

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

***DUNALIELLA BARDAWIL*'in FARKLI IŞIK
UZUNLUKLARINDA YETİŞTİRİCİLİĞİ**

Beste SAATMAN

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Semra CİRİK

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 504.04.01

Sunuş Tarihi : 05.01.2012

Bornova-İZMİR

2012

Beste Saatman tarafından Yüksek lisans tezi olarak sunulan “Dunaliella bardawil’in farklı ışık uzunluklarında yetiştiriciliği” 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 05/01/2012 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Semra Cirik

Raportör Üye : Yrd. Doç. Dr. Edis Kuru

Üye :Yrd. Doç. Dr. İlknur Ak

ÖZET***DUNALIELLA BARDAWIL*'in FARKLI IŞIK UZUNLUKLARINDA
YETİŞTİRİCİLİĞİ**

SAATMAN, Beste

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Semra CİRİK

Ocak 2012, 50 sayfa

Mikroalgler pigmentler, vitaminler, karbonhidratlar ve lipitler gibi içerdikleri değerli bileşikler ile ticari değeri çok yüksek olan organizmalardır. Yetiştiriciliklerindeki başarı, başta ışık olmak üzere pH, sıcaklık, nutrient gibi parametrelerin optimum koşullarda tutulması ile sağlanmaktadır.

Bu çalışmada tek hücreli yeşil bir mikroalg türü olan *Dunaliella bardawil*'in, laboratuvar koşullarında farklı ışık uzunluklarına sahip cam panel fotobiyoreaktörlerde yetiştiriciliği yapılmış ve kültürlerin gelişmesi üzerine ışık yoğunluğunun etkisi araştırılmıştır. Denemeler üç farklı ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde (1 cm, 3 cm, 5 cm) eş zamanlı olarak yapılmıştır. En yüksek hücre sayısı ve en yüksek optik yoğunluğa 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde; en yüksek kuru ağırlığa ise 3 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Dunaliella bardawil*, cam panel fotobiyoreaktör, ışık uzunluğu, mikroalg

ABSTRACT

CULTIVATION OF *DUNALIELLA BARDAWIL* IN DIFFERENT LIGHT PATH LENGTHS

SAATMAN, Beste

Master's Thesis, Department of Fisheries Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Semra CİRİK

January 2012, 50 Pages

Microalgae have a great commercial importance due to their components like pigments, vitamins, carbohydrates and lipids. The cultural success depends on optimization of the factors like light, pH, temperature and nutrients.

In this study, *Dunaliella bardawil* a unicellular green microalgae, cultured in different light path lengths in flat plate photobioreactors. Different light densities effects were investigated for each flat plate photobioreactor. Three different flat plate photobioreactors (1 cm, 3 cm, 5cm) used. Highest cell density and highest optical density was obtained from 5 cm light path lenght flat plate photobioreactor; highest dry weight was obtained from 3 cm light path lenght flat plate photobioreactor.

Key words: *Dunaliella bardawil*, flat plate photobioreactor, pathways, microalgae

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımda bana her zaman güvenen ve destek olan, yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen danışman hocam, Prof. Dr. Semra CİRİK'e, laboratuvar tecrübelerini benimle paylaşan, tez çalışmalarım esnasında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Su Ürünleri Yüksek Mühendisi Tuğba SÖNMEZİŞİK'a, tez çalışmama ait verilerin ve grafiklerin düzenlenmesinde yardımlarını gördüğüm Su Ürünleri Mühendisi Gamze AYDOĞAN'a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu zorlu aşamada da maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman bana inanan, güvenen ailem; annem Mine SAATMAN, babam Oktay SAATMAN'a teşekkür ederim.

Bu çalışma BAP projesi kapsamında desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	2
2.1 Mikroalgler ve Kullanım Alanları	2
2.2 Dunaliella Türlerinin Sistematigi ve Biyolojisi	2
2.3 Dunaliella Türlerinin Dağılımı ve Ekolojisi	4
2.4 Dunaliella Türlerinin Gelişiminde Gerekli Besin Tuzları	5
2.4.1 Karbon	5
2.4.2 Azot.....	6
2.4.3 Fosfor	7
2.4.4 Magnezyum ve kalsiyum	7
2.4.5 Sodyum	7
2.4.6 Klor ve Sülfat.....	7
2.4.7 Demir	8
2.4.8 İz Elementler	8
2.4.9 Vitaminler	8
2.5 Dunaliella Türlerinin Kültür Koşulları	8
2.5.1 Işık	8
2.5.2 Sıcaklık	9
2.5.3 pH	9

İÇİNDEKİLER (devam)

	Sayfa
2.5.4 Predatör türlerin kontrolü.....	9
2.6 Dunaliella Türlerinde Yetiştiricilik Çalışmaları.....	10
2.6.1 Dunaliella türlerinin yetiştiriciliğinde ışığın önemi.....	10
2.7 Dunaliella Türlerinde Karotenoid İndüksiyonu	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15
3.1 Denemede kullanılacak Dunaliella bardawil'in katı agar ortamından sıvı ortama ekimi.....	15
3.2 Kültür Koşulları Ve Deneme Planı	15
3.2.1 Laboratuvar kültür koşulları.....	15
3.2.2 Cam panel fotobiyoreaktörler.....	17
3.3 Deneme Süresince Günlük Olarak Yapılan Ölçümler	18
3.3.1 Hücre sayımı	18
3.3.2 Optik yoğunluk ölçümü.....	18
3.3.3 ph ve oksijen ölçümü.....	19
3.3.4 Kuru ağırlık ölçümü	19
4. BULGULAR.....	21
4.1 Hücre Sayısı	21
4.2 Optik Yoğunluk.....	22
4.3 pH Değerleri.....	23
4.4 Oksijen Değerleri	23
4.5 Kuru Ağırlık	24
5 SONUÇ VE TARTIŞMA	25
KAYNAKLAR DİZİNİ	29

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Dunaliella bardawil'in genel görünüşü	3
2.2. 9-cis ve all-trans β -karoten	13
3.1. Hassas terazi.....	17
3.2. Dunaliella bardawil Teodoresco, Deneme Gruplar	17
3.3. Işık Mikroskobu	18
3.4. Spektrofotometre.....	19
3.5. Desikatör	20

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Modifiye Edilmiş Johnson Ortamı	16
3.2. Modifiye Edilmiş Johnson Ortamında Kullanılan İz Metal Solüsyonu	16
4.1 Dunaliella bardawil'in 1, 3, 5 cm ışık yolu uzunluğundaki fotobiyoreaktörlerdeki hücre sayısı	21
4.2 Dunaliella bardawil'in 1, 3, 5 cm ışık yolu uzunluğundaki fotobiyoreaktörlerdeki optik yoğunluk değerleri	23
4.3 Dunaliella bardawil'in 1, 3, 5 cm ışık yolu uzunluğundaki fotobiyoreaktörlerdeki oksijen değerleri	24
4.4 Dunaliella bardawil'in 1, 3, 5 cm ışık yolu uzunluğundaki fotobiyoreaktörlerdeki kuru ağırlık değerleri.....	24

1. GİRİŞ

Mikroalgler içerdikleri pek çok önemli metabolit ile büyük bir ticari öneme sahiptirler. Mikroalgal biyoteknolojideki çalışmalar geçtiğimiz yüzyılın ortalarında başlamıştır. Dünyada 30.000'in üzerinde mikroalg çeşidi olduğu tahmin edilmektedir ancak bunlardan sadece yaklaşık 100 tanesi üzerinde akademik çalışma yapılabilmektedir (Sukatar, 2002).

Günümüzde mikroalgler için sayısız ticari uygulamalar yapılmaktadır. Kimyasal kompozisyonları ile gıdalarda ve hayvansal yemlerde besinsel değeri arttırmada, akuakültürde larval aşamada gelişimi arttırmada ve kozmetik ürünlerde kullanılmaktadır ve son zamanlarda anti kanserojen etkisi ile ön plana çıkmaktadır. Mikroalglerin sahip olduğu geniş çeşitlilik ve son dönemde genetik ve metabolizma mühendisliğindeki gelişmelerle mikroalgler, çok değerli bir kaynak oluşturmaktadır.

Yeşil alglerden *Dunaliella* türleri ülkemizde başlıca tuz gölleri ve tuzlalarda dağılım göstermektedir. *Dunaliella* genusundan *Dunaliella salina* önemli bir doğal β -karoten kaynağıdır β -karotenin tahmin edilen pazar miktarı 10-100 ton/yıl'dır ve fiyatı 750 Euro/kg'dan fazladır (Pulz, 2001). β -karoten gıda endüstrisinde, eczacılık, kozmetik, tıp alanlarında ve biyomedikal araştırmalarda kullanılmaktadır (Bosma and Wijffels, 2003).

Bu çalışmada yeşil alglerden *Dunaliella bardawil*'in farklı ışık yolu uzunluklarına sahip cam panel fotobiyoreaktörlerdeki yetiştiriciliğinin hücre sayısı, optik yoğunluk ve kuru ağırlık üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Mikroalgler ve Kullanım Alanları

Mikroalgler, fotosentez ile kara bitkilerinde olduğu gibi organik maddeleri sentezlerler. Mikroalglerin sentezlediği bu organik biyomoleküllerin bağlarındaki kimyasal enerji, besin zincirinin başlangıcını oluşturur. Böylece hem akuatik ortamdaki biyomas üretimine katkıda bulunurlar hem de nutrient döngüsünde rol oynarlar. Akuatik ortamda besin zincirinin daha üst halkalarında bulunan canlılar tarafından tüketilen besinleri bu hücreler sağlar ve yüzey sularındaki organik üretim bu türlerin yaptığı fotosentez ile başlatılır (Fung, Wong and Chen, 2004).

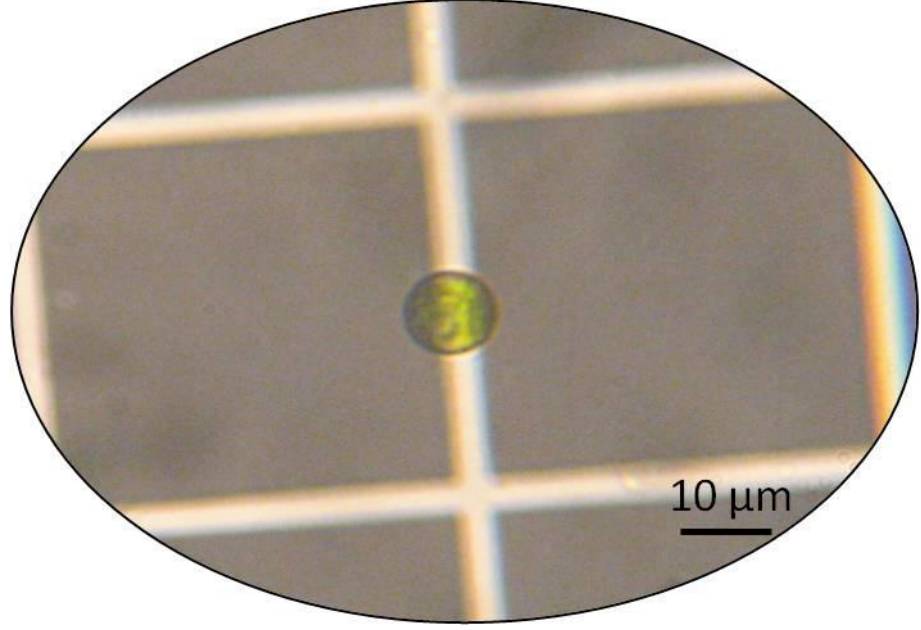
Mikroalglerden elde edilen β -karoten pigmenti insan vücudunda A vitaminine dönüşür. Epidemiyolojik çalışmalar, A vitamininin besinler ile yüksek miktarda alınımının kanser riskini azalttığını belirtmektedir (Peto et al., 1981).

Mavi yeşil alglerden elde edilen fikosiyanın pigmenti genel olarak immun sistemi desteklemektedir ve çeşitli hastalıklardan korunmayı sağlamaktadır (İijima et al., 1982).

Kabuklu yetiştiriciliğinde büyük miktarlarda doğal fitoplanktona gereksinim duyulmaktadır. Daha verimli bir üretim için kıyıda kurulan sistemlerde planktonca zenginleştirilmiş deniz suyunu pompalamak gerekmektedir (Gökpınar, 1994). Ekstantif, intensif ve semi intensif akuakültür sistemlerinde larval beslemede algler kullanılmaktadır. Alglerle beslenmiş zooplanktonun beslemede kullanılması larvaların daha sağlıklı gelişmesini sağlamaktadır.

2.2 Dunaliella Türlerinin Sistematığı ve Biyolojisi

Bölüm	: Chlorophyta
Sınıf	: Chlorophyceae
Takım	: Volvocales
Aile	: Dunaliellaceae
Cins	: <i>Dunaliella</i>



Şekil.2.1. *Dunaliella bardawil*'in genel görünüşü (Orijinal)

Dunaliella spp., (Bkz. Şekil 2.1) Volvocales ordosunda bulunan tek hücreli, fotosentetik, yeşil mikroalglerdir. Hücrelerin boyu 5-25 μm , genişliği 3-13 μm arasındadır. Hücreler, genellikle nişasta granülleriyle çevrilmiş merkezi pirenoide sahip fincan şekilli bir kloroplast içermektedirler (Ben-Amotz, 1980). Tüm yeşil alglerde ortak olan nükleus, mitokondri, vakuol, golgi aygıtı gibi organelleri bulunmaktadır (Ben-Amotz and Avron, 1989).

Boyuna bölünmelerle çoğalırlar. Hücreler bölünmeden önce organizmanın hacmi artar, kamçıların sayısı 2 katına çıkar ve hücreler bölünür. Ortam şartlarının değişmesi, tuzluluğun düşmesi veya ortamın kuruması gibi durumlarda aplonospore (kist) formunda bulunabilirler. *Dunaliella* türlerinde eşeyli üreme izogami ile konjugasyon yoluyla gerçekleşir. Zigot, yeşil veya kırmızı renkte kalın ve yumuşak hücre duvarı ile çevrilidir. Dinlenme safhasından sonra zigotun hücre duvarı patlayarak 2, 4, 8 veya 16 kardeş hücre salınır (Borowitzka and Siva, 2007).

Hücreler, sadece elastik bir plazma membranı ile çevrilmiştir, hipertonic veya hipotonik ortama maruz kaldıkları zaman hızlı şekilde şişmekte veya büzülmemektedirler. Bu durum hücre şeklinin değişmesinde ve ozmotik değişimlere uymada bir avantaj sağlamaktadır. Böylece bu türün yaşamını sürdürdüğü

tuzlalarda, hücre dışı ozmotik basınca karşı hücre içindeki gliserol konsantrasyonunu arttırarak osmoregulasyon sağlamaktadır (Avron, 1992; Shariati and Lilley, 1994).

Dunaliella salina bilinen en iyi doğal β -karoten kaynağıdır (Ben-Amotz, 1980). Kuru ağırlığının %14'ü kadar β -karoteni hücrelerinde biriktirebilmektedirler (Aasen et al., 1969). Kültür yüksek ışık, yüksek sıcaklık, yüksek tuzluluk gibi stres koşullarında yetiştirildiği zaman klorofilde oluşacak zararları önlemek için β -karoteni damlacıklar halinde kloroplastlarında biriktirirler. Aynı zamanda alfa karoten, violaksantin, neoksantin, zeaksantin ve lutein gibi değerli karotenoidler içermektedirler.

2.3 *Dunaliella* Türlerinin Dağılımı ve Ekolojisi

Dunaliella türleri, çeşitli çevresel faktörlere uyum sağlayabildiği için geniş bir yayılma alanına sahiptirler. Yüksek tuzluluk ortamlarında baskın tür olarak bulunabilmesi ile tuz gölleri ve dünyadaki tuz çalışmalarında bulunan buharlaşma gölcüklerindeki ilk üreticiler olarak yer almaktadırlar. Antartika'da bulunan çok tuzlu göllerde de bulunduğu bilinmektedir (Campell, 1978). *D. salina* en halofilik tür olarak bilinmektedir. ‰ 5'ten ‰ 300'e kadar olan tuzluluk aralıklarında yaşamını sürdürebilmektedir. (Borowitzka and Borowitzka, 1992).

D. bardawil, tuzluluğu ‰ 200 üzeri olan sularda baskın durumdadır. 45°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda buharlaşmanın çok olduğu ortamlarda daha sık görülebilmektedir. Aynı zamanda pH'ı 8 üzerindeki ortamlarda bulunabilmektedir.

Dunaliella türlerinin -35°C ile 40 °C arasındaki ortamlarda yaşamlarını sürdürebildiği bilinmektedir. *D. salina*'nın fotosentetik aktivitesini -8°C'ye kadar sürdürdüğü bildirilmiştir (Borowitzka and Borowitzka, 1992).

2.4 *Dunaliella* Türlerinin Gelişiminde Gerekli Besin Tuzları

Dunaliella türlerinin gelişimi için birçok inorganik maddenin gerekli olduğu bilinmektedir. Bu konuda pek çok araştırma yapılmıştır (Borowitzka and Borowitzka, 1988). *Dunaliella* türlerinin çoğalması ve gelişmesi için gerekli olan maddeler aşağıda belirtilmiştir.

2.4.1 Karbon

Dunaliella türlerinin hepsinde fotosentez için birincil olarak kullanılan inorganik karbon kaynağı CO₂'dir. Yapılan araştırmalar *Dunaliella* türlerinin çoğunun hem CO₂'yi hem de HCO₃'ü inorganik karbon kaynağı olarak kullandığı tespit edilmiştir. CO₂ alımı tatlı su türleri için problem değil iken denizel veya halofilik türlerde problem oluşturabilmektedir. Çünkü bu tür sulara CO₂ konsantrasyonu çok düşüktür. İnorganik karbon verimliliği *D.salina* gibi halofilik türler için muhtemelen sınırlayıcı bir etken olmaktadır. Eğer ortamda tuz oranı ve sıcaklık çok yüksekse karbon çözünürlüğü azalmaktadır. *D. salina* yüksek tuzluluk ve pH durumunda karbon kaynağı olarak CO₃'ü kullanmaktadır.

D.salina düşük CO₂ içeren ortamlara adaptasyon sağlayabilir. Böyle ortamlarda yetişen hücrelerin yüzeyinde karbonik anhidraz düzeyi ve intrasellüler karbonik anhidraz aktivitesi artmaktadır.

Dunaliella türlerinin kültür ortamına inorganik karbon kaynağı takviyesi ile gelişim teşvik edilmektedir. Üfleterek ortama hava verildiğinde CO₂'nin teşvik edici etkisi görülür. Bu olay pH'ı düşürerek besiyerindeki CO₂ konsantrasyonunu artırır. Bazı *Dunaliella* türlerinde inorganik karbon takviyesi, yüksek ışığa ve yüksek sıcaklığa olan toleranslarını arttırmaktadır (Becker, 1994; Borowitzka and Borowitzka, 1988).

Uygun inorganik karbon kaynağı olmaması en bilinen büyüme kısıtlayıcı faktördür (Borowitzka and Borowitzka, 1989). Alternatif olarak, pH'ın 7.5-9.5 olduğu durumlarda iyi bir gelişim için 10 mmol l⁻¹ NaHCO₃ karbon kaynağı

olarak kullanılabilir. pH'ın 11 e kadar çıktığı durumlarda algin gelişimi daha iyi olacaktır, ancak yüksek pH değerlerinde çözülebilir karbondioksit kullanımı kısıtlanır, bu nedenle başlangıçta daha yüksek bikarbonat konsantrasyonu sağlanmalıdır (Ben-Amotz and Avron, 1989). Farklı bir yaklaşım olarak; biyoreaktöre günlük 5 mmol l⁻¹ NaHCO₃ eklenmesi ile karbon kaynağı sağlanabileceği belirtilmiştir (Hejazi et al., 2003).

2.4.2 Azot

Dunaliella türleri için en iyi azot kaynağının NaNO₃ olduğu bilinmektedir (Borowitzka and Borowitzka, 1988). Nitrit ve nitratın hücre tarafından alınması için ışık ve tampon sistem gereklidir (Borowitzka and Borowitzka, 1988). Diğer amonyum tuzları örneğin; amonyum asetat, amonyum nitrat, amonyum sitrat ve amonyum klorid genel olarak daha düşük azot kaynakları olarak bilinmektedir. Bunların yüksek konsantrasyonlarda (>2,5 M) bulunması letal etki yapmaktadır. Nitrit ve nitratın hücreler tarafından alınması ortamın alkalizasyonuna sebep olurken, besi ortamına amonyum eklenmesi ise asidifikasyona sebep olmaktadır. Tamponlanma yapılmamış sistemlerde ortam pH'ının kendi kendine değişmesi, alg büyümesini önemli oranda etkilemektedir (Becker, 1994).

Organik azot kaynaklarından olan üre ve glutamin ise, inorganik azot kaynakları kadar etkili değildir. Laboratuvarında yapılan denemeler sonucunda en iyi organik azot vericisinin üre olduğu belirlenmiştir (Borowitzka and Borowitzka, 1988). Açık havada yapılan *Dunaliella* sp. kültürlerinde ürenin azot kaynağı olarak kullanılmasıyla yüksek biyomas elde edildiği bildirilmiştir. *D. tertiolecta*'nın gelişmesi için, azot kısıtlaması sabit tutulan uzun süreli kültürlerde nitrat, amonyum ve ürenin aynı miktarda kullanıldığı ve her üçüyle de elde edilen verimin aynı olduğu belirlenmiştir (Borowitzka and Borowitzka, 1988).

2.4.3 Fosfor

D.salina ve *D.viridis*'in gelişmesi için gerekli olan optimum fosfat konsantrasyonu yaklaşık olarak 0,02 - 0,025 g l⁻¹ K₂HPO₄'tür (Borowitzka and Borowitzka, 1988; Gibor, 1956). Yüksek fosfat konsantrasyonu ise gelişmeyi inhibe etmektedir (>5 g l⁻¹). Eğer *D.tertiolecta*'nın gelişme ortamına fosfat yerine gliserofosfat eklenirse gelişme belirgin bir şekilde azalmaktadır (Borowitzka and Borowitzka, 1988).

2.4.4 Magnezyum ve kalsiyum

Dunaliella türleri büyümeleri için magnezyum ve kalsiyuma ihtiyaç duyarlar. Bu katyonları doğal tuzlardan ve yüksek tuzluluktaki sulardan karşılarlar (McLachlon, 1960). *D. tertiolecta* için optimum Ca⁺⁺ : Mg⁺⁺ oranı 4'tür ve yüksek Mg⁺⁺ konsantrasyonlarında büyüme kısıtlanır (Becker, 1994; Borowitzka and Borowitzka, 1988).

2.4.5 Sodyum

Dunaliella türlerinde yapılan araştırmalarda gelişim için sodyuma ihtiyaç duydukları belirlenmiştir (Becker, 1994). *D.primolecta* ve *D.tertiolecta* türlerinin gelişme ortamına NaCl yerine MgSO₄ eklenmesi gelişim için bir engel teşkil etmemiştir (Borowitzka and Borowitzka, 1988). Ortama MgCl₂ veya LiCl gibi tuzlar eklendiğinde fotosentezin devam ettiği ancak büyümenin durduğu gözlemlenmiştir.

2.4.6 Klor ve sülfat

Dunaliella türlerinin gelişiminde anyonların kullanılması üzerine bilinen bilgilerin az olmasına rağmen *D.salina*'da klor ve sülfat eksikliğinde gelişmenin engellendiği gözlemlenmiştir (Massyuk, 1965). Kültür ortamına SO₄⁻² yerine Cl⁻ eklenmesiyle β-karoten birikimi teşvik edilebilmektedir.

2.4.7 Demir

Dunaliella türlerinin gelişimi için demirin düşük konsantrasyonlarda bulunması gerekmektedir. Tuzla doymuş bazı ortamlarda demir sınırlayıcı etkiye neden olabilir. *D.salina* ve *D.viridis* için gerekli optimum demir konsantrasyonu 1,25-3,75 mg l⁻¹'dir. Yüksek demir konsantrasyonları büyümeyi engeller. Besiyerine Na-EDTA eklenmesi demirin hücre tarafından alınmasını sağlamaktadır (Borowitzka and Borowitzka, 1988).

2.4.8 İz Elementler

Dunaliella türlerinde ortamlara Zn, Cu, Mo ve V gibi birçok izelement eklense de bunların gerekliliği hakkında kesin bir bilgi mevcut değildir. Yapılan bir araştırmada *D.tertiolecta*'nın büyümesi için gerekli olan optimum Mn konsantrasyonu 0,1-0,5 ppm olarak belirlenmiştir. Bunun altındaki değerler büyümeyi kısıtlayıcı etkiye neden olmaktadır. 10 ppm üstündeki değerler ise toksik etki yapmaktadır (Borowitzka and Borowitzka, 1988).

2.4.9 Vitaminler

Dunaliella türleri ve birçok alg türünün gelişmesi için vitamine gerek olmadığı bildirilmiştir (Borowitzka and Borowitzka, 1988; Gibor, 1956; McLachlan, 1959).

2.5 *Dunaliella* Türlerinin Kültür Koşulları

2.5.1 Işık

Dunaliella türleri zorunlu fototrof olduğu için ışık birincil enerji kaynağıdır (Borowitzka and Borowitzka, 1989). Büyüme ve karotenoid sentezi, ışığın niteliği ve niceliğine göre değişim gösterir. Karotenoid indüksiyonu dalgaboyundan bağımsız olsa da ışığın yoğunluğuyla direk olarak alakalıdır. (Ben-Amotz and Avron, 1989). Jahnke (1999) bir çalışmada, *D.bardawil*'de UV-B'nin aksine

UV-A radyasyonunun hücrelerde büyümeyi yavaşlatmadan yüksek miktarda karoten birikimi yapılmasını sağladığını göstermiştir.

2.5.2 Sıcaklık

Dunaliella türleri 0-45°C gibi çok geniş sıcaklık aralıklarında yaşamını sürdürebilir. Optimum sıcaklık 25-35°C'dir (Ben-Amotz, 1995). Teknik yetersizliklerden dolayı açık havuzlarda sıcaklık kontrol edilemez. Düşük sıcaklıklar büyüme oranını düşürür ve hücre verimini azaltır. Diğer yandan 40°C civarındaki sıcaklıklar karoten indüksiyonunu artırır ancak aynı zamanda büyüme oranını yavaşlatır (Borowitzka and Borowitzka, 1987).

2.5.3 pH

Dunaliella türleri 0-11 gibi çok geniş pH aralıklarında yaşayabilmektedir. *D.salina* için optimum pH 9-11 aralığıdır.

İntensif açık havuzlarda CO₂ gazı ve HCl ilavesi ile pH genellikle 7.5 civarında tutulur. CO₂ gazı düzenli olarak, HCl ara sıra pH üst limite ulaştığı zaman ilave edilir (Ben-Amotz, 1995). İnorganik karbonun ana kaynağının bikarbonat iyonu olduğu bazı açık havuzlarda ve fotobiyoreaktörlerde, pH sadece HCl ilavesi ile kontrol altında tutulur.

2.5.4 Predatör Türlerin Kontrolü

Dunaliella türlerinin yetiştirildiği yüksek tuzluluk değerlerinde sadece bazı siliat, amoebea, bakteri türleri ve *Artemia salina* gibi birkaç halofilik ve halotolerant mikroorganizmanın yaşayabildiği bilinmektedir (Post et al., 1983; Butinar et al., 2005). 38 °C üzerindeki sıcaklıklarda, bazı amoebea ve zooplankton siliat türleri *Dunaliella* türleri için tehlikeli predatörlerdir (Ben-Amotz and Avron, 1989). Örneğin, taksonomik olarak tanımlanamayan bir siliat predatöre İspanya ve Portekiz'deki açık havuzlarda rastlanmıştır ve *Dunaliella sp.*'ye göre çok yüksek üreme hızına sahip olduğu belirlenmiştir (Moreno-Garrido and Canavate, 2001).

Böyle bir predatör birkaç gün içinde *Dunaliella* hücrelerinin sayısında ciddi bir azalmaya neden olabilir. Siliatları öldürmek için kimyasal karışımlar elde etmek mümkündür ancak bu gibi karışımlar algde toksik etkiye neden olabilmektedir. Moreno-Garrido and Canavate (2001), formaldehit, amonyak, hidrojen peroksit ve metronidazol gibi karışımların aksine 10 mg l⁻¹ kinin sülfatın siliatları yok ettiğini ve aynı zamanda alg hücrelerinin büyümeye devam ettiklerini bildirmişlerdir.

2.6 *Dunaliella* Türlerinde Yetiştiricilik Çalışmaları

Açık havuzlarda *Dunaliella* yetiştiriciliğinde kontaminasyon riskinin diğer türlere göre oldukça az olduğu bilinmektedir. Yüksek tuz konsantrasyonu birkaç halotolerant, halofilik bakteri, *Artemia salina* ve bazı mantar türleri dışında organizmaların yaşamalarını engellemektedir.

Fotobiyoreaktörlerde yetiştiricilik açık havuzlara oranla daha temiz ve verimli biyomas eldesini ve karotenoid konsantrasyonunun yüksek olmasını sağlamaktadır (Tafreshi and Shariati, 2007).

Açık havuzlarda yetiştiricilikte verimliliği etkileyen faktörlerin karıştırma oranı ve kültürün derinliği olduğu bilinmektedir. Kültürün derinliği 6 cm'i geçtiğinde alt kolonda kalan hücrelerde gölgeleme olduğu için büyüme kısıtlanmaktadır.

Dunaliella ticari üretimi günümüzde β -karoten ve gliserol içeriğinden dolayı özel üretim havuzlarının yanında, doğal açık lagüner alanlarda da yapılmaktadır. *Dunaliella* türlerinden β -karoten üretiminde Avustralya, ABD, İsrail, Çin ve İspanya ilk sırada gelmektedir (Tafreshi and Shariati, 2007).

2.6.1 *Dunaliella* türlerinin yetiştiriciliğinde ışığın önemi

Alg kültürlerinde ışık yoğunluğuna karşı fotosentez hızı doğrusal bir şekilde artar. Bu artış doymuş ışık yoğunluğunda bir platoya ulaşır. Yüksek ışık yoğunlukları fotosentezi inhibe eder, düşük ışık yoğunluğu ve süresi kültürlerin verimliliği açısından önemlidir. Başlangıçta ışık yoğunluğuna paralel şekilde artan

organik üretim, kültürün daha ileri safhalarında sınırlayıcı bir faktör olarak ortaya çıkar (Guillard, 1972). Bu sınırlayıcı etki, ortamdaki hücre konsantrasyonunun bir sonucu olarak hücrelerin birbirini gölgelemesi ve ışığa doymun hale gelen hücrelerin daha fazla ışık enerjisi kullanmaması nedeniyle ortaya çıkar. (Cirik ve Gökpinar, 2005; Borowitzka, 1988) Pratik uygulamalarda direk güneş ışığı, alg kültürleri için inhibe edici etki yapar.

Kültür uygulamaları suni aydınlatma kaynaklarıyla yürütülecekse, bunların güneş ışığına eşdeğer kaynaklar olmasına dikkat edilmelidir. Bu işlem için genellikle floresan lambalar (daylight veya cool-white) kullanılır. Farklı tipteki bu floresan lambaların verdiği ışık şiddeti de farklıdır. Bunların hesaplanıp, uygun ışık kaynaklarının seçilmesi gerekir (Kroon and Dijkman, 1996).

Farklı tipteki floresan lambaların dönüşüm katsayıları şu şekilde hesaplanmaktadır:

Floresan Çeşidi	Katsayı
Cool-white	C=0.30
Day Light	C=0.34
Gro-lux	C=0.90

Formülü: $\text{Lux} \cdot C = \text{mW/cm}^2$

Genel olarak 1000 lux ışık yoğunluğu stok kültürler için yeterli olurken, yüksek bir üretim için 3500-5000 lux ışık yoğunluğu gerekir.

Dunaliella türlerinde β -karoten kloroplasttaki intertilakoid alanlarda bulunan yağlı globüller içinde birirmektedir ve yapısal olarak başlıca iki stereo izomerden meydana gelmektedir. Bunlar 9-cis ve all-trans β -karotendir (Ben Amotz et al., 1982). Işık düzeyi ve büyüme stresi β -karoten içeriğini ve 9 cis/all-trans β -karoten oranını etkilemektedir. β -karoten birikimi büyümeyi kısıtlayıcı koşullarda yüksek ışığa bağlı hasara karşı muhtemel bir korunma stratejisi olarak görülmektedir. Stres faktörlerine maruz kalan mikroalglerde (örn: yüksek ışık),

trigliseridler ve karotenlerde oluşan plastidin içinde ve dışında lipit cisimcikleri biriktirilmektedir (Kivic and Veski, 1972; Roesser, 1990; Vechtel ve ark., 1992).

2.6.1.1 Cam panel fotobiyoreaktörler

İlk ince panel reaktör tasarımı 50 yıl önce yapılmıştır (Burlew, 1953). Samon and Leduy ince dik yarı saydam ve her iki taraftan aydınlatmalı ve havalandırılmalı tasarımı yapmışlardır. Tredici and Materassi (1992) bu tasarımları geliştirmişlerdir. Tredici et al., (1991) ve Tredici and Materassi (1992) fotobiyoreaktörleri sabit bir sistem haline getirmişlerdir. Yere açılı yapacak şekilde tasarımını yapmışlardır. Hu et al., (1996) ve Hu and Richmond (1996) bu reaktör tasarımına cam malzemeyi getirmişlerdir. Ayrıca bu reaktörleri birleştirerek büyük sistemler haline getirmişlerdir.

Pulz et al., (1995) yatay ince reaktör tasarlamışlardır. Bu reaktörde sirkülasyon, pompalar vasıtasıyla yapılmıştır. Bu reaktörleri birleştirerek 6 m²'lik kültür ortamı 100 m²'ye çıkartılmıştır. Fakat bu sistem aydınlatma ve sıcaklık bakımından uygun olmamıştır. Hu et al., (1996) yaptıkları çalışmada; açık havuzlara göre bu sistemde aydınlatmanın kolay olması ve yüksek aydınlatma ile alansal ve hacimsel çıkış hızında bir artışın olacağını bildirmişlerdir. Ayrıca sıcaklık kontrolünün yapılabilmesi ile kolaylıkla optimal sıcaklıkta tutulması, havalandırma yardımıyla istenilen türbülansın sağlanması optimum hücre yoğunluğunda ve biyomas çıkış hızında da bir artış sağladığını gözlemişlerdir.

İnce cam panel reaktörlerin avantajlarını şu şekilde sıralayabiliriz:

- Işık girişinin kolay olması ve yüzeylerin tamamen aydınlatılabilmesi kolaydır. Ayrıca yüksek kültür yoğunluklarında da gölgelemenin düzenli bir şekilde oluşturulabilmesi fotosentez için çok etkilidir.

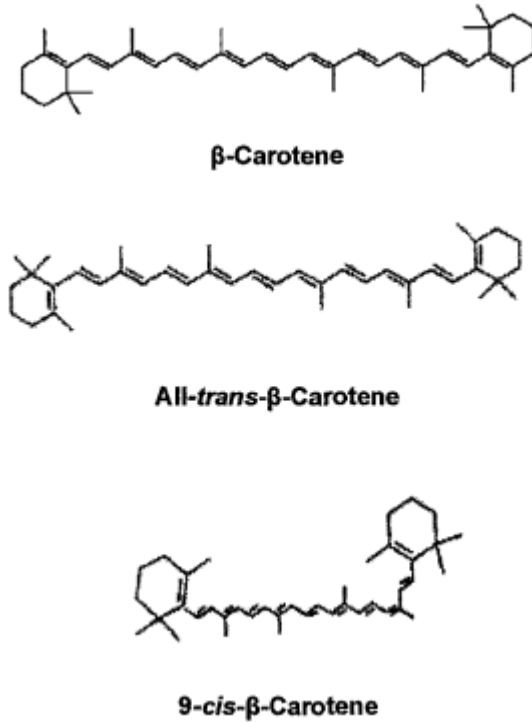
- İnce panel reaktörlerin, diğer kapalı sistemlere göre temizlenmesi ve sterilizasyonu daha kolaydır.

- Havalandırma işlemi kolay olup havalandırma yardımıyla karışım sağlanabilmektedir.

- Kontaminantlardan daha az etkilenmektedirler.
- Maliyetleri diğer kapalı sistemlere göre daha düşüktür (Richmond et al., 2000).

2.7 *Dunaliella* Türlerinde Karotenoid İndüksiyonu

Dunaliella türleri yüksek ışığın zararlarından hücrelerinde β -karoten birikimi yaparak korunur (Ben-Amotz et al., 1987; Ben-Amotz, 1993). *Dunaliella* türlerinin içerdiği β -karoten, cis-9 ve all-trans izomerlerin birleşiminden oluşur (Bkz Şekil 2.2). Bu izomerler 9-cis (%41), all-trans (%42), 15-cis (%10) ve diğer izomerler (%6) olarak hücrede bulunmaktadır (Borowitzka and Borowitzka, 1989). All-trans izomerler yağda çözünmez ve kristalize olması kolaydır. All-trans izomerin aksine 9-cis izomer ise yağda çözünür ve kristalize olması daha zordur.



Şekil.2.2. 9-cis ve all-trans β -karoten (http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/gm000276_A.pdf)

Dunaliella türlerinde β -karoten içeriğini maksimum düzeye çıkarabilmek için günümüze kadar pek çok çalışma yapılmıştır (Borowitzka and Borowitzka, 1990; Ben-Amotz 1995; Garcia-Gonzalez et al. 2003). Bu çalışmalarda genellikle

yüksek tuzluluk, düşük nütrient ve yüksek sıcaklıklar denenmiştir. En iyi β -karoten birikimi hücrede strese neden olup, büyümenin kısıtlanması ve hücrenin bir bölünme evresinde en yüksek oranda ışığı absorbe etmesiyle sağlanmıştır. Bu koşulların, kültürdeki hücre sayısında azalmalara neden olsa da hücre hacminde artış sağladığı bilinmektedir. Ben-Amotz and Avron (1983), *D. bardawil*'de, karotenogenez üzerine tuzluluk ve ışığın birlikte sinerjistik bir etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Buna karşın uzun süreli nütrient eksikliğinin kültürün ölümüne neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Bir grup araştırmacı ışık ve tuzluluğu ayarlamanın β -karoten üretimi için en önemli strateji olduğunu ileri sürmüşlerdir (Marin et al., 1998). Buna ek olarak tuzluluğun yükseltilmesinin kontaminasyon riskini azalttığı belirlenmiştir (Borowitzka and Borowitzka 1990). Buna karşılık bazı araştırmacılar tuzluluğun, hücre başına düşen β -karoten birikiminde bir etkisi olmadığını ileri sürmüşlerdir (Gomez et al. 2003). Chen and Chi (1981) çift aşamalı bir *Dunaliella* kültür metodu olan hücrelerin, önce zengin nütrient içeren ortamda %18 tuzlulukta yetiştirilip ondan sonra 2. aşama olan %27 tuzlulukta düşük nütrient içeren karoten indüksiyonu ortamına alınması fikrini önermişlerdir. Borowitzka and Borowitzka, (1990) bu yöntemin uygun olmadığını, çünkü ilk aşamadaki düşük tuzluluk konsantrasyonun kontaminasyon riskini arttıracak ve *Dunaliella* algal biyomasında hızlı bir düşüşe neden olacağını iddia etmişlerdir.

Biyoteknolojik bakış açısından 9-cis izomer/all-trans izomer oranını arttırmak ilgi çekici bir konudur, çünkü 9-cis izomerin, all-trans izomere göre daha iyi bir antioksidan ve kanser önleyici olduğu bilinmektedir (Chidambara Murthy et al., 2005). 9-cis izomer sentezini tetikleyen durumlar hakkındaki bilgiler tartışmalı olmakla beraber *D.bardawil* ile yapılan çalışmalar yüksek ışık koşullarının 9-cis izomer içeriğini arttırdığını göstermiştir (Ben-Amotz et al., 1988). Buna karşılık başka araştırmacılar ışık yoğunluğunu azaltmanın, yükseltmekten daha fazla 9-cis/all-trans izomer oranını arttırabileceğini öne sürmüşlerdir (Orset and Young, 2000).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada, *Dunaliella bardawil* (LB2538 UTEX) mikroalg türü kullanılmış olup, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Urla Yerleşkesinde bulunan alg kültür odasındaki stok kültür dolabından temin edilmiştir.

3.1 Denemede Kullanılacak *Dunaliella bardawil*'in Katı Agar Ortamından Sıvı Ortama Ekimi

10 ml'lik deney tüplerine 8 ml sıvı besin ortamı konup ekim yapılmıştır ve üremeleri için iki hafta boyunca kültüre alınmıştır. Tüpler, haftada iki defa vortex (Heidolph, reax top model, vorteks) yardımıyla karıştırılıp, dibe çökmesi engellenmiştir. Üretim periyodunun sonuna algler çöktürülmüş ve besin ortamından izole edilmişlerdir. Bu şekilde denemenin yapılacağı besin ortamına ekilmişlerdir.

3.2 Kültür Koşulları Ve Deneme Planı

3.2.1 Laboratuvar kültür koşulları

Denemeler Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Urla Yerleşkesinde bulunan Plankton Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Dunaliella bardawil çalışmaları süresinde kültür sıcaklığı 21°C olacak şekilde sabit tutulmuştur. Aydınlatma, floresan lambalar ile sağlanmıştır. Işık şiddetinin 1700-1800 lux olduğu ışıkölçer (DT-1309 CEM) ile tespit edilmiştir. Denemede besin ortamı olarak Modifiye Johnson ortamı (Bkz. Çizelge.3.1.) kullanılmıştır.

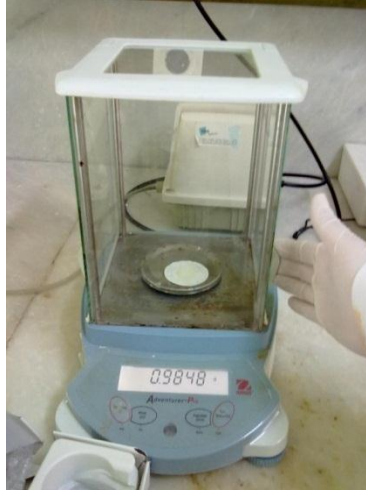
Çizelge 3.1. Modifiye Edilmiş Johnson Ortamı (Johnson et al., 1968)

MİKTAR	KİMYASAL MADDE	STOK ÇÖZELTİ
10 ml	NaNO ₃	150 g/L d H ₂ O
10 ml	KH ₂ PO ₄	150 g/L d H ₂ O
10 ml	KCl	20 g/L d H ₂ O
10 ml	CaCl ₂	150 g/L H ₂ O
10 ml	NaHCO ₃	4,3 g/L d H ₂ O
10 ml	MgCl ₂	150 g/L d H ₂ O
1 ml	MJ demir solüsyonu	
1 ml	MJ iz metal solüsyonu	

Tartım işlemleri 0,0001 gr hassasiyetindeki terazi ile yapılmıştır (Bkz Şekil 3.1.). Saf su cihazı ile elde edilen suyun içerisine gerekli nutrientler ilave edilip, 121°C’de doymuş buhar basıncı altında otoklavda 15 dakika sterilize edilmiştir. pH ölçümleri (WTW ph 3110) pHmetre ile yapılmıştır. Oksijen ölçümleri (WTW Oxi 315i) oksijenmetre ile yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Modifiye Edilmiş Johnson Ortamında Kullanılan İz Metal Solüsyonu

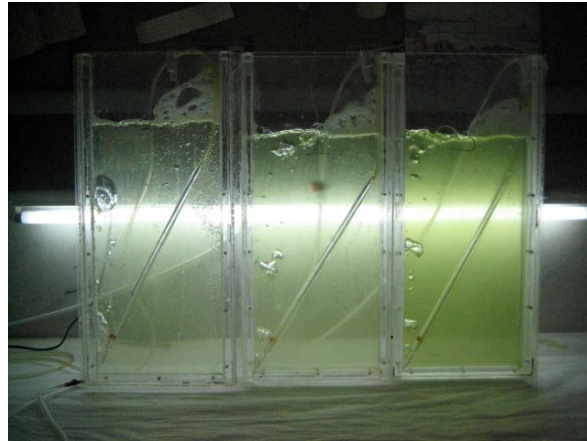
MİKTAR	KİMYASAL MADDE
2,860 g/l	H ₃ BO ₃
1,819 g/l	MnCl ₂ .4H ₂ O
0,222 g/l	ZnSO ₄ .7H ₂ O
0,390 g/l	NaMoO ₄ .2H ₂ O
0,079 g/l	CuSO ₄ .5H ₂ O
49,400 mg/l	Co(NO ₃) ₃ .6H ₂ O
950 ml saf su	



Şekil 3.1. Hassas Terazî (Orijinal)

3.2.2 Cam Panel Fotobiyoreaktörler

Denemelerde kullanılan cam panel fotobiyoreaktörler 24 cm genişlikte, 52 cm yükseklikte ve 1, 3, 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahiptir. Denemelerde, kültür yükseklikleri eşit olacak şekilde ayarlandı ve hacimleri sırasıyla 2150, 3000 ve 4200 ml olarak hesaplandı. Kültürlerin havalandırılması steril cam pipetler yardımıyla yapıldı. Pipetler fotobiyoreaktörlerde yeterli karışımı sağlayacak şekilde sabitlendi (Bkz Şekil. 3.2).



Şekil 3.2. *Dunaliella bardawil* Teodoresco, Deneme Grupları (Orijinal)

3.3 Deneme Süresince Günlük Olarak Yapılan Ölçümler

3.3.1 Hücre sayımı

Denemeler boyunca, hücre sayımı Neubauer sayma lamı ile ışık mikroskobu kullanılarak her gün yapıldı (Bkz Şekil 3.3.).

Neubauer sayma lamında 9 adet 1 mm^2 'lik farklı şekilde bölünmüş kareler bulunmaktadır. 2, 4, 6, 8. Kareler kendi aralarında 20 dikdörtgene; 1, 3, 7, 9 kareler kendi aralarında 16 kareye bölünmüştür. 5 nolu merkezdeki kare ise 25 küçük kareye bölünmüştür. Buradaki her bir küçük kare 16 kareye daha bölünmüş ve toplamda (25x16) 400 kareye sahiptir (Şekil 16). Her karenin hacmi $2,5 \times 10^{-7}$ ml'dir. Kamaranın total hacmi ise 9×10^{-4} ml'dir (Cirik ve Gökpınar, 1999).

Sayım lamı örnek doldurulmadan önce iyice temizlendi ve kurutuldu. Daha sonra örneklerin sayımı yapıldı. Gerekli hesaplamalarla hücre sayısı tespit edildi.



Şekil 3.3. Işık Mikroskobu (Orijinal)

3.3.2 Optik Yoğunluk Ölçümü

Dunaliella bardawil denemeleri boyunca, optik yoğunluk ölçümleri günlük olarak alınmıştır. Steril cam pipetler yardımıyla her denemeden 3 ml örnek alınıp

kuartz küvetlere aktarılmıştır. Spektrofotometrede (Boeco, S-20) (Bkz Şekil 3.4), 485 nm dalga boyunda ölçümler okunmuştur.



Şekil 3.4. Spektrofotometre (Orijinal)

3.3.3 pH ve Oksijen Ölçümü

Deneme süresince pH (wtw, pH 3110) ve oksijen (wtw Oxi,315 i) ölçümleri yapılmıştır.

3.3.4 Kuru Ağırlık ölçümü

Kuru ağırlık tayini günlük olarak yapılmıştır. Ölçümlerde Sartorius Stedim MGA filtre kâğıtları kullanılmıştır. 0.45 μ göz açıklığındaki Sartorius stedim MGA filtre kâğıtlarının 0,0001 g duyarlı hassas terazide daraları alınıp petri kaplarına konmuştur ve üzerlerine 0,5'er ml örnek eklenmiştir. Önceden 60°C'ye ayarlanan etüvde 20 saat tutulmuştur. Bu süre sonunda petri kapları desikatöre (Bkz Şekil 3.5) konularak oda sıcaklığına kadar soğumaları sağlanmıştır. Daha sonra 0,0001 g duyarlı terazide tartımları yapılmıştır. Elde edilen rakamdan, dara değerleri çıkarılarak kuru ağırlık miktarı hesaplanmıştır.



Şekil 3.5. Desikatör (Orijinal)

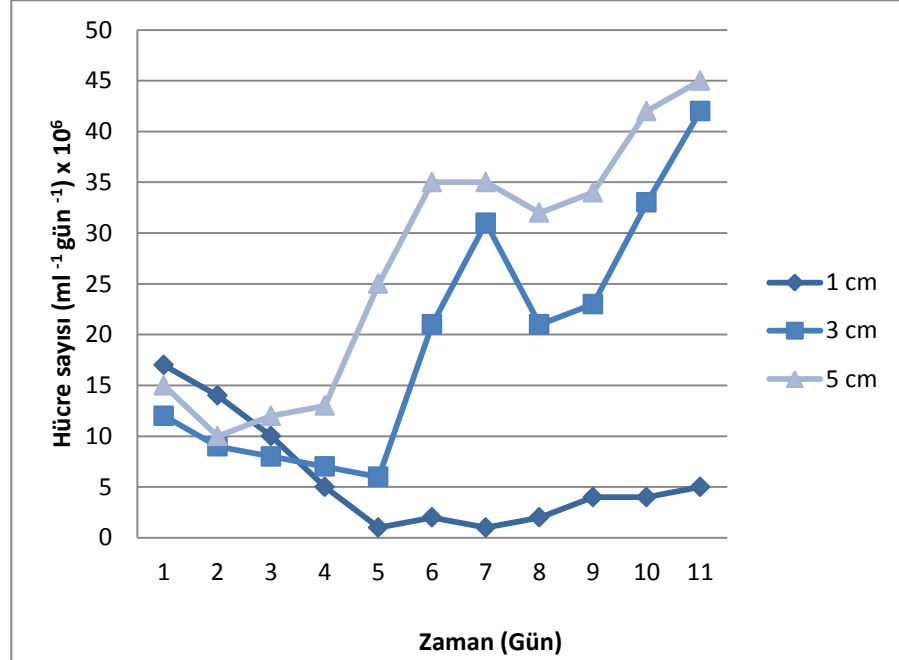
4. BULGULAR

Denemede 1 cm, 3 cm ve 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörler kullanılmıştır. Hazırlanan besin ortamına optik yoğunlukları yakın olacak şekilde ekim yapılmıştır. Deneme 11 gün süreli olup ölçümler her gün alınmıştır. Deneme boyunca kültürün tuzluluğu ‰150 de sabit tutulmuştur.

4.1 Hücre Sayısı

Dunaliella bardawil kültürünün 1cm, 3 cm ve 5 cm ışık yolu uzunluğundaki cam panel fotobiyoreaktörlerdeki denemesi 11 gün süreli yapılmıştır ve hücre sayıları her gün ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlarda, en yüksek hücre sayısına 5 cm ışık yolu uzunluğundaki cam panel fotobiyoreaktörde, denemenin 11.gününde ulaşıldığını görülmüştür.

Çizelge 4.1. *Dunaliella bardawil*'in 1, 3, 5 cm ışık yolu uzunluğundaki fotobiyoreaktörlerdeki hücre sayısı



1 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde 2. günden itibaren hücre sayılarında hızlı bir azalma meydana gelmiştir (Bkz Çizelge 4.1.). Hücre sayısı 8.günden sonra artmaya başlamıştır. Bunun nedeni 1 cm ışık yolu

uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörün ışık geçirgenliğinin çok yüksek olması ve yüksek ışık nedeniyle hücrelerin adaptasyon süresinin uzaması olduğu bilinmektedir.

3 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde ise hücre sayısı denemenin ilk günlerinde azalmıştır. 5.günden sonra hücre sayısında hızlı bir artış meydana gelmiş ancak 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktör kadar artış gösterememiştir.

En yüksek artış 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde görölmüştür. Adaptasyon süreci 2 gün sürmüştür. Sonrasında hücre sayısında artış görölmüştür ve en yüksek hücre yoğunluğuna 11.günde ulaşılmıştır.

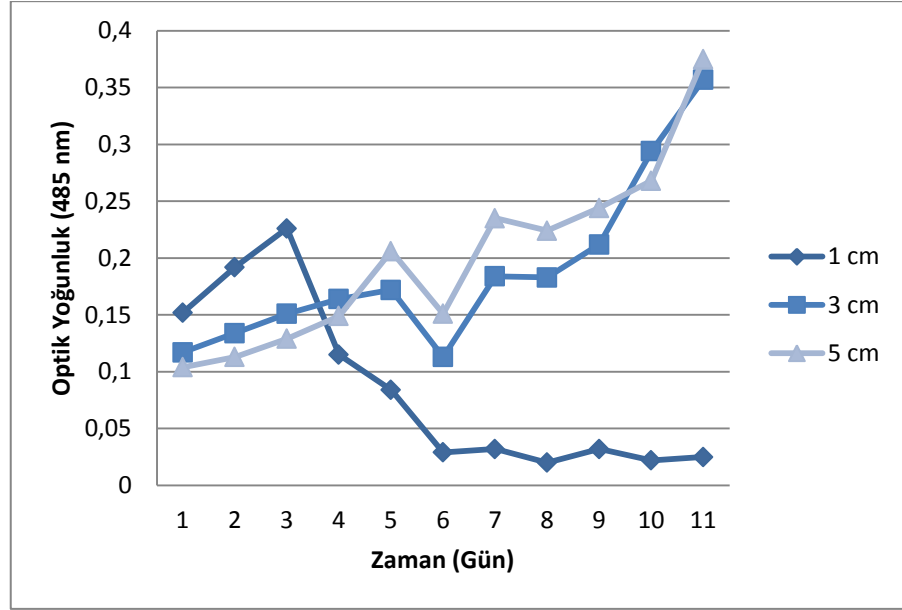
4.2 Optik Yoğunluk

Dunaliella bardawil kültürünün 1cm, 3 cm ve 5 cm ışık yolu uzunluğundaki cam panel fotobiyoreaktörlerdeki denemesi 11 gün süreli yapılmıştır ve optik yoğunluklar her gün ölçölmüştür. Ölçömlerin değerlendirilmesi sonucunda en yüksek optik yoğunluğa 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde denemenin 11.gününde ulaşılmıştır.

1 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde denemenin 3.gününden itibaren optik yoğunlukta hızlı bir düşüş gözlenmiştir.

3 ve 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip fotobiyoreaktörlerde ise 5.günden sonra optik yoğunlukta bir düşüş meydana gelmiş, 7.günden sonra tekrar artış gözlenmiştir (Bkz Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. *Dunaliella bardawil*'in 1, 3, 5 cm ışık yolu uzunluğundaki fotobiyoreaktörlerdeki optik yoğunluk değerleri



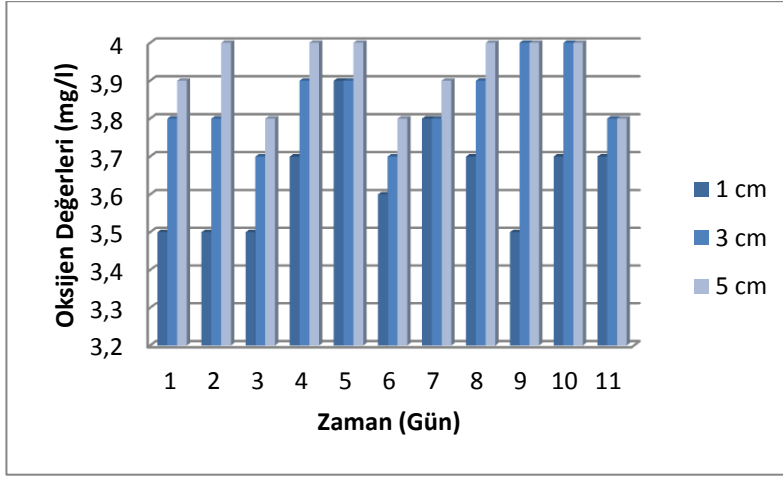
4.3 pH Değerleri

Dunaliella bardawil kültürünün 1 cm, 3 cm ve 5 cm ışık yolu uzunluğundaki cam panel fotobiyoreaktörlerdeki denemesi 11 gün süreli yapılmıştır, pH ölçümleri her gün alınmıştır. pH değerleri deneme boyunca 6.3-6.8 arasında değişiklik göstermiştir.

4.4 Oksijen Değerleri

Dunaliella bardawil kültürünün 1 cm, 3 cm ve 5 cm ışık yolu uzunluğundaki cam panel fotobiyoreaktörlerdeki denemesi 11 gün süreli yapılmıştır, oksijen ölçümleri her gün alınmıştır. Oksijen değerleri deneme boyunca 3.5 - 4.0 arasında değişiklik göstermiştir (Bkz Çizelge 4.4.)

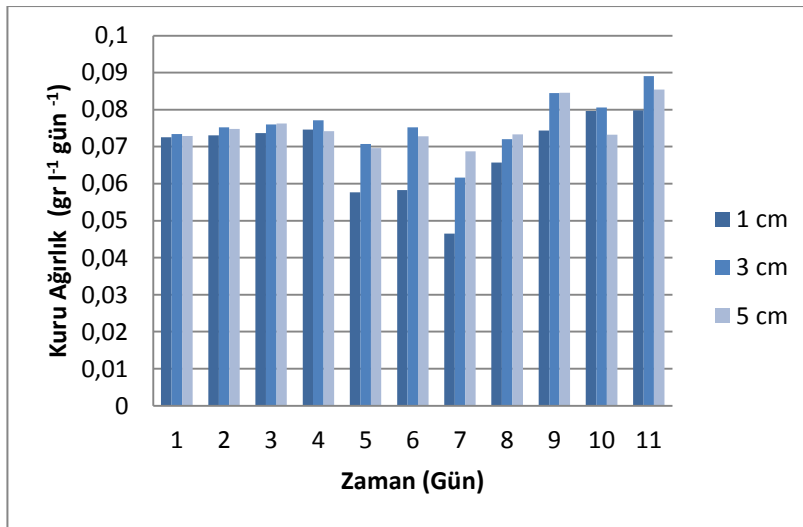
Çizelge 4.3. *Dunaliella bardawil*'in 1, 3, 5 cm ışık yolu uzunluğundaki fotobiyoreaktörlerdeki oksijen değerleri



4.5 Kuru Ağırlık

Dunaliella bardawil kültürünün 1 cm, 3 cm ve 5 cm ışık yolu uzunluğundaki cam panel fotobiyoreaktörlerdeki denemesi 11 gün süreli yapılmıştır ve kuru ağırlık değerleri her gün ölçülmüştür. Elde edilen değerlerin hesaplanması ile en yüksek kuru ağırlık değerine 3 cm ışık yolu uzunluğuna sahip fotobiyoreaktörde 11.günde ulaşılmıştır (Bkz. Çizelge 4.5.)

Çizelge 4.4. *Dunaliella bardawil*'in 1, 3, 5 cm ışık yolu uzunluğundaki fotobiyoreaktörlerdeki kuru ağırlık değerleri



5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada *Dunaliella bardawil*'in farklı ışık yolu uzunluklarındaki cam panel fotobiyoreaktörlerde (1 cm, 3cm ve 5cm) yetiştiriciliği yapılmıştır. Tez kapsamında *Dunaliella bardawil*'in Modifiye Johnson ortamında (Johnson et al., 1968) laboratuvar koşullarında 21°C sıcaklıkta, 1700-1800 lux ışık yoğunluğunda 11 gün boyunca yetiştiriciliği yapılmıştır. Günlük olarak hücre sayısı, kuru ağırlık, optik yoğunluk, pH ve oksijen değerleri ölçülmüştür.

1 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde yapılan denemede, fotobiyoreaktörün yüksek ışık geçirgenliği nedeniyle hücrelerin adaptasyon süreci uzamış, hücre sayısı, optik yoğunluk ve kuru ağırlık değerlerinde hızlı bir azalma meydana gelmiştir. En yüksek hücre sayısına, optik yoğunluğa ve kuru ağırlığa 11.günde ulaşmıştır.

3 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde yapılan denemede 6.günden itibaren hücre sayısında, optik yoğunlukta ve kuru ağırlık değerlerinde artış başlamıştır. En yüksek hücre sayısı, optik yoğunluk ve kuru ağırlık değerlerine 11.günde ulaşmıştır.

5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde yapılan denemede 6.günden itibaren hücre sayısı, optik yoğunluk ve kuru ağırlık değerlerinde artış görülmüştür. En yüksek hücre sayısı, optik yoğunluk ve kuru ağırlık değerlerine 11.günde ulaşmıştır.

Yapılan çalışmada ölçümlerin değerlendirilmesi sonucunda en yüksek hücre sayısına ve optik yoğunluğa 5 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde 11.günde ulaşılmıştır. En yüksek kuru ağırlık değerine ise 3 cm ışık yolu uzunluğuna sahip cam panel fotobiyoreaktörde 11.günde ulaşılmıştır.

Hu et al., (1998) açık havuzlarla, ince panel reaktörleri kıyaslamasında biyomas hızının açık havuzlara göre 100 kat daha yüksek ve birim alanda elde edilen başarının 2-3 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Buradan hareketle

kısa ışık yolu uzunluğu olan biyoreaktörlerde fototrof saf kültür üretiminin avantajlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. *Nannochloropsis sp.* laboratuvar dışında 10 cm ışık yolu uzunluğu ve 300 lt hacmi olan biyoreaktörlerde kültüre alınmış ve herhangi bir kontaminasyon olmamıştır. Günlük olarak %10 hasat uygulanmış, hasat sonrası taze ortam ilavesi yapılmış ve $12 \text{ gr m}^2 \text{ gün}^{-1}$ kuru ağırlık elde edilmiştir (Chang-Wu ve ark.,2000).

Hu et al., (1996) ince panel reaktörlere (2,6 cm ve 5,2 cm ışık yolu uzunluğuna sahip) zemin ile açı vererek güneş ışığı oranını değiştirme yoluna gitmişlerdir. Reaktörler 30°C, 60°C, 90°C eğimle yerleştirilmiştir. Bu açılara göre biyomas hızını ölçmüşler ve 30 °C'lik reaktörde biyomas çıkış hızının daha fazla olduğunu bulmuşlardır. En düşük çıkış hızını elde ettikleri 90 °C açı verdikleri reaktör olmuştur. Bunun sebebi olarak da aydınlık/karanlık döngüsünün fotosenteze etkisi olarak yorumlamışlardır. Aynı çalışmada havalandırma sistemini 2 ayrı şekilde düzenlemişlerdir. Birinci olarak airlift, şeffaf borular vasıtasıyla reaktörün alt kısmından alınan kültürün hava ile taşınarak reaktörün üst kısmından tekrar reaktöre boşaltılması ile karışım sağlanmıştır. İkinci olarak da air bubble sistemiyle, reaktörün alt kısmından ve orta kısmından hava taşları yardımıyla havalandırma yapılmıştır. Burada hava kabarcıkları ile karışım sağlanmıştır. Bu iki sistemin karşılaştırılması yapıldığında ışık yolu uzunluğunun sonucu değiştirmediğini bildirmişlerdir. Fakat havalandırma sistemlerinden air bubble sisteminde biyomas çıkış hızı daha fazla bulunmuştur.

Richmond a Zou (1999) 1,3 cm ışık yolu uzunluğundan başlayan ve 17 cm ışık yolu uzunluğu kadar olan reaktörlerde *Nannochloropsis sp.* türünü araştırmışlardır. Küçük reaktörde alansal çıkış hızı düşük olmakla birlikte daha yüksek hacimsel çıkış hızı elde etmişlerdir. *Nannochloropsis sp.* için en uygun olanın 10 cm ışık yolu uzunluğuna sahip biyoreaktör olduğunu belirlemişlerdir. 10 cm ışık yolu uzunluğu olan reaktörde hücre yoğunluğu $5-6 \times 10^8$ hücre ml^{-1} , spesifik büyüme hızı 0,23 bg, kuru ağırlık 2,0 ile 2,3 g $\text{lt}^{-1}\text{gün}$ elde etmişlerdir. Bütün sonuçlardan sonra *Nannochloropsis sp.* 'nin en iyi alansal çıkış hızının 10 cm ışık yolu uzunluğu olan biyoreaktörde olduğunu belirlemişlerdir.

Pastorelli ve ark., (1999) ince panel reaktörde *Nannochloropsis sp* üretmişler ve 1,4 g lt⁻¹ kuru ağırlık eldesi ile yüksek bir çıkış hızını bu tip reaktörlerde elde etmenin mümkün olduğunu bildirmişlerdir.

Tez kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen değerler yeşil alglerden *Dunaliella bardawil*'in, cam paneller fotobiyoreaktörlerde yetiştiriciliğinin yapılması için uygun bir tür olduğu belirlenmiştir. Işık yolu uzunluğu 1 cm olan fotobiyoreaktörlerde *Dunaliella bardawil*'in fotoinhibisyon sonucu adaptasyon evresinin uzadığı bilinmektedir. Ancak 3 cm ve daha yüksek ışık yolu uzunluğuna sahip cam paneller fotobiyoreaktörlerde yetiştiriciliğinde hücrelere yeterli ışık ulaşması ve gölgeleme olmaması ile *Dunaliella bardawil*'in kültürü için uygun bir yöntem olduğu saptanmıştır.

Algler içerdikleri metabolitler nedeniyle üzerinde çalışma yapılması gereken organizmalardır. *D. bardawil*'in kültürlerinde ortam koşulları araştırılması gerekir. Yapılan çalışmada bu algin fotobiyoreaktörlerde üretilmesi ile elde edilen sonuçlar ortaya koyulmuştur. Diğer alg gruplarının üzerinde yapılacak kültür çalışmaları algal biyoteknolojinin gelişimi için önemlidir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aasen, A.J., Eimhjellen, K.E. and Liaaen-Jensen, S.,** 1969, An Extreme Source Of β -carotene. *Acta Chem Scan* 23, 2544–2545p.
- Avron, M.,** 1992, Osmoregulation. In *Dunaliella: Physiology, Biochemistry, and Biotechnology* ed. Avron, M. and Ben-Amotz, A. Boca Raton: CRC Press, 135–159p.
- Becker, E.W.,** 1994, *Microalgae Biotechnology And Microbiology*. Cambridge University Press.
- Ben-Amotz, A.,** 1993, Production of β -carotene and Vitamine by The Halotolerant Algae *Dunaliella*. In *Marine Biotechnology*. Plenum Press., New York, 411–417p.
- Ben-Amotz, A.,** 1995, New Mode Of *Dunaliella* Biotechnology: Two-Phase Growth For β -carotene production. *J. Appl Phycol* 7, 65–68p.
- Ben-Amotz, A., Gressel, J. and Avron, M.,** 1987, Massive Accumulation of Phytoene Induced by Norflurazon in *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae) Prevents Recovery From Photoinhibition. *J Phycol* 23, 176–181p.
- Ben-Amotz, A., Lers, A. and Avron, M.,** 1988, Stereoisomers of β -carotene and phytoene in alga *Dunaliella bardawil*. *Plant Physiol* 86, 1286–1291p.
- Ben-Amotz, A. and Avron, M.,** 1980, Glycerol, β -carotene and Dry Algal Meal Production by Commercial Cultivation Of *Dunaliella*. In *Algae Biomass, Production and Use*. Elsevier / North Holland Biomedical Press., Amsterdam, 603–661p.
- Ben-Amotz, A. and Avron, M.,** 1983, On the Factors Which Determine Massive beta-carotene Accumulation in the Halotolerant Alga *Dunaliella bardawil*. *Plant Physiol* 72, 593–597p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Ben-Amotz, A. and Avron, M.,** 1989, The Biotechnology of Mass Culturing of *Dunaliella* for Products of Commercial Interest. In Algal and Cyanobacterial Biotechnology, Longman Scientific and Technical Press., London, 90–114p.
- Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J.,** 1987, Limits To Growth and Carotenogenesis in Laboratory and Large-Scale Outdoors of *Dunalella salina*. In Algal Biotechnology., Elsevier Applied Science., London, 345–402p.
- Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J.,** 1988, Algal Growth Media Sources of Algal Culture. In Microalgal Biotechnology. ed. Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J., Cambridge University Press., New York, 455–465p.
- Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J.,** 1988 Vitamins and Fine Chemicals from Microalgae. In Micro-algal Biotechnology. ed. Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J. Cambridge University Press., New York, 153-196p.
- Borowitzka A. M. and Borowitzka J. L.,** 1988, Micro-Algal Biotechnology. Cambrige University Press., New York, 27 – 58p.
- Borowitzka, L.J. and Borowitzka, M.A.,** 1989, β -carotene (provitamin A) Production with Algae. In Biotechnology of Vitamins, Pigments and Growth Factors ed. Vandamme, E.J., Elsevier Applied Science., London, 15–26p.
- Borowitzka, L.J. and Borowitzka, M.A.,** 1990, Commercial Production of β -carotene by *Dunalella salina* in Open Ponds. Bull Mar Sci 47, 244–252p.
- Borowitzka, M.A. and Siva, C.J.,** 2007, The Taxonomy of the Genus *Dunaliella* (Chlorophyta, Dunaliellales) with Emphasis On The Marine and Halophilic Species. J Appl Phycol 19, 567–590p.
- Bosma, R. and Wijffels, R.H.,** 2003, Marine Biotechnology in Education: A Competitive Approach, Biomolecular Engineering, 125–131p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Burlew, J.S.**, 1953, Algal Culture From Laboratory to Pilot Plant, Carnegie Institution, Washington D.C.
- Butinar, L., Sonjak, S., Zalar, P., Plemenitas, A. and Gunde Cimerman, N.**, 2005, Melanized Halophilic Fungi Are Eukaryotic Members of Microbial Communities in Hypersaline Waters of Solar Salterns. Bot Marina 48, 73–79p.
- Chen, B.J. and Chi, C.H.**, 1981, Process Development And Evaluation For Algal Glycerol Production. Biotechnol Bioeng 23, 1267–1287p.
- Chidambara Murthy, K.N., Vanitha, A., Rajesha, J., Mahadeva Swamy, M., Sowmya, P.R. and Ravishankar, G.A.**, 2005, In Vivo Antioxidant Activity of Carotenoids from *Dunaliella salina* – A Green Microalga. Life Sci 76, 1381–1390p.
- Cirik, S., Gökpınar, Ş.**, 2006, Plankton Bilgisi ve Kültürü Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No:47, Ders Kitabı Dizini No: 17. 236s.
- Garcia-Gonzalez, M., Moreno, J., Canavate, J.P., Anguis, V., Prieto, A., Manzano, C., Folrencia, F.J. and Guerrero, M.G.**, 2003, Condition for Open-air Outdoor of *Dunaliella salina* in Southern Spain. J Appl Phycol 15, 177–184p.
- Gibor, A.**, 1956, The Culture of Brine Algae. Biol Bull (Woods Hole) 3, 223–229p.
- Gomez, P.I., Barriga, A., Cifuentes, A.S. and Gonzalez, M.A.**, 2003, Effect of Salinity on the Quantity and Quality of Carotenoids Accumulated by *Dunaliella salina* (strain CONC-007) and *Dunaliella bardawill* (strain ATCC 30861) Chlorophyta. Biol Res 36, 185–192p.
- Gökpınar, Ş., ve Büyükkışık, B.**, 1994, Mikroalg Kültürleri: 2. Kültür Yöntemleri. Su Ürünleri Dergisi Cilt No:11, Sayı:42-43, 95-106s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Moreno-Garrido, I. and Canavate, J.P.,** 2001, Assessing Chemical Compounds for Controlling Predator Ciliates in Outdoor Mass Cultures of the Green Algae *Dunaliella salina*. Aquac Eng 24, 107–114p.
- Hu, Q. AND Richmond, A.,** 1996, Productivity and Photosynthetic Efficiency of *Spirulina platensis* as Affected by Light Intensity, Cell Density and Rate of Mixing in a Flat Plate Photobioreactor. J. appl. Phycol.8: 139-145p.
- Hu, Q., Guteiman, H. and Richmond, A.,** 1996, Physiological Characteristics of *Spirulina platensis* Cultured at Ultrahigh Cell Densities. J. Phycol. 32: 1066-1073p.
- Hu, Q., Faiman, D. and Richmond, A.,** 1998, Optimal Tilt Angles of Enclosed Reactors for Growing Photoautotrophic Microorganisms Outdoors. J. Ferment. And Bioeng. 85: 230-236p.
- Jahnke, L.S.,** 1999, Massive Carotenoid Accumulation in *Dunaliella bardawil* Induced by Ultraviolet-A Radiation. J Photochem Photobiol B 48, 68–74p.
- McLachlan, J. and Yentsch, C.S.,** 1959, Observations on the Growth of *Dunaliella euchlora* in Culture. Biol Bull (Woods Hole) 116, 461–471p.
- Marin, N., Morales, F., Loderiros, C. and Tamigneaux, E.,** 1998, Effect of Nitrate Concentration on Growth and Pigment Synthesis of *Dunaliella salina* Cultivated Under Low Illumination and Preadapted to Different Salinities. J Appl Phycol 10, 405–411p.
- Orset, C. and Young, A.J.,** 2000, Exposure to Low Irradiances Favors the Synthesis of 9-cis β -carotene in *Dunaliella salina* (Teod.). Plant Physiol 122, 609–618p.
- Pastorelli, R., Cimino, S., Fauilli F., Chini Zittelli, G., Tredici, M.R.,** 1999, Cultivation of *Nannochloropsis* sp. in a Modular Flat Panel System: Effect of Different Parameters on Productivity and Biochemical Composition. Abstract of 8th International Conference on App.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Post, F.J., Borowitzka, L.J., Borowitzka, M.A., Mackay, B. And Moulton, T.,** 1983, The Protozoa of a Western Australian Hypersaline Lagoon. *Hydrobiologia* 105, 95–113p.
- Pulz, O.,** 2001, Photobioreactors: Production Systems for Phototrophic Microorganisms., *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 287–293p.
- Pulz, O., Gerbsch, N., Bazholz, R.,** 1995, Light Energy Supply in Plate Type and Light Diffusing Optical Fiber Bioreactors. *J. Appl. Phycol.* 7:145:149p.
- Richmond, A. and Zou, N.,** 1999, Efficient Utilization of High Photon Irradianca for Mass Production of Photoautotrophic Microorganisms. *J. Of Appl. Phycol* 11: 123-127p.
- Richmond, A., Boussiba, S., Vonshak, A. and Kopel, R.,** 1993, A New Tubular Reactor for Mass Production of Microalgae Outdoors. *J. appl.Phycol.* 5: 327-332p.
- Richmond, A. and Cheng-Wu, Z.,** 2001, Optimization of a Flat Plate Glass Reactor for Mass Production of *Nannochloropsis* sp. Outdoors. *J Biotechnol.* 85(3):259-69p.
- Samon, R. and Leduy, A.,** 1985, Multistage Continuous Cultivation of Blue-Green Alga *Spirulina maxima* in the Flat Tank Photobioreactors with Recycle. *Can J. Chern. Eng.* 63, 105-112p.
- Shariati, M. and Lilley, R.McC.,** 1994, Loss of Intracellular Glycerol from *Dunaliella* by Electroporation at Constant Osmotic Pressure: Subsequent Restoration of Glycerol Content and Associated Volume Changes. *Plant Cell Environ* 17, 1295–1304p.
- Sukatar A.,** (2002). Alg Kültür Yöntemleri. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi No: 184.
- Tafreshi, H.A. and Shariati, M.,** 2007, *Dunaliella* Biotechnology: Methods and Applications, *Journal of Applied Microbiology.* ISSN 1364-5072: 12-28p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Tredici, M.R. and Materassi, R., 1992, From Open Ponds to Vertical Alveolar Panels: the Italian Experience in the Development of Reactors for Mass Cultivation of Photosynthetic Microorganisms. J. Appl. Phycol., 4, 221-231p.

Tredici, M. R., Carlozzi, P., Chini, Z.G. and Materassi, R., 1991, A Vertical Alveolar Panel (VAP) for Outdoor Mass Cultivation of Microalgae and Cyanobacteria. Biores. Technol., 38, 153-159p.