

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**FARKLI FOTOBİYOREAKTÖRLERİN
Chlorella vulgaris' in
BÜYÜMESİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Gülçin TEMLİ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Yaşar DURMAZ

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu :504.04.01

Sunuş Tarihi :14.02.2013

Bornova-İZMİR

2013

Gülçin TEMLİ tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Farklı Fotobitoreaktörlerde *Chlorella sp*’ nin Büyümesine Etkisinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş vetarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:**İmza**

Jüri Başkanı	:
Raportör Üye	:
Üye	:

ÖZET**FARKLI FOTOBİYOREAKTÖRLERİN *Chlorella vulgaris*' in BÜYÜMESİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

TEMLİ, Gülçin

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Yaşar DURMAZ

Şubat 2013, 51 sayfa

Ticari değere sahip *Chlorella vulgaris*' in laboratuvar ortamında farklı besin ortamı, farklı yüzey alanı ve farklı materyale sahip kaplarda ve farklı ışık yolu uzunluğuna sahip fotobiyoreaktörlerde kültüre alınarak büyümesi hedeflenmiştir.

Yapılan çalışmada en yüksek, Jaworski Ortamı' nda $60,8 \times 10^6$ hücre ml^{-1} , F/2 ortamında $1,37 \times 10^6$ hücre ml^{-1} , serum şişelerinde $141,6 \times 10^6$ hücre ml^{-1} , balonlarda 70×10^6 hücre ml^{-1} , erlenlerde $53,3 \times 10^6$ hücre ml^{-1} , plastik kaplarda $41,6 \times 10^6$ hücre ml^{-1} , torbalarda $17,5 \times 10^6$ hücre ml^{-1} , 1, 3 ve 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip fotobiyoreaktörlerde ise sırasıyla 230×10^6 hücre ml^{-1} , 90×10^6 hücre ml^{-1} , 90×10^6 hücre ml^{-1} hücre sayılarına ulaşılmıştır.

Sonuç olarak, *Chlorella vulgaris*' in farklı fotobiyoreaktörlerde büyümesini etkileyen faktörler incelenmiş ve *Chlorella vulgaris*' in üretiminde ışık şiddeti, fotobiyoreaktörün yüzey alanı ve yapıldığı materyal ve fotobiyoreaktörde kullanılan besin ortamı belirlenmiştir. Özellikle Potasyum (K)' un *C. vulgaris* büyümesini etkilediği, kullanılan cam materyalin üretim açısından daha sağlıklı olduğu ve akuakültürde kullanılan torbalar yerine ince panel sistemlerin daha verimli olacağı belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Chlorella vulgaris*, besin ortamı, fotobiyoreaktör sistemleri

ABSTRACT**RESEARCH of THE EFFECT of VARIOUS PHOTOBIOREACTORS on THE DEVELOPMENT of *Chlorella vulgaris***

TEMLİ, Gülçin

MSc in Fisheries Aquaculture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Yaşar DURMAZ

February 2013, 51 pages

The aim of this study was to grow *Chlorella vulgaris*, which is of commercial value, in a laboratory environment by cultivating it under different culture media, using different surface areas, containers made of various materials and photobioreactors having different light path lengths.

In the conducted study maximum cell numbers were reached as follows: 60.8×10^6 cell/ml in Jaworski medium, 1.37×10^6 cells ml⁻¹ in F/2 medium, 141.6×10^6 cells ml⁻¹ in serum bottles, 70×10^6 cell ml⁻¹ in round-bottom flasks, 53.3×10^6 cells ml⁻¹ in erlenmeyers, 41.6×10^6 cells ml⁻¹ in plastic containers, 17.5×10^6 cells ml⁻¹ in polyethylene bags, and 230×10^6 cells ml⁻¹, 90×10^6 cells ml⁻¹, 90×10^6 cells ml⁻¹ in photobioreactors with respective light path lengths of 1.3 cm and 5 cm.

As a consequence, factors affecting *Chlorella vulgaris*' growth in different photobioreactors were analyzed. Furthermore, light intensity, surface areas of the photobioreactors and their materials and the nutrition media used in the photobioreactors were determined in the production process of *Chlorella vulgaris*. It was especially determined that Potassium (K) affected the development of *C. vulgaris*, that the glass material used was healthier in terms of cultivation, and that the thin panel systems were more effective than the polyethylene bags used in aquacultures.

Key Words: *Chlorella vulgaris*, culture media, photobioreactor systems

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımda bana her zaman güvenen ve destek olan, yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen danışman hocam, Doç. Dr. Yaşar DURMAZ' a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu zorlu aşamada da maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman bana inanan, güvenen ailem; annem Hatice TEMLİ, babam Veysel TEMLİ, kardeşim Burçin TEMLİ' ye ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xviii
1 GİRİŞ.....	1
1.1 <i>Chlorella</i> 'nın Biyolojisi.....	2
1.2 <i>Chlorella</i> 'nın Tarihçesi ve Kullanım Alanları.....	3
1.3 Fotobiyoreaktör	5
1.3.1 Açık kültür sistemleri	6
1.3.2 Kapalı kültür sistemleri	7
2 ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	13
3 MATARYEL ve METOT	18
3.1 Materyal.....	18
3.1.1 <i>Chlorella vulgaris</i> 'in sistematığı	18
3.1.2 Besin ortamı.....	19

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.1.3 Kullanılan farklı üretim sistemleri	21
3.2 Metot	23
3.2.1 Deneme planı	23
3.2.2 Yapılan analizler	26
4 BULGULAR.....	29
4.1 Deneme 1	29
4.2 Deneme 2	31
4.3 Deneme 3	34
4.4 Deneme 4	36
5.SONUÇ VE TARTIŞMA	40
6. ÖNERİLER	44
KAYNAKLAR DİZİNİ	45
ÖZGEÇMİŞ	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. <i>Chlorella sp.</i> hücresi.....	3
1.2 Açık kültür sistemleri (a-b)	7
1.3 Havuz sistemlerinde karıştırma için kullanılan paletler	7
1.4 Torbalarda yapılan üretim (a-b)	8
1.5a Spiral tübüler fotobiyoreaktör	8
1.5b Torba fotobiyoreaktör.....	8
1.5c Panel fotobiyoreaktör	9
1.5d Silindir şeklinde fotobiyoreaktör.....	9
1.5e Kolon fotobiyoreaktör	9
1.6 Dışarı sistem panel fotobiyoreaktörler	10
1.7 İçeri sistem panel fotobiyoreaktörler	10
1.8 Dışarı sistem tübüler fotobiyoreaktörler (a-b).....	11
1.9 İçeri sistem tübüler fotobiyoreaktörler	12
3.1 <i>Chlorella vulgaris</i> ' in mikroskop altındaki görünümü.....	18
3.2 Farklı yüzey alanlarına sahip cam şişelerin deney düzeneği.....	22
3.3 Farklı materyale sahip sistemlerin deney düzeneği	22
3.4 İnce panellerin deney düzeneği	24

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.5 Ortam denemesi	24
3.6 Farklı yüzey alanlarına sahip şişeler denemesi	24
3.7a Plastik kaplarda üretim denemesi	25
3.7b Torbalarda üretim denemesi	25
3.8 İnce panellerde üretim denemesi	26
3.9a Hücre sayımında kullanılan neubauer sayma kamerası	27
3.9b Neubauer sayma kamerasının mikroskop altındaki görünümü.....	27
3.10 Klorofil <i>a</i> analizi - örnekler	28
4.1 <i>C. vulgaris</i> ’ in farklı ortamlardaki büyüme eğrileri.....	29
4.2 <i>C. vulgaris</i> ’ in farklı ortamlardaki kuru ağırlık değerleri	30
4.3 <i>C. vulgaris</i> ’ in farklı ortamlardaki optik yoğunluk değerleri.....	30
4.4 <i>C. vulgaris</i> ’ in farklı ortamlardaki spesifik büyüme hızı.....	31
4.5 <i>C. vulgaris</i> ’ in farklı yüzey alanlarına sahip cam şişelerdeki büyüme eğrisi.....	32
4.6 <i>C. vulgaris</i> ’ in farklı yüzey alanlarına sahip cam şişelerdeki kuru ağırlık değerleri.....	33
4.7 <i>C. vulgaris</i> ’ in farklı yüzey alanlarına sahip cam şişelerdeki optik yoğunluk değerleri	33

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.8 <i>C. vulgaris</i> ' in farklı yüzey alanlarına sahip cam şişelerdeki klorofil <i>a</i> miktarı	33
4.9 <i>C. vulgaris</i> ' in farklı yüzey alanlarına sahip cam şişelerdeki spesifik büyüme hızı.....	34
4.10 <i>C. vulgaris</i> ' in farklı materyale sahip sistemlerdeki büyüme eğrisi	34
4.11 <i>C. vulgaris</i> ' in farklı materyale sahip sistemlerdeki kuru ağırlık değerleri	35
4.12 <i>C. vulgaris</i> ' in farklı materyale sahip sistemlerdeki optik yoğunluk değerleri.....	35
4.13 <i>C. vulgaris</i> ' in farklı materyale sahip sistemlerdeki spesifik büyüme hızı.....	36
4.14 <i>C. vulgaris</i> ' in farklı ışık yolu uzunluğuna sahip sistemlerdeki büyüme eğrisi	37
4.15 <i>C. vulgaris</i> ' in farklı ışık yolu uzunluğuna sahip sistemlerdeki kuru ağırlık değerleri	37
4.16 <i>C. vulgaris</i> ' in farklı ışık yolu uzunluğuna sahip sistemlerdeki optik yoğunluk değerleri.....	38
4.17 <i>C. vulgaris</i> ' in farklı ışık yolu uzunluğuna sahip sistemlerdeki klorofil <i>a</i> değerleri	38
4.18 <i>C. vulgaris</i> ' in farklı ışık yolu uzunluğuna sahip sistemlerdeki spesifik büyüme hızı.....	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 <i>Chlorella vulgaris</i> 'in sistematığı	18
3.2 F/2 ortamı	19
3.3 F/2 besin ortamında kullanılan trace metal ve vitamin solüsyonu	20
3.4 JM (Jaworski ortamı).....	21

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
°C	Santigrat derece.
N	Azot
K	Potasyum
B	Bor
Fe	Demir
S	Küküt
C	Karbon
<u>Kısaltmalar</u>	
PBR	Fotobiyoreaktör
JM	Jaworski ortamı
OD	Optik yoğunluk
ALM	Hava taşınması
ABM	Hava kabarcığı
FAO	Food and agriculture organization

1.GİRİŞ

Plankton su içinde yaşayan, özel hareket organelleri olmayan veya olsa bile bu organelleri yer değiştirmede aktif olarak kullanamayan, fakat su hareketleri ile pasif olarak yer değiştirebilen organizmalar topluluğudur. Planktonik organizmalar fitoplankton ve zooplankton olmak üzere başlıca iki gruba ayrılır. Zooplankton hayvansal planktondur. Fitoplankton ise bitkisel plankton olup klorofil taşıyan basit yapıya sahip tek veya çok hücreli canlılardır. Fitoplankton çoğunluğu mikroskobik büyüklüklerde, boyutları birkaç mikron (μ) ile birkaç yüz μ arasında değişen bitkisel organizmalardır. Fitoplanktonik organizmalar, sularda primer su bitkileri olarak tanımlanan alglerin önemli bölümünü oluştururlar(Cirik ve Gökpınar, 1999).

Mikroalgler fotosentez ile kara bitkilerinde olduğu gibi organik maddeleri sentezlerler. Mikroalgler, nütrientleri güneş ışığı ile birlikte sentezlemesi sonucunda daha büyük ve karmaşık moleküller haline getirir. Mikroalglerin sentezlediği bu organik moleküllerin bağlarındaki kimyasal enerji besin zincirinin başlangıcını oluşturur. Böylece hem sucul ortamda biyomas üretimine katkıda bulunurlar hem de besin döngüsünde rol oynarlar (Fung et al., 2004).

Mikroalgler, özellikle kabuklu su canlılarının ve bazı balık larvalarının ilk besinini oluştururlar. Bu nedenle balık beslemede kullanılan rotifer, cladocera ve copepod besinini olarak akuakültürde büyük önem taşımaktadır. Tek hücreli mikroalglerin birçoğu gıda sektöründe değerlendirilir ve içerdikleri pigment maddeleri, antibiyotikler, vitaminler nedeniyle tıp, eczacılık alanlarında ve kozmetik ürünlerinde katkı maddesi olarak kullanılırlar. Aynı zamanda insan ve hayvan gıdası olarak değerlendirilirler. Bu nedenle mikroalgler yapılarındaki zengin protein, vitamin, yağ asitleri, mineraller, pigmentler ve değerli hücresel metabolitler nedeniyle ülkemizde ve dünyada yoğun olarak çalışılan organizmalardır (Cirik ve Gökpınar, 1999).

Mikroalgler sucul sistemlerin ilk biyolojik karbondioksit–oksijen dönüştürücüleridir. Mikroalgler biyoteknolojinin gelecekteki en önemli kaynağıdır. Bu özelliklerinden dolayı, mikroalg üretiminde güvenli, uygun bir üretim sisteminin seçilmesi gerekmektedir (Borowitzka, 1992; Tsoglin and Gabel, 2000; Pulz, 2001).

Algal biyoteknolojideki gelişmelere rağmen mikroalg türlerinin kültürlerinde çeşitli güçlüklerle karşılaşmaktadır. Mikroalg kültürlerinde biyomas artışı, biyomasın biyokimyasal kompozisyonu ve yağ asitleri değerleri, besin ortamındaki fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlere bağlıdır. Bu faktörler, nütrientler, sıcaklık, tuzluluk, pH, ışık ve bakteriyel kontaminasyon gibi etmenlerdir (Sukenik, 1991; Cohen et al., 1988; Brown et al., 1989).

Kontaminasyon, aksenik mikroalg kültürleri için büyük bir sorun teşkil eder. Bakteriler, protozoalar ve diğer alg türleri kültürlerle bulaşabilir. Bu nedenle sterilizasyon yöntemleri kullanılmak zorundadır. Kontaminasyon hava ile, besin ortamı ile ve kullanılan materyal ile geçebilir (Fao, 1996).

Mikroalg yetiştiriciliğinde kültürün spesifik büyüme hızındaki artış tamamen ışık rejimine bağlıdır. Fotobiyoreaktör yüzeyindeki ışık akışı kadar ışık yolu uzunluğu da önemlidir. Işığın hücreler üzerindeki etkisi pek çok etkene bağlıdır. Bunlardan biri ışığın kültür kolonundan geçişidir. Düşük ışık kullanımı yüksek hücre yoğunluğuna sahip bir sistemde iki tabaka oluşturur. Bu tabakalar, ışıklı bölüm yani fotik zon ve fotosentezin olmadığı karanlık zondur. Önemli olan diğer bir etken ise hücrenin ışıktan faydalanma oranıdır. Bu oran türlere göre farklılık gösterir ve tespiti zordur (Richmond and Zou, 1999).

Bu nedenle ışık yolu uzunluğu ve ışığın hücreler tarafından kullanımı fotobiyoreaktör tasarımlarında önemli bir yer tutar. Fotobiyoreaktör tasarımında amaç, güneş enerjisi gibi yüksek seviyeli ışık kaynağının optimal kullanımı için kültür sistemleri yapılmasıdır.

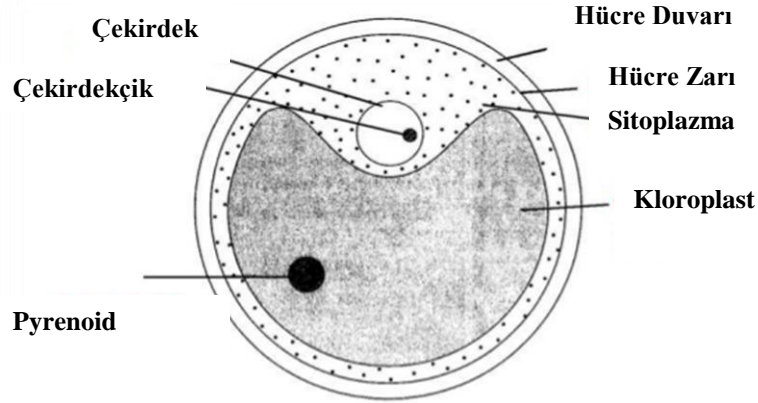
Ticari mikroalg üretiminin başarısı birçok etmene dayanmaktadır; bunlardan biri büyük çaplı alg kültür sistemlerinde az harcamayla verimli ürün elde etme yolunun geliştirilmesidir. Ancak bu gelişim yavaş bir süreçte devam etmektedir. Büyük ölçekli kültür sistemlerinde ışığın etkin kullanımı, sıcaklık, alg kültüründe hidrodinamik dengeyi sağlama, kültürün devamını sağlayabilme gibi ana hususların kıyaslanması gerekmektedir. Sonuçta ekonomik bir sonuca ulaşmak temel hedeftir (Yılmaz, 2006).

Fotobiyoreaktör tasarımları hem bilimsel hem de ekonomik açıdan önemlidir. Fotobiyoreaktör tasarımlarında amaç yüksek seviyeli ışık kaynağının kullanılması ile kültür sistemlerinin yapılandırılmasıdır (Vonshank et al, 1982).

Bu çalışma kapsamında, farklı besin ortamlarının, farklı yüzey alanına sahip kapların, farklı materyale sahip sistemlerin ve farklı ışık yolu uzunluğunun ticari değere sahip *Chlorella vulgaris*' in büyümesine etkisi incelenmiştir.

1.1 *Chlorella*' nin Biyolojisi

Chlorella, bitkiler aleminde adını içinde taşıdığı klorofilden alan yeşil bir plankton cinsidir. Latince'de 'küçük, taze yeşil' anlamına gelir. Bilinen en eski canlılardan ve besin kaynaklarından biridir. Genellikle 5-8,5µ çapında, küresel bir görünüme sahiptir (Şekil. 1.1). Kloroplastlar, kase görünümündedir. Zaman zaman pyrenoidler bulunmayabilir (Prescott, 1963).



Şekil 1.1 *Chlorella sp.* hücresi (www.slideshare.net, 2013)

Chlorella sp., vitamin, protein, mineral, aminoasitler, nükleik asitler (RNA, DNA), temel yağ asitleri, enzimler ve karotenoidleri bünyesinde biriktiren önemli bir mikroalgdir. Bu besinleri saf, katkısız ve doğal olarak mükemmel bir denge içerisinde barındırır ve tek başına tam bir besindir. % 50-60 oranında proteinden oluşmaktadır. Klorofil'in doğada bilinen en yüksek oranlı kaynağıdır. Ayrıca demir, iyot, çinko, magnezyum, fosfor ve kalsiyum da içermektedir. *Chlorella*, sığır karaciğerinin içermekte olduğu B12 vitamininden daha fazla B12 vitamini içerir (Jensen, 1987; Singh, 1998).

Vücudumuzun ihtiyaç duyduğu esansiyel amino asitler *Chlorella sp.*' nin yapısını da mevcuttur ve miktarları günlük alınması gereken düzeyleri karşılayabilmektedir. Hücrelerin genetik formüllerini taşıyan ve hücre yenileme hızını arttıran RNA ve DNA da *Chlorella*' nin yapısında mevcuttur. Özellikle RNA oranı *Chlorella*' da yüksek düzeydedir. *Chlorella sp.*' nin yağ asitlerinin çoğunluğunu doymamış yağ asitleri meydana getirmektedir. Doymamış yağ asitlerinin oranı % 80' e ulaşmaktadır. *Chlorella*'daki mineral madde miktarları yüksektir. Ayrıca mikroorganizma yükü açısından bir sorunu yoktur. *Chlorella*, enfeksiyonlara yol açan birçok mikroorganizmanın gelişimini probiotik madde olarak engelleyen ve Chlorellin olarak isimlendirilen doğal bir bileşen içermektedir. Sporopollein, *Chlorella*' nin yapısında bulunan ve ağır metaller ile organik çözenlerin tutulmalarını ve vücuttan atılmalarını sağlayan bir maddedir (Ötleş, 1999).

1.2 *Chlorella*' nın Tarihçesi ve Kullanım Alanları

Chlorella' nın ilk saf kültürü Hollandalı mikrobiyolog M. J. Beijerinck tarafından 1890 yılında yapılmıştır. Bitki fizyolojisini detaylı incelemek için tek hücreli alg kültürleri kullanımı Warburg tarafından geliştirilmiştir. Mikroalg yığın

kültürü 1948' den sonra (ABD) Stanford' da, Almanya ve Tokyo' da araştırmaların odak noktası olmaya başlamıştır. Ticari mikroalglerin üretimi 1960' ların başlarında Japonya' da *Chlorella* kültürü ile başlamıştır (Tsukada et al., 1977).

Chlorella sp. 'nin endüstriyel olarak yoğun üretimi Çin, Japonya, Tayvan gibi Uzakdoğu ülkelerinde yaygın olarak yapılmaktadır. Japonya'da *Chlorella* kültürlerinden protein üretimi, yılda hektar başına 8 tona ulaşmıştır. Mikroalg çiftliklerinde üretilen yeşil yosun *Chlorella*, toz, tablet, granül gibi kuru halde, *Chlorella* Gelişme Faktörü (CGF) olarak sıvı ekstraktları gibi son ürün şeklinde kullanıma sunulmaktadır (Cirik ve Kuru, 2002).

Chlorella sp. 'nin sağlığa yararları üzerine birçok bilimsel araştırma yapılmıştır. Birçok alerjik hastalığa ve astıma karşı yararlıdır. Serum kolesterol düzeyini önemli ölçüde düşürür. Göğüs, karaciğer, lenf kanserlerinin gelişimini engeller ve kanser hücrelerini ortadan kaldırır. Hazmı kolaylaştırır ve bağırsakların hızlı ve düzenli çalışmasını sağlar. Çocuklarda büyümeyi destekler. Egzama, sivilce, alerjik dermatitis, atopik dematit tedavisinde ve cildin sağlıklı ve güzel olmasında faydalıdır. Tansiyonu düşürür, düzenler. Işın tedavisinin yan etkileri azaltır. şeker hastalarında kan şekerini düşürerek dengeler. Toksik bileşiklerin karaciğeri olumsuz etkilemesini engeller, karaciğerdeki birçok fonksiyon bozukluğunu düzeltir. Ülser ve gastrit gelişimini engeller ve tedavi eder. Romatizmal hastalıklarda vücuda direnç kazandırarak ağrıları azaltır. Hücre yenilenme hızını artırır ve yaşlanmayı geciktirir (Ötleş, 1999).

Chlorella 'nın özelliklerinden dolayı gıda desteği olarak insanlar tarafından kullanılmaya başlanmış ve *Chlorella* biyoması tablet şekliyle pazarda yerini almıştır. *Chlorella* tabletleri 1950' li yılların sonlarında satılmaya başlamıştır.

Chlorella aynı zamanda akuakültürde yağ asitleri ve vitaminlerin primer kaynağı olarak balık yemlerine katılmaktadır. Mikroalgler dünyanın çeşitli bölgelerinde hızla yaygınlaşarak sağlıklı gıda kaynağı, çeşitli gıda katkıları, hayvan yemi, biyofertilizerler gibi doğal karışımların üretimi alanında yeni ve özel bir endüstri dalı doğmasını sağlamıştır (Richmond, 1986; Borowitzka, 1988).

Yüzyıllar öncesi fosillere bakılarak hücre yapısı değişmediği belirlenen *Chlorella* 'nın hücre duvarı çok sağlam olduğundan besin öğelerinin vücudumuzda emilimini azaltmaktadır. Dyno Mill (değirmen) yöntemiyle *Chlorella* 'nın hücre duvarı kırılarak sindirilebilirliği arttırılmaktadır (Ötleş, 1999).

Amerika' da 200 mg' lık 30 adet *Chlorella* hapı 38\$, *Chlorella* içeren cilt kremi 75\$, *Chlorella* içeren 200 mg' lık 120 adet haptan oluşan köpek maması

katkısı 70\$' dan satışa sunulmaktadır. (sunchlorella corporation, 2013). Türkiye' de *Chlorella* hapı ise; 520 mg 100 kapsül/ kutu 39,90TL – 49,90TL arasındadır (sağlıkkanununda, 2013).

1.3 Fotobiyoreaktör

Fototrofik mikroorganizmaların üretiminde kullanılan sistemlere genel olarak fotobiyoreaktör (PBR) denilmektedir. Günümüzde algal biyomastan kıymetli metabolitleri en yüksek seviyede elde etmek biyoteknolojinin ilgi odağı konumundadır. Ticari mikroalg üretiminin başarısı birçok etmene dayanmaktadır. Bunların başında, büyük çaplı alg kültür sistemlerinde az harcamayla verimli ürün elde etmek temel amaçtır. Büyük ölçekli kültür sistemlerinde ışığın etkin kullanımı, sıcaklık, alg kültüründe hidrodinamik dengenin sağlanması gibi değişken gereklilikler verimli olmasının yanı sıra ekonomik fotobiyoreaktör tasarımları arayışını ortaya çıkarmıştır. Mikroalg biyoteknolojisinde fotobiyoreaktör tasarımı hem bilimsel hem de ekonomik açıdan önem arz eder. Fotobiyoreaktör tasarımında amaç güneş enerjisi gibi yüksek seviyeli ışık kaynağının optimal kullanımı için yeni kültür sistemlerinin yapılmasıdır (Richmond, 1986).

Ancak, fotosentetik hücrelerin ticari üretiminde yapay aydınlatma kullanmak algal biyomas maliyetlerini yükseltir. Vonshak et. al., (1982) belirtildiğine göre güneş ışığı maliyeti düşürmesine rağmen iklim şartlarının uygunluğu da verimliliği etkilemektedir. Bu nedenle kültür sistemi kurulurken verimliliği etkileyecek koşullar göz önüne alınıp optimal verimliliğe ulaşması amaçlanmıştır (Borowitzka, 1999).

Yüksek algal biyomas elde edebilmek için ototrofik/hetotrofik değişken besleme modalarında alg kültür sistemleri denenmiştir. Sürekli aydınlık ya da aydınlık/karanlık döngülerde büyütülen alg kültürleri yüksek hücre yoğunluklarına ulaşabilmektedir. Verimli alg kültür sistemlerinin kurulabilmesi ve sistemin devamlılığı için üretilecek türün besleme modunun, besin ihtiyaçlarının iyi bilinmesi ve biyoreaktör tasarımlarında türe özgü özelliklerin göz önüne alınması gerekmektedir (Richmond and Hu, 1997).

Heterotrofik ve miksotrofik büyüme yeteneği gösterebilen mikroalglerin bu yeteneklerinden yararlanılarak çeşitli tasarımlarda biyoreaktörler tasarlanmıştır (Ogbonna et al., 1995). Bu kültürler fototrofik üretime alternatif olarak düşünülse de sistemin idaresi çok zordur. Çünkü büyümenin heterotrofik fazında ilave edilen organik substratın fototrofik faz başlangıcına kadar hücreler tarafından tüketilmesi gerekmektedir. Aksi takdirde fototrofik faz başlangıcında substrat ortamda bakteriyel kirliliğe neden olabilir.

Alg kültür teknolojisi üzerine araştırmacılar yeni biyoreaktör tasarım çalışmalarını devam ettirmektedirler. Mikroalglerin yetiştiriciliğinde kullanılan sistemler; açık havuzlar, tübüler fotobiyoreaktörler, düz paneller, alveolar paneller' dir.

1.3.1 Açık kültür sistemleri

Dış mekânlarda mikroalg üretim sistemleri; tanklar, kanal havuzlar, dairesel havuzlar, palet yardımı ile karıştırılan (Şekil 1.3) veya karıştırılmayan büyük havuzlar ve doğal göllerdir (Sukatar, 2002). Açık havuzlar (Şekil 1.2), mikroalg kütle üretiminde en eski ve en basit sistemlerdir. Algler kendi ekolojik isteklerine benzer koşullar altında üretilmektedir. Genellikle kanal şeklinde hazırlanan bu havuzlarda sistem çarkla veya palet yardımı ile sürekli karıştırılmaktadır (Wen and Johnson, 2009).

Güneş enerjisinden yararlanmak için genellikle açık havuzlarda üretim tercih edilmektedir ve halen dünyanın çeşitli coğrafik bölgelerinde faaliyet gösteren ticari kuruluşlarda algal biyomas üretimi açık havuzlarda yapılmaktadır. Açık havuzların yapım ve işletme maliyetleri kapalı fotobioreaktörlere göre daha düşük olsa da bu kültür sistemlerinin bazı dezavantajları vardır. Bu dezavantajlar;

- Buharlaşma ile oluşan büyük su kayıpları
- Verimsiz Karbondioksit kullanımı ve sınırlı biyomas üretimi
- Bakteri kontaminasyonu' dur. (Wen and Johnson, 2009)

Hu et. al., (1996b) yaptıkları çalışmada; açık havuzlara göre ince panellerde yapılan üretimin daha kolay aydınlatıldığını belirtmiştir. Ayrıca sıcaklık kontrolünün kolaylıkla yapıldığını ve havalandırma yardımı ile istenilen karışımın sağlandığı gözlenmiştir. Optimum hücre yoğunluğunda ve biyomas çıkış hızında da bir artış olduğu belirtilmiştir.

Açık havuzlarla ince panel reaktörleri kıyaslamada bir diğer çalışmada; biyomas çıkış hızının açık havuzlara göre 100 kat ve birim alanda elde edilen başarı 2-3 kata daha fazla olduğu belirtilmiştir. Kısa ışık yolu uzunluğuna sahip biyoreaktörlerde fototrof saf kültür üretiminin avantajlı olduğu ileri sürülmüştür (Hu et. al., 1998).



Şekil 1.2 Açık kültür sistemleri (a-b)

(www.susansmithjones.com, www.homelandsecuritynewswire.com, 2012)



Şekil 1.3 Havuz sistemlerinde karıştırma için kullanılan paletler

(www.guardian.co.uk, 2013)

1.3.2 Kapalı kültür sistemleri

Kapalı kültür sistemleri mikroalg üretiminde kontaminasyonu önlemek, ısı kontrolünü sağlamak ve ışığı etkin bir biçimde kullanarak yüksek üretim sağlamak gibi birçok avantajı vardır. Kapalı fotobiyoreaktörlerde kültür ortamını kontrol etmek açık sistemlere göre daha kolaydır. Bu nedenle elde edilen ürün istenilen kalite ve verimlilikte olabilmektedir. Kirlilik riskinin önlenmesi çok daha geniş türlerin üreyebileceği ve dış ortamda da biyoreaktörlerin kullanılabilmesi anlamına gelmektedir. Böylece elde edilen ürün istenilen kalitede ve verimlilikte olabilmektedir (Chrimadha and Borowitzka, 1994).

Kapalı kültür sistemlerine örnek vermek gerekirse; torbalar (Şekil 1.4), tanklar, asansörlü fotobiyoreaktörler, içten aydınlatmalı fotobiyoreaktörler, ince panel fotobiyoreaktörler, çift havalandırma sistemli fotobiyoreaktörlerdir.

Üretim sistemlerinde genel olarak çeşitli plastik kaplar kullanılmaktadır. Ancak bunların verimliliklerini yeterli değildir. FAO' nun belirttiği üzere akuakültürde kullanılan torba sistemlerin amacı maksimum hücre yoğunluğa ulaşan kültürlerin direkt kullanılmasıdır. Bu sistemler basit bir şekilde bir yerlere asılarak kurulur ve florasan lambalar üretim için gereklidir. Genellikle güvenilir bir sistem olarak düşünülse de verimli bir yöntem değildir. Hasat, doldurma, sterilizasyon işlemleri uygulanabilirlik açısından dezavantaj oluşturur. Bu sistemlerin, verimliliklerinin yetersiz olması, tübüler fotobiyoreaktörler gibi kapalı sistemlere ekonomik önem kazandırmaktadır. Düz - levha fotobiyoreaktörleri, tübüler fotobiyoreaktörler ve farklı tasarım fotobiyoreaktörler (Şekil 1.5.) de mikroalg üretiminde büyük bir yer almaktadır (Naz ve Gökçek, 2004).



a

b

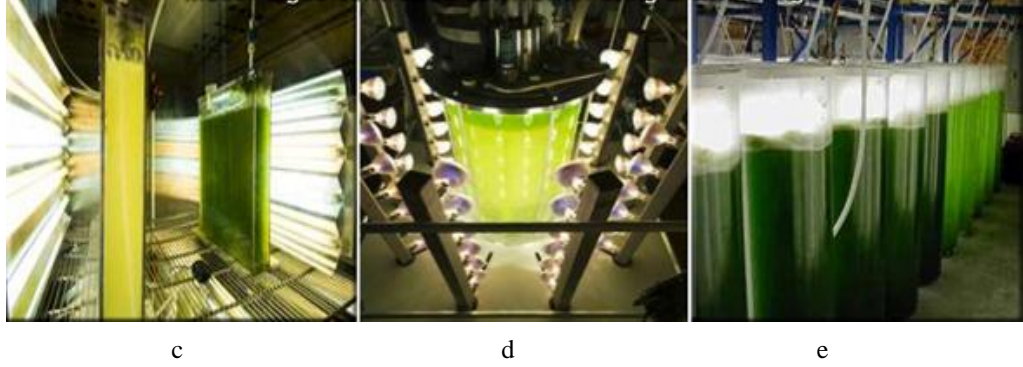
Şekil 1.4 Torbalarda yapılan üretim (a-b)

(www.rainbowfish.angfaql.org.au, www.kraftwerkforschung.info, 2013)



a

b



Şekil 1.5 Farklı tasarımlara sahip fotobiyoreaktörler; a) Spiral tübüler fotobiyoreaktör, b) Torba fotobiyoreaktör, c) Panel fotobiyoreaktör, d) Silindir şeklinde fotobiyoreaktör, e) Kolon fotobiyoreaktör

(www.e-energymarket.com, www.tradekey.com, www.algaeindustry.com, 2013)

1.3.2.1 Panel fotobiyoreaktörler

Paneller dikdörtgen şekindedirler. Yükseklik ve genişlikleri yetiştirilen mikroalge göre değişiklik gösterebilir. Her mikroalg için uygun ışık yolu uzunluğu fotobiyoreaktör yapımında önemli bir rol oynar. Kullanılan sistemler karıştırma işlemi; karıştırılmadan, hava taşınması ve ya hava köpükleri şeklindedir. Dışarı sistem (Şekil 1.6) ve içeri sistem (Şekil 1.7) panel fotobiyoreaktörler kullanılır.

Hu et. al.,(1996b) yaptığı araştırmada panelin ön yüzü güneş ışınlarını direk alır bu sayede panelin arka kısmında fotosenteze yardımcı olmak açısından bu ışık şiddetinden etkilendiği belirtilmiştir.

Ayrıca Richmond and Zou (1999) çalışmalarında panel fotobiyoreaktörlerinin diğer kapalı sistemlere göre daha kolay temizlendiğini belirtmiştir. Havalandırma işlemi daha kolaydır. Maliyetleri diğer sistemlere göre daha düşüktür. Panel sistemlerin dezavantajı havalandırmanın yüksek olmasından dolayı tükettiği güçtür. Aslında bu karışım her reaktörde gereklidir. Bu reaktördeki aydınlık ve karanlık döngüleri kısadır. Bu reaktörlerde verimlilik için bu özellik önemlidir.

Richmond and Cheng-Wu (2000) yapılan çalışmada 1,3 cm' den başlayan ve 17 cm ışık yolu uzunluğuna sahip fotobiyoreaktörlerde *Nannochloropsis sp.* çalışmışlardır. Küçük reaktörlerde alansal çıkış hızı düşük olmakla birlikte daha yüksek hacimsel çıkış elde etmişlerdir. *Nannochloropsis sp.* için en uygun 10cm ışık yolu uzunluğuna sahip biyoreaktörler olarak belirtilmiştir.



Şekil 1.6 Dışarı sistem panel fotobiyoreaktörler (www.biofuels.asu.edu, 2013)



Şekil 1.7 İçeri sistem panel fotobiyoreaktörler (www.bioenergychina.org, 2013)

1.3.2.2 Tübüler fotobiyoreaktörler

Tüpsü fotobiyoreaktörler farklı çaplara sahip, cam veya farklı materyalden yapılan borulardan oluşan sistemlerdir. Uzunlukları ise 10 m ile 100 m ye kadar olabilir. Kültürün karışımı mekanik veya air lift yöntemiyle pompalanır. Bu tüpler çok farklı şekilde yerleşebilir. Yatay ve dikey şekilde olabilirler. Daha farklı tasarımlar yapılmıştır. Bunlar dikey bir yay şeklinde konik şekilde ya da dikey bir düzlemde tel örgü şeklinde olabilir. Dışarı sistem (Şekil 1.8) ve içeri sistem (Şekil 1.9) tübüler fotobiyoreaktörler kullanılır.

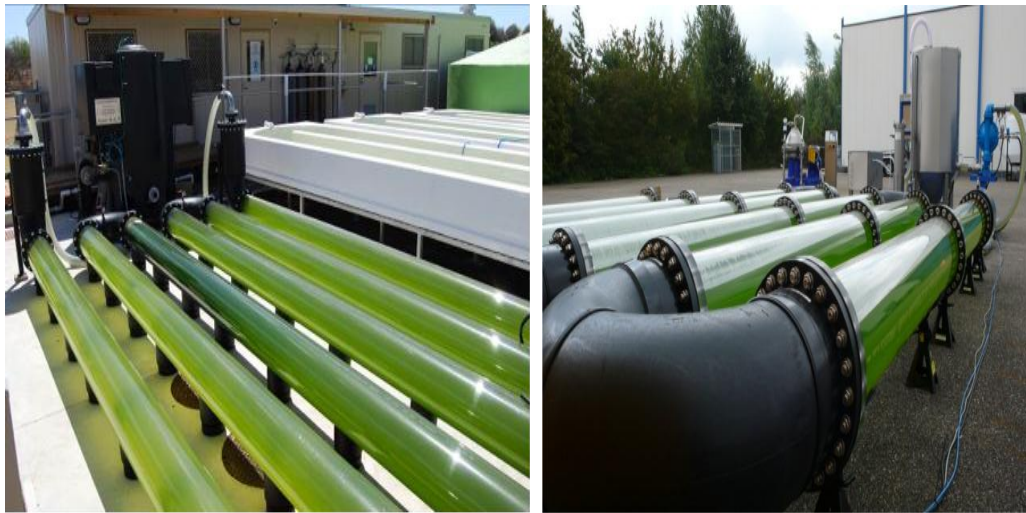
Tübüler sistemler değişik şekillerde olsa da, reaktör yüzeyindeki ışık geçirgenliği oranı değişkenlik gösterir. Yani önemli olan ışık yolu uzunluğudur. Neredeyse bütün tasarımda ışığın reaktöre gelen ışık açısı benzerdir. Sıvı karışımı düşünüldüğünde aydınlık ve karanlık döngüsü birçok tasarımda benzerdir.

Tüplerin uzunluğu gaz birikimi bakımından sınırlıdır. Tüpleri arttırmanın yolu birçok yolu manifoldlar vasıtası ile birbirine bağlamaktır (Sarı, 2007).

Tübüler sistemler geniş alanlara kurulur ve pahalı sistemlerdir. Tübüler sistemlerin çalışması zordur. Tübüler sistemler tüplerden oluşur ve tüplerin birleşmede oluşturdukları zorluklar tasarımları ve steril operasyonlar dezavantajdır. Üretim ise orta düzeyde gerçekleşir (Borowitzka, 1996).

Hai et al., (2000) yaptıkları çalışmada fototrofik mikroorganizmalarla aksenik kültür üretimi yapmışlardır. Bunun için kapalı cam tübüler fotobiyoreaktörler kullanmışlardır. Standart cam tüplerden oluşan sistem, sarmal bir dizi şeklinde ve 80L hacime sahiptir. Karıştırma için pompa kullanılmış ve 1,5 m/sn' lik akış hızına sahiptir.

Miron et al., (1999) belirtildiği üzere tübüler fotobiyoreaktörler geniş yüzey hacim oranına sahip sistemlerdir. Düşük yüzey hacim oranına sahip fotobiyoreaktörler ise bu dezavantajlara sahip değildir. Bu sistemlere asansörlü fotobiyoreaktörler ve ince panel fotobiyoreaktörler örnek olarak verilebilir. Küçük yüzey hacmine sahip olmaları üretim sistemini etkisiz kılacağı düşünüldüğü için büyük boyutlarda kültür çalışmaları yapılmamıştır.



a

b

Şekil 1.8 Dışarı sistem tübüler fotobiyoreaktörler; (a-b) (www.cambia.org, 2012)



Şekil. 1.9 İçeri sistem tübüler fotobiyoreaktörler (www.energy.korea.com, 2013)

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Chinnasamy et. al., (2009), yaptıkları çalışmada *Chlorella vulgaris*' in optimum sıcaklık aralığı 25°C - 30°C arasında olduğu belirtilmiştir.

Converti et. al., (2009), yaptıkları çalışmada *Chlorella vulgaris*' in çevre koşullarında (30°C-35°C sıcaklıkta) büyüebildiğini gözlemlemiştir. Sıcaklık 30°C' den 25°C' ye düşürüldüğünde yağ asitleri oranı % 5,9' dan % 14,9' a yükselmektedir. 38°C üstünde, sıcaklık stresi ile oleik asit, tekli doymamış yağ asidi olan omega-9 yağ asidinin üretimi artmaktadır.

Mayo, (1997), yaptığı çalışmada *Chlorella vulgaris*'in 3,0 – 11,5 pH aralığında büyümesini araştırmıştır. En yüksek büyüme oranı 0,50 bölünme/gün, pH ise 6,31 – 6,84' dür. *C. vulgaris*' in pH 3 gibi asitli ortamlarda da büyüebileceği gözlenmiştir. Fakat sıcaklık 40°C' nin üstüne çıktığında *C. vulgaris* asidik pH' a daha düşük dirençli hale gelmektedir. 35°C ya da daha düşük sıcaklıklarda asitli ortamlara daha kolay adapte olmaktadır.

Loseva et al., (1998), yaptıkları bir çalışmada sıcaklığın ve tuz oranının *Chlorella* hücreleri oranına etkisini inceledikleri çalışmalarında yüksek sıcaklık (45°C) ve yüksek NaCl (450µM) stres faktörleri uygulandıktan sonra *Chlorella* büyümesini incelemişlerdir. Bunun için belirli aralıklarla yüksek sıcaklık ve yüksek NaCl uygulamaları yapılmış ve bu süreçten sonra tekrar normal koşullar sağlanarak *Chlorella* hücrelerin durumu gözlenmiştir. Böylelikle stres faktörlerine adaptasyon sürecinin uzunluğu ortaya çıkmıştır.

Maruyama et al., (1986), yaptıkları çalışmada *N. oculata* ile *Chlorella vulgaris* alglerinin protein, aminoasit, mineral maddeler ve vitamin değerleri açısından birbirlerine benzemelerine rağmen yağ asit değerlerinde farklılıklar tespit etmişlerdir. *N. oculata*' nın toplam lipid içeriği *C. vulgaris*' e göre nispeten yüksek olduğu belirtilmiştir. Fakat doymamış yağ asitlerinden linoleic asit *C. vulgaris*' de daha yüksektir. *N. oculata*' da toplam yağ asitleri içerisinde eicosapentaeoic asit (EPA) %40, arachidonic asit (ARA) % 6,6 iken docosahexaenoic asit (DHA) tespit edilmediği rapor edilmiştir.

Richardson et al., (1969), yaptıkları çalışmada azot eksilmesinin tek hücreli algin yapısına ve büyümesi üzerine etkisini ortaya çıkarmıştır. Azot eksikliği sonucunda hücre içeriği, kalori değeri, klorofil yapısı ve lipid içeriği incelenmiştir. *Chlorella sp*' nin % 3 oranında azot (N) eksilmesiyle 6. günde maksimum yağ asidi üretmesinin mümkün olduğu belirlenmiştir.

Tsuzuki et al., (1990), yaptıkları çalışmada, *Chlorella vulgaris* ' e uygulanan farklı CO₂ düzeylerinin yağ asitleri içeriğine olan etkilerini

araştırmışlardır. Buna göre; CO₂ miktarı artışının yağ asitleri oranını arttırdığı ve linoleik asit ile alfa-linoleik asit oranının önemli derecede değiştiği saptanmıştır.

Iman et. al., (2000), yaptıkları çalışmada eksik azot uygulamasının farklı *Chlorella* türlerinde büyüme ve lipid içeriğine etkisini incelemiştir. Buna göre; hem normal koşullarda hem de düşük azot (N) uygulamalarında *Chlorella vulgaris* 'in çalışılan diğer dört türe göre en iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Liang et al., (2009) yaptıkları bir çalışmada *Chlorella vulgaris* ' de farklı büyüme koşulunda biyomas ve lipid üretimini araştırmıştır. Kùltürler ototrofik ve hetotrofik olarak büyümeye alınmışlar, ototrofik büyüme ile daha yüksek lipid içeriği (%38) sağlanmış, hetotrofik büyümede ise glikoz, asetat ve gliserol kullanımı ile çok az lipid üretimi olduğu saptanmıştır. Optimal hücre yoğunluğu (2gL^{-1}) ve lipid üretimine ($54\text{mg L}^{-1}/\text{gün}$), % 1 glikoz kullanımında ulaşılmıştır.

Scragg and Shales, (2003), dizel motorların yağları gibi iş görecektir, parça içerikli uzun süre korunan yakıtlar üzerine çalışmışlardır. Birçok alg, örneğin *Chlorella vulgaris* gibi tek hücreli ve 5-10 mikron boyutunda ki tür, emülsiyonun içeriği bakımından uygun bulunmuştur. Araştırma sonucunda değişiklik yapılmayan tek silindirli dizel motorda *Chlorella vulgaris* ' den elde edilen yağın biyodizel olarak kullanabileceğini belirlemişlerdir.

Rai et al., (1998), yaptıkları çalışmada *Chlorella vulgaris* 'in büyüme, besin alımı, fotosentez, fotosentetik elektron transportu, nitrojen enzimleri, fosfor metabolizması ve ATPaz aktivitesi üzerine AlCl₃, AlF₃, NaF ve AlCl₃ + NaF kombinasyonu ile inhibe edildiğini bulmuşlardır.

Lopez et al., (2000), yaptıkları bir çalışmada *Chlorella vulgaris* 'in Mn, Cr, Ni, Zn, ve Cu gibi ağır metalleri biriktirme yeteneğini araştırmışlardır. Çeşitli parametreler (algal biyomas, pH ve algler metallerin etkileşim süresi gibi) çalışılmıştır. 9 mg algal biyomas, 8 pH ve 15 dakika etkileşim zamanı, her bir metalin 1ppm ile optimize edilmiştir. 5 metalin belirlenmesi bir UV/V₁₃ dedektörü ile kapillar elektroforezle (EC) yapılmıştır. *C. vulgaris* çalışılan 5 metali güçlü bir şekilde bağlamıştır. En güçlü bağlamalar Cr ve Cu için gözlenmiştir.

Maccarty and Patterson, (1974), yaptıkları çalışmada *Chlorella* biyokimyasında besin ortamının kation düzeylerinin etkisini araştırmışlardır. Bunun için düşük, orta ve yüksek dozda Mg⁺² ve K⁺ ilavesi yapılmış ve *C. sorokiniana* ' da sırasıyla toplam azot, lipid, toplam yağ asitleri, doymuş yağ asitleri, doymamış yağ asitleri oranları incelenmiştir. Buna göre; toplam azot, en yüksek değere (% 9,4) yüksek dozda, Mg⁺² ve K⁺ uygulamasında; toplam lipid, yağ asidi ve doymuş yağ asidi en yüksek değere sırasıyla %38,6, %8,8 ve % 5,0 değerine orta Mg⁺² ve düşük K⁺ uygulamasında, doymamış yağ asidi oranı ise

yüksek (% 5,0) değere orta Mg^{+2} ve yüksek K^+ uygulaması sonucunda olduğu ortaya konmuştur. Doymamış ve doymuş yağ asidi oranı ise en yüksek % 2,1 oranı ile orta Mg^{+2} ve yüksek K^+ uygulamaları sonucunda elde edilmiştir.

Martinez et al., (1997), yaptıkları çalışmada *Chlorella pyrenoidosa*'nın mikсотrofik büyümesini incelemiştir. Kültür ortamlarında glikoz konsantrasyonu kullanılmıştır. Glikoz oranları 0,1, 0,5 ve $1gL^{-1}$ 'dir. Alg glikozu enerji kaynağı olarak kullanmaya başlamadan önce ışık kullanılmamıştır. Organik substrat tamamen tüketildikten sonra yani adaptasyon periyodundan sonra, ototrofik üretim devam etmiştir. En yüksek biyomas ışık limitli kültürlerde, $0,1gL^{-1}$ de gerçekleşmiştir.

Sanches et al., (2001), yaptıkları çalışmada *Chlorella pyrenoidosa*'nın zeytin yağı fabrikası atık suyunda mikсотrofik kültürünü araştırmışlardır. Aydınlanma (12/12 saat) kullanılmıştır. Karıştırma yapılarak üretim amaçlanan biyoreaktörlerde karıştırma hızı 180 rpm hızında ve ortam şartları 6,5 pH ve $30^{\circ}C$ sıcaklıktadır. Elde edilen biyomas $1,4 \times 10^3 gL^{-1} h$ 'dir.

Hu et al., (1996a), yaptıkları çalışmada *Monodus subterraneus*, *Anabaena sianensis* ve *Spirulina platensis* aglerinin ince panel fotobiyoreaktörlerde biyomas çıkış hızını araştırmışlardır. Kurulan fotobiyoreaktörler dışarıda yapılan kapalı kültür sistemidir. Bu çalışmada, 70 cm yüksekliğe, 90 cm uzunluğa sahip ve 6 mm cam kalınlığında ince paneller kullanılmıştır. Kullanılan paneller; 1,3 cm, 2,6 cm, 5,2 cm ve 10,4 cm genişliğindedir. Kullanılan paneller yer ile 30° ve 60° lik açı ile (yaz-kış) konumlandırılmışlardır. Havalandırma sistemleri ise iki şekildedir. Birincisi hava taşınması (ALM), şeffaf borular vasıtası ile reaktörün alt kısmından alınan kültürün hava taşınması ile reaktörün üst kısmından tekrar reaktöre boşaltılması ile sağlanmıştır. İkinci havalandırma yöntemi ise hava kabarcığı (ABM) yöntemidir. Bu yöntemde reaktörün alt kısmından hava taşları ile havalandırma yapılmıştır. Işık, dışarı kapalı kültür olduğundan günde beş kez aynı zamanlarda ışık ölçülmüştür. Bu denemenin sonucunda air bubble yani hava kabarcıkları ile karıştırma sistemi diğer sisteme göre daha verimli olduğu bulunmuştur. *Anabaena sianensis*'in hücre yoğunluğu, $3,2 \pm 0,7 gL^{-1}$, *Monodus subterraneus*'in hücre yoğunluğu, $5,5 gL^{-1}$, *Spirulina platensis* ise en verimli büyümeyi, 2,6 cm genişliğindeki fotobiyoreaktörde vermiştir, hücre yoğunluğu ise $8,4 \pm 1,6 gL^{-1}$ 'dir.

Watanabe Y. Saiki., (1995), yapılan çalışmada *Chlorella sp*'nin kapalı alanlarda sarmal tübüler sistemde büyümesini incelemiştir. Bu çalışmada 12 saat sürekli ışık kullanılmıştır. *Chlorella sp*'nin kuru ağırlık miktarı ise $0,68 gL^{-1}$ gün ya da $21,5 gm^{-2}/gün$ 'e ulaşmıştır.

Molina et al., (2001), yaptıkları çalışmada *Phaeodactylum tricornutum* için dışarı yatay tübüler sistem kullanmıştır. Tüm yaz ayları boyunca $1,9 \text{ gL}^{-1}/\text{gün}$ ya da $32 \text{ gm}^{-2}/\text{gün}$ kuru ağırlık değerlerine ulaşmıştır.

Babcock et al., (2002), yaptıkları çalışmada *Arthrospira sp.* 'nin kapalı alanda yatay tübüler reaktörlerde büyümesini araştırmıştır. Alınan kuru ağırlık değerleri ise $1,2 \text{ gL}^{-1}/\text{gün}$ ya da $3,5 \text{ gm}^{-2}/\text{gün}$ değerlerine ulaşmıştır.

Carlozzi, (2003), Scandicci İtalya' da yaptığı çalışmada *Arthrospira platensis*' in yaz ayları boyunca dışarı dalgalı tübüler sistemde büyümesini araştırmıştır. Elde edilen kuru ağırlık değerleri ise $2,7 \text{ gL}^{-1}/\text{gün}$, maksimum üretim ise $6,0 \text{ gL}^{-1}$ bulunmuştur.

Degen et al., (2001), yaptığı çalışmada *Chlorella sp.*'nin panellerde büyümesini incelemiştir. Bu çalışmada ışığın etkisi araştırılmıştır. Kuru ağırlık değerleri $0,11 \text{ gL}^{-1}/\text{gün}$, maksimum üretim ise $1,95 \text{ gL}^{-1}$ bulunmuştur.

Gökpinar ve ark., (2007), yaptıkları çalışmada *Nannochloropsis sp.*'nin dışarı tübüler sistemlerde büyüme özelliklerini araştırmıştır. Çalışmada *Nannochloropsis sp.* kış döneminde kesikli ve sürekli kültür modunda yetiştirilmiştir. Yapılan denemede dış çapı 3 cm olan şeffaf tüpler kullanılmıştır. Sistemde 6 tüp kümesi bulunmaktadır. Bu kümeler, uzunluğu 5 metre olan 16 tane tüpten oluşur. Her tüp kümesi 53 litre hacme sahiptir. Tüplerde dolaşan kültür hacmi 300 L olup dönüş tankında da 300 L kültür bulunmaktadır. Toplamda sistem hacmi 600L'yi bulmaktadır. Kuluçkahanelerde kullanılan polietilen torbalarda yapılan üretim ile tübüler sistemde yapılan üretim araştırılmıştır. Yapılan araştırmada 50 cm' lik polietilen torbada ulaşılan hücre sayısı 20×10^6 hücre ml^{-1} iken tübüler sistemde 208×10^6 hücre ml^{-1} 'ye ulaşılmıştır.

Cheng–Wu et al., (2001), yaptıkları çalışmada, laboratuvar dışında 10 cm ışık yolu uzunluğuna ve 300 L hacme sahip olan reaktörde *Nannochloropsis sp* 'in büyüme özelliklerini incelemiştir. Optimum hücre yoğunluğu 500×10^6 hücre ml^{-1} elde edilmiştir. Bu değere ulaştıktan sonra %10 u hasat edilmiş taze ortam ilavesi eklenmiştir. Bu çalışmada dış ortamdan herhangi bir kontaminasyonun, zooplankton ve diğer alg türlerinin bulaşmadığı açıklanmıştır.

Durmaz, (2000) yaptığı çalışmada laboratuvar dışında ince cam panel fotobiyoreaktörlerde güneş ışığının *Chlorella sp.*'nin büyümesine etkisini araştırmıştır. Bu çalışmada 10 cm, 15cm ve 20 cm ışık yolu uzunluklarına sahip paneller kullanılmıştır. 15 cm ışık yolu uzunluğuna sahip panelde optimal biyomas eldesi $13,12 \text{ gm}^{-2}/\text{gün}$ elde edilmiştir.

Richmond, (1999), yaptığı çalışmada mikroalg yetiştiriciliğinde kültürün spesifik büyüme hızındaki artışın tamamen ışık rejimine bağlı olduğunu belirtmiştir. Kullanılan ışığın fotobiyoreaktör yüzeyindeki ışık akışı kadar, ışık yolu uzunluğunu da dikkat edilmesi gereken bir konu olduğunu belirtmiştir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

3.1.1 *Chlorella vulgaris*' in sistematigi

Chlorella vulgaris Chlorellaceae familyası üyesidir (Çizelge 3.1). Araştırmada kullanılan *Chlorella vulgaris* (Şekil 3.2) Adana Su Ürünleri Fakültesi'nden temin edilmiştir.

Çizelge 3.1 *Chlorella vulgaris*'in sistematigi; (Güner ve Aysel,1989)

Alem	Protista (Bitkiler ve Hayvanlar)
Bölüm	Chlorophyta (Yeşil algler)
Sınıf	Chlorophyceae
Takım	Chlorococcales
Aile	Oocystaceae
Cins	<i>Chlorella</i>
Tür	<i>Chlorella vulgaris</i>



Şekil 3.1 *Chlorella vulgaris*'in mikroskop altındaki görünümü

Denemeye başlamadan önce stok kültür oluşturmak amacı ile *Chlorella vulgaris* ilk olarak 500 ml' lik erlenlere tatlı suya ortam zenginleştirilmesi yapıp aşılandı. Sırasıyla 2L ve 6L'lik balonlar kullanıldı. Kültür aydınlatması için gün ışığı floresan lamba; 1200 - 1600 lüks kullanıldı. 20±3 °C sıcaklıkta sürekli aydınlatma ve havalandırma ile karıştırılarak büyütüldü.

3.1.2 Besin ortamı

Chlorella vulgaris kültüründe, F/2 (Çizelge 3.2 - 3.3) ve Jaworski (Çizelge 3.4) olmak üzere iki farklı besi ortamı kullanılmıştır.

Çizelge 3.2 F/2 Ortamı (Guillard, 1975) (her biri 1 litre'ye)

	Stok Çözelti	Kültüre Eklenen
	Litre' ye	Miktar
NaNO ₃	75g/ L	1ml
NaH ₂ PO ₄	5g/ L	1ml
Trace metal solüsyonu	Çizelge 3.2.1.1	1ml
Vitamin solüsyonu	Çizelge 3.2.1.1	0,5ml

Çizelge 3.3 F/2 besin ortamında kullanılan trace metal ve vitamin solüsyonu

FeCl ₃ . 6 H ₂ O	3,15g
Na ₂ EDTA. 2 H ₂ O	4,36g
MnCl ₂ . 4 H ₂ O	0,18g
CoCl ₂ . 6 H ₂ O	0,01g
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	0,0098g
ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	0,022g
Na ₂ MoO ₄ . 2 H ₂ O	0,0063g
Vitamin B12	0,001g
Biotin	0,001g
Thiamine HCL	200mg

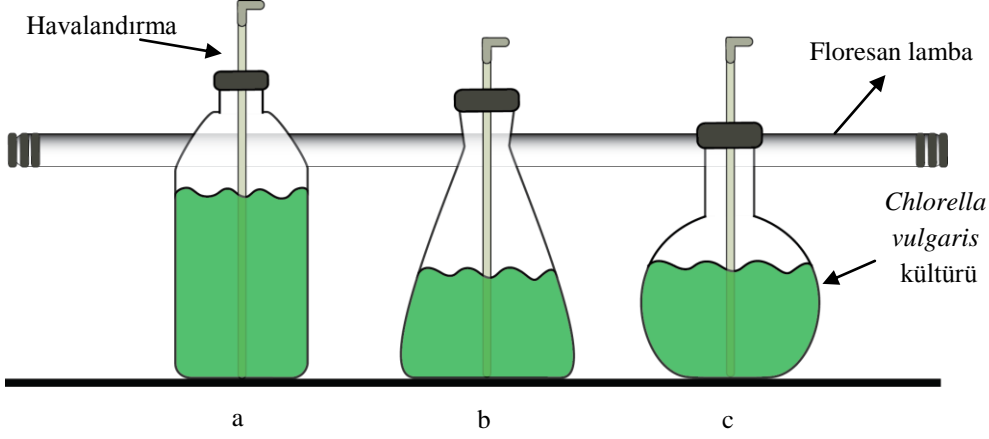
Çizelge 3.4 JM (Jaworski ortamı)

Stok	Stok Çözelti	Kültüre Eklenen Miktar	
	200mL' ye		
1	Ca(NO ₃) ₂ . 4 H ₂ O	4,0g	1ml
2	KH ₂ PO ₄	2,48g	1ml
3	MgSO ₄ . 7 H ₂ O	10,0g	1ml
4	NaHCO ₃	3,18g	1ml
5	EDTAFeNa	0,45g	
	EDTANa ₂	0,45g	1ml
6	H ₃ BO ₃	0,496g	
	MnCl ₂ . 4 H ₂ O	0,278g	1ml
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ . 4H ₂ O	0,20g	
7	Cyanocobalamin	0,008g	
	Thiamine HCL	0,008g	1ml
	Biotin	0,008g	
8	NaNO ₃	16,0g	1ml
9	Na ₂ HPO ₄ . 12 H ₂ O	7,2g	1ml

3.1.3 Kullanılan farklı üretim sistemleri

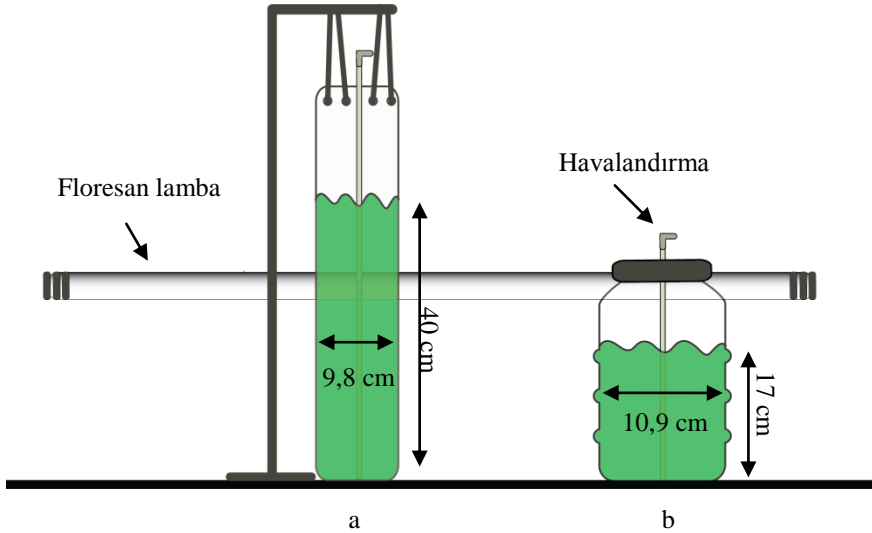
Chlorella vulgaris' in üretiminde farklı yüzey alanına sahip çam şişeler (Şekil 3.2), farklı materyale sahip üretim sistemleri ve farklı ışık yolu uzunluğuna sahip ince panel reaktörler kullanılmıştır.

Laboratuvar ortamında kullanılan şişelerin yüzey alanları hesaplanmıştır. Şişelerin yüzey alanları, silindir, kesik küre ve kesik koniğin yüzey alanlarına göre hesaplanmıştır (Şekil. 3.2). Serum şişesinin yüzey alanı $0,0375 \text{ m}^2$, balonun yüzey alanı $0,0288 \text{ m}^2$ ve erlenin yüzey alanı $0,0255 \text{ m}^2$ dir.



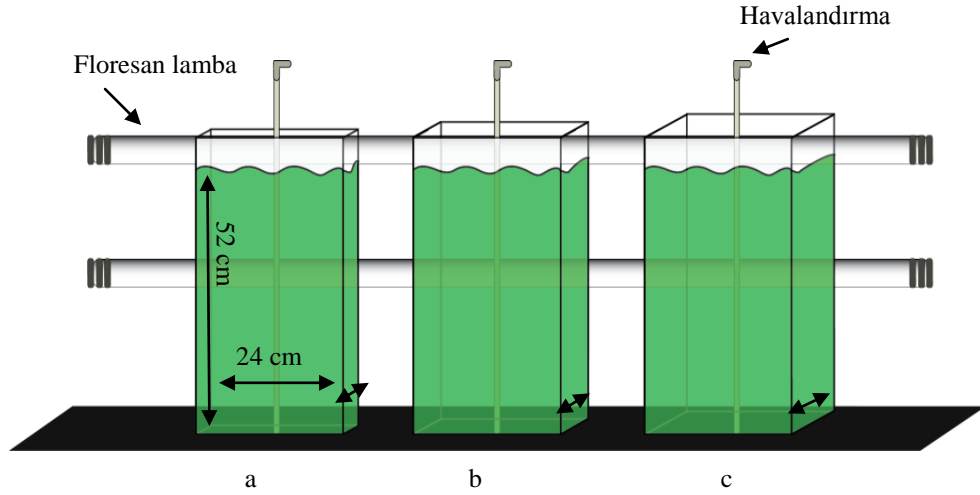
Şekil 3.2 Farklı yüzey alanlarına sahip cam şişelerin deney düzeneği; a) Serum şişesi, b) Erlen, c) Balon

Denemede kullanılan farklı materyale sahip sistemler ise plastik kaplar ve yetiştiricilikte de kullanılan torba sistemlerdir. Plastik kaplar silindir şeklinde, yüksekliği 17 cm, çapı ise $10,9 \text{ cm}$ dir. Torbaların çapları ise $9,8 \text{ cm}$, yükseklikleri 40 cm uzunluğundadır. Torbalar ağız kısmından asılarak dik konumda tutulmuşlardır.



Şekil 3.3 Farklı materyale sahip sistemlerin deney düzeneği; a) Torbalar, b) Plastik kaplar

Kullanılan ince panel sistemler 24 cm genişlikte, 52 cm yükseklikte ve $1, 3, 5 \text{ cm}$ enindedir. İnce panel sistemin hacmi sırasıyla; $1,050 \text{ L}$, 3 L ve 5 L dir.



Şekil 3.4 İnce panellerin deney düzeneği; a) 1 cm ışık yoluna sahip ince panel, b) 3 cm ışık yolu uzunluğuna sahip ince panel, c) 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip ince panel

3.2 Metot

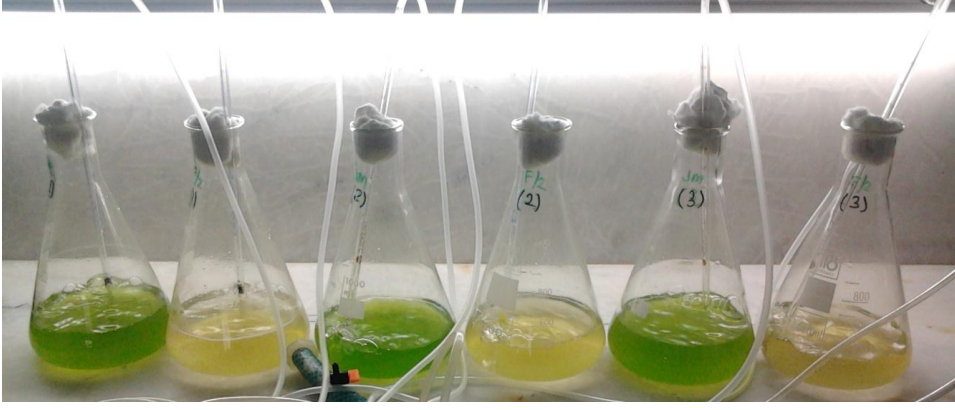
Chlorella vulgaris' in farklı fotobiyoreaktörlerde büyümesine etkisi denemeleri dört aşamada yürütülmüştür. Kültürlerde büyüme, optik yoğunluk (OD) ölçümleri, kuru ağırlık ölçümleri ile belirlenmiştir. Denemeler E.Ü Su Ürünleri Fakültesi Urla Tesisleri Plankton Laboratuvarı' nda sürdürülmüştür. Hazırlanan stok solüsyonlar, kültür ortamları, kullanılan malzemeler otoklavda (ALP CL-32S & L) 121°C' de buhar basıncı altında 15 dakika bekletilerek steril hale getirilmiştir. Çalışma süresince ortam sıcaklığı 20±3°C olacak şekilde klimalı kültür odasında sabit tutulmuştur. Aydınlatmada ise floresan lamba (Osram L 36W/L765, Almanya) kullanılmıştır ve aydınlatma sürekli olup 1200 -1600 lüks' dür.

3.2.1 Deneme planı

3.2.1.1 Deneme 1

Araştırmanın bu bölümünde *Chlorella vulgaris*' in iki farklı ortamda büyümesi incelenmiştir. Deneme 3 tekrarlı yapılmıştır. Stok kültürler aşısı olarak kullanılmak üzere çoğaltılmış ve optik yoğunluk değeri 0,202 (450nm) olan *Chlorella vulgaris* kültürü 6 adet 1 Litre'lik erlenlere; 400 ml saf su ve 100 ml alg kültürü miktarında aşılanmıştır. 3 adet erlene F/2 ortamı diğer 3 adet erlene ise JM ortamı eklenmiştir.

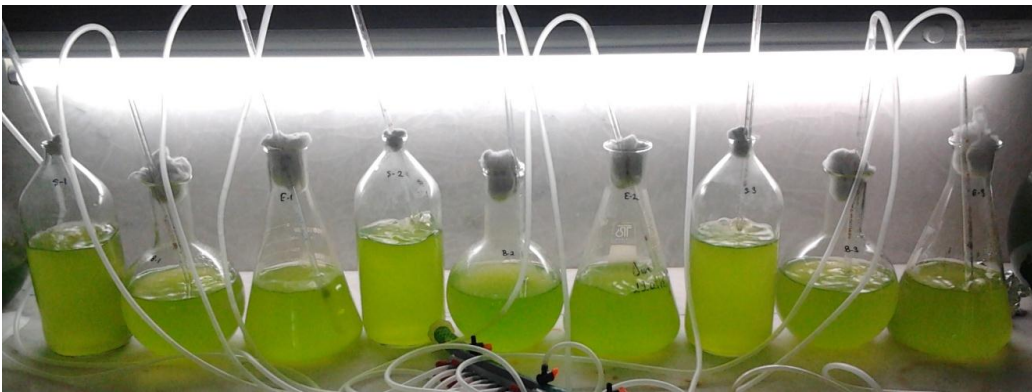
Sürekli havalandırma uygulanan kültürlerde, steril cam pipetler kullanılmıştır. Deneme planı aşağıdaki resimde (Şekil 3.5) gösterilmektedir.



Şekil 3.5 Ortam denemesi

3.2.1.2 Deneme 2

Araştırmanın bu bölümünde laboratuvar koşullarında bulunan farklı yüzey alanlarına sahip şişelerin *Chlorella vulgaris*'in büyümesine etkisi araştırılmıştır. Serum şişesi, balon ve erlenlerde kültürü yapılan *Chlorella vulgaris*'in maksimum büyüme oranı ve yüzey alanları ile olan ilişkisi incelenmek istenmiştir. Deneme 3 tekrarlı yapılmıştır. Stok kültürler aşısı olarak çoğaltılmış ve optik yoğunluk değeri 0,058 (450nm), (1/10 seyreltilmiş) olan *C. vulgaris* kültürü 9 adet 1 Litre' lik şişelere aşılanmıştır. Aşılanma oranları ise; 600 ml saf su ve 200 ml alg kültürü miktarındadır. Bütün şişelerde eşit hacimde kültürler bulunmaktadır. Bu denemede besin ortamı olarak deneme-1' den alınan verilere göre JM ortamı kullanılmıştır. Deneme planı aşağıdaki resimde gösterilmektedir (Şekil 3.6).



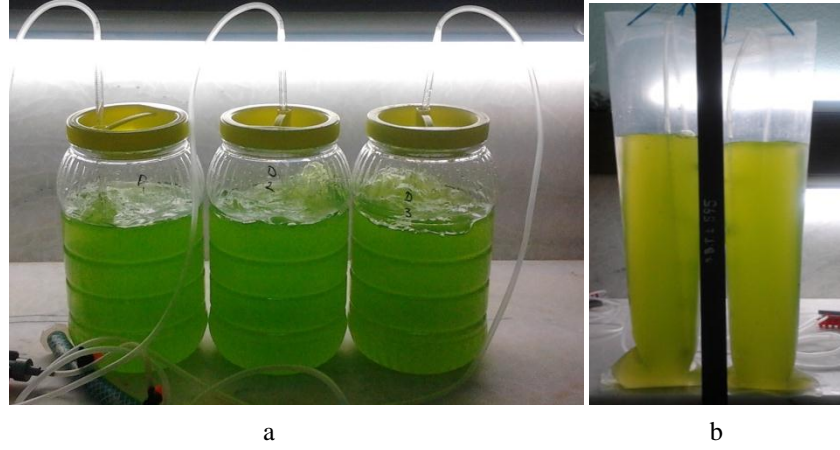
Şekil 3.6 Farklı yüzey alanlarına sahip şişeler denemesi

3.2.1.3 Deneme 3

Bu bölümde akuakültürde kuluçkahanelerde kullanılan plastik torba ile plastik materyale sahip kaplarda *Chlorella vulgaris* kültürü yapılmıştır. Bu

deneme 3 tekrarlı, torba denemesi ise 2 tekrarlı yapılmıştır. Stok kültürler aşısı olarak çoğaltılmış ve optik yoğunluk değeri 0,0065 (450nm), (1/10 seyreltilmiş) olan *C. vulgaris* kültürü 3 Litre' lik plastik kaplar ve torbalara aşılacaktır. Aşılama oranları; 1600 ml saf su ve 400 ml alg kültürü miktarındadır.

Bu denemede, deneme-1 'de ki JM ortamı kullanılmıştır. Havalandırma sürekli şekilde ve cam steril pipetler vasıtasıyla yapılmıştır. Deneme planı aşağıdaki resimde gösterilmektedir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 a)Plastik kaplarda üretim denemesi, b) Torbalarda üretim denemesi

3.2.1.4 Deneme 4

Bu bölümde *Chlorella vulgaris* farklı ışık yolu uzunluğuna sahip fotobiyoreaktörlerde kültüre alınmıştır. Stok kültürler aşısı olarak çoğaltıldı ve optik yoğunluk değeri 0,033 (450nm), (1/10 seyreltilmiş) olan *C. vulgaris* kültürü ince panel sistemlere aşılacaktır. Aşılama oranları; 7,9 L saf su ve 1,7 L alg kültürü miktarındadır. Bütün sisteme eşit alg yoğunluğu aşılama için bu oranlar daha büyük hacimli steril bir kaptaki karıştırılmıştır ve sisteme ekilmiştir.

Denemede JM besin ortamı kullanılmıştır. Havalandırma ise sürekli olup steril cam pipetler vasıtasıyla sağlanmıştır. Deneme planı aşağıdaki resimde gösterilmektedir (Şekil 3.8).

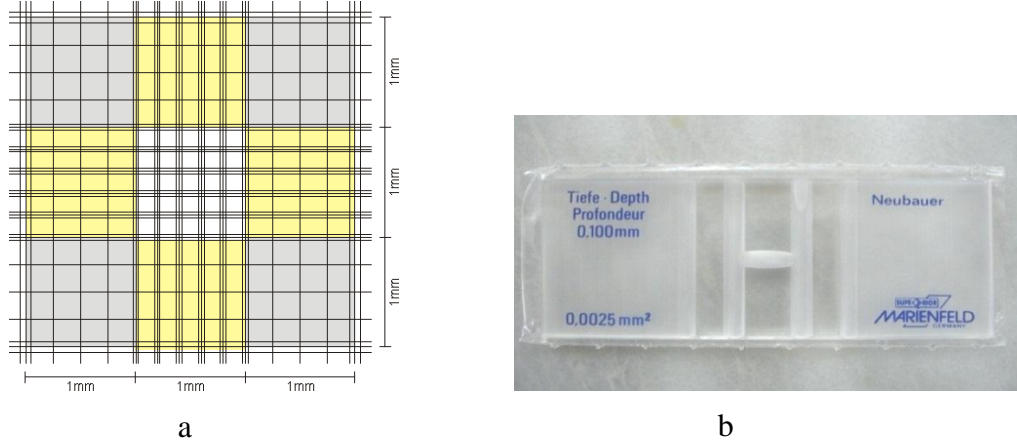


Şekil 3.8 İnce Panel sistemlerde üretim denemesi

3.2.2 Yapılan analizler

3.2.2.1 Hücre sayımı

Hücre sayımı Neubauer haemocytometer (Şekil 3.7) ile ışık mikroskobu (Nikon, Japonya) kullanılarak yapıldı. Neubauer sayma lamında 9 adet 1mm^2 lik farklı şekilde bölünmüş kareler bulunmaktadır. 2, 4, 6, 8. kareler arasında 20 dikdörtgene; 1, 3, 7 ve 9. kareler ise kendi aralarında 16 kareye bölünmüştür. 5 nolu merkezdeki kare ise 25 küçük kareye bölünmüştür. Buradaki her bir küçük kare 16 kareye daha bölünmüş ve toplam (25×16) 400 kareye sahiptir. Her bir kare $2,5 \times 10^{-7}$ ml'dir. Kamaranın total hacmi ise 9×10^{-4} ml'dir (Cirik ve Gökınar, 1999). Sayım yapılacağı zaman kültürden temiz pipetler ile örnek alındı. Kullanmadan önce lam alkol ile temizlendi ve kurulandı. Sayımlar alınan örnekler kullanılarak 8 tekrarlı olarak yapıldı, kaydedildi ve gereken hesaplamalarla hücre sayısı tespit edildi.



Şekil 3.9 a) Hücre sayımında kullanılan Neubauer sayma kamerası, b) Neubauer sayma kamerasının mikroskop altındaki görünümü

Spesifik büyüme hızı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Formüllerdeki X_2 ve X_1 sırası ile t_2 ve t_1 zamanlarındaki biyomas (hücre sayısını) belirtir.

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1}$$

3.2.2.2 Kuru ağırlık tayini

Bu analizin amacı birim hacimdeki biyomasın kuru ağırlığının saptanmasıdır. Filtre kağıtları 60°C' de kurutuldu. Kurutulan 0,45 µ göz açıklığındaki Whatman GF/C filtre kağıtlarının 0,0001g duyarlı hassas terazi (Sartorius GC8035 – OCE) ile darası alındı. Kültürlerden alınan 1ml örnek filtre kağıtları kullanılarak süzüldü. Örneklerin süzüldüğü filtre kağıtları 105°C' de 3-4 saat boyunca etüvde (MMM Medcenter Ecocell) kurutuldu. Daha sonra kurutulan filtre kağıtları hassas terazi ile ağırlık ölçümleri yapılarak litredeki kuru ağırlık değerleri gram cinsinden hesaplandı.

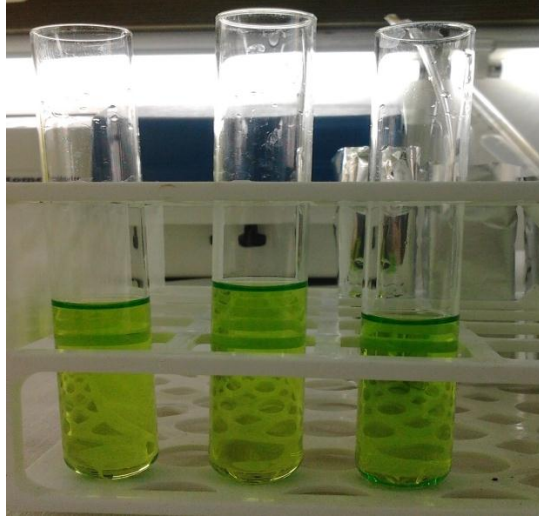
3.2.2.3 Optik yoğunluk ölçümü

Chlorella vulgaris denemeleri boyunca, optik yoğunluk ölçümleri steril pipetler yardımıyla her denemeden 1ml örnek alınıp, 1/10 oranında seyreltilmiştir. Cam küvetlerde 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Boeco, S-20) ölçümler okunmuştur.

3.2.2.4 Klorofil a analizi

Deneme boyunca her denemeden 5 ml örnek alındı. Alınan örnekler 3500 rpm' de (Nüve CN-180) çöktürüldü. Üstündeki berrak kısımları atıldı ve örnekler cam tozu eklendi. 1 dakika boyunca buzda bekletilen örnekler vortex (Heidolph Reax top vortex) ile 30 saniye boyunca karıştırıldı. Bu işlem 3 kere tekrarlandı. Örneklerin üzerine 5 ml metanol (Merck %100, Germany) eklendi ve vortex ile 30 saniye karıştırıldı. Tekrar santrifüje konulan örnekler (Şekil 3.8), santrifüjden alındıktan sonra üstlerindeki sıvı kısım ayrı tüplere alındı ve metanol ile kalibre edilen spektrofotometrede 666 nm' de ölçüldü. Aşağıda verilen formül ile klorofil a miktarları tespit edildi.

$$Chl_a = OD_{666} \times 13,9 \text{ (Sanchez ve ark., 2005)}$$



Şekil 3.10 Klorofil a analizi - örnekler

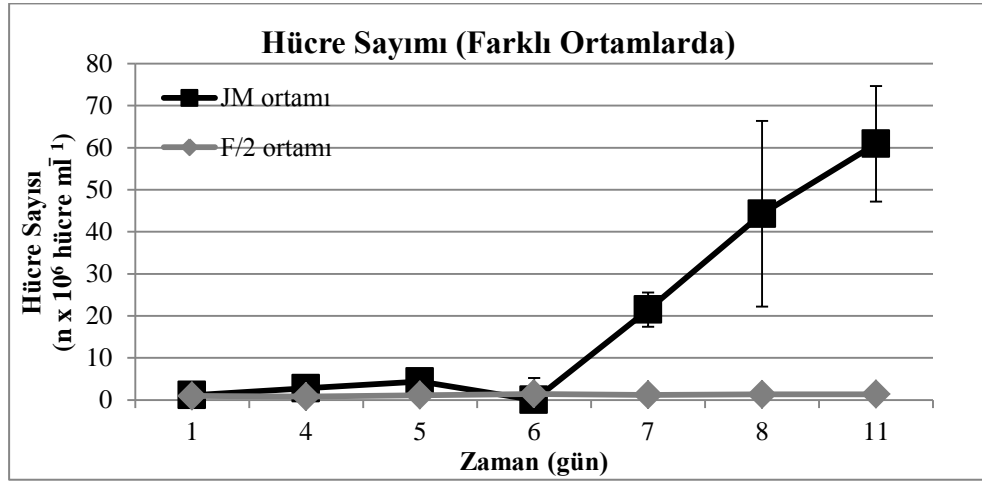
4. BULGULAR

Farklı fotobiyoreaktörlerin *Chlorella vulgaris*' in büyümesine etkisini belirlemek amacı ile yapılan dört farklı denemede besin ortamı, farklı yüzey alanları, farklı materyale sahip sistemler ve farklı ışık yolu uzunluğu uygulanmıştır. Hücre sayısı, kuru ağırlık değerleri, optik yoğunluk ve klorofil *a* miktarları belirlenmiştir.

4.1 Deneme 1

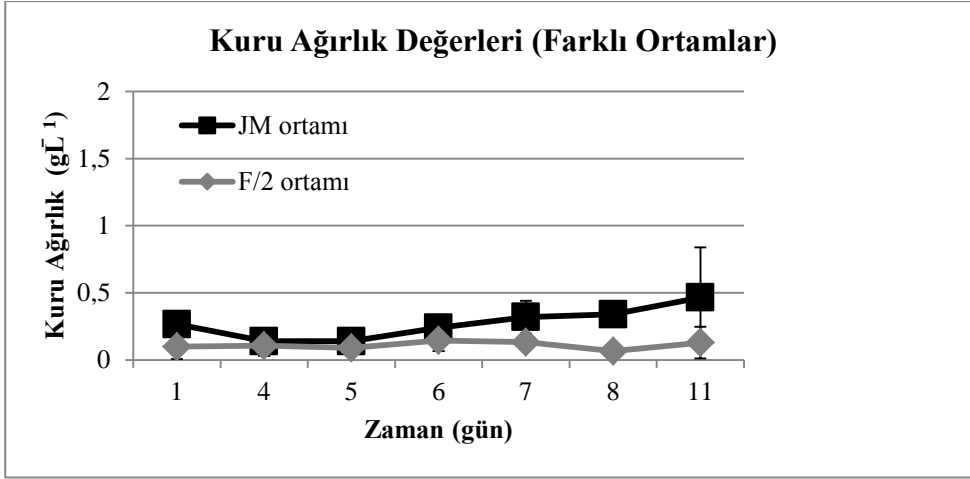
Bu denemede 2 farklı besin ortamının *Chlorella vulgaris*' in büyümesine etkisi araştırılmıştır. Aynı hücre sayılarına ve hücre yoğunluğuna sahip kültürler F/2 ve JM ortamlarına ekilmiştir. Deneme 11 gün sürmüştür.

JM ortamına ekilen kültür grubu hızlı bir büyüme grafiği göstermiştir. F/2 ortamına ekilen kültür grubunda ise büyüme görülmemiştir. Hücre yoğunluğu JM ortamında kültüre alınan grupta 11. günde $60,8 \times 10^6$ hücre ml^{-1} e ulaşmıştır. F/2 ortamında yetişen kültür grubu ise 11. günde $1,37 \times 10^6$ hücre ml^{-1} e ulaşmıştır (Şekil 4.1). JM ortamında yetişen kültürlerin hücre sayısındaki artış 6. günden itibaren 11. güne kadar devam ettiği tespit edilmiştir. F/2 ortamında yetişen kültürlerin hücre sayısı deneme süresi boyunca artmadığı tespit edilmiştir.



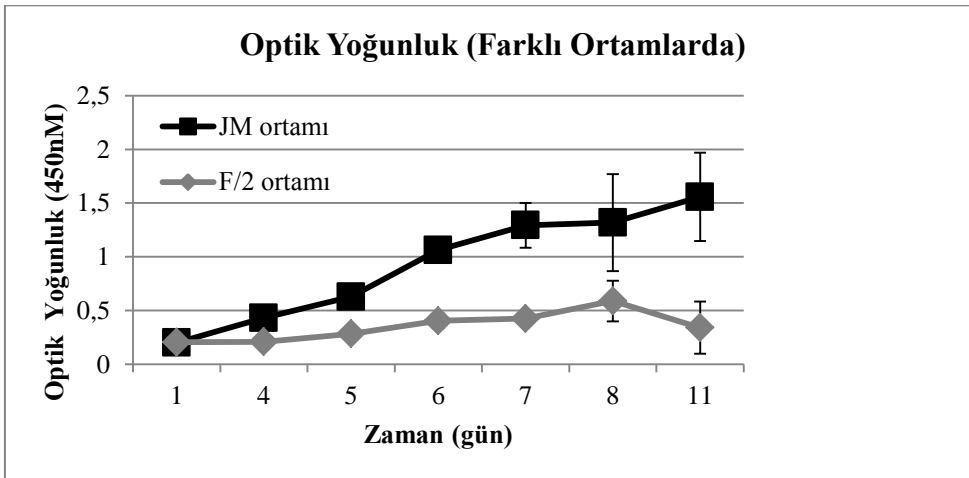
Şekil 4.1 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Ortamlardaki Büyüme Eğrileri

JM ortamında yetişen kültürlerin kuru ağırlık değeri 11. gün sonunda $0,46 \text{ gL}^{-1}$ e ulaşmıştır. F/2 ortamında yetiştirilen kültürler 1. günde $0,1 \text{ gL}^{-1}$ den 4. günde $0,14 \text{ gL}^{-1}$ e yükselmiş fakat 11. günde $0,13 \text{ gL}^{-1}$ e düştüğü tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



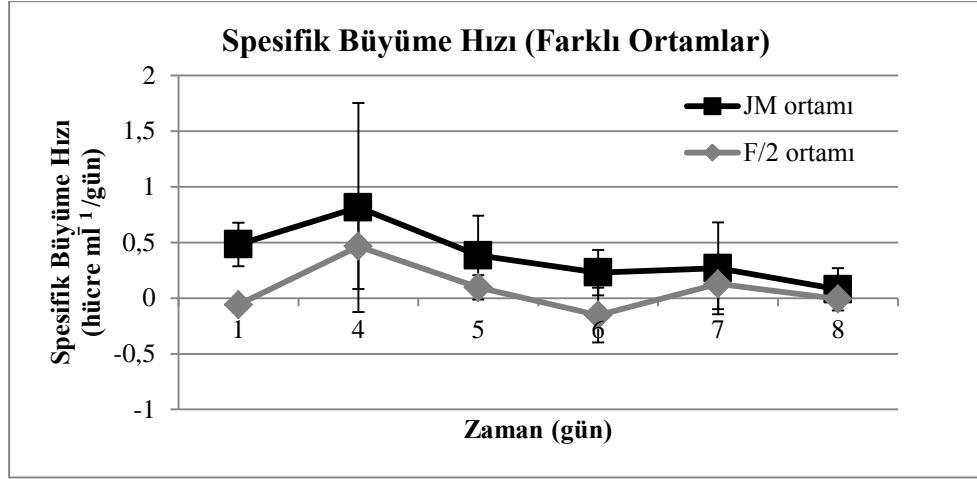
Şekil 4.2 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Ortamlardaki Kuru Ağırlık Değerleri

Optik yoğunluk değerlerine göre JM ortamında yetiştirilen kültürlerin artan bir büyüme eğrisine sahip olduğu görülmektedir. F/2 ortamında yetiştirilen kültürlerde ise büyüme görülmemiştir ve optik yoğunluk değerleri değişmemiştir. JM ve F/2 ortamlarında yetiştirilen kültürlerin 11. günde en yüksek optik yoğunluk değerleri sırasıyla 1,55 (450nm) ve 0,34 (450nm) olduğu saptanmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Ortamlardaki Optik Yoğunluk Değerleri

Spesifik büyüme hızı (Şekil 4.4) JM ortamında yetiştirilen kültürlerde 4. günde $0,81 \text{ bölünme.gün}^{-1}$ elde edilmiştir.

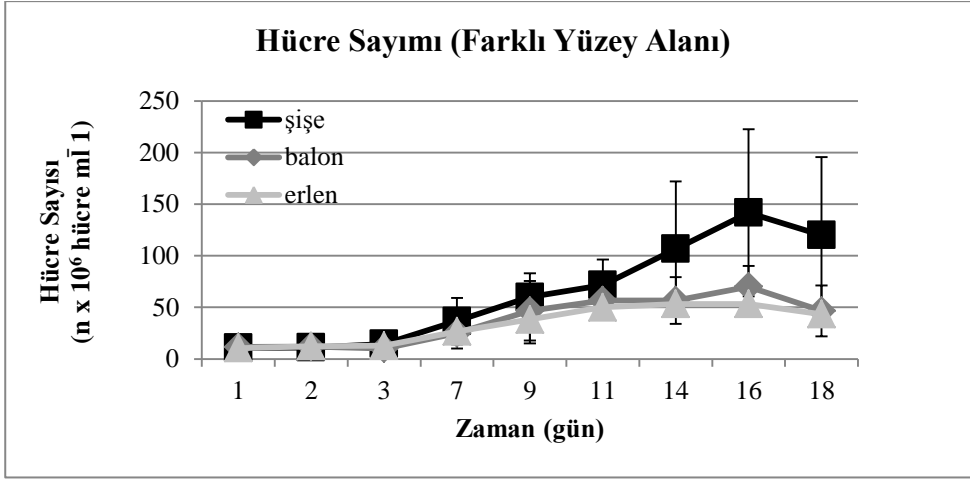


Şekil 4.4 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Ortamlardaki Spesifik Büyüme Hızı

4.2 Deneme 2

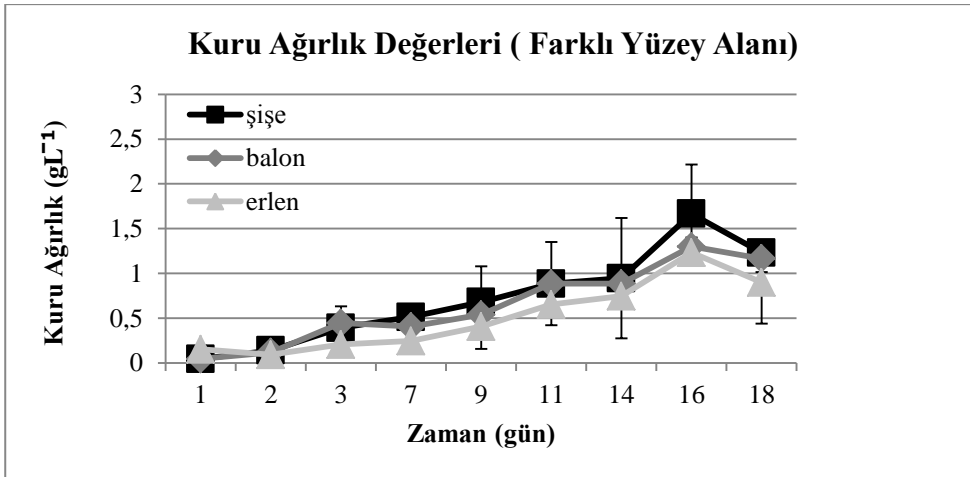
Bu denemede farklı yüzey alanlarının *Chlorella vulgaris*' in büyümesine etkisi araştırılmıştır. Denemede laboratuvar koşullarında kullanılan serum şişesi, balon ve erlen kültür üretiminde kullanılmıştır. Aynı hücre yoğunluğuna (11×10^6 hücre ml^{-1}), aynı optik yoğunluğuna (0,0577) sahip kültürler eşit hacimde şişelere ekimi yapılmıştır. Deneme 18 gün sürmüştür. Denemede bütün gruplar 16. günde maksimum hücre yoğunluğuna ulaşmıştır. Fakat en fazla büyüme serum şişelerinde gerçekleşmiştir (Şekil 4.5).

Denemenin 16. gününde serum şişesi grubunda hücre yoğunluğu 141×10^6 hücre ml^{-1} değerine ulaşmıştır. Balonlarda yapılan üretim ise 70×10^6 hücre ml^{-1} , e, erlenlerde ise $53,3 \times 10^6$ hücre ml^{-1} hücre yoğunluğuna ulaşılmıştır. 9. günden itibaren serum şişelerinde hücre yoğunluğundaki artışın daha fazla olduğu tespit edilmiştir.



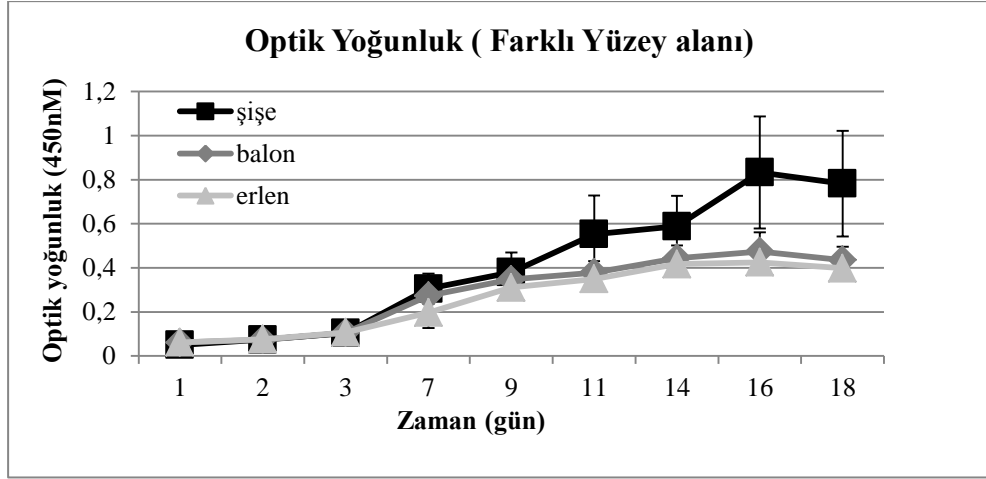
Şekil 4.5 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Yüzey Alanlarına Sahip Cam Şişelerdeki Büyüme Eğrisi

Kuru ağırlık değerleri (Şekil 4.6) 16. günde serum şişelerinde yapılan kültürlerde $1,6 \text{ gL}^{-1}$, balonlarda yapılan kültürlerde $1,3 \text{ gL}^{-1}$ ve erlenlerde yapılan kültürlerde $1,2 \text{ gL}^{-1}$ değerine ulaşılmıştır.



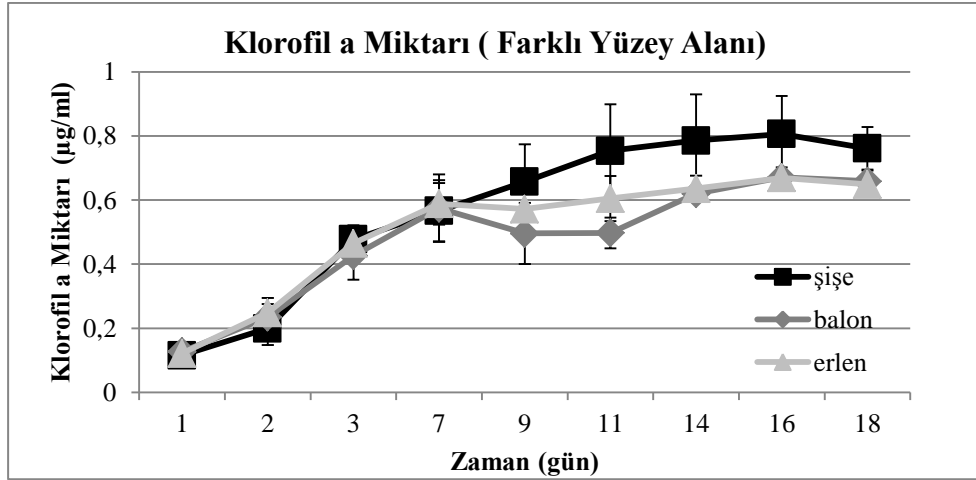
Şekil 4.6 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Yüzey Alanlarına Sahip Cam Şişelerdeki Kuru Ağırlık Değerleri

Optik yoğunlu değerleri (Şekil 4.7) bakımından en fazla yoğunluğa sahip grup, serum şişeleri olarak gözlemlenmiştir. İlk 3 gün her grup aynı şekilde ortama adaptasyon sağlasa bile özellikle 9. günden itibaren serum şişelerindeki büyüme daha fazla oranda gerçekleşmiştir.



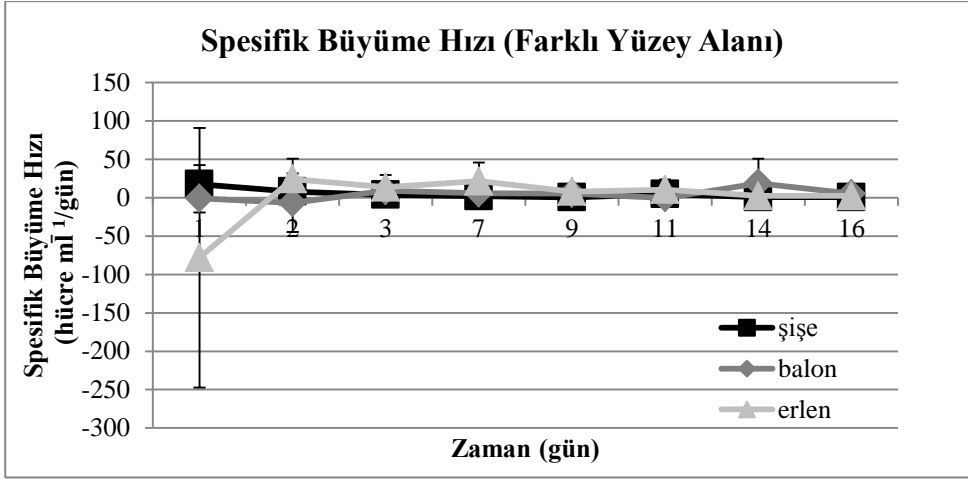
Şekil 4.7 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Yüzey Alanlarına Sahip Cam Şişelerdeki Optik Yoğunluk Değerleri

Deneme boyunca klorofil *a* değerleri (şekil 4.8) incelenmiş ve klorofil *a* değerleri serum şişelerinde yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Klorofil *a* değerleri 16. günde sırasıyla serum şişesi, balon ve erlenlerde; 0,806 µg/ml, 0,671 µg/ml, 0,669 µg/ml olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.8 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Yüzey Alanlarına Sahip Cam Şişelerdeki Klorofil *a* Miktarı

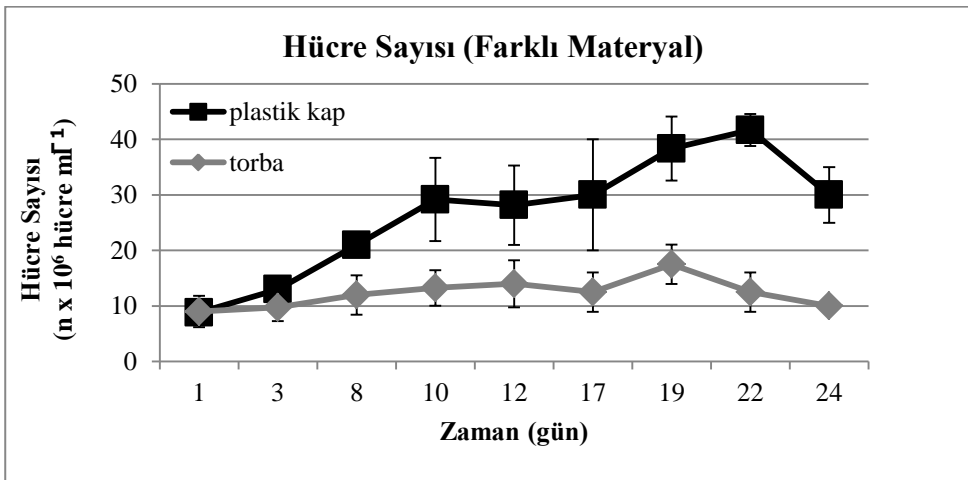
Spesifik büyüme hızları (Şekil 4.9) serum şişesinde yapılan kültürlerde 1. günde en yüksek büyüme ($17,2 \text{ bölünme.gün}^{-1}$), balonlarda ($38,2 \text{ bölünme.gün}^{-1}$) ve erlenlerde ($24 \text{ bölünme.gün}^{-1}$) 2. günde en yüksek büyüme elde edilmiştir.



Şekil 4.9 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Yüzey Alanlarına Sahip Cam Şişelerdeki Spesifik Büyüme Hızı

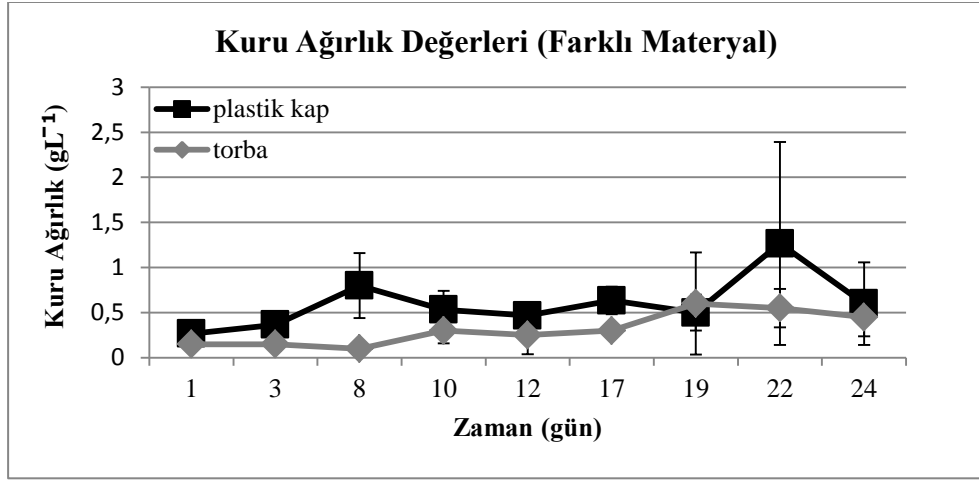
4.3 Deneme 3

Bu denemede akuakültürde kullanılan farklı materyallerdeki üretim sistemleri laboratuvar koşullarında *Chlorella vulgaris*' in üretiminde kullanılmıştır. Deneme 24 gün sürmüştür. Aynı hücre yoğunluğuna ($8,9 \times 10^6$ hücre ml^{-1}), aynı optik yoğunluğuna (0,065; 450nm) sahip kültürler eşit hacimde plastik kaplara ve torbalara ekimi yapılmıştır. Plastik kaplarda üretilen kültürler 22. günde en yüksek hücre yoğunluğuna ($41,6 \times 10^6$ hücre ml^{-1}) ulaşmıştır. Torbalarda üretilen kültürler ise 19. günde en yüksek hücre yoğunluğuna ($17,5 \times 10^6$ hücre ml^{-1}) ulaşmıştır (Şekil 4.10).



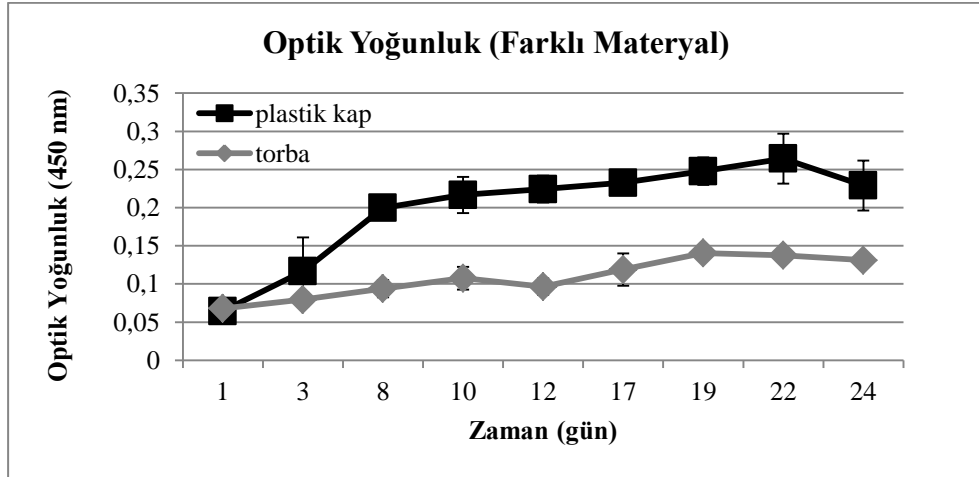
Şekil 4.10 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Materyale Sahip Sistemlerdeki Büyüme Eğrisi

Kuru ağırlık değerleri (Şekil 4.11) plastik kaplarda üretilen kültürlerde büyümenin en yüksek olduğu 22. günde $1,26 \text{ gL}^{-1}$ e ve torbalarda ise büyümenin en yüksek olduğu 19. günde $0,55 \text{ gL}^{-1}$ e ulaşmıştır.



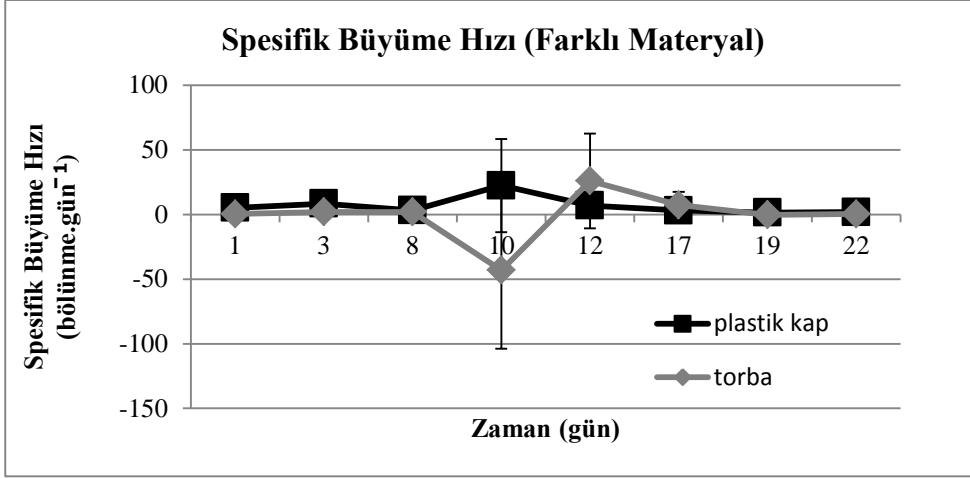
Şekil 4.11 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Materyale Sahip Sistemlerdeki Kuru Ağırlık Değerleri

Plastik kaplarda yapılan üretimde 3. günden itibaren torbalarda yapılan üretime göre optik yoğunluk değerleri daha yüksek olduğu görülmüştür. Plastik kaplarda üretilen kültürlerde 22. günde en yüksek optik yoğunluk değeri $0,264$ (450nm) , torbalarda yapılan üretimde 19. günde en yüksek optik yoğunluk değeri $0,145$ (450nm) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Materyale Sahip Sistemlerdeki Optik Yoğunluk Değerleri

Spesifik büyüme hızı plastik kaplarda üretilen kültürlerde 10. günde en yüksek ($22,3 \text{ bölünme.gün}^{-1}$) değere, torba kültürlerinde 12. günde en yüksek ($25,9 \text{ bölünme.gün}^{-1}$) değere ulaştığı saptanmıştır (Şekil 4.13).

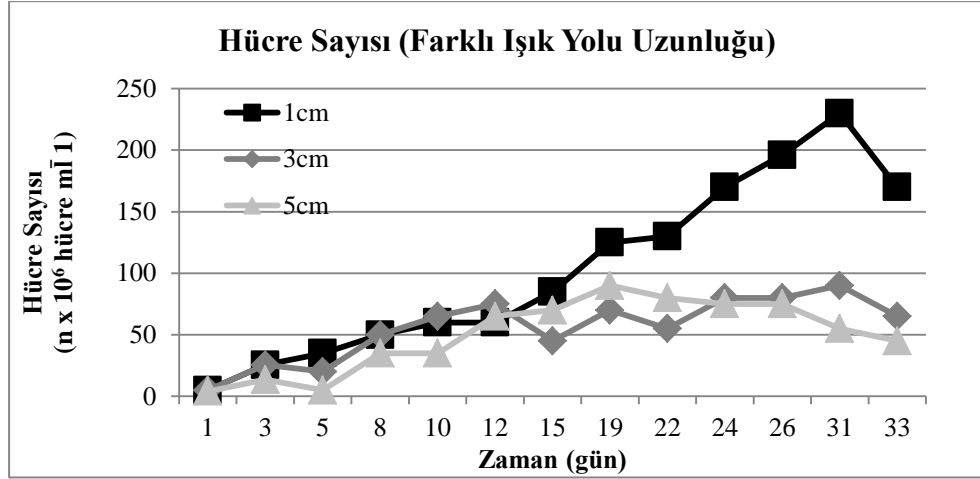


Şekil 4.13 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Materyale Sahip Sistemlerdeki Spesifik Büyüme Hızı

4.4 Deneme 4

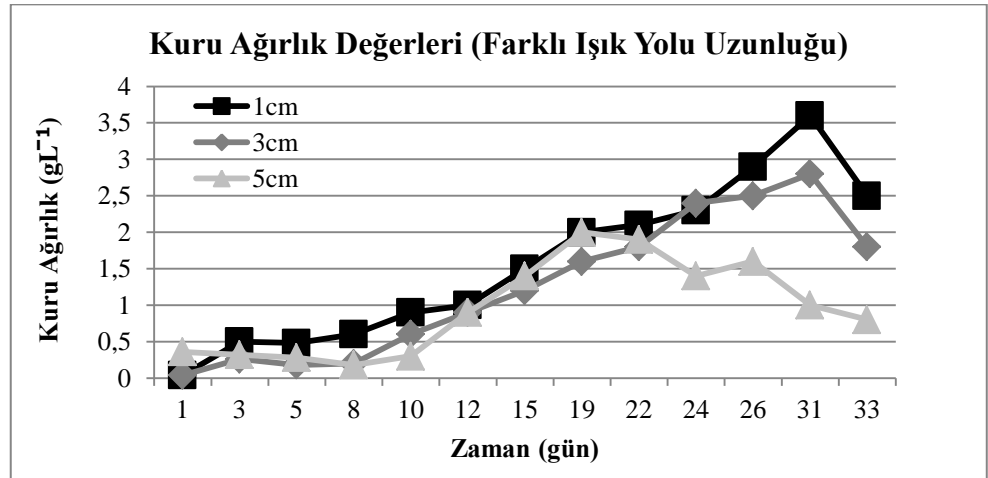
1, 3, 5 cm' lik ışık yolu uzunluğuna sahip ince panel reaktörlerde laboratuvar koşullarında *Chlorella vulgaris* kültürlerinin üretimi 33 gün sürmüştür. Aynı hücre yoğunluğuna ($4,67 \times 10^6 \text{ hücre ml}^{-1}$) ve aynı optik yoğunluğa sahip ($0,033$; 450nm) kültürler ince panel sistemlere ekimi yapılmıştır.

En yüksek hücre sayısına 31. günde 1cm'lik panelde ulaşılmıştır. Hücre sayısı $230 \times 10^6 \text{ hücre ml}^{-1}$, e çıkmıştır. 3 cm' lik panelde ise hücre sayısı en yüksek olduğu değer 31. günde $90 \times 10^6 \text{ hücre ml}^{-1}$, e, 5cm'lik panelde ise hücre sayısı en yüksek 19. günde $90 \times 10^6 \text{ hücre ml}^{-1}$, e ulaşmıştır (Şekil 4.14).



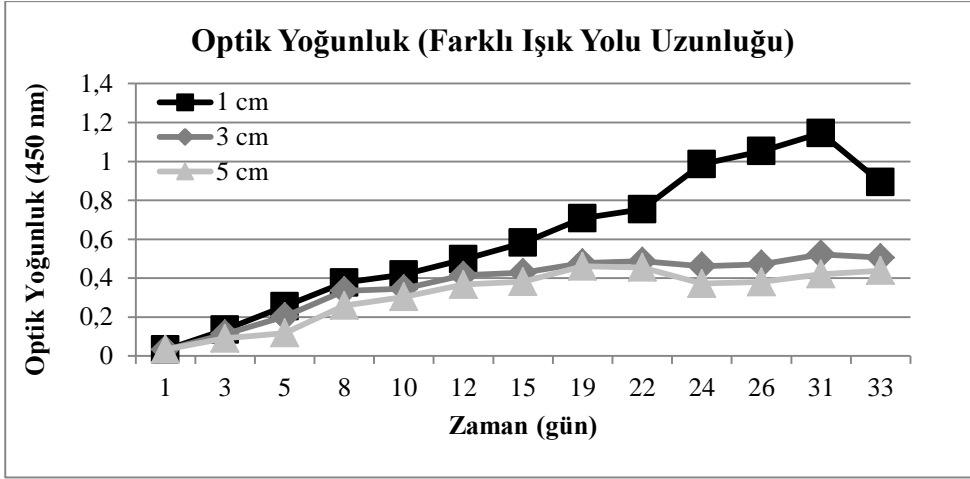
Şekil 4.14 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Işık Yolu Uzunluğuna Sahip Sistemlerdeki Büyüme Eğrisi

Kuru ağırlık değerleri (Şekil 4.15) ise 1cm' lik panelde büyümenin en yüksek olduğu 31. günde $3,6 \text{ gL}^{-1}$, 3 cm' lik panelde büyümenin en yüksek olduğu 31. günde $2,8 \text{ gL}^{-1}$ ve 5 cm'lik panelde büyümenin maksimum olduğu 19. günde $2,4 \text{ gL}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir.



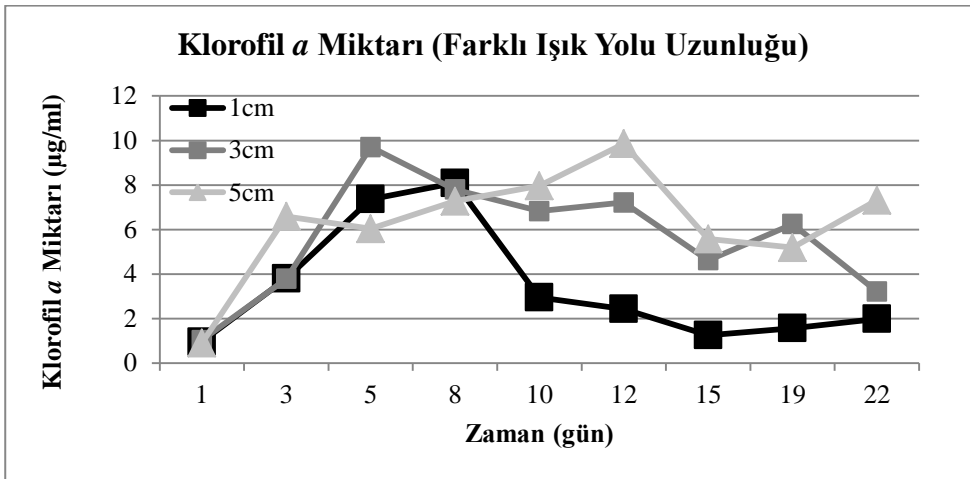
Şekil 4.15 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Işık Yolu Uzunluğuna Sahip Sistemlerdeki Kuru Ağırlık Değerleri

Optik yoğunluk değerleri (Şekil 4.16) ilk 8 günde aynı oranda arttığı gözlenmiştir. 8. günden sonra 1 cm' lik ince panelde optik yoğunluk artışı gözlenmiştir. 3 cm' lik ve 5 cm'lik ince panellerde ise optik yoğunluk değerinin yaklaşık olarak aynı oranda arttığı saptanmıştır.



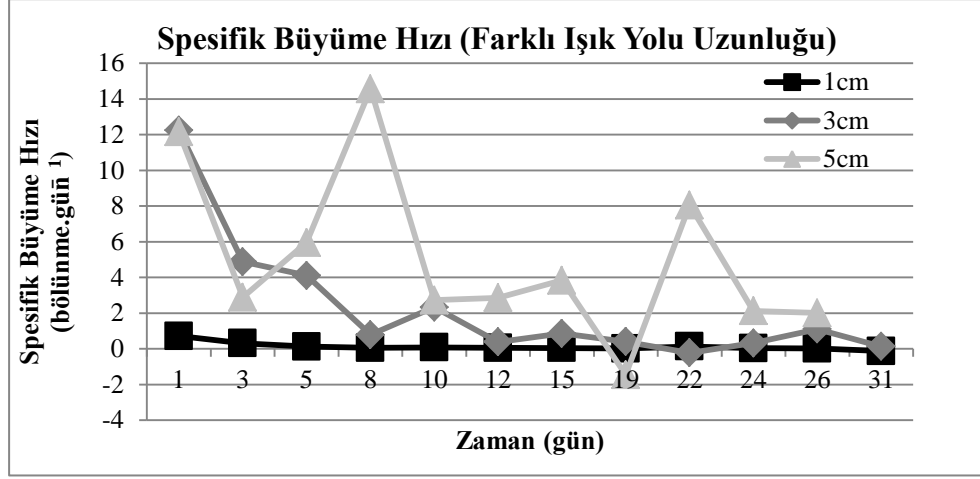
Şekil 4.16 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Işık Yolu Uzunluğuna Sahip Sistemlerdeki Optik Yoğunluk Değerleri

Panellerde yapılan kültürlerin klorofil *a* değerleri zamanla düştüğü tespit edilmiştir. Yapılan denemede büyüme oranları ile klorofil *a* değerlerinin ters orantılı olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Işık Yolu Uzunluğuna Sahip Sistemlerdeki Klorofil *a* Değerleri

Panellerde spesifik büyüme hızı maksimum olduğu 3. günde 1 cm' lik, 3 cm'lik ve 5 cm'lik panellerde ki değerler sırası ile 0,719, 12,2 ve 12,1 bölünme.gün⁻¹ tespit edilmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 *Chlorella vulgaris*' in Farklı Işık Yolu Uzunluğuna Sahip Sistemlerdeki Spesifik Büyüme Hızı

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Fototrofik kültür sistemlerinde kültüre alınan tür ile optimal büyüme hızı elde etmek için, kullanılan besin ortamı, kullanılan sistemin yüzey alanı ve materyali ve ışığın su kolonunda aldığı yol, nüfuz etme gücü biyoması etkiler.

Mikroalg yetiştiriciliğinde kısa zamanda daha fazla üretim amaçlanmıştır. Bu hedeften yola çıkarak kullanılan besin ortamının yeterliliği üretim aşamasında ilk belirlenmesi gereken aşamadır. Yüksek bitkilerde olduğu gibi alglerde de ortamdaki besinlere (nütrient) önemli ölçüde gereksinim duyarlar. Bunun için kültür ortamı türe uygun besinlerle zenginleştirilir. Mikroalgler organik madde sentezini gerçekleştirmek için karbon (C), azot (N), ve fosfor (P) gibi temel elementlere gereksinim duyarlar (Davis, 1977). Bunların dışında inorganik mikronütrientler (EDTA, Cu, Co, Mn, Zn gibi iz metaller) ve organik mikronütrientler (B₁, B₁₂, biotin gibi vitaminler ve glycine gibi bazı aminoasitler) olarak ayrılabilir. Kapalı fotobiyoreaktörlerde temel gereksinim güçlü ışık kaynağı etkin gaz değişimi ve uygun ortam kompozisyonudur (Uslu ve ark., 2012).

Mandalam et al., (1998) *Chlorella vulgaris*' in üretimde geliştirilmiş N-8 (Vonshak, 1986) ortamı kullanmıştır. N-8 ortamında kullanılan bazı elementlerin oranı değiştirilmiştir. Bu ortamda kullanılan demir (Fe), magnezyum (Mg), potasyum (K), kükürt (S) ve azot (N) değerlerini farklı kompozisyonlarda deneyerek M-8 ortamı elde etmiştir. M-8 ortamında, KNO₃; 3 katı, MgSO₄. 7 H₂O; 8 katı kullanılmış ve demir kaynağı olarak da FeSO₄. 7 H₂O ilave edilmiştir. Bu denemelerde N-8 ortamında büyüme 7-12 gün sürmüştür, M-8 ortamında 24 gün sürmüştür. Potasyum, magnezyum ve demir' in *Chlorella vulgaris*' in büyümesini etkilediği belirtilmiştir.

Yapılan bu tezde ise Jaworski Ortamı (JM) ile F/2 ortamında *Chlorella vulgaris*' in üretimi araştırılmak istenmiştir. Deneme süresince F/2 ortamında büyüme olmamasına rağmen, JM ortamında 16-31 güne kadar büyüme olduğu saptanmıştır. İçerdikleri nütrientler ve kullanılan miktar bakımından daha yüksek orana sahip Jaworski Ortamı *Chlorella vulgaris* için üretim olanağı sunmuştur. JM ortamında kullanılan makro elementlerin; azot (N), potasyum (K), kükürt (S) ve sodyum (Na)' un *Chlorella vulgaris*' in üretiminde kullanılması gerektiği saptanmıştır. Mikro elementlerin; demir (Fe) ve bor (B)' un *Chlorella vulgaris*' in çoğalmasında etkili olduğu saptanmıştır. Denemenin sonucunda, JM ortamında kullanılan makro elementlerin yüksek oranlarda kullanılması ve özellikle potasyum ve kalsiyum kullanılması büyümeyi doğrudan etkilemektedir. Mikro elementler bakımından ise bor elementinin büyümeye etkisi olduğu görülmüştür.

Özellikle fototrof olarak üretilmek istenen mikroalg kültürlerinde ışık önemli bir parametredir. Bu yüzden fotobiyoreaktör tasarımlarında ışıktan verim çok önemlidir. Işıktan yeteri kadar verim alabilmek için kullanılan materyalin yüzey alanı, yani fotobiyoreaktörün ışığı aldığı açı önemlidir.

Zijffers et. al., (2008) 'e göre reaktörün güneş ışığını veya herhangi bir ışık kaynağını en verimli şekilde alması önemlidir. Fotobiyoreaktörün yüzey alanı ve şekli hücrelerin daha fazla ışıktan yararlanması için gerekli olduğunu belirtmiştir. Reaktör tasarımı için, bulunduğu konum, vertikal olması, ışığı doğru açılarla alması gerektiğini belirtmiştir. Genelde iyi bir ışık enerjisi dağılımı için düz ve dikdörtgen şekilli sistemler veya doğrusal ve silindirik şekilli sistemlerin kullanılmasını önermiştir. Doğrusal ve silindirik sistemler ışığı odaklaması bakımından verimli olabilmektedir.

Fotobiyoreaktör tasarımlarında dışbükey silindirik sistemler kullanılabilir. Bu çalışmada ise laboratuvar ortamında en verimli üretimi gerçekleştirmek için kullanılan serum şişesi, balon ve erlenlerin yüzey alanı hesaplandığında ve ışığın açısı da göz önünde tutulduğunda silindir şekilli kaplarda *Chlorella vulgaris* 'in üretimi daha fazla olduğu görülmüştür. Denemenin 16. gününde serum şişesi grubunda hücre yoğunluğu 141×10^6 hücre ml^{-1} 'e değerine ulaşmış, balonlarda yapılan üretim 70×10^6 hücre ml^{-1} ve erlenlerde ise $53,3 \times 10^6$ hücre ml^{-1} 'e hücre yoğunluğuna ulaşılmıştır. Silindir şekilli kaplar ışığı 90° 'ye daha yakın açılarla kırıdığından, ışıktan yararlanma oranı daha fazladır. Özellikle küçük hacimlerde yapılmak istenen üretim için kullanılan materyalin yüzey alanları önemlidir.

Yılmaz, (2006) belirttiği üzere akuakültürde kullanılan torba sistemlerde yapılmak istenen kültür, kesikli yöntem ile iç veya dış mekânlarda gerçekleştirilir. Bu sistemlerinde bazı dezavantajları, üretimin kesikli olması etkin işçiliği gerektirir ve sistemde hacim göreceli olarak arttırılmalıdır. Sistemin büyük ölçekte oluşu ışıktan yararlanmayı kısıtlar. Bu durumda üretim arzu edilen kalitede olmayabilir.

Göksan ve ark., (2007) yaptıkları çalışmada *Nannochloropsis sp.* 'in polietilen torbalarda üretimi ile tübüler sistemlerde üretimi araştırılmıştır. 20 cm (25-30 Litre) ve 50 cm (300-350 Litre) çaplarındaki torbalarda üretim sırasıyla 7-13 günde maksimum değere ulaşmıştır. 20 cm'lik torbalarda 70×10^6 hücre ml^{-1} , 50 cm' lik torbalarda ise 20×10^6 hücre ml^{-1} olduğu tespit edilmiştir. Tübüler sistemde ise 208×10^6 hücre ml^{-1} hücre sayısına ulaşılmıştır. Yapılan çalışmada tübüler sistemin torbalara göre daha verimliliği olduğu belirtilmiştir. Torbalarda üretilen kültürlerin çökme riski olduğu belirtilmiştir.

Yapılan bu tezde ise, *Chlorella vulgaris*' in farklı materyale sahip kaplarda üretimi cam malzemeye göre yetersiz olduğu gözlenmiştir. Plastik kaplarda ve torbalarda yapılan kültürler daha uzun zamanda ve düşük hücre yoğunluğuna ulaşmıştır. Denemelerde; serum şişelerinde 16. günde 141×10^6 hücre ml^{-1} , plastik kaplarda yapılan üretimde hücre yoğunluğu $41,6 \times 10^6$ hücre ml^{-1} , torbalarda yapılan üretimde ise $17,5 \times 10^6$ hücre ml^{-1} olduğu saptanmıştır. *Chlorella vulgaris*' in üretimde plastik kap veya torba kullanılması, büyüme oranını düşürmektedir. Plastik kaplarda ve torbalarda gerçekleşen üretimde, kültürler ışığa daha az maruz kalmaktadır. Bunun sonucunda düşük üretim ve düşük verimlik problemleri ortaya çıkmaktadır. Ayrıca plastik kaplarda ve torbalarda yeterli sterilizasyon yapılamamaktadır. Bu sorun kültürün büyümesi ve verimliliği için önemlidir.

Durmaz, (2000) yaptığı çalışmada *Chlorella sp.*' nin farklı ışık yolu uzunluğu (10 cm, 15 cm ve 20 cm) olan reaktörlerde laboratuvar dışında doğal aydınlık/karanlık periyotlarda büyümesini araştırmıştır. Kullanılan reaktörler ince cam panel şeklindedir ve aydınlatmada güneş ışığı kullanılmıştır. Farklı ışık yolu uzunluğu olan reaktörlerde hücrelerin ışık adaptasyonu, 10 cm ışık yolu uzunluğu olan biyoreaktörlerde 7 gün, 15 cm ve 20 cm ışık yolu uzunluğu olan biyoreaktörlerde ise 5 gün sürmüştür. Denemelerde kullanılan biyoreaktörler arasında daha kolay ısınan ve en düşük hacime sahip olan 10 cm ışık yolu uzunluğuna sahip biyoreaktördür. Kolay soğuması ise bu ışık yolu uzunluğu için dezavantajdır. Dışarıda üretim yapılabilmesi için reaktör hacmi sıcaklık açısından önemlidir. Güneş ışığı kullanılarak üretim yapılan reaktörlerde sabah ve akşam saatleri arasında ışık şiddeti (400 – 1400 ft cd) değişmektedir. Bu aydınlatma ile *Chlorella sp.* üretiminde 20 cm' lik fotobiyoreaktörlerde en yüksek $49,5 \times 10^6$ hücre ml^{-1} yoğunluğuna ulaşılmıştır. 15 cm' lik panelde en yüksek 49×10^6 hücre ml^{-1} ve 10 cm' lik panelde ise $36,5 \times 10^6$ hücre ml^{-1} hücre yoğunluğuna ulaşılmıştır. Yapılan çalışmada ışık yolu uzunluğunun kültüre alınan türe göre ayarlanması gerektiği belirtilmiştir. 15 cm ve 20 cm' lik panellerde spesifik büyüme hızının yüksek olduğu belirtilmiştir. Işık yolu uzunlukları farklı olan ince cam panellerde yapılan mikroalg kültüründe güneş ışığı şiddeti ve süresi önemli olduğu vurgulanmış ve tür için uygun ışık yolu uzunluğunun tespiti, verimlilik açısından önemli olduğu belirtilmiştir.

Yapılan bu tezde ise, *Chlorella vulgaris*, 1, 3, 5cm' lik ışık yolu uzunluğuna sahip ince panellerde yetiştirilmiştir. Üretim 33 gün sürmüştür. İlk 8 günde aynı oranda büyüme gözlenmiştir. 1cm ışık yolu uzunluğuna sahip panelde en yüksek hücre sayısına 31. günde, 230×10^6 hücre ml^{-1} ulaşılmıştır. 3cm ışık yolu uzunluğuna sahip panelde en yüksek üretim 31. günde 90×10^6 hücre ml^{-1} 'e ve 5cm ışık yolu uzunluğuna sahip panelde ise hücre sayısı en yüksek 19. günde 90×10^6 hücre ml^{-1} 'e ulaşmıştır. Kullanılan ışık şiddeti 2400 lüks 'dür ve 24 saat aydınlatma uygulanmıştır. Sıcaklık ise deneme süresi boyunca sabit tutulmuştur. 1

cm ışık yolu uzunluğuna sahip panellerde *Chlorella vulgaris*' in hücre yoğunluğu daha fazla olmasına rağmen, en yüksek spesifik büyüme hızı 3. günde ($0,719 \text{ bölünme.gün}^{-1}$) elde edilmiştir. 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip panelde ise en yüksek büyüme hızı 10. günde ($14,5 \text{ bölünme.gün}^{-1}$) elde edilmiştir. Kuru ağırlık değerleri 1cm ışık yolu uzunluğuna sahip panelde 31. günde $3,6 \text{ gL}^{-1}$, 3 cm ışık yolu uzunluğuna sahip panelde 31. günde $2,8 \text{ gL}^{-1}$ ve 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip panelde 19. günde $2,4 \text{ gL}^{-1}$ ye ulaşmıştır. Akuakültürde amaç birim alandan daha fazla algal biyomas elde edilmesidir. 3 cm ve 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip ince panellerde büyüme oranının değişmediği gözlenmiştir.

Zou et al., (1999) *Nannochloropsis sp.* türü ile laboratuvar şartlarında 1 cm ve 3 cm ışık yolu uzunluğunda ve laboratuvar dışında ise 1,3 cm den başlayarak 17cm ışık yolu uzunluğu olan ince panel reaktörler kullanarak denemeler yapmışlardır. İlk denemelerinde aydınlatma başlangıçta $150 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti kullanmışlardır ve daha sonra ışık şiddetini $1000 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ile $3000 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ arasında değiştirmişlerdir. İkinci olarak düşük hücre yoğunluğunda, farklı ışık yolu uzunluğu olan biyoreaktörlerde yüksek ışığa maruz bırakmışlar, son olarak da yüksek hücre yoğunluğundaki kültürleri yüksek ışık şiddetine maruz bırakmışlardır. Buna göre düşük ışıktan yüksek ışığa maruz kalan hücrelerin klorofil içeriği keskin bir şekilde düştüğü gözlenmiştir. Fakat 7 gün sonra yüksek aydınlatmada (2000 ve $3000 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$) ışığa uyumun başlaması ile birlikte klorofil konsantrasyonunda da bir artış olmuştur. Düşük hücre yoğunluğunda, hücreler yüksek ışık şiddetine maruz bırakılınca strese girmekte ve hücre klorofil konsantrasyonu ile birlikte hücre yoğunluğu da düşmektedir. Yüksek hücre yoğunluğunda, yüksek ışık şiddeti kullanılması durumunda ise, hücre konsantrasyonu ve ışık yolu uzunluğu kriter olarak ortaya çıkmaktadır.

Yapılan bu tezde ise 1, 3, 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip ince panellerde yetiştirilen *Chlorella vulgaris* kültürlerinde klorofil değerleri incelenmiştir. Deneme boyunca yüksek ışığa (2400 lüks) maruz kalan kültürlerde klorofil *a* oranları düştüğü gözlenmiştir. İlk 8 günde büyüme ile doğru orantılı olarak artan klorofil *a* değeri ışık stresi ile birlikte düşmüştür.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmada farklı fotobiyoreaktörlerin *Chlorella vulgaris*' in büyümesine etkisi araştırılmıştır. *Chlorella vulgaris*' in üretimi için Jaworski Ortamı (JM), F/2 ortamına göre daha verimli bir üretim sağlamaktadır. Yetiştiricilik çalışmalarında Jaworski Ortamı (JM) kullanılmalıdır ya da bu ortamla daha farklı konsantrasyonları daha iyi bir üretim için denenmelidir. Özellikle potasyum miktarı yüksek olan ortamlar tercih edilmelidir.

Chlorella vulgaris' in üretimi için ışık çok önemlidir. Yüzey alanı bakımından ışıktan yüksek derecede verim alınabilen panel sistemlerde *Chlorella vulgaris*' in yetiştiriciliği yapılabilir.

Chlorella vulgaris' in kesikli kültürlerde silindir şekilli kaplar kullanılmalıdır. Çünkü silindir şeklindeki kaplarda ışığı kırma açısı bakımından alınan verim balon ve erlen şeklindeki kaplara göre daha fazladır.

Chlorella vulgaris' in yetiştiriciliğinde cam materyale sahip sistemler kullanılmalıdır. Torbalarda veya plastik kap benzeri sistemlerde *Chlorella vulgaris*' in üretimi cam materyale göre daha düşüktür. Cam malzemenin kullanılması yüksek kalitede ışık girişine ve reaktör yüzeyinin kolayca aydınlanmasını sağlar. Ayrıca kapların sterilizasyonu için önemlidir. *Chlorella vulgaris*' in en verimli üretim sistemi için ışıktan en fazla yararlanan ve cam malzemedan yapılmış sistemler kullanılmadadır.

Yetiştirilmesi planlanan *Chlorella vulgaris*' in yüksek ışık ile birlikte strese girdiği ve stresle birlikte bünyesinde biriktirdiği pigment ve karatoneidler araştırılmalıdır.

Akuakültürde kullanılan torbalar yerine daha farklı sistemler biyomas açısından önemlidir. *Chlorella vulgaris*' in yetiştiricilikte daha yüksek verim elde edilmesi için ince panel fotobiyoreaktörler kullanılmalıdır. Daha büyük sistemler dışarı veya kapalı alanlarda denenmelidir. *Chlorella vulgaris*' in 1cm'lik ışık yolu uzunluğuna sahip reaktörde en yüksek hücre sayısına ulaşmıştır. 3 cm ve 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip ince panellerde yetiştirilen kültürlerde büyüme oranları aynıdır. Bu nedenle, 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip ince panelde edilen toplam biyomas dikkate alınmalıdır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Algae Industry Magazine**, 2013,” Microfarms and Bioreactors in Modular Systems”, <http://www.algaeindustrymagazine.com/scalable-algae-microfarms-part-5/> (Erişim tarihi 9 Ocak 2013)
- Babcock Jr, RW., Malda, J. and Radway, J.C.**, 2002, Hydrodynamics and mass transfer in a tubular airlift photobioreactor, *J. Appl Phycol*, 14:169–84.
- BioEnergy Genome Center**, 2011, “2000m² Algae Cultivation System in Pingdu”, <http://www.bioenergychina.org/ea/Facility.html>, (Erişim tarihi: 8 Ocak 2013)
- Borowitzka, M. A.**, 1988, *Micro- Algal Biotechnology*, Cambridge Universty Press, Cambridge, 6p.
- Borowitzka, M. A.**, 1999, Commercial Production of Microalgae: Ponds, Tanks, Tubes and Fermenter, *J. Of Biotechnology* 70: 313-321p.
- Borowitzka, M.A.**, 1992, Algal biotechnology products and porseses matching science and econimics, *Appl Phycol* 4: 267- 279p.
- Borowitzka, M.A.**, 1996, Closed algal photobioreactors: design considerations for large-scale systems, *J. Mar. Biotechnol.* 4: 185–191p.
- Cambia**, 2005, “Algal Bioreactors”, <http://www.cambia.org/daisy/eos/4148.html>, (Erişim tarihi: 06 Kasım 2012)
- Carlozzi. P.**, 2003, Dilution of solar radiation through “culture” lamination in photobioreactor rows facing south–north: away to improve the efficiency of light utilization by cyanobacteria (*Arthrospira platensis*), *Biotechnol Bioeng*, 81(3): 305–15.
- Cheng-Wu, Z. and Richmond, A.**, 200,1 Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis sp.* outdoors, *J Biotechnol*, 85: 259–69p.
- Chinnasamy, S., Ramakrishan, R., Bhatnagar, A. and Das, K.C.**, 2009, Biomass Production Potential of a Wastewater Alga *Chlorella vulgaris* ARC1 Under Elevated Levels of CO₂ and Temperature, *Int. J. Mol. Sci*, 10: 518-532p.
- Chrimadha, T. and Borowitzka, M. A.**, 1994, Effect of cell density and irradiance on growth, proximate composition and eicosapentaenoic acid production of *phaeodactylum tricornutum* grown in a tubular photobioreactor. *J. Appl. Phycol*, 6: 67–74p.
- Cirik, S. ve Gökpinar, Ş.**, 1999, Plankton Bilgisi Ve Kültürü. E. Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No: 47, Ders kitabı 2. Baskı, 274s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cirik, S. ve Koru, E.**, 2002, Harika yosun *Chlorella sp.* , Ekoloji Çevre Magazin Dergisi sayı 45: 6-7s.
- Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P. and Del Borghi, M.**, 2009, Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production, Chemical Engineering and Processing, 48: 1146-1151p.
- Davis, A.R.**, 1977, Principles of Oceanography, University of South Florida Aquafarms, Inc., Florida.
- Degen, J., Uebele, A., Retze, A., Schmidt-Staigar, U. and Trosch, W.**, 2001, A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect, J Biotechnol, 92: 89–94p.
- Durmaz, Y.**, 2005, *Chlorella sp'* nin ince cam panel biyoreaktörlerde üretiminde ışığın etkisi üzerine bir araştırma, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Bornova İzmir.
- Energy Korea**, 2012, “Marine Microalgae-based Biodiesel Seen to Be Commercialized, <http://energy.korea.com/archives/37471> (Erişim tarihi: 11 Ocak 2013)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 1996, “Algal Production”, <http://www.fao.org/docrep/003/W3732E/w3732e06.htm>, (Erişim tarihi: 12 Kasım 2012)
- Fung, P., Wong, K. and Chen, F.**, 2004, Enhanced production of astaxanthin by the green microalga *Chlorella zofingiensis* in mixotrophic culture, Process Biochemistry, 39 (11-30), 1761–1766p.
- Global Institute of Sustainability**, 2013, “Algal–Based Biofuels and Biomaterials”, <http://biofuels.asu.edu/biomaterials.shtml>, (Erişim tarihi: 12 Aralık 2013)
- Gökınar, Ş., Göksan, T., Cirik, S. and Özbaş, B.**, 2007, *Nannochloropsis sp.* (Eustigmatophyta) ‘nin kış döneminde tubular fotobiyoreaktörde büyüme özelliği. E. U. Su Ürünleri Dergisi, İzmir, Bornova, 24,(3-4): 233-237p.
- Güner, H. ve Aysel, V.**, 1989, Tohumuz Bitkiler Sistematiği, E.Ü. Fen Fak. Kitaplar Serisi, 108-245s.
- Hai, T., Ahlers, H., Gorenflo, V. and Steinbüchel, A.**, 2000, “Axenic cultivation of anoxygenic phototrophic bacteria, cyanobacteria, and microalgae in a new closed tubular glass photobioreactor, Appl Microbiol Biotechnol, 53: 383-389p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Homeland Security News Wire**, 2011, "Microalgae; Texas' Next Big Cash Crop", <http://www.homelandsecuritynewswire.com/microalgae-texas-next-big-cash-crop>, (Erişim tarihi: 9 Kasım 2012)
- Hu, Q., Faiman, D. and Richmond, A.**, 1996a, Physiological characteristics of *Spirulina platensis* (Cyanobacteries) cultured at ultrahigh densities, *J. Phycol.*, 32: 1066-1073p.
- Hu, Q., Guterman, H. and Richmond, A.**, 1996b, A flat inclined modular photobioreactor for outdoor mass cultivation of photoautotrophs, *Biotech & Bioeng.*, 51: 51-60p.
- Hu, Q., Faiman, D. and Richmond, A.**, 1998, Optimal tilt angles of enclosed reactors for growing photoautotrophic microorganisms outdoors, *J. Ferment and Bioeng.*, 85: 230-236p.
- Ilman, A.M., Scragg A.H. and Shales, S.W.**, 2000, Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium, *Enzyme and Microbial Technology*, 27: 631-635p.
- Incorporating Rainbow Fish On-line**, 2008, "Phytoplankton", <http://rainbowfish.angfaqld.org.au/Phytoplankton.htm> , (Erişim tarihi: 8 Ocak 2013)
- Jensen, B.**, 1987, *Chlorella: Gem of the Orient*, Bernard Jensen, California, 221-227p.
- Kraftwerk Forschung**, 2011, "From Exhaust Gas to Raw Material", <http://www.kraftwerkforschung.info/en/from-exhaust-gas-to-raw-material/>, (Erişim tarihi: 8 Ocak 2013)
- Liang, Y., Sarkany, N. and Cui, Y.**, 2009, Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. *Biotechnol Lett*, 31:1043-1049p.
- Lopez- Suarez, C. E., Castro- Romero, J. M., Gonzalezrodriguez, M. V., Gonzalez- Soto, E., Perez- Iglesias, J., Seco- Lago, H. M. and Fernandez- Solis, J. M.**, 2000, Study of the parameters affecting the binding of metals in solution by *Chlorella vulgaris*, *Talanta*, 50: 1313-1318p.
- Loseva, N.L., Alyabyev, A.J., Rachimova, G.G., and Estrina, R.I.**, 1998, The effect of high temperature and salt on the metabolic heat rate of *Chlorella* cells, *Thermochimica Acta*, 309: 129-131p.
- Maccarthy, J.J. and Patterson, G.W.**, 1974, Effects of cation levels of the nutrient medium on the biochemistry of *chlorella*, *Plant Physiol*, 54: 133-135p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mandalam, R. and Palsson, B.,** (1998), Elemental balancing of biomass and medium composition enhances growth capacity in high-density *Chlorella vulgaris* cultures, *Biotechnology and Bioengineering*, 59(5): 605-611p.
- Martinez, M. E., Camacho, F., Jimenez, J. M. and Espinola, J. B.,** 1997, Influence of Light Intensity on the Kinetic and Yield Parametres of *Chlorella pyrenoidosa* , Mixotrophic Growth, *Process Biochemistry* ,32(2): 93-98p.
- Maruyama, I., Nakamura, T., Matsubayashi, Y., and Naeda, O. T.,** 1986, Identification of the alga known as ‘marine chlorella’ as a member of the Eustigmatophyceae, *Jap. J. Phyco*, 34: 319-325p.
- Mayo, A. W.,** 1997, Effects of temperature and ph on the kinetic growth of unialga *Chlorella vulgaris* cultures containing bacteria, *Water Environment Research*, 69(1): 64-72p.
- Miron, A. S., Gomez, A. C., Camacho, F. G., Grima, E. M. and Chisti, Y.,** 1999, Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae, *Journal of Biotechnology*,70: 249-270p.
- Molina, E., Fernandez, J., Acien, G. and Chisti, Y.,** 2001, Tubular photobioreactor design for algal cultures, *J Biotechnol*, 92:113–31p.
- Naz, M. ve Gökçek, K.,** 2004, Fotobiyoreaktörler: fototropik mikroorganizmalar için alternatif üretim sistemleri, *Ulusal Su Günleri*, 6-8 Ekim 2004, İzmir, TÜRKİYE.
- Ogbonna, J. C., Yada, H. and Tanaka, H.,** 1995, Effect of Cell Movement by Random Mixing Between the Surface and the Bottom of Photobioreactors on Algal Productivity, *J. Ferment. Bioeng*, 79: 152-157p.
- Ötleş, S.,** 1999, *Chlorella: Geleceğin Besleyici ve Sağlıklı Gıdası*, Uzer Basım Yayın LTD, Ankara, 69s.
- Prescott, G.W.,** 1963, Ecology of Alaskan fresh water algae, *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, 82(1): 83-98
- Pulz, O.,** 2001, Photobioreaktors; Production Systems For Phototrophic Microorganisms. Igv Institute For Cereal Processing, Arthur- Shcheunerd-Alle, Bergholz- Rehbrücke, Germany, 40/41: 14558p.
- Rai, L. C., Husaini, Y. and Mallick, N.,** 1998, pH- altered interaction of aluminium and fluoride on nutrient uptake, photosynthesis and other variables of *Chlorella vulgaris*, *Aquatic Toxicology*, 42: 67- 84p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Richardson, B., D.M., Orcutt, H.A., Schwertner, C.L., Martinez and Wickline, H.E.**, 1969, Effects of nitrogen limitation on the growth and composition of unicellular algae in continuous culture, *Applied Microbiology*, 18 (2): 245-250p.
- Richmond, A. and Zou, N.**, 1999, Effect of light-path length in outdoor flat plate reactors on output rate of cell mass and of EPA in *Nannochloropsis sp.*, *J Biotechnol*, 70: 351–356p.
- Richmond, A. and Cheng-Wu, Z.**, 2000, Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis sp.* outdoors, *Journal of Biotechnology* 85: 259-269p.
- Richmond, A. and Hu, Q.**, 1997, Principles for efficient utilization of light for mass production of photoautotrophic microorganisms, *Appl. Biochemistry and Biotechnology*, 65-67: 649-658p.
- Richmond, A.**, 1986, *Handbook Of Microalgal Mass Culture*, , FL: CRC Press, Boca Raton, 528p.
- Sancez, S., Martinez M. E., Espejo M. T., Racheco, R., Espinola, F. and Hodaifa G.**, 2001, Mixotrophic culture of *Chlorella pyrenoidosa* with olive-mill wastewater as the nutrient medium, *Journal of Applied Phycology*, 13: 443-449p.
- Sarı, S.**, 2007, Development of helical tubular reactor for hydrogen producing photosynthetic bacteria, Middle East Technical University, MS Department of Biothechnology.
- Scragg, A.H., Morrison, J. and Shales, S.W.**, 2003, The use of a fuel containing *Chlorella vulgaris* in a diesel engine, *Enzyme and Microbial Technology*, 33: 884–889p.
- Secbio**, 2012, “Protist kingdom *Amoeba* and *Chlorella*”, <http://www.slideshare.net/SECBIO/amoeba-chlorella>, (Erişim tarihi: 8 Ocak 2013)
- Singh, A.**, 1998, Perinatal influence of *Chlorella vulgaris* (e-25) on hepatic drug metabolizing enzymes and lipid peroxidation, *Anticancer Res*, 18 (3A): 1509-14p.
- SSJ Internatiol Management Team**, 2013, “Nature’s Best Superfood & Antioxidant – Spirulina & Astaxanthin”, <http://susansmithjones.com/blog-entry/hawaiian-spirulina-pacifica-bioastin-astaxanthin>, (Erişim tarihi: 9 Kasım 2012)
- Sukatar, A.**, 2002, Alg Kültür Yöntemleri, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Serisi, İzmir, No: 184, 168s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- The Guardian**, 2008, “UK Announces world’s largest algal biofuel Project”,
<http://www.guardian.co.uk/environment/2008/oct/23/biofuels-energy>,
 (Erişim tarihi: 6 Ocak 2013)
- Tradekey**, 2013, ” Algae Reaktor For Indoor Fish Farm Equipmant”,
http://www.tradekey.com/selloffer_view/id/6290409.htm, (Erişim tarihi 9 Ocak 2013)
- Tsoglin and Gabel**, 2000, The technology of production of biyomass labeled with stable isotopes, abstracts of the 4th european work shop on biotechnology of microalga, Bergholz- Rehbrücke, Germany.
- Tsukada, O., Kawahara, T. and Miyachi, S.**, 1977, Mass culture of *Chlorella* in Asian countries, In: Mitsui, A., Miyachi, S., San Pietro, A., Tamura, S. (Eds.), Biological Solar Energy Conversion, Academic Pres, New York, 363–367p.
- Tsuzuki, M., Ohnuma, E., Sato, N., Takaku, T. and Kawaguchi, A.**, 1990, Effects of co2 concentration during growth on fatty acid composition in microalgae, Plant Physiol, 93: 851-856p.
- Uslu, L., Işık, O. ve Mutlu, Y.**, 2012, Besleyici element kompozisyonundaki değişikliklerin mikroalglerde lipid içeriğine etkisi, Journal of Fisheries Sciences, 6(3): 176-187s.
- Vonshak, A.**, 1986, Laboratory techniques for the cultivation of microalgae, In: A. Richmond (ed.), Handbook of Microalgal Mass, 117–145p.
- Vonshak, A., Abeliovich, A., Boussiba, S., Arad, S. and Richmond, A.**, 1982, Production of *Spirulina* biomass: effects of enviromental factors and population density, Biomass, 2: 175-785p.
- Watanabe, Y. and Saiki, H.**, 1995, Development of a photobioreactor incorporating *Chlorella sp.* for removal of CO2 in stack gas, Energy Convers Manage, 6–9: 721–4p.
- Wen, Z. and Johnson, B. M.**, 2009, Microalgae as a Feedstock for Biofuel Production, Virginia Cooperative Extension Publication, 442-886p.
- Yılmaz, K.H.**, 2006, Mikroalg üretimi için fotobiyoreaktör tasarımları, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23(1/2): 327-332s.
- Zijffers, JWF., Janssen, M., Tramper, J. and Wijffels, RH.**, 2008, Design process of an area-efficient photobioreactor, Mar Biotechnol, 10:404–415p.
- Zou, N. and Richmond, A.**, 1999, Effect of light- path length in outdoor flate plate reactors on output rate of cell mass and of EPA in *Nannochloropsis sp.*, J. Biotech, 70: 351-356p.

ÖZGEÇMİŞ

Gülçin TEMLİ 13 Mayıs 1986 yılında Denizli ilçesinde doğdu. ilkokul, ortaokul ve liseyi Denizli’ de okudu. 2005 yılında Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’ ne başladı ve 2010 yılında mezun oldu. Aynı yıl, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı’ nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.