



**PEYNİRALTI SUYU TOZUNUN *Haematococcus*
pluvialis'İN HÜCRE GELİŞİMİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Büşra AYDOĞDU

**Yüksek Lisans Tezi
Su Ürünleri Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Doç. Dr. Özden FAKIOĞLU
2022**

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**PEYNİRALTI SUYU TOZUNUN *Haematococcus pluvialis*'İN HÜCRE GELİŞİMİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Investigation of the Effects of Whey Powder on Cell Growth of *Haematococcus pluvialis*

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Büşra AYDOĞDU

Danışman: Doç. Dr. Özden FAKIOĞLU

Erzurum
Mart, 2022



FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Natural and
Applied Sciences

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü
TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

**Peyniraltı Suyu Tozunun *Haematococcus pluvialis*'in Hücre Gelişimine Etkisinin
Araştırılması**

Doç. Dr. Özden FAKIOĞLU danışmanlığında, Büşra AYDOĞDU tarafından hazırlanan bu çalışma, 29/03/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı Su Ürünleri Mühendisliği Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Doç. Dr. Özge ZENCİR TANIR
Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi

Aslı ıslak imzalıdır

Danışman: Doç. Dr. Özden FAKIOĞLU
Atatürk Üniversitesi

Aslı ıslak imzalıdır

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Veysel PARLAK
Atatürk Üniversitesi

Aslı ıslak imzalıdır

İkinci Tez
Danışmanı

(İkinci tez
danışmanı
yoksa bu satırı
siliniz.)

Unvan Ad SOYAD
Üniversite Adı

Enstitü Yönetim
Kurulunun .../.../.... tarih
ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı ıslak imzalıdır

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2021-8908

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Doç.Dr. Özden FAKİOĞLU danışmanlığında sunulan “*Peyniraltı Suyu Tozunun Haematococcus pluvialis’in Hücre Gelişimine Etkisinin Araştırılması*” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	20	30
Kuramsal Temeller	9	30
Materyal ve Yöntem	13	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	11	20
Sonuç ve Öneriler	0	20
Tezin Geneli	25	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Büşra AYDOĞDU	Doç.Dr. Özden FAKİOĞLU
4.4.2022	4.4.2022
İmza: Aslı ıslak imzalıdır	İmza: Aslı ıslak imzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PEYNİRALTI SUYU TOZUNUN *Haematococcus pluvialis*'in HÜCRE GELİŞİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Büşra AYDOĞDU

Danışman: Doç. Dr. Özden FAKIOĞLU

Amaç: Bu çalışmada maliyeti düşük olan peyniraltı suyu tozunun (PAST) *Haematococcus pluvialis* gelişimi üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırmamızda kullanılan *H.pluvialis* türü Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nden, %70'lik demiralize PAST ise Cici Süt Sanayi ve Tic.AŞ.'den temin edilmiştir. Deneme laboratuvar koşulları altında kontrol grubu (içerisinde sadece 3N-BBM+V besin ortamı olan) ve PAST ilave edilen grupların [5 g/L (P5), 10 g/L (P10) ve 15 g/L (P15)] her biri 3'er tekerrürlü olacak şekilde düzenlenmiştir. Deneme süresince her gün hücre sayımı, biyokütle değeri, pH, kültür ortamının toplam fosfor, amonyak-azotu, nitrat-azotu ve nitrit-azotu analizleri yapılmıştır. Bununla birlikte *H.pluvialis*'in spesifik büyüme hızı Monod denkliğine göre hesaplanmıştır.

Bulgular: PAST uygulaması sonrası hücre sayısının ortalama değerleri gruplara göre (K, P5, P10 ve P15) sırasıyla 763,34±419,62 hücre/ml; 951,60±388,20 hücre/ml 1105,27±380,35 hücre/ml ve 978,63±411,07 hücre/ml olarak hesaplanmıştır. Ortalama biyokütle değeri en düşük kontrol grubunda (0,84±0,36 g/L), en yüksek P15 grubunda (1,26±0,55 g/L) tespit edilmiştir. Ortalama spesifik büyüme hızı kontrol grubunda 0,52±0,09 gün⁻¹, P5 grubunda 0,56±0,1 gün⁻¹, P10 grubunda 0,56±0,14 gün⁻¹ ve P15 grubunda 0,61±0,09 gün⁻¹ olarak saptanmıştır. *H.pluvialis*'in spesifik büyüme hızı ile pH, NH₃-N, NO₂-N ve NO₃-N derişimleri ile arasındaki korelasyon istatistiksel olarak önemli bulunurken (p<0,05); TP derişimi ile spesifik büyüme hızı arasındaki korelasyon istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (p>0,05).

Sonuç: Elde edilen veriler doğrultusunda 15 g/L PAST ilave edilen *H.pluvialis*'in hem biyokütlesinde hem de spesifik büyüme hızında artış gözlenmiştir. PAST'ın besin ortamı olarak kullanımı biyokütleyi arttırmasının yanı sıra maliyetinin düşük olması sebebiyle de önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Peyniraltısuyu tozu, biyokütle, spesifik büyüme hızı, *Haematococcus pluvialis*

Mart 2022, 58 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF WHEY POWDER ON CELL GROWTH OF *Haematococcus pluvialis*

Büşra AYDOĞDU

Supervisor: Assoc. Prof. Özden FAKIOĞLU

Purpose: In this study was carry out to examine the effect on the growth of *Haematococcus pluvialis* using low cost whey powder (WP).

Method: The *H.pluvialis* used in this study were from Çukurova University, Faculty of Fisheries, and 70% ironalized WP from Cici Dairy Industry Trade Inc. The experiment was conducted under laboratory conditions with 3 replications. During in this experiment, cell count, biomass, pH, total phosphorus, ammonia-nitrogen, nitrate-nitrogen and nitrite-nitrogen of the culture medium were analysed every day. In addition, the specific growth rate of *H.pluvialis* was calculated according to the Monod equivalence.

Findings: The mean values of the cell count after WP application were calculated according to the groups (C, W5, W10 and W15) as 763.34 ± 419.62 cells ml^{-1} , 951.60 ± 388.20 cells ml^{-1} , 1105.27 ± 380.35 cells ml^{-1} and 978.63 ± 411.07 cells ml^{-1} , respectively. The mean biomass value has been found the lowest in the control group (0.84 ± 0.36 g/L), and the highest value in the W15 group (1.26 ± 0.55 g/L). The mean specific growth rate was determined as 0.52 ± 0.09 day⁻¹ in the control group, as 0.56 ± 0.1 day⁻¹ in the W5 group, as 0.56 ± 0.14 day⁻¹ in the W10 group, and as 0.61 ± 0.09 day⁻¹ in the W15 group. While the correlation between the specific growth rate of *H.pluvialis* and pH, NH₃-N, NO₂-N and NO₃-N concentrations was statistically significant ($p < 0.05$), the correlation between TP concentration and specific growth rate was found to be statistically insignificant ($p > 0.05$).

Results: In accordance with the data obtained, both the biomass and the specific growth rate of *H.pluvialis* was observed to an increase on 15 g/L WP added grup. The use of WP as a nutrient medium is recommended due to its low cost as well as increasing the biomass.

Keywords: Whey powder, biomass, specific growth rate, *Haematococcus pluvialis*

March 2022, 58 pages

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi, öneri ve desteklerini benden esirgemeyen, okul hayatım dışında da her türlü konuda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tezimde çok büyük emeği olan, bana yol göstererek bugünlere gelmemde katkısı bulunan çok değerli ve kıymetli danışman hocam, Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Öğr. Üyesi Sayın Doç. Dr. Özden FAKİOĞLU'na, tezimde kullanmış olduğum *H.pluvialis* temininde bana yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Leyla HIZARCI USLU'ya, laboratuvar çalışmalarındaki yardım ve desteklerinden dolayı Ekrem SULUKAN'a ve Meryem KANKAYNAR'a tezimi yazarken bilgi ve birikiminden faydalandığım tez jürim Sayın Doç.Dr. Özge ZENCİR TANIR ve Sayın Doç.Dr. Veysel PARLAK hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her döneminde bana inanan, sıkıntılı anlarımı paylaştığım, maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen çok sevgili annem Züleyha AYDOĞDU'ya her daim yanımda olan güç ve destek kaynağım babam Hamit AYDOĞDU'ya ve hiçbir durumda beni yalnız bırakmayan değerli kardeşlerime sonsuz minnetle teşekkür ederim.

Büşra AYDOĞDU

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
GİRİŞ.....	1
Mikroalg Tanımı ve Özelliği.....	2
Mikroalg Üretimi	3
Mikroalg Üretiminde Etkili Olan Faktörler	4
Mikroalg Üretim Sistemleri	6
<i>Haematococcus pluvialis</i>	7
Peyniraltı Suyu Tozu (PAST)	8
Kinetik Modeller	9
KURAMSAL TEMELLER.....	11
MATERYAL ve YÖNTEM	14
Materyal	14
<i>Haematococcus pluvialis</i> Flotow 1844	14
Peyniraltı Suyu Tozu.....	15
Yöntem.....	15
Kültür ve Deney Ortamının Hazırlanması	15
Deney Ortamı	17
Günlük Ölçüm ve Analizi Yapılan Parametreler	18
Hücre Sayısının Hesaplanması.....	18
Biyokütlesinin Hesaplanması.....	19
pH Ölçümü	20
Toplam Fosfor (TP) Analizi.....	20
Amonyak-Azotu (NH ₃ -N) Analizi	21
Nitrit-Azotu (NO ₂ -N) Analizi	21
Nitrat-Azotu (NO ₃ -N) Analizi.....	21

Kinetik Modelleme.....	22
İstatistik Analizler	22
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	23
Deneme Gruplarına Ait Hücre Sayısı, Biyokütle ve Bazı Su Kalite Parametreleri	23
<i>H.pluvialis</i> Hücre Sayısı.....	23
<i>H.pluvialis</i> Biyokütlesi.....	26
pH Değişimi	28
Toplam Fosfor (TP)	30
Amonyak-Azotu (NH ₃ -N).....	32
Nitrat-Azotu (NO ₃ -N)	33
Nitrit-Azotu (NO ₂ -N).....	35
Kinetik Modelleme (Monod Denkliği)	36
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	40
KAYNAKÇA	41
ÖZGEÇMİŞ.....	45

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Bazı Mikroalglerin Kimyasal Kompozisyonu.....	3
Tablo 2. Peyniraltı Suyunun Bileşimi.....	9
Tablo 3. <i>Haematococcus pluvialis</i> Flotow 1844 Sistematiği	14
Tablo 4. Tez Çalışmasında Kullanılan Peyniraltı Suyu Tozunun Bileşimi	15
Tablo 5. Kültür Ortam Gruplarının Kimyasal Parametreleri	15
Tablo 6. <i>Haematococcus pluvialis</i> 'in Besin Ortamı	17
Tablo 7. <i>Haematococcus pluvialis</i> Hücre Sayısının (hücre/ml) Grup ve Günlere Göre Değişimi	24
Tablo 8. <i>H.pluvialis</i> Biyokütlesinin (g/L) Grup ve Günlere Göre Değişimi	27
Tablo 9. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında pH Değerinin Gruplara ve Günlere Göre Değişimi	29
Tablo 10. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında Toplam Fosfor Değişiminin (mg/L) Gün ve Gruplara Bağlı Değişimi	31
Tablo 11. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında NH ₃ -N Değişiminin (mg/L) Gün ve Gruplara Bağlı Değişimi	32
Tablo 12. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında NO ₃ -N Değişiminin (mg/L) Gün ve Gruplara Bağlı Değişimi	34
Tablo 13. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında NO ₂ -N Değişiminin (mg/L) Gün ve Gruplara Bağlı Değişimi	35
Tablo 14. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında Monod Denkliğine Göre Spesifik Büyüme Hızının (gün ⁻¹) Gün ve Gruplara Bağlı Değişimi	37
Tablo 15. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında Monod Denkliğine Göre Spesifik Büyüme Hızının (gün ⁻¹) Bazı Su Kalite Parametreleri Arasındaki Korelasyon	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Ökaryotik mikroalg hücre yapısı.....	2
Şekil 2. <i>H.pluvialis</i> (a. astaksantin pigmenti içeren hücreler, b. hücresel görünümü).....	8
Şekil 3. <i>Haematococcus pluvialis</i> 'in mikroskop görüntüsü.....	14
Şekil 4. İnkübatörde <i>H.pluvialis</i> gelişimi.....	16
Şekil 5. Peyniraltı suyu tozu katılarak oluşturulan <i>H. pluvialis</i> kültür ortamı.....	16
Şekil 6. Peyniraltı suyu tozu katılarak oluşturulan <i>H. pluvialis</i> deney ortamı.....	18
Şekil 7. Hücre sayımı invert mikroskop.....	19
Şekil 8. Biyokütle ölçümü için kullanılan spektrofotometre.....	19
Şekil 9. <i>H.pluvialis</i> kültür ortamı pH ölçümü.....	20
Şekil 10. Deney ortamından alınan su örneklerinin toplam fosfor analizi.....	20
Şekil 11. Deney ortamından alınan su örneklerinin amonyak-azotu analizi.....	21
Şekil 12. Deney ortamından alınan su örneklerinin nitrit-azotu analizi.....	21
Şekil 13. Deney ortamından alınan su örneklerinin nitrat-azotu analizi.....	22
Şekil 14. <i>H.pluvialis</i> hücre sayısının (hücre/ml) günlere bağlı değişimi.....	25
Şekil 15. <i>H.pluvialis</i> hücre sayısının (hücre/ml) gruplara bağlı değişimi.....	25
Şekil 16. <i>H.pluvialis</i> biyokütlesinin gruplara bağlı değişimi.....	28
Şekil 17. <i>H.pluvialis</i> biyokütlesinin (mg/L) günlere bağlı değişimi.....	28
Şekil 18. <i>H.pluvialis</i> biyokütlesinin (g/L) pH değerine bağlı değişimi.....	30
Şekil 19. <i>H.pluvialis</i> biyokütlesinin TP değerine bağlı değişimi.....	31
Şekil 20. <i>H.pluvialis</i> biyokütlesinin NH ₃ -N değerine bağlı değişimi.....	33
Şekil 21. <i>H.pluvialis</i> biyokütlesinin NO ₃ -N değerine bağlı değişimi.....	34
Şekil 22. <i>H.pluvialis</i> biyokütlesinin NO ₂ -N değerine bağlı değişimi.....	36
Şekil 23. Monod denkliğine göre spesifik büyüme hızının gruplara göre değişimi.....	37
Şekil 24. Monod denkliğine göre spesifik büyüme hızının günlere göre değişimi.....	38

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde Oran
°C	Santigrat Derece
μ	Mikron
μm	Mikrometre
3N-BBM+V	3 Azotlu ve 1 vitaminli Bold Bazal Ortamı
BBM	Bold Basal Medium
BG-11	Blue-Green (Culture Medium No:11)
C	Karbon
CaCl ₂ .2H ₂ O	2 Molekül Kristal Sulu Kalsiyum Klorid
CO ₂	Karbondioksit
CoCl ₂ .6H ₂ O	6 Molekül Kristal Sulu Kobalt Klorid
C _s	Substrat Konsantrasyonu
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
FeCl ₃ .6H ₂ O	6 Molekül Kristal Sulu Demir Klorür
GOS	Galaktooligasakkarit
HCO ₃ ⁻	Bikarbonat
K ₂ HPO ₄	Dipotasyum Fosfat
KH ₂ PO ₄ .3H ₂ O	3 Molekül Kristal Sulu Potasyum Fosfat
KNO ₃	Potasyum Nitrat
K _s	Monod Doygunluk Sabiti
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
MgSO ₄ .7H ₂ O	7 Molekül Kristal Sulu Magnezyum Sülfat
ml	Mililitre
mM	Milimolar
MnCl ₂ .4H ₂ O	4 Molekül Kristal Sulu Mangan Klorid
N	Azot
Na ₂ EDTA	Disodyum Etilendiamin Tetraasetik Asit
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	2 Molekül Kristal Sulu Sodyum Molibdat
NaCl	Sodyum Klorür
NaNO ₃	Sodyum Nitrat

NH₃-N	Amonyak Azotu
NH₄Cl	Amonyum Klorür
nm	Nanometre
NO₂-N	Nitrit Azotu
NO₃-N	Nitrat Azotu
P	Fosfor
PAS	Peyniraltı Suyu
PAST	Peyniraltı Suyu Tozu
pH	H İyonu Derişiminin 10 Tabanında (-) Logaritması
rpm	Dakikada Devir Sayısı (Revolutions Per Minute)
SH	Soxlet Henkel
β –gal	Beta Galaktosidaz
β- karoten	Beta Karoten
TAP	Tris-Acetate-Phospahte
TP	Toplam Fosfor
TWW	Tofu Whey Wastewater
WP	Whey Powder
ZnCl₂	Çinko Klorür

GİRİŞ

Günümüzde hızlı nüfus artışıyla birlikte sınırlı doğal kaynakların giderek azalması sonucunda kıtlık tehlikesi ülkelerin en büyük problemi haline gelmiştir. Gün geçtikçe bitkisel ve hayvansal kaynaklı gıda ürünleri insanların ihtiyaçlarını karşılamakta yetersiz kalmaktadır. Buna bağlı olarak ürün gelişimi için kimyasal madde kullanılması ve/veya ürün genetiği değiştirilmesi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle ülkeler fonksiyonel gıda araştırmalarına yönelmiştir. Bu çalışmalarda öne çıkan önemli unsurlardan biri de alglerdir.

Algler fonksiyonel gıda talebini karşılayabilmesine ek olarak besin içeriğinin yüksekliği ve insan sağlığına katkı sağlaması yönünden önem arz eder. Sasa vd (2020) yaptıkları çalışmada alglerin ürettiği β -karoten, karotenoid ve çoklu doymamış yağ asitleri direkt kullanıldığında veya gıda katkı maddesi olarak ilave edildiğinde insan sağlığına olumlu etkilerinin olduğu hatta kronik hastalık riskini azaltabildiğini rapor etmiştir.

Algler protein, karbonhidrat, yağ ve yağ asidi, vitamin, mineral ve pigment maddeleri içermesi nedeniyle gıda sektöründe ön plana çıkmaktadır. Yaklaşık 40 yıldan beri ticari üretimi yapılan algler (Alçay vd 2017) gıda endüstrisinin yanı sıra tıptan tarıma kadar birçok alanda yararlanılan önemli kaynaklar arasında yer almaktadır (Sasa vd 2020).

Ticari olarak üretimi yapılan algler makroalgler ve mikroalgler olmak üzere ikiye ayrılır. Makroalgler agar-agar, alginik asit, karaginin, macun, kola ve mineral kaynağı olarak kullanılmaktadır. Mikroalgler ise gelişen teknoloji ile birlikte birçok endüstri alanında kullanılmaya başlanmıştır.

Mikroalg üretiminde, üretimi yapılacak türün, üretim amacına göre seçilmesi son derece kritiktir. Genel olarak, mikroalg türü gıda amaçlı üretilecekse, protein, karbonhidrat, yağ asidi, vitamin, mineral içerikleri yüksek olan türlerden; arıtma için kullanılacaksa, kirli bölgeden izole edilmiş türlerden alınmalıdır.

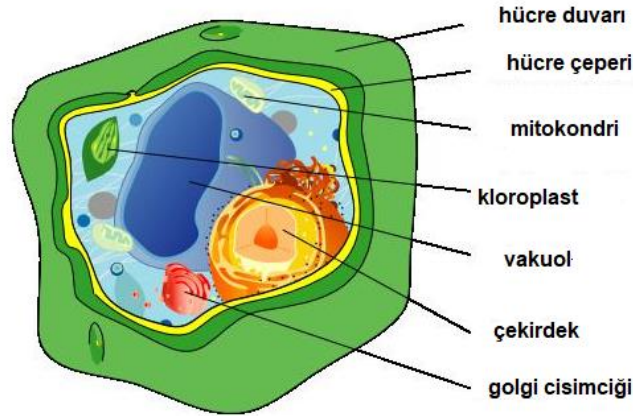
Mikroalg yetiştiriciliğinin avantajlarını, a) Yüksek yağ ve karbohidrat verimliliğine sahip olmaları b) Bu mikroorganizmaların çeşitli sulu ortamlarda geliştirilebilmeleri ve c) Kültüre edilen mikroalglerin yağ verimlilikleri ve içerik profilleri üretim sürecindeki çevresel ve besinsel değişkenlerin ayarlanması ile yüksek organizasyonlu bitkilere göre daha kolay

manipüle edilebilir olması olarak sıralayabiliriz. Buna karşın dezavantajı ise çevre koşullarındaki değişimlere karşı hassas canlılar olmalarıdır.

Mikroalg Tanımı ve Özelliği

Suda serbest halde yaşayan, hareket organelleri olsa bile ancak sınırlı hareket edebilen ve bu nedenle su hareketlerinin etkisiyle az çok pasif şekilde yer değiştiren klorofil içeren organizmalara mikroalg adı verilir. Mikroalgler, dış görünüşleri bakımından tek hücreli ve iplikli mikroskobik formlardan birkaç metre boyunda bitkilere kadar değişik morfolojide gözlenebilen, okyanuslardan kutup bölgelerine akarsu ve göl habitalarında çok geniş bir yayılma alanında yaşayan, selülöz çeperi bulunan, ototrof, basit yapılı, fotosentetik çoğunlukla ökaryotik veya prokaryotik canlılardır (Pereira and Magalhaes 2014).

Boyutları μ ile birkaç yüz mikron arasında değişen mikroalg hücresinde hücre duvarı, hücre çeperi, plastit, ribozom, klorofil ve bazı pigmentler bulunur. Ayrıca klorofilin a,b,c (c1 ve c2) ve d olmak üzere 4 çeşidi yer almaktadır (Cirik ve Gökpınar 1999; Lee 2008). Prokaryotik hücre yapısına sahip: 1. Cyanophyta, Glaucophyta, Rhodophyta ve Chlorophyta grubu algler; Ökaryot hücre yapısına sahip: 1. Euglenophyta, Dinophyta, Apicomplexa, Cryptophyta ve Heterokontophyta grubu algler yer almaktadır (Lee 2008). Ökaryotik mikroalg hücresi Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. Ökaryotik mikroalg hücre yapısı

Mikroalglerin kimyasal yapısı $C_{106}H_{181}O_{45}N_{16}P_1$ olarak formülize edilmektedir. Mikroalglerin biyokimyasal içeriği karbonhidrat, protein ve yağ olarak üç ana hücre içi materyali altında toplanabilir (Sajjadi *et al.* 2018). Bu moleküllerin yapısı ve miktarı üzerinde alg türü ve çevresel koşullar en büyük etkidir. Kullanma veya depolama amacıyla mikroalgler yağ sentezini hücre içinde gerçekleştirmektedir. Mikroalg hücre zarında bulunan yapısal yağlar büyük oranda çoklu doymamış yağ asitleridir. Hücrede depolan yağları ise tekli doymamış ve

doymuş yağ asitleri içermektedir. Karbonhidrat, yapısal bileşenlerde ve depolama bileşenlerinde yer alır. Protein sentezi ise aminoasit üretimi ile başlayıp primer protein sentezine kadar devam eden zor ve karmaşık mekanizmadır.

Ototrofik, heterotrofik ve mikсотrofik şartlarda gelişebilen bu canlıların yapısında başlıca %4-55 yağ, %6-57 karbonhidrat ve %10-63 oranında protein bulunmaktadır. Denizel ve tatlı sularda yaşayan bazı mikroalg türlerinin kimyasal kompozisyonu Tablo 1’de verilmiştir (Singh *et al.* 2011; Elcik ve Çakmakçı 2017).

Tablo 1. Bazı Mikroalglerin Kimyasal Kompozisyonu (% Kuru Madde) (Singh *et al.* 2011).

Türler	Protein	Karbonhidrat	Yağ	Nükleik Asit
<i>Anabaena cylindrica</i>	43–56	25–30	4–7	–
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	–
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2	–
<i>Chlorella vulgaris</i>	51–58	12–17	14–22	4–5
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8	–
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	–
<i>Euglena gracilis</i>	39–61	14–18	14–20	–
<i>Prymnesium parvum</i>	28–45	25–33	22–38	1–2
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8–18	21–52	16–40	–
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50–56	10–17	12–14	3–6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	–	1.9	–
<i>Spirulina maxima</i>	60–71	13–16	6–7	3–4.5
<i>Spirulina platensis</i>	46–63	8–14	4–9	2–5
<i>Spirogyra</i> sp.	6–20	33–64	11–21	–
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11	5
<i>Porphyridium cruentum</i>	28–39	40–57	9–14	–
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3	–

Mikroalg Üretimi

Mikroalglerin kültüre alınmaları çok eski zamanlara dayanır. İlk kültür çalışması Cohn tarafından *Haematococcus pluvialis* türü ile yapılmıştır. Bu çalışmayı Famintzin basit kültür ortamında *Chlorococcum infusionum* ve *Desmococcus olivaceus* türlerinin geliştirilmesi takip etmiştir. Beijerinck modern mikroalg kültür çalışmalarında *Chlorella vulgaris* kullanmıştır. Mikroalg üretimi 1960’lı yıllarda Tayvan ve Japonya’da *Chlorella* üretimi ile ilk olarak ticari amaçlı başlamış; 1980’li yıllarda ise ABD, Avustralya ve İsrail’de *Dunaliella salina* türünün β-karoten kaynağı olarak ticari üretimiyle devam etmiştir (Elcik ve Çakmakçı 2017).

Günümüzde mikroalg üretiminden elde edilen yıllık gelirin yaklaşık olarak kilogram başına 330 dolar ile 5 milyon dolar arasında olduğu tahmin edilmektedir. Üretimi yapılan mikroalglerin yaklaşık beşte biri su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır (Muller-Feuga 2013).

Mikroalg Üretiminde Etkili Olan Faktörler

Mikroalg yetiştiriciliğinde algler bulundukları ortamdan örneğin; ışık kaynağı, sıcaklık, besin maddesi ve pH gibi faktörlerden çok fazla etkilenmektedir. Bununla birlikte mikroalg yetiştiriciliğini etkileyen faktörler arasında oksijen miktarı, seyreltme oranı, hasat sıklığı gibi bazı parametreler de gösterilmektedir. Mikroalglerden yüksek verimlilik alınabilmesi için bu faktörlerin seçilen tür için ideal koşulları sağlaması gerekmektedir (Oktor 2018). Bu koşullar sağlanmadığında ve/veya eksikliğinde mikroalg büyümesinde yavaşlama ve hücre temel bileşenlerinde azalma gözlenmektedir. Bununla birlikte her bir mikroalg türünün kendine ait özel kültür ortamları bulunmaktadır. Örnek olarak *Chlorella* sp. besin maddesi konsantrasyonunun zengin, *Spirulina* sp. bikarbonat konsantrasyonunun uygun olduğu yüksek pH'lı ortamlarda ve *Dunaliella salina* ise 0,5-6 M tuzlulukta olan besin ortamlarında optimum gelişme göstermektedir (Kargın 2020).

Mikroalg kültüründe büyümede etkili parametreler:

➤ Işık

Mikroalgler CO₂ ve ışık kullanarak fotosentez yapmaktadırlar. Bu aşamada ışık mikroalg gelişimini direkt olarak etkilemektedir. Mikroalgler çoğunlukla 400-700 nm aralığındaki dalga boyundan yararlanırlar. Kullanılan dalga boyu aralığı mikroalg türlerine göre farklılık göstermektedir (Oktor 2018).

➤ Sıcaklık

Sıcaklık, mikroalg gelişimi için önemli faktörlerdendir. Hücre yapısı ve fizyolojisi sıcaklıktan etkilenmektedir. Sıcaklık artışıyla metabolik olayların yıkım hızı artmakta, sıcaklıklık düşüşüyle ise büyüme sınırlanmaktadır. Optimum sıcaklık değeri her bir mikroalg türü için değişebilmektedir. Genel olarak endüstriyel açıdan önemli çoğu mikroalgin gelişme sıcaklığı 20-30 °C dir. Ayrıca sıcaklık mikroalg hücresinin yağ-protein içeriği, besin maddesi alınımı ve gelişme hızında önemli rol oynamaktadır (Oktor 2018).

➤ pH Değişimi

pH, mikroalglerde besin alımı ve metabolik olayları doğrudan etkileyen parametredir. Genellikle mikroalglerin gelişimi için uygun pH değeri 7-9 olarak değişebilmektedir (Oktor

2018). Örnek olarak *Spirulina platensis* türü için uygun pH 9, *Chlorella littorale* türü için ise 4 olarak bulunmuştur (Elcik ve Çakmakçı 2017).

Kültüre alınan mikroalglerin pH kontrolü; karbondioksit, karbonat ve bikarbonat ile sağlanmaktadır. Bu karbon türleri pH değeri için tamponlayıcı özelliği göstermektedirler. pH 5'in altına düştüğünde çözünmüş inorganik karbonların çoğu kısmı CO₂ formuna dönüşmektedir. CO₂ ve HCO₃⁻ eşitlendiğinde pH 6,6 olmakta, HCO₃⁻ haline geçtiğinde ise pH 8,3 değerine yükselmektedir. Bu nedenle mikroalg kültür işleminde CO₂ kullanımı pH ile kontrol edilmelidir. Fotosentez yapan mikroalgler CO₂'yi kullandığı için pH yükselmektedir. Artan pH'ı kontrol altına almada hidroklorik asit veya asetik asit kullanılmaktadır (Elcik ve Çakmakçı 2017).

➤ Karıştırma İşlemi

Karıştırma işlemi mikroalg gelişimi üzerinde önemli bir faktördür. Yüksek yoğunluktaki mikroalg üretiminde ışığın iletimi azalmakta, karbondioksit tüketimi, oksijen birikimi ve kültürün sıcaklığı ise artmaktadır. Mikroalg hücrelerinin çökmesini önlemek amacıyla karıştırma işlemi yapılmaktadır. Karıştırmayla besin öğeleri homojen dağıtılarak tabakalaşma önlenmekte ve ışığın her bir hücreye ulaşması sağlanmaktadır (Oktor 2018).

Karıştırma işlemi yavaş bir şekilde yapılırsa mikroalg hücresinde karanlık bölümler meydana gelebilir. Karıştırmanın hızlı olması ise mikroalg hücrelerinde hasara neden olabilmektedir. Karıştırma işlemi, çeşitli araçlarla yapılmaktadır. Mekanik karıştırıcılar ve pompalar veya gaz dağıtıcılar yaygın olarak kullanılan karıştırıcı tipleridir. Genellikle açık sistemlerde mekanik karıştırıcılar, kapalı sistemlerde ise pompalar ve gaz dağıtıcılar tercih edilmektedir (Elcik ve Çakmakçı 2017).

➤ Besin Maddesi

Mikroalglerin büyümeleri için en temel besinler karbon, azot ve fosfordur. Bununla birlikte iz elementlerden potasyum, magnezyum, demir, çinko, kalsiyum, molibden, kobalt, selenyum ve nikel gibi minerallerde gerekli besinlerdendir (Oktor 2018).

Azot; mikroalglerde protein, aminoasit, DNA, enzim ve pigmentler için temel elementtir. Bunun yanı sıra azot mikroalg gelişimi ile yağ ve yağ asidi kompozisyonunu etkilemektedir. Azot kaynağı olarak genellikle NH₄Cl, NaNO₃ ve KNO₃ gibi azot içeren bileşikler kullanılmaktadır (Sajjadi *et al.* 2018).

Fosfor; fotosentez gibi metabolik aktivitede rol oynayan elementtir. Besin ortamında fosfor kaynağı olarak K₂HPO₄ ve KH₂PO₄ gibi ortofosfat veya inorganik fosfor kaynakları kullanılmaktadır. Genellikle besi ortamında inorganik ortofosfatın yetersiz kaldığı durumlarda;

fosfatazlar, organik fosfatı hücre yüzeyinde inorganik ortofosfata dönüştürürler ve ardından mikroalg hücresi fosforu bünyesine alır. Ancak mikroalgler fosfor yokluğunda da polifosfat granülleri formunu absorbe ederek büyüme sürecini uzatabilirler. Bu yüzden mikroalgler fosfor miktarındaki değişikliklere ışık ve sıcaklık gibi diğer çevresel şartlar kadar hızlı tepki vermezler (Sajjadi *et al.* 2018). Reitan *et al.* (1994) yürütmüş olduğu bir araştırmada, *Nannochloris atomus*, *Tetraselmis* sp., *Phaeodactylum tricornutum*, *Chaetoceros* sp., *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri* ve *Gymnodinium* sp. türlerinin fosfor sınırlaması altında yağ biriktirdiğini ve bu oranların sırasıyla % 11, % 15, % 20, % 21, % 30, % 23 ve % 13 oranında arttığını bildirmiştir.

Diğer önemli besin bileşenlerinden birisi de karbondur. Mikroalgal biyokütlenin % 50'si esas olarak karbondioksitten temin edilen karbondan oluşmaktadır (Sajjadi *et al.* 2018). Ancak mikroalgler tarafından kullanılmayan karbondioksit, ortamın pH'sını aside dönüştürmesi nedeniyle CO₂ verilmesi kontrol altında yapılmalıdır.

Mikroalg Üretim Sistemleri

Mikroalglerin ticari üretimi açık ve kapalı sistemlerde yapılmaktadır. Açık sistemlere; büyük havuzlar, dairesel havuzlar ve kanal tipi havuzlar; kapalı sistemlere ise tübüler, düz plaka, fermentör tipi ve içten aydınlatmalı fotobiyoreaktörler örnek gösterilebilir (Elcik ve Çakmakçı 2017).

Ticari olarak üretilen mikroalglerde üretim sistemi için uygun ortam ve verimlilik önemli bir faktördür. Ayrıca alg biyolojisi, arazi maliyeti, işçilik, enerji, su, besin ve nihai ürünün tipi de sistem seçiminde önem arz etmektedir. Büyük ölçekli kültür sistemlerinde elektrik tüketimi, karbon kaynağı için gaz transferi ve işletme giderlerindeki maliyetin az olması kültürün devamını sağlayabilmesi açısından önem arz etmektedir. Mikroalg kültüründe ekonomik üretim yapılabilmesi için şartların sağlanması temel amaçtır (Yılmaz 2006).

Algler göletler, tanklar ve havuzlar gibi dış ortamlarda yetiştirilebilmektedir. Açık sistemler, ışık kaynağı olarak güneş ışığını kullandıkları için ekonomiktirler ve kolay uygulamalarından dolayı tercih edilmektedirler (Eleren ve Öner 2019). Ancak açık havuz sistemleri kontaminasyon riskinin fazla olması nedeniyle daha az tercih edilen sistemlerdendir (Demirel vd 2018).

Mikroalg kültüründe en yaygın olarak kullanılan kapalı sistemler fotobiyoreaktörlerdir. Fotobiyoreaktörler, besin maddelerinin ilavesiyle büyüme, sıcaklık, çözünmüş CO₂ ve pH gibi parametrelerin kontrol edildiği kapalı sistemlerdir. Tercih edilmesinin sebebi kontaminasyon riskinin az olması ve sabit kültür koşullarının oluşturulması, sıcaklığın sabit tutulabilmesi ve ışık dağılım verimliliğinin düzenlenebilmesidir (Özçiçek vd 2017; Demirel vd 2018; Eleren ve

Öner 2019). Fakat kapalı kültür sistemleri açık sistemlere göre oldukça pahalıdır ve bu sistemlerin çoğunu genişletmek veya büyütmek zordur. Ayrıca, kapalı sistemlerin çoğu yapay ışık altında iç mekân kültürü olarak kurulmaktadır. Bu durum, yüksek enerji maliyetlerine neden olmaktadır (Özçiçek vd 2017).

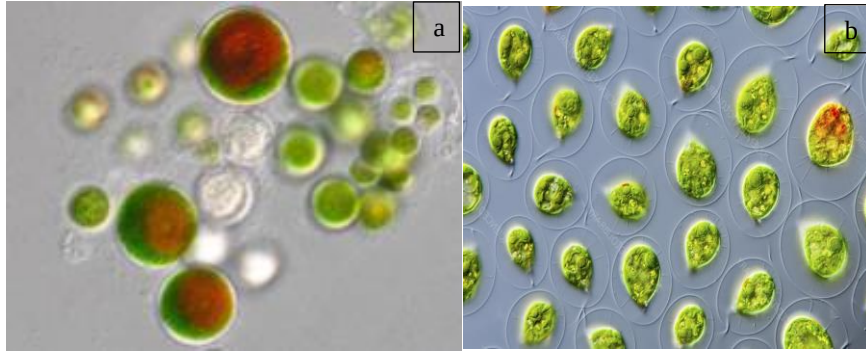
Ülkemizde büyük çapta yapılan mikroalg üretimi, özellikle akuakültür, gıda takviyesi, gübre, kozmetik ve gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu kapsamda ülkemizdeki mikroalg üretim sistemi olarak genellikle havuzlar ve/veya poşetler tercih edilmektedir (Demirel vd 2018).

Haematococcus pluvialis

H.pluvialis çalışmaları ilk olarak 1797 yılında Girod Chantrans ile başlamıştır. Türün tanımlanması ise Flotow tarafından 1844'te yapılmıştır (Çokcan 2015).

H.pluvialis, ekonomik açıdan değerli bir mikroalg türüdür. Işık yoğunluğu ve tuzluluğun fazla olduğu, azot ve fosfor besin elementlerinin eksildiği ortam koşullarında stres oluşturmakta ve hücre içerisinde astaksantin biriktirmektedir. Astaksantin son yıllarda mikroalg biyoteknolojide kullanılan ve önemi gittikçe artan kırmızı renkli bir pigmenttir. *H. pluvialis* mikroalgine ise bu pigmenti yüksek miktarda içermesi sebebiyle son zamanlarda duyulan ilgi artmaktadır. Teknolojinin gelişimiyle astaksantin kullanım alanları genişlemektedir. Yaygın olarak kümes hayvanları endüstrisinde renklendirmede ve akuakültürde balıklarda yem katkısı olarak kullanılabilmektedir. Ayrıca antioksidan özelliği sebebiyle de insan sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahiptir. Gün geçtikçe tüketicilerin daha bilinçli hale gelmesi ve organik ürünlere yönelmesi sebebiyle, *H.pluvialis* üretimi üzerine çalışmalar yoğunlaşmaktadır (Köksal 2008).

H.pluvialis Chlorophyceae sınıfı, Volvaceales takımına ait tek hücreli çift kamçılı 8-50 µm çapında armutsu bir yapıya sahip yeşil bir tatlı su algidir. Kloroplastın yanı sıra sık ve dağınık, çok sayıda prenoit içermektedir. Kontraktil koful düzensiz olarak protoplastın yüzeyine yakın ve dağınık olarak bulunmaktadır. Hücre duvarı selüloz yapıda, hücrede tek çekirdek ve hücreye bağlı eşit uzunlukta iki kamçı bulunmaktadır. En önemli metabolitleri astaksantin, β-Karoten, zeaksantin, kantaksantin, vitamin E ve vitamin C'dir. *H.pluvialis*, uygun olmayan ortam koşullarında astaksantin biriktirmesi bakımından biyoteknolojik olarak öneme sahip bir türdür (Köksal 2008) (Şekil 2).



Şekil 2. *H.pluvialis* (a. astaksantin pigmenti içeren hücreler, b. hücresel görünümü) (İrkin 2020)

Peyniraltı Suyu Tozu (PAST)

Fonksiyonel gıda, vücutta özel fizyolojik etki sağlayan, bazı hastalıkların oluşum riskini azaltan, koruyucu, tedavi edici ve ayrıca vücudun temel besin gereksinimlerini karşılayan gıda olarak tanımlanmaktadır. Süt ürünleri sağlık üzerine olumlu etkilerinin bilimsel olarak da desteklenmesi nedeniyle fonksiyonel gıda grubu içinde yer almaktadır. Süt teknolojisinde sütün peynire işlenmesi sonucunda artakalan sıvıya peyniraltı suyu adı verilmektedir (Dinçoğlu ve Ardıç 2012). Yapılan birçok çalışmada peyniraltı suyunun (PAS) sağlık açısından önemli faydalarının olduğunun anlaşılması, peyniraltı suyu ve bunlardan elde edilen ürünlerin fonksiyonel gıda bileşeni olarak kullanımının artmasına neden olmuştur (Argan vd 2015).

Ticari olarak en çok kullanılan süt ürünü peyniraltı suyu tozudur. Çünkü peyniraltı suyunun kurutulması hem ürünün raf ömrünü uzatmakta hem de kolay taşınabilirlik sağlamaktadır. Peyniraltı suyu tozu (PAST), PAS' ın uygun tesislerde kurutma işlemine tabi tutulmak suretiyle toz formuna getirilmesi sonucu oluşan, yüksek oranda laktoz içeren bir madde olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde PAST, bebek mamaları, yoğurtlar, şekerlemeler, unlu mamuller, et ürünleri, çorbalar, soslar ve içeceklerde gıda katkı maddesi olarak güvenle kullanılmaktadır (Yıldırım ve Güzeler 2014).

Peyniraltı suyu, süt teknolojisinin en önemli yan ürünlerinden biridir. Peynir yapımında kullanılan sütün yaklaşık %70-80 kadarı peynir suyuna gitmektedir. Peynir yapımına (Maya veya asit ile) göre peyniraltı suyunun birleşimi değişmektedir (Özdemir ve Özdemir 2012).

Tablo 2. Peyniraltı Suyunun Bileşimi (%)

	Maya İle Elde Edilen Peynir Altı Suyu	Asit İle Elde Edilen Peynir Altı Suyu
Su	93-94	94-95
Kuru Madde	6-7	5-6
Laktoz	4,5-5	3,8-4,2
% Asitlik	iz	0,8
Protein	0,8-1	0,8-1
Kül	0,5-0,7	0,7-0,8
pH	6,45	5 civarı
SH (Soxlet Henkel)	4 civarı	20-26
Yağ	0,3-0,7	0,1-0,3

Kinetik Modeller

Günümüzde mikroalg üretiminde bazı zorluklar yaşanmaktadır. Bunlarında en önemlisi hücre sayısının arttırılmasıdır. Ticari olarak yetiştirilen bu canlılardan yağ, pigment vb. elde edilmesinde hücre sayısının fazla olması gerekmektedir. Bu konuda mikroalglerin besin ortamlarının optimum seviyede hazırlanmasının yanı sıra hazırlanan besin ortamındaki birleşiklerin sayısal veriler üzerinden değerlendiriliyor olması kolaylık sağlamaktadır (Güler ve İmamoğlu 2021).

Mikroalglerin büyüme parametresini etkileyen temel etmenlerden biri besin ortamı konsantrasyonudur. Besin ortamı konsantrasyonunun iki makro besini olan azot (N) ve fosfor (P) birçok biyokimyasal sürecin parçası oldukları için hücre metabolizmasında önemli bir rol oynar. Azot esas olarak proteinler, amino asitler ve nükleik asitleri oluşturmak için kullanılırken, fosfor çoğunlukla nükleik asitlerin ve fosfolipitlerin bir bileşenidir (Bougaran *et al.* 2010).

Mikroalg büyüme hızı, N veya P tarafından sınırlandırılır. Ancak maksimum büyüme için N:P oranı türlere özgü değişebilmektedir. Büyüme teorisinde çoklu besinin büyümeyi sınırladığı varsayılmış ve deneysel olarak kanıtlanmıştır: (1) Dış besin konsantrasyonu ve alım hızı arasındaki ilişki Michaelis-Menten kinetik modeliyle ifade edilmiştir. (2) Tek bir sınırlayıcı besin ile büyüme oranı arasındaki ilişkide de konsantrasyon doygunluğa ulaşmıştır. Tek bir sınırlayıcı besine sahip büyüme modeli bu iki ilişkiyi birleştirmek, hem ışık ve sıcaklığın sabit olduğu hem de değişken olduğu ortamlarda test edilmiştir. (3) Çoklu sınırlayıcı besinlerle ilgili olarak, Liebig'in minimum yasasının geçerli olduğu gösterilmiştir. Büyüme, yalnızca en sınırlayıcı besin maddesinin mikroalgin, hücre içi konsantrasyonuna bağlıdır (Klausmeier *et al.* 2004).

1970'lerden bu yana araştırmacılar, besin konsantrasyonlarının fitoplankton büyümesi üzerindeki etkisine odaklanmış ve bu çalışmalarla birlikte çoklu besin sınırlamasını tanımlamak için iki ana model geliştirmişlerdir. Bunlardan biri olan çarpımsal model, karşılık gelen hücre içi doygunluğunun tam olmadığı, tüm besinlerin büyüme sınırlamasına katkıda bulunduğunu varsaymaktadır. Birkaç besin konsantrasyon sınırının optimalin altında olduğu durumlarda, çarpımsal model çok düşük büyüme tahminleri üretebilir. Diğer model olan eşik modelinde ise (minimum yasa olarak da adlandırılır), büyümenin her zaman, hücrenin gerçek ihtiyaçlarına göre en düşük olan tek bir besin tarafından kontrol edildiği belirtilmektedir (Bougaran *et al.* 2010).

Mikroalgal büyüme kinetiği sadece besin konsantrasyonu dikkate alındığında Monod ve Droop modelleri ile ifade edilir (Güler ve İmamoğlu 2021). Kesikli sistemlerde büyüme için gerekli olan besin maddelerinden yalnızca birisinin kısıtlı olması durumunda önce besin maddesi oranı hızlı azalır ve sonunda mikroalg büyümesi durur. Kesikli olmayan kültürlerde ise büyüme sınırlıdır. Deneysel olarak limitli substrat veya besin maddesinin etkisi Monod eşitliği ile belirlenir (Anonim 2020a). Bu model daha çok kültür ortamındaki tek bir besin elementinin büyümeye olan etkisinin incelendiği durumlarda veya düşük konsantrasyonlu besin ortamının olduğu koşullar için kullanılmaktadır (Güler ve İmamoğlu 2021). Ancak yüksek substrat konsantrasyonlarında gerçekleşen inhibisyonun etkisini Monod modeliyle açıklamak mümkün olmamaktadır. Bu nedenle substrat sınırlaması altında mikroalglerin büyümesini tespit etmek için Droop modeli kullanılmıştır. Droop modeli, mikroalglerin substrat absorpsiyonunu ve büyümesini ayırma yeteneğini yeniden ürettiği için yaygın olarak kullanılır (Bougaran *et al.* 2010).

Modeller, her zaman kolayca ölçülemeyen veya mevcut olmayan parametrelere bağlıdır ve sonuç olarak, kütle akışları, dinamikler ve fizyolojik değişkenler genellikle yeterince tespit edilemeyebilir. Geleneksel kütle tabanlı modeller (genellikle tek besin, N veya C) genellikle nispeten basittir ve klasik alım kinetik ilişkileri kullanılarak çalışır. Yine de, bu klasik ilişkiler bile birçok tür için zayıf bir şekilde karakterize edilmiştir veya farklı büyüme koşulları altında oldukça değişkenlik göstermektedir (Güler ve İmamoğlu 2021).

Genel olarak *H.pluvialis* türü ile yapılan çalışmalar ortam koşullarına bağlı (ışık, sıcaklık vb.) biyokütle değişimi ve astaksantin pigment içeriğinin arttırılmasına yönelik olmuştur (Göksan 2003, Eriştürk 2005, Akın 2005, İmamoğlu 2005, Köksal 2008, Çokcan 2015, Yılmaz 2019, Kalmaoğlu 2020). Bu çalışmada ise maliyeti düşük olan peyniraltı suyu tozu (PAST) kullanılarak *H.pluvialis*'in gelişimi üzerindeki etkisini incelemek amaçlanmıştır.

KURAMSAL TEMELLER

H.pluvialis'in gelişimine ortamdaki sodyum asetat, potasyum nitrat, ana elementler, eser elementler ve vitaminlerin etkileri incelenmiş, test edilen konsantrasyonlar aralığında, ana elementlerin orta düzeyde bir konsantrasyonu, hem spesifik büyüme hızı hem de hücre kuru ağırlığı açısından *H.pluvialis*'in büyümesini önemli ölçüde artırdığını, vitaminlerin ise önemli bir etkisi olmadığını tespit etmişlerdir. Biyokütle üretimi için optimal besin konsantrasyonlarını sodyum asetat için 1,64 g/L, potasyum nitrat için 0,37 g/L, ana element stok çözeltisi için 2,52 ml/L ve iz element stok çözeltisi için 0,03 ml/L olarak saptamışlardır (Gong and Chen 1997).

Abe *et al.* (2002) tarafından yürütülen bir çalışmada, *Trentepohlia aurea* türünün yüksek oranda nitrat, nitrit, amonyum ve fosfat iyonları içeren besin ortamlarında büyüme hızları ve giderim oranları araştırılmıştır. *T.aurea*'nın 141 mg/L NO₂-N içeren kültürdeki gelişiminin Bold Bazal ortamından 1,5 kat daha fazla olduğu ifade edilmiştir. Çalışmada nitrit ve nitrat giderim oranlarının sırasıyla %37 ve %32 olması bununla birlikte *T.aurea*'nın nitrite karşı toleransının diğer mikroalg türlerine göre yüksek olması nedeniyle atıksu arıtımında kullanım potansiyeli olduğunu tespit etmişlerdir.

Gölcük Göleti'nden (Bolu-Türkiye) izole edilen *Scenedesmus obliquus* türünün gelişimine ve protein üretimine, nitrat (8, 12, 16, 20 mM), fosfat (0,1 -0,3- 0,5- 0,7 mM) konsantrasyonlarının ve farklı pH'ların (7, 8) etkisi araştırılmıştır. Her iki pH'da nitrat, fosfat konsantrasyonlarının hücre sayısı, klorofil-a ve protein üretimini önemli oranda etkilediği belirtilmiştir. En yüksek hücre sayısına (15,5x10⁶ adet/ml) ve protein konsantrasyonuna (8,08 mg/l) pH 7'si ve 12 mM nitrat ve 0,3 mM fosfat bileşimi olan konsantrasyonunda ulaşıldığını tespit etmişlerdir (Balcı vd 2006).

Doğanay (2009) *Spirulina platensis* türünün optik yoğunluk, klorofil-a miktarı, kuru madde miktarı, büyüme hızı ve fikosiyanın içeriğini arttırması amacıyla 4 farklı besin ortamı (sadece Fe⁺³, sadece Fe⁺², Fe⁺²+ EDTA ve Fe⁺³+ EDTA) uygulaması çalışması yapmıştır. Araştırmasında optik yoğunluk ve klorofil-a miktarının sadece Fe⁺³ ve sadece Fe⁺² içeren grupta yüksek olduğunu, *S.platensis*'in gelişimine, ortamda EDTA bulunmadığında, Fe⁺² ve Fe⁺³ formunun etkili olduğunu ifade etmiştir.

Miksotrofik ve fotoototrofik koşullar altında yetiştirilen *Chlorella vulgaris*'in büyüme parametreleri ve biyokimyasal bileşiminin belirlendiği çalışmada, miksotrofik koşulda yetiştirilen *C.vulgaris*'in, fotoototrofik koşullar altında yetiştirilen *C.vulgaris*'den daha yüksek

spesifik büyüme oranına sahip olduğunu saptamışlardır. Bunun yanı sıra, inorganik kültür ortamının hidrolize peyniraltı suyu tozu çözeltisi eklenmesi, içinde büyümeyi teşvik eden besinlerin varlığından dolayı, saf glikoz ve galaktoz karışımı ile zenginleştirilmiş kültüre kıyasla mikroalgal biyokütle üretiminde ve karbonhidrat kullanımında önemli bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. Mikroalgal biyokütle üretiminin maliyetlerini azaltmak için PAST'ın uygun alternatif ürün olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Abreu *et al.* 2012).

Girard *et al.* (2014) mikсотrofik mikroalg kültürlerinde peyniraltı suyu permanantı (WP) ve glikoz ile galaktoz ilave ederek gelişim oranlarını araştırmışlardır. Kültür ortamının %40'ını WP ile değiştirmenin, fotoototrofik kontrol kültürlerine kıyasla mikсотrofik ve heterotrofik koşullar altındaki *Scenedesmus obliquus* büyümesini önemli ölçüde uyardığını ($\mu_{max} = 0,267 \pm 0,083$ gün⁻¹) belirtmişlerdir. Büyüme, laktoz varlığında meydana gelirken kültür ortamında galaktoz ve glikoz konsantrasyonlarının fiilen arttığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte kültür ortamı analizlerinde hücre dışı nitrojenin (nitrat ve amonyum) tamamen tükendiğini saptamışlardır.

Peyniraltı suyu proteininin ultra ve nanofiltrasyonundan elde edilen kalıntıların eklenmesiyle *Spirulina*'daki karbonhidrat içeriğinin değişimi araştırılmış, %20'ye seyreltilmiş Zarrouk ortamındaki besin eksikliği ve peyniraltı suyu kullanımının yüksek karbonhidrat üretkenliği (60 mg/Lgün) sağladığı, bununda biyoetanol üretiminde hammadde olarak mikroalglarla kullanım için uygun olduğunu bildirmişlerdir (Salla *et al.* 2016).

H. pluvialis besin ortamında asetat:nitrat:fosfat değeri 8.3: 4.7: 1 olacak şekilde deneme kurulmuş ve deneme süresince biyokütle artışına karşılık nitrat konsantrasyonu azalması, fosfat konsantrasyonunda ise artış ve azalışlar tespit etmişlerdir. En yüksek biyomas değerinin $0,73 \pm 0,03$ g/L olduğunu saptamışlardır (Sun *et al.* 2017).

Wang *et al.* (2018) yürüttükleri çalışmada tofu peyniraltı suyu atıksuyu (TWW) kullanılarak *Chlorella pyrenoidosa*'nın biyokütle verimliliğini incelemişlerdir. pH ayarlaması yoluyla TWW'nin, normal yeşil alg ortamı BG-11'e kıyasla ototrofik, heterotrofik ve mikсотropik koşullarda daha iyi bir kültür performansı gösterdiği; her bir ortam koşulunda *C.pyrenoidosa*'nın biyokütle üretkenliğinin, BG-11 ortamındaki kültürlenenden sırasıyla 4,76, 1,97 ve 2,08 kat daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir. TWW'nin mikroalg biyokütlesini arttırmak ve yüksek değerli ürünler üretmek için kullanılabilir olduğunu bu nedenle, iyi bir alternatif ortam olabildiğini bildirmişlerdir.

Tetrademus obliquus'un büyüme kinetiği, β -gal aktivitesi ve mineraller, laktoz, glikoz, galaktoz ve GOS (Galaktooligosakkarit) konsantrasyonlarındaki değişimi modifiye Bold's Bazal ortamında (BBM) ve WP (Peyniraltı suyu permanantı) katılarak araştırılmıştır. Çalışma

sonucunda *T. obliquus*'un büyüme oranı, BBM ile kıyaslandığında WP'de önemli ölçüde daha yüksek olduğu, bunun nedeninin WP'deki mineral konsantrasyonun nitrat dışında BBM'dan daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Bunun yanısıra WP besin ortamındaki *T. obliquus*'un büyüme oranı, BBM'daki büyüme oranından 4,5 kat daha yüksek olduğunu kaydetmişlerdir (Suwal *et al.* 2019).

Spirulina platensis 'in %2,5-5-10 konsantrasyonlarında peyniraltı suyu besin ortamına eklenmiş ve mikсотrofik ile ototrofik koşullar altında spesifik büyüme oranları, biyokütle üretkenliği ve karbonhidrat içeriği araştırmışlar; biyokütle veriminin %5 olan peyniraltı suyu içeren grupta $2,98 \pm 0.07$ g/L ile en yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. *S. platensis*'in mikсотrofik kültür ortamında, peyniraltı suyu kullanımının pahalı kimyasal besinlerin eklenmesinden daha az maliyetli olduğunu, *S. platensis*'in biyokütlesi ve karbonhidrat üretim için daha uygun alternatif bir ürün olarak seçilebileceğini bildirmişlerdir (Pereira *et al.* 2019).

Zimmermann *et al.* (2020) yaptıkları çalışmada heterotrofik *Galdieria sulphuraria* 'nın farklı konsantrasyonlarda peyniraltı suyu permanantı (%0 ila %40) içeren besin ortamlarındaki büyümesini incelemişler ve sonuçta en iyi koşulun %20 peyniraltı suyu konsantrasyonunda olduğunu tespit etmişlerdir.

Kavasbaşıoğlu vd (2020) tarafından 4 farklı besi ortamında yetiştirilen *Chlorella vulgaris* 'in büyüme parametreleri araştırılmış; hızlı büyüme evresinde, besin tuzlarından azotun besi yeri konsantrasyonunun azaldığı ancak, fosforun azalmayıp yatay şekilde seyrettiğini belirlemişlerdir.

Chlorella sorokiniana biyokütlesinin çeşitli nitrat konsantrasyonları içeren besin ortamlarındaki değişimi ve yağ asidi bileşimi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada, nitrojen azaltılmasının biyokütlenin büyümesini olumsuz etkilediğini, nitrat takviyesinin ise biyokütle büyüme oranlarını arttırdığını tespit etmişlerdir. KNO_3 konsantrasyonu 0,1 g/L'den 0,3 g/L'ye kadar olan besin ortamlarında biyokütle üretkenliğini değiştirmediği, daha yüksek KNO_3 konsantrasyonlarının (0,4 g/L) biyokütle verimini azalttığını belirtmişlerdir (Toumi and Palitaeva 2021).

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

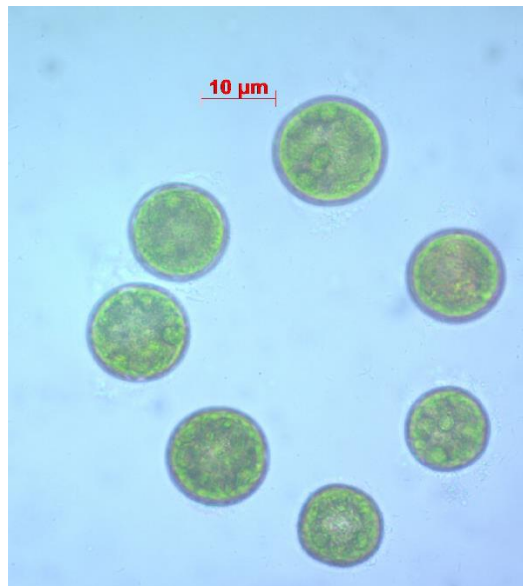
Haematococcus pluvialis Flotow 1844

Hücreler elipsoid 10-30 µm genişlik, 15-50 µm uzunluğa sahiptir. Hücre duvarı içeriğinden ışınal ipliklerle uzaklaşmıştır. Hücre duvarına doğru uzanan cytolazmik iplikler nedeniyle ışınal görünümündedir. Yeşil kloroplast bazen kırmızı renkli yağla örtülüdür. Protoplazmanın iç duvarı ile hücrenin dış duvarı arasında bir alan bulunur. Bu alan sulu bir jel ile doludur. Pirenoid sayısı değişiktir. Kaya oyuklarında ve açık yeşil veya küf kırmızı su birikintilerinde yoğun halde bulunur (Atay 1984). *H.pluvialis* sistematığı Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. *Haematococcus pluvialis* Flotow 1844 Sistematığı (Anonymous 2022a).

Grup	İsim
Alem	Bitki
Şube	Chlorophyta
Altşube	Chlorophytina
Sınıf	Chlorophyceae
Takım	Chlamydomonadales
Aile	Haematococcaceae
Cins	<i>Haematococcus</i>
Tür	<i>Haematococcus pluvialis</i>

Bu çalışmada, *Haematococcus pluvialis* türü Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’nden temin edilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. *Haematococcus pluvialis*’in mikroskop görüntüsü (200X, Orijinal)

Peyniraltı Suyu Tozu

Bu çalışmada kullanılan %70 demiralize peyniraltı suyu tozu Cici Süt Sanayi ve Tic.AŞ.'den temin edilmiştir. Deneme başlayıncaya kadar rutubetsiz ve serin ortamda +4 °C de ambalajı açılmadan muhafaza edilmiştir. Peyniraltı suyu tozu bileşimi Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Tez Çalışmasında Kullanılan Peyniraltı Suyu Tozunun Bileşimi (Anonim 2022b)

Bileşen	Değer
Nem	%0,87
Yağ	%1
Protein	%6,6
Kül	%5,5-%8,6
Laktoz	%82
Asitlik (Laktik asit cinsinden)	%0,06
pH	6,5
Tuz	%1,98
Renk	Açık sarı

Denemede kullanılan 3N-BBM+V ve PAST’ın kimyasal parametreleri Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5. Kültür Ortam Gruplarının Kimyasal Parametreleri

	3N-BBM+V	P5	P10	P15
NH ₃ -N (mg/L)	1,32	6,30	9,95	11,02
NO ₃ -N (mg/L)	0,01	0,01	0,01	0,02
NO ₂ -N (mg/L)	0,02	0,33	0,63	0,90
TP (mg/L)	48,85	23,15	17,43	21,81
pH	6,57	5,18	5,83	3,88

Yöntem

Kültür ve Deney Ortamının Hazırlanması

Sterilizasyon İşlemi

Deneme boyunca çoğaltma işlemleri ve izolasyon için gerekli tüm cam malzemeler ve peyniraltı suyu tozu katılarak hazırlanan besin ortamları WiseClave Digital Fuzzy Control System marka otoklav ile 15 psi basınç altında 121°C’de 15 dakika süreyle sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur.

Kültür Ortamı

Araştırma Atatürk Üniversitesi Su ürünleri Fakültesi Deneysel Araştırma Birimi'ndeki Temel Bilimler Laboratuvarı'nda yürütölmeye başlanmıştır. Başlangıçta mikroalgler 10 ml'lik tüplerde gelişime alınmıştır. Tüplerde gelişim gösteren mikroalgler önce 100 ml daha sonra 250 ml'lik erlenmayerlere alınmış, 25 °C'de, 43,15 µmol/m²s aydınlatmalı ve 110 rpm çalkalamalı inkübatörde (JRS Lab 32 marka) 16:8 saat gündüz-gece fotoperiyodunda yetiştirilmiştir (Şekil 4). Mikroalglerin yoğun üretimi için araştırma biriminde bulunan Alg Ünitesi'ndeki 3 L'lik kapaklı cam kaplara alınmıştır. Deneme süresi boyunca alglerin gereksinim duydukları ışık Philips marka beyaz ışık veren floresan lambalar ile sağlanmıştır (Şekil 5).



Şekil 4. İnkübatörde *H. pluvialis* gelişimi



Şekil 5. Peyniraltı suyu tozu katılarak oluşturulan *H. pluvialis* kültür ortamı

Besin Ortamı

Denemede besin ortamı olarak modifiye edilmiş 3N-BBM+V besin ortamı kullanılmıştır. Besin ortamı Culture Collection of Algae and Protozoa internet sitesinden alınmıştır (Tablo 6). Kültür ortamı hazırlamada kullanılan kimyasallar Dikomsan Elektronik Precisinon Balans marka hassas terazi ile tartılmıştır. Besin ortamının hazırlanması için gerekli olan saf su GFL 2008 marka saf su cihazından sağlanmıştır.

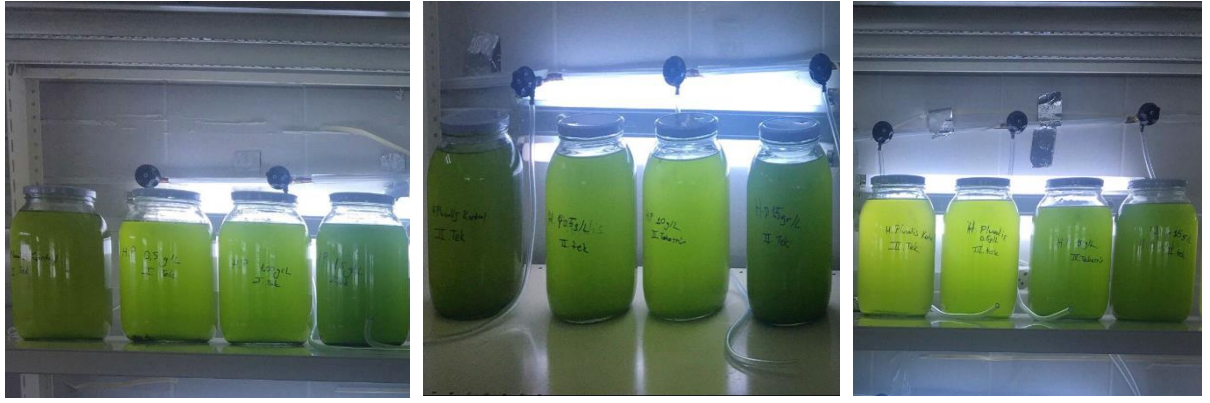
Tablo 6. *Haematococcus pluvialis*'in Besin Ortamı (Anonymous 2022b)

Solüsyon	Stok Solüsyon (g/L saf su)	Kullanılan Miktar
NaNO ₃	25	30 ml
CaCl ₂ .2H ₂ O	2,5	10 ml
MgSO ₄ .7H ₂ O	7,5	10 ml
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	7,5	10 ml
KH ₂ PO ₄	17,5	10 ml
NaCl	2,5	10 ml
İz Metal solüsyon	-	6 ml
Na ₂ EDTA	1000 ml distile su içerisine 0,75 g Na ₂ EDTA ilave edildikten sonra iz elementler eklenir.	
İz Metal Solüsyon*	Stok Solüsyon (g/L saf su)	Kullanılan Miktar
FeCl ₃ .6H ₂ O	0,097 g	-
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,041 g	-
ZnCl ₂	0,005 g	-
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,002 g	-
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,004 g	-

İz Metal Solüsyonu 914 ml saf su içerisine bütün birleşenler konduktan sonra 1L'ye tamamlanır.

Deney Ortamı

Denemede peyniraltı suyu tozu besin ortamına litreye 5 g, 10 g ve 15 g olacak şekilde eklenmiştir. Sterilizasyon uygulamasından sonra 3N-BBM+V ortamıyla birlikte hazırlanmış önceden sayısı belirlenmiş algler bu ortama aşılanmıştır. Kontrol grubu (K), ilave edilen grupların (P5, P10 ve P15) her biri 3'er tekerrürlü olacak şekilde oluşturulmuştur (Bold 1949; Bischoff ve Bold 1963). Deneme süresi boyunca kontrol grubu da dahil hiçbir gruba besin ortamı eklemesi yapılmamıştır. Deney ortamında pH değeri her gün ölçülmüş ve CO₂ (% 3) ilavesi yapılmıştır. Deney ortamının oda sıcaklığı 25°C olacak şekilde ayarlanmıştır (Şekil 6). Deney süresi geçiş fazı olan 14. günde tamamlanmıştır.



Şekil 6. Peyniraltı suyu tozu katılarak oluşturulan *H. pluvialis* deney ortamı

Günlük Ölçüm ve Analizi Yapılan Parametreler

Hücre Sayısının Hesaplanması

H.pluvialis gelişimini incelemek amacıyla hücre sayımı günlük olarak yapılmıştır. Homojen mikroalg örneğinden 3 ml alınmış sayım çemberinde Lugol solüsyonu damlatılarak 1 gece bekletilmiştir. Daha sonra Zeiss Primo Vert model invert mikroskopunda hücre sayımı yapılmıştır (Şekil 7) (Utermohl 1958; Anonymous 2003).

$$\text{Fitoplankton sayısı (adet/ml)} = \frac{CxAt}{AsxSxV}$$

Burada;

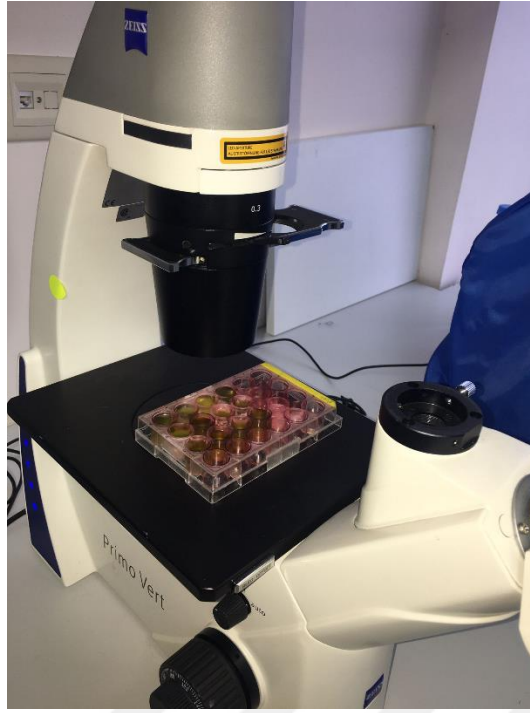
C = Sayılan organizma sayısı (adet),

At = Sayım hücresi dip alanı (mm²),

As = Görüş alanı (mm²),

S = Sayım yapılan görüş alanı sayısı (adet),

V = Çöktürülen örnek hacmi (ml)'dir.



Şekil 7. Hücre sayımı invert mikroskop

Biyokütlesinin Hesaplanması

H. pluvialis üretim aşamasında her gün biyokütlesi hesaplanmıştır. Optik yoğunluğu ölçmek için biyokütle ölçümü spektrofotometre ile yapılmıştır. Homojen örnekten 50 ml alınmış 13400 rpm’de ve 4°C’de 5 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Daha sonra santrifüjlenen örnekten pipet yardımıyla 3 ml alınmış kuvartz küvete yerleştirilmiştir. Shimadzu UVmini-1240 marka spektrofotometrede 680 nm dalga boyunda (Şekil 8) okuma yapılmıştır. Mikroalg biyokütlesi aşağıdaki formülden hesaplanmıştır (Kang *et al.* 2005).

$$\text{Kuru hücre ağırlığı (g/L)} = 0,668 \times A_{680}$$



Şekil 8. Biyokütle ölçümü için kullanılan spektrofotometre

pH Ölçümü

Deneme süresince her gün pH ölçümleri yapılmıştır. pH değerleri Mettler Toledo marka masa tipi pH metre ile ölçülmüştür (Şekil 9).



Şekil 9. *H.pluvialis* kültür ortamı pH ölçümü

Toplam Fosfor (TP) Analizi

Deneme süresince her bir gruptan alınan su örneklerinde toplam fosfor analizi yapılmıştır.

Toplam fosfor analizinde, ilk kademede (sindirme işlemi) persülfatla parçalanma tekniği kullanılarak parçalanmayı takiben serbest hale geçen ortofosfat askorbik asit metodu ile Anonymous (1995)'e göre tayin edilmiştir (Şekil 10).



Şekil 10. Deney ortamından alınan su örneklerinin toplam fosfor analizi

Amonyak-Azotu (NH₃-N) Analizi

Her bir deney ortamından alınan su örneklerinde amonyak-azotu analizi yapılmıştır. Amonyak azotu tayini, Nesslerizasyon metoduna göre belirlenmiştir. Bu metotta Nessler reaktifinin vermiş olduğu sarı rengin derişimine bağı renk şiddeti spektrofotometrede 410 nm dalga boyunda ölçülmüştür (Anonymous 1995) (Şekil 11).



Şekil 11. Deney ortamından alınan su örneklerinin amonyak-azotu analizi

Nitrit-Azotu (NO₂-N) Analizi

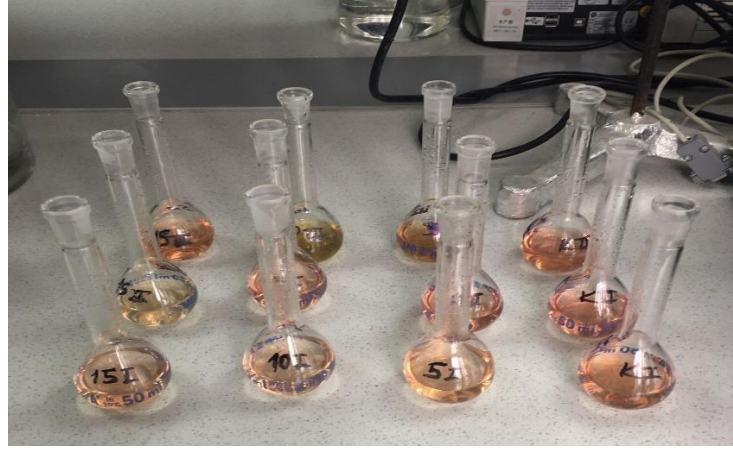
Her bir deney ortamından alınan su örneklerinde nitrit-azotu analizi yapılmıştır. Nitrit azotu analizi sülfanilik asitin diazonlanması ve N-1- naphthylethylenediamine dihidroklorit ile oluşan rengin spektrofotometrede 523 nm dalga boyunda ölçülmesiyle belirlenmiştir (Anonymous 1995) (Şekil 12).



Şekil 12. Deney ortamından alınan su örneklerinin nitrit-azotu analizi

Nitrat-Azotu (NO₃-N) Analizi

Her bir deney ortamından alınan su örneklerinde nitrat -azotu analizi yapılmıştır Nitrat azotu tayini, su örneğindeki nitrat iyonları ile brucine sülfat arasındaki reaksiyon sonucu oluşan sarı rengin spektrofotometrede 410 nm dalga boyunda ölçülmesi ile hesaplanmıştır (Anonymous 1995) (Şekil 13).



Şekil 13. Deney ortamından alınan su örneklerinin nitrat-azotu analizi

Kinetik Modelleme

Mikroalg kültüründe kullanılan ortamların içerisindeki besin konsantrasyonunun sınırlayıcı olduğu büyüme modellerinde daha çok Droop modeli kullanılır. Bu model mikroalglerin substratı kullanarak büyümeyi arttırabildikleri için inceleme ve matematiksel olarak karakterize edilebilmesini sağlar (Bougaran *et al.* 2010). Mikroalgal büyüme kinetiği sadece besin konsantrasyonu dikkate alındığında Monod modeli bir diğer denkliktir. Her iki denklik için sıcaklık ve ışık şiddetinin üretim boyunca sabit olduğu kabul edilir.

H. pluvialis'in substrata bağlı olarak Monod denkliği:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot C_s}{K_s + C_s}$$

μ , spesifik büyüme hızı (gün^{-1}); C_s , substrat konsantrasyonu (mg/L); $\mu_{\max}$, maksimum spesifik büyüme hızı (gün^{-1}); K_s , Monod doygunluk sabiti (mg/L)

İstatistik Analizler

H. pluvialis'in biyokütlesinin, hücre sayısının, pH, Monod denkliğine göre spesifik büyüme oranının, toplam fosfor derişiminin, amonyak-azotu derişiminin, nitrat-azotu derişiminin ve nitrit-azotu derişiminin gruplara ve günlere bağlı değişimi IBM SPSS 20 kullanılarak One-Way (ANOVA) testi ile belirlenmiştir. Farklılıkların önem düzeyleri DUNCAN testine göre değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Kesici ve Kocabaş (2007)'dan yararlanılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Temel Bilimler Laboratuvarı ve Alg Ünitesi'nde yürütülmüştür. Deneme süresi boyunca kontrol (K) ve 3 farklı dozda (P5, P10, P15) hazırlanan PAST'tan toplam 12 kültür ortamı oluşturulmuştur. Deneme boyunca her gün hücre sayımı, biyokütle, pH, kültür ortamının toplam fosfor, amonyak-azotu, nitrat-azotu ve nitrit-azotu analizleri yapılmıştır. Bununla birlikte *H.pluvialis* spesifik büyüme hızı Monod denkliğine göre hesaplanmıştır.

Deneme Gruplarına Ait Hücre Sayısı, Biyokütle ve Bazı Su Kalite Parametreleri

H.pluvialis Hücre Sayısı

H. pluvialis hücre sayısında güne ve gruplara göre meydana gelen farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 7). Hücre sayısının ortalama değerleri gruplara göre (K, P5, P10 ve P15) sırasıyla $763,34\pm419,62$ hücre/ml; $951,60\pm388,20$ hücre/ml $1105,27\pm380,35$ hücre/ml ve $978,63\pm411,07$ hücre/ml olarak hesaplanmıştır. P10 grubunda hücre sayısı diğer gruplar ile karşılaştırıldığında günlere bağlı değişimi oransal olarak en yüksek tespit edilmiştir. Bu araştırmada, hücre sayısı 4. günden itibaren artış göstermeye başlamış, kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda 6. günden itibaren durgun faz aşamasına geçilmiş ve 12. günden sonra azalma gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda ise 8. ve 9. günlerde en yüksek hücre sayısına ulaşmasını takiben hızlı bir düşüş saptanmıştır (Şekil 14). Besin ortamına PAST'ın ilave edilmesi *H. pluvialis* hücre sayısını arttırdığı tespit edilmiştir.

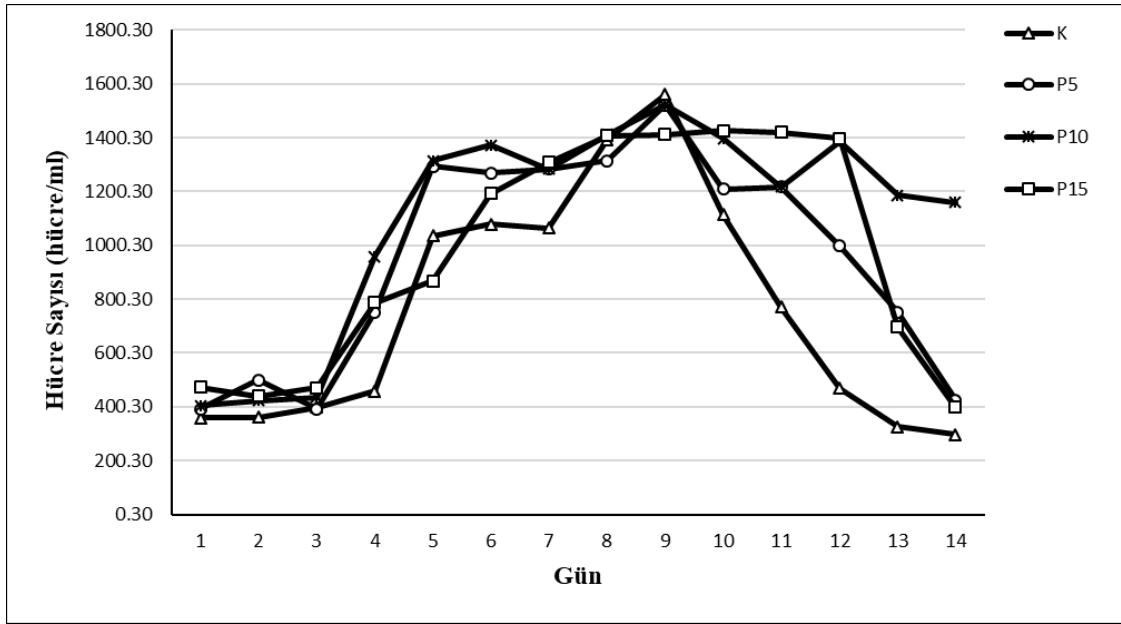
Tablo 7. *Haematococcus pluvialis* Hücre Sayısının (hücre/ml) Grup ve Günlere Göre Değişimi (n=3; ORT±SD)

Gün	K	P5	P10	P15
1	358,57 ±33,07^{Be}	391,86 ± 58,22 ^{ABe}	405,18 ±12,44 ^{Ae}	473,66 ±106,49 ^{ABe}
2	360,47 ±8,24 ^{Be}	499,34 ± 0,00 ^{ABe}	423,25 ±23,24 ^{Ae}	440,37 ±28,01 ^{ABe}
3	399,47 ±0,00 ^{Be}	391,86 ± 8,24 ^{ABe}	435,61±10,80 ^{Ae}	470,80 ±64,50 ^{ABe}
4	459,39 ±0,00 ^{Bd}	752,34 ± 38,53 ^{ABd}	959,68 ±79,96 ^{Ad}	786,58 ±51,07 ^{ABd}
5	1034,82 ±37,99 ^{Bb}	1293,52 ± 64,33 ^{ABb}	1314,45 ± 31,43 ^{Ab}	867,42 ±0,00 ^{ABb}
6	1078,57 ±0,00 ^{Bab}	1269,75 ±116,78 ^{ABab}	1372,47 ±30,06 ^{Aab}	1192,70 ±0,00 ^{ABab}
7	1065,25±42,74 ^{Bab}	1284,01±0,00 ^{ABab}	1284,01 ± 49,99 ^{Aab}	1308,74 ±70,84 ^{ABab}
8	1392,44 ±0,00 ^{Bab}	1315,40 ±0,00 ^{ABab}	1412,41 ±9,88 ^{Aab}	1406,71 ±0,00 ^{ABab}
9	1560,79 ±0,00^{Ba}	1520,84 ±12,44 ^{ABa}	1520,84 ±15,72 ^{Aa}	1412,41 ±0,00 ^{ABa}
10	1113,76±23,06 ^{Bab}	1209,82 ±34,59 ^{ABab}	1397,20 ±9,17 ^{Aab}	1426,68 ±2,85 ^{ABab}
11	771,36 ±65,71^{Bab}	1216,48 ±31,30^{ABab}	1216,48 ±13,18^{Aab}	1420,97 ±0,00^{ABab}
12	468,90 ±78,37 ^{Bc}	998,68 ±135,56 ^{ABc}	1386,73±29,65 ^{Ac}	1398,15 ±0,00 ^{ABc}
13	325,28 ±44,47 ^{Bd}	752,34 ±101,46 ^{ABd}	1158,46±25,36 ^{Ad}	696,22 ±0,00 ^{ABd}
14	297,70 ± 1,647 ^{Bd}	426,10 ± 116,58 ^{ABd}	1102,27±12,44 ^{Ad}	399,47 ±0,00 ^{ABd}

*A,AB,B: Büyük harfler aynı gündeki gruplar arasındaki farkı göstermektedir ve aynı satırda farklı büyük harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

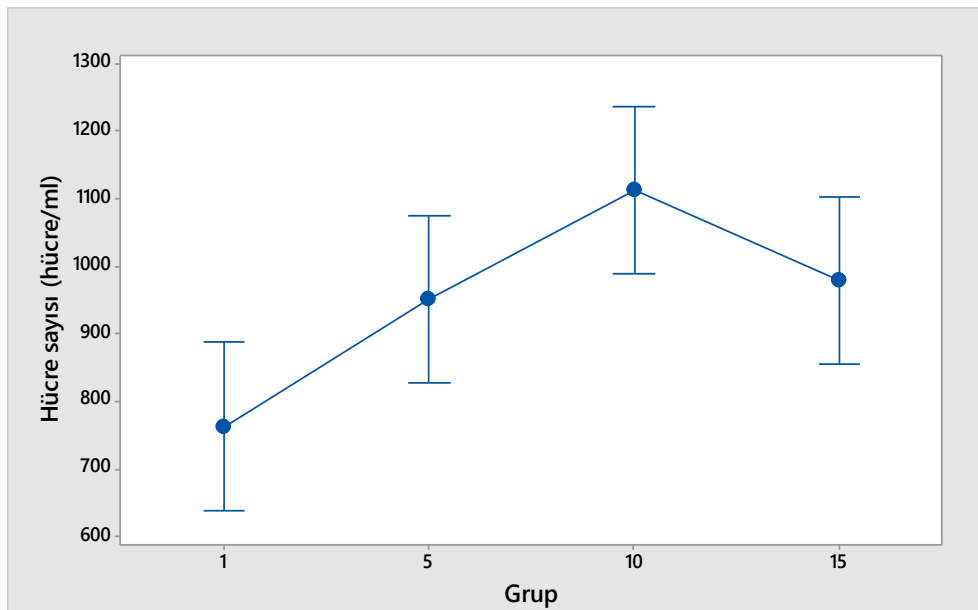
a, ab, b, c,d,e: Küçük harfler aynı gruptaki günler arasındaki farkı göstermektedir ve aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan günler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

Besin ortamlarına PAST eklenmesi bütün mikroalg türlerinde aynı etkiyi göstermemektedir. Girard *et al.* (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada, *Scenedesmus obliquus*, *S.acutus*, *Chlorella vulgaris* ve *C. protothecoides* peyniraltı suyu süzüntüsü ile BBM (Bold Bazal Medium) ortamında ve *C. protothecoides* türü için ayrıca soya proteini katılmış BBM ortamı hazırlanmış ve hücre sayıları incelenmiş; *S. obliquus* en yüksek hücresel konsantrasyonlara ($25 \pm 4 \times 10^6$ hücre/ml) ulaştığı; laktozun *Scenedesmus'un* büyümesini desteklediği ancak *C. protothecoides*'in hücre sayısında bir değişiklik yapmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PAST ilavesi yapılan *H.pluvialis*'in hücre sayısının arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 14. *H.pluvialis* hücre sayısının (hücre/ml) günlere bağlı değişimi

Araştırma boyunca gruplar arasındaki hücre sayıları farkı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). En düşük hücre sayısı kontrol grubunda, en yüksek hücre sayısı ise P10 grubunda hesaplanmıştır (Şekil 15). *Chlorella prenoidosa* kültüründe tofu peyniraltı suyu atık suyunun farklı konsantrasyonlarında (0, %20, %40, %60, %80 ve %100) katılarak hücre gelişimine etkisi araştırılmış; peyniraltı atık suyu kullanımının sadece BBM ortamına göre daha fazla hücre sayısını arttırdığını, bununla birlikte sadece peyniraltı suyu atık suyunun kullanımında hücre sayısının $83,5 \times 10^6$ hücre/ml olduğunu saptamışlardır. Peyniraltı suyunun mikroalg kültürlerinde hücre sayısının arttırmak için uygun ve ucuz bir besin ortamı olduğunu bildirmişlerdir (Wang *et al.* 2018).



Şekil 15. *H.pluvialis* hücre sayısının (hücre/ml) gruplara bağlı değişimi

***H.pluvialis* Biyokütlesi**

H.pluvialis biyokütlesi güne ve gruplara göre farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Ortalama biyokütle değeri en düşük kontrol grubunda ($0,84\pm0,36$ g/L), en yüksek P15 grubunda ($1,26\pm0,55$ g/L) tespit edilmiştir (Tablo 8). Deneme boyunca gün ve gruplar baz alındığında en yüksek biyokütle değeri P5 dışındaki tüm gruplarda 12. günde hesaplanmıştır. *Chlorella vulgaris* besin ortamına karbon kaynağı olarak peyniraltı suyu tozu, glikoz ve galaktoz uygulamaları yapılmış; sadece PAST uygulamasında biyokütle değeri 1,22 g/L, sadece glikoz+galaktoz uygulamasında ise 2,24 g/L olarak hesaplamışlardır (Abreu *et al.* 2012). Bu çalışmada ise en yüksek biyokütle değeri 15g/L peyniraltı suyu tozu kullanımında $2,32\pm 0,18$ g/L olarak saptanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda yapmış olduğumuz denemede PAST kullanımının türe bağlı olarak biyokütlede artış sağlayabileceği öngörülmektedir.

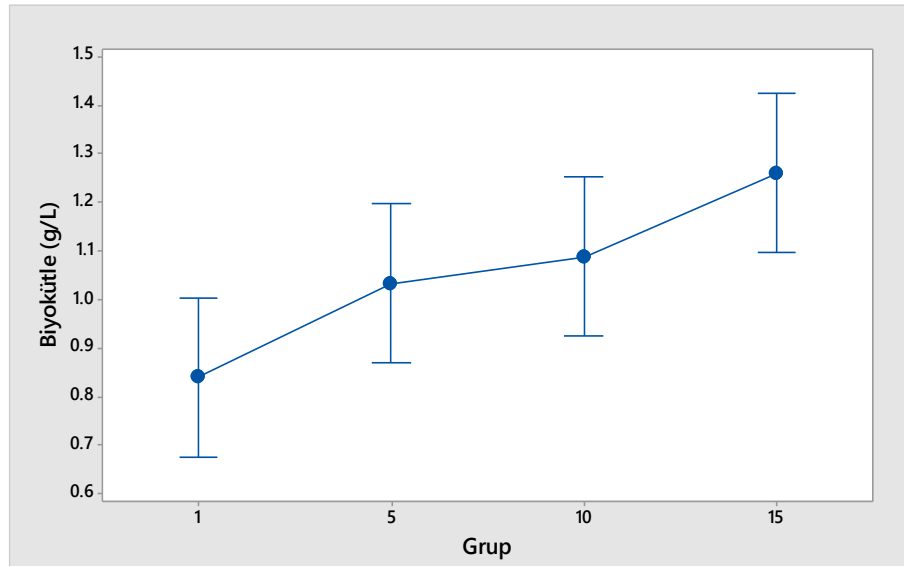
Tablo 8. *H.pluvialis* Biyokütlesinin (g/L) Grup ve Günlere Göre Değişimi (n=3; ORT±SD)

Gün	K	P5	P10	P15
1	0,57±0,015 ^{Bc*}	0,66± 0,044 ^{ABc}	0,46± 0,031^{ABc}	0,77± 0,017 ^{Ac}
2	0,56±0,051 ^{Bc}	0,64± 0,015 ^{ABc}	0,46± 0,000^{ABc}	0,83± 0,006 ^{Ac}
3	0,55±0,017 ^{Bc}	0,63± 0,010 ^{ABc}	0,47± 0,021 ^{ABc}	0,83± 0,010 ^{Ac}
4	0,53±0,000 ^{Bc}	0,63± 0,006 ^{ABc}	0,50± 0,030 ^{ABc}	0,83± 0,006 ^{Ac}
5	0,56±0,035 ^{Bc}	0,64± 0,012 ^{ABc}	0,64± 0,025 ^{ABc}	0,86± 0,023 ^{Ac}
6	0,56±0,026 ^{Bc}	0,64± 0,006 ^{ABc}	0,63± 0,023 ^{ABc}	0,86± 0,010 ^{Ac}
7	0,57±0,029 ^{Bc}	0,63± 0,029 ^{ABc}	0,65± 0,013 ^{ABc}	0,88± 0,012 ^{Ac}
8	0,57±0,058 ^{Bc}	0,67± 0,017 ^{ABc}	0,69± 0,035 ^{ABc}	0,87± 0,012 ^{Ac}
9	0,67±0,035 ^{Bb}	1,56± 0,196 ^{ABb}	1,93± 0,082 ^{ABb}	1,56± 0,297 ^{Ab}
10	1,27±0,058 ^{Bab}	1,47± 0,195 ^{ABab}	1,89± 0,553 ^{ABab}	1,98± 0,391 ^{Aab}
11	1,35±0,078 ^{Ba}	1,70± 0,088 ^{ABa}	2,01± 0,106 ^{ABa}	2,26± 0,067 ^{Aa}
12	1,43±0,006 ^{Ba}	1,66± 0,053 ^{ABa}	2,14± 0,134 ^{ABa}	2,32± 0,182^{Aa}
13	1,32±0,089 ^{Bb}	1,57± 0,553 ^{ABb}	1,45± 0,398 ^{ABb}	1,44± 0,349 ^{Ab}
14	1,26±0,076 ^{Bb}	1,37± 0,324 ^{ABb}	1,29± 0,159 ^{ABb}	1,34± 0,097 ^{Ab}

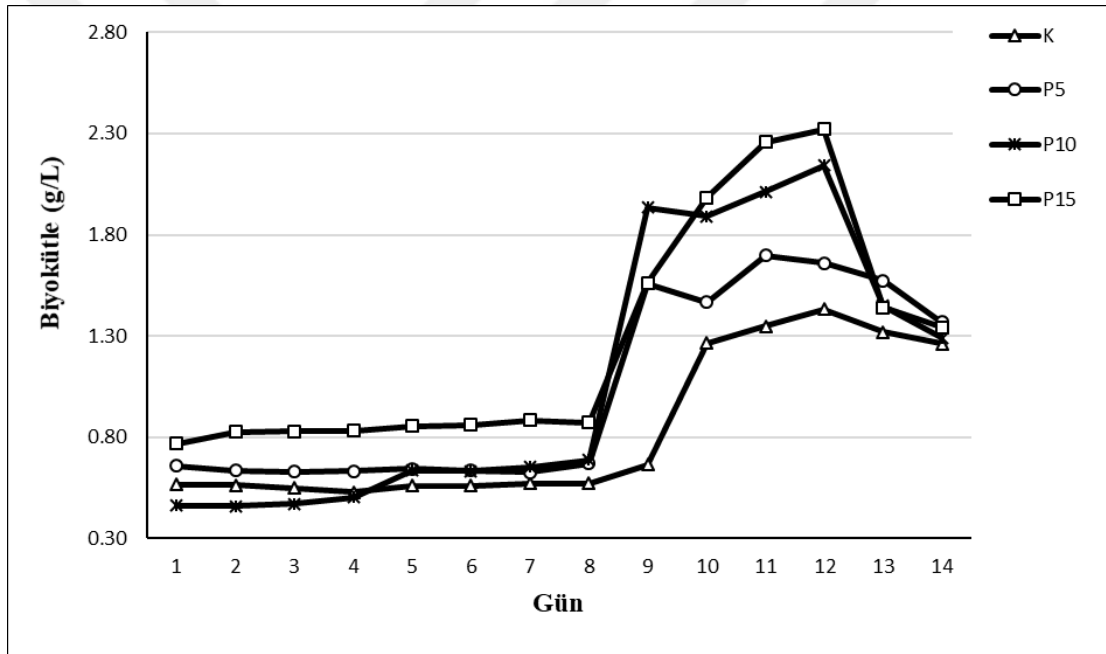
*A,AB,B: Büyük harfler aynı gündeki gruplar arasındaki farkı göstermektedir ve aynı satırda farklı büyük harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

a, ab, b, c: Küçük harfler aynı gruptaki günler arasındaki farkı göstermektedir ve aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan günler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

Deneme boyunca, en düşük biyokütle kontrol grubunda 0,84±0,36 g/L, P5 ve P10 gruplarında ortalama biyokütle değeri sırasıyla 1,03±0,46 g/L ve 1,09±0,64 g/L, en yüksek biyokütle değeri ise P15 grubunda 1,26±0,55 g/L olarak hesaplanmıştır (Şekil 16). Biyokütle artışı 4. günden sonra başlamış, 12. günde en yüksek değere ulaşmıştır (Şekil 17). Mikroalg biyokütle artışında azot ve fosfor temel besin elementlerinin bulunmasının yanı sıra inorganik ve organik karbon ilavesinin fotosentezi arttırdığı bildirilmiştir (Girard *et al.* 2014). Chlorophyta grubunda yer alan *Scenedesmus* ve *Chlorella* ait bazı türlerde yapılan araştırmalarda peyniraltı suyu ve/veya tozu kullanımının sadece türe uygun olan besin oranları (BBM, BG-11 vb.) kullanımına göre biyomasi daha fazla arttırdığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte aynı araştırmalarda peyniraltı suyu ve/veya tozu kullanımına glikoz eklenmesinin de biyokütleyi 3-4 kat arttırdığı örneğin *C.prenoidosa* sadece BG-11 ortamında biyokütlesi 0,28 g/L iken, peyniraltı suyu ve glikoz katılarak oluşturulan ortamda biyokütlesi 4,76 g/L olduğunu tespit etmişlerdir (Girard *et al.* 2014; Tsocha *et al.* 2015; Wang *et al.* 2018).



Şekil 16. *H.pluvialis* biyokütlesinin gruplara bağlı değişimi



Şekil 17. *H.pluvialis* biyokütlesinin (mg/L) günlere bağlı değişimi

pH Değişimi

H.pluvialis kültür ortamının pH değerinin güne ve gruplara göre farklılığı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Deneme boyunca, en düşük pH değeri ortalama $7,14 \pm 0,47$ kontrol grubunda, P15 ve P10 gruplarında ortalama pH değeri sırasıyla $7,52 \pm 0,43$ ve $7,72 \pm 0,45$ en yüksek pH değeri ortalama ise P5 grubunda $7,79 \pm 0,30$ olarak ölçülmüştür Tablo 9). Mikroalg büyümesi için kültür ortamının ideal pH değeri 7 ile 9 arasındadır (Tsolcha *et al.* 2015). Bu değer türe bağlı olarak değişmektedir. Bununla birlikte mikroalg kültür ortamlarındaki pH değişimi büyümenin başında genellikle daha düşüktür ve biyokütle artışıyla birlikte ortamdaki karbon miktarının artmasıyla artar (Kavasbaşıoğlu vd 2020). Bu araştırmada

da 14. gün pH değeri başlangıç pH değerinden yüksek bulunmuştur. Gruplara göre (kontrol, P5, P10 ve P15) pH değeri 14. günde sırasıyla $9,44 \pm 0,28$; $9,87 \pm 0,28$; $9,74 \pm 0,57$ ve $9,21 \pm 0,46$ olarak ölçülmüştür.

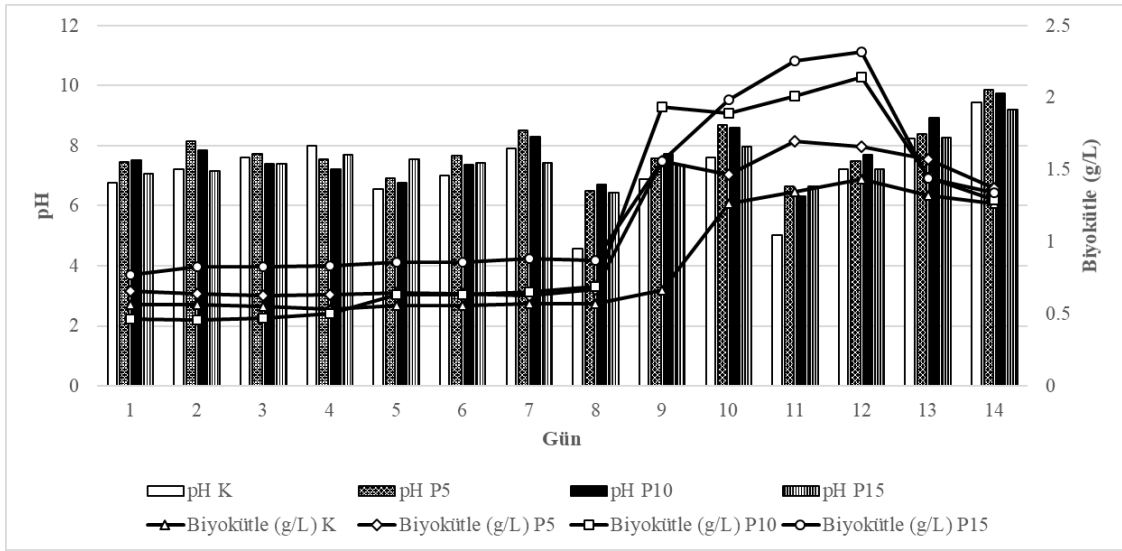
Tablo 9. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında pH Değerinin Gruplara ve Günlere Göre Değişimi (n=3; ORT $\pm$ SD)

GÜN	K	P5	P10	P15
1	$6,77 \pm 0,07^{dB}$	$7,46 \pm 0,61^{dA}$	$7,53 \pm 0,63^{dAB}$	$7,06 \pm 0,39^{dAB}$
2	$7,21 \pm 0,10^{bB}$	$8,15 \pm 0,60^{bA}$	$7,84 \pm 0,22^{bAB}$	$7,15 \pm 0,32^{bAB}$
3	$7,62 \pm 0,06^{bB}$	$7,71 \pm 0,39^{bA}$	$7,41 \pm 0,29^{bAB}$	$7,39 \pm 0,17^{bAB}$
4	$8,00 \pm 0,05^{bB}$	$7,56 \pm 0,68^{bA}$	$7,20 \pm 0,55^{bAB}$	$7,69 \pm 0,58^{bAB}$
5	$6,56 \pm 0,45^{eB}$	$6,93 \pm 0,12^{eA}$	$6,78 \pm 0,16^{eAB}$	$7,55 \pm 0,60^{eAB}$
6	$7,02 \pm 0,66^{cB}$	$7,68 \pm 0,12^{cA}$	$7,36 \pm 0,28^{cAB}$	$7,43 \pm 0,82^{cAB}$
7	$7,92 \pm 1,05^{bB}$	$8,50 \pm 0,30^{bA}$	$8,29 \pm 0,35^{bAB}$	$7,42 \pm 0,75^{bAB}$
8	$4,57 \pm 1,13^{fB}$	$6,49 \pm 0,30^{fA}$	$6,70 \pm 0,21^{fAB}$	$6,44 \pm 0,18^{fAB}$
9	$6,88 \pm 0,14^{cB}$	$7,56 \pm 0,19^{cA}$	$7,72 \pm 0,50^{cAB}$	$7,35 \pm 0,47^{cAB}$
10	$7,61 \pm 0,24^{bB}$	$8,68 \pm 0,14^{bA}$	$8,59 \pm 0,68^{bAB}$	$7,96 \pm 0,56^{bAB}$
11	$5,02 \pm 2,00^{fB}$	$6,65 \pm 0,05^{fA}$	$6,32 \pm 0,53^{fAB}$	$6,65 \pm 0,08^{fAB}$
12	$7,23 \pm 0,17^{cB}$	$7,50 \pm 0,06^{cA}$	$7,70 \pm 0,71^{cAB}$	$7,22 \pm 0,20^{cAB}$
13	$8,24 \pm 0,31^{bB}$	$8,39 \pm 0,44^{bA}$	$8,94 \pm 0,72^{bAB}$	$8,28 \pm 0,45^{bAB}$
14	$9,44 \pm 0,28^{aB}$	$9,87 \pm 0,28^{aA}$	$9,74 \pm 0,57^{aAB}$	$9,21 \pm 0,46^{aAB}$

*A,AB,B: Büyük harfler aynı günde gruplar arasındaki farkı göstermektedir ve aynı satırda farklı büyük harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

a,b,c,...: Küçük harfler aynı gruptaki günler arasındaki farkı göstermektedir ve aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan günler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

Bu çalışmada, pH 7,5'in üzerine çıktığı 12. günde *H. pluvialis*'in biyokütlesi en yüksek (2,13 g/L) değere ulaşmıştır. En düşük biyokütle değeri ise 1. günde (0,61 g/L) pH 7,20 de hesaplanmıştır. Araştırma boyunca pH değeri 5,02-8,94 olarak ölçüldüğünde biyokütle değeri bütün gruplarda ortalama 1,83 g/L-1,89 g/L aralığında tespit edilmiştir (Şekil 18). Tofu peyniraltı atık suyu uygulanan *Chlorella vulgaris* kültüründe pH 5,5-8 arasında gelişimin en kötü olduğu, en iyi gelişimin ise nötr ve alkali ortam koşullarında olduğunu tespit etmişlerdir (Wang *et al.* 2018).



Şekil 18. *H. pluvialis* biyokütlesinin (g/L) pH değerine bağlı değişimi

Toplam Fosfor (TP)

Deneme boyunca toplam fosfor derişiminin güne bağı değişimi istatistiki olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$), gruplar arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). *H. pluvialis*'in her bir kültür grubunun kendi içerisinde günlere bağı değişiminde en düşük değer 8. günde p10 grubunda ($51,00 \pm 12,16$ mg/L) hesaplanırken, toplam fosfor değeri, en yüksek 5. günde P5 grubunda ($115,97 \pm 28,95$ mg/L) tespit edilmiştir. Bu çalışmada, grupların (kontrol, P5, P10 ve P15) toplam fosfor derişimi sırasıyla ortalama $69,16 \pm 6,70$ mg/L, $66,98 \pm 5,99$ mg/L, $67,88 \pm 3,13$ mg/L ve $65,66 \pm 5,71$ mg/L olarak hesaplanmıştır (Tablo 10).

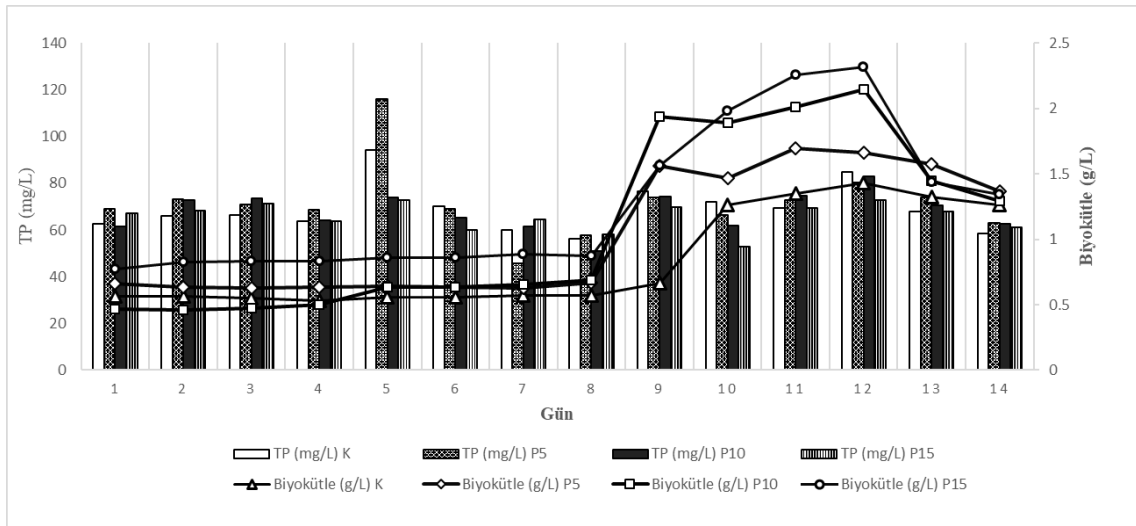
Fosfor ve azot birçok endüstriyel atık suların içerisinde bulunan ve her endüstride giderimi için farklı prosesler uygulanan besin elementleridir. Peynir üretimi yapan süt endüstrilerinde peyniraltı atık suyundaki azot ve fosfor biyoremediasyonu için mikroalgler kullanılmaktadır; çünkü her ikisi de mikroalglerin büyümesi ve gelişimi için hücre yapısı ve fonksiyon birleşimini oluşturan önemli makro besinlerdir (Patel *et al.* 2020). Mikroalg hücre içindeki fosfor derişimi besin ortamındaki fosfor konsantrasyona bağı olarak değişmesine rağmen mikroalgler fosfor miktarındaki değişikliklere ışık ve sıcaklık gibi diğer çevresel şartlar kadar hızlı tepki vermezler (Sajjadi *et al.* 2018).

Tablo 10. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında Toplam Fosfor Değişiminin (mg/L) Gün ve Gruplara Bağlı Değişimi (n=4; ORT±SD)

GÜN	K	P5	P10	P15
1	62,69±7,82 ^{c*}	69,08±0,03 ^c	61,65±0,02 ^c	67,09±0,12 ^c
2	66,11±0,15 ^b	73,08±3,49 ^b	72,80±0,09 ^b	68,13±5,88 ^b
3	66,47±4,86 ^b	70,85±3,38 ^b	73,47±2,32 ^b	71,21±3,69 ^b
4	63,67±3,14 ^c	68,75±2,11 ^c	64,12±1,02 ^c	63,76±1,36 ^c
5	94,19±24,41 ^a	115,97±28,95^a	73,83±5,13 ^a	72,79±4,04 ^a
6	69,96±2,68 ^c	69,00±9,05 ^c	65,17±5,06 ^c	59,97±4,53 ^c
7	59,97±7,84 ^d	45,69±11,34 ^d	61,55±1,79 ^d	64,52±8,49 ^d
8	56,04±4,27 ^e	57,68±5,55 ^e	51,00±12,16^e	58,24±8,71 ^e
9	76,44±5,32 ^b	73,84±2,82 ^b	74,32±1,88 ^b	69,68±8,63 ^b
10	72,20±12,52 ^c	66,24±4,24 ^c	61,72±1,88 ^c	52,77±5,98 ^c
11	69,51±3,65 ^b	72,69±7,38 ^b	74,48±1,48 ^b	69,51±4,03 ^b
12	84,67±7,81 ^a	80,12±2,78 ^a	83,03±4,35 ^a	72,91±8,28 ^a
13	67,93±6,49 ^b	73,77±0,73 ^b	70,47±3,80 ^b	67,77±10,74 ^b
14	58,51±2,94 ^c	63,05±2,03 ^c	62,79±2,96 ^c	61,01±5,52 ^c

*a,b,c,d,e: Küçük harfler aynı gruptaki günler arasındaki farkı göstermektedir ve aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan günler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

Bu araştırmada, fosfor derişimi *H.pluvalis*'in lag fazında artış göstermiş, log fazında azalmış, geçiş fazında tekrar artışa geçmiştir (Şekil 19). *Chlorella vulgaris* göl suyu, azotla zenginleştirilmiş TAP (Tris-Acetate-Phospahte) besin ortamı ve evsel atık su ortamlarında kültüre alınarak biyokütlesi ve biyoremidasyon özelliği araştırılmış; araştırma sonucunda göl suyu besi ortamındaki fosfor değerleri log fazı sonuna kadar yatay bir seyir göstermiş, durgun fazda ise azalmaya başladığı tespit edilmiştir. (Kavasbaşıoğlu vd 2020). Farklı bir araştırmada ise TN ve TP oranı 40:60 ve 25:75 olarak hazırlanan kültür ortamlarında *C.prototohecodes* türünün azot ve fosfor biyoremidasyon kapasitesi araştırılmış; P uzaklaştırma verimliliği, N uzaklaştırma verimliliğinden nispeten daha düşük olduğunu, TN'ü %98,4'e kadar, TP'ü ise %79,9'a kadar uzaklaştırdığını bildirmişlerdir (Patel *et al.* 2020).



Şekil 19. *H.pluvalis* biyokütlesinin TP değerine bağlı değişimi

Amonyak-Azotu (NH₃-N)

Araştırma boyunca *H.pluvialis*'in kültür ortamındaki NH₃-N derişiminin güne ve gruplara göre farklılığı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). Deneme boyunca, en düşük NH₃-N değeri ortalama 1,38±0,36 mg/L ile P15 grubunda, en yüksek NH₃-N değeri ise P10 grubunda ortalama 2,08±0,41mg/L olarak hesaplanmıştır. Kontrol ve P5 gruplarında NH₃-N değeri sırasıyla ortalama 1,52±0,26 mg/L ve 1,69±0,15 mg/L olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte NH₃-N derişiminde kontrol grubu haricinde güne bağılı olarak azalma gözlenmiş olup, NH₃-N derişiminde P5, P10 ve P15 gruplarında sırasıyla %61, %76 ve %25 oranında düşüş kaydedilmiştir (Tablo 11). Miksotrofik ve fototrofik kültür ortamlarında süt endüstrisi atık sularından amonyum ve fosfor giderimi araştırılmış; miksotrofik mikroalg kültür koşullarında % 48,5-98,4 oranlarında giderim yapıldığı bildirilmiştir (Patel *et al.* 2020).

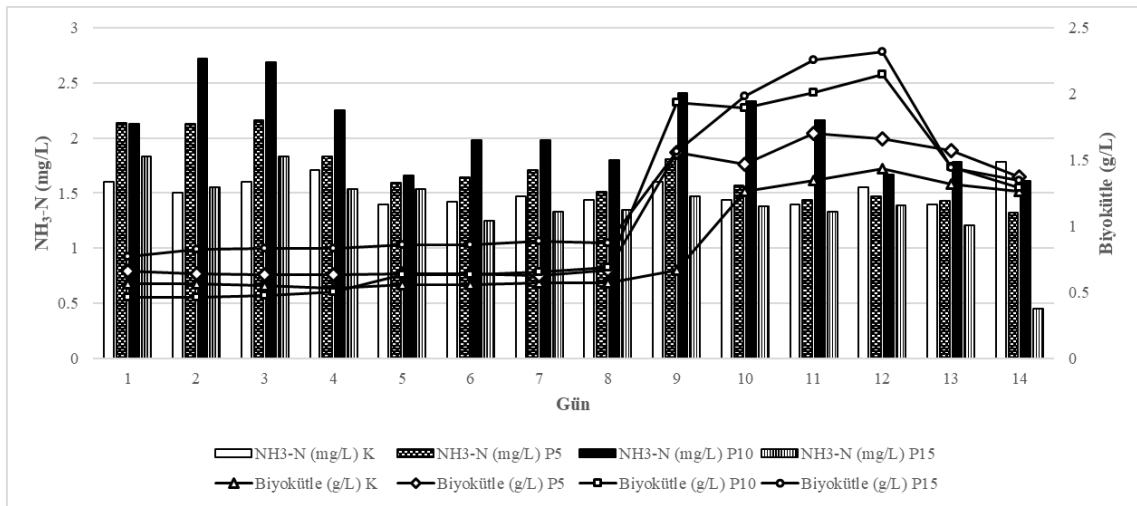
Tablo 11. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında NH₃-N Değişiminin (mg/L) Gün ve Gruplara Bağlı Değişimi (n=4; ORT±SD)

GÜN	K	P5	P10	P15
1	1,60±0,26 ^{Cab*}	2,14±0,10 ^{Bab}	2,13±0,07 ^{Aab}	1,83±0,12 ^{Cab}
2	1,50±0,13 ^{Cab}	2,13±0,38 ^{Bab}	2,72±0,15 ^{Aab}	1,55±0,32 ^{Cab}
3	1,60±0,30 ^{Ca}	2,16±0,12 ^{Ba}	2,69±0,42 ^{Aa}	1,83±0,68 ^{Ca}
4	1,71±0,44 ^{Cab}	1,83±0,26 ^{Bab}	2,25±0,19 ^{Aab}	1,54±0,67 ^{Cab}
5	1,40±0,28 ^{Cab}	1,59±0,06 ^{Bab}	1,66±0,36 ^{Aab}	1,54±0,56 ^{Cab}
6	1,42±0,17 ^{Cab}	1,64±0,16 ^{Bab}	1,98±0,31 ^{Aab}	1,25±0,14 ^{Cab}
7	1,47±0,21 ^{Cab}	1,71±0,22 ^{Bab}	1,98±0,32 ^{Aab}	1,33±0,35 ^{Cab}
8	1,44±0,21 ^{Cab}	1,51±0,17 ^{Bab}	1,80±0,30 ^{Aab}	1,35±0,18 ^{Cab}
9	1,60±0,42 ^{Cab}	1,81±0,32 ^{Bab}	2,41±0,99 ^{Aab}	1,47±0,54 ^{Cab}
10	1,44±0,26 ^{Cab}	1,57±0,12 ^{Bab}	2,33±0,99 ^{Aab}	1,38±0,44 ^{Cab}
11	1,40±0,24 ^{Cab}	1,44±0,12 ^{Bab}	2,16±0,90 ^{Aab}	1,33±0,27 ^{Cab}
12	1,55±0,18 ^{Cab}	1,47±0,13 ^{Bab}	1,67±0,17 ^{Aab}	1,39±0,11 ^{Cab}
13	1,40±0,17 ^{Cab}	1,43±0,05 ^{Bab}	1,78±0,35 ^{Aab}	1,21±0,12 ^{Cab}
14	1,78±0,66 ^{Cb}	1,32±0,02 ^{Bb}	1,61±0,27 ^{Ab}	0,45±0,63 ^{Cb}

*A,B,C: Büyük harfler aynı günde gruplar arasındaki farkı göstermektedir ve aynı satırda farklı büyük harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

*a, ab, b: Küçük harfler aynı gruptaki günler arasındaki farkı göstermektedir ve aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan günler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

H.pluvialis'in kültür ortamındaki NH₃-N derişiminde biyokütle artışına paralel olarak azalma gözlemlenmiştir (Şekil 20). *H.pluvialis* biyokütlesinin en yüksek olduğu 12. günde NH₃-N derişimi bütün gruplar için ortalama 1,52 mg/L olarak hesaplanmıştır. Amonyak mikroalgler için fotosentezi inhibe etmeleri nedeniyle gelişimi kısıtlamaktadır. Ancak son yapılan araştırmalarda bazı alglerin besin ortamlarında fosfor ve magnezyum bulunduğunda amonyağı giderebildiği bildirilmiştir (Chai *et al.* 2021).



Şekil 20. *H.pluvialis* biyokütlesinin NH₃-N değerine bağlı değişimi

Nitrat-Azotu (NO₃-N)

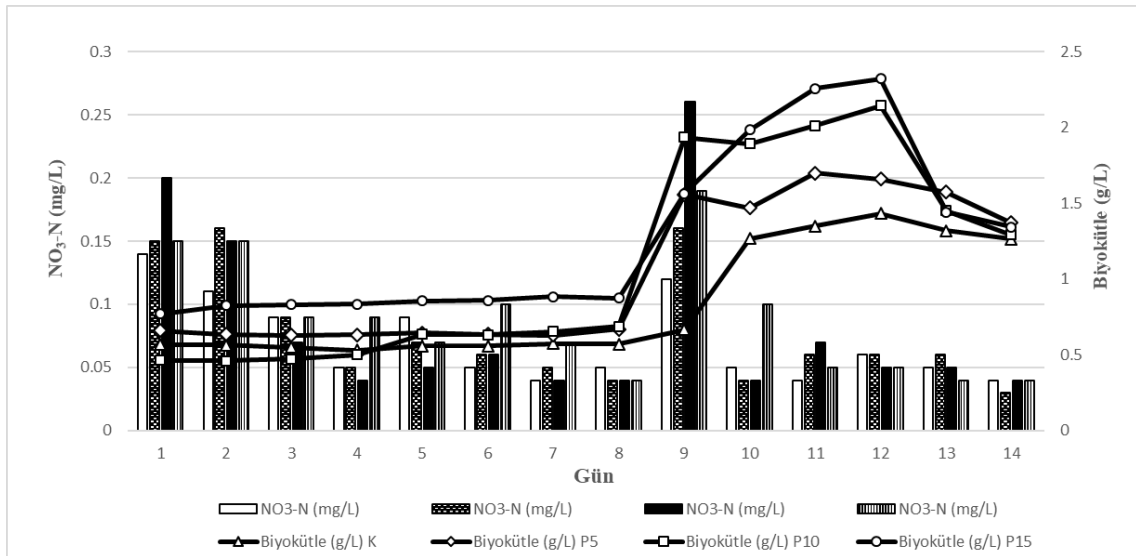
H.pluvialis'in kültür ortamındaki NO₃-N derişiminin güne bağlı değişimi istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$), gruplar arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Deneme boyunca, en düşük NO₃-N derişimi ortalama $0,07 \pm 0,01$ mg/L ile kontrol ve P5 gruplarında, en yüksek NO₃-N derişimi ise P10 ve P15 gruplarında ortalama $0,08 \pm 0,03$ mg/L olarak hesaplanmıştır. Deneme sonunda peyniraltı suyu tozu kullandığımız gruplarda %74-80 oranında NO₃-N giderimi tespit edilmiştir (Tablo 12). Peyniraltı suyuna ikincil işlem uygulaması sonrası oluşan atık suyunun farklı oranlarda (5:95, 15:85, 17:83, 25:75, 35:65) besin ortamına katılarak yürütüldüğü araştırmada, nitrat derişiminin *Choricystis* cinsinin biyokütlesi üzerine etkisi araştırılmış; karışım oranının 5:95 ve 15:85 olduğu gruplarda sırasıyla %82 ve %77,4 giderim olduğu, bunun nedeninin bu gruplarda mikroalgin nitratı daha iyi absorbe ettiği, ancak ototrofik kontrol deneylerinde ise toplam nitrat gideriminin düşük oranlarda gözlemlendiğini bildirmişlerdir (Tsolcha *et al.* 2015).

Tablo 12. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında NO₃-N Değişiminin (mg/L) Gün ve Gruplara Bağlı Değişimi (n=4; ORT±SD)

GÜN	K	P5	P10	P15
1	0,14±0,03 ^{a*}	0,15±0,14 ^a	0,20±0,09 ^a	0,15±0,19 ^a
2	0,11±0,02 ^a	0,16±0,05 ^a	0,15±0,24 ^a	0,15±0,04 ^a
3	0,09±0,01 ^b	0,09±0,02 ^b	0,07±0,02 ^b	0,09±0,01 ^b
4	0,05±0,01 ^b	0,05±0,01 ^b	0,04±0,01 ^b	0,09±0,02 ^b
5	0,09±0,04 ^b	0,07±0,02 ^b	0,05±0,01 ^b	0,07±0,01 ^b
6	0,05±0,02 ^b	0,06±0,01 ^b	0,06±0,01 ^b	0,10±0,03 ^b
7	0,04±0,00 ^b	0,05±0,01 ^b	0,04±0,01 ^b	0,07±0,02 ^b
8	0,05±0,01 ^b	0,04±0,01 ^b	0,04±0,00 ^b	0,04±0,00 ^b
9	0,12±0,03 ^a	0,16±0,03 ^a	0,26±0,01 ^a	0,19±0,04 ^a
10	0,05±0,01 ^b	0,04±0,01 ^b	0,04±0,01 ^b	0,10±0,07 ^b
11	0,04±0,01 ^b	0,06±0,03 ^b	0,07±0,05 ^b	0,05±0,00 ^b
12	0,06±0,01 ^b	0,06±0,00 ^b	0,05±0,00 ^b	0,05±0,00 ^b
13	0,05±0,01 ^b	0,06±0,01 ^b	0,05±0,02 ^b	0,04±0,01 ^b
14	0,04±0,00 ^b	0,03±0,00 ^b	0,04±0,00 ^b	0,04±0,00 ^b

*a ve b: Küçük harfler aynı gruptaki günler arasındaki farkı göstermektedir ve aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan günler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

Bu araştırmada *H.pluvialis* log fazında nitrat derişiminde ciddi bir azalma gözlemlenmiştir. Biyokütlenin artmaya başladığı 9. günde NO₃-N değerinde ani bir artış belirlenmiş, 10. Günde azalma ve yatay bir seyir sergilenmiştir (Şekil 21). Toumi and Politaeva (2021) tarafından yürütülen bir araştırmada farklı konsantrasyonlarda (0 g/L; 0,1 g/L; 0,2g/L; 0,3g/L; 0,4 g/L) nitrat içeren kültürde *Chlorella sorokiniana* türünün biyokütlesi ve yağ içeriğine etkileri incelenmiş; nitrat içeriği 0,1 g/L; 0,2 g/L ve 0,3 g/L olan deneme gruplarındaki *C.sorokiniana* biyokütlesini en yüksek değerde (1,4 g/L) tespit etmişlerdir.



Şekil 21. *H.pluvialis* biyokütlesinin NO₃-N değerine bağlı değişimi

Sun *et al.* (2017) tarafından yürütülen bir araştırmada *H. pluvialis* besin ortamında asetat:nitrat:fosfat değeri 8.3: 4.7: 1 olacak şekilde deneme kurulmuş ve deneme süresince biyokütle artışına karşılık nitrat konsantrasyonu azalması, fosfat konsantrasyonunda ise artış ve azalışlar tespit etmişlerdir. Ancak yürütmüş olduğumuz bu çalışmada nitrat ve toplam fosfor değerleri deneme süresinde artış ve azalışlar göstermiş bu özelliği ile çalışmalar arasında benzerlik gözlemlenmemiştir.

Nitrit-Azotu (NO₂-N)

H.pluvialis'in kültür ortamındaki NO₂-N derişiminin güne ve gruplara göre farklılığı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05). Deneme boyunca, gruplara (kontrol, P5, P10 ve P15) göre NO₂-N derişimi sırasıyla ortalaması 10,05±1,95 mg/L, 14,40±3,19 mg/L, 15,10±5,05 mg/L ve 24,53±9,16 mg/L olarak hesaplanmıştır. NO₂-N derişiminin güne bağlı değişiminde en yüksek grup ortalaması 6. günde 25,73 mg/L olarak hesaplanmıştır. Deneme sonunda ise bu değer ortalama 14,23 mg/L'ye düşmüştür. Yaklaşık olarak % 1,8 oranında bir azalma gözlemlenmiştir (Tablo 13). Buna karşın *Trentepohlia aurea* türünün nitrit, nitrat ve amonyum biyoremediasyon özelliği araştırılmış; çalışmada *T.aurea*'nın 30. günde nitrit ve nitratı sırasıyla %37 ve %32 oranında giderimi yaptığı bildirilmiştir (Abe *et al.* 2002).

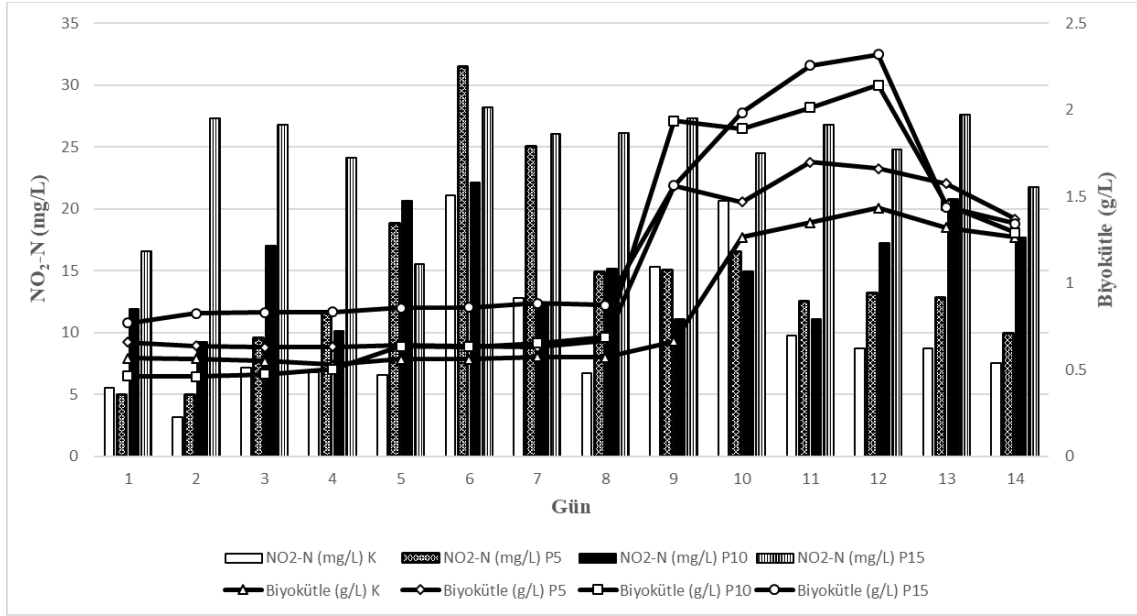
Tablo 13. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında NO₂-N Değişiminin (mg/L) Gün ve Gruplara Bağlı Değişimi (n=4; ORT±SD)

GÜN	K	P5	P10	P15
1	5,56±0,83 ^{Cb}	5,02±0,35 ^{Cb}	11,94±1,13 ^{Bb}	16,54±1,53 ^{Ab}
2	3,19±0,27 ^{Cab}	4,98±1,49 ^{Cab}	9,26±0,54 ^{Bab}	27,31±7,38 ^{Aab}
3	7,19±1,14 ^{Cab}	9,58±2,11 ^{Cab}	17,00±6,50 ^{Bab}	26,82±11,26 ^{Aab}
4	6,78±1,23 ^{Cab}	11,55±3,74 ^{Cab}	10,15±5,03 ^{Bab}	24,13±11,78 ^{Aab}
5	6,61±2,45 ^{Cab}	18,85±4,12 ^{Cab}	20,66±11,24 ^{Bab}	15,50±13,84 ^{Aab}
6	21,09±2,68 ^{Ca}	31,51±2,31 ^{Ca}	22,16±6,46 ^{Ba}	28,18±9,35 ^{Aa}
7	12,83±3,89 ^{Cab}	25,06±6,88 ^{Cab}	12,21±4,31 ^{Bab}	26,02±12,40 ^{Aab}
8	6,75±2,03 ^{Cab}	14,93±6,96 ^{Cab}	15,15±5,74 ^{Bab}	26,11±12,27 ^{Aab}
9	15,30±3,30 ^{Cab}	15,08±1,77 ^{Cab}	11,13±3,41 ^{Bab}	27,28±10,61 ^{Aab}
10	20,67±5,03 ^{Cab}	16,55±3,97 ^{Cab}	14,97±3,41 ^{Bab}	24,50±7,61 ^{Aab}
11	9,75±3,62 ^{Cab}	12,52±5,80 ^{Cab}	11,13±4,17 ^{Bab}	26,77±8,12 ^{Aab}
12	8,70±1,77 ^{Cab}	13,24±1,05 ^{Cab}	17,21±5,66 ^{Bab}	24,77±9,36 ^{Aab}
13	8,75±1,77 ^{Cab}	12,81±3,39 ^{Cab}	20,81±6,83 ^{Bab}	27,62±3,19 ^{Aab}
14	7,56±3,19 ^{Cab}	9,95±0,82 ^{Cab}	17,66±6,31 ^{Bab}	21,78±9,58 ^{Aab}

*A,B,C: Büyük harfler aynı gündeki gruplar arasındaki farkı göstermektedir ve aynı satırda farklı büyük harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

a, ab, b: Küçük harfler aynı gruptaki günler arasındaki farkı göstermektedir ve aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan günler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

Bu çalışmada NO₂-N derişimi, *H.pluvialis* biyokütlesindeki artış ve azalışa bağı olarak değışim göstermemiştir (Şekil 22). Bu durumun nedeni olarak: i) mikroalglerin nitrat yerine amonyumu tercih etmesi; ii) mikroalgleri engelleyebilecek olası hücre içi nitrit birikimi; iii) mikroalg aktivitesini sınırlayan amonyumdan yoksun koşullar; ve iv) ışık kullanılabilirliğini azaltan gölge efekti gösterilebilir (Gonzalez-Camejo *et al.* 2020).



Şekil 22. *H.pluvialis* biyokütlesinin NO₂-N değırine bağı değışimi

Kinetik Modelleme (Monod Denkliğı)

H.pluvialis türünün spesifik büyüme hızının Monod denkliğı ile hesaplandığında gruplar arasındaki fark ve günlere bağı değışim önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Peyniraltı suyu tozu kullanılmasının büyüme hızı üzerine etkisi incelendiğinde P15 grubunda büyüme hızının en yüksek ($0,61 \text{ gün}^{-1}$) olduğı hesaplanmıştır. Bu grubu sırasıyla P5, P10 ve kontrol grubu sırasıyla ortalama $0,57 \text{ gün}^{-1}$, $0,56 \text{ gün}^{-1}$ ve $0,52 \text{ gün}^{-1}$ olarak takip etmiştir (Tablo 14). Yine Chlorophyta grubu içerisinde yer alan *Chlorella vulgaris* besin ortamına karbon kaynağı olarak peyniraltı suyu tozu, glikoz ve galaktoz uygulamaları yapılmış; spesifik büyüme oranı sadece peyniraltı suyu tozu kullanımında $0,43 \text{ gün}^{-1}$, peyniraltı suyu tozu ve glikoz+galaktoz uygulamasında $0,47 \text{ gün}^{-1}$ olarak tespit etmişlerdir (Abreu *et al.* 2012). Bu çalışmada ise en yüksek spesifik büyüme hızı 15 g/L peyniraltı suyu tozu kullanımında $0,76 \text{ gün}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

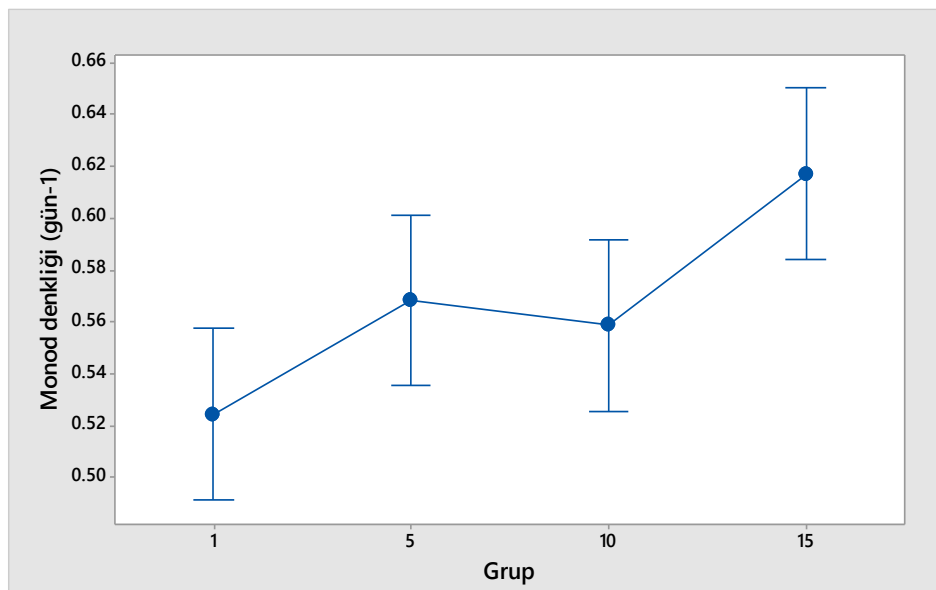
Tablo 14. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında Monod Denkliğine Göre Spesifik Büyüme Hızının (gün^{-1}) Gün ve Gruplara Bağlı Değişimi ($n=3$; $\text{ORT} \pm \text{SD}$)

Gün	K	P5	P10	P15
1	$0,45 \pm 0,00^{\text{Bc}*}$	$0,49 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,40 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,49 \pm 0,00^{\text{Ac}}$
2	$0,45 \pm 0,00^{\text{Bc}}$	$0,48 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,40 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,54 \pm 0,00^{\text{Ac}}$
3	$0,44 \pm 0,00^{\text{Bc}}$	$0,48 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,41 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,53 \pm 0,00^{\text{Ac}}$
4	$0,44 \pm 0,00^{\text{Bc}}$	$0,48 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,42 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,55 \pm 0,00^{\text{Ac}}$
5	$0,45 \pm 0,00^{\text{Bc}}$	$0,48 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,48 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,55 \pm 0,00^{\text{Ac}}$
6	$0,45 \pm 0,00^{\text{Bc}}$	$0,48 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,48 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,55 \pm 0,00^{\text{Ac}}$
7	$0,45 \pm 0,00^{\text{Bc}}$	$0,48 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,49 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,56 \pm 0,00^{\text{Ac}}$
8	$0,45 \pm 0,00^{\text{Bc}}$	$0,49 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,50 \pm 0,00^{\text{ABc}}$	$0,56 \pm 0,00^{\text{Ac}}$
9	$0,49 \pm 0,00^{\text{Bb}}$	$0,69 \pm 0,00^{\text{ABb}}$	$0,73 \pm 0,00^{\text{ABb}}$	$0,68 \pm 0,00^{\text{Ab}}$
10	$0,64 \pm 0,00^{\text{Bab}}$	$0,67 \pm 0,00^{\text{ABab}}$	$0,72 \pm 0,00^{\text{ABab}}$	$0,73 \pm 0,00^{\text{Aab}}$
11	$0,66 \pm 0,00^{\text{Bab}}$	$0,70 \pm 0,00^{\text{ABab}}$	$0,74 \pm 0,00^{\text{ABab}}$	$0,76 \pm 0,00^{\text{Aab}}$
12	$0,67 \pm 0,00^{\text{Ba}}$	$0,70 \pm 0,00^{\text{ABa}}$	$0,75 \pm 0,00^{\text{ABa}}$	$0,76 \pm 0,00^{\text{Aa}}$
13	$0,65 \pm 0,00^{\text{Bab}}$	$0,68 \pm 0,00^{\text{ABab}}$	$0,67 \pm 0,00^{\text{ABab}}$	$0,67 \pm 0,00^{\text{Aab}}$
14	$0,64 \pm 0,00^{\text{Bb}}$	$0,66 \pm 0,00^{\text{ABb}}$	$0,65 \pm 0,00^{\text{ABb}}$	$0,66 \pm 0,00^{\text{Ab}}$

*A,AB,B: Büyük harfler aynı gündeki gruplar arasındaki farkı göstermektedir ve aynı satırda farklı büyük harf taşıyan gruplar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$).

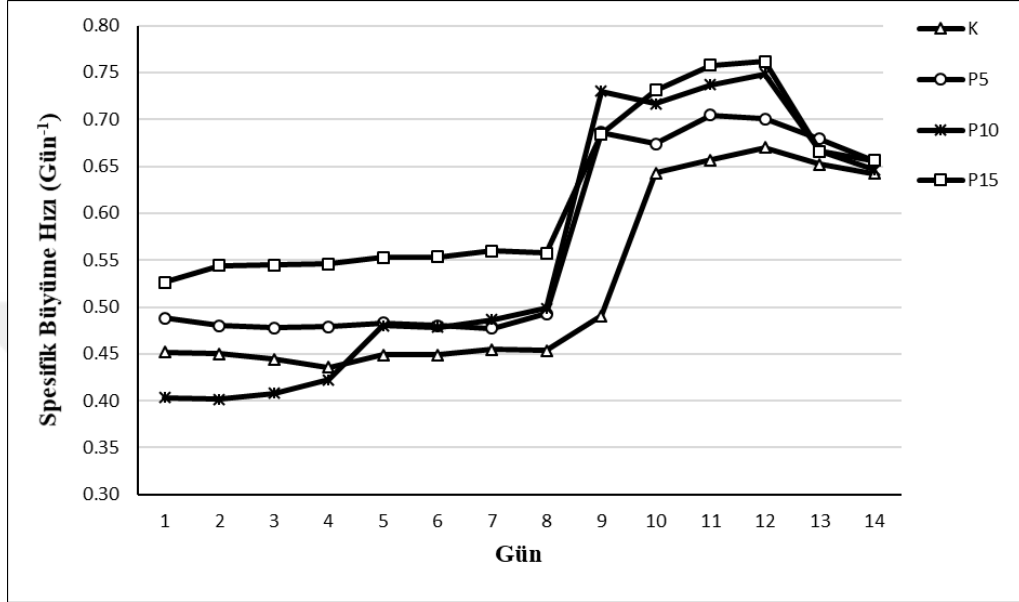
a, ab, b, c: Küçük harfler aynı gruptaki günler arasındaki farkı göstermektedir ve aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan günler arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Ortalama spesifik büyüme hızı kontrol grubunda $0,52 \pm 0,09 \text{ gün}^{-1}$, P5 grubunda $0,56 \pm 0,1 \text{ gün}^{-1}$, P10 grubunda $0,56 \pm 0,14 \text{ gün}^{-1}$ ve P15 grubunda $0,61 \pm 0,09 \text{ gün}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 23). Mikroalg besin ortamında PAST kullanımı, yüksek besin tuzları (N, P) içeriği nedeniyle spesifik büyümeyi uyarıcı etkiye sahiptir (Abreu *et al.* 2012).



Şekil 23. Monod denkleğine göre spesifik büyüme hızının gruplara göre değişimi

H.pluvialis türünün spesifik büyüme hızının Monod denkliği ile hesaplandığında biyokütledeki değişime benzer şekilde bütün gruplarda büyüme hızı 4. günden itibaren arttığı, 12. günde maksimum seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir (Şekil 24). Çoklu sınırlayıcı besinlerle yapılan çalışmalarda büyüme hızı, yalnızca en sınırlayıcı besin maddesinin mikroalgin hücre içi konsantrasyonuna bağlı olarak değişir (Klausmeier *et al.* 2004). Bu çalışmada sınırlayıcı besin elementinin amonyak ve nitrit olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 24. Monod denkliğine göre spesifik büyüme hızının günlere göre değişimi

H.pluvialis'in spesifik büyüme hızı ile pH, TP, $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ ve $\text{NO}_3\text{-N}$ derişimleri arasındaki korelasyon incelendiğinde, pH, $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ ve $\text{NO}_3\text{-N}$ derişimleri ile arasındaki korelasyon istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p < 0,05$); TP derişimi ile spesifik büyüme hızı arasındaki korelasyon istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$) (Tablo15). Mikroalglerin büyümesinde besin elementi, ışık ve sıcaklık etkilidir. Bununla birlikte ortam koşulları (pH, sıcaklık, ışık vb.) besin absorbe etmesinde ve hücre gelişiminde etkili olmaktadır (Litchman *et al.* 2004; Coppens *et al.* 2014).

Tablo 15. Peyniraltı Suyu Tozu Uygulama Gruplarında Monod Denkliğine Göre Spesifik Büyüme Hızının (gün^{-1}) Bazı Su Kalite Parametreleri Arasındaki Korelasyon (SD: Standart sapma, N=168)

		pH	TP (mg/L)	NH ₃ -N (mg/L)	NO ₂ -N (mg/L)	NO ₃ -N (mg/L)	Spesifik büyüme hızı (gün^{-1})
pH	Korelasyon	1	-,090	,026	,121	-,116	,187*
	SD		,246	,736	,118	,134	,015
TP (mg/L)	Korelasyon	-,090	1	,063	-,066	,078	,072
	SD	,246		,418	,395	,312	,351
NH ₃ -N (mg/L)	Korelasyon	,026	,063	1	-,119	,144	-,215**
	SD	,736	,418		,123	,063	,005
NO ₂ -N (mg/L)	Korelasyon	,121	-,066	-,119	1	-,107	,188*
	SD	,118	,395	,123		,166	,014
NO ₃ -N (mg/L)	Korelasyon	-,116	,078	,144	-,107	1	-,093
	SD	,134	,312	,063	,166		,05*

*. Korelasyon 0.05 seviyesinde önemlidir.

**. Korelasyon 0.01 seviyesinde önemlidir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışma, *H.pluvialis* kültür ortamına (3N-BBM+V) ve farklı oranlarda PAST (5g/L, 10 g/L ve 15g/L) uygulanmasının, hücre büyümesine etkisini araştırmak amacıyla yürütülmüştür.

Mikroalglerden gıda endüstrisinden, eczacılığa kadar birçok alanda yararlanılmaktadır. Bunun yanı sıra mikroalgler son zamanlarda endüstriyel atık suların arıtılmasında ve/veya geri kazanımında da kullanılarak hem çevre kirliliğini önlemede hem de biyodönüşüm sağlamada kullanılmaktadır. Bu sektörlerde mikroalg kültüründe yaşanan en büyük problem ise seçilen türün biyokütlesinin artırılması ve ucuz besin ortamları olmamasıdır.

Sonuç olarak, bu araştırmada, süt endüstrisi yan ürünü olan PAST *H.pluvialis* gelişimi için kültür ortamına katılmış ve deneme sonunda PAST'ın biyokütle üzerinde pozitif etkisi olduğu saptanmıştır. Deneme sonunda hücre sayısı P10 grubunda $1105,27 \pm 380,35$ hücre/ml, biyokütle ve spesifik büyüme hızında ise P15 grubunda sırasıyla $1,26 \pm 0,55$ g/L ve $0,61 \text{ gün}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. *H.pluvialis* kültürü için 15 g/L PAST ilave edilmesi *H.pluvialis*'in hem biyokütlesinde hem de spesifik büyüme hızında artış sağlamıştır. PAST'ın besin ortamı olarak kullanımı biyokütleyi arttırmasının yanı sıra maliyetinin düşük olması sebebiyle de önerilmektedir.

Bu çalışmada ayrıca $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ ve $\text{NO}_3\text{-N}$ gideriminde *H.pluvialis* türünün etkili olduğu tespit edilmiştir. Buda çevre kirliliğine sebep olan endüstriyel atık suların gerek arıtılması işlemlerinde gerekse biyodönüşüm ile değerli bir mikroalg türü olan *H.pluvialis*'in geliştirilmesini mümkün kılacaktır.

Bu araştırmanın doğrultusunda;

- Farklı mikroalg türlerinin gelişimine PAST'ın etkilerinin araştırılması,
- PAST'ın *H.pluvialis* hücre yağ ve protein içeriklerine etkisinin incelenmesi,
- PAST'ın farklı mikroalglerde denenerek biyodizel eldesine etkilerinin ortaya konulması,
- *H.pluvialis* türünde yoğun olarak bulunan astaksantin pigmentine PAST'ın etkisinin belirlenmesi,
- Spesifik büyüme hızı ile ilgili modellerin geliştirilerek formülasyona besin elementleri ve fiziksel koşulların eklenmesi gerekliliği,
- Mikroalg kültürü için alternatif ucuz besin ortamları araştırılması önerilmektedir.

KAYNAKÇA

- Abe, K., Imamaki, A., Hirano, M., 2002. Removal of Nitrate, Nitrite, Ammonium and Phosphate Ions from Water by the Aerial Microalga *Trentepohlia aurea*. Journal of Applied Phycology, 14(2), 129-134.
- Abreu, A. P., Fernandes, B., Vicente, A. A., Teixeira, J., Dragone, G., 2012. Mixotrophic Cultivation of *Chlorella vulgaris* Using Industrial Dairy Waste as Organic Carbon Source. Bioresource Technology, 118, 61-66.
- Akın, O., 2005. *Haematococcus pluvialis* Mikroalginden Astaksantin Ekstraksiyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Alçay, A. Ü., Bostan, K., Dinçel, E., Varlık, C., 2017. Alglerin İnsan Gıdası Olarak Kullanımı. Aydın Gastronomy, 1(1), 47-59.
- Anonim, 2020a. Biyolojik Arıtım (file:///C:/Users/hp/Downloads/Biyolojik %20Ar%C4%B1t%C4%B1m.pdf)(07.03.2022).
- Anonim, 2022b (http://www.cicisut.com.tr/#!/page_peyniraltisuyu) (02.04.2022).
- Anonymous, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th ed., American Public Health Association (APHA), 1193 p., Washington.
- Anonymous, 2003. Water Quality-Guidance Standard for the Routine Analysis of Phytoplankton Abundance and Composition Using Inverted Microscopy (Utermöhl Technique). (CEN TC 230/WG 2/TG 3/N73), 37 p.
- Anonymous, 2022a. (https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=27370) (02.03.2022).
- Anonymous, 2022b. (https://www.ccap.ac.uk/wp-content/uploads/MR_3N_BBM_V.pdf) (06.03.2022).
- Argan, B. E., Güneşer, O., Kırca Toklucu, A., Yüceer Karagül, Y., 2015. Peyniraltı Suyu Tozu İlave Edilmiş Meyveli İçecek Üretimi Ve Bazı Kalite Karakteristikleri. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi, 3(8), 651-658.
- Atay, D., 1984. Bitkisel Su Ürünleri ve Üretim Tekniği. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 905. Ders Kitabı. Ankara Üniversitesi Basımevi, 203 s, Ankara.
- Balcı, M., Çelekli, A., Deveci, A., Eyüboğlu, F., 2006. *Scenedesmus obliquus* Türünün Gelişimine, Klorofil-a ve Protein Üretim Kapasitesine pH, Nitrat ve Fosfat Konsantrasyonlarının Etkisi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu.
- Bischoff, H. W., Bold, H. C., 1963. Some Algae from Enchanted Rock and Related Algal Species. Phycological Studies, University of Texas, IV, Austin, 68.
- Bold, H. C., 1949. The Morphology of *Chlamydomonas chlamydogama*, sp. Nov. Bulletin of the Torrey Botanical Club, 101-108.
- Bougaran, G., Bernard, O., Sciandra, A., 2010. Modeling Continuous Cultures of Microalgae Colimited by Nitrogen and Phosphorus. Journal of Theoretical Biology, 265(3), 443-454.
- Chai, W. S., Chew, C. H., Munawaroh, H. S. H., Ashokkumar, V., Cheng, C. K., Park, Y. K., Show, P. L., 2021. Microalgae and Ammonia: A Review on Inter-Relationship. Fuel, 303, 121303.

- Cirik, S., Gökpınar, Ş., 1999. Plankton Bilgisi ve Kültürü. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 47. Ders Kitabı Dizini No: 19. Ege Üniversitesi Basımevi, 274 s, Bornova, İzmir.
- Çokcan, C., 2015. *Haematococcus pluvialis* Alginden Astaksantin Üretimi. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Coppens, J., Decostere, B., Van Hulle, S., Nopens, I., Vlaeminck, S. E., De Gelder, L., Boon, N. 2014. Kinetic Exploration of Nitrate-Accumulating Microalgae for Nutrient Recovery. Applied Microbiology and Biotechnology. 98(19), 8377-8387.
- Demirel, Z., Tok, R., İlter, I., Akyıl, S., Erdoğan, A., Koç, M., Dalay, M. C., 2018. Biyokütle İçin Mikroalg ve Siyanobakteri'nin Büyük Ölçekli Üretimi. Aquatic Research, 1(2), 64-76.
- Dinçoğlu, A. H., Ardiç, M., 2012. Peyniraltı Suyunun Beslenmemizdeki Önemi ve Kullanım Olanakları. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 1(1), 54-60.
- Doğanay, Ş., 2009. *Spirulina platensis* (Cyanophyta)'ın Gelişimine Suni Ligand EDTA (ethylenediaminetetraacetate) ve İki Farklı Fe (Fe^{+2} ve Fe^{+3}) Formunun Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Elcik, H., Çakmakçı, M., 2017. Mikroalg Üretimi ve Mikroalglerden Biyoyakıt Eldesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Dergisi, 32(3), 795-820.
- Eleren, S. Ç., Öner, B., 2019. Sürdürülebilir ve Çevre Dostu Biyoyakıt Hammaddesi: Mikroalgler. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 25(3), 304-319.
- Eriştürk, S., 2005. *Haematococcus pluvialis*'in Fotobiyoreaktörlerde Üretimine Etki Eden Parametrelerin Optimizasyonu ve Similasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Girard, J. M., Roy, M. L., Hafsa, M. B., Gagnon, J., Faucheux, N., Heitz, M., Deschênes, J. S., 2014. Mixotrophic Cultivation of Green Microalgae *Scenedesmus obliquus* on Cheese Whey Permeate for Biodiesel Production. Algal Research, 5, 241-248.
- Göksan, T., 2003. *Haematococcus pluvialis* Flotow'un (Chlorophyceae) Laboratuvar ve Dış Ortam Koşullarında Kültürü Sırasında Pigment Kompozisyonu ve Fotokimyasal Parametrelerinde Meydana Gelen Değişimler. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Gong, X., Chen, F., 1997. Optimization of Culture Medium for Growth of *Haematococcus pluvialis*. Journal of Applied Phycology, 9(5), 437-444.
- Gonzalez-Camejo, J., Montero, P., Aparicio, S., Ruano, M. V., Borrás, L., Seco, A., Barat, R., 2020. Nitrite Inhibition of Microalgae Induced by the Competition Between Microalgae and Nitrifying Bacteria. Water Research, 172, 115499.
- Güler, B. A., İmamoğlu, E., 2021. Mikroalgal Üretimlerde Kinetik Modelleme. Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research, 7(2), 176-183.
- İmamoğlu, E., 2005. *Haematococcus pluvialis* Üretiminde Vejetatif Fazda ve Kistik Fazda Optimum Ortam, Sıcaklık ve Işık Koşullarının Tespiti. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- İrkin, L. C., 2020. Akuakültürde Alglerin Önemi ve Kullanım Alanları. Çanakkale, <https://iksadyayinevi.com/wp-content/uploads/2020/11/akuakultorde-alglerin-onemi-ve-kullanim-alanlari.pdf> (07.03.2022).

- Kalmaoğlu, G., 2020. Effects of Green Light Spectrum on Growth and Gene Expression Profiles of Green Algae *Haematococcus pluvialis*. Yüksek Lisans Tezi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Bolu.
- Kang, C.D., Lee, J.S., Park, T.H., Sim, S.J., 2005. Comparison of Heterotrophic and Photoautotrophic Induction on Astaxanthin Production by *Haematococcus pluvialis* 68:237-241.
- Kargın, H., 2020. Akuakültürde Mikroalg Üretim Sistemleri ve Fotobiyoreaktörler Dünyada ve Ülkemizde Kullanımı. Mediterranean Fisheries and Aquaculture Research, 3(3), 112-130.
- Kavasbaşıoğlu, M., Tüzün, İ., Aluç, Y., 2020. Farklı Besi Ortamlarında Yetişen *Chlorella vulgaris* Türüne Ait Protein ve Aminoasit Kompozisyonunun Karşılaştırılması. Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences, 3(2), 130-137.
- Kesici, T., Kocabaş, Z., 2007. Biyoistatistik. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyoistatistik. No: 94. 366s., Ankara.
- Klausmeier, C. A., Litchman, E., Levin, S. A., 2004. Phytoplankton Growth and Stoichiometry Under Multiple Nutrient Limitation. Limnology and Oceanography, 49 (4 part2), 1463-1470.
- Köksal, M., 2008. Farklı Ortam Koşullarının (Işık, Sıcaklık, Besin Eksikliği ve Havalandırma) *Haematococcus pluvialis* Flotow'da Büyüme ve Astaksantin Miktarına Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Lee, R.E., 2008. Phycology, Colorado State University, 547 p, USA.
- Litchman, E., Klausmeier C.A., Bossard P., 2004. Phytoplankton Nutrient Competition Under Dynamic Light Regimes. Limnology and Oceanography 49 (4part2)1457-1462.
- Muller-Feuga A., 2013. Microalgae for Aquaculture: The Current Global Situation and Future Trends. Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology, 613-627.
- Oktor, K., 2018. Mikroalglerin Çevre Teknolojilerindeki Yeri. Kocaeli, https://www.researchgate.net/profile/Kadriye-Oktor/publication/338454871_the_role_of_microalgae_in_environmental_technologies_mikroalglerin_cevre_teknolojilerindeki_yeri/links/5e15d75392851c8364babfe6/the-role-of-microalgae-in-environmental-technologies-mikroalglerin-cevre-teknolojilerindeki-yeri.pdf (02.03.2022).
- Özçiçek, E., Can, E., Yılmaz, K., Can, Ş. S., 2017. Akuakültürde Sürdürülebilir Besin Kaynağı Olarak Mikroalglerin Kullanımı Usage of Microalgae as a Sustainable Food Source in Aquaculture. Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 34(3), 347-354.
- Özdemir, S., Özdemir, C., 2012. Süt ve Yan Ürünlerinin İşlenmesinde Yeni Teknikler. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, 110 s, Erzurum.
- Patel, A. K., Joun, J., Sim, S. J., 2020. A Sustainable Mixotrophic Microalgae Cultivation from Dairy Wastes for Carbon Credit, Bioremediation and Lucrative Biofuels. Bioresource Technology, 313, 123681.
- Pereira, L., Magalhaes, J., 2014. Neto, Marine Algae, Biodiversity, Taxonomy, Environmental Assessment, and Biotechnology. A Science Publishers Book. Amerika: Taylor and Francis Group, CRC Press.
- Pereira, M. I., Chagas, B. M., Sassi, R., Medeiros, G. F., Aguiar, E. M., Borba, L. H., Rangel, A. H., 2019. Mixotrophic Cultivation of *Spirulina platensis* in Dairy Wastewater:

- Effects on the Production of Biomass, Biochemical Composition and Antioxidant Capacity. Plos One, 14(10), e0224294.
- Reitan, K.I., Rainuzzo, J.R., Olsen, Y., 1994. Effect of Nutrient Limitation on Fatty Acid and Lipid Content of Marine Microalgae. 1. Journal of Phycology, 30(6), 972-979.
- Sajjadi, B., Chen, W. Y., Raman, A. A. A., İbrahim, S., 2018. Microalgae Lipid and Biomass for Biofuel Production: A Comprehensive Review on Lipid Enhancement Strategies and Their Effects on Fatty Acid Composition. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 97, 200-232.
- Salla, A. C. V., Margarites, A. C., Seibel, F. I., Holz, L. C., Brião, V. B., Bertolin, T. E., Costa, J. A. V., 2016. Increase in the Carbohydrate Content of the Microalgae *Spirulina* in Culture by Nutrient Starvation and the Addition of Residues of Whey Protein Concentrate. Bioresource Technology, 209, 133-141.
- Sasa, A., Şentürk, F., Üstündağ, Y., Erem, F., 2020. Alglerin Gıda veya Gıda Bileşeni Olarak Kullanımı ve Sağlık Üzerine Etkileri. Uluslararası Mühendislik Tasarım ve Teknoloji Dergisi, 2(2), 97-110.
- Singh, A., Nigam, P. S., Murphy, J. D., 2011. Mechanism and Challenges in Commercialisation of Algal Biofuels Bioresource Technology, 102(1), 26-34.
- Sun, H., Liu, B., Lu, X., Cheng, K. W., Chen, F., 2017. Staged Cultivation Enhances Biomass Accumulation in the Green Growth Phase of *Haematococcus pluvialis*. Bioresource Technology, 233, 326-331.
- Suwal, S., Bentahar, J., Marciniak, A., Beaulieu, L., Deschênes, J. S., Doyen, A., 2019. Evidence of the Production of Galactooligosaccharide from Whey Permeate by the Microalgae *Tetrademus obliquus*. Algal Research, 39, 101470.
- Toumi, A., Politaeva, N. A., 2021. Impact of the Nitrate Concentration on the Biomass Growth and the Fatty Acid Profiles of Microalgae *Chlorella sorokiniana*. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 689, No. 1, p. 012026). IOP Publishing.
- Tsolcha, O. N., Tekerlekopoulou, A. G., Akrotos, C. S., Bellou, S., Aggelis, G., Katsiapi, M., Vayenas, D. V., 2015. Treatment of Second Cheese Whey Effluents Using a Choricystis-Based System with Simultaneous Lipid Production. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 91(8), 2349-2359.
- Utermohl, H., 1958. Zur Vervollkommnung der Quantitativen Fitoplankton-Metodik, SIL Communications (Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie: Mitteilungen), 9(1), 1-38.
- Wang, S. K., Wang, X., Miao, J., Tian, Y. T., 2018. Tofu Whey Wastewater is a Promising Basal Medium for Microalgae Culture. Bioresource Technology, 253, 79-84.
- Yıldırım, Ç., Güzeler, N., 2013. Peyniraltı Suyu ve Yayıktının Toz Olarak Değerlendirilmesi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 28(2), 11-20.
- Yılmaz, G.S., 2019. *Haematococcus pluvialis* Flotow (Chlorophyceae) Mikroalginin Fototrofik Kültüründe Farklı Renkte Led Işıkların Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Yılmaz, H. K., 2006. Mikroalg Üretimi İçin Fotobiyoreaktör Tasarımları. Su Ürünleri Dergisi, 23(2), 327-332.
- Zimmermann, J. D. A. F., Sydney, E. B., Cerri, M. L., de Carvalho, I. K., Schafranski, K., Sydney, A. C. N., Demiate, I. M., 2020. Growth Kinetics, Phenolic Compounds Profile and Pigments Analysis of *Galdieria sulphuraria* Cultivated in Whey Permeate in Shake-Flasks and Stirred-Tank Bioreactor. Journal of Water Process Engineering, 38, 101598.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Büşra AYDOĞDU
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Eğitim	
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	Orta