboksilaz (ACC), yağ asidi sintazı (FAS), glikoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PDH) ve açıl-KoA kolesterol açıltransferaz (ACAT) gibi enzimlerin mRNA'larının ekspresyonlarını düşürdüğü belirtilmiştir. Bunlar dışında obezitede etkili olan UCP1 proteini üzerinde fukoksantin etkisi de araştırmalar arasındadır. Bu protein herhangi bir uyarıcı olmadığı sürece eksprese olmamaktadır ve üretildiğinde ısı şeklinde kimyasal ısı açığa çıkarmaktadır. Fukoksantin varlığında UCP1 proteininin ekspresyonu uyarılmaktadır ve protein beyaz adipoz dokularda birikerek ısıyı arttırmaktadır. Bu da yağ asitlerinin yüksek ısıda okside olmasıyla sonuçlanmaktadır (D'Orazio et al., 2012; Gammone and D'Orazio, 2015; Gammone et al., 2015; Peng et al., 2011; Zhang et al., 2015).

- **Fukoksantin ve antienflamatuar etkisi:** İnflamasyon, hücre ve dokuların zarar görmesi halinde patojene karşı savunma mekanizmasının devreye girmesiyle oluşan tepkidir. Enflamatuar hastalıklara karşı direnç oluşturmada vücutta makrofajların rolü yüksektir. Makrofajlar tarafından yüksek miktarlarda üretilen interlökin-1 β (IL-1 β), IL-6, tümör nekroz faktörü (TNF- α) gibi sitokinler ve reaktif oksijen türleri (ROS), nitrik oksit (NO) ve prostaglandin E₂ (PGE₂) gibi inflammatuar mediatörler önemli bileşenlerdir. Anti-inflamatuvar moleküller,

inflamatuvar cevabın oluşumunda etkili olan bu sitokinlerin ve mediatörlerin salınımını baskılayarak inflamatuvar cevabı azaltmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda fukoksantin NO, PGE₂, IL-1 β , TNF- α ve IL-6 moleküllerinin üretimini baskılamada fareler üzerinde etkili olduğu görülmüştür (Heo et al., 2010; Peng et al., 2011; Tan and Hou, 2013; Zhang et al., 2015).

- Fukoksantin ve anti-diyabetik etkisi: Fukoksantin diyabet üzerine farklı mekanizmaları mevcuttur. Diyabetin genetik unsurlar ve obezite ile ilişkili olduğu bilinen bir gerçektir. Obez bireylerde aşırı enerji alımı ve lipid birikimi insülin direncinin artmasına ve diyabetin görülmesine sebep olmaktadır. Bu durumun beklenen bir neticesi olarak fukoksantin diyabet hastalarına verilmesi kilo kaybının artması ve beyaz adipoz dokuların (WAT) azalması ile anti-diyabetik etki göstermektedir. WAT yapıları enerjinin depolandığı ve TNF- α , IL-6, MCP-1 gibi adipokinlerin salgılandığı dokulardır. Bu adipokinler glikoz intoleransını ve yüksek kan basıncını desteklemektedir. Fukoksantin verilen diyabet hastası ve obez sıçanlarda adipokinlerin salgılanmasında normalden tam tersi bir mekanizma uyarılarak insülin direnci oluşturulmuş ve kan şekeri düşürülmüştür. Bu etki dışında fukoksantin, kas hücrelerinin membranlarında bulunan ve glikoz kullanımı ile bağlantılı olan glikoz taşıyıcı 4(GLUT 4) proteinin işlevini düzenleyerek diyabet tedavisinde etkili olmaktadır (D’Orazio et al., 2012; Maeda, 2015; Zhang et al., 2015).

-Fukoksantin ve anti-kanser etkisi: Fukoksantin molekülünün kanser hücreleri üzerine etkisinde birkaç farklı metabolizma söz konusudur. Temelde fukoksantin anti-kanser aktivitesinin serbest radikalleri süpürme etkisinden kaynaklandığı bilinmektedir. Mevcut mekanizmalar, apoptozun uyarılması, kanser hücrelerinin yaşam döngülerinin engellenmesi ve metastazın baskılanması şeklindedir. GOTO, HL-60, Caco-2, HepG-2, Neuro2a, DU145, PEL, PC-3, HeLa, H1299, HT-29, DLD-1 gibi hücre hatları fukoksantin hücre canlılığı üzerinde etkisinin olduğu belirlenen çeşitli kanser hücreleridir. Kanser hücrelerinin yaşam döngülerinin engellenmesinde fukoksantin, çoğunlukla hücre döngüsünün G₀/G₁ fazlarında hücreler arası iletişimi sağlayan boşlukları genişleterek kalsiyum iyonlarının artırılması ve apoptozun uyarılması şeklinde etkili olduğu görülmüştür. Apoptoz mekanizmasında kanser hastalarına verilen fukoksantin metaboliti olan fukoksantinole dönüşümü ile apoptoz mekanizmasının uyarıldığı belirlenmiştir. Yani kanser hücrelerinin programlı

ölümünün uyarılması için fukoksantinden çok metaboliti fukoksantinolün potansiyeli daha yüksektir. Yapılan çalışmalar ile fukoksantin lösemi, kolon, prostat ve akciğer kanserlerinde etkili olduğu görülmüştür (D’orazio et al.,2012; Kumar et al., 2013; Padua et al., 2015; Peng et al., 2011; Takahashi et al., 2015).

-Fukoksantin kardiovasküler sisteme etkisi: Kalp ve damar hastalıklarının altında yatan temel risk faktörlerinin obezite, yüksek kan basıncı, kronik inflamatuvar ve yüksek kolesterol konsantrasyonları olduğu düşünüldüğünde, fukoksantin bu faktörler üzerine etkisinin olması kardiovasküler sistem için ideal bir teröpotik ajan olduğunu göstermektedir (D’Orazio et al., 2012; Zhang et al.,2015).

2.3.4.2. Fukoksantin Gıda Sektöründe Kullanımı

Fukoksantin molekülünün gıdalarda kullanımına dair çalışmalar son dönemlerde hızlanmakta olup piyasada fukoksantin içeren ürün henüz bulunmamaktadır. Bunun temel sebebi fukoksantin makro ve mikro alglerde klorofil ve bazı proteinlerle bağlanmış durumda olup bu moleküllerden ürünü saflaştırmanın henüz mümkün olmamasıdır. Ancak gıda katkısı olarak kullanımına dair bazı çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda fukoksantin içeceklerde, kapsül ya da tablet şeklinde, şeker, çikolata ve sakızlarda kullanımı denenmiştir. Ogurayayamamoto Corporation tarafından fukoksantin içeren krem peynir, tart, mısır patlağı ve ekmeğin ticari olarak üretimi mevcuttur. Ekstrenin gıda katkı maddesi olarak direkt kullanımı yaygın olmasa da uzun yıllar boyunca insanlar fukoksantini dolaylı olarak yenilenebilir makroalglerden tüketmektedirler. Yenilenebilir makroalgler özellikle Uzak Doğu ülkelerinde son derece yaygındır (Oryza, 2008; Prabhasankar et al., 2009; Xia et al., 2013).

2.3.4.3. Fukoksantin Kozmetik Sektöründe Kullanımı

Fukoksantin yaşlanma karşıtı etkisi olduğu yapılan araştırmalar sonucu ortaya konmuştur. Urikura ve arkadaşları tarafından farelerle gerçekleştirilen bir çalışmada, fareler UV ışınına maruz bırakılarak fukoksantin etkisi gözlemlenmiştir. UV uygulamadan önce farelerin derisine çok düşük dozlarda fukoksantin uygulanmış ve ışığa maruz bırakıldıktan sonra 10 hafta boyunca izlenmiştir. Fukoksantin uygulanmayan farelerde yüksek çil oluşumu ve yaşlanma belirtileri görülürken fukoksantin uygulanan farelerde çil oluşumunun baskılandığı ortaya çıkmıştır. Bu sonucun fukoksantin antioksidatif ve

antianjiyogenik etkisi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Buna benzer çalışmalar sonucunda fukoksantin kozmetik alanında kullanılmaya başlanmış ve özellikle anti-aging kremlerde ve jellerde yaşlanmayı önlemek, ciltteki yara ve ameliyat izi gibi istenmeyen durumları yok etmek için kullanılmaktadır (Necton S. A., 2016; Urikura et al., 2011).

2.3.5. Fukoksantin kaynakları

Fukoksantin pigmenti, yaygın olarak denizel ortamdaki kahverengi makroalglerde yüksek miktarda bulunmaktadır. Alternatif kaynak arayışı sonucunda özellikle diatomlar olmak üzere bazı mikro alglerin de yüksek fukoksantin içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Planktonlarda yapılan incelemeler sonucunda organizmaların fukoksantin içeriği Çizelge 2.5’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.5’den görüldüğü üzere makro ve mikro olmak üzere pek çok alg yaşam döngüsünde fukoksantin üretmektedir. Ancak molekülün üretimi için yaygın olarak makroalgler tercih edilmektedir. Bu alglerin üretim kolaylığı ve sahip oldukları yüksek fukoksantin içeriği tercih sebebi olmalarının gerekçelerindendir. Fakat makroalglerin metabolit üretimi için kullanılmasının yanında ekolojik döngüde daha önemli rolleri mevcuttur. Doğadaki oksijen-karbondioksit dengesini, karbon döngüsünü ve ekolojik çevrenin korunmasına büyük katkı sağlayan canlılardır. Bu sebeple alternatif fukoksantin kaynaklarına yönelim çok daha çevreci bir yaklaşım olacaktır. Mikroalgler bu noktada ideal bir fukoksantin kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle yüksek üreme hızına sahip olmaları, kısa sürede fazla miktarda biyokütle oluşumu, üretiminin geniş alanlara gereksinim duymaması, maliyetin düşük olması mikroalglere yönelimi arttıran avantajlardandır.

Çizelge 2.5.Fukoksantin kaynakları ve organizmalardaki miktarı.

Organizma	Fukoksantin miktarı (mg/g kuru ağırlık)	Referans
<i>Myagropsis myagroides</i>	9,01	Heo et al., 2010
<i>Dictyota coriacea</i>	6,42	Heo et al., 2010
<i>Himanthalia elongata</i>	18,6	Rajauria et al., 2016
<i>Petalonia binghamiae</i>	3,57±0,028	Kang et al., 2012
<i>Undaria Pinnatifida</i>	38,5 ± 2,5	Quitain et al., 2013
<i>Hijikia fusiformis</i>	0,02 mg/g yaş ağırlık	Xia vd., 2013
<i>Turbinaria turbinata</i>	0,59 ± 0,08	Jaswir et al., 2012
<i>Laminaria japonica</i>	0,19 mg/g yaş ağırlık	Xia vd., 2013
<i>Ecklonia cava</i>	≈ 4	Heo et al., 2010
<i>Sargasum coreanum</i>	3	Heo et al., 2010
<i>Sargasum hemiphyllum</i>	≈ 5	Heo et al., 2010
<i>Sargasum horneri</i>	2,12	Susanto et al., 2016
Deniz kestanesi yumurtaları	2 µg/g	Grama et al., 2012
<i>Alaria crassifolia</i>	0,041	Airanthi et al., 2011
<i>Cladosiphon okamuranus</i>	0,48 ± 0,08	Mise et al., 2011
<i>Cystoseira hakodatensis</i>	2,01	Susanto et al., 2016
<i>Eisenia bicyclis</i>	0,41	Airanthi et al., 2011
<i>Fucus serratus</i>	0,012 mg/g yosun	Strand et al., 1988
<i>Kjellmaniella crassifolia</i>	0,19 mg/g	Airanthi et al., 2011
<i>Padina tetrastromatica</i>	0,02 mg/g yaş ağırlık	Sangeetha et al., 2010
<i>Cylindrotheca closterium</i>	5,23	Kim et al., 2012
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	15,33	Kim et al., 2012
<i>Odontella aurita</i>	13	Heo et al., 2010
<i>Isochrysis</i>	17	Crupi et al., 2013

2.4. Mikroalgal Biyokütle Üretimi

Mikroalgler genel olarak denizel ve tatlı sularda yaşayan tek hücreli mikroorganizmalardır. Yüksek büyüme hızına sahip, çok farklı boyutlarda varlıklarını sürdüren fotosentetik canlılardır. Ekolojide karbon ve oksijen gibi önemli bileşenler açısından dengenin korunumunda büyük öneme sahip olmasının yanı sıra içerdiği yağ asitleri, steroller, fenolik bileşenler, terpenler, enzimler, polisakkaritler, alkaloidler, toksinler ve pigmentler sayesinde pek çok alanda kullanımları söz konusudur. Karotenoid üretimi, atık su arıtımı, akuakültür, biyodizel eldesi gibi daha pek çok alan mikro alglerin kullanıldığı alanlardandır. Farklı ticari amaçlar için dünyada yıllık üretilen algal biyokütlenin 5000-7500 ton

arasında değiştiği, üretilen biyokütleden de yılda ortalama 1,25 milyar \$ gelir sağlandığı bilinmektedir (Abomohra et al., 2016; Kim et al., 2012).

2.4.1. Mikroalg üretim sistemleri

Mikroalglerin üretiminde farklı sistemler geliştirilmiştir. Üretilcek mikro alg türüne, kurulum ve işletim maliyetine, üretilcek biyokütlenin kullanım amacına ve bu şekilde bazı parametrelere bağlı olarak sistemler değişiklik göstermektedir. Temelde mikroalg kültivasyon sistemleri açık ve kapalı sistemler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

- **Açık Sistemler:** Doğada hali hazır mevcut olan göller, havuzlar, lagünler ile insan yapımı yapay havuzlar, üstü açık tanklar mikroalg üretiminde kullanılan açık sistemlerdendir. Hücrelerin gereksinimi olan ışık gün ışığı ile sağlanmakta olup kontrolü sağlanamamaktadır. Boyut, şekil ve karıştırma açısından farklı çeşitlere sahiptirler. En yaygın kullanılan açık sistemler karıştırmasız sığ havuzlar, karıştırmalı dairesel havuzlar ve kanatlı çarklar ile karışımın sağlandığı kanal şeklinde havuzlardır. Büyük çapta ticari mikroalg üretimi için bu sistemler son derece idealdir. Bunun sebebi kurulum ve işletim maliyetinin düşük olması, kolayca ölçek büyütmenin gerçekleştirilebilmesi, hasat işleminin zor olmaması ve bakımının kolay yapılmasıdır. Ancak bu sistemler hem kontrol edilebilirlik hem de kontaminasyon açısından dezavantaja sahiptir. Sistemin başka mikroalg türleri ya da mikroorganizmalarca kullanılmasını engellemek imkansızdır. Bu yüzden türe spesifik açık sistem kullanımları söz konusudur. Ayrıca üretim sırasında gerçekleşen yüksek buharlaşma oranı da bu sistemlerin istenmeyen durumlarından biridir. Açık sistemlerde çoğunlukla üretilen mikroalg türleri; *Chlorella sp.*, *Spirulina platensis*, *Haematococcus sp.* ve *Dunaliella salina*'dır (Abomohra et al., 2016; Klinthong et al., 2015; Sing and Ahluwalia, 2013).

- **Kapalı Sistemler:** Açık mikro alg üretim sistemlerinin dezavantajlarını gidermek amacıyla kapalı ve kontrollü yapılar geliştirilmiştir. Bu sistemler ışık gereksinimi, üretim ortamının homojen karışımı, CO₂ miktarı gibi üretim açısından önemli parametrelerin kontrol edilebileceği şekilde tasarlanmıştır. Özellikle açık sistemlerde büyük bir sorun olan kontaminasyon problemi kapalı sistemlerde görülmemekte sadece istenen mikro alg türünün gelişimi

sağlanabilmektedir. Bu kapalı sistemler fotobiyoreaktör olarak adlandırılmakta olup farklı dizayn parametrelerinin uygulandığı değişik çeşitlere sahiptir.

Mikroalg üretiminde açık ve kapalı sistemlerin sahip olduğu avantaj ve dezavantajların karşılaştırması Çizelge 2.6'da verilmiştir (Mata et al., 2010; Narala et al., 2016; Ali et al., 2014; Singh and Ahluwalia, 2013).

Çizelge 2.6.Mikroalg üretiminde açık ve kapalı sistemlerin karşılaştırması.

Parametreler	Açık Sistemler	Kapalı Sistemler
Alan gereksinimi	Yüksek	Düşük
Proses Kontrolü	Zor	Kolay
Kontaminasyon Riski	Yüksek	Düşük
Buharlaştırma Miktarı	Yüksek	Düşük
Kurulum Maliyeti	Düşük	Yüksek
İşletme Maliyeti	Düşük	Yüksek
Ölçek Büyütme	Zor	Zor
Sıcaklık Kontrolü	Zor	Soğutma Sistemleri ile kolay
Işıklandırma Verimi	Düşük	Yüksek
Temizleme ve Bakım	Zor	Kolay
Biyokütle Yoğunluğu	Düşük ve değişken	Yüksek ve tekrarlanabilir
Hidrodinamik Stres	Düşük	Tasarıma göre değişken /Yüksek
Yüksek maliyet gerektiren bileşenler	Karıştırma	Sıcaklık ve oksijen kontrolü

2.4.2. Fotobiyoreaktör çeşitleri

2.4.2.1. Panel fotobiyoreaktörler

Kullanımı son derece yaygın olan bu sistemlerin basit bir yapısı vardır. İki tarafı transparan plakadan oluşan, üretim hacmine göre ışık yolu birkaç mililitreden 10-15 cm'ye kadar değişebilen fotobiyoreaktörlerdir. Yapısında herhangi bir karıştırma mekanizması bulunmamaktadır. Hücrelerin ve ortamın homojen karışımı pompa ile sisteme verilen hava sayesinde sağlanır. Beslenen havanın CO₂ açısından zenginleştirilmesi ile hücrelerdeki fotosentetik verim artırılabilir. Aynı zamanda karıştırmanın sadece havalandırma ile gerçekleştirilmesi hücreler için önemli bir faktör olan kayma geriliminin düşük olmasını sağlamaktadır. Ancak hücreler için ideal olabilecek bu durum optimum

olmayan hava beslenmesi durumunda büyük bir sorun haline gelebilmektedir. Diğer reaktörlere göre en büyük avantajı yüzey alanının reaktör hacmine oranının yüksek olmasıdır ve bu sayede reaktörün ışıklandırılan yüzey alanı artmaktadır. Sıcaklık kontrolü kolayca gerçekleştirilebilmekte olup iki taraflı ısı değiştiriciler ya da yağmurlama sistemiyle sıcaklık istenen değerde korunabilmektedir. Ayrıca panel fotobiyoreaktörlerin ticari boyutlarda ölçeklendirilebilmesi basit tasarımından dolayı kolay hale gelmektedir (Abomohra et al., 2016; Gupta et al., 2015; Klinthong et al., 2015; Xu et al., 2009).

2.4.2.2. Tübüler fotobiyoreaktörler

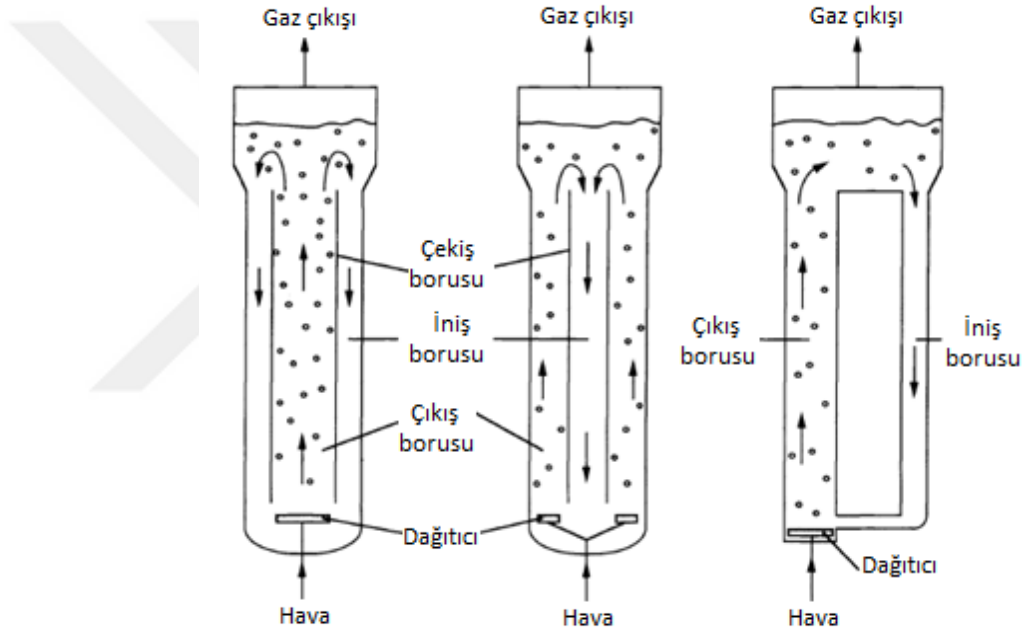
Bu fotobiyoreaktör tipleri mikro alg üretimi için geliştirilen ve kullanılan en eski sistemlerdir. Transparan cam ya da plastik bir borudan oluşan bu sistemler tasarım açısından dikey fotobiyoreaktörler ve yatay fotobiyoreaktörler olarak ikiye ayrılmaktadır (Carvalho et al., 2006; Singh and Sharma, 2012).

- **Dikey tübüler fotobiyoreaktörler:** Dikey yerleştirilmiş bir boruda gerçekleştirilen mikroalg üretiminde borunun alt kısmından reaktöre hava beslemesi yapılmaktadır. Bu sayede üretim sıvısı homojen bir şekilde karışmakta ve beslenen CO₂ verimi arttırılmaktadır. Aynı zamanda fotosentez sonucu ortaya çıkan O₂ de etkili bir şekilde uzaklaştırılmakta ve havaya karışmaktadır. Biyokütle veriminin arttırılması için akışkan hareketini optimize edilmiş ve hava kaldırmalı ile kabarcık kolon fotobiyoreaktörler geliştirilmiştir (Pawar, 2016; Posten, 2009).

Kabarcık kolon fotobiyoreaktör sistemlerinde tek bir silindir içerisinde alttan difüzör ya da sparger ile beslenen hava ile üretim gerçekleştirilmektedir. Bu reaktör sistemlerinde yüzey alanı/reaktör hacmi oranı yüksektir. Ayrıca kütle ve ısı transferi etkili olarak sağlanmaktadır. Ancak ışıklandırmanın verimli olabilmesi için reaktör çapının yüksek olmaması gerekmektedir. İyi bir havalandırma hücrelerin ışıktan homojen yararlanmasını sağlarken, kayma geriliminin negatif etkisini de arttırabilmektedir (Bitog et al., 2011; Singh and Sharma, 2012).

Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörler ise tasarım açısından kabarcık kolon reaktörlerden farklı olarak sıvı akışının gerçekleştiği iki bölge mevcuttur. Bu bölge reaktörün içinde olabileceği gibi dış kısımdaki tüp içinde de olabilir. Hava beslemesi tıpkı kabarcık kolonda olduğu gibi silindirin alt kısmından

sağlanmaktadır. İçten çekişli reaktörlerde hava spargerden yukarı doğru hareket ederek dış silindirden daha ince tüp içinde ilerler ve üst sınıra geldiğinde iki silindir arasından aşağı doğru hareketine devam eder. Dıştan çekişli sistemlerde ise ana silindirden yükselen hava dıştaki bir silindire geçerek aşağı doğru hareket eder ve beslenen havaya tekrar karışır (Şekil 2.7). Böylelikle kültür ortamındaki gazın difüzyon süresi daha da uzayarak verim artmaktadır. Bu sayede yüksek homojeniteye sahip bir üretim söz konusudur. Bu fotobiyoreaktörlerin en büyük dezavantajı ölçek büyütmenin zor gerçekleşmesi dolayısıyla ticari üretimler için uygun olmamasıdır (Klinthong et al., 2015; Singh and Sharma, 2012; Xu et al., 2009).



Şekil 2.7. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör çeşitleri (Doran, 1995).

- **Yatay tübüler fotobiyoreaktörler:** Silindirik tüpler içeren bu sistemler özellikle güneş ışığından faydalanarak dışarıda gerçekleştirilen üretimler için son derece uygundur. Güneş ışığından maksimum yararlanmak için farklı açılarda yerleştirilebilirler. Işık verimliliği açısından ideal sistemler olsa da beslenen gazın difüzyonu ve oluşan oksijenin uzaklaştırılması açısından dezavantajlara sahiptir. Soğutma işlemleri kolaylıkla gerçekleştirilebilmektedir (Carvalho et al., 2006; Torzillo and Zittelli, 2015).

2.4.2.3. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörler

Karıştırılmalı fotobiyoreaktörlerde ortam reaktör içinde bulunan karıştırıcı ile sağlanmaktadır. Hücrelerin gereksinimi olan hava kontrollü olarak reaktörün tabanından püskürtülür. Karışımın etkisini arttırmak için reaktörde değişen sayı ve tasarımda engeller bulunmaktadır. Üretimin homojen olması açısından avantajlı bir üretimdir. Ayrıca sıcaklık, pH, hava beslemesi gibi parametreler kolaylıkla kontrol edilebilmektedir. Ancak bu fotobiyoreaktörlerde ışıklandırma verimli bir şekilde gerçekleştirilmemektedir (Carvalho et al., 2006; Singh and Sharma, 2012; Xu et al., 2009).

2.4.3. Ölçek büyütme

Mikroalgal biyokütle üretimi için organizmanın türüne, istenen ürüne ve üretim hacmine göre en uygun sistem seçilerek proses optimizasyonu yapılır ve üretim gerçekleştirilir. Biyoteknolojik gelişmelerin hızla ilerlediği günümüzde maksimum verim ve minimum kayıp sağlamak için küçük ölçekten büyük ölçeğe ilerleyen süreçte optimizasyon çalışmaları detaylı yürütülmektedir. Ticari üretimlerde yüksek hacimde çalışılırken her organizma için değişen ortam koşullarının optimize edilmesi hem maliyet hem zaman açısından büyük kayıplara neden olmaktadır. Bu kayıpları önlemek için laboratuvarlarda küçük ölçekte gerçekleştirilecek üretimlerin sonuçlarından ölçek büyütme ile yüksek hacim üretimleri öngörülebilmektedir. Ölçek büyütmenin temel amacı ürün kalitesi değişmeden aynı verimliliğin ($\text{mg ürün} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{gün}^{-1}$) büyük ölçekte de elde edilmesidir. Genel olarak bir üretimin hacmi artırılırken göz önünde bulundurulması gereken noktalar biyokütlenin verimliliği ve üretilen ürünün kalitesinin korunmasıdır. Ölçek büyütürken aynı zamanda ucuz bir proses geliştirilmesi de önemli bir kriterdir (Varley and Birch, 1999). Laboratuvar sonuçlarının daha hızlı ve verimli bir şekilde endüstriyel ölçeğe çevrilmesi için başarılı ölçek büyütme (scale up) stratejileri gereklidir. Ölçek büyütme, büyük reaktörlerin küçük reaktörlere göre daha heterojen olması nedeniyle zorlu bir süreçtir. Geometrik olarak benzer reaktörler kullanılsa bile küçük ölçekten büyük ölçeğe geçişte kayma gerilimi, karışma zamanı, kütle transferi gibi parametreleri korumak detaylı bir çalışmayı gerektirir. Daha büyük ölçeklerde hücresel verimliliğin azalmadan üretim yapılabilmesi için,

*Süspanse partiküllerin homojen dağılılabilmesi için yeterli karışmanın sağlanması,

*Yeterli kütle transferi ve besin sağlanması,

*Hücre hasarına neden olan faktörlerin minimize edilmesi gerekmektedir.

Ölçek büyütme ve reaktör dizaynı yapılmadan önce bu kriterlerin tartışılması gerekmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda ölçek büyütme sırasında sıklıkla sabit kalması önerilen parametreler;

1. Hacimsel oksijen transfer katsayısı(k_{La})
2. Birim sıvı hacmi başına verilmesi gereken güç (P_g/V)
3. Karıştırıcı ucu hızı (v_{tip})
4. Reynolds sayısı
5. Karışma zamanı (Oostherius, 1984; Stoker, 2011)

Hacimsel oksijen transfer katsayısı (k_{La}) sabitlenerek yapılan ölçek büyütme çalışmaları özellikle aerobik üretimlerde son derece yaygındır. Reaktörler için optimum oksijen konsantrasyonu farklı sistemlerle beslenen hava ile sağlanmaktadır. Ancak oksijenin sıvıdaki hareketini, kütle transferini ve hücreler tarafından kullanımını belirleyen ortam sıvısının içeriği, reaktörün geometrisi ve üretim koşulları gibi parametreler mevcuttur. Ayrıca hücre çeperi ve zarının yapısı da oksijenin hücre içine difüze olmasında etkili olan önemli bir kriterdir. Oksijenin transfer ve difüzyon hızı karıştırma ve gaz besleme hızının artırılmasıyla daha verimli hale getirilebilir. Ancak bu durumda hücreler için önemli bir stres nedeni olan kayma gerilimi ortaya çıkabilmektedir. Bu yüzden üretimde en yüksek verimliliği verecek oksijen transfer hızı için öncelikle hücre özellikleri göz önünde bulundurulmalıdır (Deniz et al., 2015; Marques et al., 2009; Schmidt, 2005).

Hücrelerin büyümesi için havalandırmanın birincil kriter olmadığı üretimlerde yaygın olarak kullanılan ölçek büyütme metodolojisi birim hacim başına tüketilen güç (P_g/V)'tür. Güç tüketimi, reaktör içerisindeki sıvının belirli bir periyotta istenen düzeyde hareket etmesi için gerekli enerji miktarıdır. Genel olarak ortam sıvısının homojen bir şekilde karışımında güç tüketimi önemli rol oynamakla birlikte, sistem içerisindeki enerji kayıplarının da minimize edilmesiyle yakından ilgilidir. Başarılı bir ölçek büyütme prosesi içinse sadece güç tüketimi değil üretim hacmi de dikkate alınarak birim hacim başına güç

tüketimi kriter olarak ele alınmalıdır. Bu stratejinin benimsendiği sistemler havalandırmanın uygulanıp uygulanmamasına göre değişiklik göstermektedir. Hava beslemesi yapılmayan reaktörlerde sistemin gereksinim duyduğu güç sadece karıştırıcı ile sağlanmaktadır. Karıştırıcı sayısı, çapı ve yapısı güç tüketimini belirleyen etkenlerdendir. Havalandırmanın uygulandığı üretimlerde ise gazın etkisi son derece büyüktür. Sistemdeki güç gereksinimi havalandırma ve mevcutsa karıştırma ile giderilir. Difüzör ya da püskürtme sistemleri ile beslenen gaz, üretim sıvısının yoğunluğunu değiştirerek güç tüketimini etkilemektedir. Özellikle karıştırmalı tank reaktörlerde gaz kabarcıkları karıştırıcı çevresinde boşluklar oluşturarak yüksek yoğunluk farklarına neden olmaktadır. Bu durum hacimsel güç tüketiminin gaz beslenen üretimlerde besleme yapılmayan üretilere göre daha düşük olmasıyla sonuçlanmaktadır. Yapılan çalışmalar ile hava beslenen sistemlerin besleme hızı ve karıştırıcı tipine bağlı olarak güç tüketimlerinin hava uygulanmayan sistemlerin %30-40'ı olduğu görülmüştür (Garcia-Ochoa and Gomez, 2009; Gill et al., 2007; Marques et al., 2010).

Karıştırıcı ucu hızının sabit tutulmasıyla gerçekleştirilen ölçek büyütme prosesleri genel olarak miselli formda yaşayan hücreler için kullanılmaktadır. Bu hücrelerin kayma gerilimi stresine karşı hassas olmaları sabit karıştırıcı hızının benimsenmesinde temel nedendir. Yüksek hacimli reaktörlere geçilirken karıştırıcı ucu hızı sabit tutulduğunda hacimsel güç tüketimi azalacaktır. Bunu engellemek için karıştırıcı sayısı arttırılarak hem hız hem P/V değeri sabit tutulabilir (Imamoglu and Sukan, 2013; Marques et al., 2010; Oosterhuis, 1984).

Reaktör içerisindeki sıvı akışının özelliğini belirten Reynolds sayısının sabit tutulmasıyla ölçek büyütme işlemi bir diğer metodolojidir. Hacim yükseltmesinde karıştırma hızı baz alınırken, havalandırmanın Reynolds sayısı ile bir ilgisi olmamasından dolayı çok yaygın kullanımı söz konusu değildir (Marques et al., 2010).

Laboratuvar ölçeğinden büyük ölçeğe geçişte en büyük problemlerden biri kültür ortamının homojen karışamamasıdır. Bu durum kütle ve ısı transferlerinin yetersizliğine ve hücrelerin verimliliğinde düşüşe neden olmaktadır. Bu problemi önlemek adına ölçek büyütme metodolojilerinden sabit karışma zamanı ortaya konmuştur. Küçük ölçekte belirlenen optimum karışma zamanı büyük hacimdeki reaktörde karışma hızı, havalandırma, bıçak sayısı, karıştırıcı tipi gibi parametrelerin düzenlenmesiyle sabit tutularak biyokütle ve ürün verimliliği

maksimize edilmektedir. Bu metodolojide karşılaşılabilecek sorun karışma zamanının sabit tutulması için yüksek karıştırma gereksinimi ve bunun oluşturacağı enerji problemidir (Deepa, 2016; Marques et al., 2010; Oosterhuis, 1984; Stoker, 2011).

Bu parametreler dışında reaktör geometrisi, momentum faktörü, yüzeysel gaz hızı, hacimsel gaz akışı gibi yaygın kullanılmayan ölçek büyütme kriterleri de mevcuttur. Ancak reaktör içerisinde meydana gelen olayların canlı boyutunda biyolojik prosesler olduğu düşünüldüğünde tek bir stratejinin kabul edilip yüksek hacimdeki üretimlerin optimizasyonu yüksek doğruluk vermemektedir. Canlının ve ürünün oluşumunu etkileyen ana parametrelerin göz önünde bulundurulup kombinasyonlarının uygulanması daha verimli üretimlerin gerçekleşmesini sağlamaktadır.

2.4.4. Mikroalg üretimine etki eden parametreler

Mikroalgler ışık ve sucul ortamın bulunduğu her ortamda görülmektedir, ancak hem biyokütle hem de istenen ürün açısından verimli bir üretimin gerçekleştirilebilmesi için hücrelere etki eden parametrelerin iyi bilinmesi ve optimize edilmesi gerekmektedir. Mikroalg üretimine etki eden parametreler ışık yoğunluğu, sıcaklık, foto periyod, tuzluluk, pH, havalandırma ve karıştırma ile gerekli besin bileşenleridir.

2.4.4.1. Işık yoğunluğu

Mikroalglerin fotosentetik organizmalar olduğu ve ekolojide karbon ve oksijen döngüsünde sahip oldukları önem göz önünde bulundurulduğunda kültürasyon süresince ışık yoğunluğu birincil parametrelerden biridir. Fotosentezin gerçekleşebilmesi için 400-700 nm bant genişliğinde spesifik ışık yoğunluğu uygulaması idealdir. Bunu yanında üretim sistemlerinde ışık yolu, kültür ortamının yoğunluğu, ışığın penetrasyonu da dikkat edilmesi gereken parametrelerdir (Hulst, 2012; Kim, 2015; Kim and Chojnacka, 2015).

2.4.4.2. Sıcaklık

Sıcaklık, mikroalglerin metabolizma faaliyetlerini, büyüme kinetiğini, enzim ve protein işlevlerini etkilediğinden üretim sistemlerinde yüksek kontrol gerektirmektedir. Her mikroalg için optimum sıcaklık koşulları farklı olmakla

birlikte genel olarak 10-45 °C arasında değişen sıcaklık değerleri mikroalgler için idealdir. Türe özgü olarak belirlenen optimum sıcaklık değerinin altında hücreler düşük büyüme hızı gösterirken bu değerden yüksek koşullar mikroalgin ölümü ile sonuçlanmaktadır (Kim, 2015; Ras et al., 2013; Singh and Singh, 2015).

2.4.4.3.Foto periyod

Işık yoğunluğunun yanında mikroalgal üretimlerde ışığın uygulanma zamanı ve süresi de önemlidir. Açık sistemlerde ışıklandırma güneş ışığı ile sağlandığından yıl boyunca değişen foto periyod koşulları biokütle üretimini etkilemektedir. Kapalı ve kontrollü sistemlerde ise optimum ışıklandırma süresiyle ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Genel olarak mikroalg üretiminde minimum 16:8, maksimum 24:0 aydınlık/karanlık foto periyod uygulanması ideal koşullar olarak belirlenmiştir (Kim, 2015; Krzeminska et al., 2014).

2.4.4.4.Tuzluluk

Mikroalg türüne göre değişen en büyük parametrelerden biri tuzluluk oranıdır. Kültür ortamında bulunan tuz oranı hücrelerin çeper yapısına, tuz kullanım metabolizmasına, suyun ve tuzun uzaklaştırılmasına bağlı olarak optimize edilmektedir. Mikroalgler bu özelliklerine bağlı olarak düşük tuz oranında yaşayan hipotonik tatlı su mikroalgleri ve yüksek tuz içeren ortamlarda yaşayan hipertonik mikro alglerolarak iki gruba ayrılabilir (Kim, 2015; Kim and Chojnacka, 2015).

2.4.4.5.pH

Mikroalgal biyokütle üretim sürecinde pH'ın optimum değerinde olmaması hücreler açısından pek çok olumsuz duruma yol açarak kültür ortamında çökmeye yol açabilir. Özellikle azot ve fosfat gibi besinlerin alınımında pH'ın etkisi büyüktür. Üretim sıvısında farklı inorganik karbon türlerinin oluşumu, metabolitlerin iyonize olması, iz elementlerin çözünmesi ve kullanımı pH değişimlerinden yüksek oranda etkilenen aktivitelerdir. Genel olarak mikroalg kültürlerinde optimum pH değerinin 7-9 arasında değiştiği görülmektedir. pH değerinin düzenlenmesi için mikroalgal kültürlerde CO₂ kullanımı üretim verimini arttıran olumlu bir müdahaledir (Umamaheswari and Shanthakumar, 2016; Kim, 2015).

2.4.4.6.Havalandırma ve karıştırma

Mikroalglerden biyokütle üretimini etkileyen temel unsurlardan biri havalandırma hızıdır. Fotosentetik aktivitenin sürdürülebilmesi ve büyümenin gerçekleşmesi için karbon kaynağı önemli bir bileşendir. Havalandırma ile kültürde canlı için gerekli karbon CO₂ formunda ortama verilmektedir. Aynı zamanda havalandırma sayesinde etkili bir karıştırma sağlanarak kütle transferi etkinleştirilmekte, hücrelerin tabana çökmesi engellenmekte, homojen bir karışım ile ışık ve besin ihtiyacı yüksek verimle uygulanmakta, çözünmüş oksijen ve karbondioksit konsantrasyonunun toksik seviyeye ulaşması önlenmektedir. Ayrıca beslenen karbondioksit ile kültür ortamının pH değeri ayarlanabilir. Hem biyokütle üretimi hem karıştırma açısından gerekli olan havalandırma kontrolsüz olması durumunda hücrelerde kayma gerilimine, gaz tutunma süresinin istenenden kısa ya da uzun olmasına neden olabilmektedir. Havalandırma dışında üretim sistemleri mekanik yollarla karıştırılabilmektedir (Guo et al., 2015; Kim and Chojnacka, 2015).

2.4.4.7.Besin içeriği

Her mikroalg türünün gelişmesi için uygun bileşenleri içeren farklı besin ortamları mevcuttur. Doğada kendiliğinden gelişim gösteren algler bulundukları çevrede yüksek miktarda bulunan besinleri kullanarak büyümektedir. Farklı amaçlar için mikroalg üretimi söz konusu olduğunda ise yapay besin ortamları hazırlanmaktadır. Bu ortamların içeriğinde genel olarak her mikroalg için temel besin kaynakları olan azot ve fosfor mevcuttur. Bunun yanında değişen besin bileşenleri ve iz elementlerin kombinasyonları yapılan çalışmalarla optimize edilmiş olarak üretimler için kullanılmaktadır (Juneja et al., 2013).

Beslenme şekline göre mikroalgler fototrofik, heterotrofik ve miksotrofik olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Ortamdaki substrat kaynağı, ışık yoğunluğu, CO₂ koşullarına bağlı olarak hücrelerin büyüme rejimleri şekillenmekte ve her mikro alg türü için farklı büyüme rejimi optimize edilmektedir. Ototrofik büyüme rejimi, ışık varlığında substrat olarak CO₂ kullanımıyla fotosentezin etkin olduğu organizmalarda görülür. Metabolik yollar sonucunda hücreler için gerekli enerji sağlanırken son ürün olarak oksijen salınımı çevresel açıdan önemlidir. Ticari üretim açısından en düşük maliyete sahip olan ve enerji gereksinimi en az olan

biyokütle üretim prosesidir. Ancak tasarım açısından değerlendirildiğinde ışık faktörünün birincil etmen olması dolayısıyla penetrasyon, hücre yoğunluğu, ışık yolu, ışıklandırılan yüzey alanı gibi noktalar verim açısından son derece önemli hale gelmektedir. Diğer bir büyüme rejimi olan heterotrofik büyümede inorganik karbon yerine substrat ve enerji kaynağı olarak organik karbon kullanılmaktadır. Fotosentetik aktivite göstermeyen mikroalg türü son derece azdır. Üretimin kontrol edilebilirliği çevresel müdahalelerle kolayca sağlanabildiğinden optimum parametrelerin belirlenmesiyle yüksek biyokütle üretimi mümkündür. Ayrıca ışığa bağlı bir üretim olmadığından dizayn parametreleri daha kolaydır böylelikle ölçek büyütme kolay hale gelmektedir. Ancak bu pozitif sonuçların yanında hücrelerin gereksinimi olan organik karbon beslemesi ekstra maliyet yaratmaktadır. Bir diğer dezavantaj da metabolizma sonucunda ortaya çıkan karbondioksitin uzaklaştırılması ve hava kirliliğine neden olmasıdır. Son olarak ortam koşullarına bağlı olarak hem fotosentetik aktivite gösterebilen hem de organik karbon kaynağını substrat olarak kullanabilen mikсотrofik üreme mevcuttur. Hücreler ışığın mevcut olduğu ortamda inorganik karbon kullanarak fotosentez gerçekleştirirken, organik karbon bulunması durumunda enerjiyi solunum yolu ile sağlarlar. Yapılan bazı çalışmalar sonucunda mikсотrofik üretimin diğer büyüme rejimlerine oranla daha yüksek üreme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür (Hammed et al., 2016; Lowrey et al., 2015; Wang et al., 2014).

2.5. Kinetik Modelleme

Biyolojik proseslerde hücrelerin büyüme profili, ürün üretimi, substrat tüketimi gibi fonksiyonları farklı koşulların denenmesiyle optimize edilmektedir. Uygun koşullarda gerçekleştirilen üretimler hem mevcut prosesin başarısını göstermekte hem de benzer proseslere model üretimler olarak kullanılabilirler. Üretim sırasında elde edilen sonuçların sözel ifadesinden sayısal olarak belirtilmesi daha gerçekçi sonuçlar ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca benzer prosesler ya da ölçek büyütme işlemleri için gerekli verilerin kolay elde edilebilirliğini sağlamaktadır. Bu noktada hücrelerin davranışlarının matematiksel olarak ortaya konduğu kinetik modeller karşımıza çıkmaktadır.

Kinetik modelleme biyolojik bir prosesin nicel olarak ifadesidir. Matematiksel modeller prosesin kontrolüne yardımcı olurken, maliyeti düşürüp, ürün kalitesini arttırmaktadır. Laboratuvar ölçeğinden ticari ölçeğe geçişte yaşanan en büyük sorunlardan biri büyük ölçekteki optimum koşulların öngörülememesidir. Çevresel parametrelerin her birinin ayrı ayrı denendiği optimizasyon çalışmaları özellikle maliyet açısından büyük kayıplara yol açarken gereksiz zaman almaktadır. Her parametrenin büyük ölçekte denenmesinden küçük ölçekte yapılan üretim sonuçlarından matematiksel modellerin oluşturulması ve bunların yeni üretimlere entegrasyonu çok daha avantajlı bir yöntemdir. Kinetik modellerde hücre davranışları zamana göre irdelenerek hücre büyüme hızı, ürün oluşumu, substrat tüketimi gibi parametreler belirlenebilmektedir. Hücre davranışlarını etkileyen çok sayıda parametre olduğu düşünüldüğünde, farklı modeller geliştirilmiş ve proseslere göre modifikasyonları yapılmıştır. Geliştirilen modeller temelde proses ve sonuç odaklı olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. “Açıklayıcı” modeller biyolojik süreçteki mekanizmaların nicel olarak ifadesine dayanır. Metabolik yollar, ara aşamalar ve son ürüne giderken geçilen kısımların matematiksel modellemesi yapılmaktadır. Bu modeller son derece karışık olmasından dolayı üzerinde modifikasyonlarla sadeleştirmeye çalışılmaktadır. “Betimleyici” modeller ise sonuca odaklıdır. Bu modeller üretimin performansını öngörme yönünde geliştirilmiştir. Çoğu prosesin modellemesinde kolay ve amaca yönelik olmasından dolayı bu modeller kullanılmaktadır (Huesemann et al., 2016; James and Boriah, 2010; Lee et al., 2015).

2.5.1. Mikroalgal büyüme hızının kinetik modellemesi

Mikroalgal biyokütle üretiminde geliştirilen modeller ışık yoğunluğu, sıcaklık, pH, çözülmüş oksijen ile karbonidoksit miktarı ve gerekli besinlerin konsantrasyonu gibi parametreleri içermesini gerektirdiğinden karmaşık modellerdir. Bu parametrelerin ayrı ayrı incelendiği modeller olduğu gibi birbirleriyle etkileşimlerini de göz önünde bulunduran çoklu faktör içeren modeller de kullanılmaktadır. Her ne kadar farklı model çeşitleri söz konusu olsa da temelde üretim süresince hücre davranışlarının iyi bir şekilde gözlemlenmesi gerekmektedir. Genel olarak mikroalgal üretimlerde hücre büyümesi 5 evreden oluşmaktadır (Şekil 2.8). İlk aşama hücrelerin ortama ve koşullara uyum sağladığı

“adaptasyon” evresidir. Bu aşamada hücre sayısında artış yoktur. Aksine adapte olamayan hücreler elimine olabilir. Optimum koşullar mevcut olduğunda 2-3 gün adaptasyon için yeterli süre olarak düşünülmektedir. Ardından ikinci evre hücre sayısında yüksek artışın görüldüğü “logaritmik” evredir. Koşullara adapte olan hücreler yüksek büyüme hızı göstererek yoğun hücre konsantrasyonuna ulaşılmaktadır. Bu aşama mikroalg türüne bağlı olarak farklı sürelerde görülebilmektedir. Takip eden süreçte hücre büyümesinin yavaşladığı ancak devam ettiği üçüncü evre gelmektedir. Hücre konsantrasyonundaki artış halen sürmektedir, ancak önceki aşamada olduğu kadar yüksek değildir. Ortamda maksimum hücre miktarına ulaşıldığı ve optimum koşullardan uzaklaşmaya başlandığından hücreler “durgun” evreye girmektedir. Bu evrede ortamdaki besin konsantrasyonu azalmış, hücreler arası rekabet artmış, yoğun mikroalg içeriği ışık iletimini engellemiş ve metabolik faaliyetler azalmıştır. Hücre ölümlerinin yanında çoğalmalar da devam etmektedir. Total hücre sayısındaki değişiklik olmaz ve hücreler daha çok sekonder metabolit üretimi yönünde ilerler. Son aşama ise “ölüm” evresidir. Hücrelerin hızla öldüğü ve büyümenin neredeyse hiç olmadığı bu aşamaya gelindiğinde üretim sonlandırılmaktadır. Pek çok biyolojik süreçte olduğu gibi mikroalg biyokütle üretiminde de genel olarak görülen hücre büyüme profili bu şekildedir (Frag, 2013; Lee et al., 2015).



Şekil 2.8. Mikroalg kültürlerinde hücrelerin büyüme profili.

Hücre büyümesi, ürün üretimi ve bunlar üzerine etki eden parametreler farklı modellerle ifade edilmektedir.

2.5.1.1. Substrata bağı modelleme

Mikroalglerin fotosentetik canlılar olduğu düşünüldüğünde optimum ışık yoğunluğunda büyüme profilini etkileyen birincil etmen substrat konsantrasyonudur. Farklı mikroalg türleri için belirlenen besin ortamlarında azot ve fosfat temel bileşenler olmak üzere çeşitli iz elementler bulunmaktadır. Ayrıca hücrelerin gelişiminde en önemli faktör karbon kaynağıdır. Substrata bağı olarak geliştirilen modellerden en yaygını Monod denkliğidir.

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot C_s}{K_s + C_s}$$

Denklem 2.1

μ = Spesifik büyüme hızı

C_s = Substrat konsantrasyonu

μ_{max} = Maksimum spesifik büyüme hızı K_s = Monod doygunluk sabiti

Bu model kültür ortamındaki besin bileşenlerinin tek başına büyüme üzerine etkilerini incelemekte olup, besin konsantrasyonunun düşük olduğu koşullar için kullanılmaktadır. Basit yapısı ve düşük besin konsantrasyonlarında doğru sonuçlar vermesi nedeniyle yaygın kullanılmaktadır. Ancak yüksek substrat konsantrasyonlarında gerçekleşen inhibisyonun etkisini bu modelle görmek mümkün değildir. Bu yüzden yüksek besin içeriğine sahip olan ortamdaki üretimler için kullanımı uygun değildir. Bu sorunu önlemek için Monod eşitliğinin modifiye edilmesiyle oluşturulan modeller kullanılmaktadır. Bu amaçla belirlenen modellerden biri Haldane tarafından oluşturulmuştur (Lee et al., 2015; Sachdeva et al., 2016; Zhang et al., 1999).

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot C_s}{K_s + C_s + \frac{C_s^2}{K_i}}$$

Denklem 2.2

Monod modelinden farklı olarak bu modelde yüksek substrat konsantrasyonunda meydana gelen inhibisyon inhibisyon sabiti (K_i) ile belirtilmiştir. Bunun dışında substrat varlığında, yokluğunda, besin kıtlığında ya da inhibisyon koşullarında gerçekleşen hücre davranışlarını ortaya koyan modeller de mevcuttur. Ancak bu modellerin tamamı sadece bir substratın büyüme üzerine etkisinin ifadesidir. Ancak hücreler üzerinde çok sayıda parametre etkilidir ve

doğru modellemenin yapılabilmesi için her faktör incelenmelidir (Mirzaie et al., 2016; Zhang et al., 1999).

Hücrelerin gelişiminde ortamdaki substrat miktarından daha çok hücrelerin bu substratı kullanabilme potansiyelleri önemlidir. Bu noktada tek bir hücre içindeki maksimum besin miktarı olarak tanımlanan “hücre kota”sı devreye girmektedir. Monod benzeri modellerden farklı olarak bu modellerde ortamdaki besin eksikliğinde hücre büyüme davranışlarının ilerleyişi de incelenebilmektedir. Ancak hücre içerisindeki besin miktarının belirlenmesi çok zor bir yöntem olduğundan bu modellerin daha basitleştirilmiş farklı ifadeleri kullanılmaktadır. Bunların başında “Droop Model”i gelmektedir. 1968 yılında M. R. Droop tarafından ortaya konan bu model hücre büyüme hızı ile hücre içi besin konsantrasyonu arasındaki ilişkinin matematiksel ifadesidir. Bu modelde büyüme hızı her bir hücrede depolanan ortalama besin miktarı ile bağlantılıdır. Mikroalgler için Droop modeli özellikle doğal ortamda besin eksikliğinin yüksek olması dolayısıyla hücrelerin davranışlarını incelemek için kullanılmıştır. Ayrıca gerçekleştirilen üretimlerde azot ve fosfat eksikliğinde meydana gelişen değişimlerin ortaya konmasında bu model ile gerçekçi sonuçlar elde edilmektedir (Da Fre et al., 2015; Packer, 2014; Sachdeva et al., 2016; Zhang et al., 1999).

$$\mu = \mu_{max}^l \left(1 - \frac{Q_{min}}{Q}\right)$$

Denklem 2.3

μ = Spesifik büyüme hızı (gün⁻¹)

μ_{max}^l = Varsayımsal maksimum spesifik büyüme hızı (gün⁻¹)

Q_{min} = Minimum hücre içi besin konsantrasyonu (g.g⁻¹ hücre)

Q = Hücre içi besin konsantrasyonu (g.g⁻¹ hücre)

Mikroorganizmaların karmaşık yaşam döngülerini açıklamak için oluşturulan ve kullanılan bir diğer model “Logistic” modeldir. Lojistik model biyolojik prosesler için kolaylıkla entegre edilebilmesi, substrat konsantrasyonundan bağımsız olması ve özellikle fotoototrofik canlılar için kullanıldığında doğru modeller oluşturması sebebiyle tercih edilmektedir. Bu modelde hücre üretimini belirleyen temel nokta ortamın maksimum taşıyabileceği mikroalg popülasyonudur (Surendhiran et al., 2015; Yang et al., 2011).

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m \times X \left(1 - \frac{X}{X_m}\right)$$

Denklem 2.4

dx/dt = Mikroalg büyüme hızı

$\mu_{\max}$ = Maksimum spesifik büyüme hızı

X = Ortamdaki mikroalg konsantrasyonu

$X_{\max}$ = Ortamın taşıyabileceği maksimum mikroalg konsantrasyonu

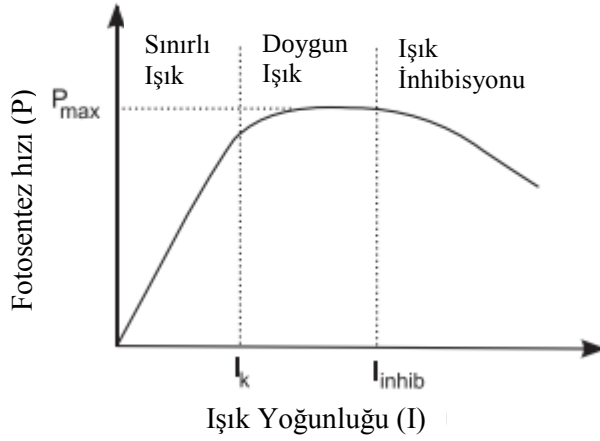
2.5.1.2. Işığa bağlı modelleme

Substrat kaynağı tüm canlılar için primer yaşam gereksinimlerinden biridir. Ancak kompleks canlı metabolizması sadece substrattan değil canlı türüne göre pek çok bileşenden etkilenmektedir. Fotoototrofik canlılar için bu bileşenlerden en önemlisi ışık yoğunluğudur. Işık yoğunluğuna göre hücreler farklı davranışlar göstermektedir (Bechet et al., 2013; Lee et al., 2015).

*Düşük ışık yoğunluğunda; hücreler metabolik faaliyetlerini sürdürmek için gerekli enerjiyi üretemezler. Hücrenin fotosentetik aktivitesi düşüktür bu da besin miktarı yeterli olsa da yaşam döngüsünü zorlaştırır.

*Doygunluk noktasındaki ışık yoğunluğunda, hücrenin fotosentetik aktivitesi maksimuma ulaşmaktadır. Bu noktadan sonra artan ışık yoğunluğu fotosentez hızını arttırmaz. Hücreler ışığa doymuş hale gelir ve metabolik aktiviteler en iyi düzeydedir.

*Yüksek ışık yoğunluğunda, fotosentezde etkili olan proteinlerin deaktivasyonu nedeniyle fotosentez hızında düşüş görülmektedir. Bu noktadan sonra ışığın inhibe edici etkisi söz konusudur ve bu da “fotoinhibisyon” olarak tanımlanmaktadır (Bechet et al., 2013; Bernard and Chocuat, 2015; Lee et al., 2015).



Şekil 2.9. Işığın fotosentez hızı üzerine etkisi (Bechet et al., 2013).

Işığa bağlı mikroalg modellemelerinde yapılması gereken ilk aşama üretim için ortalama ışık yoğunluğunun hesaplanmasıdır. Bunun için farklı yöntemler mevcut olmakla birlikte yaygın olarak Beer-Lambert yasası kullanılır (Mirzaie et al., 2016).

$$I_i = I_0 + e^{-\epsilon \cdot X \cdot d}$$

Denklem 2.5

Bu denklikte I_i ; yerel ışık yoğunluğu ($\mu\text{mol foton.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), I_0 ; reaktör yüzeyindeki ışık yoğunluğu, ϵ ; molar absorpsiyon katsayısı ($\text{L.g}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), X ; biyokütle konsantrasyonu (g.L^{-1}) ve d ; ışık yolu uzunluğu (cm) dur. Ortalama ışık yoğunluğu belirlendikten sonra hücre büyümesinin ışığa bağlı değişimini gösteren model geliştirilmektedir. Yaygın olarak kullanılan modellerden biri Monod-benzeri modeldir (Bechet et al., 2013; Mirzaie et al., 2016; Perez et al., 2008).

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot I}{I + K_i} \quad \begin{array}{l} I = \text{Kültürün içindeki ortalama ışık yoğunluğu} \\ K_i = \text{Işık doygunluk sabiti} \end{array}$$

Denklem 2.6

Bu modelde Monod eşitliğinden farklı olarak substrat konsantrasyonu yerine ışık yoğunluğu gelmiştir. Işık yoğunluğunun doygunluk noktasından düşük olduğu üretimlerin modellenmesinde kullanılmaktadır. Bu model dışında deneysel olarak belirlenen çok sayıda model mevcuttur. 1980 yılında Chalker tarafından ortaya konan “hiperbolik tanjant” modeli yaygın olarak kullanılan bir diğer matematik modelidir (Chalker, 1980; Lee et al., 2015; Yuan et al., 2014).

$$\mu = \mu_{max} \tanh \frac{I}{K_i}$$

Denklem 2.7

Laboratuvar ortamında gerçekleştirilen, yoğun mikroalg kültürü içermeyen üretimlerde ışığın etkisinin görülmesi için Monod benzeri ya da hiperbolik tanjant modeli kullanılabilmektedir. Ancak çoğu mikroalgal biyoproses için düşük hücre konsantrasyonu yeterli olmamaktadır. Hücre konsantrasyonu arttıkça ışığın penetrasyonu, homojen dağılımı gibi özellikleri de değişmektedir (Grima et al., 1994; Huesemann et al., 2016; Lee et al., 2015). Bu kültürlerde ışık etkisini incelemek için yaygın olarak kullanılan model;

$$\mu = \mu_{max} \frac{I_{av}^N}{I_k^N + I_{av}^N}$$

I_k = Mikroalgin ışığa karşı afinitesi ($\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)
 N = Üssel katsayı

Denklem 2.8

Modelde ifade edilen ortalama ışık yoğunluğu da bu kültürlerde değişmektedir. Işık yolunun uzunluğu, hücre konsantrasyonu ve yüzeydeki ışık yoğunluğu dikkate alınarak ortalama ışık yoğunluğu hesaplanmaktadır (Grima et al., 1994; Huesemann et al., 2016; Lee et al., 2015).

$$I_{av} = \frac{I}{K_a p X} [1 - e^{-K_a p X}]$$

K_a = Sönümleme sabiti ($kg \cdot m^{-3}$)
 p = Fotobiyoreaktör içindeki ışık yolu uzunluğu (m)
 X = Hücre konsantrasyonu ($kg \cdot m^{-3}$)

Denklem 2.9

Önceki modellerin tamamında hücrelerin ortalama ışık yoğunluğunda üretildiği ve fotosentetik aktivitelerinin istenen oranda gerçekleştiği durumların nicel ifadesi üzerinde durulmuştur. Ancak kontrol altına alınamayan özellikle dış ortam koşullarında gerçekleştirilen üretimlerde ışık miktarı istenen düzeyden çok yüksek olabilir. Bu istenmeyen durumlarda ışık inhibisyonu sonucu fotosentez hızı düşmektedir. Bu üretimlerin hem sınırlı hem de yüksek ışık koşullarını değerlendirmek için kombine model geliştirilmesi avantajlı bir durumdur. Hem düşük ışığın sınırlandırıcı etkisini hem de yüksek ışığın inhibe edici etkisini birlikte gösteren karmaşık modeller bulunmaktadır (Lee et al., 2015; Steele,

1962). Bunların içinde en yaygın kullanılanı Steele tarafından ortaya konan aşağıdaki modeldir;

$$\mu = \mu_{max} \frac{I}{I_{opt}} e^{(1-\frac{I}{I_{opt}})}$$

Denklem 2.10

Bu modelde I/I_{opt} ifadesi düşük ışık konsantrasyonlarında hücrelerdeki fotosentetik aktivitenin ve büyümenin sınırlanmasını ifade ederken, $e^{(1-(I/I_{opt}))}$ değeri yüksek ışık şiddetinde azalan fotosentetik aktiviteyi göstermektedir.

2.5.1.3. Sıcaklığa bağlı modelleme

Her biyolojik proseste olduğu gibi mikroalgal biyokütle üretiminde de sıcaklık optimizasyonu önemli parametrelerden biridir. Hücredeki metabolik faaliyetlerden sorumlu enzimler ve proteinlerin aktivitesi açısından optimum sıcaklık koşulları sağlanmalıdır. Sıcaklığın hücre büyümesine etkisinin incelendiği en basit modellerden biri Arrhenius benzeri sıcaklık eşitliğidir (Perez et al., 2008).

$$\mu = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) - B \exp\left(-\frac{E_b}{RT}\right)$$

A ve B = Frekans faktörü

R = Gaz sabiti

T = Üretim sıcaklığı

E_a =Hücre büyümesi için
gerekli aktivasyon enerjisi

E_b =Hücrel degradasyon için

Denklem 2.11

Sadece sıcaklığın hücre büyümesi ve fotosentetik aktivite üzerine etkisinin incelenmesiyle bir model oluşturulsa da diğer faktörlerin de göz önünde bulundurulması daha doğru sonuç vermektedir. Işık ve sıcaklığın büyüme ve fotosenteze birlikte etkilerinin incelenmesi amacıyla Monod ve Arrhenius eşitlikleri birlikte kullanılmıştır (Bechet et al., 2013; Goldman and Carpenter, 1974, Parolini, 2010).

$$\mu = \mu_m \exp\left(-\frac{E_a}{kT}\right) \cdot \frac{I_{av}}{K + I_{av}}$$

E_a = Fotosentez aktivasyon enerjisi (J)

K = Boltzmann sabiti (J/K)

T = Kültür sıcaklığı (K)

K = Işık Sabiti ($\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$)

I_{av} = Ortalama ışık yoğunluğu

Denklem 2.12

Arrhenius benzeri modelin farklı mikroalg türleri ve üretimler için geliştirilmiş çok sayıda modeli mevcuttur. Ancak bu modeller ile yapılan işlemlerde yüksek sıcaklıktaki enzim aktivitesinin bozulmasının etkisi incelenememektedir. Bu sorunu önlemek için enzim degradasyonunu da içeren benzer modeller geliştirilmektedir (Bechet et al., 2013).

$$\mu(I) = \mu_{m,0}(I) \frac{\exp(-\frac{E_a}{RT})}{1 + K \exp(-\frac{E_a'}{kT})}$$

Denklem 2.13

Bu modelde önceki modelden farklı olarak yüksek sıcaklıkta meydana gelen enzim denatürasyonunu ifade eden aktivasyon enerjisi “E_a’ ” bulunmaktadır.

Arrhenius eşitliklerden farklı olarak, daha deneysel ve kolay olarak elde edilebilen yaygın kullanım alanına sahip bir diğer model;

$$\mu(I) = \mu_{m,0}(I) \frac{(T - T_{max})(T - T_{min})^2}{(T_{opt} - T_{min})[(T_{opt} - T_{min})(T - T_{opt}) - (T_{opt} - T_{max})(T_{opt} + T_{min} - 2T)]}$$

Denklem 2.14

Bu modelde T_{min} ve T_{max} hücrelerin yaşamını devam ettirebildiği limit sıcaklık değerleridir. T_{opt}, hücreler için optimum sıcaklık değeriyeen çalışma sıcaklığı T olarak belirtilmiştir. Doğru bir model geliştirilebilmesi için;

$T_{opt} > \frac{T_{min} + T_{max}}{2}$ şartı sağlanmalıdır (Bechet et al., 2013; Bernard and Chachuat, 2015; Parolini, 2010).

Mikroalgin büyümesinde etkili olan faktörlerin bireysel olarak büyüme ve ürün oluşumu üzerine etkisinin incelenmesi kullanışlı bir yöntemdir, ancak bu faktörlerin birbirleriyle etkileşimleri de üreme kinetiğinde önemlidir. Özellikle açık sistemlerde gerçekleştirilen üretimlerde prosesin kontrolü zor olduğundan değişen parametrelerin üretim üzerindeki etkisi daha büyüktür. Bu yüzden birkaç faktörün etkisinin birlikte gösterildiği çoklu kombine modeller geliştirilmiştir. Bu modellerde azot, fosfat, CO₂, ışık yoğunluğu ve sıcaklık parametrelerinden birkaçının etkisi birlikte incelenerek daha karmaşık modeller oluşturulmuştur. Bu modellerden bazıları Çizelge 2.7’de gösterilmektedir.

Çizelge 2.7. Mikroalgal hücre büyümesinde çoklu faktör etkisini gösteren modeller.

Mikroalgal büyüme modelleri	Parametreler	Referans
$\mu = \mu'_{max,min} (1 - \frac{Q_{min,N}}{Q_N}, 1 - \frac{Q_{min,P}}{Q_P})$	Azot, Fosfat	Klausmeier vd, 2004
$\mu = \mu'_{max,min} (\frac{1 - \frac{Q_{min,N}}{Q_N}}{1 - \frac{Q_{min,N}}{Q_{max,N}}}, \frac{1 - \frac{Q_{min,P}}{Q_P}}{1 - \frac{Q_{min,P}}{Q_{max,P}}})$	Azot, Fosfat	Bougaran et al., 2010
$\mu = \mu'_{max,min} (\frac{P}{P + K_P}) (\frac{C}{C + K_C})$	Karbondiyoksit, Fosfat	Spijkerman et al., 2011
$\mu = \mu'_{max,min} \left[1 - \left(\frac{Q_{N,min}}{Q_N} \right)^4, 1 - \left(\frac{Q_{P,min}}{Q_P} \right)^4 \right] \cdot f(I_{av})$	Azot, Fosfat, Işık	Lee et al., 2015
$\mu = \mu_{max} \cdot Q^{T-T_{ref}} \left(\frac{I}{K_I + I} \right) \left(\frac{S_P}{K_{SP} + S_P} \right) \left(\frac{S_N}{K_{SN} + S_N} \right)$	Azot, Fosfat, Sıcaklık, Işık	Haario et al., 2009
$\mu = \mu_{max} \cdot 1.06^{T-20} \left(\frac{I_{av}^m}{K_I^m + I_{av}^m} \right) \left(\frac{S_{CO2}}{K_{S,CO2} + S_{CO2} + \frac{S_{CO2}^2}{K_{i,CO2}}} \right)$	CO ₂ , ışık, sıcaklık	Pegallapati and Nirmalakhand, 2012
$\mu = \mu_m \frac{S_N}{S_N + K_{NA}} \left(\frac{S_{CO2}}{S_{CO2} + K_{CO2}} \right) f(I)$ $f(I) = \frac{I_a}{I_s} \exp(1 - \frac{I_a}{K_{s,I}})$	CO ₂ , ışık, azot	Jalalizadeh, 2012

2.5.2. Mikroalgal ürün üretiminin kinetik modellenmesi:

Mikroalglerin üretim amaçları son derece çeşitlidir. Yağ içeriğinin arttırılarak biyoyakıt olarak kullanımı, primer ve sekonder metabolit üretimi ile katma değeri yüksek ürünlerin eldesi gibi çalışmaları yaygın olarak karşılaşılan üretim amaçlarındandır. İstenen amaç doğrultusunda mikroalgal biyokütle arttırmak kadar ürün üretimini de optimize etmek önemlidir. Bu nedenle hücre büyümesinin yanı sıra üretimin modellenmesi de diğer prosesler ve mikroalgler için yol gösterici olmaktadır.

Mikrobiyal prosesler için ürün üretiminin ifadesi için yaygın olarak kullanılan model “Luedeking-Piret” modelidir. Bu modelde ürün oluşumu biyokütle konsantrasyonu ve spesifik büyüme hızı ile doğru orantılıdır.

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta x$$

Dp/dt =Ürün Oluşum hızı
 Dx/dt =Mikroalg büyüme hızı
 α =Ürün oluşum katsayısı
 β =Hücre büyümesinden bağımsız ürün oluşum katsayısı

Denklem 2.15

Bu model hem kolay kullanımı hem de ürün çeşidine göre entegre edilebilirliği açısından yaygın kullanılmaktadır. Mikroorganizmalarda üretilen ürünler hücre büyümesiyle ilişkili olması açısından 3 gruba ayrılmaktadırlar. İlk grupta ürün üretimi hücre büyümesiyle doğrudan ilişkilidir. Bu gruptaki ürünler genel olarak hücre büyümesi için hayati önem taşıyan primer metabolitler olarak adlandırılmaktadır. İkinci grupta ise hücre büyümesiyle kısmen ilişkili olan ürünler bulunmaktadır. Hücrede büyüme görülmesi de ürün üretilmeye devam eder ancak maksimum ürün miktarı ve kalitesi hücre üremesinin en yüksek olduğu dönemde görülmektedir. Son grupta ise hücre büyümesinden tamamen bağımsız olarak üretilen ürünler görülmektedir. Genel olarak hücrenin strese girdiği koşullarda bir nevi savunma mekanizması oluşturmak için ürettiği ürünleri kapsayan bu grupta sekonder metabolitler mevcuttur. Luedeking-Piret modeli sahip olduğu katsayılar sayesinde bu 3 gruptan her biri için uyarlanabilir (Ronda et al., 2012; Surendhiran et al., 2015; Vinayagam et al., 2014; Yang et al., 2011).

- $\alpha=0$ ve $\beta \neq 0 \rightarrow$ Ürün oluşumu hücre büyümesinden bağımsızdır;
- $\alpha \neq 0$ ve $\beta \neq 0 \rightarrow$ Ürün oluşumu hücre büyümesiyle kısmen ilişkilidir;
- $\alpha \neq 0$ ve $\beta=0 \rightarrow$ Ürün oluşumu doğrudan hücre büyümesiyle bağlantılıdır.

2.6. Simulasyon

Biyolojik proseslerde üretimin nicel ifadesinin kinetik modellerle gerçekleştirilmesi hem mevcut üretim için hem de ölçek büyütme ve benzer üretimler için büyük avantaj sağlamaktadır. Belirli parametreler üzerinden oluşturulan modellerle faktörlerin etkisi incelenmekte ve optimum koşullar öngörülebilmektedir. Ancak parametrelerin sayısı ve karakteristik özellikleri ne kadar detaylı incelenirse oluşturulacak modeller de o kadar karmaşık ve zor hale gelmektedir. Bu yüzden proseslerin sayısal ifadesi bilgisayar ortamında eldeki tüm verilerin kullanımıyla daha kolay ve daha hızlı gerçekleştirilebilmektedir. Bu noktada simülasyon kavramı ortaya çıkmaktadır. Simülasyon, biyolojik bir prosesteki değişkenler arasında tanımlanmış ilişkileri ve süreçleri içeren bir modeldir. Bilgisayar ortamında gerçekleştirilen simülasyon işlemi ile bir üretimdeki değişkenlerin üretime etkisi incelenebilmekte, olası değişikliklerin sonuçları izlenebilmekte ve en iyi sonuçların elde edilebilmesi için gerekli tasarım parametreleri görülebilmektedir. Bu açıdan düşünüldüğünde proseslerin simülasyonu, sistemlerin geliştirilmesinde yaşanan zaman kaybını en aza

indirmektedir. Proses değişkenleri ya da tasarımı konusunda mevcut olan fikirlerin iş gücü gereksinimi ve deneme yanılma yoluna gerek kalmadan kolayca geliştirilmesi yapılabilmektedir. Ayrıca maliyet açısından düşünüldüğünde de son derece avantajlı bir yöntemdir (Bitog et al., 2011; Kelly, 2008). Son dönemde giderek yaygın hale gelen simülasyon işleminin gerçekleştirilebilmesi için pek çok program ve analiz süreçleri mevcuttur. Bunlardan özellikle mikroalg ve fotobiyoreaktör sistemleri içeren proseslerde yaygın olarak kullanılan “Computational Fluid Dynamics: CFD (Hesaplamalı Akış Dinamiği)” tekniği, üzerinde yoğun çalışmaların yürütüldüğü ve etkili sonuçların elde edildiği bir yazılımdır.

2.6.1. Hesaplamalı akış dinamiği (CFD)

Hesaplamalı akış dinamiği, akış içeren sistemlerde mevcut bir problemi çözmek ya da bir tasarımı geliştirmek için nümerik analizleri ve algoritmaları kullanan bir tekniktir. Yüksek teknolojiye sahip bilgisayarlar sayesinde biyolojik proseslerin gerçekleştirildiği reaktörlerin tasarımı en basit düzeyden en karmaşık parçalara kadar ayrıntılı sağlanabilmektedir.

CFD programı akışkanın profilini ortaya çıkarmak için basınç, hız ve sıcaklık dağılımını, akışkanın sürüklenme ve kaldırma gibi kuvvetlerini, gaz-sıvı ve gaz-katı içeren çoklu fazları ve proses sırasında meydana gelen reaksiyonları incelemektedir. Bu kriterlerin çözümlenmesi ve analizi sonucunda gerçekleştirilecek yeni tasarımların çalışmaları, detaylı ürün gelişimi, optimizasyon ve sorunların çözümlenmesi sağlanabilmektedir (Ochieng et al., 2009).

CFD tekniği ile sıvı akışı, ısı ve kütle transferi, kimyasal reaksiyonlar ve bunlarla ilişkili sonuçlar elde edilebilmektedir. Program bu sonuçların çıktısına ulaşırken fizikteki temel korunum yasalarına dayalı çözümler gerçekleştirmektedir (Versteeg and Malalasekera, 1995; Wendt, 2009). Bunlar;

1- Kütlenin korunumu:

Analiz için gerçekleştirilen çözüm sırasında kütlenin korunumu için kullanılan eşitlik;

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \rho \nabla \cdot \vec{V} = 0$$

Denklem 2.16

$$\nabla \cdot \vec{V} = \frac{1}{\delta V} \frac{D(\delta V)}{Dt}$$

 $\frac{\partial \rho}{\partial t}$ = Yoğunluğun zamanla değişimi

 $\nabla \cdot \vec{V}$ = Hareketli bir akışkanın birim hacim başına total hacminde meydana gelen değişimin hızı

Denklem 2.17

2- Momentum korunumu:

CFD tekniği temelde Navier-Stokes eşitliklerine dayanmaktadır. Bu denklik momentum değişimlerinin, sürtünme kayıplarına neden olan viskoz kuvvetleri ve basınç değişimlerinin toplamına eşit olduğunu savunmaktadır. Programda gerçekleştirilen çözüm sırasında akışkanın x, y ve z koordinatlarında momentum eşitliği analiz edilmektedir.

$$\frac{\partial(\rho u)}{\partial t} = -\frac{\partial p}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{xx}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yx}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zx}}{\partial z} + \rho f_x$$

Denklem 2.18

$$\frac{\partial(\rho v)}{\partial t} = -\frac{\partial p}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{xy}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yy}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zy}}{\partial z} + \rho f_y$$

Denklem 2.19

$$\frac{\partial(\rho w)}{\partial t} = -\frac{\partial p}{\partial z} + \frac{\partial \tau_{xz}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yz}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zz}}{\partial z} + \rho f_z$$

Denklem 2.20

$$\frac{\partial(\rho u, v, w)}{\partial t} = \text{Zamana bağlı momentum değişimi}$$

 τ = Çekme gerilimi, p = Basınç dayanımı

3- Enerji korunumu:

Newton yasalarına göre akışkan bir elementteki enerji değişimi ısı artışı ve yapılan iş toplamına eşittir.

$$\begin{aligned}\rho \frac{De}{Dt} = & \rho \dot{q} + \frac{\partial}{\partial x} \left(k \frac{\partial T}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(k \frac{\partial T}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(k \frac{\partial T}{\partial z} \right) - p \left(\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\partial w}{\partial z} \right) \\ & + \tau_{xx} \frac{\partial u}{\partial x} + \tau_{yx} \frac{\partial u}{\partial y} + \tau_{zx} \frac{\partial u}{\partial z} + \tau_{xy} \frac{\partial v}{\partial x} + \tau_{yy} \frac{\partial v}{\partial y} + \tau_{zy} \frac{\partial v}{\partial z} \\ & + \tau_{xz} \frac{\partial w}{\partial x} + \tau_{yz} \frac{\partial w}{\partial y} + \tau_{zz} \frac{\partial w}{\partial z}\end{aligned}$$

Denklem 2.21

Bu üç parametrenin tek bir formülasyonda gösterilmesiyle CFD tekniğinde kullanılan genel eşitlik (Ansys Inc., 2015);

$$\frac{\partial}{\partial t} \left(\int_{CV} \rho \phi dV \right) + \int_A n. (\rho \phi u) dA = \int_A n. (\Gamma grad \phi) dA + \int_{CV} S_\phi dV$$

Değişkenin artış hızı	Sınırlarda meydana gelen konveksiyon sebebiyle azalma hızı	Sınırlarda meydana gelen difüzyon nedeniyle artış hızı	Net oluşum hızı
-----------------------	--	--	-----------------

ϕ = Genel değişken

Hesaplamalı akış dinamiği yukarıda verilen denklemleri bütünüyle proses hakkında ayrıntılı bir analiz gerçekleştirmekte ve etkili sonuçlara ulaşmaktadır. Bu tekniğin kullanımı sırasında izlenecek yol şu şekildedir,

- 1- Modelleme ve simülasyon işleminin amacı: Öncelikle simülasyon işlemi sonucunda hedeflenen çıktının ne olduğu belirlenir.
- 2- Modellenmesi istenen bölgenin tanımlanması: akışkanı içeren sistemin simüle edileceği bölgesi iyi bir şekilde tanımlanır. Hesaplama işlemlerinin nerede başlayıp nerede sonlanacağını belirtmek için programa sınır koşulları girilir.
- 3- Tanımlanması yapılan bölgenin çizimi: Sınır koşulları belirlenen bölgenin programa detaylı bir çiziminin sunulması gerekmektedir. Bu noktada mevcut CAD çizimleri kullanılabileceği gibi sıfırdan bir çizimle yapıları oluşturmak da mümkündür. Sonraki aşamalarda herhangi bir sorunla karşılaşmamak ve kolay ilerlemek için çizilen geometride gereksiz kısımlar çıkartılır, karmaşık bölgeler eğer mümkünse sadeleştirilir.
- 4- Matematiksel ağ (meş) oluşumu: Sistemin çizimi doğru bir şekilde gerçekleştirildikten sonra analizin ayrıntılı gerçekleştirilmesi için tüm parça

meşlerle bölünür. Bu noktada mevcut geometrinin yapısına göre meşin sayısı, yapısı ve özellikleri belirlenmektedir. Arada kalan bölgeler, dar alanlar, ince kıvrımlar için detaylı meş atma işlemi gerçekleştirilerek bütünün binlerce küçük parçaya bölünmesi ve bu parçalar üzerinden analizi sağlanmaktadır.

5- Sistemin çözümü: Analize geçmeden önce sistemin özellikleri programa tanımlanır. Akışkan yapısı, çalışma koşulları, çoklu faz oluşumu gibi parametreler girilerek çözüme geçilir. Üstte belirtilen korunum denklemleri yakınsama gerçekleşene kadar tekrar tekrar çözdürülür. Yakınsama işlemi çözüm sonuçları arasındaki fark göz ardı edilebilecek kadar azaldığında durdurulur. Sonuçların doğruluğu, modelin tanımlanmasına, meş kalitesine, yapılan kabullere bağlı olarak değişmektedir.

6- Sonuçların değerlendirilmesi: Bu noktada program tarafından sunulan görsel sonuçlar analizin değerlendirilmesini sağlamaktadır. Çıkan sonuçlar ile akış rejimi, sınırlardaki profil, optimum üretim noktaları, sistem tasarım gereksinimleri ortaya konabilir (Ansys Inc., 2015; Wang and Zhai, 2016).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Mikroalg

Phaeodactylum tricornutum (EGEMACC 70) suşları Ege Üniversitesi Mikroalg Kültür Koleksiyonun (EGEMACC)'dan temin edilmiştir.

3.1.2. Kültür ortamları

P. tricornutum mikroalginin üretiminde optimum besin ortamının belirlenmesi için F/2, Conway ve ASP besin ortamları hazırlanmıştır.

Çizelge 3.1 F/2 Kültür Ortamının Kompozisyonu (Guillard, 1975).

Kimyasal Adı	Miktar (mg/L)
NaNO ₃	75
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	5,65
Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	30
FeCl ₃ .6H ₂ O	3,15
Na ₂ EDTA	4,36
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,01
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,022
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,01
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,18
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,006
Vitamin B12	0,0005
Vitamin B1	0,1
Biotin	0,0005

Deniz suyu ile hazırlanan ortamın pH'ı 1 M NaOH/HCl ile 8,0'a ayarlandıktan sonra 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklavlanmıştır.

Çizelge 3.2. Conway Kültür Ortamının Kompozisyonu (Walne, 1966).

Kimyasal Adı	Miktar (mg/L)
NaNO ₃	100
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	20
FeCl ₃ .6H ₂ O	1,3
Na ₂ EDTA	45
H ₃ BO	33,6
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,36
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,002
ZnCl ₂	0,0021
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,0021
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂ .4H ₂ O	0,0009
Vitamin B12	0,001
Vitamin B1	0,002

Hazırlanan besin ortamı bulanık görünümündedir ve berraklaşana kadar 1N HCl ile asidifiye edildikten sonra 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklavlanmıştır.

Çizelge 3.3 ASP Kültür Ortamının Kompozisyonu (Provasoli, 1957).

Kimyasal Adı	Miktar (g/L)
NaCl	18
MgSO ₄	2,44
Na ₂ EDTA	0,03
KCl	0,06
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,37
K ₂ HPO ₄	0,05
FeCl ₃ .6H ₂ O	0,0039
H ₃ BO ₃	0,0343
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,0043
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,0007
CuSO ₄ .5H ₂ O	3×10 ⁻⁶
CoCl ₂ .6H ₂ O	1,2×10 ⁻⁵
Na ₂ Mo ₄ .2H ₂ O	4,4×10 ⁻⁵
TAPS/TAPSO	3,65

pH değeri 1 M HCl ile 7,6-7,8'e ayarlandıktan sonra 121 °C sıcaklıkta 15 dakika otoklavlanmıştır.

3.1.3. Işık kaynakları

Işık kaynağı olarak CATA marka (15 W) LED Downlight ışık Philips marka LTD90 (18 W) daylight floresanlar kullanılmıştır.

3.1.4. Ekipmanlar

Laboratuvar çalışmaları sırasında kullanılan ekipman listesi Çizelge 3.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.4 Kullanılan ekipman markaları ve özellikleri.

Ekipman	Marka ve Özellik
Santrifüj	Pro-Research K 241 Medium
Spektrofotometre	Amersham Biosciences Ultrospec 2100 Pro
Etüv	Nüve FN500
Shaker	IKA Thermoshake
Su Banyosu	Memmert
Analitik Terazı	Radwag AS220/C/2
Hot plate	Cole-Parmer 4803-02
pH metre	Hanna Instruments 2211 pH/ORP Meter
Manyetik Karıştırıcı	Biosan Magnetic Stirrer MSH 300
Lüks metre	Lutron LX-1108
Vorteks	Heidolph Reax
Neubauer Kamarası	Marienfield (0,0025 m ²)
Mikroskop ve fotoğraf çekim aparatı	Olympus B071 (Model CH40RF200) Olympus BX53 Upright Fluorescence
Rotametre	Özgül-air (0-15 L/dak)
2 L'lik Fermentör	Sartorius A plus stat
Hava Kaldırmalı Fotobiyoreaktör	Biosis, Pikolab
Ultrasonik su banyosu	Ultrasonic LC 30
Su Sirkülatörü	PolyScience
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	Thermo Scientific
Kültür Dolabı	Uğur (Tek/Çift kapılı, soğutuculu)

3.2. Metot

3.2.1. Stok kültür hazırlanması

Stok kültürlerinde kullanılan kültür ortamı *P. tricornutum* suşu için F/2'dir. Ege-Macc kültür koleksiyonundan temin edilen suş ilk olarak F/2 katı (agar) kültür ortamı içeren petri kabına çizgi ekim yöntemi ile inokule edilerek 15 gün boyunca koloni oluşturmak üzere inkübasyona bırakıldıktan sonra aseptik koşullar altında sıvı F/2 kültür ortamı içeren 70 mL'lik tüplere aktarılmıştır. 70 mL'lik tüp içerisinde 7 günlük üreme periyodu boyunca elle çalkalama işlemi uygulanmıştır. 70 mL'lik tüplerden hacim artırımı yapılarak 250 mL'lik erlenlere aktarılan hücreler için karıştırma işlemi çalkalamalı inkübatörde de 110 rpm karıştırma hızıyla gerçekleştirilmiştir.

15 gün boyunca çalkalamalı inkübatörde üretim gerçekleştirildikten sonra kültür 1 L'lik şişelerde taze besin ortamına alınmış ve havalandırma ile karıştırma sağlanarak 15 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Son olarak 2 L'lik 2 adet steril şişede taze besin ortamına alınan hücrelerle toplamda 4 lt stok kültüre ulaşılmıştır.

3.2.2. İnokulum hazırlanması

Çalışmalarda kullanılacak kültürlerin aynı özellikte olması yapılan deneylerin güvenilirliği bakımından önem taşımaktadır. Bu nedenle deneylerde kullanılacak aşı kültürlerinin sabit koşullarda hazırlanması gerekmektedir.

Stok kültüründen alınan 1 L'lik örnek 2L'lik steril şişelerde üzerine 1 L taze besin ortamı eklenerek 22 ± 2 °C'de, 2 vvm havalandırma hızıyla, $65 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti uygulanarak inkübasyona bırakılmıştır. İnokulasyonda kullanılacak mikroalgin üretimi için 5 günlük inkübasyon süresinin ardından hücreler istenen yoğun kültür konsantrasyonuna ulaşmıştır. Her bir deneme için %10'luk (v/v) inokulum kullanılmıştır.

3.2.3. Üretim koşulları

3.2.3.1. Küçük ölçekte (1000 mL şişelerde) üretim koşulları

Denemeler, 1000 mL'lik şişelerde sıcaklık kontrollü bir iklim dolabında ve klimalı bir alg odasında gerçekleştirilmiştir.

Denenecek ışık şiddeti, ışık kaynağı olarak kullanılan led ışıkları ile sağlanmış ve şişeler ile ışık arasındaki mesafe ışık şiddetini ölçme cihazı olan Lux-metre ile saptanmıştır.

Kültürlere havalandırma akvaryum hava motoru veya kompresör ile sağlanmış, havalandırma hızı ise rotametre ile ölçülmüştür. Erlen ve şişelere hava, silikon hortum ucuna takılan dereceli cam pipetler ile verilmiştir.

Kullanılacak tüm malzemelerin ve şişelerin sterilizasyon işlemi 121 °C sıcaklıkta ve 1 atm basınçta 15 dakika otoklavda gerçekleştirilmiştir. Aseptik üretim sırasında, erlenlerin dış ortam (hava) ile teması pamuk ile kesilerek aseptik koşullar korunmuştur. Benzer şekilde, beslenen havanın da filtre edildikten sonra erlenlere yönlendirilmesi sağlanmıştır.

Üretimin gerçekleştiği 1000 ml'lik şişelerde, çalışma hacmi 900 mL'dir. Bu hacimde sıvı yüksekliği 12,5 cm, şişenin iç çapı ise 8,2 cm olarak ölçülmüştür.

Analizler günün belirli saatlerinde iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Deneylerin gereksinimlerine göre hücre sayım analizi, kuru ağırlık analizi, organik solvent ile ekstraksiyon analizi yapılmıştır.

3.2.3.2. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktör (2000 mL) üretim koşulları

Çalışmada, F/2 besin ortamında 7 gün süreyle büyütülen *P. tricornutum* (2 vvm, $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de $65 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde) hücreleri, fotobiyoreaktör üretimlerinde inokulum olarak kullanılmıştır. Fotobiyoreaktörlere ölçek büyütme işlemlerinde kullanılan teoriler Bölüm 3.2.4'te açıklanmıştır.

İnokulasyon hücrelerinden 2 L'lik karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörlere (Sartorius A-plus) aseptik koşullarda %10 (v/v)'luk ilave edilerek ($t=0$) fotobiyoreaktör üretimleri başlatılmıştır. Fotobiyoreaktör üretimleri 1600 mL çalışma hacimde ve 18°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir.

Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörlerde ölçek büyütme işlemlerinde ışık şiddetinin belirlenmesinde birim hacimde sabit ışık enerjisi teorisi kullanılmıştır (Bölüm 3.2.6). Buna göre, *P. tricornutum* için ışık şiddeti $50 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ olarak hesaplanmış ve uygulanmıştır.

Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörlere ölçek büyütme denemelerinde “sabit karışma süresi (t_m)”, “sabit hacimsel güç tüketimi (P/V)” ve “sabit oksijen transfer katsayısı (k_{La})” teorileri dikkate alınarak 3 farklı üretimde 10’ar günlük çalışma yapılmış (Şekil 3.1) ve her alınan örnekle üretimler hücre ve ürün verimi açısından karşılaştırılmıştır. Ölçek büyütme denemesinde kullanılan metot ve formülasyonlara Bölüm 3.2.4.1 ve 3.2.5’te yer verilmiştir.



Şekil 3.1. Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde yapılan *Phaeodactylum tricornutum* üretimleri.

3.2.3.3. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör üretim koşulları

İnokulasyon hücrelerinden 2 L’lik hava kaldırmalı fotobiyoreaktörlere aseptik koşullarda %10 (v/v)’luk ilave edilerek ($t=0$) fotobiyoreaktör üretimleri başlatılmıştır. Fotobiyoreaktör üretimleri 1600 mL çalışma hacimde, 18 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2).

Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörlerde ölçek büyütme işlemlerinde ışık şiddetinin belirlenmesinde birim hacimde sabit ışık enerjisi teorisi kullanılmıştır (Bölüm 3.2.6). Buna göre, biyokütle üretimi için $34 \mu E.m^{-2}.s^{-1}$ ışık şiddetinde floresan ışık sistemleri kullanılmıştır. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörlere ölçek büyütme denemelerinde “sabit karışma süresi (t_m)”, “sabit hacimsel güç tüketimi (P/V)” ve “sabit oksijen transfer katsayısı (k_{La})” teorileri dikkate alınarak 3 farklı üretim yapılmış ve her alınan örneklerle üretimler hücre ve ürün verimi açısından karşılaştırılmıştır. Ölçek büyütme denemesinde kullanılan metot ve formülasyonlara Bölüm 3.2.4.2 ve 3.2.5’te yer verilmiştir.



Şekil 3.2.Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde yapılan *Phaeodactylum tricornutum* üretimi.

3.2.3.4. Panel fotobiyoreaktör üretim koşulları

İnokulasyon hücrelerinden 2 L hacimli panel fotobiyoreaktörlere aseptik koşullarda %10 (v/v)'luk ilave edilerek ($t=0$) fotobiyoreaktör üretimleri başlatılmıştır. Fotobiyoreaktör üretimleri 1600 mL çalışma hacimde, 18 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3).



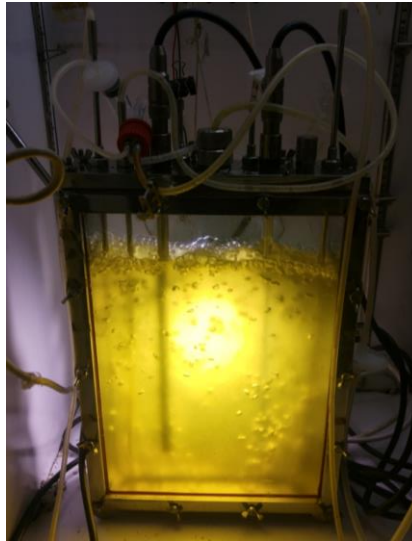
Şekil 3.3.Panel fotobiyoreaktörde yapılan *Phaeodactylum tricornutum* üretimi.

Panel fotobiyoreaktörlerde ölçek büyütme işlemlerinde ışık şiddetinin belirlenmesinde birim hacimde sabit ışık enerjisi teorisi kullanılmıştır (Bölüm 3.2.6). Buna göre $55 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde floresan ışık sistemleri kullanılmıştır.

Panel fotobiyoreaktörlere ölçek büyütme denemelerinde “sabit karışma süresi (t_m)”, “sabit hacimsel güç tüketimi (P/V)” ve “sabit oksijen transfer katsayısı (k_{La})” teorileri dikkate alınarak 3 farklı üretim yapılmış ve her alınan örneklerle üretimler hücre ve ürün verimi açısından karşılaştırılmıştır. Ölçek büyütme denemesinde kullanılan metot ve formülasyonlara Bölüm 3.2.4.3 ve 3.2.5’te yer verilmiştir.

3.2.3.5. Orta Ölçek Fotobiyoreaktör Üretim Koşulları

P. tricornutum'dan fukoksantin üretiminde en iyi ölçek büyütme sistemi panel fotobiyoreaktörde gerçekleştirilen ve sabit P/V teorisi kullanılan üretimde gerçekleşmiştir (Şekil 3.4). Bu nedenle orta ölçekli fukoksantin üretiminde 5,5 L çalışma hacminde 7 L'lik panel fotobiyoreaktör kullanılmıştır. Bu çalışmalar 18°C sabit sıcaklıkta, $100 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ led ışık sistemi kullanılarak %10 inokulumla gerçekleştirilmiştir. Küçük ölçekteki ve 1,6 L hacimli panel fotobiyoreaktördekiyle birim hacimde eş miktarda gücün sağlanabilmesi için (sabit P/V teorisi) 10 L/dak hava beslemesi yapılmıştır.



Şekil 3.4. *Phaeodactylum tricornutum*'den orta ölçekli fukoksantin üretimi.

3.2.4. Fotobiyoreaktöre geçişte ölçek büyütme “ t_m , P/V , k_{LA} ” teorisi hesaplamaları

3.2.4.1. Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde ölçek büyütme

Karışma zamanı (t_m), biyoreaktör içine atılan bir etkenin, biyoreaktör içinde homojen dağılarak belli bir konsantrasyonda sabit kalmasına kadar geçen süre olarak ifade edilir. Ölçek büyütmede kritik role sahip bu süre sonunda, etken yatışkın durumdadır ve bulk kompozisyonu uniform bir dağılım göstermektedir (Bailey and Ollis, 1986). Sabit t_m teorisinin kullanıldığı karıştırmalı tank fotobiyoreaktörlerde ölçek büyütme denemelerinde ve küçük ölçekteki (1 L) üretimlerde karışma zamanının belirlenmesinde Van't Riet ve Tramper'in metodu (1991) kullanılmıştır. Buna göre steril ortam içeren küçük ölçekteki şişe üretimlerinde 1 L/dak hava beslenirken içeriye HCl (3 M) ve NaOH (3 M) eklenerek pH'daki değişim süresi incelenmiş ve sabit pH'ya ulaşılan kadar geçen süre t_m olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde steril besin ortamı içeren büyük ölçekli karıştırmalı tank fotobiyoreaktör, belli havalandırma ve karıştırma hızlarında çalıştırılarak içersine HCl (3 M) ve NaOH (3 M) eklenerek pH'daki değişim süresi incelenmiş ve sabit pH'ya ulaşılan kadar geçen süre, fotobiyoreaktördeki karışma zamanı olarak belirlenmiştir. Buna göre küçük ölçekteki t_m değerinin (10 s) aynısına sahip havalandırma ve karıştırma hızları karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde sabit t_m teorisinin kullanıldığı koşullar olarak belirlenmiştir.

Çalışma hacmi başına aktarılan güç veya hacimsel güç tüketimi (P/V), biyoproses mühendisliği için temel bir parametre olmasının dışında, ölçek büyütme ve biyoreaktör tasarımı için de önemli bir kriterdir. P/V , belirli sürede bir reaktör içindeki sıvının hareketini sağlamak için gerekli enerji miktarı olarak tanımlanır (Alam and Razali, 2005).

Küçük ölçekli üretimlerdeki P/V değeri hesabı Denklem 3.1'de gösterilmektedir (Chisti and Moo-Young, 1988).

$$P/V = g \rho U_g$$

Denklem 3.1

Denklemden g yer çekimi ivmesini; ρ sıvı yoğunluğunu, U_g ise sıvının çizgisel hızını temsil etmektedir.

Karıştırmalı tank fotobiyoreaktör çalışmalarında kullanılan havalandırma için harcanan gücün (P_g/V) ve karıştırma için harcanan gücün (P_o/V) formülleri Denklem 3.2 ve Denklem 3.3'te verilmiştir (Marques et al., 2010).

$$P_o = N_p \rho N_i^3 D_i^5$$

Denklem 3.2

$$\frac{P_g}{P_o} = 0.1 \left\{ \frac{N_i^2 D_i^4}{g W V^{2/3}} \right\}^{-1/6} \left\{ \frac{Q}{N_i V} \right\}^{-1/4}$$

Denklem 3.3

Burada, N_p güç sayısını, N_i karıştırıcı ucu hızını, D_i bıçak çapını, W bıçak enini, V çalışma hacmini ve Q havalandırma hızını göstermektedir. Küçük ölçekteki P/V oranını büyük ölçekteki toplam P/V oranına (P_g+P_o) eşitleyerek P_g 'nin %40, P_o 'ın %60 katkı yaptığı kabul edilerek karıştırmalı tank fotobiyoreaktördeki havalandırma ve karıştırma hızları hesaplanmıştır.

Sabit oksijen transfer katsayısı (k_{La}) teorisine göre yapılan karıştırmalı tank fotobiyoreaktörlerde ise k_{La} ölçümü için yatışkın olmayan hal metodu kullanılmış (Shuler and Kargi, 2002) ve hesaplamalar Denklem 3.28 ile yapılmıştır (Bailey and Ollis, 1986). Küçük ölçekteki k_{La} değerini sağlayacak karıştırma ve havalandırma hızları büyük ölçekte belirlenerek sabit k_{La} teorisinde fotobiyoreaktör çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.2. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde ölçek büyütme

Sabit t_m teorisinin kullanıldığı hava kaldırmalı fotobiyoreaktörlerde ölçek büyütme denemeleri ve küçük ölçekteki (1 L) üretimler için karışma zamanının belirlenmesinde Bölüm 3.2.4.1'de anlatılan Van't Riet ve Tramper'in metodu (1991) kullanılmıştır.

Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör çalışmalarında kullanılan P/V formülü Denklem 3.4'te verilmiştir (Chisti and Jauregui-Haza, 2002).

$$\frac{P}{V} = \frac{\rho g U_{gr}}{1 + A_d/A_r}$$

Denklem 3.4

Buna göre; küçük ölçekteki P/V oranını büyük ölçekteki P/V oranına eşitleyerek hava kaldırmalı reaktördeki gaz besleme hızı belirlenmiş ve sabit P/V oranında reaktör denemeleri yapılmıştır.

Sabit oksijen transfer katsayısı (k_{LA}) teorisine göre yapılan hava kaldırmalı fotobiyoreaktörlerdeki çalışmalarda ise k_{LA} ölçümü için yatışkın olmayan hal metodu kullanılmış (Shuler and Kargi, 2002) ve hesaplamalar Denklem 3.28 (Bknz. Çizelge 3.8) ile yapılmıştır (Bailey and Ollis, 1986). Küçük ölçekteki k_{LA} değerini sağlayacak havalandırma hızı büyük ölçekte belirlenerek sabit k_{LA} teorisinde fotobiyoreaktör çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.3. Panel fotobiyoreaktörde ölçek büyütme

Sabit t_m teorisinin kullanıldığı panel fotobiyoreaktörlerde ölçek büyütme denemeleri ve küçük ölçekteki (1 L) üretimler için karışma zamanının belirlenmesinde Van't Riet ve Tramper'in metodu (1991) kullanılmıştır.

Panel fotobiyoreaktör çalışmalarında kullanılan P/V formülü Bölüm 3.2.5'te verilmiştir (Sierra et al., 2008). Buna göre; küçük ölçekteki P/V oranını büyük ölçekteki P/V oranına eşitleyerek panel fotobiyoreaktördeki gaz besleme hızı belirlenmiş ve sabit P/V oranında reaktör denemeleri yapılmıştır.

Sabit oksijen transfer katsayısı (k_{LA}) teorisine göre yapılan panel fotobiyoreaktörlerdeki çalışmalarda ise k_{LA} ölçümü için yatışkın olmayan hal metodu kullanılmış (Shuler and Kargi, 2002) ve hesaplamalar Denklem 3.28 (Bknz. Çizelge 3.8) ile yapılmıştır (Bailey and Ollis, 1986). Küçük ölçekteki k_{LA} değerini sağlayacak havalandırma hızı büyük ölçekte belirlenerek sabit k_{LA} teorisinde panel fotobiyoreaktör çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. Hidrodinamik parametreler ve sıvı reolojisi hesaplamaları

Karıştırmalı tank fotobiyoreaktöre ait konfigürasyonlar Çizelge 3.5'de ve çalışmalarda kullanılan hidrodinamik formülasyonlar Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktör boyutları ve konfigürasyonları.

Boyut ve Konfigürasyonlar	Karıştırılmalı Tank Fotobiyoreaktör
V_L (L)	1.6
Karıştırıcı sayısı	2
Her bir karıştırıcıda bıçak sayısı	6
Engel sayısı	4
D_t (cm)	16
D_{int} (cm)	13
D_i (cm)	5.3
D_b (cm)	12.5
D_s (cm)	4
H_t (cm)	24
H_l (cm)	11.7
H_i (cm)	4.0
H_{i-i} (cm)	Na
H_{s-i} (cm)	2.5
H_s (cm)	1.5
H_b (cm)	13
W_b (cm)	1.0
L_i (cm)	1.4
W_i (cm)	1.0
D_t/D_i	3.00
D_s/D_i	0.76
H_l/D_i	2.21
H_i/D_i	0.76
H_t/D_t	1.50
W_b/D_t	0.06
W_i/D_i	0.19
L_i/D_i	0.26

V_L , çalışma hacmi; D_t , tank çapı; D_{int} , tankın iç çapı; D_i , bıçak çapı; D_b , engel çapı; D_s , halka difüzörün çapı; H_t , tank boyu; H_l , sıvı yüksekliği; H_i , alttaki impeller ile tank dibi arası mesafe; H_{i-i} , iki bıçak arası mesafe; H_{s-i} , difüzörlerin bıçaklara olan uzaklığı; H_s , difüzörün tank dibine olan uzaklığı; H_b , engel yüksekliği; W_b , engelin eni; L_i , bıçak uzunluğu; W_i , bıçak eni

Çizelge 3.6. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörler için kullanılan hidrodinamik denklemler.

Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktör formülasyonları			
$Re_i = \frac{N_i \rho D_i^2}{\eta}$	3.5	$\varepsilon = N_p N_i^3 D_i^2$	3.12
$Re_f = \frac{n d_f^2}{\nu}$	3.6	$\lambda = \left(\frac{\nu^3}{\varepsilon} \right)^{1/4}$	3.13
$\nu = \frac{\eta}{\rho}$	3.7	$\gamma = k N_i$	3.14
$\vartheta_t = \pi N_i D_i$	3.8	$\tau = -\eta \gamma$	3.15
$P_o = N_p \rho N_i^3 D_i^5$	3.9	$\tau_f = \left(\frac{\varepsilon}{\nu} \right)^{1/2} \eta$	3.16
$P_f = N'_p \rho n^3 d_f^4 V_L^{1/3}$	3.10	$Fr_i = \frac{N_i^2 D_i}{g}$	3.17
$A_c = \frac{\pi D_{int}^2}{4}$	3.11		

Re, Reynold sayısı; N_i , karıştırıcı hızı; ρ (kg m^{-3}), sıvının yoğunluğu; η ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$), sıvının dinamik viskozitesi, ν ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), sıvının kinematik viskozitesi; ϑ_t (m s^{-1}), bıçak ucu hızı; N_p , power number; ε (W kg^{-1}), Birim kütle başına enerji yayılım hızı; λ (μm), Kolmogorov edi boyutu; γ (s^{-1}), Kayma hızı; τ (N m^{-2}), Kayma gerilimi; Fr, Froude sayısı

Kullanılan hava kaldırmalı reaktöre ait tasarım parametreleri Çizelge 3.7'de, hidrodinamik denklemler ise Çizelge 3.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.7. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör için boyutlar ve tasarım parametreleri.

	Sembol	Tanım	Birim	Değer		Denklem	Değer
Boyutlar	B	Anülüs genişliği	cm	1.95	Tasarım parametreleri	A_r/A_d	0.185
	D_d	Çekiş borusu çapı	cm	2.4			
	D_t	Reaktör çapı	cm	6.4		A_d/A_r	5.400
	D_s	Hava difüzör çapı	cm	2.4			
	D_n	Püskürtücü çapı	cm	0.4		V_d/V_t	0.100
	N	Püskürtücü sayısı		4			
	H_d	Çekiş borusu uzunluğu	cm	35		$\bar{\sigma}$ (D_d/D_t)	0.375
	H_l	Sıvı yüksekliği	cm	48			
	H_t	Reaktör yüksekliği	cm	55			
	Z_1	Çekiş borusunun altı ile kolonun dibi arasındaki mesafe	cm	2.06		α_B (H_d/H_l)	0.729
	Z_2	Çekiş borusu ile kolonun dışı arasındaki mesafe	cm	2		α_F (H_l/D_t)	7.500
	A_r	Sıvının yukarı hareket ettiği kısmın kesit alanı	m ²	0.0005			
	A_d	Sıvının aşağı hareket ettiği kısmın kesit alanı	m ²	0.0027			
	V_d	Çekiş borusunun hacmi	m ³	0.0002			
	V_t	Fotobiyoreaktör hacmi	m ³	0.0020			

Çizelge 3.8. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör için hidrodinamik denklemler.

Sembol (Birim)	Tanım	Denklem	Denklem numarası
ϑ (m ² s ⁻¹)	Sıvının kinematik viskozitesi	$\vartheta = \frac{\eta}{\rho}$	3.18
Re (-)	Reynolds sayısı	$Re = \frac{\rho U_L D_d}{\eta}$	3.19
U_L (m s ⁻¹)	Sıvı hızı	$U_L = 1.3335 U_g^{0.3503}$	3.20
U_{gr} (m s ⁻¹)	Yüzeyel gaz hızı	$U_{gr} = \frac{Q}{A_r}$	3.21
ϵ (-)	Gazın alıkonması	$\epsilon = \alpha \left(\frac{U_{gr}}{U_L} \right)^\beta \quad \alpha=0,48, \beta=1,13$	3.22
v_s (m s ⁻¹)	Hava difüzör hızı	$v_s = \frac{4 Q}{n \pi d D_n^2}$	3.23
ξ (W kg ⁻¹)	Birim kütle başına enerji yayılım hızı	$\xi = \frac{2 C_f U_L^2}{D_d}$	3.24
λ (μm)	Mikro edi boyutu	$\lambda = \left(\frac{\vartheta^3}{\xi} \right)^{\frac{1}{4}}$	3.25
γ (s ⁻¹)	Kayma hızı	$\gamma = 5000 U_g$	3.26
τ (Pa)	Kayma gerilimi	$\tau = \eta \gamma$	3.27
OTR (mmol L ⁻¹ h ⁻¹)	Oksijen transfer hızı	$OTR = \frac{dO_2}{dt} = k_L a (C^* - C_L) - q_{O_2} X$	3.28
P_G (W)	Güç tüketimi	$P_G = \frac{\rho g U_G}{1 + \frac{A_d}{A_r}} V_L$	3.29

Kısaltmalar: ρ , sıvının yoğunluğu (kg m⁻³); η , sıvının dinamik viskozitesi (kg m⁻¹ s⁻¹); Q , hacimsel gaz besleme hızı (m³ s⁻¹); $k_L a$, oksijen kütle transfer katsayısı (s⁻¹); C^* , sıvıda çözünmüş doymuş oksijen konsantrasyonu (mg L⁻¹); C_L , herhangi bir anda sıvıda çözünmüş oksijen konsantrasyonu (mg L⁻¹); X , biyokütle konsantrasyonu (g L⁻¹); q_{O_2} , spesifik oksijen alım hızı (mmol g⁻¹ h⁻¹); g , yer çekimi ivmesi (9,81 m s⁻²); V_L , çalışma hacmi (m³)

Panel fotobiyoreaktöre ait konfigürasyonlar Çizelge 3.9'da ve çalışmalarda kullanılan hidrodinamik formülasyonlar Çizelge 3.10'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.9. 2 L hacimli panel fotobiyoreaktör boyutları ve konfigürasyonları.

Boyut ve Konfigürasyonlar	Panel Fotobiyoreaktör
V_L (L)	1,6
V (L)	1,9
H_p (cm)	25
L_p (cm)	26
w_p (cm)	3,7
t_t (cm)	0,4
H_{P-O} (cm)	4
H_{P-pH} (cm)	7
H_{P-s} (cm)	2
H_O (cm)	20,6
H_{pH} (cm)	17,3
H_s (cm)	22,7
L_s (cm)	21
Hava difüzöründeki delik sayısı	8
H_L (cm)	20,5

V_L , çalışma hacmi, V , panel fotobiyoreaktör hacmi, H_p , panel yüksekliği; L_p , panel genişliği; w_p , panel eni; t_t , cam kalınlığı; H_{P-O} , panelin alt tabanı ile oksijen probu arasındaki mesafe; H_{P-pH} , panelin alt tabanı ile pH probu arasındaki mesafe; H_{P-s} , panelin alt tabanı ile hava difüzörü arasındaki mesafe, H_O , oksijen probunun yüksekliği; H_{pH} , pH probunun yüksekliği; H_s , Hava difüzörünün yüksekliği; L_s , hava difüzörünü boyu, H_L , sıvı yüksekliği

Çizelge 3.10. Panel fotobiyoreaktörler için kullanılan hidrodinamik denklemler.

Sembol (Birim)	Tanım	Denklem	Denklem numarası
$\vartheta(\text{m}^2\text{s}^{-1})$	Sıvının kinematik viskozitesi	$\vartheta = \frac{\eta}{\rho}$	3.30
$Re (-)$	Reynolds sayısı	$Re = \frac{U \ 4 \ R_h}{\vartheta}$	3.31
$\epsilon (-)$	Gazın alıkonması	$\epsilon = 3,32 * 0,0001 * \left(\frac{P_G}{V_L}\right)^{0,97}$	3.32
$\xi (\text{W kg}^{-1})$	Birim başına yayılım hızı	$\xi = \frac{P_G}{\rho V_L}$	3.33
$\lambda (\mu\text{m})$	Mikro boyutu	$\lambda = \left(\frac{\vartheta^3}{\xi}\right)^{\frac{1}{4}}$	3.34
$\gamma (\text{s}^{-1})$	Kayma hızı	$\gamma = 5000 U_g$	3.35
$\tau (\text{Pa})$	Kayma gerilimi	$\tau = \eta \gamma$	3.36
OTR (mmol L ⁻¹ h ⁻¹)	Oksijen transfer hızı	$OTR = \frac{dO_2}{dt} = k_L a (C^* - C_L) - q_{O_2} X$	3.37
$P_G (\text{W})$	Güç tüketimi	$P_G = \rho g U_G V_L$	3.38

ρ , sıvının yoğunluğu (kg m⁻³); η , sıvının dinamik viskozitesi (kg m⁻¹ s⁻¹); Q , hacimsel gaz besleme hızı (m³ s⁻¹); $k_L a$, oksijen kütle transfer katsayısı (s⁻¹); C^* , sıvıda çözünmüş doymuş oksijen konsantrasyonu (mg L⁻¹); C_L , her hangi bir anda sıvıda çözünmüş oksijen konsantrasyonu (mg L⁻¹); X , biyokütle konsantrasyonu (g L⁻¹); q_{O_2} , spesifik oksijen alım hızı (mmol g⁻¹ h⁻¹); g , yer çekimi ivmesi (9.81 m s⁻²); A_c , panel fotobiyoreaktörün kesit alanı; R_h , panelin hidrolik çapı (akış alanı/ıslanan yüzeyin uzunluğu)

3.2.6. Ölçek büyütme çalışmalarında ışık şiddetinin belirlenmesi

Fotobiyoreaktörlerde ölçek büyütme işlemleri, birim hacimde sabit ışık enerjisi teorisine göre gerçekleştirilmiştir (Ogbonna et al., 1995). Buna göre 1 $\mu\text{E}=0.2176 \text{ J}$ alınarak ışık yoğunluğunun birimi $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ olarak alınmıştır. Birim hacme sağlanan ışık enerjisinin formülü Denklem 1.30'da gösterilmiştir:

$$\frac{E_t}{V} = \frac{0.2176 I_o S_A}{1000 V} \quad \text{Denklem 3.39}$$

Denklemde E_t toplam ışık enerjisini (kJ/s); I_o sabit ışık enerjisi (1 $\mu\text{E}=0.2176 \text{ J}$); S_A ışıklandırılmış bölgenin yüzey alanını; V fotobiyoreaktör hacmini temsil etmektedir.

3.2.7. Analitik Ölçümler

3.2.7.1. Mikroskopik gözlem ve fotoğraflama

Fotoğraf çekimleri Olympus BX53 marka floresan mikroskobu ile gerçekleştirilmiştir. Fotoğraflanacak örnekler, gerektiği durumlarda eser miktarda lugol (I-KI) çözeltisi ile fikse edilerek sabitlenmiştir. Fotoğraflar 40 ve 100 büyütme ile çekilmiştir.

3.2.7.2. pH ölçümü

pH ölçümlerinde kullanılan pH metrenin kalibrasyonu gerektiğinde pH 7 (WTW Weilheim, STP 7) ve pH 10 (WTW Weilheim, STP 1) tamponları ile yapılmıştır.

3.2.7.3. Hücre sayım yöntemi

Mikroskopik hücre sayımı Neubauer kamarası kullanılarak yapılmıştır. Kamaranın üzerinde lamelin oturacağı yer hafifçe ıslatılmış ve lamel kamara üzerine hiç hareket etmeyecek ve hava kabarcığı oluşmayacak şekilde yapıştırılmıştır. Sayılacak örnek homojenize edildikten sonra, 200 μL örnek alınarak sayıma hazır hale getirilen kamaraya dikkatlice doldurulmuş ve hücrelerin tüm kamara alanına homojen olarak dağılması sağlandıktan sonra sayım işlemine geçilmiştir. Sayım işlemi dört kez tekrar edildikten sonra ortalaması alınarak mL 'deki hücre sayısı hesaplanmıştır.

3.2.7.4. Kuru Ağırlık Tayini

Kuru ağırlık tayini için Whatman GF/C (Whatman glass microfibre filters, 1,2 µm, 47 mm) filtre kağıtları 60 °C sıcaklıktaki etüvde 24 saat kurutulup, 20 dakika desikatörde bekletildikten sonra analitik terazide tartılıp darası alınmıştır. Membran filtre ünitesinde 5'er mL'lik örnekler filtrelerden süzildükten sonra üzerinde hücrelerin bulunduğu filtre kağıtları 60 °C sıcaklıktaki etüvde 24 saat kurutulup, 20 dakika desikatörde bekletildikten sonra analitik terazide tartılmıştır.

3.2.7.5. Turbidite

P. tricornutum hücrelerinin 600 nm optik yoğunlukta spektrofotometrede (Ultrospec1100 pro UV-Visible Spektrofotometre) hücre kültürü absorbansları ölçülmüştür.

3.2.7.6. Pigment Analizleri

Küçük ölçekli üretimlerde spektrofotometrik pigment analizi yapılırken fotobiyoreaktör üretimlerinde HPLC analizi uygulanmıştır.

- **Spektrofotometrik pigment analizi:** Üretim ortamından alınan 2 paralelli örneklerden 5 ml'si 3000 x g de 5 dak. santrifüjlenerek süpernatant kısmı uzaklaştırılarak pellet alınmıştır. Pellet üzerine 500 µL DMSO / su (4:1) ilave edilerek 55 °C yaklaşık 1 saat karanlıkta inkübe edildikten sonra vortekslenmiştir. Tekrar 3000g de 5 dakika santrifüj edilerek spektrofotometrede meydana gelebilecek girişimler önlenmiştir. Klorofil a, c ve fukoksantin belirlenmesi için santrifüjlenen ekstrakt süpernatantlarının absorbansları spektrofotometrede 665, 631, 582 ve 480 nm'lerde ölçülerek pigment miktarları aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Klorofil-a (Chl-a)} = A_{665} / 72.8$$

Denklem 3.40

$$\text{Klorofil-c (Chl-c)} = (A_{631} + A_{581} - 0.297A_{665}) / 61.8$$

Denklem 3.41

$$\text{Fukoksantin} = (A_{480} - 0.772 \times (A_{631} + A_{582} - 0.297 \times A_{665}) - 0.049 \times A_{665}) / 130$$

Denklem 3.42

- **Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analiz metodu:** *P. tricornutum*'dan fukoksantin ekstraksiyonu ve analizi için kültür ortamından

alınan 5 mL örnek 4500 rpm'de 5 dakika santrifüjlenerek süpernatant atılmıştır. Pellet üzerine içeriğinde bulunan suyun tutulması için pellet ile aynı miktarda CaCO_3 eklenmiştir. Ardından 10 ml tetrahidrofuran(THF):diklorometan(DCM) (1:1) içeren çözeltiden ilave edilmiştir. Taze hazırlanan bu çözeltinin içine, fukoksantin'in ışıkla ve sıcakta okside olmaması için etkili bir antioksidan olan %0,01 pyrogallol ilave edilmiştir. Ardından 15 dakika sonik banyoda bekletilerek hücre parçalama işlemi gerçekleştirilmiştir. 6000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenen hücrelerden sıvı süpernatant kısmı balon jodede toplanarak, kalan pellet üzerine yeniden 10 ml THF: DCM solventi eklenmiştir. Bu işlem hücre pelleti beyazlayana kadar (2-3 defa) tekrar edilerek tüm süpernatant bir arada toplanmıştır. İstenen karotenoid ekstraktı bu sıvıda bulunmaktadır. Sonrasında toplanan sıvı ekstre 35 °C'de vakum altında solventin uçurulmasıyla sadece ekstrakte edilen pigmentler elde edilmiştir. Pigment, üzerine 4 mL metanol 1 mL kloroform ilave edilerek çözdürülmüş ve 10-15 saniye sonik banyoda tutularak balon jojenin kenarlarında herhangi bir ürün birikimi olması önlenmiştir. Çözünme tam olarak gerçekleştikten sonra sıvı 0,45 µm çapında PTFE filtreden geçirilerek HPLC viallerine alınmıştır. Thermo Scientific HPLC ile gerçekleştirilen analizde 250×4,6 mm C30 (YMC) kolonu kullanılmış ve mobil faz metanol (MeOH):metil tersiyer butil eter (MTBE):su (70.0:25.0:5.0) içermektedir. Akış hızı 1 ml/dk olarak ayarlanmıştır. DAD dedektörünün ölçüm aralığı 400- 475 nm arasında değişmektedir. Elde bulunan standartlar ölçüsünde tanımlanan pigmentlerden fukoksantin için 450 nm, klorofil-a içinse 425 nm değerlerinde pikler dikkate alınmıştır (Şekil Ek 1, Şekil Ek 2).

3.2.7.7.Viskozite tayini

Viskozite tayini Brookfield DV-E marka viskozimetre ile gerçekleştirilmiştir. F/2 besin ortamı bir beher içerisine konulmuş ve viskozimetreye monte edilen 61 numaralı spindle beher içerisine yerleştirilerek ölçüm yapılmıştır. Farklı karıştırma hızlarında (2, 4, 10 ve 12 rpm) yapılan denemelerde sıvıların viskozitesi belirlenmiştir.

3.2.7.8. Elemental Analiz Metodu:

Optimize edilen üretim koşullarının modellenmesinde kullanılmak üzere üretim süresi boyunca, kültür ortamında bulunan azot miktarındaki değişim LECO

CHNS-932 model elementel analiz cihazı ile ASTM D5291-96 metoduna göre tespit edilmiştir.

3.2.8. Kinetik formülasyonlar

Hücrelerin kültür süresi boyunca büyüme hızları, ikilenme süreleri, klorofil oranları ve ürün verimlilikleri hesaplanmıştır.

3.2.8.1. Büyüme hızı hesaplamaları

Büyüme hızı hesaplamalarında üretim periyodunun 0. gününde sistemin kurulması için harcanan zaman ve hücrelerin yeni koşullara adapte olma süreci dikkate alınarak 0. gün hesaplamalara ilave edilmemiştir. Ayrıca denemeler sırasında üretim periyodunda ulaşılan maksimum değer X_2 olarak kabul edilmiştir.

$$\mu = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{\Delta t}$$

Denklem 3.43

μ ; Spesifik büyüme hızı
 X_2 ; t_2 zamanındaki hücre konsantrasyonu
 X_1 ; t_1 zamanındaki hücre konsantrasyonu
 $\Delta t = t_2 - t_1$

$$D.T = \frac{\ln 2}{\mu}$$

Denklem 3.44

D.T; İkilenme süresi

3.2.8.2. Ürün birikim hızı

Ürün verimliliği hesaplamalarında P_{max} inkubasyon boyunca ulaşılan maksimum ürün konsantrasyonu, Δt ise bu konsantrasyonun elde edildiği kültivasyon süresi olarak kullanılmıştır.

$$\text{Ürün_verimliliği} = \frac{P_{max}}{\Delta t}$$

Denklem 3.45

3.2.9. Mikroalgal kinetik modelleme

Mikroalgal büyüme hızı; besin konsantrasyonu, sıcaklık ve ışık şiddetinden etkilenmektedir. Sıcaklık biyokimyasal enzim aktivitesini etkilerken ışık şiddeti hücrenin bakım ve büyümesi için gerekli olan hücresel enerjiyi etkiler. Mikroalgal

büyüme kinetiği sadece besin konsantrasyonu dikkate alındığında Monod ve Droop modelleri ile ifade edilir. Monod ve Droop modellerinde sıcaklık ve ışık şiddetinin üretim boyunca sabit olduğu kabul edilir. Monod modelinde $\mu_{\max}$ sabit alınır fakat gerçekte $\mu_{\max}$ ışık şiddeti ve sıcaklık parametrelerinin bir fonksiyonudur.

Kinetik modelleme için yapılan kabuller aşağıda listelenmiştir:

- a) Kültür koşulları (pH, karıştırma hız vb.) optimize edilmiştir.
- b) Sıcaklık sabittir.
- c) Tekdüze karıştırma ve/veya havalandırma sağlanmıştır, karıştırma ve/veya havalandırma dinamiği mikroalgal büyüme hızını doğrudan etkilememektedir.
- d) Fosfat sınırlayıcı besin maddesi değildir.
- e) Nitrojen varlığını etkileyen en önemli etken fotosentez sonucu oluşan klorofildir. Nitrojen klorofilin yapısal elementidir. Klorofil içeriği doğrudan kültür ortamındaki nitrojen alım hızı (q_n) ile ilişkilidir.
- f) Sıcaklık ve pH gibi fiziksel parametrelerin hücre üremesi üzerine sınırlayıcı etkisi yoksa ışık şiddeti en önemli faktör haline gelir. Üretim sırasında hücreler yoğunlaştıkça birim hücre başına ışık penetrasyonu zamana bağlı olarak azalır. Dolayısıyla, ışık şiddeti hücre konsantrasyonun bir fonksiyonudur.
- g) Hücre ölümü ve hücre bakımı ihmal edilmiştir.

Mikroalgin biyokütle ve ürün oluşum hızlarında Monod ve Luedeking–Piret modeller kullanılmıştır. Ancak spesifik büyüme hızı (μ) modelleri birbirinden tamamen farklı olduğundan biyokütle ve ürün oluşum hız modelleri değişmiştir.

Biyokütle oluşum hızı Denklem 3.46'da gösterilmiştir.

$$\frac{dX}{dt} = \mu X$$

Denklem 3.46

Denklem 3.46 integrali alınarak çözüldüğünde;

$$X(t) = X_0 e^{\mu t}$$

Denklem 3.47

Ürün oluşum hızı *Luedeking-Piret* modeli (Luedeking and Piret, 1959) ile ifade edilmiştir. Ürün oluşum hızı Denklem 3.48’de gösterilmiştir.

$$\frac{dP}{dt} = Y_{pX}\mu X$$

Denklem 3.48

Denklem 3.48 integrali alınarak çözüldüğünde;

$$P(t) = P_0 + Y_{pX} \frac{\mu_{max}}{\mu} X_0 e^{\mu t} - Y_{pX} \frac{\mu_{max}}{\mu} X_0$$

Denklem 3.49

Kinetik modelleme parametreleri, Microsoft Office Excel 2010 yazılım programında başlangıç hız metodu (initial rate method) ile tahmin edilmiş ve lineer olmayan indirgenmiş gradyan algoritması (GRG: generalized reduced gradient) ile deneysel veriler ve model tahmin sonuçları arasındaki farkın karelerinin toplamını minimize ederek belirlenmiştir.

$$Z_M = \sum_{i=1}^I (M_{i,den} - M_{i,mod})^2$$

Denklem 3.50

Denklem 3.50’de Z deneysel veriler ve model tahmin sonuçları arasındaki farkın karelerinin toplamını, M biyokütle, ürün ya da besin konsantrasyonunu, i deneysel data sayısını, ‘den’ ve ‘mod’ ise deneysel ve model terimlerini ifade etmektedir.

3.2.9.1. *Phaeodactylum tricornutum*’un kinetik modellemesi

a-g madde kabulleri ışığında kesikli mikroalgal kültürü için Grima modeline uygun modifikasyon uygulaması ile aşağıdaki modeller türetilmiştir. Spesifik büyüme hızı, μ , Grima modeli (Grima, 1999) modifikasyonu ile ifade edilmiştir. Grima modeli mikroalgal büyüme üzerine ışık şiddetinin etkisini modellemektedir.

P. tricornutum için türetilen spesifik büyüme hızı (μ) Denklem 3.51’de gösterilmiştir.

$$\mu = \frac{\mu_{max} I^{(b+\frac{c}{I_0})}}{\left[I_k \left(1 + \left(\frac{I_0}{K_i} \right)^a \right) \right]^{(b+\frac{c}{I_0})} + I^{(b+\frac{c}{I_0})}}$$

Denklem 3.51

Denklem 3.51'deki I biyokütleyle bağlı ışık sönümünü, I_0 üretim sırasındaki sabit ışık şiddetini, I_k mikroalgin ışık doygunluk sabitini, K_i ise fotoinhibisyon sabitini ifade etmektedir. Modeldeki a , b ve c dataları sabit sayılardır. Bu denklem ile *P. tricornutum* hücrelerinde büyüme hızı ışığın etkisi dikkate alınarak modellenmiştir.

Biyokütleyle bağlı ışık sönümü ve/veya penetrasyonu için Beer-Lambert kanunu kullanılmıştır.

$$I = I_0 e^{(-K_a p X)}$$

Denklem 3.52

Denklem 3.52'deki p ışık yolunu (m); K_a biyokütle absorpsiyon katsayısını ifade etmektedir.

P. tricornutum için biyokütle absorpsiyon katsayısı denklemi ise yapılan laboratuvar deneyleri sonucu Denklem 3.53'deki gibi bulunmuştur.

$$K_a = 0.01 + 2.99 * X_p$$

Denklem 3.53

Denklem 3.53'deki X_p hücrenin ağırlıkça toplam pigment miktarı yüzdesi olup bu değer üretim süresi boyunca değişmektedir. Her gün için hesaplanan toplam miktar yüzdeleri Denklem 3.53'de yerine konulunca biyokütle absorpsiyon katsayısı da zamana bağlı olarak farklı değerlerde bulunmuştur.

Besin konsantrasyonun hücre büyümesi üzerine etkisinin kinetik model olarak ifadesi için besin inhibisyonu ve kıtlığının birlikte incelendiği Denklem 3.54'de verilen eşitlik kullanılmıştır.

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}}$$

Denklem 3.54

Denklem 3.54'de S , zamana bağlı olarak değişen besin konsantrasyonunu (mgL^{-1}), K_s , Monod yarı doygunluk sabitini (mgL^{-1}), K_i ise inhibisyon sabitini (mgL^{-1}) ifade etmektedir. Bu modelde besin konsantrasyonu olarak *P. tricornutum*

mikroalgi için temel besin kaynaklarından biri olan azot konsantrasyonu dikkate alınmıştır.

Hücre büyümesinin kinetik modellenmesinde besin ve ışık gibi faktörlerin bireysel etkileri incelenemediği gibi çoklu faktör etkilerinde incelendiği modeller bulunmaktadır. Hücre büyümesine birçok parametrenin etkisi olduğu düşünüldüğünde bu parametrelerin etkilerinin birlikte incelenmesi hücre davranışlarına dair daha doğru sonuçlar vermektedir. *P. tricornutum* büyümesi için ışık ve besin faktörleri bireysel incelendikten sonra bu iki faktörün birlikte hücre büyümesi üzerine etkisi incelenmiş ve Denklem 3.55'deki eşitliğin kullanımıyla ifade edilmiştir.

$$\mu = \mu_{max} \left(\frac{S_N}{K_{S,N} + S_N} \right) \left(\frac{I_{av}}{I_{av} + K_I} \right)$$

Denklem 3.55

Denklem 3.55'da S_N , azot konsantrasyonu (mgL^{-1}), $K_{S,N}$, azot için Monod yarı doygunluk sabiti (mgL^{-1}), I_{av} kültürün ortalama ışık yoğunluğu ($\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), K_I , fotoinhibisyon sabiti ($\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)'dir.

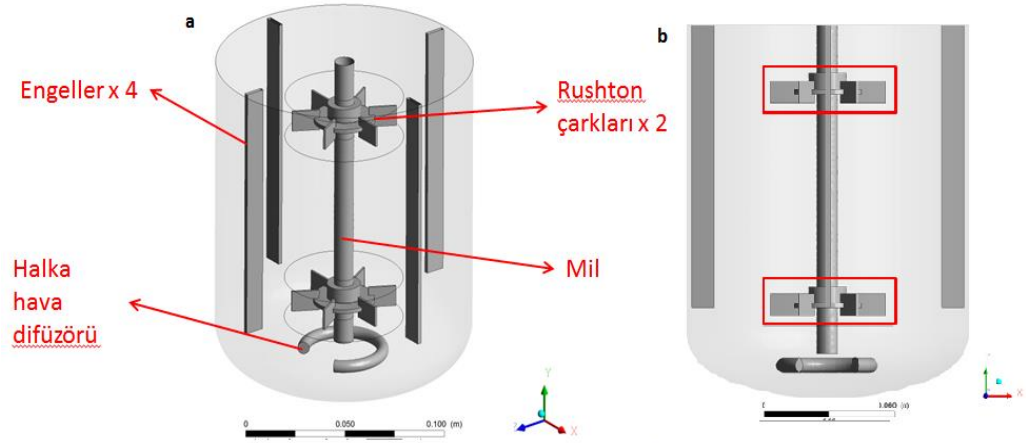
3.2.10. Hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu

Simülasyon yazılım programı olarak ANSYS Fluent 17.1 CFD kullanılmıştır.

3.2.10.1. *Phaeodactylum tricornutum*'dan fukoksantin üretiminde karıştırılmalı tank fotobiyoreaktör için hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu

Modelin oluşturulması

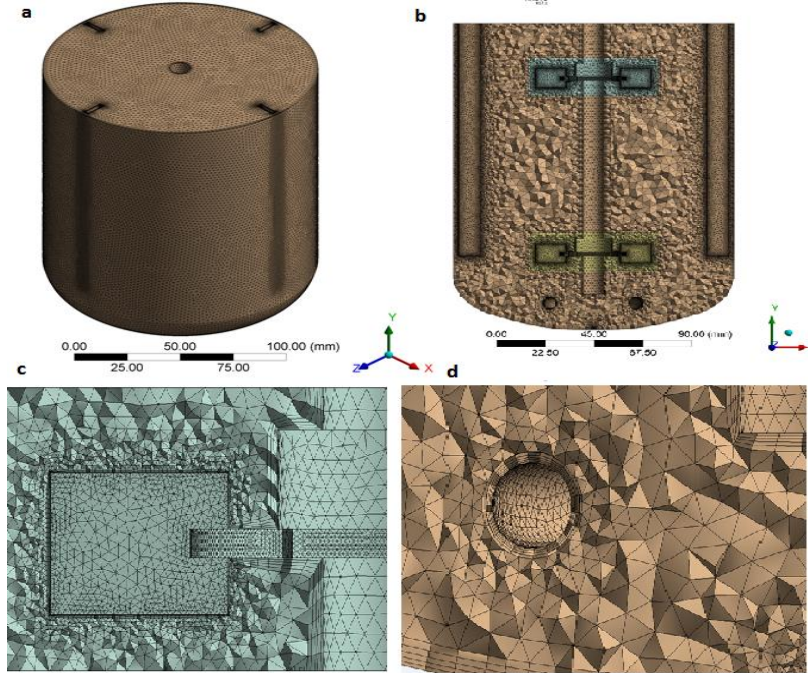
Modelin verilerini Fluent'e tanımlamadan önce 2 L'lik karıştırılmalı tank fotobiyoreaktör için 3 boyutlu geometri çizimi yapıp CAD modeli oluşturulmuştur. Ruhston çarklardaki (ruhstone impeller) dönme hareketini sağlamak için akış hacmi çarkların çevresinden silindirik olarak bölünmüştür (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörün CAD modeli a) izometrik görünüm; b) ön görünüm

Sayısal ağ (mayşeleme) ve sınır şartları

CAD modeli sonrasında sayısal ağ yapısı (mesh işlemi) oluşturulmuştur. Modelin ağ yapısında dört yüzlü (tetrahedral) hücreler ve duvar etrafında prizma hücreler kullanılarak toplam 4591533 element ve 1197022 düğüm noktası oluşturulmuştur. Şekil 3.6’da görüldüğü gibi maksimum eleman büyüklüğü 4 mm, maksimum yüzey eleman büyüklüğü 2 mm ve büyüme oranı 1.2 olarak kaydedilmiştir. Reaktörün duvarı ile engeller arasında kalan dar bölgeler ve çark çevresindeki akışın doğru ifade edilebilmesi için manuel olarak girilen sınır tabaka elemanları ile daha yüksek kalitede sayısal ağ oluşturulmuştur.



Şekil 3.6. Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörün sayısal ağ analizi: a) izometrik görünüm, b) $z=0$ düzlemindeki kesit görünümü, c) çark etrafındaki elemanlar, d) hava difüzörü etrafındaki elemanlar

Model için çark ve silindirin duvar çeperlerinde sınır koşulları belirlenmiştir. Deney koşulları göz önüne alındığında çarklarda y^+ yönünde 170 rpm açısal hız tanımlanmıştır. Ayrıca, üst yüzey “çıkış (outlet)” olarak tanımlanmıştır. Tüm duvarlarda hız sıfırdır. Analize başlanmadan önce gerekli tüm başlangıç koşullarının düzenlenmesi gereklidir. Buna göre analizde kullanılan akışkanın yoğunluğu ($1004,88 \text{ kg/m}^3$) ve akışkanın dinamik viskozite ($0,006 \text{ kg/ms}$) değerleri malzeme olarak tanımlanmıştır.

Çözüm parametreleri

Karıştırmalı tank fotobiyoreaktör için çözüm parametreleri maddeler halinde aşağıdaki gibi sıralanmıştır:

- ✓ Hesaplamalar ANSYS Fluent 17.1 CFD yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.
- ✓ Program içinde “basınca dayalı (pressure-based)” ve “yoğunluğa dayalı (density-based)” iki farklı çözümü mevcuttur. Basınç bazlı çözümü genel olarak sıkıştırılamayan sıvılar için kullanılırken, yoğunluk bazlı çözümü sıkıştırılabilir sıvılar için uygundur. Karıştırmalı tank fotobiyoreaktör simülasyonunda Basınca Dayalı Birleşmiş Çözümü (Pressure based Coupled Solver) kullanılmıştır.
- ✓ Çözüm sürekli rejimdedir.
- ✓ Türbülans modeli olarak “k-epsilon” seçilmiştir Bu model akışın türbülans özelliklerini belirlemek için iki değişken içeren bir modeldir. İlk değişken “k” ile ifade edilen türbülans kinetik enerji, ikinci değişken ise “ε” ile gösterilen türbülans dağılımıdır (Denklem 3.56, 3.57).

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho k) + \frac{\partial}{\partial x_i}(\rho k u_i) = \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\left(\mu + \frac{\mu_t}{\sigma_k} \right) \frac{\partial k}{\partial x_j} \right] + G_k + G_b - \rho \epsilon - Y_M + S_k$$

Denklem 3.56

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}(\rho \epsilon) + \frac{\partial}{\partial x_i}(\rho \epsilon u_i) = & \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\left(\mu + \frac{\mu_t}{\sigma_\epsilon} \right) \frac{\partial \epsilon}{\partial x_j} \right] + C_{1\epsilon} \frac{\epsilon}{k} (G_k + C_{3\epsilon} G_b) \\ & - C_{2\epsilon} \rho \frac{\epsilon^2}{k} + S_\epsilon \end{aligned}$$

Denklemden G_k ortalama hız farkı dolayısıyla oluşan türbülans kinetik enerji, G_b kaldırma kuvveti tarafından oluşturulan türbülans kinetik enerji, Y_M sıkıştırılabilir sıvının türbülans değerindeki dalgalı genişlemenin toplam yayılma hızına oranı, $C_{1\varepsilon}$, $C_{2\varepsilon}$, ve $C_{3\varepsilon}$ sabit değerler, σ_k ve σ_ε sayıları k ve ε için türbülans Prandtl sayısı ve S_k , S_ε kullanıcı tanımlı kaynak terimleridir.

3 farklı çeşidi olan k - ε modelinin bu çalışma için “Realizable k - ε model”i tercih edilmiştir. Bu tercihin sebebi, modelin türbülans akış fiziğinde bulunan Reynolds stresi hesaplamaları ile tutarlılık göstermesi ve gerçekçi bir yaklaşım sergilemesidir. Ayrıca rotasyon, negatif basınç değişimleri altında oluşan sınır katmanları ve resirkülasyon içeren sistemler için yüksek doğruluk göstermektedir.

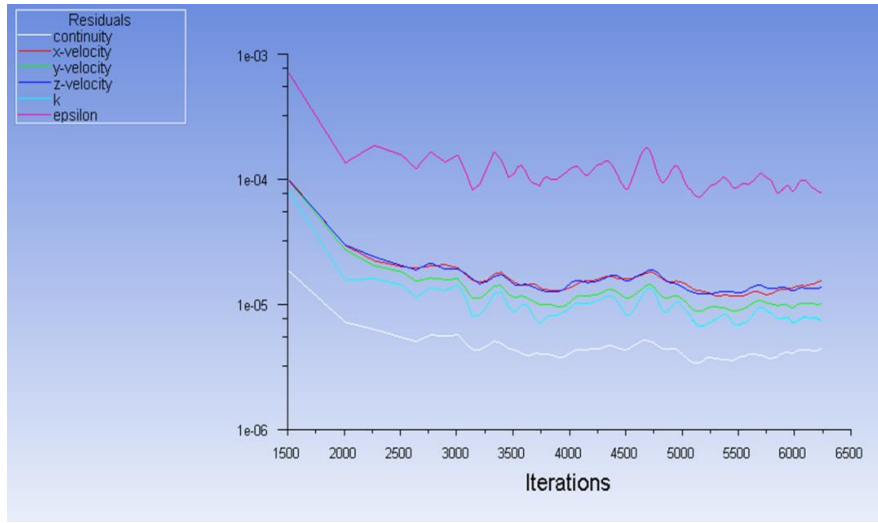
- ✓ Türbülans modeli olarak seçilen k - ε modeli duvar kenarlarındaki bölgeler için gerçekleştirdiği çözümlerde dezavantaja sahip olduğundan duvar fonksiyonu “Duvar Dibi Modeli (Enhanced Wall Treatment)” olarak tanımlanarak duvar kenarlarının çözüm kalitesi yükseltilmiştir.
- ✓ Çözüm metodunda kullanılan parametreler Çizelge 3.11’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.11. Karıştırmalı tank fotobiyoreaktör simülasyonunda seçilen çözüm parametreleri

Parametre	Seçilen Metot	Avantaj
Gradyan	Green-Gause Node Based	Daha kesin sonuçlar verir, yanlış dağılımı minimize eder, tri/tetra hedral ağ yapısı için daha uygundur
Basınç	PRESTO!	Sıvı hareketinde rotasyonun görüldüğü ve çark içeren sistemler için avantajlıdır.
Momentum	Second Order Upwind	İkinci dereceden doğruluk sağlamak için daha büyük şablonlar kullanır, tri/tet hedral ağ yapısı için daha uygundur
Türbülans Kinetik Enerji	Second Order Upwind	
Türbülans Dağılım Hızı	Second Order Upwind	

- ✓ Gerekli çözücü parametreleri belirlendikten sonra çözüm başlatılarak yakınsama kriteri tüm denklemler için 1×10^{-4} seçilmiştir.
- ✓ Başlangıç şartları “Hybrid” yöntem ile oluşturulmuştur.

İterasyon parametreleri belirlenerek çözümün hangi değere kadar yakınsama yapacağına karar verilmiştir. Çözümün yakınsama kriterine ulaşması için 6000 civarı iterasyon gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7) Şekil 3.7’de görüldüğü gibi tüm denklemlere ait hata oranları 1×10^{-4} değerinin altına düştükten sonra iterasyonlar durdurulmuştur. Bu analiz çalışması yaklaşık bir günde tamamlanmıştır.

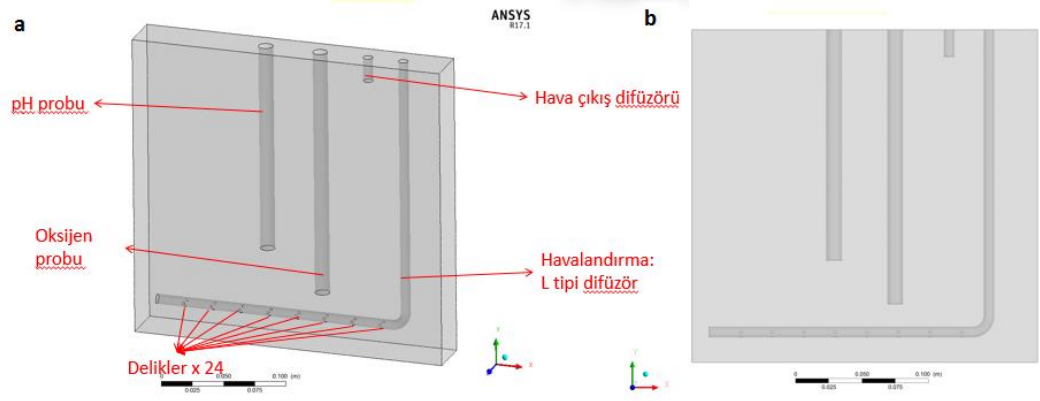


Şekil 3.7. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörün yakınsama grafiği

3.2.10.2. *Phaeodactylum tricornutum*’dan fukoksantin üretiminde panel fotobiyoreaktör için hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu

Modelin oluşturulması

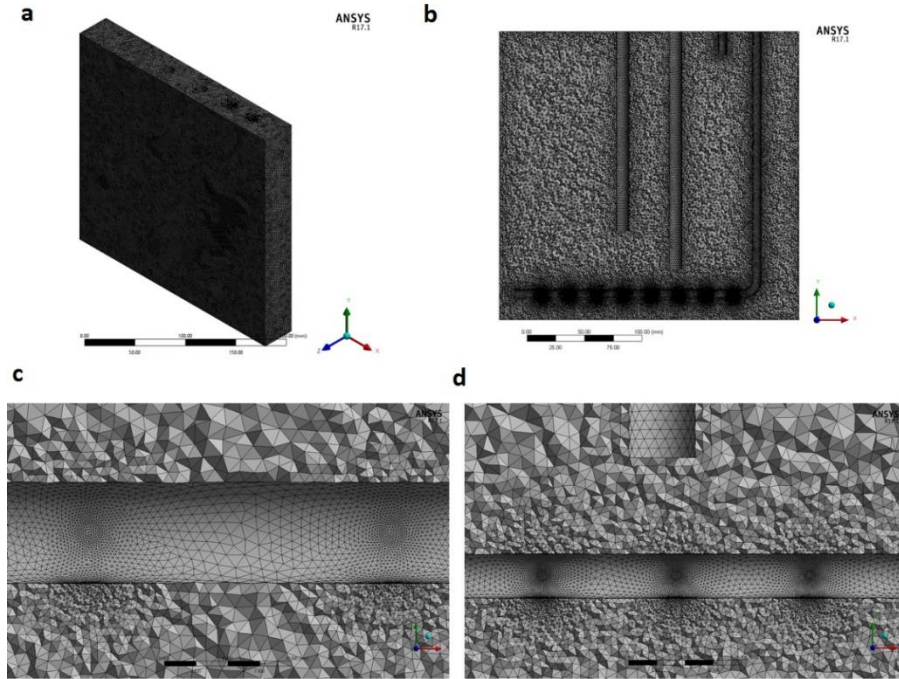
Modelin verilerini Fluent’e tanımlamadan önce 2 L’lik panel fotobiyoreaktör için 3 boyutlu geometri çizimi yapıp CAD modeli oluşturulmuştur (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Panel fotobiyoreaktörün CAD modeli a) izometrik görünüm; b) ön görünüm

Sayısal ağ (mayşeleme) ve sınır şartları

CAD modeli sonrasında sayısal ağ yapısı (mesh işlemi) oluşturulmuştur. Modelin ağ yapısında dört yüzlü (tetrahedral) hücreler kullanılmış ve toplam 532379 element ve 2963837 düğüm noktası oluşturulmuştur. Şekil 3.9’da görüldüğü gibi maksimum eleman büyüklüğü 4 mm, maksimum yüzey eleman büyüklüğü 2 mm ve büyüme oranı 1,1 olarak kaydedilmiştir. Hava difüzöründe bulunan deliklerde ve probalar ile difüzör arasındaki bölgelerde akışın doğru ifade edilebilmesi için manuel olarak girilen sınır tabaka elemanları ile daha yüksek kalitede sayısal ağ oluşturulmuştur.



Şekil 3.9. Panel fotobiyoreaktörün sayısal ağ analizi: a) izometrik görünüm, b) $z=0$ düzlemindeki kesit görünümü, c) deliklerin etrafındaki elemanlar, d) oksijen probu ile delikler etrafındaki elemanlar

Analize başlanmadan önce gerekli tüm başlangıç koşullarının düzenlenmesi gereklidir. Buna göre analizde kullanılan akışkanın yoğunluğu ($1004,88 \text{ kg/m}^3$) ve akışkanın dinamik viskozite ($0,006 \text{ kg/ms}$) değerleri tanımlanmıştır. Akışkan yanında önemli bir diğer bileşen olan hava içinse hava yoğunluğu ($1,213 \text{ kg/m}^3$) ve havanın dinamik viskozitesi ($1,831 \times 10^{-5} \text{ kg/ms}$) değerleri programa girilmiştir. Panel fotobiyoreaktör 20,5 cm yüksekliğine kadar besin ortamı ile doldurulmuştur ve besin ortamı hareketsizdir. Difüzördeki hava deliklerinden toplamda 5,3 L/dk hacimsel debiye denk gelen kütleli debi girilmiştir. Deliklerden %100 oranında hava gönderilmiştir. Ve çıkış “Opening” olarak tanımlanmıştır.

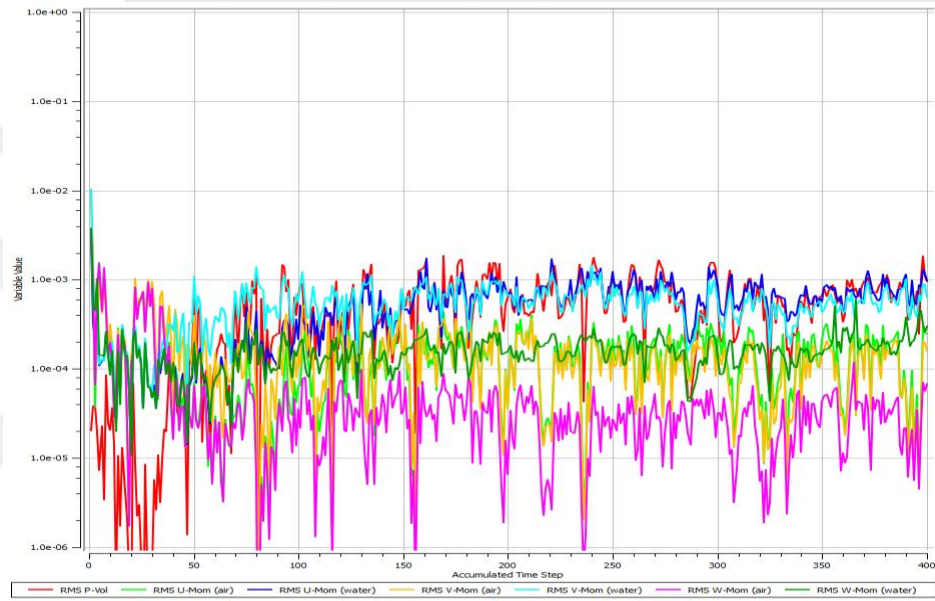
Çözüm parametreleri

Panel fotobiyoreaktör için kullanılan çözüm parametreleri aşağıda tanımlanmıştır;

- ✓ Hesaplamalar ANSYS CFX 17.1 CFD yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.
- ✓ Çözüm zamana bağlıdır.
- ✓ Hava ve besin ortamını modellemek için Eulerian Multifaz modeli kullanılmıştır. Bu model sürekli faz içerisinde damlacık ya da baloncuk halinde meydana gelen dağınık fazların modellenmesinde yaygın kullanıma sahiptir.
- ✓ Türbülans modeli “SST k-omega” seçilmiştir. Bu model özellikle duvar dibindeki akışların ifadesinde doğru sonuçlar vermektedir. Düşük Reynold sayısına sahip akışlarda da kullanımı uygundur.
- ✓ Türbülans etkileşimi için “Sato” modeli kullanılmıştır. Sato modeli ile kabarcık hareketi ile meydana gelen akışkan hareketinin çözümünde viskozite temelli çözüm gerçekleştirmektedir.
- ✓ Hava hareketinin hesaplanması için direnç ve direnç dışı kuvvetler bir arada kullanılmıştır.
- ✓ Yakınsama kriteri Süreklilik denklemi için 1×10^{-4} seçilmiştir.
- ✓ Analiz türü “Sürekli (Transient)” seçilmiştir.
- ✓ Akışkan morfolojisi “Sürekli (Continuous)”, hava morfolojisi ise “Dağınık (Dispersed)” olarak seçilmiş, böylece multifaz çözüm gerçekleştirilmiştir.

- ✓ Sürüklenme kuvveti için “Grace Sürüklenme Kuvveti (Grace Drag Force)” seçilmiştir.

İterasyon parametreleri belirlenerek çözümün hangi değere kadar yakınsama yapacağına karar verilmiştir. Çözümün yakınsama kriterine ulaşması için 400 zaman adımında iterasyon gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.10). Şekil 3.10’da görüldüğü gibi tüm denklemlere ait hata oranları 1×10^{-4} değerinin altına düştükten sonra iterasyonlar durdurulmuştur. Bu analiz çalışması yaklaşık bir haftada tamamlanmıştır.

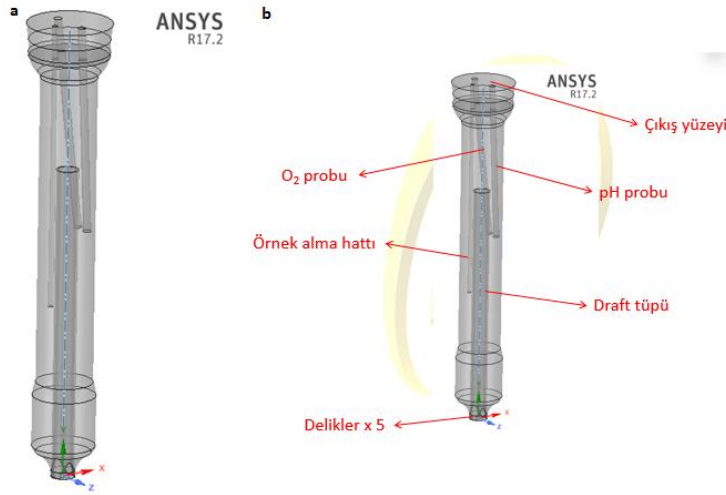


Şekil 3.10. Panel fotobiyoreaktörün yakınsama grafiği

3.2.10.2. *Phaeodactylum tricornutum*'dan fukoksantin üretiminde hava kaldırmalı fotobiyoreaktör için hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu

Modelin oluşturulması

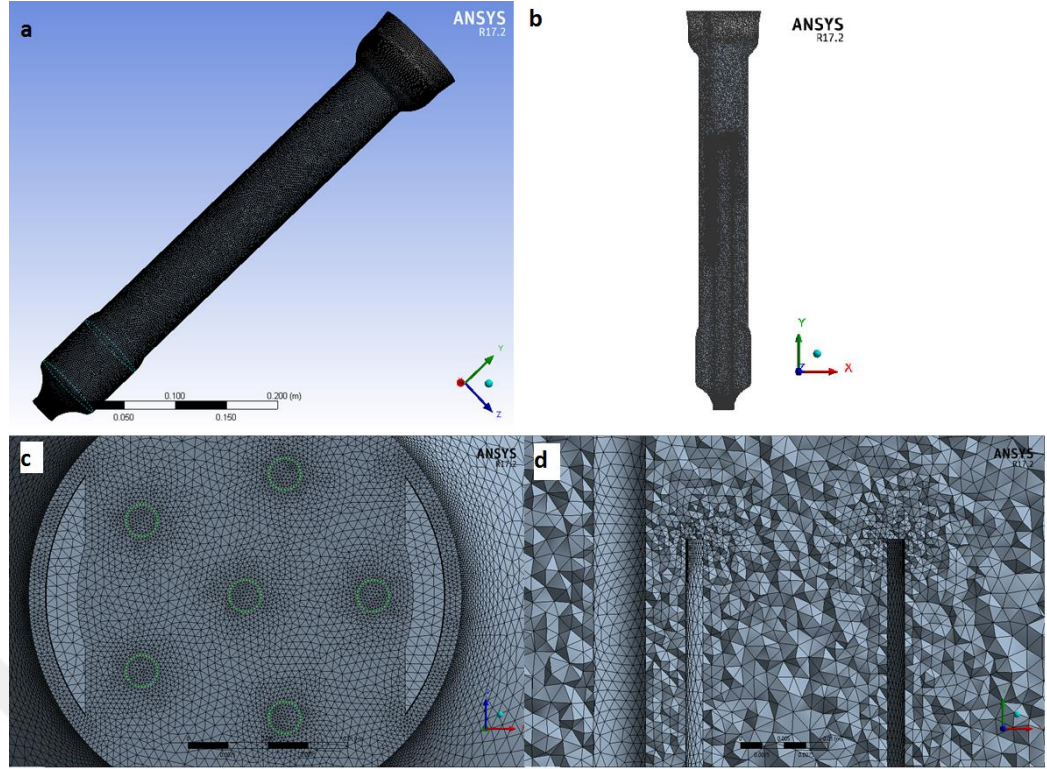
Modelin verilerini Fluent'e tanımlamadan önce 2 L'lik hava kaldırmalı fotobiyoreaktör için 3 boyutlu geometri çizimi yapıp CAD modeli oluşturulmuştur (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörün CAD modeli a) ön görünüm; b) izometrik görünüm

Sayısal ağ (mayşeleme) ve sınır şartları

CAD modeli sonrasında sayısal ağ yapısı (mesh işlemi) oluşturulmuştur. Modelin ağ yapısında dört yüzlü (tetrahedral) hücreler kullanılmış ve toplam 532379 element ve 2963837 düğüm noktası oluşturulmuştur. Şekil 3.9’da görüldüğü gibi maksimum eleman büyüklüğü 4 mm, maksimum yüzey eleman büyüklüğü 2 mm ve büyüme oranı 1,1 olarak kaydedilmiştir. Hava difüzöründe bulunan deliklerde ve probalar ile örnek alma hattı arasındaki bölgelerde akışın doğru ifade edilebilmesi için manuel olarak girilen sınır tabaka elemanları ile daha yüksek kalitede sayısal ağ oluşturulmuştur.



Şekil 3.12. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörün sayısal ağ analizi: a) izometrik görünüm, b) $z=0$ düzlemindeki kesit görünümü, c) deliklerin etrafındaki elemanlar, d) probaların etrafındaki elemanlar

Analize başlanmadan önce gerekli tüm başlangıç koşullarının düzenlenmesi gereklidir. Buna göre analizde kullanılan akışkanın yoğunluğu ($1004,88 \text{ kg/m}^3$) ve akışkanın dinamik viskozite ($0,006 \text{ kg/ms}$) değerleri tanımlanmıştır. Akışkan yanında önemli bir diğer bileşen olan hava içinse hava yoğunluğu ($1,213 \text{ kg/m}^3$) ve havanın dinamik viskozitesi ($1,831 \times 10^{-5} \text{ kg/ms}$) değerleri programa girilmiştir. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör 1,6 L çalışma hacmine denk gelen 48 cm yüksekliğine kadar besin ortamı ile doldurulmuştur ve besin ortamı hareketsizdir. Difüzördeki hava deliklerinden toplamda 1,82 L/dk hacimsel debiye denk gelen kütleli debi girilmiştir. Deliklerden %100 oranında hava gönderilmiştir. Ve çıkış “Opening” olarak tanımlanmıştır.

Panel fotobiyoreaktör için kullanılan çözüm parametreleri aşağıda tanımlanmıştır;

- ✓ Hesaplamalar ANSYS CFX 17.2 CFD yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.
- ✓ Çözüm zamana bağlıdır.
- ✓ Hava ve besin ortamını modellemek için Eulerian Multifaz modeli kullanılmıştır.

- ✓ Türbülans modeli “SST k-omega” seçilmiştir.
- ✓ Türbülans etkileşimi için “Sato” modeli kullanılmıştır.
- ✓ Hava hareketinin hesaplanması için direnç ve direnç dışı kuvvetler bir arada kullanılmıştır.
- ✓ Yakınsama kriteri Süreklilik denklemi için 1×10^{-4} seçilmiştir.
- ✓ Analiz türü “Sürekli (Transient)” seçilmiştir.
- ✓ Akışkan morfolojisi “Sürekli (Continuous)”, hava morfolojisi ise “Dağınık (Dispersed)” olarak seçilmiş, böylece multifaz çözüm gerçekleştirilmiştir.
- ✓ Sürüklemeye kuvveti için “Grace Sürüklemeye Kuvveti (Grace Drag Force)” seçilmiştir.

İterasyon parametreleri belirlenerek çözümün hangi değere kadar yakınsama yapacağına karar verilmiştir. Çözümün yakınsama kriterine ulaşması için 1600 zaman adımında iterasyon gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.13). Şekil 3.13’de görüldüğü gibi tüm denklemlere ait hata oranları 1×10^{-4} değerinin altına düştükten sonra iterasyonlar durdurulmuştur. Bu analiz çalışması yaklaşık bir haftada tamamlanmıştır.



Şekil 3.13. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörün yakınsama grafiği

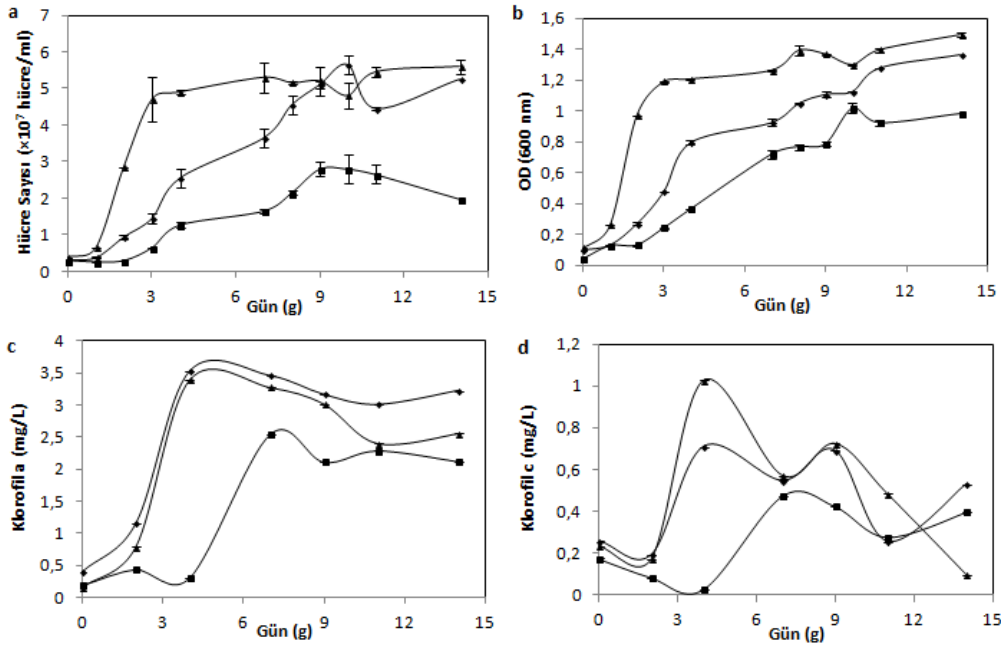
4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

4.1 Küçük Ölçekte (1 L Şişelerde) Üretimler

4.1.1. Farklı ışık şiddetlerinin *Phaeodactylum tricornutum* üretimine etkisi

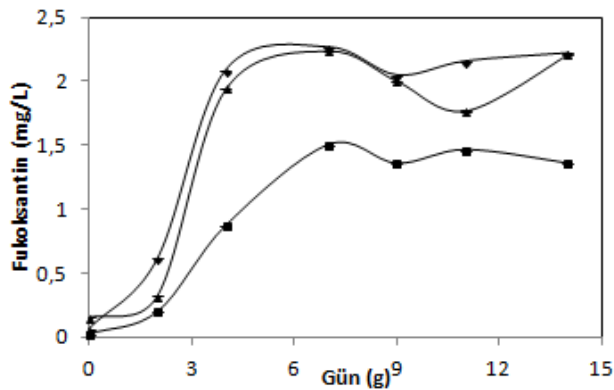
Phaeodactylum tricornutum mikroalginin üretimi için öncelikle optimum ışık şiddetinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla gün boyunca sürekli 3 farklı ışık şiddeti (30, 45 ve 65 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) uygulanan kültürler, F/2 besin ortamında 2 L/dk havalandırma hızı uygulanarak 22 ± 2 °C’de 14 gün boyunca kültive edilmişlerdir. 2×10^6 hücre/ml inokulasyonla başlatılan kültürlerde ışık şiddetinin etkisi üretimin ilk günlerinde görülmeye başlanmıştır. 45 ve 65 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ışıklandırma altındaki kültürlerde son gün hücre sayısı birbirine yakın olsa da en yüksek hücre sayısı ($5,65 \pm 0,25 \times 10^7$ hücre/ml) kültürün 10. gününde 45 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ışıklandırmada görülmüştür. *P. tricornutum* için spektrofotometrik hücre yoğunluğu 600 nm’de gerçekleştirilmiş ve 65 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde maksimum türbidite değeri elde edilmiştir. Ancak mikroskoptaki görüntüler incelendiğinde bu kültürde hücrelerin parçalanarak türbidite değerini arttırdığı görülmektedir (Şekil 4.1 a, b).

P. tricornutum’da büyümeyle ilişkili klorofil yapıları klorofil-a ve klorofil-c’dir. Kimyasal ekstraksiyon ile spektrofotometrede gerçekleştirilen analizler sonucunda her iki klorofil miktarı maksimum 45 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ışıklandırmada görülmüştür. Klorofil-a miktarı 45 ve 65 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ışıklandırmada 8 gün boyunca paralellik göstermiş, bu günden sonra 45 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde artış daha fazla olmuştur. Klorofil-c miktarı ise üretim boyunca tüm üretim şişelerinde dalgalanma göstermiş ve en yüksek değerleri 45 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde sergilemiştir (Şekil 4.1 c, d).



Şekil 4.1. Farklı ışık şiddetlerinde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için büyüme profili: a) hücre sayısı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı; d) klorofil-c miktarı, (■) 30 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (◆) 45 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (▲) 65 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

P. tricornutum suşunun ana karotenoidi olan fukoksantin birikimi üzerine ışığın etkisi incelendiğinde 45 ve 65 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti denemelerinde üretim boyunca büyük farklılık görülmemiştir. Maksimum fukoksantin miktarı ise $2,262 \pm 0,063$ mg/L ile 45 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde elde edilmiştir. 65 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti uygulanan kültür şişesinde $2,238 \pm 0,048$ mg/L, 30 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti uygulanan üretimde ise $1,5 \pm 0,001$ mg/L fukoksantin üretimi gözlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Farklı ışık şiddetlerinde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için fukoksantin miktarı: (■) 30 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (◆) 45 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (▲) 65 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Üretim sırasında alınan günlük örneklerle analizler gerçekleştirilmiş ve biyokütle verimliliği, spesifik büyüme hızı, ikilenme süresi ve karotenoid birikim hızları hesaplanmış, değerler Çizelge 4.1 de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı ışık şiddetlerinde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için elde edilen kinetik değerler.

Işık Şiddeti ($\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Kuru Ağırlık (g L^{-1})	Biyokütle Verimliliği ($\text{gL}^{-1}\text{gün}^{-1}$)	Spesifik büyüme hızı ($\mu, \text{gün}^{-1}$)	İkilenme süresi (DT,gün)	Fukoksantin miktarı (mg/g hücre)	Fukoksantin birikim hızı ($\text{mgL}^{-1}\text{gün}^{-1}$)
30	3,19	0,227	0,283	2,44	0,47	0,214
45	2,79	0,199	0,3	2,3	0,81	0,323
65	2,02	0,144	0,166	4,15	1,108	0,319

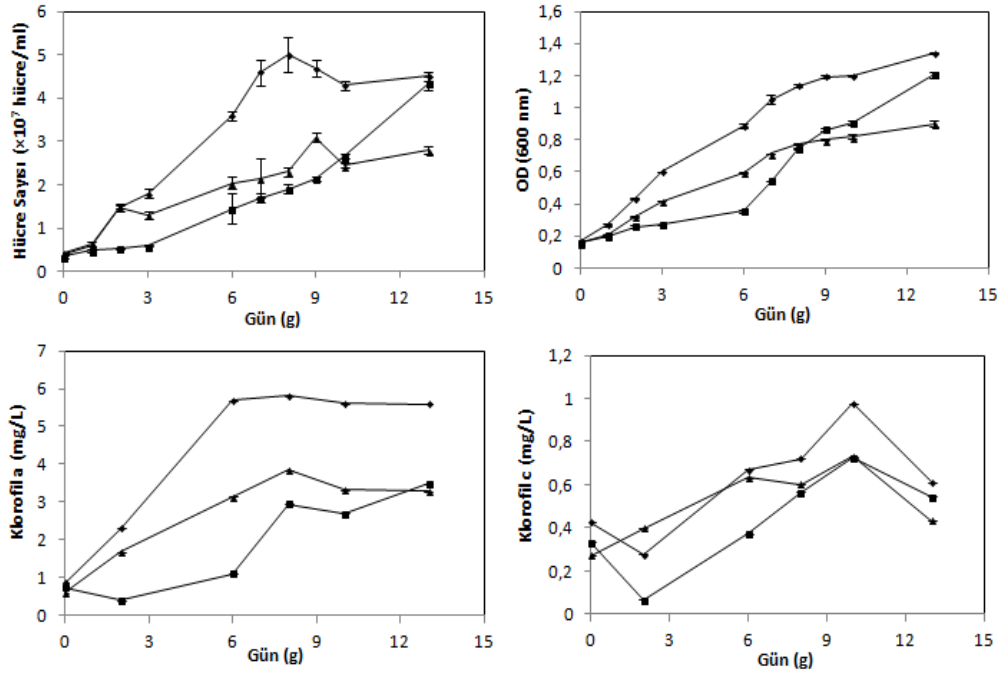
14 gün boyunca sürdürülen üretim sonucunda hücre sayısı açısından en iyi ışık şiddeti $45 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ değerinde elde edilmiştir. Fukoksantin primer bir metabolit olması dolayısıyla artan hücre sayısı fukoksantin miktarında da artışa neden olmaktadır. En yüksek fukoksantin miktarı bu durumla paralellik göstermiş ve $45 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti altında en yüksek sonucu vermiştir.

Kaixian ve Borowitzka tarafından *P. tricornutum*'da ışık ve besin ortamının hücre büyümesine ve kompozisyonuna olan etkisi incelenmiştir. Üretim F/2 besin ortamında, 22°C sıcaklıkta, karıştırmanın hava ile sağlandığı 2 L'lik cam şişelerde gerçekleştirilmiştir. Işığın etkisinin incelendiği çalışmada 18, 36 ve $72 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddetleri denenmiştir. Bu koşullarda $18 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde minimum hücre sayısı $4,7 \times 10^6$ hücre/ml olarak elde edilirken, en yüksek hücre konsantrasyonuna $72 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışıklandırma 6×10^7 hücre/ml olarak ulaşılmıştır. Ayrıca sürekli ışıklandırma ve 12:12 aydınlık:karanlık ışıklandırma periyotları denenmiş, sürekli ışıklandırma da hücre yoğunluğunun daha yüksek olduğu kaydedilmiştir (Kaixian and Borowitzka, 1993). Başka bir çalışmada ise *P. tricornutum* hücrelerine sıcaklık ve ışık şiddetinin etkisi incelenmiş; $40 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışıklandırma büyüme hızının maksimuma ulaştığı ve $100 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti üzerinde ışığın inhibe edici etkisinin olduğu rapor edilmiştir (Kviderova and Lukavsky, 2003).

P. tricornutum'da dahil diatomların çoğunda fukoksantin, klorofil a pigmenti ve protein birlikte bir kompleks (FCP) oluşturmaktadır ve bu yapı fotosentez sırasında görev almaktadır. Işığın hem fotosentez üzerine etkisi hem de bu kompleksin yapısında meydana getirdiği değişikliklerin incelenmesi adına çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda elde edilen sonuç yüksek ışık uygulanan hücrelerde pigment/protein oranının yüksek oranda düştüğünü göstermektedir. Bunun temel sebebinde klorofil-a ve fukoksantin miktarlarının azalmasının sonucu olduğu söylenmektedir (Lepetit et al., 2012). Schumann ve arkadaşları tarafından *P. tricornutum* ile gerçekleştirilen çalışmada yüksek ışığa maruz kalan hücrelerde diadoksantin miktarının arttığı görülmüştür. Pigment yolları incelendiğinde neoksantin pigmentinden sonra çevre koşulları ve metabolizma etkisiyle ürünler diadoksantin ya da fukoksantin yönünde ilerlemektedirler. Bu bilgi ışığı altında yüksek ışığın bu yolağı diadoksantin üretimine yönlendirdiği belirtilmiştir (Schumann et al., 2007). Literatür araştırmaları mevcut çalışmayla benzer niteliktedir

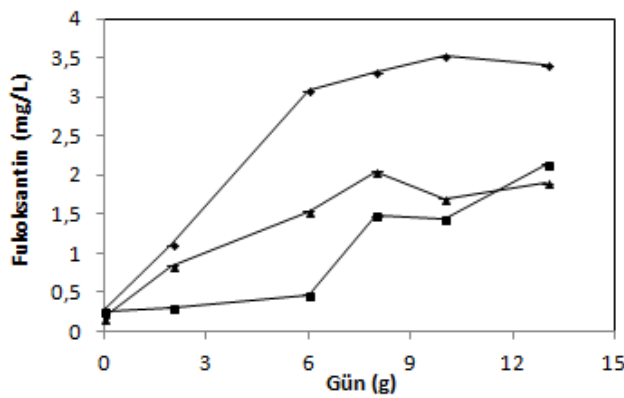
4.1.2. Farklı besin ortamlarının *Phaeodactylum tricornutum* üretimine etkisi

P. tricornutum'un üretiminde optimum besin ortamının tespit edilmesi için 3 farklı ortam olan F/2, ASP ve Conway besin ortamları ile 1000 ml'lik şişelerde üretim gerçekleştirilmiştir. Hücreler daha önceki çalışmada optimize edilen $45 \mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık şiddeti altında, 2 L/dk havalandırma hızıyla 22 ± 2 °C'de 13 gün boyunca inkübe edilmişlerdir. Üretim sırasında en yüksek hücre konsantrasyonuna $4,7 \pm 0,2 \times 10^7$ hücre/ml değeriyle F/2 besin ortamında ulaşılmıştır. Aynı zamanda bu besin ortamında hücrelerin adaptasyonu daha hızlı gerçekleşmiş ve logaritmik evreye geçiş çabuk görülmüştür. F/2 besin ortamında türbidite değeri de maksimum noktaya ulaşmıştır. Karotenoid analizinin spektrofotometrik yöntemle gerçekleştirilmesi sonucu en yüksek değerlere $5,59 \pm 0,002$ mg/L klorofil-a ve $0,97 \pm 0,004$ mg/L klorofil-c miktarları ile F/2 ortamını içeren kültürde ulaşılmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Farklı besin ortamlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı; d) klorofil-c miktarı, (■) ASP, (◆) F/2, (▲) Conway.

Fukoksantin miktarına besin ortamının etkisi incelenmiş ve zamana bağlı fukoksantin içeriği Şekil 4.4’de gösterilmiştir. Maksimum fukoksantin miktarı diğer ortamlara oranla büyük farkla F/2 besin ortamında üretilmiştir. F/2 besin ortamında $3,52 \pm 0,1$ mg/L, ASP besin ortamında $2,13 \pm 0,006$ mg/L ve Conway besin ortamında $1,9 \pm 0,002$ mg/L fukoksantin miktarlarına ulaşılmıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Farklı besin ortamlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için fukoksantin miktarı: (■) ASP, (◆) F/2, (▲) Conway.

Hesaplanan kinetik değerler Çizelge 4.2 ‘de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 Farklı besin ortamlarına *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için elde edilen kinetik değerler.

Besin Ortamı	Kuru Ağırlık (g L ⁻¹)	Biyokütle Verimliliği (g L ⁻¹ gün ⁻¹)	Spesifik büyüme hızı (μ, gün ⁻¹)	İkilenme süresi (DT, gün)	Fukoksantin miktarı (mg/g hücre)	Fukoksantin birikim hızı (mgL ⁻¹ gün ⁻¹)
F/2	2,65	0,203	0,305	2,27	1,329	0,271
ASP	2,38	0,183	0,191	3,62	0,89	0,164
Conway	2,16	0,166	0,195	3,54	0,947	0,170

Gomez-Loredo ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *P. tricornutum* mikroalgi 2 L'lik flasklarda 1 L çalışma hacmi olacak şekilde 28 °C'de 1 vvm havalandırma hızıyla karıştırılmış ve F/2 besin ortamında 18 gün boyunca kültive edilmiştir. Farklı ışık şiddetlerinin denendiği üretimde maksimum hücre sayısı $1,71 \times 10^7$ hücre/ml ve maksimum fukoksantin miktarı 0,2 mg/g yaş hücre olarak elde edilmiştir. Mevcut çalışmada F/2 besin ortamında elde edilen fukoksantin miktarı 1,329 mg/g hücre olarak rapor edilmiştir (Gomez-Loredo et al., 2016). Kullanılan besin ortamlarında önemli olan bileşenlerden biri tuzluluk oranıdır. Qiao ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada tuzluluk oranının *P. tricornutum* üzerine etkisi incelenmiş ve maksimum spesifik büyüme hızına 28 ppt tuz içeren üretimde ulaşılmıştır. F/2 ve ASP ortamlarını tuzluluk açısından karşılaştırdığımızda 30 ppt tuz konsantrasyonuna sahip F/2 ortamında hücre üretmesi yüksek iken, 18 ppt tuz içeren ASP besin ortamında en düşük hücre yoğunluğu görülmüştür (Qiao et al., 2016).

4.1.3. Farklı havalandırma hızlarının *Phaeodactylum tricornutum* üretimine etkisi

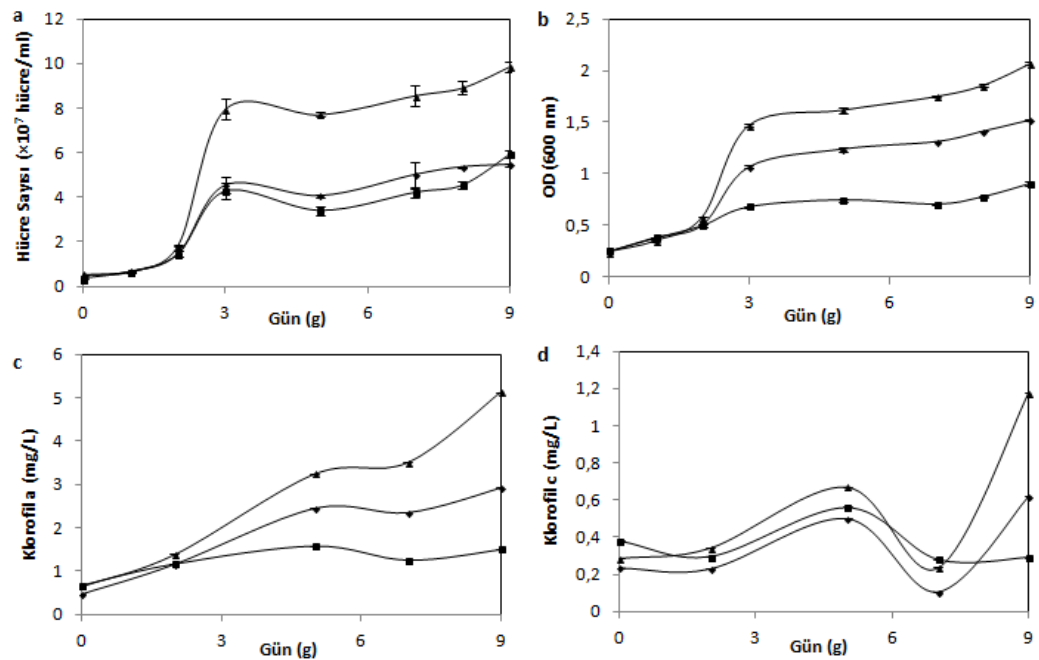
Optimum ışık şiddeti ve besin ortamı belirlendikten sonra 1, 2 ve 3 L/dk havalandırma hızlarında 3 farklı şişede üretim gerçekleştirilmiştir. Üretimlerdeki havalandırmanın asıl amacı etkili bir karıştırma işleminin sağlanmasıdır. Hücreler F/2 besin ortamı içeren 1000 ml'lik şişeler $45 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti altında 22 ± 2 °C'de 9 gün boyunca kültive edilmişlerdir. Artan havalandırma hızı ile buharlaşma miktarının artması üretimin 9 günde sonlandırılmasına neden olmuştur. (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Farklı havalandırma hızlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi

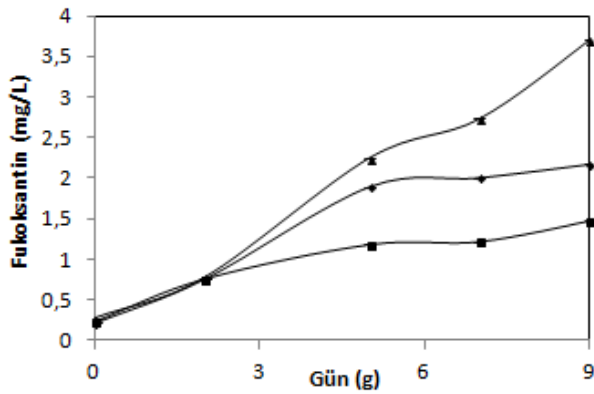
Cam pipetlerle akvaryum pompasından farklı hızlarda hava beslemesi yapılan üretim sonucunda hücre sayısındaki değişim günlük olarak takip edilmiştir. 3 üretim içinde ortalama 4×10^6 hücre/ml inokulasyon miktarıyla başlanan kültivasyon işleminde, 3 L/dk havalandırma hızında hücre sayısı başlangıç konsantrasyonun 25 katına ulaşarak $9,85 \pm 0,25 \times 10^7$ hücre/ml ile maksimum değeri vermiştir. 1 ve 2 L/dk havalandırma hızları arasında belirgin bir farklılık görülmezken hücre sayıları neredeyse 3 L/dk hızında havalandırılan üretimin yarısı kadardır (1 L/dk'da $5,95 \pm 0,15 \times 10^7$ hücre/ml ve 2 L/dk'da $5,45 \pm 0,05 \times 10^7$ hücre/ml) (Şekil 4.6.a,b).

Klorofil-a ve klorofil-c değerleri de 3 L/dk havalandırma uygulanan şişelerde diğerlerinden yüksek oranda farklılık göstermiştir. $5,12 \pm 0,2$ mg/L klorofil-a ve $1,17 \pm 0,1$ mg/L klorofil-c değerleri bu üretim sırasında elde edilen maksimum klorofil miktarlarıdır (Şekil 4.6. c,d) .



Şekil 4.6. Farklı havalandırma hızlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı; d) klorofil-c miktarı, (■) 1 L/dk, (♦) 2 L/dk, (▲) 3 L/dk.

Fukoksantin karotenoidi miktarları 1, 2 ve 3 L/dk havalandırma hızlarında spektrofotometrik analiz yardımıyla bulunmuş ve sırasıyla $1,47 \pm 0,03$ mg/L, $2,17 \pm 0,008$ mg/L ve $3,7 \pm 0,09$ mg/L şeklinde hesaplanmıştır. Fukoksantin hücre büyümesiyle doğrudan ilişkili olduğu düşünüldüğünde hücre sayımı, klorofil-a ve klorofil-c değerlerinde olduğu gibi maksimum karotenoid miktarı 3 L/dk havalandırma hızında ulaşılması beklenen bir sonuçtur (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Farklı havalandırma hızlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için fukoksantin miktarı: (■) 1 L/dk, (♦) 2 L/dk, (▲) 3 L/dk.

Çizelge 4.3'de de analizler sonucu elde edilen kinetik değerler verilmiştir. Hesaplanan kinetik parametreler incelendiğinde spesifik büyüme hızı ve fukoksantin birikim hızı açısından en iyi üretim koşullarının 3 L/dk havalandırma uygulanarak sağlandığı söylenebilir. Bu sayede *P. tricornutum* üretimi için karıştırmanın etkisinin önemli olduğunu göstermektedir. Homojen bir karışım sağlanmasıyla kütle transferi artışı olduğundan hücrelerin besin bileşenlerinden maksimum düzeyde yararlanması sağlanabilmektedir.

Çizelge 4.3. Farklı havalandırma hızlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için elde edilen kinetik değerler.

Üretim Koşulları	Kuru Ağırlık (g L ⁻¹)	Biyokütle Verimliliği (g L ⁻¹ gün ⁻¹)	Spesifik büyüme hızı (μ, gün ⁻¹)	İkilenme süresi (DT, gün)	Fukoksantin miktarı (mg/g hücre)	Fukoksantin birikim hızı (mg L ⁻¹ gün ⁻¹)
1 L/dk	2,98	0,331	0,277	2,49	0,49	0,164
2 L/dk	4,01	0,445	0,266	2,59	0,54	0,241

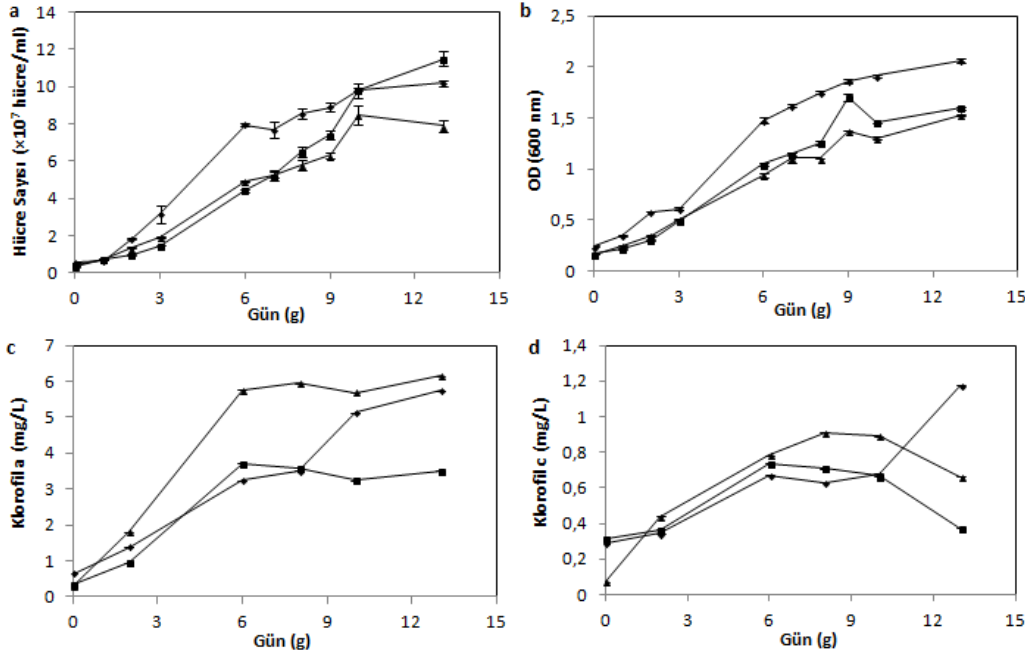
3 L/dk	6,31	1,034	0,336	2,05	0,586	0,411
--------	------	-------	-------	------	-------	-------

Sobzcuk ve arkadaşları tarafından *P. tricornutum*'da karıştırmanın etkisinin belirlenmesi için 5 L'lik karıştırılmalı tank biyoreaktörde deniz tuzunda 1,5 L/dk havalandırma uygulanarak üretim gerçekleştirilmiş ve 150, 250, 350, 450 ve 550 rpm karıştırma hızları uygulanmıştır. Artan karıştırma hızı 450 rpm'e kadar biyokütlede yüksek artışa neden olmuş, 550 rpm de ise hızla düşüş yaşanmıştır. Karıştırmanın üretim için önemli olduğu sonucu bu çalışmada da ortaya konmuştur (Sobzcuk et al., 2006). Diğer bir çalışmada ise karıştırmanın en iyi sonuçta elde edilebilmesi için havalandırmanın kullanımı ile çalkalamalı inkübatör karşılaştırılmıştır. Havalandırma hızı 1 vvm, çalkalama hızı ise 130 rpm olarak uygulanmış ve havalandırma ile karşılaştırma yapılan üretimlerde $1.71 \pm 0.03 \times 10^7$ hücre/ml hücre konsantrasyonuna ulaşılırken çalkalamalı inkübatörde hücre konsantrasyonu $1,23 \pm 0.03 \times 10^7$ hücre/ml olarak bulunmuştur. Bu çalışma, *P. tricornutum* üretiminde havalandırmanın çalkalama işleminden daha iyi sonuç verdiğini göstermektedir (Gomez-Loredo et al., 2016).

4.1.4. Farklı sıcaklık koşullarının *Phaeodactylum tricornutum* üretimine etkisi

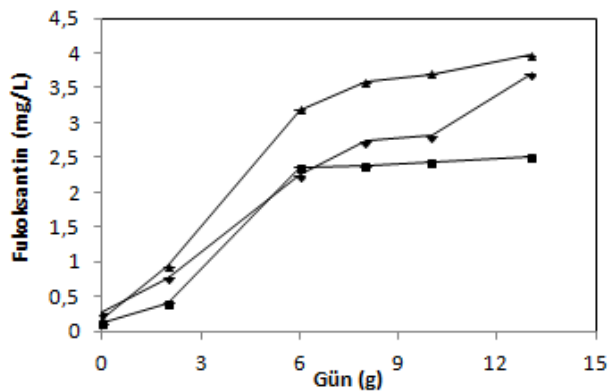
Sıcaklığın *P. tricornutum* üretimi üzerine etkisinin tespit edilmesi için 18, 24 ve 28 °C olmak üzere 3 farklı sıcaklık altında hücreler F/2 besin ortamında belirlenen optimum koşullar altında kültive edilmişlerdir. Üretim sıcaklık kontrollü iklim dolaplarında gerçekleştirilmiş ve 13 günlük kültivasyon gerçekleştirilmiştir. Bu şartlarda gerçekleştirilen üretimler sonunda hücre sayımı sonucu en yüksek değere $11,5 \pm 0,4 \times 10^7$ hücre/ml ile 18 °C'de ulaşılmıştır. Yükselen sıcaklık değerinin hücre büyümesini inhibe edici özellikte olduğu görülmüştür. (Şekil 4.8.a).

Klorofil-a ve klorofil-c değerleri ise hücre sayısından farklılık göstermiştir. Maksimum klorofil-a değeri ($6,14 \pm 0,3$ mg/L) 28 °C'de, klorofil-c değeri ise ($1,17 \pm 0,1$ mg/L) 24 °C'de elde edilmiştir (Şekil 4.8.c, d).



Şekil 4.8. Farklı sıcaklık değerlerinde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için büyüme profili: a) hücre sayısı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı; d) klorofil-c miktarı, (■) 18 °C, (◆) 24 °C, (▲) 28 °C.

Spektrofotometrik analiz sonucunda maksimum fukoksantin miktarı ($3,96 \pm 0,1$ mg/L) 28 °C’de elde edilmiştir. 18 °C’de gerçekleştirilen üretimde yüksek hücre sayısının aksine fukoksantin değeri $2,5 \pm 0,01$ mg/L ile minimum miktarda görülmüştür (Şekil 4.9). Hem hücre sayısı hem de fukoksantin ve klorofil pigmentlerinin günlük değişimlerinin analizi sonucunda, 18 °C sıcaklıkta hücre üremesinin arttığı, 28 °C sıcaklıkta ise karotenoid miktarının arttığı kaydedilmiştir.



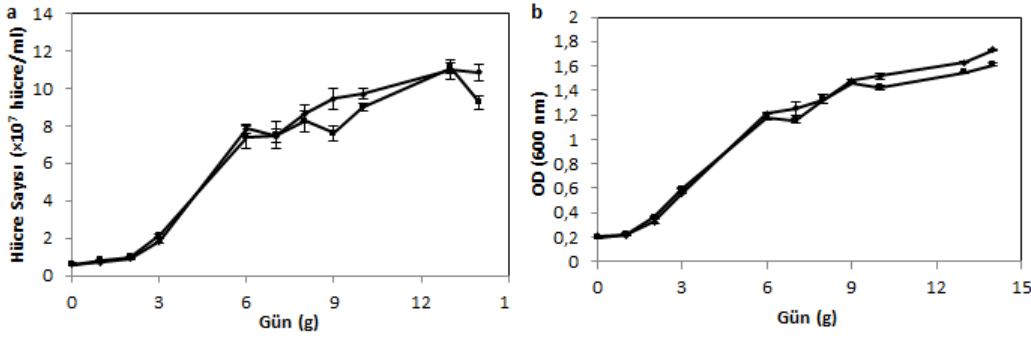
Şekil 4.9. Farklı sıcaklık değerlerinde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için fukoksantin miktarı: (■) 18 °C, (◆) 24 °C, (▲) 28 °C.

Sıcaklığın *P. tricornutum* mikroalginin büyümesi ve karotenoid birikimi üzerine etkisinin incelenmesiyle elde edilen kinetik hesaplamalar Çizelge 4.4’de gösterilmiştir. Spesifik büyüme hızı maksimum 0,229 gün⁻¹ ile 18 °C’de elde edilirken fukoksantin verimliliği en yüksek 28 °C’de 0,305 mgL⁻¹gün⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.4. Farklı sıcaklık değerlerinde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için elde edilen kinetik değerler.

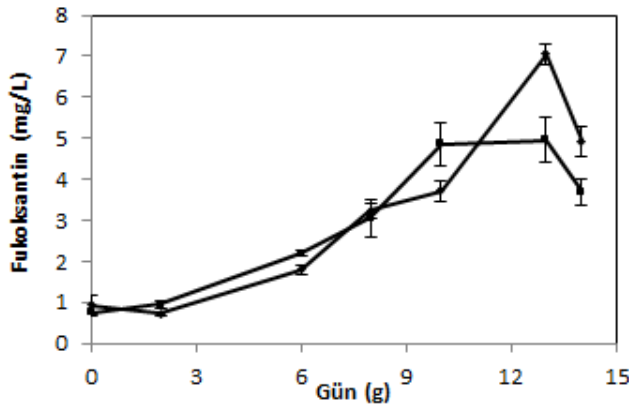
Üretim Koşulları	Kuru Ağırlık (g L ⁻¹)	Biyokütle Verimliliği (g L ⁻¹ gün ⁻¹)	Spesifik büyüme hızı (μ, gün ⁻¹)	İkilenme süresi (DT, gün)	Fukoksantin miktarı (mg/g hücre)	Fukoksantin birikim hızı (mg L ⁻¹ gün ⁻¹)
18 °C	3,18	0,244	0,229	3,01	0,79	0,193
24 °C	2,98	0,229	0,227	3,04	1,242	0,284
28 °C	3,31	0,254	0,161	4,29	1,198	0,305

Fukoksantin primer metabolit olması ve hücre artışıyla doğru orantılı olduğu bilinmektedir. Ancak düşük sıcaklıkta hücre yoğunluğundaki yüksek artışın aksine fukoksantin miktarının yüksek sıcaklıkta daha fazla üretilmesi yeni bir deney setinin kurulmasına sebep olmuştur. Planlanan deneme setinde 2 farklı üretim karşılaştırılmıştır. Bu kapsamda tüm koşullar aynı olacak şekilde, 13 gün boyunca 18 °C’de gerçekleştirilen üretim seti ve ilk 7 gün 18 °C’de takiben 28 °C’de gerçekleştirilen üretim seti olmak üzere 2 deney seti kurulmuştur. Böylece öncelikle hücre konsantrasyonunun arttırılması, ardından hücrelerin fukoksantin üretimi için uyarılmasının etkisi bu planlanan deney ile incelenmiş olacaktır. Bu çalışma sonucunda maksimum hücre yoğunluğu her iki üretim için kültürün 13. gününde $11 \pm 0,4 \times 10^7$ hücre/ml olarak gözlenmiştir. Tüm üretim boyunca hücre yoğunluğu iki koşul için de paralel ilerlemiş sıcaklık değişiminin hücre üremesi üzerine herhangi bir etkisi söz konusu olmamıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Üretim sırasında değiştirilen sıcaklığın büyüme profili üzerine etkisi: a) hücre sayısı; b) türbidite (600 nm), (■)7. gün sonrasında 28°C’de gerçekleştirilen üretim; (◆)13 gün boyunca 18°C’de gerçekleştirilen üretim.

Yüksek ürün verimliliği hedef olan bu tez çalışmasında fukoksantin üretim sonuçları her iki koşul için de değerlendirilmiştir. 8 gün boyunca her iki şişede fukoksantin miktarı birbirine paralel ilerlemiştir. 8. günden sonra 28 °C’ye alınan üretimin fukoksantin miktarında 10. güne kadar artış devam etmiş, ancak bu günden sonra total fukoksantin değişmemiştir. 13. günden sonra ise miktarda artış görülmemiştir. Üretim süresince maksimum fukoksantin miktarı 13. günde $4,95 \pm 0,5$ mg/L olarak elde edilmiştir. Tamamı 18 °C’de sürdürülen üretimde fukoksantin artışı 13. güne kadar devam etmiş, bugünden sonra ise düşüş yaşamıştır. Bu üretimde ulaşılan maksimum fukoksantin miktarı ise $7 \pm 0,2$ mg/L’dir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Üretim sırasında değiştirilen sıcaklığın fukoksantin birikimi üzerine etkisi, (■)7. gün sonrasında 28°C’de gerçekleştirilen üretim; (◆)13 gün boyunca 18°C’de gerçekleştirilen üretim.

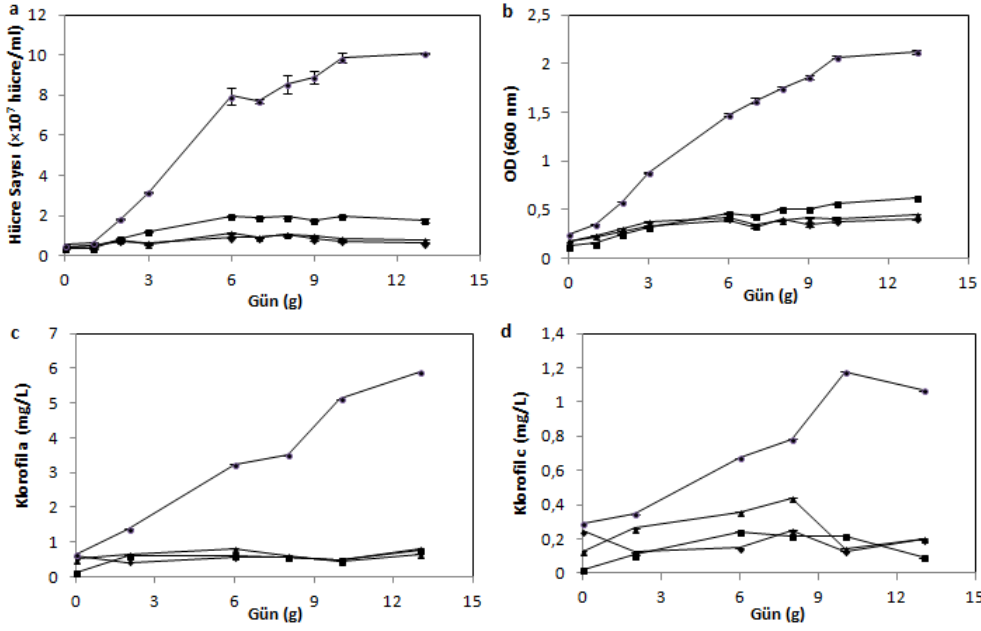
Sıcaklığın *P. tricornutum* hücrelerinde biyokütle ve fukoksantin üretimi üzerine etkisinin belirlenmesi için gerçekleştirilen bu iki deneme sonucunda hem hücre hem karotenoid üretiminin 18 °C’de yüksek verime ulaştığı görülmüştür.

Literatür taraması sonucunda *P. tricornutum*'un düşük sıcaklıklarda daha yüksek büyüme hızına sahip olduğu kaydedilmiştir. Noguera ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada *P. tricornutum* hücreleri F/2 besin ortamı içeren 2 L'lik erlenlerde 3,5 L/dk havalandırma uygulanarak 20 ve 30 °C sıcaklık koşulları denenmiştir. 20 °C'de elde edilen maksimum kuru ağırlık 1,030 mg/mL iken 30 °C'de ancak 0,865 mg/mL kuru biyokütleyle ulaşılmıştır (Noguera et al., 2015). Diğer bir çalışmada ise 500 mL F/2 ortamına alınan hücreler tuzluluk, azot konsantrasyonu, ışık ve sıcaklık etkisi incelenmiştir. Bu amaçla denenilen sıcaklık değerleri 15, 20, ve 25 °C'dir. Spesifik büyüme hızı 25 °C'de 0,96 gün⁻¹ bulunurken 15 °C'de 1,26 gün⁻¹ olarak elde edilmiştir (Qiao et al., 2016). Bu sonuç da bu tez çalışmasında elde edilen sıcaklık sonuçları ile örtüşmektedir.

4.1.5. Farklı stres ortamlarının *Phaeodactylum tricornutum* üretimine etkisi

Üretimde birincil etkenler olan ışık şiddeti, besin ortamı, havalandırma hızı ve sıcaklık değerleri optimize edildikten sonra fukoksantin miktarının besin ortamında oluşturulacak stres koşulları ile değişimi incelenmiştir. Bu amaçla hücreler 45 µE m⁻²s⁻¹ ışık şiddeti altında 3 vvm havalandırma hızında 18 °C'de 13 gün boyunca kültive edilmişlerdir. Ortam stresi oluşturmak için F/2 besin ortamı; azotsuz (N-Free), fosfatsız (P-Free) ve azotsuz-fosfatsız (NP-Free) içerikleriyle hazırlanmış ve kontrol olarak da normal F/2 besin ortamı kullanılmıştır.

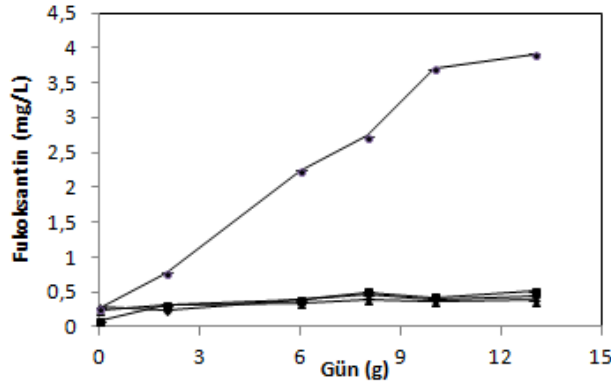
Kültürün başlangıcından itibaren 13 gün boyunca hücre sayısı, türbidite, klorofil-a ve klorofil-c değerleri ortam stresi bulunmayan F/2 besin ortamında yüksek farklılık göstererek maksimum değerlere ulaşmıştır. Kontrol şişesinde hücre sayısı $10 \pm 0,02 \times 10^7$ hücre/ml değerine ulaşırken, ortam stresi uygulanan şişelerde elde edilen maksimum hücre sayısı $1,7 \pm 0,11 \times 10^7$ hücre/ml'dir. Prestegard ve arkadaşları *P. tricornutum* hücrelerini 20 °C'de herhangi bir stres uygulanmayan Walne's besin ortamında 14 gün boyunca kültivasyona bırakmışlar ve maksimum 4×10^7 hücre sayısına ulaşmışlardır. Bu çalışmada ise 2,5 kat daha yüksek hücre sayısına F/2 ortamında ulaşılmıştır. Klorofil-a değeri en yüksek $5,8 \pm 0,02$ mg/L, klorofil-c değeri ise $1,17 \pm 0,1$ mg/L olarak F/2 besin ortamında elde edilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Farklı stres ortamlarının *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı; d) klorofil-c miktarı, (■) N-Free, (◆) P-Free, (▲) NP-Free, (●) Kontrol.

Bu üretimin asıl amacı olan fukoksantin miktarının artırılması, ortam stresi uygulanmasıyla gerçekleşmemiştir. Maksimum fukoksantin değeri kontrol şişesinde (F/2 ortamı) görülmüş ve $3,9 \pm 0,04$ mg/L'ye ulaşmıştır. Stres uygulanan şişelerde fukoksantin değeri birbirine çok yakın olup ortalama 0,4 mg/L'dir (Şekil 4.13).

Goiris ve arkadaşları tarafından 3 farklı mikroalg türünde besin stresinin hücre büyümesi ve karotenoid sentezi üzerine etkisi incelenmiştir. *P. tricornutum* için 1 L'lik cam şişelerde Wright's Cryptophyte (WC) ortamında azot ve fosfor stresi uygulanmış karşılaştırma amacıyla kontrol üretimi de gerçekleştirilmiştir. Optik yoğunluk ile belirlenen büyüme profilinde beklendiği üzere azot ve fosfor stresi uygulanan üretimlerin hücre yoğunluğu kontrol üretiminden daha düşüktür. Ayrıca, stres uygulamasının karotenoid miktarını düşürdüğü görülmüştür. *Phaeodactylum*'da toplam karotenoid miktarı kontrol şişesinde $7,8 \text{ mg.g}^{-1}$, azot stresinde 1 mg.g^{-1} , fosfor stresinde ise $2,7 \text{ mg.g}^{-1}$ DW olarak kaydedilmiştir (Goiris et al., 2015). Bu sonuçlar bu tez çalışması ile paralellik göstermektedir.



Şekil 4.13. Farklı stres ortamlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için fukoksantin miktarı: (■) N-Free, (◆) P-Free, (▲) NP-Free, (●) Kontrol.

Sonuç olarak bu çalışmada, denenen stres uygulaması ürün üretimini negatif etkilemiştir. Üretim sırasında besin eksikliği uygulanarak oluşturulan stres koşullarında *P. tricornutum* hücrelerinde hem biyokütle hem de ürün artışı olmamıştır. Bu durum primer metabolit olan fukoksantin biyokütle artışı ile doğrudan ilişkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Üretim sonucunda elde edilen kinetik değerler Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Farklı stres ortamlarında *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için elde edilen kinetik değerler.

Üretim Koşulları	Kuru Ağırlık (g L ⁻¹)	Biyokütle Verimliliği (g L ⁻¹ gün ⁻¹)	Spesifik büyüme hızı (µ, gün ⁻¹)	İkilenme süresi (DT, gün)	Fukoksantin miktarı (mg/L)	Fukoksantin birikim hızı (mg L ⁻¹ gün ⁻¹)
N-Free	2,91	0,223	0,105	6,58	0,514	0,039
P-Free	2,67	0,205	0,001	390,92	0,462	0,058
NP-Free	2,63	0,202	0,008	80,37	0,396	0,049
Kontrol	9,31	0,716	0,155	4,45	3,912	0,3

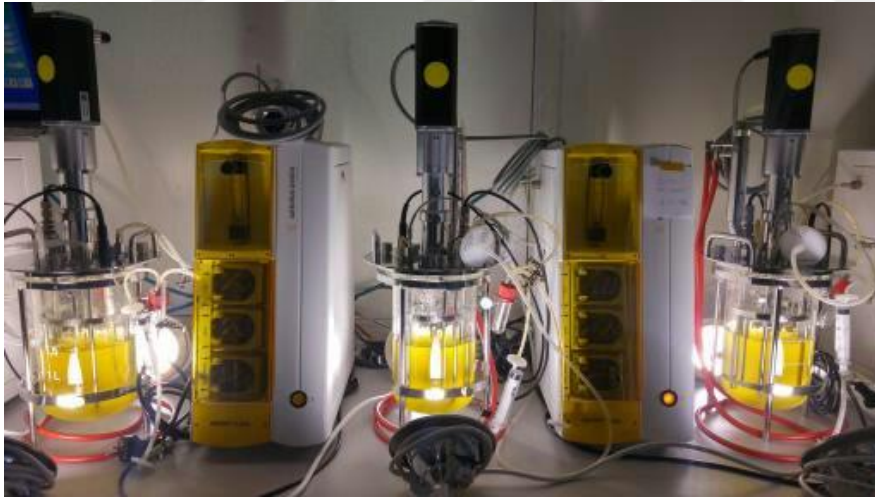
4.2. Fotobiyoreaktör (2 L) Üretimleri

1 L’lik şişelerde *P. tricornutum* hücrelerinin büyüme koşulları optimize edilmiş; sıcaklık, ışık şiddeti, havalandırma hızı ve besin ortamı için en uygun değerler tespit edilmiş ve orta ölçek üretim için ara basamak olan 2 L’lik fotobiyoreaktörlere geçilmiştir. Bu kapsamda, karıştırılmalı tank, hava kaldırmalı ve panel tip fotobiyoreaktör olmak üzere 3 farklı fotobiyoreaktörde denemeler

gerçekleştirilmiştir. Her bir fotobiyoreaktör denemesinde ölçek büyütme teorilerinden “sabit karışma süresi (t_m)”, “sabit hacimsel güç tüketimi (P/V)” ve “sabit oksijen transfer katsayısı (k_{La})” teorileri dikkate alınarak 3 farklı üretim yapılmış ve alınan örneklerle üretimler hücre ve ürün verimliliği açısından karşılaştırılmıştır.

4.2.1. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi

Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörlerde *P. tricornutum* üretimi için küçük ölçek üretim koşulları baz alınarak 3 farklı ölçek büyütme teorisinin (sabit P/V , sabit t_m , sabit k_{La}) hücre ve ürün verimliliği üzerine etkisi araştırılmıştır. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörlerde *P. tricornutum* hücreleri optimum sıcaklık değeri olan 18 °C’de ve 1,6 L çalışma hacminde üretilmişlerdir. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörlerde ölçek büyütme işlemlerinde ışık şiddetinin belirlenmesinde birim hacimde sabit ışık enerjisi teorisi kullanılmıştır (Bölüm 3.2.6). Buna göre, *P. tricornutum* için $50 \mu E.m^{-2}.s^{-1}$ ışık şiddetinde led ışık sistemleri kullanılmıştır.



Şekil 4.14. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* üretimleri.

1 L’lik şişelerden elde edilen üretim sonuçları baz alınarak uygulanan ölçek büyütme teorilerine göre (Bölüm 3.2.4.1) kullanılan havalandırma ve karıştırma hızları Çizelge 4.6’da verilmiştir.

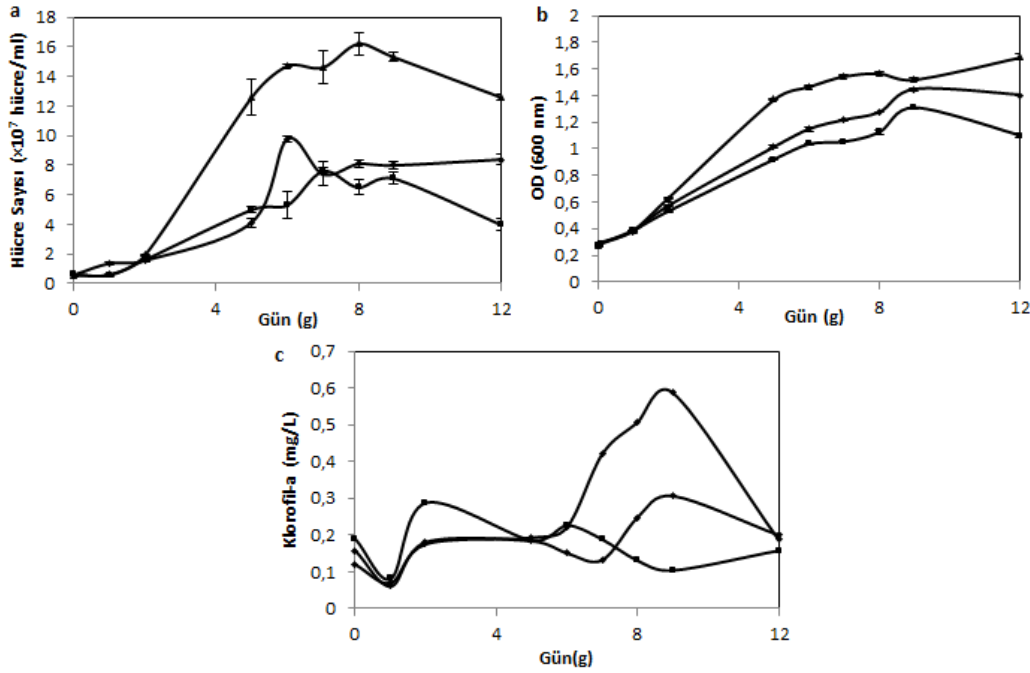
Çizelge 4.6. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörlerde *Phaeodactylum tricornutum* için kullanılan havalandırma ve karıştırma hızları.

Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörler (1,6 L)				
	Sabit karışma süresi ($t_m = 10$ s)	Sabit tüketim hızı ($P/V = 93.38$ W/m ³)	hacimsel	Sabit oksijen kütle transfer katsayısı ($k_{La} = 0.002$ s ⁻¹)
Karıştırma hızı (rpm)	75	170		50
Havalandırma hızı (L/dak)	0,5	1		0,4

12 günlük üretim sırasında karıştırılmalı tank fotobiyoreaktör çalışmalarında maksimum hücre sayısına sabit P/V teorisinde $16,2 \pm 0,8 \times 10^7$ hücre/ml, sabit t_m teorisinde $9,8 \pm 0,2 \times 10^7$ hücre/ml ve sabit k_{La} teorisinde $7,6 \pm 0,2 \times 10^7$ hücre/ml ulaşılmıştır (Şekil 4.15.a). Benzer olarak aynı sürede en yüksek türbidite değeri $1,691 \pm 0,028$ olup bu değer sabit P/V teorisinin kullanıldığı fotobiyoreaktörde kaydedilmiştir (Şekil 4.15.b). Büyümeyle doğrudan ilişkili olan klorofil-a miktarı HPLC analizi sonucunda belirlenmiş ve büyüme profilinden farklı bir durum ortaya çıkmıştır. Kültürün süresince maksimum klorofil-a miktarı sabit t_m parametresiyle gerçekleştirilen üretimde $0,59 \pm 0,01$ mg/L olarak elde edilmiştir. Kültürün son günündeyse her 3 üretim için klorofil-a miktarı birbirine çok yakındır (Şekil 4.15.c).

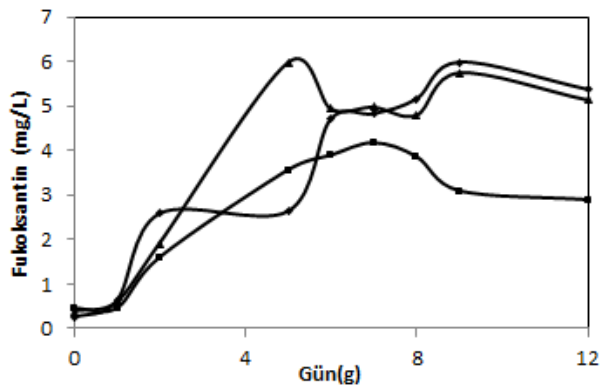
Sobzcuk ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada mekanik karıştırmanın *P. tricornutum* hücreleri üzerine etkisinin incelenmesi için karıştırılmalı tank biyoreaktörde üretim yapılmıştır. 5 L'lik reaktörde gerçekleştirilen üretimde deniz tuzu ile hazırlanan besin ortamında 1,5 L/dk hızında CO₂ içeren havalandırma ile 5 farklı karıştırma hızı uygulanmıştır. Artan karıştırma hızı ile bir noktaya kadar spesifik büyüme hızı ve biyokütle konsantrasyonu artmıştır. Ancak sonrasında havalandırmanın da etkisiyle hücreler kayma gerilimine maruz kalmış ve üretim verimi kısıtlanmıştır. Karıştırmanın optimum olduğu değerlerde hücre yoğunluğu nedeniyle aydınlık ve karanlık olan bölgeler arasında geçişler homojen sağlandığından hücrelerin karanlık bölgelerde bulunduğu sürenin son derece kısa olduğu görülmüştür (Sobzcuk et al., 2006). Ayrıca bu tez çalışmasında da olduğu gibi iyi bir karışmanın sağlandığı

üretimlerde işi yapıdaki hücrelerin bulunduğu daha baskın popülasyonda üredikleri sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 4.15. Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı, (▲) sabit P/V, (◆) sabit t_m , (■) sabit k_{La} .

Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde gerçekleştirilen *P.tricornutum* mikroalginin ana karotenoidi olan fukoksantinün kültür süresince değişimi Şekil 4.16'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 3 farklı fotobiyoreaktörden en yüksek fukoksantin miktarı $5,98 \pm 0,15$ mg/L olarak sabit P/V teorisinin kullanıldığı üretimde elde edilmiştir. Sabit k_{La} teorisinde fukoksantin miktarı diğer üretimlere göre daha düşük miktarda kaydedilmiştir. (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin fukoksantin üretimi, (▲) sabit P/V, (◆) sabit t_m , (■) sabit k_{La} .

Çizelge 4.7’de karıştırmalı tank fotobiyoreaktörlerde *P. tricornutum* için elde edilen kinetik değerler verilmiştir. Maksimum spesifik büyüme hızı ve minimum ikilenme süresi sabit P/V teorisi kullanılarak gerçekleştirilen üretimde elde edilmiştir. Bu sonuçlara paralel olarak biyokütle verimliliği de maksimum $0,56 \text{ g L}^{-1}\text{gün}^{-1}$ değeriyle elde edilmiştir. (Çizelge 4.7). Hesaplanan tüm kinetik değerler açısından sabit P/V teorisi kullanılarak gerçekleştirilen üretimler en iyi sonuçları vermiştir.

Çizelge 4.7. Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* için hesaplanan kinetik değerler.

Ölçek	Kuru	Biyokütle	Spesifik	İkilenme	Fukoksantin	Fukoksantin
Büyütme	ağırlık	verimliliği	büyüme	süresi	Miktarı	birikim hızı
Teorisi	(g L^{-1})	($\text{g L}^{-1}\text{gün}^{-1}$)	hızı	(DT, gün)	(mg/g hücre)	($\text{mg L}^{-1}\text{gün}^{-1}$)
			($\mu, \text{gün}^{-1}$)			
P/V	3,92	0,56	0,462	1,5	2,902	1,196
t_m	2,54	0,362	0,166	4,17	2,81	0,66
k_{La}	3,3	0,471	0,429	1,62	1,262	0,59

Chlorella vulgaris mikroalgi ile gerçekleştirilen ölçek büyütme çalışmalarından birinde 250 mL’lik erlenlerde üretim gerçekleştirilmiş ve ardından sabit k_{La} ve sabit Reynold’s sayısı stratejileri kullanılarak 2 L’lik karıştırmalı tank fotobiyoreaktörlere geçiş yapılmıştır. Ancak fotobiyoreaktör üretimlerinde hem hücre sayısı, hem biyokütle verimliliği açısından erlen üretimlerine oranla çok daha düşük sonuçlar elde edilmiştir. Bu durumda en büyük etkinin artan üretim hacminin ışıklandırma verimini düşürmesi olduğu belirtilmiştir. Küçük hacme göre klorofil değerinin de fotobiyoreaktörde yüksek olması zayıf ışık tezini doğrulamaktadır (Yuvraj et al., 2016). Bu çalışmada ise 2 L’lik üretimlerde küçük hacme oranla yüksek hücre ve biyokütle verimi elde edilmiştir. Bu ölçek büyütme parametrelerinin başarıyla gerçekleştirildiğini göstermiştir.

Çizelge 4.8’de karıştırmalı tank fotobiyoreaktörlerde gerçekleştirilen *P. tricornutum* üretimi sırasında hesaplanan hidrodinamik parametreler verilmiştir. Görüldüğü gibi sabit t_m , sabit P/V ve sabit k_{La} teorilerinin hepsinde reaktör içi sıvı hareketi türbülanslıdır. Karıştırıcı hızına göre değişen bıçak ucu hızları türbülans

akışın oluşturulması ve homojenitenin sağlanması için önemli olup en yüksek sabit P/V teorisinde oluşmuştur.

Çizelge 4.8. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* için hesaplanan hidrodinamik parametreler

	Sabit t_m	Sabit P/V	Sabit $k_L a$
N_i (rpm)	75	170	50
Q ($m^3 s^{-1}$)	$8,33 \times 10^{-6}$	$1,67 \times 10^{-5}$	$6,67 \times 10^{-6}$
Re	5910,19	13396,44	3940,13
V_{tip} (m/s)	1,25	2,83	0,83
Fr	$8,44 \times 10^{-4}$	$43,37 \times 10^{-4}$	$3,75 \times 10^{-4}$
N_p	3,93	3,99	3,91
Po (W)	$3,23 \times 10^{-8}$	$3,80 \times 10^{-7}$	$9,51 \times 10^{-9}$
Pg (W)	$1,29 \times 10^{-7}$	$1,19 \times 10^{-6}$	$4,15 \times 10^{-8}$
ε ($W kg^{-1}$)	$2,16 \times 10^{-4}$	$2,54 \times 10^{-3}$	$6,36 \times 10^{-5}$
λ (m)	$9,97 \times 10^{-4}$	$5,38 \times 10^{-4}$	$1,35 \times 10^{-3}$
γ (s^{-1})	12,50	28,33	8,33
τ ($N m^{-2}$)	0,075	0,169	0,049

V_{tip} bıçak ucu hızı; Fr Froude sayısı; N_p güç sayısı; ε birim hacim sıvı başına enerji dağıtım hızı; λ Kolmogorov edi boyutu; γ kayma hızı; τ kayma gerilimi.

Camacho ve arkadaşları tarafından son derece hassas bir dinoflegellat türü olan *Protoceratium reticulatum* ile karıştırılmalı tank biyoreaktörde ölçek büyütme çalışması gerçekleştirilmiştir. Ölçek büyütme stratejisi olarak karışma zamanı ve bıçak ucu hızı uygulanmıştır. Karışma zamanı kriterinin seçilmesinde bu tez çalışmasında olduğu gibi homojen bir üretim ortamı oluşturulması, böylece kütle ve ısı transferinin optimizasyonu dikkate alınmıştır. Bıçak ucu hızı ise kayma gerilimine karşı hassas olan mikroalgler için uygundur. Yapılan çalışmalar sonucunda mikroalglerin kayma gerilimine karşı hassasiyeti yeşil algler < mavi-yeşil algler < diatomlar < dinofilagellatlar şeklinde sıralanmıştır (Bajpai et al., 2014). *P. reticulatum* ile 2 L'lik karıştırılmalı tank reaktörde yapılan üretimde 50 rpm karıştırma hızı ideal olarak belirlemiştir (Camacho et al., 2011). Kayma gerilimine daha dayanıklı olan *P. tricornutum* için daha yüksek karıştırma hızlarının strese neden olmayacağı söylenebilir.

4.2.2. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi

Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörlerde *P. tricornutum* üretimi için küçük ölçek üretim koşulları baz alınarak 3 farklı ölçek büyütme teorisinin (sabit P/V , sabit t_m , sabit k_{La}) hücre ve ürün verimliliği üzerine etkisi araştırılmıştır. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde *P. tricornutum* hücreleri 18°C sabit sıcaklıkta ve 1,6 L çalışma hacminde üretilmişlerdir. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörlerde ölçek büyütme işlemlerinde ışık şiddetinin belirlenmesinde birim hacimde sabit ışık enerjisi teorisi kullanılmıştır (Bölüm 3.2.6). Buna göre, *P. tricornutum* için $30 \mu E.m^{-2}.s^{-1}$ ışık şiddetinde floresan sistemleri kullanılmıştır. (Şekil 4.17).



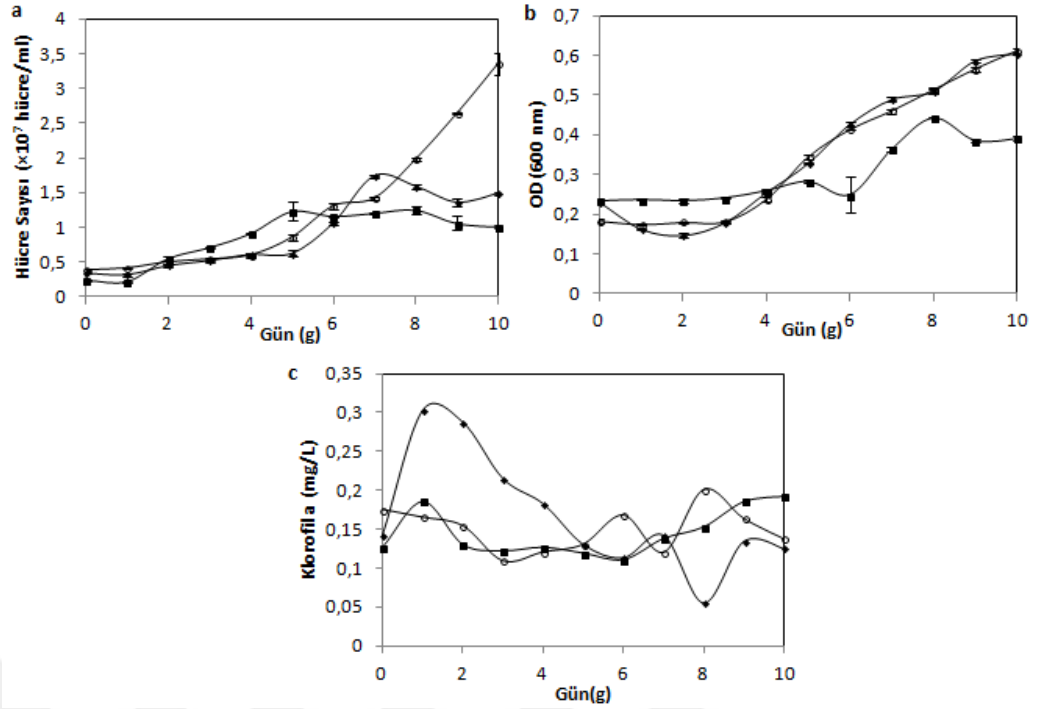
Şekil 4.17. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* üretimleri

1 L'lik şişelerden elde edilen üretim sonuçları baz alınarak uygulanan ölçek büyütme teorilerine (Bölüm 3.2.4.2) göre kullanılan havalandırma hızları Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Hava kaldırılmalı fotobiyoreaktörlerde *Phaeodactylum tricornutum* için kullanılan havalandırma hızları.

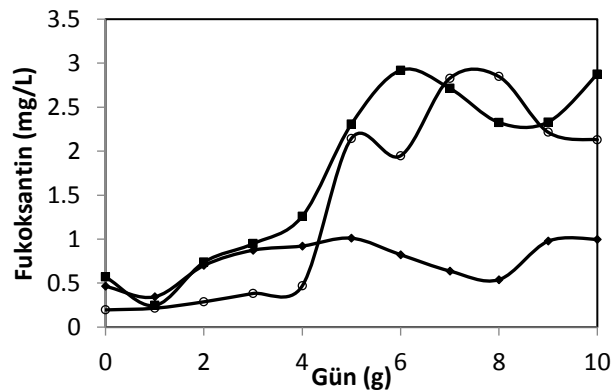
Hava kaldırılmalı fotobiyoreaktörler (1,6 L)			
	Sabit karışma süresi ($t_m = 10$ s)	Sabit hacimsel tüketim hızı ($P/V = 93.38$ W/m ³)	Sabit oksijen transfer kütlesel sayısı ($k_{La} = 0.002$ s ⁻¹)
Havalandırma hızı (L/dak)	2,14	1,82	1,3

Hava kaldırılmalı fotobiyoreaktörde 10 günün sonunda hücre sayısı için sabit t_m teorisiyle gerçekleştirilen çalışmada $3,36 \pm 0,16 \times 10^7$ hücre/mL, sabit P/V teorisiyle gerçekleştirilen çalışmada $1,49 \pm 0,02 \times 10^7$ hücre/mL, sabit k_{La} teorisinin uygulandığı çalışmada ise $1,01 \pm 0,03 \times 10^7$ hücre/mL değerlerine ulaşılmıştır (Şekil 4.18.a). Benzer şekilde türbidite değerleri sabit t_m teorisiyle gerçekleştirilen çalışmada $0,6 \pm 0,09$, sabit P/V teorisiyle gerçekleştirilen çalışmada ise $0,614 \pm 0,025$ ve sabit k_{La} teorisiyle gerçekleştirilen çalışmada $0,391 \pm 0,05$ olarak belirlenmiştir (Şekil 4.18.b). Görüldüğü üzere sabit t_m 'nin benimsendiği üretim hücre yoğunluğu açısından yüksek değer göstermiştir. Türbidite değerlerinde sabit P/V ile sabit t_m teorilerinin izlendiği üretimlerin yakın değer göstermesi kültür ortamındaki parçalanmış hücrelerin etkisi olarak yorumlanabilir. *P. tricornutum*'da başlıca pigmentlerden biri olan klorofil-a miktarı da sabit t_m teorisinde $0,125 \pm 0,08$ mg/L, sabit P/V teorisinde $0,193 \pm 0,1$ mg/L ve sabit k_{La} teorisinde $0,138 \pm 0,05$ mg/L'dir. Üretim süresi boyunca klorofil-a miktarlarında çok büyük değişiklik görülmemektedir (Şekil 4.18.c).



Şekil 4.18. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı, (■) sabit k_{LA}, (o) sabit t_m, (♦) sabit P/V.

P. tricornutum üretimi sırasında önemli olan fukoksantin pigmentinin üretimi günlük alınan örneklerle HPLC’de analiz edilerek sonuçlar Şekil 4.19.’da verilmiştir. Hücre sayısı ile paralellik gösteren fukoksantin miktarı beklendiği gibi sabit k_{LA} teorisiyle gerçekleştirilen üretimde 0,99±0,04 mg/L olarak elde edilmiştir. Sabit t_m ve sabit P/V teorilerinde 10 gün boyunca benzer değişimler gözlenmiş ve son gün t_m teorisi üretiminde 2,129±0,1 mg/L, P/V teorisi üretiminde ise 2,875±0,08 mg/L fukoksantin pigmenti olduğu belirlenmiştir. (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin fukoksantin üretimi: (■) sabit k_{LA}, (o) sabit t_m, (♦) sabit P/V.

Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde diatom ve diğer mikroalg türleri ile gerçekleştirilen çalışmalarda, reaktörün çıkış ve iniş borusundaki sıvılar arasında yoğunluk farkı olduğu gözlenmiştir. Bu fark dolayısıyla akış hareketi desteklenmekte ve iki bölge arasında geçiş daha hızlı gerçekleşmektedir. Böylelikle hücreler ışık şiddetinden yeteri kadar faydalanabilmektedir. Ancak başlangıç hücre konsantrasyonunun yüksek olması ya da üretimin ilerleyen sürecinde yüksek hücre yoğunluklarına ulaşılması durumlarında hücrelerin reaktörün alt kısmına çöktüğü görülmüştür. Bu durumun ve düşük verim elde edilen fotobiyoreaktörlerdeki temel sorunun, reaktördeki çekiş borusunun konfigürasyonundan kaynaklandığı belirtilmiştir (Chiu vd., 2009; Krichnavaruk vd., 2005). Bu tez kapsamında gerçekleştirilen hava kaldırmalı fotobiyoreaktör üretimlerinde de benzer sonuçlarla karşılaşmıştır (Şekil 4.20). Reaktördeki çekiş borusunun boyutlarında optimizasyon yapılması bu sorunu ortadan kaldırabilir.



Şekil4.20. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin çökmesi sorunu

Çizelge 4.10’da *P. tricornutum* ile hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde gerçekleştirilen 3 farklı üretimin kinetik parametreleri verilmiştir. Hem spesifik büyüme hızı hem de birim hücre başına ürün birikimi dikkate alındığında en iyi sonuca sabit P/V teorisinde ulaşıldığı görülmektedir. Asıl önemli olan fukoksantin göz önünde bulundurulduğunda da kuru ağırlık bazında gram hücre başına üretilen fukoksantin miktarı 1,001 mg/g hücre ile en yüksek sabit P/V teorisinin benimsendiği üretimde elde edilmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* için hesaplanan kinetik değerler.

Ölçek	Kuru	Biyokütle	Spesifik	İkilenme	Fukoksantin	Fukoksantin
Büyütme	ağırlık	verimliliği	büyüme hızı	süresi	Miktarı	birikim hızı
Teorisi	(g L ⁻¹)	(g L ⁻¹ gün ⁻¹)	(μ, gün ⁻¹)	(DT, gün)	(mg/g hücre)	(mg L ⁻¹ gün ⁻¹)
P/V	2,87	0,287	0,27	2,56	1,001	0,2875
t _m	3	0,3	0,238	2,91	0,709	0,2129
k _{L,a}	2,14	0,214	0,137	5,04	0,466	0,0997

Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörler tübüler fotobiyoreaktör çeşitlerinden biri olup farklı tasarımlarda geliştirilen tipleri de mevcuttur. Literatürde karşılaşılan bir çalışmada kabarcık kolon, çekiş boru hava kaldırmalı ve split silindir hava kaldırmalı 3 farklı tübüler fotobiyoreaktör tipi *P. tricornutum* üretimi için denenerek en uygun olanı seçilmiştir. 60 L'lik reaktörlerde gerçekleştirilen üretimlerde kabarcık kolon fotobiyoreaktör biyokütle verimliliği açısından en verimli olarak belirlenmiştir. Burada en büyük etkenin yüksek hücre yoğunluğunda diğer iki reaktör tipinde karanlık bölgelerin daha yüksek oranda oluşmasıyla hücre büyümesini sınırlandırması olarak yorumlanmıştır (Miron et al., 2002). Benzer şekilde bu tez çalışmasında da, 2 L'lik hava kaldırmalı fotobiyoreaktörlerde gerçekleştirilen üretimler sırasında karıştırmalı tank fotobiyoreaktörlere ve küçük hacimdeki şişelere oranla daha düşük büyüme hızının görülmesi bu diatom türü için bu fotobiyoreaktör tipinin tasarımsal uygunsuzluğunu göstermiştir.

P. tricornutum mikroalgi ile 3 farklı ölçek büyüme teorisi kullanılarak hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda elde edilen hidrodinamik parametreler ve ortam reolojisi Çizelge 4.11'de gösterilmiştir. Fotobiyoreaktör içerisinde gerçekleşen sıvı hareketi her 3 üretimde de laminar akış olarak kaydedilmiştir. Önceki çalışmalarda hücreler için karıştırmanın önemli bir parametre olduğu ve yüksek karışma sağlanan kültürlerde üreme hızının arttığı görülmüştür. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörlerde ise karıştırmanın etkili gerçekleşmemesi biyokütle verimliliği ve fukoksantin üretiminin düşük miktarlarda sonuçlanmasına neden olmuştur. Fotobiyoreaktörde oluşan mikroedilerin boyutu (186-196 μm) *P. tricornutum* hücrelerinin boyutundan (25-

35 μm) oldukça büyüktür. Bu durum hücrelerin maruz kalacağı kayma geriliminin daha düşük olmasını sağlamaktadır.

Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörler için 3 farklı teori arasındaki farkın havalandırma hızı olmasından dolayı önemli olan parametrelerden biri yüzeysel gaz hızıdır. Conteras ve arkadaşları tarafından *P. tricornutum* için CO_2 kütle transferinin, ışıklandırma veriminin ve hidrodinamik stresin büyüme üzerine etkisi incelenmiştir. Burada elde edilen önemli sonuçlardan biri biyokütle konsantrasyonun 0,05-0,06 m/s yüzeysel gaz hızlarında en iyi değere ulaştığının rapor edilmesidir (Contreras et al., 1988). Bu tez çalışmasında da en yüksek spesifik büyüme hızına 0,061 m/s yüzeysel gaz hızına sahip olan “sabit P/V” teorisinde ulaşılmıştır.

Çizelge 4.11. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için hidrodinamik parametreler ve sıvı reolojisi.

Sıvı reolojisi ve Hidrodinamik parametreler	Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörler (1,6 L)		
	Sabit t_m	Sabit P/V	Sabit $k_L a$
ρ (kg/m^3)	1004,88	1004,88	1004,88
η (Pa.s)	0,006	0,006	0,006
ν (m^2/s)	$5,97 \times 10^{-6}$	$5,97 \times 10^{-6}$	$5,97 \times 10^{-6}$
Q (m^3/s)	$3,56 \times 10^{-5}$	$3,03 \times 10^{-5}$	$2,17 \times 10^{-5}$
Re	2125,57	2008,33	1780,65
U_L (m/s)	0,528	0,499	0,443
U_g (m/s)	0,071	0,061	0,043
ϵ	0,052	0,045	0,031
v_s (m/s)	0,364	0,309	0,221
C_f	0,0075	0,0079	0,0089
ξ (W kg^{-1})	0,175	0,166	0,145
λ (μm)	186	189	196
γ (s^{-1})	356,67	303,33	215
τ (Pa)	2,14	1,82	1,29
P_G (W)	0,176	0,149	0,106

Sonuç olarak *P. tricornutum* için hava kaldırmalı biyoreaktörde gerçekleştirilen üretimlerde fukoksantin ve pigment içeriği baz alınarak

sabit P/V teorisinin uygulanabileceğine karar verilmiştir. Hücrelerin spesifik büyüme hızı ve fukoksantin birikim hızı da sabit P/V parametresi uygulanan fotobiyoreaktörde maksimum elde edilmiştir.

4.2.3. Panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi

P. tricornutum için küçük ölçek üretim koşulları baz alınarak 3 farklı ölçek büyütme teorisinin (sabit P/V, sabit t_m , sabit k_{LA}) hücre ve ürün verimliliği üzerine etkisi panel fotobiyoreaktörde araştırılmıştır. *P. tricornutum* hücreleri optimum sıcaklık değeri olan 18 °C’de ve 1,6 L çalışma hacminde 7 gün boyunca üretilmişlerdir. Panel fotobiyoreaktörlerde ölçek büyütme işlemlerinde ışık şiddetinin belirlenmesinde birim hacimde sabit ışık enerjisi teorisi kullanılmıştır (Bölüm 3.2.6). Buna göre, *P. tricornutum* için $55 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ ışık şiddetinde led ışık sistemleri kullanılmıştır (Şekil 4.20). Panel fotobiyoreaktörde gerçekleşen buharlaşmadan ve hücrelerin göstermiş olduğu büyüme özelliklerinden dolayı 7. günün sonunda üretim durdurulmuştur.



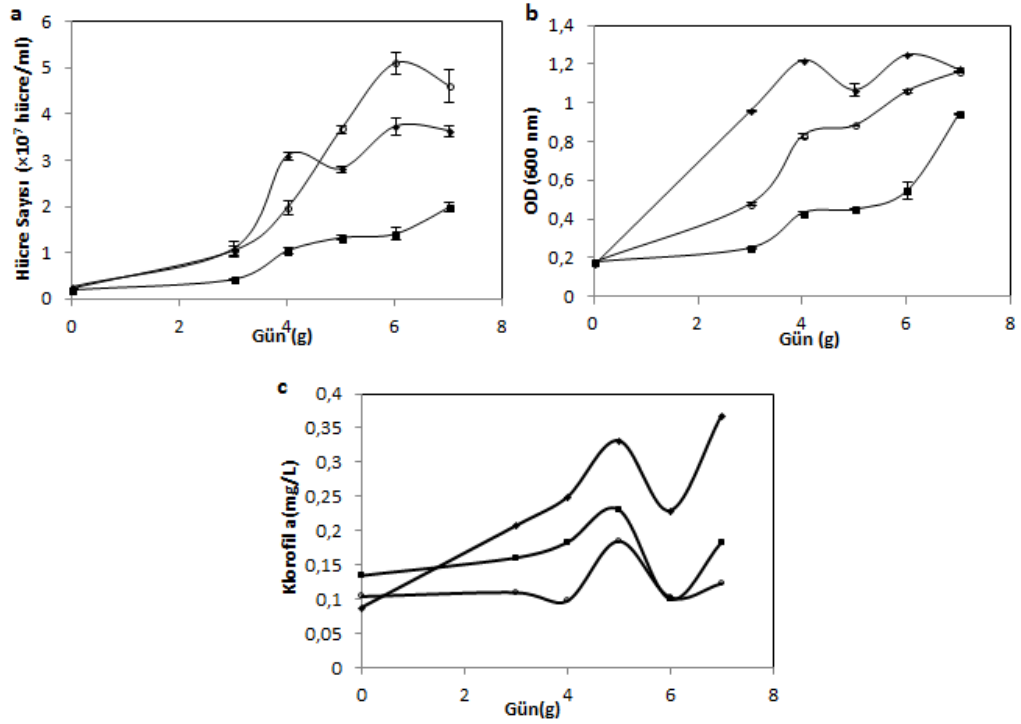
Şekil 4.21. Panel fotobiyoreaktörlerde *Phaeodactylum tricornutum* üretimleri

Panel fotobiyoreaktörlerde gerçekleştirilen üretimlerde uygulanan ölçek büyütme teorilerine (Bölüm 3.2.4.3) göre kullanılan havalandırma hızları Çizelge 4.12’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.12. Panel fotobiyoreaktörlerde *Phaeodactylum tricornutum* için kullanılan havalandırma hızları.

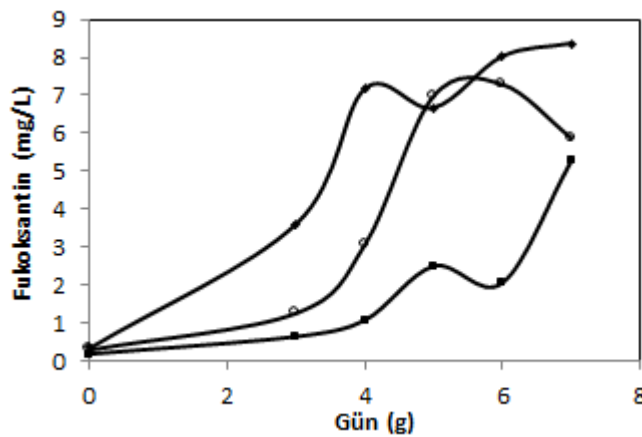
Panel fotobiyoreaktörler (1,6 L)			
	Sabit karışma süresi ($t_m = 10$ s)	Sabit hacimsel tüketim hızı ($P/V = 93.38$ W/m ³)	Sabit oksijen transfer kütle sayısı ($k_{La} = 0.002$ s ⁻¹)
Havalandırma hızı (L/dak)	4	5,3	6,5

Mevcut üretimler için 7 gün boyunca günlük yapılan hücre sayımı, türbidimetri ve pigment analizleri sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4.21'de gösterilmiştir. Tüm üretimlere $0,2 \times 10^7$ hücre/ml hücre sayısı ile başlanmıştır. 7. gün sonunda hücre sayılarının, sabit t_m teorisinde $4,62 \pm 0,34 \times 10^7$ hücre/ml; sabit k_{La} teorisinde $2 \pm 0,1 \times 10^7$ hücre/ml ve sabit P/V teorisinde $3,64 \pm 0,12 \times 10^7$ hücre/ml olduğu görülmüştür. Türbidimetrik ölçümlerde de hücre sayımıyla paralel sonuçlar elde edilmiş, 7. gün sonunda ise t_m ve P/V teorilerinin üretiminde birbirine çok yakın değerlere ($1,162 \pm 0,05$ ve $1,173 \pm 0,08$) ulaşılmıştır (Şekil 4.21.b). Klorofil-a miktarı, sabit t_m teorisiyle gerçekleştirilen üretimde $0,123 \pm 0,04$ mg/L; sabit k_{La} teorisiyle gerçekleştirilen üretimde $0,183 \pm 0,07$ mg/L ve sabit P/V teorisinde ise yüksek bir farkla $0,367 \pm 0,1$ mg/L olarak sonuçlanmıştır (Şekil 4.21.c).



Şekil 4.22. Panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin büyüme profili: a) hücre sayımı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı, (■) sabit k_{LA} , (○) sabit t_m , (◆) sabit P/V .

Fukoksantin analizinin sonucunda en yüksek miktar $8,35 \pm 0,2$ mg/L ile sabit P/V teorisinin uygulandığı üretimde elde edilmiştir. Bunu $5,87 \pm 0,16$ mg/L ile sabit t_m ve $5,27 \pm 0,1$ mg/L ile sabit k_{LA} teorisiyle gerçekleştirilen üretimler izlemektedir. Üretim süresince fukoksantin miktarındaki değişim hücre sayımı ile paralellik göstermiştir. Ürün verimliliği açısından panel fotobiyoreaktörde elde edilen bu yüksek fukoksantin miktarları fotobiyoreaktörün yüzey alanı/hacim oranının yüksek olması ve ışıktan faydalanmanın en iyi şekilde gerçekleşmesi şeklinde yorumlanmıştır (Şekil 4.22).



Şekil 4.23. Panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin fukoksantin üretimi: (■) sabit k_La , (o) sabit t_m , (♦) sabit P/V.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen kinetik parametreler Çizelge 4.13’de verilmektedir. Hücrelerin spesifik büyüme hızı en yüksek sabit P/V teorisinde $0,412 \text{ gün}^{-1}$ olarak kaydedilmiştir. Buna bağlı olarak ikilenme süresi de en kısa 1,68 gün ile P/V teorisinde elde edilmiş, sabit k_La 1,83 gün, sabit t_m ise 1,87 gün değerlerini vermiştir. Büyük ölçeğe geçişte en önemli bileşen olan fukoksantin miktarı göz önünde bulundurulduğunda hem kuru hücre bazında hem de zamana bağlı olarak birikim hızında en iyi sonuçlara sabit P/V teorisinde ulaşılmıştır. Literatürde rastlanan *P. tricornutum* çalışmalarından birinde 5 L’lik panel fotobiyoreaktör üretimi sırasında bu fotobiyoreaktör tipi için en önemli değişken olan havalandırma hızının etkisi incelenmiş; 0,33, 0,5 ve 0,66 vvm havalandırma hızları uygulanmıştır. Optimum havalandırma hızı 0,5 vvm olarak belirlenmiş, 0,66 vvm havalandırma uygulanan üretimde karıştırma hızı yüksek olsa da köpük oluşumu ve buharlaşma sorunları ortaya çıktığından biyokütle verimi düşmüştür (Meiser et al., 2004).

Çizelge 4.13. Panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* için hesaplanan kinetik değerler.

Ölçek	Kuru	Biyokütle	Spesifik	İkilenme	Fukoksantin	Fukoksantin
Büyütme	ağırlık	verimliliği	büyüme	süresi	Miktarı	birikim hızı
Teorisi	(g L^{-1})	($\text{g L}^{-1}\text{gün}^{-1}$)	hızı	(DT, gün)	(mg/g hücre)	($\text{mg L}^{-1}\text{gün}^{-1}$)
			($\mu, \text{gün}^{-1}$)			
P/V	3,76	0,537	0,412	1,68	2,221	1,193
t_m	3,52	0,503	0,37	1,87	1,668	0,839
k_La	4,61	0,658	0,378	1,83	1,144	0,754

Panel fotobiyoreaktörde gerçekleşen üretimler sırasında sıvı reolojisi ve hidrodinamik parametreler hesaplanmış ve Çizelge 4.14’de gösterilmiştir. Bu reaktör tipinde önemli parametrelerden biri gazın alıkonma süresidir. Bu süre ne kadar uzunsa reaktöre beslenen havanın o kadar uzun süre sistemde korunduğu söylenebilir. Pilot ölçekte panel fotobiyoreaktörlerin karışım özelliklerinin belirlenmesi için gerçekleştirilen bir çalışmada akış dinamiği ve hidrodinamik parametreler incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda havalandırma hızındaki artışın gaz alıkonma süresini ve hacimsel kütle transfer katsayısını arttırdığı görülmüştür.

Bu durum karıştırmanın da daha etkili gerçekleşmesine neden olmuştur (Sierra et al., 2008). Çizelge 4.14’de görüldüğü üzere en yüksek gaz alıkonma süresi 0,032 ile sabit P/V stratejisi uygulanan reaktörde görülmüştür. Bu reaktörde karışma ve diffüzyonun iyi sağlanmasıyla hücrel metabolik faaliyetlerin ürün verimini arttırdığı söylenebilir. Ölçek büyütme parametresi olarak seçilen stratejiler temelde birbiriyle ilişkili olan değişkenlerdir. Panel fotobiyoreaktörlerde değişen havalandırma hızıyla yüzeysel gaz hızı önemli bir bileşen haline gelmektedir. Velarde ve arkadaşları tarafından panel fotobiyoreaktörde meydana gelen akış profili ve sıvı reolojisi incelenmiştir. Yüzeysel gaz hızında görülen artış üretim sıvısının daha kısa sürede homojenize olmasını sağlamış, karışma zamanını (t_m) azaltmıştır. Ancak belirli bir noktadan sonra gaz hızının artışının etkisi olmadığı aksine gereksiz enerji kaybına neden olduğu belirlenmiştir. Gaz transfer katsayısı(k_La) ile yüzeysel gaz hızı arasında ise paralel bir ilişkinin var olduğu görülmüştür. Yüksek yüzeysel gaz hızına ulaşıldığında, organizmaların oksijen/karbondioksitten daha yüksek oranda faydalanması sağlanmaktadır. Ayrıca hacimsel güç tüketimi (P/V) ile gaz transfer katsayısı incelendiğinde, belirli bir noktaya kadar ikisi arasında doğru orantı görülürken maksimum yüzeysel gaz hızına ulaşıldığında hacimsel güç tüketimi artışına rağmen gaz transfer katsayısında belirgin değişim görülmemiştir. Literatür çalışması sonucu ulaşılan bilgiler tez çalışmasında elde edilen sonuçları destekler niteliktedir. Uygulanan en yüksek havalandırma hızında üretim daha düşük verimle gerçekleşmiş ayrıca üretim sıvısı yüksek miktarda buharlaşmıştır. Ayrıca 93,38 W/m³ hacimsel güç tüketimine sahip olan reaktörde oksijen transfer katsayısı 0,011 s⁻¹ iken, 0,002 s⁻¹’lik sabit gaz transfer katsayısının uygulandığı reaktörde 11,76 W/m³ güç tüketimi görülmüştür.

Çizelge 4.14. Panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* için hesaplanan hidrodinamik parametreler.

	Sabit t_m	Sabit P/V	Sabit k_La
Q (m ³ s ⁻¹)	6,67x10 ⁻⁵	1,08x10 ⁻⁴	8,83x10 ⁻⁵
Re	2792	3487	4535
U _G	6,93x10 ⁻³	1,13x10 ⁻²	9,18x10 ⁻³
P _g (W)	0,109	0,178	0,145
ξ (W kg ⁻¹)	0,068	0,11	0,09

λ (m)	0,016	0,014	0,015
γ (s ⁻¹)	34,65	56,31	45,91
τ (N m ⁻²)	0,208	0,338	0,275
ε (-)	0,019	0,032	0,026

Farklı fotobiyoreaktör tiplerinde mikroalg üretimi karşılaştırıldığında panel fotobiyoreaktörlerin organizma türüne göre değişmekle birlikte yüksek biyokütle üretimlerini sağladığı görülmüştür. Panel fotobiyoreaktörlerde çözünmüş oksijen birikimi özellikle tübüler fotobiyoreaktörlere göre son derece düşüktür. Ayrıca güneş ışığından maksimum düzeyde yararlanmak için optimum reaktör yerleşiminin sağlanması bu fotobiyoreaktör tipinin en büyük avantajlarındanır. Ölçek büyütme çalışmaları da pek çok reaktör tipine oranla daha kolay gerçekleştirilebilmektedir (İmamoğlu, 2016).

4.3. Yüksek Verimli Fotobiyoreaktörde Orta Ölçek Üretimi

Bu aşamaya kadar *P. tricornutum* hücreleri için 1 L'lik havalandırılmalı şişelerde optimize edilen koşullar sonucu 2 L'lik karıştırmalı tank, panel ve hava kaldırmalı fotobiyoreaktörlerde ölçek büyütme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. 3 farklı ölçek büyütme teorisini (sabit k_{La} , sabit t_m ve sabit P/V) benimsendiği üretimler arasından en iyi üretim biyokütle başına fukoksantin miktarı baz alınarak seçilmiştir. Çizelge 4.15'de bu üretimler sonucu elde edilen fukoksantin miktarları gösterilmektedir.

Çizelge 4.15. Farklı fotobiyoreaktör konfigürasyonlarında ve farklı ölçek büyüme teorileriyle gerçekleştirilen *P. tricornutum* üretimlerinde 7. günün sonunda birim hücre başına elde edilen fukoksantin (mg/g) miktarları.

	Fukoksantin (mg fukoksantin/g hücre)		
	Sabit P/V	Sabit k_{La}	Sabit t_m
Ölçek büyütme teorisi Konfigürasyon			
Karıştırmalı tank fotobiyoreaktör	0,82	0,39	0,44
Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör	1,41	0,02	1,37
Panel fotobiyoreaktör	2,22	1,14	1,66

Bu sonuçlar doğrultusunda en yüksek fukoksantin veriminin panel fotobiyoreaktörlerde sabit P/V teorisi ile elde edildiği görülmüştür.

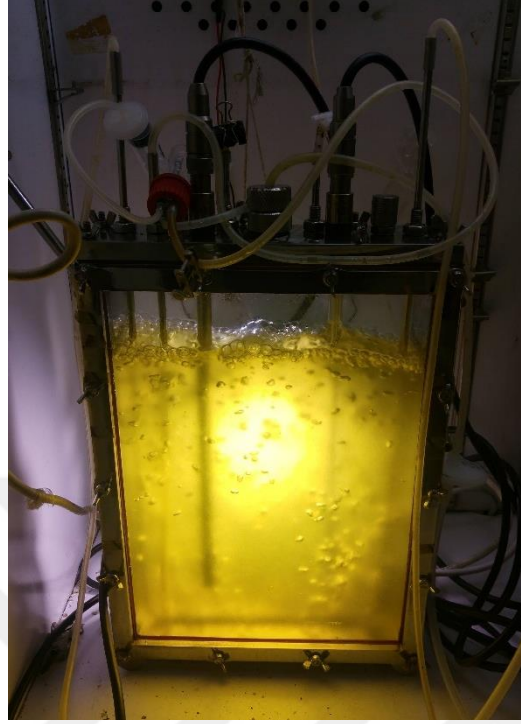
P. tricornutum mikroalgi ile Yadala ve Creamschi tarafından gerçekleştirilen çalışmada tübüler, kabarcık kolon ve panel fotobiyoreaktörlerde biyokütle üretimi karşılaştırılmıştır. En yüksek biyokütle konsantrasyonu 39 L'lik panel fotobiyoreaktörde 8,3 g/L olarak elde edilmiştir. Bu reaktörde hacimsel ürün verimliliği de 497 g m⁻³h⁻¹ şeklinde yüksek bir değere ulaşmıştır (Yadala and Creamschi, 2014).

Mikroalg üretim sistemleri önceden de belirtildiği gibi çok çeşitlidir ve genel olarak her sistemin avantaj ve dezavantajları incelenmiştir. Büyük ölçekte gerçekleştirilecek çalışmalar için bu sistemlerin verimliliği, tasarımsal parametreleri ve maliyet unsurları göz önünde bulundurulmaktadır. *Nanochloropsis* sp. türünün büyük ölçekte, kuru ağırlık bazında yılda 100,000 kg üretimi için açık havuz sistemleri ile panel ve tübüler fotobiyoreaktörler karşılaştırılmıştır. Hacimsel verimlilik açısından panel fotobiyoreaktörler açık sistemlere göre daha ideal bulunmuştur. En yüksek biyokütle konsantrasyonu 0,27 g/L ile aynı reaktörde elde edilirken, bu biyokütleye ulaşmak için 1000 m³ hacimli panel reaktör gereksinimi olduğu belirlenmiştir. Aynı üretimin 490 m³ tübüler fotobiyoreaktör ile gerçekleştirebildiği kaydedilen diğer bir sonuçtur. Ölçek büyütme çalışmalarında en önemli kriterlerden biri maliyettir. 3 sistem için enerji tüketimi incelendiğinde en yüksek enerji tüketimi yılda 16,000 GJ ile tübüler fotobiyoreaktördedir. Panel fotobiyoreaktör üretimi ise 700 GJ enerji tüketimi ile daha az maliyetli bir sistem olarak belirlenmiştir (National Research Council, 2012).

4.3.1. 7 L hacimli panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi

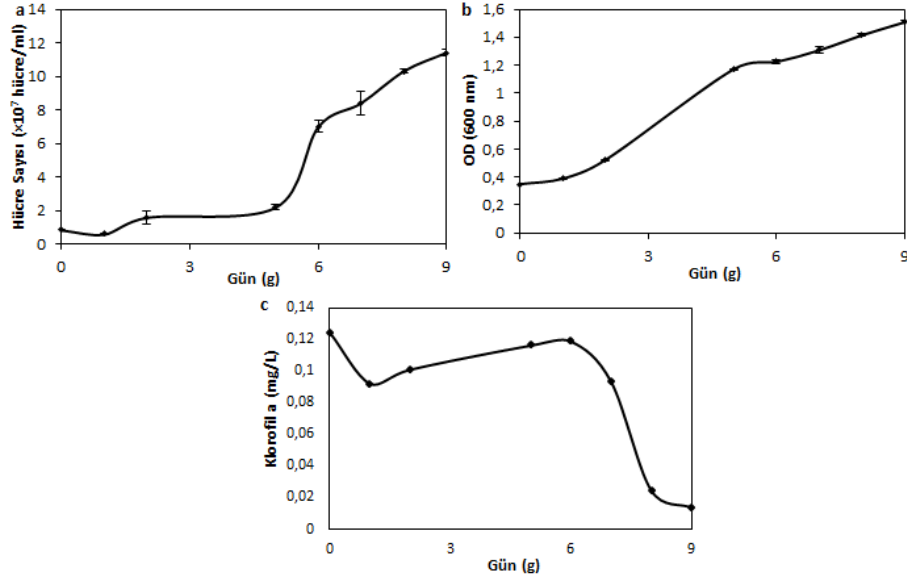
Gerekli ölçek büyütme hesaplamaları yapılmış ve hücreler 7 L'lik panel fotobiyoreaktörde 5,5 çalışma hacminde, sabit P/V teorisi (sabit P/V = 93.38 W/m³) uygulanarak 10 L/dk havalandırma hızında ve 0,315 kJm³s⁻¹ değeri ile birim hacimdeki sabit ışık enerjisi dikkate alınarak yapılan hesaplamalar sonucu 100

$\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti altında led ışık sistemleri kullanılarak 9 gün boyunca kültive edilmişlerdir.



Şekil 4.24. 7 L'lik panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* üretimi

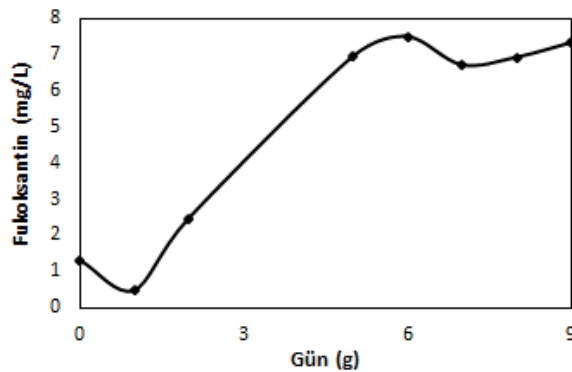
%10 inokulasyon miktarı ile başlanan üretim 9 gün boyunca izlenmiş ve günlük alınan örneklerle 2 paralelli analizleri gerçekleştirilmiştir. Hücre sayısındaki artış açısından incelendiğinde 4 gün boyunca adaptasyon fazında bulunan hücreler 4. günden sonra logaritmik evreye geçmiş hücre sayısı 9. güne kadar eksponansiyel olarak yükselmiştir. Bu noktadan sonra ise hücreler durgun faza geçmiştir. Üretim boyunca ulaşılan en yüksek hücre sayısı, $11,4 \pm 0,2 \times 10^7$ hücre/ml'dir (Şekil 4.24.a). Türbidimetre sonuçları da hücre sayısı ile paralellik göstermiştir. (Şekil 4.24.b).



Şekil 4.25. 7L'lik panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin büyüme profili: a) hücre sayısı; b) türbidite (OD-600 nm); c) klorofil-a miktarı.

Literatürdeki bir çalışmada, *P. tricornutum* mikroalgi 5 L'lik panel fotobiyoreaktörde 16 gün boyunca üretilmiş ve farklı parametrelerin etkisi incelenmiştir. $125 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti altında maksimum $0,37 \text{ gL}^{-1}\text{gün}^{-1}$ değerine ulaşmıştır (Meiser et al., 2004). Bu tez çalışmasında maksimum biyokütle verimliliği 7. günde $0,42 \text{ gL}^{-1}\text{gün}^{-1}$ olarak elde edilmiştir.

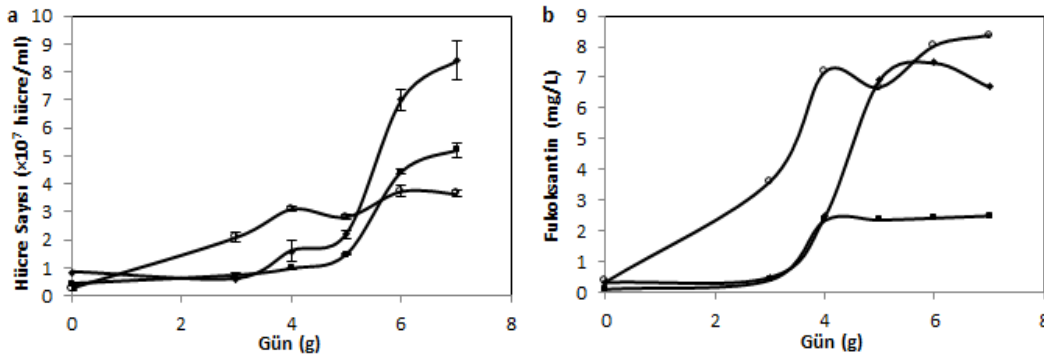
Üretimin asıl amacı olan fukoksantin miktarına bakıldığında hücre yoğunluğuna benzer sonuçlar elde edilmiş, logaritmik evrede fukoksantin miktarı hızla artmış ancak durgun faza geçildiğinde miktar korunmuştur. Üretilen maksimum fukoksantin miktarı $7,5 \pm 0,05 \text{ mg/L}$ 'dir (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. 7 lt'lik panel fotobiyoreaktörde *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin fukoksantin üretimi.

4.3.2. *Phaeodactylum tricornutum* üretimi için ölçek büyütme teorisinin doğrulanması

P. tricornutum mikroalginden fukoksantin üretiminin amaçlandığı mevcut çalışmada, öncelikle 1 L'lik şişelerde hücre büyümesi ve ürün üretimi için optimum koşullar belirlenmiştir. Sonuç olarak F/2 besin ortamında, $45 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti altında, 18°C sıcaklık ve 3 L/dk havalandırma hızı uygulanan üretimin 7. günde, $5,2 \pm 0,28 \times 10^7$ hücre/ml ve $2,5 \pm 0,08$ mg/L fukoksantin miktarına ulaştığı görülmüştür (Şekil 4.27). Sonrasında bu koşullar altında hacmi 2 L olan 3 farklı fotobiyoreaktörde, 3 farklı ölçek büyütme stratejisi ve birim hacimde sabit ışık enerjisi teorisi dikkate alınarak üretimlere devam edilmiştir. Özellikle fukoksantin üretimi göz önünde bulundurularak gerçekleştirilen değerlendirmeler sonucu, panel fotobiyoreaktörde sabit P/V stratejisinin uygulandığı üretimde $3,64 \pm 0,12$ hücre/ml olarak elde edilen düşük hücre miktarına karşılık $8,35 \pm 0,15$ mg/L ile yüksek fukoksantin üretimi ile karşılaşmıştır (Şekil 4.27). Böylece ölçek büyütme çalışmalarına 7 L'lik panel fotobiyoreaktörde sabit P/V stratejisi ile devam edilmiştir. Bu üretim sonucunda maksimum fukoksantin miktarı $7,5 \pm 0,09$ mg/L olarak elde edilmiştir (Şekil 4.27.b).



Şekil 4.27. *Phaeodactylum tricornutum* üretimi: a) hücre sayımı; b) fukoksantin miktarı, (■) 1 L Şişe, (○) 2 L panel fotobiyoreaktör, (◆) 7 L panel fotobiyoreaktör.

Tüm üretimler sonucunda biyokütle verimliliği ve fukoksantin miktarları değerlendirilerek oluşturulan Çizelge 4.16'dan görüleceği üzere, şişe üretimlerinden reaktöre geçişte uygulanan koşulların hücreler açısından optimum olduğu söylenebilir. 2 L 'lik panel fotobiyoreaktörde gerçekleştirilen üretimde biyokütle verimliliği $0,537 \text{ g L}^{-1}\text{gün}^{-1}$ değeri ile şişe üretiminden 1,3 kat daha yüksektir. Buna paralel olarak kuru ağırlık bazında hücre başına elde edilen fukoksantin miktarı da 2 L'lik fotobiyoreaktör üretiminde şişe üretimine göre 2,6

katlık bir artış ile 2,22 mg/g hücre olarak elde edilmiştir. Sabit P/V stratejisi ile 7 L hacimdeki panel fotobiyoreaktördeki üretimde ise biyokütle verimliliği 2 L'lik reaktöre göre daha düşüktür. Ancak hücre başına fukoksantin miktarı incelendiğinde en yüksek değerin 2,58 mg/g hücre ile 7 L'lik üretimde gerçekleşmesi az sayıda hücrenin yüksek fukoksantin içeriğine sahip olduğunu göstermiştir.

Panel fotobiyoreaktörlerde gerçekleştirilen üretimlerde önemli parametrelerden birinin fotobiyoreaktörün ışık yolu uzunluğu olduğu görülmüştür. *P. tricornutum* mikroalgine benzer bir diatom olan *Odontella aurita* diatomunun üretimi ve fukoksantin içeriğinin incelenmesi için 75 ve 150 L'lik panel fotobiyoreaktörlerde pilot ölçekte yürütülen çalışmanın sonuçları bu parametrenin etkisini gösterir niteliktedir. 3 cm ışık yoluna sahip olan 75 L'lik fotobiyoreaktörde elde edilen hacimsel verimlilik $6,92 \text{ mgL}^{-1}\text{gün}^{-1}$ iken 6 cm ışık yoluna sahip 150 L'lik reaktörde bu değer $4,2 \text{ mgL}^{-1}\text{gün}^{-1}$ olarak düşüş göstermiştir (Xia vd., 2013). Bu tez çalışmasına da benzer olarak 2 L'lik reaktörlerde 3,7 cm olan ışık yolu uzunluğu, 7 L'lik reaktörde 8 cm'e çıkmıştır. Buna bağlı olarak $1,193 \text{ mgL}^{-1}\text{gün}^{-1}$ olan fukoksantin birikim hızı $0,95 \text{ mgL}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ 'e düşmüştür.

Çizelge 4.16. Fukoksantin üretiminde ölçek büyütme sonuçları

Üretimler	Biyokütle verimliliği ($\text{g L}^{-1}\text{gün}^{-1}$)	Fukoksantin Miktarı (mg/g hücre)	Fukoksantin birikim hızı ($\text{mg L}^{-1} \text{ gün}^{-1}$)
1 L'lik şişe üretimi	0,4	0,845	0,338
2 L'lik panel fotobiyoreaktör	0,537	2,22	1,193
7 L'lik panel fotobiyoreaktör	0,45	2,58	0,95

Ölçek büyütme teorisi uygulamalarında kritik nokta proses kararlılığı ve parametrik hassasiyettir. Bir başka deyişle, kullanılan sabit ölçek büyütme parametreleri ile laboratuvar ölçeğinden pilot tesis ölçeğine geçişlerde aynı ve/veya daha iyi üretim verimliliğine ulaşılmalıdır. Günümüzde ölçek büyütme çalışmalarında altı çizilmesi gereken en önemli teknik dar boğaz ise akış dinamiğinin anlaşılabilmesidir. Sanayide en çok tercih edilen ölçek büyütme

teorileri ise sabit P/V (%30 kullanım oranı), sabit k_{La} (%30 kullanım oranı) ve sabit karıştırıcı ucu hızı (%20 kullanım oranı)'dır (Imamoglu ve Sukan, 2013).

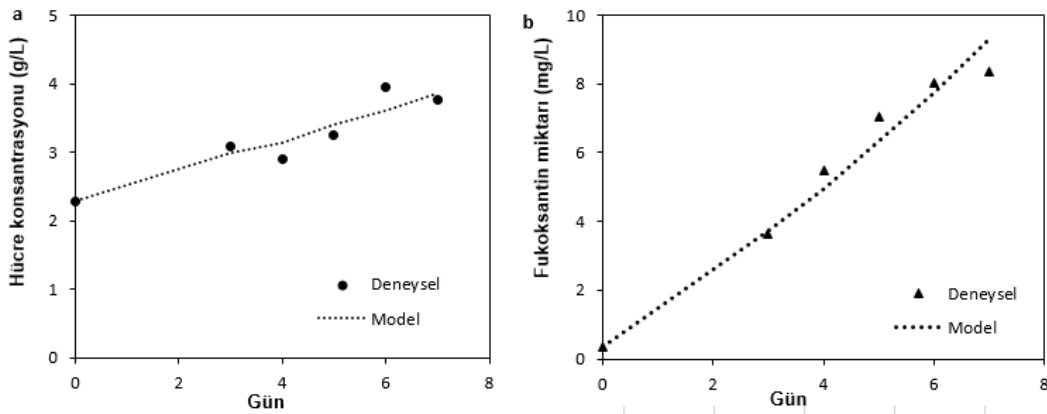
4.4. Fotobiyoreaktör Üretimlerinde Kinetik Modelleme

Orta ölçekli üretimler sırasında tam kontrol sağlanamadığından kinetik modelleme çalışması için online-kontrol sağlanan 2 L fotobiyoreaktör çalışmaları dikkate alınmıştır. Kinetik modelleme için seçilen en verimli üretim panel fotobiyoreaktörde gerçekleştirilen “sabit P/V” stratejisinin uygulandığı üretimdir.

4.4.1. *Phaeodactylum tricornutum* diatomunun ışığa bağlı kinetik modellemesi

Hücre büyümesinin ışığa bağlı kinetik modellemesi için Denklem 3.51 (bkz. Bölüm 3.2.9.1) kullanılmıştır. Hücre üretimi sırasında uygulanan $55 \mu\text{Em}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti (I_0), $0,412 \text{ g}^{-1}$ deneysel spesifik büyüme hızı (μ) ve $0,037 \text{ m}$ ışık yolu (p) gibi veriler kinetik modellemede kullanılmıştır.

Deneysel hücre konsantrasyonu maksimum $3,76 \text{ g/L}$ değerine ulaştığında GRG algoritması ile olası model değeri %5 daha fazla olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.28a). Diğer taraftan deneysel fukoksantin miktarı maksimum $8,35 \text{ mg/L}$ değerine ulaştığında olası model değeri %15 daha fazla olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.28b). Şekil 4.28’de grafik eğrileri modifiye Grima and Luedeking-Piret modellerinin uygun bir yaklaşım olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.28. *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin ışığa bağlı kinetik modellemesi: a) hücre konsantrasyonu b) fukoksantin miktarı

Model parametreleri deneysel verilerin tahmini ile elde edilmiştir. Bu çalışmada fiksleme/oturtma prosedürü (fitting prosedür) ile elde edilen tahmini model parametreleri arasından *P. tricornutum* için ışık doygunluk sabiti (I_k) 81,32 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ve fotoinhibisyon sabiti (K_i) 3400 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Modelleme sapma yüzdeleri %1-14 aralığında salınmaktadır (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. *P. tricornutum* için ışığa bağlı kinetik modelleme sonucu tahmin edilen parametre değerleri ve maksimum sapma miktarları

Parametre	Tahmini Değer
$I_k (\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	81,32
$K_i (\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	3474
$a (\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	0,776
$b (\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	3,745
$c (\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$	1,024
$\mu (\text{g}^{-1})$	0,612
$Y_{px} (\text{g fuk/g hücre})$	1,869

Hücre Konsantrasyonu (g/L)			
Gün	Deneysel	Model	Sapma (%)
0	2,290	2,290	0,000
3	3,090	2,992	3,274
4	2,910	3,132	7,662
5	3,260	3,408	4,55
6	3,940	3,611	9,093
7	3,760	3,858	2,626

Fukoksantin miktarı (mg/L)			
Gün	Deneysel	Model	Sapma (%)
0	0,368	0,368	0,000
3	3,619	3,71	2,5
4	5,471	4,932	9,847
5	7,065	6,334	10,353
6	8,013	7,752	3,256
7	8,351	9,297	11,322

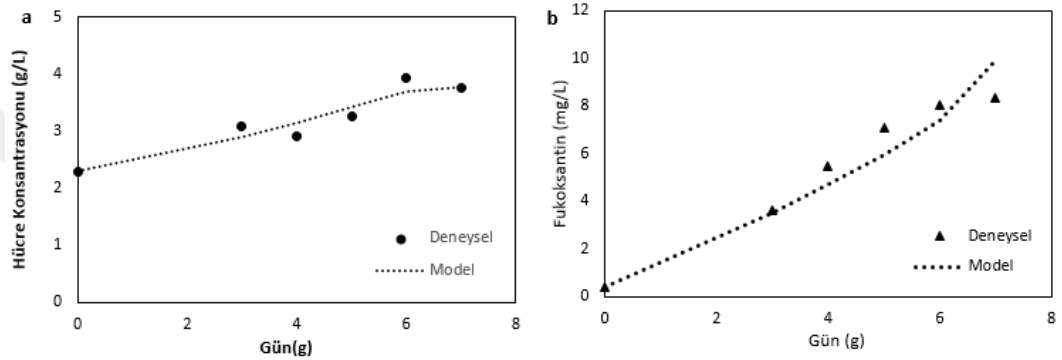
Literatürde bulunan çalışmalarda *P. tricornutum* mikroalginin büyümesine ışığın etkisinin incelenmesine dair kinetik modelleme çalışmaları mevcut olmakla birlikte fukoksantin üretimine dair geliştirilen herhangi bir modele rastlanmamıştır. Mevcut bir çalışmada sadece ışığın *P. tricornutum* hücre büyümesi üzerine etkisi modellenmiş ve elde edilen veriler fotobiyoreaktör tasarımı için öncülük etmiştir. Başlangıç hücre konsantrasyonu 0,2 g/L olan üretimde modelleme sonucunda tahmin edilen ışık doygunluk sabiti $120 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ olarak belirlenmiştir ve bu değerin Çizelge 4.17’de verilen değere ($81,32 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) yakın olduğu görülmektedir. Model ve üretim sonuçlarının birbiriyle paralel ilerlediği kaydedilen diğer bir sonuçtur (Ribeiro et al., 2009). *Isochrysis galbana*, *P. tricornutum*’la benzer özellikler taşıyan bir diatomdur. Bu mikroalg türü için ışık inhibisyonu ve limitasyonun birlikte incelenmesiyle kinetik model geliştirilmiş ve fotoinhibisyon sabiti (K_i) $2217 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ olarak elde edilmiştir. Ayrıca ışık doygunluk sabiti de $170,68 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ değerindedir (Grima et al., 1996).

Işık inhibisyonu, *P. tricornutum*’un fotosentetik aktivite sırasında ışığı toplama metabolizmasını degrede etmektedir. Geri dönüşümlü bir olay olarak tanımlanan fotoinhibisyon bu mikroalg türünde PSII fotosentez sistemini bozarak büyümeyi ve diğer metabolik faaliyetleri etkilemektedir. Tübüler fotobiyoreaktörde açık havada gerçekleştirilen üretim sırasında $1600 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ışık şiddetinin üzerindeki değerlerin inhibe edici etkisinin olduğu görülmüştür. Bu değer belirlenmesinde reaktör geometrisi, hücre yoğunluğu, ışıklandırma açısı gibi pek çok faktör etkilidir (Fernandez et al., 1997).

4.4.2. *Phaeodactylum tricornutum* diatomunun besin konsantrasyonuna bağlı kinetik modellemesi

Mikroalg kültivasyonunda önemli olan bir diğer parametre substrat konsantrasyonudur. Azot, fosfor, karbon gibi substrat kaynaklarının hücre büyümesi üzerine etkisi geliştirilen modeller ile açığa çıkarılmaktadır. *P. tricornutum* mikroalginin panel fotobiyoreaktörde gerçekleştirilen üretimi için azot konsantrasyonuna bağlı kinetik modellemesi Denklem 3.54 (bkz. Bölüm 3.2.9.1) ‘e göre incelenmiştir. Çalışmalar ve literatürden elde edilen veriler sonucunda μ_{max} 0,412; K_s 0,0095 g/L ve K_i 3 g/L olarak kullanılmıştır.

Azot inhibisyonu ve kıtlığının hücre büyümesi üzerine etkisi incelenmiş ve Şekil 4.29'daki deneysel ve model verilerinin karşılaştırma grafikleri oluşturulmuştur. 7. gün sonunda hücre konsantrasyonu üretimler sırasında 3,76 g/L'ye ulaşmıştır. Model sonucu elde edilen veriler de üretime paralel olup, 7. günde deneysel konsantrasyondan %6 daha fazla elde edilmiştir. Fukoksantin miktarı da bu model devamında incelenmiş ve deneysel üretimde maksimum 8,351 mg/L fukoksantin üretimi kinetik modelleme sonucu 9,355 mg/L değeri ile %12 daha fazla olarak kaydedilmiştir. Hücre konsantrasyonu ($R^2=0,9923$) ve fukoksantin miktarı ($R^2=0,9702$) için oluşturulan modeller gerçekçi bir yaklaşım sergilemiştir.



Şekil 4.29. *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin besine bağlı kinetik modellemesi: a) hücre konsantrasyonu b) fukoksantin miktarı

Model parametreleri deneysel verilerin tahmini ile elde edilmiştir. Bu çalışmada fiksleme/oturtma prosedürü (fitting prosedür) ile elde edilen tahmini model parametreleri arasından azot yarı-doygunluk sabiti (K_s) 0,00075 g/L ve azot inhibisyon sabiti (K_i) 5,54 g/L olarak hesaplanmıştır. Modelleme sapma yüzdeleri %1-18 aralığında salınmaktadır (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. *P. tricornutum* için besine bağlı kinetik modelleme sonucu tahmin edilen parametre değerleri ve maksimum sapma oranları

Parametre	Tahmini Değer
K_s (g/L) (total N)	0,00075
K_i (g/L)	5,54
μ (g^{-1})	0,082
Y_{px} (g fuk/g hücre)	0,0049

Hücre Konsantrasyonu (g/L)			
Gün	Deneyisel	Model	Sapma (%)
0	2,290	2,29	0
3	3,090	2,911	6,120
4	2,910	3,161	8,626
5	3,260	3,424	5,052
6	3,940	3,695	6,611
7	3,760	3,782	0,6

Fukoksantin miktarı (mg/L)			
Gün	Deneyisel	Model	Sapma (%)
0	0,368	0,368	0
3	3,619	3,476	4,107
4	5,471	4,669	17,131
5	7,065	5,964	18,448
6	8,013	7,363	8,815
7	8,351	9,883	18,357

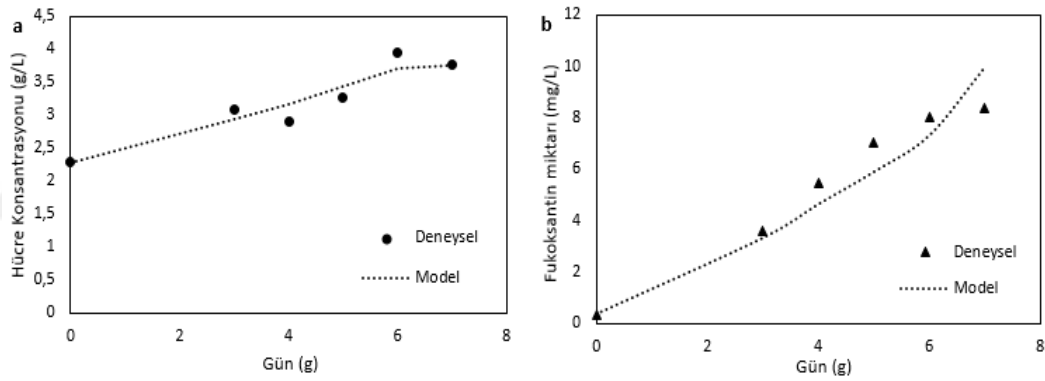
P. tricornutum mikroalgi hücre içinde yüksek nitrat depolama kapasitesi olan bir türdür. Bu potansiyel sayesinde özellikle atık su arıtımında kullanılacak alternatif bir mikroalg olarak kabul görmüştür. Coppens ve arkadaşları tarafından *P. tricornutum* için nitrat bazında azot yarı doygunluk sabiti 0,02 mg/L değerinde bulunmuştur. Bu modelde elde edilen tahmini maksimum spesifik büyüme hızı $1,05 \text{ g}^{-1}$ 'dir. Kültür ortamındaki azot miktarı yerine hücre içi azot miktarının tespit edilmesiyle gerçekleştirilen bu modelde *P. tricornutum*'un kuru ağırlığının % 11'i oranında azot içerdiği ortaya koyulmuştur (Coppens et al., 2014).

4.4.2. *Phaeodactylum tricornutum* diatomunun besin konsantrasyonu ve ışığa bağlı kinetik modellemesi

Tüm canlılarda olduğu gibi mikroalg üretiminin kinetik modellenmesinde de tek bir faktörün etkisinin incelenmesinden hücreye etki eden parametrelerin etkilerinin birlikte incelenmesi daha gerçekçi bir modelleme yaklaşımı sunmaktadır. *P. tricornutum* için ortamda bulunan azot konsantrasyonu baz alınarak substrat konsantrasyonu ve ışık yoğunluğunun birlikte etkisi Denklem

3.55'e göre modellenmiştir. Denklemden yer alan maksimum spesifik büyüme hızı, $\mu_{\max}$ önceki çalışmalara daha yakın olması dolayısıyla substrata bağlı modelleme sonucu elde edilen $0,612 \text{ gün}^{-1}$ olarak kullanılmıştır. Fotoinhibisyon sabiti $3400 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ değerinde tanımlanmış ve ortalama ışık yoğunluğu değişen hücre konsantrasyonuna göre Denklem 3.52 kullanılarak hesaplanmıştır. Model oluşturulması sonucu deneysel ve model sonuçlarının karşılaştırması Şekil 4.30'da gösterilmiştir.

7 gün boyunca elde edilen hücre konsantrasyonu ve fukoksantin miktarlarının deneysel sonuçları ile model verileri birbirine paralellik göstermektedir. Hücre konsantrasyonunda deneysel ve model sonuçları arasında maksimum %8 sapma görülmüştür. Yüksek R^2 değeri (0,99) gözlenen model sonucunda fiksleme/oturtma prosedürü (fitting prosedür) ile elde edilen tahmini model parametreleri Çizelge 4.19'da verilmiştir.



Şekil 4.30. *Phaeodactylum tricornutum* hücrelerinin besin konsantrasyonuna ve ışığa bağlı kinetik modellemesi: a) hücre konsantrasyonu b) fukoksantin miktarı.

Hücre büyümesinin modellenmesi sonucu elde edilen parametrelerin kullanımıyla fukoksantin üretiminin kinetik modellemesi gerçekleştirilmiş ve deneysel sonuçlar ile karşılaştırması Şekil 4.30b'de gösterilmiştir. Grafikselleştirilerek $0,964 R^2$ değerinin elde edildiği modelleme sonucunda deneysel verilerden %8-19 arasında sapma görülmüştür.

P. tricornutum mikroalgine benzer bir tür olan *Isochrysis galbana*'nın ışık ve azot konsantrasyonuna bağlı olarak gerçekleştirilen kinetik modellemesinde maksimum spesifik hücre büyüme hızı 1 g^{-1} elde edilirken azot için yarı doygunluk sabiti $0,018 \text{ mg/L}$ olarak elde edilmiştir (Mairet et al., 2011).

Çizelge 4.19. *P. tricornutum* için besin konsantrasyonuna ve ışığa bağlı kinetik modelleme sonucu tahmin edilen parametre değerleri

Parametre	Tahmini Değer
K_s (g/L) (total N)	0,000129
K_i ($\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	190
Y_{px} (g fuk/g hücre)	0,0875

Hücre Konsantrasyonu (g/L)			
Gün	Deneyssel	Model	Sapma (%)
0	2,290	2,29	0
3	3,090	2,946	4,854
4	2,910	3,167	8,853
5	3,260	3,44	5,526
6	3,940	3,705	6,316
7	3,760	3,763	0,1

Fukoksantin miktarı (mg/L)			
Gün	Deneyssel	Model	Sapma (%)
0	0,368	0,368	0
3	3,619	3,328	8,749
4	5,471	4,641	17,844
5	7,065	5,902	19,703
6	8,013	7,322	9,424
7	8,351	9,978	19,484

4.5. Fotobiyoreaktör Üretimlerinde Hesaplamalı Akış Dinamiği (CFD) Simülasyonu

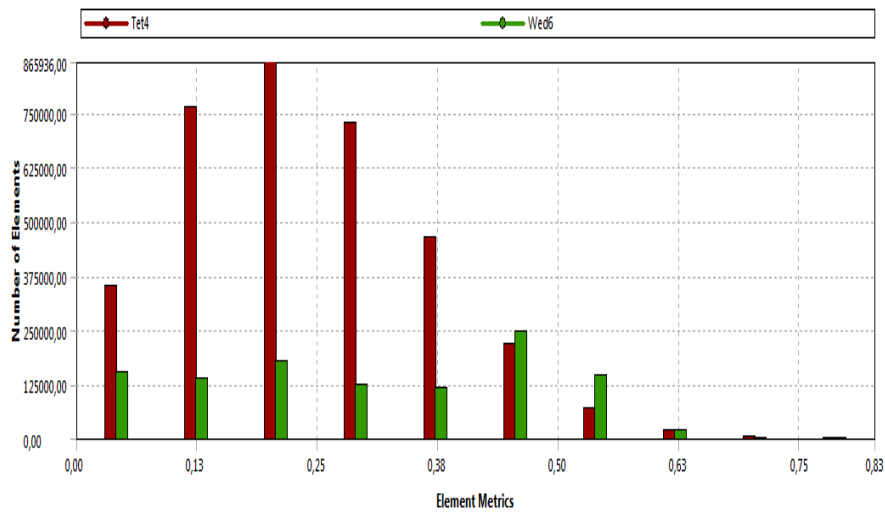
Üretim denemeleri sonunda simülasyon uygulaması için her 3 reaktörde en iyi verim elde edilen üretimler seçilmiştir. Bu kapsamda *P. tricornutum*'dan fukoksantin üretimi için karıştırılmalı tank, hava kaldırmalı ve panel fotobiyoreaktörlerde sabit P/V stratejileri ile yapılan üretimler seçilmiştir. Bu fotobiyoreaktör tiplerinin hesaplamalı akışkanlar dinamiği simülasyonları yapılmıştır. Simülasyon uygulamasında on-line kontrolün gerçekleştiği 2 L hacimli

fotobiyoreaktörler seçilmiştir. Simülasyon yazılım programı olarak ANSYS V17.2 kullanılmıştır.

4.5.1. Karıştırmalı tank fotobiyoreaktör için hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu

Hesaplamalı akışkanlar dinamiğinde çözümü etkileyen temel aşamalardan biri sayısal ağın oluşturulmasıdır. Oluşturulan ağ yapısının yüksek kalitede olduğunu dolaylı olarak sonuçların da gerçeğe yakınlığını ölçen bazı kriterler mevcuttur. Bunlar bozukluk (skewness) ve ortogonal kalite değerleridir. Sayısal ağ kalitesinin belirlenmesinde temel kriterlerden biri olan bozukluk (skewness) değerinin maksimum 0,8 değerinden küçük olması sayısal ağ kalitesinin istenen düzeyde olduğunu göstermektedir. Genelde yüksek kalitedeki sayısal ağların maksimum bozukluk (skewness) değeri 0,8'dir. Bu çalışmada, yapılan sayısal ağ için maksimum bozukluk (skewness) değeri 0.828 bulunmuştur (Şekil 4.31).

Sayısal ağ kalitesinin değerlendirildiği bir diğer kriter de ortogonal kalite değeridir. Bu değer ortalama %85 oranında olması yüksek kalitedeki ağ yapısını, %10'dan büyük olması ise sayısal ağ kalitesinin kabul edilebilir düzeyde olduğunu göstermektedir. Yüksek kalitedeki sayısal ağların minimum ortogonal kalitesi ise 0,2'dir. Yapılan bu çalışmada ortogonal kalite minimum 0,22, ortalama ortogonal kalite 0.85 ve standart sapması da 0,10 olarak elde edilmiştir. Bu kriterler göz önünde bulundurulduğunda reaktör yüzeyi ve içindeki ağ yapısının yüksek doğrulukta gerçekleştiği söylenebilir.



Şekil 4.31. Karıştırmalı tank fotobiyoreaktör için bozukluk (skewness) değeri eleman sayıları: Tet4 (kırmızı): dört yüzlü (tetrahedral) elemanlar, Wed5 (yeşil): üçgen prizma elemanları

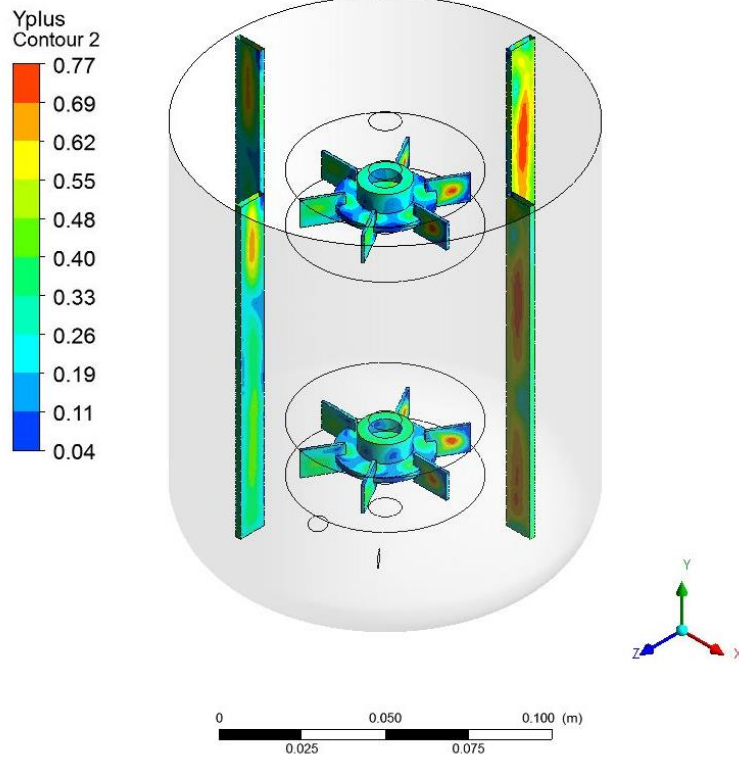
Karıştırırmalı tank fotobiyoreaktörün simülasyonu için öncelikle geometri ayrıntılı olarak çizilmiş ve yüksek çözüm sağlayacak şekilde sayısal ağ yapısı oluşturulmuştur. Sonrasında FLUENT 17.1 programı ile çözüm gerçekleştirilmiştir.

Gerçekleştirilen çözüm sonucunda ilk olarak Yplus değeri incelenmiştir. Akışın mevcut olduğu sistemlerde yapılan sayısal ağ kalitesinin sonuçlarda ifadesini sağlayan parametrelerden biri Yplus (y+) değeridir. Bu değer (y+), sınır duvarlarıyla duvara en yakın sayısal ağ elemanının yüksekliğinin birimsiz bir ifadesidir ve Denklem 4.3 ile hesaplanmaktadır.

$$Y^+ = \frac{u_* y}{\nu}$$

Denklem 4.3

Denklem 4.3’de u_* , duvar dibindeki sürtünme hızını, y en yakın duvara olan mesafeyi ve ν değeri sıvının kinematik viskozitesini ifade etmektedir. Akış profil modeli için, duvarlardaki Yplus değerleri oluşturulan sayısal ağın ne kadar kaliteli olduğunu gösterir. Özellikle türbülans modeller için duvar kenarlarında bulunan hücrelerin boyutunun ve yerleşiminin uygunluğunu belirtmektedir (Karimi et al., 2012). Oluşturulan modelde engel duvarları ve karıştırıcı bıçakları dikkate alındığında Yplus değeri Şekil 4.32’de görüldüğü gibi maksimum 0,77 çıkmıştır. Genel olarak kullanılan duvar dibi modeli (Enhanced Wall Treatment) için Yplus değeri 1’den küçük olduğunda oluşturulan sayısal ağ yapısının kaliteli olduğu, 0,8’in altında elde edildiğindeyse yüksek kalite sağlandığı söylenebilir. Dolayısıyla çıkan analiz sonucu bu kriteri sağlamaktadır. Özellikle bıçak ucunda ve şaşırtıcıların bıçak hizasına denk gelen kısımlarında daha yüksek Y^+ değerine rastlanmıştır. Bu değer en yüksek karıştırıcı ucunda görüldüğü literatürdeki diğer çalışmalarla da desteklenmektedir (Davis, 2009; Karimi et al., 2012; Raj et al., 2014).



Şekil 4.32. Duvar çeperlerinde oluşan Yplus değeri

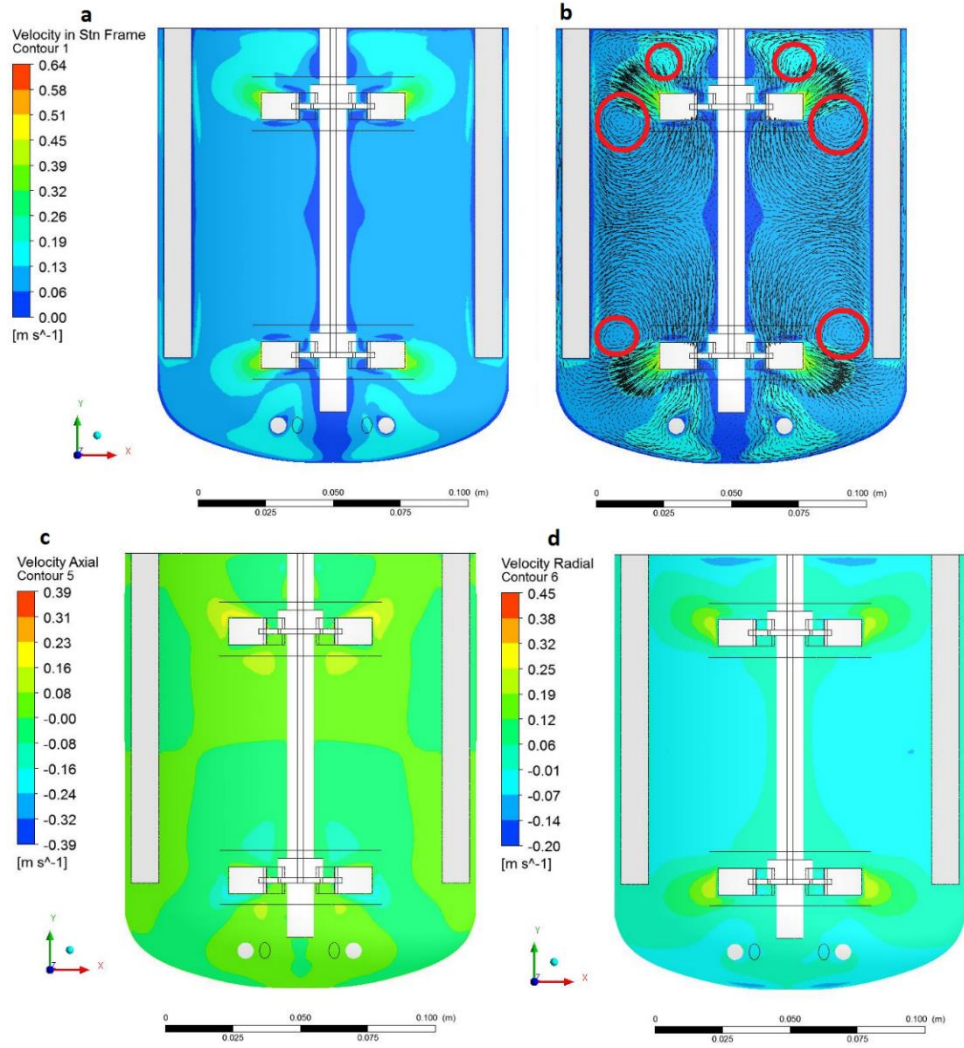
Hız büyüklüğünün $z=0$ düzlemindeki üniformluk indeksi 0,86 çıkmıştır. Bu değer hızın hacim içerisinde ne kadar homojen (tek düze) olduğunu göstermektedir ve 1'e ne kadar yakınsa tank içerisindeki karışımın o kadar daha fazla homojen olacağı bilinmektedir. Bu değer 0,86 olarak belirlenerek 1 olmamasındaki sebep özellikle Şekil 4.33.a'da görüldüğü gibi karıştırıcı ucunda oluşan yüksek hızlardan dolayı bu bölgelerde homojenitenin bozulmasıdır.

Şekil 4.33'de reaktör içerisindeki hız dağılımı ve sıvının hareketi ile karışım özellikleri gösterilmiştir. 0,64 m/s'lik en yüksek hız değeri sadece sıvı karıştırıcı bıçaklarına çarpıp buradan ayrıldığında görülmüştür. Karıştırıcı çevresinde hız değeri yüksek iken özellikle iki karıştırıcı arasındaki shaft boyunca ve engellerin arkasında minimum hız değerlerine rastlanmıştır. Sıvı hareketi vektörler ile ifade edildiğinde Şekil 4.33b'de kırmızı daireler ile dikkat çekildiği üzere vorteks oluşumları görülmüştür. Bu bölgelerde akışkan sürekli bir döngü içerisinde olduğundan karışımın yeterince sağlanamayacağı düşünülmektedir. Vorteks oluşumunun önlenmesi için bulunan engellere çarpan akış vektörleri buradan fotobiyoreaktörün alt ve üst bölgelerine doğru ayrılarak homojeniteyi arttırmaktadır. Ancak gerek karıştırıcılar arasındaki uzaklık, gerek bıçakların açısı

yerleşimi gibi parametreler vorteks oluşumunu tam olarak engelleyememiştir. Oklarla gösterilen akış hareketi incelendiğinde alt bıçak ucundan ayrılan sıvının yoğun olarak tankın altına, üst bıçak ucundan ayrılan sıvının ise sıvı çıkışına doğru ivme kazandığı görülmektedir. Difüzörün altında ve iki bıçak arasındaki karışım ise yetersizdir.

Ryma ve arkadaşları tarafından karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörde karıştırıcının etkisinin incelendiği çalışmada bu çalışmaya benzer olarak rushton türbin türünde 6 bıçaklı karıştırıcı kullanılmıştır. Tank içerisinde tek bir karıştırıcı ile sağlanan karışımda viskozitesi düşük olan bölgelerde homojen karışım sağlanırken, yüksek viskoziteye sahip olan alanlarda karışım iyi derecede sağlanamamıştır. Bu durum viskozitenin artmasıyla akışa karşı oluşan direnç kuvvetlerinin artmasıyla ilişkilidir. Ayrıca bu çalışmada da karıştırıcı altında kalan bölgede homojenitenin sağlanamadığı ve durgun sıvı akışının mevcut olduğu durumla karşılaşmıştır. Bu durum, rushton türbin karıştırıcı tipinin daha çok yüzey havalandırması için uygun olduğu ancak tüm hacimsel karışım da yetersiz kaldığı şeklinde yorumlanmıştır (Ryma et al., 2013).

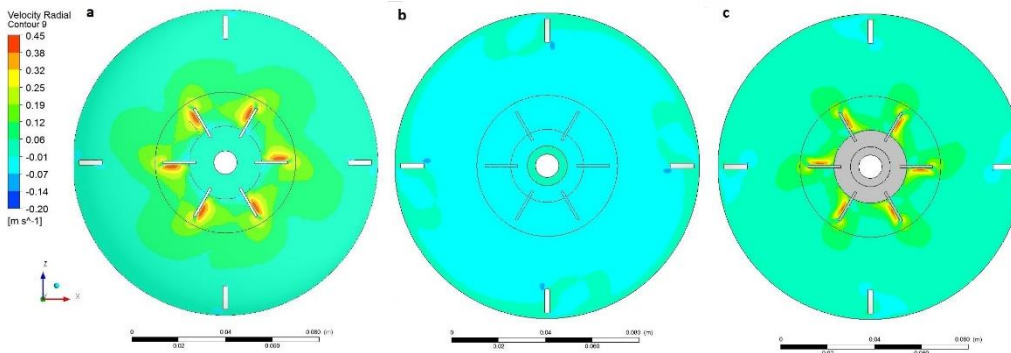
Bir diğer çalışmada biyohidrojen üretimi için karıştırılmalı tank biyoreaktörde akış dinamiğinin simülasyonu amaçlanmış ve rushton türbin ile eğimli bıçak (pitched blade) karıştırıcı tipinde karıştırıcılar karşılaştırılmıştır. Yeterli karışım ve difüzyon işleminin gerçekleşebilmesi için iki karıştırıcı tipinden eğimli bıçağın daha uygun olduğu görülmüştür. Bu tez çalışmasında olduğu gibi iki farklı karıştırıcı kullanılan sistemde rushton türbin karıştırıcı ile gerçekleştirilen simülasyonda iki karıştırıcı arasındaki bölgede oluşan karışım çok az verimde oluşurken, eğimli bıçak karıştırıcı tipinde eğimli bıçaklara çarpan akışkanın aşağı ve yukarı yönde dağılmasıyla homojenitenin sağlandığı kontur çizimlerinde ortaya konmuştur. Bir diğer önemli konu ise bıçakların birbirinden optimum uzaklığı da aynı çalışmada incelenmiştir. Karıştırıcılar arasındaki uzaklık ilk geometri çiziminin 2 katına çıkarılarak bu iki durum için çözüm gerçekleştirilmiş ve karıştırıcıların birbirine yakın olduğu tankta optimum karışım sağlanmıştır (Nino-Navarro et al., 2016).



Şekil 4.33. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörde akış hızı profili: a) $Z = 0$ düzlemindeki hız büyüklüğü, b) $Z = 0$ düzlemindeki hız vektörleri, c) $Z = 0$ düzlemindeki eksenel hız, d) $Z = 0$ düzlemindeki radyal hız

Fotobiyoreaktör içerisindeki eksenel akış hızı XY düzleminde incelenmiş, yüksek ve düşük hız dağılımlarının fazla görülmediği ortalama hız düzeylerinde bir eksenel hız oluşmuştur. Bu açıdan fotobiyoreaktördeki eksenel hız homojen görünmekte ve düzgün bir dağılım göstermektedir. Karıştırıcı çevresinde hız değerleri karışımın sağlanması için ideal değerlerdedir ancak düzlemin büyük kısmında eksenel hız 0'a yakın değerdedir. (Şekil 4.33c). Şekil 4.33d'de radyal hız incelenmiştir. Fotobiyoreaktörde kullanılan rushton türbin karıştırıcılar tank içerisinde radyal bir akış oluşumuna neden olmaktadır. Bu yüzden radyal hız dağılımı karıştırıcı etkisini gösteren önemli bir parametredir. Karıştırıcıdaki bıçaktan ayrılan sıvının hızı maksimum hız değerine yakın olup duvarlara doğru bu değer azalmıştır. Sıvı yüksekliği boyunca alt karıştırıcı, ara düzlem ve üst

karıştırıcıda ZX düzleminde radyal hızlar incelenmiş ve en yüksek hızın alt karıştırıcı çevresinde olduğu görülmüştür. Ara düzlemde hız vektörleri genel olarak “0” olup karışım neredeyse yoktur. Karıştırma hızının reaktör içerisindeki etkisinin incelenmesi için gerçekleştirilen bir hesaplamalı akış dinamiği simülasyonunda radyal hız değerleri incelendiğinde en yüksek hızın bıçak ucunda olduğu, bıçaklardan uzaklaştıkça bu hızın azaldığı görülmüştür. Aynı çalışmada ZX düzleminde incelenen 4 farklı bölgede hız dağılımı araştırılmış ve bu çalışmadaki sonuçlara benzer şekilde en yüksek değerler karıştırıcı düzleminde görülürken ara yüzey ve üst bölgede son derece düşük hız değerleri elde edilmiştir (Devi and Kumar, 2012).

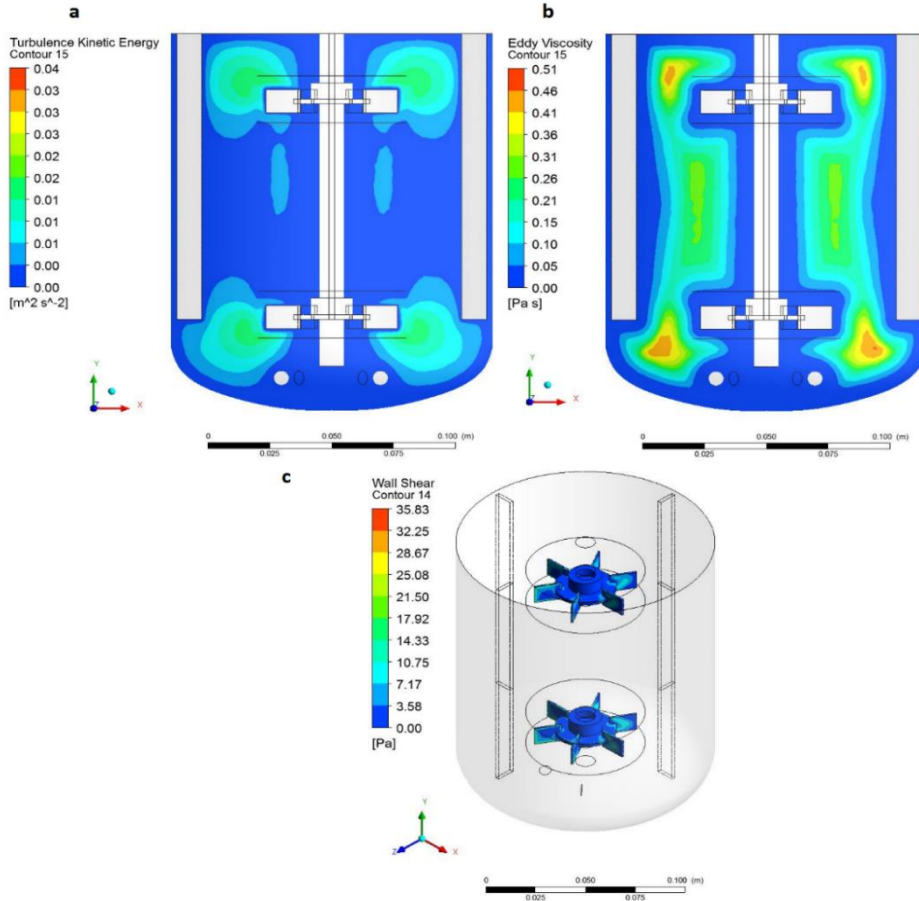


Şekil 4.34. ZX düzleminde 3 farklı bölgede radyal hız dağılımı a)Alt çarkı kesen düzlem, b) İki çark arasında tam ortadan kesen düzlem, c)üst çarkı kesen düzlem

Akış profilinin incelenmesinde önemli bir parametre olan kinetik enerji dağılımı Şekil 4.35a’da gösterilmiştir. Çarklardan akışkana geçen kinetik enerji duvarlara kadar etki göstermiştir. Ancak hız dağılımıyla paralel bir dağılım göstermekte olup iki çark arasında ve fotobiyoreaktörün tabanında kinetik enerji değeri çok düşüktür. Hız vektörlerinin incelendiği Şekil 4.33b’de vektör dağılımının da üst bıçaklardan yukarı, alt bıçaklardan ise aşağı doğru yöneldiği görülmüştür. Joshi ve arkadaşları karıştırıcı tank reaktörde türbülans modeli incelemiş ve bu tez çalışmasındaki sonuçlara benzer şekilde en düşük kinetik enerji değerlerinin karıştırıcının üst kısmında ve reaktörün tabanında oluştuğunu belirtmiştir (Joshi et al., 2011). En yüksek türbülans kinetik enerji değerlerinin bıçak uçlarında ve bu noktalardan akış yönünde ilerleyen noktalarda oluştuğu diğer hesaplamalı akış dinamiği çalışmalarında da belirtilmiştir (Devi and Kumar, 2012; Ding et al., 2010; Karcz and Kacperski, 2012). Burada dikkat çeken bir diğer nokta ise vorteks oluşumunun görüldüğü bölgelerde kinetik enerji

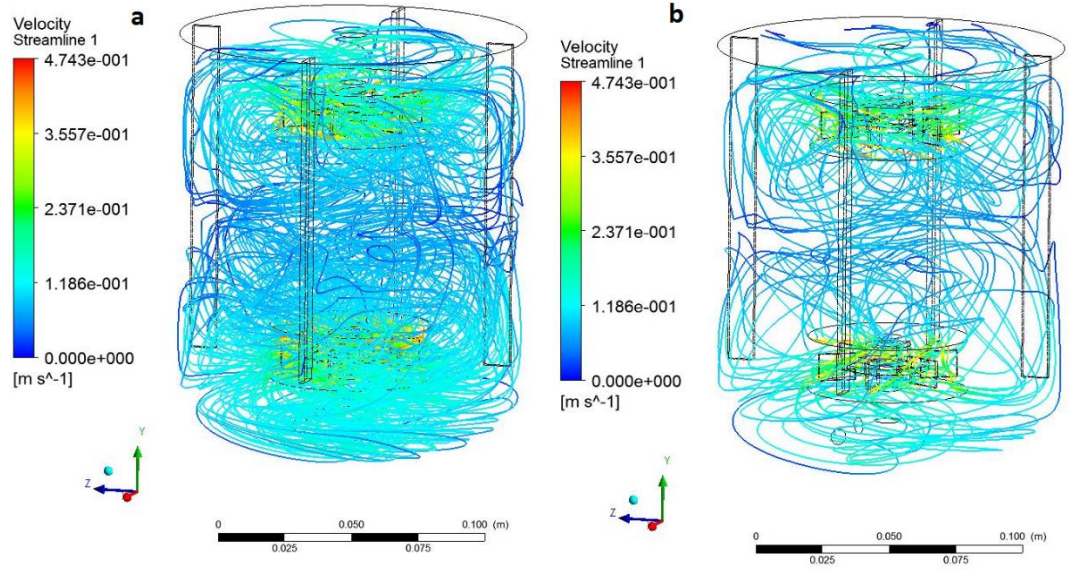
değerlerinin de yüksek olmasıdır. Bıçak çevresinde oluşan vorteksler Şekil 4.32b’de gösterilmiştir. En yüksek türbülans kinetik değerleri de bu noktalarda oluşmuştur. Ducci ve Yianneskis 6 bıçaklı Rushton türbin karıştırıcı içeren karıştırmalı tank için kinetik enerji dağılımlarını incelemiş ve bıçaklardan uzaklaştıkça kinetik enerjinin azaldığını ve tanktaki sıvının tam karışmadığı vorteks oluşan bölgelerde daha yüksek enerji değerlerine ulaşıldığını görmüştür (Ducci and Yianneskis, 2006).

Karıştırmanın bulunduğu sistemlerde homojeniteyi belirleyen en önemli nokta türbülans difüzivite değeridir. Bu değer belirlenmesinde sıvının yoğunluğu, relatif difüzyon katsayısı ve türbülans girdap (eddy) viskozitesi kullanılmaktadır. Simulasyon sonucunda elde edilebilen ve karışmanın özelliklerini veren en önemli parametrelerden biri de türbülans eddy viskozitesidir (Dagadu et al., 2015). Türbülans girdap (eddy) viskozitesi momentum transferine karşı türbülans girdaplarının oluşturduğu bir direnç olarak ifade edilmektedir. Şekil 4.35b’de görüldüğü gibi viskozite değeri en yüksek tankın altındaki karıştırıcı bıçaklarına çarpıp dağılan sıvının ilerlediği bölgelerdedir. En yüksek değerin bu noktada olmasının diğer bir nedeni bıçak yüzeyinden uzaklaşan sıvının altta bulunan difüzöre çarpmasıyla daha da artması olarak söylenebilir. Türbülans girdap viskozitesinin yüksek olduğu bölgelerde momentum ve kütle transferi daha ideal şekilde gerçekleşmektedir. Karıştırıcı shaftı etrafında ve engellerin yakınında difüzyon hızının düşük olduğu düşünülmüştür.



Şekil 4.35. Karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörde türbülans akış profili: a) $Z = 0$ düzlemindeki türbülans kinetik enerji, b) $Z = 0$ düzlemindeki eddy (türbülans) viskozite dağılımı, c) karıştırıcılarda oluşan duvar kayma dağılımı

Duvar kayma gerilmesi akış profilinin incelenmesinde kullanılan bir diğer parametredir. Bu değer arttıkça akışkan duvarlarda gerilmenin yüksek olduğu yerlerden ayrılmaya başlayacaktır (Şekil 4.35c). Şekil 4.35c’de görüldüğü gibi duvar kayma gerilmesi değerleri bıçak arkasında ve bıçak uçlarında fazla çıkmıştır, bu durumda akışkan bıçak uçlarından ve arkasından duvarlardan ayrılacaktır. Bıçaklar dönüş yönüne göre ön yüzeyden akışı süpürmüştür.



Şekil 4.36. Tank içerisinde akım çizgileri, a) alt karıştırıcının oluşturduğu akım, b) üst karıştırıcının oluşturduğu akım

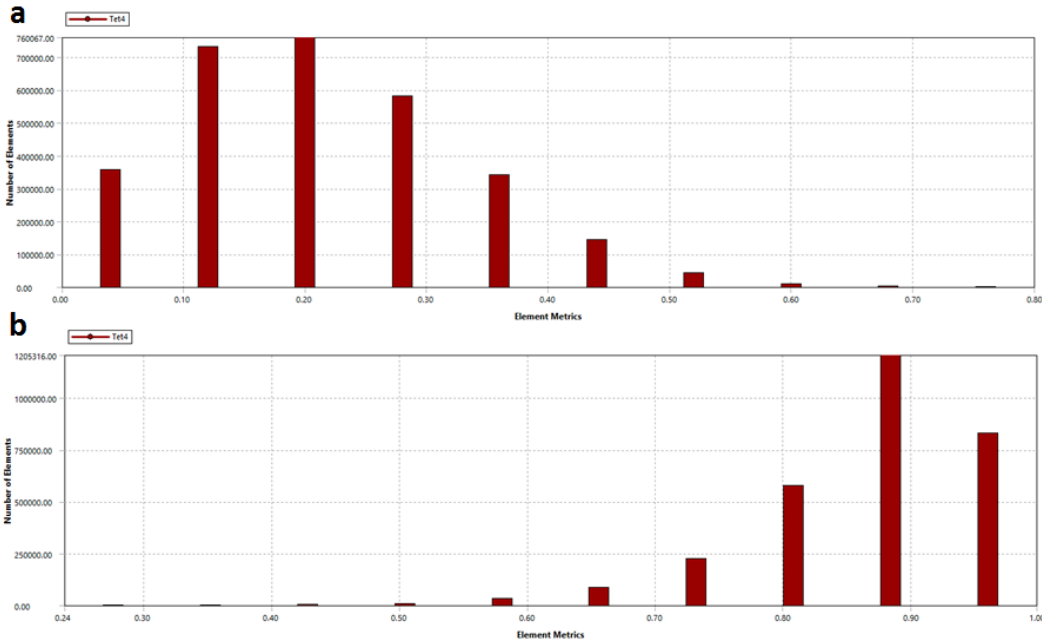
Tank içerisindeki sıvının karışmasında üst ve alt karıştırıcıların etkisini ayrı incelemek için bu bölgelerden akım çizgileri oluşturulmuştur (Şekil 4.36). Görüldüğü üzere fotobiyoreaktörün alt ve üst bölgelerindeki akım çizgilerine bakıldığında akışkanın her iki bölgede de dolandığı anlaşılmaktadır. Bu sebeple alt ve üst çarkların karıştırma etkilerinin, akışkanın her bölgeye dağılmasını sağlayacak yeterlilikte olduğu düşünülmüştür. Ayrıca alt taraftaki karıştırıcının daha etkili bir karışım profili oluşturduğu, özellikle hava difüzörünün bulunduğu bölgede yoğun akış çizgilerinin var olduğu görülmüştür. En yüksek hız değerlerine karıştırıcıların etrafında rastlanmıştır. Raj ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 6 bıçaklı Rushton türbin karıştırıcı kullanılmış ve akım çizgileri incelendiğinde en yüksek hız değerine karıştırıcı etrafında ulaşılmış ve tankın alt bölümünde homojeniteyi sağlayacak ölçüde akım çizgilerinin yoğunlaştığı görülmüştür (Raj et al., 2014).

4.5.2. Panel fotobiyoreaktör için hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu

2 L'lik panel fotobiyoreaktörde gerçekleştirilen üretim için hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu öncelikle reaktörün geometrisinin çizimiyle başlamıştır. Çizilen geometriye yüksek kalitede sayısal ağ yapısı uygulanmış ve Fluent 17.2 programı ile çözüm gerçekleştirilerek sonuçlar analiz edilmiştir.

Meshin (sayısal ağ) kalitesinin belirlenmesinde temel kriterlerden biri olan bozukluk (skewness) değerinin maksimum 0,8 değerinden küçük olması sayısal ağ kalitesinin istenen düzeyde olduğunu göstermektedir. Genelde yüksek kalitedeki sayısal ağların maksimum bozukluk (skewness) değeri 0,8'dir. Bu çalışmada, yapılan sayısal ağ için maksimum bozukluk (skewness) değeri 0.799 bulunmuştur (Şekil 4.37).

Sayısal ağ kalitesinin değerlendirildiği bir diğer kriter olan ortogonal kalite değerinin ortalama %85 oranında olması yüksek kalitedeki ağ yapısını, %10'dan büyük olması ise sayısal ağ kalitesinin kabul edilebilir düzeyde olduğunu göstermektedir. Yüksek kalitedeki sayısal ağların minimum ortogonal kalitesi ise 0,2'dir. Yapılan bu çalışmada ortogonal kalite minimum 0,24, ortalama ortogonal kalite 0,86 ve standart sapması da 0,008 olarak elde edilmiştir. Bu kriterler göz önünde bulundurulduğunda reaktör yüzeyi ve içindeki ağ yapısının yüksek doğrulukta gerçekleştiği söylenebilir.



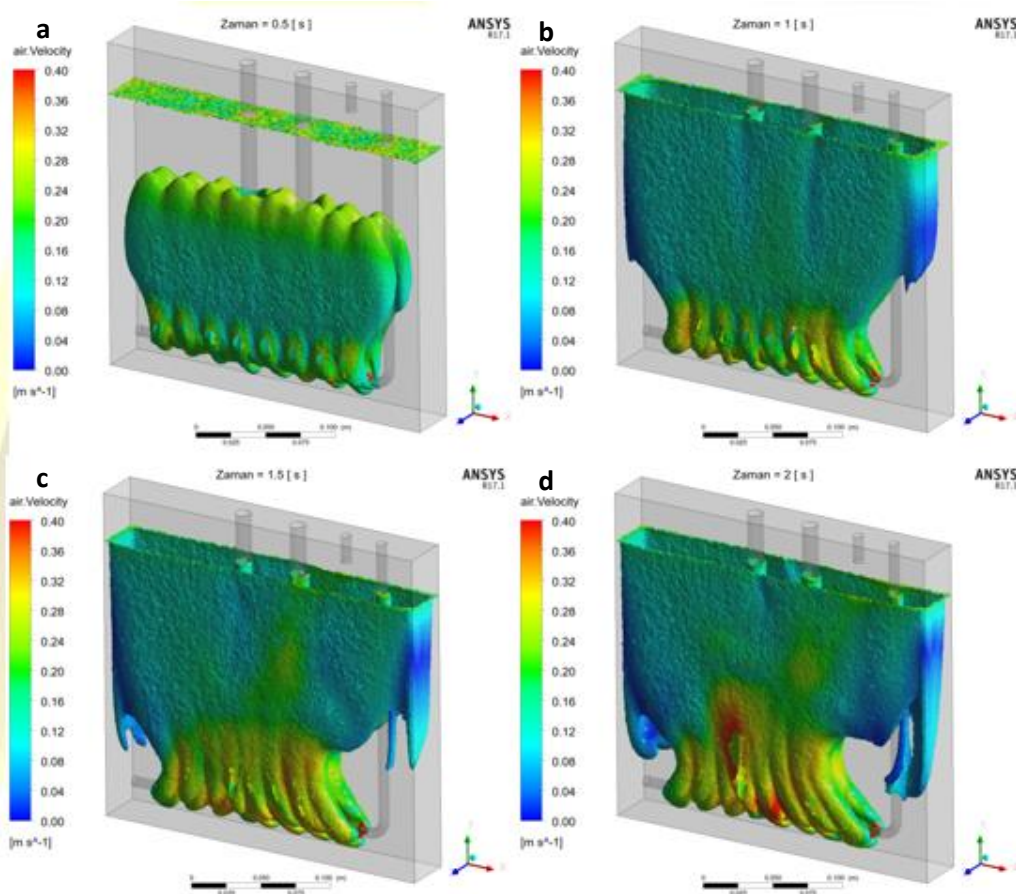
Şekil 4.37. Panel fotobiyoreaktör için sayısal ağ kalite elemanları, a) Bozukluk (skewness) değeri dağılımı, b) Ortogonal kalite dağılımı

Panel fotobiyoreaktörde karışım sadece havalandırma ile sağlanmıştır. Şekil 4.38'da reaktöre beslenen havanın zamana bağlı olarak dağılımı ve sağladığı karışım gösterilmiştir. 0,5 saniyede deliklerden çıkan hava baloncuklarının reaktörün yarı yüksekliğine kadar ilerlediği görülmüştür. 1. saniyede hava-sıvı gaz

yüzeyine ulaşan hava bu düzlemde fotobiyoreaktörün alt yüzeyine doğru dağılmaya başlamıştır. 1,5 saniyede aşağı doğru ilerleyen hava baloncukları, 2. saniyede difüzöre ulaşmıştır ancak reaktörün tabanında karışım etkili sağlanamamıştır. Fotobiyoreaktör içerisinde hava hızı incelendiğinde, renk düzeylerine bakılarak en yüksek hızın hava difüzör deliklerinden çıktığı anda 0,4 m/sn olduğu görülmüştür. Sıvı-gaz ara yüzeyinden aşağı doğru ilerleyen havanın hızı düşerek difüzöre ulaşmadan 0'a ulaşmıştır. Dikkat çeken bir diğer nokta ise deliklerden çıkan havanın sıvı içerisindeki problemlere çarpmasıyla hızının artmasıdır (Şekil 4.38d).

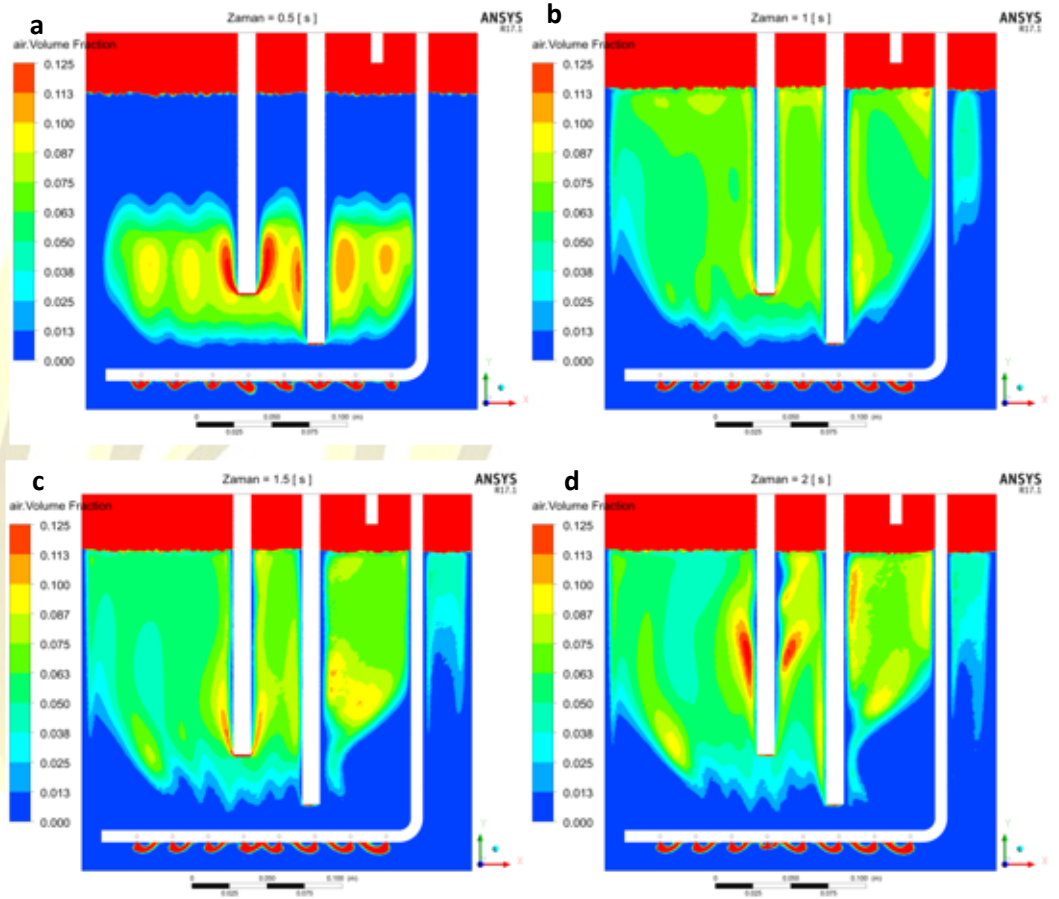
Olivieri ve arkadaşları tarafından yapılan panel fotobiyoreaktör için gerçekleştirilen CFD simülasyonunda hava kabarcığı çapı bu tez çalışmasında olduğu gibi 3 mm olarak belirlenerek çözüm gerçekleştirilmiştir. Y düzlemi yönünde havanın hızı incelendiğinde yaklaşık 2-3 saniyede havanın ortalama hız değerine ulaştığı görülmüştür. Çözüm sonucunda maksimum hava hızı 0,25 m/sn'lik değer ile hava sisteme ilk giriş yaptığı anda elde edilmiş, bu değer gaz reaktörü boyunca yükseldikçe 0,15 m/sn'ye düşmüştür (Olivieri et al., 2016).

Diğer bir çalışmada ise 15 L'lik panel fotobiyoreaktörde karışımın etkisinin artırılması amacıyla engel kullanımının sonuçları üzerine çalışılmıştır. 9 L/dk hava beslemesinin uygulandığı fotobiyoreaktörlerde engel bulunmayan geometride bu tezde elde edilen hava dağılımına benzer sonuçlar elde edilmiştir. Difüzörden çıkan hava yüksek hızla üst yüzeye doğru ilerlemiş ve sıvı-gaz ara yüzeyinden aşağı hareket eden hava kabarcıkları hız kaybetmiştir. Engel bulunan reaktörlerin simülasyon sonuçları karışımın verimliliği açısından daha ideal sonuçlar vermiştir (Huang et al., 2015).



Şekil 4.38. Hava baloncuklarının panel fotobiyoreaktör içinde zamana göre dağılımı a) 0,5 sn, b) 1 sn, c) 1,5 sn, d) 2 sn.

Fotobiyoreaktör içindeki hava dağılımının değerlendirildiği bir diğer parametre “Hava Hacim Fraksiyonu (Air Volume Fraction)” dur. Şekil 4.39’da 2 saniye boyunca sıvı içerisinde değişen hava hacim fraksiyonu gösterilmiştir. Reaktörün sıvı bulunmayan kısmında sadece hava bulunduğundan bu değer “1”dir. Havanın deliklerden çıkışını izleyen ilk 0,5 saniyede deliklerde ve pH probunun etrafında hava hacmi yüksektir. 1 saniyede ara yüzeye ulaşmış ve sıvı içerisindeki hava hacim fraksiyonu düşmüştür. İlerleyen sürede yine pH probu çevresinde hava hacmi miktarı diğer bölgelere göre daha yüksektir. Buna karşılık difüzörün çevresinde kalan alanda hava miktarı çok düşüktür. Bu bölgelerde difüzyon katsayısının düştüğü ve hücrelerin beslenen havadan yeteri kadar yararlanamadığı söylenebilir.

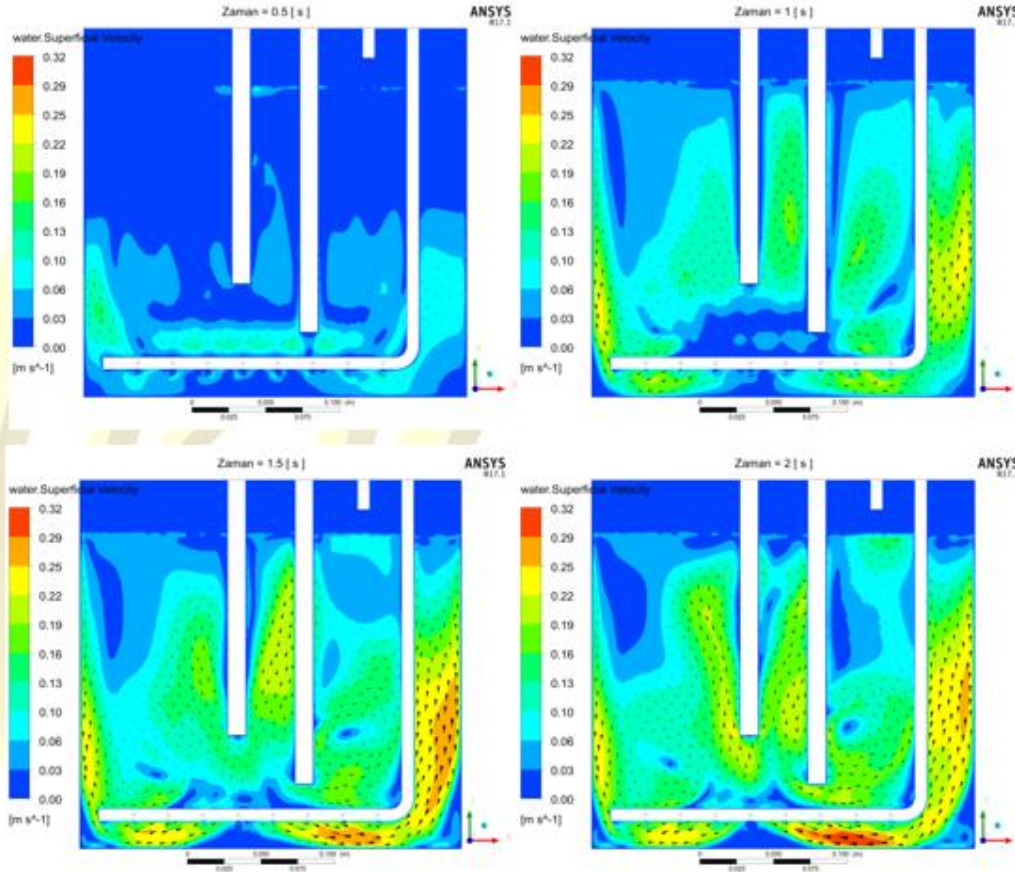


Şekil 4.39. Panel fotobiyoreaktörde havanın sıvı içerisindeki zamana bağlı hacim oranı; a) 0,5 sn, b) 1 sn, c) 1,5 sn, d) 2 sn.

Literatürde bulunan bir çalışmada yapısı hava kaldırmalı fotobiyoreaktöre benzeyen panel fotobiyoreaktörde akışkan davranışları simüle edilmiştir. Gaz hacim oranı difüzörden çıkışta en yüksek miktarda olup, hava yükseldikçe düşmüştür. Difüzör tek bir delikten oluştuğu için sıvı içerisindeki hava hacminin oranı maksimum 0,121'e ulaşabilmiş ve genel dağılımı 0,06 şeklinde gerçekleşmiştir (Chen et al., 2016).

Şekil 4.38 ve Şekil 4.39'de incelenen parametreler havanın fotobiyoreaktör içerisindeki davranışını gösteren parametrelerdir. Havanın sürüklenme gücü ile hareket eden sıvıda ise yüzeysel akışkan hızı önemli bir bileşendir. Havanın deliklerden çıkışıyla birlikte difüzör çevresinde sıvı hareketi başlamakta ve yüzeysel gaz hızı 0,03-0,13 m/sn arasında değişmiştir. Gazın Şekil 4.40b'de görüldüğü şekilde sıvı-gaz ara yüzeyine ulaştığında maksimum sıvı yüzeysel hızı 0,25 m/sn'ye ulaşmış ve reaktörün alt tabanına doğru sıvı hareketi başlamıştır. Gaz hareketinin aşağı yönde ilerlemeye başlamasıyla sıvı hızı özellikle difüzörün

arkasında ve altında 0,32 m/sn'ye kadar çıkmıştır. Bu duruma hava kabarcıklarının sürüklenme kuvvetinin ve yer çekiminin etkisi olduğu düşünülmüştür. Yüzeysel sıvı hızına göre sıvı hareketinin vektörlerle ifade edilmesiyle difüzör arkasında, altında ve iki prob arasında vektörlerin yoğunlaştığı görülmüştür (Şekil 4.40d).



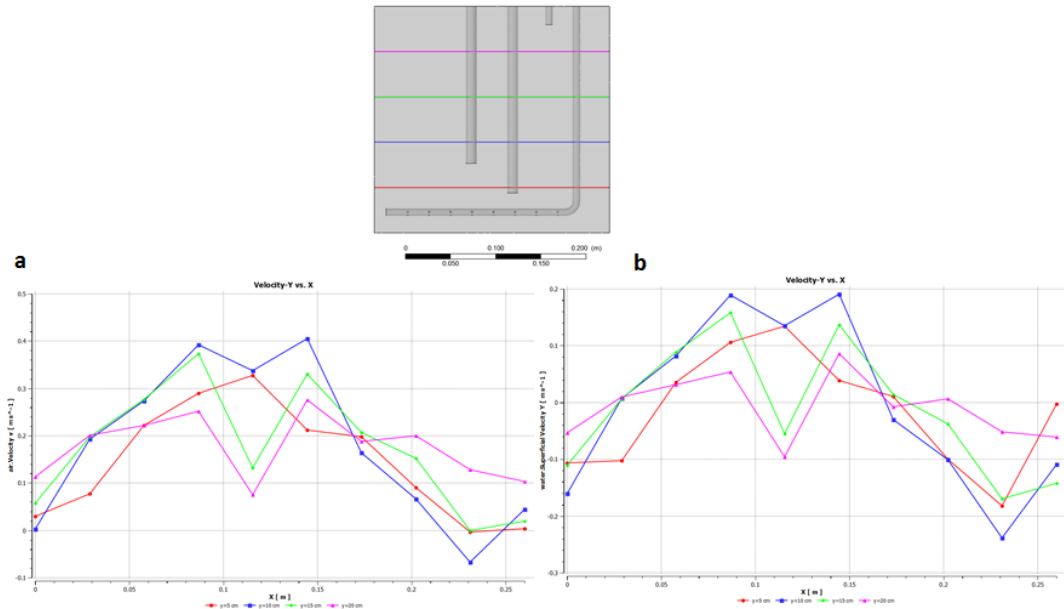
Şekil 4.40. Panel fotobiyoreaktörde akışkan yüzeysel hızı ve sıvının hareketini gösteren vektörlerin dağılımı; a) 0,5 sn, b) 1 sn, c) 1,5 sn, d) 2 sn.

Ninno tarafından gerçekleştirilen panel fotobiyoreaktör simülasyon çalışmasında reaktöre 0,8 L/dk debiyle hava beslemesi yapılmış ve akışkan hızı ile dağılımı incelendiğinde deliklerden yükselen havanın üst düzeye doğru sıvı hareketini oluşturduğunu ancak sıvı-gaz ara yüzeyinden ayrılarak duvarlara çarpan akışkanın aşağı hareket etmediği gözlenmiştir. Bu durum havalandırmanın yetersiz kalmasından dolayı akışkan karışımının yeterli olmadığı şeklinde yorumlanmıştır (Ninno, 2012).

Benzer bir çalışmada 15 L'lik panel fotobiyoreaktörde *Chlorella pyrenoidosa* mikroalginin kültivasyonu için 9 L/dk hava beslemesinin oluşturduğu

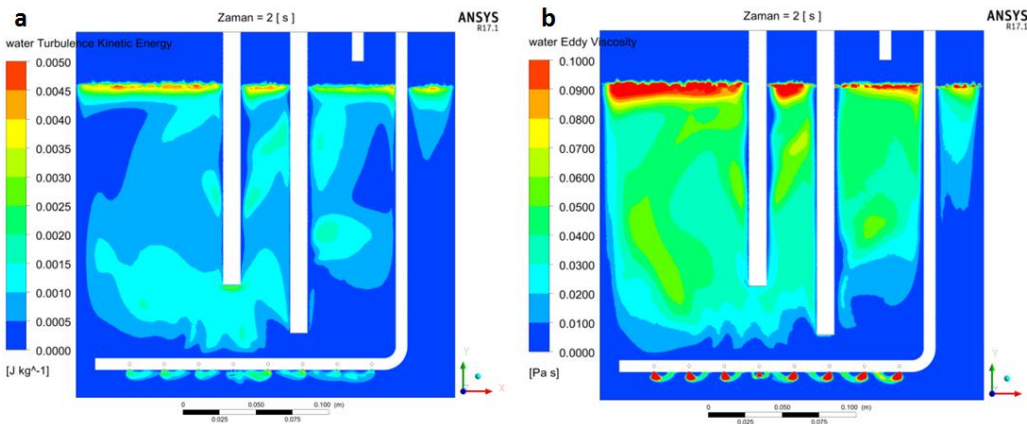
akışkan davranışı incelenmiştir. Şekil 4.40'dakine benzer şekilde gazın çıkış anından yükseldiği an boyunca akışkan hızı artmıştır. Ancak bu çalışmada elde edilen sonuçlardan farklı olarak 15 L'lik reaktörün duvarlarında akışkan hızı neredeyse 0'a düşmüştür. Karıştırmanın etkisinin arttırılması için reaktör içine entegre edilen engeller sayesinde duvar kenarında akışkanın hızlandırılması sağlanmıştır. Engel içeren fotobiyoreaktör tipindeki akışkan hız profili bu tez çalışmasında elde edilen (Şekil 4.40d) profil ile benzerlik göstermektedir (Huang et al., 2013). Bu da reaktörde engel bulunmamasına rağmen karışımın yüksek verimde gerçekleşmiş olduğu yönünde düşünülmüştür. Yine de difüzör altında ve arkasında kalan kısımlar için ideal karıştırmanın varlığı söz konusu değildir.

Akış sırasında fotobiyoreaktörün difüzör hizasındaki 4 farklı kesitinde havanın ve akışkanın hızları incelenmiştir (Şekil 4.41). Hava ve akışkan hızlarındaki değişim paralellik göstermiştir. Her ikisinde de hava difüzörünün dirsek kısmının altında en düşük hız değerlerine rastlanmıştır. Problara çarpan baloncukların etkisiyle bu bölgelerde en yüksek hız değerleri görülürken kenarlara doğru yaklaştıkça hız düşmüştür. Ayrıca maksimum hız değerleri beklenilenin aksine difüzörden hava çıkışının olduğu anda değil baloncukların proba çarpıp yükseldiği aşamada elde edilmektedir.



Şekil 4.41. Panel fotobiyoreaktörün 4 farklı bölgesinden alınan kesitlerdeki hız değişimi a) Hava hızı b) Akışkan yüzeyel hızı

Multifaz çözüm gerçekleştirilen panel fotobiyoreaktörde akışın özelliklerini belirleyen türbülans kinetik enerji ve viskozite değerleri Şekil 4.42’de gösterilmiştir. Hava kabarcıklarının sıvı-gaz yüzeyine ulaştığı anda hem kinetik enerji hem de viskozite değerleri en yüksek elde edilmiştir. Burada mevcut kabarcıkların patlayarak reaktör boşluğundaki havaya karışması sonucunda kinetik enerji ve buna bağlı olarak viskozite değerleri artmıştır. Hava difüzörünün arkasında ve özellikle dirseğin altında kalan kısımda beklenildiği gibi her iki değerde çok düşüktür. Bu noktalarda kütle transferinin gerçekleşmediği, difüzyon miktarının çok az olduğu söylenebilir (Şekil 4.42).



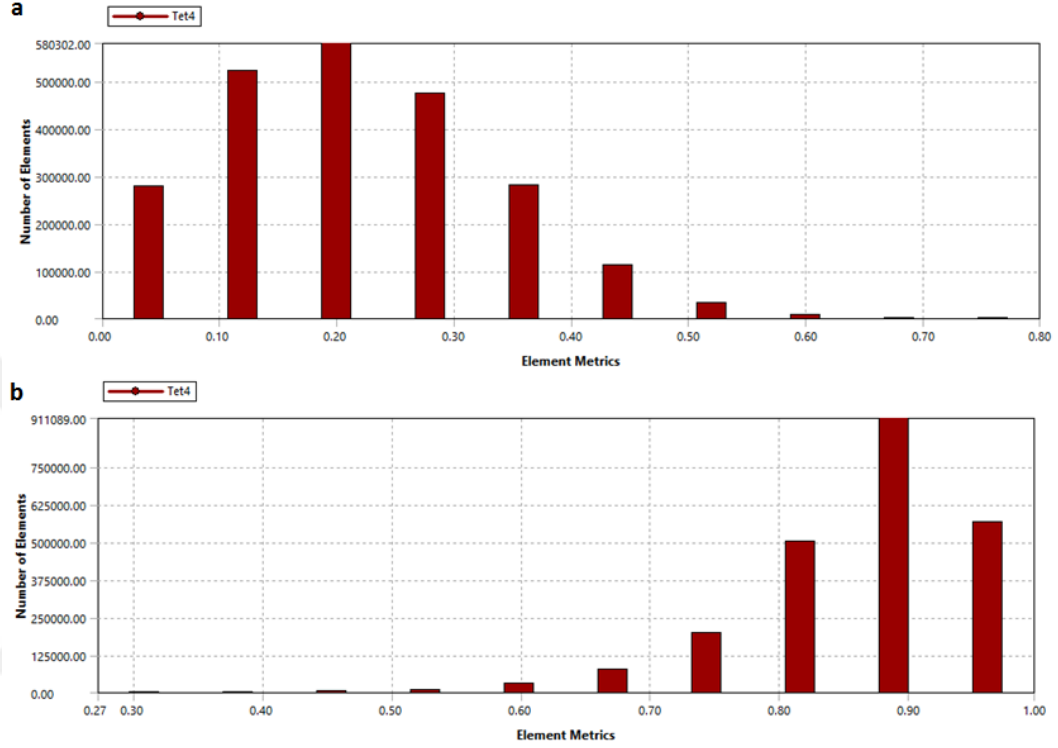
Şekil 4.42. Panel fotobiyoreaktörde türbülans akış profili a) $Z=0$ düzleminde türbülans kinetik enerji dağılımı, b) $z=0$ düzleminde eddy viskozitesi dağılımı

Sonuç olarak, panel fotobiyoreaktör içerisindeki hacim oranlarına bakıldığında genel olarak alt köşeler dışında tüm bölgelere hava baloncuklarının ulaştığı görülmektedir. Türbülans etkileri havalandırma difüzörünün dirseğinin arkasındaki bölgeler dışında panelin tamamında görülmektedir. En etkili karışımın sağlandığı bölge difüzörden çıkan havanın problara çarpmasıyla hızının arttığı bölgelerdir.

4.5.3. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör için hesaplamalı akışkanlar dinamiği (CFD) simülasyonu

Kültür ortamı dolu olan hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde kolonun alt kısmından difüzör ile gönderilen hava sıvı içinde baloncuklar oluşturarak sıvı yüzeyine çıkar. Hava baloncuklarının bu hareketi ile kolon içerisindeki sıvıda karışım sağlanır. Bu durum Hesaplamalı Akışkanlar Dinamiği analizleri ile hesaplanarak karışımın ne kadar sağlandığı incelenmiştir. Bunun için öncelikle reaktörün geometrisinin çizimiyle başlanmıştır. Çizilen geometriye yüksek kalitede sayısal ağ yapısı

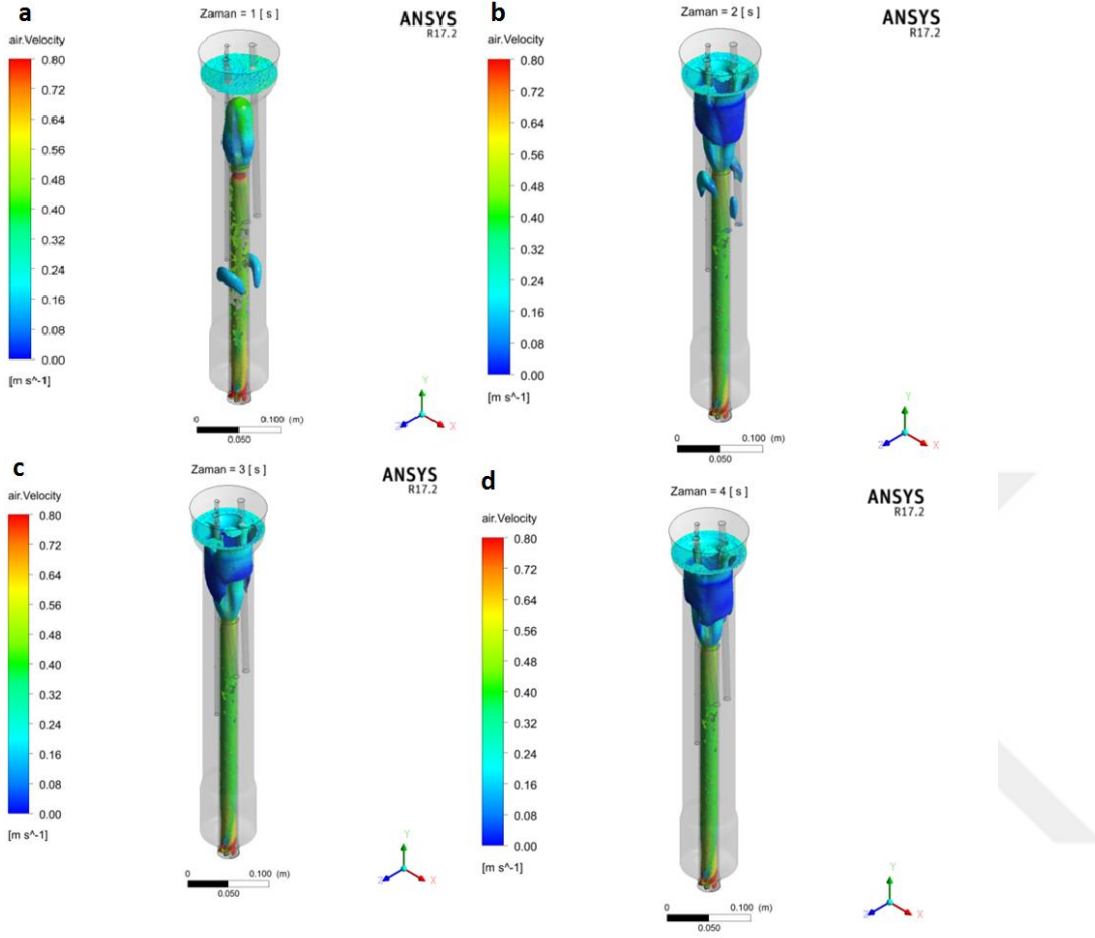
uygulanmış ve Fluent 17.2 programı ile çözüm gerçekleştirilerek sonuçlar analiz edilmiştir. Önceki fotobiyoreaktörlerde tanımlandığı üzere bu sistem için uygulanan sayısal ağın maksimum bozukluk değeri 0,798 olup kaliteli bir meş atma işleminin gerçekleştiği belirlenmiştir. Diğer bir parametre olan ortogonal kalite ise 0,27 olarak kriterlere uygunluk sağlamıştır (Şekil 4.43).



Şekil 4.43. Hava kaldırılmalı fotobiyoreaktör için sayısal ağ kalite elemanları, a) Bozukluk (skewness) değeri dağılımı, b) Ortogonal kalite dağılımı

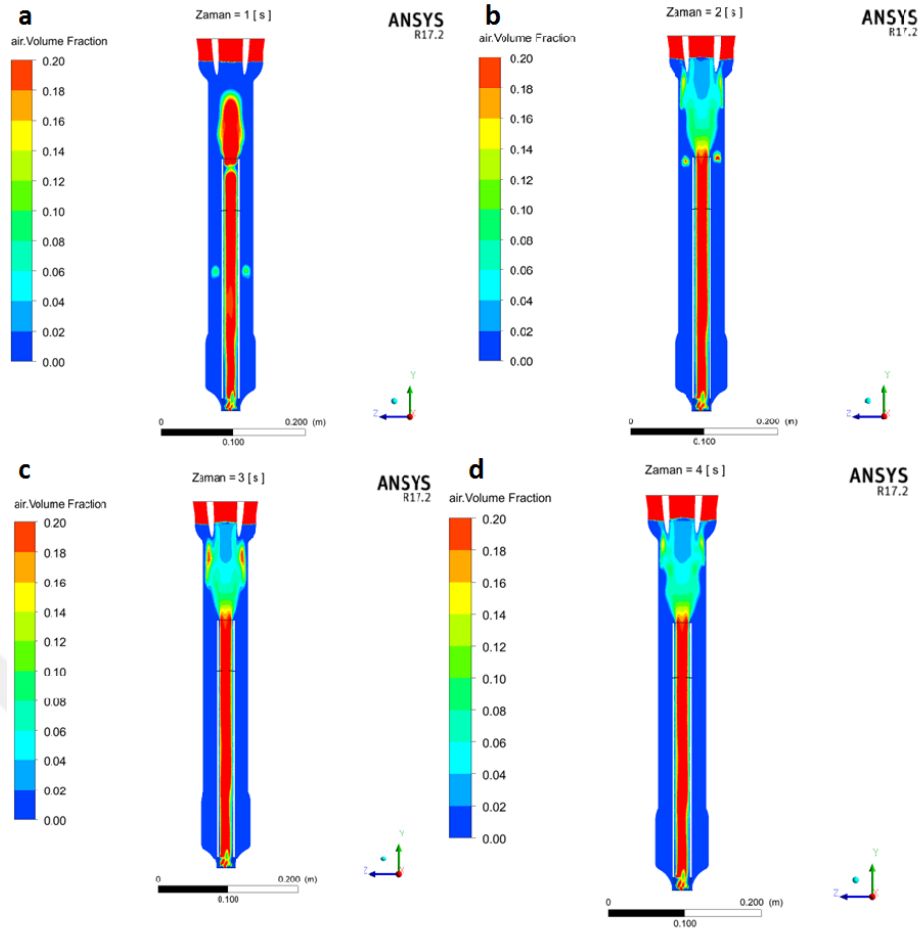
Hava kaldırılmalı fotobiyoreaktörde hava hareketi 4 sn boyunca incelenmiş ve oluşan akış profili Şekil 4.44’de gösterilmiştir. Havanın beslendiği an difüzördeki deliklerden çıkışta çekiş borusunun yanından hava kabarcıklarının kaçtığı gözlenmiştir. 2 saniyede sıvı-gaz ara yüzeyine ulaşan hava kabarcıkları burada patlayarak reaktör boşluğundaki havaya karışmaktadır. Çekiş borusundan yukarı çıkan hava aşağı yönde hareket edemeden yukarıdan dışarı çıkmaktadır. Bu yüzden hava kaldırılmalı fotobiyoreaktörlerin temel prensibi olan verimli hava kullanımı sağlanamamıştır. En yüksek hava hızı difüzörden çıkışta olup, yükseldikçe hız düşüşü görülmüştür (Şekil 4.44). Garcia ve arkadaşları tarafından hava kaldırılmalı fotobiyoreaktörün CFD simülasyonunda çekiş borusunun içinde maksimum hız değerleri oluşurken, çekiş borusu ile ana reaktör gövdesi arasında

gaz fazının bulunmadığı görülmüştür. Çekiş borusunun içinde elde edilen maksimum hava hızı 0,66 m/sn'ye ulaşmıştır (Garcia et al., 2014).



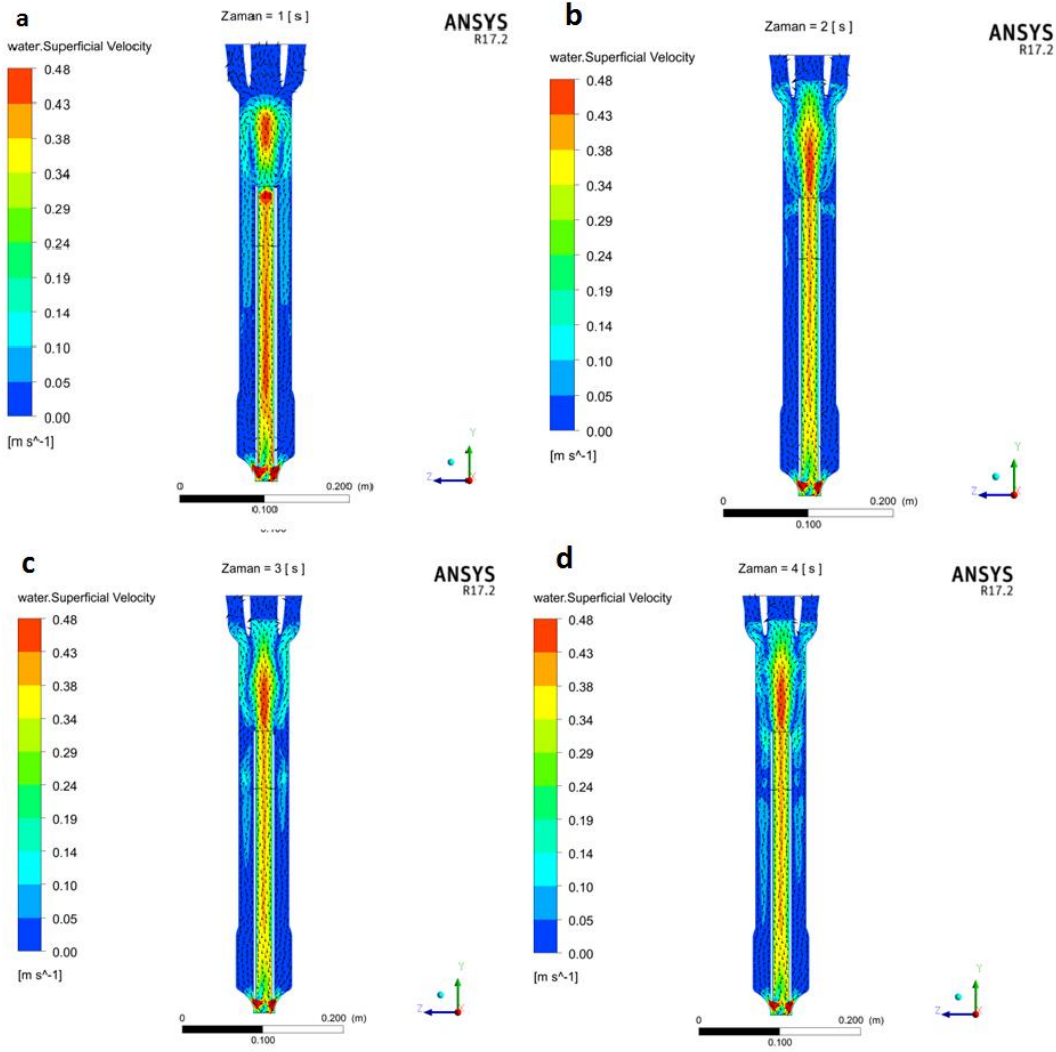
Şekil 4.44. Hava baloncuklarının hava kaldırmalı fotobiyoreaktör içinde zamana göre dağılımı a) 1 sn, b) 2 sn, c) 3 sn, d) 4 sn.

Havanın reaktör içerisindeki dağılımını gösteren bir diğer parametre hava hacim fraksiyonudur. Görüldüğü üzere bu değer en yüksek çekiş borusunun içinde oluşmaktadır. Hava beslendiği anda çekiş borusunun dışında az miktarda da olsa hava varlığı görülmüştür. Bu çekiş borusunun konfigürasyonunda alt kısmında bulunan oyuklardan kaynaklanmaktadır. Maksimum hava oranı toplam hacmin 0,2'si oranına ulaşabilmektedir (Şekil 4.45).



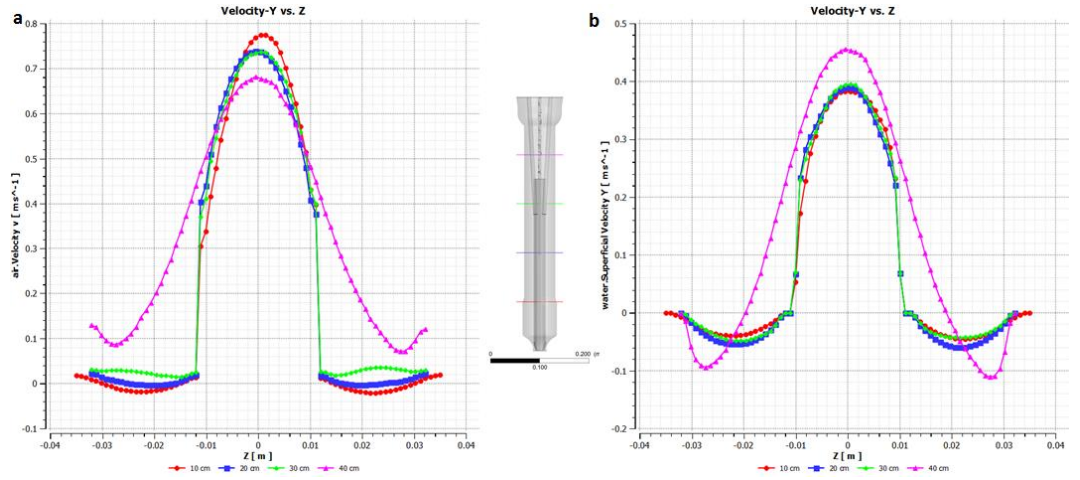
Şekil 4.45. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde havanın sıvı içerisindeki zamana bağlı hacim oranı; a) 1 sn, b) 2 sn, c) 3 sn, d) 4 sn.

Fotobiyoreaktör içerisindeki akışkan davranışının incelenmesi için yüzeyel sıvı hızı incelenmiştir (Şekil 4.46). Hava beslendiği an kabarcıkların itme kuvvetiyle çekiş borusu içinde sıvı yükselmiş ve hızı artmıştır. Hava kabarcıkları çekiş borusunun üstünden ayrıldığında akışkan aşağı doğru hareketlenmeye başlamış ve reaktörün tabanına ulaşmasa da büyük ölçüde aşağı yönde ilerlemiştir. Ulaşılan en yüksek akışkan yüzeyel hızı 0,48 m/sn'dir. Havanın ve akışkanın davranışlarının incelenmesiyle elde edilen temel sonuç, karışım ve kütle transferinin en etkili çekiş borusunun içinde ve sıvının üst kısmındaki gaz ara yüzeyinde gerçekleştiğidir.



Şekil 4.46. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde akışkan yüzeysel hızı ve sıvının hareketini gösteren vektörlerin dağılımı; a) 1 sn, b) 2 sn, c) 3 sn, d) 4 sn.

Şekil 4.47’de fotobiyoreaktörde 4 farklı yükseklikte hava ve akışkan hızlarındaki değişim incelenmiştir. En yüksek hava hızı reaktörün tabanına en yakın bölgeden alınan kesitte oluşmuştur. Yükselik arttıkça havanın hızında azalma meydana gelmiştir. Bununla beraber fotobiyoreaktörün merkezinden uzaklaştıkça hava hızında azalış görülmekte, çekiş borusunun dışında ise “0”lanmaktadır (Şekil 4.47a). Akışkan hızı göz önünde bulundurulduğunda hava hızının aksine en yüksek yüzeysel hız en üstteki kesitte elde edilmiştir. Diğer 3 kesitte akışkan hızı birbirine çok yakın değerler göstermektedir. Akışkan merkezden uzaklaştıkça ters yönde düşük değerlerde de olsa hıza sahiptir (Şekil 4.47b).

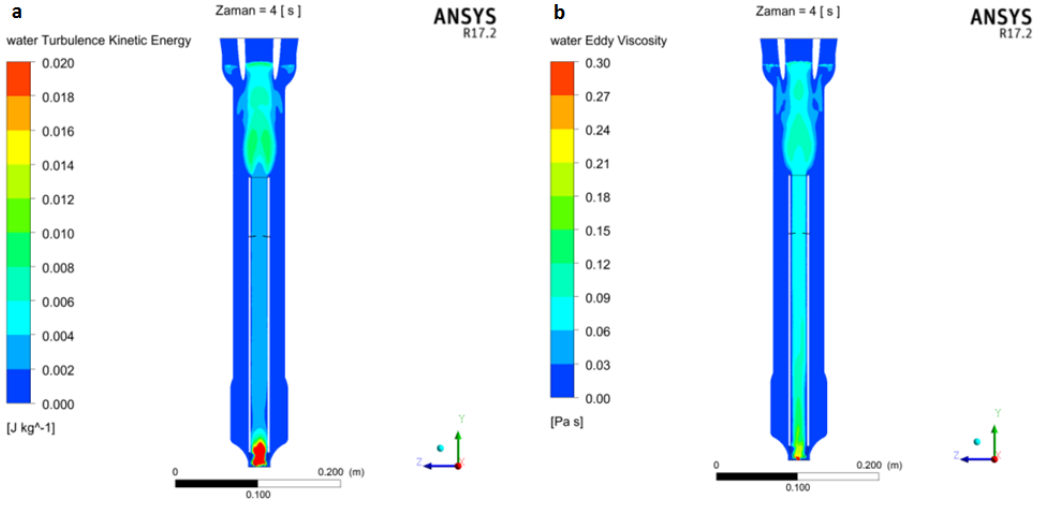


Şekil 4.47. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörün 4 farklı bölgesinden alınan kesitlerdeki hız değişimi
a) Hava hızı b) Akışkan yüzeyel hızı

Akışkan davranışının incelendiği son kriterler türbülans kinetik enerji ve türbülans viskozite değerleridir. Hava kaldırmalı fotobiyoreaktörün sıvı reolojisi incelendiğinde akışın laminar hareket gösterdiği görülmüştür. Simulasyon sonucunda elde edilen sonuçlar da bunu destekler niteliktedir. Son derece düşük değerlerde kinetik enerji oluşumu çekiş borusunun içinde ve reaktörün üst kısmında oluşmuştur. Viskozite değerleri de kinetik enerji ile benzer dağılım göstermiştir. Yüksek viskozite değerlerinin görüldüğü bölgelerde kütle transferi daha verimli gerçekleşmektedir ancak diğer reaktörlerle karşılaştırıldığında en düşük değerler bu fotobiyoreaktör tipinde elde edilmiştir (Şekil 4.48).

Literatürde bulunan bir çalışmada hava kaldırmalı fotobiyoreaktörün akışkan davranışı hesaplamalı akışkan dinamiği simülasyonu ile incelenmiş ve türbülans kinetik enerji değerleri en yüksek havanın beslendiği kısımda ve sıvının en üst yüzeyinde olduğu görülmüştür. Bunun temel sebebi hava kabarcıkları yükselirken hız vektörlerindeki artış ve en üstteki yüzeyde baloncukların patlamasıyla akışkan davranışında görülen hareketlenmedir (Huang et al., 2016).

Sonuç olarak hava kaldırmalı fotobiyoreaktörde havanın çekiş borusunda yoğunlaştığı, çekiş borusunun dışında hava hareketinin olmadığı ve akışkanın genel olarak sıvı üst yüzeyine doğru daha yüksek hızla hareket ettiği görülmüştür. Genel olarak fotobiyoreaktörde karışma ve difüzyon veriminin düşük olduğu ve bu durumdaki temel sebepler, düşük havalandırma hızı ve çekiş borusunun konfigürasyonunun uygun olmaması şeklinde yorumlanmaktadır.



Şekil 4.48. Hava kaldırılmalı fotobiyoreaktörde türbülans akış profili a) Z=0 düzleminde türbülans kinetik enerji dağılımı, b) z=0 düzleminde eddy viskozitesi dağılımı

4. ÖNERİLER

Fukoksantin karotenoidi sağlık, kozmetik, akuakültür gibi pek çok alanda yaygın kullanılan ve pek çok faydaya sahip bir moleküldür. Yüksek miktarda üretim fırsatlarının yaratılması ve farklı alanlarda kullanılması ticari açıdan potansiyeli yüksek bir ürün olmasında etkilidir.

Bu tez çalışması kapsamında fukoksantin karotenoidinin *Phaeodactylum tricornutum* mikroalginden üretiminde ışık, sıcaklık, havalandırma, besin ortamı gibi koşullar optimize edilmiş devamında yüksek hacimde üretimin gerçekleştirilebilmesi amacıyla fotobiyoreaktör üretimi yapılmıştır. Bu üretimler sırasında hücre davranışları matematiksel modellerle ifade edilmiş ve son dönemde yaygın uygulama alanına sahip “Hesaplamalı Akışkanlar Dinamiği”nin kullanımıyla sonraki aşamalarda daha verimli üretimlerin gerçekleştirilebileceği fotobiyoreaktör tasarım parametreleri üzerinde durulmuştur.

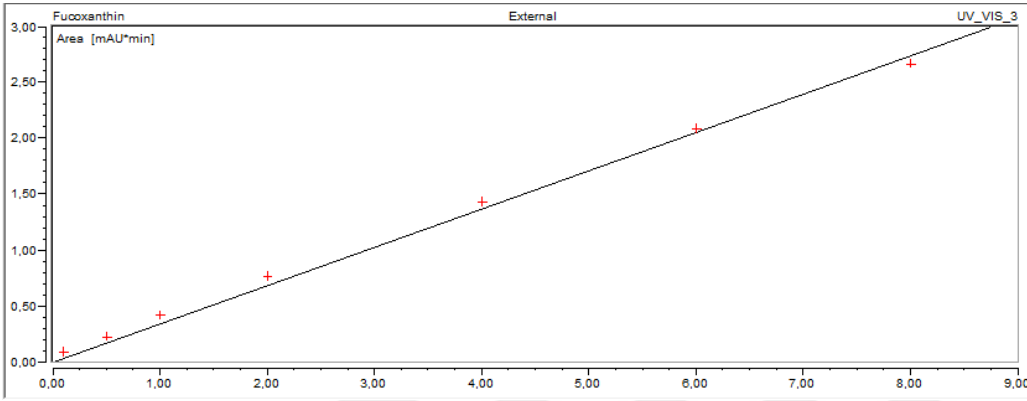
Kontaminasyon riski düşük olan bu diatom türü yetiştirilmesi kolay ancak ışık ve sıcaklık koşullarına karşı yüksek hassasiyet gösteren bir mikroalgdir. Üretiminin amaçlandığı çalışmalarda özellikle dış ortamda gerçekleştirilecek üretimlerde düşük sıcaklıktaki mevsimler tercih edilmelidir.

Simulasyon sonuçları incelendiğinde karıştırılmalı tank fotobiyoreaktörler için özellikle karıştırıcı tipinin değiştirilmesiyle fotobiyoreaktör verimleri arttırılabilir. Ayrıca karıştırıcılar arasındaki mesafelerde uygulanacak bir optimizasyon çalışmasının da verimi yükselteceği düşünülmektedir. Panel fotobiyoreaktörlerde karışma verimi arttırılmalıdır. Fotobiyoreaktör içerisine engel yerleştirilmesi, difüzörde bulunan deliklerin sayısı ve tasarımının değiştirilmesi gibi yöntemler uygulanabilir.

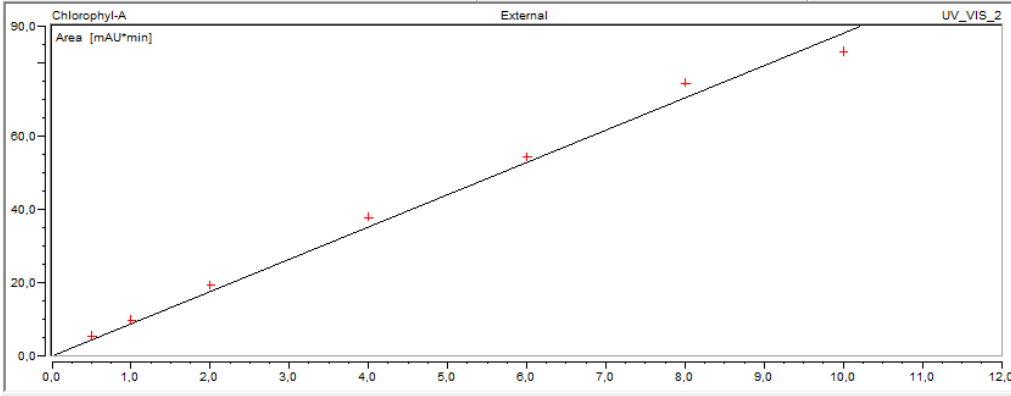
EK AÇIKLAMALAR

Ek Açıklama-A: HPLC standart kalibrasyon grafikleri

Fukoksantin ve klorofil-a pigmentlerinin yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde (HPLC) miktar analizinin yapılması için her iki maddenin standartları ile kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Fukoksantin karotenoidi için 450 nm (Şekil A.1) klorofil-a için ise 425 nm (Şekil A.2) dalga boyları kullanılmıştır.



Şekil A.10. Fukoksantin karotenoidinin HPLC kalibrasyon grafiği



Şekil Ek 11. Klorofil-a pigmentinin HPLC kalibrasyon grafiği

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abomohra A. E., Jin W., Tu R., Han S., Eid M. and Eladel H.,** 2016, Microalgal biomass production as a sustainable feedstock for biodiesel: Current status and perspectives, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 64, 596–606p.
- Airanthi M.K.W., Hosokawa M. and Miyashita K.,** 2011, comparative antioxidant activity of edible japanese brown seaweeds, *Journal of Food Science* _ Vol. 76, Nr. 1, 104-111p.
- Ali N., Ting Z., Khan Y. H., Athar M., A., Ahmad V. and Idrees M.,** 2014, Making biofuels from microalgae- A review of technologies, *Journal of Food Science and Technology*: Vol. 1(2): pp 007-014 p.
- Bajpai R., Prokop A., Zappi M.,** 2014, *Algal biorefineries, Volume 1: Cultivation of cells and products*, Springer, 83-95 p.
- Benavides A. M. S., Torzillo G. and Kopecky J.,** 2013, Productivity and biochemical composition of *Phaeodactylum tricornutum* (*Bacillariophyceae*) cultures grown outdoors in tubular photobioreactors and open ponds, *Biomass and Bioenergy*, 54, 115-122p.
- Bernard O., Mairet F. and Chachuat B.,** 2015, modelling of microalgae culture systems with applications to control and optimization, *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 1-37 p.
- Bertrand M.,** 2010, Carotenoid biosynthesis in diatoms, *Photosynth Res* , 106:89–102p.
- Bitog J. P., Lee I.-B., Lee C.-G. Kim K.-S., Hwang H.-S., Hong S.-W., Seo I.-H., Kwon K.-S. and Mostafa E.,** 2011, Application of computational fluid dynamics for modeling and designing photobioreactors for microalgae production: A review, *Computers and Electronics in Agriculture* 76, 131–147 p.
- Bitog J.P., Lee I.B., Lee C.G., Kim K.S., Hwang H.S., Hong S.W., Seo I.H., Kwon K.S. and Mostafa E.,** 2011, Application of computational fluid dynamics for modeling and designing photobioreactors for microalgae production: A review, *Computers and Electronics in Agriculture*, 76: 131–147p.
- Bonnett R., Mallams A.K., Spark A.A., Tee J. and Weedon B.C.L.,** 1969, carotenoids and related compounds. Part XX.I structure and reactions of fucoxanthin, *J. Chem. SOC (c)*, 429-454p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bougaran G., Bernard O. and Sciandra A.**, 2010, Modeling continuous cultures of microalgae colimited by nitrogen and phosphorus, *Journal of Theoretical Biology* 265, 443–454p.
- Bowler C., Allen A.E., Badger J.H., Grimwood J., Jabbari K., Kuo A., Maheswari U., Martens C., Maumus F., Otilar R.P., Rayko E., Salamov A., Vandepoele K., Beszteri B., Gruber A., Heijde M., Katinka M., Mock T., Valentin K., Verret F., Berges J.A., Brownlee C., Cadoret J.P., Chiovitti A., Choi C.J., Coesel S., Martino A.D., Detter J.C., Durkin C., Falciatore A., Fournet J., Haruta M., Huysman M.J.J., Jenkins B.D., Jiroutova K., Jorgensen R.E., Joubert Y., Kaplan A., Kroger N., Kroth P.G., Roche J.L., Lindquist E., Lommer M., Martin-Jezequel V., Lopez P. J., Lucas S., Mangogna M., McGinnis K., Medlin L. K., Montsant A., Secq M.-P. O.-L., Napoli C., Obornik M., Parker M. S., Petit J.-L., Porcel B. M., Poulsen N., Robison M., Rychlewski L., Ryneerson T. A., Schmutz J., Shapiro H., Siau M., Stanley M., Sussman M. R., Taylor A. R., Vardi A., Dassow P., Vyverman W., Willis A., Wyrwicz L.S., Rokhsar D. S., Weissenbach J., Armbrust E. V., Green B.R., Peer Y. V. and Grigoriev I. V.**, 2008, The *Phaeodactylum genome* reveals the evolutionary history of diatom genomes, *Nature*, Vol. 456, 239-244 p.
- Bradbury J.** 2004, Nature's nanotechnologists: Unveiling the secrets of diatoms, *Plos Biology*, Volume 2, Issue 10, 1512-1515p.
- Buono S., Colucci A., Angelini A., Langellotti A.L., Massa M., Martello A., Foglian V. and Dibenedetto A.**, 2016, Productivity and biochemical composition of *Tetradismus obliquus* and *Phaeodactylum tricornutum*: effects of different cultivation approaches, *J. Appl Phycol*, Vol 28 (6), 3179-3192 p.
- Camacho F. G., Rodriguez J. J. G. Mirona A. S., Belarbia E. H., Chisti Y. and Grima E. M.**, 2011, Photobioreactor scale-up for a shear-sensitive dinoflagellate microalga, *Process Biochemistry* 46, 936–944 p.
- Carvalho A.P., Meireles L.A. and Malcata F.X.**, 2006, Microalgal reactors: A review of enclosed system designs and performances, *Biotechnol Prog.* 22(6), 1490-1506 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chen Z., Jiang Z., Zhang X. and Zhang J.**, 2016, Numerical and experimental study on the CO₂ gas-liquid mass transfer in flat-plate airlift photobioreactor with different baffles, *Biochemical Engineering Journal* 106, 129–138 p.
- Chiu S., Tsai M., Kao C., Ong S., Lin C.**, 2009, The air-lift photobioreactors with flow patterning for high-density cultures of microalgae and carbon dioxide removal, *Eng. Life Sci.*, 9, No. 3, 254–260 p.
- Contreras A., Garcia F., Molina E. and Merchuk C.**, 1998, Interaction between CO₂-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of *Phaeodactylum tricornutum* in a concentric tube airlift photobioreactor, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 60, No. 3, 317-325 p.
- Coppens J., Decostere B., Hulle S. V., Nopens I., Vlaeminck S. E., Gelder L. D. and Boon N.**, 2014, Kinetic exploration of nitrate-accumulating microalgae for nutrient recovery, *Appl Microbiol Biotechnol*, 98:8377–8387 p.
- Crupi P., Toci A. T., Mangini S., Wrubl F., Rodolfi L., Tredici M. R., Coletta A. and Antonacci D.**, 2013, Determination of fucoxanthin isomers in microalgae (*Isochrysis* sp.) by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector multistage mass spectrometry coupled with positive electrospray ionization, *Rapid Commun Mass Spectrom*, 15;27(9):1027-35p.
- D’Orazio N., Gemello E., Gammone M.A., Girolamo M., Ficoneri C. and Riccioni G.**, 2011, Fucoxantin: A treasure from the sea, *Mar. Drugs*, 10, 604-616p.
- Dagadu C. P. K., Stegowski Z., Sogbey B. J. A. Y. and Adzklo S. Y.**, 2015, Mixing analysis in a stirred tank using Computational Fluid Dynamics, *Journal of Applied Mathematics and Physics*, 3, 637-642 p.
- Deniz İ., Imamoglu E. ve Sukan F. V.**, 2015, Evaluation of scale-up parameters of bioethanol production from *Escherichia coli* KO11, *Türk Biyokimya Dergisi*, 40(1):74–80p.
- Devi T. T. and Kumar B.**, 2012, CFD simulation of flow patterns in unbaffled stirred tank with cd-6 impeller, *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly* 18 (4) 535–546 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ding J., Wang X., Zhou X., Ren N. and Guo W.**, 2010, CFD optimization of continuous stirred-tank (CSTR) reactor for biohydrogen production, *Bioresource Technology* 101, 7005–7013 p.
- Domergue F., Spiekermann P., Lerchl J., Beckmann C., Kilian O., Kroth P. G., Boland W., Zahringer U. and Heinz E.**, 2003, New insight into *Phaeodactylum tricornutum* fatty acid metabolism: Cloning and functional characterization of plastidial and microsomal 12-fatty acid desaturases, *Plant Physiology*, Vol. 131, pp. 1648–1660.
- Domonkos I., Kis M., Gombos Z. and Ughy B.**, 2013, Carotenoids, versatile components of oxygenic photosynthesis, *Progress in Lipid Research* 52, 539–561p.
- Ducci A. and Yianneskis M.**, 2006, Turbulence kinetic energy transport processes in the impeller stream of stirred vessels, *Chemical Engineering Science* 61, 2780 – 2790 p.
- Eilers U., Dietzel L., Breitenbach J., Büchel C. and Sandmann G.**, 2016, Identification of genes coding for functional zeaxanthin epoxidases in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*, *Journal of Plant Physiology*, 192, 64–70p.
- Englert G., Bjornland T. and Liaaen-Jensen S.**, 1990, 1D and 2D NMR study of some allenic carotenoids of the fucoxanthin series, *Magnetic Resonance in Chemistry*, vol., 28, 519-528p.
- Fernandez F. G. A., Camacho F. G., Perez J. A. S., Sevilla J. M. F. and Grima E. M.**, 1997, Modeling of biomass productivity in tubular photobioreactors for microalgal cultures: Effects of dilution rate, tube diameter, and solar irradiance, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 58, No. 6, 605-616 p.
- Fernandez F. G. A., Perez J. A. S., Sevilla J. M. F., Camacho F. G. and Grima E. M.**, 1999, Modeling of Eicosapentaenoic Acid (EPA) production from *Phaeodactylum tricornutum* cultures in tubular photobioreactors, Effects of dilution rate, tube diameter, and solar irradiance, John Wiley & Sons, Inc. *Biotechnol Bioeng*, 68, 173–183p.
- Fre N.C.D., Chagas A.L.D., Rech R. and Marcilio N.R.**, 2015, kinetic modeling of *dunaliella tertiolecta* growth under different nitrogen concentrations, *Chem. Eng. Technol.*, 39, No. 9, 1716–1722p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Fu W., Wichuk K. and Brynjolfsson S.**, 2015, Developing diatoms for value-added products: challenges and opportunities, *New Biotechnology*, Volume 32, Number 6, 547-551p.
- Gammone M.A. and D'Orazio N.**, 2015, Anti-obesity activity of the marine carotenoid fucoxanthin, *Mar. Drugs* 13, 2196-2214p.
- Gammone M.A., Riccioni G. and D'Orazio N.**, 2015, Marine carotenoids against oxidative stress: Effects on human health, *Mar. Drugs* 2015, 13, 6226-6246p.
- Garama D., Bremer P. and Carne A.**, 2012, Extraction and analysis of carotenoids from the New Zealand sea urchin *Evechinus chloroticus* gonads, *Acta biochimica polonica*, Vol. 59, No.1, 83-85p.
- Garcia S., Paternina E., Pupu O. R., Bula A. and Di Mare L.**, 2014, CFD simulation of multiphase flow in an airlift column photobioreactor, *Global NEST Journal*, Vol 16, pp 1121-1134.
- Gatenby C.M., Orcutt D.M., Kreeger D.A, Parker B.C., Jones V.A. and Neves R.J.**, 2003, Biochemical composition of three algal species proposed as food for captive freshwater mussels, *Journal of Applied Phycology*, 15, 1–11p.
- Gebre D.S.**, 2016, Molecular and physiological responses to shifts in light quality and genomic editing using CRISPR Cas9 system targeting highly regulated genes in light response of diatom *Phaeodactylum tricornutum* (MSc Thesis), Norwegian University of Science and Technology
- Goiris K., Colen W. V., Wilches I., Leon-Tamariz F., Cooman L. D. and Muylaert K.**, 2015, Impact of nutrient stress on antioxidant production in three species of microalgae, *Algal Research* 7, 51–57 p.
- Goldman J.C. and Carpenter E.J.**, 1974, A kinetic approach to the effect of temperature on algal growth, *Limnology and oceanography*, V.19(5), 756-766p.
- Grima E.M., Camacho F.G., Perez J.A.S., Sevilla J.M.F., Fernandez F.G.A. and Gomez A.C.**, 1994, A mathematical model of microalgal growth in light-limited chemostat culture, *Journal of chemical technology and biotechnology*, Vol. 61 (2), 167-173 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Guo X., Yao L. and Huang Q.**, 2015, Aeration and mass transfer optimization in a rectangular airlift loop photobioreactor for the production of microalgae, *Bioresource Technology*, 190, 189–195p.
- Gügi B., Costaouec T.L., Burel C., Lerouge P., Helbert W. and Bardor M.**, 2015, Diatom-specific oligosaccharide and polysaccharide structures help to unravel biosynthetic capabilities in diatoms, *Mar. Drugs*, 13, 5993-6018p.
- Haario H., Kalachev L. and Laine M.**, 2009, Reduced models of algae growth, *Bulletin of Mathematical Biology*, 71, 1626–1648p.
- Hamilton M.L., Haslam R.P., Napier J.A. and Sayanova O.**, 2014, Metabolic engineering of *Phaeodactylum tricornutum* for the enhanced accumulation of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids, *Metabolic Engineering*, 22, 3–9p.
- Hammed A.M., Prajapati S.K., Simsek S. and Simsek H.**, 2016, Growth regime and environmental remediation of microalgae, *Algae*, 31, (3), 189-204p.
- He L., Han X. and Yu Z.**, 2014, A rare *Phaeodactylum tricornutum* cruciform morphotype: culture conditions, transformation and unique fatty acid characteristics, *Plos one*, 1-8p.
- Hendey N.I.**, 1954, Note on the plymouth ‘Nitzschia’ culture, *Mar. Drugs*, 13, 5847-5881p.
- Heo S.J., Yoon W.J., Kim K.N., Ahn G.N., Kang S.M., Kang D.H., Affan A., Oh C., Jung W.K. and Jeon Y.J.**, 2010, Evaluation of anti-inflammatory effect of fucoxanthin isolated from brown algae in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2045–2051p.
- Hopkinson B.M., Dupont C.L. and Matsuda Y.**, 2016, The physiology and genetics of CO₂ concentrating mechanisms in model diatoms, *Current Opinion in Plant Biology*, 31, 51–57p.
- Huang J., Kang S., Wan M., Li Y., Qu X., Feng F., Wang J., Wang W., Shen G. and Li W.**, 2013, Numerical and experimental study on the performance of flat-plate photobioreactors with different inner structures for microalgae cultivation, *J Appl Phycol*, Vol. 27 (1), 49-58 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Huang J., Ying J., Fan F., Yang Q., Wang J. and Li Y.**, 2016, Development of a novel multi-column airlift photobioreactor with easy scalability by means of computational fluid Dynamics simulations and experiments, *Bioresource Technology* 222, 399-407 p.
- Huesemann M., Crowe B., Waller P., Chavis A., Hobbs S., Edmundson S. and Wigmosta M.**, 2016, A validated model to predict microalgae growth in outdoor pond cultures subjected to fluctuating light intensities and water temperatures, *Algal Research*, 13, 195–206p.
- Huysman M.J.J., Vyverman W. and Veylder L.D.**, 2014, Molecular regulation of the diatom cell cycle, *Journal of Experimental Botany*, Vol. 65, No. 10, 2573–2584pp.
- Imamoglu E. and Sukan F.V.**, 2013, Scale-up and kinetic modeling for bioethanol production, *Bioresource Technology*, 144, 311–320p.
- Imamoglu E.**, 2016, Effects of geometrical configurations of photobioreactors on the growth of marine benthic diatom *Cylindrotheca closterium*, *Turkish Journal of Biochemistry*; 41(2): 105–111 p.
- Irakura I., Sugawara T. and Hirata T.**, 2011, Protective effect of fucoxanthin against UVB-induced skin photoaging in hairless mice, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75 (4), 757–760 p.
- Jalalizadeh M.**, 2012, Development of an integrated process model for algae growth in a photobioreactor (MSc Thesis), University of South Florida.
- James S.C. and Boriah V.**, 2010, Modeling algae growth in an open-channel raceway, *Journal of Computational Biology*, Volume 17, Number 7, 895-906p.
- Jaswir I., Noviendri D., Salleh H.M., Taher M., Miyashita K. and Ramli N.**, 2012, Analysis of fucoxanthin content and purification of all-trans-fucoxanthin from *Turbinaria turbinata* and *Sargassum plagyophyllum* by SiO₂ open column chromatography and reversed phase-HPLC, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 36, 1340–1354p.
- Jiang H. and Gao K.**, 2004, Effects of lowering temperature during culture on the production of polyunsaturated fatty acids in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae), *J. Phycol.* 40, 651–654p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Jo B.H., Kim C.S., Jo Y.K., Cheong H. and Cha H.J.**, 2016, Recent developments and applications of bioinspired silicification, *Korean J. Chem. Eng.*, 33(4), 1125-1133p.
- Johansen J.R.**, 1991, Morphological variability and cell wall composition of *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae), *The Great Basin Naturalist*, Vol. 51, No. 4, 310-315 pp.
- Joshi J. B., Nere N. K., Rane C. V., Murthy B. N., Mathpati C. S., Patwardhan A. W. and Ranade V. V.**, 2012, CFD simulation of stirred tanks: Comparison of turbulence models (Part II: Axial flow impellers, multiple impellers and multiphase dispersions), *The Canadian Journal Of Chemical Engineering*, Vol. 89, 754-816 p.
- Kadono T., Kira N., Suzuki K., Iwata O., Ohama T., Okada S., Nishimura T., Akakabe M., Tsuda M. and Adachi M.**, 2015, Effect of an introduced phytoene synthase gene expression on carotenoid biosynthesis in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*, *Mar. Drugs*, 13, 5334-5357p.
- Kaixian Q. and Borowitzka M.A.**, 1993, Light and nitrogen deficiency effects on the growth and composition of *Phaeodactylum tricornutum*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 38, 93-103p.
- Kang S.I., Shin H.S., Kim H.M., Yoon S.A., Kang S.W., Kim J.H., Ko H.C. and Kim S.J.**, 2012, *Petalonia binghamiae* extract and its constituent fucoxanthin ameliorate high-fat diet-induced obesity by activating AMP-activated protein kinase, *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 60, 3389–3395p.
- Karcz J. and Kacperski L.**, 2012, An effect of grid quality on the results of numerical simulations of the fluid flow field in an agitated vessel, 14th European Conference on Mixing Warszawa, 205-210 p.
- Karimi M., Akdoğan G. and Bradshaw S. M.**, 2012, Effects of different mesh schemes and turbulence models in CFD modelling of stirred tanks, *Physicochem. Probl. Miner. Process.* 48(2), 513–531 p.
- Katz T., Yahel G., Tunnicliffe V., Herut B., Whitney F., Snelgrove P.V.R. and Lazar B.**, 2016, The silica cycle in a Northeast Pacific fjord; the role of biological resuspension, *Progress in Oceanography*, 147, 10–21p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kim S.M., Jung Y.J., Kwon O.H., Cha K.H., Um B.H., Chung D. and Pan C.H.**, 2012, A potential commercial source of fucoxanthin extracted from the microalga *Phaeodactylum tricornutum*, Appl Biochem Biotechnol, 166, 1843–1855p.
- Klausmeier C.A. and Litchman E.**, 2004, Phytoplankton growth and stoichiometry under multiple nutrient limitation, Limnol. Oceanogr., 49, (4, part 2), 1463–1470p.
- Klinthong W., Yang Y.H., Huang C.H. and Tan C.S.**, 2015, A Review: Microalgae and their applications in CO₂ capture and renewable energy, Aerosol and Air Quality Research, 15, 712–742p.
- Kooistra W.H.C.F. and Medlin L.K.**, 1996, Evolution of the diatoms (Bacillariophyta), Molecular Phylogenetics and Evolution, vol.6, no.3 391-407p.
- Krichnavaruk S., Loataweesup W., Powtongsook S. and Pavasant P.**, 2005, Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor, Chemical Engineering Journal 105, 91–98 p.
- Krzeminska I., Skowronska B.P., Trzcinska M. and Tys J.**, 2014, Influence of photoperiods on the growth rate and biomass productivity of green microalgae, Bioprocess Biosyst Eng, 37, 735–741p.
- Kuczynska P. and Jemiola-Rzeminska M.**, 2016, Isolation and purification of all-trans diadinoxanthin and all-trans diatoxanthin from diatom *Phaeodactylum tricornutum*, J Appl Phycol, 1-9 pp.
- Kuczynska P., Rzeminska M.J. and Strzalka K.**, 2015., Photosynthetic pigments in diatoms, Mar. Drugs, 13, 5847-5881p.
- Kumar S. R., Hosokawa M. and Miyashita K.**, 2013, Fucoxanthin: A marine carotenoid exerting anti-cancer effects by affecting multiple mechanisms, Mar. Drugs, 11, 5130-5147 p.
- Kvídiová J. and Lukavský J.**, 2003, The cultivation of *Phaeodactylum tricornutum* in crossed gradients of temperature and light, Algological Studies 110, 67-80 p.
- Lepetit B., Goss R., Jakob T. and Wilhelm C.**, 2012, Molecular dynamics of the diatom thylakoid membrane under different light conditions, Photosynth Res, 111:245–257 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lewin J. C.**, 1958, The taxonomic position of *Phaeodactylum tricornutum*, J. gen. Microbiol. 18, 427-432 p.
- Lewin J. C., Lewin R. A. and Philpott D. E.**, 1958, Observations on *Phaeodactylum tricornutum*, J. gen. Microbiol. 18, 418-426 p.
- Lowrey J., Brooks M. S. and McGinn P. J.**, 2015, Heterotrophic and mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production in agricultural wastewaters and associated challenges—a critical review, J Appl Phycol 27:1485–1498 p.
- Maeda H.**, 2015, Nutraceutical effects of fucoxanthin for obesity and diabetes therapy: A review, Journal of Oleo Science 64, (2) 125-132 p.
- Mairet F., Bernard O., Masci P., Lacour T. and Sciandra A.**, 2011, Modelling neutral lipid production by the microalga *Isochrysis* aff. *Galbana* under nitrogen limitaiton, Bioresource Technology 102, 142-149 p.
- Mann D. G. and Vanormelingen P.**, 2013, An inordinate fondness? The number, distributions, and origins of diatom species, Journal of Eukaryotic Microbiology, 60, 414-420 p.
- Marques M. P. C., Cabral J. M. S. and Fernandes P.**, 2010, Bioprocess scale-up: quest for the parameters to be used as criterion to move from microreactors to lab-scale, J Chem Technol Biotechnol, 85: 1184–1198 p.
- Martin-Jezequel V. and Tesson B.**, 2012, *Phaeodactylum tricornutum* polymorphism: an overview, Advances in algal cell biology, Walter De gruyter publishing group, 43-80 p.
- Martino A.D., Bartual A., Willis A., Meichenin A., Villazán B., Maheswari U. and Bowler C.**, 2011, Physiological and Molecular Evidence that Environmental Changes Elicit Morphological Interconversion in the Model Diatom *Phaeodactylum tricornutum*, Protist, Vol. 162, 462–481p.
- Mata T.M., Martins A.A., Caetano N.S.**, 2010, Microalgae for biodiesel production and other applications: A review, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14, 217–232p.
- Matos A.P., Feller R., Moecke E.H.S., Oliveira J.V., Junior A.F., Derner R.B., Sant’Anna E.S.**, 2016, Chemical characterization of six microalgae with potential utility for food application, J Am Oil Chem Soc, 93, 963–972p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Medlin L.K., Kaczmarska I.**, 2004, Evolution of the diatoms: V. Morphological and cytological support for the major clades and a taxonomic revision, *phycologia* volume 43, 245-270p.
- Merchuk J. C., Contreras A., Garcia F. and Molina E.**, 1998, Studies of mixing in a concentric tube airlift bioreactor with different spargers, *Chemical Engineering Science*, Vol. 53, No. 4, pp. 709-719.
- Miron A. S., Garcia M-C. C., Camachoa F. G., Grima E. M. and Chist Y.**, 2002, Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture, *Enzyme and Microbial Technology* 31, 1015–1023 p.
- Mirzaie M.A.M., Kalbasi M., Ghobadian B., Mousavi S.M.**, 2016, Kinetic modeling of mixotrophic growth of *Chlorella vulgaris* as a new feedstock for biolubricant, *J Appl Phycol*, 28, 2707–2717pp.
- Mise T., Ueda M., Yasumoto T.**, 2011, Production of fucoxanthin-rich powder from *Cladosiphon okamuranus*, *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(1), 73-76p.
- Mok I.K., Yoon J.R., Pan C.H., Kim S.M.**, 2016, Development, quantification, method validation, and stability Study of a Novel Fucoxanthin-Fortified Milk, *J. Agric. Food Chem*, 64, 6196–6202p.
- Narala R.R., Garg S., Sharma K.K., Thomas-Hall S.R., Deme M., Li Y., Schenk P.M.**, 2016, Comparison of microalgae cultivation in photobioreactor open raceway pond, and a two-stage hybrid system, *Frontiers in Energy Research*, 1-10p.
- National Research Council**, 2012, Sustainable Development of Algal Biofuels in the United States, The National Academies Press, 130-145 p.
- Ninno M. P.**, 2012, Investigation of turbulent multiphase flows in a flat panel photobioreactor and consequent effects on microalgae cultivation; using Computational Fluid Dynamics (CFD) simulation and Particle Image Velocimetry (PIV) (MSc Thesis), Iowa State University.
- Nino-Navarro C., Chairez I., Torres-Bustillos L., Ramirez-Munoz J., Salgado-Manjarrez E. and Garcia-Pena E. I.**, 2016, Effects of fluid dynamics on enhanced biohydrogen production in a pilot stirred tank reactor: CFD simulation and experimental studies, *International Journal of Hydrogen Energy* 41, 14630-14640 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Nogueria D. P. K., Silva A. F., Araujo O. Q. F. and Chalou R. M.,** 2015, Impact of temperature and light intensity on triacylglycerol accumulation in marine microalgae, *Biomass and Bioenergy* 72, 280-287 p.
- Ochienga A., Onyangob M. and Kiriamiti K.,** 2009, Experimental measurement and computational fluid dynamics simulation of mixing in a stirred tank: A review, *South African Journal of Science* 105, 421-426 p.
- Ohse S., Derner R.B., Ozório R.A., Corrêa R.G., Furlong E.B., Cunha P.C.R.,** 2014, Lipid content and fatty acid profiles in ten species of microalgae, *Idesia (Chile)*, Volumen 33, No. 1, 93-101 pp.
- Olivieri G., Marzocchella A., Salatino P. and Mazzei L.,** 2016, A CFD-VOF based model to address intensive photobioreactor design, *ICMF-2016 – 9th International Conference on Multiphase Flow*.
- Oryza Oil & Fat Chemical Co., Ltd.,** 2008, Fucoxanthin dietary ingredient for prevention of metabolic syndrome, antioxidation and cosmetics, http://www.oryza.co.jp/pdf/english/Fucoxanthin_1.0.pdf (Erişim Tarihi: 20 Kasım 2016).
- Packer A.,** 2014, Cell Quota based population models and their applications (PhD thesis), Arizona State University
- Pádua D., Rocha E., Gargiuloa D., Ramosa A.A.,** 2015, Bioactive compounds from brown seaweeds: Phloroglucinol, fucoxanthin and fucoidan as promising therapeutic agents against breast cancer, *Phytochemistry Letters*, 14, 91–98p.
- Parolini D.N., Carcano S.,** 2010, A model for cell growth in batch bioreactors (MSc thesis), Politecnico Di Milano Facoltà Di Ingegneria Dei Sistemi
- Patil V., Kallqvist T., Olsen E., Vogt G., Gislerød H.R.,** 2007, Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed, *Aquacult Int*, 15, 1–9p.
- Pawar S.,** 2016, Effectiveness mapping of open raceway pond and tubular photobioreactors for sustainable production of microalgae biofuel, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 62, 640–653p.
- Pegallapati A. K. and Nirmalakhandan N.,** 2012, Modeling algal growth in bubble columns under sparging with CO₂-enriched air, *Bioresource Technology* 124, 137–145 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Peng J., Yuan J., Wu C. and Wang J.**, 2011, Fucoxanthin, a Marine Carotenoid Present in Brown Seaweeds and Diatoms: Metabolism and Bioactivities Relevant to Human Health, *Mar. Drugs*, 9, 1806-1828 p.
- Perez-Lopez P., Balboa E. M., Gonzalez-Garcia S., Dominguez H., Feijoo G. and Moreira T.**, 2014, Comparative environmental assessment of valorization strategies of the invasive macroalgae *Sargassum muticum*, *Bioresource Technology* 161, 137–148 p.
- Posten C.**, 2009, Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae, *Eng. Life Sci.*, 9, No. 3, 165–177 p.
- Prabhasankar P., Bhaskar N., Hirose A., Stephen N., Growda L. R., Hosokawa M., and Miyashita K.**, 2009, Edible Japanese seaweed, wakame (*Undaria pinnatifida*) as an ingredient in pasta: Chemical, functional and structural evaluation, *Food Chemistry* 115, 501–508 p.
- Prestegard S. K., Erga S. R., Steinrücken P., Mjos S. A., Knutsen G. and Rohloff J.**, 2015, Specific metabolites in a *Phaeodactylum tricornutum* strain isolated from Western Norwegian Fjord Water, *Mar. Drugs*, 14, 9 p.
- Price K. and Farag I.H.**, 2013, resources conservation in microalgae biodiesel production, *International Journal of Engineering and Technical Research (IJETR)* ISSN: 2321-0869, Volume-1, Issue-8, 49-56p.
- Qiao H., Conga C., Suna C., Li B., Wang J. and Zhang L.**, 2016, Effect of culture conditions on growth, fatty acid composition and DHA/EPA ratio of *Phaeodactylum tricornutum*, *Aquaculture* 452, 311–317 p.
- Quitain A. T., Kai T., Sasaki M. and Goto M.**, 2013, Supercritical Carbon dioxide extraction of fucoxanthin from *Undaria pinnatifida*, *J. Agric. Food Chem.*, 61, 5792–5797 p.
- Raj R. T. K., Singh A. D., Tare S. and Varma S.**, 2014, Study of fluid flow around impeller blades in rushton turbine in a baffled vessel using computational fluid dynamics, *ARPJ Journal of Engineering and Applied Sciences*, Vol. 9, No. 5, 659-666 p.
- Rajauria G., Foley B. and Abu- Ghannama N.**, 2016, Characterization of dietary fucoxanthin from *Himanthalia elongata* brown seaweed, *Food Research International*, Article in press.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Raposo M. F. J., Morais A. M. M. B. and Morais R. M. S. C.,** 2015, Carotenoids from marine microalgae: A valuable natural source for the prevention of chronic diseases, *Mar. Drugs*, 13, 5128-5155 p.
- Ras M., Steyer J. P. and Bernard O.,** 2013, Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production, *Rev Environ Sci Biotechnol*, 12:153–164 p.
- Reboloso-Fuentes M. M., Navarro-Perez A., Ramos-Miras J. J. and Guillerro J. L.,** 2001, Biomass nutrient profiles of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*, *Journal of Food Biochemistry* 25, 57-76 p.
- Reyna-Velarde R., Cristiani-Urbina E., Hernandez-Melchor D. J., Thalasso F. and Canizares-Villanueva R. O.,** 2010, Hydrodynamic and mass transfer characterization of a flat-panel airlift photobioreactor with high light path, *Chemical Engineering and Processing* 49, 97–103 p.
- Riberio R. L. L., Souza J. A., Vargas J. V. C. and Ordonez J. C.,** 2009, Numerical simulation of the biomass concentration of microalgae cultivated in a self-sustainable photobioreactor, 20th International Congress of Mechanical Engineering.
- Ronda S. R., Bokka C. S., Ketineni C., Rijal B. and Allu P. R.,** 2012, Aeration effect on *Spirulina platensis* growth and g-linolenic acid production, *Brazilian Journal of Microbiology*: 12-20 p.
- Round F. E., Crawford R. M. and Mann D. G.,** 1990, The diatoms: Biology and morphology of the genera, Cambridge University Press, 31-40 p.
- Ryma A., Dhaouadi H., Mhiri H. and Bournot P.,** 2013, CFD study of the fluid viscosity variation and effect on the flow in a stirred tank, *International Scholarly and Scientific Research & Innovation* 7(3), 470-478 p.
- Sachdeva N., Kumar D., Gupta R. P., Mathur A. S., Manikandan B., Basu B. and Tuli D. K.,** 2016, Kinetic modeling of growth and lipid body induction in *Chlorella pyrenoidosa* under heterotrophic conditions, *Bioresource Technology* 218, 934–943 p.
- Sadava D. and Volcani B. E.,** 1977, Studies on the biochemistry and fine structure of silica shell formation in diatoms, *Planta* 135, 7-11 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sangeetha R. K., Bhaskar N., Divakar S. and Baskaran V.**, 2010, Bioavailability and metabolism of fucoxanthin in rats: structural characterization of metabolites by LC-MS (APCI), *Mol Cell Biochem*, 333:299–310 p.
- Santos-Ballardo D. U., Rendon-Unceta M. D. C., Rossi S., Vazquez-Gomez R., Hernandez-Verdugo S., and Valdez-Ortiz A.**, 2016, Effects of outdoor cultures on the growth and lipid production of *Phaeodactylum tricornutum* using closed photobioreactors, *World J Microbiol Biotechnol*, 32:128 p.
- Sarthou G., Timmermans K. R., Blain S. and Treguer P.**, 2005, Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review, *Journal of Sea Research* 53, 25– 42 p.
- Schmidt F. R.**, 2005, Optimization and scale up of industrial fermentation processes, *Appl Microbiol Biotechnol*, 68: 425–435 p.
- Schumann A., Goss R., Jakob T. and Wilhelm C.**, 2007, Investigation of quenching efficiency of diadoxanthin in cells of *Phaeodactylum tricornutum* (*Bacillariophyceae*) with different pool sizes of xanthophyll cycle pigments, *Phycologia* 46 (1): 113-117 p.
- Sevilla J. M. F., Garcia M. C. C., Miron A. S., Belarbi E. H., Camacho F. G. and Grima E. M.**, 2004, Pilot-plant-scale outdoor mixotrophic cultures of *Phaeodactylum tricornutum* using glycerol in vertical bubble column and airlift photobioreactors: Studies in fed-batch mode, *Biotechnol. Prog.*, 20, 728-736 p.
- Sierra E. Acien F. G., Fernandez J. M., Garcia J. L., Gonzalez C. and Molina E.**, 2008, Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae, *Chemical Engineering Journal* 138, 136–147 p.
- Sims P. A., Mann D. G. and Medlin L. K.**, 2006, Evolution of the diatoms: insights from fossil, biological and molecular data, *Phycologia*, Volume 45 (4), 361–402 p.
- Singh R. N. and Sharma S.**, 2012, Development of suitable photobioreactor for algae production – A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16, 2347– 2353 p.
- Singh S. P. and Singh P.**, 2015, Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 50, 431–444 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Singh U. B. and Ahluwalia A. S.**, 2013, Microalgae: a promising tool for carbon sequestration, *Mitig Adapt Strateg Glob Change*, 18:73–95 p.
- Siron R., Giusti G., and Berland B.**, 1989, Changes in the fatty acid composition of *Phaeodactylum tricornutum* and *Dunaliella tertiolecta* during growth and under phosphorus deficiency, *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 55: 95-100 p.
- Sobczuk T. M., Camacho F. G., Grima E. M. and Chisti Y.**, 2006, Effects of agitation on the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* and *Porphyridium cruentum*, *Bioprocess Biosyst Eng*, 28: 243–250 p.
- Steele J. H.**, 1962, Environmental control of photosynthesis in the sea, *Limnology and Ocenaography*, Vol. 7(2), 137-150 p.
- Stoker E. B.**, 2011, Comparative studies on scale-up methods of single-use bioreactors (MSc Thesis), Utah State University.
- Stonik V. and Stonik I.**, 2015, Low-molecular-weight metabolites from diatoms: Structures, biological roles and biosynthesis, *Mar. Drugs*, 13, 3672-3709 p.
- Strand A., Herstad O. and Liaaen-Jensen S.**, 1998, Fucoxanthin metabolites in egg yolks of laying hens, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 119, 963–974 p.
- Surendhiran D., Vijay M., Sivaprakash B. and Siraiunnisa A.**, 2015, Kinetic modeling of microalgal growth and lipid synthesis for biodiesel production, *3 Biotech*, 5:663–669 p.
- Susanto E., Fahmi A. S., Abeb M., Hosokawa M. and Miyashita K.**, 2016, Lipids, fatty acids, and fucoxanthin content from temperate and tropical brown seaweeds, *Aquatic Procedia* 7, 66 – 75 p.
- Takahashi K., Hosokawa M., Kasajima H., Hatanaka K., Kudo K., Shimoyama N. and Miyashita K.**, 2015, Anticancer effects of fucoxanthin and fucoxanthinol on colorectal cancer cell lines and colorectal cancer tissues, *Oncology Letters* 10: 1463-1467 p.
- Talero E., Garcia-Maurino S., Avila-Roman J., Rodriguez-Luna A., Alcaide A. and Motilva V.**, 2015, Bioactive compounds isolated from microalgae in chronic inflammation and cancer, *Mar. Drugs*, 13, 6152-6209 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tesson B., Genet M. J., Fernandez V., Degand S., Rouxhet P. G. and Martin-Jezequel V.**, 2009, Surface chemical composition of diatoms, *ChemBioChem*, 10, 2011 – 2024 p.
- Tibbets S. M., Milley J. E. and Lall S. P.**, 2015, Chemical composition and nutritional properties of freshwater and marine microalgal biomass cultured in photobioreactors, *J Appl Phycol*, 27:1109–1119 p.
- Torzillo G. and Zittelli G. C.**, 2015, Tubular photobioreactors, *Algal Biorefineries*, 187-212 p.
- Versteeg H. K. and Malalasekera W.**, 2007, An introduction to computational fluid dynamics, The finite volume method, Pearson Education Limited, 2nd Edition, 30-48 p.
- Vinayagam R., Vytla R. M. and Chandrasekaran M.**, 2014, Development of a simple kinetic model and parameter estimation for biomass and nattokinase production by *Bacillus subtilis* 1A752, *Austin J Biotechnol Bioeng- Volume 2 Issue 1*, 1-5 p.
- Wang H. and Zhai Z.**, 2016, Advances in building simulation and computational techniques: A review between 1987 and 2014, *Energy and Buildings* 128, 319–335 p.
- Wang J., Yang H. and Wang F.**, 2014, Mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production: status and prospects, *Appl Biochem Biotechnol*, 172:3307–3329 p.
- Wendt J. F.**, 2009, Computational Fluid Dynamics, Chapter 2, Governing Equations of Fluid Dynamics, Springer, 3rd Edition, 15-51 p.
- Werner D.**, 1977, The biology of diatoms, University of California Press, 286-321 p.
- Willis A., Eason-Hubbard M., Hodson O., Mahsedwari U., Bowler C. and Wetherbee R.**, 2014, Adhesion molecules from the diatom *Phaeodactylum tricornutum* (*Bacillariophyceae*): Genomic identification by amino-acid profiling and *in vivo* analysis, *J. Phycol.* 50, 837–849 p.
- Wilson D. P.**, 1946, The triradiate and other forms of *Nitzschia closterium* (Ehrenberg) Wm. Smith, forma *Minutissima* of Allen and Nelson, *Journ. Mar. Biol. Assoc.*, Vol 26, 235-269 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Xia S., Wang K., Wan L., Li A., Hu Q., and Zhang C.**, 2013, Production, characterization, and antioxidant activity of fucoxanthin from the marine diatom *Odontella aurita*, Mar. Drugs, 11, 2667-2681 p.
- Yadala S. and Creamschi S.**, 2014, Design and optimization of artificial cultivation units for algae production, Energy 78, 23-39 p.
- Yan X., Chuda Y., Suzuki M. and Nagata T.**, 1999, Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed, Biosci. Biotechnol. Biochem., 63 (3), 605-607 p.
- Yang J. S., Rasa E., Tantayotai P., Scow K. M., Yuan H. L. and Hristova K. R.**, 2011, Mathematical model of *Chlorella minutissima* UTEX2341 growth and lipid production under photoheterotrophic fermentation conditions, Bioresource Technology 102, 3077–3082 p.
- Yool A., and Tyrell T.**, 2003, Role of diatoms in regulating the ocean's silicon cycle, Global Biogeochemical Cycles, Vol. 17, No. 4, 1103.
- Yuan S., Zhou X., Chen R. and Song B.**, 2014, Study on modelling microalgae growth in nitrogen-limited culture system for estimating biomass productivity, Renewable and Sustainable Energy Reviews 34, 525–535 p.
- Yuvraj, Vidyarthi A. S. and Singh J.**, 2016, Enhancement of *Chlorella vulgaris* cell density: Shake flask and bench-top photobioreactor studies to identify and control limiting factors, Korean J. Chem. Eng., 33(8), 2396-2405 p.
- Zhang H., Tang Y., Zhang Y., Zhang S., Qu J., Wang X., Kong R., Han C. and Liu Z.**, 2015, Fucoxanthin: A promising medicinal and nutritional ingredient, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2015, 1-10 p.
- Zhao D., Kim S., Pan C. and Chung D.**, 2014, Effects of heating, aerial exposure and illumination on stability of fucoxanthin in canola oil, Food Chemistry 145, 505–513 p.

ÖZGEÇMİŞ

Bahar ASLANBAY, 1992 yılında Eskişehir’de doğmuştur. Lise eğitimini Eskişehir Kılıçoğlu Anadolu lisesinde tamamladıktan sonra 2010 yılında Ege Üniversitesi Biyomühendislik bölümüne başlamıştır. 1 yıl hazırlık eğitimi aldığı lisans eğitiminden 2015 yılında Biyomühendislik Bölümü ikincisi olarak mezun olmuştur. Aynı yıl Ege Üniversitesi Biyomühendislik Ana Bilimdalında yüksek lisans öğrenimine başlamıştır.

