

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KARBONDİOKSİT GAZINDAN BİYO-YAKIT
ÜRETİMİ



Cansu DOĞAN

Ocak, 2016
İZMİR

KARBONDİOKSİT GAZINDAN BİYO-YAKIT ÜRETİMİ

Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Cansu DOĞAN

Ocak, 2016

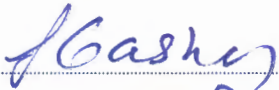
İZMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

CANSU DOĞAN, tarafından PROF.DR. DELYA T. SPONZA yönetiminde hazırlanan “KARBONDİOKSİT GAZINDAN BİYO-YAKIT ÜRETİMİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Delya T. SPONZA

Yönetici


Prof. Dr. Emel Tarkan

Jüri Üyesi


Prof. Dr. Ayşegül Pala

Jüri Üyesi


Prof. Dr. Ayşe OKUR

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren danışmanım Prof.Dr. Delia T. SPONZA'ya teşekkür ederim.

2014.KB.FEN 035 no'lu 'KARBONDİOKSİT GAZINDAN BİYOYAKIT ÜRETİMİ' konulu projeyi destekleyen D.E.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve 114Y721 no'lu 'ATIK KARBONDİOKSİT GAZINDAN BİYOYAKIT ÜRETİMİ' konulu proje ile beni bursiyer ve maddi olarak destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca benimle bilgi ve tecrübelerini paylaşan, desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen Nefise ERDİNÇMER'e, Çağlar ULUSOY'a, Murat ŞAVUR'a ve Binnaz KIRBIYIK'a teşekkür ederim.

Tüm yüksek lisans öğrenim hayatım süresince her zaman sabırla yanımda olan annem Sıdika DOĞAN'a, babam Nihat DOĞAN'a, kardeşim Meral TANAY DOĞAN'a ve abim Utku DOĞAN'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans ve tez çalışmalarımda desteklerini bir an olsun eksiltmeyen, en zor zamanlarımda yanımda olan değerli arkadaşlarım; Arzu YILMAZ'a, Pelin ALİCANOĞLU'na, Merve BALABAN'a ve Hatice Merve GÜNERİ'ye çok teşekkür ederim.

Cansu DOĞAN

KARBONDİOKSİT GAZINDAN BİYO-YAKIT ÜRETİMİ

ÖZ

Atmosferde bulunan karbondioksit konsantrasyonu fosil kaynaklı yakıtların yanması sonucunda her yıl 2,3 ppm kadar artmaktadır. Ancak iklim değişiklikleri ve mevcut enerji kaynaklarının azalması ile yeni yenilenebilir enerjilerin uygulanmaya alınmasını gerekli kılmıştır. Siyanobakterilerden biyoyakıt üretiminin fizibilitesi, maliyetin düşük olması, tür izolasyonunun deniz, kıyı ve topraktan kolayca yapılabilmesi ve bu bakterilerin fotosentez yoluyla karbondioksitten (CO_2) 1-butanol üretmeleridir. Karbondioksitin atmosferde azalmasını sağlayacak ve karbondioksiti yararlı hale dönüştürecek bu siyanobakteriler, denizden ve sulardan kolayca izole edilebilen *Synechococcus elongatus* türleridir. Bu tezde, on bir farklı çalışmada üç farklı *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile CO_2 'ten 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Her bir çalışmada 1-butanol_{üretilen}/ CO_2 _{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır. Maksimum üretilen 1-butanol konsantrasyonu 35,37 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/ CO_2 _{kullanılan} verimi yüzde 92,4'tür. Optimum koşullar; 30°C sıcaklık, 60 W ışık şiddeti, pH = 7.1, redoks potansiyeli 120 mV, 0,083 m³/sn debi ile CO_2 ve çözünmüş O_2 konsantrasyonu 0,5 mg/l olan işletme parametreleri altında yapılmıştır. *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisini kullanarak CO_2 'ten 1-butanol üretimi metabolik yol izinde bulunan enzimler arasında 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (Hbd), Trans-2-enoil-CoA redüktaz (Ter) ve Aldehid/alkol dehidrojenaz (AdhE2) enzimlerinin konsantrasyonları spektrofotometre ile ölçülmüştür. 1-butanol üretimi için gerekli maliyet analizleri yapılmış ve 1 litre 1-butanolun maliyeti maksimum 1,31 TL/L olarak elde edilmiştir. Bu yüksek lisans tezi kapsamında yapılan on bir çalışma için bekleme süresinin, pH'nın, sıcaklığın, NaCl ilavesinin, redoks potansiyelinin, MgSO_4 , ışık şiddetinin, çözünmüş O_2 ilavesinin, pAM2991 plazmitinin ilavesinin *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayılarına, 1-butanol üretimlerine, 1-butanol_{üretilen}/ CO_2 _{kullanılan} verimlerine olan etkileri incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: 1-butanol, karbondioksit, biyoyakıt, biyoenerji, *Synechococcus elongatus* PCC 7942, siyanobakteri.

BIO-FUEL PRODUCTION FROM CARBONDIOXIDE GAS

ABSTRACT

The carbon dioxide concentration in the atmosphere increases 2-3 ppm every year, due to the combustion of fuels originated from fossils. However, with the climate change and decrease of current energy resources it is necessitated to put the new renewable energies into practice. The feasibility of *S. elongatus* PCC 7942 cyanobacteria in biofuel production is based on its low cost, making the species isolation easily from the sea, coast and soil and also these bacteria's producing 1-butanol out of CO₂ via photosynthesis. These cyanobacteria species which will enable the decrease of carbon dioxide in the atmosphere and render it useful can easily be isolated from the sea or water. In eleven different studies within the scope of this thesis, 1-butanol production from CO₂ with *S. elongatus* PCC 7942 culture has been achieved. In each study, the yields of 1-butanol_{produced}/CO_{2utilized} have been calculated. The maximum concentration of produced 1-butanol is 35.37 mg/L and 1-butanol_{produced}/CO_{2utilized} efficiency is 92.4. The maximum outcomes have been achieved under the operation parameters which are 30 °C temperature, 60 W intensity of light, pH= 7.1, 120 mV redox potential, 0.083 m³/sn flow rate with CO₂ and 0.5 mg/l dissolved O₂ concentration. Among the enzymes on the metabolic trail of the production of 1-butanol via using *S. elongatus* PCC 7942 cyanobacteria, the concentration of the enzymes 3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase (Hbd), Trans-2-enoyl-CoA reductase (Ter) and Aldehyde/alcohol dehydrogenase (AdhE2) has been measured with spectrophotometer. At maximum yield; the measured concentrations are 0.016 µg/ml for hbd; 0.0022 µg/ml for Ter and 0.0048 µg/ml for AdhE2. The cost analyses necessary for 1-butanol production has been done and the cost of 1 litre 1-butanol has been determined as maximum 1.31 TL/L. For the eleven studies within the scope of this master thesis, the effects of waiting-period, pH, temperature, addition of NaCl, redox potential, MgSO₄, intensity of light, addition of dissolved O₂, addition of pAM2991 plasmid to the numbers of *S. elongatus* PCC 7942 cyanobacteria, productions of 1-butanol, yields of 1-butanol_{produced} /CO_{2utilized} have been investigated.

Keywords: 1-butanol, carbon dioxide, biofuel, bioenergy, *Synechococcus elongatus* PCC 7942, cyanobacteria.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZ	iv
ABSTRACT.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	xvii
TABLolar LİSTESİ.....	xxvii

BÖLÜM BİR - GİRİŞ..... 1

1.1 Giriş	1
1.1.1 Dünyada Mevcut Durum.....	2
1.2 Çalışmanın Amaç ve Kapsam	4
1.3 Çalışmanın Getireceği Yenilikler.....	5

BÖLÜM İKİ - LİTERATÜR ÖZETİ..... 8

2.1 Literatür Özeti	8
---------------------------	---

BÖLÜM ÜÇ - *SYNECHOCOCCUS ELONGATUS*..... 14

3.1 <i>S. elongatus</i> Özellikleri	14
3.2 <i>S. elongatus</i> Siyanobakterisinden 1-Butanol Üretimi	15
3.3 Çevresel Koşulların <i>S. elongatus</i> 'tan 1-butanol Üretimindeki Rolü	16

BÖLÜM DÖRT - MATERYAL VE METOT..... 20

4.1 Yapılan Çalışmalar	20
4.1.1 Kullanılan Mikroorganizmanın Alındığı Yer.....	21
4.2 Deney Sisteminin Açıklanması	22

4.2.1	Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Siyanobakteri Sayımları, 1-butanol Konsantrasyonları ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri	22
4.2.2	Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile yapılan Çalışmalarda Siyanobakteri Sayımları, 1-butanol Konsantrasyonları ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri	23
4.2.3	Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Siyanobakteri Sayıları, 1-butanol Miktarı ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri ..	24
4.2.4	Tahtalı Baraj Gölünün Reis Dere mevkiinden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Siyanobakteri Sayıları, 1-butanol Miktarı ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri ..	25
4.3	<i>S. elongatus</i> İçin İzolasyon ve Büyüme Ortamı	26
4.4	<i>S. elongatus</i> 'un Tanısının Yapılması.....	27
4.5	Kullanılan Karbondioksit Kaynakları	28
4.5.1	Laboratuvarda % 99 Saflıkta olan CO ₂ Tüpünden CO ₂ Kullanımı	28
4.5.2	Karbondioksitce Zengin Kirli Bölgelerden CO ₂ Yakalanması	28
4.5.3	Kirli Bölgelerden Yakalanan Havanın Saflaştırılması	29
4.5.3.1	Kirli Bölgelerden Yakalanan Havanın O ₂ Eliminasyonu	29
4.6	<i>S. elongatus</i> Siyanobakterisi Tarafından 1-Butanol Üretimini Sağlanması ..	31
4.7	CO ₂ 'den 1-Butanol Üretiminde Siyanobakteri Sayılarını, 1-butanol Konsantrasyonlarını ve 1-butanol _{üretilen} /CO ₂ _{kullanılan} Verimini Etkileyen Çevresel Faktörler	32
4.7.1	Sıcaklığın Etkisi	32
4.7.2	Işık Şiddetinin Etkisi.....	32
4.7.3	Bekleme Süresinin Etkisi.....	32
4.7.4	pH'ın Etkisi	33
4.7.5	NaCl İlavesinin Etkisi.....	33
4.7.6	MgSO ₄ Etkisi	34
4.7.7	Çözünmüş Oksijenin (O ₂) Etkisi.....	34
4.7.8	Redoks Potansiyelin (Eh) Etkisi.....	34
4.7.9	Plasmit İlavesinin Etkisi.....	35

4.7.9.1 Plazmit Oluşumları	36
4.7.9.2 Özel Türün Oluşturulması	37
4.7.9.3 Plazmit Transformasyonu	37
4.8 Analitik Yöntemler	38
4.8.1 <i>S. elongatus</i> Siyanobakterisinin Sayımı	38
4.8.2 1-Butanol Ölçümü	39
4.8.3 CO ₂ Ölçümü	40
4.8.4 Enzim Aktivitesi Ölçümleri	41
4.8.4.1 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (Hbd) aktivitesi ölçümü	41
4.8.4.2 Trans-2-enoil-CoA redüktaz (Ter) aktivitesi ölçümü	42
4.8.4.3 Aldehid/alkol dehidrojenaz (AdhE2) aktivitesi ölçümü	43
4.8.5 Bradford Protein Tayini Testi	44
4.8.5.1 Bradford Protein Tayini Testi İçin Standart Eğrinin Hazırlanması	45
4.8.6 Amonyak Testi	45
4.8.7 Nitrat Testi	46
4.8.8 Nitrit Testi	47
4.8.9 Üre Testi	48
4.8.10 Çözünmüş Oksijen Ölçümü	48
4.8.11 Redoks Potansiyeli Ölçümü	48
4.8.12 Sıcaklık Ölçümü	49
4.8.13 pH Ölçümü	49
4.8.14 Işık Şiddetinin Ölçümü	49

BÖLÜM BEŞ - DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA..... 50

5.1 <i>S. elongatus</i> siyanobakterisinin Tanısı	50
5.1.1 <i>S. elongatus</i> Siyanobakteri Sayımı Sonuçları	55
5.1.2 Amonyak Testi Sonuçları	59
5.1.3 Nitrat Testi Sonuçları	67
5.1.4 Nitrit Testi Sonuçları	74
5.1.5 Üre Testi Sonuçları	80
5.1.6 Bradford Testi Sonuçları	88

5.2 CO ₂ Ölçümü Sonuçları.....	91
5.2.1 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Siyanobakterisinin % 99 Saflıkta CO ₂ Tüpünden Kullanılan CO ₂ ile ve CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO ₂ 'in Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda CO ₂ Ölçümü Sonuçları.....	91
5.2.2 Foça Denizi Kıyılarından Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Siyanobakterisine % 99 Saflıkta CO ₂ Tüpünden Kullanılan CO ₂ , CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO ₂ ve CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda CO ₂ Ölçümü Sonuçları.....	94
5.2.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Siyanobakterisine % 99 Saflıkta CO ₂ Tüpünden Kullanılan CO ₂ , CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO ₂ ve CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda CO ₂ Ölçümü Sonuçları.....	97
5.2.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Siyanobakterisine %99 Saflıkta CO ₂ Tüpünden Kullanılan CO ₂ , CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO ₂ ve CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda CO ₂ Ölçümü Sonuçlar	100
5.3 1-Butanol Ölçümü Sonuçları.....	103
5.3.1 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Siyanobakterisinin % 99 Saflıkta CO ₂ Tüpünden Kullanılan CO ₂ ile ve CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO ₂ 'in Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda 1-Butanol Ölçümü Sonuçları	103
5.3.2 Foça Denizi Kıyılarından Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Siyanobakterisine % 99 Saflıkta CO ₂ Tüpünden Kullanılan CO ₂ , CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO ₂ ve CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp	

Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda 1-Butanol Ölçümü Sonuçları.....	106
5.3.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Siyanobakterisine % 99 Saflıkta CO ₂ Tüpünden Kullanılan CO ₂ , CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO ₂ ve CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda 1-Butanol Ölçümü Sonuçları	109
5.3.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Siyanobakterisine %99 Saflıkta CO ₂ Tüpünden Kullanılan CO ₂ , CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO ₂ ve CO ₂ 'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda 1-Butanol Ölçümü Sonuçları	112
5.4 CO ₂ 'den 1-butanol Üretim Verimleri.....	116
5.5 Çevresel Faktörlerin <i>S. elongatus</i> Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	118
5.5.1 Sıcaklığın Etkisinin Sonuçları	118
5.5.1.1Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile Yapılan Çalışmalarda SıcaklığınSiyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	118
5.5.1.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile Yapılan Çalışmalarada Sıcaklığın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	120
5.5.1.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Sıcaklığın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	121
5.5.1.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Sıcaklığın	

Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	123
5.5.2 Işık Şiddetinin Etkisinin Sonuçları	125
5.5.2.1 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Işık Şiddetinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	125
5.5.2.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ileYapılan ÇalışmalardaIşık Şiddetinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçlar	128
5.5.2.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Işık Şiddetinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	131
5.5.2.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Işık Şiddetinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	135
5.5.3 Bekleme Süresinin Etkisinin Sonuçları.....	138
5.5.3.1 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda BeklemeSüresinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	138
5.5.3.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan ÇalışmalardaBekleme Süresinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	140
5.5.3.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Bekleme Süresinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol	

Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	142
5.5.3.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Bekleme Süresinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	143
5.5.4 pH Etkisinin Sonuçları	145
5.5.4.1 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pH'ın Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	145
5.5.4.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pH'ın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	147
5.5.4.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pH'ın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	149
5.5.4.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pH'ın Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	150
5.5.5 NaCl İlavesinin Etkisinin Sonuçları	152
5.5.5.1 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda NaCl İlavesinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	152
5.5.5.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda NaCl İlavesinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	154

5.5.5.3 Foça Balaban Dağı Mevkisi Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda NaCl İlavesinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	156
5.5.5.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda NaCl İlavesinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	158
5.5.6 MgSO ₄ Etkisinin Sonuçları.....	160
5.5.6.1 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda MgSO ₄ Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	160
5.5.6.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda MgSO ₄ Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	162
5.5.6.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda MgSO ₄ Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları	164
5.5.6.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda MgSO ₄ Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	165
5.5.7 Çözünmüş Oksijenin (O ₂) Etkisinin Sonuçları.....	167
5.5.7.1 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Çözünmüş Oksijenin (O ₂) Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	167

5.5.7.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Çözünmüş Oksijenin (O ₂) Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	169
5.5.7.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Çözünmüş Oksijenin (O ₂) Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	171
5.5.7.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Çözünmüş Oksijenin (O ₂) Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	174
5.5.8 Redoks Potansiyelinin Etkisinin Sonuçları	176
5.5.8.1 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda RedoksPotansiyelinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	176
5.5.8.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Redoks Potansiyelinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	182
5.5.8.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Redoks Potansiyelinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	188
5.5.8.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Redoks Potansiyelinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	194
5.5.9 pAM2991 Plazmitinin İlavesi Etkisinin Sonuçları.....	202

5.5.9.1 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pAM2991 Plazmitinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	202
5.5.9.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pAM2991 Plazmitinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	204
5.5.9.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pAM2991 Plazmitinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	205
5.5.9.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pAM2991 Plazmitinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları.....	207
5.6 Enzim Aktivitesi Ölçümleri Sonuçları	211
5.6.1 3-hidroksibütiril-CoA dehidrojenaz (Hbd) Aktivitesi Ölçümü Sonucu.....	211
5.6.2 Trans-2-enoil-CoA redüktaz (Ter) Aktivitesi Ölçümü Sonucu	215
5.6.3 Aldehid/alkol dehidrojenaz (AdhE2) Aktivitesi Ölçümü Sonucu	219
5.7 Maliyet Analiz.....	224

BÖLÜM ALTI - SONUÇLAR VE ÖNERİLER..... 236

KAYNAKLAR 244

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 Karbondioksitin Birleşmiş Milletler iklim değişikliği taraflar konferansında (COP21) kabul edilen taslakta oluşturulan gelecek yüzyılda ulaşabileceği değerler	4
Şekil 3.1 <i>S. elongatus</i> mikroskop görüntüsü.	14
Şekil 3.2 <i>S. elongatus</i> ile tasarlanmış 1-butanol üretiminin şematik gösterimi	16
Şekil 4.1 <i>S. elongatus</i> PCC 7942 LGC Standards (ATCC 33912).....	21
Şekil 4.2 30 gün sonunda Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürleri.	23
Şekil 4.3 30 gün sonunda Foça deniz kıyılarından izole edilen kültürler.	24
Şekil 4.4 30 gün sonunda Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleri.....	25
Şekil 4.5 30 gün sonunda Tahtalı Baraj Gölü Reis dere mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleri.	26
Şekil 4.6 % 99 Saflıkta olan CO ₂ tüpü	28
Şekil 4.7 Vakum pompası (A) ve hava torbası (B)	29
Şekil 4.8 Karbondioksit saflaştırma düzeneği.....	31
Şekil 4.9 <i>S. elongatus</i> 'e transfer edilen plazmit ve bölgeleri	36
Şekil 4.10 pAM2991 plazmiti içerisine yerleştirilen pEL5 plazmiti ve bölgeleri.	36
Şekil 4.11 1-butanol alıkonma süresi 2.483 dakika.....	39
Şekil 4.12 1-butanol kalibrasyon grafiği, R ² =0,9993	40
Şekil 4.13 CO ₂ alıkonma süresi 1.47 dakika	40
Şekil 4.14 CO ₂ kalibrasyon grafiği, R ² =0,9997	41
Şekil 4.15 hbd enziminin kalibrasyon eğrisi, R ² = 0,9199	42
Şekil 4.16 Ter enziminin kalibrasyon eğrisi, R ² = 0,93011	43
Şekil 4.17 AdhE2 enziminin kalibrasyon eğrisi, R ² = 0,9842.....	44
Şekil 4.18 Bradford testi için kalibrasyon eğrisi, R ² = 0,9991	44
Şekil 5.1 ATCC firmasından satın alınan <i>S. elongatus</i> PCC 7942 birincil kültürlerinin boyut ve şekilleri	50
Şekil 5.2 Saf ve Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleriyle yapılan çalışmalara göre 30 gün sonunda ölçülen <i>S. elongatus</i> siyanobakteri boyutlarının mikroskop görüntüleri.....	51

Şekil 5.3 Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkişi kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen <i>S. elongatus</i> siyanobakterilerinin 30 gün sonundaki boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri	53
Şekil 5.4 <i>S. elongatus</i> siyanobakteri türlerinin büyüme eğrisi	56
Şekil 5.5 Saf ve Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleriyle yapılan çalışmalarda 30 gün sonunda yapılan amonyak testi sonucunda boyutları.....	61
Şekil 5.6 Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkişi kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen <i>S. elongatus</i> siyanobakterilerinin 30 gün sonundaki amonyak testi sonucunda boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri.....	64
Şekil 5.7 30 Gün sonunda yapılan nitrat testi sonucunda saf ve Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleriyle yapılan çalışmalarda <i>S. elongatus</i> Boyutları.	68
Şekil 5.8 30 Gün sonunda yapılan nitrat testi sonucunda Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkişi kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen <i>S. elongatus</i> siyanobakterilerinin boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri	71
Şekil 5.9 30 gün sonunda yapılan nitrit testi sonucunda saf ve Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleriyle yapılan çalışmalarda boyutları	75
Şekil 5.10 30 Gün Sonunda Yapılan Nitrit Testi Sonucunda Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkişi kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen <i>S. elongatus</i> siyanobakterilerinin boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri.....	78
Şekil 5.11 30 gün sonunda yapılan üre testi sonucunda saf ve Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleriyle yapılan çalışmalarda boyutları.	82
Şekil 5.12 30 gün sonunda yapılan üre testi sonucunda Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkişi kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj	

Gölünden izole edilen <i>S. elongatus</i> siyanobakterilerinin boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri	85
Şekil 5.13 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürlerine başlangıçta verilen CO ₂ konsantrasyonlarının GC-MS’de ölçülen alıkonma süreleri	92
Şekil 5.14 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürlerine 30 gün sonunda GC-MS’de ölçülen CO ₂ konsantrasyonlarının alıkonma süreleri	92
Şekil 5.15 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerine başlangıçta verilen CO ₂ konsantrasyonlarının GC-MS’de ölçülen alıkonma süreleri.	94
Şekil 5.16 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerine verilen CO ₂ konsantrasyonlarının 30 günün sonunda GC-MS’de ölçülen alıkonma süreleri.	95
Şekil 5.17 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerine başlangıçta verilen CO ₂ konsantrasyonlarının GC-MS’de ölçülen alıkonma süreleri.	97
Şekil 5.18 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerine verilen CO ₂ konsantrasyonlarının 30 gün sonunda GC-MS’de ölçülen alıkonma süreleri.....	98
Şekil 5.19 Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerine başlangıçta verilen CO ₂ konsantrasyonlarının GC-MS’de ölçülen alıkonma süreleri.	100
Şekil 5.20 Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerine verilen CO ₂ 30 günün sonunda GC-MS’de ölçülen alıkonma süreleri.	101
Şekil 5.21 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürlerinde 30 gün sonunda GC-MS’de ölçülen 1-butanolun alıkonma süreleri.	103
Şekil 5.22 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürlerinden üretilen 1-butanolun miktarları	104
Şekil 5.23 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerinde 30 gün sonunda GC-MS’de ölçülen 1-butanolun alıkonma süreleri.	107
Şekil 5.24 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerinden üretilen 1-butanolun miktarları.....	107

Şekil 5.25 Foça Balaban Dağı mevkisi kaynak suyundan <i>S. elongatus</i> kültürlerinde 30 gün sonunda GC-MS’de ölçülen 1-butanolun alıkonma süreleri.	110
Şekil 5.26 Foça Balaban Dağı mevkisi kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerinden üretilen 1-butanolun miktarları.	110
Şekil 5.27 Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerinde 30 gün sonunda GC-MS’de ölçülen 1-butanolun alıkonma süreleri.	113
Şekil 5.28 Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerinden üretilen 1-butanolun miktarları.	114
Şekil 5.29 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda sıcaklığın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ ’den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	119
Şekil 5.30 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda sıcaklığın siyanobakteri Sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ ’den 1-Butanol üretim verimleri Üzerine etkilerinin sonuçları .	121
Şekil 5.31 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda sıcaklığın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ ’den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	123
Şekil 5.32 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda sıcaklığın siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ ’den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	124
Şekil 5.33 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 Kültürü ile yapılan çalışmalarda ışık şiddetinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ ’den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	127
Şekil 5.34 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda Işık şiddetinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ ’den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	131
Şekil 5.35 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> Kültürü ile yapılan çalışmalarda ışık şiddetinin siyanobakteri sayısına,	

1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	134
Şekil 5.36 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkisinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda ışık şiddetinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	137
Şekil 5.37 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda bekleme süresinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	139
Şekil 5.38 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda bekleme süresinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	141
Şekil 5.39 Foça Balaban Dağı mevkisi kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda bekleme süresinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	143
Şekil 5.40 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkisinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda bekleme süresinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	145
Şekil 5.41 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda pH'nın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	146
Şekil 5.42 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda pH'nın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları. .	148
Şekil 5.43 Foça Balaban Dağı mevkisi kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda pH'nın siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	150

Şekil 5.44 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkisinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda pH'ın siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	151
Şekil 5.45 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda NaCl ilavesinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	153
Şekil 5.46 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda NaCl ilavesinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	155
Şekil 5.47 Foça Balaban Dağı mevkisi kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda NaCl ilavesinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	157
Şekil 5.48 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkisinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda NaCl ilavesinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	159
Şekil 5.49 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda MgSO ₄ 'ın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	161
Şekil 5.50 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda MgSO ₄ 'ın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları...	163
Şekil 5.51 Foça Balaban Dağı mevkisi kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda MgSO ₄ 'ın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	165
Şekil 5.52 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkisinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda MgSO ₄ 'ın siyanobakteri sayısına, 1-	

butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	167
Şekil 5.53 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda çözünmüş O ₂ 'nin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	168
Şekil 5.54 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda çözünmüş O ₂ 'nin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.	171
Şekil 5.55 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda çözünmüş O ₂ 'nin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	173
Şekil 5.56 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda çözünmüş O ₂ 'nin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	175
Şekil 5.57 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda anoksik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	177
Şekil 5.58 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda aerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.	179
Şekil 5.59 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda anaerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.	181
Şekil 5.60 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda anoksik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri	

sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları..	184
Şekil 5.61 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda aerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	186
Şekil 5.62 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda anaerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	188
Şekil 5.63 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda anoksik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları...	190
Şekil 5.64 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda aerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları...	192
Şekil 5.65 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda anaerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları. .	194
Şekil 5.66 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda anoksik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları...	196
Şekil 5.67 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda aerobik koşulların redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları...	198
Şekil 5.68 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürü ile yapılan çalışmalarda anaerobik koşullarda redoks	

potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları...	200
Şekil 5.69 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda pAM2991 plazmitinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.....	203
Şekil 5.70 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda pAM2991 plazmitinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.....	205
Şekil 5.71 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda pAM2991 plazmitinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.....	206
Şekil 5.72 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda pAM2991 plazmitin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.....	208
Şekil 5.73 <i>S. elongatus</i> 'e transfer edilen plazmit pAM2991.....	210
Şekil 5.74 <i>S. elongatus</i> içine pAM2991 plazmitinin rekombinasyonundan sonra AdhE2 ve atoB genlerinin primerleri ile PCR sonucunda görüntüleri	210

TABLÖLER LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 4.1 Bu Tez kapsamında yapılan çalışmalar.....	21
Tablo 4.2 <i>S. elongatus</i> BG-11 Sıvı besiyeri ortamı.....	27
Tablo 4.3 <i>Nitrosomonas europaea</i> bakterisinin besiyeri ortamı	30
Tablo 4.4 <i>Azotobacter vinelandii</i> besiyeri ortamı	30
Tablo 4.5 Kullanılan türün ve plazmitin genotipleri	37
Tablo 4.6 Kullanılan plazmitin primerlerinin sekansları.....	37
Tablo 4.6 Bradford testi hazırlanırken izlenecek yol	45
Tablo 4.7 Amonyak kullanımı için besiyeri ortamı	46
Tablo 4.8 Nitrat kullanımı için besiyeri ortamı	47
Tablo 4.9 Nitrit kullanımı için besiyeri ortamı.....	47
Tablo 4.10 Urea broth besiyeri.....	48
Tablo 5.1 Saf ve Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleriyle yapılan çalışmalarda göre 30 gün sonunda ölçülen siyanobakteri boyutları	52
Tablo 5.2 Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkisi kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen <i>S. elongatus</i> siyanobakterilerinin 30 gün sonundaki boyutları.....	55
Tablo 5.3 Saf ve Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleriyle yapılan çalışmalarda membran filtre yöntemi ile ölçülen <i>S. elongatus</i> sayılarının değişimleri.....	57
Tablo 5.4 Membran filtre yöntemi ile Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkisinden izole edilen <i>S. elongatus</i> sayılarının değişimleri	58
Tablo 5.5 Saf ve Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleriyle yapılan çalışmalarda 30 Gün sonunda yapılan amonyak testi sonuçları	62
Tablo 5.6 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkisikaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkisinden izole edilen <i>S. elongatus</i> 30 gün sonunda yapılan amonyak testi sonuçları	65
Tablo 5.7 30 Gün Sonunda saf ve Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleriyle yapılan çalışmalarda nitrat testi sonuçları.....	69

Tablo 5.8 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> 30 gün sonunda yapılan nitrat testi sonuçları.....	72
Tablo 5.9 30 gün sonunda saf ve Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleriyle yapılan çalışmalarda Nitrit testi sonuçları	76
Tablo 5.10 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> 30 gün sonunda yapılan Nitrit Testi Sonuçları.....	79
Tablo 5.11 30 gün sonunda saf ve Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürleriyle yapılan çalışmalarda üre testi sonuçları.....	83
Tablo 5.12 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> 30 gün sonunda yapılan Üre Testi Sonuçları.....	86
Tablo 5.13 30 Gün Sonunda Yapılan Bradford Testi Sonuçları	88
Tablo 5.14 Foça denizi kıyılarından,Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> 30 gün sonunda yapılan Bradford Testi Sonuçları	89
Tablo 5.16 CO ₂ 'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılma işlemi sonucu.....	91
Tablo 5.17 Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 kültürlerine verilen CO ₂ konsantrasyonlarının GC-MS'te ölçüm sonuçları	93
Tablo 5.18 Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerine verilen CO ₂ konsantrasyonlarının GC-MS'te ölçüm sonuçları	96
Tablo 5.19 Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerine verilen CO ₂ konsantrasyonlarının GC-MS'te ölçüm sonuçları	99
Tablo 5.20 Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerine verilen CO ₂ konsantrasyonlarının GC-MS'te ölçüm sonuçları	102
Tablo 5.21 CO ₂ 'ten 1-butanol üretim verimleri.	117
Tablo 5.22 pAM2991 plazmitinin ilavesinin yapılan tüm çalışmalarda siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO ₂ 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları	209

Tablo 5.23 Kullanılan türün ve plazmitin genotipleri	210
Tablo 5.24 Saf ve Foça deiz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerinde spektrofotometrede ölçülen hbd enziminin miktarları	211
Tablo 5.25 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> 30 gün sonunda yapılan hbd ölçüm sonuçları.	213
Tablo 5.26 Saf ve Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerinde spektrofotometrede ölçülen Ter enziminin miktarları.....	215
Tablo 5.27 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> 30 gün sonunda yapılan Ter ölçüm sonuçları.....	217
Tablo 5.28 Saf ve Foça deniz kıyılarından izole edilen <i>S. elongatus</i> kültürlerinde spektrofotometrede ölçülen AdhE2 enziminin miktarları	220
Tablo 5.29 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i> 30 gün sonunda yapılan AdhE2 Enzim ölçüm sonuçları.....	221
Tablo 5.30 pAM2991 plazmit transformasyonu sonrası AdhE2 konsantrasyonları	223
Tablo 5.31 Saf – 1 için 1-butanol için maliyet analizi	225
Tablo 5.32 Saf – 2’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi	225
Tablo 5.33 FDK – 1’te üretilen 1-butanol için maliyet analizi	227
Tablo 5.34 FDK – 2’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi	228
Tablo 5.35 FDK - 3’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi	229
Tablo 5.36 BKS – 1’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi.....	230
Tablo 5.37 BKS - 2’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi	231
Tablo 5.38 BKS - 3’te üretilen 1-butanol için maliyet analizi	232
Tablo 5.39 TBG – 1’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi	233
Tablo 5.40 TBG – 2’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi	234
Tablo 5.41 TBG - 3’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi	235
Tablo 6.1 On bir çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonları, 1-butanol _{üretilen} /CO ₂ kullanılan verimleri, enzim konsantrasyonları ve maliyetleri.	241

BÖLÜM BİR GİRİŞ

1.1 Giriş

Dünya nüfusunun artması ve fosil yakıtlara dayalı kaynakların tükenmesinden dolayı mikroorganizmaları kullanarak yenilenebilir yakıt ve kimyasalların üretimi hem enerji hem de çevresel problemleri çözmek için ilgi çekici bir yaklaşımdır (Lan ve Liao, 2013). Atmosferde bulunan karbondioksit konsantrasyonu fosil kaynaklı yakıtların yanması ile her geçen yıl 2,3 ppm kadar artmaktadır. Karbondioksit havada çok az oranda bulunmasına rağmen (% 0–0.03 arasında) metropol şehirlerde ve endüstriyel bölgelerde çok yüksek konsantrasyonlarda bulunabilmektedir. Endüstriyel bölgelerde karbondioksit konsantrasyonu 600-700 ppm seviyelerine çıkabilmektedir (Denhez, 2007). Atmosfere karışan karbondioksitin yaklaşık % 80–85'i fosil yakıtların; kullanılmasıyla oluşarak atmosfere karışmakta, % 15-20'si de canlıların solunumundan mikroskobik canlıların organik maddeleri ayrıştırmasından kaynaklanmaktadır. Küresel ısınmaya yol açan ana etkenin atmosferdeki CO₂ ve metan miktarlarında yaşanan bu artış olduğu düşünülmektedir (Ocak, 2015). İklim değişiklikleri ve mevcut enerji kaynaklarının azalması sonucunda yeni yenilenebilir enerjilerin uygulanmaya alınmasını gerekli olmuştur. Enerji kaynaklarının azalması ile insanoğlu güneş enerjisi, jeotermal enerji, hidrojen enerjisi ve biyokütle enerjisi gibi yeni yenilenebilen enerji kaynaklarına yönelmiştir.

Biyoyakıt, yenilenebilir bir biyokütle enerjisidir ve bitki, hayvan ve mikroorganizmalardan üretilmektedir. Fotototrof mikroorganizma olan prokaryot siyanobakterilerle doğrudan CO₂ kullanılarak biyoyakıt üretimi gerçekleştirilmektedir. Siyanobakterilerle üretilen bu biyoyakıtlar arasında izobütiraldehid (1100 mg/L), izobutanol (450 mg/L) (Atsumi ve ark. 2009), etanol (0,021 mg/L – 550 mg/L) (Deng ve ark. 1999; Dexter ve ark. 2009), etilen (37 mg/L) (Takahama ve ark. 2003), izopren (0,05 mg/g kuru hücre/gün) (Lindberg ve ark. 2010) ve laktik asit (56 mg/L) (Niederholtmeier ve ark. 2010), 1-butanol (30 mg/L) bulunmaktadır (Lan ve Liao, 2011).

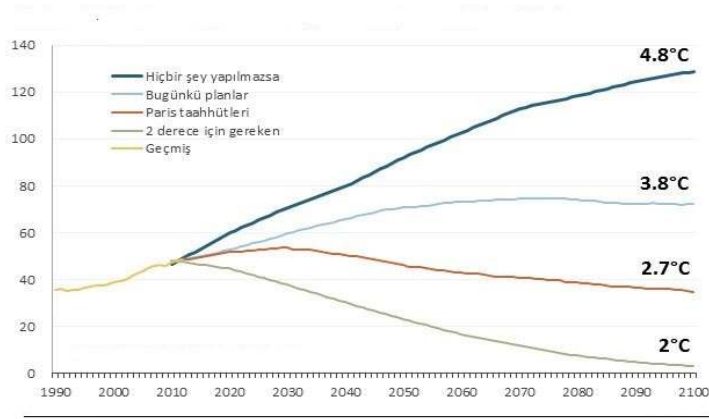
Fotoototrofik organizma olan siyanobakteriler ile CO₂'in biyoyakıta dönüşümü, tasarlanmış metabolik yol izi sayesinde gerçekleştirilebilmiştir. Fotosentetik fotoototrof bir siyanobakteri olan *S. elongatus* ile CO₂ ve ışık enerjisi kullanılarak bu tasarlanmış metabolik yol izi ile 1-butanol ve O₂ üretimi gerçekleştirilmektedir. CO₂'ten 1-butanol üretiminde kullanılan *S. elongatus* siyanobakteri türü hem deniz hem de tatlı sularda yaşamaktadır. *S. elongatus* Calvin döngüsü sırasında karbon kaynağı olarak CO₂'i kullanırlar. CO₂ Calvin döngüsüyle gliseraldehit-3-fosfata (G3P) dönüştükten sonra 1-butanol oluşturmak için kullanılır.

1-butanol; yapısında 4 karbon atomu bulunduran C₄H₉OH kimyasal formülüne sahip primer alkoldür. Moleküler ağırlığı 74,1216 g/mol, renksiz ve suyla yoğunluğu aynıdır. Benzine alternatif olacak potansiyel bir yakıt olarak kullanılabilir. 1-butanolun (27 MJ/L) etanole (21 MJ/L) göre daha yüksek; benzine (32 MJ/L) yakın değerlerde enerji yoğunluğuna sahiptir (Lan ve Liao, 2011). Ayrıca düşük higroskopisiteye (su alma yeteneği) ve benzine alternatif olarak kullanabilecek yakıt özelliği altyapısına sahiptir. 1-butanol eldesi için kullanılan asetil-CoA'dan butiril-CoA sentezi metabolik yol izi ile gerçekleştirilmektedir. Bu metabolik yol izinde asetil-CoA'dan 1-butanol oluşumuna kadar beş tane enzim kullanılmaktadır. Bunlar; asetil-CoA asetiltransferaz (AtoB), 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (Hbd), krotonaz (crt), trans-2-eonil redüktaz (Ter) ve iki işlevli aldehyd alkol dehidrojenaz (AdhE₂)'dir (Atsumi ve ark., 2008).

1.1.1 Dünyada Mevcut Durum

Günümüzde atmosferdeki CO₂ konsantrasyonu her yıl yaklaşık 2 - 3 ppm kadar artmaktadır. Bunun en önemli nedeni fosil yakıtların yanmasıdır. Hawaii'de Mauna Loa gözlem evinde başlayan, 1958'den bu yana CO₂ ölçümlerine göre atmosferik CO₂ konsantrasyonu % 17'nin üzerinde artmıştır (Keeling, 1995). Ayrıca 2015 yılı itibariyle de 400 ppm'i aştığı (Cantörü, 2014) ve 2020'de CO₂ konsantrasyonunun 600 ppm'e ulaşabileceği bildirilmiştir (Taiz ve ark., 2008). Sera etkisinin dünya iklimini değiştirdiği, tahminleri üzerine atmosferdeki CO₂ artışının sonuçları bilim adamları ve resmi görevliler tarafından inceleme altına alınmıştır (Sera etkisi, uzun dalga boylu ışınların atmosferde tutulması nedeniyle yeryüzünde oluşan ısınmadır)

(Taiz ve Zeiger, 2008). Geliştirilen matematiksel bilgisayar modellere göre, CO₂ yoğunluğunun iki katına çıkması halinde küresel sıcaklığın ortalama 3°C artacağı hesaplanmıştır. Bu nedenle, küresel ısınmaya karşı alınacak önlemlerin başında karbondioksit salınımının azaltılması gelmekte ve bu hususta uluslararası düzeyde çabalar harcanmaktadır. Bu amaçla 1997 yılında pek çok ülke taahhütlerde bulunmuş ve Kyoto Protokolü'nü imzalamışlardır. Bu protokol, 11 Aralık 1997 tarihinde Japonya'nın Kyoto kentinde düzenlenen bir zirvede oluşturulmuştur. Protokol; 9 Mayıs 1992'de New York'ta kabul edilen, İklim Değişikliğine Yönelik Birleşmiş Milletler Çerçeve Sözleşmesi'nin belirlediği ilkelere dayanmaktadır. Protokole taraf olan devletler başta ulusal ekonomilerinin ilgili sektörlerinde enerji etkinliğini iyileştirmeye ve sera etkisi yaratan gazların salınımını sınırlamaya ve azaltmaya yönelik önlemler almakla, sera gazı etkisi yaratan (CO₂, metan vb.) gazların salımında 2012 yılına kadar, 1990 yılındaki düzeyinden toplam yüzde 5,2 oranında bir azalma sağlamakla yükümlü olduklarını kabul etmektedir. Protokol ancak 2005 yılı Şubat ayında 55 ülkenin protokole onay vermesi ile yürürlüğe girebilmiştir. Ancak, atmosfere en fazla sera gazı salan Amerika Birleşik Devletleri protokolün dışında kalmıştır. Türkiye'de 6 Şubat 2009'da Kyoto protokolünü imzalamıştır. Ancak hedeflenen 2012 yılına kadar geçen sürede olumlu gelişmelerin yaşandığı söylenemez. 30 Kasım – 11 Aralık 2015 tarihleri arasında Paris'te yapılan Birleşmiş Milletler İklim Değişikliği Taraflar Konferansında (COP21) küresel ısınmayı 2 derecenin altında, mümkünse de 1,5 derecede sınırlandırmayı hedefleyen taslak kabul edilmiştir (Şekil 1.1). Hükümetler arası İklim Değişikliği Paneli (IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change) hesaplarına göre küresel ısınmanın 2 derece altında kalabilmesi için atmosfere salınabilecek toplam CO₂'in 3.650 milyar ton olması gerekmektedir.



Şekil 1.1 Karbondioksitin Birleşmiş Milletler iklim değişikliği taraflar konferansında (COP21) kabul edilen taslakta oluşturulan gelecek yüzyılda ulaşabileceği değerler (Kozakoğlu, 2015)

21. yüzyıla girerken dünya, yılda 8,8 milyar ton petrol eşdeğeri enerji tüketmiştir. Bu tüketimin yaklaşık % 40'ı petrolden, % 25'i kömürden, % 24,7'si doğal gazdan, % 7,6'sı nükleerden ve % 2,6'sı da hidroelektrikten elde edilmiştir. Vurgulanması gereken husus, alternatif arama çabalarına karşın petrolün başrolünü sürdürmesi ve fosil yakıtların, toplamda, dünyada birincil enerji gereksiniminde % 90'a varan belirleyici konumudur (BP Statistical Review of World Energy, 2001). Bugünkü veriler itibarı ile dünya genelinde de olduğu gibi, Türkiye'nin genel enerji tüketimi içinde fosil kaynakların (petrol, gaz ve kömür) payı, yaklaşık % 90'dır (Pamir, 2013).

1.2 Çalışmanın Amaç ve Kapsamı

Bu yüksek lisans tezinin amacı atmosferde artan CO₂'in fotosentez yoluyla *S. elongatus* aracılığıyla giderimini sağlamaktır. Havadaki CO₂ gazı bir enerji eksikliği yaşayan Türkiye için de yenilenebilen bir enerji kaynağı olacak ve *S. elongatus* ile yakıtla dönüştürülerek arabalarda benzin ve motorin eşdeğeri olarak kullanılabilir; yararlı bir forma dönüşmüş olacaktır. Ayrıca biyoyakıt olarak 1-butanol, araçlarda kullanılan benzin ve türevlerine kıyasla daha ucuz bir yakıt olacaktır. Ülkemizde var olan enerji açığının kapatılması için bu çalışma ile hem çevre kirliliğinin önlenmesi hem de ucuz yakıt üretilmesi hedeflenmektedir.

Bu çalışmada *S. elongatus* kültürleri saf (ATCC 33912) ve İzmir'in ilçesi Foça denizi kıyılarından, İzmir'in ilçesi olan Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan, İzmir'in Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilmiştir. Saf *S. elongatus* kültürüne iki farklı CO₂ (% 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmış) verilerek 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürlerine ise üç farklı CO₂ (% 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden, CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmış ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmadan) verilerek 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiştir. On bir çalışmada öncelikle *S. elongatus* siyanobakterilerinin başlangıç sayıları belirlenmiştir. 30 gün boyunca çoğalması sağlandıktan sonra *S. elongatus* siyanobakterilerinin kesin tanımlarını yapmak için amonyak, üre, nitrit, nitrat ve Bradford testleri yapılmıştır. Tanıları yapılan *S. elongatus* 30 gün sonundaki siyanobakteri sayıları membran filtre yöntemi ile sayılmıştır. Daha sonra CO₂'ten 1-butanol üretim aşamaları gerçekleştirilmiştir. Her bir çalışmada *S. elongatus* siyanobakterisini kullanarak CO₂'ten 1-butanol üretimi metabolik yol izinde bulunan enzimler arasında 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (Hbd), Trans-2-enoil-CoA redüktaz (Ter) ve Aldehid/alkol dehidrojenaz (AdhE2) enzimlerinin konsantrasyonları spektrofotometre ile ölçülmüştür. Ayrıca on bir çalışma için maliyet analizleri yapılmıştır. Bekleme süresinin, pH'ın, sıcaklığın, NaCl ilavesinin, redoks potansiyelinin (anoksik, aerobik ve anaerobik koşulların), MgSO₄'ın, ışık şiddetinin, çözünmüş O₂ ilavesinin, pAM2991 plazmitinin ilavesinin *S. elongatus* siyanobakteri sayılarına, 1-butanol üretimlerine, 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerine olan etkileri incelenmiştir.

1.3 Çalışmanın Getireceği Yenilikler

S. elongatus siyanobakterilerinin sayılarına, 1-butanol konsantrasyonlarına ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerine bekleme süresinin, pH'ın, sıcaklığın, NaCl ilavesinin, redoks potansiyelinin (anoksik, aerobik ve anaerobik koşulların),

MgSO₄'ın, ışık şiddetinin, çözünmüş O₂ ilavesinin ve pAM2991 plazmit ilavesinin etkilerinin araştırıldığı çalışmalar kısıtlıdır.

S. elongatus siyanobakterilerine amonyak, üre, nitrit, nitrat ve Bradford testleri ile tanılarının yapılması şimdiye kadar yapılan çalışmalarda kısıtlıdır. Yukarda bahsedilen testler arasında üre ve amonyak testleri ile *S. elongatus* tanısının yapıldığı çalışmalara rastlanmamıştır. Ayrıca Bradford testi ile ilgili çalışmalar kısıtlı olup; spektrofotometre ile protein miktarının ölçülerek belirlendiği araştırılmadığı görülmüştür.

3-hidroksilbütiril-CoA dehidrojenaz; trans-2-enoil-CoA redüktaz ve aldehyd/alkol dehidrojenaz enzimlerinin *S. elongatus* siyanobakterisinde doğal olarak bulunduğunu gösteren çalışmalar kısıtlıdır.

CO₂'ten direk olarak 1-butanol üretimi doğal yollarla *Clostridium acetobutylicum* bakterileri tarafından CoA bağımlı metabolik yol izinde görev alan enzimlerle gerçekleştirilmektedir. *Escherichia coli* bakterisine *C. acetobutylicum*'dan üretilen genler aktararak 1-butanol üretimi çalışmaları yapılmıştır. *S. elongatus* içerisine de *C. acetobutylicum* ve *Euglena gracilis*'ten gelen genler kullanılarak 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Ancak *S. elongatus* siyanobakterisinin genetiğiyle oynanmadan CO₂'ten 1-butanol üretiminin araştırılmadığı görülmektedir. *S. elongatus* siyanobakterisinin genetiğiyle oynanarak 1-butanol üretiminin incelendiği çalışmalarda sınırlıdır.

Bu yüksek lisans tezi çalışması ile atmosferde hızla artmakta olan CO₂ konsantrasyonunun giderimi *S. elongatus* siyanobakterisi kullanılarak fotosentez yoluyla giderimi hedeflenmiştir. Bu CO₂ Calvin döngüsünde indirgenerek 1-butanol üretilmesi amaçlanmıştır. Biyoyakıt olarak kullanılacak olan 1-butanol benzine alternatif olacaktır. 1-butanol benzin ile kıyaslandığında daha ekonomik ve çevre dostudur. *S. elongatus*'un havadaki karbondioksiti parçalaması sonucu elde edildiği için 1-butanolun içerisindeki karbon, 1-butanolun yakılması ile dünya atmosferinde net karbondioksit artışına neden olmaz. Bu nedenle atmosferdeki

karbondioksit miktarının artışına engel olabilmek için fosil yakıtlar yerine biyoyakıt olarak gelecekte 1-butanol kullanılması yeşil bir enerji olarak güçlü bir alternatif olacaktır.



BÖLÜM İKİ LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Literatür Özeti

1-butanolun ilk üretimi Louis Pasteur tarafından aseton-butanol-etanol (ABE) fermantasyonu ile 1861 yılında gerçekleştirilmiştir. 1912'de Chaim Weizmann aseton, butanol ve etanol fermantasyonunu yapan *C. acetobutylicum* mikroorganizmasını keşfetmişlerdir. 1980'lerin ilk yıllarına kadar butanol üretimi ABE fermantasyonu ile Güney Afrika'da Sentrachem'de çalışılmıştır. Fakat bu prosesin kullanılmasına sonradan devam edilmemiştir. Günümüzde sadece ABE fermantasyon prosesi sadece Çin'de kullanılmaktadır. Daha sonra Clostridia türlerinin (*C. acetobutylicum* ve *C. beijerinckii*) moleküler tekniklerle geliştirilen ABE fermantasyonu ile butanol üretimi gerçekleştirilmeye başlanmıştır. Bu geliştirme sonucunda toksisite azaltılmış, üretkenlik güçlendirilmiş, solvent verimi artırılmış ve karbonhidrat kullanımı artırılmıştır.

Lin ve Blaschek (1983), 1-butanol üretimini *C. acetobutylicum* ATCC 824 bakterisiyle gerçekleştirmişlerdir. 96 saat sonunda *C. acetobutylicum* ATCC 824 bakterisini anaerobik koşullarda çoğaltmışlardır. Fermantatik metabolik yol izini kullanmışlardır. Çalışmalarında 7,9 g/L 1-butanol elde etmişlerdir.

Ezeji ve ark., (2004) moleküler yollarla geliştirilmiş ABE fermantasyonu ile butanol üretimini gerçekleştirmişlerdir. *C. beijerinckii* BA101 bakterisi ile glukozdan 19,6 g/L, mısır nişastasından 15,8 g/L, maltodekstrinden 18,6 g/L, soya melasından 18,3 g/L, zirai atıklardan 9,8 g/L ve fıstık ambalajlarından 15,7 g/L butanol elde etmişlerdir.

Atsumi ve ark. (2008), fizibilitesini göstermek için *C. acetobutylicum* 1-butanol metabolik yol izini *E. coli*'ye transfer etmişlerdir. *E. coli*'nin metabolik yol izi glukozun NAD^+ 'ın NADH^+ 'a yükseltgenmesi ile pirüvat; pirüvattın da asetil-CoA'ya dönüşmesidir. Daha sonra *C. acetobutylicum*'dan transfer edilen altı enzim geni ile asetil-CoA'dan oluşturulan metabolik yol iziyle 1-butanol üretimi

gerçekleştirilmiştir. Bu enzimler ve genleri; asetil-CoA asetiltransferaz (AtoB), asetoasetil-CoA tiyolaz (Thl), 3-hidroksibütiril-CoA dehidrojenaz (Hbd), krotonaz (crt), bütiril-CoA dehidrojenaz (Bcd), elektron transfer flavoprotein (Etf), aldehid/alkoldehidrojenaz (AdhE2)'dir. BW25113 plazmitinin *E. coli*'ye transferi ile bu metabolik yol izi tamamlanmıştır. Kendi metabolik yol izi ile asetil-CoA oluşturan *E. coli* plazmit transformasyonundan sonra asetil – CoA'dan AtoB enzimi veya Thl enzimi ile asetoasetil – CoA; hbd enzimi ile asetoasetil – CoA'yı 3-hidroksibütiril-CoA'ya; crt ile 3-hidroksibütiril-CoA'dan krotonil-CoA; Bcd ve Eft ile krotonil-CoA'dan bütiril-CoA; AdhE2 ile önce bütiril-CoA'dan bütiraldehid ve son olarak da 1-butanol üretimini gerçekleştirilmiştir. AtoB enziminin kullanıldığı metabolik yol izinde anaerobik ortamda büyütülen *E. coli*'den 70 mg/L; yarı aerobik ortamda ise 13 mg/L 1-butanol üretilmiştir. Thl enziminin kullanıldığı metabolik yol izinde ise anaerobik ortamda 20 mg/L; yarı aerobik ortamda ise 15 mg/L 1-butanol üretmişlerdir. Ayrıca *E. coli* ve *C. acetobutylicum*'da AdhE2 enziminin aktivitelerini spektrofotometre ile ölçmüşlerdir. Plazmit ilave edilmeyen bu türlerde bütiril-CoA yolundaki AdhE2'nin aktivitesini *E. coli*'de 0,054 $\mu\text{mol dk}^{-1}$ ve *C. acetobutylicum*'da 0,082 $\mu\text{mol dk}^{-1}$ olarak ölçmüşlerdir. Asetil – CoA yolu üzerindeki aktivitelerini ise; *E. coli*'de 0,218 $\mu\text{mol dk}^{-1}$ ve 0,054 $\mu\text{mol dk}^{-1}$ olarak elde etmişlerdir.

Steen ve ark. (2008), fermantatif yol ile *Clostridia* türleriyle 1-butanol üretimi gerçekleştirilmesinin olumsuz yönlerine değinmişlerdir. Bu olumsuzluklar; *Clostridia* türlerine genetik araçların metabolizmalarına işlenmesinin uygun olmaması ve bu şekilde üretilen 1-butanol konsantrasyonunun maksimize edilememesi, kolay büyütülememesi, oksijene duyarlı olmaması ve diğer yan ürünlerinin bütirat, aseton ve etanol olmasıdır. Böylece 1-butanol üretimi için başka mikroorganizmalara yönelmişlerdir. Çalışmalarında *Saccharomyces cerevisiae* kullanarak 1-butanol üretmişlerdir. *Clostridia* türlerinin metabolik yol izini oluşturmak için enzim genlerinin bulunduğu pESC-LEU2D ve pESC-HIS3 plazmitlerini *S. cerevisiae*'ya transforme etmişlerdir. Plazmit transforme ettikleri bu türe *S. cerevisiae* BY4742 demişlerdir. Karbon kaynağı olarak % 2 galaktoz kullandıkları çalışmada 2,5 mg/L 1-butanol üretmişlerdir.

Nielsen ve ark. (2009), *Pseudomonas putida* ve *Bacillus subtilis* bakterileriyle çalışmışlar ve moleküler yolla geliştirilen *Clostridia* türlerinin fermantatifik metabolik yol izi ile 1-butanol elde etmişlerdir. Transforme ettikleri genler *C. acetobutylicum* ATCC 824 (*thl*, *hbd*, *crt*, *bcd*, *etfAB* ve *adhE2*), *E. coli* K-12 (*atoB* ve *gapA*), ve *P. putida* KT2440 (*acd*)’dan gelmektedir. *E. coli*’ye, *P. putida*’ya ve *B. subtilis*’e prBCS ve pmTA1 ya da prBCS ve pmTA1 plazmitlerini transforme ederek 1-butanol elde etmişlerdir. Bu şekilde *E. coli*’den 1-butanol biyosentezini ilk defa polisistronik anlatımla gerçekleştirmişlerdir. Her bir mikroorganizmanın besiyerine ayrı ayrı % 5 oranında glukoz ve gliserol ilave ederek 1-butanol üretimini gerçekleştirmişlerdir. Maksimum 1-butanol konsantrasyonunu prBCS ve pmTA1 plazmitini tranforme ettikleri çalışmalarda elde etmişlerdir. Sırasıyla *E. coli*’den, *P. putida*’dan ve *B. subtilis*’den elde ettikleri maksimum 1-butanol değerleri 40 mg/L, 120 mg/L ve 24 mg/L’dir.

Berezina ve ark. (2010), *Lactobacillus brevis* bakterisi ile glukozdan 1-butanol elde etmişlerdir. *crt*, *bcd*, *eftB*, *eftA* ve *hbd* *Clostridial* genleri ile tasarlanmış metabolik yol izi ile *L. brevis*’ten 300 mg/L 1-butanol üretilmiştir. Ayrıca plazmitli ve plazmitsiz ortamda büyütülen *L. brevis*’in *thl*, *hbd*, *crt*, *bldh* ve *bdh* enzimlerinin aktiviteleri ölçülmüştür. Plazmit tranforme edilmeyen *L. brevis*’te *thl* aktivitesi 0,0046 $\mu\text{mol/dak/mg}$, *crt* aktivitesi 0,0024 $\mu\text{mol/dak/mg}$, *bldh* aktivitesi 0,23 $\mu\text{mol/dak/mg}$ ve *bdh* aktivitesi 3,3 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak ölçülmüştür. Plazmit tranforme edilen *L. brevis*’te *thl* aktivitesi 0,0035 $\mu\text{mol/dak/mg}$ ve *crt* aktivitesi 0,0062 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak elde edilmiştir.

Lan ve Liao (2011), CO₂’ten 1-butanol üretimini *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri ile gerçekleştirmişlerdir. Daha önce anaerob mikroorganizmalar tarafından CoA bağımlı metabolik yol izi ile üretilen 1-butanolu ilk kez fotosentetik siyanobakterilerle üretimini gerçekleştirmişlerdir. Tam anaerob olan mikroorganizmaların metabolik yol izi olan CoA bağımlı bu metabolik yol izinin siyanobakteriler tarafından kullanılarak 1-butanol üretiminin zor bir iş olduğunu vurgulamışlardır. AtoB (tiyolaz), Hbd (3-hidroksibütiril-CoA dehidrojenaz), Crt (krotonaz), Ter (trans-2-enoil redüktaz), ve AdhE2 (aldehid/alkol dehidrojenaz)

enzim genlerinin bağılı olduğu CoA bağımlı metabolik yol izi *S. elongatus* PCC 7942 içine rekombine edilmiştir. Fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* PCC 7942 indirgen pentoz fosfat döngüsünü müteakip (Calvin çevriminden sonra) Benson–Bassham döngüsünü kullanarak CO₂'i asimile ederek biyoyakıt olan 1-butanolu oluşturmaktadırlar. Önemli bir biyoyakıt olan 1-butanolun bir molekülünün elde edilebilmesi için fotosentezi ve Calvin–Benson döngüsünü kullanarak 48 fotona ihtiyaç duymakta olduklarını belirtmişlerdir. Bu foton ihtiyacı 1-butanol eldesi için kullanılan asetil-CoA'dan butiril-CoA sentezi metabolik yol izi ile gerçekleştirilmektedir. Bu metabolik yol izinde asetil-CoA'dan 1-butanol oluşumuna kadar beş tane enzim kullanılmaktadır. Bunlar; asetil-CoA asetiltransferaz (AtoB), 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (Hbd), krotonaz (crt), trans-2-eonil redüktaz (Ter) ve iki işlevli aldehid alkol dehidrojenaz (AdhE₂)'dır (Atsumi ve ark., 2008). Bu metabolik yol izinde 2 asetil-CoA AtoB enzimi aracılığıyla asetoasetil-CoA'ya indirgenmektedir. Daha sonraki basamakta NADH'ın NAD⁺'a yükseltgenerek Hbd enzimi tarafından 3-hidroksibutiril-CoA oluşmaktadır. Crt enzimi tarafından 3-hidroksibutiril-CoA krotonil-CoA'ya dönüşmektedir. Ter aktivitesiyle krotonil-CoA'nın butiril-CoA dönüşmesi gerçekleşir ve NADPH NAD⁺'a yükseltgenir. İki işlevi olan AdhE₂ enzimi ilk olarak butiril-CoA'nın butiraldehide dönüşmesi basamağıdır. Yine bu basamakta NADPH'ın NAD⁺'a yükseltgenmesi gerçekleşmektedir. AdhE₂ enziminin ikinci işlevi ise son basamak olan butiraldehidin 1-butanole dönüştüğü basamaktır. Anoksik - karanlık koşullarda BG – 11 besiyerinde 7 gün boyunca büyütülen kültürden 14,5 mg/L 1-butanol elde etmişlerdir. Sadece karanlık koşullarda BG – 11 besiyerinde 7 gün boyunca büyütülen kültürden ise 10 mg/L 1-butanol üretmişlerdir. Çalışmalarında oksijenik ortamlarda büyüttükleri *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinde doğal suшта hbd aktivitesine ulaşamamışlardır. Ancak pEL1, pEL7, pEL13 ve pEL14 plazmitlerinin transformasyonu yaptıkları kültürlerde sırasıyla hbd aktivitelerini sırasıyla 0,27 µmol/dak/mg, 0,27 µmol/dak/mg, 0,29 µmol/dak/mg ve 0,64 µmol/dak/mg olarak elde etmişlerdir. Anoksik ortam büyüttükleri *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinde doğal suшта hbd aktivitesini 0,012 µmol/dak/mg olarak ölçmüşlerdir. pEL1, pEL7, pEL13 ve pEL14 plazmitlerinin transformasyonu ile hbd aktivitesini sırasıyla 0,31

$\mu\text{mol/dak/mg}$, 0,91 $\mu\text{mol/dak/mg}$, 1,08 $\mu\text{mol/dak/mg}$ ve 0,91 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak ölçmüştür.

Lan ve Liao (2012), fotosentetik yolla *S. elongatus* PCC 7942'den elde etmenin güçlüğünü kolaylaştırmak için ATP takviyesi ile dengelemişlerdir. Asetil-CoA; asetil-CoA ile asetoasetil-CoA sentezlemek içinde karboksilatıf yoğunlaşma geçirebilen malonil-CoA oluşturmak üzere ATP ve bikarbonat ile aktive edilir. Bu 2 asetil-CoA'nın ATP aracılığıyla yoğunlaşması için 13,8 kJ/mol enerji kullanılmıştır. Malonil-CoA sentezi *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinde mevcut olan asetil-CoA karboksilaz ile katalize edilmektedir. Bununla birlikte, malonil-CoA ve asetil-CoA'nın yoğunlaşması için herhangi bir doğal enzim yoktur. Bu nedenle, asetoasetil-CoA sentaz, modifiye CoA bağımlı metabolik yol izinin enzimleri (pirüvat dehidrojenaz, asetil-CoA karboksilaz, asetoasetil-CoA sentaz, tiyolaz, 3-hidroksibütiril-CoA dehidrojenaz, asetoasetil-CoA redüktaz, krotonaz, R-özellikli enoil-CoA hidrataz, bütiril-CoA dehidrojenaz, trans-2-enoil redüktaz, aldehyd/alkol dehidrojenaz) ile ifade edilmiştir. Bunun sonuncunda 30 mg/L 1-butanol fotosentetik koşullar altında üretilmiştir.

Ramachandriya ve ark. (2013), 1-butanol üretimini *Clostridium carboxidivorans* bakterisi ile gerçekleştirmiştir. Çalışmalarında 18,85 mmol CO₂ kullanmışlardır. 0,45 gL⁻¹ 1-butanol üreterek 0,04 verim ve % 14,19 yüzde verim elde etmişlerdir.

Hu ve Lidstrom (2014), *Methylobacterium extorquens* AM1 bakterisi ile tasarlanan etil malonil-CoA'ya bağımlı metabolik yol izinden 1-butanol elde etmişlerdir. Çalışmalarında etilamini substrat olarak kullanmışlardır. Etilmalonil-CoA metabolik yol izi 1-butanol üretiminde rol alan *Clostridial* krotonil-CoA'yı bulundurmaktadır. BHB7 plazmiti transforme edilerek AdhE2 ve Ter enzimlerinin aktivitesi arttırılmıştır. 8,9 mg/L 1-butanol üretmişlerdir. *M. extorquens* AM1 plazmit ilavesi olmadan Ter enziminin aktivitesini 9,5 $\mu\text{mol/dak/mg}$, butanol dehidrojenazda görev alan AdhE2 aktivitesini 17,5 $\mu\text{mol/dak/mg}$ ve bütiraldehyd dehidrojenazda görev alan AdhE2 aktivitesini ise 1,3 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak ölçmüştür. BHB7 plazmitinin transformasyonu ile Ter enziminin aktivitesini 62 $\mu\text{mol/dak/mg}$, butanol

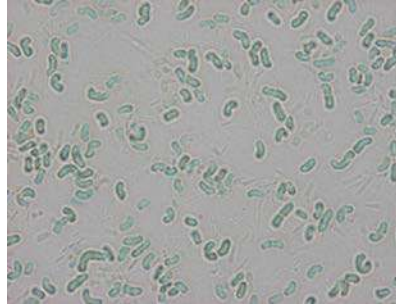
dehidrojenazda görev alan AdhE2 aktivitesini 31,3 $\mu\text{mol/dak/mg}$ ve bütiraldehid dehidrojenazda görev alan AdhE2 aktivitesini ise 11,9 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak elde edilmiştir.



BÖLÜM ÜÇ SYNECHOCOCCUS ELONGATUS

3.1 *S. elongatus* Özellikleri

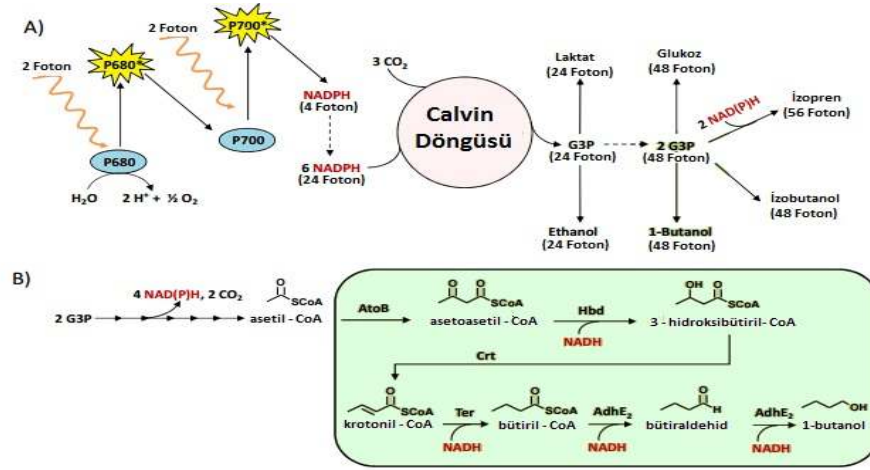
S. elongatus tatlı ve deniz sularında yaşayan zorunlu - aerob fotoototrof bir siyanobakteridir (Şekil 3.1). Taksonomik sınıflandırması; *Bacteria*, *Cyanobacteria*, *Oscillatoriothrixaceae*, *Chroococcales*, *Synechococcus*, *S. elongatus*, *Synechococcus elongatus* olan hücresel organizmadır. Yapısında toplam 2664 gen bulundurur. Bunlardan; 2611 tanesi protein genidir. 53 gen ise RNA genleridir (Caspi ve ark., 2013). Fotosentetik *S. elongatus* 1,5 - 20 µm arasında değişen uzunluğa; 0,4 – 6 µm genişliğe sahip, küçük ve tek hücrelidirler. Işığa ihtiyaç duyduklarından deniz ve tatlı suların ışığın ulaşabildiği derinlikte yaşarlar (Waterbury ve ark., 1986). Hücre zarlarında fotosentetik pigmentleri içeren tilakoyidleri bulundurlar. Tilakoyid membranda fotosistem I ve II birleşimi fotosentez, suyun oksidasyonu ve karbon fiksasyonu ile enerji sağlamak için yürütülür (Yang ve ark., 2003). Klorofil a *S. elongatus* 'de fotosentez için gerekli olan ana pigmenttir. Fotosentez için gerekli olan diğer bir pigment olan fikobiliprotein de *S. elongatus* 'de bulunmaktadır (Olson ve ark., 1990).



Şekil 3.1 *S. elongatus* mikroskop görüntüsü (Kubicek, 2014).

3.2 *S. elongatus* Siyanobakterisinden 1-Butanol Üretimi

Fotosentetik fotoototrof bir siyanobakteri olan *S. elongatus* ile CO₂ ve ışık enerjisi kullanılarak bu tasarlanmış metabolik yol izi ile 1-butanol ve O₂ üretimi ilk kez Lan ve Liao tarafından 2011’de gerçekleştirilmektedir. 1 mol 1-butanolün fotosentez ve Calvin döngüsü ile *S. elongatus* kullanılarak üretilmesi için 48 foton gereklidir (Şekil 3.2). Bu foton ihtiyacı glukoz, izobutanol gibi diğer kimyasallarla kıyaslandığında aynıdır (Lan ve Liao, 2011). 1-butanol eldesi için kullanılan metabolik yol izi ise CoA’ya dayanan asetil-CoA’dan butiril-CoA sentezi yoludur. Butiril-CoA daha sonra 1-butanola indirgenmektedir. Bu metabolik yol izinde asetil-CoA’dan 1-butanol oluşumuna kadar beş tane enzim kullanılmaktadır. Bunlar; asetil-CoA asetiltransferaz (AtoB), 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (hbd), krotonaz (crt), trans-2-eonil redüktaz (Ter) ve iki işlevli aldehid alkol dehidrojenaz (AdhE2)’dir (Atsumi ve ark., 2008). Bu metabolik yol izinde 2 asetil-CoA AtoB enzimi aracılığıyla asetoasetil-CoA’ya indirgenmektedir. Daha sonraki basamakta NADH’ın NAD⁺’a yükseltgenerek hbd enzimi tarafından 3-hidroksibutiril-CoA oluşmaktadır. Crt enzimi tarafından 3-hidroksibutiril-CoA krotonil-CoA’ya dönüşmektedir (Şekil 3.2). Ter aktivitesiyle krotonil-CoA’nın butiril-CoA dönüşmesi gerçekleşir ve NADPH NAD⁺’a yükseltgenir. İki işlevi olan AdhE₂ enzimi ilk olarak bütiril-CoA’nın butiraldehide dönüşmesi basamağıdır. Yine bu basamakta NADPH’nın NAD⁺’a yükseltgenmesi gerçekleşmektedir. AdHE₂ enziminin ikinci işlevi ise son basamak olan butiraldehidin 1-butanole dönüştüğü basamaktır. Bu basamakta da NADPH’nın NAD⁺’a yükseltgenmesi gerçekleşmektedir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 *S. elongatus* ile tasarlanmış 1-butanol üretiminin şematik gösterimi. (A) Işık reaksiyonları biyo ürünler için karbon fiksasyonu indirgenmesiyle sağlanır. Her bir ürünün üretilmesi için gerekli olan fotonlar gliseraldehit-3-fosfat (G3P) ve NAD(P)H'nin gereken sayısına göre hesaplanır. (B) Asetil-CoA'nın 1-butanole dönüşümü için tasarlanmış olan *S. elongatus* 'un içerdiği beş enzimin anlatımı. AtoB: asetil-CoA asetiltransferaz, hbd: 3-hidroksilbütiril-CoA dehidrojenaz; Crt: krotonaz, Ter: trans-2-enoil-CoA redüktaz ve AdhE2: iki fonksiyonlu aldehyd/alkol dehidrojenaz (Lan ve Liao, 2001).

3.3 Çevresel Koşulların *S. elongatus*'tan 1-butanol Üretimindeki Rolü

CO₂ kullanılarak *S. elongatus* ile 1-butanol üretiminde çevresel koşulların önemli bir katkısı vardır. Optimum koşulların sağlanması *S. elongatus* siyanobakterilerinin gelişimini ve 1-butanol üretme mekanizmalarını olumlu yönde etkilemektedir. *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümesinde etkili olan başlıca faktörler ışık, ideal sıcaklık, pH, CO₂ ve NaCl, MgSO₄, CaCl₂, KH₂PO₄, sitrik asit ve iz elementler gibi önemli bazı besinlerdir.

Genellikle artan sıcaklıklarla alglerin büyüme oranları da optimum sıcaklığa erişene kadar artmaya devam etmektedir. Her bir mikro alg türü için sıcaklık CO₂ yakalamasına, besinleri tutmasına ve hücresel kimyasal bileşenlerini fazlasıyla etkilemektedir (Kuan ve ark., 2015). *S. elongatus* siyanobakterisini içeren birçok araştırmada 30°C'de sabit bir sıcaklıkta kültive edilmiştir (Kajiwara ve ark., 1997). Ancak sıcaklığın *S. elongatus* siyanobakterisi üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar kısıtlıdır.

S. elongatus siyanobakterisi fotosentez yoluyla ışık enerjisini kullanarak kimyasal enerji ve organik molekül üretirler (Lai ve ark., 2005). Siyanobakterilerde fikosiyanın adı verilen fotosentez reaksiyonunda ışığı yakalayan organeller bulunmaktadır (Mazel ve ark., 1988). *S. elongatus* 'de fotosistem II'de ışığı kullanan D1 ve D2 proteinlerinin kodlarını içeren üç tane psbA ve 2 tane psbD genleri bulunmaktadır (Nair ve ark., 2000; Bustos ve ark., 1990; Golden, 1995; Tsinoemas ve ark., 1994). Düşük ışık şiddetinde fotosentez hızları düştüğü gibi optimum ışık şiddetini aşan yüksek ışık şiddetleri de olumsuz yönde etkilemektedir (Kuan, 2013).

Saflaştırılmamış kirli atmosferik havada CO₂ konsantrasyonu düşük olduğundan *S. elongatus* tarafından inorganik karbon kaynağı (Ci) düşük olmaktadır. Düşük Ci konsantrasyonlarında *S. elongatus* aklimasyonu yavaş olmakta ve büyüme hızları düşerek siyanobakteri sayıları düşmektedir (Fujita, 1997; Huner ve ark., 1998). Değişken çevresel Ci konsantrasyonları arasında yüksek hücre içi Ci konsantrasyonlarını muhafaza etmek için siyanobakteriler fotosentezden elde ettikleri enerjiyi kullanarak hücre içine seyrek konsantrasyonlarda giren Ci ile aktif olarak atmosfer veya saf CO₂'den aldıkları karbonu konsantre ederek metabolize ederler (Badger ve Price, 2003; MacKenzie ve ark., 2004). Ci- CO₂ konsantrasyonlarının optimum olduğunda hızlı bir aklimasyon ile büyüme hızı da artmaktadır. Diğer yandan atmosferik CO₂ konsantrasyonunun fazla olması fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* 'un büyümelerini limitlediği saptanmıştır (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011).

Aerob oksijenik siyanobakteri olan *S. elongatus* geceleri solunum yaparken O₂'e ihtiyaç duymaktadır. Siyanobakterilerde solunum elektron taşıma kompleksi tip – I NAD(P)H dehidrojenaz, sukkinat dehidrojenaz, sitokrom (cyt) oksidaz ve alternatif oksidaz ve de cyt b6f kompleksi içermektedir ve fotosentetik elektron taşıma sistemiyle aynıdır. Doğal olarak atmosferik oksijene adapte olduklarından atmosferik havada büyümeleri olağandır ve düşük O₂ konsantrasyonlarına siyanobakteriler adapte olmuşlardır (Pope, 1975). Atmosferik koşullarda su içindeki oksijenin çözünürlüğü oldukça düşüktür (35°C'de 7 ppm ve 1 atm hava). Ancak O₂ yokluğu fotosistem II'de elektron taşıyıcısı olan plastokinonu engeller (Lan ve Liao,

2011). Bununla birlikte yüksek O₂ ve CO₂ seviyeleri büyümelerini inhibe edebilmektedir. O₂'nin yüksek konsantrasyonlarının büyüme inhibisyonuna yol açtığı bilinmektedir (Kuan, 2015). Kuan (2015), *S. elongatus* siyanobakterisi ile yaptığı çalışmada artan O₂ konsantrasyonunun büyümeyi limitlediğini vurgulamıştır. Ancak *S. elongatus* için oksijenin büyüme üzerine etkileri ile ilgili bir verim yayımlanmamıştır.

S. elongatus büyüme ortamı BG – 11 sıvı besiyeridir (Rippka ve ark., 1979). Bu besiyerinin pH'ı 7.1'e ayarlanarak hazırlanmaktadır. pH, *S. elongatus* gelişiminde ve fotosentez mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır. pH=7, H⁺ taşıyıcıları tarafından şeker tüketimini azaltabilmektedir (Ducat ve ark., 2012). *S. elongatus* 'nin büyümesinde şekerin taşınmasının önemli bir etkisi vardır (McEwen ve ark., 2013).

BG-11 sıvı besiyerinin bileşenleri hücre büyümesinin sürdürülebilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Kuan, 2013). MgSO₄ BG-11 sıvı besiyerinde 0,075 g/L konsantrasyonunda BG-11 besiyerine ilave edilmektedir. Sülfür içeren MgSO₄ aminoasitler (sistin ve metiyonin), peptitler, vitaminler ve sekonder metabolitler gibi temel besinleri de bileşiminde bulundurmaktadır (Jain ve ark., 2006; Kuan, 2010). Ayrıca klorofil üretimini başlatan magnezyum kaynağını da içermektedir (Kuan, 2010). Diğer bir yandan magnezyum birçok enzimatik reaksiyona kofaktör olarak katılmaktadır (Yang ve ark., 2015). MgSO₄ yokluğunda ya da fazlalığında *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyüme metabolizmaları yavaşlamaktadır (Yang ve ark., 2015). NaNO₃, nitrojen kaynağı olarak kullanılır ve aminoasitler gibi önemli bileşenlerin üretilmesinde görev alır (Srivastava ve ark., 2013). K₂HPO₄ hücre metabolizması ve fizikokimyasal reaksiyonların çeşitliliği için fosfor kaynağıdır (Kuan, 2013). CaCl₂, hücrelerin ozmotik basıncının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Srivastava ve ark., 2013). C₆H₈O₇, enerji üretiminde kullanılan kimyasal reaksiyonlar seri olan sitrik asit döngüsünün merkezindedir (Siegesmund, 2011). C₆H₁₁FeNO₇, fotosentetik aparatlar için demir ihtiyacını karşılamaktadır (Shcolnick ve ark., 2009). Na₂EDTA, zararlı ağır metal iyonlarının kaldırılmasında görev alır (De Philippis ve ark., 2011). Na₂CO₃, inorganik karbon kaynağına ek

olarak kullanılır (Schwarz ve ark., 2011). İz elementler hücrede enzimatik reaksiyonlar için kofaktör görevinde rol oynamaktadır (Todar, 2012).



BÖLÜM DÖRT MATERYAL VE METOT

4.1 Yapılan Çalışmalar

Bu yüksek lisans tezi kapsamında CO₂'ten 1-butanol üretiminde on bir farklı çalışma ile yapılmıştır. Kullanılan *S. elongatus* siyanobakterileri saf ve denizden, gölden ve kaynak sudan izole edilmiştir. % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden, CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılarak ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanan saflaştırılmadan üç farklı CO₂ verilmiştir. Bu on bir çalışmanın ikisinde saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisi kullanılarak; % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden verilen CO₂'ten 1-butanol üretimi ile CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂'ten 1- butanol üretimi araştırılmıştır (Tablo 4.1). Denizden izole edilen *S. elongatus* kültürlerine % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden, CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılarak ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanan saflaştırılmadan verilen CO₂'ten 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiştir (Tablo 4.1). Gölden izole edilen *S. elongatus* kültürlerine % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂, CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılan CO₂ ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanan saflaştırılmadan verilerek 1-butanol üretilmiştir (Tablo 4.1). Kaynak sudan izole edilen *S. elongatus* kültürlerine ise % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂, CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılan CO₂ ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havanın yakalanarak saflaştırılmadan verildiği çalışmalarda 1-butanol üretilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Bu Tez kapsamında yapılan Araştırma Örneklemi

ARAŞTIRMA ÖRNEKLEMLERİ		
	Kullanılan <i>S. elongatus</i>	Kullanılan CO ₂
Saf - 1	Saf	% 99 saflıkta olan CO ₂ tüpü
Saf - 2	Saf	CO ₂ 'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış
FDK - 1	Denizden izole edilen	% 99 saflıkta olan CO ₂ tüpü
FDK - 2	Denizden izole edilen	CO ₂ 'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış
FDK - 3	Denizden izole edilen	CO ₂ 'ce zengin kirli bölgelerde havanın yakalanarak saflaştırılmadan
BKS - 1	Kaynak suyundan izole edilen	% 99 saflıkta olan CO ₂ tüpü
BKS - 2	Kaynak suyundan izole edilen	CO ₂ 'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış
BKS - 3	Kaynak suyundan izole edilen	CO ₂ 'ce zengin kirli bölgelerde havanın yakalanarak saflaştırılmadan
TBG - 1	Göl suyundan izole edilen	% 99 saflıkta olan CO ₂ tüpü
TBG - 2	Göl suyundan izole edilen	CO ₂ 'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış
TBG - 3	Göl suyundan izole edilen	CO ₂ 'ce zengin kirli bölgelerde havanın yakalanarak saflaştırılmadan

Yapılan bu on bir çalışmada; bekleme süresinin, pH'ın, sıcaklığın, NaCl ilavesinin, redoks potansiyelinin (anoksik koşullar, aerobik koşullar ve anaerobik koşullar), MgSO₄, ışık şiddetinin, O₂ ilavesinin ve plazmit ilavesinin siyanobakteri sayılarına, üretilen 1-butanol konsantrasyonlarına ve CO₂kullanılan'dan 1-butanolüretilen'e (1-butanolüretilen/CO₂kullanılan) verimlerine olan etkileri incelenmiştir.

4.1.1 Kullanılan Mikroorganizmanın Alındığı Yer

Bu çalışmada CO₂ gazından butanol üretilmesinde kullanılacak olan fotosentetik siyanobakter *S. elongatus* PCC 7942 LGC Standards (ATCC 33912) firmasından satın alınmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 *S. elongatus* PCC 7942 LGC Standards (ATCC 33912)

Literatürde yapılan çalışmalar göz önünde bulunduğunda *S. elongatus* bakterisi göl suyu, deniz suyu ve topraktan izole edilebilmektedir. Bu bilgilere dayanarak İzmir'in Foça ilçesindeki 38° 40' 0" N, 26° 46' 0" E koordinatlarındaki deniz kıyılarından, İzmir'in ilçesi olan Foça Balaban Dağı mevki 38°38'58.8"N 26°49'43.3"E koordinatlarındaki kaynak suyundan ve İzmir'in Tahtalı Baraj Gölünün 38°08'05.2"N 27°06'19.3"E koordinatlarındaki Reis Dere mevkiinden numuneler alınmıştır.

4.2 Deney Sisteminin Açıklanması

Laboratuvar koşullarında 250 ml'lik steril kapaklı cam şişelere 100 ml BG-11 sıvı besiyeri üzerine 100 ml saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri kültürünün ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan her bir kültüre 10.00 – 18.00 saatleri arasında günde beş kez debisi 0,083 m³/sn CO₂ verilmiştir. Daha sonra 120 rpm'de çalkalamalı inkübatörde 30 gün boyunca 60 W'lık ışık şiddeti altında 30 °C'de bekletilmiştir.

Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden alınan su numuneleri de yukarda belirtilen koşullara benzer şekilde *S. elongatus* kültürlerinin birincil üretimleri yapılmıştır.

4.2.1 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Siyanobakteri Sayımları, 1-butanol Konsantrasyonları ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri

Saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisine % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden debisi 0,083 m³/sn olan CO₂ 10.00 – 18.00 saatleri arasında günde beş kez verilmiştir (Saf – 1). 30°C sıcaklıkta ve 60 W'lık ışık şiddetinde 120 rpm'de çalkalamalı inkübatörde 30 gün inkübe edildi (Şekil 4.2). 30 gün sonunda *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin sayıları saptanmıştır. Sonra 1-butanol konsantrasyonları belirlenerek; kullanılan CO₂ ve butanol ölçümleri yapılarak CO₂kullanılan'dan 1-butanol_{üretilen}'e (1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan) verimleri hesaplanmıştır.

Saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisi CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ kullanılmıştır (Saf – 2) (Şekil 4.2). Yukarıda bahsedilen koşullarda CO₂ verildi ve 30 gün sonunda bakteri sayımları, 1-butanol konsantrasyonu ölçümleri ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır.



Şekil 4.2 30 gün sonunda Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürleri.

4.2.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Siyanobakteri Sayımları, 1-butanol Konsantrasyonları ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri

Foça denizi kıyıları alınan numunelerden *S. elongatus* siyanobakterisinin üretimi yapılmıştır. 250 ml'lik steril kapaklı cam şişelere 100 ml BG-11 sıvı besiyeri; üzerine 100 ml numune ilave edilerek ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan kültürler % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden debisi 0,083 m³/sn olan CO₂ 10.00 – 18.00 saatleri arasında günde beş kez verilmiştir (FDK - 1). Kültürler 120 rpm'de çalkalamalı inkübatörde 30°C sıcaklıkta ve 60 W'lık ışık şiddetinde 30 gün inkübe edildi (Şekil 4.3). 30 gün sonunda *S. elongatus* siyanobakterisinin sayıları saptanmıştır. Sonra kullanılan CO₂ ve butanol ölçümleri yapılmıştır ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır.

Foça denizi kıyıları alınan numuneler yukarıda belirtilen koşullara benzer şekilde ekimleri yapılmıştır. Ekimi yapılan kültürler CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ verilmiştir (FDK - 2) (Şekil 4.3). Yine yukarıda

bahsedilen koşullarda CO₂ verilmiştir. 30 gün sonunda bakteri sayımları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır.

Foça denizi kıyıları alınan numuneler yukarıda belirtilen koşullara benzer şekilde ekimleri yapılmıştır. Ekimi yapılan kültürler CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanan hava, saflaştırılmadan yukarıda bahsedilen koşullarda CO₂ verilerek büyütülmüştür (FDK - 3) (Şekil 4.3). 30 gün sonunda bakteri sayımları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır.



Şekil 4.3 30 gün sonunda Foça deniz kıyılarından izole edilen kültürler.

4.2.3 Foça Balaban Dağı Mevkisi Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen S. elongatus Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Siyanobakteri Sayıları, 1-butanol Miktarı ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri

Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan alınan numunelerden *S. elongatus* siyanobakterisinin üretimi yapılmıştır. 250 ml'lik steril kapaklı cam şişelere 100 ml BG-11 sıvı besiyeri; üzerine 100 ml numune örneği ilave edilerek ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan kültürler % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden debisi 0,083 m³/sn olan CO₂ 10.00 – 18.00 saatleri arasında günde beş kez verilmiştir (BKS -1). Kültürler 120 rpm'de çalkalamalı inkübatörde 30°C sıcaklıkta ve 60 W'lık ışık şiddetinde 30 gün inkübe edildi (Şekil 4.4). 30 gün sonunda *S. elongatus* siyanobakterisinin sayıları saptanmıştır. Sonra kullanılan CO₂ ve butanol ölçümleri yapılarak, 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır.

Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan alınan numuneler yukarıda belirtilen koşullara benzer şekilde ekimleri yapılmıştır. Ekimi yapılan kültürlerle CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ kullanılmıştır (BKS - 2). Yine yukarıda bahsedilen koşullarda CO₂ verildi (Şekil 4.4). 30 gün sonunda bakteri sayımları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır.

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan alınan numuneler yukarıda belirtilen koşullara benzer şekilde ekimleri yapılmıştır. Ekimi yapılan kültürlerle CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanan hava saflaştırılmadan 0,083 m³/sn debi ile 10.00 – 18.00 saatleri arasında günde beş kez verilmiştir (BKS - 3). Kültürler 30°C sıcaklıkta ve 60 W'lık ışık şiddetinde 30 gün inkübe edildi (Şekil 4.5). 30 gün sonunda *S. elongatus* siyanobakterisinin sayıları saptanmıştır. Sonra kullanılan CO₂ ve butanol ölçülmüştür ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır.



Şekil 4.4 30 gün sonunda Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürleri.

4.2.4 Tahtalı Baraj Gölünün Reis Dere mevkiinden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Siyanobakteri Sayıları, 1-butanol Miktarı ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri

Tahtalı Baraj Gölünün Reis Dere mevkiinden alınan numunelerden *S. elongatus* siyanobakterisinin üretimi yapılmıştır. 250 ml'lik steril kapaklı cam şişelere 100 ml BG-11 sıvı besiyeri; üzerine 100 ml numune örneği ilave edilerek ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan kültürlerle % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden debisi 0,083 m³/sn olan

CO₂ 10.00 – 18.00 saatleri arasında günde beş kez verilmiştir (TBG - 1). Kùltürler 120 rpm’de çalkalamalı inkübatörde 30°C sıcaklıkta ve 60 W’lık ışık şiddetinde 30 gün inkübe edildi (Şekil 4.5). 30 gün sonunda *S. elongatus* siyanobakterisinin sayıları saptanmıştır. Sonra kullanılan CO₂ ve butanol ölçümleri yapılarak 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır.

Tahtalı Baraj Gölünün Reis Dere mevkiinden alınan numuneler yukarıda belirtilen koşullara benzer şekilde ekimleri yapılmıştır. Ekimi yapılan kùltürlere CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ kullanılmıştır (TBG - 2). Yine yukarıda bahsedilen koşullarda CO₂ verildi ve büyütülmüştür (Şekil 4.5). 30 gün sonunda bakteri sayımları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır.

Tahtalı Baraj Gölünün Reis Dere mevkiinden alınan numuneler yukarıda belirtilen koşullara benzer şekilde ekimleri yapılmıştır. Ekimi yapılan kùltürlere CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanan hava saflaştırılmadan yukarıda bahsedilen koşullarda CO₂ verilerek büyütülmüştür (TBG - 3) (Şekil 4.5). 30 gün sonunda bakteri sayımları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır.



Şekil 4.5 30 gün sonunda Tahtalı Baraj Gölü Reis dere mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kùltürleri.

4.3 *S. elongatus* İçin İzolasyon ve Büyüme Ortamı

LGC Standards firmasından satın alınan *S. elongatus* PCC 7942 - ATCC 33912 bakterisinin birincil kültür şeklinde gelen saf kültürlerden pasajlar yapılmıştır. Çoğaltılması için BG-11 sıvı ortamı (Tablo 4.2) kullanılarak 30°C’de 120 rpm’de çalkalamalı inkübatörde 30 gün inkübasyonu yapılmıştır (Rippka ve ark., 1979). Sıvı ortamına 1 mM NaHCO₃ ve 100 mM KOH ilave edilerek besiyeri ortamının pH’ı 7,1’e ayarlanmıştır. İşletme parametreleri 30°C sıcaklık, pH= 7.1, 60 W ışık şiddeti, redoks potansiyeli 120 mV, 0,083 m³/sn debi ile CO₂ ve çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,5 mg/l olan koşullarda büyütülmüştür.

Tablo 4.2 *S. elongatus* BG-11 Sıvı besiyeri ortamı

BG-11		İz Element Çözeltisi (A5)	
Kimyasalın Adı	Miktar	Kimyasalın Adı	Miktar
NaNO ₃	1,5 g	H ₃ BO ₃	2,86 g
MgSO ₄ •7H ₂ O	0,075 g	MnCl ₂ •4H ₂ O	1,81 g
CaCl ₂ •2H ₂ O	0,036 g	ZnSO ₄ •7H ₂ O	0,22 g
Sitrik Asit	0,006 g	Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	0,390 g
EDTA	0,001 g	CuSO ₄ •5H ₂ O	0,0790 g
Ferrik amonyum sitrat	0,006 g	Co(NO ₃) ₂ •6H ₂ O	0,0494 g
Na ₂ CO ₃	0,02 g	Deiyonize saf su	1 L
İz element çözeltisi (A5)	1 ml		
K ₂ HPO ₄	0,04 g		
Deiyonize saf su	1 L		

4.4 *S. elongatus*’un Tanısının Yapılması

30 gün boyunca 30°C’de ve 60 W’lık ışık şiddetinde izolasyonu yapılan *S. elongatus* siyanobakterisinin ilk olarak mikroskopta tanısı yapılmıştır. Mikroskop altında boyutları ölçülüp tespit edilmiştir. Diğer bir tanı yöntemi olarak ise; BG-11 sıvı besiyerinde üreyen kültürlerle Bradford testi uygulanarak hücrelerinde protein oluşumu izlenip miktarları ölçülmüştür. Daha sonra üre, amonyak, nitrit ve nitrat testleri yapılmıştır.

Yeni deneylere başlanırken *S. elongatus* bakterisinin alt kültürleri sürekli olarak 30 günde bir birincil alt kültürlerinin tanıları yapılarak üretilmiş ve kullanılmıştır. Deneyler *S. elongatus* kültürü logaritmik safhada kullanılarak (10000 adet *S. elongatus* koloni sayısı/ml) yapılmıştır.

4.5 Kullanılan Karbondioksit Kaynakları

4.5.1 Laboratuvarda % 99 Saflıkta olan CO₂ Tüpünden CO₂ Kullanımı

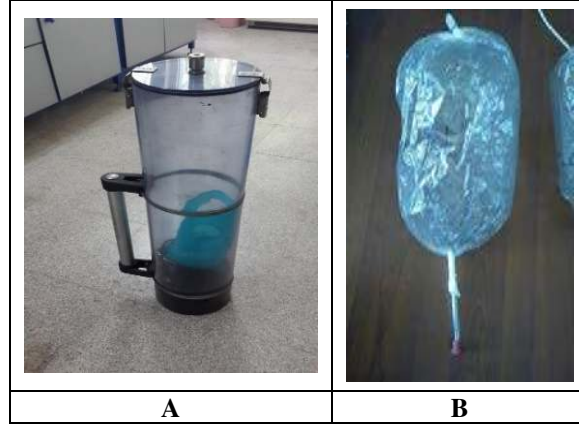
Laboratuvar içi çalışmalarda karbondioksitli koşullar sentetik olarak % 99 saflıkta olan bir karbondioksit tüpü (Linde, Ürün No:1013) kullanılarak gerçekleştirildi (Şekil 4.6). Dolum basıncı 15 °C’de 50 bar olan bu CO₂ tüpünden debisi 0,083 m³/sn olacak şekilde ekimi yapılmış *S. elongatus* bakteri kültürlerinin bulunduğu her bir şişeye verilmiştir.



Şekil 4.6 % 99 Saflıkta olan CO₂ tüpü

4.5.2 Karbondioksitçe Zengin Kirli Bölgelerden CO₂ Yakalanması

Saha çalışmalarında karbondioksitli koşullar kirli bölgelerden yakalanan havanın O₂ ve N₂’den elimine edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. İzmir’in sanayi bölgelerinden biri olan Aliğa ilçesinden 38°42’–38°55’N ve 26°50’–27°04’E koordinatlarından Ecoma GmbH (D – 24211) marka bir vakum pompası yardımıyla kirli bölgelerden çekilen Kalle Nalo marka nalofan hava torbalarında toplanmıştır (Şekil 4.7). Öncelikle bu toplanan hava CaCl₂’li bir sıvıdan geçirilerek nem tutuldu. Daha sonra 100-150 mg aktif C içeren kolondan geçirilerek bir gaz debi ölçer ile debisi belirlendi (Aydın ve ark., 2014).



Şekil 4.7 Vakum pompası (A) ve hava torbası (B)

4.5.3 Kirli Bölgelerden Yakalanan Havanın Saflaştırılması

Vakum pompasıyla sürekli alınan hava; hava torbalarında 19°C’de bekletilerek sırasıyla 4.5.3.1 ve 4.5.3.2’de belirtilen şekilde O₂ ve N₂ eliminasyonu işlemlerden geçirilmiştir. N₂ ve O₂’den arındırılmış olan CO₂ gazı yine hava torbalarında tutuldu. O₂ eliminasyonu LGC Standards firmasından satın alınan (ATCC – 19718) *Nitrosomonas europaea* bakterisi ile gerçekleştirilmiştir. N₂ eliminasyonu ise; LGC Standards firmasından satın alınan (ATCC – 9046) *Azotobacter vinelandii* azot bakterisi ile gerçekleştirilmiştir.

4.5.3.1 Kirli Bölgelerden Yakalanan Havanın O₂ Eliminasyonu

İzmir’in Aliğa ilçesinden vakum pompası ile gaz çekiş hızı 1 l/dk çekilen havanın miktarı hesaplanmıştır. Laboratuvar koşullarında LGC Standards firmasından satın alınan (ATCC – 19718) *N. europaea* bakterisinin Tablo 4.3’deki verilen besiyerine ekimi yapılarak 80 saat 30°C etüvde inkübe edilmiştir. Daha sonra üretimi yapılan *N. europaea* bakterisinin birincil kültürlerinden yeni ekimleri yapılarak çoğaltılmıştır. Atık gaz günde 5 kez 10’ar dakika 10 ml/dk debide ekimi yapılan kültürlerden geçirilmiştir. Kirli bölgelerden yakalanmış olan atık hava içerisindeki O₂ *N. europaea* bakterilerinin nitrifikasyonunda kullanılmıştır. Böylelikle kirli hava O₂’den arındırılmıştır.

Tablo 4.3 *N. europaea* bakterisinin besiyeri ortamı

Çözelti – 1		Çözelti - 2		Çözelti - 3	
Kimyasalın Adı	Miktar	Kimyasalın Adı	Miktar	Kimyasalın Adı	Miktar
(NH ₄) ₂ SO ₄ (50 mM NH ₄ ⁺ için)	4,95 g	KH ₂ PO ₄	8,2 g	Na ₂ CO ₃ anhidroz	0,6 g
KH ₂ PO ₄	0,62 g	NaH ₂ PO ₄	0,7 g	Deiyonize Saf Su	12,0 ml
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,27 g	Deiyonize Saf Su	300,0 ml	10N NaOH ile pH 8’e ayarlanır; steril edilir.	
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,04 g	Sterilizasyon işlemi			
FeSO ₄	0,5 ml				
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,2 mg				
Deiyonize Saf Su	1,2 L				
Sterilizasyon işlemi					
Çözelti 1, 2, 3 ayrı ayrı hazırlandıktan sonra birleştirilir.					

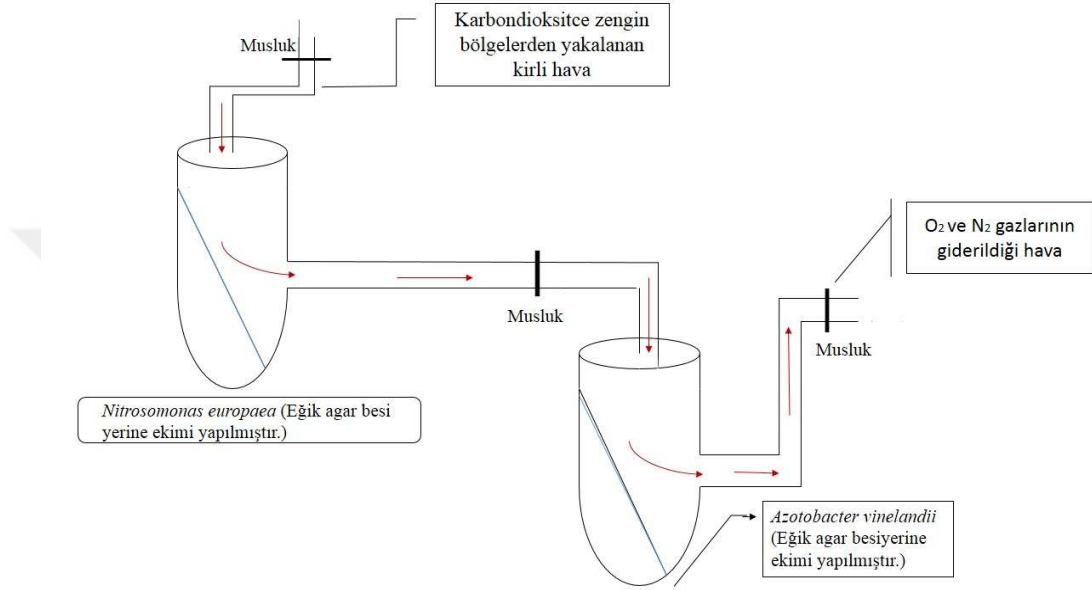
4.5.3.2 Kirli Bölgelerden Yakalanan Havanın N₂ Eliminasyonu

Vakum pompası ile İzmir'in Aliaga ilçesinden çekilen hava O₂ eliminasyonu gerçekleştirildikten sonra N₂ gazından arındırılmıştır. Laboratuvar koşullarında LGC Standards firmasından satın alınan (ATCC – 9046) *A. vinelandii* azot bakterisinin Tablo 4.4'deki verilen besiyerine ekimi yapılarak 20 gün 25°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Üretimi yapılan *A. vinelandii* birincil kültürlerinden yeni besiyerlerine ekimi yapılarak çoğaltılmıştır. O₂'den giderilmiş olan atık hava günde 5 kez 10'ar dakika 10 ml/dk'lık debide ekimi yapılan kültürlerle verilmiştir. Non-simbioyotik mekanizmayla kirli bölgelerden yakalanmış olan atık havadan N₂ gazının giderilmesi sağlanmıştır.

Tablo 4.4 *A. vinelandii* besiyeri ortamı

Azotobakter Besiyeri		Mannitol Çözeltisi		Katı Ekstrakt	
Kimyasalın Adı	Miktar	Kimyasalın Adı	Miktar	Kimyasalın Adı	Miktar
K ₂ HPO ₄	1 g	Mannitol	20 g	Mor Toprak	77 g
MgSO ₄ x 7H ₂ O	0,2 g	Deiyonize Saf Su	100 ml	Na ₂ CO ₃	0,2 g
NaCl	0,2 g	Sterilize edildikten sonra besiyerine eklenir.		Deiyonize Saf Su	200 ml
FeSO ₄	5 mg			1 saat kaynatıldıktan sonra filtreden geçirilir. Besiyerine eklenir.	
Mannitol Çözeltisi	100 ml				
Katı Ekstrakt	100 ml				
Agar	15,0 g				
Çeşme Suyu	800 ml				
pH 76'a ayarlanır. 121 °C'de otoklavlanır.					

Atmosferden yakalanan hava eğik agarda üretilmiş *N. europaea* kültüründen 0,083 m³/sn debide kesikli olarak yarım saatte bir 5 dakika süre ile toplamda 7 gün boyunca geçirilerek O₂ giderilir (Şekil 4.8). O₂ giderilmiş olan hava *A. vinelandii* içeren sistemden 0,083 m³/sn debide kesikli olarak yarım saatte bir 5 dakika süre ile 7 gün boyunca geçirilerek N₂ giderilmiş olur.



Şekil 4.8 Karbondioksit saflaştırma düzeneği

4.6 *S. elongatus* Siyanobakterisi Tarafından 1-Butanol Üretiminin Sağlanması

S. elongatus siyanobakterisi on bir farklı çalışma yapılarak ayrı ayrı 250 ml'lik kapaklı cam şişelerde üretilmiştir. Bu birincil kültürlerle 1 mM izopropil β -D-1-tiyogalaktopiranoz (IPTG) ilave edilerek genlerin indükte olması sağlanmıştır. 1-butanol üretimini ve birikimini test etmek için test tüplerine dağıtılıp büyütülmüştür (Lan ve Liao, 2011). 1-butanol üretimi GC-MS'de geliştirilen yöntemle ölçülmüştür.

4.7 CO₂'den 1-Butanol Üretiminde Siyanobakteri Sayılarını, 1-butanol Konsantrasyonlarını ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} Verimini Etkileyen Çevresel Faktörler

4.7.1 Sıcaklığın Etkisi

On bir farklı çalışmadaki kültürler laboratuvar koşullarında 30 gün boyunca üç farklı sıcaklık derecesinde (21°C, 30°C ve 45°C) ayrı ayrı büyütülmüşlerdir. Diğer işletme parametreleri sabit tutulmuştur. 30 gün sonunda sıcaklığın etkileri incelenmiştir. Her bir kültürdeki *S. elongatus* siyanobakteri sayımı yapılarak sıcaklığın büyüme üzerine olan etkileri incelenmiştir. Daha sonra üç farklı sıcaklıkta inkübe edilmiş olan kültürlerde 1-butanol konsantrasyonları ölçülmüştür ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanarak incelenmiştir.

4.7.2 Işık Şiddetinin Etkisi

Bu yüksek lisans tezi kapsamında yapılan on bir çalışmada alt kültürü yapılan *S. elongatus* siyanobakterisi laboratuvar koşullarında sekiz farklı ışık şiddetinde (30 W, 50 W, 60 W, 70 W, 80 W, 90 W, 100 W ve 150 W) 30 gün boyunca ayrı ayrı büyütülmüşlerdir. Diğer işletme parametreleri sabit tutulmuştur. 30 gün sonunda ışık şiddetinin her bir çalışmadaki kültürlerdeki siyanobakterisinin sayısına etkileri incelenmiştir. Daha sonra sekiz farklı ışık şiddetinde büyütülmüş olan kültürlerde 1-butanolün konsantrasyonu ölçülmüştür ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanarak incelenmiştir.

4.7.3 Bekleme Süresinin Etkisi

Her bir çalışmada *S. elongatus* siyanobakterisinin ekimi yapıp alt kültürleri geliştirilen kültürler sırasıyla 15 gün, 30 gün ve 45 gün sonunda bekleme süresinin etkileri incelenmiştir. On bir çalışmadaki kültürler diğer işletme parametreleri sabit tutularak büyütülmüştür. Bekleme süresi dolan her bir çalışmadaki kültürlerin *S. elongatus* siyanobakteri sayımı yapılarak bekleme büyüme üzerine olan etkileri incelenmiştir. Daha sonra üç farklı bekleme süresinde büyütülmüş olan kültürlerde 1-

butanol konsantrasyonları belirlenerek, 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanarak incelenmiştir.

4.7.4 pH'ın Etkisi

Sıvı besiyeri olan BG-11 hazırlanırken 1 mM NaHCO₃ ve 100 mM KOH ilave edilerek besiyeri ortamının pH'ı 7,1'e ayarlanmaktadır. On bir çalışmadaki kültürlerden 1-butanol eldesinde pH'ın etkisini incelemek için BG-11 sıvı besiyeri ortamının pH'ı asidik (4), bazik (10) ve nötr (7) ayarlanmıştır. Öncelikle besiyerinin pH'ı asidik hale getirilmek için BG-11 ortamına 100 mM KOH ilave edilmiştir ve bu besiyerine her bir çalışmadaki *S. elongatus* siyanobakterilerinin ekimi yapılmıştır. Bazik ortamın etkisinin incelenmesi için BG-11 besiyerine 1 mM NaHCO₃ ilave edilmiştir ve bu besiyerlerine on bir çalışmadaki her bir *S. elongatus* siyanobakterilerinin ekimleri yapılmıştır. Son olarak; BG-11 besiyerinin pH'ı 7'e ayarlanarak nötr ortamın etkisinin incelenmesi için bu besiyerlerine on bir çalışmada bulunan kültürlerdeki *S. elongatus* siyanobakterilerinin ekimleri gerçekleştirilmiştir. Diğer işletme parametreleri sabit tutularak büyütülmüşlerdir. Daha sonra üç farklı pH'a ayarlanmış BG-11 sıvı besiyeri ortamında büyütülmüş olan kültürlerde *S. elongatus* siyanobakteri sayımı yapılmıştır. Her bir çalışmada 1-butanol konsantrasyonları ölçülmüştür ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanarak incelenmiştir.

4.7.5 NaCl İlavesinin Etkisi

Bu çalışmada *S. elongatus* siyanobakterisi büyüme ortamı olan BG-11 sıvı besiyerine NaCl farklı miktarlarda ilave edilerek etkileri incelenmiştir. Her bir çalışma için BG-11 sıvı besiyeri hazırlandıktan sonra eşit bir şekilde şişelere ayrılarak her birine sırası ile NaCl ilavesi olmadan, 0,05 mg/l, 0,1 mg/l ve 1 mg/l NaCl ilave edilmiştir. Her bir çalışmada *S. elongatus* ekimleri gerçekleştirilmiştir. Diğer işletme parametreleri sabit tutularak büyütülmüştür. Daha sonra her bir çalışmada dört farklı BG-11 sıvı besiyerinde büyütülmüş olan kültürlerde siyanobakteri sayımı yapılmıştır. On bir çalışmada 1-butanol konsantrasyonları ölçülmüştür ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanarak incelenmiştir.

4.7.6 *MgSO₄ Etkisi*

Büyüme ortamı olan BG-11 sıvı besiyerinin önemli bir bileşeni olan MgSO₄ etkisinin incelenmesi için her bir çalışma için besiyeri üç farklı şekilde hazırlanmıştır. İlk besiyeri MgSO₄ ilave edilmeden, ikinci besiyerine 0,075 mg/l MgSO₄ ve son olarak üçüncü besiyerine ise 0,15 mg/l MgSO₄ ilave edilmiştir. *S. elongatus* ekimleri her bir çalışma için gerçekleştirilmiştir. Diğer işletme parametreleri sabit tutularak, 30 gün boyunca büyütülmüştür. Daha sonra üç farklı BG-11 sıvı besiyerinde büyütülmüş olan her bir çalışmadaki kültürlerde *S. elongatus* siyanobakteri sayımı yapılmıştır. 1-butanol konsantrasyonları ölçülen on bir çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanarak incelenmiştir.

4.7.7 *Çözünmüş Oksijenin (O₂) Etkisi*

Laboratuvar koşullarında saf *S. elongatus* siyanobakterisinin üç ayrı BG-11 sıvı besiyerine ekimi yapılmıştır. Her bir kültüre sırasıyla O₂ yok, 0,5 mg/l, 1,5 mg/l ve 2,5 mg/l konsantrasyonlarında O₂ pompası ile O₂ ilavesi yapılmıştır. Daha sonra 30 gün boyunca diğer işletme parametreleri sabit tutularak büyütülmüştür. Dört farklı O₂ konsantrasyonunda büyütülmüş olan on bir çalışmadaki kültürlerde *S. elongatus* siyanobakteri sayımı yapılmıştır. 1-butanol konsantrasyonları ölçülmüş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanarak incelenmiştir.

4.7.8 *Redoks Potansiyelin (Eh) Etkisi*

Anoksik koşullar; her bir kültüre sırasıyla 0,02 mg/l, 0,05 mg/l ve 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek redoks potansiyeli (Eh) 0 mV 'ye ayarlanmıştır. BG – 11 sıvı besiyerine ekimleri yapılan on bir çalışmadaki kültürlerle 3 litre hacmindeki anaerobik reaktörlere 10 dakikalık bir sürede % 99 saflıkta bir H₂ tüpünden 5 ml/dk'lık bir debi ile H₂ gazı verilmiştir. 10 dakikalık bir sürede % 99 saflıkta bir azot tüpünden de 5 ml/dk bir debi ile azot gazı verilmiştir. Diğer işletme parametreleri sabit tutularak; 30 gün boyunca büyütülmüştür. Daha sonra her çalışmada *S. elongatus* siyanobakteri sayımı yapılmıştır. 1-butanol miktarları

ölçülerek, 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanarak anoksik koşulların etkileri incelenmiştir.

Aerobik koşullarda redoks potansiyeli (Eh) +120 mV'ye ayarlanmıştır. Aerobik koşullar; çözünmüş O₂ kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çözünmüş O₂'nin 1-butanol üretimine etkisini incelemek için on bir çalışmada bulunan kültürlerle bir O₂ pompası ile konsantrasyonu sırasıyla 0,5 mg/l, 1,5 mg/l, 2,5 mg/l ve 3 mg/l miktarlarında olan O₂ ilave edilmiştir. Diğer işletme parametreleri sabit tutularak; 30 gün boyunca büyütülmüştür. Daha sonra her çalışmada *S. elongatus* siyanobakteri sayımları yapılmıştır. 1-butanol konsantrasyonları ölçülen on bir çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanarak aerobik koşulların etkileri incelenmiştir.

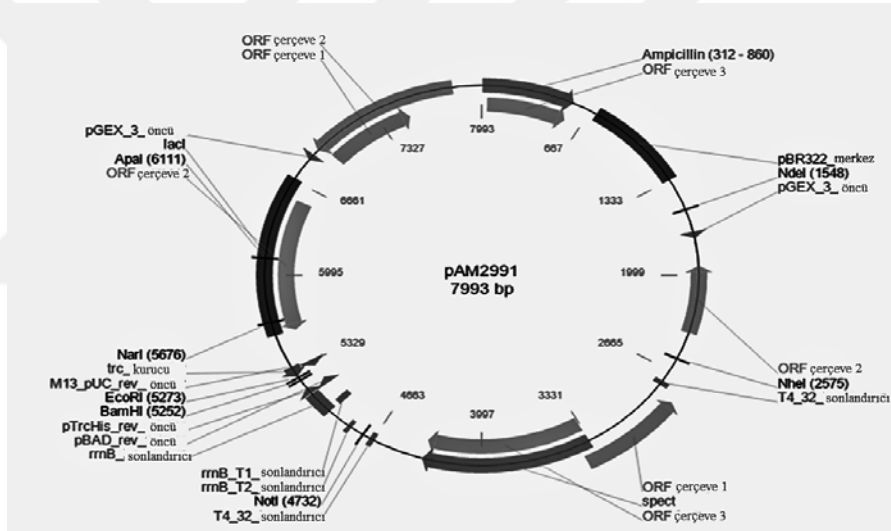
Anaerobik koşullarda redoks potansiyeli (Eh) çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0 mg/l, 0,01mg/l, 0,03 mg/l ve 0,05 mg/l sırasıyla -200 mV'ye ayarlanmıştır. Her bir çalışmada *S. elongatus* siyanobakterilerinin BG-11 sıvı besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Diğer işletme parametreleri sabit tutularak büyütülmüştür. 30 gün sonunda her bir çalışmadaki kültürlerde bulunan *S. elongatus* siyanobakteri sayımları yapılarak anaerobik koşulların büyüme üzerine olan etkileri incelenmiştir. Daha sonra bu kültürlerde 1-butanol konsantrasyonları ölçümü yapılmıştır ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanarak incelenmiştir.

4.7.9 Plazmit İlavesinin Etkisi

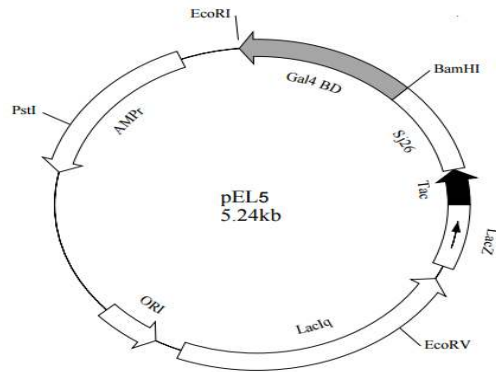
Her bir çalışma için *S. elongatus* siyanobakterilerinin BG-11 sıvı besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Diğer işletme parametreleri sabit tutularak büyütülmüşlerdir. Orta seviyede üretimi gerçekleştirilmiş olan her bir *S. elongatus* kültürlerine 2 µg plazmit DNA'sı ilave edilerek bir gece karanlıkta bekletilmiştir ve plazmit DNA'sı siyanobakterilere transfer edilmiştir. Gelişen kültürler uygun plazmit rekombinasyonu için 20 mg/ml spektinomisin antibiyotiklerini içeren BG-11 sıvı besiyerine ekilmiştir (Lan ve Liao, 2011). Gelişen kolonilerden siyanobakteri sayımı yapılmıştır. On bir çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu ölçülmüştür ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanarak incelenmiştir.

4.7.9.1 Plazmit Oluşumları

Kullanılan plazmit pAM2991'dir. pAM2991 plazmiti; nötral bölge – I (NSI) hedef vektörüne ve P_{trc} başlangıç primerine sahiptir (Şekil 4.9). pEL5 plazmiti *atoB* ve *adhE2*'nin pAM2991'in BamHI ve NSI bölgelerine yerleştirilmesiyle (Bustos ve ark., 1992) ve izopropil β -D-1-tiyogalaktozit (IPTG)'ye bağlı P_{trc} primerinin bağlanmasıyla oluşturulmuştur (Şekil 4.10). Kullanılan türün uygun genotipleri ile plazmitleri Tablo 4.5'de verilmektedir. *S. elongatus* ile CO₂'ten 1-butanol üretim için gerekli olan asetil-CoA asetiltransferaz (*atoB*) ve aldehid/alkol dehidrojenaz (*adhE2*) genleri pEL5 plazmitleri içinde bulunduğundan bu plazmit kullanılmıştır (Lan ve Liao, 2011).



Şekil 4.9 *S. elongatus* 'a transfer edilen plazmit ve bölgeleri, pAM2991 (Golden ve ark., 2005)



Şekil 4.10 pAM2991 plazmiti içerisine yerleştirilen pEL5 plazmiti ve bölgeleri

Tablo 4.5 Kullanılan türün ve plazmitin genotipleri

<i>S. elongatus</i>		Genotip
Tür		atoB ve adhE2 NSI integren olup; Ter crt ve hbd NSII'ye integre edilmiştir.
Plazmit	pAM2991	NSI hedefli; Ptrc: atoB, adhE2'dir.

Plazmit pEL5; asetil-CoA asetiltransferaz ve aldehid/alkol dehidrojenaz genlerinden oluşmaktadır. 1-butanol üretiminde gerekli olan genlerden atoB ve adhE2 pAM2991 plazmite klonlanmıştır. pEL5 plazmitinin primerleri rEL-56 ve rEL-57 olup ardışık bağlanmışlardır ve sekansları Tablo 4.6'da verilmektedir. pEL5 genotipleri spektinomisine dirençli (Spec^R); NSI hedefli; Ptrc: atoB, adhE2'dir.

Tablo 4.6 Kullanılan plazmitin primerlerinin sekansları

Primerler	Sekanslar (5' - 3')
rEL56	GGGAAAGGATCCATGAAAAATTGTGTCATCGTCAGTGCGG
rEL57	GGGAAAGCGCCGCTTAAAATGATTTTATATAGATATCCTTAAGTTCACCTATA

4.7.9.2 Özel Türün Oluşturulması

Tablo 4.5'te belirtildiği gibi pEL5 *S. elongatus*'un NSI bölgesine DNA rekombinasyonu ile sağlanmıştır.

4.7.9.3 Plazmit Transformasyonu

Plazmit pEL5 içindeki atoB ve adhE2 genleri *S. elongatus* DNA'sına BamH1 ve NotI bölgeleriyle pAM2991 içine transfer edilir. Bu çalışmada transformasyon; rekombinant DNA teknikleri kullanılarak pEL5 plazmitindeki atoB ve adhE2 genleri *S. elongatus* 'un DNA'sına taşınarak yapılmıştır. Transformasyon işlemine başlamadan önce *S. elongatus* izole edildikten sonra yaklaşık 100 - 200 µl *S. elongatus* sıvı çözeltisi ile 10 µl pAM2991 plazmiti hafifçe karıştırılarak plazmit DNA'sının *S. elongatus*'un hücre çeperine yapışması sağlanmıştır. Daha sonra 30 dakika buz üzerinde inkübasyon yapılarak transforme olan plazmit DNA'sının hücreye yapışması sağlanmıştır. Buz üzerinde inkübasyonu yapılan *S. elongatus* hücreleri yüksek sıcaklıkta hücre membranındaki fosfolipidlerin hareketliliğinin sağlanması için 42°C'de 1-2 dakika bekletilmiştir. Sonra hücreler korunmak için

buzda 5 dakika boyunca bekletilmiştir. Daha sonra *S. elongatus* siyanobakterisinin BG-11 besiyerine ekimi yapılmıştır. *atoB* ve *adhE2* genlerini içeren pEL5 plazmitinin *S. elongatus* siyanobakterisi tarafından hücre içine alınmasıyla hücreler pEL5 plazmitini sentezlemeye başlamışlardır. Bu hücrelerin üremesi sağlanmıştır. *atoB* ve *adhE2* içeren transforme olan pEL5 plazmit DNA'sını içeren *S. elongatus* hücrelerinin seçimi spektinomisin antibiyotiklerini içeren ortamlarda üretilerek dirençli olanlar seçilmiştir. Transforme hücrelerin seçiminde antibiyotik kullanımının yanında iki kimyasala daha ihtiyaç duyulmaktadır. pEL5 plazmiti NSI'de izopropil β -D-1-tiyogalaktozit (IPTG) ve P_{trc} kullanarak spektinomisin antibiyotiğine karşı dirençli olanları seçmektedir. IPTG; *atoB* ve *adhE2* genleri için bir uyarıcıdır. Bunun anlamı eğer ortamda IPTG var ise enzim sentezlenmektedir. Bu madde *atoB* ve *adhE2* genlerini sentezlediği zaman oluşan enzimler (asetil-CoA asetiltransferaz ve aldehid/alkol dehidrojenaz) ile parçalanır ve mavi renk oluşturmaktadırlar. Transforme olmayan hücreler antibiyotik direnci içermediklerinden dolayı antibiyotikli besiyerinde hayatta kalamamaktadırlar.

4.8 Analitik Yöntemler

4.8.1 *S. elongatus* Siyanobakterisinin Sayımı

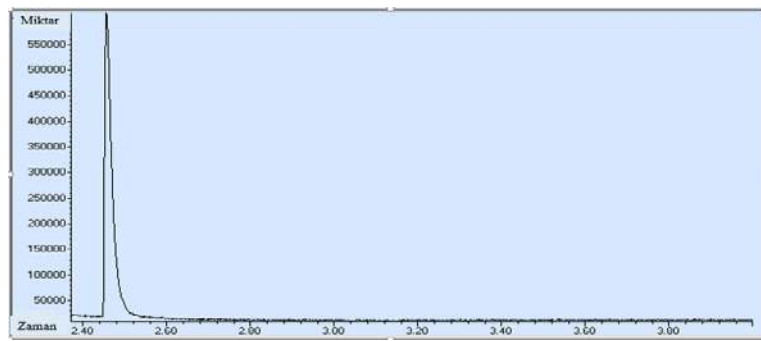
On bir çalışmada ayrı ayrı ekimleri yapılan *S. elongatus* siyanobakterilerinin izolasyonu gerçekleştikten sonra sayımları yapılmıştır. Siyanobakteri sayımı membran filtre yöntemi ile standart metotlara göre gerçekleştirmiştir. Elde edilen değerler *S. elongatus* için başlangıç sayısı olarak belirlenmiştir.

Membran filtre yönteminde siyanobakterilerin geçmesine izin vermeyecek ancak bunların içinde bulunduğu su veya dilüenti geçirecek gözenek çaplarına sahip özel 0.45 μ por çaplı 47 mm çapında Sartorius (Biolab) marka membran filtreler kullanılmıştır. BG-11 sıvı besiyerine ekimi yapılmış her bir farklı kültürden 10 ml alınarak membran filtrasyon aparatından geçirilmiştir. Filtrenin gözenek çapları çok küçük olduğundan süzme işlemini hızlandırmak amacıyla bir vakum pompası yardımı ile negatif basınç oluşturulmuştur. Daha sonra membran filtre steril bir pens ile kenarından tutularak steril petri kabı üzerine konulup immersiyon yağı

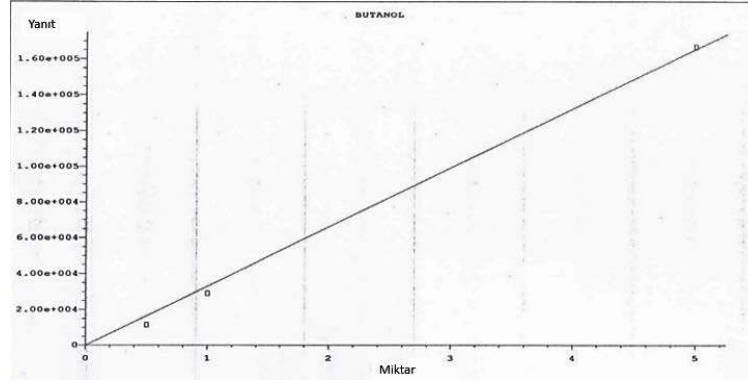
damlatılarak 70°C’de etüvde 4 saat tutulduktan sonra mikroskop altında sayımı yapılmıştır.

4.8.2 1-Butanol Ölçümü

BG-11 besiyerine ekimi yapılmış on bir çalışmadaki kültürler (1 ml) 21,130 x g’da 5 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant (95 µl) iç standart olarak 5 µl % 0,1’lik hekzan ile karıştırılmıştır. Karışım DB-FFAP kılcal kolonu ve alev iyonizasyon detektörü ile Agilent (7890-A) marka GC-MS’te ölçülmüştür. Kültürlerdeki 1-butanol; % 0,001’lik 1-butanol standardıyla karşılaştırılarak tanımlanmıştır ve ölçülmüştür. GC-MS’de 1-butanol ölçümü için Fluka’dan satın alınan butanol standardının seyreltmeleri hekzan ile yapılmıştır. 0,00001 kat seyreltilmiştir ve daha sonra GC-MS’te ön bir çalışma olarak bu standartlarla 1-butanol ölçümü gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.11’de de gösterildiği gibi 1-butanol alanının genellikle 2,483 dakikada gözlemlendiği tespit edilmiştir. Yöntemde Helyum gazı taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. Enjektör ve detektör sıcaklıkları 250°C’e ayarlanmıştır. Enjeksiyon seviyesi 1 µL’dir. GC-MS’in sıcaklığı başlangıçta 40°C’de 4 dakika tutulmaktadır ve sonra 250°C yükseltilmektedir. Kolon akış hızı 3 ml/dk olarak ayarlanmıştır (Nykanen ve ark., 1986). Şekil 4.12’de kalibrasyon grafiği verilmektedir.



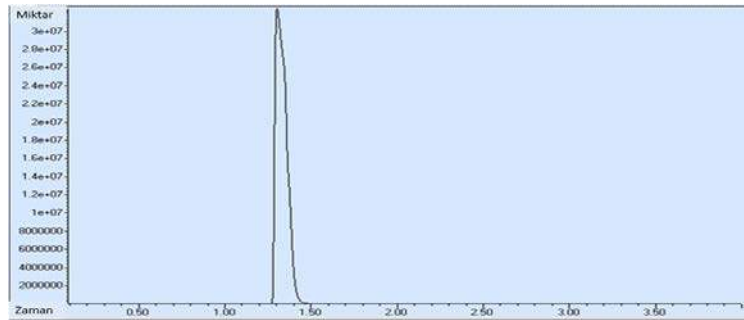
Şekil 4.11 1-butanol alıkonma süresi 2.483 dakika



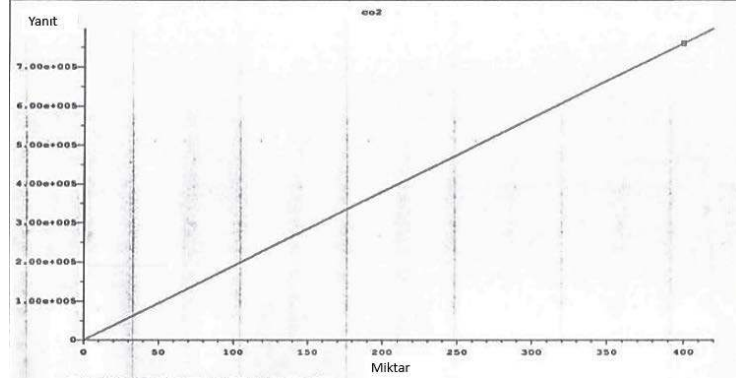
Şekil 4.12 1-butanol kalibrasyon grafiği, $R^2=0,9993$

4.8.3 CO₂ Ölçümü

CO₂ ölçümleri için BG-11 sıvı besiyerine ekimi yapılmış on bir çalışmadaki kültürlerden 1MR-VLL-GT FL0D şırıngasıyla 1 ml gaz çekilmiştir. Agilent (7890-A) marka olan GC-MS sistemine manuel olarak şırınga ile enjeksiyonu yapıldı ve CO₂ ölçümü gerçekleştirilmiştir. Helyum gazı taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. Enjektör ve detector sıcaklıkları 40°C'e ayarlanmıştır. Enjeksiyon seviyesi ise 1 ml'e ayarlanmıştır. GC-MS'in sıcaklığı başlangıçta 40°C'de 4 dakika tutulmaktadır (Varlet ve ark., 2013). Laboratuvar içi ve saha çalışmalarında ayrı ayrı ekimi yapılan *S. elongatus* siyanobakteri kültürlerinde ölçüm yapılmıştır. Elde edilen değer CO₂'in başlangıç miktarı olarak alınmıştır. CO₂ alanı genellikle 1 ile 6. dakikada gözlenmektedir (Şekil 4.13). Şekil 4.14'te kalibrasyon grafiği verilmektedir.



Şekil 4.13 CO₂ alıkonma süresi 1.47 dakika



Şekil 4.14 CO₂ kalibrasyon grafiği, R²=0,9997

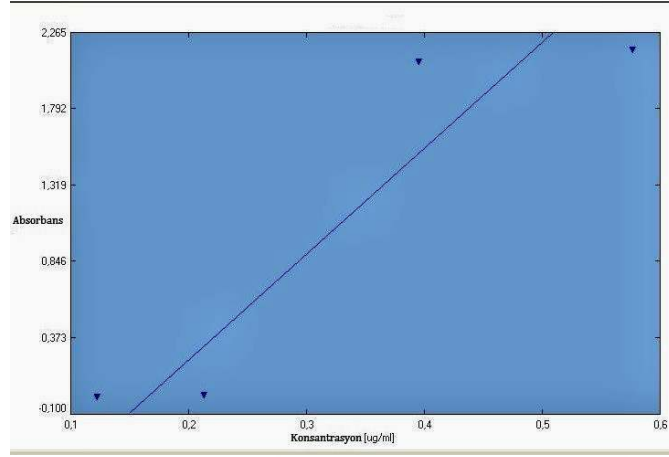
4.8.4 Enzim Aktivitesi Ölçümleri

Enzim ölçümleri için üretilen *S. elongatus* kültüründen 10 ml pelletlenerek elde edilmiştir. Bu kültüre lizonaz, 5 mM dikloro difenil trikloroethan (DTT) ile bakteriyel protein ekstraksiyonu reaktif (B-PERII) ilave edilerek 5 ml alınıp santrifüjlenmiştir. Çöken hücreden 1,5 ml alınarak üzerine lizonaz ile karıştırılmış 3 ml B-PERII ilave edilmiştir. 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Lizise uğrayan siyanobakteri hücrelerini ayırmak için 20 dakika 4°C'de santrifüjlenmiştir. Çözünür proteinleri içeren süpernatant (siyanobakteri enzim eksrakı) enzim ölçümleri için kullanılmıştır (Lan ve ark., 2011).

4.8.4.1 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (*hbd*) aktivitesi ölçümü

3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (*hbd*) aktivitesi ölçümleri için öncelikle hücreler 1 mM 1,4-ditiotreitol içeren 100 mM 3- (*N*-morfolin) propansülfonik asit (MOPS) (pH=7,0) tamponunda süspanse edilmiştir. Hücre süspansiyonu 48°C'de % 60 güçte bir Bandelin Sonarex marka sonikatörde 9 ile 15 dakika arasında tutuldu. Hücre kalıntısı 48°C'de 30,000 rpm'de 30 dakika boyunca Hettich (UNIVERSAL 320) marka santrifüj ile giderilmiştir. Santrifüj işleminden sonra süpernatant cam tüplere alınmıştır. 200 µM asetil CoA ve 400 µM nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) ilave edilerek üzerine siyanobakteri enzim eksrakı ilave edilmiştir. *hbd* aktivitesi NADH'ın tüketimine bağlı olarak 340 nm'de AQUAMATE (Helios Aquamate) marka spektrofotometre ile ölçülmüştür (Boynton ve ark., 1996).

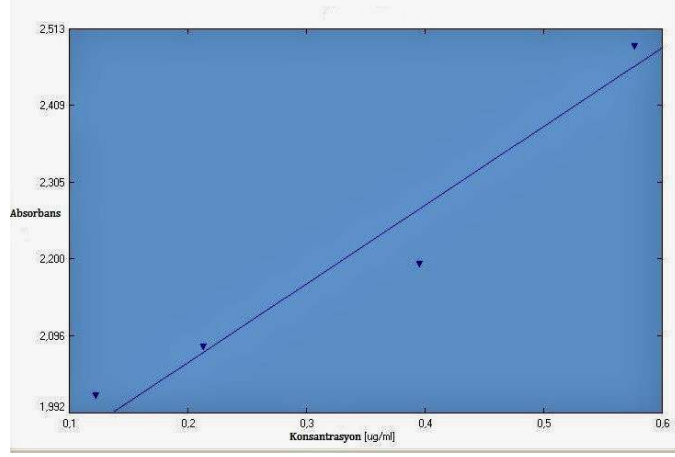
Kalibrasyon grafiği Şekil 4.15’de verilmektedir.



Şekil 4.15 hbd enziminin kalibrasyon eğrisi, $R^2 = 0,9199$

4.8.4.2 *Trans*-2-enoil-CoA redüktaz (Ter) aktivitesi ölçümü

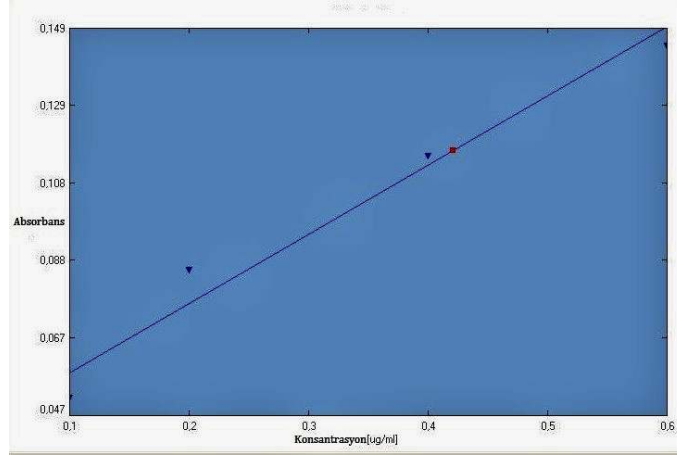
Trans-2-enoil-CoA redüktaz (Ter) aktivitesi ölçümleri için standart deney karışımı; pH’ı 6,2 olan potasyum fosfat tamponu, 0,4 mM NADH, 2 µM flavin adenin dinükleotid (FAD) ve 500 µM krotonoil-CoA içermektedir. Reaksiyon karışımı substratın ilavesinden önce 30°C’de 10 dakika boyunca ön inkübasyonu yapılmıştır. Daha sonra karışıma 200 µM krotonil-CoA ve 400 µM NADH ilave edilerek üzerine siyanobakteri enzim ekstraktı ilave edilmiştir. Ter aktivitesi 340 nm’de AQUAMATE (Helios Aquamate) marka spektrofotometre ile ölçülmüştür (Tucci ve ark., 2007). Ter enziminin kalibrasyon grafiği Şekil 4.16’da verilmektedir.



Şekil 4.16 Ter enziminin kalibrasyon eğrisi, $R^2 = 0,93011$

4.8.4.3 Aldehid/alkol dehidrojenaz (AdhE2) aktivitesi ölçümü

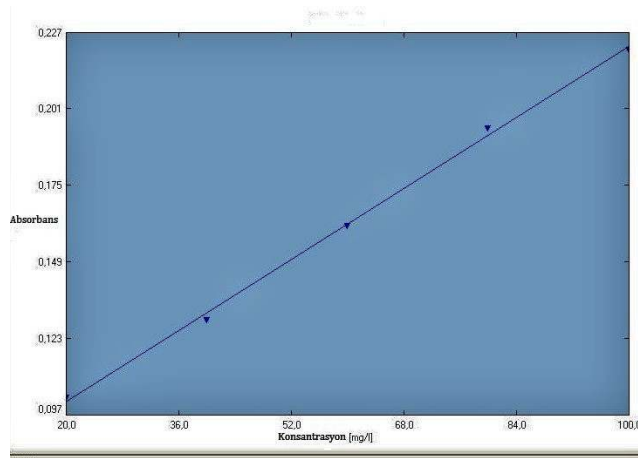
AdhE2'ye ait aldehid ve alkol oluşumu metabolik yol izi dehidrojenaz deneyleri NADH'nın 340 nm'de absorbansında gözlenen azalmaya dayalı gerçekleştirilmiştir. Bütiraldehid dehidrojenaz (Bldh) reaksiyonu karışıma 100 mM Tris-HCl (pH=7.6), 5 mM DTT, 200 µM NADH, 200 µM butiril-CoA ve siyanobakteri enzim eksrakı ilave edilmiştir. Butanol dehidrojenaz (Bdh) reaksiyonu için karışıma 100 mM Tris-HCl (pH=7.6), 5 mM DTT, 200 µM NADH, 200 µM butiril-CoA, 10 mM bütiraldehid ve siyanobakteri enzim eksrakı ilave edilmiştir. Bldh reaksiyonuna butiril-CoA substratının ve Bdh reaksiyonuna ise bütiraldehid eklenmesiyle başlatılmıştır. Deneyler 340 nm dalga boyunda AQUAMATE (Helios Aquamate) marka spektrofotometrede yapılmıştır (Lan ve Liao, 2011). AdhE2 enzimin kalibrasyon grafiği Şekil 4.17'de verilmektedir.



Şekil 4.17 AdhE2 enziminin kalibrasyon eğrisi, $R^2 = 0,9842$

4.8.5 Bradford Protein Tayini Testi

Bradford yöntemi Coomassie brilliant blue (parlak mavisi) G-250 boyasının farklı konsantrasyonlardaki proteinlere bağlanarak değişik renk şiddetinde mavi renkli çözeltiler ortaya koymasından yararlanılarak geliştirilmiştir. Mavi rengin oluşmasında proteinin aminoasit bileşimi önemlidir. Boyanın özellikle arjinin gibi bazik aminoasitlere ve bazı aromatik aminoasitlere bağlanma eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla bu yöntemde proteinin primer yapısının önemi vardır (Bradford, 1976). Yöntemde boyaya bağlanmış protein 595 nm dalga boyunda AQUAMATE (Helios Aquamate) marka spektrofotometrede maksimum absorbans vermektedir. Kalibrasyon grafiği Şekil 4.18’de verilmektedir.



Şekil 4.18 Bradford protein tayini testi için kalibrasyon eğrisi, $R^2 = 0,9991$

4.8.5.1 Bradford Protein Tayini Testi İçin Standart Eğrinin Hazırlanması

Test için gerekli olan malzeme ve gereçler; 1 mg/ml standart bovine serum albümin (% 0,9 NaCl içinde, deiyonize su, Bradford çözeltisi (25 mg Coomasie brilliant blue G-250, 12,5 ml % 95 etanolde çözündürülüp, 25 ml % 85 fosforik asit (H₃PO₄) eklenmiştir. Bu boya çözeltisi 250 ml'ye tamamlanmıştır)) kullanılacağı zaman beş kere sulandırılarak 1 filtreden geçirildi ve bir cam şişede oda sıcaklığında saklanmıştır) test tüpü, pipet (1 ve 5 ml'lik pipet), kolorimetre tüplerdir (Bradford, 1976).

Tablo 4.6 Bradford testi hazırlanırken izlenecek yol

Bileşikler	Tüp No							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1 mg/ml BSA (µl)	00	20	40	60	80	100	50	30
D-H ₂ O (µl)	100	80	60	40	20	00	50	70
%0,9 NaCl (ml)	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9
Bradford çözeltisi (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1
Toplam Hacim (ml)	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0

Kör tüpü (1 nolu tüp) ve Örnek tüpleri (7 ve 8 nolu tüpler) hariç bütün tüplere Tablo 4.6'da verilen miktarlarda (µl) BSA (Standart Serum Albümin) ilave edilmiştir. 7 ve 8 nolu tüplere, farklı konsantrasyonlarda ancak derişimleri bilinen BG-11 sıvı besiyerine ekimi yapılmış *S. elongatus* kültür örneğinden 20-100 µl arası eklenmiştir. Bütün tüplere Tablo 3,2'de verilen miktarlarda d-H₂O (deiyonize su) eklendikten sonra 5,9 ml NaCl ekleyerek hacimleri 6 ml'ye tamamlanmıştır. Son olarak bütün tüplere 1'er ml Bradford çözeltisi ilave edilmiştir. Oluşan rengin sabitlenmesi için 10 dakika beklenilmiştir. 595 nm'ye ayarlı AQUAMATE (Helios Aquamate) marka spektrofotometrede 1 numaralı kör tüpüne karşı 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 tüplerinin absorbansları okunmuştur ve kaydedilmiştir (Bradford, 1976).

4.8.6 Amonyak Testi

S. elongatus siyanobakterisinin sıvı besiyeri olan BG-11 ortamı içerisinde amonyağı kullanıp kullanmadığını saptamak için amonyak testi yapılmıştır. Bileşimi Tablo 4.7'de verilen besiyeri kullanılarak (pH=7) 121°C'de 15 dakika otoklavda

sterilize edilmiştir. Daha sonra besiyeri tüplere doldurularak en muhtemel sayıya göre 3'lü veya 5'li gruplar oluşturuldu. 28°C'de 23 gün inkübe edilmiştir. Kontrole göre bulanıklık oluşması ve mikroskopta analiz sonucu amonyağın kullanılıp kullanılmadığına karar verilir. *S. elongatus* amonyağı kullanarak nitrit bulanıklık oluşturması beklenmektedir. Pozitif üreme göstererek bulanıklık meydana gelen tüplerin üzerine 1 damla sülfanilik asit damlatılarak tüpün dibinde kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirilir.

Tablo 4.7 Amonyak kullanımı için besiyeri ortamı

Kimyasalın Adı	Miktar
Mg ₂ SO ₄ X 7 H ₂ O	0,04 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5 g
KH ₂ PO ₄	0,2 g
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,04 g
Fe	0,0005 g
Fenol Red	0,0005 g
Deiyonize Saf Su	1 L

4.8.7 Nitrat Testi

S. elongatus siyanobakterisinin BG-11 sıvı besiyeri ortamında nitrat kullanıp kullanılmadığını belirlemek için nitrat testi yapılmıştır. Tablo 4.8'de bileşimi verilen besiyerinin pH'ı NaOH ile 7,9- 8,1 arasında bir değere ayarlanmıştır. 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. Besiyeri tüplere doldurularak en muhtemel sayıya göre 3'lü veya 5'li gruplar oluşturuldu. Anoksik koşullar; 3 litre hacmindeki anaerobik reaktörlere 10 dakikalık bir sürede % 99 saflıkta bir H₂ tüpünden 5 ml/dk'lık bir debi ile H₂ gazı ve 10 dakikalık bir sürede % 99 saflıkta bir azot tüpünden de 5 ml/dk bir debi ile azot gazı verilerek sağlanmıştır. 28 °C'de 23 gün inkübe edilmiştir. Kontrole göre bulanıklık oluşması ve mikroskopta analiz sonucu nitratın kullanılıp kullanılmadığına karar verilir. *S. elongatus* nitratı kullanıp bulanıklık oluşturmaktır. Bulanıklık oluşturan tüplere 5 damla A reagenti ve 5 damla B reagenti ilavesinde pembe-kırmızı renk oluşumu (+) olarak değerlendirilir. Renk aynı kalırsa sonuç (-)'tir. Sülfanilik asid çözeltisi (Reagent A); 8 g sülfanilik asid 1 litre 5 N asetik asit içinde çözünür. Naftilamin çözeltisi (Reagent B); 6 g N,N-dimetil-1-naftilamin 1 litre 5 N asetik asit içinde çözünür.

Tablo 4.8 Nitrat kullanımı için besiyeri ortamı

Kimyasalın Adı	Miktar
NaNO ₃	4 mM
Mg ₂ SO ₄ X 7 H ₂ O	0,05 g
KH ₂ PO ₄	0,6 g
MgCl ₂ x 6H ₂ O	0,1875 g
CaCl ₂ x 2H ₂ O	0,0125 g
Fe(II) SO ₄	10 mM
Deiyonize saf su	1 L

4.8.8 Nitrit Testi

S. elongatus siyanobakterisinin BG-11 sıvı besiyeri ortamında nitrit kullanıp kullanılmadığını belirlemek için nitrit testi yapılmıştır. Tablo 4.9’da bileşimi verilen besiyerinin pH’ı NaOH ile 7,9- 8,1 arasında bir değere ayarlanmıştır. 121°C’de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. Besiyeri tüplere doldurularak en muhtemel sayıya göre 3’lü veya 5’li gruplar oluşturuldu. Anoksik koşullar; 3 litre hacmindeki anaerobik reaktörlere 10 dakikalık bir sürede % 99 saflıkta bir H₂ tüpünden 5 ml/dk’lık bir debi ile H₂ gazı ve 10 dakikalık bir sürede % 99 saflıkta bir azot tüpünden de 5 ml/dk bir debi ile azot gazı verilerek sağlanmıştır. 28 °C’de 23 gün inkübe edilmiştir. Kontrole göre bulanıklık oluşması ve mikroskopta analiz sonucu nitritin kullanılıp kullanılmadığına karar verilir. Bulanıklık görülmüş olan tüplere önce sülfanilik asit sonra naftilamin ilave edilir. Kırmızı rengin olmaması nitrit okside eden bakteri varlığını gösterir. Kırmızı renk olması ise nitrit okside eden bakterinin olmadığını gösterir.

Tablo 4.9 Nitrit kullanımı için besiyeri ortamı

Kimyasalın Adı	Miktar
NH ₄ NO ₂	4 mM
Mg ₂ SO ₄ X 7 H ₂ O	0,05 g
KH ₂ PO ₄	0,6 g
MgCl ₂ x 6H ₂ O	0,1875 g
CaCl ₂ x 2H ₂ O	0,0125 g
Fe(II) SO ₄	10 mM
Deiyonize saf su	1 L

4.8.9 Üre Testi

Üre testi için Urea Broth besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri Tablo 4.10’da verilen kimyasallarla hazırlanmıştır. 38,7 g olan bu karışım üzerine 1 litre deiyonize saf su ilave edilmiştir. LABART (SH-5) marka karıştırıcı ile iyice çözünene kadar karıştırılmıştır. Hazırlanan besiyeri test tüplerine 5’er ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Üretimi gerçekleşmiş olan *S. elongatus* siyanobakteri kültürlerinden steril öze ile numune alınarak Urea Broth besiyeri içeren test tüplerine ekimleri yapılmıştır. 35°C’de 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bulanıklık oluşumu *Synechococcus*’un üreyi kullandığını ve üreaz enzimini oluşturduğunu göstermektedir. Bulanıklığın görülmemesi *Synechococcus*’un üreyi kullanmadığını gösterir. Ayrıca inkübasyon sonunda besiyerinin orijinal portakal kırmızısı renkten sarıya dönüşmesi negatif, kırmızıya dönüşmesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirilir.

Tablo 4.10 Urea broth besiyeri

Kimyasalın Adı	Miktarı
Maya Özü	0,1 g
Monopotasyum Fosfat	9,1 g
Dipotasyum Fosfat	9,5 g
Üre	20 g
Fenol Kırmızısı	0,01 g

4.8.10 Çözünmüş Oksijen Ölçümü

WTW (2F 30 – 104211 MULTI 340i) marka oksijen metre ve probu ile çözünmüş oksijen ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

4.8.11 Redoks Potansiyeli Ölçümü

Yapılan redoks potansiyeli deneylerinde ölçümler WTW (Electrode SenTix ORP Probe) marka oksijen metre ile yapılmıştır.

4.8.12 Sıcaklık Ölçümü

Sıcaklık değışikliklerinin ölçümleri laboratuvar koşullarında TFA marka digital bir sıcaklık ölçer olan termohigrobarometre ile yapılmıştır. Bu sıcaklık ölçümü ile atmosfer ve laboratuvar havasının sıcaklıkları ölçülmüştür. Sıvı besiyeri kültürlerinin sıcaklık ölçümleri ise; WTW (2F 30 – 104211 MULTI 340i) marka bir sıcaklık ölçer probu yardımı ile ölçülmüştür.

4.8.13 pH Ölçümü

Yapılan bütün çalışmalarda; pH ölçümleri WTW (pH-Electrode SenTix 41 Probe) marka pH metre ile gerçekleştirilmiştir. Her pH ölçümü öncesi pH metresinin kalibrasyonu yapılmıştır.

4.8.14 Işık Şiddetinin Ölçümü

Işık şiddeti ölçümleri Delta Ohm (DO9721) marka bir luminometre ile ölçülmüştür. Işık şiddetini ayarlamak için 60 W'lık beyaz ışıklı lambalar kullanılmıştır.

BÖLÜM BEŞ DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1 *S. elongatus* siyanobakterisinin Tanısı

ATCC firmasından satın alınan *S. elongatus* PCC 7942 birincil kültürlerinin öncelikle boyut ve şekillerine bakılarak tanıları yapılmıştır. Lam - lamel arası preparat hazırlanarak Olympos (BX15) marka mikroskop altında incelenmiştir. Bütün boyutlar 40x10 büyütmede gerçekleştirilmiştir. Boyutları ölçülen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin boyut ve şekilleri Şekil 5.1 ve Tablo 5.1’de verilmiştir.

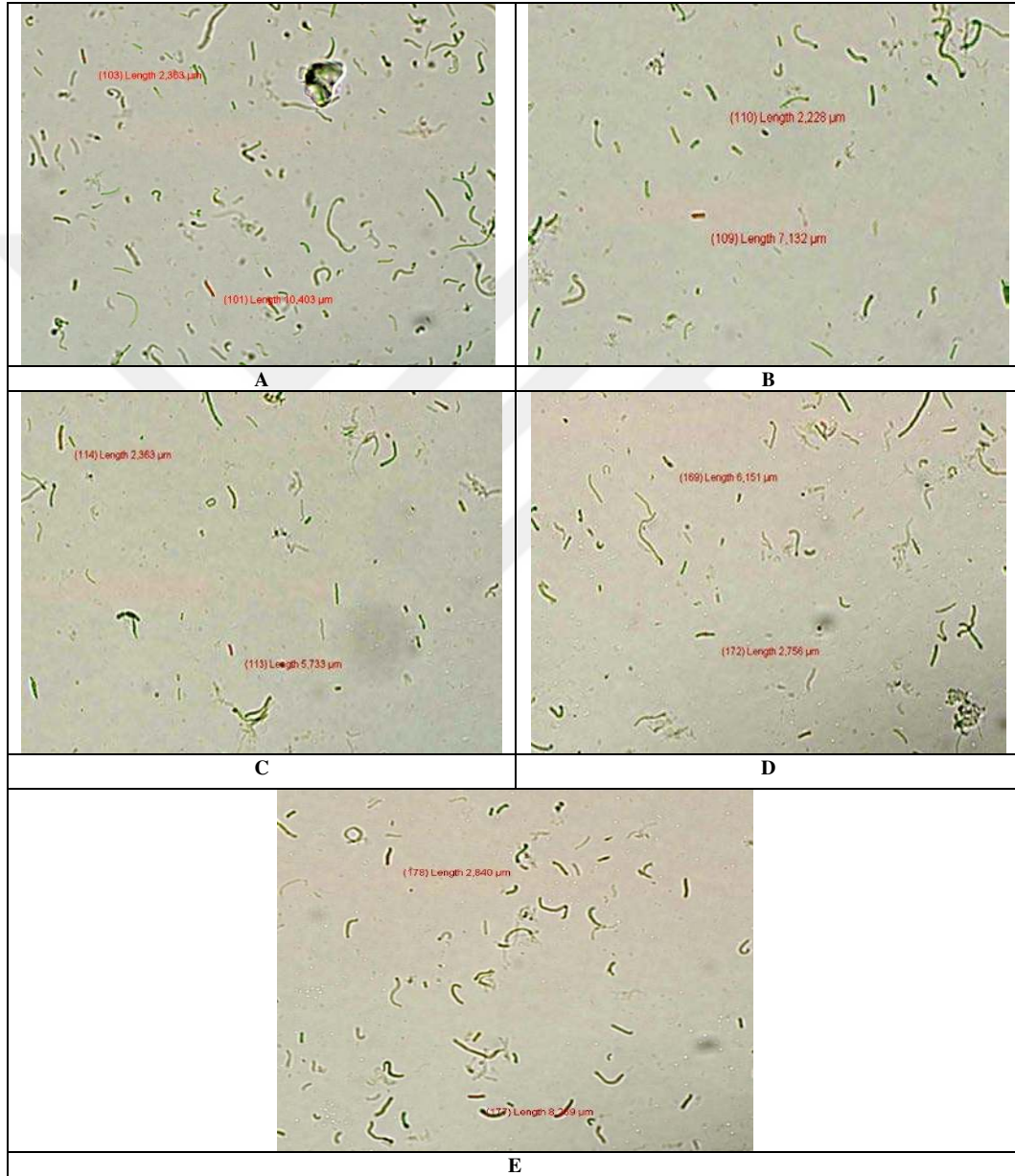


Şekil 5.1 ATCC firmasından satın alınan *S. elongatus* PCC 7942 birincil kültürlerinin boyut ve şekilleri

Bu tezde yapılan on bir çalışmada *S. elongatus* siyanobakteri kültürleri 30 gün boyunca BG-11 sıvı besiyerinde büyütülüp çoğaltılmıştır. 30 gün sonunda mikroskop altında boyutları ölçülmüştür. Her bir çalışma için hücre boyutlarının literatürde belirtildiği gibi 1,5 - 20 µm arasında değişen uzunluğa; 0,4 – 6 µm genişliğe sahip olduğu saptanmıştır (Komárek ve Anagnostidis, 1998). On bir çalışmada da ayrı ayrı boyutları ölçülen *S. elongatus* siyanobakterilerinin boyutları verilmiştir (Şekil 5.2 ve Tablo 5.1).

Saf – 1’de siyanobakteri boyutları; uzunluğu 3 – 18 µm ve genişliği 0,6 – 5 µm arasında ölçülmüştür. Buna karşılık olarak Saf – 2’de siyanobakteri boyutlarının daha küçük olduğu saptanmıştır (uzunluğu 2 – 17 µm; genişliği 0,5 – 5 µm) [(Şekil 5.2 A:Saf - 1, B: Saf - 2, C: FDK – 1, D: FDK - 2, E: FDK - 3) ve Tablo 5.1]. FDK -

1’de siyanobakteri boyutları; uzunluğu 1 - 16 μm ve genişliği 0,4 – 4 μm arasında ölçülmüştür. FDK – 2’de ise siyanobakteri boyutları; uzunluğu 1 - 15 μm ve genişliği 0,4 – 3,8 μm arasında ölçülmüştür (Şekil 5.2 ve Tablo 5.1). Son olarak FDK- 3’de siyanobakterilerin uzunluğu 1 – 14 μm ve genişliği 0,4 – 3 μm arasında ölçülmüştür (Şekil 5.2 ve Tablo 5.1).

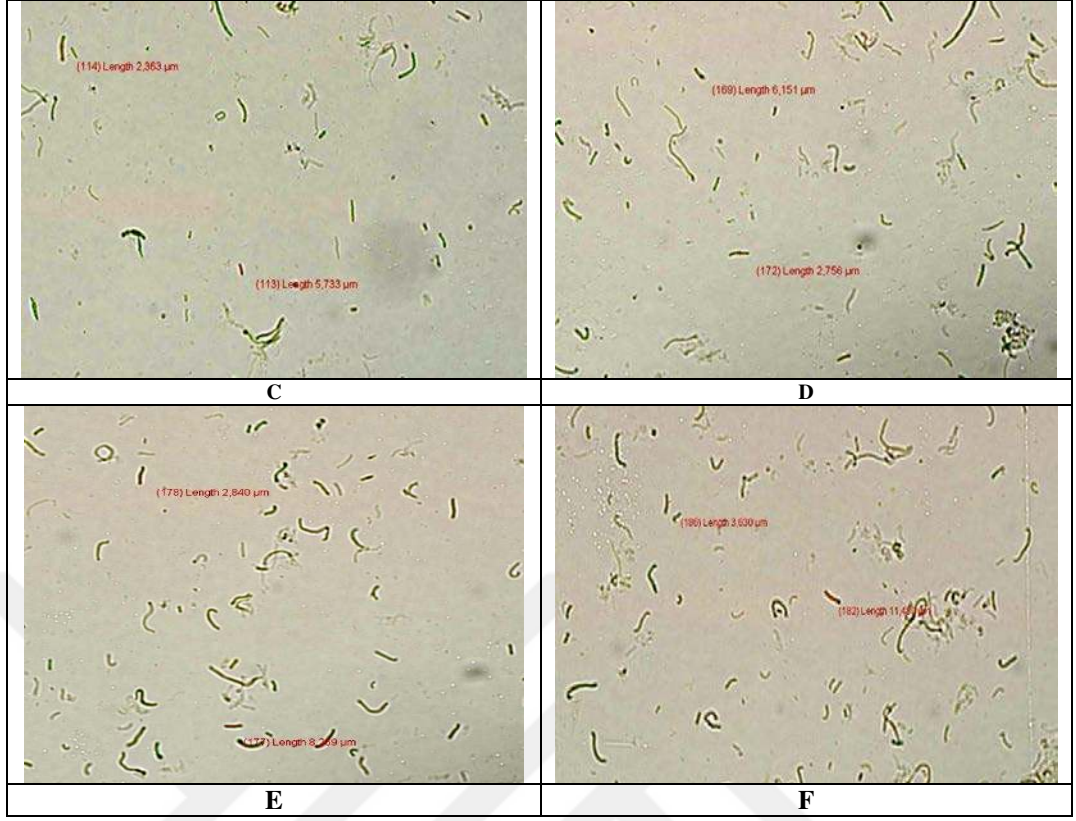


Şekil 5.2 Saf ve Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* kültürleriyle yapılan çalışmalara göre 30 gün sonunda ölçülen *S. elongatus* siyanobakteri boyutlarının mikroskop görüntüleri.

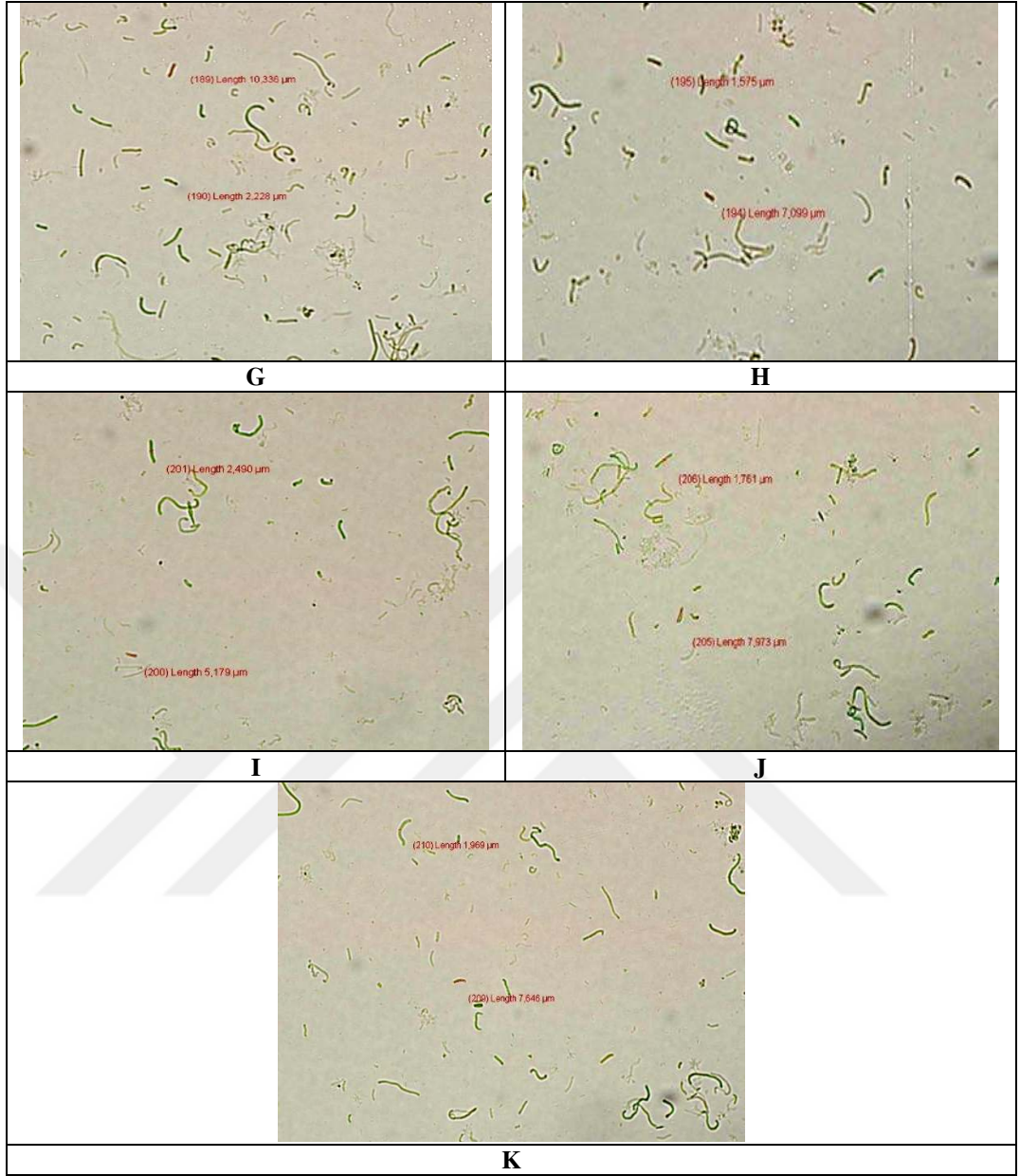
Tablo 5.1 Saf ve Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* kültürleriyle yapılan çalışmalarda göre 30 gün sonunda ölçülen siyanobakteri boyutları

Araştırma Örnekleri	<i>S. elongatus</i> uzunlukları (µm)	<i>S. elongatus</i> genişlikleri (µm)
SAF - 1	3 - 18	0,6 - 5
SAF - 2	2 - 17	0,5 - 5
FDK - 1	1 - 16	0,4 - 4
FDK - 2	1 - 15	0,4 - 3,8
FDK - 3	1 - 14	0,4 - 3

İzmir'in ilçesi Foça denizi kıyılarından, İzmir'in ilçesi olan Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve İzmir'in Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerin 30 gün sonundaki boyutları ayrı olarak Şekil 5.3'de (C:FDK - 1, D:FDK - 2, E:FDK - 3, F: BKS - 1, G: BKS - 2, H: BKS - 3, I: TBG - 1, J: TBG - 2, K: TBG - 3) ve Tablo 5.2'de verilmiştir. Yapılan çalışmalara göre bütün numunelerde birbirine yakın boyut değerleri görülmüş olsa da; en iyi büyümenin FDK - 1 kültüründeki siyanobakterilerde olduğu tespit edilmiştir. Scalan ve Nyree (2002), *Synechococcus* ve *Prochlorococcus* cinsi deniz siyanobakterilerinin moleküler ekolojilerini incelemişlerdir. *Synechococcus* cinsi siyanobakterinin hem deniz hem de tatlı su ortamında yaşadıklarını ancak deniz ortamında yaşayanların % 25 daha fazla birincil üretim yaptıklarını saptamışlardır.



Şekil 5.3 Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin 30 gün sonundaki boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri



Şekil 5.3 Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin 30 gün sonundaki boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri (devamı)

Tablo 5.2 Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin 30 gün sonundaki boyutları

Araştırma Örnekleri	<i>S. elongatus</i> uzunlukları (µm)	<i>S. elongatus</i> genişlikleri (µm)
FDK - 1	1 - 16	0,4 – 4
FDK - 2	1 - 15	0,4 – 3,8
FDK - 3	1 – 14	0,4 – 3
BKS - 1	1 – 12	0,3 – 3
BKS - 2	1 – 10	0,3 – 4
BKS - 3	1 - 9	0,4 – 3
TBG - 1	1 – 11	0,3 – 3,5
TBG - 2	1 - 8	0,4 – 3
TBG - 3	1 - 7	0,3 - 3

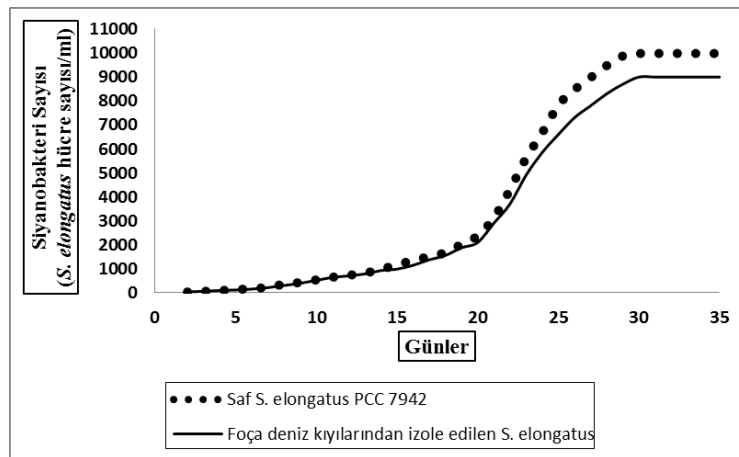
Komárek ve Anagnostidis (1998), siyanobakteri türlerinin morfolojilerini incelemişler ve *S. elongatus* türlerinin boyutlarının 1,5 - 20 µm arasında değişen uzunluklarda; 0,4 – 6 µm genişliğe sahip olduğunu saptamışlardır. Yapılan beş çalışmada da % 99 saflıkta olan CO₂ tüpü kullanılarak 0,083 m³/sn debide CO₂ verilerek üretilen hem saf hem de deniz, göl ve kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* boyutlarının daha büyük olduğu görülmüştür. CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış yine aynı debide (0,083 m³/sn) CO₂ verilerek üretilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin boyutlarının ise daha küçük olduğu görülmüştür. Wang ve ark., (2008); Parmar ve ark., (2011) yaptıkları çalışmada atmosferik CO₂ konsantrasyonunun fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* 'un büyümelerini limitlediklerini belirtmişlerdir. FDK - 3'de ise deniz, göl ve kaynak suyundan izole edilerek üretilen *S. elongatus* siyanobakteri kültürlerine CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanan hava saflaştırılmadan verildiğinde boyutlarının diğer dört çalışmaya göre en küçük olduğu görülmüştür. Saflaştırılmadan verilen atmosferik havada N₂ ve olası H₂S, NH₃ gazlarının *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümelerini engellediği saptanmıştır.

5.1.1 *S. elongatus* siyanobakteri Sayımı Sonuçları

ATCC firmasından satın alınan saf *S. elongatus* PCC 7942 ile İzmir'in Foça ilçesindeki deniz kıyılarından alınan numuneden üretilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin öncelikle logaritmik safhada olup olmadıkları artan sayılarına bakılarak karar verilmiştir. BG-11 sıvı besiyerine ekimleri yapıldıktan sonra her gün

sayımları yapılarak izlenmiştir. Günlük yapılan sayımlara göre 30 günün sonunda maksimum büyümenin görüldüğü ve sabitlendiği tespit edilmiştir (Şekil 5.4).

Şekil 5.4’de başlangıç sayısı 28 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin 5. günün sonunda sayılarının 150 *S. elongatus* hücre sayısı/ml sayısına ulaştıkları saptanmıştır. Büyüme hızları 10. günden sonra hızlanarak 560 *S. elongatus* hücre sayısı/ml sayısına ulaşmıştır. 20 – 30 günleri arasında gelişimlerinin en verimli olduğu tespit edilmiş sayılarının yükselerek 2400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’den sayısından 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml sayısına yükseldikleri saptanmıştır (Şekil 5.4). İzmir’in Foça ilçesindeki deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus*’un başlangıçta sayısı 27 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak saptanmıştır (Tablo 5.3). 5. günün sonunda sayılarının 120 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e arttığı saptanmıştır. Sayıları 10. günden sonra hızlanarak 520 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e ulaşmıştır. 20 – 30 günleri arasında gelişimlerinin en verimli olduğu tespit edilmiş sayılarının 2100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’den 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e çıktığı gözlenmiştir (Şekil 5.4). 30 günün sonunda hem saf hem de Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakteri kültürlerinin sayılarının maksimum büyümeye ulaştığı ve sayılarının sabitlendiği tespit edilmiştir.



Şekil 5.4 *S. elongatus* siyanobakterisinin büyüme eğrisi

Tablo 5.3’te görüldüğü gibi saf ve İzmir’in Foça ilçesindeki deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin kontrol grupları oluşturulmuştur.

Kontroller; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden 0,083 m³/sn debide CO₂ verilerek 30°C'de 60 W'lık ışık şiddetinde saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin üretilmesiyle oluşturulmuştur. Saf – 1'de siyanobakteri sayısı başlangıçta 28 *S. elongatus* hücre sayısı/ml iken; 30 gün sonunda 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak hesaplanmıştır (Tablo 5.3). Saf – 2'de ise 30 gün sonunda 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'e olarak sayılmıştır. FDK – 1'de siyanobakteri sayılarının başlangıçta 27 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olduğu görülmektedir. 30 gün sonunda 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir (Tablo 5.3). FDK – 2'de siyanobakteri sayılarının 30 günün sonunda 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml ulaştığı saptanmıştır. Son olarak FDK – 3'te ise siyanobakteri sayılarının 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5.3).

Tablo 5.3 Saf ve Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* kültürleriyle yapılan çalışmalarda membran filtre yöntemi ile ölçülen siyanobakteri sayılarının değişimleri

Araştırma Örnekleri	Kontroller (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> Başlangıç Sayıları	30 Gün sonunda Kontroller (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	30 Gün Sonunda <i>S. elongatus</i> Sayıları (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)
Saf – 1	28	28	10000	10000
Saf – 2	28	28	10000	9500
FDK - 1	28	27	10000	9000
FDK - 2	28	27	10000	8300
FDK - 3	28	27	10000	6500

Bu tez çalışmasında hem atık CO₂ hem de % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılarak *S. elongatus* siyanobakterileri 30 gün boyunca büyütülmüşlerdir. % 99 saflıkta CO₂ kullanılarak büyütülen *S. elongatus* PCC 7942 sayılarının atık CO₂ verilerek büyütülenlere göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Büyümenin en az olduğu çalışma CO₂'ce zengin kirli bölgelerden alınan havanın saflaştırılmadan kullanıldığı FDK - 3'tür. *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümelerini saflaştırılmadan verilen atmosferik havada bulunan N₂ ve olası H₂S, NH₃ gazlarının engellediği tespit edilmiştir. Ayrıca Aliğa ilçesindeki sanayi bölgesinde Bozlaker ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada toplam polisilik aromatik hidrokarbon

(PAH) (naftilin-d10, asenaften-d10, fenantren-d10, krizen-d12, perilen-d12) ve toplam poliklorlanmış bifeniller (PCB) (PCB-14, PCB-65 ve PCB-166) konsantrasyonları sırasıyla 1,6 - 838 ng/m³ ve 349 - 94,363 pg m⁻³ arasında olduğu saptanmıştır.

FDK, BKS ve TBG’de sayılan *S. elongatus* siyanobakteri sayıları ayrı ayrı verilmektedir (Tablo 5.4). Tablo 5.4’de görüldüğü gibi FDK, BKS ve TBG’de *S. elongatus* siyanobakterilerinin kontrol grupları oluşturulmuştur. Kontroller; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden 0,083 m³/sn debide CO₂ verilerek 30°C’de 60 W’lık ışık şiddetinde FDK – 1 kültüründe *S. elongatus* siyanobakterinin üretilmesiyle oluşturulmuştur. Membran filtre yöntemi ile yapılan siyanobakteri sayımlarında BKS ve TBG’de *S. elongatus* sayılarının birbirine yakın değerlerde olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5.4). FDK’da ise siyanobakteri sayıları diğer bölgelere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca her bir bölgeden alınan numunelere üç farklı CO₂ türünden (% 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂, CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ ve CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanan saflaştırılmamış CO₂) verildiğinde büyümlerin en fazla olduğu % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılmasıyla olduğu saptanmıştır. Saflaştırılmadan kullanılan atmosferik hava ise; FDK, BKS ve TBG’de *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümlerini limitlemiştir.

Tablo 5.4 Membran filtre yöntemi ile Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* sayılarının değişimleri

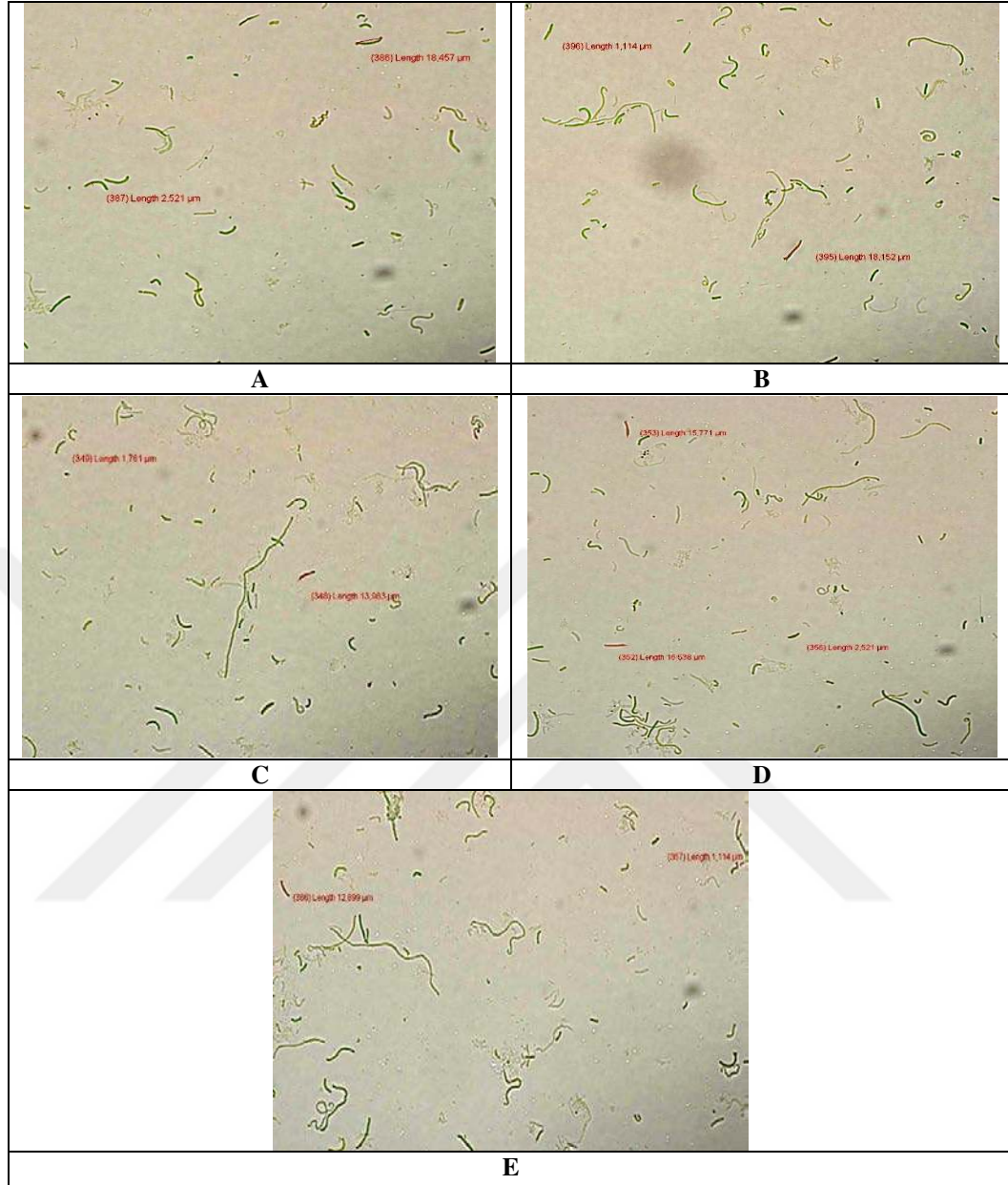
Araştırma Örnekleri	Kontroller (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> Başlangıç Sayıları	30 Gün sonunda Kontroller (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	30 Gün Sonunda <i>S. elongatus</i> Sayıları (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)
FDK - 1	27	27	9000	9000
FDK - 2	27	27	9000	8300
FDK - 3	27	27	9000	6500
BKS - 1	27	20	9000	8500
BKS - 2	27	20	9000	7700
BKS - 3	27	20	9000	6100
TBG - 1	27	22	9000	8200
TBG - 2	27	22	9000	7400
TBG - 3	27	22	9000	5900

Saf CO₂ içermeyen ve saflaştırılmamış kirli atmosferik havada büyütülmüş olan *S. elongatus* sayılarının düşük olduğu saptanmıştır. Saflaştırılmamış kirli atmosferik havada CO₂ konsantrasyonu düşük olduğundan *S. elongatus* tarafından inorganik karbon kaynağı (Ci) düşük olmaktadır. Düşük Ci konsantrasyonlarında *S. elongatus* aklimesyonu yavaş olmakta ve büyüme hızları düşerek siyanobakteri sayıları düşmektedir (Fujita, 1997; Huner ve ark., 1998). Değişken çevresel Ci konsantrasyonları arasında yüksek hücre içi Ci konsantrasyonlarını muhafaza etmek için siyanobakteriler fotosentezden elde ettikleri enerjiyi kullanarak hücre içine seyrek konsantrasyonlarda giren Ci ile aktif olarak atmosfer veya saf CO₂'den aldıkları karbonu konsantre ederek metabolize ederler (Badger ve Price, 2003; MacKenzie ve ark., 2004). MacKenzie ve ark., (2004) yaptıkları çalışmada değişen ışık şiddetleri ve değişken çevresel Ci konsantrasyonlarının *S. elongatus*'a olabilecek olası etkilerini saptamışlardır. Işık şiddeti ve Ci konsantrasyonlarının düşük olduğu çevresel ortamlarda *S. elongatus*'un büyümesinin azaldığını tespit etmişlerdir. Daha yüksek ışık şiddetlerinin ise *S. elongatus* sayısını arttırdığını saptamışlardır. Ancak bu tez çalışması kapsamında yapılan *S. elongatus* tanıları için siyanobakteri sayım deneyleri için ışık şiddeti (60 W) sabit tutulmuştur. Bu yüzden *S. elongatus* siyanobakteri sayılarında ışık şiddetinden kaynaklı bir değişiklik olması beklenmemektedir. Ci- CO₂ konsantrasyonlarının optimum olduğunda hızlı bir aklimesyon ile büyüme hızı da artmaktadır. % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılan koşullarda ise büyüme verimi daha yüksek olmaktadır.

5.1.2 Amonyak Testi Sonuçları

BG-11 sıvı besiyerine ekimi yapıp üretilen *S. elongatus* siyanobakterisinin kültürlerinin tanımlarının yapılması için amonyak testi yapılmıştır. Amonyak testi için hazırlanan besiyerlerine ekimleri yapılan kültürlerin 28°C'de 23 gün inkübe edildikten sonra kontroller gibi amonyağı kullanıp nitrit oluşturarak tüplerde bulanıklık görülüp görülmediği incelenmiştir. Her bir test tüpünde bulanıklık meydana geldiği görülmüştür (t = 28°C, pH = 7.1, Eh = 120 mV, Işık Şiddeti = 60 W, CO₂ = 0,083 m³/sn, Çözünmüş O₂ = 0,5 mg/l). Ayrıca test tüplerine sülfanilik asit damlatıldığında tüpün dibinde kırmızı renk oluşumu gözlemlenmiştir. Amonyak testi sonrası Tablo 5.5'de görüldüğü gibi *S. elongatus*'un her bir çalışmada siyanobakteri

sayımları yapılmış olup mikroskop altında şekil ve boyutları analiz edilmiştir [Şekil 5.5 (A:Saf - 1, B:Saf - 2, C:FDK - 1, D:FDK - 2, E:FDK - 3)]. *S. elongatus*'un boyutlarının literatürde verilen optimum aralıklarda (1,5 - 20 μm uzunluk; 0,4 - 6 μm genişlik) olduğu görülmüştür. Saf - 1'de yapılan amonyak testi sonrasında uzunluklarının 3 - 18 μm 'den 14 - 19 μm 'e arasında ve genişliklerinin de 0,6 - 5 μm 'den 2 - 5 μm 'e arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu saptanmıştır (Tablo 5.5 ve Şekil 5.5). Saf - 2'de ise uzunluklarının 2 - 17 μm 'den 11 - 19 μm 'e arasında; genişliklerinin de 0,4 - 4 μm 'den 1 - 3 μm 'e arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür. FDK - 1'de ise yapılan amonyak testi sonrasında uzunluklarının 1 - 16 μm 'den 10 - 19 μm 'e arasında; genişliklerinin de 0,4 - 4 μm 'den 1 - 4 μm 'e arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.5 ve Şekil 5.5). FDK - 2'de uzunluklarının 1 - 15 μm 'den 12 - 18 μm 'e arasında; genişliklerinin de 0,4 - 3,8 μm 'den 1 - 4 μm 'e arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür. Son olarak FDK - 3'de ise uzunluklarının 1 - 14 μm 'den 10 - 15 μm 'e arasında; genişliklerinin de 0,4 - 3 μm 'den 1 - 4 μm 'e arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu saptanmıştır (Tablo 5.5; Şekil 5.5). Yapılan beş çalışmada da amonyak testi sonrasında *S. elongatus*'un boyutlarında artış olduğu saptanmıştır. Büyümenin en fazla olduğu çalışma Saf- 1'dir (Tablo 5.5; Şekil 5.5). Bu çalışma da saf *S. elongatus* PCC 7942'nin ulaşabileceği maksimum boyutlarda olduğu görülmüştür. Saf - 2 ve FDK - 2'de ise; Saf - 1 ve FDK - 1'e göre *S. elongatus* boyutlarının daha az arttığı tespit edilmiştir. Büyümenin en az olduğu çalışma ise CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmadan kullanıldığı FDK - 3'tür (Tablo 5.5 ve Şekil 5.5).



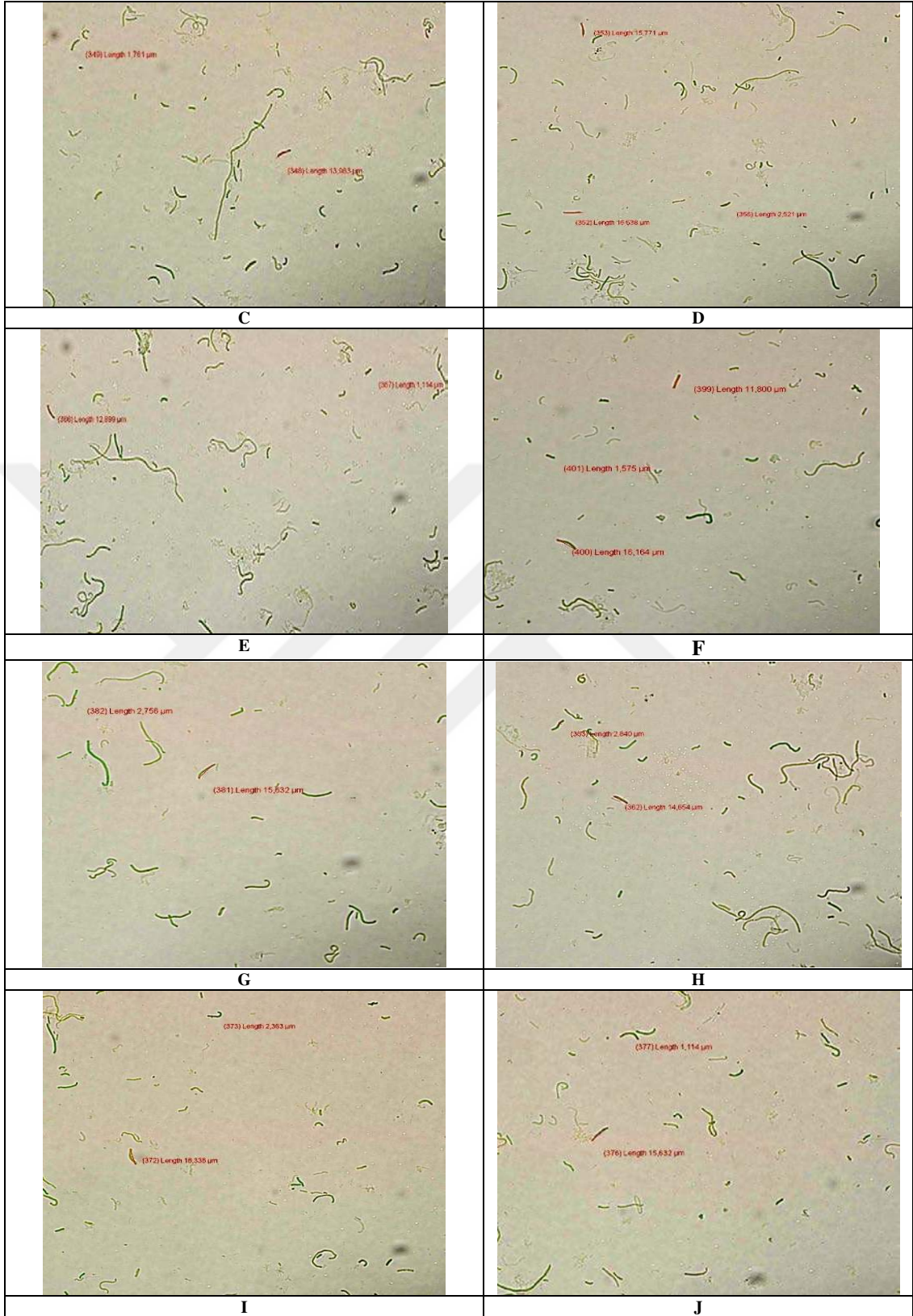
Şekil 5.5 Saf ve Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* kültürleriyle yapılan çalışmalarda 30 gün sonunda yapılan amonyak testi sonucunda boyutları.

Tablo 5.5 Saf ve Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* kültürleriyle yapılan çalışmalarda 30 Gün sonunda yapılan amonyak testi sonuçları

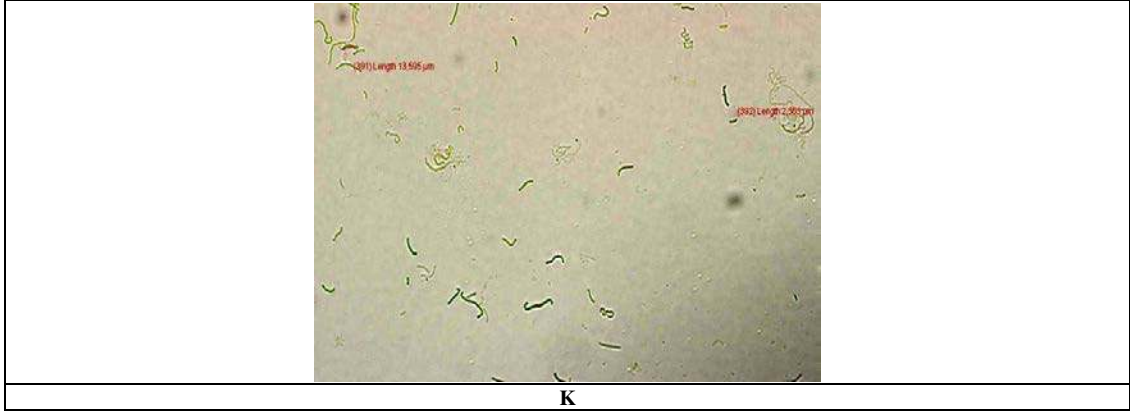
Çalışma	Kontroller (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> Sayıları (<i>S.</i> <i>elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> uzunlukları (μ m)	<i>S. elongatus</i> genişlikleri (μ m)	Kontroller - Sonuçları	Sonuçlar
Saf - 1	10500	10500	14 - 19	2 - 4	Bulanıklık - kırmızı renk var	Bulanıklık - kırmızı renk var Pozitif (+)
Saf - 2	10500	9900	11 - 19	1 - 3	Bulanıklık - kırmızı renk var	Bulanıklık - kırmızı renk var Pozitif (+)
FDK - 1	10500	9400	11 - 16	2 - 3	Bulanıklık - kırmızı renk var	Bulanıklık - kırmızı renk var Pozitif (+)
FDK - 2	10500	8600	12 - 18	1 - 4	Bulanıklık - kırmızı renk var	Bulanıklık - kırmızı renk var Pozitif (+)
FDK - 3	10500	6700	10 - 15	1 - 3	Bulanıklık - kırmızı renk var	Bulanıklık - kırmızı renk var Pozitif (+)

Tablo 5.5’de görüldüğü gibi saf ve Foça ilçesindeki deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin kontrol grupları oluşturulmuştur. Kontroller; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden 0,083 m³/sn debide CO₂ verilerek 30°C’de 60 W’lık ışık şiddetinde saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin üretilmesiyle oluşturulmuştur. Mikroskop altında 30 günün sonunda yapılan incelemelere göre; kontrolle kıyaslama yapıldığında Saf – 1’in bulunduğu test tüplerinde net bulanıklık görülmüştür. Siyanobakteri sayılarının ise amonyak testinden sonra 10000’den 10500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e arttığı görülmüştür (Tablo 5.5). Saf - 2’de de test tüplerinde de net bir bulanıklık görülmüştür. Ancak Saf – 1’e göre Saf – 2’de siyanobakteri sayılarının daha düşük olduğu tespit edilmiştir (9900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml) (Tablo 5.5). FDK - 1’de test tüplerinde de yine bulanıklık görülmüştür. Amonyak testinden sonra ise büyümeleri devam etmiş sayılarının 9000’den 9400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e arttığı görülmüştür. FDK - 2 ve FDK - 3’de ise diğer çalışmalara oranla daha az bulanıklık görülmüştür (Tablo 5.5). Bunun sebebi ise; *S. elongatus* siyanobakteri sayılarının daha az olmasından kaynaklandığı tespit edilmiştir. FDK - 2’de siyanobakteri sayılarında 8300’den 8600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e kadar bir artma görülmüştür. FDK - 3’de ise bu sayı artışı en az olup 6500’den 6700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e ulaşmıştır.

FDK, BKS ve TBG’de 30 gün sonunda yapılan amonyak testi sonuçları ayrı ayrı Tablo 5.6’da verilmiştir. Her bir test tüpünde bulanıklık meydana geldiği görülmüştür. Amonyak testi sonrası Tablo 5.6’da görüldüğü gibi *S. elongatus*’un siyanobakteri sayıları sayılmış olup her bir çalışmada mikroskop altında şekil ve boyutları analiz edilmiştir [Şekil 5.6 (C:FDK - 1, D:FDK - 2, E:FDK - 3, F: BKS - 1, G: BKS - 2, H: BKS - 3, I: TBG - 1, J: TBG - 2, K: TBG - 3)]. *S. elongatus*’un boyutlarının literatürde verilen optimum aralıklarda (1,5 - 20 µm uzunluk; 0,4 – 6 µm genişlik) olduğu görülmüştür. FDK’de siyanobakterilerin uzunluklarının 1 – 16 µm’den 10 – 19 µm’e arasında; genişliklerinin de 0,4 – 4 µm’den 1 – 3 µm’e arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.6 ve Şekil 5.6). BKS’de ise siyanobakterilerin uzunluklarının 1 – 12 µm’den 11 – 17 µm’e arasında; genişliklerinin de 0,3 – 4 µm’den 1 – 3 µm’e arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür. Son olarak TBG’de siyanobakterileri uzunluklarının 1 – 11 µm’den 10 – 17 µm’e arasında; genişliklerinin de 0,3 – 3,5 µm’den 1 – 5 µm’e arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.6 ve Şekil 5.6). Yapılan saha çalışmalarında amonyak testi sonrasında deniz, göl ve kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus*’un boyutlarında artış olduğu saptanmıştır. Maksimum büyümelerin % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda (FDK - 1, BKS - 1 ve TBG - 1) olduğu saptanmıştır. (Tablo 5.6 ve Şekil 5.6). CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂’in kullanıldığı çalışmalarda (FDK - 2, BKS - 2 ve TBG - 2) ise; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalara göre *S. elongatus* boyutlarının daha az arttığı tespit edilmiştir. Büyümenin en az olduğu çalışmalar ise CO₂’ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmadan kullanıldığı çalışmaların (FDK – 3, BKS - 3 ve TBG - 3) olduğu saptanmıştır (Tablo 5.6 ve Şekil 5.6).



Şekil 5.6 Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin 30 gün sonundaki amonyak testi sonucunda boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri



K

Şekil 5.6 Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin 30 gün sonundaki amonyak testi sonucunda boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri (devamı)

Tablo 5.6 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* 30 gün sonunda yapılan amonyak testi sonuçları

Araştırma Örneklem leri	30 Gün sonunda Kontroller (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	30 Gün Sonunda <i>S. elongatus</i> Sayıları (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	30 Gün Sonunda <i>S. elongatus</i> uzunlukları (µm)	30 Gün Sonunda <i>S. elongatus</i> genişlikleri (µm)	Kontroller - Sonuçları	Sonuçlar
FDK - 1	9000	9400	10 - 19	1 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
FDK - 2	9000	8600	12 - 18	1 - 4	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
FDK - 3	9000	6700	10 - 15	1 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
BKS - 1	9000	8800	11 - 17	1 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
BKS - 2	9000	8000	12 - 16	1 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
BKS - 3	9000	6200	11 - 16	2 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
TBG - 1	9000	8500	10 - 17	1 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
TBG - 2	9000	7700	11 - 15	1 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
TBG - 3	9000	6100	10 - 14	2 - 5	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)

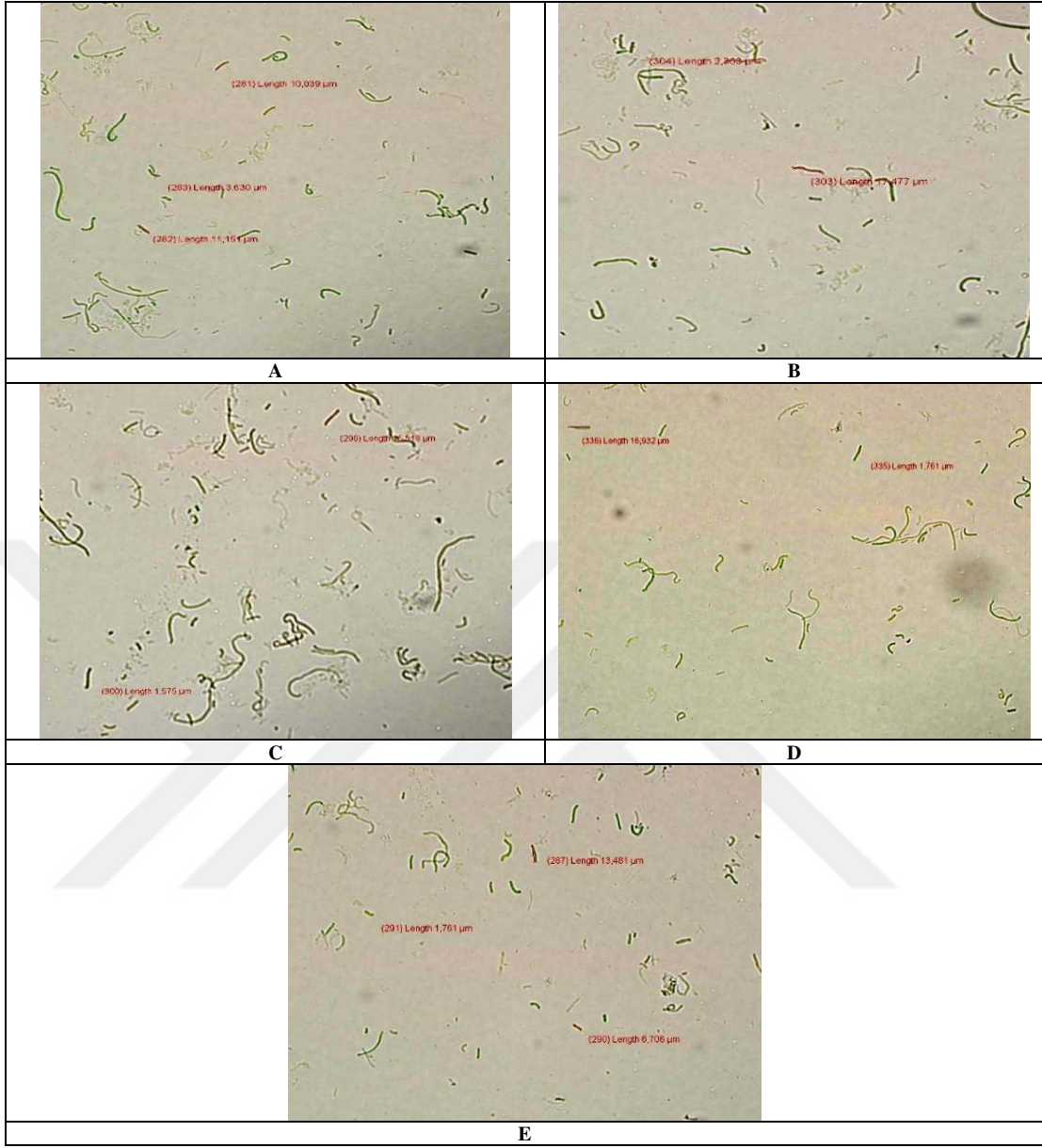
Tablo 5.6’da görüldüğü FDK, BKS ve TBG’de siyanobakterilerinin kontrol grupları oluşturulmuştur. Kontroller; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden 0,083 m³/sn debide CO₂ verilerek 30°C’de 60 W’lık ışık şiddetinde İzmir’in Foça ilçesindeki deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterinin üretilmesiyle oluşturulmuştur. Amonyak testi ile yapılan siyanobakteri tanımlarında BKS ve TBG’de test sonuçlarının

birbirine yakın değerlerde olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5.6). FDK'de amonyak testi sonuçlarının ise diğer bölgelere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca her bir bölgeden alınan numunelere üç farklı CO₂ türünden (% 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂, CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanan saflaştırılmamış CO₂) verildiğinde büyümlerin en fazla olduğu % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılmasıyla olduğu saptanmıştır (Tablo 5.6). FDK – 1'de amonyak testi sonucunda sayılarının 9400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml; BKS – 1'de 8800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml; TBG – 1'de 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'e arttığı tespit edilmiştir (Tablo 5.6). Saflaştırılmadan kullanılan atmosferik hava ise; *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümlerini limitlemiştir (Tablo 5.6). Bu sebeple de yapılan amonyak testlerinde bulanıklığın ve büyümlerin en az görüldüğü test tüplerinin saflaştırılmadan verilen hava ile büyütülmüş *S. elongatus* siyanobakteri tüplerinin olduğu görülmüştür.

Amonyak *S. elongatus* dâhil olmak üzere birçok siyanobakteri için tercih edilen azot kaynağıdır. Ritchie, (2013) *S. elongatus*'da bulunduğu siyanobakteriler ile çalışmış; amonyak ve türevlerinin siyanobakteri hücre membranından hücre içine taşınma işlemini incelemiştir. Çalışmalarında amonyak türevi olan metilamin kullanmış; *S. elongatus* besiyerine 0,1 molm⁻³ miktarında metilamin ilave ederek zaman içerisindeki büyümlerinin arttığını gözlemlemiştir. Bu tez çalışması kapsamında *S. elongatus* siyanobakterisinin hem saf hem de deniz, göl ve kaynak suyundan izole edilen kültürleri amonyak testi için besiyerine ekimleri yapılmıştır. Hücre membranından amonyağı hücre içine alarak nitrit oluşturmuşlardır (Kleiner, 1985; Ritchie, 2013). Bunun sonucunda besiyerlerinde bulanıklıklar görülmüştür. Yapılan amonyak testi ile *S. elongatus* siyanobakterilerinin hücre büyümesinde artış olduğu gözlemlenmiştir. Ancak atmosferik CO₂ konsantrasyonunun fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus*'un büyümlerini limitlediği saptanmıştır (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011).

5.1.3 Nitrat Testi Sonuçları

BG-11 sıvı besiyerlerine ekimleri yapıp üretilen on bir farklı çalışmadaki *S. elongatus* siyanobakterilerinin tanılarını yapmak için nitrat testi yapılmıştır. Nitrat testi için hazırlanan besiyerine her bir çalışma için ekimleri yapılan *S. elongatus* siyanobakteri kültürlerinin 28°C’de 23 gün inkübasyonları yapıldıktan sonra meydana gelen sonuçlar incelenmiştir. Nitrat testi sonrası Tablo 5.7’de görüldüğü gibi *S. elongatus*’un sayıları sayılmış olup her bir çalışmada mikroskop altında şekil ve boyutları analiz edilmiştir [Şekil 5.7 (A:Saf - 1, B:Saf - 2, C:FDK - 1, D:FDK - 2, E:FDK - 3)]. *S. elongatus*’un boyutlarının literatürde verilen optimum aralıklarda (1,5 - 20 µm uzunluk; 0,4 – 6 µm genişlik) olduğu görülmüştür. Saf – 1’de yapılan nitrat testi sonrasında uzunluklarının 10 – 18 µm arasında ve genişliklerinin de 1 – 4 µm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu saptanmıştır (Tablo 5.7 ve Şekil 5.7). Saf – 2’de ise uzunluklarının 10 - 18 µm arasında; genişliklerinin de 1 – 3 µm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür. FDK - 1’de ise yapılan nitrat testi sonrasında uzunluklarının 10 – 17 µm arasında; genişliklerinin de 1 – 3 µm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.7 ve Şekil 5.7). FDK – 2’de siyanobakteri uzunluklarının 8 – 17 µm arasında; genişliklerinin de 1 – 3 µm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür. Son olarak FDK - 3’de ise siyanobakteri uzunluklarının 6 – 15 µm arasında; genişliklerinin de 1 – 2 µm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu saptanmıştır (Tablo 5.7 ve Şekil 5.7).Yapılan beş çalışmada da nitrat testi sonrasında *S. elongatus* siyanobakteri boyutlarında artış olduğu saptanmıştır. Büyümenin en fazla olduğu çalışma Saf– 1’dir (Tablo 5.7 ve Şekil 5.7). Bu çalışma da saf *S. elongatus*’un ulaşabileceği maksimum boyutlarda olduğu görülmüştür. Saf – 2 ve FDK – 2’de ise; Saf – 1 ve FDK – 1’e göre *S. elongatus* boyutlarının daha az arttığı tespit edilmiştir. Büyümenin en az olduğu çalışma ise FDK – 3’tür (Tablo 5.7 ve Şekil 5.7).



Şekil 5.7 Nitrat testinin 30 Gün sonunda saf ve Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* kültürleriyle yapılan çalışmalarda *S. elongatus* Boyutları.

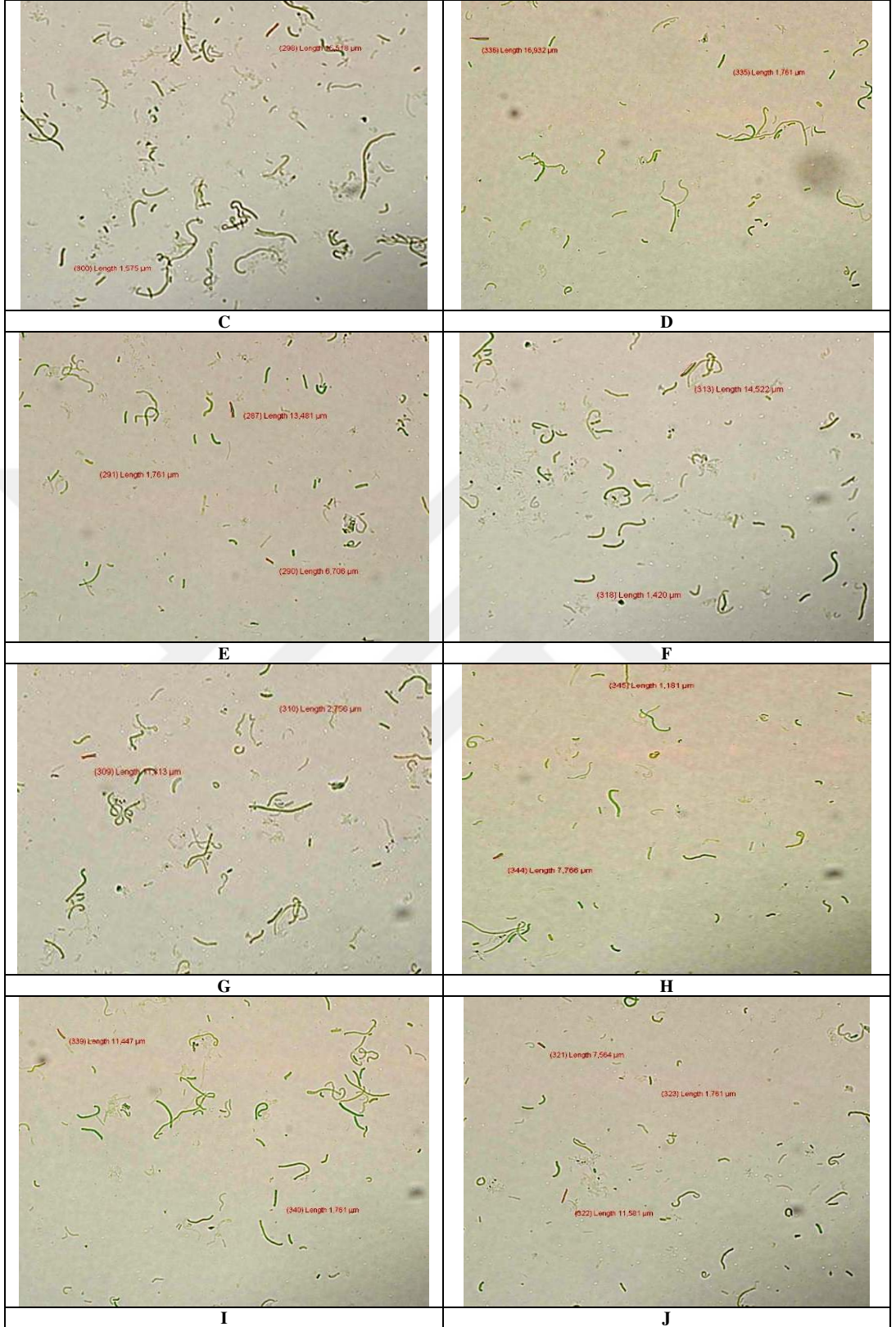
Tablo 5.7 30 Gün Sonunda saf ve Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* kültürleriyle yapılan çalışmalarda nitrat testi sonuçları

Çalışma	Kontroller (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> Sayıları (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> uzunlukları (µm)	<i>S. elongatus</i> genişlikleri (µm)	Kontroller - Sonuçları	Sonuçlar
Saf - 1	10500	10500	10 - 18	1 - 4	Bulanıklık ve pembe - kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe - kırmızı renk var Pozitif (+)
Saf - 2	10500	9900	8 - 18	1 - 3	Bulanıklık ve pembe - kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe - kırmızı renk var Pozitif (+)
FDK - 1	10500	9400	10 - 17	1 - 3	Bulanıklık ve pembe - kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe - kırmızı renk var Pozitif (+)
FDK - 2	10500	8600	8 - 17	1 - 3	Bulanıklık ve pembe - kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe - kırmızı renk var Pozitif (+)
FDK - 3	10500	6700	6 - 15	1 - 1	Bulanıklık ve pembe - kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe - kırmızı renk var Pozitif (+)

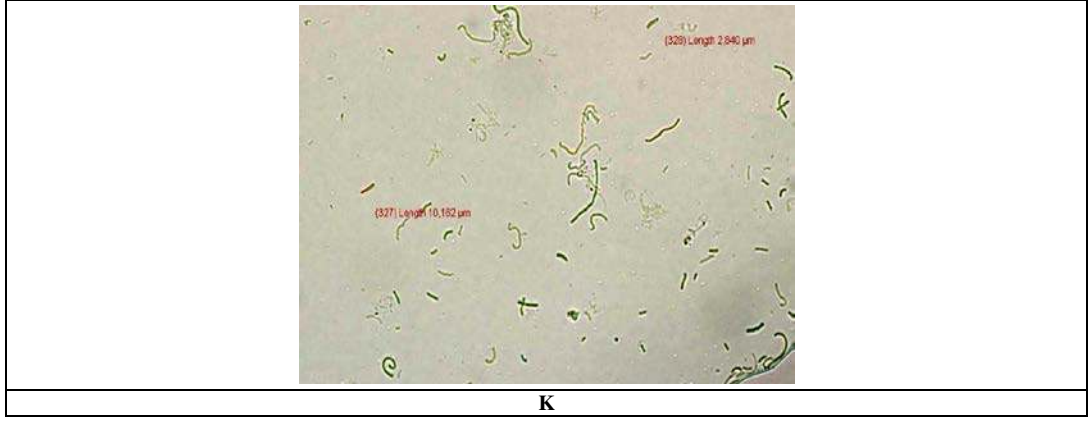
Tablo 5.7’de görüldüğü gibi saf ve İzmir’in Foça ilçesindeki deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin kontrol grupları oluşturulmuştur. Kontroller; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden 0,083 m³/sn debide CO₂ verilerek 30°C’de 60 W’lık ışık şiddetinde saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterinin üretilmesiyle oluşturulmuştur. Mikroskop altında 30 günün sonunda yapılan incelemelere göre; kontrole kıyaslama yapıldığında Saf – 1’de test tüplerinde net bulanıklık görülmüştür. Sayılarının ise nitrat testinden sonra 10000’den 10500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e arttığı görülmüştür (Tablo 5.7). Saf - 2’de ise test tüplerinde de net bir bulanıklık görülmüştür. Ancak Saf – 1’e göre Saf – 2’de siyanobakteri sayılarının daha düşük olduğu tespit edilmiştir (9900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml) (Tablo 5.7). FDK - 1’de test tüplerinde de yine bulanıklık görülmüştür. Nitrat testinden sonra ise büyümeleri devam etmiş sayılarının 9000’den 9400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e arttığı görülmüştür. FDK - 2 ve FDK - 3’de ise diğer çalışmalara oranla daha az bulanıklık görülmüştür (Tablo 5.7). Bunun sebebi ise; *S. elongatus* siyanobakteri sayılarının daha az olmasından kaynaklandığı tespit edilmiştir. FDK - 2’de *S. elongatus* siyanobakteri sayılarında 8300’den 8600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e

kadar bir artma görülmüştür. FDK - 3’de ise bu sayı artışı en az olup 6500’den 6700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e ulaşmıştır.

FDK, BKS ve TBG’de 30 gün sonunda yapılan nitrat testi sonuçları ayrı ayrı Tablo 5.8’de verilmiştir ($t = 28^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 7.1$, $\text{Eh} = 120 \text{ mV}$, Işık Şiddeti = 60 W, $\text{CO}_2 = 0,083 \text{ m}^3/\text{sn}$, Çözünmüş $\text{O}_2 = 0,5 \text{ mg/l}$, anoksik koşullar). Her bir test tüpünde bulanıklık meydana geldiği görülmüştür. Nitrat testi sonrası Tablo 5.8’de görüldüğü gibi *S. elongatus*’un sayıları sayılmış olup her bir çalışmada mikroskop altında şekil ve boyutları analiz edilmiştir [Şekil 5.8 (C:FDK - 1, D:FDK - 2, E:FDK - 3, F: BKS - 1, G: BKS - 2, H: BKS - 3, I: TBG - 1, J: TBG - 2, K: TBG - 3)]. *S. elongatus*’un boyutlarının literatürde verilen optimum aralıklarda ($1,5 - 20 \mu\text{m}$ uzunluk; $0,4 - 6 \mu\text{m}$ genişlik) olduğu görülmüştür. FDK’de siyanobakteri uzunluklarının $10 - 17 \mu\text{m}$ arasında; genişliklerinin de $1 - 3 \mu\text{m}$ arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.8 ve Şekil 5.8). BKS’de ise uzunluklarının $9 - 15 \mu\text{m}$ arasında; genişliklerinin de $1 - 3 \mu\text{m}$ arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür. Son olarak TBG’de siyanobakteri uzunluklarının $9 - 13 \mu\text{m}$ arasında; genişliklerinin de $1 - 3 \mu\text{m}$ arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.8 ve Şekil 5.8). Yapılan saha çalışmalarında nitrat testi sonrasında deniz, göl ve kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus*’un boyutlarında artış olduğu saptanmıştır. Büyümenin en fazla olduğu çalışmalar FDK - 1, BKS - 1 ve TBG - 1 olduğu saptanmıştır. (Tablo 5.8 ve Şekil 5.8). FDK - 2, BKS - 2 ve TBG - 2 ise; % 99 saflıkta CO_2 tüpünden CO_2 kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalara göre *S. elongatus* boyutlarının daha az arttığı tespit edilmiştir. Büyümenin en az olduğu çalışmalar ise; FDK - 3, BKS - 3 ve TBG - 3 olduğu saptanmıştır (Tablo 5.8 ve Şekil 5.8).



Şekil 5.8 30 Gün sonunda yapılan nitrat testi sonucunda Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri



Şekil 5.8 30 Gün sonunda yapılan nitrat testi sonucunda Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri (devamı)

Tablo 5.8 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* 30 gün sonunda yapılan nitrat testi sonuçları

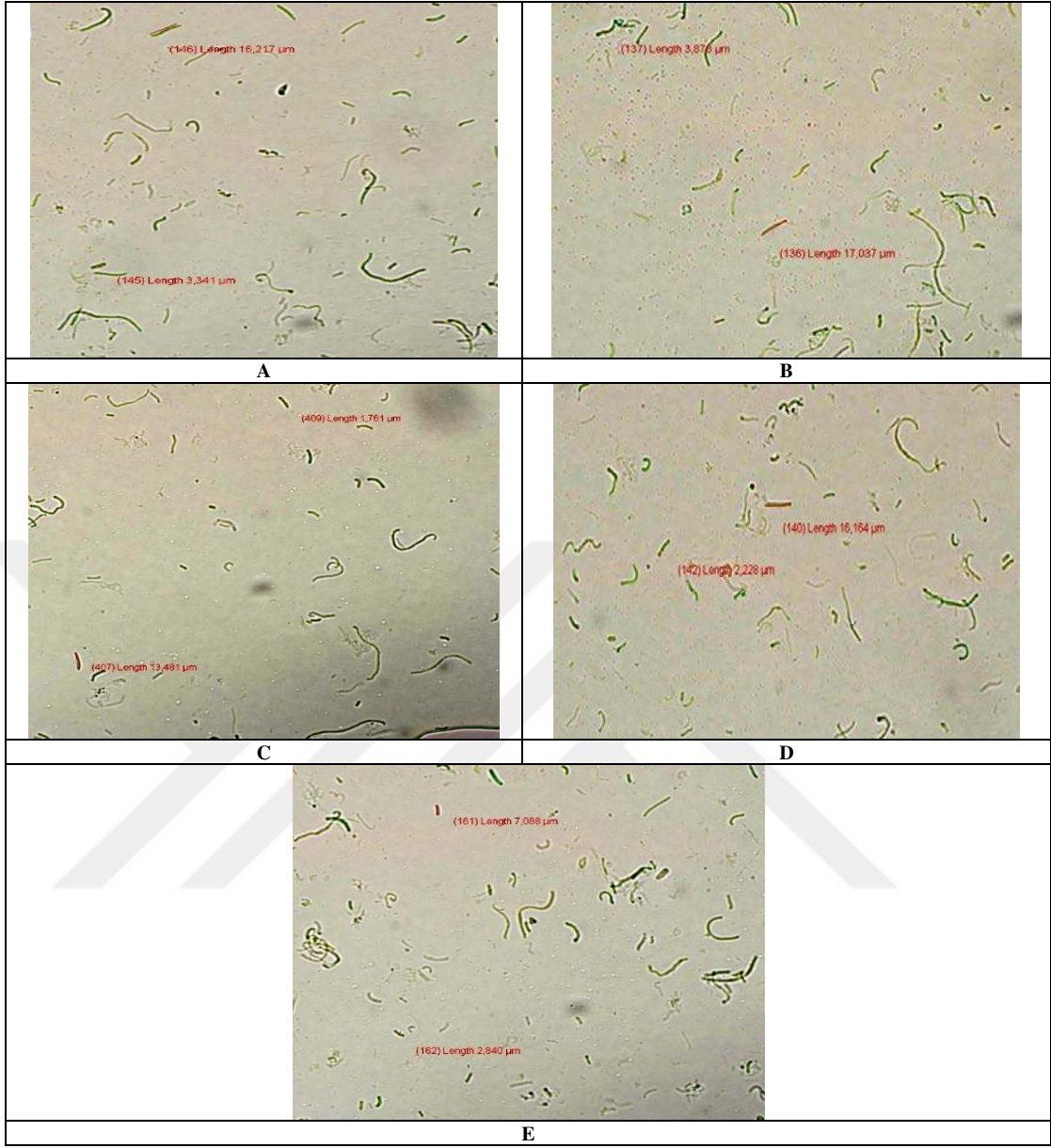
Araştırma Örnekleri	Kontrolle r (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> Sayıları (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> uzunlukları (µm)	<i>S. elongatus</i> genişlikleri (µm)	Kontroller - Sonuçları	Sonuçlar
FDK - 1	9000	9400	10 - 17	1 - 3	Bulanıklık ve pembe – kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe – kırmızı var Pozitif (+)
FDK - 2	9000	8600	8 - 18	1 - 3	Bulanıklık ve pembe – kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe – kırmızı var Pozitif (+)
FDK - 3	9000	6700	6 - 15	1 - 2	Bulanıklık ve pembe – kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe – kırmızı var Pozitif (+)
BKS - 1	9000	8800	9 - 15	1 - 3	Bulanıklık ve pembe – kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe – kırmızı var Pozitif (+)
BKS - 2	9000	8000	7 - 13	1 - 3	Bulanıklık ve pembe – kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe – kırmızı var Pozitif (+)
BKS - 3	9000	6200	7 - 11	1 - 3	Bulanıklık ve pembe – kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe – kırmızı var Pozitif (+)
TBG - 1	9000	8500	9 - 13	1 - 3	Bulanıklık ve pembe – kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe – kırmızı var Pozitif (+)
TBG - 2	9000	7700	6 - 12	1 - 3	Bulanıklık ve pembe – kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe – kırmızı var Pozitif (+)
TBG - 3	9000	6100	5 - 11	1 - 3	Bulanıklık ve pembe – kırmızı renk var	Bulanıklık ve pembe – kırmızı var Pozitif (+)

Tablo 5.8’de görüldüğü gibi FDK, BKS ve TBG’de kontrol grupları oluşturulmuştur. Kontroller; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden 0,083 m³/sn debide CO₂ verilerek 30°C’de 60 W’lık ışık şiddetinde İzmir’in Foça ilçesindeki deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterinin üretilmesiyle oluşturulmuştur. Nitrat testi ile yapılan siyanobakteri tanılarında BKS ve TBG’deki test sonuçlarının birbirine yakın değerlerde olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5.8). FDK’de nitrat testi sonuçlarının ise diğer bölgelere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. FDK – 1’de nitrat testi sonucunda sayılarının 9400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml; BKS – 1’de siyanobakteri sayısı 8800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml; TBG – 1’de 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e arttığı tespit edilmiştir (Tablo 5.8). Saflaştırılmadan kullanılan atmosferik hava ise; FDK, BKS ve TBG’de *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümelerini limitlemiştir (Tablo 5.8).

Biyosferde azot döngüsünde anahtar basamak nitratın amonyağa indirgenerek asimilasyonudur. Nitratın amonyağa indirgenmesi birçok bakteri, alg, mantar ve bitki tarafından gerçekleştirilir. Nitrat-redüktaz ve nitrit redüktaz tarafından sırasıyla 2-elektron ve 6-elektron azalması ile katalizlenir (Flores ve ark., 2005). Candau ve ark., (1976) yaptıkları çalışmada siyanobakteriyal nitrat redüktazın tilakoyid zarla kısmen ilişkili olduğunu ve fizyolojik elektron vericisi olarak fotosentetik indirgenmiş ferrodoksin veya flavodoksinin kullanılabileceğini bulmuşlardır. Fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* nitrat redüktaz monomeri olan narB geni taşımaktadır (Mikami ve Ida, 1984). Bu narB geni nitratı önce 2-elektron vererek nitrite indirger; daha sonra nitrit redüktaz enzimi monomeri olan nir geni ile 6-elektron vererek amonyağa indirgenmiş olmaktadır (Luque ve ark., 1993; Omata ve ark., 1993; Suzuki ve ark., 1993). Bu tez çalışmasında da *S. elongatus* siyanobakterisi nitrat redüktaz enzimi ile nitratı kullanarak nitrit oluşturup büyüyerek besiyerlerinde bulanıklık meydana getirmişlerdir. Yapılan nitrat testi ile *S. elongatus* siyanobakterilerinin hücre içinde azot kaynağı olarak nitratı kullanıp büyüebilmektedirler (Luque ve ark., 1993; Flores ve ark., 2005). Ancak atmosferik CO₂ konsantrasyonunun fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* ’un büyümelerini limitlediği saptanmıştır (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011).

5.1.4 Nitrit Testi Sonuçları

On bir farklı çalışmada BG-11 sıvı besiyerlerine ekimleri yapıp üreyen *S. elongatus* siyanobakterilerinin tanılarını yapmak için nitrit testi yapılmıştır. Nitrit testi için hazırlanan besiyerine her bir çalışma için ekimleri yapılan *S. elongatus* siyanobakteri kültürlerinin 28°C'de 23 gün inkübe edildikten sonra meydana gelen sonuçlar incelenmiştir ($t = 28^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 7.1$, $\text{Eh} = 120 \text{ mV}$, Işık Şiddeti = 60 W, $\text{CO}_2 = 0,083 \text{ m}^3/\text{sn}$, Çözünmüş $\text{O}_2 = 0,5 \text{ mg/l}$). Nitrit testi sonrası Tablo 5.9'da görüldüğü gibi *S. elongatus*'un sayıları sayılmış olup her bir çalışmada mikroskop altında şekil ve boyutları analiz edilmiştir [Şekil 5.9 A:Saf - 1, B:Saf - 2, C:FDK - 1, D:FDK - 2, E:FDK - 3]. *S. elongatus*'un boyutlarının literatürde verilen optimum aralıklarda (1,5 - 20 μm uzunluk; 0,4 – 6 μm genişlik) olduğu görülmüştür. Saf – 1'de yapılan nitrit testi sonrasında uzunluklarının 11 – 19 μm arasında ve genişliklerinin de 2 – 4 μm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu saptanmıştır (Tablo 5.9 ve Şekil 5.9). Saf – 2'de ise uzunluklarının 10 – 18 μm arasında; genişliklerinin 1 – 4 μm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür. FDK – 1'de ise yapılan nitrit testi sonrasında uzunluklarının 9 – 18 μm arasında; genişliklerinin de 1 – 4 μm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.9 ve Şekil 5.9). FDK – 2'de siyanobakteri uzunluklarının 8 – 18 μm arasında; genişliklerinin de 1 – 3 μm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür. Son olarak FDK - 3'de ise siyanobakteri uzunluklarının 7 – 12 μm arasında; genişliklerinin de 2 – 3 μm 'e arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu saptanmıştır (Tablo 5.9 ve Şekil 5.9). Yapılan beş çalışmada da nitrit testi sonrasında *S. elongatus*'un boyutlarında artış olduğu saptanmıştır. Büyümenin en fazla olduğu çalışma Saf– 1'dir (Tablo 5.9 ve Şekil 5.9). Bu çalışma da saf *S. elongatus* PCC 7942'nin ulaşabileceği maksimum boyutlarda olduğu görülmüştür. Saf – 2 ve FDK – 2'de ise; Saf – 1 ve FDK – 1'e göre *S. elongatus* boyutlarının daha az arttığı tespit edilmiştir. Büyümenin en az olduğu çalışma ise FDK – 3'tür (Tablo 5.9 ve Şekil 5.9).



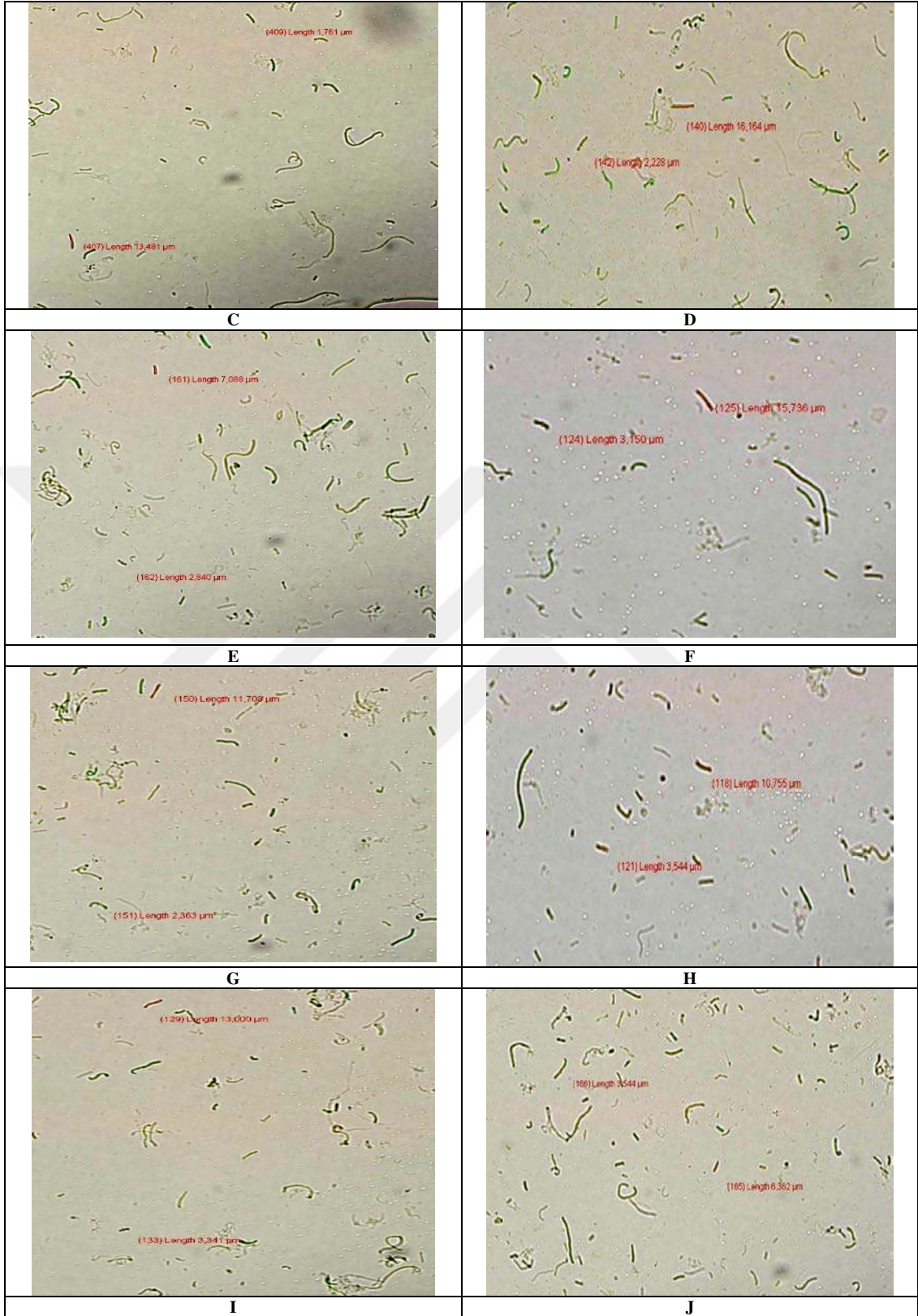
Şekil 5.9 30 gün sonunda yapılan nitrit testi sonucunda saf ve Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* kültürleriyle yapılan çalışmalarda boyutları

Tablo 5.9 30 gün sonunda saf ve Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* kültürleriyle yapılan çalışmalarda Nitrit testi sonuçları

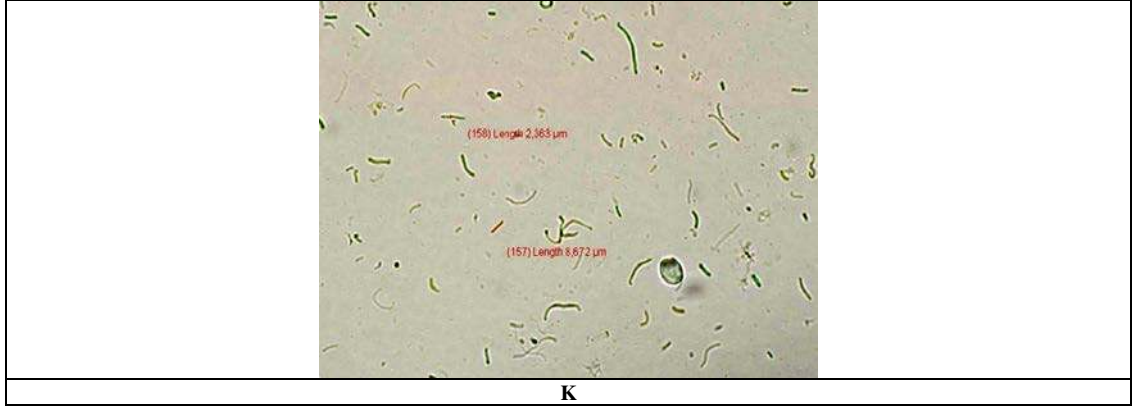
Çalışma	Kontroller (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> Sayıları (<i>S.</i> <i>elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> uzunlukları (μ m)	30 Gün Sonunda <i>S.</i> <i>elongatus</i> genişlikleri (μ m)	Kontroller - Sonuçları	Sonuçlar
Saf - 1	10500	10500	11 - 19	2 - 4	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
Saf - 2	10500	9900	10 - 18	1 - 4	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
FDK - 1	10500	9400	9 - 18	1 - 4	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
FDK - 2	10500	8600	8 - 12	1 - 4	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
FDK - 3	10500	6700	7 - 12	2 - 3	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)

Tablo 5.9’da görüldüğü gibi saf ve İzmir’in Foça ilçesindeki deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin kontrol grupları oluşturulmuştur. Kontroller; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden 0,083 m³/sn debide CO₂ verilerek 30°C’de 60 W’lık ışık şiddetinde saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterinin üretilmesiyle oluşturulmuştur. Mikroskop altında 30 günün sonunda yapılan incelemelere göre; kontrolle kıyaslama yapıldığında Saf – 1’deki test tüplerinde net bulanıklık görülmüştür. Siyanobakteri sayılarının ise nitrit testinden sonra 10000’den 10500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e arttığı görülmüştür (Tablo 5.9). Saf - 2’de ise test tüplerinde de net bir bulanıklık görülmüştür. Ancak Saf – 1’e göre Saf – 2’de saf *S. elongatus* PCC 7942 sayılarının daha düşük olduğu tespit edilmiştir (9900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml) (Tablo 5.9). FDK – 1’deki test tüplerinde de yine bulanıklık görülmüştür. Nitrit testinden sonra ise büyümeleri devam etmiş sayılarının 9000’den 9400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e arttığı görülmüştür. FDK - 2 ve FDK - 3’de ise diğer çalışmalara oranla daha az bulanıklık görülmüştür (Tablo 5.9). Bunun sebebi ise; *S. elongatus* siyanobakteri sayılarının daha az olmasından kaynaklandığı tespit edilmiştir. FDK – 2’de siyanobakteri sayılarında 8300’den 8600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e kadar bir artma görülmüştür. FDK - 3’de ise bu sayı artışı en az olup 6500’den 6700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e ulaşmıştır.

FDK, BKS ve TBG’de 30 gün sonunda yapılan nitrit testi sonuçları ayrı ayrı Tablo 5.10’da verilmiştir ($t = 28^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 7.1$, $\text{Eh} = 120 \text{ mV}$, Işık Şiddeti = 60 W, $\text{CO}_2 = 0,083 \text{ m}^3/\text{sn}$, Çözünmüş $\text{O}_2 = 0,5 \text{ mg/l}$). Her bir test tüpünde bulanıklık meydana geldiği görülmüştür. Nitrit testi sonrası Tablo 5.10’da görüldüğü gibi *S. elongatus*’un sayıları sayılmış olup her bir çalışmada mikroskop altında şekil ve boyutları analiz edilmiştir [Şekil 5.10 (C:FDK - 1, D:FDK - 2, E:FDK - 3, F: BKS - 1, G: BKS - 2, H: BKS - 3, I: TBG - 1, J: TBG - 2, K: TBG - 3)]. *S. elongatus*’un boyutlarının literatürde verilen optimum aralıklarda ($1,5 - 20 \text{ }\mu\text{m}$ uzunluk; $0,4 - 6 \text{ }\mu\text{m}$ genişlik) olduğu görülmüştür. FDK’de siyanobakterilerin uzunluklarının $9 - 18 \text{ }\mu\text{m}$ arasında; genişliklerinin $1 - 4 \text{ }\mu\text{m}$ arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.10 ve Şekil 5.10). BKS’de ise siyanobakterilerin uzunluklarının $7 - 16 \text{ }\mu\text{m}$ ’e arasında; genişliklerinin de $1 - 4 \text{ }\mu\text{m}$ arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür. Son olarak TBG’de siyanobakterinin uzunluklarının $7 - 14 \text{ }\mu\text{m}$ arasında; genişliklerinin de $1 - 4 \text{ }\mu\text{m}$ arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.10 ve Şekil 5.10). Yapılan saha çalışmalarında nitrit testi sonrasında deniz, göl ve kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus*’un boyutlarında artış olduğu saptanmıştır. Büyümenin en fazla olduğu çalışma % 99 saflıkta CO_2 tüpünden CO_2 kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar (FDK - 1, BKS - 1 ve TBG - 1) olduğu saptanmıştır. (Tablo 5.10 ve Şekil 5.10). CO_2 ’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO_2 ’in kullanıldığı çalışmalarda (FDK - 2, BKS - 2 ve TBG - 2) ise; % 99 saflıkta CO_2 tüpünden CO_2 kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalara göre *S. elongatus* boyutlarının daha az arttığı tespit edilmiştir. Büyümenin en az olduğu çalışmalar ise CO_2 ’ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmadan kullanıldığı çalışmaların (FDK - 3, BKS - 3 ve TBG - 3) olduğu saptanmıştır (Tablo 5.10 ve Şekil 5.10).



Şekil 5.10 30 Gün Sonunda Yapılan Nitrit Testi Sonucunda Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri



Şekil 5.10 30 Gün Sonunda Yapılan Nitrit Testi Sonucunda Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri (devamı)

Tablo 5.10 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* 30 gün sonunda yapılan Nitrit Testi Sonuçları

Araştırma Örneklemeleri	Kontroller (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> Sayıları (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> uzunlukları (µm)	<i>S. elongatus</i> genişlikleri (µm)	Kontroller - Sonuçları	Sonuçlar
FDK - 1	9000	9400	10 - 17	1 - 3	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
FDK - 2	9000	8600	8 - 18	1 - 3	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
FDK - 3	9000	6700	6 - 15	1 - 2	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
BKS - 1	9000	8800	7 - 16	1 - 4	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
BKS - 2	9000	8000	10 - 14	1 - 3	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
BKS - 3	9000	6200	8 - 12	2 - 4	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
TBG - 1	9000	8500	7 - 14	2 - 4	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
TBG - 2	9000	7700	6 - 11	2 - 4	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)
TBG - 3	9000	6100	7 - 10	1 - 4	Bulanıklık var – kırmızı renk yok	Bulanıklık var – kırmızı renk yok Pozitif (+)

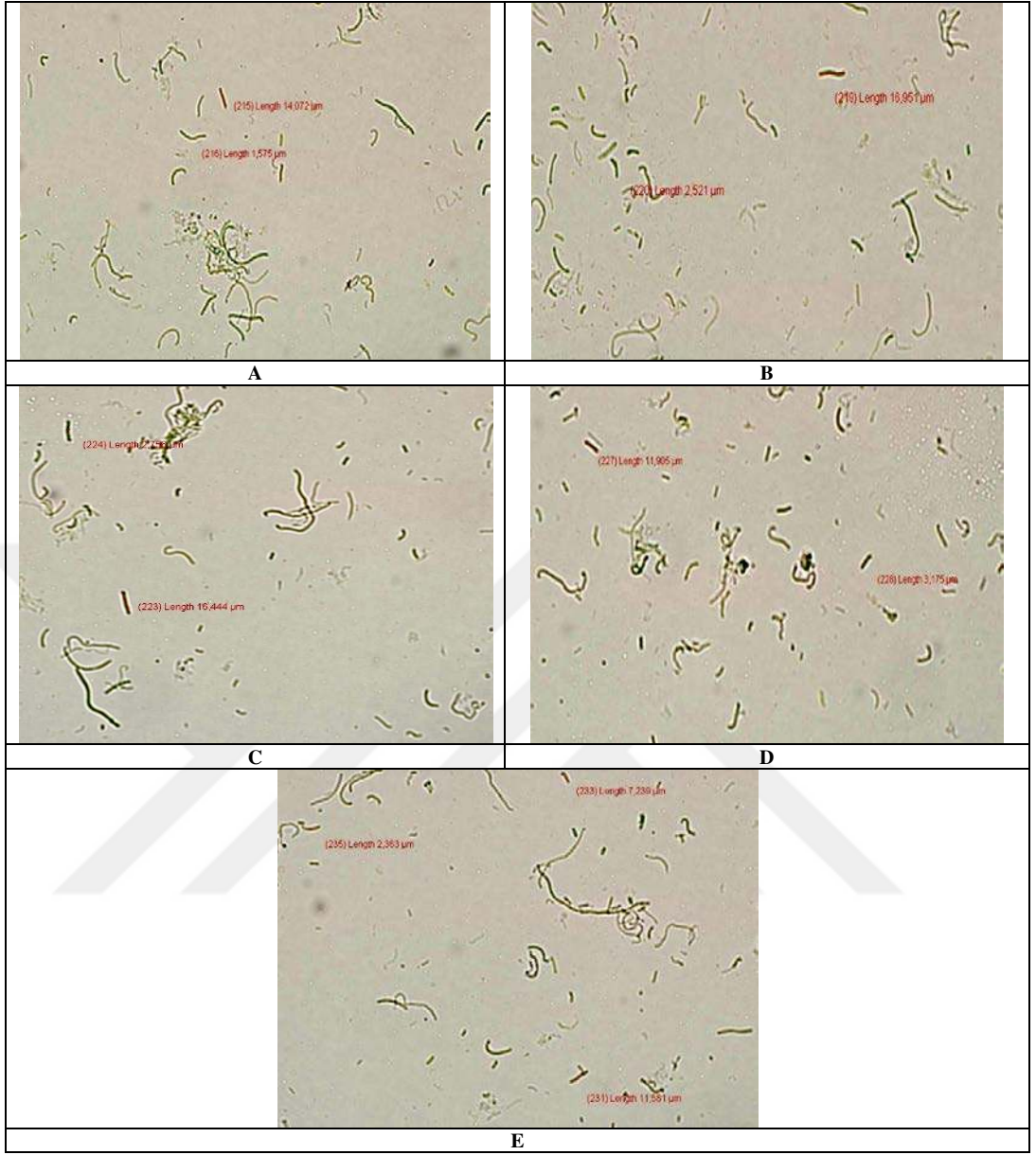
Tablo 5.10’da görüldüğü gibi FDK, BKS ve TBG’de kontrol grupları oluşturulmuştur. Kontroller; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden 0,083 m³/sn debide CO₂ verilerek 30°C’de 60 W’lık ışık şiddetinde İzmir’in Foça ilçesindeki deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterinin üretilmesiyle oluşturulmuştur. Nitrit testi ile yapılan siyanobakteri tanımlarında BKS ve TBG’deki test sonuçlarının birbirine yakın değerlerde olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5.10). FDK’daki nitrit testi sonuçlarının ise diğer bölgelere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca her bir bölgeden alınan numunelere üç farklı CO₂ türünden (% 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂, CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ ve CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanan saflaştırılmamış CO₂) verildiğinde büyümlerin en fazla olduğu % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılmasıyla olduğu saptanmıştır (Tablo 5.10).

Fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* nitrit redüktaz monomeri olan nir genini taşımaktadırlar (Luque ve ark., 1993). Siyanobakteriyel nitrit redüktaz enzimleri 6-elektron vererek nitriti amonyuma indirgenmesiyle katalize etmektedirler (Knaff ve ark., 1991). Bu tez çalışmasında da fotosentetik bir siyanobakteri olan *S. elongatus* nitrit redüktaz enzimi ile nitriti kullanarak amonyum oluşturmuş ve bu sebeple besiyerlerinde bulanıklık meydana getirmişlerdir. Yapılan nitrit testi ile *S. elongatus* siyanobakterilerinin hücre içinde nitritten amonyak oluşturarak büyüebilmektedirler (Luque ve ark., 1993; Flores ve ark., 2005). Ancak atmosferik CO₂ konsantrasyonunun fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* ’un büyümlerini limitlediği saptanmıştır (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011).

5.1.5 Üre Testi Sonuçları

On bir farklı çalışmada BG-11 sıvı besiyerlerine ekimleri yapıp üreyen *S. elongatus* siyanobakterilerinin tanımlarını yapmak için üre testi yapılmıştır. Üre testi için hazırlanan besiyerine her bir çalışma için ekimleri yapılan *S. elongatus* siyanobakteri kültürlerinin 35°C’de 48 saat boyunca inkübe edildikten sonra meydana gelen sonuçlar incelenmiştir (t = 35°C, pH = 7.1, Eh = 120 mV, Işık Şiddeti = 60 W, CO₂ = 0,083 m³/sn, Çözünmüş O₂ = 0,5 mg/l). Üre testi sonrası

Tablo 5.11’de görüldüğü gibi *S. elongatus* ’un sayıları sayılmış olup her bir çalışmada mikroskop altında şekil ve boyutları analiz edilmiştir [Şekil 5.11 (A:Saf - 1, B:Saf - 2, C:FDK - 1, D:FDK - 2, E:FDK - 3)]. *S. elongatus*’un boyutlarının literatürde verilen optimum 1,5 - 20 μm arasında değişen uzunluğu; 0,4 – 6 μm genişliği arasında olduğu görülmüştür. Saf – 1’de yapılan üre testi sonrasında uzunluklarının 12 – 19 μm arasında ve genişliklerinin de 1,5 - 4 μm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu saptanmıştır (Tablo 5.11 ve Şekil 5.11). Saf – 2’de ise uzunluklarının 13 – 18 μm arasında; genişliklerinin de 1 – 4 μm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür. FDK – 1’de yapılan üre testi sonrasında uzunluklarının 11 – 17 μm arasında; genişliklerinin de 1 – 3 μm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.11 ve Şekil 5.11). FDK – 2’de siyanobakteri uzunluklarının 10 – 15 μm arasında; genişliklerinin de 2 – 4 μm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür. Son olarak FDK - 3’de ise siyanobakterilerin uzunluklarının 7 – 13 μm arasında; genişliklerinin de 1 – 3 μm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu saptanmıştır (Tablo 5.11; Şekil 5.11). Yapılan beş çalışmada da üre testi sonrasında *S. elongatus*’un boyutlarında artış olduğu saptanmıştır. Büyümenin en fazla olduğu çalışma Saf – 1’dir (Tablo 5.11; Şekil 5.11). Bu çalışma da saf *S. elongatus* PCC 7942’nin ulaşabileceği maksimum boyutlarda olduğu görülmüştür. CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂’in kullanıldığı çalışmalarda (Saf – 2 ve FDK - 2) ise; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalara (Saf – 1 ve FDK - 1) göre *S. elongatus* boyutlarının daha az arttığı tespit edilmiştir. Büyümenin en az olduğu çalışma ise FDK – 3’tür (Tablo 5.11; Şekil 5.11).



Şekil 5.11 30 gün sonunda yapılan üre testi sonucunda saf ve Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* kültürleriyle yapılan çalışmalarda boyutları.

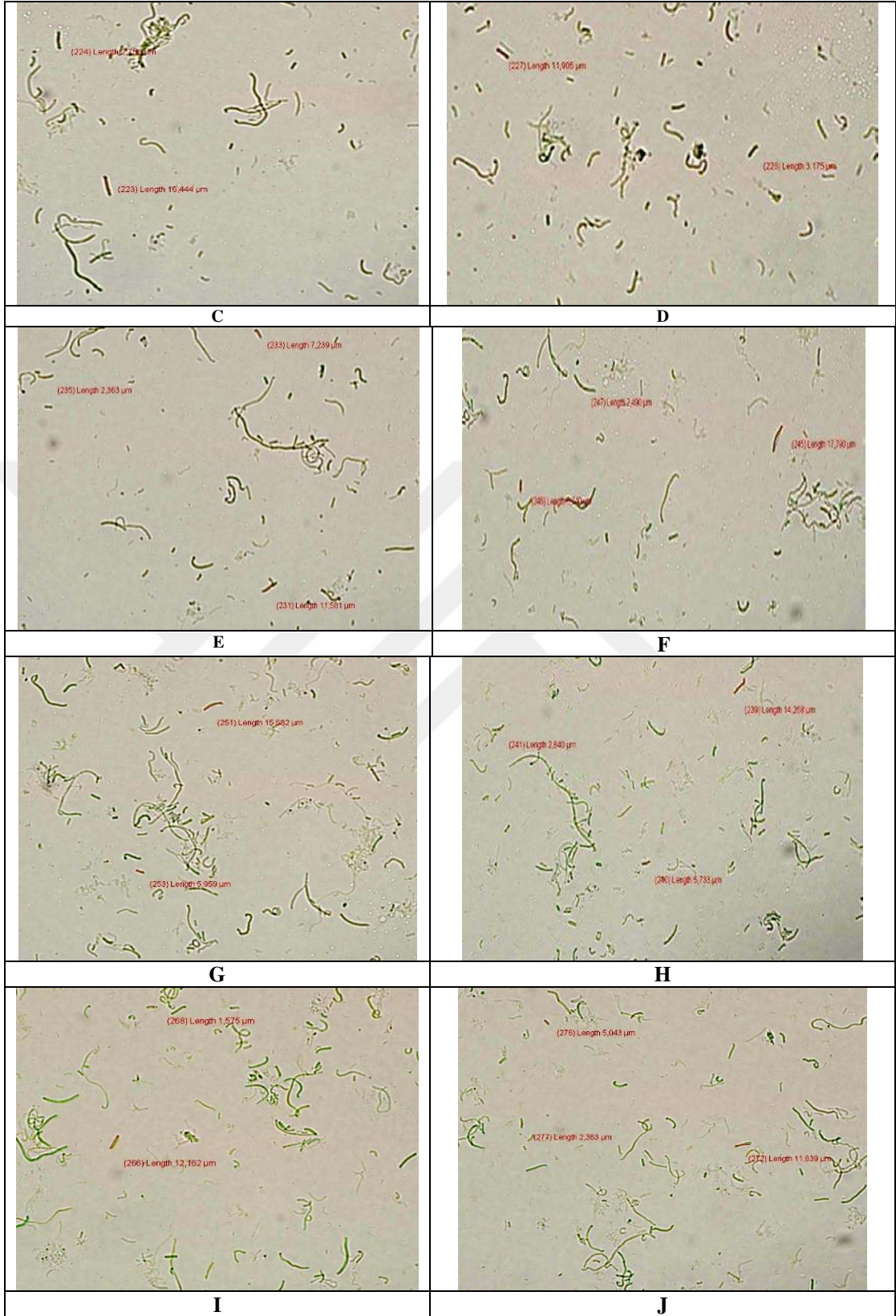
Tablo 5.11 30 gün sonunda saf ve Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* kültürleriyle yapılan çalışmalarda üre testi sonuçları

Çalışma	Kontroller (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> Sayıları (<i>S.</i> <i>elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> uzunlukları (μ m)	<i>S. elongatus</i> genişlikleri (μ m)	Kontroller - Sonuçları	Sonuçlar
Saf - 1	10500	10500	12 - 19	1,5 - 4	Bulanıklık - kırmızı renk var	Bulanıklık var kırmızı renk Pozitif (+)
Saf - 2	10500	9900	13 - 18	1 - 4	Bulanıklık - kırmızı renk var	Bulanıklık var kırmızı renk Pozitif (+)
FDK - 1	10500	9400	11 - 17	1 - 3	Bulanıklık - kırmızı renk var	Bulanıklık var kırmızı renk Pozitif (+)
FDK - 2	10500	8600	10 - 15	2 - 4	Bulanıklık - kırmızı renk var	Bulanıklık var kırmızı renk Pozitif (+)
FDK - 3	10500	6700	7 - 13	1 - 3	Bulanıklık - kırmızı renk var	Bulanıklık var kırmızı renk Pozitif (+)

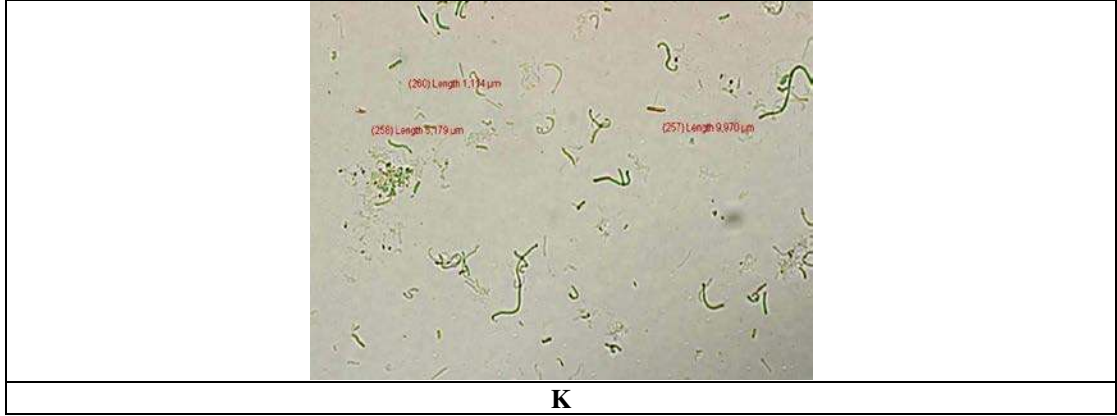
Tablo 5.11’de görüldüğü gibi saf ve İzmir’in Foça ilçesindeki deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin kontrol grupları oluşturulmuştur. Kontroller; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden 0,083 m³/sn debide CO₂ verilerek 30°C’de 60 W’lık ışık şiddetinde saf *S. elongatus* siyanobakterinin üretilmesiyle oluşturulmuştur. Mikroskop altında 30 günün sonunda yapılan incelemelere göre; kontrole kıyaslama yapıldığında Saf – 1’deki test tüplerinde net bulanıklık görülmüştür. Sayılarının ise üre testinden sonra 10000’den 10500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e arttığı görülmüştür (Tablo 5.11). Saf - 2’de ise test tüplerinde de net bir bulanıklık görülmüştür. Ancak Saf – 1’e göre Saf – 2’de *S. elongatus* PCC 7942 sayılarının daha düşük olduğu tespit edilmiştir (9900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml) (Tablo 5.11). FDK – 1’de test tüplerinde de yine bulanıklık görülmüştür. Üre testinden sonra ise büyümeleri devam etmiş sayılarının 9000’den 9400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e arttığı görülmüştür. FDK - 2 ve FDK - 3’de ise diğer çalışmalara oranla daha az bulanıklık görülmüştür (Tablo 5.11). Bunun sebebi ise; *S. elongatus* siyanobakteri sayılarının daha az olmasından kaynaklandığı tespit edilmiştir. FDK – 2’de *S. elongatus* siyanobakteri sayılarında 8300’den 8600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e kadar bir artma görülmüştür. FDK - 3’de ise bu sayı artışı en az olup 6500’den 6700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e ulaşmıştır.

FDK, BKS ve TBG’de 30 gün sonunda yapılan üre testi sonuçları ayrı ayrı Tablo 5.12’de verilmiştir (t = 35°C, pH = 7.1, Eh = 120 mV, Işık Şiddeti = 60 W, CO₂ =

0,083 m³/sn, Çözünmüş O₂ = 0,5 mg/l). Her bir test tüpünde bulanıklık meydana geldiği görülmüştür. Üre testi sonrası Tablo 5.12’de görüldüğü gibi *S. elongatus*’un sayıları sayılmıştır. Her bir çalışmada mikroskop altında şekil ve boyutları analiz edilmiştir [Şekil 5.12 (C:FDK - 1, D:FDK - 2, E:FDK - 3, F: BKS - 1, G: BKS - 2, H: BKS - 3, I: TBG - 1, J: TBG - 2, K: TBG - 3)]. *S. elongatus*’un boyutlarının literatürde verilen optimum aralıklarda (1,5 - 20 µm uzunluk; 0,4 – 6 µm genişlik) olduğu görülmüştür. FDK’da siyanobakterilerin uzunluklarının 7– 17 µm arasında; genişliklerinin 1 – 4 µm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.12 ve Şekil 5.12). BKS’de ise siyanobakterilerin uzunluklarının 5 – 18 µm arasında; genişliklerinin de 1 – 4 µm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.12 ve Şekil 5.12). Son olarak TBG’de siyanobakterilerin uzunluklarının 4 – 13 µm arasında; genişliklerinin de 1 – 4 µm arasında değişen değerlerde büyümelerinde artış olduğu görülmüştür (Tablo 5.12 ve Şekil 5.12). Yapılan saha çalışmalarında üre testi sonrasında deniz, göl ve kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus*’un boyutlarında artış olduğu saptanmıştır. Maksimum büyümeler % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda (FDK - 1, BKS - 1 ve TBG - 1) gerçekleşmiştir (Tablo 5.12 ve Şekil 5.12). CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂’in kullanıldığı çalışmalarda (FDK – 2, BKS - 2 ve TBG - 2) ise; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalara göre *S. elongatus* boyutlarının daha az arttığı tespit edilmiştir. Büyümenin en az olduğu çalışmalar ise CO₂’ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmadan kullanıldığı çalışmaların (FDK – 3, BKS - 3 ve TBG - 3) olduğu saptanmıştır (Tablo 5.12 ve Şekil 5.12).



Şekil 5.12 30 gün sonunda yapılan üre testi sonucunda Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri



Şekil 5.12 30 gün sonunda yapılan üre testi sonucunda Foça deniz kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin boyutlarının mikroskoptaki görüntüleri (devamı)

Tablo 5.12 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* 30 gün sonunda yapılan Üre Testi Sonuçları

Araştırma Örnekleri	Kontroller (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> Sayıları (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	<i>S. elongatus</i> uzunlukları (µm)	<i>S. elongatus</i> genişlikleri (µm)	Kontroller - Sonuçları	Sonuçlar
FDK - 1	9000	9400	10 - 17	1 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
FDK - 2	9000	8600	8 - 18	1 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
FDK - 3	9000	6700	6 - 15	1 - 2	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
BKS - 1	9000	8600	6 - 18	1 - 4	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
BKS - 2	9000	7900	5 - 16	2 - 4	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
BKS - 3	9000	6100	5 - 15	1 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
TBG - 1	9000	8200	4 - 13	1 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
TBG - 2	9000	7400	5 - 12	1 - 4	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)
TBG - 3	9000	6000	5 - 10	1 - 3	Bulanıklık – kırmızı renk var	Bulanıklık – kırmızı renk var Pozitif (+)

Tablo 5.12’de görüldüğü gibi FDK, BKS ve TBG’de kontrol grupları oluşturulmuştur. Kontroller; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden 0,083 m³/sn debide CO₂ verilerek 30°C’de 60 W’lık ışık şiddetinde İzmir’in Foça ilçesindeki deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterinin üretilmesiyle oluşturulmuştur.

Üre testi ile yapılan siyanobakteri tanılarında BKS ve TBG’de test sonuçlarının birbirine yakın değerlerde olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5.12). FDK’de ise diğer bölgelere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca her bir bölgeden alınan numunelere üç farklı CO₂ türünden (% 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂, CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ ve CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanan saflaştırılmamış CO₂) verildiğinde büyümelerin en fazla olduğu % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılmasıyla olduğu saptanmıştır (Tablo 5.12). FDK – 1’de 9400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml; BKS – 1’de 8600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml; TBG – 1’de 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’e arttığı saptanmıştır (Tablo 5.12). Saflaştırılmadan kullanılan atmosferik hava ise; FDK – 3’de (6700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml), BKS – 3’de (6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml) ve TBG – 3’de (6000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml) siyanobakterilerinin büyümelerini limitlemiştir (Tablo 5.12). Bu sebeple de yapılan üre testlerinde bulanıklığın ve büyümelerin en az görüldüğü test tüplerinin saflaştırılmadan verilen hava ile büyütülmüş *S. elongatus* siyanobakteri tüplerinin olduğu görülmüştür.

Üre doğada organik azotun en çok bulunan bir formudur. Tuzlu sulardaki üre çözülmüş organik azotlu bileşiklerin dominant bileşenidir (Antia ve ark., 1991). Oligotrofik tuzlu sularda yaşayan siyanobakteriler azot kaynağı olarak üre ve bazı aminoasitleri içeren organik bileşikleri kullanarak büyümektedirler (Kapp ve ark., 1975; Neilson, 1980). Antonia ve ark. (2008) siyanobakterileri moleküler biyolojik, genetikleri ve evrimleri yönünden incelemişler ve siyanobakteri türlerinin birçoğunun azot kaynağı olarak üreyi kullandıklarını; bunun sonucunda üreyi, üreaz enzimi ile 2 molekül amonyağa dönüştürdüğünü tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasında üre testi sonucunda yapılan bütün çalışmalarda *S. elongatus* siyanobakterileri besiyerlerinde üreyi kullanarak amonyağa dönüştürüp test tüplerinde bulanıklık oluşturduğu görülmüştür. *S. elongatus* siyanobakterileri azot kaynağı olarak üreyi kullanarak büyümelerinde artış olduğu saptanmıştır. Ancak atmosferik CO₂ konsantrasyonunun fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus*’un büyümelerini limitlediği saptanmıştır (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011).

5.1.6 Bradford Protein Tayini Testi Sonuçları

BG-11 sıvı besiyerlerine ekimleri yapıp üretilen on bir farklı çalışmadaki *S. elongatus* siyanobakterilerinin tanılarını yapmak için 30 günün sonunda Bradford testi yapılmıştır. Bradford testi ile Tablo 5.13’de görüldüğü gibi *S. elongatus*’un her bir çalışma için protein miktarları ölçülmüştür. Saf – 1’de yapılan bradford testi ile spektrofotometrede protein miktarı 78 hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. Saf – 2’de ise bu protein miktarı Saf – 1’e göre daha düşük olup 65 hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.13). FDK - 1’de protein miktarı 57 hücre sayısı/ml olduğu görülmüştür (Tablo 5.13). FDK - 2’de Tablo 5.13’de görüldüğü gibi protein miktarı diğer çalışmalara göre daha düşük olsa da FDK - 1’de ölçülen miktara yakın değerde (40 hücre sayısı/ml) ölçülmüştür. Son olarak FDK - 3’de ise ölçülen protein miktarı 32 hücre sayısı/ml’dir.

Tablo 5.13 30 gün sonunda yapılan bradford testi sonuçları

Çalışma	Protein Miktarı (hücre sayısı/ml)
Saf - 1	78
Saf - 2	65
FDK - 1	57
FDK - 2	44
FDK - 3	32

Yapılan çalışmalarda Bradford testi ile literatürde belirtildiği gibi *S. elongatus* siyanobakterilerinin hücrelerinde belli miktarlarda protein bulundurduğu tespit edilmiştir. Protein miktarının en fazla olduğu çalışma Saf – 1’dir (Tablo 5.13). CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂’in kullanıldığı çalışmalarda (Saf – 2 ve FDK - 2) ise; % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalara (Saf – 1 ve FDK - 1) göre *S. elongatus*’un protein miktarlarının daha az olduğu tespit edilmiştir. Protein miktarının en az olduğu çalışma ise FDK – 3’tür (Tablo 5.13).

FDK, BKS ve TBG’de 30 gün sonunda yapılan Bradford testi sonuçları ayrı ayrı Tablo 5.14’de verilmektedir. Her bir test tüpünde proteinlerin nicel olarak tayinleri yapılmıştır. FDK – 1’de 30 günün sonunda protein miktarı 44 hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.14). FDK – 2’de spektrofotometrede yapılan ölçüm sonucunda

protein miktarı 32 hücre sayısı/ml olduğu görülmüştür. 25 hücre sayısı/ml protein miktarına sahip olan çalışma FDK – 3’tür (Tablo 5.14). BKS – 1’de ise protein miktarları 38 hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.14). BKS – 2’de 30 gün sonunda Bradford testi ile protein miktarı 30 hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. BKS – 3’de protein miktarı 22 hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. TBG – 1’de protein miktarının en yüksek olduğu (33 hücre sayısı/ml) çalışmadır (Tablo 5.14). TBG – 2’de 30 gün sonunda Bradford testi ile protein miktarı 28 hücre sayısı/ml’dir. Son olarak TBG – 3’de protein miktarı ise 21 hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.14).

Tablo 5.14 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* 30 gün sonunda yapılan Bradford Testi Sonuçları

Çalışmalar	Protein miktarı (hücre sayısı/ml)
FDK - 1	44
FDK - 2	32
FDK - 3	25
BKS - 1	38
BKS - 2	30
BKS - 3	22
TBG - 1	33
TBG - 2	28
TBG - 3	21

Yapılan saha çalışmalarında Bradford testi ile literatürde belirtildiği gibi deniz, göl ve kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin hücrelerinde belli miktarlarda protein bulundurduğu tespit edilmiştir. Protein miktarının en fazla olduğu çalışma FDK – 1’dir (Tablo 5.14). CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂’in kullanıldığı çalışmalarda (FDK - 2, BKS - 2 ve TBG - 2) ise *S. elongatus*’un protein miktarlarının daha az olduğu tespit edilmiştir. Protein miktarının en az olduğu çalışma ise TBG – 3’tür (Tablo 5.14).

Bu tez çalışmasında *S. elongatus* siyanobakterisinin fotosentez yaparak CO₂ ve ışığı kullanarak 1-butanol oluşturmaları incelenmiştir. *S. elongatus*’un metabolik yol izinde 1-butanol oluştururken proteinlerle aynı fonksiyonu gösteren protein içerikli enzimleri kullanmaktadır (Lee, 2011). 1-butanol iki ayrı metabolik yol ile elde

edilmektedir. Bunlar sentetik 2-ketoasit metabolik yolu ve asetil-CoA'dan butiril-CoA sentezi metabolik yoludur (Lan ve Liao, 2011). Yapılmakta olan bu tez çalışmasında 1-butanol eldesi için kullanılan metabolik yol izi ise CoA'ya dayanan asetil-CoA'dan butiril-CoA sentezi yoludur. Butiril-CoA daha sonra 1-butanola indirgenmektedir. Bu metabolik yol izinde asetil-CoA'dan 1-butanol oluşumuna kadar beş tane enzim kullanılmaktadır. Bunlar; asetil-CoA asetiltransferaz (AtoB), 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (hbd), krotonaz (crt), trans-2-eonil redüktaz (Ter) ve iki işlevli aldehid alkol dehidrojenaz (AdhE2)'dir (Atsumi ve ark., 2008). Bu metabolik yol izinde 2 asetil-CoA AtoB enzimi aracılığıyla asetoasetil-CoA'ya indirgenmektedir. Daha sonraki basamakta NADH'ın NAD⁺'a yükseltgenerek hbd enzimi tarafından 3-hidroksibutiril-CoA oluşmaktadır. Crt enzimi tarafından 3-hidroksibutiril-CoA krotonil-CoA'ya dönüşmektedir. Ter aktivitesiyle krotonil-CoA'nın butiril-CoA dönüşmesi gerçekleşir ve NADPH NAD⁺'a yükseltgenir. İki işlevi olan AdhE₂ enzimi ilk olarak butiril-CoA'nın butiraldehide dönüşmesi basamağıdır. Yine bu basamakta NADPH'ın NAD⁺'a yükseltgenmesi gerçekleşmektedir. AdhE₂ enziminin ikinci işlevi ise son basamak olan butiraldehidin 1-butanole dönüştüğü basamaktır. Bu basamakta da NADPH'ın NAD⁺'a yükseltgenmesi gerçekleşmektedir. *S. elongatus* iyanobakterileri tarafından CO₂'den butanol üretimine kadar gerçekleşen metabolik yol izinde kullanılan enzimlerden 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (hbd), trans-2-eonil redüktaz (Ter) ve aldehid alkol dehidrojenaz (AdhE₂) miktarları spektrofotometrede ölçüldü. Bu enzimlerin seviyeleri enzim ölçümleri 5.6 başlığı altında ayrıca verilmiştir.

Fotosentetik ototrof siyanobakteri olan *S. elongatus*'un hücre membranında ve hücre içerisinde bulunan protein miktarları tespit edilmiştir. *S. elongatus*'un toplam 140 tane protein noktaları bulunmaktadır. Bunlardan 62 farklı protein içeren 110 tanesi tanımlanabilmiştir. Tanımlanan proteinlerin siyanobakteriyel hücrelerin büyümesinde ve ana metabolik yol izinde 18 farklı kategoride fonksiyonları bulunmaktadır (Koksharova ve ark., 2006). Olson ve ark., (1990) Pasifik Okyanus'u ve Kuzey Atlantik'te bulunan *Synechococcus* türlerinin dağılımını ve pigment boyutlarını incelemişler ve hem *S. elongatus*'a hem de diğer siyanobakterilere mavi-yeşil renklerini veren pigmentlerin fikobiliproteinlerini içerdiğini saptamışlardır.

Ayrıca yapılan son çalışmalarda biyolojik saat olarak kullanıldığı keşfedilen *S. elongatus*; sirkadiyen proteinleri olan KaiA, KaiB ve KaiC proteinlerini içermektedir (Wiliam, 2007).

5.2 CO₂ Ölçümü Sonuçları

0,083 m³/sn debide yarım saatte bir 5 dakika süre ile 7 gün boyunca verilen kirli hava bileşiminde bulunan 0,055 m³/sn'lik O₂ sayısı 2x10² adet/ml olan *N. europaea* tarafından kullanılmıştır (Tablo 5.16). Geri kalan havadan 0,015 m³/sn'lik hava sayısı 1x10² adet/ml olan *A. vinelandii* tarafından giderilmiştir. Geri kalan hava hacmi olan 0,013 m³/sn'lik CO₂'de 1-butanol üretiminde *S. elongatus* tarafından kullanılmıştır (Tablo 5.16).

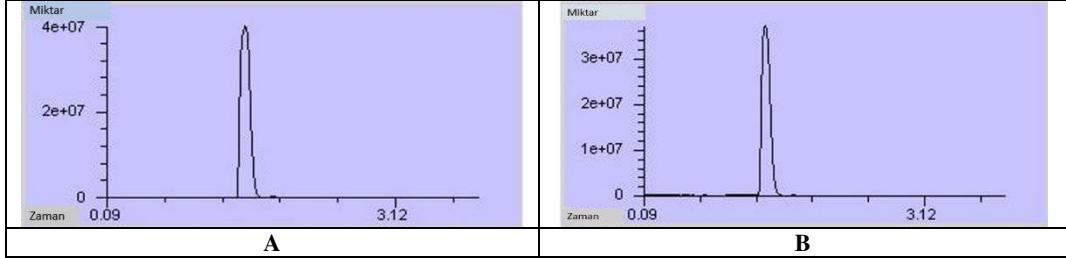
Tablo 5.16 CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılma işlemi sonucu

	Saf Kültür Özellikleri		Atmosferden izole edilen Kültür Özellikleri	
	<i>N. europaea</i>	<i>A. vinelandii</i>	<i>N. europaea</i>	<i>A. vinelandii</i>
<i>N. europaea</i> sayısı (adet/ml)	5x10 ⁴	-	2x10 ²	-
<i>A. vinelandii</i> sayısı (adet/ml)	-	3x10 ³	-	1x10 ²
Çözünmüş O ₂ debisi (m ³ /sn)	0,04	-	0,055	-
N ₂ debisi (m ³ /sn)	-	0,038	-	0,015

5.2.1 Saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin % 99 Saflıkta CO₂ Tüpünden Kullanılan CO₂ ile ve CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO₂'in Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda CO₂ Ölçümü Sonuçları

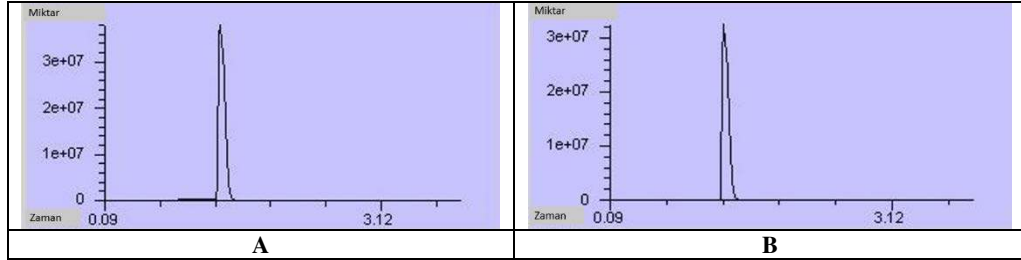
BG-11 sıvı besiyerine ekimleri yapıldıktan sonra saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine ayrı ayrı olarak debisi 0,083 m³/sn olan % 99 Saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ ile CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ verildi. Daha sonra her kültürde bulunan CO₂'nin başlangıç konsantrasyonlarını belirlemek için GC-MS'de ölçümleri yapılmıştır. Şekil 5.13A'da Saf – 1'de GC-MS'de ölçülen CO₂ konsantrasyonunun alanı 1,25 – 1,8 dakikaları arasında; maksimum piki 1,538 dakikada gözlemlenmiştir. Şekil 5.13B'de ise Saf – 2'de GC-MS'de ölçülen CO₂

konsantrasyonunun alanı 1,2 – 1,515 dakikaları arasında; maksimum piki 1,397 dakikada gözlemlenmiştir.



Şekil 5.13 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine başlangıçta verilen CO₂ konsantrasyonlarının GC-MS’de ölçülen alıkonma süreleri.

Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinin 30 gün boyunca büyütülüp çoğaldıktan sonra 30 gün sonundaki CO₂ konsantrasyonlarını belirlemek için GC-MS’te ölçümleri yapılmıştır. Şekil 5.14A’da Saf – 1’de 30 günün sonunda GC-MS’de ölçülen CO₂ konsantrasyonunun alanı 1,248 – 1,515 dakikaları arasında; maksimum piki 1,363 dakika gözlemlenmiştir. Şekil 5.14B’de ise Saf – 2’de 30 günün sonunda GC-MS’de ölçülen CO₂ konsantrasyonunun alanı 1,19 – 1,4 dakikaları arasında; maksimum piki 1,336 dakikada verdiği gözlemlenmiştir.



Şekil 5.14 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine 30 gün sonunda GC-MS’de ölçülen CO₂ konsantrasyonlarının alıkonma süreleri.

Başlangıç konsantrasyonları ölçülen CO₂’in Saf – 1’de GC-MS’de ölçülen miktarı 178,7 mg/L’dir (Tablo 5.17). 30 günün sonunda ise CO₂ miktarı ise 25,7 mg/L olarak ölçülmüştür. Saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisi 1-butanol üretmek için 153 mg/L CO₂ kullanmıştır (Tablo 5.17). Saf – 2’de ise başlangıçtaki CO₂ konsantrasyonu 178,2 mg/L olarak ölçülmüştür (Tablo 5.16). 30 günün sonunda ise CO₂ miktarı ise 38,2 mg/L olarak ölçülmüştür. Saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisi 1-butanol üretmek için 140 mg/L CO₂ kullanmıştır (Tablo 5.17).

Tablo 5.17 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine verilen CO₂ konsantrasyonlarının GC-MS’te ölçüm sonuçları

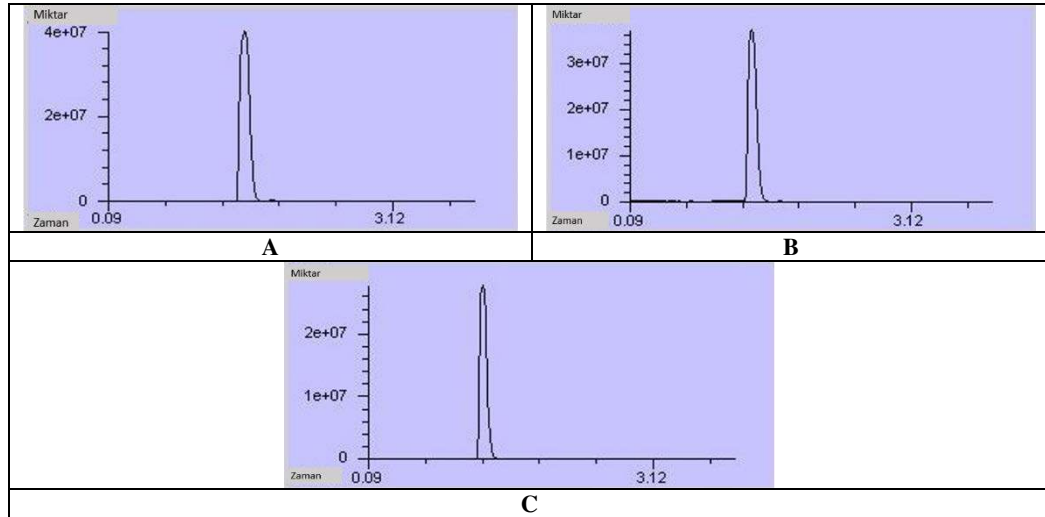
Verilen CO ₂	Başlangıçtaki CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)	30 Günün Sonundaki CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)	Giderilen CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)
% 99 saflıkta olan CO ₂ tüpünden CO ₂	178,7	25,7	153
CO ₂ ’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO ₂	178,2	38,2	140

Tablo 5.17’de görüldüğü gibi CO₂ konsantrasyonları 30 günün sonunda her iki çalışmada da birbirine yakın konsantrasyonlarda ölçülmüştür. Sayıları 30 günün sonunda 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml Saf – 1’de CO₂’in 153 mg/L’sini kullandıkları saptanmıştır (Tablo 5.17). Sayıları 30 günün sonunda 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml Saf – 2’de ise CO₂’in 140 mg/L’sini kullandıkları tespit edilmiştir (Tablo 5.17). % 99 saflıkta olan CO₂ tüpündeki CO₂ ile CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin gelişimleri ve işlevleri üzerinde yakın etkileri gösterse de; % 99 saflıkta olan CO₂ tüpündeki CO₂’in kullanıldığı çalışmada daha yüksek konsantrasyonda (153 mg/L) giderildiği saptanmıştır.

Fotosentetik siyanobakterilerin büyümesinde su, besinler ve CO₂ önemli bir rol oynar (Parmar ve ark., 2011). Son yıllarda ototrofik siyanobakterilerin CO₂’i CoA-bağımlı metabolik yol izine transfer etmeyi başararak 1-butanol üretimini gerçekleştirdikleri bildirilmiştir (Lan ve Liao, 2011). Calvin döngüsünde 3-fosfoglisarat oluşumunda öncü olan ribuloz-1,5 bifosfat molekülüne akseptör CO₂’in karboksilasyonu ile katalize eden Rubisco enzimi tarafından başlatılır. 3-fosfoglisarat ise ATP ve NADH’ı indirgeyerek 2 ayrı reaksiyon yolu olan gliseraldehid-3-fosfat ve dihidroksiaseton fosfat oluşturur. Gliseraldehid-3-fosfat asetil-CoA’ya indirgenerek CoA bağımlı metabolik yol izi ile 1-butanol oluşturmaktadır (Lan ve Liao, 2012).

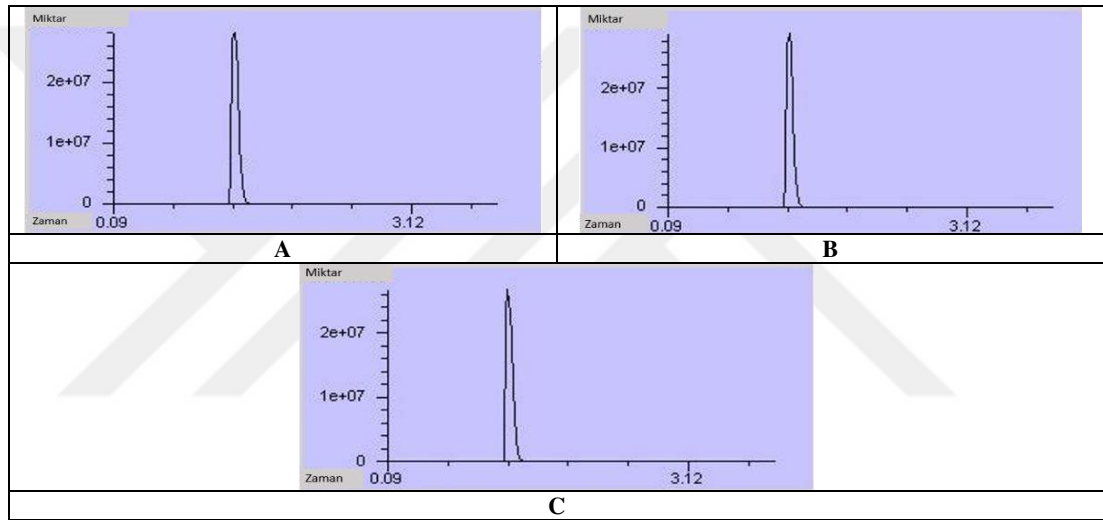
5.2.2 Foça Denizi Kıyılarından Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* siyanobakterisine % 99 Safılıkta CO₂ Tüpünden Kullanılan CO₂, CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO₂ ve CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda CO₂ Ölçümü Sonuçları

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürlerine BG-11 sıvı besiyerine ekimleri yapıldıktan sonra ayrı ayrı olarak debisi 0,083 m³/sn olan % 99 Safılıkta CO₂ tüpünden CO₂, CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmadan verilmiştir. Daha sonra her kültürde bulunan CO₂'in başlangıç konsantrasyonlarını belirlemek için GC-MS'de ölçümleri yapılmıştır. Şekil 5.15A'da FDK – 1'de GC-MS'de ölçülen CO₂ konsantrasyonunun alanı 1,3 – 1,6 dakikaları arasında; maksimum piki 1,512 dakikada gözlemlenmiştir. Şekil 5.15B'de FDK – 2'de GC-MS'deki CO₂'in alanı 1,24 – 1,5 dakikaları arasında; maksimum piki 1,394 dakikada gözlemlenmiştir. Şekil 5.15C'de ise FDK – 3'de GC-MS'de ölçülen CO₂ konsantrasyonunun alanı 1,09 – 1,4 dakikaları arasında; maksimum piki 1,322 dakikada gözlemlenmiştir.



Şekil 5.15 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürlerine başlangıçta verilen CO₂ konsantrasyonlarının GC-MS'de ölçülen alıkonma süreleri.

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürlerinin 30 gün boyunca büyütülüp çoğaldıktan sonra; 30 gün sonundaki CO₂ konsantrasyonları GC-MS’de ölçümleri yapılmıştır. Şekil 5.16A’da FDK – 1’de 30 günün sonunda GC-MS’de ölçülen CO₂’in alanı 1,1 – 1,4 dakikaları arasında; maksimum piki 1,339 dakikada gözlemlenmiştir. Şekil 5.16B’de FDK – 2’de 30 günün sonunda GC-MS’de ölçülen CO₂’in alanı 1,18 – 1,41 dakikaları arasında; maksimum piki 1,319 dakikada gözlemlenmiştir. Şekil 5.16C’de FDK – 3’de 30 günün sonunda GC-MS’de ölçülen CO₂’in alanı 1,2 – 1,4 dakikaları arasında; maksimum piki 1,313 dakikada gözlemlenmiştir.



Şekil 5.16 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürlerine verilen CO₂ konsantrasyonlarının 30 günün sonunda GC-MS’de ölçülen alıkonma süreleri.

FDK – 1’de CO₂ konsantrasyonu başlangıçta GC-MS’de ölçülen miktarı 178,5 mg/L’dir (Tablo 5.18). CO₂ miktarı 30 günün sonunda ise 54,12 mg/L olarak ölçülmüştür. FDK – 1’de *S. elongatus*, 1-butanol üretmek için 124,38 mg/L CO₂ kullanmıştır (Tablo 5.18). FDK – 2’de ise başlangıçtaki CO₂ konsantrasyonu 178,12 mg/L olarak ölçülmüştür (Tablo 5.18). 30 günün sonunda ise CO₂ miktarı ise 74,82 mg/L olarak ölçülmüştür. *S. elongatus* siyanobakterisi 1-butanol üretmek için 103,3 mg/L CO₂ kullanmıştır (Tablo 5.18). Son olarak FDK – 3’de ise CO₂ konsantrasyonu başlangıçta GC-MS’de ölçülen miktarı 165,8 mg/L’dir (Tablo 5.18). 30 günün sonunda ölçülen CO₂ konsantrasyonu 81 mg/L olarak görülmüştür. *S. elongatus* siyanobakterisi 1-butanol üretmek için 84,8 mg/L CO₂ kullanabilmiştir (Tablo 5.18).

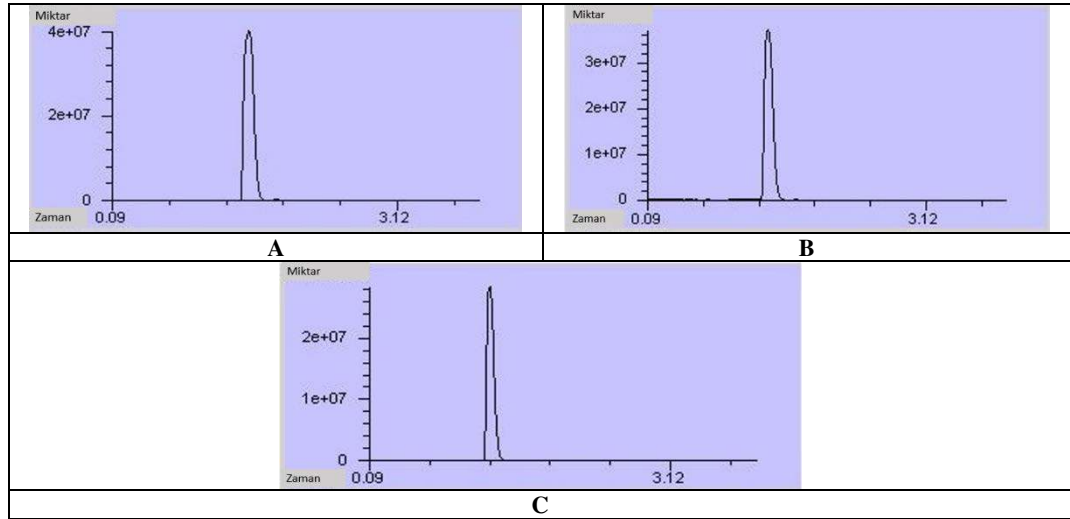
Tablo 5.18 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürlerine verilen CO₂ konsantrasyonlarının GC-MS’te ölçüm sonuçları

Verilen CO ₂	Başlangıçtaki CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)	30 Günün Sonundaki CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)	Giderilen CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)
% 99 saflıkta olan CO ₂ tüpünden CO ₂	178,5	54,12	124,38
CO ₂ ’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO ₂	178,12	74,82	103,3
CO ₂ ’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmadan kullanılması	165,8	81	84,8

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi ile yapılan çalışmalarda; 30 günün sonunda CO₂ konsantrasyonunun en çok giderildiği FDK - 1 olarak tespit edilmiştir (124,38 mg/L). 30 günün sonunda sayıları 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan FDK - 2’de ise CO₂ giderimi diğer çalışmaya göre daha az oranlarda olduğu görülmektedir (103,3 mg/L). CO₂ konsantrasyonunun en az giderildiği çalışma ise FDK - 3’tür. 30 günün sonunda sayıları 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* kültüründe CO₂’in 84,8 mg/L’sini giderebildikleri tespit edilmiştir. Atmosferik havanın fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* ’un büyümelerini limitlediği tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011). Atmosferdeki hava N₂ (% 77), H₂O (% 9–14), O₂ (% 2–6,5), NO (60–1500 mg Nm⁻³), NO₂ (2–75 mg Nm⁻³), SO₂ (0–800 mg Nm⁻³), SO₃ (0–32 mg Nm⁻³), CxHy (0,008–0,4 mg Nm⁻³), CO (2,5–5 mg Nm⁻³), halojen asitler ve ağır metalleri gibi 142 farklı bileşiği içermektedir (Raeesossadatı ve ark., 2014; Van Den Hende ve ark., 2012). Bu sebeple atmosferik hava siyanobakterilerin büyümelerini olumsuz etkileyebilmektedir. Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerine saflaştırılmadan verilen atmosferik havada bulunan N₂ ve olası H₂S, NH₃ gazları büyümelerini engelleyerek CO₂ giderimini de limitlediği saptanmıştır.

5.2.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* siyanobakterisine %99 Safılıkta CO₂ Tüpünden Kullanılan CO₂, CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO₂ ve CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda CO₂ Ölçümü Sonuçları

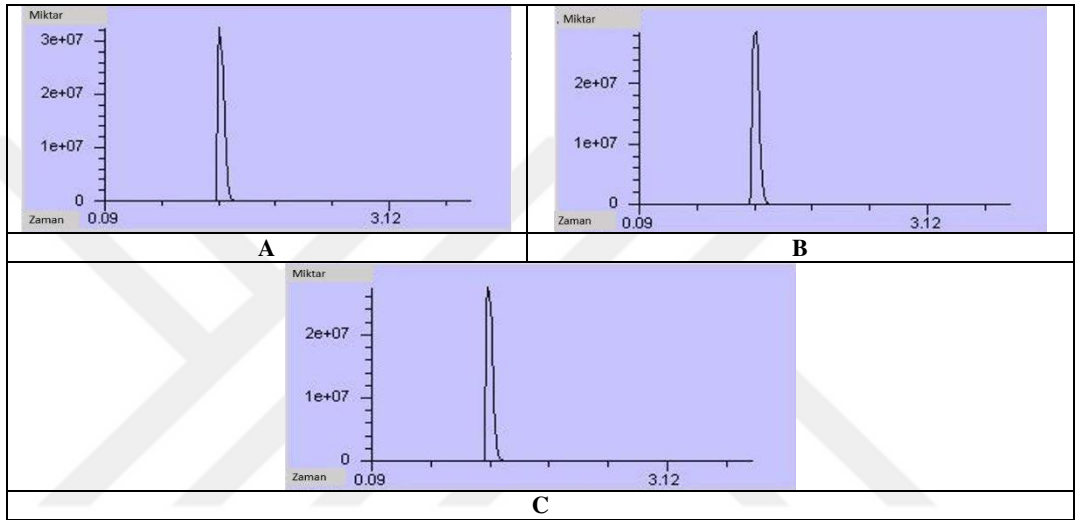
Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerine ekimleri yapıldıktan sonra ayrı ayrı olarak debisi 0,083 m³/sn olan % 99 Safılıkta CO₂ tüpünden CO₂, CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmadan verilmiştir. CO₂'in başlangıç konsantrasyonlarını belirlemek için GC-MS'de ölçümleri yapılmıştır. BKS – 1'de GC-MS'de ölçülen CO₂'in alanı 1,3 – 1,85 dakikaları arasında; maksimum piki 1,51 dakikada gözlemlenmiştir (Şekil 5.17A). BKS – 2'de GC-MS'de ölçülen CO₂'in alanı 1,215 – 1,5 dakikaları arasında; maksimum piki 1,393 dakikada gözlemlenmiştir (Şekil 5.17B). BKS – 3'de GC-MS'de ölçülen CO₂'in alanı 1,17 - 1,415 dakikaları arasında; maksimum piki 1,318 dakikada gözlemlenmiştir (Şekil 5.17C).



Şekil 5.17 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerine başlangıçta verilen CO₂ konsantrasyonlarının GC-MS'de ölçülen alıkonma süreleri.

30 gün boyunca büyütülüp çoğaldıktan sonra Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerinin 30 gün sonundaki CO₂

konsantrasyonları GC-MS’de ölçümleri yapılmıştır. BKS – 1’de 30 günün sonunda GC-MS’de ölçülen CO₂’in alanı 1,2 – 1,4 dakikaları arasında; maksimum piki 1,336 dakikada gözlemlenmiştir (Şekil 5.18A). BKS – 2’de 30 günün sonunda GC-MS’de ölçülen CO₂’in alanı 1,09 – 1,39 dakikaları arasında; maksimum piki 1,316 dakikada gözlemlenmiştir (Şekil 5.18B). Son olarak BKS – 3’de 30 günün sonunda GC-MS’de ölçülen CO₂’in alanı 1,11 – 1,4 dakikaları arasında; maksimum piki 1,304 dakikada gözlemlenmiştir (Şekil 5.18C).



Şekil 5.18 Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerine verilen CO₂ konsantrasyonlarının 30 gün sonunda GC-MS’de ölçülen alıkonma süreleri.

GC-MS’de CO₂ konsantrasyonu başlangıçta 178,3 mg/L olan; BKS – 1’de CO₂ konsantrasyonları Tablo 5.19’de verilmektedir. 30 günün sonunda CO₂ konsantrasyonu ise 83,8 mg/L olarak ölçülmüştür. *S. elongatus* siyanobakterisi 1-butanol üretmek için 94,5 mg/L CO₂ kullanmıştır (Tablo 5.19). BKS – 2’de ise başlangıçtaki CO₂ konsantrasyonu 177,89 mg/L olarak ölçülmüştür (Tablo 5.19). 30 günün sonunda CO₂ konsantrasyonu ise 106,21 mg/L olarak ölçülmüştür. Bu çalışmada *S. elongatus* siyanobakterisi 1-butanol üretmek için 71,68 mg/L CO₂ kullanmıştır (Tablo 5.19). Son olarak BKS – 3’de ise GC-MS’de ölçülen CO₂ konsantrasyonu başlangıçta 154,2 mg/L’dir (Tablo 5.19). 30 günün sonunda ölçülen CO₂ konsantrasyonu 93,8 mg/L’dir. *S. elongatus* siyanobakterisi 1-butanol üretmek için 60,4 mg/L CO₂ giderebilmiştir (Tablo 5.19).

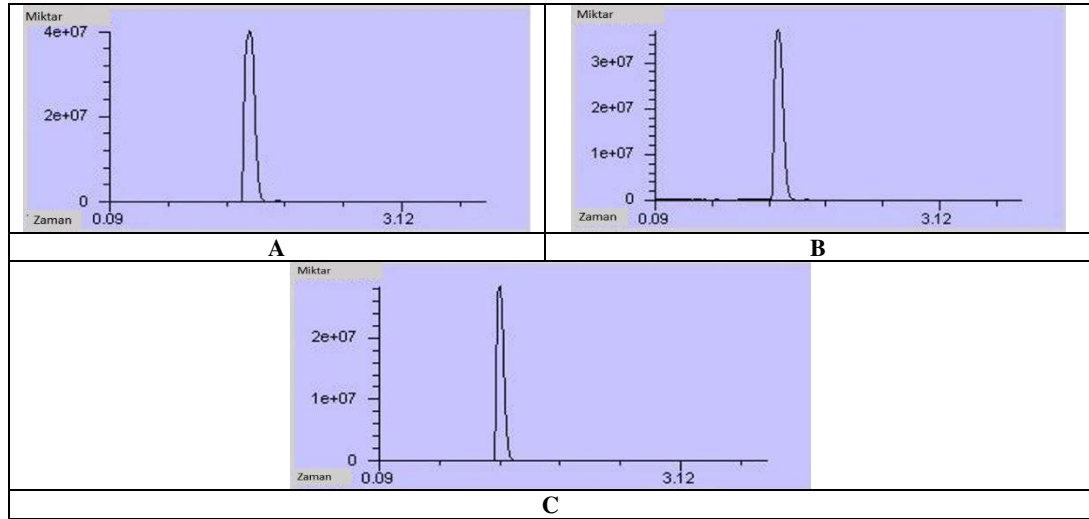
Tablo 5.19 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerine verilen CO₂ konsantrasyonlarının GC-MS’te ölçüm sonuçları

Verilen CO ₂	Başlangıçtaki CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)	30 Günün Sonundaki CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)	Giderilen CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)
% 99 saflıkta olan CO ₂ tüpünden CO ₂	178,3	83,8	94,5
CO ₂ ’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO ₂	177,89	106,21	71,68
CO ₂ ’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmadan kullanılması	154,2	93,8	60,4

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi ile yapılan çalışmalarda; 30 günün sonunda CO₂ konsantrasyonunun en çok giderildiği çalışma BKS – 1’dir. Bu çalışmada 30 günün sonunda sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* kültüründe CO₂’in 94,5 mg/L’sini giderebildikleri saptanmıştır. 30 günün sonunda sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan BKS – 2’de ise CO₂ giderimi diğer çalışmaya göre daha az olup 71,68’dir. CO₂ konsantrasyonunun en az giderildiği çalışma ise BKS – 3’tür. 30 günün sonunda sayıları 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus*, CO₂’in 60,4’ünü giderebildikleri saptanmıştır. Fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus*’un büyümelerini atmosferik havadaki değişik gaz kompozisyonuna bağlı olarak limitleyebildiği tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011). Atmosferik havadaki N₂ (% 77), NO (60–1500 mg Nm⁻³), NO₂ (2–75 mg Nm⁻³), SO₂ (0–800 mg Nm³), SO₃ (0–32 mg Nm⁻³), CxHy (0,008–0,4 mg Nm⁻³), CO (2,5–5 mg Nm⁻³) ile halojen asitler ve ağır metaller gibi çeşitli bileşikler içermektedir (Raeesossadati ve ark., 2014; Van Den Hende ve ark., 2012). Bu bileşiklerin bulunduğu atmosferik hava siyanobakterilerin büyümelerini limityebilmektedir. Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerine saflaştırılmadan verilen atmosferik havada bulunan N₂ ve olası H₂S, NH₃ gazları *S. elongatus* kültürünün büyümesinde inhibisyon oluşturarak CO₂ giderimini limitlediği saptanmıştır. Ayrıca CO₂ giderimi denizden alınan numunelere göre daha azdır. Bunun nedeni *Synechococcus* cinsi siyanobakterilerin hem deniz hem de tatlı su ortamında yaşayabildikleri ancak deniz ortamında yaşayanların % 25 daha fazla birincil üretim yapmaları olabilir (Scalan, 2002).

5.2.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* siyanobakterisine %99 Safılıkta CO₂ Tüpünden Kullanılan CO₂, CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO₂ ve CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda CO₂ Ölçümü Sonuçları

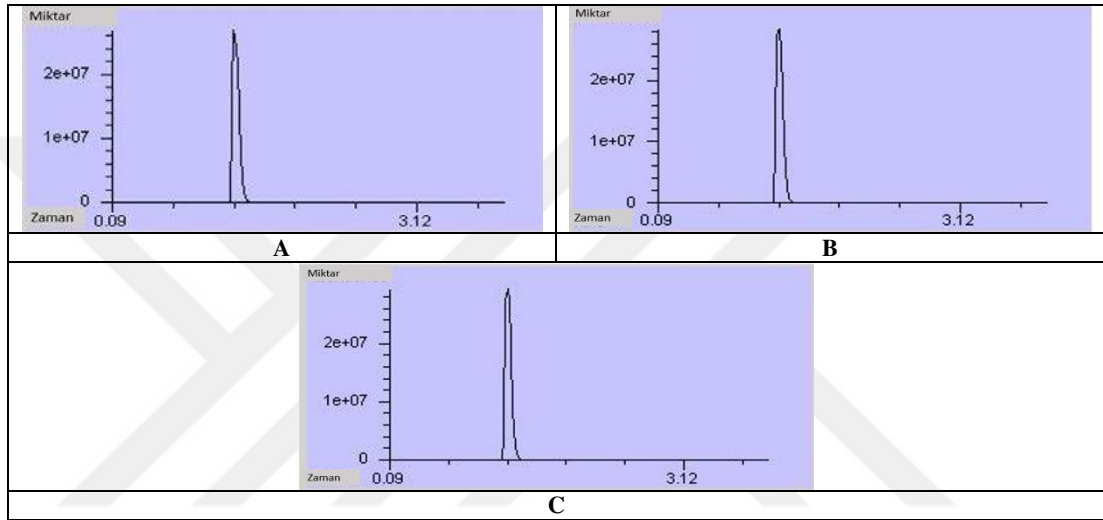
BG-11 sıvı besiyerine ekimleri yapıldıktan sonra Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* kültürlerine ayrı ayrı olarak debisi 0,083 m³/sn olan % 99 Safılıkta CO₂ tüpünden CO₂, CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmadan verilmiştir. GC-MS'de CO₂'in başlangıç konsantrasyonlarını belirlemek için ölçümleri yapılmıştır. GC-MS'de ölçülen CO₂ konsantrasyonunun alanı 1,3 – 1,7 dakikaları arasında; maksimum piki 1,498 dakikada gözlemlenen Şekil 5.19A'da gösterilen BKS – 1'dir. BKS – 2'de GC-MS'de ölçülen CO₂ konsantrasyonunun alanı 1,2 – 1,5 dakikaları arasında; maksimum piki 1,389 dakikada gözlemlenmiştir (Şekil 5.19B). Şekil 5.19C'de BKS – 3'de GC-MS'de ölçülen CO₂'in alanı 1,1 – 1,4 dakikaları arasında; maksimum piki 1,317 dakikada oluşmuştur.



Şekil 5.19 Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* kültürlerine başlangıçta verilen CO₂ konsantrasyonlarının GC-MS'de ölçülen alıkonma süreleri.

30 gün boyunca büyütülüp çoğaldıktan sonra Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* kültürlerinin CO₂ konsantrasyonlarını belirlemek için GC-MS'de

ölçümleri yapılmıştır. Şekil 5.20A'da BKS – 1'de 30 günün sonunda GC-MS'de ölçülen CO₂'in alanı 1,1 – 1,42 dakikaları arasında; maksimum piki 1,363 dakikada gözlemlenmiştir. Şekil 5.20B'de BKS – 2'de 30 gün sonunda GC-MS'de ölçülen CO₂'in alanı 1 – 1,39 dakikaları arasında; maksimum piki 1,296 dakikada gözlemlendiği gösterilmektedir. Şekil 5.20C'de BKS – 3'de 30 günün sonunda GC-MS'de ölçülen CO₂'in alanı 1,1 – 1,4 dakikaları arasında; maksimum piki 1,326 dakikada gözlemlenmiştir.



Şekil 5.20 Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* kültürlerine verilen CO₂ 30 günün sonunda GC-MS'de ölçülen alıkonma süreleri.

Başlangıçta CO₂ konsantrasyonunun GC-MS'de ölçülen değeri 177,7 mg/L olan çalışma BKS – 1'dir (Tablo 5.20). 30 günün sonunda CO₂ konsantrasyonu ise 88,48 mg/L olarak ölçülmüştür. 1-butanol üretmek için *S. elongatus* siyanobakterisi 89,22 mg/L CO₂ kullanmıştır (Tablo 5.20). BKS – 2'de ise başlangıçtaki CO₂ konsantrasyonu 177,67 mg/L olarak ölçülmüştür (Tablo 5.20). 30 günün sonunda CO₂ konsantrasyonu ise 106,77 mg/L olarak ölçülmüştür. *S. elongatus* siyanobakterisi bu çalışmada 1-butanol üretmek için 70,9 mg/L CO₂ kullanmıştır (Tablo 5.20). BKS – 3'de ise GC-MS'de ölçülen CO₂ konsantrasyonu başlangıçta 152,9 mg/L'dir (Tablo 5.20). 30 günün sonunda ölçülen CO₂ konsantrasyonu 96,1 mg/L olarak ölçülmüştür. *S. elongatus* siyanobakterisi 1-butanol üretmek için 56,8 mg/L CO₂ giderebilmiştir (Tablo 5.20).

Tablo 5.20 Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* kültürlerine verilen CO₂ konsantrasyonlarının GC-MS’te ölçüm sonuçları

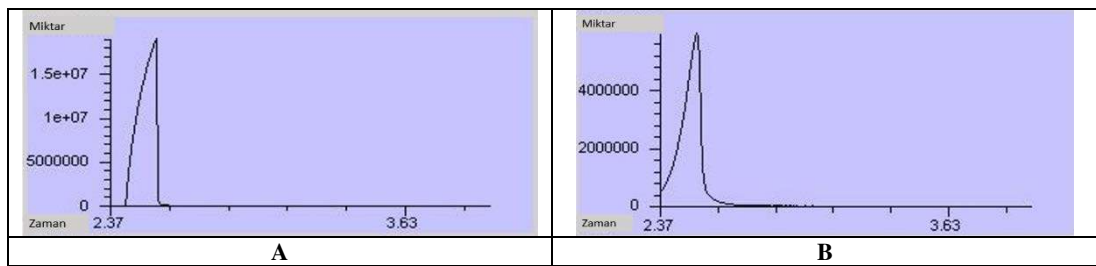
Verilen CO ₂	Başlangıçtaki CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)	30 Günün Sonundaki CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)	Giderilen CO ₂ Konsantrasyonları (mg/L)
% 99 saflıkta olan CO ₂ tüpünden CO ₂	177,7	88,48	89,22
CO ₂ ’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO ₂	177,67	106,77	70,9
CO ₂ ’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmadan kullanılması	152,9	96,1	56,8

Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi ile yapılan çalışmalarda; 30 günün sonunda CO₂ konsantrasyonunun en çok giderildiği çalışmanın BKS – 1 olduğu tespit edilmiştir. 30 günün sonunda sayıları 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* kültüründe bu çalışmada CO₂’in 89,22 mg/L’sini giderebildikleri tespit edilmiştir. BKS – 2’de ise 30 günün sonunda sayıları 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml *S. elongatus* kültüründeki CO₂ giderimi diğer çalışmaya göre daha az olup 70,9’dur. BKS – 3’te ise CO₂ konsantrasyonunun en az giderildiği çalışmadır. 30 günün sonunda sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* kültüründe CO₂’in 56,8 mg/L’sini giderebildikleri saptanmıştır. Fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* yüksek CO₂ konsantrasyonlarında daha hızlı büyüdükleri tespit edilmiştir (Murray ve ark., 1982). Atmosferdeki karbondioksit miktarı % 0.03 kadardır (Tezcan ve ark., 2011). Fu ve ark., (2007) artan sıcaklık ve CO₂ miktarlarının *Synechococcus* türleri üzerine etkilerini incelemişler ve CO₂ konsantrasyonu arttıkça gelişmelerinin de arttığını tespit etmişlerdir. Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarda da Fu ve ark. (2007), bulgularını destekler şekilde % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂ verildiği çalışmalarda *S. elongatus* siyanobakterilerinin saflaştırılmadan kullanılan atmosferik havaya oranla daha fazla CO₂ giderebildikleri tespit edilmiştir. Ayrıca CO₂ giderimi denizden alınan numunelere göre daha azdır. Çünkü *Synechococcus* cinsi siyanobakterilerden denizde yaşayan türleri CO₂’i daha iyi absorbe edebilmekte ve kullanmaktadırlar (Riebesell ve ark., 2007).

5.3 1-Butanol Ölçümü Sonuçları

5.3.1 Saf *S. elongatus* siyanobakterisinin % 99 Saflıkta CO₂ Tüpünden Kullanılan CO₂ ile ve CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO₂'in Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda 1-Butanol Ölçümü Sonuçları

Saf *S. elongatus* 'nin BG-11 sıvı besiyerine ekimleri yapıp ayrı olarak debisi 0,083 m³/sn olan % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ (Saf – 1) ile CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ (Saf – 2) verilmiştir. 30 günün sonunda 1-butanol ölçümleri iki çalışma için ayrı olarak GC-MS'te geliştirilen yöntem ile ölçülmüştür. Tüm ölçümler iki kez tekrar edilmiştir. Her bir çalışmada kültürlerdeki 1-butanol; % 0,001'lik 1-butanol standardıyla karşılaştırılarak ölçülmüştür. Şekil 5.21A'da gösterildiği gibi Saf – 1'de GC-MS'de ölçülen 1-butanol için alıkonma süresinin 2,4 - 2. 6 dakikaları arasında olduğu gözlemlenmiştir. 1-butanol konsantrasyon alanının maksimum piki 2,567 dakikada verdiği saptanmıştır. Şekil 5.21B'de GC-MS'te ölçümü yapılan Saf – 2'de 1-butanol için alıkonma süresinin 2,37 – 2,65 dakikaları arasında olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyon alanının 2,532 dakikada maksimum pik verdiği tespit edilmiştir.

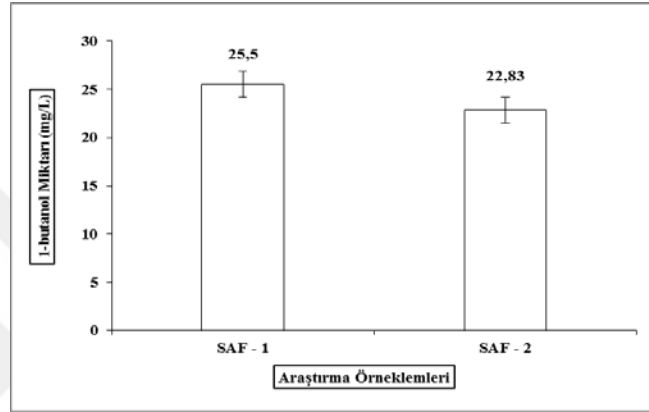


Şekil 5.21 Saf *S. elongatus* kültürlerinde 30 gün sonunda GC-MS'de ölçülen 1-butanolün alıkonma süreleri.

GC-MS'te yapılan ölçümler sonucunda Saf - 1'(A)de 1- butanol miktarı 25,5 mg/L olarak maksimum miktarda ölçülmüştür (Şekil 5.24). Bu çalışmada, 25,5 mg/l 1-butanolu üretebilmek için saf *S. elongatus* siyanobakteri sayısı 10000 *S. elongatus*

hücre sayısı/ml olduğunda (Tablo 5.20) 153 mg/L CO₂'i giderebildikleri saptanmıştır (Tablo 5.20).

Saf - 2(B)'de saf *S. elongatus*'tan elde edilen 1- butanol miktarı daha az olup 22,83 mg/L'dir (Şekil 5.22). Sayıları 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml (Tablo 5.3) olan *S. elongatus* siyanobakterileri yukarıda belirtilen seviyede 1-butanolu üretebilmek için 140 mg/L CO₂ kullanmışlardır (Tablo 5.20).



Şekil 5.22 Saf *S. elongatus* kültürlerinden üretilen 1-butanolün miktarları.

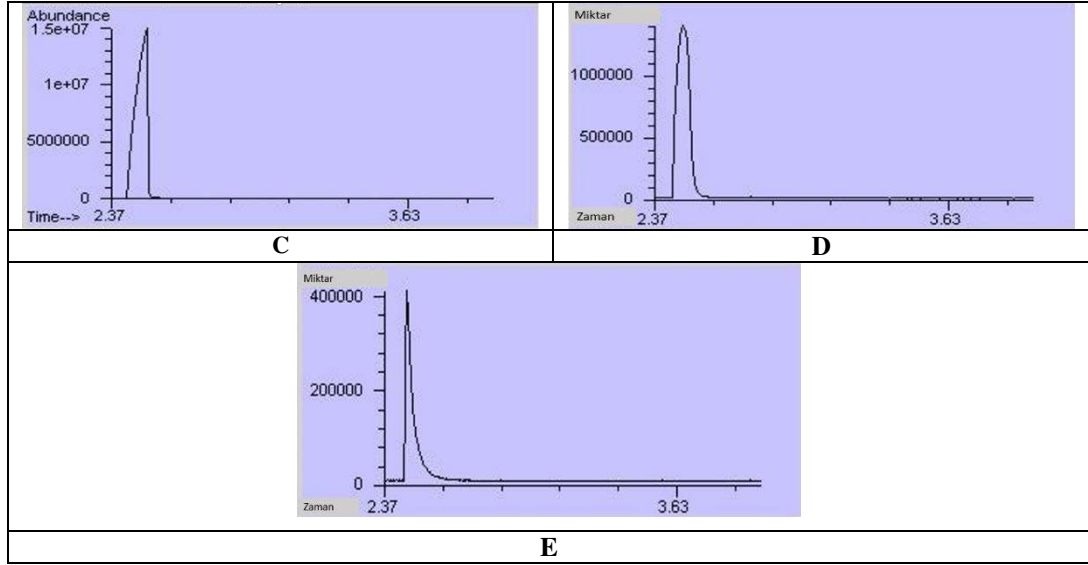
60 W'lık ışık şiddeti altında 30°C'de 30 gün boyunca büyütülen saf *S. elongatus* kültürleri kullanılarak yapılan çalışmalarda CO₂'den 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalara göre en yüksek 1-butanol miktarlarının elde edildiği çalışma Saf - 1'dir (25,5 mg/L). Lan ve Liao (2011), *S. elongatus* 'u hem karanlık hem de anoksik-karanlık ortamlarda çoğaltarak CO₂'den 1-butanol üretimini gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada karanlık ortamlarda 1-butanol miktarını 10 mg/L ve karanlık - anoksik koşullarında ise 14,5 mg/L olarak GC-MS'te ölçmüşlerdir. Lan ve Liao., (2012) yaptıkları çalışmada fotosentez yolu ile *S. elongatus* siyanobakterisini kullanarak ışık ve CO₂'den elde ettikleri butanol miktarı ise 30 mg/L'dir. Fotosentetik heterotrofik bir bakteri olan *C. acetobutylicum* kullanılarak yine NADH'n indirgenmesiyle 13,9 mg/L butanol elde edilmiştir (Choi ve ark., 2014; Jang ve ark., 2012). Bu tez kapsamında bulunan datalar literatürlerde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında; 30°C'de 60 W'lık ışık şiddeti altında pH 7.1'de 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml elde edilen saf *S. elongatus* PCC 7942 153 mg/L CO₂ kullanılarak daha yüksek 1-butanol miktarı (25,5 mg/L) elde edilmiştir

(Şekil 5.24). Bunun sebebi ise bizim çalışmamızda saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürüne % 99 saflıkta CO₂ içeren tüpten CO₂ verilmesi ve yüksek siyanobakteri sayısına (10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml) ulaşılmasıdır (Tablo 5.20).

Fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* indirgen pentoz fosfat döngüsünü müteakip (Calvin çevriminden sonra) Benson–Bassham döngüsünü kullanarak CO₂'i asimile ederek biyoyakıt olan 1-butanolu oluşturmaktadırlar. Önemli bir biyoyakıt olan 1-butanolun bir molekülünün elde edilebilmesi için fotosentezi ve Calvin–Benson döngüsünü kullanarak 48 fotona ihtiyaç duymaktadırlar (Lan ve Liao, 2011). Bu foton ihtiyacı 1-butanol eldesi için kullanılan asetil-CoA'dan bütiril-CoA sentezi metabolik yol izi ile gerçekleştirilmektedir. Bu metabolik yol izinde asetil-CoA'dan 1-butanol oluşumuna kadar beş tane enzim kullanılmaktadır. Bunlar; asetil-CoA asetiltransferaz (AtoB), 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (hbd), krotonaz (crt), trans-2-eonil redüktaz (Ter) ve iki işlevli aldehid alkol dehidrojenaz (AdhE₂)'dır (Atsumi ve ark., 2008). Bu metabolik yol izinde 2 asetil-CoA AtoB enzimi aracılığıyla asetoasetil-CoA'ya indirgenmektedir. Daha sonraki basamakta NADH'ın NAD⁺'a yükseltgenerek hbd enzimi tarafından 3-hidroksibutiril-CoA oluşmaktadır. Crt enzimi tarafından 3-hidroksibutiril-CoA krotonil-CoA'ya dönüşmektedir. Ter aktivitesiyle krotonil-CoA'nın bütiril-CoA dönüşmesi gerçekleşir ve NADPH NAD⁺'a yükseltgenir. İki işlevi olan AdhE₂ enzimi ilk olarak bütiril-CoA'nın butiraldehide dönüşmesi basamağıdır. Yine bu basamakta NADPH'ın NAD⁺'a yükseltgenmesi gerçekleşmektedir. AdhE₂ enziminin ikinci işlevi ise son basamak olan butiraldehidin 1-butanole dönüştüğü basamaktır. Bu basamakta da NADPH'ın NAD⁺'a yükseltgenmesi gerçekleşmektedir. Böylelikle istenilen 1-butanol doğrudan CO₂ ve ışıktan üretilmiş olmaktadır. *S. elongatus* siyanobakterileri tarafından CO₂'den butanol üretimine kadar gerçekleşen metabolik yol izinde kullanılan enzimlerden 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (hbd), trans-2-eonil redüktaz (Ter) ve aldehid alkol dehidrojenaz (AdhE₂) miktarları spektrofotometrede ölçülmüştür. Bu enzimlerin seviyeleri enzim ölçümleri (5.6) başlığı altında ayrıca verilmiştir.

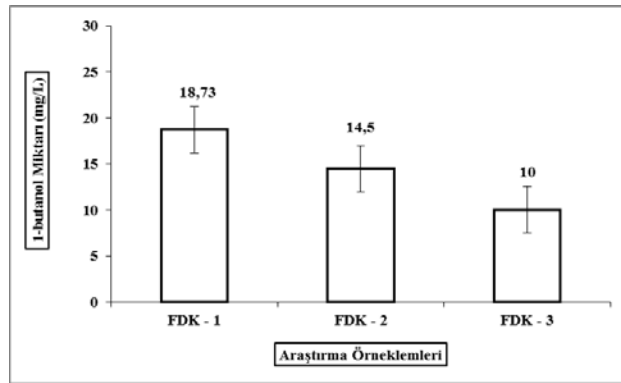
5.3.2 Foça Denizi Kıyılarından Alınan Numunelerden İzole Edilen S. elongatus siyanobakterisine % 99 Saflıkta CO₂ Tüpünden Kullanılan CO₂, CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO₂ ve CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda 1-Butanol Ölçümü Sonuçları

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürlerine ekimleri yapıldıktan sonra ayrı ayrı olarak 0,083 m³/sn debide % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ (FDK - 1), CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ (FDK - 2) ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmadan verilerek (FDK - 3) 1-butanol üretimleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.23C'de FDK – 1'de GC-MS'de ölçülen 1-butanol için alıkonma süresinin 2,4 - 2,6 dakikaları arasında olduğu gözlemlenmiştir. 1-butanol konsantrasyon alanının maksimum piki 2,521 dakikada verdiği tespit edilmiştir. Şekil 5.23D'de FDK – 2'de GC-MS'de ölçümü yapılan 1-butanol için alıkonma süresinin 2,43 – 2,622 dakikaları arasında olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyon alanının 2,483 dakikada maksimum pik verdiği saptanmıştır. Şekil 5.23E'de de gösterildiği gibi FDK – 3'de GC-MS'de ölçülen 1-butanol için bekleme süresi 2,5 – 2,65 dakikaları arasında gözlemlenmiştir. 1-butanol konsantrasyon alanının maksimum piki verdiği 2,466 dakikadır.



Şekil 5.23 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürlerinde 30 gün sonunda GC-MS’de ölçülen 1-butanolun alıkonma süreleri.

FDK - 1 (C)’de GC-MS’de yapılan ölçüm sonucunda 1-butanol miktarının 18,73 mg/L olduğu saptanmıştır (Şekil 5.24). FDK - 2 (D) ve FDK - 3 (E)’de ise diğer çalışmalara oranla 1-butanol miktarları daha düşük olarak ölçülmüştür. Bunun sebebi ise; *S. elongatus* siyanobakteri sayılarının daha az olması nedeniyle (Bölüm 5.1; Tablo 5.3). FDK - 2 (D)’de üretilen butanol miktarı 14,5 mg/L’dir (Şekil 5.24). FDK - 3 (E)’de ise üretilen 1-butanol miktarı en düşük olup 10 mg/L’dir (Şekil 5.24).



Şekil 5.24 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürlerinden üretilen 1-butanolun miktarları.

Bu tez kapsamında Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi ile yapılan çalışmalarda; en yüksek 1-butanol miktarının ölçüldüğü çalışma FDK - 1’dir. Bu çalışmada sayıları 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S.*

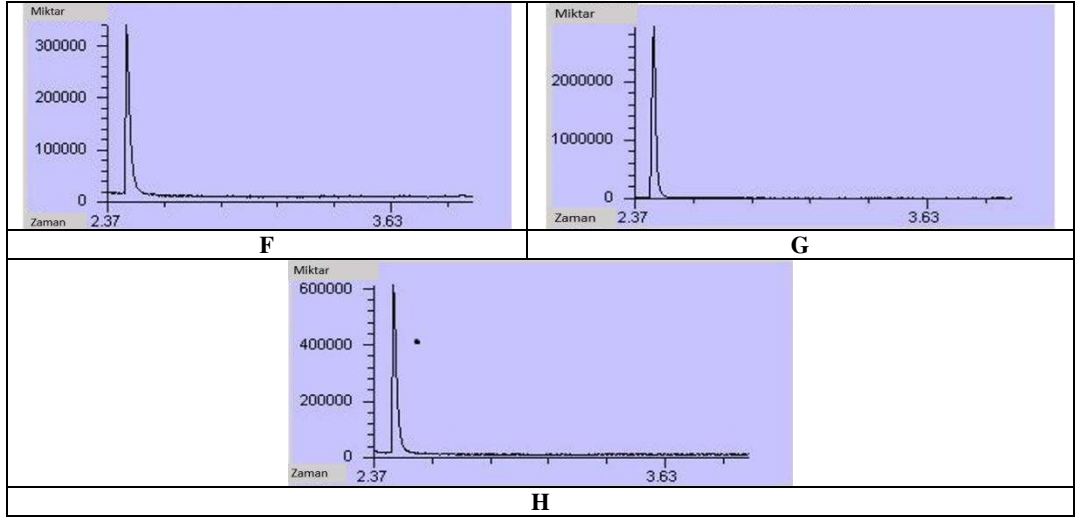
elongatus kültüründen (Bölüm 5.1 ve Tablo 5.3) 18,73 mg/L 1-butanolün elde edilmesi için 124,38 mg/L CO₂ kullanılmıştır. FDK – 2’de ise daha az konsantrasyonda 1-butanol elde edildiği gözlemlenmiştir (Şekil 5.27). Bu çalışmada 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* kültürlerinin (Bölüm 5.1 ve Tablo 5.3) 103,3 mg/L CO₂’den daha az miktarda (14,5 mg/L) 1-butanol ürettikleri saptanmıştır. Yapılan çalışmalar arasında 1-butanol üretiminin en az gerçekleştiği çalışma ise; FDK – 3’tür (Şekil 5.27). Bu çalışmadaki kültürde sayıları 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* kültürlerinin (Bölüm 5.1 ve Tablo 5.3) 84,4 mg/L CO₂’i gidererek 10 mg/L 1-butanol üretebildikleri tespit edilmiştir.

CO₂’in atmosferdeki seviyeleri son 150 yılda % 25 oranında artmış olmakta ve CO₂ yayılımını azaltmak için yeni teknolojilerin gelişmesine önemli derecede artmaya başlamıştır (Oliver ve ark., 2012). Bu teknolojiler arasında siyanobakterilerin direkt olarak CO₂’i kullanıp biyoyakıt ve bazı biyokimyasalları (karbonhidratların fermantasyonları sonucu oluşan ara ürünler) üretmektedir. Lan ve Liao (2011), göre CO₂’den üretilen biyoyakıt ve biyokimyasallar (karbonhidrat ara ürünleri) çevresel problemlerin ve enerji açığının kapanmasında önemli bir rol oynayacaktır. Siyanobakteriler CO₂ fazlalığını gidermek için biyosentetik yollarla izobütiraldehid (Atsumi ve ark., 2012), izobutanol (Atsumi ve ark., 2012), 1-butanol(Lan ve Liao, 2012), etilen (Takahama ve ark., 2003), izopren (Lindberg ve ark., 2010), aseton (Zhou ve ark., 2012), yağ asidi (Liu ve ark., 2011), yağ alkolleri (Tan ve ark., 2011) gibi çeşitli biyokimyasalları üretebilmektedirler (Oliver ve ark., 2012). Bu tez çalışması ile biyoyakıt olan 1-butanolün fotosentetik üretimi *S. elongatus* siyanobakterisi kullanılarak CO₂’den 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Maksimum CO₂ gideriminin gerçekleştiği çalışma; % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂’in kullanıldığı çalışmadır. Bu çalışmada 66,64 mg/L CO₂ giderilerek 18,73 mg/L 1-butanol elde edilmiştir (Şekil 5.27). Lan ve Liao (2011), *S. elongatus* 'u hem karanlık hem de anoksik-karanlık ortamlarda çoğaltarak CO₂’den 1-butanol elde etmişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada karanlık – anoksik ve sadece karanlık ortamlarda 1-butanol konsantrasyonunu sırasıyla 14,5 mg/L ve 10 mg/L olarak GC-MS’de ölçmüşlerdir. Lan ve Liao (2012), yaptıkları çalışmada fotosentez yolu ile *S.*

elongatus siyanobakterisini kullanarak ışık ve CO₂'den 30 mg/L 1- butanol elde etmişlerdir.

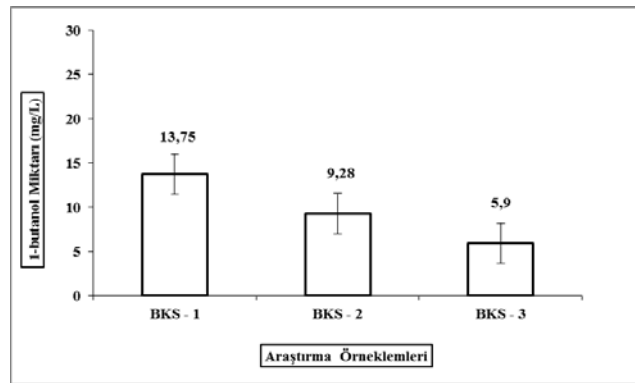
5.3.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* siyanobakterisine %99 Saflıkta CO₂ Tüpünden Kullanılan CO₂, CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO₂ ve CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda 1-Butanol Ölçümü Sonuçları

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerine ekimleri yapıldıktan sonra ayrı ayrı olarak debisi 0,083 m³/sn olan % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ (BKS - 1), CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ (BKS - 2) ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmadan verilen (BKS - 3) çalışmalarda 1-butanol üretimi gerçekleştirildi. GC-MS'de geliştirilen yöntem ile 1-butanol ölçümleri her bir çalışma için ayrı ayrı ölçülmüştür (Şekil 5.25). Her bir ölçüm iki kez tekrarlanmıştır. BKS - 1'de GC-MS'de ölçülen 1-butanol için alıkonma süresi 2,4 - 2. 55 dakikaları arasında gözlemlenmiştir (Şekil 5.25F). 1-butanol konsantrasyon alanının maksimum piki 2,454dakikada vermektedir. BKS - 2'de GC-MS'de ölçümü gerçekleştirilen 1-butanol için alıkonma süresi 2,39 - 2,5 dakikaları arasında gözlemlenmiştir (Şekil 5.25G). Bu çalışma için 1-butanol konsantrasyon alanının 2,451 dakikada maksimum pik vermektedir. Şekil 5.25H'da de gösterildiği gibi BKS - 3'te GC-MS'de ölçümü yapılan 1-butanol için alıkonma süresi 2,4 - 2,48 dakikaları arasında gözlemlenmiştir. 1-butanol konsantrasyon alanının maksimum piki verdiği 2,455 dakikadır.



Şekil 5.25 Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan *S. elongatus* kültürlerinde 30 gün sonunda GC-MS’de ölçülen 1-butanolun alıkonma süreleri.

Şekil 5.26’te Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerinden üretilen 1-butanol miktarları gösterilmektedir. BKS – 1’de GC-MS’de yapılan ölçüm sonucunda 1-butanol miktarının 13,75 mg/L olduğu saptanmıştır (Şekil 5.26). BKS - 2’de üretilen butanol miktarı biraz daha düşük olup; 9,28 mg/L olarak ölçülmüştür. 1-butanol miktarının en az bulunduğu BKS - 3’te ise üretilen 1-butanol miktarı 5,9 mg/L’dir (Şekil 5.26).



Şekil 5.26 Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerinden üretilen 1-butanolun miktarları.

Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerinden üretilen 1-butanol miktarının en yüksek ölçüldüğü çalışma BKS – 1’dir. Bu çalışmada 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml siyanobakteri sayısına sahip

olan kültürden 94,5 mg/L CO₂ giderilerek 13,75 mg/L 1-butanol elde edilmiştir. BKS - 2'de ise üretilen 1-butanol miktarı daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* kültürü 71,68 mg/L CO₂'den 9,28 mg/L 1-butanol ürettiği saptanmıştır. 1-butanol üretiminin düşük olduğu çalışma ise BKS - 3'tür. 60,4 mg/L CO₂'i giderebilen 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml siyanobakteri sayısında olan kültür 5,9 mg/L 1-butanol üretebilmiştir. CO₂ konsantrasyonu arttıkça *S. elongatus* gelişmelerinin de arttığı tespit edilmiştir (Fu ve ark., 2007).

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda üretilen maksimum 1-butanol miktarı 18,73 mg/L iken; Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda üretilen maksimum 1-butanol miktarı daha düşük olup 13,75 mg/L'dir. Bunun sebebi ise; siyanobakterilerin büyümesinde etkili olan başlıca faktörler ışık, ideal sıcaklık, pH, CO₂ ve NaCl, MgSO₄, CaCl₂, KH₂PO₄, sitrik asit ve iz elementler gibi önemli bazı besinlerin deniz ortamında bulunmasından kaynaklanmaktadır. (Parmar ve ark., 2011). Deniz suyunun kimyasal bileşenleri; % 77,4 oranında NaCl, % 10,9 oranında MgCl₂, % 4,7 MgSO₄, % 3,6 CaSO₄, % 2,5 oranında K₂SO₄, % 0,5 oranında CO₃⁻² oluşturmaktadır (Künzel, 1989; Can ve ark., 2002). Yukarıda belirtilen deniz suyu bileşenleri *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümeleri için ihtiyacı olan besin ve inorganik bileşenleri içermektedir. Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin bu sebeple sayıları daha fazla (9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml) olup; Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerine göre daha fazla 1-butanol üretebildikleri saptanmıştır.

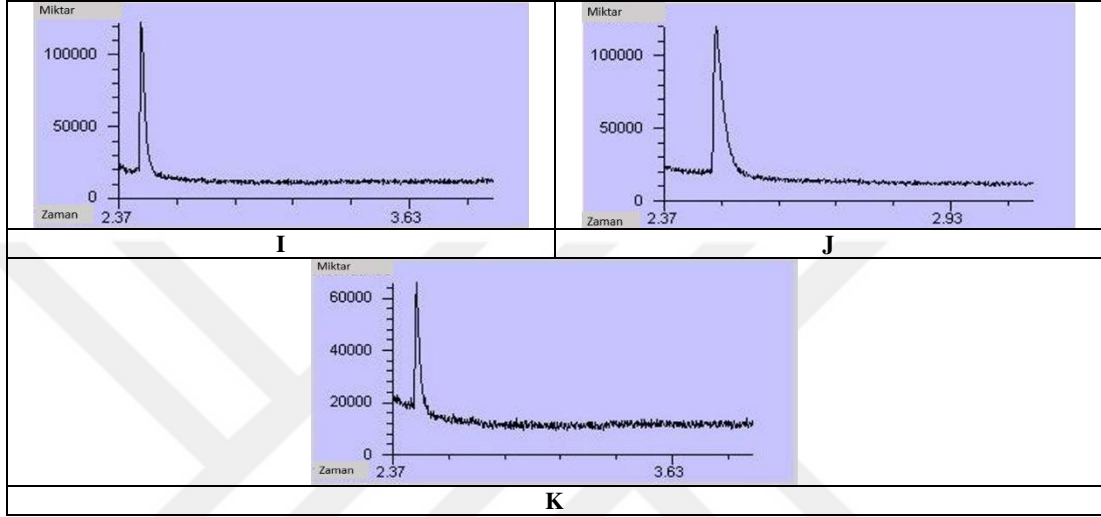
Yenilenebilir bir enerji kaynağı olan 1-butanolun elde edilebilmesi için iki metabolik yol izi vardır. Bunlar; koenzim-A (CoA) bağımlı olan (Papoutsakis ve ark., 2008; Ezeji ve ark., 2007) ve keto-asit (Atsumi ve ark., 2008; Atsumi ve ark., 2008; Shen ve ark., 2008) metabolik yoludur (Lan ve Liao, 2012). Bu tez çalışmasında *S. elongatus* siyanobakterisinin Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edildiği çalışmalarda CoA'ya bağımlı metabolik yol izinden 1-butanol elde edilmiştir. Bu metabolik yol izinde saptanan 3-hidroksibutiril-CoA

dehidrojenaz (hbd), trans-2-enoil-CoA redüktaz (Ter) ve aldehid/alkol dehidrojenaz (AdhE₂) enzimleri (Bölüm 5.6) bunu kanıtlamaktadır. Bu çalışmalar arasında maksimum elde edilen 1-butanol miktarı % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ kullanıldığı çalışma olup; 13,75 mg/L'dir. Literatüre göre 1-butanol üretimi yapılan çalışmalarda; sadece Lan ve Liao (2011), ve Lan ve Liao (2012), 'de *S. elongatus* siyanobakterisini kullanarak CoA'ya bağımlı metabolik yol izinden CO₂'i kullanarak 1-butanol elde etmişlerdir (karanlık – anoksik koşullarda; 14,5 mg/L, karanlık koşullarda 10 mg/L ve ışıklı ortamlarda 30 mg/L). Diğer mikroorganizmalar ile yapılan 1-butanol üretim çalışmalarında ise; *E. coli* bakterisine Bcd ve thl genlerini transfer ederek anaerobik koşullarda 13,9 mg/L (Atsumi ve ark., 2007), *S. cerevisiae* bakterisi CoA bağımlı metabolik yol izi ile 2,5 mg/L (Steen ve ark. 2008), *Lactobacillus brevis* bakterisi CoA bağımlı metabolik yol izi glukozdan ile 300 mg/L (Berezina ve ark., 2010), *P. putida* bakterisi CoA bağımlı metabolik yol izi ile 120 mg/L (Nielsen ve ark., 2009) ve *B. subtilis* bakterisi CoA bağımlı metabolik yol izi ile 24 mg/L (Nielsen ve ark., 2009) 1-butanol elde etmişlerdir.

5.3.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* siyanobakterisine % 99 Saflıkta CO₂ Tüpünden Kullanılan CO₂, CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmış CO₂ ve CO₂'ce Zengin Kirli Bölgelerde Havadan Yakalanıp Saflaştırılmadan Kullanılması İle Yapılan Çalışmalarda 1-Butanol Ölçümü Sonuçları

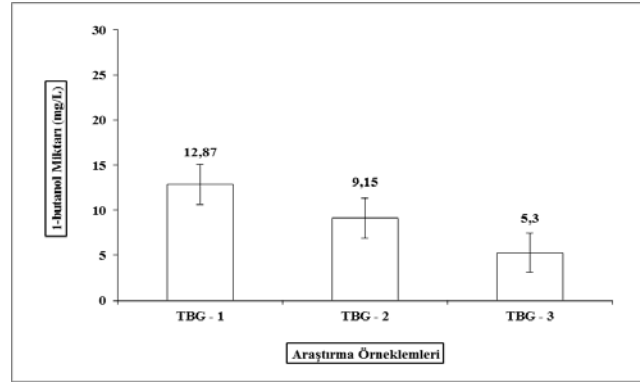
BG-11 sıvı besiyerine ekimleri yapılan Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürlerine ayrı ayrı olarak debisi 0,083 m³/sn olan % 99 Saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ (TBG - 1), CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ (TBG - 2) ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmadan verilen (TBG - 3) çalışmalarda 1-butanol üretimi gerçekleştirildi. Her bir çalışma için GC-MS'de geliştirilen yöntem ile 1-butanol ölçümleri ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir (Şekil 529). TBG – 1'de GC-MS'de ölçümü yapılan 1-butanolun alıkonma süresi 2,38 - 2. 52 dakikaları arasında gözlemlenmiştir (Şekil 5.27.I). 1-butanol konsantrasyon alanının maksimum piki 2,469 dakikada verdiği saptanmıştır. TBG – 2'de GC-MS'de ölçülen 1-butanolun alıkonma süresi

2,4 – 2,5 dakikaları arasında gözlemlenmiştir (Şekil 5.27.J). 1-butanol konsantrasyon alanının bu çalışma için 2,472 dakikada maksimum pik verdiği tespit edilmiştir. TBG – 3’de GC-MS’de ölçümü gerçekleştirilen 1-butanolun alıkonma süresi 2,38 – 2,5 dakikaları arasında gözlemlenmiştir (Şekil 5.27.K). 1-butanol konsantrasyon alanının maksimum piki 2,476 dakikada vermektedir.



Şekil 5.27 Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* kültürlerinde 30 gün sonunda GC-MS’de ölçülen 1-butanolun alıkonma süreleri.

Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürleri ile yapılan çalışmada elde edilen 1-butanol miktarları Şekil 5.28’da gösterilmektedir. TBG – 1’de üretilen 1-butanol miktarı 12,87 mg/L olarak ölçülmüştür (Şekil 5.28). 1-butanol miktarı 9,15 mg/L olarak ölçülen çalışma ise TBG – 2’dir (Şekil 5.28). Son olarak TBG - 3’de 1-butanol miktarı en düşük miktarda; 5,3 mg/L olarak ölçülmüştür (Şekil 5.28).



Şekil 5.28 Tahtalı Baraj Gölünden izole edilen *S. elongatus* kültürlerinden üretilen 1-butanolün miktarları.

Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürleri ile yapılan çalışmalarda Şekil 5.30'da da görüldüğü üzere 1-butanolün en yüksek üretebildiği çalışma % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂'in kullanıldığı çalışmadır. Bu çalışmada 12,87 mg/L 1-butanolün üretimi için 89,22 mg/L CO₂ kullanan *S. elongatus* kültüründeki siyanobakteri sayısı 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol miktarının daha düşük olduğu çalışma ise TBG - 2'dur. 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml siyanobakteri sayısına sahip olan kültür 70,9 mg/L CO₂'den 9,15 mg/L 1-butanol elde edebildiği saptanmıştır. Son olarak 1-butanolün en az üretiminin gerçekleştiği çalışma ise TBG - 3'dir. Siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan kültürden 56,8 mg/L CO₂ giderimi gerçekleştirilerek üretilen 1-butanol miktarı 5,3 mg/L olup; daha düşüktür. Atmosferik havanın fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* 'un büyümelerini kısıtladığı saptanmıştır (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011). Atmosferdeki hava N₂, O₂ yanında NH₃, H₂S, NO, NO₂, SO₂, CO, bazı halojen asitler ve ağır metalleri gibi 142 farklı bileşiği içermektedir (Raesossadati ve ark., 2014; Van Den Hende ve ark., 2012). Bu atmosferik havada bulunan N₂ ve olası H₂S, NH₃ gazları Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerine CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmadan verilen çalışmada büyümelerini engelleyerek CO₂ giderimini de limitlemektedir. Ayrıca Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürleri ile yapılan bütün çalışmalarda daha yüksek miktarlarda 1-butanol elde edildiği tespit edilmiştir. Denizden izole edilen siyanobakteriler daha iyi gelişim göstermektedir (Parma ve ark., 2011). Denizde

bulunan besin bileşenleri ile *S. elongatus* siyanobakterisinin büyüme ortamının besin bileşenlerine yakın olup; % 99 oranında çözünmüş tuz iyon ve atom gruplarını (Na^+ , Cl^- , Mg^{+2} , K^+ , SO_4^{-2} , Ca^{+2}) içermektedir (Matsunaga ve ark., 2005).

Bu tez kapsamından CO_2 'den 1-butanol üretiminde yapılan tüm çalışmalar arasında maksimum 1-butanol miktarı saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine % 99 saflıkta olan CO_2 tüpünden CO_2 verildiği çalışmadır (25,5 mg/L). Bu çalışmada 1-butanol üretimi 60 W'lık ve 153 mg/L miktarda CO_2 ile gerçekleştirilmiştir. Lan ve Liao (2011), *S. elongatus* PCC 7942'ü karanlık ortamlarda ürettiklerinde 1-butanol miktarını 10 mg/L; karanlık – anoksik koşullarında ise 14,5 mg/L olarak bulmuşlardır. Bu tez çalışmasında ise; 60 W'lık ışık şiddeti altında üretilen 1-butanol miktarı Lan ve Liao (2011), yaptığı çalışmaya göre daha fazla olup 25,5 mg/L'dir. Lan ve Liao (2012), yaptıkları diğer bir çalışmada ise fotosentez yolu ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisini kullanarak ışık ve CO_2 'den elde ettikleri butanol miktarı ise 30 mg/L'dir. Lan ve Liao (2011), 1-butanol konsantrasyonunu maksimize etmek için *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin CoA'ya bağımlı metabolik yol izinde bulunan enzimlerin aktivitelerini plazmit transfer ederek arttırmışlardır. Lan ve Liao (2012), yaptıkları çalışmada elde edilen 1-butanol seviyesi 30 mg/L olup bu tez çalışmasında elde edilen 1-butanol seviyesine (25,5 mg/L) yakındır ancak plazmit ilavesi gerçekleştirilmediği için daha düşüktür. Bu yüksek lisans tez çalışmasında plazmit ilavesinin 1-butanol üretimine etkileri Bölüm 4'te 5.6 başlığı altında verilmektedir. Bir başka çalışmada ise *C. acetobutylicum* bakterisi CO_2 'i kullanarak CoA-bağımlı metabolik yol izinde NADH'nın indirgenmesi ile 13,9 mg/L butanol elde edilmiştir (Choi ve ark., 2014; Jang ve ark., 2012). CoA-bağımlı metabolik yol izi ile CO_2 'den 1-butanol üretimi gerçekleştirilen diğer çalışmalar ise; Steen ve ark. (2008) *S. cerevisiae* bakterisini kullanarak 2,5 mg/L, Berezina ve ark. (2010) *L. brevis* bakterisinden 300 mg/L, Nielsen ve ark. (2009) *P. putida* bakterisini kullanarak 120 mg/L ve *B. subtilis* bakterisini kullanarak 24 mg/L 1-butanol elde etmişlerdir (Lan ve Liao, 2011).

5.4 CO₂'den 1-butanol Üretim Verimleri

Bu tez kapsamında yapılan tüm çalışmalarda CO₂'den elde edilen 1-butanol konsantrasyonlarının verim hesaplamaları (5.1)'da verilen formül ile verim yüzdeleri ise (5.2)'de verilen formül ile gerçekleştirilmiştir. Hesaplamalarda teorik 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} değeri ise 0,25'dir (Ramachandriya ve ark., 2013).

$$\text{Verim (V)} = \frac{\text{1-butanol}_{\text{üretilen}}}{\text{CO}_2 \text{ kullanılan}} \quad (5.1)$$

$$\% \text{ Verim (\% V)} = \frac{\text{1-butanol}_{\text{üretilen}}/\text{CO}_2\text{kullanılan}}{\text{Teorik 1-butanol}/\text{CO}_2\text{kullanılan}} \times 100 \quad (5.2)$$

Tablo 5.21'de gösterildiği gibi tüm çalışmalara arasında en yüksek verim Saf – 1'de elde edilmiştir. Bu çalışmada 153 mg/L CO₂'den 25,5 mg/L 1-butanol üretiminde % 66,6 verim elde edilmiştir (Tablo 5.21). Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürüne Saf – 2'de ise 140 mg/L CO₂'den 22,83 mg/L 1-butanol elde edilmiş ve yüzde verim % 65,2 olarak hesaplanmıştır (Tablo 5.21). FDK – 1'de ise 18,73 mg/L 1-butanol elde edilen çalışmada 124,38 mg/L CO₂ giderilerek % 60 verim elde edilmiştir (Tablo 5.21). FDK – 2'de ise verim % 56 elde edilmiştir (Tablo 5.21). Bu çalışmada 103,3 mg/L CO₂'ten 14,5 mg/L 1-butanol elde edilmiştir. FDK – 3'te verim % 47 olarak hesaplanmıştır (Tablo 5.21). 84,8 mg/L CO₂'in giderildiği bu çalışmada 10 mg/L 1-butanol elde edilmiştir. BKS – 1'de 94,5 mg/L CO₂'den 13,75 mg/L 1-butanol üretiminde % 58 verim elde edilmiştir (Tablo 5.21). BKS – 2'de ise verim % 51,8 olarak hesaplanmıştır (Tablo 5.21). 9,28 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmada ise 71,68 mg/L CO₂ giderilmiştir. BKS – 3'de 60,4 mg/L CO₂ giderilerek 5,9 mg/L 1-butanol üretiminde verim % 39 olarak hesaplanmıştır (Tablo 5.21). TBG – 1'de verim % 57,7 olarak elde edilmiştir (Tablo 5.21). 12,87 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmada 89,22 mg/L CO₂ giderilmiştir. TBG – 2'de % 51,6 verim elde edildiği saptanmıştır (Tablo 5.21). 70,9 mg/L CO₂ giderilen bu çalışmada 9,15 mg/L 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiştir. TBG – 3'de 56,8 mg/L CO₂'den 5,3 mg/L 1-butanol elde edilerek % 37,3 verim elde edilmiştir (Tablo 5.21).

Tablo 5.21 CO₂'ten 1-butanol üretim verimleri.

Araştırma Örneklemeleri	Giderilen CO ₂ (mg/L)	Üretilen 1-butanol (mg/L)	Verim	% Verim
Saf – 1	153	25,5	0,167	66,6
Saf – 2	140	22,83	0,16	65,2
FDK – 1	124,38	18,73	0,15	60
FDK – 2	103,3	14,5	0,14	56
FDK – 3	84,8	10	0,11	47
BKS – 1	94,5	13,75	0,14	58
BKS – 2	71,68	9,28	0,12	51,8
BKS – 3	60,4	5,9	0,09	39
TBG – 1	89,22	12,87	0,14	57,7
TBG -2	70,9	9,15	0,12	51,6
TBG - 3	56,8	5,3	0,09	37,3

Bu tez kapsamında yapılan tüm çalışmalarda elde edilen en yüksek verim Saf – 1 çalışmasıdır (% 66,6). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisini kullanarak CO₂'den 30 mg/L 1-butanol elde ederek Lan ve Liao (2012), maksimum % 70 verim elde etmişlerdir (Shen ve ark., 2011). Yapılan bütün çalışmalar arasından en düşük verim TBG – 3'de elde edilmiştir (% 37,3). Bu çalışmada atmosferden yakalanan kirli hava saflaştırılmadan direkt olarak *S. elongatus* kültürlerine verildiğinden havada bulunan daha az orandaki CO₂'i daha az oranda (56,8 mg/L) kullanarak düşük miktarda 1-butanol (5,3 mg/L) elde etmişlerdir. Atmosferdeki hava N₂, O₂ yanında NH₃, H₂S, NO, NO₂, SO₂, CO, bazı halojen asitler ve ağır metalleri gibi 142 farklı bileşiği içermektedir (Raeesossadati ve ark., 2014; Van Den Hende ve ark., 2012). Saflaştırılmadan kullanılan atmosferik havada bulunan N₂ ve olası H₂S, NH₃ gazları Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin büyümelerini limitleyerek 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verim değerini düşürdüğü saptanmıştır. 1-butanol üretimini *C. carboxidivorans* bakterisi ile gerçekleştiren Ramachandriya ve ark. (2013), 18,85 mmol CO₂ kullanarak 0,45 gL⁻¹ 1-butanol üreterek 0,04 verim ve % 14,19 yüzde verim elde etmişlerdir.

Calvin-Benson-Bassham döngüsü ile 1 mol 1-butanolun üretmek için 6 mol CO₂ gereklidir. Bu CO₂ miktarı 1-butanol üretimi için gerekli olan gliseraldehit-3-fosfat (G3P) ve NAD(P)H'in sayıları ile hesaplanmaktadır. 6 mol NADPH için 3 mol CO₂'ten 1 mol G3P eldesi gerekmektedir. Sonuç olarak 1 mol 1-butanol üretmek için 2 mol G3P gerek duyulmaktadır. Böylelikle 1-butanolun 1 molünü üretmek için 6 mol CO₂ gereklidir (Lan ve Liao, 2011). Bu yüksek lisans tez kapsamında *S.*

elongatus siyanobakterisi ile CO₂'ten 1-butanol çalışmalarda Calvin-Benson-Bassham döngüsü ile 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Yukarda belirtilen şekilde; bu tez çalışmasında da 1 mol 1-butanolun üretmek için tüm çalışmalarda *S. elongatus* siyanobakterilerinin 6 mol CO₂ kullandıkları saptanmıştır.

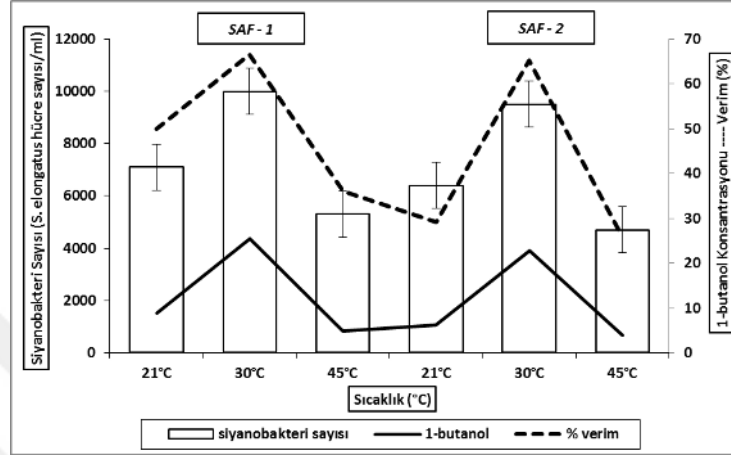
5.5 Çevresel Faktörlerin *S. elongatus* Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

5.5.1 Sıcaklığın Etkisinin Sonuçları

5.5.1.1 Saf *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Sıcaklığın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

BG-11 sıvı besiyerinde 30 gün boyunca ayrı ayrı 21°C, 30°C ve 45°C'de büyütülen saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin her bir çalışmada sıcaklığın etkileri incelenmiştir. Şekil 5.29'de verilen grafikte artan sıcaklık değerlerine göre *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinde siyanobakteri sayıları, elde edilen 1-butanol konsantrasyonları ve $\frac{1\text{-butanol}_{\text{üretilen}}}{\text{CO}_{2\text{kullanılan}}}$ verimleri gösterilmektedir. Saf – 1'de 21°C'de minimum değerde olan siyanobakteri sayıları 7100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'den üretilen 1-butanol konsantrasyonu 8,9 mg/L ve $\frac{1\text{-butanol}_{\text{üretilen}}}{\text{CO}_{2\text{kullanılan}}}$ verimi % 50 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.29). 30°C'de Saf – 1'de siyanobakteri sayılarının 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye arttığı, 1-butanol konsantrasyonunun 25,5 mg/L ve $\frac{1\text{-butanol}_{\text{üretilen}}}{\text{CO}_{2\text{kullanılan}}}$ veriminin % 66,6 olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.29). Saf – 1 için son olarak 45°C'e artan sıcaklıkta ise siyanobakteri sayılarının 5300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşerek; üretilen 1-butanol konsantrasyonu 4,9 mg/L ve $\frac{1\text{-butanol}_{\text{üretilen}}}{\text{CO}_{2\text{kullanılan}}}$ verimi % 36 elde edilmiştir (Şekil 5.29). Saf – 2'de ise 21°C'de siyanobakteri sayılarının 6400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 6,2 mg/L ve $\frac{1\text{-butanol}_{\text{üretilen}}}{\text{CO}_{2\text{kullanılan}}}$ verimi % 29,2 elde edildiği tespit edilmiştir (Şekil 5.29). Saf – 2'de 30°C'de 30 gün boyunca büyütülen saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayılarının maksimum değerde olup; 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışma ile 22,83 mg/L 1-butanol üretimi ve 1-

butanol_{üretile}n/ CO_2 _{kullanılan} verimi % 65,2 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.29). 45°C’de Saf - 2’de siyanobakteri sayılarının 4700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye, 1-butanol konsantrasyonunun 3,9 mg/L’ye ve 1-butanol_{üretile}n/ CO_2 _{kullanılan} veriminin % 26’a düştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 5.29).



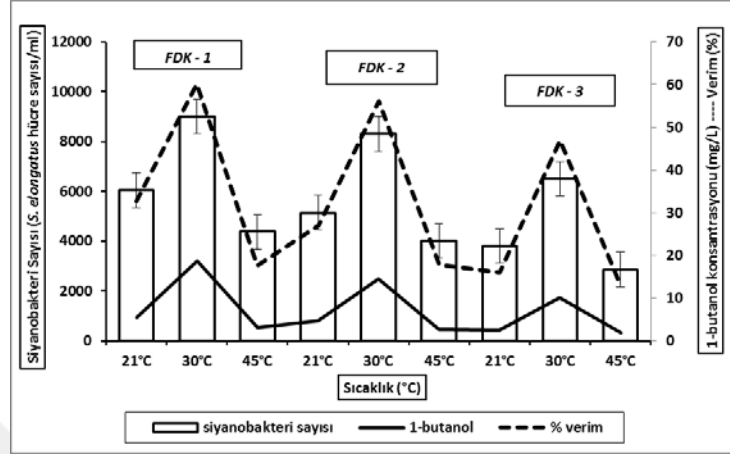
Şekil 5.29 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda sıcaklığın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO_2 'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisi üzerine sıcaklığın etkisinin incelendiği çalışmalar arasında en iyi sonucun 30°C’de olduğu gözlemlenmiştir. 21°C ve 45°C sıcaklıkları *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin büyümeleri üzerine olumsuz yönde etkilemiş olup üretilen 1-butanol konsantrasyonlarının ve verimlerin düşük olduğu tespit edilmiştir. Genellikle artan sıcaklıklarla alglerin büyüme oranları da optimum sıcaklığa erişene kadar artmaya devam etmektedir. Her bir mikro alg türü için sıcaklık CO_2 yakalamasına, besinleri tutmasına ve hücresel kimyasal bileşenlerini fazlasıyla etkilemektedir (Kuan ve ark., 2015). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisini içeren birçok çalışmada 30°C’de sabit bir sıcaklıkta kültüre edilmiştir (Kajiwara ve ark., 1997). Ancak sıcaklığın *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisi üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar kısıtlıdır.

5.5.1.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Sıcaklığın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

30 gün boyunca BG-11 sıvı besiyerinde ayrı ayrı 21°C, 30°C ve 45°C'de büyütülen Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin her bir çalışmada artan sıcaklığın etkileri incelenmiştir. Şekil 5.30'da verilen grafikte değişen sıcaklık değerlerine göre *S. elongatus* kültürlerinde siyanobakteri sayıları, elde edilen 1-butanol konsantrasyonları ve CO₂kullanılan/1-butanolüretilen verimleri gösterilmektedir. FDK – 1'de 21°C'de siyanobakteri sayılarının 6000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, üretilen 1-butanol 5,4 mg/L ve % 32,7 olan 1-butanolüretilen/CO₂kullanılan veriminin minimum değerinde elde edilmiştir (Şekil 5.30). 30°C'de siyanobakteri sayıları yükselerek 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml FDK – 1'de 18,73 mg/L 1-butanol üretimi ve % 60'a artan 1-butanolüretilen/CO₂kullanılan veriminin olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.30). 45°C'de ise siyanobakteri sayılarının 4300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düştüğü; 1-butanol konsantrasyonu 3,05 mg/L ve 1-butanolüretilen/CO₂kullanılan verimi % 17,6 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.30). FDK – 2'de 21°C'de siyanobakteri sayılarının 5100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonunun 4,6 mg/L ve 1-butanolüretilen/CO₂kullanılan verimin % 27 olduğu gözlenmiştir. 30°C'de sayıları artan FDK - 2'deki *S. elongatus* siyanobakterileri 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşmış olup; 1-butanol konsantrasyonu 14,5 mg/L ve 1-butanolüretilen/CO₂kullanılan verimi % 56'a yükselmiştir (Şekil 5.30). FDK - 2'de 45°C'de siyanobakteri sayıları 4000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüş olup; 1-butanol konsantrasyonu 2,8 mg/L ve 1-butanolüretilen/CO₂kullanılan verimi % 17,8'e azalmıştır (Şekil 5.30). FDK – 3'de 21°C'de siyanobakteri sayıları minimumda olup; 3800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 2,5 mg/L ve 1-butanolüretilen/CO₂kullanılan verimi % 15,9'dur (Şekil 5.30). 30°C'de *S. elongatus* siyanobakterilerinin sayıları 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artarak; 10 mg/L 1-butanol üretimi ve % 47 olan 1-butanolüretilen/CO₂kullanılan verimi elde edilmiştir (Şekil 5.30). Son olarak 45°C'de ise siyanobakteri sayılarının 2800 *S. elongatus* hücre

sayısı/ml, 1,9 mg/L 1-butanol konsantrasyonunun ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} veriminin % 13 elde edildiği gözlemlenmiştir (Şekil 5.30).



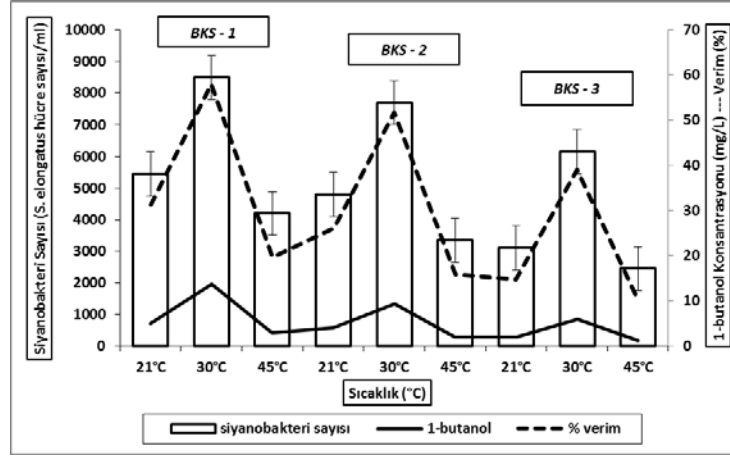
Şekil 5.30 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda sıcaklığın siyanobakteri Sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri Üzerine etkilerinin sonuçları

Sıcaklığın Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi üzerine etkisinin incelendiği çalışmalar arasında en iyi sonucun yine saf *S. elongatus* siyanobakterisi ile yapılan çalışmalara benzer şekilde 30°C sıcaklıkta olduğu tespit edilmiştir. 21°C (düşük) ve 45°C (yüksek) sıcaklıkları *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümeleri üzerine olumsuz yönde etkilemiş olup üretilen 1-butanol konsantrasyonlarının ve verimlerin 30°C'de büyütülen *S. elongatus* kültürlerine göre oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir.

5.5.1.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Sıcaklığın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

İzmir'in ilçesi olan Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* siyanobakterileri 30 gün boyunca ayrı ayrı 21°C, 30°C ve 45°C'de büyütüldükten sonra her bir çalışmada sıcaklığın büyümelerine, 1-butanol üretimlerine ve CO₂_{kullanılan}/1-butanol_{üretilen} verimlerine olan etkileri incelenmiştir.

BKS – 1’de 21°C’de siyanobakteri sayıları 5400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; 5,1 mg/L 1-butanol üretimi ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 31,4 olarak elde edildiği Şekil 5.31’de verilen grafikte gösterilmektedir. BKS – 1’de 30°C’e çıkarılan sıcaklıkta büyütülen *S. elongatus* siyanobakteri sayılarının 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye artmış ve 1-butanol konsantrasyonu 13,75 mg/L ile 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi ise % 58 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.31). 45°C’de ise siyanobakteri sayıları azalarak 4200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye ulaşmıştır. 1-butanol konsantrasyonu 2,9 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} veriminin % 19,7 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.31). BKS – 2’de 21°C olan düşük sıcaklıkta siyanobakteri sayılarının minimum değer olan 4800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 4 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 26 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.31). 30°C’de BKS – 2’de siyanobakteri sayılarının 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonunun 9,28 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimin % 51,8’e yükselmiştir (Şekil 5.31). 45°C’de ise siyanobakteri sayıları düşerek 3300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olduğu BKS - 2’de; 2,1 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 15,9 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.31). BKS – 3’de ise 21°C’de siyanobakteri sayıları 3100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* ’den 2,05 mg/L 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiş olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 14,7 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.31). 30 °C’e artan sıcaklıkta siyanobakteri sayılarının 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml BKS - 3’te ise üretilen 1-butanol konsantrasyonu 5,9 mg/L olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 39’dur (Şekil 5.31). Son olarak BKS - 3’te 45 °C’de büyütülen *S. elongatus* siyanobakteri sayıları 2400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüş; 1-butanol konsantrasyonu 1,3 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} veriminin % 10 değerlerinde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.31).



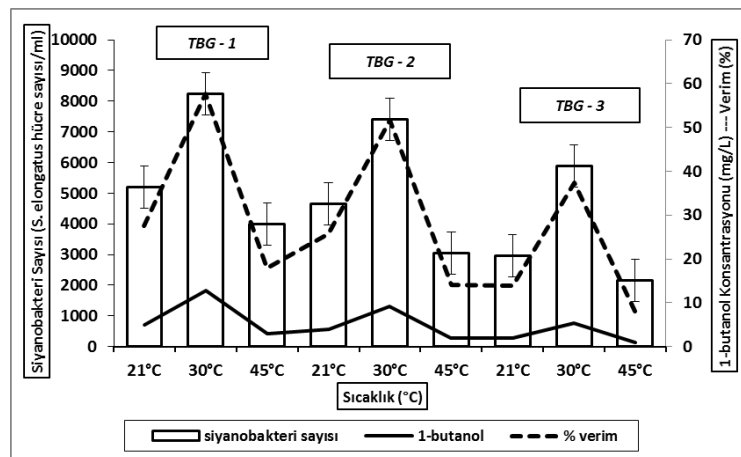
Şekil 5.31 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda sıcaklığın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi üzerine sıcaklığın etkisinin incelendiği çalışmalar arasında en iyi sonucun yapılan diğer çalışmalara benzer şekilde 30 °C sıcaklıkta olduğu tespit edilmiştir. 30°C'de büyütülen *S. elongatus* kültürlerine göre 21°C ve 45°C sıcaklıklarında büyütülen *S. elongatus* kültürlerinde siyanobakteri büyümeleri üzerine olumsuz yönde etkilemiş olup üretilen 1-butanol konsantrasyonlarının ve verimlerin oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir.

5.5.1.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalara da Sıcaklığın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda artan sıcaklık derecelerinin (21°C, 30°C ve 45°C) etkisi Şekil 5.32'de grafik ile gösterilmektedir. 21°C'de siyanobakteri sayılarının 5200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan TBG – 1'de; 5 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 27,5 elde edilmiştir (Şekil 5.32). TBG – 1'de 30°C'e artan sıcaklıkta siyanobakteri sayılarının da arttığı gözlemlenmiş olup; 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu

12,87 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 57,7'dir (Şekil 5.32). 45°C'de ise siyanobakteri sayılarının 4000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye, 1-butanol konsantrasyonunun 2,85 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} veriminin % 18'e düştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 5.32). TBG - 2 ise 21°C'de siyanobakteri sayıları 4600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, elde edilen 1-butanol konsantrasyonu minimum değerde olup; 3,87 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 25,7 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.32). 30°C'e çıkarılan sıcaklıkta büyütülen siyanobakteri sayılarının maksimum değerinde; 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml; olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada 9,15 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,6 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.32). 45°C'de ise siyanobakteri sayıları 3000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüş olup; 1-butanol konsantrasyonu 2,02 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 14'dür (Şekil 5.32). TBG - 3'de 21°C'de siyanobakteri sayılarının 2900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 2 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 13,9 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.32). 30°C'de siyanobakteri sayılarının 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml artmış olan TBG - 3'de 5,3 mg/L 1-butanol elde edilerek; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 37,3 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.32). Son olarak 45°C'de ise 1 mg/L 1-butanol elde edilen TBG - 3'de siyanobakteri sayılarının 2100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 8'dir (Şekil 5.32).



Şekil 5.32 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda sıcaklığın siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Sıcaklığın Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi üzerine etkisinin incelendiği çalışmalar arasında 21°C ve 45°C sıcaklıkları *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümeleri üzerine olumsuz yönde etkilemiş olduğu tespit edilmiştir. 30°C sıcaklıkta üretilen *S. elongatus* kültürlerinden diğer sıcaklıklara (21°C ve 45°C) göre en yüksek değerlerde 1-butanol konsantrasyonlarının ve verimlerin elde edilmiştir.

5.5.2 Işık Şiddetinin Etkisinin Sonuçları

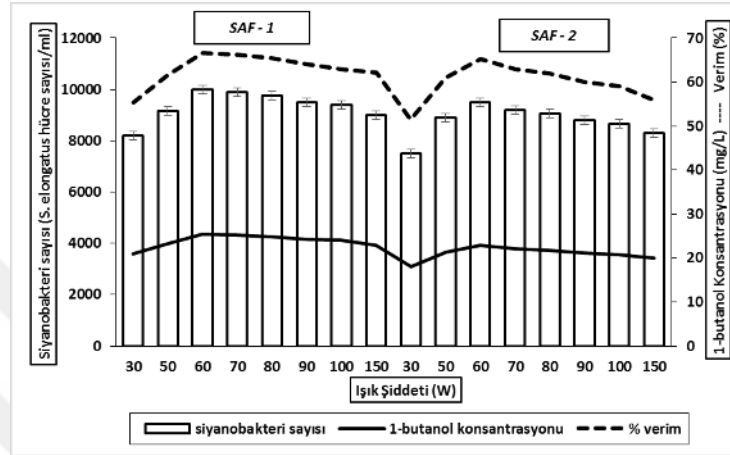
5.5.2.1 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Işık Şiddetinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Bu çalışmada saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin BG-11 sıvı besiyerine ekimleri yapıldıktan sonra 30 gün boyunca ayrı ayrı 30 W, 50 W, 60 W, 70 W, 80 W, 90 W, 100 W ve 150 W ışık şiddeti altında büyütülerek her bir çalışmada ışık şiddetinin etkileri incelenmiştir. Saf – 1'de 30 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayılarının 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olduğu ve 20,91 mg/L 1-butanol üretilerek 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 55,4 olduğu Şekil 5.33'de verilmektedir. 50 W'lık ışık şiddetinde ise siyanobakteri sayıları artmış olup bu çalışmada siyanobakteri sayısı Saf – 1'de 9100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 23,33 mg/L 1-butanolün 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 55,4'tür. (Şekil 5.33). Saf – 1'de 60 W'da büyütülen siyanobakteri sayıları maksimum seviyededir (10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml). Bu çalışmada maksimum değerlerde 1-butanol üretilmiş (25,5 mg/L) ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verim % 66,6 elde edildiği gözlemlenmiştir (Şekil 5.33). 70 W'lık ışık şiddetinde 9900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan Saf – 1'de daha düşük miktarda elde edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterileri ile 25,2 mg/L 1-butanol elde edilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 66,3 elde edilmiştir (Şekil 5.33). Saf - 1'de siyanobakteri sayılarının 80 W'lık ışık şiddetinde 9700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Bu çalışmada 24,86 mg/L 1-butanol elde edilmesi için 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 65,4 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.33). 90 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları azalan Saf - 1'de 9500 *S.*

elongatus hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 24,22 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 64'tür (Şekil 5.33). 100 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları Saf - 1'de daha da düşüktür (9400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml). 23,97 mg/L 1-butanol elde edilerek bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 63 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.33). Son olarak 150 W'lık ışık şiddetinde büyütüldüklerinde ise Saf - 1 için elde edilen en düşük siyanobakteri sayısının; 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olduğu gözlemlenmiştir. 151 mg/L CO₂ ile bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu en düşük seviyede olup (19,2 mg/L) 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 62,2'dir (Şekil 5.33).

Saf - 2'de ise 30 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayılarının en düşük olduğu saptanmıştır (7500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml). Bu çalışmada 139,7 mg/L CO₂ giderilerek elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 18,02 mg/L olup 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51,5 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.35). 50 W'lık ışık şiddetinde Saf - 2'de siyanobakteri sayıları daha fazla olup; 8900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşılmıştır. Bu çalışmada 21,38 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 61 elde edilmiştir (Şekil 5.35). Şekil 5.35'de grafikte gösterildiği gibi 1-butanol miktarı 22,83 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 65,2 olan Saf - 2'de 60 W'lık ışık şiddetinde 30 gün boyunca büyütüldüklerinde siyanobakteri sayıları 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Saf - 2 için elde edilen parametre değerlerinin maksimum olduğu tespit edilmiştir. 70 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları azalan *S. elongatus* PCC 7942 değeri 9200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 22,10 mg/L konsantrasyonu olan 1-butanolun eldesi için 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 63 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.35). Saf - 2'de 80 W'lık ışık şiddeti altında büyütülen siyanobakteri sayıları daha az olup; siyanobakteri sayısı 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 21,7 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 62 elde edilmiştir (Şekil 5.35). 90 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları Saf - 2'de 8800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüş olduğu gözlemlenmiştir. 139,43 mg/L CO₂'ten üretilen 1-butanol konsantrasyonu 21,14 mg/L olup; bu çalışmada elde edilen verim % 60'tır (Şekil 5.35). Saf - 2'de siyanobakteri sayıları 100 W'lık ışık altında büyütüldüklerinde 8600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu

çalışmada 20,78 mg/L 1-butanol üretilerek; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 59 olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.35). 150 W'lık ışık şiddetinde Saf - 2'de daha da az olan siyanobakteri sayıları 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; 1-butanol konsantrasyonu 19,9 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 56 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.35).



Şekil 5.35 Saf *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile yapılan çalışmalarda ışık şiddetinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Saf - 1 ve Saf - 2'de farklı ışık şiddetlerinde (30 W, 50 W, 60 W, 70 W, 80 W, 90 W, 100 W ve 150 W) 30 gün boyunca büyütülen saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinde minimum büyümenin 30 W'lık ışık şiddetinde elde edilmiştir. Maksimum büyümenin ise 60 W'lık ışık şiddeti altında büyüme sonucu gerçekleştiği saptanmıştır. 60 W'lık ışık şiddeti altında büyütülen kültürlerden maksimum miktarlarda 1-butanol üretimi ve verimleri elde edildiği tespit edilmiştir. 60 W'tan 150 W'a kadar artan ışık şiddetlerinde (70 W, 80 W, 90 W ve 100 W) siyanobakteri sayılarının, üretilen 1-butanol konsantrasyonlarının ve elde edilen verimlerin tedricen azaldığı tespit edilmiştir.

S. elongatus PCC 7942 siyanobakterisi fotosentez yoluyla ışık enerjisini kullanarak kimyasal enerji ve organik molekül üretirler (Lai ve ark., 2005). Siyanobakterilerde fikosiyenin adı verilen fotosentez reaksiyonunda ışığı yakalayan organeller bulunmaktadır (Mazel ve ark., 1988). *S. elongatus* PCC 7942 'de fotosistem II'de ışığı kullanan D1 ve D2 proteinlerinin kodlarını içeren üç tane psbA

ve 2 tane psbD genleri bulunmaktadır (Nair ve ark., 2000; Bustos ve ark., 1990; Golden, 1995; Tsinoremas ve ark., 1994). Nair ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada düşük ve yüksek ışık şiddetinin *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin büyümesine olan etkisini incelemişlerdir. $125 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ düşük ışık şiddeti ve $750 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ 'lik yüksek ışık şiddetinde büyütülmeleri sonunda düşük ışık şiddetinde; yüksek ışık şiddetine kıyasla siyanobakterilerin gelişmesinin daha hızlı ve verimli olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da buna benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kuan ve ark. (2015), 2-D fotobiyoreaktörde *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin optimum büyüme koşullarını araştırmışlar ve $60 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde $120 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$ ışık şiddetine kıyasla büyümelerinin daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.

5.5.2.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Işık Şiddetinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO_2 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Artan ışık şiddetlerinde (30 W, 50 W, 60 W, 70 W, 80 W, 90 W, 100 W ve 150 W) 30 gün boyunca BG-11 sıvı besiyerinde ayrı ayrı büyütülen Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin her bir çalışmada ışık şiddetinin etkileri incelenmiştir. Değişen ışık şiddetlerine göre *S. elongatus* kültürlerinde siyanobakteri sayıları, elde edilen 1-butanol konsantrasyonları ve CO_2 kullanılan/1-butanolüretilen verimleri Şekil 5.34'de verilen grafikte gösterilmektedir. FDK – 3'de 30 W ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları minimum olup; 6900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 14,35 mg/L ve 1-butanolüretilen/ CO_2 kullanılan verimi % 46,6 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.34). 50 W'lık ışık şiddetinde ise 30 W'lık ışık şiddetine kıyasla siyanobakteri sayıları daha fazla olup; 8000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada 16,75 mg/L 1-butanol elde edilerek 1-butanolüretilen/ CO_2 kullanılan verimi % 54,5 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.34). FDK - 1'de siyanobakteri sayıları 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan 60 W'lık ışık şiddetinde; 18,73 mg/L 1-butanol elde edilmiş ve 1-butanolüretilen/ CO_2 kullanılan verimi % 60 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.34). 70 W'a artan ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları FDK - 1'de azalarak; 8800 *S.*

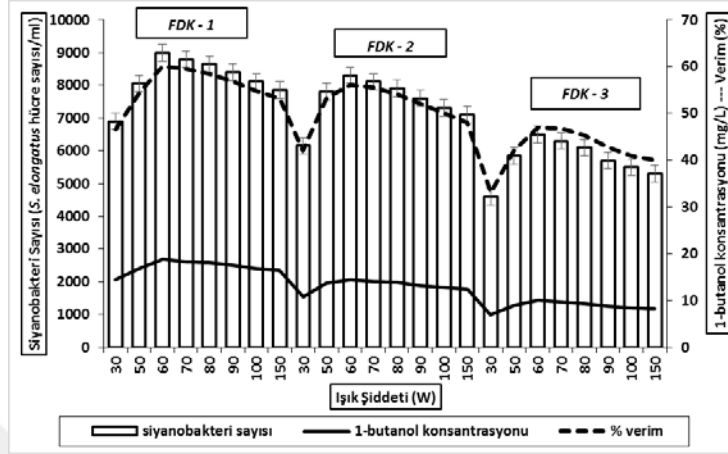
elongatus hücre sayısı/ml'ye ulaşılmıştır. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 18,3 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 59,5 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.34). FDK - 1'de 80 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları düşmeye devam ederek; 8600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml elde edilmiştir. 90 W'lık ışık şiddetinde ise siyanobakteri sayıları FDK - 1'de 8400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 56,8 elde edildiği bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 17,48 mg/L'dir (Şekil 5.34). 90 W'tan 100 W'a yükseltile ışık şiddetinde FDK - 1'de elde edilen siyanobakteri sayısı 8100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 54,7 elde edilmiş olup; 16,85 mg/L 1-butanol elde edilmiştir (Şekil 5.34). 150 W'lık yüksek ışık şiddetinde ise siyanobakteri sayıları 7800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 1-butanol konsantrasyonu 16,33 mg/L olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 53,1 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.34).

FDK - 2'de 30 W'lık ışık şiddetinde 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan siyanobakteri sayılarının minimum değerde olduğu Şekil 5.34'de gösterilmektedir. 1-butanol konsantrasyonunun 10,74 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 28'dir (Şekil 5.34). FDK - 2'de 50 W'lık ışık şiddetinde büyütüldüklerinde siyanobakteri sayıları 7800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 13,6 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 53,4 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.34). 60 W'lık ışık şiddetinde sayıları maksimumuma ulaşan FDK - 2'deki *S. elongatus* siyanobakterilerinden (8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml) 4,5 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 56 elde edilmiştir (Şekil 5.34). 70 W'lık ışık şiddetinde büyütülen FDK - 2'de siyanobakteri sayıları 8100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada 14,1 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan veriminin % 55,5 elde edildiği gözlemlenmiştir (Şekil 5.34). 80 W'a artan ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları azalan FDK - 2'de 7900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 13,8 mg/L olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 54 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.34). FDK - 2'de 90 W'lık ışık şiddeti altında elde edilen siyanobakteri sayısı 7600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada daha düşük konsantrasyonlarda elde edilen 1-butanol miktarı 13,2 mg/L ve 1-

butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 52 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.34). 100 W'lık ışık şiddeti altında siyanobakteri sayıları FDK - 2'de 7300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 12,75 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 50 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.34). Elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 12,4 mg/L olan FDK - 2'de ise 150 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları 7100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüş olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 48 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.34).

FDK - 3'de ise 30 W'lık ışık şiddetinde büyütülen siyanobakteri sayısı minimum değerde olup; 4600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 7 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 33'tür (Şekil 5.34). 50 W'lık ışık şiddetinde FDK - 3'te siyanobakteri sayıları artarak; 5800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşmıştır. Bu çalışma ile 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 42 ve 9 mg/L 1-butanol elde edilmiştir (Şekil 5.34). FDK - 3'te 60 W'lık ışık altında büyütülen *S. elongatus* siyanobakterilerinin sayıları 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artarak maksimum büyüme elde edilmiştir. 10 mg/L olan maksimum 1-butanol konsantrasyonu ile 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 47 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.34). 70 W'lık ışık şiddeti ile siyanobakteri sayıları FDK - 3'te azalarak 6300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada 9,69 mg/L 1-butanol üretilerek, 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 46,7 elde edilmiştir (Şekil 5.34). Işık şiddeti 80 W'a artırılarak FDK - 3'te üretilen siyanobakteri sayısı azalarak; 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak gözlemlenmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 9,38 mg/L'ye düşen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 45,3 elde edilmiştir (Şekil 5.34). 90 W'a artan ışık şiddeti altında büyütülen FDK - 3'teki siyanobakteri sayısı 5700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 1-butanol konsantrasyonu daha düşük olan bu çalışmada 8,76 mg/L'dir ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 42,7'dir (Şekil 5.34). Çalışma - 5'te 100 W'a çıkarılan ışık şiddeti ile siyanobakteri sayıları 5500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile üretilen 1-butanol konsantrasyonu 8,4 mg/L ve elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 41'dir (Şekil 5.34). Son olarak FDK - 3'te 150 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları daha da azalmış olup;

5300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 4,82 mg/L 1-butanol üretimi gerçekleştirilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 29'dur (Şekil 5.34).



Şekil 5.34 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda ışık şiddetinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi üzerine ışık şiddetinin etkisinin incelendiği çalışmalarda saf *S. elongatus* siyanobakterisi ile yapılan çalışmalara benzer şekilde maksimum büyümenin gözlemlendiği 60 W'lık ışık şiddeti olduğu saptanmıştır. Düşük (30 W) ve yüksek 150 W'lık ışık şiddetinde büyütülen *S. elongatus* siyanobakterilerinin daha az gelişmekte olup elde edilen 1-butanol miktarları ve verimlerinin de düşük olduğu gözlemlenmiştir.

5.5.2.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Işık Şiddetinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürleri ile yapılan çalışmalarda; 30 gün boyunca 30 W, 50 W, 60 W, 70 W, 80 W, 90 W, 100 W ve 150 W ışık şiddetlerinde ayrı ayrı büyütülerek ışık şiddetinin etkileri gözlemlenmiştir. BKS - 1 siyanobakteri sayıları 6400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan minimum değerdedir. Bu çalışmada 1-butanol üretimi 10,35 mg/L ve 1-

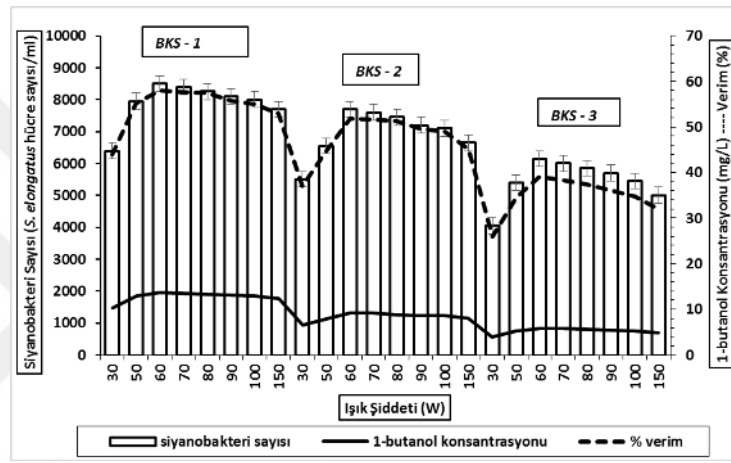
butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 44 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.35). 50 W'a çıkarılan ışık şiddeti ile üretilen siyanobakteri sayısı da BKS - 1'de artmış olup; 7900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 12,86 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 55,3 elde edilmiştir (Şekil 5.35). BKS - 1'de 60 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan maksimum değere ulaşmıştır. 13,75 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 58 elde edilmiştir (Şekil 5.35). 70 W'lık ışık şiddeti altında büyütülen siyanobakteri sayıları BKS - 1'de 8400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 13,58 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 57,7'dir (Şekil 5.35). Işık şiddeti 80 W'a arttırılan BKS - 1'de 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşen siyanobakterilerden 13,34 mg/L 1-butanol üretilerek; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 57,4 elde edilmiştir (Şekil 5.35). BKS - 1'de 90 W'lık ışık şiddetinde elde edilen siyanobakteri sayısı 8100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 13,1 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 55,7'dir (Şekil 5.35). 100 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları BKS - 1'de 8000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu azalarak 12,94 mg/L olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 55 elde edilmiştir (Şekil 5.35). 150 W'lık ışık şiddetinde BKS - 1'de elde edilen siyanobakteri sayısı 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu ise 9,25 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51 olarak azalmıştır (Şekil 5.35).

BKS - 2'de en düşük ışık şiddeti olan 30 W'a siyanobakteri sayılarının minimum değer olan 5500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 6,62 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 37'dir. 50 W'a çıkarılan ışık şiddetinde ise siyanobakteri sayıları BKS - 2'de artarak; 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşmıştır. 7,9 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 44,8'dir (Şekil 5.35). BKS - 2'de yapılan çalışmada 60 W'lık ışık şiddeti altında büyütülen *S. elongatus* sayıları maksimuma ulaşarak; 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 9,28 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,8 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.35). 70 W'a artan ışık şiddeti ile BKS - 2'de azalan

siyanobakteri sayısı 7600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 9,15 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.35). BKS - 2'de 80 W'lık ışık şiddetinde büyütülen siyanobakteri sayısı azalarak; 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşmıştır. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 8,9 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51,33 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.35). Işık şiddeti 90 W'a çıkarıldığında BKS - 2'de üretilen siyanobakteri sayısı 7200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür (Şekil 5.35). 8,67 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışma için 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 49 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.35). 100 W'lık ışık şiddeti altında büyütülen siyanobakteri sayısı BKS - 2'de 7100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 8,55 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 49 elde edilmiştir (Şekil 5.35). *S. elongatus* siyanobakteri sayılarının 6600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düştüğü 150 W'lık ışık şiddetinde BKS - 2'de 8mg/L 1-butanol elde edilerek 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan veriminin % 45 olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.35).

BKS - 3'te ise 30 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayılarının minimum değerinde; 4000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 3,88 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 26'dır (Şekil 5.35). 50 W'a çıkarılan ışık şiddeti ile siyanobakteri sayıları BKS - 3'te 5400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. 5,18 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 34,5'tir (Şekil 5.35). 60 W'lık ışık şiddetinde ise siyanobakteri sayıları maksimum olan BKS - 3'te, 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 5,9 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 39 elde edilmiştir (Şekil 5.35). Işık şiddeti 70 W'a çıkarıldığında; azalan siyanobakteri sayısı BKS - 3'te 6000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışma ile 5,75 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 38,3 elde edilmiştir (Şekil 5.35). BKS - 3'te 80 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları 5800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 1-butanol konsantrasyonu 5,61 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 37,4 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.35). 90 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları BKS - 3'te 5700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol

konsantrasyonu 5,46 mg/L'ye ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 6'a düşmüştür (Şekil 5.35). Işık şiddeti 90 W'tan 100 W'a artırıldığında ise siyanobakteri sayıları düşmeye devam etmiş olup; 5400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 5,22 mg/L 1-butanol üretilen çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 34,8'dir (Şekil 5.35). Son olarak 150 W'lık ışık şiddetinde BKS - 3'te siyanobakteri sayılarının 5000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonunun 4,79 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 32'dir (Şekil 5.35).



Şekil 5.35 Foça Balaban Dağı mevkii kaynağından izole edilen *S. elongatus* Kültürü ile yapılan çalışmalarda ışık şiddetinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Foça Balaban Dağı mevkii kaynağından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi üzerine ışık şiddetinin etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışmalar (BKS - 1, BKS - 2 ve BKS - 3) arasında maksimum siyanobakteri sayısının, 1-butanol üretiminin ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan veriminin diğer çalışmalara benzer şekilde 60 W'lık ışık şiddetinde elde edildiği gözlemlenmiştir.

5.5.2.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Işık Şiddetinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

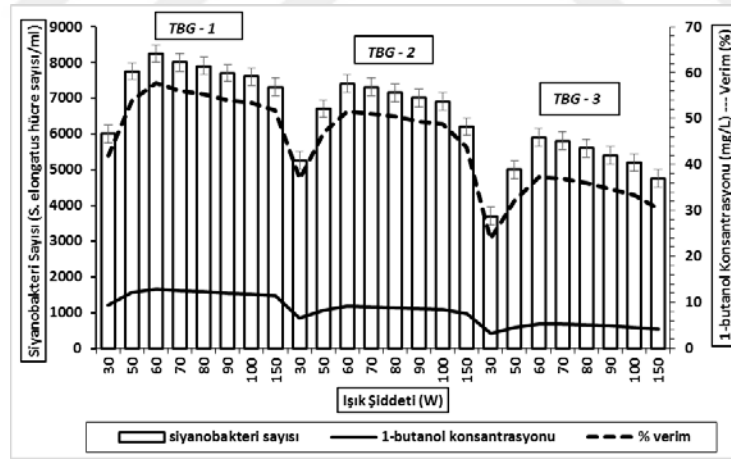
Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda 30 W, 50 W, 60 W, 70 W, 80 W, 90 W, 100 W ve 150 W'lık ışık şiddetlerinin etkisi Şekil 5.36'de verilen grafikte gösterilmektedir. TBG - 1'de minimum değerde olan siyanobakteri sayıları 30 W'lık ışık şiddetinde 6000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışma ile elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 9,36 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 42 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.36). 50 W'lık ışık şiddeti ile siyanobakteri sayıları artmaya başlayan TBG - 1'de, 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 12,09 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 54'e yükselmiştir (Şekil 5.36). 60 W'lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayısı 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan TBG - 1'de maksimum değerde olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada 12,87 mg/L 1-butanol üretilmiş olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 57,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.36). Işık şiddeti 70 W'a çıkartıldığında ise TBG - 1'de siyanobakteri sayıları 8000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Azalan 1-butanol konsantrasyonu 12,48 mg/L olup; bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 56'dır (Şekil 5.36). TBG - 1'de ışık şiddeti 80 W iken; üretilen siyanobakteri sayısı 7900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 12,32 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 55,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.36). 90 W'lık ışık şiddeti altında büyütülen siyanobakteri sayıları azalan TBG - 1'de, 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 11,8 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 53,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.36). 150 W'lık ışık şiddetinde ise siyanobakteri sayıları 7300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüş olan TBG - 1'de 11,38 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,7 elde edilmiştir (Şekil 5.36).

TBG - 2'de 30 W'lık ışık şiddetinde minimum değerde olan siyanobakteri sayıları 5200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 6,5 mg/L

olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan veriminin % 37 olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.36). 50 W'lık ışık şiddeti ile *S. elongatus* siyanobakterilerinin sayıları TBG - 2'de 6700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye arttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada 8,28 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 47 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.36). 60 W'lık ışık şiddetinde TBG - 2'de maksimumuma ulaşan siyanobakteri sayıları 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu ise 9,15 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51,6'dır (Şekil 5.36). Işık şiddeti 70 W'a çıkarılan TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 7300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 9,02 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51'dir. TBG - 2'de siyanobakteri sayıları azalmaya devam eden 80 W'lık ışık şiddetinde 7100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 8,84 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 50,5 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.36). 90 W'lık ışık şiddetinde ise TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 7000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 8,65 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 49,4'tür (Şekil 5.36). Işık şiddeti 100 W olan TBG - 2'de büyütülen siyanobakteri sayısı 6900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 8,53 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 48,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.36). Son olarak TBG - 2'de 150 W'lık ışık şiddetinde ise *S. elongatus* sayıları 6200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür (Şekil 5.36). Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 7,6 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 43,8 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.36).

TBG - 3'de 30 W'lık ışık şiddetinde büyütülen siyanobakteri sayıları minimum olup; 3700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 3,32 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 23,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.36). 50 W'lık ışık şiddeti altında ise siyanobakteri sayıları TBG - 3'de 5000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. Bu çalışma ile 4,49 mg/L 1-butanol üretilerek; 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 32 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.36). 60 W'lık ışık şiddetinde TBG - 3'te maksimum değerde olan siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 5,3 mg/L olarak elde edilen

bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 37,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.36). Işık şiddeti 70 W olan TBG - 3’de siyanobakteri sayıları düşmeye başlayıp; 5800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 5,21 mg/L olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 37 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.36). 80 W’lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları TBG - 3’de 5600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüştür. 5,03 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 35,9 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.36). TBG - 3’te 90 W’lık ışık şiddetinde büyütülen siyanobakteri sayıları 5400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olduğu gözlemlenmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 4,85 mg/L olan bu çalışmada elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 34,6’dır (Şekil 5.36). 100 W’a çıkartılan ışık şiddetinde ise siyanobakteri sayıları TBG - 3’de 5200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. 4,6 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 33,3’tür (Şekil 5.36). 4,26 mg/L 1-butanol elde edilen TBG - 3’te 150 W’lık ışık şiddetinde siyanobakteri sayıları 4700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml düşmüş olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 30,4’tür (Şekil 5.36).



Şekil 5.36 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda ışık şiddetinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂’den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Farklı ışık şiddetleri (30 W, 50 W, 60 W, 70 W, 80 W, 90 W, 100 W ve 150 W) altında 30 gün boyunca büyütülen Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürlerinden elde edilen siyanobakteri sayısı, 1-butanol

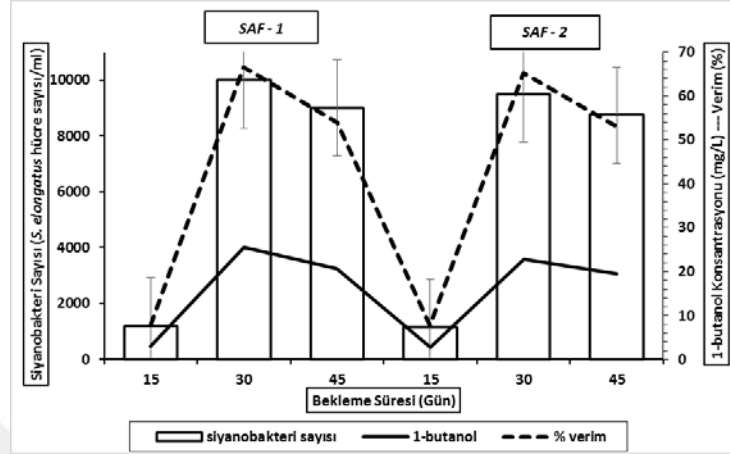
konsantrasyonu ve verimleri üzerine olan etkisi incelenmiştir. 30 W (düşük ışık şiddeti) ve 150 W'da(yüksek ışık şiddeti) üretilen *S. elongatus* kültürlerinden elde edilen siyanobakteri sayıları, 1-butanol miktarları ve verimleri 60 W'lık ışık şiddetinden daha düşük değerlerde olduğu tespit edilmiştir. *S. elongatus* siyanobakterisi fotosentez yolu ile CO₂'i kullanarak 1-butanol üretirken ışığa ihtiyaç duysa da yüksek (150 W) ışık şiddeti büyümelerini limitlemiştir.

5.5.3 Bekleme Süresinin Etkisinin Sonuçları

5.5.3.1 Saf *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Bekleme Süresinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin BG-11 sıvı besiyerine ekimleri yapıldıktan sonra 60 W ışık şiddeti altında 30°C'de 15, 30 ve 45 gün boyunca ayrı ayrı büyütülerek her bir çalışma için bekleme süresinin *S. elongatus* PCC 7942 sayısına, üretilen 1-butanol konsantrasyonuna ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimine olan etkileri incelenmiştir. Şekil 5.37'de verilen grafikte Saf - 1'de 15 gün sonunda siyanobakteri sayıları 1200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; üretilen 1-butanol konsantrasyonunun 3,06 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan veriminin % 8 olduğu gösterilmektedir. 30 günün sonunda Saf - 1'de siyanobakteri sayıları 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışma ile elde edilen 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi sırasıyla 25,5 mg/L ve % 66,6'ya çıkmıştır (Şekil 5.37). Saf - 1'de bekleme süresinin 45 güne çıkarılması ile siyanobakteri sayıları 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 20,7 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 54'e düşmüştür (Şekil 5.37). Saf - 2'de ise siyanobakteri sayılarının 15 günün sonunda minimum değerlerde olup; 1100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, üretilen 1-butanol konsantrasyonunun 2,76 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 7,8 olarak Şekil 5.37'de grafikte verilmektedir. Siyanobakteri sayıları 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml maksimum değerde olan *S. elongatus* PCC 7942 'den 22,83 mg/L 1-butanol üretilen ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 65,2 olan Saf - 2'de ise bekleme süresi 30 gündür (Şekil 5.37). 45 günün sonunda ise Saf - 2'de azalan siyanobakteri sayıları 8700 *S.*

elongatus hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 19,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 53 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.37).



Şekil 5.37 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda bekleme süresinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

15, 30 ve 45 gün kültüre edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinde hem Saf - 1 hem de Saf - 2'de 30 gün boyunca büyütülen kültürlerde maksimum büyümenin, 1-butanol üretiminin ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} veriminin olduğu saptanmıştır. Bekleme süresinin 15 günden 30 güne çıkarılması ile *S. elongatus* PCC 7942 sayısı, 1- butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} veriminin arttığı gözlemlenmiştir. 45 güne çıkarılan bekleme süresi ile *S. elongatus* PCC 7942 sayısı, 1- butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri düşmüştür.

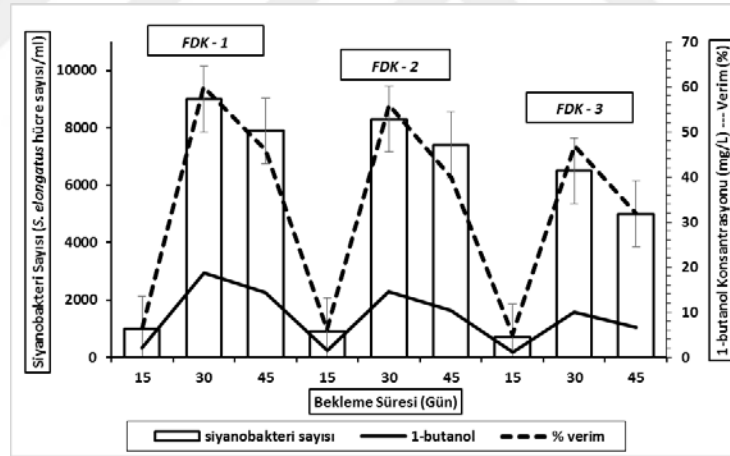
Siyanobakterilerin büyümesi üç evrede gerçekleşir. Siyanobakteriler yüksek besin bulunduran besiyeri ortamına ekimleri yapıldığında ilk olarak hücrelerinin yeni ortamlarına adapte olmaları gerekir. Büyümenin ilk evresi bekleme aşamasıdır (latent dönem veya lag fazı), bu yavaş büyüme döneminde hücreler yüksek besin içeren besiyeri ortamına adapte olup hızlı büyümeye hazırlanırlar. Hızlı büyüme için gerekli olan proteinler üretilmekte olduğu için bekleme döneminde biyosentez hızı yüksektir (Prats ve ark., 2006). Büyümenin ikinci evresi logaritmik faz (log fazı) veya üssel faz olarak adlandırılır. Bu evrede hücrelerin büyüme hızı, hücre sayısının iki katına çıkma süresi dejenerasyon zamanı olarak adlandırılır. Besinlerden biri tükenip

sınırlayıcı olana kadar süren log fazı sırasında besinler en yüksek hızla metabolize olur. Büyümenin son evresi durağan faz olarak adlandırılır. Bu; besinlerin tükenmiş olmasından kaynaklanır. Hücreler metabolik etkinliklerini azaltır ve gerekli olmayan hücresel proteinlerini harcarlar. Durağan faz, hızlı büyümeden bir strese tepki haline geçiş dönemidir, DNA tamiri, antioksidan metabolizması, ve besin taşıması ile ilişkili genlerin ifadesinde bir artış olur (Hecker ve ark., 2001). Yapılan literatür araştırmalarında *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisine bekleme süresinin etkileri incelenmediği saptanmıştır. Bu tez kapsamında yapılan saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisi ile yapılan çalışmalarda 30°C’de 60 W’lık ışık şiddeti altında büyütüldüğünde logaritmik faza 30 günde ulaştığı tespit edilmiştir. İlk 15 günlük sürenin aklime olma zamanı olup; 45 günde ise durağan fazda olduğu saptanmıştır.

5.5.3.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Bekleme Süresinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂’den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterileri BG-11 sıvı besiyerine ekimleri yapıldıktan sonra ayrı ayrı olarak 15, 30 ve 45 gün boyunca 60 W ışık şiddetinde 30°C’de büyütülerek her bir çalışmada bekleme süresinin etkileri gözlemlenmiştir. 15 gün boyunca büyütülen FDK – 1’de minimum değerde elde edilen siyanobakteri sayılarının 900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonunun 2,06 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan veriminin ise % 6,6 olduğu Şekil 5.38’de verilen grafikte gösterilmektedir. FDK - 1’de siyanobakteri sayıları 30 günün sonunda 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan maksimum değerde olup; 18,73 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 60 elde edilmiştir (Şekil 5.38). 45 gün sonunda ise siyanobakteri sayıları 7900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml düşmüş olup; elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 14,34 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 46’dır (Şekil 5.38). Siyanobakteri sayıları 15 günün sonunda 900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan FDK – 2’de; 1-butanol konsantrasyonu 1,6 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 6,1 olan minimum değerlerde hesaplanmıştır (Şekil 5.38). FDK - 2’de 30 güne çıkarılan bekleme süresi sonunda sayıları artarak; 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. Bu

çalışmada *S. elongatus* 'den maksimum konsantrasyonda elde edilen 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi sırasıyla 14,5 mg/L ve % 56'dır (Şekil 5.38). 45 günün sonunda siyanobakteri sayıları 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüş olup; üretilen 1-butanol konsantrasyonu 10,3 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 40 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.38). FDK - 3'te (CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmadan kullanıldığı çalışma) ise siyanobakteri sayıları 700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* 'den 15 gün sonunda minimum değerlerde 1,07 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 5 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.38). Bekleme süresi 30 güne çıkarılan FDK - 3'te siyanobakteri sayıları 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml yükselmiş, 10 mg/L 1-butanol elde edilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 47 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.38). FDK - 3'te 45 gün sonunda ise 5000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml siyanobakteri sayısı düşerek; 1-butanol konsantrasyonu 6,7 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 32 olarak gözlemlenmiştir (Şekil 5.38).



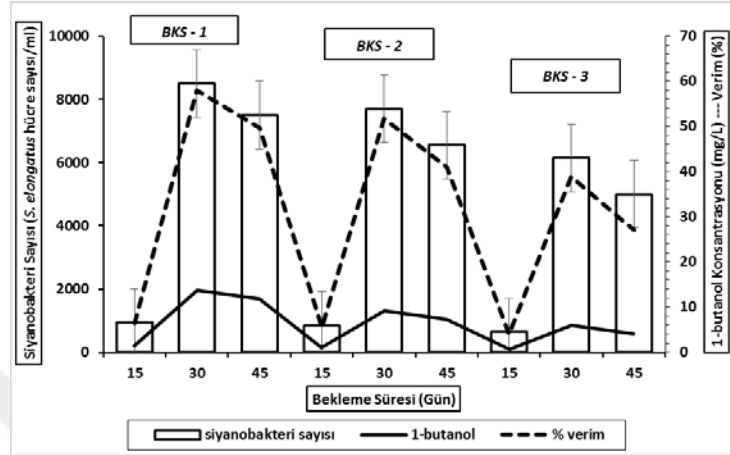
Şekil 5.38 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda bekleme süresinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Bekleme süresinin Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi üzerine olan etkisinin incelendiği çalışmalarda saf *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalara benzer şekilde büyümenin maksimuma ulaştığı 30 gün sonunda gözlemlenmiştir. Bu çalışmada 30 gün sonunda 1-butanol üretimi gerçekleştirilen kültürlerden maksimum verimler elde edildiği tespit edilmiştir.

5.5.3.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Bekleme Süresinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

15, 30 ve 60 gün boyunca ayrı ayrı 30°C'de 60 W'lık ışık şiddeti altında büyütülen Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerine bekleme süresinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol konsantrasyonlarına ve verimlerine olan etkileri incelenmiştir. BKS - 1 siyanobakteri sayıları 15 günün sonunda 900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 1,52 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 6,4 olarak minimum değerlerde elde edilmiştir (Şekil 5.39). BKS - 1'de 30 güne çıkarılan bekleme süresi ile 13,75 mg/L 1-butanol maksimum konsantrasyonda üretilen *S. elongatus* siyanobakterisinin sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 58'dir (Şekil 5.39). 45 günün sonunda siyanobakteri sayısı 7500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşen BKS - 1'de elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 11,8 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 49,7'dir (Şekil 5.39). BKS - 2'de siyanobakteri sayıları 15 günün sonunda 800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, üretilen 1-butanol konsantrasyonu 1,02 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 5,6 olan minimum değerlerde hesaplanmıştır. 30 günün sonunda BKS - 2'de *S. elongatus* siyanobakteri sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye çıkmış olup; 9,28 mg/L 1-butanol elde edilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,8 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.39). *S. elongatus* siyanobakteri sayıları BKS - 2'de 45 günün sonunda 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşerek; 7,34 mg/L 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 41 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.39). BKS - 3'te ise 15 günün sonunda siyanobakteri sayıları 600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, üretilen 1-butanol miktarı 0,62 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 4 olan düşük değerlerde elde edilmiştir (Şekil 5.39). *S. elongatus* siyanobakteri sayıları 30 güne çıkarılan bekleme süresi ile 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan BKS - 3'te 5,9 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 39 olup; maksimumdur (Şekil 5.39). BKS - 3'te son olarak 45 güne çıkarılan bekleme süresinde ise

siyanobakteri sayıları 5000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşerek; 1-butanol konsantrasyonu 4,1 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 27,1 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.39).



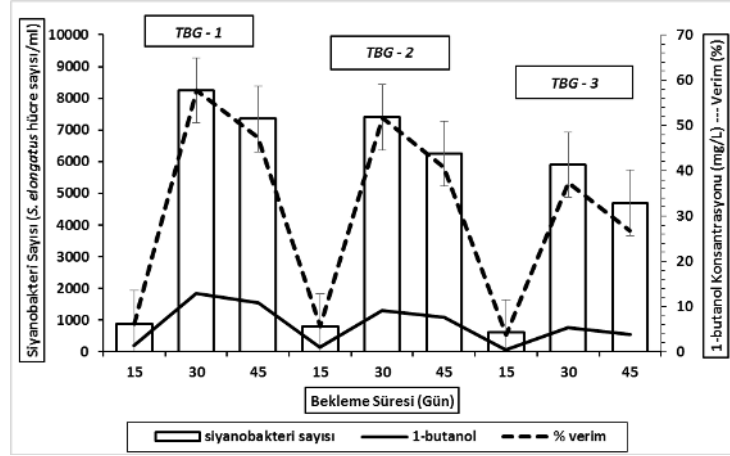
Şekil 5.39 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda bekleme süresinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi ile yapılan BKS - 1, BKS - 2 ve BKS - 3'te 30 gün sonunda elde edilen siyanobakteri sayısı 15 ve 45 günün sonunda elde edilene göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 1-butanol üretiminin ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} veriminin diğer çalışmalara benzer şekilde 30 günün sonunda maksimum değerlerde olduğu gözlemlenmiştir.

5.5.3.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Bekleme Süresinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda 15, 30 ve 45 gün olan üç farklı bekleme süresinin etkisi Şekil 5.40'da grafikte verilmektedir. İlk olarak 15 gün sonunda TBG - 1'de elde edilen siyanobakteri sayısı 900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; 1-butanol konsantrasyonu

1,4 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 6,2'dir (Şekil 5.40). TBG - 1'de 30 günün sonunda sayıları 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşan *S. elongatus* 'den elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 12,87 mg/L olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 57,7 olan maksimum değerlerde elde edilmiştir (Şekil 5.40). *S. elongatus* siyanobakteri sayıları TBG - 1'de 45 güne çıkarılan bekleme süresinde 7300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşen çalışmada; 10,9 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 47,3 elde edilmiştir (Şekil 5.40). TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 15 gün olan bekleme süresinde 800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml ve 1-butanol konsantrasyonu 1 mg/L olarak elde edilmiş; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 5,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.40). Bekleme süresi 30 güne çıkarılan TBG - 2'de siyanobakteri sayıları artarak 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşmıştır. Bu çalışma ile maksimum değerde olan 1-butanol konsantrasyonu 9,15 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,6'dır (Şekil 5.40). TBG - 2'de *S. elongatus* siyanobakteri sayıları 45 günün sonunda 6200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüş; 7,6 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 40,8 elde edilmiştir (Şekil 5.40). Bekleme süresi 15 gün olan TBG - 3'te siyanobakteri sayıları 600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* 'den minimum konsantrasyonda elde edilen 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi sırasıyla 0,55 mg/L % 3,8'dir (Şekil 5.40). TBG - 3'te bekleme süresi 30 güne çıkarıldığında ise siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artarak; 1-butanol konsantrasyonu 5,3 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 37,3'e yükselmiştir (Şekil 5.40). TBG - 3'te 45 gün sonunda ise 3,8 mg/L 1-butanol elde edilen siyanobakteri sayısı 4700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml düşmüş olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 26,7'dir (Şekil 5.40).



Şekil 5.40 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda bekleme süresinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

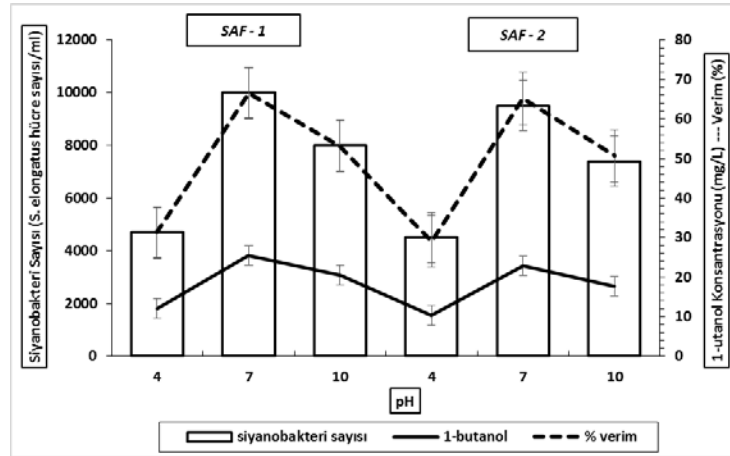
Farklı bekleme sürelerinin (15, 30 ve 45 gün) *S. elongatus* siyanobakteri büyümesine, 1-butanol üretimine ve verimine olan etkilerinin incelendiği Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda maksimum sonuçlar 30 gün sonunda elde edildiği tespit edilmiştir. Diğer çalışmalara benzer şekilde Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterileri 30 günde logaritmik faza girmiş olup maksimum 1-butanol üretimini gerçekleştirmişlerdir.

5.5.4 pH Etkisinin Sonuçları

5.5.4.1 Saf *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pH'ın Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Farklı pH değerlerine (4, 7 ve 10) ayarlanan BG-11 sıvı besiyerlerine ayrı ayrı ekimleri yapılan saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürleri üzerine pH'ın etkileri incelenmiştir. *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonlarına ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerine olan etkileri Şekil 5.41'te verilen grafikte gösterilmektedir. pH = 4'de (asidik) olan BG-11 besiyerinde büyütülen Saf – 1'de 30 gün sonunda siyanobakteri sayıları minimum değerde olup; 4700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol

konsantrasyonu 11,98 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 31,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.41). 30 günün sonunda pH'ı 7'e yükseltilen Saf - 1'de siyanobakteri sayıları 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmış olup; elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 25,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 66,6'dır (Şekil 5.38). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 8000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşen Saf - 1'de; pH = 10'da iken 1-butanol konsantrasyonu 20,4 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 53,2 olarak elde edildiği gözlemlenmiştir (Şekil 5.41). Saf - 2'de ise pH = 4'de büyütülen siyanobakteri sayılarının 30 günün sonunda 4500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 10,27 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 29 olarak düşük değerlerde hesaplanmıştır (Şekil 5.41). pH = 7'de ise artan *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 22,83 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 65,2'e yükselmiştir (Şekil 5.41). Saf - 2'de pH = 10'a çıkarıldığında siyanobakteri sayıları 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüş olup; 1-butanol konsantrasyonu 17,7 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 50,7 olarak gözlemlenmiştir (Şekil 5.41).



Şekil 5.41 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda pH'ın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

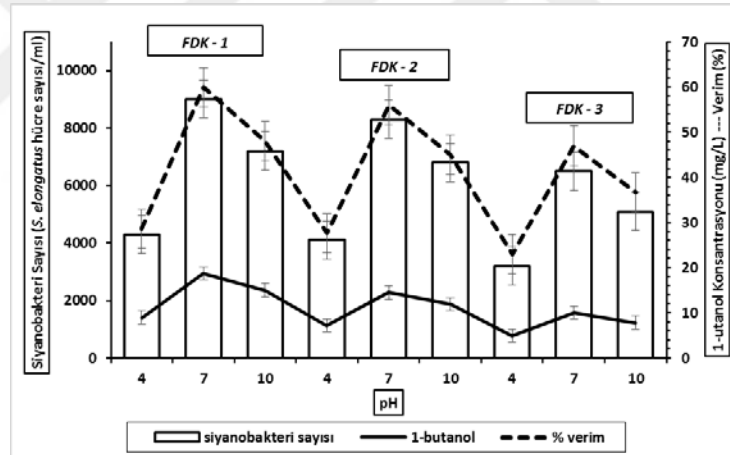
Bu tez kapsamında artan pH'ın Saf - 1 ve Saf - 2 üzerine olan etkileri incelendiğinde maksimum sonuçlar pH = 7 olduğunda gözlemlenmiştir. Asidik pH'ta (4.0) büyüyen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayısı az olup; minimum

değerde 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi elde edilmiştir. Bazik pH'ta (10.0) ise siyanobakterilerin büyümesi limitlenmiş olup; üretilen 1-butanol ve elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri azaldığı tespit edilmiştir. Yapılan literatür araştırmalarında; *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin inkübasyon süresince optimum pH değerinin 7 – 8 arasında olduğu saptanmıştır. Bu yüksek lisans tez çalışmasında *S. elongatus* PCC 7942 ekimi yapılan BG – 11 sıvı besiyeri Rippka ve ark.'a (1979) göre pH'ı 7.1'e ayarlanarak hazırlanmıştır. Siyanobakterilerle çalışan Norton ve Roth (1967), *S. elongatus* PCC 7942 için optimum pH'ın 7.5 olduğunu vurgulamışlardır. Keithellakpam ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada siyanobakteriler için en uygun pH aralığının 7.1 – 7.5 olduğunu belirtmişlerdir. Stainer ve ark. (1976), siyanobakterilerle yaptıkları çalışmada BG – 11 besiyerinin pH'ını 7.1'e ayarlayarak hazırlamışlardır.

5.5.4.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pH'ın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin pH'ları sırasıyla 4, 7 ve 10 olan BG-11 sıvı besiyerlerine ekimleri yapıldıktan sonra 30 gün boyunca büyütülerek her bir çalışmada pH'ın etkileri incelenmiştir. pH = 4'de FDK – 1'de siyanobakteri sayılarının 4300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml minimum değerde olduğu Şekil 5.42'de verilen grafikte gösterilmektedir. 1-butanol konsantrasyonunun 8,94 mg/L olan bu çalışmada; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 28,6 olarak elde edilmiştir. FDK - 1'de siyanobakteri sayıları 30 günün sonunda artarak 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan pH = 7'de; 18,73 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 60'dır (Şekil 5.42). pH'ın 10'a çıkarılmasıyla siyanobakteri sayıları düşerek 7200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşmıştır. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 14,98 mg/L'ye ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 48'e düşmüştür (Şekil 5.42). Siyanobakteri sayıları pH = 4'de 4100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan FDK – 2'de elde edilen 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi düşük olup; sırasıyla 7,16 mg/L ve % 27,6'dır (Şekil 5.42). FDK - 2'de *S. elongatus* siyanobakterilerinin

sayıları pH = 7’de pH = 4’e göre daha fazla olup; 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. Elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 14,5 mg/L olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 56’dır (Şekil 5.42). pH = 10’da ise siyanobakteri sayıları 6800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye, üretilen 1-butanol konsantrasyonu 11,87 mg/L’ye ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 45’e düşmüştür (Şekil 5.42). FDK - 3’te pH = 4’de 3200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan minimum sayıdaki siyanobakteriden üretilen 1-butanol konsantrasyonu 4,9 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 23 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.42). pH = 7’de siyanobakteri sayıları 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml artmış olan *S. elongatus*’tan 10 mg/L 1-butanol elde edilerek 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 47’dir (Şekil 5.42). FDK - 3’te 5100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşen siyanobakterilerden üretilen pH = 10’da 1-butanol konsantrasyonu 7,8 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 36,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.42).

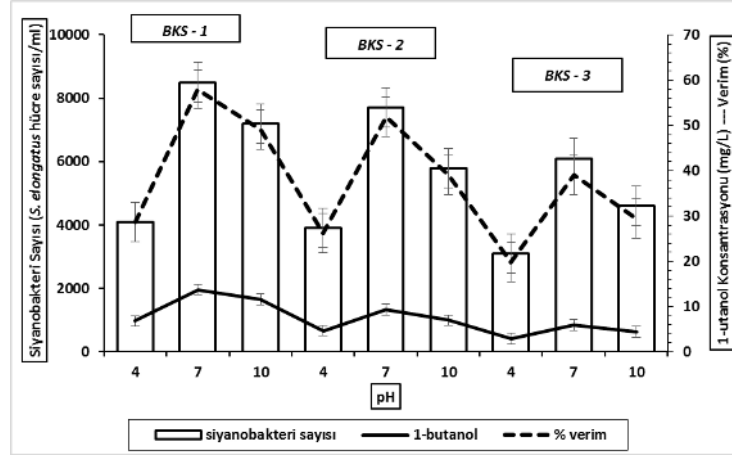


Şekil 5.42 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda pH’ın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂’den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

FDK - 1, FDK - 2 ve FDK - 3’te yapılan pH etkisi çalışmalarında maksimum sonuçların pH 7’de elde edildiği gözlemlenmiştir. Saf *S. elongatus* ile yapılan çalışmalara benzer şekilde pH 4 ve 10’da siyanobakteri sayılarının, üretilen 1-butanol konsantrasyonlarının ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimlerinin azaldığı gözlemlenmiştir.

5.5.4.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pH'ın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerine artan pH'ın siyanobakteri sayısına, 1-butanol konsantrasyonlarına ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerine olan etkileri Şekil 5.43'de verilen grafikte gösterilmektedir. BKS - 1'de siyanobakteri sayıları pH = 4'te 4100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus*'tan üretilen 1-butanol konsantrasyonu 6,79 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 28,6'dur (Şekil 5.43). BKS - 1'de pH = 7'e artarak; 1-butanol konsantrasyonu 13,75 mg/L'ye, 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 58'e çıkarak; elde edilen *S. elongatus* siyanobakterinin sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir (Şekil 5.43). Siyanobakteri sayısı 7200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşen BKS - 1'de üretilen 1-butanol konsantrasyonu 11,64 mg/L olan pH = 10'da 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 49 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.43). pH = 4'de, BKS - 2'de siyanobakteri sayıları 3900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 4,7 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verim % 26,2 olan minimum değerlerde elde edilmiştir (Şekil 5.43). *S. elongatus* siyanobakteri sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye çıkan BKS - 2'de, pH = 7'de 9,28 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.43). BKS - 2'de, pH = 10'a çıkarıldığında ise; 5800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşen *S. elongatus* 'den 6,98 mg/L 1-butanol üretimi gerçekleştirilerek; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 39'dur (Şekil 5.43). BKS - 3'te siyanobakteri sayıları pH = 4'de 3100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, üretilen 1-butanol konsantrasyonu 2,9 mg/L'den 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 19,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.43). *S. elongatus* siyanobakteri sayıları artarak 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan pH = 7'de; 5,9 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 39 elde edildiği gözlemlenmiştir (Şekil 5.43). BKS - 3 son olarak pH = 10'da siyanobakteri sayıları 4600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 4,4 mg/L ve verimi % 29,4'dür (Şekil 5.43).



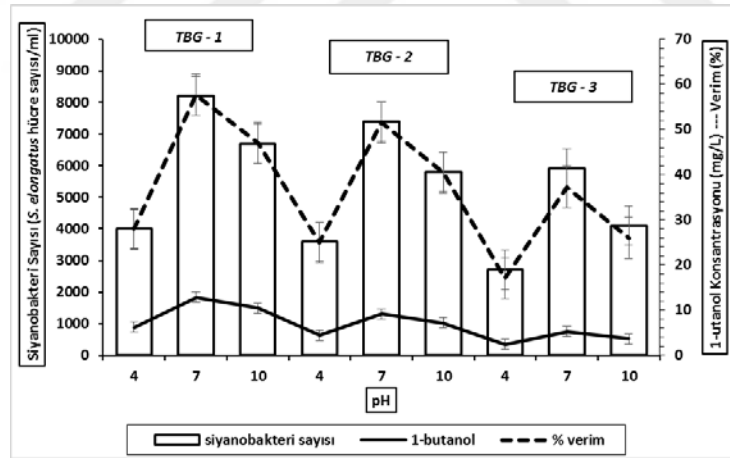
Şekil 5.43 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda pH'nın siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan BKS - 1, BKS - 2 ve BKS - 3'te diğer çalışmalara benzer şekilde pH 4 ve 10'da elde edilen sonuçlar pH 7'e göre daha düşüktür.

5.5.4.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pH'nın Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda artan pH'nın etkileri Şekil 5.44'de grafik ile verilmektedir. pH = 4'de, TBG - 1'de üretilen siyanobakteri sayıları düşük olup; 4000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 6,23 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 28 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.44). 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artan *S. elongatus* 'den elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 12,87 mg/L olan pH = 7'de; 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 57,7'dir (Şekil 5.44). TBG - 1'de *S. elongatus* siyanobakteri sayıları pH = 10'da 6700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azalarak; üretilen 1-butanol 10,51 mg/L ve elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 47'dir (Şekil 5.44). TBG - 2'de siyanobakteri sayıları pH = 4'de 3600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; 1-butanol konsantrasyonu 4,45 mg/L ve 1-

butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 25 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.44). pH = 7'e çıkarıldığında TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmış olup; 9,15 mg/L 1-butanol konsantrasyonu üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.44). TBG - 2'de azalan *S. elongatus* siyanobakteri sayıları 5800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; pH = 10'da 7,17 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 40,4 elde edilmiştir (Şekil 5.44). TBG - 3'te siyanobakteri sayıları pH = 4'de 2700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* siyanobakterilerinden üretilen 1-butanol konsantrasyonu 2,42 mg/L olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 17 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.44). pH = 7'de siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye çıkmış olup; 1-butanol konsantrasyonu 5,3 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 37,3'dür (Şekil 5.44). TBG - 3'te pH'ı 10'a çıkarıldığında edilen siyanobakteri sayıları azalarak 3700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; 3,3 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 23,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.44).



Şekil 5.44 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürü ile yapılan çalışmalarda pH'ın siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

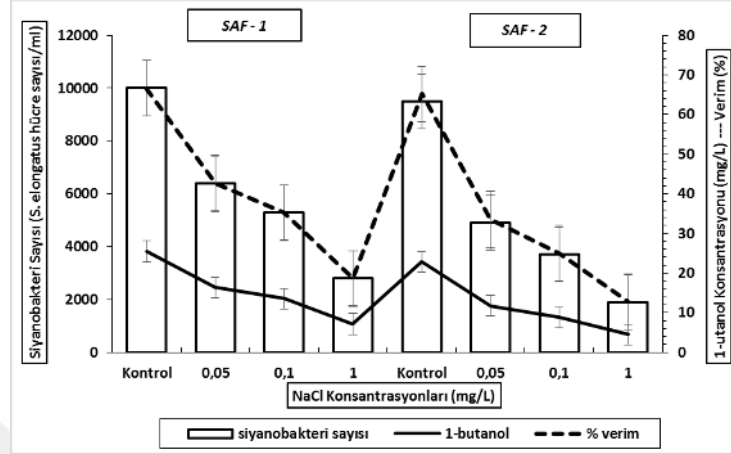
pH etkilerinin incelendiği TBG - 1, TBG - 2 ve TBG - 3'te maksimum sonuçların pH=7'de elde edildiği tespit edilmiştir. pH=4 ve pH=10'da yapılan çalışmalarda siyanobakteri sayılarının ve üretilen 1-butanol konsantrasyonlarının, 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerinin azaldığı gözlemlenmiştir.

5.5.5 NaCl İlavesinin Etkisinin Sonuçları

5.5.5.1 Saf *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda NaCl İlavesinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

BG-11 sıvı besiyerlerine ayrı ayrı 0,05 mg/l, 0,1 mg/l ve 1 mg/l NaCl ilave edilerek ekimleri yapılan saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürleri üzerine NaCl'nün etkileri incelenmiştir. Saf - 1 ve Saf - 2'de NaCl ilavesi olmayan BG - 11 besiyeri ile kontrol grupları oluşturuldu. Saf - 1 için kontrol grubunda elde edilen değerler; siyanobakteri sayıları 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 25,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 66,6'dır. Saf - 2 için ise kontrol grubunda elde edilen değerler; siyanobakteri sayıları 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 2,83 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 65,2'dir. 0,05 mg/l NaCl ilavesi ile Saf - 1'de 30 gün sonunda kontrollerle kıyaslandığında; siyanobakteri sayıları 6400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye, 1-butanol konsantrasyonu 16,32 mg/L'ye ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 42,6'a düştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 5.45). 0,1 mg/l NaCl ilave edilen Saf - 1'de siyanobakteri sayıları azalmaya devam etmiş ve 5300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 13,51 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 35,2 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.45). 1 mg/l NaCl ilave edilerek büyütülen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 2800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan Saf - 1'de kontrole göre oldukça azaldığı tespit edilmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 7,13 mg/L olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 18,6 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.45). Saf - 2'de ise 0,05 mg/l NaCl ilavesi ile büyütülen siyanobakteri sayıları kontrole göre daha az elde edilmiş olup; 4900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 11,77 mg/L olarak elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 33,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.45). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları azalmaya devam ederek 3700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan 0,1 mg/l NaCl ilave edilen Saf - 2'de; 8,8 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 25 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.45). Saf - 2'de son olarak 1 mg/l NaCl ilave edildiğinde ise; siyanobakteri sayıları 1900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan

minimum değerdedir. Bu çalışma ile üretilen 1-butanol konsantrasyonu 4,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 12,8'dir (Şekil 5.45).



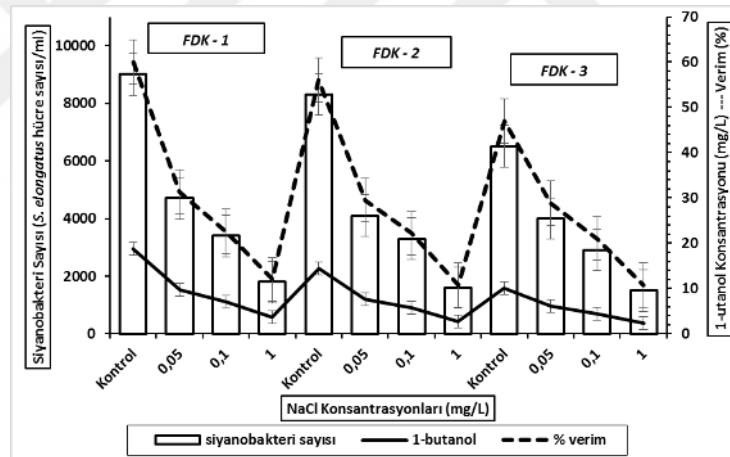
Şekil 5.45 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda NaCl ilavesinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Saf - 1 ve Saf - 2 ile yapılan NaCl ilavesinin etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterileri 0,05 mg/L NaCl konsantrasyonunda tuz stresine girerek artan NaCl değerleri ile büyümelerinin hızla azaldığı gözlenmiştir. Allakhverdiev ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisi üzerine NaCl'nün etkilerini incelemişler ve 0,5 M NaCl konsantrasyonundan siyanobakteri hücrelerinin tuz stresine girdiğini saptamışlardır. Tuz stresi hem ozmotik hem de iyonik stresi içermektedir (Hagemann ve ark., 1997; Hayashi ve ark., 1998). Tuzluluk oranı arttıkça plazma membranında su kanalları daralarak ozmotik basınçla beraber büzülme ve fotosentetik elektron taşıma sistemini inaktif hale getirmektedir (Allakhverdiev ve ark., 1999). Buna karşılık NaCl nedeniyle tuz stresi altında Na⁺ iyonları sitozolün içine sızar ve fotosentetik ve solunum elektron taşıma sistemini inaktif eder (Papageorgiou ve ark., 1998; Allakhverdiev ve ark., 2000).

5.5.5.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda NaCl İlavesinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

0,05 mg/l, 0,1 mg/l ve 1 mg/l NaCl BG-11 besiyerine ilave edilerek Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin sırasıyla ekimleri yapılarak 30 gün sonunda etkileri incelenmiştir. FDK - 1, FDK - 2 ve FDK - 3 çalışmaları için ayrı ayrı NaCl ilavesi olmayan kontrol grupları oluşturuldu. FDK - 1 kontrol grubunda; siyanobakteri sayısı 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 18,73 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 60'dır. FDK - 2 kontrol grubunda; siyanobakterileri sayısı 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 14,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 56 olarak hesaplanmıştır. FDK - 3 kontrol grubunda ise; siyanobakteri sayısı 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* PCC 7942 'den 10 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 47 olarak elde edildiği gözlemlenmiştir. 0,05 mg/l NaCl ilavesi ile FDK - 1'de siyanobakteri sayılarının kontrolden daha düşük oldukları saptanmış olup; 4700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 9,78 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 31,3'tür (Şekil 5.46). FDK - 1'de siyanobakteri sayıları 0,1 mg/l NaCl ilavesi ile 3400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 7,07 mg/L 1-butanoldan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 22,6 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.46). 1 mg/l NaCl ilave edildiğinde ise FDK - 1'de elde edilen siyanobakteri sayıları en az olup; 1800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 3,47 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 12'dir (Şekil 5.46). FDK - 2'de 0,05 mg/l NaCl ilavesi ile siyanobakteri sayıları 4400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilen değer kontrole kıyasla azaldığı saptanmıştır. Bu çalışmanın 1-butanol konsantrasyonu 7,6 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 29,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.46). FDK - 2'de 0,1 mg/l NaCl ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin sayıları 3300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 5,7 mg/L olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 22,2 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.46). NaCl

konsantrasyonu 1 mg/l olan FDK - 2’de siyanobakteri sayıları minimum değerde elde edilmiş olup; 1600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 2,76 mg/L’den 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 10,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.46). FDK - 3’te 0,05 mg/l NaCl ilavesiyle sayıları 4000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye azalan siyanobakteriden 6,15 mg/L 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 28,9 elde edilmiştir (Şekil 5.46). 0,1 mg/l NaCl ilavesi ile siyanobakteri sayıları 2900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşen *S. elongatus* PCC 7942 ’den 4,45 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 21 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.46). FDK - 3’te 1 mg/l NaCl ilave edildiğinde 1500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan siyanobakteri sayıları kontrole göre oldukça düşük değerdedir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 2,3 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 10,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.46).



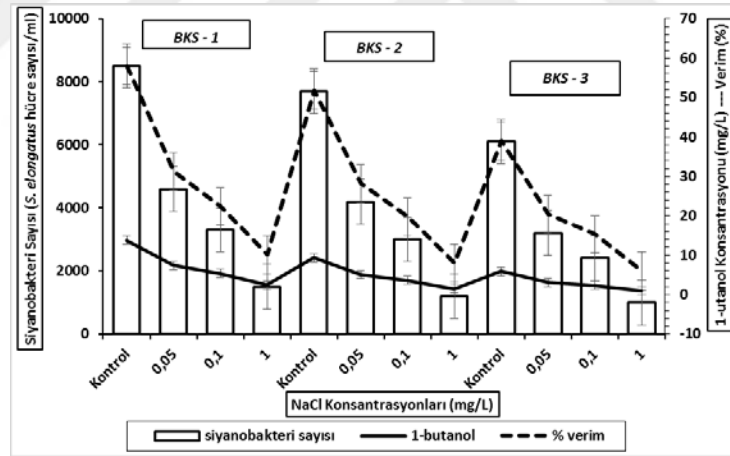
Şekil 5.46 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda NaCl ilavesinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂’den 1-Butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Bu tez kapsamında yapılan NaCl ilavesi etkilerinin incelendiği FDK - 1, FDK - 2 ve FDK - 3’te 0,05 mg/L NaCl konsantrasyonu ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin tuz stresine maruz kaldıkları saptanmıştır. Artan NaCl konsantrasyonları ile siyanobakteri sayıları, 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimlerinin azaldığı gözlemlenmiştir.

5.5.5.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda NaCl İlavesinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

NaCl (0,05 mg/l, 0,1 mg/l ve 1 mg/l) ilavesinin Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonlarına ve verimleri üzerine olan etkileri Şekil 5.47'de grafikte verilmektedir. BKS - 1, BKS - 2 ve BKS - 1 çalışmalar için NaCl ilavesi olmayan kontrol grupları oluşturuldu. BKS - 1'in kontrol grubu; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 58, 1-butanol konsantrasyonu 13,75 mg/L ve siyanobakteri sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. BKS - 2'nin kontrol grubu; siyanobakteri sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 9,28 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,8'dir. BKS - 3'ün kontrol grubu; siyanobakteri sayıları 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 5,9 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 39'dur. 0,05 mg/l NaCl ilave edilen BKS - 1'de siyanobakteri sayıları kontrole göre düşük olup; siyanobakteri sayısı 4600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol 7,4 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 31,3'dür (Şekil 5.47). BKS - 1'de 0,1 mg/l NaCl ilavesi ile siyanobakteri sayıları azalmaya devam ederek; 3300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşmıştır. 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 22,4 olarak elde edilen bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 5,3 mg/L'dir (Şekil 5.47). 1 mg/l NaCl ilave edilen BKS - 1'de ise kontrole kıyaslandığında siyanobakteri sayısı oldukça düşük olup; 1500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışma ile üretilen 1-butanol konsantrasyonu 2,4 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 10,1 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.47). BKS - 2'de siyanobakteri sayılarının 0,05 mg/l NaCl ilave edildiğinde 4200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düştüğü gözlemlenmiştir. 1-butanol konsantrasyonunun 5,06 mg/L olarak elde edildiği bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 28,2 olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.47). 0,1 mg/l NaCl ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları kontrole göre daha az olup; BKS - 2'de 3000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada 3,61 mg/L 1-butanoldan 1-

butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 20,1 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.47). BKS - 2’de son olarak 1 mg/l NaCl ilave edildiğinde ise; siyanobakteri sayısı 1200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; kontrole göre oldukça düşük değerde elde edilmiştir. Bu çalışmada 1,44 mg/L 1-butanol üretimi gerçekleştirilerek; 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.47). BKS - 3’te siyanobakteri sayıları 0,05 mg/l NaCl ilavesi ile 3200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüştür. 1-butanol konsantrasyonu 3,09 mg/L ve 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 20,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.47). 0,1 mg/l NaCl ilavesi ile kontrole kıyaslandığında BKS - 3’te siyanobakteri sayıları düşmüş olup; 2400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışma ile üretilen konsantrasyonu 1-butanol 2,31 mg/L ve 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 15,3’dür (Şekil 5.51). Son olarak 1 mg/l NaCl ilave edilen BKS – 3’te siyanobakteri sayıları 1000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye kadar düştüğü gözlemlenmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 0,96 mg/L ve 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 6’dır (Şekil 5.47).



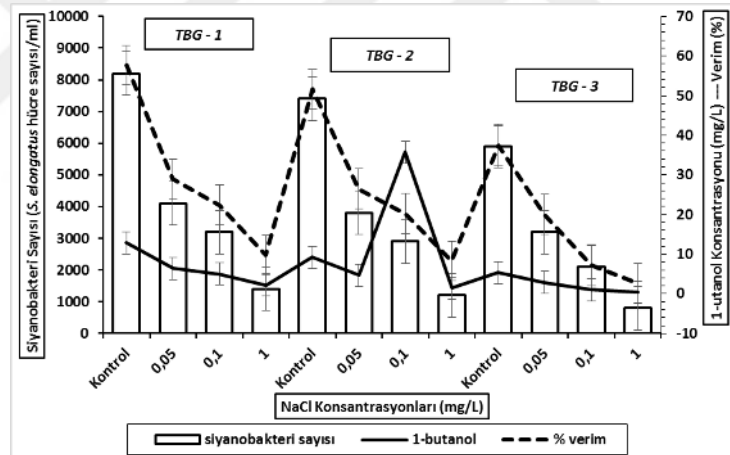
Şekil 5.47 Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda NaCl ilavesinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

NaCl etkisinin incelendiği BKS - 1, BKS - 2 ve BKS - 3'te bu tez kapsamında yapılan diğer çalışmalara benzer şekilde 0,05 mg/L NaCl ile *S. elongatus* siyanobakterileri tuz stresine girmişlerdir.

5.5.5.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda NaCl İlavesinin Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda üç farklı konsantrasyonda NaCl (0,05 mg/l, 0,1 mg/l ve 1 mg/l) ilavesinin etkileri grafik ile verilmektedir (Şekil 5.48). TBG - 1, TBG - 2 ve TBG - 3 çalışmalarında NaCl ilave edilmeyen kontrol grupları oluşturuldu. TBG - 1'in kontrol grubu; siyanobakteri sayıları 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 12,87 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 57,7'dir. TBG - 2'nin kontrol grubu; siyanobakteri sayıları 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 9,15 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,6'dır. TBG - 3'ün kontrol grubu; siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 5,3 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 37,3'dür. TBG - 1'de 0,05 mg/l NaCl ilavesi ile büyütülen siyanobakteri sayısı kontrole göre azalmış olup; 4100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 6,43 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 28,8 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.48). 0,1 mg/l NaCl ilave edilen TBG - 1'de siyanobakteri sayıları azalmaya devam etmiş; 3200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* PCC 7942'den elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 5,01 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 22,4'dür (Şekil 5.48). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları TBG - 1'de 1 mg/l NaCl ilave edildiğinde 1400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan en düşük değerde elde edilmiştir. Bu çalışma ile üretilen 1-butanol konsantrasyonu 2,19 mg/L ve elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 9,8'dir (Şekil 5.48). 0,05 mg/l NaCl ilavesi ile TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 3800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; kontrole göre daha az elde edilmiştir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi sırasıyla 4,69 mg/L ve % 26,5'dir (Şekil 5.48). 0,1 mg/l NaCl ilave edilen TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 2900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan çalışmada kontrole kıyaslandığında düşük değerde olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 3,57 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 20,2

olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.48). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 1 mg/l NaCl ilave edildiğinde TBG - 2’de daha da azalarak; 1200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. 1,4 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 8,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.48). TBG - 3’te 0,05 mg/l NaCl ilavesi ile kontrole göre sayıları daha az olan siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. Üretilen 1-butanol konsantrasyonu 2,87 mg/L olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 20’dir. (Şekil 5.48). 0,1 mg/l NaCl ilave edilen TBG - 3’te siyanobakteri sayıları 2100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüştür. Bu çalışma ile elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 1,02 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 7,1’dir (Şekil 5.48). TBG - 3’te 1 mg/l NaCl ilave edildiğinde siyanobakteri sayısı 800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan minimum değerde elde edilmiştir. 0,38 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 2,7’dir (Şekil 5.48).



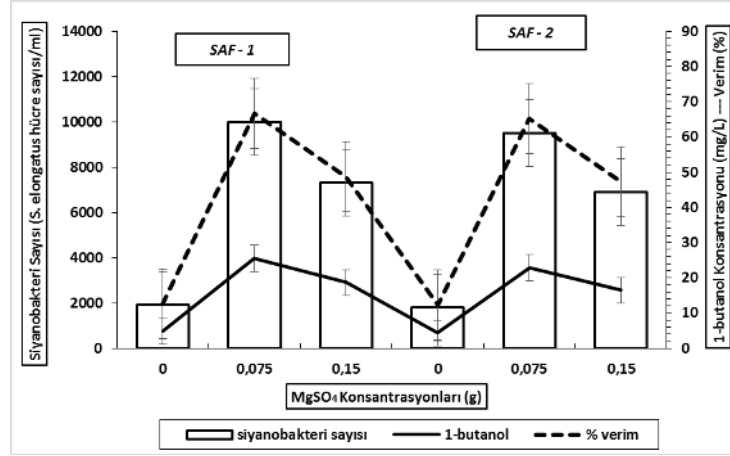
Şekil 5.48 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda NaCl ilavesinin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

NaCl ilavesi ile yapılan TBG - 1, TBG - 2 ve TBG - 3'te 0,05 mg/L NaCl konsantrasyonlarında siyanobakteri sayıları düşmeye başlamış olup; 1 mg/L NaCl ile minimum değerlere ulaşılmıştır.

5.5.6 *MgSO₄ Etkisinin Sonuçları*

5.5.6.1 *Saf S. elongatus PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda MgSO₄'ın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları*

Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinin üç farklı BG-11 sıvı besiyerlerine (MgSO_4 ilavesiz, 0,075 g/L ve 0,15 g/L MgSO_4) ayrı ayrı ekimleri yapıldıktan 30 gün sonra MgSO_4 'ın *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayısına, 1-butanol konsantrasyonuna ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Saf - 1'de siyanobakteri sayısı, MgSO_4 ilavesi olmadan 1900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 12,6 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 12,6'dır (Şekil 5.49). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml çıkan Saf - 1'de MgSO_4 konsantrasyonu 0,075 g/L iken üretilen 1-butanol konsantrasyonu 25,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 66,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.49). MgSO_4 konsantrasyonunun 0,15 g/L'ye artırılan Saf - 1'de siyanobakteri sayıları 7300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 48,6 elde edilen bu çalışmada ise 1-butanol konsantrasyonu 18,61 mg/L'dir (Şekil 5.49). Saf - 2'de siyanobakteri sayıları 1800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir (Şekil 5.49). 1-butanol konsantrasyonu 4,32 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 12,3 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.49). Saf - 2'de MgSO_4 konsantrasyonu 0,075 g/L'ye arttırıldığında ise siyanobakteri sayıları 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan maksimum değerde elde edilmiş olup; 1-butanol konsantrasyonu 22,83 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 65,2'dir. (Şekil 5.49). 0,15 g/L'ye çıkarılan MgSO_4 konsantrasyonunun ilavesiyle büyütülen siyanobakteri sayılarının Saf - 2'de 6900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azaldığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 16,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 4,3'dür (Şekil 5.49).



Şekil 5.49 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda MgSO₄'ın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

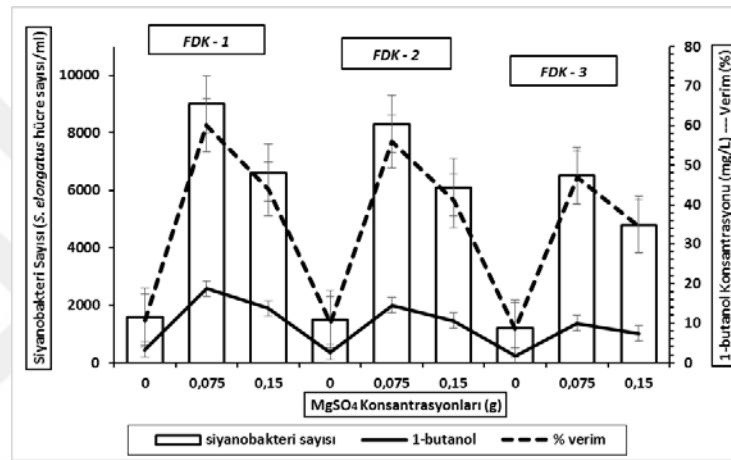
Saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin besiyeri olan BG – 11'in önemli bir bileşeni olan MgSO₄'ın etkilerinin incelendiği çalışmalarda en iyi sonuç 0,075 g/L MgSO₄'ın ilave edildiği çalışmadır. MgSO₄ ilave edilmeyen BG – 11 sıvı besiyerinde yapılan Saf - 1 ve Saf - 2'de siyanobakteri sayıları oldukça düşük olup; üretilen 1-butanol konsantrasyonlarının ve 1-butanol üretilen/CO₂ kullanılan verimlerinin de azaldığı gözlemlenmiştir. MgSO₄ konsantrasyonu iki katına (0,15 g/L) çıkartıldığında ise siyanobakteri sayıları 0,075 g/L MgSO₄ ilave edilen çalışmalara kıyasla yakın değerde olmasına rağmen siyanobakteri sayılarında azalma gözlemlenmiştir. Yang ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada *S. elongatus* PCC 7942 besiyeri olan BG – 11 bileşenlerinin konsantrasyon değerlerini değiştirerek etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada 0,0361 g/L MgSO₄ ilavesi ile % 20 oranında büyüme elde etmişlerdir. MgSO₄ konsantrasyonu 0,072 g/L'ye çıkarıldığında ise maksimum büyüme (% 100) elde etmişlerdir. MgSO₄ olmadan ekim yaptıkları BG – 11 besiyerinde ise OD₇₃₀ hücre yoğunluğunu çok düşük (0,1 olarak) olarak elde etmişlerdir. Bu çalışma ile Yang ve ark. (2015), MgSO₄'ın *S. elongatus* PCC 7942'nin büyümesinde gerekli olan temel bir bileşen olduğunu bildirmişlerdir. Ancak artan MgSO₄ konsantrasyonlarının da *S. elongatus* PCC 7942 büyümelerini % 20'den fazla arttırmadığını vurgulamışlardır. Sülfür içeren MgSO₄ ayrıca aminoasitler (sistin ve metiyonin), peptitler, vitaminler ve sekonder metabolitler gibi temel besinleri de bileşiminde bulundurmaktadır (Jain ve ark., 2006; Kuan, 2013). Ayrıca klorofil üretimini başlatan magnezyum kaynağını da içermektedir (Kuan, 2013). Diğer bir

yandan magnezyum birçok enzimatik reaksiyona kofaktör olarak katılmaktadır (Yang ve ark., 2015).

5.5.6.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen S. elongatus PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda MgSO₄'ın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin sırasıyla MgSO₄ ilavesiz, 0,075 g/L ve 0,15 g/L MgSO₄ içeren BG-11 besiyerlerine ekimleri yapılarak 30 gün sonunda MgSO₄'ın etkileri incelenmiştir. FDK - 1'de MgSO₄ ilavesiz siyanobakteri sayılarının 1600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak düşük değerde elde edilmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 3,32 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 10,6'dır (Şekil 5.50). MgSO₄ konsantrasyonu 0,075 g/L'ye çıkarılan FDK - 1'de siyanobakteri sayıları artarak; 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşılmıştır. Bu çalışmada 18,73 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 60 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.50). 0,15 g/L'ye arttırılan MgSO₄ ilave edildiğinde ise FDK - 1'de siyanobakteri sayıları 6600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 13,73 mg/L olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 44 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.50). FDK - 2'de MgSO₄ ilavesiz siyanobakteri sayıları 1500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 2,62 mg/L olan FDK - 2'de 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 10,1'dir (Şekil 5.50). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin sayılarının 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye arttığı FDK - 2'de MgSO₄ konsantrasyonu 0,075 g/L'ye çıkarılmıştır. Bu çalışmada üretilen 1-butanol miktarı 14,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 56 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.50). FDK - 2'de 0,15 g/L MgSO₄ ilave edildiğinde siyanobakteri sayılarının 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azaldığı Şekil 5.47'de gösterilmektedir. Üretilen 1-butanol konsantrasyonu 10,65 mg/L olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 41 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.50). FDK - 3'te MgSO₄ ilavesi olmadan siyanobakteri sayısı, 1200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 1,84 mg/L 1-butanol konsantrasyonu olan FDK - 3'te 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi %

8,6 olarak gözlemlenmiştir (Şekil 5.50). FDK - 3'te *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 0,075 g/L MgSO₄ ilavesi ile artmış olup; 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşmıştır. Bu çalışmada 10 mg/L 1-butanol oluşmuş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 47 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.50). MgSO₄ konsantrasyonu 0,15 g/L'ye çıkarıldığında ise siyanobakteri sayıları azalarak; 4800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşmıştır. Bu çalışma ile üretilen 1-butanol konsantrasyonu 7,38 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 34,7 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.50).



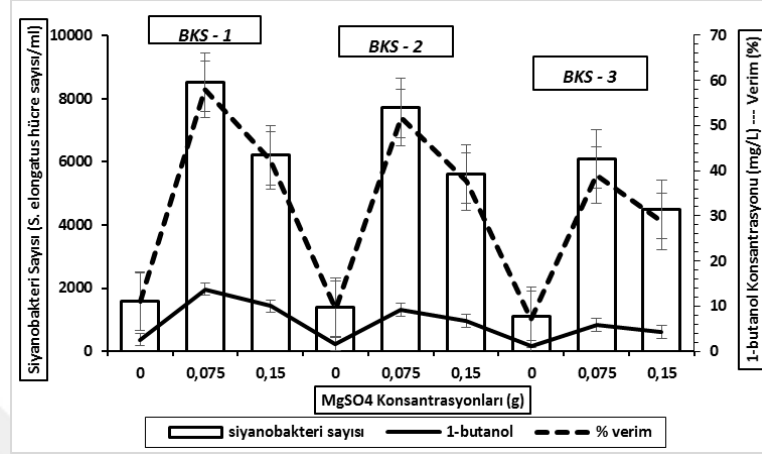
Şekil 5.50 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda MgSO₄'ın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

BG – 11 besiyerinin önemli bir bileşeni olan MgSO₄'ın Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin büyümeleri üzerine etkileri incelenmiştir. FDK - 1, FDK - 2 ve FDK - 3'te maksimum değerler MgSO₄ konsantrasyonunun 0,075 g/L olduğu çalışmalarda elde edilmiştir.

5.5.6.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda $MgSO_4$ 'ın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO_2 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

$MgSO_4$ 'ın ($MgSO_4$ ilavesiz, 0,075 g/L ve 0,15 g/L $MgSO_4$) Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayısına, 1-butanol konsantrasyonlarına ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimleri üzerine olan etkileri Şekil 5.43'te verilen grafikte gösterilmektedir. BKS - 1'de; siyanobakteri sayıları 1600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 2,58 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 11 olan minimum değerlerde elde edilmiştir (Şekil 5.51). BKS - 1'de 0,075 g/L'ye çıkarılan $MgSO_4$ ilavesi ile 13,75 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 58 olarak elde edilmiş olup; *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye çıkmıştır (Şekil 5.51). 0,15 g/L $MgSO_4$ ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayısı azalarak; 6200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan BKS - 1'de elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 10 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 42,3'tür (Şekil 5.51). BKS - 2'de $MgSO_4$ ilavesi olmadan büyütülmüş siyanobakteri sayıları düşük olup; 1400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 1,68 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 9,4'dür (Şekil 5.51). BKS - 2'de 0,075 g/L $MgSO_4$ ilave edildiğinde *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmış olup; 9,28 mg/L 1-butanol ve % 51,8 verim elde edilmiştir (Şekil 5.51). 0,15 g/L $MgSO_4$ ilave edildiğinde ise *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayısı BKS - 2'de 5600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 6,74 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 37,6'dır (Şekil 5.51). BKS - 3'te $MgSO_4$ ilavesi olmadan siyanobakteri sayıları 1100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 1,06 mg/L olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 7'dir (Şekil 5.51). 0,075 g/L $MgSO_4$ ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları BKS - 3'te artmış olup; 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışma ile üretilen 1-butanol konsantrasyonu 5,9 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 39'dur (Şekil 5.51). 0,15 g $MgSO_4$ ilave edilen BKS - 3'te azalmış olan siyanobakteri sayıları 4500 *S. elongatus* hücre

sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 4,35 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 28,7 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.51).



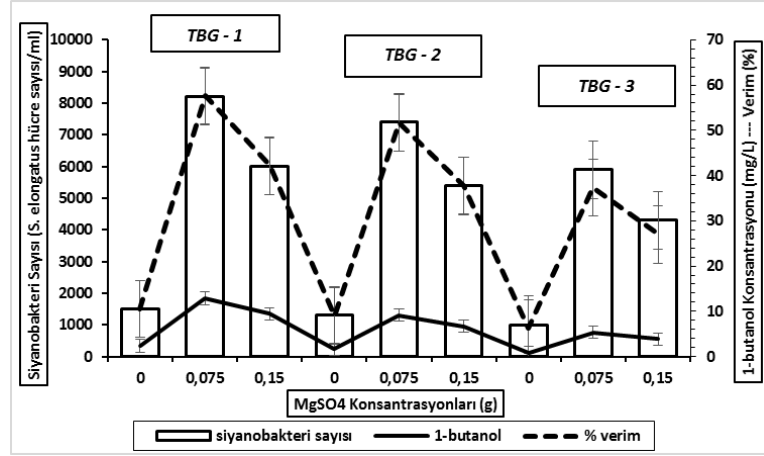
Şekil 5.51 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda MgSO₄'ın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* siyanobakterisi ile yapılan çalışmalarda diğer çalışmalara benzer şekilde maksimum sonuçlar 0,075 g/L MgSO₄ ilavesinin yapıldığı çalışmalardır.

5.5.6.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda MgSO₄'ın Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda üç farklı BG – 11 besiyerinde (MgSO₄ ilavesiz, 0,075 g/L ve 0,15 g/L MgSO₄) büyütülerek 30 günün sonunda etkileri grafik ile verilmektedir (Şekil 5.52). TBG – 1'de MgSO₄ ilavesiz büyütülen siyanobakteri sayısı düşük olup; 1500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilmiş olan 1-butanol konsantrasyonu 2,35 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 10,5 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.52). MgSO₄ konsantrasyonu 0,075 g/L'ye çıkarılmış olan TBG - 1'de *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayısı 8200 *S. elongatus* hücre

sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 12,87 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 57,7 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.52). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları azalan TBG - 1'de 0,15 g/L MgSO₄ ilave edilmiş olup; 6000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml siyanobakteri elde edilmiştir. Bu çalışma ile üretilen 1-butanol konsantrasyonu 9,41 mg/L ve elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 42,2'dir (Şekil 5.52). MgSO₄ ilavesiz gerçekleştirilen TBG - 2'de, siyanobakteri sayıları 1300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Üretilen 1-butanol konsantrasyonu 1,6 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 9'dur (Şekil 5.52). 0,075 g/L MgSO₄ ilave edilerek yapılan TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada 9,15 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.52). TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 0,15 g/L MgSO₄ ilave edildiğinde azalmış olup; 5400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 6,67 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 37,7 elde edilmiştir (Şekil 5.52). TBG - 3'te MgSO₄ ilavesiz üretilen siyanobakteri sayıları 1000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; 1-butanol konsantrasyonu 0,89 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 6,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.52). MgSO₄ konsantrasyonu 0,075 g/L'ye çıkarılmış olan TBG - 3'te siyanobakteri sayıları da artarak; 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşılmıştır. Bu çalışmada üretilmiş olan 1-butanol konsantrasyonu 5,3 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 37,3'dür (Şekil 5.52). TBG - 3'te 0,15 g/L MgSO₄ ilave edildiğinde azalan siyanobakteri sayısı 4300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; bu siyanobakterilerden 3,86 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 27'dir (Şekil 5.52).



Şekil 5.52 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda $MgSO_4$ 'ın siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO_2 'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

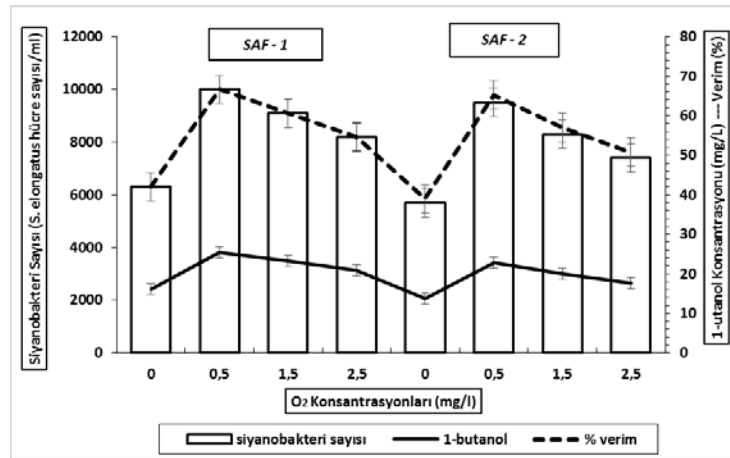
TBG - 1, TBG - 2 ve TBG - 3'te $MgSO_4$ ilavesinin etkisi incelenmiş olup; maksimum sonuç $MgSO_4$ 'ın 0,075 g/L konsantrasyonunda elde edilmiştir. *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin besiyeri olan BG – 11 için optimum $MgSO_4$ konsantrasyonu bu tez kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda 0,075 g/L olarak saptanmıştır.

5.5.7 Çözünmüş Oksijenin (O_2) Etkisinin Sonuçları

5.5.7.1 Saf *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Çözünmüş Oksijenin (O_2) Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO_2 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinin BG-11 sıvı besiyerlerine ekimleri yapıldıktan sonra her bir kültüre sırasıyla O_2 ilavesi olmadan (0 mg/l) ve 0,5 mg/l, 1,5 mg/l, 2,5 mg/l konsantrasyonlarında O_2 pompası ile O_2 ilave edilerek siyanobakteri sayısına, 1-butanol konsantrasyonuna ve verimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada sonuçlar Şekil 5.53'de verilen grafikte gösterilmektedir. Saf – 1'de O_2 ilavesiz büyütülen saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinin siyanobakteri sayısı 6300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 16,06 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/ CO_2 _{kullanılan} verimi % 42 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.53). 0,5 mg/l O_2 ilave edilen Saf - 1'de *S. elongatus* PCC 7942

siyanobakteri sayısı artmış olup; 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşmıştır. 1-butanol konsantrasyonu 25,5 mg/L olarak elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 66,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.53). Saf - 1'de O₂ konsantrasyonu 1,5 mg/l'ye çıkartılarak ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayısı 9100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 23,2 mg/L olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 60,6 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.53). Son olarak O₂ konsantrasyonu 2,5 mg/l'ye arttırılarak elde edilen siyanobakteri sayısı; 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 20,9 mg/L 1-butanolden bu çalışma ile elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 54,6'dır (Şekil 5.53). Saf - 2'de O₂ ilavesi olmadan büyütülen siyanobakteri sayısı 5700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir (Şekil 5.53). Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 13,69 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 39 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.53). O₂ konsantrasyonu 0,5 mg/l'ye çıkartılan Saf - 2'de ise siyanobakteri sayısı 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 22,83 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 65,2'dir (Şekil 5.53). Saf - 2'de 1,5 mg/l O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayısı azalmış olup; 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 19,94 mg/L 1-butanolden bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 57 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.53). 2,5 mg/l'ye çıkartılan O₂ konsantrasyonu ile siyanobakteri sayısı 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 1-butanol konsantrasyonu 17,7 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 50,8'dir (Şekil 5.53).



Şekil 5.53 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda çözünmüş O₂'nin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

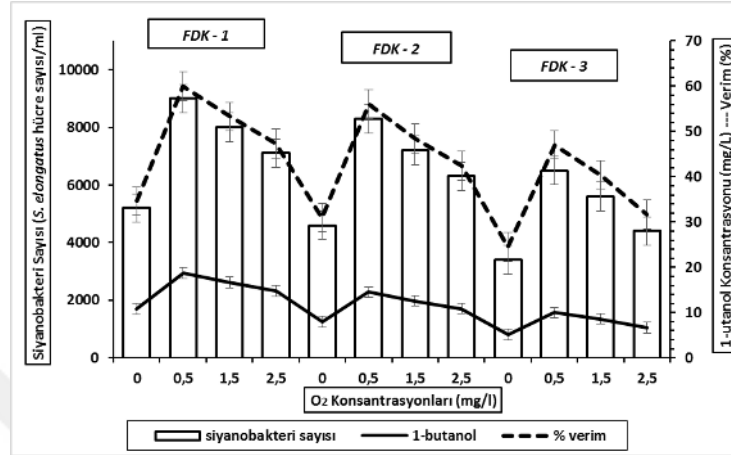
Çözünmüş O₂'nin etkilerinin incelendiği saf *S. elongatus* PCC 7942 ile yapılan Saf - 1 ve Saf - 2'de maksimum sonuçlar 0,5 mg/l O₂ ilavesinde gözlemlenmiştir. O₂ ilavesi olmadan gerçekleştirilen çalışmalarda siyanobakteri sayısı, 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi minimum değerde elde edilmiştir. Artan O₂ konsantrasyonları (1,5 mg/l ve 2,5 mg/l) ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin sayısı azalmış olup; düşük miktarlarda 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi elde edilmiştir. Siyanobakterilerde solunum elektron taşıma kompleksi tip – I NAD(P)H dehidrojenaz, sukkinat dehidrojenaz, sitokrom (cyt) oksidaz ve alternatif oksidaz ve de cyt b₆f kompleksi içermektedir ve fotosentetik elektron taşıma sistemiyle aynıdır. Mikro algler doğal olarak atmosferik oksijene adapte olduklarından atmosferik havada büyümeleri olağandır ve düşük O₂ konsantrasyonlarına siyanobakteriler adapte olmuşlardır (Pope, 1975). Atmosferik koşullarda su içindeki oksijenin çözünürlüğü oldukça düşüktür (35°C'de 7 ppm ve 1 atm hava). Ancak O₂ yokluğu fotosistem II'de elektron taşıyıcısı olan plastokinonu engeller (Lan ve Liao, 2011). Bununla birlikte yüksek O₂ ve CO₂ seviyeleri büyümelerini inhibe edebilmektedir. O₂'nin yüksek konsantrasyonlarının büyüme inhibisyonuna yol açtığı bilinmektedir (Kuan, 2015). Kuan (2015), *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisi ile yaptığı çalışmada artan O₂ konsantrasyonunun büyümeyi limitlediğini vurgulamıştır. Ancak *S. elongatus* PCC 7942 için oksijenin büyüme üzerine etkileri ile ilgili bir veri yayımlanmamıştır.

5.5.7.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Çözünmüş Oksijenin (O₂) Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterileri ile yapılan çalışmalarda sırasıyla O₂ ilave edilmeden (0 mg/l) ve 0,5 mg/l, 1,5 mg/l ve 2,5 mg/l konsantrasyonlarında O₂ ilave edilen kültürlerle 30 gün sonunda O₂'nin etkileri incelenmiştir. FDK – 1'de O₂ ilavesiz büyütülen siyanobakteri sayıları 5200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 10,82 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 34,6'dır. (Şekil 5.54). O₂ konsantrasyonu 0,5

mg/l'ye çıkarılan FDK - 1'de siyanobakteri sayıları 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. 18,73 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 60 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.54). FDK - 1'de 1,5 mg/l O₂ ilave edildiğinde üretilen 1-butanol konsantrasyonu 16,64 mg/L'ye düşmüş olup; siyanobakteri sayıları 8000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 16,64 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.54). O₂ konsantrasyonu 2,5 mg/l'ye çıkarılan FDK - 1'de ise siyanobakteri sayıları daha da azalmış olup; 7100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 14,76 mg/l ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 47,3'tür (Şekil 5.54). FDK - 2'de siyanobakteri sayıları O₂ ilavesiz 4600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 31 olan FDK - 2'de üretilen 1-butanol konsantrasyonu 8,03 mg/L'dir (Şekil 5.54). 0,5 mg/l O₂ ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayılarının FDK - 2'de 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye arttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol miktarı 14,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 56 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.54). FDK - 2'de O₂ konsantrasyonunun 1,5 mg/l'ye çıkarılması ile siyanobakteri sayılarının 7200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüş olduğu gözlemlenmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 12,57 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 48,5'dir (Şekil 5.54). Son olarak 2,5 mg/l'ye çıkarılan O₂ konsantrasyonu ile elde edilen siyanobakteri sayısı 6300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azalmıştır. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 10,9 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 42,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.54). FDK - 3'te O₂ ilavesi olmadan büyütülen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayısı 3400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 5,2 mg/L olan FDK - 3'te 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 24,5 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.54). FDK - 3'te 0,5 mg/l O₂ ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayılarının 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye arttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada 10 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 47 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.54). FDK - 3'te konsantrasyonu 1,5 mg/l'ye çıkarılan O₂ ilave edildiğinde üretilen siyanobakteri sayısı 5600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 8,61 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 40,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.54). O₂

konsantrasyonu 2,5 mg/l arttırılan FDK - 3'te azalan siyanobakteri sayıları 4400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 6,7 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 31,7 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.54).



Şekil 5.54 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda çözünmüş O₂'nin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

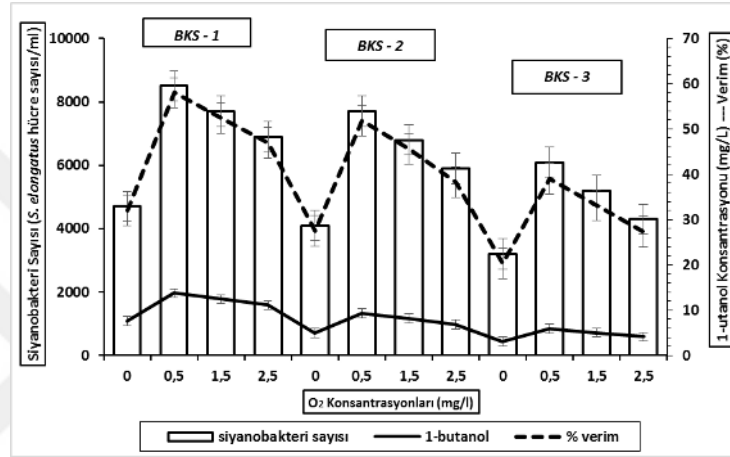
Artan O₂ konsantrasyonlarının *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayısına, üretilen 1-butanol konsantrasyonuna ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimine olan etkilerinin incelendiği FDK - 1, FDK - 2 ve FDK - 3'te maksimum sonuçlar 0,5 mg/l O₂ ilavesinde elde edilmiştir. Saf - 1 ve Saf - 2'ye benzer şekilde O₂ ilavesi olmayan çalışmalarda minimum değerlerde siyanobakteri büyümesi gerçekleşmiştir. 0,5 mg/l'den 1,5 mg/l ve 2,5 mg/l'ye çıkarılan O₂ konsantrasyonu ile siyanobakteri büyümeleri, üretilen 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi azalmıştır.

5.5.7.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Çözünmüş Oksijenin (O₂) Siyanobakteri Sayısına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine artan konsantrasyonlarda O₂'nin (O₂ ilavesi olmadan, 0,5 mg/l, 1,5 mg/l

ve 2,5 mg/l O₂) siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonlarına ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimleri üzerine olan etkileri incelenmiştir (Şekil 5.55). BKS – 1’de; O₂ ilavesi olmadan siyanobakteri sayıları 4700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 7,6 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 32’dir (Şekil 5.55). BKS - 1’de 0,5 mg/l’ye artan O₂’nin ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye artmıştır. Bu çalışmada 13,75 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 58 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.55). BKS - 1’de konsantrasyonu 1,5 mg/l’ye çıkarılan O₂ ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüştür. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 12,45 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 52,5’dir (Şekil 5.55). O₂ konsantrasyonu 2,5 mg/l’ye arttırılan BKS - 1’de siyanobakteri sayıları azalarak; 6900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye ulaşmıştır. 11,15 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 47’dir (Şekil 5.55). BKS – 2’de O₂ ilavesiz büyütülen siyanobakteri sayıları 4100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; 4,94 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 27,5 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.55). BKS - 2’de 0,5 mg/l O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye çıkmıştır. 9,28 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51,8 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.55). 1,5 mg/l’ye artan O₂’nin ilavesi ile BKS - 2’de *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları düşerek; 6800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye ulaşmıştır. Bu çalışma ile 8,19 mg/L 1-butanol üretilmiş olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 45,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.55). BKS - 2’de O₂ konsantrasyonu 2,5 mg/l’ye çıkarıldığında siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüştür. 1-butanol konsantrasyonu 6,86 mg/L olarak elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 38,3’tür (Şekil 5.55). O₂ ilavesi olmadan gerçekleştirilen BKS – 3’de siyanobakteri sayıları 3200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 3,09 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 20,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.55). BKS - 3’te konsantrasyonu 0,5 mg/l’ye arttırılan O₂’nin ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye artmıştır. 1-butanol konsantrasyonu 5,9 mg/L olarak elde edilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan

verimi % 39'dur (Şekil 5.55). 1,5 mg/L O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları BKS - 3'te azalmış olup; 5200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi sırasıyla 5,02 mg/L ve % 33,2'dir (Şekil 5.55). 2,5 mg/l'ye çıkartılan O₂ konsantrasyonu ile BKS - 3'te elde edilen siyanobakteri sayıları 4300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 4,15 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 27,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.55).



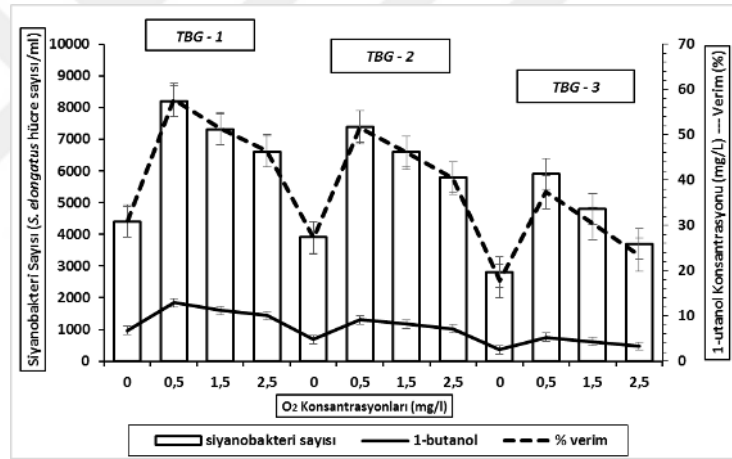
Şekil 5.55 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda çözünmüş O₂'nin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 ile yapılan çalışmalarda artan O₂ konsantrasyonlarının siyanobakteri sayılarına, üretilen 1-butanol konsantrasyonuna ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimlerine olan etkileri incelenmiştir. BKS - 1, BKS - 2 ve BKS - 3'teminimum elde edilen sonuçlar O₂ ilavesi olmayan çalışmalar olurken; maksimum sonuçlar 0,5 mg/l O₂ ilavesinin yapıldığı çalışmalarda elde edilmiştir. 1,5 mg/l ve 2,5 mg/l'ye artan O₂ konsantrasyonları ile elde edilen siyanobakteri sayıları, 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimleri azalmıştır.

5.5.7.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Çözünmüş Oksijenin (O_2) Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO_2 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda dört farklı O_2 konsantrasyonun (O_2 ilavesiz, 0,5 mg/l, 1,5 mg/l ve 2,5 mg/l) siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonlarına ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimleri üzerine olan etkileri incelenmiştir (Şekil 5.56). O_2 ilavesi olmadan siyanobakteri sayısı 4400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan TBG - 1'de; 1-butanol konsantrasyonu 6,74 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 31 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.56). 0,5 mg/l O_2 ilavesi ile TBG - 1'de *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada üretilen 1-butanol 12,87 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 57,7'dir (Şekil 5.56). 1,5 mg/l O_2 ilave edildiğinde *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 7300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azalmıştır. Üretilen 1-butanol konsantrasyonu 11,19 mg/L olan bu çalışmada elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51,3'tür (Şekil 5.56). 2,5 mg/l'ye çıkarılan O_2 'nin ilave edildiği TBG - 1'de siyanobakteri sayıları azalarak; 6600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 10,1 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu Saf - 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi 46,4'tür. TBG - 2'de, siyanobakteri sayıları O_2 ilavesiz gerçekleştirildiğinde 3900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada konsantrasyonu 4,82 mg/L olan 1-butanoldan elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 27,2'dir (Şekil 5.56). 0,5 mg/l O_2 ilave edilerek yapılan TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 9,15 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51,6'dır (Şekil 5.56). TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 1,5 mg/l O_2 ilave edildiğinde ise 6600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 8,16 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 46 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.56). 2,5 mg/l O_2 ilave edilen TBG - 2'de ise siyanobakteri daha da azalarak; 5800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 7,17 olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 40,4'tür

(Şekil 5.53). TBG – 3’te O₂ ilavesi yapılmadan elde edilen siyanobakteri sayıları 2800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. 1-butanol konsantrasyonu 2,51 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 17,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.56). 0,5 mg/l O₂ ilave edilen TBG - 3’te siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye artmıştır. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 5,3 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 37,3 olarak gözlemlenmiştir (Şekil 5.56). TBG - 3’de 1,5 mg/l O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları azalarak; 4800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada 4,31 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 30,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.56). O₂ konsantrasyonu arttırılarak 2,5 mg/l olan TBG - 3’te siyanobakteri sayıları 3700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüştür. 3,32 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 23,5’tir (Şekil 5.56).



Şekil 5.56 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda çözünmüş O₂'nin siyanobakteri sayısına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

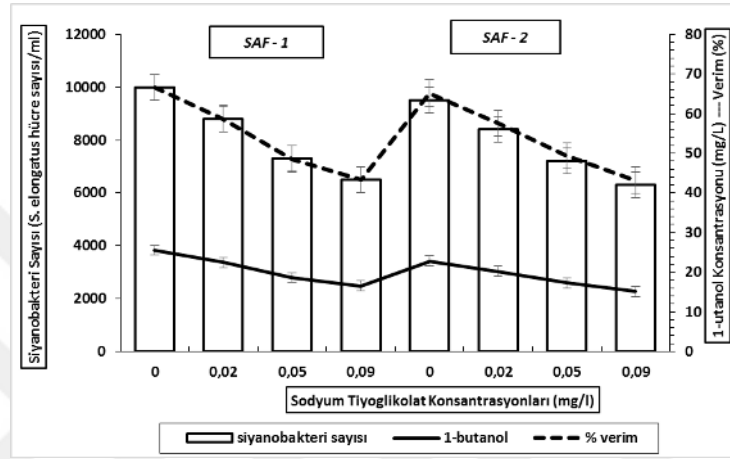
O₂ ilavesinin Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* siyanobakteri sayıları, üretilen 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Maksimum sonuçlar; 0,5 mg/l O₂'nin ilave edildiği çalışmalarda gözlemlenmiştir. O₂ ilave edilmeden gerçekleştirilen çalışmalarda minimum değerlerde sonuçlar elde edilmiştir. O₂ konsantrasyonunun 0,5 mg/l'den sonra artmasıyla *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin sayıları azalmıştır.

5.5.8 Redoks Potansiyelinin Etkisinin Sonuçları

5.5.8.1 Saf *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Redoks Potansiyelinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinin BG-11 sıvı besiyerlerine ekimleri yapıldıktan sonra her bir kültüre sırasıyla 0,02 mg/l, 0,05 mg/l ve 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek ortam anoksik hale getirilip redoks potansiyeli (Eh) 0 mV 'ye ayarlanmıştır. Şekil 5.57'de verilen grafikte Eh = 0 mV 'de anoksik koşulların siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonuna ve verimleri üzerine etkileri gösterilmektedir. Saf - 1 ve Saf - 2 için ayrı ayrı sodyum tiyoglikolat ilave edilmeyen kontrol grupları oluşturulmuştur. Saf - 1 için kontrol grubunda elde edilen değerler; siyanobakteri sayıları 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 25,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 66,6'dır. Saf - 2 için ise kontrol grubunda elde edilen değerler; siyanobakteri sayıları 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 2,83 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 65,2'dir. Saf - 1'de 0,02 mg/l sodyum tiyoglikolat ilavesi ile büyütülen siyanobakteri sayıları kontrole göre azalmış olup; 8800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 22,44 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 58,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.57). 0,05 mg/l'ye artan sodyum tiyoglikolat konsantrasyonunun ilavesi ile Saf - 1'de siyanobakteri sayıları 7300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 1-butanol konsantrasyonu 18,61 mg/L olarak elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 48,6'dır (Şekil 5.57). Saf - 1'de sodyum tiyoglikolat konsantrasyonu 0,09 mg/l'ye çıkartılarak ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayıları daha da azalmış olup; 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 16,57 mg/L olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 43,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.57). Saf - 2'de 0,02 mg/l sodyum tiyoglikolat ilavesiyle büyütülen siyanobakteri sayıları 8400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 20,18 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 57,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.57). Sodyum tiyoglikolat konsantrasyonu 0,05 mg/l'ye çıkartılan Saf - 2'de ise siyanobakteri

sayıları 7200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azalmıştır. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 17,29 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 49,4'tür (Şekil 5.57). Saf - 2'de 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları 6300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 15,12 mg/L 1-butanoldan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 43,2 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.57).



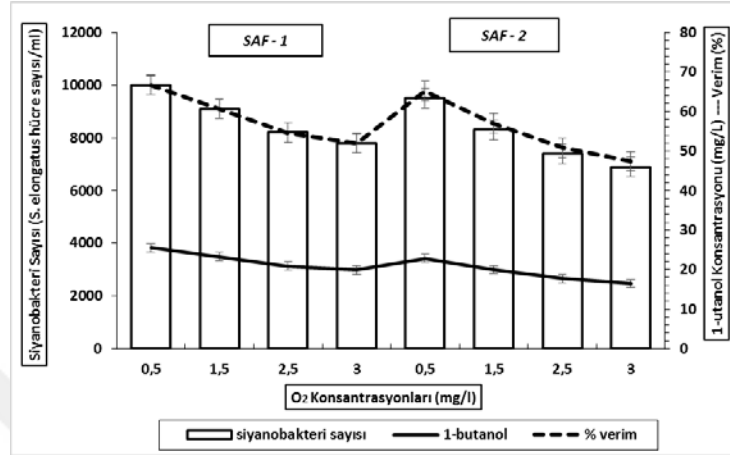
Şekil 5.57 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda anoksik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

0,02 mg/l, 0,05 mg/l ve 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek anoksik hale getirilen ortamda büyütülen saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürleriyle yapılan çalışmalarda siyanobakteri sayılarına, üretilen 1-butanol konsantrasyonuna ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi üzerine etkileri incelenmiştir. Saf - 1 ve Saf - 2 kontrol grupları optimum koşullar olan 120 mV 'de sodyum tiyoglikolat ilave edilmeden büyütülmüş iken; üç farklı konsantrasyonda sodyum tiyoglikolat ilave edilerek redoks potansiyeli 0 mV 'ye düşürülmüştür. Yapılan çalışmalar kontrollerle kıyaslandığında sodyum tiyoglikolat konsantrasyonu arttıkça siyanobakteri sayıları, üretilen 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri azalmıştır. 120 mV 'de elde edilen maksimum 1-butanol konsantrasyonu 25,5 mg/L iken 0 mV 'de anoksik koşullarda maksimum 22,4 mg/L'dir. Lan ve Liao (2011), *S. elongatus* PCC 7942'u anoksik-karanlık ortamlarda büyütmüşler ve CO₂'den 1-butanol üretimini gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada karanlık – anoksik

koşullarında 14,5 mg/L olarak elde etmişlerdir. Lan ve Liao (2012), yaptıkları çalışmada ise fotosentez yolu ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisini kullanarak ışık ve CO₂'den elde ettikleri butanol miktarı ise 30 mg/L'dir.

Aerobik koşullarda Eh = 120 mV 'de saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonuna ve verimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Aerobik koşullar her bir kültüre sırasıyla 0,5 mg/L, 1,5 mg/L, 2,5 mg/l ve 3 mg/l konsantrasyonlarında O₂ pompası ile O₂ ilave edilerek elde edilmiştir. Saf - 1'de O₂ konsantrasyonu 0,5 mg/l olarak ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 25,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 66,6 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.58). 1,5 mg/l O₂ ilave edilen Saf - 1'de *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 9100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düştüğü gözlemlenmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 23,2 mg/L olarak elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 60,6'dır (Şekil 5.58). Saf - 1'de O₂ konsantrasyonu 2,5 mg/l'ye çıkartılarak ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayıları daha da azalmış olup; 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 20,9 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 54,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.58). Son olarak O₂ konsantrasyonu 3 mg/l'ye arttırılarak elde edilen siyanobakteri sayıları 7800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 19,88 mg/L 1-butanolden bu çalışma ile 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 52 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.58). Saf - 2'de O₂ konsantrasyonu 0,5 mg/l ilave edilerek büyütülen siyanobakteri sayıları 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 22,83 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 65,2 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.58). O₂ konsantrasyonu 1,5 mg/l'ye çıkartılan Saf - 2'de ise siyanobakteri sayıları 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 19,94 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 57'dir (Şekil 5.58). Saf - 2'de 2,5 mg/l O₂ ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayıları daha da azalmış olup; 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 17,7 mg/L 1-butanolden bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 50,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.58). 3 mg/l'ye çıkartılan O₂ konsantrasyonu ile

siyanobakteri sayıları minimum değerde elde edilmiş olup; 6900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 16,5 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 47,4'tür (Şekil 5.58).

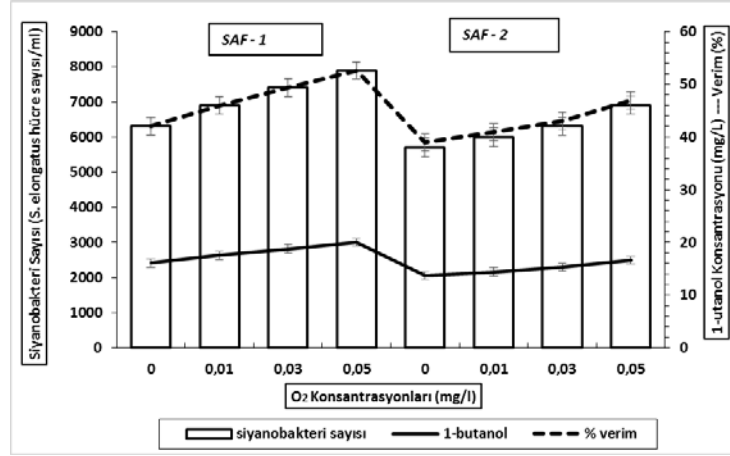


Şekil 5.58 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda aerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

120 mV'de büyütülen saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürleri ile yapılan çalışmalarda artan O₂ konsantrasyonları ile siyanobakteri sayıları, üretilen 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri azalmıştır. O₂'nin yüksek konsantrasyonlarının fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* PCC 7942'un büyümesinde inhibisyona yol açtığı bilinmektedir (Kuan, 2015). Ancak Lan ve Liao (2011), yaptıkları çalışmada siyanobakterilerden 1-butanol üretiminde O₂'nin önemli bir rol oynadığını ve maksimum 1-butanol üretimi için optimum bir O₂ seviyesinin gerekli olduğunu vurgulamışlardır. Bu tez kapsamında yapılan Saf - 1 ve Saf - 2'de 0,5 mg/l, 1,5 mg/l, 2,5 mg/l ve 3 mg/l konsantrasyonlarında O₂ verilen kültürlerde en iyi büyüme 0,5 mg/l O₂ ilave edilen çalışmalarda elde edilmiştir.

Anaerobik koşullarda Eh = -200 mV 'ye çözülmüş O₂ konsantrasyonu 0 mg/l, 0,01mg/l, 0,03 mg/l ve 0,05 mg/l sırasıyla saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine ilave edilerek siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonuna ve verimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Saf - 1'de çözülmüş O₂ konsantrasyonu 0 mg/l olarak büyütülen siyanobakteri sayıları 6300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada

1-butanol konsantrasyonu 16,06 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 42 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.59). 0,01 mg/L çözünmüş O₂ ilave edilen Saf - 1'de siyanobakteri sayılarının 6900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye arttığı gözlemlenmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 17,5 mg/L olarak elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 46'dır (Şekil 5.59). Saf - 1'de çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,03 mg/l'ye çıkartılarak ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayıları daha da artarak; 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 18,76 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 49,3 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.59). Çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,05 mg/l'ye arttırılarak elde edilen siyanobakteri sayıları 7900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. 20,02 mg/L 1-butanolden bu çalışma ile 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 52,6 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.59). Çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0 mg/l olan Saf - 2'de elde edilen siyanobakteri sayıları 5700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 13,69 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 39 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.59). Çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,01 mg/l'ye çıkartılan Saf - 2'de ise siyanobakteri sayıları 6000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye çıkmıştır. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 14,41 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 41'dir (Şekil 5.59). Saf - 2'de 0,03 mg/l çözünmüş O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları daha da artmış olup; 6300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 15,13 mg/L 1-butanolden bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 43 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.59). 0,05 mg/l'ye çıkartılan O₂ konsantrasyonu ile siyanobakteri sayıları artarak; 6900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşılmıştır. 1-butanol konsantrasyonu 16,57 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 47'dir (Şekil 5.59).



Şekil 5.59 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda anaerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-büanol miktarına ve CO₂'den 1-büanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

Saf - 1 ve Saf - 2'de redoks potansiyeli – 200 mV 'ye çözünmüş O₂'nin düşük miktarlarda saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine verilmesi ile ayarlanmıştır. O₂ yokluğunda *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin büyümelerini inhibe ettiğı gözlemlenmiştir. 0,01 mg/l'den 0,05 mg/l'ye doğru çözünmüş O₂ konsantrasyonunun artması ile siyanobakteri sayıları, üretilen 1-büanol konsantrasyonları ve 1-büanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri de artmıştır. Yapılan çalışmalarda anaerobik koşullarda büyütülen siyanobakterilerinin sayıları en düşük olup; 0,05 mg/l çözünmüş O₂ ilavesi ile büyütülen siyanobakteri sayıları en yüksek değerlerde elde edilmiştir.

Farklı redoks potansiyellerinde (0 mV, 120 mV ve – 200 mV) yapılan çalışmalar sonucunda anoksik, aerobik ve anaerobik koşulların fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinin büyümelerine, 1-büanol üretimlerine ve 1-büanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerine olan etkileri incelenmiştir. Fotosentez iki merkezi yol ile gerçekleşmektedir. Bunlar; fotosistem – I (PSI) ve fotosistem – II (PSII)'dir. Fotosistemi oluşturan bu iki sistemde elektronlar PSI'den PSII'ye doğru elektron taşıma zinciri aracılığıyla plastokinon (PQ) havuzuna taşınırlar. Elektron taşıma zincirinde redoks potansiyeli bu havuz içine alınan ve dışarı salınan elektronların oranına göre değişmektedir. PSII içinde; elektronlar tilakoid membranının luminal bölgede sudan ekstre edilir ve stromal bölgede birincil kabul edilen kinona

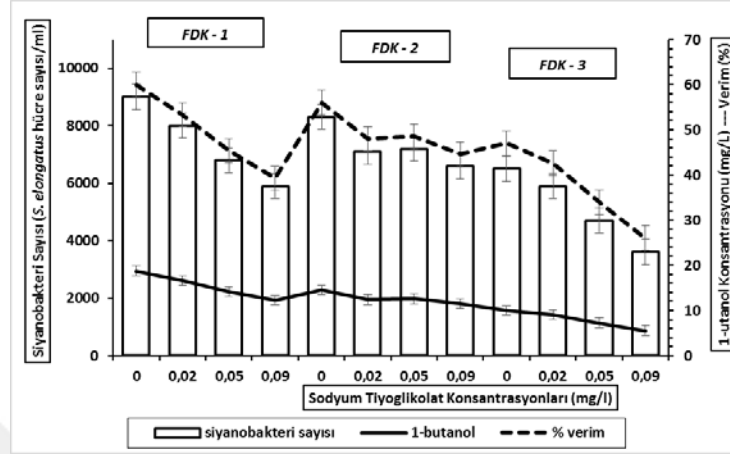
(QA) transfer edilir. Elektronlar daha sonra elektron taşıma zincirinde ikincil kabul edilen kinona (QB) transfer edilir (Schuermans ve ark., 2015). QA'da redoks potansiyeli yaklaşık olarak -100 mV iken (Krieger-Liszkay ve Rutherford, 1998; Allakhverdiev ve ark., 2011), QB'de yaklaşık olarak 0 mV'ye yakındır (Nicholls ve ark., 2013). Siyanobakterilerde fotosentetik ve solunum elektron taşıma sistemi tek bir PQ havuzuyla paylaşılır (Aoki ve ark., 1983; Aoki ve ark., 1983; Matthijs ve ark., 1984; Scherer, 1990). Solunum elektron transferi geceleri ATP oluşturma yeteneği olan hücreleriyle sağlanır. PQ havuzu içine elektronların transfer edilmesi PSI etrafında siklik elektron transferi (sitokrom C oksidasyon), solunum dehidrojenazları (NADPH için spesifik olanlar ve sukkinat) ve PSII'nin aktivitelerine katılmaları sonucudur (Cooley ve ark., 2000; Howitt ve ark., 2001; Yeremenko ve ark., 2005). Mackey ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada *Synechococcus* türleriyle çalışmışlar ve redoks potansiyelinin bir optimum değere artmasıyla gelişimlerinin ve fotosentez hızının arttığını belirtmişlerdir.

5.5.8.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Redoks Potansiyelinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO_2 'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterileri ile yapılan çalışmalarda sırasıyla $0,02$ mg/l, $0,05$ mg/l ve $0,09$ mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek ortam anoksik hale getirilip redoks potansiyeli (Eh) 0 mV 'ye ayarlanmıştır. Şekil 5.60'de verilen grafikte $Eh = 0$ mV 'de anoksik koşulların siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonuna ve verimleri üzerine etkileri gösterilmektedir. FDK - 1, FDK - 2 ve FDK - 3 çalışmaları için ayrı ayrı sodyum tiyoglikolat ilavesi olmayan kontrol grupları oluşturulmuştur. FDK - 1'in kontrol grubunda; siyanobakteri sayıları 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu $18,73$ mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 60 'dır. FDK - 2'nin kontrol grubunda; siyanobakterileri sayıları 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, elde edilen 1-butanol konsantrasyonu $14,5$ mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 56 olarak hesaplanmıştır. FDK - 3'ün kontrol grubunda ise; siyanobakteri sayısı

6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus* PCC 7942'den 10 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 47 olarak elde edildiği gözlemlenmiştir. FDK - 1'de 0,02 mg/l sodyum tiyoglikolat ile büyütülen siyanobakteri sayıları kontrole göre azalarak 8000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml siyanobakteri elde edilmiştir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 16,64 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 53,3'tür (Şekil 5.60). Sodyum tiyoglikolat konsantrasyonu 0,05 mg/l'ye çıkarılan FDK - 1'de siyanobakteri sayıları 6800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 14,14 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 45,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.60). FDK - 1'de 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları daha da düşmüş olup; 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 12,26 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 39,3 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.60). FDK - 2'de 0,02 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek büyütüldüğünde kontrole göre siyanobakteri sayıları 7100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 48 olan FDK - 2'de üretilen 1-butanol konsantrasyonu 12,4 mg/L'dir (Şekil 5.60). 0,05 mg/l sodyum tiyoglikolat ilavesi ile siyanobakteri sayıları FDK - 2'de 6600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol miktarı 11,52 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 44,6 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.60). FDK - 2'de siyanobakteri sayıları sodyum tiyoglikolat konsantrasyonunun 0,09 mg/l'ye çıkarılması ile 5800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 1-butanol konsantrasyonu 10,12 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 39'dur (Şekil 5.60). FDK - 3'te 0,02 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek büyütülen siyanobakteri sayıları kontrolle kıyaslandığında azalmış olup; 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 9,07 mg/L olan FDK - 3'te 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 42,6'dır (Şekil 5.60). FDK - 3'te siyanobakteri sayıları 0,05 mg/l sodyum tiyoglikolat ilavesi ile 4700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Bu çalışmada 7,22 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 34 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.60). FDK - 3'te sodyum tiyoglikolat konsantrasyonu 0,09 mg/l'ye çıkarılarak üretilen siyanobakteri sayıları 3600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada

1-butanol konsantrasyonu 5,53 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 26 olarak minimum değerde elde edilmiştir (Şekil 5.60).



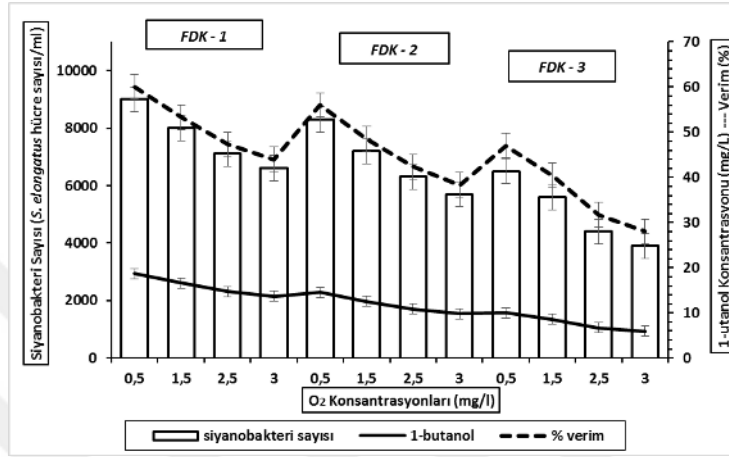
Şekil 5.60 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda anoksik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürleriyle yapılan çalışmalarda 0,02 mg/l, 0,05 mg/l ve 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek anoksik hale getirilen ortamda büyütülen siyanobakteri sayılarına, üretilen 1-butanol konsantrasyonuna ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi üzerine etkileri incelenmiştir. FDK - 1, FDK - 2 ve FDK - 3 kontrol grupları optimum koşullar olan 120 mV 'de sodyum tiyoglikolat ilave edilmeden büyütülmüş iken; üç farklı konsantrasyonda sodyum tiyoglikolat ilave edilerek redoks potansiyeli 0 mV 'ye düşürülmüştür. Yapılan çalışmalar kontrollerle kıyaslandığında sodyum tiyoglikolat konsantrasyonu arttıkça siyanobakteri sayıları, üretilen 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri azalmıştır.

Aerobik koşullarda Eh = 120 mV'de Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonuna ve verimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Aerobik koşullar her bir kültüre sırasıyla 0,5 mg/L, 1,5 mg/L, 2,5 mg/l ve 3 mg/l konsantrasyonlarında O₂ pompası ile O₂ ilave edilerek elde edilmiştir. FDK - 1'de 0,5 mg/l O₂ ilavesiyle büyütülen siyanobakteri sayıları 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol

konsantrasyonu 18,73 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 60'tır. (Şekil 5.61). O₂ konsantrasyonu 1,5 mg/l'ye çıkarılan FDK - 1'de siyanobakteri sayıları 8000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 16,64 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 53,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.61). FDK - 1'de 2,5 mg/l O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları 7100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azalmıştır. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 14,76 mg/L'ye düşmüş olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 47,3 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.61). O₂ konsantrasyonu 3 mg/l'ye artırılan Çalışma 3'te ise siyanobakteri sayıları azalarak; 6600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 13,72 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 44'tür (Şekil 5.61). FDK - 2'de siyanobakteri sayıları 0,5 mg/l O₂ ilave edildiğinde 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 56 olan FDK - 2'de üretilen 1-butanol konsantrasyonu 14,5 mg/L'dir (Şekil 5.61). 1,5 mg/l O₂ ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin sayıları FDK - 2'de 7200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azalmıştır. Bu çalışmada üretilmiş olan 1-butanol miktarı 12,57 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 48,5 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.61). FDK - 2'de siyanobakteri sayıları O₂ konsantrasyonunun 2,5 mg/l'ye çıkarılması ile 6300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 1-butanol konsantrasyonu 10,9 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 42,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.61). Son olarak O₂ konsantrasyonu 3 mg/l'ye çıkarılan FDK - 2'de siyanobakteri sayıları 5700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azalmıştır. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 9,86 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 38,3'tür (Şekil 5.61). FDK - 3'te O₂ konsantrasyonu 0,5 mg/l'de büyütülen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayısı 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 10 mg/L olan FDK - 3'te 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 47 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.61). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları FDK - 3'te 1,5 mg/l O₂ ilavesi ile 5600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azalmıştır. Bu çalışmada 8,61 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 40,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.61). FDK - 3'te konsantrasyonu 2,5 mg/l'ye çıkarılan O₂ ilavesi ile üretilen siyanobakteri sayıları 4400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 6,7 mg/L ve 1-

butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 31,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.61). O₂ konsantrasyonu 3 mg/l'ye arttırılan FDK - 3'te azalmış olan siyanobakteri sayıları 3900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 5,93 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 28 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.61).



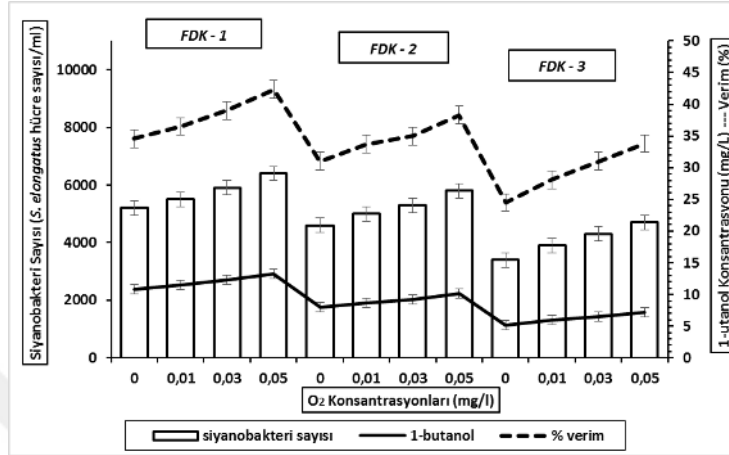
Şekil 5.61 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda aerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

FDK - 1, FDK - 2 ve FDK - 3'te 120 mV 'ye ayarlanan redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, üretilen 1-butanol konsantrasyonlarına ve 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimlerine olan etkileri incelenmiştir. 0,5 mg/l, 1,5 mg/l, 2,5 mg/l ve 3 mg/l konsantrasyonlarında O₂ verilen kültürlerde en iyi büyüme 0,5 mg/l O₂ ilave edilen çalışmalarda elde edilmiştir.

Anaerobik koşullarda Eh = -200 mV 'ye çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0 mg/l, 0,01 mg/l, 0,03 mg/l ve 0,05 mg/l sırasıyla ilave edilen Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinde 30 gün sonunda etkileri incelenmiştir. FDK - 1'de çözünmüş O₂ ilavesiz büyütülen siyanobakteri sayıları 5200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 10,82 mg/L ve 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 34,6'dır (Şekil 5.62). Çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,01 mg/l'ye çıkarılan FDK - 1'de siyanobakteri sayıları 5500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye arttığı gözlemlenmiştir. 11,44 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmada 1-

butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 36,5 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.62). FDK - 1'de 0,03 mg/l çözünmüş O₂ ilave edildiğinde elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 12,27 mg/L'ye artmış olup; siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 39'dur (Şekil 5.62). Çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,05 mg/l'ye çıkarılan Çalışma 3'te ise siyanobakteri sayıları 6400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 13,3 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 42,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.62). FDK - 2'de çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0 mg/l olan çalışmada elde edilen siyanobakteri sayıları 4600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 31 olan bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 8,03 mg/L'dir (Şekil 5.62). 0,01 mg/l çözünmüş O₂ ilavesi edildiğinde siyanobakteri sayıları FDK - 2'de 5000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye arttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol miktarı 8,72 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 33,7'dir (Şekil 5.62). FDK - 2'de çözünmüş O₂ konsantrasyonunun 0,03 mg/l'ye çıkarılması ile siyanobakteri sayıları 5300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. 1-butanol konsantrasyonu 9,24 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 35'dir (Şekil 5.62). Son olarak 0,05 mg/l'ye çıkarılan çözünmüş O₂ konsantrasyonu ile elde edilen siyanobakteri sayıları 5800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 10,11 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 38,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.62). FDK - 3'te çözünmüş O₂ ilavesiz büyütülen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 3400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 5,2 mg/L olan FDK - 3'te 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 24,5 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.62). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları FDK - 3'te 0,01 mg/l çözünmüş O₂ ilavesi ile elde edilen 3900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada 5,96 mg/L 1-butanol'den 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 28,1 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.62). FDK - 3'te konsantrasyonu 0,03 mg/l'ye çıkarılan çözünmüş O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayısı 4300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye çıkmıştır. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 6,57 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 31 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.62). Çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,05 mg/l'ye arttırılan FDK - 3'te siyanobakteri sayıları artarak

4700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml elde edilmiştir. 7,18 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmanın 1-butanol üretilen/CO₂ kullanılan verimi % 33,8 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.62).



Şekil 5.62 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Anaerobik Koşullarda Redoks Potansiyelinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

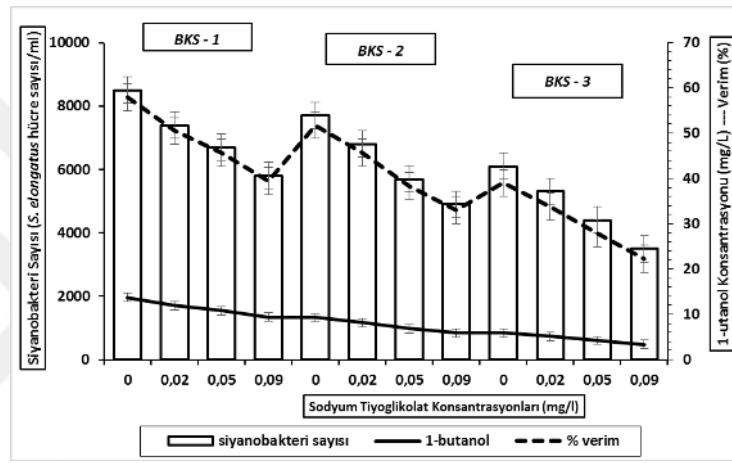
Anaerobik koşullarda redoks potansiyeli – 200 mV 'ye çözülmüş O₂'nin düşük miktarlarda Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine verilmesi ile ayarlanmıştır. *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin anaerobik koşullarda büyümelerinin limitlediği gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalarda anaerobik koşullarda büyütülen siyanobakterilerinin sayıları en düşük olup; 0,05 mg/l çözülmüş O₂ ilavesi ile büyütülen siyanobakteri sayıları en yüksek değerlerde elde edilmiştir.

5.5.8.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Redoks Potansiyelinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine sırasıyla 0,02 mg/l, 0,05 mg/l ve 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek ortam anoksik hale getirilip redoks potansiyeli (Eh) 0 mV 'ye ayarlanmıştır.

Şekil 5.63'ta verilen grafikte $E_h = 0$ mV 'de anoksik koşulların siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonuna ve verimleri üzerine etkileri gösterilmektedir. BKS - 1, BKS - 2 ve BKS - 3 çalışmaları için sodyum tiyoglikolat ilavesi olmayan kontrol grupları oluşturulmuştur. BKS - 1'in kontrol grubu; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 58, 1-butanol konsantrasyonu 13,75 mg/L ve siyanobakteri sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. BKS - 2'nin kontrol grubu; siyanobakteri sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 9,28 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,8'dir. BKS - 3'ün kontrol grubu; siyanobakteri sayıları 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 5,9 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 39'dur. BKS - 1'de 0,02 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek büyütülen siyanobakteri sayıları 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol 11,97 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 50,5 olarak kontrole göre daha düşük değerlerde elde edilmişlerdir (Şekil 5.63). BKS - 1'de 0,05 mg/l'ye artan sodyum tiyoglikolat ilavesi ile siyanobakteri sayıları 6700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada 10,83 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 45,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.63). BKS - 1'de konsantrasyonu 0,09 mg/l'ye çıkarılan sodyum tiyoglikolat ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayıları 5800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 9,37 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 39,5'dir (Şekil 5.63). BKS - 2'de sodyum tiyoglikolat konsantrasyonu 0,02 mg/l ilave edilip büyütülen siyanobakteri sayıları kontrole göre azalmış olup; 6800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 8,19 mg/L 1-butanoldan bu çalışma ile 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 45,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.63). BKS - 2'de 0,05 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları 5700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 6,86 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 38,3 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.63). 0,09 mg/l'ye artan sodyum tiyoglikolat ilavesi ile BKS - 2'de *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayısı düşerek; 4900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşılmıştır. Bu çalışma ile 5,89 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 33 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.63). 0,02 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek gerçekleştirilen BKS - 3'te kontrolle kıyaslandığında siyanobakteri sayıları 5300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada üretilen 1-butanol

konsantrasyonu 5,12 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 33,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.63). BKS - 3'te konsantrasyonu 0,05 mg/l'ye arttırılan sodyum tiyoglikolatın ilavesi ile siyanobakteri sayıları 4400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 1-butanol konsantrasyonu 4,25 mg/L olarak elde edilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 28'dir (Şekil 5.63). BKS - 3'te 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayıları azalmış olup; 3500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi sırasıyla 3,38 mg/L ve % 22,3'tür (Şekil 5.63).



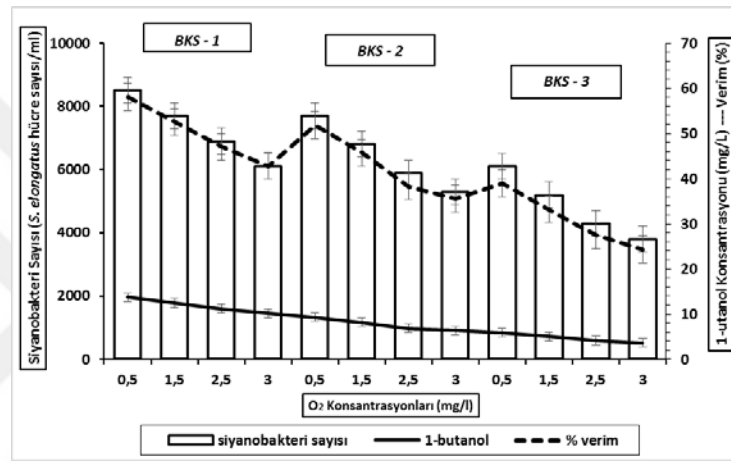
Şekil 5.63 Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda anoksik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

Anoksik koşullarda BKS - 1, BKS - 2 ve BKS - 3'te 0,02 mg/l, 0,05 mg/l ve 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek redoks potansiyeli 0 mV olan ortamlarda büyütülen siyanobakteri sayılarına, üretilen 1-butanol konsantrasyonuna ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi üzerine etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar kontrollerle kıyaslandığında sodyum tiyoglikolat konsantrasyonu arttıkça siyanobakteri sayıları, üretilen 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri azalmıştır.

Aerobik koşullarda Eh = 120 mV 'de Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonuna ve verimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Aerobik

koşullar her bir kültüre sırasıyla 0,5 mg/L, 1,5 mg/L, 2,5 mg/l ve 3 mg/l konsantrasyonlarında O₂ pompası ile O₂ ilave edilerek elde edilmiştir. BKS – 1’de O₂ konsantrasyonu 0,5 mg/l olarak ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 13,75 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 58 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.64). BKS - 1’de 1,5 mg/l’ye artan O₂ ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüştür. Bu çalışmada 12,45 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 52,5 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.64). BKS - 1’de konsantrasyonu 2,5 mg/l’ye çıkarılan O₂ ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayıları 6900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye azalmıştır. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 11,15 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 47’dir (Şekil 5.64). O₂ konsantrasyonu 3 mg/l’ye çıkarılan BKS - 1’de siyanobakteri sayıları azalarak; 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 10,16 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 42,8’dir (Şekil 5.64). BKS – 2’de O₂ konsantrasyonu 0,5 mg/l olup; büyütülen siyanobakteri sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. Bu çalışmada 9,28 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.64). BKS - 2’de 1,5 mg/l O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları 6800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüştür. 8,19 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 45,7 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.64). 2,5 mg/l’ye artan O₂’nin ilavesi ile BKS - 2’de *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayısı 5700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüştür. Bu çalışma ile 6,86 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 38,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.64). BKS - 2’de O₂ konsantrasyonu 3 mg/l’ye arttırıldığında siyanobakteri sayıları 5300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüştür. 1-butanol konsantrasyonu 6,37 mg/L olarak elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 35,6’dır (Şekil 5.64). 0,5 mg/l O₂ ilavesi ile gerçekleştirilen BKS – 3’te siyanobakteri sayıları 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 5,9 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 39 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.64). BKS - 3’te konsantrasyonu 1,5 mg/l’ye arttırılan O₂’nin ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 5200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye düşmüştür. 1-

butanol konsantrasyonu 5,02 mg/L olarak elde edilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 33,2'dir (Şekil 5.64). 2,5 mg/l O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları BKS - 3'te azalmış olup; 4300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi sırasıyla 4,15 mg/L ve % 27,4'tür (Şekil 5.64). 3 mg/l'ye çıkartılan O₂ konsantrasyonu ile BKS - 3'te elde edilen siyanobakteri sayısı 3800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 3,66 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi 24,2'dir (Şekil 5.64).



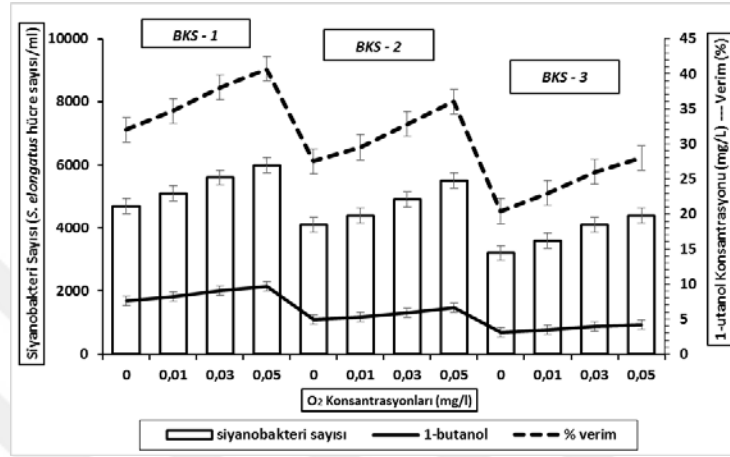
Şekil 5.64 Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda aerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

120 mV 'ye ayarlanan redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, üretilen 1-butanol konsantrasyonlarına ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerine olan etkileri incelenmiştir. BKS - 1, BKS - 2 ve BKS - 3'te kültürle ayrı ayrı 0,5 mg/l, 1,5 mg/l, 2,5 mg/l ve 3 mg/l konsantrasyonlarında O₂ verilen iyi büyüme 0,5 mg/l O₂ ilave edilen çalışmalarda elde edilmiştir. Artan O₂ konsantrasyonu *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin büyümelerini inhibe etmiştir.

Anaerobik koşullarda Eh = -200 mV 'ye çözülmüş O₂ konsantrasyonu 0 mg/l, 0,01 mg/l, 0,03 mg/l ve 0,05 mg/l sırasıyla Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterileri ilave edilen kültürlerde 30 gün sonunda etkileri incelenmiştir. BKS - 1'de çözülmüş O₂ ilavesi

olmadan siyanobakteri sayıları 4700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol 7,6 mg/L ve 1-butanol_{üretile}/CO₂kullanılan verimi % 32'dir (Şekil 5.65). BKS - 1'de 0,01 mg/l'ye artan çözünmüş O₂ ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin sayıları 5100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada 8,24 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretile}/CO₂kullanılan verimi % 34,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.65). BKS - 1'de konsantrasyonu 0,03 mg/l'ye çıkarılan çözünmüş O₂ ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayıları 5600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 9,04 mg/L ve 1-butanol_{üretile}/CO₂kullanılan verimi % 38'dir (Şekil 5.65). Çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,05 mg/l'ye arttırılan BKS - 1'de siyanobakteri sayıları artarak; 6000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşılmıştır. 9,68 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretile}/CO₂kullanılan verimi % 40,7'dir (Şekil 5.65). BKS - 2'de çözünmüş O₂ ilavesi olmadan büyütülen siyanobakteri sayıları 4100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; 4,94 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretile}/CO₂kullanılan verimi % 27,5 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.65). BKS - 2'de 0,01 mg/l çözünmüş O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları 4400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye çıkmıştır. 5,3 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmada 1-butanol_{üretile}/CO₂kullanılan verimi % 29,5 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.65). 0,03 mg/l'ye artan çözünmüş O₂'nin ilavesi ile BKS - 2'de *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları artarak; 4900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml elde edilmiştir. Bu çalışma ile 5,9 mg/L 1-butanol üretilmiş olup; 1-butanol_{üretile}/CO₂kullanılan verimi % 32,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.65). BKS - 2'de çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,05 mg/l'ye çıkarıldığında siyanobakteri sayıları 5500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. 1-butanol konsantrasyonu 6,62 mg/L olarak elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretile}/CO₂kullanılan verimi % 36'dır (Şekil 5.65). Çözünmüş O₂ ilavesi olmadan gerçekleştirilen BKS - 3'te siyanobakteri sayıları 3200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 3,09 mg/L ve 1-butanol_{üretile}/CO₂kullanılan verimi % 20,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.65). BKS - 3'te konsantrasyonu 0,01 mg/l'ye arttırılan çözünmüş O₂'nin ilavesi ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 3600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. 1-butanol konsantrasyonu 3,47 mg/L olarak elde edilen bu çalışmada 1-butanol_{üretile}/CO₂kullanılan verimi % 23'tür (Şekil 5.65). 0,03 mg/l çözünmüş O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları BKS - 3'te artarak; 4100 *S.*

elongatus hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi sırasıyla 3,95 mg/L ve % 26'dır (Şekil 5.65). 0,05 mg/l çözünmüş O₂ ilavesi ile siyanobakteri sayıları 4400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. 4,23 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 28'dir (Şekil 5.65).



Şekil 5.65 Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda anaerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

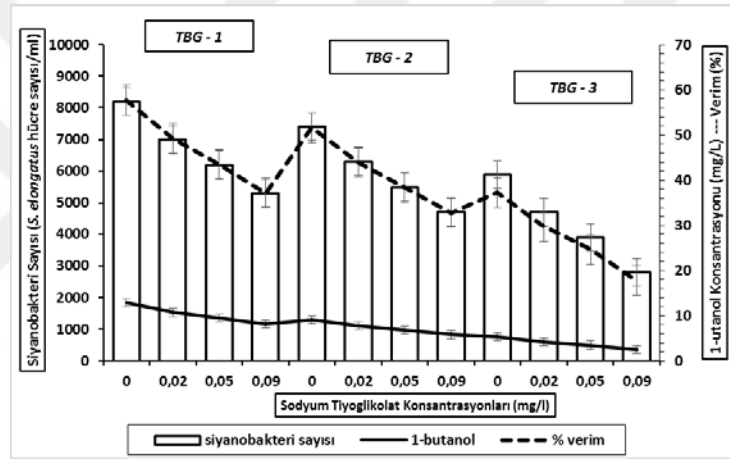
Anaerobik koşullarda redoks potansiyeli – 200 mV 'ye çözünmüş O₂'nin düşük miktarlarda BKS - 1, BKS - 2 ve BKS - 3'te *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine verilmesi ile ayarlanmıştır. *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin anaerobik koşullarda büyümeleri inhibisyona uğrattığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda anaerobik koşullarda büyütülen siyanobakterilerin sayıları minimum olup; maksimum büyüme 0,05 mg/l çözünmüş O₂ ilavesi ile kültürlerde elde edilmiştir.

5.5.8.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda Redoks Potansiyelinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda kültürler sırasıyla 0,02 mg/l, 0,05 mg/l ve 0,09 mg/l

sodyum tiyoglikolat ilave edilerek ortam anoksik hale getirilip redoks potansiyeli (Eh) 0 mV 'ye ayarlanmıştır. Şekil 5.66'de verilen grafikte Eh = 0 mV 'de anoksik koşulların siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonuna ve verimleri üzerine etkileri gösterilmektedir. TBG - 1, TBG - 2 ve TBG - 3 çalışmalarında sodyum tiyoglikolat ilave edilmeyen kontrol grupları oluşturulmuştur. TBG - 1'in kontrol grubu; siyanobakteri sayıları 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 12,87 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 57,7'dir. TBG - 2'nin kontrol grubu; siyanobakteri sayıları 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 9,15 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51,6'dır. TBG - 3'ün kontrol grubu; siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 5,3 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 37,3'dür. 0,02 sodyum tiyoglikolat ilave edilerek büyütülen siyanobakteri sayısı 7000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşen TBG - 1'de 1-butanol konsantrasyonu 10,73 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 49,2 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.66). 0,05 mg/l sodyum tiyoglikolat ilavesi ile TBG - 1'de *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 6200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada üretilen 1-butanol 9,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 43,5'dir (Şekil 5.66). 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edildiğinde *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 5300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azalmıştır. Üretilen 1-butanol konsantrasyonu 8,12 mg/L olan bu çalışmada elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 37,2'dir (Şekil 5.66). TBG - 2'de siyanobakteri sayıları sodyum tiyoglikolat konsantrasyonu 0,02 mg/l olarak ilave edilip gerçekleştirildiğinde 6300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; kontrolle kıyaslandığında siyanobakteri sayıları azalmıştır. Bu çalışmada konsantrasyonu 7,78 mg/L olan 1-butanoldan elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 44'tür (Şekil 5.66). 0,05 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek yapılan TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 5500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 6,79 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 38,4'tür (Şekil 5.66). TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edildiğinde ise 4700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 5,8 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 32,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.66). TBG - 3'te 0,02 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek

büyütülen siyanobakteri sayıları kontrolle kıyasla azalmış olup; 4700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 4,22 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 29,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.66). 0,05 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilen TBG - 3'te siyanobakteri sayıları 3900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azalmıştır. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 3,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 24,6 olarak gözlemlenmiştir (Şekil 5.66). TBG - 3'de 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edildiğinde siyanobakteri sayıları azalarak; 2800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada 2,51 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 17,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.66).

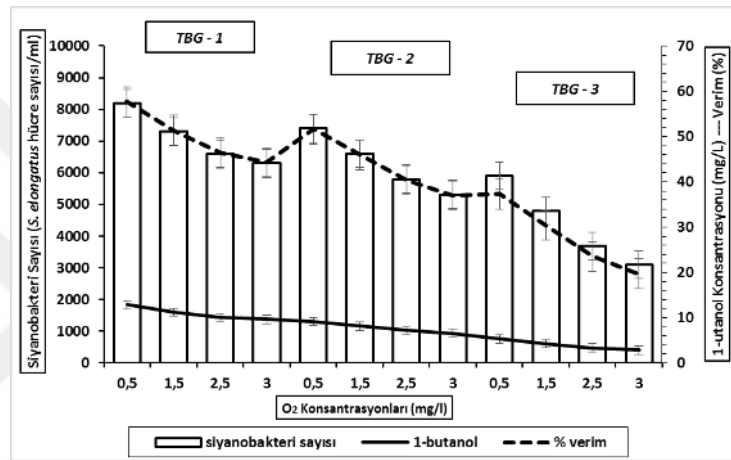


Şekil 5.66 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda anoksik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

Anoksik koşullarda TBG - 1, TBG - 2 ve TBG - 3'te redoks potansiyeli 0 mV 'ye 0,02 mg/l, 0,05 mg/l ve 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek ayarlanan ortamlarda büyütülen siyanobakteri sayılarına, üretilen 1-butanol konsantrasyonuna ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi üzerine etkileri incelenmiştir. Bu tez kapsamında Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine ilave edilen sodyum tiyoglikolat konsantrasyonu arttıkça siyanobakteri sayıları, üretilen 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri azalmıştır.

Aerobik koşullarda $Eh = 120$ mV 'de Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 költürlerinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonuna ve verimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Aerobik koşullar her bir költüre sırasıyla 0,5 mg/L, 1,5 mg/L, 2,5 mg/l ve 3 mg/l konsantrasyonlarında O_2 pompası ile O_2 ilave edilerek elde edilmiştir. 0,5 mg/l O_2 ilavesi ile büyütölen siyanobakteri sayıları 4400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan TBG - 1'de; 1-butanol konsantrasyonu 12,57 mg/L ve 1-butanol_{üretölen}/CO₂kullanılan verimi % 57,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.67). 1,5 mg/l O_2 ilavesi ile TBG - 1'de *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 7300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada üretilen 1-butanol 11,19 mg/L ve 1-butanol_{üretölen}/CO₂kullanılan verimi % 51,3'tür (Şekil 5.67). 2,5 mg/l O_2 ilave edildiğinde *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 6600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye azalmıştır. Üretilen 1-butanol konsantrasyonu 10,1 mg/L olan bu çalışmada elde edilen 1-butanol_{üretölen}/CO₂kullanılan verimi % 46,4'tür (Şekil 5.67). 3 mg/l'ye çıkarılan O_2 'nin ilave edildiğı TBG - 1'de siyanobakteri sayıları azalarak; 6300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 9,64 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu Saf - 1-butanol_{üretölen}/CO₂kullanılan verimi 44,3'tür (Şekil 5.67). TBG – 2'de siyanobakteri sayıları 0,5 mg/l O_2 ilavesi ile gerçekleştirildiğinde 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada konsantrasyonu 9,15 mg/L olan 1-butanoldan elde edilen 1-butanol_{üretölen}/CO₂kullanılan verimi % 51,6'dır (Şekil 5.67). 1,5 mg/l O_2 ilave edilerek yapılan TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 6600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 8,16 mg/L ve 1-butanol_{üretölen}/CO₂kullanılan verimi % 46'dır (Şekil 5.67). TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 2,5 mg/l O_2 ilave edildiğinde ise 5800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 7,17 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmada 1-butanol_{üretölen}/CO₂kullanılan verimi % 40,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.67). 3 mg/l O_2 ilave edilen TBG - 2'de ise siyanobakteri daha da azalarak; 5300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 6,55mg/L olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretölen}/CO₂kullanılan verimi % 37'dir (Şekil 5.67). TBG – 3'te 0,5 mg/l O_2 ilavesi ile elde edilen siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 5,3 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretölen}/CO₂kullanılan verimi % 37,3 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.67). 1,5 mg/l O_2 ilave edilen TBG - 3'te siyanobakteri sayıları 4800 *S. elongatus* hücre

sayısı/ml'ye azalmıştır. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 4,31 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 30,4 olarak gözlemlenmiştir (Şekil 5.67). TBG - 3'de 2,5 mg/l O₂ ilave edildiğinde siyanobakteri sayısı azalarak; 3700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada 3,32 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 23,5 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.67). O₂ konsantrasyonu artırılarak 3 mg/l olan TBG - 3'te siyanobakteri sayıları 3100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye düşmüştür. 2,78 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 19,7'dir (Şekil 5.67).



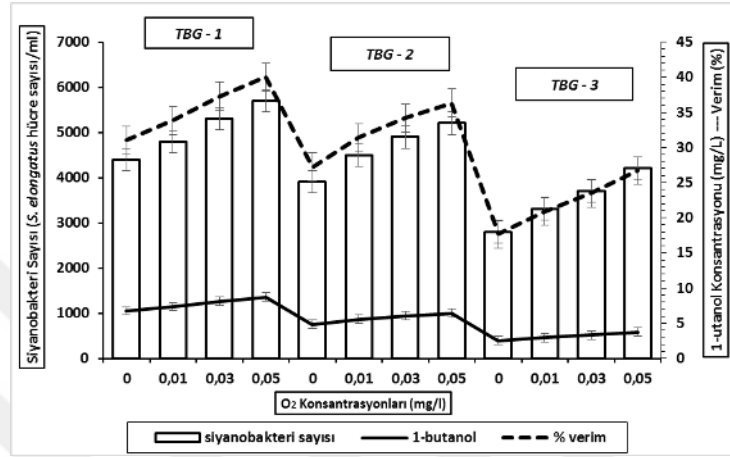
Şekil 5.67 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda aerobik koşulların redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

Redoks potansiyelinin 120 mV'ye 0,5 mg/l, 1,5 mg/l, 2,5 mg/l ve 3 mg/l konsantrasyonlarında O₂ verilerek ayarlanan TBG - 1, TBG - 2 ve TBG - 3'te siyanobakteri sayılarına, üretilen 1-butanol konsantrasyonlarına ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerine olan etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmalar arasında maksimum büyüme 0,5 mg/l O₂ ilave edilen çalışmalarda elde edilmiştir. Artan O₂ konsantrasyonu *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin büyümelerini inhibe ettiği saptanmıştır.

Anaerobik koşullarda Eh = -200 mV 'ye çözülmüş O₂ konsantrasyonu 0 mg/l, 0,01 mg/l, 0,03 mg/l ve 0,05 mg/l sırasıyla Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine ilave edilerek 30 gün sonunda

etkileri incelenmiştir. Çözünmüş O₂ ilavesi olmadan siyanobakteri sayısı 4400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan TBG - 1'de; 1-butanol konsantrasyonu 6,74 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 31 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.68). 0,01 mg/l çözünmüş O₂ ilavesi ile TBG - 1'de siyanobakteri sayıları 4800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada üretilen 1-butanol 7,35 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 33,8'dir (Şekil 5.68). 0,03 mg/l çözünmüş O₂ ilave edilerek büyütülen TBG - 1'de siyanobakteri sayıları 5300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye çıkmıştır. Üretilen 1-butanol konsantrasyonu 8,11 mg/L olan bu çalışmada elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 37,3'tür (Şekil 5.68). 0,05 mg/l'ye çıkarılan çözünmüş O₂'nin ilave edildiği TBG - 1'de siyanobakteri sayıları artarak; 5700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 8,72 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu Saf - 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi 40'tır (Şekil 5.68). TBG - 2'de siyanobakteri sayıları çözünmüş O₂ ilavesiz gerçekleştirildiğinde 3900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada konsantrasyonu 4,82 mg/L olan 1-butanoldan elde edilen 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 27,2'dir (Şekil 5.68). 0,01 mg/l çözünmüş O₂ ilave edilerek yapılan TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 4500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 5,56 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 31,4'tür (Şekil 5.68). TBG - 2'de 0,03 mg/l çözünmüş O₂ ilave edildiğinde ise siyanobakteri sayıları 4900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. 6,05 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 34,2 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.68). 0,05 mg/l çözünmüş O₂ ilave edilen TBG - 2'de ise siyanobakteri daha da artarak; 5200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 6,42 olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 36,3'tür (Şekil 5.68). TBG - 3'te çözünmüş O₂ ilavesi yapılmadan elde edilen siyanobakteri sayıları 2800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 2,51 mg/L olan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 17,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.68). 0,01 mg/l O₂ ilave edilen TBG - 3'te siyanobakteri sayıları 3300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 2,95 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 20,9 olarak gözlemlenmiştir (Şekil 5.68). TBG - 3'de siyanobakteri sayıları 0,03 mg/l çözünmüş O₂ ilave edildiğinde 3700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada 3,3 mg/L 1-butanol üretilmiş ve

1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 23,5 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.68). Çözünmüş O₂ konsantrasyonu artırılarak 0,05 mg/l olan TBG - 3'te siyanobakteri sayıları artmış olup; 4200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 3,74 mg/L 1-butanol üretilmiş olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 26,7'dir (Şekil 5.68).



Şekil 5.68 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda anaerobik koşullarda redoks potansiyelinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Redoks potansiyeli – 200 mV 'ye çözünmüş O₂'nin düşük miktarlarda TBG - 1, TBG - 2 ve TBG - 3'te *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine verilmesi ile ayarlandı. Anaerobik koşullarda büyütülen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin büyümelerini kısıtladığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda sadece anaerobik koşullarda büyütülen siyanobakterilerinin sayıları minimum olup; maksimum büyüme 0,05 mg/l çözünmüş O₂ ilavesi ile kültürlerde elde edilmiştir.

Bu yüksek lisans tez kapsamında yapılan çalışmalarda farklı redoks potansiyelinin *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayılarına, üretilen 1-butanol konsantrasyonlarına ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri üzerine olan etkileri incelenmiştir. 0,01 mg/l, 0,03 mg/l ve 0,05 mg/l sodyum tiyoglikolat ile ortam anoksik hale getirilerek yapılan çalışmalarda artan sodyum tiyoglikolat konsantrasyonları ile *S. elongatus* PCC 7942 büyümeleri azalmıştır. Anoksik koşullarda 120 mV 'de elde edilen maksimum 1-butanol konsantrasyonu 16,06

mg/L'dir. Bu maksimum değerin elde edildiği çalışma saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerine % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂ verilen Çalışma -1'dir. Lan ve Liao (2011), *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterileriyle yaptıkları çalışmada anoksik – karanlık ortamda maksimum 14,5 mg/l 1-butanol elde etmişlerdir. Bu yüksek lisans tezinde ise 60 W'lık ışık şiddeti altında *S. elongatus* PCC 7942 kültürleri büyütülerek çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Aerobik koşullar ise 0,5 mg/l, 1,5 mg/l, 2,5 mg/l ve 3 mg/l O₂ pompası ile O₂ ilave edilen çalışmalarda maksimum elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 25,5 mg/L'dir. Bu değer 0,5 mg/l O₂ ilave edilen Saf - 1'de elde edilmiştir. Ayrıca artan O₂ konsantrasyonları *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin büyümelerini inhibe etmiştir. Anaerobik koşullar ise O₂ verilmeden ve eser miktarlarda (0,01 mg/l, 0,03 mg/l ve 0,05 mg/l) çözünmüş O₂ verilerek gerçekleştirilmiştir. Anaerobik koşullarda çözünmüş O₂ verilmeden yapılan çalışmalar arasında maksimum elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 16,06 mg/l'dir. Artan çözünmüş O₂ konsantrasyonu ile siyanobakteri sayıları artmaya başlamıştır ve maksimum büyümeler 0,05 mg/l çözünmüş O₂ verilen çalışmalarda elde edilmiştir. Ayrıca anoksik, aerobik ve anaerobik koşullarda ayrı gerçekleştirilen çalışmalarda değişen redoks potansiyeli (120 mV, 0 mV ve -200 mV) ile maksimum siyanobakteri sayıları, üretilen 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri 120 mV olan aerobik koşullarda elde edilmiştir. Fotosentez süreci baştan sona bir redoks reaksiyonudur. *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterileri tıpkı bitkiler gibi fotosistem I (PSI) ve fotosistem II (PSII) olarak bilinen iki reaksiyon tipine sahiptirler. İki fotosistem tilakoid zar üzerinde farklı yerlerde bulunur. PSI ve PSII devirli olmayan elektron taşınımını gerçekleştirirler. Bunun sonucunda su moleküler oksijene yükseltgenir ve NADP⁺ NADPH'e indirgenirler (Taiz ve Zeiger, 2008). PSII reaksiyon merkezindeki D1 proteininin bir tirozin kalıntısı oksijen oluşturan kompleks ile P680 (PSII için özelleşmiş foton) arasında bir elektron taşıyıcısı olarak iş görür. Feofitin ve iki plastokinon, P680 ile büyük sitokrom *b₆f* kompleksi arasındaki elektron taşıyıcılarıdır. Plastosiyanin ise sitokrom *b₆f* ve P700 (PSI için özelleşmiş foton) arasında elektron taşır. P700'den elektronları alan elektron taşıyıcılar çok güçlü indirgeyici ajanlardır. Bunlar; bir kinon ve bağlı ferredoksin olarak bilinen zara bağlı üç adet demir-kükürt proteini içerirler. Elektron akışı zara bağlı bir ferredoksin-NADP redüktaz tarafından NADP⁺'ın NADPH'e indirgenmesi

ile sonuçlanır (Liu ve ark., 2012). Siyanobakterilerde fotosentetik ve solunum elektron taşıma sistemi tek bir plastosiyanin havuzuyla paylaşılır (Aoki ve ark., 1983a; Aoki ve ark., 1983b; Matthijs ve ark., 1984; Scherer, 1990). Solunum tek hücreli olan *S. elongatus* PCC 7942 fotosentez ile aynı elektron taşıyıcılar kullanılarak gerçekleşmektedir (Schmetterer, 1994).

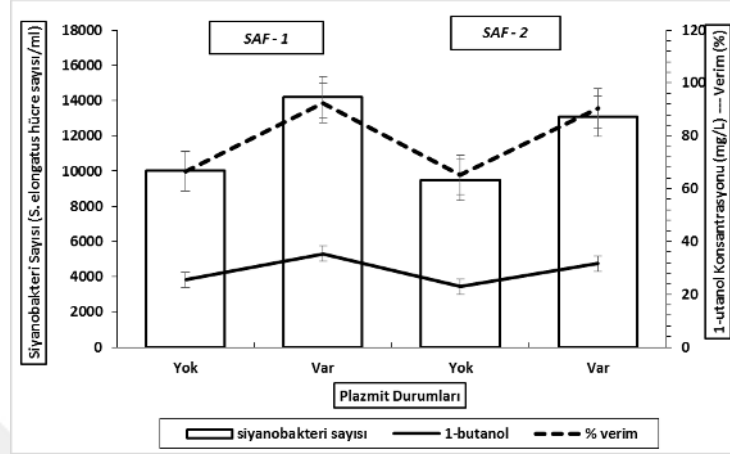
5.5.9 pAM2991 Plazmitinin İlavesi Etkisinin Sonuçları

5.5.9.1 Saf S. elongatus PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pAM2991 Plazmitinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisinin BG-11 sıvı besiyerine ekimi yapıldıktan sonra optimum seviyede üretimi gerçekleştirilmiş olan kültürlerle 2 µg pAM2991 plazmit DNA'sı ilave edilerek bir gece karanlıkta bekletilmiştir. Plazmit DNA'sı siyanobakteriye transfer edilmiştir. Gelişen kültürler uygun plazmit rekombinasyonu için 20 mg/ml spektinomisin içeren BG-11 sıvı besiyerine ekilmiştir (Lan ve Liao, 2011). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayılarına, 1-butanol konsantrasyonlarına ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerine olan etkileri Şekil 5.69'de verilen grafikte gösterilmektedir. Saf – 1'de plazmit transforme edilmeyen kültürlerde siyanobakteri sayıları 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 25,5 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 66,6 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.69). Plazmit transformasyonu yapılan Saf - 1'deki kültürlerde siyanobakteri sayıları 14200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmış olup; elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 35,37 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 92,4'tür (Şekil 5.69).

Saf – 2'de plazmitsiz büyütülen siyanobakteri sayılarının 30 günün sonunda 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışmada elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 22,83 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 65,2 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.69). Plazmit DNA'sının transforme edilmesiyle artan *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 13100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol

konsantrasyonu 31,6 mg/L üretilmiş olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 90,5'e yükselmiştir (Şekil 5.69).

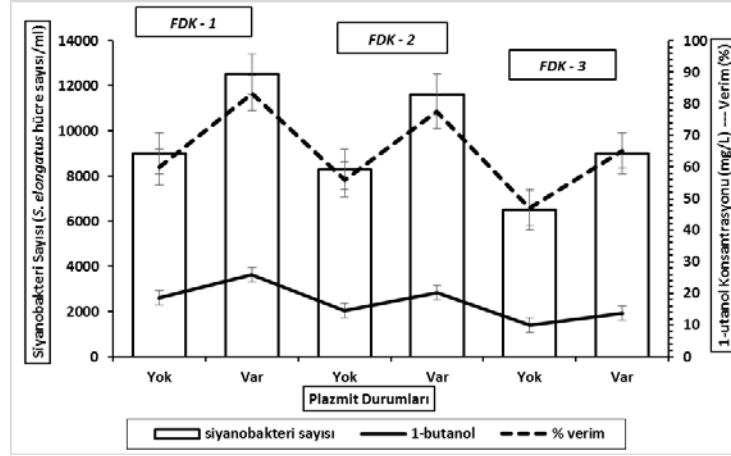


Şekil 5.69 Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda pam29911 plazmitinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteriyle plazmit ilavesinin etkilerinin incelendiği Saf - 1 ve Saf - 2'de plazmit transformasyonu ile siyanobakteri sayıları, üretilen 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri artmıştır. Plazmit ilavesi yapılmadan Saf - 1'de elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 25,5 mg/L iken; plazmit transforme edilen çalışmada 35,37 mg/L'dir. Saf - 2'de plazmit ilave edilen kültürlerde 1-butanol konsantrasyonları artmış olup; 22,83 mg/L'den 31,6 mg/L'ye ulaşılmıştır. Lan ve Liao (2011), *S. elongatus* PCC 7942 ile yaptıkları çalışmada plazmit ilavesi ile anoksik-karanlık koşullarda 14,5 mg/L 1-butanol elde etmişlerdir. Lan ve Liao (2012), fotosentetik metabolizma ile ışık altında plazmit ilavesi ile gerçekleştirdikleri çalışmada maksimum 30 mg/L 1-butanol üretmişlerdir. Bu yüksek lisans tez kapsamında yapılan çalışmalar fotosentetik metabolik yol izi ile ışık altında gerçekleştirilmiş ve plazmit ilavesi ile maksimum 35,37 mg/L 1-butanol elde edilmiştir.

5.5.9.2 Foça Deniz Kıyılarından İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pAM2991 Plazmitinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterileriyle yapılan çalışmalarda kültürlerin orta seviyede üretimi gerçekleştirildi. Daha sonra kültürlerle 2 µg pAM2991 plazmit DNA'sı ilave edilerek bir gece karanlıkta bekletilmiştir ve plazmit DNA'sı siyanobakteriye transfer edilmiştir. Gelişen kültürler uygun plazmit rekombinasyonu için 20 mg/ml spektinomisin içeren BG-11 sıvı besiyerine ekilmiştir (Lan ve Liao, 2011). FDK – 1'de plazmit ilavesi olmadan elde edilen siyanobakteri sayıları 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonunun 18,73 mg/L olan bu çalışmada; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 60 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.70). FDK - 1'de plazmit transforme edilen kültürlerden elde edilen siyanobakteri sayıları artarak 12500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşılmıştır. Bu çalışmada 25,97 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 83,2'dir (Şekil 5.70). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları plazmit olmadan 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan FDK – 2'dir. Elde edilen 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi bu çalışmada sırasıyla 14,5 mg/L ve % 56'dır (Şekil 5.70). FDK - 2'de *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin sayıları plazmit transformasyonu ile 11600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. 1-butanol konsantrasyonu 20,11 mg/L olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 77,6'dır (Şekil 5.70). FDK – 3'te plazmit ilavesi gerçekleştirilmeden siyanobakteri sayıları 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 10 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 47 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.70). Plazmit transforme edilen kültürlerin siyanobakteri sayıları 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. 13,87 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 65,2'dir (Şekil 5.70).



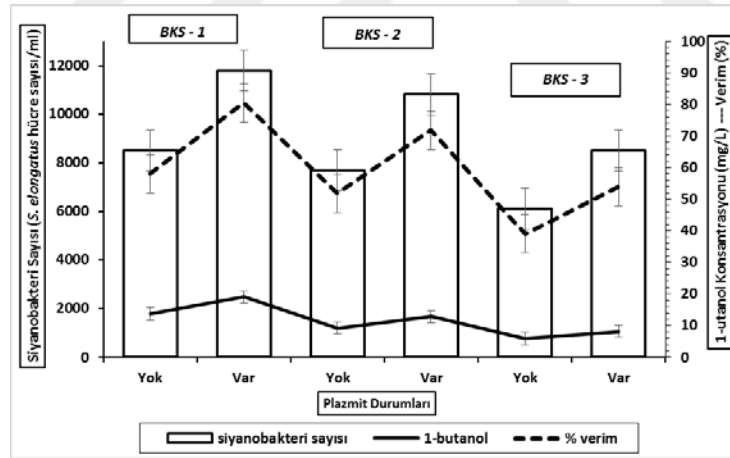
Şekil 5.70 Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda pAM2991 plazmitinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

FDK - 1, FDK - 2 ve FDK - 3'te yapılan plazmit ilavesi ile gerçekleştirilen çalışmalarda maksimum sonuçlar elde edildiği gözlemlenmiştir. Saf *S. elongatus* PCC 7942 ile yapılan çalışmalara benzer şekilde plazmit ilavesi olmadan siyanobakteri sayılarının, üretilen 1-butanol konsantrasyonlarının ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerinin daha az elde edildiği gözlemlenmiştir.

5.5.9.3 Foça Balaban Dağı Mevkii Kaynak Suyundan Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pAM2991 Plazmitinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterileriyle yapılan çalışmalarda kültürlerin orta seviyede üretimi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra kültürlerle 2 µg pAM2991 plazmit DNA'sı ilave edilerek bir gece karanlıkta bekletilmiştir ve plazmit DNA'sı siyanobakteriye transfer edilmiştir. Gelişen kültürler uygun plazmit rekombinasyonu için 20 mg/ml spektinomisin içeren BG-11 sıvı besiyerine ekilmiştir (Lan ve Liao, 2011). BKS - 1'de siyanobakteri sayıları plazmit ilavesi olmadan 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. Bu çalışma ile üretilen 1-butanol konsantrasyonu 13,75 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 58'dir (Şekil 5.71). BKS - 1'de plazmit ilave

edilerek elde edilen siyanobakteri sayıları 11800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 19,07 mg/L'ye çıkan bu çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 80,4 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.71). BKS - 2'de plazmit ilavesi olmadan siyanobakteri sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 9,28 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verim % 51,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.71). *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 10800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye çıkan BKS - 2'de plazmit edilmiş olup; 12,87 mg/L 1-butanoldan 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 71,8 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.71). BKS - 3'te plazmit transformasyonu yapılmadan siyanobakteri sayıları 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonu 5,9 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 39'dur (Şekil 5.71). Plazmit ilave edilerek gerçekleştirilen BKS - 3'te *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. 8,18 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmada ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 54 olarak gözlemlenmiştir (Şekil 5.71).

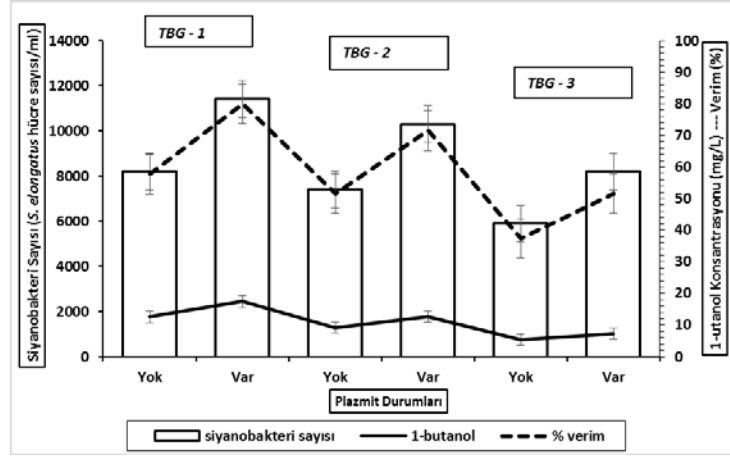


Şekil 5.71 Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda pAM2991 plazminin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan BKS - 1, BKS - 2 ve BKS - 3'te diğer çalışmalara benzer şekilde plazmit transformasyonu ile elde edilen sonuçlar maksimum değerdedir.

5.5.9.4 Tahtalı Baraj Gölünden Alınan Numunelerden İzole Edilen *S. elongatus* PCC 7942 Kültürü ile Yapılan Çalışmalarda pAM2991 Plazmitinin Siyanobakteri Sayılarına, 1-butanol Miktarına ve CO₂'den 1-Butanol Üretim Verimleri Üzerine Etkilerinin Sonuçları

Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterileriyle yapılan çalışmalarda kültürlerin orta seviyede üretimi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra kültürlerle 2 µg pAM2991 plazmit DNA'sı ilave edilerek bir gece karanlıkta bekletilmiştir ve plazmit DNA'sı siyanobakteriye transfer edilmiştir. Gelişen kültürler uygun plazmit rekombinasyonu için 20 mg/ml spektinomisin içeren BG-11 sıvı besiyerine ekilmiştir (Lan ve Liao, 2011). TBG – 1'de plazmit ilavesi olmadan üretilen siyanobakteri sayıları 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 12,57 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 57,7'dir (Şekil 5.72). TBG - 1'de plazmit transforme edilerek elde edilen siyanobakteri sayıları 11400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 17,43 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 80 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.72). TBG – 2'de plazmit ilavesi gerçekleştirilmeden siyanobakteri sayıları 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 9,15 mg/L olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 53 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.72). Plazmit transformasyonu yapılan TBG - 2'de siyanobakteri sayıları 10300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışma ile 12,69 mg/L 1-butanol konsantrasyonu üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 71,5 olarak hesaplanmıştır (Şekil 5.72). TBG – 3'te siyanobakteri sayıları plazmit ilavesi olmadan 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 5,3 mg/L olarak elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 37,3'tür (Şekil 5.72). TBG - 3'te plazmit transforme edilerek elde edilen siyanobakteri sayıları 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye çıkmış olup; 1-butanol konsantrasyonu 7,35 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 51,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 5.72).



Şekil 5.72 Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 kültürü ile yapılan çalışmalarda pAM2991 plazmitinin siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları.

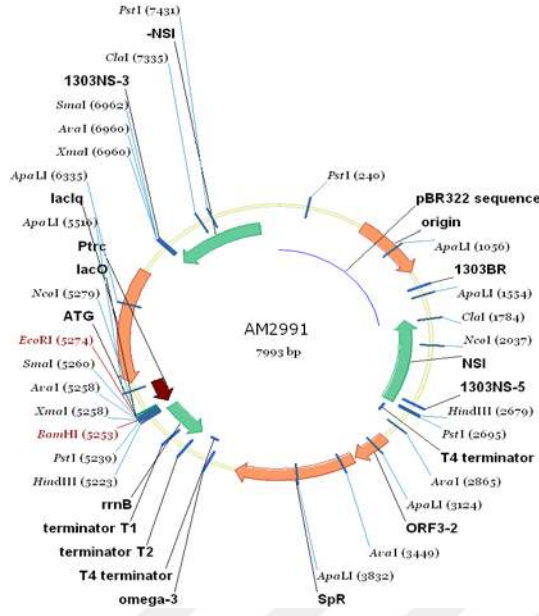
Plazmit ilavesi etkilerinin incelendiği TBG - 1, TBG - 2 ve TBG - 3'te maksimum sonuçların plazmit transforme edilen kültürlerden elde edildiği tespit edilmiştir. Plazmit ilavesi olmadan yapılan çalışmalarda siyanobakteri sayılarının ve üretilen 1-butanol konsantrasyonlarının, 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimlerinin düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 5.20'de pAM2991 plazmitinin ilavesi ve ilavesi olmadan elde edilen siyanobakteri sayıları, 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimleri tüm çalışmalar için verilmektedir. Bu yüksek lisans tezi ile yapılan tüm çalışmalarda gözlemlendiği gibi plazmit transformasyonu ile 1-butanol üretimi artmıştır. *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterisi için Calvin-Benson-Bassham döngüsü ile 1-butanol üretimini gerçekleştirmektedir. Bu döngüde görev alan enzimlerin plazmit ilavesi ile aktiviteleri artmıştır.

Tablo 5.20 pAM2991 plazmitinin ilavesinin yapılan tüm çalışmalarda siyanobakteri sayılarına, 1-butanol miktarına ve CO₂'den 1-butanol üretim verimleri üzerine etkilerinin sonuçları

Araştırma Örneklemeleri	Plazmit Yok			Plazmit Var		
	Siyanobakteri Sayıları (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	1-butanol Konsantrasyonu (mg/L)	% Verim	Siyanobakteri Sayıları (<i>S. elongatus</i> hücre sayısı/ml)	1-butanol Konsantrasyonu (mg/L)	% Verim
Saf - 1	10000	25,5	66,6	14200	35,37	92,4
Saf - 2	9500	22,83	65,2	13100	31,6	90,5
FDK - 1	9000	18,73	60	12500	25,97	83,2
FDK - 2	8300	14,5	56	11600	20,11	77,6
FDK - 3	6500	10	47	9000	13,87	65,2
BKS - 1	8500	13,75	58	11800	19,07	80,4
BKS - 2	7700	9,28	51,8	10800	12,87	71,8
BKS - 1	6100	5,9	39	8500	8,18	54
TBG - 1	8200	12,57	57,7	11400	17,43	80
TBG - 2	7400	9,15	51,6	10300	12,69	71,5
TBG - 3	5900	5,3	37,3	8200	7,35	51,7

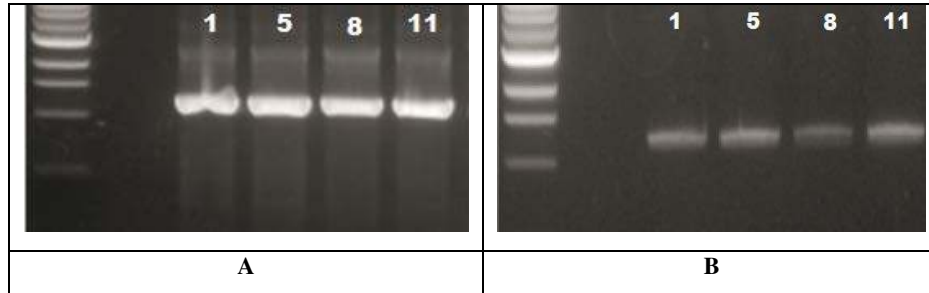
Bu çalışmada kullanılan plazmit; pAM2991'dir. pAM2991 siyanobakteri klonlama vektörü olup spektinomisine direnç göstermektedir (Golden ve ark., 2005). pAM2991 plazmiti; nötral bölge – I (NSI) hedef vektörüne ve Ptrc başlangıç primerine sahiptir (Şekil 5.73). 1-butanol üretiminde gerekli olan genlerden asetil-CoA asetiltransferaz (atoB) ve aldehid/alkol dehidrojenaz (adhE2) pAM2991 plazmitine klonlanmıştır. pEL5 *S. Elongatus* PCC 7942 genomunda rekombine edecek şekilde tasarlanmıştır (Tablo 5.23). Plazmit pEL5'in NSI'e atoB ve adhE2 genleriyle beraber bağlanması IPTG başlatıcısı olan Ptrc sayesinde yapılmıştır. Burada spektinomisin antibiyotiği seçici bir marker olarak kullanılmıştır. *S. elongatus* PCC 7942'a atoB ve adhE2 genlerini içeren pEL5 genomlu pAM2991 nolu plazmitin integrasyonu ve CO₂'ten 1-butanol oluşumu sırasında adhE2 ve atoB enzimlerinin aktivitesi gösterilmiştir (Şekil 5.74).



Şekil 5.73 *S. elongatus*'a transfer edilen plazmit ve bölgeleri, pAM2991(Golden ve ark., 2005).

Tablo 5.23 Kullanılan türün ve Plazmitin genotipleri

<i>S. elongatus</i>		Genotip
Tür	PCC 7942	atoB ve adhE2 NSI integren olup; Ter crt ve hbd NSII'ye Entegre edilmiştir.
Plazmit	pAM2991	NSI hedefli; Ptc: atoB, adhE2'dir.



Şekil 5.74 *S. elongatus* içine pAM2991 plazmitinin rekombinasyonundan sonra adhE2 ve atoB genlerinin primerleri ile PCR sonucunda görüntüleri. A: asetil-CoA asetiltransferaz (atoB) B: aldehid/alkol dehidrojenaz (adhE2).

Plazmit transformasyonu; rekombinant DNA teknikleri kullanılarak pEL5 plazmitindeki atoB ve adhE2 genleri *S. elongatus*'un DNA'sına taşınarak yapılmıştır. pEL5 plazmit DNA'sı *S. elongatus*'un nötral bölge I (NBI) (Bustos ve ark., 1992) rekombinasyonu ile yapılmıştır. Plazmit pEL5; atoB ve adhE2 genlerinden oluşmaktadır. *S. elongatus* ile CO₂'ten 1-butanol üretim için gerekli olan atoB ve

adhE2 bu genler pEL5 plazmiti içinde bulunduğundan bu plazmitler kullanılmıştır. Plazmit pEL5 içindeki atoB ve adhE2 genleri *S. elongatus* DNA'sına BamH1 ve NotI. bölgeleriyle pAM2991 içine transfer edilmiştir. pEL5 genotipi spektinomisine dirençli (Spec^R); NSI hedefli; Ptrc: atoB, adhE2'dir (Lan ve Liao, 2011).

5.6 Enzim Aktivitesi Ölçümleri Sonuçları

5.6.1 3-hidroksibütiril-CoA dehidrojenaz (hbd) Aktivitesi Ölçümü Sonucu

Bu yüksek lisans tezi kapsamında CO₂'ten 1-butanol üretiminde kullanılan *S. elongatus* kültürlerinde her bir çalışma için hbd enziminin spektrofotometrede miktarları ölçülmüştür. Saf - 1'de hbd enziminin miktarı 16×10^{-3} hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.24). Saf - 2'de hbd miktarı Saf - 1'e göre daha düşük olup; 13×10^{-3} hücre sayısı/ml'dir (Tablo 5.24). FDK - 1'de hbd konsantrasyonu 11×10^{-3} hücre sayısı/ml'dir (Tablo 5.24). 8×10^{-3} hücre sayısı/ml'ye düşen hbd konsantrasyonu FDK - 2'de ölçülmüştür (Tablo 5.24). FDK - 3'te hbd enzim aktivitesi 5×10^{-3} hücre sayısı/ml'ye azalmıştır (Tablo 5.24).

Tablo 5.24 Saf ve Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürlerinde spektrofotometrede ölçülen hbd enziminin miktarları

Araştırma Örnekleri	hbd Miktarı (hücre sayısı/ml)
Saf - 1	16×10^{-3}
Saf - 2	13×10^{-3}
FDK - 1	11×10^{-3}
FDK - 2	8×10^{-3}
FDK - 3	5×10^{-3}

Saf ve Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürleri ile yapılan hbd enzim ölçümlerinde maksimum konsantrasyona Saf - 1'de ulaşılmıştır. Bu çalışmada saf *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerine % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂ verilerek 30 gün sonunda 1-butanol elde edilmiştir. Calvin döngüsünde 3-fosfoglisarat oluşumu; öncü olan ribuloz-1,5 bifosfat molekülüne akseptör CO₂'in karboksilasyonunu katalize eden Rubisco enzimi tarafından başlatılmıştır. 3-fosfoglisarat ise ATP ve NADH'ı indirgeyerek 2 ayrı reaksiyon yolu olan gliseraldehid-3-fosfat ve dihidroksiaseton fosfat oluşturur. Gliseraldehid-3-fosfat

asetil-CoA'ya indirgenerek CoA'ya bağımlı metabolik yol izi ile 1-butanol oluşmaktadır (Lan ve Liao, 2012). CoA bağımlı bu metabolik yol izinde 1-butanol üretimi gerçekleştirilirken hbd enzimi asetoasetil-CoA'yı 3-hidroksibutiril-CoA'ya dönüştürmektedir (Boynton ve ark., 1996). Karbon azaltmaya dayalı olan bu metabolik yol izinde hbd miktarı % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂ kullanılan çalışmalarda daha yüksektir. Foça deniz kıyılarından izole edilen çalışmalarda saf *S. elongatus* ile yapılan çalışmalara göre hbd miktarı daha düşük konsantrasyonlarda ölçülmüştür. En düşük hbd konsantrasyonu ise FDK - 3'te elde edilmiştir. Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin kullanıldığı bu çalışmada CO₂'ce zengin kirli bölgelerden hava yakalanıp saflaştırılmadan kullanılmıştır. Bu çalışmada düşük miktarda hbd miktarının elde edilmesinin sebebi; atmosferik havanın fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* PCC 7942'un büyümesini limitlemesidir (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011). Atmosferdeki hava N₂ (% 77), H₂O (% 9–14), O₂ (% 2–6.5), NO (60–1500 mg Nm⁻³), NO₂ (2–75 mg Nm⁻³), SO₂ (0–800 mg Nm³), SO₃ (0–32 mg Nm⁻³), CxHy (0,008–0,4 mg Nm⁻³), CO (2,5–5 mg Nm⁻³), halojen asitler ve ağır metaller gibi 142 farklı bileşiği içermektedir (Raeesossadati ve ark., 2014; Van Den Hende ve ark., 2012). Bu sebeple atmosferik hava siyanobakterilerin büyümelerini olumsuz etkileyebilmektedir. Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerine saflaştırılmadan verilen atmosferik havada bulunan N₂ ve olası H₂S, NH₃ gazları büyümelerini engelleyerek hbd enzim aktivitesini de limitlemiştir.

İzmir'in ilçesi Foça denizi kıyılarından, İzmir'in ilçesi olan Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan ve İzmir'in Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürlerinde 30 gün sonunda spektrofotometrede yapılan hbd enziminin ölçüm sonuçları ayrı ayrı Tablo 5.25'de verilmektedir. FDK - 1 ve 30 günün sonunda hbd miktarı 11×10^{-3} hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.25). FDK - 2'de spektrofotometrede yapılan ölçüm sonucunda hbd miktarı 0,08 hücre sayısı/ml olduğu görülmüştür. hbd konsantrasyonu 5×10^{-3} hücre sayısı/ml'ye düşen çalışma FDK - 3'tür (Tablo 5.25). BKS - 1'de ise hbd konsantrasyonu 9×10^{-3} hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.25). BKS - 2'de büyütüldüğünde 30 gün sonunda hbd miktarı 7×10^{-3} hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. hbd miktarının 4

$\times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml değerinde ölçüldüğü çalışma BKS – 1’dir (Tablo 5.25). TBG – 1’de hbd konsantrasyonu 8×10^{-3} hücre sayısı/ml’dir (Tablo 5.25). TBG – 2’de spektrofotometre ile hbd miktarı 6×10^{-3} hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.25). Son olarak TBG – 3’de hbd miktarı ise 3×10^{-3} hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.25).

Tablo 5.25 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* 30 gün sonunda yapılan hbd ölçüm sonuçları.

Araştırma Örnekleri	hbd Miktarı (hücre sayısı/ml)
FDK - 1	11×10^{-3}
FDK - 2	8×10^{-3}
FDK - 3	5×10^{-3}
BKS - 1	9×10^{-3}
BKS - 2	7×10^{-3}
BKS - 3	4×10^{-3}
TBG - 1	8×10^{-3}
TBG - 2	6×10^{-3}
TBG - 3	3×10^{-3}

Yapılan saha çalışmalarında deniz, göl ve kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerinde hbd miktarları ölçülmüştür. hbd miktarının en fazla olduğu çalışma FDK – 3’tür (Tablo 5.25). Bunun sebebi ise; *Synechococcus* cinsi siyanobakteri hem deniz hem de tatlı su ortamında yaşamalarına rağmen deniz ortamında yaşayanların % 25 daha fazla birincil üretim yapmalarıdır (Scalan, 2002). CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂’in kullanıldığı çalışmalarda (FDK - 2, BKS - 2 ve TBG - 2) ise *S. elongatus*’un hbd miktarlarının daha az olduğu tespit edilmiştir. hbd miktarının en az olduğu çalışma ise CO₂’ce zengin kirli bölgelerden havanın yakalanıp saflaştırılmadan kullanıldığı TBG - 3’tür. (Tablo 5.25). hbd miktarının daha az olmasının nedeni; saflaştırılmadan verilen atmosferik havada N₂ ve olası H₂S, NH₃ gazlarının *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümelerini engellemesidir (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011).

Bu yüksek lisans tezi kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda hbd miktarları spektrofotometrede ölçülmüş ve maksimum değer Saf - 1’de 0,016 hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Literatürde yapılan araştırmalara göre *S. elongatus* hbd enziminin spektrofotometre ile aktivitesi Lan ve Liao (2011), tarafından yapılan

çalışmada ölçülmüştür. Çalışmalarında anoksik koşullarda hbd enziminin aktivitesini 0,012 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak elde etmişlerdir. Caspi ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada; hbd enzimi *C. acetobutylicum*, *C. acetobutylicum* ATCC 824, *E. gracilis*, *S. elongatus* PCC 7942 organizmaları tarafından 1-butanol üretimi sırasında CoA bağımlı metabolik yol izinde kullanıldığı belirtilmiştir. n-butanol üreten metabolik yol tamamen *C. acetobutylicum* ve *E. gracilis*'ten gelen genler kullanılarak *S. elongatus* PCC 7942'un hücrelerinde DNA içine tasarlanmıştır. Bu güçlendirilmiş metabolik yol izi n-butanol üretimi için arka arkaya üç yol ile oluşmaktadır. İlk iki metabolik yol izi doğal olarak siyanobakterilerde yaşanmaktadır. Fotosentez metabolik yolu ile Calvin-Benson-Bassham döngüsü yoluyla griseralehit-3-fosfattan (G3P) n-butanol üretimi için NADPH üretilir. G3P'ta glikoliz ile pirüvat; üçüncü metabolik yolun başlangıç noktası olan asetil-CoA'ya dönüştürülür (Caspi ve ark., 2013). Bu tepkime esnasında NADH'ın NAD^+ 'a yükseltgenmesi gerçekleşmektedir (Hawkins ve ark., 2014). hbd enziminin doğal substratları 3-asetoasetil-CoA, NADPH^+ , ve H^+ olup; oluşturduğu ürünler ise 3-hidroksibütiril-CoA ve NADP^{+} 'dir. Kofaktörü ise NADPH 'dır. Bu enzim, *S. elongatus* PCC 7942'de elektron alıcı olarak NAD^+ veya NADP^+ ile elektron verici olarak CH-OH grubuna katılmakta olup; oksidoredüktaz enzim gurubuna aittir. *S. elongatus* PCC 7942'de CoA ligasyonu ve butanoat metabolizması yoluyla benzoat bozulmasına katılır (Madan ve ark., 1973). *Clostridium* türlerinde fermentasyon metabolik yol izinde merkez enzimdir ve hem asit hem de çözücü madde üretiminde rol oynamaktadır (Hartmanis ve Gatenbeck, 1984). hbd enzimi *S. elongatus* PCC 7942'in CO_2 'ten 1-butanol oluşma yol izinde asetoasetil-CoA'dan 3-hidroksibütiril-CoA'nın oluşturulmasından sorumludur (Boynton ve ark., 1996). Madan ve ark. (1973), *C. kluyveri* ile yaptıkları çalışmada hbd enziminin aktivitesini 445 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak elde etmişlerdir. Lan ve Liao (2011), yaptıkları çalışmada oksijenik ortamlarda büyüttükleri *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinde doğal suşta hbd aktivitesine ulaşamamışlardır. Ancak pEL1, pEL7, pEL13 ve pEL14 plazmitlerinin transformasyonu yaptıkları kültürlerde sırasıyla hbd aktivitelerini sırasıyla 0,27 $\mu\text{mol/dak/mg}$, 0,27 $\mu\text{mol/dak/mg}$, 0,29 $\mu\text{mol/dak/mg}$ ve 0,64 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak elde etmişlerdir. Çalışmalarında anoksik ortam büyüttükleri *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinde doğal suşta hbd aktivitesini 0,012 $\mu\text{mol/dak/mg}$

olarak ölçmüşlerdir. pEL1, pEL7, pEL13 ve pEL14 plazmitlerinin transformasyonu ile hbd aktivitesini sırasıyla 0,31 $\mu\text{mol/dak/mg}$, 0,91 $\mu\text{mol/dak/mg}$, 1,08 $\mu\text{mol/dak/mg}$ ve 0,91 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak ölçmüşlerdir. Bu yüksek lisans tezinde yapılan çalışmalarda plazmit ilavesi olmadan elde edilen maksimum hbd miktarı 0,016 hücre sayısı/ml'dir. pAM2991 plazmitinde bulunan AtoB ve AdhE2 genleri sadece asetoasetil-CoA transferaz ve aldehid/alkol dehidrojenaz enzimlerinin aktivitesini arttırmaktadır. Aldehid/alkol dehidrojenaz enziminin ölçümleri Bölüm 4; 5.6.3 başlığı altında verilmiştir.

5.6.2 *Trans-2-enoil-CoA redüktaz (Ter) Ölçümü Sonucu*

S. elongatus PCC 7942 kültürlerinin üretimi gerçekleştirilen her bir çalışmada CO_2 'ten 1-butanol üretiminde kullanılan trans-2-enoil-CoA redüktaz (Ter) enziminin spektrofotometrede miktarları ölçülmüştür. 0,5 mg/l olan çözünmüş O_2 konsantrasyonu *S. elongatus* büyümesi için optimum değerde olup; Ter enziminin aktivitesine etki etmemektedir. Saf - 1'de Ter enziminin miktarı $2,2 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'dir (Tablo 5.26). Saf - 2'de Ter miktarı Saf - 1'e göre daha az konsantrasyonda ölçülmüş olup; $1,8 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'dir (Tablo 5.26). FDK - 1'de Ter konsantrasyonu $1,5 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.26). FDK - 2'de Ter konsantrasyonu $1,2 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'ye düşmüştür (Tablo 5.26). FDK - 3'te Ter enzim aktivitesi $0,8 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'ye azalmıştır (Tablo 5.26).

Tablo 5.26 Saf ve Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürlerinde spektrofotometrede ölçülen Ter enziminin miktarları.

Araştırma Örnekleri	Ter Miktarı (hücre sayısı/ml)
Saf - 1	$2,2 \times 10^{-3}$
Saf - 2	$1,8 \times 10^{-3}$
FDK - 1	$1,5 \times 10^{-3}$
FDK - 2	$1,2 \times 10^{-3}$
FDK - 3	$0,8 \times 10^{-3}$

Ter enzim ölçümlerinde saf ve Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürleri ile yapılan çalışmalarda maksimum konsantrasyona Saf - 1'de ulaşılmıştır. Saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine bu çalışmada % 99 saflıkta olan CO_2

tüpünden CO₂ verilerek 30 gün sonunda 1-butanol elde edilmiştir. CO₂ ribuloz-1,5 bifosfat ile reaksiyona girerek, 6 karbonlu geçici bir molekül oluşturur. Geçici molekül hemen ikiye bölünüp 3 karbonlu iki molekül 3-fosfogliseratı oluşturur. Tüm bu reaksiyonlara inorganik karbonun (CO₂) 3-fosfogliserat denilen organik şekle sokulmasını sağladığı için karbon fiksasyonu denilmektedir (Taiz ve Zeiger, 2005). CO₂'in karboksilasyonu ile katalize eden Rubisco enzimi tarafından başlatılan Calvin döngüsünde 3-fosfogliserat oluşumunda öncü olan ribuloz-1,5 bifosfat molekülüdür. Gliseraldehid-3-fosfat asetil-CoA'ya indirgenerek CoA'ya bağımlı metabolik yol izi ile 1-butanol oluşturmaktadır (Lan ve Liao, 2012). CoA'ya bağımlı bu metabolik yol izinde 1-butanol üretimi gerçekleştirilirken Ter enzimi krotonil-CoA'yı bütiril-CoA'ya dönüştürmektedir (Boynton ve ark., 1996). Karbon azaltmaya dayalı olan bu metabolik yol izinde siyanobakteri hücreleri düşük CO₂ içeren bir ortama alındıklarında tipik foto-respirasyon belirtileri (düşük CO₂ konsantrasyonunda fotosentezin O₂ tarafından engellenmesi) gösterirler (Taiz ve Zeiger, 2005). Bu sebeple büyümeleri engellenir. Ancak CO₂'ce zengin kaynak olan % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂ kullanılan çalışmalarda Ter konsantrasyonu bu sebeple daha fazladır. Foça deniz kıyılarından izole edilen çalışmalarda saf *S. elongatus* PCC 7942 ile yapılan çalışmalara göre Ter konsantrasyonu daha düşük elde edilmiştir. Ter konsantrasyonu en az FDK - 3'te ölçülmüştür. Saflaştırılmadan kullanılan atmosferik hava fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus*'un büyümelerini limitlemektedir (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011). Atmosferdeki hava N₂, NO, NO₂, SO₂, SO₃ ve CO gibi farklı bileşikler içermektedir (Raesossadati ve ark., 2014; Van Den Hende ve ark., 2012). Bu da *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümelerini limitlediğinden Ter enziminin miktarı daha düşük ölçülmüştür.

İzmir'in ilçesi Foça denizi kıyılarından, İzmir'in ilçesi olan Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan ve İzmir'in Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiiinden izole edilen *S. elongatus* kültürlerinde Ter enziminin spektrofotometrede 30 gün sonunda yapılan ölçüm sonuçları ayrı ayrı Tablo 5.27'de gösterilmektedir. FDK - 1'de 30 günün sonunda Ter miktarı $1,5 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.27). FDK - 2'de Ter miktarı $1,2 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olduğu görülmüştür. FDK - 3'te Ter konsantrasyonu $0,8 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'ye azalmıştır (Tablo 5.27). BKS - 1'de

Ter konsantrasyonu $1,3 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.27). BKS – 2’de Ter miktarı $0,9 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml’dir (Tablo 5.27). Ter miktarının $0,6 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml konsantrasyonunda ölçüldüğü çalışma BKS – 3’tür (Tablo 5.27). TBG – 1’de Ter miktarı $1,1 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.27). TBG – 2’de Ter konsantrasyonu $0,7 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.27). TBG – 3’de Ter konsantrasyonu $0,5 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml’dir (Tablo 5.27).

Tablo 5.27 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* 30 gün sonunda yapılan Ter ölçüm sonuçları

Araştırma Örnekleri	Ter Miktarı (hücre sayısı/ml)
FDK - 1	$1,5 \times 10^{-3}$
FDK - 2	$1,2 \times 10^{-3}$
FDK - 3	$0,8 \times 10^{-3}$
BKS - 1	$1,3 \times 10^{-3}$
BKS - 2	$0,9 \times 10^{-3}$
BKS - 3	$0,6 \times 10^{-3}$
TBG - 1	$1,1 \times 10^{-3}$
TBG - 2	$0,7 \times 10^{-3}$
TBG - 3	$0,5 \times 10^{-3}$

Ter konsantrasyonu deniz, göl ve kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürleri ile yapılan saha çalışmalarında ölçülmüştür. Ter konsantrasyonun en yüksek elde edildiği çalışma; FDK - 3’tür (Tablo 5.24). *Synechococcus* cinsi siyanobakterinin hem deniz hem de tatlı su ortamında yaşamalarına rağmen deniz ortamında yaşayanların % 25 daha fazla birincil üretim yapmaktadır (Scalan, 2002). Bu sebeple Foça deniz kıyılarında yapılan çalışmalarda Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin gelişmeleri daha fazla olup; Ter konsantrasyonları daha yüksek elde edilmiştir. CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂’in kullanıldığı çalışmalarda (FDK - 2, BKS - 2 ve TBG - 2) ise *S. elongatus*un Ter konsantrasyonu daha düşük elde edilmiştir. Ter miktarının en düşük olduğu çalışma ise CO₂’ce zengin kirli bölgelerden havanın yakalanıp saflaştırılmadan kullanıldığı TBG - 3’tür (Tablo 5.24). Saflaştırılmadan verilen atmosferik havada N₂ ve olası H₂S, NH₃ gazlarının *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümelerini limitlemekte (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011) ve Ter aktiviteleri bu çalışmada daha düşük elde edilmektedir.

Yapılan on bir çalışma ile Ter konsantrasyonları spektrofotometrede ölçülmüş ve maksimum değer $2,2 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Literatürde yapılan araştırmalara göre *S. elongatus* Ter enziminin spektrofotometre ile aktivitesi Lan ve Liao (2011), tarafından yapılan çalışmalarda ölçülmüştür. Bu çalışmada hem oksijenik hem de anoksik koşullarda Ter enziminin aktivitesini pEL1, pEL7, pEL13 ve pEL14 plazmitlerini transforme etmeden elde edememişlerdir. Lan ve Liao (2011), oksijenik ortamlarda büyüttükleri *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine pEL1, pEL7, pEL13 ve pEL14 plazmitlerinin transformasyonu yaptıkları çalışmada Ter aktivitelerini sırasıyla 0,0021 $\mu\text{mol/dak/mg}$, 0,019 $\mu\text{mol/dak/mg}$, 0,057 $\mu\text{mol/dak/mg}$ ve 0,41 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak ölçmüşlerdir. Çalışmalarında anoksik ortamda büyüttükleri *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinde pEL1, pEL7, pEL13 ve pEL14 plazmitlerinin transformasyonu ile Ter aktivitesini sırasıyla 0,017 $\mu\text{mol/dak/mg}$, 0,023 $\mu\text{mol/dak/mg}$, 0,18 $\mu\text{mol/dak/mg}$ ve 1,12 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak ölçmüşlerdir. Ter enzimi *E. gracilis* tarafından katalizlenen bir enzimdir (Hoffmeister ve ark., 2005). n-butanol üreten metabolik yol izi tamamen *C. acetobutylicum* ve *E. gracilis*'ten gelen genler kullanılarak *S. elongatus* PCC 7942'un hücrelerinde DNA içine tasarlanmıştır. Bu güçlendirilmiş metabolik yol izi n-butanol üretimi için arka arkaya üç yol ile oluşmaktadır. İlk iki metabolik yol izi doğal olarak siyanobakterilerde yaşanmaktadır. Fotosentez metabolik yolu ile Calvin-Benson-Bassham döngüsü yoluyla griseralehit-3-fosfattan (G3P) n-butanol üretimi için NADPH üretilir. G3P'ta glikoliz ile pirüvat; üçüncü metabolik yolun başlangıç noktası olan asetil-CoA'ya dönüştürülür (Caspi ve ark., 2013). Bu tepkime esnasında NADH'nın NAD^{+} 'a yükseltgenmesi gerçekleşmektedir (Hawkins ve ark., 2014). Ter enziminin katıldığı birçok reaksiyon vardır.

Bu yüksek lisans tezinde Ter enzimi krotonil-CoA'dan bütiril-CoA katalizlemede görev almaktadır. Bu reaksiyonda Ter enziminin doğal substratları krotonil-CoA ve NADH^{+} 'dır. Oluşturduğu ürünler ise bütiril-CoA ve NAD^{+} 'dır. Kofaktörü ise NADPH'dır. Ter enzimi CO_2 'ten 1-butanol oluşma yol izinde krotonil-CoA'dan bütiril-CoA'nın oluşturulmasından sorumludur (Tucci ve Martin, 2007). Hoffmeister ve ark., (2005) *E. gracilis* ile yaptıkları çalışmada krotonil-CoA'dan bütiril-CoA

oluşturma reaksiyonunda Ter enziminin aktivitesini aerobik koşullarda 0,86 $\mu\text{mol/dak/mg}$ ve anaerobik koşullarda 0,78 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak elde etmişlerdir. Tucci ve Martin (2007), yaptıkları çalışmada krotonil-CoA'dan bütiril-CoA oluşturma reaksiyonunda Ter enzimin aktivitesini 43 $\mu\text{mol/dak/mg}$ olarak ölçtüklerini belirtmişlerdir. Lan ve Liao (2011), yaptıkları çalışmada oksijenik ve anoksik ortamlarda büyüttükleri *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinde doğal suşta Ter aktivitesine ulaşamamışlardır. Bu yüksek lisans tez çalışmasında plazmitsiz ortamda Ter enziminin katalizlendiği *E. gracilis*'e (aerobik koşullarda 0,86 $\mu\text{mol/dak/mg}$ ve anaerobik koşullarda 0,78 $\mu\text{mol/dak/mg}$) (Tucci ve Martin, 2007) göre çok düşük konsantrasyonlarda Ter enzimi elde edilmesine rağmen *S. elongatus* PCC 7942 ile çalışma yapan Lan ve Liao'nın plazmit ilavesi olmadan elde ettiği (Ter aktivitesi algılanamamış; Lan ve Liao, 2011) göre daha yüksek konsantrasyonlarda Ter enzimi (0,0022 hücre sayısı/ml) elde edilmiştir. Ancak ölçümü yapılan hbd ve AdhE2 enzimlerine göre konsantrasyonlarının daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Plazmit ilave edilen çalışmalarda ise Ter miktarı değişmemektedir. pAM2991 plazmitinde bulunan AtoB ve AdhE2 genleri asetil-CoA asetiltransferaz ve aldehyd/alkol dehidrojenaz enzimlerinin aktivitesini arttırmaktadır. Aldehyd/alkol dehidrojenaz enziminin ölçümleri Bölüm 4; 5.6.3 başlığı altında verilmiştir.

5.6.3 Aldehyd/alkol dehidrojenaz (AdhE2) Ölçümü Sonucu

AdhE2 enziminin spektrofotometrede miktarları CO_2 'ten 1-butanol üretiminde kullanılan *S. elongatus* kültürlerinde her bir çalışma için ayrı ayrı ölçülmüştür. 0,5 mg/l olan çözünmüş O_2 konsantrasyonu *S. elongatus* büyümesi için optimum değerde olup; AdhE2 enziminin aktivitesine etki etmemektedir. Saf – 1'de AdhE2 enziminin konsantrasyonu $2,6 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.28). AdhE2 konsantrasyonu Saf – 2'de $2,3 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'dir (Tablo 5.28). FDK – 1'de AdhE2 konsantrasyonu $1,9 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'dir (Tablo 5.28). AdhE2 konsantrasyonu $1,6 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'ye azalan çalışma FDK – 2'dir (Tablo 5.28). FDK – 3'te AdhE2 enzim konsantrasyonu $1,1 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'ye azalmıştır (Tablo 5.28).

Tablo 5.28 Saf ve Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürlerinde spektrofotometrede ölçülen AdhE2 enziminin miktarları

Araştırma Örnekleri	AdhE2 Miktarı (hücre sayısı/ml)(Plazmitsiz)
Saf - 1	$2,6 \times 10^{-3}$
Saf - 2	$2,3 \times 10^{-3}$
FDK - 1	$1,9 \times 10^{-3}$
FDK - 2	$1,6 \times 10^{-3}$
FDK - 3	$1,1 \times 10^{-3}$

Saf ve Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürleri ile yapılan AdhE2 enzim ölçümlerinde maksimum konsantrasyon Saf - 1’de elde edilmiştir. Bu çalışmada % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂ verilerek saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinde 30 gün sonunda 1-butanol elde edilmiştir. *S. elongatus* siyanobakterileri Calvin döngüsünü müteakip gliseraldehid-3-fosfatiasetil-CoA’ya indirgenerek CoA bağımlı metabolik yol izi ile 1-butanol oluşturmaktadır (Lan ve Liao, 2012). CoA bağımlı bu metabolik yol izinde Calvin döngüsü ile CO₂ fiks edilir (Taiz ve Zeiger, 2008). Karbon indirgenmesine dayalı olan bu metabolik yol izinde AdhE2 konsantrasyonu % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂ kullanılan çalışmalarda daha fazladır. Foça deniz kıyılarından izole edilen çalışmalarda saf *S. elongatus* ile yapılan çalışmalara göre AdhE2 miktarı daha az konsantrasyonlarda ölçülmüştür. AdhE2 konsantrasyonunun daha düşük ölçüldüğü çalışma ise FDK - 3’tir. Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin kullanıldığı bu çalışmada CO₂’ce zengin kirli bölgelerden havanın yakalanıp saflaştırılmadan kullanılmıştır. Bu çalışmada düşük miktarda AdhE2 miktarının elde edilmesinin sebebi; atmosferik havanın fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* PCC 7942’un büyümelerini kısıtlamasından kaynaklanmaktadır (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011). Atmosferdeki hava N₂, H₂O, O₂, NO, NO₂, SO₂, SO₃, C_xH_y, CO gibi farklı gazları içermektedir (Raeesossadati ve ark., 2014; Van Den Hende ve ark., 2012). Bu da % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden verilen CO₂’e oranla daha az konsantrasyonda CO₂ içermektedir. Siyanobakteri hücreleri düşük CO₂ içeren bir ortama alındıklarında tipik fotorespirasyon belirtileri (düşük CO₂ konsantrasyonunda fotosentezin O₂ tarafından engellenmesi) gösterirler (Taiz ve Zeiger, 2005). Bu sebeple atmosferik hava siyanobakterilerin büyümelerini olumsuz etkileyebilmektedir.

Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* kültürlerinde AdhE2 enziminin ölçüm sonuçları ayrı ayrı Tablo 5.29'de verilmektedir. FDK – 1'de 30 günün sonunda AdhE2 miktarı $1,9 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'dir (Tablo 5.29). FDK – 2'de spektrofotometrede yapılan ölçümde AdhE2 konsantrasyonu $1,6 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. AdhE2 konsantrasyonu $1,1 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'ye azalan çalışma; FDK – 3'tür (Tablo 5.29). BKS – 1'de ise AdhE2 konsantrasyonu $1,5 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'dir (Tablo 5.29). BKS – 2'de 30 gün sonunda AdhE2 konsantrasyonu $1,2 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. AdhE2 konsantrasyonunun $0,9 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçüldüğü çalışma BKS – 3'tür (Tablo 5.29). TBG – 1'de AdhE2 konsantrasyonu $1,4 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'dir (Tablo 5.29). TBG – 2'de spektrofotometre ile AdhE2 konsantrasyonu $1,1 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.29). Son olarak TBG – 3'te AdhE2 miktarı ise $0,8 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür (Tablo 5.29).

Tablo 5.29 Foça denizi kıyılarından, Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan ve Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* 30 gün sonunda yapılan AdhE2 Enzim ölçüm sonuçları.

Araştırma Örnekleri	AdhE2 Miktarı (hücre sayısı/ml)(Plazmitsiz)
FDK - 1	$1,9 \times 10^{-3}$
FDK - 2	$1,6 \times 10^{-3}$
FDK - 3	$1,1 \times 10^{-3}$
BKS - 1	$1,5 \times 10^{-3}$
BKS - 2	$1,2 \times 10^{-3}$
BKS - 3	$0,9 \times 10^{-3}$
TBG - 1	$1,4 \times 10^{-3}$
TBG - 2	$1,1 \times 10^{-3}$
TBG - 3	$0,8 \times 10^{-3}$

Yapılan saha çalışmalarında deniz, göl ve kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* kültürlerinde AdhE2 konsantrasyonu ölçülmüştür. AdhE2 miktarının en fazla olduğu çalışma FDK – 3'tür (Tablo 5.28). *Synechococcus* cinsi siyanobakterinin hem deniz hem de tatlı su ortamında yaşamalarına rağmen deniz ortamında yaşayanların % 25 daha fazla birincil üretim yapmaktadırlar (Scalan, 2002). Bu sebeple Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümeleri daha fazla olup; AdhE2 enzim miktarı da yüksek

konsantrasyonlarda elde edilmiştir. CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂'in kullanıldığı çalışmalarda (FDK - 2, BKS - 2 ve TBG - 2) ise *S. elongatus*'un AdhE2 miktarlarının daha az olduğu tespit edilmiştir. AdhE2 miktarının en az olduğu çalışma ise CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havanın yakalanıp saflaştırılmadan kullanıldığı TBG - 3'tür (Tablo 5.28). Saflaştırılmadan verilen atmosferik havada N₂ ve olası H₂S, NH₃ gazlarının *S. elongatus* siyanobakterilerinin büyümelerini engellemektedir (Wang ve ark., 2008; Parmar ve ark., 2011). Bu sebeple büyümeleri az olan *S. elongatus* kültüründe düşük konsantrasyonda AdhE2 elde edilmiştir.

Bu yüksek lisans tezi kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda spektrofotometrede plazmit ilave edilmeden AdhE2 konsantrasyonları ölçülmüş ve maksimum değer Saf - 1'de $2,6 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir. Lan ve Liao (2011), tarafından yapılan çalışmada *S. elongatus* PCC 7942 için AdhE2 enziminin spektrofotometre ile aktivitesi ölçülmüş ve oksijenik koşullarda AdhE2 enziminin aktivitesini 0,0021 µmol/dak/mg olarak elde etmişlerdir. Çalışmalarında pEL1, pEL7, pEL13 ve pEL14 plazmitlerinin transformasyonunu yaptıkları kültürlerde AdhE2 aktivitelerini sırasıyla 0,0042 µmol/dak/mg, 0,0044 µmol/dak/mg, 0,0034 µmol/dak/mg ve 0,0011 µmol/dak/mg olarak elde etmişlerdir. Anoksik ortamda büyüttükleri *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerinde pEL1, pEL7, pEL13 ve pEL14 plazmitlerinin transformasyonu ile AdhE2 aktivitesini sırasıyla 0,0054 µmol/dak/mg, 0,0048 µmol/dak/mg, 0,0027 µmol/dak/mg ve 0,0010 µmol/dak/mg olarak ölçmüşlerdir.

Bu tez çalışmasında ise pEL5 plazmitini içeren pAM2991 plazmitinin transformasyonu ile yapılan on bir çalışma arasında maksimum elde edilen AdhE2 konsantrasyonu Saf - 1'de olup; $4,8 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'dir (Tablo 5.30). Saf - 2'de ise $4,6 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml, FDK - 1'de $4,2 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml, FDK - 2'de $3,9 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml, FDK - 3'te $2,7 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml, BKS - 1'de $3,4 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml, BKS - 2'de $3,1 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml, BKS - 3'te $2,5 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml, TBG - 1'de $3,3 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml, TBG - 2'de $2,9 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml ve TBG - 3'te $2,1 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak elde edilmiştir (Tablo 5.30).

Tablo 5.30 pAM2991 plazmit transformasyonu sonrası AdhE2 konsantrasyonları

Araştırma Örnekleri	AdhE2 Miktarı (hücre sayısı/ml)(Plazmitli)
Saf - 1	$4,8 \times 10^{-3}$
Saf - 2	$4,6 \times 10^{-3}$
FDK - 1	$4,2 \times 10^{-3}$
FDK - 2	$3,9 \times 10^{-3}$
FDK - 3	$2,7 \times 10^{-3}$
BKS - 1	$3,4 \times 10^{-3}$
BKS - 2	$3,1 \times 10^{-3}$
BKS - 3	$2,5 \times 10^{-3}$
TBG - 1	$3,3 \times 10^{-3}$
TBG - 2	$2,9 \times 10^{-3}$
TBG - 3	$2,1 \times 10^{-3}$

C. acetobutylicum'un geni olan AdhE2 enziminin hem alkol dehidrojenaz hem de asetaldehid dehidrojenaz aktivitelerini katalizleyen çoklu enzim aktivitesi vardır. AdhE2 enzimi dört tane reaksiyona katılmaktadır. Bunlardan biri de bütiraldehidi 1-butanole katalizleyen reaksiyondur (Fontaine ve ark., 2002). Caspi ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada; AdhE2 enzimi *C. acetobutylicum* ATCC 824, *E. gracilis*, *S. elongatus* PCC 7942 organizmaları tarafından 1-butanol üretimi sırasında CoA bağımlı metabolik yol izinde kullanıldığı belirtilmiştir. n-butanol üreten metabolik yol izi tamamen *C. acetobutylicum* ve *E. gracilis*'ten gelen genler kullanılarak *S. elongatus* PCC 7942'un hücrelerinde DNA içine tasarlanmıştır. Bu güçlendirilmiş metabolik yol izi n-butanol üretimi için arka arkaya üç yol ile oluşmaktadır. İlk iki metabolik yol izi doğal olarak siyanobakterilerde yaşanmaktadır. Fotosentez metabolik yolu ile Calvin-Benson-Bassham döngüsü yoluyla griseralehit-3-fosfattan (G3P) n-butanol üretimi için NADPH üretilir. G3P'ta glikoliz ile pirüvat; üçüncü metabolik yolun başlangıç noktası olan asetil-CoA'ya dönüştürülür (Caspi ve ark., 2013). Bu tepkime esnasında NADH'ın NAD⁺'a yükseltgenmesi gerçekleşmektedir (Hawkins ve ark., 2014). AdhE2 enzimi anaerobik koşullarla ilişkili olup; ayrıca oksijene duyarlıdır (Fontaine ve ark., 2002). Ancak fotosentez esnasında oksijen üreten *S. elongatus* PCC 7942 ile yaptıkları çalışmada Lan ve Liao (2011), oksijenin AdhE2 aktivitesini tümüyle azaltmadığını tespit etmişlerdir. Çalışmalarını hem anoksik hem de oksijenik ortamlarda yapmışlar ve AdhE2 aktivitelerini yukarıda bahsedildiği gibi birbirine yakın değerlerde

bulmuşlardır. Bu yüksek lisans tezinde; *S. elongatus* kültürlerinin büyütüldüğü optimum işletme parametrelerinden biri olan çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,05 mg/l'dir. Bu O₂ konsantrasyonu AdhE2 enzim aktivitesini etkilememiş olup; maksimum elde edilen plazmitsiz ortamda AdhE2 enzim konsantrasyonu 0,0026 hücre sayısı/ml ve plazmitli ortamda AdhE2 enzim konsantrasyonu 0,0048 hücre sayısı/ml'dir.

5.7 Maliyet Analizi

Maliyet analizleri BG – 11 sıvı besiyerinde 30 gün boyunca 30°C sıcaklık, 60 W ışık şiddeti, pH = 7.1, redoks potansiyeli 120 mV, 0,083 m³/sn debi ile CO₂ ve çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,5 mg/l olan optimum koşullarda elde edilen maksimum verimlerde incelenmiştir. Bu çalışmalarda 250 ml'lik ağzı kapaklı cam reaktörlere 100 ml BG-11 sıvı besiyerine 100 ml stok olarak üretilmiş *S. elongatus*'un ekimi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bütün çalışmalarda kullanılan tüm kimyasalların, elektrik üretimi, bakteri üretim maliyeti ve CO₂ kullanımı ile ilgili tüm maliyetler toplanarak her bir çalışma kademesinde üretilen 1- butanol konsantrasyonlarının maliyeti hesaplanmış olup Tablo 5.31 - Tablo 5.41 arasında verilmiştir. *S. elongatus* PCC 7942 saf kültürü deney başlangıcında satın alınmıştır ve bu kültürden stok kültür oluşturulmuştur. Daha sonra stok kültürler kullanılıp; çoğaltılarak 1-butanol üretimlerine devam edilmiştir. *S. elongatus* PCC 7942 saf kültürü 350 TL'ye satın alınmıştır. Bu sabit maliyet olarak değerlendirilmiş olup; değişken maliyetler içerisinde 100 ml *S. elongatus* PCC 7942 kültürünün masrafı 0,06 TL olarak hesaplanmıştır. Bütün çalışmalarda 60 W'lık tek bir ampulle 30 gün boyunca aydınlatma sağlanmıştır. Bu ampullerin kullanım ömrü 2 yıldır ve her bir çalışma için değişken maliyette 0,0014 TL masrafı vardır.

Saf - 1'de 25,5 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti 0,162 TL/L ve 35,37 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti ise 0,262 TL/L'dir (Tablo 5.31). Saf - 1'de plazmit ilavesiz 25,5 mg/L 1-butanol üretimi için 0,06 TL 100 ml saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü, 0,0006 TL BG – 11 sıvı besiyeri, 0,0014 TL, 60 W'lık ampul, 0,02 TL 0,083 m³/sn debi CO₂ kullanımı 0,08 TL 30 gün boyunca harcanan elektrik masraflarıdır.

Plazmit ilavesi olan Saf - 1’de 35,37 mg/L 1-butanol üretimi için plazmitsiz ortamda yapılan çalışmaya ek olarak 0,1 TL harcanmıştır.

Tablo 5.31 Saf - 1 için 1-butanol için maliyet analizi

Maliyet Analizi	Plazmit ilavesiz 1-butanol üretimi	Plazmit ilavesi ile 1-butanol üretimi
Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942 (Sabit maliyet)	350 TL	350 TL
BG – 11 Besiyeri	1 litre: 0,03 TL	1 litre: 0,03 TL
Elektrik Tüketimi	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 0,8 TL	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 0,8 TL
CO ₂ Kullanımı	% 99 saflıkta CO ₂ Tüpü (35 KG): 400 TL	% 99 saflıkta CO ₂ Tüpü (35 KG): 400 TL
pAM2991 Plazmiti	----	80 TL
200 ml için kültürlerde 1-butanol üretimi	25,5 mg/L 1-butanol üretimi için; Saf <i>S. elongatus</i> 7942 kültürü (100 ml): 0,06 TL 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,02 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı)	35,37 mg/L 1-butanol üretimi için; Saf <i>S. elongatus</i> 7942 kültürü (100 ml): 0,06 TL 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,02 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı) pAM2991 plazmiti (2 µg): 0,1 TL
1-butanol üretimi için harcanan toplam maliyet	25,5 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,06+0,0006+0,02+0,0014+0,08 =0,162 TL/L	35,37 mg/L 1-butanol üretimi toplam maliyet: 0,06+0,0006+0,02+0,0014+0,08+0,1 =0,262 TL/L
1 litre 1-butanolun fiyatı	5 x 0,162 = 0,81 TL/L	5 x 0,262 = 1,31 TL/L
Kimyasalların maliyeti piyasa fiyatına göre hesaplanmıştır. Elektrik maliyeti endüstriyel birimde tüketici fiyatına göre hesaplanmıştır.		

Saf - 2’de plazmit ilavesi olmadan 22,83 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 65,2 olarak elde edilmiştir (Tablo 5.32). Saf - 2’de plazmitli ortamda 31,6 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 90,5 verim elde edilmiştir. Bütün masraflar hesaplanmıştır. 22,83 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti 0,146 TL/L ve 31,6 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti ise 0,246 TL/L’dir. Saf - 2’de plazmit ilavesiz 25,5 mg/L 1-butanol üretimi için 0,06 TL, 100 ml saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü, 0,0006 TL, BG – 11 sıvı besiyeri 0,0014 TL 60 W’lık ampul 0,02 TL, 0,083 m³/sn debi CO₂ kullanımı 0,08 TL 30 gün boyunca harcanan elektrik masraflarıdır. Plazmit ilavesi olan Saf - 2’de 35,37 mg/L 1-butanol üretimi için plazmitsiz ortamda yapılan çalışmaya ek olarak 0,1 TL harcanmıştır.

Tablo 5.32 Saf - 2’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi

Maliyet Analizi	Plazmit ilavesiz 1-butanol üretimi	Plazmit ilavesi ile 1-butanol üretimi
Saf <i>S. elongatus</i> PCC 7942(Sabit maliyet)	350 TL	350 TL
BG – 11 Besiyeri	1 litre: 0,03 TL	1 litre: 0,03 TL
Elektrik Tüketimi	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 0,8 TL	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 0,8 TL
CO ₂ Kullanımı	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL CO ₂ saflaştırma sistemi: 50 TL	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL CO ₂ saflaştırma sistemi: 50 TL
pAM2991 Plazmiti	----	80 TL
200 ml için kültürlerde 1-butanol üretimi	22,83 mg/L 1-butanol üretimi için; Saf <i>S. elongatus</i> 7942 kültürü (100 ml): 0,06 TL 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,004 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı)	31,6 mg/L 1-butanol üretimi için; Saf <i>S. elongatus</i> 7942 kültürü (100 ml): 0,06 TL 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,004 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı) pAM2991 plazmiti (2 µg): 0,1 TL
1-butanol üretimi için harcanan toplam maliyet	22,83 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,06+0,0006+0,004+0,0014+0,08 = 0,146 TL/L	31,6 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,06+0,0006+0,004+0,0014+0,08+0,1 = 0,246 TL/L
1 Litre 1-butanolun üretim maliyeti	0,146 x 5 = 0,73 TL/L	5 x 0,246 = 1,23 TL/L
Kimyasalların maliyeti piyasa fiyatına göre hesaplanmıştır. Elektrik maliyeti endüstriyel birimde tüketici fiyatına göre hesaplanmıştır.		

FDK – 1’de plazmit ilavesi olmadan 18,73 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 60 olarak elde edilmiştir. FDK - 1’de plazmit ilavesi ile 25,97 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 83,2 verim elde edilmiştir. 18,73 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti 0,102 TL/L ve 25,97 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti ise 0,202 TL/L’dir (Tablo 5.33). Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* için maliyeti yoktur. FDK - 1’de plazmit ilavesiz 18,73 mg/L 1-butanol üretimi için kullanılan BG – 11 sıvı besiyeri 0,0006 TL, 60 W’lık ampul 0,0014 TL, 0,083 m³/sn debi CO₂ kullanımı 0,1 TL, 30 gün boyunca harcanan elektrik 0,08 TL’dir. Plazmit ilavesi olan FDK - 1’de 25,97 mg/L 1-butanol üretimi için plazmitsiz ortamda yapılan çalışmaya ek olarak 0,1 TL harcanmıştır.

Tablo 5.33 FDK - 1’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi

Maliyet Analizi	Plazmit ilavesiz 1-butanol üretimi	Plazmit ilavesi ile 1-butanol üretimi
Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i>	----	----
BG – 11 Besiyeri	1 litre: 0,03 TL	1 litre: 0,03 TL
Elektrik Tüketimi	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL
CO ₂ Kullanımı	% 99 saflıkta CO ₂ Tüpü (35 KG): 400 TL	% 99 saflıkta CO ₂ Tüpü (35 KG): 400 TL
pAM2991 Plazmiti	----	80 TL
200 ml için kültürlerde 1-butanol üretimi	18,73 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,02 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı)	25,97 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,003TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,02 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı) pAM2991 plazmiti (2 µg): 0,1 TL
1-butanol üretimi için harcanan toplam maliyet	18,73 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,02+0,0014+0,08 = 0,102 TL/L	25,97 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,02+0,0014+0,08+0,1=0,202 TL/L
1 Litre 1-butanolün üretim maliyeti	5 x 0,102 = 0,51 TL/L	5 x 0,202 = 1,01 TL/L
Kimyasalların maliyeti piyasa fiyatına göre hesaplanmıştır. Elektrik maliyeti endüstriyel birimde tüketici fiyatına göre hesaplanmıştır.		

FDK – 2’de plazmit ilavesi olmadan 14,5 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 56 olarak elde edilmiştir. FDK - 2’de plazmitli ortamda 20,11 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 77,6 verim elde edilmiştir. 14,5 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,086 TL/L ve 20,11 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,186 TL/L’dir (Tablo 5.34) . Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* için maliyeti yoktur. FDK - 2’de plazmit ilavesiz 14,5 mg/L 1-butanol üretimi için 0,0006 TL BG – 11 sıvı besiyeri, 0,0014 TL 60 W’lık ampul, 0,004 TL 0,083 m³/sn debi CO₂ kullanımı, 0,08 TL 30 gün boyunca harcanan elektrik masraflarıdır. Plazmit ilavesi olan FDK - 2’de 20,11 mg/L 1-butanol üretimi için plazmitsiz ortamda yapılan çalışmaya ek olarak 0,1 TL harcanmıştır.

Tablo 5.34 FDK - 2’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi

Maliyet Analizi	Plazmit ilavesiz 1-butanol üretimi	Plazmit ilavesi ile 1-butanol üretimi
Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i>	----	----
BG – 11 Besiyeri	1 litre: 0,03 TL	1 litre: 0,03 TL
Elektrik Tüketimi	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL
CO ₂ Kullanımı	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL CO ₂ saflaştırma sistemi: 50 TL	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL CO ₂ saflaştırma sistemi: 50 TL
pAM2991 Plazmiti	----	80 TL
200 ml için kültürlerde 1-butanol üretimi	14,5 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,004 TL Elektrik Kullanımı: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı)	20,11 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,004 TL Elektrik Kullanımı: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı) pAM2991 plazmiti (2 µg): 0,1 TL
1-butanol üretimi için harcanan toplam maliyet	14,5 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,004+0,0014+0,08 = 0,086 TL/L	20,11 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,004+0,0014+0,08+0,1 = 0,186 TL/L
1 Litre 1-butanolün üretim maliyeti	5 x 0,086 = 0,43 TL/L	5 x 0,186 = 0,93 TL/L
Kimyasalların maliyeti piyasa fiyatına göre hesaplanmıştır. Elektrik maliyeti endüstriyel birimde tüketici fiyatına göre hesaplanmıştır.		

FDK – 3’te plazmit ilavesi olmadan 10 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 47 olarak elde edilmiştir. FDK - 3’de plazmitli ortamda 13,87 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 65,2 verim elde edilmiştir. 10 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,0828 TL/L ve 13,87 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,1828 TL/L’dir (Tablo 5.35). Foça denizinden izole edilen *S. elongatus* için maliyeti yoktur. FDK - 3’de plazmit ilavesiz 10 mg/L 1-butanol üretimi için 0,0006 TL BG – 11 sıvı besiyeri, 0,0014 TL 60 W’lık ampul, 0,0008 TL 0,083 m³/sn debi CO₂ kullanımı, 0,08 TL 30 gün boyunca harcanan elektrik masraflarıdır. Plazmit ilavesi olan FDK - 3’de 20,11 mg/L 1-butanol üretimi için plazmitsiz ortamda yapılan çalışmaya ek olarak 0,1 TL harcanmıştır.

Tablo 5.35 FDK - 3’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi

Maliyet Analizi	Plazmit ilavesiz 1-butanol üretimi	Plazmit ilavesi ile 1-butanol üretimi
Foça denizinden izole edilen <i>S. elongatus</i>	----	----
BG – 11 Besiyeri	1 litre: 0,03 TL	1 litre: 0,03 TL
Elektrik Tüketimi	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL
CO ₂ Kullanımı	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL
pAM2991 Plazmiti	----	80 TL
200 ml için kültürlerde 1-butanol üretimi	10 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,0008 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı)	13,87 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,0008 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı) pAM2991 plazmiti (2 µg): 0,1 TL
1-butanol üretimi için harcanan toplam maliyet	10 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,0008+0,0014+0,08 = 0,0828 TL/L	13,87 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,0008+0,0014+0,08+0,1 = 0,1828 TL/L
1 Litre 1-butanolün üretim maliyeti	5 x 0,0828 = 0,414 TL/L	5 x 0,1828 = 0,914 TL/L
Kimyasalların maliyeti piyasa fiyatına göre hesaplanmıştır. Elektrik maliyeti endüstriyel birimde tüketici fiyatına göre hesaplanmıştır.		

BKS – 1’de plazmit ilavesi olmadan 13,75 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 58 olarak elde edilmiştir. BKS - 1’de plazmit ilavesi ile 19,07 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 80,4 verim elde edilmiştir. 13,75 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,102 TL/L ve 19,07 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,202 TL/L’dir (Tablo 5.36). Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* için maliyeti yoktur. BKS - 1’de plazmit ilavesiz 13,75 mg/L 1-butanol üretimi için kullanılan BG – 11 sıvı besiyeri 0,0006 TL, 60 W’lık ampul 0,0014 TL, 0,083 m³/sn debi CO₂ kullanımı 0,1 TL, 30 gün boyunca harcanan elektrik 0,08 TL’dir. Plazmit ilavesi olan BKS - 1’de 19,07 mg/L 1-butanol üretimi için plazmitsiz ortamda yapılan çalışmaya ek olarak 0,1 TL harcanmıştır.

Tablo 5.36 BKS - 1’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi

Maliyet Analizi	Plazmit ilavesiz 1-butanol üretimi	Plazmit ilavesi ile 1-butanol üretimi
Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i>	----	----
BG – 11 Besiyeri	1 litre: 0,03 TL	1 litre: 0,03 TL
Elektrik Tüketimi	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL
CO ₂ Kullanımı	% 99 saflıkta CO ₂ Tüpü (35 KG): 400 TL	% 99 saflıkta CO ₂ Tüpü (35 KG): 400 TL
pAM2991 Plazmiti	----	80 TL
200 ml için kültürlerde 1-butanol üretimi	13,75 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,02 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı)	19,07 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,02 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı) pAM2991 plazmiti (2 µg): 0,1 TL
1-butanol üretimi için harcanan toplam maliyet	13,75 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,02+0,0014+0,08 =0,102 TL/L	19,07 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,02+0,0014+0,08+0,1 = 0,202 TL/L
1 Litre 1-butanolün üretim maliyeti	5 x 0,102 = 0,51 TL/L	5 x 0,202 = 1,01 TL/L
Kimyasalların maliyeti piyasa fiyatına göre hesaplanmıştır. Elektrik maliyeti endüstriyel birimde tüketici fiyatına göre hesaplanmıştır.		

BKS – 2’de plazmit ilavesi olmadan 9,28 mg/L 1-butanolden 1-butanol üretilen/CO₂kullanılan verimi % 51,8 olarak elde edilmiştir. BKS - 2’de plazmitli ortamda 12,87 mg/L 1-butanolden 1-butanol üretilen/CO₂kullanılan verimi % 71,8 verim elde edilmiştir. 9,28 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,086 TL/L ve 12,87 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,186 TL/L’dir (Tablo 5.37). Foça Balaban Dağı mevkiî kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* için maliyeti yoktur. BKS - 2’de plazmit ilavesiz 9,28 mg/L 1-butanol üretimi için 0,0006 TL BG – 11 sıvı besiyeri, 0,0014 TL 60 W’lık ampul, 0,004 TL 0,083 m³/sn debi CO₂ kullanımı, 0,08 TL 30 gün boyunca harcanan elektrik masraflarıdır. Plazmit ilavesi olan BKS - 2’de 12,87 mg/L 1-butanol üretimi için plazmitsiz ortamda yapılan çalışmaya ek olarak 0,1 TL harcanmıştır.

Tablo 5.37 BKS - 2’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi

Maliyet Analizi	Plazmit ilavesiz 1-butanol üretimi	Plazmit ilavesi ile 1-butanol üretimi
Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i>	----	----
BG – 11 Besiyeri	1 litre: 0,03 TL	1 litre: 0,03 TL
Elektrik Tüketimi	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL
CO ₂ Kullanımı	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL CO ₂ saflaştırma sistemi: 50 TL	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL CO ₂ saflaştırma sistemi: 50 TL
pAM2991 Plazmiti	----	80 TL
200 ml için kültürlerde 1-butanol üretimi	9,28 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,004 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı)	12,87 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,004 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı) pAM2991 plazmiti (2 µg): 0,1 TL
1-butanol üretimi için harcanan toplam maliyet	9,28 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,004+0,0014+0,08 = 0,086 TL/L	12,87 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,004+0,0014+0,08+0,1 = 0,186 TL/L
1 Litre 1-butanolün üretim maliyeti	5 x 0,086 = 0,43 TL/L	5 x 0,186 = 0,93 TL/L
Kimyasalların maliyeti piyasa fiyatına göre hesaplanmıştır. Elektrik maliyeti endüstriyel birimde tüketici fiyatına göre hesaplanmıştır.		

BKS – 3’te plazmit ilavesi olmadan 5,9 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 39 olarak elde edilmiştir. BKS - 3’te plazmitli ortamda 8,18 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 54 verim elde edilmiştir. 5,9 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,0828 TL/L ve 8,18 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,1828 TL/L’dir (Tablo 5.38). Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* için maliyeti yoktur. BKS - 3’te plazmit ilavesiz 5,9 mg/L 1-butanol üretimi için 0,0006 TL BG – 11 sıvı besiyeri, 20 TL 60 W’lık ampul, 0,0008 TL 0,083 m³/sn debi CO₂ kullanımı, 5 TL 30 gün boyunca harcanan elektrik masraflarıdır. Plazmit ilavesi olan BKS - 3’te 8,18 mg/L 1-butanol üretimi için plazmitsiz ortamda yapılan çalışmaya ek olarak 0,1 TL harcanmıştır.

Tablo 5.38 BKS - 3'te üretilen 1-butanol için maliyet analizi

Maliyet Analizi	Plazmit ilavesiz 1-butanol üretimi	Plazmit ilavesi ile 1-butanol üretimi
Foça Balaban Dağı mevkii kaynak suyundan izole edilen <i>S. elongatus</i>	----	----
BG – 11 Besiyeri	1 litre: 0,03 TL	1 litre: 0,03 TL
Elektrik Tüketimi	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL
CO ₂ Kullanımı	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL
pAM2991 Plazmiti	----	80 TL
200 ml için kültürlerde 1-butanol üretimi	5,9 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,0008 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı)	8,18 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,0008 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı) pAM2991 plazmiti (2 µg): 0,1 TL
1-butanol üretimi için harcanan toplam maliyet	5,9 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,0008+0,0014+0,08 = 0,0828 TL/L	8,18 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,0008+0,0014+0,08+0,1 = 0,1828 TL/L
1 Litre 1-butanolün üretim maliyeti	5 x 0,0828 = 0,414 TL/L	5 x 0,1828 = 0,914 TL/L
Kimyasalların maliyeti piyasa fiyatına göre hesaplanmıştır. Elektrik maliyeti endüstriyel birimde tüketici fiyatına göre hesaplanmıştır.		

TBG – 1'de plazmit ilavesi olmadan 12,57 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 57,7 olarak elde edilmiştir. TBG - 1'de plazmit ilavesi ile 17,43 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂kullanılan verimi % 80 verim elde edilmiştir. 12,57 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,102 TL/L ve 17,43 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,202 TL/L'dir (Tablo 5.39). Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* için maliyeti yoktur. TBG - 1'de plazmit ilavesiz 12,57 mg/L 1-butanol üretimi için kullanılan BG – 11 sıvı besiyeri 0,0006 TL, 60 W'lık ampul 0,0014 TL, 0,083 m³/sn debi CO₂ kullanımı 0,1 TL, 30 gün boyunca harcanan elektrik 0,08 TL'dir. Plazmit ilavesi olan TBG - 1'de 17,43 mg/L 1-butanol üretimi için plazmitsiz ortamda yapılan çalışmaya ek olarak 0,1 TL harcanmıştır.

Tablo 5.39 TBG - 1’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi

Maliyet Analizi	Plazmit ilavesiz 1-butanol üretimi	Plazmit ilavesi ile 1-butanol üretimi
Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i>	----	----
BG – 11 Besiyeri	1 litre: 0,03 TL	1 litre: 0,03 TL
Elektrik Tüketimi	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL
CO ₂ Kullanımı	% 99 saflıkta CO ₂ Tüpü (35 KG): 400 TL	% 99 saflıkta CO ₂ Tüpü (35 KG): 400 TL
pAM2991 Plazmiti	----	80 TL
200 ml için kültürlerde 1- butanol üretimi	12,57 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,02 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı)	17,43 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,02 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı) pAM2991 plazmiti (2 µg): 0,1 TL
1-butanol üretimi için harcanan toplam maliyet	12,57 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,02+0,0014+0,08 =0,102 TL/L	17,43 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,02+0,0014+0,08+0,1 = 0,202 TL/L
1 Litre 1-butanolün üretim maliyeti	5 x 0,102 = 0,51 TL/L	5 x 0,202 = 1,01 TL/L
Kimyasalların maliyeti piyasa fiyatına göre hesaplanmıştır. Elektrik maliyeti endüstriyel birimde tüketici fiyatına göre hesaplanmıştır.		

TBG – 2’de plazmit ilavesi olmadan 9,15 mg/L 1-butanolden 1-butanol üretilen/CO₂ kullanılan verimi % 51,6 olarak elde edilmiştir. TBG - 2’de plazmitli ortamda 12,69 mg/L 1-butanolden 1-butanol üretilen/CO₂ kullanılan verimi % 71,5 verim elde edilmiştir. 9,15 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,086 TL/L ve 12,69 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,186 TL/L’dir (Tablo 5.40). Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* için maliyeti yoktur. TBG - 2’de plazmit ilavesiz 9,15 mg/L 1-butanol üretimi için 0,0006 TL BG – 11 sıvı besiyeri, 20 TL 60 W’lık ampul, 0,004 TL 0,083 m³/sn debi CO₂ kullanımı, 5 TL 30 gün boyunca harcanan elektrik masraflarıdır. Plazmit ilavesi olan TBG - 2’de 12,69 mg/L 1-butanol üretimi için plazmitsiz ortamda yapılan çalışmaya ek olarak 0,1 TL harcanmıştır.

Tablo 5.40 TBG - 2’de üretilen 1-butanol için maliyet analizi

Maliyet Analizi	Plazmit ilavesiz 1-butanol üretimi	Plazmit ilavesi ile 1-butanol üretimi
Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i>	----	----
BG – 11 Besiyeri	1 litre: 0,03 TL	1 litre: 0,03 TL
Elektrik Tüketimi	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL
CO ₂ Kullanımı	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL CO ₂ saflaştırma sistemi: 50 TL	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL CO ₂ saflaştırma sistemi: 50 TL
pAM2991 Plazmiti	----	80 TL
200 ml için kültürlerde 1- butanol üretimi	9,15 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,004 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı)	12,69 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,003TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,004 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı) pAM2991 plazmiti (2 µg): 0,1 TL
1-butanol üretimi için harcanan toplam maliyet	9,15 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,004+0,0014+0,08 = 0,086 TL/L	12,69 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,004+0,0014+0,08+0,1 = 0,186 TL/L
1 Litre 1-butanolün üretim maliyeti	5 x 0,086 = 0,43 TL/L	5 x 0,186 = 0,93 TL/L
Kimyasalların maliyeti piyasa fiyatına göre hesaplanmıştır. Elektrik maliyeti endüstriyel birimde tüketici fiyatına göre hesaplanmıştır.		

TBG – 3’te plazmit ilavesi olmadan 5,3 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 37,3 olarak elde edilmiştir. TBG - 3’te plazmitli ortamda 7,35 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,7 verim elde edilmiştir. 5,3 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,477 TL/L ve 7,35 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,977 TL/L’dir (Tablo 5.41). Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* için maliyeti yoktur. TBG - 3’te plazmit ilavesiz 5,3 mg/L 1-butanol üretimi için 0,0006 TL BG – 11 sıvı besiyeri, 20 TL 60 W’lık ampul, 0,0008 TL 0,083 m³/sn debi CO₂ kullanımı, 5 TL 30 gün boyunca harcanan elektrik masraflarıdır. Plazmit ilavesi olan TBG - 3’te 7,35 mg/L 1-butanol üretimi için plazmitsiz ortamda yapılan çalışmaya ek olarak 0,1 TL harcanmıştır.

Tablo 5.41 TBG - 3'te üretilen 1-butanol için maliyet analizi

Maliyet Analizi	Plazmit ilavesiz 1-butanol üretimi	Plazmit ilavesi ile 1-butanol üretimi
Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen <i>S. elongatus</i>	----	----
BG – 11 Besiyeri	1 litre: 0,03 TL	1 litre: 0,03 TL
Elektrik Tüketimi	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL	60 W Philips ampul: 20 TL 30 gün boyunca aydınlatma: 5 TL
CO ₂ Kullanımı	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL	Hava Yakalama Düzenekleri: 10 TL
pAM2991 Plazmiti	----	80 TL
200 ml için kültürlerde 1-butanol üretimi	5,3 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,0006 TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,0008 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı)	7,35 mg/L 1-butanol üretimi için; 100 ml BG – 11 besiyeri: 0,003TL CO ₂ kullanımı (0,083 m ³ /sn debi): 0,0008 TL Elektrik giderleri: 0,0014 TL (60 W ampul) ve 0,08 TL (elektrik kullanımı) pAM2991 Plazmiti (2 µg): 0,1 TL
1-butanol üretimi için harcanan toplam maliyet	5,3 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,0008+0,0014+0,08 = 0,0828 TL/L	7,35 mg/L 1-butanol üretimi için toplam maliyet: 0,0006+0,0008+0,0014+0,08+0,1 = 0,1828 TL/L
1 Litre 1-butanolün üretim maliyeti	5 x 0,0828 = 0,414 TL/L	5 x 0,1828 = 0,914 TL/L
Kimyasalların maliyeti piyasa fiyatına göre hesaplanmıştır. Elektrik maliyeti endüstriyel birimde tüketici fiyatına göre hesaplanmıştır.		

Bu yüksek lisans tezinde yapılan on bir çalışma için maliyet analizleri sonucunda 1 litre 1-butanol üretimi için maksimum gider Saf - 1'de plazmitsiz ortamda 0,81 TL/L ve plazmitli ortamda 1,31 TL/L'dir. Minimum masraf ise FDK - 3, BKS – 3 ve TBG - 3'te plazmit ilave edilmeden elde edilmiştir ve 0,414 TL/L'dir. Üretilen 1-butanolün maksimum maliyeti olan 1,31 TL/L, şuan ki benzin fiyatı olan 4,30 TL/L'den üç kat daha ekonomiktir.

BÖLÜM ALTI

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

On bir farklı çalışmada üç farklı *S. elongatus* kültürü ile CO₂'ten 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Her bir çalışmada 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri hesaplanmıştır. Çalışmalar 30°C sıcaklık, 60 W ışık şiddeti, pH = 7.1, redoks potansiyeli 120 mV, 0,083 m³/sn debi ile CO₂ ve çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,5 mg/l olan işletme parametreleri altında yapılmıştır. Kullanılan *S. elongatus* kültürleri saf (ATCC 33912) ve İzmir'in ilçesi Foça denizi kıyılarından, İzmir'in ilçesi olan Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan, İzmir'in Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilmiştir. Her bir çalışmada *S. elongatus* siyanobakterisini kullanarak CO₂'ten 1-butanol üretimi metabolik yol izinde bulunan enzimler arasında 3-hidroksibutiril-CoA dehidrojenaz (hbd), Trans-2-enoil-CoA redüktaz (Ter) ve Aldehid/alkol dehidrojenaz (AdhE2) enzimlerinin konsantrasyonları spektrofotometre ile ölçülmüştür (Tablo 6.1). Ayrıca on bir çalışma için maliyet analizleri yapılmıştır. Bu yüksek lisans tezi kapsamında yapılan on bir çalışma için bekleme süresinin, pH'nın, sıcaklığın, NaCl ilavesinin, redoks potansiyelinin (anoksik, aerobik ve anaerobik koşulların), MgSO₄, ışık şiddetinin, çözünmüş O₂ ilavesinin, pAM2991 plazmitinin ilavesinin *S. elongatus* siyanobakteri sayılarına, 1-butanol üretimlerine, 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerine olan etkileri incelenmiştir.

Saf *S. elongatus* PCC 7942 % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂ verilen çalışmada (Saf - 1) 10000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml *S. elongatus* PCC 7942, 25,5 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 66,6 olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen değerler bu yüksek lisans tezinde yapılan on bir çalışma arasında en yüksektir. Saf - 1'de hbd enziminin miktarı 1,6 x10⁻³ hücre sayısı/ml, Ter enziminin miktarı 2,2 x10⁻³ hücre sayısı/ml ve AdhE2 enziminin konsantrasyonu 2,6 x10⁻³ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. Saf - 1'de plazmit ilave edilerek siyanobakteri sayıları 14200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmış olup; elde edilen 1-butanol konsantrasyonu 35,37 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 92,4'tür. Plazmit ilavesi ile Saf - 1'de sadece AdhE2 enziminin konsantrasyonu artmıştır. 2,6 x10⁻³ hücre sayısı/ml olarak ölçülen AdhE2 enzim konsantrasyonu plazmitli ortamda 4,8 x10⁻³ hücre sayısı/ml'dir. Saf - 1'de 25,5 mg/L plazmit ilave

edilmeden üretilen 1-butanolün maliyeti 0,162 TL/L'dir. Plazmitli ortamda 35,37 mg/L üretilen 1-butanolün maliyeti ise; 0,262 TL/L'dir. Bu maliyet bu yüksek lisans tezinde yapılan on bir çalışma arasında en yüksek olanıdır. Saf *S. elongatus* PCC 7942 CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ verilen çalışmada (Saf - 2) elde edilen *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakteri sayısı 9500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanolkonsantrasyonu 22,83 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 65,2'dir. Saf - 2'de hbd enziminin miktarı 13×10^{-3} hücre sayısı/ml, Ter enziminin miktarı $1,8 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml ve AdhE2 enziminin konsantrasyonu $2,3 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. Saf - 2'de plazmit ilave edilerek siyanobakteri sayıları 13100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'dir. 1-butanol konsantrasyonu 31,6 mg/L üretilmiş olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 90,5'e yükselmiştir. Plazmit ilavesi ile Saf - 2'de sadece AdhE2 enziminin konsantrasyonu artmıştır. $2,3 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülen AdhE2 enzim konsantrasyonu plazmitli ortamda $4,6 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'dir. Saf - 2'de plazmitsiz ortamda üretilen 22,83 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,146 TL/L ve plazmitli ortamda 31,6 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,246 TL/L'dir (Tablo 6.1).

Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerine % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünden CO₂ verilen çalışmada (FDK - 1) siyanobakteri sayıları 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; üretilen 1-butanol miktarı 18,73 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 60'tır. FDK - 1'de hbd enziminin miktarı 11×10^{-3} hücre sayısı/ml, Ter enziminin miktarı $1,5 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml ve AdhE2 enziminin konsantrasyonu 19×10^{-3} hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. FDK - 1'de plazmit ilavesiyle siyanobakteri sayıları artarak 12500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye ulaşılmıştır. Bu çalışmada 25,97 mg/L 1-butanol üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 83,2'dir. Plazmit ilavesi ile FDK - 1'de sadece AdhE2 enziminin konsantrasyonu $4,2 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'ye artmıştır. FDK - 1'de plazmitsiz ortamda üretilen 18,73 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,102 TL/L ve plazmitli ortamda 25,97 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,202 TL/L'dir. Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerine CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂'in verildiği çalışmada (FDK - 2) 8300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus*'tan 14,5 mg/L 1-butanol ve 1-

butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 56 olarak elde edilmiştir. FDK - 2'de hbd enziminin miktarı 8×10^{-3} hücre sayısı/ml, Ter enziminin miktarı $1,2 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml ve AdhE2 enziminin konsantrasyonu 16×10^{-3} hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. FDK - 2'de plazmitli ortamda siyanobakteri sayıları 11600 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. 1-butanol konsantrasyonu 20,11 mg/L olan bu çalışmanın 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 77,6'dır. Plazmit ilavesi ile FDK - 2'de sadece AdhE2 enziminin konsantrasyonu artmış olup; $3,9 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'dir. FDK - 2'de plazmitsiz ortamda üretilen 14,5 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,086 TL/L ve plazmitli ortamda 20,11 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,186 TL/L'dir. Foça deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* siyanobakterilerine CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havadan yakalanıp saflaştırılmadan kullanıldığı çalışmada (FDK - 3) 6500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 10 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 47 olarak elde edilmiştir. FDK - 3'de hbd enziminin miktarı 5×10^{-3} hücre sayısı/ml, Ter enziminin miktarı $0,8 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml ve AdhE2 enziminin konsantrasyonu 11×10^{-3} hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. FDK - 3'de plazmitli ortamda siyanobakteri sayıları 9000 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. 13,87 mg/L 1-butanol elde edilen bu çalışmanın 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 65,2'dir. Plazmit ilavesi ile FDK - 3'de sadece AdhE2 enziminin konsantrasyonu artmıştır ve $2,7 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml'dir. FDK - 3'de plazmitsiz ortamda üretilen 10 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti 0,0828 TL/L ve plazmitli ortamda 13,87 mg/L 1-butanolün toplam maliyeti ise 0,1828 TL/L'dir (Tablo 6.1).

Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus*'un % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂ verilerek büyütüldüğü çalışmada (BKS - 1) siyanobakteri sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml ve 13,75 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 58 olarak elde edilmiştir. BKS - 1'de hbd enziminin miktarı 9×10^{-3} hücre sayısı/ml, Ter enziminin miktarı $1,3 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml ve AdhE2 enziminin konsantrasyonu $1,2 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. BKS - 1'de plazmitli ortamda siyanobakteri sayıları 11800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye yükselmiştir. 1-butanol konsantrasyonu 19,07 mg/L'ye çıkan bu çalışmada 1-butanol_{üretile}n/CO₂kullanılan verimi % 80,4 olarak elde edilmiştir. Plazmit

ilavesi ile BKS - 1’de sadece AdhE2 enziminin konsantrasyonu artmıştır ve 0,0034 hücre sayısı/ml’dir. Plazmitsiz ortamda üretilen 13,75 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti 0,102 TL/L ve plazmitli ortamda 19,07 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti ise 0,202 TL/L’dir. Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus* CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ verilen çalışmada (BKS - 2) *S. elongatus* siyanobakteri sayıları 7700 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olup; 1-butanol miktarı 9,28 mg/L ve 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,8’dir. BKS - 2’de hbd enziminin miktarı 7×10^{-3} hücre sayısı/ml, Ter enziminin miktarı $0,9 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml ve AdhE2 enziminin konsantrasyonu $1,2 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. BKS - 2’de plazmitli ortamda siyanobakteri sayıları 10800 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye çıkmış olup; 12,87 mg/L 1-butanolden 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 71,8 olarak elde edilmiştir. Plazmit ilavesi ile BKS - 2’de sadece AdhE2 enziminin konsantrasyonu artmıştır ve $3,1 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml’dir. Plazmitsiz ortamda üretilen 9,28 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti 0,086 TL/L ve plazmitli ortamda 12,87 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti ise 0,186 TL/L’dir. 6100 *S. elongatus* hücre sayısı/ml siyanobakteri sayısı, 5,9 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 39 olarak elde edilen çalışma; Foça Balaban Dağı mevki kaynak suyundan izole edilen *S. elongatus*’un CO₂’ce zengin kirli bölgelerde havanın yakalanıp saflaştırılmadan kullanıldığı çalışmadır (BKS - 3). BKS - 3’te hbd enziminin miktarı 4×10^{-3} hücre sayısı/ml, Ter enziminin miktarı $0,6 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml ve AdhE2 enziminin konsantrasyonu $0,9 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. Plazmitli ortamda siyanobakteri sayıları 8500 *S. elongatus* hücre sayısı/ml’ye artmıştır. 8,18 mg/L 1-butanol üretilen bu çalışmada ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 54 olarak gözlemlenmiştir. Plazmit ilavesi ile BKS - 3’te sadece AdhE2 enziminin konsantrasyonu artmıştır ve $2,5 \times 10^{-3}$ hücre sayısı/ml’ye ulaşılmıştır. Plazmitsiz ortamda üretilen 5,9 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti 0,0828 TL/L ve plazmitli ortamda 8,18 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti ise 0,1828 TL/L’dir (Tablo 6.1).

Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus*’a % 99 saflıkta CO₂ tüpünden CO₂’in kullanıldığı çalışmada (TBG - 1) siyanobakteri sayıları 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 1-butanol konsantrasyonu 12,57 mg/L ve 1-

butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 57,7'dir. TBG - 1'de hbd enziminin miktarı 0,8 x10⁻³ hücre sayısı/ml, Ter enziminin miktarı 0,0011 hücre sayısı/ml ve AdhE2 enziminin konsantrasyonu 1,4 x10⁻³ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. Plazmitli ortamda siyanobakteri sayısı 11400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışmada 1-butanol konsantrasyonu 17,43 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 80 olarak elde edilmiştir. Plazmit ilavesi ile TBG - 1'de sadece AdhE2 enziminin konsantrasyonu artmıştır ve 3,3 x10⁻³ hücre sayısı/ml'dir. Plazmitsiz ortamda üretilen 12,57 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti 0,102 TL/L ve plazmitli ortamda 17,43 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti ise 0,202 TL/L'dir. Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havadan yakalanıp saflaştırılmış CO₂ verilen çalışmada (TBG - 2) 7400 *S. elongatus* hücre sayısı/ml olan *S. elongatus*'tan 9,15 mg/L 1-butanol elde edilmiş olup; 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,6'dir. TBG - 2'de hbd enziminin miktarı 6 x10⁻³ hücre sayısı/ml, Ter enziminin miktarı 0,7 x10⁻³ hücre sayısı/ml ve AdhE2 enziminin konsantrasyonu 1,1 x10⁻³ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. Plazmitli ilave edilerek siyanobakteri sayıları 10300 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye artmıştır. Bu çalışma ile 12,69 mg/L 1-butanol konsantrasyonu üretilmiş ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 71,5 olarak hesaplanmıştır. Plazmit ilavesi ile TBG - 2'de sadece AdhE2 enziminin konsantrasyonu artmıştır ve 2,9 x10⁻³ hücre sayısı/ml'dir. Plazmitsiz ortamda üretilen 9,15 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti 0,086 TL/L ve plazmitli ortamda 12,69 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti ise 0,186 TL/L'dir. CO₂'ce zengin kirli bölgelerde havanın yakalanıp saflaştırılmadan verilerek büyütülmüş Tahtalı Baraj Gölü Reis Dere mevkiinden izole edilen *S. elongatus* (TBG - 3) siyanobakteri sayıları 5900 *S. elongatus* hücre sayısı/ml, 5,3 mg/L 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 37,3 olarak elde edilmiştir. TBG - 3'te hbd enziminin miktarı 3 x10⁻³ hücre sayısı/ml, Ter enziminin miktarı 0,5 x10⁻³ hücre sayısı/ml ve AdhE2 enziminin konsantrasyonu 0,8 x10⁻³ hücre sayısı/ml olarak ölçülmüştür. Plazmitli ilave edilerek siyanobakteri sayıları 8200 *S. elongatus* hücre sayısı/ml'ye çıkmış olup; 1-butanol konsantrasyonu 7,35 mg/L ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi % 51,7 olarak elde edilmiştir. Plazmit ilavesi ile TBG - 3'te sadece AdhE2 enziminin konsantrasyonu artmıştır ve 2,1 x10⁻³ hücre sayısı/ml'dir. Plazmitsiz ortamda üretilen 5,3 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti

0,086 TL/L ve plazmitli ortamda 7,35 mg/L 1-butanolun toplam maliyeti ise 0,186 TL/L'dir. Bu çalışmada elde edilen değerler bu yüksek lisans tezinde yapılan on bir çalışma arasında en düşüktür (Tablo 6.1).

Tablo 6.1 On bir çalışmada üretilen 1-butanol konsantrasyonları, 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri, enzim konsantrasyonları ve maliyetleri.

	Araştırma Örneklemeleri	1-butanol Kons. (mg/L)	1-butanol _{üretilen} /CO ₂ _{kullanılan} verimleri (%)	hbd kons. (hücre sayısı/ml)	Ter kons. (hücre sayısı/ml)	AdhE2 kons. (hücre sayısı/ml)	Toplam Maliyet (TL/L)
Plazmisiz Ortam	Saf - 1	25,5	66,6	16 x10 ⁻³	2,2 x10 ⁻³	2,6 x10 ⁻³	0,162
	Saf - 2	22,83	65,2	13 x10 ⁻³	1,8 x10 ⁻³	2,3 x10 ⁻³	0,146
	FDK - 1	18,73	60	11 x10 ⁻³	1,5 x10 ⁻³	1,9 x10 ⁻³	0,102
	FDK - 2	14,5	56	8 x10 ⁻³	1,2 x10 ⁻³	1,6 x10 ⁻³	0,086
	FDK - 3	10	47	5 x10 ⁻³	0,8 x10 ⁻³	1,1 x10 ⁻³	0,0828
	BKS - 1	13,75	58	9 x10 ⁻³	1,3 x10 ⁻³	1,5 x10 ⁻³	0,102
	BKS - 2	9,28	51,8	7 x10 ⁻³	0,9 x10 ⁻³	1,2 x10 ⁻³	0,086
	BKS - 1	5,9	39	4 x10 ⁻³	0,6 x10 ⁻³	0,9 x10 ⁻³	0,0828
	TBG - 1	12,57	57,7	8 x10 ⁻³	1,1 x10 ⁻³	1,4 x10 ⁻³	0,102
	TBG - 2	9,15	51,6	6 x10 ⁻³	0,7 x10 ⁻³	1,1 x10 ⁻³	0,086
	TBG - 3	5,3	37,3	3 x10 ⁻³	0,5 x10 ⁻³	0,8 x10 ⁻³	0,0828
Plazmitli Ortam	Saf - 1	35,37	92,4	16 x10 ⁻³	2,2 x10 ⁻³	4,8 x10 ⁻³	0,262
	Saf - 2	31,6	90,5	13 x10 ⁻³	1,8 x10 ⁻³	4,6 x10 ⁻³	0,246
	FDK - 1	25,97	83,2	11 x10 ⁻³	1,5 x10 ⁻³	4,2 x10 ⁻³	0,202
	FDK - 2	20,11	77,6	8 x10 ⁻³	1,2 x10 ⁻³	3,9 x10 ⁻³	0,186
	FDK - 3	13,87	65,2	5 x10 ⁻³	0,8 x10 ⁻³	2,7 x10 ⁻³	0,1828
	BKS - 1	19,07	80,4	9 x10 ⁻³	1,3 x10 ⁻³	3,4 x10 ⁻³	0,202
	BKS - 2	12,87	71,8	7 x10 ⁻³	0,9 x10 ⁻³	3,1 x10 ⁻³	0,186
	BKS - 3	8,18	54	4 x10 ⁻³	0,6 x10 ⁻³	2,5 x10 ⁻³	0,1828
	TBG - 1	17,43	80	8 x10 ⁻³	1,1 x10 ⁻³	3,3 x10 ⁻³	0,202
	TBG - 2	12,69	71,5	6 x10 ⁻³	0,7 x10 ⁻³	2,9 x10 ⁻³	0,186
	TBG - 3	7,33	51,7	3 x10 ⁻³	0,5 x10 ⁻³	2,1 x10 ⁻³	0,1828

Bekleme süresinin etkisi on bir çalışmada bulunan kültürleri sırasıyla 15, 30 ve 45 gün boyunca büyütülerek incelenmiştir. Her bir çalışmada maksimum büyüme, 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi 30 gün boyunca büyütülen kültürlerde elde edilmiştir. pH'ın etkisinde sırasıyla BG – 11 besiyerlerinin pH değerleri 4, 7 ve 10'a ayarlanarak her bir çalışma için ayrı ayrı ekimleri gerçekleştirilerek büyütülmüşlerdir. On bir çalışma için siyanobakteri sayılarının, 1-butanol konsantrasyonunun ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerinin en yüksek elde edildiği pH değerinin 7 olduğu saptanmıştır. 21°C, 30°C ve 45°C'de büyütülerek sıcaklığın etkisi her bir çalışmadaki kültürlerde incelenmiştir. Maksimum sonuçlar 30°C'de büyütülen kültürlerde elde edilmiştir. BG-11 sıvı besiyerlerine ayrı ayrı 0,05 mg/l, 0,1 mg/l ve 1 mg/l NaCl ilave edilerek ekimleri yapılan her bir çalışmadaki kültürlerde NaCl ilavesinin etkisi irdelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterileri 0,05 mg/L NaCl

konsantrasyonunda tuz stresine girerek artan NaCl değerleri ile büyümeleri hızla azalmıştır. Redoks potansiyelinin etkisi BG-11 besiyeri ortamı sırasıyla anoksik (0 mV), anaerobik (-200 mV) ve aerobik koşullara (120 mV) ayarlanarak incelenmiştir. Anoksik koşullar her bir çalışmada ayrı ayrı BG-11 sıvı besiyerlerine 0,02 mg/l, 0,05 mg/l ve 0,09 mg/l sodyum tiyoglikolat ilave edilerek elde edilmiştir. Yapılan çalışmalar kontrollerle kıyaslandığında sodyum tiyoglikolat konsantrasyonu arttıkça siyanobakteri sayıları, üretilen 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri azalmıştır. Aerobik koşullar her bir kültüre sırasıyla 0,5 mg/L, 1,5 mg/L, 2,5 mg/l ve 3 mg/l konsantrasyonlarında O₂ pompası ile O₂ ilave edilerek elde edilmiştir. Her bir çalışma için artan O₂ konsantrasyonları ile siyanobakteri sayıları, üretilen 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri azalmış olup; maksimum sonuçlar 0,5 mg/l O₂ ilave edilen çalışmalarda elde edilmiştir. Anaerobik koşullar on bir çalışmada ayrı ayrı çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0 mg/l, 0,01mg/l, 0,03 mg/l ve 0,05 mg/l *S. elongatus* PCC 7942 kültürlerine ilave edilerek sağlanmıştır. Yapılan çalışmalarda anaerobik koşullarda büyütülen siyanobakterilerinin sayıları en düşük olup; 0,05 mg/l çözünmüş O₂ ilavesi ile büyütülen siyanobakteri sayıları en yüksek değerlerde elde edilmiştir. BG – 11 sıvı besiyeri bileşeni olan MgSO₄'ın; yapılan on bir çalışma üzerine etkileri MgSO₄ ilavesiz, 0,075 g ve 0,15 g MgSO₄ ilave edilerek gerçekleştirilmiştir. En iyi sonuçlar 0,075 mg/l MgSO₄'ın ilave edildiği çalışmalarda elde edilmiştir. Sekiz farklı ışık şiddeti (30 W, 50 W, 60 W, 70 W, 80 W, 90 W, 100 W ve 150 W) altında ayrı ayrı gerçekleştirilen on bir çalışmada ışık şiddetinin etkileri incelenmiştir. Her bir çalışmada minimum siyanobakteri sayıları, 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri 30 W'lık ışık şiddetinde; maksimumu ise 60 W'lık ışık şiddeti altında büyüme sonucu gerçekleştiği saptanmıştır. Çözünmüş oksijenin etkisi tüm çalışmalarda O₂ ilavesi olmadan (0 mg/l) ve 0,5 mg/l, 1,5 mg/l, 2,5 mg/l konsantrasyonlarında O₂ pompası ile O₂ ilave edilerek incelenmiştir. Maksimum sonuçlar 0,5 mg/l O₂ ilavesinde gözlemlenmiştir. O₂ ilavesi olmadan gerçekleştirilen çalışmalarda siyanobakteri sayısı, 1-butanol konsantrasyonu ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi minimum değerde elde edilmiştir. Artan O₂ konsantrasyonları (1,5 mg/l ve 2,5 mg/l) ile *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin sayısı azalmış olup; düşük miktarlarda 1-butanol ve 1-

butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimi elde edilmiştir. pAM2991 plazmitinin transformasyonu ile on bir çalışmada plazmit ilavesinin etkisi incelenmiştir. Her bir çalışmada pAM2991 plazmit transformasyonu ile siyanobakteri sayıları, üretilen 1-butanol konsantrasyonları ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri artmıştır. Plazmit ilavesi yapılmadan maksimum elde edilen 1-butanol konsantrasyonu Yapılan çalışmalarda plazmit ilavesi ile elde edilen siyanobakteri sayılarının, 1-butanol konsantrasyonlarının ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimlerinin maksimuma ulaştığı saptanmıştır.

CO₂ konsantrasyonu günümüzde ciddi tehlikeler oluşturacak seviyelere ulaşmıştır. Fotosentetik siyanobakteri olan *S. elongatus* ile tasarlanmış metabolik yol izi ile CO₂'ten 1-butanol üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu metabolik yol izi karbon azaltma hedefli olup; CO₂ ve ışık kullanılarak oksijen ve biyoyakıt olan 1-butanolu üretme hedeflidir. Yapılan on bir çalışmada üç farklı CO₂ verilmiştir. % 99 saflıkta olan CO₂ tüpünde verilen CO₂ ve CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havanın yakalanıp saflaştırılmasıyla elde edilen CO₂'de *S. elongatus* büyümeleri yüksektir. Ancak CO₂'ce zengin kirli bölgelerden havanın yakalanıp saflaştırılmadan verilmesiyle *S. elongatus* PCC 7942 siyanobakterilerinin büyümelerini limitlemiştir. *S. elongatus* PCC 7942'nin optimum 30°C sıcaklık, 60 W ışık şiddeti, pH = 7.1, redoks potansiyeli 120 mV, 0,083 m³/sn debi ile CO₂ ve çözünmüş O₂ konsantrasyonu 0,5 mg/l koşullarında büyütülmelidir. Ayrıca *S. elongatus* ile 1-butanol üretimi gerçekleştirilen metabolik yol izi plazmit ilavesi ile güçlendirilmelidir. Çünkü CO₂'ten 1-butanol elde edilen tasarlanmış metabolik yol izinde görev alan enzimler çok düşük konsantrasyonlarda *S. elongatus* kültürlerinde ölçülmüştür. İlgili plazmit ilavesi ile enzim genleri sayesinde aktiviteleri arttırılarak maksimum konsantrasyonlarda 1-butanol ve 1-butanol_{üretilen}/CO₂_{kullanılan} verimleri elde edilebilir.

Çevre dostu olan 1-butanol ayrıca ekonomik, ülkelerin sosyo-ekonomik gelişimini sağlayan, atıkları değerlendirebilen, ısı, güç ve alternatif motor yakıtı olarak kullanıma uygun alternatif yakıttır. 1-butanol; gazolinin yerini alarak, potansiyel yakıtı alternatif olarak dikkate alınmaktadır. 1-butanolun enerji

yoğunluğu 27 MJ/L'dir. Benzin (32 MJ/L) ile kıyaslandığında yakın ve etanolden (21 MJ/L) daha yüksek enerji yoğunluğuna sahiptir (Lan ve Liao, 2011). Yenilenebilir alternatif enerji kaynaklarından biyoetanölümüzde yakıt olarak benzine çeşitli oranlarda karıştırılarak kullanılmaktadır (Escobar ve ark., 2009). Ancak etanolün korozyif olması, enerji içeriğinin düşük olması, kolay buharlaşabilmesi gibi çeşitli dezavantajları bulunmaktadır. % 85 oranında etanol kullanabilmek için araç motorlarının da modifiye edilmesi gerekmektedir. Ayrıca araçlarda kullanılan benzin ve türevlerinin egzozlardan çevreye CO₂ salınımı çok fazladır ve bu da küresel ısınma için büyük tehdit oluşturmaktadır. 1-butanolun içerisindeki karbon, *S. elongatus*'un havadaki karbondioksiti parçalaması sonucu elde edildiği için, 1-butanolun yakılması, dünya atmosferinde net karbondioksit artışına neden olmaz. Bu nedenle atmosferdeki karbondioksit miktarının artışına engel olabilmek için fosil yakıtlar yerine biyoyakıt olarak 1-butanol kullanılması dünyamızın geleceği için daha güçlü bir alternatiftir. Ayrıca benzin fiyatları ile kıyaslandığında 1-butanolun maliyeti üç kat daha ucuzdur. Günümüzde 1 litre benzin fiyatı yaklaşık olarak 4,30 TL/L'dir. Bizim ürettiğimiz 1-butanolun 1 litresinin maksimum maliyeti 1,31 TL/L'dir. Daha ucuz biyoyakıt üretimi için saf *S. elongatus* PCC 7942 kültürü yerine deniz kıyılarından izole edilen *S. elongatus* kültürleri tercih edilebilir. Çünkü tatlı sulardan izole edilen kültürlerde daha az biyoyakıt üretimi vardır ancak harcanan maliyet deniz kıyılarından izole edilen kültürlerle aynıdır. Enerji kaynaklarının kısıtlı olduğu Türkiye'de konvansiyonel enerji kaynaklarının (kömür, benzin, termik santral) azalması ve yenilenmesindeki problemler ile rüzgar ve güneş gibi temiz-yeşil enerjilerin kullanımı gündeme gelmiştir. Bu yüksek lisans çalışmasında üretilen 1- butanolun araçlarda benzine alternatif olarak kullanılması hem maliyeti azaltacak hem de yenilenebilir bir enerji kaynağı olarak sürdürülebilir bir şekilde yaygınlaştırılarak kullanılabilir.

KAYNAKLAR

- Allakhverdiev, S.I., Nishiyama, Y., Suzuki, I., Tasaka, Y. ve Murata, N. (1999). Genetic engineering of the unsaturation of fatty acids in membrane lipids alters the tolerance of *Synechocystis* to salt stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 5862–5867.
- Allakhverdiev, S.I., Sakamoto, A., Nishiyama, Y. ve Murata, N. (2000). Inactivation of photosystems I and II in response to osmotic stress in *Synechococcus*: contribution of water channels. *Plant Physiology*, 122, 1201–1208.
- Allakhverdiev, S.I., Tsuchiya, T., Watabe, K., Kojima, A., Los, D.A., Tomo, T. ve ark. (2011). Redox potentials of primary electron acceptor quinone molecule (QA) and conserved energetics of photosystem II in cyanobacteria with chlorophyll a and chlorophyll d. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 8054–8058.
- Antia, N. J., Harrison, P. J. ve Olivera, L. (1991). The role of dissolved organic nitrogen in phytoplankton nutrition, cell biology and ecology. *Phycologia*, 30, 1–89.
- Aoki, M. ve Katoh, S. (1983). Size of the plastoquinone pool functioning in photosynthetic and respiratory electron transport of *Synechococcus sp.* *Plant and Cell Physiology*, 24, 1379–1386.
- Aoki, M., Hirano, M., Takahashi, Y. ve Katoh, S. (1983). Contents of cytochromes, quinones and reaction centers of photosystems I and II in a cyanobacterium *Synechococcus sp.* *Plant and Cell Physiology*, 24, 517–525.

- Atsumi, S. ve Liao, J.C. (2008). Directed evolution of *Methanococcus jannaschii* citramalate synthase for biosynthesis of 1-propanol and 1-butanol by *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 7802–7808.
- Atsumi, S., Cann, A.F., Connor, M.R., Shen, C.R., Smith, K.M., Brynildsen, M.P. ve ark. (2007). Metabolic engineering of *Escherichia coli* for 1-butanol production. *Metabolic Engineering*, 10(6), 305-311.
- Atsumi, S., Hanai, T. ve Liao, J.C. (2008). Non-fermentative pathways for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels. *Nature*, 451, 86–89.
- Aydın, M.Y., Kara, M., Dumanoglu, Y. ve Odabaşı, M. (2014). Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in ambient air of an industrial region in Turkey. *Atmospheric Environment*, 97, 271-285.
- Badger, M.R. ve Price, G.D. (2003). CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution. *Journal of Experimental Botany*, 54, 609–622.
- Berezina, O.V., Zakharova, N.V., Brandt, A., Yarotsky, S.V., Schwarz, W.H. ve Zverlov, V.V. (2010). Reconstructing the clostridial n-butanol metabolic pathway in *Lactobacillus brevis*. *Microbiology Biotechnology*, 87, 635–646.
- Boynton, Z.L., Bennet, G.N. ve Rudolph, F.B. (1996). Cloning, sequencing, and expression of clustered genes encoding beta-hydroxybutyryl-coenzyme A (CoA) dehydrogenase, crotonase, and butyryl-CoA dehydrogenase from *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824. *Journal of Bacteriology*, 178(11), 3015-3024.

- Bozlaker, A., Muezzinoglu, A. ve Odabasi M. (2008). Atmospheric concentrations, dry deposition and air–soil exchange of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in an industrial region in Turkey. *Journal of Hazardous Materials*, 153, 1093–1102.
- BP Statistical Review of World Energy, (2002). *Primary energy*, 37, <http://www.griequity.com/resources/industryandissues/Energy/bp2002statisticalreview.pdf>
- Bradford, M.M. (1976). Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Bustos, S. A., Schaefer, M.R. ve Golden, S.S. (1990). Different and rapid responses of four cyanobacterial psbA transcripts to changes in light intensity. *Journal of Bacteriology*, 172(4), 1998–2004.
- Can, M., Etemoğlu A.B. ve Avcı, A., (2007). Deniz suyundan tatlı su eldesinin teknik ve ekonomik analizi. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 1(7), 2002147.
- Candau, P., Manzano, C. ve Losada, M. (1976). Bioconversion of light energy into chemical energy through reduction with water of nitrate to ammonia. *Nature*, 262, 715–717.
- Cantörü, U. (2014). *Atmosferdeki karbondioksit oranı rekor kırdı*. 26 Ekim 2015, <http://www.yesilist.com/cms.php?u=-1479&id=1479>
- Caspi, R., Altman, T., Billington, R., Dreher, K., Foester, H., Fulcher, C.A. ve ark. (2013). The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of Pathway/Genome Databases. *Nucleic Acids Research: Oxford Journals*, 42(D1), D459-D471.

- Choi, Y.J., Lee, J., Jang, Y.S. ve Lee, S.Y. (2014). Metabolic engineering of microorganisms for the production of higher alcohols. *mBio*, 5, 01524-14.
- Cockeysville, M.D. (2011). Designer calvin-cycle-channeled production of butanol and related higher alcohols. *United States Patent Application*, 13, 075-153.
- Cooley, J.W., Howitt, C.A. ve Vermaas, W.F. (2000). Succinate:quinol oxidoreductases in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803: presence and function in metabolism and electron transport. *Journal of Bacteriology*, 182, 714–722.
- De Philippis, R., Colica, G., ve Micheletti, E. (2011). Exopolysaccharide-producing cyanobacteria in heavy metal removal from water: Molecular basis and practical applicability of the biosorption process. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92(4), 697-708.
- Deng, M.D. ve Coleman, J.R. (1999). Ethanol synthesis by genetic engineering in cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 523–528.
- Denhez, F. (2007). *Küresel ısınma atlası*. İstanbul; NTV yayınları.
- Dexter, J. ve Fu, P.C. (2009). Metabolic engineering of cyanobacteria for ethanol production. *Energy & Environmental Science*, 2, 857–864.
- Ducat, D.C., Avelar-Rivas, J.A., Way, J.C. ve Silver, P.A. (2012). Rerouting carbon flux to enhance photosynthetic productivity. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8), 2660-2668.
- Escobar, J. C., Lora, E.S., Venturini, O.J., Yanez E.E., Castillo E.F. ve Almazan. (2009). Biofuels: Environment, technology and food security. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13, 1275-1287.

- Ezeji, T.C., Qureshi, N. ve Blaschek, H.P. (2007). Bioproduction of butanol from biomass: From genes to bioreactors. *Current Opinion in Biotechnology*, 18, 220–227.
- Flores, E., Fri'as, J.E., Rubio, L.M. ve Herrero A. (2005). Photosynthetic nitrate assimilation in cyanobacteria: A rewiev. *Photosynthesis Research*, 83, 117–133.
- Fontaine, L., Meynial-Salles, I., Girbal, L., Yang, X., Croux, C. ve Soucaille, P. (2002). Molecular characterization and transcriptional analysis of adhE2, the gene encoding the NADH-dependent aldehyde/alcohol dehydrogenase responsible for butanol production in alcohologenic cultures of *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824. *Journal of Bacteriology*, 184(3), 821-30.
- Fu, F., Mark E., Zhang, Y., Feng, Y. ve Hutchins D.A. (2007). Effects of increased temperature and CO₂ on photosynthesis, growth, and elemental ratios in marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus* (Cyanobacteria). *Journal of Phycology*, 443(3), 485-496.
- Fujita, Y. (1997). A study on the dynamic features of photosystem stoichiometry: accomplishments and problems for future studies. *Photosynthesis Research*, 53, 83–93.
- Golden, S.S. (1995). Light-responsive gene expression in cyanobacteria. *Journal of Bacteriology*, 177, 1651–1654.
- Hagemann, M. ve Erdmann, N. (1997). Environmental stresses. In: Rai AK, editor. cyanobacterial nitrogen metabolism and environmental biotechnology. *Heidelberg: Springer-Verlag*, 156–221.
- Hartmanis, M.G. ve Gatenbeck, S. (1984). Intermediary Metabolism in *Clostridium acetobutylicum*: Levels of enzymes involved in the formation of acetate and butyrate. *Applied and Environmental Microbiology*, 47(6), 1277-83.

- Hawkins, A.B., Adams, M.W. ve Kelly, R.M. (2014). Conversion of 4-hydroxybutyrate to acetyl coenzyme A and its anapleurosis in the *Metallosphaera sedula* 3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate carbon fixation pathway. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 2536-2545.
- Hayashi, H. ve Murata, N. (1998). Genetically engineered enhancement of salt tolerance in higher plants. *Elsevier Science*, 133–148.
- Hecker, M. ve Völker, U. (2001). General stress response of *Bacillus subtilis* and other bacteria. *Advances in Microbial Physiology*, 44, 35-91.
- Hoffmeister, M., Piotrowski, M., Nowitzki, U. ve Martin, W. (2005). Mitochondrial trans-2-enoyl-CoA reductase of wax ester fermentation from *Euglena gracilis* defines a new family of enzymes involved in lipid synthesis. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(6), 4329-4338.
- Howitt, C.A., Cooley, J.W., Wiskich, J.T ve Vermaas, W.F.J. (2001) A strain of *Synechocystis* sp. PCC 6803 without photosynthetic oxygen evolution and respiratory oxygen consumption: implications for the study of cyclic photosynthetic electron transport. *Planta*, 214, 46–56.
- Hu, B. ve Lidstrom, M.E. (2014). Metabolic engineering of *Methylobacterium extorquens* AM1 for 1-butanol production. *Biotechnology for Biofuels*, 7, 156.
- Huner, N.P.A., Öquist, G. ve Sarhan, F. (1998). Energy balance and acclimation to light and cold. *Trends Plant Science*, 3, 224–230.
- Ivleva, N.B., Bramlett, M.R., Lindahl, P.A. ve Golden, S.S. (2005). LdpA: a component of the circadian clock senses redox state of the cell. *EMBO Journal*, 24(6), 1202-1210.

- Jain, A., Verma, D., ve Bagchi, D. (2006). Catalytic and regulatory properties of sulphur metabolizing enzymes in cyanobacterium *S. elongatus* PCC 7942. *Indian Journal of Experimental Biology*, 44(9), 767-772.
- Jang, Y.S., Lee, J.Y., Lee, J., Park, J.H., Im, J.A., Eom, M.H. ve ark. (2012). Enhanced butanol production obtained by reinforcing the direct butanol-forming route in *Clostridium acetobutylicum*. *mBio*, 3 (5), 00314-12.
- Kapp, R., Stevens, S.E.J.R. ve Fox, J.L. (1975). A survey of available nitrogen sources for the growth of the blue-green alga *Agmenellum quadruplicatum*. *Archives for Microbiologie*, 104, 135-138.
- Kazokoglu, C. (2015). On grafikte Birleşmiş Milletler iklim değişikliği konferansı ve Türkiye. 1 Aralık 2015, http://www.bbc.com/turkce/ekonomi/2015/11/151130_cop21_turkiye_cuneyt_kazokoglu
- Keithellakpam, O.S., Nath, T.O., Oinam, A.S., Thingujam, I., Oinam, G. ve Dutt, S.G. (2015). Effect of external pH on cyanobacterial phycobiliproteins production and ammonium excretion. *Journal of Applied Biology ve Biotechnology*, 3 (04), 038-042.
- Kleiner, D. (1985). Bacterial ammonium transport. *FEMS Microbiolgy Reviews*, 32, 87-100.
- Knaff, D.B. ve Hirasawa, M. (1991). Ferredoxin-dependent chloroplast enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1056, 93-125.
- Koksharova, O.A., Klint, J. ve Rasmussen U. (2007). Comparative proteomics of cell division mutants and wild-type of *Synechococcus* sp. strain PCC 7942. *Microbiology*, 153, 2505-2517.

- Komárek, J. Wan, K. (1998). Cyanoprokaryota. 1. Teil: *Chroococcales*. Süßwasserflora von Mitteleuropa, 19(1), 548.
- Krieger-Liszkay, A. ve Rutherford, A.W. (1998). Influence of herbicide binding on the redox potential of the quinone acceptor in photosystem II: relevance to photodamage and phytotoxicity. *Biochemistry*, 37, 17339–17344.
- Kuan, D. (2013). *Growth optimization of Synechococcus elongatus PCC 7942 in lab flask and 2D photobioreactor*. Master Thesis, The University of British Columbia, Canada.
- Kuan, D., Duff, S., Posarac, D. Ve Bi, X. (2015). Growth optimization of *Synechococcus elongatus* PCC 7942 in lab flasks and 2-D photobioreactor. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 93, 640-647.
- Kubíček, (2014). *Siyanobakteriler*. 15 Kasım 2015, <http://ecotox.ibot.cas.cz/temp-sbirka/a-cyanobacteria.htm>
- Künzel. (1989). Solarunterstützte Meerwasserentsalzung, *Stand der Technik*.
- Lai, C., Dietrich, D. ve Bowman, M. (2005). Global warming and the mining of oceanic methane hydrate. *Topics in Catalysis*, 32(3-4), 95-99.
- Lan, E.I. ve Liao, J.C (2011). Metabolic engineering of cyanobacteria for 1-butanol production from carbon dioxide. *Metabolic Engineering*, 13, 353-363.
- Lan, E.I. ve Liao, J.C. (2012). ATP drives direct photosynthetic production of 1-butanol in cyanobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(16), 6018-23.

- Lan, ve E.I. ve Liao, ve J.C. (2013). Microbial synthesis of n-butanol, isobutanol, and other higher alcohols from diverse resources. *Bioresource Technology*, 135, 339-349.
- Lindberg, P. Park, S. ve Melis, A. (2010). Engineering a platform for photosynthetic isoprene production in cyanobacteria, using *Synechocystis* the model organism. *Metabolic Engineering*, 12, 70–79.
- Liu, L.N., Bryan, J.S., Huang, F., Yu, J., Nixon, P.J., Rich, P.R. ve ark. (2012). Control of electron transport routes through redox-regulated redistribution of respiratory complexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(28), 11431–11436.
- Luque, I., Flores, E. ve Herrero, A. (1993). Nitrite reductase gene from *Synechococcus* sp. PCC 7942: homology between cyanobacterial and higher-plant nitrite reductases. *Plant Molecular Biology*, 21, 1201–1205.
- MacKenzie, T.D.B., Burns, R.A. ve Campbell, D.A. (2004). Carbon status constrains light acclimation in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus*. *Plant Physiology*, 136(2), 3301-3312.
- Mackey, K.R.M., Paytan, A., Caldeira, K., Grossman, A.R., Moran, D., McIlvin, M., ve ark. (2013). Effect of temperature on photosynthesis and growth in marine *Synechococcus* spp. *Plant Physiology*, 163(2), 815–829.
- Madan, V.K., Hillmer, P. ve Gottschalk, G. (1973). Purification and properties of NADP-dependent L(+)-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase from *Clostridium kluyveri*. *European Journal of Biochemistry*. 32(1), 51–6.
- Madigan, T.M., Martinko, M.J., Dunlap, V.P. ve Clark, P.D. (2009). *Brock biology of microorganisms* (12). Person Education: San Francisco.

- Matsunaga, T., Takeyama, H., Miyashita, H. ve Yokouchi, H. (2005). Marine microalgae. *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*, 96, 165–188.
- Matthijs, H.C.P., Ludérus, E.M.E., Löffler, H.J.M., Scholts, M.J.C, Kraayenhof, R. (1984). Energy metabolism in the cyanobacterium *Plectonema boryanum*: participation of the photosynthetic electron transfer chain in the dark respiration of NADPH and NADH. *Biochimica et Biophysica Acta*, 766, 29–37.
- Mazel, D., Houmard, J. ve Marsac, N. (1988). A multigene family in *Calothrix sp.* PCC 7601 encodes phycocyanin, the major component of the cyanobacterial light-harvesting antenna. *Molecular and General Genetics MGG*, 211(2), 296-304.
- McEwen, J.T., Machado, I.M.P, Connor, M.R. ve Atsumi, S. (2013). Engineering *Synechococcus elongatus* PCC 7942 for continuous growth under diurnal conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(5), 1668-1675.
- Mi, H., Endo, T., Ogawa, T. ve Asada, K. (1995). Thylakoid membrane-bound, NADPH-specific pyridine nucleotide dehydrogenase complex mediates cyclic electron transport in the cyanobacterium *Synechocystis sp.* PCC 6803. *Plant and Cell Physiology*, 36, 661–668.
- Mikami, B. ve Ida, S. (1984). Purification and properties of ferredoxin–nitrate reductase from the cyanobacterium *Plectonema boryanum*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 791, 294–304.
- Murray, R., Badger, ve T. ve Andrews, J. (1982). Photosynthesis and inorganic carbon usage by the marine cyanobacterium. *Synechococcus sp.* *Plant Physiology*, 70(2), 517-523.
- Neilson, A.H. (1980). Isolation and characterization of bacteria from the Baltic Sea. *Journal of Applied Microbiology*, 49(2), 1365-2672.

- Nicholls, D.G. ve Rial, E. (1999). A history of the first uncoupling protein, UCP1. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 31(5), 399-406.
- Niederholtmeyer, H., Wolfstadter, B.T., Savage, D.F., Silver, P.A. ve Way, J.C. (2010). Engineering cyanobacteria to synthesize and export hydrophilic products. *Applied and Environmental Microbiology*, 76, 3462–3466.
- Nielsen, D.R., Leonard, E., Yoon, S.H., Tseng, H.C., Yuan, C. ve Prather K.L.J. (2009). Engineering alternative butanol production platforms in heterologous bacteria. *Metabolic Engineering*, 11, 262–273.
- Norton, J. ve Roth, J.S. (1967). A ribonuclease specific for 2'-O-methylated ribonucleic acid. *Journal of Biological Chemistry*, 242(9), 2029-2034.
- Nykanen, L. (1986). Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 84-96.
- Ocak, M.E. (2015). Küresel ısınmanın nedenleri? *Bilim genç TÜBİTAK*. 16 Kasım 2015, <http://www.bilimgenc.tubitak.gov.tr/makale/kuresel-isinmanin-nedenleri-nelerdir>
- Olson, R.J., Zettler, E.R., Armbrust, E.V. ve Chisholm, S.W. (1990). Pigment, size and distribution of *Synechococcus* in the North Atlantic and Pacific oceans. *Limnology and Oceanography*, 35, 45–58.
- Omata, T., Andriesse, X. ve Hirano, A. (1993). Identification and characterization of a gene cluster involved in nitrate transport of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942. *Molecular Genetics and Genomics*, 236, 193-202.

Pamir, A.N. (2013). *Dünyada ve Türkiye’de enerji, Türkiye’nin enerji kaynakları ve enerji politikaları*. 24 Kasım 2015, http://metalurji.org.tr/dergi/dergi134/d134_73100.pdf

Papageorgiou, G.C., Alygizaki-Zorba, A., Ladas, N. ve Murata, N. (1998). A method to probe the cytoplasmic osmolality and osmotic water and solute fluxes across the cell membrane of cyanobacteria with Chl *a* fluorescence: experiments with *Synechococcus* sp. PCC 7942. *Physiologia Plantarum*, 103, 215–224.

Papoutsakis, E.T. (2008). Engineering solventogenic clostridia. *Current Opinion in Biotechnology*, 19, 420–429.

Parmar, A., Singh, N.K., Pandey, A., Gnansounou, E. ve Madamwar, D. (2011). Cyanobacteria and microalgae: a positive prospect for biofuels. *Bioresource Technology*, 102, 10163-10172.

Pope, D. (1975). Effects of light intensity, oxygen concentration, and carbon dioxide concentration on photosynthesis in algae. *Microbial Ecology*, 2(1), 1-16.

Prats, C., López, D., Giró, A., Ferrer, J. ve Valls, J. (2006). Individual-based modelling of bacterial cultures to study the microscopic causes of the lag phase. *Journal of Theoretical Biology*, 241(4), 939-1053.

Raesossadati, M.J., Ahmadzadeh, H., McHenry, M.P. ve Moheimani, N.R. (2014). CO₂ bioremediation by microalgae in photobioreactors: impacts of biomass and CO₂ concentrations, light, and temperature. *Algal Research*, 6 (Part A), 78-85.

Riebesell, U., Schulz, K.G., Bellerby, R. G. J., Botros, M., Fritsche, P., Meyerhöfer, M. ve ark. (2007). Enhanced biological carbon consumption in a high CO₂ ocean. *Nature*, 450, 545-548.

- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J.B., Herdman, M. ve Stanier, R.Y. (1979). Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology*, 111, 1-61.
- Ritchie, R. J. (2013). The ammonia transport, retention and futile cycling problem in cyanobacteria. *Microbial Ecology*, 65, 180-196.
- Ritchie, R. J. ve Islam, N. (2001). Permeability of metalamine across the cell membrane of a cyanobacterial cell. *New Phytologist*, 152, 203-212.
- Scanlan, D. J. ve Nyree, J. W. (2002). Molecular ecology of the marine cyanobacterial genera *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *FEMS Microbiology Ecology*, 40, 1-12.
- Scherer, S. (1990). Do photosynthetic and respiratory electron transport chains share redox proteins? *Trends in Biochemical Sciences*, 15, 458-462.
- Schmetterer, G. (1994). Cyanobacterial respiration. *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, 1, 409-435.
- Schuurmans, R.M., Schuurmans, J.M., Bekker, M., Kromkamp J.C., Matthijs, H.C.P. ve Hellingwerf K.J. (2014) The redox potential of the plastoquinone pool of the cyanobacterium *Synechocystis* species strain PCC 6803 is under strict homeostatic control. *Plant Physiology*, 165, 463-475.
- Schwarz, D., Nodop, A., Hüge, J., Purfürst, S., Forchhammer, K., Michel, K., ve ark., (2011). Metabolic and transcriptomic phenotyping of inorganic carbon acclimation in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *Plant Physiology*, 155(4), 1640-1655.

- Shcolnick, S., Summerfield, T. C., Reytman, L., Sherman, L. A., ve Keren, N. (2009). The mechanism of iron homeostasis in the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 and its relationship to oxidative stress. *Plant Physiology*, 150(4), 2045-2056.
- Shen, C.R. ve Liao, J.C. (2008). Metabolic engineering of *Escherichia coli* for 1-butanol and 1-propanol production via the keto-acid pathways. *Metabolic Engineering*, 10, 312–320.
- Shen, C.R., Lan, E.I., Dekishima, Y., Baez, A., Cho, K.M. ve Liao, J.C. (2011). Driving forces enable high-titer anaerobic 1-butanol synthesis in *Escherichia coli*. *Applied Environmental Microbiology*, 77, 2905–2915.
- Siegesmund, S. (2011). *Stone in architecture: properties, durability*. New York; Springer Heidelberg.
- Srivastava, A. K., Rai, A. N. ve Neilan, B. A. (2013). *Stress biology of cyanobacteria: Molecular mechanisms to cellular responses*. New York; CRC Press.
- Stanier, R.Y., Kunisawa, R., Mandel, M. ve Cohen-Bazire, G. (1971). Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order *Chroococcales*). *Bacteriological Reviews*, 35, 171-205.
- Steen, E.J., Chan, R., Prasad, N., Myers, S., Petzold, C.J., Redding, A. ve ark. (2008). Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for the production of n-butanol. *Microbial Cell Factories*, 7, 36.
- Suzuki, I., Sugiyama, T. ve Omata, T. (1993). Primary structure and transcriptional of the gene for nitrite reductase from the cyanobacterium *Synechococcus* PCC 7942. *Plant and Cell Physiology*, 34, 1311-1320.

- Taiz, L. ve Zeiger E. (2008). *Bitki fizyolojisi* (3). (İ. Türkan, Çev.). Ankara: Palme Yayıncılık. (Orijinal çalışma basım tarihi 2008).
- Takahama, K., Matsuoka, M., Nagahama, K. ve Ogawa, T. (2003). Construction and analysis of a recombinant cyanobacterium expressing a chromosomally inserted gene for an ethylene-forming enzyme at the psbAI locus. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 95, 302–305.
- Tezcan A., Atılğan, A. ve Öz, H., (2011). Seralarda karbondioksit düzeyi, karbondioksit gübrelemesi ve olası etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6 (1), 44-51.
- Todar, K. (2012). *Nutrition and growth of bacteria*. 20 Kasım 2015, <http://textbookofbacteriology.net/nutgro.html>
- Tsinoremas, N.F., Schaefer, M.R. ve Golden, S.S. (1994). Blue and red light reversibly control psbA expression in the cyanobacterium *Synechococcus sp.* strain PCC 7942. *The Journal of Biological Chemistry*, 269, 16143–16147.
- Tucci, S. ve Martin, W. (2007). A novel prokaryotic trans-2-enoyl-CoA reductase from the spirochete *Treponema denticola*. *FEBS Letters*, 581(8), 1561-1566.
- Van Den Hende, S., Vervaeren, H. ve Boon, N. (2012). Flue gas compounds and microalgae: (bio-)chemical interactions leading to biotechnological opportunities. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1405-1424.
- Varlet, V., Smith, F., de Froidmont, S., Dominguez, A., Rinaldi, A., Augsburg, M. ve ark. (2013). Innovative method for carbon dioxide determination in human postmortem cardiac gas samples using headspace-gas chromatography-mass spectrometry and stable labeled isotope as internal standard. *Analytica Chimica Acta*, 784, 42-46.

- Wang, H., Kesinger, J.W., Zhou, Q., Wren, J.D., Martin, G., Turner, S., ve ark. (2008) Identification and characterization of zebrafish ocular formation genes. *Genome*, 51(3), 222-235.
- Waterbury, J. B., Valois, F.W. ve Franks, D.G. (1986). Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*. *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences*, 214, 71-120.
- Williams, S.B. (2007). A circadian timing mechanism in the cyanobacteria. *Advances in Microbial Physiology*, 52, 229-296.
- Wobbe, L. ve Remacle, C. (2015). Improving the sunlight-to-biomass conversion efficiency in microalgal biofactories. *Journal of Biotechnology*, 201, 28-42.
- Yang, C.C., Wen, R.C., Shen, C.R. ve Yao D.J. (2015). Using a microfluidic gradient generator to characterize BG-11 medium for the growth of cyanobacteria *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *Micromachines*, 6(11), 1755-1767.
- Yang, M., Damjanović, A., Harsha, M., Vaswani, ve Fleming, G.R. (2003). Energy transfer in photosystem I of cyanobacteria *Synechococcus elongatus*: model study with structure-based semi-empirical hamiltonian and experimental spectral density. *Biophysical Journal*, 85, 140-158.
- Yeremenko, N., Jeanjean, R., Prommee, P., Krasikov, V., Nixon, P.J., Vermaas, W.F.J. ve ark. (2005). Open reading frame *ssr2016* is required for antimycin A-sensitive photosystem I-driven cyclic electron flow in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant and Cell Physiology*, 46, 1433–1436.