

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CHLORELLA MINUTISSIMA VE *NANNOCHLOROPSIS OCULATA*
MİKROALGLERİNİN FARKLI YÖNTEMLER KULLANILARAK FLOKÜLASYON
PERFORMANSLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

SEVGİ AKIŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI

DANIŞMAN
DOÇ. DR. DİDEM ÖZÇİMEN

İSTANBUL, 2016

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CHLORELLA MINUTISSIMA VE NANNOCHLOROPSIS OCULATA
MİKROALGLERİNİN FARKLI YÖNTEMLER KULLANILARAK FLOKÜLASYON
PERFORMANSLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Sevgi AKIŞ tarafından hazırlanan tez çalışması 28.11.2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Didem ÖZÇİMEN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç.Dr.Didem ÖZÇİMEN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. İbrahim IŞILDAK
İstanbul Üniversitesi

Doç. Dr. Melek EROL TAYGUN
Yıldız Teknik Üniversitesi

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, beraber çalışmaktan onur duyduğum, çalışma süresince göstermiş olduğu sabır ve hoşgörü için çok saygıdeğer hocam Doç. Dr. Didem ÖZÇİMEN'e,

Deneysel çalışmalarım boyunca bana yardımcı olan ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Yük. Biyomühendis Benan İNAN'a ve Biyomühendis Anıl Tevfik KOÇER'e,

Her zaman olduğu gibi beni bu zorlu süreçte de yalnız bırakmayan, bugünlere gelmemde büyük emeği geçen, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili anneme, babama ve abilerime,

Samimi sıcak dostluklarıyla her zaman yanımda olan manevi desteklerini hep üzerimde hissettiğim sevgili arkadaşlarım Melike Ay, Tenzile Kaya, Canan Yağmur Karakaş, Ahmet Çetinkaya, Nihat Erdem Balkanlı, Sedef Kaptan, Meyrem Vehapî'ye,

Sonsuz teşekkür ederim.

Kasım, 2016

Sevgi AKIŞ

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------|
| ÖNSÖZ..... | iii |
| İÇİNDEKİLER | iv |
| SİMGE LİSTESİ..... | vii |
| KISALTMA LİSTESİ..... | viii |
| ŞEKİL LİSTESİ..... | ix |
| ÇİZELGE LİSTESİ | xii |
| ABSTRACT..... | xv |
| BÖLÜM 1 | |
| GİRİŞ..... | 1 |
| 1.1 Literatür Özeti..... | 1 |
| 1.2 Tezin Amacı..... | 2 |
| 1.3 Orijinal Katkı | 2 |
| BÖLÜM 2 | |
| MİKROALGLER..... | 4 |
| 2.1 Mikroalg Nedir?..... | 5 |
| 2.2 Mikroalglerin Hasatlanmasında Yaşanan Zorluklar..... | 6 |
| 2.3 Mikroalglerin Flokülasyon Yöntemleri | 7 |
| 2.3.1 Kimyasal Flokülasyon..... | 7 |
| 2.3.2 Otoflokülasyon | 9 |
| 2.3.3 Fiziksel Flokülasyon | 10 |
| 2.3.4 Biyoflokülasyon..... | 11 |
| 2.4 Flokülasyonu Etkileyen Mikroalg Özellikleri..... | 12 |
| 2.5 Mikroalg Flokülasyonu Üzerine Literatür Çalışmaları | 12 |

BÖLÜM 3

| | |
|--|----|
| MATERYAL VE YÖNTEM | 17 |
| 3.1 Mikroalg Türleri | 17 |
| 3.1.1 Mikroalg Türlerinin Genel Özellikleri..... | 17 |
| 3.1.1.1 <i>Chlorella minutissima</i> Mikroalginin Genel Özellikleri | 17 |
| 3.1.1.2 <i>Nannochloropsis oculata</i> Mikroalginin Genel Özellikleri..... | 18 |
| 3.1.1.3 <i>Chlorella minutissima</i> Mikroalginin Yetiştirilme Koşulları | 19 |
| 3.1.1.4 <i>Nannochloropsis oculata</i> Mikroalginin Yetiştirilme Koşulları | 21 |
| 3.2 Kullanılan Flokülanlar | 23 |
| 3.3 Flokülasyon Deneyi ve Flokülasyon Performansının Değerlendirilmesi ... | 23 |
| 3.3.1 1 M KOH ve 1 M NaOH İle pH Artışı Sağlanarak Gerçekleştirilen Flokülasyon Deneyi | 23 |
| 3.3.2 Metal Tuzları İle Sağlanan Flokülasyon Deneyi | 24 |
| 3.3.3 Doğal Biyopolimer Olan Kitosan ile Sağlanan Flokülasyon Deneyi ... | 25 |
| 3.4 Zeta Potansiyel Ölçümü..... | 26 |
| 3.5 Çöken Mikroalg Hücrelerinin Canlılığının Araştırılması..... | 26 |
| 3.6 Çöken Mikroalg Hücrelerinin Klorofil-a ve beta-Karoten Miktarlarının Tespiti | 27 |
| 3.7 Çöken Mikroalg Hücrelerinin Karbonhidrat Miktarlarının Tespiti..... | 27 |
| 3.8 Çeşitli Flokülanlarla Sağlanan Flokülasyondan Sonra Büyüme Ortamının Geri Kazanımının Araştırılması..... | 29 |

BÖLÜM 4

| | |
|---|----|
| DENEYSEL BULGULAR VE SONUÇLAR..... | 31 |
| 4.1 Mikroalg Türlerinin pH artışı ile Flokülasyon Performansının Değerlendirilmesi | 31 |
| 4.1.1 <i>Nannochloropsis oculata</i> Mikroalginin pH Artışı İle Flokülasyonunun Optimizasyonu | 31 |
| 4.1.1.1 <i>Nannochloropsis oculata</i> Mikroalginin KOH ile Sağlanan Flokülasyonu | 31 |
| 4.1.1.2 <i>Nannochloropsis oculata</i> Mikroalginin NaOH ile Sağlanan Flokülasyonu | 35 |
| 4.1.2 <i>Chlorella minutissima</i> Mikroalginin pH Artışı İle Flokülasyonunun Optimizasyonu | 39 |
| 4.1.2.1 <i>Chlorella minutissima</i> Mikroalginin KOH ile Sağlanan Flokülasyonu | 39 |
| 4.1.2.2 <i>Chlorella minutissima</i> Mikroalginin NaOH ile Sağlanan Flokülasyonu | 42 |
| 4.2 pH artışı ile Flokülasyonu Sağlanan Mikroalg Çözeltilerinin Zeta Potansiyellerinin Ölçümü..... | 46 |
| 4.3 Mikroalg Türlerinin Metal Tuzları ile Sağlanan Flokülasyon Performansının Değerlendirilmesi | 49 |
| 4.3.1 <i>Nannochloropsis oculata</i> Mikroalginin Metal Tuzları İle Flokülasyonunun Sağlanması | 49 |

| | | | |
|-----------------------------------|--|----|-----------|
| 4.3.1.1 | <i>Nannochloropsis oculata</i> Mikroalginin FeCl ₃ İle Sağlanan Flokülasyonu | 49 | |
| 4.3.1.2 | <i>Nannochloropsis oculata</i> Mikroalginin AlCl ₃ İle Sağlanan Flokülasyonu | 52 | |
| 4.3.1.3 | <i>Nannochloropsis oculata</i> Mikroalginin FeSO ₄ İle Sağlanan Flokülasyonu | 54 | |
| 4.3.2 | <i>Chlorella minutissima</i> Mikroalginin Metal Tuzları İle Flokülasyonunun Sağlanması..... | 57 | |
| 4.3.2.1 | <i>Chlorella minutissima</i> Mikroalginin FeCl ₃ İle Sağlanan Flokülasyonu | 57 | |
| 4.3.2.2 | <i>Chlorella minutissima</i> Mikroalginin AlCl ₃ İle Sağlanan Flokülasyonu | 60 | |
| 4.3.2.3 | <i>Chlorella minutissima</i> Mikroalginin FeSO ₄ İle Sağlanan Flokülasyonu | 62 | |
| 4.4 | Mikroalg Türlerinin Doğal Bir Biyopolimer Olan Kitosan ile Gerçekleştirilen Flokülasyon Performansının Değerlendirilmesi | 65 | |
| 4.4.1 | <i>Nannochloropsis oculata</i> Mikroalginin Kitosanla Flokülasyonunun Sağlanması..... | 65 | |
| 4.4.2 | <i>Chlorella minutissima</i> Mikroalginin Kitosanla Flokülasyonunun Sağlanması..... | 68 | |
| 4.4.3 | Kitosan ile Flokülasyonu Sağlanan Mikroalg Çözeltilerinin Zeta Potansiyellerinin Ölçümü | 71 | |
| 4.5 | Çöken Mikroalg Hücrelerinin Canlılığının Araştırılması..... | 72 | |
| 4.6 | Çöken Mikroalg Hücrelerinin Klorofil-a ve Beta-Karoten Miktarlarının Tespiti | 73 | |
| 4.7 | Çöken Mikroalg Hücrelerinin Karbonhidrat Miktarlarının Tespiti..... | 76 | |
| 4.8 | Çeşitli Flokülantlarla Sağlanan Flokülasyondan Sonra Büyüme Ortamının Geri Kazanımının Araştırılması..... | 77 | |
| BÖLÜM 5 | | | |
| SONUÇLAR VE ÖNERİLER | | | 78 |
| KAYNAKLAR..... | | | 83 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | | | 92 |

SİMGE LİSTESİ

| | |
|-----------------|--|
| A | Absorbans (soğurma değeri) |
| °C | Santigrat cinsinden sıcaklık derecesi |
| cm | Santimetre |
| cm ³ | Santimetreküp |
| dk | Dakika |
| g | Gram |
| L | Litre |
| mg | Miligram |
| ml | Mililitre |
| M | Molarite |
| µg | Mikrogram |
| µl | Mikrolitre |
| µl | Mikrometre |
| nm | Nanometre |
| rpm | Karıştırma hızı, dakikada dönme sayısı |
| v/v | Hacimce |
| w/w | Ağırlıkça |
| % | Yüzde |

KISALTMA LİSTESİ

| | |
|-------|-------------------------------------|
| BG-11 | BlueGreen-11 |
| FV | Flokülasyon Verimliği (%) |
| OD | Optik Yoğunluk |
| pH | Power of Hydrogen (Hidrojenin gücü) |
| UV | Ultraviyole |

ŞEKİL LİSTESİ

| | Sayfa |
|-------------|--|
| Şekil 2.1 | Açık havuz örneği (Ingrepro, Hollanda) ve düşük maliyetli yeni tasarım fotobiyoreaktör örneği (Proviron, Belçika) [19]..... 6 |
| Şekil 2.2 | <i>Chlorella minutissima</i> kültürünün flokülasyondan önce ve sonra olmak üzere makroskopik ve mikroskopik görüntüleri 10 |
| Şekil 3.1 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün ışık mikroskobu altındaki görüntüsü 18 |
| Şekil 3.2 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün ışık mikroskobu altındaki görüntüsü..... 19 |
| Şekil 3.3 | Çalkamalı inkübatörde mikroalg yetiştirilmesi 23 |
| Şekil 3.4 | PG Instrument T60 model UV spektrofotometre 24 |
| Şekil 3.5 | Fenol-sülfürik asit yöntemi ile karbonhidrat tayini için farklı glukoz konsantrasyonlarında hazırlanmış çözeltiler 29 |
| Şekil 3.6 | Fenol-sülfürik asit yöntemi ile toplam karbonhidrat tayini için oluşturulan standart eğri grafiği..... 29 |
| Şekil 4.1 | <i>Nannochloropsis oculata</i> mikroalginin KOH ile pH artışı sağlanarak flokülasyonunun gerçekleştirilmesi 32 |
| Şekil 4.2 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün KOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği . 34 |
| Şekil 4.3 | <i>Nannochloropsis oculata</i> mikroalginin NaOH ile pH artışı sağlanarak flokülasyonunun gerçekleştirilmesi 36 |
| Şekil 4.4 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün NaOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği . 37 |
| Şekil 4.5 | <i>Chlorella minutissima</i> mikroalginin KOH ile pH artışı sağlanarak flokülasyonunun gerçekleştirilmesi 40 |
| Şekil 4.6 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün KOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği..... 41 |
| Şekil 4.7 | <i>Chlorella minutissima</i> mikroalginin NaOH ile pH artışı sağlanarak flokülasyonunun gerçekleştirilmesi 43 |
| Şekil 4.8 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün NaOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği..... 44 |
| Şekil 4.9 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün KOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda zeta potansiyel ölçümü 46 |
| Şekil 4. 10 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün NaOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda zeta potansiyel ölçümü 47 |
| Şekil 4.11 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün KOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda zeta potansiyel ölçümü..... 47 |

| | | |
|------------|--|----|
| Şekil 4.12 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün NaOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda zeta potansiyel ölçümü..... | 48 |
| Şekil 4.13 | <i>Nannochloropsis oculata</i> mikroalginin ile FeCl ₃ ile flokülasyonunun gerçekleştirilmesi | 50 |
| Şekil 4.14 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün FeCl ₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği | 51 |
| Şekil 4.15 | <i>Nannochloropsis oculata</i> mikroalginin AlCl ₃ ile flokülasyonunun sağlanması | 52 |
| Şekil 4.16 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün AlCl ₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği | 53 |
| Şekil 4.17 | <i>Nannochloropsis oculata</i> mikroalginin FeSO ₄ ile flokülasyonunun sağlanması..... | 55 |
| Şekil 4.18 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün FeSO ₄ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği | 56 |
| Şekil 4.19 | <i>Chlorella minutissima</i> mikroalginin FeCl ₃ ile flokülasyonunun sağlanması . | 58 |
| Şekil 4.20 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün FeCl ₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği | 59 |
| Şekil 4.21 | <i>Chlorella minutissima</i> mikroalginin AlCl ₃ ile flokülasyonunun sağlanması.. | 60 |
| Şekil 4.22 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün AlCl ₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği | 62 |
| Şekil 4.23 | <i>Chlorella minutissima</i> mikroalginin FeSO ₄ ile flokülasyonunun sağlanması | 63 |
| Şekil 4.24 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün FeSO ₄ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği | 64 |
| Şekil 4.25 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün kitosan ile sağlanan farklı pH değerlerinde 60 dk çökeltme zamanı sonrası flokülasyon verimliliği | 67 |
| Şekil 4.26 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün kitosan ile sağlanan farklı pH değerlerinde 60 dk çökeltme zamanı sonrası flokülasyon verimliliği..... | 70 |
| Şekil 4.27 | Kitosan ile flokülasyonu sağlayan <i>Nannochloropsis oculata</i> mikroalginin zeta potansiyel ölçümü | 71 |
| Şekil 4.28 | Kitosan ile flokülasyonu sağlayan <i>Chlorella minutissima</i> mikroalginin zeta potansiyel ölçümü..... | 71 |
| Şekil 4.29 | Farklı flokülantlar ile flokülasyonu sağlayan <i>Nannochloropsis oculata</i> hücrelerinin yeni (taze) büyüme ortamında yetiştirildiği büyüme eğrisi | 73 |
| Şekil 4.30 | Farklı flokülantlar ile flokülasyonu sağlayan <i>Chlorella minutissima</i> hücrelerinin yeni (taze) büyüme ortamında yetiştirildiği büyüme eğrisi ... | 73 |
| Şekil 4.31 | <i>Nannochloropsis oculata</i> mikroalginin farklı flokülantlarla flokülasyon sonrası klorofil-a ve beta-karoten içeriği | 75 |
| Şekil 4.32 | <i>Chlorella minutissima</i> mikroalginin farklı flokülantlarla flokülasyon sonrası klorofil-a ve beta-karoten içeriği..... | 75 |
| Şekil 4.33 | <i>Nannochloropsis oculata</i> mikroalgin farklı flokülantlarla flokülasyonu sonrası karbonhidrat içeriği (%) | 76 |
| Şekil 4.34 | <i>Chlorella minutissima</i> mikroalgin farklı flokülantlarla flokülasyonu sonrası karbonhidrat içeriği (%)..... | 76 |
| Şekil 4.35 | <i>Nannochloropsis oculata</i> hücrelerinin yeni (taze) büyüme ortamında ve çökeltme sonrası yeniden kullanılan büyüme ortamında yetiştirildiği büyüme eğrisi..... | 77 |

Şekil 4.36 *Chlorella minutissima* hücrelerinin yeni (taze) büyüme ortamında ve çökeltme sonrası yeniden kullanılan büyüme ortamında yetiştirildiği büyüme eğrisi..... 77



ÇİZELGE LİSTESİ

| | Sayfa |
|--------------|---|
| Çizelge 2.1 | pH artışıyla sağlanan flokülasyon üzerine literatür çalışmaları 13 |
| Çizelge 2.2 | Metal tuzları ile sağlanan flokülasyon üzerine literatür çalışmaları 15 |
| Çizelge 2.3 | Kitosan ile sağlanan flokülasyon üzerine literatür çalışmaları 16 |
| Çizelge 3.1 | BG-11 besin ortamının içeriği BG-11 besin ortamının içeriği..... 20 |
| Çizelge 3.2 | BG-11 besin ortamı için iz elementi solüsyonu içeriği 21 |
| Çizelge 3.3 | f/2 besin ortamı içeriği 22 |
| Çizelge 3.4 | f/2 besin ortamı içeriği için iz elementi solüsyonu içeriği..... 22 |
| Çizelge 3.5 | Standart glukoz konsantrasyon değerleri 28 |
| Çizelge 4.1 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün KOH ile sağlanan pH değerlerine göre çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak flokülasyon verimliliği 33 |
| Çizelge 4.2 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün NaOH ile sağlanan pH değerlerine göre çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak flokülasyon verimliliği 37 |
| Çizelge 4.3 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün KOH ile sağlanan pH değerlerine göre çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak flokülasyon verimliliği 41 |
| Çizelge 4.4 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün NaOH ile sağlanan pH değerlerine göre çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak flokülasyon verimliliği 44 |
| Çizelge 4.5 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün FeCl ₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği 51 |
| Çizelge 4.6 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün AlCl ₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği 53 |
| Çizelge 4.7 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün FeSO ₄ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği 56 |
| Çizelge 4.8 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün FeCl ₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği 59 |
| Çizelge 4.9 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün AlCl ₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği 61 |
| Çizelge 4.10 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün FeSO ₄ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği 64 |
| Çizelge 4.11 | <i>Nannochloropsis oculata</i> türünün farklı pH değerlerinde kitosan ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği..... 66 |
| Çizelge 4.12 | <i>Chlorella minutissima</i> türünün farklı pH değerlerinde kitosan ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği 68 |

**CHLORELLA MINUTISSIMA VE NANNOCHLOROPSIS OCULATA
MİKROALGLERİNİN FARKLI YÖNTEMLER KULLANILARAK FLOKÜLASYON
PERFORMANSLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Sevgi AKIŞ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Didem ÖZÇİMEN

Mikroalgler son yıllarda, değerli yağlar ve biyomoleküller içerdiğinden, alternatif biyoyakıt kaynağı, balık yemi, insan gıda takviyeleri ve cilt bakım ürünleri gibi ürünlerin üretimi için dikkat çekmektedir. Bununla birlikte, biyoyakıtların ve diğer ürünlerin üretilmesi için mikroalglerin kullanılması henüz ekonomik açıdan mümkün değildir. Mikroalgal biyokütle üretiminin toplam maliyetinin %20-30'u genellikle hasatlama prosesi ile ilişkilidir. Mikroalgleri hasatlamak için santrifüjleme, flokülasyon, filtrasyon(süzme), yerçekimi sedimentasyonu ve flotasyon gibi farklı yöntemler geliştirilmiştir. Flokülasyon tek başına mikroalglerin hasatlanmasında kullanılabileceği gibi, santrifüjleme ve filtrasyon gibi diğer yöntemlerin kullanımından önce tanecik boyutunu arttırmak için hasatlama prosesinde bir ön muamele işlemi olarak kullanılabilir. Mikroalg süspansiyonun pH artışıyla flokülasyonunun başarılı olduğu birçok çalışmada rapor edilmiştir. Bu yöntem; düşük maliyetli, mikroalgler için toksik olmayan ve santrifüjleme gibi yüksek enerji gerektirmeyen bir yöntemdir.

Bu tez çalışmasında, *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella minutissima* mikroalglerinin pH artışıyla sağlanan flokülasyonunda, flokülasyon parametreleri olan pH ve çökme zamanı incelenmiş, flokülasyon optimizasyonu yapılmış ve pH artışıyla sağlanan flokülasyon yöntemi, FeCl₃, AlCl₃, FeSO₄ gibi metal tuzları ve kitosan gibi bir biyopolimer kullanılarak gerçekleştirilen diğer flokülasyon yöntemleriyle karşılaştırılmıştır ve *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella minutissima* mikroalg

türlerinin farklı flokülasyon yöntemleri kullanılarak flokülasyon performansları değerlendirilmiştir. Ayrıca, flokülasyon sonrası büyüme ortamı yeniden mikroalg yetiştirmek için geri kazanılmış, farklı flokülantlarla çökmesi sağlanan hücrelerin canlılığı araştırılmış, ayrıca floküle olan hücrelerin karbonhidrat, klorofil-a ve beta-karoten içeriğindeki değişimler incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda; pH artışıyla sağlanan flokülasyon ile iki mikroalg türü için yüksek flokülasyon verimliliği elde edilmiştir. Metal tuzları, *Chlorella minutissima* mikroalginin, *Nannochloropsis oculata* mikroalgine göre daha etkili flokülasyonunu sağlamıştır. Kitosan ile sağlanan flokülasyonda ise *Nannochloropsis oculata* mikroalgi, *Chlorella minutissima* mikroalgine göre daha yüksek flokülasyon verimliliği göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Mikroalg, flokülasyon, *Chlorella minutissima*, *Nannochloropsis oculata*, metal tuzları, kitosan, pH artışı



EVALUATION OF FLOCCULATION PERFORMANCE OF *CHLORELLA MINUTISSIMA* AND *NANNOCHLOROPSIS OCVLATA* MICROALGAE BY USING DIFFERENT FLOCCULATION METHODS

Sevgi AKIŞ

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Doç. Dr. Didem ÖZÇİMEN

In recent years, microalgae has considerable interest as an alternative for biofuel, fish feed, animal feed, human food supplements and skin care products because of having valuable oils and biomolecules. However, using microalgae for the production of biofuels and other products is not economically feasible. 20-30% of the total cost of the microalgal biomass production is generally associated with the harvesting process. Different methods have been developed for harvesting microalgae such as centrifugation, flocculation, filtration, gravity sedimentation and flotation. Although flocculation can be used for harvesting microalgae only, it can be also used as a pretreatment in the bulk harvesting process to increase the particle size before harvesting methods such as centrifugation and filtration. Flocculation that is achieved by pH increase of microalgae suspension is reported in many studies. This method is low cost, non-toxic to microalgae and does not require high energy input like it is needed in centrifugation.

In this thesis study, pH and settling time as flocculation parameters were investigated, flocculation was optimized, and this method was compared with flocculation performed with metal salts such as FeCl₃, AlCl₃, FeSO₄ and biopolymers such as chitosan, and flocculation performance of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella*

minutissima was evaluated. In addition this, the post-flocculation growth medium was recovered for microalgae growth, the viability of the cells precipitated with different flocculants was investigated, and furthermore, the changes of the total amount of carbohydrate, chlorophyll-a and beta-carotene of the flocculated cells was investigated. As a result, high flocculation efficiency was achieved for these two microalgae species. It was observed that, flocculation of *Chlorella minutissima* was more efficient with metal salts than *Nannochloropsis oculata*. In flocculation with chitosan, *Nannochloropsis oculata* microalgae showed higher flocculation efficiency than *Chlorella minutissima* microalgae.

Keywords: Microalgae, flocculation, *Chlorella minutissima*, *Nannochloropsis oculata*, metal salts, chitosan, pH increase



1.1 Literatür Özeti

Mikroalglerin farklı alanlardaki uygulamalarda kullanımının geniş bir potansiyele sahip olduğu bilinmektedir. Çevre ile ilgili olarak; mikroalgler, atık suların biyoremediasyonunda ve karbondioksit tutumunda önemli bir rol oynamaktadır [1–6]. Ayrıca, bu fotosentetik mikroorganizmalar potansiyel yenilenebilir yakıt kaynağı olarak kabul edilmektedir. Mikroalgler; biyodizel, biyometan, biyoetanol, biyohidrojen ve biyobütanol için ham madde kaynağı olarak kullanılmaktadır [7-9]. Bu biyoyakıtlar, gerekli global enerjinin %25'ini karşılayabildiği için fosil yakıtlara umut verici bir alternatif olarak görülmektedir [9-11]. Bu enerji ürünlerinden biri olan 3. nesil biyodizel biyoyakıtı, mikroalg biyokütlesinin önemli bir fraksiyonunu temsil eden mikroalgal yağların transesterifikasyondan elde edilmektedir [5,7,9,11–13]. Mikroalg kaynaklı biyoyakıtlar, karasal bitki bazlı olanlarla karşılaştırıldığında çok sayıda ekonomik ve ekolojik avantajlar sunmaktadır: (i) geniş aralıkta tuzluluk ve kimyasal bileşimler içeren sularda sürekli büyüme (ii) herbisitlere veya pestisitlere gerek kalmadan herhangi bir yerde büyüme (ekilebilir ve ekilemeyen topraklarda) ve (iii) yüksek spesifik üretim verimi ve fotosentetik etkinliği [5,8–11,14]. Ligninden yoksun, protein ve ticari değeri yüksek olan bileşikler bakımından çok zengin olan kalıntı biyokütle, biyorafineri bazlı bir üretimde; hayvan yemi üretiminde ve farklı yüksek değerli bileşiklerin örneğin besin takviyeleri, kozmetik ürünler ve ilaçların sentezinde kullanılabilir [9,11,15–19].

Geniş uygulama alanlarına rağmen, mikroalgal üretim henüz ekonomik açıdan uygun değildir. Prosesin ekonomisini iyileştirmek için çeşitli araştırmalar yapılmaktadır [10,20]. Öncelikle, mikroalgler kültür ortamı olarak atık sular kullanılarak yetiştirilebilir. Bu yaklaşım,

hem üretim maliyetlerini hem de taze su ihtiyacını azaltmayı hedeflemektedir. Mikroalgler; atıksulardan besinler ve metallerin asimile edildiği bu ortamlarda büyüme yeteneğine sahiptirler [9,21]. Bu sayede; mikroalgler, üçüncül atıksu arıtma aşaması boyunca önemli bir iyileştirme rolü oynayacaktır. Biyorafineri bazlı üretim; mikroalglerden elde edilen ve ticari olarak değeri olan ürünlerden kredi alarak tüm üretim maliyetini düşüren bir stratejidir [7-9]. Son olarak, hasatlama prosesi; biyokütle üretim maliyetlerinin %20-30'unu temsil eden üretim adımı olduğundan düşük maliyetli hasatlama prosesi çalışılmalıdır [9,10,22-24]. Yüksek proses maliyetlerinin temel nedenleri, mikroalglerin küçük boyutları ve suya yakın yoğunluktaki çok seyreltik kültürlerde (1 g/L'den daha az kütle yoğunluğu) büyümeleridir [22,23]. Ek olarak, mikroalglerin yüzeyi negatif yüklüdür ve hücreler, dağınık durumlarını stabil tutan algojenik organik madde (AOM) taşımaktadır [25]. Bu noktada, hem ekonomik açıdan uygun hem de verimli hiçbir mikroalgal hasatlama yöntemi yoktur. Sürdürülebilir tam ölçekli mikroalgal biyokütle üretiminin geliştirilmesi için, hasatlama masraflarının düşürülmesi önemli bir faktör olarak düşünülmektedir [10].

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasının amacı, *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella minutissima* mikroalglerinin pH artışıyla sağlanan flokülasyonunda, flokülasyon parametreleri olan pH ve çökeltme zamanının incelenmesi, flokülasyon optimizasyonunun yapılması ve pH artışıyla sağlanan flokülasyon yönteminin, FeCl₃, AlCl₃, FeSO₄ gibi metal tuzları ve kitosan gibi bir biyopolimer kullanılarak gerçekleştirilen diğer flokülasyon yöntemleriyle karşılaştırılmasıdır. Böylelikle *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella minutissima* mikroalg türlerinin farklı flokülasyon yöntemleri kullanılarak flokülasyon performanslarının değerlendirilmesi gerçekleştirilecektir.

1.3 Orijinal Katkı

Bu çalışmada, mikroalglerin biyokütle olarak değerlendirildiği proseslerde, toplam proses maliyetinin yaklaşık %20-30'unu mikroalglerin hasatlama maliyetinin oluşturduğu bilinmektedir. Bu konudaki literatür çalışmaları incelendiğinde, sınırlı sayıda mikroalg flokülasyonu çalışmalarının olduğu görülmüş, ve bu bağlamda, tez çalışmasında gerçekleştirilen *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella minutissima* mikroalglerinin NaOH ve KOH flokülantları aracılığıyla gerçekleştirilen pH artışı ile sağlanan flokülasyon optimizasyonu

alışmasının literatüre önemli bir katkı sağlayacağı düşünölmektedir. Ayrıca literatürde pH artışı ile gerçekleştirilen flokülasyonda optimum çökeltme zamanının incelendiği ayrıntılı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Tez çalışmasında pH artışıyla sağlanan flokülasyon yöntemi, FeCl₃, AlCl₃, FeSO₄ gibi metal tuzları ve kitosan gibi bir biyopolimer kullanılarak gerçekleştirilen diğer flokülasyon yöntemleriyle de karşılaştırılmıştır. Flokülasyon sonrası büyüme ortamı yeniden mikroalg yetiştirmek için geri kazanılmış, farklı flokülantlarla çökeltmesi sağlanan hücrelerin canlılığı araştırılmış, ayrıca floküle olan hücrelerin karbonhidrat, klorofil-a ve beta-karoten içeriğindeki değişimler araştırılmıştır. Literatürde bu mikroalg türleri için böyle detaylı olarak flokülasyonun incelendiği çalışmaya da rastlanmamıştır. Sonuç olarak, bu tez çalışmasıyla, literatürde sınırlı sayıda olan mikroalg flokülasyon çalışmaları alanındaki eksikliğin gideriliceği düşünölmektedir.

BÖLÜM 2

MİKROALGLER

Artan dünya nüfusu ve gelişmekte olan ülkelerin yaşam standartlarının artışı sonucunda, gıda ve hayvan yemi için biyokütle talebinin önümüzdeki iki yıl içinde %50 oranında artması beklenmektedir [26]. Aynı zamanda, artık girişimler fosil-yakıt temelli ekonomiden, taşıma yakıt kaynağı ve kimya sanayi için hammadde kaynağı olarak kullanılan petrol yerine biyokütle içeren biyobazlı ekonomiye geçiş için yapılmaktadır [27]. Tarımsal biyokütle üretimi, artan talebi karşılamak için yeterli değildir, bu nedenle, tarım ile rekabeti olmayan yeni biyokütle kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde mikroalgler, umut verici yeni bir biyokütle kaynağı olarak dikkat çekmektedir [28-30]. Bugünkü mevcut teknolojiyi kullanarak; gıda, yem, kimyasallar veya biyoyakıt için mikroalgal biyokütle üretimine ihtiyaç duyulan enerji oldukça yüksektir [10,31,32]. Mikroalgal biyokütlenin birçok tarımsal ürün gibi meta haline gelmesi için, verim arttırılmalıdır ve üretim maliyeti azaltılmalıdır. Son yıllarda mikroalgal biyokütle verimini arttırmak için; fotobiyoreaktör tasarımı [33], soyların seçimi [34] ve metabolik yolların genetik mühendisliği [35] aracılığıyla araştırma ve geliştirme çalışmalarında büyük bir patlama yaşanmaktadır. Sonraki işlemler üretim prosesinin maliyetini azaltmak için önemli olmasına rağmen, bu konuda araştırma ve yenilik üzerine çok daha az ilerleme yapılmıştır [36,37]. Bugünlerde, mikroalgal üretimde hızla laboratuvarından maliyet ve enerji verimliliğine ihtiyaç duyan pilot ölçekli ve ticari ölçekli demo tesisatlara geçilmektedir [35].

2.1 Mikroalg Nedir?

Mikroalg ve siyanobakteri suda yaşayan ve fotosentez yoluyla biyokütle üreten tek hücreli mikroorganizmalardır. Mikroalgler, milyonlarca yıl önce bitkiler karaya yayılmadan okyanuslarda evrimleşmiştir. Birçok mikroalg karasal bitkilere göre farklı evrimsel soylara aittir. Bu nedenle, mikroalgler karasal bitkilerde bulunmayan benzersiz ürünleri örneğin, yağ asitleri (eikosapentaenoik veya dokosaheksaenoik asitler) veya doğal pigmentler (fikosiyanın veya astaksantin) üretebilme yeteneğine sahiptirler [19].

Mikroalgler göller, nehirler ve okyanuslarda oluşmaktadır, fakat doğal ekosistemde yetişen mikroalglerin biyokütle konsantrasyonu ticari olarak hasatlanabilmesi için çok düşüktür (*Arthrospira*'nın hakim olduğu bazı göller hariç). Mikroalgler fotosentezi maksimize etmek için özel olarak dizayn edilmiş reaktörlerde: açık 'yosun havuzları' veya kapalı fotobiyoreaktörlerde üretilmektedir. Açık havuzlar, sığ havzalardan oluşurken, fotobiyoreaktörler şeffaf tüp şeklinde borular ve düz panel reaktörlerden oluşmaktadır (Şekil 2.1) [19]. Mikroalg verimliliği, genellikle kültürdeki hücrelerin kendi kendilerini gölgelemeleri ile sınırlıdır. Bu nedenle; fotobiyoreaktörler açık havuzlara göre daha yüksek verimliliğe sahiptir, çünkü fotobiyoreaktörlerde hücrelere sağlanan ışık daha etkili ve verimlidir [19]. Geçmiş yıllarda mikroalg endüstrisi tarafından, potansiyel olarak düşük maliyetli tasarımlar geliştirilmiş olmasına rağmen, fotobiyoreaktörlerin temel dezavantajı pahalı oluşudur (örneğin, Poviron and Solix, Şekil 2.1) [19].

Mikroalgler uzun yıllardır ticari olarak üretilmektedir fakat toplam üretim hala düşüktür (1000 ton/yıl) ve mikroalglerden başlıca yüksek değerli ürünlerin (besin takviyeleri, doğal pigmentler ve su ürünlerinde yem olarak gibi) eldesi amaçlanmaktadır. Sadece birkaç tür (*Arthrospira*, *Chlorella*, *Dunaliella*, and *Haematococcus*), yüzlerce tondan binlerce tona kadar bir ölçekte üretilmektedir. Bugünlerde ticari üretimin büyük çoğunluğu açık havuzlarda yapılmaktadır, fakat kapalı fotobiyoreaktörler yeni şirketler tarafından tercih edilecek gibi görünmektedir [19].



Şekil 2.1 Açık havuz örneği (Ingrepo, Hollanda) ve düşük maliyetli yeni tasarım fotobiyoreaktör örneği (Proviron, Belçika) [19]

2.2 Mikroalglerin Hasatlanmasında Yaşanan Zorluklar

Mikroalg prosesindeki en büyük sorun, hasatlama prosesi olarak adlandırılan, mikroalgleri büyüme ortamından ayırma işlemidir. Yüksek biyokütle konsantrasyonu mikroalg hücrelerinin birbirlerini gölgelemesine ve dolayısıyla yetiştirme ortamlarının ancak düşük konsantrasyonda alg yetiştirmek için kullanılmasına neden olmaktadır (biyokütle konsantrasyonu 0.5 g/l'den (açık havuzlarda), yaklaşık 5 g/l'ye (fotobiyoreaktörlerde) kadardır). Bu durum, biyokütle hasatı için büyük miktarda su hacminin ortamdaki uzaklaştırılması anlamına gelmektedir. Mikroalg hücrelerinin küçük boyutlu (2-20 μm) oluşu ve süspansiyonda koloidal stabilitesinden dolayı sedimentasyon veya basit bir ayırma yöntemiyle hasatlanması mümkün değildir (*Arthrospira* gibi büyük türler hariç). Mikroalgler yüksek değerlikli ürünler için üretildiğinde hasatlama santrifüj ile yapılmaktadır. Bununla birlikte, eğer ki biyokütle, biyoyakıtlar gibi daha düşük değerdeki ürünler için kullanılacaksa hasatlama işlemi için santrifüj kullanımı oldukça pahalı ve fazla enerji gerektiren bir işlemdir. Büyük hacimli kültür ortamından mikroalglerin hasatlanması için minimum maliyet gerektiren alternatif bir teknoloji bulma, proses maliyetini azaltmak ve mikroalg biyokütle üretimini arttırmak için önemlidir [23, 38-40].

Mikroalg biyokütlesinin konsantrasyonu flokülasyon sayesinde arttırılırsa, mikroalg hasatlamak için maliyet ve enerji talebi önemli ölçüde azalacaktır [41,42]. Flokülasyon

boyunca; tek hücreler birleşerek, yer çekimi sayesinde büyüme ortamında ayrılabilen büyük topaklar oluşturur. Flokülasyon mikroalgin hasatlanması için kullanıldığında, iki adımlı hasatlama işleminin bir parçasıdır. Hasatlama işleminde ilk adım olan flokülasyon, 0,5 g/l kuru ağırlık içeren seyreltik süspansiyonu 20-100 kez konsantre ederek 10-50 g/l'lik alg bulamacına dönüştürür. İleri susuzlaştırma için, santrifüj gibi mekanik bir yöntem kullanılarak %25'lik kuru ağırlık içeriğine sahip alg macunu elde edilir [43]. Son olarak yapılan mekanik susuzlaştırma adımı için gerekli olan enerji kabul edilebilir, çünkü partiküller artık nispeten büyüktür ve ortamdaki su hacmi oldukça azalmıştır [40].

Flokülasyon; su arıtma, mayalama (bira yapımında) ve madencilğe kadar farklı sektörlerde yaygın olarak kullanılan bir teknolojidir. Bu endüstrilerde; flokülasyon, genellikle az miktardaki yabancı maddeleri büyük bir sıvı hacminden ayırmak için kullanılır ve yabancı maddelerin ayrıldığı sıvı son üründür. Bunun tam tersine, flokülasyon mikroalgi hasatlamak için kullanıldığında, hasatlanan biyokütle son üründür. Sonuç olarak; flokülasyon maliyeti, mikroalgleri hasatlamak ve bir sıvıdan yabancı maddeleri çıkarmak amacıyla kullanıldığında değişmektedir. Ayrıca, kontaminasyonda önemli bir konudur. Flokülasyona neden olmak için eklenen kimyasallar hasatlanan biyokütlenin kontamine olmasına neden olmaktadır. Bu kimyasallar, biyokütlenin son uygulamalarında (örneğin; besin veya yem) veya biyokütlenin ilerki proseslerine (örneğin, lipid ekstraksiyonuna) engel teşkil edebilir [38].

2.3 Mikroalglerin Flokülasyon Yöntemleri

Flokülasyon çeşitli yollar ile gerçekleştirilebilir ve son yıllarda mikroalglerin flokülasyonu için birçok yaklaşım araştırılmaktadır. Bu yaklaşımlar; endüstrinin diğer alanlarında yaygın olarak kullanılan geleneksel flokülasyondan (ör. kimyasal flokülasyon), mikroalglerin biyolojisine dayalı yeni fikirler (ör. biyoflokülasyon) ve gelişmekte olan teknolojilerin kullanımına (ör. manyetik nanopartikül kullanımı) kadar geniş bir aralıkta değişmektedir [19].

Aşağıda bu teknolojilerin avantajları ve dezavantajlarının kısa bir özeti verilmektedir:

2.3.1 Kimyasal Flokülasyon

Alüminyum ve demir klorür gibi metal tuzları su arıtma ve madencilik endüstrisinde flokülasyon amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Metal tuzları mikroalglerin

hasatlanmasında kullanılmaktadır (ör.Dunaliella [44]), ancak bu metal tuzların kullanımı sonucunda hasatlanan biyoküttelede yüksek konsantrasyonda metal yer almaktadır. Bu metaller, lipitler ve karotenoidlerin ekstraksiyonundan sonra biyokütle artığında (tortusunda) kalmaktadır [45]. Bununla birlikte; biyokütle artığında kalan bu metaller, artığın protein fraksiyonunun kullanımına engel olduğundan, kalıntı biyokütlenin hayvan yemi olarak kullanımına engel teşkil etmektedir. Protein fraksiyonunun hayvan yemi olarak kullanılabilmesi, mikroalgal biyoyakıtları ekonomik açıdan uygun hale getirmek için önemlidir [46]. Bu olumsuzluklara rağmen; metal koagülantlar, mikroalg hücrelerinin ve flokülantların birbirleri ile etkileşimini çalışmak açısından iyi bir model sistem sağlamaktadır çünkü koagülantların özellikleri iyi bir şekilde bilinmektedir [47,48].

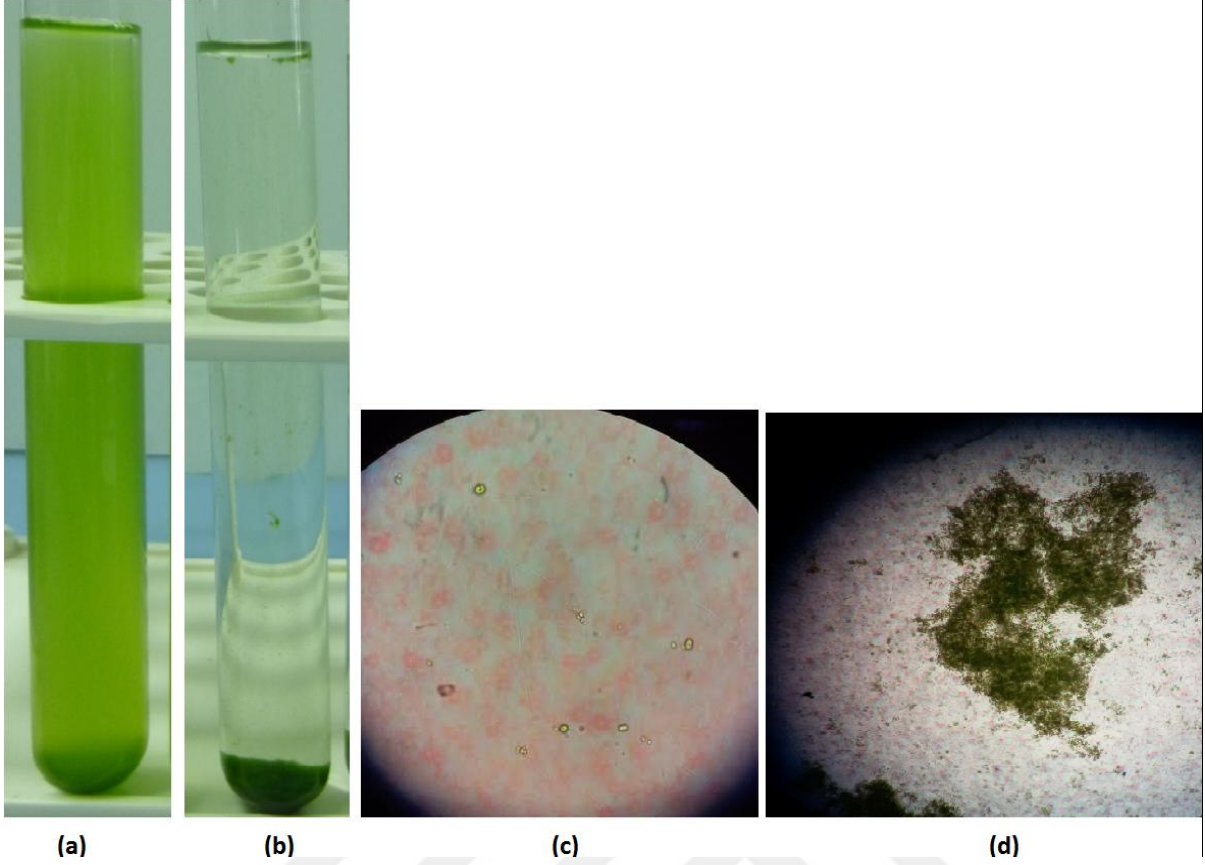
Diğer sektörlerde yaygın olarak kullanılan kimyasal flokülantlar sentetik poliakrilamid polimerlerdir. Bununla birlikte, bunlar eser miktarda toksik akrilamid içerebilir ve böylece mikroalgal biyokütleyi kontamine edebilirler [49]. Bundan dolayı, doğal polimer bazlı flokülantlar daha güvenli bir alternatiftir. Bu polimerlerin, mikroalg hücrelerinin negatif yüzey yükleri ile etkileşime girebilmeleri için pozitif yüklü olması gerekmektedir ve bu tür biyopolimerler doğada nadir olarak bulunmaktadır. Kabuklu deniz hayvanlarının üretiminde atık olan kitinden elde edilen kitosan, çok iyi bilinen pozitif yüklü bir biyopolimerdir. Mikroalglerin kitosana bağlanan flokülasyonunda mikroalgal çözeltinin pH'ı kitosanın çalışma verimini etkilemektedir [50]. Kitosana alternatif olan katyonik nişastadır; katyonik nişasta, doğal nişastaya dördüncü dereceden amonyum gruplarının ilavesiyle hazırlanmaktadır. Bu dördüncü dereceden amonyum grupları pH'dan bağımsızdır ve bu nedenle, katyonik nişasta kitosandan daha geniş bir pH aralığında çalışmaktadır [51]. Mikroalglerin flokülasyonu için kullanılan diğer biyopolimerlere örneklerden birisi de Gama poliglutamik asid (PGA) (*Bacillus subtilis* tarafından üretilen bir hücre dışı polimer) 'dır [52]. Bir diğer polimer örneği ise, *Moringa oleifera* tohumunun unu içinde bulunan polimerlerdir [53]. Yüksek iyonik kuvvetlerde kıvrılmaya uğramasıdır. Polimer flokülant kullanmanın genel problemi, yüksek iyonik kuvvetlerde kıvrılmaya uğraması ve böylelikle etkisini yitirmesidir [38]. Bu nedenle, tuzlu su mikroalginin (marina mikroalgi) hasatlanmasında polimer kullanımı çok fazla uygun değildir.

2.3.2 Otoflokülasyon

Flokülasyon genellikle mikroalg kültüründe pH 9'un üzerine çıktığında kendiliğinden meydana gelmektedir [54]. Bu tür flokülasyon genellikle "otoflokülasyon" olarak adlandırılmaktadır çünkü bu flokülasyon, ortamdaki fotosentetik karbondioksitin azalmasına bağlı olarak pH arttığından kendiliğinden ortaya çıkmaktadır. (Şekil 2.2, mikroskopik görüntüler OLYMPUS CX22 mikroskobu ile çekilmiştir.) Otoflokülasyon, kalsiyum veya magnezyum çökeltilerin oluşumuyla bağlantılıdır. Ortam koşullarına bağlı olarak, bu çökeltiler pozitif yüzey yükleri taşırlar ve bu yüzden yük nötralizasyonu ve/veya süpürme flokülasyon aracılığıyla flokülasyona neden olabilirler [19].

Kalsiyum iyonları, ortamdaki fosfat iyonları gerekenden fazla olduğunda; kalsiyum fosfat çökeltisi haline dönüşür ve bu çökelti pozitif yüklü hale gelir ve negatif yüklü alg yüzeyleri ile etkileşime girerler [10,40]. Bu tür flokülasyonun meydana gelmesi için yüksek fosfat konsantrasyonları gerekmektedir. Azalan fosfat rezervlerinin ve fosfat fiyatlarının artışının bir sonucu olarak, kalsiyum fosfat çökeltileri ile flokülasyon gerçekleştirmek sürdürülebilir değildir (mikroalglerin su arıtımında kullanılması ve aşırı fosfatın ortamdaki uzaklaştırılması gereken uygulamalar hariç) [55].

Magnezyum hidroksit de yüksek pH değerlerinde çökeltmektedir. Bu çökeltiler, pH 12'ye kadar pozitif yüklüdür ve böylelikle negatif yüklü mikroalg yüzeyleri ile etkileşime girerek flokülasyona neden olmaktadır [56,57]. Kalsiyum karbonat veya kalsit de yüksek pH değerlerinde çökeltmektedir ancak mikroalglerin flokülasyonuna neden olup olmadığı doğrulanmalıdır. Yüksek pH değerinde flokülasyon, inorganik çökeltilerin oluşmasıyla meydana gelmektedir. Bu nedenle, hasatlanan biyokütle yüksek konsantrasyonlarda mineral içermektedir [58]. Bu durum, hasatlanan biyokütlede düşük toksisiteye neden olsa da yine de tercih edilmektedir.



Şekil 2.2 *Chlorella minutissima* kültürünün flokülasyondan önce ve sonra olmak üzere makroskopik ve mikroskopik görüntüleri

Makroskopik görüntüleri flokülasyondan önce(a) ve sonra(b) olmak üzere solda, mikroskopik görüntüleri flokülasyondan önce(c) ve sonra(d) olmak üzere solda yer almaktadır.

2.3.3 Fiziksel Flokülasyon

Sadece fiziksel kuvvetler uygulanarak flokülasyon mümkün olsaydı, biyokütle kontaminasyonu önlenmiş olacaktı. Mikroalglerin flokülasyonu, duran ultrason dalgaları alanı uygulanarak gerçekleştirilebilir. Bu yöntem; laboratuvarında iyi çalışmasına rağmen, daha büyük ölçeklerde uygulanması zordur [59]. Elektrokoagülasyonla flokülasyon, bir anotdan metal iyonlarının salınımı sayesinde gerçekleştirilmektedir [60]. Bu yöntemin verimliliği elektrotun polaritesinin değiştirilmesiyle geliştirilebilir [61]. Metal tuzları ile flokülasyondaki gibi elektrokoagülasyonla flokülasyon sonucunda da biyokütle metallerle kontamine olmaktadır. Fakat; bu yöntemde, metal tuzları ile flokülasyondaki gibi metal iyonları doğrudan kullanılmadığından daha az ölçüde kontaminasyona neden olmaktadır [62].

Son zamanlarda, çeşitli çalışmalarda mikroalglerin hasatlanmasında manyetik nanopartiküllerin kullanımı araştırılmaktadır. Magnetit (Fe_2O_3) nanopartiküller mikroalg hücrelerine doğrudan adsorblanabilir, daha sonra hücreler ortamdan manyetik alan uygulanarak ayrılabilir [63]. Magnetit nanopartiküllere, bazı mikroalg türleri daha kolay tutunmaktadır [64]. Nanopartiküller katyonik polimerlerle kaplanarak adsorbsiyon iyileştirilebilir [65,66]. Mikroalglerin hasatlanmasında magnetit nanopartiküller kullanılmasının avantajı, nanopartiküller hasatlama işleminden sonra geri kazanılabilir ve daha sonra tekrar kullanılabilir [63].

2.3.4 Biyoflokülasyon

Flokülasyon bazen, mikroalglerin doğal sahası içinde, göl veya nehirlerde, kendiliğinden meydana gelmektedir. Bu kendiliğinden flokülasyona, ortamdaki ekstraselüler polimerik maddelerin neden olduğu varsayılmaktadır ve bu flokülasyon “biyoflokülasyon” olarak adlandırılır [34]. Biyoflokülasyon genellikle, mikroalglerin atık su arıtımında kullanıldığı tesislerde mikroalgleri hasatlamak için başarılı bir şekilde kullanılmaktadır [67]. Ancak, bu olayın altında yatan mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır, bu nedenle bu konuda daha fazla araştırma yapılmalıdır. Bazı mikroalg türleri diğerlerine oranla daha kolay floküle olmaktadır, bu tip doğal biyoflokülasyona uğrayan mikroalgler, diğer mikroalgleri flokülasyona uğratmak için diğer türlerle karıştırılabilir [68,69]. Biyoflokülasyonun infokimyasallarla başlatılabileceğine dair işaretler vardır [70]. Son zamanlarda, *Skeletonema* mikroalg cinsinin yaşlanan ve topaklayıcı kültüründen izole edilen bir infokimyasal maddenin, diğer mikroalg türlerinin flokülasyonunu indüklemeye yeteneğinde olduğu bulunmuştur [71].

Bakteri veya mantarlarda mikroalglerin biyoflokülasyonunu uyarabilirler. Bazı mantarlar, negatif yüklü mikroalg hücreleri ile etkileşime giren ve böylece flokülasyona neden olan pozitif yüklü hiplere sahiptir [72,73]. Belirli bakterilerin konsorsiyumu da mikroalglerin flokülasyonunu uyarmaktadır [74,75]. Bu tür flokülasyona neden olan mantar veya bakteriler ayrı ayrı veya mikroalglerle birlikte yetiştirilebilir. Bakteri veya mantarların mikroalglerle yetiştirildiği ortamlarda karbon kaynağı gerekmektedir. Atık sularda genellikle var olan karbon kaynağı mikroalg ve bakterilerin birlikte yetiştirilmesini sağlar. Bu durum, kolayca hasatlanabilen algal-bakteriyel topakların kültürü ile sonuçlanır [76,77]. Flokülasyon ajanı olarak bakteri veya mantarların kullanımı, biyokütlenin kimyasal kontaminasyonunu

önler; fakat mikrobiyal kontaminasyon, mikroalgal biyokütlenin gıda veya yem olarak kullanımına ilişkin uygulamalara engel olabilir [19].

2.4 Flokülasyonu Etkileyen Mikroalg Özellikleri

Mikroalglerin flokülasyonu ile ilgili yapılan çoğu çalışma, belirli bir koşul altındaki belirli türler üzerine odaklanmıştır. Bununla birlikte, flokülasyon mikroalg hücrelerinin yüzey özelliklerine bağlıdır ve bu özellikler türler arasında farklılık gösterirken, kültür koşullarına bağlı olarak bir tür içinde de değişebilir. Hücre boyutunun artmasıyla, biyokütle hücre yüzey oranı da artmaktadır. Bu nedenle, aynı miktarda biyokütleden oluşan daha küçük türler, daha büyük türlere göre fazla miktarda flokülant dozuna ihtiyaç duyar [68]. Mikroalg hücre yüzeyinin biyokimyasal bileşimi türler arasında farklılık göstermektedir ve bu farklılıklar da flokülasyonu etkilemektedir [79]. Hücre yüzey özellikleri aynı türün farklı suşları arasında bile farklılık gösterebilir ve bu durumda suşlar arasında flokülasyon davranışında farklılıklara neden olabilir. Bu özellikler aynı zamanda bir tür içinde değişkendir. Örneğin, büyüme fazındaki kültürle, durağan fazdaki kültürün bile flokülasyon davranışı farklılık gösterebilir [22,78].

Kültür ortamının bileşimi de mikroalglerin flokülasyonunu etkiler. Ortamın pH'ı yalnızca mikroalgal hücrelerin yüzey yüklerini etkilemez aynı zamanda kimyasal flokülantları da etkiler, bu yüzden pH dikkate alınması gereken önemli bir parametredir. Ayrıca, mikroalgler büyüme ortamına kayda değer miktarda organik maddelerde salgılamaktadır [80]. Polisakkaritler ve proteinlerden oluşan bu organik maddeler flokülantlar için algal hücre yüzeyleri ile rekabete girerler ve bu durum flokülasyona engel olur [81,82]. Bu yüzden, gerekli olan flokülant miktarı, biyokütle ve mikroalg hücrelerin özelliklerine oranla daha fazla oranda algal organik maddenin miktarı ve bileşimi tarafından belirlenir [83,84]. Bu organik madde salınımı genellikle, mikroalglerde lipit birikimini uyarmak için önemli bir uygulama olan besin stresi altında daha fazladır [68,70].

2.5 Mikroalg Flokülasyonu Üzerine Literatür Çalışmaları

Mikroalglerin pH artışı, metal tuzları ve doğal bir biyopolimer olan kitosan ile flokülasyonu üzerine yapılan çalışmalar; flokülasyon koşulları (çökeltme zamanı, optimum pH değeri, flokülant türü, flokülant konsantrasyonu vs.) ile birlikte çizelge 2.1, çizelge 2.2 ve çizelge 2.3'te derlenmiştir.

Çizelge 2.1 pH artışıyla sağlanan flokülasyon üzerine literatür çalışmaları

| Çalışmanın adı | Mikroalg türü | Optimum pH değeri | Flokülant türü | Çökelme zamanı | Çalışma yılı | Kaynak |
|---|---|--|--|----------------|--------------|--------|
| Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium | <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Scenedesmus sp.</i> , <i>Chlorococcum sp.</i> (tatlı su mikroalgleri); <i>Nannochloropsis oculata</i> , <i>Phaeodactylum tricornutum</i> (tuzlu su mikroalgleri) | tatlı su mikroalgleri için pH = 10.6, tuzlu su algleri için sırasıyla pH 9.0 ve 9.3 | 1 M NaOH | 10 dk | 2012 | [57] |
| Freshwater microalgae harvested via flocculation induced by pH decrease | <i>Chlorococcum nivale</i> , <i>Chlorococcum ellipsoideum</i> , <i>Scenedesmus sp.</i> (tatlı su mikroalgleri) | pH=4 | 1M HNO ₃ | 15 dk | 2013 | [85] |
| Harvesting the microalgae <i>Phaeodactylum tricornutum</i> with polyaluminum chloride, aluminium sulphate, chitosan and alkalinity-induced flocculation | <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | pH=9.4 | 0,1 N HCl 1 N NaOH | 1 saat | 2012 | [86] |
| High pH-induced flocculation–sedimentation and effect of supernatant reuse on growth rate and lipid productivity of <i>Scenedesmus obliquus</i> and <i>Chlorella vulgaris</i> | <i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Chlorella vulgaris</i> (tatlı su mikroalgleri) | 10.8<pH<11 | 1 M NaOH 1 M Ca(OH) ₂ | 1 saat | 2013 | [87] |
| Flocculation of <i>Chlorella vulgaris</i> induced by high pH: Role of magnesium and calcium and practical implications | <i>Chlorella vulgaris</i> | pH=10.8 | 0,5 M NaOH 0,5 M KOH 0,5 M Ca(OH) ₂ 0, 5 M Mg(OH) ₂ | 30 dk | 2012 | [56] |

Çizelge 2.1 pH artışıyla sağlanan flokülasyon üzerine literatür çalışmaları (devamı)

| Çalışmanın adı | Mikroalg türü | Optimum pH değeri | Flokülant türü | Çökelme zamanı | Çalışma yılı | Kaynak |
|--|--|-------------------|---------------------------------|----------------|--------------|--------|
| A comparative study of the coagulation behaviour of marine microalgae | <i>Tetraselmis suecica</i> <i>Chlorococcum</i> sp. (tuzlu su mikroalgleri) | - | 1 M NaOH | - | 2012 | [70] |
| Evaluation of several flocculants for flocculating microalgae | <i>Scenedesmus</i> sp. <i>Scenedesmus obliquus</i> | - | 1 N NaOH 1M HNO ₃ | 10 dk | 2015 | [88] |
| High pH-induced flocculation of marine <i>Chlorella</i> sp. for biofuel production | <i>Chlorella</i> sp.615, <i>Chlorella</i> sp.442, <i>Chlorella</i> sp.725 | - | 0, 1, 3, 5, 7 mM NaOH | 5 – 30 dk | 2015 | [89] |

Çizelge 2.2 Metal tuzları ile sağlanan flokülasyon üzerine literatür çalışmaları

| Çalışmanın adı | Mikroalg türü | Flokülant türü | Çökelme zamanı | Çalışma yılı | Kaynak |
|---|--|--|----------------|--------------|--------|
| Harvesting the microalgae <i>Phaeodactylum tricornutum</i> with polyaluminum chloride, aluminium sulphate, chitosan and alkalinity-induced flocculation | <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | Alüminyum sülfat | - | 2012 | [86] |
| Comparative evaluation of inorganic and organic amendments for their flocculation efficiency of selected microalgae | <i>Chlamydomonas sp.</i> , <i>Chlorococcum sp.</i> , <i>Botryococcus sp.</i> , <i>Chlorella.sp.</i> | Alüminyum klorid, kalsiyum sülfat, demir klorid | 30 dk | 2014 | [90] |
| Harvesting <i>Chlorella minutissima</i> using cell coagulants | <i>Chlorella minutissima</i> | Alüminyum, demir ve çinko tuzları | 180 dk | 2010 | [16] |
| Critical Conditions for Ferric Chloride-Induced Flocculation of Freshwater Algae | <i>Chlorella zofingiensis</i> | Demir klorid | 60 dk | 2011 | [47] |
| Harvesting of microalgal biomass: Efficient method for flocculation through pH modulation | <i>Chlorococcum sp.</i> R-AP13. | Demir klorid, alüminyum sülfat | 10 dk | 2016 | [91] |

Çizelge 2.3 Kitosan ile sağlanan flokülasyon üzerine literatür çalışmaları

| Çalışmanın adı | Mikroalg türü | Optimum pH değeri | Optimum kitosan konsantrasyonu | Çökelme zamanı | Çalışma yılı | Kaynak |
|---|---|-------------------|--------------------------------|----------------|--------------|--------|
| Preferential technological and life cycle environmental performance of chitosan flocculation for harvesting of the green algae <i>Neochloris oleoabundans</i> | <i>Neochloris oleoabundans</i> | - | 100 mg/L | 10 dk | 2012 | [92] |
| Harvesting the microalgae <i>Phaeodactylum ricornutum</i> with polyaluminum chloride, aluminium sulphate, chitosan and alkalinity-induced flocculation | <i>Phaeodactylum tricornutum</i> | pH = 9,75 | 20 mg/L | - | 2012 | [86] |
| Harvesting of microalgal biomass: Efficient method for flocculation through pH modulation | <i>Chlorococcum sp.</i> R-AP13. | - | 40 mg/L | 10 dk | 2016 | [91] |
| Rapid harvesting of freshwater microalgae using chitosan | <i>Chlorella vulgaris</i> | pH = 6 | 120 mg/L | - | 2013 | [93] |
| Use of chitosan acid solutions to improve separation efficiency for harvesting of the microalga <i>Chlorella vulgaris</i> | <i>Chlorella vulgaris</i> | pH = 8,7 | 30 mg/L | 10 dk | 2013 | [94] |
| Using nano-chitosan for harvesting microalga <i>Nannochloropsis sp.</i> | <i>Nannochloropsis sp.</i> | pH = 9 | 100 mg/L | - | 2013 | [95] |
| Coagulation/ flocculation-based removal of algal-bacterial biomass from piggery wastewater treatment | <i>Chlorella sorokiniana</i> , <i>Chlorococcum sp.</i> | - | 25 mg/L | 10 dk | 2011 | [96] |

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Mikroalg Türleri

Bu tez çalışmasında, tatlı su mikroalgi olan *Chlorella minutissima* ve tuzlu su mikroalgi olan *Nannochloropsis oculata* türleri ile çalışılmıştır.

3.1.1 Mikroalg Türlerinin Genel Özellikleri

3.1.1.1 *Chlorella minutissima* Mikroalginin Genel Özellikleri

Chlorella minutissima , hızlı büyüme oranına sahip, tatlı suda yaşayan, tek hücreli ökaryotik bir algdir. Biyokütle üretimi için yaygın olarak kullanılmaktadır. *Chlorella minutissima*; klorofil a ve b'ye sahip, küre şeklinde, kamçısız, bitkiler gibi nişasta sentezleyen bir algdir (Şekil 3.1). Aminoasitler ve doymamış yağ asitleri bakımından zengindir. Bu nedenle; sağlıklı sektöründe, gıdalar ve tıbbi ürünlerde kullanımı potansiyel olarak yarar sağlamaktadır [97]. *Chlorella minutissima*'yı optimum yetiştirme koşullarında yetiştirmek, büyüme oranını, dolayısıyla hücre yoğunluğunu ve yağ içeriğini arttırdığından biyodizel hammaddesi üretimi için uygun bir organizma haline getirmektedir [98]. Potansiyel alg türleri arasında, *Chlorella minutissima* yüksek lipid içeriğine (kuru ağırlık biyokütle %10-57) sahiptir. Ayrıca atık suların arıtılması çalışmalarında kullanılmaktadır [99].

Şekil 3.1'de OLYMPUS CX22 mikroskobu ile çekilen *Chlorella minutissima* mikroalginin fotoğrafı görülmektedir.

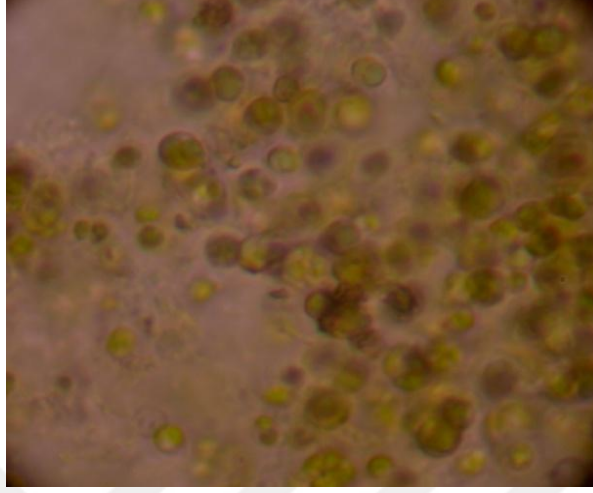


Şekil 3.1 *Chlorella minutissima* türünün ışık mikroskobu altındaki görüntüsü

3.1.1.2 *Nannochloropsis oculata* Mikroalginin Genel Özellikleri

Nannochloropsis oculata deniz suyunda yaşayan tek hücreli bir alg türüdür [100]. *Nannochloropsis oculata* hücreleri 2-4 µm çapında, serbest yüzen fototrofik tek hücrelerdir ve sarı-yeşil renkli parietal kloroplastlar içerir [100,101] (Şekil 3.2). *Nannochloropsis* cinsi (*Nannochloropsis sp.*), omega-3 asitlerine sahip olduğu için su ürünleri yetiştiriciliğinde bir gıda kaynağı olarak kullanılmaktadır [101]. *N. oculata*'dan sağlanan yağın gıda takviyelerinde kullanımının güvenli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, *Nannochloropsis* cinsinin besin değerleri değerlendirildiğinde, yüksek düzeyde proteine, çoklu doymamış yağ asitlerine ve antioksidan pigmentlere sahip olduğu keşfedilmiştir [100]. *Nannochloropsis* cinsi mikroalgler klorofil-a'ya sahip oldukları ve klorofil b ve c'den tamamen yoksun olması nedeniyle diğer mikroalglerden ayrılmaktadır. Buna ek olarak, yüksek konsantrasyonlarda, astaksantin ve zeaksantin gibi pigment oluşturabilirler [103]. *Nannochloropsis*, yüksek düzeyde çoklu doymamış yağ asitleri biriktirme kabiliyeti nedeniyle endüstriyel uygulamalar için umut verici bir alg olarak kabul edilir [102,104].

Şekil 3.2’de OLYMPUS CX22 mikroskobu ile çekilen *Nannochloropsis oculata* mikroalginin fotoğrafı görülmektedir.



Şekil 3.2 *Nannochloropsis oculata* türünün ışık mikroskobu altındaki görüntüsü

3.1.1.3 *Chlorella minutissima* Mikroalginin Yetiştirilme Koşulları

Mikroalgler saf kültür dolabındaki tüplerden alınarak 250 ml’lik erlenmayerlere 150 ml hacminde %10’luk (v/v) olacak şekilde ekilmiştir ve besin ortamı olarak BG-11 ortamı kullanılmıştır. Saf alg kültüründen 15 ml, 50/1 oranında olacak şekilde BG-11 besin ortamından 3 ml alınarak son hacmin 150 ml’ye tamamlanması için 132 ml distile su ilave edilmiştir. Son olarak tüplere ekstra karbondioksit (CO₂) ilavesi yapılmıştır.

BG-11 besin ortamının hazırlanışı:

829 ml distile suya çizelge 3.1’deki bileşikler belirtilen hacimlerde ilave edilip, 1 M NaOH ve HCl ile pH değeri 7,1’e optimize edilmiştir. Hazırlanan besin ortamı otoklavda 45 dk, 121°C’de sterilize edilmiştir.

Çizelge 3.1 BG-11 besin ortamının içeriği BG-11 besin ortamının içeriği

| Bileşiklerin miktarları (ml)* | Stok solüsyonu (ilave edilen bileşikler) | Stok solüsyonu konsantrasyonları (g/1000 ml distile su) |
|-------------------------------|--|---|
| 100 | NaNO ₃ | 15 |
| 10 | K ₂ HPO ₄ | 4 |
| 10 | MgSO ₄ .7H ₂ O | 7,5 |
| 10 | CaCl ₂ .2H ₂ O | 3,6 |
| 10 | Sitrik asit | 0,6 |
| 10 | Amonyum ferrik sitrat | 0,6 |
| 10 | Na ₂ EDTA | 0,1 |
| 10 | Na ₂ CO ₃ | 2 |
| 1 | İz elementi solüsyonu | Çizelge 3.2'de ifade edildiği gibi hazırlanmıştır. |

*829 ml distile suya ilave edilen bileşiklerin miktarları (ml)

İz elementi solüsyonu 1000 ml distile suya aşağıdaki bileşikler ilave edilerek hazırlanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 BG-11 besin ortamı için iz elementi solüsyonu içeriği

| Bileşik | Miktar (g) |
|---|------------|
| H ₃ BO ₃ | 2,86 |
| MnCl ₂ .4H ₂ O | 1,81 |
| ZnSO ₄ .7H ₂ O | 0,222 |
| Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O | 0,39 |
| CuSO ₄ .5H ₂ O | 0,079 |
| Co(NO ₃).6H ₂ O | 0,0494 |

Mikroalg üretimi 150 rpm'de çalışan çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Alg gelişimi inkübatörde erlenmayerlere eşit mesafede 18 wattlık flouora özelliğe sahip pembe renkli floresan lamba yerleştirilmiştir ve ortam sıcaklığı 25±3°C'a ayarlanmıştır. Çalışma sürekli ışıklandırma koşullarında sürdürülmüştür. Çalışma sürekli ışıklandırma koşullarında sürdürülmüştür. Yetiştirilme boyunca her gün, mikroalg solüsyonlarının 680 nm dalga boyunda absorbanları ölçülmüş mikroalgler büyüme eğrisinde durağan faza ulaştığında hasatlanmıştır.

3.1.1.4 *Nannochloropsis oculata* Mikroalginin Yetiştirilme Koşulları

Mikroalgler saf kültür dolabındaki tüplerden alınarak 250 ml'lik erlenmayerlere 150 ml hacminde %10'luk (v/v) olacak şekilde ekilmiştir ve besin ortamı olarak f/2 ortamı kullanılmıştır. Saf alg kültüründen 15 ml, 50/1 oranında olacak şekilde f/2 besin ortamından 3 ml alınarak son hacmin 150 ml'ye tamamlanması için 132 ml filtrelenmiş ve otoklovda sterilize edilmiş deniz suyu ilave edilmiştir. Son olarak tüplere ekstra CO₂ ilavesi yapılmıştır.

f/2 besin ortamının hazırlanışı:

998 ml filtrelenmiş deniz suyuna çizelge 3.3'deki bileşikler belirtilen miktarlarda ilave edilmiş, 1 M NaOH veya HCl ile pH değeri 8'e ayarlanmıştır.

Çizelge 3.3 f/2 besin ortamı içeriği

| Bileşik | Miktar |
|---|-----------|
| KNO ₃ | 0,075 g |
| NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O | 0,00565 g |
| İz elementi solüsyonu | 1 ml |

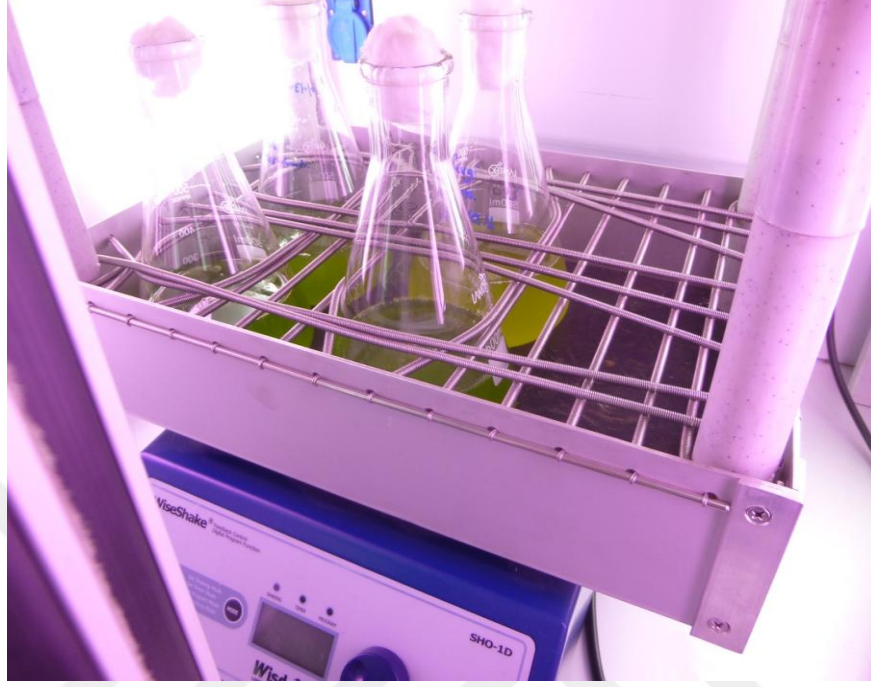
İz elementi solüsyonu 1000 ml distile suya çizelge 3.4'de belirtilen bileşikler ilave edilerek hazırlanmıştır.

Çizelge 3.4 f/2 besin ortamı içeriği için iz elementi solüsyonu içeriği

| Bileşik | Miktar (g) |
|---|------------|
| Na ₂ .EDTA | 4,36 |
| FeCl ₃ .4H ₂ O | 3,15 |
| CuSO ₄ .5H ₂ O | 0,01 |
| ZnSO ₄ .7H ₂ O | 0,022 |
| CoCl ₂ .6H ₂ O | 0,01 |
| MnCl ₂ .4H ₂ O | 0,18 |
| Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O | 0,006 |

Mikroalg üretimi 150 rpm'de çalışan çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3). Alg gelişimi inkübatörde erlenmayerlere eşit mesafede 18 wattlık flouora özelliğe sahip pembe renkli floresan lamba yerleştirilmiştir ve ortam sıcaklığı 22±3°C'a

ayarlanmıştır. Çalışma sürekli ışıklandırma koşullarında sürdürülmüştür. Yetiştirilme boyunca her gün, mikroalg solüsyonlarının 680 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüş mikroalgler büyüme eğrisinde durağan faza ulaştığında hasatlanmıştır.



Şekil 3.3 Çalkamalı inkübatörde mikroalg yetiştirilmesi

3.2 Kullanılan Flokülantlar

Çalışmada kullanılan; flokülantlar NaOH (sodyum hidroksit), KOH (potasyum hidroksit), Sigma-Aldrich firmasından tedarik edilen $FeCl_3$ (demir(III) klorid) ve $AlCl_3$ (alüminyum klorid) ve Merck firmasından tedarik edilen $FeSO_4$ (demir(II) sülfat) ve Sigma-Aldrich firmasından tedarik edilen %85 deasetillenmiş yengeç kabuğundan elde edilen kitosan'dır.

3.3 Flokülasyon Deneyi ve Flokülasyon Performansının Değerlendirilmesi

3.3.1 1 M KOH ve 1 M NaOH İle pH Artışı Sağlanarak Gerçekleştirilen Flokülasyon Deneyi

Deney, büyüme eğrisinde sabit fazda olan mikroalg çözeltisinden 20 ml alınarak 25 ml'lik silindirik cam tüplerde gerçekleştirilmiştir. Mikroalg çözeltisine 1 M KOH veya 1 M NaOH eklenerek numunelerin pH'ları sırasıyla 8,5, 9,5, 10,5, 11,5, 12,5'a

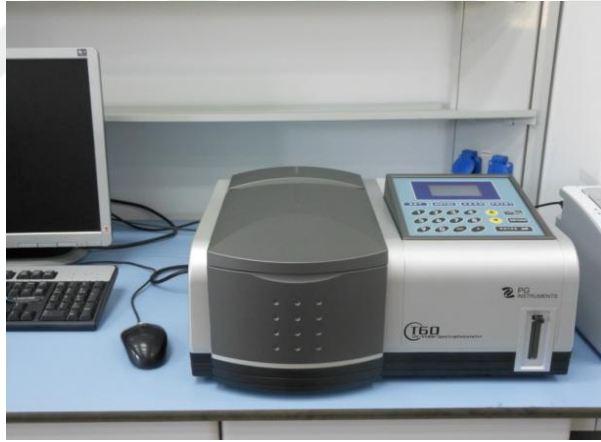
ayarlanmıştır. pH ayarlandıktan sonra cam tüpler 30 saniye süreyle vortekslenmiştir. Numuneler oda sıcaklığında çökmeye bırakılmış ve sırasıyla 15, 30, 45, 60 dakika sonra tüplerin 1 cm yukarisından 2'şer ml örnek(süpernatant) toplanmıştır ve bu örneğin UV spektrofotometre (Şekil 3.4) kullanılarak OD₇₅₀ nm'de (dalga boyu 750 nm'de) absorbansı ölçülmüştür.

Flokülasyon verimliliği yüzde olacak şekilde aşağıdaki formüle (eşitlik 3.1'e) göre hesaplanmıştır:

$$\text{Flokülasyon verimliliği (\%)} = (1-A/B)*100$$

(3.1)

(A: toplanan örneğin (süpernatantın) OD₇₅₀ nm'deki değeri, B: doğal mikroalg çözeltilisinin (flokülant eklenmeden önceki) OD₇₅₀ nm'deki değeri) [57,104,105]



Şekil 3.4 PG Instrument T60 model UV spektrofotometre

3.3.2 Metal Tuzları İle Sağlanan Flokülasyon Deneyi

Farklı konsantrasyonlarda, FeCl₃ (100, 200, 400, 600, 800, 1000 µM), AlCl₃ (100, 200, 400, 600, 800, 1000 µM) ve FeSO₄ (50, 100, 150, 200, 250, 300 mg/L) her iki mikroalg türüne durağan faz evresinde eklenerek flokülasyon verimlilikleri değerlendirilmiştir. Farklı konsantrasyonlar, stok çözelti hazırlanarak ve bu stok çözeltilerinden seyreltme işlemi yapılarak elde edilmiştir. Deney, büyüme eğrisinde durağan fazda olan mikroalg

çözeltisinden 20 ml alınarak 25 ml'lik silindirik cam tüplerde gerçekleştirilmiştir. Tüplere yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda 2'şer ml metal tuzları ($FeCl_3$, $AlCl_3$ ve $FeSO_4$) eklenmiştir. Flokülantlar eklendikten sonra tüpler 30 saniye süreyle vortekslenmiştir. Numuneler oda sıcaklığında çökelmeye bırakılmış ve sırasıyla 30 ve 60 dk sonra tüplerin 1 cm yukarisından 2'şer ml örnek toplanmıştır ve bu örneğin UV spektrofotometre (Şekil 3.4) kullanılarak OD_{750} nm'de (dalga boyu 750 nm'de) absorbansı ölçülmüştür. Flokülasyon verimliliği yüzde olacak eşitlik 3.1'e göre hesaplanmıştır.

3.3.3 Doğal Biyopolimer Olan Kitosan ile Sağlanan Flokülasyon Deneyi

Kitosan biyopolimeri net pozitif yüke sahiptir. Mikroalgal hücrelerin genel yüzey yükü negatif olduğundan pozitif yüklü kitosan mikroalg hücrelerine kuvvetle adsorbe olur ve mikroalg hücrelerini etkili bir şekilde destabilize eder. Kitosan öncelikle mikroalg hücreleri yüzeyindeki yükleri nötralize eder ve böylelikle mikroalg hücreleri arasındaki elektrostatik itmeyi zayıflatır. Böylelikle, aralarındaki itme kuvveti azalan mikroalg hücrelerinin flokülasyonu sağlanır [109]. Mikroalglerin kitosanla sağlanan flokülasyonunda pH'ın etkisi birçok çalışmada araştırılmıştır [79,106-108]. Kitosan, alkali çözeltilerinde büyük ve yoğun floklar oluşmasını sağlarken, asidik çözeltilerde dağınık ve küçük floklara neden olmaktadır. pH'ın kitosanın moleküler yapısına etkisi, biyopolimer amin gruplarının protonlaşmasındaki farklılıklar ve makromolekül zincirinin konformasyonundaki değişikliklerden kaynaklanabilir [109]. Bu nedenle, bu tez çalışmasında iki mikroalg türünün kitosanla flokülasyon verimlilikleri farklı kitosan konsantrasyonlarında, pH değerlerinde ve çökeltme zamanlarında (30 ve 60 dk) araştırılmıştır.

Kitosan stok çözeltisi şu şekilde hazırlanmıştır: 100 mg kitosan tozu %1'lik 10 ml asetik asit çözeltisinde erimesi için 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra bu çözelti 100 ml distile su kullanılarak seyreltilmiş ve böylelikle 1000 mg/L kitosan konsantrasyonunda stok çözelti elde edilmiştir. Deney, büyüme eğrisinde sabit fazda olan mikroalg çözeltisinden 20 ml alınarak 25 ml'lik cam tüplerde gerçekleştirilmiştir. Tüplere 50, 75, 100, 125, 150 mg/L konsantrasyonlarda 2'şer ml kitosan çözeltisi eklenmiştir. Flokülant eklendikten sonra tüpler 30 saniye süreyle

vortekslenmiştir. Numuneler oda sıcaklığında çökelmeye bırakılmış ve sırasıyla 30 ve 60 dk sonra tüplerin 1 cm yukarisından 2'şer ml örnek toplanmıştır ve bu örneğin UV spektrofotometre (Şekil 3.4) kullanılarak OD_{750} nm'de (dalga boyu 750 nm'de) absorbansı ölçülmüştür. Flokülasyon verimliliği yüzde olacak eşitlik 3.1'e göre hesaplanmıştır.

3.4 Zeta Potansiyel Ölçümü

Mikroalglerin, flokülantlar eklenmeden önce ve sonra olmak üzere zeta potansiyelleri Malvern marka Zetasizer Nano ZS cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler numunelerden 750 µl alınarak 3 tekrarlı olacak şekilde oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

3.5 Çöken Mikroalg Hücrelerinin Canlılığının Araştırılması

Farklı flokülantlar sayesinde flokülasyonu sağlanan *Chlorella minutissima* ve *Nannochloropsis oculata* hücrelerinin canlılığının ve fizyolojik aktivitesinin araştırılması için çalkalamalı inkübatörde (Şekil 3.3) yeniden yetiştirilmesi sağlanmıştır.

Flokülantlar sayesinde ve doğal yolla çökelmeye bırakılan çözeltilerden mikroalg hücreleri toplanmış ve 100 ml'lik erlenmayerlere 50 ml hacminde %10'luk (v/v) olacak şekilde ekilmiştir. Besin ortamı olarak *Chlorella minutissima* için BG-11, *Nannochloropsis oculata* için f/2 ortamı kullanılmıştır. Çöken *Chlorella minutissima* hücrelerinden 5 ml, BG-11 besin ortamından 1 ml alınarak son hacmin 50 ml'ye tamamlanması için 44 ml distile su ilave edilmiştir. Çöken *Nannochloropsis oculata* hücrelerinden 5 ml, f/2 besin ortamından 1 ml alınarak son hacmin 50 ml'ye tamamlanması için 44 ml filtrelenmiş ve sterilize deniz suyu ilave edilmiştir. Doğal yolla çöken her iki mikroalg hücreleride yukarıda bahsedildiği gibi uygun besin ortamlarında yeniden yetiştirilmiştir ve doğal yolla çöken mikroalg hücreleri ile flokülantlar aracılığıyla çöken mikroalg hücrelerinin canlılık durumları karşılaştırılmıştır. Bir hafta boyunca mikroalg çözeltilerinin UV spektrofotometre (Şekil 3.4) kullanılarak 680 nm'deki absorbansları ölçülmüş ve büyüme eğrileri oluşturulmuştur.

3.6 Çöken Mikroalg Hücrelerinin Klorofil-a ve beta-Karoten Miktarlarının Tespiti

Klorofil-a ve beta-karoten spektrofotometrik yöntemle göre aşağıda belirtildiği gibi yapılmıştır.

5 ml örnek tüplere alınarak, santrifüjde çöktürme işlemi yapılmış, ardından üzerinde kalan fazla su dökülmüştür. Örnekler, 5 ml aseton ile muamele edildikten sonra, manyetik karıştırıcıda 5 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Elde edilen örnek, ultrasonik banyoda 70°C suyun içerisinde 10 dakika süre ile bekletilmiş, ardından vortex yardımıyla 15 saniye karıştırma işlemi yapılmıştır. Elde edilen ekstrat tekrar 10 dakika 3500 rpm'de santrifüj ile ayrılmıştır. Santrifüjden çıkan örneklerin üzerinde kalan sıvı (süpernatant) , UV spektrofotometrede (Şekil 3.4) 666 nm ve 475 nm dalga boyunda okunmuş, aşağıda verilen formül ile klorofil-a ve beta-karoten miktarı tespit edilmiştir.

$$\text{Klorofil a } (\mu\text{g/ml}) = 13,9 A_{666} [110]$$

A_{666} : 666 nm'de okunan absorbans (soğurma) değeri

$$\text{Karoten } (\mu\text{g/ml}) = 4,5 A_{475} [111]$$

A_{475} : 475 nm'de okunan absorbans (soğurma) değeri

Bu analizle, doğal yolla çöken mikroalg hücreleri ile flokülantlar aracılığıyla çöken mikroalg hücrelerinin klorofil-a ve beta-karoten miktarlarındaki değişim karşılaştırılmıştır.

3.7 Çöken Mikroalg Hücrelerinin Karbonhidrat Miktarlarının Tespiti

Farklı flokülantlar sayesinde çöken alglerin toplam karbonhidrat içerikleri fenol-sülfürik asit metoduyla belirlenmiştir.

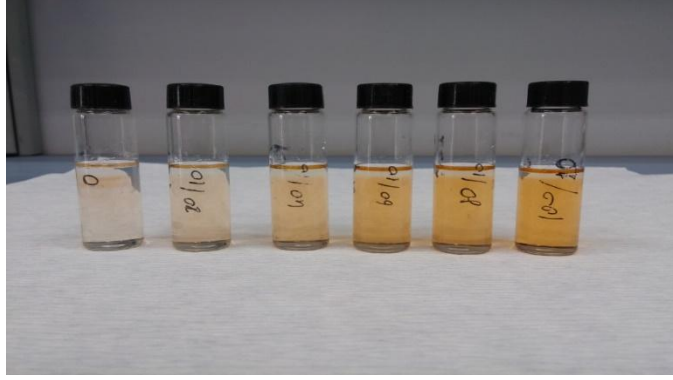
Fenol-sülfürik asit yöntemi, bir numunedeki toplam karbonhidrat miktarını belirlemek için kullanılan basit ve hızlı bir kolorimetrik yöntemdir. Bu yöntem; karbonhidratların tüm sınıflarını, mono-, di-, oligo-, ve polisakaritleri, tespit eder. Yöntem, hemen hemen tüm karbonhidratları tespit etmesine rağmen, farklı karbonhidratların emiciliği farklılık göstermektedir. Dolayısıyla, bir numunenin sadece bir karbonhidrat içerdiği bilinmiyorsa, sonuçlar bir karbonhidrat açısından ifade edilmelidir. Bu yöntemde;

konsantre sülfirik asit, her polisakkarit, oligosakkarit ve disakkaritleri monosakkaritlere ayırır. Pentozlar (5-karbonlu şekerler) daha sonra dehidre edilerek furfurala ve heksozlar (6-karbonlu şekerler) da dehidre edilerek hidroksimetil furfurala dönüştürülür. Bu bileşikler daha sonra fenol ile reaksiyona girerek sarı-altın rengi meydana getirirler. Bu reaksiyonun rengi birkaç saat boyunca kararlıdır ve uygun koşullar altında yöntemin doğruluğu $\pm 2\%$ 'dir. Bu yöntemde, standart eğri oluşturmak için glukoz yaygın olarak kullanılır ve glukoz çözeltilerinin 490 nm'de absorpsiyonu ölçülür [112].

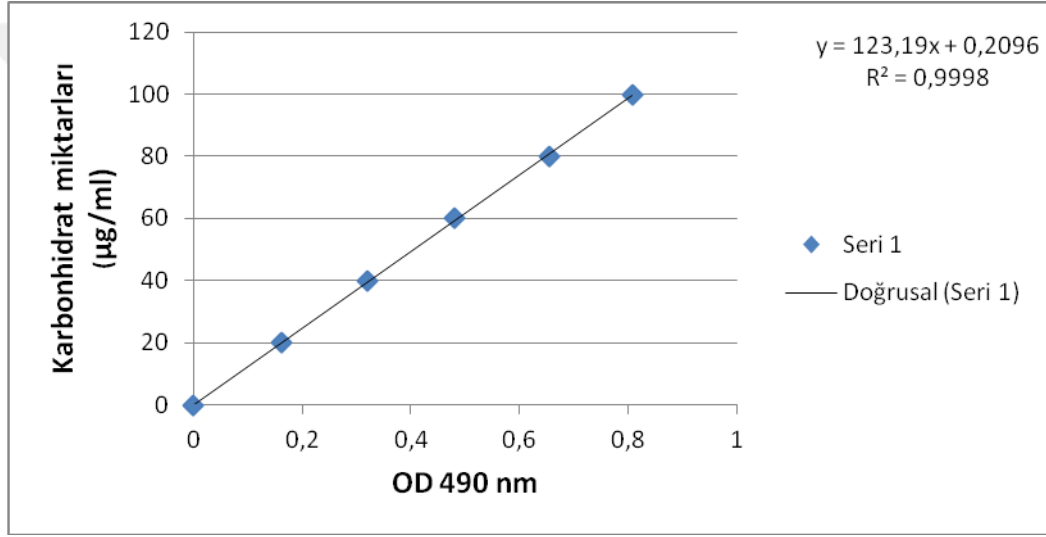
Bu çalışmada, çöken mikroalg hücrelerinin toplam karbonhidrat içeriği fenol-sülfirik asit yöntemi ile belirlenmiştir. Fenol reaktifi %80 (w/w) olacak şekilde 20 g distile suya 80 g fenol eklenmesi ile hazırlanmıştır. Analiz için standart olarak glukoz kullanılmıştır. Standart eğrisini oluşturmak için 100 $\mu\text{g/ml}$ olarak hazırlanan glukoz stok çözeltisinden belirli miktarlarda alınarak çizelge 3.5'te belirtilen farklı konsantrasyonlarda glukoz çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltilere 0.05 ml fenol reaktifi eklenmiş ardından 5 ml sülfirik asit (H_2SO_4) ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 15 dakika bekletilen tüplerden alınan örneklerin (Şekil 3.5) PG Instruments T60 model UV spektrofotometrede (Şekil 3.4) 490 nm'de absorpsiyonları ölçülmüştür. Elde edilen verilerle standart eğri grafiği (Şekil 3.6) oluşturularak farklı flokülantlar sayesinde çöken ve doğal yolla çöken mikroalglerin karbonhidrat içerikleri hesaplanmış ve karbonhidrat içeriklerindeki değişimleri karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.5 Standart glukoz konsantrasyon değerleri

| | Farklı konsantrasyonlardaki glukoz çözeltileri ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | |
|-----------------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| Glukoz stok çözeltisi (ml) | 0 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1.0 |
| Saf su (ml) | 2 | 1.8 | 1.6 | 1.4 | 1.2 | 1.0 |



Şekil 3.5 Fenol-sülfürik asit yöntemi ile karbonhidrat tayini için farklı glukoz konsantrasyonlarında hazırlanmış çözeltiler



Şekil 3.6 Fenol-sülfürik asit yöntemi ile toplam karbonhidrat tayini için oluşturulan standart eğri grafiği

3.8 Çeşitli Flokülanlarla Sağlanan Flokülasyondan Sonra Büyüme Ortamının Geri Kazanımının Araştırılması

Flokülasyon sonrası geri kazanılan ortam, mikroalg yetiştirmede maliyeti düşürmek için bir sonraki ekim için yeniden kullanılabilir. Flokülanların, yeniden geri kazanılan ortamın tekrar kullanılmasını olumsuz yönde etkileyip etkilemediğini tespit etmek önemlidir. Ayrıca, özellikle büyük ölçekli mikroalg yetiştirmede çok fazla su kaybına neden olmamak ve böylelikle maliyeti düşürmek için büyüme ortamının bir sonraki yetiştirme için uygun olup olmayacağı araştırılmıştır.

Bu nedenle; flokülasyondan sonra büyüme ortamı yeniden geri kazanılmış ve besin öğeleri (tatlı su mikroalgi için BG-11, tuzlu su mikroalgi için f/2) ortama ilave edilmiştir. *Chlorella minutissima* yetiştirmek için geri kazanılan büyüme ortamının pH'ı 1 M NaOH ve 0,5 M HCl asit ile 7.1'e; *Nannochloropsis oculata* yetiştirmek için geri kazanılan büyüme ortamının pH'ı 8'e ayarlanmıştır. Mikroalg hücreleri, 100 ml'lik erlenmayerlere 50 ml hacminde %10'luk (v/v) olacak şekilde ekilmiştir. *Chlorella minutissima* hücrelerinden 5 ml, BG-11 besin ortamından 1 ml alınarak son hacmin 50 ml'ye tamamlanması için 44 ml ise flokülasyon sonrası geri kazanılan süpernatant büyüme solüsyonu ilave edilmiştir. Çöken *Nannochloropsis oculata* hücrelerinden 5 ml, f/2 medyumdan 1 ml alınarak son hacmin 50 ml'ye tamamlanması için 44 ml ise flokülasyon sonrası geri kazanılan süpernatant büyüme solüsyonu ilave edilmiştir. Karşılaştırma yapabilmek için, her iki mikroalg türü için yeni (taze) büyüme ortamı kullanılarak kontrol numuneleri hazırlanmıştır. Mikroalg hücrelerinin, geri kazanılan ve yeni (taze) hazırlanmış büyüme ortamlarında inkübatör içersinde yetiştirilmesi gerçekleştirilmiştir. Bir hafta boyunca yetişen mikroalg çözeltilerinin UV spektrofotometre (Şekil 3.4) 680 nm'de absorbanları ölçülmüş ve büyüme eğrileri oluşturulmuştur.

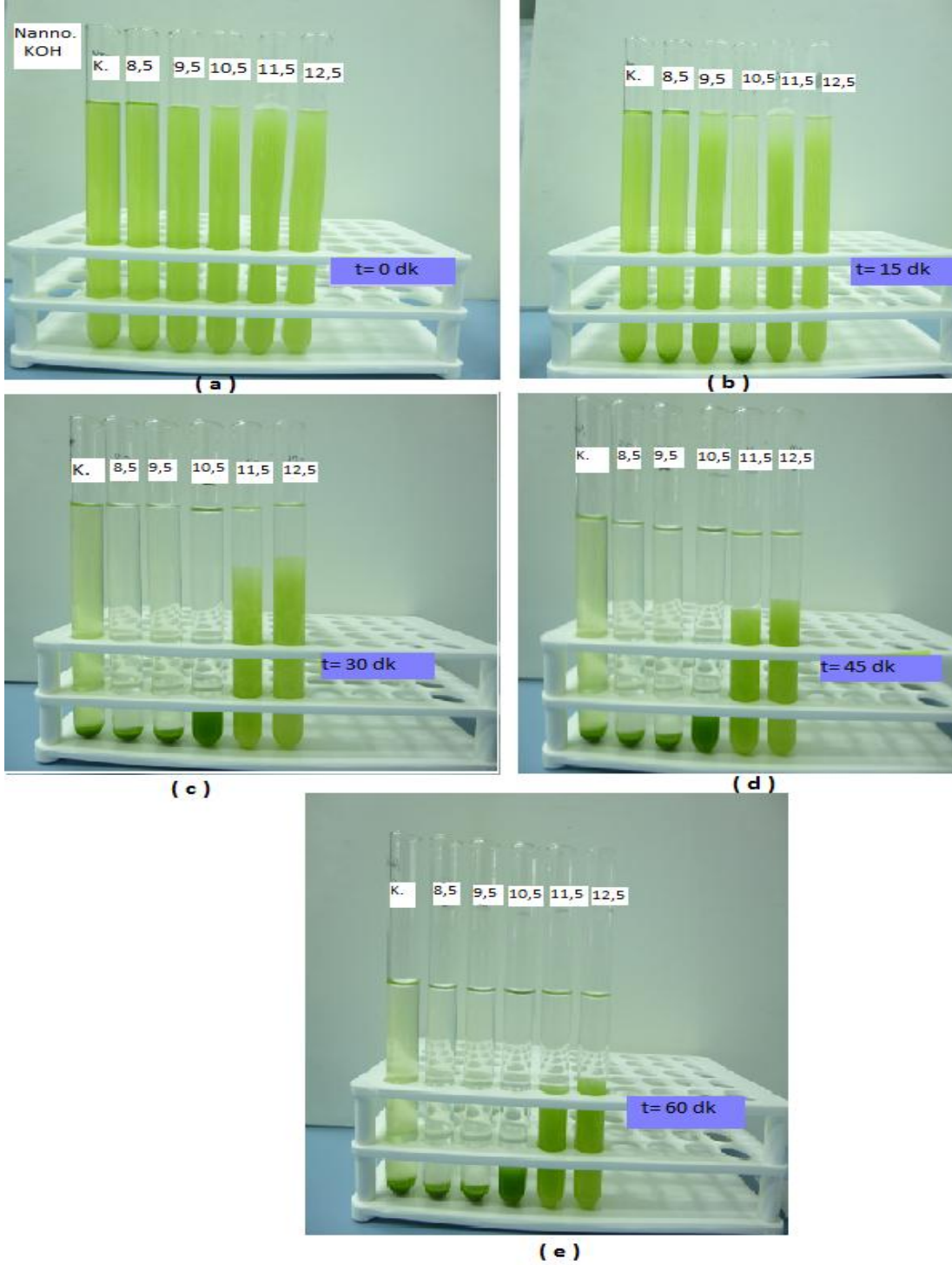
DENEYSEL BULGULAR VE SONUÇLAR

4.1 Mikroalg Türlerinin pH artışı ile Flokülasyon Performansının Değerlendirilmesi

4.1.1 *Nannochloropsis oculata* Mikroalginin pH Artışı İle Flokülasyonunun Optimizasyonu

4.1.1.1 *Nannochloropsis oculata* Mikroalginin KOH ile Sağlanan Flokülasyonu

Büyüme eğrisinde durağan fazda olan 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,815 A ve pH değeri 8,2 olan *Nannochloropsis oculata* mikroalg çözeltilisine 1 M KOH eklenerek pH 8,5, 9,5, 10,5, 11,5 12,5 değerlerine ayarlanmıştır (Şekil 4.1). Çökelme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkisini incelemek amacıyla da 15, 30, 45, 60 dk gibi farklı çökelme zamanlarında flokülasyon verimlilikleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.1). Hem pH artışının hem de çökelme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünleşik olarak şekil 4.2'de sunulmuştur.



Şekil 4.1 *Nannochloropsis oculata* mikroalginin KOH ile pH artışı sağlanarak flokülasyonunun gerçekleştirilmesi

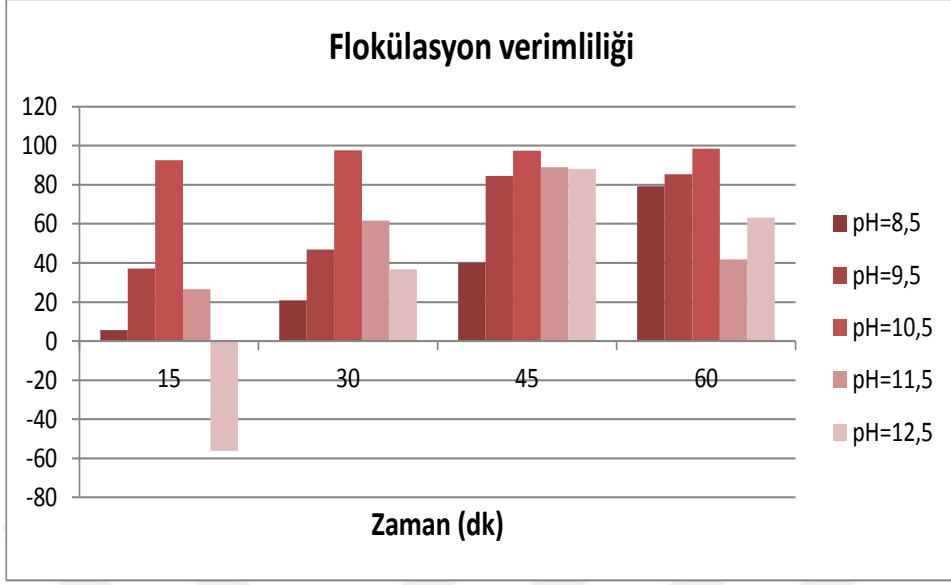
(a)pH değerleri ayarlandıktan sonra t=0 anında, (b)çökelmeye bırakıldıktan 15 dk sonra, (c)çökelmeye bırakıldıktan 30 dk sonra, (d)çökelmeye bırakıldıktan 45 dk sonra, (e)çökelmeye bırakıldıktan 60 dk sonra

Çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak her bir pH değerinin flokülasyon verimliliği aşağıdaki çizelgede verilmiştir:

*Tez çalışması boyunca çizelgelerde 750 nm'deki optik yoğunluk (optical density) "OD₇₅₀" olarak, flokülasyon verimliliği (%) " FV " olarak gösterilecektir.

Çizelge 4.1 *Nannochloropsis oculata* türünün KOH ile sağlanan pH değerlerine göre çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak flokülasyon verimliliği

| pH değerleri | *OD₇₅₀ (15 dk sonra) | *FV (15 dk sonra) | OD₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD₇₅₀ (45 dk sonra) | FV (45 dk sonra) | OD₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
|--------------------------------------|--|--|---|---|---|---|---|---|
| Doğal çökme sonrası (kontrol numune) | 0,775 | 4,9 | 0,618 | 24,17 | 0,51 | 37,42 | 0,32 | 60,74 |
| 8,5 | 0,77 | 5,52 | 0,645 | 20,85 | 0,488 | 40,12 | 0,17 | 79,14 |
| 9,5 | 0,512 | 37,17 | 0,433 | 46,87 | 0,126 | 84,54 | 0,12 | 85,28 |
| 10,5 | 0,06 | 92,63 | 0,019 | 97,66 | 0,02 | 97,54 | 0,013 | 98,40 |
| 11,5 | 0,598 | 26,62 | 0,312 | 61,71 | 0,09 | 88,96 | 0,475 | 41,72 |
| 12,5 | 1,272 | -56,07 | 0,516 | 36,68 | 0,097 | 88,1 | 0,3 | 63,19 |



Şekil 4.2 *Nannochloropsis oculata* türünün KOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

Çizelge 2.1’de pH artışı ile flokülasyon üzerine literatür çalışmaları verilmektedir. Çizelge 2.1’de görüldüğü gibi çalışmalarda, flokülasyon deneyi gerçekleştirilirken seçilen çökeltme zamanı 10 dk ile 1 saat arasında değişmektedir. Fakat, literatürde pH artışı ile gerçekleştirilen flokülasyonda optimum çökeltme zamanının belirlendiği ayrıntılı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca, KOH ile flokülasyonun gerçekleştirilmesi üzerine birkaç çalışma bulunmaktadır. Flokülant türü, dozu ve çökeltme zamanı gibi birçok faktör mikroalglerin hasatlanma verimliliğini etkilemektedir [64].

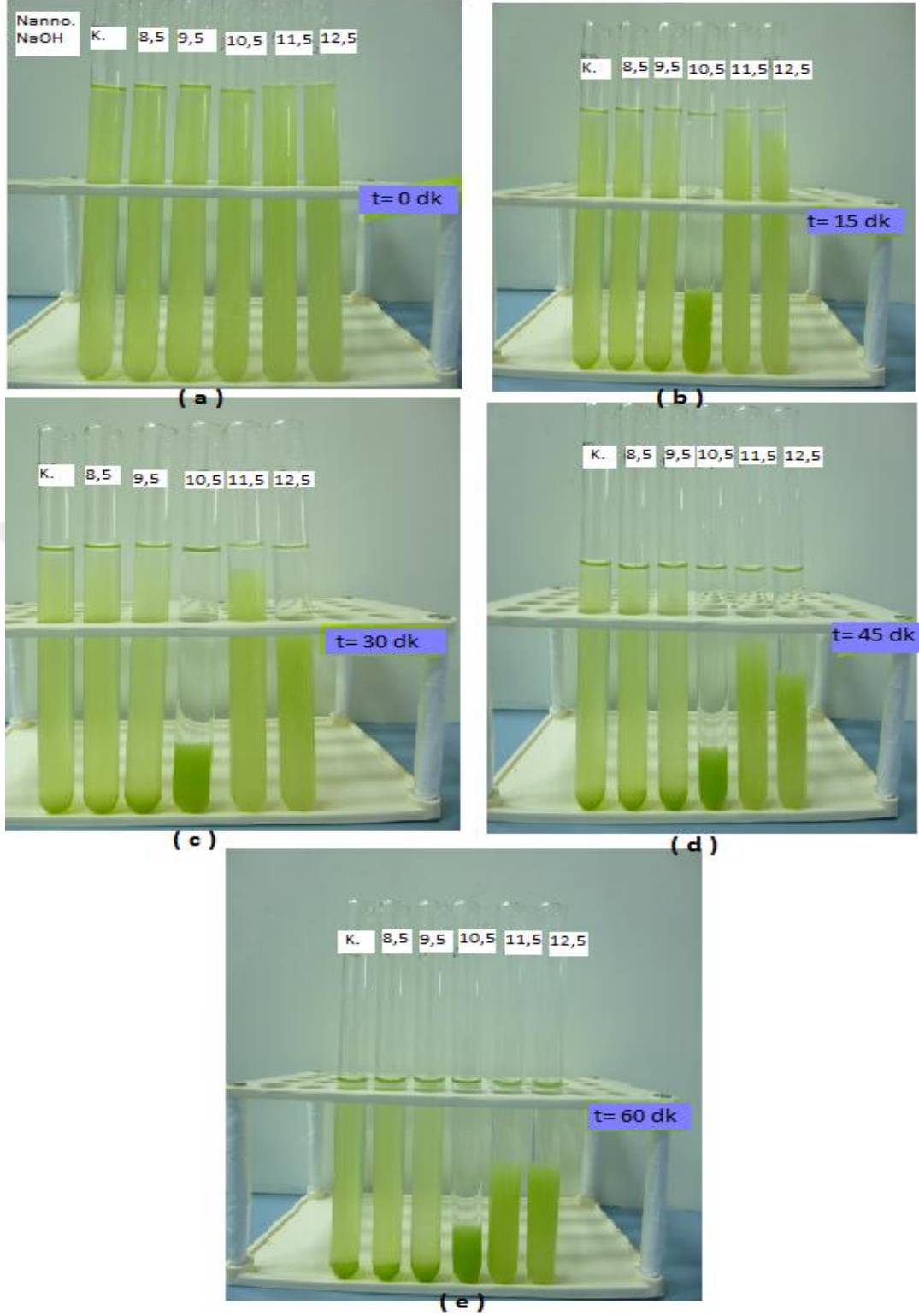
pH artışıyla gerçekleştirilen flokülasyonda çökeltme zamanı da pH değeri kadar ayrıntılı incelenmesi gereken önemli bir parametredir. Bu nedenle; bu tez çalışmasında KOH flokülantı aracılığıyla gerçekleştirilen pH değişiminin iki farklı mikroalg türünün flokülasyonuna etkisinin yanı sıra, mikroalg flokülasyonundaki çökeltme zamanı flokülasyonu etkileyen ayrı bir parametre olarak araştırılmıştır.

1 M KOH ile pH’ı 10,5’a ayarlanan *Nannochloropsis oculata* mikroalg çözeltisinin diğer pH değerlerine göre flokülasyon verimliliği daha yüksektir (Şekil 4.2). pH değeri 10,5’a

ayarlanan çözelti gözle görünür ve hızlı bir şekilde 15 dakikada yüksek verimle çökmüştür (Şekil 4.1). pH 12,5'ta eksi bir verimlilik değerinin elde edilmesinin nedeni, 15 dk sonra pH=12,5'taki tüpte yer alan mikroalg hücreleri kısa süreli olarak tüpün 1 cm'lik kısmında yığılma göstermiştir ve dolayısıyla 750 nm'deki OD değeri başlangıç alg çözeltisinin OD değerinden yüksek olduğundan negatif bir verimlilik elde edilmiştir. Sonuçlar göstermiştir ki, *Nannochloropsis oculata* mikroalginin KOH ile pH'ı arttırılarak flokülasyonu gerçekleştirilebilir. En etkili flokülasyon için pH=10,5, çökme zamanı 15 dk olarak seçilebilir. Çünkü, diğer zamanlarda (30 dk, 45 dk, 60 dk) sağlanan flokülasyon verimliliği ile, 15 dk sonra elde edilen flokülasyon verimliliği ile arasında kayda değer bir fark yoktur. Proseste zamanın neden olduğu maliyeti azaltmak için 15 dk çökme zamanı olarak seçilebilir.

4.1.1.2 *Nannochloropsis oculata* Mikroalginin NaOH ile Sağlanan Flokülasyonu

Büyüme eğrisinde durağan fazda olan 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,495 A ve pH değeri 8,22 olan *Nannochloropsis oculata* mikroalg çözeltisine 1 M NaOH eklenerek pH 8,5, 9,5, 10,5, 11,5 12,5 değerlerine ayarlanmıştır (Şekil 4.3). Çökme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkisini incelemek amacıyla da 15, 30, 45, 60 dk gibi farklı çökme zamanlarında flokülasyon verimlilikleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). Hem pH artışının hem de çökme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünlük olarak Şekil 4.4'de sunulmuştur.



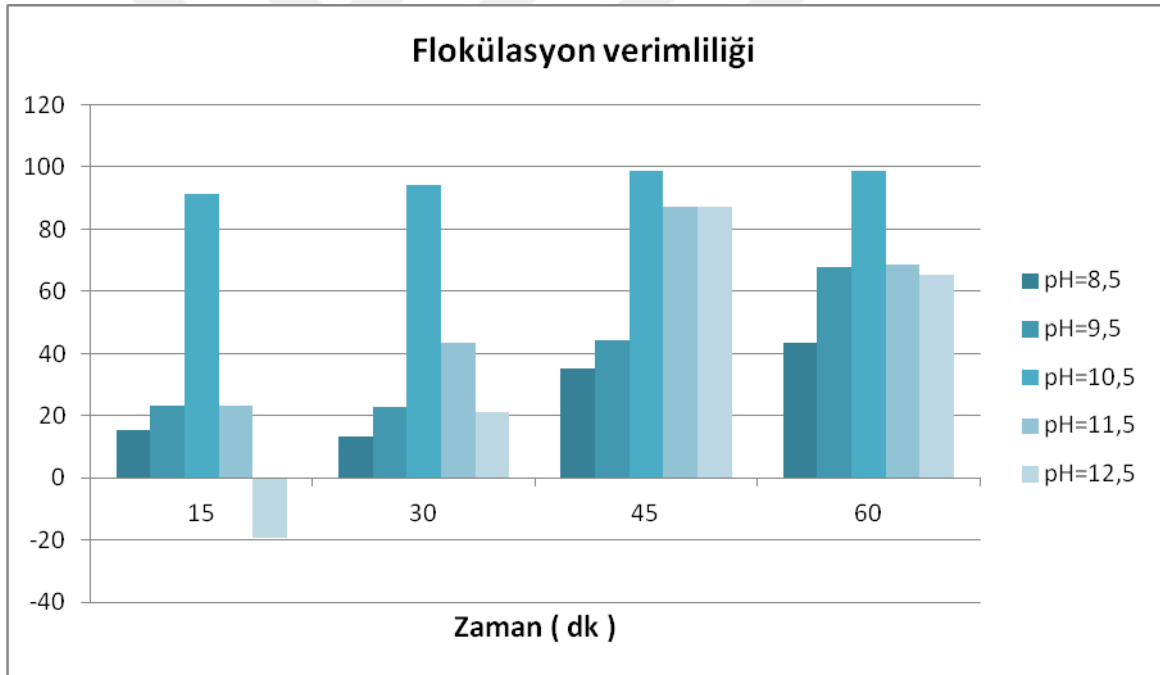
Şekil 4.3 *Nannochloropsis oculata* mikroalginin NaOH ile pH artışı sağlanarak flokülasyonunun gerçekleştirilmesi

(a)pH değerleri ayarlandıktan sonra t=0 anında, (b)çökelmeye bırakıldıktan 15 dk sonra, (c)çökelmeye bırakıldıktan 30 dk sonra, (d)çökelmeye bırakıldıktan 45 dk sonra, (e)çökelmeye bırakıldıktan 60 dk sonra

Çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak her bir pH değerinin flokülasyon verimliliği aşağıdaki çizelgede verilmiştir:

Çizelge 4.2 *Nannochloropsis oculata* türünün NaOH ile sağlanan pH değerlerine göre çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak flokülasyon verimliliği

| pH değerleri | OD ₇₅₀ (15 dk sonra) | FV (15 dk sonra) | OD ₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD ₇₅₀ (45 dk sonra) | FV (45 dk sonra) | OD ₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
|---|--|------------------------|--|------------------------|--|------------------------|--|------------------------|
| Doğal çökeltme sonrası (kontrol numune) | 0,42 | 15,15 | 0,44 | 11,11 | 0,33 | 33,33 | 0,293 | 40,80 |
| 8,5 | 0,418 | 15,56 | 0,429 | 13,33 | 0,32 | 35,35 | 0,28 | 43,43 |
| 9,5 | 0,379 | 23,43 | 0,381 | 23,03 | 0,275 | 44,44 | 0,16 | 67,67 |
| 10,5 | 0,042 | 91,52 | 0,029 | 94,14 | 0,006 | 98,78 | 0,007 | 98,59 |
| 11,5 | 0,38 | 23,23 | 0,28 | 43,43 | 0,063 | 87,27 | 0,155 | 68,68 |
| 12,5 | 0,591 | -19,39 | 0,39 | 21,21 | 0,063 | 87,27 | 0,172 | 65,25 |



Şekil 4.4 *Nannochloropsis oculata* türünün NaOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

Tez çalışmasında, NaOH flokülantındaki pH değişiminin iki farklı mikroalg türünün flokülasyonuna etkisinin yanı sıra, mikroalg flokülasyonundaki çökeltme zamanı flokülasyonu etkileyen ayrı bir parametre olarak araştırılmıştır.

1 M NaOH ile pH'ı 10,5'a ayarlanan *Nannochloropsis oculata* mikroalg çözeltilisinin diğer pH değerlerine göre flokülasyon verimliliği daha yüksektir (Şekil 4.4). pH değeri 10,5'a ayarlanan çözelti gözle görünür ve hızlı bir şekilde 15 dakikada yüksek verimle çökmüştür (Şekil 4.3). Çökelme zamanı da incelemek istediğimiz bir parametre olduğundan 30.dk, 45.dk ve 60. dk'larda da ölçüm yapılmıştır. Görülmüştür ki, 1 saat olan çökme süresi sonundaki en yüksek verimle ilk 15 dk sonraki verim arasında çok fazla bir fark yoktur. Az bekleme süresi zaman maliyeti kazandırdığından, 1 M NaOH ile pH değeri ayarlanan mikroalg çözeltilisinin optimum parametleri, pH=10,5 ve çökelme zamanı 15 dk olarak seçilebilir.

15 dk sonra pH 12,5'ta eksi bir verimlilik değerinin elde edilmesinin nedeni, pH 12,5'taki tüpte yer alan mikroalg hücreleri tüpün 1 cm'lik kısmında yığılma göstermiştir ve dolayısıyla 750 nm'deki OD değerleri başlangıç mikroalg çözeltilisinin OD değerinden yüksek olduğundan negatif bir verimlilik elde edilmiştir.

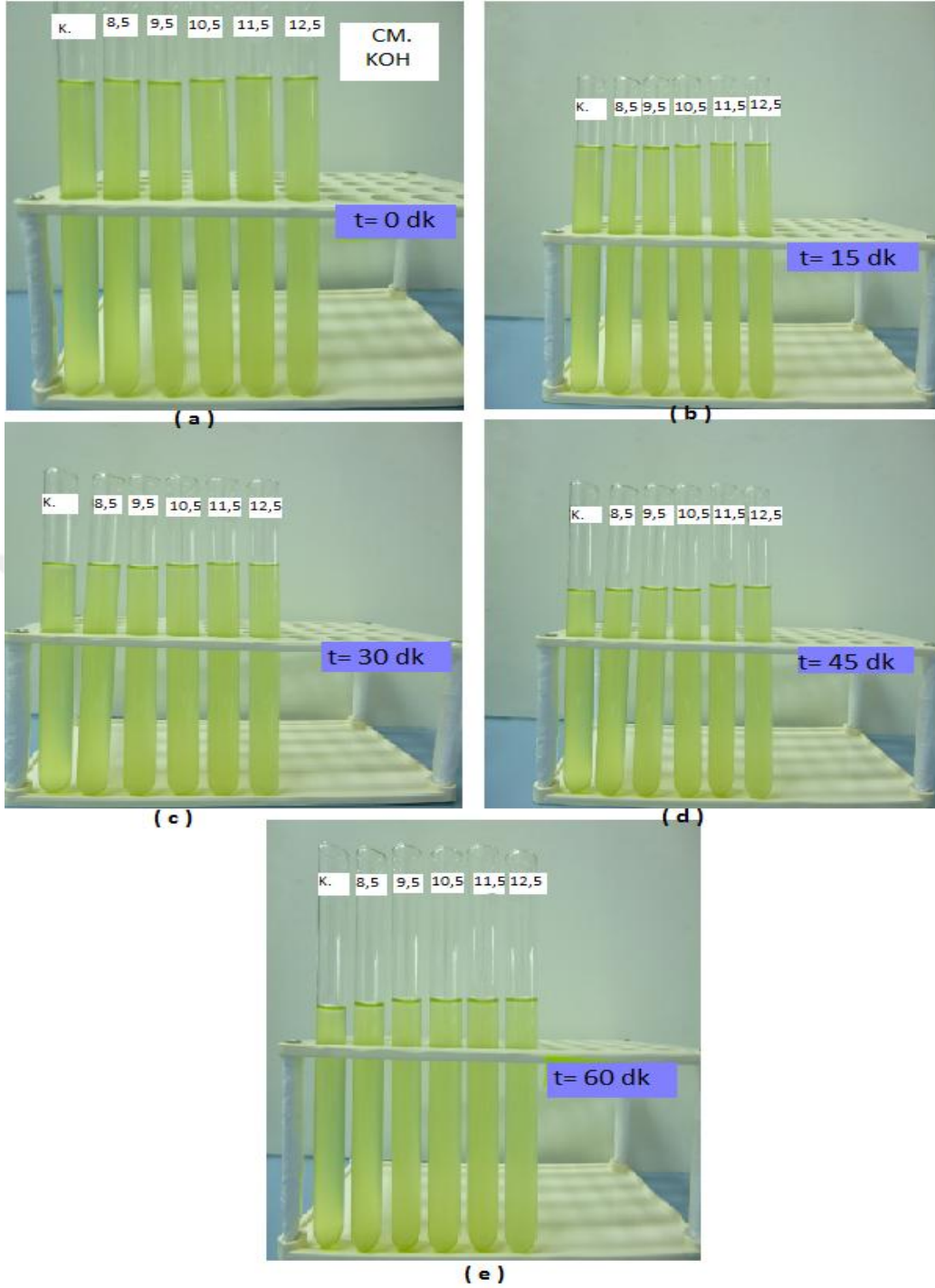
NaOH ile pH'ı 10,5'a ayarlanan mikroalg çözeltilisinin 15 dk sonraki flokülasyon verimliliği yaklaşık %91,52 iken, KOH ile pH'ı 10,5'a ayarlanan mikroalg çözeltilisinin 15 dk sonraki flokülasyon verimliliği yaklaşık %92,63 olarak bulunmuştur. Bu sonuca bakılarak denilebilir ki, *Nannochloropsis oculata* mikroalg türü için pH artışı ile flokülasyon sağlanmak isteniyorsa NaOH çözeltisi istenen pH'ı elde etmek için kullanılan çözelti olabilir. Çünkü, her iki çözeltiyle de sağlanan verimliliğin arasında pek bir fark yoktur ve KOH'in maliyeti, NaOH'a göre daha fazla olduğundan böylelikle prosesin maliyeti düşürülmüş olur.

Bu çalışmada, *Nannochloropsis oculata* mikroalg türünün hem NaOH hem de KOH flokülantları ile pH artışının etkili bir flokülasyon sağladığı ve elde edilen sonuçların literatürdeki çalışmalar [57] ile uyumlu olduğu görülmüştür.

4.1.2 *Chlorella minutissima* Mikroalginin pH Artışı İle Flokülasyonunun Optimizasyonu

4.1.2.1 *Chlorella minutissima* Mikroalginin KOH ile Sağlanan Flokülasyonu

Büyüme eğrisinde durağan fazda olan 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,738 A ve pH değeri 8,1 olan *Chlorella minutissima* mikroalg çözeltisine 1 M KOH eklenerek pH'ları 8,5, 9,5, 10,5, 11,5, 12,5 değerlerine ayarlanmıştır (Şekil 4.5). Çökelme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkisini incelemek amacıyla da 15, 30, 45, 60 dk gibi farklı çökelme zamanlarında flokülasyon verimlilikleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). Hem pH artışının hem de çökelme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünleşik olarak Şekil 4.6'da sunulmuştur.



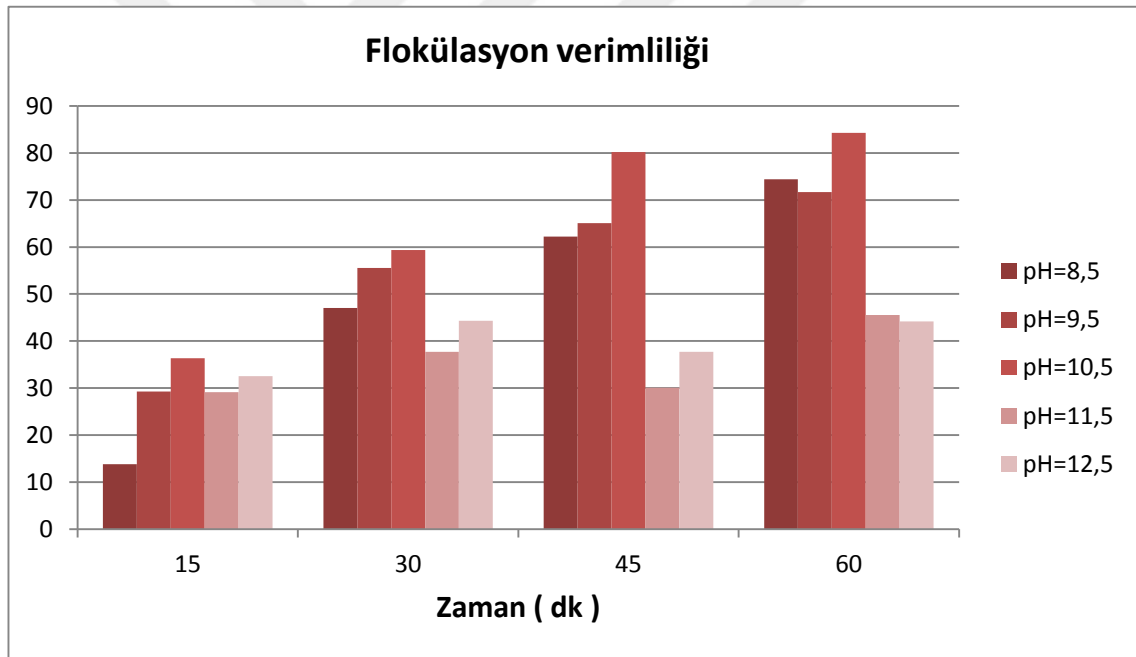
Şekil 4.5 *Chlorella minutissima* mikroalginin KOH ile pH artışı sağlanarak flokülasyonunun gerçekleştirilmesi

(a)pH değerleri ayarlandıktan sonra t=0 anında, (b)çökelmeye bırakıldıktan 15 dk sonra, (c)çökelmeye bırakıldıktan 30 dk sonra, (d)çökelmeye bırakıldıktan 45 dk sonra, (e)çökelmeye bırakıldıktan 60 dk sonra

Çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak her bir pH değerinin flokülasyon verimliliği aşağıdaki çizelgede verilmiştir:

Çizelge 4.3 *Chlorella minutissima* türünün KOH ile sağlanan pH değerlerine göre çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak flokülasyon verimliliği

| pH değerleri | *OD ₇₅₀ (15 dk sonra) | *FV (15 dk sonra) | OD ₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD ₇₅₀ (45 dk sonra) | FV (45 dk sonra) | OD ₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
|---|-------------------------------------|----------------------|------------------------------------|---------------------|------------------------------------|---------------------|------------------------------------|---------------------|
| Doğal çökeltme sonrası (kontrol numune) | 0,638 | 13,55 | 0,479 | 35,09 | 0,527 | 28,59 | 0,492 | 33,33 |
| 8,5 | 0,636 | 13,82 | 0,391 | 47,02 | 0,279 | 62,19 | 0,189 | 74,39 |
| 9,5 | 0,522 | 29,27 | 0,328 | 55,56 | 0,258 | 65,04 | 0,209 | 71,68 |
| 10,5 | 0,47 | 36,31 | 0,3 | 59,35 | 0,146 | 80,22 | 0,116 | 84,29 |
| 11,5 | 0,523 | 29,13 | 0,46 | 37,67 | 0,516 | 30,08 | 0,402 | 45,53 |
| 12,5 | 0,498 | 32,52 | 0,411 | 44,31 | 0,46 | 37,67 | 0,412 | 44,17 |



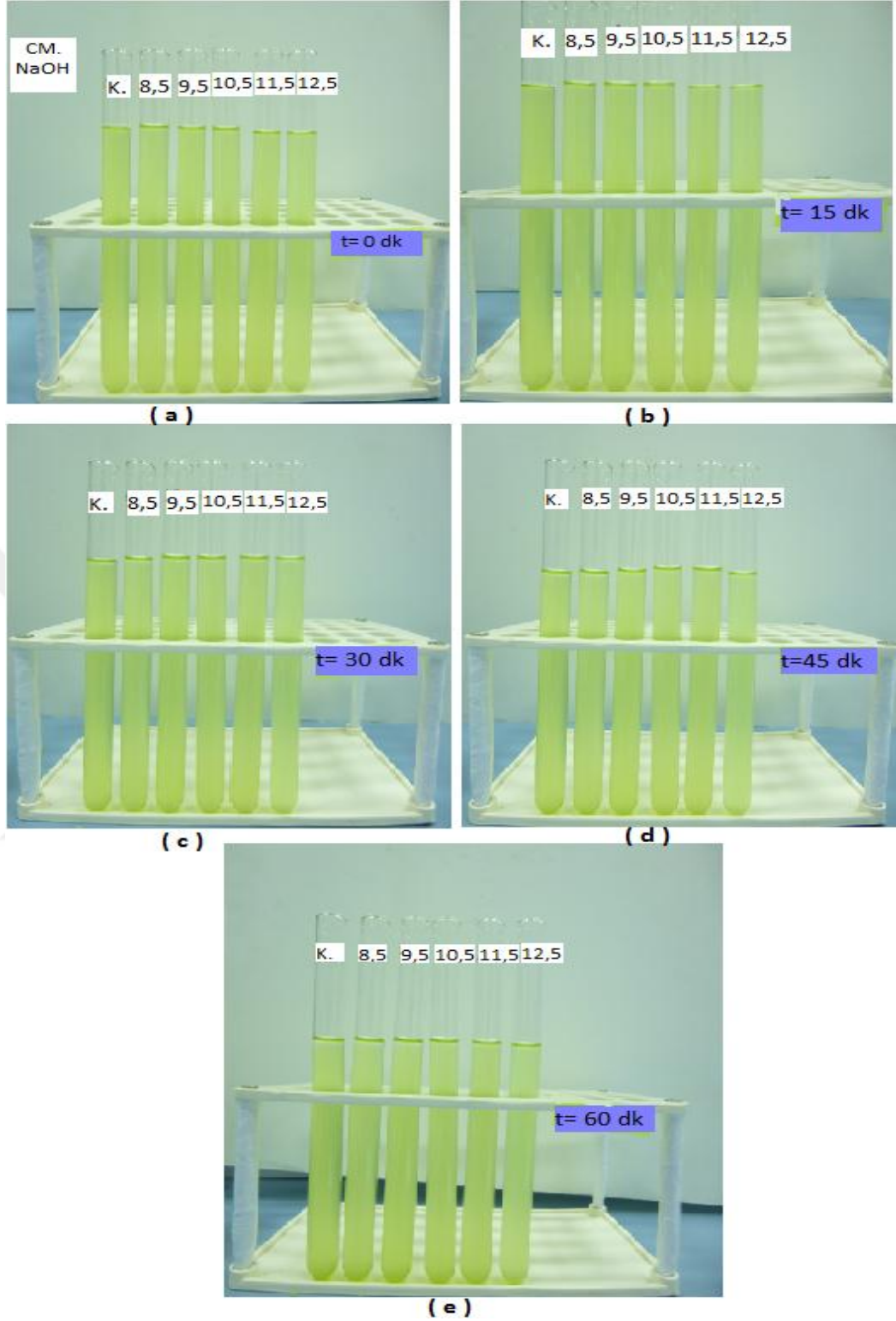
Şekil 4.6 *Chlorella minutissima* türünün KOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

1 M KOH ile pH'ı 10,5'a ayarlanan *Chlorella minutissima* mikroalg çözeltilisinin diğer pH değerlerine göre flokülasyon verimliliği daha yüksektir (Şekil 4.6). Tüm çökeltme zamanlarında flokülasyon verimliliği diğer pH değerlerine göre pH=10,5'ta daha yüksektir. *Chlorella minutissima* mikroalg türünde *Nannochloropsis oculata* mikroalgi

gibi gözle görülür hızlı bir çöküş meydana gelmemiştir (Şekil 4.5). En yüksek flokülasyon verimliliği (%84,29) pH=10,5'ta 60 dk sonra sağlanmıştır. Bu nedenle, *Chlorella minutissima* için KOH ile sağlanan flokülasyonda optimum pH değeri 10,5, çökme zamanı 60 dk olarak seçilebilir.

4.1.2.2 *Chlorella minutissima* Mikroalginin NaOH ile Sağlanan Flokülasyonu

Büyüme eğrisinde durağan fazda olan 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,738 A ve pH değeri 8,1 olan *Chlorella minutissima* mikroalg çözeltilisine 1 M NaOH eklenerek pH'ları 8,5, 9,5, 10,5, 11,5, 12,5 değerlerine ayarlanmıştır (Şekil 4.7). Çökme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkisini incelemek amacıyla da 15, 30, 45, 60 dk gibi farklı çökme zamanlarında flokülasyon verimlilikleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.4). Hem pH artışının hem de çökme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünlük olarak Şekil 4.8'de sunulmuştur.



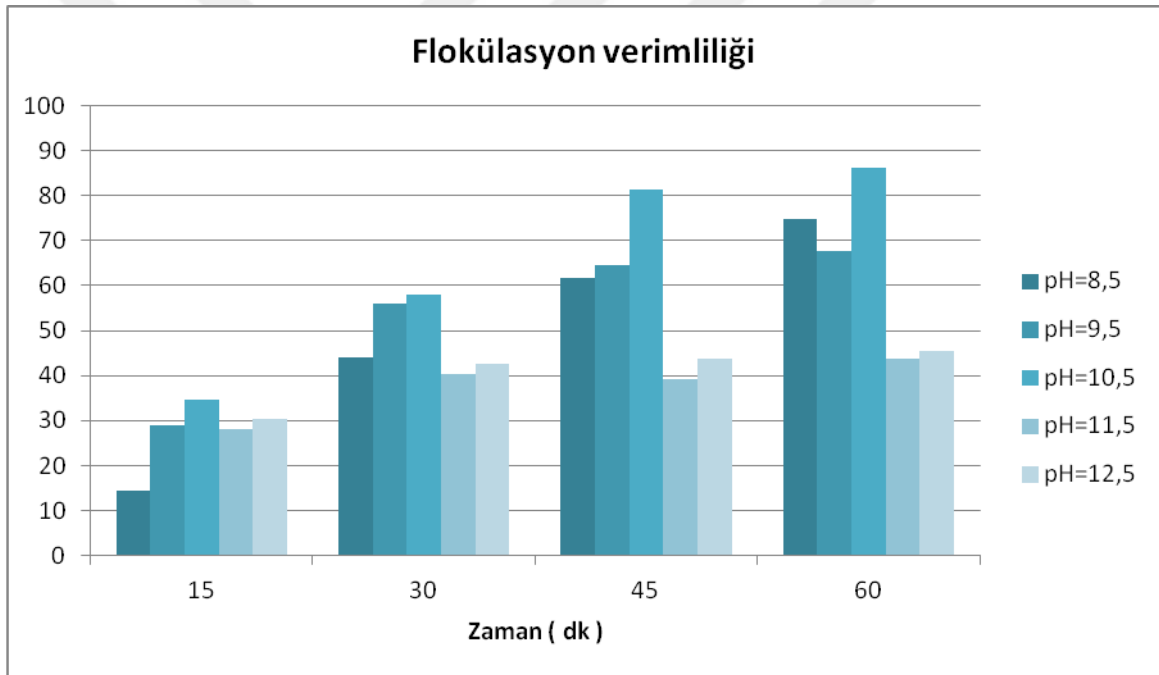
Şekil 4.7 *Chlorella minutissima* mikroalginin NaOH ile pH artışı sağlanarak flokülasyonunun gerçekleştirilmesi

(a)pH değerleri ayarlandıktan sonra t=0 anında, (b)çökelmeye bırakıldıktan 15 dk sonra, (c)çökelmeye bırakıldıktan 30 dk sonra, (d)çökelmeye bırakıldıktan 45 dk sonra, (e)çökelmeye bırakıldıktan 60 dk sonra

Çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak her bir pH değerinin flokülasyon verimliliği aşağıdaki çizelgede verilmiştir:

Çizelge 4.4 *Chlorella minutissima* türünün NaOH ile sağlanan pH değerlerine göre çökelmeye bırakılan zamana bağlı olarak flokülasyon verimliliği

| pH değerleri | *OD ₇₅₀ (15 dk sonra) | *FV (15 dk sonra) | OD ₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD ₇₅₀ (45 dk sonra) | FV (45 dk sonra) | OD ₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
|---|--|-------------------------|---------------------------------------|------------------------|---------------------------------------|------------------------|---------------------------------------|------------------------|
| Doğal çökeltme sonrası (kontrol numune) | 0,628 | 14,91 | 0,482 | 34,69 | 0,485 | 34,28 | 0,38 | 48,51 |
| 8,5 | 0,632 | 14,36 | 0,412 | 44,17 | 0,283 | 61,65 | 0,185 | 74,93 |
| 9,5 | 0,525 | 28,86 | 0,325 | 55,96 | 0,262 | 64,50 | 0,239 | 67,62 |
| 10,5 | 0,483 | 34,55 | 0,31 | 57,99 | 0,138 | 81,30 | 0,102 | 86,18 |
| 11,5 | 0,531 | 28,05 | 0,441 | 40,24 | 0,449 | 39,16 | 0,412 | 44,17 |
| 12,5 | 0,514 | 30,35 | 0,423 | 42,68 | 0,415 | 43,77 | 0,403 | 45,39 |



Şekil 4.8 *Chlorella minutissima* türünün NaOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

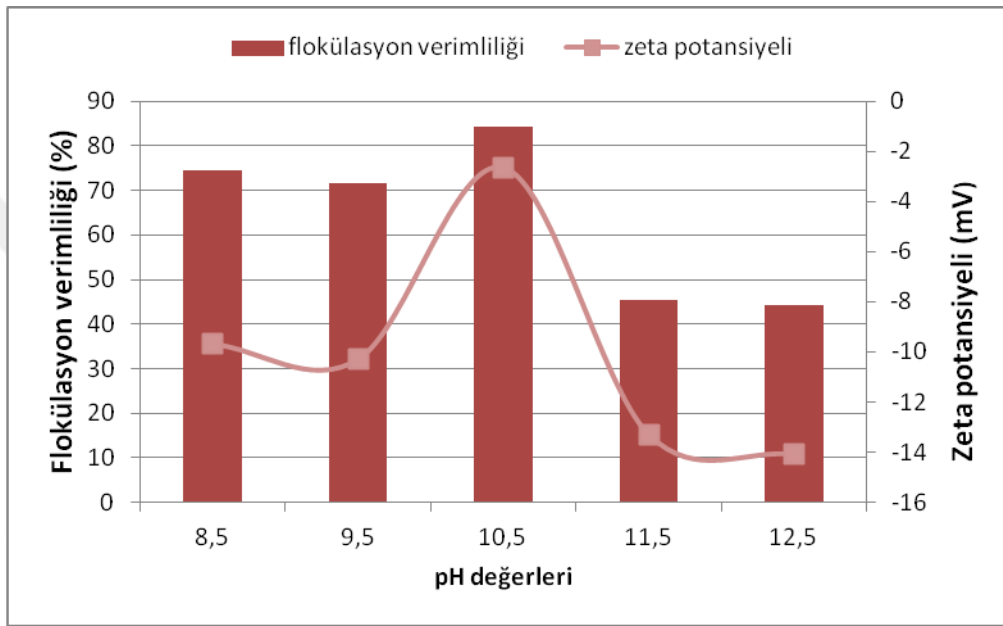
1 M NaOH ile pH'ı 10,5'a ayarlanan *Chlorella minutissima* mikroalg çözeltilisinin diğer pH değerlerine göre flokülasyon verimliliği daha yüksektir (Şekil 4.6). Tüm çökeltme zamanlarında flokülasyon verimliliği diğer pH değerlerine göre pH=10,5'ta daha yüksektir. *Chlorella minutissima* mikroalg türünde *Nannochloropsis oculata* mikroalgi gibi gözle görülür hızlı bir çöküş meydana gelmemiştir (Şekil 4.7). En yüksek flokülasyon

verimliliği (%86,18) pH=10,5'ta 60 dk sonra sağlanmıştır. Bu nedenle, *Chlorella minutissima* için NaOH ile sağlanan flokülasyonda optimum pH değeri 10,5, çökme zamanı 60 dk olarak seçilebilir. Sonuçlar göstermektedir ki, *Chlorella minutissima* KOH ve NaOH ile pH'ı arttırılarak flokülasyonu gerçekleştirilebilecek bir mikroalg türüdür.

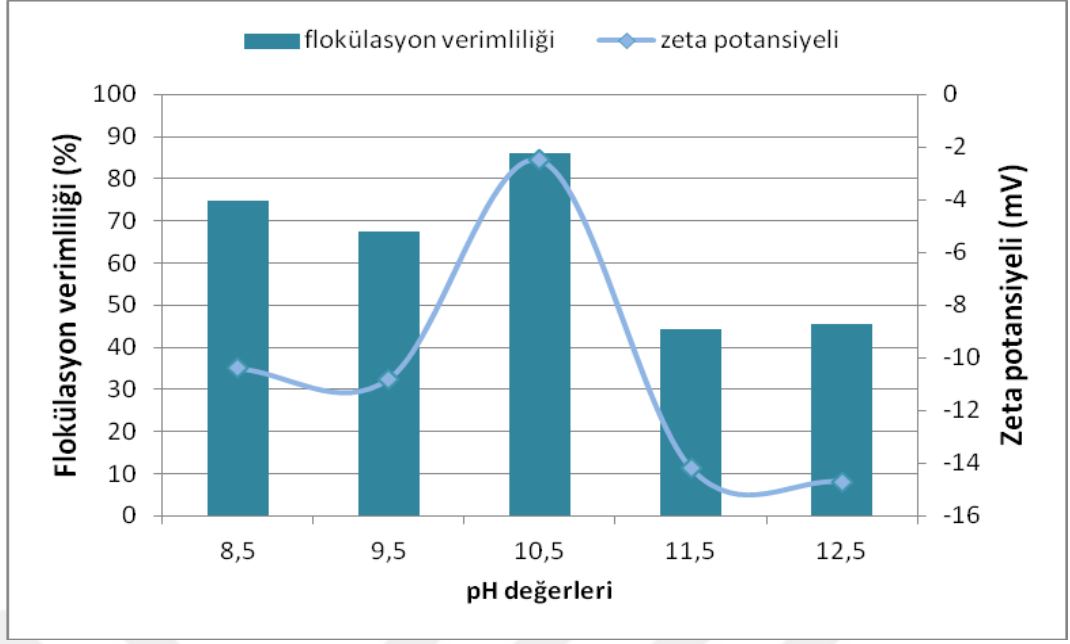
Bu çalışmada, *Chlorella minutissima* mikroalg türünün hem NaOH hem de KOH flokülantları ile pH artışının etkili bir flokülasyon sağladığı görülmüştür. Çok değerlikli bazı metal tuzları, flokülant olarak kültür süspansiyonlarından mikroalgleri hasatlamak için kullanılmıştır ve metal katyonların flokülasyonda hayati olduğu onaylanmıştır [23]. Bu raporlar ışığında, Wu ve ark. [57] yaptığı çalışmada, flokülasyondan önce ve sonra büyüme ortamındaki çok değerli metal katyonlarının konsantrasyonlarını tespit etmişlerdir. Büyüme ortamındaki, Mg^{+2} konsantrasyonunun önemli ölçüde düştüğü bulunmuştur, bu da Mg^{+2} 'nin flokülasyon sürecinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Çalışmada, mekanizmayı daha da araştırmak için; ESEM, EDX analiziyle birleştirilerek mikroalgal flokların (topakların) yüzey morfolojisini ve temel bileşimlerini incelemek için kullanmışlardır. Mikroalgal flokların ağırlıklı olarak alg hücrelerinden oluştuğu ve bu hücrelerin bazı yapıştırıcı madde (aglutinant) ile birlikte floküle olduğu gözlenmiştir. İki bölgedeki temel bileşimler (biri alg hücreleri üzerindeki, diğeri yapıştırıcı madde üzerindeki) araştırılmıştır. EDX analizi, yüksek miktarda magnezyumun aglutinantta tespit edildiğini ortaya koymuştur. Bilindiği gibi alkalin pH aralığı magnezyum hidroksit oluşumuna yol açmaktadır [113]. Yine bu çalışmada [57]; yüksek pH değerlerinde, Mg^{+2} konsantrasyonunun büyüme ortamında azalışı ve aglutinantta yüksek magnezyum içeriğinin oluşu, ortamdaki Mg^{+2} 'nin yüksek pH değerlerinde magnezyum hidroksit çökeltisi oluşturmak üzere hidrolize olduğu önerilmektedir. Magnezyum hidroksit çökeltisi daha sonra mikroalgal hücrelerle etkileşime girerek flokülasyona neden olmuştur. Bununla birlikte, magnezyum hidroksit çökeltisinin mikroalgal hücrelerle nasıl etkileşime girdiği belirsizdir. [57].

4.2 pH artışı ile Flokülasyonu Sağlanan Mikroalg Çözeltilerinin Zeta Potansiyellerinin Ölçümü

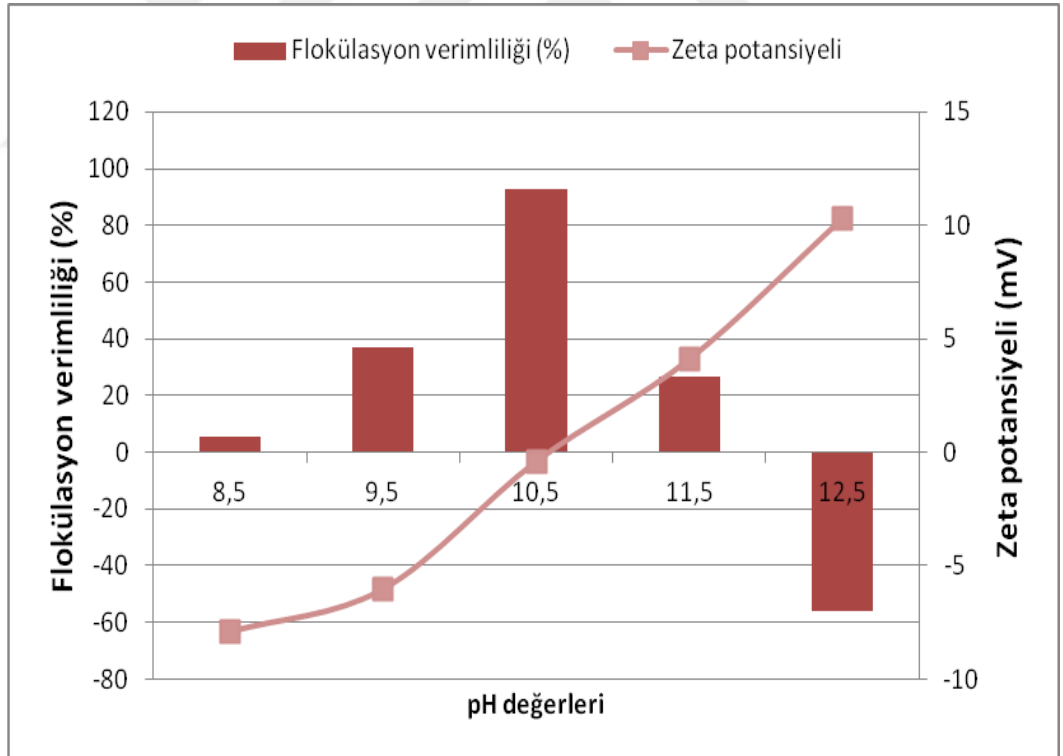
Literatürde, flokülasyon mekanizmasını daha fazla ortaya koymak için önemli bir parametre olan zeta potansiyeli ölçülmektedir. Bu doğrultuda, KOH ve NaOH çözeltileri ile pH artışı sağlanarak flokülasyonu gerçekleştirilen *Chlorella minutissima* ve *Nannochloropsis oculata* mikroalglerinin her bir pH değerinin zeta potansiyelleri ölçülmüş ve sırasıyla Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de sunulmuştur.



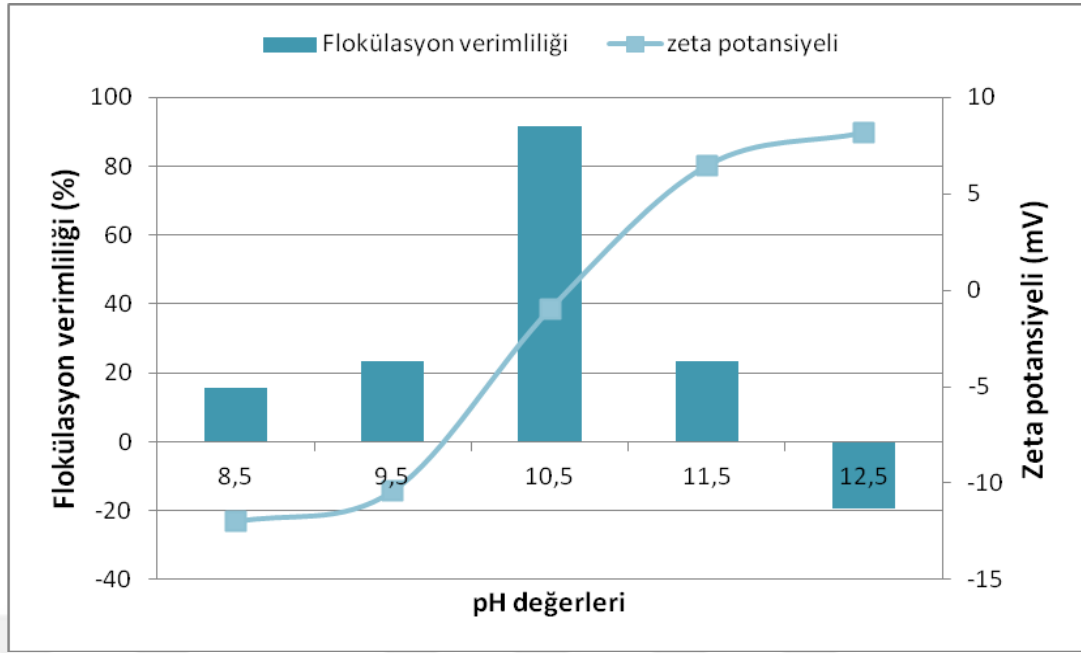
Şekil 4.9 *Chlorella minutissima* türünün KOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda zeta potansiyel ölçümü



Şekil 4.10 *Chlorella minutissima* türünün NaOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda zeta potansiyel ölçümü



Şekil 4.11 *Nannochloropsis oculata* türünün KOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda zeta potansiyel ölçümü



Şekil 4.12 *Nannochloropsis oculata* türünün NaOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda zeta potansiyel ölçümü

Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da görüldüğü gibi tatlı su mikroalgi olan *Chlorella minutissima* için zeta potansiyellerinin eğilimleri öncelikle yukarıya doğru giderek 0'a yaklaşmış daha sonra aşağıya doğru gitmiştir. KOH çözeltisi (Şekil 4.9) ve NaOH çözeltisi (Şekil 4.10) eklenerek pH kademeli olarak arttığında, potansiyeller kademeli olarak azalmış ve pH 10,5'te en düşük değerlere ulaşmıştır. pH 10,5 dönüm noktası olmuş ve pH daha da arttıkça potansiyeller giderek negatif yönde yükselmiştir. Bununla birlikte, tuzlu su mikroalgi *Nannochloropsis oculata* için bir pH dönüm noktası yoktur (Şekil 4.11 ve Şekil 4.12), KOH çözeltisi (Şekil 4.11) ve NaOH çözeltisi (Şekil 4.12) eklenerek pH kademeli olarak arttığında, pH 8,5'tan 12,5'a kadar zeta potansiyel eğilimleri yukarıya doğru gitmiştir ve pH 10,5'ta en düşük değerlere (yaklaşık 0'a) ulaşmıştır. Her iki mikroalg türünde de pH artışı ile yukarıya doğru eğilim oluşu, mikroalg hücrelerinin yüzey yüklerinde azalış olduğunu ve yük nötralizasyonunun bu bölgede meydana geldiğini göstermektedir. Yük nötralizasyonunun en verimli olduğu dolayısıyla flokülasyon verimliliğinin en yüksek olduğu pH değeri her iki mikroalg türü için de 10,5 olarak bulunmuştur. Büyüme ortamındaki Mg^{+2} , pH arttıkça büyük adsorptif yüzey alanına ve pozitif yüzeysel yüke sahip $Mg(OH)_2$ çökeltilerini oluşturmuştur. Çökelti negatif yüklü mikroalgal hücrelerini çekmiş ve böylece elektrik çift tabakanın sıkılaştırılmasına ve alg hücrelerinin stabilize hale gelmesine ve dolayısıyla flokülasyonuna (topaklaşmasına)

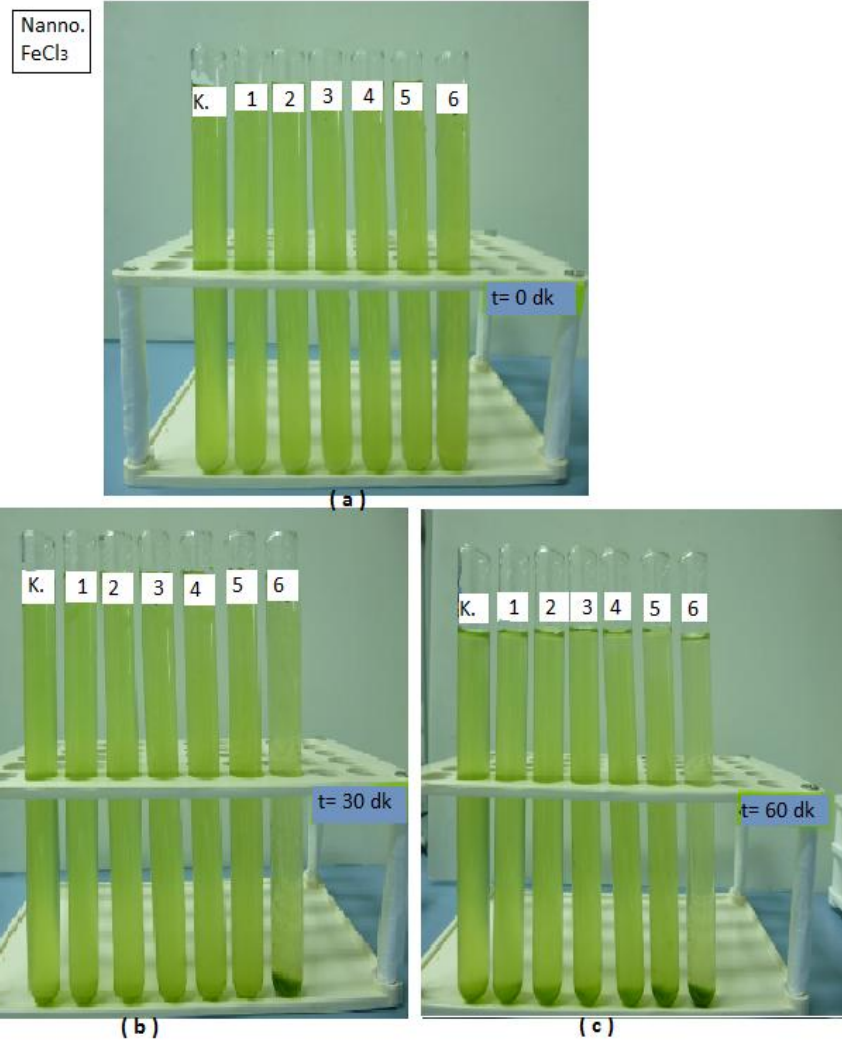
neden olmuştur [57]. *Chlorella minutissima* mikroalginde pH daha da arttıkça zeta potansiyel eğilimlerinin aşağıya doğru gidişi hücrelerin yüzeylerindeki karboksilik asit gruplarının ayrışmasına dayandırılabilir. Çünkü Wu. ve ark.'da [57] yaptığı çalışmada da tatlı su mikroalglerinin zeta potansiyelleri eğiliminde pH dönüm noktası varken, tuzlu su mikroalglerinin zeta potansiyelleri eğiliminde pH dönüm noktası yoktur ve tatlı su mikroalglerinin pH'ı daha da arttıkça zeta potansiyel eğilimlerinin eksi yönde artışı hücrelerin yüzeylerindeki karboksilik asit grupların ayrışmasına dayandırılmıştır. Bulunan sonuçlar, literatürdeki çalışmalar [57] ile uyumluluk göstermektedir.

4.3 Mikroalg Türlerinin Metal Tuzları ile Sağlanan Flokülasyon Performansının Değerlendirilmesi

4.3.1 *Nannochloropsis oculata* Mikroalginin Metal Tuzları İle Flokülasyonunun Sağlanması

4.3.1.1 *Nannochloropsis oculata* Mikroalginin FeCl₃ İle Sağlanan Flokülasyonu

Büyüme eğrisinde durağan fazda ve 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,895 A olan *Nannochloropsis oculata* mikroalg çözeltisine Çizelge 4.5'te belirtilen konsantrasyonlarda FeCl₃ çözeltisi eklenmiştir (Şekil 4.13) ve sırasıyla 30 ve 60 dk çökelme zamanlarındaki flokülasyon verimlilikleri de Çizelge 4.5'de hesaplanmıştır. Hem FeCl₃ konsantrasyonunun hem de çökelme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünleşik olarak Şekil 4.14'de sunulmuştur. Şekil 4.13'de tüplerin numaralandırmadaki artışı flokülant konsantrasyonu ile orantılıdır.

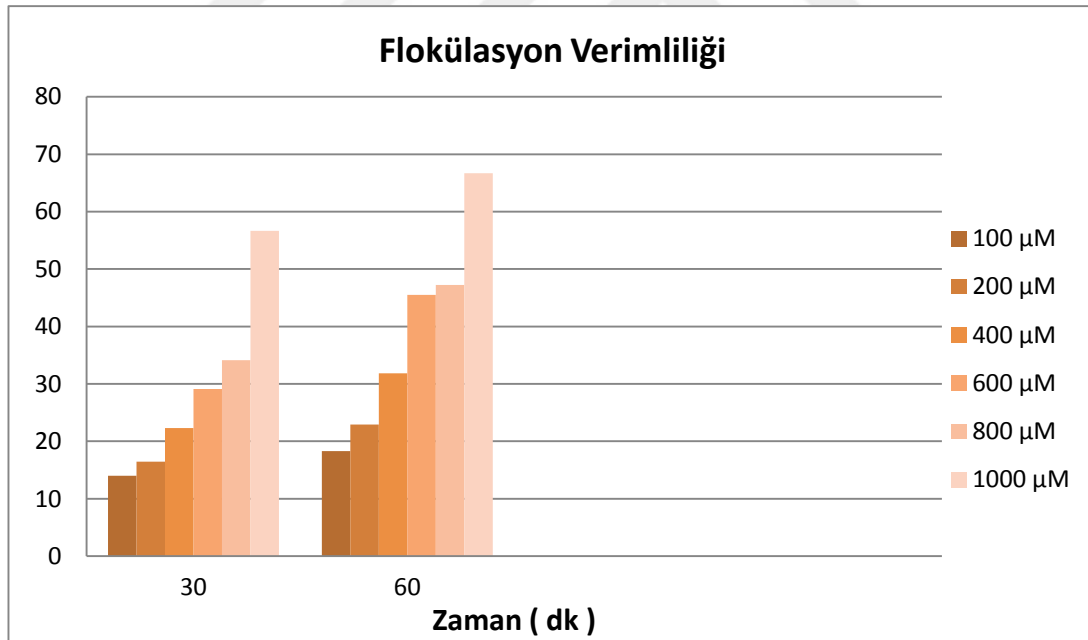


Şekil 4.13 *Nannochloropsis oculata* mikroalginin ile FeCl₃ ile flokülasyonunun gerçekleştirilmesi

(a)pH değerleri ayarlandıktan sonra $t=0$ anında, (b)çökelmeye bırakıldıktan 30 dk sonra, (c)çökelmeye bırakıldıktan 60 dk sonra

Çizelge 4.5 *Nannochloropsis oculata* türünün FeCl₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

| FeCl ₃ konsantrasyonları | OD ₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD ₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
|--|---------------------------------|------------------|---------------------------------|------------------|
| Doğal çökeltme sonrası(kontrol numune) | 0,664 | 4,32 | 0,611 | 11,95 |
| 100 µM | 0,597 | 13,97 | 0,567 | 18,29 |
| 200 µM | 0,58 | 16,42 | 0,535 | 22,91 |
| 400 µM | 0,539 | 22,33 | 0,473 | 31,84 |
| 600 µM | 0,492 | 29,10 | 0,378 | 45,53 |
| 800 µM | 0,457 | 34,14 | 0,366 | 47,26 |
| 1000 µM | 0,301 | 56,62 | 0,231 | 66,71 |

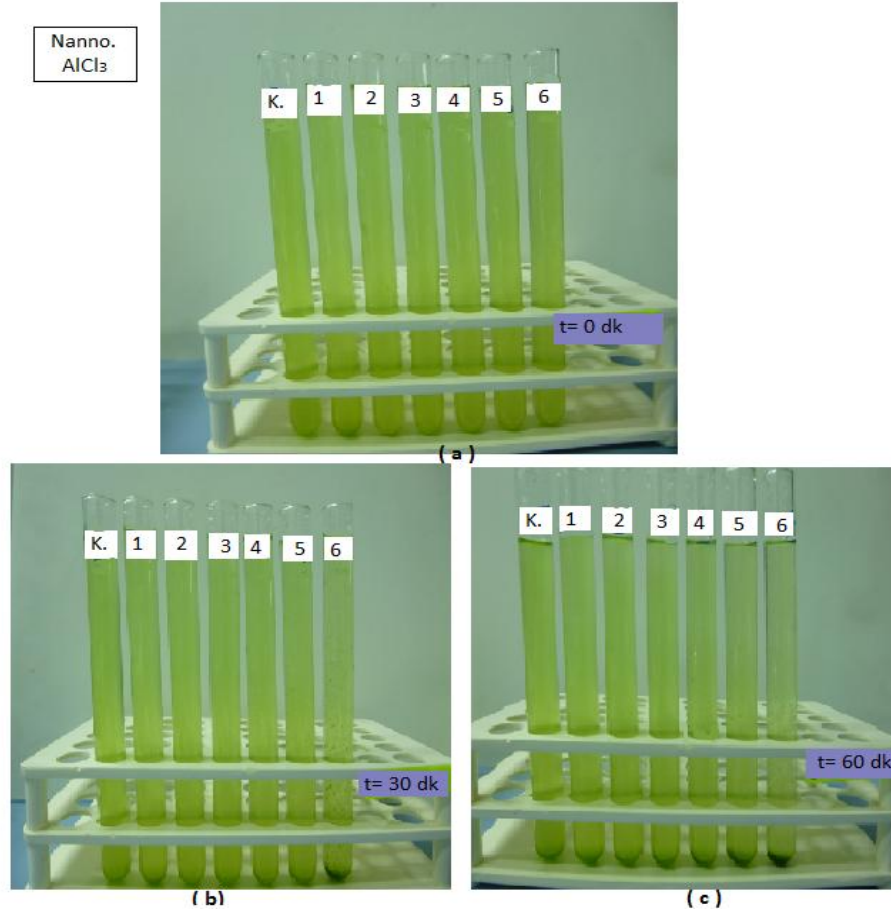


Şekil 4.14 *Nannochloropsis oculata* türünün FeCl₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

Nannochloropsis oculata mikroalgi FeCl_3 ile sağlanan flokülasyonunda en yüksek flokülasyon verimliliğine (%66,71) 1000 μM FeCl_3 konsantrasyonu ve 60 dk çökeltme zamanı sonrasında ulaşmıştır (şekil 4.14).

4.3.1.2 *Nannochloropsis oculata* Mikroalginin AlCl_3 ile Sağlanan Flokülasyonu

Büyüme eğrisinde durağan fazda ve 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,694 A olan *Nannochloropsis oculata* mikroalg çözeltilisine Çizelge 4.6'ta belirtilen konsantrasyonlarda AlCl_3 çözeltisi eklenmiştir (Şekil 4.15) ve sırasıyla 30 ve 60 dk çökeltme zamanlarındaki flokülasyon verimlilikleri Çizelge 4.6'de hesaplanmıştır. Hem AlCl_3 konsantrasyonunun hem de çökeltme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünleşik olarak Şekil 4.16'de sunulmuştur. Şekil 4.15'de tüplerin numaralandırmadaki artışı flokülant konsantrasyonu ile orantılıdır.

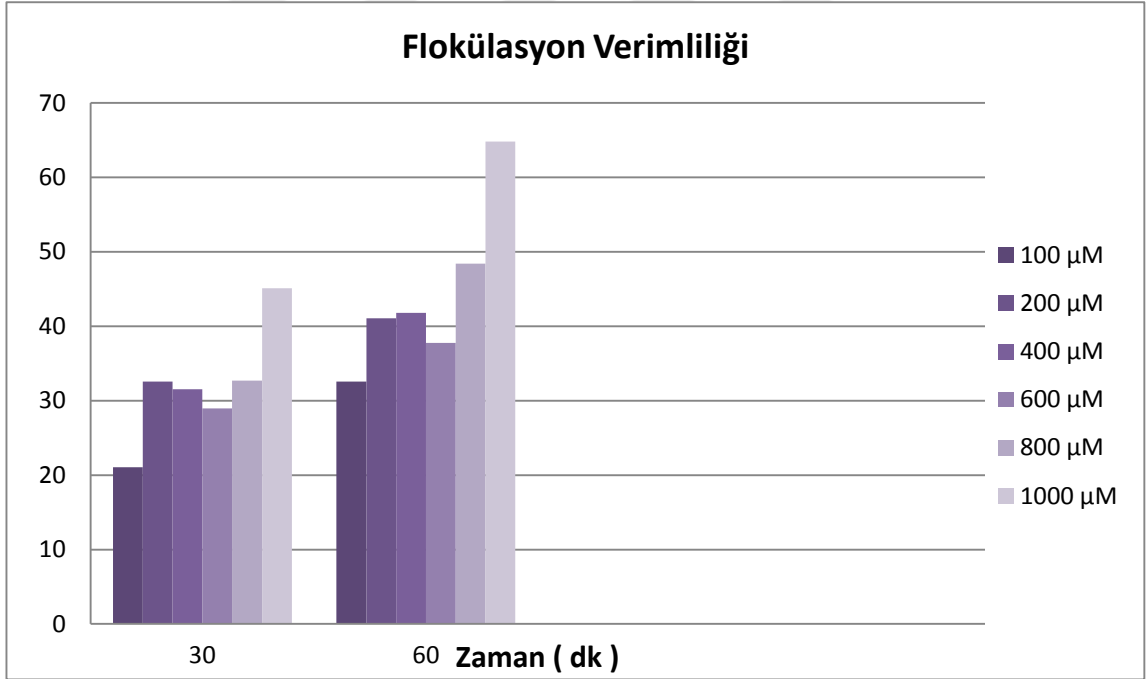


Şekil 4.15 *Nannochloropsis oculata* mikroalginin AlCl_3 ile flokülasyonunun sağlanması

(a)pH değerleri ayarlandıktan sonra t=0 anında, (b)çökelmeye bırakıldıktan 30 dk sonra, (c)çökelmeye bırakıldıktan 60 dk sonra

Çizelge 4.6 *Nannochloropsis oculata* türünün $AlCl_3$ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

| $AlCl_3$ konsantrasyonları | OD ₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD ₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
|--|---------------------------------|------------------|---------------------------------|------------------|
| Doğal çökeltme sonrası(kontrol numune) | 0,64 | 7,78 | 0,606 | 12,68 |
| 100 μM | 0,548 | 21,03 | 0,468 | 32,56 |
| 200 μM | 0,468 | 32,56 | 0,409 | 41,06 |
| 400 μM | 0,475 | 31,55 | 0,404 | 41,78 |
| 600 μM | 0,493 | 28,96 | 0,432 | 37,75 |
| 800 μM | 0,467 | 32,70 | 0,358 | 48,41 |
| 1000 μM | 0,381 | 45,10 | 0,244 | 64,84 |



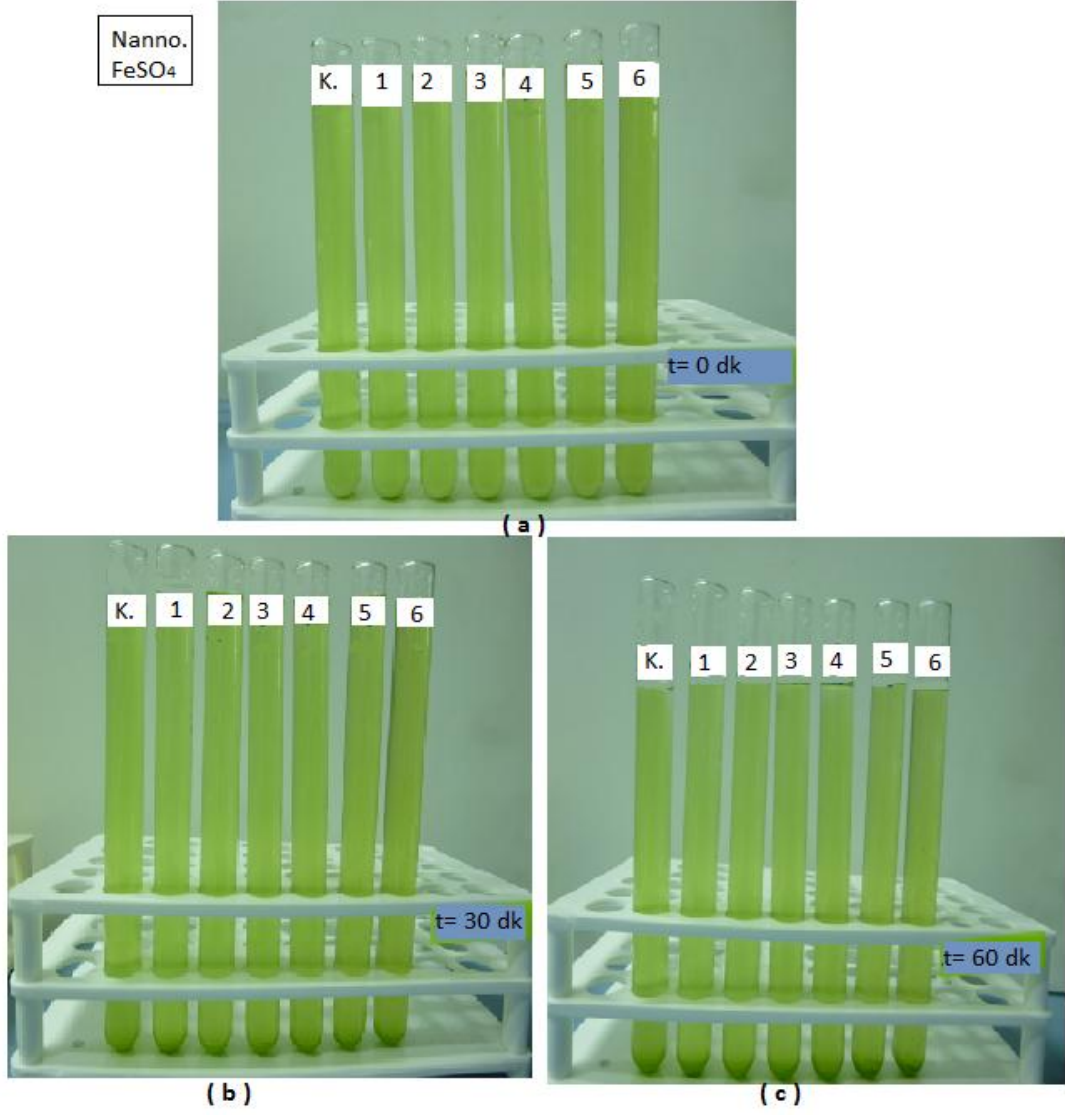
Şekil 4.16 *Nannochloropsis oculata* türünün $AlCl_3$ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

Nannochloropsis oculata mikroalgi $AlCl_3$ ile sağlanan flokülasyonunda en yüksek flokülasyon verimliliğine (%64,84) 1000 μM $AlCl_3$ konsantrasyonu ve 60 dk çökeltme zamanı sonunda ulaşmıştır (şekil 4.16).

4.3.1.3 *Nannochloropsis oculata* Mikroalginin $FeSO_4$ İle Sağlanan Flokülasyonu

Büyüme eğrisinde durağan fazda ve 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,694 A olan *Nannochloropsis oculata* mikroalg çözeltilisine Çizelge 4.7'ta belirtilen konsantrasyonlarda $FeSO_4$ çözeltisi eklenmiştir (Şekil 4.17) ve sırasıyla 30 ve 60 dk çökeltme zamanlarındaki flokülasyon verimlilikleri Çizelge 4.7'de hesaplanmıştır. Hem $FeSO_4$ konsantrasyonunun hem de çökeltme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünleşik olarak Şekil 4.18'de sunulmuştur.

Şekil 4.17'te tüplerin numaralandırmadaki artışı flokülant konsantrasyonu ile orantılıdır.

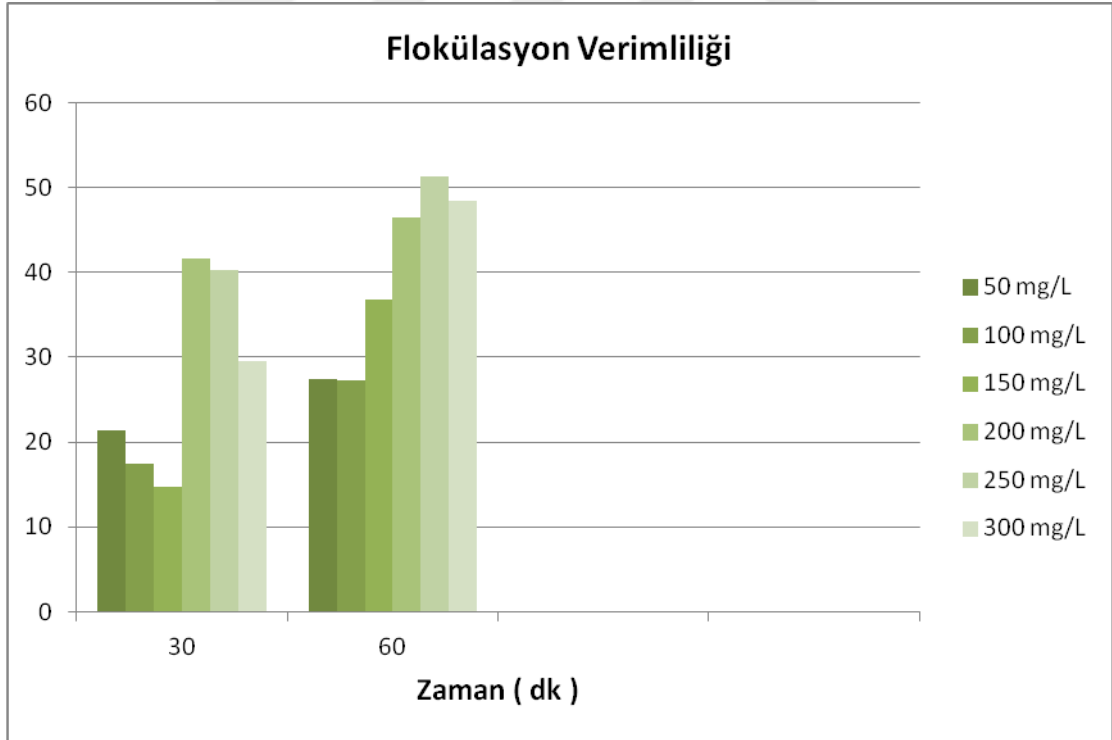


Şekil 4.17 *Nannochloropsis oculata* mikroalginin FeSO₄ ile flokülasyonunun sağlanması

(a)pH değerleri ayarlandıktan sonra t=0 anında, (b)çökelmeye bırakıldıktan 30 dk sonra, (c)çökelmeye bırakıldıktan 60 dk sonra

Çizelge 4.7 *Nannochloropsis oculata* türünün FeSO₄ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

| FeSO ₄ konsantrasyonları | OD ₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD ₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
|--|---------------------------------|------------------|---------------------------------|------------------|
| Doğal çökeltme sonrası(kontrol numune) | 0,666 | 4,034 | 0,588 | 15,27 |
| 50 mg/L | 0,546 | 21,32 | 0,504 | 27,37 |
| 100 mg/L | 0,573 | 17,43 | 0,505 | 27,23 |
| 150 mg/L | 0,592 | 14,69 | 0,439 | 36,74 |
| 200 mg/L | 0,405 | 41,64 | 0,371 | 46,54 |
| 250 mg/L | 0,414 | 40,34 | 0,338 | 51,29 |
| 300 mg/L | 0,489 | 29,53 | 0,358 | 48,41 |



Şekil 4.18 *Nannochloropsis oculata* türünün FeSO₄ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

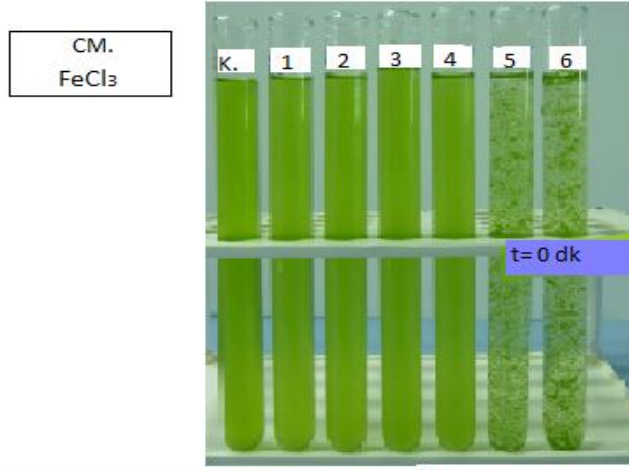
Nannochloropsis oculata mikroalgi FeSO₄ ile sağlanan flokülasyonunda en yüksek flokülasyon verimliliğine (%51,29) 250 mg/L FeSO₄ konsantrasyonu ve 60 dk çökme zamanı sonunda ulaşmıştır (şekil 4.18).

Nannochloropsis oculata mikroalginin metal tuzları ile flokülasyonunda; FeCl₃, AlCl₃, FeSO₄ metal tuzları sırasıyla %66,71, %64,84, %48,41 flokülasyon verimliliği sağlamışlardır. FeCl₃ ve AlCl₃ metal tuzları birbirlerine yakın ve FeSO₄ metal tuzuna göre ise daha etkili bir flokülasyon verimliliği sağlamışlardır.

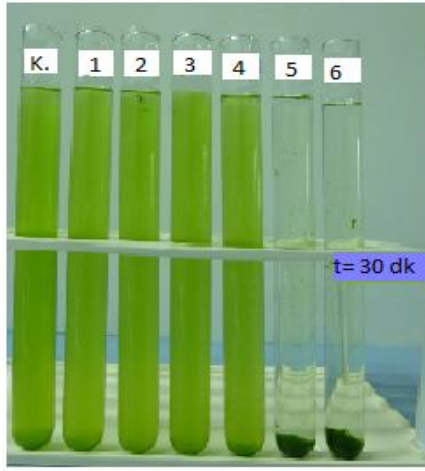
4.3.2 *Chlorella minutissima* Mikroalginin Metal Tuzları İle Flokülasyonunun Sağlanması

4.3.2.1 *Chlorella minutissima* Mikroalginin FeCl₃ İle Sağlanan Flokülasyonu

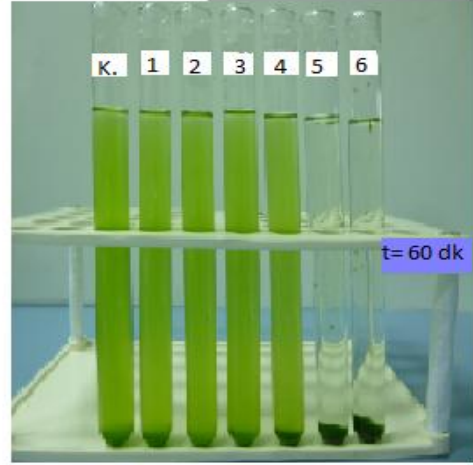
Büyüme eğrisinde durağan fazda ve 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,895 A olan *Chlorella minutissima* mikroalg çözeltilisine Çizelge 4.8'de belirtilen konsantrasyonlarda FeCl₃ çözeltilisi eklenmiştir (Şekil 4.19) ve 30 ve 60 dk çökme zamanlarındaki flokülasyon verimlilikleri de Çizelge 4.8'de hesaplanmıştır. Hem FeCl₃ konsantrasyonunun hem de çökme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünleşik olarak Şekil 4.20'de sunulmuştur.



(a)



(b)



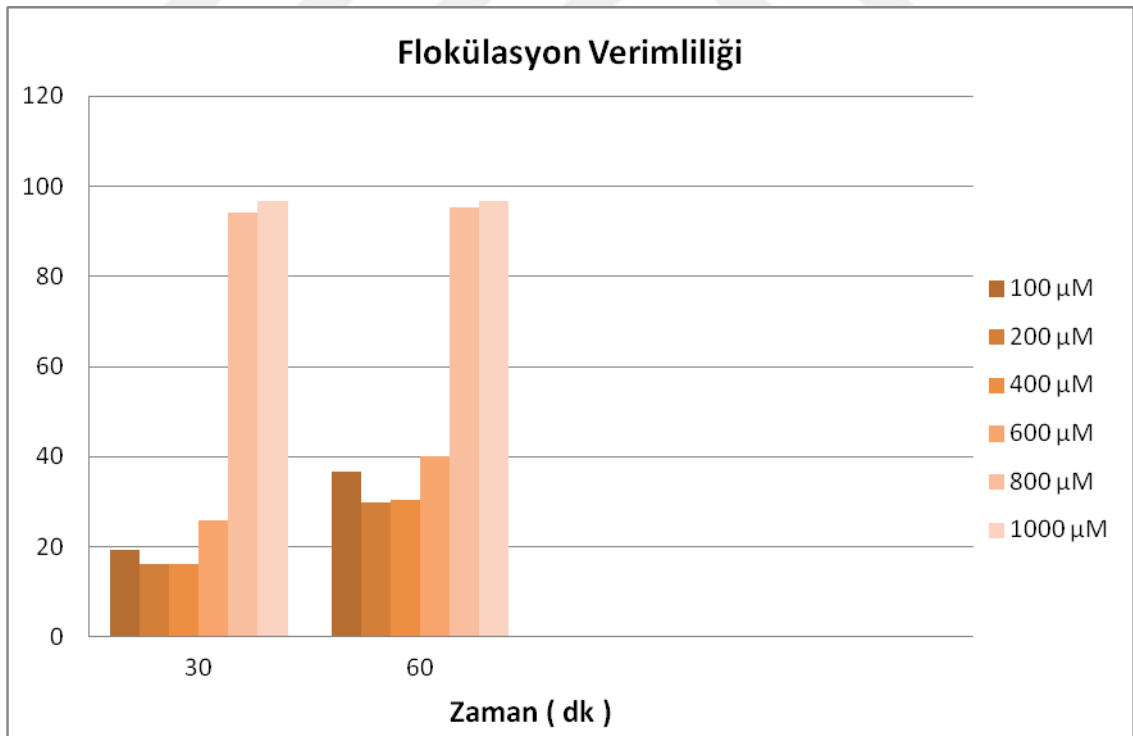
(c)

Şekil 4.19 *Chlorella minutissima* mikroalginin FeCl₃ ile flokülasyonunun sağlanması

(a)pH değerleri ayarlandıktan sonra t=0 anında, (b)çökelmeye bırakıldıktan 30 dk sonra, (c)çökelmeye bırakıldıktan 60 dk sonra

Çizelge 4.8 *Chlorella minutissima* türünün FeCl₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

| FeCl ₃ Konsantrasyonları | OD ₇₅₀ (30 dk sonra) | FV(30 dk sonra) | OD ₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
|--|---------------------------------|-----------------|---------------------------------|------------------|
| Doğal çökeltme sonrası(kontrol numune) | 0,767 | 14,30 | 0,651 | 27,26 |
| 100 µM | 0,723 | 19,21 | 0,568 | 36,53 |
| 200 µM | 0,75 | 16,20 | 0,627 | 29,94 |
| 400 µM | 0,75 | 16,20 | 0,622 | 30,50 |
| 600 µM | 0,665 | 25,69 | 0,536 | 40,11 |
| 800 µM | 0,051 | 94,30 | 0,043 | 95,19 |
| 1000 µM | 0,028 | 96,87 | 0,028 | 96,87 |

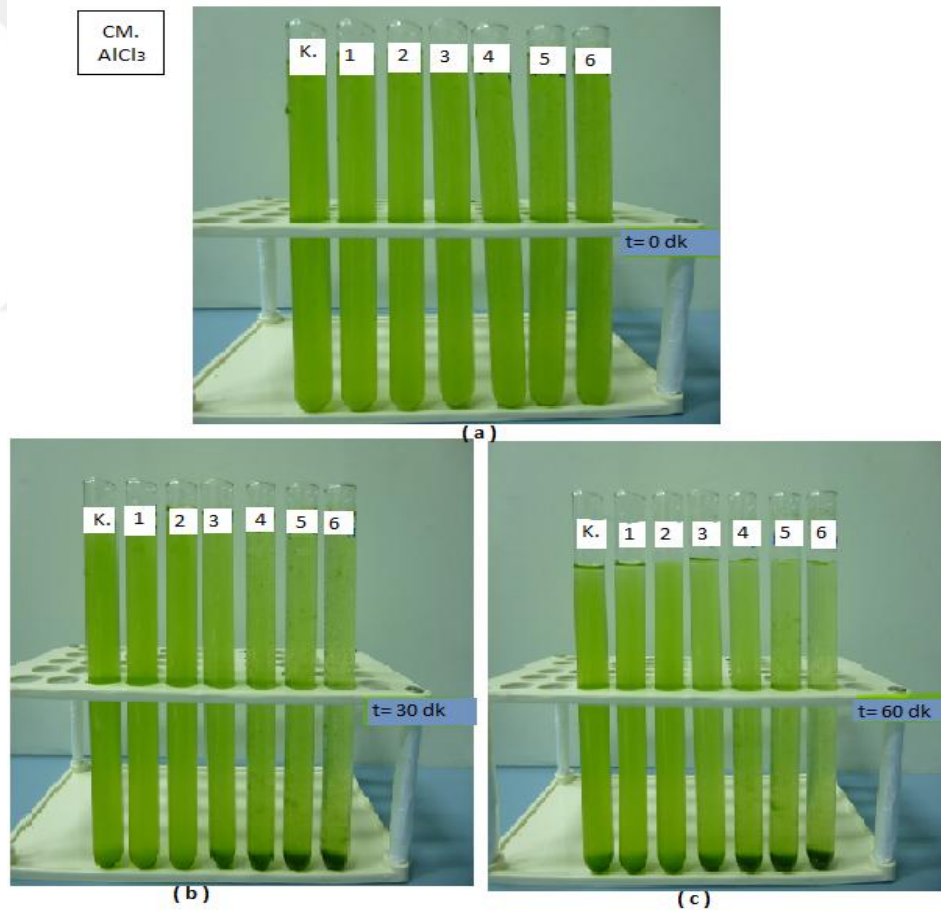


Şekil 4.20 *Chlorella minutissima* türünün FeCl₃ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

Chlorella minutissima mikroalgi FeCl_3 ile sağlanan flokülasyonunda en yüksek flokülasyon verimliliğine (%96,87) 1000 μM FeCl_3 konsantrasyonu ve 30 dk çökeltme zamanı sonrasında ulaşmıştır (Şekil 4.20).

4.3.2.2 *Chlorella minutissima* Mikroalginin AlCl_3 İle Sağlanan Flokülasyonu

Büyüme eğrisinde durağan fazda ve 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,922 A olan *Chlorella minutissima* mikroalg çözeltilisine Çizelge 4.9'da belirtilen konsantrasyonlarda AlCl_3 çözeltisi eklenmiştir (Şekil 4.21) ve sırasıyla 30 ve 60 dk çökeltme zamanlarındaki flokülasyon verimlilikleri de Çizelge 4.9'da hesaplanmıştır. Hem AlCl_3 konsantrasyonunun hem de çökeltme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünlük olarak Şekil 4.22'de sunulmuştur.

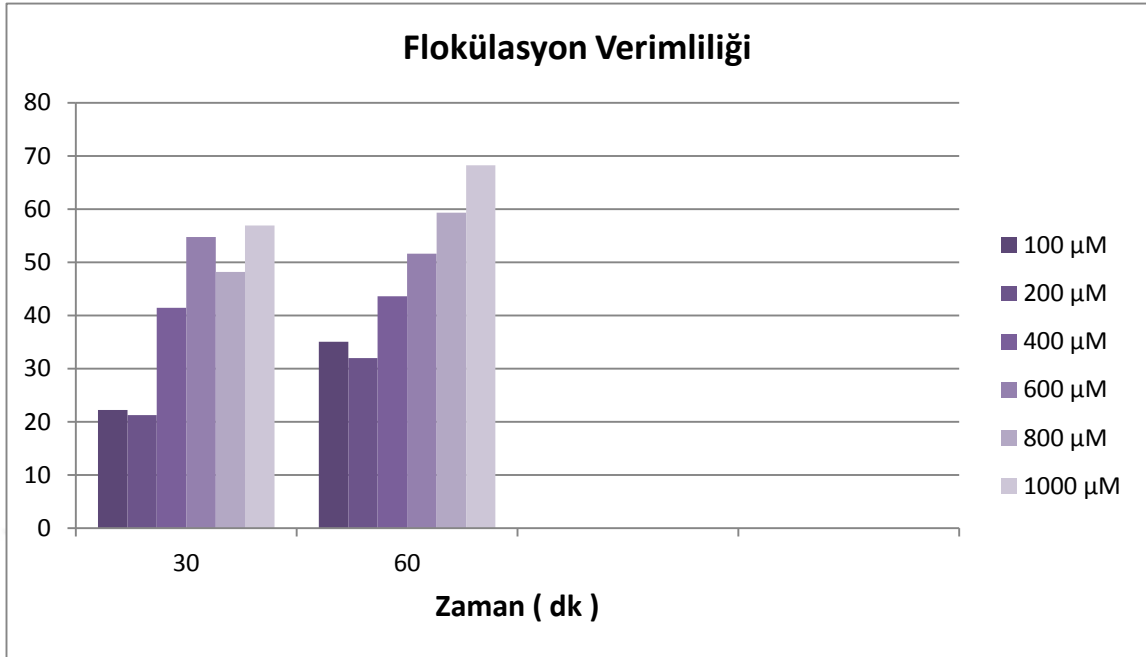


Şekil 4.21 *Chlorella minutissima* mikroalginin AlCl_3 ile flokülasyonunun sağlanması

(a)pH değerleri ayarlandıktan sonra t=0 anında, (b)çökelmeye bırakıldıktan 30 dk sonra, (c)çökelmeye bırakıldıktan 60 dk sonra

Çizelge 4.9 *Chlorella minutissima* türünün $AlCl_3$ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

| $AlCl_3$ konsantrasyonları | OD₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
|--|---|---------------------------------|---|---------------------------------|
| Doğal çökelme sonrası(kontrol numune) | 0,735 | 20,28 | 0,708 | 23,21 |
| 100 μM | 0,717 | 22,23 | 0,599 | 35,03 |
| 200 μM | 0,726 | 21,25 | 0,627 | 31,99 |
| 400 μM | 0,54 | 41,43 | 0,52 | 43,60 |
| 600 μM | 0,417 | 54,77 | 0,446 | 51,62 |
| 800 μM | 0,478 | 48,15 | 0,375 | 59,32 |
| 1000 μM | 0,397 | 56,94 | 0,293 | 68,22 |

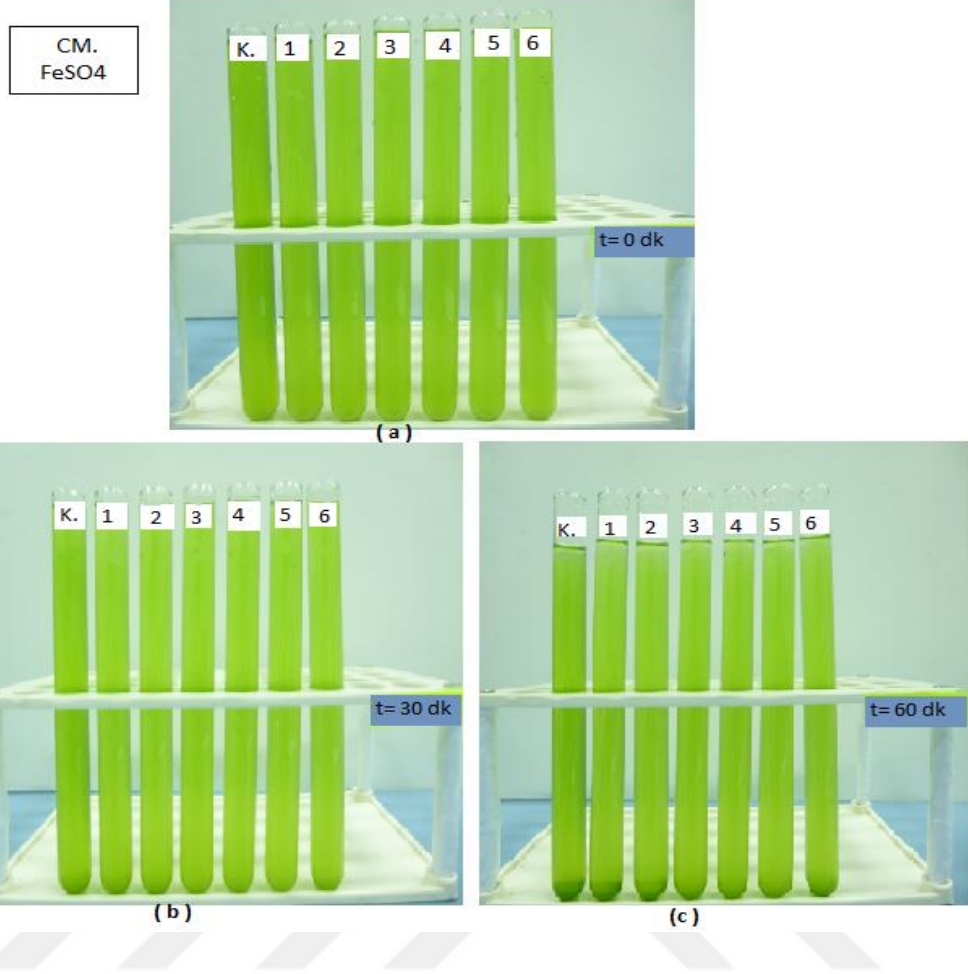


Şekil 4. 22 *Chlorella minutissima* türünün $AlCl_3$ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

Chlorella minutissima mikroalgi $AlCl_3$ ile sağlanan flokülasyonunda en yüksek flokülasyon verimliliğine (%68,22) 1000 μM $AlCl_3$ konsantrasyonu ve 60 dk çökeltme zamanı sonrasında ulaşmıştır (şekil 4.22).

4.3.2.3 *Chlorella minutissima* Mikroalginin $FeSO_4$ İle Sağlanan Flokülasyonu

Büyüme eğrisinde durağan fazda ve 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,922 A olan *Chlorella minutissima* mikroalg çözeltilisine Çizelge 4.10'da belirtilen konsantrasyonlarda $FeSO_4$ çözeltisi eklenmiştir (Şekil 4.23) ve sırasıyla 30 ve 60 dk çökeltme zamanlarındaki flokülasyon verimlilikleri de Çizelge 4.10'da hesaplanmıştır. Hem $FeSO_4$ konsantrasyonunun hem de çökeltme zamanının flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünleşik olarak Şekil 4.24'de sunulmuştur.

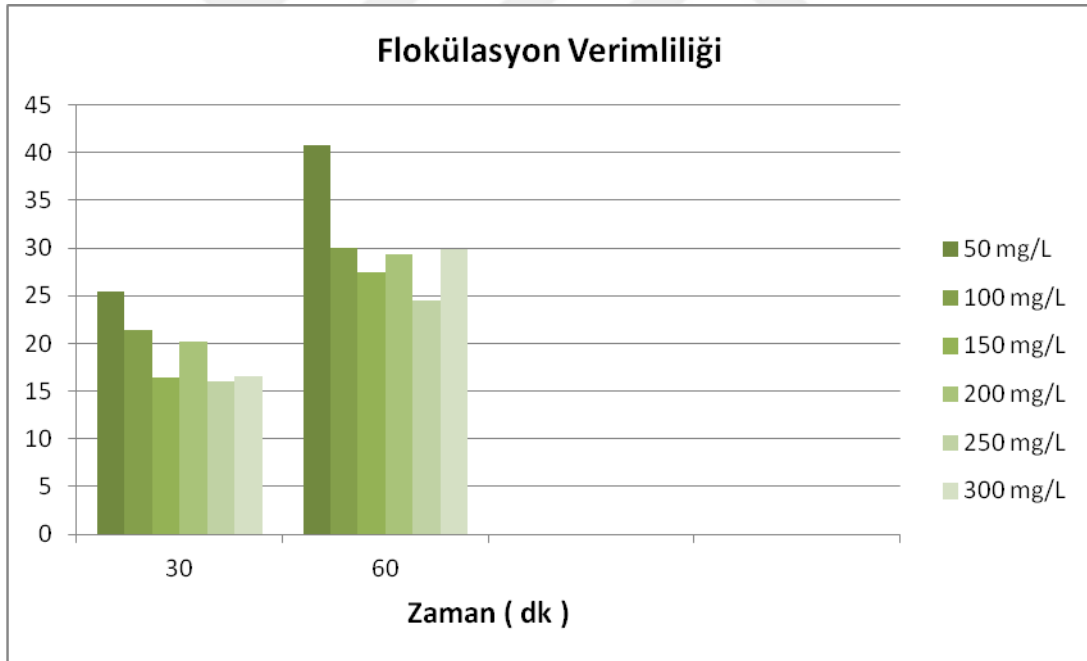


Şekil 4.23 *Chlorella minutissima* mikroalginin FeSO₄ ile flokülasyonunun sağlanması

(a)pH değerleri ayarlandıktan sonra t=0 anında, (b)çökelmeye bırakıldıktan 30 dk sonra, (c)çökelmeye bırakıldıktan 60 dk sonra

Çizelge 4.10 *Chlorella minutissima* türünün FeSO₄ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

| FeSO ₄ konsantrasyonları | OD ₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD ₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
|-------------------------------------|---------------------------------|------------------|---------------------------------|------------------|
| Doğal çökme sonrası(kontrol numune) | 0,815 | 11,60 | 0,803 | 12,90 |
| 50 mg/L | 0,688 | 25,37 | 0,546 | 40,78 |
| 100 mg/L | 0,725 | 21,36 | 0,645 | 30,04 |
| 150 mg/L | 0,771 | 16,37 | 0,669 | 27,44 |
| 200 mg/L | 0,736 | 20,17 | 0,652 | 29,28 |
| 250 mg/L | 0,774 | 16,05 | 0,696 | 24,51 |
| 300 mg/L | 0,77 | 16,48 | 0,646 | 29,93 |



Şekil 4.24 *Chlorella minutissima* türünün FeSO₄ ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

Chlorella minutissima mikroalgi FeSO₄ ile sağlanan flokülasyonunda en yüksek flokülasyon verimliliğine (%40,78) 50 mg/L FeSO₄ konsantrasyonu ve 60 dk çökme zamanı sonrasında ulaşmıştır (Şekil 4.22).

Chlorella minutissima mikroalginin metal tuzları ile flokülasyonunda; FeCl₃, AlCl₃, FeSO₄ metal tuzları sırasıyla %96,87, %68,22, %40,78 flokülasyon verimliliği sağlamışlardır. FeCl₃ metal tuzu diğer metal tuzlarına göre daha etkili bir flokülasyona neden olmuştur. Bu sonuç literatür [16] ile desteklenebilir.

4.4 Mikroalg Türlerinin Doğal Bir Biyopolimer Olan Kitosan ile Gerçekleştirilen Flokülasyon Performansının Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasında iki mikroalg türünün kitosanla flokülasyon verimlilikleri farklı kitosan konsantrasyonlarında, pH değerlerinde ve çökelme zamanlarında (30 ve 60 dk) araştırılmıştır.

4.4.1 *Nannochloropsis oculata* Mikroalginin Kitosanla Flokülasyonunun Sağlanması

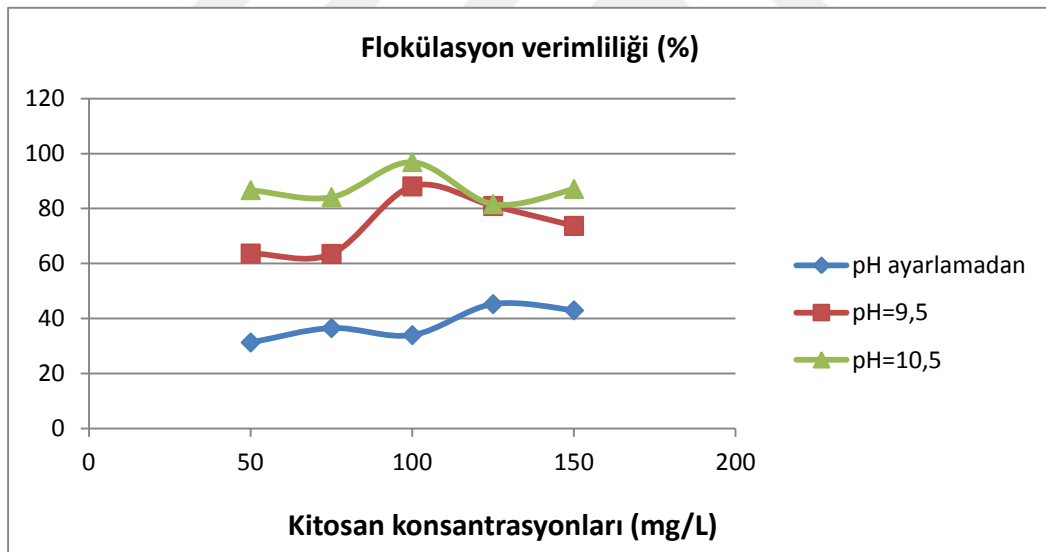
Büyüme eğrisinde durağan fazda, 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,753 A olan ve 1 M NaOH ile farklı pH değerlerine (9,5 ve 10,5) ayarlanan *Nannochloropsis oculata* mikroalg çözeltilisine farklı konsantrasyonlarda (50, 75, 100, 125 ve 150 mg/L) kitosan eklenmiştir. Kitosan konsantrasyonunun, pH değerinin ve çökelme zamanının flokülasyon verimlilikleri üzerine etkileri hesaplanmıştır (Çizelge 4.11). Hem kitosan konsantrasyonunun hem de pH'ın 60 dk sonraki flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünleşik olarak Şekil 4.25'te sunulmuştur.

Çizelge 4.11 *Nannochloropsis oculata* türünün farklı pH değerlerinde kitosan ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

| Doğal pH değeri=8,3 | | | | |
|----------------------------------|---------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|-------------------------|
| Kitosan konsantrasyonları | OD₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
| 50 mg/L | 0,672 | 10,75 | 0,517 | 31,34 |
| 75 mg/L | 0,46 | 38,91 | 0,478 | 36,52 |
| 100 mg/L | 0,552 | 26,69 | 0,497 | 33,99 |
| 125 mg/L | 0,562 | 25,36 | 0,412 | 45,28 |
| 150 mg/L | 0,613 | 18,59 | 0,429 | 43,02 |
| pH=9,5 | | | | |
| Kitosan konsantrasyonları | OD₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
| 50 mg/L | 0,252 | 66,53 | 0,271 | 64,01 |
| 75 mg/L | 0,538 | 28,55 | 0,272 | 63,87 |
| 100 mg/L | 0,267 | 64,54 | 0,089 | 88,18 |
| 125 mg/L | 0,299 | 60,29 | 0,142 | 81,14 |
| 150 mg/L | 0,516 | 31,47 | 0,196 | 73,97 |

Çizelge 4.11 *Nannochloropsis oculata* türünün farklı pH değerlerinde kitosan ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği (devamı)

| pH=10,5 | | | | |
|---------------------------|---------------------------------|------------------|---------------------------------|------------------|
| Kitosan konsantrasyonları | OD ₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD ₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
| 50 mg/L | 0,252 | 66,53 | 0,271 | 64,01 |
| 75 mg/L | 0,538 | 28,55 | 0,272 | 63,87 |
| 100 mg/L | 0,267 | 64,54 | 0,089 | 88,18 |
| 125 mg/L | 0,299 | 60,29 | 0,142 | 81,14 |
| 150 mg/L | 0,516 | 31,47 | 0,196 | 73,97 |



Şekil 4.25 *Nannochloropsis oculata* türünün kitosan ile sağlanan farklı pH değerlerinde 60 dk çökeltme zamanı sonrası flokülasyon verimliliği

Çizelge 4.11 ve Şekil 4.25'te görüldüğü gibi, *Nannochloropsis oculata* mikroalginin pH değeri ayarlanmadan 125 mg/L kitosan konsantrasyonu, 60 dk çökeltme zamanı ile %45,28 flokülasyon verimliliği sağlamıştır. pH değeri 9,5'a ayarlanan mikroalg çözeltilisinde ise 100 mg/L kitosan konsantrasyonu, 60 dk çökeltme zamanı ile %88,18

flokülasyon verimliliği sağlamıştır. En yüksek flokülasyon verimliliği %96,94; pH değeri 10,5, 100 mg/L kitosan konsantrasyonu ve 60 dk çökeltme zamanı ile elde edilmiştir.

4.4.2 *Chlorella minutissima* Mikroalginin Kitosanla Flokülasyonunun Sağlanması

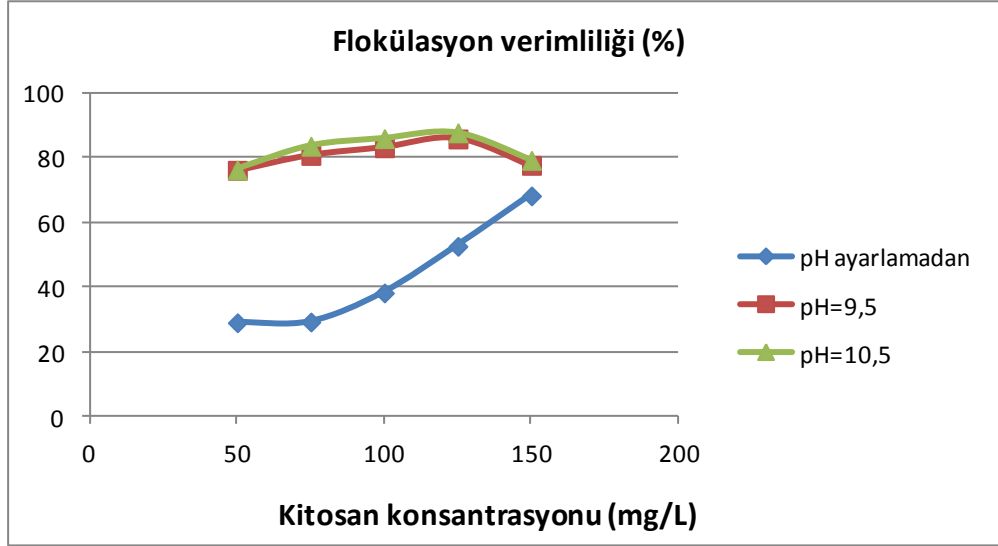
Büyüme eğrisinde durağan fazda, 750 nm'deki optik yoğunluğu 0,846 A olan ve 1 M NaOH ile farklı pH değerlerine (9,5 ve 10,5) ayarlanan *Chlorella minutissima* mikroalg çözeltilisine farklı konsantrasyonlarda (50, 75, 100, 125 ve 150 mg/L) kitosan eklenmiştir. Kitosan konsantrasyonunun, pH değerinin ve çökeltme zamanının flokülasyon verimlilikleri üzerine etkileri hesaplanmıştır (Çizelge 4.12). Hem kitosan konsantrasyonunun hem de pH'ın 60 dk sonraki flokülasyon verimliliği üzerine etkileri bütünlük olarak Şekil 4.26'da sunulmuştur.

Çizelge 4. 12 *Chlorella minutissima* türünün farklı pH değerlerinde kitosan ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği

| Doğal pH değeri=8,2 | | | | |
|---------------------------|---------------------------------|------------------|---------------------------------|------------------|
| Kitosan konsantrasyonları | OD ₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD ₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
| 50 mg/L | 0,67 | 20,80 | 0,601 | 28,95 |
| 75 mg/L | 0,616 | 27,18 | 0,599 | 29,19 |
| 100 mg/L | 0,509 | 39,83 | 0,523 | 38,17 |
| 125 mg/L | 0,428 | 49,40 | 0,401 | 52,60 |
| 150 mg/L | 0,343 | 59,45 | 0,269 | 68,20 |

Çizelge 4.12 *Chlorella minutissima* türünün farklı pH değerlerinde kitosan ile sağlanan çökelmeye bırakılan zamana bağlı flokülasyon verimliliği (devamı)

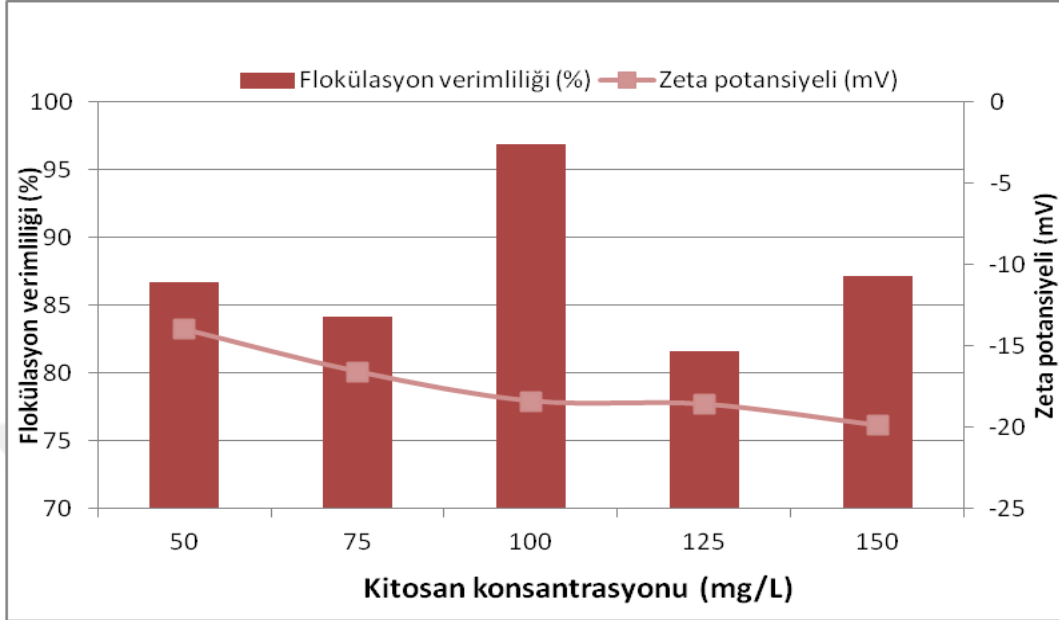
| pH=9,5 | | | | |
|----------------------------------|---------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|-------------------------|
| Kitosan konsantrasyonları | OD₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
| 50 mg/L | 0,7 | 17,25 | 0,202 | 76,12 |
| 75 mg/L | 0,69 | 18,43 | 0,163 | 80,73 |
| 100 mg/L | 0,677 | 19,97 | 0,143 | 83,09 |
| 125 mg/L | 0,617 | 27,06 | 0,12 | 85,81 |
| 150 mg/L | 0,346 | 59,10 | 0,189 | 77,65 |
| pH=10,5 | | | | |
| Kitosan konsantrasyonları | OD₇₅₀ (30 dk sonra) | FV (30 dk sonra) | OD₇₅₀ (60 dk sonra) | FV (60 dk sonra) |
| 50 mg/L | 0,699 | 17,37 | 0,201 | 76,24 |
| 75 mg/L | 0,684 | 19,14 | 0,139 | 83,56 |
| 100 mg/L | 0,685 | 19,03 | 0,119 | 85,93 |
| 125 mg/L | 0,609 | 28,01 | 0,104 | 87,70 |
| 150 mg/L | 0,34 | 59,81 | 0,176 | 79,19 |



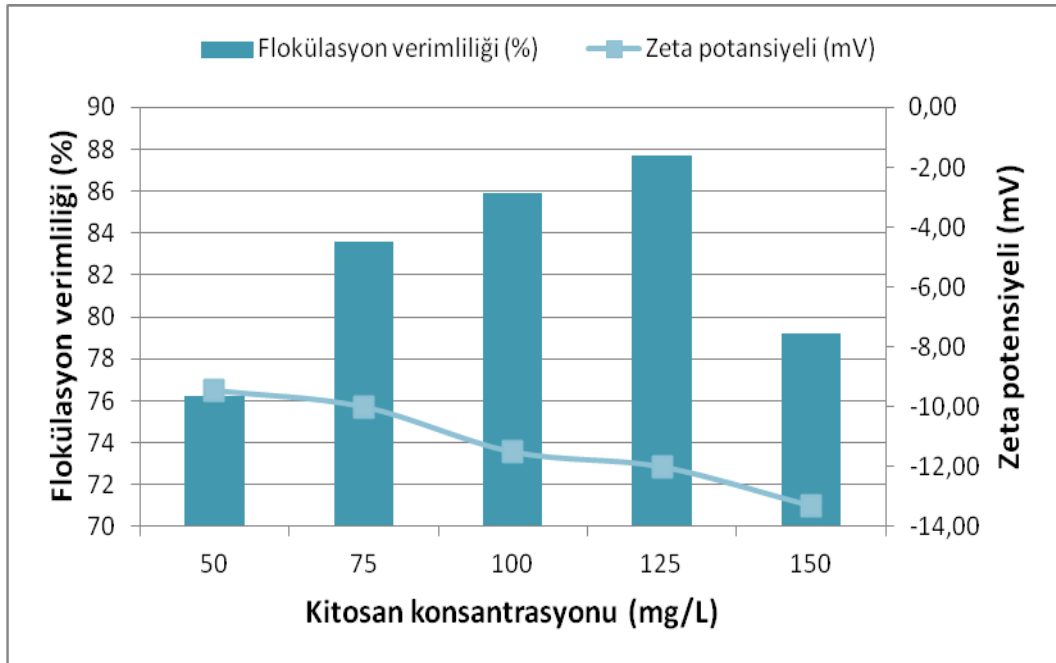
Şekil 4.26 *Chlorella minutissima* türünün kitosan ile sağlanan farklı pH değerlerinde 60 dk çökelme zamanı sonrası flokülasyon verimliliği

Çizelge 4.12 ve Şekil 4.26'da görüldüğü gibi, *Chlorella minutissima* mikroalg, pH değeri ayarlanmadan 150 mg/L kitosan konsantrasyonu ve 60 dk çökelme zamanı ile %68,20 flokülasyon verimliliğine ulaşmıştır. pH değeri 9,5'a ayarlanan mikroalg çözeltisinde 125 mg/L kitosan konsantrasyonu ve 60 dk çökelme zamanı ile %85,81 flokülasyon verimliliği sağlamıştır. En yüksek flokülasyon verimliliği %87,70 ise; pH değeri 10,5, 125 mg/L kitosan konsantrasyonu ve 60 dk çökelme zamanı ile elde edilmiştir.

4.4.3 Kitosan ile Flokülasyonu Sağlanan Mikroalg Çözeltilerinin Zeta Potansiyellerinin Ölçümü



Şekil 4.27 Kitosan ile flokülasyonu sağlanan *Nannochloropsis oculata* mikroalginin zeta potansiyel ölçümü

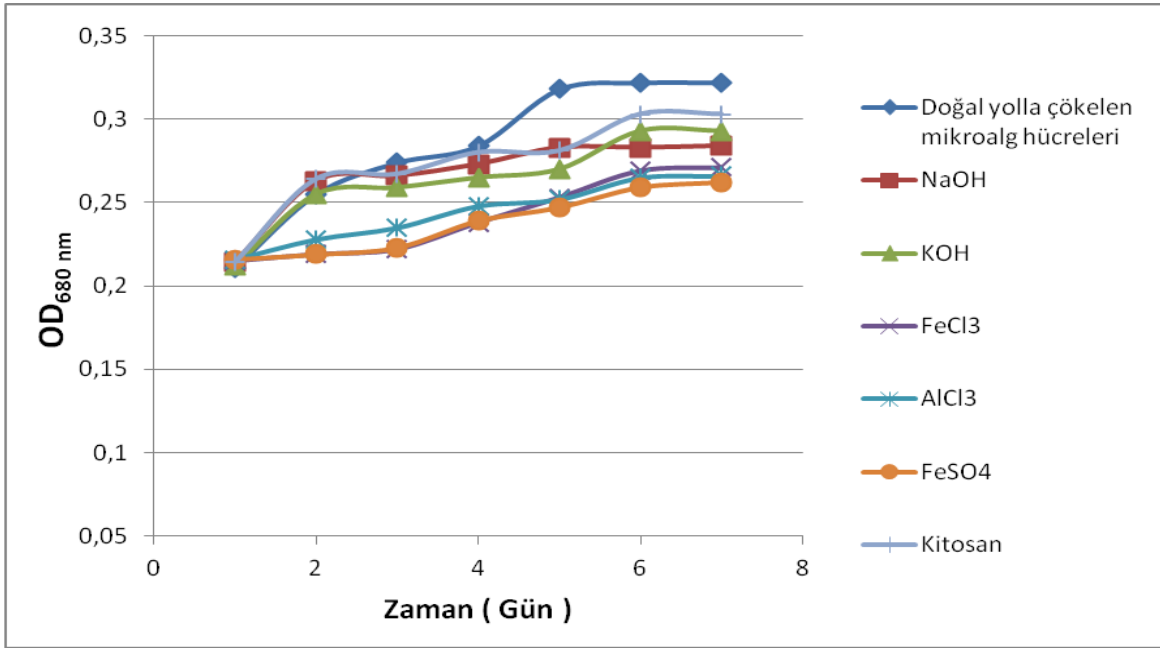


Şekil 4.28 Kitosan ile flokülasyonu sağlanan *Chlorella minutissima* mikroalginin zeta potansiyel ölçümü

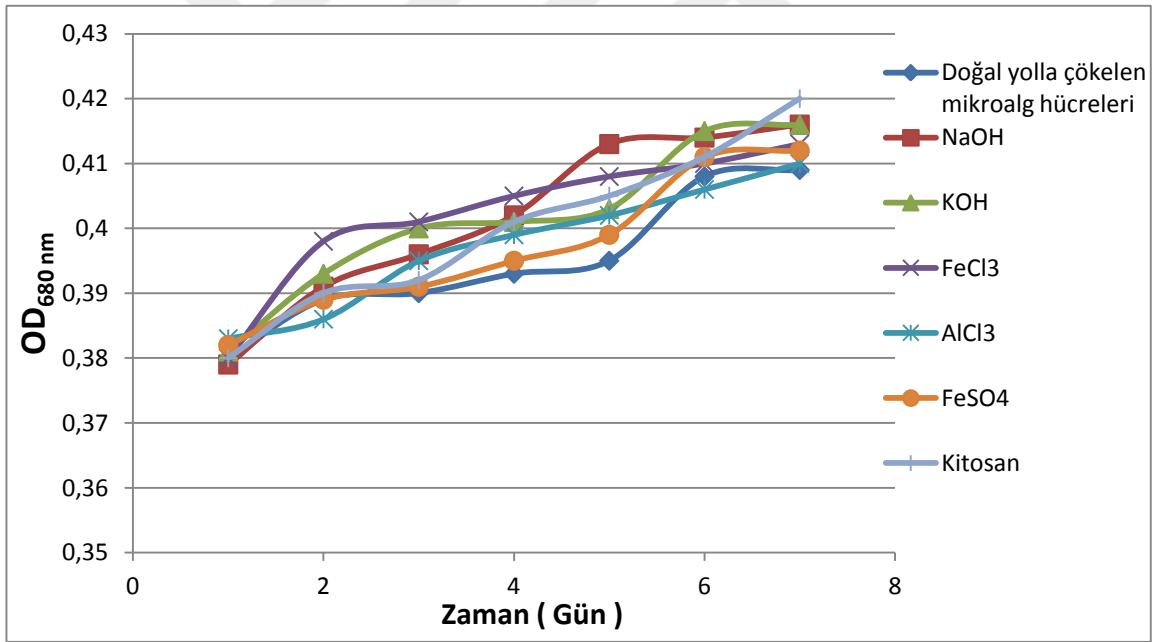
İki mikroalg türünde de Şekil 4.27 ve Şekil 4.28’de görüldüğü gibi zeta potansiyel değerleri flokülant konsantrasyonu ile negatif korelasyon göstermiştir. Fakat, genellikle mikroalg çözeltisinin zeta potansiyeli, flokülant konsantrasyonu ile artmaktadır. Zeta-potansiyelinin azalan eğilimi, muhtemelen, çözeltiye negatif iyonlar salınan mikroalg hücreleri yüzeyindeki karboksilik asit gruplarının ayrışmasına bağlıdır. Literatürde flokülant konsantrasyonu arttıkça zeta potansiyelinin azaldığı çalışmalar [57,93] yer almaktadır. Bu doğrultuda, bulunan sonuçlar literatür ile uyumluluk göstermektedir.

4.5 Çöken Mikroalg Hücrelerinin Canlılığının Araştırılması

Farklı flokülantlarla flokülasyonu sağlanan mikroalg hücrelerinin fizyolojik aktivitesi ve canlılığını araştırmak için, doğal yolla çöken ve flokülantlar aracılığıyla çöken mikroalg hücreleri yeniden yetiştirilmiştir. Böylelikle, doğal yolla çöken mikroalg hücrelerinin canlılık durumları flokülantlar aracılığıyla çöken mikroalg hücreleri ile karşılaştırılmıştır. Şekil 4.29 ve Şekil 4.30’da mikroalg çözeltilerinin 1 hafta boyunca 680 nm’de absorbansları ölçülerek oluşturulan büyüme eğrileri sunulmuştur. Şekil 4.29 ve Şekil 4.30’da görüldüğü gibi iki mikroalg türünde de doğal yolla çöken mikroalg hücreleri ile flokülantlar aracılığıyla çöken mikroalg hücrelerinin büyüme eğrileri birbirine yakındır. Bu sonuçlar, flokülasyon sürecince hücre lizisinin olmadığını ve fotosentetik aygıtın moleküler fonksiyonunun ve yapısının değişmediğini göstermektedir. Bu sonuç, literatürdeki çalışmalarla [88,91] uygunluk içersindedir.



Şekil 4.29 Farklı flokülantlar ile flokülasyonu sağlanan *Nannochloropsis oculata* hücrelerinin yeni (taze) büyüme ortamında yetiştirildiği büyüme eğrisi



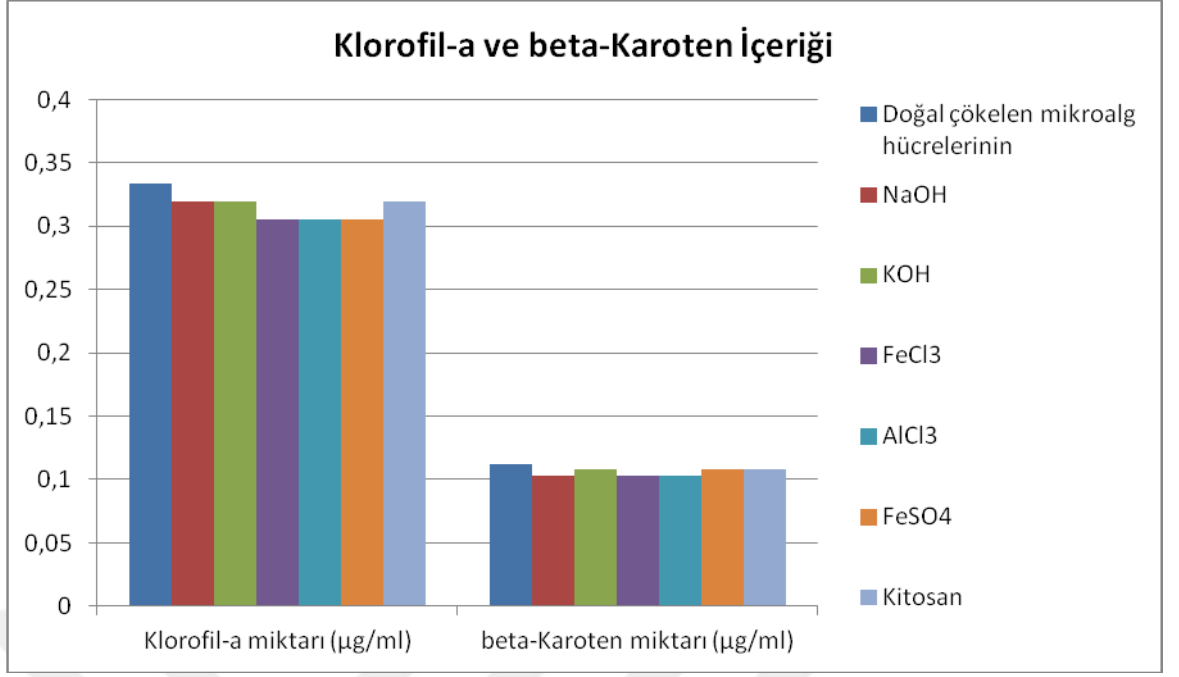
Şekil 4.30 Farklı flokülantlar ile flokülasyonu sağlanan *Chlorella minutissima* hücrelerinin yeni (taze) büyüme ortamında yetiştirildiği büyüme eğrisi

4.6 Çöken Mikroalg Hücrelerinin Klorofil-a ve Beta-Karoten Miktarlarının Tespiti

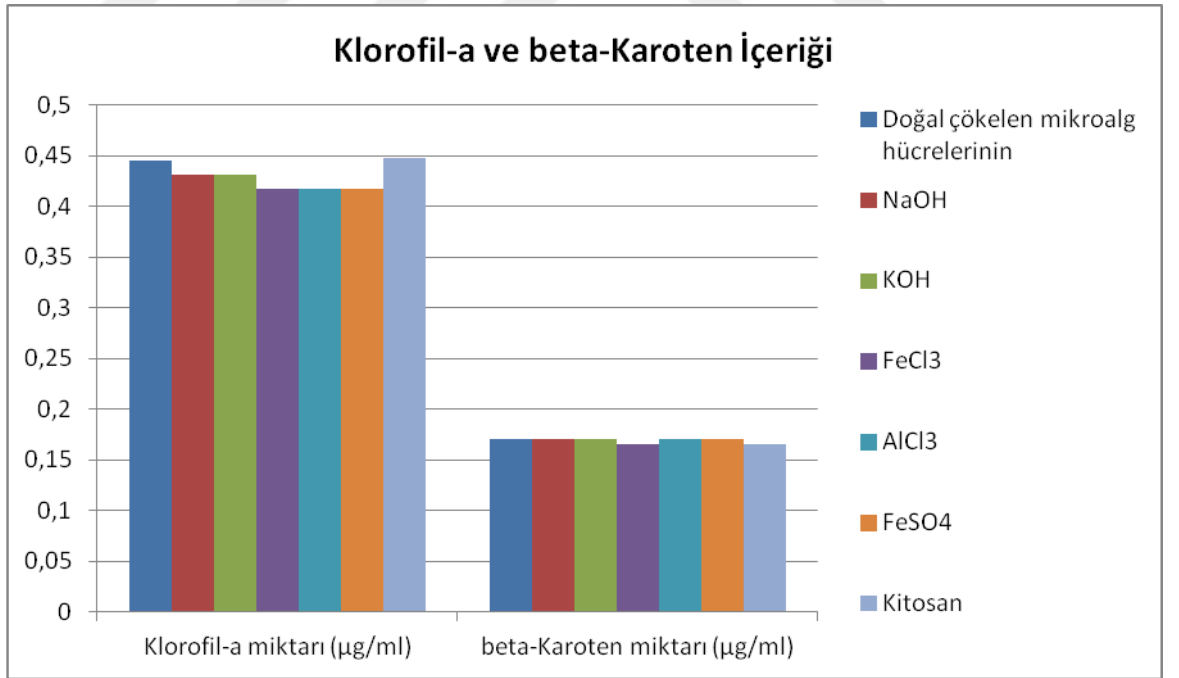
Şekil 4.31 ve Şekil 4.32’de doğal yolla flokülasyonu sağlanan mikroalg hücreleri ile farklı flokülantlarla flokülasyonu sağlanan mikroalg hücrelerinin klorofil-a ve beta-karoten içerikleri karşılaştırılmıştır. Flokülantlar aracılığıyla çöken mikroalg hücrelerinin klorofil-

a ve beta-karoten miktarı ile doğal yolla çöken mikroalg hücrelerinin klorofil-a ve beta-karoten miktarları birbirine oldukça yakındır. Bu sonuçlar ile bölüm 4.5'teki sonuçlar birbiri ile uyumludur. Çünkü, bölüm 4.5'te flokülantlar aracılığıyla çöken algler yeniden yetiştirildiğinde doğal yolla çöken alg hücreleri ile yakın büyüme grafiği göstermiştir. Mikroalgler fotosentetik canlılar olduğundan klorofil-a ve beta-karoten yapıları bozulmayan alg hücreleri yeniden üreme sağlayabilir.





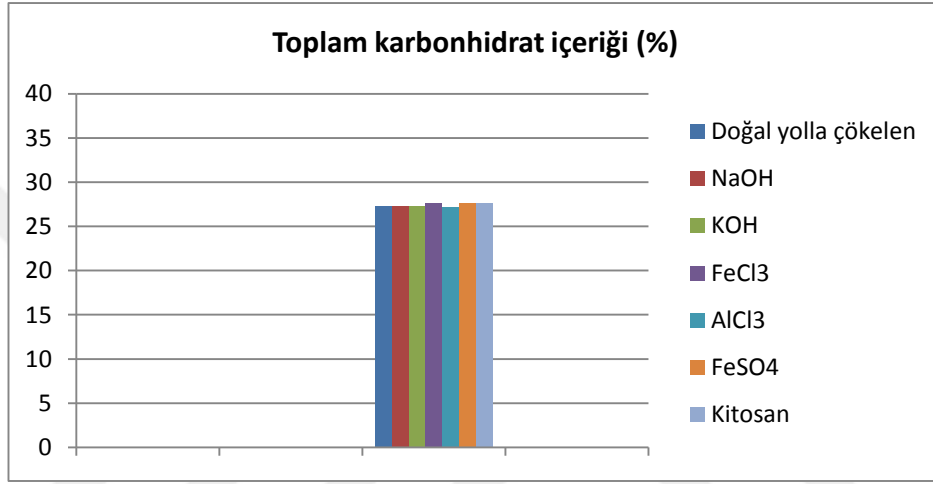
Şekil 4.31 *Nannochloropsis oculata* mikroalginin farklı flokülantlarla flokülasyon sonrası klorofil-a ve beta-karoten içeriği



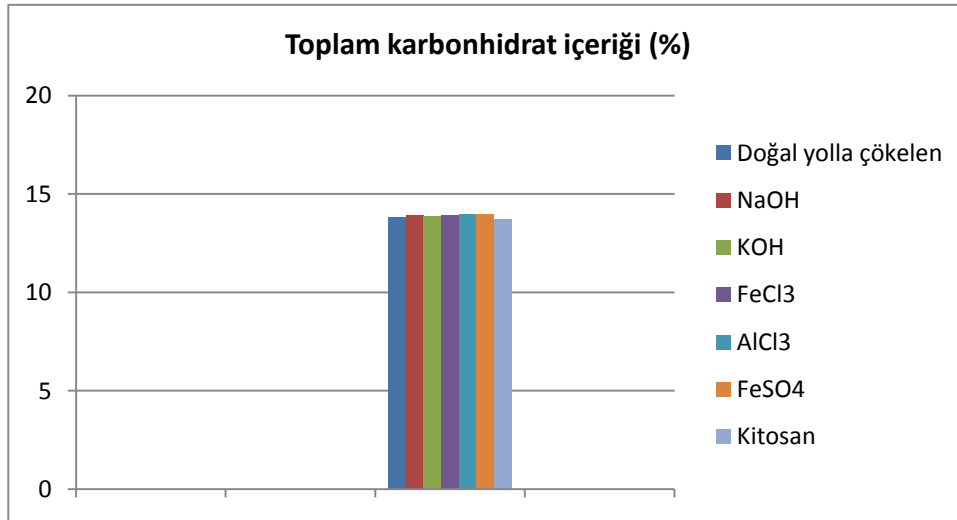
Şekil 4.32 *Chlorella minutissima* mikroalginin farklı flokülantlarla flokülasyon sonrası klorofil-a ve beta-karoten içeriği

4.7 Çöken Mikroalg Hücrelerinin Karbonhidrat Miktarlarının Tespiti

Şekil 4.33 ve Şekil 4.34’te doğal yolla flokülasyonu sağlanan mikroalg hücreleri ile farklı flokülantlarla flokülasyonu sağlanan mikroalg hücrelerinin karbonhidrat içerikleri karşılaştırılmıştır. Flokülantlar aracılığıyla çöken mikroalg hücrelerinin karbonhidrat miktarları ile doğal yolla çöken mikroalg hücrelerinin karbonhidrat miktarları birbirine oldukça yakındır (Şekil 4.33 ve Şekil 4.34). Bu sonuç literature [88] ile uyumluluk göstermektedir.



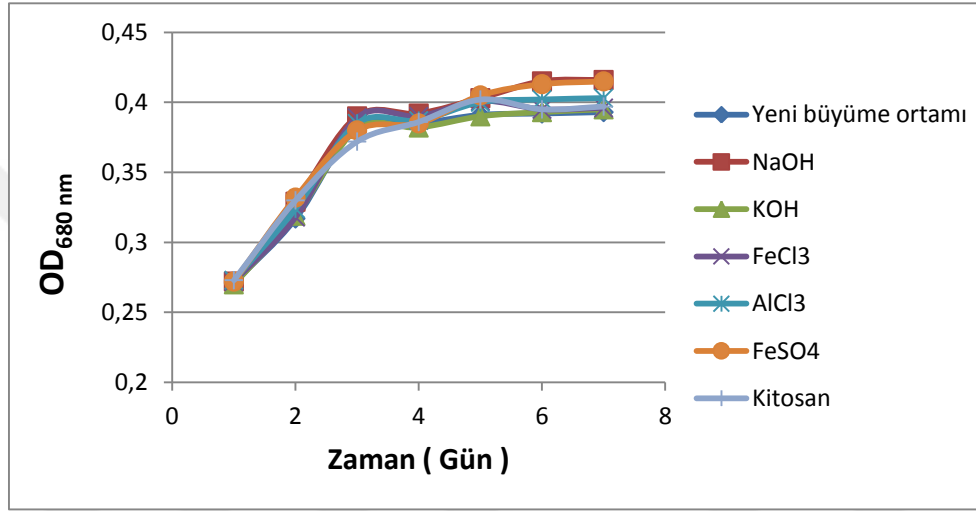
Şekil 4. 33 *Nannochloropsis oculata* mikroalgin farklı flokülantlarla flokülasyonu sonrası karbonhidrat içeriği (%)



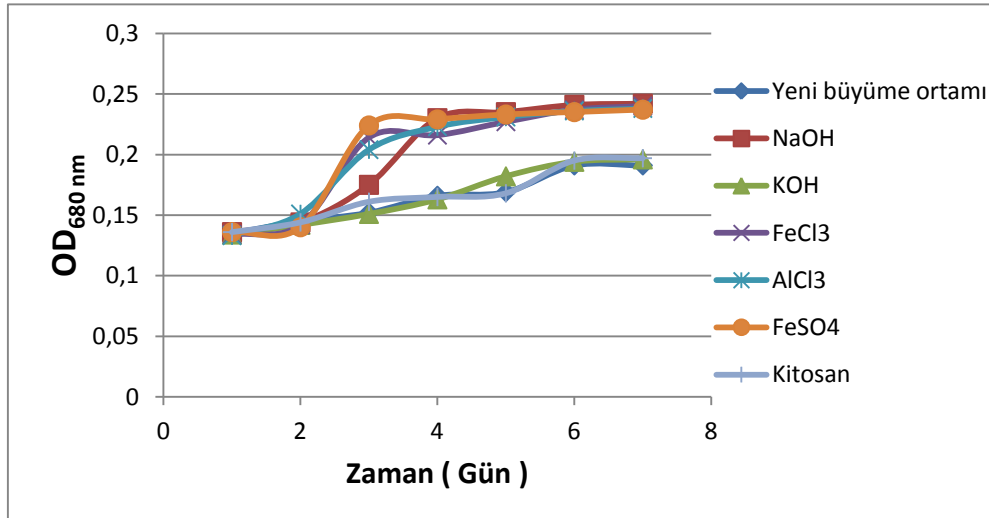
Şekil 4.34 *Chlorella minutissima* mikroalgin farklı flokülantlarla flokülasyonu sonrası karbonhidrat içeriği (%)

4.8 Çeşitli Flokülantlarla Sağlanan Flokülasyondan Sonra Büyüme Ortamının Geri Kazanımının Araştırılması

Şekil 4.35 ve şekil 4.36'de görüldüğü gibi iki mikroalg türünün de flokülantlarla flokülasyon sonrası geri kazanılan ortamdaki büyüme eğrisi ile taze büyüme ortamındaki büyüme eğrisi birbirine yakındır. İki mikroalg türü de flokülasyon sonrası geri kazanılan ortamda yeniden yetiştirilebilir. Bulunan bu sonuç, literatürdeki çalışmalar [57, 85, 88] ile uyumluluk sağlamaktadır.



Şekil 4.35 *Nannochloropsis oculata* hücrelerinin yeni (taze) büyüme ortamında ve çökeltme sonrası yeniden kullanılan büyüme ortamında yetiştirildiği büyüme eğrisi



Şekil 4.36 *Chlorella minutissima* hücrelerinin yeni (taze) büyüme ortamında ve çökeltme sonrası yeniden kullanılan büyüme ortamında yetiştirildiği büyüme eğrisi

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella minutissima* mikroalglerinin pH artışıyla sağlanan flokülasyonunda, flokülasyon parametreleri olan pH ve çökme zamanı incelenmiş ve bu sayede flokülasyon optimizasyonu yapılmıştır. pH artışıyla sağlanan flokülasyon yöntemi, FeCl₃, AlCl₃, FeSO₄ gibi metal tuzları ve kitosan gibi bir biyopolimer kullanılarak gerçekleştirilen diğer flokülasyon yöntemleriyle de karşılaştırılmıştır. Böylelikle *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella minutissima* mikroalg türlerinin farklı flokülasyon yöntemleri kullanılarak flokülasyon performansları değerlendirilmiştir.

- *Nannochloropsis oculata* mikroalginin, KOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda pH 10,5 değeri ve 15 dk çökme zamanı ile %92,63 flokülasyon verimliliği elde edilmiştir. NaOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda ise pH 10,5 değeri ve 15 dk çökme zamanı ile %91,52 flokülasyon verimliliği sağlamıştır. *Nannochloropsis oculata* mikroalg türü için pH artışı ile flokülasyon sağlanmak isteniyorsa; KOH, NaOH'a göre kısmen de olsa yüksek flokülasyon verimliliği sağlamasına rağmen, NaOH istenen pH'ı elde etmek için kullanılan çözelti olabilir. Çünkü, KOH'ın maliyeti, NaOH'a göre daha fazla olduğundan böylelikle özellikle büyük ölçekli uygulamalarda prosesin maliyeti düşürülmüş olur. *Nannochloropsis oculata* mikroalginin pH artışıyla flokülasyonu sağlanan bir alg türü olduğu ayrıca pH

10,5 değerinde en yüksek flokülasyon verimliliğine ulaştığı zeta potansiyel ölçümleri ile de desteklenmiştir.

- *Nannochloropsis oculata* mikroalginin metal tuzları ile flokülasyonunda; FeCl₃, AlCl₃, FeSO₄ metal tuzları 60 dk klme zamanı ile sırasıyla %66,71, %64,84, %48,41 flokülasyon verimliliği sağlamışlardır. FeCl₃ ve AlCl₃ metal tuzları ile birbirlerine yakın flokülasyon verimlilik değerleri elde edilmiştir. FeCl₃ ve AlCl₃, FeSO₄'e göre daha etkili bir flokülasyon verimliliği sağlamışlardır.
- *Nannochloropsis oculata* mikroalginin doğal bir biyopolimer olan kitosan ile sağlanan flokülasyonunda *Nannochloropsis oculata* mikroalginin pH değeri ayarlanmadan 125 mg/L kitosan konsantrasyonu, 60 dk klme zamanı ile %45,28 flokülasyon verimliliği sağlamıştır. pH değeri 9,5'a ayarlanan mikroalg çözeltisinde ise 100 mg/L kitosan konsantrasyonu, 60 dk klme zamanı ile %88,18 flokülasyon verimliliği sağlamıştır. En yüksek flokülasyon verimliliği %96,94; pH değeri 10,5, 100 mg/L kitosan konsantrasyonu ve 60 dk klme zamanı ile elde edilmiştir.
- *Chlorella minutissima* mikroalginin, KOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda pH 10,5 değeri ve 60 dk klme zamanı ile %84,29 flokülasyon verimliliği elde edilmiştir. NaOH ile pH artışı sağlanarak gerçekleştirilen flokülasyonunda ise en yüksek flokülasyon verimliliğine %86,18'e , pH 10,5 değeri ve 60 dk klme zamanı ile ulaşmıştır. *Nannochloropsis oculata* mikroalgi pH artışı ile sağlanan flokülasyonda hızlı bir şekilde 15 dk klme zamanı ile en yüksek verimliliğe ulaşırken, *Chlorella minutissima* mikroalgi daha geç 60 dk klme zamanı ile en yüksek flokülasyon verimliliğine ulaşmıştır. *Chlorella minutissima* mikroalginin pH artışıyla flokülasyonu sağlanan bir alg türü olduğu ayrıca pH 10,5 değerinde en yüksek flokülasyon verimliliğine ulaştığı zeta potansiyel ölçümleri ile de desteklenmiştir.
- *Chlorella minutissima* mikroalginin metal tuzları ile flokülasyonunda; 60 dk klme zamanı ile FeCl₃, AlCl₃, FeSO₄ metal tuzları sırasıyla %96,87, %68,22,

%40,78 flokülasyon verimliliği sağlamışlardır. FeCl₃ metal tuzu diğer metal tuzlarına göre daha etkili bir flokülasyona neden olmuştur.

- *Chlorella minutissima* mikroalgi, pH değeri ayarlanmadan 150 mg/L kitosan konsantrasyonu ve 60 dk çökme zamanı ile %68,20 flokülasyon verimliliğine ulaşmıştır. pH değeri 9,5'a ayarlanan mikroalg çözeltilisinde 125 mg/L kitosan konsantrasyonu ve 60 dk çökme zamanı ile %85,81 flokülasyon verimliliği sağlamıştır. En yüksek flokülasyon verimliliği %87,70 ise; pH değeri 10,5, 125 mg/L kitosan konsantrasyonu ve 60 dk çökme zamanı ile elde edilmiştir.
- Farklı flokülantlarla flokülasyonu sağlanan mikroalg hücrelerinin fizyolojik aktivitesi ve canlılığını araştırmak için, doğal yolla çöken ve flokülantlar (NaOH, KOH, FeCl₃, AlCl₃, FeSO₄, kitosan) aracılığıyla çöken mikroalg hücreleri taze büyüme ortamında yeniden yetiştirilmiştir. Doğal yolla çöken ve flokülantlar aracılığıyla çöken mikroalg hücrelerinin 1 hafta boyunca her gün 680 nm'de absorbansları ölçülerek oluşturulan büyüme eğrileri birbirine oldukça yakındır. Bu durum göstermektedir ki, çalışmada kullanılan flokülantlar çökmesini sağlayan mikroalg hücrelerinin canlılığını olumsuz yönde etkilememektedir.
- Doğal yolla flokülasyonu sağlanan mikroalg hücreleri ile farklı flokülantlarla (NaOH, KOH, FeCl₃, AlCl₃, FeSO₄, kitosan) flokülasyonu sağlanan mikroalg hücrelerinin klorofil-a ve beta-karoten içerikleri karşılaştırılmıştır. Flokülantlar aracılığıyla çöken mikroalg hücrelerinin klorofil-a ve beta-karoten miktarı ile doğal yolla çöken mikroalg hücrelerinin klorofil-a ve beta-karoten miktarları birbirine oldukça yakındır. Bulunan bu sonuç, alglerin çökme sonrası canlılığının araştırıldığı sonuçlarla da desteklenebilir. Flokülantlar aracılığıyla çöken alger yeniden yetiştirildiğinde doğal yolla çöken alg hücreleri ile yakın büyüme grafiği göstermiştir. Mikroalgler fotosentetik canlılar olduğundan klorofil-a ve beta-karoten yapıları bozulmayan alg hücreleri yeniden üreme sağlayabilir.
- Flokülantların değerlendirilmesinde, mikroalglerin toplam karbonhidrat miktarı üzerindeki etkilerinin araştırılması da oldukça gereklidir. Çünkü, özellikle biyoyakıtların üretiminde karbonhidratlar ham madde kaynağı olarak

değerlendirilmektedir. Kullanılan flokülantlar iki mikroalg türünün de toplam karbonhidrat içeriklerinde farklılığa neden olmamıştır.

- Flokülasyon sonrası geri kazanılan ortam, mikroalg yetiştirmede maliyeti düşürmek için bir sonraki ekim için yeniden kullanılabilir. Flokülantların, yeniden geri kazanılan ortamın tekrar kullanılmasını olumsuz yönde etkileyip etkilemediğini tespit etmek önemlidir. Özellikle büyük ölçekli mikroalg yetiştirmede çok fazla su kaybına neden olmamak ve böylelikle maliyeti düşürmek için büyüme ortamının bir sonraki yetiştirme için uygun olup olmayacağı araştırmak oldukça önemlidir. Bu doğrultuda, flokülantlar aracılığıyla çökmesi sağlanan mikroalg çözeltilerinden geri kazanılan büyüme ortamı ile taze büyüme ortamında yetiştirilmesi sağlanan mikroalglerin büyüme eğrisi birbirine oldukça yakındır. Bu sonuç göstermektedir ki, flokülant kullanılarak çökeltme sağlanan ortam bir sonraki alg yetiştirme işlemi için kullanılabilir.
- Bu çalışmada, en etkili flokülasyon sağlayan metal tuzu $FeCl_3$ olarak bulunmuştur. Mikroalglerin flokülasyonunda metal tuzları etkili bir flokülasyon sağlamasına rağmen, flokülasyonda metal tuzlarının kullanımının başlıca dezavantajı, büyüme ortamının ve çöken mikroalg hücrelerinin flokülant olarak kullanılan metal tuzları ile kontamine olmasıdır. Bu durum, metal tuzları ile flokülasyonu sağlanan mikroalglerin özellikle tıp alanında kullanımına ayrıca, besin takviyesi ve hayvan yemi olarak kullanımına engel teşkil etmektedir. Bununla birlikte, metal tuzları kullanılarak flokülasyonu sağlanan mikroalgler biyoyakıt hammaddesi olarak kullanılabilir, ayrıca atık su arıtımında da değerlendirilebilir.
- Kitosan, doğal bir biyopolimer olmasından kaynaklı toksik olmaması nedeniyle büyüme ortamını ve çöken mikroalg hücrelerini kontamine etmemektedir. Ayrıca, doğada biyolojik olarak parçalanabilir. Fakat, kitosan yüksek değerli madde olduğundan kaynaklı maliyeti fazla olduğundan mikroalglerin flokülasyonunda kullanımı cazip değildir.

- pH artışıyla iki mikroalg türü yüksek flokülasyon verimliliği göstermiştir. pH artışıyla sağlanan flokülasyon yöntemi, metal tuzları ve kitosanla sağlanan flokülasyon yöntemlerine göre, kolay ve düşük maliyetli oluşu, mikroalgler için toksik olmayışı gibi birçok avantaj sunmaktadır.



KAYNAKLAR

- [1] Farrelly, D.J., Everard C.D., Fagan C.C. ve McDonnell K.P., (2013). "Carbon sequestration and the role of biological carbon mitigation:a review", *Renewable&Sustainable Energy Reviews*, 21:712–27.
- [2] Oncel,S.S., (2013). "Microalgae for a macroenergy world", *Renewable&Sustainable Energy Reviews*, 26:241–64.
- [3] Pires, J.C.M., Alvim-Ferraz, M.C.M., Martins, F.G. ve Simões, M., (2013). "Wastewater treatment to enhance the economic viability of microalgae culture", *Environmental Science and Pollution Research*, 20:5096-5105
- [4] Pires, J.C.M., Alvim-Ferraz, M.C.M., Martins, F.G. ve Simões, M., (2012). "Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: engineering aspects and biorefinery concept", *Renewable&Sustainable Energy Reviews*, 16:3043-3053
- [5] Rashid, N., Ur Rehman, M.S., Memon, S., Ur Rahman, Z., Lee, K. ve Han J-I., (2013). "Current status, barriers and developments in biohydrogen production by microalgae", *Renewable& Sustainable Energy Reviews*, 22:571–579.
- [6] Razzak, S.A., Hossain, M.M., Lucky, R.A., Bassi, A.S. ve de Lasa H., (2013). "Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing–a review", *Renewable&Sustainable Energy Reviews*, 27:622–653.
- [7] Chisti, Y., (2007). " Biodiesel from microalgae", *Biotechnology Advances*, 25:294–306.
- [8] Gonçalves, A.L., Pires J.C. ve Simões, M., (2013). "Green fuel production:processes applied to microalgae ", *Environmental Chemistry Letters*, 11:315–324.
- [9] Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda T. ve Bux, F., (2011). "Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production", *Applied Energy*, 88:3411–3424.

- [10] Christenson, L. ve Sims, R., (2011). "Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts", *Biotechnology Advances*, 29:686–702.
- [11] Smith, V.H., Sturm, B.S., Denoyelles, F.J. ve Billings SA., (2010). "The ecology of algal biodiesel production", *Trends in ecology & evolution*, 25:301–309.
- [12] Gonçalves, A.L., Pires, J.C. ve Simões, M., (2013). "Lipid production of *Chlorella vulgaris* and *Pseudokirchneriella subcapitata*", *Int J Energy Environ Eng*, 4:1–6.
- [13] Marcilla, A., Catalá, L., García-Quesada, J.C., Valdés, F.J. ve Hernández, M.R., (2013). "A review of thermochemical conversion of microalgae", *Renew Sustain Energy Rev*, 27:11–19.
- [14] Atabani, A.E., Silitonga, A.S., Badruddin, I.A., Mahlia, T.M.I., Masjuki, H.H. ve Mekhilef, S., (2012). "A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics", *Renew Sustain Energy Rev*, 16:2070–2093.
- [15] Becker W., (2004). "Microalgae in human and animal nutrition." In: Richmond A, editor. *Handbook of microalgal culture*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd., p. 312–51.
- [16] Papazi, A., Makridis, P. ve Divanach, P., (2010). "Harvesting *Chlorella minutissima* using cell coagulants", *J Appl Phycol*, 22:349–355.
- [17] Singh, J. ve Gu, S., (2010). "Commercialization potential of microalgae for biofuels production", *Renew Sustain Energy Rev*, 14:2596–610.
- [18] Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. ve Isambert, A., (2006). "Commercial applications of microalgae", *J Biosci Bioeng*, 101:87–96.
- [19] Vandamme, D., Foubert, I. ve Muylaert, K., (2013). "Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production", *Trends Biotechnol*, 31:233–9.
- [20] Dassey, A.J. ve Theegala, C.S., (2013), "Harvesting economics and strategies using centrifugation for cost effective separation of microalgae cells for biodiesel applications", *Bioresour Technol*, 128:241–5.
- [21] Cai, T., Park, S.Y. ve Li, Y., (2013). "Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: status and prospects", *Renew Sustain Energy Rev*, 19:360–9.
- [22] Danquah, M.K., Gladman, B., Moheimani, N. ve Forde, GM., (2009). "Microalgal growth characteristics and subsequent influence on dewatering efficiency", *Chem Eng J*, 151:73–78.
- [23] Molina Grima, E., Belarbi, E.H., Ación Fernández, F.G., Robles Medina, A. ve Chisti Y., (2003). "Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics", *Biotechnol Adv*, 20:491–515.
- [24] Salim, S., Bosma, R., Vermue, M.H. ve Wijffels RH., (2011). "Harvesting of microalgae by bio-flocculation", *J Appl Phycol*, 23:849–855.

- [25] Danquah, M.K., Ang, L., Uduman, N., Moheimani N, Forde GM.,(2009). "Dewatering of microalgal culture for biodiesel production: exploring polymer flocculation and tangential flow filtration", *J Chem Technol Biotechnol*, 84:1078–83.
- [26] Foley., J. ve ark. (2011). " Solutions for a cultivated planet", *Nature*, 478,337–342
- [27] Haveren, J.v., Scott, E.L. ve Sanders J., (2008)." Bulk chemicals from biomass", *Biofuels Bioprod. Bioref.* 2, 41–57
- [28] Chisti, Y., (2008). "Biodiesel from microalgae beats bioethanol", *Trends Biotechnol.* 26, 126 -131
- [29] Posten, C. ve Schaub, G. (2009)." Microalgae and terrestrial biomass as source for fuels – a process view", *J. Biotechnology*, 142:64–69
- [30] Wijffels, R.H. ve Barbosa, M.J. (2010)." An outlook on microalgal Biofuels", *Science* 329:796–799
- [31] van Beilen, J.B. (2010). "Why microalgal biofuels won't save the internal combustion engine", *Biofuels Bioprod. Bioref.* 4:41–52
- [32] Walker, D.A. (2009).Biofuels, facts, fantasy, and feasibility. *J. Appl. Phycol.* 21: 509–517
- [33] Morweiser, M., Kruse, O., Hankamer, B. ve Posten, C., (2010). "Developments and perspectives of photobioreactors for biofuel production", *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 87:1291–1301
- [34] Larkum, A.W.D., Ross, I.L., Kruse, O., ve Hankamer, B., (2012). "Selection, breeding and engineering of microalgae for bioenergy and biofuel production", *Trends Biotechnol.* 30:198–205
- [35] Georgianna, D.R. ve Mayfield, S.P. (2012). " Exploiting diversity and synthetic biology for the production of algal biofuels", *Nature* 488:329–335
- [36] Chen, C. Y., Yeh, K.L., Aisyah, R., Lee, D. J. ve Chang, J. S. (2010)." Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review", *Bioresource Technology*, 102:71–81
- [37] Greenwell, H. C., Laurens, L.M.L., Shields, R.J., Lovitt, R.W. ve Flynn, K. J. (2010). "Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges", *J. Roy. Soc. Interface*, 7:703–726
- [38] Uduman, N., Qi, Y., Danquah, M.K., Forde, G.M. ve Hoadley, A. (2010). "Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels", *J. Renew. Sust. Energy*, 2:012701
- [39] Brennan, L. ve Owende, P., (2010). "Biofuels from microalgae – a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products, " *Renew. Sust. Energy Rev.*, 14:557–577
- [40] Schlesinger, A., Eisenstadt, D., Bar-Gil, A., Carmely, H., Einbinder, S. ve Gressel, J., (2012)." Inexpensive non-toxic flocculation of microalgae contradicts

- theories; overcoming a major hurdle to bulk algal production”, *Biotechnol. Adv.* 30:1023–1030
- [41] Brentner, L.B., Eckelman, M.J. ve Zimmerman, J. B., (2011).” Combinatorial life cycle assessment to inform process design of industrial production of algal biodiesel”, *Environ. Sci. Technol.*, 45:7060–7067
- [42] Pienkos, P.T. ve Darzins, A. (2009). “ The promise and challenges of microalgal-derived biofuels”, *Biofuels Bioprod. Bioref.*, 3:431–440
- [43] Wileman, A., Ozkan, A. ve Berberoglu, H., (2011).”Rheological properties of algae slurries for minimizing harvesting energy requirements in biofuel production”, *Bioresour. Technol.*, 104:432–439
- [44] Ben-Amotz, A. ve Avron, M., (1990). “The biotechnology of cultivating the halotolerant alga *Dunaliella*”, *Trends Biotechnol.*, 8:121–125
- [45] Rwehumbiza, V.M., Harrison, R. ve Thomsen, L., (2012).” Alum-induced flocculation of pre-concentrated *Nannochloropsis salina*: residual aluminium in the biomass, FAMES and its effects on microalgae growth upon media recycling”, *Chem. Eng. J.* 200–202, 168–175
- [46] Wijffels, R., Barbosa, M.J. ve Eppink, M.H.M., (2010).” Microalgae for production of bulk chemicals and biofuels”, *Biofuels Bioprod. Bioref.*, 4:287–295
- [47] Wyatt, N.B., Gloe, L.M., Brady, P.V., Hewson, J.C., Grillet, A.M., Hankins, M.G. ve Pohl, P.I., (2011).”Critical conditions for ferric chloride-induced flocculation of freshwater algae”, *Biotechnol. Bioeng.*, 109:493–501
- [48] Zhang, X., Amendola, P., Hewson, J.C., Sommerfeld, M. ve Hu, Q., (2012).” Influence of growth phase on harvesting of *Chlorella zofingiensis* by dissolved air flotation”, *Bioresour. Technol.*, 37:166–176
- [49] Bratby, J., (2006).” Coagulation and Flocculation in Water and Wastewater Treatment”, IWA Publishing
- [50] Chang, Y-R. ve Lee, D-J., (2012). “Coagulation–membrane filtration of *Chlorella vulgaris* at different growth phases.” *Drying Technol.*, 30:1317–1322
- [51] Vandamme, D., Foubert, I., Meesschaert, B. ve Muylaert, K., (2010).”Flocculation of microalgae using cationic starch”, *J. Appl. Phycol.*, 22: 525–530
- [52] Zheng, H., Gao, Z., Yin, J., Tang, X., Ji, X. ve Huang, H., (2012). “Harvesting of microalgae by flocculation with poly (g-glutamic acid)”, *Bioresour. Technol.*, 112:212–220
- [53] Teixeira, C.M.L.L., Kirsten, F.V. ve Teixeira, P.C.N., (2012). “Evaluation of *Moringa oleifera* seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae”, *J. Appl. Phycol.*, 24:557–563
- [54] Spilling, K., Seppälä, J. ve Tamminen, T., (2011). ”Inducing autoflocculation in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* through CO₂ regulation”, *J. Appl. Phycol.* 23:959–966

- [55] Lundquist, T.J., Woertz, I.C., Quinn, N.W.T. ve Benemann, J.R.,(2010). "A Realistic Technology and Engineering Assessment of Algae Biofuel Production", Energy Biosciences Institute,1-178
- [56] Vandamme, D., Foubert, I., Fraeye, I., Meesschaert, B. ve Muylaert, K., (2012). "Flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by high pH: role of magnesium and calcium and practical implications", Bioresour. Technol. 105:114–119
- [57] Wu, Z.C., Zhu, Y., Huang, W.Y., Zheng, C.W., Li, T., Zhang, Y.M. ve Li, A.F., (2012)." Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium", Bioresour. Technol. 110:496–502
- [58] Show, K.Y., Lee, D.J. ve Chang, J.S., (2012). "Algal biomass dehydration", Bioresour. Technol., 135:720-729
- [59] Bosma, R., van Spronsen, W.A., Tramper, J. ve Wijffels, R.H., (2003). "Ultrasound, a new separation technique to harvest microalgae", J. Appl. Phycol. 15:143–153
- [60] Vandamme, D., Pontes, S.C.V., Goiris, K., Foubert, I., Pinoy, L. J. J. ve Muylaert, K. (2011). "Evaluation of electro-coagulation-flocculation for harvesting marine and freshwater microalgae", Biotechnol. Bioeng. 108, 2320–2329
- [61] Kim, J., Ryu, B.G., Kim, B.K., Han, J.I., ve Yang, J.W.,(2012). " Continuous microalgae recovery using electrolysis with polarity exchange", Bioresour. Technol., 124:164–170
- [62] Gouveia, L. (2011)." Microalgae as Feedstock for Biofuels", Springer
- [63] Cerff, M., Morweiser, M., Dillschneider, R., Michel, A., Menzel, K. ve Posten, C. (2012)." Harvesting fresh water and marine algae by magnetic separation: screening of separation parameters and high gradient magnetic filtration", Bioresour. Technol. 118:289–295
- [64] Xu, L., Guo, C., Wang, F., Zheng, S. ve Liu, C. Z. (2011)." A simple and rapid harvesting method for microalgae by in situ magnetic separation", Bioresour. Technol., 102:10047–10051
- [65] Lim, J.K., Chieh, D.C.J., Jalak, S.A., Toh, P.Y., Yasin, N.H.M., Ng, B.W. ve Ahmad, A.L.,(2012)." Rapid magnetophoretic separation of microalgae", Small, 8: 1683–1692
- [66] Liu, D., Li, F. ve Zhang, B. (2009). "Removal of algal blooms in freshwater using magnetic polymer", Water Sci. Technol, 59:1085–1092
- [67] Craggs, R., Sutherland, D. ve Campbell, H. (2012)." Hectare-scale demonstration of high rate algal ponds for enhanced wastewater treatment and biofuel production", J. Appl. Phycol., 24:329–337
- [68] Schenk, P.M., Thomas-Hall, S.R., Stephens, E., Marx, Ute, C., Mussgnug, J.H., Posten, C., Kruse, O. ve Hankamer,B.,(2008). "Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production", Bioenergy Res., 1:20–43

- [69] Taylor, R.L., Rand, J.D. ve Caldwell, G.S., (2012). "Treatment with algae extracts promotes flocculation, and enhances growth and neutral lipid content in *Nannochloropsis oculata* – a candidate for biofuel production", *Mar. Biotechnol.*, 6:774–781
- [70] Eldridge, R.J., Hill, D.R.A. ve Gladman, B.R.,(2012). "A comparative study of the coagulation behaviour of marine microalgae", *J. Appl. Phycol.* 24:1667–1679
- [71] Salim, S., Vermuë, M.H. ve Wijffels, R.H., (2012). "Ratio between autoflocculating and target microalgae affects the energy-efficient harvesting by bio-flocculation", *Bioresour. Technol.* 118:49–55
- [72] Zhou, W., Cheng, Y., Li, Y., Wan, Y., Liu, Y., Lin, X. ve Ruan, R., (2012). "Novel fungal pelletization-assisted technology for algae harvesting and wastewater treatment", *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 167:214–228
- [73] Zhang, J. ve Hu, B. (2012). " A novel method to harvest microalgae via co-culture of filamentous fungi to form cell pellets", *Bioresour. Technol.* 114: 529–535
- [74] Gutzeit, G., Lorch, D., Weber, A., Engels, M. ve Neis, U.,(2005)." Bioflocculent algal-bacterial biomass improves low-cost wastewater treatment", *Water Sci. Technol.* 52:9–18
- [75] Lee, A.K., Lewis, D.M. ve Ashman, P.J.,(2008)."Microbial flocculation, a potentially low-cost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel", *J. Appl. Phycol.*, 21:559–567
- [76] Van Den Hende, S., Vervaeren, H., Saveyn, H., Maes, G. ve Boon, N., (2011). " Microalgal bacterial floc properties are improved by a balanced inorganic/organic carbon ratio", *Biotechnol. Bioeng.*, 108:549–558
- [77] Su, Y., Mennerich, A. ve Urban, B. (2011). "Municipal wastewater treatment and biomass accumulation with a wastewater-born and settleable algal-bacterial culture", *Water Res.*, 45:3351–3358
- [78] Henderson, R.K., Baker, A., Parsons, S.A. ve Jefferson, B. (2008)." Characterisation of algogenic organic matter extracted from cyanobacteria, green algae and diatoms", *Water Res.*, 42:3435–3445
- [79] Cheng, Y. S., Zheng, Y., Labavitch, J.M. ve Vander Gheynst, J. S.,(2011)." The impact of cell wall carbohydrate composition on the chitosan flocculation of *Chlorella*", *Process Biochem.* 46:1927–1933
- [80] Hulatt, C.J. ve Thomas, D.N. (2010). "Dissolved organic matter (DOM) in microalgal photobioreactors: a potential loss in solar energy conversion?", *Bioresour. Technol.* 101:8690–8697
- [81] Zhang, X., Amendola, P., Hewson, J. C., Sommerfeld, M. ve Hu, Q.,(2012). "Influence of growth phase on harvesting of *Chlorella zofingiensis* by dissolved air flotation", *Bioresour. Technol.* 116:477–484

- [82] Chen, L., Li, P., Liu, Z. ve Jiao, Q. (2008). "The released polysaccharide of the cyanobacterium *Aphanothece halophytica* inhibits flocculation of the alga with ferric chloride", *J. Appl. Phycol.*, 21:327–331
- [83] Henderson, R.K., Parsons, S.A. ve Jefferson, B., (2010). "The impact of differing cell and algogenic organic matter (AOM) characteristics on the coagulation and flotation of algae", *Water Res.*, 44:3617–3624
- [84] Vandamme, D., Foubert, I., Fraeye, I. ve Muylaert, K. (2012). "Influence of organic matter generated by *Chlorella vulgaris* on five different methods of flocculation", *Bioresour. Technol.* 124:508–511
- [85] Liu, J.X., Zhu, Y., Tao, Y.J., Zhang, Y.M., Li, A.F., Li, T., Sang, M. ve Zhang, C.W., (2013). "Freshwater microalgae harvested via flocculation induced by pH decrease" *Biotechnol. Biofuels*, 6:98
- [86] Sirin, S., Trobajo, R., Ibanez, C. ve Salvado, J., (2012). "Harvesting the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* with polyaluminum chloride, aluminium sulphate, chitosan and alkalinity induced flocculation", *J Appl Phycol* 24:1067–1080
- [87] Castrillo, M., Lucas-Salas, L.M., Rodríguez-Gila, C. ve Martínez, D., (2013). "High pH-induced flocculation–sedimentation and effect of supernatant reuse on growth rate and lipid productivity of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris*", *Bioresour. Technol.* 128:324–329.
- [88] Wu, J., Liu, J.X., Lin, L., Zhang, C., Li, A., Zhu, Y. ve Zhang, Y., (2015). "Evaluation of several flocculants for flocculating microalgae", *Bioresour. Technol.* 197:495-501
- [89] Yang, F., Xiang, W., Fan, J., Wu, H., Li, T. ve Long, L., (2015). "High pH-induced flocculation of marine *Chlorella* sp. for biofuel production", *J. Appl. Phycol.*, 1–10
- [90] Rakesh, S., Saxena, S., Dhar, D.W., Prasanna, R. ve Saxena, A.K., (2014). "Comparative evaluation of inorganic and organic amendments for their flocculation efficiency of selected microalgae", *J. Appl. Phycol.*, 26 (1):399–406.
- [91] Ummalyma, S.B, Mathew, A., Pandey, A., K. Sukumaran, R., (2016). "Harvesting of microalgal biomass: Efficient method for flocculation through pH modulation", *Bioresour. Technol.* 213: 216–221
- [92] Beach, E. S., Eckelman, M. J., Cui, Z., Brentner, L. ve Zimmerman, J. B. (2012). "Preferential technological and life cycle environmental performance of chitosan flocculation for harvesting of the green algae *Neochloris oleoabundans*," *Bioresour. Technol.* 121: 445–449.
- [93] Rashid, N., Rehman, S.U. ve Han, J.I., (2013). "Rapid harvesting of freshwater microalgae using chitosan", *Process Biochemistry*, 48: 1107-1110
- [94] Rashid, N., Rehman, M.S.U. ve Han, J. I. (2013). "Use of chitosan acid solutions to improve separation efficiency for harvesting of the microalga *Chlorella vulgaris*," *Chemical Engineering Journal*, 226:238–242

- [95] Farid, M.S., Shariati, A., Badakhshan, A., ve Anvaripour, B., (2013). " Using nano-chitosan for harvesting microalga *Nannochloropsis* sp.", *Bioresource Technology*, 131: 555–559
- [96] De Godos, I., Guzman, H. O., Soto, R., García-Encina, P. A., Becares, E., Muñoz, R., ve Vargas, V. A.,(2011). "Coagulation/ flocculation-based removal of algal-bacterial biomass from piggery wastewater treatment", *Bioresource Technology*, 102:923–927
- [97] Kachroo, D., Singh Jolly, S. M. ve Ramamurthy, V., (2006). "Modulation of unsaturated fatty acids content in algae *Spirulina platensis* and *Chlorella minutissima* in response to herbicide SAN 9785," *Electronic J. Biotechnol.*, 9(4): 386-390
- [98] Tang, H., Chen, M., Garcia, M.E.D., Abunasser, N., Ng, K.Y. ve Salley, S.O., (2011). "Culture of Microalgae *Chlorella minutissima* for Biodiesel Feedstock Production", *Biotechnology and Bioengineering*, 108:2280-87
- [99] Singh, S.K., Bansal, A., Jha, M.K. ve Jain, R., (2013). "Production Of Biodiesel From Wastewater Grown *Chlorella Minutissima*", *Indian Journal of Chemical Technology*, 20(5), 341-345.
- [100] Kagan, M.L. ve Matulka, R. A.,(2015). "Safety assessment of the microalgae *Nannochloropsis oculata*", *Toxicology Reports*, 2: 617–623
- [101] Sukenik, A., Carmeli, Y. ve Berner, T., (1989). "Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp.", *J. Phycol.*, 25: 686–692.
- [102] Andersen, R. A., Brett, R. W., Potter, D. ve Sexton, J. P., (1998). "Phylogeny of the Eustigmatophyceae based upon 18s rDNA, with emphasis on *Nannochloropsis*", *Protist*, 149 (1): 61–74.
- [103] Boussiba, S., Vonshak, A., Cohen, Z., Avissar, Y. ve Richmond, A., (1987). "Lipid and biomass production by the halotolerant microalga *Nannochloropsis salina*", *Biomass*, 12: 37–47
- [104] Buelna, G., Bhattarai, K.K., de la Noue, J. ve Taiganides, E.P., (1990). "Evaluation of various flocculants for the recovery of algal biomass growth on pig-waste", *Biol. Wastes*, 31:211–222.
- [105] Makridis, P. ve Vadstein, O., (1999). "Food size selectivity of *Artemia franciscana* at three developmental stages", *J. Plankt. Res.*, 21:2191–2201.
- [106] Ahmad, A. L., Yasin, N.M., Derek, C.J.C. ve Lim, J. K. (2011). "Optimization of microalgae coagulation process using chitosan," *Chemical Engineering Journal*, 173:879–882
- [107] Xu, Y., Purton, S. ve Baganz, F. (2013). "Chitosan flocculation to aid the harvesting of the microalga *Chlorella sorokiniana*," *Bioresource Technology*, 129: 296–301

- [108] Henderson, R., Parsons, S. A. ve Jefferson, B., (2008). "The impact of algal properties and pre-oxidation on solid-liquid separation of algae," *Water Research*, 42:1827–1845
- [109] Chen, G., Liu, Z., Qi, Y. ve Cui, Y-L., (2014). "Chitosan and Its Derivatives Applied in Harvesting Microalgae for Biodiesel Production: An Outlook", *Journal of Nanomaterials*, 3
- [110] Sanchez, M.D., Mantell, C., Rodriguez, M., Martinez de la Ossa, E., Lubian, L.M. ve Montero, O., (2005). "Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophyll a", *Journal of Food Engineering*, 66:245-251
- [111] Zou, N. ve Richmond, A., (2000). "Light-path length and population density in photoacclimation, *Journ. of Applied Phycology*", 12:349-354
- [112] Nielsen, S. S. (2010). Phenol-sulfuric acid method for total carbohydrates. In *Food Analysis Laboratory Manual*, Springer, USA
- [113] Semerjian, L. ve Ayoub, G.M., (2003). "High-pH–magnesium coagulation–flocculation in wastewater treatment", *Adv. Environ. Res.*, 7:389–403.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Sevgi AKIŞ
Doğum Tarihi ve Yeri : 01.03.1990 Alanya/ANTALYA
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : akissevgi@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

| Derece | Alan | Okul/Üniversite | Mezuniyet Yılı |
|---------------|-----------------|-----------------------------|----------------|
| Yüksek Lisans | Biyomühendislik | Yıldız Teknik Üniversitesi | 2013-2016 |
| Lisans | Biyomühendislik | Yıldız Teknik Üniversitesi | 2009-2013 |
| Lise | Fen Bilimleri | A.Feyzi Alaettinoğlu Lisesi | 2004-2008 |

İŞ TECRÜBESİ

| Yıl | Firma/Kurum | Görevi |
|-----------|-------------------------------|------------------|
| 2015-2016 | Neutec Ar-Ge San.Tic.Ltd.Şti. | Medikal Eğitimci |

YAYINLARI

Bildiri

1. Özçimen, D., **Akış, S.**, ve İnan, B., (2013). "Algal oil usage in cosmetic industry", 11th Euro Fed Lipid Congress, Oils, Fats and Lipids for a Healthy and Sustainable World, Antalya, 27-29 Ekim 2013
2. Özçimen, D., Koçer, A.T., **Akış, S.**, ve İnan, B., (2014). "Investigation of the Biochar Production Potential from Algae", BIO ENG'14 Bioengineering Conference, İstanbul, Kasım 2014
3. Demirer, B.Ö., Özçimen, D., Vehapi, M., Karakaş, C.Y., İnan, B., **Akış, S.**, Koçer A.T., ve Şerbetçioğlu B., (2014). "Effect of Different Growth Parameters on Cell Proliferation of *Chlorella vulgaris*", BIO ENG'14 Bioengineering Conference, İstanbul, Kasım 2014
4. Özçimen, D., Vehapi, M., Karakaş, C.Y., Demirer, B.Ö., İnan, B., **Akış, S.**, Koçer, A.T., ve Rehim Z., (2014). "Investigation of Growth Kinetics of *Nannochloropsis*, *Isochrysis* and *Tetraselmis* sp.", BIO ENG'14 Bioengineering Conference, İstanbul, Kasım 2014

Kitap

1. Özçimen, D., İnan, B., **Akış S.** ve Koçer A.T., (2015). Algal Biorefineries (Utilization Alternatives of Algal Wastes for Solid Algal Products), 2:393-418, Springer

Proje

1. Biyolojik Atıksu Arıtma Çamurları ve Algler Gibi Farklı Hammaddelerden Adsorbent Üretimi, YTÜ KAP, 2014-2016, No: 2014-07-04-KAP01, Görevi: Araştırmacı

ÖDÜLLERİ

1. 2013 Kimya-Metalurji Fakültesi 3.lüğü, Biyomühendislik Bölümü 1.ligi