

# AQUATIC RESEARCH



Aquatic Research 1(2), 64-76 (2018) • DOI: 10.3153/AR18008

Original Article/Full Paper

## BİYOKÜTLE İÇİN MİKROALG VE SİYANOBAKTERİ'NİN BÜYÜK ÖLÇEKLİ ÜRETİMİ

Zeliha Demirel<sup>1</sup> , Rüştü Tok<sup>2</sup> , Işıl İlter<sup>3</sup> , Saniye Akyıl<sup>3</sup> , Ayşegül Erdoğan<sup>4</sup> , Mehmet Koç<sup>5</sup> , Figen Kaymak Ertekin<sup>3</sup> , Meltem Conk Dalay<sup>1</sup> 

### Cite this article as:

Demirel, Z., Tok, R., İlter, I., Akyıl, S., Erdoğan, A., Koç, M., Kaymak Ertekin, F., Conk Dalay, M. (2018). Biyokütle için Mikroalg ve Siyanobakteri'nin Büyük Ölçekli Üretimi. Aquatic Research, 1(2), 64-76. DOI: 10.3153/AR18008

<sup>1</sup> Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir

<sup>2</sup> Egert Doğal Ürünler Üretim Hayvancılık Gıda Yem İth. İhr. Paz. San. Tic Ltd. Şti., İzmir

<sup>3</sup> Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir

<sup>4</sup> Ege Üniversitesi, Merkez Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uyg. ve Araş. Merkezi, İzmir

<sup>5</sup> Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın

### ÖZ

Mikroalgler ve siyanobakteriler, binlerce yıldır ilaç, gıda ve su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisi için yüksek değerli bileşiklerin doğal bir kaynağı olarak kullanılmaktadır ve büyük ölçekli mikroalg yetiştirilmesi, yarım yüzyılı aşkın bir süredir yapılmaktadır. Yakın zamanda yeni mikroalg ve siyanobakteri türleri tanımlanmış ve çeşitli ürünler için algal biyokütle yetiştiriciliği ticari ölçekli sistemlere geçilmiştir. İlk olarak, steril şişede (2L, 5L ve 10L) laboratuvar koşullarında yetiştirilen *Arthrospira (Spirulina) platensis* ve *Phaeodactylum tricorutum* kültürlerinin spesifik büyüme hızları ve klorofil-a analizleri yapılmıştır. Ardından ticari uygulama için büyük ölçekli siyanobakterler ve mikroalg biyokütlesi üretimi için açık ve kapalı sistemler kuruldu. Alg biyokütlesi üretimi için çevresel koşullar altında bir açık karıştırma tankı ve iki farklı tipte kapalı-kültür sistemi veya fotobiyoreaktör (polipropilen torbalar ve plexiglas tüpleri) kullanıldı. Bununla birlikte, *P. tricorutum*, düşük sıcaklığa karşı iyi direnç göstermiş ve düşük ışık şiddeti koşullarında bile büyüebilmiştir. Açık havuz sistemlerinin performansı karşılaştırıldığında, entegre sıcaklık düzenlemesine sahip dış mekan sistemlerinin, daha iyi iklim koşullarına sahip bölgelerdeki açık havuzlarda yetiştirilen kültürlerle benzer bir biyokütle üretimi elde edildiği gösterilmiştir. Ülkemizde yetiştirilen mikroalg ve siyanobakterilerin biyokütle verimliliğinin artırması, ileri tekniklerle tasarlanan ve düşük maliyetli teknolojilerle geliştirilen fotobiyoreaktör ile sağlanabilir.

**Anahtar Kelimeler:** *Arthrospira (Spirulina) platensis*, *Phaeodactylum tricorutum*, Biyokütle, Fotobiyoreaktör

### ABSTRACT

#### LARGE-SCALE PRODUCTION OF MICROALGAE AND CYANOBACTERIA FOR BIOMASS

Microalgae and cyanobacteria have been used a natural source of high-value compounds for pharmaceutical, food and aquaculture industry for thousands of years, and the large-scale cultivation of microalgae has existed for over half a century. More recently novel species of microalgae and cyanobacteria have been identified and the cultivation of algal biomass for various products is transitioning to commercial-scale systems. Firstly, *Arthrospira (Spirulina) platensis* and *Phaeodactylum tricorutum* cultures grown in the sterile bottle (2L, 5L and 10L) in the laboratory conditions were studied by means of specific growth rate and chlorophyll-a analysis. Then, open and closed systems were installed for large scale production of cyanobacteria and microalgae biomass industry for commercial application. For the production of algae biomass, one open stir tank and two different types of closed-cultured systems or photobioreactors were used (Polypropylene bags and Plexiglas tubes) under environmental conditions. However, *P. tricorutum* has a good resistance to low temperature and they can grow even under low light intensity conditions. Comparing the performance of open pond systems, it was shown that the outdoor systems with integrated temperature regulation resulted in a biomass production similar to that for cultures grown in outdoor open ponds in regions with better climatic conditions. Grown in our country increasing microalgae and cyanobacteria biomass productivity of can be achieved by designing advanced and developing low cost technologies photobioreactors.

**Keywords:** *Arthrospira (Spirulina) platensis*, *Phaeodactylum tricorutum*, Biomass, Photobioreactor

Submitted: 05.02.2018

Accepted: 26.02.2018

Published online: 01.03.2018

### Correspondence:

Zeliha DEMİREL

### E-mail:

[zelihademirel@gmail.com](mailto:zelihademirel@gmail.com)

©Copyright 2018 by ScientificWebJournals

Available online at

<http://aquatres.scientificwebjournals.com>

## Giriş

Mikroalgler ve siyanobakterilerin çoğu fototrofik olarak yaşayabilirken az bir kısmı ise heterotrofik olarak, doğada çok geniş (tatlı su ve denizel, karasal) yaşam alanlarında hayatlarını sürdürebilmektedirler. Eskiden mikroalgler özellikle akuakültürde kullanılmasına rağmen günümüzde protein, klorofil, karotenoid ve lipidler gibi çeşitli yüksek değerli molekülleri içermeye yetenekleri sayesinde çalışmalarda tercih edilmektedirler. Ticari olarak mikroalgler ve siyanobakteriler, gıda, yem, farmastötik ve enerji sektöründe sürdürülebilir seçeneklerin geliştirmesi nedeniyle yakın gelecekte umut vaat eden organizmalar arasında yer almaktadır.

*Arthrospira (Spirulina) platensis* çok hücreli, filamentli fotosentetik bir siyanobakteri türüdür. Ticari olarak besin ve gıda takviyesi olarak üretimi yapılmaktadır. Bu özelliklerinin yanında *Spirulina* biyolojik işlevleri bakımından antiviral, anti-enflamatuar ve antioksidan aktiviteye de sahiptir. Yaygın şekilde yetiştirilmesinin sebebi bazı hastalıkların (artrit, anemi, kardiyovasküler hastalıklar, alerjiler, tümörler ve kanser) tedavisinde gıda takviyesi olarak kullanılmasındandır. *Spirulina* fikosiyanın proteini gibi fonksiyonel bileşiklere sahip olmasından dolayı gıdalarda renklendirici ve emülgatör olarakta kullanılmaktadır (Madkour ve diğ., 2012).

*Phaeodactylum tricornutum* en çok çalışılan denizel bir diyatom türüdür. Eikosapentanoik asit (EPA)in önemli potansiyel kaynağı olarak düşünülen tür, essansiyel yağ asitleri ve karotenoidleri (fukoksantin) insan ve akuakültürde hayvanlarının beslenmesinde kullanılmaktadır. Günümüzde *Phaeodactylum* biodizel üretimi içinde önemli adaylar arasında yer almaktadır (Benavides ve diğ., 2013).

Fukoksantin kahverengi yosunlar ve diyatomlarda bulunan majör (baskın) karotenoiddir. Bu pigment formları, klorofil (Chl) a, Chl c ve bir apoprotein ile birlikte çalışmaktadır. Işığı fukoksantin hasat ederek klorofil a/c kompleksi ile birlikte fotosentez için fotosentez reaksiyon merkezlerindeki ışık enerjisini transfer eder. Bu karotenoidin güçlü antioksidan, anti-inflamatuar, anti-obezite, antidiyabetik, antikanser ve antihipertansif aktiviteler sergilediği bilinmektedir. Fukoksantin, kanatlı hayvan ve su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinde hayvan yemi içerisine katkı maddesi olarak da ilave edilmektedir (Xia ve diğ., 2013).

Karotenoidler ve fikobiliproteinlerin hücredeki fonksiyonları ya ışık hasat pigmentleri ya da ışık koruyucu ajanları olarak görev alarak, fototrofik türlerde sentezlenmektedir. Karotenoidler ve fikobiliproteinler yem ve gıdalarda renklendirici olarak kullanılabilir, ancak en önemli özellikleri fonksiyonel sağlık içerikleri nedeniyle. Fikobiliprotein-

ler, bazı karotenoidler ve diğer biyolojik olarak aktif moleküller mikroalg ya da siyanobakteriler tarafından sentezlenir. Günümüzde  $\beta$ -karoten, astaksantin ve fikosiyanın elde edilmesi için üretim yöntemlerinin belirlenmesiyle büyük ölçekli mikroalgal kültürleri yetiştirilmektedir (Eriksen, 2016).

Dünya da mikroalgler ve siyanobakterilerin yetiştirilmesinde en çok açık havuz ve kapalı fotobiyoreaktör üretim sistemleri kullanılmaktadır. Fotobiyoreaktörler, besin maddelerinin ilavesiyle büyüme, sıcaklık, çözünmüş CO<sub>2</sub> ve pH gibi ekim parametrelerinin kontrol edildiği kapalı sistemlerdir. Tercih edilmesinin sebebi kontaminasyonu engelleyen, kolay kontrol edilebilen sistem sunmasındandır. Açık havuz sistemlerinde kontaminasyonların sınırlandırılmasının zor olması nedeniyle daha az tercih edilen sistemlerdendir. Bununla birlikte, fotobiyoreaktörler yüksek başlangıç maliyetine sahiptirler ve seçilen mikroalg türünün üretimi için özel fizyolojiye sahip olması gerekmektedir. Bu nedenle, üretim tesisinde mikroalg türlerine spesifik sistemlerin gerekliliği önemli bir faktördür (Harun ve diğ., 2010).

Ülkemizde mikroalg ve siyanobakterilerin üretimleri büyük çapta özellikle akuakültür, gıda takviyesi, gübre, kozmetik ve gıda ürünleri içine katkı maddesi olarak ilave edilmesi ile gerçekleşmektedir. Bu kapsamda ülkemizde üretilen büyük çap üretimleri için türler genellikle havuzlarda veya poşetlerde üretilmektedir. Bu çalışma ile *Arthrospira (Spirulina) platensis* ve *Phaeodactylum tricornutum* için ergonomik, kolay kontrol edilebilen sistemlerinin kurulması ile rahat işletilebilecek üretim sistemlerin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Yapılan bu çalışma, Ege Üniversitesi Biyomühendislik Mikroalg Biyoteknoloji Laboratuvarının da küçük çapta üretilen mikroalg (*P. tricornutum*) ve siyanobakterinin (*A. platensis*) büyük çapta üretimi için Egert Doğal Ürünler Üretim Hayvancılık Gıda Yem İthalat İhracat Pazarlama San. Tic. Ltd. Şti. seraları ve üretim imkânlarından yararlanılmıştır. *P. tricornutum* kapalı (fotobiyoreaktörler) ve *A. platensis*' in açık (karıştırmalı tanklar) sistemlerde ticari üretiminin gerçekleştirilmesi için ucuz, dayanıklı, kolay kurulabilir ve üretim kolaylığı sağlayan sistemlerin kurulması hedeflenerek, üretim sonrası mikroalgal biyokütle miktarlarının artırılması sağlanmıştır.

## Materyal ve Metot

### Materyal

*Arthrospira (Spirulina) platensis* (EGEMACC 38) ve *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin (EGEMACC 70) türleri Ege Üniversitesi Mikroalg Kültür Koleksiyonundan (Anonymus 2018a) temin edilmiştir.

### Mikroalg ve Siyanobakterinin Üretimi ve Kurulan Sistem Özellikleri

Stok kültürlerden inokulumlarının hazırlanmasında 2L, 5L ve 10L'lik sterililmiş şişeler kullanılmıştır. Zarrouk ve F/2 ortam içerisinde  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  sıcaklıkta, flüoresans beyaz ışık altında ( $50 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) sürekli aydınlatmalı ve havalandırmalı ( $3 \text{ L dak}^{-1}$ ) olarak 15 gün boyunca üretilmiştir (Şekil 1).



**Şekil 1.** Stok kültürün 2L, 5L ve 10L'lik havalandırmalı steril şişelerdeki kontrollü üretimi

**Figure 1.** The stock cultures grown in 2L, 5L and 10L sterile bottles under control conditions

*A. platensis* ve *P. tricornutum* kültürlerin 2L, 5L ve 10L'lik üretimlerindeki optik yoğunluk değişimleri ve klorofil a analizleri 15 günlük üretim boyunca yapılarak, spesifik büyüme hızı ve ikilenme süreleri klorofil-a miktarından hesaplanmıştır.

**Optik yoğunluk:** Spektrofotometre (Ultrospec1100 pro UV-Visible Spektrofotometre, Amersham Biosciences) ile *A. platensis* için 560 nm (Cisneros ve diğ., 2004) ve *P. tricornutum* için 680 nm (Yongmanitchai ve Ward, 1991) kullanılarak kültürlerin optik yoğunlukları belirlenmiştir.

***A. platensis* için klorofil a tayini:** 5 mL *A. platensis* kültürü GF/C filtreden süzülüp, filtrat üzerine 5 mL metanol eklenmiştir. Klorofil-a'nın ekstraksiyonu için  $70^\circ\text{C}$ 'lik su banyosunda 2 dakika bekletilip ardından ekstrakt, 5000 devir/dak'da 5 dakika santrifüjlenerek hücre artıkları uzaklaş-

tırılmıştır. Daha sonra üst fazın 665 ve 750 nm'lerdeki absorbansları spektrofotometre yardımıyla ölçülerek, absorbans değerleri aşağıdaki eşitliğe yerleştirilerek *A. platensis* için klorofil-a miktarları Eşitlik 1'e göre mg/L cinsinden hesaplanmıştır (Boussiba vd., 2004).

$$\text{Klorofil-a (mg/L)} = 13,9 \times (OD_{665} - OD_{750}) \quad (1)$$

***P. tricornutum* için klorofil a tayini:** 5 mL *P. tricornutum* kültürü, 5 dakika boyunca 6000 rpm'de santrifüjlenip ve hücre pelleti üzerine 1 mL DMSO ilave edilmiştir. Hazırlanan örnekler, 5 dakika boyunca (HF frekansı 20 kHz) sonikasyona tâbi tutularak hücre parçalanması gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon için parçalanmış örnekler karanlıkta 30 dakika boyunca  $55^\circ\text{C}$  de inkübe edilmiştir. 4500 rpm'de santrifüje edildikten sonra spektrofotometrede 665 nm absorbansı ölçülerek Eşitlik 2 'ye göre hesaplanmıştır (Seely ve diğ., 1972).

$$\text{Klorofil-a (mg/L)} = OD_{665} / 73,6 \quad (2)$$

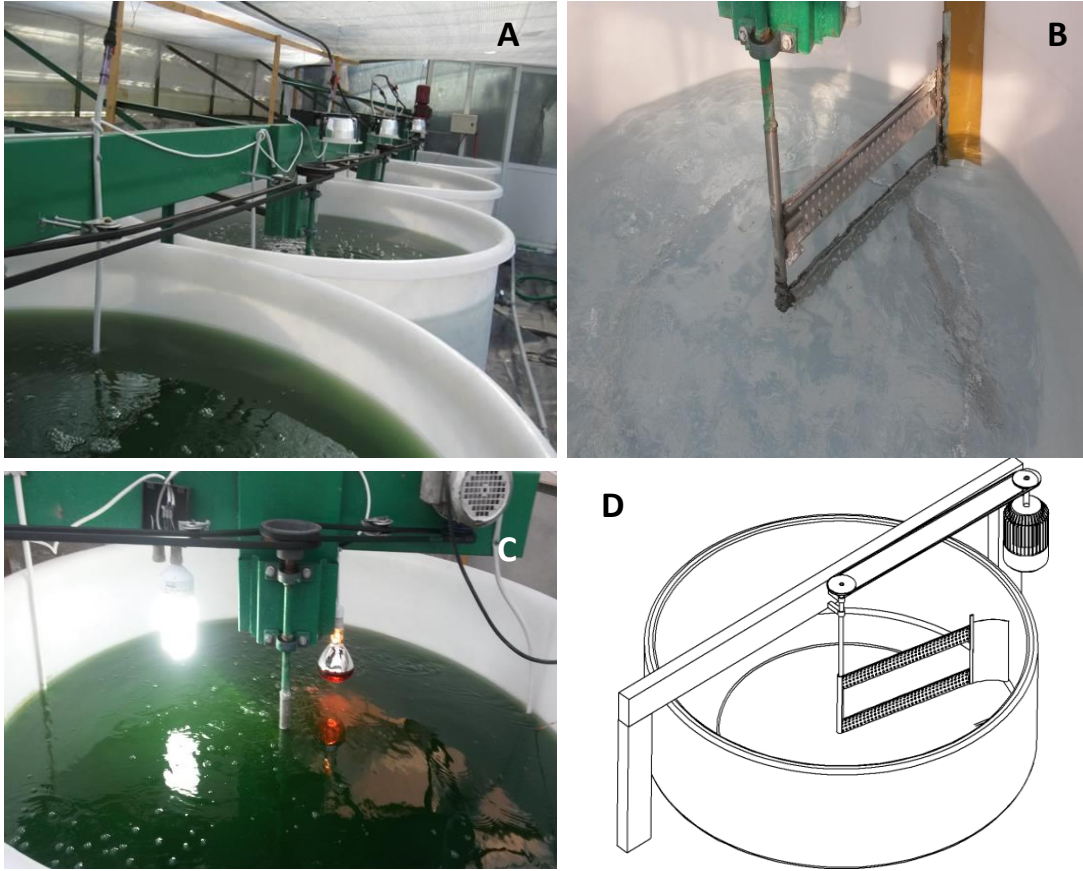
**Spesifik Büyüme Hızının belirlenmesi:** *A. platensis* ve *P. tricornutum* 'un spesifik büyüme hızı Eşitlik 3'e göre hesaplanmıştır (Tomaselli, 1997).

$$\mu = \ln x_2 - \ln x_1 / t_2 - t_1 \quad (3)$$

Burada:  $\mu$ ; Spesifik büyüme hızı ( $\text{gün}^{-1}$ ),  $x_2$ ;  $t_2$  (gün) anındaki konsantrasyon  $x_1$ ;  $t_1$  (gün) anındaki konsantrasyondur.

*A. platensis* büyük çap üretimi için karıştırmalı tank sistemleri hazırlanmış ve bu sistem içerisine Zarrouk ortam kimyasallarından sadece iz metaller ilave edilmeden, havuz içerisinde tamamen çözüldürülen kimyasallar ile kültür ortamı hazırlanmıştır (Şekil 2). Kullanılan kimyasallar gıda sınıfı (food grade) kalitesinden seçilmiştir. Hazırlanan ortam üzerine belli oranda inokulum ilave edilmiştir (Madkour ve diğ., 2012).

Polietilen karıştırmalı tanklar 1 tonluk su kapasitesine sahip olup, üretimler için 750 L'lik tank alanı kullanılmıştır. *A. platensis* bikarbonatça zengin alkali kültür ortamında üremesi nedeniyle kullanılan malzemeler pH 9-10 a dayanıklı ürünler arasından seçilmiştir. Havuzlar alttan havalandırmalı olarak tek taraflı yerleştirilen pervane yardımıyla karıştırılmıştır. Sera içerisinde yıl boyunca üretimin devamı için havuzların etrafı serpantin benzeri boru ile sarılarak, ceket sistemi hazırlanmış ve sistemin tüm yıl kullanılması sağlanmıştır. Tankların ısısı ve karıştırma hızı kontrol paneli sayesinde kontrol edilmiştir. Ayrıca havanın kapalı olduğu zamanlarda sentetik ışık yardımıyla havuzlar aydınlatılmıştır. Sistem paralel karıştırmalı olarak kurulmuş ve tahliye muslukları havuzların altına yerleştirilmiştir.



**Şekil 2.** *Arthrospira platensis*'in yetiştirilmesi için kullanılan karıştırılmalı tank havuzlar, A; Paralel üretim sistemi, B; Ortam ilave edilerek kullanılan sistem, C; Aydınlatmalı üretim sistemi, D; Sistemin teknik çizim ile gösterimi

**Figure 2.** The open stir tanks used for the cultivation of *Arthrospira platensis*, A; Parallel production system, B; The system used by adding the medium C; Illuminated production system, D; Schematic diagram of the system

*P. tricornutum*'un büyük çapta üretimindeki kültür ortamının hazırlanmasında Çiğli tuzludan alınan yıkanmış deniz tuzuna sodyum nitrat, sodyum fosfat ve sodyum silikat ilave edilerek sentetik F/2 kültür ortamı hazırlanmıştır (Guillard ve Ryther, 1962). Yıkanmış deniz tuzu litreye 20 gram olarak kullanılmıştır. Ana besleme tankı içerisine tuz ve kimyasallar ilave edilip çözündürüldükten sonra, asılı poşet ve karıştırılmalı havalandırılmalı fotobiyoreaktör sistemlerine tank yardımıyla eşit bir şekilde pompa edilerek aktarılmıştır.

Sera içindeki polietilen plastik torbadaki üretim için 75 L'lik hacimde hazırlanan torbalar V-şeklinde asılmış ve sabitlemek için tahta platform kullanılmıştır. Poşetler asıldıktan sonra delik, yırtık kontrolü yapılmış ve ana tank içerisinde

hazırlanan ortam Şekil 3 1b de görüldüğü gibi yukardan besleme ile poşetlere ilave edilmiştir. Bu sistemde kullanılan polietilen şeffaf poşetler 1 mm kalınlığında Gıda Çarşısından (İzmir) sulama hortumu olarak satın alınmıştır. Tahta platform üzerine Şekil 3 1a da görüldüğü gibi hava dağıtıcısı yerleştirilerek, her bir poşet için hava hattı yukardan ilave edilerek kültürlerin karışması ve hava ihtiyacı sağlanmıştır.

Sera içine kurulan diğer sistem karıştırılmalı havalandırılmalı fotobiyoreaktörün yaklaşık 450 L hacimde hazırlanmıştır. Sistemler demir platform üzerine yerleştirmiştir. Reaktörlerin havalandırma, karıştırma ve besleme hızı kontrolü platform üzerine yerleştirilen pano üzerinden kontrol edilmektedir (Şekil 4-2).



**Şekil 3.** *Phaeodactylum tricornutum*'un yetiştirilmesi için hazırlanan sistemler. 1; *P. tricornutum* yetiştirirken 75 L' lik V asılı torbalarda

**Figure 3.** The prepared systems for the cultivation of *Phaeodactylum tricornutum*, 1; *P. tricornutum* cultivation in vertical hanging plastic bags of 75 L



**Şekil 4.** *Phaeodactylum tricornutum*'un yetiştirilmesi için kullanılan sistemler. (2) Suşun dikey kolon ve karıştırılmalı fotobioreaktörde üretimi

**Figure 4.** The systems used for cultivation of *Phaeodactylum tricornutum*, 2; The species cultivation in vertical column and stirred photobioreactor

### Karıştırmalı Tankların ve Fotobiyoreaktörün Hasatı

*A. platensis* ve *P. tricornutum* üretimi kesikli ve yarı kesikli üretim sistemlerinde yaklaşık 15-20 günlük kültürlerin optik yoğunluklarına ve hücre sayıları belirlendikten sonra istenilen yoğunluğa erişen kültürlerin hasat işlemi gerçekleştirilmiştir.

*A. platensis* biyokütle elde edilmesinde filtrasyon sistemi kullanılmıştır. Farklı gözenek çapına sahip fitreler yardımıyla eleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Eleme için pompanın verdiği besleme hızı sabit tutularak her tank başına yaklaşık 1 saat eleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Eleme sonunda elde edilen sulu biyokütle filtre üzerinden toplanıp preslendikten sonra ıslak (paste) olarak tartılıp dondurucuda (-20°C) kullanılabilecek kadar saklanmıştır.

*P. tricornutum* biyokütle eldesinde de çanaklı santrifüj separatör (GEA Westafalin GmbH) kullanılmıştır. Poşet üretimindeki hasat işlemi için havalandırma kapatılıp hücreler doğal sedimentasyona bırakıldıktan sonra peristaltik pompa yardımıyla sistemden uzaklaştırılarak, çanaklı santrifüj yardımıyla ıslak (paste) biyokütle elde edilmiştir. Aynı işlem fotobiyoreaktör içinde tekrarlanmıştır. Karıştırma ve havalandırma durdurulduktan sonra çökmeye bırakılan kültür tahliye musluğundan toplanıp, çanaklı santrifüj yardımıyla biyokütle elde edilmiştir.

### Bulgular ve Tartışma

Türkiye de farklı amaçlar doğrultusunda mikroalg ve siyanobakterin üretimleri gerçekleştirilmektedir. Örneğin, akuakültür için yem ve yeşil su hazırlanmasında, gıda takviyesinde, gübre, kozmetik ve gıda ürünleri içine katkı maddesi olarak kullanılmaktadır.

Türkiye de büyük çapta siyanobakteri “Spirulina” üretimi ilk kez üniversite sanayi işbirliği ile 1999 yılında Ege Üniversitesi ile Egert Doğal Ürünler Üretim Hayvancılık Gıda Yem İth. İhr. Paz. San. Tic Ltd. Şti. arasında “Ürün Ticarileştirme Anlaşması”yla hayata geçirilmiştir. Gıda takviyesi ve akuakültürde akvaryum balıkları için yem üretimi gerçekleştiren Egert Doğal Ürünler Üretim Hayvancılık Gıda Yem İth. İhr. Paz. San. Tic Ltd. Şti. (Anonymus 2018b), İzmir de kurulmuştur. *Arthrospira (Spirulina) platensis* üretimini Manisa ilinin Turgutlu ilçesindeki tesislerde kanallı havuzlarda gerçekleştiren şirket Spirulina adı altındaki ürünü gıda takviyesi amacıyla ticari pazara kazandırmıştır.

Günümüzde TC Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın kayıt altına aldığı Su Ürünleri Yetiştiricilik Tesisleri olarak

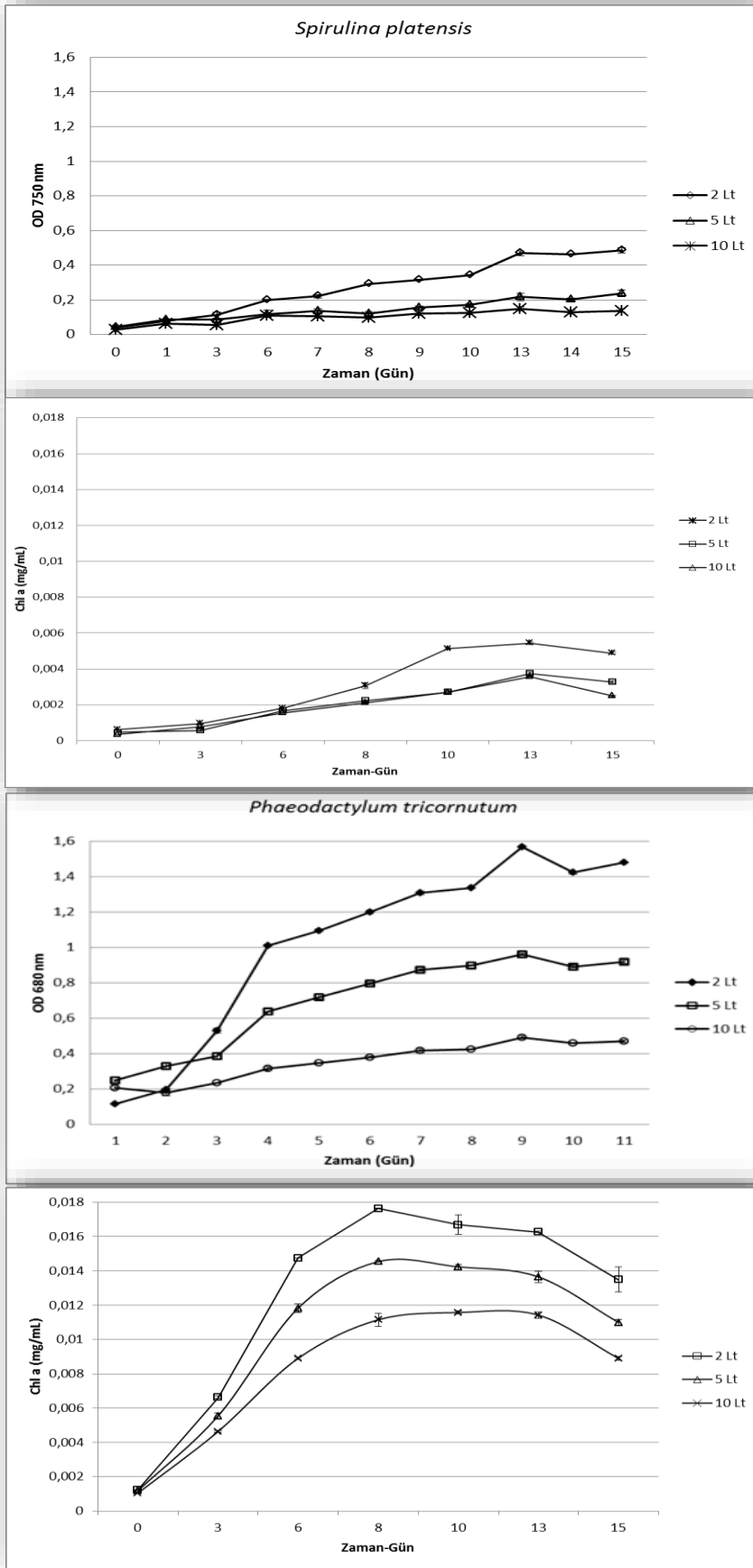
3 adet Adana ve 1 adet Manisa ilinde olmak üzere toplamda 4 adet Spirulina (su yosunu) yetiştirici şirketin bulunduğu 09.02.2018 tarihli raporda bildirilmektedir (Anonymus 2018c).

Yalova Üniversitesi Armutlu Meslek Yüksekokulunda yaklaşık 3 senedir sürdürülen çalışmalarının ardından laboratuvar ortamında üreten Spirulina cinsi yosun, yapay ortamda üretilip yoğurt, peynir ve ayran üretilmesi için çalışmalar sürdürmektedir ve 2015 yılında "yosunlu ayran"ı üretmişlerdir (Anonymus 2018d; 2018e).

Gübre ve tarım uygulamalarında *Chlorella* spp. üreten Mikroalg Gıda Tarım Sanayi Anonim Şirketi, İzmir (Anonymus 2018f) tarafından ticari olarak *Chlorella* spp. li ürünü TerraDoc Gübreyi satışa sunmuştur. Aynı şekilde GPA Mühendislik, Isparta (Anonymus 2018g) da yosunlu gübre ve mikroalg tür (*Chlorella vulgaris*, *Botryococcus braunii*, *Scenedesmus obliquus* ve *Spirulina* sp.) satışını gerçekleştirmektedir. Algome (omega-3 yağ asitleri içeren, kuru mikroalg biyokütlesi-*Schizochytrium* sp.) ürününü, Aydın ilindeki (Anonymus 2018h) MarinBio Şirketinde üretimini gerçekleştirmektedir. Adana da 2005 yılında AB destekli, TÜBİTAK, ÜSAM, İŞKUR ve Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi işbirliği ile istihdam sağlamak amaçlı açılan, Spirulina (mavi-yeşil alg) üretim ve pazarlama eğitim kursunu gerçekleştirmiş. 2006 yılında Akuatik Su Ürünleri ve Kozmetik Ltd. Şti. (Anonymus 2018i) en geniş ürün portföyü ile mikroalg türlerini besin takviyesi (ALGAMAX) ve kozmetik ürün (ALGEE) formlarında üretimini gerçekleştirerek, ticaretini yapmaktadır.

Mikroalgler ayrıca CO<sub>2</sub> salınımının azaltılması ve elde edilen biyokütlenin enerji sektöründe biyodizel, biyoetanol olarak kullanılmasını araştırma ve geliştirmesini inceleyen şirketler arasında ise Egebiyoteknoloji A.Ş (Anonymus 2018i); Mikroalg Gıda Tarım Sanayi Anonim Şirketi (Anonymus 2018f) yer almaktadır.

Bu çalışma, “Mikroalgler ve Siyanobakterilerden Doğal Renk Maddesi Fikosiyenin ve Fukoksantin Ekstraksiyonu, Saflaştırılması, Enkapsülasyonu ve Gıda Maddeleri İçinde Stabilitésinin Test Edilmesi” isimli Uluslararası (ES1408 numaralı European network for algal-bioproductions (EUALGAE) başlıklı COST aksiyonu) TÜBİTAK projesi (Proje No: 115O578) kapsamında *Arthrospira (Spirulina) platensis* ve *Phaeodactylum tricornutum* hem laboratuvar koşullarında küçük çapta hem de sera da tasarlanan özel üretim sistemleri içerisinde büyük çapta üretimlerinin gerçekleştirilmesi ile mikroalg biyokütle eldesi sağlanmıştır.



Şekil 5. *A. platensis* ve *P. tricornutum* büyüme grafikleri  
 Figure 4. Growth curves of *A. platensis* and *P. tricornutum*

Küçük çapta *A. platensis* ve *P. tricornutum* kültürlerin 2L, 5L ve 10L'lik sterillemiş şişelerde, Zarrouk ve F/2 ortam içerisinde  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  sıcaklıkta, flüoresans ışık altında ( $50 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) sürekli aydınlatmalı ve havalandırılmalı ( $3 \text{ L dak}^{-1}$ ) olarak 15 gün boyunca üretimi sonucunda hücresel artış hem optik yoğunluktaki hem de klorofil a miktarlarının değişimleri Şekil 5 de verilmektedir. Elde edilen sonuçlardan klorofil a miktarı kullanılarak spesifik büyüme hızı ve ikilenme süreleri hesaplanmıştır (Tablo1).

Büyük çapta üretim *A. platensis* ve *P. tricornutum* türleri için Egert Doğal Ürünler Üretim Hayvancılık Gıda Yem İth. İhr. Paz. San. Tic Ltd. Şti.'nin Ege Üniversitesi Teknopark içerisinde yer alan serasına kurulmuş ve şirket uzmanlığında gerçekleştirilmiştir. Tasarlanan sistemlerin ilk amacı biyokütle eldesi olduğu için türler için en uygun üretim sistemleri dizayn edilmeye çalışılmıştır. Bu çalışmada yapılmak istenen diğer birçok çalışmada olduğu gibi laboratuvar ve dış mekan yetiştiriciliği arasındaki tutarsızlıkların ortaya çıkması ve laboratuvar teknolojileri kullanılarak elde edilen sonuçların, saha çalışmalarında gözlemlenen kazançlarla paralellik göstermemesindedir (Schoepp ve diğ., 2014). Bu sebepler göz önüne alındığında, mikroalgleri ile siyanobakterilerin araştırma ölçekli dış mekân üretimlerindeki amaç düşük bakım gerektiren sistemler ile süreç geliştirilmesidir. İş gücü ve sistem maliyetlerini düşürmek için ucuz ve dayanıklı materyallerin kullanılması tercih edilmiştir. Ülkemizde mikroalglerin türe özgü üretimlerinin büyük çapta gerçekleştirilmesi için optimum proseslerin geliştirmesi, kurulacak sistemlerin kullanılabilirliklerinin araştırması, türleri kontaminasyondan uzak tutarak, düşük maliyetli yetiştirilmeleri için uygun üretimlerin yapılması hedeflenmiştir.

Mikroalg yetiştirme sistemlerinin endüstriyel uygulamasında kültürler sığ büyük havuzlar (raceway), tanklar, yuvarlak havuzlar ve kanallı havuzlarda yetiştirilirken, FAO verilerine göre *Spirulina platensis*'in ticari ekimi açık havada ve açık sistemlerde yapılmalıdır. Siyanobakterinin alkali (bazik pH=9,5 ve 9,8) çevrede yetişmesi nedeniyle diğer mikroalg kültürleri ile karşılaştırıldığında, dışsal kontaminasyonun engellemesi ile çevresel uygulamalarda rahatlıkla tercih edilmektedir (Papadaki ve diğ., 2017). *Spirulina*

yetiştirilmesi ve biyokütle üretimi besin maddelerinin kullanımı, sıcaklık ve ışık gibi faktörlere bağlıdır (Madkour ve diğ., 2012). Güler ve Gülmez tarafından 2008 yılında *Spirulina*, üretiminde en önemli sınırlayıcı parametrenin kış döneminde sıcaklık, yaz döneminde ise ışık olduğu bilinirken üretimleri için bikarbonat miktarı yüksek olan alkali suların tercih edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (Güler ve Gülmez, 2008; Kumar ve diğ., 2011).

Bu bilgiler ve Egert Egert Doğal Ürünler Üretim Hayvancılık Gıda Yem İth. İhr. Paz. San. Tic Ltd. Şti.'nin bilgi birikiminden yararlanılarak tank sistemlerinin kış aylarında da kullanılması amacıyla tankların etrafına borulu ceket sistemi yapılmıştır. Bu sarılan borular içerisinden sıcak su geçirilmesiyle tankların kış aylarında ortalama ısının  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  de sabit tutulması sağlanarak, üretimler gerçekleştirilmiştir. Tank pervanesi ilk olarak iki yönlü teklî pervaneli ve aşağıdan karıştırmalı yapılmış, havalandırma ise yukardan verildiğinde hava kabarcıkların tank içerisinde uzun süre kalmadan hızlıca uzaklaştığı tespit edilmiştir. Pervane bütün kültürü karıştırmayı için hızlandırıldığında havuzun ortasında girdap oluşmuş ve *A. platensis*'in çoklu hücre filamentlerin de parçalanmalar meydana gelmiştir. Fragmente olan hücreler optik yoğunluğun artması sağlarken, biyokütle miktarını düşürmüştür. Karıştırma hızının artırılmasında hücrelerin zarar görmeye başladığı ve spirallerin kısa olarak çoğaldığı mikroskopik gözlemler ile belirlenmiştir (Şekil 7.1). O nedenle akışın düzenli ve 100-150 rpm hızını geçmeyecek şekilde, karıştırmanın tek yönlü olarak yapılmasına karar verilmiştir. Tek taraflı ve aradan havalandırmalarda (Şekil 6.B) Şekil 6.D de görüldüğü gibi hücre ve besin artıkları pervane ortasında birikmesine ve pervane altında ölü bölge oluşturmasını gerçekleştirmesi nedeniyle havalandırmada spiral olarak havuz dibine yerleştirilmiştir.

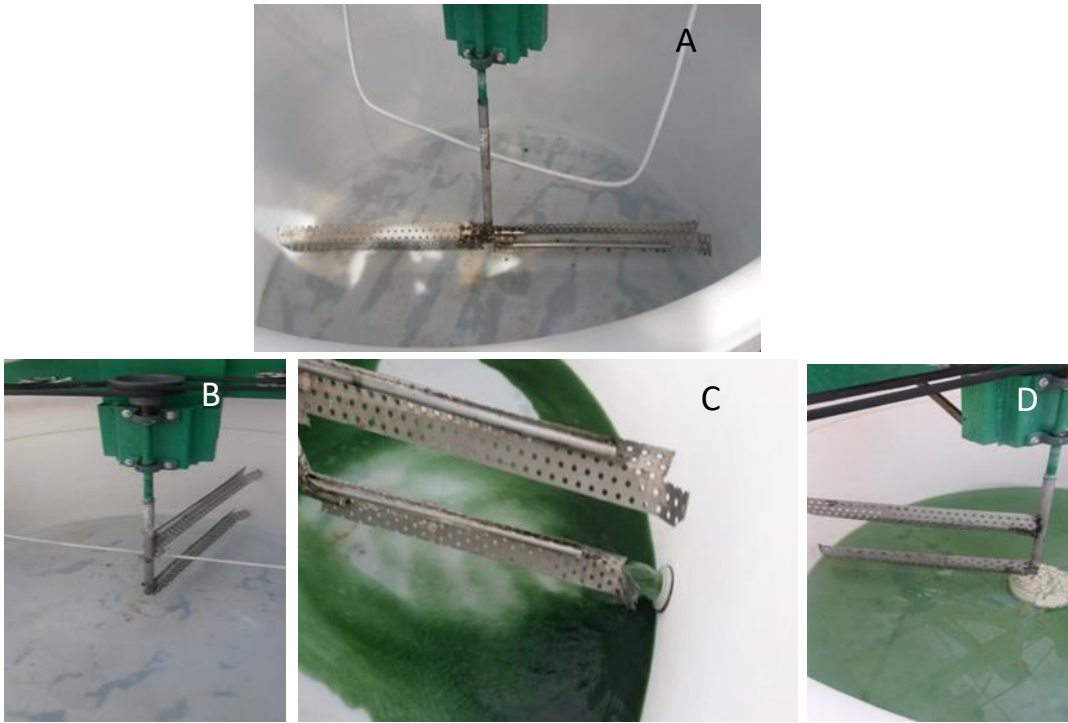
Diğer bir problem ise, tank kenardan ısıtılması olduğu için kışın kenarlardaki hücresel birikimin engellenmesi için pervane kenarına silikondan şerit ilave edilerek tank kenarındaki birimlerin engellenmesi sağlanmıştır (Şekil 2.B). Üretimde pervanenin ikili olarak tek yönden kullanımına karar verilmesi ile tank içerisindeki vorteks oluşumu engellenmiştir.



**Tablo1.** *A. platensis* ve *P. tricornutum* spesifik büyüme hızı ve ikilenme süreleri**Table 1.** Specific growth rate and doubling time of *A. platensis* ve *P. tricornutum*

Hacim (L)	<i>S. platensis</i> Spesifik Büyüme Hızı (gün <sup>-1</sup> )	İkilenme süresi (gün)	<i>P. tricornutum</i> Spesifik Büyüme Hızı (gün <sup>-1</sup> )	İkilenme süresi (gün)
2	0,2395±0,013	2,894	0,1996±0,003	3,544
5	0,1885±0,008	3,677	0,1928±0,005	3,595
10	0,1775±0,005	3,905	0,1756±0,004	3,947

±Standart sapma

**Şekil 6.** Karıştırılmalı tank sisteminin kurulumu A. İki yönlü tekli pervane ve yukardan havalandırma, B. Tek yönlü ikili pervane ortadan havalandırma, C. Tankın boşaltılması, D. Havalandırmasız tankta üretim sonrası kalan kalıntıların birikimi**Figure 6.** Construction of the open stir tank system A. Bidirectional propeller and aeration from above, B. Unidirectional propeller aeration of middle, C. Discharging the tank, D. Accumulation of remaining residues in non-aired the tank



**Şekil 7.** *Arthrospira platensis* hücrelerinin (1) fragmentasyonu sonucu kısa filamentler ve (2) fragmente olmayan hücrelerin görüntüsü 40X ve 60X

**Figure 7.** Cells of *Arthrospira platensis* (1) Fragmentation of filamentous and (2) Not fragmentation of filamentous

*Spirulina* hücreleri yarı kesikli üretimde yaklaşık 15-20 günün sonunda elenerek hasat edilmiş ve her 3 ayın sonunda havuzlar kesikli üretim ile tamamen elenerek boşaltılıp, temizlenip yeni üretimler için sistem hazırlanmıştır.

*Spirulina* tankların üretimi ve satışını yapan İzmir ilinde 2 şirket (Polidaş Polietilen Mam. Kim. San. Tic. Ltd. Şti. (Anonymus 2018j) ve Fibrolpol Cam Takviyeli Plastik İth. İhr. San ve Tic. Ltd. Şti. (Anonymus 2018k)) bulunmaktadır.

*Phaeodactylum* üretim optimizasyonunda özellikle sıcaklık ve ışığa dikkat edilmelidir. *Phaeodactylum* gibi bazı türlerin biyokütle üretiminde kapalı fotobiyoreaktörlerin kullanılması zorunludur, çünkü 20-25 °C civarında büyüme sıcaklığının sürekli kontrol altında tutulması gerekmektedir. Açık havuzlarda, özellikle yaz aylarında, bu sıcaklık aralığını korumak genellikle zordur (Benavides ve diğ., 2013). O nedenle *P. tricornutum* üretimi ilk olarak 75 L' lik V şeklinde asılı polietilen şeffaf poşetlerde hava kaldırmalı olarak yarı kesikli üretim yönteminde, Eylül- Mayıs ayları arasında üretimler gerçekleştirilmiştir. Soğutma maliyeti artıracığı için sistemlerin soğutulması denenmemiştir.

Karıştırmalı havalandırılmalı fotobiyoreaktör (yaklaşık 450 L) içerisinde deniz tuzuna hazırlanan ortam kullanılması nedeniyle tüm malzemelerin korozyona dayanıklı ürünlerden olmasına dikkat edilmiştir. Fotobiyoreaktörlerin ana gövdesi ışık geçiriminin sağlanması için pleksiglas şeffaf malzemedir yapılmıştır. Karıştırma ünitesi, sistem içerisinde oluşacak olan vorteksi engellemek ve verilen havanın fotobiyoreaktör içerisinde daha uzun süre kalmasını sağlamak için tasarlanmıştır. Hava difüzür ile verildiği için içeriye eşit olarak dağılması sağlanmıştır. Difüzür hem havalandırma hem de hücresel çökmelerin dipte birikmesini engellemektedir. Diatom hücreleri geliştikçe çökme eğiliminden olması nedeniyle sistemin altı konik şeklinde hazırlanmıştır. Bu yapının içerisine difüzür yerleştirilirken dış kenarlarına pleksiglas gövde yerleştirilmiştir (Şekil 8).

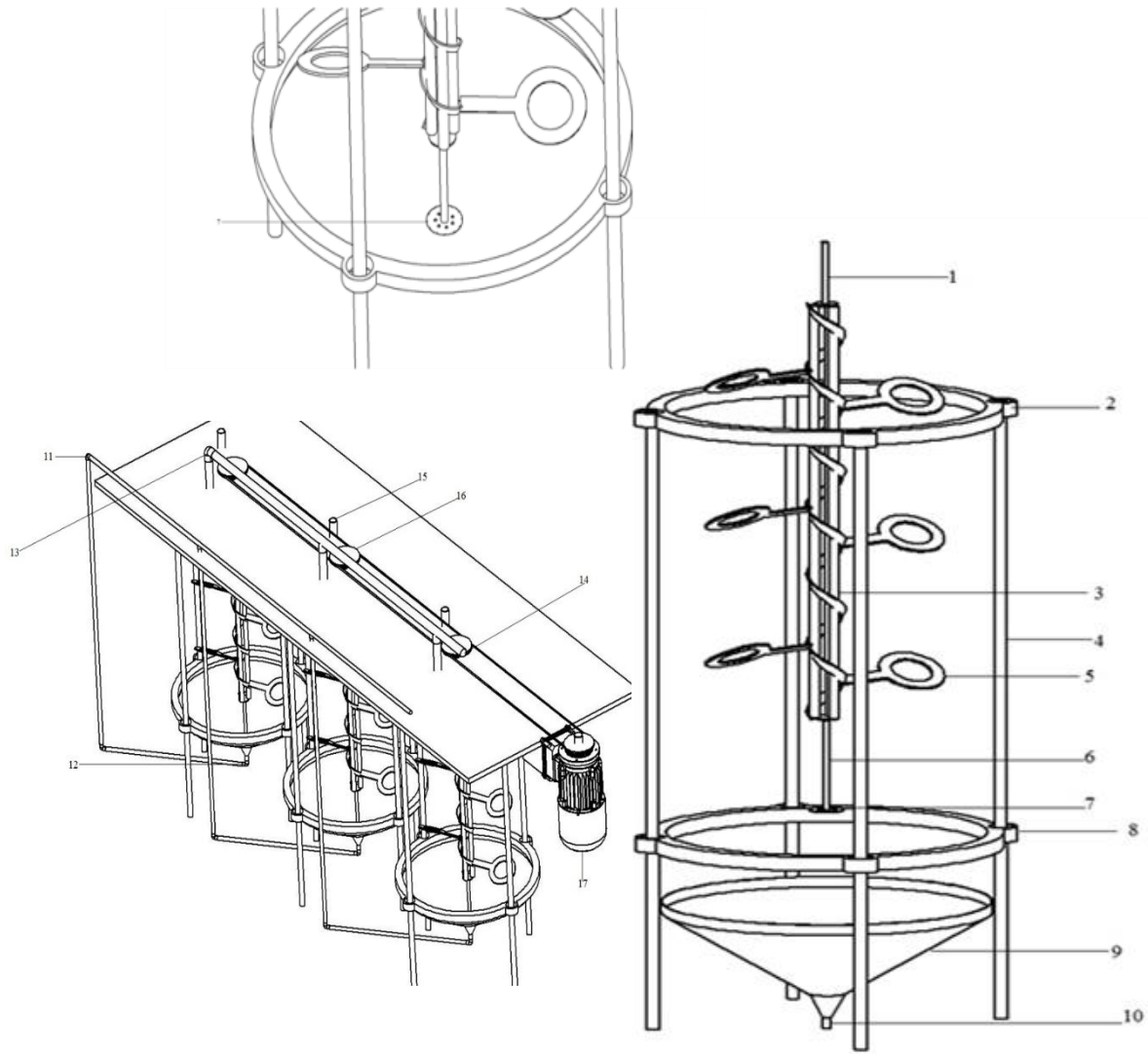
Yapılan sistemler türlere özel, kontaminasyonu engelleyici ve maksimum biyokütle eldesi düşünülerek tasarlanmıştır. Ülkemizde mikroalgler için farklı biyoreaktör ve fermentörler üretilerek, satılmaktadır. Örneğin, **Pikolab Mühendislik Biyoteknolojik Ürünler ve Lab. Hiz. San. Tic. Ltd. Şti. tarafından BioSIS** (Anonymus 2018l) marka bioreaktörler ve Nanosis Laboratuvar ve Test Sistemleri San. ve Tic. Ltd. Şti. (Anonymus 2018m) mikroalg üretim tesisi kurulumu ve satışı yapılmaktadır.

## Sonuç

Ülkemizde mikroalg ve siyobakterilerden elde edilen ürünler gün geçerken artarken, alglerin biyokütle üretimi için kolay kontrol edilebilen, verimli, kontaminasyondan uzak ve düşük maliyetli teknolojilerle üretilen sistemlerin kurulumlarının gerçekleştirilmesi ile dış ülkelere bağımlılık azaltılarak ülke ekonomisine katkı sağlanacaktır. Bu kapsamda yapılan çalışma ile türlere özel büyük çap üretimler için uygun sistemler geliştirilmeye çalışılmıştır. Elde edilen biyokütlelerin gıda, kozmetik, gübre, hayvan ve akuakültür yemi olarak kullanılması ile sentetik ürünlere kıyasla doğal ve sağlıklı ürünlerin kullanılması sağlanacaktır.

## Teşekkür

1150578 numaralı, "Mikroalgler ve Siyanobakterilerden Doğal Renk Maddesi Fikosiyanın ve Fukoksantin Ekstraksiyonu, Saflaştırılması, Enkapsülasyonu ve Gıda Maddeleri İçinde Stabilitesinin Test Edilmesi" isimli Uluslararası (ES1408 numaralı ve "European network for algal-bioproductions (EUALGAE)" başlıklı COST aksiyonu) TÜBİTAK projesine maddi desteği nedeniyle teşekkür ederiz. Emre Taylan DUMAN'a teknik çizimler için verdiği destekten dolayı teşekkür ederiz. Egert Doğal Ürünler Üretim Hayvancılık Gıda Yem İth. İhr. Paz. San. Tic Ltd. Şti. verdiği teknik destek ve sabırlı yaklaşımından dolayı proje çalışanları olarak teşekkür ederiz.



**Şekil 8.** Karıştırılmalı ve havalandırılmalı fotobiyoreaktör 1: Karıştırma mili, 2: Pleksiglas şeffaf ana gövdeyi tutan kelepçe, 3: Spiral düzenlenmiş karıştırma çarkı, 4: Kelepçe ayakları, 5: Karıştırmada ortamının karıştırılmasında kullanılan eğimli dairesel yapılar, 6: Karıştırma milinin difüzör bağlantısı, 7: Difüzör, 8: Ana gövdenin sabitlendiği kelepçe, 9: Çelik alt taban, 10: Hava girişi ve tahliye musluğu, 11: Hava hattı, 12: Deşarj musluğu, 13: Besleme Hattı, 14: Karıştırma çarkı, 15: Gaz çıkışı, 16: Çarkları paralel bağlayan kayış, 17: Karıştırma motoru

**Figure 8.** The stirred and aerated photobioreactor 1: Mixing shaft, 2: Holding clamp of the Plexiglass transparent main body, 3: Spiral regulated mixing ring, 4: Clamp feet, 5: Curved circular structures used to mix the mixing medium, 6: Diffusive connection of the mixing shaft, 7: Diffuser, 9: Steel bottom plate, 10: Air inlet and drain tap, 11: Air duct, 12: Discharge tap, 13: Feeding line, 14: Mixing ring, 15: Gas outlet, 16: parallel connecting belt, 17: Mixing motor

## Kaynaklar

- Anonymus (2018a). Ege Üniversitesi Mikroalg Kültür Koleksiyonu (2015). <http://www.egemacc.com/cultures.php> (accessed 10.01.2018)
- Anonymus (2018b). Egert Doğal Ürünler Üretim Hayvancılık Gıda Yem İth. İhr. Paz. San. Tic Ltd. Şti. <http://www.egert.com.tr/icerik/hakimizda.aspx> (accessed 5.01.2018)
- Anonymus (2018c). T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Su Ürünleri Yetiştiricilik Tesisleri (2018). <https://www.tarim.gov.tr/BSGM/Belgeler/Icerikler/Su%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Yeti%C5%9Ftiricili%C4%9Fi/Su-%C3%9Cr%C3%BCnleri-Tesisleri-09022018.pdf> (accessed 21.02.2018)
- Anonymus (2018d). Astronot yiyeceğinden yoğurt üretilecek. <http://www.hurriyet.com.tr/astronot-yiyecegin-den-yogurt-uretilecek-30292463> (accessed 4.01.2018)
- Anonymus (2018e). Üniversitede "yosunlu ayran" ürettiler. <http://www.haber7.com/yalova/1622866-universitede-yosunlu-ayran-urettiler> (accessed 4.01.2018)
- Anonymus (2018f). Mikroalg Gıda Tarım Sanayi Anonim Şirketi. <http://mikroalg.com/portfoy/urunler/terradoc/> (accessed 4.01.2018)
- Anonymus (2018g). GPA Mühendislik. <http://gpamuhen-dislik.com/home-page/satis/> (accessed 4.01.2018)
- Anonymus (2018h). Marin Biyoteknoloji Ürünleri ve Gıda San. Tic. Ltd. Şti. <http://www.marinbio.com.tr/urunler/aquaculture> (accessed 4.01.2018)
- Anonymus (2018ı). AKUATİK Su Ürünleri ve Kozmetik Ltd. Şti. <https://www.akuatik.com.tr/urunlerimiz> (accessed 4.01.2018)
- Anonymus (2018i). Ege Biyoteknoloji A.Ş. <http://www.egebiyoteknoloji.com/icerik.php?Say-faId=59345317> (accessed 4.01.2018)
- Anonymus (2018j). Polidaş Polietilen Mam. Kim. San. Tic. Ltd. Şti. <http://polidas.com.tr/icerik/ozel-tasarim-ve-imalat/8> (accessed 4.01.2018)
- Anonymus (2018k). Fibrolpol Cam Takviyeli Plastik İth. İhr. San ve Tic. Ltd. Şti. <http://www.fibropol.com/urun/alg-uretim-tanklari/> (accessed 4.01.2018)
- Anonymus (2018l). Pikolab Mühendislik Biyoteknolojik Ürünler ve Lab. Hiz. San. Tic. Ltd. Şti. [http://www.pikolab.com/index.php?route=product/product&product\\_id=143](http://www.pikolab.com/index.php?route=product/product&product_id=143) (accessed 4.01.2018)
- Anonymus (2018m). Nanosis Laboratuvar ve Test Sistemleri San. ve Tic. Ltd. Şti. <http://www.nanosis.com.tr/haber/21/mikro-alg-uretim-tesisi.htm> (accessed 4.01.2018)
- Benavides, A.M.S., Torzillo, G., Kopecký, J., Masojídek, J. (2013). Productivity and biochemical composition of *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) cultures grown outdoors in tubular photobioreactors and open ponds. *Biomass and bioenergy*, 54, 115-122.
- Boussiba, S., Vonshak, A., Torzillo, G. (2004). Applied course on production and monitoring of microalgal growth, Ebiltem Yayınları, İzmir, 82.
- Cisneros, M., Rito-Palomares, M. (2004). A simplified strategy for the release and primary recovery of c-phycoyanin produced by *Spirulina maxima*. *Chem Biochem Eng Q*, 18(4), 385-90.
- Eriksen, N. T. (2016). Research Trends in the Dominating Microalgal Pigments,  $\beta$ -carotene, Astaxanthin, and Phycocyanin Used in Feed, in Foods, and in Health Applications. *Journal of Nutrition and Food Sciences*, 6(3), 1-6.
- Guillard, R.R., Ryther, J.H. (1962). Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella Nana* Hustedt, and *Detonula Confervacea* (CLEVE) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 8(2), 229-239.
- Güler, F., Gülmez, B., (2008). *Spirulina* sp. ve Kullanım Alanları Üzerine Bir Araştırma, Erzincan Üniversitesi AquaClub Su Ürünleri Araştırma ve Geliştirme Bilim Kulübü Kemaliye, 5.Geleneksel Su Ürünleri Bilimsel ve Kültürel Platformu (Ulusal) 31 Mayıs-1 Haziran 2008, Erzincan, Kemaliye.

- Harun, R., Singh, M., Forde, G.M., Danquah, M.K. (2010). Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(3), 1037-1047.
- Kumar, M., Kulshreshtha, J., Singh, G.P. (2011). Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(3), 1128-1135.
- Madkour, F.F., Kamil, A.E.W., Nasr, H.S. (2012). Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38(1), 51-57.
- Papadaki, S., Kyriakopoulou, K., Tzovenis, I., Krokida, M. (2017). Environmental impact of phycocyanin recovery from *Spirulina platensis* cyanobacterium. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 44,217-223.
- Schoepp, N.G., Stewart, R.L., Sun, V., Quigley, A.J., Mendola, D., Mayfield, S.P., & Burkart, M.D. (2014). System and method for research-scale outdoor production of microalgae and cyanobacteria. *Bioresource Technology*, 166, 273-281.
- Seely, G.R., Duncan, M.J., Vidaver, W.E. (1972). Preparative and analytical extraction of pigments from brown algae with dimethyl sulfoxide. *Marine Biology*, 12(2), 184-188.
- Tomaselli, L. (1997). Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira (Spirulina) maxima* and *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Spirulina platensis (Arthrospira), Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology*, 1-16.
- Xia, S., Wang, K., Wan, L., Li, A., Hu, Q., Zhang, C. (2013). Production, characterization, and antioxidant activity of fucoxanthin from the marine diatom *Odontella aurita*. *Marine Drugs*, 11(7), 2667-2681.
- Yongmanitchai, W., Ward, O.P. (1991). Growth of and omega-3 fatty acid production by *Phaeodactylum tri-cornutum* under different culture conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(2), 419-425.