



**KABARCikli KOLON FOTOBİYOREAKTÖRDE**  
*Botryococcus braunii* ve *Chlorella zofingiensis*  
**MİKROALG TÜRLERİ KULLANILARAK**  
**YAĞ ÜRETİMİNİN İNCELENMESİ**

**Erdoğan ALADAĞ**

**Doktora Tezi**

**Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Çevre Teknolojisi Bilim Dalı**

**Prof. Dr. Alper NUHOĞLU**

**Dr. Öğr. Üyesi Melih ONAY**

**2019**

**Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

KABARCIKLI KOLON FOTOBİYOREAKTÖRDE  
*Botryococcus braunii* ve *Chlorella zofingiensis*  
MİKROALG TÜRLERİ KULLANILARAK YAĞ ÜRETİMİNİN  
İNCELENMESİ

Erdoğan ALADAĞ

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
Çevre Teknolojisi Bilim Dalı

ERZURUM  
2019

Her hakkı saklıdır



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**KABARCIKLI KOLON FOTOBİYOREAKTÖRDE *Botryococcus braunii* ve *Chlorella zofingiensis* MİKROALG TÜRLERİ KULLANILARAK YAĞ ÜRETİMİNİN İNCELENMESİ**

Prof. Dr. Alper NUHOĞLU danışmanlığında – Dr. Öğr. Üyesi Melih ONAY ortak danışmanlığında, Erdinç ALADAĞ tarafından hazırlanan bu çalışma, 21/10/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı Çevre Teknolojileri Bilim Dalı'nda doktora tezi olarak **oybirliği / -oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Alper NUHOĞLU  
Üye : Prof. Dr. Ensar OĞUZ  
Üye : Prof. Dr. Mehmet İŞLEYEN  
Üye : Prof. Dr. Hasan MERDUN  
Üye : Doç. Dr. Zeynep CEYLAN  
Üye : Doç. Dr. Özden FAKIOĞLU  
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Melih ONAY

İmza : A. Nuhoglu  
İmza : E. Oğuz  
İmza : M. İşleyen  
İmza : H. Merdun  
İmza : Z. Ceylan  
İmza : Ö. Fakioğlu  
İmza : M. Onay

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun **31.10/2019** tarih ve **42/26** nolu kararı ile onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Mehmet KARAKAN**  
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Tübitak 1002 projeleri kapsamında desteklenmiştir.  
Proje No: 118Y477

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirimlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

Doktora Tezi

### **KABARCIKLI KOLON FOTOBİYOREAKTÖRDE *Botryococcus braunii* ve *Chlorella zofingiensis* MİKROALG TÜRLERİ KULLANILARAK YAĞ ÜRETİMİNİN İNCELENMESİ**

Erdiñç ALADAĞ

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı  
Çevre Teknolojisi Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Alper NUHOĞLU  
Ortak Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Melih ONAY

Dünya nüfusundaki hızlı artış ve fosil kaynaklı enerji rezervlerindeki azalma yenilenebilir ve temiz enerji kaynaklarının daha fazla önem kazanmasına neden olmuştur. Bu çalışmada, *Botryococcus braunii* UTEX 572 ve *Chlorella zofingiensis* Döñz mikroalg türlerinin BBM, TAP ve mCHU-13 besi ortamlarında kabarcıklı kolon fotobiyoreaktör kullanılarak biyokütle ve fotosentetik pigmentlerin üretimini, yağ verimini, yağ oranını, azot ve fosfor tüketimini ve fotosentetik enerji verimini etkileyen ışık parametreleri incelendi. Işık etkisinin incelenmesi amacıyla; 60, 175, 300 ve 450  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  olmak üzere 4 farklı ışık akısı, 12:12, 16:8 ve 24:0 olmak üzere 3 farklı aydınlık:karanlık oranı ve 400, 420, 440, 510, 580, 620, 680 nm ve beyaz renk olmak üzere 8 farklı dalga boyu, RGB LED kullanılarak tasarlanan bir ışık ceketini ile fotobiyoreaktöre uygulandı. 25°C sıcaklıkta ve 3,6 L hacminde işletilen reaktördeki pH değeri, pH kontrolcü ile 6,8'de sabit tutuldu. *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* türleri için optimum şartlarda sırasıyla üreme hızı 0,543 ve 0,518  $\text{gün}^{-1}$ ; toplam klorofil (klorofil-a ve klorofil-b) 7,522 ve 6,525  $\mu\text{g/mL}$ ; toplam karotenoid 1,892 ve 1,368  $\mu\text{g/mL}$ ; yağ verimi 41,39 ve 21,06  $\text{mg/L}\cdot\text{gün}$ ; yağ oranı %50,45 ve %45,35; azot tüketimi %93,61 ve %79,63; fosfor tüketimi %52,31 ve %88,89 ve fotosentetik verimlilik %4,045 ve %1,102 olarak hesaplandı. *Botryococcus braunii* türünde en fazla %31,05 oleik asit ve %12,32 linolenik asit; *Chlorella zofingiensis* türünde ise %30,05 linoleik asit ve %6,96 araşidik asit tespit edildi. Sonuç olarak, uygun ortamda yetiştirilen her iki mikroalg türünün de biyodizel standartlarını karşıladığı belirlenirken *Botryococcus braunii* türünden elde edilen biyodizelin kış şartlarına daha uygun olduğu sonucu elde edildi.

**2019, 122 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Mikroalg, Yağ üretimi, Kabarcıklı kolon fotobiyoreaktör, LED, *Botryococcus braunii*, *Chlorella zofingiensis*

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### INVESTIGATION OF LIPID PRODUCTION IN BUBBLE COLUMN PHOTOBIOREACTOR BY *Botryococcus braunii* and *Chlorella zofingiensis*

Erdoğan ALADAĞ

Atatürk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Environmental Engineering  
Department of Environmental Technology

Supervisor: Prof. Dr. Alper NUHOĞLU  
Co-Supervisor: Asst. Prof. Dr. Melih ONAY

The rapid increase in the world population and the decrease in fossil energy sources have caused renewable and clean energy sources to gain more importance. In this study, the light parameters affecting production of biomass and photosynthetic pigments, lipid productivity, lipid percentage, nitrogen and phosphorus consumption and photosynthetic energy yield were carried out on *Botryococcus braunii* (UTEX 572) and *Chlorella zofingiensis* (CCALA 944) in BBM, TAP and mCHU-13 medium at bubble column photobioreactor. In order to investigate the effect of light, four various light intensities (60, 175, 300 and 450  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$ ), three different light:dark ratios (12:12, 16:8 and 24:0) and eight various wavelengths (400, 420, 440, 510, 580, 620, 680 nm and white) were applied on photobioreactor via the light coat designed from RGB LED. pH value in the reactor operated at 25 °C and in 3,6 L was kept constant at 6.8 by pH controller. Growth rates (0.543 and 0.518  $\text{day}^{-1}$ ), total chlorophyll contents (7.522 and 6.525  $\mu\text{g/mL}$ ) total carotenoid contents (1.892 and 1.368  $\mu\text{g/mL}$ ), lipid productivities (41.39 and 21.06  $\text{mg/L}\cdot\text{day}$ ), lipid percentages (50.45% and 45.35%), nitrogen consumption (93.61% and 79.63%), phosphorus consumption (52.31% and 88.89 %) and photosynthetic energy yield (4.045% and 1.102%) were calculated for *Chlorella zofingiensis* and *Botryococcus braunii* under optimum conditions, respectively. While the highest fatty acid contents were oleic acid and linoleic acid (31.05% and 12.32%) in *Botryococcus braunii*, ones were linoleic acid and arachidic acid (30.05% and 6.96%) in *Chlorella zofingiensis*, respectively. In conclusion, two microalgae grown under suitable conditions maintain biodiesel standards. Also, the biodiesel obtained from *Botryococcus braunii* was found to be more suitable for winter conditions.

**2019, 122 pages**

**Keywords:** Microalgae, Lipid production, Bubble column photobioreactor, LED, *Botryococcus braunii*, *Chlorella zofingiensis*

## TEŞEKKÜR

Akademik hayatım boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, beni her zaman büyük bir anlayışla karşılayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Alper NUHOĞLU'na,

Çalışmanın her aşamasında bilgi ve önerileri ile bana sabırla yol gösteren, maddi ve manevi desteğini her zaman hissettiğim hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Melih ONAY'a,

Tez izleme komitesi üyeleri kıymetli hocalarım Sayın Doç. Dr. Özden FAKIOĞLU'na ve Sayın Doç. Dr. Zeynep CEYLAN'a, maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen hocalarım Sayın Prof. Dr. Ergün YILDIZ'a, Sayın Doç. Dr. Baybars Ali FİL'e, Sayın Doç. Dr. Erkan DIŞLI'ye ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Tuba BAYRAM'a,

Tezimin her aşamasında destekleriyle yanımda olan değerli arkadaşlarım Sayın Arş. Gör. Onur SÖZÜDOĞRU'ya, Sayın Arş. Gör. Dr. Mehmet Emrah YAMAN'a, Sayın Dr. Öğr. Üyesi İbrahim CENGİZ'e, Sayın Arş. Gör. Dr. Dilara ÖZTÜRK'e ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Esin ÜNAL'a,

Atatürk Üniversitesi ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü değerli öğretim üyeleri ve elemanlarına,

Hayatımın her aşamasında benim için maddi ve manevi hiçbir fedakârlığı esirgemeyen annem Sündüs ALADAĞ'a, babam Prof. Dr. Lütfü İhsan ALADAĞ'a ve kardeşim Uzm. Dr. Pelin ALADAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Erdinç ALADAĞ**

**Ekim, 2019**

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KURAMSAL TEMELLER.....</b>	<b>4</b>
2.1. Küresel Enerji Kaynaklarının Durumu.....	4
2.2. Yenilenebilir Enerji Kaynakları.....	6
2.3. Yenilenebilir Enerjinin Türkiye'deki Yeri.....	7
2.4. Biyodizel Yakıtının Üretimi ve Özellikleri.....	10
2.4.1. Mikroalgal biyodizel üretimi.....	20
2.5. Mikroalgler.....	25
2.5.1. Mikroalglerin biyokimyasal bileşimi.....	26
2.5.2. Mikroalgal biyokütle üretimi.....	28
2.5.3. Mikroalg üretim sistemleri.....	29
2.5.3.a. Açık sistemler.....	31
2.5.3.b. Kapalı sistemler.....	32
2.5.4. Mikroalg hasadı.....	34
2.5.5. Mikroalg üretimini etkileyen faktörler.....	36
2.5.5.a. Besin ortamı.....	36
2.5.5.b. Sıcaklık.....	38
2.5.5.c. pH.....	39
2.5.5.d. Karıştırma.....	40
2.5.5.e. Tuzluluk.....	40
2.5.5.f. Işık.....	41
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>50</b>
3.1. Materyal.....	50

3.1.1. Mikroalg kültürleri .....	50
3.1.2. Sıvı besi yerleri.....	51
3.1.3. Ön yetiştirme .....	52
3.1.4. Kabarcıklı kolon fotobiyoreaktörü .....	53
3.1.5. LED aydınlatma sistemi .....	56
3.2. Yöntem .....	59
3.2.1. Biyokütle tayini .....	59
3.2.2. Optik yoğunluk ölçümü.....	61
3.2.3. Fotosentetik pigment analizi .....	63
3.2.4. Toplam yağ tayini.....	63
3.2.5. Yağ asidi analizi .....	64
3.2.6. Toplam azot, nitrat azotu ve fosfat fosforu tayini .....	64
3.2.7. pH ve ışık akısı ölçümleri.....	65
3.2.8. Fotosentetik verimlilik hesabı .....	66
3.2.9. Kritik biyodizel özelliklerinin belirlenmesi .....	68
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....</b>	<b>70</b>
4.1. Işık Akısının Etkisi .....	70
4.2. Aydınlık/Karanlık Oranın Etkisi .....	74
4.3. Farklı Dalga Boylarının Etkisi .....	78
4.3.1. Biyokütle üretimi ve büyüme hızı .....	78
4.3.2. Fotosentetik pigment üretimi.....	84
4.3.3. Nutrient tüketimi .....	89
4.3.3.a. Azot kullanımı .....	90
4.3.3.b. Fosfor kullanımı .....	93
4.3.4. Fotosentetik enerji verimliliği .....	97
4.3.5. Yağ üretkenliği .....	100
4.3.6. Toplam yağ asidi ve yağ asidi kompozisyonu.....	104
4.3.7. Mikroalgal biyodizel özellikleri .....	108
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>111</b>
KAYNAKLAR .....	114
ÖZGEÇMİŞ .....	123



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

$\mu$	Spesifik büyüme hızı ( $\text{gün}^{-1}$ )
A	Aydınlatılan aktif yüzey alanı ( $\text{m}^2$ )
AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ASTM	Amerikan Test ve Malzemeler Topluluğu
BBM	Bold's Basal Besi yeri
c	Işık hızı ( $\text{m/s}$ )
C:D	Karbon-karbon çift bağ sayısı
Chl <sub>a</sub>	Klorofil-a ( $\mu\text{g/mL}$ )
Chl <sub>b</sub>	Klorofil-b ( $\mu\text{g/mL}$ )
ÇDYA	Çoklu doymamış yağ asidi (%)
DYA	Doymuş yağ asidi (%)
E <sub>i</sub>	Toplam ışık enerjisi ( $\text{kJ/gün}$ )
E <sub>o</sub>	Mikroalgal biyokütle enerjisi ( $\text{kJ/gün}$ )
FFAY	Fotosentetik foton akı yoğunluğu ( $\mu\text{mol/m}^2 \cdot \text{s}$ )
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
h	Planck sabiti ( $\text{J/s}$ )
Krt	Karotenoid ( $\mu\text{g/mL}$ )
mCHU-13	Modifiye edilmiş Chu-13 besi yeri
M <sub>f</sub>	Fitre kâğıdının ağırlığı (g)
mg	Miligram
M <sub>m</sub>	Mikroalg süzülen filtre kâğıdının ağırlığı (g)
N <sub>A</sub>	Avogadro sayısı ( $\text{mol}^{-1}$ )
ODD	Ortalama doymamışlık derecesi
OY	Optik yoğunluk (Abs)
P	Biyokütle üretkenliği ( $\text{mg/L} \cdot \text{gün}$ )
P <sub>yağ</sub>	Yağ üretkenliği ( $\text{mg/L} \cdot \text{gün}$ )
SFTN	Soğuk filtre tıkanma noktası ( $^{\circ}\text{C}$ )
T	Sıcaklık ( $^{\circ}\text{C}$ )

t	Zaman (gün)
t <sub>0</sub>	Başlangıç anı
TAP	Tris-Asetat-Fosfat Besi yeri
t <sub>d</sub>	İkiye katlama süresi (gün)
TDYA	Tekli doymamış yağ asidi (%)
TN	Toplam azot (mg/L)
t <sub>s</sub>	Deney süresi (gün)
UZDF	Uzun zincir doymuşluk faktörü
V	Reaktördeki toplam sıvı hacmi (L)
V <sub>num</sub>	Numune hacmi (mL)
vvm	Dakikada birim reaktör hacmine verilen hava hacmi (L/L·dk)
X	Biyokütle konsantrasyonu (mg/L)
X <sub>0</sub>	Başlangıçtaki biyokütle konsantrasyonu (mg/L)
X <sub>t</sub>	t anındaki biyokütle konsantrasyonu (mg/L)
YAME	Yağ asidi metil esterleri
Y <sub>i</sub>	Yağ asidi metil esterinin kütle oranı (%)
Δt	Deney süresi (gün)
η	Günlük aydınlatma oranı (saat:saat)
λ	Dalga boyu (m)
Φ	Fotosentetik verimlilik (%)

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Dünyadaki enerji kaynaklarının kullanım oranları .....	4
Şekil 2.2. 1900 – 2018 yılları arasında ham petrol varil fiyatı .....	6
Şekil 2.3. 2000-2016 yılları arası yıllık biyodizel üretim miktarları .....	11
Şekil 2.4. 2005-2013 yılları arasında Türkiye'de günlük biyodizel üretimi .....	12
Şekil 2.5. Biyodizel üretim süreci.....	13
Şekil 2.6. Transesterifikasyon reaksiyonu .....	15
Şekil 2.7. Mikroalg hücre yapısı .....	26
Şekil 2.8. Dairesel kanallı açık havuzlar.....	31
Şekil 2.9. Kapalı sistem fotobiyoreaktörler .....	32
Şekil 2.10. Fotosentetik olarak aktif radyasyon spektrumu.....	43
Şekil 2.11. Fotosentez olayı .....	44
Şekil 3.1. Çalışmanın genel akım şeması.....	50
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan mikroalg türlerine ait mikroskop görüntüleri.....	51
Şekil 3.3. İnkübasyon düzeneği .....	53
Şekil 3.4. Kolon tipi fotobiyoreaktör düzeneği.....	54
Şekil 3.5. Çalışmada kullanılan kolon fotobiyoreaktöre ait fotoğraflar.....	55
Şekil 3.6. Kırmızı, yeşil ve mavi renklerin eşleşme oranları .....	56
Şekil 3.7. RGB LED ışık ceketine ait fotoğraflar .....	57
Şekil 3.8. RGB LED ışık ceketinin üstten ve önden görünümü .....	58
Şekil 3.9. <i>Chlorella zofingiensis</i> türü ve BBM besi ortamı OY (680 nm)-Biyokütle kalibrasyon eğrisi .....	61
Şekil 3.10. <i>Chlorella zofingiensis</i> türü ve TAP besi ortamı OY (680 nm)-Biyokütle kalibrasyon eğrisi .....	62
Şekil 3.11. <i>Botryococcus braunii</i> türü ve mCHU-13 besi ortamı OY (680 nm)-Biyokütle kalibrasyon eğrisi.....	62
Şekil 3.12. pH kontrol düzeneği, CO <sub>2</sub> tüpü ve ışık metre fotoğrafları.....	66
Şekil 4.1. Farklı ışık akılarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (BBM besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu.....	71

<b>Şekil 4.2.</b> Farklı ışık akılarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (TAP besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu.....	71
<b>Şekil 4.3.</b> Farklı ışık akılarında (60, 175, 300 ve 450 $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$ ) yetiştirilen <i>Botryococcus braunii</i> türünün (mCHU-13 besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu.....	72
<b>Şekil 4.4.</b> Farklı aydınlık karanlık oranlarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (BBM besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu.....	75
<b>Şekil 4.5.</b> Farklı aydınlık karanlık oranlarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (TAP besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu .....	75
<b>Şekil 4.6.</b> Farklı aydınlık karanlık oranlarında yetiştirilen <i>Botryococcus braunii</i> türünün (mCHU-13 besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu..	76
<b>Şekil 4.7.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (BBM besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu .....	78
<b>Şekil 4.8.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (BBM besi ortamı) özgül üreme katsayısı (■) biyokütle üretkenliği (—).....	79
<b>Şekil 4.9.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (TAP besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu .....	80
<b>Şekil 4.10.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (TAP besi ortamı) özgül üreme katsayısı (■) biyokütle üretkenliği (—).....	80
<b>Şekil 4.11.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Botryococcus braunii</i> türünün (mCHU-13 besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu .....	81
<b>Şekil 4.12.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Botryococcus braunii</i> türünün (mCHU-13 besi ortamı) özgül üreme katsayısı (■) biyokütle üretkenliği (—).....	82
<b>Şekil 4.13.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (BBM besi ortamı) fotosentetik pigment üretimi .....	85
<b>Şekil 4.14.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (TAP besi ortamı) fotosentetik pigment üretimi .....	86
<b>Şekil 4.15.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Botryococcus braunii</i> türünün (mCHU-13 besi ortamı) fotosentetik pigment üretimi .....	87
<b>Şekil 4.16.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (BBM besi ortamı) $\text{NO}_3\text{-N}$ kullanımı .....	90

<b>Şekil 4.17.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (TAP besi ortamı) TN kullanımı .....	91
<b>Şekil 4.18.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Botryococcus braunii</i> türünün (mCHU-13 besi ortamı) NO <sub>3</sub> -N kullanımı .....	92
<b>Şekil 4.19.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (BBM besi ortamı) PO <sub>4</sub> -P kullanımı .....	94
<b>Şekil 4.20.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (TAP besi ortamı) PO <sub>4</sub> -P kullanımı .....	94
<b>Şekil 4.21.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Botryococcus braunii</i> türünün (mCHU-13 besi ortamı) PO <sub>4</sub> -P kullanımı .....	95
<b>Şekil 4.22.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (BBM besi ortamı) fotosentetik verimliliği (■) ve mikroalgal biyokütle enerjisi (—) .....	97
<b>Şekil 4.23.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (TAP besi ortamı) fotosentetik verimliliği (■) ve mikroalgal biyokütle enerjisi (—) .....	98
<b>Şekil 4.24.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Botryococcus braunii</i> türünün (mCHU-13 besi ortamı) fotosentetik verimliliği (■) ve mikroalgal biyokütle enerjisi (—) .....	99
<b>Şekil 4.25.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (BBM besi ortamı) toplam yağ oranı (■) ve yağ üretkenliği (—) .....	101
<b>Şekil 4.26.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Chlorella zofingiensis</i> türünün (TAP besi ortamı) toplam yağ oranı (■) ve yağ üretkenliği (—) .....	102
<b>Şekil 4.27.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen <i>Botryococcus braunii</i> türünün (mCHU-13 besi ortamı) toplam yağ oranı (■) ve yağ üretkenliği (—) .....	103
<b>Şekil 4.28.</b> Mikroalglerden elde edilen yağ asidi metil esterlerine ait GC-MS kromatogramları a) <i>Chlorella zofingiensis</i> , b) <i>Botryococcus braunii</i> .....	105
<b>Şekil 4.29.</b> Mikroalglerden elde edilen yağ asidi oranları .....	107

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Çeşitli ham maddelere ait yağ asidi içerikleri (% katı madde).....	16
Çizelge 2.2. Çeşitli ham maddelerden elde edilen biyodizellere ait yakıt özellikleri.....	18
Çizelge 2.3. B20 ve B100 yakıtların dizele göre emisyon değişim oranları (%).....	19
Çizelge 2.4. Ham maddelere göre biyodizel üretimi için gereken arazi ihtiyacı.....	21
Çizelge 2.5. Bazı mikroalg türlerine ait yağ asidi içerikleri (% kuru ağır.).....	23
Çizelge 2.6. Bazı mikroalg türlerine ait yağ, protein ve karbonhidrat miktarları.....	27
Çizelge 2.7. Çeşitli mikroalg türlerinin büyüme hızları, yağ miktarları ve yağ üretkenliği.....	28
Çizelge 2.8. Mikroalg yetiştiriciliğinde kullanılan açık ve kapalı sistemlerin bazı avantaj ve dezavantajları.....	30
Çizelge 2.9. Bazı mikroalg türleri ile yapılan dalga boyu çalışmaları.....	47
Çizelge 3.1. <i>Botryococcus braunii</i> ve <i>Chlorella zofingiensis</i> türlerinin sistematikteki yeri.....	51
Çizelge 3.2. Sıvı besi yerlerinin kimyasal içeriği.....	52
Çizelge 3.3. Dalga boylarına ait RGB kodları.....	57
Çizelge 4.1. Farklı ışık akılarında yetiştirilen mikroalglerin özgül üreme hızı, ikiye katlama süresi ve biyokütle üretkenliği.....	74
Çizelge 4.2. Farklı aydınlık:karanlık oranlarında yetiştirilen mikroalglerin özgül üreme hızı, ikiye katlama süresi ve biyokütle üretkenliği.....	77
Çizelge 4.3. Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin özgül üreme hızı, ikiye katlama süresi ve biyokütle üretkenliği.....	84
Çizelge 4.4. Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin klorofil-a, klorofil-b, toplam klorofil ve toplam karotenoid değerleri.....	89
Çizelge 4.5. Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin azotlu madde giderim verimleri.....	93
Çizelge 4.6. Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin fosforlu madde giderim verimleri.....	96
Çizelge 4.7. Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin fosforlu madde giderim verimleri.....	100

<b>Çizelge 4.8.</b> Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalgere ait toplam yağ oranları ve günlük yağ üretkenliği.....	104
<b>Çizelge 4.9.</b> Mikroalgere ait yağ asidi metil esterleri profilleri.....	106
<b>Çizelge 4.10.</b> Mikroalglerden elde edilen yağlara ait biyodizel özellikleri.....	108



## 1. GİRİŞ

Sanayi Devrimi ile birlikte gelişen ve yaygınlaşan teknoloji; hızla artan bir enerji talebinin doğmasına neden olmuştur. Günümüzde küresel enerji ihtiyacının büyük bir kısmının temin edilebilmesi için kullanılan fosil kaynaklı yakıtlara olan bağımlılık nedeniyle sürdürülebilirlik sorunuyla karşı karşıya kalınmıştır. Ayrıca son yıllarda en büyük çevresel sorunların başında fosil yakıtlardan kaynaklanan sera gazı emisyonlarının neden olduğu iklim değişikliği gösterilmektedir. Artan sıcaklıklar ve daha sık gözlenen sıra dışı hava olayları sonucunda birçok araştırmacının “iklim değişikliği” yerine “iklim krizi” ifadesini tercih etmesine neden olmuştur. Bununla birlikte fosil yakıt rezervlerinin sınırlı olması ve hızla tükenmesi; yenilenebilir enerji kaynaklarının daha geniş çapta benimsenmesi ve kullanılması için teknolojik gelişmelerin hızlandırılması ve tanıtılmasının önemini ortaya koymaktadır.

XXI. yüzyıl itibariyle Avrupa Birliği ülkeleri başta olmak üzere birçok ülkede yüksek karbon salınımından düşük karbon salınımına doğru kademeli bir geçiş için bazı adımlar atılmıştır. Üretim teknolojilerinin optimize edilerek daha verimli hale getirilmesi ile birlikte yenilenebilir ve temiz enerji kaynakları arayışı da büyük bir önem kazanmıştır. Ülkemizde de yenilenebilir enerji kullanımını arttırmak için çeşitli hedefler ortaya konulmuştur. İlerleyen süreçte kömür ve petrol gibi çevre kirliliğine neden olan enerji kaynaklarının yerini; güneş, rüzgâr ve biyokütle gibi yenilenebilir ve temiz enerji kaynaklarının alması hedeflenmektedir. Bilinen en eski yenilenebilir enerji kaynaklarından birisi olan biyokütle enerjisi; geleneksel olarak hayvansal atıkların oksidasyonu sonucunda elde edilen enerjiyi ve bitkisel kaynaklı biyoetanol ve biyodizel gibi modern biyoyakıtların kullanımından kaynaklanan enerjiyi kapsamaktadır. Ayrıca bitkisel biyoenerji kaynakları; kullanılırken atmosfere karışan karbondioksit miktarı ile üretilirken fotosentez yoluyla atmosferden alınan karbondioksit miktarı eşit olduğu için net karbon emisyonu sıfırdır.

Biyodizel; genellikle sanayi siteleri, yemek fabrikaları, lokanta ve evsel kaynaklı atık yağlar, kanola, ayçiçeği, mısır ve soya gibi tarımsal olarak geniş ölçekte yetiştirilebilen



bitkisel yağlar, düşük oranda da olsa hayvansal kaynaklı yağlar ve büyük ölçekli tesislerde üretilen mikroalglerden elde edilen yağlar kullanılarak transesterifikasyon reaksiyonu sonucunda elde edilen bir yakıt türüdür. Biyodizel üretiminde iklim özellikleri, toprak yapısı ve tarımsal alan ihtiyacı gibi unsurlar bölgesel olarak farklı ham madde kaynaklarının tercih edilmesine neden olmaktadır. Bu açıdan değerlendirildiğinde, sera ortamı ve biyoreaktör gibi kapalı mikroalg üretim sistemleri, diğer ham madde üretim teknolojilerine göre buldukları bölgenin yerel iklim ve çevre şartlarından en az etkilenen biyodizel ham madde üretim yöntemi olarak kabul edilmektedir. Ayrıca son yıllarda gıda üretimi için ekilebilir tarımsal alan ihtiyacındaki artış göz önüne alındığında mikroalg biyokütle üretim sistemlerinin düşük arazi kullanımını ve tarıma uygun olmayan arazilerde üretilebilmesi gibi avantajları da öne çıkmaktadır.

Fotosentetik mikroalgler, tipik olarak tatlı su ve deniz sistemlerinde yaşayan, güneş ışığı, karbondioksit ve suyu biyokütle enerjisine dönüştüren mikroorganizmalardır. Birçok mikroalg türü; biyogaz, biyodizel ve biyoetanol gibi yenilenebilir enerji kaynağı olarak kullanılmasının yanı sıra; gıda, ilaç, besin takviyesi, organik gübre, hayvan yemi, biyobozunur plastik gibi değerli ürünlerin üretimi ve atıksu arıtımı gibi birçok alanda araştırmacıların ilgisini çekmeyi başarmıştır. Bu canlılar; genetik özelliklerine ve yetiştirildikleri ortam koşullarına bağlı olarak yüksek biyokütle üretimine ve kaliteli yağ içeriğinin arttırılmasına imkân sağlamaktadır. Ayrıca karbondioksit fiksasyonu, oksijen üretimi ve fotosentetik enerji dönüşümü açısından değerlendirildiğinde diğer bitkisel ürünlere göre daha verimli olduğu bilinmektedir.

Mikroalg biyoenerji üretimi; mikroalg yetiştiriciliği, mikroalg biyokütle hasadı, yağ ekstraksiyonu ve biyoyakıt üretimi olarak dört temel aşamada gerçekleşmektedir. Sucul ortamda yaşayan diğer birçok mikroorganizma gibi mikroalgler de pH, sıcaklık, tuzluluk ve karıştırma gibi ortam şartlarından etkilenen canlılar olduğu için doğru üretim koşullarının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Ayrıca hücresel enerji üretimini büyük oranda fotosentez olayı ile gerçekleştirdiği için ortamdaki ışık ve CO<sub>2</sub> önemli değişkenlerdir. Klorofil taşıyan canlıların inorganik karbon, su ve ışık

kullanarak organik bileşikler üretmesi olarak tanımlanan fotosentez olayında ışık akısı, aydınlatma periyodu ve ışığın dalga boyu etkili parametreler arasında gösterilmektedir.

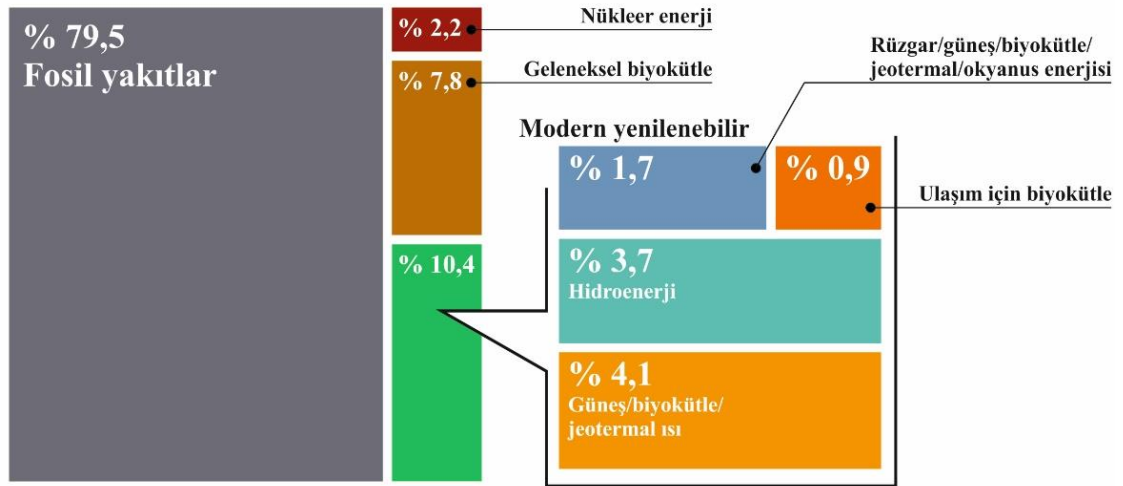
Dünya üzerinde bilinen biyolojik yaşamın enerji; güneş enerjisi kullanan fotosentetik organizmalar tarafından sağlanmaktadır. Güneş enerjisi, yıl boyunca farklı ışık akılarında, günlük aydınlatma periyodunda ve görünebilir ışık tayfında dünyamıza ulaşmaktadır. Fotosentetik enerji dönüşümü konusunda son yıllarda yapılan çalışmalar aydınlatma periyodu, ışık akısı ve dalga boyu gibi aydınlatma rejimindeki değişikliklerin biyoyakıt üretiminde üretim hızı ve ürün kalitesinde belirleyici bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada fototrofik olarak yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* mikroalg türlerinin kabarcıklı kolon fotobiyoreaktörde ve çeşitli besi ortamlarındaki ışık akısının, aydınlık:karanlık oranının ve farklı dalga boylarındaki ışığın biyokütle ve yağ verimi üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Fotobiyoreaktörün farklı ışık akılarında ve dalga boylarında homojen bir şekilde aydınlatılabilmesi için reaktör çevresine belirli açılarda yerleştirilen RGB LED kullanılarak imal edilmiş bir ışık ceketinden faydalanılmıştır. Çalışmada öncelikle farklı besi ortamlarında yetiştirilen mikroalgler için ışık akısı ve aydınlık:karanlık oranı parametrelerinin biyokütle üretimi üzerine etkisi incelenmiştir. Uygun ışık akısı ve aydınlık:karanlık oranı belirlendikten sonra mikroalgler farklı dalga boylarında yetiştirilerek; biyokütle üretimi, fotosentetik pigmentlerin üretimi, besin kullanımı, fotosentetik enerji verimliliği, toplam yağ oranı ve yağ verimi parametreleri incelenmiştir. Daha sonra yağ veriminin en yüksek olduğu dalga boylarında yetiştirilen mikroalgler kullanılarak elde edilen biyodizelin yakıt özellikleri belirlenerek biyodizel standartları açısından değerlendirilmiştir.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. Küresel Enerji Kaynaklarının Durumu

Gelişen teknoloji ve bu teknolojiyi talep eden nüfusun hızla artmasıyla birlikte enerji ihtiyacı; modern hayatın en önemli sorunlarından birisi haline gelmiştir. Yüksek enerji talebinin doğduğu sanayi devriminden günümüze kadar kullanılan enerjinin en önemli kaynağı fosil yakıtlardır. Bu enerji türü, milyonlarca yıl önce ölen hayvan ve bitkilerin yüksek basınç ve sıcaklık altında çürümesi sonucunda petrol, kömür ve doğal gaza dönüşmesi sonucunda oluşmuştur. Ancak dünyadaki enerji gereksiniminin yaklaşık %80'nin sağlandığı fosil yakıt rezervlerinin bu yüzyılın sonuna kadar enerji ihtiyacını karşılayamayacak duruma geleceği tahmin edilmektedir. Mevcut üretim ve tüketim oranları dikkate alındığında tüm dünyadaki fosil yakıtlar için petrol rezervlerinin 53 yıl, doğal gaz rezervlerinin 55 yıl, kömür rezervlerinin 113 yıl sonra tamamen tükeneceği öngörülmektedir (Dudley 2018). Şekil 2.1'de 2016 yılı itibariyle türlerine göre enerji kaynaklarının kullanımı gösterilmiştir (Zervos and Adib 2018).



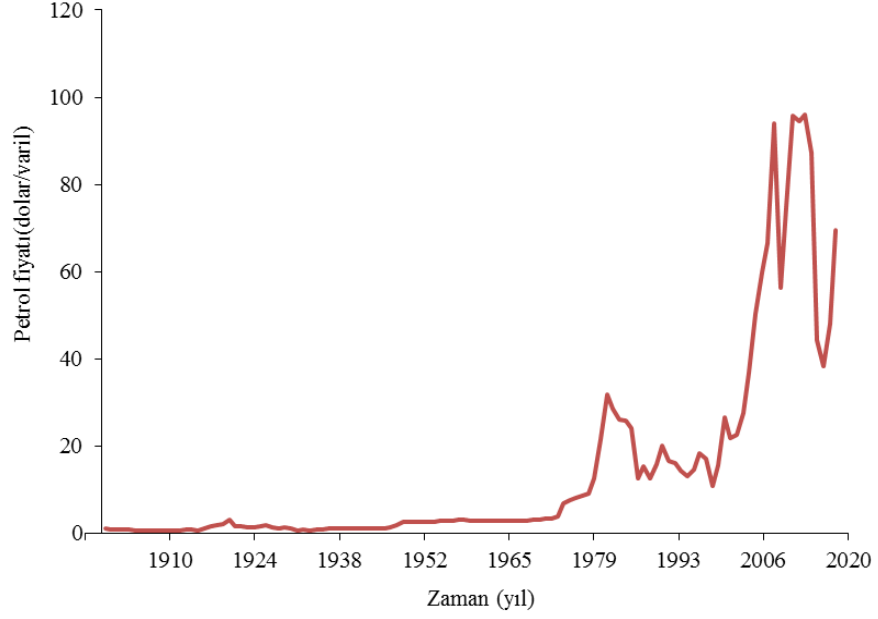
Şekil 2.1. Dünyadaki enerji kaynaklarının kullanım oranları

Fosil yakıtlar (petrol, kömür ve doğal gaz) tüm dünyadaki enerji ihtiyacının %79,5'ini, nükleer enerji %2,2'sini, yenilenebilir enerji ise %18,2'sini karşılamaktadır (IEA 2016;

Zervos and Adib 2018). Ancak yenilenebilir enerji kaynakları arasında yer alan ve toplam enerji ihtiyacının yaklaşık %8'ini oluşturan geleneksel biyokütle enerjisi; özellikle kırsal yerleşimlerde yüksek kirliliğe neden olan hayvan dışkılarının yakılması gibi verimsiz yollarla kullanılmaktadır (Goldemberg 2007). Özellikle son yıllarda modern yenilenebilir enerji kaynaklarına olan ilgi hızla artmış ve bu alanda son on yılda %5,4 büyüme gerçekleşmiştir. Isınma ihtiyacının %10,3'ü ve elektrik üretiminin %25'i modern yenilenebilir enerji kaynaklarından karşılanmaktadır. Ancak toplam enerji talebinin %32'sini oluşturan ulaşım sektöründe biyoyakıtlardan karşılanan oran %3'ün altındadır (Zervos and Adib 2018). Dünyanın en zengin ekonomilerinden birisi olan Almanya enerji ihtiyacının %25'ini; Danimarka ise elektrik üretiminin %30'luk kısmını yenilenebilir kaynaklardan sağlamaktadır (Marcos *et al.* 2015). 2015 ile 2017 yılları arasında elektrik ihtiyacının en az %70'ini yenilenebilir enerji ile karşılayan şehir sayısı 314'den 570'e ulaşarak yaklaşık olarak ikiye katlanmıştır (Carbon Disclosure Project 2018). İlerleyen yıllarda birçok ülke, enerji talebinin büyük bölümünü giderek azalan ve çevreci olmayan fosil yakıtlar yerine yeni ve yenilenebilir enerji kaynaklarından sağlayacağı açıktır.

Yüksek enerji ihtiyacının karşılanması için fosil yakıtların tercih edilmesi, petrol ve doğal gazla olan ilgiyi arttırmıştır. Geçtiğimiz yüzyılda petrolün enerji kaynağı ve petrokimya ürünlerinin ham maddesi olarak yüksek talep görmesi petrol fiyatlarının hızla yükselmesine neden olmuştur. 1900 ile 2018 yılları arasındaki ham petrol varil fiyatları Şekil 2.2'de gösterilmiştir (IEA 2016; EIA 2018). 1850'lerde sanayi alanında petrol kullanımının başlamasıyla birlikte 1940'lara kadar ham petrolün varil fiyatı 1 ABD dolarının altında seyretmiş, 2. Dünya Savaşı'nda artış gösterip, 1973 Petrol Krizine kadar istikrarlı bir şekilde devam etmiştir. Ancak yetmişlerin sonunda Çin ve Hindistan; doksanların başında ise Rusya'nın sanayileşmesiyle ham petrolün varili 2008 yılı itibarıyla 140 ABD dolarına kadar dayanmıştır. 2008-2018 yılları arasında ise ani iniş-çıkışlar yaşanmış ve yıllık ortalama ham petrol varil fiyatlarında 40 ile 109 ABD doları arasında ciddi bir dalgalanma oluşmuştur. Bu dalgalanmanın başlıca nedenleri arasında Suudi Arabistan ile ABD kaya gazı üreticileri arasındaki ekonomik savaş, ABD'nin artık net üretici konumuna geçmesi, Çin ekonomisindeki iniş çıkışlar ve daha

ılıman geçen kış aylarında ısınma konusunda petrole olan talebin düşmesi sayılabilir. 2018 yılı itibariyle ham petrolün varil fiyatı ortalama 70 ABD doları civarında işlem görmektedir.



**Şekil 2.2.** 1900 – 2018 yılları arasında ham petrol varil fiyatı

## 2.2. Yenilenebilir Enerji Kaynakları

Yenilenebilir enerji kurulumu ve işletmesi alanlarında yapılan araştırma ve geliştirme yatırımlarıyla enerji üretim maliyetleri her geçen gün gerilemektedir. 2013 yılı itibariyle yenilenebilir sanayiye yatırım, iki yıllık bir düşüşle 2011 yılında 300 milyar ABD doları olan rekor seviyesine gerilemiş olsa da, küresel yatırımlarla canlılığını sürdürerek, 214 milyar ABD doları seviyesine ulaşmıştır. Bu rakam 2004 yılının dört katı olmuştur. Çin, 2012 yılında olduğu gibi, 2013 yılında da 54,2 milyar ABD doları ile yenilenebilir enerji alanında en büyük yatırımcı olmuştur. Küresel olarak, 2000 yılından bu yana rüzgâr enerjisi için yıllık büyüme oranları %25, güneş için %43 olmuştur (Cuming *et al.* 2015). Yenilenebilir enerji kaynaklarından gelen küresel elektrik üretiminin 2010-2035 yılları arasında 2,7 kat artması beklenmektedir. Aynı dönemde biyoyakıt tüketiminin ise

2010 yılında günde 1,3 milyon TEP (ton-eşdeğer petrol) seviyesinden üç katın üzerinde artarak 4,5 TEP seviyesine ulaşacağı öngörülmektedir (Ellabban *et al.* 2014).

Sadece artan petrol fiyatları ve vergiler değil, aynı zamanda petrol rezervlerinin azalması ve küresel ölçekteki iklim değişikliği de alternatif enerji kaynaklarına olan ilgiyi arttırmıştır. İlk aletli gözlemlerin başladığı 1850’li yıllardan beri yapılan ölçümler, geçtiğimiz yüzyılda (1901 – 2012) yer yüzeyinin ortalama sıcaklığının 0,89°C’ye kadar arttığını göstermiştir (Stocker *et al.* 2013). Son yıllarda küresel ısınmanın ‘yavaşlatılması’ fikri, kamuoyunda ve bilimsel çevrelerde büyük ilgi görmektedir. Ancak yapılan birçok çalışma, herhangi bir duraksamanın olmadığı, aksine önümüzdeki yüzyılda dünya yüzeyinin ortalama sıcaklığının 1,4 ile 5,8°C arasında artış göstereceğini öngörmektedir (Knutti *et al.* 2008; Cahill *et al.* 2015). Küresel ısınmanın baş aktörü olarak görülen CO<sub>2</sub>’nin (karbondioksit) atmosferik konsantrasyonu, sanayi devrinin başlangıcından bu yana %40 artmış, diğer önemli sera gazları arasında kabul edilen CH<sub>4</sub> (metan) ve N<sub>2</sub>O (nitroz oksit) ise sırasıyla %150 ve %20 oranında artış göstermiştir (Montzka *et al.* 2011; Stocker *et al.* 2013). Küresel karbondioksit emisyonunun en büyük bölümünü %34 ile fosil kaynaklı yakıtlar oluşturmaktadır. Dünya genelinde enerji üretimi kaynaklı CO<sub>2</sub> emisyonu, 2012 yılında 32,2 milyar ton iken 2020 yılında 35,6 milyar tona, 2040 yılında ise 43,2 milyar tona ulaşacağı öngörülmektedir (Conti *et al.* 2016). Küresel ısınmanın fosil yakıtlarla ilişkisi, birçok ülkenin hükümet politikalarında ve araştırma geliştirme alanlarında yenilenebilir enerji üretimi konusuna daha büyük bütçeler ayırarak yenilikçi yaklaşımlar geliştirmesine neden olmuştur.

### **2.3. Yenilenebilir Enerjinin Türkiye’deki Yeri**

Genç ve artan nüfusu, hızla kentleşen ve büyüyen ekonomisi ile Türkiye, son on yılda dünyada en hızlı gelişen enerji pazarlarından birisi haline gelmiştir. 2007-2017 yılları arasında ülkemizin toplam enerji ihtiyacı, %57 oranında artarak 100,4 milyondan, 157,7 milyon TEP (ton-eşdeğer petrol) seviyesine ulaşmıştır (Dudley 2018). Elektrik tüketimi ise bu on yıllık süreçte yaklaşık iki misli artarak 243,68 Terawatt-saat olmuştur. Ancak

ülkemizdeki enerji üretimi bu talebin çok altındadır. 2016 yılında enerji üretimi, toplam talebin %26'sını karşılayabilmiştir. Enerjide dışa bağımlılık, 2000 yılında %68 iken 2016 yılında %74 olmuştur (Bölük 2013). Ülkemiz 2015 yılında enerji ithalatı için 60 milyar dolar harcamıştır (Kok and Benli 2017). Türkiye'nin enerji ihtiyacı ile ilgili yapılan bazı projeksiyon çalışmalarına göre 2020 yılı için 222,42 (Apak *et al.* 2017) ve 2025 yılında ise 203,13 (Aydın 2014) milyon TEP olacağı öngörülmektedir. Enerji talebindeki artış, yeni ve yenilenebilir enerji kaynaklarına olan ihtiyacın önemini ortaya koymaktadır.

Türkiye, 2017 yılı itibariyle toplam enerji ihtiyacının %12,5'ini yenilenebilir enerji kaynaklarından karşılamıştır. Ancak üretilen bu enerjinin %67'si hidroelektrik santralleri (HES) tarafından karşılanmaktadır. Ülkemiz, hidroelektrik enerjisi üretiminde ilk on ülke içerisinde ve küresel üretimin %2,5'ini gerçekleştirmektedir. Diğer yenilenebilir enerji kaynaklarını ise biyokütle, güneş, rüzgâr ve jeotermal enerji oluşturmaktadır. Toplam enerji ihtiyacının sadece %4,1'inin karşılandığı diğer yenilenebilir enerji kaynaklarına olan talep, bir önceki yıla göre 1,2 milyon TEP artış göstermiş olsa da; Almanya (%13,4), İspanya (%11,3), İngiltere (%10,9), İtalya (%10) ve Brezilya (%7,5) gibi ülkelerle kıyaslandığında hala düşük bir orandadır (Dudley 2018). Türkiye, 2017 yılı ekim ayı sonu itibariyle hidroelektrik santrallerinden 27166 MW; rüzgâr türbinlerinden 6353 MW; güneş panellerinden 2060 MW; jeotermal kaynaklardan 1019 MW; biyogaz, biyokütle ve atık ısı tesislerinden 554 MW elektrik üretimi sağlamıştır. Ayrıca 2017 yılında 115 bin konutun ısıtmasında jeotermal enerji kullanan Türkiye; küresel jeotermal enerji üretiminin %34'ünü gerçekleştirerek dünya sıralamasında dördüncü ülke konumundadır (Zervos and Adib 2018). Türkiye tarafından üretilen karbondioksit emisyonu 2007-2017 döneminde %50 artış gösterip 410,9 milyon ton CO<sub>2</sub> seviyesine ulaşarak Fransa (320,3), Avusturalya (406) ve İngiltere (398,2) gibi ülkeleri geride bırakmıştır. Bu dönemde, petrol kullanımını %45,7 artışla 48,8 MTEP; doğal gaz kullanımını %2,5 artışla 44,4 MTEP ve kömür kullanımını ise %51,1 artışla 44,6 MTEP seviyesine ulaşmıştır (Dudley 2018). Geleneksel yakıtlara artan talep kaçınılmaz olarak karbondioksit ve sera etkisinden sorumlu tutulan diğer gazların emisyonlarında da artışa neden olmuştur.

Ülkemizdeki yenilenebilir enerji kullanımının mevcut durumu değerlendirilerek önümüzdeki dönemler için bazı öneriler aşağıda sıralanmıştır.

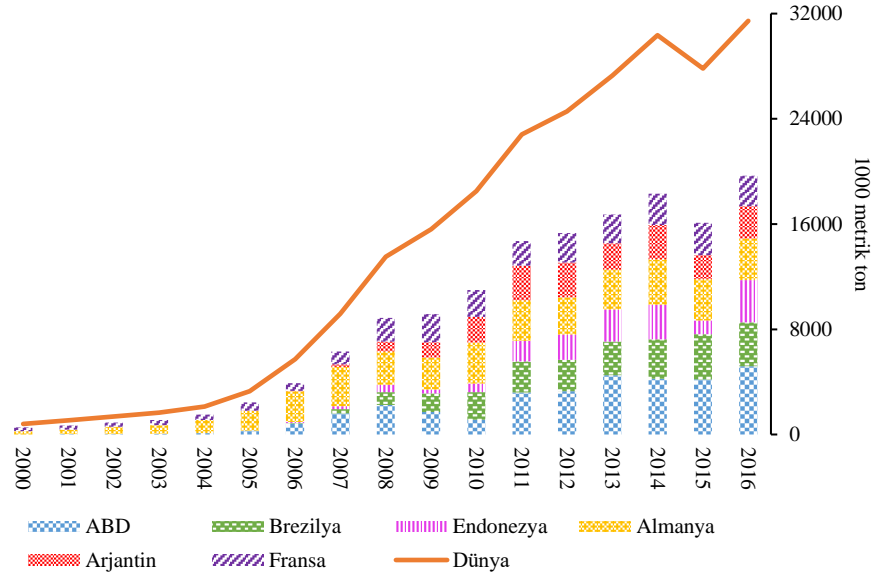
1. Yüksek oranda dışa bağımlılık; enerji güvenliği açısından büyük bir sorun teşkil etmektedir. Yenilenebilir kaynaklar, enerji talebinin ana unsuru haline getirilerek dışa bağımlılık azaltılmalıdır.
2. Türkiye enerji ihtiyacının yaklaşık dörtte üçünü ithal etmektedir. Bu durum, mevcut kaynakların verimli kullanılmasını ve yenilenebilir enerji alanında hızlı ve etkili politikaların üretilmesini zorunlu kılmaktadır.
3. Türkiye, yenilenebilir enerji üretimi bakımından dünya ortalamasını yakalamaktadır. Ancak bu oranın büyük bir kısmını hidrolik enerji karşılamaktadır. Ülkemizin güneş, rüzgâr ve biyokütle potansiyeli göz önüne alındığında, farklı yenilenebilir enerji kaynaklarına teşvik önceliği verilmelidir.
4. Yenilenebilir enerjinin daha yaygın hale gelmesi için yatırımcılara vergi indirimleri, uygun krediler ve hızlı gümrük işlemleri gibi olanaklar sağlanmalıdır. Ayrıca kurulum ve yasal izin süreçlerindeki bürokratik engeller kaldırılmalıdır.
5. Fosil kaynaklı enerji üretiminde sağlanan teşvikler sınırlandırılmalı ve yenilenebilir enerji tüketimi vergi indirimine tabii tutularak kullanımı teşvik edilmelidir.
6. Yenilenebilir enerji yatırımlarında teknik donanım için büyük ölçüde yabancı teknolojiye ihtiyaç duyulmaktadır. Bilimsel araştırma ve geliştirme faaliyetlerine verilen destek artırılarak yerli üretim teşvik edilmelidir.

Sonuç olarak yenilenebilir enerji kaynakları açısından elverişli bir coğrafyada bulunan Türkiye; ilerleyen dönemlerde hidrolik, güneş, rüzgâr, jeotermal ve biyokütle enerjisinden daha fazla yararlanarak petrol, doğal gaz ve kömür gibi fosil kaynaklı yakıtların kullanımında dışa bağımlılığı azaltmayı hedefleyen adımlar atmak durumundadır.



## 2.4. Biyodizel Yakıtının Üretimi ve Özellikleri

Günümüzde fosil kaynaklardan elde edilen benzin ve dizel yakıtlarına başlıca alternatif yakıtlar biyoetanol ve biyodizeldir. Özel olarak geliştirilen elektrikli ve melez araçlar binek pazarında bir hayli rağbet görse de özellikle ağır vasıtalar, traktörler, toplu taşıma araçları ve çoğu deniz aracı dizel tipi motor kullanılarak üretilmektedir. İlk biyodizel; dizel motorun mucidi ve adıyla anılan Rudolf Diesel tarafından 1893 yılında yer fıstığı yağıyla elde edilmiş ve bu “biyo-“ yakıtı kullanarak çalıştırdığı tek silindirli dizel motoru 1900 yılındaki Paris Dünya Fuarında sergilemiştir. Yüzyılı aşkın bir süredir sebze yağlarının yakıt olarak kullanılabilceği bilinse de; 1973 yılındaki Petrol Krizi'ne kadar alternatif enerji kaynakları fazla ilgi görmemiştir (Sharma and Singh 2009; Specht 2011). 2000-2016 yılları arasında küresel biyodizel üretimi, yaklaşık 40 kat artış göstererek 803 bin metrik tondan yaklaşık 32 milyon metrik ton seviyesine ulaşmıştır. Biyoyakıtlar; 2017 yılında ulaşım sektöründeki toplam enerji talebinin %5'ini; biyodizel ise %1'ini karşılayabilmiştir. 2000-2016 yılları arasında dünya genelinde ilk 6 ülkeye ait yıllık biyodizel üretim miktarlarına Şekil 2.3'te yer verilmiştir. Günümüzde toplam biyodizel üretiminin %16,5'ini ABD, %10,6'sını Brezilya, %10,2'sini Almanya, %10,1'ini Endonezya, %7,8'ini Arjantin ve %7,2'sini Fransa yapmaktadır (EIA 2016; IEA 2018). Biyodizel yaygın olarak fabrika, restoran ve evsel kaynaklı atık yağlardan, tarımsal olarak yetiştirilen kanola, ayçiçeği, mısır ve soya gibi bitkilerin yağlarından, hayvansal yağlardan ve açık ya da kapalı sistemlerde üretilen mikroalglerden elde edilen yağlardan elde edilmektedir. İklim özellikleri, toprak yapısı ve tarım alanı ihtiyacı biyodizel üretiminde farklı ülkelerin farklı ham maddeleri tercih etmesine neden olmaktadır. Örneğin, kanola, Avrupa'daki ana biyodizel kaynağı iken, soya fasulyesi yağı ABD, Arjantin ve Brezilya'da biyodizel üretimi için en yaygın kaynaktır. Malezya ve Endonezya gibi Asya ülkeleri ise biyodizel üretimi için en çok hurma yağı kullanmaktadır (Mahmudul *et al.* 2017).



**Şekil 2.3.** 2000-2016 yılları arası yıllık biyodizel üretim miktarları

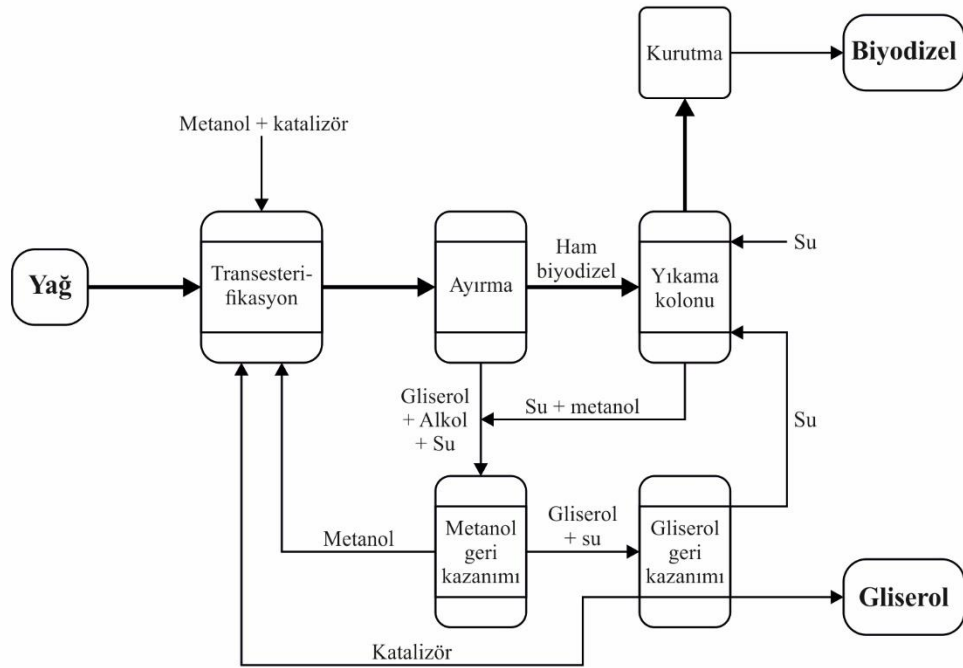
Ülkemiz biyoyakıtlar ile 1934 yılında Atatürk Orman Çiftliğinde “Bitkisel Yağların Tarım Traktörlerinde Kullanımı” isimli çalışmayla tanışmıştır. 2000’li yılların başında ise Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı tarafından yürütülen Biyoenerji Projesi ile biyoyakıtlara olan ilgi artmıştır. 2006 yılı itibariyle 100 civarında biyodizel üretim tesisi kurulmuştur (Ar 2008). Ancak ilerleyen dönemlerde ham madde sıkıntısı, düşük vergi muafiyeti gibi sorunlar nedeniyle çoğu tesis kapanmak zorunda kalmıştır. 2005-2013 yılları arasında ülkemizde biyodizel üretimi günlük bin varil cinsinden Şekil 2.4’te gösterilmiştir. 2006 yılında günlük 0,4 bin varil civarında gerçekleşen biyodizel üretimi, ilerleyen yıllarda azalan bir eğilim göstermiştir. 2012 yılında ise yükselişe geçerek günlük 0,4 bin varil seviyesine tekrar ulaşmıştır. Ülkemizde 2016 yılı itibariyle dizel yakıtların %3 oranında biyodizel içermesi yasalarla zorunlu hale getirilmiştir (Saraçoğlu 2017). Bu oran, Çin’de %10 iken, ABD’nin bazı eyaletlerinde %20’ye çıkmıştır (Islam *et al.* 2017). Türkiye, yıllık bir milyon ton biyodizel üretim kapasitesine sahip olsa da yıllık üretim miktarı yaklaşık 60 bin ton ile sınırlı kalmaktadır (Tuccar *et al.* 2015). Bu değer ise küresel biyodizel üretiminin ancak binde ikisine karşılık gelmektedir.



**Şekil 2.4.** 2005-2013 yılları arasında Türkiye'de günlük biyodizel üretimi

Amerikan Test ve Malzemeler Topluluğuna (ASTM) göre biyodizel, bitkisel veya hayvansal yağlardan elde edilen uzun zincirli yağ asitlerinin mono alkil esterleri olarak tanımlanabilir. Isınma, havacılık ve araç yakıtı gibi birçok alanda kullanılan biyodizelin endüstride sıklıkla tercih edilen üretim sürecine Şekil 2.5'te yer verilmiştir (Knothe and Razon 2017). Biyodizel üretimi dört nesil altına toplanabilir. İlk nesil olarak kabul edilen "1. nesil", iyi yapılandırılmış dönüşüm teknolojilerini kullanarak yaygın olarak bulunan gıda ham maddelerinden üretilen biyoyakıtları ifade eder. Bugün kullanılan çoğu biyoyakıt 1. nesil olarak sınıflandırılmıştır. Buna; mısır, şeker kamışı, sorgum gibi ürünlerin fermantasyonu üretilen biyoetanol ve bitkisel yağlar ve hayvansal yağlardaki trigliseritlerin transesterifikasyonu yoluyla üretilen biyodizel dâhildir. "2. nesil" terimi 2000'lerden sonra kullanılmaya başlanmıştır. Genellikle gıda dışı ham maddeden üretilen veya ileri işleme teknolojisi (veya her ikisi) yoluyla üretilen biyoyakıtları ifade etmektedir. 2. nesil ham madde kaynaklarına şeker kamışı küspesi, lignoselüloz ve atık yağlar gibi yenmeyen trigliseritler örnek gösterilebilir. İleri işleme teknolojisinin örnekleri arasında ise trigliseritlerin katalitik hidrojenasyon ve lignoselülozun termal dönüşümü (gazlaştırma ve piroliz) bulunmaktadır (Hoekman *et al.* 2012). İlerleyen dönemde yüksek verimliliği ve düşük alan ihtiyacı nedeniyle mikroalgal biyodizel

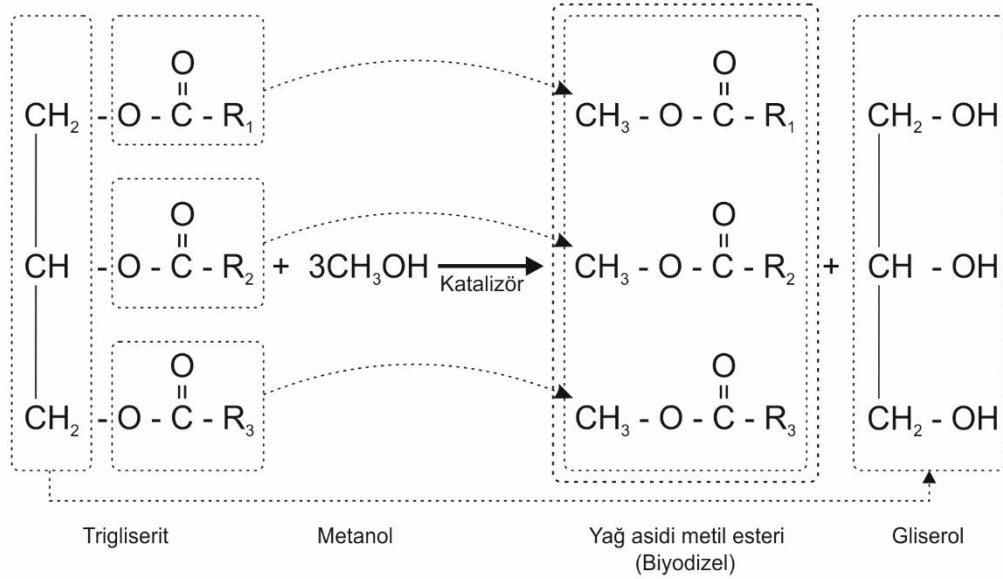
üretimine ağırlık verilmiştir ve “3. nesil” diye tabir edilen yeni üretim yöntemlerine geçilmiştir. Mikroalglerin üretimi, hasatlanması ve yağ ekstraksiyonu gibi aşamaların iyileştirilmesi ve yetiştiricilikte atıksu ve baca gazı gibi insan kaynaklı atıkların değerlendirilmesi 3. nesilin temel özellikleri arasında sayılabilir. Son yıllarda ise genetik mühendisliğinin avantajlarından faydalanılması ve yapay zekâ gibi gelişmiş kontrol yöntemlerinin kullanılmaya başlanması “4. nesil” biyoyakıtların doğmasına neden olmuştur. Mikroalgere ve diğer mikroplara yapılan birtakım genetik modifikasyonlar, daha yüksek yağ verimini ve daha fazla atmosferik karbon kullanımını mümkün kılmaktadır. Bu süreçteki en büyük engelleri ise yüksek araştırma ve kurulum maliyetleri oluşturmaktadır (Dutta *et al.* 2014).



**Şekil 2.5.** Biyodizel üretim süreci

Bitkisel yağların motorda direkt olarak kullanılmasındaki temel sorun yüksek kinematik viskozite değerleridir. Petrol kaynaklı dizelin ortalama kinematik viskozitesi 3,5 – 5 mm<sup>2</sup>/s arasındayken, palmiyenin 39,4; ayçiçeğinin 33,4; mısırın 34,9 ve atık pişirme yağının 50 mm<sup>2</sup>/s olarak ölçülmüştür. Viskozite; püskürtme, yakıt/hava karışımı ve yanma işlemini etkileyen en önemli parametredir. Yüksek viskozite, erken enjeksiyona

ve yüksek yanma odası sıcaklığına neden olabilir (Chen *et al.* 2018). Bitkisel yağların alkolle transesterifikasyonu, bu sorunun çözümü için en iyi yöntem kabul edilmektedir. Ayrıca atık pişirme yağı, jatropha, polanga, pirinç kepeği yağı ve tavuk yağı gibi ham maddeler çok yüksek serbest yağ asidi oranına sahip olduğundan biyodizel üretimi için iki aşamalı asit-baz transesterifikasyon işlemine ihtiyaç duyulur (Verma and Sharma 2016). Transesterifikasyon reaksiyonu tersinirdir ve ürün tarafı kararlı hale gelene kadar fazla alkol yer değiştirir. Transesterifikasyon reaksiyonunun verimini reaksiyon sıcaklığı, serbest yağ asidi içeriği, su içeriği, katalizör tipi, katalizör miktarı, reaksiyon süresi, alkol/yağ oranı, alkolün tipi gibi parametreler etkilemektedir. Şekil 2.6'da gösterilen R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> ve R<sub>3</sub>; uzun zincirli hidrokarbonlar ve yağ asidi zincirleri olarak adlandırılan karbon atomlarıdır. Reaksiyon, üç mol metil ester (biyodizel) ve bir mol gliserol üretmek üzere üç mol metanol ile reaksiyona giren bir mol trigliserite dayanır. Gliserol ise bu reaksiyonun yan ürünü olarak elde edilir. Katalizör kullanımına göre iki tip transesterifikasyon yöntemi bulunmaktadır. Bunlar: (a) katalizörlü ve (b) katalizörsüz olarak adlandırılabilirler. Farklı tipte katalizörlerin kullanımı, biyodizelin oranını ve verimini etkiler. Metanol, düşük maliyetli olmasının yanı sıra, polar ve en kısa alkol zincirine sahip olma gibi kimyasal avantajları nedeniyle alkol türü olarak daha çok tercih edilmektedir. Etil alkol ise daha az toksiktir ve tümüyle yenilenebilir kaynaklarından karşılanabilmektedir. Transesterifikasyon reaksiyonunda metanol ve etanol dışında propanol ve butanol gibi pek çok alkol kullanılabilir (Talebian-Kiakalaieh *et al.* 2013).



**Şekil 2.6.** Transesterifikasyon reaksiyonu

Biyodizel ham maddesi olarak kullanılan yağların ana bileşeni olan trigliseritler (TAG), bir gliserol [ $\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$ ] ve üç yağ asidi ( $\text{R}-\text{COOH}$ ) molekülünden oluşurlar. Yağ asitleri, karbon-karbon çift bağının (C:D) varlığına ve sayısına göre doymuş sınıflandırılmaktadırlar. Çift bağ içermeyen yağ asitleri doymuş (C:D = 0), tek çift bağ içeren yağ asitleri tekli-doymamış (C:D = 1) ve birden çok çift bağ içerenler ise çoklu doymamış (C:D > 1) olarak ifade edilir. Yağ asidi bileşimi, viskozite, oksidasyon kararlılığı, setan sayısı, soğuk akış özelliği, parlama noktası, ısı değeri ve yoğunluğu belirlediği için biyodizel özelliklerinde önemli bir rol oynamaktadır (Chen *et al.* 2018). Ayrıca serbest yağ asitlerinin oranı ve zincir uzunluğunun kapsamı yakıt kalitesine etki eden diğer önemli bileşenlerdir. Biyodizel üretiminde kullanılan başlıca ham maddelerin yağ asidi içeriklerine Çizelge 2.1'de yer verilmiştir (Issariyakul and Dalai 2014; Verma and Sharma 2016; Sajjadi *et al.* 2018). Soya fasulyesi, hardal, ayçiçeği ve atık yağ daha fazla doymamış yağ asidine sahipken, palmiye yağı daha fazla doymuş yağ asidine sahiptir. Yüksek oranda doymamış yağ asitlerinin varlığı, biyodizelin hızlı bir şekilde oksitlenmesini sağladığından daha iyi bir soğuk akış performansı gösterir. Doymuş yağ asitlerinin fazlalığı ise soğuk akış özelliklerini olumsuz yönde etkiler ve bu durum soğuk iklim koşullarında biyodizelin kullanımını zorlaştırır (Verma and Sharma 2016).

Bunun yanı sıra doymuş yağ asitlerinin fazla olduğu biyodizelin parlama noktası ve oksidasyon stabilitesi daha düşüktür (Knothe and Razon 2017).

**Çizelge 2.1.** Çeşitli ham maddelere ait yağ asidi içerikleri (% katı madde)

Yağ asidi (C:D)	Miristik (14:0)	Palmitik (16:0)	Stearik (18:0)	Araşidik (20:0)	Palmitoleik (16:1)	Oleik (18:1)	Linoleik (18:2)	Linolenik (18:3)
<b>Doymuşluk</b>	Doymuş	Doymuş	Doymuş	Doymuş	Tekli doymamış	Tekli doymamış	Çiftli doymamış	Çoklu doymamış
Soya Fasulyesi	-	10,4 - 24,8	2,6 - 4,7	-	0,35 - 2,0	16,5 - 24,8	51,8 - 53,0	6,5 - 7,0
Hardal	0,05	2,80	1,09	0,70	0,16	24,98	11,64	8,61
Palmiye	0,9 - 1,14	37,8 - 43,8	2,7 - 4,76	0,06 - 0,11	0,15 - 0,4	39,9 - 42,6	9,6 - 12,20	0,17 - 0,53
Zeytin	-	9,7	1,74	-	0,46	82,3	5,8	-
Ayçiçeği	0,1	7,5	1,9	0,1	0,1	13,3	76,0	0,1
Kanola	-	3,1	1,3	0,4	0,2	56,6	22,4	14,0
Mikroalg ( <i>Chlorella vulgaris</i> )	1,91	15,3	3,37	3,12	2,63	16,7	13,8	12,9
Mikroalg ( <i>Scenedesmus obliquus</i> )	0,413	24,8	1,31	2,32	4,13	25,6	11,3	14,4
Atık yağ	0,19	4,1 - 26,5	1,4 - 10,9	0,55 - 2,30	0,80 - 2,4	38,6 - 44,7	32,8 - 36,0	0,2
Gres yağı	2,43	23,24	12,96	-	-	44,32	6,97	0,67

Biyodizel, dizel ile karışım oranlarına göre B5 (%5 biyodizel, %95 dizel), B20 (%20 biyodizel, %80 dizel), B50 (%50 biyodizel, %50 dizel) ve B100 (%100 biyodizel) şekilde kısaltılmaktadır. Amerikan Test ve Malzemeler Topluluğu ve Avrupa Birliği tarafından belirlenen biyodizel sınır değerleri ile çeşitli ham maddelerden elde edilen biyodizellere ve petrol kaynaklı dizele ait yakıt özellikleri Çizelge 2.2’de gösterilmiştir (Hoekman *et al.* 2012; Sajjadi *et al.* 2016; Yaşar and Altun 2018). Saf biyodizelin parlama noktası dizelden daha yüksek olduğu için biyodizelin kullanımı, taşınması ve depolanmasında daha güvenli bir yakıt olmasını sağlar. Ancak yüzde yüz biyodizel içeren B100 yakıt tipi motorlarda çeşitli problemlere yol açabileceği için birtakım modifikasyonlar yapılmadan kullanılması uygun görülmemektedir (Tyson and McCormick 2006). Yüksek miktarda kükürt varlığı katalitik dönüştürücüyü tıkararak motora zarar verebilir. Günümüzde üretilen biyodizelin kükürt içeriği belirtilen sınır değerlerin çok daha altındadır. Bu yüzden genelde petrol kaynaklı dizelin kükürt oranını

azaltmak için biyodizel ile karıştırılır (Sanford *et al.* 2009). Yoğunluk, her yakıt türü için motor performansını doğrudan etkileyen bir parametredir. Ortalama olarak biyodizel, petrol kaynaklı dizele göre daha yoğundur. Kinematik viskozite, yakıt enjeksiyon rejimini belirlediği için kritik bir öneme sahiptir. Yüksek viskozite, daha büyük damlacık boyutlarına, daha kötü buharlaşmaya ve daha dar püskürtme açısına yol açar. Ayrıca hava ile daha yavaş karıştığı için tam yanma gerçekleşmeden daha verimsiz yakıt kullanımına neden olur. Yakıtın soğuk hava şartlarındaki davranışını belirlemek için donma noktasını tek başına yeterli olmamaktadır. Yakıtın akışkan özelliğini koruduğu en düşük sıcaklık olan akma noktası ve filtre edilebildiği sıcaklığı gösteren soğuk filtre tıkanma noktası (SFTN) yakıt sistemlerinde serbest akıştaki yakıtın sorun yaşaması muhtemel sıcakların belirlenmesinde daha fazla yardımcı olmaktadır. Petrol kaynaklı dizel, biyodizele göre daha düşük sıcaklıklarda akış özelliğini korumaktadır. Setan sayısı, bir yakıtın kendiliğinden tutuşma özelliğinin bir ölçüsüdür. Biyodizel büyük ölçüde uzun zincirli hidrokarbon gruplarından oluştuğu için genel olarak dizelden daha yüksek setan sayısına sahiptir. Dizel ile karıştırılarak dizelin setan sayısının artması sağlanabilir. Donyağı ve hurma gibi doymuş yağ asitleri bakımından zengin olan ham maddelerden üretilen biyodizel, soya ve kolza tohumu gibi daha az doymuş yağ asidi içeren ham maddelerden üretilen yakıtlardan daha yüksek setan sayısına sahiptir. İyot değeri, karbon-karbon çift bağlarıyla reaksiyona giren I<sub>2</sub> (iyot) miktarını gösterir. Dolayısıyla doymamış yağ asidi metil esterlerinin bir göstergesidir. Yenilebilir yağlar daha yüksek iyot değerine sahiptir. Yüksek oksijen içeriğinden dolayı biyodizel, petrol dizelinden daha düşük kütle enerjisi değerine sahiptir. Bu nedenle biyodizel karışımlarının arttırılması enerji içeriğinin azalmasına neden olur. Yağ asidi zinciri arttıkça oksijenin toplam kütledeki oranı düşeceği için yakıt daha yüksek kütle enerjisi içerir (Hoekman *et al.* 2012).



**Çizelge 2.2.** Çeşitli ham maddelerden elde edilen biyodizellere ait yakıt özellikleri

Ham madde	Kükürt (mg/L)	Yoğunluk (15 °C) (kg/cm <sup>3</sup> )	Viskozite (40 °C) (mm <sup>2</sup> /s)	Parlama noktası (°C)	Akma noktası (°C)	SFTN (°C)	Setan sayısı	İyot değeri (g·I <sub>2</sub> /100 g)	Enerji (MJ/kg)
Kanola	2	0,883	4,38	153	-6	-9	53,7	108,8	41,3
Mısır	4	0,883	4,19	171	-3	-8	55,7	101,0	43,1
Fasulye	2	0,882	4,26	159	-4	-4	51,3	125,5	39,7
Palmiye	2	0,873	4,61	163	13	9	61,9	54	40,6
Ayçiçeği	2	0,878	4,42	175	-2	-2	51,1	128,7	40,6
Aspir	–	0,879	4,14	174	-7	-6	51,1	141	42,2
Atık yağ	5	0,879	4,80	161	3	1	56,9	88,9	39,4
Donyağı	7	0,878	4,69	124	13	13	58,9	65,9	39,7
Hin. cevizi	3	0,874	2,75	113	-9	-5	59,3	18,5	38,1
Mikroalg ( <i>Chlorella protothecoides</i> )	6,8	0,881	4,491	141	-	-10	57,3	110	37,6
Dizel	–	0,855	3,06	76	-16	-6	50	1,35	43,8
<b>ASTM<sup>1</sup></b>	<b>≤ 15</b>	<b>0,875 - 0,9</b>	<b>1,9 - 6,0</b>	<b>≥ 93</b>	<b>-15</b>	<b>≤ 19</b>	<b>≥ 47</b>	–	–
<b>AB<sup>2</sup></b>	<b>≤ 10</b>	<b>0,86 - 0,9</b>	<b>3,5 - 5,0</b>	<b>≥ 101</b>	–	<b>≤ 5</b>	<b>≥ 51</b>	<b>≤ 120</b>	<b>≥ 35</b>

<sup>1</sup> Amerikan Test ve Malzemeler Topluluğu D 6751-07b biyodizel standart değerleri

<sup>2</sup> Avrupa Birliği EN 14214:2008 biyodizel standart değerleri

B20 ve B100 karışım oranlarına sahip biyodizel ile petrol kaynaklı dizele ait emisyon kıyaslamasına Çizelge 2.3'te yer verilmiştir (Bhuiya *et al.* 2016). Motorun yanma özelliklerine ve test prosedürüne bağlı olarak NO<sub>x</sub> emisyon değeri ortalama %10 artış göstermektedir. Ancak saf biyodizelden elde edilen yanmamış toplam hidrokarbon, karbon monoksit ve partikül madde emisyonları dizel ile karşılaştırıldığında sırasıyla %67, %48 ve %47 oranında daha düşük değerlere sahiptir. Potansiyel kansere neden olan bileşikler olarak tanımlanan polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) seviyesi de biyodizel emisyonunda %80'lik bir azalma göstermektedir. Ayrıca kükürt emisyonu neredeyse tamamen ortadan kalkmaktadır.

**Çizelge 2.3.** B20 ve B100 yakıtların dizele göre emisyon değişim oranları (%)

Yakıt türü	HC	CO	NO <sub>x</sub>	SO <sub>x</sub>	PM	PAH	nPAH
B20	-20	-12	+2	-20	-12	-13	-50
B100	-67	-48	+10	-100	-47	-80	-90

Biyodizelin petrol kaynaklı dizele göre başlıca avantajlarına aşağıda yer verilmiştir (Mahmudul *et al.* 2017).

1. Biyodizel, daha düşük CO<sub>2</sub>, CO, SO<sub>2</sub>, PM ve HC emisyon değerlerine sahiptir.
2. Biyodizel üretimi dizele göre daha kısa zaman alır ve daha kolaydır.
3. Biyodizel daha yüksek setan sayısına sahip olduğu için daha iyi motor performansı gösterir.
4. Biyodizel ve dizel karışımı motor ömrünü uzatır ve bakım ihtiyacını azaltır.
5. Dizelin aksine ek yağlayıcı ilave etmeden kullanılabilir.
6. Biyodizel sürdürülebilir kırsal kalkınmayı teşvik eder ve enerji güvenliği konusunda büyük bir potansiyele sahiptir.
7. Biyodizel, yerel olarak üretilebildiği için dizelden daha ekonomiktir.
8. Biyodizelin dizel gibi sondajlanması, rafine edilmesi ve taşınmasına gerek yoktur.
9. Biyodizel kükürt miktarı, parlama noktası, aromatik içerik ve biyo-bozunabilirlik açısından dizel yakıttan daha iyidir.
10. Toksik değildir, dizel ile karıştırıldığında egzoz emisyonlarını, görünür dumanı ve kötü kokuları azaltır.
11. B20'ye kadar (%20 biyodizel/dizel) motor modifikasyonu gerektirmez.
12. Biyodizel daha yüksek yanma verimliliğine sahip yenilenebilir bir yakıttır.

Biyodizel kullanımının bazı dezavantajlarına ise aşağıda değinilmiştir.

1. Dizele göre NO<sub>x</sub> emisyonu daha fazladır.
2. Daha yüksek akma ve bulutlanma noktasına sahip olduğu için soğuk hava şartlarında donmaya daha yatkındır.

3. Biyodizel, bakır ve pirince karşı korozif bir yapıya sahiptir.
4. Büyük moleküler kütle ve bitkisel yağların kimyasal yapısına bağlı olan yüksek viskozite, yakıt enjeksiyon sisteminde pompalama, yanma ve atomizasyon problemlerine yol açar. Ayrıca uzun süreli kullanım, enjektörlerde tortu birikintilerinin oluşumuna, filtrelerin tıkanmasına, boruların ve contaların yapışmasına sebep olur.
5. Biyodizel motor devrini ve gücünü düşürür. Dizele kıyasla nominal yükte ortalama %5 oranında daha az güç üretir.
6. Pistonlarda ve silindir başlarında tortu birikimine yol açar.
7. Uzun süreli depolamalarda biyodizelin biyo-bozunma riski vardır.
8. Biyodizel tek başına kullanımı motorun aşırı yıpranmasına neden olmaktadır.

Biyodizel; petrol kaynaklı dizele karşı başlıca alternatif oluşturan yenilenebilir ve nispeten daha çevreci bir enerji kaynağı olarak kabul edilebilir. Ancak ham madde temini için yüksek arazi ihtiyacı, verimsiz üretim yöntemleri ve dizele göre daha pahalı bir yakıt olması biyodizelin henüz geliştirilmekte olan bir biyoyakıt türü olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca günümüzde kullanılan dizel motorlar göz önüne alındığında B100 tipi yakıt kullanımı mümkün görünmemektedir. Bu durum; sadece ham madde ve biyoyakıt üretim yöntemlerinde değil, motor teknolojisinde de birtakım yeniliklere ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

#### **2.4.1. Mikroalgal biyodizel üretimi**

Günümüzde biyodizel üretim sürecinin geliştirilmesindeki en büyük engeli ham madde temini teşkil etmektedir. Yapılan çalışmalar, biyodizel üretim maliyetinin %75'ini tek başına ham madde giderleri oluştururken iş gücü ve enerji maliyetinin %5'in altında kaldığını göstermektedir. Biyodizel üretiminde tercih edilecek ham maddenin mümkün olduğunca iki ana gerekliliği karşılaması beklenmektedir. Bunlar: düşük üretim maliyetleri ve büyük üretim ölçeği olarak ifade edilebilir (Atabani *et al.* 2012). Çizelge 2.4'te ham madde türüne göre yağ oranları (Sajjadi *et al.* 2018), birim tarım alanından üretilen biyodizel miktarı (Chisti 2007), Ülkemizde 2016 yılından beri yasal hale gelen %3 oranında biyodizel içeriğinin tamamının üretilmesi için gereken tarım alanı ve

toplam ekilebilir tarım arazisi içindeki payı gösterilmiştir. PETDER'in (Petrol Sanayi Derneği) 2017 raporuna göre ülkemizde ulaşım amacıyla yaklaşık olarak 29 milyon m<sup>3</sup> motorin yakıtı tüketilmiştir (PETDER 2017). 2016 yılında yasal hale getirilen %3 biyodizel karıştırma zorunluluğuna göre 870 bin m<sup>3</sup> biyodizel yakıtına ihtiyaç duyulmuştur. Çizelge 2.4'ten anlaşılacağı gibi bu miktarın mısırdan elde edebilmesi için 2017 yılı itibariyle ülkemizdeki mevcut tarım arazisinin %21,13'ünün biyodizel üretimi amacıyla kullanılması gerekmektedir. Bu durum mısırın hem yenilebilir bir ürün olması hem de tarım arazisinin önemli bir bölümünün besin ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılmaması nedeniyle kabul edilebilir değildir. Ancak aynı miktarda biyodizelin mikroalg üretim tesisleri ile karşılanması durumunda 6 bin ila 14 bin hektar arası bir alan yeterli olacaktır. Ülkemizde 2017 yılında yaklaşık olarak 4,6 bin hektar alanın sadece süs bitkileri yetiştiriciliğinde kullanıldığı düşünülürse, biyodizel üretimi için mikroalg tesislerinin tercih edilmesi tarım arazisi kullanımında (%0,03 – %0,06) kayda değer bir fark yaratmayacaktır.

**Çizelge 2.4.** Ham maddelere göre biyodizel üretimi için gereken arazi ihtiyacı

Ham madde	Yağ oranı (% ağırlık.)	Biyodizel verimi (L/ha)	Gereken tarım arazisi (ha) <sup>a</sup>	Toplam tarım arazisine oranı (%) <sup>b</sup>
Mısır	4	172	5.060.091	21,13
Soya fasulyesi	17,7	446	1.951.425	8,15
Kanola	30	1190	731.375	3,05
Jatropha	28	1892	460.008	1,92
Hindistan cevizi	35,3	2689	323.665	1,35
Palmiye	35,3	5950	146.275	0,61
Mikroalg	30	136.900	6.357	0,03
Mikroalg	70	58.700	14.827	0,06

<sup>a</sup> 2016 yılında yasal hale gelen %3 biyodizel karışımının tümünün karşılanması durumunda gereken tarım arazisi miktarını göstermektedir.

<sup>b</sup> Biyodizel üretimi için gereken arazi miktarının 2017 yılına ait Türkiye'deki toplam ekilebilir tarım arazisindeki payını göstermektedir.

Büyük ölçekli biyoyakıt üretimine karşı yapılan en büyük eleştiriler; büyük çiftlik arazilerini ve doğal yaşam alanlarını işgal etmesi, gıda fiyatlarının yükselmesi ve CO<sub>2</sub> emisyonlarında kayda değer bir düşüşe neden olmaması olarak sıralanabilir (Ghasemi *et*

al. 2012). Bu yönden mikroalgler, tarıma uygun olmayan arazilerde de üretilebilmeleri, yüksek fotosentetik etkinliğe sahip olmaları ve yüksek yağ içeriği nedeniyle biyodizel üretiminde en fazla ilgi çeken ham maddeler arasında gösterilmektedir (Knothe and Razon 2017). Mikroalgal yağ üretimi; mikroalg yetiştirme, hasat etme ve yağ ekstraksiyonu olmak üzere üç ana aşamada gerçekleşir (Sajjadi *et al.* 2018). Açık havuzlar ve fotobiyoreaktörler gibi yetiştirme sistemler en fazla mikroalg verimi ve yağ asidi içeriğini etkilerken, flokülasyon, filtrasyon ve santrifüj gibi hasat etme yöntemleri biyokütlenin su oranı ve yağ ekstraksiyon verimi üzerinde etki gösterir. Yağ ekstraksiyonu için tercih edilen metanol, hekzan gibi kimyasallar ve mekanik parçalama, ultrasonik ve termokimyasal sıvılaştırma gibi yöntemler çoğunlukla biyokütleden elde edilen yağ oranına etki etmektedir (Islam *et al.* 2017; Chen *et al.* 2018).

Diğer ham maddeler gibi mikroalgal yağ kullanılarak üretilen biyodizelin yakıt özellikleri de önemli ölçüde yağ asitlerinin kompozisyonuna bağlıdır. Çizelge 2.5'te bazı mikroalg türlerine ait yağ asidi içeriklerine yer verilmiştir (Zhila *et al.* 2011; Breuer *et al.* 2012; Sajjadi *et al.* 2018). Genel olarak mikroalgler tarafından üretilen yağın ana bileşimini; palmitoleik (16:1), oleik (18:1), linoleik (18:2), linolenik asit (18:3) gibi doymamış yağ asitleri, palmitik (16:0) ve düşük oranda stearik asit (18:0) gibi doymuş yağ asitleri oluşturmaktadır. Çizelgede verilen mikroalgler arasında *Synechocystis sp.* (%54,1) ve *Nannochloropsis oculata* (%46,73) en çok doymuş yağ asidi oranına sahipken, *Dunaliella salina* (%66,31) ve *Chlamydomonas reinhardtii* (%64,55) ise en çok doymamış yağ asidi oranına sahip mikroalg türleridir. Daha düşük doymuş yağ asidi içeren mikroalg yağından elde edilen biyodizelin akma ve donma noktaları önemli ölçüde artacağı için daha iyi soğuk akış özellikleri sunar. Bununla birlikte, yüksek miktarda doymamış yağ asidi içeren biyodizel, geleneksel dizelden daha hızlı okside olur ve bu da çözünmeyen tortulara yol açarak motor performansını etkiler. Bu nedenle, biyodizel üretimi için verimli mikroalg türleri ararken yüksek miktarda lipid üretme yeteneğinin yanı sıra yağ asidi bileşimlerinin yüksek kalitesi de göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca çoğu mikroalg türü, büyüme oranları, lipid içeriği ve yağ

asidi bileşiminin önemli ölçüde etkilendiği aşırı koşullar altında gelişebilmektedir (Sajjadi *et al.* 2018).

**Çizelge 2.5.** Bazı mikroalg türlerine ait yağ asidi içerikleri (% kuru ağır.)

Mikroalg türü	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
<i>Botryococcus braunii</i>	0,8	21	1,95	2,89	3,2	13,61	33	0,19	-	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	3,07	17,8	5,77	6,85	32,4	6,58	16,0	-	3,8	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	1,91	15,3	2,63	3,37	16,7	13,8	12,9	3,12	1,85	1,05
<i>Chlorella zofingiensis</i>	2	18	1	2	18	20	18	-	-	-
<i>Dunaliella salina</i>	0,97	14,4	3,53	2,77	11,6	11,5	38,4	-	1,02	0,26
<i>Nannochloropsis oculata</i>	9,1	35,1	26,1	2,53	11,1	2,3	0,98	-	-	0,1
<i>Scenedesmus obliquus</i>	0,413	24,8	4,13	1,31	25,6	11,3	14,4	2,32	7,85	4,42
<i>Spirulina Platensis</i>	0,9	41,4	3,44	2,32	7,86	15,5	17,5	-	-	0,37
<i>Synechocystis sp.</i>	27,9	22,7	36,9	3,5	8	0,2	9,45	-	-	-
<i>Tetraselmis viridis</i>	0,7	16,1	5,9	0,85	7,35	-	15,7	-	1,05	0,95

Yapılan çalışmalar, bazı mikroalglerden elde edilen biyodizelin diğer biyodizellere göre daha yüksek viskozite, yoğunluk ve daha düşük kalori değerine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu duruma mikroalg biyodizelin yüksek oranda uzun zincirli yağ asidi içermesi neden olmaktadır. Mikroalg türünün seçimi, yakıt kalitesinde ve motor performansında önemli bir etkiye sahip olacaktır. Mikroalg biyodizel ile yapılan emisyon ve motor performansı emisyon çalışmalarının çoğu NO<sub>x</sub> hariç neredeyse tüm gaz emisyonlarında petrodizele kıyasla önemli bir azalma olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca mikroalg biyodizel, hidrokarbon (HC) ve partikül madde (PM) değerlerinin azaltılması açısından biyodizele göre daha iyi bir performans sergilemektedir. Doymuş yağ asitleri ve daha kısa zincir uzunluğu NO<sub>x</sub> emisyonlarını azaltırken, daha yüksek doymamışlık ve daha uzun zincir uzunlukları NO<sub>x</sub> emisyonlarını artırır. Mikroalg biyodizel üretiminde kullanılan mikroalg türleri, kimyasal kompozisyon; emisyon değerleri üzerine doğrudan etki etmektedir (Islam *et al.* 2017).

Mikroalglerin atıksu içerisinde yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmeleri, mikroalgal yağ üretimi esnasında atıksu arıtımını mümkün kılmaktadır. Yapılan bir çalışmada; *Botryococcus sp.* türü evsel atıksuların arıtılmasında kullanılmış ve %61,7 yağ birikimi sağlanırken, %64,5 azot giderimi, %89,8 fosfor giderimi ve %67,9 organik karbon giderim verimi elde edilmiştir. Evsel atıksulara göre kontaminasyon riskinin daha az olmasından dolayı hurma yağı, kauçuk, nişasta, ağır metal ve tekstil atıksuları gibi birçok endüstriyel atıksu arıtımında mikroalg kullanılmaktadır. *Chlorella sp.* kullanılarak yapılan bir tekstil atıksuyu arıtımı çalışmasında %75 KOİ verimi elde edilirken %20 yağ birikimi sağlanmıştır. Aynı zamanda mikroalg kullanarak 4-tert-oktilfenol (OP), teknik-nonilfenol (t-NP), 4-nonilfenol (4-NP) ve bisfenol-A (BPA) gibi endokrin bozucu bileşiklerin giderimi sağlanabildiği belirtilmektedir (Chen *et al.* 2018). Mikroalgal biyodizelin diğer ham madde kaynaklarından elde edilen biyodizellere göre bazı üstünlükleri aşağıda sıralanmıştır (Ghasemi *et al.* 2012; Sajjadi *et al.* 2018).

1. Mikroalgler diğer yağlı bitkilere göre çok daha hızlı büyürler. Üreme hızları saatle ifade edilir ve her gün hasat edilebilirler. Ayrıca tipik bir bitkisel ham maddeye kıyasla birim alanı başına 10 kat daha fazla yağ üretirler.
2. Mikroalgler güneş ışığını kullanır, karbondioksiti tüketir ve oksijeni serbest bırakırlar. Üretilen biyokütle, kilogram başına 2 kg karbondioksit kadar fotosentez yapabilir. Mikroalglerin atmosferik oksijenin yaklaşık yarısını ürettikleri bildirilmiştir.
3. Yağlı bitkilerden farklı olarak mikroalgler, toprak verimliliğine ve sulamaya ihtiyaç duymazlar. Tuzlu su ortamında büyüebilirler.
4. Biyokütle ve yağ üretirken aynı zamanda atıksu ortamında yaşayabildikleri için atıksu arıtımında kullanmak mümkündür.
5. Yağlı bitkilerin büyümesi ve enerjisi; güneş ışınımına, mevsimsel şartlara ve tüm hava koşullarına bağlıyken mikroalgler aşırı hava koşullarına karşı daha toleranslıdır.
6. Bitkisel ürünlerin foto-dönüşüm verimi, ılıman iklimlerde bile %1'in altında iken, mikroalgler için bu oran %5'e kadar çıkabilmektedir.

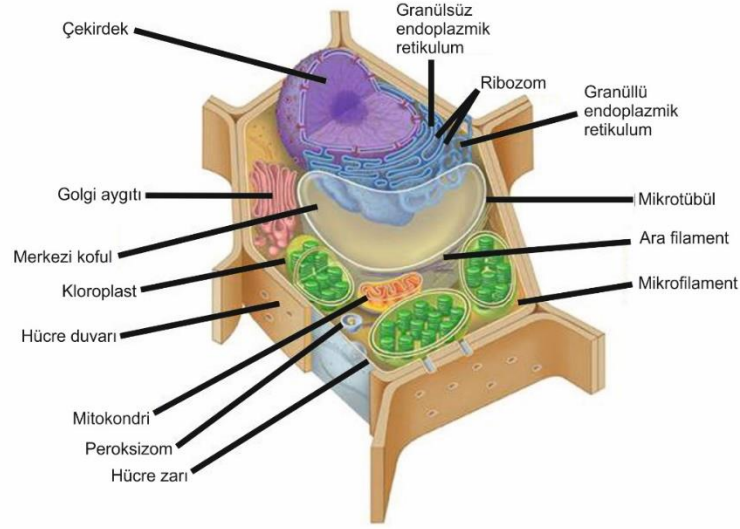
Tüm avantajlarına rağmen endüstriyel ölçekteki ticari mikroalgal biyodizel üretiminde bugüne kadar düşük maliyete odaklanan bir yol izlenmemiştir. Bu yüzden günümüzde

mikroalgal yağ, bitkisel yağlara göre 3-4 kat daha pahalıdır. Mikroalgal biyodizel üretiminin ticari başarıya ulaşabilmesi için üretim tesislerinin yüksek yatırım maliyetleri ve düşük konsantrasyondaki biyokütlelerin hasatlanması için gereken enerji de dâhil olmak üzere birtakım teknik zorlukların üstesinden gelinmesi gerekmektedir (Ghasemi *et al.* 2012). Yetiştirme ve hasatlama işlemleri sırasıyla, maliyet ve enerji harcamalarının %40 ve %20-30'unu oluşturan ana bileşenlerdir. Bu aşamaların iyileştirilmesi, tüm üretim sürecinin maliyetinin ve çevresel etkilerinin azalmasını sağlayacaktır (Sajjadi *et al.* 2018).

## 2.5. Mikroalgler

Su içerisinde yaşayan, hareket organelleri olsa bile akıntı etkisi ile sınırlı hareket edebilen tüm organizmalara plankton denilmektedir. Kendi materyalinin bir kısmını sentezleme yeteneğine sahip olan ototrofik planktonlara fitoplankton, ortamda bulunan organik maddeler veya organizmalar ile beslenen hetetrofik planktonlara ise zooplankton adı verilmektedir. Fitoplanktonlar, yapısında klorofil içeren ancak gerçek yaprakları veya kökleri olmayan, tek veya çok hücreli olabilen, büyük bir çoğunluğu mikroskopik boyutta olan bitki benzeri organizmalardır. Fitoplanktonik algler genelde çok küçük olduklarından dolayı mikro-algler olarak isimlendirilirler. Mikroalglerin basit yapısı; birçok sıra dışı ortamda hayatta kalmasına ve hızlı bir şekilde çoğalmasına olanak sağlamaktadır. Şekil 2.7'de ökaryot bir mikroalg hücresinin içyapısı görülmektedir. Mikroalg yetiştiriciliğinde hücre yapısının ve işleyişinin iyi anlaşılması biyoyakıt üretimi açısından büyük önem arz etmektedir. Tüm ökaryotik mikroalgler, içinde fotosentezin meydana geldiği ve hücreye rengini veren klorofil pigmenti ve fotosentetik lamelleri içeren kloroplast adı verilen hücre içi organellere sahiptir. Hücre hacminin %30'u ile %80'ini kaplayan kofullar ise esas olarak yağın depolandığı hücre içi yapılarıdır (Sajjadi *et al.* 2018).





**Şekil 2.7.** Mikroalg hücre yapısı

Bugüne kadar 50.000'den fazla mikroalg türü; hücre yapısı, biyokimyasal bileşenleri, pigment bileşimleri ve yaşam döngüleri açısından kategorize edilmiştir. Algler; çekirdek yapısı, pigment türleri, besin tipi, hücre duvarı yapısı, çoğalma biçimi, kamçı varlığı veya yokluğu gibi birçok özellik açısından sınıflandırılmaktadır. Özellikle Bacillariophyceae (diyatome), Chlorophyceae (yeşil alg), Eustigmatophyte (pikoplankton), Chrysophyceae (altın alg), Phaeophyceae (kahverengi alg) ve Cyanophyceae (mavi-yeşil alg) sınıflarına ait mikroalgler biyoyakıt üretimi için öncelikli öneme sahiptir (Ghasemi et al. 2012). Bunlar arasında ise yeşil mikroalg (Chlorophyceae) sınıfı biyodizel üretimi için en umut verici türleri içerir. Genellikle 1 ila 50 µm arasında bir çapa sahip olan yeşil mikroalgler; akarsular, nehirler, göller ve okyanuslar gibi tatlı, tuzlu ve acı su sistemlerinde yaşarlar ve besin zincirinin ilk halkasını oluştururlar. Bu mikroorganizmalar, karbondioksit ve suyu fotosentez yoluyla oksijene ve besin açısından zengin biyokütleyle dönüştürürler (Sajjadi *et al.* 2018).

### 2.5.1. Mikroalglerin biyokimyasal bileşimi

Mikroalglerin kimyasal yapısı pek çok kaynakta  $C_{106}H_{181}O_{45}N_{16}P_1$  olarak ifade edilmektedir. Mikroalglerin biyokimyasal içeriği ise karbonhidratlar, proteinler ve

yağlar olarak üç ana grup altında toplanabilir. Çizelge 2.6'da bazı mikroalg türlerinin biyokimyasal içeriğine yer verilmiştir (Sajjadi *et al.* 2018). Bu moleküllerin yapısı ve miktarı üzerinde en büyük etkiyi alg türü ve çevresel koşullar göstermektedir. Mikroalgler yağ sentezini hücre yapısında kullanma veya depolama amacıyla gerçekleştirmektedir. Hücre zarında da bulunan yapısal yağlar büyük oranda çoklu doymamış yağ asitleri içerirken, depolama yağları ise tekli doymamış ve doymuş yağ asitleri bakımından daha zengindir. Karbonhidrat, hücre duvarı gibi yapısal bileşenlerde ve nişasta gibi depolama bileşenlerinde bulunur. Mikroalgal karbonhidratlar çoğunlukla fermantasyon yoluyla etanol üretimi ve anaerobik çürütme ile metan üretimi için kullanılmaktadır. Protein sentezi ise aminoasit üretimi ile başlayan ve primer protein sentezine kadar en zor ve karmaşık mekanizmadır.

**Çizelge 2.6.** Bazı mikroalg türlerine ait yağ, protein ve karbonhidrat miktarları

Sınıf	Mikroalg türü	Yağ (% kuru ağı.)	Protein (% kuru ağı.)	Karbonhidrat (% kuru ağı.)
<i>Bacillariophyceae</i>	<i>Chaetoceros muelleri</i>	13-24	31-43	7-28
	<i>Thalassiosira weissflogii</i>	5-20	43	12
<i>Chlorophyceae</i>	<i>Dunaliella. salina</i>	6-25	57	32
	<i>Nannochloropsis oculata</i>	22-29	35	7,8
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	30-50	10-45	20-40
<i>Eustigmatophyceae</i>	<i>Chlorella emersonii</i>	23-63	36	41
	<i>Chlorella vulgaris</i>	41-58	51-58	12-17
<i>Cyanophyceae</i>	<i>Spirulina Platensis</i>	4-11	46-63	8-14

Yeşil mikroalgler, protein üretimi için genellikle tuz bazlı, karbondioksit ve ışığın bulunduğu ortamlara ihtiyaç duyarlar. Bu bileşenler arasında yağ (37,6 kJ/g); protein (16,7 kJ/g) ve karbonhidrata (15,7 kJ/g) göre en yüksek enerji içeriğine sahiptir. (Sajjadi *et al.* 2018). Bu yüzden biyoyakıt üretimini hedefleyen mikroalg yetiştiriciliğinde yüksek yağ oranına sahip mikroalg türleri tercih edilmektedir. Ancak yüksek yağ oranına sahip mikroalg türleri, daha az yağ içeren türlere göre daha yavaş büyümektedir. %30 yağ içeren mikroalglerin %80 yağ içerenlere göre 30 kat daha hızlı büyüdüğü

bildirilmiştir (Ghasemi *et al.* 2012). Yağ birikimi genellikle büyüme hızlarının baskılandığı stres koşullarında artış göstermektedir.

### 2.5.2. Mikroalgal biyokütle üretimi

Mikroalgler ile ilgili araştırmalar çok eskiye dayanmaktadır, ancak biyodizel üretimi için kullanılan geleneksel ham maddelerin gıda amacıyla tüketim önceliği, mevsimsel sürdürülebilirlik sorunları, tarımsal alanların kullanım verimsizliği; mikroalg yetiştiriciliğinin yeniden önem kazanmasına neden olmuştur. Mikroalg ekiminden biyodizel üretimine kadar uzanan tüm üretim süreci son yıllarda iyi bir şekilde incelenmiştir. Mikroalgal biyodizel üretim sürecinin geliştirilmesinde ilk önemli adım yüksek üreme hızı ve yağ oranına sahip bir tür seçmektir (Ahmad *et al.* 2011). Çizelge 2.7’de çeşitli mikroalg türleri için büyüme hızları, yağ miktarları ve yağ üretkenliğini göstermektedir (Rodolfi *et al.* 2009).

**Çizelge 2.7.** Çeşitli mikroalg türlerinin büyüme hızları, yağ miktarları ve yağ üretkenliği

Mikroalg türü	Büyüme hızı (g/L/gün)	Yağ miktarı (% kuru ağı)	Yağ üretkenliği (mg/L/gün)
<i>Chaetoceros muelleri</i>	0,07	33,6	21,8
<i>Chlorella sp.</i>	0,23	18,7	42,1
<i>Chlorella vulgaris</i>	0,20	18,4	36,9
<i>Chlorococcum sp.</i>	0,28	19,3	53,7
<i>Nannochloropsis sp</i>	0,21	29,6	61,0
<i>Porphyridium cruentum</i>	0,37	9,5	34,8
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	0,19	18,4	35,1
<i>Skeletonema costatum</i>	0,08	21,0	17,4
<i>Tetraselmis suecica</i>	0,32	8,5	27,0
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	0,08	20,6	17,4

Rodolfi *et al.* (2009) tarafından 30 farklı mikroalg türü üzerinde gerçekleştirilen çalışmada en yüksek mikroalgal yağ üretiminin *Nannochloropsis sp.* türünün

gerçekleştirdiğini, *Skeletonema costatum* ve *Thalassiosira pseudonana* ise en düşük yağ üretimine sahip olduğunu bulmuştur (Rodolfi *et al.* 2009). Biyodizel üretimi için en iyi yağ kaynağını seçmek amacıyla altı mikroalg türü (*Chlorella vulgaris*, *Spirulina maxima*, *Nannochloropsis sp.*, *Neochloris oleoabundans*, *Scenedesmus obliquus* ve *Dunaliella tertiolecta*) üzerinde yapılan çalışmada *Nannochloropsis oleoabundans* (tatlı su mikroalgi) ve *Nannochloropsis sp.* (deniz mikroalgi) türlerinin yüksek yağ içeriği nedeniyle (sırasıyla %29,0 ve %28,7) biyoyakıt üretimine uygun olduğu tespit edilmiştir (Gouveia and Oliveira 2009).

### 2.5.3. Mikroalg üretim sistemleri

Büyük ölçekli mikroalg yetiştiriciliği ilk olarak 1952 yılında Washington'da bulunan Carnegie Enstitüsü tarafından gerçekleştirildi. Daha sonra 1960'lı yıllarda Japon bir çalışma grubu tarafından bir dizi hareketli boru kullanarak taze kültürün sık ve açık bir gölette hareket ettirildiği "açık dolaşım sistemi" geliştirildi (Ting *et al.* 2017). Çizelge 2.8'de mikroalg yetiştiriciliğinde kullanılan sistemlerin bazı özelliklerinin kıyaslamasına yer verilmiştir (Ghasemi *et al.* 2012). Mikroalgler kesikli, yarı kesikli ve sürekli olarak üretilmektedir. Kesikli üretim genellikle yarı kesikli veya sürekli üretim öncesi mikroalg konsantrasyonunun belirli bir seviyeye ulaşması amacıyla kapalı ortamda ve sabit şartlarda mikroalg aşısı ve uygun besin ile gerçekleştirilir. Mikroalgler, durgun büyüme fazına geçmeden önce daha büyük hacimlerdeki reaktör ortamına aktarılarak üretime devam edilir. Yarı kesikli üretim ise reaktör içerisinde bir miktar mikroalg kültürü, besin ve sabit ortam şartları sağlanarak gerçekleştirilir. Belirli zaman aralıkları ile sonraki üretim için sistemde kültür bırakılarak mikroalg hasatı yapılır. Mikroalg yetiştiriciliğinde sürekli sistemler; türbidostat ve kemostat olmak üzere iki şekilde işletilmektedir. Türbidostat sistemlerde biyokütle konsantrasyonu belirli bir değere ulaştığında mikroalg hasatı yapılır ve ortama taze besi yeri eklenir. Kemostat sistemlerde ise ortama sürekli olarak besin akışı yapılırken mikroalg çıkışı da devam eder. Böylece mikroalgal üreme hızının belirli bir değerde sabit tutulması sağlanır. Mikroalg yetiştirmek için açık (kanal tipi havuzlar) ve kapalı (fotobiyoreaktörler gibi)

sistemler olmak üzere temel olarak iki ana üretim ortamı geliştirilmiştir (Ghasemi *et al.* 2012).

**Çizelge 2.8.** Mikroalg yetiştiriciliğinde kullanılan açık ve kapalı sistemlerin bazı avantaj ve dezavantajları

Özellik	Açık sistem	Kapalı sistem
Alan ihtiyacı	Yüksek	Düşük
Su kaybı	Çok yüksek	Düşük
CO <sub>2</sub> kaybı	Yüksek (Havuz derinliğine bağlı olarak)	Düşük
Oksijen konsantrasyonu	Düşük (Sürekli gaz çıkışı mümkün)	Kapalı sistemler için gaz alma yapısı gerekir
Sıcaklık	Çok değişken (Sıcaklık kontrolcü ile mümkün)	Genellikle soğutma gereklidir
Karıştırma	Genellikle düşük (Yavaş karıştırma)	Genellikle yüksek
Temizleme	Gerekli değil	Gerekli (Biyofilm tabakası ve kir ışık yoğunluğunu azaltır), ayrıca aşınma nedeniyle PBR ömrünü sınırlar
Kontaminasyon riski	Yüksek (Yetiştirilecek tür sayısı sınırlıdır)	Orta – düşük
Biyokütle kalitesi	Değişken	Sabit
Biyokütle konsantrasyonu	Düşük (0,1 – 0,5 g/L)	Yüksek (0,5 – 8 g/L)
Üretim esnekliği	Sadece bazı türler için mümkün	Mümkün
Proses kontrolü	Sınırlı (Akış hızı, karıştırma, havuz derinliği boyunca sıcaklık)	Bazı sınırlar içinde mümkün
Hava durumuna bağımlılık	Yüksek (Işık yoğunluğu, sıcaklık, yağış)	Orta (Işık yoğunluğu, soğutma gerekebilir)
Kurulum süresi	6 – 8 hafta	2 – 4 hafta
Kurulum maliyeti	Yüksek (~100.000 ABD doları/ha)	Çok yüksek (~250.000 – 1.000.000 ABD doları/ha)
İşletme maliyeti	Düşük	Yüksek (CO <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> giderimi, soğutma, temizlik, bakım)
Hasatlama maliyeti	Yüksek, türe bağlı olarak	Düşük (Yüksek biyokütle konsantrasyonu ve daha iyi kontrol sağlandığı için)

### 2.5.3.a. Açık sistemler

Açık sistemler, genellikle zemini geçirimsiz malzeme ile kaplanan göletler veya dairesel kanallı açık havuz sistemleri olarak tasarlanmaktadır. Göletler bazı durumlarda üretim maliyetini azaltmak amacıyla tercih edilse de; çok yüksek kontaminasyon riski, çökelti oluşumu ve yeraltı sularına karışma olasılığı gibi önemli sorunlar nedeniyle göletlerin kullanımı belirli arazi ve çevre koşullarında sadece birkaç mikroalg türü ile sınırlıdır. Açık havuz içerisine yerleştirilen ve bir motor vasıtasıyla dönen çark sistemi mikroalg kültürünün havuz boyunca dolaşımını sağlar. Sirkülasyon döngüsü genellikle sığ (derinliği 30 cm'den daha az) ve geniş yüzey alanına sahip dairesel kanallarda gerçekleşmektedir. Açık havuzların ortalama yüzey/hacim oranı  $3 - 10 \text{ m}^{-1}$  arasındadır. Bu sistemlerde soğutma çoğunlukla buharlaşma ile yapılır ve aydınlatma için sadece güneş ışından faydalanılır. Sıcaklık ve ışık yoğunluğu gün ve yıl boyunca değişiklik gösterdiği için açık sistemlerin üretim performansı hava şartlarından etkilenmektedir. Açık havuz sistemlerinde üretim genellikle 6 – 8 hafta arasında sürer ve mikroalg konsantrasyonu  $0,1 - 0,2 \text{ g/L}$  arasındadır (Ghasemi *et al.* 2012). Şekil 2.8'de açık sistemlere ait bazı fotoğraflara yer verilmiştir (Williams and Laurens 2010; de Vree *et al.* 2015).



Şekil 2.8. Dairesel kanallı açık havuzlar

### 2.5.3.b. Kapalı sistemler

Açık sistemlerden kaynaklanan kontaminasyon riski ve düşük biyokütle konsantrasyonu gibi sorunların önüne geçmek için fotobiyoreaktörler gibi daha geniş kontrol alanına sahip kapalı sistemler geliştirilmiştir. Fotobiyoreaktörler, yapay ışık kaynaklarının kullanıldığı kapalı alanlara veya doğrudan güneş ışığını gören dış mekânlara yerleştirilebilirler. Reaktör tasarımında özellikle aydınlatma verimi, katı/sıvı karışımı ve biyokütle konsantrasyonu gibi doğrudan üretim maliyetini etkileyen parametrelerin iyileştirilmesi hedeflenmektedir. Plastik veya cam levhalar ile katlanabilir veya sert borular reaktör yapımında kullanılabilir. Bu malzemeler; toksisite içermemeli, yüksek şeffaflığa, yüksek mekanik mukavemete, yüksek dayanıklılığa, kimyasal stabiliteye ve düşük maliyete sahip olmalıdır. Kontaminasyon riskini azaltmak için sisteme verilen hava, karbondioksit gibi gazlar filtrelenmelidir. Şekil 2.9'da bazı kapalı sistemlere yer verilmiştir (Williams and Laurens 2010; Abomohra *et al.* 2016).



**Şekil 2.9.** Kapalı sistem fotobiyoreaktörler

Fotobiyoreaktörler, yüksek enerji tüketimi ve maliyet gibi önemli dezavantajlarına rağmen biyofarmasötikler, birinci sınıf kozmetikler, insan sağlığı ile ilgili gıdalar ve biyoyakıtlar gibi katma değeri yüksek ürün üretiminde büyük önem taşımaktadırlar. Bu sistemler yaygın olarak düz panel, yatay tübüler, dikey kolon (kabarcıklı kolon ve hava kaldırmalı), fermentörler ve bunların modifiye edilmiş konfigürasyonları olarak tasarlanmaktadır. Düz panel reaktörler genellikle dikdörtgen yapıda, tabana yerleştirilen bir difüzör yardımıyla havalandırılarak karıştırılan ve ışığın kültür ortamına

hızlı bir şekilde nüfuz etmesini sağlayan çok kısa bir ışık yoluna sahip sistemlerdir. Bu sistemlerin yüksek yüzey alanı-hacim oranı, düşük çözünmüş oksijen birikimi, kolay temizlenmesi ve ölçek büyütme uygun olması gibi avantajları olsa da pahalı sıcaklık kontrolü, havalandırma ile oluşturulan hidrodinamik stres ve iç yüzeye yakın biyolojik kirlenme gibi sınırlamaları mevcuttur. Yatay tübüler yapıdaki fotobiyoreaktörler, kapalı sistemler arasında en yüksek yüzey alanı-hacim oranına sahiptir. Sistem, genellikle çapı 10-60 mm arasında değişen ve uzunluğu yüzlerce metreyi bulabilen saydam boruların yatay, spiral veya helikoit yerleştirilmesi ile meydana gelmektedir. Bu tasarım, yüksek aydınlatma verimi sağlamasına rağmen reaktör boyunca homojen olmayan sıcaklık ve CO<sub>2</sub> dağılımına ve çözünmüş oksijen birikimine yol açarak kararsız bir kütle transferine neden olmaktadır. Ayrıca foto-inhibisyon nedeniyle tüplerin yüzeyinde meydana gelen kirlenme ve yüksek arazi ihtiyacı bu sistemlerin diğer sınırlamaları arasında gösterilebilir (Abomohra *et al.* 2016; Ting *et al.* 2017).

Dikey kolon reaktörlerin kabarcıklı kolon ve hava kaldırmalı olmak üzere iki türü vardır. Her ikisinin de tabanında kültür ortamının karışımını ve CO<sub>2</sub> transferini sağlayan minik hava baloncuklarını oluşturan bir havalandırma yapısı mevcuttur. Kabarcıklı kolon reaktörlerin içerisinde sıvının yönlendirildiği bir içyapı bulunmamaktadır. Silindirik dış yüzeyde aydınlatılan mikroalgler hava baloncuklarının etkisi ile iç bölümdeki daha karanlık bölgeye doğru hareket ederler. Fotosentez veriminin artmasına neden olan bu durum “ışık parlama etkisi” olarak adlandırılır. Ayrıca aydınlık ve karanlık döngüsünün ayarlanmasında gaz akış hızı göz önünde bulundurulması gereken tek parametredir. Kabarcıklı kolon reaktörü düşük maliyet, yüksek yüzey alanı-hacim oranı, basit konfigürasyon ve iyi kütle transferi gibi önemli avantajlara sahiptir. Hava kaldırmalı sistemlerde ise reaktör içerisine yerleştirilen halka veya boru şeklindeki bir yapı, sıvının hava kabarcıkları ile iç kısımda yükseldiği ve dış kısımda aşağı doğru indiği iki bölge oluşturur. Kültür ortamı yükselirken karanlık bölgeden geçer ve dış yüzeye ulaştığında tekrar aydınlatılır. Bu sistemlerde gazın kalış süresi kütle aktarımı için oldukça önemlidir. Hava kaldırmalı reaktörlerin başlıca avantajları; yüksek kütle transfer verimi, düşük kayma gerilimi ile iyi karıştırma, düşük enerji tüketimi ve etkin biyokütle üretimi olarak sıralanabilir (Ting *et al.* 2017).



Fermentörler de mikroalg biyokütle üretiminde sıklıkla kullanılan kapalı sistemler arasındadır. Fermentörler enerji ve karbon kaynağı olarak  $-CO_2$ , ışık ve fotosentez yerine- (şeker gibi) organik karbon kullanmaktadır. Fermentörler genellikle fotobiyoreaktörlerden çok daha yüksek biyokütle üretimi gerçekleştirebilirler, ancak sabit karbon kaynağı sağlama maliyetinden dolayı üretim maliyeti genellikle çok daha yüksektir (Ghasemi *et al.* 2012). Bu yüzden şeker gibi ek maliyet oluşturan ham maddeler yerine biyolojik olarak parçalanabilir organik karbon içeriğine sahip endüstriyel veya evsel atıksuların tercih edilmesi; biyokütle üretim maliyetinin önemli miktarda etkilerken atıksu arıtımının da gerçekleşmesini mümkün kılmaktadır.

#### **2.5.4. Mikroalg hasadı**

Mikroalg biyokütlenin, bir ürünün ham maddesi olarak kullanılabilmesi için toplanması ve susuzlaştırılması tavsiye edilmektedir. Ancak suyun büyük bir kısmı uzaklaştırıldıktan sonra mikroalg hücreleri elde edilecek olan son ürüne bağlı olarak rafine edilmeye hazır olmaktadır. Üretim aşamasında oldukça seyreltik halde olan biyokütlenin konsantre hale getirilmesi işleme mikroalg hasatı denmektedir. Bu işlem mikroalg biyokütle üretim maliyetinin %20-30'una denk gelmektedir. Hasatlama işleminde kullanılan ana yöntemler arasında sedimantasyon, flokülasyon, flotasyon, santrifüj ve filtrasyon sıralanabilir (Uduman *et al.* 2010). Hasatlama yöntemleri arasında iki flokülasyon yöntemi de düşük maliyetlidir, ancak uzun işlem süreleri gerekmektedir. Diğer yandan santrifüjleme, filtreleme flokülasyon gibi etkili yöntemlerin kullanımı ise pahalıdır. Son ürünün değeri, mikroalg hücrelerinin büyüklüğü ve biyokütle konsantrasyonu uygun hasat tekniğinin seçiminde kilit rol oynamaktadır (Brennan and Owende 2010).

Flokülasyon işlemi, sıvı içerisinde dağılmış olan süspansiyon haldeki biyokütlenin bir araya gelip toplanarak çökmesine dayanır. Mikroalgler büyüme ortamında kararlı ve negatif yüklüdür. Hücreler, pozitif yük ile etkileşime girdiklerinde kararsızlaşır ve toplanmaları sağlanır (Uduman *et al.* 2010).  $Al^{+3}$  ve  $Fe^{+3}$  gibi metal iyonları, mikroalg hasadında ve su arıtımında sıklıkla kullanılan koagülantlardır. Metal iyonları oldukça

verimlidir; ancak yüksek konsantrasyonlarda kullanılması hasat edilen biyokütleyi kirletebilir. Ayrıca yüksek konsantrasyonları yağ verimini etkileyebilir. Bu yüzden kitosan, katyonik nişasta ve aşılınmış nişasta gibi biyobozunur organik polimerler hasatlama işlemi için tercih edilebilir (Rashid *et al.* 2014).

Santrifüj yöntemi diğer yöntemlere göre oldukça hızlı bir yöntem olmasına rağmen yüksek enerji tüketimi gerektiren maliyetli bir yöntemdir. Ayrıca yüksek yer çekimi ve kesme gerilimi nedeniyle hücre yapısı parçalanarak yağ ve diğer ürünlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Santrifüj yöntemi ile yapılan çalışmalar 2-5 dakika arasındaki işlem süresinde %80-90 arasında hasatlama verimi elde edildiğini ortaya koymuştur (Uduman *et al.* 2010).

Filtrasyon, mikroalg hasadında yaygın olarak kullanılan teknolojilerden birisidir. Filtrasyon işleminde mikroalg süspansiyonu gözenekli bir ortamdan geçirilerek gözenek çapından daha küçük olan parçacıkların filtrelenmesi ve kalan parçacıkların filtre üzerinde toplanması sağlanır. Filtrenin gözenek çapı, hasatlanacak mikroalg türüne göre değişir. Genel olarak mikrofiltrasyon (0,1–3 mm) ve ultrafiltrasyon (0,1-1,0 mm) teknikleri mikroalg hasat için en uygun filtrasyon yöntemleridir. Filtrasyon işlemi ile %95 hasatlama verimi elde edilebilir. Hasat verimi, filtrelerden geçen akı ve sıvı basıncı ile belirlenir. Yüksek akı ve düşük basınç değerleri her zaman yüksek hasat verimliliği anlamına gelmez. Düşük mikroalg biyokütle konsantrasyonunda akı yüksek olurken hasat verimi düşüktür (Rashid *et al.* 2014).

Flotasyon, mikro hava kabarcıkları tarafından mikroalg hücrelerinin sıvı yüzeyine taşınmasını sağlayan başka bir katı sıvı ayırma işlemidir. Hava kabarcık boyutlarına göre dağınık flotasyon (700-1500 µm), çözülmüş hava flotasyonu (10-100 µm) ve elektrolitik flotasyon olarak sınıflandırılabilir (Brennan and Owende 2010).

Hasatlama teknolojileri enerji ve maliyet açısından incelendiğinde sırasıyla flokülasyon, santrifüjleme, filtrasyon ve flotasyon işlemlerinin istikrarlı ve verimli oldukları ortaya konmuştur. Ancak santrifüjleme (8 kW·s/m<sup>3</sup>) ve flotasyonun (10-20 kW·s/m<sup>3</sup>) büyük

enerji ihtiyacı gerektirdiği belirtilmiştir. Filtreleme işlemi ise (0.4 - 0.88 kW h / m<sup>3</sup>) daha düşük enerji tüketimine rağmen santrifüjleme ile yakın hasatlama performansı göstermiştir (Chen *et al.* 2018).

### 2.5.5. Mikroalg üretimini etkileyen faktörler

Mikroalgal biyokütle üretim verimi ve kalitesi büyük oranda çevresel şartlara bağlıdır. Olumsuz koşullar, mikroalglerin hücresel birleşimini, yağ miktarını ve kompozisyonunu, büyüme oranlarını değiştirebilmektedir. Mikroalglerin biyolojik aktivitelerini etkileyen en önemli faktörler; besin ortamı, sıcaklık, pH, karıştırma, tuzluluk ve ışık olarak sıralanabilir. Ayrıca oksijen miktarı, seyreltme oranı, hasat sıklığı gibi bazı parametreler de mikroalg yetiştiriciliğini etkileyen faktörler arasında yer almaktadır.

#### 2.5.5.a. Besin ortamı

Kültür ortamındaki besin kompozisyonunun mikroalg yetiştiriciliğindeki anahtar parametre olduğu ortaya konmuştur. Ortamdaki kimyasal bileşenlerin miktarı; mikroalglerin büyüme hızı, yağ birikimi ve yağ kompozisyonu üzerinde direk etki göstermektedir. Mikroalglerin büyümesini sağlamak için besin ortamındaki karbon, azot ve fosfor gibi ana elementlerin miktarı, C<sub>106</sub>H<sub>181</sub>O<sub>45</sub>N<sub>16</sub>P stokiyometrik formülü ile teorik olarak belirlense de nutrientlerin kimyasal bileşimi ve konsantrasyonu mikroalg türüne göre değişiklik göstermektedir. Mikroalg yetiştiriciliğinde bu maddelerin yanı sıra silika, kalsiyum, potasyum, magnezyum, demir, bor, çinko ve bakır gibi birçok eser elemente de ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak azot ve fosfor; yağ üretimi üzerinde en etkili elementler arasındadır. Genellikle 5:1 azot:fosfor molar oranı azot sınırlaması ve yüksek fosfor, 30:1 azot:fosfor molar oranı ise yüksek azot ve fosfor sınırlaması olduğunu göstermektedir. Besin sınırlamaları, mikroalglerin büyüme hızını etkilerken aynı zamanda yüksek enerjili bileşiklerin oluşturulması ve depolanması ile sonuçlanan ani bir biyolojik şoka neden olmaktadır.

Azot; proteinler, aminoasitler, nükleik asitler, enzimler ve fotosentetik pigmentler için kilit element olduğundan hücre yapısının ve mikroalglerin fonksiyonel işlemlerinin temel bileşenidir. Aynı zamanda yağ içeriğini ve mikroalglerin büyümesini etkileyen önemli bir parametredir. Azot kaynağı olarak sıklıkla ya  $\text{NH}_4\text{Cl}$  gibi amonyum azotu içeren bileşikler ya da  $\text{NaNO}_3$  ve  $\text{KNO}_3$  gibi nitratlı bileşikler tercih edilmektedir. Genellikle hücresel azot ve yağ birikimi arasında ters orantı mevcuttur. Çoğu mikroalg türünün düşük azot içeren ortam koşullarında yağ birikimini %30-70 oranında arttırdığı saptanmıştır. Azot sınırlaması uygulanan *Botryococcus braunii*, *Chlorella vulgaris* ve *Nannochloropsis sp.* türleri sırasıyla %61,4, %57,9 ve %55 oranında yağ üretmişlerdir. Ancak *Scenedesmus sp.* ve *Chlorella sorokiniana* gibi bazı mikroalg türleri ile yapılan azot çalışmalarında yüksek yağ içeriği elde edilememiştir (Sajjadi *et al.* 2018). Çeşitli *Chlorella* türleri kullanılarak yapılan başka bir azot sınırlaması çalışmasında *C. vulgaris*, *C. emersonii*, *C. protothecoides*, ve *C. minutissima* türleri için yağ birikiminin sırasıyla 2,22 (%18'den %40'a), 2,17 (%29'dan %63'e), 2,1 (%11'den %23'e) ve 1,83 (%31'den %57'ye) kat arttığı gözlenirken üreme hızlarının ise sırasıyla %22, %46, %18 ve %0 oranında düştüğü tespit edilmiştir. (Illman *et al.* 2000).

Fosfor; sinyal iletimi, enerji aktarımı ve fotosentez gibi metabolik süreçlerde önemli rol oynayan diğer temel elementlerden birisidir. Genellikle  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  ve  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  gibi ortofosfat içeren inorganik fosfor kaynakları tercih edilmektedir. Besi ortamında inorganik ortofosfatın yetersiz kaldığı durumlarda; fosfatazlar, organik fosfatı hücre yüzeyinde inorganik ortofosfata dönüştürürler ardından mikroalg hücresi fosforu bünyesine alır. Yüksek ortofosfat içeren besi ortamlarında ise mikroalg hücreleri fazla fosforu polifosfat granülleri formunda özümserler, böylece fosfor yokluğunda büyüme sürecini uzatabilirler. Bu yüzden mikroalgler fosfor miktarındaki değişikliklere ışık ve sıcaklık gibi diğer çevresel şartlar kadar hızlı tepki vermezler. Mikroalg hücresindeki fosfor miktarının besi ortamındaki fosfor türüne ve konsantrasyona bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir. 5 mg/L fosfor içeren bir besi ortamında 10 mg mikroalg/mg-P; 0,1 mg/L fosfor içeren bir besi ortamında ise 1170 mg mikroalg/mg-P değerleri bulunmuştur (Sajjadi *et al.* 2018). *Nannochloris atomus*, *Tetraselmis sp.*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Chaetoceros sp.*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri* ve

*Gymnodinium sp.* türleri ile yapılan bir fosfor sınırlaması çalışmasında yağ birikiminin sırasıyla %11, %15, %20, %21, %30, %23 ve %13 oranında arttığı gözlemlenmiştir (Reitan *et al.* 1994).

Diğer önemli besin bileşenlerinden birisi de karbondur. Mikroalgal biyokütlenin %50'si esas olarak karbondioksitten temin edilen karbondan oluşmaktadır. Buna göre yapay veya doğal ışık kaynağı kullanılarak 1 ton mikroalg üretiminde yaklaşık olarak 1,8 ton CO<sub>2</sub> bertaraf edilebilir (Sajjadi *et al.* 2018). Mikroalgler tarafından kullanılmayan karbondioksit; doğrudan pH değerini etkilediği için kültür ortamına sürekli ve kontrolsüzce verilmez, bunun yerine pH kontrol altında tutularak ve belirli aralıklarla CO<sub>2</sub> enjeksiyon yapılır. Ayrıca mikсотrofik veya heterotrofik şartlarda organik karbon içeren çeşitli atıksu veya proses suları da besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Mikroalgler; sıfır enerjili karbonu alıp sentezleyen ve doğal yağlar şeklinde veya bir karbonhidrat polimeri olarak depolayabilen verimli biyolojik fabrikalardır. Farklı karbon kaynakları ve miktarları, mikroalglerin yağ üretim hızı, içeriği ve bileşimi üzerinde önemli etkiler göstermektedir.

#### **2.5.5.b. Sıcaklık**

Mevsimsel sıcaklık dalgalanmaları, günlük sıcaklık değişimleri ve herhangi bir nedenden dolayı meydana gelen ani sıcaklık değişimleri mikroalglerin üretim verimliliğini etkilemektedir. Dış mekân mikroalg yetiştiriciliğinde sıcaklık değişimlerinin 10 ile 40°C gibi geniş bir aralıkta olması, kapalı ortamda yapılan yetiştiriciliğe göre daha kapsamlı kontrol sistemlerinin oluşturulmasını gerektirmektedir (Ras *et al.* 2013). Dış mekân yetiştiriciliğinde gölgelendirme, suya daldırma ve su püskürtme gibi yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Gölgelendirme güneş ışığını kestiği için fotosentez oranı üzerinde olumsuz etki göstermektedir. Açık kanal havuzlar ve göletlerde ise sıcaklık nadiren kontrol edilir (Havlik *et al.* 2013). Çoğu mikroalg türü 15-30°C gibi yüksek sıcaklık farklarında hücresel faaliyetlerini sürdürebilmektedir. Ancak her mikroalg türü için optimal sıcaklık aralığı değişim göstermektedir. *Rhomonas sp.* türü ile yapılan çalışmada 25-27°C'de yüksek büyüme gösterdiği ve

karbonhidrat, lipit, klorofil ve protein üretiminin arttığı bulunmuştur (Rashid *et al.* 2014). *Dunaliella sp.* için yaklaşık 32°C, *Chlorella Vulgaris* için 25-30°C ve *Chlorella minutissima* için ise 15-20°C en uygun sıcaklık aralıkları olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar yüksek sıcaklıkların etkisinin düşük sıcaklıklardan daha zararlı olduğunu göstermiştir. *Chlorella vulgaris* ile yapılan bir çalışma, mikroalglerin büyümesinin 38°C'den sonra ani bir şekilde durduğunu ve renklerinin yeşilden kahverengine doğru döndüğünü ortaya koymuştur (Sajjadi *et al.* 2018).

### 2.5.5.c. pH

Kültür ortamının pH değeri mikroalgal büyüme ve yağ miktarı üzerinde direk etki gösteren parametrelerden birisidir. pH değeri, karbon, azot, fosfor ve demir gibi besin maddelerinin kültür ortamında bulunmasını ve hücreler tarafından kullanımını etkiler. Mikroalg yetiştiriciliğinde besin ortamının pH'sı gün içerisinde fotosentez ve karbondioksit kullanımına bağlı olarak yükselir. Daha sonra gece (karanlık ortam) boyunca solunum işlemi tersine döner ve pH değeri tekrar düşer. Birçok üretim sisteminde dışarıdan verilen CO<sub>2</sub> gazı pH'nın ayarlanmasında kullanılmaktadır. pH değerinin kontrol altında tutulmadığı ortamlarda, mikroalgal büyümenin etkisi ile pH yükselerek çoğu mikroalg türü için elverişsiz değerlere ulaşabilmektedir. pH kontrolünün gerçekleştirilmesi kültürdeki pH gradyanını azaltarak ortalama fotosentez oranını ve biyokütle verimliliğini artırır. Çoğu mikroalg türü için kabul edilebilir pH aralığı 7-9'dur. Bu aralığın dışındaki değerler inhibe edici etki göstermektedir. (Havlik *et al.* 2013). Üretkenlik, 9'un üzerinde çarpıcı biçimde azalır ve hücreler pH 9,7 – 9,9'da yaşamsal faaliyetlerini sürdüremezler. *Nannochloropsis* türü ile yapılan bir çalışmada maksimum büyüme hızı pH 8-9 aralığında gözlenmiştir. *Skeletonema costatum* türünün büyüme hızının 6,5 ile 9,4 arasında değişen pH koşulları altında incelenmesi sonucunda pH 7,5'da en yüksek büyüme oranı gözlenirken, pH değerinin 8,5 ve üzerine çıktığı koşullarda büyüme hızının önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir (Sajjadi *et al.* 2018). Buna karşın *Scenedesmus sp.* türü ile yapılan bir çalışma alkali koşullarda (pH > 9,0) büyüme oranının ve yağ verimliliğinin arttığını ortaya koymuştur. Genel olarak alkali

koşullar çoğu mikroalg türünün büyümesini ciddi şekilde inhibe ederken asidik koşullar mikroalg büyümesi ve yağ birikimi için nispeten daha elverişlidir (Gardner *et al.* 2011).

#### 2.5.5.d. Karıştırma

Karıştırma; reaktör içerisindeki mikroalglerin, gazların ve ışığın homojen bir şekilde dağılmasını sağlayan ve mikroalglerin üretim verimini etkileyen önemli bir parametredir. Açık veya kapalı üretim sistemlerinin çoğunda sirkülasyon pompası, havalandırıcı ve pedallı çark gibi mikroalglerin karıştırıldığı sistemler mevcuttur. Çok yüksek kayma gerilimi mikroalglerin hücre yapısına zarar verebilir ve üretim hızını etkileyebilir. Bu yüzden düşük kayma gerilimini sağlamak için düşük devir hızı ve büyük kapasiteye sahip sirkülasyon pompaları tercih edilmektedir. Ayrıca reaktör içerisinde biyofilm oluşumunu ve yüksek oksijen konsantrasyonunu önlemek için yüksek sıvı hızları gerekir. Ancak yüksek sıvı hızları, yüksek enerji maliyeti anlamına geldiği için enerji maliyetlerinin azaldığı ve alg üretkenliğinin etkilenmediği optimum sıvı hızını belirlemek; işletme maliyetini önemli oranda etkileyecektir.

*Spirulina platensis* ile yapılan bir çalışmada kesme gerilimi değeri 0,3 Pa değerini aştığında oksijen üretim hızının ve zincir uzunluğunun azalmaya başladığı tespit edilmiştir (Mitsuhashi *et al.* 1995). Tübüler fotobiyoreaktörde santrifüj pompa ile gerçekleştirilen başka bir çalışmada *Tetraselmis suecica* türü 80 Pa değerinde bile yaşamsal aktivitesini sürdürürken *Isochrysis galbana*, *Skeletonema costatum* ve *Chaetoceros muelleri* türlerinin ise 1,2 – 5,4 Pa arasındaki kesme gerilimi değerlerinde büyüme hızlarının önemli oranda etkilendiği gözlemlenmiştir. (Michels *et al.* 2016).

#### 2.5.5.e. Tuzluluk

Tuzluluk, mikroalgal büyümeyi ve verimliliği etkileyen, aynı zamanda ortamdaki kirliliği ve diğer mikroorganizmaları sınırlayan diğer çevresel faktörlerden birisidir. Yüksek tuzluluk yüksek hücre dışı ozmotik basınca neden olur, bu da alg hücrelerinin fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmalarını etkileyerek stres oluşumuna neden olur.

Çok yüksek konsantrasyonda tuzluluk, mikroalg hücresine zarar verebilirken; uygun tuzluluk stresi yağ üretimini arttırabilir. Mikroalg hücreleri tuzluluğa maruz kaldığında Turgor basıncının değişmesi, hücre zarından iyonların alım ve salınımının düzenlenmesi ve ozmo-koruyucu çözücüler ile stres proteinlerinin birikmesi gibi mekanizmalar aktif hale gelir. Farklı mikroalglerin yağ birikimini arttırmak için çeşitli sodyum tuzları (NaCl, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>) kullanılmış ve NaCl tuzunun biyokütle üretiminde azalmaya neden olduğu halde lipit içeriğini önemli ölçüde arttırdığı bulunmuştur (Sajjadi *et al.* 2018). *Synechococcus sp*, *Nannochloropsis salina*, *Chlorococcum littorale* ve *Botryococcus braunii* gibi deniz mikroalgleri yüksek tuzluluk ortamında daha iyi gelişim gösterirken, *Chlorella vulgaris* ve *Microcystisa eruginosa* gibi tatlı su mikroalgleri ise daha az tuzlu ortamda büyürler (Rashid *et al.* 2014). *Botryococcus braunii* türü ile NaCl kullanılarak yapılan bir tuzluluk çalışmasında biyokütle veriminin nerdeyse 2,5 kat düştüğü ancak trigliserit içeriğinin 0,3 M NaCl için %27, 0,7 M NaCl için %31 oranında arttığı görülmüştür (Zhila *et al.* 2011).

#### 2.5.5.f. Işık

Fototrofik organizmalar tarafından fotosentez işleminin gerçekleşebilmesi için güneş veya yapay ışığın sağladığı ışığın kalitesi ve miktarı en önemli parametrelerden biridir. Karasal bitkilerde yapılan çalışmalar kök, yaprak ve genel bitki büyüklüğü gibi bazı morfolojik özelliklerin yanı sıra çiçeklenme gibi önemli olayların gelişimi için de ışık kalitesi ve miktarının önemli olduğu ortaya konmuştur (Olle and Viršile 2013). Mikroalg üretiminde güneş ışığı en düşük maliyetli enerji kaynağı olsa da besin ve yem takviyeleri gibi bazı yüksek değerlikle ürünlerin üretiminde yapay ışık kaynakları hala daha ekonomiktir. Yapay ışık; foton akısının, foto-periyodun ve ışık spektrumlarının daha iyi düzenlenmesine izin verdiği için etkin mikroalg biyokütle verimliliğine ve kalite kontrolüne imkân sağlar. Ayrıca yapay ışık kaynaklarının kullanımının bir maliyeti olduğu için, fotosentetik ve elektriksel verimlilik açısından geliştirilmeleri ve optimize edilmeleri mikroalg ürünün üretim maliyetini önemli oranda etkileyebilmektedir. Mikroalg araştırılarda ve biyokütle üretiminde genellikle -



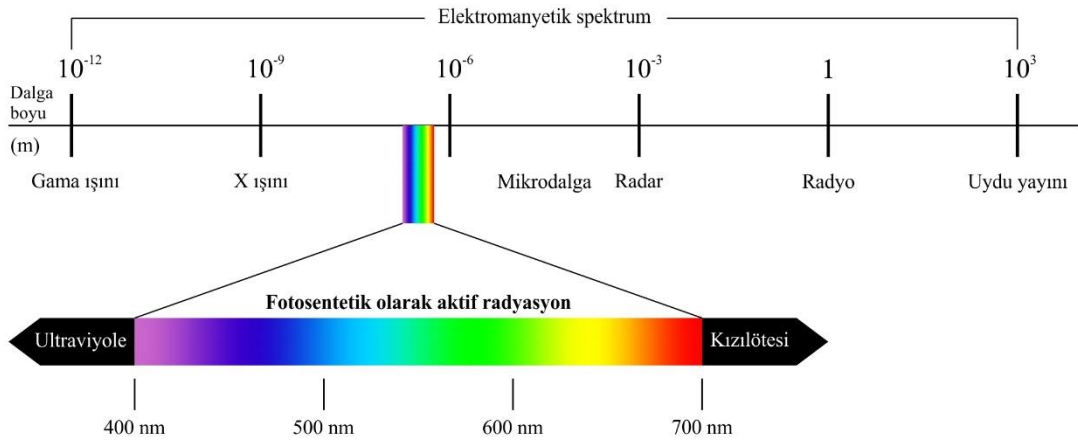
düşük fotosentetik aktiviteye sahip dalga boylarını da içeren- geniş spektrumlu floresan lambalar kullanılmaktadır (Carvalho *et al.* 2011).

Son yıllarda LED (ışık yayan diyot) teknolojisi; uzun ömürlülük, cıva içermeme, hızlı yanıt verme ve farklı dalga boylarında ışık yayabilme gibi önemli avantajları nedeniyle aydınlatma alanında daha fazla yaygınlaşmaktadır. LED; sadece ışığın daha iyi kontrolünü sağlamakla kalmaz, aynı zamanda farklı ışık yoğunluklarında ve dalga boylarında ışık üretebildikleri için mikroalgal biyokütlenin biyokimyasal kompozisyonunu ayarlamayı mümkün kılar (Yan and Zheng 2013; Zhao *et al.* 2013). LED'in yapısında pozitif yük taşıyan p-tipi ve negatif yük taşıyan n-tipi olmak üzere iki adet farklı yarı iletken madde bulunur. Anottan katoda doğru elektrik akımı geçtiğinde yarı iletkenlerin birleştiği noktada meydana gelen elektron alışverişi, foton ve ısı yayılımına neden olur. Kırmızı (620-625 nm), yeşil (525-530 nm) ve mavi (465-470 nm) ışık yayan üç diyotun bir arada bulunduğu RGB LED'ler her diyotun ışık enerjisinin ayrı ayrı kontrol edilmesini sağlar. Bu dalga boylarının farklı oranlarda karışımı ile ultraviyolede (390 nm) kızılötesine (720 nm) kadar fotosentetik olarak aktif spektrumun tümünü üretebilirler. LED'ler 20-30 nm arasında dar bir spektrumda ışık üretebildikleri için yüksek fotosentetik verimi mümkün kılarak enerji tüketiminin de azalmasını sağlarlar (Yan *et al.* 2013).

Mikroalglerin yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmeleri için ihtiyaç duydukları fotosentez işleminin ana enerji kaynağı ışıktır. Yapay ışık kaynakları genellikle foton yayılımı yerine renk sıcaklığı, renk dönüşüm indeksi, aydınlatma verimi ve ışık parlaklığı gibi insan görüşünü etkileyen parametrelerle değerlendirilir. Ancak bu kriterler, fotosentetik organizmaların ışık kullanımını tam olarak yansıtmadığı için uygun göstergeler olarak kabul edilmezler. Işık, foton veya kuantum adı verilen paketler halinde meydana gelir (Ross and Sulev 2000). Her foton, dalga boyunun bir fonksiyonu olarak tanımlanabilen belirli bir enerjiye sahiptir. Eşitlik 2.1 kısa dalga boyuna sahip fotonların daha uzun dalga boylu fotonlara göre daha yüksek enerjiye sahip olduklarını açıkça ortaya koymaktadır (Koc *et al.* 2013).

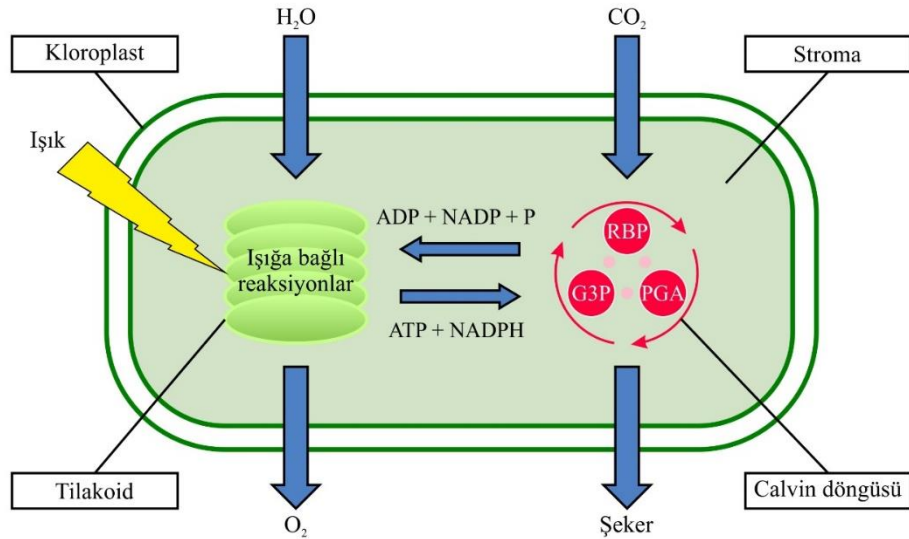
$$E_{\lambda} = \frac{h \cdot c}{\lambda} \quad (2.1)$$

Burada  $E_{\lambda}$  fotonun enerjisi (J),  $h$  Planck sabiti ( $6.626 \times 10^{-34}$  J/s),  $c$  ışık hızı (299.792.458 m/s) ve  $\lambda$  dalga boyu (m) olarak ifade edilmektedir. Bitkiler ve mikroalgler; 400-700 nm dalga boyu arasındaki elektromanyetik radyasyonu fotosentez işlemi için kullanmaktadır (Koc *et al.* 2013). 380 nm'den daha kısa dalga boylarındaki (ultraviyole) fotonlar hücre yapısına zarar verirken 750 nm ve üzerindeki (kızılötesi) ışık ise fotokimyasal reaksiyonların gerçekleşebilmesi için yeterli enerjiye sahip değildir. Bu yüzden fototrofik organizmaların ışık tüketimini incelemek için birim zamanda birim alana düşen radyan enerji akısı ( $W/m^2 \cdot s$ ) yerine 400-700 nm dalga boyu arasındaki fotonların  $\mu\text{mol}$  cinsinden miktarını veya  $\mu\text{E}$  cinsinden enerjisini kullanmak daha faydalıdır. Fotosentetik foton akı yoğunluğu (FFAY) olarak tanımlanan ifade birim zamanda birim yüzeye düşen 400-700 nm arasındaki fotonların miktarını ( $\mu\text{mol}/m^2 \cdot s$ ) göstermektedir. FFAY değeri genellikle kuantum sensörleri kullanılarak ölçülür ancak dar spektrumlu ışık kaynaklarında ölçüm yapılırken eğer gerekli düzeltmeler yapılmazsa gerçek değer ile ölçülen değer arasında önemli farklılıklar meydana gelebilir (Ross and Sulev 2000). Şekil 2.10'da elektromanyetik spektrum ve fotosentetik olarak aktif radyasyon bölgesine yer verilmiştir (Sajjadi *et al.* 2018).



**Şekil 2.10.** Fotosentetik olarak aktif radyasyon spektrumu

Fotosentez, bitkilerde, alglerde ve bazı bakteri türlerinde ışık enerjisini kimyasal enerjiye dönüştüren doğal bir mekanizmadır. Fotosentez olayı, hem fiziksel hem de kimyasal reaksiyonlardan oluşan iki ana reaksiyon grubunu içerir. “Işığa bağlı reaksiyonlar” olarak bilinen ilk reaksiyon grubunda, fotosentetik organizma tarafından alınan ışık enerjisi ile su molekülleri oksijen ve hidrojene bölünür. Genel olarak ışığa bağlı reaksiyonlar, foton enerjisinin emilmesi, aktarılması ve kimyasal enerji üretimi ile ilgilidir. “Karanlık reaksiyonlar” veya ışıktan bağımsız reaksiyonlar olarak adlandırılan ikinci reaksiyon grubunda ise inorganik moleküllerin organik maddelere (karbonhidratlar) dönüştürülmesi sağlanır. Şekil 2.11’de fotosentez olayının şematik olarak gösterimine yer verilmiştir (Barsanti and Gualtieri 2006).



**Şekil 2.11.** Fotosentez olayı

Işığa bağlı reaksiyonlar, hücrenin zarında yer alan kloroplastın içindeki tilakoit membranda meydana gelir. Tilakoit membranda fotosentezin gerçekleştiği kısım fotosentetik birim (PSU) olarak adlandırılır. Bu birimde ATP (adenozin trifosfat) ve NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) üretimi gerçekleştirilir. Işığa bağlı reaksiyonlar aşağıda verilen eşitlikte özetlenmiştir.



Işık enerjisi, Fotosistem I (FS I) ve Fotosistem II (FS II) olarak iki reaksiyon merkezinde meydana gelen bir dizi reaksiyon ile kimyasal enerjiye dönüştürülür. Fotosentez, Fotosistem II'de bulunan bir klorofil-a molekülündeki elektronlar tarafından bir fotonun yakalanması ile başlar. Uyarılan elektronlar FS II reaksiyon merkezine doğru hareket eder ve burada su fotolizi adı verilen bir reaksiyon ile su molekülünü parçalarlar. Daha sonra elektronlar, sitokrom b6/f adı verilen bir ara enzim ile plastosiyanin tarafından Fotosistem I'e taşınırlar. Burada Z şeması adı verilen bir dizi reaksiyon ile NADPH ve ATP sentezi gerçekleşir. Plastosiyanin, elektronu FS I reaksiyon merkezine taşıırken tekrar foton alarak tekrar daha yüksek bir enerji seviyesine geçer. Elektronlar, elektron taşıyıcıları tarafından FS I'ye taşınırken, NADP<sup>+</sup>'yi NADPH'ye dönüştürür. Ayrıca elektron taşıma zincirinde ATP üretmek için kullanılan bir proton üretilir. Devirsiz fotofosforilasyon adı verilen ATP sentezi işleminden sonra elektronlar PS II'ye geri dönmez, bunun yerine NADPH üretmek için kullanılır.

Işığa bağlı olmayan reaksiyonlar ise ışık aşamasında üretilen NADPH ve ATP'nin asimilasyon gücünü kullanarak CO<sub>2</sub>'nin sakaroz, paramilon ve nişasta gibi karbonhidratlara dönüşmesini içerir. Bu reaksiyonlar kloroplastın içinde bulunan stromada gerçekleşir. Işıktan bağımsız reaksiyonlar karanlıkta oluşmaz, ışık reaksiyonları ile eşzamanlı gerçekleşir. Calvin döngüsü olarak adlandırılan karbondioksitin organik karbona dönüşümüne aşağıdaki eşitlikte yer verilmiştir (Barsanti and Gualtieri 2006).



Eşitlik 2.3'te CH<sub>2</sub>O mikroalglerin enerji amacıyla kullanmak üzere sentezledikleri karbonhidratları temsil etmektedir. Calvin döngüsü üç temel basamakta meydana gelmektedir. Bunlar:

1. RubisCo (ribuloz bifosfat karboksilaz) enzimi tarafından katalize edilen ribuloz bisfosfat (RBP) molekülüne CO<sub>2</sub> bağlanarak 6 karbonlu ara bileşik oluşur. Bu bileşik kararsız olduğu için 2 adet kararlı 3 karbonlu PGA molekülüne dönüşür.
2. 3 karbonlu fosfogliseric asit molekülüne ATP kullanılarak fosfat bağlanması ile 1,3 difosfogliseric asit (DPGA) meydana gelir. Daha sonra DPGA (1,3 difosfogliseric asit), NADPH + H elektronlarını kullanarak indirgenir ve fosfat grubunu kaybedip iki adet fosfogliseraldehit (G3P) molekülüne dönüşür. G3P molekülünün enerji seviyesini arttırabilmesi için bu döngünün üç defa tekrarlanması gereklidir.
3. Meydana gelen 6 adet G3P molekülünden bir tanesi döngüden çıkarken 5 tanesi RBP molekülünün sentezlenmesini sağlar. Oluşan RBP CO<sub>2</sub> fiksasyonu için tekrar Calvin döngüsüne dâhil olur. Döngüden uzaklaşan G3P molekülünden ise glikoz ve diğer organik moleküllerin sentezi sağlanır (Barsanti and Gualtieri 2006).

Fototrofik organizmalar, metabolik faaliyetlerini sürdürebilmeleri için bir ışık kaynağına ihtiyaç duysalar da aşırı ışık yoğunluğuna maruz kaldıklarında fotoinhibisyon oluşmaktadır. Fotoinhibisyon, ışık yoğunluğu seviyesinin maksimum büyüme hızının elde edildiği doyma seviyesini aştığında meydana gelen bir olgudur. Fotoinhibisyon gerçekleştiğinde Fotosistem II'nin hasar gördüğü ve oksijen oluşumu, CO<sub>2</sub> alımı gibi fotosentetik işlemlerin azalmasına yol açtığı bulunmuştur. Birçok mikroalg türü için 400  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$  foton akısında maksimum büyüme hızı sağlansa da optimum ışık şiddeti mikroalg türüne göre farklılık göstermektedir. Fotoinhibisyon ile ilgili yapılan çalışmalarda *Selenastrum minutum*'un 420  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$  ışık şiddetinde optimum bir büyüme hızına sahip olduğu, *Coelastrum microporum* ve *Cosmarium subprotomidum*'un ise 400  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 'de en iyi şekilde büyüdüğü tespit edildi (Bouterfas *et al.* 2002). *Chlorella sp.* için en iyi 350  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 'de büyümenin gerçekleştiği bulundu (Zhao *et al.* 2013). *Nannochloropsis salina*'nın 150  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 'den daha yüksek ışık seviyelerinde fotoinhibisyon yaşadığı gözlemlenmiştir (Sforza *et al.* 2012). *Spirulina platensis*'in en iyi büyüdüğü aydınlatma akısının 3000  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$  olduğu görülmüştür (Wang *et al.* 2007). Çizelge 2.9'da bazı mikroalg türleri ile yapılan dalga boyu çalışmalarına yer verilmiştir. Sentetik evsel atıksu kullanılarak *Chlorella sp.* ile gerçekleştirilen çalışmada kırmızı ışığın mavi, yeşil, mor, sarı ve beyaz ışığa göre daha

iyi büyüme sonuçları verdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca %76,46 KOİ, %78,56 toplam azot ve %73,93 toplam fosfat giderimi sağlanmıştır (Yan *et al.* 2013). Ayrıca *Chlorella sp.* ve *Saccharomyces cerevisiae* türleri ile karışık ortamda kabarcıklı kolon reaktörde yapılan başka bir çalışmada biyokütle büyümesinde en etkili renk kırmızı iken yağ birikimi açısından mavi rengin daha etkili olduğu bulunmuştur (Shu *et al.* 2012).

**Çizelge 2.9.** Bazı mikroalg türleri ile yapılan dalga boyu çalışmaları

Mikroalg türü	Besi ortamı	PBR tipi	Işık tipi	$\lambda_{\text{maks}}$ (nm)	$\lambda_{\text{min}}$ (nm)	Büyüme hızı	Referans
<i>Arthrospira platensis</i>	Zarrouk	Erlen	LED	620	460	0,45 g/L	(Chen <i>et al.</i> 2010)
<i>Chlorella kasseri</i>	N-8	Panel	LED	660	470	0,45 g/L	(Koc <i>et al.</i> 2013)
<i>Chlorella sp.</i>	Evsel atıksu	Erlen	LED	660	460	%135,37	(Yan <i>et al.</i> 2013)
<i>Chlorella sp.</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Walne	Kolon	LED	670	450	177,6 mg/L/gün	(Shu <i>et al.</i> 2012)
<i>Chlorella vulgaris</i>	-	Kolon	LED	430	625	1,53 g/L	(Rendon <i>et al.</i> 2013)
<i>Chlorella vulgaris</i>	3N-BBM+V	Erlen	Ksenon	590	660	30 mg/L/gün	(Mohsenpour <i>et al.</i> 2012)
<i>Gloeothece membranacea</i>	BG-11	Erlen	Ksenon	400	660	50 mg/L/gün	(Mohsenpour <i>et al.</i> 2012)
<i>Nannochloropsis sp.</i>	Deniz suyu	Erlen	LED	470	680	0,66 /1gün	(Das <i>et al.</i> 2011)
<i>Porphyridium cruentum</i>	Deniz suyu	Fermantör	Floresan	450	650	0,44 gün <sup>-1</sup>	(You and Barnett 2004)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Detmer	Kolon	LED ve Floresan	660 470	-	362 mg/L/gün	(Ho <i>et al.</i> 2014)
<i>Spirulina platensis</i>	Zarrouk	Erlen	LED	630	470	0,40 gün <sup>-1</sup>	(Wang <i>et al.</i> 2007)
<i>Tetraselmis sp.</i>	Walne	Erlen	LED	470	660	1,47 gün <sup>-1</sup>	(Teo <i>et al.</i> 2014)

Kabarcıklı kolon reaktörde *Chlorella vulgaris* türü ile yalnız mavi, kırmızı ve mavi-kırmızı renk karışımları kullanılarak yapılan çalışmada sırasıyla 1,53; 0,45 ve 1,27 g/L biyokütle konsantrasyonları elde edilmiştir (Rendon *et al.* 2013). *Chlorella vulgaris* türü ile yapılan başka bir çalışmada ise turuncu rengin (590-600 nm) biyokütle üretiminde etkili olduğu bulunmuştur (Mohsenpour *et al.* 2012).

*Chlorella kasseri* kullanılarak panel tipi PBR'de yapılan çalışmada kırmızı rengin maviye göre etkin bir şekilde büyüme hızını arttırdığı gözlenirken yağ birikimi açısından mavi rengin daha etkili olduğu görülmüştür (Koc *et al.* 2013).

Dalga boyu filtreleri kullanılarak *Gloeothece membranacea* türü ile yapılan çalışma maksimum biyokütle üreme hızının mor renk (400 nm) altında gerçekleştiğini ortaya koymuştur (Mohsenpour *et al.* 2012).

*Nannochloropsis sp.* türü ile yapılan çalışmada mavi ışıkta yetişen mikroalglerin en yüksek büyüme hızına sahip olduğu bulunurken en yüksek yağ oranının %20,45 ile yeşil ışık altında meydana geldiği gözlemlenmiştir (Das *et al.* 2011). Ayrıca mavi ışığın *Porphyridium cruentum*'da beyaz veya kırmızı ışıkla kıyaslandığında daha yüksek büyüme hızlarına ve polisakkarit üretim verimine sahip olduğu keşfedilmiştir (You and Barnett 2004).

*Scenedesmus obliquus* ile lutein üretimi üzerine yapılan çalışma mavi ışığın kırmızı, yeşil ve beyaz (gün ışığı) göre daha düşük biyokütle üretimi sağladığını göstermiştir. Ayrıca floresan aydınlatma ile LED'e göre daha yüksek biyokütle ve lutein (4,08 mg/L/gün) elde edilmiştir (Ho *et al.* 2014).

*Arthrospira platensis* türünün en yüksek miktarda klorofil üretimini mavi ışık altında gerçekleştirdiği görülmüştür (Chen *et al.* 2010). *Spirulina platensis* ile yapılan çalışmada kırmızı, mavi, yeşil, sarı ve beyaz renkteki ışıkların büyüme üzerine etkisi incelenmiştir. Kırmızı LED'ler, mavi LED'lere kıyasla 300-3000  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$  arasındaki ışık yoğunluklarında en yüksek büyüme hızına ulaşılmıştır. Ayrıca yeşil renk maviden daha yüksek biyokütle üretimi sağlamıştır (Wang *et al.* 2007).

*Tetraselmis sp.* ve *Nannochloropsis sp.* türleri ile yapılan çalışmada her iki türünde mavi ışık altında daha yüksek büyüme hızına (sırasıyla 1,47 ve 1,64  $\text{gün}^{-1}$ ) ve yağ üretimine sahip olduğu bulunmuştur.

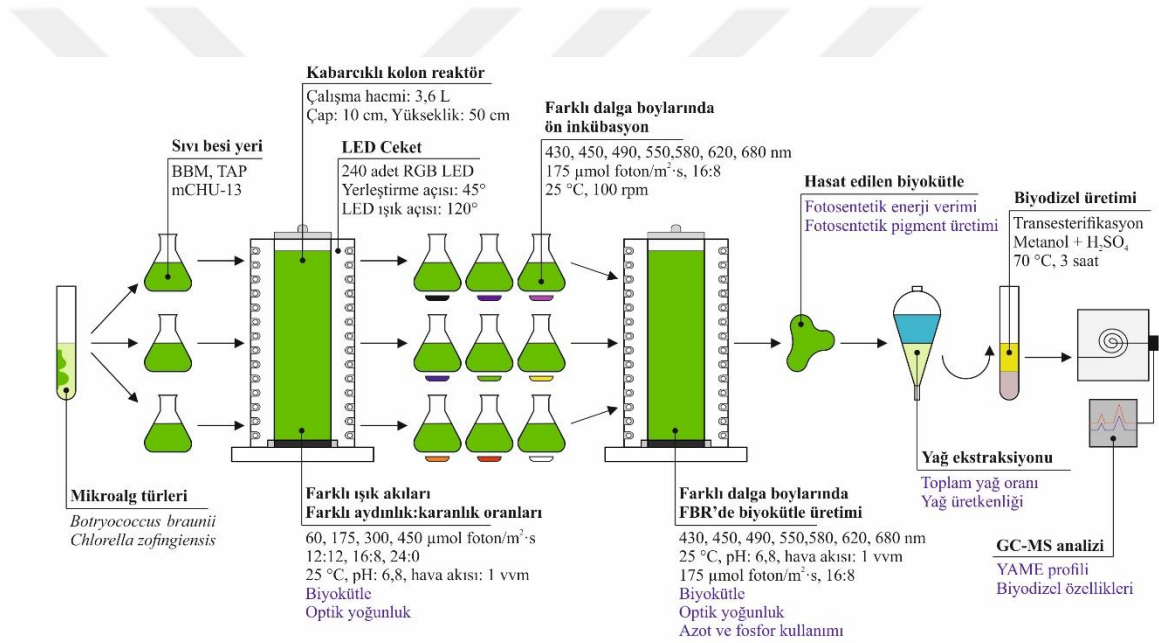
Bu çalışmada literatürden farklı olarak kabarcıklı kolon fotobiyoreaktör çevresine belirli açılarda yerleştirilen RGB LED kullanılarak imal edilmiş bir ışık ceketi kullanılarak *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* mikroalg türleri için ışık akısı, aydınlık:karanlık oranı ve dalga boyu parametrelerinin biyokütle ve yağ verimi üzerine etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla öncelikle farklı besi ortamlarında yetiştirilen mikroalgler için ışık akısının ve aydınlık:karanlık oranının biyokütle üretimi üzerine etkisi incelenmiştir. Işık akısı ve aydınlık:karanlık oranı parametreleri için uygun değerler belirlendikten sonra mikroalgler farklı dalga boylarında yetiştirilerek; biyokütle üretimi, fotosentetik pigmentlerin üretimi, besin kullanımı, fotosentetik enerji verimliliği, toplam yağ oranı ve yağ verimi parametreleri incelenmiştir.

Son olarak uygun şartlarda yetiştirilen mikroalglerden elde edilen yağ asitlerinin içeriği ve biyodizelin yakıt özellikleri belirlenerek ASTM ve AB biyodizel standartları açısından değerlendirilmiştir.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışmada fototrofik ortamda farklı ışık akıları, aydınlık:karanlık oranları ve dalga boylarında yetiştirilen iki mikroalg türünün büyüme hızı, besin kullanımı, fotosentetik pigment üretimi, yağ oranı ve yağ asidi metil esteri içeriğinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışmada kullanılmak üzere bir adet kabarcıklı kolon fotobiyoreaktör ve farklı akılarda ve dalga boylarında ışık üretebilen bir ışık ceketi tasarlanmıştır. Çalışmanın genel akım şemasına Şekil 3.1’de yer verilmiştir.



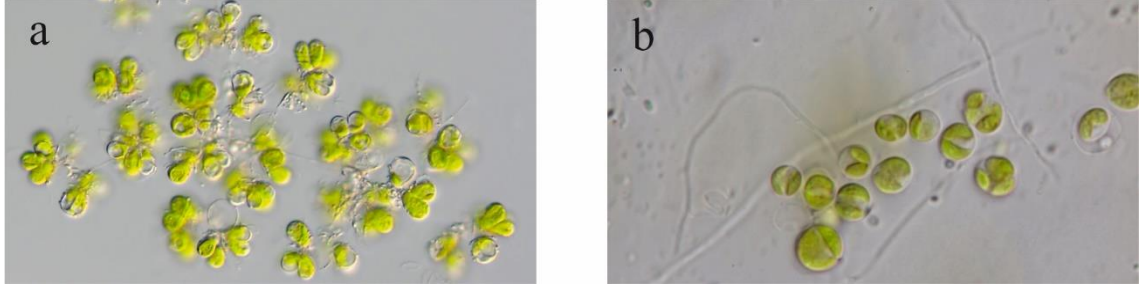
**Şekil 3.1.** Çalışmanın genel akım şeması

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Mikroalg kültürleri

Çalışmada kullanılan *Botryococcus braunii* Kützing 1849 (UTEX 572) mikroalg türü Austin Teksas Üniversitesi Alg Kültür Koleksiyonu (UTEX) ve *Chlorella zofingiensis* Dönz 1934 (CCALA 944) mikroalg türü ise Çekya Ototrofik Organizma Kültür Koleksiyonu (CCALA) tarafından temin edilmiştir. Mikroalglerin görüntülerine Şekil

3.2’de yer verilmiştir. Mikroalglerin sistematikteki yerine ise Çizelge 3.1’de yer verilmiştir (Guiry 2019).



**Şekil 3.2.** Çalışmada kullanılan mikroalg türlerine ait mikroskop görüntüleri  
a) *Botryococcus braunii*, b) *Chlorella zofingiensis*

**Çizelge 3.1.** *Botryococcus braunii* ve *Chlorella zofingiensis* türlerinin sistematikteki yeri

Sınıflandırma	<i>Botryococcus braunii</i>	<i>Chlorella zofingiensis</i>
Şube	Chlorophyta	Chlorophyta
Sınıf	Trebouxiophyceae	Trebouxiophyceae
Takım	Trebouxiales	Chlorellales
Aile	Botryococcaceae	Chlorellaceae
Cins	Botryococcus	Chlorella
Tür	<i>Botryococcus braunii</i> , Kützing 1849	<i>Chlorella zofingiensis</i> , Dönz 1934

### 3.1.2. Sıvı besi yerleri

Çalışmada tatlı su mikroalgleri için sıklıkla kullanılan Bold’s Basal (BBM) (Bischoff and Bold 1963), Modifiye Chu-13 (mCHU-13) (Lee *et al.* 1998) ve Tris–acetate–phosphate (TAP) (Ghosh 2017) besi ortamları kullanılmıştır. Besi ortamlarının kimyasal bileşenleri ve konsantrasyonları Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Sıvı besi yerlerinin kimyasal içeriği

Kimyasal adı	BBM (mg/L)	mCHU-13 (mg/L)	TAP (mg/L)
CH <sub>2</sub> N(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> (Tris base)	-	-	2420
KNO <sub>3</sub>	-	400	-
NaNO <sub>3</sub>	250	-	-
NH <sub>4</sub> Cl	-	-	375
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	75	80	288
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	175	-	144
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	75	200	100
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	25	107	50
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	4,98	-	5
Ferrik sitrat	-	20	-
Sitrik asit	-	100	-
EDTA	50	-	-
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	-	-	50
KOH	31	-	-
NaCl	25	-	-
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	8,82	0,22	22
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1,44	1,81	5
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	1,57	0,08	1,6
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,49	0,05	-
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	-	-	1,6
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	11,42	2,86	11
MoO <sub>3</sub>	0,71	-	-
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	-	0,39	-
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> MoO <sub>3</sub>	-	-	1,1

### 3.1.3. Ön yetiştirme

Mikroalgler fotobiyoreaktör ortamına aktarılmadan önce farklı besi ortamlarında ve farklı dalga boylarında ön yetiştirme işlemi gerçekleştirilmiştir. *Botryococcus braunii* türü mCHU-13, *Chlorella zoofingiensis* ise BBM ve TAP besi yerlerinde hacimce %20 oranında ekilmiştir. İnkübasyon işlemi, 60 µmol-foton/m<sup>2</sup>·s ışık akısında, 16:8

aydınlık/karanlık oranında,  $25\pm 1^\circ\text{C}$  sıcaklıkta ve 100 devir/dk karıştırma hızında çalışan JSR marka çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir. Erlenlerde yetiştirilen mikroalgler, logaritmik üreme fazındayken fotobiyoreaktöre aktarılmışlardır. Şekil 3.3'te ön inkübasyon amacıyla kullanılan düzeneğe ait fotoğraflara yer verilmiştir. Farklı dalga boylarında aydınlatma için erlenlerin tabanına yerleştirilen ILED marka 6'lı modül 5050 RGB LED kullanılmıştır.

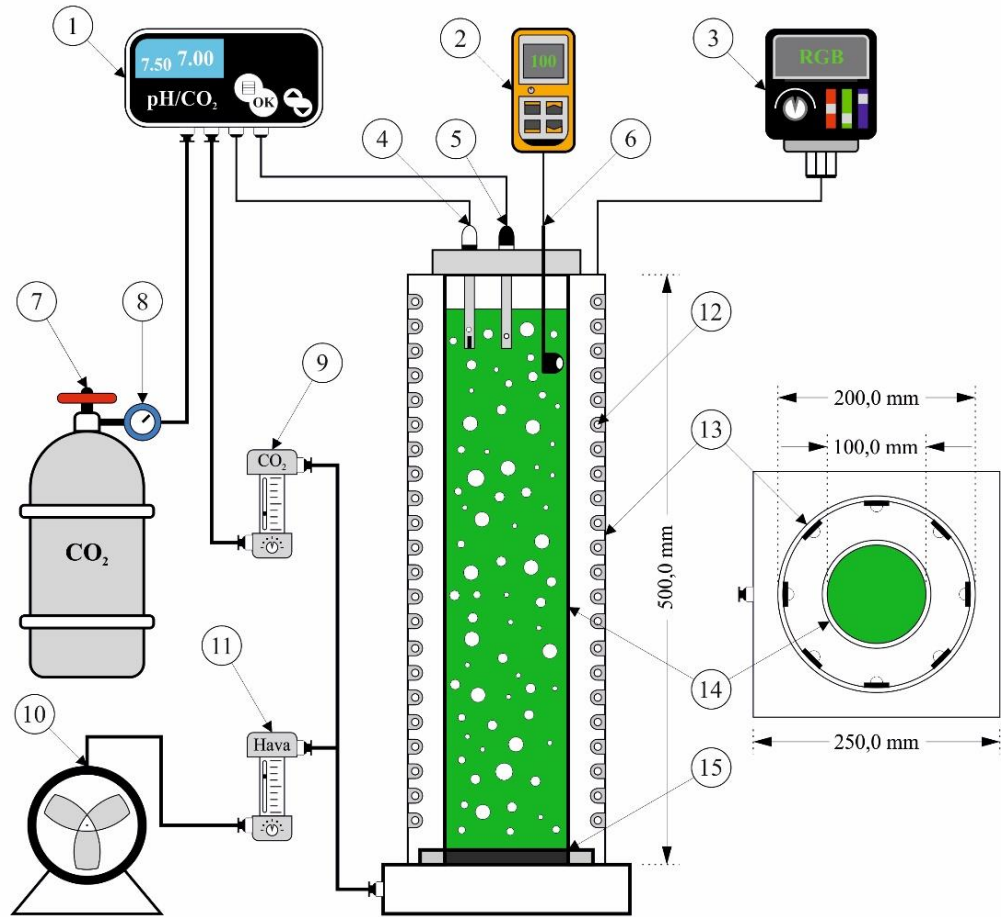


**Şekil 3.3.** İnkübasyon düzeneği

#### **3.1.4. Kabarcıklı kolon fotobiyoreaktörü**

Kabarcıklı kolon fotobiyoreaktör saydam akrilik malzeme kullanılarak imal edilmiştir. Reaktör tabanına hava dağılması ve kabarcık oluşması için 40-100  $\mu\text{m}$  (por-2) arasında gözenek çapına sahip 10 cm çapındaki seramik DURAN marka filtre yerleştirilmiştir. Reaktörün iç çapı 100 mm, et kalınlığı ise 5 mm'dir. Toplam 50 cm sıvı yüksekliğine sahip fotobiyoreaktör; yaklaşık olarak 46 cm sıvı yüksekliğinde işletilmiştir. Şekil 3.4'te deneysel çalışmalarda kullanılan kolon tipi fotobiyoreaktör düzeneğine ait bileşenlere yer verilmiştir. Kabarcıklı kolon fotobiyoreaktörün toplam hacmi 4 L, işletme hacmi ise 3,6 litredir. Havalandırma işlemi reaktör tabanına yerleştirilen havalandırma düzeneğine bağlanan bir kompresör (Kuletaş 60L) yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Reaktör

içerisinde ışık, sıcaklık ve karbondioksit gazının homojen olarak dağılması amacıyla hava sisteme sürekli olarak verilmiştir. Hava debisi 1 vvm yani; 3,6 L/dk olarak ayarlanmıştır. Reaktör içerisindeki pH değerinin sabit tutulması amacıyla; %99 saflıktaki karbondioksit tüpü ve JBL PROFLOA marka pH kontrolcü kullanılmıştır. Karbondioksit dozlamaları, ortamın pH değerine göre kesikli olarak yapılmıştır. Ayrıca ortam pH'sı, WTW Multi 3420 marka multimetre ile düzenli olarak kontrol edilmiştir. Fotobiyoreaktörün sıcaklığı bir sıcaklık probu ile sürekli olarak kontrol edilmiştir. Reaktöre uygulanan ışık, fotometre ile ölçülerek LED sürücü vasıtasıyla istenilen ışık şiddeti ayarlanmıştır.



Şekil 3.4. Kolon tipi fotobiyoreaktör düzenneği

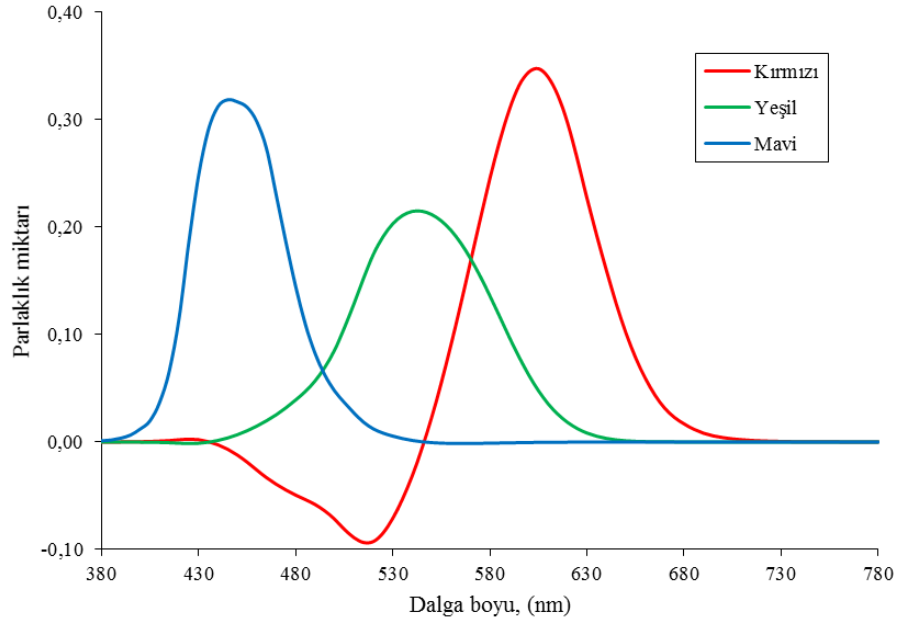
Şekildeki numaralandırmada 1. pH kontrolcü, 2. ışık metre, 3. RGB LED sürücü, 4. pH probu, 5. sıcaklık probu, 6. ışık sensörü, 7. CO<sub>2</sub> tüpü, 8. CO<sub>2</sub> regülatörü, 9. CO<sub>2</sub> debimetresi, 10. hava kompresörü, 11. hava debimetresi, 12. RGB 5050 SMD LED, 13. LED ceket, 14. Kabarcıklı kolon tipi fotobiyoreaktör, 15. hava difüzörünü ifade etmektedir. Şekil 3.5'te fotobiyoreaktör sisteminin farklı dalga boylarına ait görüntülerine yer verilmiştir.



Şekil 3.5. Çalışmada kullanılan kolon fotobiyoreaktöre ait fotoğraflar









### 3.1.5. LED aydınlatma sistemi

Kabarcıklı kolon fotobiyoreaktör sistemini aydınlatmak için daha az enerji tüketen, daha uzun ömürlü olan LED (ışık yayan diyot) teknolojisi tercih edilmiştir. Kırmızı, yeşil ve mavi kanallarının ayrı ayrı kontrol edilmesine imkân veren RGB tipi LED kullanılarak farklı ışık şiddetleri ve dalga boylarında ışık elde edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada toplam 4 farklı ışık şiddeti (60, 175, 300 ve 450  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$ ), 3 farklı aydınlık:karanlık oranı (12:12, 16:8 ve 24:0) ve 8 farklı dalga boyu (400, 420, 440, 510, 580, 620, 680 nm ve beyaz renk) incelenmiştir. LED teknolojisinde renkleri oluşturmak için sıklıkla dalga boylarının mavi (R), yeşil (G) ve kırmızı (B) renk bileşenlerine ayrılıp 0-255 aralığında değerler alması ile ifade edilmektedir. Çalışmada kullanılan LED sürüsünün farklı renkler üretebilmesi için Şekil 3.6'da gösterilen RGB ve dalga boyu dönüşümünden faydalanılmıştır (Kuntzleman and Jacobson 2016; Wishkerman and Wishkerman 2017). Çalışmada kullanılan dalga boyları ve RGB kodlarına Çizelge 3.3'te yer verilmiştir.

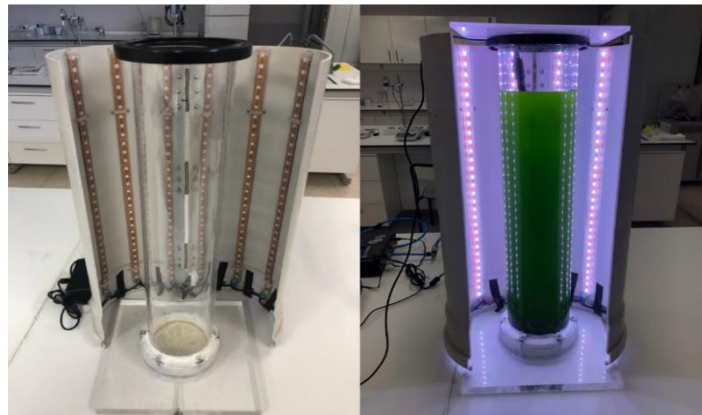


Şekil 3.6. Kırmızı, yeşil ve mavi renklerin eşleşme oranları

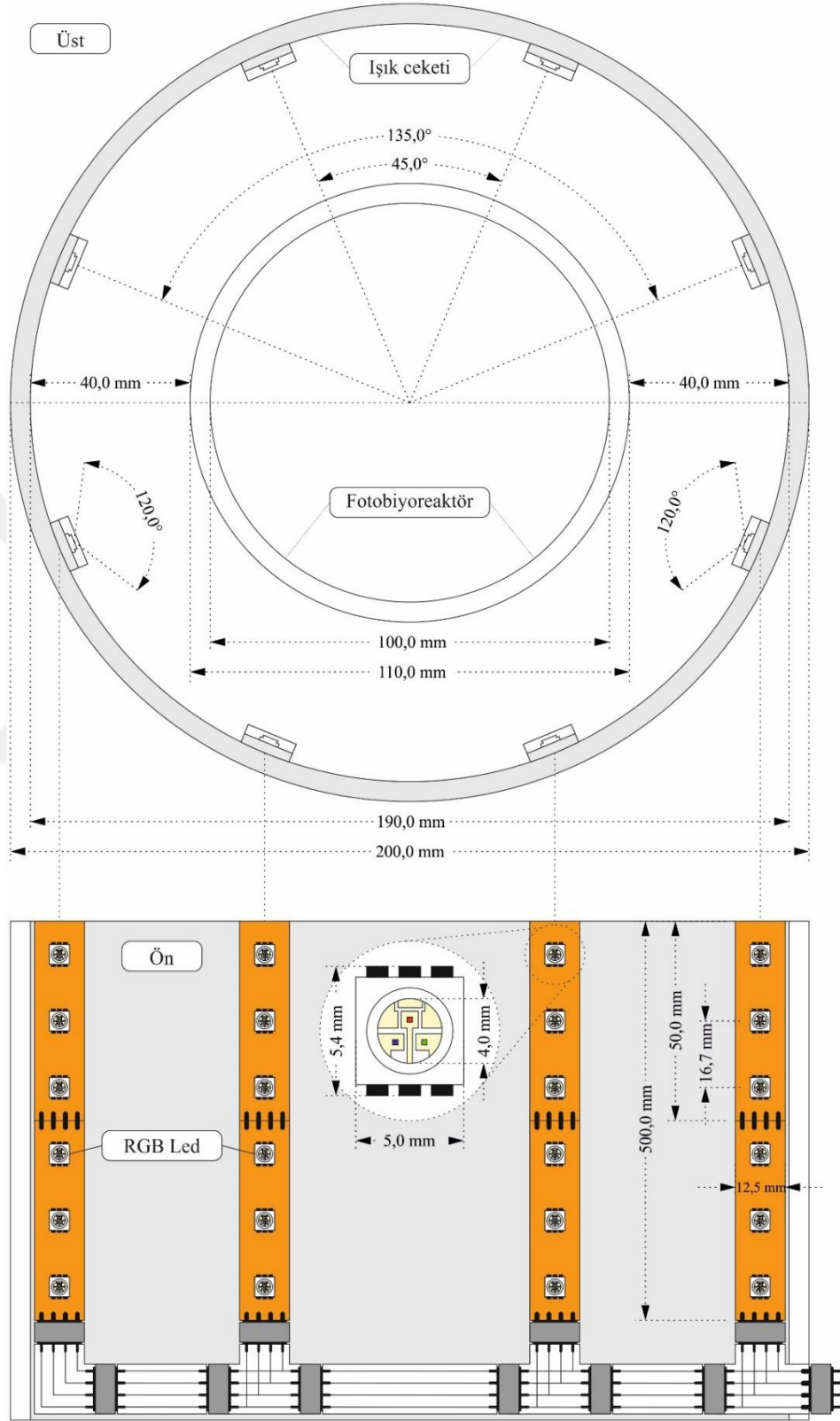
**Çizelge 3.3.** Dalga boylarına ait RGB kodları

Dalga boyu (nm)	Renk	R (kırmızı)	G (yeşil)	B (mavi)
380-420 (400)	 Mor	131	0	181
400-440 (420)	 Fuşya	255	0	255
420-460 (440)	 Mavi	0	0	255
490-520 (510)	 Yeşil	0	255	0
570-590 (580)	 Sarı	255	255	0
610-630 (620)	 Turuncu	255	119	0
660-700 (680)	 Kırmızı	255	0	0
400-700	 Beyaz	255	255	255

LED aydınlatma sistemi için 50 cm boyunda ve 20 cm çapındaki ışık geçirmeyen PVC boru her iki taraftan kesilerek iki adet yarım silindir haline getirilmiştir. Her birinde 30 adet Smd 5050 tipi HI-LED marka RGB LED bulunan 4 adet 50 cm uzunluğundaki şerit LED 45° açıyla yarım silindirin içerisine monte edilmiştir. Toplam 240 adet RGB LED reaktörü çevreleyecek şekilde yerleştirilmiştir. Her bir LED 120° ışık yayan bir lense sahiptir. LED'ler ile reaktörün dış çeperi arasında toplam 40 mm mesafe bulunmaktadır. Şekil 3.7 ve Şekil 3.8'de fotobiyoreaktör ve LED ışık ceketine ait fotoğraflara ve çizimlere yer verilmiştir. Işık ölçümleri fotobiyoreaktörün iç çeperine yapışık olarak yerleştirilen ışık metre ile ışık kaynağından toplam 45 mm mesafede yapılmıştır.

**Şekil 3.7.** RGB LED ışık ceketine ait fotoğraflar





Şekil 3.8. RGB LED ışık ceketinin üstten ve önden görünümü

### 3.2. Yöntem

Bu çalışmada biyokütle, optik yoğunluk, fosfor, azot, klorofil-a, klorofil-b, karotenoid, toplam yağ ve yağ asidi analizleri ile pH, sıcaklık ve ışık akısı ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca elde edilen yağ asidi profilleri kullanılarak biyodizel özellikleri belirlenmiştir. Çizelge 3.4'te çalışma boyunca yapılan analizlerin ölçüm sıklıklarına yer verilmiştir.

**Çizelge 3.4.** Çalışmada yapılan analizlerin ölçüm sıklığı

Analiz ve ölçümler	$t_0^*$	$\Delta t^*$	$t_s^*$
Işık akısı	+		
pH	+	Sürekli	+
Sıcaklık	+	Sürekli	+
Biyokütle	+	48 saat	+
Optik yoğunluk	+	48 saat	+
Azot	+	96 saat	+
Fosfor	+	96 saat	+
Klorofil-a			+
Klorofil-b			+
Karotenoid			+
Toplam yağ			+
Yağ asidi			+

\*  $t_0$ , deney kurulumunun başında;  $\Delta t$ , deney süresi boyunca;  $t_s$ , deney sonunda anlamında kullanılmıştır.

#### 3.2.1. Biyokütle tayini

Biyokütle miktarının belirlenmesi amacıyla 2 saat boyunca  $105^\circ\text{C}$ 'de kurutulan ve darası alınan 47 mm çapındaki filtre kâğıdından (Whatman, GF/C, por çapı:  $1.2 \mu\text{m}$ ) 10 mL mikroalg örneği vakum pompası kullanılarak süzölmüştür. Daha sonra filtre kâğıdı  $105^\circ\text{C}$ 'deki etüvde 4 saat kurutularak tartımı yapılmıştır. Biyokütle konsantrasyonu aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$X = \frac{(M_m - M_f) \cdot 1000}{V_{\text{num}}} \quad (3.1)$$

Burada, X; biyokütle konsantrasyonu (mg/L),  $M_m$ ; mikroalg süzülen filtre kâğıdının ağırlığı (g),  $M_f$ ; filtre kâğıdının ağırlığı (g),  $V_{\text{num}}$ ; numune hacmini (mL) ifade etmektedir.

Çalışmada biyokütle üretkenliği (P), özgül üreme katsayısı ( $\mu$ ) ve ikiye katlama süresi ( $t_d$ ) logaritmik üreme fazındaki biyokütle değerleri ile aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır.

$$P = \frac{X_t - X_0}{t - t_0} \quad (3.2)$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X \quad (3.3)$$

$$\mu = \frac{\ln(X_0 - X_t)}{t - t_0} \quad (3.4)$$

$$t_d = \frac{\ln(2)}{\mu} \quad (3.5)$$

Burada; P; biyokütle üretkenliği (mg/L·gün),  $\mu$ ; özgül üreme katsayısı ( $\text{gün}^{-1}$ ),  $t_d$ ; ikiye katlama süresi (gün),  $X_t$ ; t anındaki mikroalg konsantrasyonu (mg/L),  $X_0$ ; başlangıçtaki mikroalg konsantrasyonunu (mg/L) ifade etmektedir.

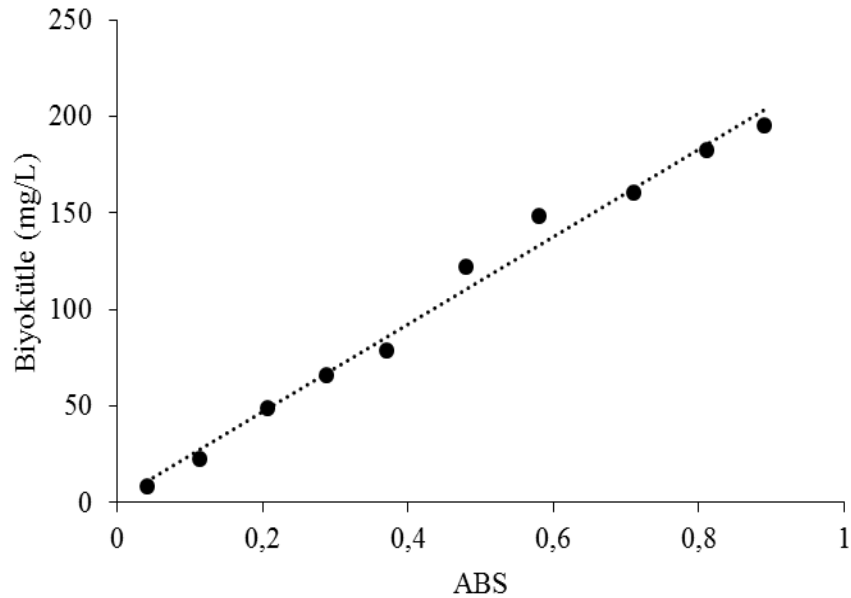
### 3.2.2. Optik yoğunluk ölçümü

Optik yoğunluk, 1 ml alınan mikroalg örneğinin spektrofotometre (Merck Prove 300) ile 680 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülerek belirlenmiştir. Ölçülen optik yoğunluk değerleri ve biyokütle konsantrasyonları arasındaki ilişki Şekil 3.9, Şekil 3.10 ve Şekil 3.11’de gösterilmiştir. Eşitlik 3.6, 3.7 ve 3.8’da sırasıyla *Chlorella zofingiensis* türü ile BBM, *Chlorella zofingiensis* türü ile TAP ve *Botryococcus braunii* türü ile mCHU-13 besi ortamlarındaki optik yoğunluk ve biyokütle kalibrasyon değerlerine yer verilmiştir.

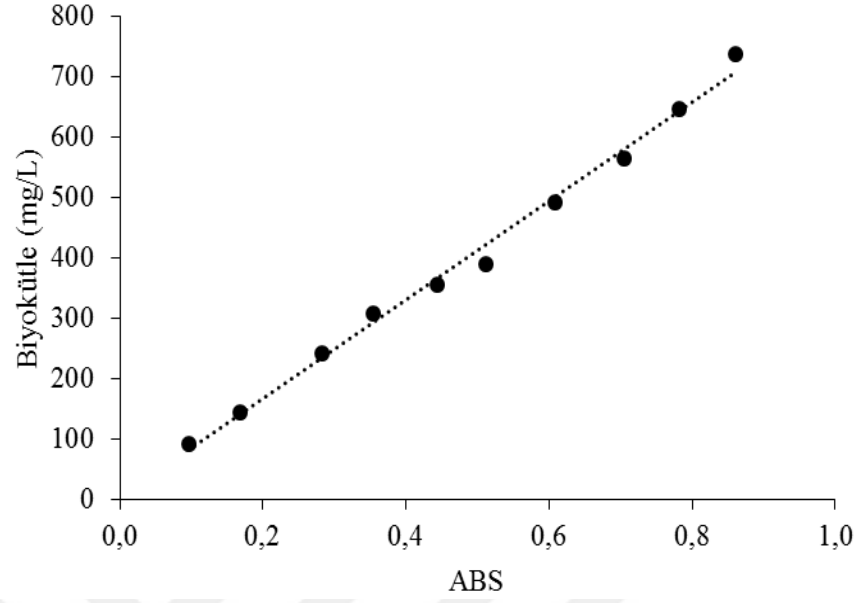
$$X_{Cz-BBM} = 226,927 Abs_{680} + 1,506 \quad (R^2 = 0,98693) \quad (3.6)$$

$$X_{Cz-TAP} = 817,367 Abs_{680} + 3,645 \quad (R^2 = 0,99283) \quad (3.7)$$

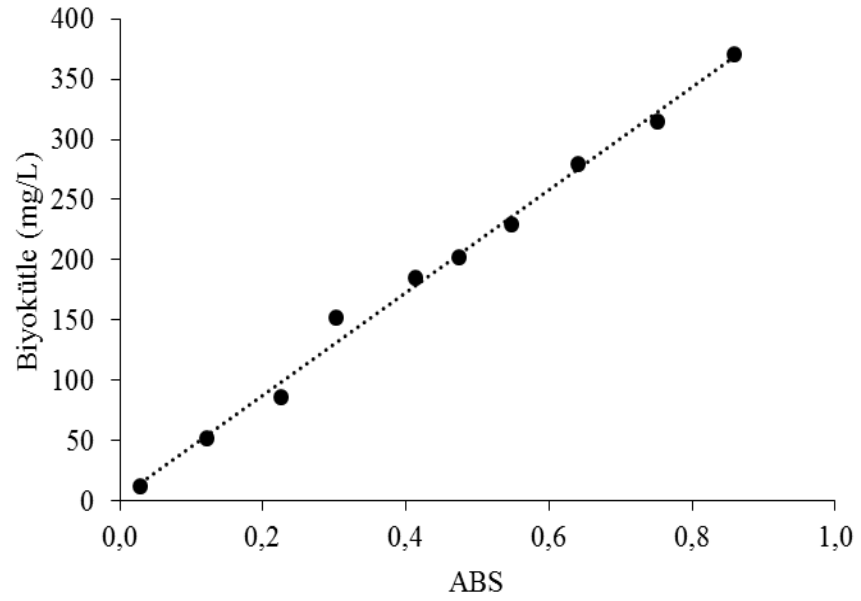
$$X_{Bb-mCHU13} = 426,122 Abs_{680} + 2,479 \quad (R^2 = 0,99377) \quad (3.8)$$



**Şekil 3.9.** *Chlorella zofingiensis* türü ve BBM besi ortamı OY (680 nm)-Biyokütle kalibrasyon eğrisi



**Şekil 3.10.** *Chlorella zoofingiensis* türü ve TAP besi ortamı OY (680 nm)-Biyokütle kalibrasyon eğrisi



**Şekil 3.11.** *Botryococcus braunii* türü ve mCHU-13 besi ortamı OY (680 nm)-Biyokütle kalibrasyon eğrisi

### 3.2.3. Fotosentetik pigment analizi

Klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid pigmentlerinin analizi amacıyla 1 mL alınan mikroalg örneği 13400 rpm'de ve 4°C'de 5 dakika boyunca santrifüjlenerek sıvı kısım atılmıştır. Numuneye 1,5 mL metanol (Sigma Aldrich) eklenerek 1 saat boyunca 40°C'de bekletilmiştir. Daha sonra hücresel kalıntılardan kurtulmak için 13400 rpm'de ve 4°C'de 5 dakika boyunca santrifüjlenip spektrofotometrede (Merck Prove 300) 480, 652, 665 ve 750 nm dalga boylarındaki absorbans değerleri okunmuştur. 480, 652 ve 665 nm dalga boylarında elde edilen absorbans değerlerinden 750 nm'deki absorbans değerinin farkı alınarak bulanıklık düzeltilmesi yapılmıştır. Aşağıdaki formüller kullanılarak klorofil-a (Chl<sub>a</sub>), klorofil-b (Chl<sub>b</sub>) ve karotenoid (Krt) değerleri belirlenmiştir (Ritchie 2006; Kim *et al.* 2014).

$$\text{Chl}_a (\mu\text{g/mL}) = -8,0962 \times A_{652} + 16,5169 \times A_{665} \quad (3.9)$$

$$\text{Chl}_b (\mu\text{g/mL}) = 27,4405 \times A_{652} - 12,1688 \times A_{665} \quad (3.10)$$

$$\text{Krt} (\mu\text{g/mL}) = 4 \times A_{480} \quad (3.11)$$

### 3.2.4. Toplam yağ tayini

Toplam yağ miktarı, Bligh ve Dyer (1959) tarafından geliştirilen toplam yağ ekstraksiyon metodu ile belirlenmiştir (Bligh and Dyer 1959). 200 mL alınan mikroalg örneği 3000 rcf'de 4°C'de 10 dakika boyunca santrifüjlenmiş ve sıvı kısmı atılmıştır. Pellete 2:1 (h/h) oranında kloroform ve metanol eklenerek vortekslenmiştir. Karışıma daha sonra metanol, kloroform ve su oranı sırasıyla 1:1:0.9 (h/h) olacak şekilde kloroform ve su eklenmiş ve tekrar vortekslenmiştir. 10 dakika sonra oluşan iki fazdan alttaki faz önceden tartılan farklı bir tüpe alınmıştır. Bu tüpteki kloroform ve yağ karışımı 60°C'deki etüvde bir gece bekletilerek kloroformun tamamen uçması sağlanmıştır. Tüpte kalan yağ miktarı gravimetrik olarak ölçülerek aşağıdaki formül ile

yağ oranı hesaplanmıştır. Günlük yağ üretim miktarı ise biyokütle üretim miktarı ve toplam yağ oranının çarpılmasıyla bulunmuştur.

$$\text{Toplam yağ oranı (\%)} = \frac{\text{yağ miktarı (g)}}{\text{örnek miktarı (g)}} \times 100 \quad (3.12)$$

$$\text{Yağ üretkenliği (mg/L)} = P \times \% \text{ Toplam yağ oranı} \quad (3.13)$$

### 3.2.5. Yağ asidi analizi

Ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen mikroalgal yağ numunelerinin yağ asidi kompozisyonunu belirleyebilmek amacıyla transesterifikasyon işlemi uygulanmıştır. Yağ asidi metil esterlerinin elde edilmesi amacıyla 3 mL %5 (v/v) sülfürik asit içeren metanol çözeltisi eklenen örnekler 3 saat boyunca 70°C'de inkübe edilmiştir. Karışımın soğumasından sonra 3 mL saf su ve 3 mL n-hekzan eklenip santrifüjlenmiştir. Daha sonra faz ayrımının gerçekleşmesi amacıyla 18 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Karışımın hekzan (üst) fazından alınan numuneler süzülüp saf su ile yıkandıktan sonra analiz tüplerine aktarılmıştır. Yağ asidi metil esterleri analizi, Agilent marka GC-MS cihazında 250°C kolon sıcaklığında (4°C/dk) ve 1 mL/dk yürütme hızında gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen piklerin alan hesaplaması yapılarak yağ asidi metil esterlerinin yüzdeleri oransal olarak belirlenmiştir.

### 3.2.6. Toplam azot, nitrat azotu ve fosfat fosforu tayini

NO<sub>3</sub>-N konsantrasyonunu belirlemek için 3000 rev'de 10 dakika boyunca santrifüjlenen mikroalg örneğinin sıvı kısmından alınan 0,5 mL numune Merck 1.09713.0002 nolu NO<sub>3</sub> test kiti ile spektrofotometrede analiz edilmiştir. Toplam azot tayini için ise Matriks 2.189.150 nolu toplam azot test kiti kullanılmıştır.

Çözünmüş fosfat fosforu ( $PO_4-P$ ) analizi için fotobiyoreaktörden belli hacimde alınan mikroalg örneği 3000 rcf'de 10 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Daha sonra sıvı kısımdan alınan 5 ml numune Merck 1.14942.0001 nolu  $PO_4$  test kiti ile analiz edilerek örneğin  $PO_4-P$  konsantrasyonu belirlenmiştir.

### 3.2.7. pH ve ışık akısı ölçümleri

pH, bütün sucul canlılar gibi mikroalgler için de en önemli parametrelerden birisidir. pH ve sıcaklık değerleri WTW 3420 multimetre cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Reaktör içerisinde pH değerinin kontrol altında tutulabilmesi için  $CO_2$  ile pH kontrolü sağlayan JBL Proflora  $CO_2/pH$  cihazı kullanılarak ölçüm yapılmıştır. Fotobiyoreaktör içerisindeki çözünmüş karbondioksit miktarı, mikroalglerin kullanımına bağlı olarak azalmakta ve pH değerinin artmasına neden olmaktadır. pH kontrolcü vasıtasıyla sisteme bağlanan bir  $CO_2$  tüpü ile pH değerinin sürekli olarak sabit tutulması sağlanmıştır. Şekil 3.12'de pH kontrolcüyeye ve ışık metreyle ait fotoğraflara yer verilmiştir.

Görünür ışık spektrumundaki (400–700 nm) foton miktarı, mikroalglerin yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmesi için gerekli olan fotosentez işleminin gerçekleşebilmesi ve klorofil gibi fotosentetik pigmentlerin üretimi için önemli ve belirleyici bir parametredir. Fotosentetik foton akı yoğunluğu (FFAY), birim zamanda birim alandaki ışık miktarını foton cinsinden ( $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$ ) ifade etmektedir. Fotobiyoreaktörün iç yüzeyine ulaşan ışık akısı iç çepere yapışık olarak yerleştirilen Apogee MQ-200 marka ışık probu ile 4 farklı noktadan ölçülmüştür.





Şekil 3.12. pH kontrol düzeneği, CO<sub>2</sub> tüpü ve ışık metre fotoğrafları

### 3.2.8. Fotosentetik verimlilik hesabı

Fotosentetik verimlilik ( $\Phi$ ), mikroalgal biyokütleden elde edilen enerjinin sisteme verilen toplam ışık enerjisine oranıdır. Bir diğer açıdan ışık enerjisinin biyokütle enerjisine dönüşüm oranı olarak da ifade edilebilir. Fotosentetik verimlilik, ışık akısı ölçümleri ve biyokütle üretkenliği değerleri kullanılarak aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır.

$$E_{1 \text{ mol foton}} = \int_{\lambda=400}^{\lambda=700} \frac{h \cdot c \cdot N_A}{\lambda} \quad (3.14)$$

3.14 nolu eşitlikte belirli bir dalga boyundaki 1 mol fotonun sahip olduğu enerjiyi ( $E_{1 \text{ mol foton}}$ ) göstermektedir (Ross and Sulev 2000; Koc *et al.* 2013). Burada,  $h$ ; Planck sabiti

( $6,626 \times 10^{-34}$  J/s),  $c$ ; ışık hızı (299.792.458 m/s),  $N_A$ ; Avogadro sayısı ( $6,02 \times 10^{23}$  mol<sup>-1</sup>),  $\lambda$ ; dalga boyunu (m) ifade etmektedir.

$$E_i \left( \frac{\text{kJ}}{\text{gün}} \right) = E_{1 \text{ mol foton}} \left( \frac{\text{kJ}}{1 \text{ mol foton}} \right) \cdot \text{FFAY} \left( \frac{\mu\text{mol foton}}{\text{m}^2 \cdot \text{s}} \right) \cdot A \left( \text{m}^2 \right) \cdot \eta \cdot \frac{1 \text{ (mol)}}{10^6 \text{ (\mu mol)}} \cdot \frac{86400 \text{ (s)}}{1 \text{ (gün)}} \quad (3.15)$$

Belirli bir dalga boyunda bir gün boyunca fotobiyoreaktöre verilen toplam ışık enerjisi ( $E_i$ ), 3.15 nolu eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır. Eşitlikte, FFAY; fotosentetik foton akı yoğunluğu ( $175 \mu\text{mol-foton/m}^2 \cdot \text{s}$ ),  $A$ ; fotobiyoreaktörün LED ışık ceketi ile aydınlatılan aktif yüzey alanı ( $0,1445 \text{ m}^2$ ),  $\eta$ ; günlük aydınlatma oranını ( $0,75$ ) ifade etmektedir. Aydınlatma oranı, günde sisteme verilen toplam aydınlatma süresinin ( $16$  saat) bir güne oranıdır.

$$E_o \left( \frac{\text{kJ}}{\text{gün}} \right) = P \left( \frac{\text{mg}}{\text{L} \times \text{gün}} \right) \times V \text{ (L)} \times 20 \left( \frac{\text{kJ}}{1 \text{ gram mikroalg}} \right) \times \frac{1 \text{ (g)}}{10^3 \text{ (mg)}} \quad (3.16)$$

Mikroalgal biyokütlenin sahip olduğu enerjinin ( $E_o$ ) belirlenmesi amacıyla 3.16 nolu eşitlik kullanılmıştır. Burada,  $P$ ; biyokütle üretkenliği ( $\text{mg/L} \cdot \text{gün}$ ),  $V$ ; reaktör hacmini ( $3,6 \text{ L}$ ) ifade etmektedir. Mikroalgal biyokütle ile ilgili yapılan çalışmalar bir gram mikroalgden yaklaşık olarak  $20-23 \text{ kJ}$  enerji elde edilebildiğini ortaya koymaktadır (Goldman 1979; Tredici 2010; Liu *et al.* 2013). Bu değer dikkate alınarak teorik olarak elde edilen mikroalgal biyokütlenin enerjisi ( $E_i$ ) belirlenmiştir.

$$\Phi (\%) = \frac{E_o}{E_i} \times 100 \quad (3.17)$$

3.17 nolu eşitlikte de görüldüğü gibi fotosentetik verimlilik ( $\Phi$ ), mikroalgal biyokütleden elde edilen enerjinin ( $E_o$ ) sisteme verilen toplam ışık enerjisine ( $E_i$ ) oranıdır.

### 3.2.9. Kritik biyodizel özelliklerinin belirlenmesi

Laboratuvar ölçekli çalışmalarda yetiştirilen mikroalgal biyokütleden elde edilen yağ miktarı, biyodizel özelliklerinin analitik olarak belirlenmesi için yeterli değildir. Son yıllarda biyodizel özelliklerinin kritik değerlerinin tahmin edilebilmesi için yağ asidi bileşimlerine dayanan birçok model oluşturulmuştur (Francisco *et al.* 2010; Nascimento *et al.* 2013).

Bu çalışmada, kritik biyodizel özelliklerinin belirlenebilmesi için Hoekman ve arkadaşları (2012) tarafından yağ asitlerinin kütleli oranları ve doymamışlık derecelerinden faydalanarak geliştirilen biyodizel modeli tercih edilmiştir (Hoekman *et al.* 2012). Biyodizel özelliklerinin öngörülebilmesi ile ilgili yapılan araştırmalar; özellikle mikroalgal yağlardan elde edilen biyodizel ölçümleriyle, Hoekman ve arkadaşları (2012) tarafından geliştirilen model kullanılarak hesaplanan değerlerin uyumlu olduğunu göstermektedir (Hoekman *et al.* 2012; Song *et al.* 2013; Ma *et al.* 2014). 3.18 nolu denklem kullanılarak yağ asidi kompozisyonunun Ortalama Doymamışlık Derecesi (ODD) hesaplanmıştır.

$$\text{ODD} = \sum \text{C:D} \times Y_i \quad (3.18)$$

Eşitlikte, C:D; karbon-karbon çift bağların sayısı,  $Y_i$ ; her bir yağ asidi metil esterinin kütleli oranını ifade etmektedir. Ortalama Doymamışlık Derecesi ile kinematik viskozite, yoğunluk, bulutlanma noktası, setan sayısı, iyot değeri ve ısıl değer arasındaki ilişkiye aşağıdaki eşitliklerde yer verilmiştir (Hoekman *et al.* 2012).

$$\text{Kinematik viskozite} = -0,6313 \times \text{ODD} + 5,2065 \quad (3.19)$$

$$\text{Yoğunluk} = 0,0055 \times \text{ODD} + 0,8726 \quad (3.20)$$

$$\text{Bulutlanma noktası} = 13,356 \times \text{ODD} + 19,994 \quad (3.21)$$

$$\text{Setan sayısı} = -6,6684 \times \text{ODD} + 62,876 \quad (3.22)$$

$$\text{İyot değeri} = 74,373 \times \text{ODD} + 12,71 \quad (3.23)$$

$$\text{Isıl değer} = 1,7601 \times \text{ODD} + 38,534 \quad (3.24)$$

3.26 nolu eşitlikte ifade edilen soğuk filtre tıkanma noktasını (SFTN) hesaplamak için kullanılan uzun zincir doymuşluk faktörü (UZDF) 3.25 nolu eşitlikte gösterilmiştir. Her iki ifade de (SFTN ve UZDF), hem zincir doymunluğu hem de yağ asidi metil esterlerinin uzunluğu ile ilişkilidir (Talebi *et al.* 2013).

$$\text{UZDF} = (0,1 \times \text{C16}) + (0,5 \times \text{C18}) + (1 \times \text{C20}) + (1,5 \times \text{C22}) + (2 \times \text{C24}) \quad (3.25)$$

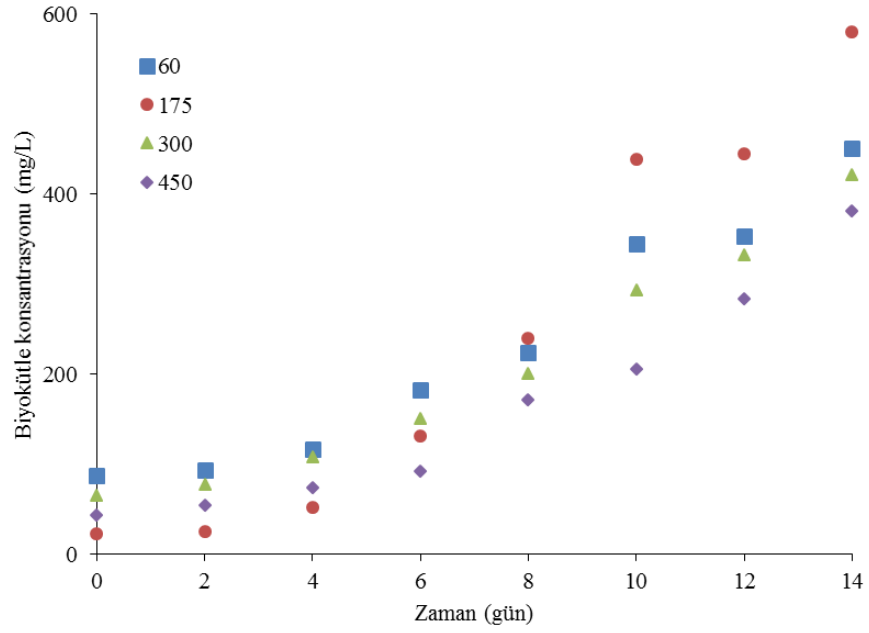
$$\text{SFTN} = (3,1417 \times \text{UZDF}) - 16,477 \quad (3.26)$$

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

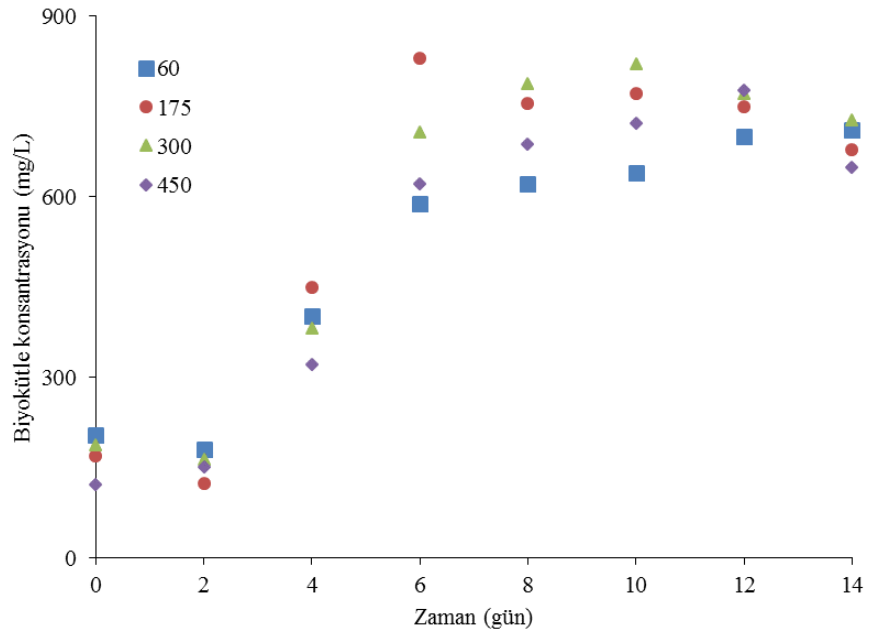
### 4.1. Işık Akısının Etkisi

Fototrofik ortamda yetiştirilen mikroalglerin en çok etkilendikleri parametrelerin başında birim zamanda hücre yüzeyine düşen foton miktarı olduğu birçok çalışmada ortaya konulmaktadır. Mikroalgere uygulanan ışık miktarının biyokütle üretimi üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla beyaz LED ışık kullanılarak 16:8 aydınlık:karanlık oranında 60, 175, 300 ve 450  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akıları fotobiyoreaktör yüzeyine verilmiştir. Sistem 25°C sıcaklıkta, pH 7'de ve 1 vvm hava debisinde işletilmiştir. CO<sub>2</sub> gazı kullanılarak pH değerinin sabit tutulması sağlanmıştır. Şekil 4.1'de ve Şekil 4.2'de *Chlorella zofingiensis* türünün sırasıyla BBM ve TAP besi ortamlarında farklı ışık akılarındaki biyokütle konsantrasyonlarının zamanla değişimine yer verilmiştir. En yüksek biyokütle üretimi 175  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında TAP ve BBM besi ortamlarında sırasıyla 177 ve 56,128 mg/L·gün olarak ölçülmüştür. En düşük biyokütle üretim değeri ise 60  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında BBM ve TAP besi ortamlarında sırasıyla 33,620 ve 66,125 mg/L·gün olarak hesaplanmıştır.

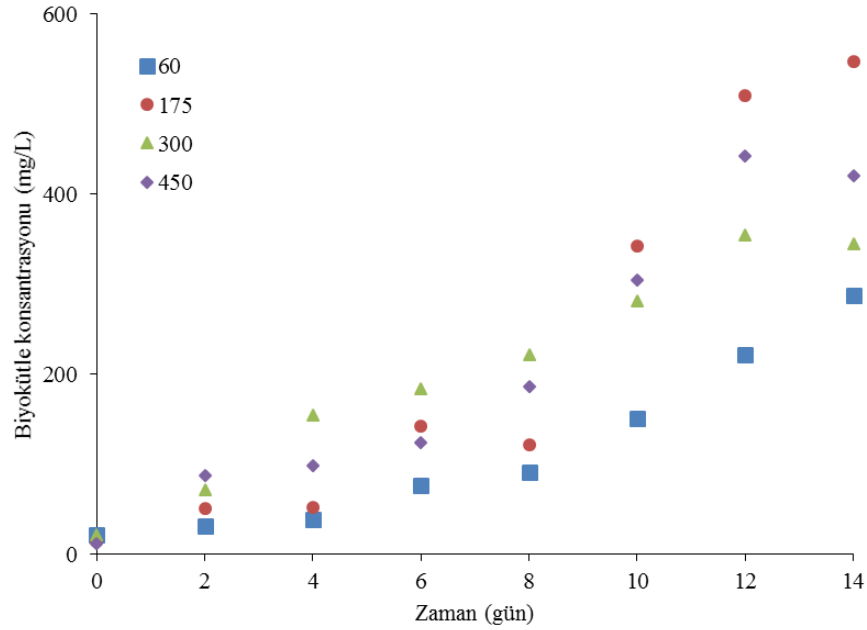
BBM besi ortamında yetiştirilen mikroalgere ait logaritmik üreme fazındaki veriler kullanılarak hesaplanan özgül üreme hızı, en yüksek sırasıyla 175  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında 0,180 gün<sup>-1</sup> ve 450  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında 0,167 gün<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. TAP besi ortamında ise 175 ve 300  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akılarında sırasıyla 0,478 ve 0,365 gün<sup>-1</sup> özgül üreme hızları bulunmuştur. Her iki besi ortamında da 175  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında *Chlorella zofingiensis* türünün en yüksek büyüme hızına sahip olduğu gözlemlenmiştir.



**Şekil 4.1.** Farklı ışık akılarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (BBM besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu



**Şekil 4.2.** Farklı ışık akılarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (TAP besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu



**Şekil 4.3.** Farklı ışık akılarında (60, 175, 300 ve 450  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$ ) yetiştirilen *Botryococcus braunii* türünün (mCHU-13 besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu

*Botryococcus braunii* türü ile mCHU-13 besi ortamında farklı ışık akılarında yetiştirilen mikroalglerin zamana karşı büyüme eğrilerine Şekil 4.3'te yer verilmiştir. LED ceket ile 60, 175, 300 ve 450  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akılarında 16:8 aydınlık:karanlık oranında beyaz ışık kullanılmıştır. 25°C sıcaklıkta, pH 7'de ve 1 vvm hava debisinde işletilen fotobiyoreaktörde CO<sub>2</sub> gazı kullanılarak pH değerinin sabit tutulması sağlanmıştır. Yapılan ölçümlere göre en yüksek biyokütle üretim hızı 175  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında 32,9 mg/L·gün iken en düşük biyokütle konsantrasyonu 60  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında 12,9 mg/L·gün olarak hesaplanmıştır. Logaritmik üreme fazında hesaplanan özgül üreme hızlarına göre en yüksek 175 ve 450  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akılarında sırasıyla 0,280 ve 0,266  $\text{gün}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır. Her iki tür için de en düşük büyüme 60  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında saptanmıştır. En iyi büyüme hızının ise 175  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısı olduğu gözlemlenmiştir.

Farklı ışık akılarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* türüne ait özgül üreme hızı, ikiye katlama süresi ve biyokütle üretkenlik parametrelerinin sayısal sonuçlarına Çizelge 4.1'de yer verilmiştir. *Botryococcus braunii* türü ile 60

$\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında yapılan bir çalışmada maksimum özgül üreme hızı  $0,17 \text{ gün}^{-1}$  olarak bulunmuştur (Gouveia *et al.* 2017). Aynı tür ile yapılan başka bir çalışmada ise  $150 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında günlük biyokütle üretimi  $7,23 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$  olarak bulunmuştur (Okumura *et al.* 2015). *Chlorella zofingiensis* türü ile  $230 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında yapılan bir çalışmada ise  $66,94 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$  biyokütle üretkenliği ve  $0,260 \text{ gün}^{-1}$  maksimum özgül üreme hızı elde edilmiştir (Zhu *et al.* 2014). Işık akısının etkisi üzerine *Nannochloropsis sp.* türü ile yapılan bir çalışmada  $100 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ( $\mu = 0,339 \text{ gün}^{-1}$ ) ışık akısında  $50$  ve  $200 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akılarına göre daha yüksek özgül üreme hızı elde edilmiştir (Wahidin *et al.* 2013). *Chlorella sp.* türü ile  $82, 260, 368$  ve  $590 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akılarında yapılan başka bir çalışmada  $260 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ( $P = 0,74 \text{ g/L}\cdot\text{gün}$ ) ışık akısında daha fazla günlük biyokütle üretimi gerçekleşmiştir (Chen *et al.* 2011).  $20-200 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısı aralığında *Euglena gracilis* türü ile yapılan başka bir çalışmada ise  $100 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ( $\mu = 0,046 \text{ saat}^{-1}$ ) ışık akısında maksimum özgül üreme hızı elde edilmiştir (Kitaya *et al.* 2005). *Chlorella sp.* ve *Saccharomyces cerevisiae* türleri karışık kültür olarak kullanılarak  $500, 1000$  ve  $2000$  lüks ışık şiddetinde yapılan bir çalışmada en yüksek üreme hızına  $1000$  lüks ışık şiddetinde ( $1,08 \text{ gün}^{-1}$ ) ulaşılmıştır (Shu *et al.* 2012). *Chlorella vulgaris* türü ile yapılan  $50, 80$  ve  $110 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akılarının kullanıldığı başka bir çalışmada en yüksek biyokütle üretimi  $80 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında  $270 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$  olarak ölçülmüştür (Khalili *et al.* 2015). Aynı tür ile mavi LED kullanılarak  $100, 200$  ve  $300 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akılarında yapılan başka bir çalışmada en yüksek özgül üreme katsayısı  $200 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında  $1,26 \text{ gün}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır (Atta *et al.* 2013). *Scenedesmus dimorphus* ile yapılan bir çalışmada uygulanan yüzey alanına ve ışık derinliğe bağlı olarak  $400 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  üzerindeki ışık akısının fotoinhibisyona neden olduğu belirtilmiştir (Zhang *et al.* 2015).



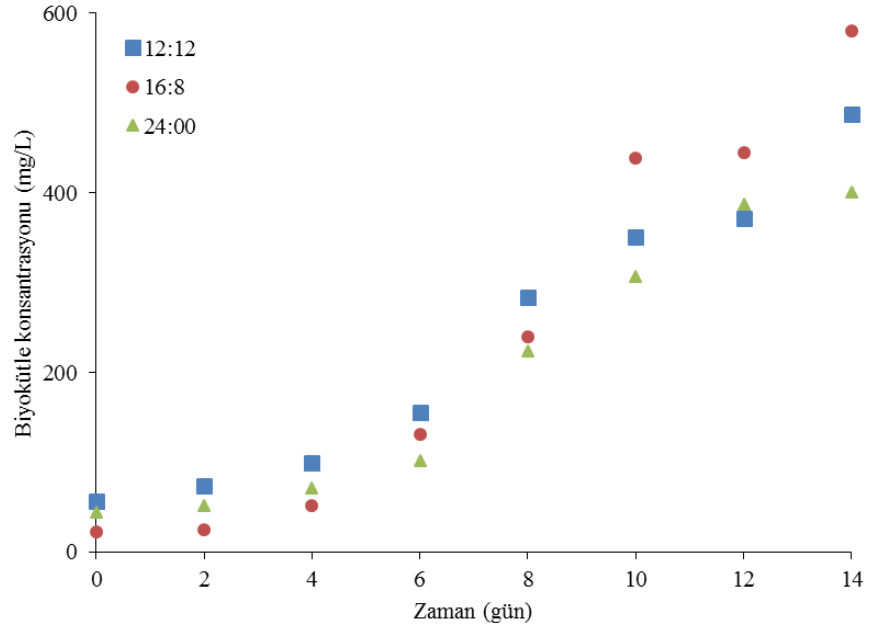
**Çizelge 4.1.** Farklı ışık akılarında yetiştirilen mikroalglerin özgül üreme hızı, ikiye katlama süresi ve biyokütle üretkenliği

Mikroalg türü (Besi yeri)	Parametre*	60 ( $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$ )	175 ( $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$ )	300 ( $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$ )	450 ( $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$ )
<i>Chlorella zofingiensis</i> (BBM)	$\mu$ ( $\text{gün}^{-1}$ )	0,114	0,180	0,128	0,167
	$t_d$ (gün)	6,10	3,86	5,41	4,14
	P (mg/L·gün)	33,62	56,12	33,87	36,25
<i>Chlorella zofingiensis</i> (TAP)	$\mu$ ( $\text{gün}^{-1}$ )	0,295	0,478	0,365	0,354
	$t_d$ (gün)	2,35	1,45	1,90	1,96
	P (mg/L·gün)	101,75	177	135,75	117,75
<i>Botryococcus braunii</i> (mCHU-13)	$\mu$ ( $\text{gün}^{-1}$ )	0,194	0,280	0,237	0,266
	$t_d$ (gün)	3,58	2,47	2,93	2,60
	P (mg/L·gün)	12,9	32,9	26,1	29,2

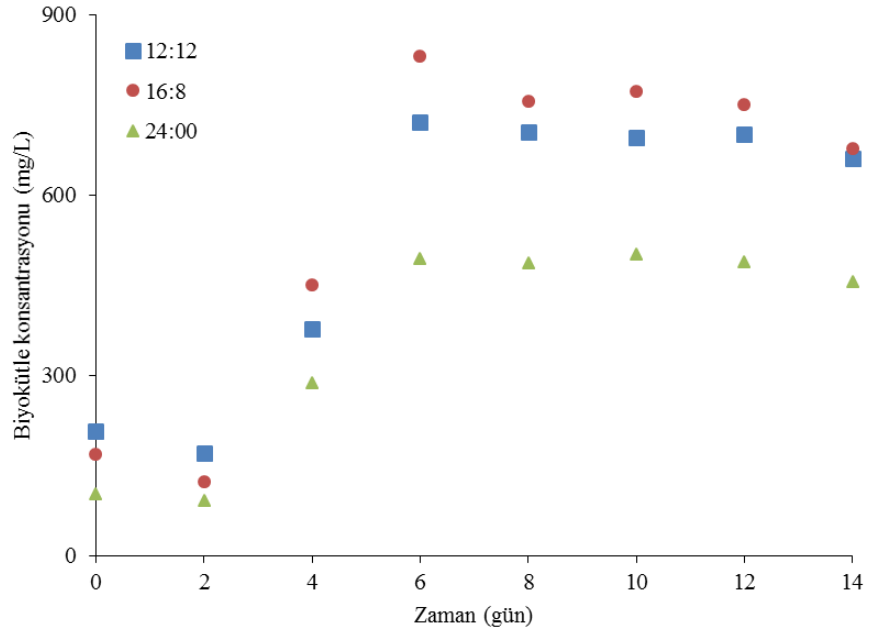
\* $\mu$ : özgül üreme hızı,  $t_d$ : ikiye katlama süresi, P: biyokütle üretkenliği

## 4.2. Aydınlık/Karanlık Oranın Etkisi

Işık akısının yanı sıra aydınlatma süresi de mikroalg yetiştiriciliğinde önemli parametrelerden birisidir. Çalışmada aydınlık ve karanlık oranının etkisinin incelenmesi amacıyla fotobiyoreaktör 24 saatlik bir döngü içerisinde 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık (12:12); 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık (16:8) ve 24 saat aydınlık (24:0) oranlarında işletilmiştir. Sistem 175  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında, 25°C sıcaklıkta, pH 7’de ve 1 vvm hava debisinde işletilmiştir. pH değeri CO<sub>2</sub> gazı kullanılarak sabit tutulmuştur. *Chlorella zofingiensis* türünün sırasıyla BBM ve TAP besi ortamlarında farklı aydınlık:karanlık oranlarında biyokütle konsantrasyonlarının zamanla değişimine Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’te yer verilmiştir. BBM besi ortamında en yüksek biyokütle üretimi sırasıyla 16:8, 12:12 ve 24:0 aydınlık karanlık oranlarında 56,128, 41,500 ve 37,380 mg/L·gün olarak ölçülmüştür. TAP besi ortamında ise en yüksek biyokütle üretimi sırasıyla 16:8, 12:12 ve 24:0 aydınlık karanlık oranlarında 177, 137,75 ve 100,8 mg/L·gün olarak hesaplanmıştır.

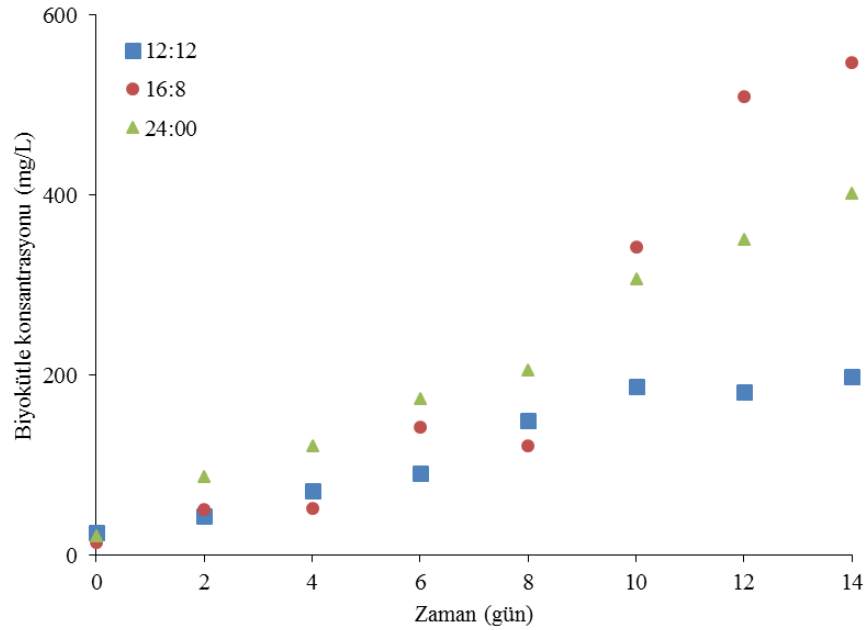


**Şekil 4.4.** Farklı aydınlık karanlık oranlarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (BBM besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu



**Şekil 4.5.** Farklı aydınlık karanlık oranlarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (TAP besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu

*Chlorella zofingiensis* türü için her iki besi ortamında da özgül üreme hızının en yüksek olduğu aydınlık:karanlık oranının 16:8 olduğu gözlemlenmiştir. TAP besi ortamında 0,478 gün<sup>-1</sup>, BBM besi ortamında ise 0,180 gün<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. En düşük üreme hızı ise 12:12 aydınlık:karanlık oranında BBM ve TAP besi ortamları için sırasıyla 0,128 ve 0,360 gün<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır. *Botryococcus braunii* türü kullanılarak mCHU-13 besi ortamında 12:12, 16:8 ve 24:0 aydınlık:karanlık oranlarında yetiştirilen mikroalglerin zamana karşı büyüme eğrilerine Şekil 4.6'da yer verilmiştir. En yüksek biyokütle miktarı sırasıyla 16:8, 24:0 ve 12:12 aydınlık:karanlık oranlarında 32,9, 28,6 ve 16,3 mg/L·gün olarak ölçülmüştür. Özgül üreme hızı en yüksek 16:8 aydınlık:karanlık oranında 0,280 gün<sup>-1</sup> iken, en düşük üreme hızı ise 12:12 aydınlık:karanlık oranında 0,200 gün<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır. Her iki mikroalg türü için en iyi özgül üreme hızı 16:8 aydınlık:karanlık oranında elde edilmiştir.



**Şekil 4.6.** Farklı aydınlık karanlık oranlarında yetiştirilen *Botryococcus braunii* türünün (mCHU-13 besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu

Farklı aydınlık:karanlık oranlarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* türüne ait özgül üreme hızı, ikiye katlama süresi ve biyokütle üretkenlik parametrelerinin sayısal sonuçlarına Çizelge 4.2'de yer verilmiştir. *Botryococcus*

*braunii* türü kullanılarak yapılan bir çalışmada en yüksek biyokütle konsantrasyonu 24:0 aydınlık:karanlık oranında 1,91 mg/L olarak ölçülmüştür (Ruangsomboon 2012). *Chlorella zofingiensis* türü ile yapılan bir çalışmada ise 12:12 aydınlık:karanlık oranında 0,245 g/L·gün biyokütle üretkenliği elde edilmiştir (Imaizumi *et al.* 2014). *Chlorella vulgaris* türü ile yapılan bir çalışmada özgül üreme hızı 8:16 aydınlık:karanlık oranında 0,80 gün<sup>-1</sup>, 12:12 aydınlık:karanlık oranında 1,02 gün<sup>-1</sup> ve 16:8 aydınlık:karanlık oranında 1,13 gün<sup>-1</sup> olarak ölçülmüştür (Khoeyi *et al.* 2012). Aynı tür kullanılarak yapılan başka bir çalışmada da 16:8 aydınlık:karanlık oranında daha fazla biyokütle elde edilmiş ve özgül üreme katsayısı 1,20 gün<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır (Atta *et al.* 2013). Farklı aydınlık:karanlık oranları ile *Nannochloropsis sp.* türü kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise en yüksek özgül üreme hızı 16:8 aydınlık:karanlık oranında 0,339 gün<sup>-1</sup> olarak elde edilmiştir (Wahidin *et al.* 2013). Aydınlatma süresi ile ilgili yapılan çoğu çalışmada günlük 16 saatin altındaki aydınlatma süresinin mikroalgal büyümeyi yavaşlattığı belirtilmiştir (Zhang *et al.* 2015). Ayrıca düşük ışık akısı ve yüksek aydınlatma süresinin yüksek ışık akısı ve düşük aydınlatma oranına göre daha etkili olduğu raporlanmıştır (Atta *et al.* 2013; Wahidin *et al.* 2013).

**Çizelge 4.2.** Farklı aydınlık:karanlık oranlarında yetiştirilen mikroalglerin özgül üreme hızı, ikiye katlama süresi ve biyokütle üretkenliği

Mikroalg türü (Besi yeri)	Parametre*	12:12 (A:K)	16:8 (A:K)	24:0 (A:K)
<i>Chlorella zofingiensis</i> (BBM)	$\mu$ (gün <sup>-1</sup> )	0,128	0,180	0,164
	$t_d$ (gün)	5,43	3,86	4,22
	P (mg/L·gün)	41,5	56,125	37,375
<i>Chlorella zofingiensis</i> (TAP)	$\mu$ (gün <sup>-1</sup> )	0,360	0,478	0,423
	$t_d$ (gün)	1,92	1,45	1,64
	P (mg/L·gün)	137,75	177	100,75
<i>Botryococcus braunii</i> (mCHU-13)	$\mu$ (gün <sup>-1</sup> )	0,200	0,280	0,233
	$t_d$ (gün)	3,47	2,47	2,97
	P (mg/L·gün)	16,3	32,9	28,6

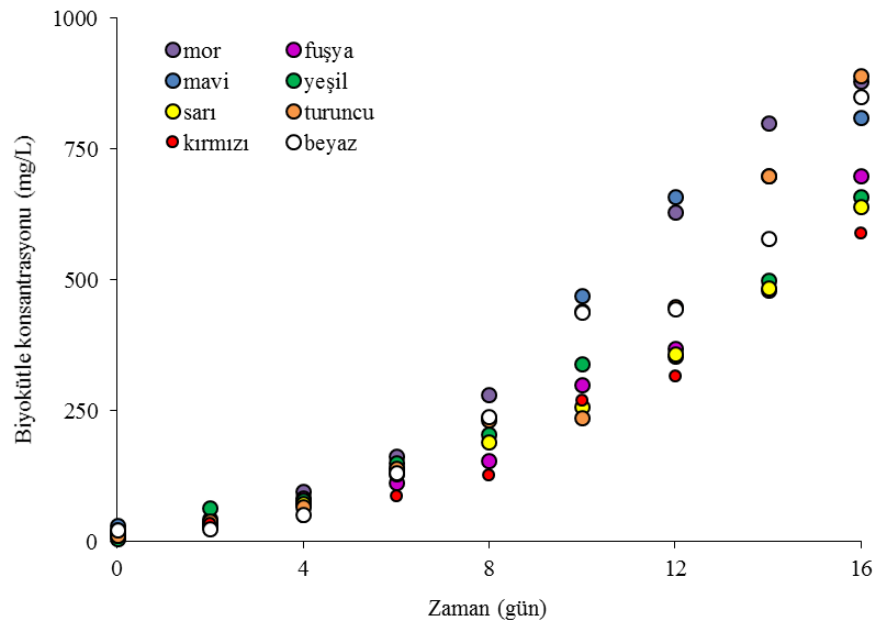
\* $\mu$ : özgül üreme hızı,  $t_d$ : ikiye katlama süresi, P: biyokütle üretkenliği

### 4.3. Farklı Dalga Boylarının Etkisi

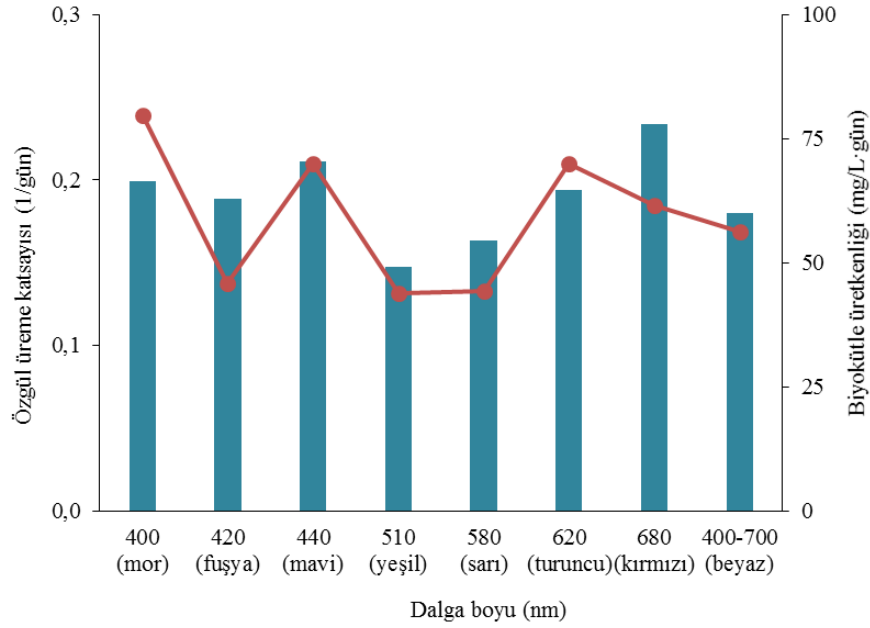
Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin biyokütle üretimi, üreme hızı, fotosentetik pigment üretimi, nutrient tüketim oranı, yağ üretimi ve yağ asidi kompozisyonu incelenerek en verimli dalga boylarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

#### 4.3.1. Biyokütle üretimi ve büyüme hızı

Farklı dalga boylarının biyokütle üretimi üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla 400 nm (mor), 420 nm (fuşya), 440 nm (mavi), 510 nm (yeşil), 580 nm (sarı), 620 nm (turuncu) ve 680 nm (kırmızı) dalga boyları uygulanmıştır. Fotobiyoreaktör; 25°C’de, pH 7’de, 16:8 aydınlık:karanlık oranında ve 175  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında işletilmiştir. Sistem sürekli olarak 1 vvm oranında havalandırılan havalandırılmıştır. pH değeri, pH kontrolcü ile sisteme karbondioksit gazı verilerek sabit tutulmuştur.

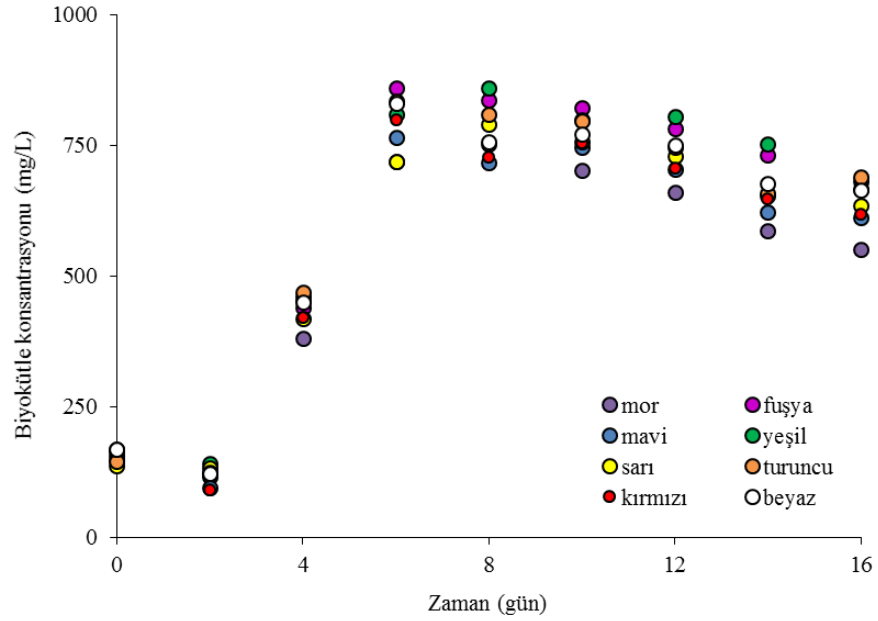


**Şekil 4.7.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (BBM besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu

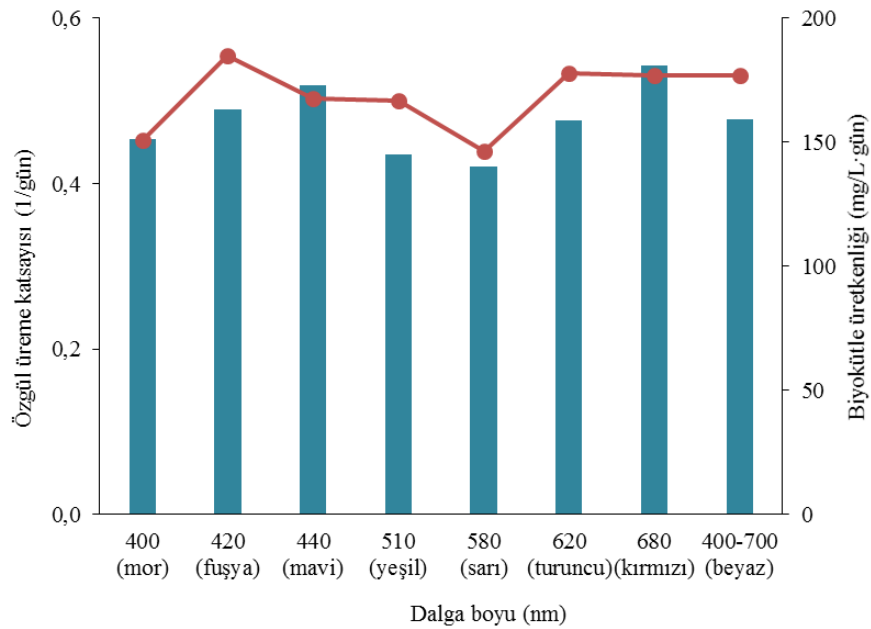


**Şekil 4.8.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (BBM besi ortamı) özgül üreme katsayısı (■) biyokütle üretkenliği (—)

Şekil 4.7’de farklı dalga boylarında BBM besi ortamında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün zamana karşı biyokütle konsantrasyon değişimine yer verilmiştir. Şekil 4.8’de ise farklı dalga boylarında yetiştirilen bu mikroalg türünün özgül üreme katsayısı ve biyokütle üretkenliği gösterilmiştir. Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de görüldüğü gibi 680 nm dalga boyunda yetiştirilen mikroalgler en yüksek özgül üreme hızına ( $0,234 \text{ gün}^{-1}$ ) sahiptir. En düşük özgül üreme katsayısı, görünür ışık tayfının orta bölgelerinde gözlemlenmiş ve sırasıyla 510 nm ve 580 nm dalga boylarında  $0,148$  ve  $0,163 \text{ gün}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır. Biyokütle üretkenliği açısından incelendiğinde ise sırasıyla 400 nm ( $79,62 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$ ), 620 nm ( $70,0 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$ ) ve 440 nm ( $69,87 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$ ) dalga boylarının en yüksek biyokütle üretimine sahip olduğu görülmüştür. Biyokütle üretkenliği en düşük olduğu dalga boyları 510 nm ( $43,75 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$ ) ve 580 nm ( $44,37 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$ ) olarak belirlenmiştir.



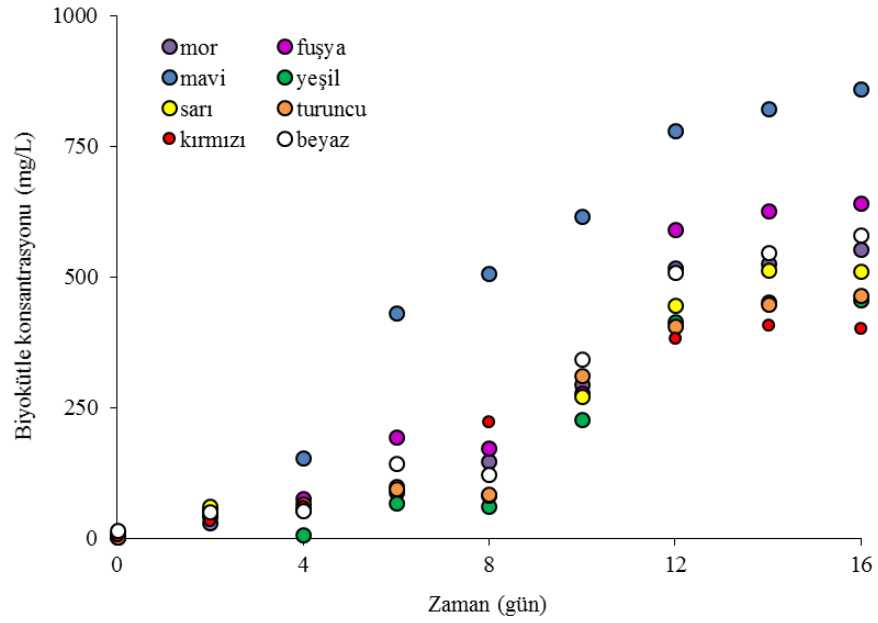
Şekil 4.9. Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (TAP besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu



Şekil 4.10. Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (TAP besi ortamı) özgül üreme katsayısı (■) biyokütle üretkenliği (—)

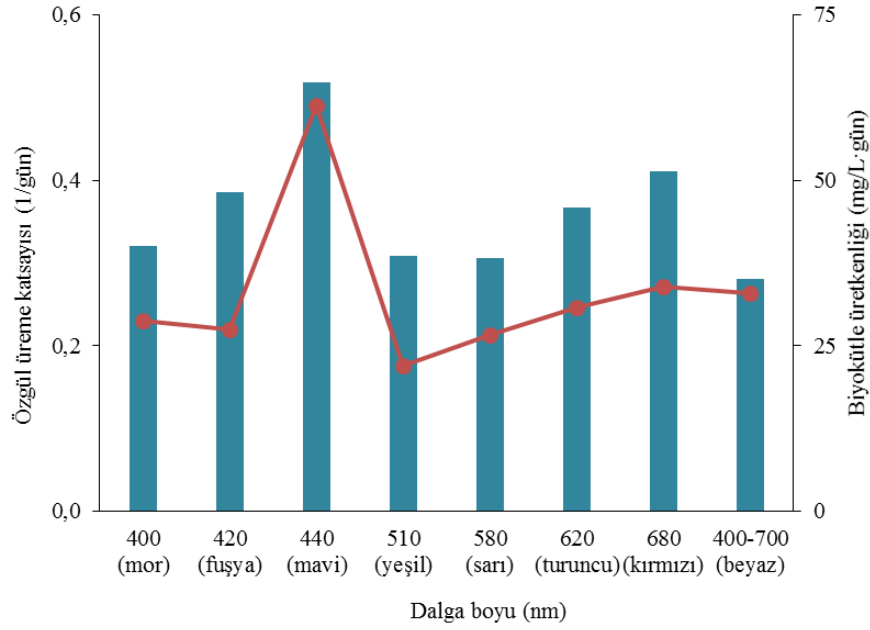
TAP besi ortamında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün farklı dalga boylarındaki biyokütle konsantrasyonunun zamana karşı değişimine Şekil 4.9'da yer verilmiştir. Şekil

4.10'da ise özgül üreme katsayıları ve biyokütle üretim hızı gösterilmiştir. En yüksek özgül üreme katsayısı  $0,543 \text{ gün}^{-1}$  olarak 680 nm dalga boyunda gözlemlenmiştir. 580 nm dalga boyunda ise en düşük özgül üreme hızı ( $0,420 \text{ gün}^{-1}$ ) elde edilmiştir. Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalgler biyokütle üretkenliği açısından incelendiğinde en yüksek biyokütle üretkenliği 420 nm'de  $184,75 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$  olarak ölçülmüştür. En düşük biyokütle üretkenliği  $146,0 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$  olarak 580 nm dalga boyunda hesaplanmıştır.



**Şekil 4.11.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Botryococcus braunii* türünün (mCHU-13 besi ortamı) zamana karşı biyokütle konsantrasyonu





**Şekil 4.12.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Botryococcus braunii* türünün (mCHU-13 besi ortamı) özgül üreme katsayısı (■) biyokütle üretkenliği (—)

Şekil 4.11’de *Botryococcus braunii* türünün mCHU-13 besi ortamında farklı dalga boylarındaki biyokütle konsantrasyonun zamana karşı değişimine yer verilmiştir. Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin özgül üreme katsayıları ve biyokütle üretkenlikleri ise Şekil 4.12’de gösterilmiştir. En yüksek özgül üreme katsayısı sırasıyla  $0,518 \text{ gün}^{-1}$  olarak 440 nm ve  $0,410 \text{ gün}^{-1}$  680 nm dalga boyunda dalga boyunda ölçülmüştür. Özgül üreme katsayısının en düşük olduğu ( $0,3 \text{ gün}^{-1}$ ) dalga boyları 510 ve 580 nm olarak belirlenmiştir. Biyokütle üretkenliği en yüksek  $61,3 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$  olarak 440 nm dalga boyunda ölçülmüştür. En düşük biyokütle üretkenliği ise  $22,0 \text{ mg/L}\cdot\text{gün}$  olarak dalga 510 nm boyunda gözlemlenmiştir.

Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* türüne ait özgül üreme hızı, ikiye katlama süresi ve biyokütle üretkenlik parametrelerinin sayısal sonuçlarına Çizelge 4.3’te yer verilmiştir. *Chlorella zofingiensis* türü ile farklı dalga boylarında yapılan bir çalışmada en yüksek biyokütle üretkenliğinin 620-670 nm dalga boyu aralığında elde edildiği bildirilmiştir (Sudibyo *et al.* 2017). *Botryococcus braunii* türü kullanılarak yapılan bir çalışmada en yüksek

biyokütle üretimi mavi ışık altında 9,20 mg/L·gün olarak ölçülmüştür (Okumura *et al.* 2015). Aynı tür ile yapılan başka bir çalışmada ise kırmızı ve mavi renk için özgül üreme hızı sırasıyla 0,19 ve 0,15 gün<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur (Baba *et al.* 2012). *Chlorella vulgaris* türü ile LED ışık kaynağı kullanılarak 460 nm (P = 96 mg/L·gün) ve 660 nm (P = 178 mg/L·gün) dalga boylarında yapılan bir çalışmada 660 nm dalga boyunda daha yüksek biyokütle üretimi gerçekleşmiştir (Khalili *et al.* 2015). Aynı tür ile beyaz floresan lamba (3,9x10<sup>8</sup> hücre/mL) ve mavi LED (9,1x10<sup>8</sup> hücre/mL) ışık kullanılarak yapılan başka bir çalışmada mavi LED ışık altında hücre sayısında daha fazla artış gözlenmiştir (Atta *et al.* 2013). *Spirulina platensis* türü ile kırmızı, beyaz, sarı, yeşil ve mavi renkteki LED ışık kaynakları kullanılarak yapılan başka bir çalışmada en yüksek maksimum özgül üreme hızı kırmızı renkte 0,44 gün<sup>-1</sup> olarak elde edilmiştir (Wang *et al.* 2007). *Chlorella sp.* ve *Saccharomyces cerevisiae* türlerinin birlikte karışık kültür olarak kullanıldığı bir çalışmada kırmızı (P = 237 mg/L·gün) renk altında daha fazla mikroalgal büyümenin gerçekleştiği gözlemlenmiştir (Shu *et al.* 2012). *Nannochloropsis sp.* ve *Tetraselmis sp.* türleri ile yapılan başka bir çalışmada ise her iki tür içinde 457 nm dalga boyundaki ışıkta daha yüksek üreme hızları elde edilmiştir (Teo *et al.* 2014). *Nannochloropsis sp.* türü ile yapılan başka bir çalışmada da en yüksek mikroalgal büyüme hızı mavi ışık altında 0,64 gün<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur (Das *et al.* 2011). Renk oluşturan tüm maddeler görüldüğü renk dışındaki diğer dalga boylarını yansıtırlar. Mikroalgelere rengini veren başlıca pigmentler olan klorofiller, fikobilinler ve karotenoidler en fazla mavi ve kırmızı dalga boyunu emerken yeşil rengi yansıtır. Görünür ışık tayfının düşük dalga boyu aralığındaki (380-440 nm) fotonlar kırmızı dalga boyuna göre yaklaşık %40 daha fazla enerji içerir. Bazı mikroalg türlerinde bu enerji biyokütle üretiminin artmasını sağlarken bazı türler için ise kullanılamayan fazla bir enerjiye neden olmaktadır. Mavi dalga boyundaki fotonlarda bulunan fazla enerji ısıya dönüşmektedir (Khalili *et al.* 2015).

**Çizelge 4.3.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin özgül üreme hızı, ikiye katlama süresi ve biyokütle üretkenliği

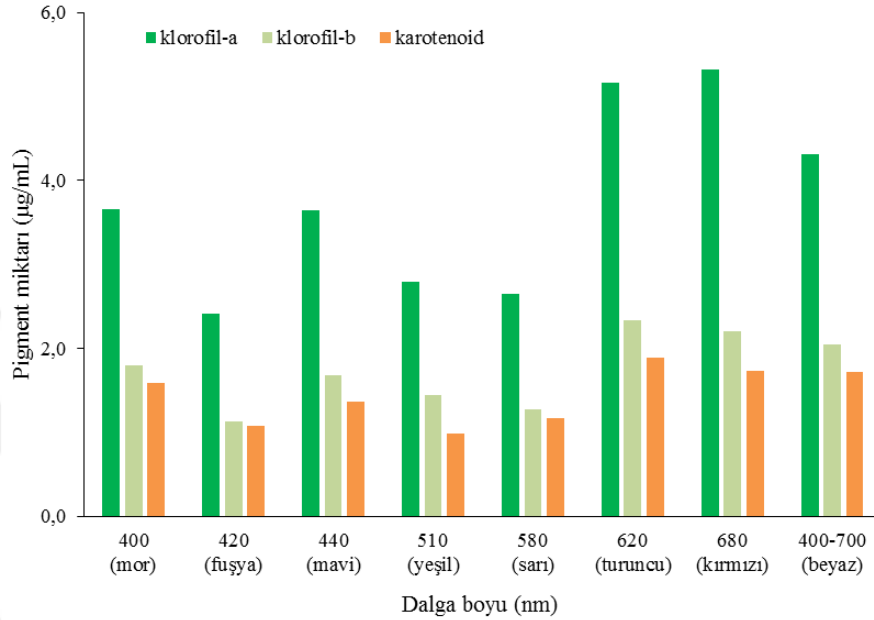
Mikroalg türü (Besin yeri)	Parametre*	Mor (400 nm)	Fuşya (420 nm)	Mavi (440 nm)	Yeşil (510 nm)	Sarı (580 nm)	Turuncu (620 nm)	Kırmızı (680 nm)	Beyaz (400 - 700 nm)
<i>Chlorella zofingiensis</i> (BBM)	$\mu$ (gün <sup>-1</sup> )	0,199	0,188	0,211	0,148	0,163	0,194	0,234	0,180
	$t_d$ (gün)	3,478	3,678	3,281	4,696	4,244	3,576	2,963	3,858
	P (mg/L·gün)	79,625	45,875	69,875	43,750	44,375	70,000	61,500	56,125
<i>Chlorella zofingiensis</i> (TAP)	$\mu$ (gün <sup>-1</sup> )	0,454	0,490	0,519	0,435	0,420	0,477	0,543	0,478
	$t_d$ (gün)	1,526	1,414	1,335	1,592	1,649	1,454	1,276	1,451
	P (mg/L·gün)	150,750	184,750	167,500	167,000	146,500	177,750	177,000	177,000
<i>Botryococcus braunii</i> (mCHU-13)	$\mu$ (gün <sup>-1</sup> )	0,320	0,386	0,518	0,308	0,306	0,366	0,410	0,280
	$t_d$ (gün)	2,168	1,796	1,339	2,247	2,266	1,892	1,689	2,474
	P (mg/L·gün)	28,700	27,500	61,300	22,000	26,600	30,800	33,900	32,900

\* $\mu$ : özgül üreme hızı,  $t_d$ : ikiye katlama süresi, P: biyokütle üretkenliği

#### 4.3.2. Fotosentetik pigment üretimi

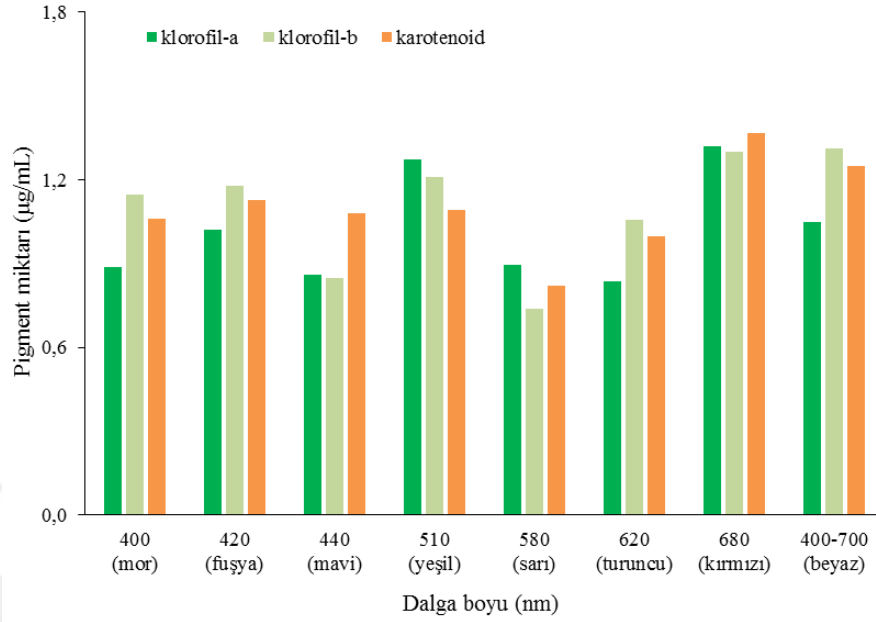
Fotosentetik pigment aktivitesinin belirlenmesi amacıyla farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalgler tarafından üretilen klorofil-a, klorofil-b ve toplam karotenoid pigmentleri ölçülmüştür. Fotobiyoreaktör, 25°C’de, 7 pH’da, 16:8 aydınlık:karanlık oranında ve tüm dalga boyları için yaklaşık olarak 175  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında işletilmiştir. Sürekli olarak 1 vvm oranında havalandırılan fotobiyoreaktörde karbondioksit gazı ise pH kontrolcü kullanılarak pH değerinin sabit tutulması amacıyla sisteme verilmiştir. BBM besin ortamında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türüne ait fotosentetik pigment sonuçları Şekil 4.13’te gösterilmiştir. En yüksek klorofil-a değerleri sırasıyla 680 nm (kırmızı) ve 620 nm (turuncu) dalga boylarında 5,323  $\mu\text{g/mL}$  ve 5,167  $\mu\text{g/mL}$  olarak ölçülmüştür. Klorofil-b miktarı ise en yüksek sırasıyla 620 nm ve 680 nm dalga boylarında 2,336  $\mu\text{g/mL}$  ve 2,199  $\mu\text{g/mL}$  olarak hesaplanmıştır. Benzer biçimde toplam karotenoid değeri de 620 nm ve 680 nm dalga boylarında 1,892  $\mu\text{g/mL}$  ve 1,736  $\mu\text{g/mL}$  olarak en yüksek değerlerine ulaşmıştır. En düşük klorofil-a ve klorofil-b değerleri 420 nm dalga boyunda sırasıyla 2,409  $\mu\text{g/mL}$  ve 1,125  $\mu\text{g/mL}$  olarak elde edilmiştir. En düşük toplam karotenoid değeri ise 510 nm (yeşil) dalga

boyunda 0,984  $\mu\text{g/mL}$  olarak ölçülmüştür. Şekil 4.13'te görüldüğü üzere yüksek dalga boyu değerlerinde fotosentetik pigment üretimi artmaktadır.



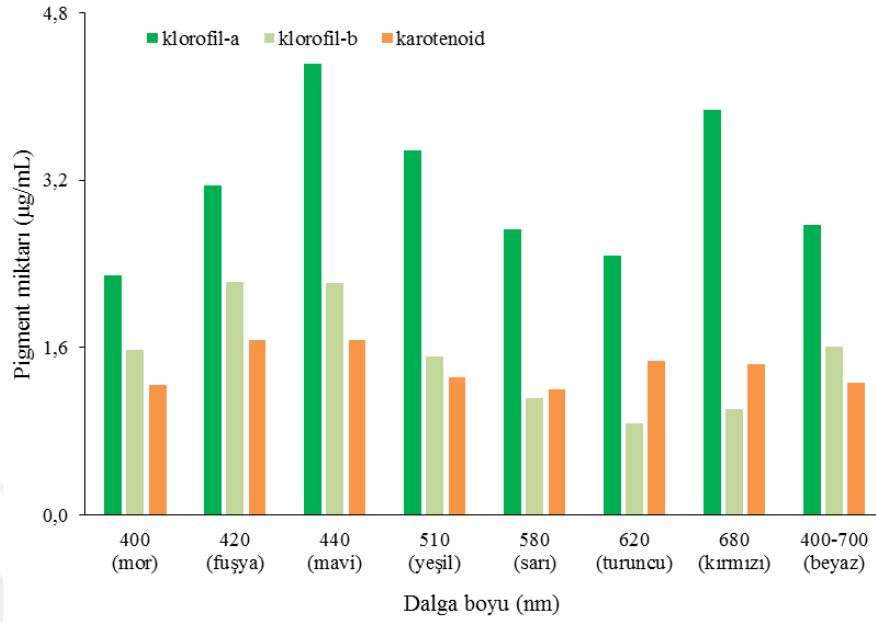
**Şekil 4.13.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (BBM besi ortamı) fotosentetik pigment üretimi

Şekil 4.14'te *Chlorella zofingiensis* türünün TAP besi ortamında farklı dalga boylarında yetiştirilmesi ile elde edilen fotosentetik pigment sonuçlarına yer verilmiştir. Sonuçlara göre 680 nm (kırmızı) dalga boyunda yetiştirilen mikroalglerin tüm fotosentetik pigmentlerde en yüksek seviyeye ulaştığı gözlemlenmiştir. 680 nm'de klorofil-a 1,322  $\mu\text{g/mL}$ , klorofil-b 1,302  $\mu\text{g/mL}$  ve toplam karotenoid 1,368  $\mu\text{g/mL}$  olarak ölçülmüştür. En düşük değerler ise klorofil-a için 620 nm (turuncu), klorofil-b ve toplam karotenoid için ise 580 nm (sarı) dalga boyunda gözlemlenmiş ve sırasıyla 0,839  $\mu\text{g/mL}$ , 0,737  $\mu\text{g/mL}$  ve 0,820  $\mu\text{g/mL}$  olarak ölçülmüştür. *Chlorella zofingiensis* türünün her iki besi ortamında da 680 nm dalga boyunda daha fazla fotosentetik pigment ürettiği gözlemlenmiştir. Bu durum, belirli bir dalga boyunun hem özgül üreme hızını hem de pigment üretimini iyileştirmediği anlamına gelmektedir. *Chlorella sp.* ile yapılan çalışmalar benzer bir biçimde biyokütle üretimi ile pigment üretiminin farklı dalga boylarında daha iyi sonuçlara ulaşıldığını göstermiştir (Mohsenpour *et al.* 2012).



**Şekil 4.14.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (TAP besi ortamı) fotosentetik pigment üretimi

*Botryococcus braunii* türü ile mCHU-13 besi ortamında yetiştirilen mikroalglerin pigment sonuçları ise Şekil 4.15'te gösterilmektedir. Klorofil-a içeriğinin en yüksek olduğu dalga boylarının sırasıyla 440 nm (mavi), 680 nm (kırmızı) ve 510 nm (yeşil) olduğu görülmektedir. Mavi ışık altında yetiştirilen mikroalglerin klorofil-a miktarı 4,310 µg/mL, klorofil-b miktarı 2,215 µg/mL ve toplam karotenoid miktarı 1,676 µg/mL olarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar düşük dalga boylarının daha yüksek fotosentetik pigment üretimini ve biyokütle üretimini iyileştirdiği görülmektedir. *Botryococcus braunii* türü ile yapılan başka bir çalışmada da mavi rengin pigment üretiminde daha etkin olduğu belirtilmiştir (Baba *et al.* 2012). Ayrıca turuncu ve sarı ışık tayfında pigment üretiminin belirgin bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir.



**Şekil 4.15.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Botryococcus braunii* türünün (mCHU-13 besi ortamı) fotosentetik pigment üretimi

Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* türlerinin toplam klorofil içerindeki değişimin sırasıyla 2,1 ve 1,9 kata ulaştığı gözlemlenmiştir. Toplam karotenoid miktarında ise sırasıyla 1,9 ve 1,4 oranında değişim gerçekleşmiştir. Her iki mikroalg türü arasında bir kıyaslama yapıldığında fotosentetik pigment üretimi açısından *Chlorella zofingiensis* türünün farklı dalga boylarından daha fazla etkilendiği gözlemlenmiştir. Ayrıca *Botryococcus braunii* büyüme hızı ve pigment üretiminin aynı ışık tayfında (mavi – 440 nm) arttığı gözlemlenirken, *Chlorella zofingiensis* için büyüme hızının (420 nm) ve pigment üretiminin (680 nm) farklı dalga boylarında etkin olduğu görülmüştür.

Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* türüne ait klorofil-a, klorofil-b, toplam klorofil ve toplam karotenoid sonuçlarına Çizelge 4.4'te yer verilmiştir. *Chlorella zofingiensis* kullanılarak beyaz ışık ile yapılan bir çalışmada 6,2 µg klorofil-a /10<sup>7</sup> hücre elde edildiği bildirilmiştir (Zhu *et al.* 2014). Fototrofik ve mikсотrofik şartlar altında aynı tür ile yapılan başka bir çalışmada ise sırasıyla klorofil-a; 15,69 ve 2,598 µg/mg, klorofil-b; 7,311 ve 1,431 µg/mg, toplam

karotenoid ise 4,005 ve 5,802 µg/mg olarak ölçülmüştür (Azaman *et al.* 2017). Sentetik ve gerçek atıksu kullanılarak *Botryococcus braunii* türü ile beyaz ışık altında yapılan denemelerde sırasıyla klorofil-a; 0,85 ve 0,65 µg/mL, klorofil-b; 0,3 ve 0,18 µg/mL; toplam karotenoid ise 0,38 ve 0,5 µg/mL olarak bulunmuştur (Órpez *et al.* 2009). Aynı tür ile beyaz ışık altında yüksek CO<sub>2</sub> konsantrasyonu kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise en yüksek klorofil-a %2 CO<sub>2</sub>'de 25,54 µg/mL ve en yüksek β-karotenoid ise %20 CO<sub>2</sub>'de 11,17 µg/mL elde edilmiştir (Ge *et al.* 2011). *Gloeothece membranacea* ile yapılan bir çalışmada klorofil-a pigmentinin üretiminde (1,23 g klorofil-a/g biyokütle) yeşil rengin daha etkili olduğu gözlemlenmiştir (Mohsenpour *et al.* 2012). *Spirulina platensis* türü ile yapılan bir çalışmada en yüksek klorofil üretimi 20,95 g klorofil-a/g biyokütle·gün sarı renkte ve en yüksek fikosiyanın üretimi 0,255 g klorofil-a/g biyokütle·gün mavi renk altında gerçekleşmiştir (Chen *et al.* 2010). *Chlorella vulgaris* ile yapılan çalışmalar kırmızı rengin fotosentetik pigment üretiminde (1,29 g klorofil-a/g biyokütle) daha etkili olduğunu raporlamışlardır. Bu durum fotosentez olayında etkili olan klorofil-a ve klorofil-b pigmentlerinin sırasıyla 662 nm ve 642 nm dalga boyunda maksimum ışık absorpsiyonuna sahip oldukları için kırmızı renk (660-680 nm) altında maviye göre daha aktif olması ile açıklanmaktadır (Koc *et al.* 2013). Tüm yeşil pigmentler mavi (400–475 nm) ve kırmızı (630–675 nm) iki ana absorpsiyon bandına sahiptir. Bu yüzden her iki renkte de fotosentez gerçekleşmektedir (Teo *et al.* 2014). Ayrıca, düşük ışık spektrumunun da hücre büyümesinde ve metabolizmanın düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (Matthijs *et al.* 1996; Khalili *et al.* 2015).

**Çizelge 4.4.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin klorofil-a, klorofil-b, toplam klorofil ve toplam karotenoid değerleri

Mikroalg türü (Besi yeri)	Pigment türü (µg/mL)	Mor (400 nm)	Fuşya (420 nm)	Mavi (440 nm)	Yeşil (510 nm)	Sarı (580 nm)	Turuncu (620 nm)	Kırmızı (680 nm)	Beyaz (400 - 700 nm)
<i>Chlorella zofingiensis</i> (BBM)	Klorofil-a	3,659	2,409	3,642	2,793	2,651	5,167	5,323	4,309
	Klorofil-b	1,792	1,125	1,676	1,443	1,269	2,336	2,199	2,044
	T. klorofil	5,452	3,533	5,318	4,236	3,919	7,502	7,522	6,353
	T. karotenoid	1,592	1,076	1,368	0,984	1,168	1,892	1,736	1,716
<i>Chlorella zofingiensis</i> (TAP)	Klorofil-a	0,889	1,022	0,862	1,272	0,894	0,839	1,322	1,048
	Klorofil-b	1,149	1,180	0,847	1,211	0,737	1,057	1,302	1,311
	T. klorofil	2,038	2,202	1,709	2,482	1,631	1,896	2,624	2,359
	T. karotenoid	1,060	1,128	1,080	1,092	0,820	0,996	1,368	1,248
<i>Botryococcus braunii</i> (mCHU-13)	Klorofil-a	2,287	3,156	4,310	3,483	2,732	2,481	3,878	2,769
	Klorofil-b	1,579	2,228	2,215	1,514	1,122	0,878	1,009	1,611
	T. klorofil	3,866	5,384	6,525	4,997	3,855	3,359	4,886	4,380
	T. karotenoid	1,248	1,672	1,676	1,312	1,204	1,472	1,440	1,268

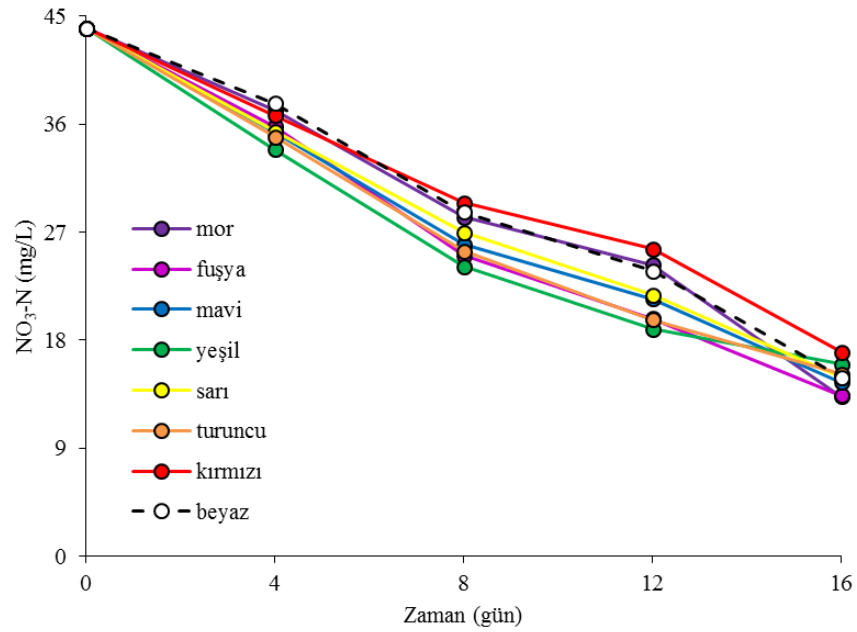
### 4.3.3. Nutrient tüketimi

Nutrient kullanımı çalışmalarında fotobiyoreaktör, 25°C’de, 1 vvm hava akısında, 7 pH’da, 16:8 aydınlık:karanlık oranında ve tüm dalga boyları için yaklaşık olarak 175 µmol-foton/m<sup>2</sup>·s ışık akısında işletilmiştir. Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin nutrient kullanımının belirlenmesi amacıyla besi ortamındaki azot ve fosfor miktarlarındaki değişim belirli aralıklarla (96 saat) takip edilmiştir. Azot miktarının belirlenmesi için *Chlorella zofingiensis* türü ile BBM ortamında ve *Botryococcus braunii* türü ile mCHU-13 besi ortamında yapılan çalışmalarda nitrat azotu (NO<sub>3</sub>-N), *Chlorella zofingiensis* türü ile TAP ortamında yapılan çalışmalarda ise toplam azot (TN) ölçümleri yapılmıştır. Üç besi ortamındaki fosfor, PO<sub>4</sub> kullanılarak hazırlandığı ve besi ortamında başka bir fosfor verici olmadığı için fosfor miktarındaki değişim toplam fosfat fosforu (PO<sub>4</sub>-P) olarak belirlenmiştir. Besi ortamlarının içeriği ile ilgili daha detaylı bilgiye Bölüm 3.1.2 ve Çizelge 3.2’de yer verilmiştir.



#### 4.3.3.a. Azot kullanımı

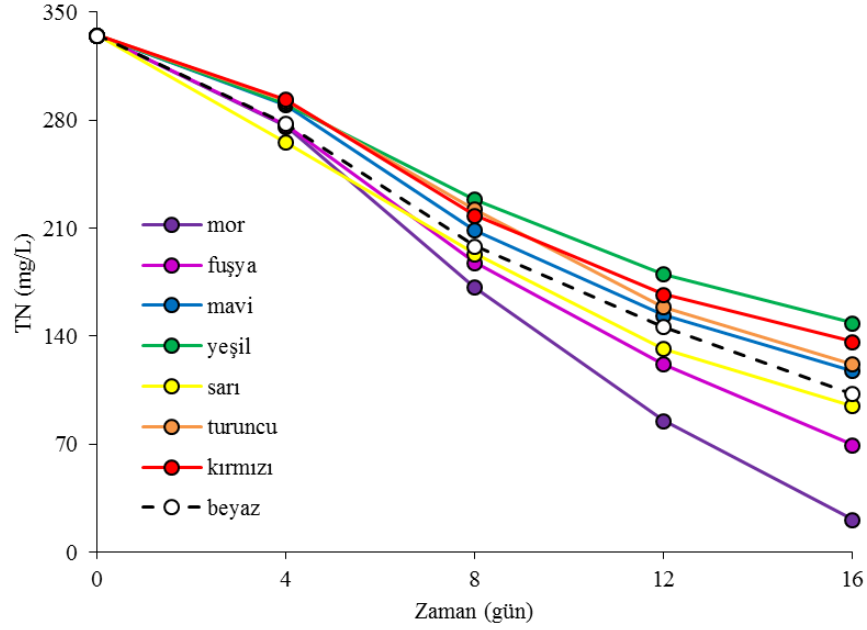
BBM besi ortamında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün azot kullanımına Şekil 4.16'da yer verilmiştir. BBM besi ortamında başlangıçta yapılan ölçümlere göre 44 mg/L nitrat azotu (NO<sub>3</sub>-N) bulunmaktadır. Farklı dalga boylarında elde edilen azot kullanımı ortalama olarak %60 ile %70 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. En yüksek azot kullanımı sırasıyla 400 nm (mor) ve 420 nm (fuşya) ve 440 nm (mavi) dalga boylarında %69,77, %69,55 ve %67,05 oranında gerçekleşmiştir. En düşük azot kullanımı ise sırasıyla 680 nm (kırmızı) ve 510 nm (yeşil) dalga boylarında yaklaşık %61,36 ve %63,64 olarak ölçülmüştür.



**Şekil 4.16.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (BBM besi ortamı) NO<sub>3</sub>-N kullanımı

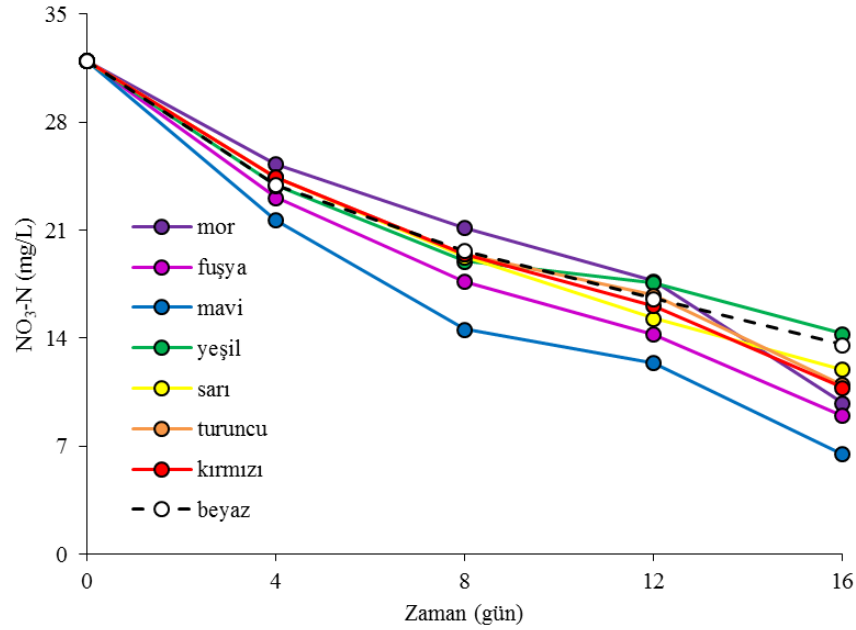
*Chlorella zofingiensis* türü ile TAP besi ortamında yapılan azot kullanımı ile ilgili sonuçlar Şekil 4.17'de gösterilmektedir. TAP besi ortamı, azot kaynağı olarak organik azot ve amonyum azotunu içerdiği için başlangıçtaki azot miktarı 335 mg/L toplam azot (TN) olarak ölçülmüştür. 16. günün sonunda azot kullanımı en yüksek mor (400 nm) ışık tayfında ve %93,61 olarak belirlenmiştir. İkinci en yüksek azot kullanımınının 420

nm dalga boyunda ve %79,18 oranında olduğu görülmektedir. Bu besi ortamında azot kullanımının dalga boyundan daha fazla etkilendiği gözlemlenmiştir. En düşük azot kullanımı ise %55,65 oranında 510 nm (yeşil) dalga boyunda gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.17.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (TAP besi ortamı) TN kullanımı

*Botryococcus braunii* türü ile mCHU-13 besi ortamında azot kullanımı ile ilgili sonuçlara Şekil 4.18'de yer verilmektedir. Azot kullanımı en yüksek 440 nm (mavi) dalga boyunda %79,63 oranındadır. En düşük ise 510 nm (yeşil) dalga boyunda %55,31 oranındadır. Her iki mikroalg türü ile ilgili elde edilen sonuçlara göre ışık tayfının mor (400 nm) ve mavi (440 nm) bölgesinde azot kullanımının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Benzer şekilde bu alan büyüme hızının da daha verimli olduğu bölgedir.



**Şekil 4.18.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Botryococcus braunii* türünün (mCHU-13 besi ortamı) NO<sub>3</sub>-N kullanımı

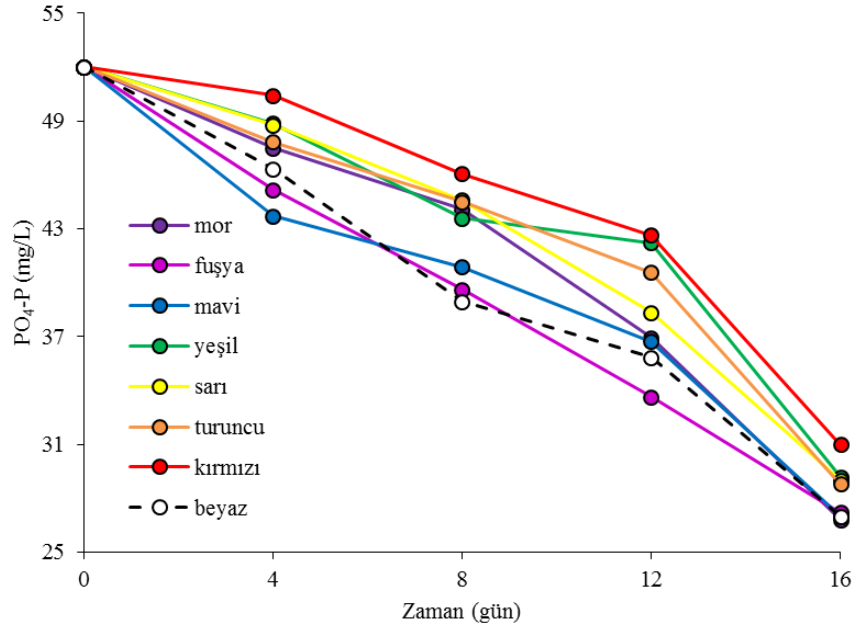
Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* türlerinin azotlu madde giderim verimine ait sayısal sonuçlarına Çizelge 4.5'te yer verilmiştir. Sentetik atıksuda *Chlorella zofingiensis* türü ile soğuk beyaz floresan lamba altında azot giderimi (başlangıçtaki TN konsantrasyonu: 277,0 mg/L) yapılan bir çalışmada %45,2-73,5 arasında azot giderim verimi elde edilmiştir (Zhu *et al.* 2014). *Botryococcus braunii* türü ile ön arıtmadan geçirilmiş evsel atıksu kullanılarak yapılan bir çalışmada (başlangıçtaki NO<sub>3</sub> konsantrasyonu: 390 mg/L) beyaz ışık ile %79,63 (22,21 mg/gün) nitrat giderimi sağlanmıştır (Sydney *et al.* 2011). *Chlorella vulgaris* türü kullanılarak farklı dalga boylarında azot gideriminin incelendiği bir çalışmada en yüksek azot gideriminin (başlangıçtaki TN konsantrasyonu: 82,14 mg/L) %78,56 oranında kırmızı LED ışık ile gerçekleştiği gözlemlenmiştir (Yan *et al.* 2013). Farklı dalga boylarında *Chlorella sp.* türü ile yapılan başka bir çalışmada en yüksek azot giderimi giderimini (başlangıçtaki TN konsantrasyonu: 581,37 mg/L) %54,94 oranında kırmızı ışık altında ve en düşük azot giderimi %41,53 oranında mavi ışık altında gözlemlenmiştir (Zhao *et al.* 2013). Dört farklı mikroalg türü (*Achnanthes sp.*, *Amphora sp.*, *Navicula sp.* ve *Nitzschia sp.*) ile yapılan başka bir çalışma da ise mavi ışık altında daha yüksek azot kullanımı elde edilmiştir (Kwon *et al.* 2013).

**Çizelge 4.5.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin azotlu madde giderim verimleri

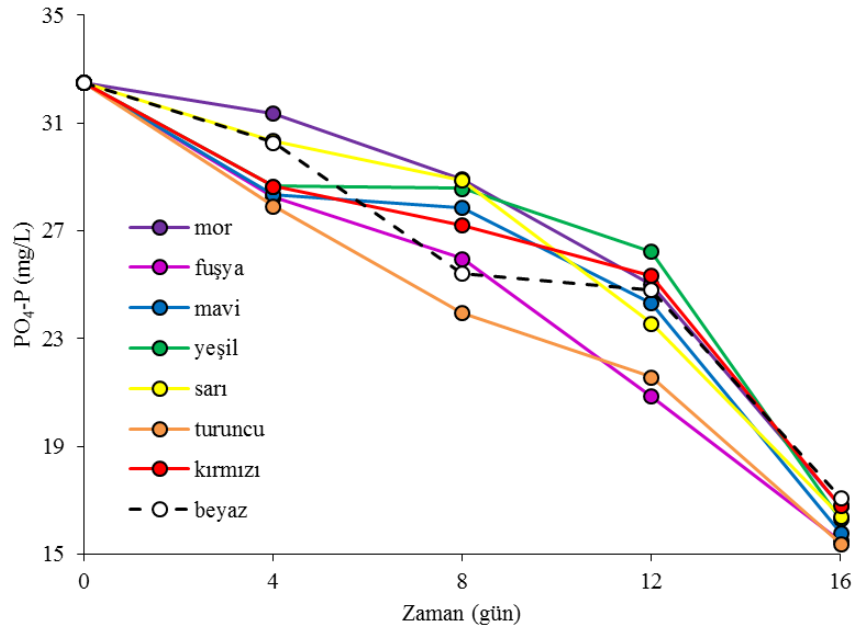
Mikroalg türü (Besi yeri) Azot türü	Parametre	Mor (400 nm)	Fuşya (420 nm)	Mavi (440 nm)	Yeşil (510 nm)	Sarı (580 nm)	Turuncu (620 nm)	Kırmızı (680 nm)	Beyaz (400 - 700 nm)
<i>Chlorella zofingiensis</i> (BBM)	N <sub>giriş</sub> (mg/L)	44,0	44,0	44,0	44,0	44,0	44,0	44,0	44,0
	N <sub>çıkış</sub> (mg/L)	13,30	13,40	14,50	16,00	14,90	15,20	17,00	14,90
	% N giderimi	69,77	69,55	67,05	63,64	66,14	65,45	61,36	66,14
<i>Chlorella zofingiensis</i> (TAP)	N <sub>giriş</sub> (mg/L)	335,0	335,0	335,0	335,0	335,0	335,0	335,0	335,0
	N <sub>çıkış</sub> (mg/L)	21,42	69,75	117,80	148,56	94,85	122,00	136,74	102,74
	% N giderimi	93,61	79,18	64,83	55,65	71,69	63,58	59,18	69,33
<i>Botryococcus braunii</i> (mCHU-13)	N <sub>giriş</sub> (mg/L)	52,0	52,0	52,0	52,0	52,0	52,0	52,0	52,0
	N <sub>çıkış</sub> (mg/L)	9,80	9,00	6,52	14,30	12,00	11,00	10,80	13,60
	% N giderimi	69,38	71,88	79,63	55,31	62,50	65,63	66,25	57,50

#### 4.3.3.b. Fosfor kullanımı

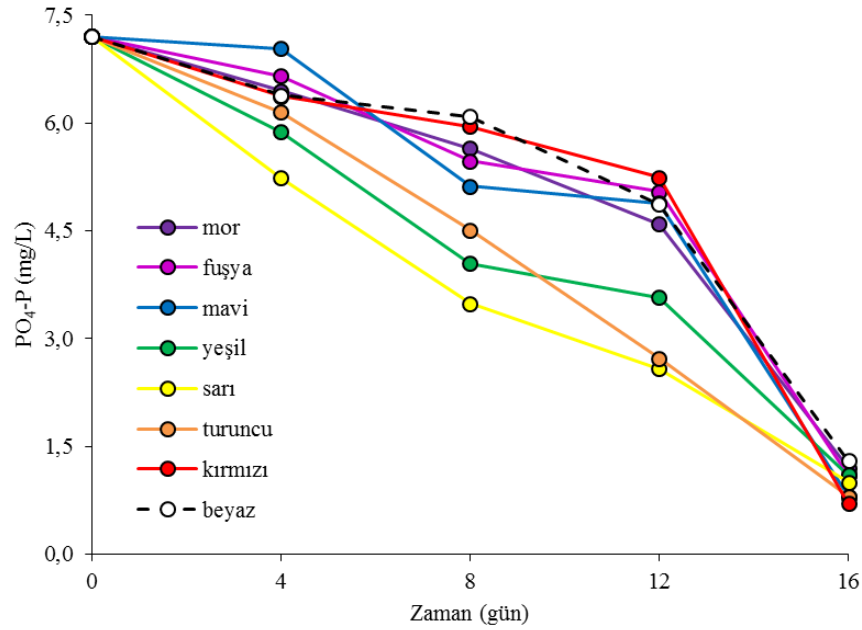
Şekil 4.19'da *Chlorella zofingiensis* türünün BBM besi ortamında fosfat fosforunun kullanımı gösterilmektedir. BBM besi ortamında başlangıçtaki fosfor konsantrasyonu 52 mg/L olarak ölçülmüştür. Grafikte görüldüğü gibi 12. günden sonra fosfor miktarı belirgin bir şekilde azalmıştır. 16. günün sonunda ise 400 nm (mor) ve 440 nm (mavi) dalga boyunda yaklaşık olarak 27 mg/L değerine düşmüştür. En az fosfor kullanımı 680 nm (kırmızı) dalga boyunda meydana gelerek 16. günde 31 mg/L olarak ölçülmüştür. Aynı mikroalg türü ile TAP besi ortamında fosfor kullanımına ait grafiğe Şekil 4.20'de yer verilmiştir. TAP besi ortamında ise en fazla fosfor kullanımı sırasıyla 620 nm (turuncu), 420 nm (fuşya) ve 440 nm (mavi) dalga boylarında sırasıyla %52,62, %52,31 ve %51,38 oranında gerçekleşmiştir. En düşük fosfor kullanımı ise 400 nm (mor) ve 680 nm (kırmızı) dalga boylarında olmuştur.



Şekil 4.19. Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (BBM besi ortamı)  $PO_4$ -P kullanımı



Şekil 4.20. Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (TAP besi ortamı)  $PO_4$ -P kullanımı



**Şekil 4.21.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Botryococcus braunii* türünün (mCHU-13 besi ortamı) PO<sub>4</sub>-P kullanımı

*Botryococcus braunii* türü ile mCHU-13 yapılan fosfor kullanımına Şekil 4.21’de yer verilmektedir. Bu besi ortamındaki başlangıç PO<sub>4</sub>-P konsantrasyonu 7,2 mg/L olarak ölçülmüştür. Şekilde de görüldüğü üzere 8. günden itibaren fosfor kullanımı artmıştır. En yüksek fosfor kullanımı 680 nm (kırmızı), 620 nm (turuncu) ve 440 nm (mavi) dalga boylarında yaklaşık olarak %90 oranında gerçekleşmiştir. En az fosfor kullanımı ise beyaz (400-700 nm) ışık tayfında yaklaşık %82 oranında olmuştur.

Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* türlerinin azotlu madde giderim verimine ait sayısal sonuçlarına Çizelge 4.6’da yer verilmiştir. Soğuk beyaz floresan lamba kullanılarak *Chlorella zofingiensis* türü ile sentetik atıksuda fosfor giderimi (başlangıçtaki TP konsantrasyonu: 43,0 mg/L) yapılan bir çalışmada %92-100 arasında fosfor giderim verimi bildirilmiştir (Zhu *et al.* 2014). Ön arıtım yapılmış evsel atıksu ile *Botryococcus braunii* türü kullanılarak yapılan bir çalışmada (başlangıçtaki PO<sub>4</sub> konsantrasyonu: 347-385 mg/L) beyaz ışık altında %100 fosfat giderimi (42,78 mg/gün) sağlanmıştır (Sydney *et al.* 2011). Farklı dalga boyları kullanılarak *Chlorella vulgaris* türü ile fosfor gideriminin incelendiği bir çalışmada en

yüksek fosfor gideriminin (başlangıçtaki TP konsantrasyonu: 5,23 mg/L) %73,93 oranında kırmızı LED ışık ile gerçekleştiği gözlemlenmiştir (Yan *et al.* 2013). *Chlorella sp.* türü ile yapılan başka bir çalışmada en yüksek fosfor giderimi (başlangıçtaki TP konsantrasyonu: 51,34 mg/L) %51,14 kırmızı ışık altında elde edilmiştir (Zhao *et al.* 2013). Dört farklı mikroalg türü (*Achnanthes sp.*, *Amphora sp.*, *Navicula sp.* ve *Nitzschia sp.*) kullanılarak yapılan başka bir çalışma da ise mavi ışık altında daha yüksek fosfor kullanımı elde edilmiştir (Kwon *et al.* 2013).

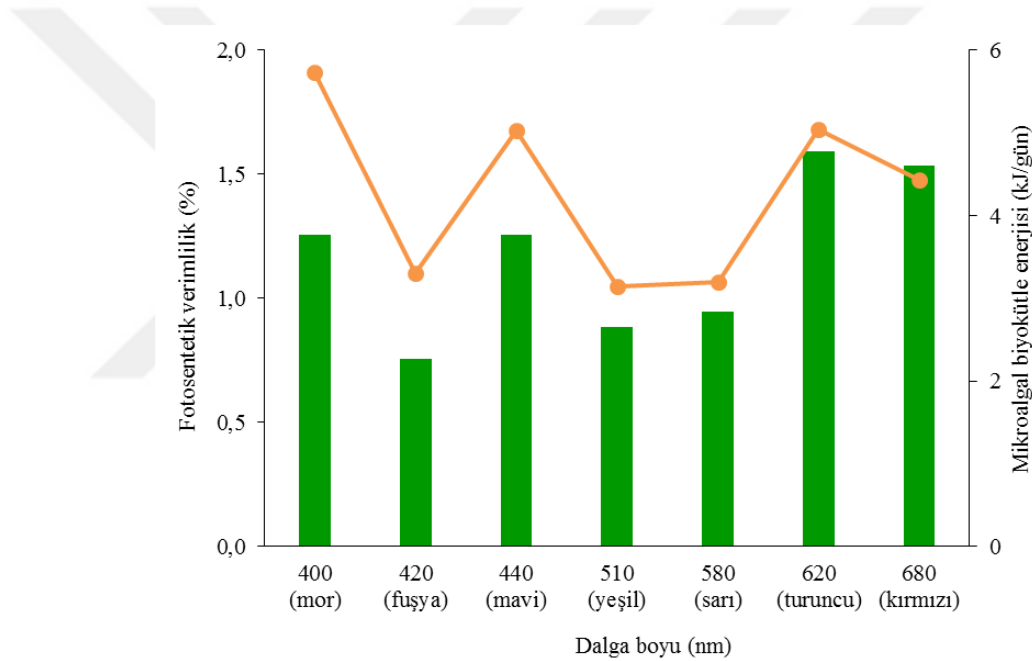
**Çizelge 4.6.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin fosforlu madde giderim verimleri

Mikroalg türü (Besin yeri) Fosfor türü	Parametre	Mor (400 nm)	Fuşya (420 nm)	Mavi (440 nm)	Yeşil (510 nm)	Sarı (580 nm)	Turuncu (620 nm)	Kırmızı (680 nm)	Beyaz (400 - 700 nm)
<i>Chlorella zofingiensis</i> (BBM) PO <sub>4</sub> -P	P <sub>giriş</sub> (mg/L)	52,00	52,00	52,00	52,00	52,00	52,00	52,00	52,00
	P <sub>çıkış</sub> (mg/L)	26,80	27,20	27,00	29,20	29,00	28,80	31,00	27,00
	% P giderimi	48,46	47,69	48,08	43,85	44,23	44,62	40,38	48,08
<i>Chlorella zofingiensis</i> (TAP) PO <sub>4</sub> -P	P <sub>giriş</sub> (mg/L)	32,50	32,50	32,50	32,50	32,50	32,50	32,50	32,50
	P <sub>çıkış</sub> (mg/L)	16,80	15,50	15,80	16,30	16,40	15,40	16,80	17,10
	% P giderimi	48,31	52,31	51,38	49,85	49,54	52,62	48,31	47,38
<i>Botryococcus braunii</i> (mCHU-13) PO <sub>4</sub> -P	P <sub>giriş</sub> (mg/L)	7,20	7,20	7,20	7,20	7,20	7,20	7,20	7,20
	P <sub>çıkış</sub> (mg/L)	1,20	1,10	0,80	1,10	1,00	0,80	0,70	1,30
	% P giderimi	83,33	84,72	88,89	84,72	86,11	88,89	90,28	81,94

Birçok çalışmada hücre içerisine besin alımı için potansiyel kapasitenin mikroalg hücre boyutlarıyla yakından ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. Mavi ve kırmızı renk ise mikroalg hücresi için hayati olan fotosentez olayının gerçekleşmesi ve çeşitli enzimlerin faaliyetlerini sürdürmesi için en uygun renklerdir. Bu yüzden mavi ve kırmızı dalga boylarında diğer dalga boylarına göre daha fazla azot ve fosfor tüketiminin gerçekleştiğini göstermektedir (Kwon *et al.* 2013; Zhao *et al.* 2013).

#### 4.3.4. Fotosentetik enerji verimliliği

Mikroalgal biyokütleden elde edilen enerjinin ortama verilen ışık enerjisine oranı fotosentetik enerji verimliliği olarak ifade edilmektedir. Ayrıca fotosentetik verimlilik ışık enerjisinin kimyasal olarak biyokütle enerjisine dönüşüm oranını göstermektedir. Şekil 4.22'de ve Şekil 4.23'te sırasıyla BBM ve TAP besi ortamlarında farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* mikroalg türünden elde edilen biyokütle enerjisine ve fotosentetik verimlilik grafiğine yer verilmiştir.

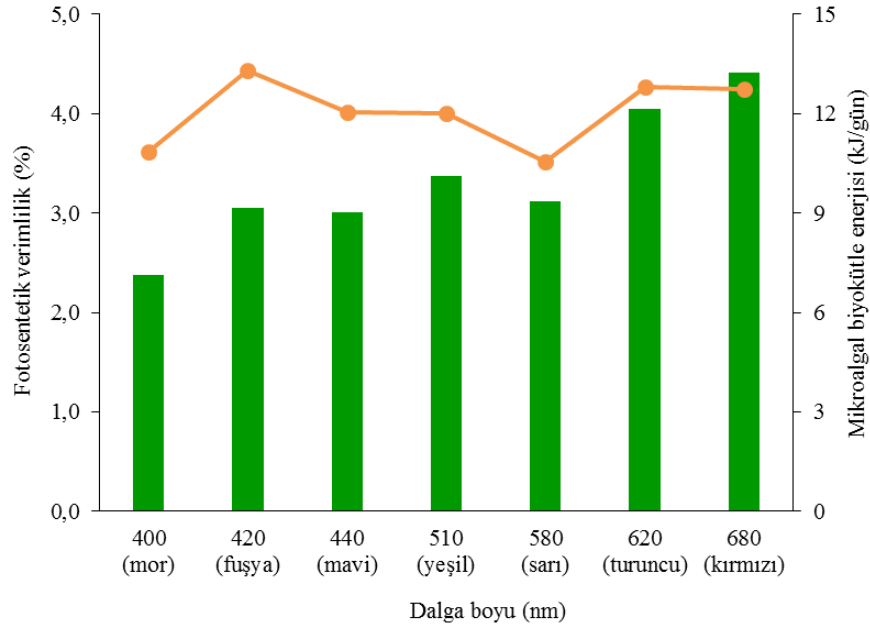


**Şekil 4.22.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (BBM besi ortamı) fotosentetik verimliliği (■) ve mikroalgal biyokütle enerjisi (—)

BBM besi ortamında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türüyle yapılan denemelerden elde edilen sonuçlara göre en yüksek fotosentetik verim sırasıyla 620 ve 680 nm dalga boylarında %1,593 ve %1,535 olarak hesaplanmıştır. Fotosentetik verimliliğin en düşük olduğu dalga boylarının ise sırasıyla 420 nm (%0,758), 510 nm (%0,883) ve 580 nm (%0,945) olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçlar, mikroalgal biyokütleden elde edilen enerji açısından incelendiğinde en yüksek biyokütle enerjisi 5,73 kJ/gün olarak 400 nm dalga

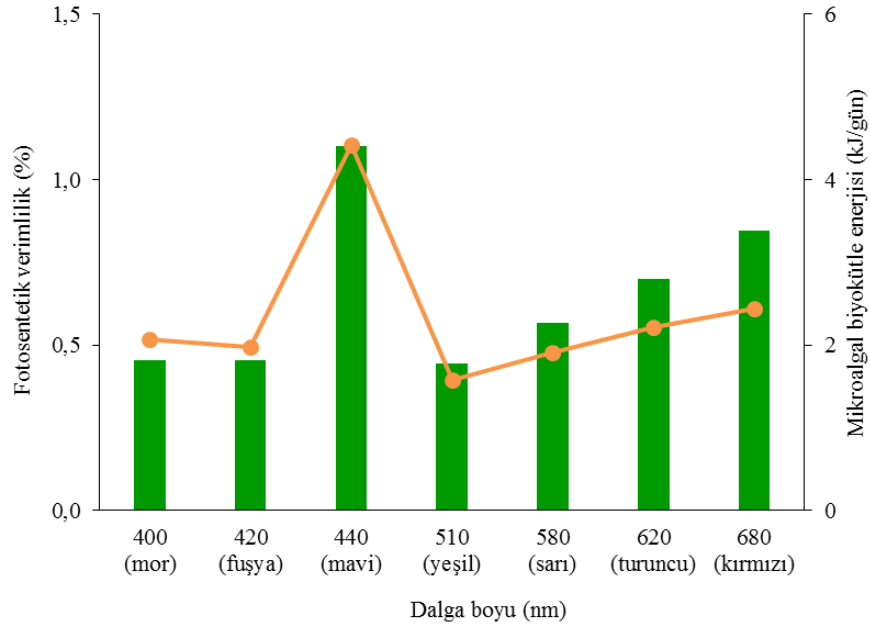


boyunda hesaplanmıştır. En düşük biyokütle enerjisi ise 510 nm ve 580 nm dalga boylarında gözlemlenmiştir.



**Şekil 4.23.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (TAP besi ortamı) fotosentetik verimliliği (■) ve mikroalgal biyokütle enerjisi (—)

*Chlorella zofingiensis* türü ile TAP besi ortamında yapılan denemeler incelendiğinde fotosentetik verimlilik 680 ve 620 dalga boylarında %4,417 ve %4,045 olarak hesaplanmıştır. En düşük fotosentetik verimlilik ise 400 nm dalga boyunda %2,38 olarak belirlenmiştir. En yüksek mikroalgal biyokütle enerjisi 420 nm, 620 nm ve 680 nm dalga boylarında sırasıyla 13,3 kJ/gün, 12,8 kJ/gün ve 12,75 kJ/gün olarak ölçülmüştür. En düşük ise 10,55 kJ/gün olarak 580 nm dalga boyunda gözlemlenmiştir.



**Şekil 4.24.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Botryococcus braunii* türünün (mCHU-13 besi ortamı) fotosentetik verimliliği (■) ve mikroalgal biyokütle enerjisi (—)

mCHU-13 besi ortamında *Botryococcus braunii* türü ile farklı dalga boylarında yapılan denemelerden elde edilen fotosentetik verimlilik ve mikroalgal biyokütle enerjisi sonuçlarına Şekil 4.24'te yer verilmiştir. En yüksek fotosentetik verimlilik (%1,102) ve mikroalgal biyokütle enerjisi (4,414 kJ/gün) 440 nm dalga boyunda elde edilmiştir. 510 nm dalga boyunda en düşük fotosentetik verimlilik (%0,444) ve mikroalgal biyokütle enerjisi (1,584 kJ/gün) gözlemlenmiştir.

Farklı dalga boylarına ait fotosentetik enerji değerleri ve bu dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* türlerine ait mikroalgal biyokütle enerjisi ve fotosentetik verimlilik değerlerinin sayısal sonuçlarına Çizelge 4.7'de yer verilmiştir. Farklı ışık akılarında fotosentetik verimliliğin incelendiği *Chlorella zofingiensis* türü ile yapılan bir çalışmada %1,87 ve %3,12 arasında fotosentetik verimlilik elde edilmiştir. Ayrıca aynı tür ile yapılan farklı çalışmalarda %13,8'e kadar ulaşıldığı ifade edilmiştir (Imaizumi *et al.* 2016). *Botryococcus braunii* türü ile farklı dalga boylarında LED ışık ile biyokütle üretimini ve enerji tüketimini inceleyen bir çalışma, mavi rengin (132 mg biyokütle/mL·\$) diğer renklere göre ekonomik yönden

daha verimli olduğunu belirtmiştir. Ayrıca mavi LED ile floresan lambaya (mavi LED: 2,1 g/W, floresan lamba: 0,17 g/W) göre 12 kat daha fazla enerji verimliliği elde etmiştir. (Okumura *et al.* 2015). Aynı tür ile yapılan başka bir çalışmada ise sırasıyla mavi, yeşil ve kırmızı renklerin fotosentetik enerji verimliliği açısından daha etkili olduğu bildirilmiştir (Baba *et al.* 2012). *Chlorella sorokiniana* türü ile beyaz ışık kullanılarak yapılan bir çalışmada 0,80 g biyokütle/mol foton dönüşüm oranı elde edilmiştir (Kliphuis *et al.* 2010). Işık kaynağı olarak güneşten faydalanılan ve *Scenedesmus dimorphus* türü ile yapılan bir çalışmada ise %8,3 fotosentetik verimlilik sağlandığı belirtilmiştir (Wang *et al.* 2015). Laboratuvar ölçeğinde yetiştirilen mikroalgler (%3), tarlada yetiştirilen bitkilerin (%0,2-1) çoğundan daha yüksek bir fotosentetik verimliliğe sahiptir. Ancak büyük ölçekte yetiştiricilik yapıldığında bu değer, %0,5-1 civarına düşmektedir (Perin *et al.* 2019). Özellikle uzun süreli yetiştiricilikte fotosentetik verimliliğin %6,5'u aşmadığı, ancak (yanıp sönen LED'ler veya biyofilm gibi) bazı özel şartlar altında %17'lik maksimum fotosentetik verimlilik elde edildiği bildirilmiştir (Carvalho *et al.* 2011; Schulze *et al.* 2014).

**Çizelge 4.7.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerin fosforlu madde giderim verimleri

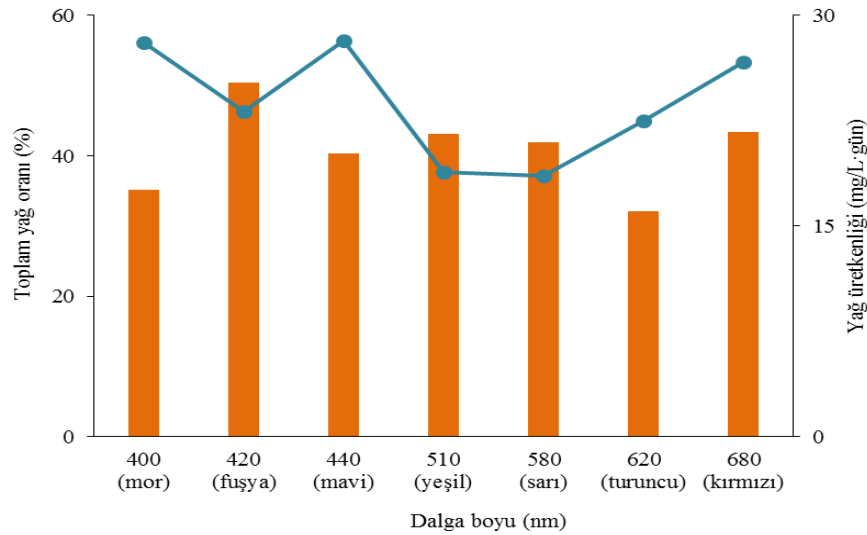
Mikroalg türü (Besi yeri)	Parametre	Mor (400 nm)	Fuşya (420 nm)	Mavi (440 nm)	Yeşil (510 nm)	Sarı (580 nm)	Turuncu (620 nm)	Kırmızı (680 nm)
	E <sub>i</sub> (kJ/gün)	456,245	435,967	400,378	356,701	338,251	316,428	288,508
<i>Chlorella zofingiensis</i> (BBM)	E <sub>o</sub> (kJ/gün)	5,733	3,303	5,031	3,150	3,195	5,040	4,428
	% FV	1,257	0,758	1,257	0,883	0,945	1,593	1,535
<i>Chlorella zofingiensis</i> (TAP)	E <sub>o</sub> (kJ/gün)	10,854	13,302	12,060	12,024	10,548	12,798	12,744
	% FV	2,379	3,051	3,012	3,371	3,118	4,045	4,417
<i>Botryococcus braunii</i> (mCHU-13)	E <sub>o</sub> (kJ/gün)	2,066	1,980	4,414	1,584	1,915	2,218	2,441
	% FV	0,453	0,454	1,102	0,444	0,566	0,701	0,846

\*E<sub>i</sub>: fotosentetik enerji, E<sub>o</sub>: mikroalgal biyokütle enerjisi, % FV: fotosentetik verimlilik

#### 4.3.5. Yağ üretkenliği

Mikroalgal biyokütle üretiminden sonra elde edilen biyokütlenin biyodizel gibi bir enerji kaynağı amacıyla kullanılabilmesi için hücrenin toplam yağ oranı ve yağ

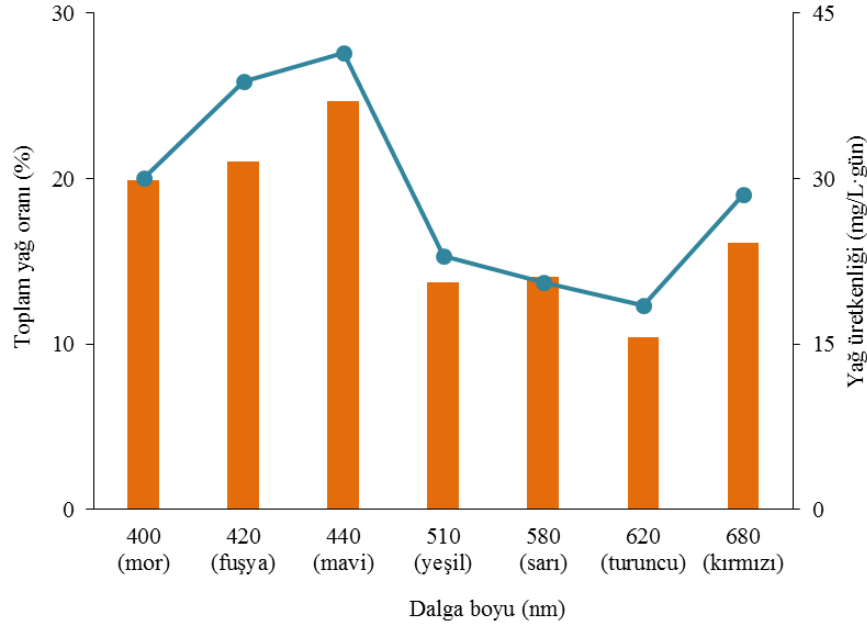
üretkenliği en önemli parametreler arasındadır. Mikroalglerin farklı dalga boylarında yağ üretimi üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla LED ışık sistemi ile  $175 \mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında 16:8 aydınlık:karanlık oranında mor, fuşya, mavi, yeşil, sarı, turuncu ve kırmızı dalga boylarındaki ışık fotobiyoreaktör yüzeyine verilmiştir. Sistem  $25^\circ\text{C}$  sıcaklıkta, pH 7’de ve 1 vvm hava debisinde işletilmiştir.  $\text{CO}_2$  gazı kullanılarak pH değerinin sabit tutulması sağlanmıştır. Şekil 4.25’te ve Şekil 4.26’da *Chlorella zofingiensis* türünün sırasıyla BBM ve TAP besi ortamlarında farklı ışık akılarındaki toplam yağ oranları ve yağ üretkenliğine yer verilmiştir. BBM besi ortamında en yüksek yağ oranı sırasıyla 420 nm (fuşya) ve 680 nm (kırmızı) ve 510 nm (yeşil) dalga boylarında %50,45, %43,33 ve %43,10 olarak ölçülmüştür. En düşük yağ oranı ise 620 nm (turuncu) dalga boyunda %32,10 olarak bulunmuştur. Yağ üretimi açısından en yüksek yağ üretkenliği 400 nm (mor) ve 440 nm (mavi) dalga boylarında yaklaşık 28 mg/L·gün olarak hesaplanmıştır. En düşük yağ üretkenliği ise 510 nm (yeşil) ve 580 nm (sarı) dalga boylarında 18,85 mg/L·gün ve 18,6 mg/L·gün olarak gerçekleşmiştir.



**Şekil 4.25.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (BBM besi ortamı) toplam yağ oranı (■) ve yağ üretkenliği (—)

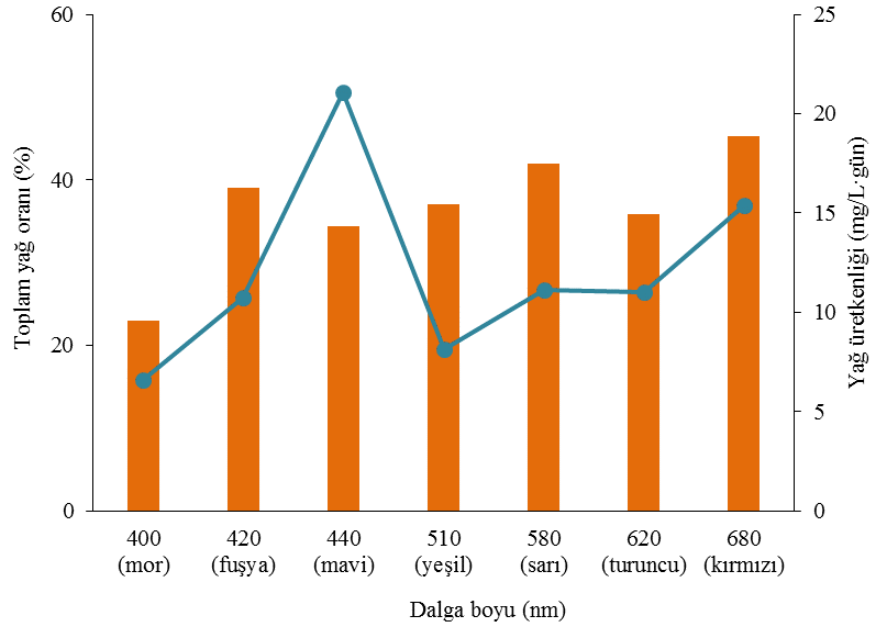
TAP besi ortamında ise en yüksek yağ oranı sırasıyla %24,71 ile 440 nm (mavi) ve %21,01 ile 420 nm (fuşya) dalga boylarında yetiştirilen mikroalglerden elde edilmiştir. En düşük yağ oranı ise 620 nm (turuncu) dalga boyunda %10,40 olarak ölçülmüştür.

Yağ üretkenliği de yağ oranına benzer şekilde en yüksek 41,39 mg/L·gün ile 440 nm (mavi) ve 38,81 mg/L·gün ile 420 nm (fuşya) dalga boylarında gerçekleşmiştir. En düşük olarak yağ üretimi ise 18,45 mg/L·gün olarak 620 nm (turuncu) dalga boyunda hesaplanmıştır.



**Şekil 4.26.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türünün (TAP besi ortamı) toplam yağ oranı (■) ve yağ üretkenliği (—)

Şekil 4.27’de mCHU-13 besi ortamında farklı dalga boylarında yetiştirilen *Botryococcus braunii* türüne ait yağ oranlarına ve yağ üretkenliğine yer verilmiştir. En yüksek yağ oranı %45,35 ve %41,90 olarak 680 nm (kırmızı) ve 580 nm (sarı) dalga boylarında gözlemlenmiştir. En düşük yağ oranı ise 400 nm (mor) dalga boyunda %23,0 olarak ölçülmüştür. Yağ üretkenliği açısından en yüksek yağ üretimi 21,05 mg/L·gün 440 nm (mavi) ve 15,37 mg/L·gün 680 nm (kırmızı) dalga boylarında gerçekleşmiştir. En düşük yağ üretimi ise 400 nm (mor) dalga boyunda 6,58 mg/L·gün olarak hesaplanmıştır.



**Şekil 4.27.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Botryococcus braunii* türünün (mCHU-13 besi ortamı) toplam yağ oranı (■) ve yağ üretkenliği (—)

Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* türlerine ait toplam yağ oranları ve günlük yağ üretkenliği sayısal sonuçlarına Çizelge 4.8'de yer verilmiştir. Farklı dalga boylarında *Chlorella zofingiensis* türü kullanılarak yapılan bir çalışmada en yüksek yağ üretimi mavi ışık altında elde edilmiştir (Sudibyo *et al.* 2017). Beyaz renk kullanılarak aynı tür ile yapılan bir çalışmada %43,2 yağ oranı ve 251 mg/L·gün yağ üretkenliği bildirilmiştir (Breuer *et al.* 2012). *Botryococcus braunii* türü kullanılarak yapılan çalışmada ise en fazla yağ üretimi kırmızı ve mavi ışıkta gözlemlenirken, özellikle kırmızı ışığın yenilenebilir bir enerji kaynağı olarak hidrokarbonların üretimi için en etkili ve faydalı ışık kaynağı olduğu belirtilmiştir (Baba *et al.* 2012). *Botryococcus braunii* türü ile beyaz ışık kullanılan bir çalışmada %33,32 yağ oranı ölçülmüştür (Ruangsomboon 2012). *Chlorella vulgaris* türü ile floresan lamba ve mavi LED kullanılarak yapılan bir çalışmada sırasıyla %18,5 ve %23,5 oranında yağ elde edilmiştir (Atta *et al.* 2013). Farklı dalga boylarında yağ üretiminin incelendiği ve *Chlorella sp.* ve *Saccharomyces cerevisiae* türlerinin birlikte karışık kültür olarak kullanıldığı bir çalışmada en fazla yağ üretiminin 7,40 mg/L·gün ile kırmızı renk altında daha fazla mikroalgal büyümenin gerçekleştiği gözlemlenmiştir (Shu *et al.* 2012). *Nannochloropsis sp.* ve *Tetraselmis sp.* türleri kullanılarak yapılan başka bir çalışmada

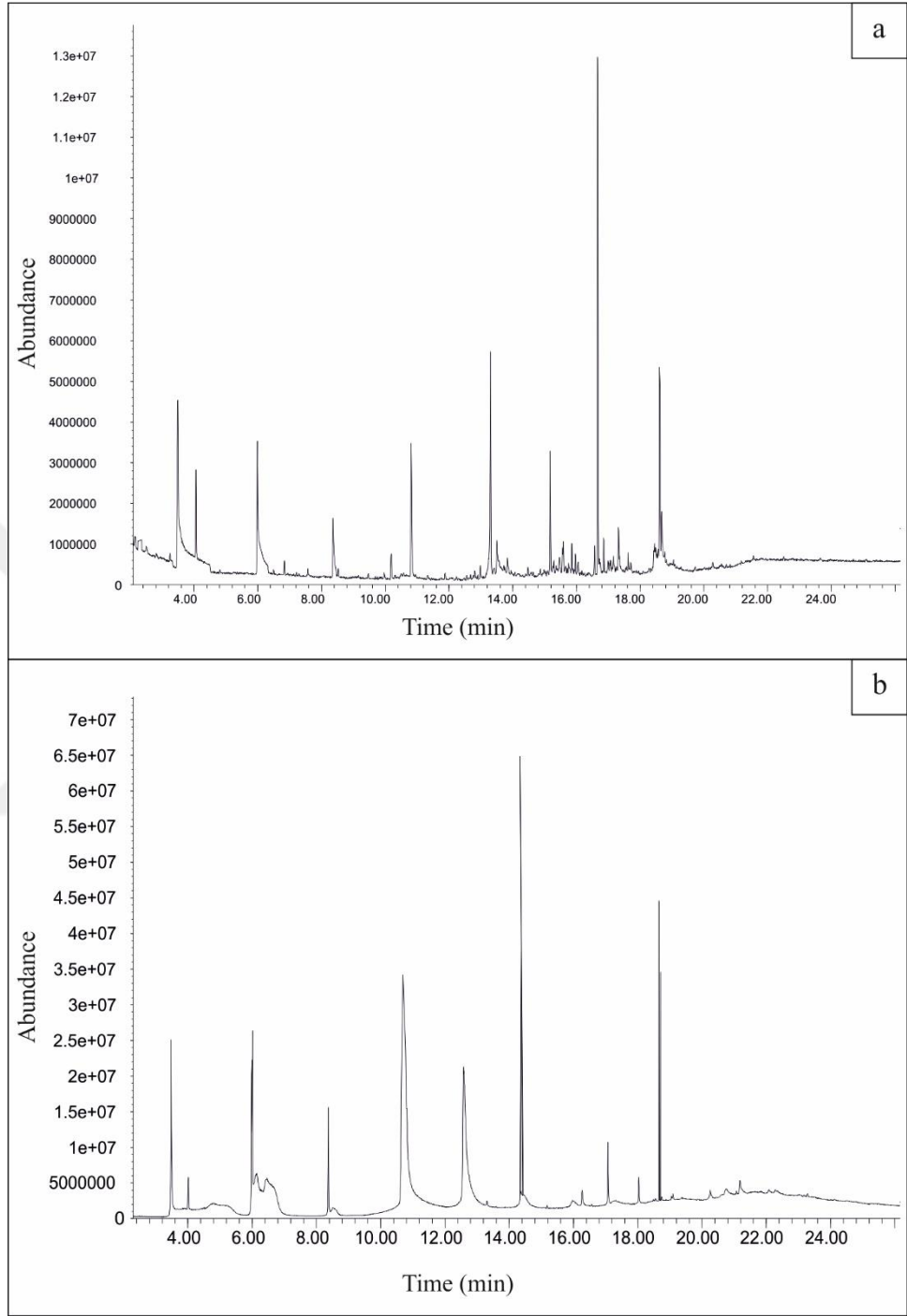
ise her iki tür içinde 457 nm (mavi) dalga boyundaki ışıktaki daha yüksek yağ oranı ölçülmüştür (Teo *et al.* 2014). *Nannochloropsis sp.* türü ile yapılan başka bir çalışmada da ise en yüksek yağ oranı yeşil ışık altında %15,11 olarak bulunmuştur (Das *et al.* 2011). Mavi ve kırmızı ışık diğer dalga boylarına göre daha fazla yağ birikimine neden olmaktadır. Genel olarak çoğu mikroalg türü için mavi ışık altında CO<sub>2</sub> absorpsiyon oranının yükseldiği ve enzim aktivitesinin artarak daha fazla trigliserit birikimine neden olduğu raporlanmıştır (Shu *et al.* 2012).

**Çizelge 4.8.** Farklı dalga boylarında yetiştirilen mikroalgelere ait toplam yağ oranları ve günlük yağ üretkenliği

Mikroalg türü (Besi yeri)	Parametre	Mor (400 nm)	Fuşya (420 nm)	Mavi (440 nm)	Yeşil (510 nm)	Sarı (580 nm)	Turuncu (620 nm)	Kırmızı (680 nm)
<i>Chlorella zofingiensis</i> (BBM)	% Toplam yağ	35,22	50,45	40,40	43,10	41,90	32,09	43,33
	P <sub>yağ</sub> (mg/L·gün)	28,04	23,15	28,23	18,86	18,60	22,46	26,65
<i>Chlorella zofingiensis</i> (TAP)	% Toplam yağ	19,92	21,01	24,71	13,76	14,08	10,39	16,14
	P <sub>yağ</sub> (mg/L·gün)	30,03	38,81	41,39	22,98	20,62	18,47	28,57
<i>Botryococcus braunii</i> (mCHU-13)	% Toplam yağ	22,96	39,02	34,35	37,12	41,90	35,82	45,35
	P <sub>yağ</sub> (mg/L·gün)	6,59	10,73	21,06	8,17	11,15	11,03	15,37

#### 4.3.6. Toplam yağ asidi ve yağ asidi kompozisyonu

Biyodizel ham maddesi amacıyla mikroalg biyokütle üretiminde yağ oranı ve günlük yağ üretiminin yanı sıra elde edilen bu yağın içeriği de büyük bir önem arz etmektedir. Yağ asidi profillerinin belirlenmesi amacıyla en fazla yağ üretiminin olduğu dalga boylarındaki yağlar kullanılmıştır. Buna göre, *Chlorella zofingiensis* türü için TAP besi ortamında ve *Botryococcus braunii* türü için mCHU-13 besi ortamında 440 nm dalga boylarında elde edilen yağ asitleri metil esterlerine dönüştürülerek GC-MS cihazında analiz edilmiş ve Şekil 4.28’de gösterilen kromatogramlar elde edilmiştir. Çizelge 4.9’da mikroalgelere ait yağ asidi metil esterleri içeriğine ve doymuş yağ asitleri (DYA), tekli doymamış yağ asitleri (TDYA) ve çoklu doymamış yağ asitlerinin (ÇDYA) kütle oranlarına yer verilmiştir.



Şekil 4.28. Mikroalglerden elde edilen yağ asidi metil esterlerine ait GC-MS kromatogramları a) *Chlorella zofingiensis*, b) *Botryococcus braunii*



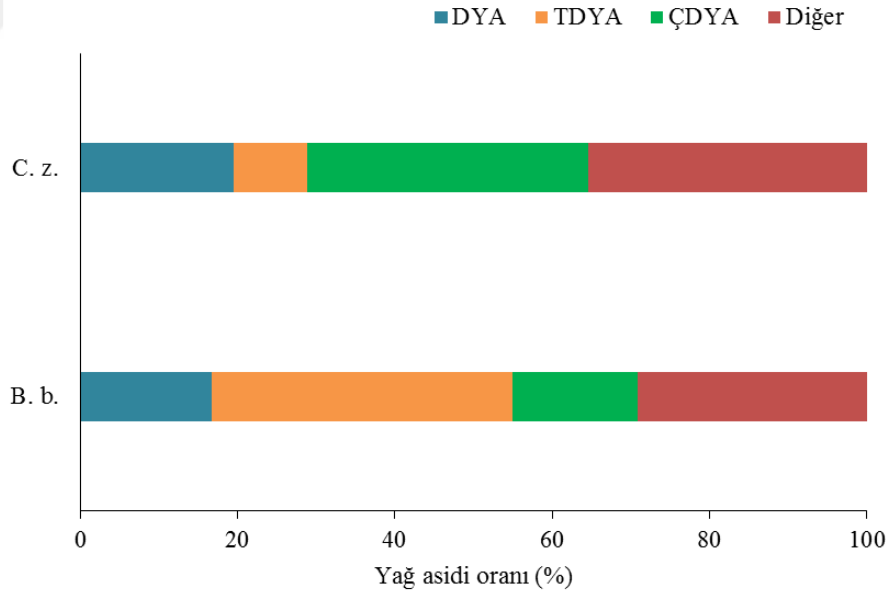
**Çizelge 4.9.** Mikroalgelere ait yağ asidi metil esterleri profilleri

Yağ asidi	C:D	Birim	<i>C. zofingiensis</i>	<i>B. braunii</i>
Milistik asit	C14:0	%	2,15	2,70
Palmitik asit	C16:0	%	5,00	8,11
Stearik asit	C18:0	%	5,36	4,00
Araşidik asit	C20:0	%	6,96	1,90
Miristoleik asit	C14:1	%	2,54	2,17
Palmitoleik asit	C16:1	%	5,94	3,84
Oleik asit	C18:1	%	0,89	31,05
Gadoleik Asit	C20:1	%	-	1,14
Linoleik asit	C18:2	%	30,05	-
Linolenik asit	C18:3	%	5,74	12,32
Araşidonik asit	C20:4	%	-	1,41
Eikosapentaenoik asit	C20:5	%	-	1,45
	<b>DYA</b>	<b>%</b>	<b>19,46</b>	<b>16,72</b>
	<b>TDYA</b>	<b>%</b>	<b>9,37</b>	<b>38,20</b>
	<b>ÇDYA</b>	<b>%</b>	<b>35,79</b>	<b>15,99</b>
	<b>Toplam YAME</b>	<b>%</b>	<b>64,62</b>	<b>70,90</b>

*Chlorella zofingiensis* türü için en yüksek %30,05 linoleik asit ve %6,96 araşidik asit, *Botryococcus braunii* türü için ise en yüksek %31,05 oleik asit ve %12,32 linolenik asit elde edilmiştir. Her iki türden elde edilen doymamış yağ asidinin doymuş yağ asitlerinden daha yüksek oranda olduğu gözlemlenmiştir. *Chlorella zofingiensis* türü ile yapılan bir çalışmada %58 oranında çoklu doymamış yağ asidi elde edilmiştir. En yüksek %20 linoleik asit, %18 linolenik asit %18 oleik asit ve %18 palmitik asit ölçülmüştür (Breuer *et al.* 2012). Aynı tür ile yapılan başka bir çalışmada, %35,23 oranında çoklu doymamış yağ asidi, %63,45 oranında doymuş ve tekli doymamış yağ asidi elde edildiği bildirilmiştir (Zhu *et al.* 2014). *Botryococcus braunii* türü ile yapılan bir çalışmada, en yüksek sırasıyla oleik, palmitik ve linolenik asit gözlemlenmiştir (Sydney *et al.* 2011). Başka bir çalışmada başlıca %76,29 oleik asit ve %7,17 palmitik asit ölçülmüştür (Nascimento *et al.* 2013). Aynı tür ile yapılan başka bir çalışmada

%26,50 palmitik asit, %25,78 oleik asit, %13,97 linolenik asit ve %10,45 linoleik asit elde edilmiştir (Zhila *et al.* 2011).

Önceki çalışmalar, biyodizeldeki oksidatif stabilite ve soğuk akış sorunlarını azaltmak için düşük seviyelerde doymuş yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitleri içermesi gerektiğini ortaya koymuştur (Knothe 2008; Hoekman *et al.* 2012). Bu nedenle, tekli doymamış yağ asitleri, oksidatif stabilite ve soğuk akış problemleri için en iyi sonucu vermektedir (Ma *et al.* 2014). Biyodizel üretiminde en uygun yağ asitlerinin C16:0 (palmitik asit), C18:0 (stearik asit), C18:1 (oleik asit), C18:2 (linoleik asit) ve C18:3 (linolenik asit) başta olmak üzere C16-C18 yağ asitleri olduğu yönünde ortak bir görüş oluşmuştur (Knothe 2008; Ma *et al.* 2014; Sajjadi *et al.* 2016). Mikroalglerden elde edilen doymuş yağ asitleri (DYA), tekli doymamış yağ asitleri (TDYA) ve çoklu doymamış yağ asitlerinin (ÇDYA) kütle oranları Şekil 4.29'da gösterilmiştir.



**Şekil 4.29.** Mikroalglerden elde edilen yağ asidi oranları

#### 4.3.7. Mikroalgal biyodizel özellikleri

Biyodizel özelliklerinin belirlenmesi için günlük yağ üretiminin en yüksek olduğu *Chlorella zofingiensis* türü için TAP besi yeri ve *Botryococcus braunii* türü için mCHU-13 besi yerinde, 175  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında, 16:8 aydınlık:karanlık oranında ve 440 nm dalga boyunda yetiştirilen mikroalglerden elde edilen yağ asitlerinin kütsel oranları ve doymamışlık dereceleri kullanılmıştır. Çizelge 4.10'da optimum şartlarda yetiştirilen mikroalglerden elde edilen yağ asitleri kullanılarak öngörülen biyodizel özelliklerine ve ASTM ve AB biyodizel standartlarına (Atabani *et al.* 2012) yer verilmiştir. Biyodizel özellikleri, mikroalgal biyodizel kalitesinin belirlenmesinde sıklıkla tercih edilen Hoekman ve arkadaşları (2012) tarafından geliştirilen modelden faydalanılmıştır (Hoekman *et al.* 2012).

**Çizelge 4.10.** Mikroalglerden elde edilen yağlara ait biyodizel özellikleri

Özellik	Birim	<i>C. zofingiensis</i>	<i>B. braunii</i>	ASTM <sup>1</sup>	AB <sup>2</sup>
Kinematik viskozite	$\text{mm}^2\cdot\text{s}^{-1}$	4,659	4,630	<b>1,9 - 6,0</b>	<b>3,5 - 5,0</b>
Yoğunluk	$\text{kg/cm}^3$	0,877	0,878	<b>0,875 - 0,9</b>	<b>0,86 - 0,9</b>
Bulutlanma noktası	$^{\circ}\text{C}$	8,416	7,801	-	-
Setan sayısı	-	57,095	56,788	$\geq 47$	$\geq 51$
İyot değeri	$\text{g}\cdot\text{I}_2/100\text{ g}$	77,184	80,606	-	$\leq 120$
Isıl değer	$\text{MJ/kg}$	40,060	40,141	-	$\geq 35$
ODD	-	0,867	0,913	-	-
UZDF	-	10,138	4,713	-	-
SFTN	$^{\circ}\text{C}$	15,374	-1,671	$\leq 19$	$\leq 5$

<sup>1</sup> Amerikan Test ve Malzemeler Topluluğu D 6751-07b biyodizel standart değerleri

<sup>2</sup> Avrupa Birliği EN 14214:2008 biyodizel standart değerleri

Her iki mikroalg türünden elde edilen sonuçlara göre yoğunluk değerleri, biyodizel standartlarını karşılamaktadır. Yakıt yoğunluğu, motor performansını etkileyen temel özelliktir. Yakıt enjeksiyonunun yakıtı kütle olarak değil, hacimle ölçmesi; yoğunluğuna bağlı olarak daha fazla veya daha az miktarda yakıt enjekte edilmesine neden olmaktadır. Bu nedenle, yanma odası içindeki hava-yakıt oranı ve enerji içeriği

yakıt yoğunluğundan doğrudan etkilenir. Yağ asitlerinin yüksek doymamışlık derecesi, yakıt yoğunluğunu artırırken; yüksek zincir uzunluğu ise yoğunluğun düşmesine neden olmaktadır (Hoekman *et al.* 2012).

Yüksek viskoziteye sahip bir yakıt, havayla daha yavaş karıştığı için zayıf yanma, egzoz dumanı ve emisyon sorunlarına neden olmaktadır. Öte yandan, düşük viskoziteli bir yakıt ise yakıt enjeksiyon pompalarının doğru çalışması için yeterli yağlama sağlayamaz, bu da artan aşınma ve sızıntıya neden olur. Bu yüzden viskozite değeri için alt ve üst sınır değerler belirlenmiştir (Sajjadi *et al.* 2016). Çizelge 4.10'da gösterilen viskozite değerlerinin ASTM ve AB biyodizel standartlarında belirtilen aralığa uygun olduğu görülmektedir.

Setan sayısı, sınır değerlerin üzerindedir. Yüksek setan sayısı, daha iyi yanma, düşük nitröz oksit ( $N_2O$ ) emisyonu, daha az vuruntu ve daha kolay motor çalışması için önemli bir yakıt özelliklerinden biridir (Abomohra *et al.* 2016). Her iki mikroalg türü için hesaplanan iyot değeri, 120 g  $I_2/100$  g'dan daha düşük bulunmuştur. Dolayısıyla AB biyodizel standartlarına uygundur. Yüksek iyot değeri, gliseritlerin polimerleşmesine ve motorda yağlayıcı madde birikmesine neden olabilmektedir (Francisco *et al.* 2010).

Yüksek oksijen içeriği nedeniyle, biyodizel petrol dizelinden daha düşük kütle enerjisine sahiptir. Isıl değer, yakıt moleküllerindeki karbon atomlarının sayısı ile (zincir uzunluğu) ve karbon ve hidrojenin nitrojene ve oksijene oranıyla artmaktadır (Sajjadi *et al.* 2016). Bu özellik, yakıtın enerji içeriğini dolayısıyla verimini ortaya koymaktadır. Çalışmada elde edilen ısıl değer sonuçları, AB biyodizel standartlarında belirtilen sınır değeri 35 MJ/kg'ın üstündedir.

Doymuş yağ asitlerinin erime noktası, doymamış yağ asitlerinin erime noktasından her zaman daha yüksektir. Biyodizel, palmitik ve stearik asit gibi doymuş yağ asidi ester molekülleri bakımından zengin olduğunda, motorun normal çalışma aralığı içindeki sıcaklıklarda kristalleşme oluşabilir; bu durum soğuk filtre tıkanma noktası (STFN)

özelliğinin zayıf olmasına neden olur (Francisco *et al.* 2010). Doymuş yağ asitlerinin yüksek oranda bulunması özellikle soğuk hava şartlarında biyodizelin akışkanlığını olumsuz yönde etkiler. Çünkü sıvı biyodizel soğutulduğunda ilk önce doymuş yağ asitleri çöker (Knothe 2008). Her iki mikroalg türü için hesaplanan STFN değerleri, ASTM biyodizel standartlarına uygundur, ancak *Chlorella zofingiensis* türünden elde edilen biyodizel AB standartlarını sağlamamaktadır. *Chlorella zofingiensis* türü için 15,37°C ve *Botryococcus braunii* için -1,67°C'nin altındaki sıcaklıklar biyodizelin tek başına kullanımı için uygun değildir. Bu gibi durumlarda genellikle farklı oranlarda petrol dizeli ile biyodizel karıştırılarak daha düşük sıcaklıklarda da biyodizel yakıtının kullanılması sağlanmaktadır.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Mikroalg yetiştiriciliğinde fototrofik ortam şartları için belirleyici parametrelerden birisi olan ışık tüm yönleriyle incelenmiştir. Kabarcıklı kolon reaktörde, yüksek verimli LED teknolojisi kullanılarak tasarlanan ışık ceketi kullanılarak ışık farklı şiddeti, aydınlık:karanlık oranı ve dalga boylarının etkisi; mikroalg biyokütle üretimi, özgül üreme hızı, fotosentetik pigment üretimi, nutrient tüketimi, yağ üretkenliği, yağ asidi profili ve fotosentetik enerji verimliliği değerlendirilerek belirlenmiştir.

Mikroalg türü olarak mCHU-13 besi ortamında yetiştirilen *Botryococcus braunii* türü ve BBM ve TAP besi ortamlarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* türü, 60, 175, 300 ve 450  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında 4 farklı ışık şiddeti, 12:12, 16:8 ve 24:0 olmak üzere 3 farklı aydınlık:karanlık oranı ve 400 (mor), 420 (fuşya), 440 (mavi), 510 (yeşil), 580 (sarı), 620 (turuncu) ve 680 (kırmızı) nm dalga boylarında ve beyaz ışıkta 8 farklı dalga boyunda incelenmiştir.

1. Farklı ışık akılarında yapılan denemelerden elde edilen sonuçlara göre en yüksek biyokütle üretimi her iki mikroalg türü için de 175  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısında ve 16:8 aydınlık:karanlık oranında gözlemlenmiştir. Biyokütle üretimi *Chlorella zofingiensis* türü için TAP besi ortamında 177 mg/L·gün ve BBM besi ortamında 56,12 mg/L·gün iken *Botryococcus braunii* türü için ise mCHU-13 besi ortamında 32,9 mg/L·gün olarak hesaplanmıştır. *Chlorella zofingiensis* türü ile yapılan denemelerde daha yüksek ışık akılarında 6. günden sonra büyümenin azaldığı ve sarı renk oluşumunun meydana geldiği gözlemlenmiştir. *Botryococcus braunii* türünde ise daha yüksek ışık akılarında da yakın büyüme hızları elde edilmiştir.

2. Farklı dalga boylarında yetiştirilen *Chlorella zofingiensis* en yüksek özgül üreme hızı 680 nm dalga boyunda BBM besi ortamı için 0,234 gün<sup>-1</sup> ve TAP besi ortamında 0,543 gün<sup>-1</sup> olarak ölçülmüştür. *Botryococcus braunii* için ise mCHU-13 besi ortamında en yüksek özgül üreme hızı 0,518 gün<sup>-1</sup> olarak 440 nm dalga boyunda elde edilmiştir.

3. Fotosentetik pigment üretimi, *Chlorella zofingiensis* türü için 620-680 nm ve *Botryococcus braunii* türü için 420-440 nm aralığında diğer dalga boylarına göre daha

fazla gerçekleşmiştir. En yüksek toplam klorofil miktarı *Chlorella zofingiensis* türü için BBM besi ortamında 680 nm dalga boyunda 7,522 µg/mL ve TAP besi ortamında 2,624 µg/mL iken *Botryococcus braunii* için ise 440 nm dalga boyunda 6,525 µg/mL olarak ölçülmüştür. Toplam karotenoid miktarı ise en yüksek *Chlorella zofingiensis* türü BBM besi ortamında 620 nm dalga boyunda 1,892 µg/mL ve TAP besi ortamında 680 nm dalga boyunda 1,368 µg/mL iken *Botryococcus braunii* türü için ise mCHU-13 besi ortamında 440 nm dalga boyunda 1,676 µg/mL olarak bulunmuştur.

4. *Chlorella zofingiensis* türünün daha düşük dalga boylarında daha yüksek azotlu ve fosforlu madde tüketimi olduğu gözlemlenmiştir. BBM besi ortamında 400 nm dalga boyunda %69,77 iken TAP besi ortamında ise %93,61 azot giderim oranına ulaşılmıştır. Fosforlu madde tüketimi ise en yüksek BBM için 400 nm dalga boyunda %48,46 ve TAP için 620 nm dalga boyunda %52,62 olarak bulunmuştur. *Botryococcus braunii* türü de benzer şekilde düşük dalga boylarında daha yüksek azot ve fosfor giderim verimine sahiptir. 440 nm dalga boyunda %79,63 azotlu madde giderimi ve %88,89 fosforlu madde giderim verimi elde edilmiştir.

5. *Chlorella zofingiensis* türünde en yüksek fotosentetik enerji verimi BBM besi ortamında 620 nm dalga boyunda %1,593 ve TAP besi ortamında 680 nm dalga boyunda %4,417 iken *Botryococcus braunii* türü için ise 440 nm dalga boyunda %1,102 olarak hesaplanmıştır. *Chlorella zofingiensis* türü BBM besi ortamında 620 nm dalga boyunda 420 nm dalga boyuna göre 2,1 kat, TAP besi ortamında ise 680 nm dalga boyunda 400 nm dalga boyuna göre 1,85 kat daha yüksek fotosentetik enerji verimliliği hesaplanmıştır. *Botryococcus braunii* türü için ise 680 nm dalga boyunda 510 nm dalga boyuna göre 1,9 kat daha fazla fotosentetik enerji verimliliği elde edilmiştir.

6. Farklı dalga boylarında yapılan denemelerde *Chlorella zofingiensis* türü BBM besi ortamında en düşük yağ oranı 620 nm dalga boyunda %32,09 iken en yüksek yağ oranı 420 nm dalga boyunda %50,45 olarak ölçülmüştür. TAP besi ortamında ise en düşük yağ oranı 620 nm dalga boyunda %10,39 iken en yüksek yağ oranı 400 nm dalga boyunda %25,78 bulunmuştur. *Botryococcus braunii* türünde ise en düşük yağ oranı 400 nm dalga boyunda %22,96 ve en yüksek yağ oranı 680 nm dalga boyunda %45,35 olarak hesaplanmıştır.

7. *Chlorella zofingiensis* türü ile BBM besi ortamında en yüksek günlük yağ üretimi 440 nm dalga boyunda 28,23 mg/L·gün iken TAP besi ortamında 41,39 mg/L·gün

olarak bulunmuştur. *Botryococcus braunii* türünde ise en yüksek 440 nm dalga boyunda 21,06 mg/L·gün yağ elde edilmiştir. Günlük yağ üretimi dikkate alındığında en düşük üretim miktarlarına göre *Chlorella zofingiensis* türü için BBM ve TAP besi ortamlarında ve *Botryococcus braunii* türü için mCHU-13 besi ortamında sırasıyla 1,5 kat, 2,3 kat ve 3,2 kat daha fazla yağ elde edilmiştir.

8. Yağ asidi metil esterleri içeriğini belirlemek için günlük yağ üretiminin en yüksek olduğu şartlarda elde edilen yağlar kullanılmıştır. Buna göre, *Chlorella zofingiensis* türü için TAP besi ortamında (440 nm) en yüksek %30,05 linoleik asit ve %6,96 araşidik asit, *Botryococcus braunii* türü için ise mCHU-13 besi ortamında (440 nm) en yüksek %31,05 oleik asit ve %12,32 linolenik asit elde edilmiştir. Ayrıca bu üç mikroalgal yağdan elde edilen yağ asitlerinin ASTM ve AB tarafından belirlenen biyodizel standardına uygun olduğu belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda 175  $\mu\text{mol-foton/m}^2\cdot\text{s}$  ışık akısı ve 16:8 aydınlık:karanlık oranında en yüksek biyokütle üretimi elde edilmiştir. Biyokütle üretiminde *Chlorella zofingiensis* türü için 620-680 nm dalga boylarının, *Botryococcus braunii* türü için ise 420-460 nm dalga boylarının etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuçlar, yağ üretim verimliliği açısından değerlendirildiğinde ise her iki mikroalg türü için düşük ışık tayfının (420-460 nm) daha etkin olduğu gözlemlenmiştir.

Biyodizel ham maddesi olarak kullanmak üzere *Chlorella zofingiensis* ve *Botryococcus braunii* türlerinin her ikisinin de uygun olduğu görülmüştür. Kış şartları açısından değerlendirildiğinde ise *Botryococcus braunii* türünden elde edilen biyodizelin kullanılması önerilmektedir. Ayrıca laboratuvar ölçekli kabarcıklı kolon fotobiyoreaktörde gerçekleştirilen çalışmaların daha geniş ölçekteki mikroalg üretim tesislerinin kurulmasına ışık tutacağı düşünülmektedir.



**KAYNAKLAR**

- Abomohra, A. E.-F., Jin, W., Tu, R., Han, S.-F., Eid, M., & Eladel, H. 2016. Microalgal biomass production as a sustainable feedstock for biodiesel: current status and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 64, 596–606.
- Ahmad, A. L., Yasin, N. H. M., Derek, C. J. C., & Lim, J. K. 2011. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(1), 584–593.
- Apak, S., Atay, E., & Tuncer, G. 2017. Renewable hydrogen energy and energy efficiency in Turkey in the 21st century. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(4), 2446–2452.
- Ar, F. F. 2008. Biyoyakıtlar Tehdit mi - Fırsat mı?! *Mühendis ve Makine*, 49(581), 3–9.
- Atabani, A. E., Silitonga, A. S., Badruddin, I. A., Mahlia, T. M. I., Masjuki, H. H., & Mekhilef, S. 2012. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(4), 2070–2093.
- Atta, M., Idris, A., Bukhari, A., & Wahidin, S. 2013. Intensity of blue LED light: a potential stimulus for biomass and lipid content in fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 148, 373–378.
- Aydin, G. 2014. Modeling of energy consumption based on economic and demographic factors: The case of Turkey with projections. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 382–389.
- Azaman, S. N. A., Nagao, N., Yusoff, F. M., Tan, S. W., & Yeap, S. K. 2017. A comparison of the morphological and biochemical characteristics of *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella zofingiensis* cultured under photoautotrophic and mixotrophic conditions. *PeerJ*, 5, e3473.
- Baba, M., Kikuta, F., Suzuki, I., Watanabe, M. M., & Shiraiwa, Y. 2012. Wavelength specificity of growth, photosynthesis, and hydrocarbon production in the oil-producing green alga *Botryococcus braunii*. *Bioresource Technology*, 109, 266–270.
- Barsanti, L., & Gualtieri, P. 2006. Algal culturing. *Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. CRC Press, Boca Ranton, 209–250.
- Bhuiya, M. M. K., Rasul, M. G., Khan, M. M. K., Ashwath, N., Azad, A. K., & Hazrat, M. A. 2016. Prospects of 2nd generation biodiesel as a sustainable fuel—Part 2: Properties, performance and emission characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55, 1129–1146.
- Bischoff, H. W., & Bold, H. C. 1963. Some soil algae from enchanted rocks and related species. University of Texas Publications No. 6318. *Phycol. Stud*, 4, 1–95.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917.
- Boutefas, R., Belkoura, M., & Dauta, A. 2002. Light and temperature effects on the growth rate of three freshwater [2pt] algae isolated from a eutrophic lake. *Hydrobiologia*, 489(1–3), 207–217.
- Bölük, G. 2013. Renewable Energy: Policy Issues and Economic Implications in Turkey. *International Journal of Energy Economics and Policy*, 3(2), 153–167.

- Brennan, L., & Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae—a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 557–577.
- Breuer, G., Lamers, P. P., Martens, D. E., Draaisma, R. B., & Wijffels, R. H. 2012. The impact of nitrogen starvation on the dynamics of triacylglycerol accumulation in nine microalgae strains. *Bioresource Technology*, 124, 217–226.
- Cahill, N., Rahmstorf, S., & Parnell, A. C. 2015. Change points of global temperature. *Environmental Research Letters*, 10.
- Carbon Disclosure Project, 2018. World renewable energy cities. Carbon Disclosure Project, <https://www.cdp.net/en/cities/world-renewable-energy-cities> (29.10.2018).
- Carvalho, A. P., Silva, S. O., Baptista, J. M., & Malcata, F. X. 2011. Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(5), 1275–1288.
- Chen, H.-B., Wu, J.-Y., Wang, C.-F., Fu, C.-C., Shieh, C.-J., Chen, C.-I., Liu, Y.-C. 2010. Modeling on chlorophyll a and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes. *Biochemical Engineering Journal*, 53(1), 52–56.
- Chen, J., Li, J., Dong, W., Zhang, X., Tyagi, R. D., Drogui, P., & Surampalli, R. Y. 2018. The potential of microalgae in biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, 336–346.
- Chen, X., Goh, Q. Y., Tan, W., Hossain, I., Chen, W. N., & Lau, R. 2011. Lumostatic strategy for microalgae cultivation utilizing image analysis and chlorophyll a content as design parameters. *Bioresource Technology*, 102(10), 6005–6012.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294–306.
- Conti, J., Holtberg, P., Diefenderfer, J., LaRose, A., Turnure, J. T., & Westfall, L. 2016. *International Energy Outlook 2016 With Projections to 2040*. Washington: Energy Information Administration.
- Cuming, V., Mills, L., Strahan, D., Boyle, R., Stopforth, K., Latimer, S., & Becker, L. 2015. *Global Trends in Renewable Energy Investment 2015*. Frankfurt School of Finance & Management. Frankfurt.
- Das, P., Lei, W., Aziz, S. S., & Obbard, J. P. 2011. Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light. *Bioresource Technology*, 102(4), 3883–3887.
- de Vree, J. H., Bosma, R., Janssen, M., Barbosa, M. J., & Wijffels, R. H. 2015. Comparison of four outdoor pilot-scale photobioreactors. *Biotechnology for Biofuels*, 8(1), 215.
- Dudley, B. 2018. *BP Statistical Review of World Energy 2018*. British Petroleum Cooperation. London.
- Dutta, K., Daverey, A., & Lin, J. G. 2014. Evolution retrospective for alternative fuels: First to fourth generation. *Renewable Energy*, 69, 114–122.
- EIA, 2018. Biodiesel Production. *International Energy Statistics*, <https://www.eia.gov/beta/international/data/browser/> (7.12.2018).
- Ellabban, O., Abu-Rub, H., & Blaabjerg, F. 2014. Renewable energy resources: Current status, future prospects and their enabling technology. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 39, 748–764.

- Francisco, E. C., Neves, D. B., Jacob-Lopes, E., & Franco, T. T. 2010. Microalgae as feedstock for biodiesel production: carbon dioxide sequestration, lipid production and biofuel quality. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 85(3), 395–403.
- Gardner, R., Peters, P., Peyton, B., & Cooksey, K. E. 2011. Medium pH and nitrate concentration effects on accumulation of triacylglycerol in two members of the chlorophyta. *Journal of Applied Phycology*, 23(6), 1005–1016.
- Ge, Y., Liu, J., & Tian, G. 2011. Growth characteristics of *Botryococcus braunii* 765 under high CO<sub>2</sub> concentration in photobioreactor. *Bioresource Technology*, 102(1), 130–134.
- Ghasemi, Y., Rasoul-Amini, S., Naseri, A. T., Montazeri-Najafabady, N., Mobasher, M. A., & Dabbagh, F. 2012. Microalgae biofuel potentials. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 48(2), 126–144.
- Ghosh, S., Roy, S., & Das, D. 2017. Enhancement in lipid content of *Chlorella* sp. MJ 11/11 from the spent medium of thermophilic biohydrogen production process. *Bioresource technology*, 223, 219–226.
- Goldemberg, J. 2007. Ethanol for a sustainable energy future. *Science*, 315(5813), 808–810.
- Goldman, J. C. 1979. Outdoor algal mass cultures—II. Photosynthetic yield limitations. *Water Research*, 13(2), 119–136.
- Gouveia, J. D., Ruiz, J., van den Broek, L. A. M., Hesselink, T., Peters, S., Kleinegris, D. M. M., Wijffels, R. H. 2017. *Botryococcus braunii* strains compared for biomass productivity, hydrocarbon and carbohydrate content. *Journal of Biotechnology*, 248, 77–86.
- Gouveia, L., & Oliveira, A. C. 2009. Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36(2), 269–274.
- Guiry, G. M., 2019. AlgaeBase. National University of Ireland, <http://www.algaebase.org> (17.10.2019).
- Havlik, I., Lindner, P., Scheper, T., & Reardon, K. F. 2013. On-line monitoring of large cultivations of microalgae and cyanobacteria. *Trends in Biotechnology*, 31(7), 406–414.
- Ho, S. H., Chan, M. C., Liu, C. C., Chen, C. Y., Lee, W. L., Lee, D. J., & Chang, J. S. 2014. Enhancing lutein productivity of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* FSP-3 using light-related strategies. *Bioresource Technology*, 152, 275–282.
- Hoekman, S. K., Broch, A., Robbins, C., Cenicerros, E., & Natarajan, M. 2012. Review of biodiesel composition, properties, and specifications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(1), 143–169.
- IEA. 2016. Key World Energy Statistics 2016. Paris: International Energy Agency.
- Illman, A. M., Scragg, A. H., & Shales, S. W. 2000. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. *Enzyme and Microbial Technology*, 27(8), 631–635.
- Imaizumi, Y., Nagao, N., Yusoff, F. M., Kurosawa, N., Kawasaki, N., & Toda, T. 2016. Lumostatic operation controlled by the optimum light intensity per dry weight for the effective production of *Chlorella zofingiensis* in the high cell density continuous culture. *Algal Research*, 20, 110–117.

- Imaizumi, Y., Nagao, N., Yusoff, F. M., Taguchi, S., & Toda, T. 2014. Estimation of optimum specific light intensity per cell on a high-cell-density continuous culture of *Chlorella zofingiensis* not limited by nutrients or CO<sub>2</sub>. *Bioresource Technology*, 162, 53–59.
- Islam, M. A., Heimann, K., & Brown, R. J. 2017. Microalgae biodiesel: Current status and future needs for engine performance and emissions. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 79, 1160–1170.
- Issariyakul, T., & Dalai, A. K. 2014. Biodiesel from vegetable oils. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 31, 446–471.
- Khalili, A., Najafpour, G. D., Amini, G., & Samkhaniani, F. 2015. Influence of nutrients and LED light intensities on biomass production of microalgae *Chlorella vulgaris*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 20(2), 284–290.
- Khoeyi, Z. A., Seyfabadi, J., & Ramezanzpour, Z. 2012. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Aquaculture International*, 20(1), 41–49.
- Kim, C. W., Sung, M.-G., Nam, K., Moon, M., Kwon, J.-H., & Yang, J.-W. 2014. Effect of monochromatic illumination on lipid accumulation of *Nannochloropsis gaditana* under continuous cultivation. *Bioresource Technology*, 159, 30–35.
- Kitaya, Y., Azuma, H., & Kiyota, M. 2005. Effects of temperature, CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> concentrations and light intensity on cellular multiplication of microalgae, *Euglena gracilis*. *Advances in Space Research*, 35(9), 1584–1588.
- Kliphuis, A. M. J., de Winter, L., Vejrazka, C., Martens, D. E., Janssen, M., & Wijffels, R. H. 2010. Photosynthetic efficiency of *Chlorella sorokiniana* in a turbulently mixed short light-path photobioreactor. *Biotechnology Progress*, 26(3), 687–696.
- Knothe, G. 2008. “Designer” biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. *Energy & Fuels*, 22(2), 1358–1364.
- Knothe, G., & Razon, L. F. 2017. Biodiesel fuels. *Progress in Energy and Combustion Science*, 58, 36–59.
- Knutti, R., Allen, M. R., Friedlingstein, P., Gregory, J. M., Hegerl, G. C., Meehl, G. A., Wigley, T. M. L. 2008. A Review of Uncertainties in Global Temperature Projections over the Twenty-First Century. *Journal of Climate*, 21(11), 2651–2663.
- Koc, C., Anderson, G. A., & Kommareddy, A. 2013. Use of red and blue LEDs and fluorescent lamps as light sources to grow microalgae in a photobioreactor (PBR). *The Israeli Journal of Aquaculture*, 65, 797–805.
- Kok, B., & Benli, H. 2017. Energy diversity and nuclear energy for sustainable development in Turkey. *Renewable Energy*, 111, 870–877.
- Kuntzleman, T. S., & Jacobson, E. C. 2016. Teaching Beer’s law and absorption spectrophotometry with a smart phone: a substantially simplified protocol. *Journal of Chemical Education*, 93(7), 1249–1252.
- Kwon, H. K., Oh, S. J., & Yang, H.-S. 2013. Growth and uptake kinetics of nitrate and phosphate by benthic microalgae for phytoremediation of eutrophic coastal sediments. *Bioresource Technology*, 129, 387–395.
- Lee, S. J., Yoon, B.-D., & Oh, H.-M. 1998. Rapid method for the determination of lipid from the green alga *Botryococcus braunii*. *Biotechnology Techniques*, 12(7), 553–556.

- Liu, T., Wang, J., Hu, Q., Cheng, P., Ji, B., Liu, J., Chen, L. 2013. Attached cultivation technology of microalgae for efficient biomass feedstock production. *Bioresource Technology*, 127, 216–222.
- Ma, Y., Wang, Z., Yu, C., Yin, Y., & Zhou, G. 2014. Evaluation of the potential of 9 *Nannochloropsis* strains for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 167, 503–509.
- Mahmudul, H. M., Hagos, F. Y., Mamat, R., Adam, A. A., Ishak, W. F. W., & Alenezi, R. 2017. Production, characterization and performance of biodiesel as an alternative fuel in diesel engines – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 72, 497–509.
- Marcos, J., Pérez-Albalá, S., Mifsud, A., Molla, M., Landeras, J., & Meseguer, M. 2015. Collapse of blastocysts is strongly related to lower implantation success: a time-lapse study. *Human Reproduction*, 30(11), 2501–2508.
- Matthijs, H. C. P., Balke, H., Van Hes, U. M., Kroon, B. M. A., Mur, L. R., & Binot, R. A. 1996. Application of light-emitting diodes in bioreactors: Flashing light effects and energy economy in algal culture (*Chlorella pyrenoidosa*). *Biotechnology and Bioengineering*, 50(1), 98–107.
- Michels, M. H. A., Van der Goot, A. J., Vermuë, M. H., & Wijffels, R. H. 2016. Cultivation of shear stress sensitive and tolerant microalgal species in a tubular photobioreactor equipped with a centrifugal pump. *Journal of Applied Phycology*, 28(1), 53–62.
- Mitsubishi, S., Hosaka, K., Tomonaga, E., Muramatsu, H., & Tanishita, K. 1995. Effects of shear flow on photosynthesis in a dilute suspension of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 42(5), 744–749.
- Mohsenpour, S. F., Richards, B., & Willoughby, N. 2012. Spectral conversion of light for enhanced microalgae growth rates and photosynthetic pigment production. *Bioresource Technology*, 125, 75–81.
- Montzka, S. A., Dlugokencky, E. J., & Butler, J. H. 2011. Non-CO<sub>2</sub> greenhouse gases and climate change. *Nature*, 476(7358), 43–50.
- Nascimento, I. A., Marques, S. S. I., Cabanelas, I. T. D., Pereira, S. A., Druzian, J. I., de Souza, C. O., Nascimento, M. A. 2013. Screening microalgae strains for biodiesel production: lipid productivity and estimation of fuel quality based on fatty acids profiles as selective criteria. *Bioenergy Research*, 6(1), 1–13.
- Okumura, C., Saffreana, N., Rahman, M. A., Hasegawa, H., Miki, O., & Takimoto, A. 2015. Economic efficiency of different light wavelengths and intensities using LEDs for the cultivation of green microalga *Botryococcus braunii* (NIES-836) for biofuel production. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 34(1), 269–275.
- Olle, M., & Viršile, A. 2013. The effects of light-emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. *Agricultural and Food Science*, 22(2), 223–234.
- Órpez, R., Martínez, M. E., Hodaifa, G., El Yousfi, F., Jbari, N., & Sánchez, S. 2009. Growth of the microalga *Botryococcus braunii* in secondarily treated sewage. *Desalination*, 246(1–3), 625–630.
- Perin, G., Bellan, A., Bernardi, A., Bezzo, F., & Morosinotto, T. 2019. The potential of quantitative models to improve microalgae photosynthetic efficiency. *Physiologia Plantarum*, 166(1), 380–391.

- Petder. 2017. Petrol Sanayi Derneği 2017 Sektör Raporu. Petrol Sanayi Derneği, İstanbul.
- Ras, M., Steyer, J.-P., & Bernard, O. 2013. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 12(2), 153–164.
- Rashid, N., Rehman, M. S. U., Sadiq, M., Mahmood, T., & Han, J.-I. 2014. Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 40, 760–778.
- Reitan, K. I., Rainuzzo, J. R., & Olsen, Y. 1994. Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae 1. *Journal of Phycology*, 30(6), 972–979.
- Rendon, S. M., Roldan, G. J. C., & Voroney, R. P. 2013. Effect of carbon dioxide concentration on the growth response of *Chlorella vulgaris* under four different LED illumination. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, 2(3), 125–131.
- Ritchie, R. J. 2006. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*, 89(1), 27–41.
- Rodolfi, L., Chini Zittelli, G., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., & Tredeci, M. R. 2009. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(1), 100–112.
- Ross, J., & Sulev, M. 2000. Sources of errors in measurements of PAR. *Agricultural and Forest Meteorology*, 100(2–3), 103–125.
- Ruangsomboon, S. 2012. Effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of newly isolated strain of the green microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2. *Bioresource Technology*, 109, 261–265.
- Sajjadi, B., Chen, W. Y., Raman, A. A. A., & Ibrahim, S. 2018. Microalgae lipid and biomass for biofuel production: A comprehensive review on lipid enhancement strategies and their effects on fatty acid composition. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 97, 200–232.
- Sajjadi, B., Raman, A. A. A., & Arandiyan, H. 2016. A comprehensive review on properties of edible and non-edible vegetable oil-based biodiesel: Composition, specifications and prediction models. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 63, 62–92.
- Sanford, S. D., White, J. M., Shah, P. S., Wee, C., Valverde, M. A., & Meier, G. R. 2009. Feedstock and biodiesel characteristics report. Renewable Energy Group (Vol. 416. Ames, Iowa: Citeseer).
- Saraçoğlu, S. 2017. Yenilenebilir Enerji Kaynağı Olarak Biyokütle Üretimini Dünyada ve Türkiye’de Durumu. *Fiscaoeconomia*, 1(3), 126–155.
- Schulze, P. S. C., Barreira, L. A., Pereira, H. G. C., Perales, J. A., & Varela, J. C. S. 2014. Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production. *Trends in Biotechnology*, 32(8), 422–430.
- Sforza, E., Simionato, D., Giacometti, G. M., Bertucco, A., & Morosinotto, T. 2012. Adjusted light and dark cycles can optimize photosynthetic efficiency in algae growing in photobioreactors. *PLoS One*, 7(6), e38975.
- Sharma, Y. C., & Singh, B. 2009. Development of biodiesel: Current scenario. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13(6–7), 1646–1651.

- Shu, C., Tsai, C., Liao, W., Chen, K., & Huang, H. 2012. Effects of light quality on the accumulation of oil in a mixed culture of *Chlorella* sp. and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 87(5), 601–607.
- Song, M., Pei, H., Hu, W., & Ma, G. 2013. Evaluation of the potential of 10 microalgal strains for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 141, 245–251.
- Specht, Z. 2011. Biofuels History and Review. In *Energy Discussion Group* (pp. 1–23).
- Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G.-K., Tignor, M. M. B., Allen, S. K., Boschung, J., Midgley, P. M. 2013. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Working Group I Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Sudibyo, H., Pradana, Y. S., Samudra, T. T., Budiman, A., & Suyono, E. A. 2017. Study of cultivation under different colors of light and growth kinetic study of *Chlorella zofingiensis* Dönn for biofuel production. *Energy Procedia*, 105, 270–276.
- Sydney, E. B. d, Da Silva, T. E., Tokarski, A., Novak, A. C. d, De Carvalho, J. C., Woiciechowski, A. L., Soccol, C. R. 2011. Screening of microalgae with potential for biodiesel production and nutrient removal from treated domestic sewage. *Applied Energy*, 88(10), 3291–3294.
- Talebi, A. F., Mohtashami, S. K., Tabatabaei, M., Tohidfar, M., Bagheri, A., Zeinalabedini, M., Bakhtiari, S. 2013. Fatty acids profiling: a selective criterion for screening microalgae strains for biodiesel production. *Algal Research*, 2(3), 258–267.
- Talebian-Kiakalaieh, A., Amin, N. A. S., & Mazaheri, H. 2013. A review on novel processes of biodiesel production from waste cooking oil. *Applied Energy*, 104, 683–710.
- Teo, C. L., Atta, M., Bukhari, A., Taisir, M., Yusuf, A. M., & Idris, A. 2014. Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths. *Bioresource Technology*, 162, 38–44.
- Ting, H., Haifeng, L., Shanshan, M., Zhang, Y., Zhidan, L., & Na, D. 2017. Progress in microalgae cultivation photobioreactors and applications in wastewater treatment: A review. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 10(1), 1–29.
- Tredici, M. R. 2010. Photobiology of microalgae mass cultures: understanding the tools for the next green revolution. *Biofuels*, 1(1), 143–162.
- Tuccar, G., Gungor, C., Uludamar, E., & Aydin, K. 2015. The Potential of Microalgal Biodiesel in Turkey. *Energy Sources, Part B: Economics, Planning and Policy*, 10(4), 397–403.
- Tyson, K. S., & McCormick, R. L. 2006. *Biodiesel Handling and Use Guidelines* (Third Edit. Springfield: DIANE Publishing.
- Uduman, N., Qi, Y., Danquah, M. K., Forde, G. M., & Hoadley, A. 2010. Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 2(1), 12701.
- Verma, P., & Sharma, M. P. 2016. Review of process parameters for biodiesel production from different feedstocks. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 62, 1063–1071.

- Wahidin, S., Idris, A., & Shaleh, S. R. M. 2013. The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. *Bioresource Technology*, 129, 7–11.
- Wang, C.-Y., Fu, C.-C., & Liu, Y.-C. 2007. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. *Biochemical Engineering Journal*, 37(1), 21–25.
- Wang, J., Liu, J., & Liu, T. 2015. The difference in effective light penetration may explain the superiority in photosynthetic efficiency of attached cultivation over the conventional open pond for microalgae. *Biotechnology for Biofuels*, 8(1), 49.
- Williams, P. J. le B., & Laurens, L. M. L. 2010. Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: review & analysis of the biochemistry, energetics & economics. *Energy & Environmental Science*, 3(5), 554–590.
- Wishkerman, A., & Wishkerman, E. 2017. Application note: a novel low-cost open-source LED system for microalgae cultivation. *Computers and Electronics in Agriculture*, 132, 56–62.
- Yan, C., & Zheng, Z. 2013. Performance of photoperiod and light intensity on biogas upgrade and biogas effluent nutrient reduction by the microalgae *Chlorella* sp. *Bioresource Technology*, 139, 292–299.
- Yan, C., Zhang, L., Luo, X., & Zheng, Z. 2013. Effects of various LED light wavelengths and intensities on the performance of purifying synthetic domestic sewage by microalgae at different influent C/N ratios. *Ecological Engineering*, 51, 24–32.
- Yaşar, F., & Altun, Ş. 2018. Biodiesel properties of microalgae (*Chlorella protothecoides*) oil for use in diesel engines. *International Journal of Green Energy*, 15(14–15), 941–946.
- You, T., & Barnett, S. M. 2004. Effect of light quality on production of extracellular polysaccharides and growth rate of *Porphyridium cruentum*. *Biochemical Engineering Journal*, 19(3), 251–258.
- Zervos, A., & Adib, R. 2018. *Renewables 2018 Global Status Report*. Paris: Council of the Federation.
- Zhang, S., Kim, T.-H., Han, T. H., & Hwang, S.-J. 2015. Influence of light conditions of a mixture of red and blue light sources on nitrogen and phosphorus removal in advanced wastewater treatment using *Scenedesmus dimorphus*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 20(4), 760–765.
- Zhao, Y., Wang, J., Zhang, H., Yan, C., & Zhang, Y. 2013. Effects of various LED light wavelengths and intensities on microalgae-based simultaneous biogas upgrading and digestate nutrient reduction process. *Bioresource Technology*, 136, 461–468.
- Zhila, N. O., Kalacheva, G. S., & Volova, T. G. 2011. Effect of salinity on the biochemical composition of the alga *Botryococcus braunii* Kütz IPPAS H-252. *Journal of Applied Phycology*, 23(1), 47–52.
- Zhu, L., Hiltunen, E., Shu, Q., Zhou, W., Li, Z., & Wang, Z. 2014. Biodiesel production from algae cultivated in winter with artificial wastewater through pH regulation by acetic acid. *Applied Energy*, 128, 103–110.



Zhu, S., Huang, W., Xu, J., Wang, Z., Xu, J., & Yuan, Z. 2014. Metabolic changes of starch and lipid triggered by nitrogen starvation in the microalga *Chlorella zofingiensis*. *Bioresource Technology*, 152, 292–298.



## ÖZGEÇMİŞ

11.09.1983 yılında Erzurum’da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Erzurum’da tamamladı. 2008 yılında Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü’nden mezun oldu. Aynı yıl yüksek lisans öğrenimine başladı ve 2011 yılında mezun oldu. 2012 yılında Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalında doktora öğrenimine başladı. 2010 yılından beri Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü’nde görev yapmaktadır.