

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**EGZOS ve BACA GAZI SALIMLARINDAN KAYNAKLANAN HAVA
KİRLİLİĞİNİN ÖNLENMESİNDE MİKROALGLERİN KULLANIMI**

Burcu ERTİT TAŞTAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2013**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Burcu ERTİT TAŞTAN tarafından hazırlanan “**Egzoz ve Baca Gazı Salımlarından Kaynaklanan Hava Kirliliğinin Önlenmesinde Mikroalglerin Kullanımı**” adlı tez çalışması 30.10.2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Jüri Üyeleri:

Başkan: Prof. Dr. Mustafa İLBAŞ
Gazi Üniversitesi Teknoloji Fakültesi

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

Üye: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Ergin DUYGU
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

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

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof.Dr. İbrahim DEMİR
Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

EGZOS ve BACA GAZI SALIMLARINDAN KAYNAKLANAN HAVA KİRLİLİĞİNİN ÖNLENMESİNDE MİKROALGLERİN KULLANIMI

Burcu ERTİT TAŞTAN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Tez çalışması ulusal ve uluslar arası platformda egzoz ve baca gazı emisyonlarının mikroalgler üzerindeki etkisinin farklı birçok parametre ile araştırıldığı bir çalışmadır. Çalışmanın ilk aşamasındada SO₂ ve NO₂ gazlarının, ikinci aşamasında LPG ve benzin, son aşamasındada ise kömür emisyonlarının mikroalgler üzerindeki etkisi pH, ortam bileşenleri, uygulama süreleri, akış oranları, yakıt tipi, biyokütle konsantrasyonları ve fotoperiyod gibi birçok farklı parametre ile araştırılmıştır. Tez çalışmasında kullanılan mikroalglerden *Synechococcus* sp. ve *Chlorella* sp. çalışmalar sırasında izole edilen birçok farklı mikroalg arasından emisyonlara yüksek direnç gösterdikleri için tercih edilmişlerdir. *Phormidium* sp. ise laboratuvar izolatıdır. Besiyerine büyüme faktörleri olarak TRIA, NaHCO₃ ve SA ilave edilmiştir. Çalışılan tüm mikroalgler bu büyüme faktörleri sayesinde asidik gazları iyi düzeyde tolere edebilmişlerdir.

Tez çalışması sonunda *Synechococcus* sp., *Phormidium* sp. ve *Chlorella* sp.'in egzoz ve baca gazı emisyonlarından kaynaklanan hava kirliliğinin önlenmesinde etkili birer biyomateryal olarak sunulabileceği sonucuna varılmıştır.

Ekim 2013, 144 sayfa

Anahtar Kelimeler: Hava kirliliği, Egzoz, Baca gazı, Mikroalg, Kültür üretimi

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

USING OF MICROALGAE FOR PREVENTION OF AIR POLLUTION BY EXHAUST AND FLUE GAS EMISSIONS

Burcu ERTİT TAŞTAN

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

Supervisor: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

The thesis, is a study that investigating of different exhaust and flue gas emissions effects on microalgae in the worldwide. First stage of the thesis is determination of the effects of SO₂ and NO₂, second LPG and petrol and the last is the coal emissions effects on microalgae under the different parameters such as pH, media components, application time, exposure time, fuel type, biomass concentrations and photoperiod. *Synechococcus* sp. and *Chlorella* sp. are the isolates that are chosed between different microalgae due to their high tolerance capacities of emissions. *Phormidium* sp. is an isolate of our laboratory. TRIA, NaHCO₃ and SA were added to the medium as growth factors. All of the studied microalgae showed high tolerance to acidic gases by the help of these growth factors.

Synechococcus sp. , *Phormidium* sp. and *Chlorella* sp. could be offered as effective biomaterials in the prevention of air pollution from exhaust and flue gas emissions.

October 2013, 144 pages

Key Words: Air pollution, Exhaust, Flue gas, Microalgae, Culture production

TEŞEKKÜR

Lisans, yüksek lisans ve doktora öğrenimi süresince benden her anlamda desteğini esirgemeyen ve üzerimde büyük emeği olan tez danışmanın sayın Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ'e,

Yüksek lisans ve doktora öğrencilik sürem boyunca beni maddi açıdan destekleyerek manevi açıdan güçlendiren ve tezlerimi tamamlamamı sağlayan TÜBİTAK BİDEB nezrinde tüm TÜBİTAK çalışanlarına,

Tez çalışmalarımın her aşamasında deneylerime ve makalelerimize engin bilgi birikimleri ile destek veren hocalarım sayın Doç. Dr. Ergin DUYGU ve Sayın Prof. Dr. Mustafa İLBAŞ'a,

Tez çalışmamın ilk aşamasında engin bilgi birikimini üzerimden esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Orhan ATAOL'a

Tez çalışmalarımın her aşamasında kurduğu deneysel düzenek, egzoz ve kömür emisyonlarının eldesinde bıkmadan usanmadan yıllar boyunca bana destek veren babam sayın Hasan ERTİT'e ve çok kıymetlim, tezimin asıl emek sahibi annem sayın Z.Ayser ERTİT'e,

Hayatım boyunca benden sevgi ve şefkatini esirgemeyen, çalışmalarımda sabır, fedakârlık ve sonsuz destek sunan, tezimi tamamlamamdaki en büyük yardımcılarım olan dedem, babanem, annem, babam, eşim, kardeşim ve kızım nezrinde tüm aile fertlerime,

Lisans öğrenimimden itibaren birlikte çalıştığım tüm laboratuvar ekip arkadaşlarıma, hocalarıma, çalışmalarımda katkılarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi ve Gazi Üniversitesi'nin tüm değerli mensuplarına, kömür temini için Karbomet Madencilik'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Burcu ERTİT TAŞTAN
Ankara, Ekim 2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1 Hava Kirliliği.....	7
2.2 Atmosferin Bileşimi.....	7
2.3 Antropojenik Hava Kirliliğinin Kaynakları.....	8
2.4 Baca Gazları ve Mikroalgal Uygulamalar.....	9
2.5 Hava Kirliliğini Oluşturan Kirleticiler.....	13
2.6 Ülkemizde Hava Kirlenmesine Yönelik Olarak Yapılan Çalışmalar.....	14
2.7 Hava Kirliliğine Neden Olan Kirleticiler.....	16
2.7.1 Kükürt Dioksit.....	16
2.7.1.1 Baca gazından mikroalgal SO _x toleransı.....	19
2.7.2 Azot oksitler.....	21
2.7.2.1 Baca gazının mikroalgal NO _x toleransı.....	23
2.7.3 Karbon oksitleri.....	24
2.7.3.1 Karbon Monoksit.....	24
2.7.3.2 Karbon Dioksit.....	27
2.7.3.3 Baca gazından mikroalgal CO ₂ toleransı.....	28
2.7.4 Atmosferdeki metalik partiküller.....	29
2.7.4.1 Kurşun.....	30
2.7.4.2 Kadmiyum.....	31
2.7.4.3 Nikel.....	32
2.7.4.4 Asbest.....	33
2.7.5 Partiküler madde.....	33
2.7.6 Ozon ve diğer fotokimyasal oksitleyiciler.....	34

2.7.7 Hidrokarbonlar.....	36
2.7.7.1 Polinükleer aromatik hidrokarbonlar (PAH).....	37
2.8 Hava Kirlenmesinin Önlenmesinde Alınabilecek Önlemler.....	38
2.8.1 Kısa vadede alınabilecek önlemler.....	38
2.8.2 Orta vadede alınabilecek önlemler.....	39
2.8.3 Uzun vadede alınabilecek önlemler.....	39
2.9 Baca Gazlarının Biyolojik Arıtımında Başarının Baca Gazı Özelliği İle İlişkisinin Yakıt Yakma Tesis ve Gazların Özellikleri Konusunda İrdelenmesi.....	40
2.10 Biyolojik Arıtımda Baca Gazlarının Etkisi; Baca Gazı ve Yakıt Yakma Tesisinin Arıtım Kriterleri Üzerine Etkileri.....	41
2.10.1 Yanma olayı.....	41
2.10.2 Baca gazı sıcaklığı.....	42
2.11 Mikroalgler.....	42
2.12 Mikroalglerin Ekonomik Önemi.....	47
2.13 Mikroalglerin Sınıflandırılması.....	48
2.13.1 Divizyo: Cyanophyta.....	48
2.13.2 Divizyo: Chlorophyta.....	52
2.14 Triakontanol.....	55
2.15 Salisilik Asit (SA).....	56
2.16 Sodyum Bikarbonat.....	58
3 MATERYAL ve YÖNTEM.....	60
3.1 Mikroalg İzolasyonu, Saflaştırılması ve Tanılanması.....	60
3.1.1 İzolasyon ve Saflaştırma.....	61
3.1.2 Tanılama.....	62
3.1.2.1 Morfolojik Tanılama.....	62
3.1.2.2 18 s rRNA bölgesine göre tanılama.....	62
3.1.2.3 Stok hazırlama.....	63
3.2 SO ₂ ve NO ₂ 'nin Mikroalgler Üzerindeki Etkisi.....	63
3.2.1 Gaz hazırlama sistemi.....	64
3.2.2 TRIA ve NaHCO ₃ 'ün biyokütle üzerindeki etkileri.....	66
3.2.2.1 Tekli etkileri.....	66

3.2.2.2 Birlikte etkileri.....	66
3.2.3 Mikroalgler üzerinde SO ₂ ve NO ₂ toleransına etki eden faktörler.....	66
3.2.3.1 pH'ın etkisi.....	66
3.2.3.2 Uygulamasüresinin etkisi.....	67
3.3 Egzoz Emisyonlarının Mikroalgler Üzerindeki Etkisi.....	67
3.3.1 Emisyon hazırlama sistemi.....	67
3.3.2 Mikroalgler üzerinde egzoz emisyon toleransına etki eden faktörler.....	71
3.3.2.1 pH'ın etkisi.....	71
3.3.2.2 TRIA ve SA'ın etkisi.....	71
3.3.2.2.1 Tekli etki.....	71
3.3.2.2.2 İkili etki.....	71
3.3.2.3 Egzoz emisyon akış oranının etkisi.....	72
3.3.2.4 Başlangıç biyokütle konsantrasyonunun etkisi.....	72
3.4 Kömür Emisyonlarının Mikroalgler Üzerindeki Etkisi.....	73
3.4.1 <i>Chlorella</i> sp. üzerinde kömür emisyon toleransına etki eden faktörler.....	74
3.4.1.1 pH'ın etkisi.....	74
3.4.1.2 Fotoperiyod ve gaz akış oranlarının etkisi.....	76
3.5 Analitik Teknikler.....	76
3.5.1 Standart hazırlanışı.....	77
3.5.2 İstatistikî Analizler.....	77
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	78
4.1 Mikroalg İzolasyonu, Saflaştırılması ve Tanılanması.....	78
4.1.1 <i>Synechococcus</i> sp.....	78
4.1.2 <i>Chlorella</i> sp.....	78
4.1.3 <i>Phormidium</i> sp.....	78
4.2 SO ₂ ve NO ₂ Gazlarının Mikroalgler Üzerindeki Etkisi.....	80
4.2.1 TRIA ve NaHCO ₃ 'ün biyokütle üzerindeki etkileri.....	80
4.2.1.1 Tekli etkileri.....	80
4.2.1.2 Birlikte etkileri.....	82
4.2.2 Mikroalgler üzerinde SO ₂ ve NO ₂ toleransına etki eden faktörler.....	86
4.2.2.1 pH'ın etkisi.....	86
4.2.2.2 Uygulama süresinin etkisi.....	88

4.3 Egzoz Emisyonlarının Mikroalgler Üzerindeki Etkisi.....	91
4.3.1 Mikroalgler üzerinde egzoz emisyon toleransına etki eden faktörler.....	91
4.3.1.1 pH'ın etkisi.....	92
4.3.1.2 TRIA ve SA'in etkisi.....	94
4.3.1.2.1 Tekli etki.....	94
4.3.1.2.2 Birlikte etki.....	95
4.3.1.3 Egzoz emisyon akış oranının etkisi.....	96
4.3.1.4 Başlangıç biyokütle konsantrasyonunun etkisi.....	101
4.3 Kömür Emisyonlarının Mikroalgler Üzerindeki Etkisi.....	105
4.3.1 pH'ın etkisi.....	105
4.3.2 Sürekli ışık-fotoperiyod ve emisyon akış oranlarının etkileri.....	106
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	111
KAYNAKLAR.....	117
EKLER.....	124
EK 1 <i>Synechococcus</i> sp. için klorofil (a+b) standardı ve kuru ağırlık standardı.....	125
EK 2 <i>Phormidium</i> sp. için klorofil (a+b) standardı ve kuru ağırlık standardı.....	126
EK 3 <i>Chlorella</i> sp. için klorofil (a+b) standardı ve kuru ağırlık standardı.....	127
EK 4 Tez çalışmasından üretilmiş bir (1) numaralı yayın.....	128
EK 5 Tez çalışmasından üretilmiş iki (2) numaralı yayın.....	135
ÖZGEÇMİŞ.....	143

SİMGELER DİZİNİ

C	Karbon
CO ₂	Karbon dioksit
S	Kükürt
SO ₂	Kükürt dioksit
N	Azot
NO	Azot oksit
NO ₂	Azot dioksit
TRIA	Triakontanol
SA	Salisilik asit
NaHCO ₃	Sodyum bikarbonat
LPG	Likit petrol gazı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kyoto Protokolü'ne üye olan ülkelerin simgesel gösterimi.....	6
Şekil 2.2.a. Tez çalışması kapsamında ziyaret edilen Yunus Emre Termik Santrali bacasının içinde olduğu kule (115 m), santralin üç boyutlu yapısı.....	11
Şekil 2.3.a. Tez çalışması kapsamında Yunus Emre Termik Santrali'nden alınan inşa aşamasını gösteren resim, b. Mikroalg havuzları kullanarak baca gazı arıtma sisteminin işletim şeması, c. İsrail'deki mikroalg pilot tesisi....	12
Şekil 2.4 Asit yağmurlarının şematize gösterimi.....	17
Şekil 2.5 Mikroalg SO _x toleransının ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde işleyişinin gösterimi.....	20
Şekil 2.6 Mikroalg NO _x toleransının ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde işleyişinin gösterimi.....	24
Şekil 2.7 Mikroalg CO ₂ toleransının ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde işleyişinin gösterimi.....	29
Şekil 2.8 Tipik bir cyanobacteria hücresi (prokaryotik).....	44
Şekil 2.9 Ökaryotik hücre örneği olarak Chlorophyta hücre tipi.....	44
Şekil 2.10 Kloroplast hücresinin yapısı.....	45
Şekil 2.11 Fotosentetik pigmentlerin spektrofotometrik dalga boylarının gösterimi....	45
Şekil 2.12 Filogenetik ağaç.....	49
Şekil 2.13 Triakontanol'ün kimyasal yapısı.....	55
Şekil 2.14 Salisilik Asit'in 3 boyutlu yapısı.....	56
Şekil 2.15 Söğüt ağacı ve aspirin.....	56
Şekil 2.16 Salisin, Salisilik asit ve Asetil salisilik asidin yapıları.....	57
Şekil 2.17 Sodyum bikarbonat'ın moleküler formülü.....	58
Şekil 3.1 Mikroalglerin izolasyon aşamasında kaydedilen görüntü.....	60
Şekil 3.2 Şekil 3.2 SO ₂ ve NO ₂ üretmek amacıyla tasarlanan deneysel düzenek a. Çalışmalar sırasında kaydedilen fotoğraf görüntüsü, b. Şematize hali.....	65
Şekil 3.3 Renault marka motordan egzoz emisyon temini.....	68
Şekil 3.4 a. MGA 1200 model emisyon analiz cihazı ve b. Testo 350-XL Flue Gas Analyzer cihazı.....	68

Şekil 3.5 LPG ve benzin emisyonlarının kültürlerle aktarılması esnasında alınan görüntüler.....	70
Şekil 3.6 Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü A Blok Bahçe'sinde kömür emisyonunun elde edilmesi.....	75
Şekil 4.1 İzole edilen <i>Synechococcus</i> sp.'ye ait a. Laboratuvar ortamında kültüre alınan su örnekleri; b. İzolatın mikroskopik teşhisi sırasında kaydedilen görüntüsü...	79
Şekil 4.2 a. İzole edilen <i>Chlorella</i> sp.'ye aita. Laboratuvar ortamında kültüre alınan su örnekleri; b. İzolatın mikroskopik teşhisi sırasında kaydedilen görüntüsü.....	79
Şekil 4.3 <i>Phormidium</i> sp.'ye ait a. Sıvı kültür; b. Katı kültür.....	79
Şekil 4.4 TRIA ve NaHCO ₃ 'ün klorofil konsantrasyonları (µg/mL) üzerine tekli ve birlikte etkileri.....	84
Şekil 4.5 <i>Synechococcus</i> sp. ve <i>Chlorella</i> sp. klorofil konsantrasyonları üzerine pH'nin etkisi.....	87
Şekil 4.6 Klorofil konsantrasyonları üzerine 0', 15', 20' SO ₂ ve NO ₂ uygulama zamanlarının etkisi.....	89
Şekil 4.7 pH'nin mikroalgal gelişim üzerine etkileri a) <i>Phormidium</i> sp. b) <i>Chlorella</i> sp.....	93
Şekil 4.8 <i>Chlorella</i> sp. biyokütlesi üzerine LPG emisyonlarının farklı emisyon akış oranlarında etkisi a. 0.6 vvm, b. 1.2 vvm, c. 2.4 vvm.....	99
Şekil 4.9 <i>Chlorella</i> sp. biyokütlesi üzerine benzin emisyonlarının farklı emisyon akış oranlarında etkisi a. 0.6 vvm, b. 1.2 vvm, c. 2.4 vvm.....	100
Şekil 4.10 Başlangıç biyokütle konsantrasyonlarının <i>Chlorella</i> sp. gelişimi üzerine etkileri.....	105
Şekil 4.11 Kömür emisyonlarında pH'nin <i>Chlorella</i> sp. gelişimi üzerine etkisi.....	106
Şekil 4.12 Kömür emisyonlarında aydınlık:karanlık periyodun <i>Chlorella</i> sp. gelişimi üzerine etkisi.....	107
Şekil 4.13 Kömür emisyonlarında aydınlık karanlık periyodun <i>Chlorella</i> sp. gelişimi üzerine etkisi.....	108
Şekil 4.14 Kömür emisyonu uygulanan ve uygulanmayan örneklerde aydınlık karanlık periyodun ve emisyon akış oranının <i>Chlorella</i> sp. gelişimi üzerine etkisi.....	109

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Atmosferde 25 km yüksekliğe kadar bulunan gazların bileşimi.....	8
Çizelge 2.2 Hava kirleticilerinin sınıflandırılması.....	13
Çizelge 2.3 Hava kirleticilerinin uzun ve kısa vadeli sınır değerleri.....	15
Çizelge 2.4 Kükürt dioksit, duman ve partiküler maddelerin (PM) yıllık konsantrasyonları ile ilgili sağlık etkileri.....	20
Çizelge 2.5 Yakıt cinsine göre baca gazında bulunan bileşikler.....	40
Çizelge 2.6 Cyanobacteria divizyonunun sınıflandırılması.....	50
Çizelge 2.7 <i>Synechococcus</i> 'un sınıflandırılması.....	51
Çizelge 2.8 <i>Phormidium</i> 'un sınıflandırılması.....	51
Çizelge 2.9 Chlorophyta divizyonunun sınıflandırılması.....	53
Çizelge 2.10 <i>Chlorella</i> 'nın sınıflandırılması.....	54
Çizelge 2.11 Triakontanolün özellikleri.....	55
Çizelge 2.12 Salisilik asidin özellikleri.....	57
Çizelge 2.13 Sodyum bikarbonatın özellikleri.....	59
Çizelge 3.1 BG 11 besiyeri bileşenleri.....	61
Çizelge 3.2 Motor özellikleri.....	69
Çizelge 3.3 LPG ve benzin emisyon özellikleri.....	69
Çizelge 3.4 Kömürün özellikleri.....	73
Çizelge 3.5 Kömürün emisyon analizi.....	74
Çizelge 4.1 TRIA ve NaHCO ₃ konsantrasyonlarının <i>Synechococcus</i> sp.ve <i>Chlorella</i> sp. klorofil konsantrasyonları (µg/mL) üzerinde tekli etkileri.....	82
Çizelge 4.2 TRIA ve NaHCO ₃ 'ün klorofil konsantrasyonları (µg/mL), spesifik büyüme oranları µ (1/gün) ve biyokütle X (g/L) üzerine birlikte ve tekli etkileri....	85
Çizelge 4.3 Biyokütle (g/L) üzerine SO ₂ veya NO ₂ uygulama zamanlarının etkisi.....	90
Çizelge 4.4 TRIA ve SA konsantrasyonlarının biyokütle(g/L) üzerinde tekli etkileri...	94
Çizelge 4.5 TRIA ve SA konsantrasyonlarının <i>Chlorella</i> sp.'in biyokütle (g/L) değerleri üzerinde birlikte etkileri.....	95
Çizelge 4.6 LPG ve benzin akış oranlarının <i>Phormidium</i> sp. biyokütlesi üzerine etkileri.....	97

Çizelge 4.7 Başlangıç biyokütle konsantrasyonunun gelişme, maksimum biyokütle verimliliği, klorofil konsantrasyonu ve spesifik büyüme oranlarına etkisi.....	104
Çizelge 4.8 Aydınlatma periyodunun X (g/L) ve chl (a+b) µg/mL üzerine etkisi.....	110
Çizelge 4.9 LPG, benzin ve kömür emisyonlarının <i>Chlorella</i> sp. gelişimi üzerine etkisi.....	110

1. GİRİŞ

Dünya iklim sistemindeki değişiklik ve sera gazı salımlarının artması Ekvator'dan kutuplara kadar dünyanın her noktasında varlığını hissettirmektedir. Son 50 yıldaki sıcaklık artışının ekosistem üzerindeki fark edilebilir etkileri artık geri dönüşü olmayan bir noktaya ulaşmaktadır. 1900'lü yılların ortalarından bu güne Kuzey Yarımküre'de kar örtüsünde % 10'luk bir azalma kaydedilmiştir. Ayrıca deniz seviyelerinde de ortalama 15-20 cm arasında bir artış olduğu saptanmıştır. Küresel ısınmaya bağlı olarak dünyanın bazı bölgelerinde seller ve taşkınlar meydana gelirken bazı bölgelerinde ise şiddetli kuraklıklar ve çölleşme etkili olmaktadır. Kış sıcaklıklarının artması, baharın erken gelmesi kısacası tüm iklim değişiklikleri ekosistemi altüst etmekte bitki ve hayvan türleri azalmakta ya da soyu tükenen canlılara her geçen gün yenisi eklenmektedir. Değişen iklim sistemi ve artan sera gazı salımları ivedilikle önlem alınmadığı takdirde evreni adım adım yok oluşuna doğru sürüklemektedir.

Enerji talebi ve CO₂ emisyonlarının artışı aşırı yükselerek devam etmekte ve fosil yakıtlar ana enerji kaynağı olarak trendini sürdürmektedir. Yenilenebilir enerji üretimi hızla artmasına rağmen fosil yakıtlar dünya genelinde ana enerji kaynağı konumundadırlar. Petrol, doğal gaz ve kömüre olan talebin 2035 yılına kadar artış göstermesi beklenirken, enerji bileşimindeki payların % 81'den % 75'e düşeceği de vurgulanmaktadır (Anonymous 2012). Kömür özellikle OECD-dışı ülkelerde küresel elektrik üretiminin bel kemiği olmaya devam etmektedir.

International Energy Agency'nin raporuna göre küresel enerji talebinin 2035 yılına kadar en az 1/3 oranında artış göstermesi beklenmektedir. Enerji kaynaklı CO₂ emisyonları 2011 yılında tahmini 31.2 Gt'dan, 2035 yılında 37.0 Gt'a çıkarak **dünya sıcaklığının uzun vadede ortalama 3.6 °C artacağı tahmin edilmektedir** (Anonymous 2012). Enerji verimliliği teknolojilerinin hızla uygulamaya konulması gereken bir durumda bu ısınmanın 2 °C'lik hedefi aşmaması için düşük karbon teknolojilerinin devreye sokulması gerekir.

Enerji kaynaklarının kullanımındaki artış geri dönülmez çevresel etkilere neden olmaktadır. İklim değişikliği ve sera gazı salımlarının artışıdaki başlıca rol atmosferdeki CO₂ seviyesinin yükselmesidir. **CO₂ emisyonları Nisan 2013 itibariyle 399,72 ppm olarak ölçülmüştür** (Anonymous 2012). Bilim insanlarının tahminlerine göre 400 ppm seviyesinin aşılması, ortalama sıcaklıklardaki artışın tehlikeli seviyelere ulaşması için kritik eşiğin aşılması anlamına gelmektedir. Sorunun çözümü için fosil yakıt kullanımının azaltılması temiz ve/veya yenilenebilir enerji kaynak arayışlarının arttırılması yaşamsal bir zorunluluk haline gelmiştir. Dünya çapında durum bu kadar vahim bir halde iken ülkemizin 2011 yılı yıllık sera gazı emisyonları 422,4 milyon ton CO₂ eşdeğeri olarak kaydedilmiştir. **Bu değer 1990 yılına göre %124'lük bir artışa denk gelmektedir** (<https://wwf.org.tr>, 2013). Bu açıdan ülkemiz artış hızı en yüksek olan ülkelerdendir (Yılmaz ve Yılmaz 2013). Bunun başlıca sebebi sanayi tesislerindeki baca gazı salımlarıdır (Sivacoumar vd. 2001). Sanayi tesisleri ucuz ve uzun vadede düşük maliyete sahip olmasından dolayı fosil yakıt kullanımını tercih etmektedir. Bu da iklim değişikliğine uyum çalışmalarının başarısızlıkla sonuçlanmasına neden olmaktadır.

Enerji verimliliği, çevresel ve potansiyel etkiler gibi kriterler göz önüne alındığında alınacak tedbirlerin bölgesel değil evrensel nitelikte olması, uzun vadede etki edebilme kapasitesine sahip olması, çevreye ikincil zararlar vermekten kaçınan yenilenebilir ve sürdürülebilir kaynaklı olması elzemdir. Başta doğayı korumak, ardından da evsel ve endüstriyel ortamlarda sürdürülebilir düşük CO₂ salınımını sağlamak amacıyla yola çıkılan tez çalışmasında CO₂ salımlarının mikroalgler aracılığıyla azaltılması ve bunun uygulanabilirliğinden yola çıkarak sanayi tesislerinde hayata geçirilebilir bir çalışma olmasına dikkat edilmiştir.

Bu bağlamda “mikroalgler” dünyadaki çevre ve enerji problemlerini çözme potansiyeline sahip oldukça önemli mikroorganizmalardır (de-Bashan ve Bashan 2010). Bundan 3 milyon yıl önce mikroalgler ortaya çıkıp fotosentez yoluyla CO₂'yi O₂'ye dönüştürüp “solunabilir” bir hava oluşturmaya kadar gezegenimiz atmosferde içerdiği aşırı miktarda N₂, CO₂ ve toksik gazlarla yaşama hiç de elverişli olmayan bir yerdi. Ardından güneş ışınlarının mikroalglerin oluşturduğu O₂ moleküllerine çarpması O₃'ün

rekombinasyonuna ve sonuçta da dünya yüzeyini koruyan ozon tabakasının oluşumuna yol açtı (Vassy 1965). Sonuçta mikroalgler olmasaydı biz de olamazdık. Bugün mikroalglerin bu potansiyellerini gezegenimizi küresel ısınma ve sera gazı etkilerinden kurtarmak için kullanıyoruz (Van Den Hende 2011, 2012).

Çok uzun süredir bilindiği gibi CO₂ mikroalglerin metabolizmaları sonucu kullanılarak biyokütleye dönüştürülmektedir. Bu fotosentetik canlılar güneşten aldıkları enerji ile CO₂'yi O₂'ye dönüştürmenin yanı sıra birçok yapısal maddelerin sentezini de gerçekleştirmektedirler. CO₂ gideriminin en doğal ve en ucuz yöntemini bünyelerinde barındıran bu harika mikroorganizmalar geleceğin biyoyakıtları arasında olabileceklerdir, çünkü fosil kaynaklara bağımlılığı azaltmaktadırlar. Bunun yanı sıra araç egzozları da dâhil çeşitli baca gazları emisyonlarının azaltılmasında mikroalglerin kullanımının kat ettiği yol bu tez çalışması kapsamında da gösterilmiştir.

Tez çalışması kapsamında sadece Türkiye'de değil tüm dünyada uygulanabilir sonuçların alınması ana hedefi teşkil etmektedir. Bu çalışma ülkemizde mikroalgler kullanılarak, farklı emisyon kaynaklarının kirletici etkilerinin önlenmesinde farklı parametrelerin kullanıldığı ilk tez çalışması olup dünyada gerçekleştirilen çalışmalardan daha başarılı sonuçlara imza attığı bilimsel literatürde ülkemiz adına yayınlanan / yayına hazırlanan birçok bilimsel makalede sunulmuştur.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Doğal ve insan kaynaklı çevre kirliliği tarih boyunca en büyük sorunlardan biri olmuştur (Jeong 1997). Hava kirliliğinde özellikle CO_x, SO_x, NO_x, hidrokarbonlar, toz ve partiküller ekosistem üzerinde zararlı etkilerini göstermeye devam etmektedirler. Araştırmacılar bu emisyonların zararlı etkilerini geliştirdikleri farklı farklı metotlarla azaltmaya çalışmaktadırlar (Gnanapragasam vd. 2009, Peng vd. 2012, Fine ve Hadas, 2012).

Mikroalgler bugün yüzleştığımız birçok çevresel problemin bertaraf edilmesinde biyoteknolojik potansiyelleri ile bize çözüm önerisi sunan harika mikroorganizmalardır (Doušková vd. 2010, de-Bashan ve Bashan 2010). Farklı alanlarda gösterdikleri üstün başarılar sayesinde artan bir popüleritede araştırma konusu olmaya devam etmektedirler. Son yıllarda mikroalgler hava kirliliğine yönelik problemlerin bertaraf edilmesinde özellikle tercih edilen mikroorganizmalar olarak trendini sürdürmektedirler (Jacob-Lopes vd. 2010, Radmann vd. 2011).

Mikroalglerin bu amaçlar doğrultusunda kullanılmasında başarıya ulaşmak için en önemli faktörlerden biri; **büyümeyi sınırlayan toksik gazlara karşı uygulanacak bir direnç faktörünün kültür ortamına eklenmesi** suretiyle elde edilebilir.

Ayrıca artan araç trafiği ve trafikteki araçların atmosfere saldıkları ağır kirlilik de başta kentsel alanlar olmak üzere tüm evreni tehdit etmektedir. O₂, CO₂, NO_x, SO_x, CO, hidrokarbonlar, ağır metaller ve diğer bileşenler araçlardan kaynaklanan ve sera gazlarının artmasına sebep olan bileşenlerdir. Bu bileşenlerden CO eksik yanmanın bir sonucu olarak oluşur. Metan ve bütan gibi hidrokarbonlar da eksik yanmanın bir diğer ürünüdür. Alkanlar, alkenler, aromatikler, aldehytler ve ketonlar hidrokarbon gruplarıdır (Van Den Hende vd. 2012). Hidrokarbonların ekolojik sistemler üzerindeki zararlı etkileri birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Klerks vd. 2004, Park ve Park 2010, Chen vd. 2012). En önemli sera gazı olarak bilinen CO₂ emisyonları özellikle son 25 yıldır artan bir öneme sahiptir. Her 100 km yol başına tüketilen 5.47 kg benzin ile

atmosfere salınan CO₂ miktarı 21.1 kg-CO₂ olarak hesaplanmıştır (Matsumoto vd. 1997a). Tüm bu bilgilerin ışığı altında bilim adamları, mühendisler ve hükümetler el birliği ile başta C salımları olmak üzere hava kirliliğini bertaraf etmek için alarm durumuna geçmişlerdir. Birçok ülke dünya çapında CO₂ salımlarının azaltılması için küresel ısınma ve iklim değişikliği konusunda mücadeleyi sağlamaya yönelik uluslar arası anlaşma olan Kyoto Protokolü'nü imzalamışlardır.

Kyoto Protokolü küresel ısınma ve iklim değişikliği konusunda mücadeleyi sağlamaya yönelik uluslar arası bir protokoldür. Birleşmiş Milletler İklim Değişikliği Çerçeve Sözleşmesi içinde imzalanmıştır. Bu protokolü imzalayan ülkeler, karbon dioksit ve sera etkisine neden olan diğer beş gazın salımını azaltmaya veya bunu yapamıyorlarsa salım ticareti yoluyla haklarını arttırmaya söz vermişlerdir. Protokol, ülkelerin atmosfere saldıkları karbon miktarını 1990 yılındaki düzeylere düşürmelerini gerekli kılmaktadır. 1997'de imzalanan protokol, 2005'te yürürlüğe girebilmiştir. Çünkü protokolün yürürlüğe girebilmesi için, onaylayan ülkelerin 1990'daki emisyonlarının (atmosfere saldıkları karbon miktarının) yeryüzündeki toplam emisyonun %55'ini bulması gerekmektedir ve bu orana ancak 8 yılın sonunda Rusya'nın katılımıyla ulaşılabilmektedir. Kyoto Protokolü ve Türkiye; 2004 yılında BMİDÇS'ye taraf olan ancak uzun süre Kyoto Protokolü'nü imzalamayan Türkiye 30 Mayıs 2008'de Protokolü imzalayacağını resmen açıklamıştır. Başlangıçta tüm OECD ülkeleri gibi hem EK 1 hem de EK 2'de yer alan Türkiye, kendi başvurusu üzerine 2001'de Fas'ta yapılan toplantı da geçiş ülkesi sayılarak EK 2'den çıkarılmıştır. Kyoto Protokolü şu anda yeryüzündeki 160 ülkeyi ve sera gazı salınımlarının %55'inden fazlasını kapsamaktadır (Şekil 2). Kyoto Protokolü ile devreye girecek önlemler, pahalı yatırımlar gerektirmektedir. Sözleşmeye göre (<https://www.unfccc.int/kyotoprotocol>, 2013);

- Atmosfere salınan sera gazı miktarı %5'e çekilecek,
- Endüstriden, motorlu taşıtlardan, ısıtmadan kaynaklanan sera gazı miktarını azaltmaya yönelik mevzuat yeniden düzenlenecek,
- Daha az enerji ile ısınma, daha az enerji tüketen araçlarla uzun yol alma, daha az enerji tüketen teknoloji sistemlerini endüstriye yerleştirme sağlanacak, ulaşımda, çöp depolamada çevrecilik temel ilke olacak,

- Atmosfere bırakılan metan ve karbon dioksit oranının düşürülmesi için alternatif enerji kaynaklarına yönelecek,
- Fosil yakıtlar yerine örneğin biyo dizel yakıt kullanılacak,
- Çimento, demir-çelik ve kireç fabrikaları gibi yüksek enerji tüketen işletmelerde atık işlemleri yeniden düzenlenecek,
- Termik santrallerde daha az karbon çıkartan sistemler, teknolojiler devreye sokulacak,
- Güneş enerjisinin önü açılacak, nükleer enerjide karbon sıfır olduğu için dünyada bu enerji ön plana çıkarılacak,
- Fazla yakıt tüketen ve fazla karbon üreten daha fazla vergi alınacaktır.



Şekil 2.1 Kyoto Protokolü'ne üye olan ülkelerin simgesel gösterimi (<http://www.mtholyoke.edu>, 2013)

Tez çalışması kapsamında araştırılan tüm konulara ilişkin detaylı bilgiler aşağıda başlıklar halinde özetlenmiştir;

2.1 Hava Kirliliği

Organizmaların hayatta kalabilmesi ve yaşamlarını sürdürebilmesi için en önemli öğelerden bir “hava”dır. Bir insanın günlük ihtiyaç duyduğu hava 10-20 m³ arasındadır. Açlığa 60 gün, susuzluğa 6 gün dayanabilen insanoğlu, havasızlığa ancak 6 dakika dayanabilmektedir (Anonim 2004). “Hava kirliliği” kendi doğal yapısında bulunan bileşiklerin miktarının değişmesi ve yabancı maddelerin bu yapıya eklenmesi sonucu meydana gelir.

2.2 Atmosferin Bileşimi

Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Çevre Sağlığı Araştırma Müdürlüğü tarafından 2004 yılında yayınlanan rapora göre atmosferin bileşimi şu şekilde sınıflandırılmaktadır;

A. Havada devamlı bulunan ve miktarları değişmeyen gazlar

(Azot, Oksijen, Asal gazlar)

B. Havada devamlı bulunan ve miktarları azalıp çoğalan gazlar

(Karbondiyoksit, Su buharı, Ozon)

C. Havada her zaman bulunmayan gazlar (Kirleticiler)

Van Den Hende vd. (2012)’nin hazırladığı derleme makalede bazı gazlarını “yasal olarak sınırlandırılanlar” ve “sınırlandırılmayanlar” olarak ikiye gruplamışlardır.

1. Yasal olarak sınırlandırılmayanlar: N₂, O₂, H₂O
2. Yasal olarak sınırlandırılanlar: CO₂, NO_x, SO_x, CO, C_xH_y, partiküler maddeler, ağır metaller, klor, flor ve bileşikleri

Atmosfer içindeki gazların hacimsel oranları yatay ve dikey hava hareketleri nedeni ile yerden 25 km. yüksekliğe kadar hemen hemen sabit kalır. Ancak nem oranı ile CO₂ belli oranlarda değişkenliğe sahiptir (Machida vd. 2003). Daha yukarı tabakalarda ise dikey hava hareketlerinin bulunmaması nedeni ile gazlar Dalton Kanununa göre,

ağırlıklarına uygun katmanlar halinde sıralanmışlardır. Atmosferde 25 km. yüksekliğe kadar bulunan gazların miktarları çizelge 2.1’de belirtilmektedir;

Çizelge 2.1 Atmosferde 25 km yüksekliğe kadar bulunan gazların bileşimi (Anonim 2004)

Atmosferde bulunan gazların miktarları	
Gaz	Hacimsel %
N ₂	78.08
O ₂	20.94
Ar	0.93
CO ₂	0.03
Ne	0.0018
He	0.0005
H ₂ O	0.004

2.3 Antropojenik Hava Kirliliğinin Kaynakları

Ateş yakmanın bulunması ile başlayan antropojenik hava kirliliği; nüfus artışı, kentleşme ve endüstrileşme ile taşımacılık faaliyetlerinin fosil yakıt enerjisine dayanması nedeniyle önlenemez bir şekilde artış göstermektedir. Hava kirliliği temel olarak; volkanik patlamalar, orman yangınları gibi doğal kaynaklardan ve insan aktivitelerine bağlı olarak oluşabilen yapay kaynaklardan meydana gelmektedir. Detaylı gruplandırma ve çizelge aşağıda sunulmuştur (Çizelge 2.2), (Anonim 2004).

İnsan faaliyetleri sonucunda oluşan yapay kirlilik kaynakları iki şekilde sınıflandırılır;

I. Sabit Kaynaklar: Isınma ve üretim amaçlı faaliyetlerin yapıldığı yerlerdir.

II. Hareketli Kaynaklar: Taşımacılık amacı ile kullanılan araçlardır.

Diğer bir sınıflandırma ise;

A. Nokta Kaynaklar: Büyük ölçekli endüstriyel tesisler

B. Alan Kaynaklar: Kentsel alanlardaki bacalar ve taşıt egzozları.

Yapay Kaynaklardan Oluşan Kirliliği Etkileyen Faktörler

A. Meteorolojik Faktörler: Sıcaklık, basınç, yağış, rüzgâr, nem ve güneş radyasyonu,

B. Konum ve Topografik Yapı: Rüzgârlara açık olmayan alanlar üzerinde yeterli hava hareketleri olmayacağından, hava kirlenmesinin artması söz konusu olacaktır.

C. Plansız Kentleşme ve Yeşil Alanların Yeterli Miktarda Bulunmaması:

Kırsal kesimlerden kentlere aşırı göçün getirdiği plansız yerleşiminde bir sonucu olarak, yeşil alanların zaman içinde önemli ölçüde azalması söz konusudur.

D. Kullanılan Yakıtlar: Hava kirliliğini etkileyen faktörlerin en önemlisini ısınma veya ulaşım amacı ile kullanılan yakıtların kalitesi teşkil eder.

E. Kullanılan yakıt ve proseslere yönelik uygun teknolojilerin seçilmemesi

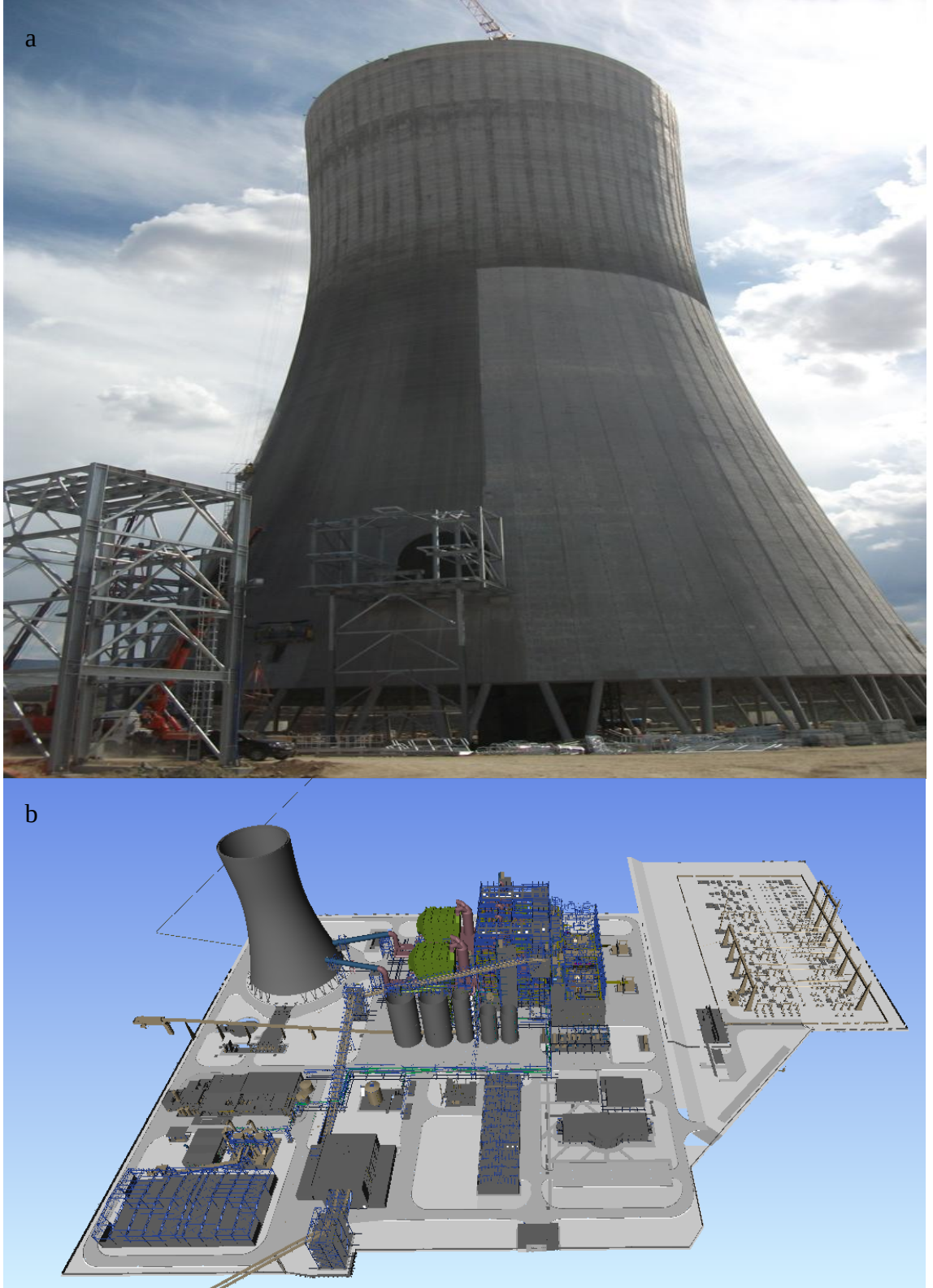
2.4 Baca Gazları ve Mikroalgal Uygulamalar

Egzoz ve baca gazı emisyonları CO_2 'nin yanı sıra H_2O , O_2 , N_2 , NO_x , SO_x , yanmamış karbonhidratlar (C_xH_y), CO , ağır metaller, halojen asitler ve partiküler maddeler gibi 142 farklı bileşik içermektedirler (Simoneit vd. 2001). Baca gazındaki gazların bileşimi sadece yakıt cinsine bağlı değildir, aynı zamanda yakma sistemine ve artan hava değerine (λ) de bağlıdır (Trozzi vd. 2010). Baca gazının mikroalgal uygulamalarda kullanılma performansına etki eden faktörler şu şekilde sıralanabilir (Van Den Hende vd. 2012);

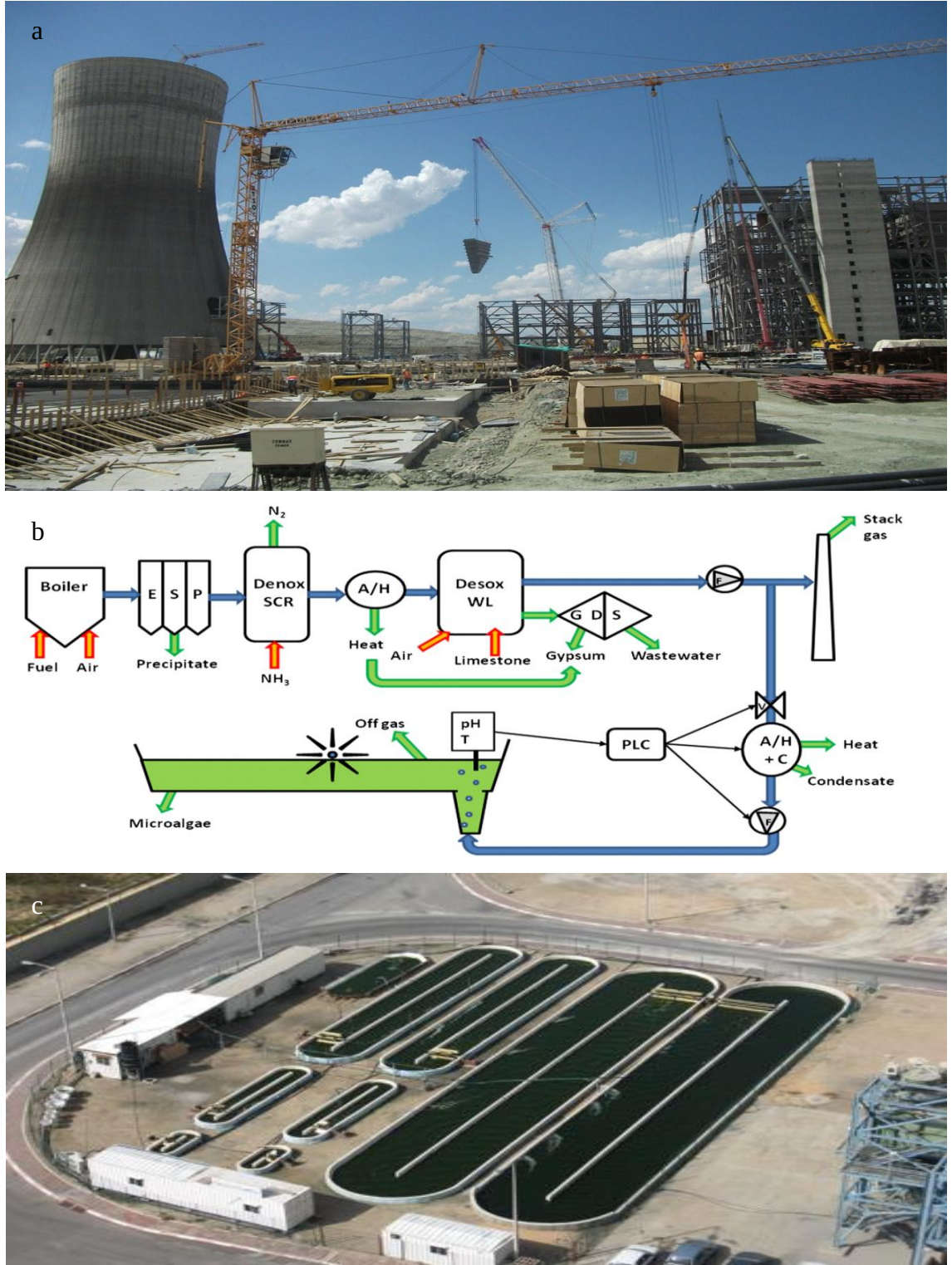
- ✓ Yanma, işlenmemiş baca gazı bileşimi, yakıt tipi ve artan hava değerine (λ),
- ✓ Bileşenlerin mikroalgler üzerinde göstereceği toksisiteye ve ortamın pH'ına,
- ✓ Kazanın büyüklüğüne ve aktarılan gazın debisine,
- ✓ Mikroalgal kültür ortamının bileşimine,
- ✓ Mikroalgal biyokütle miktarına bağlıdır.

Termik santraller hava kirliliğine katkı yapan önemli birer unsurdurlar. Ülkemizde “linyit” en bol bulunan kömür çeşididir ve maliyeti düşük olduğu için endüstrinin bel kemiğini oluşturmaktadır. Konu maliyete gelince çevreye verilen zararlar maalesef ki göz ardı edilmektedir. Ancak artık günümüzde termik santral yetkililerinde “çevre bilinci” oldukça önem arz etmektedir. Bir yandan hayatın vazgeçilmezlerinden elektrik enerjisini üretilirken bir yandan da santrallerin çevreye verdikleri zararı önlemek adına yetkililer bilim insanları ile ortak projelere imza atmakta ve çevre kirliliği ile mücadele etmeye çalışmaktadırlar. Santrallerde var olan ve FGD olarak adlandırılan “Flue Gas Desulphurization System” sayesinde baca gazındaki SO₂ kimyasal çözeltiler içerisinden geçerken katı maddeye dönüşür ve %95'lere varan önemli ölçülerde tutulur. Bu katı madde başka işlemlerle alçı taşına dönüştürülebilir ya da kimya endüstrisinde ikincil ürün olarak kullanılabilir. Ayrıca santrallerde toz ve kül tutmaya yarayan elektrostatik filtreler de bulunmaktadır ve bu filtreler sayesinde atmosfere katı partikül salımı %95 oranında azaltılabilmektedir. Eskişehir Mihallıçık'ta yapımı devam eden “Yunus Emre Termik Santrali” 2x145 MW kurulu gücünde olup yıllık 2.210.000.000 kWh elektrik üretimi ile ülkemizdeki elektrik tüketiminin %1,17'si karşılamış olacaktır. Santralin faaliyete geçmesi ile birlikte enerji ithalatında yıllık 150 milyon dolar tasarruf edilecektir. Ayrıca bu santral yerli linyit yakıtlı, akışkan yataklı kazan ve baca gazı arıtma sistemi (FGD) ile birlikte kurulan, AB emisyon kriterlerine uygun Türkiye'nin ilk santrali olma özelliğine sahip olacaktır. Tez çalışması kapsamında ziyaret edilen santrale ait kaydedilen şekiller aşağıda gösterilmektedir (Şekil 2.2.a,b, Şekil 2.3.a).

Son yıllarda popüler olan ve termik santrallerin çevre kirliliği ile mücadelesine destek verme potansiyeli olan en etkili bir yöntem de bu santrallerin hemen yakınına kurulan mikroalg havuz sistemleridir. Bu sistemler sayesinde mikroalgler baca gazındaki CO₂'yi kullanırken bir yandan da diğer toksik bileşenleri metabolizmalarında tolere ederek kullanabilmektedirler (Şekil 2.3.b). Günümüze kadar baca gazı ve mikroalgler üzerine birçok pilot tesis kurulmuştur (Anonymous 2011). Fakat günümüze sadece birkaç tanesi ulaşabilmiştir. İsrail elektrik şirketi ve Seambiotic Ltd. Nannochloropsis kültürlerine açık havuz sistemlerinde baca gazı uygulayan bir şirkettir (Şekil 2.3.c).



Şekil 2.2.a. Tez çalışması kapsamında ziyaret edilen Yunus Emre Termik Santrali bacasının içinde olduğu kule (115 m), b. santralin üç boyutlu yapısı

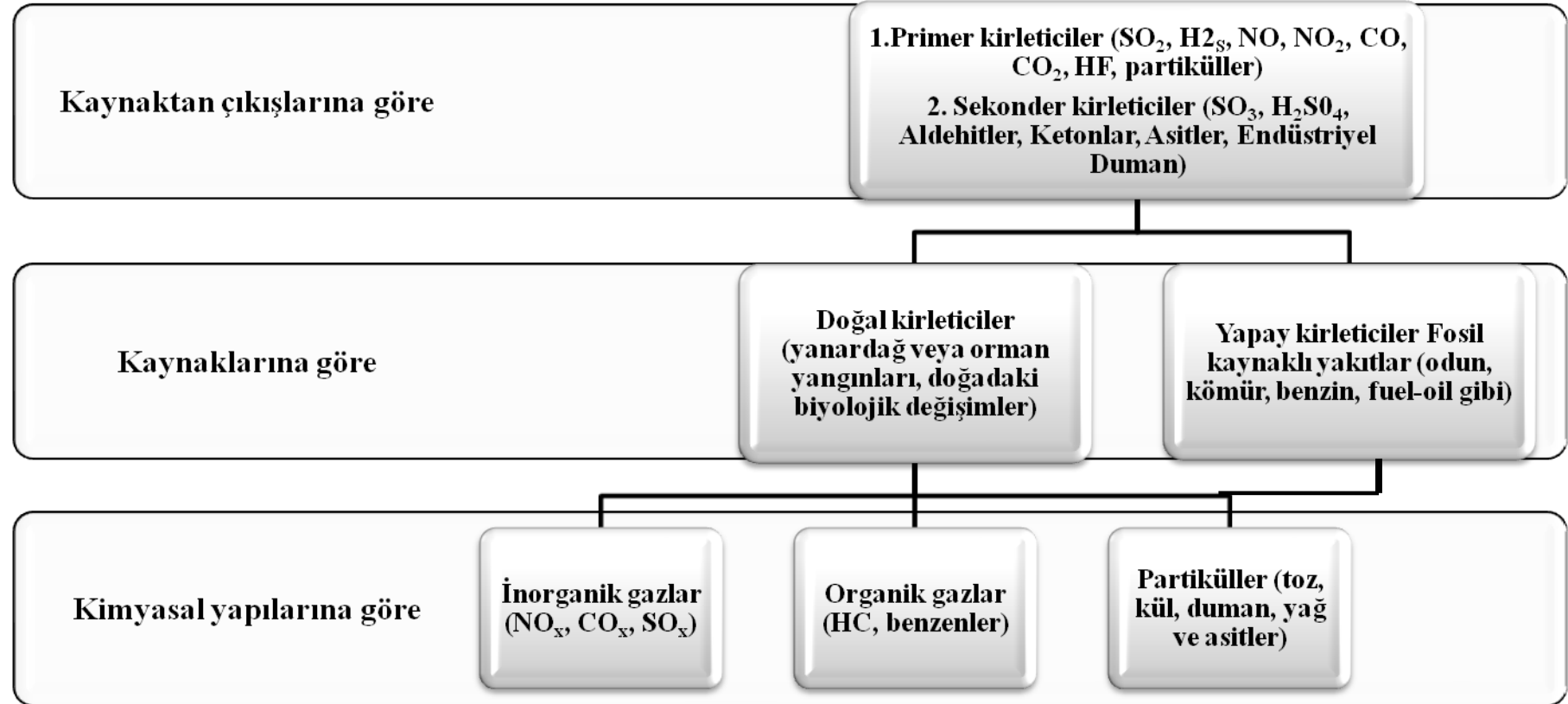


Şekil 2.3. a. Tez çalışması kapsamında Yunus Emre Termik Santrali'nden alınan inşa aşamasını gösteren resim, b. Mikroalg havuzları kullanarak baca gazı arıtma sisteminin işletim şeması (Van Den Hende vd. 2012), c. İsrail'deki mikroalg pilot tesisi

2.5 Hava Kirliliğini Oluşturan Kirleticiler

Hava kirliliğini meydana getiren kirleticilere yönelik Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi 'den alınan verilere göre aşağıdaki çizelge hazırlanmıştır (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Hava kirleticilerinin sınıflandırılması



2.6 Ülkemizde Hava Kirlenmesine Yönelik Olarak Yapılan Çalışmalar

Ülkemizde hava kirliliği çalışmaları ilk olarak 1961 yılında Sağlık Bakanlığı bünyesinde, Ankara’da 2 adet yarı otomatik kükürt dioksit ve duman ölçer cihazla başlatılmıştır. 9 Ağustos 1983 tarihinde 2873 sayılı Çevre Kanunu yürürlüğe girmiştir. Bu kanun çevrenin korunması, iyileştirilmesi, kırsal ve kentsel alanlarda arazinin ve doğal kaynakların en uygun şekilde kullanılması, doğal ve tarihsel zenginliklerin korunarak bu günkü ve gelecek kuşakların sağlık, uygarlık düzeylerini korumak amacıyla alınacak önlemler ve düzenlemeleri kapsamaktadır. Hava Kalitesinin Korunması Yönetmeliği; 2 Kasım 1986 tarih ve 19269 sayılı resmi gazetede yayınlanarak yürürlüğe girmiştir. Bu yönetmelikte " Her türlü faaliyet sonucu atmosfere yayılan is, duman, toz, gaz, buhar ve aerosol halindeki emisyonları kontrol altına almak, insanı ve çevresini hava alıcı ortamdaki kirlenmeden doğacak tehlikelerden korumak, hava kirlenmeleri sebebi ile çevrede ortaya çıkan umum ve komşuluk münasebetlerine önemli zararlar veren olumsuz etkileri gidermek ve bu etkilerin ortaya çıkmamasını sağlamak amacıyla ve çevre kanunu hükümleri gereğince çıkarılmıştır" denmektedir (Anonim 2004).

2872 sayılı Çevre Kanunu’na göre “Hava kalitesinin belirlenmesi, izlenmesi ve ölçülmesine yönelik yöntemler, hava kalitesi sınır değerleri ve bu sınır değerlerin aşılmaması için alınması gereken önlemler ile kamuoyunun bilgilendirilmesi ve bilinçlendirilmesi amaçlanmıştır. Yönetmelikte mevcut hava kalitesi sınır değerinin 01 Ocak 2014 tarihine kadar kademeli olarak azaltılması ve o tarihten sonra AB hava kalitesi limit değeri artı tolerans değerlerine başlayarak kademeli bir geçiş ile AB limit değerlerine uyum sağlanması hedeflenmektedir”.

Çizelge 2.3’te Hava kirleticilerinin kısa ve uzun vadede belirlenen sınır değerleri belirtilmektedir. Uzun vadeli sınır değer; yıl boyunca yapılan ölçümler sonucunda elde edilen değerlerin aritmetik ortalaması olan ve aşılmaması gereken değerdir. Kısa vadeli sınır değer ise; günlük ölçümler sonucunda elde edilen değerlerin ortalaması olup, aşılmaması gereken sınır değerlerdir (Anonim 2004).

Çizelge 2.3 Hava kirleticilerinin uzun ve kısa vadeli sınır değerleri

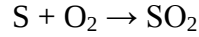
Kirletici	Birim	Uzun vadeli sınır değer	Kısa vadeli sınır değer
SO _x	µg/m ³		
a - Genel		150	400
b - Endüstri bölgeleri		250	-
CO	µg/m ³	10.000	30.000
NO ₂	µg/m ³	100	300
NO	µg/m ³	200	600
Cl ₂	µg/m ³	100	300
HCl, Cl ⁻	µg/m ³	100	300
HF, F ⁻	µg/m ³	-	10
O ₃	µg/m ³	-	240
HC	µg/m ³	-	140
H ₂ S	µg/m ³	-	40
Asılı Partiküler Madde (PM) (<10 µm)	µg/m ³		
a - Genel		150	300
b - Endüstri bölgeleri		200	400
PM içinde Pb ve bileşikleri	µg/m ³	2	-
PM içinde Cd ve bileşikleri	µg/m ³	0.04	-
Çöken Tozlar	mg/m ² gün		
a - Genel		350	650
b - Endüstri bölgeleri		450	800
Çöken tozlarda Pb ve bileşikleri	mg/m ² gün	500	-
Çöken tozlarda Cd ve bileşikleri	mg/m ² gün	7.5	-

2.7 Hava Kirliliğine Neden Olan Kirleticiler

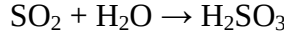
Hava kirliliğine sebep olan bileşenler ve etki mekanizmaları aşağıda başlıklar altında incelenmiştir;

2.7.1 Kükürt Dioksit

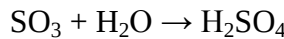
Renksiz, boğucu özellik gösteren kokulu bir gazdır. Suda çözünürlüğü iyidir (22.971 g/100 g H₂O, 0 °C ve 5.881g/100 g H₂O, 40 °C; Weil ve Sandler 1997). Havadaki su damlacıkları ile okside olur. Genel olarak, baca gazında SO_x ve NO_x oranlarının dağılımı % 98 SO₂ ve % 90–95 NO şeklindedir (Pillai vd. 2009, Dahlan vd. 2011). Baca gazlarından açığa çıkan SO₂'nin havada uğradığı reaksiyonlar aşağıdaki gibidir;



SO₂ suda çözüldükten sonra H₂SO₃'e dönüşebilmektedir (Stumm ve Morgan 1981);

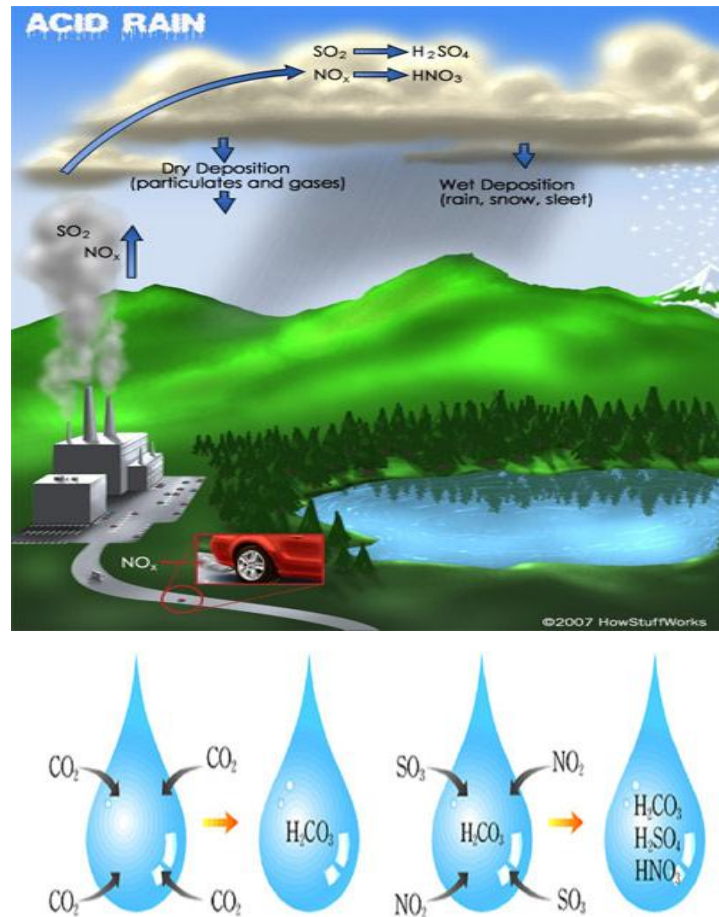


Bu oluşumda ana form SO₃'tür. SO₃, baca gazında % 2-4 oranında bulunmaktadır (Niessen 2002) ve su ile reaksiyona girince hızlıca sülfirik asit (H₂SO₄) oluşturmaktadır. Bu dönüşüm aşağıda gösterilmektedir. H₂SO₄ çok kuvvetli bir asittir.



Çevre kirliliğine neden olan bir diğer kükürtlü bileşik hidrojen sülfür'dür (H₂S). Ayrıca amonyum bisülfat (HN₄HSO₄), sülfirik asitten daha az asidik olan kükürtlü bir bileşiktir. Atmosferdeki su buharı ile SO_x ve NO_x türevlerinin reaksiyonu sonucunda asit aerosollerinin veya asit yağmurunun oluşumu söz konusu olmaktadır (Şekil 2.4). Hava kirliliğinin en önemli etmenlerinden biri olan SO₂'nin havadaki varlığının en önemli sebebi endüstriyel aktivitelerdir. Bunun yanı sıra orman yangınları ve volkanik

patlamalar sonucunda da bir miktar kükürt dioksit havaya verilmektedir. Atmosfere verilen kükürt konsantrasyonunun en önemli kısmı fosil kökenli yakıtların yanması sonucunda oluşur. Günümüzde kullanılan yakıtlarda kükürt içerikleri bazı işlemlerle azaltılması bu tür yakıtlardan oluşan kükürt dioksit konsantrasyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Her saatte bir, yanma sonucunda oluşan kükürt dioksit emisyonlarının % 0.5-10'u kükürt trioksite (SO_3) dönüşmektedir. Kükürt dioksit, doğal olarak havada $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ konsantrasyonundan daha düşük miktarlarda bulunabilmektedir. İç ortam havasındaki H_2SO_4 miktarı ihmal edilebilecek kadar düşüktür. Avrupa'da kentsel yerleşim alanlarında; kükürt dioksit yıllık ortalama miktarı genelde $100\text{-}200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ civarındadır. Günlük ortalama miktar ise $250\text{-}500 \mu\text{g}/\text{m}^3$ arasında değişim göstermektedir. Bir saatlik maksimum ölçüm değerleri de $1000\text{-}2000 \mu\text{g}/\text{m}^3$ arasında tesbit edilebilmektedir (Anonim 2004).



Şekil 2.4 Asit yağmurlarının şematize gösterimi (<http://www.static.ddmcdn.com>, 2013)

Kükürt dioksit dünya çapında geniş bir populasyonu etkilemektedir. Akciğerde SO₂'nin meydana getirdiği zararlar <0.5 ppm konsantrasyonunda ortaya çıkmakta ve bu asidik gaz iritan etki de göstermektedir (van Thriel vd. 2010). Kükürt dioksit'in % 85 kadarı solunum yolları aracılığı ile vucuda girer ve kana karışır. Karaciğerde sülfata dönüştürülür ve oradan da vucut dışına atılır.

Kükürtlü bileşikler ilk ve en önemli etkilerini solunum sisteminde bırakırlar. Bunun sonucu olarak, bronşit gibi akciğer hastalıkları meydana gelir. Asit aerosolleri ile partiküler maddelerin de akciğerlerden alveollere kadar taşınması nedeniyle bu kirleticilerin bir arada bulunduklarında yaptıkları olumsuz sağlık etkileri; her birinin ayrı ayrı yaptığı etkilerden daha fazladır. Bu olumsuz etkiler sonucunda ortaya çıkan önemli rahatsızlıklar arasında; pulmoner fonksiyon bozuklukları, kronik bronşit vakalarında artış, bronşiyal mukoza silialarının temizleme hızında artış, solunum yolları epitel dokusunda kalınlaşma gibi sağlık problemleri örnek olarak verilebilir (www.epa.gov/sulfurdioxide/health, 2013).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından; halk sağlığının korunabilmesi amacıyla 500 µg/m³ /10 dakika kükürt dioksit sınır değerinin aşılmaması tavsiye edilmektedir. Kısa ve uzun süreli olarak belirli konsantrasyonlara maruziyetin sağlık üzerine etkileri Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi'nden (RSHM) alınan bilgilere göre hazırlanan çizelge 2.4'de belirtilmektedir.

Kükürt dioksitin mikroalgler üzerindeki etkileri (Darall, 1989);

- Etkiler bekleneneği üzere dozaja bağlı olup 500 ppb altında ve 8 saatten az sürede kayda değer bir inhibitör etki göstermemiş olduğu bildirilmiştir.
- Fotosentetik pigmentlerde azalma,
- Enzim faaliyetleri, besin alımı, büyüme ve verimlilikte azalma,
- Fizyolojik inhibisyon,
- Metabolik işlevlerde değişiklikler,
- Fotooksidasyonda kloroplast, pigmentler ve tilakoyit membranının zarar görmesi,

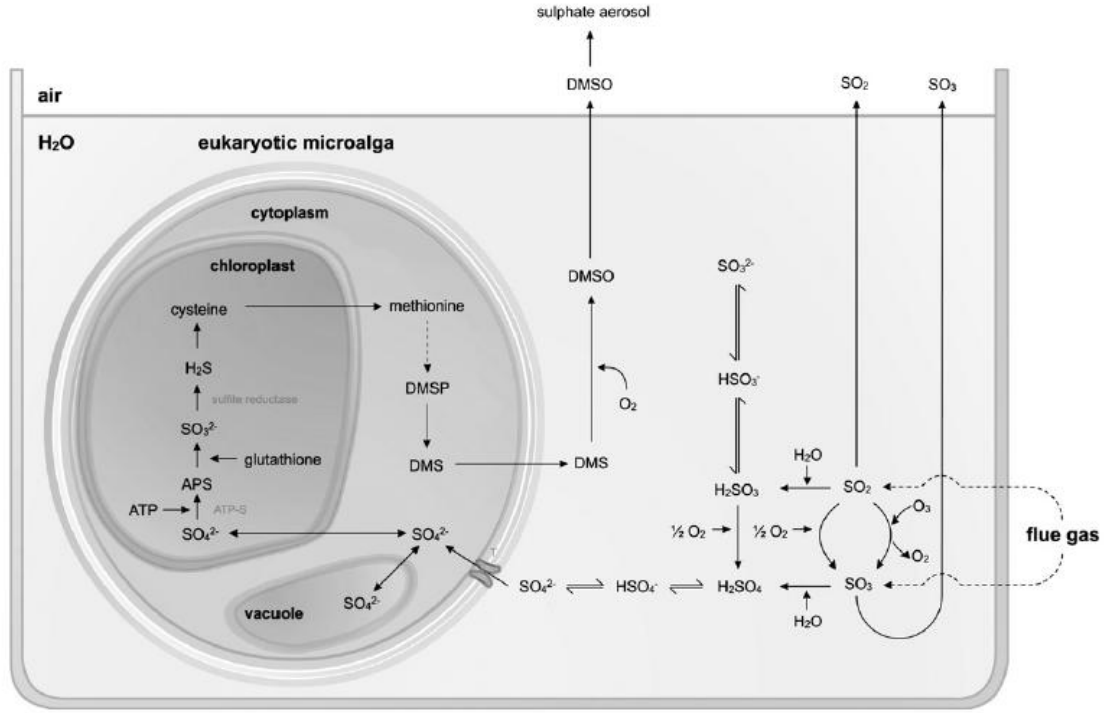
Artan CO₂ konsantrasyonlarının SO₂'nin fotosentezdeki inhibitör etkileri üzerine koruma sağladığı bulunmuştur ve bu durum araştırmacılar tarafından stomaların kısmen kapatılmasına bağlanmıştır.

2.7.1.1 Baca gazından mikroalgal SO_x toleransı

Sülfür (S); sistein ve metiyonin amino asitlerinin temel bileşeni olup mikroalgal gelişim için olmazsa olmaz olan S-içeren tilakoyid lipidlerin yapısına katılır (Graham ve Wilcox 2000).

Tatlı su algleri kuru hücre başına % 0.15-1.96 w S içerirler. Bu bağlamda mikroalgler sitoplazmalarında sülfat oluşumu için S'e gerek duyarlar (Giordano vd. 2005.a,b). Sülfat plastitlere transfer olur ve eğer ortamda aşırı miktarda bulunursa vakuollerde depo edilir. Bu işlem 5'-adenil sülfatın aktivasyonu ile gerçekleşir (SO₃²⁻). Üretilen sülfid (SO₃²⁻) sülfid redüktazla S²⁻'ye indirgenir ve hemen sisteinin yapısına ilave olur (Şekil 2.5), (Van Den Hende vd. 2012).

Ayrıca mikroalgler S'i gerekli durumlarda dışarıya da salabilirler. Örneğin *Emiliana* sp. ve *Phaeocystis* sp. soğuk bölgelerde S-bileşiklerini soğuk-koruma kalkanı olarak kullanırlar (Graham ve Wilcox 2000).



Şekil 2.5 Mikroalgal SO_x toleransının ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde işleyişinin gösterimi (Van Den Hende vd. 2012).

Çizelge 2.4 Kükürt dioksit, duman ve partiküler maddelerin (PM) yıllık konsantrasyonları ile ilgili sağlık etkileri

Kükürt dioksit, duman ve partiküler maddelerin yıllık konsantrasyonları (µg/m ³) ile ilgili sağlık etkileri			
Sağlık etkisi	SO ₂	Duman	PM
Aşırı ölüm	500	500	-
Akut solunum hastalıklarında artış	250	250	-
Akciğer fonksiyonunda azalma	-	-	180
Solunum semptomları veya hastalıklarda artış	100	100	-
Akciğer fonksiyonlarında bozulma	-	-	180
Birlikte bulunmaları halinde etkiler			
Kısa Süreli Maruziyet 24 Saat	125	125	120
Uzun Süreli Maruziyet 1 Yıl	50	50	-

2.7.2 Azot oksitler

Diğer bir hava kirletici grubu olan azot oksitler genellikle; azot dioksit (NO_2) ve azot oksit (NO) olarak ikiye ayrılmaktadırlar. Baca gazında çok düşük konsantrasyonlarda bulunan diğer NO_x türevleri ise siyah katı kıvamdaki N_2O_3 , kırmızı-kahverengi gaz olan N_2O_4 , renksiz gaz olan N_2O_2 , beyaz katı kıvamda N_2O_5 'dir (Van Loo ve Koppejan 2008). Bu NO_x türevlerinden herhangi biri suda çözünürse nitrik asit (HNO_3) veya nitrous asit (HNO_2)'e dönüşebilmektedir (Van Den Hende vd. 2012). Genelde, NO_x türleri arasında baca gazlarında en yaygın bulunanı % 95 NO ve % 5 NO_2 'dir (Wang vd. 2008b). Nitrik asit ise hem çok kuvvetli asit, hem de oksidan olduğundan çok zararlı, etkili bir asittir.

Yanma olayında NO_x dört farklı yolla meydana gelebilir (Van Den Hende vd. 2012).

1. Isıl NO_x ; çok yüksek sıcaklıklarda meydana gelir
2. Ani NO_x ; atmosferde bulunan nitrojenden ani sıcaklı değişimler esnasında oluşur,
3. Yakıt NO_x ; yakıt bünyesindeki nitrojenlerden meydana gelir,
4. N_2O 'dan kaynaklanan NO_x .

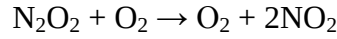
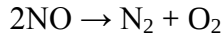
Genelde oluşan NO_x 'lerin sadece % 5 gibi az bir kısmı emisyon bacadan ayrılmadan önce NO_2 'ye okside olmaktadır (Wang vd. 2008b, Van Den Hende vd. 2012).

Atmosfere yayılımı; egzoz emisyonları, fosil yakıtlar, kimyasal işlemler, tütün içimi yoluyla olmaktadır. Bu aktiviteler sonucunda dış ortama verilen NO , atmosferde NO_2 'ye oksitlenir. Bu oksidasyon, ozon gibi atmosferik oksitleyicilerin katalizörlüğü ile hızlanır. Gerek atmosferdeki konsantrasyonu, gerekse özelliği nedeni ile insan sağlığına en fazla olumsuz etki gösteren azot bileşiği NO_2 'dir. Ülkelerin gelişmişlik statüleri; bu statünün sembolü olarak kullanılan azot oksitin konsantrasyonu ile tanımlanmaktadır (Anonim 2004).

Son yılların popüler konusu olan H yakıtlarının içeriğindeki tek kirletici NO_x'tir ve araştırmacılar NO_x türevlerinin azaltılmasının önemini vurgulamaktadırlar. Bu yüzden yakıt karakterinin tayini ve hidrojen yakıtındaki NO_x karakteri önem arz etmektedir (İlbaş vd. 2005).

Azot monoksit renksiz bir gazdır, havada eser miktarda bulunur. Serbest radikallerdendir ve suda çok az çözünür (0.032 g/L, 1 atm, 25 °C; Dora vd. 2009).

NO₂, kırmızımsı-kahverengimsi bir gaz olup NO'nun oksidasyonu ile oluşur;



NO₂, NO'ya göre 6000 kere daha yüksek çözünürlük özelliğine sahiptir (213.0 g/L, 1 atm, 25 °C; Dora vd. 2009).

Yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda, NO₂ konsantrasyonuna ilişkin olarak belirlenen değerler; doğal seviyesinin 0.4-9.4 µg/m³ limitleri arasında olduğu yarım saatlik ortalama 850 µg/m³ (0.45 ppm) 24 saatlik maksimum 400 µg/m³ (0.21 ppm) kentsel alanlarda yıllık ortalama konsantrasyon limitleri 20-90 µg/m³ (0.01-0.05 ppm) olarak tesbit edilmiştir. Kentsel alanlardaki NO₂ konsantrasyonu günün saatlerine, mevsimlere ve meteorolojik şartlara göre değişim gösterir. Kentlerde, trafiğin yoğun olduğu bölgelerde saatlik ortalama değer olarak 0.5 ppm gibi yüksek NO₂ konsantrasyonu ölçülebilmektedir. Sigara içilmesi, likit ve gaz tipi yakıtların ısınma ve pişirme amacıyla kullanımı sonucunda bireysel olarak NO₂ maruziyetinin artması söz konusu olmaktadır. Borusuz tipte ısınma araçlarının kullanımı sonucunda; iç ortamda oluşan NO₂ konsantrasyonu, dış ortamdaki konsantrasyondan çok daha fazla seviyeye ulaşmaktadır (Anonim 2004). Azot çevriminde NO_x rol almaktadır. Ayrıca biyolojik olarak azot fiksasyonu yoluyla azotun canlılar tarafından kullanılabilir formları olan nitratlara veya amonyağa dönüşümü de gerçekleşmektedir. Bu dönüşüm nitrifikasyon yapan bakteriler aracılığıyla gerçekleşir.

Azot dioksitin sağlık üzerine etkileri; çeşitli kesimlerdeki bireylere değişik konsantrasyonlar uygulanması ile tesbit edilmiştir. 3000-9400 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ konsantrasyonlarına 10-15 dakika süre ile maruziyet sonucunda; normal ve bronşitli kişilerde akciğer fonksiyon değişimleri, akciğerlerin bakteriyel enfeksiyonlara karşı hassasiyetinin artması ve biyokimyasal değişimler gözlenmiştir. Azot dioksit maruziyeti sonucunda oluşan şikâyetler; normal ve sağlıklı kişilerde 1880 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ konsantrasyonundan itibaren başlarken, astımlı kişilerde aynı şikâyetler 940 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ konsantrasyon seviyesinden itibaren başlamaktadır. ABD'nin çeşitli eyaletlerinde yapılan bir çalışmada yemek pişirme amacıyla gaz kullanılan evlerdeki 6-10 yaş grubu arasındaki çocukların bronşiyal hastalıklara yakalanma şanslarının fazla olduğu tesbit edilmiştir. Azot dioksitin bulunduğu ortamlarda diğer kirleticilerin ve özellikle ozonun bulunması durumunda, bu kirleticiler arasında oluşan reaksiyonlar nedeniyle insan sağlığında olumsuz etkileşimlerin arttığı belirlenmiştir (Anonim 2004).

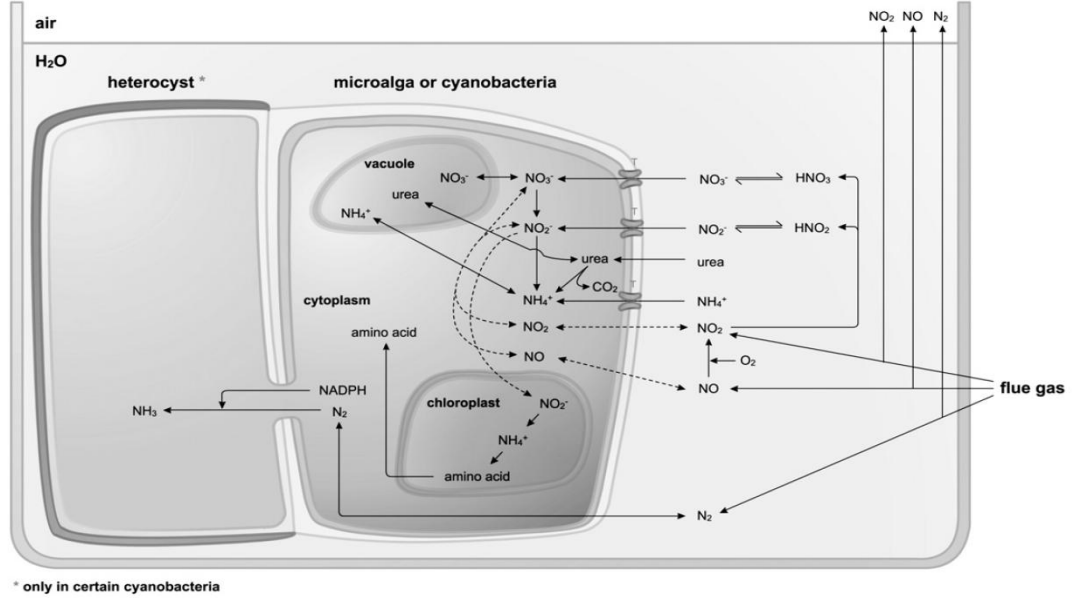
NO_x'in mikroalgler üzerindeki etkileri (Darall, 1989):

- Fotosentez NO'nun varlığına SO₂'den daha az duyarlıdır,
- 8 saatten kısa ve 500-700 ppb'de fazla bir etkisi gözlenmemiştir.
- NO, NO₂'den dört kat daha fazla inhibitördür.
- SO₂ + NO_x birleşimi tekli etkilerinden daha fazla inhibisyona yol açar.

2.7.2.1 Baca gazının mikroalgal NO_x toleransı

Mikroalgal NO_x toleransı başlangıç mikroalgal hücre miktarına (Yoshihara vd. 1996), NO_x konsantrasyonuna (Doucha vd. 2005), NO_x gaz akış oranına (Li vd. 2011) ve türlere (Radmann ve Costa 2008) bağlıdır. Günümüzde halen NO_x'in mikroalgler üzerindeki etkisi tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Van Den Hende vd. 2012). Jin vd. (2008) mikroalgal kùltürlere daha iyi NO_x giderimi yaptırmak üzere besiyerine şelatörler eklemiştir. Ancak en iyi bilinen şelatrlardan Fe(II)EDTA baca gazındaki ve mikroalgal kùltürdeki özünmüř O₂ ile okside olup Fe(III)EDTA'ya dönüşerek çalışma performansını düşürmüştür. Çünkü bu işlem hem çok pahalıdır hem de EDTA mikrokirleticilerden olup kùltürlere zarar vermektedir (Van Den Hende vd. 2012).

Şekil 2.6’da mikroalgal NO_x toleransının ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde işleyişi gösterilmektedir.



Şekil 2.6 Mikroalgal NO_x toleransının ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde işleyişinin gösterimi (Van Den Hende vd. 2012).

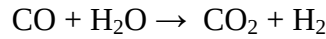
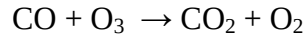
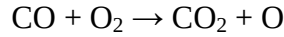
2.7.3 Karbon oksitleri

Hava kirliliği açısından; karbonun iki önemli bileşiği karbon monoksit ve karbon dioksittir.

2.7.3.1 Karbon Monoksit

Karbon monoksit eksik yanma sonucu oluşan atmosferde yaygın olarak bulunan bir hava kirleticisidir. Renksiz, kokusuz, suda çözünebilen, havadan daha hafif bir gaz olup son derece toksiktir. Artan araç kullanımına bağlı olarak atmosferdeki konsantrasyonları her geçen gün artmaktadır. Fosil yakıtlar, taşıt araçları, endüstriyel ve biyolojik işlemler en önemli karbon monoksit kaynaklarıdır. Doğal kaynaklardan oluşan karbon monoksit ihmal edilebilir düzeydedir.

Eksik hava miktarına veya düşük sıcaklığa bağlı olarak tamamlanmamış bir yanma olayında baca gazı CO ve metan (CH₄) ile bütan (C₄H₁₀) gibi yanmamış hidrokarbonların (C_xH_y) kompleks karışımlarını içerir (Trozzi vd. 2010). Karbon monoksit atmosferde diğer kirleticilerden daha uzun süre kalır. Atmosferde karbon monoksitin karbon dioksit dönüşüm reaksiyonları aşağıdaki şekildedir;



Karbon monoksitin doğal seviyesi 0.001-0.20 ppm'dir. Kentsel alanlardaki konsantrasyonu hava koşullarına, trafiğe, zamana ve kaynaklarından uzaklığa göre değişim gösterir. Kentsel alanlarda yapılan ölçümlerde 8 saatlik ortalama maksimum konsantrasyon 53 ppm olarak belirlenmiştir. Pik konsantrasyonlar trafiğin yoğun olduğu sabah ve akşam saatlerinde gözlenmektedir. Özellikle çok yoğun CO konsantrasyonları hareket halindeki taşıtların içinde, garajlarda ve trafik akışının fazla olduğu bölgelerde tesbit edilmektedir. Dolayısıyla yoğun CO maruziyetinin; özellikle şöförler, garajlarda çalışan kişiler ve trafik polislerinde gözlenmesi beklenilmelidir. Örneğin yapılan ölçümlerde araba içinde maksimum 36 ppm, garajlarda 500 ppm CO konsantrasyonu tesbit edilmiştir. İç ortamda ısıtma amacıyla kullanılan, fosil yakıt yakılan sobaların uygun olmayan koşullarda kullanılması CO konsantrasyonunu önemli ölçüde arttırmaktadır. Yemek pişirme işlemleri de iç ortam kaynağı olarak önemlidir. Bu ortamlarda yapılan ölçümlerde CO konsantrasyonunun 10-50 ppm arasında değişim gösterdiği tesbit edilmiştir. Tütün içimi de CO'nin en önemli iç ortam kaynaklarından birini oluşturmaktadır (Anonim 2004).

Karbon monoksit deri yolu ile maruziyet söz konusu olmayıp en önemli maruziyet solunum yolu ile olmaktadır. Atmosferde konsantrasyonu artarsa, kana geçer ve hemoglobine bağlanır. Hemoglobine bağlanma eğilimi oksijeninkinden 200 kat fazladır. Soba zehirlenmelerinin temel nedeni de budur. Oksijen hemoglobindeki demire bağlanamayınca, oksihemoglobin meydana gelemez ve kanda karboksihemoglobin

miktarı artar, dokulara oksijen taşınmaz. Maruziyet ortadan kalktığı anda, kanda oluşan karboksihemoglobin oluşumu kendiliğinden durur. Sağlıklı bir insanda karboksihemoglobinin yarısı 3-4 saat içinde kandan temizlenir. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi CO maruziyeti ile ilişkilendirilebilecek dört sağlık problemi belirlemiştir.

A. Kardiyovasküler etkiler

B. Nörolojik davranış üzerinde etkiler

C. Fibrinoliziz etkiler

D. Perinatal etkiler

Karbon monoksitin oksijen taşıma kapasitesini azaltması sonucunda kandaki oksijen yetersizliği nedeniyle kan damarlarının çeperleri, beyin kalp gibi hassas organ ve dokularda fonksiyon bozuklukları meydana gelir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından önerilen kandaki karboksihemoglobin (CoHb) miktarı %2.5-3.0 civarındadır. Kandaki karboksihemoglobin miktarının %2.5-3 seviyesini aşmadığı takdirde olumsuz sağlık etkileri gözlenmemektedir. Bu sınırı korumak amacıyla Dünya Sağlık Örgütü'nce önerilen maksimum maruziyet süreleri ve CO konsantrasyonları aşağıda gösterilmektedir.

- ✓ 15 dakika için müsaade edilen maruziyet konsantrasyonu 100 mg/m^3 'ü aşmamalıdır.
- ✓ Ortalama zamana karşı maruziyet seviyeleri:
 - 30 dakika için 60 mg/m^3 (50 ppm)
 - 1 saat için 30 mg/m^3 (25 ppm)
 - 8 saat için 10 mg/m^3 (10 ppm)' dir.

2.7.3.2 Karbon Dioksit

Karbon dioksit en önemli sera gazı olarak bilinmektedir ve özellikle son 25 yıldır artan endüstriyel faaliyetler ve araç kullanımına bağlı olarak atmosferde konsantrasyonları artmaktadır. Renksiz ve kokusuz bir gazdır. Bir milyon hava molekülünde yaklaşık 350 karbon dioksit molekülü bulunur. Solunum ve fotosentez açısından anahtar rol oynamaktadır.

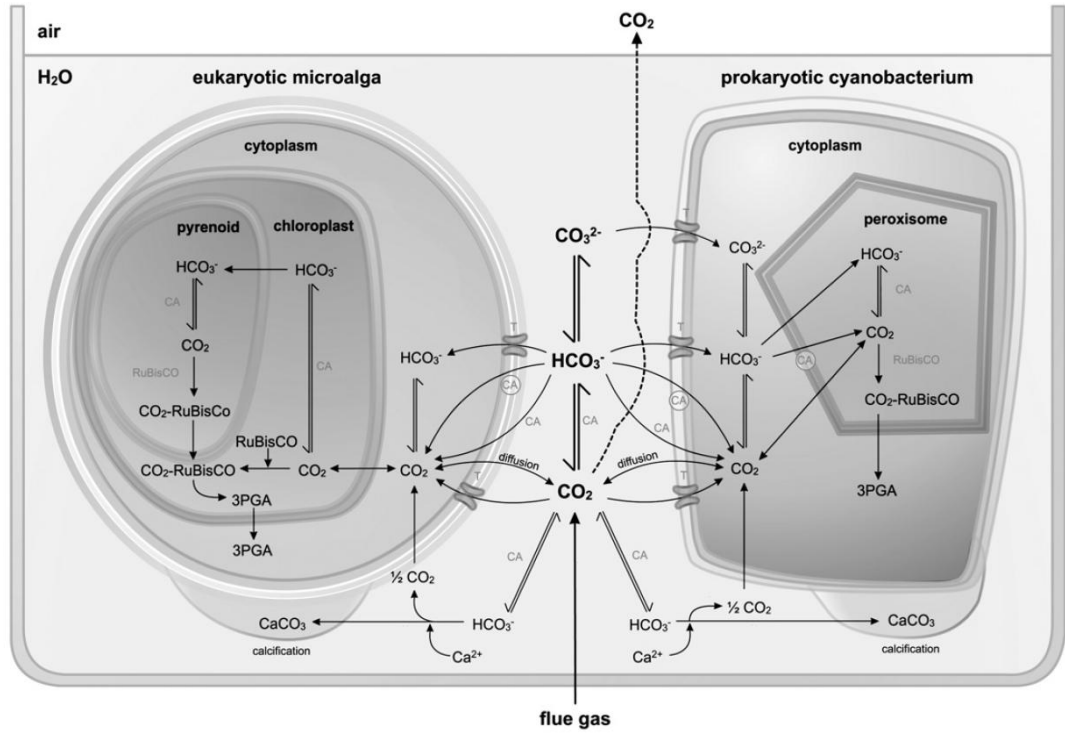
Atmosferde artan konsantrasyonlardaki CO₂ bir cam fanus gibi görev yapar. Güneşten gelen kısa dalga boylu ışınlar içeriye kolaylıkla geçerken içeride artan ısı enerjisi CO₂ tarafından engellendiği için dışarı salınamaz ve içteki ısı dışarıdan daha yüksek olur. Bu bağlamda dünyadan yansıyan ışınların başta CO₂, metan ve su buharı olmak üzere atmosferde bulunan gazlar tarafından tutulup yeryüzü ortalama sıcaklığını arttırmasına **sera etkisi** denir. Binlerce yıldır dünyamızdaki karbon kaynakları kararlı kalırken, şimdi modern insanoğlu aktiviteleri, fosil yakıtların kullanımı, ormanların yok oluşu, aşırı tarım yapılması, atmosfere büyük miktarlarda karbondioksit ve diğer sera gazlarının miktarındaki artışa ve sera etkisinin şiddetlenmesine sebep olmaktadır. **Küresel ısınma**, sera etkisiyle atmosferin periyodik olarak sıcaklığının artarak ısınması olup, doğal bir süreçtir. Atmosferde daha önceden 280 ppm olarak tesbit edilen karbon dioksit miktarı, fosil kökenli yakıtların kullanımının artması ile bugün 350 ppm'e kadar yükselmiştir. Cenevre'de 16.02.2001 tarihinde açıklanan **BM Çevre Raporu'na** göre 21. Yüzyılda, ortalama hava sıcaklığının 1.4 °C ile 5.3 °C arasında artacağı, buzulların erimesiyle denizlerin 8–88 cm kadar yükseleceği, uzun vadede dünyanın fiziksel yapısında geri dönüşümü olmayan değişiklikler ortaya çıkacağı, ortalama yıllık yağış miktarının azalacağı, su sıkıntısının görüleceği, tropik kasırgaların artacağı, Alp Dağları buzullarının yarısının 21. Yüzyılın sonunda yok olacağı ve tarım rekoltesinin azalacağı, sıtma ve koleranın artacağı, büyük dalgaların oluşacağı ve sellerin görülebileceği, bitki ve hayvan türlerinin sayısının ve dağılımının azalacağı, buzulların erimesiyle bağlantılı olarak çok sayıda küçük ada ve kıyı kentlerinin sulara gömüleceği gibi öngörülere yer verilmekte ve dünyanın bilinmezlerle dolu bir geleceğe doğru yol aldığı ortaya konmaktadır.

Yakıtların içindeki CO₂ miktarı yakıtın cinsine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin kömür kullanan elektrik santrallerinde CO₂ konsantrasyonu % 10-15 civarında iken; doğal gaz kullananlarda ise % 5-6 civarındadır (Van Den Hende vd. 2012). Mikroalgal CO₂ toleransının ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde işleyişinin gösterimi Şekil 2.7’de gösterilmektedir.

2.7.3.3 Baca gazından mikroalgal CO₂ toleransı

CO₂ mikroalglerin plazma membranından kolaylıkla difüze olmaktadır (Amoroso vd. 1998). Riboloz 1,5-bisfosfat karboksilaz/oksijenaz (Rubisco) Calvin Döngüsü’nün asimile CO₂’yi 3-fosfoglislerata (3-PGA) dönüştüren ilk enzimidir. Karboksilaz aktivitesinin yanı sıra rubisco oksijenaz aktivitesi göstererek oksijeni 3-PGA’ya ve fosfoglikolata dönüştürmektedir. Rubisconun düşük C bağlama kapasitesinden dolayı mikroalgler mikroalgal karbon konsantre mekanizması geliştirmişlerdir (CCMs). Bu mekanizma ile bünyelerinde biriktirdikleri CO₂ konsantrasyonu kendilerini saran ortamdan 1000 kata kadar yukarılara çıkabilmektedir (Price vd. 2008).

Birçok mikroalg türü baca gazındaki % 5 ila 20 arasındaki CO₂ konsantrasyonlarını tolere edebilmektedirler. Ayrıca % 40 ila 100 arasındaki CO’ konsantrasyonlarını tolere edebilen mikroalgler de literatürde belirtilmiştir (Matsumoto vd. 1997b, Olaizola vd. 2003). Bu yüksek tolerans kapasitesi üzerinde; düşük emisyon akış oranları, CCMs mekanizması, ortama baz ilavesi ile mikroalgal kültürlerin asidifikasyona uğramasının engellenmesi gibi bir çok faktör etkili olmuştur.



Şekil 2.7 Mikroalgal CO₂ toleransının ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde işleyişinin gösterimi (Van Den Hende vd. 2012).

2.7.4 Atmosferdeki metalik partiküller

Havada bulunan partiküllerin % 0.01-3'ünü sağlık yönünden çok toksik etkiler gösteren eser elementler meydana getirir. Bunların sağlık yönünden önemi insan dokularında birikime uğramalarından kaynaklanmaktadır. Atmosfer kirliliğinin bir bölümünü oluşturan metaller; fosil yakıtların yanması ve endüstriyel işlemlerle ortama yayılırlar. İnsan sağlığını geniş çapta olumsuz yönde etkileyen metaller arasında atmosferde yaygın olarak bulunan; kurşun, kadmiyum, nikel, civa ve asbest önem taşımaktadır. Belirli limitlerin dışında bulunabilecek her türlü metal, insan sağlığı üzerinde toksik etki gösterir (Anonim 2004).

2.7.4.1 Kurşun

Mavimsi veya gümüş gri rengine yumuşak bir metaldir. Uçuculuklarının diğer petrol komponentlerinden daha fazla olması nedeni ile yakıt katkı maddesi olarak kullanılırlar ve bu nedenle atmosfer kirleticisi olarak adlandırılırlar. Atmosferdeki kurşunun yaklaşık olarak % 80-90'ı; yakıtlara katkı maddesi olarak ilave edilen alkil kurşunun yanması sonucunda meydana gelir. Motorlu taşıtlarda kullanılan yakıtların yanması ile atmosfere yayılan kurşun miktarı ülkeden ülkeye, kaynaktan kaynağa değişim gösterir. Ayrıca kurşun cevherinin çıkarılması amacı ile yapılan çalışmalar, endüstriyel faaliyetler, kurşun içeren eşya ve maddelerin insineratörlerde yakılması gibi işlemlerde atmosferik kurşun emisyonuna katkıda bulunur.

Atmosferdeki kurşunun temel konsantrasyonu $5 \times 10^{-5} \mu\text{g}/\text{m}^3$ olarak tahmin edilmektedir. Kentsel alanlara yakın veya kentsel olmayan alanlardaki kurşun konsantrasyonu yaklaşık olarak $0.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 'tür. Kırsal alanlarda ise bu konsantrasyon $0.1-0.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ değerleri arasında değişim gösterir.

Havada bulunan kurşunun yeryüzünde birikimi çeşitli yollarla meydana gelir. Bu değişik birikimlere bağlı olarak kurşun maruziyet yolları değişim gösterir. Havadan solunum sistemi, yiyecek ve içeceklerden sindirim sistemi aracılığı ile vücuda girmesi söz konusudur. Havada bulunan kurşunun yaklaşık olarak %15-70'i solunum sistemi, %10'u ise gastrointestinal sistem ile vücuda alınır. Günlük olarak vücuda alınan kurşun miktarı $100-500 \mu\text{g}$ değerleri arasında değişir. Absorbe olan kurşunun % 95' i mineral dokuya (kemik ve dişler) % 5 lik kısmı ise kan ve yumuşak dokuya dağılır. Kan dolaşımındaki kurşunun % 99'u eritrositlere bağlanır. Kurşunun yarılanma ömrü; kanda 20-40, kemiklerde 10 yıldır. Absorbe olmayan kurşun dışkı ile absorbe olan kurşunun % 50-60'ı böbrek veya safra yolu ile vücuttan atılır. Kandaki kurşun konsantrasyonunun $0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ limitini aşması durumunda olumsuz sağlık etkileri gözlenir. Havadaki kurşun konsantrasyonu ile kandaki kurşun konsantrasyonu arasında doğrusal bir ilişki vardır. Kurşunun havadaki $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ konsantrasyonunun kanda $0.01-0.02 \mu\text{g}/\text{ml}$ 'lik konsantrasyonu oluşturduğu tesbit edilmiştir (Anonim 2004).

2.7.4.2 Kadmiyum

Kadmiyum (Cd) gümüş beyaz renkte bir metaldir. Doğada çinko ile birlikte bulunur. Kadmiyum içeren madde veya eşyaların çevreye atılması veya yakılması ve Cd kullanımı sırasında yapılan aktiviteler atmosferik kadmiyum kirliliğini meydana getirir. Genelde yıllık ortalama miktar, kırsal alanlarda 1-5 ng/m³, kentsel alanlarda 5-15 ng/m³, endüstriyel alanlarda 15-50 ng/m³ olarak belirlenmiştir. Avrupa ülkelerinde yapılan ölçümlerde, dünyanın çeşitli ülkelerinde tesbit edilen miktarlar; kırsal alanlarda 0.1-1 ng/m³, kentsel alanlarda 1-50 ng/m³, endüstriyel bölgelerde 1-100 ng/m³ Cd konsantrasyonu olarak tesbit edilmiştir.

Havadan günlük olarak alınan Cd miktarı 1 µg/m³ olarak belirlenmiştir. Solunan Cd'un % 50'si akciğerler tarafından absorbe edilir. Tütünün 0.5-3 µg/gr Cd içerdiği göz önüne alınırsa, günde 20 sigara içen bir kişinin 1-6 µg/m³ konsantrasyonunda Cd alacağı bir gerçektir. Havada normal konsantrasyon limitleri arasında bulunan Cd; toprağa, buradan da bitkiler aracılığı ile besin zincirine dahil olur. Havadaki konsantrasyonunun artması sonucunda, topraktaki Cd birikiminin artacağı ve bunun topraktaki asidifikasyonu fazlaştırmasıyla bitkiler tarafından alınan Cd miktarının artacağı belirlenmiştir.

Akciğerler veya sindirim sisteminden emilen Cd'un önemli bir miktarı karaciğerde birikir. Karaciğerden böbreklere geçiş yapar ve böbreklerde de birikim yapar. Biyolojik yarılanma süresi; karaciğerde 10 yıl, böbreklerde ise daha uzundur. Kadmiyumun eliminasyonunun az olması ve vücutta birikim yapması nedeni ile yaşın ilerlemesi ile konsantrasyonda artış görülür. 50 yaş civarında bulunan insanların böbrekleri üzerinde yapılan araştırmalarda; Cd konsantrasyonu sigara içenlerde 100-150 mg/kg, sigara içmeyenlerde 10-20 mg/kg olarak tesbit edilmiştir. Havadaki Cd konsantrasyonunun 1 mg/m³ limitini aşması durumunda, solunumdaki akut etkileri gözlemek mümkündür. Dünya Sağlık Örgütü insan sağlığının korunması için havadaki kadmiyum konsantrasyonunun; kırsal alanlarda 1-5 ng/m³, zirai faaliyetlerin bulunmadığı kentsel ve endüstriyel bölgelerde 10-20 ng/m³'ü aşılmasını tavsiye etmektedir (Anonim 2004).

2.7.4.3 Nikel

Nikel (Ni) gümüşümsü beyaz renkli sert bir metaldir. Atmosferdeki Ni oluşum kaynaklarının başlıcasını, fuel-oil ve bunun kalıntılarının yakılması, Ni madeninin işlenmesi ve rafinerasyonu, belediye atık insineratörleri, kömürün yakılması oluşturur. Kömürün yanması sonucunda meydana gelen Ni sülfat emisyonu, havadaki Ni sülfat emisyonunun % 20-80'ini oluşturur.

Avrupanın bazı kentlerinden uzak alanlarda 0-0.6 ng/m³, kent yakınında 9-50 ng/m³, kentlerde ise 60-300 ng/m³ Ni konsantrasyonları tesbit edilmiştir. Nikelin maruziyet yolları; solunum, deriden emilim ve beslenmedir. Dış ortam havasındaki Ni konsantrasyonu 10-20 ng/m³, günlük solunum kapasitesi 20 m³ olarak kabul edilirse, bir insanın günlük olarak aldığı Ni miktarı 0.2-0.4 µg olarak hesaplanır. Tütün kullanımı bu miktarı artırır. Günde iki paket sigara içen bir kişinin, günde 3-15 µg Ni alması mümkündür. Besinler aracılığı ile günlük olarak alınabilecek Ni miktarı 0.05- 5 mg limitleri arasında değişim göstermektedir. Genelde bitkisel besinler, hayvansal besinlerden daha fazla miktarda Ni içerir.

Solunum yolu ile alınan Ni'in akciğerlerden emilimi hızla gerçekleşir. Nikel maruziyeti sonucunda günlük olarak alınabilecek miktarlar; kent havasından 0.4 µg, kırsal bölge havasından 0.2 µg olduğu hesaplanmaktadır. Absorbe olan Ni önce kan dolaşımına geçer. Normal şartlarda insan vücut sıvılarındaki Ni miktarı; kanda 4.5 µg/kg, idrarda 2.7 µg/kg, akciğerde 7.4 µg/kg, böbrekte 13.6 µg/kg olarak belirlenmiştir. Emilen Ni'in bir kısmı da saçlarda birikir. Fizyolojik stres ve değişik hastalıklar Ni metabolizma kinetiğini etkiler. Nikelin biyolojik yarılanma ömrü 17-53 saattir.

Havadaki Ni bileşiklerinin solunması sonucunda, solunum savunma sistemi ile ilgili olarak; solunum borusu irritasyonu, tahribatı, immunolojik değişim, alveoler makrofaj hücre sayısında artış, silia aktivitesi ve immünite baskısında azalma gibi anormal fonksiyonlar meydana gelir. Deri absorpsiyonu sonucunda allerjik deri hastalıkları ortaya çıkar (Anonim 2004).

2.7.4.4 Asbest

Asbest terimi; doğada bulunan bir grup kıvrımlı lifler veya silikat türevi mineraller için kullanılır. Asbest gerilebilir lifler olup, ısı geçirgenliği zayıf, kimyasal etkenlere karşı dayanıklıdır. Emisyonları; taş ocağı veya yol inşaatı gibi aktivitelerle ve meteorolojik şartlarla artış gösterebilir. Şehir atmosferinde bulunan asbest emisyonunun en büyük kaynağı taşıt araçlarının fren balatalarıdır.

Asbest liflerinin sindirim sistemi aracılığı ile alınan miktarı çok düşük, solunum sistemi yolu ile alınan miktarı çok yüksektir. Liflerin 3 μm 'den daha geniş çapta olanları solunamaz. Solunan liflerin önemli bir miktarı, üst solunum yollarındaki silialar üzerinde birikir. Daha sonra buradan doğal temizleme mekanizması ile uzaklaştırılırlar. Akciğerlere kadar ulaşabilen asbestin emilimi veya bu bölgedeki birikimi, liflerin çözünabilirlik veya parçalanabilirlik özelliklerine göre değişim gösterir. Alveollerde biriken 5-10 μm 'den daha kısa lifler alveollerin mukosilia temizleme mekanizması aracılığı ile temizlenip uzaklaştırılır. Dünya Sağlık Örgütü, asbest maruziyetinin mümkün olduğunca asgari seviyeye indirilmesini önermektedir (Anonim 2004).

2.7.5 Partiküler madde

Partiküler madde emisyonları yanma prosesi süresince farklı kaynaklardan oluşmaktadır (Van Loo ve Koppejan 2008).

1. Aerosoller; 1 μm 'den küçük çaplı olup K veya Na arasındaki reaksiyonlardan kaynaklanmaktadır
2. Uçucu küller; 1 μm 'den büyük çaplı olup yakıt yatağındaki partiküllerden oluşmaktadır.
3. Kurum; Polisiklik aromatik hidrokarbonların büyük çapta oluşumlarından kaynaklanmakta olup 10-150 nm çapındaki partiküler maddelerdir (Merker vd. 2006).

Kütle ve bileşimi yönünden; aerodinamik çapı 2.5 µm'den büyük kaba partiküller ve aerodinamik çapı 2.5 µm den küçük ince partiküller olarak iki gruba ayrılır.

Küçük partiküller; ikincil olarak oluşan aerosoller (gaz-partikül dönüşümü), yanma sonucunda oluşan partikülleri, yoğunlaşan organik ve metal buharlarını içerir. **Büyük partiküller;** genelde yer kabuğu materyalleri yol ve endüstrilerden oluşan kaçak tozları içerir. Partiküler maddenin asit komponenti ve onun mutajenik aktivitelerinin çoğu genel olarak ince fraksiyonda bulunur. Asılı partiküler madde çeşitli doğal ve yapay kaynaklardan ortama verilen katı ve sıvılar için kullanılan bir terimdir. Solunabilir partiküler madde değişik kaynaklardan oluşmaktadır. Volkan patlamaları, fırtınalar, orman yangınları gibi doğal kaynaklardan oluşanlara göre, elektrik santralleri, endüstriyel prosesler, yakıtların yanması gibi yapay kaynaklardan oluşan partiküller, solunabilirlik açısından daha fazla önem gösterirler. Yapısının karmaşıklığı ve maruziyet tayinindeki partikül boyutunun önemi gibi bazı nedenlere bağlı olarak, partiküler maddenin tanımlanması bir kaç şekilde yapılmaktadır. Bu tanımlamalar; örnekleme yöntemine göre (asılı partiküler madde, toplam asılı partiküler madde, siyah duman), solunum sistemindeki birikime göre (larenks altında biriken partiküller, thoracic partiküller), gerek fizyolojik gerekse örnekleme yöntemine göre (10 µm aerodinamik çaplı komponentler için PM10) şeklinde yapılmaktadır (Anonim 2004).

2.7.6 Ozon ve diğer fotokimyasal oksitleyiciler

Ozon (O₃) doğal olarak atmosferde şimşek, yıldırım gibi elektriksel olayların sonucunda meydana gelmektedir. Ozon en kuvvetli oksitleme ajanıdır. Troposferde, güneş ışınlarının NO₂'ye dolaylı etkisi sonucunda oluşmaktadır. İnsan faaliyetleri sonucunda, atmosferde önemli bir O₃ emisyonu oluşmaz. Havada bulunan O₃, atmosferde kirleticiler arasında meydana gelen reaksiyonlar sonucunda oluşur. Ozonun oluşumu ve atmosferden doğal uzaklaşma olayları güneş radyasyonunun NO₂ üzerine etkisi sonucu bir dizi reaksiyon ile gerçekleşmektedir. Atmosferde bulunan uçucu organik bileşikler ve hidroksil radikalleri, dengedeki O₃ konsantrasyonunun bozulmasına neden olur. Fotokimyasal reaksiyonlar sırasında; O₃'ten ayrı olarak hidrojen peroksit, nitrik asit,

peroksilnitratlar gibi oksitleyiciler, ikincil aldehytler, formik asit, ince partiküller meydana gelmektedir.

Ozonun troposferdeki doğal konsantrasyonu hava kirliliğinden uzak bölgelerde ölçülmüştür. Bu ölçüm, Atlantik okyanusunun 3000 metre yüksekliğinde gerçekleştirilmiş, 24 saatlik ortalama değer $120 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.06 ppm) olarak belirlenmiştir. Atmosferdeki fotokimyasal reaksiyonlar sırasında, havadaki ozonun oksitleyici madde olarak kullanılması nedeni ile ortamdaki NO_2 konsantrasyonu artarken O_3 konsantrasyonunun azalması sonucunda, O_3 'ün bir miktarı ortamdan uzaklaşır. Bu nedenle kentsel alanlardaki O_3 konsantrasyonu kırsal alandan daha düşük seviyededir. Havadaki O_3 konsantrasyonu; O_3 'ün oluşumuna, taşınmasına, fotokimyasal reaksiyonlara, meteorolojik faktörlere bağımlı olarak değişim gösterir. Örneğin, ilkbahar ve yaz mevsimlerinde en yüksek O_3 konsantrasyonu tesbit edilmektedir. Ozon, peroksiasetil nitrat (PAN) gibi önemli organik ve inorganik aerosollerin oluşumuna da katkıda bulunur. Atmosferde hava kirliliğinin mevcut olduğu hallerde PAN ve homologları; azot trioksit ve asilat arasındaki reaksiyon sonunda meydana gelirler. PAN'ın oluşumu ve dönüşümü O_3 'üne benzer. Bu oluşumda ilk önce PAN daha sonra O_3 yer almaktadır. Ozon / PAN oranı sabit olmayıp, mevsimlere göre değişim gösterir. Avrupa'nın bazı kesimlerinde yapılan ölçümlerde maksimum PAN konsantrasyonu $80\text{-}90 \mu\text{g}/\text{m}^3$ olarak tesbit edilmiştir.

Çok kuvvetli bir oksitleyici olan O_3 , her türlü biyolojik materyalle reaksiyona girmektedir. Ozonun özellikle akciğer fonksiyonları üzerinde önemli ölçüde zararlı olduğu tesbit edilmiştir. Genelde, O_3 maruziyeti 1-3 saatlik süreyi kapsamaktadır. $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ oksitleyici konsantrasyonuna maruziyet; göz, burun ve boğaz tahrişine, öksürük ve baş ağrısına neden olmaktadır. Çocuk ve gençlerde akciğer fonksiyonlarının azalmasına sebep olan konsantrasyon ise $160\text{-}300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ tür. Dünya Sağlık Örgütü tarafından insan sağlığının korunması için maruziyet sürelerine göre aşılması gereken sınır değerler; 1 saat için $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$, 8 saat için $100\text{-}120 \mu\text{g}/\text{m}^3$ olarak önerilmektedir (Anonim 2004).

2.7.7 Hidrokarbonlar

Hidrokarbonlar aromatikler (polisiklik aromatik hidrokarbonlar, dioksin ve furanlar), alkanlar, alkenler, aldehitler ve ketonlar olarak gruplandırılabilir (Merker vd. 2006). Hidrokarbonlar global ısınmadan önemli ölçüde sorumlu tutulan bileşikler arasındadırlar (Niessen 2002).

Hidrokarbonlar, havadaki diğer kirleticilerin birbirleri arasındaki reaksiyonlarda rol oynamaları nedeni ile kirletici olarak önem kazanmaktadır. Hidrokarbonlar adlandırılmalarından da anlaşılacağı gibi, C ve H atomlarından meydana gelmişlerdir. Karbonun değişken kimyası nedeni ile tabiatta metandan uzun zincirli polimerlere kadar değişik hidrokarbonlar mevcuttur.

Havada bulunan hidrokarbonları kirleticilik etkisi yönünden ikiye ayırmak mümkündür. Bunlar; Reaktif Hidrokarbonlar ve Reaktif Olmayan Hidrokarbonlar olarak adlandırılırlar. Fotokimyasal reaksiyona girmeyen ve bu nedenle de reaktif olmayan hidrokarbonlar olarak adlandırılan hidrokarbonların en önemlisi (CH_4) metandır. Metan doğal olarak, biyolojik (özellikle bitkisel) aktiviteler sonucunda atmosfere yayılmaktadır. Kentsel alanlarda bulunan metan gazı ise, daha ziyade doğal gaz kullanılan yerlerde, dağıtım şebekesinden sızıntı veya gazın tam yanmaması sonucu atmosfere yayılmaktadır. Reaktif hidrokarbonların çoğu teknolojik işlemler sonucunda atmosfere yayılmaktadır. Örnek olarak; petrol ve doğal gaz gibi yakacakların yanması sırasında açığa çıkan tam yanmamış hidrokarbonlar ile petrol ürünlerinin işlenmesi sırasında oluşan hidrokarbonlar gösterilebilir.

Doğal faaliyetler sonucunda oluşan metan gazının doğal seviyesinin 0.7-1.5 ppm olduğu ve diğer hidrokarbonların herbirinin konsantrasyonunun 0.1 ppm den az olduğu belirlenmiştir. Atmosfere yayılan toplam hidrokarbon kirliliğinin yarıdan fazlasını metan oluşturmaktadır. Kentsel alanlarda bir saatlik ortalama maksimum konsantrasyon 8-10 ppm olarak ölçülmüştür. İnsanların teknolojik faaliyetleri sonucunda ortama verilen hidrokarbonların tamamına yakını reaktif hidrokarbonlar meydana

getirmektedir. Bu reaktif hidrokarbonların çoğunun kaynağını taşıt araçları oluşturmaktadır. Hidrokarbonların kendi toksisitelerinden daha fazla, ortamdaki diğer kirleticilerle yaptıkları reaksiyonlar sonucunda oluşan ozon, peroksiasetil nitrat (PAN), gibi fotokimyasal oksitleyicilerin çevrede önemli rol oynamaları sebebi ile hidrokarbonlar "zararlı etken" olarak kabul edilmektedirler (www.epa.gov/region1/eco/uep/tph.html, 2013).

Hidrokarbon maruziyeti ile ilişkin olarak, gerek insan gerekse hayvanlar üzerinde yapılan araştırma sonuçları aşağıda belirtilmektedir:

1. Alifatik ve alisiklik hidrokarbonların 500 ppm limit değerinin üzerindeki konsantrasyonların sağlık üzerine etkileri tesbit edilememiştir.
2. Aromatik hidrokarbonların özellikle mukoz doku üzerinde tahriş edici etki gösterdikleri, buharlarının solunması sonucunda sistemik etki gösterdikleri ve bu etki limitinin 25 ppm olduğu belirlenmiştir.
3. Havada hidrokarbonların azot oksitleri ile birlikte bulunmaları durumunda, göz irritasyonunun arttığı gözlenmiştir.
4. Aldehitlerin gerek insan gerekse hayvanlarda; göz irritasyonuna, üst solunum yollarında ve deri üzerinde olumsuz etkiler yaptığı belirlenmiştir. Aldehitlerin fizyolojik etkileşim limitinin 0.06 ppm olduğu tesbit edilmiştir. Genel olarak, hidrokarbonlar havadaki fotokimyasal smog oluşumuna, göz irritasyonuna ve diğer sağlık etkilerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Anonim 2004).

2.7.7.1 Polinükleer aromatik hidrokarbonlar (PAH)

Polinükleer aromatik hidrokarbonlar iki veya daha fazla benzen halkası içeren organik bileşiklerdir. Düşük buhar basıncına sahip olan PAH havada partiküler madde üzerinde adsorblanır. PAH özellikle karbonizasyon gibi doğal proseslerin yanı sıra, organik maddelerin yanması ile meydana gelirler. Yüzlerce çeşit PAH vardır. En iyi bilineni benzo(α)piren (BaP) dir. BaP, kok üretiminden, motorlu taşıt araçlarından, kok ve petrol ürünü ile çalışan elektrik santrallerinin faaliyetleri sonucunda atmosfere yayılır.

Havadaki doğal seviyesi sıfırdır. Avrupa'nın bazı kentsel alanlarında yapılan ölçümlerde, konsantrasyon 1-5 ng/m³ değerleri arasında tespit edilmiştir. Kentsel alanlarda PAH konsantrasyonları; kullanılan yakıt türünün ve yanma sistemlerinin ıslahı ile azaltılmıştır. Örneğin bazı bacasız tip evlerde benzo(α)piren miktarı 6 µg/m³ olarak belirlenmiştir.

PAH maruziyeti solunum sistemi aracılığı ile oluşmaktadır. PAH'ın vücuttaki birikimi, ortamdaki konsantrasyona bağlı olarak değişim göstermektedir. Örneğin; düşük konsantrasyonun bulunduğu kırsal kesimde % 1, yüksek konsantrasyonun bulunduğu ortamda ise % 40 oranında vücutta birikim meydana getirmektedir. Kurum ve toz üzerinde adsorbe olan PAH, solunum yollarında birikir. Bu birikenlerin bir kısmı bronşiyel olarak temizlenir. PAH metabolizması, oksidaz sistem aracılığı ile olur. Suda çözünebilen PAH vücuttan idrar ve gaita aracılığı ile atılırlar (Anonim 2004).

2.8 Hava Kirlenmesinin Önlenmesinde Alınabilecek Önlemler

Hava kirlenmesinin önlenmesi amacı ile alınacak önlemler RSHM'nin hazırladığı rapora göre kısa, orta ve uzun vadeli olarak gruplandırılmıştır (Anonim 2004).

2.8.1 Kısa vadede alınabilecek önlemler

- 1 Isınma amacı ile ısı değeri yüksek, kükürt içeriği düşük yakıtların kullanılması,
- 2 Taşıtlarda kurşun içeriği düşük benzinin kullanılması, yanma veriminin artırılması amacı ile motor bakımlarının sağlanması, egzozdaki kirleticilerin minimum düzeye indirilmesinin sağlanması amacıyla katalitik konvertörlerin kullanılması, tam yanmayı sağlamak için uygun katalizörlerin kullanılması,
- 3 Yakıt tasarrufunun sağlanması amacıyla ısı izolasyon tekniklerinin kullanılması,
- 4 Yakma teknolojisi ve enerji tasarrufu konusunda halkın bilinçlenmesinin sağlanması,
- 5 Öncelikle hava kirliliğine olumsuz katkılarının kontrol altına alınması zor olan sobalı evler olmak üzere bütün konutlarda iyi kaliteli yakıt dağıtımının düzenlenmesi,

- 6 Kirliliğin aşırı derecede yükseldiği alarm dönemlerinde kullanılmak üzere kaliteli yakıt rezervinin hazır bulundurulması,
- 7 Fuel-Oil yakılan kaloriferli binalarda ısıölçer ile gereksiz ısınmanın önlenmesi,
- 8 Kirlilik konsantrasyonundaki yüksek artışları önlemek için, kaloriferlerin yakma saatlerinin semtlere göre ayarlanması,
- 9 Yanma veriminin artırılması için soba boruları ve kalorifer kazanlarının alev borularının temizlenmesi,
- 10 Bacalarından fazla kirletici duman çıkaran binaların kontrollerinin belediyelerce yapılarak yaptırım uygulanması

2.8.2 Orta vadede alınabilecek önlemler

- 1 Hâlihazırda mevcut yakıtların kirleticilik vasfını minimum düzeye indirmek amacıyla uygun teknolojilerin kullanılması,
- 2 Yakma sistemlerinin ıslahı, bu amaçla gerekli standartlar ile yasal mevzuatların uygulanması, teknik kontrol ve belgeleme hizmetlerinin gerçekleştirilmesi,
- 3 Binalarda; azami ısı yalıtımını sağlayacak ekonomik yalıtım önlemlerinin saptanması ve uygulanması,
- 4 Kent imar planının ve bina kat müsaadesinin kentin hakim rüzgarlarını önlemeyecek şekilde yapılması,
- 5 Yakıt tüketimi fazla olan büyük bina ve kuruluşlardan başlayarak baca filtresi uygulamasına geçilmesi.

2.8.3 Uzun vadede alınabilecek önlemler

- 1 Ekonomik ve teknik yönden detaylı incelemeler yapılarak, en azından kirlenmenin çok yoğun olduğu semtlerde elektrikle ısıtma uygulamasının başlatılması,
- 2 Doğal gaz ile ısıtmanın yaygınlaştırılması,
- 3 Merkezi sistem ile ısıtmanın yaygınlaştırılması,
- 4 Bir yandan gaz ve tozun tutulması, diğer yandan hava akımı oluşturarak kirletici maddelerin dağılmasını sağlayacak yeşil kuşak ve alanların tesisi,

5 Yeraltındaki ısının; yüksek verimli ısı transfer pompalarıyla alınıp kullanılmasının uygulanabilirliğinin araştırılması,

6 Yenilenebilir enerji kaynaklarından olan güneş enerjisinin en temiz enerji kaynaklarından biri olduğu düşünülerek, uygun bölgelerde bu kaynaktan yararlanılmasının sağlanması.

2.9 Baca Gazlarının Biyolojik Arıtımında Başarının Baca Gazı Özelliği İle İlişkisinin Yakıt Yakma Tesisleri ve Gazların Özellikleri Konusunda İrdelenmesi

Baca gazlarında birçok zararlı kimyasal bileşikler bulunmaktadır. Tipik bir baca gazında partiküler madde, SO_x, NO_x, CO, CO₂, HCl, HF ve ağır metaller bulunmaktadır. Yakıt cinsine göre baca gazında ortalama olarak bulunan bileşikler aşağıdaki Çizelge 2.5'te gösterilmektedir (Bilgin 2001);

Çizelge 2.5 Yakıt cinsine göre baca gazında bulunan bileşikler

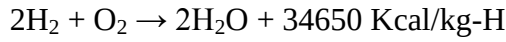
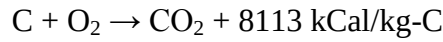
Hava kalitesi kontrol yönetmeliği kirletici vasfı yüksek tesisler için özel emisyon sınırları	
Sıvı yakıtlı tesisler	
CO	< 175 mg/m ³
NO _x	< 800 mg/m ³
SO _x	< 1700 mg/m ³ (300 MW altında enerji harcayan tesisler) < 800 mg/m ³ (300 MW üstünde enerji harcayan tesisler)
Gaz yakıtlı tesisler	
Toz	< 10 mg/m ³
CO	< 100 mg/m ³
NO _x	< 500 mg/m ³
SO _x	< 60 mg/m ³

Yakıt ve tesisin özelliklerine göre değişen oranlarda olmak üzere karışımda 30 gaz izlenebilmektedir. Nem %30'a kadar çıkabilmekte, H₂S, H₂SO₄, NH₃, HBr de önemli oranlara ulaşabilmektedir.

2.10 Biyolojik Arıtmada Baca Gazlarının Etkisi; Baca Gazı ve Yakıt Yakma Tesisinin Arıtım Kriterleri Üzerine Etkileri

2.10.1 Yanma olayı

Yakıt tamamen yandığında içerisindeki C, CO₂'e, H, su buharına (H₂O), S, SO₂'ye dönüşmektedir. Tam yanma esnasında;



Eksik yanmada ise; $2C + O_2 = CO + 2467 \text{ Kcal/kg-C oluşur}$ (Bilgin 2001).

Yetersiz O₂ sonucu CO₂ yerine CO oluşmakta ve verimde % 70 kayıp yaşanmaktadır. Daha zararlı formdaki gazların atmosfere salımını önlemek için yakıtı verilen hava belli oranda arttırılmalıdır. Bu durum yakıt cinsine bağlı olarak değişmektedir (Doğal gazda % 3, sıvı yakıtta % 4, katı yakıtta ise % 5). İyi bir yanmanın doğal sonucu olarak yüksek oranda CO₂ oluşmaktadır. Çözüm düşük C oranlı yakıtların kullanılması ve fosil yakıt kullanımının azaltılmasıdır. Neden olduğu enerji kaybı ve ısı iletimi sebebiyle baca gazlarında arzu edilmeyen CO miktarı yakıtı verilen O₂ oranı arttırılarak önlenir. Yakıt içerisindeki kükürdün yanması ile SO₂ oluşur. Yakıt kazanlarında alınabilecek önlemlerle ilgisi olmayan bu gazın salımı ancak doğal gaz gibi kükürt içermeyen veya düşük kükürt içerikli yakıt kullanılmasıyla azaltılabilir. NO_x ise yakıt cinsiyle alakalı bir gazdır ve salımı termik santrallerde özel teknolojik önlemlerle azaltılabilmektedir (www.coen.com/wp-content/uploads/e-PE.pdf, 2013).

2.10.2 Baca gazı sıcaklığı

Kazanı terk eden baca gazının mümkün olduğunca düşük sıcaklıkta olması istenmektedir. Gereğinden fazla yakıt tüketmek, bacadaki kirlilik gibi etmenler neden olmaktadır. Her 20 °C baca gazı sıcaklık azaltılması verimde % 1 artışa neden olmaktadır. Arıtımın kolay ve etkili olmasında etkili diğer faktörler; Baca çekiş etkisi, baca yüksekliği, tesisin iç sıcaklığı ile dış hava sıcaklığı arasındaki fark, baca kesiti, kazan kapasitesi.

Yanan yakıtın özelliklerine göre verim sıralaması

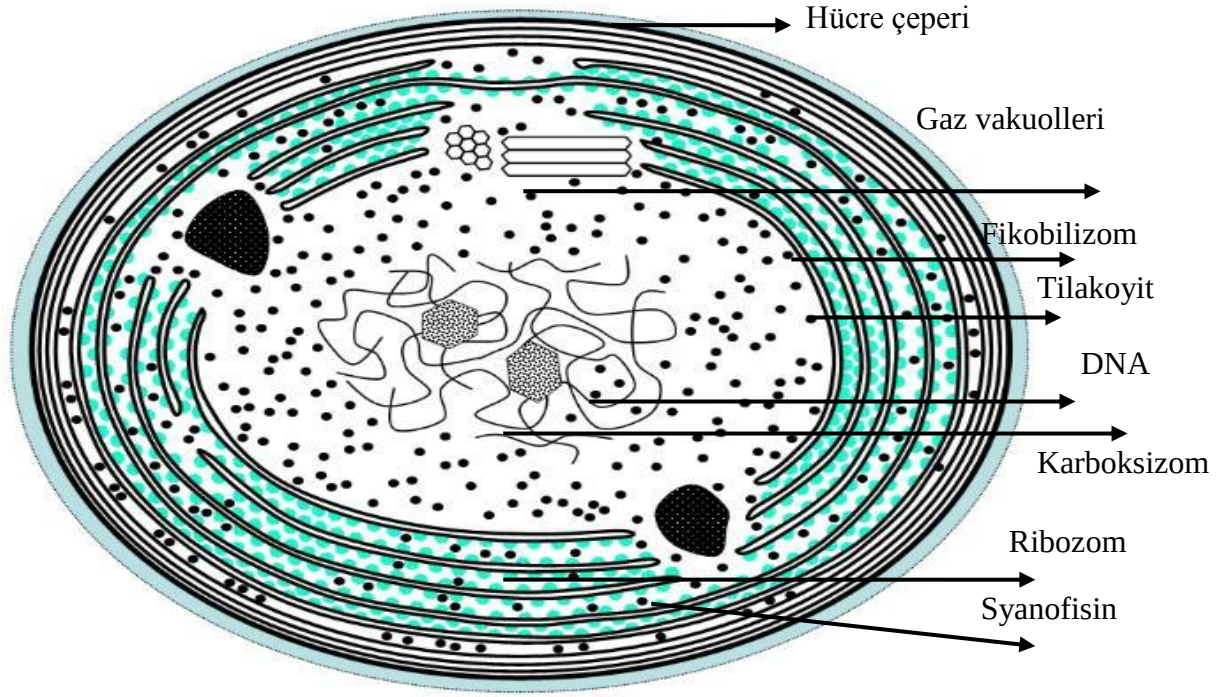
Doğal gaz (Evsel-endüstriyel tip)	>	Sıvı yakıtlar (Motorin, fuel oil)	>	Katı yakıt (Kömür)
--------------------------------------	---	--------------------------------------	---	-----------------------

2.11 Mikroalgler

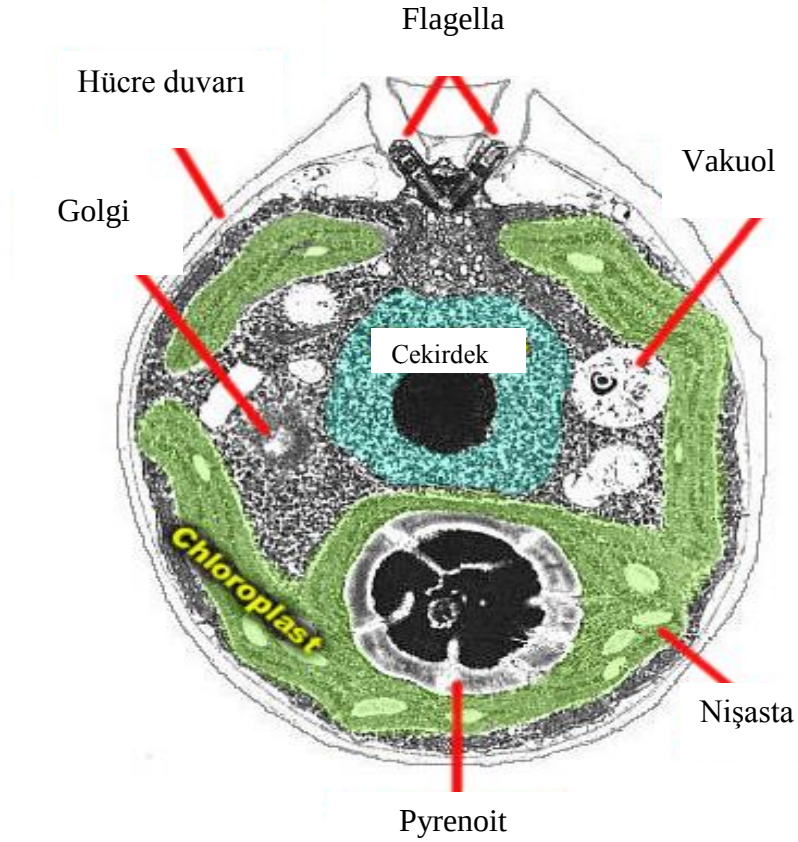
Mikroalglerde prokaryotik ve ökaryotik olmak üzere 2 temel hücre tipi mevcuttur. Prokaryotik hücreler bir çeperle çevrili organallerin bulunmadığı hücre tipidir ve sadece “Cyanobacteria” grubunda bulunur (Şekil 2.8). Ökaryotik hücreler ise polisakkaritten meydana gelen ve golgi cisimciği tarafından salgılanan hücre çeperi ile çevrilidir (Şekil 2.9). Bu, kaynaklarda da belirtildiği gibi canlı bir yapı olan plazma membranı bulunur ve içinde çekirdek ihtiva eder. **Kloroplastlar tilakoyid** olarak adlandırılan membran tabakalarına sahiptirler. Burada fotosentezin ışık reaksiyonları meydana gelir. Kloroplastlar çift katlı kloroplast zarı ile çevrilmiştir. Tilakoyidler stroma içine gömülüdürler, stromada fotosentezin karanlık devre reaksiyonları meydana gelir.

Alg hücrelerinde bulunan çeperler **ipliksi bileşenler** ve **amorf bileşenler** olarak ikiye ayrılır. İpliksi bileşenler çeperin iskelet yapısını oluşturur, amorf bileşenler ise ipliksi bileşenlerin içine gömülü matriksi oluşturur. Hücre çeperinin en sık rastlanan bileşeni pektindir. Fakat gruplar arası selüloz, mannoz, ksiloz veya silika ile karışık halde de görülmektedir.

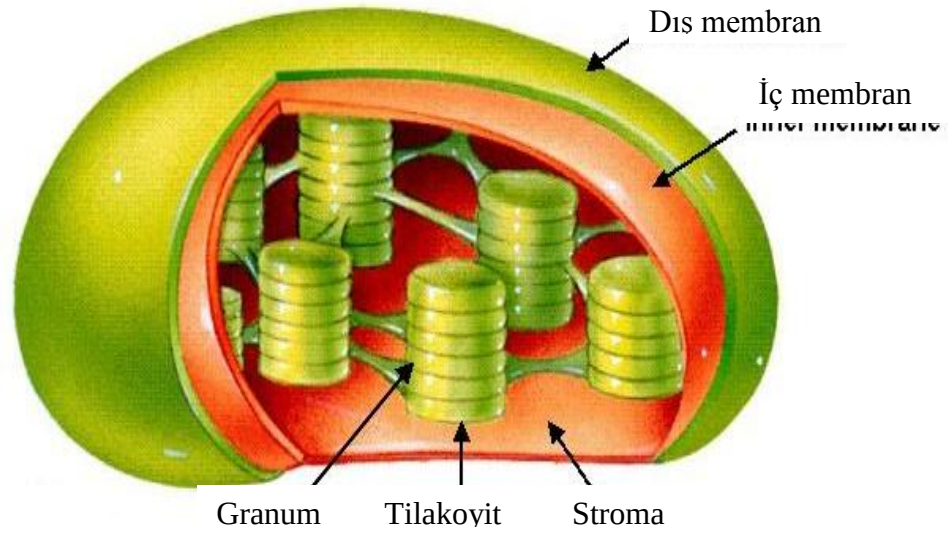
Plastitler alg hücrelerinin en belirgin özellikleridir. Plastit şekli taksonomik bir kriterdir. Plastitlerdeki fotosentetik yapılar tilakoyit (disk) olarak adlandırılırlar. Bu yapılar bir matriks veya stroma ile çevrilidirler. Alglar plastitlerde yüksek bitkilerle karşılaştırılabilecek granalara sahip değildirler. Tilakoyitler klorofil içeren yapılardır. Matriksinde granüller, lipit damlaları ve nişasta bulunur. Tilakoyitler aynı zamanda **fotokimyasal reaksiyon merkezleridirler**. Tilakoyitlerin yüzeyinde **fikobilizomlar** bulunur. Kloroplastların içerisinde farklılaşmış proteinimsi bölgelere pyrenoidler denilir. Bunlar fotosentezdeki ilk ürünleri alarak depo ürünlere çevirirler. **Pyrenoidler** ökaryotik tüm alglerde bulunur ve CO₂'yi fikse etme yeteneğine sahiptirler. Ribiloz 1-5-bifosfat karboksilaz-oksijenaz içerirler. Kloroplast ve ona ait yapılar Şekil 2.10'da gösterilmektedir.



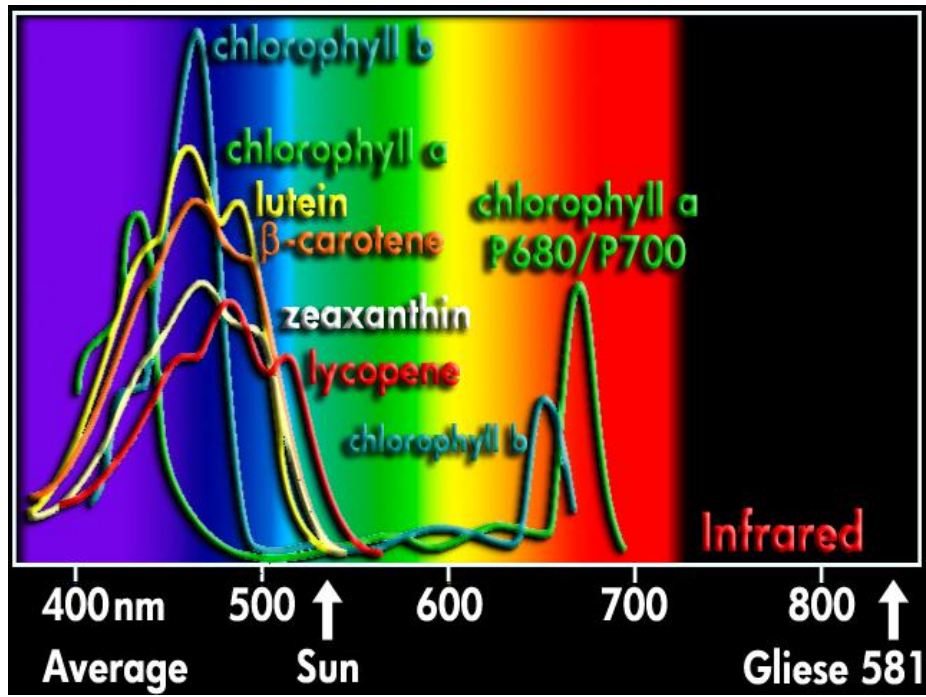
Şekil 2.8 Tipik bir cyanobacteria hücresi (prokaryotik) (<http://www.cronodon.com>, 2013)



Şekil 2.9 Ökaryotik hücre örneği olarak Chlorophyta hücre tipi (<http://www.biologie.uni-hamburg.de>, 2013)



Şekil 2.10 Kloroplast hücresinin yapısı (<http://www.cbv.ns.ca>, 2013)



Şekil 2.11 Fotosentetik pigmentlerin spektrofotometrik dalga boylarının gösterimi (<http://www.godandscience.org>, 2013)

Alglerde görülen renk maddeleri olarak fotosentetik alglerde kloroplastlar içerisindeki klorofiller ilk sırayı almaktadırlar. Alglerde klorofil a, b, c (c1 ve c2), d ve e mevcuttur. Klorofil a bütün fotosentetik alglerde birincil pigmenttir. Diğer klorofiller yardımcı fotosentetik pigment olarak gruplar içinde çok geniş yayılıma sahiptirler. Alglerin klorofil miktarı genellikle kuru ağırlıklarının % 0.5-1.5'i kadardır. Işık şiddeti, CO₂ ve N miktarı bu yoğunluğu etkileyen faktörler arasındadır. Karotenoidler sarı, turuncu ve kırmızı pigmentlerdir. Oksijensiz hidrokarbonlar (Karotenler) ve oksijenli türevler (Ksantofiller) olarak ikiye ayrılırlar. Alglerde en çok görülen karoten β-karotendir. Ksantofiller uzun zincirli hidrokarbonlardır. Alglerde en çok görülen ksantofiller lutein, astaksantin, vialoksantin, flavoksantin, fukoksantin, neoksantin, diatoksantin ve dinoksantindir. Fikobilinler mavi veya kırmızı pigmentlerdir. En çok görülen örnekleri fikoeritrin ve fikosiyanindir. Şekil 2.11' de bazı fotosentetik pigmentler için hazırlanmış dalga boyu aralıkları gösterilmektedir.

Alglerin beslenmesi ototrofik veya heterotrofik olabilir. Bazı alg türleri obligat fototroftur. Yani enerji kaynağı olarak ışığı kullanırlar. Bazı fototrof algler fotoorganotroftur. Besinlerin yapımında organik kaynakları ve ışık enerjisini kullanırlar. Bazıları da fotolitotroftur, bunlar da besinlerin yapımında ışık enerjisi ve inorganik kaynaklardan yararlanırlar (www.botany.si.edu/projects/algae, 2013, www.ucmp.berkeley.edu/greenalgae, 2013).

Alglerde üreme 3 şekilde meydana gelmektedir;

- 1. Vejetatif üreme:** Hücrenin belli bir büyüklüğe ulaşması ile birlikte hücrenin bölünmesiyle meydana gelen üreme tipidir. İpliksi alglerde ipliğin kopması ile tek hücrelilerde hücrenin ortadan ikiye bölünmesi ile meydana gelir.
- 2. Eşeysiz üreme:** Sitoplazmanın canlı kısmı olan protoplastın yeni bir ferdi oluşturması sürecidir. Zoosporlar hareketli protoplastlardır, aplanosporlar ise hareketsiz protoplastlardır. Heterosistler bölünerek yeni iplikleri oluşturan hücrelerdir. Akinetler ise uygun olmayan şartlarda meydana gelip koşullarda çimlenirler.

3. Eşeyli üreme: Alglerde gelişme mevsimlerinin sonunda veya uygun olmayan şartlarda meydana gelirler. İzogami şekil ve büyüklük bakımından benzer gametlerin birleşmesiyle; Anizogami şekil ve büyüklük bakımından farklı gametlerin birleşmesiyle meydana gelirler. Oogami anizogaminin daha gelişmiş şekli olup yumurta ve sperm hücreleri bulunmaktadır. Autogami ise bölünmeyen bir ana hücre içindeki iki çekirdeğin birleşmesidir.

2.12 Mikroalglerin Ekonomik Önemi

Gerek doğal ortamda gerekse laboratuvar koşullarında kültürü yapılan alglerin ekonomideki önemi oldukça büyüktür. Bu önem alglerin özellikle son yıllarda popüler olan birçok araştırma alanında yaygın bir şekilde kullanılmasından ileri gelmektedir. Mikroalglerin ana uygulama alanları çevre biyoteknolojisi, biyo-enerji üretimi, besin, gıda takviyesi ve bazı kimyasalların sentezi olarak gruplandırılabilir (Becker 2008, de Bashan ve Bashan 2010).

Başarılı bir mikroalg üretimi için anahtar faktör mikroalglerin de ana elementi olan “C” dur. Karbon mikroalglerin kuru ağırlıklarının %36 – 65’ini oluşturmaktadır (Chae vd. 2006, Syndey vd. 2010).

Mikroalgler günümüzde atık su arıtımından güneş enerjisinin biyokütleyle dönüştürülmesine; ortamdaki fazla CO₂ gazının uzaklaştırılması suretiyle hava kalitesinin artırılmasından, su kalitesinin kontrolüne; bazı kimyasal maddelerin üretiminden, enerji eldesine kadar çok yaygın bir kullanım alanına sahiptirler. Ayrıca son derece zengin karbonhidrat, protein ve özellikle yağ asidi içermelerinden dolayı hayvan yemi, gıda katkı maddesi, kozmetik ve tıp alanında da kullanıma sahiptirler. Sucul canlılar için önemli bir besin kaynağı oluşturmaktadırlar.

Kullanıldıkları diğer endüstriyel alanlar ise; boya (boya eldesinde), tekstil (katılaştırıcı madde olarak), kauçuk (kauçuğun yumuşaklık kazanmasında), kâğıt (kâğıtla karıştırarak mürekkep akıtmasının önlenmesinde), inşaat (dış cephe malzemesi, kırılmaz cam ve

asfalt katkısı olarak) ve ilaç (tabletlerde dolgu maddesi olarak), gıda (dondurma kıvam arttırıcı, marmelat katkısı, sucuk, salam, sosislerin dışındaki zarın yapısında) zararlılarla mücadele (tarım ilaçlarında katkı maddesi) endüstrileridir. Kırmızı alglerden elde edilen agar bilim dünyasında kullanılan önemli bir malzemedir. Agar gıda endüstrisinden, tıp, dişçilik ve kozmetiğe kadar birçok alanda kullanılmaktadır (Johnston 1965).

2.13 Mikroalglerin Sınıflandırılması

Mikrocanlılar günümüzdeki son filogenetik sınıflandırmaya göre bakteriler, arkeler ve ökaryotlar olmak üzere 3'e ayrılmaktadırlar (Şekil 2.12). Bu sınıflandırma 16 s veya 18 s rRNA dizilerine göre hazırlanmıştır. Buna göre 3 büyük domain mevcuttur; bakteriler, arkeler ve ökaryotlar. Mikroalglerden tez çalışmasında kullanılan Cyanobacteria, Bacteria grubunda, Chlorophyta üyeleri ise Eucarya grubundan Plantae içinde yer almaktadırlar.

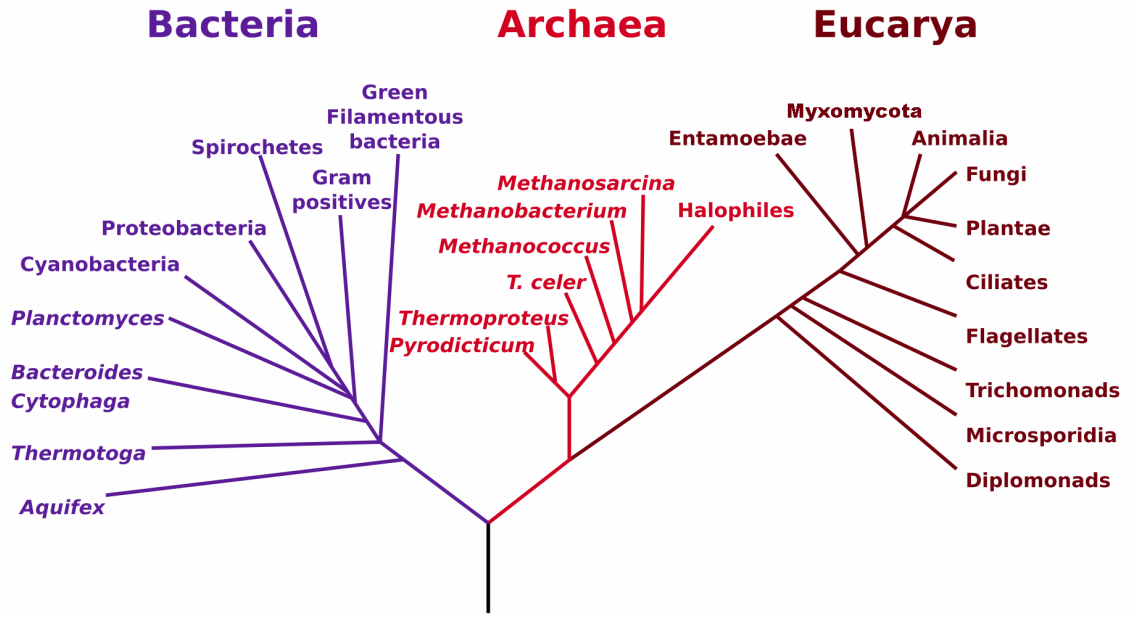
Mikroalglerin sınıflandırılmasında;

1. Pigmentleri,
2. Fotosentez sonucu oluşan ürünler,
3. Kamçılı yapıları,
4. Hücre çeperi yapısı,
5. Çekirdeğin olup olmayışı,
6. Hayat devreleri, üremeleri önemli rol oynamaktadır (www.web.ntm.gov.tw, 2013).

2.13.1 Divizyo: Cyanobacteria

Klorofilli organizmaların en eskileridir. Prokaryot olan tek divizyodur. Morfolojik olarak basit ancak yüksek fizyolojileri ve karışık metabolizmaları ile araştırma konusu olmaktadır. yaklaşık 150 cins ve 2000 tür ile temsil edilirler. Tatlı, tuzlu sular, nemli topraklar ile geniş bir yaşam alanına sahiptirler. Tallusları; tek hücreli, koloni, ipliksi

yapıdadırlar. Cyanobacteria ipliklerine trikom denir. Bu divizyoda kamçılı hücreler bulunmaz. **Sitoplazma;** Mitokondri, çekirdek, golgi cihazı endoplazmik retikulum ve gerçek vakuoller yoktur. Yalancı vakuoller bulunur ve hareketten sorumludurlar. DNA merkezde bulunur, iki katlı zarları yoktur, çekirdek dağınmış vaziyettedir. **Fotosentetik pigmentler;** tilakoyitlere yerleşmişlerdir, tilakoyitler demetler halinde değildir, klorofil a içerir b ve c yoktur. Fikobilizomlar, β -karoten, ksantofil ve karotenoidler vardır. Hücreler mavi-yeşil renkten, menekşe rengine kadar değişiklik gösterebilirler. **Besin depo maddeleri;** siyanofisin denilen nitrojen depolayan granüller içerirler, CO_2 fiksasyonundan sorumlu karboksizom içerirler. **Hücre duvarı;** Gram (-) oldukları için peptidoglikan tek tabakalı olup üstünde lipopolisakkarit tabaka bulunur. **Üreme;** vejetatif ve eşeysiz ürerler, iplikli formlarda akinet ve heterosist görülür.



Şekil 2.12 Filogenetik ağaç (<http://www.rdp.cme.msu.edu>, 2013)

Cyanobacteria divizyosunun sınıflandırılması aşağıdaki çizelgede gösterilmektedir (Çizelge 2.6). Tez çalışması kapsamında kullanılan *Synechococcus* sp. ile *Phormidium* sp. Cyanobacteria divizyosunun üyeleri olup taksonomileri sırasıyla çizelge 2.7 ve 2.8' gösterilmiştir.

Çizelge 2.6 Cyanobacteria divizyosunun sınıflandırılması

<i>Divizyo: Cyanobacteria</i>						
Classis: Cyanophyceae						
	1.Ordo:	2.Ordo:	3.Ordo:	4.Ordo:	5.Ordo:	6.Ordo:
	Chroococcales	Chamaesiphonales	Oscillatoriales	Nostocales	Stigonematales	Pleurocapsales
Genus	<i>Chroococcus</i> 	<i>Chamaesiphon</i> 	<i>Spirulina</i> 	<i>Nostoc</i> 	<i>Stigonema</i> 	
	<i>Microcystis</i> 	<i>Dermocarpa</i> 	<i>Oscillatoria</i> 	<i>Anabaena</i> 		
	<i>Aphanothece</i> 		<i>Lyngbya</i> 	<i>Rivularia</i> 		
	<i>Merismopedia</i> 			<i>Aphanizomenon</i> 		

Çizelge 2.7 *Synechococcus*'un sınıflandırılması

<i>Synechococcus</i> 'un Sınıflandırılması	
Kingdom	Bacteria
Phylum	Cyanobacteria
Order	Chroococcales
Family	Synechococcaceae
Genus	<i>Synechococcus</i>

Çizelge 2.8 *Phormidium*'un sınıflandırılması

<i>Phormidium</i> 'un Sınıflandırılması	
Kingdom	Bacteria
Phylum	Cyanobacteria
Order	Oscillatoriales
Family	Phormidiaceae
Genus	<i>Phormidium</i>

Synechococcus sp. sucul ortamlarda yaygın bulunan tek hücreli bir siyanobakter olup 0.8-1.5 µm çapındadır ve klorofil a ihtiva etmektedir. *Phormidium* sp. ise binary füzyonla ikiye bölünmektedir ve yaklaşık boyutları 1-1.5 µm arasındadır (Rippka 1988). Tez çalışmasında Cyanobacteria üyelerinin seçilme nedeni hızlı gelişmeleri, kontrol edilebilir bir mekanizmaya sahip olmaları, yenilenebilir biyokütle oranlarının yüksek oluşu, insan gereksinimlerine uygun gaz değişim şekillerine sahip olmaları ve atık sularla arıtım tanklarında en sık rastlanan mikroalglerin mavi-yeşil algler oluşudur.

2.13.2 Divizyo: Chlorophyta

Şekil ve büyüklük bakımından en çok değişiklik gösteren gruptur. Yeşil pigmentli alglerdir. Yaklaşık 500 cins ve 8000 tür ile temsil edilirler. Bunların büyük bir kısmı tatlı sularda yaşarlar, denizlerde yaşayan türleri de oldukça fazladır. Tallusları; hem hareketli, hem hareketsiz, tek hücreli ve iplikli olabilirler. **Sitoplazmalarında;** ökaryotik hücreler gibi çekirdek, golgi aygıtı, mitokondri, vakuoller, lipit damlacıkları, endoplazmik retikulum, ribozomlar ve kloroplastlar bulunur. **Kloroplastlar;** çift katlı zarla çevrilmiştir, gruplu yapılar halinde tilakoyitler bulunur, klorofil a, b ile karotenler ve ksantofiller içerirler. **Besin depo maddelerinin** en önemlisi nişastadır. **Hücre çeperi;** iki veya üç tabakalıdır. İç tabakada selüloz, pektin ve diğer polisakkaritler, dış tabakada ise müsilaj ve pektoz bulunur. Hareketli hücrelerde iki veya daha fazla sayıda **kamçı** bulunabilir. Üremenin yaygın olarak **vejetatif hücre bölünmesi** ile olduğu bir gruptur (Çizelge 2.9).

Çizelge 2.9 Chlorophyta divizyonunun sınıflandırılması

Divizyo: Chlorophyta

Classis 1: Chlorophyceae

Ordo 1: Volvocales

Genus 1: *Chlamydomonas*

Genus 2: *Volvox*

Genus 3: *Pandorina*



Ordo 2: Chlorellales

Genus 1: *Chlorella*

Genus 2: *Pediastrum*

Genus 3: *Scenedesmus*

Genus 4: *Dictyosphaerium*

Genus 5: *Oocystis*



Ordo 3: Chaetophorales

Genus 1: *Stigeoclonium*

Genus 2: *Draparnaldia*



Ordo 4: Oedogoniales

Genus 1: *Oedogonium*



Classis 2: Charophyceae

Ordo 1: Zygnematales

Familia 1: *Desmidiaceae*

Genus 1: *Cosmarium*

Genus 2: *Closterium*

Familia 2: *Zygnemataceae*

Genus 1: *Spirogyra*

Genus 2: *Zygnema*

Genus 3: *Mougeotia*



Ordo 2: Charales

Genus 1: *Nitella*

Genus 2: *Chara*

Classis 3: Ulvophyceae

Ordo 1:

Ulotrichales

Genus 1: *Ulothrix*

Ordo 2:

Ulvales

Genus 1: *Ulva*

Ordo 3:

Cladophorales

Genus 1: *Cladophora*

Ordo 4:

Dasycladales

Genus 1: *Acetabularia*

Ordo 5:

Caulerpales

Familia 1: *Caulerpaceae*

Genus 1: *Caulerpa*

Familia 3: *Derbesiaceae*

Familia 2: *Codiaceae*

Genus 1: *Codium*

Familia 4: *Dichotomosiphonaceae*

Classis 4: Prasinophyceae

Tez çalışması kapsamında kullanılan *Chlorella* sp. yeşil algler grubunda yer alan 2 - 10 µm boyutunda tek hücreli bir mikroalg cinsidir. Küre ya da elips biçimli hücrelerinde klorofil a ve b ihtiva ederler. Tatlı su yosunları da denir. 2,5 milyar yıldır genetik yapısı hiç değişmeyen ender bir canlı türü olan *Chlorella*'nın vitamin, protein, mineral, amino asit, nükleik asitler (RNA, DNA), temel yağ asitleri ve karotenoid içeriği yüksektir. *Chlorella*'nın bilimsel sınıflandırılması Çizelge 2.10'da gösterilmiştir.

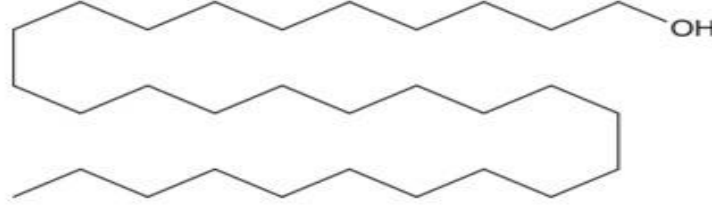
Çizelge 2.10 *Chlorella*'nın sınıflandırılması

<i>Chlorella</i> 'nın Sınıflandırılması	
Domain	Eukaryota
Kingdom	Protista
Division	Chlorophyta
Class	Chlorophyceae
Order	Chlorellales
Family	Chlorellaceae
<i>Genus</i>	<i>Chlorella</i>

Tez çalışmasında kullanılmak üzere *Chlorella* sp.'nin seçilme nedenleri arasında; ülkemizde hemen hemen her bölgede dağılışı gösteren en yaygın mikroalgler arasında olması; kolay kültüre alınabilmesi ve hızlı gelişme kapasiteleri ile birçok çevre kirleticisinin arıtımında başarıyla kullanılmış olması gelmektedir (Taştan vd. 2012a). Ayrıca sadece su, ışık, CO₂ ve az miktarda besin içeren bir ortamda bile yüksek kapasite ile gelişebilmektedir (Kanno 2005). Bu türün önceki çalışmalarda yüksek oranda CO₂'yi (Yue ve Chen 2005, de Morais ve Costa 2007), SO_x ve NO_x'i (Lee vd. 2002, Radmann vd. 2011) tolere edebilmesi de seçilme nedenleri arasındadır.

2.14 Triakontanol

1-triakontanol melissil alkol ya da mirisil alkol olarak bilinen genel formül $C_{30}H_{62}O$ olan yağlı bir alkoldür (Şekil 2.13). Bitkilerin kütikül tabakası içinde bulunan balmumu kıvamında bir hormondur.



Şekil 2.13 Triakontanol'ün kimyasal yapısı

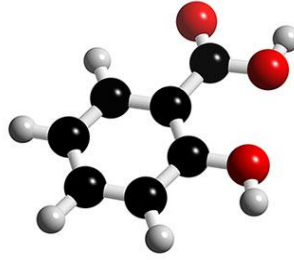
Triakontanolün gelişme ve klorofil konsantrasyonu üzerindeki uyarıcı etkisi (Kılıç vd. 2010, Taştan vd. 2012a), mikroalglerin bor ve bazı kirleticilerin giderim kapasitesi üzerindeki arttırıcı etkisi (Karacakaya vd. 2009, Naeem vd. 2009, Taştan vd. 2012a) ile nitrojen fiksasyonu ve enzim aktivitesi üzerindeki uyarıcı etkisi (Naeem vd. 2009) önceki çalışmalarda vurgulanmıştır. Özellikleri Çizelge 2.11'de verilmiştir (Anonymous 2008)

Çizelge 2.11 Triakontanolün özellikleri

Triakontanolün özellikleri	
IUPAC ismi	Triakontan-1-ol
Sinonim isimleri	1-Triakontanol
	<i>n</i> -Triakontanol
	Melissil alkol
	Mirisil alkol
CAS Numarası	593-50-0
Moleküler formülü	$C_{30}H_{62}O$
Lineer formülü	$CH_3(CH_2)_{28}CH_2OH$
Moleküler ağırlığı	438.81 g/mol

2.15 Salisilik Asit (SA)

Salisilik asit, adını ilk olarak kabuğundan elde edildiği *Salix alba*, söğüt ağacından alan bir tür fenolik asittir, kimyasal olarak monohidroksibenzoik asit, bir betahidroksiasittir (Şekil 2.14). Bu renksiz ve kristalimsi organik asit yaygın bir bitki hormonu olarak; organik sentez işlevlerinde kullanılır (www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov, 2013).

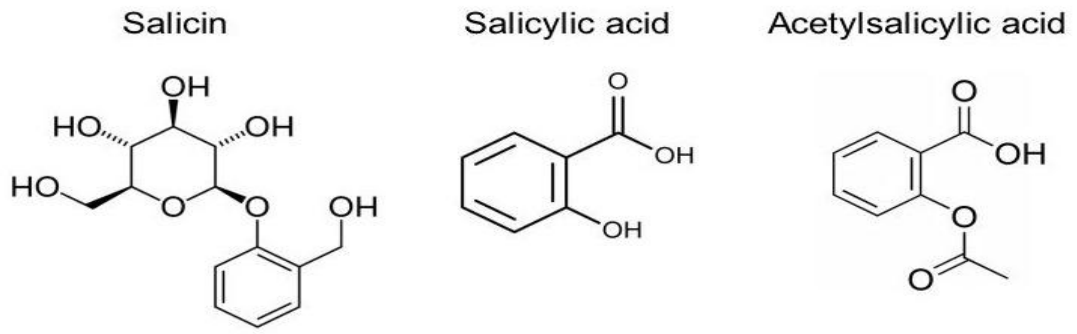


Şekil 2.14 Salisilik Asit'in 3 boyutlu yapısı

Salisilik asit söğüt ağacından yaklaşık 3500 yıl önce Hipokrat tarafından elde edilmiş olup bugünkü kullanımıyla aspirinin hammaddesidir (asetilsalisilik asit), ve bilinen en iyi anti-akne tedavi ilacıdır (Şekil 2.15). Salisilik asit “salisin” metabolizmasından elde edilir (Şekil 2.16). Salisilik asit tuzları ve esterleri “salisilatlar” olarak bilinir.



Şekil 2.15 Söğüt ağacı ve aspirin



Şekil 2.16 Salisin, Salisilik asit ve Asetil salisilik asidin yapıları

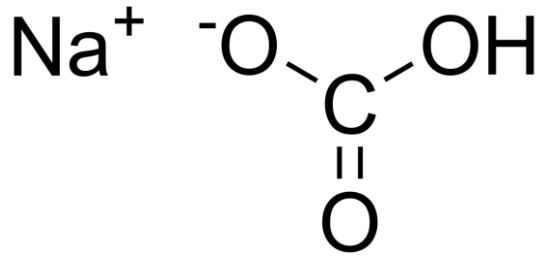
Salisilik asit fenolik asitlerin iyi bilinen bir örneğidir. Önemli bir sinyal molekülü olmasının yanı sıra direnç artırıcı ve büyüme uyarıcı gibi özellikleri de vardır (Hayat vd. 2010). Söğüt kabuğundan elde edilen salisilik asidin (*Salix alba* L.) analjezik etkisi çok eski yıllardır bilinmesine rağmen aspirin 160 yıl önce sentezlenmiştir (Lafont 2007). Salisilik asidin bitkiler üzerindeki etkilerinin sınırlı olmasına rağmen mevcut veriler bu maddenin bitki büyüme hormonları arasında önemli bir yere sahip olduğunu, sinyal mekanizmasında, biyotik ve abiyotik stress etmenlerine toleransdaki önemi vurgulanmaktadır (Rivas vd. 2011). Özellikleri Çizelge 2.12’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.12 Salisilik asidin özellikleri

Salisilik asidin özellikleri	
IUPAC ismi	2-Hydroxybenzoic acid
CAS Numarası	69-72-7
Moleküler formülü	C ₇ H ₆ O ₃
Lineer formülü	2-(HO)C ₆ H ₄ CO ₂ H
Moleküler ağırlığı	138.12 g/mol
Yoğunluk	1.443 g/cm ³
Kaynama noktası	211 °C
Suda çözünübilirliği	2 g/L 20 °C
Diğer ortamlarda çözünübilirliği	ether, CCl ₄ , benzen, propanol, aseton, ethanol, turpentine, toluene

2.16 Sodyum Bikarbonat

Sodyum bikarbonat ya da sodyum hidrojen karbonat, formülü NaHCO_3 olan bir kimyasal bileşiktir (Şekil 2.17). Sodyum bikarbonat kristalin yapıda beyaz bir katı maddedir ancak genellikle ince toz kıvamında kullanılır. Yıkanmış sodayı andıran hafif tuzlu, alkali bir tadı vardır. Doğal mineral formu “nahcolite” ve “natron” olarak adlandırılır. Avrupa Birliği, tarafından kodlanan gıda katkı maddeleri arasında “E 500” kodu ile yer almaktadır (www.ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor, 2013).



Şekil 2.17 Sodyum bikarbonat’ın moleküler formülü

Natron eski Mısırlılar tarafından sabun gibi bir temizlik maddesi olarak kullanılmıştır. 1791 yılında Fransız kimyager Nicolas Leblanc, “soda” olarak bilinen sodyum karbonatı üretmiştir. 1846 yılında, iki New York’lu fırıncı, John Dwight ve Austin Church, sodyum karbonattan kabartma tozu geliştirmek için tarihteki ilk kabartma tozu fabrikasını kurmuştur. Sodyum bikarbonat ayrıca mide ekşimesi tedavisi için bir antiasit olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca yeni doğan bebekleri için sancı suyunun içinde bileşen olarak da kullanılmaktadır. Vucutta haşlanmış bölgelerde ilk yardım amacıyla haşlanma tedavisinde ve yara izini önleme amacıyla da kullanılmaktadır. Hafif antiseptik özellik de göstermektedir. Özellikleri çizelge 2.13’te gösterilmiştir.

Mikroalgler CO_2 ’yi üç farklı kaynaktan absorblayabilmektedirler (Wang vd. 2008a);

1. Atmosferden
2. Endüstriyel egzoz ya da baca gazları
3. Çözünebilir karbonat formlarından (NaHCO_3 , Na_2CO_3)

Çizelge 2.13 Sodyum bikarbonatın özellikleri

Sodyum bikarbonatın özellikleri	
IUPAC ismi	Sodium hydrogen carbonate
Sinonim isimleri	kabartma sodası, nahcolite, sodyum hidrojen karbonat
CAS Numarası	144-55-8
Moleküler formülü	NaHCO ₃
Moleküler ağırlığı	84.007 g/mol
Yoğunluk	2.20 g/cm ³
Kaynama noktası	50 °C
Suda çözünübilirliği	9 g/100 mL 69 g/L (0 °C) 96 g/L (20 °C) 165 g/L (60 °C) 236 g/L (100 °C)

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

Tez çalışmasında kullanılan “mikroalg” terimi ökaryotik mikroalgler ile prokaryotik siyanobakterilerin tamamını içine alan bir terimdir.

3.1 Mikroalg İzolasyonu, Saflaştırılması ve Tanılanması

Tez çalışması kapsamında ülkemizin farklı bölgelerinden ve farklı su kaynaklarından onlarca su örneği alınmış ve bu örneklerden onlarca mikroalg türü saflaştırılmıştır. Tez çalışmasının amacına uygun olması bakımından saflaştırılan bu mikroalg örneklerine CO₂ uygulaması yapılmış ve gelişmeleri kaydedilmiştir. Artan CO₂ varlığında en yüksek oranda gelişme gösteren mikroalglerden 3 tanesi tez çalışması kapsamında kullanılmıştır. Tez çalışması kapsamında kullanılan diğer bir mikroorganizma ise *Phormidium* sp. olup Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Mikroalglerin izolasyon aşamasında kaydedilen görüntü

İzolasyon Aşamasında kullanılan besiyeri **BG 11'** dir. Bu ortam genelde siyanobakterilerin geliştirilmesi için kullanılan bir ortam olup Chlorophyta grubu üyelerinin geliştirilmesinde de oldukça sık olarak kullanılmaktadır. BG 11 besiyeri bileşenleri aşağıdaki Çizelge 3.1'de özetlenmiştir (Rippka 1988).

Çizelge 3.1 BG 11 besiyeri bileşenleri

BG 11 besiyeri bileşenleri	
NaNO ₃	1.5 g/L
Stok solüsyonlar	g/L
A:K ₂ HPO ₄	0.04
B:MgSO ₄ .7H ₂ O	0.075
C:CaCl ₂ .2H ₂ O	0.03
D:Na ₂ CO ₃	0.02
E:Sitrik asit	6.00
Demir amonyum sitrat	6.00
Na ₂ EDTA	1.0
A5 solüsyonu (mL/L)	g/L
H ₃ BO ₃	2.86
MnCl ₂ .4H ₂ O	1.81
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.222
Na ₂ MoO ₄ .5H ₂ O	0.390
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.079
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.049

3.1.1 İzolasyon ve Saflaştırma

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kampüs Havuzu'ndan ve Yozgat/Sorgun yöresinden alınan kaynak su örnekleri Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. Bu sulardan 10 mL örnek alınarak içerisinde 90 mL BG 11 besi ortamı bulunan 250 mL'lik erlene aktarılmış ve 10 gün

boyunca $25^{\circ} \pm 2'$ de $48 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$ (2400 lx) ışık altında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda ekim yapılan erlende gelişme gözlenmiş ve bu erlenden alınan 1 mL örnek petri içerisinde hazırlanmış olan agarlı-BG 11 ortamına aktarılmıştır. Gerekli gelişmenin gözlenmesi ile birlikte bu petriden öze ile örnek alınarak tek koloni düşürmek amacıyla çizgi ekimlerle sürekli pasaj yapılmıştır. Her hangi bir kontaminasyonun oluşumunu engellemek amacıyla son petriden alınan örnekler bakteriyal besi ortamına da ekilerek kontaminasyonun olup olmadığı teyit edilmiştir. Gerekli mikroskobik incelemelerin ardından tam anlamıyla “saf” olduğu kanısına varılan örnekler filogenetik olarak tanılanmıştır.

3.1.2 Tanılama

3.1.2.1 Morfolojik Tanılama

Saflaştırılan örnekler mikroskop altında incelemeye tabii tutulmuştur. Hücre yapıları, bölünme şekilleri ve hareketleri takip edilmiştir. Bu takipler sonucunda mikroorganizmalar morfolojik olarak tanılanmışlardır (Bellinger ve Sigeo 2010).

3.1.2.2 18 s rRNA bölgesine göre tanılama

Yozgat/ Sorgun yöresinden saflaştırılan ökaryotik mikroalg örneği için; PCR ve sekanslama işlemi logaritmik gelişme fazındaki kültürlerin 18S rRNA gen amplifikasyonu ile gerçekleştirilmiştir. 18S rRNA bölgesi forward F1: 50-WACCTGGTTGATCCTGCCAGT-30 ve reverse R1798: 50-GATCCTTCYGCAGGTTACCTAC-30 primerleri kullanılarak amplifike edilmiştir (Luo vd. 2006). PCR 50 mL’lik reaksiyon karışımında gerçekleştirilmiş olup bu karışım 0.2 mM her bir primerden, 0.2 mM her bir dNTP’den, 1.5 mM MgCl_2 ve 30 ng kalıp DNA içermektedir.

Super-HotTaq Taq DNA polimeraz (Bioron GmbH, Germany) amplifikasyonda kullanılmıştır. PCR- amplifikasyon başlangıç denatürasyon aşaması 95 °C 10 dk, bunu izleyen 35 döngülü denatürasyon 95 °C 45 sn, sertleştirme (annealing) 60 °C 45 sn, uzatma (elongation) 72 °C 45 sn, son uzatma (final extension) 72 °C 10 dk olarak gerçekleştirilmiştir. Amplifiye edilmiş ürünleri sekanslamak için 2 ileri primer, F371: 50-AGGGTTTCGATTCCGGAG-30 and F1132:50-GAAACTTAAAKGAATTG-30 ve 2 ters primer, R584: 50-GWATTACCGCGGCKGCTG-30 ve R1283: 50-CGGCCATGCACCACC-30 kullanılmıştır. Sekanslamada BigDye 3.1 (Applied Biosystems Inc, USA) ve ABI3130 genetik analizatör (Applied Biosystems Inc., USA) sekanslamada kullanılmıştır.

3.1.2.3 Stok hazırlama

Saflaştırılıp, teşhis edilen mikroalgal kültürlerin içinde agarlı-BG 11 bulunan yatık agarlı tüplere ekimi yapılarak 25° ± 2'de 48 µmol/m²s (2400 lx) ışık altında inkübasyona bırakılmıştır. Stok kültürler her 3 ayda bir yenilenmiştir.

3.2 SO₂ ve NO₂'nin Mikroalgler Üzerindeki Etkisi

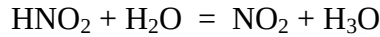
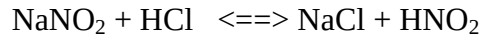
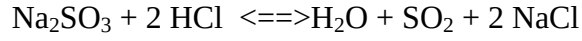
SO₂ ve NO₂'in mikroalgler üzerindeki etkisinin araştırıldığı bu aşamada gerçekleştirilen tüm çalışmalar *Chlorella* sp. ve *Synechococcus* sp. mikroorganizmaları kullanılarak ve ortama TRIA ve / veya NaHCO₃ büyüme faktörleri eklenerek gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada kullanılan kimyasallar aşağıda özetlenmiştir;

- SO₂ ve NO₂ gazları Na₂SO₃ (Merck) ve NaNO₂ (Merck) kimyasallarının son konsantrasyonları 1 mol/L olacak şekilde distile suda çözülüp, bu çözeltiye % 37'lik HCl (Merck) damlatılmasıyla oluşturulmuştur.
- TRIA (96 %, w/v; Aldrich) solüsyonu 0.5 g triakontanolün kloroformda çözünmesiyle hazırlanmıştır.
- NaHCO₃ (Merck) solüsyonu 17.2 g/L NaHCO₃'ün distile suda çözünmesiyle hazırlanmıştır.

Bu aşamada sırasıyla aşağıdaki parametreler araştırılmıştır;

3.2.1 Gaz hazırlama sistemi

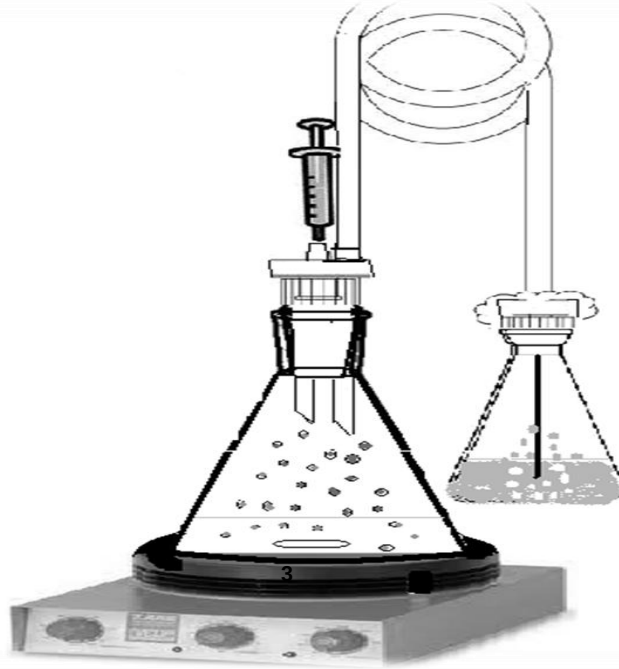
Laboratuvar ortamında SO₂ ve NO₂ gazlarını üretmek amacıyla çalışması kapsamında bir deney düzeneği hazırlanmıştır (Şekil 3.2 a ve b). Bu düzenek aynı zamanda kültür ortamına bu gazların aktarımı için de kullanılmıştır. Kültür ortamı ve gaz aktarım deney düzeneği inokülasyondan önce 20 dakika boyunca 121 ° C'de otoklavda 15 dakika boyunca steril edilmiştir. SO₂ ve NO₂ gazlarının üretimi için çift çıkışlı 500 mL'lik Erlenmeyer kullanılmıştır. Gaz oluşturma aşamasında reaksiyonun oluşumu için gereken ısı ısıtmalı-manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica) kullanılarak sağlanmıştır. Erlenmeyer içerisine Na₂SO₃ ve/veya NaNO₂ kimyasalları koyulup üzerine derişik hidroklorik asitin (HCl) damlatılması sonucu SO₂ ve NO₂ gazları oluşturulmuştur. Oluşturulan gazlar ısıya dayanıklı silikon hortum vasıtasıyla, içinde 100 mL kültür solüsyonu bulunan 250 mL Erlenmeyer içerisine aktarılmıştır. Reaksiyon aşağıda formülarize edilmiştir;



a



b



Şekil 3.2 SO₂ ve NO₂ üretmek amacıyla tasarlanan deneysel düzenek

a. Çalışmalar sırasında kaydedilen fotoğraf görüntüsü, b. Şematize hali

3.2.2 TRIA ve NaHCO₃'ün biyokütle üzerindeki etkileri

3.2.2.1 Tekli etkileri

Başlangıç TRIA konsantrasyonlarının biyokütle üzerindeki tekli etkisinin araştırılmasında 1, 5, 10 ve 20 mg/L TRIA solüsyonu kullanılmıştır. NaHCO₃ solüsyonunun *Chlorella* sp. ve *Synechococcus* sp. biyomasları üzerindeki tekli etkisini belirlemek amacıyla bu kimyasal 34, 43 ve 52 mg/L oranlarında kullanılmıştır. Ayrıca TRIA ve NaHCO₃'ün ortama ilave edilmediği (0 mg/L) kontrol kültürler de hazırlanmıştır.

3.2.2.2 Birlikte etkileri

Tekli etkiler sonucunda belirlenen optimum TRIA ve NaHCO₃ konsantrasyonları ikili olarak kültürlerle uygulanmıştır. Uygulanan konsantrasyonlar *Chlorella* sp. için 1 mg/L TRIA + 43 mg/L NaHCO₃; *Synechococcus* sp. için 1 mg/L TRIA + 34 mg/L NaHCO₃ olarak bulunmuştur.

3.2.3 Mikroalgler üzerinde SO₂ ve NO₂ toleransına etki eden faktörler

3.2.3.1 pH'ın etkisi

Chlorella sp. ve *Synechococcus* sp. tarafından SO₂ ve NO₂ gazlarının en iyi tolere edilebileceği pH değerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda kültür ortamının pH değeri seyreltik (0.01 M) ve yoğunlaştırılmış (1 M) sülfürik asit (H₂SO₄) ve/veya sodyum hidroksit solüsyonlarıyla (NaOH) 6.5-9.5 arasında ayarlanmıştır. pH çalışması için kültürlerle bu gazların uygulanma süresi 10 dakikadır. 10 gün boyunca (48 umol photon/m²sa= 2400 lx) sürekli ışık altında gelişen kültürlerle 10. gün SO₂ veya NO₂ gazları 10 dakika boyunca uygulanmış ve kültürler bu işlemin ardından 5 gün daha inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.3.2 Uygulama süresinin etkisi

Chlorella sp. ve *Synechococcus* sp. için belirlenen optimum pH değerlerinde 15 ve 20 dakika boyunca SO₂ ve NO₂ uygulaması yapılmıştır. Bu amaçla 10 gün boyunca (48 $\mu\text{mol photon/m}^2\text{s} = 2400 \text{ lx}$) sürekli ışık altında gelişen kültürlerle 10. gün SO₂ veya NO₂ gazları uygulanmış ve kültürler 5 gün daha inkübasyona bırakılmıştır. Alınan örnekler analiz edilerek bu gazların mikroalgal gelişme üzerine etkileri analiz edilmiştir.

3.3 Egzoz Emisyonlarının Mikroalgler Üzerindeki Etkisi

Bu aşamada gerçekleştirilen tüm çalışmalar *Chlorella* sp. ve *Phormidium* sp. üzerinde triakontanol ve / veya salisilik asit uygulaması altında gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada kullanılan kimyasallar aşağıda özetlenmiştir;

- Bu aşamada bir önceki aşamada kullanılmış olan TRIA'ye ek SA da kullanılmıştır. Salisilik asitin etkisi 25, 50 ve 75 mg kimyasalın 1000 mL BG 11 besi ortamında çözünmesiyle incelenmiştir. Bu aşamadasırasıyla aşağıdaki parametreler araştırılmıştır;

3.3.1 Emisyon hazırlama sistemi

Yakıt egzoz emisyonlarını elde etmek için hafif yük orijinal araç motorunda sırasıyla LPG ve benzin yakılarak emisyonlar elde edilmiştir (Şekil 3.3). Çalışmalarda kullanılan motor Renault marka (Bursa, Türkiye) motor olup, modeli 1.6 16V'dir (Çizelge 3.2). Motordan yanmış halde emisyonlar Türk Elektrik AE 136 AD marka-modeli kompresör yardımıyla basınçlı kaplarda (Schütt Labortechnik D-37079) toplanmıştır. Emisyonların toplanma aşamasında motor rölanti devrinde çalıştırılmıştır. Emisyon içeriği Gazi Üniversitesi Teknoloji Fakültesi Otomotiv Mühendisliği Bölümü'nde MGA 1200 model emisyon analiz cihazı ve TESTO 350- XL Flue Gas Analyzer ile analiz edilmiştir (Şekil 3.4.a.b). Sonuçlar çizelge 3.3'te gösterilmiştir. Basınçlı kaplarda toplanan emisyonlar kültürlerle transfer edilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.3 Renault marka motordan egzoz emisyonu temini



Şekil 3.4.a. MGA 1200 model emisyon analiz cihazı ve b. Testo 350-XL Flue Gas Analyzer cihazı

Çizelge 3.2 Motor özellikleri

Motor tipi	K4M-BVA
Motorun markası	Renault 1.6 16V
Piston x strok çapı (mm)	795 x 805
Silindir hacmi (cm ³)	1598

Çizelge 3.3 LPG ve benzin emisyon özellikleri

	LPG	Petrol
% vol CO	0.47	0.69
% vol CO ₂	10.73	11.95
ppm vol HC	401	269
% vol CO cor	0.63	0.81
% vol O ₂	4.1	4.0
λ/AFR	1.21	1.17
°C	96	113
NO _x (ppm)	44	67
NO (ppm)	42	66



Şekil 3.5 LPG ve benzin emisyonlarının kùltùrlere aktarılması esnasında alınan görüntüler

3.3.2 Mikroalglerin egzoz emisyon toleransına etki eden faktörler

3.3.2.1 pH'nin etkisi

pH'nin gelişme üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda besi yeri pH'ı 6.5, 7.5, 8.5 ve 9.5 değerlerine ayarlanmıştır. 15 gün boyunca inkübe edilen mikroalglerden alınan örneklerin analizi ile biyokütle takip edilmiştir.

3.3.2.2 TRIA ve SA'nin etkisi

3.3.2.2.1 Tekli etki

Chlorella sp. ve *Phormidium* sp. kültürlerinin gelişmeleri üzerine TRIA konsantrasyonlarının etkisini belirlemek amacıyla 1, 5, 10 ve 20 mg/L TRIA konsantrasyonları BG 11 besi ortamına ilave edilmiştir. Salisilik asidin etkisini belirlemek amacıyla ise 25, 50 ve 75 mg/L SA konsantrasyonları kullanılmıştır. Çalışmada ayrıca içinde TRIA ve SA olmayan kontrol kültürler de hazırlanmıştır.

3.3.2.2.2 İkili etki

Chlorella sp. kültürünün gelişebileceği en uygun TRIA + SA konsantrasyonunu belirleyebilmek amacıyla çalışılan konsantrasyonlar sırası ile şöyledir: 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA, 5 mg/L TRIA + 50 mg/L SA, 10 mg/L TRIA + 50 mg/L SA, 5 mg/L TRIA + 25 mg/L SA ve 5 mg/L TRIA + 75 mg/L SA. *Phormidium* sp. için SA'nin önemli bir etkisi kaydedilmediğinden bu mikroorganizma için TRIA ile SA'nin birlikte etkisine bakılmamıştır.

3.3.2.3 Egzoz emisyon akış oranının etkisi

Gaz akış oranının mikroalgal gelişme üzerine etkisini araştırmak için 3 farklı akış oranıyla çalışılmıştır (60, 120 ve 240 mL/dk = 0.6, 1.2 ve 2.4 vvm). Emisyon akış oranları dakikada sıvı hacim başına kullanılan gaz miktarı olarak ifade edilen vvm (volume per volume per minute) olarak ifade edilmiştir. Çalışmalar *Chlorella* sp. kültürü için 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA içeren ve her iki büyüme faktörünü de içermeyen kontrol grup ortamlarında (0 mg/L TRIA + 0 mg/L SA); *Phormidium* sp. kültürü için ise 10 mg/L TRIA içeren ve TRIA içermeyen (kontrol grup) iki farklı ortamda yapılmıştır. Mikroalgal kültürlerle yukarıda bahsedilen her bir gaz akış oranında besiyerine inoküle edildikleri 5. günden itibaren 15. günün sonuna kadar LPG ve benzin egzoz emisyonları transfer edilmiştir.

3.3.2.4 Başlangıç biyokütlekonsantrasyonunun etkisi

Çalışmalar *Phormidium* sp. kültürü için TRIA, *Chlorella* sp. kültürü için 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA içeren ortamlarda 0,09, 0,15, 0,36 ve 0,65 mg/L biyokütle ile gerçekleştirilmiştir. Mikroalgal kültürlerle besiyerine inoküle edildikleri 5. günden itibaren 15. günün sonuna kadar 240 mL/dk akış oranında LPG ve benzin emisyonları transfer edilmiştir.

Sonuçların değerlendirilmesinde iki farklı içerikteki besi ortamında kaydedilen çalışma verileri dört farklı durumda karşılaştırılmıştır;

- (1) LPG/benzin emisyonları transfer edilen büyüme faktörlü besi ortamı

[*Chlorella* sp. için →LPG/benzin(+) +TRIA(+) + SA(+)]

[*Phormidium* sp. için →LPG/benzin(+) +TRIA(+)]

- (2) LPG/benzin emisyonları transfer edilen büyüme faktörleri olmayan besi ortamı

[*Chlorella* sp. için →LPG/benzin(+) +TRIA(-) + SA(-)]

[*Phormidium* sp. için →LPG/benzin(+) +TRIA(-)]

- (3) LPG/benzin emisyonları transfer edilmeyen büyüme faktörlü besi ortamı

[*Chlorella* sp. için →LPG/benzin(-) + TRIA(+) + SA(+)]

[*Phormidium* sp. için →LPG/benzin(-) + TRIA(+)]

(4) LPG/benzin emisyonları transfer edilmeyen büyüme faktörleri olmayan besiy ortamı

[*Chlorella* sp. için →LPG/benzin(-) + TRIA(-) + SA(-)]

[*Phormidium* sp. için →LPG/benzin(-) + TRIA(-)]

3.4 Kömür Emisyonlarının Mikroalgler Üzerindeki Etkisi

İnsanlık tarihinde fosil yakıtlar arasında en tehlikelisi olarak bilinen kömür de tez çalışması kapsamında değerlendirilmiştir. Tez çalışmasının bu aşamasında önceki çalışmalarda en yüksek başarıyı gösteren mikroalg olan *Chlorella* sp. kullanılmış ve belirlenen tüm optimum parametrelerle çalışılmıştır. Bu aşamada kullanılan kimyasallar aşağıda özetlenmiştir;

Çalışmanın orijinallliği adına Zonguldak ilinden çıkarılan yerli taş kömür tercih edilmiştir. Karbomet Madencilik Sanayi Ticaret Limited Şirketi tarafından temin edilen kömürün genel özellikleri çizelge 3.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.4 Kömürün özellikleri

Kül %	8-15
Nem %	4
Uçucu %	30
Kükürt %	0.8
Isıl değer (Kcal/kg)	6000-7000
Ebat (mm)	15-100

Kömür tez çalışması için hazırlanan küçük çapta bir sobalı sistemde, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü A Blok Bahçesi'nde ve açık havada 500 g/gün oranında yakılmıştır (Şekil 3.6). Çıkan emisyon, önceki çalışmalarda kullanılan

basıncılı kap-kompressör sistemi ile toplanmış ve laboratuvar ortamına getirilmiştir. Emisyon analizi Gazi Üniversitesi Teknoloji Fakültesi'nin desteği ile önceki çalışmalarda kullanılan Testo 350- XL flue gas analyzer cihazı ile yapılmıştır. Yapılan analiz sonucunda emisyon ile ilgili veriler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5 Kömürün emisyon analizi

Kömür emisyon analizi	
O ₂ %	15.01
CO ppm	1393
NO ppm	49
NO ₂ ppm	6.8
NO _x ppm	55
C _x H _y ppm	0
Ort. hava °C	15.7
Baca gazı sıcaklığı °C	260
CO ₂ %	5.25
Mutlak basınç hPa	908.9

3.4.1 *Chlorella* sp. üzerinde kömür emisyon toleransına etki eden faktörler

3.4.1.1 pH'ın etkisi

Chlorella sp. kültürünün kömür emisyonu etkisi altında en iyi geliştiği pH değerini bulmak için, BG 11 besi ortamının başlangıç pH değerleri 6.5, 7.5, 8.5 ve 9.5 olarak 0.1 M H₂SO₄ ve/ve ya 0.1 M NaOH solüsyonları kullanılarak ayarlanmıştır.



Şekil 3.6 Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü A Blok Bahçe'sinde kömür emisyonunun elde edilmesi

250 mL'lik erlenler içerisine 100mL besi ortamında başlangıç inokülasyonu 0.15 g/L olacak şekilde ekim gerçekleştirilmiştir. Bu kültürler 5 gün boyunca 25 ± 2 °C'de, 48 $\mu\text{mol/foton}$ (2400 lux) sürekli ışık altında, inkübe edildikten sonra 5. günden itibaren 15.güne kadar 2.4 vvm akış oranında kömür emisyonu uygulanmıştır. Belirli aralıklarla bu kültürlerden alınan örneklerin optik yoğunlukları ölçülerek sonuçlar değerlendirilmiştir.

3.4.1.2 Fotoperiyod ve gaz akış oranlarının etkisi

Işık mikroalgal gelişim üzerinde en önemli faktörlerden biridir. Tez çalışması kapsamında bu faktör kömür emisyonlarının etkisi altındaki kontrol gruplarıyla birlikte değerlendirilmiştir. Kontrol grupları aynı ışık etkisine maruz bırakılan ancak kömür emisyon etkisine maruz bırakılmayan gruptur. Tez çalışmasında kontrol grubu kullanarak kömür emisyonunun direkt etkisinin etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda kültürler pH çalışmasında izlenen şartlar kullanılarak seçilen optimum pH'ta 24:0 saat aydınlık: karanlık ve 16:8 saat aydınlık: karanlık olmak üzere iki farklı sürede değerlendirilmiştir. Aynı zamanda emisyon akış oranı 2.4 vvm, 3.6 vvm ve 4.8 vvm olarak belirlenmiş, farklı akış oranları kullanarak emisyon yoğunluğunun mikroalgal gelişim üzerinde etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

3.5 Analitik Teknikler

İnkübasyon periyodu boyunca her bir erlenden 3'er mL örnek alınmıştır. Gelişim optik yoğunluk, kuru ağırlık ve spesifik büyüme oranlarının ölçülmesiyle belirlenmiştir. Optik yoğunluk 600 nm.'de spektrofotometrede ölçülmüştür. Kuru ağırlık örneklerin santrifüjlenmesinden ($3421 \times g = 5000 \text{ rpm}$, 10') sonra pelletlerin 1 gece boyunca 80 °C'de Nüve FN 400 model sterilizatörde kurutulmasının ardından tartımları yoluyla belirlenmiştir. Spesifik büyüme oranı (μ), $\mu = (\ln X_2 - \ln X_1) / (t_2 - t_1)$ formülü ile [X_2 ve X_1 : sırasıyla t_2 ve t_1 zamanlarındaki kuru hücre ağırlığı (g/L)] hesaplanmıştır (Ip ve Chen 2005). Klorofil konsantrasyonu Porra vd. (1989) tarafından geliştirilen metoda göre klorofil a için 646.6 nm'de klorofil b için 663.6 nm.de yapılan spektrofotometrik

ölçümlerin sonuçlarına göre belirlenmiştir. Maksimum biyokütle verimliliği (P), $P = (X - X_0)/(t - t_0)$, formülü ile (X ve X_0 sırasıyla; inkübasyon süresi sonunda ve başlangıcındaki biyokütle konsantrasyonları (g/L), t ve t_0 ; inkübasyon süresi sonu ve başlangıç zamanları kullanılarak hesaplanmıştır. Optik yoğunluk, klorofil analizi ve santrifüj çalışmaları Shimadzu UV 2001 model spektrofotometre ve Hettich EBA12 model santrifüjle gerçekleştirilmiştir.

3.5.1 Standart hazırlanışı

Tez çalışması kapsamında kullanılan mikroalglerin klorofil ve kuru ağırlıklarının belirlenmesine yönelik standartlar her bir mikroalg için ayrı ayrı hazırlanmıştır. Klorofil standartlarının belirlenmesinde 0.25-3 optik yoğunluk aralıklarında çalışılmış ve klorofil analizi için belirtilen analitik metot izlenerek standartlar belirlenmiştir. Kuru ağırlık standardının belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda 1-4 optik yoğunluk aralıklarında çalışılarak analitik metotlarda belirtilen kuru ağırlık belirleme metodu izlenmiştir. Her bir mikroalg için belirlenen standartlar Ek 1, 2 ve 3'te gösterilmiştir

3.5.2 İstatistikî analizler

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen tüm deneyler üçer paralel olacak şekilde tasarlanmıştır. Tüm veriler ayrıca tanımlayıcı istatistikî analizler ($\pm S.E.$) kullanılarak hesaplanmış ve yorumlanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Mikroalg İzolasyonu, Saflaştırılması ve Tanınması

Tez çalışması kapsamında saflaştırılan ve Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilen mikroalgelere ilişkin tanılama sonuçları aşağıda açıklanmıştır.

4.1.1 *Synechococcus* sp.

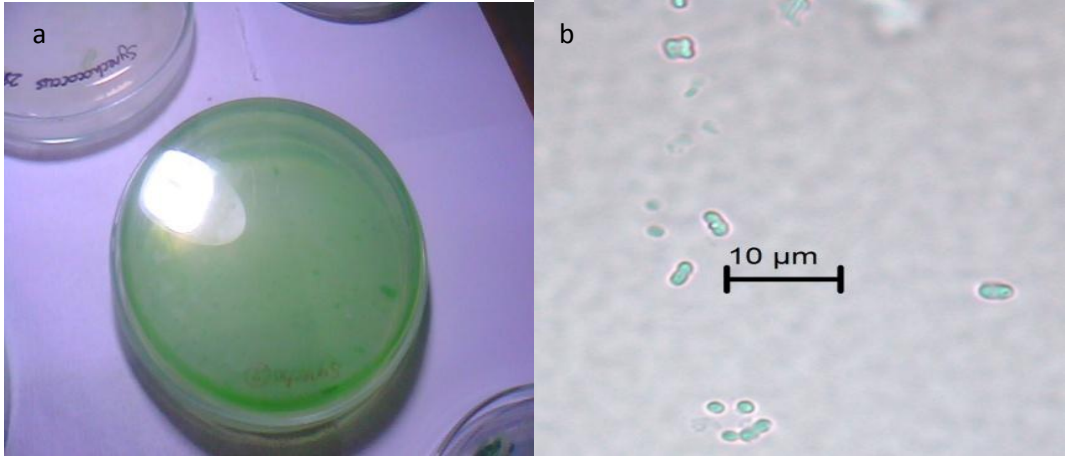
Tez çalışması kapsamında kullanılan bu mikroorganizma Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Havuzu'ndan alınan su örneklerinden izole edilmiştir (Şekil 4.1). Mikroorganizma mikroskop çalışmalarıyla morfolojik olarak tanınmıştır.

4.1.2 *Chlorella* sp.

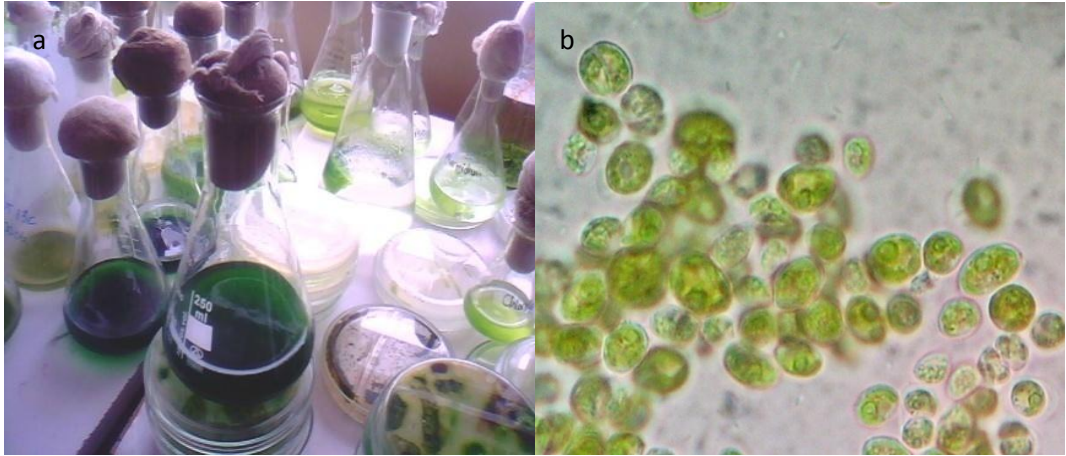
Chlorella sp. Yozgat/Sorgun'dan alınan kaynak suyundan izole edilip, tanınmıştır. Şekil 4.2.a'da bölgeden alınan su örneklerinin laboratuvar ortamında kültüre alınması; b'de izolatin mikroskobik teşhisi sırasında kaydedilen görüntüsü gösterilmektedir. Mega4 software kullanılarak gerçekleştirilen ikili uzaklık ("pairwise distance") analizine göre (Tamura vd. 2004, 2007) türümüz 18S rRNA analizi sonucunda *Chlorella zofingiensis* ile % 97.09, *C. ellipsoidea* ile % 95.76, *C. sorokiniana* ile % 95.62, *C. vulgaris* ile % 95.55, ve *C. lobophora* ile % 95.33 benzerlik göstermiştir. Bu sonuçlar neticesinde izole edilen tür *Chlorella* sp. olarak adlandırılmıştır.

4.1.3 *Phormidium* sp.

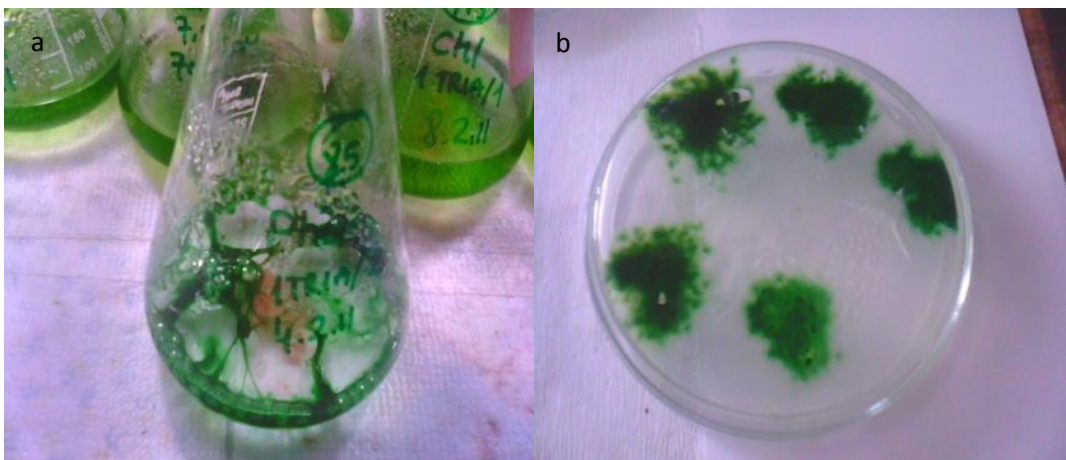
Tez çalışması kapsamında kullanılan *Phormidium* sp. laboratuvar ekibimizin önceki çalışmalarında Ayaş/Türkiye sıcak su kaynağından izole edilmiştir (Şekil 4.3), (Sadettin ve Dönmez 2006).



Şekil 4.1 İzole edilen *Synechococcus* sp.'ye ait a. Laboratuvar ortamında kültüre alınan su örnekleri; b. İzolatın mikroskopik teşhisi sırasında kaydedilen görüntüsü



Şekil 4.2 İzole edilen *Chlorella* sp.'ye ait a. Laboratuvar ortamında kültüre alınan su örnekleri; b. İzolatın mikroskopik teşhisi sırasında kaydedilen görüntüsü



Şekil 4.3 *Phormidium* sp.'ye ait a. Sıvı kültür; b. Katı kültür

4.2 SO₂ ve NO₂ Gazlarının Mikroalgler Üzerindeki Etkisi

Laboratuvar ortamında 3. bölümde detayları açıklanan düzenekte üretilen SO₂ ve NO₂ gazları *Synechococcus* sp. ve *Chlorella* sp. mikroalglerine aktarılmıştır. Bu aktarım sırasında mikroalglerin bu gazları daha iyi tolere edip daha iyi gelişebilmeleri için kültür ortamına TRIA ve NaHCO₃ eklenmiştir. Bu bölümde yapılan çalışmalar *Energy Conversion and Management* isimli uluslararası dergide yayın haline getirilmiştir ve EK 4'te sunulmuştur (Taştan vd. 2012b). Çalışılan parametrelerle elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

4.2.1 TRIA ve NaHCO₃'ün biyokütle üzerindeki etkileri

4.2.1.1 Tekli etkileri

TRIA'ın 0-20 mg/L konsantrasyon aralıklarında *Synechococcus* sp. ve *Chlorella* sp. klorofil konsantrasyonları üzerine etkisi çizelge 4.1'de gösterilmiştir. *Synechococcus* sp. için en yüksek klorofil a konsantrasyonu 1 mg/L TRIA'lü ortamda 0.679 µg/mL olarak kaydedilmiştir. Burada kaydedilen klorofil a konsantrasyonu TRIA uygulanmayan kontrol kültüre göre (0.338 µg/mL) 2 kat daha fazla çıkmıştır. TRIA konsantrasyonu 20 mg/L'ye yükseldiğinde ise klorofil a konsantrasyonu 0.487 µg/mL'ye düşmüştür.

Chlorella sp. için klorofil (a + b) konsantrasyonu TRIA uygulanmayan kontrol kültürde 0.530 µg/mL'dir ve 5–20 mg/L TRIA konsantrasyon aralıklarında önemli bir değişme gözlenmemiştir. Fakat 1 mg/L TRIA uygulaması yapılan kültürlerde klorofil (a+b) konsantrasyonu 0.720 µg/mL değerine ulaşarak kontrol kültüre göre %35.85 artış göstermiştir.

Diğer taraftan, *Synechococcus* sp. maksimum ulaştığı 0.288 g/L biyokütle değerini yine 1 mg/L TRIA konsantrasyonunda göstermiştir. Bu değer kontrol kültüre göre % 101.4 artış anlamına gelmektedir.

Maksimum biyokütle *Chlorella* sp. için 0.587 g/L olarak 1 mg/L TRIA'lı ortamda kaydedilmiştir (kontrol kültürden % 35.88 daha yüksek gelişim). Fakat TRIA konsantrasyonunun 20 mg/L'ye çıkarılmasıyla biyokütlede 0.428 g/L değerine kadar azalma kaydedilmiştir. 5 mg/L ve 10 mg/L TRIA uygulanan kültürlerde ise neredeyse aynı sonuçlar elde edilmiştir (0.199 g/L; 5 mg/L TRIA ve 0.198 g/L; 10 mg/L TRIA).

NaHCO₃ varlığında her iki mikroorganizma için de klorofil ve biyokütle miktarlarında kontrol kültürüne göre önemli artışlar kaydedilmiştir (Çizelge 4.1). En yüksek klorofil a konsantrasyonuna 34 mg/L NaHCO₃ konsantrasyonunda ulaşan *Synechococcus* sp. için kaydedilen değer 0.504 µg/mL'dir. Bu değer kontrol kültürden 1.5 kat daha fazladır. Ancak NaHCO₃ konsantrasyonu 52 mg/L'ye arttırıldığında klorofil a konsantrasyonu 0.359 µg/mL'ye gerilemiştir.

Chlorella sp.'in kontrol kültürlerinde klorofil (a+b) konsantrasyonu 0.530 µg/mL iken ortama 34 mg/L NaHCO₃ ilavesi ile bu değer 0.677 µg/mL'ye arttığı gözlenmiştir. Fakat *Chlorella* sp. maksimum klorofil (a+b) konsantrasyonunu 0.852 µg/mL değeri ile 43 mg/L NaHCO₃ konsantrasyonunda göstermiştir. NaHCO₃ konsantrasyonunun 52 mg/L'ye artması ise bu konsantrasyonun klorofil pigmentleri üzerinde kontrol kültüre göre önemli bir etki yapmadığını göstermiştir (0.597 µg/mL).

Her iki mikroalg de en yüksek biyokütle değerlerine klorofil konsantrasyonlarının optimum değer aralıklarındaki NaHCO₃ konsantrasyonlarında ulaşmışlardır. Buna göre *Synechococcus* sp. için kaydedilen maksimum biyokütle değeri 0.214 g/L ile 34 mg/L NaHCO₃ konsantrasyonunda; *Chlorella* sp. için kaydedilen maksimum biyokütle değeri de 0.695 g/L ile 43 mg/L NaHCO₃ konsantrasyonunda olmuştur. *Chlorella* sp.'in biyokütle sonuçları ele alındığında NaHCO₃'ün TRIA'dan daha etkili olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.1 TRIA ve NaHCO₃ konsantrasyonlarının *Synechococcus* sp.ve *Chlorella* sp. klorofil konsantrasyonları (µg/mL) üzerinde tekli etkileri

		<i>Synechococcus</i> sp. ^a	<i>Chlorella</i> sp. ^b
Kontrol	0	0.338 ± 0.042	0.530 ± 0.024
TRIA (mg/L)	1	0.679 ± 0.011	0.720 ± 0.090
	5	0.470 ± 0.059	0.552 ± 0.033
	10	0.468 ± 0.021	0.583 ± 0.026
	20	0.487 ± 0.046	0.525 ± 0.039
NaHCO ₃ (mg/L)	34	0.504 ± 0.040	0.677 ± 0.074
	43	0.409 ± 0.085	0.852 ± 0.030
	52	0.359 ± 0.065	0.597 ± 0.062

^a*Synechococcus* sp. için klorofil konsantrasyonu

^b*Chlorella* sp. için klorofil (*a+b*) konsantrasyonu

[aydınlatma, 48 µmol/m²s (2400 lx);

inkübasyon süresi, 15 gün;

T, 25 ± 2 °C]

4.2.1.2 Birlikte etkileri

Birlikte etki çalışmaları için her iki mikroorganizma için yukarıdaki sonuçlara göre seçilen optimum TRIA konsantrasyonu 1 mg/L'dir. Optimum NaHCO₃ konsantrasyonu ise *Synechococcus* sp. için 34 mg/L; *Chlorella* sp. için 43 mg/L'dir.

Şekil 4.4 a ve b'de inkübasyon süresi boyunca her iki mikroorganizma için ayrı ayrı kullanılan TRIA ve/veya NaHCO₃'ün klorofil konsantrasyonları üzerine tekli ve/veya birlikte etkileri gözlenmektedir. Her iki büyüme faktörünü de içeren örneklerde tekli etkilere göre daha yüksek klorofil konsantrasyonları kaydedilmiştir.

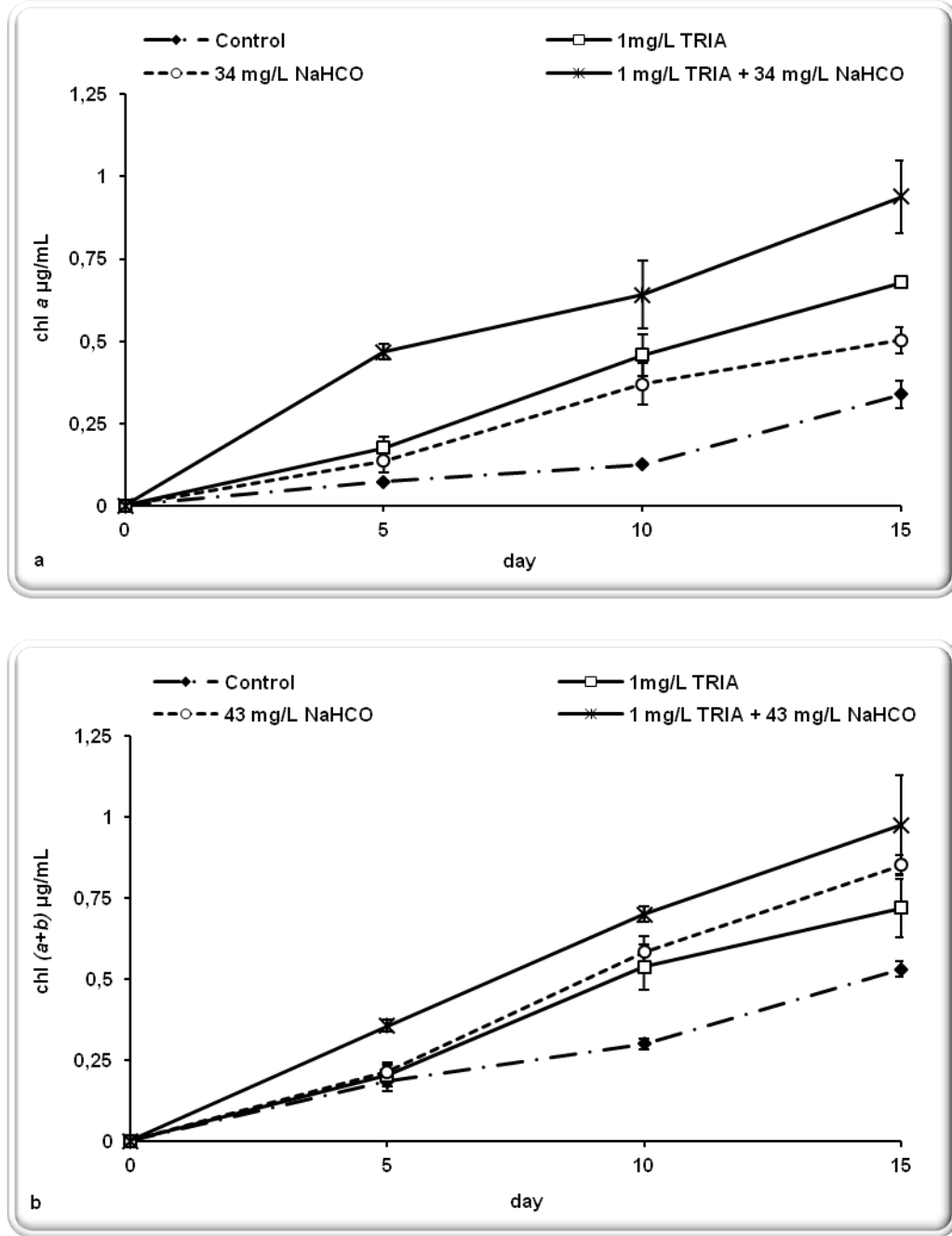
Synechococcus sp. 'in kontrol kültürlerinde maksimum klorofil a konsantrasyonu 15. gün sonunda 0.338 µg/mL iken TRIA + NaHCO₃ uygulamasından sonra 5. günde daha yüksek bir değer elde edilmiştir (0.468 µg/mL). TRIA ve NaHCO₃'ün birlikte uygulamasının inkübasyon süresini kısalttığı ve klorofil miktarını arttırdığı gözlenmiştir. Bu mikroorganizma için 15 günlük inkübasyon süresi sonundaki değerler 1 mg/L TRIA, 34 mg/L NaHCO₃ ve 1 mg/L TRIA + 34 mg/L NaHCO₃ uygulamaları için sırasıyla 0.679, 0.504 ve 0.939 µg/mL olarak ölçülmüştür (Şekil 4.4 a).

Şekil 4.4.b'de görüldüğü gibi *Chlorella* sp.'in kontrol kültürlerinin ulaştığı maksimum klorofil (a+b) konsantrasyonu 15. gün sonunda 0.530 µg/mL'dir. Bu değer hiç TRIA uygulanmayan kontrol kültürlerin, 1 mg/L TRIA uygulanan kültürlerden %30 daha yavaş bir gelişme kaydettiğini göstermektedir. 1 mg/L TRIA uygulanan örnekler 0.537 µg/mL klorofil (a + b) konsantrasyonuna sadece 10 günlük bir inkübasyon sonucunda ulaşmışlardır. Kaydedilen maksimum klorofil (a+b) konsantrasyonu ise 1 mg/L TRIA + 43 mg/L NaHCO₃'lü ortamda 10 gün sonunda 0.700 µg/mL'dir ve bu değer 15. gün sonunda 0.975 µg/mL değerine ulaşmıştır.

Çizelge 4.2'de ise her iki mikroorganizmaya ait maksimum klorofil konsantrasyonları, spesifik büyüme oranları (μ) ve maksimum biyokütle miktarları gösterilmektedir. Bu değerlere göre *Synechococcus* sp.'in spesifik büyüme oranlarında TRIA ve NaHCO₃ uygulamaları için çok az farklılıklar olduğu görülmektedir. Değer 34 mg/L NaHCO₃ uygulamasında μ 1.140 1/gün iken; 1 mg/L TRIA uygulamasında μ 0.162 1/gün olarak bulunmuştur.

Chlorella sp.'in spesifik büyüme oranları *Synechococcus* sp.'ye göre biraz daha yüksektir. Bu *Chlorella* sp.'in *Synechococcus* sp.'e göre büyüme faktörlerine daha iyi cevap verdiği ve daha hızlı gelişebildiğini göstermektedir. Maksimum spesifik büyüme oranı *Chlorella* sp. için 0.178 1/gün ve maksimum biyokütle de 0.781 g/L olarak 1 mg/L TRIA + 43 mg/L NaHCO₃ uygulamasında belirlenmiştir. Standart sapmalar da dikkate alınıp tüm sonuçlar topluca değerlendirildiğinde TRIA + NaHCO₃ uygulamasının her iki mikroorganizmanın klorofil konsantrasyonları, spesifik büyüme

oranları ve maksimum biyokütle miktarlarını arttırmada daha verimli olduğu söylenebilir. Bu sebeple bu aşamada gerçekleştirilecek diğer çalışmalar TRIA + NaHCO_3 varlığında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.4 TRIA ve NaHCO_3 'ün klorofil konsantrasyonları ($\mu\text{g/mL}$) üzerine tekli ve birlikte etkileri.

(a) *Synechococcus* sp (b) *Chlorella* sp.(aydınlattırma, 48 $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$ (2400 lx); inkübasyon süresi, 15 gün; T, $25 \pm 2^\circ\text{C}$).

Çizelge 4.2 TRIA ve NaHCO₃'ün klorofil konsantrasyonları (µg/mL), spesifik büyüme oranları µ (1/gün) ve biyokütle X (g/L) üzerine birlikte ve tekli etkileri.

		<i>chl</i> (µg/mL)*	<i>µ</i> (1/d)	X (g/L)
<i>Synechococcus</i> sp.	1 mg/L TRIA	0.679 ± 0.011	0.162 ± 0.001	0.296 ± 0.005
	34 mg/L NaHCO ₃	0.504 ± 0.040	0.140 ± 0.005	0.214 ± 0.017
	1 mg/L TRIA + 34 mg/L NaHCO ₃	0.939 ± 0.111	0.145 ± 0.007	0.440 ± 0.047
<i>Chlorella</i> sp.	1 mg/L TRIA	0.720 ± 0.090	0.176 ± 0.009	0.588 ± 0.074
	43 mg/L NaHCO ₃	0.852 ± 0.030	0.165 ± 0.002	0.695 ± 0.024
	1 mg/L TRIA + 43 mg/L NaHCO ₃	0.975 ± 0.020	0.178 ± 0.001	0.781 ± 0.017

**Synechococcus* sp. için klorofil *a* konsantrasyonu
Chlorella sp. için klorofil (*a+b*) konsantrasyonu
 [aydınlatma, 48 µmol/m²s (2400 lx);
 inkübasyonsüresi, 15 gün;
 T, 25 ± 2 °C]

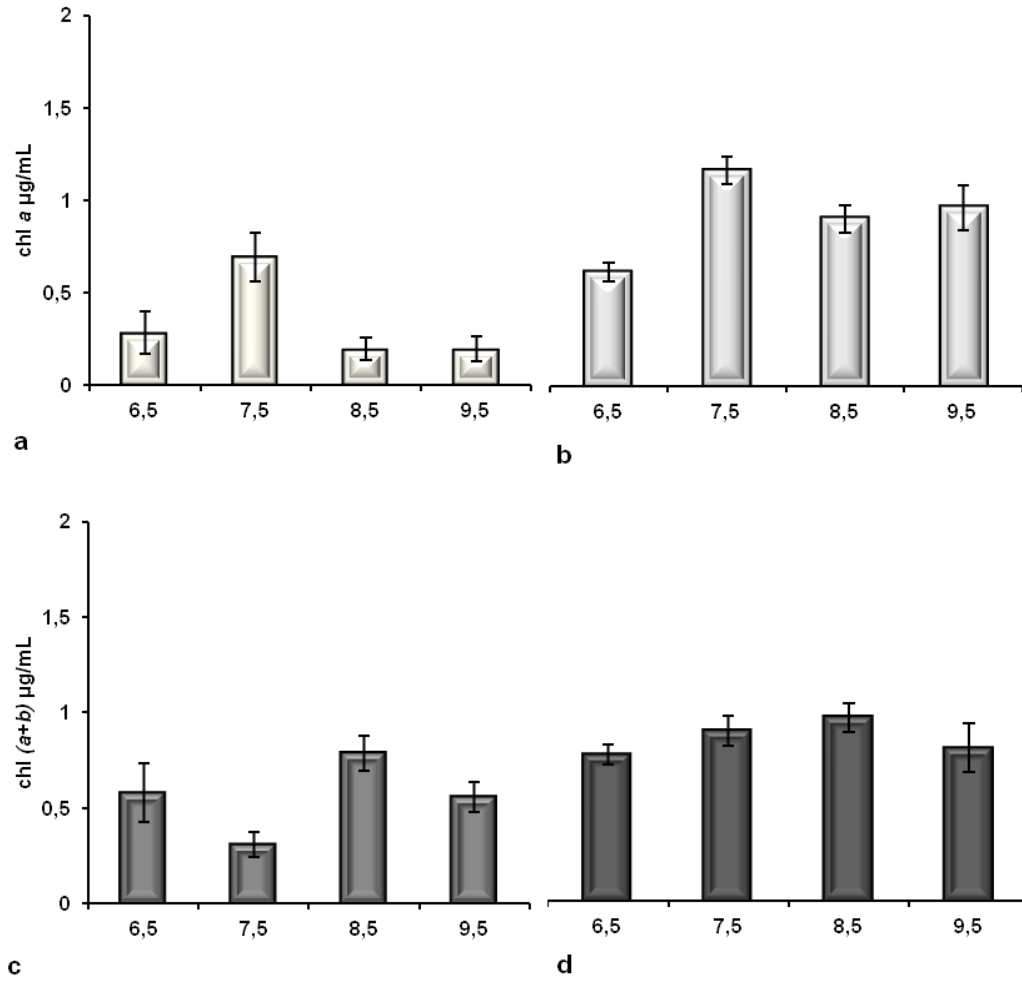
4.2.2 Mikroalgler üzerinde SO₂ ve NO₂ toleransına etki eden faktörler

4.2.2.1 pH'm etkisi

Mikroorganizmaların gelişmesine etki eden en önemli faktörlerden biri pH faktörüdür. Bu sebeple her iki mikroorganizmanın da gelişebileceği optimum pH aralıkları olan 6.5-9.5 pH aralığında SO₂ ve NO₂ gazları ayrı ayrı uygulanarak çalışılmıştır.

Şekil 4.5.a.b de *Synechococcus* sp. için SO₂ ve NO₂ varlığında pH değişimiyle kaydedilen klorofil a değerleri gözlenmektedir. SO₂ uygulamasında pH 6.5, 8.5 ve 9.5 için kaydedilen klorofil a değerleri sırasıyla 0.284, 0.195 ve 0.195 µg/mL'dir. NO₂ uygulamasında ise pH 6.5, 8.5 ve 9.5 için kaydedilen klorofil a değerleri ise sırasıyla 0.621, 0.906 ve 0.966 µg/mL'dir. *Synechococcus* sp. hem SO₂ hem de NO₂ gazlarına pH 7.5'ta çok daha fazla tolerans göstermiştir. Sırasıyla 15 günlük inkübasyon periyodu sonunda SO₂ ve NO₂ varlığında klorofil a değerleri 0.693 µg/mL ve 1.166 µg/mL'dir.

Şekil 4.5.c. d *Chlorella* sp. için sırasıyla SO₂ ve NO₂ uygulamaları sırasında değişen pH aralıklarındaki klorofil (a+b) değerleri görülmektedir. Sırasıyla 15. gün sonunda SO₂ uygulamasında pH 6.5, 7.5, 8.5 ve 9.5'da kaydedilen klorofil (a+b) konsantrasyonları 0.580, 0.312, 0.789 ve 0.559 µg/mL olmuştur. Şekilde de görüldüğü üzere kültür NO₂ gazına SO₂ gazından daha fazla tolerans göstermiştir. Klorofil (a+b) konsantrasyonu pH 6.5'da 0.740 µg/mL iken pH 7.5'ta 0.860 µg/mL'ye yükselmiş ardından pH 9.5'a çıkartıldığında ise 0.774 µg/mL'ye gerilemiştir. En yüksek klorofil (a+b) konsantrasyonuna 0.927 µg/mL ile pH 8.5'ta ulaşılmıştır. Her iki asidik gaz için optimum pH 8.5 olarak seçilmiştir.



Şekil 4.5 *Synechococcus* sp. ve *Chlorella* sp. klorofil konsantrasyonları üzerine pH'ın etkisi. [SO₂ veya NO₂ uygulama süresi 10'; inkübasyon süresi 15 gün; aydınlatma 48 µmol/m²s (2400 lx)].

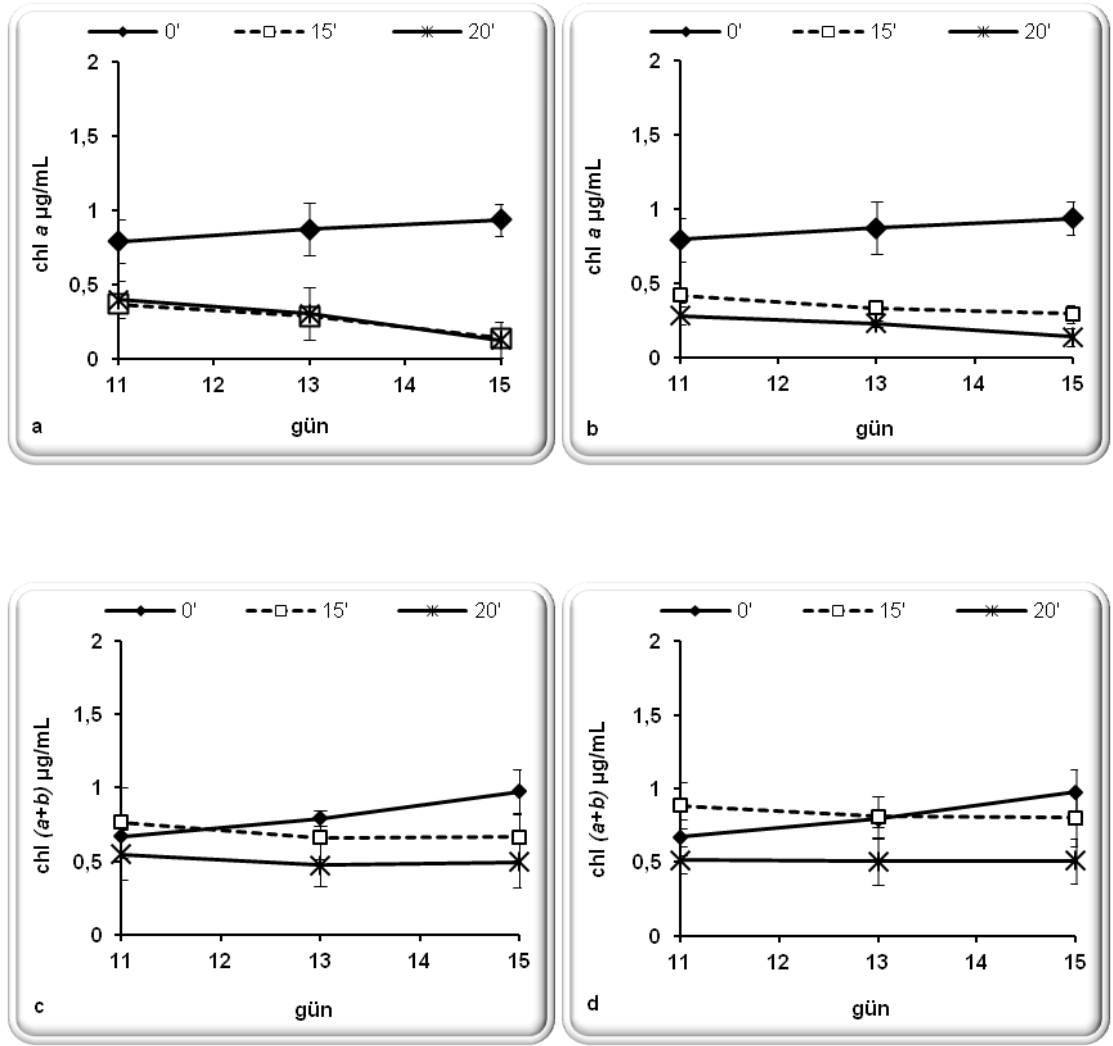
a. *Synechococcus* sp. – SO₂, b. *Synechococcus* sp. – NO₂, c. *Chlorella* sp. – SO₂, d. *Chlorella* sp. – NO₂

4.2.2.2 Uygulama süresinin etkisi

Uygulama süresi dakikalardan saatlere kadar değişiklik gösterebilir ve zararlı gazların kültür üzerindeki etki şiddetini değiştiren en önemli faktörlerden biridir. Mikroalglerin tolere edebilecekleri maksimum uygulama süresini saptayabilmek için 0, 15 ve 20 dakikalık SO₂ veya NO₂ uygulama periyodları ile çalışılmıştır. Beklendiği üzere uygulama süresi arttıkça klorofil konsantrasyonlarında düşüşler kaydedilmiştir (Şekil 4.6.a.d). 20' SO₂ uygulama süresinin *Synechococcus* sp. kültürlerinin neredeyse tamamını inhibe ettiği, ancak *Chlorella* sp.'i ise daha az etkilediği görülmektedir. Fotosentetik inhibisyon *Synechococcus* sp. kültürlerinde daha belirgindir.

Şekil 4.6.a.b'de SO₂ ve NO₂ uygulanmayan kontrol grubu *Synechococcus* sp. kültürlerinde klorofil a konsantrasyonu 11. günde 0.795 µg/mL iken, 15. güne gelindiğinde 0.939 µg/mL değerine ulaşılmıştır. Ancak ortama 15' uygulama süresi boyunca SO₂ verildiğinde klorofil a değeri 11. gün 0.373 µg/mL iken 15. gün sonunda 0.142 µg/mL'ye düşmüştür. Aynı şartlar altında ortama 20' SO₂ verildiğinde ise minimum klorofil a değeri olarak 0.130 µg/mL olarak kaydedilmiştir. Bu mikroalg de NO₂' varlığından daha az etkilenmiştir ve SO₂'ye oranla çok daha az fotosentetik inhibisyon yaşanmıştır (Şekil 4.6.d). NO₂ uygulama süresi 15' iken 11. gün sonunda klorofil a değeri 0.420 µg/mL'den 15. gün sonunda 0.296 µg/mL'ye düşmüştür. Uygulama süresi 5' daha arttırıldığında ise inkübasyon süresi sonunda NO₂ için minimum değer 0.142 µg/mL olarak saptanmıştır.

Chlorella sp. için klorofil (a+b) konsantrasyonu 15' SO₂ uygulama süresinde 11.gün 0.766 µg/mL iken 15. gün sonunda 0.667 µg/mL'ye düşmüştür. Ayrıca *Chlorella* sp. 15' süreli SO₂ uygulamasına 20' dan daha fazla tolerans gösterebilmiştir. NO₂ uygulamasına geçildiğinde ise klorofil (a+b) konsantrasyonu 15' NO₂ uygulamasında 11.gün sonunda 0.886 µg/mL iken 15. gün sonunda az bir düşüş göstererek 0.800 µg/mL değerine inmiştir. Aynı günlere ait değerler 20' NO₂ uygulamasında 0.513 µg/mL'den 0.510 µg/mL değerine gerilemiştir (Şekil 4.6.c.d). Yapılan çalışmalara göre SO₂ ve NO₂'nin etkilerinin türlerde farklılık gösterdiği sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.6 Klorofil konsantrasyonları üzerine 0', 15', 20' SO_2 ve NO_2 uygulama zamanlarının etkisi [inkübasyon süresi 15 gün; aydınlatma, $48 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ (2400 lx)].

a. *Synechococcus sp.* – SO_2 , b. *Synechococcus sp.* – NO_2 , c. *Chlorella sp.* – SO_2 , d. *Chlorella sp.* – NO_2

Çizelge 4.3 her iki mikroalgin 15 günlük inkübasyon süresi sonunda farklı sürelerle SO₂ veya NO₂ uygulaması altında ulaştıkları biyokütle değerlerini göstermektedir.

Çizelge 4.3 Biyokütle (g/L) üzerine SO₂ veya NO₂ uygulama zamanlarının etkisi

Gaz	Uygulama süresi	<i>Synechococcus sp.</i>	<i>Chlorella sp.</i>
Kontrol	0'	0.399 ± 0.047	0.795 ± 0.016
SO₂	10'	0.396 ± 0.059	0.756 ± 0.088
	15'	0.060 ± 0.018	0.544 ± 0.132
	20'	0.055 ± 0.034	0.402 ± 0.140
NO₂	10'	0.496 ± 0.032	0.888 ± 0.035
	15'	0.126 ± 0.026	0.652 ± 0.155
	20'	0.060 ± 0.026	0.416 ± 0.138

[aydınlatma, 48 umol/m²s (2400 lx);
inkübasyonsüresi, 15 gün;
T, 25 ± 2 °C]

Çizelge 4.3'ten de anlaşılacağı üzere *Synechococcus sp.*'in *Chlorella sp.* örneklerine oranla bu asidik gazlara daha hassas bir mikroalg olduğu sonucuna varılabilir. SO₂ uygulaması 10'dan 20'ya çıkartıldığında *Synechococcus sp.*'in biyokütle değeri 0.396 g/L'den 0.055 g/L'ye doğru hızlı bir düşüş göstermiştir. Bu değer kontrol kültüre göre % 86.21 daha az gelişme anlamına gelmektedir. Öte yandan bu mikroalgin ulaştığı maksimum biyokütle değeri 0.496 g/L olarak 10' NO₂ uygulamasında kaydedilmiştir ki bu değer de kontrol kültürden % 24.31 daha fazla gelişme anlamına gelmektedir. Bu veriler *Synechococcus sp.*'in düşük uygulama zamanlarında NO₂ uygulamasına daha iyi tolerans gösterdiği anlamına gelmektedir.

20' boyunca NO₂ uygulamasının 15' süreyle SO₂ uygulaması ile aynı biyokütle değeri sonucunu verdiği ve kontrol kültürden % 84.96 daha az gelişme kaydettiği de elde edilen veriler arasındadır (0.060 g/L).

Chlorella sp. ise 10' SO₂ uygulamasında kaydedilen biyokütle değeri kontrol kültürden % 4.9 daha az bir gelişme göstererek 0.756 g/L değerini vermiştir. SO₂ uygulaması 15 ve 20 'ya çıkarıldığında ise kaydedilen biyokütle değerleri sırasıyla 0.544 ve 0.402 g/L'dir. En fazla düşüş 20 SO₂ uygulamasında yaşanmış ve biyokütle değeri kontrol kültüre göre % 49.43'lük azalma ile 0.402 g/L olarak belirlenmiştir. Aynı mikroalg için NO₂ uygulamasına geçildiğinde 10'luk uygulamanın ardından 15. gün sonunda kaydedilen biyokütle değeri 0.888 g/L olarak bulunmuştur ki bu da kontrol kültüre göre % 11.70 artış anlamına gelmektedir. Ardından uygulama süresi 10 kat daha arttırıldığında kuru ağırlığın 0.416 g/L'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Her iki mikroalgin de NO₂ gazını çalışılan tüm parametrelerde daha iyi tolere ettiği ve fotosentezin bu gaza daha az hassas olduğu sonuçlarına varılmıştır.

4.3 Egzoz Emisyonlarının Mikroalgler Üzerindeki Etkisi

LPG ve benzin egzoz emisyonlarının *Phormidium* sp. ve *Chlorella* sp. üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla çalışılan optimizasyon parametreleri aşağıda özetlenmiştir. Ayrıca tez çalışmasının bu aşamasında elde edilen tüm bulgular *Journal of Hazardous Materials* isimli uluslararası dergide yayınlanmış ve EK 5'te sunulmuştur (Taştan vd. 2013).

4.3.1 Mikroalgler üzerinde egzoz emisyon toleransına etki eden faktörler

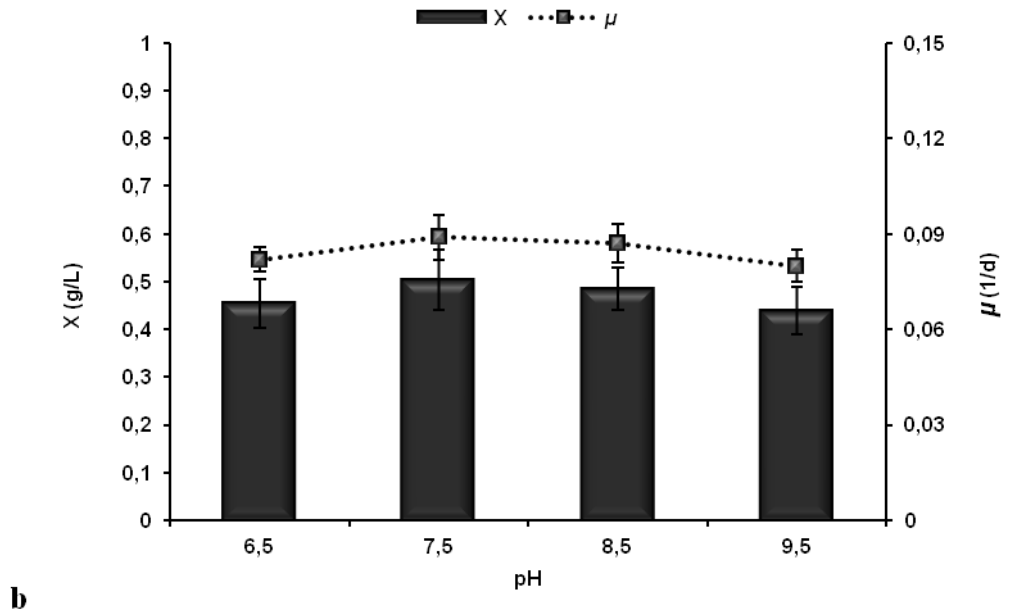
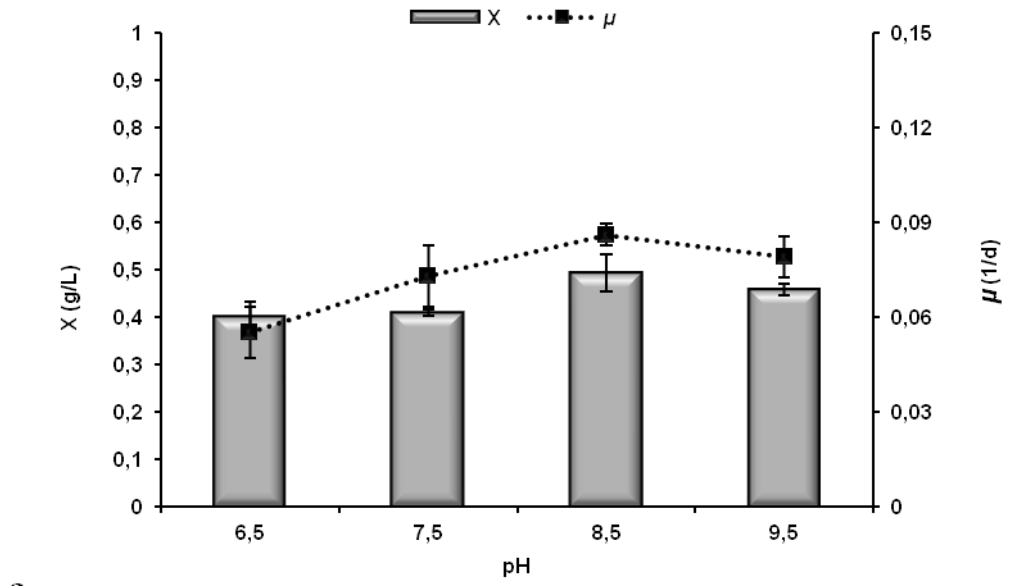
Tez çalışmasının bu aşamasında Renault marka aracın LPG ve benzin ile ayrı ayrı rölanti devrinde çalıştırılarak oluşturulan egzoz emisyonlarının laboratuvar şartlarında *Phormidium* sp. ve *Chlorella* sp.'ye aktarılması ve mikroalglerin bu emisyonlara

verdikleri cevaplar ayrı ayrı ve detaylı bir şekilde araştırılmıştır. Araştırılan parametreler sırası ile aşağıdaki şekildedir;

4.3.1.1 pH'ın etkisi

Mikroalglerin LPG ve benzin emisyonlarına gösterecekleri toleransa etki eden faktörlerin araştırılmasında ilk basamağı pH oluşturmaktadır. *Phormidium* sp. gelişiminin pH arttıkça arttığı gözlemlenmiştir. Maksimum biyokütle değerine pH 8.5'ta ulaşılmış ve bu değer 0.492 g/L olarak kaydedilmiştir. Bu pH'ta maksimum büyüme oranını da gösteren mikroalg için kaydedilen μ değeri 0.086 1/gün şeklindedir (Şekil 4.7 a). Bu mikroalg için sonraki tüm çalışmalar pH 8.5'ta gerçekleştirilmiştir.

Chlorella sp. için ise optimum pH değeri hem maksimum kuru ağırlığın hem de büyüme oranının gözlemlendiği pH 7.5 olarak seçilmiştir. Mikroalgin bu pH değerinde ulaştığı biyokütle 0.504 g/L ve μ değeri 0.089 1/gün olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.7 pH'ın mikroalgal gelişim üzerine etkileri

a) *Phormidium* sp. b) *Chlorella* sp. (İnkübasyon süresi, 15 gün; T, 25 ± 2 °C; aydınlatma, $48 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$ (2400 lx)).

4.3.1.2 TRIA ve SA'in etkisi

4.3.1.2.1 Tekli etki

Triakontanolün *Phormidium* sp. üzerinde 10 mg/L; *Chlorella* sp. üzerinde ise 5 mg/L konsantrasyonlarında daha iyi sonuçlar verdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.4). Bu değerlerde *Phormidium* sp. için kontrol kültüre göre % 35.57; *Chlorella* sp. için ise % 15.08 daha fazla biyokütle üretildiği kaydedilmiştir. Salisilik asit uygulamasına gelindiğinde *Chlorella* sp. için 25 ve 75 mg/L SA'in benzer sonuçlar verdiği; maksimum biyokütle değerine ise 50 mg/L SA konsantrasyonunda ulaşıldığı görülmektedir. *Phormidium* sp.'e SA uygulaması sonucu gelişmede önemli bir etki kaydedilmediğinden sonuçlar değerlendirmeye alınmamıştır.

Çizelge 4.4 TRIA ve SA konsantrasyonlarının biyokütle(g/L) üzerinde tekli etkileri

		<i>Phormidium</i> sp.	<i>Chlorella</i> sp.
TRIA (mg/L)	0 (kontrol)	0.492 ± 0.039	0.504 ± 0.063
	1	0.407 ± 0.038	0.546 ± 0.053
	5	0.568 ± 0.079	0.580 ± 0.050
	10	0.667 ± 0.080	0.574 ± 0.005
	20	0.628 ± 0.088	0.444 ± 0.047
SA (mg/L)	25	—	0.528 ± 0.038
	50	—	0.647 ± 0.070
	75	—	0.556 ± 0.039

T, 25 ± 2 °C; aydınlatma, 48 µmol/m²s (2400 lx)

4.3.1.2.2 Birlikte etki

Salisilik asidin *Phormidium* sp. gelişimi üzerinde önemli bir etkisi kaydedilmediğinden birlikte etki çalışmaları *Chlorella* sp ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.5'te gösterilmektedir.

Çalışmalarda hiçbir büyüme faktörünün kullanılmadığı kontrol grup ile 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA, 5 mg/L TRIA + 50 mg/L SA, 10 mg/L TRIA + 50 mg/L SA, 5 mg/L TRIA + 50 mg/L SA ve 5 mg/L TRIA + 75 mg/L SA kombinasyonları kullanılmıştır. Optimum gelişme 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA konsantrasyonları eşliğinde gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.5 TRIA ve SA konsantrasyonlarının *Chlorella* sp.'in biyokütle (g/L) değerleri üzerinde birlikte etkileri

	0 mg/L (kontrol)	1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA	5 mg/L TRIA + 50 mg/L SA	10 mg/L TRIA + 50 mg/L SA	5 mg/L TRIA + 50 mg/L SA	5 mg/L TRIA + 75 mg/L SA
X (g/L)	0.504 ± 0.063	1.077 ± 0.051	0.956 ± 0.025	0.954 ± 0.052	0.849 ± 0.011	0.943 ± 0.030

T, 25 ± 2 °C;
aydınlatma, 48 µmol/m²s (2400 lx)

4.3.1.3 Egzoz emisyon akış oranının etkisi

Farklı oranlarda CO₂, CO, HC, O₂ ve NO_x içeren LPG ve benzin emisyonlarının mikroalgler üzerindeki etkisi 4 farklı durumda ve 3 farklı akış oranında (0.6 vvm, 1.2 vvm, 2.4 vvm) araştırılmıştır;

1. LPG/benzin (+) + Büyüme faktörleri (+)
2. LPG/benzin (+) + Büyüme faktörleri (-)
3. LPG/benzin (-) + Büyüme faktörleri (+)
4. LPG/benzin (-) + Büyüme faktörleri (-)

Phormidium sp. için egzoz emisyon akış oranı 0.6 vvm'den 2.4 vvm'e arttırıldığında kuru ağırlığın her iki emisyon türünde de arttığı kaydedilmiştir. Ayrıca benzin uygulanan kültürlerin LPG uygulanan kültürlerden daha fazla oranda geliştiği de alınan sonuçlar arasındadır (Çizelge 4.6). Kuru hücre başına TRIA'nın etkisi *Phormidium* sp.'de *Chlorella* sp.'e göre daha fazla belirlenmiştir. *Phormidium* sp. için LPG(+) + TRIA(+) olduğu durumda ve 0.6 vvm akış oranında TRIA (-) olduğu durumdan 1.8 kat daha fazla maksimum biyokütle verimliliği (*P*) elde edilmiştir. Fakat akış oranı 0.6 vvm'den 2.4 vvm'e arttırıldığında hormonun pozitif etkisi azalmaya başlamıştır. LPG(-) + TRIA(-) olduğu duruma göre % 76.73 artış varken, LPG(-) + TRIA(+) örneklerinde sadece % 12.34 artış kaydedilmiştir.

Benzin(-) + TRIA(-) ve benzin(-) + TRIA(+) örnekleri ile benzin(+) + TRIA(-) ve benzin(+) + TRIA(+) örnekleri kendi içlerinde 2.4 vvm akış oranında kıyaslandığında ise benzin uygulanan her iki örnekte de % 160.36 ve % 99.55 oranlarında artışlar kaydedilmiştir. Maksimum biyokütle verimliliği ise benzin(+) + TRIA(+) örnekleri için 0.079 g/L/gün olarak 2.4 vvm akış oranında kontrol kültürlerle oranla % 14.28 artışla kaydedilmiştir. Artışın az oranda olma nedeni TRIA uygulanan kültürlerde artışın zaten fazla olmasıdır. Benzin emisyonlarının gelişmeyi arttırıcı etkisi mevcut olan artışa ancak bu kadar katkı yapabilmektedir.

Çizelge 4.6 LPG ve benzin akış oranlarının *Phormidium* sp. biyokütlesi üzerine etkileri (g/L)

	Akış oranı (mL/min)	TRIA (-)	TRIA (+)
	0	0.492 ± 0.039	0.667 ± 0.080
LPG	60	0.606 ± 0.039	0.956 ± 0.063
	120	0.709 ± 0.093	0.979 ± 0.091
	240	1.071 ± 0.088	1.074 ± 0.099
Petrol	60	1.118 ± 0.068	1.437 ± 0.091
	120	1.161 ± 0.128	1.250 ± 0.144
	240	1.281 ± 0.072	1.331 ± 0.097

TRIA konsantrasyonu, 1 mg/L,
T, 25 ± 2 °C; aydınlatma,
48 µmol/m²s (2400 lx)

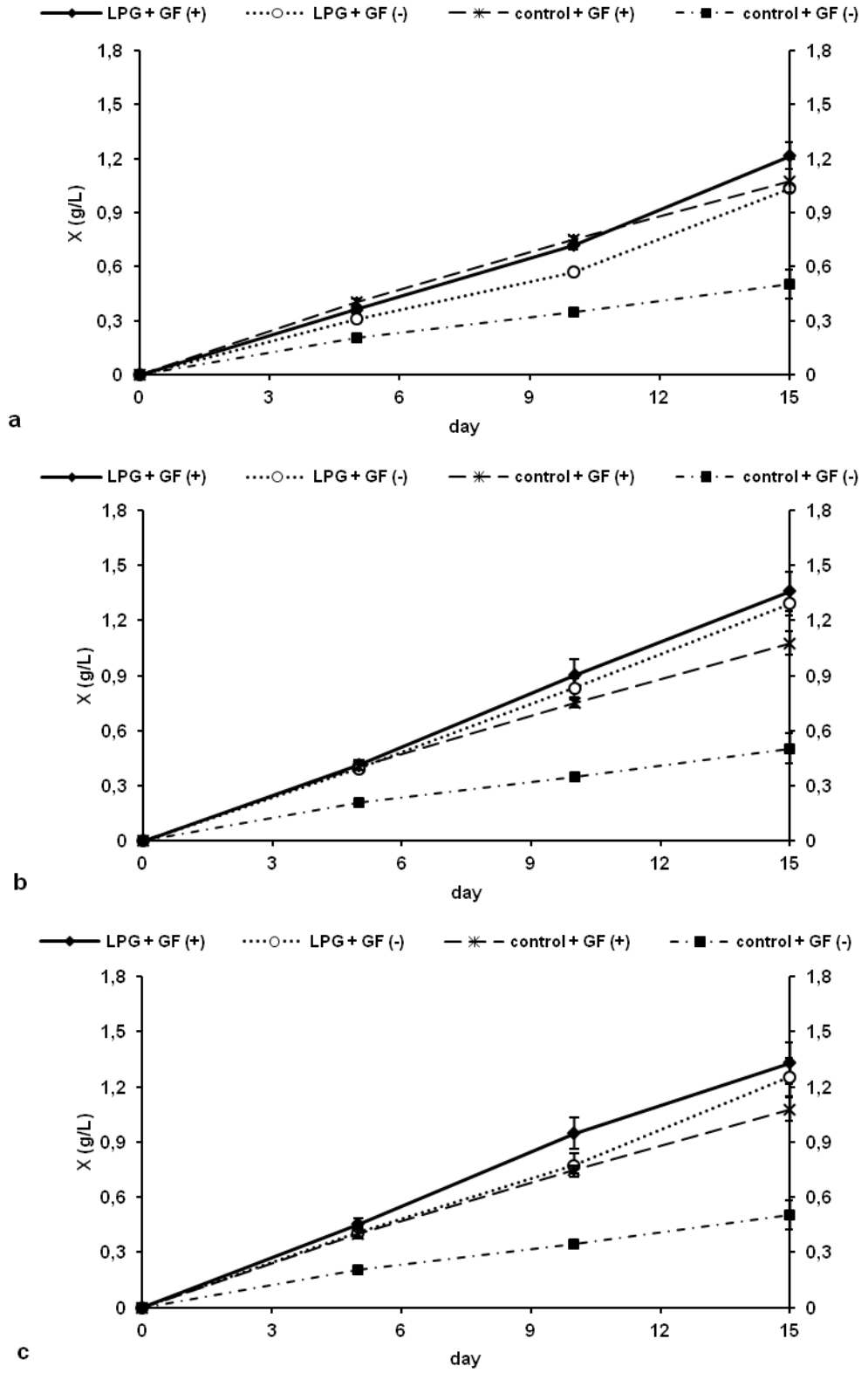
Chlorella sp. LPG(+) + TRIA+SA(+) olduğu durumda 0.6 vvm akış oranında en yüksek biyokütleye erişmiştir. Kontrol kültüre göre [LPG(-) + TRIA+SA(-)] kaydedilen artış % 141.07 olarak 15. gün sonunda elde edilmiştir. Yukarıda da bahsedildiği gibi büyüme faktörlerinin olduğu ancak emisyon uygulanmayan kontrol gruplarına aynı şartlar altında emisyon uygulandığı zaman az bir artış kaydedilmiştir (%12.81). Bunun nedeni büyüme faktörleri ile mikroalgin zaten güzel gelişmesi ve + emisyon uygulamasının biyokütleye ancak bu oranda olumlu bir katkı yapabilmesidir (Şekil 4.8.a).

LPG(+) + TRIA + SA(+) olduğu durumda LPG(-) + TRIA+SA(-) olan kontrol grubuna göre biyoküttelede % 159.48'lik bir artış 1.2 vvm akış oranında ve 10.günde kaydedilmiştir (Şekil 4.8 b). LPG(+) + TRIA+SA(+) örneklerinde maksimum biyokütle maksimum akış olan 2.4 vvm akış oranında 10.günde 0.947 g/L olarak kaydedilmiştir. Bu değer 0.6 ve 1.2 vvm akış uygulanan tüm kültürler içinde kaydedilen en yüksek

değerdir. Maksimum biyokütle verimliliği ise 0.079 g/L/gün olarak aynı örneklerde kaydedilmiştir (Şekil 4.8.c).

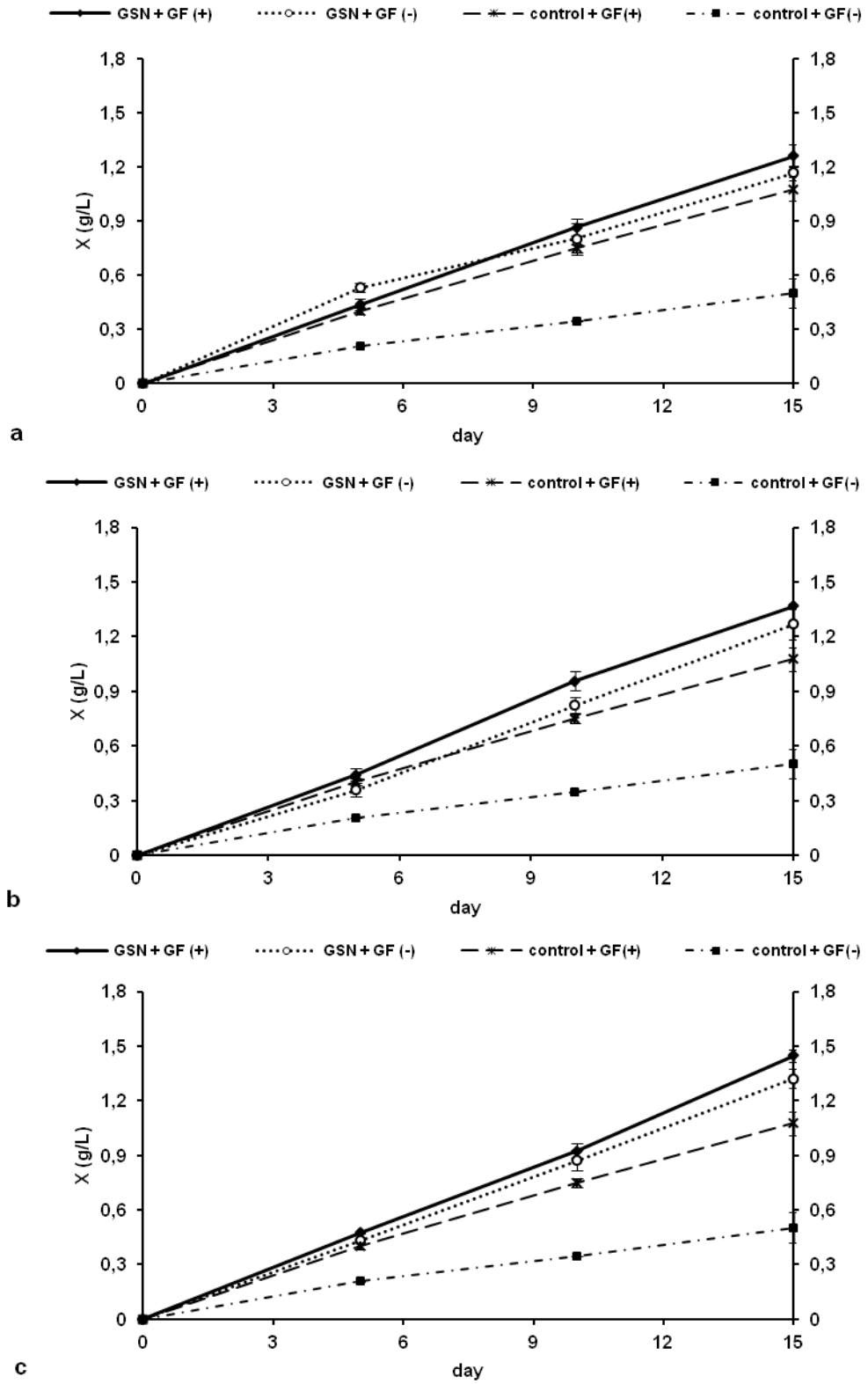
Benzin(+) + TRIA+SA(+) örneklerinde 0.6 vvm akış oranında 5.gün *Chlorella* sp. biyokütlesi 0.438 g/L iken 15.gün 1.263 g/L'ye kadar artmıştır (Şekil 4.9 a). Benzin emisyonlarının kültürler üzerindeki etkisinin akış oranı ve inkübasyon süresinin artmasıyla yükseldiği belirlenmiştir. Benzin(+) + TRIA+SA(+) örneklerinin 15.gün biyokütle sonuçları ile benzin(+) + TRIA+SA(-) örnekleri arasında çok az bir fark olduğu kaydedilmiştir (1.167 g/L). Büyüme faktörlü benzin emisyon örneklerinde, emisyon uygulanmayan kendi kontrol örnekleri ile kıyaslandığında, % 131.55'lik biyokütle artışı kaydedilirken büyüme faktörsüzlerin kendi kontrolleri ile arasındaki fark % 17.27'dir.

Şekil 4.9 b ve c'de görüldüğü üzere akış oranı 1.2 vvm'den 2.4 vvm'e arttırıldığında mikroalgal gelişmenin de, hem kısa sürede, hem de önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. Biyokütlerdeki maksimum artış 2.4 vvm akış oranında Benzin(+) + TRIA+SA(+) örneklerinde 1.447 g/L olarak, P_{max} ise 0.086 g/L/gün olarak kaydedilmiştir. Burada ele alınacak önemli bir sonuç da LPG/benzin uygulanan örneklerde uygulanmayanlara oranla önemli biyokütle artışlarının yaşanmış olmasıdır. Büyüme faktörlerinin hem gelişmeyi uyarıcı etkisi hem de emisyonların içindeki zararlı bileşenlere karşı direnç kazandırdığı yapılan birçok kontrollü çalışma sonucu açığa çıkarılmıştır.



Şekil 4.8 *Chlorella* sp. biyokütlesi üzerine LPG emisyonlarının farklı emisyon akış oranlarında etkisi

a. 0.6 vvm, b. 1.2 vvm, c. 2.4 vvm. [TRIA+SA konsantrasyonu, 1mg/LTRIA+50mg/LSA; inkübasyon süresi, 15 gün; pH, 7.5; T, 25 ± 2 °C; aydınlatma, $48 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$ (2400 lx)].



Şekil 4.9 *Chlorella* sp. biyokütlesi üzerine benzin emisyonlarının farklı emisyon akış oranlarında etkisi

a. 0.6 vvm, b. 1.2 vvm, c. 2.4 vvm. [TRIA+SA konsantrasyonu, 1mg/LTRIA+50mg/LSA; inkübasyon süresi, 15 gün; pH, 7.5; T, 25 ± 2 °C; aydınlatma, 48 µmol/m²s (2400 lx)].

4.3.1.4 Başlangıç biyokütle konsantrasyonunun etkisi

Bu aşamada incelenen sonuncu parametre mikroalglerin egzoz emisyonlarına olabildiğince yüksek toleransı gösterip maksimum biyokütleyi üretecekleri başlangıç biyokütle konsantrasyonunun bulunmasıdır. Çalışılan başlangıç biyokütle miktarları ise 0.09, 0.15, 0.36, 0.65 g/L'dir. Bu bölümdeki çalışmalar iki farklı ortam bileşenleri varlığında gerçekleştirilmiştir;

1. LPG/benzin(+) + Büyüme faktörleri(+)

2. LPG/benzin(-) + Büyüme faktörleri(+)

Phormidium sp. için LPG(+) + TRIA(+) ortamında başlangıç biyokütle konsantrasyonunun 0.09 g/L'den 0.36 g/L'ye artmasıyla birlikte 15. gün sonundaki biyokütlerde % 93.33 oranında bir artış kaydedilmiştir. Benzin uygulanan örneklerde ise ulaşılan maksimum biyokütle 0.15 g/L'lik başlangıç biyokütle konsantrasyonunda kaydedilmiştir. Benzin uygulanan 0.36 g/L ile 0.65 g/L'lik başlangıç biyokütlesine sahip örneklerde ise hemen hemen benzer sonuçlar elde edilmiştir (Çizelge 4.6).

LPG(+) + TRIA(+) ortamında kontrol kültürlerle kıyaslandığında başlangıç biyokütle konsantrasyonu 0.36 g/L iken % 20.83, başlangıç biyokütle konsantrasyonu 0.15 g/L iken de % 99.55'lik biyokütle artışı kaydedilmiştir.

Chlorella sp. için Şekil 4.10'da gösterilen grafiklerde gelişmenin başlangıç biyokütle konsantrasyonu ile doğrudan ilişkili olduğu açıkça görülmektedir. Şekil 4.10.a'da görüldüğü gibi LPG(+) + TRIA+SA(+) örneklerinde en düşük biyokütle değeri en düşük başlangıç biyokütle konsantrasyonunda elde edilmiştir. Bu örnek için 15. gün maksimum biyokütle değeri 0.595 g/L'dir. Başlangıç biyokütle konsantrasyonunun 0.15 g/L'ye arttırılmasıyla bu değer de 1.333 g/L'ye çıktığı görülmektedir. Başlangıç biyokütle konsantrasyonu 0.36 g/L iken 10.gün biyokütlenin 1.054 g/L'ye ve ardından

da 15.gün 1.360 g/L'ye çıktığı görülmektedir. Bu örneğin 15.gün kaydettiği sonuçlar, başlangıç biyokütle konsantrasyonunun 0.65 g/L olduğu duruma benzer olarak 10.gün kaydedilmiştir (1.263 g/L). İnkübasyon süresi sonunda bu değer 1.478 g/L'ye ulaşmıştır. Yani başlangıç biyokütle konsantrasyonunun artması inkübasyon süresini kısaltmıştır.

En yüksek sonuçlar benzin(+) + TRIA+SA(+) örneklerinde kaydedilmiştir. Buradaki minimum başlangıç biyokütle konsantrasyonunda inkübasyon süresi sonunda 1.044 g/L biyokütle elde edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda elde edilen maksimum biyokütle değeri olarak 1.636 g/L düzeyine 0.36 g/L başlangıç biyokütle konsantrasyonunda ulaşılmıştır (Şekil 4.10 b).

Hem LPG hem de benzin ile büyüme faktörlerinin birlikte uygulandığı örneklerden elde edilen tüm sonuçlar kendi kontrol gruplarından yüksek çıkmıştır. Başlangıç biyokütle konsantrasyonu 0.15 g/L olan LPG(+) + TRIA+SA(+) kültürlerinde kontrol kültürüne göre % 23.77 artış kaydedilmiştir. Benzin uygulandığında ise 0.09 g/L minimum başlangıç biyokütle konsantrasyonunda kendi kontrollerine göre % 107.55'lik bir artış söz konusudur. Benzin uygulanan diğer başlangıç biyokütle konsantrasyonları 0.15 g/L ve 0.36 g/L'de bu artışlar % 34.35 ve % 47.52'dir.

Chlorella sp. maksimum başlangıç biyokütle konsantrasyonunda maksimum biyokütle konsantrasyonuna ulaşamamıştır (Şekil 4.10 c). Bu durum ortamda başlangıçta zaten fazla miktarda hücre olduğu için daha fazla artış gösterememesi şeklinde yorumlanabilir. Biyokütle, maksimum biyokütle verimliliği, klorofil konsantrasyonları ve spesifik gelişme oranları her iki mikroalg için çizelge 4.7'de verilmiştir.

Maksimum klorofil a konsantrasyonu 2.225 µ/mL olarak 0.36 g/L ve maksimum µ 0.131 1/gün olarak LPG uygulanan 0.15 g/L *Phormidium* sp. başlangıç biyokütle konsantrasyonlarında görülmüştür. Diğer taraftan yine LPG örneklerinde maksimum başlangıç biyokütle konsantrasyonunda ise daha düşük değerlerin kaydedildiği görülmektedir. *Phormidium* sp. için maksimum klorofil a ve µ değeri benzin uygulanan

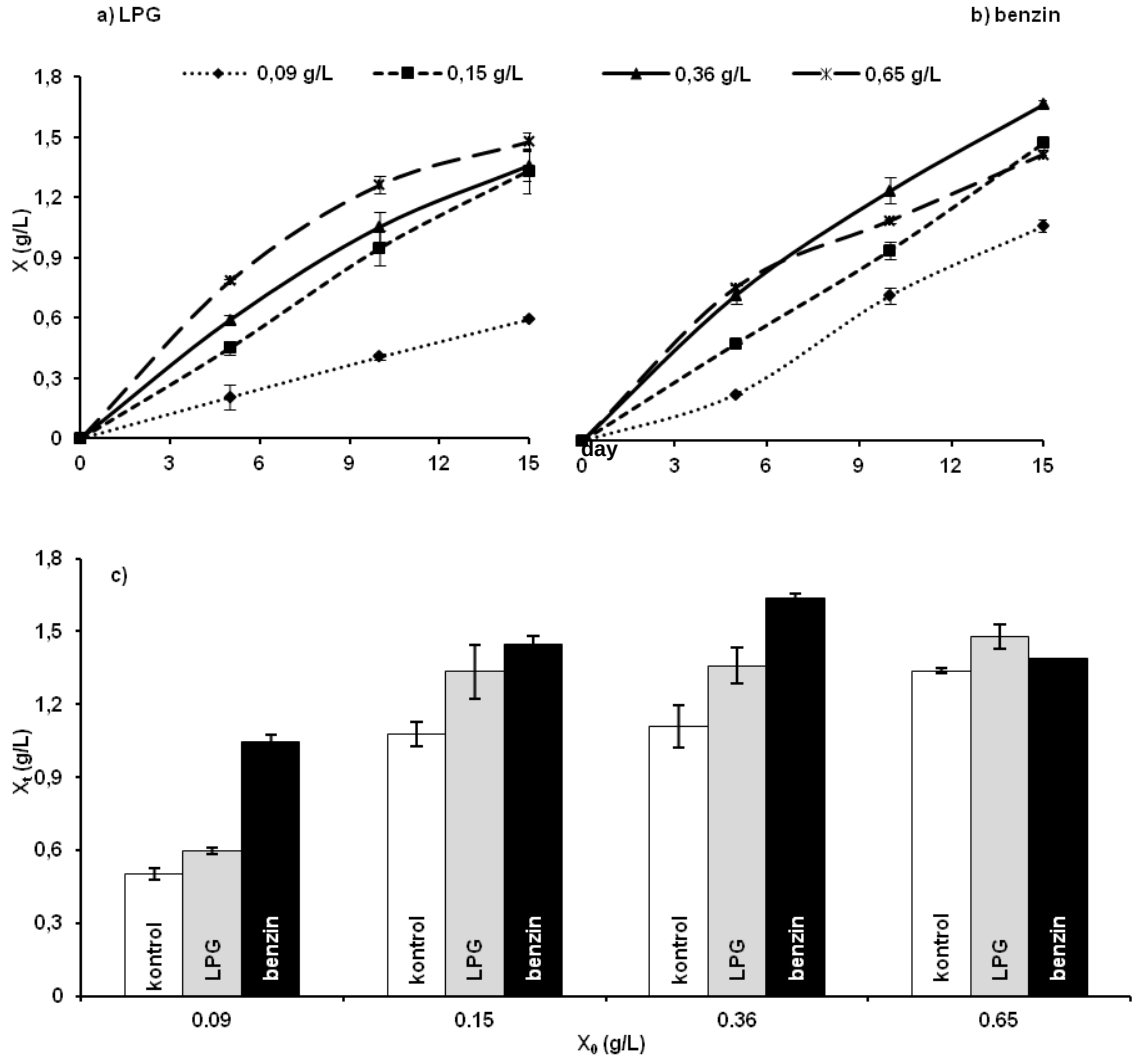
ve başlangıç biyokütle konsantrasyonu 0.15 g/L olan örneklerde görülmektedir. Sonuç olarak *Phormidium* sp. için optimum başlangıç biyokütle konsantrasyonu LPG uygulanan örnekler içinse 0.36 g/L; benzin uygulanan örnekler için 0.15 g/L'dir.

Chlorella sp. için LPG(+) + TRIA+SA(+) kültürlerinde klorofil (a+b) konsantrasyonunun minimum başlangıç biyokütlesinden maksimuma doğru gidildikçe gösterdiği değişime bakıldığında 0.729 g/L'den 1.812 g/L'ye arttığı görülmektedir. Ayrıca en düşük ve en yüksek başlangıç biyokütle konsantrasyonlarında elde edilen µ değerlerinde de oldukça büyük farklar olduğu açıktır. Beklendiği üzere başlangıç biyokütle konsantrasyonu arttıkça spesifik büyüme oranında düşüşler gözlenmiştir. Bu bağlamda LPG uygulanan örneklerde maksimum µ değeri 0.128 1/gün ile 0.15 g/L başlangıç biyokütle konsantrasyonunda elde edilmiştir. Bu çalışmalarla da *Chlorella* sp.'in *Phormidium* sp.'e göre hem LPG hem de egzoz emisyonlarına daha dirençli bir mikroalg olduğu görülmektedir. Bu sebeple son aşama olan "kömür emisyonlarının mikroalgler üzerinde etkilerinin incelenmesi" aşamasında kullanılacak mikroalg olarak *Chlorella* sp. seçilmiştir.

Çizelge 4.7 Başlangıç biyokütle konsantrasyonunun gelişme, maksimum biyokütle verimliliği, klorofil konsantrasyonu ve spesifik büyüme oranlarına etkisi

		X_0 (g/L)	0.09	0.15	0.36	0.65
<i>Phormidium</i> sp.	LPG	X_t (g/L)	0.600 ± 0.144	1.074 ± 0.099	1.160 ± 0.023	0.760 ± 0.017
		P (g/L/d)	0.034 ± 0.010	0.062 ± 0.006	0.053 ± 0.001	0.007 ± 0.001
		chl <i>a</i> (µg/mL)	1.151 ± 0.276	2.059 ± 0.188	2.225 ± 0.044	1.457 ± 0.033
		μ (1/d)	0.108 ± 0.0133	0.131 ± 0.0063	0.071 ± 0.0011	0.043 ± 0.0017
	Petrol	X_t (g/L)	0.720 ± 0.035	1.331 ± 0.097	1.050 ± 0.040	1.030 ± 0.011
		P (g/L/d)	0.042 ± 0.002	0.079 ± 0.007	0.046 ± 0.003	0.025 ± 0.000
		chl <i>a</i> (µg/mL)	1.381 ± 0.066	2.552 ± 0.374	2.014 ± 0.078	1.975 ± 0.011
		μ (1/d)	0.130 ± 0.0034	0.145 ± 0.0110	0.078 ± 0.0029	0.054 ± 0.0006
<i>Chlorella</i> sp.	LPG	X_t (g/L)	0.595 ± 0.013	1.333 ± 0.113	1.360 ± 0.076	1.478 ± 0.048
		P (g/L/d)	0.034 ± 0.000	0.079 ± 0.007	0.067 ± 0.005	0.055 ± 0.003
		chl (<i>a+b</i>) (µg/mL)	0.729 ± 0.017	1.634 ± 0.138	1.666 ± 0.093	1.812 ± 0.059
		μ (1/d)	0.111 ± 0.0017	0.128 ± 0.0058	0.099 ± 0.0040	0.065 ± 0.0023
	Petrol	X_t (g/L)	1.044 ± 0.029	1.447 ± 0.033	1.636 ± 0.020	1.390 ± 0.000
		P (g/L/d)	0.064 ± 0.002	0.086 ± 0.002	0.085 ± 0.001	0.049 ± 0.000
		chl (<i>a+b</i>) (µg/mL)	1.280 ± 0.036	1.774 ± 0.040	2.005 ± 0.025	1.704 ± 0.000
		μ (1/d)	0.181 ± 0.0017	0.140 ± 0.0017	0.090 ± 0.0006	0.042 ± 0.0000

TRIA konsantrasyonu, 10 mg/L *Phormidium* sp. için,
 TRIA+SA konsantrasyonu, 1mg/LTRIA+50mg/LSA *Chlorella* sp. için,
 X_0 (g/L), başlangıç biyokütle konsantrasyonu,
 X_t (g/L), 15.gün biyokütle konsantrasyonu,
 P (g/L/d), maksimum biyokütle konsantrasyonu
 akış oranı, 2.4 vvm,
 T, 25 ± 2 °C; aydınlatma,
 48 µmol/m²s (2400 lx)



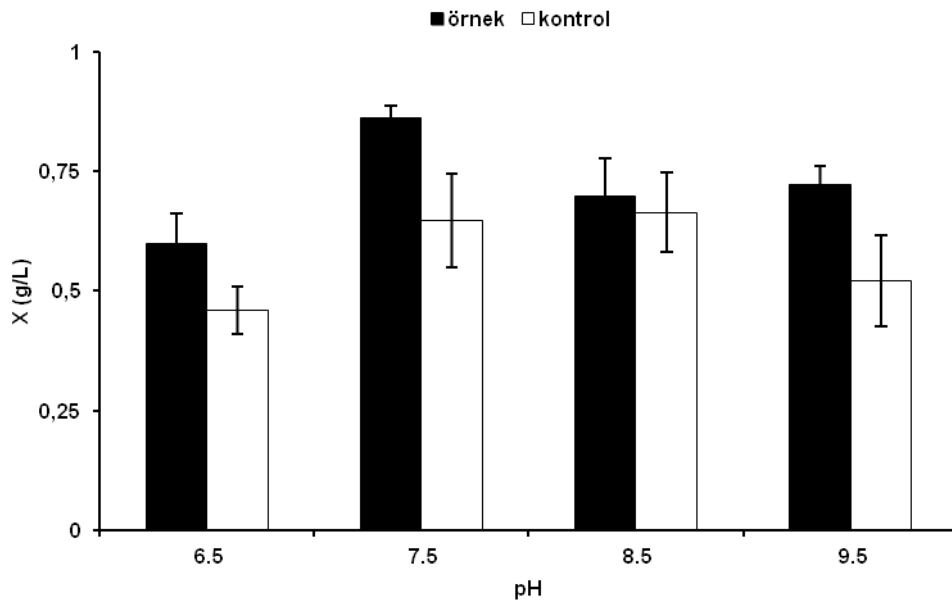
Şekil 4.10 Başlangıç biyokütle konsantrasyonlarının *Chlorella* sp. gelişimi üzerine etkileri (TRIA+SA konsantrasyonu, 1mg/L TRIA+50mg/L SA; X_0 (g/L), başlangıç biyokütle konsantrasyonu; X_t (g/L), 15. gün biyokütle konsantrasyonu; akış oranı, 2.4 vvm; inkübasyon süresi, 15 gün; pH, 7.5; T, 25 ± 2 °C; aydınlatma, $48 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ (2400 lx)).

4.3 Kömür Emisyonlarının Mikroalgler Üzerindeki Etkisi

4.3.1 pH'ın etkisi

Chlorella sp. ile 2.4 vvm akış oranında ve sürekli ışık altında pH 6.5-9.5 aralığında yapılan çalışmalar aşağıda özetlenmiştir. Bu çalışmalara göre inkübasyon süresince belirli günlerde alınan analiz sonuçlarına göre mikroalgal gelişimin en yüksek düzeyde olduğunun görüldüğü pH değeri 7.5 olarak kaydedilmiştir. 15 günlük inkübasyon süresi

sonunda elde edilen sonuçlara göre pH 6.5 için 0.599 g/L, 7.5 için 0.86 g/L, 8.5 için 0.698 g/L ve 9.5 için de 0.721 g/L biyokütle elde edilmiştir. Kömür emisyonu uygulanmayan kontrol kültürlerde ise biyokütle değerleri her bir pH için sırasıyla 0.459, 0.647, 0.663 ve 0.522 g/L şeklindedir (Şekil 4.11). Kömür emisyonu uygulandığında tüm pH'larda kuru ağırlık bakımından artış kaydedilmesi *Chlorella* sp.'in kömür emisyonunu tolere edip, metabolizmasında kullanabildiği sonucunu beraberinde getirmektedir.



Şekil 4.11 Kömür emisyonlarında pH'ın *Chlorella* sp. gelişimi üzerine etkisi (inkübasyon süresi, 15 gün; akış oranı, 2.4 vvm; T, 25 ± 2 °C; aydınlatma, $48 \mu\text{mol/m}^2 \text{ s}$ (2400 lx)GA(güven aralığı), %95 güven ile gerçek değerler olarak örnekler için 0.843-0.553 g/L arasında, kontroller için 0.827-0.467 g/L arasındadır ve tüm değerler bu sınırlar içindedir).

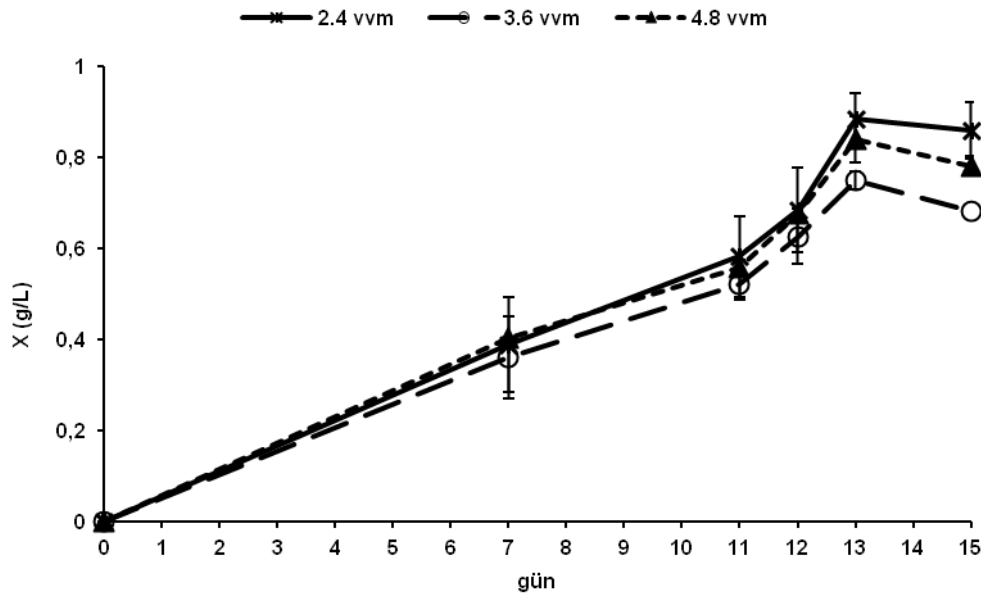
4.3.2 Sürekli ışık-fotoperiyod ve emisyon akış oranlarının etkileri

Tez çalışmasının bu bölümünde elde edilen sonuçlar üç şekilde değerlendirilmiştir,

- 24:0 ve 16:8 aydınlık:karanlık sonuçları
- 2.4, 3.6 ve 4.8 vvm artan emisyon akış oranı sonuçları
- Emisyon uygulanan örnekler ile emisyon uygulanmayan kontrol gruplarının karşılaştırılması

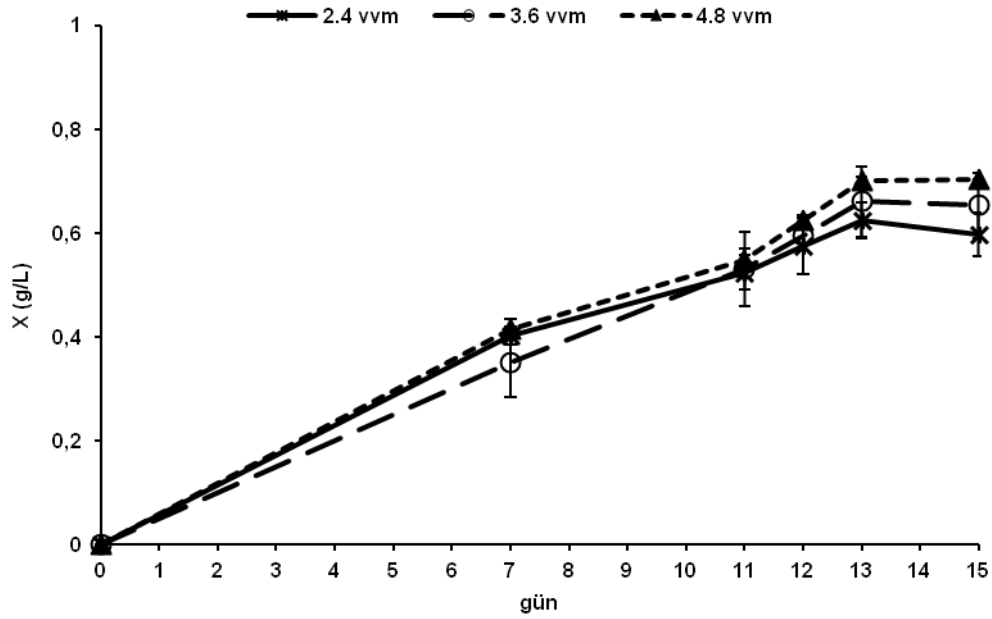
Şekil 3'te 24:0 aydınlık: karanlık periyodunda, yani sürekli ışık altındaki mikroalglerin artan emisyon akış oranı değerlerinde gün bazında ulaştıkları biyokütle konsantrasyonları görülmektedir.

Buna göre kültürler 13. günde en yüksek biyokütle değerlerine ulaşmışlardır. Akış oranı 2.4 vvm iken bu değer 0.886 g/L iken, 3.6 vvm'da 0.751 g/L ve 4.8 vvm'de 0.840 g/L olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.12)



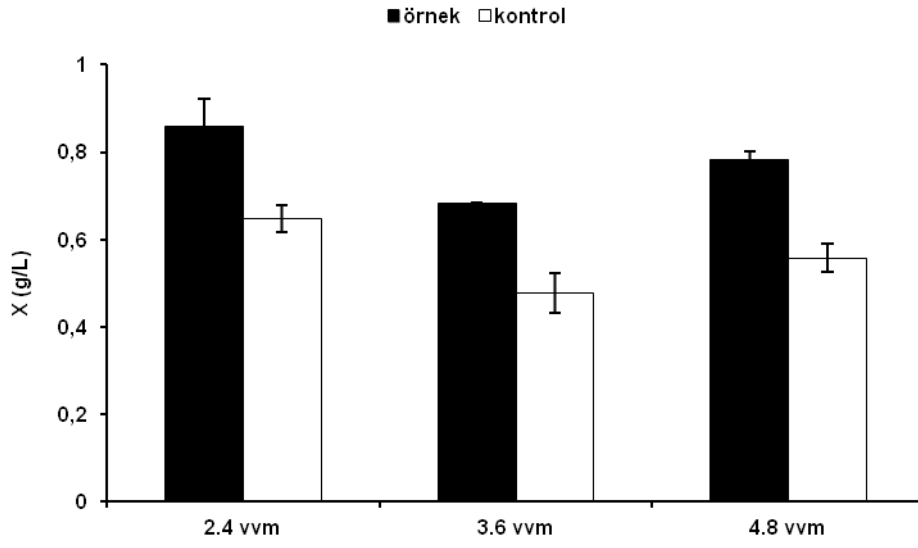
Şekil 4.12 Kömür emisyonlarında aydınlık:karanlık periyodun *Chlorella* sp. gelişimi üzerine etkisi (inkübasyon süresi, 15 gün; akış oranı, 2.4, 3.6, 4.8 vvm; T, 25 ± 2 °C; aydınlatma (24:0 saat, aydınlık: karanlık), $48 \mu\text{mol/m}^2 \text{ s}$ (2400 lx), GA (Güven aralığı) %95 güven ile gerçek değerler 0.972-0.680 g/L arasındadır, tüm değerler bu sınırlar içindedir.

Şekil 4.13'te ise 16:8 aydınlık: karanlık periyodunda elde edilen değerler görülmektedir. Sonuçlar değerlendirildiğinde 24:0 periyodunun bekleneceği üzere 16:8 periyoduna göre daha etkili olduğu görülmektedir. Mikroalgal gelişim sürekli ışık altında daha iyi sonuçlar vermiştir. Artan akış oranlarında elde edilen kuru ağırlık sonuçları sırasıyla; 0.624 g/L, 0.660 g/L ve 0.701 g/L olarak kaydedilmiştir.

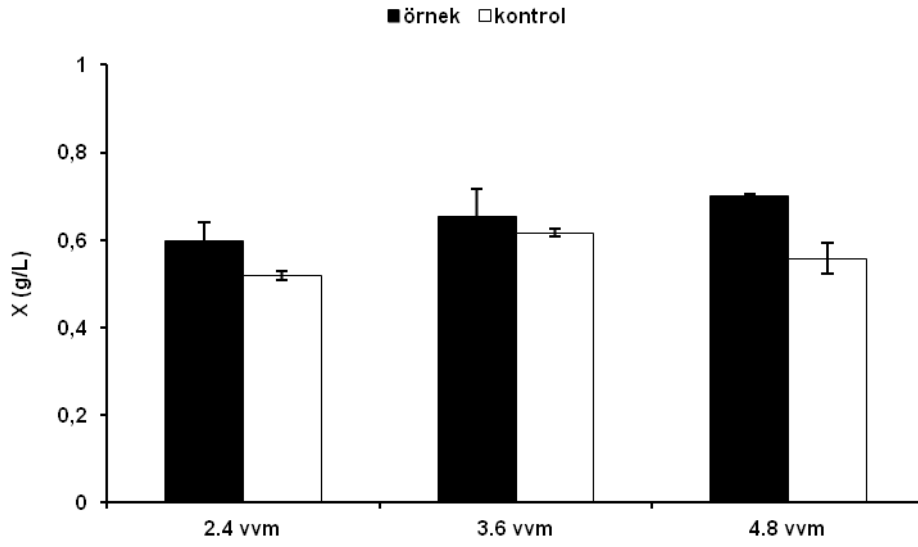


Şekil 4.13 Kömür emisyonlarında aydınlık-karanlık periyodun *Chlorella* sp. gelişimi üzerine etkisi (inkübasyon süresi, 15 gün; akış oranı, 2.4, 3.6, 4.8 vvm; T, 25 ± 2 °C; aydınlatma (16:8 saat, aydınlık: karanlık), $48 \mu\text{mol/m}^2 \text{ s}$ (2400 lx) GA(Güven aralığı), %95 güven ile gerçek değerler 0.766-0.538 g/L arasındadır, tüm değerler bu sınırlar içindedir).

Şekil 4.14'te ise emisyon uygulanan ve uygulanmayan örneklerin biyokütle sonuçları karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. İlk örnekte kültürler sürekli ışık altındayken elde edilen sonuçlar görülmektedir. Bu sonuçlara göre emisyon uygulanan örnekler uygulanmayanlara oranla daha iyi gelişmişlerdir. Ancak bu farkın 16:8 ışık periyodunda her iki örnekte de azalmış olduğu da görülebilmektedir. Bu periyotta emisyon uygulanan kültürler ve uygulanmayan kontroller daha az gelişme göstermişlerdir.



a



b

Şekil 4.14 Kömür emisyonu uygulanan ve uygulanmayan örneklerde aydınlık karanlık periyodun ve emisyon akış oranının *Chlorella* sp. gelişimi üzerine etkisi (inkübasyon süresi, 15 gün; akış oranı, 2.4, 3.6, 4.8 vvm; T, 25 ± 2 °C; aydınlatma (**a.** 24:0 saat, **b.** 16:8 saat, aydınlık: karanlık), $48 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ (2400 lx)).

Son olarak Çizelge 4.8’de elde edilen tüm sonuçlara ek olarak toplam klorofil değerleri de özetlenmiştir. Sürekli ışığın olumlu etkisi tüm tablodan netlikle görülebilmektedir.

Çizelge 4.8 Aydınlatma periyodunun X (g/L) ve chl (a+b) $\mu\text{g/mL}$ üzerine etkisi

	Akış oranı (vvm)	X (g/L)	chl (a+b)
Aydınlatma periyodu	2.4	0.860 ± 0.062	1.054 ± 0.018
(24:0 saat	3.6	0.682 ± 0.001	0.836 ± 0.001
aydınlık:karanlık)	4.8	0.782 ± 0.020	0.959 ± 0.025
Aydınlatma periyodu	2.4	0.597 ± 0.041	0.732 ± 0.051
(16:8 saat	3.6	0.652 ± 0.063	0.800 ± 0.010
aydınlık:karanlık)	4.8	0.701 ± 0.002	0.860 ± 0.002

X_t (g/L), 15.gün biyokütle konsantrasyonu,
akış oranı, 2.4, 3.6, 4.8 vvm, T, 25 ± 2 °C;
aydınlatma, (24:0 saat, 16:8 saat, aydınlık: karanlık) $48 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$ (2400 lx)

Tez çalışması kapsamında toplu bir bakış açısı sağlamak adına her 3 aşamada da gerçekleştirilen sonuçlar değerlendirildiğinde *Chlorella* sp. kültürü en iyi gelişimini benzin emisyonu uygulanırken kaydetmiş ve en iyi toleransını “benzin”de göstermiştir. En az tolere edebildiği ortam koşulu ise kömür emisyonlarının etkisinde ışığın günde 8 saat kesildiği ortam olmuştur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 LPG, benzin ve kömür emisyonlarının *Chlorella* sp. gelişimi üzerine etkisi

Kirletici	X (g/L)
Benzin (24:0 h)	1.447
LPG (24:0 h)	1.333
Kömür (24:0 h)	0.860
Kömür (16:8 h)	0.592

X_t (g/L), 15.gün biyokütle konsantrasyonu, akış oranı, 2.4 vvm, T, 25 ± 2 °C;
başlangıç inokülasyon oranı, 0.15 g/L aydınlatma, (24:0 saat, 16:8 saat, aydınlık: karanlık) $48 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$ (2400 lx)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Hazırlanan tez çalışması “hava kirliliği” ve iklim değişimi açısından günümüzde karşılaşılan ve gelecekte de artması düşünülen çevre problemlerine çözüm sağlamak amacıyla detaylı şekilde araştırılan birçok parametreden oluşmaktadır. Nihâi amacımız çalışmada kullanılan ve her birinin özel yeteneğinden dolayı seçilmiş olan “*Synechococcus* sp., *Phormidium* sp ve *Chlorella* sp.’in çevresel problemlerin çözümünde etkili birer biyomateryal olup olmadıklarının araştırılmasıdır. Çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre her birinin hava kirletici emisyonlarına karşı farklı kapasitelerde tolereli mikroorganizmalar oldukları ispatlanmıştır.

Dünyada birçok bilim insanı tarafından baca gazları laboratuvar ortamında simule olarak hazırlanıp çalışılmıştır. Gerçek baca gazları ile yapılan çalışmalar bir elin parmakları kadar az sayıda olmasına karşın egzoz emisyonları ile yapılan bir çalışmaya bilgilerimiz dâhilinde rastlanılmamıştır. Konu bilim dünyasında çok yenidir ve literatür taraması sonucunda karşımıza çıkan tek basılı makale tez çalışmasıdır (Taştan vd. 2013).

Yapılan çalışmalarda toksik gazlara karşı mikroalglerin direncini geliştirmek için de hiçbir ek büyüme uyarıcı kullanılmamıştır (Jacob-Lopes vd. 2010, Radmann vd. 2011). Bu bağlamda tez çalışması (3 ayrı aşaması ile) ülkemizde simule gaz kullanılan ve aynı zamanda “gerçek” ortam baca gazlarının ve egzoz emisyonlarının (LPG ve benzin) kullanıldığı dünya çapındaki ilk çalışma olma niteliğindedir. Yapılan diğer çalışmalardan bir diğer orijinalliği de kullanılan TRIA, NaHCO_3 ve SA gibi büyüme düzenleyici ve direnç arttırıcı ajanların etkisinin araştırılmasıdır.

Tez çalışmasının ilk aşamasında *Synechococcus* sp. ile *Chlorella* sp. ‘nin laboratuvar ortamında üretilen SO_2 ve NO_2 gazlarına toleransı karbon kaynağı olarak eklenen NaHCO_3 ’ün varlığında birçok farklı parametre üzerinden araştırılmıştır. Yüksek biyokütle üretiminin gerektiği çalışmalarda atmosferdeki 380 ppmv CO_2 konsantrasyonu yetersiz olmaktadır (McGin vd. 2011). 1 kg. kuru ağırlıkta alg elde etmek için 1.3-2.4 kg CO_2 ’ye ihtiyaç duyulmaktadır (Becker 2008). Bu nedenlerle tez

alışmasının ilk aşamasında besiyerine NaHCO₃ katılarak inorganik bir C kaynağı ile mikroalgal gelişime destek sağlanmıştır.

Çalışma sonuçlarına göre SO₂ ve NO₂ gazlarının sadece inhibitör etki göstermediğı, aksine düşük uygulama süresinde özellikle NO₂'nin mikroalgal gelişme ve fotosentez üzerinde olumlu etkiler gösterdiği görülmüştür. Her iki mikroalg de düşük uygulama sürelerinde her iki asidik kirleticiyi de etkin bir şekilde tolere edebilmiştir. Bu tolerasyon yeteneğı artışı kontrol kültürlerle kıyaslanma sonucunda TRIA'nın pozitif etkisine bağlanmıştır.

Bu aşamada kullanılan mikroalgler kendi içlerinde kıyaslandığında ökaryotik bir mikroalg olan *Chlorella* sp.'in her iki asidik bileşene de prokaryotik olan *Synechococcus* sp.'e oranla daha dirençli bir mikroalg olduğu görülmektedir. Ayrıca tez çalışmasının bu aşamasında kullanılan ve bu çalışma için tasarlanan deneysel düzenek sonraki çalışmalara ışık tutacak nitelikte olup birçok farklı gazın üretiminde ve transferinde kullanılabilecektir. Maliyeti düşük, kolay taşınabilir ve kurulabilir bir sistem olması da uygulama alanlarını arttırmaktadır.

Çalışmanın ilk aşamasında TRIA uygulaması ile mikroalgal gelişme bazında elde ettiğimiz sonuçlar önceki araştırmacıların sonuçlarını destekler niteliktedir. Karacakaya vd. (2009) tarafından yapılan ve mikroalgler kullanılarak boya gideriminin gerçekleştirildiğı çalışmada ortama TRIA eklenmesi ile *Synechocystis* sp. 1 mg/L TRIA konsantrasyonunda, ve *Phormidium* sp. de 10 mg/L TRIA konsantrasyonunda maksimum biyokütle oranlarına ulaşmışlardır. Bu sonuçlara paralel olarak sunulan tez çalışmasında elde edilen sonuçlar farklı tür ve cinslerin aynı ortam faktörlerine farklı cevaplar verdiklerini göstermektedirler.

Wang vd. (2010) yılındaki bir çalışmada da NaHCO₃ *C. vulgaris* için uygun bir C kaynağı olarak sunulmuştur. Ayrıca ekibimizce *Chlorella* sp.in bor giderim kapasitesinin araştırıldığı farklı bir çalışmada ortama NaHCO₃ ilavesinin bor giderim kapasitesini arttırdığı vurgulanmıştır (Taştan vd. 2012a).

Bu aşamada SO₂ ve NO₂ uygulaması ile elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak Lee vd. (2000) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada da SO₂ ve NO₂ uygulamasının türden türe ve cinsten cinse farklılık gösterebildiği görülmüştür. Araştırmacılar SO₂ gazının *Chlorella* KR-1, *Chlorella* HA-1 ve *Chlorococcum littorale*'nin gelişmeleri üzerinde farklı etkiler gösterdiğini belirtmişlerdir. Yine benzer bir diğer çalışmada de Morais ve de Morais ve Costa (2007) *C. kessleri* ve *Scenedesmus obliquus* türlerini CO₂ biyofiksasyonunda kullanmışlardır. Araştırma sonuçları *C. kessleri*'nin *S. obliquus*'tan daha yüksek spesifik büyüme oranı ve biyokütle verimliliği elde ettiğini göstermiştir. Radmann vd. (2011), tarafından yürütülen çalışmada ise *S. nidulans* ve *C. vulgaris* tübüler tip fotobiyoreaktörde CO₂ fiksasyonu için geliştirilmiştir. Ortama ayrıca 60 ppm SO₂ ve 100 ppm NO ilave edilmiştir. Bu koşullar altında maksimum biyokütle *S. nidulans* ve *C. vulgaris* için sırasıyla 0.41 g/L ve 0.98 g/L; ve μ 0.001 1/gün ve 0.26 1/gün olarak bulunmuştur. İnkübasyon süresi sonunda *S. nidulans* için gelişmesinde inhibisyon tespit edilmiştir. Araştırmacıların gerçekleştirdiği bu çalışmada sunulan tez çalışmasında da olduğu gibi *Chlorella* , *Synechococcus* ' a göre toksik gazlara karşı daha fazla direnç göstermiştir.

Bir başka çalışmada, tez çalışmasında kaydedilen sonuçlara benzer olarak Caporn vd. (2000) *Calluna vulgaris* bitkisini NO₂'ye maruz bırakmışlardır. Bitkinin sürgünlerinde % 37 ve tüm bitkide biyokütle bazında % 15 oranında artış kaydedilmiştir. Lee vd. (2002) tarafından yürütülen bu çalışmada *Chlorella* KR-1 60 ppm SO_x karışımına diğer türlere kıyasla daha fazla tolerans göstermiştir. Lineer büyüme oranı SO_x varlığında kontrol kültürden % 25 daha az olmasına karşın; 100 ppm NO varlığında kontrol kültürle neredeyse eşit çıkmıştır. Araştırmacılar aynı zamanda başlangıç inokülasyon miktarı 0.3 g/L olduğu zaman *Chlorella* KR-1'in 100 ppm SO₂ ve 300 ppm NO varlığında diğer koşullara nazaran daha fazla gelişme kaydettiğini belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise 0.05 g/L başlangıç inokülasyonu Lee vd. (2002) tarafından uygulanan konsantrasyondan çok daha az iken *Chlorella* sp. hem SO₂ hem de NO₂ gazlarına yüksek direnç gösterebilmiş ve maksimum gelişme oranlarına ulaşmıştır. Çok daha az biyokütle ile benzer sonuçların elde edilmesi tez çalışması açısından büyük bir başarıdır.

Bu başarı uygulanan büyüme faktörlerinin sayesinde elde edilmiş olup, bu tür faktörler diğer araştırmacılar tarafından kullanılmamıştır.

Klorofil molekülleri *Synechococcus* cinsinde *Chlorella* cinsinde olduğu gibi kloroplastların içinde yerleşik olarak bulunmamaktadır (Zazubovich vd. 2002). Gelişmiş mikroorganizmalarda kloroplastların kloroplast membranları tarafından korunmuş olması asidik bileşenlere karşı daha fazla direnç gösterebilme yeteneklerini sağlamaktadır.

Giridhar vd. (2005) TRIA'nın bitki gelişmesi ve klorofil akümüasyonu üzerinde çok düşük konsantrasyonlarda bile etkili olduğunu vurgulamıştır. Tez çalışması kapsamında da TRIA çalışılan en düşük konsantrasyon değerinde maksimum verim sağlamıştır.

Tez çalışmasının ikinci aşamasında LPG ve benzin emisyonlarının *Phormidium* sp. ve *Chlorella* sp. mikroalgleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu etki mikroalglere direnç kazandırmak adına TRIA ve SA varlığında incelenmiştir.

Rajasekaran ve Blake (1999) TRIA ve SA gibi doğal bitki büyüme düzenleyicilerin (PGRs) kuraklık toleransı ve çamlarda fide sayısında (*Pinus banksana* Lamb.) artış sağladığını vurgulamıştır. Benzer büyüme artışları Hayat vd. (2005) tarafından yürütülen bir başka çalışmada da vurgulanmıştır. Bu çalışmada yaprak sayısı, buğday fideleri başına yaş ve kuru ağırlık miktarları salisilik asidin düşük konsantrasyonlarında önemli ölçüde artış göstermiştir.

Sınırlı sayıdaki bu çalışmalarla birlikte TRIA ve salisilik asidin birlikte uygulanmasının mikroalgler üzerindeki etkisine yönelik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yapılan tez çalışması literatürde konu ile ilgili sınırlı sayıdaki veriye katkı sağlamaktadır.

Tez çalışmasının bu aşamasında *Chlorella* sp.'de kaydedilen maksimum biyokütle 1.447g/L ve maksimum biyokütle verimliliği 0.086 g/L/gün olarak benzin(+) + TRIA+SA(+) örneklerinde 2.4 vvm akış oranında kaydedilmiştir. Benzer bir diğer çalışmada *C. vulgaris* için maksimum biyokütle verimliliği 3 farklı tip tübüler

fotobiyoreaktör için sırasıyla 0.05, 0.08 ve 0.09g/L/gün olarak kaydedilmiştir (Radmann vd. 2011). Tez çalışmasında *Chlorella* sp. maksimum gelişmesini 15.günde LPG emisyonları altında 1.447 g/L olarak % 11.95 CO₂ konsantrasyonunda elde etmiştir. de Morais ve Costa (2007) ise *C. kessleri* için % 12 CO₂ konsantrasyonunda 20. gün sonunda 0.80 g/L biyokütle konsantrasyonu elde etmişlerdir, ki kullandıkları 0.15 g/L başlangıç inokülasyon oranı tez çalışmasındakine eşittir. Benzer ortam koşullarında burada sunulmuş olan sonuçların tez çalışmasında daha yüksek oranda başarı kaydedildiğini bir kez daha ortaya koymaktadır.

Radmann vd. (2011) ise 0.15 g/L inokülasyon oranında *C. vulgaris* mikroalgini % 12 CO₂ ve 100 ppm NO gazlarına maruz bırakmıştır. Kaydedilen maksimum biyokütle konsantrasyonu 0.540 mL/dk akış oranında 0.98 g/L. olmuştur. Tez çalışmasında % 11.95 CO₂ ve 66 ppm NO varlığında aynı inokülasyon oranında ve 2.4 vvm (240 mL/dk) akış oranında *Chlorella* sp. için kaydedilen sonuç ise 1.447 g/L'dir. Chiu vd. (2008) *Chlorella* sp. kültürünü yarı kesikli fotobiyoreaktörde % 15 CO₂ varlığında geliştirmiş ve μ değerini 0.66 1/gün; maksimum biyokütle konsantrasyonunu ise 0.87 g/L olarak bulmuşlardır. Görüldüğü üzere tüm bu sonuçlar tez çalışmasında kaydedilenlere oranla daha düşük değerlerdir.

Douskova vd. (2009) % 11 v/v gibi yüksek CO₂ konsantrasyonlarının *C. vulgaris* için inhibe edici etkisinin bulunmadığını vurgulamışlardır. Araştırmacılar aynı zamanda % 0, 4, 16 ve 19 (v/v) konsantrasyonlarında O₂ gazını da CO₂ ile birlikte kültürlerle uygulamışlardır. Araştırma sonuçlarına göre düşük O₂ konsantrasyonlarının gelişmede arttırıcı etkisi olduğu ortaya konulmuştur. Maksimum biyokütle konsantrasyonları % 0 ve % 4 O₂ varlığında elde edilmiştir.

Güncel C fiyatları 1 ton CO₂ başına 15€'dur. Atmosferdeki fazla karbon miktarı işletmelere ton başına fiyatlandırılmaktadır. Oysaki mikroalglerin baca gazında üretimi sayesinde bu fiyat düşürülebilmektedir. Yani % 65 C içeren bir mikroalgin kg başına 0.036 € değerine karşılık gelmektedir. (Van Den Hende 2011). Mikroalglerin % 36-65 oranında CO₂ içerdği düşünülürse bu da toplam mikroalg üretim maliyetinin sadece %

0.9' una karşılık gelmektedir (Norsker vd. 2011). Mikroalglerin baca gazında kültüre alınmasında normal çevre şartlarından bir mikroalgin asimile edebileceği CO₂ miktarından 32 kat daha fazla CO₂ alımı gerçekleşmektedir (Jacop Lopes 2010). Bu da kg mikroalg başına 1.14 €'luk CO₂ masrafının bertaraf edilmesi demektir (0.036 €'dan 10 kat fazla).

Van Den Hende vd. (2012) hazırladıkları derleme makalede araştırmacıların çoğunun mikroalgal kültürlerin baca gazı uygulamasına yönelik gerçekleştirdiği çalışmalarında sadece CO₂'ye odaklandıklarını tam anlamıyla “baca gazı” çalışmak için ise baca gazındaki tüm bileşenlerle çalışılması gerektiğini belirtmişlerdir. Tez çalışması literatürdeki bu veri açığını kapatacak nitelikte olup simüle bir baca gazı ile değil orijinal, çevreye salınan gerçek konsantrasyonlarda “egzoz” ve “baca gazı” emisyonlarını kapsayacak nitelikte planlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Amoroso, G., Sültemeyer, D., Thyssen, C., Fock, H.P. 1998. Uptake of HCO₃ and CO₂ in cells and chloroplasts from the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Dunaliella tertiolecta*, *Plant Physiol*, 116, 193–201.
- Anonim. 2004. RSHM (Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Çevre Sağlığı Araştırma Müdürlüğü), Hava kirliliğine genel bakış.
- Anonymous. 2008. Biogenic sulfur in the environment. Washington DC: American Chemical Society; Saltzman E, Cooper W, editors. 1989. p. 79-100.
- Anonymous. 2011. Aquafuels. Algae and aquatic biomass for a sustainable production of 2nd generation biofuels. Report on ongoing R&D projects. Aquafuels FP7 241301.
- Anonymous. 2012. OECD/IEA, International Energy Agency, World Energy Outlook.
- Anonymous. 2013a. Web Sitesi: <https://wwf.org.tr> Erişim tarihi: 13.07.2013
- Anonymous. 2013b. Web Sitesi: <https://unfccc.int/kyotoprotocol> Erişim tarihi: 14.07.2013
- Anonymous. 2013c. Web Sitesi: <http://www.mtholyoke.edu> Erişim tarihi: 02.08.2013
- Anonymous. 2013d. Web Sitesi: <http://www.static.ddmcdn.com> Erişim tarihi: 03.08.2013
- Anonymous. 2013e. Web Sitesi: <http://www.epa.gov/sulfurdioxide/health.html>, Erişim tarihi: 06.08.2013
- Anonymous. 2013f. Web Sitesi: <https://www.epa.gov/region1/eco/uep/tph.html>, Erişim tarihi: 06.08.2013
- Anonymous. 2013g. Web Sitesi: <https://www.coen.com/wp-content/uploads/e-PE.pdf>, Erişim tarihi: 14.08.2013.
- Anonymous. 2013h. Web Sitesi: <http://cronodon.com> Erişim tarihi: 18.08.2013
- Anonymous. 2013i. Web Sitesi: <http://www.biologie.uni-hamburg.de> Erişim tarihi: 09.09.2013
- Anonymous. 2013j. Web Sitesi: <http://www.cbv.ns.ca> Erişim tarihi: 16.09.2013
- Anonymous. 2013k. Web Sitesi: <http://www.godandscience.org> Erişim tarihi: 13.09.2013
- Anonymous. 2013l. Web Sitesi: <http://www.botany.si.edu/projects/algae> Erişim tarihi: 16.09.2013

- Anonymous. 2013m. Web Sitesi: <http://www.ucmp.berkeley.edu/greenalgae> Erişim tarihi: 16.09.2013
- Anonymous. 2013n. We Sitesi: <https://www.web.ntm.gov.tw/seaweeds>, Erişim tarihi: 17.09.2013.
- Anonymous. 2013o. Web Sitesi: <http://rdp.cme.msu.edu> Erişim tarihi: 20.09.2013
- Anonymous. 2013p. Web Sitesi: <https://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>, Erişim tarihi: 27.09.2013
- Anonymous. 2013r. Web Sitesi: https://www.ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor, Erişim tarihi: 30.09.2013
- Becker, E.W. 2008. Microalgae: biotechnology and microbiology. Cambridge studies in microbiology 10. Cambridge: Cambridge University Press; 293 s.
- Bellinger, E.G. and Sigeo. D.C. Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators. Ch. 1, pp 1-35. John Wiley & Sons, Ltd; 2010
- Bilgin, A. 2004. Kazanlarda Baca Analizlerinin Değerlendirilmesi, iç Soğuma Kayıplarının İrdelenmesi, V. ulusal tesisat mühendisliği kongresi, 615-622
- Caporn, S.J.M., Ashenden, T.W. and Lee, J.A. 2000. The effect of exposure to NO₂ and SO₂ on frost hardiness in *Calluna vulgaris*, Environ Exp Bot, 43, 111–119.
- Chae, S.R., Hwang, E.J. and Shin, H.S. 2006. Single cell protein production of *Euglena gracilis* and carbon dioxide fixation in an innovative photobioreactor, Bioresour Technol, 97, 322–329.
- Chen, H.L., Yang, C.H. and Lin, M.H. 2012. Removal efficiency of vapour/particulate phase PAHs by using alternative protective respirators in PAHs exposure workers, J. Hazard. Mater, 219-220, 190–195.
- de-Bashan, L.E., Bashan, Y. 2010. Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects, Biores Technol, 101, 1611–1627.
- Chiu, S.Y., Kao, C.Y., Chen, C.H., Kuan, T.C., Ong, S.C. and Lin, C.S. 2008. Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor, Bioresource Technol, 99, 3389–3396.
- Dahlan, I., Lee, K.T., Kamaruddin, A.H. and Mohamed, A.R. 2011. Sorption of SO₂ and NO from simulated flue gas over rice huskash (RHA)/CaO/CeO₂ sorbent: evaluation of deactivation kinetic parameters, J. Hazard. Mater, 185, 1609–1613.
- Darall, N.M. 1989. The effect of air pollutants on physiological processes in plants, Plant, Cell and Environment, 12, 1-30.
- de-Bashan, L.E. and Bashan, Y. 2010. Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects, Bioresour Technol, 101, 1611–1627.

- de Morais, M.G. and Costa, J.A.V. 2007. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide, *Energy Conver Manage*, 48, 2169–2173.
- Dora, J., Gostomczyk, M.A., Jakubiak, M., Kortylewski, W., Mista, W. and Tkaczuk, M. 2009. Parametric studies of the effectiveness of oxidation of NO by ozone. *Chem Process Eng*, 30, 621–634.
- Doucha, J., Straka, F. and Livansky, K. 2005. Utilization offlue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor, *J Appl Phycol*, 17, 403–412.
- Douskova, I., Doucha, J., Livansky, K., Machat, J., Novak, P., Umysova, D., Zachleder, V. and Vitova, M. 2009. Simultaneous flue gas bioremediation and reduction of microalgal biomass production costs, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82, 179–185.
- Doušková, I., Kaštánek, F., Maléterová, Y., Kaštánek, P., Doucha, J. and Zachleder, V. 2010. Utilization of distillery stillage for energy generation and concurrent production of valuable microalgal biomass in the sequence. biogascogeneration-microalgae-products, *Energy Conver Manage*, 51, 606–611.
- Fine, P. and Hadas, E. 2012. Options to reduce greenhouse gas emissions during wastewater treatment for agricultural use, *Sci Total Environ*, 416, 289–299.
- Giordano, M., Norici, A. and Hell, R. 2005a. Sulfur and phytoplankton: acquisition, metabolism and impact on the environment, *New Phytol*, 166, 371–382.
- Giordano, M., Beardall, J. and Raven, J.A. 2005b. CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution, *Annu Rev Plant Biol*, 56, 99–131.
- Giridhar, P., Rajasekaran, T. and Ravishankar, G.A. 2005. Improvement of growth and root specificflavour compound 2-hydroxy-4-methoxy benzaldehyde of micro propagated plants of *Decalepis hamiltonii* Wight & Arn., under triacontanol treatment, *Sci. Hortic.-Amsterdam*, 106, 228–236.
- Gnanapragasam, N., Reddy, B. and Rosen, M. 2009. Reducing CO₂ emissions for an IGCC power generation system: effect of variations in gasifier and system operating conditions, *Energy Conver Manage*, 50, 1915–1923.
- Graham, L.E. and Wilcox, L.W. *Algae*. Upper Saddle River New Jersey: Prentice Hall; 2000.
- Hayat, S., Fariduddin, Q., Ali, B., Ahmad, A. 2005. Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings, *Acta Agron. Hung*, 53, 433–437.
- Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. and Ahmad, A. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review, *Environ. Exp. Bot*, 68, 14–25.
- Ip, P.-F. and Chen, F. 2005. Production of astaxanthin by the green microalga *Chlorella zofingiensis* in the dark. *Process Biochemistry*, 40, 733–738

- İlbas, M., Yılmaz, İ. and Kaplan, Y. 2005. Investigations of hydrogen and hydrogen–hydrocarbon composite fuel combustion and image emission characteristics in a model combustor, *International Journal of Hydrogen Energy*, 30, 1139–1147.
- Jacob-Lopes, E., Scoparo, C.G.H., Queiroz, M.I. and Franco, T.T. 2010. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors, *Energy Convers Manage*, 51, 894–900.
- Jeong, D.J. 1997. Social development implication of environment in social development, *Korea Journal of Population and Development*, 26, 1-13.
- Jin, H.F., Santiago, D.E.O., Park, J. and Lee, K. 2008. Enhancement of nitric oxide solubility using Fe(II) EDTA and its removal by green algae *Scenedesmus* sp., *Biotechnol Bioprocess Eng*, 13, 48–52.
- Johnston, H.W. 1965. The Biological and Economic Importance of Algae, Part I., *Tuatar*, 13, 90-104.
- Kanno, T. 2005. *Chlorella vulgaris* and *Chlorella vulgaris* extract (CVE). North Orem, Utah: Woodland Publishing.
- Karacakaya, P., Kılıç, N.K., Duygu, E. and Dönmez, G. 2009. Stimulation of reactive dye removal by cyanobacteria in media containing triacontanol hormone, *J Hazard Mater*, 172, 1635–1639.
- Kiliç, N.K., Duygu, E. and Dönmez, G. 2010. Triacontanol hormone stimulates population, growth and Brilliant Blue R dye removal by common duckweed from culture media, *J. Hazard. Mater*, 182, 525–530.
- Klerks, P.L., Nyman, J.A. and Bhattacharyya, S. 2004. Relationship between hydrocarbon measurements and toxicity to a chironomid, fish larva and daphnid for oils and oil spill chemical treatments in laboratory freshwater marsh microcosms, *Environ. Pollut*, 129, 345–353.
- Lafont, O. 2007. From the willow to aspirin, *Rev. Hist. Pharm*, (Paris) 55, 209–216.
- Lee, J.N., Lee, J.S., Shin, C.S., Park, S.C. and Kim, S.W. 2000. Methods to enhance tolerances of *Chlorella* KR-1 to toxic compounds in flue gas, *Appl Biochem Biotechnol* 84–86, 329–342.
- Lee, J.S., Kim, D.K., Lee, J.P., Park, S.C., Koh, J.H., Cho, H.S. and vd. 2002. Effects of SO₂ and NO on growth of *Chlorella* sp. KR-1, *Biores Technol*, 82, 1–4.
- Li, F.F., Yang, Z.H., Zeng, R., Yang, G., Chang, X., Yan, J.B and vd. 2011. Microalgae capture of CO₂ from actual flue gas discharged from a combustion chamber, *Ind Eng Chem Res*, 50, 6496–6502.
- Luo, W., Pflugmacher, S., Pröschold, T., Walz, N. and Krienitz, L. 2006. Genotype versus phenotype variability in *Chlorella* and *Micractinium* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Protist* 157, 315–333.

- Machida, T., Kita, K., Kondo, Y., Blake, D., Kawakami, S., Inoue, G. and Ogawa, T. 2003. Vertical and meridional distributions of the atmospheric CO₂ mixing ratio between northern midlatitudes and southern subtropics, *Journal of Geophysical Research*, 108, 1–9.
- Matsumoto, S., Inaba, A. and Yanagisawa, Y. 1997a. Technology assessment of alternative fuels by CO₂ fixation use in passenger cars, *Energy Convers. Manage.*, 38, 455–460.
- Matsumoto, H., Hamasaki, A., Sioji, N. and Ikuta, Y. 1997b. Influence of CO₂, SO₂ and NO in flue gas on microalgae productivity, *J Chem Eng Jpn*, 30, 620–624.
- McGin, P.J., Dickinson, K.E., Bhatti, S., Frigon, J.C., Guiot, S.R. and O'Leary, S.J.B. 2011. Integration of microalgae cultivation with industrial waste remediation for biofuel and bioenergy production: opportunities and limitations, *Photosynth Res*, 109, 231–247.
- Merker, G.P., Otto, F., Schwarz, C. and Gunnar, S. Simulating combustion and pollutant formation for engine-development. Berlin: Springer-Verlag; 2006
- Naeem M., Khan, M.M.A., Moinuddin and Siddiqui, M.H. 2009. Triacanthanol stimulates nitrogen-fixation, enzyme activities, photosynthesis, crop productivity and quality of hyacinth bean (*Lablab purpureus* L.), *Sci Hortic-Amsterdam*, 121, 389–96.
- Niessen, W.R. 2002. Combustion and incineration processes. 3rd ed. New York: Marcel Dekker Inc.
- Norsker, N.H., Barbosa, M.J., Vermuë, M.H. and Wijffels, R.H. 2011. Microalgal production –A close look at the economics, *Biotechnol Adv*, 29, 24–27.
- Olaizola, M., Bridges, T., Flores, S., Griswold, L., Morency, J. and Nakamura, T. 2003. Microalgal removal of CO₂ from flue gases: changes in medium pH and flue gas composition do not appear to affect the photochemical yield of microalgal cultures, *Biotechnol Bioprocess Eng*, 8, 360–367.
- Park, I.S. and Park, J.W. 2010. A novel total petroleum hydrocarbon fractionation strategy for human health risk assessment for petroleum hydrocarbon-contaminated site management, *J. Hazard. Mater*, 179, 1128–1135.
- Peng, Y., Zhao, B. and Li, L. 2012. Advance in post-combustion CO₂ capture with alkaline solution: a brief review, *Energy Procedia*, 14, 1515–1522.
- Pillai, K.C., Chung, S.J. and Raju, T. 2009. Experimental aspects of combined NO_x and SO₂ removal from flue-gas mixture in an integrated wet scrubber-electrochemical cell system, *Chemosphere*, 76, 657–664.

- Porra, R.J., Thompson, W.A. and Kreidemann, P.E. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta* 975, 384–394.
- Price, G.D., Badger, M.R., Woodger, F.J. and Long, B.M. 2008. Advances in understanding the cyanobacterial CO₂-concentrating-mechanisms (CCM): functional components, Ci transporters, diversity, genetic regulation, prospects for engineering into plants, *J Exp Bot*, 59, 1444–1461.
- Radmann, E.M. and Costa, J.A.V. 2008. Conteúdo lipídico e composição de ácidos graxos de microalgas expostas aos gases CO₂, SO₂ e NO, *Quim Nova*, 31, 1609–1612.
- Radmann, E.M., Camerini, F.V., Santos, T.D. and Costa, J.A.V. 2011. Isolation and application of SO_x and NO_x resistant microalgae in biofixation of CO₂ from thermoelectricity plants, *Energy Conver Manage*, 52, 3132–3136.
- Rajasekaran, L.R. and Blake, T.J. 1999. New plant growth regulators protect photosynthesis and enhance growth under drought of jack pine seedlings, *J.PlantGrowthRegul*, 18, 175–181.
- Rippka, R. 1988. Recognition and identification of cyanobacteria, *Methods Enzymol*, 167, 28–67.
- Rivas, M., Vicente, S. and Plasencia, J. 2011. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development, *J. Exp. Bot*, 62, 3321–3338.
- Sadettin, S. and Dönmez, G. 2006. Bioaccumulation of reactive dyes by thermophilic cyanobacteria, *Process Biochemistry*, 41, 836–841.
- Simoneit, B.R.T., Rogge, W.F., Lang, Q., Jaffe, R. 2001. Molecular characterization of smoke from campfire burning of pine wood (*Pinus elliottii*), *Chemosphere*, 2, 107–122.
- Simoneit, B.R.T., Rogge, W.F., Lang, Q. and Jaffe, R. 2001. Molecular characterization of smoke from campfire burning of pine wood (*Pinus elliottii*). *Chemosphere*, 2, 107–122.
- Sivacoumar, R., Bhanarkar, A.D., Goyal, S.K., Gadkari, S.K. and Aggarwal, A.L. 2001. Air pollution modeling for an industrial complex and model performance evaluation, *Environmental Pollution*, 111, 471–477.
- Stumm, W. and Morgan, J.J. 1981. *Aquatic Chemistry*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons.
- Sydney, E.B., Sturm, W.S., de Carvalho, J.C., Thomaz-Soccol, V., Larroche, C., Pandey, A. and vd. 2010. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae, *Bioresour Technol*, 101, 5892–5896.

- Tamura, K., Nei, M. and Kumar, S. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101, 11030–11035.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S. 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24, 1596–1599.
- Taştan, B.E., Duygu, E. and Dönmez, G. 2012a. Boron bioremoval by a newly isolated *Chlorella* sp. and its stimulation by growth stimulators, *Water Res*, 46, 167–175.
- Taştan, B.E., Duygu, E., Atakol, O. and Dönmez, G. 2012b. SO₂ and NO₂ tolerance of microalgae with the help of some growth stimulators, *Energy Conversion and Management*, 64, 28-34.
- Taştan, B.E., Duygu, E., İlbaş, M. and Dönmez, G. 2013. Utilization of LPG and gasoline engine exhaust emissions by microalgae, *Journal of Hazardous Materials*, 246-247, 173-180.
- Trozzi, C., Rentz, O., Oertel, D., Woodfield, M. and Stewart, R. 2010. Energy Industries. Combustion in energy and transformation industries. EMEP/EAA Air Pollutant Emission Inventory Guidebook. European Environment Agency
- Van Den Hende, S., Vervaeren, H., Desmet, S and Boon, N. 2011. Bioflocculation of microalgae and bacteria combined with flue gas to improve sewage treatment, *N Biotechnol*, 29, 23–31.
- Van Den Hende, S., Vervaeren, H., Boon and N. 2012. Flue gas compounds and microalgae: (Bio-)chemical interactions leading to biotechnological opportunities, *Biotechnology Advances*, 30, 1405–1424.
- Van Loo, S. and Koppejan, J. The handbook of biomass combustion and co-firing. UK: Earthscan; 2008.
- Van Thriel, C., Schäper, M., Kleinbeck, S., Kiesswetter, E., Blaszkewicz, M., Golka, K., Nies, E., Raulf-Heimsoth, M. and Brüning, T. 2010. Sensory and pulmonary effects of acute exposure to sulfur dioxide (SO₂) *Toxicology Letters*, 196, 42-50.
- Vassy, A. 1965. Atmospheric ozone, *Advances in Geophysics*, 11, 115-173.
- Wang, B., Li, Y., Wu, N. and Lan, C.Q. 2008a. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *App Microbiol Biotechnol*, 79, 707–718.
- Wang, H., Wu, Z., Liu, Y. and Sheng, Z. 2008b. The characterization of ZnO-anatase-rutile three component semiconductor and enhanced photocatalytic activity of nitrogen oxides, *J Mol Catal A Chem*, 287, 176–181.

- Wang, H.M., Pan, J.L., Chen, C.Y., Chiu, C.C., Yang, M.H., Chang, H.W. and vd. 2010. Identification of anti-lung cancer extract from *Chlorella vulgaris* C-C by antioxidant property using supercritical carbon dioxide extraction, *Process Biochem*, 45,1865–1872.
- Weil, E.D. and Sandler, S.R. 1997. Sulfur Compounds. In: Kroschwitz JI, Howe-Grant M, editors. *KirkOthmer encyclopedia of chemical technology*. New York: John Wiley & Sons, 275–340.
- Yilmaz, H. and Yilmaz, M. 2013. Forecasting CO2 emissions for Turkey by using the grey prediction method, *Journal of Engineering and Natural Sciences*, Sigma 31, 141-148.
- Yoshihara, K.I., Nagase, H., Eguchi, K., Hirata, K. and Miyamoto, K. 1996. Biological elimination of nitric oxide and carbon dioxide from flue gas by marine microalga NOA-113 cultivated in a long tubular photobioreactor, *J Ferment Bioeng*, 82, 351–354.
- Yue, L. and Chen, W. 2005. Isolation and determination of cultural characteristics of a new highly CO2 tolerant fresh water microalgae, *Energy Conver Manage*, 46, 1868–1876.
- Zazubovich, V., Matsuzaki, S., Johnson, T.W., Hayes, J.M., Chitnis, P.R. and Small, G.J. 2002. Red antenna states of photosystem I from cyanobacterium *Synechococcus elongatus*: a spectral hole burning study, *Chem Phys*, 275, 47–59.

EKLER

EK 1 *Synechococcus* sp. için klorofil (a+b) standardı ve kuru ağırlık standardı

EK 2 *Phormidium* sp. için klorofil (a+b) standardı ve kuru ağırlık standardı

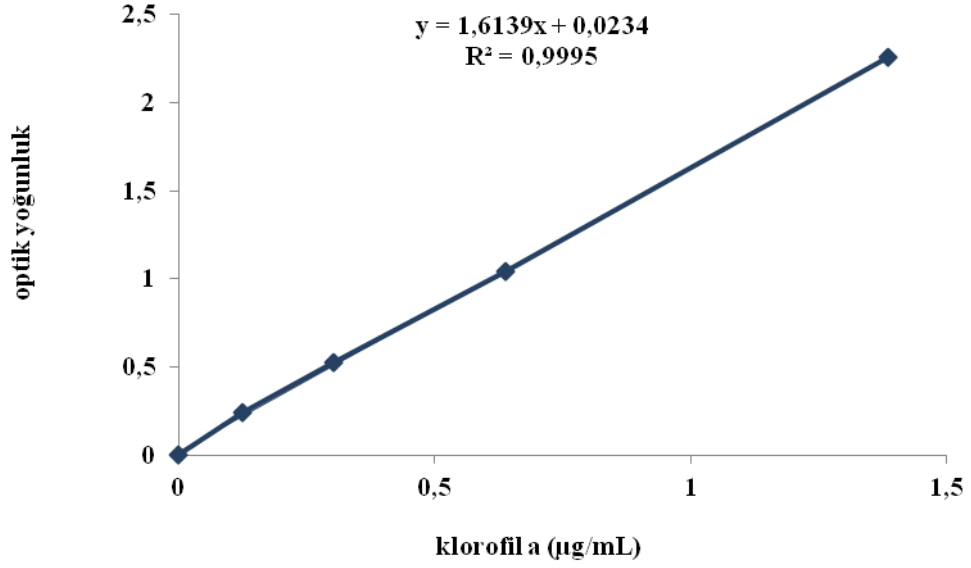
EK 3 *Chlorella* sp. için klorofil (a+b) standardı ve kuru ağırlık standardı

EK 4 Tez çalışmasından üretilmiş bir (1) numaralı yayın

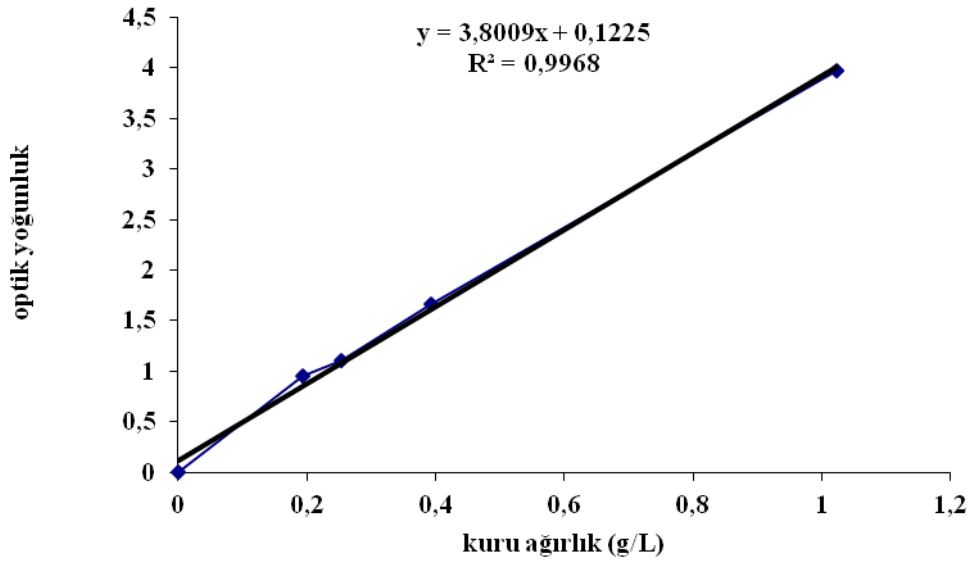
EK 5 Tez çalışmasından üretilmiş iki (2) numaralı yayın

EK 1 *Synechococcus* sp. için klorofil (a+b) standardı ve kuru ağırlık standardı

a

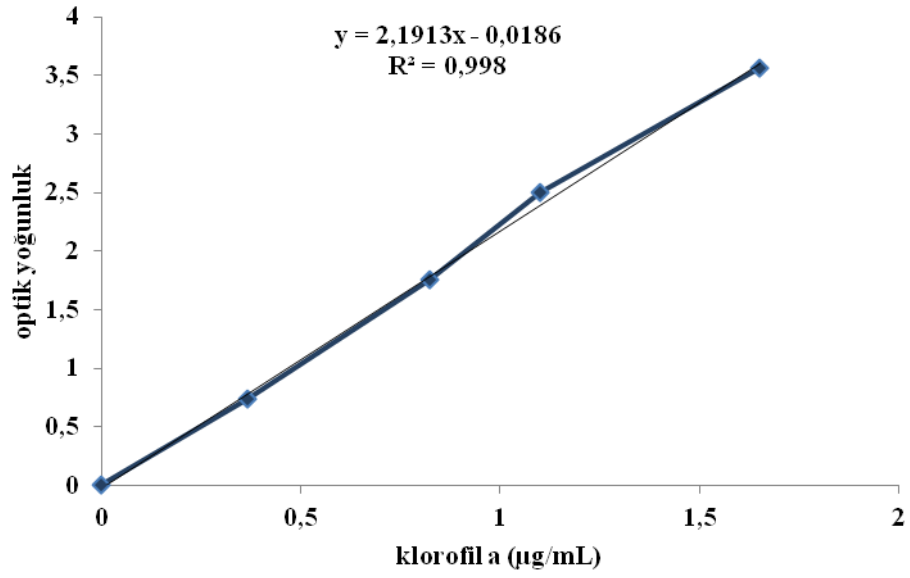


b

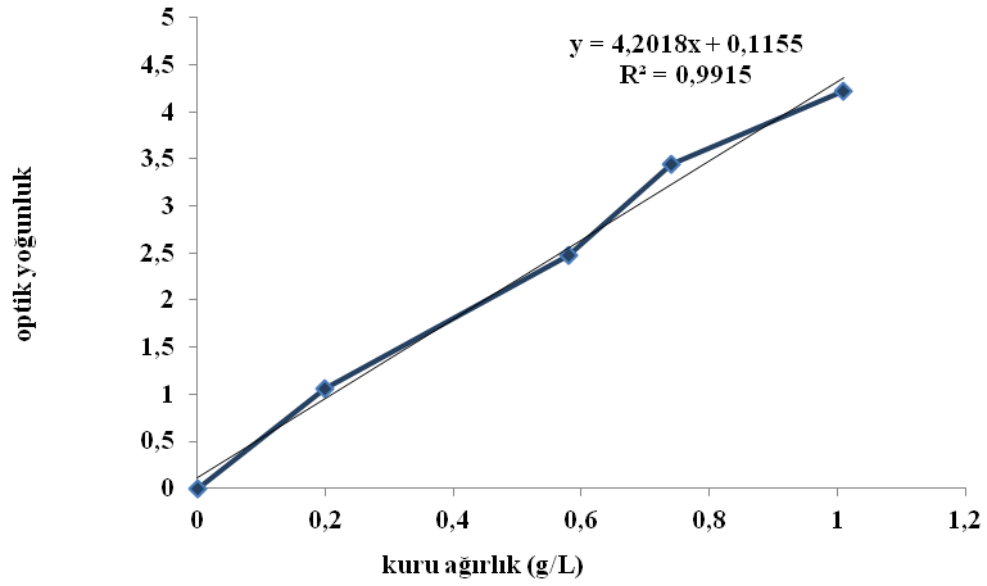


EK 2 *Phormidium* sp. için klorofil (a+b) standardı ve kuru ağırlık standardı

a

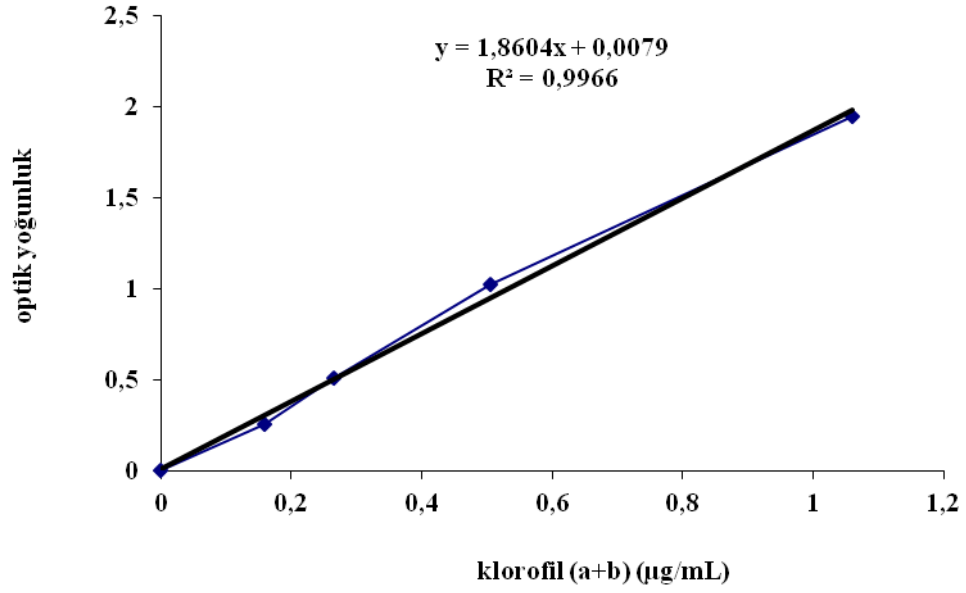


b

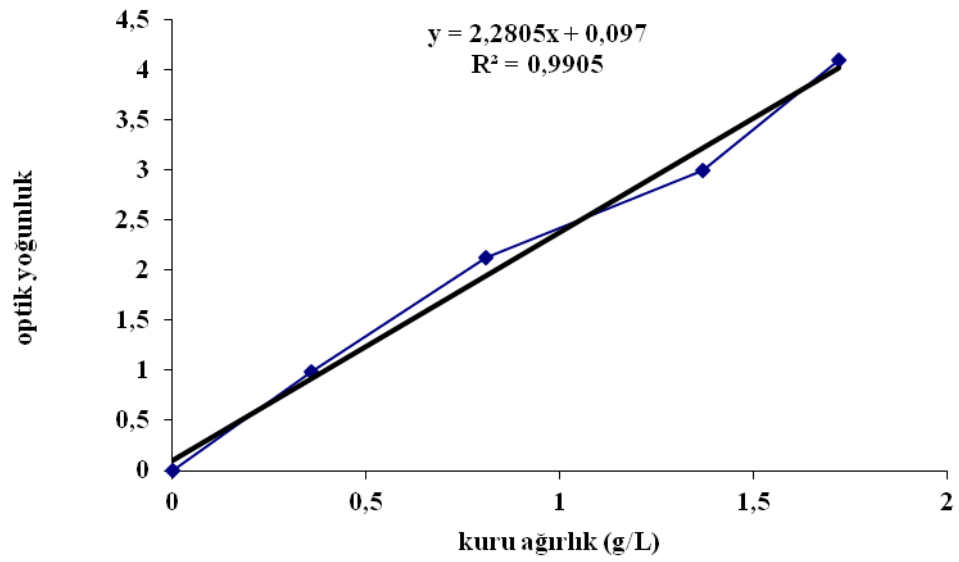


EK 3 *Chlorella* sp. için klorofil (a+b) standardı ve kuru ağırlık standardı

a



b





SO₂ and NO₂ tolerance of microalgae with the help of some growth stimulators

Burcu Ertit Taştan^a, Ergin Duygu^a, Orhan Atakol^b, Gönül Dönmez^{a,*}

^a Ankara University, Faculty of Science, Department of Biology, 06100 Beşevler, Ankara, Turkey

^b Ankara University, Faculty of Science, Department of Chemistry, 06100 Beşevler, Ankara, Turkey

ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 April 2012

Received in revised form 28 May 2012

Accepted 28 May 2012

Keywords:

Air pollution

SO₂

NO₂

Microalgae

Growth stimulators

ABSTRACT

Environmental toxicity of the major acidic pollutants in the flue gas mixtures has long been well known. This study addresses of using *Synechococcus* sp. and *Chlorella* sp. as effective biomaterials in their tolerance to SO₂ and NO₂ and improving their growth and survival by addition of triacontanol (TRIA) and sodium bicarbonate (NaHCO₃) to the culture medium. The cultures were exposed to SO₂ or NO₂ for 10', 15', and 20' periods at the 10th day of incubation. Optimum pH was found as 7.5 for *Synechococcus* sp. and 8.5 for *Chlorella* sp. at 10' exposure to SO₂ or NO₂ gas. Tolerance of both microalgal cultures towards NO₂ was better than SO₂. *Chlorella* sp. had much more tolerance to acidic pollutants than *Synechococcus* sp. Chlorophyll *a* concentration of *Synechococcus* sp. was 0.142 µg/mL at 15' exposure to SO₂, 0.130 µg/mL at 20' exposure to SO₂, 0.296 µg/mL at 15' exposure to NO₂, and 0.142 µg/mL at 20' exposure to NO₂. Chlorophyll (*a* + *b*) concentration of *Chlorella* sp. was 0.667 µg/mL at 15' exposure to SO₂, 0.493 µg/mL at 20' exposure to SO₂, 0.800 µg/mL at 15' exposure to NO₂, and 0.510 µg/mL at 20' exposure to NO₂. This study highlights the potential of using *Synechococcus* sp. and *Chlorella* sp. in tolerance to NO₂ and SO₂ from flue gas mixtures at least.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

As the natural and anthropogenic air pollution has been a major problem throughout the history by emitting pollutants such as carbon (CO_x), sulfur (SO_x), and nitrogen oxides (NO_x), hydrocarbons, trace amounts of heavy metals, particles and aerosols which all have harmful effects on ecosystems. Researchers have been trying to reduce their emissions through various methods [1–4]. Microalgae is known as the organisms having the answer to many of the global problems facing us today, this is the core reason why there is an increasing interest on using microalgae in different areas [5,6]. In recent years, they are also used in studies to remove air pollutants, which have indicated that there was a considerable potential in this field of application [7–9].

One of the key factors in the success of using microalgae for such purposes is their resistance to toxic gases and growth limiting effects of these pollutants present in the aqueous culture media [10]. One of the key factors controlling the response of microalgae to such stress conditions is growth hormones, stimulators and inhibitors [11]. In spite of this fact, the above mentioned recent studies using microalgae in removing air pollutants did not describe any attempt to test the effects of such plant growth control agents on the success of this procedure [7–9].

We found it relevant to test the effects of adding an effective plant growth hormone Triacontanol (TRIA) into culture media, and sodium bicarbonate (NaHCO₃) in order to support the expected higher growth rate. This method of enhancing the tolerance of microalgae to acidic flue gas pollutants might offer an efficient and cost effective way.

TRIA is a long 3-chain 30-carbon primary alcohol (C₃₀H₆₁OH), and it is a natural plant growth hormone, its stimulatory effects on growth, pollutant removal and chlorophyll concentrations have already been proven [12–14]. Since microalgae can fix carbon from different sources ranging from the atmosphere and industrial exhaust gases to soluble carbonate forms, such as NaHCO₃ and Na₂CO₃, and use it in biomass and energy production [15], we used it as an inexpensive carbon source to stimulate the microalgal growth.

Several experimental parameters were designed for the purpose of testing the hypothesis claiming that *Synechococcus* sp. and/or *Chlorella* sp. had a potential for being used in air pollution control processes, especially if their tolerance to highly toxic SO₂ and NO₂ gases could be increased by the suitable concentrations of TRIA and NaHCO₃.

Synechococcus sp. is a unicellular cyanobacterium, about 0.8 to 1.5 µm in diameter, having highly structured cell walls and containing chlorophyll *a* [16]. *Chlorella* sp., on the other hand, is a single cell green algae sizing from 2 to 10 µm. The photosynthetic pigments in *Chlorella* sp. are chlorophyll *a* and *b* at high concentrations, which offers higher photosynthetic capacity compared to

* Corresponding author. Tel.: +90 312 212 6720; fax: +90 312 223 2395.
E-mail address: gdonmez@ankara.edu.tr (G. Dönmez).

other plants. Consequently it requires only water, light, CO_2 and a small amount of minerals for its high multiplication rates [17]. Selection of *Chlorella* sp. was based on previous reports, indicating its great tolerance to high concentrations of dissolved CO_2 [18–20], SO_x and NO_x [7,21]. *Synechococcus* sp. was selected considering its important and promising potential reported in the recent environmental studies [7,22,23], which have not mentioned any attempt to test the SO_2 and NO_2 tolerance of these species under effect of TRIA and NaHCO_3 to the best of our knowledge.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals

Acidic pollutants, SO_2 and NO_2 were prepared by dissolving of Na_2SO_3 (Merck) and NaNO_2 (Merck) in distilled water to a final concentration of 1 mol/L and dropping 37% HCl (Merck). Stock solution of TRIA (96%, w/v; Aldrich) and NaHCO_3 (Merck) were prepared as described in a previous report [14]. Appropriate volumes of the solutions were added into the culture media.

2.2. Microorganisms and culture conditions

A strain of unicellular cyanobacterium *Synechococcus* sp. and unicellular green algae *Chlorella* sp. were obtained from Culture Collection of Biotechnology Research Laboratory, Department of Biology, University of Ankara, Turkey.

A series of batch culture experiments in unshaken flasks illuminated by cool white fluorescent lamps were carried out at $48 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ (2400 lx) light intensity. In all of the experiments, the inoculations were made to ensure the initial biomass concentrations of both of the microalgal cultures were about 0.05 g/L dry weight.

Microorganisms were cultivated in 100 mL BG 11 media [16] containing a series of known concentrations of TRIA and/or NaHCO_3 in 250 mL Erlenmeyer flasks at pH 8.00, and were incubated at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ under continuous illumination for 15 days.

2.3. Gas preparation system

A system was developed to produce SO_2 and NO_2 in laboratory conditions. It was equipped with the necessary instrumentation (Fig. 1). As seen in the figure, the system included one each of 500 mL Erlenmeyer flask, magnetic heat stirrer (Velp Scientifica ARE), heat resistant hose and a 250 mL Erlenmeyer flask containing microalgal culture solution, gum elastic dowel with two holes; acid-inlet and gas-exit ports. The energy requirement of the reaction was provided by the magnetic heat stirrer and HCl was dropped into Na_2SO_3 or NaNO_2 solutions to start the subject reactions. SO_2 or NO_2 produced in the 500 mL Erlenmeyer flask was transferred into the 250 mL Erlenmeyer flask by using standard syringe technique that penetrate 1.0 cm in the culture solution.

2.4. Effect of TRIA and NaHCO_3 concentrations on microalgal biomass production

2.4.1. Single effect

To determine the effect of different initial TRIA concentrations on microalgal growth and chlorophyll concentrations, microalgae were cultivated in media containing 0, 1, 5, 10 and 20 mg/L TRIA. To determine the single effect of NaHCO_3 concentrations, microalgae were cultivated in media containing 0, 34, 43 and 52 mg/L NaHCO_3 . Samples were taken at 5th, 10th and 15th days of incubation period. Each of these experiments was performed in triplicates.

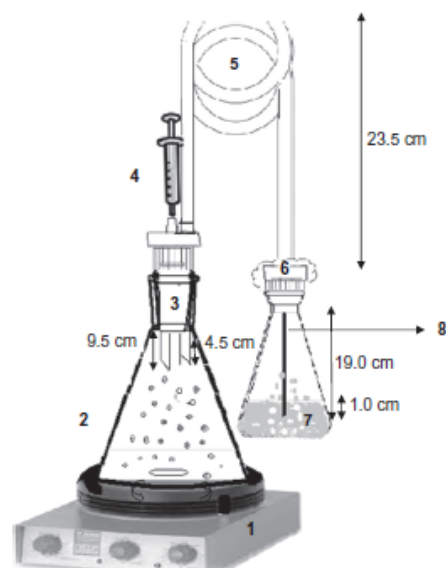


Fig. 1. The diagram of experimental set-up. 1: Magnetic heat stirrer, 2: erlenmeyer flask (500 mL), 3: gum elastic dowel with acid inlet and gas exit ports, 4: syringe, 5: heat resistant hose, 6: gum elastic dowel with cotton, 7: erlenmeyer flask with microalgal culture (250 mL) and 8: needle.

2.4.2. Binary effects

In order to examine the binary effects of the selected effective TRIA and NaHCO_3 concentrations *Synechococcus* sp. was incubated in the media with 1 mg/L TRIA + 34 mg/L NaHCO_3 , and *Chlorella* sp. in media with 1 mg/L TRIA + 43 mg/L NaHCO_3 concentrations. Samples were taken at 5th, 10th and 15th days of incubation period. Each of these experiments was performed in triplicates.

2.5. Effect on the microalgal SO_2 and NO_2 tolerance

2.5.1. Effect of pH

The effect of initial pH values of the culture media on microalgal SO_2 and NO_2 tolerance was investigated at pH 6.5, 7.5, 8.5 and 9.5 by adding 0.1 M H_2SO_4 or 0.1 M NaOH. All of the cultures were exposed to SO_2 or NO_2 10' only on the 10th day of the incubation, which was terminated at the 15th day. Samples were taken on the 11th, 13th and 15th days of the incubation period. Each of these experiments was performed in triplicates.

2.5.2. Effect of exposure time

In order to determine the effect of gas exposure period on microalgal SO_2 and NO_2 tolerance, cultures were inoculated in media containing optimum TRIA and NaHCO_3 concentrations at optimum pH values, and they were incubated for 15 days. Each of the Erlenmeyer flasks was exposed to SO_2 or NO_2 once on the 10th day for 0', 15' and 20'. Samples were taken at the 11th, 13th and 15th days of the incubation. SO_2 or NO_2 control flasks were also prepared. Each of these experiments was performed in triplicates.

2.6. Analytical methods

3 mL samples were taken from each of the flasks for the analysis of the parameters such as optic density, maximum dry weight and specific growth rate and chlorophyll concentrations. Optic density

was measured at 600 nm on a spectrophotometer (Shimadzu UV 2001). Maximum dry weight of microalgae was determined by the measurement of the pellets dried at 80 °C for overnight by using a Nüve FN 400 model sterilizer after centrifugation at 3421x g (5000 rpm) at 10' by using a Hettich EBA12 model centrifuge. Specific growth rate (μ) was calculated according to the equation $\mu = (\ln X_2 - \ln X_1) / (t_2 - t_1)$, X_2 and X_1 : dry cell weight concentrations (g/L) at time t_2 and t_1 , respectively [24]. Chlorophyll *a* concentration was determined at 646.6 nm and chlorophyll *b* at 663.6 nm [25]. The results were presented in terms of μg of chlorophyll per milliliter.

3. Results and discussion

3.1. Effect of initial growth stimulator concentrations on chlorophyll concentrations and growth

Effect of initial TRIA concentrations on microalgal chlorophyll concentrations have been investigated at 0–20 mg/L initial TRIA concentration range and presented in Table 1.

The highest chlorophyll *a* concentration found in *Synechococcus* sp. was two times higher than the control culture samples at 1 mg/L TRIA concentration (0.679 $\mu\text{g/mL}$). When TRIA concentration increased up to 20 mg/L, chlorophyll *a* concentration decreased to 0.487 $\mu\text{g/mL}$. Chlorophyll (*a* + *b*) concentration was 0.530 $\mu\text{g/mL}$ in the control culture samples of *Chlorella* sp., and there was no noticeable difference between samples containing 5–20 mg/L TRIA concentrations. The maximum chlorophyll (*a* + *b*) concentration was 0.720 $\mu\text{g/mL}$ at 1 mg/L TRIA concentration, which was 35.85% higher than control samples.

On the other hand, *Synechococcus* sp. reached its maximum growth yield of 0.288 g/L at 1 mg/L TRIA concentration, which was 101.4% higher than the control samples. There was no difference between the growth yields of the cultures having 5 mg/L and 10 mg/L TRIA concentrations; dry weight of *Synechococcus* sp. was 0.199 g/L at 5 mg/L TRIA and was 0.198 g/L at 10 mg/L TRIA concentrations. Increasing the concentration to 20 mg/L TRIA level could increase the dry weight to 0.207 g/L value in *Chlorella* sp. samples. The maximum dry weight was measured as 0.587 g/L at 1 mg/L TRIA concentration, which was 35.88% higher than the controls, but increasing the TRIA concentration to 20 mg/L caused a sharp decrease down to 0.428 g/L value. In another study, similar dry weight values to the ones presented here were recorded for *Synechocystis* sp. in the same culture media containing 1 and 10 mg/L TRIA, but *Phormidium* sp. had the highest dry weight at 10 mg/L TRIA [13]. This is another example of the different specific responses of taxa to the same external factors and influences.

Table 1
Effect of single TRIA or NaHCO_3 concentration on chlorophyll concentrations ($\mu\text{g/mL}$) of the microalgae spp.

	<i>Synechococcus</i> sp. ^a	<i>Chlorella</i> sp. ^b
Control		
0	0.338 $\pm$ 0.042	0.530 $\pm$ 0.024
TRIA (mg/L)		
1	0.679 $\pm$ 0.011	0.720 $\pm$ 0.090
5	0.470 $\pm$ 0.059	0.552 $\pm$ 0.033
10	0.468 $\pm$ 0.021	0.583 $\pm$ 0.026
20	0.487 $\pm$ 0.046	0.525 $\pm$ 0.039
NaHCO_3 (mg/L)		
34	0.504 $\pm$ 0.040	0.677 $\pm$ 0.074
43	0.409 $\pm$ 0.085	0.852 $\pm$ 0.030
52	0.359 $\pm$ 0.065	0.597 $\pm$ 0.062

Illumination, 48 $\mu\text{mol/m}^2 \text{ s}$ (2400 lx); incubation period, 15 days; T, 25 $\pm$ 2 °C.

^a Chlorophyll *a* in *Synechococcus* sp. samples.

^b Chlorophyll (*a* + *b*) for *Chlorella* sp. samples.

Three different initial NaHCO_3 concentrations ranging from 34 to 52 mg/L were tried to find an optimum level for the maximum microalgal chlorophyll concentration, and found that the presence of the chemical increased the chlorophyll concentrations (Table 1). The highest chlorophyll *a* content in *Synechococcus* sp. cultures was 0.504 $\mu\text{g/mL}$ at 34 mg/L NaHCO_3 concentration, which was 1.5 times higher than the control culture, and decreased to 0.359 $\mu\text{g/mL}$ at 52 mg/L NaHCO_3 concentration. Chlorophyll (*a* + *b*) concentration in *Chlorella* sp. samples increased from 0.530 $\mu\text{g/mL}$ to 0.677 $\mu\text{g/mL}$ when 34 mg/L NaHCO_3 added into the culture media. The maximum chlorophyll (*a* + *b*) concentration was 0.852 $\mu\text{g/mL}$ at 43 mg/L NaHCO_3 concentration. This value was 1.5 times higher than the control culture samples. Increasing the initial NaHCO_3 concentration to 52 mg/L decreased the pigment value to 0.597 $\mu\text{g/mL}$ level.

Synechococcus sp., on the other hand, reached to its 0.214 g/L maximum dry weight at the presence of 34 mg/L NaHCO_3 concentration in parallel to the increase in chlorophyll concentration. Dry weight measurements of *Chlorella* sp. samples showed that NaHCO_3 treatment was more effective in dry weight increase than the TRIA treatments. The maximum dry weight reached to 0.695 g/L at 43 mg/L NaHCO_3 concentration. This was an expected result, considering the need for energy supply to respond to the growth stimulatory effect of the hormone.

Wang et al. [26] found that NaHCO_3 was a suitable C source for the growth of *Chlorella vulgaris*, this finding was also supported by the experimental findings showing that NaHCO_3 was also efficient in increasing boron removal capacity of *Chlorella* sp. [14].

3.2. Binary effects of growth stimulators on chlorophyll concentrations and growth

In the studies on binary effects, 1 mg/L TRIA was selected as optimum concentration for both of the microalgal cultures, but 34 mg/L was used as the optimum NaHCO_3 concentration for *Synechococcus* sp., and 43 mg/L for *Chlorella* sp. These were the values that yielded maximum chlorophyll concentrations in both of the microalgal cultures.

The data given in Fig. 2a and b shows how the presence of both stimulators affected the capacity of chlorophyll concentrations within the specified period. In the samples containing both of TRIA and NaHCO_3 , the maximum chlorophyll concentrations were increased. The maximum chlorophyll *a* concentration of *Synechococcus* sp. control samples reached to 0.338 $\mu\text{g/mL}$ in 15 days. Addition of TRIA + NaHCO_3 to the samples shortened the required incubation period for reaching a higher yield of 0.468 $\mu\text{g/mL}$ to 5 days. The maximum chlorophyll *a* concentration values were 0.679, 0.504 and 0.359 $\mu\text{g/mL}$ at 1 mg/L TRIA, 34 mg/L NaHCO_3 and 1 mg/L TRIA + 34 mg/L NaHCO_3 at the 15th day, respectively.

As it can be clearly seen in Fig. 2b, *Chlorella* sp. control samples could reach to the maximum chlorophyll (*a* + *b*) concentration of 0.530 $\mu\text{g/mL}$ in 15 days, approximately 30% slower than 1 mg/L TRIA samples, which had 0.537 $\mu\text{g/mL}$ chlorophyll (*a* + *b*) within 10 days. 43 mg/L NaHCO_3 containing samples attained to 0.583 $\mu\text{g/mL}$ level within 10 days only. The maximum chlorophyll (*a* + *b*) concentration was measured in the 1 mg/L TRIA + 43 mg/L NaHCO_3 samples as 0.700 $\mu\text{g/mL}$ on the 10th day of the experiment, which finally increased to 0.975 $\mu\text{g/mL}$.

The results of maximum chlorophyll concentration, specific growth rate (μ) and maximum dry weight measurements after 15 days of incubation are presented in Table 2. There was a little difference between the specific growth rates of *Synechococcus* sp. samples containing one of the growth stimulating agents used. The minimum μ was 0.140 1/d at 34 mg/L NaHCO_3 , and the maximum specific growth rate was 0.162 1/d at 1 mg/L TRIA concentration. On the other hand, specific growth rates of *Chlorella* sp.

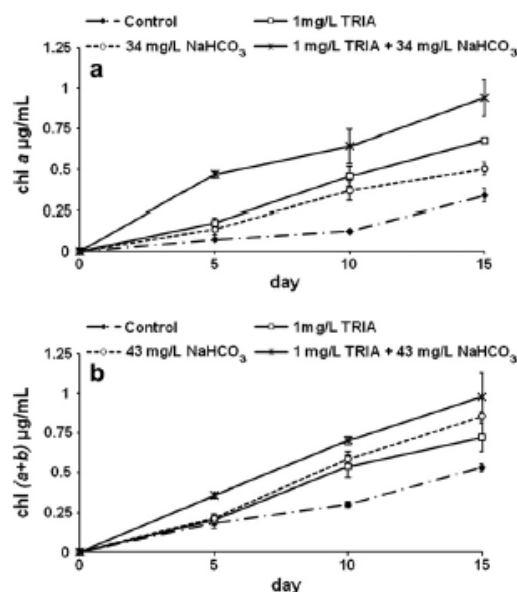


Fig. 2. Single and binary effects of selected TRIA and NaHCO_3 concentrations on chlorophyll concentrations ($\mu\text{g/mL}$). (a) *Synechococcus* sp. and (b) *Chlorella* sp. (illumination, $48 \mu\text{mol/m}^2 \text{ s}$ (2400 lx); incubation period, 15 days; $T, 25 \pm 2^\circ\text{C}$).

Table 2
Single and binary effects of a range of TRIA and NaHCO_3 concentrations on chlorophyll concentrations ($\mu\text{g/mL}$), specific growth rate μ (1/d) and dry weight X (g/L).

	chl ($\mu\text{g/mL}$) ^a	μ (1/d)	X (g/L)
<i>Synechococcus</i> sp.			
1 mg/L TRIA	0.679 ± 0.011	0.162 ± 0.001	0.296 ± 0.005
34 mg/L NaHCO_3	0.504 ± 0.040	0.140 ± 0.005	0.214 ± 0.017
1 mg/L TRIA + 34 mg/L NaHCO_3	0.939 ± 0.111	0.145 ± 0.007	0.440 ± 0.047
<i>Chlorella</i> sp.			
1 mg/L TRIA	0.720 ± 0.090	0.176 ± 0.009	0.588 ± 0.074
43 mg/L NaHCO_3	0.852 ± 0.030	0.165 ± 0.002	0.695 ± 0.024
1 mg/L TRIA + 43 mg/L NaHCO_3	0.975 ± 0.020	0.178 ± 0.001	0.781 ± 0.017

Illumination, $48 \mu\text{mol/m}^2 \text{ s}$ (2400 lx); incubation period, 15 days; $T, 25 \pm 2^\circ\text{C}$.

^a Chlorophyll *a* in *Synechococcus* sp. samples. Chlorophyll (*a* + *b*) for *Chlorella* sp. samples.

was a bit higher than *Synechococcus* sp. The maximum specific growth rate was 0.178 1/d, and the maximum dry weight was 0.781 g/L in the 1 mg/L TRIA + 43 mg/L NaHCO_3 samples. Taking all of the results with their standard deviations into consideration clearly showed that TRIA + NaHCO_3 samples were the most suitable ones regardless of the two microalgal genera studied, as they had higher chlorophyll concentrations, specific growth rates and maximum dry weight accumulation. For this reason all of further experiments were performed in media containing TRIA + NaHCO_3 .

3.3. Effect of initial pH on microalgal gas tolerance

One of the most important environmental factors influencing not only growth of microorganisms but also solution chemistry is pH. Fig. 3a and b shows the pH effect on chlorophyll *a* concentration of *Synechococcus* sp.

The maximum chlorophyll *a* concentrations measured under the effect of SO_2 were 0.284, 0.195 and 0.195 $\mu\text{g/mL}$ at pH 6.5, 8.5 and 9.5, respectively. *Synechococcus* sp. had much higher tolerance to NO_2 than SO_2 . Chlorophyll *a* concentrations in the presence of NO_2 were 0.621, 0.906 and 0.966 $\mu\text{g/mL}$ at pH 6.5, 8.5 and 9.5, respectively. *Synechococcus* sp. showed much higher tolerance to both of the gases at pH 7.5. The maximum chlorophyll *a* concentration was 0.693 $\mu\text{g/mL}$ at pH 7.5 under the effect of SO_2 and was 1.166 $\mu\text{g/mL}$ at pH 7.5 in the presence of NO_2 at the 15 days of incubation period.

The data given in Fig. 3c and d shows the effect of pH on chlorophyll (*a* + *b*) concentrations of *Chlorella* sp. Chlorophyll (*a* + *b*) concentrations were 0.580, 0.312, 0.789 and 0.559 $\mu\text{g/mL}$ for SO_2 at pH 6.5, 7.5, 8.5 and 9.5, respectively. The culture also showed much more tolerance to NO_2 . Chlorophyll (*a* + *b*) concentrations for NO_2 increased from 0.74 $\mu\text{g/mL}$ at pH 6.5 to 0.860 $\mu\text{g/mL}$ at pH 7.5 and then decreased to 0.774 $\mu\text{g/mL}$ at pH 9.5. The maximum chlorophyll (*a* + *b*) concentration was 0.927 $\mu\text{g/mL}$ at pH 8.5. Optimum pH for both SO_2 and NO_2 experiments was selected as 8.5 for *Chlorella* sp.

Radmann et al. [7] reported in their study on biofixation of CO_2 that pH was directly related with inorganic carbon availability in media, and they found the highest *S. nidulans* biomass at the 8.0 to 9.0 pH range. On the other hand, de Morais and Costa [20] have pointed out that increase in biomass was closely related with the pH value. The highest biomass concentration of *C. kessleri* was obtained at pH 8.0 in their study on biofixation of CO_2 .

3.4. Effect of exposure time on microalgal tolerance of toxic gas effects

As known very well, exposure time has a substantial impact on the intensity of hazardous gases, which may vary from minutes to hours. The impact is known to be closely related with the quantity of biomass and the specific responsiveness of the target material.

To find the maximum exposure time that microalgae could tolerate, experiments covering 0', 15' and 20' exposures were performed. It was expected and recorded that when exposure time was increased, chlorophyll concentrations in both microalgal cultures decreased (Fig. 4a–d). As shown in Fig. 4a, in the SO_2 or NO_2 blank samples chlorophyll concentration of *Synechococcus* sp. increased from 0.795 $\mu\text{g/mL}$ at 11th day to 0.939 $\mu\text{g/mL}$ at 15th day.

The effect of SO_2 at 15' and 20' exposures were found to be more noticeable than the comparable effects of NO_2 . Chlorophyll *a* concentration at 15' SO_2 exposure time was 0.373 $\mu\text{g/mL}$ at 11th day of the experiment and decreased to 0.142 $\mu\text{g/mL}$ at 15th day, showed a rapid inhibition afterwards. Measured chlorophyll *a* concentration at 20' SO_2 exposure time was 0.130 $\mu\text{g/mL}$. It was close to the 0.142 $\mu\text{g/mL}$ values found in samples exposed to SO_2 for 15' exposure time on 15th day.

Fig. 4b shows the effect of different exposure times of NO_2 for *Synechococcus* sp. As seen in this figure, chlorophyll *a* concentration at 15' NO_2 samples was 0.420 $\mu\text{g/mL}$ on the 11th day of the experiment, and finally decreased to 0.296 $\mu\text{g/mL}$. Chlorophyll *a* concentration was 0.142 $\mu\text{g/mL}$ in the samples exposed to NO_2 for 20' time on the 15th day of the experiment.

The experiments showed that 20' exposure to SO_2 or NO_2 could significantly inhibit the growth of *Synechococcus* sp., and the effect on *Chlorella* sp. was less than *Synechococcus* sp. (Fig. 4c and d). Chlorophyll (*a* + *b*) concentration at 15' exposure to SO_2 was 0.766 $\mu\text{g/mL}$ on the 11th day and finally decreased to 0.667 $\mu\text{g/mL}$ on the 15th day. The cultures were significantly more tolerant to SO_2 at 15' exposure time than 20'. As it can easily be seen in Fig. 4c, comparison of the control cultures showed that photosynthetic inhibition in *Chlorella* sp. was less remarkable than *Synechococcus* sp.

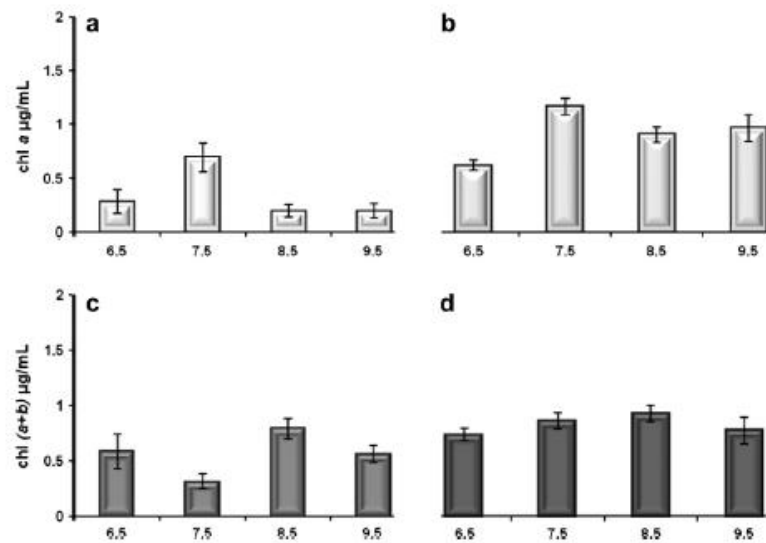


Fig. 3. Effect of initial pH values on chlorophyll concentrations of *Synechococcus* sp. and *Chlorella* sp. after 15 days of incubation [exposing time 10'; illumination $48 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ (2400 lx)]. (a) *Synechococcus* sp. - SO_2 , (b) *Synechococcus* sp. - NO_2 , (c) *Chlorella* sp. - SO_2 , (d) *Chlorella* sp. - NO_2 .

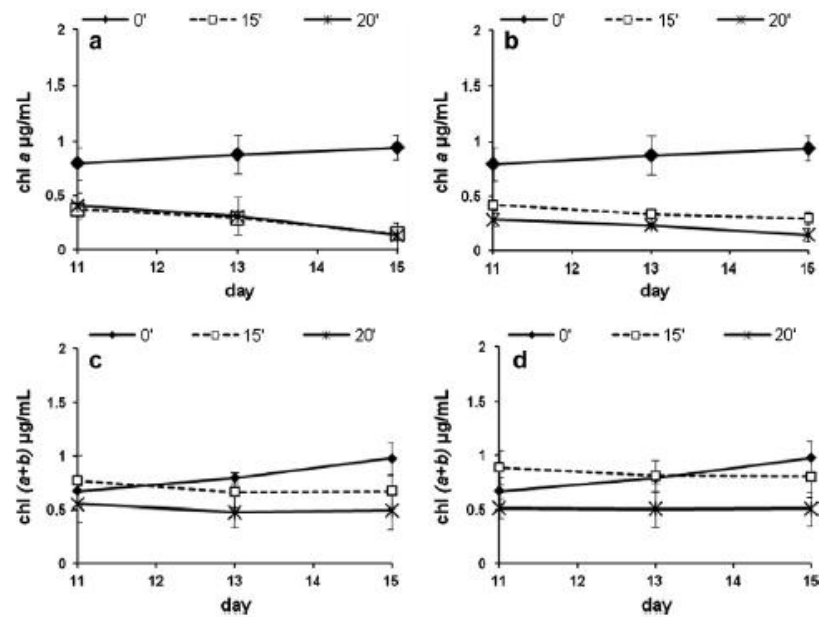


Fig. 4. Effect of the 0', 15', 20' exposures to SO_2 and NO_2 on chlorophyll concentrations after 15 days of incubation [illumination, $48 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ (2400 lx)]. (a) *Synechococcus* sp. - SO_2 , (b) *Synechococcus* sp. - NO_2 , (c) *Chlorella* sp. - SO_2 , (d) *Chlorella* sp. - NO_2 .

As presented in Fig. 4c and d, the photosynthetic inhibition exerted by SO_2 was more noticeable than NO_2 . Chlorophyll (a + b) concentration at 15' NO_2 exposure time was $0.886 \mu\text{g}/\text{mL}$ on the 11th day, and decreased to $0.800 \mu\text{g}/\text{mL}$ on the 15th day of the

incubation. The comparable decrease at 20' NO_2 exposure time was from $0.513 \mu\text{g}/\text{mL}$ to $0.510 \mu\text{g}/\text{mL}$ only.

The results obtained in the present study indicate that the inhibition exerted by SO_2 or NO_2 treatments were found to differ in one

Table 3
Effect of the exposure time to SO₂ or NO₂ on the dry weight (g/L) of the microalgae.

Gas	Exposure time	<i>Synechococcus</i> sp.	<i>Chlorella</i> sp.
Control	0'	0.399 ± 0.047	0.795 ± 0.016
SO ₂	10'	0.396 ± 0.059	0.756 ± 0.088
	15'	0.060 ± 0.018	0.544 ± 0.132
	20'	0.055 ± 0.034	0.402 ± 0.140
NO ₂	10'	0.496 ± 0.032	0.888 ± 0.035
	15'	0.126 ± 0.026	0.652 ± 0.155
	20'	0.060 ± 0.026	0.416 ± 0.138

Illumination, 48 μmol/m² s (2400 lx); incubation period, 15 days; T, 25 ± 2 °C.

strain to another, confirming the earlier findings reported by Lee et al. [27]. They showed the differences in the effect of SO₂ on the cultures of *Chlorella* KR-1, *Chlorella* HA-1 and *Chlorococcum littorale* strains. In another study, de Moraes and Costa [20] used *C. kessleri* and *Scenedesmus obliquus* for biofixation of CO₂. They demonstrated that *C. kessleri* showed a higher specific growth rate and biomass productivity than *S. obliquus*.

Table 3 presents a summary of the results of dry weight measurements at the end of 15 days of incubation. As it is noticeable in the table, *Synechococcus* sp. was comparatively more sensitive to both of the gases than *Chlorella* sp. Dry weight of the *Synechococcus* sp. samples decreased from 0.396 g/L to 0.055 g/L, when SO₂ exposure time increased from 10' to 20'. The final value, on the other hand, was 86.21% lower than of the control culture. The maximum dry weight of *Synechococcus* sp. was 0.496 g/L at 10' exposure to NO₂, which was 24.31% higher than dry weight of the control samples. These data suggest again that *Synechococcus* sp. exhibited excellent tolerances to NO₂ at shorter exposure times. Minimum dry weight was 0.060 g/L at 20' NO₂ exposure time, which was the same with 15' exposure time to SO₂. These figures were 84.96% lower than of the control culture samples. In the study conducted by Radmann et al. [7], which used *S. nidulans* and *C. vulgaris* in biofixation of CO₂ in tubular-type sealed photobioreactors with 60 ppm SO₂ and 100 ppm NO, the maximum biomass was 0.41 g/L and 0.98 g/L and μ was <0.001 1/day and 0.26 1/day for *S. nidulans* and *C. vulgaris*, respectively and growth inhibition was observed in *S. nidulans* samples. According to findings of Radmann et al. [7] *Chlorella* showed a more resistant to toxic gases than *Synechococcus* as in our present study.

Dry weight of the *Chlorella* sp. sample was 0.756 g/L at 10' exposure to SO₂, which was 4.9% lower than the value measured in the control culture, and it decreased further to 0.544 g/L and then to 0.402 g/L when SO₂ exposure time increased to 15' and 20', respectively. The maximum decrease at the 20' exposure time was 49.43% lower than the controls. The maximum dry weight was 0.888 g/L at 10' NO₂ exposure time, which was 11.70% higher than the control culture and decreased to 0.416 g/L when exposure time increased to 20'. Both of the microalgal cultures tested in this study tolerated NO₂ better than SO₂. Photosynthesis was less sensitive to the presence of NO_x than SO_x. This might support the growth and survival of microalgae. Our results are supported by the study of Caporn et al. [28]. They exposed to *Calluna vulgaris* plants to NO₂ and SO₂ and they showed that +37% increases were occurred in the growth of shoots and +15% in the whole plant and also dry matter in comparison with control plants. In another previous study Lee et al. [21] reported that *Chlorella* KR-1 exhibited excellent tolerances to 60 ppm SO_x, higher than the other tested strains, and the linear growth rate was 25% lower than the control culture, but the linear growth rate was almost the same as the control culture at the presence of 100 ppm NO. They also reported without presenting the data that, when the initial cell concentration was 0.3 g/L, *Chlorella* KR-1 showed excellent growth at the simulated

flue gas containing 100 ppm SO₂ and 300 ppm NO, respectively. In our study *Chlorella* sp. showed good tolerance to both of SO₂ and NO₂ gases, while the initial cell concentration of samples were about 0.05 g/L. Similar findings were reported previously, in which *Chlorella* KR-1 was cultured with the simulated flue gas containing 150 ppm SO₂ [27]. Complete suppression of microalgal growth was observed with an initial cell concentration of 0.1 g/L, which was 2 times higher than our 0.05 g/L initial cell concentration. They increased the initial cell concentration to 0.5 g/L, which was 10 times higher than the concentration used in the present study. Dry weight of *Chlorella* KR-1 was found to be in 4 and 5 g/L range in their study at the end of the 70 h. The maximum dry weight of *Chlorella* sp. was found as 0.756 g/L, and the minimum was 0.402 g/L at the exposure of SO₂ in the present study. In our case, the differences in the responsiveness of *Synechococcus* sp. and *Chlorella* sp. can be explained in terms of their cytological differences. As known well, *Synechococcus* sp. is prokaryotic; *Chlorella* sp. is eukaryotic microorganisms, which possess important differences in cellular organization related also with photosynthetic productivity. Chlorophyll molecules are not organized in chloroplasts in the *Synechococcus* spp, as they are in *Chlorella* spp. [29]. The protection of the higher level of organization by the membranes of chloroplast organel structure point to the higher resistance to acidic destruction by the solutions formed by the subject gases.

4. Conclusions

The success of a different approach to the use of *Synechococcus* sp. or *Chlorella* sp. cultures under effect of SO₂ and NO₂ gases by increasing their tolerance to the acidic compounds formed in the aqueous media by adding a growth stimulator and a carbon source was investigated for the first time. Our results demonstrate not only the possibility of decreasing the inhibitory effect of SO₂ and NO₂, but also the stimulatory effects of these agents on survival, photosynthesis and growth of the tested algae, as summarized below:

- Our experiments pointed out that lower expose levels of these acidic pollutants can be significantly tolerated by both of these microalgal cultures by means of adding the growth stimulating agents tested.
- The attempt to compare these pro- and eukaryotic microalgae species for their performance in this process showed that the tolerance of eukaryotic *Chlorella* sp. to acidic pollutants was higher than the prokaryotic *Synechococcus* sp.
- NO₂ did not exert a totally negative effect on the organisms tested; as a matter of fact, it acted as an auxiliary agent supporting the growth of microalgal cultures at lower exposure time intervals.
- Effects of different parameters were studied by using a gas producing and transferring system, which was designed to have the advantages of being an easily assembled one, by using only inexpensive and readily available units and components. Additionally, it is a versatile system that can be used at any laboratory without any running cost for the production and transfer of different gases.
- Our experiments pointed out that lower expose levels of acidic pollutants can be significantly tolerated by both of the microalgal culture by means of growth stimulators.

Acknowledgement

The authors are grateful to the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK-BİDEB) for financial support.

References

- [1] Onda K, Kasuga Y, Kato K, Fujiwara M, Tanimoto M. Electric discharge removal of SO₂ and NO_x from combustion flue gas by pulsed corona discharge. *Energy Convers Manage* 1997;38:1377–87.
- [2] Gnanaprasam N, Reddy B, Rosen M. Reducing CO₂ emissions for an IGCC power generation system: effect of variations in gasifier and system operating conditions. *Energy Convers Manage* 2009;50:1915–23.
- [3] Peng Y, Zhao B, Li L. Advance in post-combustion CO₂ capture with alkaline solution: a brief review. *Energy Procedia* 2012;14:1515–22.
- [4] Fine P, Hadas E. Options to reduce greenhouse gas emissions during wastewater treatment for agricultural use. *Sci Total Environ* 2012;416:289–99.
- [5] Doušková I, Kaštánek F, Maléterová Y, Kaštánek P, Douda J, Zachleder V. Utilization of distillery stillage for energy generation and concurrent production of valuable microalgal biomass in the sequence. *Biogas-cogeneration-microbial-products*. *Energy Convers Manage* 2010;51:606–11.
- [6] de-Bashan LE, Bashan Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects. *Biore Technol* 2010;101:1611–27.
- [7] Radmann EM, Camerini FV, Santos TD, Costa JAV. Isolation and application of SO_x and NO_x resistant microalgae in biofixation of CO₂ from thermoelectricity plants. *Energy Convers Manage* 2011;52:3132–6.
- [8] Jacob-Lopes E, Scoparo CHG, Queiroz MI, Franco TT. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. *Energy Convers Manage* 2010;51:894–900.
- [9] Murray KE, Shields JA, Garcia ND, Healy FG. Productivity, carbon utilization, and energy content of mass in scalable microalgae systems. *Biore Technol* 2012;114:499–506.
- [10] Bilanovic D, Holland M, Armon R. Microalgal CO₂ sequestering – modeling microalgae production costs. *Energy Convers Manage* 2012;58:104–9.
- [11] Yoshida K, Igarashi E, Wakatsuki E, Miyamoto K, Hirata K. Mitigation of osmotic and salt stresses by abscisic acid through reduction of stress-derived oxidative damage in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Sci* 2004;167:1335–41.
- [12] Naeem M, Khan MMA, Moineddin, Siddiqui MH. Triantanol stimulates nitrogen-fixation, enzyme activities, photosynthesis, crop productivity and quality of hyacinth bean (*Lablab purpureus* L.). *Sci Horti-Amsterdam* 121 (2009) 389–96.
- [13] Karacakaya P, Kılıç NK, Duygu E, Dönmez G. Stimulation of reactive dye removal by cyanobacteria in media containing triantanol hormone. *J Hazard Mater* 2009;172:1635–9.
- [14] Taştan BE, Duygu E, Dönmez G. Boron bioremoval by a newly isolated *Chlorella* sp. and its stimulation by growth stimulators. *Water Res* 2012;46:167–75.
- [15] Wang B, Li Y, Wu N, Lan CQ. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *App Microbiol Biotechnol* 2008;79:707–18.
- [16] Rippka R. Recognition and identification of cyanobacteria. *Methods Enzymol* 1988;167:28–67.
- [17] Kanno T. *Chlorella vulgaris* and *Chlorella vulgaris* extract (CVE). North Orem, Utah: Woodland Publishing; 2005.
- [18] Sung K-D, Lee J-S, Shin C-S, Park S-C, Choi M-J. CO₂ fixation by *Chlorella* sp. KR-1 and its cultural characteristics. *Biore Technol* 1999;68:269–73.
- [19] Yue L, Chen W. Isolation and determination of cultural characteristics of a new highly CO₂ tolerant fresh water microalgae. *Energy Convers Manage* 2005;46:1868–76.
- [20] de Moraes MG, Costa JAV. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. *Energy Convers Manage* 2007;48:2169–73.
- [21] Lee J-S, Kim D-K, Lee J-P, Park S-C, Koh J-H, Cho H-S, et al. Effects of SO₂ and NO on growth of *Chlorella* sp. KR-1. *Biore Technol* 2002;82:1–4.
- [22] Tiwari A, Pandey A. Cyanobacterial hydrogen production – a step towards clean environment. *Int J Hydrogen Energy* 2012;37:139–50.
- [23] Chu TC, Murray SR, Todd J, Perez W, Varborough JR, Okafor C, et al. Adaption of *Synechococcus* sp. BJ 625 to growth in the presence of mercuric chloride. *Acta Histochem* 2012;114:6–11.
- [24] Ip P-F, Chen F. Production of astaxanthin by the green microalga *Chlorella zofingensis* in the dark. *Process Biochem* 2005;40:733–8.
- [25] Porra RJ, Thompson WA, Kreidemann PE. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim Biophys Acta* 1989;975:384–94.
- [26] Wang H-M, Fan J-L, Chen C-Y, Chiu C-C, Yang M-H, Chang H-W, et al. Identification of anti-lung cancer extract from *Chlorella vulgaris* C-C by antioxidant property using supercritical carbon dioxide extraction. *Process Biochem* 2010;45:1865–72.
- [27] Lee JN, Lee JS, Shin CS, Park SC, Kim SW. Methods to enhance tolerances of *Chlorella* KR-1 to toxic compounds in flue gas. *Appl Biochem Biotechnol* 2000;84–86:329–42.
- [28] Caporn SJM, Ashenden TW, Lee JA. The effect of exposure to NO₂ and SO₂ on frost hardiness in *Galium vulgare*. *Environ Exp Bot* 2000;43:111–9.
- [29] Zazubovich V, Matsuzaki S, Johnson TW, Hayes JM, Chittis PR, Small GJ. Red antenna states of photosystem I from cyanobacterium *Synechococcus elongatus*: a spectral hole burning study. *Chem Phys* 2002;275:47–59.

EK 5 Tez çalışmasından üretilmiş iki (2) numaralı yayın

Journal of Hazardous Materials 246–247 (2013) 173–180



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Journal of Hazardous Materials

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jhazmat



Utilization of LPG and gasoline engine exhaust emissions by microalgae

Burcu Ertit Taştan^a, Ergin Duygu^a, Mustafa İlbaş^b, Gönül Dönmez^{a,*}

^a Department of Biology, Faculty of Science, Ankara University, 06100, Beşevler, Ankara, Turkey

^b Department of Energy System Engineering, Faculty of Technology, Gazi University, 06500, Teknikokullar, Ankara, Turkey

HIGHLIGHTS

- Real effects of LPG/GSN exhaust emissions on microalgae were tested.
- TRIA and SA were improved reduction efficiency of emissions and microalgal growth.
- Both of the microalgal cultures showed higher growth rates at GSN than LPG.
- Maximum dry weight after 15th days was 1.331 g/L for *Phormidium* sp. under the GSN.
- Maximum dry weight of *Chlorella* sp. after 15th days was 1.636 g/L under the GSN.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 June 2012

Received in revised form

13 November 2012

Accepted 15 November 2012

Available online xxx

Keywords:

Air pollution

Microalgae

Fuel

Engine exhaust emissions

Growth factors

ABSTRACT

The effect of engine exhaust emissions on air pollution is one of the greatest problems that the world is facing today. The study focused on the effects of realistic levels of engine exhaust emissions of liquid petroleum gas (LPG) and gasoline (GSN) on *Phormidium* sp. and *Chlorella* sp. Multi parameters including pH, different media compositions, fuel types, flow rates and biomass concentrations were described in detail. Effects of some growth factors such as triacontanol (TRIA) and salicylic acid (SA) have also been tested. The maximum biomass concentration of *Phormidium* sp. reached after 15 days at 0.36 and 0.15 g/L initial biomass concentrations were found as 1.160 g/L for LPG emission treated cultures and 1.331 g/L for GSN emission treated cultures, respectively. The corresponding figures were 1.478 g/L for LPG emission treated cultures and 1.636 g/L for GSN emission treated cultures at 0.65 and 0.36 g/L initial *Chlorella* sp. biomass concentrations. This study highlights the significance of using *Phormidium* sp. and *Chlorella* sp. for utilization of LPG and GSN engine exhaust emissions by the help of growth factors.

© 2013 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

There is a growing concern over the impact of road traffic related air pollution in urban areas and general contribution to sera gas accumulation levels. O₂, CO₂, NO_x, SO_x, CO, HCs, heavy metals and other compounds are products of exhausts gas from combustion. CO is a product of incomplete combustion, and use of vehicles

increases the risk potential of reaching dangerous levels of CO concentration. On the other hand hydrocarbons such as methane and butane are the other products of incomplete combustion. Alkanes, alkenes, aromatics, aldehydes and ketones are sorts of them [1]. Their toxic effects on ecological and environmental systems have been reported by many researchers [2–4]. CO₂ is known as the most important greenhouse gases and its emissions by vehicles have become so serious over the last 25 years. Gasoline consumption and CO₂ emission per 100 km driven was calculated as 5.47 kg-gasoline and 21.1 kg-CO₂, respectively [5]. Therefore the efforts to find solutions to problem have lead scientists and engineers to study on

* Corresponding author. Tel.: +90 312 212 67 20; fax: +90 312 223 23 95.
E-mail address: gdonmez@ankara.edu.tr (G. Dönmez).

utilization of emissions and sequestration of the accumulated CO₂ at atmosphere.

The application of microalgae has been rapidly increasing due to their biotechnological potential and one of the most common microalgal research areas is environmental technology [1,6]. To date, many researchers have focused on the use of simulated flue gas containing CO₂ by microalgae [1,7]. Although, the effects of engine exhaust on plants have been rarely reported in scientific literature [8,9], there is no report available concerning such effects on microalgae in our best knowledge. Therefore we should consider the effects of “real” engine exhausts based on liquefied petroleum gas (LPG) or gasoline (GSN) on microalgae. Additionally, besides CO₂, emissions can contain many different compounds which can cause toxic effects on microalgae. An aspect of importance we also addressed the effects of growth factors to increase growth, and resistance.

One of the growth factors used for this purpose is triacontanol (TRIA); a long 3 chain 30 carbon primary alcohols (C₃₀H₆₁OH), which is known as a natural plant growth hormone [10]. It has been proven that TRIA increased photosynthesis and growth rates [11], boron removal capacity [12], stimulated nitrogen fixation and enzyme activities [13]. Another plant growth regulator, SA is a well-known type of phenolic acid, which is known to be an important signal molecule, resistance inducer and growth stimulator [14].

It is hypothesized in this study that some microalgal species might be used as effective biomaterials in utilization of exhaust emissions and their adaptation and stress resistance might be increased with growth factors. The possibility of neutralizing the inhibitory effects of the toxic gases in engine exhaust gas mixture by the help of growth factors, selecting the appropriate microalgal materials and determine the optimal conditions were the principal aim of the present study. *Phormidium* sp. was selected, based on its strong removal capacity toward a wide range of pollutants [15] *Chlorella* sp. was selected as its excellent growth and resistance to high concentrations of SO₂ and NO₂ with the help of TRIA and NaHCO₃ [16], its high stabilities at high concentrations of CO₂ and other pollutants [17–19] have already been documented. The relevancy of testing the effects of real engine exhaust emissions on the proposed target was taken into consideration, as it has not been investigated previously. Some other parameters were also followed in order to reach to higher performance levels.

2. Materials and methods

2.1. Microorganism and culture conditions

Phormidium sp., a strain of filamentous Cyanobacterium, was isolated from a hot spring located in Ayaş, Ankara, Turkey [20] and *Chlorella* sp. was isolated from water supply located in Sorgun, Yozgat, Turkey [12] were used in this study. A series of batch culture experiments in unshaken flasks illuminated by cool white fluorescent lamps were carried out at 48 µmol/m² s (2400 lx) light intensity. Microalgal culture transferred into 100 mL BG11 medium [21] in 250 mL Erlenmeyer flasks and incubated at 25 ± 2 °C under continuous illumination for 15 days. The medium was inoculated with 0.15 g/L exponentially growing cultures.

2.2. Triacontanol and salicylic acid solutions

TRIA (96% w/v; Aldrich) solution was prepared by dissolving 0.5 g of the chemical in 1 L chloroform. Desired volume of TRIA was added to BG11 media by diluting TRIA solution. SA solution was prepared by dissolving 25, 50 and 75 mg of the SA in 1 L BG11 medium. Desired volume of SA was added to BG11 media by diluting SA solution.

Table 1

Properties of engine.

Type of motor	K4M-BVA
Brand name of motor	Renault 1.6 16V
Diameter of piston × strok (mm)	795 × 805
Cylinder volume (cm ³)	1598

2.3. Experimental set-up for exhaust gas sampling

A model of light-duty engine was selected in our study, as a representative of current engines in European made road vehicles. The specifications of the selected Renault engine are presented in Table 1. The 1.6 16V engine supplied by Renault (Bursa, Turkey). Exhaust emissions of the engines running on LPG or GSN were collected in pressured containers (Schütt Labortechnik D-37079) with the help of a compressor (Turk Electric AE 136 AD) which was adequately equipped with the necessary instrumentation. The evaluated engine regime was idling condition. Exhaust emissions were monitored with a MGA 1200 model gas analyzer and Testo 350-XL flue gas analyzer in University of Gazi, Faculty of Technology, Department of Automotive Engineering (Table 2). Collected LPG and GSN exhaust samples were transferred from pressured containers into microalgal culture solutions with heat resistant silicone pipes minute by minute.

2.4. Effect of pH on microalgal growth

To examine the effect of initial pH on maximum growth of microalgal cultures, pH level of media was adjusted to 6.5, 7.5, 8.5, and 9.5 with addition of 0.1 M H₂SO₄ and 0.1 M NaOH and cultures were incubated for 15 days. Each of these experiments was performed in triplicate.

2.5. Effect of growth factors on microalgal growth

To determine the single effect of initial TRIA and SA concentrations on maximum growth of microalgae; 1, 5, 10 and 20 mg/L TRIA and 25, 50 and 75 mg/L SA concentrations were added in media. Effect of SA on growth of *Phormidium* sp. was not reported, because a success could not be saved. In order to determine the optimum TRIA + SA concentrations on growth of *Chlorella* sp., cultures were cultivated in a series of samples containing media; media + 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA, 5 mg/L TRIA + 50 mg/L SA, 10 mg/L TRIA + 50 mg/L SA, 5 mg/L TRIA + 25 mg/L SA, 5 mg/L TRIA + 75 mg/L SA. Control flasks without TRIA and SA were also prepared. Cultures were incubated for 15 days. Each of these experiments was performed in triplicate.

2.6. Effect of gas flow rates on microalgal growth

Effect of gas flow rates of LPG and GSN emissions on microalgal growth have been investigated at the range between 0.6 and 2.4 vvm. Flow rate was expressed as “the amount of flue gas used

Table 2

Emissions characteristics of LPG and GSN.

	LPG	GSN
% vol CO	0.47	0.69
% vol CO ₂	10.73	11.95
ppm vol HC	401	269
% vol CO cor	0.63	0.81
% vol O ₂	4.1	4.0
λ/AFR	1.21	1.17
Collected °C	96	113
NO _x (ppm)	44	67
NO (ppm)	42	66

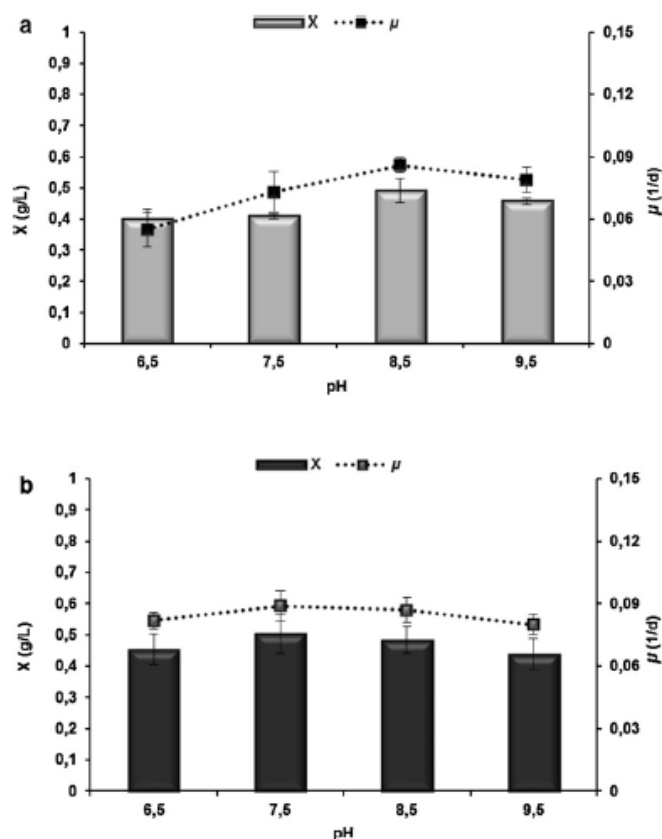


Fig. 1. Effect of pH on growth of microalgae: (a) *Phormidium* sp. and (b) *Chlorella* sp. (incubation period, 15 days; T , $25 \pm 2^\circ\text{C}$; illumination, $48 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ (2400 lx)).

in a minute". Microalgal cultures were aerated with both of these emissions that were supplied daily at known flow rates from 5th to 15th days of incubation. Each of these experiments was performed in triplicate.

2.7. Effect of biomass concentration on engine exhausts tolerance

Effect of biomass concentration on microalgal exhausts tolerance was also examined by using four different initial biomass concentrations of about 0.09, 0.15, 0.36 and 0.65 g/L of *Phormidium* sp. in media with TRIA and in media with 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA concentrations for *Chlorella* sp. Cultures were treated with LPG/GSN every day from 5th to 15th days of incubation at flow rate of 2.4 vvm, as this level was found to be related with maximum growth of the cultures. Each of these experiments was performed in triplicate.

2.8. Analytical techniques

3 mL samples were taken from each of the flasks and growth of microalgae was determined by measuring optic density, dry weight and specific growth rate parameters. Optic density was determined with a Shimadzu UV 2001 model spectrophotometer at 600 nm. Microorganisms were centrifuged at $3421 \times g = 5000$ rpm for 10 min (Hettich EBA12 model centrifuge), pellets were collected and dried at 80°C for overnight at Nüve FN 400 model sterilizer to

save their dry weights. Maximum biomass productivity was calculated according to the equation $P = (X - X_0)/(t - t_0)$, where X is the final and X_0 is the initial biomass concentrations (g/L), t is the final and t_0 is the initial time of the culture. Specific growth rate (μ) was calculated according to the equation $\mu = (\ln X_2 - \ln X_1)/(t_2 - t_1)$, X_2 and X_1 : dry cell weight concentrations (g/L) at time t_2 and t_1 , respectively [22]. The chlorophyll concentrations were determined for chlorophyll *a* at 646.6 nm and *b* at 663.6 nm [23]. The chlorophyll concentrations were expressed in μg of chlorophyll/ml. The experiments were performed in triplicate. The data were subjected to analysis of variance using Minitab® 14 and significant differences among treatment means were compared by descriptive statistics ($\pm$ S.E.).

3. Results and discussion

3.1. Effect of pH on microalgal growth

Growth of *Phormidium* sp. increased with increasing pH values up to 8.5, dry weight amounts were 0.400, 0.409, 0.492 and 0.458 g/L at pH 6.5, 7.5, 8.5 and 9.5 respectively. *Phormidium* sp. reached its maximum growth rate at pH 8.5 (0.086 d^{-1}), so the further experiments were performed at this pH value (Fig. 1a).

Table 3
Single effect of TRIA and SA concentrations on dry weight (g/L) of microalgae.

	<i>Phormidium</i> sp.	<i>Chlorella</i> sp.
0 (control)	0.492 ± 0.039	0.504 ± 0.063
TRIA (mg/L)		
1	0.407 ± 0.038	0.546 ± 0.053
5	0.568 ± 0.079	0.580 ± 0.050
10	0.667 ± 0.080	0.574 ± 0.005
20	0.628 ± 0.088	0.444 ± 0.047
SA (mg/L)		
25	–	0.528 ± 0.038
50	–	0.647 ± 0.070
75	–	0.556 ± 0.039

T, 25 ± 2 °C; illumination, 48 µmol/m² s (2400 lx).

An increase in pH from 6.5 to 7.5 was accompanied by an increase of dry weight of *Chlorella* sp. from 0.454 to 0.504 g/L, in parallel to an increase in maximum growth rate from 0.082 to 0.089 d⁻¹ (Fig. 1b). *Chlorella* sp. reached its maximum growth at pH 7.5; consequently next studies were performed at this optimal value.

3.2. Effect of growth factors on microalgal growth

Influence of TRIA was more prominent on dry weights of *Phormidium* sp. at 10 mg/L and *Chlorella* sp. at 5 mg/L concentrations (Table 3). There was 35.57% and 15.08% increase in dry weights, when compared with TRIA control culture samples of *Phormidium* sp. and *Chlorella* sp., respectively.

Chlorella sp. had similar dry weight in samples with 25 and 75 mg/L SA, the highest dry weight was measured at 50 mg/L SA.

As dry weight values of *Chlorella* sp. were close to each other at 1, 5 and 10 mg/L TRIA concentrations, we checked the additive effects of these concentrations with SA in binary effect studies. As shown by the data presented in Table 4, effects of binary concentrations were more prominent on growth of *Chlorella* sp. than the corresponding single ones. Addition of 1 mg/L TRIA with 50 mg/L SA concentration was the most effective treatment, which enhanced growth on per dry weight basis at 113.69% level when compared to control groups. Considering the decrease in growth at the other four concentrations tested, further experiments were performed by using 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA samples only.

The physiological and biochemical mechanisms of the stimulatory effects of triacontanol hormone on the growth and development of crops, trees and algae have been demonstrated by a high number of scientists [24,25]. The results presented here support findings of Karacakaya et al. [26], who reported in their dye removal study that *Phormidium* sp. reached to significantly higher dry weight level at presence of 10 mg/L TRIA concentration. As a result of the affordable price of the hormone formulations used as a growth regulator in practice (100–300\$/kg FOB) and the observations in studies proving the high efficiency of the applications at extremely low concentrations for the stimulation of growth and developmental processes, such as 20–25 nM (molecular weight: 438.33) has stimulated a long-term scientific and commercial interest. As Naeem et al. [24], and colleague comprehensively reviewed in their article, the molecular, biochemical and physiological mechanisms involved in very diverse stimulatory effects of the hormone have been studied by researchers specialized in various disciplines. Giridhar et al. [27], who confirmed the most interesting feature of

Table 4
Binary effects of TRIA and SA concentrations on dry weight (g/L) of microalgae.

	0 mg/L (control)	1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA	5 mg/L TRIA + 50 mg/L SA	10 mg/L TRIA + 50 mg/L SA	5 mg/L TRIA + 75 mg/L SA	5 mg/L TRIA + 75 mg/L SA
X (g/L)	0.504 ± 0.063	1.077 ± 0.051	0.956 ± 0.025	0.954 ± 0.052	0.849 ± 0.011	0.943 ± 0.030

T, 25 ± 2 °C; illumination, 48 µmol/m² s (2400 lx).**Table 5**
Effect of flow rate of LPG/GSN on dry weight (g/L) of *Phormidium* sp.

	Flow rate (mL/min)	Without TRIA	With TRIA
LPG			
0		0.492 ± 0.039	0.667 ± 0.080
60		0.606 ± 0.039	0.956 ± 0.063
120		0.709 ± 0.093	0.979 ± 0.091
240		1.071 ± 0.088	1.074 ± 0.099
Petrol			
60		1.118 ± 0.068	1.437 ± 0.091
120		1.161 ± 0.128	1.250 ± 0.144
240		1.281 ± 0.072	1.331 ± 0.097

TRIA concentration, 1 mg/L, T, 25 ± 2 °C; illumination, 48 µmol/m² s (2400 lx).

TRIA, its stimulatory effect on plant growth and chlorophyll accumulation at its very low concentrations, when compared to control cultures.

As known very well, salicylic acid, a compound found in the bark of willow, *Salix alba* L. has been used as an analgesic even at ancient times, and acetyl derivative, aspirin was synthesized 160 years ago [28]. Although its function in plant life was limited to protection, combatting diseases, increasing number of studies on the acid and several derivatives which were isolated from different plant sources showed that it was an important plant hormone taking part in growth, development, signaling, stress tolerance and hardening including several stresses of both of biotic and abiotic groups [29]. Rajasekaran and Blake [30] succeeded to show that natural plant growth regulators (PGRs) could enhance drought tolerance and the competitive ability of transplanted seedlings of jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) seedlings including triacontanol and salicylic acid. Similar growth stimulating results with ours were reported by Hayat et al. [31], who showed that, leaf number, fresh and dry weight per plant of wheat seedlings increased significantly at lower concentration of SA. Despite the existence of these promising findings we have no encountered any study about the binary effects of TRIA and SA on growth of microalgae in the literature.

3.3. Effect of gas flow rates on microalgal exhaust emissions tolerance

Effects of flow rates of LPG/GSN emissions containing various CO₂, CO, HC, O₂ and NO_x concentrations on growth of *Chlorella* sp. have been investigated in four different culture compositions: (1) LPG or GSN treated cultures with growth factors [LPG or GSN + GF(+)], (2) LPG or GSN treated cultures without growth factors [LPG or GSN + GF(-)], (3) LPG, GSN were not transferred to the cultures with growth factors [control + GF(+)], and (4) LPG, GSN controls, free of growth factors [control + GF(-)].

3.3.1. *Phormidium* sp.

When flow rate was increased from 0.6 vvm to 2.4 vvm, dry weight also increased in the presence of any of the pollutants, but the growth at GSN treated samples was higher than LPG treated ones (Table 5). Presence of TRIA was also increased the values obtained, and its effect was comparatively higher on *Phormidium* sp. than *Chlorella* sp. on dry weight basis. Productivity is an important parameter from an economic point of view. The maximum biomass productivity of *Phormidium* sp. in LPG + GF(+) samples at flow rate of 0.6 vvm was 1.8 times higher than samples without TRIA. But, when flow rate of LPG was increased from 0.6 to 2.4 vvm, this

positive effect of hormone was reversed, while 76.73% increase in dry weight was achieved in the control + GF(–), the increment was only 12.34% in the control + GF(+) samples.

Comparison of the control + GF(–) and control + GF(+) samples with GSN + GF(–) and GSN + GF(+) samples at flow rate of 2.4 vvm 160.36% and 99.55% increases were achieved in GSN treated cultures, respectively. The maximum biomass productivity was 0.079 g/L/d in GSN + GF(+) samples at flow rate of 2.4 vvm which was 14.28% higher than samples without hormone. The reason of this limitation exerted by hormone was due to the much higher growth level reached by cyanobacteria in TRIA samples.

3.3.2. *Chlorella* sp.

As seen in Fig. 2a, this sp. showed excellent growth at flow rate of 0.6 vvm in media LPG + GF(+). There was a 141.07% increase when compared with the media control + GF(–) at the end of 15 days. Adding TRIA to media could not show the effect expected due to high level of growth already reached, as mentioned above. There was only 12.81% increase in media LPG + GF(+) when compared media control + GF(+).

Growth reached to a 159.48% higher level within 10 days when flow rate was increased to 1.2 vvm in media LPG + GF(+), compared to control + GF(–) ones (Fig. 2b). The highest dry weight was recorded in media LPG + GF(+) at 2.4 vvm flow rate at 10th days of incubation period as 0.947 g/L, which was the highest within all of the cultures which were treated by LPG at 0.6 and 1.2 vvm flow rates. Maximum biomass productivity of *Chlorella* sp. was 0.079 g/L/d in these conditions.

Microalgal growth was 0.438 g/L at 5th days and increased to 1.263 g/L at flow rate of 0.6 vvm when measured on the 15th days in GSN + GF(+) (Fig. 3a). There was a little difference in media GSN + GF(–) at 15th days (1.167 g/L). Increase in percent was 17.27% in media GSN + GF(+) and 131.55% in media GSN + GF(–) when compared with the controls.

As shown in Fig. 3b and c when flow rate was increased to 1.2 and 2.4 vvm microalgal growth also increased significantly in all media at less time. The maximum increase in microalgal growth was measured as 1.447 g/L which was obtained in GSN + GF(+) samples at 2.4 vvm flow rate and the maximum biomass productivity was 0.086 g/L/d. In another study [33] maximum biomass productivity of *C. vulgaris* was 0.05, 0.08 and 0.09 g/L/d in tubular-type sealed photobioreactors (CPBR) 1, 2 and 3, respectively.

Increase in microalgal growth was clearly higher in GSN treated cultures. For example, *Chlorella* sp. reached 1.447 g/L biomass concentration in presence of 11.95% CO₂ at 15th day, whereas *C. kessleri* studied by de Moraes and Costa [32], showed the maximum growth of 0.80 g/L in the presence of 12% CO₂ at 20th day with same initial inoculum rate as ours (0.15 g/L). This performance observed in present study seems to be superior to results from most of the results found in related studies. In another study of Radmann et al. [33] 0.15 g/L *C. vulgaris* was exposed to 12% CO₂ and 100 ppm NO at 540 mL/min flow. The maximum biomass for *C. vulgaris* was 0.98 g/L. The maximum biomass concentration level reached by *Chlorella* sp. was 1.447 g/L under the effect of 11.95% CO₂ and 66 ppm NO with 0.15 g/L initial inoculation rate at a flow rate of 2.4 vvm deserves attention in our study.

Another improvement, worth to mention here, is the performance observed in LPG/GSN treated samples without growth factors compared to their non-transferred controls. Microalgal growth was lower than the corresponding series of samples stimulated by growth factors, as hypothesized by the present authors. Selected growth factors stimulated necessary acclimation and subsequent resistance to higher stress levels which are key issues in the success of such systems.

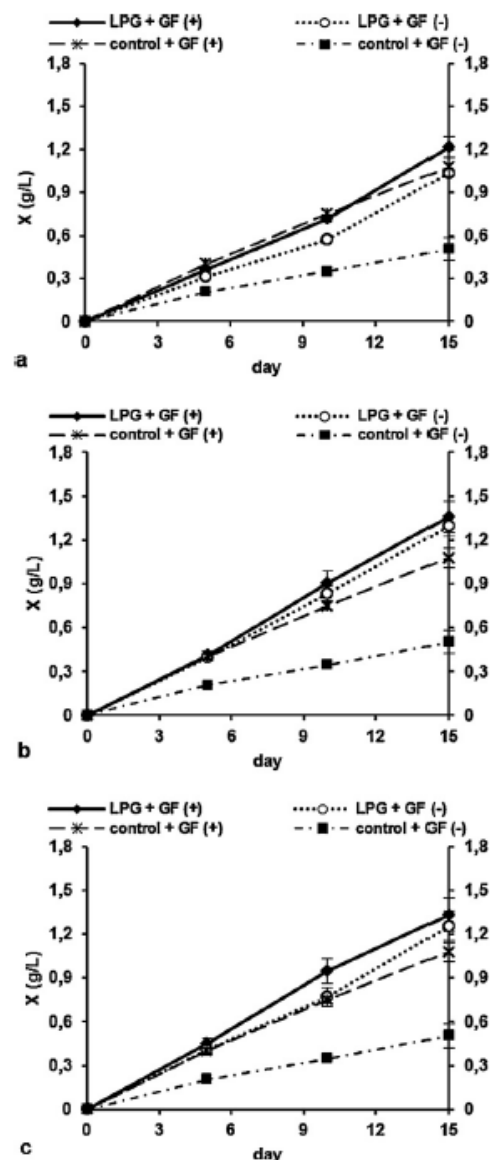


Fig. 2. Effect of LPG on growth of *Chlorella* sp. under effect of different flow rates (a) 0.6 vvm, (b) 1.2 vvm, (c) 2.4 vvm (TRIA + SA concentration, 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA; incubation period, 15 days; pH, 7.5; T, 25 ± 2 °C; illumination, 48 μmol/m² s (2400 lx)).

3.4. Effect of biomass concentrations on microalgal growth under effect of LPG/GSN

In order to determine the optimum biomass concentrations for sufficiently efficient emissions tolerance, a series of experiments were performed at two different media compositions: (1) LPG/GSN treated cultures with growth factors [LPG/GSN + GF(+)]

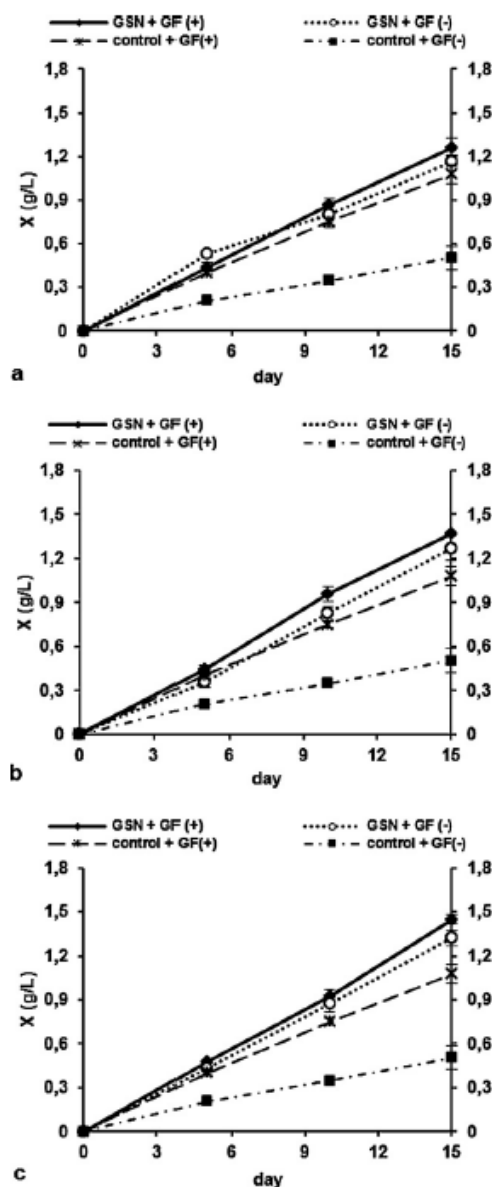


Fig. 3. Effect of GSN on growth of *Chlorella* sp. under effect of different flow rates. (a) 0.6 vvm, (b) 1.2 vvm, (c) 2.4 vvm (TRIA + SA concentration, 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA; incubation period, 15 days; pH, 7.5; T, $25 \pm 2^\circ\text{C}$; illumination, $48 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$ (2400 lx)).

and (2) the corresponding control samples with growth factors [control + GF(+)].

3.4.1. *Phormidium* sp.

When biomass concentration of *Phormidium* sp. increased there was an accompanying increase at 93.33% level in media LPG + GF(+). On the other hand, 1.331 g/L maximum growth obtained at 0.15 g/L

biomass concentration. There were nearly the same dry weight amounts at 0.36 g/L and 0.65 g/L biomass concentrations (Table 6). A 20.83% increase at 0.36 g/L biomass concentration in media LPG + GF(+), and a 99.55% increase at 0.15 g/L biomass concentration in GSN + GF(+) samples over their controls were found.

3.4.2. *Chlorella* sp.

It is evident from Fig. 4 that growth of *Chlorella* sp. was really linked to the amount of initial biomass concentrations. As seen in Fig. 4a the lowest dry weight values were found at the lowest biomass concentration in LPG + GF(+) samples, the maximum dry weight was only 0.595 g/L in this sample at the 15th days. This value could easily be raised to 1.333 g/L by increasing the biomass concentration to 0.15 g/L. Dry weight was measured as 1.054 g/L on the 10th day and reached to 1.360 g/L at 15th days at 0.36 g/L initial biomass concentration. Approximately the same amount was recorded on the 10th days of incubation at 0.65 g/L initial biomass concentration, which was 1.263 g/L but could reach to 1.478 g/L at the end of 15th day.

The highest results were obtained in GSN + GF(+) samples. Dry weight was 1.044 g/L at the minimum biomass concentration, but samples containing maximum biomass concentration reached to approximately the same amount within 10 days (1.068 g/L). Maximum dry weight recorded at 0.36 g/L biomass concentration was 1.636 g/L (Fig. 4b).

All of the dry weight results obtained in LPG/GSN + GF(+) samples were higher than their controls. Maximum increase was found to be 23.77% at 0.15 g/L biomass concentration in LPG + GF(+) samples. Dry weight of the GSN treated samples were 107.55% higher than 0.503 g/L of the corresponding control cultures at 0.09 g/L biomass concentration on the 15th days of incubation. There were also 34.35% and 47.52% increases in GSN + GF(+) samples, compared with the control cultures at 0.15 and 0.36 g/L biomass concentrations, respectively. *Chlorella* sp. could not reach to a higher growth level at the maximum initial biomass concentration in experiments performed in this study, higher growth levels were achieved at lower biomass concentrations (Fig. 4c).

Dry weight, maximum biomass productivity, chlorophyll concentrations and specific growth rate values (μ) were also determined to see the effect of increasing biomass concentrations on growth patterns of the biomaterial used.

As seen in Table 6, maximum chl *a* concentration was $2.225 \mu\text{g}/\text{mL}$ and the maximum μ was 0.131 d^{-1} at 0.36 g/L and 0.15 g/L initial *Phormidium* sp. biomass concentrations, respectively. On the other hand lower *X*, chl *a* and μ values were found at the maximum initial biomass concentration of 0.65 g/L.

The maximum chl *a* concentration and μ was recorded at 0.15 g/L initial *Phormidium* sp. biomass concentration. Taking into consideration all of these data presented, it can be stated that the most suitable initial biomass concentration was 0.36 g/L for LPG, and 0.15 g/L for GSN samples.

The chlorophyll (*a+b*) concentrations increased from $0.729 \mu\text{g}/\text{mL}$ to $1.812 \mu\text{g}/\text{mL}$ in LPG + GF(+) samples in parallel to the increasing initial *Chlorella* sp. biomass concentrations. There was also a significant difference between the specific growth rates, with the lowest μ of 0.065 d^{-1} at the highest initial biomass concentration. As expected, an increase in initial biomass concentration resulted a decrease in the specific growth rate value, in conformity with this relation the maximum specific growth rate was 0.128 d^{-1} at 0.15 g/L initial biomass concentration.

The results obtained in the present study indicate that *Chlorella* sp. was more resistant to both LPG and GSN at all the flow rates tested than *Phormidium* sp. It was proven in our present study that *Chlorella* sp. showed higher growth and resistant to SO_2 and NO_2 with the help of TRIA and NaHCO_3 than *Synechococcus* sp. [16].

Table 6

Effect of initial biomass concentrations on growth, maximum biomass productivity, chlorophyll concentrations and specific growth rate of microalgae.

		X_0 (g/L)	0.09	0.15	0.36	0.65
<i>Phormidium</i> sp.	LPG	X_t (g/L)	0.600 ± 0.144	1.074 ± 0.099	1.160 ± 0.023	0.760 ± 0.017
		P (g/L/d)	0.034 ± 0.010	0.062 ± 0.006	0.053 ± 0.001	0.007 ± 0.001
		chl a (μ g/mL)	1.151 ± 0.276	2.059 ± 0.188	2.225 ± 0.044	1.457 ± 0.033
		μ (d^{-1})	0.108 ± 0.0133	0.131 ± 0.0063	0.071 ± 0.0011	0.043 ± 0.0017
	Petrol	X_t (g/L)	0.720 ± 0.035	1.331 ± 0.097	1.050 ± 0.040	1.030 ± 0.011
		P (g/L/d)	0.042 ± 0.002	0.079 ± 0.007	0.046 ± 0.003	0.025 ± 0.000
		chl a (μ g/mL)	1.381 ± 0.066	2.552 ± 0.374	2.014 ± 0.078	1.975 ± 0.011
		μ (d^{-1})	0.130 ± 0.0034	0.145 ± 0.0110	0.078 ± 0.0029	0.054 ± 0.0006
<i>Chlorella</i> sp.	LPG	X_t (g/L)	0.595 ± 0.013	1.333 ± 0.113	1.360 ± 0.076	1.478 ± 0.048
		P (g/L/d)	0.034 ± 0.000	0.079 ± 0.007	0.067 ± 0.005	0.055 ± 0.003
		chl ($a+b$) (μ g/mL)	0.729 ± 0.017	1.634 ± 0.138	1.666 ± 0.093	1.812 ± 0.059
		μ (d^{-1})	0.111 ± 0.0017	0.128 ± 0.0058	0.099 ± 0.0040	0.065 ± 0.0023
	Petrol	X_t (g/L)	1.044 ± 0.029	1.447 ± 0.033	1.636 ± 0.020	1.390 ± 0.000
		P (g/L/d)	0.064 ± 0.002	0.086 ± 0.002	0.085 ± 0.001	0.049 ± 0.000
		chl ($a+b$) (μ g/mL)	1.280 ± 0.036	1.774 ± 0.040	2.005 ± 0.025	1.704 ± 0.000
		μ (d^{-1})	0.181 ± 0.0017	0.140 ± 0.0017	0.090 ± 0.0006	0.042 ± 0.0000

TRIA concentration, 10 mg/L for *Phormidium* sp., TRIA+SA concentration, 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA for *Chlorella* sp., X_0 (g/L), initial biomass concentration, X_t (g/L), biomass concentration at 15th day, P (g/L/d), maximum biomass concentration, flow rate (mL/min), 240, T, 25 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C; illumination, 48 μ mol/m² s (2400 lx).

In another study Chiu et al. [34] cultivated *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor for reduction of 15% CO₂. They reported the measured specific growth rate as 0.66 d⁻¹ and the final biomass as 0.87 g/L CO₂ during 8 days, less than the specific growth rate and biomass concentrations of *Chlorella* sp. presented here. In addition to that, *Chlorella* sp. reached its maximum specific growth rate at 0.09 g/L initial biomass concentration in GSN+GF(+) samples. Another finding related with this series of experiments is the little difference found in chl ($a+b$) concentrations between 0.15 and 0.65 g/L initial biomass concentrations.

Evaluation of all the parameters tested in this study along with the standard deviations, initial *Chlorella* sp. biomass concentration of 0.36 g/L was the most suitable one for GSN+GF(+) samples. The highest biomass concentration of 0.65 g/L was the most suitable one for LPG+GF(+) samples, due to lower CO₂ and higher HC ratios in LPG emissions. Lower performance of samples with the highest initial biomass concentration can be related to reaching the population saturation more quickly.

Douskova et al. [35] clarified that higher CO₂ level (11% v/v) was not inhibitory for *C. vulgaris*. They also tested the effect of gas mixtures of 0, 4, 16 and 19% (v/v) O₂ with CO₂. They explained that

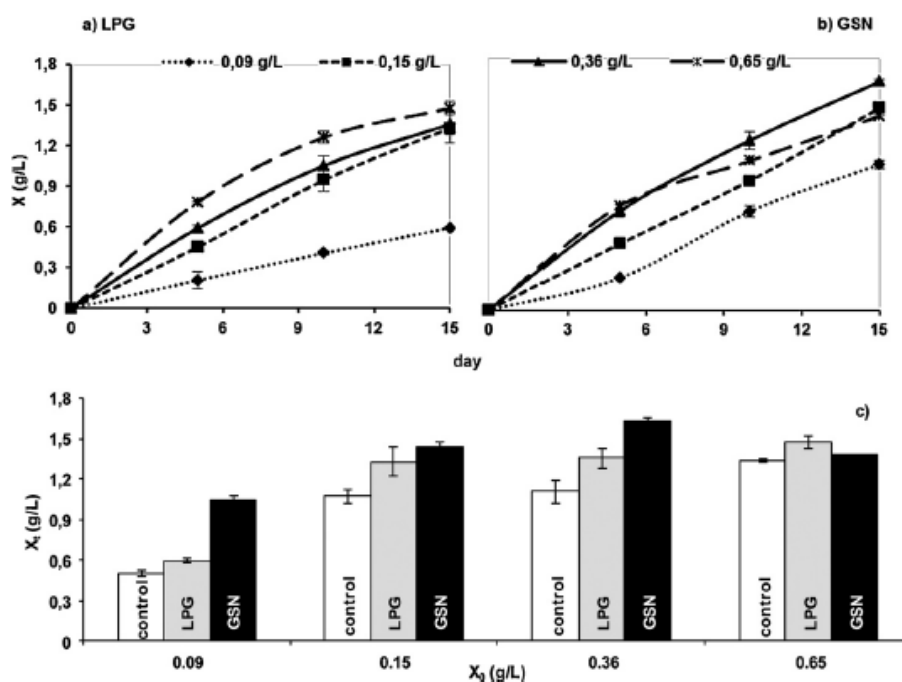


Fig. 4. Effect of initial biomass concentrations on growth of *Chlorella* sp. (TRIA+SA concentration, 1 mg/L TRIA + 50 mg/L SA; X_0 (g/L), initial biomass concentration; X_t (g/L), biomass concentration at 15th days; flow rate (vvm), 2.4; incubation period, 15 days; pH, 7.5; T, 25 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C; illumination, 48 μ mol/m² s (2400 lx)).

lower O₂ concentrations caused an increase in growth rate. In the cause of the maximum dry weight results were obtained at 0 and 4% (v/v) O₂ concentrations.

Flue gases contain several chemicals such as O₂, CO₂, NO_x, SO_x, CO, HCs, heavy metals and other compounds, which can affect the growth of microalgae. Several studies have been published on interactions between CO₂ and microalgae. However, for all other compounds, this is filling the need to research detailed in scientific literature [1]. In this study we aimed to fill this gap by researching the effects of engine exhaust emissions on microalgae with proposed target, a huge source of air pollution.

4. Conclusions

This study deals with a comprehensively researched multi-parameters to develop some solutions for current and future environmental problems related with "air pollution". The ultimate aim of this work was to search if *Phormidium* sp. and *Chlorella* sp. could serve as tolerant biomaterials for engine exhaust emissions.

The maximum dry weight reached after 15 days was 1.331 g/L for *Phormidium* sp. and 1.636 g/L for *Chlorella* sp., which was the highest yield that was achieved in comparable studies in the literature to best of our knowledge. Results showing for the first time that both of the microalgal cultures used here are able to tolerate the stresses exerted by "real" LPG and GSN emissions by the help of TRIA and SA.

Acknowledgment

The authors are grateful to the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK-BİDEB) for financial support.

References

- [1] S. Van Den Hende, H. Vervaeke, N. Boon, Flue gas compounds and microalgae: (bio-)chemical interactions leading to biotechnological opportunities, *Biotechnol. Adv.* 30 (2012) 1405–1424.
- [2] I.S. Park, J.W. Park, A novel total petroleum hydrocarbon fractionation strategy for human health risk assessment for petroleum hydrocarbon-contaminated site management, *J. Hazard. Mater.* 179 (2010) 1128–1135.
- [3] H.L. Chen, C.H. Yang, M.H. Lin, Removal efficiency of vapour/particulate phase PAHs by using alternative protective respirators in PAHs exposure workers, *J. Hazard. Mater.* 219–220 (2012) 190–195.
- [4] P.L. Klerks, J.A. Nyman, S. Bhattacharyya, Relationship between hydrocarbon measurements and toxicity to a chironomid, fish larva and daphnid for oils and oil spill chemical treatments in laboratory freshwater marsh microcosms, *Environ. Pollut.* 129 (2004) 345–353.
- [5] S. Matsumoto, A. Inaba, Y. Yanagisawa, Technology assessment of alternative fuels by CO₂ fixation use in passenger cars, *Energy Convers. Manage.* 38 (1997) 455–460.
- [6] O. Perez-Garcia, F.M.E. Escalante, L.E. de-Bashan, Y. Bashan, Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products, *Water Res.* 45 (2011) 11–36.
- [7] W.M. Budzianowski, Value-added carbon management technologies for low CO₂ intensive carbon-based energy vectors, *Energy* 41 (2012) 280–297.
- [8] J.N.B. Bell, S.L. Honour, S.A. Power, Effects of vehicle exhaust emissions on urban wild plant species, *Environ. Pollut.* 159 (2011) 1984–1990.
- [9] S.L. Honour, J.N.B. Bell, T.W. Ashenden, J.N. Cape, S.A. Power, Responses of herbaceous plants to urban air pollution: effects on growth, phenology and leaf surface characteristics, *Environ. Pollut.* 157 (2009) 1279–1286.
- [10] S. Ries, V. Wert, C.C. Sweeley, Triacanthol: a new natural plant growth regulator, *Science* 195 (1977) 1339–1341.
- [11] N.K. Kiliç, E. Duygu, G. Dönmez, Triacanthol hormone stimulates population, growth and Brilliant Blue R dye removal by common duckweed from culture media, *J. Hazard. Mater.* 182 (2010) 525–530.
- [12] B. Ertit Taştan, E. Duygu, G. Dönmez, Boron bioremoval by a newly isolated *Chlorella* sp. and its stimulation by growth stimulators, *Water Res.* 46 (2012) 167–175.
- [13] M. Naeem, M.M.A. Khan, Moineddin, M.H. Siddiqui, Triacanthol stimulates nitrogen-fixation enzyme activities, photosynthesis, crop productivity and quality of hyacinth bean (*Lobelia purpureus* L.), *Sci. Hortic.-Amsterdam* 121 (2009) 389–396.
- [14] Q. Hayat, S. Hayat, M. Irfan, A. Ahmad, Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review, *Environ. Exp. Bot.* 68 (2010) 14–25.
- [15] N. Mallick, Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: a review, *BioMetals* 15 (2002) 377–390.
- [16] B. Ertit Taştan, E. Duygu, O. Atakol, G. Dönmez, SO₂ and NO₂ tolerance of microalgae with the help of some growth stimulators, *Energy Convers. Manage.* 64 (2012) 28–34.
- [17] M.S. Rodrigues, L.S. Ferreira, J.C.M. de Carvalho, A. Lodi, E. Finocchio, A. Converte, Metal biosorption onto dry biomass of *Arthrospira (Spirulina) platensis* and *Chlorella vulgaris*: multi-metal systems, *J. Hazard. Mater.* 217–218 (2012) 246–250.
- [18] J. Doucha, F. Straka, K. Livanský, Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor, *J. Appl. Phycol.* 17 (2005) 403–412, <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-005-8701-7>.
- [19] W.T. Tsai, H.R. Chen, Removal of malachite green from aqueous solution using low-cost *Chlorella*-based biomass, *J. Hazard. Mater.* 175 (2010) 844–849.
- [20] S. Sadettin, G. Dönmez, Bioaccumulation of reactive dyes by thermophilic cyanobacteria, *Process Biochem.* 41 (2006) 836–841.
- [21] R. Rippka, Isolation and purification of cyanobacteria, *Methods Enzymol.* 167 (1998) 3–27.
- [22] P.F. Ip, F. Chen, Production of astaxanthin by the green microalga *Chlorella zofingensis* in the dark, *Process Biochem.* 40 (2005) 733–738.
- [23] R.J. Porra, W.A. Thompson, P.E. Kreidemann, Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy, *Biochim. Biophys. Acta* 975 (1989) 384–394.
- [24] M. Naeem, M. Masroor, A. Khan, Moineddin, Triacanthol: a potent plant growth regulator in agriculture, *J. Plant Interacts* 7 (2012) 129–142.
- [25] J.S. Rathore, V. Rathore, N.S. Shekhawat, R.P. Singh, G. Liler, M. Phulwaria, H.R. Dagla, Micropropagation of woody plants, in: P.S. Srivastava, A. Narula, S. Srivastava (Eds.), *Plant Biotechnol. Mol. Markers*, Anamaya Publishers, New Delhi, India, 2004, pp. 195–205.
- [26] P. Karacakaya, N.K. Kiliç, E. Duygu, G. Dönmez, Stimulation of reactive dye removal by cyanobacteria in media containing triacanthol hormone, *J. Hazard. Mater.* 172 (2009) 1635–1639.
- [27] P. Giridhar, T. Rajasekaran, G.A. Ravishankar, Improvement of growth and root specific flavour compound 2-hydroxy-4-methoxy benzaldehyde of micropropagated plants of *Decalepis hamiltonii* Wight & Arn., under triacanthol treatment, *Sci. Hortic.-Amsterdam* 106 (2005) 228–236.
- [28] O. Lafont, From the willow to aspirin, *Rev. Hist. Pharm. (Paris)* 55 (2007) 209–216.
- [29] M. Rivas, S. Vicente, J. Plasencia, Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development, *J. Exp. Bot.* 62 (2011) 3321–3338.
- [30] L.R. Rajasekaran, T.J. Blake, New plant growth regulators protect photosynthesis and enhance growth under drought of jack pine seedlings, *J. Plant Growth Regul.* 18 (1999) 175–181.
- [31] S. Hayat, Q. Fariduddin, B. Ali, A. Ahmad, Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings, *Acta Agron. Hung.* 53 (2005) 433–437, <http://dx.doi.org/10.1556/AAgr.53.2005.4.9>.
- [32] M.G. de Moraes, J.A.V. Costa, Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide, *Energy Convers. Manage.* 48 (2007) 2169–2173.
- [33] E.M. Radmann, F.V. Camerini, T.D. Santos, J.A.V. Costa, Isolation and application of SO_x and NO_x resistant microalgae in biofixation of CO₂ from thermoelectricity plants, *Energy Convers. Manage.* 52 (2011) 3132–3136.
- [34] S.Y. Chiu, C.Y. Kao, C.H. Chen, T.C. Kuan, S.C. Ong, C.S. Lin, Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor, *Bioresour. Technol.* 99 (2008) 3389–3396.
- [35] I. Douskova, J. Doucha, K. Livanský, J. Machat, P. Novák, D. Umysova, V. Zachleder, M. Vitova, Simultaneous flue gas bioremediation and reduction of microalgal biomass production costs, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82 (2009) 179–185, <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-008-1811-9>.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Burcu ERTİT TAŞTAN

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 20.10.1983

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Polatlı Yabancı Dil Ağırlıklı Lise (Polatlı Süper Lisesi) (2001)

Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2005)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (2008)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Geçici İşçi) (2006-2007)

Ankara Üniversitesi Rektörlüğü (657 sayılı Kanun'un 4/B maddesi gereğince sözleşmeli personel statüsünde Proje Destek Uzmanı) (2008)

Yayınları (SCI ve diğer)

1. **Burcu ERTİT TAŞTAN**, Ergin DUYGU, Mustafa İLBAŞ, Gönül DÖNMEZ
2013. Utilization of LPG and gasoline engine exhaust emissions by microalgae.
Journal of Hazardous Materials. 246-247, 173-180.

2. **Burcu ERTİT TAŞTAN**, Sevgi ERTUĞRUL KARATAY, Gönül DÖNMEZ **2012**. Bioremoval of textile dyes with different chemical structures by *Aspergillus versicolor* in molasses medium. **Water Science and Technology**. 66, 2177-2184.
3. **Burcu ERTİT TAŞTAN**, Ergin DUYGU, Orhan ATAKOL, Gönül DÖNMEZ **2012**. SO₂ and NO₂ tolerance of microalgae with the help of some growth stimulators. **Energy Conversion and Management**. 64, 28-34.
4. **Burcu ERTİT TAŞTAN**, Ergin DUYGU, Gönül DÖNMEZ **2012**. Boron bioremoval by a newly isolated *Chlorella* sp. and its stimulation by growth stimulators. **Water Research**. 46, 167-175.
5. **Burcu ERTİT TAŞTAN**, Sevgi ERTUĞRUL, Gönül DÖNMEZ **2010**. Effective bioremoval of reactive dye and heavy metals by *Aspergillus versicolor*. **Bioresource Technology**. 101, 870-876.

Ulusal Hakemli Dergilerdeki Yayınlar:

6. **Burcu ERTİT TAŞTAN** and Gönül DÖNMEZ **2010**. Single and binary biosorption of heavy metal ions and a reactive dye by *Aspergillus versicolor*. **Commun.Fac.Sci.Univ.Ank.Series B** 56, 13-25.