

Biyoyakıt Amaçlı *Nannochloropsis salina* Mikroalg Türünün Bazı Yetiştirme Parametrelerinin Belirlenmesi

Konuralp ELİÇİN¹, Caner KOÇ², Mustafa GEZİCİ³, Recai GÜRHAN²

¹Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Makinaları Bölümü, Diyarbakır

²Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Makinaları Bölümü, Ankara

³GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi, Diyarbakır
akelicin@gmail.com

Received (Geliş Tarihi): 01.05.2013 Accepted (Kabul Tarihi): 18.06.2013

Özet: Algler, farklı kimyasal ve biyolojik bileşikleri üretme özelliği nedeniyle ticari önemi olan organizmalardır. Küçük tek hücreli türlerden, karmaşık çok hücreli yapılara kadar çeşitlilik gösterirler. Aynı zamanda, biyokütlenin en önemli birincil üreticileri olup, organizmalar içinde en değerli ekolojik gruplardan biridir. Özellikle, mikroalgler üzerinde yapılan son biyoteknolojik ve teknik incelemeler, gıda, ziraat, yem, çevre ve kozmetik gibi alanlarda kullanımlarını arttırmaya yöneliktir. Bu çalışmada, biyoyakıt üretimine uygunluk, yağ/protein miktarının fazla olması, kolay bulunabilirlik, kontaminasyona dayanıklılık ve farklı sıcaklık gereksinimleri gibi faktörler göz önüne alınarak, Chlorophyceae sınıfına ait *Nannochloropsis salina* türü incelenmiştir. İncelenmeye alınan bu türün; farklı dalga boylarına sahip ışık kaynakları (mavi, sarı, kırmızı ve beyaz), farklı aydınlanma süreleri (12/12, 18/6, 6/18 ve 24/0), farklı sıcaklıklar (21 °C, 28 °C ve 35 °C) ve farklı ışık şiddetleri (172 lux, 186 lux ve 265 lux) gibi yetiştirme parametrelerinin; hücre sayıları, pH ve iletkenlik değerleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda, her iki türde de en iyi yetiştirme parametrelerine beyaz ışık kaynağı, 24 saat aydınlanma süresi ve en yüksek ışık şiddeti değerlerinde ulaşıldığı, sıcaklık değerlerinde ise, türlerin farklı yetiştirme davranışları gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Yenilenebilir enerjiler, mikroalgler, biyodizel, *Nannochloropsis salina*.

Determination of Some Growing Parameters of Microalgae Production *Nannochloropsis salina* for Biofuel

Abstract: Algae, are commercially important organisms that produce compounds. They show up small single-celled and complex multicellular structures of diversity. At the some time they are main producers of biomass as well as the most valuable ecological groups of organisms. In particular, recent biotechnological and technical investigations carried out on microalgae, food, agriculture, food, environment and focuses on increasing use in areas such as cosmetics.

In this research, *Nannochloropsis salina* species were examined for suitable for the production of biofuels, the amount of fat / protein is more easily available, contamination resistance and different factors such as temperature requirements. Taken to examine these species, with different wavelengths of light sources (blue, yellow, red and white), different illumination times (12/12, 18/6, 6/18 and 24/0), different temperatures (21 °C, 28 °C and 35 °C) and different light intensities (172 lux, 186 lux and 265 lux) growth parameters were determined on such as, cell counts, pH, and conductivity values. As a result, the parameters of the best growing in both species, the white light source, a 24-hour illumination time and reached the highest values of light intensity, temperature values, the species showed different growth behavior.

Key words: Renewable energy, microalgae, biodiesel, *Nannochloropsis salina*

GİRİŞ

Besin zincirinin ilk halkasını oluşturan alglerin değerli bir besin kaynağı olduğu bilinmektedir. Algler, farklı kimyasal ve biyolojik bileşikleri üretme özelliği nedeniyle ticari önemi olan organizmalardır. Vitaminler,

pigmentler, proteinler, mineraller, lipid ve polisakkaritler alglerden elde edilen başlıca ürünlerdir. Alglerin sadece yetiştiricilikte değil aynı zamanda pek çok alanda uygulanabilmesi onların kültür çalışmalarını hızlandırmıştır (Şekil 1).



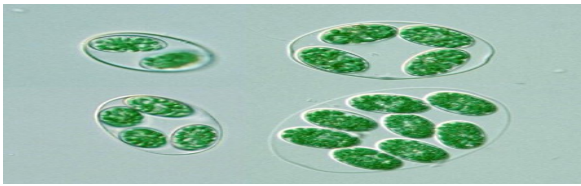
Şekil 1. Alglerin kullanım alanları

Mikroalgler zengin protein, karbonhidrat ve yağ asidi içeriğine sahiptir. Besin değeri yüksek olan bu organizmalar, sucul hayvanlar için macronutrient, vitamin ve iz elementlerin en önemli kaynağıdır. Mikroalglerin bileşiminde bulunan ana madde ham proteindir. Ayrıca mikroalglerin vitamin bakımından zengin olduğu, özellikle vitamin B12 miktarının çokluğu dikkat çekmektedir. Proteince zengin mikrobik algler bol miktarda K, Na, Mg, Ca, P, S, Fe gibi mineral maddeleri ihtiva etmektedir. Bu mineral maddelerin oranı mevsimlere göre az ya da çok değişiklikler göstermektedir.

Algler, birçok farklı sınıflandırma yapılsa da genel olarak, prokaryotik ve ökaryotik olmak üzere iki ayrı sınıfa dahil edilebilirler (Şekil 2 ve 3).



Şekil 2. Prokaryotik alg örneği

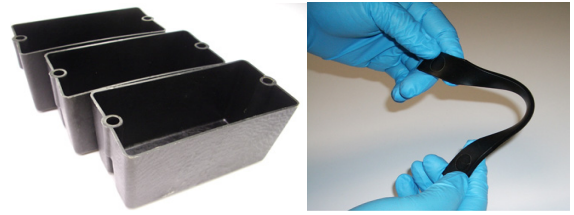


Şekil 3. Ökaryotik alg örneği

Mikroalgler en eski yaşam formlarından biridir. Kök, gövde ve yaprakları yoktur. Fotosentetik pigment olarak klorofil A vardır. Mikroalg yapıları enerji korunumuna öncelik verir ve onların basit gelişimleri, hâkim olan çevre koşullarına adaptasyonlarına ve uzun vadede gelişimlerine olanak sağlar.

Mikroalgler ve sucul makrofitler kullanılarak ve biyoremediasyon sayesinde biyoplastik yapımında ham

madde olarak kullanılabileceği saptanmıştır. Enjeksiyon kalıplı 3-D olarak prototipi çizilmiş kaplar % 50 yosun biyokütlesinden oluşmaktadır. Şekil 4'de Gürcistan merkezli bir firma ve Georgia Üniversitesi'nin birlikte yaptıkları çalışmada mikroalg temelli esnek (elastik) biyoplastik malzemeler görülmektedir. Bu iki ortak kurum mikroalg suşlarından ve atıklarından (reçine) ekstrüzyon bileşik, enjeksiyon kalıplama, döküm filmler, iplik lif ve termoform uygulamalarında kullanılmak üzere reçine geliştirmek için çalışmalarını sürdürmektedir.



Şekil 4. Mikroalg tabanlı biyoplastik modellemesi

Alglerin üretim sistemleri

Mikroalg üretiminde büyük çaplı yetiştiriciliğin amacı, az harcamayla verimli ürün geliştirilmesidir. Büyük ölçekli kültür sistemlerinde ışığın etkin kullanımı, sıcaklık, mikroalg kültüründe hidrodinamik dengeyi ve kültürün devamlılığını sağlama gibi ana hususların karşılaştırılması gereklidir. Her mikroalg türünün ideal gelişimi, kendine özgüdür. Çizelge 1'de mikroalglerin ortalama üretim şartları verilmiştir.

Çizelge 1. Mikroalglerin ortalama üretim şartları

Parametreler	Sınır değerleri	Optimum şartlar
Sıcaklık(°C)	16 – 40	18 – 24
Tuzluluk (g/l)	12 – 40	20 – 24
Işık yoğunluğu (lux)	1000 – 10000	2500 – 5000
Işıklanma süresi (Gündüz:gece h)	-	16:8 min. 24:0 mak.
pH	7 – 9	8,2 – 8,7

Bu mikroalg türlerine ve kültür ortamlarına örnek verecek olursak, Spirulina yüksek pH ve bikarbonat yoğunluğunda, Chlorella besince zengin ortamda, Dunaliella salina ise çok yüksek tuzlulukta en iyi büyümeyi göstermektedir. Günümüzde ticari mikroalg

üretiminde, genellikle insan gıdası olarak değerlendirilen ve tıp-eczacılık alanında kullanılan Spirulina ve Chlorella gibi mikroalgler tercih edilmektedir. Çizelge 2’de bazı mikroalg türlerinin yağ ve protein içerikleri görülmektedir.

Çizelge 2. Bazı mikroalg çeşitlerinin yağ ve protein içerikleri

Mikroalg türü	Yağ (%)	Protein (%)
<i>Anabaena cylindrica</i>	4–7	43–56
<i>Aphanizomenon flos-aqua</i>	3	62
<i>Arthrospira maxima</i>	6–7	60–71
<i>Botryococcus brauni</i>	86	4
<i>Nannochloropsis salina</i>	21	48
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	84	5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2	57
<i>Chlorella vulgaris</i>	14–22	51–58
<i>Dunaliella salina</i>	6	57
<i>Euglena gracilis</i>	14–20	39–61
<i>Prymnesium parvum</i>	22–38	30–45
<i>Porphyridium cruentum</i>	9–14	28–39
<i>Scenedesmus obliquus</i>	12–14	50–56
<i>Spirulina platensis</i>	4–6	46–630
<i>Spirulina maxima</i>	6–7	60–71
<i>Spirogyra sp.</i>	11–21	6–20

Mikroalglerin açık ve kapalı olmak üzere iki sistem de yetiştiriciliği yapılmaktadır. Açık sistemler doğal göletler, havuzlar ve her tür malzemeden imal edilen tanklar sayılabilmektedir. Şekil 4’de, açık havuzlarda mikroalg üretimleri görülmektedir.



Şekil 5. Açık havuzlarda mikroalg üretimi

Kapalı üretim sistemleri ise, küçük ölçekli torbalar, tübuler ve düz-levha fotobiyoreaktörler olarak adlandırılırlar. Şekil 6’da kapalı ortamda, küçük ölçekte yapılan üretim yöntemleri görülmektedir.

Dış mekânlardaki mikroalg üretim sistemlerinin iç mekândaki üretim sistemlerine göre en belirgin farkı, mikroalg kültürlerinin doğrudan çevre etkilerine maruz bırakılmasıdır. *Palmelopsis muralis*, *Chlorella* ve *Spirulina* hiçbir yapay karışım olmaksızın üstü açık, sığ ve geniş

daireseel havuzlarda karışımı sağlanarak üretimi yapılabilmektedir.



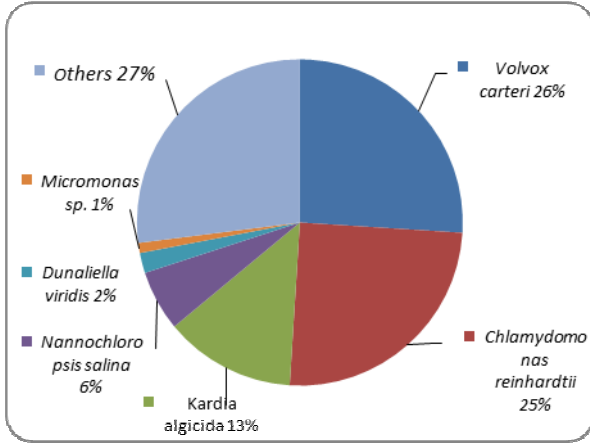
Şekil 6. Kapalı ortamda mikroalg yetiştiriciliği

Açık havuz sistemleri büyük ölçüde çeşitlilik göstermektedir. Bunun temel nedeni ise, bu sistemlerin ekonomik olması ve iç mekân üretim sistemlerinin ise yüksek teknoloji gerektirmesiyle pahalı olmasıdır. Buna rağmen, çok az sayıda mikroalg kültürü dış mekânda yetiştirilebilmektedir. Ayrıca dış ortamda, kültür kirlenmesiyle bulaşık olması mümkün olmaktadır. Önemli oranda buharlaşmayla oluşan kayıplar, hem CO₂’nin atmosfere yayılımı hem de sürekli buharlaşma ve kirlenme tehlikesi açık havuz sistemlerinin diğer dezavantajlarıdır (Sforza *et al.*, 2010).

Mikroalgler genellikle ada ülkelerinde besin olarak kullanılmaya olanakları nedeniyle dikkati çekerek zamanımıza kadar artan bir ilgiyle gözlenmiştir. Bu nedenle çok uzun bir tarihsel geçmişleri bulunmaktadır. Dünyada yoğun olarak kültürü yapılan alg çeşitleri aşağıdaki şekilde verilmiştir (Johnson 2009) (Şekil 7).

Hızla gelişen yenilenebilir enerji kaynakları piyasasında mikroalgler büyük bir öneme sahiptir. Son yıllardaki çalışmaları ile Amerika Birleşik Devletleri mikroalg üretiminde öncü olmuştur. Amerikan hükümetinin dikkatini çekmeyi başaran mikroalgler, 2010 yılının ortalarında, Amerikan Enerji Bakanlığı tarafından, alg tabanlı biyoyakıtları ticarileştirmek için yollar arayan 3 araştırma grubuna 24 milyon dolar para vermeyi taahhüt etmiştir.

Ülkelere göre mikroalg üretim paylarına bakıldığında ise, % 47 ile Amerika Birleşik Devletleri birinci sırada yer almaktadır. Amerika Birleşik Devletleri üretimini yaptığı mikroalglerin büyük bir oranını ilaç ve kozmetik sanayinde kullanmaktadır. Son zamanlarda ise Afrika ülkelerine mikroalg üretim havuzları kurduran A.B.D buradaki açlığın önüne geçmeyi planlarken üretim fazlasını ise ülkesinde değerlendirmeyi öngörmektedir (Eliçin ve ark., 2009).



Şekil 7. Dünyada biyodizel amaçlı yetiştirilen alg türleri

Amerika Birleşik Devletlerini yaptığı % 21 üretim ile takip eden Çin üretiminin tamamını gıda alanında değerlendirmektedir. Son zamanlarda dünyada hızla tüketilmeye başlayan ve uzak doğunun milli yemeği haline gelen suşinin içerisindeki yosun tabakası mikroalg tabanlı olduğunda yüksek rakamlardan alıcı bulunduğu görülmektedir.

Amerika Birleşik Devletleri ve Çini yaptıkları % 14 üretim ile Avustralya ve Yeni Zelanda takip etmektedir. Baş çeken iki ülkenin aksine biyoyakıt konusunda ürettiği mikroalgleri en verimli kullanan ülke Yeni Zelanda'dır. Solezyme isimli Yeni Zelanda firması mikroalg tabanlı biyoyakıt üretimi yapmayı başarmış ve elde ettiği yakıtı az sayıda da olsa otomobiller de denemiştir. Dünyada tek mikroalg tabanlı biyoyakıt istasyonu yine Yeni Zelanda da bulunmaktadır (Şekil 8). Bu beş ülkeyi yaptıkları üretimlerle % 10 ile Avrupa Birliği Ülkeleri, % 6 ile Arjantin, % 2 Brezilya takip etmektedir (Demir ve ark., 2007).



Şekil 8. Solezyme isimli firmanın alg tabanlı biyoyakıt üretim ve dolum istasyonu

Ülkemizde ÖTV (Özel Tüketim Vergisi) tartışmalarının bir türlü sonuca bağlanamadığı ve son yıllarda

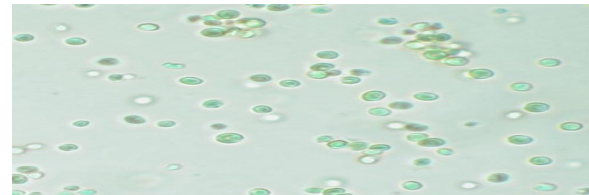
açlığın tüm ülkeleri tehdit etmesinden dolayı, tarım arazilerinin gıda ham maddesi üretimi yerine enerji için ayrılmasının anlamsız olacağından, kanola, soya ve pamuk gibi yağlı tohumların yerine mikroalg kökenli biyoyakıt üretimi için, birçok üniversite ve sivil toplum kuruluşu girişimde bulunmuştur. Özellikle üniversiteler direk üretimden çok en verimli türleri saptamaya yönelik denemeler kurmuşlardır. Bu araştırmaların öncülüğünü Ege Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü ile Ege biyoteknoloji firmasının ortak çalışmasıyla 30 adet mikroalg çeşidinin yetiştirilmesi sağlanmıştır (Eliçin ve ark., 2009). Son olarak, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Makinaları Bölümü'nde ve Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Makinaları Bölümü'nde *Palmolopsis muralis* ve *Dunaliella salina* türleri yetiştirildikten sonra yetiştirilmek üzere seçilen üçüncü tür *Nannochloropsis salina* olmuştur. Bu üç türün yetiştirilme parametrelerinin belirlenme nedeni ise doğada bulunabilirliğinin kolay olması ve dış etkenlerden fazla etkilenmemesi olarak gösterilmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Makinaları Bölümü ile Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Makinaları Bölümünün ortak yürüttüğü mikroalg yetiştirme laboratuvarından görüntüler.

MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırmada materyal olarak, yağ/protein oranı miktarının fazla olması, kolay bulunabilirlik, kontaminasyona dayanıklılık ve sıcaklık gibi yaşam faktörleri göz önüne alınarak, Chlorophyceae sınıfına ait *Nannochloropsis salina* türü seçilmiştir (Johnson 2009).



Şekil 10. *Nannochloropsis salina* mikroskop görüntüsü

Alglerin yetiştirilmesinden sonra denemeler 4 farklı bölümde planlanmıştır. Işık şiddeti ve ışıklanma sürelerinin etkilerinin de incelenecek olmasından dolayı alglerin yetiştirildiği her bir balon jojeye strafor malzeme ile ışık geçirmez birer kutu yapılmıştır (Şekil 11).



Şekil 11. Koruyucu kutular

Deneme başlangıcında alg türümüz, farklı dalga boylarına sahip renkli ışık kaynakları kullanılarak 24 saat aydınlanma süresine tabi tutularak, sabit ışık şiddeti altında hücre sayıları, pH ve iletkenlik değerleri ölçülmüştür. İlk denemede uygulanan 4 farklı renk ışık kaynağı içerisinde en yüksek ışık şiddetine sahip olan ve yetiştirme parametreleri üzerine olumlu etki yaratan beyaz ışık kaynağı seçilip diğer denemelerde de beyaz ışık kaynağı kullanılmıştır. İkinci bölümde beyaz ışık kullanılarak yine sabit ışık şiddetine maruz bırakılan algler, 24 saat aydınlık, 18 saat aydınlık – 6 saat karanlık, 18 saat karanlık – 6 saat aydınlık ve 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık periyotları içerisinde yine aynı parametreler incelenmiştir. Üçüncü bölümde yine aynı şekilde beyaz ışık kullanımı ve sabit ışık şiddeti altında alglerin, sırasıyla 21 °C, 28 °C ve 35 °C'daki hücre sayılarındaki değişimleri ile pH ve iletkenlik değerleri araştırılmıştır. Denemenin son bölümünde ise, beyaz ışık kaynağı kullanılan ve 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyotlar içerisinde ışığa maruz bırakılan alglere, farklı ışık şiddeti uygulanmıştır. Sırasıyla 6V, 9V ve 12V'luk adaptörlerin 60 cm uzunluktaki led ışık kaynağına sağladığı ışık şiddetlerinin aynı parametreler üzerindeki değişimleri belirlenmiştir.

Çizelge 3'de alg türümüze verilen besin maddeleri ve karışım oranları görülmektedir. Bu stok çözelti, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü'nde hazırlanmıştır. Denemeleri yapılacak tür, balon jojelere dağıtılmadan önce büyük bir fanus içerisinde üretilmiştir. Burada yeterli miktarda üretimi gerçekleştirildikten sonra balon jojelere aynı hacimde (300 ml) dağıtımı yapılmıştır.

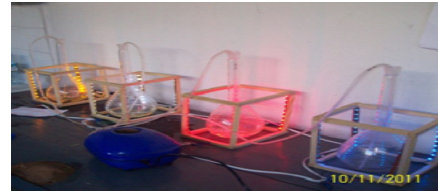
Çizelge 3. Besin maddesi içeriği

İçerik	Miktar	Miktar
NaNO ₃	30 ml / l	10 g / 400ml
CaCl ₂ ·2H ₂ O	10 ml / l	1 g / 400ml
MgSO ₄ ·7H ₂ O	10 ml / l	3 g / 400ml
K ₂ HPO ₄	10 ml / l	3 g / 400ml
KH ₂ PO ₄	10 ml / l	7 g / 400ml
NaCl	10 ml / l	0.4 g / 400ml
P-IV Metal Solution	6 ml / l	0,1 g / 400ml
Soilwater: GR+ Medium	40 ml / l	1,5 g / 400ml
Vitamin B ₁₂	1 ml / l	2 g / 400ml
Biotin Vitamin Solution	1 ml / l	0,9 g / 400ml
Thiamine Vitamin Solution	1 ml / l	0,1 g / 400ml

ARAŞTIRMA BULGULARI

Renkli Led Etkisinin Araştırılması

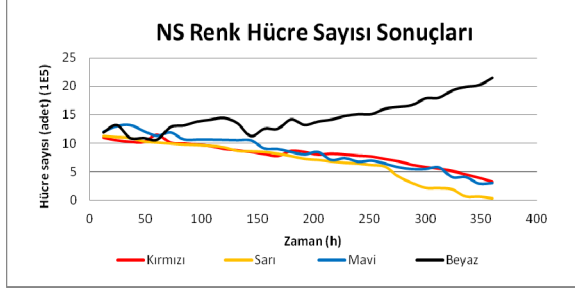
Denemelerin ilk bölümünde farklı renkteki ledlerin alg gelişimine etkileri incelenmiştir (Şekil 12). Kutular içerisinde yapılan ışık şiddeti ölçümlerinde, sarı ışık 117 lüks, mavi ışık 194 lüks, kırmızı ışık 224 lüks ve beyaz ışık 265 lüks sonuçları elde edilmiştir. Literatürlere göre ise bazı türlerin düşük, bazı türlerin ise yüksek ışık şiddeti ihtiyaçları olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, 12 V'luk adaptörlerle 60 cm uzunluktaki ledlerin sağladığı ışık şiddeti olarak belirlenmiştir. Bu denemede, alglerin zamana bağlı olarak, hücre sayıları, pH ve iletkenlik değişimleri gözlemlenmiştir.



Şekil 12. Renk denemeleri

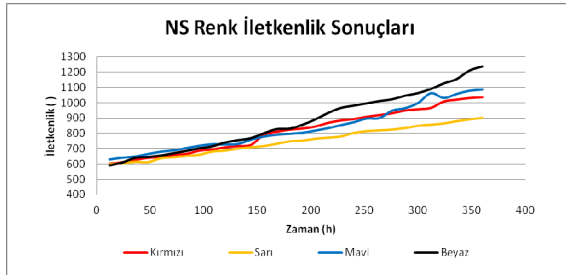
Denemelerin başlangıcında ortalama olarak her bir balon jojenin içine 1250000 adet/l hücre sayısı içeren tür yerleştirilmiştir. *Nannochloropsis salina* mikroalg türünde, kırmızı ışık altında yapılan denemelerde sürekli olarak bir düşüş gözlemlenmiş 15 gün sonunda 320000 adet/lt olarak hücre sayısı belirlenmiştir. Sarı ışıkla gerçekleştirilen denemelerde ilk günden itibaren hücre sayısında çok hızlı bir düşüş gözlemlenmiştir. Denemelerin sonunda 40000 adet/l gibi çok düşük hücre sayıları tespit edilmiştir. Mavi ışık altında gerçekleştirilen denemelerde ise dalgalı bir seyir izlemesine rağmen, hücre sayıları gene 15. günün sonunda 310000 adet/l

değerlerine gerilemiştir. Beyaz ışık altında gerçekleştirilen denemelerde ise, ilk 2 günü bir miktar dalgalı geçirmesine rağmen izleyen günlerde sürekli bir artış görülmüş ve 15. günün sonunda 2150000 adet/l hücre sayısına ulaşmıştır (Şekil 13). (Demirbaş 2010; Tapan 2006).



Şekil 13. *Nannochloropsis salina* türünün, farklı renkli ışık kaynakları kullanılarak zamana bağlı olarak gerçekleşen hücre sayılarındaki değişimler

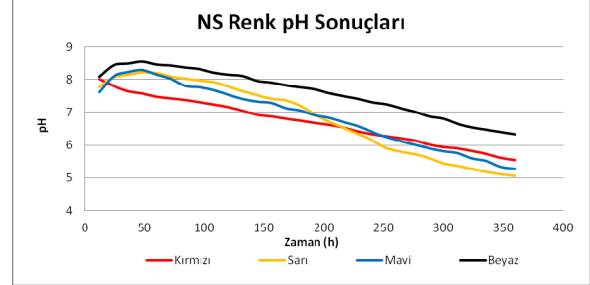
Seçilen tür için, farklı renkli ışık kaynaklarının kullanıldığı zamana bağlı olarak gerçekleştirilen denemelerde, iletkenlik değerlerinde artışlar gözlemlenmiştir (Şekil 14). *Nannochloropsis salina*da en iyi iletkenlik değerine 1236 μ S değeriyle beyaz ışıkta ulaşılırken, en düşük değere 901 μ S değeriyle sarı ışıkta ulaşmıştır (Demir ve ark., 2007).



Şekil 14. *Nannochloropsis salina* türünün, farklı renkli ışık kaynakları kullanılarak zamana bağlı olarak gerçekleşen iletkenlik değerlerindeki değişimler

Farklı ışık kaynaklarıyla gerçekleştirilen denemelerde. *Nannochloropsis salina* türünde zamanla pH değerlerini sürekli azaldığı gözlemlenmiştir. Deneme başlangıcında yetiştirme ortamlarında ortalama olarak 7,9 değerinde pH bulunurken, deneme sonunda en düşük pH değerlerine 5,06 değeriyle sarı ışıkta ulaşmıştır (Şekil 15). Diğer sonuçlara bakılacak olursa, kırmızı ışıkta, 5,54, beyaz ışıkta, 6,33, mavi ışıkta ise 5,28

değerleri tespit edilmiştir (Demir ve ark., 2007; Eliçin ve ark., 2009).

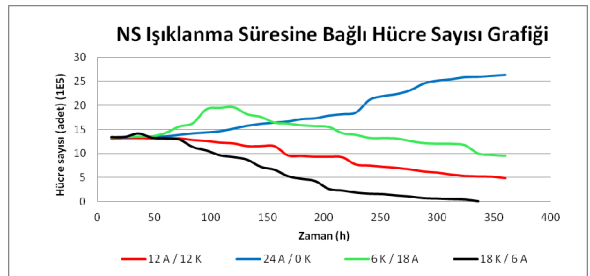


Şekil 15. *Nannochloropsis salina* türünün, farklı renkli ışık kaynakları kullanılarak zamana bağlı olarak gerçekleşen pH değerlerindeki değişimler

İşiklanma Süresi Etkisinin Araştırılması

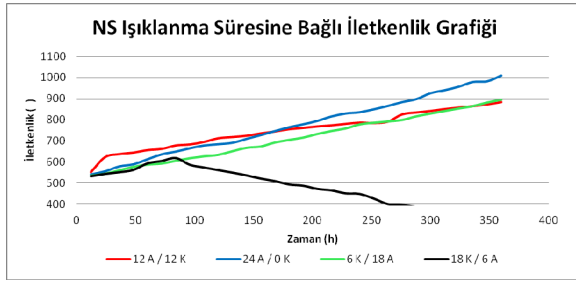
Denemelerin ikinci bölümünde işiklanma sürelerinin *Nannochloropsis salina* yetiştirilmesine etkileri incelenmiştir. Burada, önce 24 saat aydınlık, ikinci de 18 saat aydınlık 6 saat karanlık, üçüncüde 6 saat aydınlık 18 saat karanlık ve son olarak 12 saat aydınlık 12 saat karanlık durumları incelenmiştir. Sadece beyaz ışık veren led ışık kaynağı kullanılmıştır. Yine 12 V'luk adaptörler ve 60 cm led uzunluğundaki ışık kaynağından 265 lüks ışık şiddetinde denemeler yapılmış ve yine aynı parametreler incelenmiştir (Brown et al., 1989; Agra et al., 2004)

İşiklanma süresine bağlı olarak seçilen türle yapılan denemelerde en iyi sonuç 24 saat sürekli beyaz ışık verilen denemede belirlenmiştir. Bu denemede 1336000 adet/l hücre sayısından, 2640000 adet/l hücre sayısına ulaşılırken, diğer tüm deneme koşullarında hücre sayıları önemli oranda azalmıştır (Tawfig et al., 2004; Demir ve ark., 2007). 18 saat karanlık ve 6 saat aydınlık deneme koşulunda 13. günden sonra canlı hücre tespit edilememiştir (Şekil 16).



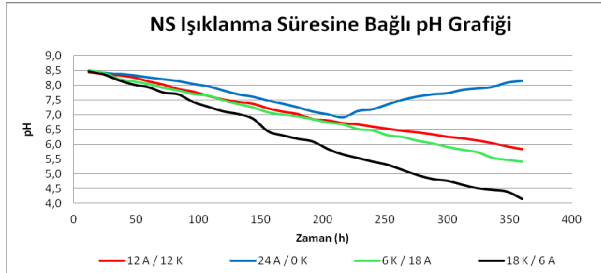
Şekil 16. *Nannochloropsis salina* türünün farklı işiklanma sürelerine bağlı olarak hücre sayılarındaki değişim

Farklı ışıklandırma sürelerinde yapılan denemelerde iletkenlik parametrelerinde değişimler aynı gerçekleşmiştir. *Nannochloropsis salina* türünde 24 saat aydınlık ışıklandırma durumunda iletkenlik miktarı diğer ışıklandırma sürelerine göre, daha yüksek iletkenlik değeri belirlenmiştir (Demir ve ark., 2007). Fakat bu durumda bu türe has bir özellik olduğu ya da hücre sayısının artmamasından meydana gelen atlama yapan (başka-laşıp yeni bir türe dönüşen) bir türün neden olduğu ifade edilebilir (Şekil 17, Şekil 18).



Şekil 17. *Nannochloropsis salina* türünün farklı ışıklandırma sürelerine bağlı olarak iletkenlik değerlerindeki değişimler

Farklı ışıklandırma sürelerine bağlı yapılan pH denemelerinde ise en yüksek pH değerine 24 saat aydınlık ortam koşullarında ulaşılmıştır. En düşük pH değeri ise 18 saat karanlık 6 saat aydınlık ortam koşullarında görülmüştür.

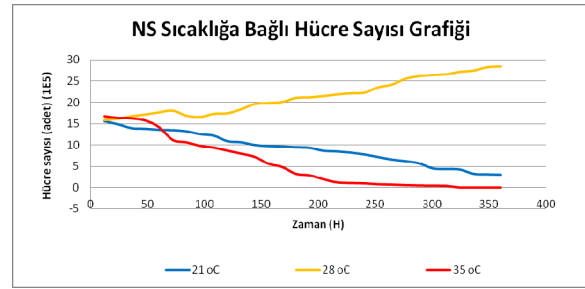


Şekil 18. *Nannochloropsis salina* türünün farklı ışıklandırma sürelerine bağlı olarak pH değerlerindeki değişimler

Sıcaklık Etkisinin Araştırılması

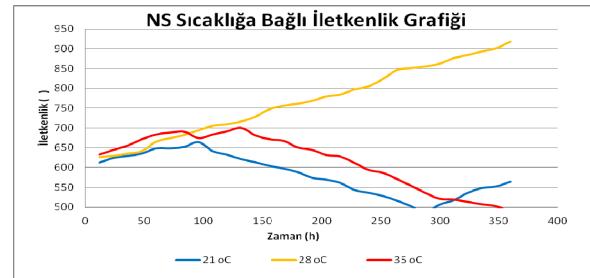
Denemelerin üçüncü bölümünde yine aynı şekilde beyaz ışık kullanılmıştır. 12 V'luk adaptörlerin sağladığı 268 lüks'lük ışık şiddeti altında alglerin, sırasıyla 21 °C, 28 °C ve 35 °C'daki hücre sayılarındaki değişimler, pH, tuzluluk ve iletkenlik değişimleri 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık süreleri içinde 12 saate bir ölçüm alınarak aynı parametreler incelenmiştir (Sforza et al., 2010).

Üç temel sıcaklık belirlenerek yapılan denemelerde, *Nannochloropsis salina* türünde sıcaklığın artmasıyla hücre sayılarında önemli oranda düşüş belirlenmiştir. 35 °C'da hücre sayıları 1680000 adet/l'den 380000 adet/l'ye düşerken 13. günde yüksek sıcaklıktan popülasyon düşmüş ve hücre sayısı tespit edilememiştir, en yüksek hücre sayısına 28 °C'da ulaşılmıştır. 28 °C'da hücre sayıları 1590000 adet/l'den 2845000 adet/l'ye yükselmiştir. 21 °C'daki denemelerde ise, hücre sayıları sırasıyla 1560000 adet/l'den 296000 adet/l'ye düşmüştür (Tawfig et al., 2004; Brown et al., 1989) (Şekil 19).



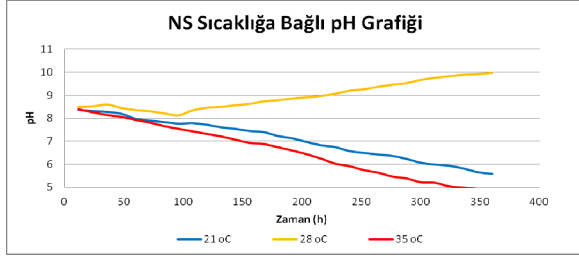
Şekil 19. *Nannochloropsis salina* türünün sıcaklığa bağlı olarak hücre sayılarındaki değişimleri

Her üç sıcaklık kademesinde zamana bağlı olarak yapılan denemelerde en yüksek iletkenlik değerine 918 µS/cm ile 28 °C sıcaklıkta ulaşılmıştır. (Eliçin ve ark., 2007) (Şekil 20).

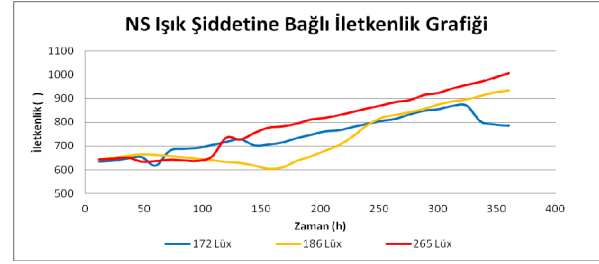


Şekil 20. *Nannochloropsis salina* türünün sıcaklığa bağlı olarak iletkenlik değerlerindeki değişimler

Şekil 21'de *Nannochloropsis salina* türünün sıcaklığa bağlı olarak pH değerlerinde belirlenen değişimler görülmektedir. *Nannochloropsis salina* en yüksek pH değerine 28 °C'da ulaşılmıştır. Bu tür literatürlerde çok yüksek sıcaklığı sevmeyen bir alg türü olarak karşımıza çıkmaktadır. (Demirbaş 2010; Demir ve ark., 2007; Eliçin ve ark., 2009).



Şekil 21. *Nannochloropsis salina* türünün sıcaklığa bağlı olarak pH değerlerindeki değişimler

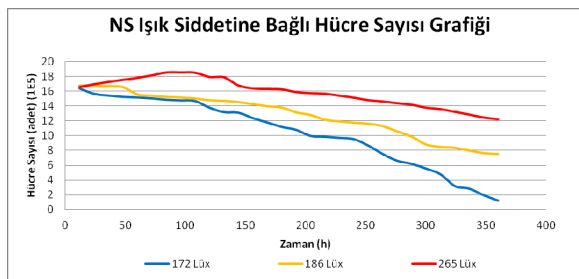


Şekil 23. *Nannochloropsis salina* türünün ışık şiddetine bağlı olarak iletkenlik değerlerindeki değişimler

Işık Şiddeti Etkisinin Araştırılması

Beyaz ışık kaynağı kullanılan ve 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyotlar içerisinde ışığa maruz bırakılan alglere, farklı ışık şiddeti uygulanmıştır. Sırasıyla 6 V, 9 V ve 12 V'luk adaptörlerin 60 cm uzunluktaki led ışık kaynağına sağladığı ışık şiddetleri sırasıyla, 172 lüks, 186 lüks ve 265 lüks olarak belirlenmiştir. Bu şartlar altında hücre sayıları, pH ve iletkenlik değişimleri belirlenmiştir.

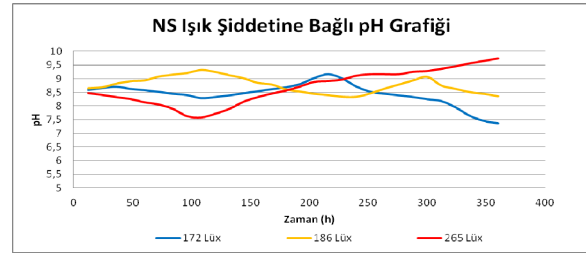
Nannochloropsis salina türünün farklı ışık şiddetine bağlı olarak hücre sayısındaki değişimleri Şekil 22'de görülmektedir. Grafikten de anlaşılacağı üzere ışık şiddetinin artırılmasıyla hücre sayısındaki düşüşler daha da azalmıştır. Bu eğrilerde de ışık şiddetlerinin algler üzerindeki etkisi belirlenebilmektedir (Gökpınar 1983; Scragg *et al.*, 2002). Burada hücre sayısındaki düşüşler ışıklandırma süresinin 12 saat karanlık 12 saat aydınlık şeklinde olmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 22. *Nannochloropsis salina* türünün ışık şiddetine bağlı olarak hücre sayısı değerlerindeki değişimler

Nannochloropsis salina türünün farklı ışık şiddetine bağlı olarak iletkenlik değerlerindeki değişimler Şekil 23'de görülmektedir. Grafiklerden de anlaşılacağı üzere ışık şiddetinin artırılmasıyla iletkenlik değerlerinde artış gözlenmektedir. (Johnson and Wen 2009).

Nannochloropsis salina türünün ışık şiddetine bağlı olarak pH değerlerindeki değişimler Şekil 24'de görülmektedir. En yüksek pH değerine 265 lüks de ulaşılmıştır. (İlgi ve Şebnem 2007; Xu *et al.*, 2006).



Şekil 24. *Nannochloropsis salina* türünün ışık şiddetine bağlı olarak pH değerlerindeki değişimler

SONUÇLAR

Renkli led denemelerinde, *Nannochloropsis salina* türü için en iyi büyüme, hücre sayılarına bakıldığında beyaz ışık altında gözlemlenmiştir. En yüksek ışık şiddeti; mavi, kırmızı, sarı ve beyaz renkli ledlerde 265 lüks ile beyaz led'e aittir. İletkenlik değerleri de ışık şiddetiyle doğru orantılı olarak artmıştır, pH değerlerinde ise ışık şiddetleri ile doğru orantılı olarak düşüş görülmüştür (Johnson 2009).

İşıklandırma süresi denemelerinde, *Nannochloropsis salina* türü için 24 saat aydınlık ortamda en yüksek hücre sayısı belirlenmiştir. 18 saat karanlık/6 saat aydınlık ortamda ise en düşük hücre sayısı gözlemlenmiştir. 24 saat aydınlık ortamda iletkenliğin arttığı belirlenmiştir. pH değerlerine bakıldığında karanlık zamanların artmasıyla pH değerlerinde düşüş görülmüştür fakat 24 saat aydınlık ortamda 9. güne kadar düşen pH, 9. günden sonra yükselişe geçmiş 15. gün sonunda 8,15'e ulaşmıştır (Sforza *et al.*, 2010; Johnson 2009).

Sıcaklık denemelerinde, *Nannochloropsis salina* türü en yüksek hücre sayısına 28°C ulaşarak orta sıcaklığı seven bir tür olduğunu göstermiştir. En düşük hücre sayısına 35 °C'da ulaşılmıştır. İletkenlik verileri değerlendirildiğinde en yüksek iletkenlik değerine 28°C'da ulaşılmıştır. pH ise iletkenlik gibi 28°C'da en yüksek pH değerine ulaşılmıştır.

Işık şiddetine bağlı yapılan denemelerde, *Nannochloropsis salina* türünde en yüksek hücre sayısına 12 V yani 265 lüx'de ulaşılmıştır. Şekil 22'de düşüş görülmesinin sebebi denemelerin 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodunda yapılmasından kaynaklan-

maktadır. İletkenlik değerlerinde ise, ışık şiddeti ile doğru orantılı olarak artış görülmüştür. pH verilerinde ise 12 saat aydınlık 12 saat karanlık periyodundan dolayı dalgalanma olsa da en yüksek pH değeri 265 lüx'de görülmüştür. (Sforza *et al.*, 2010).

Sonuç olarak, *Nannochloropsis salina* türünün orta sıcaklıkları isteyen, yüksek sıcaklıktan ve düşük sıcaklıktan çabuk etkilenen ve çabuk kontamine olmasından ötürü dış ortamlardan ziyade kapalı ortamlarda yetiştirilmesi gereken bir alg türü olduğu belirlenmiştir.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Agra, I.B., Warnijati, S. and Wiratni, F. 1996. Two steps ethanolysis of castor oil using sulfuric acid as catalyst to producer motor oil. World Renewable Energy Congress, p., 1025, June 15 – 21, Colorado.
- Brown, M.R. Jeffrey, S.W. Garland, C.D. 1989. Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review. CSIRO Mar. Lab. Rep. 205, 44.
- Demir, N., Kırkağaç, U.M., Topçu, A., Zencir, Ö., Pulatsü, S. ve Benli, K.Ç. 2007. Sarısu-Mamuca Gölü (Eskisehir) Su Kalitesi ve Besin Düzeyinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi. Sayı 13(4), 385-390.
- Demirbaş, A. 2010. Use of algae as biofuel sources. Journal of Energy Conversion and Management. Volume 51, pp: 2738-2749.
- Eliçin, A.K., Saçlık, K. ve ERDOĞAN, D. 2007. Haşhaş Yağı Esterlerinin Bir Diesel Motorunda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi. Tarımsal Mekanizasyon 24. Ulusal Kongresi Bildiri Kitabı, 5-6 Eylül, Kahramanmaraş.
- Eliçin, A.K., Kılıçkan, A. ve Avcıoğlu, A.O. 2009. Mikroalgelerden Biyodizel Üretimi. 25. Tarımsal Mekanizasyon Ulusal Kongresi Bildiri Kitabı, Sayfa 273-278, Isparta.
- Gökpinar, Ş. 1983. Observations on the culture of a marine diatom *Phaeodactylum tricornerum* Bohlin in different nutrient and salinity concentration. Ege Ü. Fac. of Science, Volume 6; pp: 77-86.
- Gökpinar, Ş. ve Cirik, S. 1991. *Phaeodactylum tricornerum*'un geniş ölçekli yığın kültürleri üzerine tuzluluk faktörünün etkisi. Ege Ü. Su Ürünleri F. Eğitiminin 10. Yılında Su Ürünleri Semp., 12-14 Kasım, İzmir, pp: 429-438.
- İlgaz, S. 2003. Farklı Tuzluluk Değişimlerinin *Nannochloropsis oculata* ve *Isochrysis galbana* türlerinin büyüme hızlarına etkileri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- İlgi, K.K. ve Şebnem, A. 2007. Sürekli İşletilen Alg-Fotobiyoreaktör Sisteminde Atık Sudan Azot Giderimi. 7. Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi Bildiri Kitabı, İzmir. Sayfa 267-273.
- Johnson, M.B. and Wen, Z. 2009. Production of Biodiesel Fuel from the Microalga *Schizochytrium limacinum* by Direct Transesterification of Algal Biomass. Journal of Energy Fuels, pp. 79-83.
- Johnson, M.B. 2009. Microalgal Biodiesel Production through a Novel Attached Culture System and Conversion Parameters. Thesis submitted to the Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Biological System Engineering. Blacksburg, VA.
- Naz, M. ve Gökçek, K. 2006. Fotobiyoreaktörler: Fototropik Mikroorganizmalar için Alternatif Üretim Sistemleri. Ulusal Su Günleri 2004, 6-8 Ekim 2004, İzmir.
- Scragg, A.H., Illman, A.M., Carden, A. and Shales, S.W. 2002. Growth of microalgae with increased calorific values in a tubular bioreactor. Journal of Biomass and Bioenergy. Volume 23, pp: 67-73.
- Sforza, E., Bertuccio, A., Morosinotto, T., Giacometti, G.M. 2010. Vegetal oil from microalgae: species selection and optimization of growth parameters. Chemical Engineering Transactions. Volume 20, pp: 199-204
- Tapan, D. 2006. Çevre Koşullarının Bazı Mikroalg Türlerinin Büyümesi Üzerine Etkisinin Araştırılması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Tawfiq S. A., Suad A.H., and Jacob D.A. 2004. Optimum culture condition required for the local isolated *Dunaliella salina*. Journal of Algal Biomass Utilization. Volume 1(2), pp: 12-19
- Vonshak, A. 1997. *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell biology and Biotechnology. Taylor and Francis, London, Great Britain; pp: 213-226.
- Yılmaz, H.K., 2006. Mikroalg Üretimi için Fotobiyoreaktör Tasarımları. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi. 23 (1/2) : 327-332.
- Xu, H., Miao, X. and Wu Q. 2006. High Quality Biodiesel Production From a Microalga *Chlorella protothecoides* by Heterotrophic Growth in Fermenters. Volume 126, pp: 499-507.
- Utex-Alg türleri kültür koleksiyonu
<http://www.sbs.utexas.edu/utex/search.aspx?txtSearch=dunaliella+salina> Erişim tarihi: 21.11.2011
- PMC- US National Library of Medicine National Institutes of Health
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/?term=microalgae&report=imagesdocsum> Erişim tarihi: 03.05.2013