

***Tetraselmis suecica*'nın SARMAL TÜBÜLER FOTOBİYOREAKTÖRDE BÜYÜME HIZI VE ÜRÜN VERİMLİLİĞİ**

Hilal KARGIN YILMAZ, Harun YILMAZ
MERSİN ÜNİVERSİTESİ SU ÜRÜNLERİ FAKÜLTESİ
hilal@mersin.edu.tr

ÖZET

Çalışmada mikroalg üretimi için tasarlanmış sarmal tübüler fotobioreaktör kullanılmıştır. Sistemin tübik biyoreaktörü 1,6 cm iç çapında, 28 m uzunluğunda, hacmi 4,480 L olan şeffaf hortumdan meydana gelmiştir. Hasat tankında da sürekli 3,520 L alg bulundurulan sistemin toplam hacmi 8 L'dir. Sistemden her gün yaklaşık 2,8 mL/dk'lık debi ile 4 L alg hasat edilerek, her gün aynı debi ile 4 L nutrient kültür süspansiyonuna ilave edilmiştir. Reaktör sürekli olarak aydınlatılmış; ışık kaynağı olarak 20 watt'lık ve 18 W'lık floresan lambalar kullanılmıştır. Deniz alglerinden *Tetraselmis suecica* 18 gün süreyle sarmal tübüler sistemde üretime alınarak günlük hücre yoğunluğu, büyüme hızı ve ürün verimliliği araştırılmıştır. Her dört grubun ortalama değerlerine bakıldığında en yüksek hücre sayısı I. grupta 5.442×10^5 hücre/mL, büyüme oranı 0.95 bölünme/gün ile sağlanmıştır. II. grupta hücre sayısı 5.198×10^5 hücre/mL, büyüme oranı 0.95 bölünme/gün, III. grupta en düşük hücre sayısı 4.406×10^5 hücre/mL, büyüme oranı 0.96 ile elde edilmiştir. IV. grupta hücre sayısı 5.077×10^5 hücre/mL, büyüme oranı 0.96 bölünme/gün olarak bulunmuştur. Ortalama biyokütle üretiminin 18 günlük üreme periyodu boyunca 3.8 kat artmış olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Tetraselmis suecica*, sarmal tübüler fotobioreaktör, büyüme oranı, hücre yoğunluğu.

GROWTH RATE AND PRODUCT FERTILITY of *Tetraselmis suecica* in HELICAL TUBULAR PHOTOBIOREACTOR

ABSTRACT

In this study, a helical tubular photobioreactor designed for microalgae production was used. The tube bioreactor of the system comprised of a transparent hose with an inner diameter of 1,6 cm, length of 28 m, and a volume of 4,480 L. Total volume of the system is 8 L with capability to keep continuously 3,520 L of algae in the harvesting tank. With a flow rate of 2,8 mL/m, nearly 4 L of algae was harvested daily and 4 L of nutrient was added each day to the culture suspension with the same flow rate. The reactor was illuminated constantly by fluorescent lamps of 20 and 18 Watts. Production of *Tetraselmis suecica*, marine algae, was started in helical tubular system for 18 days and its cell density, growth rate and product fertility was investigated. Taking into account the mean values of all four groups, the highest number of cells was obtained from group I. as 5.442×10^5 cell/mL with a growth rate of 0,95 division/day. In group II. the number of cells was 5.198×10^5 cell/mL with a growth rate of 0.95 division/day and in group III. the smallest number of cells was obtained as 4.406×10^5 cell/mL with a growth rate of 0.96. In group IV, the number of cells was found as 5.077×10^5 cell/mL with a growth rate of 0,96 division/day. It was established that the mean biomass production increased 3.8 times during the period of 18 days.

Key Words: *Tetraselmis suecica*, helical tubular photobioreactor, growth rate, cell density.*

* Bu çalışma ME. Ü. BAP SÜF TBB (HK) 2001-3 no'lu proje ile desteklenmiştir.

GİRİŞ

Alg üretim sistemlerinin yetersiz kalması, sucul yetiştiricilik sektörünün daha hızlı gelişmesini engellemektedir. Çünkü mikroalgler sucul sistemlerin biyolojik CO₂/O₂ dönüştürücüleri ve birincil biyokütle üreticileridir. Diğer taraftan mikroalgler biyoteknolojinin gelecekteki en önemli kaynaklarından (Borowitzka, 1992; Tsoglin ve Gabel, 2000). Bu hususlar göz önüne alındığında mikroalg üretiminde güvenli ve ekonomik üretim sistemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Mikroalg üretimi için önemli temel hususlar ışık ya da güneş enerjisi, su, karbondioksit ve inorganik zenginleştirici maddelerdir. Fotobiyoreaktör mikroalg üretimi için tasarlanmış, güneş ışığının yeterli olduğu dış ortamda, saydam dairesel borular içinde algin dolaşım sistemine dayanan bir modeldir (Acien Fernandez et al., 2001). Tamamıyla kapalı sistem olarak tasarlanan tübüler fotobiyoreaktörler, farklı şekillerde oluşturulmuş, çeşitli büyüklük ve uzunluktaki şeffaf tüplerden veya borulardan meydana gelir (Tredici, 1999) ve yoğun mikroalg üretimi için uygun bir potansiyel oluşturmaktadırlar (Gudin ve Chaumont, 1983; Torzillo et al., 1986). Kapalı sistemleri inşa etmek ve işletmek oldukça zor ve masraflıdır. Bu sistemlerde genellikle tek bir tür üretilebilmektedir (Molina Grima, 1999; Tredici, 1999). Richmond (1990), kapalı reaktörlerde büyük ölçekli üretimin daha yüksek verimlilikte olabilmesinden söz etmektedir. Sistemin çok farklı tasarımları için, Terry ve Raymond (1985) açıkta dış ortamdaki reaktörleri, Tredici ve Materassi (1992)'de dikey panelleri, Ratchford ve Fallowfield (1992)'de düz levha reaktörlerini, Pirt et al. (1983), Gudin ve Therpenier (1986), Richmond et al. (1993)'de tübüler reaktörleri buldular. Gudin ve Chaumont (1991) ile Molina Grima et al. (1994) tübüler fotobiyoreaktörde ortam koşullarının kontrol altında tutulabildiğini, resirkülasyon sayesinde kültürün daha iyi havalandırılabilirdiğini, yüksek oranda üretkenliğe olanak verip, iş gücü kullanımını azalttığını ve hücresel artışın sağlandığını vurgulamışlardır. Molina Grima et al. (1994) çalışmalarında havuz içine yerleştirilmiş biyoreaktör sistemini kullandıklarını belirtmişlerdir. Spiral fleksiğlastan yapılmış biyoreaktörde kültür suyunun dolaşımı sağlanmıştır. Güneşin yetersiz olduğu zamanlarda termostatlı ısıtıcı yardımıyla havuz içindeki su ısıtılarak; biyoreaktördeki kültür suyunun sıcaklığı ayarlanabilmiştir. Havuzun duvarları algin güneşten daha iyi faydalanması amacıyla beyaza boyanır. Tübüler sistemlerin açık havuz sistemlerine göre daha üstün özellikte olduğu ortaya konmuştur. Son zamanlara kadar açık havuz sistemleri mikroalg üretimi için en önemli yöntemdi (Richmond, 1990). Ancak eczacılık ve kozmetik alanındaki uygulamalar için mikroalgden yüksek kalitede ürünlerin hazırlanmasına yönelik tasarımlar, sadece kapalı fotobiyoreaktörlerle uygulanabilir. Son yıllarda alg üretimi için birçok büyük fotobiyoreaktör tasarımları yapılmaktadır ve bu tasarımların birçoğunun yakın gelecekte ticari açıdan önemli olacağı görülmektedir. Düz yassı reaktörler (Pulz, 1994; Hu et al., 1996; Tredici ve Zitelli, 1997) ve tübüler fotobiyoreaktörler iki temel ilke ile tasarlanmıştır. Bütün bu tasarımların temel ilkesi, ışık yönünü azaltmak böylelikle her hücreye düşen ışık miktarını ve gaz değişimini arttırmak ve hücrelere düşen en uygun ışığı sağlayacak en ideal karışımı temin etmektir. Bu sistemlerde buharlaşmadan kaynaklanan kültür suyu kaybı ve kontaminasyon riski daha azdır ve kültürün büyüme parametreleri kontrol altında tutulabilir. Dezavantajları ise; algler bir süre sonra tüplerin iç duvarlarına tutunabilir, böylece ışıktan yararlanma oranı düşebilir. Bunu önlemek için şeffaf boncuklar, şeffaf tüp içersinde alglerle birlikte devamlı resirküle edilerek boruların temizliği gerçekleştirilir. Bu sistemlerde alg kültür suyu çok ısınabilmektedir. Aşırı oksijen üremesi algin büyümesini olumsuz etkileyebilmektedir. Oksijenin ortamda birikimi söz konusu olduğunda, kabın dış kısmının da beyazlaştığı gözlenmektedir (Dunham et al., 2002). Alg üretimi için tasarlanan dikey plak şeklindeki sistemde, levha yapısındaki saydam kap güneşe dikey olacak şekilde yerleştirilir ve dipten hasat edilerek fazla oksijenin çıkmasına izin verilir (Cihini Zitelli et al., 2000). Bu sistemlerin henüz bilinen açık havuz sistemlerle rekabet edemediği, ancak ticari türlerin üretimi için uygun olduğu bilinmektedir. Fotobiyoreaktörde doğal veya yapay ışıklandırma ile istenilen alg üretilebilir. Ancak tübüler reaktörlerde dairesel tüpler dar çaplı ve merkezi

olarak tasarlanmalıdır. Ancak ihtiyaç fazlası aydınlatma fotosenteze ve üretime zarar vermektedir (Kirk, 1994). Bu çalışma, deniz balıklarının larval yetiştiriciliğinde canlı yem kaynağı olarak kullanılan rotifer ve artemia besini olan tek hücreli yeşil alglerden Tetraselmis suecica'nın sarmal tübüler sistemde üretiminin gerçekleştirilmesini ve büyüme hızlarının belirlenmesini kapsamaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Kullanılan Canlı Materyal ve Zenginleştirilmiş Besin Ortamının Hazırlanması

Deneme materyali olarak kullanılan Tetraselmis suecica'nın ana suşları Akuamaks Su Ürünleri Denizcilik Medikal Tarım İthalat İhracat Teknik Hizmetlerinden temin edilmiş, besi ortamı olarak Conway ortamı (Walne, 1966) kullanılmıştır. Deneme Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi plankton laboratuvarında 23°C sıcaklıkta yürütülmüştür. Mikroalg kültür suyu ‰ 25 tuzlulukta hazırlanarak, 0,45µm göz açıklığındaki vakumlu membran filtre cihazından süzöldükten sonra zenginleştirilerek otoklavda sterilize edilmiştir.

Sistemin Çalışma Prensipleri, Kısımları, Dizaynı ve İşletimi

Sistemin Çalışma Prensipleri

Sarmal tübüler fotobiyoreaktör sürekli üretim için tasarlanmıştır. Böylece maksimum büyüme hızına ulaşan kültürün aynı büyüme hızında devamlılığını sağlamak hedeflenmiştir. Bu da her gün taze besin ortamının, stok tankından hortum sistemine; algin spesifik büyüme hızına göre uygun bir akışla verilmesini gerektirmektedir. Biyoreaktörlerin içine ilave edilen nutrientce zenginleştirilmiş kültür suyunun hacmi kadar alg, stok tankından hasat edilmelidir. Böylece biyoreaktördeki kültür süspansiyonunun hücre yoğunluğu zamana bağlı olarak değişmeyerek; algin hücresel artışı logaritmik fazdaki maksimum değerinde sabitlenebilmektedir.

Sistemin Kısımları

Denemede kullanılan sistem, laboratuvar koşullarında tasarlanmıştır. Sistemin kısımları;

Nutrient Kabı: Nutrientce zenginleştirilmiş besin ortamı solüsyonu muhafaza edildiği bu kaptan hortum sistemine ilave edilmiştir.

Stok Kabı: Alg stokunun bulunduğu kaptır.

Tübik kısım: İçinde algin kültüre alındığı, aydınlatma uygulanan şeffaf hortum sarmalıdır.

Hasat Kabı: Algin günlük olarak hasat edildiği kaptır.

Sistemin Dizaynı ve İşletimi

Mikroalgin yığın üretimi için kullanılan bu sistemde, kültür süspansiyonunun bulunduğu esas bölüm şeffaf hortumdan oluşmuştur. Bu sistem sürekli üretim için amaçlanmış olup, 20 – 30 günlük kullanım öngörülerek tasarlanmıştır. Sistemin tübik fotobiyoreaktörü yaklaşık 1,6 cm iç çapında, 28 m uzunluğunda, hacmi 4,480 L olan Şeffaf hortumdan meydana gelmiştir. Sistemin hasat tankında ise sürekli 3,520 L alg bulunduğundan, sistemin toplam hacmi 8 L'dir. Sistemden her gün yaklaşık 2,8 mL/dk'lık debi ile 4L alg hasat edilerek, yine her gün aynı debi ile 4 L nutrient kültür süspansiyonuna ilave edilmiştir. Reaktör 24 saat sürekli olarak aydınlatılmış; ışık kaynağı olarak kullanılan 20 watt ve 18 watt'lık florsan lambalar hortum sarmalının iç kısmına, çelik raf üzerine monte edilmiştir. Bu sistemi oluşturan şeffaf hortumlar plastik

kelepçelerle metal iskelet üzerine spiral bir şekilde dolanarak bağlanmış ve kültür süspansiyonu kendi cazibesi ile akacak şekilde eğim verilerek tasarlanmıştır. Yeterli oranda nutrient, nutrient kabından sürekli olarak stok tankı vasıtasıyla kültür süspansiyonuna verilmiştir. Deneme boyunca pH I. grup için 6,4 – 8,9, II. grup için 6,3 – 8,7; III. grup için 7,3–8,6; IV. grup için 7,3–8,8 arası belirlenmiştir. Ortam koşullarını dengelemek ve fotosentezi hızlandırmak amacıyla gerektiğinde CO₂ verilmiştir.

***Tetraselmis suecica*'nın Üretimi, Hücre Artışı ve Büyüme Hızının Hesaplanması**

Deniz alglerinden *Tetraselmis suecica* 18 gün süreyle sarmal tübüler fotobiyoreaktörde üretime alınarak, günlük hücre artışı ve büyüme hızı araştırılmıştır. Başlangıç yoğunluk 5L hacmindeki balon joje de $5,0 \times 10^5$ hücre/mL olarak belirlenmiştir. Kesikli yöntemle elde edilen stok kültürün 4,5 L' lik alg kısmı, sarmal sistemin hazırlanan stok kabındaki 3,5 L' lik kültür suyuna aşılanmıştır. Kültür süspansiyonunun hücre yoğunluğu maksimuma ulaştığında sürekli sisteme geçilmiş ve günlük nutrient girişi ile ürün çıkışı, algin spesifik büyüme hızına göre ayarlanmıştır. Günde yaklaşık total hacmin yarısı kadar nutrient sisteme ilave edilirken, aynı oranda alg stok tankından hasat edilmiştir. Algin spesifik büyüme hızının seyreltme hızına eşit olduğu kararlı hal koşulları sağlanmış ve hücre yoğunluğu maksimum yoğunlukta sabitlenmeye çalışılmıştır. Başlangıç yoğunluk 5L hacmindeki balon jojede $5,0 \times 10^5$ hücre/mL olarak belirlenmiştir. Kesikli yöntemle elde edilen stok kültürün 4,5 L' lik alg kısmı, hazırlanan 3,5 L' lik kültür suyuna aşılanmıştır. Kültür süspansiyonunun hücre yoğunluğu maksimuma ulaştığında sürekli sisteme geçilmiş ve günlük nutrient girişi ile ürün çıkışı, algin spesifik büyüme hızına göre ayarlanmıştır. Günde yaklaşık total hacmin yarısı kadar nutrient sisteme ilave edilirken, aynı oranda alg stok tankından hasat edilmiştir. Algin spesifik büyüme hızının seyreltme hızına eşit olduğu kararlı hal koşulları sağlanmış ve hücre yoğunluğu maksimum yoğunlukta sabitlenmeye çalışılmıştır. Sistemin hacmi aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır;

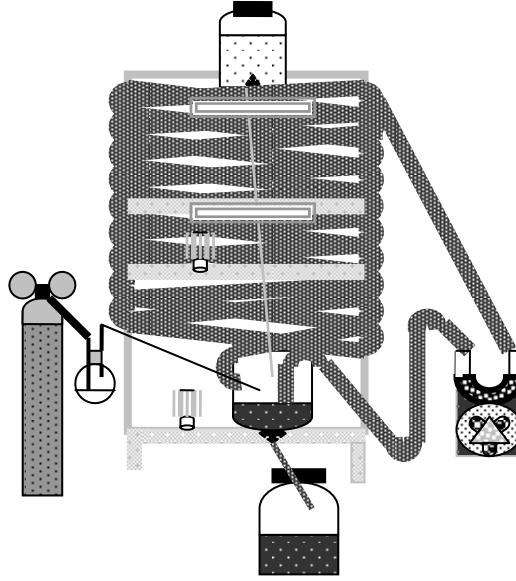
$$V = \pi \cdot r^2 \cdot h \quad V = \text{Total hacim, } r^2 = \text{tüpüler tübün yarıçapı,} \\ h = \text{tübüler tüp uzunluğu, } n = \text{tübüler tüp sayısı.}$$

Deney süresince *Tetraselmis* alg türünün günlük sayımları yapılarak günlük hücre artışı tespit edilmiştir. *Tetraselmis suecica* hücrelerinin sayımı Guillard (1975) belirttiği Neubauer tip sayma kamerasında 3'er kez sayılmış ve sayımların ortalaması alınarak sonuçlar belirlenmiştir.

Deney sonunda büyüme hızı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Alglerin büyüme hızının (K) hesaplanmasında aşağıdaki formülden yararlanılmıştır (Hirata et al., 1981; Cirik ve Gökpinar, 1993) .

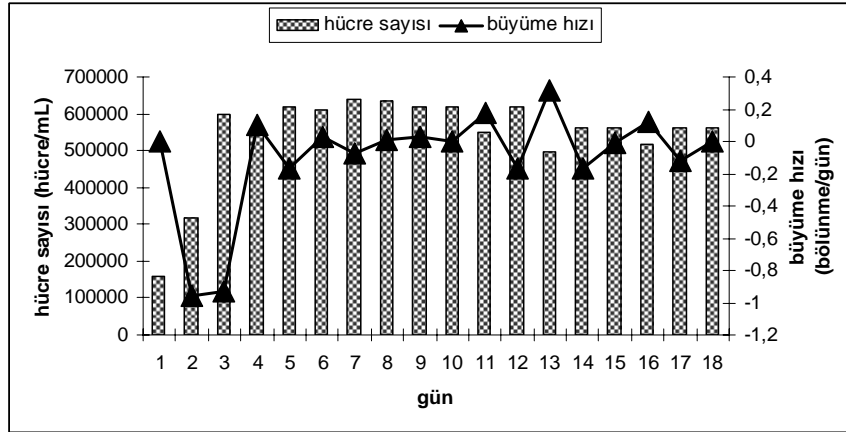
$$K = \frac{3,332 \times (\log N_t / N_0)}{t_1 - t_0}$$

N₀: başlangıç birey sayısı,
N_t: deney sonundaki birey sayısı,
t: deney süresi

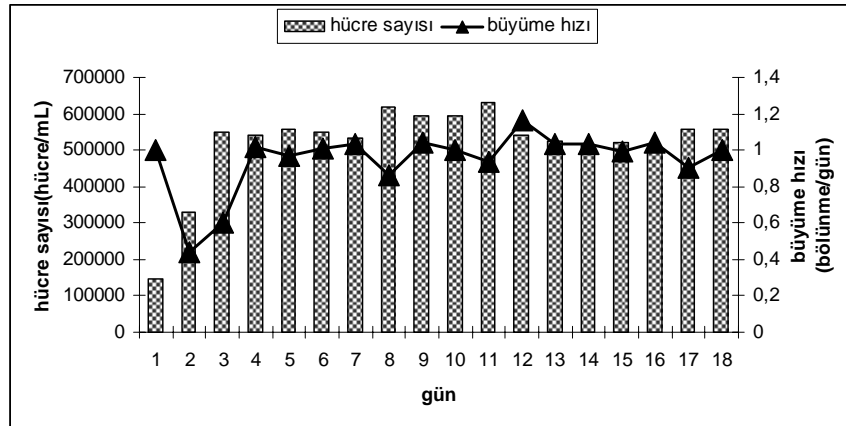


Şekil 1. Sarmal tübüler fotobiyoreaktör (Kargın, 2004)
Figure 1. Helical tubular photobioreactor (Kargın, 2004)

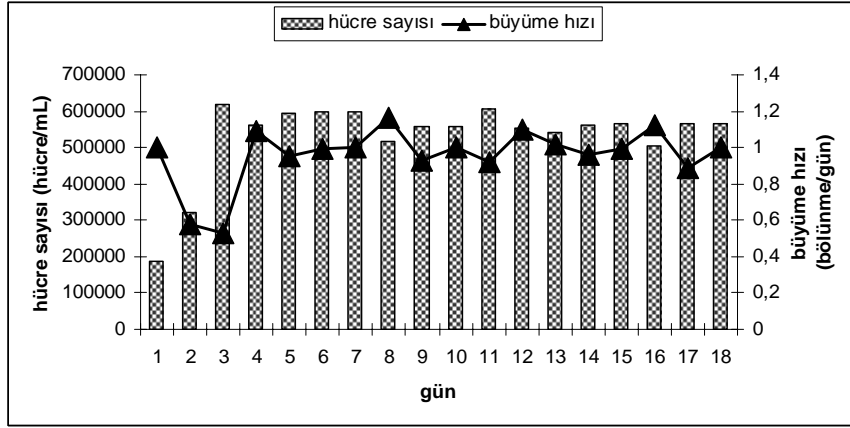
BULGULAR



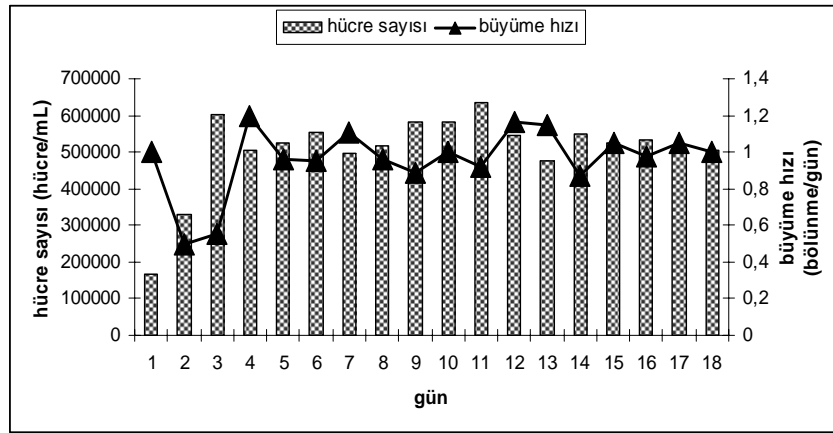
Şekil 2. I. grup Tetraselmis suecica'nın sarmal tübüler fotobiyoreaktörde sürekli üretimi
Figure 2. Ith group Tetraselmis suecica helical tubular photobioreactor continuous production



Şekil 3. II. grup Tetraselmis suecica'nın sarmal tübüler fotobiyoreaktörde sürekli üretimi
Figure 3. IIth group Tetraselmis suecica helical tubular photobioreactor continuous production



Şekil 4. III. grup Tetraselmis suecica'nın sarmal tübüler fotobiyoreaktörde sürekli üretimi
Figure 4. IIIth group Tetraselmis suecica helical tubular photobioreactor continuous production



Şekil 5. IV. grup Tetraselmis suecica'nın sarmal tübüler fotobiyoreaktörde sürekli üretimi
Figure 5. IVth group Tetraselmis suecica helical tubular photobioreactor continuous production

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sarmal tübüler fotobiyoreaktörde Tetraselmis suecica üretiminin her dört grup için başlangıç hücre yoğunluğu $6,583 \times 10^5$ hücre/mL olarak belirlenmiştir. Her dört grubun ortalama değerlerine bakıldığında en yüksek hücre sayısı I. grupta $5,442 \times 10^5$ hücre/mL, büyüme oranı 0,95 bölünme/gün ile sağlanmıştır. II. grupta hücre sayısı $5,198 \times 10^5$ hücre/mL, büyüme oranı 0,95 bölünme/gün, III. grupta en düşük hücre sayısı $4,406 \times 10^5$ hücre/mL, büyüme oranı 0,96 ile elde edilmiştir. IV. grupta hücre sayısı $5,077 \times 10^5$ hücre/mL, büyüme oranı 0,96 bölünme/gün olarak bulunmuştur. En ideal büyümenin 0,95 – 0,96 bölünme/gün olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel açıdan bakıldığında (korelasyon analizi) tekerrürler arasında önemli bir fark ($P > 0.05$) yoktur. Yaptığımız çalışmada sarmal tübüler fotobiyoreaktörün iç çapı 1,5 cm, 25 m uzunluğunda şeffaf hortumdan yapılmış ve 18 günlük üreme periyodu boyunca ortalama biyokütle üretimi 3,8 kat artmış olduğu tespit edilmiştir. Carlozzi ve Sacchi (2001)'nin çalışmaları kullandıkları reaktör Tamiya et al. (1953) ve Molina grima et al. (1995) tarafından kullanılan reaktörle benzerdir ve sarmal olarak tasarlanmıştır. Sarmalın iç çapı 4,85cm, uzunluk 2m, 10 adet paralel cam tüpten yapılmıştır. Çalışmalarında reaktördeki biyokütle üretiminin ocak ile temmuz arası 3,6 kat artmış olduğunu; Balloni et al. (1980) tarafından ulaşılan üretimden (maksimum üretimin 3,3 misli) daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Tüp çapı ne kadar küçük olursa alınan ışık o kadar iyi olduğundan muhtemelen biyokütle üretimindeki bu farklılık deneylerde kullanılan küçük boru çaplarından kaynaklanmaktadır (Molina grima et al. 1995).

Deneme boyunca pH I.grup için 6.4-8.9, II.grup için 6,3-8,7; III. grup için 7,3-8,6; IV. grup için 7,3-8,8 arası belirlenmiştir. Ortam koşullarını dengelemek ve fotosentezi hızlandırmak amacıyla gerektiğinde CO₂ verilmiş, böylece pH dengelenmeye çalışılmıştır. Uygun pH aralığında meydana gelen sapmalar üretim hatalarına neden olabilmektedir (Pulz, 2001). Denemede sarmal tübüler fotobiyoreaktörde kullanılan peristaltik pompa çok düşük ayarda çalışan, özellikle flagellat türlerinde Tetraselmis, Isochrysis gibi disk şeklinde yapısı olan alglerde kullanımı uygun olan pompalardır (Dunham et al., 2002). Peristaltik pompa ile sağlanan sürekli çevrim, sisteme verilen besinin ve CO₂'in dağılımını temin etmektedir. Birçok mikroalg, aşırı doymuş O₂ oranında 2–3 saatten fazla yaşayamaz. CO₂ sınırlaması ve yüksek sıcaklık fotobiyoreaktörde fotosentezi engelleme sürecini şiddetlendirecektir. Bu nedenle CO₂ yoğunluğunun genellikle sınırlı oranda tutulması gerekmektedir. Havadaki % 0,03 CO₂ içeriği bitki gelişimi için uygun değildir. Bitkiler çoğunlukla CO₂ yoğunluğunun sadece % 0,1 yükselmesine tolerans gösterirler (Pulz, 2001).

Fotobiyoreaktörlerin biyomas verimliliğinde süreklilik sağlanması, gereksinim duyulan algin ortam koşullarının dengede tutulmasını gerektirmektedir. Biyomas konsantrasyonu, algin spesifik büyüme oranı, her algin kendine özgü kültürel şartların sağlanmasıyla devamlılık göstermekte ve reaktör içerisindeki ortalama ışığa bağlı olarak oluşmaktadır (Molina, Grima et al., 1994).

Yaptığımız çalışmada, laboratuvar koşullarında sarmal tübüler fotobiyoreaktörde ince hortumlu (0,015m çaplı), maksimum büyüme safhasındaki Tetraselmis suecica alginin özgül büyüme hızı 0,04 – 0,07 ve 0,013-0,017h⁻¹ ; 0,021h⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Düşük büyüme hızı, küçük çaplı tüplerde yoğun foto inhibisyonla açıklanmaktadır. Düz tübüler kapalı fotobiyoreaktörlü ince tüplerde (0,03m çap), sabit ışık altında, maksimum özgül büyüme hızı, bazı algler için 0,06 - 0,09h⁻¹ olarak belirtilmiştir. Açık havada düz fotobiyoreaktörlü ince tüplerde (0,03m çap), maksimum özgül büyüme hızı 0,017h⁻¹ olarak gözlenmiştir (Miron et al., 2002).

Sarmal tübüler fotobiyoreaktörlerde üretimin sürekli kültür yöntemiyle uygulanması ve fotobiyoreaktörde ışığın etkin kullanımı ile üretim artmakta ve sistem kültür çökmesi olmaksızın uzun periyotlarda çalışabilmektedir. Çalışmada kullanılan bu sistem, kültürde çökme olmaksızın en az 20–30 günlük periyotlarla çalışabilir. Bu süre pompanın dayanma gücüne göre değişebilir. Şöyle ki kesikli üretimle bir hafta da elde edilen 8 L' lik alg, çalışmada tasarlanan sarmal tübüler fotobiyoreaktörde günlük elde edilebilmektedir. Aynı zamanda 8L hacmindeki toplam stok algi sürekli muhafaza olmuştur. Bu sistemle daimi ve güvenli olarak alg üretiminin sağlanması mümkündür.

KAYNAKLAR

- Acien Fernandez, F. G., Fernandez Sevilla, J. M., Sanchez Perez, J. A., Molina Grima, E., 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.
- Balloni, W., Filpi, C., Florenzano, G., 1980. Recent trends in the research on wastewater reclamation by photosynthetic bacteria and algal systems. In: Shelef, G., Soeder, C. J. (eds.), *Algae Biomass*. Elsevier, North-Holland, Biomedical Press, Amsterdam, pp. 217-227.
- Borowitzka M. A., 1992. Algal biotechnology products and processes: matching science and economics. *J Appl Phycol* 4: 267–279.

- Carlozzi, P., Sacchi, A., 2001. Biomass production and studies on *Rhodospseudomonas palustris* grown in an outdoor, temperature controlled, underwater tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology* 88: pp. 239-249.
- Cirik, S., Gökpınar, Ş., 1993. Plankton Bilgisi ve Kültürü. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No:47. Bornova/İZMİR, 230–233, 242–244 s.
- Chini Zitelli, G., Rodolfi, L., Tredici, M. R., 2000. Mass cultivation of marine microalgae under natural, mixed and artificial illumination. Abstracts of the 4th European workshop on biotechnology of microalgae. Bergholz- Rehbrücke, Germany.
- Dunham, T., Wells, J. and White, K., 2002. A multiple Instructional Strategies Approach. *Journal of Technology Education*, vol. 14, no. 1.
- Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. pp 26-60. In Smith, W.L. and Chanley, M.H. (eds.) *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, USA.
- Gudin, C., and Chaumont, D., 1983. Solar biotechnology study and development of tubular solar receptors for controlled production of photosynthetic cellular biomass. In W. Palz, & D. Pirwitz (eds.), *Proceedings of the Workshop and E. C. Contractor's meeting in Capri* (pp. 184–193). Dordrecht: D. Reidel Publishing Company.
- Gudin, C., and Chaumont, D., 1991. Cell fragility- The key problem of microalgae mass production in closed photobioreactors. *Bioresource Technol* 38: 145-151.
- Gudin, C., Therpenier, C., 1986. Bioconversion of solar energy into organic chemicals by microalgae. In: Mizrahi A, editor. *Advances in biotechnological processes*. New York: Liss. Vol 6, p 73–110.
- Hirata H., Andarias I., Yamasaki, S., 1981. Effect of salinity temperature on the growth of the marine phytoplankton *Chlorella saccharophila*. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.* 30 : 257-262.
- Hu, Q., Guterman, H., Richmond, A., 1996. A flat inclined modular photobioreactor for outdoor mass cultivation of photoautotrophs. *Biotechnol. Bioeng.* 51, 51–60.
- Kargın, H., 2004. Tübüler Sistemde *Tetraselmis suecica* Alg Türünün Büyüme Hızı ve Ürün Verimliliği. ME.Ü. BAP SÜF TBB (HK) 2001-3 no'lu proje.
- Kirk, J. T. O., (ed.), 1994. *Light and photosynthesis in aquatic systems*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Miron, A. S., Garcia, M-C. C., Camacho, F. G., Grima, E. M., Chisti, Y., 2002. Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture. *Enzyme and Microbial Technology* 31: 1015-1023.
- Molina Grima, E., Garcia Camacho, F., Sanchez Perez, J. A., Urda Cardona, J., Acien Fernandez, F. G., & Fernandez Sevilla, J. M., 1994. Outdoor chemostat culture of *Phaeodactylum tricornutum* UTEX 640 in a tubular photobioreactor for the production of eicosapentaenoic acid. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 20: 279–290.
- Molina Grima, E., Sanchez Perez, J. A., Garcia Camacho, F., Fernandez Sevilla, J. M., Acien Fernandez, F. G., Urda Cardona, J., 1995. Biomass and eicosapentaenoic acid productivities from an outdoor batch culture of *Phaeodactylum tricornutum* UTEX 640 in an airlift tubular photobioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 42: 658–663.
- Molina Grima, E., 1999. Microalgae, mass culture methods. In M. C. Flickinger, & S. W. Drew (eds.), *Encyclopedia of bioprocess technology: Fermentation, biocatalysis and bioseparation*, vol. 3 (pp. 1753–1769). New York: Wiley.
- Pirt, S. J., Lee, Y. K., Walach, M. R., Watts Pirt, M., Balyuzi, H. H. M., Bazin, M. J., 1983. A tubular bioreactor for photosynthetic production of biomass from carbon dioxide: design and performance. *J. Chem. Biotechnol.* 33: 35–58.
- Pulz, O., 1994. Open-air and semi-closed cultivation systems for the mass cultivation of microalgae. In: Phang, S.M., Lee, K., Borowitzka, M. A., Whitton, B. (eds.), *Algal Biotechnology in the Asia- Pacific Region*. Institute of Advanced Studies, University of Malaya, Kuala Lumpur, pp. 113–117.
- Pulz, O., 2001. Photobioreactors: production systems for phototropic microorganisms, *Appl Microbiol Biotechnol* , 57: 287-293 .
- Ratchford, I. A. J., Fallowfield, H. J., 1992. Performance of a flat plate, air-lift reactor for the growth of high biomass algal cultures. *J. Appl. Phycol.* 4: 1–9.
- Richmond, A., 1990. Large scale microalgal culture and applications. In: Round F.E., Chapman D. J. (eds.), *Progress in physiological research*, vol. 7. Biopress, Bristol.

- Richmond, A., Boussiba, S., Vonshak, A., Kopel, R., 1993. A new tubular reactor mass production of microalgae outdoors. *J. Appl. Phycol.* 5: 327–332.
- Tamiya, H., Hase, E., Shibata, K., Mituya, A., Iwamura, T., Nihei, T., Sasa, T., 1953. Kinetics of growth of *Chlorella* with special reference to its dependence on quantity of available light and on temperature. In: Burlew, J. S. (eds.), *Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant*. Carnegie Institution of Washington Publication No. 600. Carnegie Institution, Washington, DC, pp. 204–232.
- Terry K.L., Raymond L.P., 1985. System design for the autotrophic production of microalgae. *Enzyme Microb Technol*;7: 474–87.
- Tredici M. R., Materassi, R., 1992. From open pond to alveolar panel: the Italian experience. *J. Appl Phycol* 4: 221.
- Tredici M.R., 1999. Bioreactors photo. In: MC Flickinger & SW Drew (eds) *Encyclopedia of bioprocess technology. Fermentation, biocatalysis and bioseparation*, vol. 1, New York: Wiley, pp. 395–419.
- Torzillo, G., Pushparaj, B., Boci, F., Balloni, W., Materassi, R., & Florenzano, G., 1986. Production of *Spirulina* biomass in closed photobioreactors. *Biomass*, 11: 61–64.
- Tsoglin L, Gabel B., 2000. The technology of production of biomass labeled with stable isotopes. Abstracts of the 4th European workshop on biotechnology of microalgae. Bergholz-Rehbrücke, Germany.