



Chlorella vulgaris Biyokütle Üretiminde Kültür Şartlarının Optimizasyonu

Optimization of Culture Conditions in Production of *Chlorella vulgaris* Biomass

Mehmet Kalender¹ , Sümeyye Bürkev¹ 

¹Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 23100 Elazığ, TÜRKİYE

Başvuru/Received: 07/01/2022

Kabul / Accepted: 17/03/2022

Çevrimiçi Basım / Published Online: 31/07/2022

Son Versiyon/Final Version: 31/07/2022

Öz

Bu çalışmada, *C. vulgaris* mikroalgal biyokütle üretiminin optimizasyonu incelenmiştir. Optimizasyon çalışmaları Design Expert programında Cevap Yüzey Metodu (RSM) ile oluşturulan deneysel çalışma tablosuna göre gerçekleştirilmiştir. Her bir deney 250 mL'lik erlenlerde 12 saat aydınlık (3000 lüks) 12 saat karanlık ve 25 °C'de yürütülmüştür. RSM deneylerinde bağımsız değişkenler olarak kültür hacmi, inokülasyon oranı ve kültür süresi; cevap değişkeni olarak ise üretilen algal biyokütle konsantrasyonu seçilmiştir. Algal biyokütle konsantrasyonları UV-Visible spektroskopisi ile ölçülmüştür. Optimizasyon çalışmaları sonucunda mikroalgal biyokütle üretimini en iyi temsil eden modelin kuadratik olduğu belirlenmiştir. Kuadratik model için ANOVA testlerinden geliştirilen model üzerinde çalışılan üç bağımsız değişkenin de önemli olduğu görülmüştür. Bununla beraber, inokülasyon oranının diğer bağımsız değişkenlere göre daha az etkili olduğu, hatta bu parametrenin kuadratik etkisinin model üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır. Model üzerinde en etkili bağımsız değişkenin ise süre olduğu sonucuna ulaşılmıştır. RSM analizlerinden model üzerinde kültür hacmi-inokülasyon oranı ikili etkileşiminin önemli olduğu gözlenmiştir. İkili etkileşim grafiğinden çalışılan aralıkta yüksek inokülasyon oranı ve düşük kültür hacmi değerlerinde algal biyokütle konsantrasyonunun yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. RSM ile ileri sürülen optimum *C. vulgaris* biyokütle üretim şartları 85,693 mL kültür hacmi, %12,152 inokülasyon oranı ve 16,952 gün süre olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler

"Mikroalgal biyokütle üretimi, *C. vulgaris*, Optimizasyon, RSM"

Abstract

In this work, optimization of microalgal biomass production using *C. vulgaris* was investigated. The optimization experiments were carried out according to the working table formed by Response Surface Method (RSM). Each experiment was conducted in 250 mL flasks with a 12-hour periods in the light (3000 lux)/dark cycle and at 25 °C. The culture volume, the inoculation ratio, and the culture time were selected as the independent variables. The response variable was the algal biomass concentration. The concentration of algal biomass was measured using UV-Visible spectroscopy method. As a result of the optimization studies, it was determined that the best model representing microalgal biomass production is quadratic source. From ANOVA tests for the quadratic model, it was observed that the three independent variables were also important on the model developed. However, it was determined that the inoculation ratio was less effective than other independent variables, and even, the quadratic effect of this parameter was not effective on the model. It was concluded that the most effective independent variable on the model was time. From RSM analyses, it was founded that the binary interaction of the culture volume-the inoculation ratio was effective on the model. The 3D graphs of this binary interaction showed that the algal biomass concentration was high at high inoculation ratio and at low culture volume in the working range. Optimum *C. vulgaris* biomass production conditions suggested by RSM were determined as 85,693 mL culture volume, 12,152% inoculation ratio, and 16,952 days.

Key Words

"Microalgal biomass production, *C. vulgaris*, Optimization, RSM"

1. Giriş

İklim değişimi dünyada çok ciddi zararlara yol açan çevresel bir tehdittir. Bu tehdit, atmosfer ve okyanusların ısınması, buzulların eriyerek yok olması, deniz seviyesinin yükselmesi, daha uzun periyotlarda ve daha yoğun frekanslarda ısı dalgalarının oluşması şeklinde gerçekleşmektedir (Moreira ve Pires, 2016). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, son otuz yıldır iklim değişikliği ile mücadele kapsamında sera gazı emisyonlarının azaltılması ve fosil yakıtlara alternatif yenilenebilir enerji kaynaklarının araştırılması gibi birçok önleme başvurulmaktadır. Bunun son örneği olan Avrupa Yeşil Mutabakatına göre 2050 yılına kadar sera gazı salınımının sıfıra indirilmesi hedeflenmektedir (Web-1). CO₂ en önemli sera gazı etkisi gösteren gazlardan biri olup küresel CO₂ salınımı endişe verici boyutlara ulaşmıştır. İnsan kaynaklı CO₂ salınımının yılda yaklaşık 40 milyar ton olduğu rapor edilmiştir (Kupgan vd., 2018).

Tüm bu olumsuzluklardan dolayı enerji santralleri, ulaşım sektörü gibi birçok kaynaktan salınan CO₂'i tutma ve depolama teknolojileri geliştirilmiştir. Bu teknikler, alkanol-amin-su çözeltileri ile absorpsiyon, adsorpsiyon (fiziksel ya da kimyasal), kriyojenik distilasyon, membran ayırma teknolojisi olarak özetlenebilir (Gong vd., 2017; Sepahvand vd., 2020). Karmaşık proses yapısı, depolama yetersizliği ve proses pahalılığı gibi bazı dezavantajlara sahip bu CO₂ uzaklaştırma yöntemlerine ek olarak çeşitli alternatifler üzerine yoğun çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Bitkilerin doğal fotosentez süreciyle CO₂ tutma ihtiyacına benzer sistemlere her geçen gün daha da ilgi artmaktadır (Kativu, 2011). Algler taksonomik olarak bir bitki türü olmasa da toplam fotosentez işleminin %50'den fazlasını gerçekleştirdiğinden dolayı (Moroney, 2009), CO₂ uzaklaştırmada kullanılacak teknikler arasında yerini almaya başlamıştır. Pahalı bir teknik olmasına rağmen, alglerle karbon uzaklaştırma prosesi meydana gelen biyokütlenin biyodizel ve biyoetanol gibi fosil yakıtlara alternatif yenilenebilir enerji üretiminde kullanılabilmesi nedeniyle oldukça avantajlıdır (Alami vd., 2021; Ho vd., 2013).

Algler polifiletik kohezyonsuz fotosentetik organizmalardır (Barsanti ve Gualtieri, 2014). Yapılan bazı çalışmalarda alg yapısında 12 aminoasit içeren protein, karbonhidrat, lipid, vitaminler (A, B1, B2, B6, B12, E ve K) ve mineraller (Fe, Ca, K, P, Mn ve Mg) bulunduğu ve dünyada yaklaşık olarak 17000 alg türünün olduğu rapor edilmiştir. Bunlardan 9000'i makroalg diğerleri de mikroalg olarak sınıflandırılmaktadır (Dissa vd., 2010; Oliveira vd., 2010; Oliveira vd., 2009). Mikroalgler hızlı büyüme, yaşamlarını sürdürülemede geniş çevre koşulları, ekilebilir arazi gerektirmeme ve tuzlu suda bile büyüme gibi birçok avantaja sahiptir. Mikroalgler, farklı metabolizmalar sergileyebilen çok çeşitli bir organizma grubudur. En yaygın mikroalg yetiştirme yöntemi, karbon kaynağı olarak CO₂ ve enerji kaynağı olarak güneş ışığı kullanan ototrofik büyümedir (Jia vd., 2014; Yang vd., 2014). Mikroalg biyokütle üretiminde kullanılan sistemler, açık havuz ve kapalı fotobiyoreaktör sistemleri olmak üzere iki grupta incelenebilir. Bu iki sistemin birbirine karşı bazı avantaj ve dezavantajları vardır (Brennan ve Owende, 2010). Kapalı biyoreaktör sistemleri ışıktan daha iyi yararlanma, yüksek biyokütle üretimi kontaminasyon ve su kaybının az oluşu gibi avantajlara sahipken, açık havuzlarda üretim yatırım ve işletme maliyeti açısından daha ekonomiktir. Mikroalg üretim proseslerinde etkin olan abiyotik işletme parametreleri: ışık, sıcaklık, fotoperiyot, besin tuzu, oksijen, CO₂, pH, tuzluluk, toksik bileşenler ve karıştırma. Patojenler, virüs, bakteri, mantar, istenmeyen alg türleri ve inokülasyon oranı ise büyümeyi etkileyen biyotik faktörlerdir (Aydın, 2019).

CO₂ fiksasyonunda (*Chlorella kessleri*, *Spirulina*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *cyanobacteria Synechocystis salina*, *Microcystis aeruginosa*, *Chlorella fusca*) ve biyoenerji üretiminde (*C. vulgaris*, *Nannochloropsis sp.*, *Desmodesmus sp* and *Heterochlorella sp*) kullanılan çok sayıda mikroalg bulunmaktadır. Bu mikroalgler arasında *C. vulgaris*'in hem CO₂ fiksasyonu hem de biyoyakıt üretiminde kullanılabilmesi gösterilmiştir. Tek hücreli yeşil alg sınıfındaki *C. vulgaris* dayanıklılık, yüksek lipid içeriği, miksotrofik büyüme, farklı kültür ortamlarına kolay adaptasyon ve ağır metal seviyelerine tolerans özelliklerine sahiptir (Ayatollahi vd., 2021). *C. vulgaris* ile gerek CO₂ yakalama ve gerekse yenilenebilir enerji üretiminde lipid ve şeker kaynağı olarak kullanıma yönelik yapılan çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Anjos vd., 2013; Ayatollahi vd., 2021; Azhand vd., 2020; Sadeghizadeh vd., 2017).

Bu çalışmada, yenilenebilir enerji başta olmak üzere birçok alanda çevre dostu hammadde kaynağı olarak değerlendirilebilecek *C. vulgaris*' in kültüründe etkili olan bazı deneysel parametrelerin optimize edilmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal Metot

2.1. Alg Kültür Çalışmaları

C. vulgaris türü Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümünden temin edilmiş olup, izole işlemi Elazığ Keban Baraj Gölü'nden toplanan örneklerle yapılmıştır. Deneysel çalışmalarda kullanılan *C. vulgaris* örnekleri litrede 0,2 g KNO₃, 0,02 g K₂PO₄, 0,02 g MgSO₄.7H₂O ve 5 mL iz element çözeltisi içeren ortamda kültür edilmiştir. İz element çözeltisi ise litrede 0,0001 g ZnSO₄.7H₂O, 0,002 g MnSO₄.4H₂O, 0,01 g H₃BO₃, 0,001 g Co(NO₃)₂.6H₂O, 0,00005 g CuSO₄.5H₂O, 0,7 g FeSO₄.7H₂O ve 0,8 g EDTA içermektedir. Kültür deneyleri 250 mL lik erlenlerde gerçekleştirilmiştir. 100 mL'lik hacme sahip besiyerinde %10 inokülasyonla başlatılan kültür çalışmaları, ortam pH'sında (yaklaşık olarak 8), 12 saat 3000 lüks ışık şiddetinde aydınlatma ve 12 saat karartma ile 25 °C'de sürdürülmüştür. Kültür deneylerinin 7. Gününde kültür ortamından alınan örnekte Sedgwick-Rafter yöntemiyle hücre sayımı gerçekleştirilmiştir (McAlice, 1971). Yapılan sayım sonucunda 1 mL örnekte 1,536x10⁵ alg hücresi olduğu belirlenmiştir. 7. Gün sonunda stok kültür için alınan belirli hacimdeki alg hafif aydınlık bir ortamda 50 mL'lik eppendorf tüpler içinde muhafaza edilmiştir. Bir kısım stok kültür ise daha uzun süre saklama amacıyla -80 °C'deki soğutucuya konulmuştur. Kültür süresince topraklanmanın önüne geçmek için kültür ortamı her gün 1 defa yavaşça çalkalanmıştır.

2.2. Optimizasyon Çalışmaları

C. vulgaris biyokütle üretimi için optimizasyon deneyleri, bir önceki bölümde anlatılan besiyeri bileşiminde hazırlanan kültür ortamında yürütülmüştür. Optimizasyon çalışmaları Design Expert programı ile Cevap-Yüzey metodu (RSM) ve merkezi kompozit dizayn (CCD) kullanarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, kültür hacmi, inokülasyon oranı ve süre bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Bağımsız değişkenler seçilirken alg üretimi optimizasyonu üzerine yapılan literatür çalışmalarından faydalanılmıştır (Kong vd., 2012; Ryu vd., 2012). Cevap değişkeni olarak ise üreyen ve spektrofotometrik yöntemle ölçülen biyokütle konsantrasyonu takip edilmiştir. Kültür ortamından alınan örneklerin Shimadzu Marka 1800 Model UV-Visible Spectrofotometrede 690 nm dalga boyundaki absorbans değerleri ölçülmüştür. Absorbans değerleri literatürde (Kazeem vd., 2018) aynı dalga boyunda *C. vulgaris* için oluşturulan kalibrasyon doğrusundan faydalanarak g/L cinsinden konsantrasyon değerlerine dönüştürülmüştür. Bu amaçla kullanılan kalibrasyon doğrusunun denklemi aşağıda verilmiştir:

$$\text{Biyokütle konsantrasyonu } \left(\frac{g}{L}\right) = 0,2611 * \text{Absorbans değeri} + 0,0208 \quad (1)$$

RSM-CCD ile oluşturulan bağımsız değişkenlerin sembolleri ve çalışma aralıkları Tablo 1’de; deneysel çalışma tablosu ise Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 1. *C. vulgaris* biyokütle üretimi için RSM-CCD’den elde edilen bağımsız değişkenlerin sembolleri ve çalışma aralıkları

Sembol	Bağımsız değişken	-α	-1	0	+1	+α
A	Kültür hacmi (mL)	30	84,28	165	245,27	300
B	İnokülasyon oranı (% , hacimsel)	2	4,64	8,5	12,36	15,00
C	Süre (gün)	2	5,85	11,5	17,15	21

Tablo 2. RSM-CCD ile oluşturulan deneysel çalışma tablosu

Deney No	A:kültür hacmi (mL)	B:inokülasyonoranı (%)	C: süre (gün)
1	85	4,63	5,85
2	245	4,63	5,85
3	85	12,36	5,85
4	245	12,36	5,85
5	85	4,63	17
6	245	4,63	17
7	85	12,36	17
8	245	12,36	17
9	30	8,5	11,5
10	300	8,5	11,5
11	165	2	11,5
12	165	15	11,5
13	165	8,5	2
14	165	8,5	21
15	165	8,5	11,5
16	165	8,5	11,5
17	165	8,5	11,5
18	165	8,5	11,5
19	165	8,5	11,5
20	165	8,5	11,5

3. Bulgular ve Tartışma

C. vulgaris biyokütle üretim şartlarından kültür hacmi, inokülasyon oranı ve süreyi optimize etmek için gerçekleştirilen bu çalışmada, RSM-CCD tasarımı uygulanmıştır. Cevap değişkeni olarak mikroalgal biyokütle konsantrasyonu seçilmiştir. RSM analizi sonucunda Lineer, 2FI, kuadratik ve kübik modelleri arasında p (0,0022) ve R² (0,8966) değerlerine göre en uygun modelin kuadratik olduğu belirlenmiştir. P-değeri bir hipotezin anlamlılık değerini ölçer ve bu değer 0,05'den küçükse ileri sürülen hipotezin doğruluğunu kanıtlar (Bohloul vd., 2016). 0,05'den küçük p değeri hipotez doğruluğunun en fazla %20 hata ile gerçekleştiğinin göstergesidir. RSM ile anlamlılık açısından kuadratik modele en yakın olan lineer modele ait p-değerinin 0,0001'den küçük olduğu, fakat R² değerinin ise 0,7007 olduğu görülmüştür. Bu nedenle, RSM'nin de önerdiği kuadratik model ile ANOVA testi gerçekleştirilmiştir. *C. vulgaris* biyokütle üretimi için Tablo 2'de verilen çalışma tablosuna göre yapılan deneyler sonucunda elde edilen RSM modelinin varyans analizi (ANOVA) sonuçları Tablo 3'te verilmiştir. Tablo 3'ten görüldüğü üzere ileri sürülen model 29,06 olan F değeri ve <0,0001 olan p-değeri prob>F'ne sahiptir. Literatür çalışmalarında da gösterildiği gibi p-değeri prob>F 0,05'ten küçük ise modelin anlamlı olduğu bilinmektedir (Öz ve Kalender, 2021). Görüldüğü gibi, *C. vulgaris* biyokütle üretimi için RSM ile gerçekleştirilen optimizasyon sonucu anlamlıdır. 0,05'ten küçük olan p-değeri prob>F ile kültür hacmi (A), inokülasyon oranı (B), süre (C) bağımsız değişkenleri ile kültür hacmi ve sürenin kuadratik etkilerinin de model üzerinde etkili olduğu ANOVA testinden elde edilen diğer sonuçlardır. İkili parametre etkileşim sonuçlarından kültür hacmi-inokülasyon oranının (A-B) önemli olduğu anlaşılmaktadır. Özetle, RSM modelinin ANOVA analizlerinden mikroalgal biyokütle üretimi için A, B, C, AB, A² ve C² değişkenlerinin model üzerinde önemli parametreler olduğu gözlemlenmiştir. *Pavlova lutheri* mikroalg üretiminin optimizasyonunun incelendiği bir çalışmada sıcaklık, tuzluluk, ışık yoğunluğu pH ve süre parametreleri bağımsız değişken olarak seçilmiş ve sonuç olarak sıcaklık ve süre değişkenlerinin mikroalg üretiminde etkili olduğu gözlemlenmiştir (Ryu vd., 2012). *C. vulgaris* FSP-E ile karbonhidrat üretiminin optimize edildiği bir başka çalışmada inokülasyon oranı ve ışık şiddetinin etkisi araştırılmış ve her iki parametrenin üretimde etkili olmasına karşın ışık şiddetinin daha önemli olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Ho vd., 2013). *C. vulgaris* kullanarak atıksulardan fosfat ve nitrat uzaklaştırılmasının optimize edildiği bir başka çalışmada gelişen alg kültür ortamında sıcaklık, pH ve havalandırma hızı etkileri incelenmiş ve sürenin alg kültürasyonunda etkili olduğu görülmüştür (Sabeti vd., 2019). Sürenin ve kuadratik etkisinin mikroalg biyokütle üretimi üzerinde çalışılan diğer parametrelere göre (kültür hacmi ve inokülasyon oranı) belirgin şekilde daha önemli bir parametre olması, bu çalışma sonucunda elde edilen sonuçların literatür çalışmalarıyla uyumlu olduğunun göstergesidir. Tablo 3'ten elde edilen sonuçlara göre vurgulanması gereken bir diğer önemli noktanın inokülasyon oranının mikroalgal biyokütle üretimi üzerindeki etkisinin diğer parametrelere göre en düşük olduğudur. İnokülasyon oranının kuadratik etkisinin model üzerinde etkili olmadığı da görülmektedir.

Tablo 3'teki uyum eksikliği değeri için elde edilen F değeri (0,83), saf hataya göre uyum eksikliğinin önemli olmadığını gösterir. Gürültü nedeniyle bu kadar büyük bir "uyum eksikliği F-değerinin" oluşma olasılığı %61,47'dir. Anlamlı olmayan bir uyum eksikliği model uyumluluğu için istenen bir durumdur. ANOVA testlerinde Adj R² ve Pred R² arasındaki farkın (0,086) 0,2'den düşük olması model uyumluluğunun bir başka göstergesidir. ANOVA veri analizinde sinyal gürültüsünü temsil eden uygunluk keskinlik değerinin 4'den büyük olması istenir. Bu çalışmada 21,579 olan uygun keskinlik değeri modelin uygun olduğunu kanıtlar. ANOVA sonucu gerçek değerler cinsinden biyokütle konsantrasyonunun bağımsız değişkenlere bağlılığını veren eşitlik aşağıdaki denklemlerle verilmiştir:

Mikroalgal biyokütle konsantrasyonu (g/L)

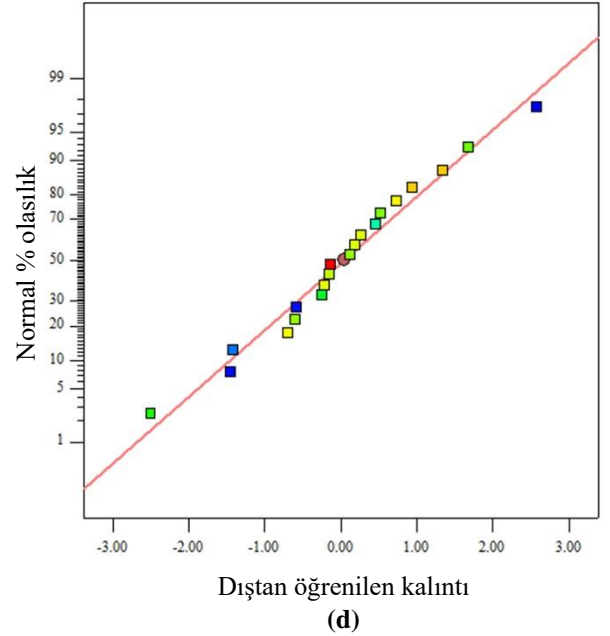
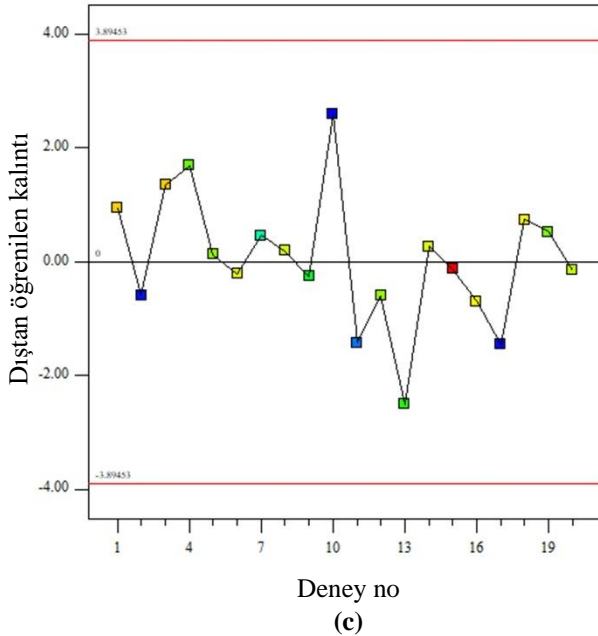
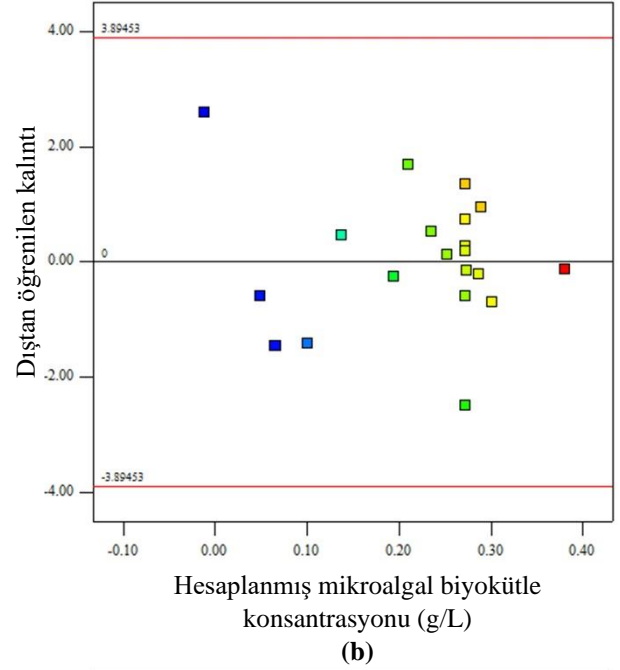
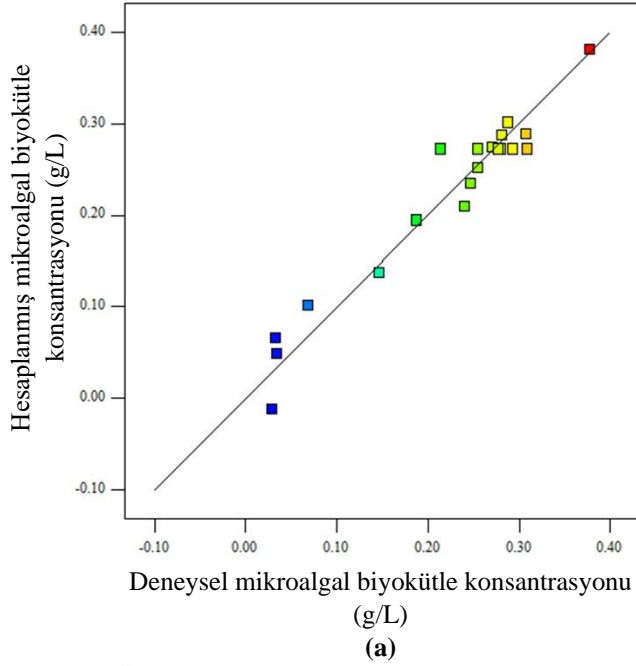
$$= -0,267 - 1,209 \times 10^{-3} A + 0,019 B + 0,048 C - 8,914 \times 10^{-5} AB - 3,073 \times 10^{-6} A^2 - 1,382 \times 10^{-3} C^2 \quad (2)$$

Tablo 3. *C. vulgaris* biyokütle üretimi optimizasyonu için RSM modelinin ANOVA tablosu

Kaynak	Karelerin toplamı	Ortalama kare	F-değeri	p-değeri prob>F	
Model	0,19	0,032	31,75	<0,0001	Anlamlı
A- Kültür hacmi	0,028	0,028	28,02	0,0001	
B-İnokülasyon oranı	4,999x10 ⁻³	4,999x10 ⁻³	5,02	0,0431	
C-Süre	0,12	0,12	119,17	<0,0001	
AB	6,118x10 ⁻³	6,118x10 ⁻³	6,15	0,0276	
A ²	5,707x10 ⁻³	5,707x10 ⁻³	5,74	0,0324	
C ²	0,028	0,028	28,45	0,0001	
Uyum Eksikliği	7,365x10 ⁻³	9,206x10 ⁻⁴	0,83	0,6147	Anlamlı değil
Saf Hata	5,568x10 ⁻³	1,114x10 ⁻³			

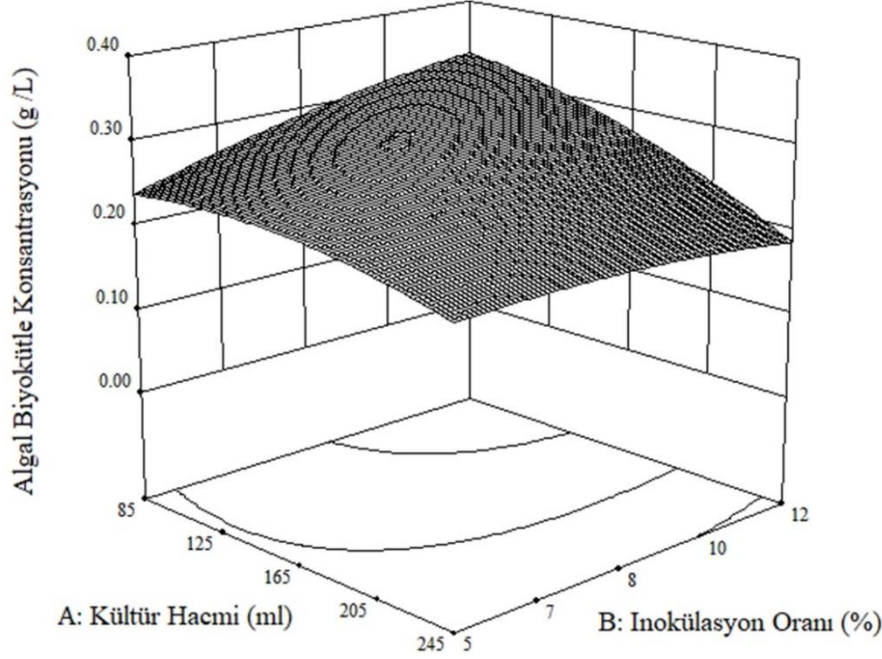
Standart sapma=0,032, R²=0,9361, Adj R²=0,9066, Pred R²=0,8203, Uygun keskinlik=21,579

ANOVA test sonuçlarından elde edilen modellerin yeterliliğini ve güvenilirliğini kontrol etmek için kalıntı ve normal olasılık yaygın olarak kullanılmaktadır (Pashaei vd., 2020). Bu amaçla ANOVA testinden elde edilen deneysel-hesaplanmış mikroalgal biyokütle konsantrasyonları, dıştan öğrenilen kalıntı-mikroalgal biyokütle konsantrasyonu, deney no-dıştan öğrenilen kalıntı ve dıştan öğrenilen kalıntı-normal dağılım olasılık grafikleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Şekil 1a'dan görüldüğü gibi deneysel ve model ile hesaplanmış mikroalgal biyokütle konsantrasyon değerleri diagonale yakındır. Şekil 1b ve 1c kalıntı değerlerinin x eksenini boyunca $+3,894$ ve $-3,894$ arasında rastgele bir nokta dağılımının sergilendiğini gösterir. Bu durum cevap aralığı boyunca varyansın değişmediği anlamına gelir (Öz ve Kalender, 2021). Şekil 1d'de gösterilen normal dağılım olasılık grafiğindeki noktaların lineer bir hat olması ve bu grafikteki hataların normal dağılım sergilemesi nedenleriyle, geliştirilen modelin yeterli olduğu söylenebilir.

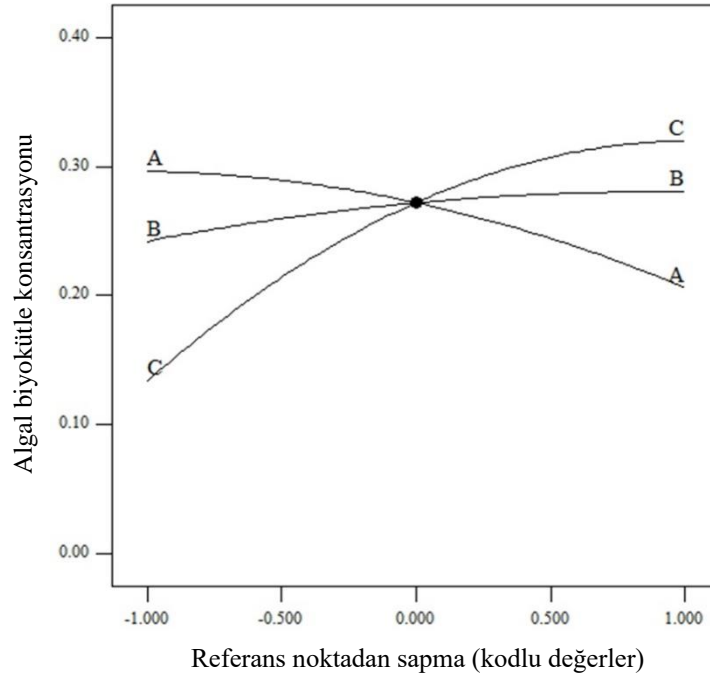


Şekil 1. RSM ile elde edilen bazı istatistiksel grafikler: (a) deneysel ve hesaplanmış mikroalgal biyokütle konsantrasyonlarının karşılaştırılması, (b) hesaplanmış mikroalgal biyokütle konsantrasyonu ile dıştan öğrenilen kalıntı değişimi, (c) deney no ile dıştan öğrenilen kalıntı değişimi, (d) dıştan öğrenilen kalıntı ile normal % olasılık değişimi.

Algal biyokütle üretiminin optimizasyonu için RSM'den elde edilen ve model üzerinde etkili ikili etkileşim parametresi olan kültür hacmi-inokülasyon oranına ait 3D grafiğı Şekil 2'de gösterilmiştir. Şekil 2'den düşük kültür hacim değerlerinde biyokütle üretiminin daha fazla olduğı anlaşılmaktadır. Ayrıca, optimum noktanın inokülasyon oranının yüksek, kültür hacminin ise düşük değerlerinde elde edilebileceğı Şekil 2'den söylenebilir. RSM analizleri sonucunda oluşturulan pertürbasyon grafiğı ise Şekil 3'te gösterilmiştir. Şekil 3'ten kültür hacmi (A) ve süre (C) parametrelerinin model üzerinde etkili olduğı fakat inokülasyon oranının görece daha az etkili olduğı görülmektedir.



Şekil 2. *C. vulgaris* mikroalgal biyokütle üretimine ait kültür hacmi-inokülasyon oranı ikili etkileşimi için 3D grafiğı



Şekil 3. *C. vulgaris* üretimi üzerine optimize edilen parametrelerin pertürbasyon grafiğı

RSM analizleri sonucunda elde edilen model ile ileri sürülen optimum *C. vulgaris* biyokütle üretim şartları 85,693 mL kültür hacmi, %12,152 inokülasyon oranı ve 16,952 gün süre olarak belirlenmiştir.

4. Sonuç

C. vulgaris biyokütle üretiminde kültür hacmi, inokülasyon oranı ve üretim süresinin RSM ile optimizasyonu incelenmiştir. Cevap değişkeni olarak mikroalgal biyokütle konsantrasyonu seçilmiştir. Gerçekleştirilen istatistiksel hesaplamalar sonucunda geliştirilen modelin mikroalgal biyokütle üretimini yeterli seviyede temsil ettiği bulunmuştur. Bu sonuca ulaşmadaki belirleyici argümanlardan biri olan deneysel ve hesaplanan algal biyokütle konsantrasyon grafiği diyagonale yakındır. Hesaplanan algal biyokütle konsantrasyonu ile dıştan öğrenilen kalıntı grafiklerinde sabit varyans elde edilmiştir. Dıştan öğrenilen kalıntı % dağılım grafiğinden verilerin istatistiksel olarak normal dağılım sergilediği belirlenmiştir. ANOVA sonuçlarından incelenen tüm bağımsız değişkenlerin 0,05’den düşük p-değerleri ile geliştirilen model üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Bununla beraber, en düşük p-değeri ile kültür süresi model üzerinde en önemli parametredir. Kültür süresini önem sırasına göre kültür hacmi izlemektedir. İnokülasyon oranı ise çalışılan bağımsız değişkenler arasında etkisi en az olan değişken olarak belirlenmiştir. Kuadratik etkilerde inokülasyon oranının model üzerinde etkisi olmadığı ulaşılan bir başka önemli sonuçtur. Optimum üretim şartlarına ulaşmaya kadar kültür hacmi artışının biyokütle üretimini negatif yönde etkilediği, kültür süresi artışının ise pozitif yönde etkilediği görülmüştür. İkili parametre değişimlerinden sadece kültür hacmi-inokülasyon oranının modelde etkili olduğu gözlenmiştir. Bu konu üzerine gelecekte yapılacak çalışmalarda, mikroalgal *C. vulgaris* biyokütle üretiminin sabit kültür yerine alternatif tekniklerle yapılması ve bu tekniklerde üretim şartlarının optimize edilmesi önerilmektedir.

Teşekkür

Deneysel çalışmaların gerçekleştirildiği *C. vulgaris* örneklerinin temininde sağladığı katkıdan dolayı Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ahmet Kadri ÇETİN’e teşekkürlerimizi sunarız.

Referanslar

- Alami, A. H., Alasad, S., Ali, M. & Alshamsi, M. (2021). Investigating Algae for Co2 Capture and Accumulation and Simultaneous Production of Biomass for Biodiesel Production. *Science of the Total Environment*, 759, 143529.
- Anjos, M., Fernandes, B. D., Vicente, A. A., Teixeira, J. A. & Dragone, G. (2013). Optimization of Co2 Bio-Mitigation by *Chlorella Vulgaris*. *Bioresource technology*, 139, 149-154.
- Ayatollahi, S. Z., Esmailzadeh, F. & Mowla, D. (2021). Integrated Co2 Capture, Nutrients Removal and Biodiesel Production Using *Chlorella Vulgaris*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(2), 104763.
- Aydın, G. Ş. (2019). Mikroalg Teknolojisi Ve Çevresel Kullanımı. *Harran Üniversitesi Mühendislik Dergisi*, 4(1), 81-92.
- Azhand, N., Sadeghizadeh, A. & Rahimi, R. (2020). Effect of Superficial Gas Velocity on Co2 Capture from Air by *Chlorella Vulgaris* Microalgae in an Airlift Photobioreactor with External Sparger. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(4), 104022.
- Barsanti, L. & Gualtieri, P. (2014). *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology (Second Edi)*. Crc Press. In).
- Bohlouli, A., Afshar, M. R., Aboutalebi, M. & Seyedein, S. (2016). Optimization of Tungsten Leaching from Low Manganese Wolframite Concentrate Using Response Surface Methodology (Rsm). *International Journal of Refractory Metals and Hard Materials*, 61, 107-114.
- Brennan, L. & Owende, P. (2010). Biofuels from Microalgae—a Review of Technologies for Production, Processing, and Extractions of Biofuels and Co-Products. *Renewable and sustainable energy reviews*, 14(2), 557-577.
- Dissa, A., Desmorieux, H., Savadogo, P., Segda, B. & Koulidiati, J. (2010). Shrinkage, Porosity and Density Behaviour During Convective Drying of *Spirulina*. *Journal of food Engineering*, 97(3), 410-418.
- Gong, X., Wang, Y. & Kuang, T. (2017). Zif-8-Based Membranes for Carbon Dioxide Capture and Separation. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(12), 11204-11214.

- Ho, S.-H., Huang, S.-W., Chen, C.-Y., Hasunuma, T., Kondo, A. & Chang, J.-S. (2013). Characterization and Optimization of Carbohydrate Production from an Indigenous Microalga *Chlorella Vulgaris* Fsp-E. *Bioresource technology*, 135, 157-165.
- Jia, Z., Liu, Y., Daroch, M., Geng, S. & Cheng, J. J. (2014). Screening, Growth Medium Optimisation and Heterotrophic Cultivation of Microalgae for Biodiesel Production. *Applied biochemistry and biotechnology*, 173(7), 1667-1679.
- Kativu, E. (2011). Carbon Dioxide Absorption Using Fresh Water Algae and Identifying Potential Uses of Algal Biomass. Faculty of Engineering and the Built Environment, University of the Witwatersrand, Johannesburg.
- Kazeem, M., Hossain, S., Hossain, M. & Razzak, S. (2018). Application of Central Composite Design to Optimize Culture Conditions of *Chlorella Vulgaris* in a Batch Photobioreactor: An Efficient Modeling Approach. *Chemical Product and Process Modeling*, 13(4).
- Kong, W.-B., Hua, S.-F., Cao, H., Mu, Y.-W., Yang, H., Song, H. & Xia, C.-G. (2012). Optimization of Mixotrophic Medium Components for Biomass Production and Biochemical Composition Biosynthesis by *Chlorella Vulgaris* Using Response Surface Methodology. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 43(3), 360-367.
- Kupgan, G., Abbott, L. J., Hart, K. E. & Colina, C. M. (2018). Modeling Amorphous Microporous Polymers for Co₂ Capture and Separations. *Chemical reviews*, 118(11), 5488-5538. doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00691
- McAlice, B. J. (1971). Phytoplankton Sampling with the Sedgwick-Rafter Cell 1. *Limnology and Oceanography*, 16(1), 19-28.
- Moreira, D. & Pires, J. C. (2016). Atmospheric Co₂ Capture by Algae: Negative Carbon Dioxide Emission Path. *Bioresource technology*, 215, 371-379. doi: 10.1016/j.biortech.2016.03.060
- Moroney, J. V. (2009). Algal Photosynthesis. In eLS, John Wiley & Sons, 1-7.
- Oliveira, E. G., Duarte, J. H., Moraes, K., Crexi, V. T. & Pinto, L. A. (2010). Optimisation of *Spirulina Platensis* Convective Drying: Evaluation of Phycocyanin Loss and Lipid Oxidation. *International journal of food science & technology*, 45(8), 1572-1578.
- Oliveira, E. G., Rosa, G. S., Moraes, M. A. & Pinto, L. A. A. (2009). Characterization of Thin Layer Drying of *Spirulina Platensis* Utilizing Perpendicular Air Flow. *Bioresource technology*, 100(3), 1297-1303.
- Öz, Y. E. & Kalender, M. (2021). Optimization of Bacterial Cellulose Production from Sugar Beet Molasses by *Gluconacetobacter Xylinus* Nrrl B-759 in Static Culture. *Cellulose Chem. Technol.*, 55(9-10), 1051-1060.
- Pashaei, H., Ghaemi, A., Nasiri, M. & Karami, B. (2020). Experimental Modeling and Optimization of Co₂ Absorption into Piperazine Solutions Using Rsm-Ccd Methodology. *ACS omega*, 5(15), 8432-8448.
- Ryu, B., Kang, K.-H., Ngo, D.-H., Qian, Z.-J. & Kim, S.-K. (2012). Statistical Optimization of Microalgae *Pavlova Lutheri* Cultivation Conditions and Its Fermentation Conditions by Yeast, *Candida Rugopelliculosa*. *Bioresource technology*, 107, 307-313.
- Sabeti, M. B., Hejazi, M. A. & Karimi, A. (2019). Enhanced Removal of Nitrate and Phosphate from Wastewater by *Chlorella Vulgaris*: Multi-Objective Optimization and Cfd Simulation. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 27(3), 639-648.
- Sadeghizadeh, A., Moghaddasi, L. & Rahimi, R. (2017). Co₂ Capture from Air by *Chlorella Vulgaris* Microalgae in an Airlift Photobioreactor. *Bioresource technology*, 243, 441-447.
- Sepahvand, S., Jonoobi, M., Ashori, A., Gauvin, F., Brouwers, H., Oksman, K. & Yu, Q. (2020). A Promising Process to Modify Cellulose Nanofibers for Carbon Dioxide (Co₂) Adsorption. *Carbohydrate polymers*, 230, 115571.
- Web-1. A European Green Deal. (2019-2024). https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal_en. . Erişim Tarihi: 10.10.2021.

Yang, F., Long, L., Sun, X., Wu, H., Li, T. & Xiang, W. (2014). Optimization of Medium Using Response Surface Methodology for Lipid Production by *Scenedesmus* Sp. *Marine drugs*, 12(3), 1245-1257.