



**GAZ KABARCIKLI İMMOBİLİZE *Chlorella*
vulgaris** ALG KÜLTÜRÜ İLE DOĞAL SULARIN
ARITIMI VE BALIK ÜRETİM TESİSLERİNDE
GIDA HAMMADDESİ OLARAK
KULLANILABİLİRLİĞİNİN İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Kübra ÖZENÇ

Eskişehir 2024

**GAZ KABARCIKLI İMMOBİLİZE *Chlorella vulgaris* ALG KÜLTÜRÜ İLE
DOĞAL SULARIN ARITIMI VE BALIK ÜRETİM TESİSLERİNDE GIDA
HAMMADDESİ OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN İNCELENMESİ**

KÜBRA ÖZENÇ

Yüksek Lisans Tezi

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Çevre Teknolojisi Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Serdar GÖNCÜ

Eskişehir

Eskişehir Teknik Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ocak 2024

KÜBRA ÖZENÇ

Bu tez çalışması BAP Komisyonu tarafından kabul edilen 22GAP240 No.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Kübra ÖZENÇ'in "Gaz Kabarcıklı İmmobilize *Chlorella vulgaris* Alg Kültürü ile Doğal Suların Arıtımı ve Balık Üretim Tesislerinde Gıda Hammaddesi Olarak Kullanılabilirliğinin İncelenmesi" başlıklı tezi 15/01/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Eskişehir Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği" nin ilgili maddeleri uyarınca, Çevre Teknolojisi Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı)

Prof. Dr. Serdar GÖNCÜ

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Burcu ŞİMŞEK UYGUN

Üye

Prof. Dr. Burcu ERTİT TAŞTAN

Prof. Dr. Semra KURAMA

Lisansüstü Eğitim Enstitü Müdürü

15/01/2024

DANIşMAN ONAYI

Danişmanlığını yürüttüğüm evre Mühendisliği ğrencisi Kübra zen, ‘Gaz Kabarcıklı İmmobilize *Chlorella vulgaris* Alg Kültürü ile Doğal Suların Arıtımı ve Balık retim Tesislerinde Gıda Hammaddesi Olarak Kullanılabilirliğinin İncelenmesi’ başlıklı tez çalışmasını tamamlamıştır. Hazırlamış olduğu tez tarafımda incelenmiş ve öğrencinin tez savunma sınavına alınması bilimsel ve etik açıdan uygun görülmüştür.

Tez Danişmanı

Prof. Dr. Serdar GÖNCÜ

ÖZET

GAZ KABARCIKLI İMMOBİLİZE *CHLORELLA VULGARIS* ALG KÜLTÜRÜ
İLE DOĞAL SULARIN ARITIMI VE BALIK ÜRETİM TESİSLERİNDE GIDA
HAMMADDESİ OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN İNCELENMESİ

KÜBRA ÖZENÇ

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Çevre Teknolojisi Bilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ocak 2024

Danışman: Prof. Dr. Serdar GÖNCÜ

Su ve atıksularda mevcut olan azot ve fosfor bakımında zengin besinlerin geleneksel arıtım yöntemleri yerine alg kültürleri kullanılarak biyolojik arıtım ile giderim yöntemi günümüzde yaygınlaşmıştır. Tez çalışması kapsamında doğal sulardaki azot ve fosfor yüklerinin arıtımı, gaz kabarcıklı immobilize *Chlorella vulgaris* alg kültürü ile sağlanmıştır. Çalışma kapsamında, Türkiye’de, Eskişehir ili yakınlarındaki kirlilik yükü bakımından zengin olan Porsuk Nehri’nin doğal su kaynağı, gaz kabarcıklı immobilize *Chlorella vulgaris* alg kültürü arıtılmıştır. Farklı pH değerleri, farklı ışıklandırma süreleri, farklı hava debileri gibi parametre değerleri dikkate alınarak, su kütlesinden azot ve fosfor giderim çalışmaları yapılmıştır. Tez çalışması sonucunda, yaklaşık 45. saatte nitrat (NO_3^-) giderimi için optimum parametreler, ışıklandırma süresi 12/12, pH 8,5 ve hava debisinin 0,5 L/dk koşullarında sağlanmış ve %78,30 giderim verimi elde edilmiştir. Fosfat (PO_4^{3-}) giderimi için optimum parametreler ise ışıklandırma süresi 12:12, pH 7 ve hava debisinin 0,3 L/dk olduğu koşullarda sağlanmıştır ve 45. saatte % 99,54 giderim verimi elde edilmiştir. Çalışma ile birlikte, doğal suların gaz kabarcıklı immobilize *Chlorella vulgaris* alg kütlesi ile arıtılabilir olduğu ve arıtım sonrası elde edilen alg biyokütlesinin ise balık üretim tesisinde alternatif hammadde olarak kullanılabileceği sonucu elde edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Alg biyokütlesi, *Chlorella vulgaris*, İmmobilizasyon,
Biyolojik arıtım, Su arıtımı

ABSTRACT

Treatment of Natural Waters with Gas Bubbled Immobilized *Chlorella vulgaris* Algal Cultures and Investigation of Its Usability as a Food Ingredients in Fish Production Plants

KÜBRA ÖZENÇ

Department of Environmental Engineering

Programme in Environmental Technology

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, January 2024

Supervisor: Prof. Dr. Serdar GÖNCÜ

Nowadays, it is becoming common to remove nitrogen and phosphorus-rich nutrients in water and wastewater through biological treatment using algae cultures instead of traditional treatment methods. In this study, the natural water source of the Porsuk River, which is rich in pollution load in Eskişehir province of Turkey, was purified with gas bubble immobilized *Chlorella vulgaris* algae culture. Nitrogen and phosphorus removal studies were carried out from the water mass by taking into account parameter values such as different pH values, different illumination durations, and different air flow rates. As a result of the thesis study, the optimum parameters for nitrate (NO_3^-) removal in approximately the 45th hour were provided under the conditions of illumination time of 12/12, pH 8.5 and air flow rate of 0.5 L/min, and a removal efficiency of 78.30% was achieved. The optimum parameters for phosphate (PO_4^{3-}) removal were provided under the conditions of exposure time of 12:12, pH of 7 and air flow rate of 0.3 L/min. and 99.54% removal efficiency was achieved at the 45th hour. Thanks to this study, it was concluded that natural waters can be purified with gas bubble immobilized *Chlorella vulgaris* algae mass and the algal biomass obtained after purification can be used as an alternative raw material in the fish production facility.

Keywords: Algal biomass, *Chlorella vulgaris*, Immobilization, Biological treatment, Water treatment

TEŞEKKÜRLER

Üniversite hayatım boyunca her konuda desteğini, bilgi ve birikimini paylaşan, meslek sevgisi ve sabrıyla bana her zaman örnek olan, değerli danışman hocam Prof. Dr. Serdar GÖNCÜ'ye;

Bilgi, birikim ve tecrübeleriyle her zaman yanımda olan değerli hocam Öğr. Gör. Dr. Eda TUNA ÖZTÜRK'e;

Her konuda fikir danışabildiğim, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve önerileriyle çalışmama katkı sağlayan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Burcu ŞİMŞEK UYGUN'a;

Tez jürimde bulunan ve çalışmama değerli katkılarını sunan hocam Prof. Dr. Burcu ERTİT TAŞTAN'a;

Laboratuvar süreçlerinde birlikte çalışmaktan keyif aldığım kıymetli arkadaşım Çevre Mühendisi Ufuk Orçun BOZKURT'a;

Çalışmalarım süresince, bilimsel araştırma projeleri kapsamında fon sağlayan Eskişehir Teknik Üniversitesi'ne;

Çalışmam kapsamında analizlerin gerçekleştirilmesinde destek olan Özpekler Gıda Yem Sanayi A.Ş'ne;

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bana hiçbir zaman pes etmemem gerektiğini öğreten canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

15/01/2024

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalardan bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan ‘bilimsel intihal tespit programı’yla tarandığını ve hiçbir şekilde ‘intihal içermediğini’ beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Kübra ÖZENÇ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
DANIŞMAN ONAYI	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜRLER.....	vi
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
GÖRSELLER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Çalışmanın Amacı	4
1.2. Çalışmanın Önemi	5
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	7
2.1. Alglerin Tanımı ve Genel Özellikleri.....	7
2.1.1. Alglerin morfolojik özellikleri ve üremeleri	8
2.1.2. Alglerin sınıflandırılması.....	8
2.1.2.1. <i>Chlorella vulgaris</i>	9
2.1.3. Alg kültürünün büyüme kinetiği	10
2.1.3.1. <i>Monod kinetiği</i>	13
2.1.4. Mikroalg üretimine etki eden faktörler	14
2.1.4.1. <i>Sıcaklık</i>	15
2.1.4.2. <i>Işık yoğunluğu (Fotoperiyot)</i>	16
2.1.4.3. <i>pH etkisi</i>	17
2.1.4.4. <i>Tuzluluk</i>	18
2.1.4.5. <i>Karıştırma süresi</i>	18
2.1.4.6. <i>Besin miktarı</i>	19
2.1.4.7. <i>Biyolojik faktörler</i>	21
2.1.4.8. <i>Renk</i>	21

2.1.5. Alg üretim yöntemleri.....	22
2.1.5.1. Açık havuzlar	23
2.1.5.2. Kapalı sistemler.....	25
2.1.6. Mikroalg kültürlerinin hasat edilmesi.....	29
2.1.6.1. Koagülasyon ve flokülasyon.....	30
2.1.6.2. Biyoflokülasyon	30
2.1.6.3. Flotasyon.....	31
2.1.6.4. Santrifüj	31
2.1.6.5. Membran ile filtrasyon	32
2.1.7. Alglerin kullanım alanları	32
2.3. İmmobilizasyon	33
2.3.1. İmmobilizasyon teknolojileri	35
2.3.1.1. Adsorpsiyon.....	36
2.3.1.2. Enkapsülasyon.....	36
2.3.1.3. Entrapment (Tuzak)	36
2.3.1.4. Kendi kendine immobilizasyon	37
3. LİTERATÜRDE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR.....	38
3.1. Süspanse Alg ile Azot ve Fosfor Giderimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar .	38
3.2. İmmobilize Alg ile Azot ve Fosfor Giderimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar	44
3.3. Alg Kültürlerinin Balık Yemi Üretim Tesisinde Alternatif Besin Kaynağı Olarak Kullanımı	48
4. MATERYAL VE METOT.....	52
4.1. Alg Kültürü ve Devamlılığının Sağlanması	52
4.1.1. Mikroalg kültürünün seçimi	52
4.1.2. Kültür besi yeri.....	54
4.2. Kullanılan Doğal Suyun Karakteristiği.....	57
4.3. Alg Kültürlerinin Gaz Kabarcıklı İmmobilizasyonu	59
4.4. Deney Düzenekinin Kurulumu.....	61
4.5. Deneysel Yöntem	62
4.5.1. pH ölçümü	62
4.5.2. Klorofil-a ölçümü.....	63
4.5.2.1. Klorofil-a kalibrasyonu	64
4.5.3. Nitrat ölçümü	66

4.5.4. Fosfat ölçümü.....	66
5. FARKLI ORTAM KOŞULLARINDA <i>CHLORELLA VULGARIS</i> MİKROALG KÜLTÜRÜNÜN DOĞAL SU KÜTLESİNDEKİ AZOT VE FOSFOR GİDERİM VERİMİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ	68
5.1. <i>Chlorella vulgaris</i> Mikroalg Kültürünün Büyüme Eğrisi.....	68
5.2. Analitik Çözümlemeler.....	69
5.2.1. Alglerin reaksiyon kinetiklerinin belirlenmesi	70
5.2.1.1. Örnek bir kinetik çalışması	71
5.2.1.2. Alglerin büyüme kinetiğine ilişkin elde edilen bulgular	75
5.3. Zamana Bağlı Olarak Deney Setlerinde Azot, Fosfor ve Amonyum Giderim Verimlerinin İncelenmesi	76
5.4. Deney Tasarımı ile Farklı Ortam Koşullarının Alg Büyümesi ve Arıtıma Etkisi.....	79
5.4.1. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak μ_{max} taguchi analizi	80
5.4.2. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak Y-PO ₄ 'e göre taguchi analizi	83
5.4.3. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak Y-NO ₃ 'e göre taguchi analizi.....	86
5.4.4. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak Y-NH ₄ 'e göre taguchi analizi.....	88
5.4.5. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak Y-İnorganik-N'e göre taguchi analizi.....	91
5.4.6. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak % NH ₄ 'e göre giderim oranına göre taguchi analizi.....	92
5.4.7. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak % PO ₄ 'e göre giderim oranları taguchi analiz	92
5.4.8. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak % NO ₃ giderim oranına göre taguchi analizi	96
5.4.9. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak % İnorganik-N giderim oranı taguchi analizi	98
6. ALGLERİN BALIK YEMİ ÜRETİM ENDÜSTRİSİNDE ALTERNATİF BESİN MADDESİ OLARAK KULLANIMI.....	102

7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	104
KAYNAKÇA.....	106
ÖZGEÇMİŞ	



TABLÖLER DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. Mikroalg büyümesini etkileyen parametreler ve ortalama üreme koşulları .	15
Tablo 3.1. <i>Chlorella vulgaris</i> alg kültürünün besin içeriği	49
Tablo 4.1. Bold's Basal Medium çözeltilisinin için gerekli kimyasallar	54
Tablo 4.2. Numunelerin ilk ölçüm verileri.....	58
Tablo 5.1. Euler numerik çözüm analizi	73
Tablo 5.2. Runge-Kutta numerik çözüm analizi	74
Tablo 5.3. Deney seti için farklı parametrelerle gerçekleştirilen analiz sonuçları	75
Tablo 5.4. Deneyset verilerin analizi ile elde edilen çıktılar.....	75
Tablo 5.5. 45. saatte farklı deney setlerinde biyokütle giderim verimleri	76
Tablo 5.6. Deney setlerinin parametre içerikleri.....	80
Tablo 5.7. Farklı deneysel koşullarda μ_{max} , Y ve % giderim verimleri.....	81
Tablo 5.8. μ_{max} için cevap tablosu.....	82
Tablo 5.9. μ_{max} için varyans analiz sonuçları	83
Tablo 5.10. Y-PO ₄ için cevap tablosu	84
Tablo 5.11. Y-PO ₄ için varyans analiz sonuçları	85
Tablo 5.12. Y-NO ₃ için cevap tablosu	86
Tablo 5.13. Y-NO ₃ için varyans analiz sonuçları	87
Tablo 5.14. Y-NH ₄ için cevap tablosu	88
Tablo 5.15. Y-NH ₄ için varyans analiz sonuçları	90
Tablo 5.16. Y-İnorganik N için cevap tablosu	90
Tablo 5.17. Y-İnorganik N için varyans analiz sonuçları	92
Tablo 5.18. % NH ₄ -N için cevap tablosu	93
Tablo 5.19. % NH ₄ için giderim oranı varyans analiz sonuçları.....	94
Tablo 5.20. %PO ₄ giderim oranı için cevap tablosu	95
Tablo 5.21. % PO ₄ giderim oranı için varyans analiz sonuçları.....	96
Tablo 5.22. % NO ₃ giderim oranı için cevap tablosu.....	97
Tablo 5.23. % NO ₃ için varyans analiz sonuçları	98
Tablo 5.24. % İnorganik-N giderim oranı için cevap tablosu.....	99
Tablo 5.25. % İnorganik N giderim oranı için varyans analiz sonuçları	101
Tablo 6.1. İmmobilize <i>Chlorella vulgaris</i> alg kültürünün bileşim analizi.....	102
Tablo 6.2. İmmobilize <i>Chlorella vulgaris</i> kültürü için balık yemi analiz sonuçları....	102

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri.....	6
Şekil 2.1. Tipik mikrobiyal büyüme eğrisi	11
Şekil 2.2. Substrat konsantrasyonunun mikrobiyal çoğalma hızına etkisi	13
Şekil 4.1. RFU değerlerine karşı Chl-a değişim grafiği	65
Şekil 5.1. Zamana bağlı olarak <i>Chlorella vulgaris</i> alg kültürünün büyüme eğrisi	68
Şekil 5.2. Zamana karşı (saat) ortalama klorofil-a (mg/m^3) değerleri grafiği	72
Şekil 5.3. Zamana bağlı nitrat giderim grafiği.....	73
Şekil 5.4. Zamana bağlı nitrat giderim grafiği.....	74
Şekil 5.5. 45. Saatte farklı deneysel koşullardaki NO_3^- giderim verimleri.....	78
Şekil 5.6. 45. Saatteki farklı deneysel koşullardaki NH_4^+ giderim verimleri.....	78
Şekil 5.7. 45. Saatteki farklı deneysel koşullardaki PO_4 giderim verimleri.....	78
Şekil 5.8. 45. Saatteki farklı deneysel koşullardaki İnorg.-N giderim verimleri.....	79

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 2.1. Tipik bir açık havuz sistemi örneği	24
Görsel 2.2. Tübüler yapıli fotobiyoreaktör sistemi	27
Görsel 2.3. Pilot ölçekli düz-plaka fotobiyoreaktör sistemi.....	28
Görsel 2.4. Plastik torbalı fotobiyoreaktör sistemi.....	28
Görsel 4.1. Chlorella vulgaris alg kültürünün optik mikroskop görüntüleri	53
Görsel 4.2. ESCO AC2-4E8 Class II Biyolojik Güvenlik Kabini	53
Görsel 4.3. BBM-Agar agara ekilen alg kültürleri.....	55
Görsel 4.4. POLEKO marka bitki büyütme kabini	56
Görsel 4.5. Numune alma noktası	57
Görsel 4.6. Su numunesi alınan noktaları	57
Görsel 4.7. Deneyisel süreçlerde kullanılmak üzere alınan doğal su kütlesi	58
Görsel 4.8. Deney düzeneği	60
Görsel 4.9. Alg kültürlerinin immobilizasyon süreçleri.....	60
Görsel 4.10. Deney düzeneği	61
Görsel 4.11. Deney düzeneği	62
Görsel 4.12. HACH HQ40d marka pH ölçüm cihazı.....	63
Görsel 4.13. Turner Design Aquafluor fluorometre cihazı	63
Görsel 4.14. DR2400 spektrofotometre cihazı.....	66
Görsel 4.15. Deneyisel çalışmalarda kullanılan fotobiyoreaktör cihazı.....	67
Görsel 5.1. Farklı deney setlerinin μ_{max} için cevap analiz grafikleri.....	82
Görsel 5.2. Farklı deney setlerinin Y-PO ₄ için cevap analiz grafikleri.....	84
Görsel 5.3. Farklı deney setlerinin Y-NO ₃ için cevap analiz grafikleri.....	86
Görsel 5.4. Farklı deney setlerinin Y-NH ₄ için cevap analiz grafikleri	89
Görsel 5.5. Farklı deney setlerinin İnorganik-N için cevap analiz grafikleri.....	91
Görsel 5.6. Farklı deney setlerinin % NH ₄ -N için cevap analiz grafikleri.....	93
Görsel 5.7. Farklı deney setlerinin % PO ₄ giderim oranı için cevap analiz grafikleri ...	95
Görsel 5.8. Farklı deney setlerinin % NO ₃ için cevap analiz grafikleri.....	97
Görsel 5.9. Farklı deney setlerinin % İnorganik-N cevap analiz grafikleri	100
Görsel 6.1. Alg biyokütlesinin Japon balığına hammadde olarak verilmesi.....	103

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BBM	:	Bold's Basal Medium
BG11	:	Blue Green Medium
CFR	:	Sürekli Akışlı Reaktör
DI	:	Deiyonize Su
CH ₄ N ₂ O	:	Üre
CO ₃ ⁻²	:	Karbonat
HCO ₃	:	Bikarbonat
NO ₂	:	Azot Dioksit
NO ₃	:	Nitrat
NH ₃	:	Amonyak
PO ₄	:	Fosfat
OD	:	Optik Spektrofotometre
Psu	:	Practical Salinity Unit (Pratik Tuzluluk Birimi)
HRAP	:	Yüksek Oranlı Alg Havuzları (High Rate Algae Pond)
RFU	:	Relative Fluorescence Units (Renkli Çözünmüş Organik
ATP	:	Adenozin Trifosfat
EBPS	:	Gelişmiş Biyolojik Fosfor Giderimi
AGS	:	Aerobik Granüler Çamur
A ₂ O	:	Anaerobik-Anoksit-Oksit
Al ₂ (SO ₄) ₃	:	Alüminyum Sülfat
Fe ₂ (SO ₄) ₃	:	Demir (III) Sülfat
FeCl ₃	:	Demir (III) Klorür
PAR	:	Fotosentetik Olarak Aktif Radyasyon
WSP	:	Atık Stabilizasyon Havuzla

1. GİRİŞ

Su gezegenimizin büyük çoğunluğunu oluşturan doğal kaynaklardan bir tanesidir. Buna rağmen bazı ülkelerin temiz suya erişiminin kısıtlı olması ve sanayileşen ülkelerin su kalitesindeki değişmelerin getirdiği olumsuz sonuçlar, en önemli çevre sorunlarından birisine sebep olmaktadır (Wollmann vd., 2019; Sen vd., 2013).

Mikroplastikler, ksenobiyotikler, ağır metaller ve nitrat, fosfor, karbon gibi inorganik ve organik maddeler içeren kirlilik yüklerinin su kaynaklarındaki varlığı, suların kalitesini düşürmektedir, buna bağlı olarak da su kütlelerinin çeşitli amaçlar için kullanımını sınırlandırmaktadır (Wollmann vd., 2019; Sen vd., 2013).

Küresel düzeyde, su kaynaklarında organik kirlilik ve ötrofikasyon olmak üzere başlıca iki tehdit edici kirlilik yükü bulunmaktadır (Muhtaba vd., 2018). Yüksek konsantrasyonlarda azot ve fosfor gibi inorganik besinlerin bileşenlerinin sulardaki varlığı, su kütlelerinde aşırı alg üremesine sebep olmakta ve böylece ötrofikasyon meydana gelmektedir (Shelknanloymilan, Atıcı, Obal, 2012; Muhtaba vd., 2018). Ötrofikasyon oluşumunu engellemek için, atıksu kütleleri alıcı ortama deşarj edilmeden önce, azot ve fosfor gibi alg üremesine sebep olan besin maddelerinin su kütlesinden giderimi için uygun arıtım sürecinden geçirilmesi gerekmektedir (Muhtaba vd., 2018; Ruiz-Marin, Mendoza-Espinosa, Stephenson, 2010).

Kirlilik parametrelerinin sulardan arıtımı koagülasyon, flokülasyon, adsorpsiyon, çözünmüş hava flotasyonu, yerçekimi ile ayırma gibi geleneksel tekniklerle sağlanmaktadır. Bu yöntemler uygulanırken azot, fosfor gibi elementlerin su kütlesinden gideriminde yüksek miktarda kimyasal madde kullanılmakta olup tesislerin işletme, bakım maliyeti ve enerji tüketimi oldukça yüksektir (Jasmine vd., 2016). Bununla birlikte, azot ve fosforun sulardan gideriminde asimilasyon, nitrifikasyon, denitrifikasyon ve biyolojik fosfor giderimi gibi ileri arıtım metotları da kullanılmaktadır (Shelknanloymilan, Atıcı, Obal, 2012).

Biyolojik süreçlerle arıtımı sağlanan sulardaki mevcut azotun %90'ı amonyak formundadır. Azot besin maddesi olduğu için, atıksuların arıtım süreçlerinde kullanılan mikroorganizmalar amonyak azotunu asimile edip, hücre kütlesine çevirmektedir. Amonyak azotunun bir kısmı, hücrelerin parçalanma ve ölümü ile atıksulara geri dönmektedir. Nitrifikasyon ve denitrifikasyon süreçleri ile azotun atıksulardan giderimi iki basamakta meydana gelmektedir. Birinci basamakta, nitrifikasyon ile amonyak nitrata indirgenmektedir, bu basamakta azotun sadece formu değişmekte olup, henüz

sulardan giderimi sağlanmaz. İkinci basamak ise denitrifikasyondur, bu basamakta nitrat gaz formundaki ürünlere dönüştürülerek sulardan giderimi sağlanmaktadır. Nitrifikasyon sürecinden Nitrosonomos ve Nitrobacter ile diğer bazı bakteri türleri sorumludur.

Fosfor ise atıksulara genellikle deterjan kaynaklı fosfattan gelmekte olup sularda ortofosfat, polifosfat ile organik bağlı fosfor olarak bulunmaktadır. Polifosfatlar ve organik bağlı fosfatlar, hidroliz edilerek, mikrocanlıların kullanabileceği ortofosfatlara ve serbest fosfatlara dönüşmektedir. Bu canlılar, fosforu hücre zarında bulunan fosfolipitlerin, nükleik asitlerin ve ATP'nin sentezinde kullanmaktadır (Shelknanloymilan, Atıcı, Obal, 2012). Fosfor sucul ortamlardan fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle giderilmektedir. Biyolojik yöntemler fiziksel ve kimyasal yöntemlere kıyasla daha çevre dostu bir metot olup, biyolojik yöntemlerin işletme maliyeti daha düşüktür. Bu yöntem kullanılarak mikroorganizmalar tarafından fosforun tümü arıtılmaktadır. Bununla birlikte yöntemin işletme parametreleri sürekli kontrol edilmelidir. Fosforun biyolojik yöntemler ile giderimi için farklı metotlar kullanılmaktadır. Bunlar, mikroorganizma ve bakterinin birlikte kullanıldığı arıtım süreçleri, AGS (aerobik granüler çamur) ve EBPS (gelişmiş biyolojik fosfor giderimi) metotlarından oluşmaktadır (Zahed vd., 2022).

Suların algler ile biyolojik olarak arıtılması son yıllarda büyük önem kazanmış olup, bu yöntemin konvansiyonel arıtım yöntemleri kadar etkili olduğu belirlenmiştir. Özellikle ortam sıcaklığının yüksek olduğu, yıl boyunca yeterli miktarda güneş ışığının sağlandığı bölgelerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Mohsenpour, vd., 2021). Mikro algler ile arıtım yöntemi azot ve fosfor bakımından yüksek miktarda kirlilik yüküne sahip atık suların biyolojik olarak arıtımının sağlandığı metotlarından birisidir (Ruiz-Marin, Mendoza-Espinosa, Stephenson, 2010). Biyolojik süreçlerle azot ve fosfor gibi besinlerin giderimi A_2O (anaerobik-anoksit-oksit) prosesi ile sağlanmaktadır. Bu metot ile; fosforun giderimi anaerobik ve aerobik reaktörler ile, azotun giderimi ise, aerobik ve anoksik reaktörlerde denitrifikasyon ve nitrifikasyon süreçleri ile sağlanmaktadır (Mujtaba vd., 2018).

Alglerin kullanıldığı biyolojik arıtım yöntemlerinin, mevcut olan geleneksel arıtım yöntemlerine göre daha ucuz olmasından dolayı algler su arıtımında alternatif metot kullanılmaktadır. Arıtma havuzlarından elde edilen algler, tarımsal amaçlı azot ve fosfor takviyesi olarak kullanılmakta ve alglerin fermantasyonu ile, metandan enerji

elde edilmektedir. Algler ayrıca su ortamlarında bulunan yüksek oranda toksik maddeyi de bünyesinde biriktirerek, su arıtımına katkı sağlamaktadır (Sen vd., 2013). Alglerin, bitki besin maddeleri, ağır metal, pestisit, organik ve inorganik toksik kirletici kaynaklarını ve radyoaktif maddeleri atıksudan absorbe etmesi ile atıksuların biyolojik süreçlerle arıtılmasında önemli role sahiptir. (Ruiz-Marin ve Mendoza-Espinosa, Stephenson, 2010).

Tetrademus obliquus, *Chlorella vulgaris* ve *Spirulina palatesis* alg kültürleri su ve atıksu arıtımında yaygın olarak kullanılan türlerdir (Prescott, 1973).

Chlorella sp. diğer alg türlerine kıyasla daha yüksek büyüme hızına sahiptir. Bu alg kültürü yüksek miktarda kirlilik içeren atıksu kütlelerinde bile büyümeye devam edebilmekte, kısa üreme süresi ve yüksek besin giderim oranlarına sahip olması nedeniyle arıtım süreçlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalarda *Chlorella vulgaris* mikroalg kültürünün, evsel atık sulardan %55 – 88 oranlarında azotu ve %12 – 100 oranlarında ise fosforu arıttığı sonucuna ulaşılmıştır (Mujtaba, 2018).

1.1. Çalışmanın Amacı

Çalışmanın amacı; su/atıksu arıtımında yaygın olarak kullanılan *Chorella vulgaris* alg kültürünün gaz kabarcıklı immobilize edilmesi, doğal su kütleindeki azot ve fosfor kirliliğinin bu alg biyokütlesi ile arıtılabilirliğinin irdelenmesi ve elde edilecek alg kültürünün balık yemi üretim tesislerinde besin hammaddesi olarak kullanılabilirliğinin araştırılması hedeflenmiştir. Özellikle doğal su kütlelerinin azot ve fosfor bakımından zengin olması, bu gibi sularda biyolojik aktiviteyi arttırmakta ve doğal su kütlelerinin ötrofik hale gelmesine yol açmaktadır. Bu sebeple immobilize algler ile yapılacak biyoremediasyon uygulamaları su kütlelerinin üzerindeki baskıyı önemli ölçüde azaltacağı öngörülmektedir. Tez çalışması süresince kullanılmış olan *Chlorella vulgaris* mikroalg kültürü literatürdeki pek çok çalışmada da azot, fosfor gibi mikroorganizmaların büyümesi için gerekli bulunan besin maddelerinin sulardan uzaklaştırılmasında etkin bir şekilde kullanılmaktadır.

Tez çalışması kapsamında, azot ve fosfor içeriği bakımından kirlenmiş doğal sulardan gaz kabarcıklı immobilize alg kullanılarak giderim yapılması irdelenmiştir. Böylelikle bu tür doğal sularda azot, fosfor kirliliğinin alg biyokütlesi ile biyolojik arıtımı sağlanıp ve doğal suların arıtımını gerçekleştirilebileceği alternatif yöntem elde edilmiştir. Bu çalışmalar sayesinde alg biyokütlesi kullanılarak azot ve fosfor giderimindeki optimum şartlar tespit edilmiş ve arıtımı sağlanan sulardan açığa çıkan alg biyokütlesinin hasadı sağlandıktan sonra, balık üretim tesislerinde besin maddesi olarak kullanımı araştırılmıştır.

Çalışma sonucunda, **alg hasatının kolay, sera gazı emisyonlarını azaltır nitelikte ve elde edilen alg biyokütlesinin besin hammaddesine dönüştürüldüğü bütüncül bir anlayış** hedeflenmiştir.

1.2. Çalışmanın Önemi

Tez çalışması kapsamında; gaz kabarcıklı immobilize *Chlorella vulgaris* mikroalg kültürü kullanılarak, azot ve fosfor kirliliği açısından sorun yaşanan doğal su kütlelerinin, biyoremediasyon (biyolojik rehabilitasyonu) olasılıkları irdelenmiştir. Bununla birlikte deneysel çalışmalar sonunda hasat edilen nihai alg biyokütlesinin balık üretim endüstrisinde alternatif besin olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Mikroalg kültürünün gaz kabarcıklı immobilizasyon süreci ile alg biyokütlesinin yoğunluğunun sudan daha düşük hale getirilmesi, alglerin suda yüzer formda bulunmasını sağlamakta ve su kütlesi yüksek bulanıklığa sahip olsa bile yüzeyden fotosentez süreci için gereksinim duyduğu ışığı kolayca temin edebilmektedir. Böylelikle arıtım sonucunda immobilize alg biyokütlesinin hasat edilebilirliği kolaylaşmakta ve ekstra işlem (filtrasyon, koagülasyon-flokülasyon, vb.) uygulanmasına ihtiyaç duyulmamaktadır (Göncü, Turgut, Öztürk, 2022).

2030 Sürdürülebilir Kalkınma Hedeflerinden 6.'sı olan Temiz Su ve Sıhhi Koşullar bünyesindeki maddenin alt başlığı olan 6.3'de belirtilen, 2030'a kadar su kalitesinin, kirliliğin azaltılması, zararlı kimyasalların ve maddelerin boşaltımının bitirilmesi ve salınımını en aza indirilmesi, arıtılmayan atık su oranının yarıya düşürülmesi ve geri dönüşümün ve güvenli geri kazanımın dünya çapında kayda değer miktarda artırılarak iyileştirilmesi projenin temel hedeflerini içermekte olup, projede de biyoremediasyon yöntemi ile doğal suların arıtımında kimyasal madde kullanımının azaltılıp, doğal sular alg ile arıtılarak daha temiz ve kullanılabilir su elde edilmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca projede 2030 Sürdürülebilir Kalkınma Hedeflerinden 14. madde olan Sudaki Yaşam başlığı kapsamı altında ve 14.1. de belirtilen 2025'e kadar özellikle karasal kökenli faaliyetlerden kaynaklanan, deniz çöpü ve gıda atıklarının dökülmesinden kaynaklanan su kirliliği de dahil deniz kirliliğinin tüm biçimlerinin önlenmesi ve önemli ölçüde azaltılması maddesi ve 14.1.1. alt hedef olan, Kıyı ötrofikasyonu (sudaki azot ve fosfatın artması) indeksi başlığı da projenin ana hedeflerinde bulunan doğal sulardan azot ve fosfor kirliliğinin giderilmesi amacını kapsamaktadır ve projede Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri'nden 2. si olan Açlığa Son ilkesi kapsamında, gaz kabarcıklı immobilize algin balık üretim tesislerinde besin maddesi olarak kullanımı ile insani tüketime katkı sağlayarak açlığın ve yetersiz beslenmenin önüne geçilmesini dolaylı yoldan etkilemektedir. Proje kapsamında hedeflenen maddeler Şekil 1.1'de işaretlenmiştir.



Şekil 1.1. Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri

Su Çerçeve Direktifi, tüm su kütlelerinin (nehirler, göller, geçiş ve kıyı suları ve yeraltı suları) kirlenmesini önlemek ve kalitesini artırmak, sürdürülebilir su kullanımına teşviki arttırmak, kirliliği azaltmak, sel ve kuraklıkların azaltılmasına katkı sağlamak amacıyla oluşturulmuştur. Yapılacak olan çalışmada da doğal su kütlelerinden fazla miktarda bulunan azot ve fosfor gibi besin maddelerinin giderimi amaçlanmıştır, böylece Eskişehir civarından alınacak suyun arıtım performansı incelenecek ve sonradan uygulanabilecek iyileştirme çalışmaları için ön çalışma niteliği taşıyacaktır.

11. Kalkınma Planı Yaşanabilir Şehirler ve Sürdürülebilir Çevre Kapsamındaki Hedeflerden, çevre ve doğal kaynakların korunması, kalitesinin iyileştirilmesi, etkin, entegre ve sürdürülebilir şekilde yönetiminin sağlanması, her alanda çevre ve iklim dostu uygulamaların gerçekleştirilmesi, toplumun her kesiminin çevre bilinci ile duyarlılığının artırılması temel amacına uygun olarak, doğal su arıtımındaki geleneksel yöntemlerde çok fazla kimyasal kullanılmasına alternatif olarak, kimyasal maddeye olan ihtiyacın minimize edilmesini sağlayacak alg ile arıtım gerçekleştirilecek ve oluşan alg biyokütlesinin sürdürülebilir şekilde yönetimi mümkün kılınacaktır.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1. Alglerin Tanımı ve Genel Özellikleri

Algler sucul ortamlardaki primer üreticilerdir ve besin zincirinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır (Aktar ve Cebe, 2010; Mohsenpour vd., 2021). Fotosentez ile ışığı soğurup organik maddelerden inorganik maddeleri sentezleyen, basit yapılı, mikroskobik veya makroskobik yapıdaki organizmalar olup, deniz, tatlı su, atıksu ve acı su gibi farklı sucul ekosistemlerde yaşamaktadır (El-Sheekh vd., 2022; Gezici ve Eliçin, 2012; Paul vd., 2021).

Alg biyokütlesi tek hücreli türlerden karmaşık çok hücreli yapılara kadar değişkenlik göstermektedir. Çok hücreli yapılar alg olarak tanımlanırken, tek hücreli yapılara mikroalg denilmektedir (Gezici ve Eliçin 2012).

Algler genellikle sucul ortamda gelişme göstermekte ve aquatik canlıların temel besin kaynağını oluşturmaktadır. Bitkiler gibi alg kültürleri de karbondioksit ve ışığı kullanarak, oksijen ve besin maddesi üretmektedir (Paul vd., 2021).

Doğal sularda alglerin büyümesine olanak sağlayan besin maddeleri bulunmaktadır. Algler sulardaki N, P, C gibi elementleri bünyesinde biriktirip, atmosferik karbondioksiti kullanarak atmosferin oksijen ihtiyacına katkı sağlamaktadır. Sudaki toksik maddelerin arıtımına olan katkısı ile çevreye de fayda sağlamaktadır (Jasmine vd., 2016). Algler sularda biyolojik arıtımı sağlamakta ve bünyesinde ağır metal, pestisit, organik ve inorganik toksik maddeleri, radyoaktif maddeleri biriktirerek bu zararlı bileşenlerin sulardan uzaklaşmasına yardımcı olmaktadır (Sen vd., 2013; Jasmine vd., 2016).

CO₂ miktarının sınırlayıcı olmadığı durumlarda, özellikle atık sudaki düşük C/N oranlarında, alg biyokütlesi atıksudaki azotlu bileşikleri etkili bir şekilde gidebilmektedir. Bununla birlikte, sulardaki azot ve fosfor kirlilik yüklerini eş zamanlı olarak giderimi, atıksuların arıtımında büyük avantajlar sağlamaktadır (Özgür ve Göncü, 2023). Alglerin yüksek miktarda karbonu tutması, etkin fotosentez süreci, çevresel koşullara dirençli olması, kirlilik yüklerinin biyoremediasyonuna elverişliliği ile alglerin kullanıldığı arıtım sürecinin düşük maliyetli ve yüksek verimli olması alglerin arıtım süreçlerinde kullanım avantajları arasındadır. Alglerin karbon tutma süreçleri, karbon ayak izi oluşumunu engelleyen sürdürülebilir bir süreçtir. (Paul vd., 2021).

Alg kültürleri özellikle su ve atıksu arıtımında yaygın bir şekilde kullanılmakta olup, alglerle ilgili temel bilgiler 2.1. ve alt başlıklarında detaylı bir şekilde ifade edilmiştir. Genellikle su ve atıksu arıtım süreçlerinde yaygın olarak kullanılan alg türleri *Tetradesmus obliquus* (syn. *Scenedesmus obliquus*), *Chlorella vulgaris*, *Oocystis minuta* ve *Spirulina palantis* şeklinde sıralanabilir (Ajala ve Alexander, 2020; Prescott, 1973). Tez çalışması kapsamında *Chlorella vulgaris* mikroalg kültürü kullanılmıştır.

2.1.1. Alglerin morfolojik özellikleri ve üremeleri

Algler basit yapılı ve bünyesinde klorofil pigmenti bulunduran fotosentetik organizmalardır. Doğada tek veya çok hücreli ya da gruplar halinde koloni şeklinde bulunmaktadır. Boyutları 3-10 µm ile 70 cm aralıkta değişkenlik göstermekte olup, bir günde boy uzunluğu 50 cm ye kadar uzayabilmektedir.

Mikroalgleri organik kirleticilere karşı toleranslarına göre 80 tür ve 60 cinse ayrılmaktadır. Toplamda 725 tür, 240 cins ve 125 çeşit ile 1000'den fazla takson oluşturdıkları ve kirleticileri karşı güçlü tolerans gösterdikleri bilinmektedir. Bu toleranslı mikroalg cinsleri, sekiz yeşil alg, altı diatom, altı fagella ve beş mavi yeşil algden oluşmaktadır (Palmer, 1969). *Chlamydomonas*, *Euglena*, *Chlorella*, *Oscillatoria*, *Scenedesmus*, *Navicula*, *Stigeoclonium* ve *Nitzschia* alg kültürleri, kirletici maddelere karşı oldukça toleranslı türlerdir. (El-Sheekh vd., 2022).

Alglerin üreme yöntemleri vejetatif üreme, eşeyli üreme ve eşeysiz üreme olmak üzere 3 farklı şekilde sınıflandırılmakta olup en yaygın gözlenen üreme yöntemi vejetatif üremedir. Bazı alg türlerinde, hücreler büyüüp kolonileri meydana getirmekte ve yeterli büyüklüğe ulaştınca normal büyümenin ardından hücreler bölünmektedir (Aktar ve Cebe, 2010).

2.1.2. Alglerin sınıflandırılması

Alg türleri birbirleri ile kıyaslandığında kültürlerin sitolojik, morfolojik, biyokimyasal özellikleri, üreme yöntemleri ve yaşam süreleri bakımında farklılıklar görülmektedir. Algler yapısı bakımından prokaryotik (basit yapılı hücre) ve ökaryotik (gelişmiş yapılı hücre) canlılar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Aktar ve Cebe, 2010). Sucul ortamda gelişebilen, fotosentez yapabilen algler doğada mikroalg ve makroalgler formları şeklinde bulunmaktadır. Basit yapılı bu hücrelerin vücutlarının yüzey/hacim oranının büyük olması ile algler yüksek miktarda besin tutabilmektedir (Khan vd., 2009). Mikroalglerin büyük bir kısmı mavi-yeşil alg olarak da bilinmektedir,

makroalgler ise kamçılı olmalarının yanı sıra pigment yapılarına göre kahverengi algler (Phaeophyta), kırmızı algler (Rhodophyta), yeşil algler (Chlorophyta), diatomeler (Chrysophyta), kamçılı agler (Flagellata) olarak farklı gruplara ayrılmaktadır (Aktar ve Cebe, 2010).

2.1.2.1. *Chlorella vulgaris*

Chlorella, 1-8 mikron büyüklüğünde, çimen kokulu, sadece mikroskop altında gözlenebilen, küresel yapılı, tek hücreli bir tatlı sularda yetişen mikroalgdir. Bu mikroalg kültürü çok hızlı bir şekilde çoğalmakta olup, her 17-24 saate bir 4 yeni hücreye yenilenmektedir (Abid, 2018). *Chlorella* çekirdek zarına sahip, iyi tanımlanmış kromozomları ve farklılaşmış hücresel yapıları bulunan karmaşık bir bitki olarak da bilinmektedir. *Chlorella* alg kültürlerinin hücre duvarı ve orta tabakası selüloz mikrofibril, dış tabakası ise polimerize karotenoid yapılıdır (Erci, 2023; Alagawany vd., 2021).

Chlorella vulgaris mikroalg kültürü ilk olarak 1890 yılında Hollandalı mikrobiyolog Dr. Martinus Willem Beijerinck tarafından, fotosentez yapabilen, ototrofik, miksotrofik ve heteretrofik yapılı, tatlı su, deniz ve karasal ortamlarda gelişme gösteren, ökayotik yeşil alg olarak tanımlanmıştır (Erci, 2023; Alagawany vd., 2021).

Chlorella vulgaris mikroalg kültürü genellikle tatlı sularda, ağaç kabuklarında ya da taşlarda yeşil örtüler meydana getirmekte olup yeşil alg türleri arasında en yüksek nükleik asit miktarına sahiptir (Mostert ve Grobbelaar, 1987). Bir *C. vulgaris* alg kültürü, %45,23 protein, %23,43 karbonhidrat ve %18,12 toplam yağ içeriğine sahiptir (Alagawany vd., 2021).

C. vulgaris biyokütlesi, magnezyum açısından zengin klorofiller, serbest radikal temizleyiciler ve antioksidanlar (fenolikler, karotenoidler, çoklu doymamış yağ asitleri) içermektedir (Vazirzadeh vd., 2022). Bu mikroalg kültürünün sahip olduğu, yüksek miktarda protein ve yağ asitleri sayesinde, *Chlorella vulgaris* alg kültürü biyoyakıt ve alternatif gıda üretim uygulamalarında kullanılmaktadır, algler ile arıtım sürecinde atıksulardan azot ve fosfor gideriminde yüksek giderim verimleri elde edilmektedir. Sulardan ağır metal, boya giderimi gibi pek çok alanda ve biyoremediasyon uygulamalarında kullanılmaktadır (Blosi vd., 2022; Jayaseelan vd., 2021). Su ortamında *Chlorella vulgaris* alg kültürünün büyüebilmesi için gerekli olan minimum koşullar ışık ve CO₂'dir (Abid, 2018).

Chlorella vulgaris mikroalg kültürünün sistematik olarak sınıflandırılması aşağıdaki gibidir;

Üst Alem: Eukaryotic

Alem: Protista

Grup: Chlorophyta

Sınıf: Trebouxiophyceae

Takım: Chlorellales

Aile: Chlorellaceae

Cins: Chlorella

Tür: *Chlorella vulgaris* (Erci, 2023).

2.1.3. Alg kültürünün büyüme kinetiği

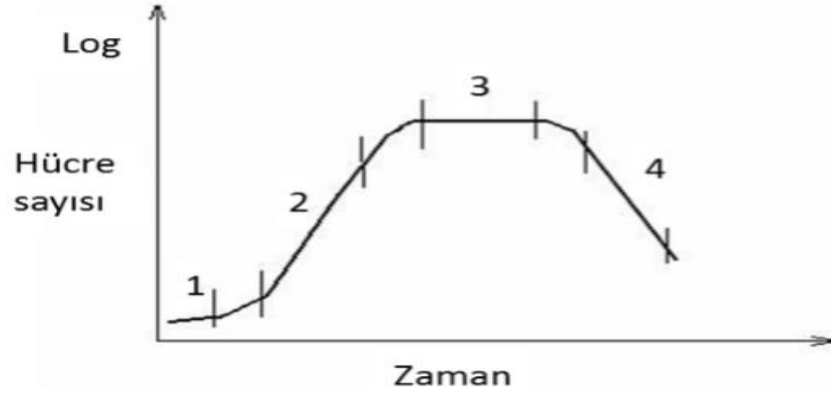
Mikroalglerin büyüme veya biyokütle ölçümü, agar plakalarda doğrudan koloni sayımı ile ya da alg kültürünün optik yoğunluk (OD) spektrofotometre ile sağlanmaktadır. OD ile ölçümün uygulamada kolay olması ve doğru ölçüm sonuçları elde edilmesinden dolayı, bu yöntem araştırma laboratuvarlarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Fakat deney tasarımı substat ve toksik madde konsantrasyonunun etkilerinin incelendiği çalışmalarda, bu tür yaklaşım yeterli olmamaktadır, bu gibi koşullarda büyüme eğrisi kullanımı daha etkindir (Gu, 2016).

Tipik bir mikrobiyal izolatu büyümesini anlayabilmek için hücreler, besinlerin ve çevresel koşulların kontrol edildiği sıvı bir besiyerine yerleştirilir. Besi ortamı, büyüme için gereken tüm besinleri sağlıyorsa ve çevresel parametreler optimum düzeyde ise, mikroorganizma sayısı veya bakteri kütleindeki artış, bir büyüme eğrisi grafiği ile zamana bağlı bir fonksiyon olarak ölçülebilir (Maier ve Pepper, 2015). Mikroorganizmaların sayısı ve kültür çeşitliliği çevresel koşullara (pH, çözünmüş oksijen derişimi, sıcaklık, karbon, azot, fosfor ve diğer besin elementleri) bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Yaygın olarak kullanılan mikrobiyal büyüme eğrisi dört fazdan oluşmaktadır.

Bu fazlar;

- 1. Lag Fazı (İnkübasyon Fazı),
- 2. Üstel (Logaritmik Büyüme) Faz,
- 3. Durağan Faz,
- 4. İçsel Solunum Evresi (Ölüm Fazı)'dır (Öztürk, 2017).

Bu değişimlerden meydana gelen fazlar Şekil 2.1’de belirtilmektedir.



Şekil 2.1. Tipik mikrobiyal büyüme eğrisi (Öztürk, 2017)

Lag fazı:

Kesikli koşullarda mikroorganizmaların büyümesinin gözleendiği ilk faz, büyüme oranının sıfır kabul edildiği lag fazıdır. Bu faz hücrelerin çevresel koşullara fiziksel adaptasyon aşaması olarak da bilinmektedir. Lag fazında mikroorganizma kültürü besi ortamına aşlanmaktadır, fazın uzunluğu genellikle dakikalardan birkaç saate kadar değişkenlik göstermektedir (Maier ve Pepper, 2015).

Logaritmik büyüme fazı:

Kesikli koşullarda gözlenen ikinci büyüme aşaması, üstel büyüme fazı olarak bilinmektedir. Bu fazda, mevcut çevresel koşullar altında en hızlı büyüme sağlanmaktadır. Üstel büyüme fazı sırasında, kültürdeki hücrelerin artış hızı, herhangi bir zamanda mevcut olan hücre sayısı ile orantılı olarak değişmektedir (Maier ve Pepper, 2015). Bu aşamadaki büyüme oranı, besin konsantrasyonu ve havalandırma gibi faktörlere bağıdır. Üstel fazdaki hücre konsantrasyonu denklem 2.1’deki gibi ifade edilmektedir (Prado Barragán vd., 2016).

$$C(t) = C_0 \times e^{\mu(t) \times t} \quad (2.1)$$

Bu denkleme göre;

$C(t)$: t anındaki konsantrasyon,

$C(0)$: başlangıç konsantrasyonu,

μ : zamana bağı besin konsantrasyonu

t : zamanı temsil etmektedir.

Durgun faz:

Kesikli koşullarda gözlenen üçüncü büyüme aşaması durgun fazdır. Bu fazda mikroorganizma kültüründe genellikle gözle görülür bir şekilde büyüme meydana gelmemektedir, bunu ifade eden denklem aşağıdaki gibidir:

$$\frac{dX}{dt} = 0 \quad (2.2)$$

Durağan fazda net büyüme gerçekleşmemesine rağmen, hücreler büyümeye ve bölünmeye devam etmektedir. Büyüme, eşit sayıda hücrenin ölmesiyle dengelenmektedir. Karbon ve enerji kaynağının veya herhangi bir temel besin madde miktarının sınırlayıcı hale gelmesi mikroorganizma kültürlerinin durağan faza ulaşmasına sebep olmasına rağmen, karbon kaynağının tükenmesi büyümenin tamamen durması anlamına gelmemektedir. Bunun nedeni, ölmekte olan hücrelerin parçalanmaya devam etmesi ve geri dönüştürülmüş besin kaynağı sağlamasıdır (Maier ve Pepper, 2015).

Büyüme eğrisinin üçüncü fazı olan durağan fazda mikroorganizmaların hücre konsantrasyonu sabit kalır. Bu fazda büyüme gerçekleşmemektedir, yani sıfırdır ayrıca büyüme hızı ölüm hızına eşittir (Öztürk, 2017). Bu fazdaki reaksiyon değişimi denklem 2.3'deki gibidir (Prado Barragán vd., 2016).

Ölüm fazı:

Büyüme eğrisinin son aşaması, ölüm hızının üreme hızından daha fazla olduğu ve buna bağılı olarak da hücre konsantrasyonunun zamana bağılı azaldığı ya da hücrelerin net sıfıra ulaşması ile karakterize edilen ölüm fazıdır (Öztürk, 2017; Maier, 2015).

Ölüm fazı genellikle üsteldir, ancak hücre ölüm hızı genellikle üstel faz sırasındaki büyüme hızından daha yavaştır. Ölüm fazı denklem 2.3'de ifade edildiğı gibidir.

$$\frac{dX}{dt} = -k_d X \quad (2.3)$$

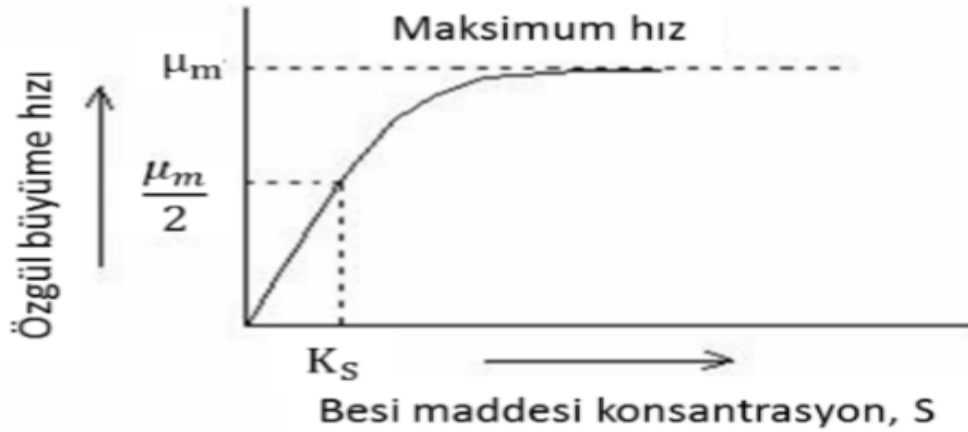
k_d : spesifik ölüm oranı

2.1.3.1. Monod kinetiği

Monod Kinetiği, Jacques Monod tarafından önerilen ve tarihi 1940'lı yıllara dayanan klasik büyüme modelini ifade etmektedir. Michaelis-Menten kinetiği tarafından denklem 2.3'de açıklanan reaksiyon hızlarına benzer şekilde, mikrobiyal büyüme hızının, sınırlayıcı besin maddesi konsantrasyonundan etkilendiği varsayımına dayanmaktadır (Singh vd., 2018).

Biyokütle ve büyüme kinetiği sırasıyla Monod ve Michaelis–Menten denklemleri ile ifade edilmektedir. Monod kinetiği, mikroorganizmaların büyümesi için kullanılan matematiksel bir modeldir. Sucul ortamdaki mikrobiyal büyüme oranlarını sınırlayıcı bir besin konsantrasyonuyla ilişkilendirmek için bu formun bir denklemini kullanmayı öneren Jacques Monod'un adını almıştır (Prado Barragán vd., 2016).

Mikroorganizmaların sayısındaki artış hızı, reaktördeki hız kısıtlayıcı besin maddesinin konsantrasyonu ile birlikte değişkenlik göstermektedir. Kesikli koşullardaki reaktörlerde büyüme için gerekli olan substrattan birisinin limitli olması durumunda bile mikrobiyal biyokütlede azalma ve büyümenin durması gözlenmektedir. Substrat konsantrasyonunun mikrobiyal çoğalma hızına etkisi Şekil 2.2'de gösterilmektedir (Öztürk, 2017).



Şekil 2.2. Substrat konsantrasyonunun mikrobiyal çoğalma hızına etkisi (Öztürk, 2017)

$$\mu = \frac{\mu_{maks}XS}{K_S+S} \quad (2.5)$$

Burada;

μ : spesifik (özgül) çoğalma hızı (1/T),

S: çoğalmayı sınırlayan substrat konsantrasyonu (M/L³),

K_S : yarı doygunluk sabiti (maksimum çoğalma hızının yarısındaki substrat konsantrasyonu) (M/ L³),

μ_{maks} : maksimum spesifik çoğalma hızı (1/T),

X: hücre konsantrasyonu (m/v) dur.

Çevre koşullarının (sıcaklık, pH, çözünmüş oksijen, çözünmüş karbondioksit, redoks potansiyeli, toksisite) mikroorganizmalar üzerinde etkileri oldukça önemlidir. Mikroorganizmaların metabolizmaları (özellikle çoğalma faaliyetleri) kendilerini çevreleyen fiziksel ortama bağlı olarak değişmektedir (Öztürk, 2017).

2.1.4. Mikroalg üretimine etki eden faktörler

Mikroalg kültürü üretiminde, biyolojik, biyolojik olmayan ve işletme koşullarına bağlı olarak değişen pekçok faktör etki etmektedir. pH, sıcaklık, ışık yoğunluğu, oksijen, karbondioksit, tuzluluk, toksik kimyasal maddeler ve besin konsantrasyonu biyolojik olmayan faktörler arasındadır (Elcik ve Çakmakcı, 2017; Rezaei vd., 2019). Bakteri, mantar, virüs gibi patojenler ve diğer alg kültürleri ile meydana gelen rekabet ortamı ise biyokütle üretimini etkileyen biyolojik faktörlerdendir. Karıştırma süresi, seyretme katsayısı, hasat sıklığı gibi işletme parametreleri de alg kültürlerinden biyokütle üretimi sürecinde etkin parametrelerdendir (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

Özellikle toplam azot, toplam fosfor derişimleri su sıcaklığı ve ışık yoğunluğu ile bu faktörlerin sinerjik etkileri fitoplankton büyümesini etkilemektedir (Wang vd., 2016). Karbon, hidrojen ve oksijen gibi elementler, alg büyümesine doğrudan etki etmezken, azot, fosfor, kükürt, potasyum ve magnezyum gibi makro besinler büyümeyi doğrudan etkilemektedir (Juneja vd., 2013).

Yüksek miktarda arıtım verimleri elde edebilmek için, alglere etki eden faktörlerin büyüme kinetiğine olan etkisinin incelenmesi gerekmektedir (Rezaei vd, 2019). Tablo 2.1’de mikroalglerin biyomas verimliliği için ortalama üretim şartları verilmiştir.

Tablo 2.1. Mikroalg büyümesini etkileyen parametreler ve ortalama üreme koşulları (Kargin, 2020)

Parametreler	Sınır Değerleri	Optimum Şartlar
Sıcaklık (°C)	16-40	18-24
Tuzluluk (g/L)	12-40	20-24
Işık yoğunluğu (Lux)	1000-10000	2500-5000
Işıklanma süresi (gündüz:gece, saat)	24:0 maksimum	16:8 minimum

2.1.4.1. Sıcaklık

Sıcaklık, planktonik ve biyofilm kültürlerinin büyüme hızını, hücre boyutunu, biyokimyasal yapısını ve besin gereksinimini etkileyen en önemli faktörlerdendir. Algler, türlerine, yetiştikleri bölge ve iklime göre farklı sıcaklıklarda yaşayabilmektedir. Optimum sıcaklık değerlerinin altında, büyüme hızı (μ) sıcaklık artışına bağlı olarak artmakta iken, türe özgü sıcaklık düşüşü de görülebilmektedir (Juneja vd., 2013). 5-55°C aralığındaki sıcaklık değerleri, çoğu mikroalg kültürünün büyümesi için uygun olmasına rağmen, optimum büyüme sıcaklıkları 20-30°C aralığında değişkenlik göstermektedir (Elcik ve Çakmakcı, 2017). *Chlorella vulgaris* alg kültürlerinin, büyümesi için gerekli olan optimum sıcaklık değerleri ise 26-30°C aralığındadır. Bu sıcaklık değerinde yetiştirilirse, yüksek biyokimyasal içeriğe sahip olmakta ve etkin bir büyüme gerçekleşmektedir (Erci, 2023).

Sıcaklık faktörü, mikroalg kültürü için aynı zamanda stres kaynağıdır. Bu stres, hücre sitoplazmasında viskozite değişikliklerine sebep olmakta, buna bağlı olarak da karbon ve azot kullanım miktarında azalma görülmektedir. Hücrelerin lipid bileşimi, besin maddelerini tutması, karbon fiksasyonu ve büyüme hızı da sıcaklığa bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

Sakamoto ve arkadaşları çalışmalarında, 38°C sıcaklıkta *Synechococcus sp.* PCC 7002 alg kültürünün hücre miktarını, 3,5 saatte ikiye katlandığını gözlemlenmiştir. *Acutodesmus dimorphus* kültürü ile 35°C’de en iyi büyümenin meydana geldiğini ve alg kültürünün bünyesinde %22,7 oranında lipid, %33,7 oranında karbonhidrat ve %38 oranında protein biriktirebildiği sonucuna ulaşılmıştır (Sakamoto, 1998).

Converti ve arkadaşları çalışmalarında, *N. Oculata* alg kültürünü kullanmış ve tür için optimum sıcaklık olan 25°C’de, lipid üretiminin ikiye katlandığı sonucuna varmıştır (Converti vd., 2009).

2.1.4.2. Işık yoğunluğu (Fotoperiyot)

Fotoperiyot, 24 saatlik süre boyunca kültürlere uygulanan aydınlatmanın uzunluğunu ifade etmektedir, aynı zamanda mikroorganizma türünün, gün içerisinde maruz kaldığı aydınlık/karanlık süre olarak da tanımlanmaktadır (Delgadillo-Mirquez vd., 2016; Elcik ve Çakmakcı, 2017).

Işık kaynağı, fotoototrofik büyüme fazı için enerji sağlamaktadır ve organizmalar ışığı, şeker gibi organik yapıli bileşiklere dönüştürmek için kullanmaktadır. Işık yoğunluğu, fotosentez sürecini, alglerin hücre yapısını ve büyümesini doğrudan etkilemektedir. Artan ışık yoğunluğu altında alglerin büyüme hızı, türlere etki eden sıcaklığın bir fonksiyonu olarak değişkenlik göstermektedir (Juneja vd., 2013). Literatürde yapılan çalışmalarda, farklı ışık yoğunluklarında, mikroalg kültürlerinin büyüme hızları ve azami hücre yoğunlukları, ışıklandırma süresi ile orantılı olarak değiştiği görülmüştür (Erci, 2023). Araştırmalar, artan foton akısı yoğunluğu ile canlıların büyüme miktarı oranlarının önemli ölçüde arttığını göstermesine rağmen, ışık doygunluk değerini aştığında, fotoinhibisyon ve fotooksidasyon meydana gelebilmekte ve kültürlerin büyümesinin engellenmesine, ardından ölümüne neden olmaktadır, bu nedenle mikroalg kültürü yetiştirilmeden önce, hangi ışık şiddetinin uygun olduğu belirlenmelidir (Elcik ve Çakmakcı, 2017; Schnurr ve Allen, 2015). Mikroalgler fotosentez yapabilmek için, genellikle 400-700 nm dalga boyları arasındaki ışık yoğunluklarını kullanmaktadır. Yeşil alg türleri, bünyelerindeki klorofil pigmentleri sayesinde 450-475 nm ve 630-675 nm aralığindeki ışık enerjilerini absorbe edebilmektedir (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

Pekçok mikroorganizma kültürünün doygunluk değerine ulaşması için yeterli olan aydınlatma düzeyi 200 $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ dir. Sharma ve arkadaşları çalışmalarında, 20 $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ ’den 50 $\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ ’ye çıkardıkları ışık düzeyinin, mikroalg büyüme hızını 3 kat artırdığı sonucunu elde etmiştir (Sharma vd., 2011).

Wahidin ve arkadaşları, fotoperiyot süresi 18/6 aydınlık/karanlık evrede, *Nannochloropsis sp.* alg kültürünü mikroalg gelişimine ve lipid konsantrasyonu üretimine olan etkisini incelemiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre maksimum hücre konsantrasyonu $6,5 \times 10^7$ hücre.mL⁻¹ ve lipid miktarı ise kuru ağırlık olarak %31,3 olarak ölçülmüştür (Wahidin vd., 2013).

2.1.4.3. pH etkisi

Mikroalg kültürlerinin türe bağlı değişkenlik gösteren özgül pH değeri bulunmaktadır. Bu değer besin alımı ile doğru orantılı etki göstermekte olup, mikroalglerin metabolik aktivitelerini de etkilemektedir.

Çoğu alg kültürü için uygun pH değeri 7-10 arasında olmasına rağmen türe özgü olarak, bazıları alkali veya asidik koşullarda optimum gelişim göstermektedir. Sudan CO₂ ve NO₃ gibi inorganikler alındığında pH gün içerisinde kademeli bir şekilde yükselirken, NH₄⁺ alındığında düşmektedir. Yüksek pH değerleri, CO₂ varlığını sınırladığı için, alg kültürlerinin de hücre büyümesini inhibe etmektedir (Elcik ve Çakmakcı, 2017; Erci, 2023). Literatürdeki çalışmalara göre, *Spirulina platensis* alg kültürü için optimum pH değeri 9 ve *Centaurium littorale* alg kültürü için ise optimum pH değeri 4 olarak bulunmuştur.

Karbon bileşenleri pH'ı tamponlayıcı etki gösterdiği için, pH değeri karbondioksit, karbonat ve bikarbonat varlığı ile ölçülmektedir. 5'den düşük pH'larda çözünmüş formdaki karbonların çoğu CO₂ şeklinde bulunmaktadır. pH 6,6 iken, CO₂ ve HCO₃⁻ eşit miktarda, pH 8,3 iken neredeyse tamamı HCO₃⁻ formundadır. Bu sebeple, mikroalg kültüvasyon sürecinde, CO₂ kullanım miktarının artırılması için pH değerinin kontrol edilmesi gerekmektedir.

Alg kültürleri fotosentez yaptıkça CO₂ kullandıkları için pH yükselmektedir. Yükselen pH miktarının kontrolü için, hidroklorik asit ya da asetik asit kullanılmaktadır. Asetik asit, karbon kaynağı olarak da mikroalg kültürlerinin gelişimini olumlu yönde etkilediği için, hidroklorik asite göre kullanımı daha uygun bir alternatiftir (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

2.1.4.4. Tuzluluk

Biyokütle üretim sürecini etkileyen faktörlerden bir tanesi de tuzluluktur (Elcik ve Çakmakçı, 2017). Tuzluluk mikroalglerin ozmotik basıncını etkileyip, metabolit oluşumuna sebep olabilmektedir (Erci, 2023). Alg kültürü ekiminde gerekli olan optimum tuzluluk değeri, türe özgü olarak değişkenlik göstermektedir. *Synechococcus sp.*, *Nannochloropsis salina*, *Chlorococcum littorale* ve *Botryococcus braunii* gibi denizlerde yetişen alg kültürleri, tuzluluğun fazla olduğu ortamlarda büyümekte iken *Chlorella vulgaris* ve *Microcystisa eruginosa* gibi tatlı suda yetişen algal kültürleri tuzun az olduğu besin ortamlarında gelişme göstermektedir.

Denizlerde yetişen mikroalg kültürü olan *Nannochloropsis salini* optimum 34 ppt tuzluluk değerinde büyümekte olup, 8-68 ppt tuzluluk değerlerinde de yetişebilmektedir. Shalely çalışmalarında, *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella sp.*, alg kültürlerinin kültivasyonu için optimum tuzluluk değerini 30 ppt olarak belirlemiştir.

Tuzluluk değeri aynı zamanda, alg kültürlerinin lipit üretim potansiyellerini de etkilemektedir. Bartley ve arkadaşları (2013) çalışmalarında, *Nannochloropsis salina* için 34 ppt tuzlulukta, %37,5 biyokütle eşdeğeri maksimum lipit üretimini elde etmişlerdir (Bartley vd., 2013).

2.1.4.5. Karıştırma süresi

Karıştırma süresi, mikroalglerin büyümesini etkileyen önemli faktörlerdendir. Optimum karıştırma süresi, ışık, sıcaklık, O₂ ve CO₂ gibi gazların homojen dağılması için gereklidir ve yeterli karıştırma süresi, mikroalglerin çökmesini engelleyip, besin maddelerinin algler tarafından kullanımını artıran etkin bir parametredir.

Karıştırma işlemi yavaş gerçekleşirse, mikroalg kültürlerde karanlık ve anaerobik bölgeler meydana gelebilmektedir. Hızlı karıştırma ise, kesme gerilmesinden dolayı alg kültürünün hücrelerine zarar vermektedir.

Karıştırma, çark, karıştırma kolu gibi mekanik karıştırıcılar ya da hava veya diğer gazlar ile dağıtıcı sistemler vasıtasıyla gerçekleştirilir. Kapalı havuzlarda karıştırma, pompalar, gaz dağıtıcılar ya da gaz enjeksiyonu ile sağlanmaktadır. Gaz enjeksiyonu ile karıştırma işleminde, hidrodinamik stres düşük olduğu için etkin gaz transferi ve karıştırma verimi elde edilmektedir. Açık sistemlerde karıştırma mekanik karıştırıcı vasıtası ile gerçekleşmektedir, bu sistemlerde hidrodinamik stres meydana gelmektedir. Stresi önlemek için, yeterli miktarda perde (bölme) sisteme eklenmelidir. Etkin

karıştırma yöntemi ile, biyokütle üretiminde %75'e varan artış meydana gelmektedir (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

Isiya ve arkadaşları çalışmalarında, fotobiyoreaktörde farklı hız değerlerinin (50, 100 ve 120 rpm'de) *Chlorella vulgaris* alg kültürünün büyümesine etkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda 582,7 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ optimum ışık kaynağı ile 21 günün sonunda 7,1 pH değerinde, en yüksek biyokütle konsantrasyonu, 100 devir/dakika karıştırma hızıyla elde etmiştir. Büyüme hızı 0,79 gün^{-1} olarak ölçülmüştür (Isiya ve Sani, 2020).

Pawlowski ve arkadaşları çalışmalarında, 20 m^3 raceway pond şeklindeki biyoreaktörde karıştırma sürecinde, 8 bıçaklı, 1,2 m çaplı mekanik çark kullanılmıştır (Pawlowski vd., 2014). Komolafe arkadaşları, açık havuzdaki çalışmalarında hava pompası vasıtası ile optimum ve homojen hava dağılımını sağlamıştır (Komolafe vd., 2014).

2.1.4.6. Besin miktarı

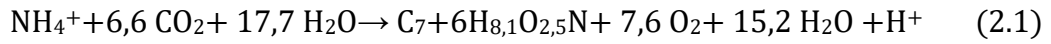
Besin maddesinin bileşimi, alglerin büyüme hızını ve nihai konsantrasyonunu etkileyen önemli parametrelerden birisidir. Besin konsantrasyonu arttıkça, mikroalg kültürleri daha etkin bir şekilde büyümektedir (Erci, 2023). C, N ve P mikroalg kültürlerinin büyümesi için gerekli olan temel elementlerdir. Buna ek olarak eser miktarda Ca, Mg, K, Fe, Mn, Zn, Cu, Co gibi mikrobeyin kaynaklarına da gereksinim duyulmaktadır.

Karbon; algler, organik ve inorganik yapıları karbonu kullanmaktadır ve alglerin biyokütlelerinde kuru ağırlık olarak yaklaşık %50 karbon bulunmaktadır. Heterotrofik mikroalgler organik karbonu, karbon kaynağı olarak kullanırlar. Ototrofik mikroalgler ise karbon kaynağı olarak, inorganik yapıları karbon kullanırlar. Mikroalgler tarafından karbon ilk olarak CO_2 formunda, ardından bikarbonat (HCO_3^-) ve karbonat (CO_3^{2-}) formunda kullanılır. C kaynağı olarak kullanılan CO_2 genellikle atmosferden elde edilmektedir. CO_2 suda az çözündüğünde dolayı, bu sistemlere hava pompası ile sürekli hava beslemesi yapılması gerekmektedir. CO_2 su ile reaksiyona girerse pH değerini düşürmekte, bunu önlemek için ise, aşılana alg yoğunluğu artırılarak, CO_2 nin tamamının mikroalg tarafından kullanılması sağlanmaktadır (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

Rashid ve arkadaşları çalışmalarında, %1-15 oranlarındaki CO_2 miktarının alg büyüme hızında ve biyokütle de artış meydana getirdiği sonucunu elde etmiştir (Rashid vd., 2014).

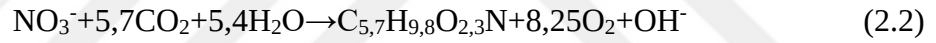
Azot; mikroalg kültürlerinin büyümesi, çoğalması ve diğer fizyolojik aktivitelerinin gerçekleştirilmesi için gereken elementlerden birisidir. Mikroalg kültürleri, azotu, nitrat, amonyum ve üre formunda kullanmakta olup, uygun azot türü seçimi türe bağlı olarak değişkenlik göstermektedir, çoğu alg kültürü amonyumu (NH_3) azot kaynağı olarak ilk tercih etmektedir. Daha sonra sırası ile üre ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$), nitrat (NO_3^-) ve nitrit (NO_2^-) kullanılmaktadır.

Azotun kullanımı alg kültürlerinin pH değerini değiştirebilmektedir. Mikroalg kültürleri azot kaynağı olarak amonyumu kullanırsa, H^+ iyonu oluşumu görülmekte ve bu da pH'ın düşmesine sebep olmaktadır.



Amonyum miktarı alg hücreleri tarafından fazla kullanılırsa pH (<6) düşmekte bununla birlikte algal hücrelerin büyümesini sınırlandırmakta ya da durdurucu etki göstermektedir.

Nitrat kullanımı ile pH yükselmekte ve mikroalg kültürleri büyümektedir. Teorik koşullarda 1 mol NO_3^- kullanımı ile, 1 mol OH^- açığa çıkmaktadır. Bu süreci ifade eden denklem aşağıdaki gibidir.



Yüksek miktarda NO_3^- kullanımı pH'ı yükseltmektedir. Bu değer 10^7 'un üzerine çıktığında mikroalg kültürlerinin gelişimi etkilenmektedir. Bu sebeple, azot kaynağı olarak NH_4^+ ve NO_3^- kullanılırsa, mikroalg kültürleri için uygun pH değerinin ayarlanması gerekmektedir. Azot eksikliği, alg hücreleri için stres faktörü olmaktadır (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

Radakovits ve arkadaşları (2010) çalışmalarında, mikroalglerin azot sınırlayıcı koşullarda, büyümeyi yavaşlatıp, bünyelerinde lipit depoladığı sonucunu elde etmiştir (Radakovits vd., 2010). Bir başka çalışma ise Zhila (2005) ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiş olup, azot eksikliğinin mikroalglerin yapısındaki lipit türlerinde farklılaşmalar gözlenmiştir (Zhila vd., 2005).

Fosfor; bünyesinde, fosfolipit, nükleik asit ve nükleotit gibi temel bileşenleri bulundurmaktadır. Fosfor elementi, alg hücrelerinin gelişmesi ve mikroalg metabolizması için esas olan besin maddelerinden birisi olmakla birlikte enerji aktarımı, hücrel sinyal transferi, fotosentez, solunum gibi metabolik süreçlerde de doğrudan etkiye sahiptir. Fosforun farklı formları, mikroalglerin metabolik mekanizmasını değiştirmektedir. Ortofosfatlar, mikroalgler tarafından kolayca absorbe edilmekte ve

mikroalg kültürünün büyümesini de hızlandırmaktadır. Fosfor miktarı aynı zamanda lipid üretimini de etkilemektedir, fosforun sınırlı olduğu koşullarda, mikroalglerin lipid üretimini artırıcı etkisi gösterdiği sonucu elde edilmiştir (Elcik ve Çakmakcı, 2017). Liang ve arkadaşları (2013) çalışmalarında, *Chlorella sp.* alg kültürü kullanarak, düşük miktardaki fosfor konsantrasyonunun mikroalglerin lipid içeriklerinin ve lipid üretimlerini artırıcı etki gösterdiği sonucunu elde etmiştir (Liang vd, 2013).

Diğer besin elementlerinin (Ca, K, Fe, Si, Zn, Cu vb.) eser miktarda bulunması da önemlidir. Mikro besin elementlerinin yüksek miktarlardaki varlığı algal hücre kültürlerine toksik etki göstermekte ve mikro besin elementleri diğer elementler ile birlikte çökelek olumuna sebep olarak, elementlerin etkin kullanımını sınırlandırmaktadır. pH değerinin 9-11 aralığında olduğu koşullarda fosfor elementi, kalsiyum ve fosfat şeklinde çökelmektedir.

Mikroalg kültürlerinin yetiştirilmesinde doğal ve yapay besi ortamları kullanılmaktadır. Doğal besi ortamları ucuz olmasına karşın, mikroalg kültürlerinin etkin büyümesi için gereken besin elementlerini yeterli miktarda içermemesi, kullanılabilirliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Yapay besi ortamlarının içeriği ve konsantrasyonları mikroalg türüne bağlı olarak ayarlanabilmektedir (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

2.1.4.7. Biyolojik faktörler

Mikroalglerin ekim süreçlerinde, küf, maya, mantar, bakteri ya da istenmeyen alg hücreleri biyolojik kontaminasyona sebep olmaktadır. Azot ve fosfor gibi besin maddelerinin bu organizmalar tarafından kullanımı, mikroalglerin büyümesini sınırlandırmaktadır. Biyolojik kontaminasyon, sıcaklık, pH, ışık gibi çevresel etkenler ile önlenabilmektedir. Literatürdeki bir çalışmada, aerobik koşullarda gelişme gösteren bir tür olan *Chytridium sp.*'den kaynaklı kontaminasyon, 1 saat içerisinde oksijen seviyesinin düşürülmesi ile engellenmiştir (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

2.1.4.8. Renk

Atıksuyun rengi, alglerin büyümesi ve arıtım sürecini etkileyen önemli bir faktördür. Koyu kahverengi, gri ve opak atık su (hayvancılık atık suyu, kağıt endüstrisi), ışığın yüksek miktarda emilmesini önlediği için, mikrocanlıların büyümesini ve besin alma kapasitesini sınırlandırmaktadır (Plöhn vd., 2021).

2.1.5. Alg üretim yöntemleri

Algler ile gerçekleştirilen arıtım yöntemleri, askıda büyüyen ve askıda büyümeyen sistemler ile açık sistemler ve kapalı sistemler olarak sınıflandırılmaktadır (Murujew vd., 2021).

Askıda büyüyen alg sistemlerinde, alg biyokütlesi havuzlara ya da fotobiyoreaktörlere yerleştirilmektedir. Bu sistemlerde çok fazla alg biyokütlesi eldesi gibi avantajlarının olmasının yanı sıra yüksek su ayak izi oluşumu, alglerin biyokütleden ayrılma zorluğu, arıtıma etki eden çevresel faktörlerin değişkenliği gibi bazı dezavantajları da mevcuttur (Murujew vd., 2021).

Alg kültürlerinin hareketinin sınırlandırıldığı immobilize sistemlerde ise, alg kültürleri bir yüzeye biyofilm olarak bağlı büyümekte veya aljinat, karajenan ya da kitosan gibi polisakkarit matrisi ile boncuk şeklinde hareketsizleştirilmektedir. Immobilize alg sistemlerinde uygun arıtım sağlayabilmek için, yapay bir ışık kaynağı kullanılmaktadır. Bu sistemlerde hidrolik bekleme süresi ve ayak izi oluşumu düşük olmakla birlikte çapraz kontaminasyon riski azaltılarak, yüksek arıtım verimi elde edilmesi, uygulamanın kullanılabilirliğini artırmaktadır (Murujew vd., 2021). Yüksek konsantrasyonlardaki alg havuzlarında hidrolik bekleme süresi yaklaşık 10 gün iken, immobilize alg sistemlerinde bu süre 3 saate kadar düşmektedir (Whitton vd., 2018).

Alg yetiştirme teknikleri seçilirken, alglerin büyümesi için oldukça önemli bir faktör olan besin kaynağına, arzu edilen nihai ürüne ve yatırım maliyetleri dikkate alınmaktadır. Ticari ürün üretimi süreçlerinde, yeterli miktarda ürün elde edilmesi için büyük ölçekte mikroalg kültürü kullanılmaktadır. İdeal bir mikroalg yetiştirme sistemi, yeterli ışık kaynağı, sıvı-gaz bariyerinde etkili malzeme transferi, basit çalıştırma prosedürü, minimum kirlenme oranı, inşaat ve üretim maliyetinin düşük olması ve yüksek arazi verimliliği gereksinimi gibi özelliklere sahip olmalıdır. Alglerin ekiminin yapılacağı ortam seçilirken, yıl boyunca hava koşullarının ve iklimin, seçilen mikroalg kültürünün canlılığını koruyabilmesi için elverişli olmalıdır (Paul vd., 2021).

Mikroalg yetiştirme sistemleri "açık" ve "kapalı" sistemler olmak üzere iki ana başlıkta sınıflandırılmaktadır. Açık sistemler (göletler, lagünler ve derin kanallar gibi) genellikle açık havada kurulurken, kapalı sistemleriç mekanda yapay ışık altında veya dış mekanda güneş ışığı altında kurulmakta ve bu sistemlerin duvarları şeffaf malzemelerden yapılmış tüpleri içermektedir. Uygulanacak sistemin seçimine karar verilirken, nihai ürünlerin türü, besin kaynağı, yetiştirme kriterleri (CO₂ tutma, biyoyakıtlar, vb.) ve yatırım, işletme, bakım maliyetleri dikkate alınmaktadır (Molazadeh vd., 2019).

Açık havuz ve kapalı sistemler 2.1.5.1. ve 2.1.5.2 alt başlıklarındaki gibidir.

2.1.5.1. Açık havuzlar

Açık havuzlar, doğal güneş ışığı altında, gölet ya da tanklarda alglerin büyümesi sağlanan en eski ve basit yapılı sistemlerdir (Paul vd., 2021). Bu sistemler yatırım maliyetlerinin düşüklüğü ve temizlemenin kolay olması sebebiyle, ticari boyutta ürün elde etmek amacıyla 1950'lerden beri yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Molazadeh vd., 2019; Shen vd., 2009).

Açık havuz sistemlerinde, pH, sıcaklık ve alg biyokütlesinin homojenizasyonun sağlanması gibi çevresel faktörlerin ayarlanması zordur. Bu sistemler, dış organizmalar ya da diğer alg kültürleri ile kontamine olabilmektedir. Buna bağlı olarak düşük miktarda biyokütle üretimi ve toksisite alg kültürlerini kullanılamaz hale getirmektedir. Gece güneş ışığı olmadığında CO₂ fiksasyonu düşmektedir, bu sebeple CO₂'yi sabitleyebilmek için bu sistemlere yapay ışık kaynağı eklenmektedir. Mevsimsel değişkenlikler de, algal biyokütle üretkenliğini etkilemektedir. Açık sistemlerde, güneş ışığının nüfuz ettiği bölgenin sınırlı olması sebebiyle, bu sistemlerin derinliği sınırlıdır (Paul vd., 2021). Açık havuz sistemlerinde *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Spirulina*, *Dunaliella salina* mikroalg kültürleri yetiştirilmektedir (Chaumont, 1993).

Açık havuzlar, genel olarak doğal ve yapay su sistemleri olarak sınıflandırılmaktadır. Doğal su sistemlerinde, alg üretimi göllerde, lagün ya da havuzlarda sağlanmaktadır. Yapay su sistemleri ise, farklı boyutlarda, çevresel koşulların büyük ölçüde kontrolünün sağlandığı, yerüstüne ve yeraltına kurulabilen sistemlerdir (Molazadeh vd., 2019).

Açık havuz sistemleri kullanım amacına uygun olacak şekilde, farklı şekil, boyut ve tipte tasarlanmaktadır. Genellikle açık havuz sistemleri, ortamdaki besin maddelerinin havalandırılması ve homojen karışım istenmesi durumuna göre, karıştırılmamış ve karıştırılmış havuz sistemleri olarak sınıflandırılmaktadır (Molazadeh vd., 2019). Tipik bir açık havuz sistemi Görsel 2.1’deki gibidir.



Görsel 2.1. Tipik bir açık havuz sistemi örneği

Karıştırma olmayan havuzlar

Ortalama derinliği yarım metre olan, orta ya da büyük ölçekli alg üretim sistemlerinin en basit yapılı ve ekonomik olanı karıştırma olmayan havuz sistemleridir. Bu sistemler zooplankton, karışık alg kültürleri, protozoanlar ve bakteriler gibi patojenlerin büyümesinin gerçekleştiği sistemlerdir. Doğal havuzlardaki sistemlere benzer olduğu için, karıştırma olmayan basit yapılı havuzlara ekimi gerçekleştirilen alg kültürleri, bu canlıların istilasına uğrayabilmekte ve kontaminasyon oluşumuna sebep olabilmektedir (Molazadeh vd., 2019; Shen vd., 2009).

Karıştırmalı sistemler

Karıştırmalı havuzların en yaygın kullanılanları, yüksek oranlı alg havuzları (HRAP) ve dairesel havuzlardır. Suyun bir çarkla sirkülasyonunun sağlandığı HRAP'lar kanal havuzu olarak da bilinen, açık havuzlu, sıg su sistemleridir (Molazadeh vd., 2019). Kanal havuzları genellikle tek ya da kanalların grupları olarak, beton ya da sıkıştırılmış toprakta inşa edilmektedir, havuz derinlikleri genellikle 15 ile 30 cm arasında değişmekte olan pedallı sistemlerdir (Shen vd., 2009). Bu sistemlerin yapısı ile biyokütle üretimi, besin alımı ve fiksasyon oranı ile doğrudan ilişki vardır. *Chlorella*, *Spirulina*, *Arthrospira*, *Hematococcus* gibi alg türleri karıştırmalı sistemlerde yetiştirilmektedir (Molazadeh vd., 2019; Paul vd., 2021).

Kanalları inşa etmek birçok kapalı sisteme çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Operasyon ve işletme maliyetinin düşük olması, alg biyokütlesinin doğrudan güneşle ve CO₂ ile temas edebilmesi bu sistemlerin kurulmasındaki öncelikli sebeplerdendir. Buna karşın, alg kontaminasyonu, düşük karıştırma verimliliği, CO₂'nin yetersiz kullanımı, mevsimsel sıcaklık değişimi, yeterli alg kültürü hasatının yıl boyunca sürmesini engellemektedir ve bu sistemlerde gölgelenmeler ve buharlaşma kayıpları gibi dezavantajlar da mevcuttur (Molazadeh vd., 2019; Shen vd., 2009; Paul vd., 2021). Yüksek ışık yoğunluğu, mikrobiyal büyümeyi olumsuz yönde etkileyebilmekte ve klorofilin yapısındaki değişkenlik sebebiyle fotoinhibisyona oluşumu ile bazı türlerin ölümüne de neden olmaktadır (Paul vd., 2021).

2.1.5.2. Kapalı sistemler

Kapalı sistemler, sistem ve çevre arasındaki doğrudan gaz alışverişinin kesildiği, açık sistemlerde karşılaşılan kontaminasyonun önlendiği, transparan yapılı, biyoreaktör olarak da adlandırılan sistemlerdir (Molazadeh vd., 2019; Paul vd., 2021). Bu sistemler, cam ve plastik gibi çeşitli şeffaf malzemelerden yapılmış, farklı şekil, boyut ve uzunluklardaki tüplerden oluşmaktadır. Fotobiyoreaktörler, ışığa maruziyetin maksimum olması için genellikle plaka (düz panel) tiplerde tasarlanmaktadır (Kargin, 2020; Shen vd., 2009). Kapalı sistemlerde, gazlar genellikle alglere beslenmeden önce sterilize edilmiş bir gaz filtresinden geçirildiğinden, sıcaklık, pH ve hız gibi parametreler ayarlanabilmekte ve diğer gazlardan kayaklanabilecek kontaminasyon önlenmektedir (Paul vd., 2021).

Buharlaşma kayıplarının engellenmesi ve alg kültür kontaminasyonunun azaltılması, biyoreaktörlerin kullanımında avantaj sağlamaktadır (Molazadeh vd.,

2019; Paul vd., 2021). Fotobiyoreaktör sistemlerinde, alg biyokütle üretiminde iyileştirmeler meydana getirilse bile işletme ve bakım maliyetlerinin yüksek olması sistemlerin ticarileşmesini engellemektedir (Molazadeh vd., 2019).

Kapalı biyoreaktör sistemleri farklı alg kültürlerinin üretimi için farklı şekil ve tiplerde tasarlanmıştır. Bu sistemler, tübüler fotobiyoreaktör, düz plaka fotobiyoreaktör ve plastik torbalı fotobiyoreaktör olarak sınıflandırılmaktadır.

Tübüler fotobiyoreaktör

Tübüler sistemler endüstriyel amaçlar için kullanılan dikey, yatay ya da sarmal boru şeklindeki kapalı fotobiyoreaktör türlerinden birisidir. Bu sistemlerde algler ve büyüme ortamı, hava taşıyıcı ya da mekanik pompa vasıtası ile tüpler boyunca sürekli olarak rezervuarda dolaştırılmaktadır (Molazadeh vd., 2019). Şeffaf yapılı tüplerin çapı, alglerin ışığı almasını engelleyebileceği için genellikle 0,1 m ya da daha az olmalı ve oluşabilecek muhtemel dezavantajları önlemek için akış hızı ise 0,3-0,5 m/s aralığında olmalıdır (Kargin, 2020).

Tüp şeklindeki fotobiyoreaktörler, kurulum kolaylıkları, gelişmiş gaz transferi kontrolü, geniş yüzey alanı/hacim oranı, yüksek biyokütle eldesi, alg kültürlerine başka mikroorganizma bulaşma riskinin az olması gibi nedenler ile ticari alg yetiştirme sistemleri arasında en yaygın olanıdır (Kargin, 2020.; Shen vd., 2009). Buna karşın, tübüler fotobiyoreaktörlerde, yüksek seviyelerde çözünmüş oksijen eldesi, istenmeyen pH ve CO₂ seviyeleri, sıcaklık kontrolü ihtiyacı, açık sistemlere göre kurulum maliyetlerinin yüksek olması gibi sürekli tekrarlanabilen problemlere sahiptir. Buna ek olarak, özellikle büyük ölçekli uygulamalar söz konusu olduğunda fotoinhibisyon meydana gelebilmektedir (Kargin, 2020; Molazadeh vd., 2019).

Bu sistemlerde genellikle, *Arthrospira*, *Porphyridium*, *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, *Tetraselmis* ve *Phaeodactylum* alg kültürleri kullanılmaktadır (Molazadeh vd., 2019).

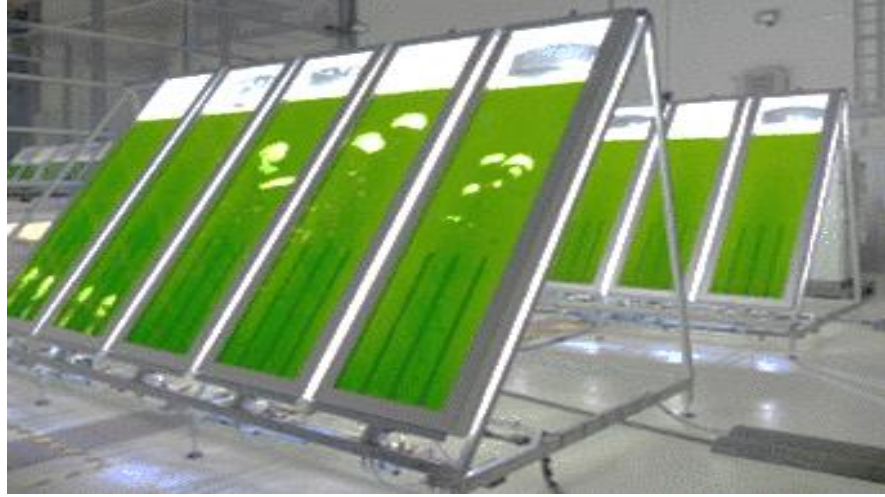


Görsel 2.2. *Tübüler yapıli fotobiyoreaktör sistemi (Kargin, 2020)*

Düz plaka fotobiyoreaktör

Düz plakalı fotobiyoreaktörler, transparan yapıli ve dikdörtgen şekilli, 1 ile 30 cm arasında ışıık yoluna sahiptir, bu sistemler kurulurken eğimli ya da dikey bir şekilde konumlandırılmaktadır (Shen vd., 2009).

Bu sistemlerin yüzey alanının büyük olmasından dolayı yüksek miktarda güneş ışııı alabilmesi, ölçek büyütme için modüler tasarımın rahatlııı, düşük miktarda güç gereksinimi, kültür kontaminasyon riskinin azlııı, tesislerde düz plaka fotobiyoreaktörleri büyük ölçekli kurmak için ideal yapan özelliklerdir (Molazadeh vd., 2019; Paul vd., 2021). Düz plakalı fotobiyoreaktörlerin dezavantajları arasında ise sıcaklııın sürekli kontrol edilmesi, plakalar üzerinde alg biyofilmlerinin oluşumu, gaz karışımının homojen olmaması, temizliıının ve ölçek büyütmenin zorluıı ve belirli mikroalg türü üzerinde olumsuz etki gösterebilecek hidrodinamik stres potansiyeli yer almaktadır (Molazadeh vd., 2019; Paul vd., 2021; Kargin, 2020). Pilot ölçekli düz-plaka fotobiyoreaktör sistemi Görsel 2.3'te gösterildiıı gibidir.



Görsel 2.3. *Pilot ölçekli düz-plaka fotobiyoreaktör sistemi (Koller vd, 2018)*

Plastik torbalı fotobiyoreaktör

Torbalı fotobiyoreaktörler, yaklaşık 0,5m çapında ve havalandırıcı sistemleri ile çevrelenen, dikey olarak asılan ya da destek için metal veya plastik bir kafes ile çevrelenen, direkt olarak güneşten gelen ışıktan faydalanan sistemlerdir. Bu sistemlerde alg biyokütlesi, hava ilavesi ile sirküle edilmektedir. Sistemde sürekli olarak bakıma ihtiyaç duyulması ve karıştırmanın yetersizliği alg kültürlerinin çökmesine neden olmaktadır (Molazadeh vd., 2019). Plastik torbalı fotobiyoreaktör sistemlerde, alglerin ışıktan etkin bir şekilde faydalanması kısıtlanmakta ve böylece istenilen kalitede ürün elde edilememektedir (Kargin, 2020). Plastik torbalı fotobiyoreaktör sistemi Görsel 2.4'te gösterildiği gibidir.



Görsel 2.4. *Plastik torbalı fotobiyoreaktör sistemi (Placzek vd., 2017)*

2.1.6. Mikroalg kültürlerinin hasat edilmesi

Mikroalglerin hasat işlemleri kimyasal, biyolojik, elektriksel ve mekanik yöntemlerini içermektedir. Mekanik yöntemlerde, alg hücreleri santrifüj, çöktürme, filtrasyon, çözünmüş hava flotasyonu, biyofilm sistemleri ve ultrafiltrasyon membranlar kullanılmaktadır.

Elektriksel metotlar, mikroalg kültürlerinin elektroforezine, hücrelerin yüzeyindeki negatif yükün varlığına dayanan sistemlerdir, bu sistemlerde alg hücreleri bir elektriksel alanda hareket ettirilerek konsantre hale getirilip toplanmaktadır. Kimyasal sistemler, inorganik, organik flokülantların, elektrolitlerin ve sentetik polimerlerin varlığına dayanan yöntemlerdir (Plöhn vd., 2021; Ummalyma vd., 2017). Santrifüj, flokülasyon, yer çekimi ile çöktürme, hava flotasyonu ve elektroforez gibi katı-sıvı ayrımı için kullanılan yöntemler, mikroalg kültürünün hücre yoğunluğu düşük olduğu durumlarda, maliyetli ve elektrik ihtiyacı oldukça yüksektir (Elcik ve Çakmakcı, 2017). Maliyetlerin yüksek olması, büyük ölçekli atık su arıtımında bazı dezavantajları beraberinde getirmekte ve bu yöntemlerin kullanılabilirliğini azaltmaktadır. Örneğin kimyasal koagülasyon yöntemi, mikroalg biyokütlesini hasat edilmesi için ekonomik olmasına rağmen bu metot uygulanırken suya yüksek miktarlarda kimyasal eklenmesini gerektirdiği için çevresel açıdan etkin değildir (Plöhn vd., 2021).

Düşük maliyetlerle, yüksek miktarda alg kültürü hasat etmek için, bu yöntemlerin iki ya da daha fazlasının eş zamanlı kullanılması gerekmektedir. Örnek olarak, flokülasyon-sedimentasyon ve santrifüj teknolojileri birlikte kullanılırsa işletme maliyeti düşmektedir. Biyolojik yöntemlerle yapılan hasat işlemi ile de işletme maliyeti düşürülebilmektedir. Buna ek olarak, hasat sürecinde yaygın olarak kullanılan mekanik yöntemlerin, kimyasal ve biyolojik yöntemlerden daha önce kullanılması, hasat verimini yükseltip, işletme ve bakım maliyetini azaltmaktadır (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

Mikroalglerin hasat edilme maliyeti, alg kültürünün üretim maliyetinin %20-30'unu oluşturmaktadır. Bu maliyetin sebepleri, alg kültürünün düşük yoğunluğa sahip olması, alglerin boyutunun küçük olması (3-30 µm çapında) ve hacimsel olarak büyük suların işleme alınmasından kaynaklanan zorluklar olabilmektedir. Etkili hasat metodunda, çoğu mikroalg kültürleri için uygulanabilir ve düşük işletme maliyetiyle yüksek biyokütle elde edilmesi gerekmektedir (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

Hasat etme yöntemi seçilirken, uygun nem miktarı, tuz konsantrasyonu, hücrelerde oluşabilecek hasar ve bu hasarın şiddeti gibi faktörlere dikkat edilmelidir.

Buna bağılı olarak, seçilen yöntemin mikroalg kültürüne toksik etki göstermemesi ve seçilen hasat yöntemi ile kültürün geri kazanılabilir olması önemlidir (Barros vd., 2015).

2.1.6.1. Koagülasyon ve flokülasyon

Koagülasyon yöntemi, kolloid yapılı ve askıda katı maddelerin, bir koagülant yardımı ile çökebilen forma getirilmesidir. Flokülasyon ise, kolloidlerden hızlı bir şekilde çöken floklar oluşturulmak için, gerçekleştirilen karıştırma yöntemidir (Elcik ve Çakmakcı, 2017). Bu yöntemler, hem büyük hacimli mikroalg kültürleri için hem de farklı türler için uygulanmaktadır. Mikroalg kültürleri, koagülasyon sonrası 20-100 kat daha fazla konsantre bir şekilde toplanır. Alg hasat maliyetlerini düşürülmek için, koagülasyon/flokülasyon sonrası, yerçekimi ile çöktürme yöntemi uygulanmalıdır (Barros vd., 2015). Koagülasyon/flokülasyon yönteminde pH ayarlanması ve katyonik koagülant eklenmesi gerekir. $Al_2(SO_4)_3$, $Fe_2(SO_4)_3$ ve $FeCl_3$ gibi çok değerlikli tuzlar koagülant madde olarak kullanılmaktadır. Fakat bu kimyasallar hem maliyetlidir hem de yüksek konsantrasyonları alglerin hücre duvarına zarar vermektedir (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

Elektrokoagülasyon, alg kültürlerinin elektroforezine dayanan ayırma yöntemidir. Bu yöntemde alg hücreleri, negatif yüklerindeki elektrik alan vasıtasıyla yoğunlaştırılıp, hasat edilmektedir (Christenson ve Sims, 2011). Elektrokoagülasyon yönteminde, herhangi bir koagülanta ihtiyaç duyulmaması, düşük miktarda elektrik enerjisi gereksinimi, yöntemin uygulamada çabuk olması ve yüksek verim eldesi sayesinde kullanılan en etkili yöntemlerden birisidir (Muylaert vd., 2017).

Xu ve arkadaşları (2012) çalışmalarında, *Chlorella sorokiniana* alg kültürünün, hasat sürecini, kitosan koagülant olarak kullanarak incelemiştir. Çalışmada, optimum kitosan miktarının 1 gr alg kütlesi için 10 mg olduğunda ve pH 7 değerinin altında iken %99 dan fazla hasat verimi elde edildiği sonucuna ulaşılmıştır (Xu vd., 2012).

2.1.6.2. Biyoflokülasyon

Mikroorganizmaların veya diğer polimer maddelerin eklenmesi ile gerçekleştirilen flokülasyon işlemi biyo-flokülasyon olarak adlandırılmaktadır. Bu yöntem atık su arıtma sistemlerinde uygulanmaktadır (Ummalya vd., 2017). Mikroalg kültürleri, başka kültürlerle birleştirilip flokülasyonu sağlanmaktadır. Biyoflokülasyon yönteminde, kimyasal madde kullanılmadığı için, yöntemin işletme maliyeti nispeten düşüktür. Bakteri ve mantar gibi türler kullanıldığı için, oluşabilecek kontaminasyona

karşın, yöntem gıda ve yem sektörlerinde kullanılmamaktadır. Flokülasyon sürecinde bakterilerin gelişmesini sağlamak için organik madde ve enerji kaynağı ilavesi önemli bir parametredir (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

Salim ve arkadaşları, *Ettlia texensis*, *Scenedesmus obliquus*, *Ankistrodesmus falcatus* mikroorganizmaları ile *Chlorella vulgaris* alg kültürünün biyoflokülasyonu üzerine çalışma yapmış ve sonuçta %55, %34, %50 hasat verimleri elde edilmiştir (Salim vd., 2011).

2.1.6.3. Flotasyon

Flotasyon yöntemi, bir flokülant madde ile partiküllerin, hava kabarcıkları sayesinde yukarı doğru hareketinin sağlanması ve sistemden ayrılması temeline dayanmaktadır, bu yöntem ters çevrilmiş sedimentasyon olarak da bilinmektedir. Çözünmüş hava flotasyonunda, hava ile aşırı doymuş olan su, kültürle karıştırılarak hava kabarcıkları elde edilmektedir (Elcik ve Çakmakcı, 2017; Muylaert vd., 2017).

Flotasyon yönteminde, alg kültürlerinin yüzer formda olması hasat kolaylığı sağlamaktadır. Etkin flotasyon verimi elde edilmesi, hava kabarcıklarının boyutuna ve kabarcıklarının hareketine bağlıdır. Kabarcık boyutu küçüldüğünde, yüzey alanı arttığı için, mikroalgler partiküllere daha hızlı tutunmaktadır. 10-30 µm çapındaki mikroalgler flotasyon ile hasat edilmekte ve sonuçta yaklaşık %80-90 hasat verimi elde edilmektedir.

Flotasyon metodunda, düşük alıkonma süresi ve düşük su ayak izi oluşumu elde edilmektedir, sonuçta sedimentasyon yöntemine göre daha konsantre ürün oluşmaktadır. Operasyon optimizasyonu sağlandığında farklı türlerde ürün hasat edilmektedir. Flotasyon yönteminde, işletme süresi düşüktür, bu da yöntemde alan ihtiyacı ve yatırım maliyetini düşürebilmektedir. Buna karşın, büyük ölçekli sistemlerde uygulanırsa, kontaminasyon riski artmakta ve maliyetlerin yükselmesine neden olmaktadır (Elcik ve Çakmakcı, 2017; Laamanen vd., 2016). Flotasyon, *C. vulgaris* gibi tatlı su alglerinin ayrılması için uygulanabilir yöntem olmasına rağmen denizlerdeki alg sistemlerinde, tuzluluğun kabarcık-hücre adhezyonuna olumsuz etkisinden dolayı yöntemin kullanımı yaygın değildir (Barros vd., 2015).

2.1.6.4. Santrifüj

Santrifüj yönteminin diğer yöntemlere kıyasla daha hızlı olması, yüksek miktarda ürün geri kazanımı sağlanması, kimyasal maddeye ihtiyaç duyulmaması, yüksek

miktarda kuru alg biyokütle elde edilmesi ve neredeyse tüm alg kültürleri için uygulanabilir olması gibi avantajları bulunmaktadır (Elcik ve Çakmakcı, 2017; Muylaert vd., 2017). Buna karşın yöntemin hasat sürecinde kullanımı, mikroalg kültürlerinin hücre yapısına zarar verecek derecede yüksek yerçekimi ve kesme kuvvetine sebep olması gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Santrifüj metodunda, yoğun hacimdeki hücre kültürlerinin işlenmesi, zaman ve enerji ihtiyacı yüksek maliyetlere sebep olabilmektedir (Papazi vd., 2010).

2.1.6.5. Membran ile filtrasyon

Membran teknolojisi, mikroalg biyokütlesinin neredeyse tamamını tutabilmesi, protozoa ve virüs gibi canlıların dezenfeksiyonunu sağlaması, kimyasal maddeye ihtiyaç duyulmaması, santrifüj yönteminden daha ucuz olması ve enerji sarfiyatının düşük olması gibi sebeplerden dolayı, kullanımı uygun olan hasat yöntemlerinden birisidir (Elcik ve Çakmakcı, 2017). Membran teknolojisinin etkin kimyasal, mekanik ve termal özelliklerine ek olarak yüksek güvenilirlik sağlaması ve doğrudan ölçeklenebilir bir sistem olması sebebiyle geleneksel hasat yöntemlerine alternatif oluşturmaktadır (Bhave vd., 2012). Bu yöntemle filtrasyonu sağlanan sudaki besin maddeleri, tekrar kültür ortamına eklenebilmektedir. Filtrasyon ile alglerin hasat süreci, genellikle kültürasyon sonrası tek adımda uygulanmaktadır. Tek adımla uygulanan membran ile arıtım yöntemi, yüksek konsantrasyonlarda hasat eldesine olanak sağladığı için tıkanmalara sebep olabilmektedir (Elcik ve Çakmakcı, 2017).

2.1.7. Alglerin kullanım alanları

Alg kültürlerinin, yüksek besin giderim oranları, adsorpsiyon kapasitesi, rejeneratif ve sürdürülebilir yapıları sayesinde, algler geleneksel arıtma sistemlerinin aksine çeşitli endüstriyel, tarımsal ve madencilik gibi atıksularını arıtma süreçlerinde kullanılmaktadır (Chen vd., 2023).

Mikroalglerin, ekime uygun olmayan arazilerde ve hatta atıksularda canlılıklarını koruyabilmeleri, alglerin yüksek lipid içeriği ve biyokütle üretim potansiyeli gibi avantajları onların potansiyel bir biyoyakıt kaynağı olarak kullanılmasını sağlamaktadır (Jiang vd., 2016; Rezaei vd., 2019; Molazadeh vd., 2019). Biyoyakıtların yanma süresince CO₂ açığa çıkmakta ve bu gazlar algler tarafından asimile edilerek net sıfır karbondioksit emisyon dengesini meydana getirmektedir. Algler, vitaminler, mineraller ve proteinleri içeren besin kaynağı ve tarımsal gübre olarak da kullanılmaktadır

(Molazadeh vd., 2019). Buna ek olarak alglerin yan ürünlerine çeşitli kozmetik, tıbbi ilaç üretiminde rastlanmaktadır (Paul vd., 2021).

Alg biyokütlesi, protein açısından zengin ise hayvan yemi ya da biyoetanol, karbonhidrat açısından zengin ise fermantasyon ürünü olarak kullanılmaktadır (Jiang vd., 2016).

Mikroalglerin, küçük boyutlu olmaları ve kapalı bir sistem içerisinde kolay kontrol edilebilmeleri nedeniyle baca gazından CO₂ yakalanmasında çok etkindir (Paul vd., 2021).

2.3. İmmobilizasyon

İmmobilizasyon yöntemi, bir biyolojik taşıyıcı maddenin yüzeyine mikroalgin tutunmasıyla oluşmaktadır (Chen vd., 2023). Karagenan, kitosan ve aljinat, immobilize alg sistemlerinde sıklıkla kullanılan polimerlerdir (Zhang vd., 2008).

Alglerle yapılan arıtım süreçlerindeki çalışmalarda büyük miktarda alg kültürünün hasat edilme zorluğunu önlemek için immobilize alg ile arıtım alternatif olarak kullanılmaktadır (Rezaei vd., 2019).

Mikroalgler ve siyanobakteriler ile arıtım, atıksulardan yüksek kapasitede inorganik besin maddesi uzaklaştırabilen düşük maliyetli ve etkili bir yöntemdir. Buna karşın atıksu arıtma tesislerinde süspanse halde mikroalg kullanımının yüksek biyokütle eldesi ve hasat zorluğu, süspanse alglerinin arıtım sistemlerinde kullanılmasını engellemektedir (Rezaei vd., 2019; Zhang vd., 2008). Bu sorunlara çözüm olarak yapılan çalışmalarda, asılı halde alglerin kullanımı yerine hareketi sınırlandırılmış, immobilize alg kullanımı uygulanabilir bir alternatif oluşturmaktadır (Zhang vd., 2008).

Alg kültürlerinin immobilizasyonu sayesinde, hasat kolaylığı ile arıtım sürecinde yüksek miktarda besin giderimi ve enerji geri kazanımı gibi avantajlar elde edilmektedir. Alglerin immobilizasyonu ile ilgili yapılan çalışmaların etkili olabilmesi için seçilen immobilizasyon matrisinin zararlı olmaması, ışığı geçirmesi ve hücre büyümesine izin veren taşıyıcı bir yapıda olması gerekmektedir (Özgür ve Göncü, 2022; Whitton vd., 2018). İmmobilizasyonun, ucuz, biyoteknolojik proseslerde kolaylıkla uygulanabilir bir yöntem olması, çevresel koşullara, toksinlere, UV ışınlarına karşı dirençli yapısı ve hücrelerin tekrar kullanılabilirliği gibi avantajları bulunmaktadır. İmmobilize alg hücreleri, süspanse alglere göre yüksek yoğunlukta alg hücrelerini

bünyesinde biriktirmekte olup, immobilize yapıları alglerin geri kazanım maliyeti de süspanse alglere göre daha düşüktür (Özgür ve Göncü, 2023).

Hareketi sınırlandırılan mikroalgler ile yeraltı suyundan, nitrat, metaller ve herbisitler asimilasyon, biyosorpsiyon, biyoakümülyasyon ve biyobozunma ile eş zamanlı olarak giderilmekte, atık sulardan ise azot ve fosfor gibi biyokütleler giderilmektedir (Mollamohammada vd., 2021; Zhang vd., 2008).

Jel immobilizasyonu metodu, alglerin hapsedilmesi için en yaygın kullanılan yöntemdir. Bu yöntem sentetik polimerler (akrilamid, foto çapraz bağlanabilir reçineler, poliüretanlar), proteinler (jelatin, kollajen veya yumurta akı) veya doğal polisakkaritler (agarlar, karagenanlar veya aljinatlar) kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Moreno-Garrido, 2008).

Agar, karagenan, kitosan ve aljinat, immobilize alg sistemlerinde sıklıkla kullanılan polimerlerdir (Zhang vd., 2008).

Agar ile immobilize edilen mikroalg hücrelerinin metabolik aktivitesi ve morfolojisi, aljinattaki alg kültürlerine kıyasla daha az değişmektedir. Agar, uygun maliyetlidir ve mikroalglerin büyük ölçekli ticari üretimi için kullanımına uygun bir polimerdir (Hu vd., 2020).

Aljinat, canlı hücrelerin hapsedilmesini sağlayan ve en yaygın kullanılan polisakkarit jeldir. Ticari aljinatlar, kuru ağırlıklarının yaklaşık %40'ını oluşturan, *Laminaria*, *Macrocystis pyrifera*, *Ascohyllum nodosum* gibi kahverengi alg türlerinden türlerden özütlenmektedir. Aljinat ile immobilizasyon sürecinde, mikroorganizma çok fazla fiziksel-kimyasal değişikliklere maruz kalmamaktadır. Aljinatla immobilizasyon sonucu oluşan matrisin yüksek geçirgenliği, düşük toksisitesi ve şeffaflığı, jel oluşumunun kolaylığı gibi etkiler aljinat yönteminin kullanılabilirliğini ön plana çıkarmaktadır. Aljinat tekrar kullanılabilir ve geri kazanılabilir yapıdır. Aljinat jelleri elde etmek için en yaygın kullanılan katyon Ca^{+2} 'dir. Jelin çözünmesi istendiğinde, sodyum sitrat ya da fosfat içeren çözeltiler kullanılmaktadır (Murujew vd., 2021).

Kitosan, dünyada en yaygın bulunan biyopolimerlerden birisi olup toksisite özelliği göstermeyen ve biyolojik olarak ayrılabilen yapıdadır, hem deniz hem de tatlı su yosunları hasatında koagülant olarak kullanılmaktadır (Xu vd., 2012; Elcik ve Çakmakcı, 2017). Kitosanda birincil amino gruplarının bulunması, biyopolimer olarak kullanımını ön plana çıkarmakta olup, selüloza kıyasla yüksek azot içeriğinin sahiptir.

Ayrıca kitosan, biyobozunur, geri kazanılır, çevre dostu bir maddedir (Moreno-Garrido, 2008; Renault vd., 2009).

Karragenan matrisi, Gigartinaceae ve Solieriaceae familyalarından, Rhodophyceae (kırmızı algler) ve su alkali ekstraksiyonu ile hazırlanan polisakkaritleri kapsamaktadır. Metal iyonları, aminler, amino asitlerden türeyen katyonik yapıli bileşiklerinin varlığında, jel formda çökmektedir. Alg kültürlerinin stabilitesini artırıcı etki göstermektedir (Moreno-Garrido, 2008; Renault vd., 2009).

Agar, Gelidium, Pterocladia gibi kırmızı alglerden elde edilen sülfatlaşmış ve ısı ile geri dönüşebilen jeldir (Moreno-Garrido, 2008; Renault vd., 2009).

Alglerin immobilize hale getirilmesi, alglerin korunabilmesi için oldukça uygulanabilir bir yöntemdir. Örneğin deniz diatomesi *Haslea ostrearia*, aljinat ile immobilize hale getirildiğinde, buzdolabında 4°C de muhafaza edilirse, 120 gün boyunca ekimi sağlanabilir. *Haematococcus pluvialis* türü, kuvars kumlarda immobilize edilirse, loş ışık altında, 10°C'nin altında 8 ay süreyle saklanabilmekte ve canlılığının % 67'sini koruyabilmektedir. *Chlorella minutissima* ve *Chlamydomonas* sp. türleri pamuklu kumaş parçaları ile immobilize edilirse ve 4°C de eppendorf tüplerinde saklanırsa, 18 ay sonra bile canlılığını koruyabilmektedir. Bu immobilizasyon yöntemleri küçük miktarlarda ve düşük sıcaklıkta mikroalgleri korumak için uygun olmasına rağmen, büyük miktardaki alg kültürlerini koruma yöntemlerine göre oldukça maliyetlidir (Hu vd., 2020).

2.3.1. İmmobilizasyon teknolojileri

İmmobilize algler vasıtasıyla biyosorbentlerin kararlılığını sağlayan ve adsorpsiyon performansını geliştiren yeşil teknoloji, immobilizasyon teknolojisidir. İmmobilize alg kültürü yabancı mikroorganizmaların sebep olduğu doğal ekosistemin bozulmasını engellemektedir.

İmmobilizasyon süreçleri, biyokütle kaybını azaltmakta, operasyonel esnekliği artırmaktadır. Alg hücrelerinin hareketinin sınırlandırılması besin alımını artırmaktadır. Böylece atıksu arıtma sistemlerinin verimliliğini artırmakta, bu da üretkenliği artırıp ve üretim maliyetlerini azaltmaktadır.

Alg immobilizasyon teknikleri adsorpsiyon, kapsülleme, tuzaklama (entrapment) ve kendi kendine immobilizasyonu yöntemlerinden oluşmaktadır (Chen vd., 2023). Bu yöntemler alt başlıklarda özetlenmiştir.

2.3.1.1. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon, suda çözünmeyen taşıyıcı bir yüzeyle immobilizasyonu sağlanmış algler arasında, Van der Waals bağ etkileşimleri sayesinde moleküler kuvvetler aracılığıyla fiziksel bağ oluşturan yöntemdir. Bu yöntem sayesinde kirlilik oluşturan kaynaklar adsorpsiyon yolu ile kapsüllenmektedir. Adsorpsiyon tipi immobilize algler, kapsüllenmiş hücrelerden daha düşük hücre konsantrasyonuna sahiptir (Chen vd., 2023).

Araştırmalara göre Shen ve arkadaşları çalışmalarında, Fe_2O_3 'ün en etkili adsorban olduğu sonucunu elde etmiştir. Demir oksit ile mikroalgleri kaplayarak, hareketsizleştirme potansiyelini çalışmalarında incelemiştir (Shen vd., 2009).

Biyofilm tabakasına adsorbe edilen alg hücreleri ile yapılan adsorpsiyon yönteminin uygulanması, konvansiyonel yöntemlere göre daha kolay olduğu için geri kazanım maliyeti düşüktür (Chen vd., 2023).

2.3.1.2. Enkapsülasyon

Enkapsülasyon yöntemi, alg hücrelerinin, hücre zarı duvarları tarafından oluşturulan bir kapsül boşluğunda hapsedildiği hareketsizleştirme yöntemidir. Hücrelerin hareketi fiziksel olarak sınırlandırılmasına rağmen, alg hücreleri kapsül içi boşluklarda serbest bir şekilde hareket edebilmektedir.

Whitton ve arkadaşları (2018), ışığın kalsiyum aljinat toplarının nasıl etkilediğini araştırmış ve immobilize mikroalglerle çalışma yapmıştır. Enkapsülasyon ile mikropları çevresel stres/şok yüklemesinden ve tehlikeli yan ürünlerden koruyarak substrat dönüşümünü ve toplama kolaylığını sağlamıştır.

2.4.1.3. Entrapment (Tuzak)

Entrapment, alg hücrelerinin bir polimer matriks içerisine hapsedilmesi ve hücrelerin katı matriks yüzeyine kendi kendine yapışması yöntemi olup en sık kullanılan immobilizasyon yöntemidir. Bu yöntemde alg kültürleri, fiber ya da jel bir polimer malzemeye tutunmaktadır.

Entrapment yönteminde, büyük bir yüzey alanı, yüksek yoğunlukta bakteri ve algleri absorbe edebilmekte, daha fazla kirlilik yükü taşıyabilmekte ve taşıyıcı yüzeyinde adsorpsiyon immobilizasyonu ve kendi kendine immobilizasyona göre çevresel koşullara daha uyumlu bir yöntemdir (Chen vd., 2023).

2.3.1.4. Kendi kendine immobilizasyon

Çapraz bağı polietilamin polimerinin immobilize *Chlorella vulgaris* hücreleri ile başarılı kullanımı gerçekleştirilmiştir. Negatif yüklü mikroalg yüzeyi ile pozitif yüklü adsorban etilamin arasındaki elektrostatik etkileşim, immobilizasyon verimliliğini artırmıştır. Bu yöntem, zaman alıcı ve pahalı teknolojilerin yerine, verimli alternatif bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Chen vd., 2023).



3. LİTERATÜRDE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR

Alg kültürleri kullanılarak sulardan azot, fosfor giderimi ile ilgili literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde, süspanse alg ile yapılan çalışmaların yoğun olduğu, immobilize alg ile çalışmalarında gün geçtikçe arttığı görülmektedir. Buna ek olarak yapılan çalışmalarda genel olarak atıksulardan alg kültürleri ile arıtım gerçekleştirilmiş olup, doğal su kütlelerinden immobilize alg kültürleri ile arıtım sağlanan çalışmaya rastlanmamıştır.

Sulardan azot ve fosfor giderimi ile ilgili yapılan çalışmalar 3.1. ve 3.2. başlıkları altında irdelenmiştir.

3.1. Süspanse Alg ile Azot ve Fosfor Giderimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Rasoul-Amini ve arkadaşları (2014) çalışmalarında azot, fosfor ve amonyum bakımından kirli olan atıksu kütlelerinin kirlilik parametrelerinin giderimini askıda büyüyen mikroalg kültürü ile incelemiştir. Çalışmada iki tür *Chlamydomonas sp.*, iki tür *Chlorella sp.* ve bir tür *Oocystic sp.* olmak üzere beş farklı alg kültürü kullanılmıştır. Alg kültürleri Mayıs-Aralık 2011 tarihleri arasında İran'ın Fars eyaletinde bulunan çeltik tarlalarının tarımsal toprak örneklerinden izole edilmiştir. Atıksu ise İran, Şirazda bulunan atıksu arıtma tesisinin 2. çıkış suyundan alınmıştır. Atıksu filtrelenip otoklavlanmıştır. 5 alg kültüründen de 3,5 mL alınarak 100 mL lik atıksu içeren erlenlere eklenmiş ve 25 ± 2 °C, pH 9 ve 4150 Lux ışık şiddetindeki çevresel koşullar altında alg kültürlerinin azot ve fosfor giderim verimleri incelenmiştir. Çalışmanın sonuçları incelendiğinde, *Chlorella sp.*'in diğer alg türlerine kıyasla daha yüksek N (%84,11) giderim verim yüzdesine sahip olduğu görülmüştür, *Chlamydomonas sp.* ve *Chlamydomonas sp.* kültürlerinden ise kentsel atık sularda diğer türlere göre daha yüksek P giderim oranı (%100) elde edilmiştir. Deneysel süreç 2 hafta devam etmesine rağmen, N ve P gideriminin büyük çoğunluğu ilk 4 günde tamamlanmıştır.

Shelknanloymılan ve arkadaşları (2012) çalışmalarında, sentetik ve organik maddelerle kirlenmiş atıksu kütlelerinden, *Chlorella vulgaris* alg kültürü kullanılarak azot ve fosfor giderim verimlerini incelemişlerdir. Alg kültürünün inkübasyonunu Gazi Üniversitesi'nde sağlanmıştır ve alglerin ekimlerinde BG11 besi ortamı kullanılmıştır. Alg kültürlerini 16/8 saat (gündüz/gece) periyodunda inkübe edip deney süresince 2 adet $36 \text{ umol/m}^2\text{sn}$ 'lik fotoperiyota sahip ışık kaynağı kullanılmıştır. Yapay atıksu kütlesi farklı oranlardaki kimyasal maddeler kullanılarak hazırlanmıştır, organik kirliliğe sahip atıksu kütlesi ise Ankara Çayı'ndan temin edilmiştir. Deneysel çalışma süreci 30 günde

tamamlanmıştır. Sentetik atıksuda Toplam azot ($\text{NO}_3\text{-N}$) konsantrasyonu 28,2 mg/L den 22,4 mg/L ye kadar düşmüş ve %37 lik giderim sağlanmıştır. Fosfat ($\text{PO}_4\text{-P}$) konsantrasyonu ise, 1,821 mg/L den 0,739 mg/L'ye düşmüş ve %62 giderim sağlanmıştır.

Rezaei ve arkadaşları (2019) çalışmalarında, *Chlorella vulgaris* ve *Arthrospira platensis* alg kültürlerini sentetik atıksu ortamına alıştırarak büyüme kinetiği ve besin giderim kapasitesi üzerine olan etkisini araştırmıştır. *Chlorella vulgaris* alg kültürünün ekimi BBM, *Arthrospira platensis* alg kültürünün ekimi ise BG11 besi ortamı ile sağlanmıştır. Deneyde hem sentetik atıksu ortamına alışmış hem de sentetik atıksu ortamına alışmamış alg kültürleri, sentetik ikincil atıksu içeren reaktörlere aşılانmıştır. Atıksuya alıştırılmış olan *Arthrospira platensis* alg kültürü maksimum klorofil-a miktarına ikinci gün ulaşırken, alg kültürü atıksuya alıştırılmadığında maksimum seviyeye deneyin dördüncü ulaştığı görülmüştür. Bunun aksine *Chlorella vulgaris* alg kültüründe ise atıksuya alıştırılmamış olan alg kültürünün klorofil-a değeri daha yüksek bir değer olarak ölçülmüştür. Spesifik büyüme hızı ve iki katına çıkma süresi, atıksuya alışmış *Arthrospira platensis*, atıksuya alışmamış alglere göre önemli bir değişiklik göstermezken, atıksuya alışmış *Chlorella vulgaris* alg kültürünün özgül büyüme hızında, alışmamış kültüre göre daha fazla artış görülmüştür. Sonuç olarak, araştırmaya göre atıksuya alıştırılan *Chlorella vulgaris* alg kültürünün biyokütlesinde kısmi bir artış görülürken, atıksuya alıştırılan *Arthrospira platensis* alg kültüründe istatistiksel olarak önemli bir azalma meydana gelmiştir. Buna ek olarak, alglerin atık su bileşimine alışmasının bir sonucu olan pH artışının sınırlandırılması, alg büyümesi ve yavaşlayan biyokütle flokülasyonu bağlamında olumlu etkilere sahip olmuştur. Alglerin atıksuya alıştırılma süresi, hem besin giderim oranlarını artırmakta hem de atıksuyun bekleme süresini azaltmaktadır. Alg biyokütlelerinin atıksuya alışma süreçleri iki alg türünün de besin alımını olumlu yönde etkilemekte ve atıksuya alışmış *Arthrospira platensis* alg kültürünün kalış süresinin *Chlorella vulgaris*'e göre daha kısa olması arıtım maliyetini de düşürmektedir. *Arthrospira platensis* alg kültürünün *Chlorella vulgaris* kültürüne göre hücre yapısının büyük olması, arıtma sürecinin sonunda biyokütle hasadını kolaylaştırmaktadır.

Jiang ve arkadaşları (2016) çalışmalarında, Çin, Nansi Gölü'nden hasat edilen *Monoraphidium sp.* alg kültürü ve atıksuya alıştırılan alg kültürü ile yüksek miktarda amonyum içeren toz fabrikasından oluşan atıksudan besin giderimi ile biyokütle üretimini incelemiştir. Alg kültürlerinin ekimi BG11 besi yeri ile sağlanmıştır. Ortama alıştırılmış alg kütlesi ile yapılan deneyler fotobiyoreaktörde (2,5 L lik ve başlangıçtaki biyokütle konsantrasyonu $0,12 \text{ g L}^{-1}$) gerçekleştirilmiştir. Fotobiyoreaktörde, $90 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ fotosentetik foton akışı 36 W'lık floresan lamba ile sağlanmış, sıcaklık 25 ± 1 °C olarak, hücre çökmesini engellemek ve alglerin homojen bir şekilde kalmasını sağlamak amacıyla dakikada 600 mL'lik sürekli hava akışı fotobiyoreaktöre sağlanmıştır. *Monoraphidium spp.* alg kültürünün biyokütle yoğunluğu atıksuda büyümesi sağlandığında $1,29 \pm 0,09 \text{ g L}^{-1}$, BG11 besi ortamında ise $1,31 \pm 0,08 \text{ g L}^{-1}$ dir ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Protein içeriği ise atıksuda %55, BG11'de ise %35 dir. Algler, farklı azot kaynaklarının mevcut olduğu koşullar altında ilk olarak amonyumu kullanmakta ve atık sudan büyük miktarlarda fosforu absorblamaktadır. Böylece, amonyum $<0,5 \text{ mg L}^{-1}$ verimlilikle %99,7'nin üstünde, giderilmiş ve belediye atık su arıtma tesisleri için kirleticilerin deşarj standardını karşılamıştır. Bu sonuçlar *Monoraphidium sp.*, alg kültürünün enerji geri kazanımı için umut verici olduğunu göstermektedir. Elde edilen bulgulara göre, biyokütle üretimi ve fosfor giderim oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ve atıksuya alıştırılmış alglerin azot giderim oranı, alıştırılmamış alglerden daha yüksek bir değer olarak ölçülmüştür.

Vazirzadeh ve arkadaşları (2021), çalışmalarında, *Chlorella vulgaris* mikroalg kültürü ile, tarımsal sulama amacıyla kullanılan su kütlesindeki alg büyümesini, alg biyokütlesindeki protein miktarını, fenolik içeriğini, klorofil miktarını, azot ve fosfor giderimini incelemiştir. Deneysel çalışma, başlangıç nitrat konsantrasyonu 1080-3240 mg L^{-1} (NaNO_3), başlangıç fosfat konsantrasyonu 20-60 mg L^{-1} (K_2HPO_4), 8-24 saat (aydınlık/karanlık) fotoperiyodu ile ve kültürlenme süresi 5-15 gün olacak şekilde modellenmiştir. Deneysel çalışmalarda tatlı su kaynağından elde edilmiş olan *C. vulgaris* alg kültürü kullanılmış ve ekimleri BG11 besi ortamı ile gerçekleştirilmiştir. Giderim verimleri surface response metodu ile istatistiksel olarak incelendiğinde nitrat giderimine asıl etkinin, fotoperiyot, kültür süresi ve başlangıç nitrat konsantrasyonu ile kültür süresi arasındaki etkileşimden meydana geldiği görülmüştür. Fosfat giderimine ise asıl etkinin, başlangıç nitrat konsantrasyonu, fotoperiyot, kültürlenme süresi etki

etmiştir. Başlangıç nitrat konsantrasyonu 2322 mg L⁻¹ ve başlangıç fosfat konsantrasyonu 38 mg L⁻¹ (N:P, 125:1) olarak ölçülmüş ve 13 günlük kültürde günlük 17,2 saat fotoperiyot ile nitrat için maksimum %85,6 giderim verimi elde edilmiştir. Maksimum fosfat giderim verimi ise %95 olarak, başlangıç nitrat konsantrasyonu 1202 mg L⁻¹ ve başlangıç fosfat konsantrasyonu 56,7 mg L⁻¹ (N:P; 51:1) ve 14,7 günlük kültürde, 15,7 saat fotoperiyot ile elde edilmiştir. 25 ± 2 °C de ve ışınım süresinin 65 µmol m⁻² s⁻¹ koşulunda, suda 1080 mg L⁻¹ nitrat ve 60 mg L⁻¹ (N:P oranı; 37:1), 11,2 günde ve kültürlenme süresinin 17,6 saat/gün olduğu durumda, maksimum biyokütle elde edilmiştir. *Chlorella vulgaris* alg kültürü, hayvanlar için besin maddesi olarak kullanılabilir olduğu için, biyokütlenin beslenme için uygunluğu da incelenmiş ve biyoküttelede %24'den fazla protein üretildiği sonucuna ulaşılmıştır. Optimum koşullar altında, biyokütteledeki klorofil içeriği %8,5 olarak ölçülmüştür.

Schemidh ve arkadaşları (2016), Kanada'daki çalışmalarında *Chlorella vulgaris* ve *Chlamydomonas reinhardtii* alg kültürleri kullanarak atıksularda, alglerin kültür büyümesi ve fosfor tutma kapasitelerini incelemiştir. Alg kültürlerinin sürekliliği UTEX (Bold 3N'den modifiye edilmiş) besi ortamı ile sağlanmıştır. Alg kültürleri 10 L kapasiteli kemosa eklenmiş ve yaklaşık 150 µmol/m²/s'lik floresan ışıkları kullanılarak sürekli aydınlık koşulu sağlanmıştır. Sıcaklık (10 °C ve 15 °C) koşulları ve fotosentetik aktif olan radyasyon 100, 150 µmol/m²/s ve başlangıç fosfor (7,5, 15 mg P/L) koşulları arasında, mikroalg büyümesi ve fosfor alımı üzerindeki etki araştırılmıştır. Maksimum spesifik büyüme oranları 0,029 ile 0,058 saat⁻¹ arasında değişmiştir. Büyüme oranları bölgelerdeki çalışmalarla paralellik göstermiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak incelendiğinde, biyokütle fosfor konsantrasyonları, PAR (fotosentetik olarak aktif radyasyon) ve başlangıç fosfor konsantrasyonundan olumlu etki gözlenirken, sıcaklığın hiçbir etkisi olmamıştır. Soğuk bölge koşullarında biyokütteledeki fosfor konsantrasyonu, sıcak iklim koşullarına göre %45 daha fazla ölçülmüştür. Sonuç olarak, sıcaklığın 10 °C'ye çıktığı ve yüzeyin buzsuz olduğu yaz aylarında soğuk bölge atık stabilizasyon havuzları (WSP)'nda iklimsel koşullar mikroalg üretimini engellememektedir. Soğuk bölge koşullarının, biyokütteledeki fosfor konsantrasyonlarını artırıcı ve fosfor giderimini destekleyici etkisi görülmüştür.

Beuckels ve arkadaşları (2015) çalışmalarında, mikroalgler ile azot varlığında arıtılan atıksu kaynağında fosfor giderimine etkisini araştırmıştır. Çalışmada hem *Chlorella vulgaris* (SAG 211-11) hem de *Scenedesmus obliquus* (CCAP 276/3A) alg kültürünü kullanarak WC (Wright's Cryptophyte) atıksudaki N ve P kaynaklarında meydana gelen değişimlerin, biyokütle bileşimine etkisini incelemişler. Bu çalışmada, azot ve fosfor gideriminin bağımsız olarak sağlandığı, bileşik bir tasarım kullanılmıştır. Başlangıçta *Chlorella vulgaris* alg kültürünün biyokütlesindeki C konsantrasyonu %5-10,1, P konsantrasyonu ise %0,5-1,3 olarak, *Scenedesmus obliquus* kültüründe N konsantrasyonu %2,9-8,4, P ise %0,5-1,7 aralığında ölçülmüştür. Çalışmanın sonuçları incelendiğinde ise, nihai kuru ağırlıkta mikroalg biyokütle verimi ikili olarak kıyaslanmıştır, *Scenedesmus obliquus* alg kültürünün verimi *Chlorella vulgaris* alg kültürüne göre yaklaşık %10 daha fazla olduğu görülmüştür. Nihai mikroalg biyokütlesi *Chlorella vulgaris* için 245 ile 475 mg L⁻¹ arasında ve *Scenedesmus obliquus* için 304 ile 564 mg L⁻¹ arasında değişmiştir. Biyokütlerdeki N konsantrasyonu düştüğünde, P konsantrasyonu nispeten sabit kalmıştır (%0,6-0,8). P nin atıksudan giderimi, atıksudaki N konsantrasyonundan etkilenmiştir. Atıksudaki başlangıç N konsantrasyonu 40 mg L⁻¹ in üzerinde olduğu zaman, mikroalgler 6 mg P L⁻¹ arıtırken, başlangıç N konsantrasyonu 20 mg L⁻¹ in altına düştüğünde 2 mg P L⁻¹ artım gözlenmiştir. Sonuçlar, atıksu kütlelerinde fosfor varlığının, azot birikimi üzerine olumlu etki yaptığını, etkili fosfor giderimi için, yüksek miktarda N konsantrasyonları gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

Delgadillo-Mirquez ve arkadaşları (2016) çalışmalarında, *Chlorella vulgaris* mikroalg kültürü ve bakteri karışımı ile Fransadaki Ouistreham'dan elde ettikleri atıksu kütlelerinin kesikli bir reaktörde, azot ve fosfor giderimini 8 gün boyunca incelemiştir. Deney düzeneği 4 adet 18 W'lık 200-250 µmol m⁻² s⁻¹ ışık kaynağı ile aydınlatılmıştır. Alg kültürlerinin ekimleri Bristol mediumu ile sağlanmıştır. Deneysel çalışma, farklı sıcaklık (5°C, 15°C, 25°C) ve farklı fotoperiyotlarda (6/18 saat aydınlık/karanlık, 12/12 saat aydınlık/karanlık ve 18/6 saat aydınlık/karanlık) gerçekleştirilmiştir. Amonyum buharlaşmasını ve fosfor çökmesini ölçmek amacıyla yapılan abiyotik deneyler 15°C'de ve 18/6 saatlik bir fotoperiyotta gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık değeri 15°C'den 25 °C'ye çıkarıldığında, alglerin konsantrasyonunda, spesifik büyüme oranında ve biyokütle üretkenliğinde artış gözlenmiştir. Sıcaklığın 5°C olduğu koşulda, alg kültürleri için üreme ve metabolik aktivite gözlenmemiştir. Çalışmada maksimum %72-

83 aralığında azot giderim verimi gözlenmiştir, azotun yaklaşık %72-81'i amonyum formunda giderilmiş ve en yüksek amonyum giderim verimi 25°C sıcaklıkta ölçülmüştür. Farklı sıcaklık ve fotoperiyot koşulunda, biyokütlenin azot içeriğinin benzer olması, alglerin bu koşullarda özdeş azot asimilasyon yetenekleri olduğunu göstermiştir. Yaklaşık 100-150 saat sonra fosfat iyonlarının tamamı atık sudan arıtılmıştır. En yüksek fosfat giderim hızı kültürlerde 25°C ve 12 saat fotoperiyodu ile 15°C ve 18 saat fotoperiyodunda tespit edilmiştir. Deneysel çalışmalar bağlamında, LCA ve maliyet analizleri dikkate alındığında, HRAP sistemlerinin, mikroalg-bakteri karışımı ile arıtımının uygun olduğu sonucu elde edilmiştir.

Tuna Öztürk (2018) doktora tez çalışmasında, sentetik yeraltı sularından *Tetrademus obliquus* alg kültürü ile nitrat giderimi ve giderime etki eden optimum koşulların belirlenmesini araştırmıştır. Çalışma kapsamında fotobiyoreaktör ve membran biyoreaktörün birlikte kullanıldığı deney düzeneği tasarlanıp, farklı ışık (24 saat aydınlık ve 18/6 aydınlık/karanlık evre), sıcaklık (12°C, 28°C ve 35°C), pH (7, 8, 9) ve hava debisi (0,5 L/dk, 2 L/dk, 3,3 L/dk ve 5 L/dk) koşullarında *Tetrademus obliquus* türünün nitrat giderimine etkisi incelenmiştir. Deneysel çalışmalarla elde edilen veriler sonucunda; 28 °C sıcaklık, 24 saat ışık süresi, pH 8 ve 0,5 L/dk hava debisi koşulunda ve on günün sonunda nitrat derişiminin 170 mg NO₃⁻/L'den 32 mg NO₃⁻/L'ye düştüğü ve %81 oranında bir giderim verimi elde edilmiştir. Tez çalışması ile, yeraltı sularından nitrat gideriminde alg kültürlerinin kullanılabileceği ve giderim sonrasındaki alg biyokütlesinin ortamdaki uzaklaştırılması için ekstra bir arıtım yöntemine ihtiyaç duyulmayacağı sonucu elde edilmiştir.

Aşan ve Bozkurt (2022) lisans bitirme tez çalışmaları kapsamında, Porsuk Nehri'nden alınan yüzey suyundaki azot ve fosfor kirliliğinin *Chlorella vulgaris* alg kültürü kullanarak membran biyoreaktörde giderimini ve giderime etki eden optimum parametre koşullarını araştırmıştır. Çalışmada farklı ışık, farklı pH, farklı hava debisi koşullarında, süspanse *Chlorella vulgaris* alg kültürü ile azot ve fosfor giderimi incelenmiştir. Deneysel çalışmalar sonucunda, reaktörler optimum koşullarda çalıştırıldığında %90 üzerinde azot ve fosfor giderim verimi elde edilmiştir. *Chlorella vulgaris* türünün tasarım reaktör içerisinde azot ve fosfat giderimini gerçekleştirdiği optimum koşulların 25°C sıcaklık, pH 8, 4 L/dk hava debisi ve 24 saat aydınlıkma koşulu ile sağlandığı sonucu elde edilmiştir.

3.2. İmmobilize Alg ile Azot ve Fosfor Giderimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Zhang ve arkadaşları (2008) çalışmalarında, Çin, Dalian kentsel atıksu arıtma tesisinden izole edilip, immobilize edilen *Scenedesmus sp.* alg kültürü ile paralel plakalı biyoreaktörde yapay atıksu ve gerçek ikincil çıkış suyundan amonyak, azot ve ortofosfat giderimini incelemiştir. Çalışmalarını oda sıcaklığında ($20 \pm 20^{\circ}\text{C}$), 13/11 (saat aydınlık/karanlık evre) fotoperiyotlu beyaz dairesel floresan ışık altında gerçekleştirmiş ve yaklaşık 3 L serbest alg kültürü üretilmiştir. Alg kültürlerinin ekimlerinde Dauta besi yeri kullanılmıştır. %6'lık hazırlanan sodyum aljinat çözeltisi ve *Scenedesmus sp.* mikroalg kültürü hacimce 1:1 (v:v) olacak şekilde karıştırılmıştır. Karışım 1 saat sonra 0,2 M kalsiyum klorür çözeltisiyle gözenek açıklığı $1 \times 1 \text{ m}^2$ olan paslanmaz çelik elek vasıtasıyla immobilize hale getirilmiş ve nihai alg toplarının kalınlığı 2, 3 mm olarak ölçülmüştür. İmmobilize topucuklar %1,5 sodyum sitrat çözeltisiyle çözündürülmüştür. NH_4^+-N ve PO_4^{3-} 'ün büyük çoğunluğu, paralel biyoreaktörlerde 4 saatte arıtılmıştır. Evsel ikincil atık sularda NH_4^+-N giderim verimliliği 105 dakika sonra %99,1, 135 dakika sonra %100, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ giderim verimliliği 15 dakika sonra %100 olarak gerçekleşmiştir. Yapılan çalışma ile immobilize *Scenedesmus sp.* alg kültürünün ile inorganik azot ve fosforun arıtımının etkin olduğu sonucuna elde edilmiştir.

Özgür (2022) lisans bitirme tezi kapsamında, immobilize *Chlorella vulgaris* saf alg kültürü ile, Eskişehir Atıksu Arıtma tesisinin, birincil çökeltme ünitesi, çıkış suyunu kullanarak NH_4^+-N ve PO_4^{3-} giderim verimlerini incelemişlerdir. Çalışmada imhoff konisi kullanılmış ve farklı ışıklandırma süresi (aydınlık/karanlık 24/0, aydınlık/karanlık 16/8 saat), pH (7,5, 8,0, 8,5), ve farklı immobilize alg çaplarında (3,4, 5,3 mm)'de azot ve fosfor giderim verimleri araştırılmıştır. Çalışmada algleri immobilize etmek için hazırlanan %3'lük sodyum aljinat jeli, ve %10 luk kalsiyum laktat çözeltisi kullanılmıştır. Klorofil-a değerlerini belirlemek, immobilize alg kültürlerini çözmek için ise %8'lik sodyum sitrat çözeltisi kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, immobilize *Chlorella vulgaris* alg biyokütlesi kullanılan kesikli reaktörde evsel atık sudan yaklaşık 20 saatte %83 NH_4^+-N ve %95 PO_4^{3-} giderim oranları elde edilmiştir.

Turgut (2019) lisans bitirme tezi kapsamında, immobilize *Tetradismus obliquus* (*Scenedesmus obliquus*) ve immobilize *Chlorella vulgaris* alg kültürleri kullanarak yerelti suyundan nitrat giderimini ve hasat edilen alg kültürlerinin balık yemi üretim sektöründe kullanılabilirliğini araştırmıştır. Immobilize edilmiş *Scenedesmus obliquus* alg türü ile yapılan çalışmada 4,74 günde %98 verime sahip nitrat azotu giderimi ve immobilize edilmiş *Chlorella vulgaris* alg türü 2,02 günlük bir sürede %100 verime sahip nitrat azotu giderimini sağlanmıştır. Alg kültürlerinin bileşimleri gıda ölçüm laboratuvarında analiz edilmiş ve balık yemi sektörü için uygun besin maddesi olabilecekleri sonucuna ulaşılmıştır.

Hu ve arkadaşları (2020), Çin’de yaptıkları çalışmada, oda sıcaklığında uzun süre muhafaza edilen ve agar ile immobilize edilen *Chlorella saccharophila* alg kültürü ile amonyum azotu ve fosfat fosforu giderimini araştırmıştır. Alg kültürlerinin ekimlerinde BG11 besiyeri kullanılmış ve alglerin ototrofik büyümesi, 30°C’de, 100 mmol s⁻¹ m²’lik bir ışık yoğunluğu ile, 12/12 saatlik bir aydınlık/karanlık fotoperiyodunda ışık kaynağı ile sağlanmıştır. *C. saccharophila* alg kültürü 0,5 g L⁻¹, 1 g L⁻¹, ve 5 g L⁻¹ koşullarında eritilmiş agar ile immobilize edilmiş ve pH 7,2 koşulunda hazırlanan sentetik atıksuya alg kültürleri aşılanmıştır. Kesikli reaktörde gerçekleştirilen çalışmada, 30°C’de 12/12 saat fotoperiyodunda (aydınlık/karanlık evre), 500 mL lik cam erlene 200 mL sentetik atıksu ve farklı konsantrasyonlarda (her 100 mL atıksu için, 0, 20, 40, 60, 80 ve 100) ve farklı aydınlatma koşullarında (0 µmol s⁻¹ m⁻², 16 µmol s⁻¹ m⁻², 50 µmol s⁻¹ m⁻², 100 µmol s⁻¹ m⁻²) besin maddesi giderim performansı incelenmiştir. Sürekli reaktörde yapılan çalışmada ise 10000 mL lik fotobiyoreaktör 8000 mL sentetik atıksu ya da kentsel atıksu ile doldurulmuş ve 100 µmol s⁻¹ m⁻² ışıklandırma koşullarında atıksu arıtımı incelenmiştir. Sürekli reaktör koşullarında, atıksu bir pompa vasıtası ile hidrolik bekleme süreleri sırası ile 24, 36, 48 ve 72 saat olacak şekilde, 417, 278, 208 ve 139 mL h⁻¹ sabit akış hızında fotobiyoreaktöre beslenmiştir. Sentetik atıksuya uygulanan çalışmada, 60 saat ve 36 saatlik arıtım süreleri sonunda, agarla immobilize edilmiş 1g L⁻¹ alg hücresi konsantrasyonunda, %90 dan fazla NH₄-N ve PO₄³⁻-P giderim verimi elde edilmiştir, fakat bu konsantrasyonun üstünde ve altındaki seviyelerde giderim verimlerinin düştüğü gözlenmiştir. Kesikli reaktörde yapılan deneyde ise, ilk 12 saatte, amonyum azot konsantrasyonu 54,5 mg L⁻¹ den 16,4-24,5 mg L⁻¹’e ve fosfat fosforu konsantrasyonu ise 11,0 mg L⁻¹ den 2,6-4,8 mg L⁻¹’e düşmüştür. 60 saatlik arıtım sonucunda %95 den fazla NH₄-N, 36 saatlik süre sonunda ise %90’lık PO₄³⁻-P giderim verimi elde edilmiştir.

Bununla birlikte çalışmada ışık yoğunluğunun artmasıyla amonyum ve fosfat derişimde azalma gözlenmiştir. Işık yoğunluğu $100 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ koşulunda, 12 saatlik arıtım süresinde amonyum azotunun ve fosfat fosforunun %50 den fazlası, 60. ve 36. saatlerde ise besin maddelerinin %90'dan fazlasının giderildiği görülmüştür. Sürekli reaktörde ise amonyum azotu konsatrasyonu $48\text{-}53,1 \text{ mg L}^{-1}$ den $1,0\text{-}9,0 \text{ mg L}^{-1}$ ye düşerek %82 den fazla giderim verimi elde edilmiştir. Ortalama amonyum giderim verimleri 24. saatte %85,7, 36. saatte % 90,3, 48. saatte 95,7, 72. saatte % 97,6 elde edilmiştir. Fotobiyoreaktörde gerçekleştirilen sürekli reaktör koşullarında $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ giderim verimleri ise 72. saatte %96,1, 48. saatte %96,1, 36. saatte %91,5 ve 24. saatte %85,7 olarak ölçülmüştür. 200 günlük mikroalg koruma süresince, alg kültürlerinin canlılığı %47-52 olarak ölçülmüştür. Agar-immobilize mikroalg kültürü ile kesikli ve sürekli reaktörlerde gerçekleştirilen arıtım sonucunda, maksimum amonyum azot giderimi %96, ve maksimum fosfat fosforu giderimi ise %99 olarak hesaplanmıştır. Agarla immobilize edilen alg kültürleri 8 defa rejenerasyonu sağlandığında %94 amonyum ve %66 fosfat giderim verimleri elde edilmiştir.

Mollamohammada ve arkadaşları (2021) çalışmalarında, herbisit (atrazin) ile kirlenmiş yeraltı suyunun immobilize *Scenedesmus sp.*, alg kültürü ile arıtımını incelemiştir. Alg kültürünün ekimi BBM besiyeri ile sağlanmıştır. Alg kültürü yapay ışık kaynağı (300W beyaz LED) ile $10\text{-}12 \mu\text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}$ ile aydınlatılarak büyümesi sağlanmış, 2 hafta sonrasında immobilize hale getirilmiştir. İmmobilizasyon sürecinde, alg kültürü 3500 rpm de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Alg kültürü hazırlanan %2 lik sodyum aljinat ile karıştırılmış ve %2 lik hazırlanan kalsiyum klorit çözeltisine, şırınga vasıtası ile damlatılarak hareketi sınırlandırılmıştır. Alg-aljinat karışımı immobilize damlalar, kalsiyum klorür çözeltisi ile temas ettiğinde $2,3 \pm 0,1 \text{ mm}$ çaplı boncuklar halinde jelleşmesi sağlanmıştır. Oluşan boncukların, sertleşmeleri için gece boyunca kalsiyum klorür çözeltisinde bekletilmiştir. Deneysel çalışmalar hem gerçek hem de yapay atıksuda gerçekleştirilmiştir. Yapay atıksu hazırlanırken deiyonize (DI) suya $10 \text{ mg/L NO}_3\text{-N}$ ve $0,1 \text{ mg/L}$ atrazin eklenerek gerçekleştirilmiştir. Reaktör 20°C ve 35°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Gerçek yeraltı suyu, Nebraskadaki, Hastings Şehri Su Hizmetlerinden temin edilmiştir. Başlangıç nitrat konsantrasyonu $9,07 \pm 1,04 \text{ mg/L}$, fosfor konsantrasyonu $2,76 \pm 0,006 \text{ mg/L}$ olarak ölçülmüştür ve herbir reaktör için deney süresi 7 gün olarak belirlenmiştir. Alg kültürü $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık kaynağı ile aydınlatılmış ve reaktörün aydınlık/karanlık evresi 18/6 saat olacak şekilde

ayarlanmıştır. Deneysel sonuçlar incelendiğinde, immobilize *Scenedesmus sp.* türünün sürekli akışlı bir reaktörde, nitrat, atrazin, magnezyum, fosfor, çinko, oksadiazon ve triallatı yeraltı suyundan etkin bir şekilde giderebildiği sonucuna ulaşılmıştır. 8,8 mg/L NO₃-N ve 90 µg/L atrazin ile yapılan sentetik yeraltı suyu ile laboratuvar ölçekli deneylerde, 7 günlük hidrolik bekleme süresinde, 20°C'de en yüksek nitrat giderim verimi %97, en yüksek atrazin giderim verimi ise %70 olarak hesaplanmıştır. Gerçek yeraltı suyu ile 29 günlük arıtım gerçekleştirilmiştir ve çalışma sonucunda nitratın %92, magnezyumun %100'ü, fosforun %99,9 u ve çinkonun %92'si arıtılmıştır.

Ruiz-Marin ve arkadaşları (2010) çalışmalarında, serbest ve immobilize büyüyen algler (*S. Obliquus*, *C. vulgaris*) ile kesikli ve yarı-sürekli koşullarda, kentsel atıksu kütlelerinin arıtımını ve alglerin büyümeleri ile besin giderimini araştırmıştır. İlk olarak mikroalgler bir ay boyunca, hazırlanan yapay atıksu kütlelerine alıştırmıştır ve daha sonra gerçek atıksu kütlelerine eklenerek deneylere başlanmıştır. Alglerin immobilizasyonunda, sodyum aljinat kullanılmıştır, karışımda 1/1 v/v olacak şekilde %4'lük alg ve aljinat karışımı hazırlanmıştır. Büret yardımı ile titrasyon yapılarak, %2'lik kalsiyum klorür çözeltisine damlatılmıştır. İmmobilize edilmiş alg topcukları, 4 saat 25 °C'de sertleşmek için kalsiyum klorür çözeltisinde bekletilmiş ve ardından saf su ile yıkanmıştır. Kesikli koşullarda N giderimi için 48 saatlik arıtım sürecinde serbest büyüyen alglerde, türler arasında giderim verimlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. 48 saat sonunda immobilize edilmiş türlerde ise serbest büyüyen alglere kıyasla hem yapay hem de kentsel atıksuda daha yüksek giderim verimi elde edilmiştir. Arıtım sürecinde nitrat konsantrasyonunda anlamlı bir fark bulunmamıştır. Çünkü mikroalgler amonyumu tüketmeye başlamıştır. Serbest koşullarda büyüyen algler, fosfor giderimi üzerine kıyaslandığında, yapay ve kentsel atıksu giderim verimlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Serbest hücreler kıyaslandığında yapay ve doğal atıksu kaynağında, *S. obliquus* alg kültürü daha fazla fosforu asimile etmiştir. Yarı-sürekli koşulda, immobilize *S. obliquus* alg kültürü ile, 48 saatte amonyum giderimi, yapay atıksuda %97 ve kentsel atıksuda %90 giderim verimi elde edilmiştir. 74 saat sonra amonyumun yapay atıksuda %80'i, kentsel atıksuda %87 giderim verimi elde edilmiştir. 250 saat sonra yapay atıksuda %30 ve kentsel atıksuda %10 giderim verimi elde edilmiştir. Yapay atıksuda fosforun başlangıçta %85 giderimi, 250. saatte ise %30 giderimi, kentsel atıksu kültürlerinde ardışık dört döngü boyunca uzaklaştırma kapasitesi %64 ve arıtım sonunda 250. saatte %20 giderim verimi elde edilmiştir. *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella*

vulgaris'e kıyasla daha yüksek azot ve fosfor giderimi göstermiştir. İmmobilize halde *S. obliquus* serbest hücre yapısına kıyasla uzun bekleme süresinde (181 saat) daha yüksek azot ve fosfor giderim verimi göstermiştir.

3.3. Alg Kültürlerinin Balık Yemi Üretim Tesisinde Alternatif Besin Kaynağı Olarak Kullanımı

Bazı mikroalg türleri, kültür balıkçılığı sistemlerindeki hayvanlar için faydalı besin kaynağı olarak kullanılmaktadır (Fabregas ve Herrero, 1896). Alg kültürlerinin alternatif hammadde olarak değerlendirilebilmesi için balık yemi olarak kullanılan balık unu ve yağlı tohum küspeleri (soya) gibi eşdeğer yem içerikleriyle rekabet etmesi gerekmektedir. Yeşil, mavi-yeşil ve pigmentli flagella türlerinin yüksek protein içeriğine sahip olması nedeniyle, bu türler alternatif besin olarak değerlendirilmektedir. Alglerin hayvansal ürün olarak kullanılabilmesi için besleyici, sağlıklı ve kaliteli bir ürün olması ve ekonomik bir şekilde üretilmesi gerekmektedir. Balık yetiştiriciliğinde besin kaynağı, maliyetin %40-50'sini oluşturduğu için, alglerin kullanımı oldukça önemlidir (Abid, 2018).

Mikroalgler, türlerine bağlı olarak bünyelerinde yaklaşık %50 oranında ham protein içermektedir ve bu da balık yemi olarak kullanılan ürünlerin amino asit içeriği ile paralel özellik göstermektedir. Buna ek olarak algler özellikle n-3 serisi olmak üzere, doymamış yağ asitleri içermektedir.

Balık yemi ve balık yağı fiyatlarının yüksek olması sebebiyle, daha ucuz alternatif yemler aranmaktadır. Özellikle *Spirulina* ve *Chlorella* türleri, çiftlik balıklarının beslenmesinde önemli bir bitki protein kaynağı olarak kullanılmaktadır (Alagawany vd., 2021). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, balık yemine makroalg kültürlerinin 50-75 g/kg oranında ilavesi, balıkların büyüme performansında artış, strese karşı direnç, bağışıklığın artması gibi etkileri meydana getirmekte ve balıkların deri, kas rengini iyileştirmektedir. Fakat fazla miktarda alg ilavesi balık türlerinin büyüme performansını ve besin kullanım verimliliğini olumsuz etkilemektedir (Naiel vd., 2021).

Mikroalg kültürleri, deniz balıklarının beslenme düzenindeki mineral ihtiyacının karşılanması için kullanıma uygundur (Fabregas ve Herrero, 1986). Özellikle *Chlorella* spp., *Scenedesmus* sp., ve *Spirulina* sp. alg kültürleri balıklar için hem direkt hem de diğer proteinler ile karıştırılarak kullanılmaktadır (Olvera-Novoa,1998)

Spirulina, mineraller, vitaminler, karotenler, esansiyel yağ asitleri ve antioksidanlar dahil olmak üzere çok sayıda biyoaktif bileşiği bünyesinde bulundurmaktadır. Diğer bitkilerle kıyaslandığında, yüksek büyüme oranı nedeniyle *Spirulina* alg kültürü, küresel protein kıtlığını ve uluslararası gıda krizini çözmeye yardımcı olacak güçlü bir araç olabilmektedir (Alagawany vd., 2021). *Spirulina* besin maddesi olarak kurutulmuş şekilde kullanılmaktadır, bu alg kültürü, balığın tadını, kokusunu ve rengini değiştirici etkisi göstermektedir. Fiziksel koşullara, strese ve hastalıklara karşı direnç gösterici etkisi ile düşük seviyeli yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Novoa, 1998).

Chlorella vulgaris alg kültürü, %45,23 oranında protein, %23,43 oranında karbonhidrat ve %18,12 oranında toplam yağ içeriğine sahiptir (Alagawany vd., 2021). İçerdiği klorofil, polifenol, vitaminler sayesinde As^{+3} gibi toksik kimyasallara karşı yüksek detoksifikasyon ve serbest radikalleri temizleme kapasitesine sahip olan doğal antioksidant özellik gösterir (Zahran ve Risha, 2014). *Chlorella vulgaris* mikroalg kültürünün besin içeriği Tablo 3.1'deki gibidir.

Tablo 3.1. *Chlorella vulgaris* alg kültürünün besin içeriği (Alagawany vd., 2021)

	Besin İçeriği	Birim (mg/50g)
1	Protein	45,23
2	Toplam yağ	18,12
3	Karbonhidrat	23,43
4	Kalsiyum (Ca)	16,52
5	Çinko (Zn)	2,72
6	Magnezyum (Mg)	18,65
7	Mangan (Mn)	5,66
8	Bakır (Cu)	0,93
9	Demir (Fe)	15,94

Chlorella vulgaris alg kültürü bünyesinde yüksek miktarda K vitamini bulunması ile birlikte B12 ve B3 vitaminleri de eser miktarda mevcuttur. Bu alg kültürü bileşiminde karotenoid seviyesi $4,7 \text{ mg g}^{-1}$, klorofil-a seviyesi $6,11 \text{ mg g}^{-1}$ ve klorofil-b $4,2 \text{ mg g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Bitkilere kıyasla, mikroalg kültürleri yüksek miktarda fotosentetik pigmentlere sahiptir, ticari değeri yüksek olduğu için, pek çok farmasötik uygulamada kullanılmaktadır (Alagawany vd., 2021).

Chlorella vulgaris alg kültürünün sağladığı pek çok faydadan dolayı, çeşitli balıklar için alternatif besin maddesidir. Bu alg kültürü balıkların büyüme ve üreme performansını artırmakta ve hastalıklara karşı direnç gösterip bağışıklığı güçlendirmektedir (Alagawany vd., 2021).

Zahran ve Risha (2014), çalışmalarında arsenikli suya maruz kalan Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) balığının yemine, ek olarak besin miktarının %5-%10'u oranında *C. vulgaris* alg kültürünü ekleyerek, 21 günlük maruziyet süresi boyunca toksisiteye (7 ppm'de NaAsO₂) karşı alg kültürünün koruyucu rolünü incelenmiştir. Arsenik balıklarda toksisiteyi artırıp, kansere neden olmakta ve organların zarar görmesine, hatta ölüme sebep olmaktadır. Analiz sonuçları incelendiğinde %10 oranında *Chlorella vulgaris* alg kültürünün takviyesi, doğuştan gelen bağışıklığa tepkiyi ve antioksidan aktiviteyi %5'in üzerinde artırmış ve bu oran Nil tilapisi balığı için optimum olarak kabul edilmiştir. Bu sebeple *Chlorella vulgaris* kültürü, Nil tilapisi için arsenik kaynaklı bağışıklığı düşürücü ve oksidatif strese maruziyete karşı korma sağladığı sonucu elde edilmiştir.

Khanzadeh ve arkadaşları (2015), çalışmalarında *Trichopodus trichopterus* (üç noktalı gurami) balığının, büyüme ve üreme performansını, vücut biyokimyasal bileşimini araştırmak için, yem olarak *Spirulina platensis* alg kültürünü balık yemi olarak kullanarak ilk yumurtlama dönemine kadar (16 hafta boyunca) beslenmiştir. Çalışmada kullanılan alg türünün ham protein içeriği %60,8, kuru bazda lipit içeriği %8,55'dir. Alg biyokütlesi %2,5, %5, %10 ve %20 oranlarında balık yemine ilave edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, alg bazlı besleme süreçleri, kontrol denemelerine göre daha iyi performans gösterse bile aralarında istatistiksel bir farklılık görülmemiştir. %2,5-%10 aralığında besin olarak alg biyokütlesi ilave edildiğinde büyüme artış gösterirken, %20 seviyelerinde yemin sertliğinin artması ve balıklar tarafından daha zor sindirilebilmesi sebebiyle, büyüme performansında azalma gözlenmiştir (Khanzadeh vd., 2016).

Abdel ve arkadaşları (2016) çalışmalarında, yeşil alg türlerinden olan *Ulva lactuca* alg kültürünü besin maddesi (%10, %20 ve %30 oranında) olarak kullanarak Afrika yayın balığı türü olan *Clarias gariepinus*'un büyüme performansı, yem tüketimi ve vücut kompozisyonu üzerindeki etkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda, %20 ve %30 seviyelerinde *Ulva lactuca* içeren bir besin kaynağı ile yetişen yayın balığının kontrol grubunun, %10 *Ulva lactuca* içeren balıkla beslenene göre daha zayıf büyüme

gösterdiği ve yem kullanım miktarında düşüş olduğu gözlenmiştir (Abdel-Warith vd., 2016).

Bai ve arkadaşları (2001) çalışmalarında, Kore kaya balığı türü olan *Sebastes schlegeli* türüne yem katkı maddesi olarak *Chlorella* tozunun ekleyerek, büyüme performansı üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Çalışma kapsamında farklı oranlarda (%0, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 ve 4,0) *Chlorella* içeren 6 deney seti kurulmuştur. Çalışma sonucunda ise, optimum %0,5 yem içeriği koşulunda, Kore kaya balıklarının vücut kompozisyonu üzerinde herhangi bir olumsuz etki gözlenmemiş, büyüme ve yem kullanımı üzerindeki olumlu etkileri elde edilmiştir (Bai vd.,2001).

Abid (2001) yüksek lisans tez çalışması kapsamında, 105 gün boyunca Pullu Sazan (*Cyprinus carpio*) balığının yemine farklı seviyelerde mikroalg *Chlorella sp.* katkısının etkisini araştırmıştır. 4 farklı akvaryuma, beşer sazan balığı eklenerek, 0 *Chlorella*, 2,5g *Chlorella*/kg, 5g *Chlorella*/kg ve 7,5g *Chlorella*/kg alg kültürü olacak şekilde deneysel çalışmalarını yürütülmüştür. Çalışma ile 5g *Chlorella*/kg ve 7,5g *Chlorella*/kg alg kültürü katkılı balık yemleri ile balıkları beslenmenin büyüme performansında, kilo alımında ve günlük büyüme hızında önemli miktarda değişim meydana geldiği sonucu elde edilmiştir.

4. MATERYAL VE METOT

4.1. Alg Kültürü ve Devamlılığının Sağlanması

Tez çalışması kapsamında kullanılmış olan *Chlorella vulgaris* alg kültürü Eskişehir Teknik Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Su Kalitesi Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir. Deneysel süreçlerde kullanılan alg kültürünün laboratuvar koşullarında sürekliliğinin sağlanması ile ilgili bilgiler alt başlıklardaki gibidir.

4.1.1. Mikroalg kültürünün seçimi

Çalışmalarda kullanılan mikroalglerden ve arıtmak istenen atıksudan maksimum fayda sağlayabilmek için, yüksek miktarda amonyağa karşı toleransı olan alg kültürü seçimi önemli bir faktördür. Özellikle atıksu ortamından ya da doğal su kütlelerinden izole edilen ve bu su kaynaklarına adapte olmuş olan algler, doğal su ve atık sudaki kültür koşullarında daha iyi büyüme göstererek ortama kolay uyum sağlamaktadır (Jiang vd., 2016).

Tez çalışması kapsamında doğal sulardan azot ve fosfor gibi biyokütleleri gidermek için *Chlorella vulgaris* mikroalg kültürü kullanılmıştır. Düzenli olarak ekimi yapılan alg kültürü belirli aralıklarla optik mikroskop altında gözlenerek, türde kontaminasyon olup olmadığı incelenmiştir.

Deneysel çalışmalarda kullanılan *Chlorella vulgaris* mikroalg kültürlerinin optik mikroskop görüntüleri Çevre Sorunları Araştırma Merkezi bünyesinde bulunan ışık mikroskobunda 40x büyütme ile incelenmiştir. Işık mikroskobu altında görülen alg kültürlerinin morfolojik özelliklerini incelemek için, deneysel çalışmada kullanılmadan önce alglerin karakterizasyonu yapılmıştır. Yuvarlak ve tek hücreli *Chlorella vulgaris* alg hücrelerinin mikroskop altındaki görüntüsü Görsel 4.1 'deki gibidir.



Görsel 4.1. *Chlorella vulgaris* alg kültürünün optik mikroskop görüntüleri

Chlorella vulgaris alg kültürünün ekimleri ESCO AC2-4E8 Class II marka biyolojik güvenlik kabininde (Görsel 4.2) düzenli aralıklarla besin/alg oranı 1/10 olacak şekilde yapılmıştır. Alglerin büyümesi için gerekli olan uygun koşullar altında 28°C sıcaklıkta, % 40 nemli, 470 nm ve 660 nm dalga boylarına sahip mavi, kırmızı LED lambalar ile 18/6 (aydınlık/karanlık) aydınlatma periyodunda POL-EKO marka bitki büyütme kabininde (Görsel 4.4) gelişmesi sağlanmıştır. *Chlorella vulgaris* alg kültürlerinin ekimi yaklaşık 15 gün aralıkla yapılmış olup ekim için BBM (Bold's Basal Medium) besi ortamı kullanılmıştır.



Görsel 4.2. Mikroalg ekimi yapılan Biyolojik Güvenlik Kabini

4.1.2. Kùltür besi yeri

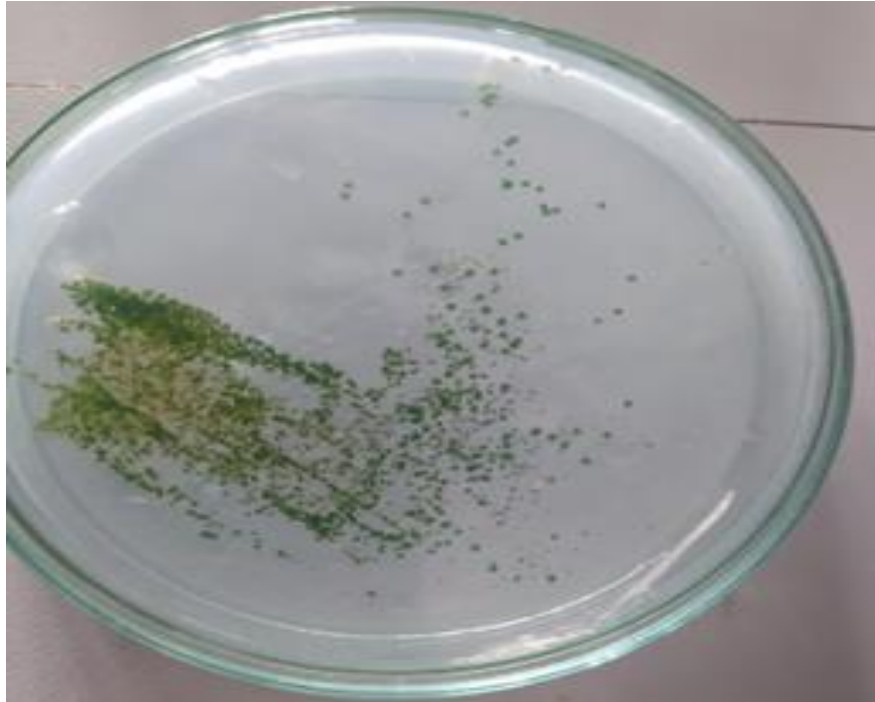
BBM besi ortamının hazırlanması için kullanılmış olan çözeltiler su kalitesi laboratuvarında steril koşullarda analitik saflıkta hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözeltilerin ağızları pamuk ve alüminyum folyo ile kapatılıp, Su Kalitesi Araştırma Laboratuvarında mevcut olan Hirayama HG-80 markalı otoklav cihazında 121°C’de 20 dakika boyunca sterilize edilip, buzdolabında +4°C’de muhafaza edilmiştir. Tablo 4.1’de belirtilen stok çözeltilerden 1900 mL otoklavlanmış saf suya tablodaki hacimlerde ilave edilerek, alg kùltürlerinin yetişebilmesi için gerekli olan besi ortamı hazırlanmaktadır.

Tablo 4.1. Bold’s Basal Medium çözeltisinin için gerekli kimyasallar

Stok Çözelti	Hacim (mL)	Bileşen	Stok Çözeltideki Derişimi
1	10	NaNO ₃	25 g / L
2	10	MgSO ₄ .7H ₂ O	7,5 g / L
3	10	NaCl	2,5 g / L
4	10	K ₂ HPO ₄	7,5 g / L
5	10	KH ₂ PO ₄	17,5 g / L
6	10	CaCl ₂ .2H ₂ O	2,5 g / L
7	1	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,82 g / L
		MnCl ₂ .4H ₂ O	1,44 g / L
		MoO ₃	0,71 g / L
		CuSO ₄ .5H ₂ O	1,57 g / L
		Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,49 g / L
8	1	H ₃ BO ₃	11,4 g / L
9	1	EDTA. Na ₂	50 g / L
EDTA.KOH çözeltisi		KOH	31 g / L
10		FeSO ₄ .7H ₂ O	4,98 g / L
Demir Çözelti	2	Konsantre H ₂ SO ₄	1 mL (asitlemek için)

Alg kültürlerinin gelişmesini sağlamak için BBM sıvı besi yeri ile hazırlanan agar agar katı besi ortamı kullanılmıştır. BBM-Agar besi ortamı hazırlanıp, otoklavda 121°C’de 20 dakika boyunca sterilize edilmiştir ve besi ortamı çalkalanıp petri kaplarına yaklaşık 12,5 mL olacak şekilde dökülmüştür. Hazırlanan petri kaplarına, sıvı BBM besin ortamında büyümekte olan alg kültürleri yuvarlak uçlu öze yardımı ile ekilmiştir. Ekimi yapılan petri kapları bitki büyütme kabininde %40 nem içeriği, 28°C sabit sıcaklıkta ve 16/8 (aydınlık/karanlık) ışıklandırma koşullarında 2 hafta boyunca inkübe edilmiştir. Bu süre zarfında oluşan alg kolonileri katı besi ortamından iğne öze yardımı ile alınarak, 50 mL lik falkon tüplerindeki BBM sıvı besi yerine ekilmiştir. Bu ekimler sonrasında yine 15 günlük inkübasyon ile, erlenlerdeki BBM besi ortamına 1/10 oranı sağlanacak şekilde alg kültürlerinin ekimi gerçekleştirmiştir.

Bu süreçlerin haricinde, alg kültüründe oluşabilecek olası bakteri oluşumuna karşın izleme amaçlı olarak nutrient agar ile hazırlanmış olan petri kaplarına ekim yapılarak 35°C de 48 saatlik inkübasyon sağlanarak muhtemel bakteri oluşumları da gözlemlenmiştir. Bazı alg kültürlerinde yaşanan bakteriyel kontaminasyonlar bu şekilde belirlenerek, ilgili alg kültürlerinin kullanımı engellenmiştir. Petri kaplarına ekilen alg kültür örneği Görsel 4.3’deki gibidir.



Görsel 4.3. BBM-Agar agara ekilen alg kültürleri

Chlorella vulgaris mikroalg kültürünün ekim işlemi, Su Kalitesi Laboratuvarında mevcut olan ESCO AC2-4E8 Biyolojik Güvenlik Kabininde gerçekleştirilmiştir. Alg/BBM oranı 1/10 olacak şekilde ekimler yapılmıştır. Kullanılan alg kültürü için uygun sıvı miktarı erlen içerisindeki maksimum sıvı hacminin %40'ını geçmeyecek şekilde ekim yapılmıştır. Kontaminasyonu önlemek için erlenlerin aēzı pamuk ve alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Ekimi tamamlanan algler POL-EKO aydınlatmalı iklimlendirme kabininde bulunan çalkalayıcıya alınarak inkübasyonu saēlanmıřtır. Su Kalitesi Araştırma Laboratuvarı bünyesinde bulunan bitki büyütme kabini Görsel 4.4'teki gibidir.



Görsel 4.4. POLEKO marka bitki büyütme kabini

4.2. Kullanılan Doğal Suyun Karakteristiği

Deneysel çalışmalarda kullanılan doğal su kaynağı, Eskişehir ili, Alpu ilçesinde bulunan Eskişehir Atıksu Arıtma Tesisinin çıkış suyunun, Porsuk Nehri ile birleşim noktasının 1,2 km mansabındaki $39^{\circ}46'55.66''N$ $30^{\circ}36'53.29''E$ konumundan alınmıştır. Arazide yapılan ön değerlendirmelerle bu noktada azot ve fosfor yük kaynağının yüksek olduğu belirlenmiştir. Su numunesi alınan bölgeler Görsel 4.5 ve 4.6'da gösterilmektedir.



Görsel 4.5. Numune alma noktası

Deneysel çalışmalarda kullanılan küttelece azot ve fosfor bakımından yüksek doğal su kaynağından numune alımı gerçekleştirilmiştir. Numune alınan nokta Görsel 4.6'daki gibidir.



Görsel 4.6. Su numunesi alınan noktalar

Deneysel süreçlerde kullanılmak üzere laboratuvara getirilen doğal su kütlesi Görsel 4.7’deki gibidir.



Görsel 4.7. Deneylerde kullanılan doğal su kütlesi

Belirlenen su kütlesinden alınan numuneler Eskişehir Teknik Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Su Kalitesi Araştırma Laboratuvarı bünyesinde yapılan çalışmalar ile su kirlilik düzeyi belirlenip azot, fosfor, klorofil-a, pH ve sıcaklık parametrelerinin ilk ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümler hem su kalitesine hem de mevsimsel değişkenlik göstermiştir ve bu da deneysel koşulları etkilemiştir. Ölçüm sonuçları Tablo 4.2’deki gibidir.

Tablo 4.2. Numunelerin ilk ölçüm verileri

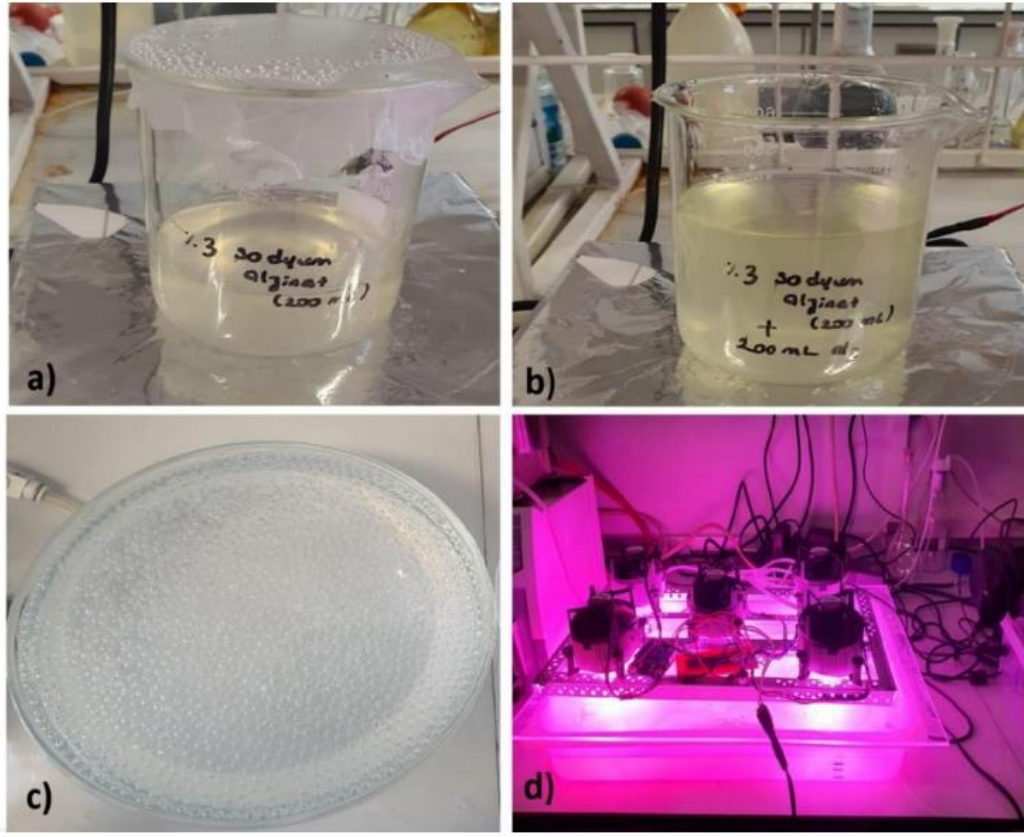
Amonyum (NH_4^+ -N)	Nitrat (NO_3^-)	Fosfat (PO_4^{3-})	pH	Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)
21,9	0,8	2,66	8,58	23,0
14,1	1,3	1,2	7,01	18,0
20,5	0,5	1,5	8,00	19,8
15,5	0,8	2,02	8,8	23,6
20,1	0,7	1,3	8,66	25,1
17,9	0,6	2,45	7,00	21,8
2,12	4,6	0,18	6,72	29,6
34,1	1,5	2,39	8,28	19,2
19,5	1,3	5,32	8,86	19,8

4.3. Alg Kùltürlerinin Gaz Kabarcıklı İmmobilizasyonu

Alg kùltürlerinin immobilizasyonu için aljinat, k-karragenan, polivinil ve poliüretan gibi farklı kimyasal malzemeler kullanılmaktadır (Göksungur ve Güvenç, 2002). Bu kimyasallar deneysel çalışmalara başlanmadan temin edilmiş olup, literatürde önceden yapılan çalışmalar temelinde immobilizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Sodyum aljinat yüksek geçirgenliğe, biyoyumluluğa ve şeffaf bir yapıya sahip olduğu için alg kùltürünün immobilizasyonu için kullanılmıştır. 100 mL distile su içerisine %3 m/v oranında 3 g ilave edilerek sodyum aljinat çözeltisi hazırlanmıştır (Özgür ve Göncü, 2022). Aljinatın polimerizasyonu için CaCl_2 çözeltisi hazırlanıp kullanılmıştır. İmmobilizasyon işleminin gerçekleştirilmesi için gerekli bileşiklerin derişimleri, alg kùltürü ile karıştırılması gerekli olan miktarlar literatür temel alınarak immobilizasyon işleminin prosedürüne uygun bir şekilde yapılmıştır.

Tez çalışmasında kullanılan *Chlorella vulgaris* mikroalg kùltürü için yapılan literatür çalışmaları ve ön çalışmalar göz önüne alındığında, immobilizasyon için %3 lük sodyum aljinat ve %15lik kalsiyum klorür çözeltilerinin hazırlanması uygun görülmüştür. Hazırlanacak olan sodyum aljinat çözeltisi 12 saat manyetik karıştırıcıda çözüldükten sonra 1/1 v/v oranında alg/sodyum aljinat olacak şekilde karışım hazırlanıp, homojenizasyonu için içerisine manyetik balık eklenerek, manyetik karıştırıcıda yaklaşık 12 saat 100 rpm de karıştırılmıştır. Karışım homojen olduktan sonra peristaltik pompa yardımı ile 27 rpm de 2 uçlu Y tipi hortum bağlantısı ile gaz kabarcıklı immobilize alg topları elde edilmiştir. Hortumlardan bir tanesi ile hava motoru vasıtası ile hava verirken, diğlerinden ise homojenize edilmiş alg-aljinat karışımı, eş zamanlı olarak hazırlanan %15 lik kalsiyum klorüre damlatılarak gaz kabarcıklı immobilize alg toplarını oluşması sağlanmıştır. Bu yapı sayesinde alg biyokütlesinin atıksu bünyesine karışması önlenmiştir. İmmobilize edilen alg kùltürleri yaklaşık 3 saat boyunca kalsiyum klörür çözeltisinde sertleşmesi için bekletilmiştir.

Deneysel çalışmanın ön aşaması olan, alglerin gaz kabarcıklı immobilize edilme süreci Görsel 4.8 ve 4.9'daki gibidir.



Görsel 4.8. a) %3 sodyum aljinat (3 g sodyum aljinat, 100 mL distile su) b) 1/1 v/v aljinat ve alg karışımı c) Gaz kabarcıklı immobilize algler d) Deney düzeneği

Laboratuvarında alg kültürlerinin immobilize edilme süreci Görsel 4.9'deki gibidir.



Görsel 4.9. Alg kültürlerinin immobilizasyon süreçleri

4.4. Deney Düzeneğinin Kurulumu

Ön çalışmalarla kontrolü sağlanan, Türk Patent ve Marka Kurumuna patent başvurusu yapılmış olan Gaz Kabarcıklı İmmobilize Alg Kültürünün Üretimi ve Uygulanması başlıklı projenin deneysel çalışmaları, bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Deneysel çalışmalar süresince alglerin büyümesi için optimum koşullar ayarlanmıştır. Çalışmalarda farklı parametreler olarak ışıklandırma süresi, pH ve hava debisi seçilerek, doğal sudaki azot ve fosfor giderimi incelenmiştir. Işıklanma koşulunda, bitki büyümesi için uygun olan LED lambalı ışık kaynağı kullanılmıştır. Tasarım reaktördeki anlık pH ölçümü ve ayarlaması fotobiyoreaktör vasıtası ile sağlanmıştır. pH ayarlanması için reaktöre otomatik olarak asit ve baz ilavesi gerçekleştirilmiştir. Reaktöre akvaryum pompası aracılığı ile fotobiyoreaktörden istenilen oranda sürekli hava aktarımı sağlanmıştır.

Deneysel çalışmalar kesikli reaktörde gerçekleştirilmiştir. Deney düzeneği olarak kullanılan kabın boyutları 520*320*60 mm'dir. Kurulumun alt kısmı hava difüzör tüpleri ile kaplı olup, hava akış hızı 0,3 0,4 ve 0,5 L/dakika olacak şekilde ayarlanmıştır. Deney düzeneğinin üzeri pleksiglas panel ile kapatılmış ve düzeneğin üst kısmına 5 adet soğutma fanı ile LED ışıklar yerleştirilmiştir. Tasarım reaktöründe alg kültürlerinin büyümesine uygun mavi (470 nm) ve kırmızı (660 nm) dalga boylarına sahip 50W COB tipi power LED ışıklar kullanılmıştır. Deneysel süreçlerde, arıtımın gerçekleştirileceği kaba 400 g gaz kabarcıklı immobilize alg ve 4 L doğal su ilave edilmiştir. Deney düzeneği Görsel 4.10'daki gibidir.



Görsel 4.10. Deney düzeneği

Bir deney setinin kurulmuş hali Görsel 4.11'deki gibidir. pH ayarlaması ve hava debisi fotobiyoreaktörden sağlanmıştır.



Görsel 4.11. Deney düzeneği

4.5. Deneysel Yöntem

Deneysel çalışmalar süresince algler immobilize edilip, doğal su kütlesinin arıtımı sağlanmıştır. Bu süreçte hem doğal su kütlesi hem de mikroalg kültüründen düzenli periyotlarla örnekler alınıp çeşitli ölçüm ve analizler gerçekleştirilmiştir. Deney düzeneğinden sabah ve akşam olmak üzere günde iki defa örnek alınmış olup, bu örneklerin günlük pH, klorofil-a, nitrat, fosfat ve amonyum değerleri ölçülmüştür. Deneysel süreçlerde kullanılan cihazların kalibrasyonları günlük olarak yenilenmiştir. Bu bölümde tez çalışması kapsamında kullanılan cihazlara ve cihazların kalibrasyonlarına yer verilmiştir.

4.5.1. pH ölçümü

Deneysel süreçlerde pH ölçümü için Su Kalitesi Araştırma Laboratuvarında bulunan, HACH HQ40d marka multi ölçüm cihazı kullanılmıştır. Cihazın her ölçüm öncesi pH 4, pH 7 ve pH 10 buffer çözeltileri ile kalibrasyonu sağlanmıştır. Gerekli durumlarda reaktörde pH ayarlanması için manuel 0,2 N HCl ya da 0,2 N NaOH dozlaması da gerçekleştirilmiştir. Numuneler arası geçişte pH ölçüm hassasiyetini

koruyabilmek için her bir ölçümden sonra prob ucu saf su ile temizlenip kurulanmıştır. Deneysel çalışmalar süresince kullanılan HACH HQ40d cihazı Görsel 4.12'deki gibidir.



Görsel 4.12. pH ölçüm cihazı

4.5.2. Klorofil-a ölçümü

Klorofil-a ölçümleri Su Kalitesi Araştırma Laboratuvarında bulunan, Turner Design Aquafluor fluorometre cihazı (Görsel 4.13) ile günde 2 defa örnekler in vivo cinsinden klorofil-a değeri olarak ölçülmüştür. Cihaz 10000 RFU değerinin üzerindeki okumaları gerçekleştiremediği için alglerin çok fazla büyüdüğü günlerde örnekler 2x, 4x seyreltilerek okumaları yapılmıştır.



Görsel 4.13. Aquafluor fluorometre cihazı

4.5.2.1. Klorofil-a kalibrasyonnu

Deneysel süreçlerde klorofil-a değerlerinin ölçümü için kullanılan HACH HQ4d marka pH ölçüm cihazının kalibrasyonu Standart Methods, metot 10200 H Klorofil yönteminde, feofitin varlığında klorofil-a belirlenmesine göre spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir.

Spektrofotometrik yöntemde, süzüntü hacmi 50 mL seçilmiştir ve 6 farklı seyretleme oranı kullanılarak *Chlorella vulgaris* alg kültürü için kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

3 mL çözelti 1 cm lik küvete eklenerek 750-664 nm’de absorbans değerleri okunmuştur. Küvete eklenen ekstrakt 0,1 mL’lik 0,1 N HCl ile asitlendirilmiştir ve asitin homojen dağılımı için hafifçe çalkalanmıştır. Asitlenme tamamlandıktan 90 sn sonra 750 ve 665 nm de absorbans değeri okunmuştur.

750 nm deki absorbans değeri 664 nm (asitleştirmeden önce) ve 665 nm (asitleştirmeden sonra) okuma değerlerinden çıkartılmıştır. Düzenlenen değerler kullanılarak metreküp başına klorofil-a ve feofitin değeri aşağıdaki denklemlere göre hesaplanmıştır.

$$\text{Chlorophyll} - a, \frac{mg}{m^3} = \frac{26,7 (664_b - 665_a) \times V_1}{V_2 \times L} \quad (4.1)$$

$$\text{Pheophytin} - a, \frac{mg}{m^3} = \frac{26,7 (665_b - 664_a) \times V_1}{V_2 \times L} \quad (4.2)$$

Denklemden;

664_b ve 665_a= sırası ile asitlendirmeden önce ve sonra %90’lık aseton ekstraktının absorbans değerleri,

V₁= ekstrakt hacmi, L

V₂= numunenin hacmi, m²

L=ışık yolu uzunluğu veya küvetin genişliği, cm

26,7 değeri absorbans düzeltme katsayısını ifade etmektedir ve

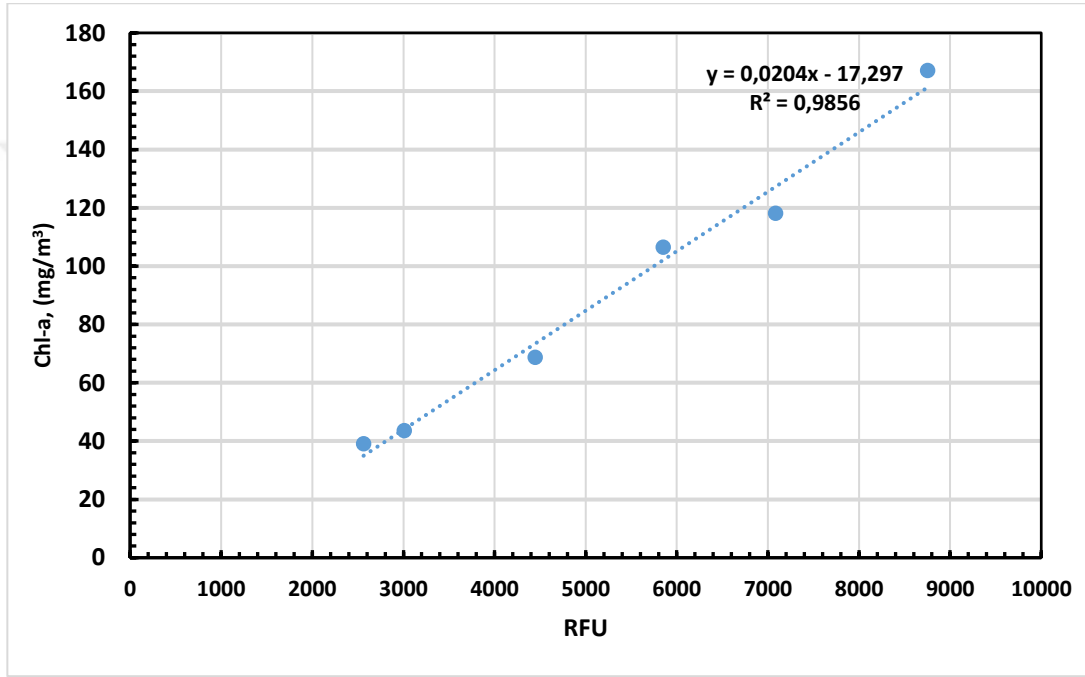
AxK’ya eşittir.

A=664 nm klorofil-a için absorbans katsayısı,

K= Asitleşme için düzeltme katsayısını ifade etmektedir.

$$\frac{\left(\frac{664_a}{665_a}\right)_{saf\ klorofil-a\ değeri}}{\left(\frac{664_a}{665_a}\right)_{saf\ klorofil-a\ değeri} - \left(\frac{664_a}{665_a}\right)_{saf\ feofitin-a\ değeri}} \quad (4.3)$$

Spektrofotometrik ölçümlerden elde edilen verilerin analitik hesaplamaları tamamladıktan sonra *Chlorella vulgaris* alg kültürü için RFU değerine karşı klorofil-a (mg/m³) grafiği, Şekil 4.1’deki gibi çizilmiştir ve r² değeri 0,9856 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.1. RFU değerlerine karşı Chl-a değişim grafiği

4.5.3. Nitrat ölçümü

Nitrat ölçümü için doğal su kütesinden alınan numuneler Standard Methods, Method 8171 Nitrate Cadmium Reduction'a uygun olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. 10 mL'lik örnekler HACH NitraVer5 reagent kiti eklenmiş, 1 dakika boyunca çalkalanıp 5 dakika reaksiyon süresinin tamamlanması için beklenmiştir. Bu süre sonunda 10 mL'lik kör çözelti HACH DR/2400 Spektrofotometre cihazının (Görsel 4.14) sıfırlanması için okunmuş ve ardından örnek çözeltinin okuması gerçekleştirilmiştir.



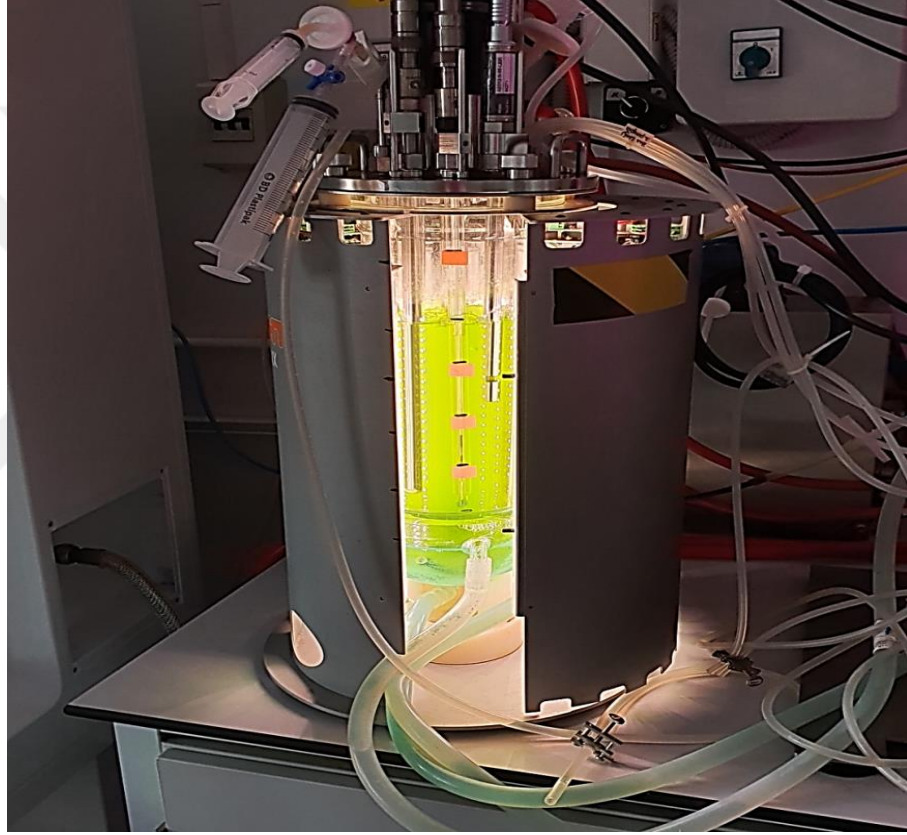
Görsel 4.14. DR2400 spektrofotometre cihazı

4.5.4. Fosfat ölçümü

Fosfat ölçümü için alınan su numuneleri Standart Method 8048 Phosphorus, Reactive (Orthophosphate) Askorbit Asit methoduna göre gerçekleştirilmiştir. 10 mL örnek içerisine PhosVer3 reagent eklenerek 20-30 saniye boyunca örnek karıştırılmış ve dakikalık reaksiyon süresi başlatılmıştır. Bu aşamada kör içerisine 10 mL örnek eklenmiştir. Reaksiyon süresi bitiminde laboratuvar bünyesinde bulunan HACH DR/2400 spektrofotometre cihazında (Görsel 4.14) önce kör sonra da örnek okuması gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler ortofosfat cinsinden ifade edilmiştir.

4.5.5. Fotobiyoreaktör

Çalışma kapsamında incelenen farklı ortam koşulları olan pH ve hava debisinin sağlanması ve gerektiğinde yüksek miktarda alg biyokütlesi eldesi için Su Kalitesi Araştırma Laboratuvarı kapsamında bulunan INFORS HT Labfors 5 markalı fotobiyoreaktör sistemi (Görsel 4.15) kullanılmıştır. pH'ı ayarlamak için fotobiyoreaktöre 0,2N HCl ve 0,2 N NaOH asit ve baz şişeleme bölmesi eklenmiştir, gerekli durumlarda sistem pH ayarlamasını otomatik sağlamıştır.



Görsel 4.15. *Deneyisel çalışmalarda kullanılan fotobiyoreaktör cihazı*

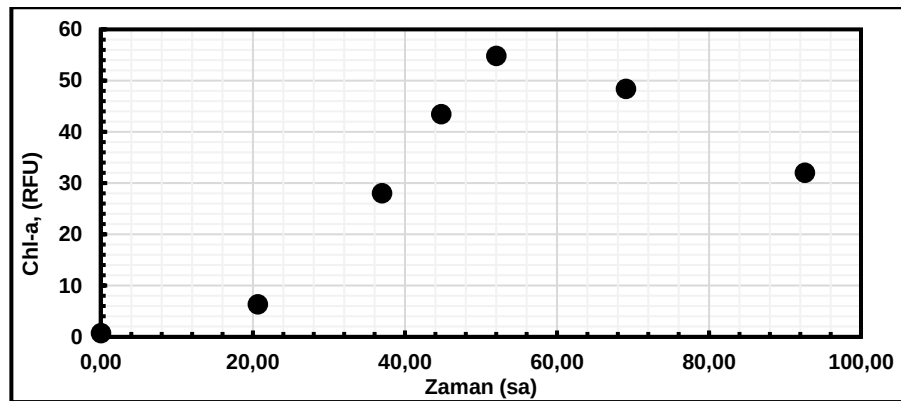
5. FARKLI ORTAM KOŞULLARINDA *CHLORELLA VULGARIS* MİKROALG KÜLTÜRÜNÜN DOĞAL SU KÜTLESİNDEKİ AZOT VE FOSFOR GİDERİM VERİMİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Çalışma kapsamında su/atıksu arıtımında yaygın olarak kullanılan *Chorella vulgaris* alg kültürünün gaz kabarcıklı immobilize edilmesi, doğal su kütlesindeki azot ve fosfor kirliliğinin bu alg biyokütlesi ile arıtılabilirliğinin irdelenmesi ve elde edilecek alg kültürünün balık yemi üretim tesislerinde besin hammaddesi olarak kullanılabilirliğinin araştırılması hedeflenmiştir. Deneysel çalışmalarda kullanılan *Chlorella vulgaris* alg kültürünün büyümesi BBM (Bold's Basal Medium) besi ortamı ile sağlanmıştır.

7, 8 ve 8,5 pH değerleri, 0,3, 0,4 ,0,5 L/dk hava debisi ve 12/12, 16/8 ve 24/0 ışıklandırma koşulları deneysel parametreler olarak seçilmiştir. Çalışma kapsamında farklı çevresel koşulların kümülatif etkisinin alg kültürlerinin büyümelerine olan etkisi ile birlikte azot, fosfor gibi kirlilik yüklerinin giderim verimleri incelenmiştir. Herbir deney seti kurulurken alg kültürü/doğal su hacmi 1/10 olacak şekilde, hacimce 400 g alg kültürü/4000 mL doğal su eklenmiştir. Günde 2 defa klorofil-a, nitrat, amonyum ve fosfat değerleri ölçülmüştür.

5.1. *Chlorella vulgaris* Mikroalg Kültürünün Büyüme Eğrisi

Su Kalitesi Araştırma Laboratuvarında sürekliliği sağlanan alg kültürlerinden birisi olan *Chlorella vulgaris*, immobilize edilerek büyüme eğrisi ön çalışmalarda incelenmiştir. Klorofil-a değeri günde 2 defa olacak şekilde ölçülmüş ve değerler RFU cinsinden kaydedilerek büyüme eğrisi elde edilmiştir. *Chlorella vulgaris* alg kültürü için gerçekleştirilen örnek bir çalışmadaki büyüme eğrisi grafiği Şekil 5.1'deki gibidir.



Şekil 5.1. Zamana bağlı olarak *Chlorella vulgaris* alg kültürünün büyüme eğrisi

Şekil 5.1'e göre, *Chlorella vulgaris* alg kültürü 0-20. saatler arasında lag fazında, 20-48 saatler arasında logaritmik fazda, 48-69 saatleri arasında durgun fazda olduğu ve 69. saatten sonra ise kültürünün ölüm fazına geçtiği, besin madde miktarının yetersiz kaldığı ve büyümenin gerçekleşmediği sonucu elde edilmiştir.

5.2. Analitik Çözümler

Alglerin kinetik olarak büyüme hız sabiti (μ_{max}) ve verim (Yield-Y) değerlerinin belirlenmesinde nümerik analiz yaklaşımı ile zamana bağlı dinamik çözümler yapılmıştır. Bu çözümlerde, Michaelis-Menten denklemi ile, Euler ve 4. Dereceden Runge Kutta nümerik analiz çözümleri kullanılmıştır. Michaelis-Menten analitik yöntemi, herbir deney setindeki parametreler için başlangıç koşullarındaki μ_{max} ve K_s değerlerinin belirlenebilmesi için uygulanmıştır. Elde edilen veriler Euler ve Runge Kutta metodlarında kullanılmış olup, nümerik olarak μ_{max} değerleri ölçüm verileri ile karşılaştırılarak, farkların kareleri belirlenip, en iyi sonuca yakınsanmıştır. İlgili çözümlerlerde Excel Solver çözümleyici aracı kullanılmıştır.

Michaelis-Menten Denklemi;

Michaelis-Menten denklemi, tek substrata bağlı bir reaksiyonun hız denklemini ifade etmektedir (Salmon ve House, 2015). Bu kinetiğe bağlı olan bilgiler bölüm 2.3.1.1.'de detaylı bir şekilde detaylı bilgiler ifade edilmiştir. Michaelis-Menten kinetiği matematiksel olarak denklem 5.1'deki gibidir.

$$\mu = \frac{\mu_{maks} * S}{K_s + S} \quad (5.1)$$

Burada;

μ :spesifik (özellik) çoğalma hızı (1/T),

S: çoğalmayı sınırlayan substrat konsantrasyonu (M/L³),

K_s :yarı doygunluk sabiti (maksimum çoğalma hızının yarısındaki substrat konsantrasyonu) (M/ L³),

μ_{maks} :maksimum spesifik çoğalma hızını (1/T) ifade etmektedir.

5.2.1. Alglerin reaksiyon kinetiklerinin belirlenmesi

Deneyisel çalışmalarda analitik çözümler Euler ve Runge Kutta kinetiklerine kullanılarak elde edilmiştir.

Euler Yöntemi;

Euler Yöntemi, bir diferansiyel denklemin çözümü için kullanılarak bir yaklaşım sağlamaktadır. Euler Yöntemi, birden fazla küçük çizgi parçasını birleştirmek için yerel doğrusallık kavramını kullanmakta olup, gerçek eğrinin bir yaklaşımını oluşturmak yöntemin temel amacıdır (Alonso vd., 2014).

Euler yöntemi için, başlangıç noktası, adım boyutu ve bir diferansiyel bir denklem gerekmektedir. Başlangıç değeri probleminin çözümüne yaklaşmak istenirse denklem 5.2 ve 5.3 kullanılmaktadır.

$$y'(t) = f(t, y(t)) \quad (5.3)$$

$$y(t_0) = y_0 \quad (5.4)$$

Adım boyutu h olarak tanımlanırsa, Euler yönteminin bir adımını denklem 5.5'teki gibi ifade edilmektedir (Fluvià vd., 2014)

$$y_{n+1} = y_n + hf(t_n, y_n) \quad (5.5)$$

Runge Kutta;

Runge-Kutta yöntemi 1900'lerde Alman matematikçiler C. Runge ve M. W. Kutta tarafından geliştirilmiştir. Sayısal analizlerde, Runge-Kutta yöntemleri, diferansiyel denklemlerin çözümlerinin yakınlaştırılması için kullanılmaktadır (Alonso vd., 2014).

Runge-Kutta yönteminin derecesi yükseldikçe, elde edilen sayısal çözümlerin doğruluğu da o kadar yüksek olmaktadır (Ling vd., 2021). Çalışmada sayısal çözümün doğruluğunu arttırmak amacıyla durum denklemleri sisteminin çözümünde dördüncü dereceden Runge-Kutta (RK4) yöntemi uygulanmıştır. Bu denklemler aşağıdaki gibidir.

$$y_{m,i+1} = y_{m,i} + \frac{h}{6}(k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4), 1 \leq m \leq n \quad (5.6)$$

$$k_1 = f_m(t_i, y_{1,i}, y_{2,i}, \dots, y_{n,i}) \quad (5.7)$$

$$k_2 = f_m(t_i + \frac{h}{2}, y_{1,i} + \frac{h}{2}k_1, y_{2,i} + \frac{h}{2}k_1, \dots, y_{n,i} + \frac{h}{2}k_1) \quad (5.8)$$

$$= f_m(t_i + \frac{h}{2}, y_{1,i} + \frac{h}{2}k_2, y_{2,i} + \frac{h}{2}k_2, \dots, y_{n,i} + \frac{h}{2}k_2) \quad (5.9)$$

$$k_4 = f_m(t_i + h, y_{1,i} + hk_3, y_{2,i} + hk_3, \dots, y_{n,i} + hk_3) \quad (5.10)$$

Denklemlerde;

$$f_m = y'_m,$$

n= 1. Dereceden diferansiyel denklemi,

h= adım sayısını,

i= tekrarlama sayısını temsil etmektedir.

4. derece Runge Kutta denklemi denklem 5.11 ve 5.12'deki gibi ifade edilmektedir,

$$\frac{dX}{dt} = \left(k_g, \text{maks} \frac{S}{k_s + S} - k_d - k_r \right) X \quad (5.11)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y} k_g, \text{maks} \frac{S}{k_s + S} X \quad (5.12)$$

Denkleme göre;

X=alg biyokütlesinin derişim (hücre L⁻¹)

k_g=alg biyokütlesinin büyüme hızı (sa⁻¹)

k_d=alg biyokütlesinin ölüm hızı (sa⁻¹)

k_s= yarı-doygunluk sabiti

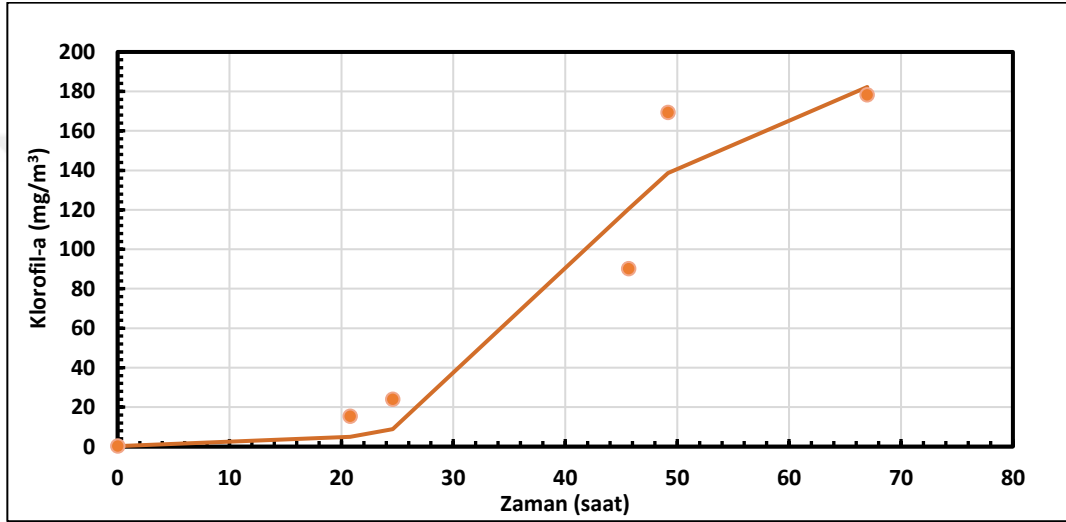
S= substrat derişimi (mg L⁻¹)

5.2.1.1. Örnek bir kinetik çalışması

Tez çalışması kapsamında, pH (7, 8, 8,5), ışık kaynağı (12/12, 16/8, 24/0 saat aydınlık/karanlık) ve hava debisi (0,3 L/dk, 0, 4 L/dk, 0,5 L/dk) olmak üzere 3 parametre ve parametrelere uygun 3'er seviye belirlenerek deneysel çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Deneyler sonucunda elde edilen veriler ile kinetik çalışması yapılmıştır. Kinetik çözümlerler Michaelis-Menten denklemi ve Euler, 4. Dereceden Runge Kutta nümerik analizleri ile sağlanmıştır. Aşağıda pH 8, ışıklandırma koşulu 24/0 (saat aydınlık/karanlık evre) ve 0,5 L/dk hava debisi parametreleri ile tamamlanan deneysel

çalışmanın kinetik analizi gösterilmiştir. Kinetik çalışma nitrat (NO_3^-), amonyum (NH_4^+), fosfat (PO_4^{3-}) ve İnorganik-N için teker teker yapılmıştır, fakat bu başlıkta nitrat (NO_3^-) için kinetik çalışması incelenecektir.

pH 8, ışıklandırma koşulu 24/0 (saat aydınlık/karanlık evre) ve 0,5 L/dk hava debisi koşulu için Michaelis-Menten denkleminde deney sonucunda elde edilen ölçüm değerleri yazılarak zamana karşı (saat) ortalama klorofil-a (mg/m^3) değerleri grafiği Şekil 5.2'deki gibi çizilmiştir.



Şekil 5.2. Zamana karşı (saat) ortalama klorofil-a (mg/m^3) değerleri grafiği

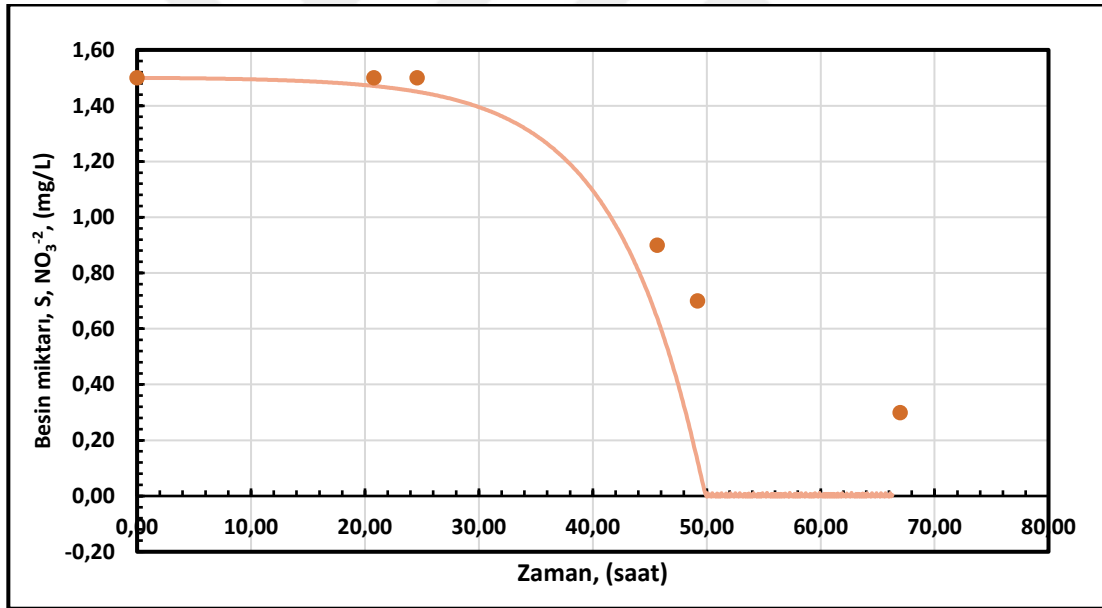
Michaelis-Menten denklemi ile farkların kareleri alınarak μ_{max} ve K_s için en uygun değer yakınsaması yapılmıştır. Bu değerler μ_{max} için 0,16886, K_s de 0,208621 olarak belirlenmiştir. Bu değerler Euler denkleminde başlangıç değeri olarak kullanılarak nümerik çözümler yapılmıştır ve Tablo 5.1'deki sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 5.1. Euler numerik çözüm analizi

Zaman, (saat)	X, Chl-a mg/L	S, NO ₃ mg/L	X _{com}	S _{com}	X, Farkların karesi	S, Farkların karesi
0,00	0,23	1,50	0,23	1,50	0,00	0,00
20,78	15,33	1,50	3,68	1,47	135,71	0,00
24,58	23,99	1,50	6,12	1,45	319,30	0,00
45,65	90,06	0,90	102,46	0,64	153,78	0,07
49,18	169,36	0,70	162,46	0,14	47,63	0,31
66,98	178,25	0,30	178,24	0,01	0,00	0,08

Euler nümerik çözümü ile nitrat parametresi için μ_{max} değeri 0,135342 ve Y değeri 119,5087 olarak hesaplanmıştır.

Zamana bağlı giderilen nitrat miktarın gösteren grafik 5.3'deki gibidir.



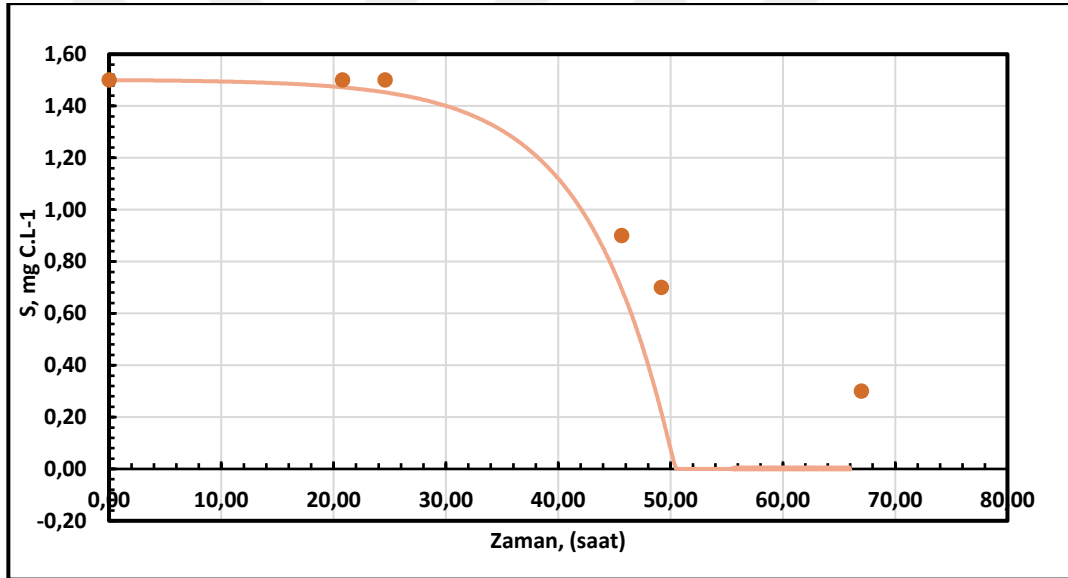
Şekil 5.3. Zamana bağlı nitrat giderim grafiği

Michaelis-Menten denklemi ile farkların kareleri alınarak μ_{max} ve K_s için en uygun değer yakınsaması yapılmıştır. Bu değerler 4. Dereceden Runge Kutta nümerik çözümlemesi için başlangıç değer olarak kullanılarak nümerik çözümlemeler yapılmıştır ve Tablo 5.2'deki sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo 5.2. Runge-Kutta numerik çözüm analizi

Zaman, (saat)	S, ölçüm	X, ölçüm	S model	X model	S, farkların kareleri	X, farkların kareleri
0,00	1,50	0,23	1,50	0,23	0,00	0,00
20,78	1,50	15,33	1,47	3,62	0,00	137,07
24,58	1,50	23,99	1,45	6,00	0,00	323,41
45,65	0,90	90,06	0,70	98,93	0,04	78,59
49,18	0,70	169,36	0,23	156,65	0,22	161,49
66,98	0,30	178,25	0,01	184,81	0,09	43,13

Zamana bağlı giderilen nitrat miktarın gösteren grafik 5.4'teki gibidir.



Şekil 5.4. Zamana bağlı nitrat giderim grafiği

4. dereceden Runge Kutta nümerik çözümü ile nitrat parametresi için $\mu_{\max}$ değeri 0,133717 ve Y değeri 122,5239 olarak hesaplanmıştır.

Bir deney seti parametreleri olan pH 8, ışıklanma koşulu 24/0 (saat aydınlık/karanlık evre) ve 0,5 L/dk hava debisi koşulunda, nitrat (NO_3^-), amonyum (NH_4^+), fosfat (PO_4^{3-}) ve İnorganik-N için elde edilen nümerik çözüm sonuçları Tablo 5.3'teki gibidir. Taguchi analizi gerçekleştirilirken bu farklı çözümlemelerin ortalama değerleri hesaplanarak kullanılmıştır. Deney seti için farklı parametrelerle gerçekleştirilen analiz sonuçları Tablo 5.3'teki gibidir.

Tablo 5.3. Deney seti için farklı parametrelerle gerçekleştirilen analiz sonuçları

Yöntem	Parametre	$\mu_{\max}$ (1/saat)	Y (g hücre/g besin)
Michaelis-Menten	PO ₄ ⁻³	0,18	
	NO ₃ ⁻² -N	0,17	
	NH ₄ ⁺ -N	0,22	
	İnorganik-N	0,2	
Euler	PO ₄ ⁻³	0,14	75,21
	NO ₃ ⁻² -N	0,14	119,51
	NH ₄ ⁺ -N	0,14	5,18
	İnorganik-N	0,14	5,17
Runge-Kutta	PO ₄ ⁻³	0,19	70,92
	NO ₃ ⁻² -N	0,13	122,52
	NH ₄ ⁺ -N	0,13	5,14
	İnorganik-N	0,14	5

5.1.1.2. Alglerin büyüme kinetiğine ilişkin elde edilen bulgular

Her bir deney seti için substratlar temel alınarak $\mu_{\max}$, Y-PO₄, Y-NO₃, Y-NH₄ ve Y-İnorganik N, analitik yöntemler kullanılarak belirlenmiştir. Michaelis-Menten, Euler ve Runge Kutta metotlarının çıktıları herbir parametre için elde edilmiştir ve ortalama değerleri Tablo 5.4'teki gibidir.

Tablo 5.4. Deney seti verilerinin analizi ile elde edilen çıktılar

Deney seti Parametreleri							
pH	Hava debisi (L/dk)	Işıklama süresi (aydınlık/karanlık evre) (sa/sa)	$\mu_{\max}$ (1/saat)	Y-PO ₄ (g hücre/g besin)	Y-NO ₃ -N (g hücre/g besin)	Y-NH ₄ -N (g hücre/g besin)	Y-İnog. N (g hücre/g besin)
7	0,3	12/12	0,0783	45,6036	185,8584	6,4584	6,2329
8	0,4	12/12	0,0904	63,4991	177,8989	4,9230	4,8026
8,5	0,5	12/12	0,0950	15,1284	60,60394	4,0276	3,8959
8	0,3	16/8	0,1633	63,2130	153,3162	4,2262	4,0779
8,5	0,4	16/8	0,1068	13,0336	43,1589	1,5815	1,4853
7	0,5	16/8	0,0607	201,363	8,3305	17,6214	5,7885
8,5	0,3	24/0	0,0997	25,0673	63,3072	3,1054	3,6904
7	0,4	24/0	0,1048	173,7001	159,0496	16,1354	15,3083
8	0,5	24/0	0,1424	73,0641	121,0163	5,1568	5,0842

5.2. Zamana Bağlı Olarak Deney Setlerinde Azot, Fosfor ve Amonyum Giderim Verimlerinin İncelenmesi

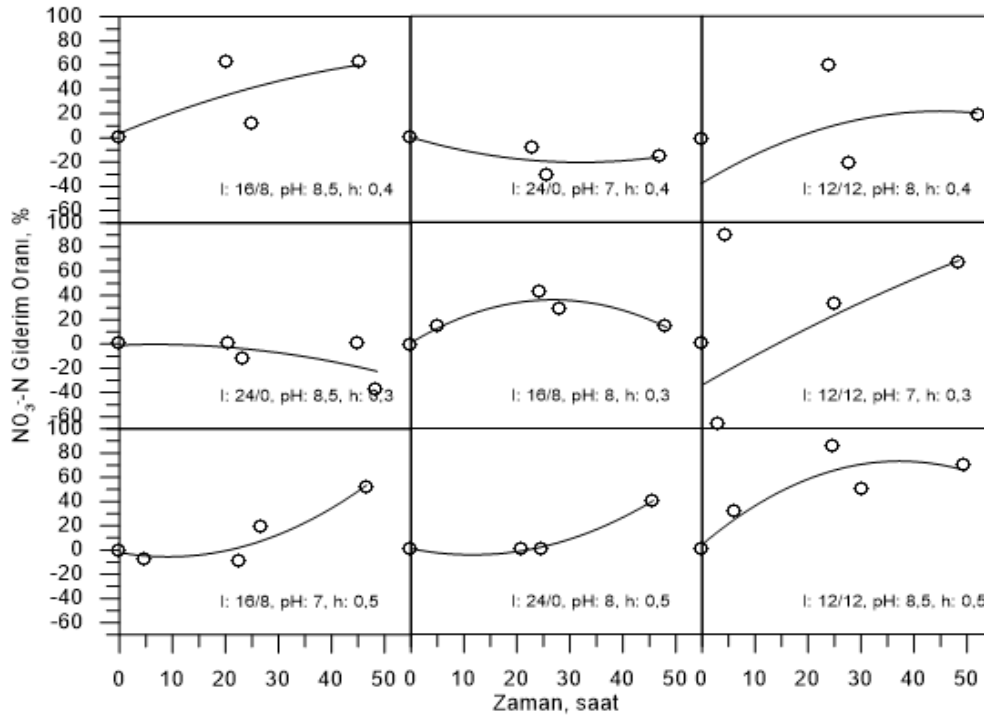
Minitab Paket Programında, 3 faktör ve 3 seviyeye göre Taguchi analizi gerçekleştirilmiştir ve 9 farklı deney setinin kurulması gerektiği sonucu elde edilmiştir. Alglerin biyoremediasyon etkileri, 12:12, 16:8, 24:0 (aydınlık/karanlık evre), 7,8, 8,5 pH ve 0,3, 0,4, 0,5 L/dk hava debisi parametrelerine göre incelenmiştir. Bu deney setlerinin içerikleri Tablo 5.5'teki gibidir.

Herbir deney parametre koşulları göz önüne alınarak 9 farklı deney seti kurulmuştur ve herbir set içerisindeki alglerin tüketimine bağlı olarak doğal su kütlelerinin, nitrat, amonyum, fosfat değerleri günde 2 defa olacak şekilde ölçülmüştür. Bu veriler analiz edildiğinde ve deney setleri göz önünde bulundurulduğunda alglerin yaklaşık 45. saatte logaritmik fazı tamamladığı ve durgun faza ulaştığı gözlenmiştir. 45. saat dilimine bağlı olarak deney setleri için, nitrat, amonyum, fosfor ve inorganik azot giderim verimleri Tablo 5.5'teki gibi hesaplanmıştır.

Tablo 5.5. 45. saatte farklı deney setlerinde biyokütle giderim verimleri

Deneyset Parametreleri			Nitrat, % (NO ₃ ⁻)	Amonyum, %, (NH ₄ ⁺)	Fosfat, % (PO ₄ ⁻³)	İnorg. N, % (NH ₄ ⁺ -N+NO ₃ ⁻ -N)
pH	Hava Debisi L/dk	Işıklama süresi (aydınlık/karanlık evre) (sa/sa)				
7	0,3	12/12	66,42	84,51	99,54	70,97
8	0,4	12/12	25,95	87,73	97,69	86,40
8,5	0,5	12/12	78,30	91,89	73,45	90,30
8	0,3	16/8	48,37	94,98	75,43	93,07
8,5	0,4	16/8	61,82	90,92	98,97	88,58
7	0,5	16/8	51,66	43,97	92,53	50,21
8,5	0,3	24/0	10,62	85,06	97,66	82,09
7	0,4	24/0	13,80	79,29	60,97	73,3
8	0,5	24/0	37,61	91,04	95,04	92,74

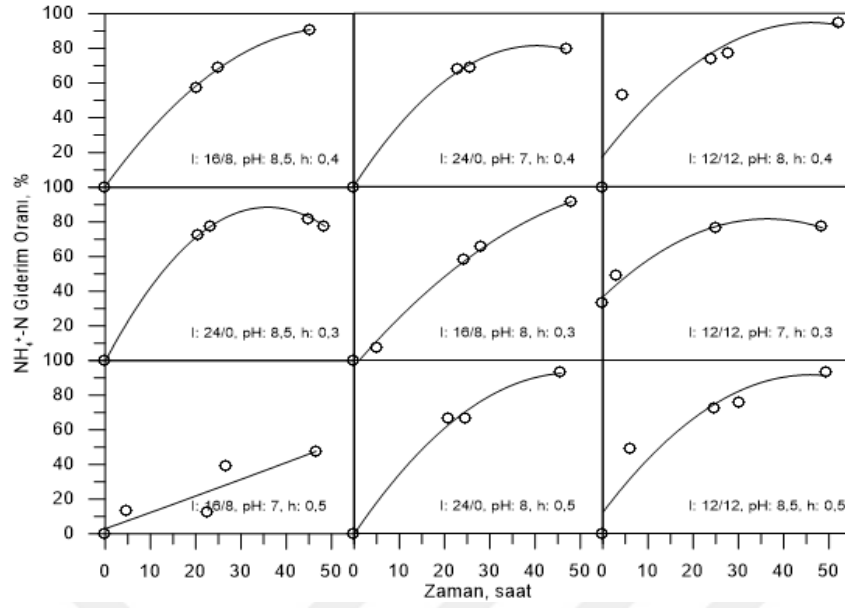
Farklı parametrelerde oluşturulan deney setlerinde 45. saatte, zamana bağlı nitrat (NO₃⁻) giderim verimleri değişim grafiği Şekil 5.5'teki gibidir.



Şekil 5.5. 45. saatte farklı deneysel koşullardaki NO_3^- giderim verimleri

Yaklaşık 45. saatte nitrat (NO_3^-) giderimi için optimum parametreler, ışıklandırma süresi 12/12, pH 8,5 ve hava debisinin 0,5 L/dk koşulda sağlanmak ile birlikte, bu zaman diliminde nitrat seviyesi 1,30 mg/L den $0,40 \pm 0,23$ mg/L ye düşerek % 78,30 giderim verimi ve yaklaşık 70. saatte ise %90,7 giderim verimi elde edilmiştir. Algler, farklı azot kaynaklarının mevcut olduğu koşullar altında ilk olarak amonyumu kullanmakta ve atıksu kütlesinden büyük miktarlarda fosforu absorblamaktadır (Jiang vd., 2016). Bu sebeple deney seyinde algler tarafından ilk olarak amonyumu ($\text{NH}_4\text{-N}$) tüketildiği için nitrat (NO_3^-) verimi 45. saatte daha düşüktür.

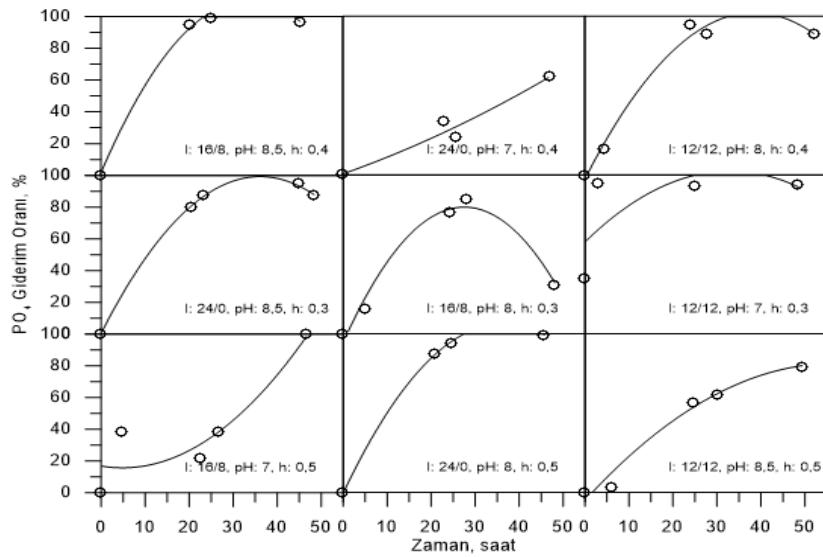
Farklı parametrelerde oluşturulan deney setlerinde 45. saatte, zamana bağlı amonyum (NH_4^+) giderim verimleri değişim grafiği Şekil 5.6'daki gibidir.



Şekil 5.6. 45. saatte farklı deneysel koşullardaki NH_4^+ giderim verimleri

Yaklaşık 45. saatte amonyum (NH_4^+) giderimi için optimum parametreler, ışıklandırma süresi 16:8, pH 8 ve hava debisinin 0,3 L/dk koşulda sağlanmak ile birlikte, bu zaman diliminde 20,10 mg/L den $1,79 \pm 5,06$ mg/L'ye düşerek % 94,98 giderim verimi ve yaklaşık 70. saatte ise %99,5 giderim verimi elde edilmiştir.

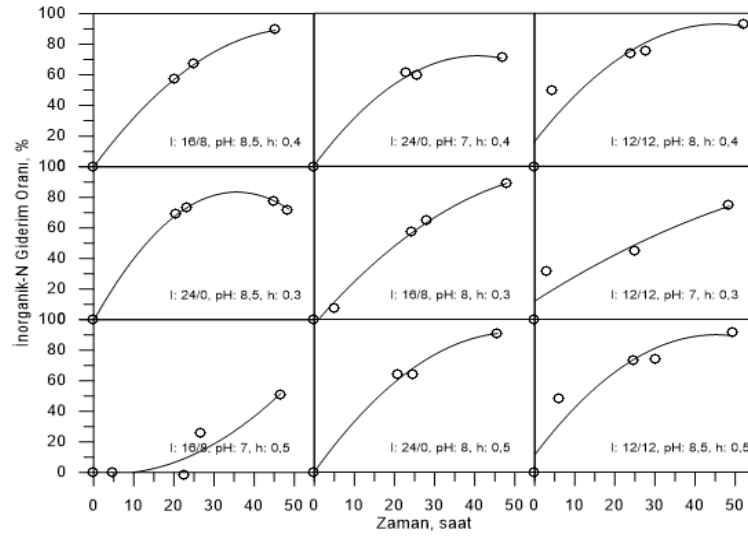
Farklı parametrelerde oluşturulan deney setlerinin 45. saatte, zamana bağlı fosfat (PO_4^{-3}) giderim verimleri değişim grafiği Şekil 5.7'teki gibidir.



Şekil 5.7. 45. saatte farklı deneysel koşullardaki PO_4^{-3} giderim verimleri

Yaklaşık 45. saatte fosfat (PO_4^{3-}) giderimi için optimum parametreler, ışıklandırma süresi 12:12, pH 7 ve hava debisinin 0,3 L/dk koşulda sağlanmak ile birlikte, bu zaman diliminde fosfat seviyesi 2,45 mg/L den $0,16 \pm 0,6$ mg/L'ye düşerek %99,54 giderim verimi ve yaklaşık 70. Saatte ise %97 giderim verimi elde edilmiştir.

Zamana bağlı olarak, farklı parametrelerle oluşturulan deney setlerinde 45. saatte, İnorganik-N giderim verimleri değişim grafiği Şekil 5.8'deki gibidir.



Şekil 5.8. 45. saatte farklı deneysel koşullardaki İnorganik-N giderim verimleri

Yaklaşık 45. saatte İnorganik-N giderimi için optimum parametreler, ışıklandırma süresi 16:8, pH 8 ve hava debisinin 0,3 L/dk koşulda sağlanmak ile birlikte, bu zaman diliminde İnorganik-N seviyesi 20,80 mg/L den $2,38 \pm 4,96$ mg/L'ye düşerek %93,07 giderim verimi ve yaklaşık 70. saatte ise %98 giderim verimi elde edilmiştir.

5.3. Deney Tasarımı ile Farklı Ortam Koşullarının Alg Büyümesi ve Arıtıma Etkisi

Çalışma kapsamında, farklı pH, ışık şiddeti ve hava debilerinde deneyler gerçekleştirilmiştir. Optimum deney sayısını belirlemek ve deneysel çalışmanın sonucunda çoklu parametrelerin birbirleri ile ilişkilerini incelemek amacıyla MİNİTAB Paket Programı kapsamında bulunan Taguchi Analiz modülü ile deney tasarımı gerçekleştirilmiştir.

5.3.1. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak $\mu_{\max}$ taguchi analizi

Tüm parametreler için analizler aşağıdaki adımlara göre gerçekleştirilmiş olup, $\mu_{\max}$ için örnek bir hesaplamanın uygulaması aşağıdaki gibidir. Tez çalışması kapsamında diğer parametreler için örnek hesaplama adımları teker teker gösterilmeden sonuçlar üzerinden analiz kısmı incelenmiştir.

1. adımda;

Minitab paket programından, Stat-DOE-Taguchi-Create Factorial Design sıralaması ile uygulama adımları yerine getirilmiştir ve deneysel çalışma kapsamında analiz edilmek istenilen 3 faktör ile buna uygun olacak şekilde 3 seviye seçilmiştir. Faktörlerin seviyeleri belirlenirken literatürde yapılmış çalışmalar ve algılar için uygun olan parametre değerleri göz önüne alınmıştır.

Faktör A-Lightning (Işık Şiddeti) olarak seçilmiş ve seviyeleri 12/12, 16/8 ve 24/0 olarak belirlenmiştir,

Faktör B-Air Flow Rate (Hava Akış Hızı) olarak seçilmiş ve seviyeleri 0,3, 0,4, ve 0,5 L/dk olarak belirlenmiştir,

Faktör C- pH olarak seçilmiş ve seviyeleri 7,8 ve 8,5 olarak belirlenmiştir. Taguchi analizi program çıktılarına göre 3 faktör ve 3 seviyeye için 9 farklı deneyin yapılmasını uygun görmüştür. Bu deney setlerinin parametre içerikleri Tablo 5.6'daki gibidir.

Tablo 5.6. Deney setlerinin parametre içerikleri

↓	C1	C2	C3
	Lightning	Air	pH
1	12	0,3	7,0
2	12	0,4	8,0
3	12	0,5	8,5
4	16	0,3	8,0
5	16	0,4	8,5
6	16	0,5	7,0
7	24	0,3	8,5
8	24	0,4	7,0
9	24	0,5	8,0

Deneysel çalışmalar sonucunda elde edilen verilere göre maksimum spesifik büyüme hızı ($\mu_{\max}$, (1/saat)) ile verim katsayısı (Y) ve parametrelerin yüzdece giderim oranları mikroorganizmaların maximum büyümeye ulaştığı zaman dilimi olan 45. saate göre hesaplanmıştır. Hesaplama sonuçları Tablo 5.7'deki gibidir.

Tablo 5.7. Farklı deneysel koşullarda $\mu_{\max}$, Y ve % giderim verimleri

↓	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
	Lightning	Air Flow Rate	pH	nmax	Y_PO4	Y_NO3-N	Y_NH4-N	Y_inorg-N	NH4-N,%	NO3-N,%	PO4,%	inorg.-N,%
1	12	0,3	7,0	0,078389	45,604	185,858	6,4584	6,2330	84,5055	66,4230	99,5430	70,9720
2	12	0,4	8,0	0,090403	63,499	177,899	4,9231	4,8026	78,6205	25,9545	97,6918	86,3965
3	12	0,5	8,5	0,095085	15,128	60,604	4,0276	3,8959	78,6205	25,9545	97,6918	90,2995
4	16	0,3	8,0	0,163321	63,213	153,316	4,2263	4,0780	94,9836	48,3703	75,4262	93,0716
5	16	0,4	8,5	0,106893	13,034	43,159	1,5816	1,4853	90,9228	61,8159	98,9656	88,5789
6	16	0,5	7,0	0,060710	201,368	8,331	17,6215	5,7886	43,9718	51,6856	92,5265	50,2069
7	24	0,3	8,5	0,099714	25,067	63,307	3,1054	3,6904	85,0637	-10,6214	97,6606	82,0939
8	24	0,4	7,0	0,104824	173,700	159,050	16,1354	15,3083	79,2914	13,8019	60,9724	73,3023
9	24	0,5	8,0	0,142468	73,064	121,016	5,1569	5,0842	91,0583	37,6082	95,0403	92,7374
10												

2. adımda,

Minitab Paket Programından, Stat- DOE-Taguchi-Define Custom Taguchi Design adımları takip edilerek ve faktörler (ışıklandırma süresi, hava debisi ve pH) seçilmiştir.

3. adımda,

Minitab Paket Programından, Stat-DOE-Taguchi-Analyse Taguchi Design adımları takip edilmiştir. Bu adımda Response Data $\mu_{\max}$ olarak seçilmiştir. Sonraki analizlerde, 1 ve 2. adım ortak uygulanmıştır, 3. adımda değişkene bağlı olarak Response Data'da parametreler değiştirilmiştir.

Analyze kısmında Lightning (Işıkların süresi), Air Flow Ratio (Hava debisi) ve pH'nin ortak etkileri ve eğer varsa ikili etkileşimleri belirlenmiştir.

Minitab analiz sonuçlarından $\mu_{\max}$ için ikili etkileşimlerin (ışıklandırma süresi-pH, ışıklandırma süresi-hava akış hızı, pH-hava akış hızı) istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisi bulunamadığı sonucu elde edilmiştir bu sebeple ikili etkileşimleri Minitab programında hesaplanamamıştır.

9 farklı deney seti için Signal Noise Ratio (Sinyal/Gürültü Oranı) olarak analizler gerçekleştirilmiştir. Büyüme hız sabiti ($\mu_{\max}$) için analiz sonuçları ve Cevap Tablosu,

Tablo 5.8'deki gibidir. Taguchi yönteminde, kontrol edilemeyen faktörlerin (gürültü faktörleri) etkileri en aza indirilerek ürün ya da süreçte oluşan değişkenlikleri azaltan kontrol faktörlerini tanımlamak için kullanılan bir sağlamlık ölçüsüdür.

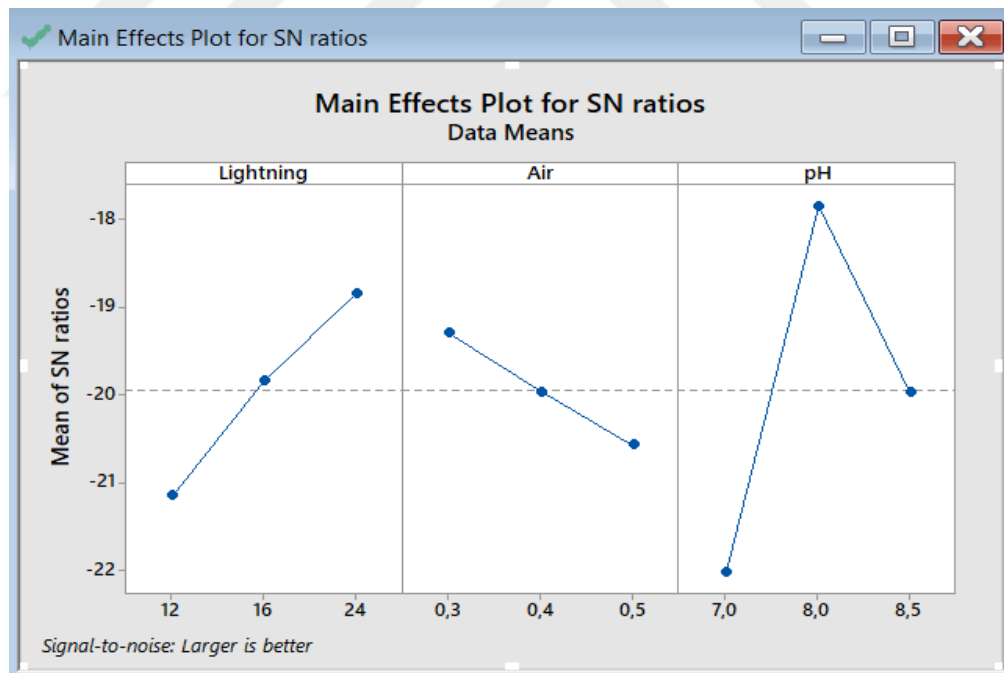
Tablo 5.8. $\mu_{\max}$ için cevap tablosu

Response Table for Signal to Noise Ratios

Larger is better

Level	Lightning	Air	pH
1	-21,14	-19,29	-22,01
2	-19,83	-19,96	-17,85
3	-18,85	-20,57	-19,96
Delta	2,30	1,27	4,17
Rank	2	3	1

Tablo 5.8'e göre elde edilen analiz sonuçlarının grafikleri Görsel 5.1'deki gibidir.



Görsel 5.1. Farklı deney setlerinin $\mu_{\max}$ için cevap analiz grafikleri

Analiz sonuçlarında elde edilen grafiklere göre; $\mu_{\max}$ değeri için ışıqlanma süresinin 24 saat aydınlık olduğu sürede, alglerin optimum miktarda büyüdüğü gözlenmiştir. Buna kıyasla 12 saat aydınlık 12 saat karanlık evrede alglerin

büyümelerinin yavaşladığı gözlenmiştir. Deney sonuçları hava debisine göre kıyaslandığında ise, alglere düşük hava debisi (0,3 L/dk) verildiğinde daha iyi büyüdüğü, fazla miktarda hava ile alglerin gelişemediği gözlenmiştir. Deney sonuçlarına göre pH değerleri karşılaştırıldığında pH 8 değerinde alglerin daha iyi büyüme gösterdiği sonucu elde edilmiştir.

4. adımda,

Minitab paket Programından, Stat-ANOVA- General Lineer Model adımları takip edilerek varyans analizi gerçekleştirilmiştir, sonuçları Tablo 5.9'daki gibidir.

Tablo 5.9. μ_{max} için varyans analiz sonuçları

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	3	0,002441	0,000814	0,76	0,564
Lightning	1	0,000964	0,000964	0,90	0,387
Air	1	0,000310	0,000310	0,29	0,614
pH	1	0,001166	0,001166	1,08	0,345
Error	5	0,005376	0,001075		
Total	8	0,007817			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0327887	31,23%	0,00%	0,00%

Tablo 5.9'a göre varyans analizi sonuçlarının P değerleri 0,05'den yüksek bulunmuştur ve ışık şiddetinin, pH'ın ve hava debisinin μ_{max} için anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Fakat μ_{max} için incelenen faktörler arasından, pH'ın, hava debisi ve ışıklanma koşuluna göre daha anlamlı etkisinin olduğu Tablo 5.9 sonuçlarından elde edilmektedir.

5.3.2. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak Y-PO₄'e göre taguchi analizi

Deneysel çalışmalarda artan mikroorganizma kütlesine bağlı olarak ile azalan besin maddesi miktarı arasındaki oranı belirlemek için her bir parametre için verim katsayısı (Y) hesaplanmıştır.

9 farklı deneysel çalışmaya göre Y-PO₄ hesaplanmıştır ve Minitab Programında, Taguchi analizi gerçekleştirildiğinde farklı parametrelerin etkisi Tablo 5.10'da gösterildiği gibi Signal Noise'e (Sinyal/Gürültü Oranı'na) göre hesaplanmıştır. Analiz sonuçları, 9 farklı deney setlerinden elde edilmiştir.

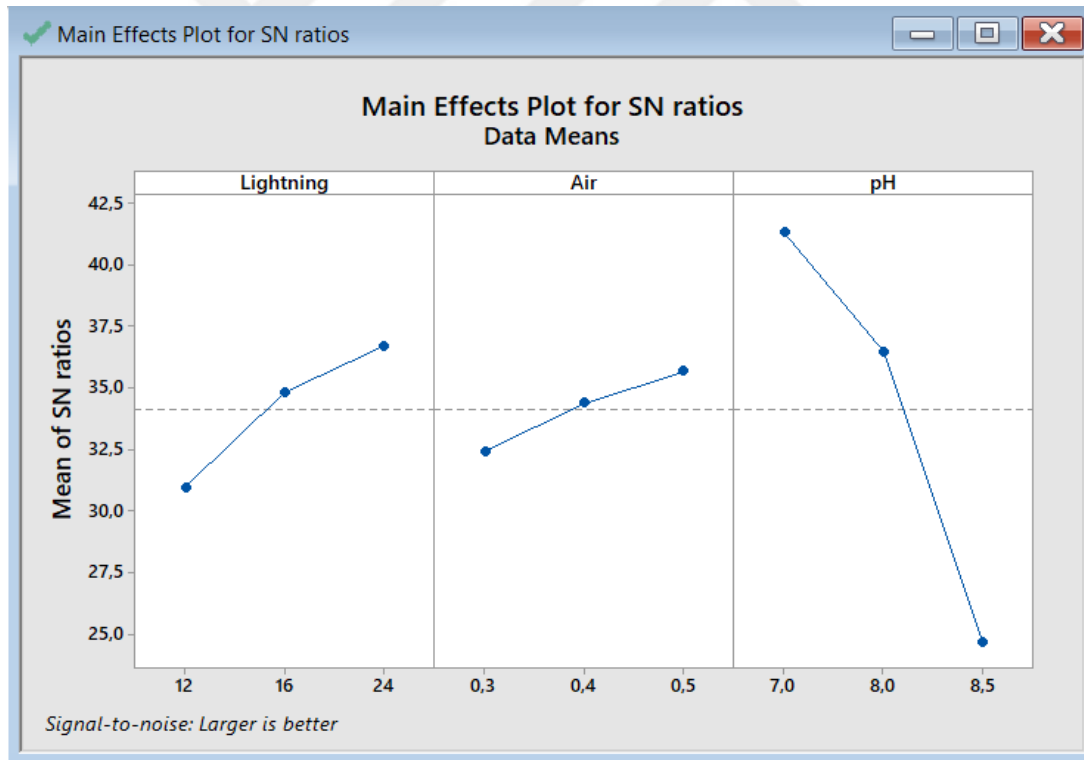
Tablo 5.10. Y-PO₄ için cevap tablosu

Response Table for Signal to Noise Ratios

Larger is better

Level	Lightning	Air	pH
1	30,94	32,39	41,35
2	34,80	34,38	36,45
3	36,68	35,65	24,63
Delta	5,74	3,26	16,73
Rank	2	3	1

Tablo 5.9'a göre elde edilen analiz sonuçlarının grafiği Görsel 5.2'deki gibidir.



Görsel 5.2. Farklı deney setlerinin Y-PO₄ için cevap analiz grafikleri

Analiz sonuçlarında elde edilen grafiklere göre; Y-PO₄ için ışıklandırma süresinin 24 saat aydınlık olduğu deneysel çalışmalarda, alglerin optimum miktarda büyüdüğü gözlenmiştir. Buna ek olarak 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olduğu koşulda 24 saat

aydınlık koşuluna yakın büyüme gösterdiği gözlenmiştir. Fakat 12 saat aydınlık 12 saat karanlık evrede alglerin büyümelerinin yavaşladığı gözlenmiştir. Deney sonuçları hava debisine göre kıyaslandığında ise, alglere yüksek hava debisi (0,5 L/dk) verildiğinde daha iyi büyüdüğü, düşük miktarda hava ile alglerin gelişemediği gözlenmiştir. Deney sonuçlarına göre pH değerleri karşılaştırıldığında ise pH 7 değerinde alglerin daha iyi büyüme gösterdiği pH miktarının artması alglerin büyümesini olumsuz etkilediği sonucu elde edilmiştir.

Minitab analiz sonuçlarından Y-PO₄ için ikili etkileşimlerin (ışıklandırma süresi-pH, ışıklandırma süresi-hava akış hızı, pH-hava akış hızı) istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisi bulunamadığı sonucu elde edilmiştir bu sebeple ikili etkileşimleri Minitab programı tarafından hesaplanamamıştır.

Y-PO₄'e göre varyans analiz sonuçları Tablo 5.11'deki gibidir.

Tablo 5.11. Y-PO₄ için varyans analiz sonuçları

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Lightning	2	5038	2519	1,11	0,475
Air	2	4369	2184	0,96	0,510
pH	2	22809	11405	5,01	0,166
Error	2	4551	2275		
Total	8	36767			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
47,7000	87,62%	50,49%	0,00%

Tablo 5.11'e göre varyans analizi sonuçlarının P değerleri 0,05'den yüksek bulunmuştur ve ışık şiddetinin, pH'ın ve hava debisinin Y-PO₄ için anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Fakat Y-PO₄ için incelenen faktörler arasından, pH'ın, hava debisi ve ışıklandırma koşuluna göre daha anlamlı etkisinin olduğu Tablo 5.11 sonuçlarından elde edilmektedir.

5.3.3. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak Y-NO₃'e göre taguchi analizi

Deneyisel çalışmalarda artan mikroorganizma kütlelerine bağlı olarak ile azalan besin maddesi miktarı arasındaki oranı belirlemek için herbir parametre için verim katsayısı (Y) hesaplanmıştır.

9 farklı deneyel çalışmaya göre Y-NO₃ hesaplanmıştır ve Minitab Programında, Taguchi analizi gerçekleştirildiğinde farklı parametrelerin etkisi Tablo 5.12'de gösterildiği gibi Signal Noise'e (Sinyal/Gürültü Oranı'na) göre hesaplanmıştır.

Analiz sonuçları, 9 farklı deney setlerinden elde edilmiştir ve Cevap Tablo'su Tablo 5.12'deki gibidir.

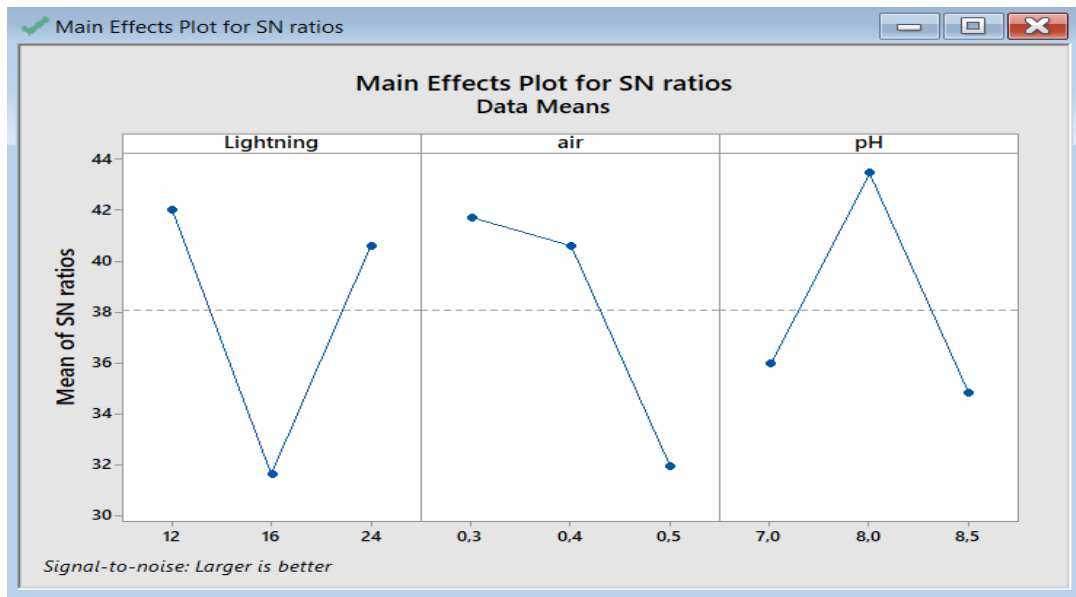
Tablo 5.12. Y-NO₃ için cevap tablosu

Response Table for Signal to Noise Ratios

Larger is better

Level	Lightning	Air	pH
1	42,01	41,71	35,94
2	31,61	40,58	43,46
3	40,57	31,91	34,79
Delta	10,40	9,80	8,66
Rank	1	2	3

Tablo 5.12'ye göre elde edilen analiz sonuçlarının grafiği Görsel 5.3'deki gibidir.



Görsel 5.3. Farklı deney setlerinin Y-NO₃ için cevap analiz grafikleri

Analiz sonuçlarında elde edilen grafiklere göre; Y-NO₃ için ışıktanma süresinin 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olduğu deneysel çalışmalarda, alglerin optimum miktarda büyüdüğü gözlenmiştir. Buna ek olarak 24 saat aydınlıkma koşulunda da alglerin 12:12'ye yakın büyüme gösterdiği gözlenmiştir. Fakat 16 saat aydınlık 8 saat karanlık evrede alglerin büyümelerinin yavaşladığı gözlenmiştir. Deney sonuçları hava debisine göre kıyaslandığında ise, alglere düşük hava debisi (0,3 L/dk) verildiğinde daha iyi büyüdüğü, alglerin 0,4 L/dk hava verildiğinde ise 0,3 L/dk'ya benzer büyüme gösterdiği gözlenmiştir. Yüksek (0,5 L/dk) miktarda hava ile alglerin gelişemediğı gözlenmiştir. Deney sonuçlarına göre pH değeri karşılaştırıldığında ise pH 8 değeri alglerin daha iyi büyüme gösterdiği pH miktarının optimum değeri göre artıp azalması alglerin büyümesini olumsuz etkilediğı sonucu elde edilmiştir.

Minitab analiz sonuçlarından Y-NO₃ için ikili etkileşimlerin (ışıklandırma süresi-pH, ışıktanma süresi-hava akış hızı, pH-hava akış hızı) istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisi bulunamadığı sonucu elde edilmiştir bu sebeple ikili etkileşimleri Minitab programı tarafından hesaplanamamıştır.

Y-NO₃'e göre varyans analiz sonuçları Tablo 5.13'deki gibidir.

Tablo 5.13. Y-NO₃ için varyans analiz sonuçları

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	3	11109,8	3703,3	0,80	0,543
Lightning	1	272,8	272,8	0,06	0,817
Air	1	7528,2	7528,2	1,63	0,257
pH	1	3308,8	3308,8	0,72	0,436
Error	5	23049,2	4609,8		
Total	8	34159,0			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
67,8958	32,52%	0,00%	0,00%

Tablo 5.13'e göre varyans analizi sonuçlarının P değeri 0,05'den yüksek bulunmuştur ve ışık şiddetinin, pH'ın ve hava debisinin Y-NO₃ için anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Fakat Y-NO₃ için incelenen faktörler arasından hava debisinin, pH ve ışıktanma koşuluna göre daha anlamlı etkisinin olduğu Tablo 5.13 sonuçlarından elde edilmektedir.

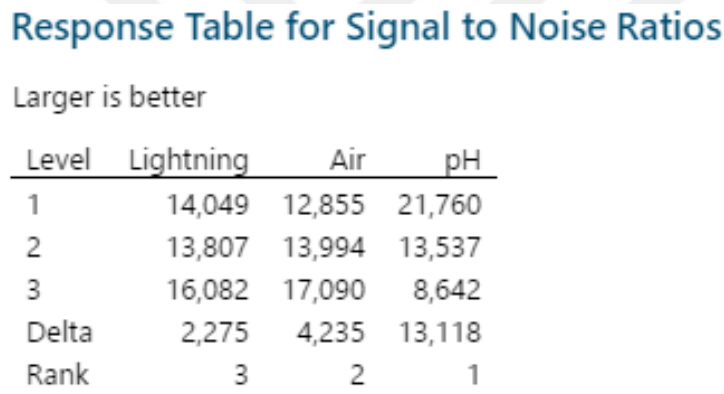
5.3.4. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak Y-NH₄'e göre taguchi analizi

Deneyisel çalışmalarda artan mikroorganizma kütlelerine bağlı olarak ile azalan besin maddesi miktarı arasındaki oranı belirlemek için herbir parametre için verim katsayısı (Y) hesaplanmıştır.

9 farklı deneyel çalışmaya göre Y-NH₄ hesaplanmıştır ve Minitab Programında, Taguchi analizi gerçekleştirildiğinde farklı parametrelerin etkisi Tablo 5.14'de gösterildiği gibi Signal Noise'e (Sinyal/Gürültü Oranı'na) göre hesaplanmıştır.

Analiz sonuçları, 9 farklı deney setlerinden elde edilmiştir ve Cevap Tablo'su Tablo. 5.14'deki gibidir.

Tablo 5.14.. Y-NH₄ için cevap tablosu

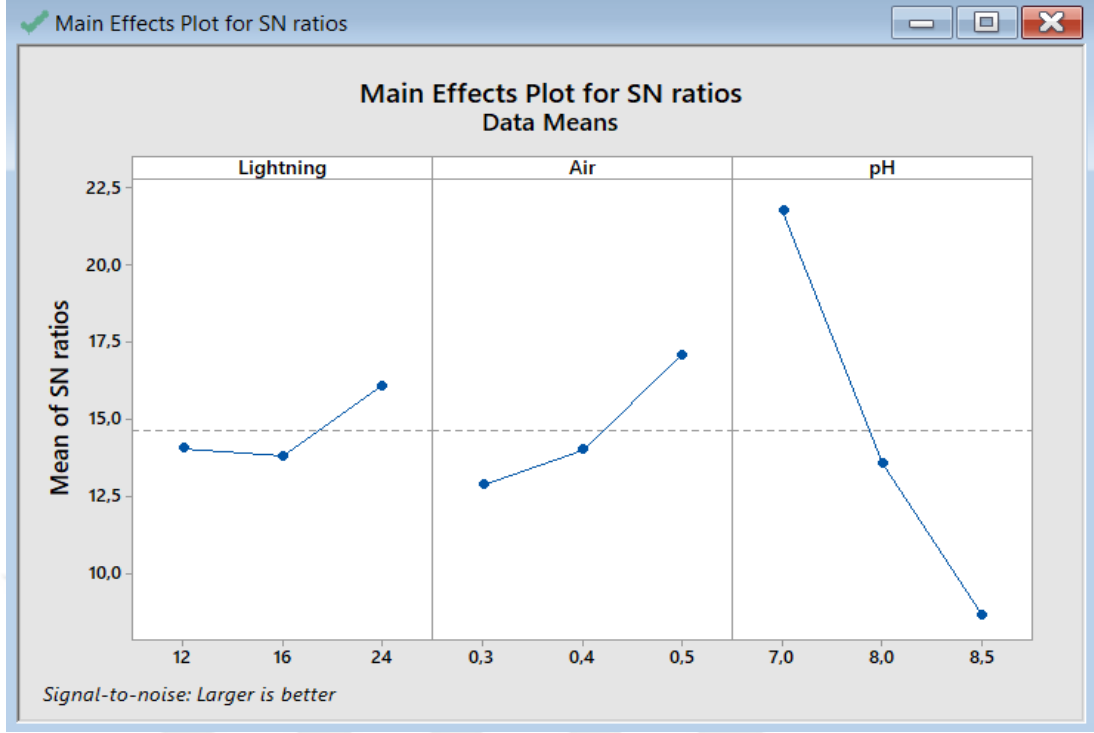


Response Table for Signal to Noise Ratios

Larger is better

Level	Lightning	Air	pH
1	14,049	12,855	21,760
2	13,807	13,994	13,537
3	16,082	17,090	8,642
Delta	2,275	4,235	13,118
Rank	3	2	1

Tablo 5.14'e göre elde edilen analiz sonuçlarının grafiği Görsel 5.4'teki gibidir.



Görsel 5.4. Farklı deney setlerinin Y-NH₄ için cevap analiz grafikleri

Analiz sonuçlarında elde edilen grafiklere göre; Y-NH₄ için ışıklandırma süresinin 24 saat aydınlık olduğu evrede deneysel çalışmalarda, alglerin optimum miktarda büyüdüğü gözlenmiştir. Buna karşın 16 saat aydınlık 8 saat karanlık evrede alglerin büyümelerinin yavaşladığı gözlenmiştir. Deney sonuçları hava debisine göre kıyaslandığında ise, alglere yüksek hava debisi (0,5 L/dk) verildiğinde daha iyi büyüdüğü, alglere 0,3 L/dk'lık hava debisi verildiğinde ise büyümenin azalma gösterdiği gözlenmiştir. Deney sonuçlarına göre pH değerleri karşılaştırıldığında ise pH 7 değerinde alglerin daha iyi büyüme gösterdiği pH miktarı arttıkça büyümenin azaldığı gözlenmiştir.

Minitab analiz sonuçlarından Y-NH₄ için ikili etkileşimlerin (ışıklandırma süresi-pH, ışıklandırma süresi-hava akış hızı, pH-hava akış hızı) istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisi bulunamadığı sonucu elde edilmiştir bu sebeple ikili etkileşimleri Minitab programı tarafından hesaplanamamıştır.

Y-NH₄'e göre varyans analiz sonuçları Tablo 5.15'teki gibidir.

Tablo 5.15. *Y-NH₄ için varyans analiz sonuçları*

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	3	222,21	74,069	8,59	0,020
Lightning	1	10,82	10,820	1,25	0,314
Air	1	28,24	28,236	3,27	0,130
pH	1	183,15	183,152	21,24	0,006
Error	5	43,12	8,623		
Total	8	265,32			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
2,93657	83,75%	74,00%	26,13%

Tablo 5.15'e göre varyans analizi sonuçlarında P değerleri ışık şiddeti ve hava için 0,05'den yüksek bulunmuştur bu değerlere göre ışık şiddeti ve hava debisinin deneylerde anlamlı etkisinin olmadığı, pH'ın ise deneysel çalışmada anlamlı etkisi olduğu Tablo 5.15 sonuçlarından elde edilmektedir.

5.3.5. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak Y-İnorganik-N'e göre taguchi analizi

Deneysel çalışmalarda artan mikroorganizma kütlelerine bağlı olarak ile azalan besin maddesi miktarı arasındaki oranı belirlemek için herbir parametre için verim katsayısı (Y) hesaplanmıştır.

9 farklı deneysel çalışmaya göre Y-İnorganik-N'e göre hesaplanmıştır ve Minitab Programında, Taguchi analizi gerçekleştirildiğinde farklı parametrelerin etkisi Tablo 5.16'da gösterildiği gibi Signal Noise'e (Sinyal/GürültüOranı'na) göre hesaplanmıştır. 6Analiz sonuçları, 9 farklı deney setlerinden elde edilmiştir ve Cevap Tablo'su Tablo 5.16'daki gibidir.

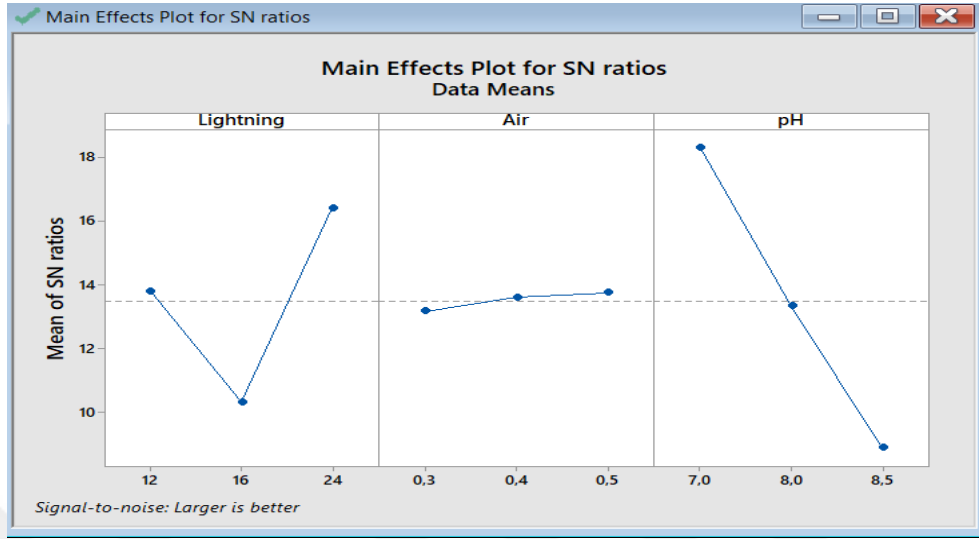
Tablo 5.16. *Y-İnorganik N için cevap tablosu*

Response Table for Signal to Noise Ratios

Larger is better

Level	Lightning	Air	pH
1	13,779	13,148	18,281
2	10,299	13,588	13,321
3	16,388	13,729	8,863
Delta	6,089	0,581	9,418
Rank	2	3	1

Tablo 5.16'ya göre elde edilen analiz sonuçlarının grafiği Görsel 5.5'deki gibidir.



Görsel 5.5. Farklı deney setlerinin İnorganik-N için cevap analiz grafikleri

Analiz sonuçlarında elde edilen grafiklere göre; Y-İnorganik-N için ışıklandırma süresinin 24 saat aydınlık olduğu evrede deneysel çalışmalarda, alglerin optimum miktarda büyüme gösterdiği gözlenmiştir. Buna karşın 16 saat aydınlık 8 saat karanlık evrede alglerin büyümelerinin yavaşladığı gözlenmiştir. Deney sonuçları hava debisine göre kıyaslandığında ise, alglere yüksek hava debisi (0,5 L/dk) verildiğinde daha iyi büyüme gösterdiği bununla birlikte hava debisinin düşmesi büyümeyi fazla etkilemediği sonucu elde edilmiştir. Deney sonuçlarına göre pH değerleri karşılaştırıldığında ise pH 7 değerinde alglerin daha iyi büyüme gösterdiği pH miktarı arttıkça büyümenin azaldığı gözlenmiştir.

Minitab analiz sonuçlarından Y-İnorganik-N için ikili etkileşimlerin (ışıklandırma süresi-pH, ışıklandırma süresi-hava akış hızı, pH-hava akış hızı) istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisi bulunamadığı sonucu elde edilmiştir bu sebeple ikili etkileşimleri Minitab programı tarafından hesaplanamamıştır.

Y-İnorganik-N'e göre varyans analiz sonuçları Tablo 5.17'deki gibidir.

Tablo 5.17. Y-İnorganik N için varyans analiz sonuçları

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Lightning	2	28,74	14,369	1,34	0,427
Air	2	11,65	5,827	0,54	0,648
pH	2	59,55	29,774	2,78	0,265
Error	2	21,45	10,723		
Total	8	121,39			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
3,27464	82,33%	29,33%	0,00%

Tablo 5.17'ye göre varyans analizi sonuçlarının P değerleri 0,05'den yüksek bulunmuştur ve ışık şiddetinin, pH'ın ve hava debisinin Y-İnorganik-N için anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Bununla birlikte incelenen faktörler arasından, pH'ın, hava debisi ve ışıklanma koşuluna göre daha anlamlı etkisinin olduğu Tablo 5.17 sonuçlarından elde edilmektedir.

5.3.6. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak % NH₄'e göre giderim oranına göre taguchi analizi

Deneyisel çalışmalarda, parametre değerleri mikroorganizmaların maksimum büyümeye ulaştığı 45. saat temel alınarak, yüzdece (%) giderim verimleri hesaplanmıştır.

9 farklı deneysel çalışmaya göre %NH₄-N'e göre hesaplanmıştır ve Minitab Programında, Taguchi analizi gerçekleştirildiğinde farklı parametrelerin etkisi Tablo 5.18'de gösterildiği gibi Signal Noise'e (Sinyal/Gürültü Oranı'na) göre hesaplanmıştır.

Analiz sonuçları, 9 farklı deney setlerinden elde edilmiştir ve Cevap Tablo'su Tablo 5.18'deki gibidir.

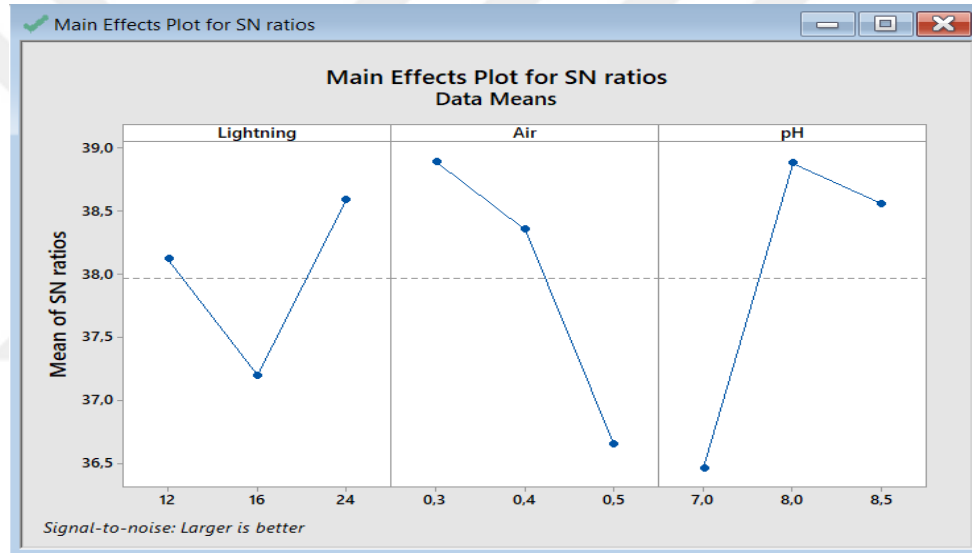
Tablo 5.18. % NH_4-N için cevap tablosu

Response Table for Signal to Noise Ratios

Larger is better

Level	Lightning	Air	pH
1	38,12	38,90	36,46
2	37,20	38,36	38,88
3	38,59	36,65	38,56
Delta	1,39	2,24	2,42
Rank	3	2	1

Tablo 5.18'e göre elde edilen analiz sonuçlarının grafiği Görsel 5.6'daki gibidir.



Görsel 5.6. Farklı deney setlerinin % NH_4-N için cevap analiz grafikleri

Analiz sonuçlarında elde edilen grafiklere göre; NH_4 için yüzde giderim oranları incelendiğinde ışıklandırma süresinin 24 saat aydınlık olduğu evrede deneysel çalışmalarda optimum giderim oranı elde edilmiştir. Buna karşın 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık evrede % NH_4 gideriminde azalma gözlenmiştir. Deney sonuçları hava debisine göre kıyaslandığında ise, düşük miktarda hava debisi (0,3 L/dk) verildiğinde daha iyi giderim verimi sağlandığı bununla birlikte hava debisinin yükselmesinin giderimi olumsuz etkilediği sonucu elde edilmiştir. Deney sonuçlarına göre pH değerleri karşılaştırıldığında ise pH 8 değerinde giderimin optimum değere ulaştığı, buna karşın optimum değerin altında ve üstünde, giderim veriminde azalma gözlenmiştir.

Minitab analiz sonuçlarından yüzdece (%) NH_4 için ikili etkileşimlerin (ışıklandırma süresi-pH, ışıklandırma süresi-hava akış hızı, pH-hava akış hızı) istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisi bulunamadığı sonucu elde edilmiştir bu sebeple ikili etkileşimleri Minitab programı tarafından hesaplanamamıştır.

% NH_4 giderim verimine göre varyans analiz sonuçları Tablo 5.19'deki gibidir.

Tablo 5.19. % NH_4 için giderim oranı varyans analiz sonuçları

Regression Analysis: $\text{NH}_4\text{-N}$,% versus Lightning; Air; pH

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	3	956,36	318,79	1,87	0,252
Lightning	1	51,05	51,05	0,30	0,608
Air	1	431,84	431,84	2,53	0,172
pH	1	473,46	473,46	2,78	0,157
Error	5	852,52	170,50		
Total	8	1808,88			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
13,0577	52,87%	24,59%	0,00%

Tablo 5.19'a göre varyans analizi sonuçlarının P değerleri 0,05'den yüksek bulunmuştur ve ışık şiddetinin, pH'ın ve hava debisinin % NH_4 giderimi için anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Bununla birlikte incelenen faktörler arasından, pH'ın ve hava debisinin, ışıklandırma koşuluna göre daha anlamlı etkisinin olduğu Tablo 5.19 sonuçlarından elde edilmektedir.

5.3.7. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak % PO_4 'e göre giderim oranları taguchi analizi

Deneysel çalışmalarda, parametre değerleri mikroorganizmaların maksimum büyümeye ulaştığı 45. saat temel alınarak, yüzdece (%) giderim verimleri hesaplanmıştır.

9 farklı deneysel çalışmaya göre % PO_4 'e göre hesaplanmıştır ve Minitab Programında, Taguchi analizi gerçekleştirildiğinde farklı parametrelerin etkisi Tablo 5.20'de gösterildiği gibi Signal Noise'e (Sinyal/Gürültü Oranı'na) göre hesaplanmıştır.

Analiz sonuçları, 9 farklı deney setlerinden elde edilmiştir ve Cevap Tablo'su Tablo 5.20'deki gibidir.

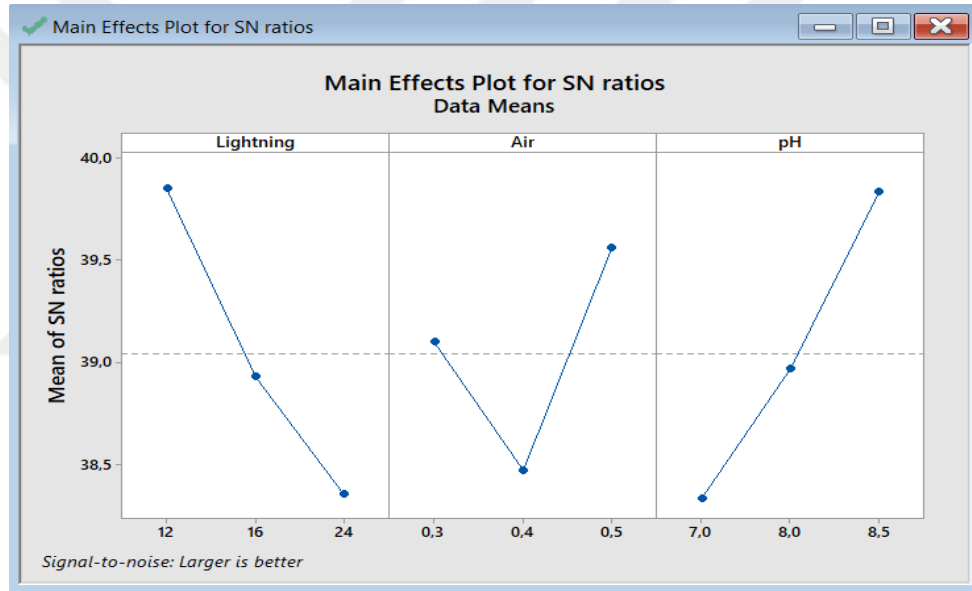
Tablo 5.20. %PO₄ giderim oranı için cevap tablosu

Response Table for Signal to Noise Ratios

Larger is better

Level	Lightning	Air	pH
1	39,85	39,10	38,33
2	38,93	38,47	38,97
3	38,35	39,56	39,83
Delta	1,50	1,09	1,50
Rank	2	3	1

Tablo 5.20'ye göre elde edilen analiz sonuçlarının grafiği Görsel 5.7'deki gibidir.



Görsel 5.7. Farklı deney setlerinin % PO₄ giderim oranı için cevap analiz grafikleri

Analiz sonuçlarında elde edilen grafiklere göre; % PO₄ giderim oranı için ışıklandırma süresinin 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olduğu evrede deneysel çalışmalarda, optimum giderim verimi gözlenmiştir. Buna karşın 24 saat aydınlık olduğu evrede PO₄ için giderim oranının düştüğü sonucu elde edilmiştir. Deney sonuçları hava debisine göre kıyaslandığında ise, yüksek miktarda hava debisi (0,5 L/dk) verildiğinde daha iyi giderim veriminin elde edildiği bununla birlikte hava debisinin düşmesinin verimi olumsuz etkilediği sonucu elde edilmiştir. Deney sonuçlarına göre pH değerleri karşılaştırıldığında ise pH 8,5 değerinde optimum PO₄

giderim verimine ulaşıldığı, buna karşın, düşük pH değerlerinde etkin giderim oranı elde edilemediği gözlenmiştir.

Minitab analiz sonuçlarından ikili etkileşimlerin (ışıklanma süresi-pH, ışıklanma süresi-hava akış hızı, pH-hava akış hızı) istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisi bulunamadığı sonucu elde edilmiştir bu sebeple ikili etkileşimleri Minitab programı tarafından hesaplanamamıştır.

% PO₄ giderim oranına göre varyans analiz sonuçları Tablo 5.21'deki gibidir.

Tablo 5.21. % PO₄ giderim oranı için varyans analiz sonuçları

Regression Analysis: PO₄,% versus Lightning; Air; pH

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	3	536,55	178,85	1,00	0,465
Lightning	1	252,19	252,19	1,41	0,289
Air	1	26,58	26,58	0,15	0,716
pH	1	257,77	257,77	1,44	0,284
Error	5	895,32	179,06		
Total	8	1431,86			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
13,3815	37,47%	0,00%	0,00%

Tablo 5.21'e göre varyans analizi sonuçlarının P değerleri 0,05'den yüksek bulunmuştur ve ışık şiddetinin, pH'ın ve hava debisinin % PO₄ için anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Bununla birlikte incelenen faktörler arasından, pH'ın, hava debisi ve ışıklanma koşuluna göre daha anlamlı etkisinin olduğu Tablo 5.21 sonuçlarından elde edilmektedir.

5.4.8. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak % NO₃ giderim oranına göre taguchi analizi

Deneyisel çalışmalarda, parametre değerleri mikroorganizmaların maksimum büyümeye ulaştığı 45. saat temel alınarak, yüzdece (%) giderim verimleri hesaplanmıştır.

9 farklı deney çalışmaya göre % NO₃'e göre hesaplanmıştır ve Minitab Programında, Taguchi analizi gerçekleştirildiğinde farklı parametrelerin etkisi Tablo 5.22'de gösterildiği gibi Signal Noise'e (Sinyal/Gürültü Oranı'na) göre hesaplanmıştır.

Analiz sonuçları, 9 farklı deney setlerinden elde edilmiştir ve Cevap Tablo'su Tablo 5.22'deki gibidir.

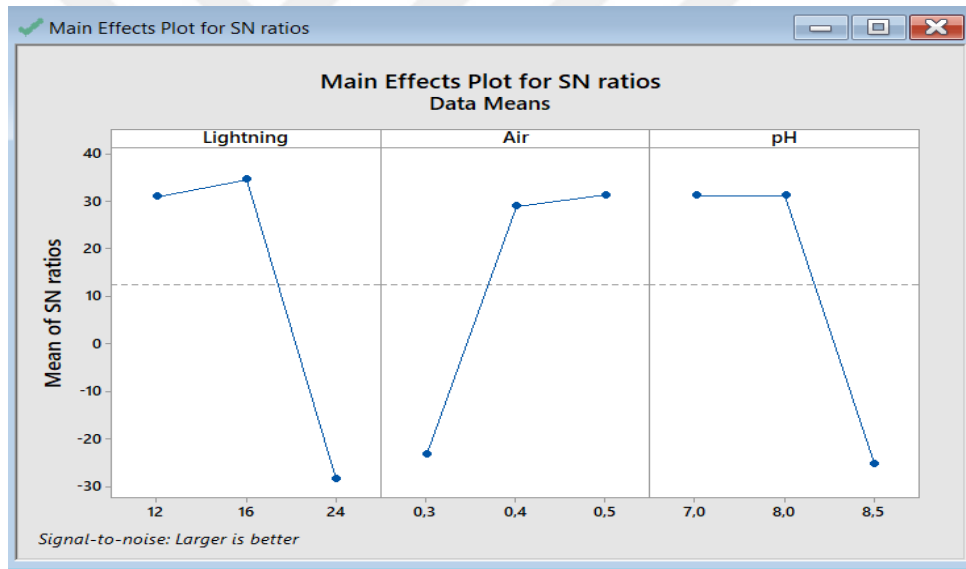
Tablo 5.22. % NO_3 giderim oranı için cevap tablosu

Response Table for Signal to Noise Ratios

Larger is better

Level	Air	Lightning	pH
1	-16,62	31,00	31,17
2	28,97	34,59	31,16
3	31,35	-21,90	-18,63
Delta	47,97	56,49	49,80
Rank	3	1	2

Tablo 5.22'ye göre elde edilen analiz sonuçlarının grafiği Görsel 5.8'deki gibidir.



Görsel 5.8. Farklı deney setlerinin % NO_3 için cevap analiz grafikleri

Analiz sonuçlarında elde edilen grafiklere göre; % NO_3 giderim oranı için ışıklandırma süresinin 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık olduğu evrede deneysel çalışmalarda, optimum giderim verimi elde edildiği gözlenmiştir. Buna karşın 24 saat aydınlık olduğu evrede giderim oranının azaldığı gözlenmiştir. Deney sonuçları hava debisine göre kıyaslandığında ise, yüksek miktarda hava debisi (0,5 L/dk) verildiğinde daha giderim verimi elde edildiği bununla birlikte hava debisinin düşmesinin ise giderim verimini olumsuz etkilediği sonucu elde edilmiştir. Deney sonuçlarına göre pH değerleri karşılaştırıldığında ise pH 8 değerinde optimum giderim verimine ulaşıldığı, bununla

birlikte pH 7 de giderim için benzer davranış gözlemlendiği fakat, optimum değerin üstündeki pH değerinde (8,5) etkin giderim elde edilemediği sonucuna varılmıştır.

Minitab analiz sonuçlarından % NO₃ giderim oranı için ikili etkileşimlerin (ışıklandırma süresi-pH, ışıklandırma süresi-hava akış hızı, pH-hava akış hızı) istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisi bulunamadığı sonucu elde edilmiştir bu sebeple ikili etkileşimleri Minitab programı tarafından hesaplanamamıştır.

% NO₃'e göre varyans analiz sonuçları Tablo 5.23'deki gibidir.

Tablo 5.23. % NO₃ için varyans analiz sonuçları

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Lightning	2	2064,00	1032,00	1,33	0,429
Air	2	40,23	20,11	0,03	0,975
pH	2	325,70	162,85	0,21	0,826
Error	2	1547,88	773,94		
Total	8	3977,81			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
27,8198	61,09%	0,00%	0,00%

Tablo 5.23'e göre varyans analizi sonuçlarının P değerleri 0,05'den yüksek bulunmuştur ve ışık şiddetinin, pH'ın ve hava debisinin % NO₃ için anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte incelenen faktörler arasından, ışık şiddetinin, hava debisi ve pH'a göre daha anlamlı etkisinin olduğu Tablo 5.23 sonuçlarından elde edilmektedir.

5.3.9. Tüm deney setleri göz önüne alındığında farklı parametrelere bağlı olarak % İnorganik-N giderim oranı taguchi analizi

Deneysel çalışmalarda, parametre değerleri mikroorganizmaların maksimum büyümeye ulaştığı 45. saat temel alınarak, yüzdece (%) İnorganik-N için giderim verimleri hesaplanmıştır. İnorganik-N parametre değerlerini hesaplayabilmek için NH₄-N ve NO₃-N bileşimlerinin toplamı kullanılmıştır. Bu parametrenin kullanılma sebebi temin edilen doğal su kütleğinde NO₃-N miktarının oldukça az olması ve alglerin azot kaynağı olarak bu iki azot türünü besin kaynağı olarak kullanabilmesi nedeniyle

değerler toplanarak tek bir parametre olan İnorganik-N azot parametresi olarak kullanılmıştır.

9 farklı deneysel çalışmaya göre % İnorganik-N'e göre hesaplanmıştır ve Minitab Programında, Taguchi analizi gerçekleştirildiğinde farklı parametrelerin etkisi Tablo 5.24'de gösterildiği gibi Signal Noise'e (Sinyal/Gürültü Oranı'na) göre hesaplanmıştır.

Analiz sonuçları, 9 farklı deney setlerinden elde edilmiştir ve Cevap Tablosu Tablo 5.24'teki gibidir.

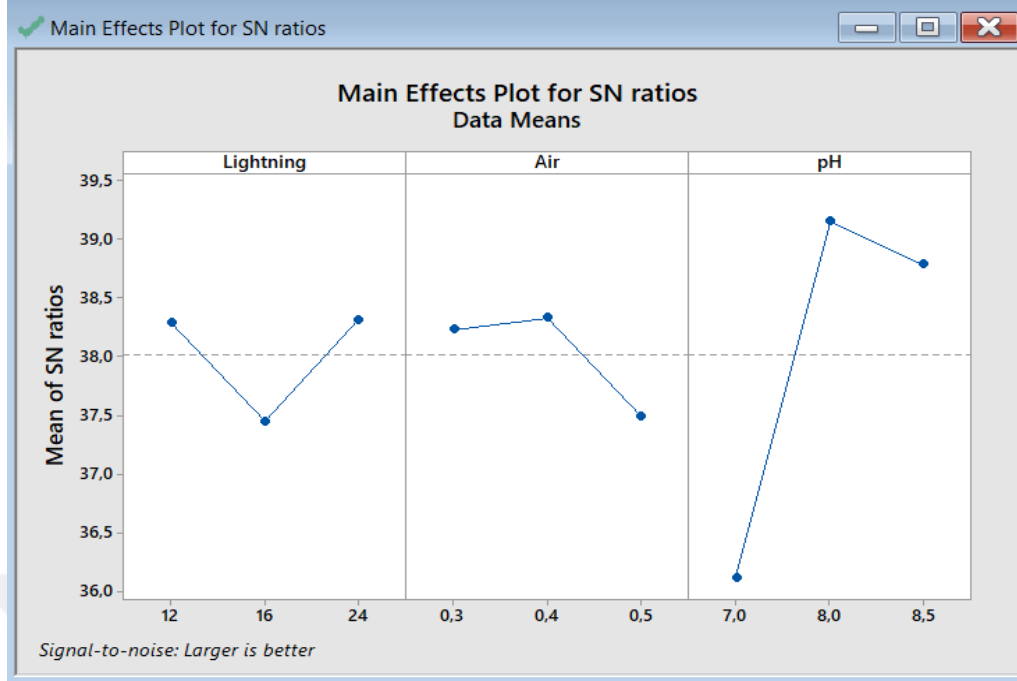
Tablo 5.24. % İnorganik-N giderim oranının cevap tablosu

Response Table for Signal to Noise Ratios

Larger is better

Level	Lightning	Air	pH
1	38,29	38,23	36,11
2	37,45	38,33	39,15
3	38,31	37,49	38,78
Delta	0,87	0,83	3,04
Rank	2	3	1

Tablo 5.24'e göre elde edilen analiz sonuçlarının grafiği Görsel 5.9'daki gibidir.



Görsel 5.9. Farklı deney setlerinin % İnorganik-N giderim oranı için cevap analiz grafikleri

Analiz sonuçlarında elde edilen grafiklere göre; % İnorganik-N için ışıqlanma süresinin 24 saat aydınlık olduğu evrede deneysel çalışmalarda, optimum miktarda giderim oranı elde edildiği gözlenmiştir, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olduğu zaman diliminde de giderim oranında benzer davranış gözlenmiştir. Buna karşın 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık olduğu evrede giderim veriminde düşüşler gözlenmiştir. Deney sonuçları hava debisine göre kıyaslandığında ise, algilere hava debisinin 0,4 L/dk olduğunda optimum İnorganik-N giderim verimi elde edildiği bununla birlikte hava debisinin optimum değerin altında ve üstünde ise giderim veriminde düşüşler gözlenmiştir. Deney sonuçlarına göre pH değerleri karşılaştırıldığında ise pH 8 değerinde optimum giderim verimi elde edildiği, buna karşın, optimum pH değerinin altında ve üstünde giderim veriminde azalmalar gözlenmiştir.

Minitab analiz sonuçlarından ikili etkileşimlerin (ışıqlanma süresi-pH, ışıqlanma süresi-hava akış hızı, pH-hava akış hızı) istatistiksel açıdan anlamlı bir etkisi bulunamadığı sonucu elde edilmiştir bu sebeple ikili etkileşimleri Minitab programı tarafından hesaplanamamıştır.

% İnorganik-N giderim oranına göre varyans analiz sonuçları Tablo 5.25'deki gibidir.

Tablo 5.25. % İnorganik N giderim oranı için varyans analiz sonuçları

Regression Analysis: İnorg.-N,% versus Lightning; Air; pH

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Regression	3	967,79	322,598	2,70	0,156
Lightning	1	2,61	2,611	0,02	0,888
Air	1	27,71	27,708	0,23	0,651
pH	1	937,48	937,476	7,84	0,038
Error	5	597,77	119,553		
Total	8	1565,56			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
10,9340	61,82%	38,91%	0,00%

Tablo 5.25'e göre varyans analizi sonuçlarından ışık şiddet ve hava debisinin P değerleri 0,05'den yüksek bulunmuştur, buna karşın pH değeri 0,05 den küçüktür.İncelenen faktörler arasından, pH'ın, hava debisi ve ışıklanma koşuluna göre daha anlamlı etkisinin olduğu Tablo 5.25 sonuçlarından elde edilmektedir.

6. ALGLERİN BALIK YEMİ ÜRETİM ENDÜSTRİSİNDE ALTERNATİF BESİN MADDESİ OLARAK KULLANIMI

Deneyssel çalışmalar sonucu hasat edilen gaz kabarcıklı immobilize alg biyokütlesinin balıklar için alternatif besin kaynağı olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu kapsamda Özpekler Gıda Yem Sanayi A. Ş. tarafından immobilize *Chlorella vulgaris* alg biyokütlesinin arıtım sonrası nem, ham protein, ham yağ ve ham kül analizleri gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları Tablo 6.1’deki gibidir.

Tablo 6.1. *İmmobilize Chlorella vulgaris* alg kültürünün bileşim analizi

Yapılan Analizler (%)	Analiz Sonuçları
Nem	99,36
Ham Protein	0,29
Ham Yağ	1,20
Ham Kül	0,41

Su Kalitesi Laboratuvarı’nda önceden gerçekleştirilen benzer bir çalışmada immobilize *Chlorella vulgaris* alg biyokütlesinin bileşen analizleri LTS Laboratuvar Hizmetleri tarafından gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları Tablo 6.2’deki gibi detaylı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Deneyssel çalışmalarda sentetik yeraltı suyu kullanılmıştır ve Tablo 6.2 verileri bu su ile arıtım yapan immobilize *Chlorella vulgaris* alg biyokütlesine aittir.

Tablo 6.2. *İmmobilize Chlorella vulgaris* kültürü için balık yemi analiz sonuçları

Analiz Adı	Saf aljinat	Arıtım öncesi imb. alg kültürü	Hasat edilmiş immob. alg kültürü	Metot
Rutubet (%)	99,07	98,78	98,69	TS EN 12145
Kuru Madde (%)	0,92	1,22	1,31	TS EN 12145
Karbonhidrat (%)	0,41	0,83	0,72	FAO Food and Nutrition Paper 77
Protein (%)	0,23	0,11	0,33	NMKL 6
Ham Selüloz (%)	-	-	-	TS 6932
Enerji (kcal/100g)	2,58 – 10,78	3,76 – 15,72	4,20 – 17,56	FAO Food and Nutrition Paper 77
Kül(%)	0,28	0,28	0,26	NMKL 173
Yağ (%)	-	-	-	NMKL 160
Toplam Azot (%)	0,037	0,018	0,053	NMKL 6

Analizlere göre immobilize *Chlorella vulgaris* alg kültürünün besin değeri olduğu sonucu elde edilmiştir. Eskişehir Büyükşehir Belediyesi kapsamında bulunan Su Altı Dünyası'ndaki Japon balıklarına Görsel 6.1'deki gibi alg biyokütlesi besin maddesi olarak verilmiştir. Japon balığının protein ve besin değeri olan yemlerle beslenmesi ve *Chlorella vulgaris* alg kültürünün protein değeri olmasından dolayı Görsel 6.1'deki gibi Japon balığını alg kültürünü alternatif besin olarak tüketmiştir.



Görsel 6.1. Alg biyokütlesinin Japon balığına hammadde olarak verilmesi

7. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışma kapsamında azot ve fosfor kirliliği bakımından sorun yaşanan doğal su kütlesi belirlenerek biyoremediasyon olasılıkları incelenmiştir. Kirlilik yüklerinin giderimi için geleneksel yöntemlere kıyasla daha ekonomik ve sürdürülebilir bir yöntem olan algler ile arıtım yapılmıştır. Deneysel çalışmalarda Su Kalitesi Araştırma Laboratuvarı kapsamında yetiştirilen ve immobilize edilen gaz kabarcıklı immobilize *Chlorella vulgaris* alg kültürü kullanılmıştır. Deneysel süreçlerde *Chlorella vulgaris* alg kültürünün immobilizasyonu literatürde yaygın olarak kullanılan sodyum aljinat ve kalsiyum klorür çözeltileri ile sağlanmıştır. Gaz kabarcıklı immobilize formdaki alg kültürlerinin çözünmesi işleminde sodyum sitrat çözeltisi kullanılmış ve günlük klorofil-a ölçümü yapılmıştır.

Deneysel çalışmalar kapsamında 3 farklı parametre (ışık kaynağı, pH ve hava debisi) ve buna uygun olarak 3'er seviye belirlenmiştir. Parametrelerin seviyeleri ışık kaynağı için (12:12, 24:0 ve 16/8 aydınlık/karanlık evre), pH için (7,8 ve 8,5 değerleri, hava debisi için (0,3,0,4, 0,5 L/dk) olarak belirlenmiştir. Minitab Paket Programı kapsamındaki Taguchi Analiz Metodu ile deneysel çalışma sonuçları analiz edilmiştir.

Bu çalışmalar sayesinde alg biyokütlesi kullanılarak azot ve fosfor giderimindeki optimum şartlar tespit edilmiş ve arıtımı sağlanan sulardan açığa çıkan alg biyokütlesinin hasadı sağlandıktan sonra, balık üretim tesislerinde besin maddesi olarak kullanılabilir olduğu sonucu elde edilmiştir.

Çalışma kapsamında elde edilen bulgular ve öneriler;

Yaklaşık 45. saatte nitrat (NO_3^-), amonyum (NH_4^+), fosfat (PO_4^{3-}) ve İnorganik-N giderimi için optimum parametreler belirlenmiştir. Nitrat (NO_3^-) için optimum koşul, 12/12 (saat aydınlık/karanlık) ışıklandırma süresi, pH 8,5 ve 0,5 L/dk hava debisi parametre değerlerinde sağlanmıştır ve 45. saatte 1,30 mg/L den $0,40 \pm 0,23$ mg/L ye düşerek %78,30 giderim verimi, yaklaşık 70. saatte ise %90,7 giderim verimi elde edilmiştir. Amonyum (NH_4^+) için optimum koşul 16:8 (saat aydınlık/karanlık) ışıklandırma süresi, pH 8 ve 0,3 L/dk hava debisi parametre değerlerinde sağlanmıştır ve yaklaşık 45. saatte 20,10 mg/L den $1,79 \pm 5,06$ mg/L'ye düşerek % 94,98 giderim verimi, yaklaşık 70. saatte ise %99,5 giderim verimi elde edilmiştir. Fosfat (PO_4^{3-}) için optimum koşul 12:12 (saat aydınlık/karanlık) ışıklandırma süresi, pH 7 ve 0,3 L/dk hava debisi parametre değerlerinde sağlanmıştır ve yaklaşık 45. saatte 2,45 mg/L den $0,16 \pm 0,6$ mg/L'ye düşerek %99,54 giderim verimi, yaklaşık 70. saatte ise %97 giderim verimi

elde edilmiştir. İnorganik-N için optimum koşul 16:8 (saat aydınlık/karanlık) ışıklandırma süresi, pH 8 ve 0,3 L/dk hava debisi parametre değerlerinde sağlanmıştır ve yaklaşık 45. saatte 20,80 mg/L den $2,38 \pm 4,96$ mg/L'ye düşerek %93,07 giderim verimi, yaklaşık 70. saatte ise %98 giderim verimi elde edilmiştir.

Çalışma kapsamında doğal su kütleindeki azot, fosfor ve amonyum gideriminde gaz kabarcıklı immobilize alglerin kullanımının uygun bir alternatif yöntem olduğu belirlenmiştir.

Farklı alg kültürleri kullanılarak benzer çalışmaların uygulanabilir olduğu sonucu elde edilmiştir.

Laboratuvarda gerçekleştirilen çalışmalarla, pilot ölçek ve tam ölçekte gerçekleştirilmesi muhtemel çalışmalar için zemin hazırlanmıştır.

Alg biyokütlesinin gaz kabarcıklı yapıda olması, su yüzeyinden hasat edilebilirliğinde kolaylık sağlamakta ve sudan hasat edilirken ilave arıtım yöntemine ihtiyaç duyulmamaktadır.

Hasat edilen alg biyokütlesinin, balık yemi olarak alternatif hammadde kapsamında kullanılabilir olması ile, sürdürülebilir, doğa dostu ve atık çıkarmayan bir arıtım yaklaşımı elde edilmiştir.

Deneysel çalışmalarda kullanan doğal su kütlesi, her deney seti kurulmadan önce Eskişehir Atıksu Arıtma Tesis çıkış suyunun, Porsuk Nehri ile birleştiği doğal su külesinden alınmıştır. Doğal su kütlesi ile araştırmalar yapıldığı için, su külesinin yapısını değiştirmemek amacıyla standartlaştırılamamıştır ve su kalitesi mevsime bağlı olarak değişkenlik göstermiştir. Bununla birlikte farklı zamanlarda alınan su külesinde, arıtma tesis çıkış suyuna bağlı olarak doğal su külesinin yapısı değişmekte böylece algler farklı davranış göstermiştir.

Çalışmadan elde edilen verilere Taguchi Analizi uygulandığında bazı parametreler için P değeri 0,005 den büyük çıkarak, sonucu anlamsızlaştırmıştır. Bu sebeple deney sonuçlarının tekrarlı olarak doğrulanması gerekmektedir.

Çalışmanın devamlılığının sağlanması durumunda düzenli aralıklarda balıklara yedirilip, balıklardaki kütle artışı incelenebilir.

KAYNAKÇA

- Abdel-Warith, A. W. A., Younis, E. S. M., & Al-Asgah, N. A. (2016). Potential use of green macroalgae *Ulva lactuca* as a feed supplement in diets on growth performance, feed utilization and body composition of the African catfish, *Clarias gariepinus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(3), 404-409.
- Abid Sanaa Hoshayar. (2018). *Physiological Effect Of Microalgae Chlorella Sp. On The Common Carp (Cyprinus Carpio L.)*. Master Thesis.
- Ajala, S. O., & Alexander, M. L. (2020). Assessment of *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, and *Oocystis minuta* for removal of sulfate, nitrate, and phosphate in wastewater. *International Journal of Energy and Environmental Engineering*, 11(3), 311-326.
- Aktar, S., & Cebe, G. E. (2010). Alglerin genel özellikleri, kullanım alanları ve eczacılıktaki önemi.
- Alagawany, M., Taha, A. E., Noreldin, A., El-Tarabily, K. A., & Abd El-Hack, M. E. (2021). Nutritional applications of species of *Spirulina* and *Chlorella* in farmed fish: A review. *Aquaculture*, 542, 736841.
- Alonso, A. A., Molina, I., & Theodoropoulos, C. (2014). Modeling bacterial population growth from stochastic single-cell dynamics. *Applied and environmental microbiology*, 80(17), 5241-5253.
- Aşan İ, Bozkurt O. (2022). *Porsuk Baraj Gölü Üzerine Kurulabilecek Askıda Alg Biyokütlesi Kullanılan Biyoremediasyon Ünitesinin Azot Ve Fosfor Kirliliği Açısından Etkinliğinin Araştırılması*. Lisans Tezi. Eskişehir: Eskişehir Teknik Üniversitesi.
- Bai, S. C., Koo, J. W., Kim, K. W., & Kim, S. K. (2001). Effects of *Chlorella* powder as a feed additive on growth performance in juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). *Aquaculture Research*, 32, 92-98.
- Barragán, L. P., Figueroa, J. J. B., Durán, L. R., González, C. A., & Hennigs, C. (2016). Fermentative production methods. In *Biotransformation of Agricultural Waste and By-Products* (pp. 189-217). Elsevier.

- Barros, A. I., Gonçalves, A. L., Simões, M., & Pires, J. C. (2015). Harvesting techniques applied to microalgae: a review. *Renewable and sustainable energy reviews*, 41, 1489-1500.
- Bartley, M. L., Boeing, W. J., Corcoran, A. A., Holguin, F. O., & Schaub, T. (2013). Effects of salinity on growth and lipid accumulation of biofuel microalga *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *Biomass and Bioenergy*, 54, 83-88.
- Beuckels, A., Smolders, E., & Muylaert, K. (2015). Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment. *Water research*, 77, 98-106.
- Bhave, R., Kuritz, T., Powell, L., & Adcock, D. (2012). Membrane-based energy efficient dewatering of microalgae in biofuels production and recovery of value added co-products. *Environmental science & technology*, 46(10), 5599-5606.
- Blosi, M., Brigliadori, A., Zanoni, I., Ortelli, S., Albonetti, S., & Costa, A. L. (2022). *Chlorella vulgaris* meets TiO₂ NPs: effective sorbent/photocatalytic hybrid materials for water treatment application. *Journal of environmental management*, 304, 114187.
- Chaumont, D. (1993). Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture. *Journal of applied phycology*, 5, 593-604.
- Chen, Z., Osman, A. I., Rooney, D. W., Oh, W. D., & Yap, P. S. (2023). Remediation of heavy metals in polluted water by immobilized algae: current applications and future perspectives. *Sustainability*, 15(6), 5128.
- Christenson, L., & Sims, R. (2011). Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnology advances*, 29(6), 686-702.
- Converti, A., Casazza, A. A., Ortiz, E. Y., Perego, P., & Del Borghi, M. (2009). Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(6), 1146-1151.

- Delgadillo-Mirquez, L., Lopes, F., Taidi, B., & Pareau, D. (2016). Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. *Biotechnology reports*, 11, 18-26.
- Elcik, H., & Cakmakci, M. (2017). Microalgae production and biofuel from microalgae. *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 32(3)
- El-Sheekh, M., El-Dalatony, M. M., Thakur, N., Zheng, Y., & Salama, E. S. (2022). Role of microalgae and cyanobacteria in wastewater treatment: Genetic engineering and omics approaches. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1-22.
- Erci, V. (2023). *Mikroalg Üretimi İçin Laboratuvar Ölçekli Solar Biyoreaktör Tasarımı Ve Mikroalglerin Tarımsal Uygulamalarda Kullanımı*. Doktora Tezi. İstanbul: Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı.
- Fabregas', J., & Herrero, C. (1896). *Marine Microalgae As A Potential Source Of Minerals In Fish Diets*.
- Fluvià Sabio, S. (2014). *Study of the anaerobic decomposition of valeric acid using variable stoichiometry and thermodynamic control* (Bachelor's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya).
- Gezici, M., Eliçin, K., & Gürhan, R. (2012). Biyoyakıt amaçlı mikroalg üretimi için bazı yetiştirme parametrelerinin belirlenmesi. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 8(2), 223-231.
- Goncu, Serdar, Emre Turgut, and Eda Tuna Ozturk. 2022. "Production and Application of Gas Bubbled Immobilized Microalgae Culture in Water or Wastewater Treatment Process (Patent Pending, PCT)."
- Gu, J. D. (2016). More than simply microbial growth curves. *Applied Environmental Biotechnology*, 2(1), 63-65.
- Hu, J., Liu, H., Shukla, P., Lin, W., & Luo, J. (2020). Nitrogen and phosphorus removals by the agar-immobilized *Chlorella saccharophila* with long-term preservation at room temperature. *Chemosphere*, 251, 126406.

- Isiya, D. A., & Sani, M. (2020). Effects of different stirring rates on the *Chlorella vulgaris* growth for wastewater treatment systems. *International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology*, 4(11), 2455-2143.
- Jasmine, D. A., Malarmathi, K. B., Daniel, S. K., & Malathi, S. (2016). Natural Algal-Based Processes as Smart Approach for Wastewater Treatment. *Smart Materials for Waste Water Applications*, 379-398.
- Jayaseelan, M., Usman, M., Somanathan, A., Palani, S., Muniappan, G., & Jeyakumar, R. B. (2021). Microalgal production of biofuels integrated with wastewater treatment. *Sustainability*, 13(16), 8797.
- Jiang, L., Pei, H., Hu, W., Hou, Q., Han, F., & Nie, C. (2016). Biomass production and nutrient assimilation by a novel microalga, *Monoraphidium* spp. SDEC-17, cultivated in a high-ammonia wastewater. *Energy Conversion and Management*, 123, 423-430.
- Juneja, A., Ceballos, R. M., & Murthy, G. S. (2013). Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: a review. *Energies*, 6(9), 4607-4638.
- Kargin, H. (2020). Akuakültürde Mikroalg Üretim Sistemleri ve Fotobiyoreaktörler Dünyada ve Ülkemizde Kullanımı. *Mediterranean Fisheries and Aquaculture Research*, 3(3), 112-130.
- Khan, S. A., Hussain, M. Z., Prasad, S., & Banerjee, U. C. (2009). Prospects of biodiesel production from microalgae in India. *Renewable and sustainable energy reviews*, 13(9), 2361-2372.
- Khanzadeh, M., Esmaeili Fereidouni, A., & Seifi Berenjestanaki, S. (2016). Effects of partial replacement of fish meal with *Spirulina platensis* meal in practical diets on growth, survival, body composition, and reproductive performance of three-spot gourami (*Trichopodus trichopterus*)(Pallas, 1770). *Aquaculture international*, 24, 69-84.
- Komolafe, O., Orta, S. B. V., Monje-Ramirez, I., Noguez, I. Y., Harvey, A. P., & Ledesma, M. T. O. (2014). Biodiesel production from indigenous microalgae grown in wastewater. *Bioresource technology*, 154, 297-304.

- Laamanen, C. A., Ross, G. M., & Scott, J. A. (2016). Flotation harvesting of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 75-86.
- Liang, K., Zhang, Q., Gu, M., & Cong, W. (2013). Effect of phosphorus on lipid accumulation in freshwater microalga *Chlorella* sp. *Journal of Applied Phycology*, 25, 311-318.
- Ling, K. S., Jamaian, S. S., & Zulkifli, F. H. (2021, July). Estimation of the microalgae growth using the optimization approach. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1988, No. 1, p. 012017). IOP Publishing.
- Maier, R. M., & Pepper, I. L. (2015). Bacterial growth. In *Environmental microbiology* (pp. 37-56). Academic Press.
- Mohsenpour, S. F., Hennige, S., Willoughby, N., Adeloye, A., & Gutierrez, T. (2021). Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. *Science of the Total Environment*, 752, 142168.
- Molazadeh, M., Ahmadzadeh, H., Pourianfar, H. R., Lyon, S., & Rampelotto, P. H. (2019). The use of microalgae for coupling wastewater treatment with CO₂ biofixation. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, 42.
- Mollamohammada, S., Aly Hassan, A., & Dahab, M. (2021). Immobilized algae-based treatment of herbicide-contaminated groundwater. *Water Environment Research*, 93(2), 263-273.
- Moreno-Garrido, I. (2008). Microalgae immobilization: current techniques and uses. *Bioresource technology*, 99(10), 3949-3964.
- Mostert, E. S., & Grobbelaar, J. U. (1987). The influence of nitrogen and phosphorus on algal growth and quality in outdoor mass algal cultures. *Biomass*, 13(4), 219-233.
- Mujtaba, G., Rizwan, M., Kim, G., & Lee, K. (2018). Removal of nutrients and COD through co-culturing activated sludge and immobilized *Chlorella vulgaris*. *Chemical Engineering Journal*, 343, 155-162.
- Murujew, O., Whitton, R., Kube, M., Fan, L., Roddick, F., Jefferson, B., & Pidou, M. (2021). Recovery and reuse of alginate in an immobilized algae reactor. *Environmental Technology*, 42(10), 1521-1530.

- Muylaert, K., Bastiaens, L., Vandamme, D., & Gouveia, L. (2017). Harvesting of microalgae: Overview of process options and their strengths and drawbacks. *Microalgae-based biofuels and bioproducts*, 113-132.
- Naiel, M. A., Alagawany, M., Patra, A. K., El-Kholy, A. I., Amer, M. S., & Abd El-Hack, M. E. (2021). Beneficial impacts and health benefits of macroalgae phenolic molecules on fish production. *Aquaculture*, 534, 736186.
- Olvera-Novoa, M. A., Domínguez-Cen, L. J., Olivera-Castillo, L., & Martínez-Palacios, C. A. (1998). Effect of the use of the microalga *Spirulina maxima* as fish meal replacement in diets for tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters), fry. *Aquaculture research*, 29(10), 709-715.
- Özgür, Y., & Göncü, S. (2023). The effect of process parameters on use of immobilized algae culture for nitrogen and phosphorus removal from wastewater. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 20(6), 6015-6026.
- Öztürk Tuna E. (2019). *Sentetik Yeraltı Suyundan Nitrat Kirliliğinin Tetrademus Obliquus Alg Kültürü Kullanılarak Giderilmesi*. Doktora Tezi. Eskişehir: Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Öztürk, İ. (2017). *Atıksu Mühendisliği Atıksu Hidroliği Arıtma Tesisleri Tasarımı Çamur Yönetimi Endüstriyel Kirlenme Kontrolü Kontrol-Otomasyon Ve Maliyet Analizi*.
- Palmer (1969). *Algae in Water Supplies, An Illustrated Manual on the Identification, Significance and Control of Algae in Water Supplies*.
- Papazi, A., Makridis, P., & Divanach, P. (2010). Harvesting *Chlorella minutissima* using cell coagulants. *Journal of applied Phycology*, 22(3), 349-355.
- Paul, S., Bera, S., Dasgupta, R., Mondal, S., & Roy, S. (2021). Review on the recent structural advances in open and closed systems for carbon capture through algae. *Energy Nexus*, 4, 100032.
- Pawlowski, A., Mendoza, J. L., Guzmán, J. L., Berenguel, M., Acien, F. G., & Dormido, S. (2014). Effective utilization of flue gases in raceway reactor with event-based pH control for microalgae culture. *Bioresource technology*, 170, 1-9.

- Plöhn, M., Spain, O., Sirin, S., Silva, M., Escudero-Oñate, C., Ferrando-Climent, L., ... & Funk, C. (2021). Wastewater treatment by microalgae. *Physiologia Plantarum*, 173(2), 568-578.
- Prescott, G. W. (1973). *Algae of Western Great Lake Area* (5 th).
- Radakovits, R., Jinkerson, R. E., Darzins, A., & Posewitz, M. C. (2010). Genetic engineering of algae for enhanced biofuel production. *Eukaryotic cell*, 9(4), 486-501.
- Rashid, N., Rehman, M. S. U., Sadiq, M., Mahmood, T., & Han, J. I. (2014). Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 40, 760-778.
- Rasoul-Amini, S., Montazeri-Najafabady, N., Shaker, S., Safari, A., Kazemi, A., Mousavi, P., ... & Ghasemi, Y. (2014). Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae free cells in bath culture system. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(2), 126-131.
- Renault, F., Sancey, B., Badot, P. M., & Crini, G. (2009). Chitosan for coagulation/flocculation processes—an eco-friendly approach. *European Polymer Journal*, 45(5), 1337-1348.
- Rezaei, R., Akbulut, A., & Sanin, S. L. (2019). Effect of algae acclimation to the wastewater medium on the growth kinetics and nutrient removal capacity. *Environmental monitoring and assessment*, 191, 1-10.
- Ruiz-Marin, A., Mendoza-Espinosa, L. G., & Stephenson, T. (2010). Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. *Bioresource technology*, 101(1), 58-64.
- Sakamoto T., Bryant D.A., Growth at low temperature causes nitrogen limitation in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002, *Arch. Microbiol.*, 169 (1), 10-19, 1998.
- Salim, S., Bosma, R., Vermuë, M. H., & Wijffels, R. H. (2011). Harvesting of microalgae by bio-flocculation. *Journal of applied phycology*, 23, 849-855.

- Salmon, S., & House, A. (2015). Enzyme-catalyzed Solvents for CO₂ separation. In *Novel Materials for Carbon Dioxide Mitigation Technology* (pp. 23-86). Elsevier.
- Schmidt, J. J., Gagnon, G. A., & Jamieson, R. C. (2016). Microalgae growth and phosphorus uptake in wastewater under simulated cold region conditions. *Ecological Engineering*, 95, 588-593.
- Schnurr, P. J., & Allen, D. G. (2015). Factors affecting algae biofilm growth and lipid production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 52, 418-429.
- Sen, B., Alp, M. T., Sonmez, F., Kocer, M. A. T., & Canpolat, O. (2013). Relationship of algae to water pollution and waste water treatment. *Water treatment*, 14, 335-354.
- Sharma, Y. C., Singh, B., & Korstad, J. (2011). A critical review on recent methods used for economically viable and eco-friendly development of microalgae as a potential feedstock for synthesis of biodiesel. *Green chemistry*, 13(11), 2993-3006.
- Shelknanloymilan, L., Atici, T., & Obal, O. (2012). Removal of nitrogen and phosphate by using *Chlorella vulgaris* on synthetic and organic materials waste water. *Biological Diversity and Conservation*, 5(2), 89-94.
- Shen, Y., Yuan, W., Pei, Z. J., Wu, Q., & Mao, E. (2009). Microalgae mass production methods. *Transactions of the ASABE*, 52(4), 1275-1287.
- Singh, D., Nedbal, L., & Ebenhöf, O. (2018). Modelling phosphorus uptake in microalgae. *Biochemical Society Transactions*, 46(2), 483-490.
- Turgut E. (2019). *İmmobilize Edilmiş Saf Alg Kültürü Kullanılarak Yeraltı Sularında Nitrat Giderimi ve Balık Üretim Sektöründe Kullanılabilirliğinin Belirlenmesi*. Lisans Tezi. Eskişehir: Eskişehir Teknik Üniversitesi.
- Ummalyma, S. B., Gnansounou, E., Sukumaran, R. K., Sindhu, R., Pandey, A., & Sahoo, D. (2017). Bioflocculation: an alternative strategy for harvesting of microalgae—an overview. *Bioresource technology*, 242, 227-235.

- Vazirzadeh, A., Jafarifard, K., Ajdari, A., & Chisti, Y. (2022). Removal of nitrate and phosphate from simulated agricultural runoff water by *Chlorella vulgaris*. *Science of The Total Environment*, 802, 149988.
- Wahidin, S., Idris, A., & Shaleh, S. R. M. (2013). The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. *Bioresource technology*, 129, 7-11.
- Wang, C., Wang, Z., Wang, P., & Zhang, S. (2016). Multiple effects of environmental factors on algal growth and nutrient thresholds for harmful algal blooms: application of response surface methodology. *Environmental Modeling & Assessment*, 21, 247-259.
- Whitton, R., Ometto, F., Villa, R., Pidou, M., & Jefferson, B. (2019). Influence of light regime on the performance of an immobilised microalgae reactor for wastewater nutrient removal. *Algal Research*, 44, 101648.
- Whitton, R., Santinelli, M., Pidou, M., Ometto, F., Henderson, R., Roddick, F., ... & Jefferson, B. (2018). Tertiary nutrient removal from wastewater by immobilised microalgae: impact of wastewater nutrient characteristics and hydraulic retention time (HRT). *H2Open Journal*, 1(1), 12-25.
- Wollmann, F., Dietze, S., Ackermann, J. U., Bley, T., Walther, T., Steingroewer, J., & Krujatz, F. (2019). Microalgae wastewater treatment: Biological and technological approaches. *Engineering in Life Sciences*, 19(12), 860-871.
- Xu, C., Lei, C., Meng, L., Wang, C., & Song, Y. (2012). Chitosan as a barrier membrane material in periodontal tissue regeneration. In *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials: Vol. 100 B* (Issue 5, pp. 1435–1443). <https://doi.org/10.1002/jbm.b.32662>.
- Zahed, M. A., Salehi, S., Tabari, Y., Farraji, H., Ataei-Kachooei, S., Zinatizadeh, A. A., ... & Mahjouri, M. (2022). Phosphorus removal and recovery: state of the science and challenges. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(39), 58561-58589.
- Zahran, E., & Risha, E. (2014). Modulatory role of dietary *Chlorella vulgaris* powder against arsenic-induced immunotoxicity and oxidative stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 41(2), 654-662.

- Zhang, E., Wang, B., Wang, Q., Zhang, S., & Zhao, B. (2008). Ammonia–nitrogen and orthophosphate removal by immobilized *Scenedesmus* sp. isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment. *Bioresource technology*, 99(9), 3787-3793.
- Zhila, N. O., Kalacheva, G. S., & Volova, T. G. (2005). Influence of nitrogen deficiency on biochemical composition of the green alga *Botryococcus*. *Journal of Applied Phycology*, 17, 309-315.



ÖZGEÇMİŞ

ORCID NO: <https://orcid.org/0000-0002-0573-1203>

Adı Soyadı : Kübra ÖZENÇ

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- 2024, Yüksek Lisans, Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü / Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Çevre Teknolojisi Ana Bilim Dalı
- 2021, Lisans, Eskişehir Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü
- 2018, Lisans, Kielce Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü (Erasmus+)

Yayınları ve/veya Bilimsel/Sanatsal Faaliyetleri:

- Özenç, K., Göncü, S., 'Treatment of Natural Waters with Gas-Bubbled Immobilized *Chlorella vulgaris* Algal Cultures and Investigation of its Usability as a Food Ingredients in Fish Production Plants', 4. Uluslararası Avrasya Bilim, Mühendislik ve Teknoloji Konferansı, ISBN 978-605-72134-1-9, 14-16 Aralık, 2022, Ankara. (Sözlü Sunum)