

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

SERA ORGANİK DOMATES YETİŞTİRİCİLİĞİNDE

***Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck]'İN**

BİYOĞÜBRE OLARAK KULLANIMININ BİTKİ

GELİŞİMİ, VERİM VE MEYVE KALİTESİ ÜZERİNE

ETKİLERİ

Sena ÖZDEMİR

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Atakan SUKATAR

Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 405.05.00

Sunuş Tarihi: 19.08.2014

Bornova-İZMİR

2014

Sena ÖZDEMİR tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan “Sera Organik Domates Yetiştiriciliğinde *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck]’ in Biyogübre Olarak Kullanımının Bitki Gelişimi, Verim ve Meyve Kalitesi Üzerine Etkileri” 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 ve tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı :

Raportör Üye:

Üye :

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Sera Organik Domates Yetiştiriciliğinde *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck]’ in Biyogübre Olarak Kullanımının Bitki Gelişimi, Verim ve Meyve Kalitesi Üzerine Etkileri” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

Sena ÖZDEMİR

ÖZET**SERA ORGANİK DOMATES YETİŞTİRİCİLİĞİNDE *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck]' İN BİYOGÜBRE OLARAK KULLANIMININ BİTKİ GELİŞİMİ, VERİM VE MEYVE KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

OZDEMİR, Sena

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Atakan SUKATAR

Ağustos 2014, 91 sayfa

Bu çalışma *Chlorella vulgaris* mikroalginin biyogübre olarak kullanılması ve domates bitkisi üzerinde bitki gelişimi, verim ve kalite parametrelerinin araştırılması amacıyla yürütülmüştür. Araştırmada *Chlorella vulgaris*'in tübüler fotobiyoreaktörde üretimi gerçekleştirilmiştir. Biyogübre denemesi serada gerçekleştirilmiş olup cv. Şimşek salkım tip domates fideleri kullanılmıştır. *Chlorella vulgaris*'in domates fidelerine biyogübre olarak uygulanması sıvı olarak kökten (250 ml/bitki), kuru olarak kökten (2.5g/bitki) ve foliar olarak yapraklardan (yapraklar yıkanacak şekilde) uygulanmış tır. Deneme her konuda 2 tekerrür ve her tekerrürde 10 bitki olacak şekilde tesadüf parseli deneme desenine uygun olarak kurulmuştur. Üretim dönemi boyunca biyogübre uygulaması 2 kere gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada bitki gelişimi(bitki boyu, gövde çapı, kök boyu, vejetatif aksam ve kök yaş ve kuru ağırlığı), verim değerleri (toplam verim, ortalama meyve adedi), yaprak klorofil içeriğine, meyve kalite parametreleri (EC, pH, TA, kuru ağırlık, sertlik) bakılmıştır. Elde edilen sonuçları *Chlorella vulgaris*'in biyogübre olarak kullanımının bitkilerde gelişime katkı sağlama, verimi artırma ve kalite parametrelerinde artışı sağlamada doğa dostu bir gübre olduğu sonucunu ortaya koymuştur.

Anahtar Sözcükler: *Chlorella vulgaris*, biyogübre, organik tarım, alg

ABSTRACT**EFFECTS OF *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] AS BIOFERTILIZER ON PLANT GROWTH, YIELD AND FRUIT QUALITY OF ORGANIC TOMATO GROWN IN GREENHOUSE**

OZDEMIR, Sena

MSc in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Atakan SUKATAR

August 2014, 91 pages

This study was carried out to detect effects of *Chlorella vulgaris* biofertilizer on growth, quality and yield parameters of tomato plants. In this study *Chlorella vulgaris* was cultured in tubular photobioreactor system. Tomato production was carried out in greenhouse, tomato plants provided from Antalya Fide A.Ş. and these plants were used for biofertilizer experiments.

C.vulgaris applied in 3 different ways to the tomato plants. In first treatment 250 ml/per plant liquid *C.vulgaris*, in second treatment 2.5 g/per plant of dry *C.vulgaris* applied to the roots of the plants. In third treatment *C.vulgaris* applied as a foliar spray to the leaves. This experimental design was established with 2 replicates for every treatment. There were 10 plants in each replicate. *Chlorella vulgaris* was given to tomato plants as a biofertilizer 2 times during production period.

In this research some parameters were investigated that are plant growth values (plant height, stem diameter, shoot height, shoot fresh and dry weight, leaf fresh and dry weight, stem fresh and dry weight, bunch fresh and dry weight, fruit fresh and dry weight), yield values (total yield, total fruit number), fruit quality values (EC, pH, TA, dry weight, rigidity), chlorophyll content values of leaves (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll). It was concluded that using *Chlorella vulgaris* as a biofertilizer is nature-friendly fertilizer that increased growth, yield and quality parameters.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, biofertilizer, organic agriculture, algae

TEŞEKKÜR

Lisansüstü öğrenimim boyunca ve tez sürecimde engin bilgisini, deneyimini ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Atakan SUKATAR' a,

Denemelerimi yapabilmem için bana yer desteği sağlayan ve bunun yanında hiç bir desteğini esirgemeyen Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde görev yapmakta olan sevgili hocam Doç. Dr. Gölgen Bahar ÖZTEKİN'e,

Lisans dönemimde sınıf arkadaşım olan ve yüksek lisansımda da her zaman yanımda olup bana destek veren Turgut Yiğit AKYOL'a

Çalışmalarımda ve biyoreaktör kullanımımda engin bilgilerinden yararlandığım Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesinde öğretim üyesi değerli hocam Doç. Dr. Yaşar DURMAZ' a,

Çalışmalarımda bana yardımcı olan Hidrobiyoloji Anabilim Dalı elemanlarına, reaktörle üretim süresince hiçbir konuda desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşım Elif BAYRAKTAR' a ve tez çalışmalarım boyunca verdiği destekten ötürü Rasoul ASNAASHARI'ye ,

Öğrenim yaşamım boyunca beni her yönden destekleyen, eğitimimi herşeyden önde tutan, ve bu konuda verdiğim kararlarda arkamda duran, babam Hüseyin ÖZDEMİR, annem Yeter ÖZDEMİR'e ve biricik ablam Berna ÖZDEMİR YALÇIN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
TEŞEKKÜR.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxi
KISALTMALAR VE SİMGELER	
DİZİNİ.....	xxii
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Mikroalgler ve <i>Chlorella vulgaris</i> Hakkında Genel Bilgiler.....	3
2.1.1. <i>Chlorella vulgaris</i> ' in morfolojisi	5
2.2. <i>Chlorella vulgaris</i> ve Diğer Mikroalgler İçin Üretim Sistemleri	6
2.2.1. Açık sistemler	7
2.2.2. Kapalı sistemler	8
2.2.3. <i>Chlorella vulgaris</i> ' in hasat işlemi	13
2.2.4. <i>Chlorella vulgaris</i> türünü oluşturan ana bileşenler	15
2.3. <i>Chlorella vulgaris</i> ' İn Ziraatte Kullanımına İlişkin Uygulamalar	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1. Materyal.....	23
3.1.1. Üretim materyali olan <i>Chlorella vulgaris</i>	23

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.1.2. <i>Chlorella vulgaris</i> 'in üretiminde kullanılan kültür ortamı	23
3.1.3. Uygulama materyali olan domates bitkisi.....	25
3.1.4. Domates bitkilerinin yetiştirme ortamı	26
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. <i>Chlorella vulgaris</i> ' in üretim koşulları.....	29
3.2.2. Tübüler fotobiyoreaktörde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in üretim koşulları.....	31
3.2.3 Mikroskobik gözlem ve fotoğraflama.....	35
3.2.4. pH ölçümü.....	36
3.2.5. Hücre sayımı	37
3.2.6. Üretim sırasında ve sonrasında kullanılan tübüler fotobiyoreaktörde karşılaşılan problemler.....	39
3.2.7. Üretimden sonra sıvı kültürün hasatı, hasat edilen kültürün hasatı, santrifüj işlemi ve kurutulması.....	41
3.2.8. Üretilen <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Azot(N), Potasyum (K), Kalsiyum (Ca), Magnezyum (Mg) içeriğinin belirlenmesi	46
3.3. Sera Denemesi.....	47
3.3.1. Dikim	47
3.3.2. <i>Chlorella vulgaris</i> ' in bitkilere uygulanma şekilleri ve deneme deseni	49
3.3.3. Bitki bakım işlemleri.....	50
3.4. Ölçüm ve Analizler	51

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.4.1. Bitki gelişimi ile ilgili ölçümler.....	51
3.4.2. Verim ile ilgili ölçümler	52
3.4.3. Meyve kalite analizleri	53
3.4.4. Bazı fizyolojik özelliklerin belirlenmesi	55
3.4.5. Verilerin değerlendirilmesi	56
4. BULGULAR.....	57
4.1. <i>Chlorella vulgaris</i> in Üretiminde pH ve Sıcaklığın Zamana Bağlı Değişimi.	57
4.2. <i>Chlorella vulgaris</i> ' in Hücre Sayısının Zamana Bağlı Değişimi	59
4.3. Sera Denemesine Ait Bulgular	60
4.3.1. Bitki Yaş ve Kuru Ağırlığı ile İlgili Bulgular.....	60
4.3.2. Verim ile ilgili bulgular	63
4.3.3. Meyve kalitesi ile ilgili bulgular	67
4.3.4. Bazı fizyolojik parametreler ile ilgili bulgular	70
4.7.1. Yaprak klorofil içeriği ile ilgili bulgular	70
5. TARTIŞMA	72
6. SONUÇLAR.....	78
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	79
ÖZGEÇMİŞ.....	91

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 <i>Chlorella vulgaris</i> 'in farklı organellerini gösteren şematik hücre yapısı.....	5
2.2 <i>Chlorella vulgaris</i> ' in farklı kaynaklardan elde edilen her 100 gramda bulunan amino asit içeriğinin gram olarak karşılaştırılması	16
2.3 <i>Chlorella vulgaris</i> ' de gözlenen potansiyel pigment içeriği	19
2.4 Üç farklı çalışmadan elde edilen <i>Chlorella vulgaris</i> 'in mineral içeriğine ait sonuçlar	20
2.5 <i>Chlorella vulgaris</i> 'de üç farklı çalışmadan elde edilen vitamin içeriği profili.....	21
3.1 <i>Chlorella vulgaris</i> 'in mikroskopik görüntüsü.....	23
3.2 Kullanılan domates fidelerinin genel görünümü.....	26
3.3 Araştırmanın yürütüldüğü seranın genel görünümü	26
3.4 Küçük çaplı <i>Chlorella vulgaris</i> kültürünün hazırlanması.....	29
3.5 <i>Chlorella vulgaris</i> 'in küçük çaplı üretiminde tüplere ve erlenlere yapılan aşı kültürü	30
3.6 <i>Chlorella vulgaris</i> 'in küçük çaplı üretiminde 5 L' lik şişede yapılan aşı kültürü	30
3.7 Üretimin yapıldığı tübüler fotobiyoreaktörün genel görünümü.....	31
3.8 İlk üretimde üretim periyodu başlangıcında tübüler fotobiyoreaktörün görünümü	33

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.9 İlk üretimde üretimde 25 gün sonunda tübüler fotobiyoreaktörün görünümü.....	33
3.10 Tübüler Fotobiyoreaktörde fotosentez ışığı açıkken sistemin görünümü.....	34
3.11 İkinci üretimde toplama tankından sisteme kültürün verilmesi ve üretimin başlama anı	35
3.12 İkinci üretimde üretim periyodu sonunda tübüler fotobiyoreaktörün görünümü	36
3.13 <i>Chlorella vulgaris</i> hücrelerinin mikroskopik gözlemi ve fotoğraflaması yapılırken.	36
3.14 Sistemde pH kontrolü yapılırken	36
3.15 pH kontrolü yapıldıktan sonra sisteme CO ₂ beslenmesi yapılırken.....	37
3.16 Hücre sayımında kullanılan Neubauer lamı	38
3.17 Nebauer lamı.....	38
3.18 İlk üretimden sonra tübüler fotobiyoreaktördeki akrilik borularda yaşanan yapışma sorunu	39
3.19 %16'lık klorak muamelesinden sonra temizlenmiş tübüler fotobiyoreaktörün görünümü	40
3.20 <i>Chlorella vulgaris</i> hücrelerinde meydana gelen kümeleşme.....	41

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.21 Birinci üretimden sonra hasat edilen ve şişelenen sıvı <i>Chlorella vulgaris</i> kültürü.	41
3.22 İkinci üretim sonunda hasat edilen ve şişelenen sıvı <i>Chlorella vulgaris</i> kültürü.	42
3.23 <i>Chlorella vulgaris</i> ' in hasat işleminden sonra santrifüj işleminin yapıldığı separatör	42
3.24 <i>Chlorella vulgaris</i> ' in santrifüj işleminin yapıldığı separatör	43
3.25 Separatörde santrifüj işleminden sonra <i>Chlorella vulgaris</i> ' in görünümü ..	43
3.26 Pasta kıvamında biyomasa sahip <i>Chlorella vulgaris</i> alginin yağlı kağıda yayılması	44
3.27 Kurutulma işleminin gerçekleştirildiği etüv.....	44
3.28 Kurutulmuş <i>Chlorella vulgaris</i> hücrelerinin sıvı azot ile parçalanması	45
3.29 <i>Chlorella vulgaris</i> alginin kurutulmuş hali.	46
3.30 Domates fideleri dikiminin yapıldığı parselin genel görünümü.....	47
3.31 Domates fidelerinin dikimi	48
3.32 <i>Chlorella vulgaris</i> ' in domates fidelerine uygulanma şekilleri ve deneme deseni.....	48
3.33 <i>Chlorella vulgaris</i> ' in fidelere sıvı şekilde 250 ml kökten uygulanması	49

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.34 <i>Chlorella vulgaris</i> ' in yapraklara foliar gübre olarak uygulanması	50
3.35 <i>Chlorella vulgaris</i> ' in bitkilere kökten kuru olarak uygulanması.....	50
3.36 Bitki bakım işleri	51
3.37 Meyve kalite analizlerinden bazı görüntüler	55
4.1 Tübüler fotobiyoreaktörde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in I. üretiminde pH'ın değişimi.....	57
4.2 Tübüler fotobiyoreaktörde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in II. üretiminde pH'ın değişimi.....	57
4.3 Tübüler fotobiyoreaktörde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in I. üretiminde sıcaklığın değişimi.....	58
4.4 Tübüler fotobiyoreaktörde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in II. üretiminde sıcaklığın değişimi.....	58
4.5 Tübüler fotobiyoreaktörde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in I. üretiminde hücre sayısının (x10 ⁴ cell/ml) zamana bağlı değişimi.....	59
4.6 Tübüler fotobiyoreaktörde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in II. üretiminde hücre sayısının (x10 ⁴ cell/ml) zamana bağlı değişimi.....	59
4.7 Gelişimini tamamlamış domates bitkilerinin genel görünümü.....	61
4.8 Salkımlardaki domateslerin genel görünümü	66

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.9 Hasat edilen domateslerin genel görünümü	66
4.10 Üretilen domateslerin iç kısmının görünümü.....	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 BBM ortamının kompozisyonu	24
3.2 BBM Ortamı için gerekli olan Trace metal solüsyonun kimyasal kompozisyonu.....	25
3.3 Sera toprağının fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	27
4.1 Bitki boyu, gövde çapı ve kök boyu üzerine uygulamaların etkisi.....	60
4.2 Biyomas değerleri üzerine uygulamaların etkisi	62
4.3 Verim ile ilgili parametrelerde uygulamaların etkisi.....	64
4.4 Uygulamaların meyve kalite parametrelerine etkisi.	69
4.5 Klorofil a , klorofil b, toplam klorofil ve toplam karoten değeri üzerine uygulamaların etkisi.....	70
4.6 Uygulamaların yaprak renk parametresi üzerine etkisi	71

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
EC	Elektriksel iletkenlik
KA	Kuru ağırlık
YA	Yaş ağırlık
L	Parlaklık (Lightness)
ORT	Ortalama
max	Maksimum
min	Minimum
TA	Titre edilebilir asitlik
TSÇKM	Toplam suda çözünür kuru madde
Vit. C	Vitamin C
F1	Hibrit çeşidi
Cv	Çeşit (cultivar)
P	Güvenirlilik aralığı

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
dS/m	Desisimens/metre
g	Gram
mg	Miligram
kg	Kilogram
m	Metre
cm	Santimetre
L	Litre
ml	Mililitre
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
da	Dekar

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ (devam)

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
mval	Milival
ppm	Milyonda bir kısım
<	Daha küçük
>	Daha büyük
N	Azot
P	Fosfor
K	Potasyum
Ca	Kalsiyum
Mg	Magnezyum
Na	Sodyum
Cl	Klor
Fe	Demir
Cu	Bakır
CO ₂	Karbondioksit
O ₂	Oksijen

1. GİRİŞ

Dünyada artan nüfus ile birlikte tarım yapılabilecek arazilerin de giderek azalmasıyla daha fazla gıda üretimine ihtiyaç duyulmuş ve birim alandan daha fazla ürün elde etmek zorunda kalınmıştır. Bunun sonucu olarak kimyasal gübre kullanımı oldukça artmıştır. Tarım alanlarındaki bu yoğun kimyasal kullanımı sonucu verim ve üretim artmış fakat sürdürülebilir toprak verimliliği ve doğal denge bozularak tehlikeye girmiştir. Kimyasal kullanımındaki artış ve çevre kirliliği, doğal dengenin bozulması ve besin zincirleriyle tüm canlılara ulaşan hayati tehlike yaratmaya başlamıştır. Bunun sonucu olarak başta gelir düzeyi yüksek ülkelerde olmak üzere birçok ülkede üretici ve tüketiciler örgütlenerek insanlarda toksik etki yapmayan doğayı tahrip etmeyen yöntemlerle üretilen tarımsal ürünleri tercih etmeye başlamışlardır. Bu amaçla insan ve çevreye dost üretim sistemlerini içeren kimyasal gübre ve ilaçların kullanımını yasaklayan, organik gübreleme ile ekim nöbeti uygulamayı parazit ve predatörler gibi doğal kaynaklardan yararlanmayı tavsiye eden ve üretimde ürünün kalitesinin yükselmesini amaçlayan bir üretim şekli olan “organik tarım” ortaya konmuştur. (Hekimoğlu ve Altındağ, 2006).

Norveç, İrlanda, Fransa ve Amerika gibi denize kıyısı olan ve denizsel alglerin bol bulunduğu ülkelerde mevcut algleri değerlendirmek için bu alglerden yararlanma yolları aramışlar ve fakir toprakların değerlendirilmesinde algleri gübre olarak kullanmaya yönelmişlerdir. Dolayısıyla alglerin gübre olarak kullanımıyla ilgili ilk adımlar atılmıştır. Son yıllarda, yapılan deneysel araştırmaların konusu denizsel makro alglerin ve mikro alglerin biyogübre, toprak düzenleyici, bitki büyüme düzenleyicisi (PGR) olarak kullanılması ile tarımdaki potansiyel etkisinin incelenmesi üzerine olmuştur (Güner ve Aysel, 1996).

Algler, meyve depo kayıplarının azaltılması, topraktan inorganik besin maddelerinin alınımının, tohum çimlenmesinin ve stres koşullarına direncin artırılması gibi alanlarda özellikle gelişmiş ülkelerde organik tarım için çalışma konusu olmuştur. (Blunden *et al.*, 1992). Sayılan bu yararlı etkilerden dolayı doğal bir kaynak olarak alglerin organik tarımda geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. Günümüzde denizsel alglerin özellikle organik (ekolojik tarım), verim ve kaliteyi artırmak, bitki büyümesini düzenlemek, hastalık ve zararlılara

karşı dayanıklılığı artırmak, toprak yapısını iyileştirmek amacıyla ve hayvan besiciliği için dünyanın birçok bölgesinde kullanıldığı bilinmektedir.

Biyoteknolojik uygulanabilirliği olan en önemli mikroalg türlerinden *Chlorella vulgaris* geniş çapta ticarileştirilmiş olup insanlar tarafından gıda takviyesi ve hayvanlar için yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Chlorophyta üyesi olan bu alg yüksek protein içeriğine sahip olması ve alternatif protein kaynakları olarak görülmesi nedeniyle birçok ülke tarafından çeşitli amaçlar için kültüre edilmektedir. Ayrıca hücreleri aminoasitlerin bir çoğunu sentezleyebildiği için tüm canlıların esansiyel amino asit gereksiniminin karşılanmasında kullanılmaktadır. *Chlorella vulgaris*, yaklaşık %42-58 oranında protein, %20 yağ, %20 karbonhidrat, % 5 lif ve %10 vitamin ve mineral içeriğine sahiptir (Safi *et al.*, 2014). Tarımda genellikle azot kaynağı olarak kullanılan kimyasal gübrelerin yerine yüksek protein içeriğine sahip olan alglerin kullanımı daha ucuz ve çevre sağlığına zarar vermeyen bir yöntemdir.

Yapılan literatür araştırmalarından yola çıkarak söylenebilir ki bugüne kadar Türkiye’de ve dünyada protein açısından yüksek içeriğe sahip mikroalglerin biyogübre olarak kullanılması ile ilgili yapılan araştırmalar sınırlı sayıda ve dar kapsamlıdır.

Bu çalışmada tek hücreli olan ve kolay kültüre edilebilen yeşil alg *C.vulgaris*’in tübüler fotobiyoreaktörle geniş ölçekli üretimi yapılmış, üretilen bu türün ülkemizin hemen hemen tüm bölgelerinde yetiştirilebilen ve tarımsal öneme sahip domates bitkisinde biyogübre olarak kullanılarak bitkiler üzerinde bitki gelişimi, verim ve kalite parametreleri incelenmiştir. Böylelikle besin değeri yüksek olan *C.vulgaris*’in kimyasal gübrelere alternatif olarak kullanılabilecek bir biyogübre olup olmayacağı araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Mikroalgler ve *Chlorella vulgaris* Hakkında Genel Bilgiler

Mikroalglerin tarihine bakıldığında 3.4 milyar yıl öncesine ait izler taşıdığı gözlenmektedir. Bilinen en eski mikroalg Cyanophyta grubuna aittir ve Batı Avusturya'da kayalarda fosilleşmiş şekilde rastlanmıştır. Günümüze kadar yapılan çalışmalar bu grubun ne kadar ilkel olursa olsun yapı olarak değişmeden kaldığını ve yaşamın organize formlarından olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte yapılan diğer çalışmalarda hesaplanan sonuçlar Siyanobakterilerinin evriminin 2.7 milyar yıl öncesine ait olduğunu göstermektedir (Brasier *et al.*, 2002; Dalton, 2002). Bu nedenle evrimle ilgilenen Biyologlar bu algleri bitkilerin atası olarak değerlendirmektedir. Böylece alglerin, bugüne kadar diğer denizsel bitkilerin oluşumu ve karaya geçişinin kaynağı olduğu düşünülmektedir.

Diğer fitoplanktonlar gibi mikroalglerin de besin değerleri vardır. Önemli besin kaynağı olarak Mavi yeşil mikroalglerin tüketimi Aztekler ve diğer Orta Amerika ülkelerindeki insanlar tarafından gerçekleştirilmiştir. Günümüzde ise *Chlorella vulgaris* ve *Spirulina platensis* gibi mikroskobik organizmalar besin takviyesi olarak tüketilmekte ve bunların ürünleri boyama, farmöstatik, aquakültür, kozmetik, hayvan beslenmesi ve ziraatte kullanılmaktadır. Son 20 yılda fosil yakıt kaynaklarının azalması, petrol fiyatlarının artması ve küresel ısınma endişeleri sebebi ile mikroalgler yeni bir kaynak olarak ele alınmaya başlanmıştır. Bu dramatik sonuçlar dünyayı zorladığını düşünen araştırmacılar alternatif yenilenebilir kaynakların kullanılmasıyla karbondioksit salınımının azalmasını sağlayabilecek üçüncü nesil biyoyakıtlar üzerine yoğunlaşmışlardır. Bu açıdan yine mikroalgler biyodizel için büyük miktarda yağ birikim kapasitesine sahip oldukları için umut verici bir sürdürülebilir enerji kaynağı olarak kabul edilmektedir. Mikroalgler aynı zamanda proteinler, karbonhidratlar, pigmentler, vitaminler ve mineraller gibi ürünlerin kaynağı olduğu kanıtlanmıştır (Safi *et al.*, 2014).

Mikroalgler denizsel ortamlarda, tatlı sularda, İskandinavya gibi soğuk iklime sahip buz kaplanmış alanlarda ya da Sahra çölü gibi kurak alanlarda yayılış gösterebilirler. Bitki üretimi ile mikroalg üretimi karşılaştırıldığında mikroalg üretimi hem besinsel değer elde etmeyi sağlar hem de ormansızlaşmaya sebep olmaz. Zirai alan açısından karşılaştırılma yapıldığında mikroalg üretimi daha akıllı karardır.

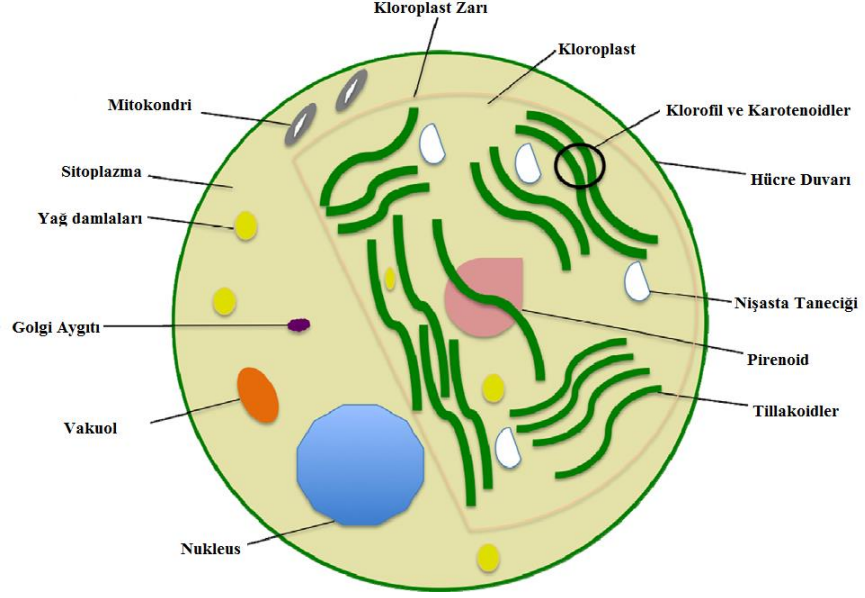
Mikroalgler yaklaşık olarak 40.000 tür ile temsil edilmektedir. Bunlardan en dikkat çeken i ökaryotik yeşil alglerden olan *Chlorella vulgaris* türüdür. Bu türün sistemat i ğ i;

Domain	: Ökaryot
Kingdom	: Protista
Phylum	: Chlorophyta
Classis	: Trebouxioophyceae
Ordo	: Chlorellales
Familia	: Chlorellaceae
Genus	: Chlorella
Species	: <i>Chlorella vulgaris</i> Beyerinck [Beijerinck]

şeklindedir. Bu tür ilk olarak 1890 yılında Hollandalı araştırmacı Martinus Willem Beijerinck tarafından ilk belirgin nükleusu olan alg olarak keşfedilmiştir. Chlorella ismi Yunancada yeşil anlamına gelen bir kelime olan *chloros* (Χλωρός) ve mikroskobik boyutundan dolayı Latince bir son ek olan *ella*’dan gelmektedir. Tek hücreli olan bu tür tatlısular da yayılış göstermektedir. 1900’lü yılların başında *Chlorella vulgaris*’in protein içeri ğ i (> %55 kuru a ğ ırlık), sıradışı bir besin kayna ğ ı olarak Alman bilim adamlarının ilgisini çekmiştir. 1950’lerde Washingtonun Carnegia Enstitüsü’nden bilim insanları bu mikroalgi geniş çapta üreterek CO₂’nin azaltılmasına yönelik çalışmalar da bulunmşt ur. Şimdilerde Japonlar *Chlorella*’nın dünya lideri olmakla beraber bu mikroalgi immün modülatör ve anti kanser özelli ğ inin olmasından dolayı tıbbi tedaviler için kullanmaktadır. Bu mikroalgin pudra haline getirilmiş şekli ile beslenen sıçanlar, tavşanlar ve farelerde hamatopoeze, yaşa ba ğ lı olan kardiyovasküler rahatsızlıklar, hipertansiyon ve katarakta karşı koruma özelli ğ inin oldu ğ u ayrıca ateroskleroz riskini düşürürerek ciltte kollajen sentezini uyardı ğ ı görülmüştür. Ayrıca *C. vulgaris* özellikle azot eksikli ğ inden sonra önemli miktarda yağ biriktirebilme özelli ğ ine sahip olmasından dolayı biyodizel üretimi için de uygundur (Safi *et al.*, 2014).

2.1.1. *Chlorella vulgaris*'in morfolojisi

Chlorella vulgaris 2-8 µm boyutunda mikroskobik küre biçiminde hücrelerden meydana gelir ve bitkiler gibi bir çok yapısal elemente sahiptir.



Şekil 2.1 *Chlorella vulgaris*'in farklı organellerini gösteren şematik hücre yapısı.

2.1.1.1. Hücre duvarı

Hücre duvarı hücreyi sarar ve çevresel etmenlere karşı onu korur. Hücre duvarı her büyüme fazına göre değişmektedir. Örneğin hücre erken evrelerinden olan autosporangia formunda yeni şekil almaya başlayan hücre duvarı kırılabilir ve unilaminar yapıda olup 2 nm kalınlığındadır. Kardeş hücrelerin duvarlarının kalınlığı olgunlaşma sonrasına kadar 7-21 nm'ye çıkar. Glukozaminden oluşan mikrofibriller çitosan tabaka hücre duvarının kırılabilirliğini hesaplanmasını sağlamaktadır. Olgunlaşma evresinde hücre duvarı kalınlığı ve yapısı sabittir. Bunlar sadece diğer büyüme etmenleri ve çevresel etmenlerle değişebilir. Buna ek olarak bazı çalışmalarda *Chlorella vulgaris*'in hücre duvarı sporpolleninden yoksun olmasına rağmen *Haematococcus pluvialis* and *Chlorella fusca* türlerinin hücre duvarlarında oldukça dirençli polimerize edilmiş karotenoid içeren sporopollenine rastlanmıştır. Martinez *et al.* (1991), *Chlorella vulgaris* hakkında yaptıkları çalışmada hücre duvarı asetonize maruz bırakıldığında trilaminar yapının dışında artıklara karşı dirençli sporopollenine rastlandığı öne sürmüştür.

2.1.1.2. Sitoplazma

Hücre duvarına kadar hücreyi kaplayan jelimsi bir maddeden meydana gelmektedir ve su, çözülebilir protein ve minerallerden oluşmuştur. İçerisinde *C. vulgaris*' in mitokondri, küçük bir nukleus, vakuoller, tek bir kloroplast, mitokondri gibi organelleri bulundurur.

2.1.1.3. Mitokondri

Tüm mitokondriler aynı genetik materyale sahip olup; respirotari aparatı, çift katlı zar ki bunlardan dış taraftaki tüm organeli kaplamaktadır. Ayrıca bu dış taraftaki zar eşit oranda protein ve fosfolipid bulundurmaktadır. Aynı zamanda iç taraftaki zar, asıl Mitokondriyal proteinleri barındıran matriksi kuşatır 3 kat daha fazla protein ve fosfolipidden oluşur.

2.1.1.4. Kloroplast

C. vulgaris fosfolipid içeriğine sahip çift katlı zarla çevrili tek bir kloroplast içerir. Dış membran metabolit ve iyonlara karşı geçirgendir. Fakat iç membran protein taşınımı için özel fonksiyonlara sahiptir. Nişasta granülleri, amiloz ve amilopektinden oluşur ve olumsuz koşullarda kloroplast içerisinde bulunabilir.

Pirenoid, yüksek miktarda ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase (RuBisCO) içerir ve karbondioksit fiksasyonunun merkezidir. Kloroplast aynı zamanda birbiri ile kümeleşmiş tillakoidleri barındır ve bu bölgede en baskın pigment olan klorofil sentezlenir. Azot stresi boyunca lipid kürecikleri sitoplazmada ve kloroplastta birikmektedir.

2.2. *Chlorella vulgaris* ve Diğer Mikroalgler İçin Üretim Sistemleri

Chlorella vulgaris'in yıllık üretimi 2009 yılında esas üreticileri olan Japonya, Almanya ve Tayvan tarafından yapılmıştır (Brennan and Owende, 2010). Bu tür hızlı bir büyüme oranına sahiptir ve özgül verimle alakalı olarak her büyüme evresinde çeşitli bileşenler üretir. *Chlorella vulgaris* üretim için oldukça uygundur çünkü bu tür zor şartlara karşı ve kumdaki istilacılara karşı direnç gösterebilir. Buna karşın azot ve fosfor sınırlamaları, yüksek CO₂ konsantrasyonunda, aşırı ışığa maruz bırakılması (Converti *et al.*, 2009;

Widjaja *et al.*, 2009; Pribyl *et al.*, 2012) veya sıcaklığın artması (Richmond *et al.*, 1993), ortamda fazla demirin bulunması (Liu *et al.*, 2008) gibi olumsuz büyüme koşullarında lipid ve nişasta içeriğindeki artışlar ve biyokütle verimliliğindeki azalma ve sonlanmalar (Pribyl *et al.*, 2013) gerçekleşir. Normal ve kontrol altında tutulmuş büyüme koşullarında protein içeriği artmaktadır. Bu nedenle isteğe bağlı olarak lipid, protein, karbonhidrat ve pigment bileşenlerindeki içeriklerin biyokütle artışı için bir çok sistem geliştirilmiş ve büyüme teknikleri denenmiştir.

2.2.1. Açık sistemler

Bu sistemler üretim için en sık kullanılan ve en ucuz yöntemlerin başında gelmektedir. Bu sistemler göller, lagünler, göletlerden sağlanan sularla oluşturulan havuzlar, atıksularla oluşturulan havuzlar, yapay havuzlar veya konteynerlar şeklinde kategorize edilir. Açık havuzlar mikroalg üretiminde kullanılan açık sistemlerdir. Derinlikleri uygun ışık ihtiyacını sağlayacak şekilde ayarlanır, içleri kültürü yapılacak algin özelliklerine göre gereken ortamla doldurulur. Genelde betonarme veya plastik duvar ve tabanlıdır. Farklı şekillerde tasarlanmış örnekleri vardır. Bazı durumlarda sıcaklık dengesi, ışık kontrolü ve kontaminasyon risklerinin azaltılması amacıyla boyutları izin verirse üstü plastik benzeri materyallerle kapatılır. Japonya ve Tayvan’da 45 metre çaplı dairesel havuzların üstü camdan kubbelerle örtüldüğü işletmeler bulunmaktadır. Gerekli durumlarda karıştırmanın sağlanması amacıyla karıştırıcı sistemleri de eklenebilmektedir. En yaygın şekli dairesel havuzlu ve karıştırma sistemli olanlardır. Sosa Texcoca Meksika’da *Spirulina maxima* üretiminde başarılı olmuş “Carocal” sistemi 3200 metre çapında ve 900 hektar alan kaplayan büyük bir dairesel açık havuz sistemidir. Özellikle yem amacıyla üstü açık basit tanklarda yapılan üretimlerde havuz sistemlerine örnek gösterilebilir. Tanklar farklı boyutlarda olabilirler fakat özellikle uygun ışık sağlayacak şekilde transparan ve toksik etkisi olmayan materyallerden yapılmalıdır (Becker, 1995; Borowitzka, 1999; Cohen, 2000; Lee, 2001).

Bu sistemler genellikle güçlü bitkilerin üretildiği veya geniş çaplı endüstrinin yapıldığı bölgelere inşa edilir. Bunun amacı atmosfere verilen CO₂’den yararlanmaktır. Azot ihtiyacı ise atmosferde bulunan NO_x formunda absorblanmaktadır. Aynı zamanda sistem açık olduğu için hücreler büyümek için güneş ışığından yararlanır. Özellikle üstel büyüme fazının sonunda havuz derinliği 15-50 cm olmalıdır. Açık havuz sistemleri kirlilik riski, havuzdaki suyun buharlaşması, kontaminantlar, istila edici bakteriler ve diğer alg türlerinin

gelişmesi gibi çevresel etmenlere bağlı olarak kısıtlamalara sahiptir. Ayrıca mevsimsel değişimlere bağlı olan sıcaklık değişimleri kontrol edilemeyeceği gibi ; CO₂ konsantrasyonu ve güneşten gelen ışığın fazlalığı da kontrol edilememektedir. Üstel büyüme fazında veya sonunda su yüzeyine yakın kısımlarda hücreler bir araya geldiği için bazı hücreler güneş ışığından yeterince faydalanamaz bu da ürün verimini azaltır.

Açık sistemlerin avantajlarının yanında bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Özellikle üretim havuzların önemli bir kısmı iklimsel olarak tüm yıl boyu üretimi sağlayamayacak bölgelerde kurulmuştur. Bu nedenle üretimin verimi yıl içinde farklılıklar göstermekte ve üretimin tüm yıl boyu yapılamaması işletme giderlerinin karşılanmasında sorun çıkarmaktadır. Sistemlerin buharlaşma kayıpları, atmosfere CO₂ kayıpları, kontaminasyon ve kirlilik riskleri diğer sorunlarıdır. Ayrıca teknik olarak ışık kullanımının verimi için kültür sisteminin derinliğinin çok fazla olmaması gerektiğinden açık sistemlerin kapladıkları alanlar büyüktür. Uç noktadaki kültür koşullarında (yüksek tuzlu, yüksek pH değerlerinde veya yüksek besin içerikli) yaşayan mikroalgler başarıyla açık kültür sistemlerinde yetiştirilmiştir. Örneğin *Dunaliella sp.* yüksek tuz konsantrasyonlarında, *Spirulina sp.* yüksek pH değerlerinde, *Chlorella sp.* yoğun besin içeren ortamlarda yaşayabildiklerinden biyolojik kontaminantlardan korunarak açık sistemlerde başarıyla üretilmektedirler. Fakat seçici ortamlarda yaşamayan mikroalglerin açık sistemlerde verimli üretimleri çok zordur. Günümüzde özellikle ilaç ve kozmetik endüstrisindeki uygulamalarda önem taşıyan mikroalg ürünlerinin belirli kalite ve saflıkta olması ihtiyacı açık sistemlerdeki üretimlerde yakalanamayan yüksek standartlar içermektedir (Borowitzka and Borowitzka, 1992; Fox, 1996; Lee, 2001; Moraes *et al.*, 2002).

2.2.2. Kapalı sistemler

Kapalı sistemler ve genel tanımlarıyla “fotobiyoreaktörler” açık sistemler gibi yaygın kullanılan diğer üretim sistemleridir. Bu sistemlerde mikroalg kültürünün dış ortamla ve atmosferle ilişkisi kesilmiştir. Kapalı sistemler yani fotobiyoreaktörler özellikle gelişen endüstriyel pazarların ihtiyaç duyduğu pigmentler, polisakkaritler gibi değerli mikroalg ürünlerin eldesinde kullanılmaktadırlar. Fotobiyoreaktörler tam kontrollü bir ortam sağladıklarından dış ortamdan gelebilecek kontaminasyon, farklı mikroorganizmaların ortama karışma riskine karşı koruyucu bir kalkan sağlarlar. Ancak tam kontrollü çalışmaya uygun fotobiyoreaktörler genelde çok özel üretimlerde kullanılmaktadır,

ticari üretimlerde amaç ortam koşullarını optimum seviyede tutabilecek, tek algal hücre (monoalgal) kültürünü sağlayacak esneklikte çalışılan sistemlerdir. Bunun yanında seçici ortamlarda yaşamayan mikroalglerin üretimlerinde fotobiyoreaktörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Fotobiyoreaktörler genel olarak karşılaşılan önemli sorunların çözülmesini sağlayacak şekilde tasarlanmaktadır. Üretimlerin en verimli şekilde gerçekleşmesi için gereken: etkili ışık kullanımı ve bunun sağlanabilmesi için yeterli yüzey hacim oranı, yüksek yoğunluktaki kültürlerle çalışabilme imkanı, yüksek alansal ve hacimsel üretim, sabit dengeli ve kaliteli bir üretim sağlama, diğer türlere karşı oluşabilecek kontaminasyon riskinin önlenmesi, yüksek oranda CO₂ transferine izin verilmesi ve en az miktarda CO₂ kaybı, dış ortamlarda kurulduğunda güneş enerjisinden en üst seviyede yararlanma ve biriken O₂'nin uzaklaştırılmasını sağlama koşullarını gerçekleştirebilecek kapasitede olmasıdır (Pirt *et al.* 1983; Olaizola, 2003; Torzillo and Vonshak, 2004).

Tanklar ve plastik torbalar gibi basit ilk nesil fotobiyoreaktörler üretimlerin arttırılması ve ölçek büyütülmesi çalışmaları sırasında kısa zaman içinde pek çok önemli sorunlar açığa çıkarmıştır. Çünkü 50-100 L'lik hacimler ışığı etkin kullanma özelliklerini artan hacimle kaybetmektedir. Bu sorunun giderilmesi için, su altı aydınlatma, optik fiberlerle kültür içi aydınlatma gibi değişik teknik yaklaşımlar denenmiştir. 1990'lardan bugüne türlerin etkin ışık almaları için önemli olan ışık yolu, derinlik, türbülans ve O₂ çıkışı gibi parametreler önem kazanmıştır. Bu parametrelerin önem kazanması ve daha dikkatli çalışılması ile artık fotobiyoreaktör sistemlerinin en kısa ışık yolunu sağlayacak şekilde tasarlanmalarına veya en verimli üretimin gerçekleştiği akış hızı ve karakterine izin verecek tasarımları olmasına özen gösterilmektedir. Kapalı sistemlerin çok farklı tasarımları test edilmeye ve çalışmaya başlanmıştır. Tasarımların gelişmesiyle farklı mikroalglerle çalışma esnekliğinde fotobiyoreaktörler işletilmeye başlanmıştır (Borowitzka, 1999; Sukatar, 2002). Yıllar içindeki çalışmalar sonucunda ticari olarak üretime geçirilen iki temel tasarım tipi ortaya çıkmıştır, bunlar “tübüler sistemler” ve “panel sistemlerdir”. Tüm bu tasarımlardaki temel kural ışık yolunu azaltmak ve böylece gerekli ışığın tüm hücrelere ulaşmasını sağlamaktır. Laboratuvar çapında yapılan denemelerde çalışılan mikroorganizmaların fizyolojileri hakkında bilgi edinilerek, yapılan basit üretimlerde karşılaşılan sorunlar ve çözümlerini bulmak için yapılan araştırmalar doğrultusunda fotobiyoreaktörlerin tasarımları geliştirilmekte ve üretimlere uygulanmaktadırlar. Bu çalışmalar sistemlerin geliştirilmesi ve uygulanması yeni kültürlerin çalışılması, uygun ortamlarının incelenmesi ve endüstriyel çapta yeni

sistemlerin tasarlanmasında rol oynamaktadır. Örneğin *Chroococcus minutus* ve *Nostoc insulare* ile yapılan bir tasarım çalışmasında önemli EPA (exopolysakarit) üreticileri olan bu mikroalglerin farklı destek dokularında immobilizasyonla üretimleri incelenmiştir. Poliüretan köpük, gözenekli polietilen tabakalar (HDPE, yüksek yoğunluklu polietilen), beyaz lifli 15 naylon yünü ve normal havlu denenmiş. Denemeler sonunda en uygun verim pamuklu havluda gözlenmiştir. *Spirulina platensis* ile katı kültür çalışmaları da yapılmıştır (Pelizer *et al.*, 2002). *Haslea ostearia* ile yapılan çalışmalarda ultrafiltrasyon membranı kullanılan serbest hücre sistemi ve agar jel tabakası ile oluşturulan immobilize hücre sistemi kullanılan iki farklı fotobiyoreaktörün pigment üretimine göre verimleri incelenmiştir (Rossignol *et al.*, 2000). Ayrıca çeşitli özel kaplarda da mikroalg üretimleri denenmiştir (Knutsen and Skjanes, 1999). Bu gibi çalışmalar ilginç sonuçlarının yanı sıra farklı tasarımlara da öncülük edecek bilgilerin toplanmasında önem taşımaktadır. Bu nedenle laboratuvar çalışmalarından büyük işletmeler kadar tasarım bir bütün olarak ele alınmalıdır. Ayrıca bu sistemler iyi karıştırma sağlayarak ışığın dağılımını ve gaz transferini optimum koşullarda sağlayabilmektedirler. Örneğin Almanya Elbingerode'de *Chlorella sp.*, kireç fabrikasından sağlanan CO₂ kullanılarak üretilmektedir, Potsdam'da ise *Spirulina* üretimi fotobiyoreaktörlerde gerçekleştirilmektedir. Ayrıca Hawaii ve İsrail'de *Haematococcus sp.* üretiminin gerçekleştirildiği ticari fotobiyoreaktörler başarıyla işletilmektedir (Borowitzka, 1999; Pulz, 2001; Torzillo and Vonshak, 2004). Ayrıca bu sistemler açık sistemler gibi çevrenin sınırlayıcı etkilerinden (pH, ışık geçirgenliği, sıcaklık, CO₂ konsantrasyonu gibi) etkilenmemekte ve kontrol edilebilmektedir. Bu yüzden de yüksek hücre yoğunluğuna erişilebilir ve bu sistemlerde üretilen hücreler daha fazla hassasiyet gerektiren tıbbi ürünler, farmosötik ve kozmetik ürünlerinde kullanılır. Buna ek olarak bu sistemler diğer türlerle yarışamayan ve sert çevre koşullarında gelişemeyen hassas türler için daha uygundur. Kapalı fotobiyoreaktörlerde CO₂ beslenmesi balonlu tüplerle gerçekleştirilir. Floresanlar veya fotosentez lambaları tüplerin güneş ışığına görmeyen veya güneş ışığından uzak kısımlarda kullanılmaktadır. Reaktörü oluşturan tüpler genellikle 20 cm çapında veya daha küçük olmaktadır. Kalınlığı ise ışık geçirgenliğini engellemeyecek şekilde birkaç milimetre olur. Düz plaka fotobiyoreaktör, tübüler fotobiyoreaktör, kolon fotobiyoreaktör gibi çeşitli dizaynlar kullanılmış ve test edilmiştir. Kapalı fotobiyoreaktörlerin dezavantajları fazla inşaat ve teknik maliyete sahip olması, aydınlatma alanının küçük olması ve sterilizasyon maliyetleridir (Lee, 2001).

2.2.2.1. Tübüler fotobiyoreaktörler

Tübüler fotobiyoreaktörler temel tasarımları itibariyle üç ana üniteden oluşmaktadırlar: kültür ortamını içinde bulunduran tüplerden oluşmuş kısım, sistem içinde biriken gazın atılmasını sağlayan degazör ünitesi ve sirkülasyonu gerçekleştiren pompa sistemidir. Temel tasarım amaçları diğer fotobiyoreaktör sistemlerinde olduğu gibi en üst düzeyde ışıktan yararlanma ve optimum koşulların sağlanmasıdır. Tübüler sistemler güneş ışığını en iyi şekilde kullanmak için yatay veya dikey konumlandırılabilirler. Ayrıca tüpler düz, kıvrımlı veya halkasal yapıda olabilirler (Pirt *et al.*, 1983; Chisti *et al.*, 2000). En yaygın kullanılan çeşidi yatay tüplerden oluşan fotobiyoreaktörlerdir. Tüpler yatay konumda yerleştirilerek ışık kollektörü olarak maksimum ışık tutulması ve minimum yer kaplama esasına göre tasarlanmaktadırlar. Ancak tip sistemler CO₂ kullanımında verim ve optimum koşulları sağlamakla beraber sistem hatları içindeki karanlık bölgeler nedeniyle özellikle tabanlarındaki hücrelerin ışık almasında bazı sorunlarla karşılaşmaktadır. Bu sorunu çözmek için farklı kültür hızları, tüp şekilleri ve tüp dizilişleri kullanılmaktadır. Tüpler tek sıra halinde, üst üste ve hatta dikey olarak yerleştirilmektedir. Tübüler fotobiyoreaktörlerde dikkat edilmesi gerekenler: üretilecek mikroalgin özelliklerinin belirlenmesi, uygun özelliklerde tüp seçimi, sistemin kurulacağı bölgenin iklim ve yer şekil özellikleri, sirkülasyon sisteminin belirlenmesi, şeklinde sıralanabilir (Pirt *et al.*, 1983; Pulz, 2001; Torzillo and Vonshak, 2004).

Pirt ve ekibi (1983), iç çapı 1 cm olan ve 52 m uzunlukta cam tüplerden yaptıkları tübüler fotobiyoreaktörü tasarlayarak *Chlorella* türü bir yeşil alg ile 3 heterotrofik bakteri türünden oluşan ve optimum yaşam koşulları 37 °C, pH 6.5 olan *Consortium MA 003* olarak adlandırılan bir kültür örneğiyle çalışmışlardır. Sirkülasyonu hava kaldırmalı sistem ile sağlamışlardır. Küçük çaplı tüplerin avantajı olarak maksimum biyokütle konsantrasyonlarını yükseltmesini göstermişlerdir. Çünkü belirli bir büyüme hızı ve ışık şiddetinde biyokütle konsantrasyonunun çapla ters orantılı olduğu gözlemlenmiştir. Yüksek biyokütle konsantrasyonu ayırma işlemlerinin maliyetini düşürdüğü için de avantaj sağlamaktadır. Sistemde pompa yerine hava kaldırmalı sistem kullanılarak pompalardaki mekanik parçaların hareketiyle vereceği zararlar ve gerilme kuvvetleri bertaraf edilmiştir (Pirt *et al.*, 1983). *Spirulina platensis* Geitler (M2) suşu ile 35 °C sıcaklık ve 9.4 pH değerinde tübüler sistemle dış ortam üretimlerinde 5 cm çaplı cam tüpler kullanılmıştır. Kültür üzerinde oksijen ve ışığın etkisi incelenmiştir, 1.4 g kuru kütle/L ile yapılan üretimlerde

fotoinhibisyon sorunu aşılmıştır (Vonshak *et al.*, 1996). Yine *Spirulina platensis* M2 suşu ile yapılan bir denemede cam tüplerden oluşan iki fotobiyoreaktörden biri U şeklinde kıvrımlı tüplerden diğeri ise düz tüplerden oluşturulduğunda sert kıvrımlı tüpteki düz olanlara göre farklılıklar gözlemlenmiştir. Kıvrımlı sisteme giren akış kıvrıma geldiğinde merkez kaç kuvveti ile kıvrım merkezinden uzaklaşır, böylece tüp merkezine yakın olan bölümde duvara yakın kısma göre daha yüksek hızlara ulaşmaktadır. Düz sistemde üretim laminar akıştan türbülanslı akışa geçildiğinde % 29'luk bir artış sağlanmakta iken kıvrımlı sistemde % 39'luk bir artış sağlanmıştır. Fakat akış hızı yüksek değerlerde ulaştığında kültürde fazla türbülans dolayısı ile oluşan stres nedeniyle yüksek hızlarda her iki sistem için üretimde düşüş olmuştur. Bu sayede kıvrımlı bir tüp sistemi *Spirulina* kültürü için kullanıldığında üretim artışı sağlanmıştır (Vonshak *et al.*, 1996).

Phaeodactylum tricornutum UTEX 640 suşu ile yapılan tübüler sistem denemelerinde sirkülasyon için hava kaldırmalı bir sistem kullanılmıştır. Hava kaldırmalı sistem sayesinde pompanın neden olabileceği stres önlenmiştir ve hava kaldırma sistemi özel tasarlandığından sistem içindeki akış sürekliliği sağlanmıştır. Ayrıca tüpler sıkı bir havuza yerleştirilerek hem sıcaklık kontrolü gerçekleştirilmiştir hem de özellikle güneş ışınlarının yoğunlaştığı saatlerde kültürü inhibisyonlardan korumuştur (Molina *et al.*, 1997; Chisti, 1999). Genel tübüler fotobiyoreaktör tasarımının yanı sıra en çok ilgiyi gören tasarım İngiliz "Biotechna Grassser A.P. Ltd" tarafından patenti alınan "BIOCOIL" sistemidir. Bu sistem silindirik şekilde sarılmış dikey bir tüp sistemidir. Silindirik bölüm minimum alan kaplayarak maksimum ışık sağlamasını başarmaktadır. Bu yatay olarak yerleştirilen tübüler fotobiyoreaktörlere göre önemli bir avantajdır. Sistem 1,6cm–5cm iç çaplı esnek şeffaf borulardan oluşturulmuştur. Sirkülasyon alg türüne göre seçilecek bir pompa yardımıyla, sıcaklık kontrolü ise belli uzunlukta tüpün ısı değiştirici gibi kullanıldığı bir ısıtma ünitesi eklenerek sağlanmaktadır. *Tetraselmis spp.*, *Isochrysis galbana*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Chaetoceros spp.* ve *Spirulina* türleri pilot çapta 700 L'ye kadar 4 aylık yarı sürekli şekilde bu sistemde yetiştirilmiştir. Ayrıca sistem gerekli modifikasyonlarla saf kültürlerle de çalışabilecek esnekliğe sahiptir. Ölçek büyötmeye uygun bir tasarımdır ve sistem otomatik olarak kontrol edilerek verimi arttıran, maliyeti azaltan önlemler alınabilmektedir (Borowitzka, 1999). Çek Cumhuriyetinde bulunan Nove Hardy'deki Akademi ve Üniversite Merkezinde *Spirulina platensis* üretimi için özel sera şeklinde fotobiyoreaktör tasarlanmıştır. Sistemin amacı üretimleri tam kontrol altında gerçekleştirilerek yıl boyunca verim kaybını azaltmak, güneş

ışığında en fazla yaralanmayı sağlayacak ve kültüre yoğunlaştıracak solar kollektör görevi gören lenslerin kullanılması, uygun karıştırma ve gaz, ısı transferlerinin sağlanması ve klorofil üretiminin çevrimiçi kontrolü ile kültürün takibidir. Sistem, bir seranın cam çatısının özel lenslerle modifiye edilerek çatıya yerleştirilen tübüler sistemde ışık kullanımı artırılarak üretimlerde verim artışı sağlanmasına dayanmaktadır (Masojidek *et al.*, 2003). *Spirulina platensis* üretiminde 1,6 cm iç çaplı tüplerden 60m ışık alıcı olarak ve 10m ısı değiştirici olarak oluşturulan bu tip silindirik fotobiyoreaktörde özellikle kullanımı veriminin arttığı görülmüştür. Başka bir sistem *Phaeodactylum tricornutum* ile denemiştir, fotosentez veriminin yüksek seviyelere çıktığı gözlemlenmiştir (Fernandez *et al.*, 2001). BioFence sistemi de İngiliz Biosynthesis Co. geliştirdiği basit bir tübüler sistemdir. Temel tasarım olarak yatay tübüler sistemin dik konuma getirilerek tüplerin üst üste dizilmesiyle sağlanmıştır. Basit bir yapısı olsa da bu sistem ve benzerlerine kıyasla önemli avantajlar sağlamaktadırlar. Bunlar arasında, verimli ışık kullanımı, torba tip bir sistemden 10-20 kat arasında daha fazla verim sağlanabilmesi, gerektiğinde yatay konuma getirilebilmesi, kullanım kolaylığı, tüplerin kolayca temizlenmesi, kontrolün kolay gerçekleştirilebilmesi olarak sıralanabilir (Conk Dalay, 2003). Endüstriyel çapta BioFence gibi bir tübüler sistem 3 yıllık bir ölçek büyütme çalışmasından sonra 2000’ de Almanya Wolfsburg’ da kurulmuş. Bu kapalı sistem, başarılı üretim yapan en büyük fotobiyoreaktörlerden biri olmuştur. Üst üste dizilmiş toplam uzunluğu 500.000 m ve toplam hacimi 700 m³ olan yatay konumlu cam tüplerden oluşmaktadır. Orta Avrupa koşullarında 10.000 m² alanda, kuru kütle bazında yıllık 130 -150 ton *Chlorella sp.* üretimi sistemin ekonomik olarak işletilmesini sağlamaktadır. Cartagena İspanya’da Photobioreactor Ltd. sahip olduğu dik Bio Fence benzeri tübüler sistem ekonomoik beklentileri karşılayamadığından işletilmesi durdurulmuştur (Chisti *et al.*, 1999).

2.2.3. *Chlorella vulgaris*’in hasat işlemi

2.2.3.1. Santrifüj İşlemi

Santrifüj işlemi ile toplam biyomas üretiminin %20-30 kadarının eldesi sağlamaktadır (Molina Grima *et al.*, 2003). *Chlorella vulgaris*’in hasatı için kullanılan en yaygın santrifüj işlem 5000 rpm’de 15 dakika (Converti *et al.*, 2009; Cha *et al.*, 2010) şeklinde olmaktadır çünkü bu yüksek verim (%95 geri kazanım) sağlayabilmek için yeterlidir. *Chlorella vulgaris*’ in morfolojisi proses süresince yüksek merkezkaç etkisine dayanabilir.

2.2.3.2. Flokülasyon (Kümeleşme)

Üssel büyüme fazında alg hücrelerinin yüzeyleri negatif yüklüdür ve bunları nötralize etmek oldukça zordur. Bu nedenle hücreler dağınık durmaktadır. Hücreler sabit veya azalan faza ulaşınca negatif yük azalmakta, hücrelerin kümeleşmesi ve topaklanmasına sebep olmaktadır. Oto flokülasyon denilen bir sistem bu olayın çözümü olabilir. Bu sistem CO₂'ye bağlı olarak pH'ı, nitrat ve fosfat özümlemesini birleştirerek işlemektedir. Genel olarak, mikroalg kültürleri çok kararlı bir yapıda olup oto flokülasyon ihtimali göz ardı edilebilir ve yanıltıcı olabilir. Kümeleşmeyi hızlandırmak için baz ilavesi ile pH'ı düşürmek gereklidir. Bunun en etkilisi sodyum hidroksittir. Az miktarda kimyasal ile pH 11'de %90'dan daha fazla kümelenme sağlanır (Her 1 gr kuru biyomas için 9 mg NaOH gereklidir). Endüstriyel ölçekte ise kireç en uygun maliyetli olandır. Bu mekanizmada Mg (OH)₂'nin hidrolizinden Mg²⁺'ler bir araya gelir ve mikroalg hücrelerini negatif yüklerle yükler. Çitosan ise maksimum verimi pH 7'de %90 mikroalgi kümeleştirmeyi sağlayan başka bir flokülasyon ajanıdır (Divakaran and Sivasankara Pillai, 2002). Ayrıca flokülasyon işlemi *Paenibacillus sp.* gibi biyoflokülanların kullanımıyla da gerçekleşir. Bu işlem ortamda ko-flokülan olan CaCl₂ bulunmasıyla; pH 11'de %83 flokülasyon ile gerçekleşmektedir (Oh et al., 2001). Flokülasyon işlemi çoğu zaman ön hasat işlemi gibi görülür, santrifüj veya filtrasyon gibi diğer hasat basamaklarına olanak sağlayıp tamamladığı düşünülür.

2.2.3.3. Flotasyon (Su yüzeyinde yüzdürme)

Bilinene göre bu yöntem dağınık mikro hava kabarcıklarıyla gerçekleşebilir. Mikroalglerdeki lipid içeriği arttığında flotasyon kendiliğinden de gerçekleşebilmektedir. Cheng et al. (2010), *Chlorella vulgaris* türünde dağınık ozon gazını kullanarak yoğunluğu fazla olan bir flotasyon işlemi gerçekleştirmiştir. Genel olarak flotasyon yöntemi flokülasyondan farklı olarak sentetik kimyasala gerek duymaz, endüstriyel düzeyde ekonomikliği henüz çok bilinmemektedir.

2.2.3.4. Filtrasyon

Bu yöntem alg hücrelerinin konsantrasyonu belirli bir yoğunluğa ulaşınca gerçekleştirilir. *Chlorella vulgaris* türünün küçük boyutuna bağlı olarak genel filtrasyon metodu kabul edilebilir yeterli bir yöntem değildir. Ultrafiltrasyon ve mikrofiltrasyon bu tür için daha uygun yöntemlerdir. Örneğin *Porphridium sp.*

cinsinde uygulanan filtrasyon işlemi bu algin bazı yapısal maddelerinde sınırlamalara sebep olabilmektedir. Fakat bu durum *Chlorella vulgaris* türünde göz ardı edilebilir. Bu yüzden de filtrasyon işlemi sırasında havalandırma gibi ek işlemlere ihtiyaç duyulmaz (Morineau-Thomas *et al.*, 2002; Frappart *et al.*, 2011). Ultrafiltrasyon ve mikrofiltrasyon metodlarını bazı parametreler etkilemektedir. Bu parametreler; dış membran basıncı, akım hızı, çapraz akım türbülansı şeklindedir. Bunun yanı sıra filtrasyondan önceki işlemler (flokülasyon, flosayon gibi) de filtrasyon işleminin iyi olmasına yardımcı olmaktadır (Hung and Liu, 2006; Chang and Lee, 2012; Lee *et al.*, 2012).

2.2.4. *Chlorella vulgaris* türünü oluşturan ana bileşenler

2.2.4.1. Proteinler

Proteinler kimyada ve mikroalglerde oldukça öneme sahip yapılardır. Bu yapılar hücrede büyüme ve gelişme, tamir ve koruma, hücresel motor iletimi, kimyasal sinyal, hücresel aktiviteyi düzenleme ve yabancı etkilere karşı savunma gibi önemli rollere sahiptir (Solomon, 1999).

Kuru biyomaslı olgun *Chlorella vulgaris* hücresinde protein içeriği %42-58 arasındadır (Becker, 1995; Seyfabadi *et al.*, 2011) ve bu değer büyüme koşullarına göre değişiklik gösterir. Proteinlerin bir çok görevi vardır. Toplam proteinlerin %20' si hücre duvarında, %50'den fazlası hücre içerisinde ve %30'u ise hücre içi ve dışında bulunabilmektedir (Berliner, 1986). Moleküler ağırlıkları SDS-PAGE yöntemiyle 12 ve 120 kDa arasında olduğu saptanmıştır. *Chlorella vulgaris*'in ototrofik ve heterotrofik koşullarda büyümesinden sonra hücrelerin çoğunluğunda proteinlerin moleküler ağırlığının 39 ve 75 kDa olduğu gözlenmiştir. Buna rağmen yüksek yoğunluk hücreler ototrofik ortamda geliştiğinde gözlenmiştir (Morris *et al.*, 2008; Hanan, 2011).

Protein besinsel içeriği çoğu alglerde olduğu amino asit içeriği belirlenerek öğrenilmiştir. *Chlorella vulgaris*'in amino asit içeriği de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından insan beslenmesi için önerilen besinsel değerleri ile karşılaştırılmıştır. Çünkü *Chlorella vulgaris* türü esansiyel ve esansiyel olmayan aminoasitleri içermektedir. Ekstraksiyon prosedürü ne olursa olsun *Chlorella vulgaris*'in proteinleri iyi bir emülsiyon yapma yeteneğindedir ve bu ticari içerik ile karşılaştırıldığında daha iyidir denilebilir.

Amino asitler	<i>C. vulgaris</i>	<i>C. vulgaris</i>	<i>C. vulgaris</i>	FAO/WHO tarafından tavsiye edilen	Yumurta	Soya
Aspartik Asit	9.30	10.94	9.80	N/A	11.00	1.30
Treonin	5.30	6.09	5.15	4.00	5.00	4.00
Serin	5.80	7.77	4.32	N/A	6.90	5.80
Glutamik Asit	13.70	9.08	12.66	N/A	12.60	19.00
Glisin	6.30	8.60	6.07	N/A	4.20	4.50
Alanin	9.40	10.90	8.33	N/A	n.d	5.00
Sistein	n.d	0.19	1.28	3.50	2.30	1.90
Valin	7.00	3.09	6.61	5.00	7.20	5.30
Metyonin	1.30	0.65	1.24	N/A	3.20	1.30
İzoloisin	3.20	0.09	4.44	4.00	6.60	5.30
Lösin	9.5	7.49	9.38	7.00	7.00	7.70
Tirozin	2.80	8.44	3.14	6.00	4.20	3.20
Fenilalanin	5.50	5.81	5.51	N/A	5.80	5.00
Histidin	2.00	1.25	1.97	N/A	2.40	2.60
Lizin	6.40	6.83	6.68	5.50	5.30	6.40
Arjinin	6.90	7.38	6.22	N/A	6.20	7.40
Triptofan	n.d	2.21	2.30	1.00	1.70	1.40
Ornitin	n.d	0.13	n.d	N/A	n.d	n.d
Prolin	5.00	2.97	4.90	N/A	4.20	5.30

Şekil 2.2 *Chlorella vulgaris*' in farklı kaynaklardan elde edilen her 100 gramda bulunan amino asit içeriğinin gram olarak karşılaştırılması (N/A: mevcut değil, nd: saptanamadı). (Safi *et al.*, 2013; Shaaban, 2001; Faheed and Abd el Fattah, 2008; Naik *et al.*, 2010).

Tüm mikroalglerde protein ekstraksiyonu aynı tekniklerle ve bu yöntem bazik solüsyonla gerçekleştirilmektedir (Safi *et al.*, 2013; Bajguz A., 2000; Rausch T., 1981). Daha ileri purifikasyon da ise %25 trikloroasetik asit (TCA) veya hidroklorik asit ile (%0.1 N HCl) proteinleri çöktürme işlemi gerçekleştirilir. Diğer bir ayırma metodu ise ultrafiltrasyondur. Safi *et al.* , 2 basamaktan oluşan bu metodu *Tetraselmis suecica* türünün sulu ekstresinde gerçekleştirmiş ve çözülebilir molekülleri elde etmiştir (nişasta, proteinler, düşük molekül ağırlıklı polisakkaritler gibi). Bu prosesin *Chlorella vulgaris* türü için uygulanabilmesi için ultrafiltrasyon membranlarında bazı küçük değişiklikler yapılarak olabileceği belirtilmektedir (Safi *et al.*, 2014).

C. vulgaris türü için protein miktar belirleme ise elemental analizler, Kjeldahl yöntemi, Lowry yöntemi, Bradford analizi ve boya bağlama gibi başlıca yöntemlerle gerçekleştirilir. Elemental analizler ve Kjeldahl yöntemi mikroalglerde total nitrojeni belirlemede kullanılan yöntemlerdir. Toplam azot miktarı belirlenerek standart azottaki 6.25 protein dönüşüm katsayısı (NTP) ile

çarpılmaktadır. Böylelikle doğru protein miktarında tahminden fazla veya eksik sonuçlara ulaşılabilir.

Safi *et al.* (2013), *Chlorella vulgaris*'i de içeren 5 farklı alg türünün protein ekstraktları ile yaptığı çalışmada geniş çaplı bir protein dönüşüm katsayısına ulaşamamıştır. Bunun sebebi olarak da alglerin hücre duvar geçirgenliği, büyüme koşulları, büyüme ortamı ve çevresel etkiler gibi çeşitli faktörleri öne sürmüştür. Ayrıca Servaites *et al.* (2012), izole ettiği proteinleri kağıt üzerinde Coomassie brilliant blue R-250 (CBB) müdahalesiyle *Chlorella vulgaris* türünü de içeren 12 farklı mikroalg türünün protein miktarlarını hesaplamıştır. Yapılan çalışmalara göre Lowry methodunun Bradford metodundan daha kabul edilebilir olduğu kanıtlanmıştır. Çünkü Bradford metodunda tüm amino asitler reaksiyona girmez ve böylelikle protein konsantrasyonu düşük olur (Barbarino and Lourenço, 2005).

2.2.4.2. Lipidler

Lipidler, yapısal olarak heterojendir. Yapısal olarak ayırt edilemezler fakat polar olmayan solventlerde çözülebilen ve suda çözülebilenler şeklinde ayırt edilebilirler (Bajguz, 2000).

Optimal büyüme koşullarında *Chlorella vulgaris*'in lipid içeriği kuru biyomasında %5-40 arasında bir değere ulaşabilmektedir (Becker, 1995). Bu kompozisyonun içeriği glikolipidler, mumlar, hidrokarbonlar, fosfolipidler ve küçük miktarda serbest yağ asitlerinden oluşur (Lee, 2008; Hu *et al.*, 2008). Bu bileşenler kloroplast tarafından sentezlenir ve aynı zamanda hücre duvarı ve membranlı organellerin (mitokondri, kloroplast gibi) membranlarında bulunur. Elverişsiz büyüme koşullarında ise *Chlorella vulgaris* türünde lipid içeriği (çoğunlukla gliserolden oluşmuş) %58'lere ulaşmaktadır (Mata *et al.*, 2010; Hung and Liu, 2006; Stephenson *et al.*, 2009).

Liu *et al.* (2008), *Chlorella vulgaris*'in her büyüme fazından sonra hücre içindeki lipid damlacıklarının birikimini saptamıştır. Bu çalışma Nile kırmızı boyası ile gerçekleştirilmiş daha sonra floresan mikroskobu ile mavi ışık yayılarak nötral lipidler dışında diğer yağ damlacıkları açığa çıkarılmıştır. Bu teknik nötral lipidler bir araya gelmesi ile floresans şiddeti arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Chen *et al.* (2011), bu tekniğin hücre parçalanmasına bağlı olarak değişebileceği çünkü bazı mikroalglerin hücre duvarlarının kalın olduğu bu

nedenle de hücre parçalanmasının hesaplama ve ölçümde gerekli olduğundan bahsetmiştir.

Chlorella vulgaris'in total lipid miktarını belirleme Bligh ve Dyer'in metodu (kloroform ve metanol karışımı), metan veya petrol eteri kullanılmaktadır. Lipidler bu reaktiflerle muamele edildikten sonra solvent evaporasyonla uçurulur geriye kalan lipidler ise kolon kromatografisi yöntemi ile birbirinden ayrılabilir (Olmstead *et al.*, 2013). Fakat bu solventler çevreye zararlı, toksik, yüksek yanıcı ve ekstrakta bulaşabileceği için endüstriyel sanayide kullanılmamaktadır (Phukan *et al.*, 2011). Yeh ve Chang'a (2012) göre, *Chlorella vulgaris*'in mikсотроfik koşullar altında yağ asidi profilinin %60-68 oranında biriktiği gözlenmiştir. Bunlar doymuş ve tekli doymamış yağ asitlerinden olan palmitik asitten C16:0, stearik asitten C18:0, palmitoleik asitten C16:1 ve oleik asitten C18:1 oluşmuştur. Bunun gibi yağ asidi profili biyodizel üretimi için uygun değildir. Fakat daha fazla besinsel olarak kullanılan linoleik asit C18:2, linoleik asit C18:3 ve eikosapentaenik asit C20:5 gibi çoklu doymamış yağ asitleri biyodizel üretimi için daha uygundur (Chen *et al.*, 2011).

2.2.4.3. Karbonhidratlar

Karbonhidratlar, şekerlerin dışında nişasta ve selüloz gibi polisakkaritleri kapsayan bir gruptur.

Chlorella vulgaris türünde en bol miktarda bulunan polisakkarit nişastadır. Nişasta genellikle kloroplastta amiloz veya amilopektin şeklinde bulunur ve şekerlerle birlikte hücreye enerji deposu sağlarlar. Selüloz, *Chlorella vulgaris*'in hücre duvarında lifli bir bariyer gibi yer alan yapısal olarak yüksek dayanıklılığa sahip bir polisakkarittir. *Chlorella vulgaris*'de sağlık ve beslenme açısından çeşitli yararları olan başka polisakkarit beta-glukan (β 1-3 glukan) da (Lordan *et al.*, 2011) bulunmaktadır.

Toplam karbonhidrat miktarı sülfirik- fenol metodu (DuBois *et al.*, 1956) ile hesaplanmaktadır. Elde edilen basit şekerler 110 °C' de hidroliz edildikten sonra ölçüm işlemleri HPLC (özellikle HPIC) ile daha iyi olmaktadır.

Chlorella vulgaris oldukça sağlam bir hücre duvarına (Janczyk *et al.*, 2007) sahiptir. Bu hücre duvarının ana bileşenlerini bir çitosan katmanı, selüloz,

hemiselüloz, proteinler, lipidler ve mineraller oluşturmaktadır (Northcote *et al.*, 1958; Abo-Shady *et al.* 1993).

2.2.4.4. Pigmentler

Chlorella vulgaris'de en bol bulunan pigment maddesi klorofildir. Klorofil miktarı *Chlorella vulgaris*'in kuru ağırlığında %1-2 oranına ulaşabilmektedir ve hücrede tillakoidlerde yer alır. Aynı zamanda *Chlorella vulgaris* türü önemli miktarda karotenoid de içermektedir. Karotenoidler ışık yakalamada yardımcı pigmentler gibi davranırlar. Karotenoidler ilk olarak klorofillerle birlikte tillakoidlerde bulunurlar. Burada ışıktan gelen enerjiyi kaparak Fotosistem içerisine gönderirler.

Bu pigmentler, antioksidan aktivitesi (Gouveia *et al.* 2005), retina dejenerasyonuna karşı (Fernandez-Sevilla *et al.* 2012; Granado *et al.* 2003) kandaki kolesterolü ayarlayıcı, kardiyovasküler veya kolon kanserine karşı ve immün sistemi güçlendirici (Tanaka *et al.*, 1984; Cha *et al.*, 2008) bir çok tedavi yönteminde kullanılmaktadır.

Pigmentler	$\mu\text{g g}^{-1}$ (dw)
β- Karoten	7–12,000
Astaksantin	550,000
Santaksantin	362,000
Lutein	52–3830
Klorofil a	250–9630
Klorofil b	72–5770
Feofitin a	2310–5640
Feofitin b	N/A
Violaksantin	10–37

Şekil 2.3 *Chlorella vulgaris*' de gözlenen potansiyel pigment içeriği (N/A: bulunamadı; dw: kuru ağırlık). (Kitada *et al.*, 2009; Gonzalez and Bashan, 2000, de-Bashan *et al.*,2002; Cha *et al.*, 2010; Kong *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2002; Singh and Gu, 2010; Mendes *et al.*, 2003).

2.2.4.5. Mineraller ve vitaminler

C. vulgaris türünde mineraller biyomas yakıldıktan sonra atomik absorpsiyon spektrofotometri analizi ile belirlenmektedir. Mineraller insanlar için fonksiyonel sistemlerde rol oynarlar (Solomon *et al.*, 1999). Örneğin; Potasyum kasyonu insan beslenmesi için gerekli olan bir mineraldir. Bu mineral sıvı dengesi, karbonhidrat metabolizması, protein sentezi ve sinirsel impulsalarda etkilidir. Bu mineral aynı zamanda klorid (KCl), sülfat (K₂SO₄) veya nitrat (KNO₃) formunda ziraatte kimyasal gübre olarak kullanılmaktadır. Magnezyum, insan vücudunda kas sisteminde etkili bir mineraldir. Çinko ise insan vücudunda karbonhidrat, protein, lipid sentezi, süperoksit dismutaz enzimine kofaktör olarak bir çok merabolik enzimlerin esas bileşeni bir mineraldir.

Mineral İçeriği (g 100/g)

Mikroelementler

Na	N/A	1.35	N/A
K	1.13	0.05	2.15
Ca	0.16	0.59	0.27
Mg	0.36	0.34	0.44
P	N/A	1.76	0.96

Makroelementler

Cr	N/A	tr	tr
Cu	N/A	tr	0.19
Zn	N/A	tr	0.55
Mn	N/A	tr	0.40
Se	N/A	tr	N/A
I	N/A	N/A	0.13
Fe	0.20	0.26	0.68

Şekil 2.4 Üç farklı çalışmadan elde edilen *Chlorella vulgaris*'in mineral içeriğine ait sonuçlar (N/A: bulunamadı, tr: iz olarak bulunur). (Maruyama *et al.*, 1997; Tokusoglu ve Unal, 2003; Pahani *et al.*, 2012).

Vitaminler ise suda eriyenler (C ve B vitamini) ve yağda eriyenler (A, D, E, K vitamini) olarak sınıflandırılırlar. *Chlorella vulgaris* önemli bir vitamin içeriğine sahiptir. Bu vitaminler hücre büyümesi için anahtar olan ve insan vücudaki farklılaşmayı sağlayan A vitamini, antioksidan aktivitesiyle birlikte kan dolaşım sistemini düzenleyen ve kas fonksiyonlarını kontrol eden E ve C vitamini (Becerra *et al.*, 1999) şeklindedir. Diğer vitaminler de insan, hayvan ve bitkiler için gerekli olan ve canlılık faaliyetlerini kontrol eden özelliklere sahiptir. *Chlorella vulgaris* türünün vitamin içeriği 3 farklı çalışmada saptanmıştır.

Vitaminler	İçerik (mg 100/g)		
	Maruyama et al.	Yeh et al.	Panahi et al.
B1 (Tiyamin)	2.4	N/A	1.5
B2 (Riboflavin)	6.0	N/A	4.8
B3 (Niyasin)	N/A	N/A	23.8
B5 (Pentotenik asit)	N/A	N/A	1.3
B6 (Piridoksin)	1.0	N/A	1.7
B7 (Biotin)	N/A	N/A	191.6
B9 (Folik asit)	N/A	N/A	26.9
B12 (Kobalamin)	tr	N/A	125.9
C (Asorbik asit)	100.0	39.0	15.6
E (Tokoferol)	20.0	2787.0	N/A
A (Retinol)	N/A	13.2	N/A

Şekil 2.5 *Chlorella vulgaris*'de üç farklı çalışmadan elde edilen vitamin içeriği profili (N/A: bulunamadı, tr: iz olarak). (Maruyama *et al.*, 1997; Pahani *et al.*, 2012, Yeh *et al.*, 2011).

2.3. *Chlorella vulgaris*'in Ziraatte Kullanımına İlişkin Uygulamalar

Mavi yeşil alg ekstraktları bitki büyüme ve gelişiminde etkili oldukça fazla miktarda ürün salgırlarlar. Bu mikroorganizmaların bitkilere yararlı olan büyüme düzenleyiciler, vitaminler, amino asitler, polipeptidler, fitopatojen biyokontrolünde etkili antibakterial ve antifungal maddeler ve bitki büyümesi ve gelişimini iyileştiren eksopolisakkaridler gibi maddeler içerdiği belirlenmiştir (Ordog *et al.*, 1999).

Alg ekstraktlarının biyogübre olarak kullanılmasıyla gerçekleştirilen uygulamalarda bir çok bitkide büyüme parametrelerini arttırdığı bildirilmiştir (Saffan *et al.*, 2001; Shabaan *et al.*, 2001). Bu uygulamalar nitrojenaz, nitrat redüktaz, mineraller ve bitki büyümesi için gerekli olan maddeleri içeren biyokimyasal olarak buna uygun olan algler tarafından gerçekleştirilmektedir.

Chlorella vulgaris'in sıvı ekstraktı buğday bitkisine (*Triticuma estivum* L. var. Giz69) foliar gübre olarak uygulanmış, bitkilerde beslenme durumu, büyüme ve verim araştırılmıştır (Shaaban *et al.*, 2001). Bu çalışmada ekimden 25 gün sonra %50 (v/v) konsantrasyonunda foliar sprey olarak uygulanması sonucu ürün veriminde %140, kilo artışında ise %40 artış gözlenmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada *Chlorella vulgaris*'in *Lactuca sativa*' da (marul) tohum çimlenmesinde biyogübre olarak kullanılarak büyüme

parametreleri ve fizyolojik tepkileri üzerine etkisi araştırılmıştır. *Chlorella vulgaris* kültür ortamında 3,6,9,12 ve 15 gün boyunca üretildikten sonra *Lactuca sativa* tohumları bu petriler içerisinde çimlendirilmeye bırakılmıştır (Faheed and Abd el Fattah, 2008). Bu çalışmanın sonucu olarak *Chlorella vulgaris*'in tohumların çimlendirildiği ortama ya da toprağa eklenmesi tohumların kuru ve yaş ağırlığında artmaya sebep olmuştur. Aynı zamanda pigment içeriği bakımından da artışlar gözlenmiştir. En iyi sonuç 2 ve 3 g kuru ağırlığa sahip *Chlorella vulgaris*'in toprağa eklenmesiyle gözlenmiştir.

Ergün ve ark. (2010), denemelerini sonbahar yetiştiriciliği döneminde cam serada gerçekleştirmiştir. Su kültürü tekniği ile marul yetiştiriciliğinde azaltılan besin dozlarında mikroalg *Chlorella vulgaris*'in biyogübre olarak kullanımının etkileri araştırılmıştır. Uygulamalar şunlardır: (1) Kontrol %100 besin, (2) %100 besin+alg, (3) %80 Besin, (4) %80 Besin+alg, (5) %60 alg, (6) %60 besin+alg, (7) %40 besin, (8) %40 besin+alg. Su yetiştiriciliğinde *Chlorella vulgaris* alginin bitki kök ortamında yaşamasının, marul bitkisinde büyüme ve gelişme, verim ve bitki besin maddekeri üzerine etkileri araştırılmıştır. Denemede mikroalgin marul bitkilerinde yaprak sayısı, yaprak taze ağırlığı, klorofil içeriği üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Yapılan yaprak analizlerinde *Chlorella vulgaris* bulunan azaltılmış besin uygulamalarında, marul bitkilerinin yeterli beslendikleri, herhangi bir besin elementi eksikliği tespit edilmediği ve hatta algin marul bitkilerine N, P, Ca, Mg, Fe, Mn ve Cu beslenmesi bakımından ekstra arttırıcı katkıları sağladığı belirlenmiştir. Su kültür ortamına *Chlorella vulgaris* mikroalg eklenmesiyle, besin çözeltisinin oluşturulmasında kullanılan gübre miktarlarında %20 ve %40 hatta %60'a varan oranlarda azaltılma, başka bir deyişle "gübre ekonomisi" başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Tüm bu çalışmalar, *Chlorella vulgaris*'in sıvı ve kuru ekstraktının biyogübre olarak kullanılarak bitki büyümesinde ve verim artışında etkili olduğu kanıtlamıştır.

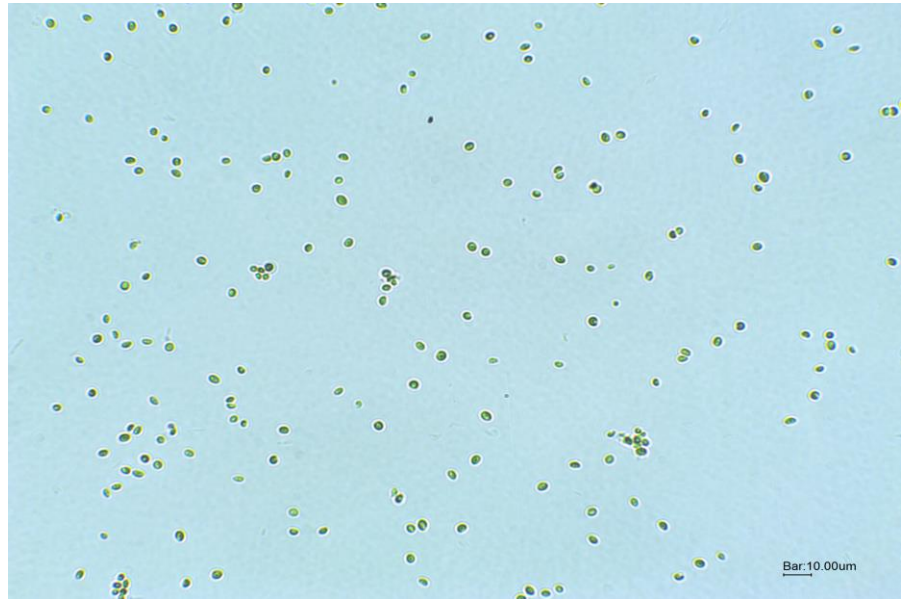
3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma Ekim 2013-Temmuz 2014 dönemi arasında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi ve Ziraat Fakültesinde yürütülmüştür. Yapılan çalışmada Güz döneminde büyük ölçekli tübüler fotobiyoreaktörde *Chlorella vulgaris* mikroalginin üretimi gerçekleştirilmiş; bahar döneminde ise üretilen mikroalg, uygulama materyali olarak seçilen Şimşek F1 domates bitkisinde kullanılmıştır. Mikroalg E.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde üretilmiş, sera performans denemesi E.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait organik sebze üretim ve araştırma serasında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Materyal

3.1.1. Üretim materyali olan *Chlorella vulgaris* Beyerinck

Kullanılan *Chlorella vulgaris* türü Ege Üniversitesi Mikroalg Kültür Koleksiyonundan (EGE-MACC) temin edilmiştir.



Şekil 3.1 *Chlorella vulgaris*'in mikroskopik görüntüsü.

3.1.2. *Chlorella vulgaris*'in üretiminde kullanılan kültür ortamı

Chlorella vulgaris kültürü için Bold Basal Medium (BBM) ortamı kullanılmıştır (Guillard, 1973). Kültür ortamında kullanılan kimyasallar teknik

safılıktadır. Kùltür ortamında kullanılan kimyasalların kompozisyonu aşağıdaki gibidir.

Çizelge 3.1 BBM ortamının kompozisyonu (Guillard, 1973).

Stok	Stok solüsyon	mL/L
1. KH_2PO_4	8.75 g/500 mL	10 mL
2. $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	12.5 g/500 mL	1 mL
3. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37.5 g/500 mL	1 mL
4. NaNO_3	125 g/500 mL	1 mL
5. K_2HPO_4	37.5 g/500 mL	1 mL
6. NaCl	12.5 g/500 mL	1 mL
7. $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	10 g/L	1 mL
KOH	6.2 g/L	
8. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.98 g/L	1 mL
H_2SO_4 (konsantre edilmiş)	1 mL/L	
9. Trace Metal Solüsyon	Çizelge 3.2’de gösterilmiş	1 mL
10. H_3BO_3	5.75 g/500 mL	0.7 mL

Çizelge 3.2 BBM Ortamı için gerekli olan Trace metal solüsyonun kimyasal kompozisyonu (Guillard, 1973).

Trace Metal Solüsyonunda Kullanılan Kimyasallar	g/L
1. H_3BO_3	2.86 g
2. $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.81 g
3. $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.222 g
4. $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.390 g
5. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.079 g
6. $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0494 g

Bu kimyasallar tabloda verilen stok solüsyonlardaki hacimlerde alınmış, istenilen hacimde kültür ortamı elde etmek için üzerine saf su eklenerek şişede karıştırılır ve pH 6.8 civarına geldiğinde kültür ortam sterilizasyon için otoklavlanarak kullanılır.

3.1.3. Uygulama materyali olan domates bitkisi

Denemede üretilen algin (*Chlorella vulgaris*) biyogübre olarak uygulanacağı bitki olarak domates (*Solanum lycopersicon* cv. Şimşek) seçilmiştir. Domates fideleri hazır fide firmasından (Antalya Fide A.Ş, Antalya) temin edilmiştir. Denemede tohumları Bircan Tohum firmasına ait olan Şimşek F1 domates çeşidi kullanılmıştır. Sırik domates çeşidi olan Şimşek F1 domatesinin genel özellikleri aşağıdaki gibidir:

Şimşek F1 Domates: İlkbahar ve sonbahar yetiştirme dönemlerine uygun, çok güçlü bitki yapısına sahip, erkenci bir çeşittir. Bir salkımda 5-6 meyve bulunur ve

ortalama meyve ağırlığı 210-250 g'a kadar çıkabilir. Parlak kırmızı renkli, sert ve kaliteli meyvelere sahiptir. Raf ömrü uzun ve ihracata uygun meyvelere sahiptir. Meyveleri lezzetli ve aromatiktir. Hasat periyodu hızlıdır. TYLCV (Sarı yaprak kıvrıcılık virüsü), Fol 0,1- I2 (*Fusarium oxysporium lycopersici*), Frl (*Fusarium oxysporium* f.sp. *Radisi*), Va (*Verticillium dahliae* Ve -1) karşı dayanıklıdır.



Şekil 3.2 Kullanılan domates fidelerinin genel görünümü

3.1.4. Domates bitkilerinin yetiştirme ortamı

Çalışmanın bu kısmı Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait kuzey-güney doğrultusunda yerleştirilmiş, yan ve çatı havalandırmalarına sahip, havalandırmaları böcek neti ile kaplı, yay çatılı polietilen örtülü 400 m²'lik serada yürütülmüştür.



Şekil 3.3 Araştırmanın yürütüldüğü seranın genel görünümü

Araştırmanın yürütüldüğü sera topraklı olup, kurulduğu andan bu yana sadece organik sebze üretim ve araştırmalarında kullanılmıştır. Üretimde organik tarım esaslarına bağlı kalınmıştır.

Denemelerin yürütüldüğü sera topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 3.3’de verilmiştir. 0-30 cm derinlikten alınan toprak örneklerinde yapılan analiz sonuçlarına göre araştırma serasının toprağı hafif alkali olup, kireçlidir; tuzluluğu düşüktür. Toprağın bünyesi kumlu killidir ve organik maddece zengindir.

Çizelge 3.3 Sera toprağının fiziksel ve kimyasal özellikleri (Test E.Ü Ziraat Fakültesi Toprak Bölümünde direkt olarak yaptırılmıştır).

Toprak Özellikleri	Birim	Değerlendirme	
pH		7,61	Hafif alkali
Tuz	%	0,103	Tuz tehlikesi yok
Kireç	%	3,85	Kireçli
Kum	%	57,12	
Mil	%	20	
Kil	%	22,88	
Bünye			Kumlu-Killi
Org. Madde	%	2,59	Humuslu
N	%	0,117	Azotça iyi
P	ppm	15,55	Yüksek
K	ppm	310	Yüksek
Ca	ppm	4606	Çok fazla
Mg	ppm	325	Yüksek
Na	ppm	24,8	Çok düşük
Fe	ppm	4,86	İyi
Zn	ppm	3,52	İyi
Cu	ppm	6,92	İyi
Mn	ppm	20,78	İyi

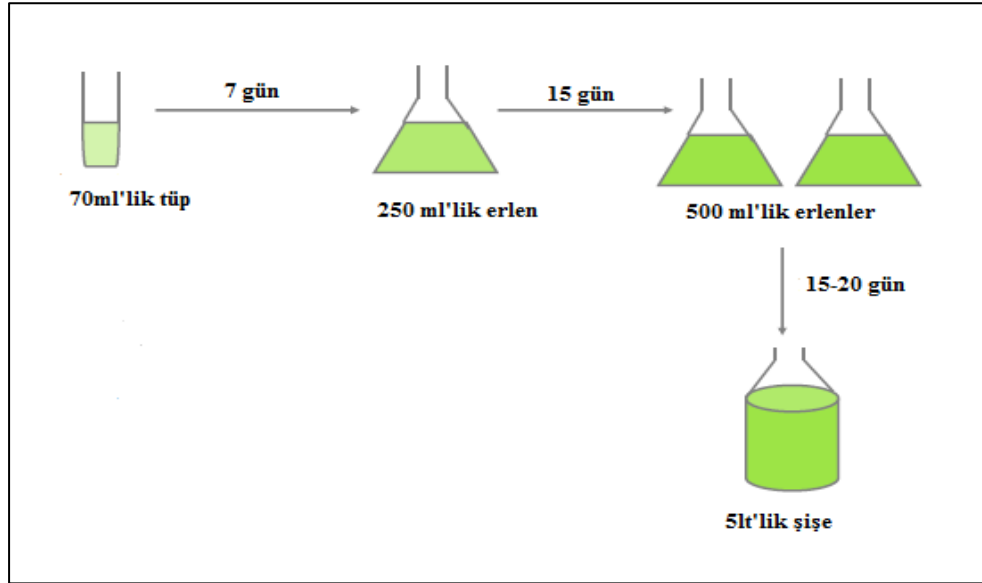
Sulama, damla sulama yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Damla sulama sisteminde sera dışında kurulu sistem denetim biriminden alınan sulama suyu, aynı birimde filtre edildikten sonra, her bitki sırasına yerleştirilen, boru içine

entegre (in-line) tipte damlatıcılı damla sulama boruları aracılığı ile bitkilere ulaştırılmıştır. Damlatıcılar 2 L/h debiye sahiptir.

3.2 Yöntem

3.2.1. *Chlorella vulgaris*' in üretim koşulları

Aşı kültürü, EGE-MACC'dan temin edilen *Chlorella vulgaris* hücrelerinin aşamalı olarak BBM ortamı içeren 70 ml'lik tüplere aktarılmıştır. 70 ml'lik tüp içerisinde 7 günlük üreme periyodu boyunca günde 3 kez elle çalkalama işlemi uygulanmıştır. 70 ml' lik tüplerden hacim artırımı yapılarak 250 ml'lik erlenlere aktarılan hücreler için karıştırma işlemi hava beslemesi yapılarak gerçekleştirilmiş ve 15-20 gün içerisinde hacim artırımı sonucu 5 L' lik şişelerde 5 L' lik şişede küçük çaplı kültür elde edilmiştir.

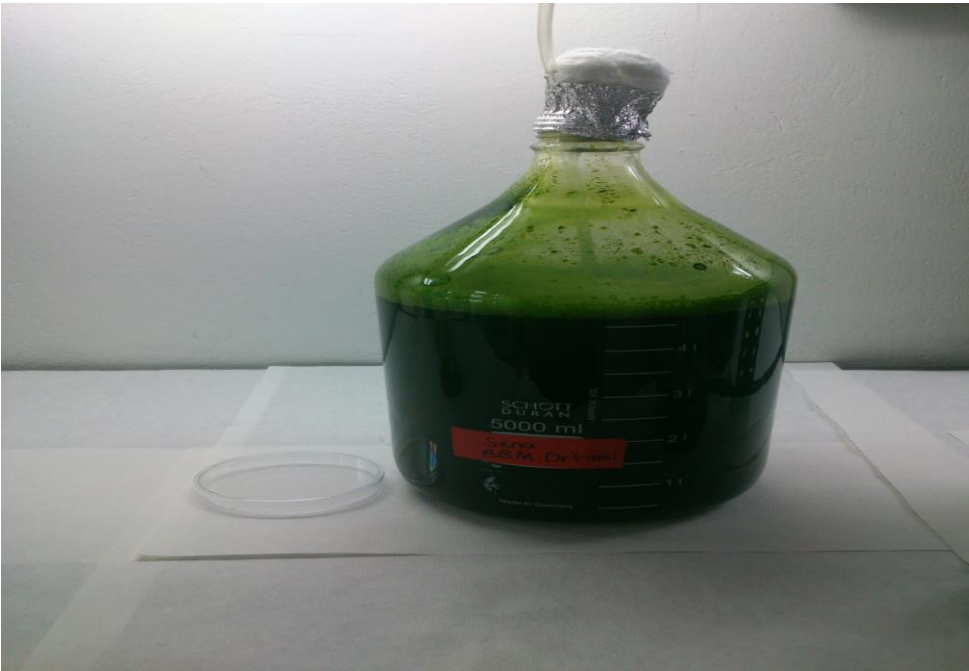


Şekil 3.4 Küçük çaplı *Chlorella vulgaris* kültürünün hazırlanması

100 L'lik hacme aktarılacak için hücre sayımı her 2 günde bir kere Marienfield (0,0025 m²) markalı Neubauer lamı kullanılarak mikroskopta yapılmıştır. Kültür hacminin arttırılması sırasında mikroskoba bağlı olan kamera ile hücre boyutu, rengi, şekline bakılmış ve düzgün hücrelerin üretiminin olup olmadığı kontrol edilmiştir. Tüpler ve erlenler, 25 C' de, 12 saat karanlık- 12 saat aydınlık fotoperiyodunda 20 µmol foton m⁻² s⁻¹ ışık şiddetindeki floresanlar altında bekletilmiştir.



Şekil 3.5 *Chlorella vulgaris*'in küçük çaplı üretiminde tüplere ve erlenlere yapılan aşı kültürü.



Şekil 3.6 *Chlorella vulgaris*'in küçük çaplı üretiminde 5 lt' lik şişede yapılan aşı kültürü.

3.2.2. Tübüler Fotobiyoreaktörde *Chlorella vulgaris*'in üretim koşulları

Aşı kültürünün üretiminin büyük çaplı üretimi için toplam üretim hacmi yaklaşık 150 lt olan, ortasında fotosentez lambası bulunan bir tasarım olan tübüler fotobiyoreaktör kullanılmıştır. Kullanılan tübüler fotobiyoreaktör yatay olarak yerleştirilmiş 20 adet akrilik borudan tasarlanmıştır. Akrilik boruların her birinin uzunluğu 193 cm ve her birinin çapı 5 cm' dir. Akrilik boruların içerisindeki hacim hesaplandığında 1 m'lik boru için hacim 1,66 L çıkmıştır.

Tübüler fotobiyoreaktör ışık alan (akrilik boruların bulunduğu kısım) ve toplama tankı olarak 2 kısımdan oluşmaktadır. Toplama tankının hacmi 100 lt olarak işaretlenmiş ve toplama tankından 100 L hacimde aşılama yapılarak kültür tüm sisteme basılmış ve böylelikle üretim başlatılmıştır.



Şekil 3.7 Üretimin yapıldığı tübüler fotobiyoreaktörün genel görünümü.

Toplama tankındaki alg kültürünü tüm sisteme vermek ve onu düzenli olarak sirküle edebilmek için pompa olarak New Jet 3000 (NJ 3000) model pompa kullanılmıştır. Yine toplama tankı ve diğer tüm sistemdeki (akrilik borular) üretilen algin sistem dışına pompalanması için de New Jet 3000 (NJ3000) model pompa kullanılmıştır. Kullanılan pompanın pompa kapasitesi 3000 lt, suyu çıkarabildiği maksimum yükseklik 2.90 m ve güç tüketimi 55W' dır. Fotobiyoreaktörde sirküle olan kültürün akış hızı saniyede 20 cm yer değiştirme

şeklindedir. Fotobiyoreaktörde yatay olarak yerleştirilmiş akrilik boruların orta kısmında fotosentez ışığı bulunmaktadır. Işığın fotoperiyodu istenilen şekilde ayarlanabilmektedir. Bu ışık, sistem güneş ışığından uzakta çalıştırıldığında (kapalı ortamlarda) devreye sokulabilir. Bu ışığın şiddeti lambaya yakın olan kısımlarda 45.000 lux, lambaya uzak olan kısımlarda ise 5000-6000 lux' tür.

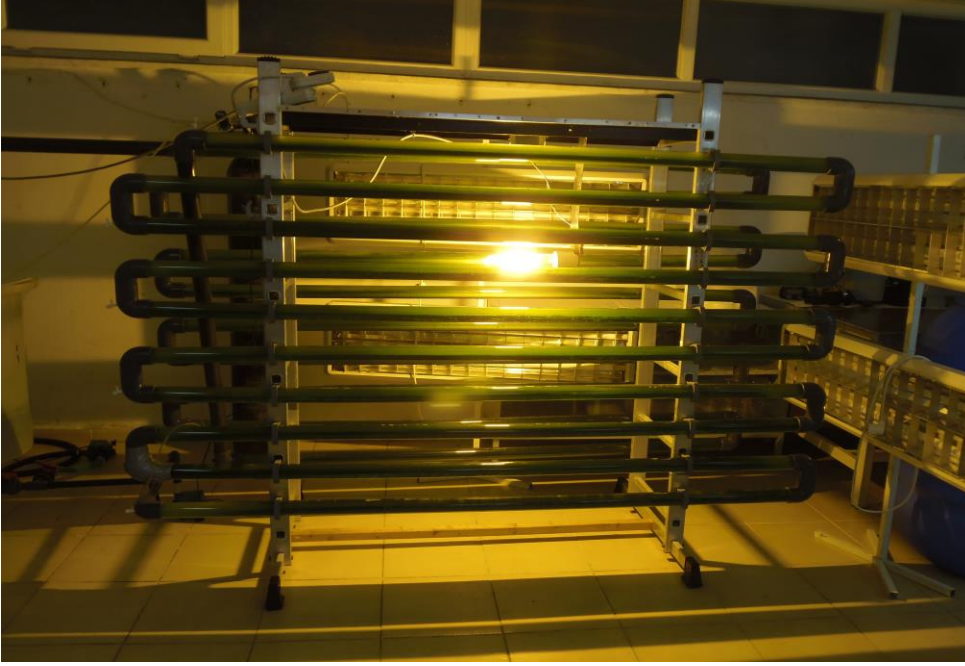
Tübüler fotobiyoreaktörde üretim 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk üretim denemesi için öncelikle biyoreaktörde çeşme suyu dolandırılmış ve daha sonra çamaşır suyu eklenerek sistemin sterilizasyonu sağlanmıştır. Sistem tümüyle sterilize edildikten sonra toplama tankına 100 lt'lik çeşme suyu doldurulmuştur. Suyun sterilizasyonu suyun içerisine %16'lık sodyum hipoklorit (1 m^3 için 10 ml) eklenmiştir. Daha sonra deaktivasyon için 1.5 lt sıcak su içerisinde 450 gr sodyum tiyosülfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) eklenmiştir. Toplama tankındaki suyun pH kontrolü yapıldıktan sonra 100 lt'lik sterilize edilmiş suyun içerisine BBM ortamı için gerekli kimyasallar eklenmiştir, son olarak da 5 L'lik şişede hazır bulunan *Chlorella vulgaris* kültürü biyoreaktöre aşılanmış ve üretim başlatılmıştır. İlk hafta hücrelerin biyoreaktöre adaptasyonunun kolay olması amacı ile fotosentez ışığı açılmamıştır. İlk olarak tüplerde ve şişede aşılanarak rafta bekletilen kültürlerin maruz bırakıldığı floresanlar biyoreaktörün çevresine yerleştirilmiştir. 1 hafta sonra ise fotosentez ışığı açılarak yine 12 saat aydınlık-12 saat karanlık fotoperiyotta biyoreaktör çalıştırılmaya devam edilmiştir. İlk üretim yaklaşık 25 gün sürmüştür ve her gün pH, sıcaklık ölçümleri yapılmış ve hücre sayımları mikroskop ile gerçekleştirilmiştir. Hücre şekilleri ve yapısı her gün mikroskopla kontrol edilmiştir. Fotobiyoreaktördeki alg kültürünün rengi 25 gün boyunca gittikçe koyulaşmıştır.



Şekil 3.8 İlk üretimde üretim periyodu başlangıcında tübüler fotobiyoreaktörün etrafına konulan ayaklı floresan lambalarla görünümü.



Şekil 3.9 İlk üretimde 25 gün sonunda tübüler fotobiyoreaktörün görünümü



Şekil 3.10 Tübüler fotobiyoreaktörde fotosentez ışığı açıkken sistemin görünümü.

25 günün ardından üretim tamamlandığında ise kuru ağırlık analizi yapılmıştır. Kuru ağırlık tayini yapıldıktan sonra sistem içerisindeki 100 L'lik *Chlorella vulgaris* kültürü şişelere aktarılmıştır.

İkinci üretime geçilmeden sistem yine çamaşır suyu ile temizlenmiş ve ardından sistemde çeşme suyu döndürülerek su boşaltılmıştır. İkinci üretimde yine 100 L' lik üretim hedeflenmiştir. Fakat bu kez çeşme suyu sterilizasyonu yapılmadan 100 L' lik saf su toplama tankına boşaltılmıştır. Toplama tankındaki 100 lt' lik saf su içerisine BBM ortamı için gerekli kimyasallar eklenmiştir.

Birinci üretimde akrilik borularda oluşan biyofilm nedeni ile alg yapışması olmuş ve bunu engellemek için ikinci üretim daha kısa tutulmuştur. İkinci üretim 15 gün sürmüştür. Bu üretim boyunca da pH ve sıcaklık ölçümleri yapılmış ve toplama tankından her gün örnek alınarak hücre sayımı gerçekleştirilmiştir.



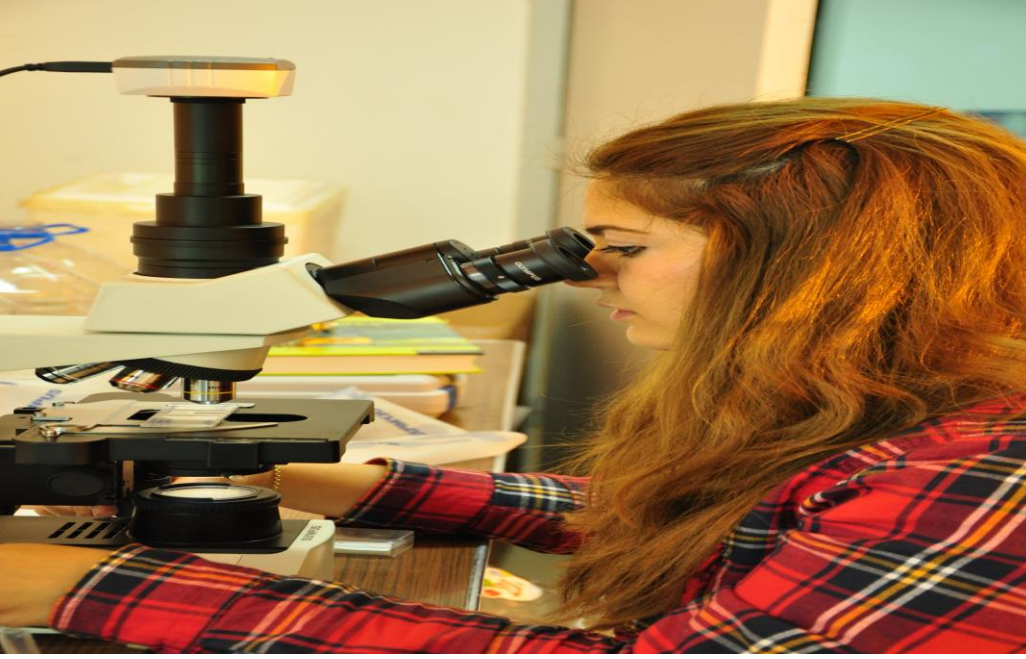
Şekil 3.11 İkinci üretimde toplama tankından sisteme kültürün verilmesi ve üretimin başlama anı.



Şekil 3.12 İkinci üretimde üretim periyodu sonunda tübüler fotobiyoreaktörün görünümü

3.2.3. Mikroskopik gözlem ve fotoğraflama

Fotoğraf çekimleri Olympus marka CX31RTSF-5 model trinokuler mikroskoba monte edilmiş otomatik fotoğraf makinesi ile gerçekleştirilmiştir. Hücre fotoğrafları 40x ve 100x’lik büyütmelerde çekilmiştir.



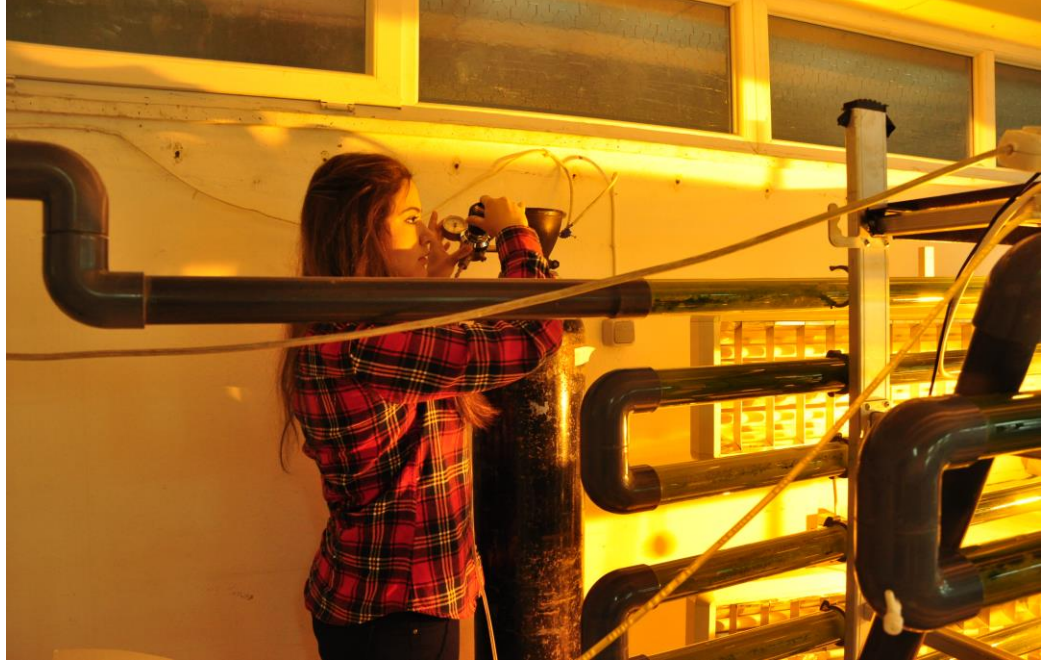
Şekil 3.13 *Chlorella vulgaris* hücrelerinin mikroskopik gözlemi ve fotoğraflaması yapılırken.

3.2.4. pH ölçümü

pH ölçümlerinde taşınabilir pH metre (Euretex instruments Cyberscan series 600) kullanılmıştır. pH metrenin günlük kalibrasyonu tamponları ile yapılmıştır. pH kontrolleri manuel olarak yapıldığı için ve sistemde otomatik olarak devreye giren pH kontrolcülerini olmadığı için sisteme CO₂ tüpü kullanılarak manuel olarak CO₂ beslenmesi yapılmıştır.



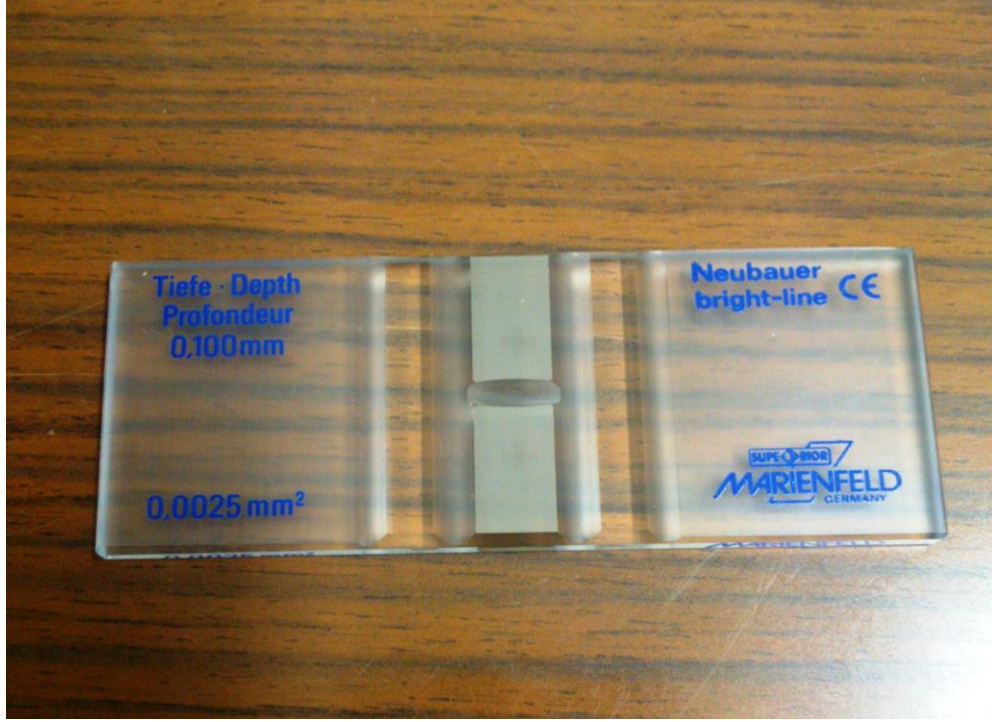
Şekil 3.14 Sistemde yapılan pH kontrolü.



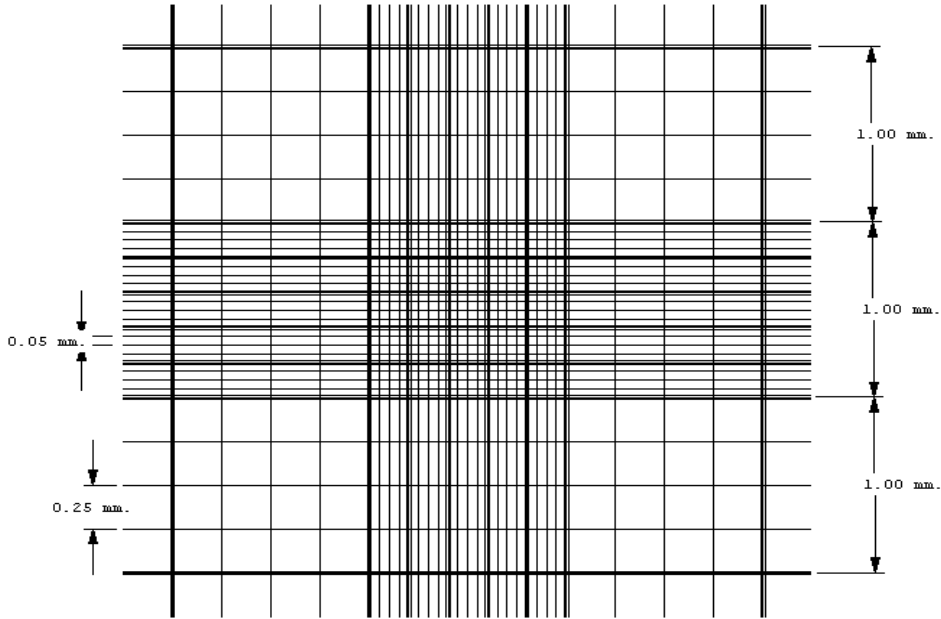
Şekil 3.15 pH kontrolü yapıldıktan sonra sisteme yapılan CO₂ beslenmesi.

3.2.5 Hücre sayımı

Mikroskopik hücre sayımı Marienfield markalı Neubauer lamı (kamarası) kullanılarak yapılmıştır. Kamaranın üzerinde lamelin oturacağı yer hafifçe ıslatılmış ve lamel kamara üzerine hiç hareket etmeyecek şekilde yapıştırılmıştır. Sayılacak örnek homojenize edildikten sonra, pastör pipeti (145 mm, 250/pk) ile bir miktarı alınarak sayıma hazır hale getirilen kamaraya dikkatlice doldurulmuş ve hücrelerin tüm kamara alanına homojen olarak dağılması sağlandıktan sonra sayım işlemine geçilmiştir. Sayım işlemi 0.025 mm' lik 16'ya bölünmüş karelerde dört kez tekrar edildikten sonra ortalaması alınarak mL'deki hücre sayısı hesaplanmıştır (Cirik ve Gökpinar, 1993).



Şekil 3.16 Hücre sayımında kullanılan Neubauer lamı.



Şekil 3.17 Nebauer lamı.

Neubauer lamındaki 9 adet 1 mm²'lik kareler farklı şekillerde bölünmüştür. Lamın total hacmi 9×10^{-4} mL'dir.

3.2.6. Üretim sırasında ve üretim sonrasında kullanılan tübüler fotobiyoreaktörde karşılaşılan problemler

Kullanılan tübüler fotobiyoreaktör oldukça büyük ölçekli, el yapımı ve tasarım bir makinedir. Bu nedenle de bazı aksaklıklara sebebiyet vermiştir. Örneğin; İlk üretim 25 gün sürmüştür ve 25 günün sonunda akrilik borularda hücre yapışmaları meydana gelmiştir. Reaktörlerin sürekli kullanılan aletler olduğu düşünülürse bu yapışmanın oldukça kolay temizlenmesi gereklidir diye düşünülmektedir. Fakat reaktörün tasarımı ile alakalı olarak borulara hiçbir şekilde dışarıdan mekanik bir temizleme işlemi uygulanamamaktadır. Kullanılan diğer büyük ölçekli tübüler fotobiyoreaktör sistemlerinde sistem içerisinde popanın basıncı ile sünger gezdirilerek boruların temizliği sağlanabilmektedir. Fakat bu çalışmada kullanılan tübüler fotobiyoreaktörün gerek pompa sistemi gerek toplama tankına giren boruların ölçüsü sünger ile temizleme için uygun değildir.



Şekil 3.18 İlk üretimden sonra tübüler fotobiyoreaktördeki akrilik borularda yaşanan yapışma sorunu

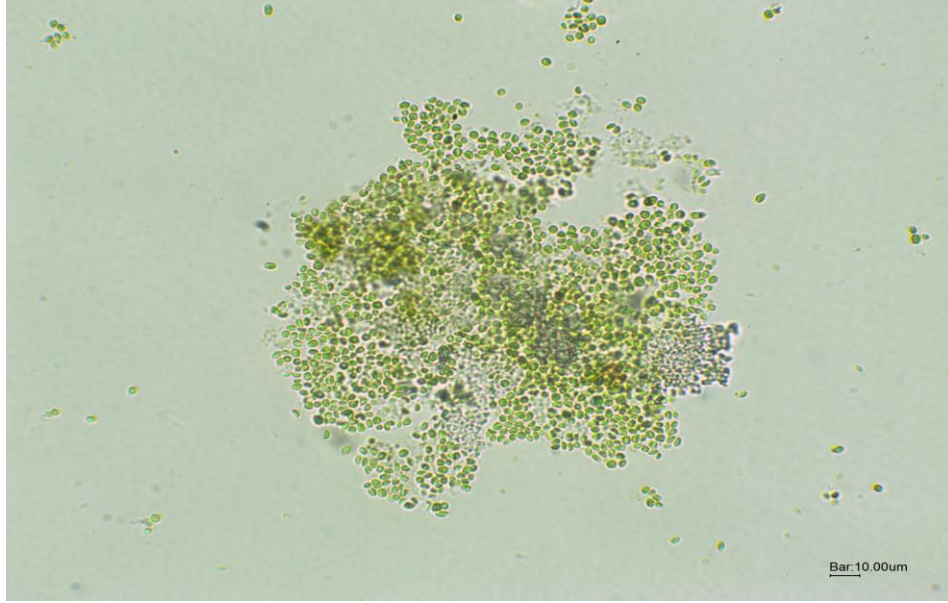
Yapılan çalışmada kullanılan biyoreaktörde mekanik olarak temizliğin gerçekleşmemesi nedeni ile bu yapışmayı giderecek kimyasallar araştırılmaya başlanmıştır. İlk olarak 25 L hidroklorik asit (HCl) sistemde döndürülerek sistem temizlenmeye çalışılmış fakat yapışmada hiçbir farklılık gözlenmemiştir. Sistem çeşme suyu ile temizlenmiş ve HCl sistemden uzaklaştırılmıştır. Daha

sonra %16'lık 25 L' lik çamaşır suyu su ile karıştırılarak sistemde dndrlmş ve akrilik borulardaki yapışmaların parçalandığı gözlenmiştir. Fakat bu işlemin her üretimden sonra gerçekleştirileceğini düşünürsek akrilik borularda çamaşır suyu ile muameleden dolayı gerçekleşen matlaşma ve aşınma gerçekleşebilmektedir. Buna bağlı olarak sistemde üretilen alglerin ışıktan tam olarak yararlanamaması sorunu ortaya çıkabilir. Bu nedenle sisteme dışarıdan uygulanabilecek mekanik bir temizleme işleminin (sistemi süngerle temizleme) daha uygun olabileceği inancındayız.



şekil 3.19 %16'lık klorak muamelesinden sonra temizlenmiş tübüler fotobiyoreaktörün görünümü.

Yaşanan bu yapışma olayı *Chlorella vulgaris* hücrelerinde de kümeleşmelere sebep olmuştur. Her gün hücre sayımı için sistemden alınan örnek mikroskopta incelenmiş ve borulara yapışmanın başladığı günlerden itibaren alınan örneklerde hücrelerin kümeleşerek bir araya geldiği gözlenmiştir.



Şekil 3.20 *Chlorella vulgaris* hücrelerinde meydana gelen kümeleşme.

3.2.7. Üretimden sonra sıvı kültürün hasatı, hasat edilen kültürün santrifüj işlemi ve kurutulması

Tübüler fotobiyoreaktör üretim sisteminde her iki üretimden sonra (birinci üretimde 25 gün, ikinci üretimde 15 gün) sıvı *Chlorella vulgaris* kültürü hasat edilerek şişelenmiştir. Hasat edilen sıvı kültürlerden 5 L *Chlorella vulgaris* ayrılarak domates fideleri dikildikten sonra sıvı ve foliar uygulamalar için kullanılmak üzere -20 °C’ de saklanmıştır.



Şekil 3.21 Birinci üretimden sonra hasat edilen ve şişelenen sıvı *Chlorella vulgaris* kültürü.



Şekil 3.22 İkinci üretimden sonra hasat edilen ve şişelenen sıvı *Chlorella vulgaris* kültürü.

Her iki üretim sonunda da şişelenen sıvı kültürün santrifüj işlemi Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümüne ait olan ve EBİLTEM’ de bulunan 10.000 rpm hıza sahip Westfalia separator mineralolil systems GmbH isimli, modeli CTC-1-06-107 olan büyük ölçekli, çanaklı separatör ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.23 *Chlorella vulgaris*’ in hasat işleminden sonra santrifüj işleminin yapıldığı separatör.



Şekil 3.24 *Chlorella vulgaris*' in santrifüj işleminin yapıldığı separatör.

Separatör işleminden geçirilen sıvı hücreler separatör içerisinden alınmıştır. Alınan alg hücreleri pasta kıvamında bir biyomasa sahiptir.



Şekil 3.25 Separatörde santrifüj işleminden sonra *Chlorella vulgaris* hücrelerinin görünümü

Hücreler pasta kıvamına getirildikten sonra kuru olarak elde edilmek üzere yağlı kağıt üzerine yayılarak 40-45 °C'lik etüvde 4-5 saat bekletilmiştir.



Şekil 3.26 Pasta kıvamında biyomasa sahip *Chlorella vulgaris* alginin yağlı kağıda yayılması.



Şekil 3.27 Kurutulma işleminin gerçekleştirildiği etüv.

Kuru hale getirilen *Chlorella vulgaris* algı biyogübre olarak kullanılmak için hazır hale getirilmiştir. Kuru haldeki *Chlorella vulgaris* algı, bitkilerin bu alg içeriğinden daha iyi yararlanabilmesi ve selüloz çeperinin parçalanması için

manuel bir hücre parçalama metodu olan sıvı nitrojen (azot) ile parçalama yöntemi ile havanda 10 dk sıvı azota maruz bırakılmıştır. Sıvı azot ile hücre parçalama metodu *Chlorella vulgaris* hücrelerini parçalamaya uygun bir metoddur (Zheng *et al.*, 2011).



Şekil 3.28 Kurutulmuş *Chlorella vulgaris* hücrelerinin sıvı azot ile parçalanması.

Sıvı azotla müdahale edilen kuru *Chlorella vulgaris* hücrelerinin hassas terazi ile tartımı yapılmış ve toplam kuru alg miktarı 58,42 g ölçülmüştür. Kuru *Chlorella vulgaris* algi biyogübre olarak kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir.

Yani her iki üretimde toplam 200 L (100 L + 100 L) sıvı olarak gerçekleştirilen üretimden 240,2 g pasta kıvamında alg biyoması elde edilmiş ve bu biyomasın kurutulma işleminden sonra da 58.42g kuru alg elde edilmiştir.



Şekil 3.29 *Chlorella vulgaris* alginin kurutulmuş hali.

3.2.8. Üretilen *Chlorella vulgaris*' in Azot(N), Potasyum (K), Kalsiyum (Ca) ve Magnezyum (Mg) içeriğinin belirlenmesi

Chlorella vulgaris' in biyogübre olarak kullanılması amaçlandığı için elementsel olarak analizi yapılmak istenmiştir ve bu analizler E.Ü. Ziraat Fakültesi Toprak Bölümünde yapılmıştır.

Kuru olarak elde edilen *Chlorella vulgaris* alginden alınan 1g' lık örnek 65⁰C etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuş ve toplam azot miktarı Modifiye Makro Kjeldahl Metodu uygulanarak belirlenmiştir.

Diğer elementlerin analizleri nitrik: perklorik asit karışımında yaş yakılmış örneklerle yapılmıştır. Fosfor, vanadomolibdo fosforik sarı renk yöntemi ile Eppendorf kolorimetresinde (Kacar, 1972); potasyum ve sodyum alev fotometresinde; magnezyum ise absorpsiyon spektrofotometresinde tayin edilmiştir (Kacar, 1972).

Yapılan analizlerde *Chlorella vulgaris*' in içeriği şu şekilde belirlenmiştir; Toplam Azot (%) 5.49, K (%) 0.72, Ca (%) 5.39, Mg (%) 0,69' dur.

3.3. Sera Denemesi

3.3.1. Dikim

Çalışma 2014 İlkbahar yetiştirme döneminde yürütülmüştür. Domates fidelerinin 04.03.2014 tarihinde dikimi yapılmıştır. Dikimde seradaki 1 parsel kullanılmıştır. Parsel *Chlorella vulgaris*'in farklı uygulamaları ve kontrol uygulaması ile 4 konuya ayrılmıştır. Her konu 2 tekerrürlü kurulmuş ve her tekrarda 12 domates fidesi dikilmiştir (90x50x50 cm). *Chlorella vulgaris* algili konuda(kuru olan uygulamada) alg miktarının azlığı nedeni ile 5 bitkiye (toplamda 10) bitkiye biyogübre olarak uygulanmıştır. Bir parselde 48 bitki yer almıştır fakat her sıranın ilk bitkisi uygulama dışı bırakılmıştır. Yani parselde toplam 40 bitkiye uygulama yapılmıştır.

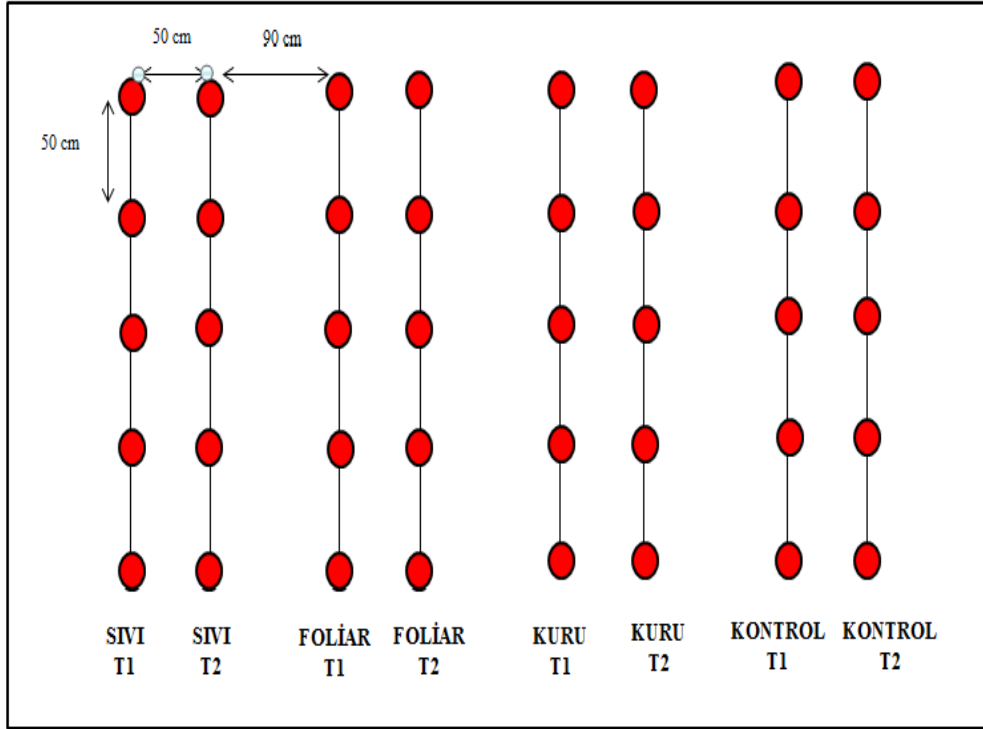
Fidelerin dikiminin yapıldığı parselin genel görünümü Şekil 3.30'daki gibidir.



Şekil 3.30 Domates fideleri dikiminin yapıldığı parselin genel görünümü.



Şekil 3.31 Domates fidelerinin dikimi.



Şekil 3.32 *Chlorella vulgaris*' in domates fidelerine uygulanma şekilleri ve deneme deseni.

3.3.2. *Chlorella vulgaris*'in fidelere uygulanma şekilleri ve deneme deseni

C. vulgaris fidelere üretimdeki kuru algin miktarına bağlı olarak fidelere SIVI (250 ml/bitki), KURU (2.5 gr/bitki) ve FOLİYAR SPREY olarak uygulanmıştır. Hiçbir uygulamanın yapılmadığı bitkiler KONTROL grubunu oluşturmuştur. Parselde her konu 2 sıradan, 12 bitkiden oluşmuştur.

C. vulgaris'in sıvı uygulaması dikilen her fideye 250 ml sıvı algin ilk uygulamada can suyu olarak verilmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Fideler suyu absorbe edene kadar ayrıca can suyu verilmemiştir. Kuru uygulamasında açılan dikim çukurlarına 2.5 gr alg konulmuş ve fideler bu çukura dikilip, can suyu verilmiştir. Foliar uygulamada üretim sisteminden ayrılan sıvı alg konuya ait fidelerin yaprakları tamamen ıslanacak şekilde spreyleme yapılmıştır. Kontrol grubu fidelerine ise herhangi bir işlem yapılmamış, foliar ve kuru uygulamadaki fideler ile beraber dikim sonrası can suyu verilmiştir.



Şekil 3.33 *Chlorella vulgaris*' in fidelere sıvı şekilde kökten uygulanması.



Şekil 3.34 *Chlorella vulgaris*' in yapraklara foliar gübre olarak uygulanması.



Şekil 3.35 *Chlorella vulgaris*'in bitkilere kökten kuru olarak uygulanması.

3.3.3. Bitki bakım işlemleri

Araştırmada bitki bakım işleri Sevgican (2002)'a göre yürütülmüştür. Bitkiler büyüdükçe sardırma, koltuk alma, hastalıklı ve yaşlı yaprakların alınması işlemi zamanı geldikçe yapılmıştır. Domates yetiştiriciliğinde ilk çiçek salkımının oluşmasının ardından haftada 2 gün vibratör ile çiçek salkımları hafifçe sarsılarak tozlaşmaya yardımcı olunmuştur. Fideler ekildikten 1 hafta sonra fideler askıya alınarak fidelerin boyca uzaması ile bitkilerde gerçekleşebilecek eğilmelere engel olunmaya çalışılmıştır. Ayrıca yetiştirme dönemi boyunca kök havalandırmasının sağlanması için bitki kökleri çapalanmıştır. Dönem içerisinde meyve salkımları oluştuğça, her salkımda 6 meyve kalacak şekilde salkım budaması yapılmıştır.

Hasatlar çeşit özelliğine bağlı olarak kızaran meyvenin toplanması şeklinde yapılmıştır. Üretim sonuna doğru son salkımdaki meyveler yeşil de toplanmıştır. Bitki büyümesi 7 salkım üzerinde 2 yaprak bırakılarak büyüme ucunun alınması şeklinde durdurulmuştur.



Şekil 3.36 Bitki bakım işleri.

3.4. Ölçüm Ve Analizler

Bitkilerle ilgili tüm ölçüm ve analizler E.Ü Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri bölümünde gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. Bitki gelişimi ile ilgili ölçümler

Domates hasatı bitmeden 1 hafta önce her konudan 2 bitki seçilerek bitkiler sökülüş ve bitki gelişimi ile ilgili tüm ölçümler bu bitkiler üzerinden yapılmıştır.

Bitki boyu (cm): Her konuya ait seçilen bitkide dönem sonunda bir şerit metre yardımı ile toprak yüzeyinden en uç noktaya kadar olan bitki gövde uzunluğu ölçülmüş ve bitki boyu olarak (cm) verilmiştir.

Gövde kalınlığı (mm): Her konuya ait seçilen bitkide dönem sonunda gövde çapı dijital kumpas yardımı ile bitki gövdesinin tam orta kısmından ölçülmüştür. Her ölçüm (mm) olarak verilmiştir.

Kök Boyu (cm): Her konuya ait seçilen bitkide dönem sonunda kök boyu cetvel yardımı ile ölçülmüş, kök kılcallarının ortalama değeri dikkate alınmış ve her ölçüm (cm) olarak verilmiştir.

Bitki yaş ve kuru ağırlığı (g): Her konuya ait seçilen bitkinin, üretim dönemi içinde bitki bakım işlemler dahilinde toplanan yaprak ve üyüme ucu ile hasat edilen meyve ve salkımları; üretim dönemi sonunda bunlara ilaveten kök, gövde ve yapraklarının yaş ağırlığı alınıp, 65 °C etüvde kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları alınarak toplam kök, gövde, yaprak, meyve ve salkım yaş ve kuru ağırlıkları hesaplanmıştır.

3.4.2. Verim ile ilgili ölçümler

İlkbahar döneminde 15.05.2014 tarihinden 30.06.2014 tarihine kadar toplam 9 hasat yapılmıştır.

Toplam verim (kg/m^2): İlk hasattan son hasada kadar olan süreçte her tekerrürden toplanan meyveler ayrı ayrı tartılmıştır. Hasat periyodu sonunda her bir bitkinin verim değerleri kümülatif olarak toplanarak toplam verim değeri bulunmuştur. Elde edilen meyvelerde hastalık ya da fizyolojik bozukluk nedeni ile pazarlanamaz meyve görülmemiştir.

Toplam meyve adedi (adet/m^2): Her hasatta toplanan meyvelerin sayısı alınarak dönem sonunda uygulamalara ait m^2 'deki toplam meyve sayısı belirlenmiştir.

Ortalama meyve ağırlığı (g/meyve): Uygulamalara ait toplam meyve ağırlığı, toplam meyve sayısına bölünerek hesaplanmıştır.

Meyve sınıflandırılması (%): Her hasat sonrasında, hasat edilen meyveler çaplarına göre boyplanarak sayıları alınmıştır. Boylamada 4 boy belirlenmiştir: 4.

boy: pazarlanamaz ($\emptyset < 3.5$ cm), 3. boy: küçük boy (3.5-4.5 cm), 2. boy: orta boy (4.5-5.5 cm) ve 1. boy: büyük boy ($\emptyset > 5.5$ cm). Sınıflanan bu meyvelerin adedi toplam meyve adedine oranlanarak %'si hesaplanmıştır.

3.4.3. Meyve kalite analizleri

Meyve kalite analizinde kullanılmak üzere, 3 Haziran 2014 tarihinde, 3. salkımdaki kızaran meyveler hasat edildikten sonra, yaklaşık olarak aynı büyüklükte ve homojen kırmızı renkte olan 10 adet meyve seçilerek laboratuvara getirilmiş ve doğranıp, blender yardımıyla elde edilen meyve püresi kaba filtre kağıdından süzölmüştür. Elde edilen süzükte aşağıda belirtilen kalite analizleri yapılmıştır (Öztekin, 2009).

Meyve suyunun EC değeri (dS/m): Süzöğe batırılan el tipi Mettler Toledo MC-126 EC metre probu yardımı ile yapılan okumalar sonucunda elde edilmiştir.

Meyve suyunun pH değeri: Süzöğe batırılan masa tipi Mettler Toledo MP 220 pH metre probu yardımı ile yapılan okumalar sonucunda elde edilmiştir.

Titre edilebilir asit (TA) miktarı (mval/100 ml): Süzükten alınan 5 ml örneğe 10 ml saf su konularak, 0.1 N NaOH çözeltisi ile 8.01 değeri elde edilinceye kadar pH metre ile titrasyon yapılmıştır. Brütte Digital Easy Calibration yardımı ile sonuçlar okunmuştur. Titre edilebilir asit miktarı, harcanan NaOH miktarı üzerinden alandaki formüle göre hesaplanmıştır.

Meyve Sertliği: Domates meyvelerinde penetrometre ile yapılan okumalar sonucunda elde edilmiştir.

$$A: [(S.N.F/C)] \times 100$$

A: Titre edilebilir asit miktarı (mval/100ml)

S: Sarfedilen NaOH miktarı

N: Sarfedilen NaOH'ın normalitesi (0.1N)

F: Sarfedilen NaOH'ın faktörü

C: Kullanılan örnek miktarı (ml)

Toplam suda çözünebilir kuru madde miktarı (TSÇKM, %): Süzükten alınan 1-2 damla örnek Euromex RD 645 marka dijital el reflaktometresi ile okunmuş ve sonuçlar % olarak verilmiştir.

Vitamin C (mg/100 ml): Süzük meyve suyundan alınan 1 ml örneğe, 9 ml %1'lik oksalik asit stabilize maddesi olarak ilave edip, daha sonra bundan alınan 1 ml örneğe %0.0012'lik hazırlanan 2-6 diklorofenilindofenol boya maddesinden 9 ml ilave edilerek renklendirilmiştir. Renkli örnekler, 1 ml askorbik asitli örnek üzerine 9 ml saf su konularak hazırlanan örneklerle karşı, spektrofotometrede (VARIAN) 518 nm dalga boyunda absorpsiyon değerleri olarak okunmuştur. Aynı okumalar standart askorbik asit çözeltilerinden ve stabilize madde ile hazırlanmış standart çözeltilerden yapılarak, standart eğrileri hazırlanmıştır. Örneklerde okunan absorpsiyon değerleri, standart eğri yardımıyla vitamin C miktarlarına çevrilmiş ve sonuçlar 100 ml meyve suyunda mg olarak verilmiştir (Pearson, 1970).

Meyve rengi: Rasgele seçilen 5 meyvenin rengi Minolta CR-300 renkölçerle L^*a^*b olarak ölçülmüştür. Bu ölçüm sisteminde renkler üç boyutlu küresel bir uzayda nokta olarak belirlenirler. L, siyah:0'dan beyaz:100'a olacak şekilde rengin açıklık veya koyuluğunu, a ve b ise L'ye dik bir renk düzleminde rengi belirler. Eksenin tam ortasında renk (a:0, b:0) renksiz (gri-akromatik)'dir. Yatay ekseninde pozitif a kırmızıyı, negatif a yeşili; dikey eksenindeki pozitif b sarıyı ve negatif b ise maviyi göstermektedir. Rengin temel bileşenlerini belirleyen *hue* (0°:kırmızı-pembe, 90°:sarı, 180°:yeşil ve 270°:yeşil) ve rengin doygunluğunu, canlılığını belirleyen *kroma* değerleri a ve b'den aşağıdaki formüle göre hesaplanarak elde edilmiştir (McGuire, 1992).

$$\text{Hue } ^\circ h = \tan^{-1} (b/a) \text{ Kroma } C^* = [(a^2 + b^2)]^{1/2}$$



Şekil 3.37 Meyve kalite analizlerinden bazı görüntüler.

3.4.4. Bazı fizyolojik özelliklerin belirlenmesi

Bitkilerin fizyolojik özelliklerin belirlenebilmesi için klorofil ve toplam karoten ölçümleri yapılmıştır. Her konudan belirlenen 2 bitkinin genç yapraklarının uç kısmındaki yapraklar alınarak ölçüm ve analize tabi tutulmuştur.

Yaprak klorofil içeriği (mg/l): Her konuya ait iki tekrarının, yaklaşık olarak aynı bitki yüksekliğinden rastgele seçilen 10 adet yaprağın orta kısmından 0.25 g örnek alınarak, %80'lik aseton ile homojenize edilmiştir. Elde edilen çözelti 50 ml'lik balon jojeye alınmış, asetonla 50 ml'ye tamamlanıp, iyice çalkalanmıştır. Örnek filtre kağıdından süzölmüş ve süzükler spektro küvetine alınıp 663 nm ve 645 nm dalga boyunda okunmuştur. Elde edilen değerler aşağıdaki formüle göre hesaplanarak klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil değerleri mg/L olarak hesaplanmıştır (Aron,1949).

$$\text{Klorofil a:} [(0.0127 \times \text{Absorbans (663)}) - (0.00269 \times \text{Absorbans (645)})] \times 1000$$

Klorofil b: $[(0.0229 \times \text{Absorbans (645)}) - (0.00468 \times \text{Absorbans (663)})] \times 1000$

Toplam klorofil: $[(0.0202 \times \text{Absorbans (645)}) - (0.00802 \times \text{Absorbans (663)})] \times 1000$

Toplam klorofil: Klorofil a + Klorofil b ile de aynı sonucu vermiştir.

Ayrıca bu formüllerden yola çıkılarak toplam karoten miktarı da hesaplanmıştır.

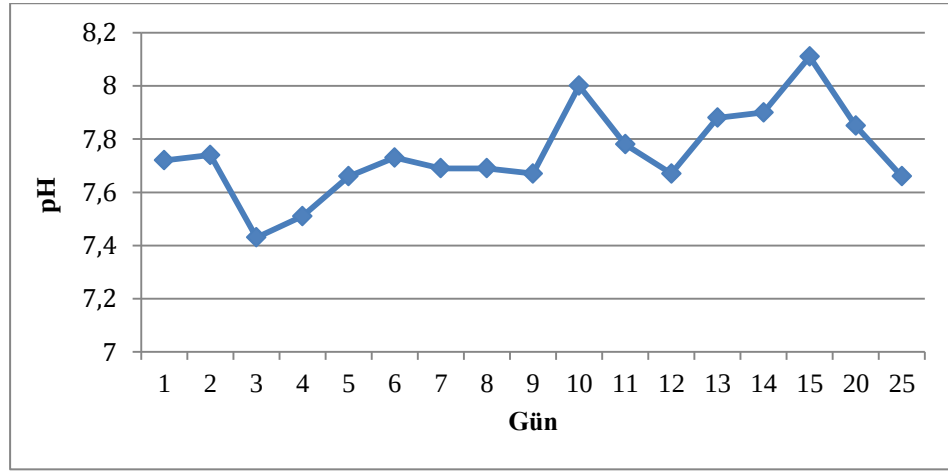
3.4.5. Verilerin Değerlendirilmesi

Araştırmadan elde edilen verilere, bir SPSS programı olan PAWS Statics 18 istatistiksel analiz paket programı kullanılarak varyans analizi uygulanmış ve ortalamalar arasındaki farklılıkları belirlemek için %5 önem düzeyinde Duncan testi yapılmıştır.

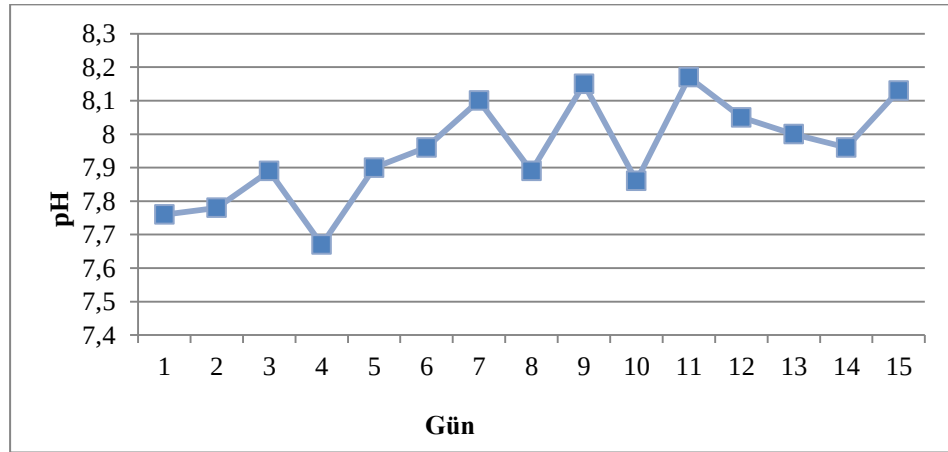
4. BULGULAR

4.1. *Chlorella vulgaris*'in Tübüler Fotobiyoreaktörde pH Ve Sıcaklığın Zamana Bağlı Değişimi

Üretim materyali olan *Chlorella vulgaris* algi tübüler fotobiyoreaktörde 2 kez üretilmiş ve bu üretimler boyunca (ilk üretim 25 gün, ikinci üretim 15 gün) her gün düzenli olarak ölçülen pH ve sıcaklık değişimleri Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.1 Tübüler fotobiyoreaktörde *Chlorella vulgaris*'in I. üretiminde pH'ın değişimi.

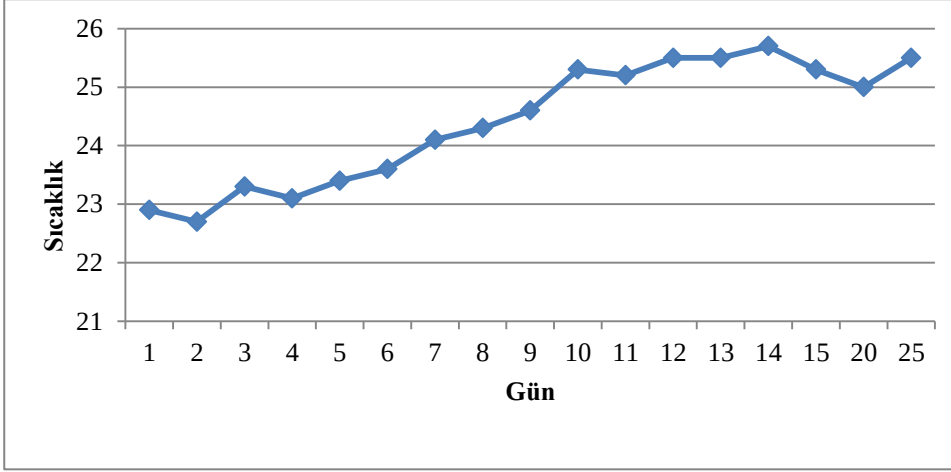


Şekil 4.2 Tübüler fotobiyoreaktörde *Chlorella vulgaris*'in II. Üretimde pH'ın değişimi.

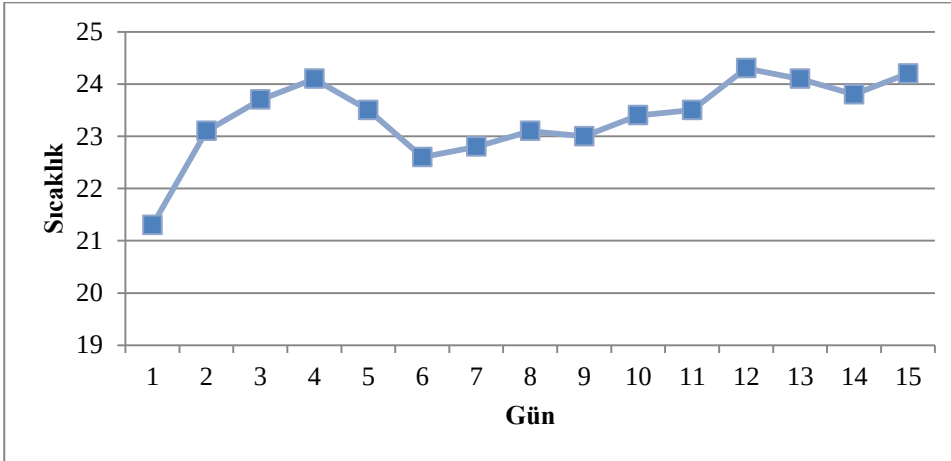
Her iki üretimde de pH'ın zamana bağlı değişiminde çok farklılıklar gözlenmemiştir. İki üretimde de min. pH değeri 7.2'lerde, max. pH değeri ise 8.1 değerlerinde olmuştur. pH aralığı *Chlorella vulgaris*' in optimum üretim koşulları

baz alınarak 7,5- 8,5 pH aralığında tutulmaya çalışılmıştır. Üretimin sonlarına doğru pH'ın giderek arttığı gözlenmiştir ve Karbon kaynağı olarak kullanılan CO₂ tüpüyle sisteme CO₂ verilerek sistemin pH' ı düşürülerek ve istenilen aralıkta tutulmaya çalışılmış ve başarılı olunmuştur.

Üretime etki eden başka bir parametre olan sıcaklık da her iki üretimde de her gün kullanılan pH metre ile ölçülerek not edilmiştir.



Şekil 4.3 Tübüler fotobiyoreaktörde *Chlorella vulgaris*'in I. üretiminde sıcaklığın değişimi.



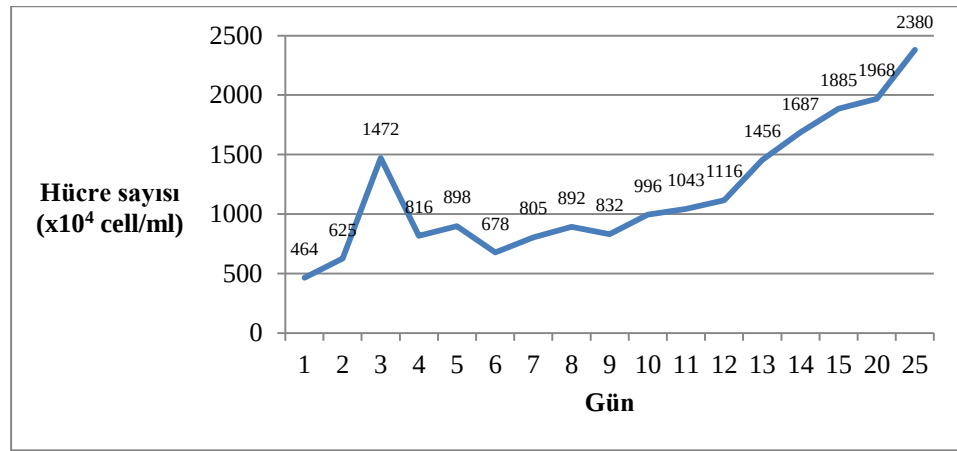
Şekil 4.4 Tübüler fotobiyoreaktörde *Chlorella vulgaris*'in II. Üretiminde sıcaklığın değişimi.

Her iki üretimde de sıcaklık değerlerine bakıldığında min. Değerler 21.5- 22 °C, max. Değerler ise 24.5-25.5 °C'lerde olmuştur. Sıcaklık parametresine bakıldığında üretimin sonuna doğru hücre sayısında artmalara bağlı olarak sıcaklığın arttığı gözlenmiştir. Fakat *Chlorella vulgaris*' in optimal üretim

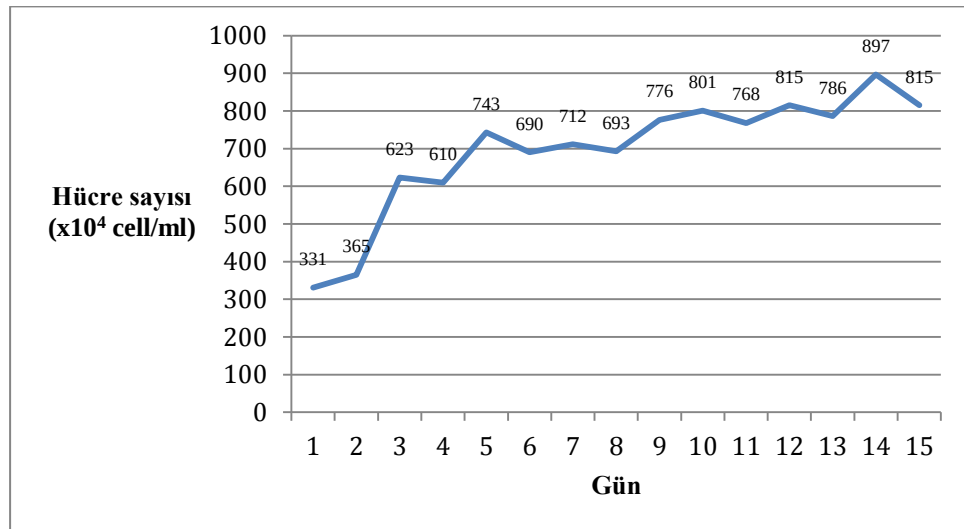
koşullarına bakıldığında bu algin üretiminin optimum sıcaklığı 24 ± 2 şeklindedir ve bu sıcaklık aralığında üretim gerçekleştirilmiştir.

4.2. *Chlorella vulgaris*'in Tübüler Fotobiyoreaktörde Hücre Sayısının Zamana Bağlı Değişimi

Üretim boyunca her gün hücre sayıları Marienfield (0,0025 m²) markalı Neubauer lamı (kamarası) kullanılarak yapılmıştır. Naubauer lamında 16'ya bölünmüş karelerdeki hücreler sayılmış ortalaması alınmış ve ortalama değer 16×10^4 ile çarpılarak hücre sayısının ml' deki konsantrasyonu elde edilmiştir.



Şekil 4.5 Tübüler fotobiyoreaktörde *Chlorella vulgaris*'in I. üretiminde hücre sayısının ($\times 10^4$ cell/ml) zamana bağlı değişimi.



Şekil 4.6 Tübüler fotobiyoreaktörde *Chlorella vulgaris*'in II. üretiminde hücre sayısının ($\times 10^4$ cell/ml) zamana bağlı değişimi.

4.3. Sera Denemesine Ait Bulgular

4.3.1. Bitki gelişimi ile ilgili bulgular

Uygulamaların bitki boyu, gövde çapı ve kök boyu üzerine etkisi istatistiksel olarak ($P>0.05$) önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.1). İstatistiksel olarak bir farklılık gözlenmemesine rağmen (P değeri > 0.05); SIVI olan uygulamada 189.7 cm ile bitkilerin boyu en uzun olmuştur. KURU ve FOLİAR uygulamalarda da kontrol grubuna göre bitki boyu uzunluğu daha fazla olmuştur.

Bitki boyu, KONTROL grubundaki bitkilerle karşılaştırıldığında; SIVI olan uygulamada %4.14, KURU uygulamada %0.22 ve FOLİAR olan uygulamada %2.73 artış şeklinde olmuştur.

Çizelge 4.1 Bitki boyu, gövde çapı ve kök boyu üzerine uygulamaların etkisi (Çizelgedeki veriler her konudan belirlenen 2 bitkide ölçülen değerlerin ortalaması ve daha sonra istatistiksel analizler yapılarak belirlenmiştir).

	Bitki Boyu (cm)	Gövde Çapı (mm)	Kök Boyu (cm)
SIVI	189.7	15.8	24.9
KURU	189.2	15.1	27.1
FOLİAR	186.9	14.9	28.2
KONTROL	181.8	12.4	22.2
P	0.251	0.221	0.780

En kalın gövde çapı 15.8 cm ile SIVI uygulamasından alınırken bunu sırası ile KURU ve FOLİAR uygulamaları izlemiştir. En ince gövde çapı 12.4 cm ile KONTROL grubu bitkilerinde görülmüştür. SIVI uygulaması ile gövde çapı KONTROL'e göre % 21.5 artış göstermiştir.

En uzun kök boyu 28.2 cm ile FOLİAR uygulamasından alınırken bunu sırası ile FOLİAR ve SIVI uygulamaları izlemiştir. En kısa kök boyu 22.2 cm ile KONTROL grubu bitkilerinde görülmüştür. FOLİAR uygulaması ile kök boyu KONTROL'e göre % 21.3 artış göstermiştir.



Şekil 4.7 Gelişimini tamamlamış domates bitkilerinin genel görünümü.

Üretim dönemi sonunda (30 Haziran 2014), sökülen bitkilere ait yaş ve kuru ağırlıklarına uygulamaların etkileri Çizelge 4.2' de görülmektedir.

Çizelge 4.2'den de anlaşılabileceği gibi uygulamaların yaprak yaş ağırlığı üzerine etkisi %5 seviyesinde, meyve yaş ve kuru ağırlığı ile toplam bitki yaşve kuru ağırlığı üzerine etkisi %1 seviyesinde önemli bulunmuştur. Gövde, salkım ve kök yaş ve kuru ağırlığı üzerine etkinin önemsiz çıktığı görülmüştür.

Gerek istatistiksel olarak önemli bulunan ve gerekse önemsiz bulunan tüm parametrelerde KURU uygulaması en yüksek yaş ve kuru ağırlık değerlerine sahip olurken, en düşük değerler KONTROL uygulamasından elde edilmiştir.

Çizelge 4.2 Bitki organlarına ait biyomas değerleri (g) üzerine uygulamaların etkisi (Çizelgedeki veriler her konudan seçilen 2 bitkide ölçülen değerlerin ortalaması alınarak ve daha sonra istatistiksel analizleri yapılarak belirlenmiştir).

	YAPRAK Y.A	YAPRAK K.A	GÖVDE Y.A	GÖVDE K.A	SALKIM Y.A	SALKIM K.A	TOPLAM MEYVE Y.A	TOPLAM MEYVE K.A	KÖK Y.A	KÖK K.A	TOPLAM BİTKİ Y.A	TOPLAM BİTKİ K.A
<u>UYGULAMALAR</u>												
SIVI	733.5 a	148.07	291.40	56.45	44.70	11.80	3670.7 b	256.7 b	25.5	6.2	4765.8 b	479.2 ab
KURU	781.00 a	161.99	357.88	65.85	66.90	15.80	4231.9 a	291.5 a	34.8	8.6	5472.5 a	543.7 a
FOLİAR	680.50 a	134.51	255.85	50.43	47.35	11.90	3494.6 b	261.9 b	34.3	8.3	4512.6 b	467.1 b
KONTROL	501.25 b	111.76	254.25	49.70	42.05	9.95	2863.6 c	189.2 c	23.6	6.5	3684.8 c	367.1 c
P	0.024	0.139	0.326	0.430	0.132	0.118	0.004	0.000	0.406	0.398	0.002	0.011

KONTROL grubu ile karşılaştırıldığında; SIVI uygulamada toplam yaprak yaş ağırlığı %31.66, toplam yaprak kuru ağırlığı %24.5, gövde yaş ağırlığı %12.7, gövde kuru ağırlığı %11.9, salkım yaş ağırlığı %5.9, salkım kuru ağırlığı %15.6, toplam meyve yaş ağırlığı %21.9, toplam meyve kuru ağırlığı %26.2, kök yaş ağırlığı %7.45, kök kuru ağırlığı %4.8, toplam bitki yaş ağırlığı %22.68 ve toplam bitki kuru ağırlığı %23.4 oranında artmıştır.

KURU uygulamada; toplam yaprak yaş ağırlığı %35.8, toplam yaprak kuru ağırlığı %31, gövde yaş ağırlığı %28.95, gövde kuru ağırlığı %24.5, salkım yaş ağırlığı %37.4, salkım kuru ağırlığı %37, toplam meyve yaş ağırlığı %32.33, toplam meyve kuru ağırlığı %34.9, kök yaş ağırlığı %32.18, kök kuru ağırlığı %24.4, toplam bitki yaş ağırlığı %32.66 ve toplam bitki kuru ağırlığı %32.5 oranında artmıştır.

FOLİAR uygulamada ise; ; toplam yaprak yaş ağırlığı %26.3, toplam yaprak kuru ağırlığı %16.9, gövde yaş ağırlığı %0.62, gövde kuru ağırlığı %1.44, salkım yaş ağırlığı %2.99, salkım kuru ağırlığı %16.4, toplam meyve yaş ağırlığı %18.05, toplam meyve kuru ağırlığı %27.75, kök yaş ağırlığı %31.2, kök kuru ağırlığı %21.68, toplam bitki yaş ağırlığı %18.34, ve toplam bitki kuru ağırlığı %21.4 oranında artmıştır.

4.3.2. Verim ile ilgili bulgular

Uygulamaların toplam verim, toplam meyve adedi, ortalama meyve ağırlığı ve meyve sınıflandırmasına olan etkileri Çizelge 4.3' te verilmiştir.

Çizelge 4.3 Verim ile ilgili parametrelerde uygulamaların etkileri (Çizelgedeki veriler üretim dönemi boyunca kızaran meyvelerin ağırlıkları ölçülerek ve boylayıp sınıflandırılarak, üretim dönemi sonunda ölçülen verilerin ortalaması alınıp istatistiksel analizleri yapılarak belirlenmiştir).

	TOPLAM VERİM (kg/m ²)	TOPLAM MEYVE ADEDİ (adet/m ²)	ORTALAMA MEYVE AĞIRLIĞI (gram/meyve)	MEYVE SINIFLANDIRMA(%)			
<u>UYGULAMALAR</u>				<3.5 cm	3.5-4.5 cm	4.5-5.5 cm	>5.5 cm
SIVI	13.10 b	32.40 a	113.68 b	2.20	2.67	16.68	78.46
KURU	15.11 a	31.30 a	135.25 a	0.64	5.65	16.26	77.46
FOLiAR	12.48 b	27.50 ab	127.07 ab	2.97	6.50	15.50	75.03
KONTROL	10.22 c	24.20 b	118.87 ab	4.48	9.79	15.42	70.32
P	0.004	0.049	0.092	0.165	0.309	0.990	0.564

Uygulamaların toplam meyve adedine etkisi %5, toplam verim ve ortalama meyve adedi üzerine etkisi %1 seviyesinde önemli bulunurken, meyve sınıflandırması üzerindeki etki önemsiz çıkmıştır.

Toplam verim 15.11 kg/m^2 ile en iyi KURU alg uygulamasından, daha sonra 13.10 kg/m^2 ile SIVI alg uygulamasından ve bunları takiben 14.48 kg/m^2 ile FOLİAR uygulamadan elde edilmiştir. KONTROL grubu bitkilerinde ise toplam verim değeri 10.22 kg/m^2 ile en düşük olmuştur. KONTROL grubu ile karşılaştırıldığında toplam verim SIVI, KURU ve FOLİAR uygulamada sırasıyla %21.98, 32.4, 18.11 oranında artış göstermiştir (Çizelge 4.3).

Toplam meyve adedi 32.40 adet/m^2 ile en fazla SIVI alg uygulamasında, 31.30 adet/m^2 ile KURU, 27.50 adet/m^2 ile FOLİAR ve 24.20 adet/m^2 ile en az KONTROL grubundan elde edilmiştir.

Uygulamaların ortalama meyve ağırlığı üzerine etkisine bakıldığında $135.25 \text{ gram/meyve}$ ile KURU uygulamanın en iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Bu sırayı $127.07 \text{ gram/meyve}$ ile FOLİAR, $118.87 \text{ gram/meyve}$ ile KONTROL grubu ve en az ortalama meyve sayısına sahip $113.68 \text{ gram/meyve}$ ile SIVI uygulama takip etmektedir.

SIVI alg uygulamasında ortalama meyve ağırlığının düşük ancak toplam meyve aadedinin yüksek olduğu görülmüştür.

Meyve sınıflandırılmasına bakıldığında çapı 5.5 cm 'den büyük 1. boy meyveler en fazla %79 ile SIVI alg uygulaması yapılan bitkilerden, %77.46 ile KURU uygulama yapılan bitkilerden daha sonra %75.03 ile FOLİAR uygulama yapılan bitkilerden ve en az %70.32 ile KONTROL grubundaki bitkilerden alınmıştır. Çapı 3.5 cm 'den küçük olan 4. boy meyveler en fazla %9.79 ile KONTROL grubundaki bitkilerden en az ise %2.67 ile SIVI uygulama yapılan bitkilerden alınmıştır.



Şekil 4.8 Salkımlardaki domateslerin genel görünümü.



Şekil 4.9 Hasat edilen domateslerin genel görünümü

4.3.3 Meyve kalitesi ile ilgili bulgular

Araştırma konularının 3. salkımda kızaran meyvelerde yapılan bazı kalite parametreleri (KA, sertlik, renk, meyve suyu EC, pH değeri ile Vitamin C içeriği) üzerine etkileri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.4).

Meyve kuru ağırlığı (K.A), %6.53 ile SIVI ve FOLİAR uygulamada en yüksek, %6.01 ile KURU uygulamada ikinci ve %5.94 ile KONTROL grubunda en düşük ölçülmüştür.

Sertlik parametresinde 43 N ile FOLİAR uygulamada en yüksek ve 39.9 dS/m ile KURU uygulamada en düşük değerde ölçülmüştür. EC değeri 5.1 dS/m ile FOLİAR uygulamada en yüksek, 4.9 dS/m ile KONTROL grubunda ikinci sırada çıkmıştır. Uygulamaların pH parametresi üzerine etkisine bakıldığında önemli bir farklılığın gözlenmediği açıktır. TSÇKM değeri SIVI, KURU, FOLİAR ve KONTROL grubu uygulamalarında sırasıyla %5.3, %4.5, %5.2, %4.8 olarak ölçülmüştür. En yüksek titre edilebilir asidite değeri (TA) 6 mval/100 ml ile SIVI uygulamanın yapıldığı bitkilerden elde edilirken en düşük TA, 5.3 mval/ 100 ml ile KONTROL grubundaki bitkilerden elde edilmiştir.

L değeri meyve kabuğu parlaklığını göstermektedir. Uygulamaların L değeri üzerine etkisinde önemli bir farklılık gözlenmemiştir. En parlak meyveler en yüksek L değerine sahip olan (40.84) KURU uygulamanın yapıldığı bitkilerden elde edilmiştir.

Uygulamaların meyvedeki Vitamin C parametresi üzerine etkisine bakıldığında 15.00 mg/100 ml ile SIVI alg uygulamanın yapıldığı değer en yüksek, FOLİAR uygulama 14.18 mg/100 ml ile ikinci, SIVI uygulama 14.03 mg/100 ml ile üçüncü sırada ve KONTROL grubundaki bitkilerde ise 12.00 mg/100 ml ile en düşük ölçülmüştür.



Şekil 4.10 Üretilen domateslerin iç kısmının görünümü.

Çizelge 4.4 Uygulamaların bazı meyve kalite parametreleri üzerine etkisi (Çizelgedeki veriler 3. salkımdaki meyveler kızardıktan sonra her konudan 10 adet domates meyvesi seçilip analizler yapıp ortalamaları alınıp istatistiksel analizler yapılarak belirlenmiştir).

	K.A (%)	SERTLİK (N)	EC (dS/m)	pH	TSÇKM (%)	TA (mval/100ml)	RENK					Vitamin C (mg/100ml)	
							<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	Hue	Croma		
<u>UYGULAMALAR</u>													
SIVI	6.53	40.2	4.6	4.5	5.3	6.0	40.48	22.69	26.93	49.87	35.22	14.03	
KURU	6.01	39.9	5.0	4.6	4.5	5.6	40.84	21.75	26.55	50.66	34.32	15	
FOLİYAR	6.53	43.0	5.1	4.6	5.2	5.6	39.32	23.14	25.96	48.29	34.78	14.18	
KONTROL	5.94	40.1	4.9	4.6	4.8	5.3	40.83	22.10	26.72	50.41	34.68	12	
P	0.113	0.137	0.350	0.240	0.366	0.089	0.431	0.382	0.815	0.437	0.828	0.499	

4.3.4. Yaprak rengi ve klorofil içeriği ile ilgili bulgular

Genç yaprakta belirlenen klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil değerleri üzerinden hesaplanarak belirlenen toplam karoten içeriği üzerine uygulamaların etkisi önemli ($P>0,000$) bulunmuştur (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 Klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karoten değerleri (mg/l) üzerine uygulamaların etkisi (Çizelgedeki veriler her konudan seçilen 2 bitkinin genç yapraklarından alınan örneklerdeki değerlerin ortalaması alınarak ve istatistiksel analizleri yapılarak belirlenmiştir).

	Klorofil a	Klorofil b	Toplam Klorofil	Toplam Karoten
<u>UYGULAMALAR</u>				
SIVI	7.76 b	2.56 b	10.31 b	1.62 a
KURU	5.01 c	1.81 b	6.82 c	1.07 b
FOLİAR	12.61 a	16.02 a	28.62 a	-0.95 c
KONTROL	5.11 c	2.10 b	7.21 c	1.04 b
P	0.000	0.000	0.000	0.000

Bitkilere FOLİAR olarak yapraktan uygulanan uygulamada klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarı en yüksek olmuştur. FOLİAR uygulamasının toplam karoten miktarına etkisi ise karotenin klorofilin tam zıttı bir pigment olmasından dolayı -0.95 mg/l değeri ile en düşük ölçülmüştür. KURU uygulamadaki uygulamada klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil parametrelerine ait ölçümler en düşük olmuştur.

KONTROL grubundaki bitkilerle karşılaştırıldığında klorofil a değeri FOLİAR uygulamada %59.5, SIVI uygulamada %34.14 ve KURU uygulamada %1.99 artış olduğu ölçülmüştür. Klorofil b parametresinde ise

FOLİAR uygulamada %86.7, SIVI uygulamada %17.96, KURU olan uygulamada ise %16.02 artış olduğu ölçülmüştür. Toplam klorofil parametresinde de en yüksek değer FOLİAR uygulamada ölçülmüş olup KONTROL grubuna göre %74.8 artış olduğu ölçülmüştür.

Çizelge 4.6 Uygulamaların yaprak renk parametresi üzerine etkisi (Çizelgedeki veriler her konudan seçilen 2 bitkinin genç yapraklarından alınan örneklerdeki değerlerin ortalaması alınarak ve istatistiksel analizleri yapılarak belirlenmiştir).

	L	a	b	Hue	Kroma
<u>UYGULAMALAR</u>					
SIVI	40.83 c	-10.46 a	15.17 c	124.59	18.43 a
KURU	44.08 bc	-12.83 b	19.94 b	122.76	23.71 b
FOLİAR	47.75 a	-15.38 c	25.79 a	120.82	30.03 c
KONTROL	44.75 ab	-13.82 bc	21.30 b	123.07	25.39 b
P	0.022	0.006	0.011	0.197	0.008

Klorofil içeriğini belirlemek için alınan yaprak örneklerinde yapılan renk okumalarına ait değerler Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çizelgeden de anlaşılabacağı üzere uygulamaların hue değeri hariç diğer renk parametreleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Yüksek L (47.75) ile FOLİAR uygulamasına ait bitkilerin yaprağı diğer konulardaki yapraklardan daha parlak ve koyu yeşil bulunmuştur. KONTROL grubuna göre %15.2 artış şeklinde olmuştur.

5. TARTIŞMA

Tübüler sistemler, mikroalg kültüründe kullanılan en iyi bilinen fotobiyoreaktör sistemleridir. Bu araştırmada biyogübre olarak kullanılmak üzere tek hücreli yeşil bir alg türü olan *Chlorella vulgaris* bir tasarım olarak üretilen tübüler fotobiyoreaktörde üretilmiştir. Kullanılan tübüler fotobiyoreaktör bir tasarım olduğu için bunun modifiye edilerek ve olumsuzlukları göz önünde bulundurularak yeni tübüler sistemlere katkı sağlanabilir. Üretim boyunca yaşanan sorunlar tübüler sistemlerin modifiye edilerek daha iyi tasarımların oluşturulmasına ve bununla beraber üretimde de daha fazla artış sağlanabileceğini düşünmekteyiz. Bu araştırmada kullanılan tübüler sistemin en önemli dezavantajı temizlik zorluğu ve akrilik borularda belirli bir günden sonra meydana gelen yapışmalar olmuştur. Literatürler taraması yapıldığında tübüler fotobiyoreaktör sistemlerinin en önemli dezavantajının temizlik zorluğu olduğunu görmekteyiz. Bu olumsuzlukları bertaraf etmek üzere borulardaki yapışmanın kolay şekilde temizlenebilmesi için sistem içerisinde borularla aynı çapta süngerler sistemde döndürülerek mekanik bir temizliğin sağlanabileceğini diye düşünmekteyiz. Çünkü çalışmada üretim 2 kere gerçekleştirilmiş olup ilk üretimde gerçekleşen yapışma sorunu %16'lık 25 lt çamaşır suyunun sistemde döndürülmesiyle ortadan kaldırılmıştır. Fakat hem kullanılan maddenin kimyasal olması hem de akrilik borularda aşınma ve matlaşmanın gerçekleşebilme ihtimali olduğundan bu temizleme biçiminin çok da kullanışlı değildir. Çünkü borularda gerçekleşecek matlaşma üretilen alg hücrelerinin eşit oranda ışığı alamamasına sebep olabilir ve bu nedenle de üretim miktarı azalabilir. Sistemdeki borularda sisteme atılan süngerin ilerleyebilmesi için pompanın gücünün bu süngeri döndürebilecek kapasitede olması ve sistemdeki boruların süngerin toplama tankına düşebilecek şekilde tasarlanması gerekmektedir. Bu çalışmada kullanılan tübüler fotobiyoreaktör bunları yapabilecek şekilde tasarlanmadığı için ilk olarak HCl çözeltisiyle borulardaki yapışma yok edilmeye çalışılmış; başarılı olamayınca çamaşır suyu ile borulardaki yapışma temizlenmiştir.

Tübüler biyoreaktörde üretim sonunda bu üretilen materyalin biyogübre olarak uygulanması amacıyla 4 Mart 2014 tarihinde Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Organik Sebze ve Üretim serasında domates fidelerinin dikimi yapılmıştır. Kullanılan parsel 4 konuya bölünmüştür. İlk konu 10 bitkiye kökten 250 ml sıvı olarak canlı *Chlorella vulgaris* alginin uygulanması şeklinde, ikinci konu 10 bitkiye bitki yaprakları yıkanacak şekilde foliar sprey olarak uygulanması şeklinde, üçüncü uygulama 10 bitkiye kökten 2.5 g kuru

Chlorella vulgaris algi uygulanarak olmuştur. Son konu olarak da diğerleriyle karşılaştırılmak üzere hiçbir uygulama yapılmayan 10 bitkiden oluşan kontrol grubu belirlenmiştir. *Chlorella vulgaris* algi belirtilen şekillerde sezon boyunca bitkilere 2 kere uygulanmıştır. Ve dönem sonunda uygulama sonuçları ile kontrol grubundaki sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Araştırmada bitki gelişimi ile ilgili bulgulara göre sıvı uygulamanın yapıldığı bitkilerin boyu 189.65 cm, foliar uygulamanın yapıldığı bitkilerin boyu 186.9 cm, kuru uygulamanın yapıldığı bitkilerin boyu 182.2 cm ölçülmüş olup, bitki boylarında kontrol grubuna göre SIVI, FOLİAR ve KURU uygulamalarda sırasıyla %4.14, %2.73 ve %0.22 artış gözlenmiştir. Yani uygulamanın yapıldığı bitkilerde bitki boyu daha uzun olmuştur. Gövde çapıyla ilgili ölçümlerde de sıvı olarak yapılan uygulamadaki gövde çapı kontrol grubundakilere göre %21.5 artış göstermiştir. Kök boyu ölçümünde ise foliar olarak gerçekleştirilen uygulamadaki bitkilerdeki kök boyu 28.15 cm ölçülerek kontrol grubuna göre %21.3 artış gözlenmiştir.

Uygulamalardan alınan bitki örneklerine ait kök, gövde, yaprak, salkım, meyve ve toplam bitkiye ait yaş ve kuru ağırlıkları üzerine uygulamaların etkisi yine kontrol grubuna göre artışlar göstermiştir. Genel olarak toplam bitki yaş ağırlığı sıvı, kuru, foliar olarak gerçekleştirilen uygulamalarda kontrol grubuna göre sırasıyla %22.68, %32.66 ve %18.34 oranında artış gözlenmiştir. Toplam bitki kuru ağırlığında ise kontrol grubuna göre artış %23.4, %32.5 ve %21.4 şeklinde gözlenmiştir. Uygulamaların bitki gelişimi parametrelerinde olumlu yönde olmuştur ve bu gibi benzer olumlu sonuçlar Article, F. L. (2008) tarafından *Chlorella vulgaris*’ in marul tohumları ve bitkisinde biyogübre olarak uygulandığı çalışmada da gözlenmiştir.

Verim değerleri kullanılan çeşide, iklim koşullarına, üretim sistemine, yetiştirme periyoduna..vs bağlı olarak değişebilmektedir. Genel olarak serada konvansiyonel çift ürün (kısa dönem) yetiştiriciliğinde domates veriminin 8 ile 13 kg/m² arasında değiştiği belirtilmiştir (Sevgican, 1999; Greer and Diver, 2000).Organik tarım koşullarında girdi kullanımındaki kısıtlılığa bağlı olarak verimin konvansiyonel yetiştiriciliğe göre %10 ile 30 oranında daha düşük olabileceği belirtilmiştir (FAO, 2002). Yürütülen bu çalışmada verim değerleri 10.22 (kontrol) ile 15.11 (KURU ALG) kg/m² arasında değişmiştir. Özellikle alg kullanılan uygulamalarda verim değerleri hem kontrole göre hem de olması gereken sınır değerlerden yüksek bulunmuştur. Yine elde edilen verim değerleri

daha önce serada organik tarım esaslarına göre yürütülen çalışmalardan (Tüzel et al. 2001&2003) elde edilen verim değerlerine benzer sonuçlar vermiştir. Elde ettiğimiz bu sonuçlar sağlıklı ve bilinçli beslenme yanında çevreci yaklaşımların önemsendiği günümüz koşullarında konvansiyonel üretime yakın ve/veya fazla verim elde edilmesini sağlayan alg kullanımının kimyasal gübrelemeye alternatif olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Verim ile ilgili sonuçlar incelendiğinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında uygulamaların toplam verim üzerine etkisi sıvı uygulamada %21.98, kuru uygulamada %32.4 ve foliar uygulamada %18.11 artış şeklinde olmuştur. Verim ile ilgili bu sonuçlar *Chlorella vulgaris* alginin üzüm bitkisinde foliar sprey olarak uygulanmasıyla da artış göstermiştir (Abd and Moniem 2008). Toplam meyve adedi parametresinde de uygulama yapılan bitkilerdeki meyve sayısı kontrol grubuna göre daha fazla olmuştur. Ortalama meyve adedi ölçümlerinde çapı 3.5 cm'den küçük en küçük boyuttaki meyveler kontrol grubundaki bitkilerden alınmıştır. Çapı 5.5 cm'den büyük 1. meyve boyutundaki meyveler ise 78.46 g/ meyve , 77.46 g/ meyve ve 75.03 g/ meyve ile sırasıyla sıvı, kuru ve foliar uygulama yapılan bitkilerde daha fazla gözlenmiştir. Kontrol grubundaki 5.5 cm'den büyük meyve sınıflandırılması 70.32 g/meyve şeklinde hesaplanmıştır. SIVI, KURU ve FOLİAR uygulamaların her üçünde de verim ile ilgili parametrelerde artış gözlenmiştir. Ayrıca ilk hasatta kontrol grubunda sadece 1 adet meyvede kızarma gerçekleşmişken, uygulamaların yapıldığı toplam 3 konuda 14 adet meyve kızarmış ve hasat edilmiştir. Bu da *Chlorella vulgaris*' in biyogübre olarak uygulanmasının domates bitkilerinde meyve oluşumunda erkencilik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Mikroalglerin su kültürü ortamına salgıladıkları ligantlar (şelatlar) sayesinde ortamdaki besin çözeltisinde bulunan besin maddelerinden bitkinin daha iyi faydalanmasına hizmet etmektedir. Böylece besin maddelerinin köklere taşınmasında kolaylık sağlanır. Şelatlar besin maddelerinin bitki içerisine taşınmasına da olumlu katkılarda bulunmaktadır. Mikroalgler ürettikleri organik maddeler veya ölen alglerden sağlanan inorganik maddelere ayrışarak yine bitkilerin beslenmesine artı katkıda bulunmaktadır. Son olarak mikroalglerin ürettikleri bir takım enzimler ve hormonların bitki büyüme ve gelişmesinde ürün veriminde katkı sağlayabilmektedir (Ergün ve ark., 2010). Alg uygulaması ile kontrol bitkilerine göre daha yüksek verim ve bitki gelişimi elde edilmiştir. Bun sonuç *C.vulgaris*'in sahip olduğu ve yetiştirilen bitkiye aktardığı yüksek protein içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Farklı formlarda uygulanan C.

vulgaris'den verim ve bitki gelişimi açısından en iyi sonuç KURU uygulamasından elde edilmiştir. KURU alg uygulaması dikim çukurlarına doğrudan algin verilmesi şeklinde yapılmış; algin uygulanan su ile zamana bağlı olarak çözünmesi ve toprakta yavaş salınımına bağlı olarak çözünen bileşiklerinin bitki tarafından daha fazla absorbe edilmesi nedeni ile bitki gelişimi ve verim diğer uygulamalardan daha fazla teşvik ettiği düşünülmektedir.

Taze olarak tüketilen domateslerde meyve kalite özellikleri renk, irilik, şekil, fizyolojik bozukluk olup olmaması, sertlik, tekstür, kuru madde, tad ve besin değeri ile belirtilmektedir (Dorais *et al.*, 2001). Tüketiciler her ne kadar meyve görünümüne göre kaliteyi değerlendirseler de, kalite kavramı içerisinde farklı çalışmalarda meyve tad ve lezzeti yanında, toplam suda çözünür kuru madde miktarı, titre edilebilir asitlik, meyve kabuk rengi, meyve suyu EC ve pH değeri, Vitamin C değerleri, şeker, antioksidant ve karetenoid içeriği de kalite kriteri olarak değerlendirilmiştir (Auerswald *et al.*, 1999; Dorais *et al.*, 2001; De Pascale *et al.*, 2001; Tüzel ve ark., 2001; Yurtseven ve ark., 2005; Krauss *et al.*, 2006). Yürütülen çalışmada meyve kalite kriteri olarak, kuru ağırlık, meyve suyu EC ve pH içeriği, titre edilebilir asitlik, toplam suda çözünür kuru madde miktarı, vitamin C içeriği ve renk (L, a, b, hue ve kroma) değerleri incelenmiş; incelenen meyve kalite özelliklerine SIVI, KURU ve FOLİAR olarak gerçekleştirilen biyogübre uygulamalarında kontrol grubuna göre önemli farklılık gözlenmemiştir. Vitamin C değerinde istatistiksel olarak önemsiz olmasına rağmen bir farklılık gözlenmiş ve kontrol grubuna göre sıvı uygulamada %14.5, kuru uygulamada %20 ve foliar uygulamada %15.4 artış gözlenmiştir.

Bitki büyüme ve gelişmesinde önemli rol oynayan fotosentez metabolizması üzerine etki eden toplam klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karoten miktarlarında yapraktan foliar olarak gerçekleştirilende klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarı oldukça fazla ölçülmüştür. Foliar olan uygulamada kontrol grubuna oranla klorofil a miktarı %59.5, klorofil b miktarı %86.7 ve toplam klorofil miktarı %74.8 oranında artış göstermiştir. Bu da yapraklardan foliar olarak uygulanan *Chlorella vulgaris* alginin bitki yapraklarında fotosentezi arttırdığının bir göstergesi olmuştur. Ayrıca klorofil analizi yapılan yapraklarda renk değerleri de okunmuş ve bu değerlere bakıldığında en parlak ve en yeşil yaprağa sahip bitkilerin bulunduğu uygulama grubu L değeri 47.75 ve b değeri 25.79 olan FOLİAR olarak uygulanan grupta ölçülmüştür.

Son yıllarda çevre ve toprak kirliliğinin artması ile biyogübre (biyolojik gübre) uygulamaları oldukça fazla rağbet görmüştür. Alglerin ise potansiyel biyogübre olarak görülme sebepleri bu canlı grubunda; besleyici elementlerce zengin içeriğe sahip olan ve bitkide büyümeyi sağlayan hormonların kaynağı olarak görülen denizsel makro alglerin (genellikle kahverengi algler) ve kelpelerin (*Sargassum sp.*, *Ecklonia maxima* vb.) bulunması, heterosist içeren ve azot fikse edebilen Cyanophyta üyelerinin (*Nostoc sp.*, *Anabaena sp.* gibi) bulunması ve bizim çalışmamızda da kullandığımız gibi protein, karbonhidrat, yağ, vitamin, enzim gibi maddelerce zengin olan mikro alglerin (*Chlorella sp.*, *Spirulina sp.* vb.) bulunmasından dolayıdır. Dünyadaki çalışmalara bakıldığında bizim yaptığımız çalışmada olduğu gibi mikroalglerin biyogübre olarak kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça azdır. Fakat denizsel algler (kelp) ve Cyanophyta üyeleri ile yapılan çalışmalar daha yaygın olarak görülmektedir. Genellikle kahverengi alglerin sıvı ekstraktları tarımda ve bahçe bitkilerinde kullanılmak için pazarlanmaktadır. İngilterede bulunan Maxicrop isimli firmada *Ascophyllum nodosum* türünden elde edilen biyogübreler ticari olarak satılmaktadır. Bugün Güney Afrikada pazarlanmakta olan Kelpak isimli organik gübre markası biyogübrelerini *Ecklonia maxima* türü kelplerden elde edilmektedir. Firmaların kahverengi algleri (kelp), tarımda biyogübre kullanımı açısından seçme sebebi olarak bu alglerin bitkilerdeki büyüme hormonlarından oksin ve sitokinin artmasında eşsiz bir kaynak olduklarını ayrıca bu alglerin okyanus ve denizlerdeki besleyici elementleri absorbe ettikleri bunun da kullanıldığı bitkiye yarar sağladığı kanıtlanmıştır ve yapılan çalışmaları resmi olarak sitelerinde yayınlanmıştır (Kelpak, 2014).

Yapılan bir çalışmada kırmızı bir alg türü olan *Hypnea musciformis* yer fıstığı (*Arachis hypogea*) bitkisinde biyogübre (organik gübre) olarak kullanılmış; çimlenme, toplam bitki uzunluğu, ağırlığı, kök uzunluğu, gövde uzunluğu, kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, toplam bitki yaş ağırlığı, toplam bitki kuru ağırlığı gibi bitki gelişim parametreleri ve yapraklarda biyokimyasal içerik incelenmiştir ve olumlu sonuçlar gözlenmiştir. 1 L distile suya %100'lük konsantrasyona sahip alg türüyle %1, %2, %4, %6 ve %8 konsantrasyona sahip sıvı gübre hazırlanmış ve uygulanmış en iyi sonucun %2'lik konsantrasyona sahip uygulamada ortaya konulmuştur (Selvam and Sivakumar, 2014). Yine denizsel alglerden olan *Sargassum wightii* ve *Caulerpa chemnitzia* sıvı yosun gübresi olarak börülce (*Vigna sinensis*) bitkisine uygulanmış, büyüme ve gelişme parametreleri ile bitkide biyokimyasal içerik incelenmiştir. Bu iki türün karşılaştırılmasını içeren

bu çalışmada en iyi sonuç *S.weightii* türündeki uygulamada gözlenmiştir (Sivasankari *et al.*, 2006).

Diğr türlerde yapılan birçok çalışmalarda organik gübre (biyogübre) olarak kullanılan alglerin bitki gelişimi ve verimi arttırmada olumlu sonuçlar gsterdiğı gzlendiğı ve bizim yaptığımız çalışmayı destekleyen niteliktedir.

6. SONUÇLAR

Çalışmada elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenebilir:

Chlorella vulgaris mikroalginin üretilerek domates bitkisinde biyogübre olarak uygulanması ve domates bitkisinde bitki gelişimi, kalite ve verim parametreleri üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada değişik şekillerde kullanılması (sıvı, kuru, foliar) *Chlorella vulgaris* alginin domates bitkisinde bitki gelişimi, erkencilik, verim ve kalite (özellikle renk, Vitamin C ve TA) parametreleri üzerinde olumlu sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Tarımda kullanılan bir çok kimyasal içerikli gübre çevre kirliliği, yeraltı ve yer üstü su kaynaklarında kirliliğe sebep olmakla beraber, toprakta tuzlanmaya da sebep olmaktadır. Bu da üretimi olumsuz yönde etkilemektedir. Yaptığımız çalışmada kullanılan mikroalg tamamen biyolojik olup, çevreye zarar vermeden biyogübre olarak kullanılabilir. Organik gübre çeşitliliğinin sınırlı olduğu organik tarımda da alternatif bir gübre olarak kullanılabilir.

Yapılan bu çalışmada kullanılan biyogübrenin domates dışında diğer sera ve tarım bitkilerinde de kullanılarak olumlu sonuçlar elde edilebileceği inancındayız.

Çalışmada alg 3 farklı formda ve dozda kullanılmıştır. Elde edilen umut var sonuçlar dahilinde farklı doz ve uygulamalar ile araştırmaların devam ettirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abd, E.A. and Moniem, E.**, 2008, Effect of Green Alga Cells Extract as Foliar Spray on Vegetative Growth, Yield and Berries Quality of Superior Grapevines, *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 4(4):427-433 pp.
- Abo-Shady, A.M., Mohamed, Y.A. and Lasheen, T.**, 1993, Chemical composition of the cell wall in some green algae species. *Plant Biology*, 35:629–632 pp.
- Acien Fernandez, F. G., Garcia Camacho, F., Sanchez Perez, J. A., Fernandez Sevilla, J. M. and Molina Grima**, 1998, Modelling of biomass productivity in tubular photobioreactors for microalgal cultures: Effects of dilution rate, tube diameter and solar irradiance, *Biotechnology and Bioengineering*, 58:605–616 pp.
- Article, F. L.**, 2008, Effect of *Chlorella vulgaris* as Bio-fertilizer on Growth Parameters and Metabolic Aspects of Lettuce Plant, 1965, 165–169 pp.
- Auerswald, H., Schwarz, D., Kornelson, C., Krumbein, A. and Brückner, B.**, 1999, Sensory analysis, sugar and acid content of tomato at different EC values of the nutrient solution. *Scientia Horticulturae*, 82:227-242.
- Bajguz, A.**, 2000, Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris*, *Plant Physiology and Biochemistry*, 38:209-215 pp.
- Barbarino, E. and Lourenço, S.O.**, 2005, An evaluation of methods for extraction and quantification of protein from marine macro- and microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 17:447-460 pp.
- Barbarino, E., Lourenço, S.O.**, 2005, An evaluation of methods for extraction and quantification of protein from marine macro- and microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 17:447–460 pp.
- Baynes, S. M., Emerson, L. and Scott, A. P.**, 1979, Production of algae for use in the rearing of larval fish, *Fisheries Research Technical Report* 53:13–18 pp.
- Becerra G., Menolasina, S. and Salvador, A.**, 1999, Supercritical fluid extraction and supercritical fluid chromatography of Vitamin E in pharmaceutical preparations. *Journal of High Resolution Chromatography*, 22:300–302 pp.
- Becker E.W.**, 1994, Microalgae: biotechnology and microbiology. Cambridge; New York, Cambridge University Press.
- Becker, E.W.**, 2007, Micro-algae as a source of protein, *Biotechnology Advances*, 25(2):207-210 pp.
- Bendana, F., and Fried, M.**, 1967, Stimulatory effects of gibberellins on the growth of *Chlorella pyrenoidosa*, *Life Sciences*, 6:1023-1033 pp.
- Berliner, M.D.**, 1986, Proteins in *Chlorella vulgaris*. *Microbios*, 46:199–203 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Blunden, G., Whapham, C., and Jenkins, T.,** 1992, Seaweed Extracts in Agriculture and Horticulture: Their Origins, Uses and Modes of Action. School of Pharmacy and Biomedical Science and "School of Biological Sciences, University of Portsmouth, King Henry John Street, Portsmouth, Hampshire PO1 202, U.K.
- Borja, R., Traviesoa, L., Hall, D.O., Rao K.K., Benitez, F. and Sanchez, E.,** 2001, A helical tubular photobioreactor producing *Spirulina* in a semicontinuous mode, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 47:51–155 pp.
- Borowitzka M.A.,** 1992, Algal biotechnology products and processes: matching science and economics, *Journal of Applied Phycology* 4:267–279 pp.
- Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J.,** 1992, Microalgal biotechnology, Cambridge University press, (1) Cambridge, 477 p.
- Borowitzka, M.A.,** 1999, Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes, and fermenters, *Journal of Biotechnology*, 70:313–321 pp.
- Brasier MD, Green OR, Jephcoat AP, Kleppe AK, Van Kranendonk MJ and Lindsay JF,** 2002, Questioning the evidence for Earth's oldest fossils, *Nature* 416:76–81 pp.
- Brennan L. and Owende P.,** 2010, Biofuels from microalgae – a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products, *Renewable Sustain Energy* 14:557–77 pp.
- Cha, K. H., Lee, H.J., Koo, S.Y., Song, D.G., Lee, D.U. and Pan, C.H.,** 2010, Optimization of pressurized liquid extraction of carotenoids and chlorophylls from *Chlorella vulgaris*. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 58:793–797 pp.
- Cha, K.H., Koo, S.Y. and Lee, D.U.,** 2008, Antiproliferative effects of carotenoids extracted from *Chlorella ellipsoidea* and *Chlorella vulgaris* on human colon cancer cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56:10521–10526 pp.
- Chang, Y. R. and Lee, D. J.,** 2012, Coagulation membrane filtration of *Chlorella vulgaris* at different growth phases. *Drying Technology*, 30:1317–1322 pp.
- Chen, W., Sommerfeld, M. and Hu, Q.,** 2011, Microwave-assisted Nile red method for in vivo quantification of neutral lipids in microalgae. *Bioresource Technology*, 102:135–141 pp.
- Cheng, Y.L., Juang, Y.C., Liao, G.Y., Ho, S.H., Yeh, K.L. and Chen, C.Y.,** 2010, Dispersed ozone flotation of *Chlorella vulgaris*, *Bioresource Technology*, 101:9092–9096 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chisti, Y., Miron, A.S., Gomez, A.C., Camacho, F.G. and Grima, E.M.,** 1999, Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae, *Journal of Biotechnology*, 70:249–270 pp.
- Cirik, S., ve Gökpınar, Ş.,** 1993, Plankton bilgisi ve kültürü, Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir, 47:274 pp.
- Cohen, Z.,** 2000, Chemicals from microalgae, *Taylor & Francis publishers*, 419 pp.
- Conk Dalay, M.,** 2003, Spirulina'nın Kullanım Alanları, üretim koşulları ve hayvan yemi olarak kullanılan diğer algler (özel sektör'den ilgililer için hazırlanmış rapor). E.Ü. Bilim Teknoloji Uygulama Araştırma Merkezi, Bornova, İzmir.
- 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: Process Intensification*, 48:1146–1151 pp.
- Dalay, C.M., Cirik S., Akdeniz, C. ve Yılmaz M.,** 2000, Ülkemiz koşullarına uygun *Spirulina* üretim teknolojisinin geliştirilmesi, Ege Üniversitesi Araştırma Fonu Proje Raporu, 37s.
- Dalton, R.,** 2002, Microfossils: squaring up over ancient life. *Nature*; 4:417-782 pp.
- de Mulé, M.C.Z., de Caire, G. Z., de Cano, M.S., Palma, R.M. and Colombo, K.,** 1999, Effect of cyanobacterial inoculation and fertilizers on rice seedlings and postharvest soil structure. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 30:97–107 pp.
- De Pascale, S., Maggio, A., Fogliano V., Ambrosino, P. and Ritieni, A.,** 2001, Irrigation with saline water improves carotenoids content and antioxidant activity of tomato. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76(4):447-453 pp.
- Divakaran, R. and Sivasankara, Pillai V.N.,** 2002, Flocculation of algae using chitosan. *Journal of Applied Phycology*, 14:419–422 pp.
- Dizdaroğlu, A.,** 1985, Sera domates üretiminde anaç uygulaması ile elde edilen çift kök sistemine sahip domateslerin verim ve kalite yönünden üstünlükleri üzerine bir araştırma, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Yüksek Lisans Tezi. Bornova, İzmir.
- Dorais, M., Papadopoulos, A. P. and Gosselin, A.,** 2001, Influence of electric conductivity management on greenhouse tomato yield and fruit quality. *Agronomic*, 21:367-383 pp.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F.,** 1956, Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350–356 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Durmaz Y.**, 2006, Azot Kaynakları ve Konsantrasyonlarının *Nannochloropsis oculata* (Droop, 1955) (Eustigmatophyceae)’nın Büyüme ve Pigment Kompozisyonuna Etkisi, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23(3-4):295-299 s.
- Ergün O., Daşgan Y. H. ve Işık O.**, 2010, Su Kültüründe Yetiştirilen Kıvrıkcık Marul Bitkisinde Mikroalg (*Chlorella vulgaris*) Uygulamasının Etkileri. 9. Ulusal Sebze Tarımı Sempozyumu, Konya. 330-334s.
- El-Khawaga, A. S.**, 2011, Partial Replacement of Mineral N Fertilizers by using Humic Acid and *Spirulina Platensis* Algae Biofertilizer In Florida Prince Peach Orchards, *Middle East Journal of Applied Sciences*, 1(1):5-10 pp.
- Faheed, F. and Abd el Fattah, Z.**, 2008, Effect of *Chlorella vulgaris* as bio-fertilizer on growth parameters and metabolic aspects of lettuce plant. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 4:165–169 pp.
- Fernandez, F.G.A., Sevilla, J.M.F., Perez, J.A.S., Grima, E.M. and Chisti, Y.**, 2001, Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance, *Chemical Engineering Science*, 56:2721-2732 pp.
- Fernandez-Sevill, J.M., Fernande, F.G. and Grima, E.M.**, 2012, Obtaining lutein-rich extract from microalgal biomass at preparative scale. *Methods in Molecular Biology*, 892: 307–314 pp.
- Fox, R.**, 1996, *Spirulina*: production and potantial, EDISUD publication, Aix-en-Provence, 231 pp.
- Frappart, M., Massé, A., Jaffrin, M. Y., Pruvost, J. and Jaouen, P.**, 2011, Influence of hydro- dynamics in tangential and dynamic ultrafiltration systems for microalgae separation. *Desalination*, 265:279–83.
- Frumento, D., Casazza, A.A., Al Arni, S. and Converti, A.**, 2013, Cultivation of *Chlorella vulgaris* in tubular photobioreactors: A lipid source for biodiesel production. *Biochemical Engineering Journal*, 81:120-125 pp.
- Ghirardi M.L., Zhang L., Lee J.W., Flynn T., Seibert M., Greenbaum E., et al.**, 2000, Microalgae: a green source of renewable H₂, *Trends Biotechnology*, 18:506–511 pp.
- Gonzalez, L.E. and Bashan, Y.**, 2000, Increased growth of the microalga *Chlorella vulgaris* when coimmobilized and cocultured in alginate beads with the plant growth promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Applied and Enviromental Microbiology*, 66:1527–1531 pp.
- Gouveia, L., Raymundo, A., Batista, A.P., Sousa, I. and Empis, J.**, 2005, *Chlorella vulgaris* and *Haematococcus pluvialis* biomass as colouring and antioxidant in food emulsions. *European Food Research and Technology*, 222:362–367 pp.
- Granado, F., Olmedilla, B. and Blanco, I.**, 2003, Nutritional and clinical relevance of lutein in human health. *British Journal of Nutrition*, 90:487–502 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Greer, L. and Diver, S.**, 2000, Organic Greenhouse Vegetable Production, Horticulture Production Guide, Appropriate Technology Transfer for Rural Areas, Fayetteville.
- Guillard, R.R.L.**, 1973, Division rates. In: Stein, J.R. (Ed.), Handbook of Phycological Methods—Culture Methods and Growth Measurements. Cambridge University Press, Cambridge, 289–311 pp.
- Güner, H. ve Aysel, V.**, 1996, Marine benthic vegetation, Chapter 18 TURKEY. Ecological studies Vol. 123, Schramm/Nienhuis (eds) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 421-432 pp.
- Hagen, C., Siegmund, S. and Braune, W.**, 2002, Ultrastructural and chemical changes in the cell wall of *Haematococcus pluvialis* (Volvocales, Chlorophyta) during aplanospore formation, *Euro Journal Phycology*, 37:217–226 pp.
- Han, W., Clarke, W. and Pratt, S.**, 2014, Composting of waste algae: A review. *Waste Management*, 34(7):1148-1155 pp.
- Hanan, M.K.**, 2011, Comparative effects of autotrophic and heterotrophic growth on some vitamins, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity, amino acids and protein profile of *Chlorella vulgaris* Beijerinck, *African Journal of Biotechnology*, 10:13514-13519 pp.
- Hekimoğlu, B. ve Altındeğer M.**, 2006, Organik Tarım ve Bitki Koruma Açısından Organik Tarımda Kullanılacak Yöntemler, Samsun Valiliği Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü, Samsun, 200s.
- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz M. and Seibert, M.**, 2008, Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *Plant J*, 54:621–639 pp.
- Hung, M.T. and Liu J.C.**, 2006, Microfiltration for separation of green algae from water.
- Illman, A.M, Scragg, A.H, Shales, S.W.**, 2000, Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium, *Enzyme Microbial Technology*, 27:631–5 pp.
- Janczyk, P., Franke, H. and Souffrant, W.B.**, 2007, Nutritional value of *Chlorella vulgaris*: effects of ultrasonication and electroporation on digestibility in rats. *Animal Feed Science and Technology*, 132:163–169 pp.
- Kaçar, B.**, 1972. Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri. II. Bitki Analizleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Kapaun E. and Reisser W.**, 1995, A chitin-like glycan in the cell wall of a *Chlorella* sp. (Chlorococcales, Chlorophyceae), *Planta*, 197:577–82 pp.
- Kelpak**, 2014, <http://www.kelpak.com/news/news.html> (Erişim tarihi: 15 Temmuz 2014).
- Kelpak**, 2014, http://www.kelpak.com/activity/how_it_works.html (Erişim tarihi: 15 Temmuz 2014).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Jithesh, M.N., Rayorath, P., Hodges, D.M., Critchley, A.T., Craigie, J.S., Norrie J. and Prithiviraj, B.,** 2009, Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development, *Journal of Plant Growth Regulation*, 28(4):386-399 pp.
- Kitada, K., Machmudah, S., Sasaki, M., Goto, M., Nakashima, Y. and Kumamoto, S.,** 2009, Supercritical CO₂ extraction of pigment components with pharmaceutical importance from *Chlorella vulgaris*. *Journal of Chemical Technology Biotechnology*, 84:657–661 pp.
- Knutsen, G. and Skjanes, K.,** 1999, Simple growth chambers for culturing microalgae with precision at different temperatures and irradiance, *Journal of Applied Phycology*, 11:487-491 pp.
- Kong, W., Liu, N., Zhang, J., Yang, Q., Hua, S. and Song, H.,** 2012, Optimization of ultrasound-assisted extraction parameters of chlorophyll from *Chlorella vulgaris* residue after lipid separation using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 1–8 pp.
- Krauss, B. S., Schnitzler, W. H., Grassmann, J. and Voitke, M.,** 2006, The influence of different electrical conductivity values in a simplified recirculating soles system on inner and outer fruit quality characteristics of tomato. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 54:441-448 pp.
- Kuchitsu, K., Oh-hama, T., Tsuzuki, M. and Miyachi, S.,** 1987, Detection and characterization of acidic compartments (vacuoles) in *Chlorella vulgaris* 11h cells by 31P-in vivo NMR spectroscopy and cytochemical techniques. *Arch Microbiology*, 148:83–7 pp.
- Lee, R.E.,** 2008, Phycology. 4th ed. Cambridge, England; New York: Cambridge University Press.
- Lee, D.J., Liao, G.Y., Chang, Y.R. and Chang, J.S.,** 2012, Coagulation–membrane filtration of *Chlorella vulgaris*. *Bioresources Technology*, 108:184–189 pp.
- Lee, Y. K.,** 1997, Commercial production of microalgae in the Asia-Pacific rim., *Journal of Applied Phycology* 9:403–411 pp.
- Lee, Y.K.,** 2001, Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential, *Journal of Applied Phycology*, 13:307–15 pp.
- Li, H.B., Jiang, Y. and Chen, F.,** 2002, Isolation and purification of lutein from the microalga *Chlorella vulgaris* by extraction after saponification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:1070–1072 pp.
- Liu Y., Xu L., Cheng L., Lin L. and Zhang C.,** 2010, Inhibitory effect of phycocyanin from *Spirulina platensis* on the growth of human leukemia K562 cells, *Journal of Applied Phycology*, 12, 125-130 pp.
- Liu, Z.Y., Wang, G.C., Zhou, B.C.,** 2008, Effect of iron on growth and lipid in *Chlorella vulgaris*. *Bioresources Technology*, 99:4717–4722 pp.
- Lordan, S., Ross, R.P. and Stanton, C.,** 2011, Marine bioactives as functional food ingredients: potential to reduce the incidence of chronic diseases. *Marine Drugs*, 9:1056–1100 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lorenz R.T. and Cysewski G.R.**, 2000, Commercial potential of Haematococcus microalgae as a natural source of astaxanthin, *Trends Biotechnology*, 18:160–7 pp.
- Lundy, M.E., Spencer, D.F., Van Kessel, C., Hill, J.E. and Linquist, B.A.**, 2012, Managing phosphorus fertilizer to reduce algae, maintain water quality, and sustain yields in water-seeded rice, *Field Crops Research*, 131:81-87 pp.
- Ly, J.M., Cheng, L.H., Xu, X.H., Zhang, L. and Chen, H.L.**, 2010, Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions, *Bioresource Technology*, (101):6797–6804 pp.
- Madkour, F.F., Kamil, A.E.W. and Nasr, H.S.**, 2012, Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media, *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38(1):51-57 pp.
- Mallick, N. and Mandal, S., Singh, A.K., Bishai, M. and Dash, A.**, 2012, Green microalga *Chlorella vulgaris* as a potential feedstock for biodiesel, *J. Chemical Technology Biotechnology*, 87:137–45 pp.
- Martínez, F., Ascaso C. and Orús, M.I.**, 1991, Morphometric and stereologic analysis of *Chlorella vulgaris* under heterotrophic growth conditions. *Annals of Botany*. 7: 239–245 pp.
- Maruyama, I., Nakao, T., Shigeno, I., Ando, Y. and Hirayama, K.**, 1997, Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass culture of marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, 358:133–138 pp.
- Masojidek, J., Papacjek, S., Sergejevova, M., Jirka, V., Cervení, J., Kunc, J., Korecjkó, J., Verboviková, O., Kopeckí, J., Stys, D. and Torzillo, G.**, 2003, A closed solar photobioreactor for cultivation of microalgae under supra-high irradiance: basic design and performance, *Journal of Applied Phycology* 15:239–248 pp.
- Mata T.M., Martins A.A. and Caetano N.S.**, 2010, Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable Sustain Energy Reviews*, 14:217–232 pp.
- McGuire, G. R.**, 1992, Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12):1254-1255 pp.
- Mendes, R.L., Nobre, B.P., Cardoso, M.T., Pereira, A.P. and Palavra, A.F.**, 2003, Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with pharmaceutical importance from microalgae. *Inorganica Chimica Acta*, 356:328–334 pp.
- Molina Grima E, Belarbi EH, Acien Fernández FG, Robles Medina A. and Chisti Y.**, 2003, Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnology Advances*, 20:491–515 pp.
- Molina, E., Contrerasa, A., Garcia F. and Merchuk, J.C.**, 1999, Influence of sparger on energy dissipation, shear rate, and mass transfer to sea water in a concentric-tube airlift bioreactor, *Enzyme and Microbial Technology*, 25:820–830 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Moreas, I.O., Pelizer, L.H., Carvalho, J.C.M. and Sato, S.,** 2002, *Spirulina platensis* growth estimation by pH determination at different cultivation conditions, *Electronic Journal of Biotechnology*, 5:3 pp.
- Morimoto T., Nagatsu A., Murakami N., Sakakibara J., Tokuda H., Nishino H., et al.** 1995, Anti-tumour-promoting glyceroglycolipids from the greenalga, *Chlorella vulgaris*, *Phytochemistry* 40:1433–7 pp.
- Morineau-Thomas, O., Jaouen, P. and Legentilhomme, P.,** 2002, The role of exopolysaccharides in fouling phenomenon during ultrafiltration of microalgae (*Chlorella sp.* and *Porphyridium purpureum*): advantage of a swirling decaying flow. *Bioprocess and Biosystem Engineering*, 25:35–42 pp.
- Morris, H.J., Almarales, A., Carrillo, O. and Bermudez, R.C.,** 2008, Utilization of *Chlorella vulgaris* cell biomass for the production of enzymatic protein hydrolysates. *Bioresource Technology*, 99:7723–7729 pp.
- Mutlu, Y.B., Oya, I., Uslu, L. ve Koç, K.,** 2011, The effects of nitrogen and phosphorus deficiencies and nitrite addition on the lipid content of *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae), *African Journal of Biotechnology*, 10(3):453-456 pp.
- Naik, S.N., Goud, V.V., Rout, P.K. and Dalai, A.K.,** 2010, Production of first and second generation biofuels: a comprehensive review. *Renewable Sustain Energy Reviews*, 14:578–597 pp.
- Northcote, D.H., Goulding, K.J. and Horne, R.W.,** 1958, The chemical composition and structure of the cell wall of *Chlorella pyrenoidosa*. *Biochemical Journal*, 70:391–397 pp.
- Ogawa, T., Aiba, S.,** 1981, Bioenergetic analysis of mixotrophic growth in *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus*, *Biotechnology Bioengineering*, 23:1121–32 pp.
- Ogbonna, J.C., Masui, H. and Tanaka, H.,** 1997, Sequential heterotrophic/autotrophic cultivation- An efficient method of producing *Chlorella* biomass for health food and animal feed, Journal not defined, *Kluwer Academic Publishers*, 9:359–366 pp.
- Oh, H. M., Lee S., Park M.H., Kim H.S., Kim H.C. and Yoon J.H.,** 2001, Harvesting of *Chlorella vulgaris* using a bioflocculant from *Paenibacillus sp.* AM49. *Biotechnology Letters*, 23:1229–1234 pp.
- Olaizola, M.,** 2003, Commercial development of microalgal biotechnology: from test tube to the marketplace, *Biomolecular Engineering*, 20:459-466 pp.
- Olmstead, I.L., Hill, D.R., Dias, D.A., Jayasinghe, N.S., Callahan, D.L., Kentish, S.E. et al.,** 2013, A quantitative analysis of microalgal lipids for optimization of biodiesel and omega-3 production. *Biotechnology and Bioengineering*, 110:2096–2104 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ordog, V.**, 1999, Beneficial effects of microalgae and cyanobacteria in plant/soil-systems, with special regard to their auxin and cytokinin like activity. In: Proceedings of the international workshop and training course on microalgal biology and biotechnology. Mosonmagyaróvár, Hungary, 13–26 pp.
- Öztekin, G.B.**, 2009, Aşılı domates bitkilerinde tuz stresine karşı anaçların etkisi, EÜ Ziraat Fakültesi, 242 s.
- Panahi, Y., Pishgoo, B., Jalalian, H.R., Mohammadi, E., Taghipour, H.R. and Sahebkar, A.**, 2012, Investigation of the effects of *Chlorella vulgaris* as an adjunctive therapy for dyslipidemia: results of a randomised open-label clinical trial. *Nutrition and Dietetics*, 69:13–19 pp.
- Patino, R., Janssen, M. and Von Stockar, U.**, 2007, A study of the growth for the microalga *Chlorella vulgaris* by photobiocalorimetry and other on-line and off-line techniques, *Biotechnology Bioengineering*, 96:757–67 pp.
- Pearson, D.**, 1970, The Chemical Analysis of Food. Auxil, London.
- Pelizer L.H., Danesi E.D.G., Rangel C.O., Sassano C.E.N. and Carvalho J.C.M., Sato S., Pillai, V.N.S. and Divakaran, R.**, 2002, Flocculation of algae using chitosan, *Journal of Applied Phycology*, 14:419-422 pp.
- Phukan, M.M., Chutia, R.S., Konwar, B.K. and Kataki R.**, 2011, Microalgae *Chlorella* as a potential bioenergy feedstock. *Applied Energy*, 88:3307–3312 pp.
- Pirt, S.J., Yuan, K.L., Walach, M.R., Pirt M.W., Balyuzi, H.H.M. and Bazin M.J.**, 1983, A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: design and performance, *Journal Chem. Tech. Biotechnology*, 33:33-58 pp.
- Pribyl, P., Cepak, V. and Zachleder, V.**, 2013, Production of lipids and formation and mobilization of lipid bodies in *Chlorella vulgaris*, *Journal of Applied Phycology*, 25:545–53 pp.
- Pribyl, P., Cepak, V. and Zachleder. V.**, 2012, Production of lipids in 10 strains of *Chlorella* and *Parachlorella*, and enhanced lipid productivity in *Chlorella vulgaris*, *Apply Microbial Biotechnology*, 94:549–61 pp.
- Qiang, H. and Richmond, A.**, 1996, Productivity and photosynthetic efficiency of *Spirulina platensis* as affected by light intensity, algal density and rate of mixing in a flat plate photobioreactor, *Journal of Applied Phycology*, 8:139–45 pp.
- Rausch, T.**, 1981, The estimation of micro-algal protein content and its meaning to the evaluation of algal biomass I. Comparison of methods for extracting protein, *Hydrobiologia*, 78:237-251 pp.
- Richmond, A., Boussiba, S., Vonshak, A. and Kopel, R.**, 1993, A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors, *Journal of Applied Phycology*, 5:327–32 pp.
- Saffan, E.**, 2001, Allelopathic effects of cyanobacterial exudates on some metabolic activities of *Cynara cardunculus* seeds during germination. *Egyptian Journal of Biotechnology*, 157–178 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Safi, C., Charton, M., Pignolet, O., Pontalier, P. Y. and Vaca-Garcia, C.,** 2013, Evaluation of the protein quality of *Porphyridium cruentum*. *Journal of Applied Phycology*, 25:497–501 pp.
- Safi, C., Charton, M., Pignolet, O., Silvestre, F., Vaca-Garcia, C. and Pontalier, P.Y.,** 2013, Influence of microalgae cell wall characteristics on protein extractability and determination of nitrogen-to-protein conversion factors. *Journal of Applied Phycology*, 25:523–529 pp.
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.Y. and Vaca-Garcia, C.,** 2014, Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35:265-278 pp.
- Selvam, G. G., and Sivakumar, K.,** 2014, Influence of seaweed extract as an organic fertilizer on the growth and yield of *Arachis hypogea* L. and their elemental composition using SEM–Energy Dispersive Spectroscopic analysis. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 3(1):18–22 pp.
- Servaites, J.C., Faeth, J.L. and Sidhu, S.S.,** 2012, A dye binding method for measurement of total protein in microalgae. *Analytical Biochemistry*, 421:75–80 pp.
- Sevgican, A.** 1999. Protected Cultivation. Vol. 1. Ege Univ. Fac. Of Agriculture. Publ. No:528. 302 p.
- Seyfabadi, J., Ramezanpour, Z. and Amini Khoeyi, Z.,** 2011, Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes, *Journal of Applied Phycology*, 23:721-726 pp.
- Shaaban, M.,** 2001, Green microalgae water extracts as foliar feeding to wheat plants. *Pakistan Journal of Biology Science*, 4:628–632 pp.
- Singh, J. and Gu, S.,** 2010, Commercialization potential of microalgae for biofuels production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14:2596–2610 pp.
- Sivasankari, S., Venkatesalu, V., Anantharaj, M. and Chandrasekaran, M.,** 2006, Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of *Vigna sinensis*. *Bioresource Technology*, 97(14):1745–1751 pp.
- Slade, R. and Bauen, A.,** 2013, Micro-algae cultivation for biofuels: Cost, energy balance, environmental impacts and future prospects. *Biomass and Bioenergy*, 53:29-38 pp.
- Solomon, E. P., Berg, L.R. and Martin, D.W.,** 1999, Biology 5th ed. Fort Worth: Saunders Collage Publishing.
- Stanghellini, C., Van Meurs W. T. M., Corver, F., Van Dulleman, E. and Simonse, L.,** 1998, Combined effect of climate and concentration of the nutrient solution on a greenhouse tomato crop, II: Yield quantity and quality, *Acta Hort*, 458: 231-237 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Stephenson, A.L., Dennis, J.S., Howe, C.J., Scott, S.A. and Smith, A.G.**, 2009, Influence of nitrogen- limitation regime on the production by *Chlorella vulgaris* of lipids for biodiesel feedstocks. *Biofuels*, 1:47–58 pp.
- Sukatar, A.**, 2002, Alg Kültür Yöntemleri, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 168 s.
- Tanaka K, Konishi F, Himeno K, Taniguchi K and Nomoto K.**, 1984, Augmentation of antitumor resistance by a strain of unicellular green algae, *Chlorella vulgaris*. *Cancer Immunology and Immunotherapy*, 17:90–94 pp.
- Tchorbanov, B. and Bozhkova, M.**, 1988, Enzymatic hydrolysis of cell proteins in green algae *Chlorella* and *Scenedesmus* after extraction with organic solvents, *Enzyme and Microbial Technology*, 10(4):233-238 pp.
- Tokusoglu, Ö. ve Unal, M.K.**, 2003, Biomass nutrient profiles of three microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* and *Isochrysis galbana*. *Journal of Food Science*, 68:1144–1148 pp.
- Torzillo, G., and Vonshak, A.**, 2004, Applied course on production and monitoring of microalgal growth, handbook, 1:32 pp.
- Tüzel, İ. H., Tüzel, Y., Gül, A. ve Eltez, R. Z.**, 2001, Effects of EC level of the nutrient solution on yield and fruit quality of tomatoes. *Acta Hort.* (ISHS) 559:587-592 pp.
- Tüzel, Y., Yağmur, B. and Gümüş, M.**, 2003, Organic tomato production under greenhouse conditions. *Acta Hort* 614:775-780 s.
- Tüzel, Y., Tuncay, Ö., Anaç, D. and Tüzel, İ.H.**, 2001, Effects of different organic fertilizers and irrigation levels on yield and quality of organically grown greenhouse tomatoes. *Organic Agriculture in the Mediterranean Basin* (Ed. by A. Hanafi & L. Kenny). 285-298 s.
- Ursu, A.V., Marcati, A., Sayd, T., Sante-Lhoutellier, V., Djelveh, G. and Michaud, P.**, 2014, Extraction, fractionation and functional properties of proteins from the microalgae *Chlorella vulgaris*, *Bioresource Technology*, 157:134-139 pp.
- Ünlü, H. ve Padem H.**, 2010, Organik Domates Yetiştiriciliğinde Çiftlik Gübresi, Mikrobiyal Gübre ve Bitki Aktivatörü Kullanımının Yaprakların Makro Element İçeriği Üzerine Etkisi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(2):63-73 s.
- Venkataraman LV.**, 1997, *Spirulina platensis* (Arthrospira): physiology, cell Biology and biotechnology. *Journal of Applied Phycology*, 9:295–6 pp.
- Vonshak, A., Torzillo, G., Accolla P. and Tomaselli, L.**, 1996, Light and oxygen stress in *Spirulina platensis* (cyanobacteria) grown outdoors in tubular reactors, *Physiologia Plantarum*, 97:175-179 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wang, L., Min, M., Li, Y., Chen, P. and Chen, Y.,** 2010, Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162(4):1174–1186 pp.
- Widjaja, A., Chien, C.C. and Ju, Y.H.,** 2009, Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*, *Journal Taiwan Institution of Chemical Engineers*, 40:13–20 pp.
- Wu, Z., Zhu, Y., Huang, W., Zhang, C., Li, T., Zhang, Y., et al.,** 2012, Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium, *Bioresource Technology*, 110:496–502 pp.
- Xie, T., Sun, Y., Du, K., Liang, B., Cheng, R. and Zhang, Y.,** 2012, Optimization of heterotrophic cultivation of *Chlorella* sp. for oil production, *Bioresource Technology*, 118:235–242 pp
- Yazıcı, K. ve Kaynak, L.,** 2001. Deniz Yosunlarının Organik Tarımda Kullanım Olanakları. Türkiye 2. Ekolojik Tarım Sempozyumu.
- Yeh K.L. and Chang J.S.,** 2012, Effects of cultivation conditions and media composition on cell growth and lipid productivity of indigenous microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31. *Bioresource Technology*, 105:120–127 pp.
- Yeh, K.L. and Chang, J.S.,** 2011, Nitrogen starvation strategies and photobioreactor design for enhancing lipid content and lipid production of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31: implications for biofuels. *Journal of Biotechnology*, 6:1358–1366 pp.
- Yurtseven, E., Kesmez, G. D. ve Ünlükara, A.,** 2005, The effects of water salinity and potassium levels on yield, fruit quality and water consumption of a native central anatolian tomato species (*Lycopersicon esculantum*). *Agricultural Water Management*, 78:128-135 pp.
- Yvonne, N. and Tomas K.,** 2000, Cell wall development, microfibril and pyrenoid structure in type strains of *Chlorella vulgaris*, *C. kessleri*, *C. sorokiniana* compared with *C. luteoviridis* (Trebouxioophyceae, Chlorophyta), *Arch Hydrobiology*, 100:95–105 pp.
- Zheng, H., Yin, J., Gao, Z., Huang, H., Ji, X. and Dou, C.,** 2011, Disruption of *Chlorella vulgaris* cells for the release of biodiesel-producing lipids: a comparison of grinding, ultrasonication, bead milling, enzymatic lysis, and microwaves. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164(7):1215-1224 pp.

ÖZGEÇMİŞ

27.02.1990'da İstanbul'da doğdu. İlk ve orta öğretimini Esenkent Atatürk İlköğretim okulunda okul birinciliği ile tamamladı. Lise öğrenimini 2008 yılında Büyükşehir Hüseyin Yıldız Anadolu Lisesinde tamamladı. 2008 yılında başladığı Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çevre Biyolojisi Opsiyonundan 2012 yılında mezun oldu. 2012 yılında lisansüstü eğitime, Prof. Dr. Atakan SUKATAR danışmanlığında, Ege Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Hidrobiyoloji A.B.D.'de başlamıştır.

