

T.C
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ (NKUBAP)

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
SONUÇ RAPORU

NKUBAP.00.24.AR.14.07

MİKROALG ELDE ETMEK AMACIYLA
FOTOBİYOREAKTÖR İMALATI VE BİYODİZEL ÜRETİMİ

Yürütücü: Doç.Dr. Erkan GÖNÜLOL

Araştırmacı: Prof.Dr. Birol KAYIŞOĞLU

Araştırmacı: Yard.Doç.Dr. M. Recai DURGUT

2015

Proje No: NKUBAP.00.24.AR.14.07

Proje Adı: Mikroalg elde etmek amacıyla fotobiyoreaktör imalatı ve biyodizel üretimi

Önsöz

Günümüzde yaşanan en önemli sorunlardan biri 2030 yılından itibaren yaklaşık %50'lere ulaşacağı tahmin edilen global enerji ihtiyacındaki artıştır. Giderek artan bu enerji ihtiyacının yanı sıra fosil yakıtların artık yadsınamayacak çevresel sakıncaları ve gelecekte beklenen rezerv sıkıntıları nedeni ile toplumlar, farklı yöntemlerle alternatif enerji kaynakları arayışına girmişlerdir. Bu alternatif enerji kaynakları içinde güneş, rüzgâr, biyokütle enerjisi ön plana çıkmaktadır. Biyodizel de biyokütleden elde edilen, bitkisel ve hayvansal kökenli yağların kimyasal dönüşümü sonucunda oluşan ve dizel motorlarda doğrudan ya da motorine belirli oranlarda karıştırılarak kullanılabilen bir yakıt türüdür.

Ancak, biyodizel elde edilen bitkisel kökenli aspir, kanola, fıstık vb yağların aynı zamanda gıda sektöründe önemli yer tutması, biyodizel üretiminin en önemli kısıtlayıcı faktörüdür.

Yosunlar hızlı büyüyen, çevre koşullarına kolaylıkla uyum sağlayan geniş bir alana yayılan önemli bir türdür. Hızlı büyümeleri ve her ortamda yetişebilmeleri bir çok yönden önemli bir hammadde olarak ele alınmaktadır. Su yosunları, protein, vitamin ve bazı türlerinin yüksek oranlarda yağ içermesinden dolayı gıda teknolojisinde önemli bir yer tutmaktadır. Bazı türlerinde yüksek oranlarda yağ bulunması enerji teknolojisinde biyokütle hammaddesi olarak ele alınmakta ve biyodizel eldesinde kullanılmaktadır.

Bu nedenle Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi desteği ile yürütülen bu çalışmada, laboratuvar koşullarında kurulmuş fotobiyoreaktörde üretilen mikroalglerden elde edilen yağdan biyodizel elde edilmiş, elde edilen biyodizelin yakıt kalitesi yapılan analizler sonucunda belirlenmiştir.

Özet

Günümüzde artan enerji ihtiyacı alternatif yakıtlara olan ilgiyi arttırmıştır. Yenilenebilir kaynaklardan çevre dostu prosesler ile elde edilen biyodizelin, petrol dizeli yerine kullanımı giderek artmaktadır. Biyodizel üretiminde hammadde olarak kullanılan yenebilen yağlara (kanaola, ayçiçeği, palm yağı v.b.) ve yenmeyen yağlara (atık yağlar, jatropha, aspir v.b.) alternatif olarak son yıllarda mikroalg yağlarına olan ilgi giderek artmaktadır.

Bu proje ile öncelikle mikroalg yağından biyodizel yakıtının üretimi ve kalitesinin kontrolü amaçlanmıştır. Bitkisel yağ ve türevlerinin dizel yakıt olarak kullanımı 1900'lerde dizel motorun icat edilişi ile başlamış ve günümüze kadar gelmiştir.

Mikroalg yağından üretilen biyodizellerin, yoğunluk, viskozite, parlama noktası, bakır korozyon ve akma noktası gibi bazı yakıt özellikleri belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mikroalg, Biyodizel, biyokütle, transesterifikasyon, biyoyakıtlar

Abstract

Demands for alternative fuels such as biodiesel are increasing because of decreasing of fossil fuel sources and its environmental concerns. However, the resulting biodiesel plant origin safflower, canola, peanut oil, etc. at the same time hold an important place in the food sector, the biodiesel production is the most important limiting factor.

These projects are biodiesel from microalgae oil is intended. The use of derivatives of vegetable oil and diesel fuel in diesel engines were invented in the 1900s and up to the present has been started with.

Some fuel properties of microalgae biodiesel such as density, viscosity, flash point, copper corrosion, pour point were determined.

Key Words: Microalgae, Biodiesel, biomass, transesterification, biofuels.

İçindekiler

Giriş.....	8
Gereç ve Yöntem	12
Gereç	12
Fotobiyoreaktör tasarımı ve kurulması.....	12
Alglerin Yetiştirilmesi	13
Alglerin Hasat Edilmesi.....	14
Alglerden Yağ çıkarılması (Ekstraksiyonu)	16
Alg yağından biyodizel eldesi	16
Yöntem.....	17
Birinci yöntem.....	18
İkinci yöntem	18
Biyodizelin Özelliklerinin saptanması	18
Bulgular ve Tartışma/Sonuç	19
Sonuç.....	20
Kaynaklar	21

Şekiller

Şekil 1. Transesterifikasyon sonucu metil esterlerin (Biyodizel) oluşumu	9
Şekil 2. Biyodizel üretiminde akış diyagramı.....	9
Şekil 3. Tasarımı yapılan fotobiyoreaktör.....	13
Şekil 4. 5 lt alg üretim kapları.....	14
Şekil 5. Hettich Universal 32-R model santrifüj.....	15
Şekil 6. Shimadzu UV-1208 model spektrofotometre	15
Şekil 7. Hasat edilmiş ve kurutulmuş algler	15
Şekil 8. Laboratuar ölçekli biyodizel reaktörü.....	16
Şekil 9. Biyodizel üretim sisteminin üniteleri ve işlem akışı.....	17
Şekil 10. Vizkozite ve bakır korozyon test düzeneği	19

Çizelgeler

Çizelge 1. Bazı biyodizel kaynaklarının karşılaştırılması (Chisti, 2007).....	10
Çizelge 2. Bazı mikroalglerin lipit içerikleri (Spolaore ve ark., 2006; Carioca ve ark., 2009)	11
Çizelge 3. Nannochloropsis sp. üretimi için kullanılan besin ortamı (F/2).....	14
Çizelge 4. İki farklı yöntemle algal yağdan üretilen biyodizelin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	19

Giriş

Araştırmanın konusu, yağ içeriği yüksek olan veya yoğun ve ucuz bir şekilde üreyebilen mikroalglerden elde edilen yağlardan biyodizel yakıtı üretmektir.

Alternatif enerji kaynaklarından biri olan biyodizel, bitkisel ya da hayvansal kokenli yağların bir katalizör eşliğinde, kısa zincirli bir alkol ile (metanol veya etanol) reaksiyonu sonucunda acığa çıkan ve dizel motorlarda kullanılan yenilenebilir, çevre dostu bir yakıt türüdür (Oğut vd., 2003).

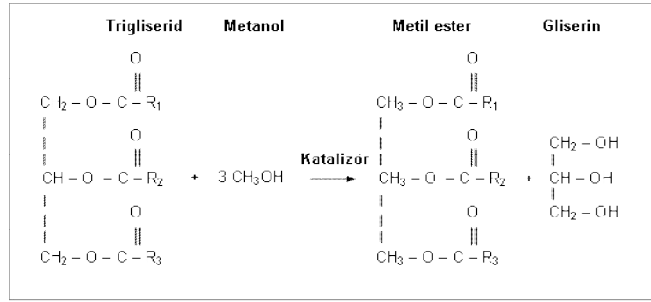
Motorlarda bitkisel kokenli yağların yakıt olarak kullanımı, Rudolf Diesel'in 10 Ağustos 1900 yılında Paris Fuarında sergilediği ve yerfıstığı yağı ile çalışmak üzere tasarladığı motora kadar uzanmaktadır. Rudolf Diesel o tarihte "bitkisel yağlar önemli bir motor yakıtıdır, bugün için onemsiz görüne de ileride önemi anlaşılacaktır" demiştir. Bu fuarda, dizel motor bitkisel yağla çalıştırılmış ve dizel motordaki benzer çalışmalar St.Petersburg'da bitkisel ve hayvansal yağlarla devam etmiştir. Bitkisel yağlar II. Dünya Savaşı sırasında bazı ülkelerde acil durum yakıtı olarak kullanılmıştır. Yine bu yıllarda Ohio State Üniversitesi'nde, pamuk ve mısır yağının petrodizel ile karışımı üzerine yoğunlaştığı ikiz yakıt projeleri yapılmıştır (Oğut ve Oğuz, 2006).

Avrupa Birliği'nin 2003/30/EC Direktifi 2005 sonunda piyasaya arz edilen fosil yakıtlarına %2 oranında biyoyakıt konulması zorunluluğunu getirmiştir. Her yıl bu oranın artırılarak; 2006 yılında %2.75, 2007 yılında %3.50, 2008 yılında % 4.25, 2009 yılında %5.00, 2010 yılında %5,75 olması hedeflenmektedir. Bu yüzden, 2005 yılı verilerine göre yılda 12 milyon ton motorin kullanan Türkiye'nin 2005 yılı verilerine göre 240 bin ton, 2006 yılı verilerine göre ise 330 bin ton biyodizeli ulaşımda kullanması gerekmektedir. 2010 yılına kadar ulaşımda kullanılan motorin miktarı değişmez ise 2010 yılında kullanılması gerekli biyodizel miktarı 690 bin ton olacaktır (Alptekin ve Çanakçı, 2005).

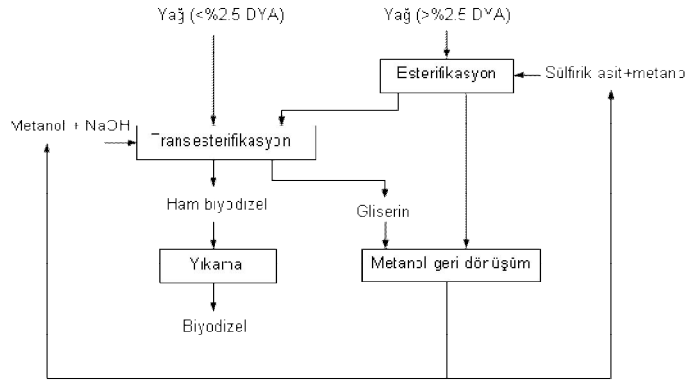
Yağlarda bulunan ve yanmayı destekleyen bileşimler biyodizelin temelini oluşturmaktadır. Bunlar bileşimlerindeki karbon ve hidrojene bağlı olarak farklı özelliklere sahip yağ asitleridir. Bu yağ asitlerine stearic, oleic, linoleic, linolenic örnek olarak gösterilebilir.

Bitkisel ve hayvansal yağlarda olduğu gibi alglerden biyodizel işlemi de transesterifikasyon ile gerçekleştirilir. Transesterifikasyon işleminin başarılı bir şekilde gerçekleşmesi, trigliserid ve alkolün sudan arınmış olmasına bağlıdır. Çünkü su reaksiyonu önleyici etkiye sahiptir (Schuchardt, et al., 1998; Pintoa et al., 2005; Agarwal, 2007).

Bu işlem sırasında yağ ve metanol katalizör etkisiyle reaksiyona girmekte ve bu işlem sonucunda metil esterler (biyodizel) ve gliserin oluşmaktadır. Oluşan biyodizelin hacimsel olarak hammadde kaynağı olarak giren yağdan çok fazla farkı olmaz. Biyodizel üretim aşamasında meydana gelen kimyasal reaksiyonlar Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Transesterifikasyon sonucu metil esterlerin (Biyodizel) oluşumu
Biyodizel üretim aşamalarının akış diyagramı Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 2. Biyodizel üretiminde akış diyagramı

Reaksiyonun gerçekleşebilmesi için katalizör kullanılmaktadır. Katalizörler reaksiyon sırasında ortadan kaybolmazlar ve yıkama suyu ve gliserinle ortamdan uzaklaştırılırlar. Katalizör olarak genellikle NaOH kullanılmaktadır.

Yağ bitkilerinden elde edilen yağlar biyodizelin hammadde kaynakları içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. Ayrıca, atık yağlar ve son yıllarda alglerden elde edilen yağlarda biyodizel üretiminde kullanılmaya başlamıştır.

Alternatif bir enerji kaynağı olarak gündeme gelmesinden çok daha önce mikroalglerin enerji kaynağı olarak kullanılması birçok araştırmacı tarafından yıllardır önerilmektedir (Thomsen, 2010). Uzun yıllar hayvan yetiştiriciliğinde besin katkısı olarak üretilen mikroalgler son yıllarda artan petrol fiyatlarının da etkisiyle hızlanan biyokütle enerjisi araştırmaları sonucu umut vadeden bir enerji kaynağı olarak görülmeye başlanmıştır. Üçüncü nesil biyoyakıt teknolojisi olarak da adlandırılan ve doğada yer alan birçok mikroalg türünü birer enerji kaynağı olarak kullanmayı hedefleyen çalışmalar genelde proseten kaynaklanan zorluklardan dolayı teknolojik olarak fazla gelişmemiş, ancak laboratuvar araştırmaları, pilot ve küçük ölçekli denemelerle sınırlı kalmıştır.

İlk olarak Solar Enerji Araştırma Enstitüsü biyoyakıt olarak algal yağların kullanımı üzerinde durmuştur (Neenan ve ark., 1986).

Enerji kaynağı olarak yenilenebilir, toksik olmayan, biyodizel yakıt kaynağı mikroalglerden yararlanma olanakları konusunda çalışmalar sürdürülmektedir. Bu amaçla yağ içeriği ve büyüme hızı yüksek mikroalg türlerinin belirlenmesi çalışmalarının yanında, hücre içinde mevcut yağ içeriğinin artırılmasını uyaran stres koşullarının belirlenmesi araştırmaları pek çok ülkede sürdürülmektedir. Mikroalgler kara bitkileri ile güneş ışığı ve karbondioksiti kullanarak organik madde üretmeleri bakımından benzerlik gösterirken, saatler içerisinde bölünerek çoğalmaları ve yıl boyunca üretilibilmeleri sebebiyle kara bitkilerinden daha fazla ürün verimliliğine sahip organizmalardır. Bu fotosentetik canlılar fotosentez sonucu ortama oksijen vermektedirler ve olumsuz çevre koşullarına (yüksek ışık, yüksek sıcaklık gibi) karşı tepki olarak metabolizmalarında değişiklikler yapabilmektedirler. Chlorophyceae sınıfına ait Chlorella ve Neochloris türlerinin N eksikliği olan ortamda kültüre alınmaları durumunda kuru hücre ağırlıklarında yağ oranlarını %60'a çıkardıkları belirlenmiştir (Siaut ve ark., 2007).

Mikroalgal kütleden yağ eldesi konusunda dünyanın pek çok ülkesinde çalışmalar gizlilik içerisinde sürdürülmektedir. Yağ içeriği yüksek tür arayışının yanında mevcut türler içerisinde yağ içeriğini yükseltme olanakları da araştırılmaktadır. Mikroalg üretiminin ve hasadının nispeten maliyetli olmasına rağmen, kara bitkilerine göre avantajlarının olması ve suyu en verimli kullanan sistemler olmaları, araştırmacıların konuya ilgisini artırmaktadır. Büyük hacimlerde mikroalgal üretimi, verimsiz arazilerde gerçekleştirilebilmektedir. Enerji kaynağı depo ürünleri, hücre çeperi bileşenleri gibi fonksiyonel lipidler ve yağ asitleri tüm bitki hücrelerinin bileşenleridir. Alglerde lipid sentezi yüksek bitkilerdeki lipid sentezi ile benzerdir (Sawayama ve ark., 1995).

Mikroalglerin yakıt kaynağı olarak kullanılabilmesi fikri birçok araştırmacı tarafından farklı yıllarda bildirilmiştir. Ancak fosil yakıtların kullanımının artması sonucunda küresel ısınmanın yükselmesi ve buna bağlı gelişen çevre bilinci son yıllarda konuyu daha da önemli hale getirmiştir (Chisti, 1980, 1981; Nagle and Lemke, 1990; Chisti, 2007; Hu et al., 2008). Çizelge 1.'de mikroalglerin ve biyodizel amaçlı üretimi yapılan karasal yağlı tohumlu bitkilerin hektar başına yıllık lipid üretim miktarları verilmiştir.

Çizelge 1. Bazı biyodizel kaynaklarının karşılaştırılması (Chisti, 2007)

Tür	Lipit (L.ha ⁻¹)	ABD'de Ulaşım için İhtiyaç Duyulan Arazi (Milyon hektar)
Mısır	172	1540
Soya	446	594
Kanola	1190	223
Jatropha	1892	140
Hindistan cevizi	2689	99
Mikroalga	136,900	2
Mikroalgb	58,700	4,5

^aKuru ağırlığının %70'i lipid olan algler

^bKuru ağırlığının %30'u lipid olan algler

Biyodizel üretimi için temel olarak yağ oranı yüksek yağlı tohum bitkileri kullanılmaktadır. Fakat bu bitkilerden elde edilen ve gıda sektöründe önemli olan bu yağların; yağ konusunda ciddi sorunları olan ve ithalatçı konumunda bulunan ülkemizde biyodizel üretimi amacıyla kullanılması önemli bir dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çizelge 1.'deki verilere göre mikroalglerden elde edilen biyodizel fosil yakıtlar yerine geçebilecek tek kaynak olma potansiyeline sahiptir. Soya, kanola, aspir, ayçiçeği gibi yağlı tohumlu bitkilere oranla daha hızlı çoğalma kapasitesi olan mikroalglerin birçoğu 24 saat içinde biyomaslarını iki katına çıkarabilmektedirler. Hızlı biyomas artışından dolayı mikroalglerin, biyodizel üretiminde karasal bitkilere oranla daha verimli olacağı düşünülmektedir (Metting, 1996; Spolaore et al., 2006).

Yenilenebilir biyoyakıt üretimi için kullanılacak, yağ içeriği yüksek farklı birçok mikroalg türü bulunmaktadır (Metting and Pyne, 1986; Banerjee et al., 2002; Spolaore et al., 2006; Chisti, 2007). Çizelge 2.'de biyodizel üretiminde kullanılacak bazı mikroalglerin lipit içerikleri verilmiştir.

Çizelge 2. Bazı mikroalglerin lipit içerikleri (Spolaore ve ark., 2006; Carioca ve ark., 2009)

Alg Türü	Lipit Miktarı (% Kuru Ağırlık)
Botryococcus braunii	25-75
Chlorella sp.	28-32
Cryptocodinium cohnii	20
Cylindrotheca sp.	16-37
Dunaliella sp.	23
Isochrysis sp.	25-33
Monallanthus salina	20
Nannochloris sp.	20-35
Nannochloropsis sp.	31-68
Neochloris oleoabundans	35-54
Nitzschia sp.	45-47
Phaeodactylum tricornutum	20-30
Schizochytrium sp.	50-57
Tetraselmis sueica	15-23
Spirulina platensis	5-7

Biyodizel üretimi için algal yağların çoğu kullanılabilir. Fakat tıp, gıda, sanayi, gibi alanlarda iz miktarda ki ürünlerin eldesinde kullanılan mikroalgleri biyodizel üretimi için harcamak ekonomik değildir. Biyodizel üretiminde kullanılmak üzere, özellikle yağ içeriği yüksek olan mikroalgler tercih edilmelidir (Ratledge, 1993; Ratledge and Wynn, 2002). Türlerine bağlı olarak mikroalgler, çok sayıda ve farklı türde lipitleri, hidrokarbonları ve diğer kompleks yağları üretebilmektedirler (Banerjee et al., 2002; Metzger and Largeau, 2005; Guschina and Harwood, 2006).

Biyodizel üretiminde kullanılması düşünülen alglerde bulunması gereken en önemli özellik, yağ içeriğinin yüksek olması veya yoğun ve ucuz bir şekilde üreyebilmesidir. *Nannochloropsis* sp, *Neochloris oleoabundans* ve *Chlorella* sp. mikroalgleri Çizelge 3.'ten anlaşılacağı gibi yüksek oranda lipit içeriğine sahiptirler. Yüksek lipit içeriğinden dolayı, biyodizel üretiminde kullanılabilecek potansiyel kaynak olarak görülmektedirler.

Bu sebeple proje bu konuya uygun olarak mikroalglerden elde edilen yağlar, laboratuvar ölçekli biyodizel tesisinde kullanılarak biyodizel elde edilmesini, elde edilecek biyodizelin kalitesi üzerine etki edecek faktörlerin saptanmasını kapsamaktadır.

Gereç ve Yöntem

Gereç

Araştırma Namık Kemal Üniversitesi, Biyosistem Mühendisliği Bölümü Biyoyakıt laboratuvarında yürütülmüştür. Mikroalglerden biyodizel üretimi fotobiyoreaktörün tasarımı ve kurulması, alglerin yetiştirilmesi, alglerin hasat edilmesi, yağ çıkarılması ve alg yağından biyodizel eldesi olmak üzere beş ana adımdan oluşmaktadır.

Fotobiyoreaktör tasarımı ve kurulması

Günümüzde alg üretimi açık havuzlarda ve fotobiyoreaktörlerde yapılmaktadır. Fotobiyoreaktörler, alg kültüründen yüksek verimin alındığı tam kontrollü kapalı sistemlerdir. Alg kültürünün ihtiyacına göre sisteme besin ve CO₂ girişi otomatik olarak yapılır. Fotobiyoreaktörler; CO₂, su, sıcaklık, ışık geçirgenliği, kültür yoğunluğu, karışım ve pH gibi değerleri optimal seviyede tutarak üretimi kolaylaştırır.

Araştırmada diğer kapalı sistemlere göre daha kolay temizlenmesi, havalandırma işleminin daha kolay olması ve maliyetlerinin diğer sistemlere göre daha düşük olmasından dolayı panel tip fotobiyoreaktör kullanılmıştır (Şekil 3.)(Richmond and Zou, 1999; Posten, 2009).

Paneller dikdörtgen şekindedirler. Yükseklik ve genişlikleri yetiştirilen mikroalge göre değişiklik gösterebilir. Her mikroalg için uygun ışık yolu uzunluğu fotobiyoreaktör yapımında önemli bir rol oyar. Kullanılan sistemlerde karıştırma işlemi; karıştırılmadan, hava taşınması veya hava köpükleri şeklinde yapılmıştır.

Tasarlanan panel tip fotobiyoreaktörün boyutları 100x50x10 cm. uzunluğa sahiptir (Richmond and Cheng-Wu, 2000; Cheng–Wu ve ark., 2001; Richmond and Cheng-Wu, 2001). Karıştırma işlemi hava pompası tarafından sağlanan %1,5 - 2 CO₂ ile zenginleştirilmiş basınçlı havanın fotobiyoreaktörün tabanına yerleştirilen hava taşıyan kabarcıklar şeklinde çıkması ile sağlanmıştır. Böylece mikroalge hücreleri mekanik bir zarar görmeyecektir (Posten, 2009; Dipasmita ve ark. 2011; Zou ve Richmond, 2000).



Şekil 3. Tasarımı yapılan fotobiyoreaktör

Deneyler boyunca suyun sıcaklığı, elektrikli ısıtıcı yardımı ile mikroalg türünün yetiştirilmesi için optimum sıcaklık olan 25 ° C'de tutulmuştur (Dipasmitta ve ark. 2011; Tüccar 2011; Zitelli ve ark., 2000; Zitelli ve ark., 2003). PH değeri CO₂ gazı dahil edilmesi ile 8,22 değerine ayarlanmıştır (.Richmond and Cheng-Wu, 2001)

Aydınlatma 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmış ve aydınlatma için 18 w/m² yoğunluğunda harici beyaz floresan lambalar tarafından sağlanmıştır. Aydınlatma panel tip fotobiyoreaktörün her iki yüzünden yapılmıştır. Yapılan çalışmalar her iki yüzden yapılan aydınlatmanın mikroalg yağ verimini %14 artırdığını göstermiştir (Dipasmitta ve ark. 2011; Dogan ve Obbard, 2011; Reichardt ve ark., 2012; Sukenik ve Carmeli, 1990; Shen ve ark., 2013; Zou ve Richmand, 2000; Doan ve ark, 2011)

Alglerin Yetiştirilmesi

Nannochloropsis sp. Mikroalg kültürü Ege Biyoteknoloji A.Ş. firmasından temin edilmiştir. Elde edilen stok kültür 250 ml'lik erlenler'de üretime alınmış ve laboratuvar koşullarında 500 ml, 1L'ye çoğaltılıp ve 5 litrelik kavanozların aşılmasından sonra panel tipi fotobiyoreaktörde üretime alınmışlardır. Erlenlerde yapılan üretimlerde karıştırma el ile yapılmıştır. 5 lt'lik çoğaltma kabında hava yardımı ile karıştırma sağlanmıştır.



Şekil 4. 5 lt alg üretim kapları

Nannochloropsis sp. mikroalginin kültürü için besin ortamı olarak F/2 solüsyonu kullanılacaktır (Guillard, 1975). Kültür ortamının içeriği (Çizelge 6)'da verilmiştir.

Çizelge 3. Nannochloropsis sp. üretimi için kullanılan besin ortamı (F/2)

F/2 solüsyonu		F/2 İz Element Solüsyonu		F/2 Vitamin Solüsyonu	
Kimyasal Bileşik	Miktar (g)	Kimyasal Bileşik	Miktar (g)	Kimyasal Bileşik	Miktar (g)
NaNO ₃	75 g	MnSO ₄ .H ₂ O	18 g	Thiamin	2 g
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	5 g	CoCl ₂ .6H ₂ O	1 g	B12	0,1 g
FeCl ₃ .6H ₂ O	3,15 g	CuSO ₄ .5H ₂ O	1 g	Biotin	0,1 g
Na ₂ EDTA	4,35 g	ZnSO ₄ .7H ₂ O	2,2 g	Saf su	1000 ml
Iz element solüsyonu	10 ml	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,6 g		
Vitamin solüsyonu	0,1 ml	Saf su	1000 ml		
Tatlı su	1000 ml				

Alglerin Hasat Edilmesi

Yapılan çalışmalar algal lipit üretiminin logaritmik büyüme evresi sonrasında gelen durgunluk evresinde olduğunu göstermiştir (Casadevall et al., 1985; McGinnis et al., 1997; Tüccar 2011). Bu nedenle alg hasatı için uygun zamanı seçmek çok önemlidir. Uygun zaman, pH, optik yoğunluk (OD) ve kuru ağırlık değerlerini belirlemek için, her bir aşılardan sonra günlük olarak takip edilmiştir. Durgunluk fazına ulaşan algler üretim periyodunun sonunda Hettich Universal 32-R model santrifüj (Şekil 5) kullanılarak 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve üstte kalan besin ortamı uzaklaştırılmıştır. Bu işlemde sonra geriye kalan iz miktardaki besin ortamını da temizlemek için üç kez algal biyomasın üzerine saf su ilave edilmiş ve santrifüjlenmiştir (Cirik ve ark., 2011).



Şekil 5. Hettich Universal 32-R model santrifüj

Nannochloropsis sp. denemeler boyunca optik yoğunluğu ölçmek için günlük olarak kültürler homojen olarak karıştırıldıktan sonra bir pipet yardımıyla 3 ml örnek alınmıştır. Tüplere alınan örnekler kuartz tüplere konularak görünür spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır (Liu ve ark., 2007). Her bir ölçüm için 4 tekrar uygulandı. Optik yoğunluğu ölçmek için Shimadzu UV-1208 model spektrofotometre kullanılmıştır (Şekil 6).



Şekil 6. Shimadzu UV-1208 model spektrofotometre

Kurutma işlemi için santrifüjlenen algler, önceden darası alınan petri kaplarına konularak ve 100 °C'ye ayarlanan etüvde 12 saat boyunca kurutulmuştur (Lee et al.,1998). Kurutma işleminden sonra tekrar ağırlıkları ölçülerek ve petri kabının darası çıkarılarak alglerin kuru ağırlıkları bulunmuştur.



Şekil 7. Hasat edilmiş ve kurutulmuş algler

Alglerden Yağ çıkarılması (Ekstraksiyonu)

Lipit ekstraksiyonu için kurutulan alger Bead-beater tüplerine koyulmuştur. Bead-beater'da 4800 rpm'de 3 dakika çalıştırılarak alglerin parçalanması sağlanmıştır (Lee et al., 1998). Santrifüj tüplerine alınan alglerin üzerine yağ çözücü olarak hekzan ilave edilerek ve 4000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Oran olarak 1 g kuru örnek 6 mL hekzan ile karıştırılarak, 24 saat bekletildikten sonra filtre kâğıdından süzülerek alg posası, yağ hekzan karışımından ayrılmıştır. Hekzan ve lipit karışımının içinden, hekzan 60 °C'ye ayarlanan etüvde uçurularak ve geriye kalan algal lipitler gravimetrik olarak ölçülmüştür (Cirik ve ark., 2011).

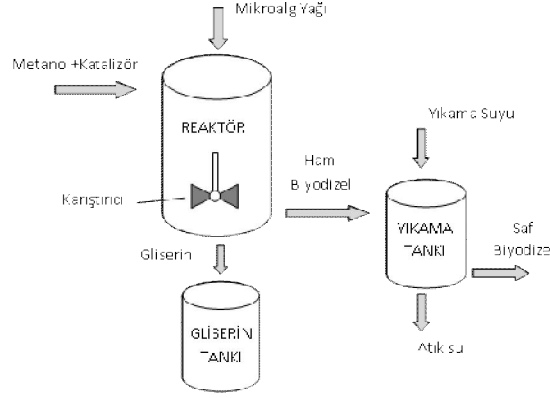
Alg yağından biyodizel eldesi

Araştırmada biyodizel eldesi için 500 ml reaktör kapasitesine sahip biyodizel ünitesi kullanılmıştır. Reaktör içerisinde mekanik karıştırıcı, ayrıca reaktörle uyumlu ayrı bir su banyosu da bulunmaktadır. Kullanılan biyodizel üretim sisteminin üniteleri ve işlem akışı Şekil 8 ve Şekil 9'da verilmiştir.

Reaktör ısıya dayanıklı pyrex camdan imal edilmiştir. Reaktörde ısı kontrolü amacıyla harici problu +5 °C ~ 100 °C arasında ayarlamaya imkan veren ısı kontrol ünitesi ve içinde dijital kontrollü devri ayarlanabilir (200-3000 d/d) mekanik karıştırıcı bulunmaktadır. Su banyosu tankı dijital fuzzy kontrollü, 22 litre kapasiteye sahiptir. Banyoda sıcaklık kontrol sensörü vardır. Sıvı azalması durumunda uyarma ve otomatik durdurma sistemi bulunmaktadır.



Şekil 8. Laboratuvar ölçekli biyodizel reaktörü



Şekil 9. Biyodizel üretim sisteminin üniteleri ve işlem akışı

Yöntem

Biyodizel üretimi

Biyodizel üretimi için gerçekleştirilecek aşamalar aşağıda verilmiştir;

1. Metanol ve katalizörün karıştırılması : Bu aşamada üretim yöntemlerinde belirtilen oranlarda metanol ve katalizör karıştırılmaktadır.
2. Yağın hazırlanması : Biyodizel elde edilecek algal yağ yönteme göre ön ısıtmaya tabi tutulur ve bu sırada karıştırma işlemi yapılır.
3. Metanol-katalizör karışımının reaktördeki algal yağa eklenmesi: Reaktördeki yağ istenen reaksiyon sıcaklığına getirildikten sonra metanol-katalizör karışımı reaktöre eklenir. Bu işlemden sonra belirlenen reaksiyon süresince karıştırma işlemi yapılır.
4. Gliserinin uzaklaştırılması : Transesterifikasyon işlemi bittikten sonra oluşan biyodizel ve gliserin karışımının ayrışması işlemi yapılır. Yoğunlukça daha fazla olan gliserinin dibeye çökmesi için bir müddet beklenir. Bekleme süresi 8 saate kadar ulaşabilir. Çökme işlemi tamamlandıktan sonra reaktörün altındaki vanadan gliserin alınarak gliserin tankında toplanır.
5. Biyodizelin yıkanması : Gliserinin alınması işleminden sonra biyodizel bir vana yardımıyla reaktörden alınarak yıkama tankına gönderilir. Burada tankın üst kısmından çiseleme yöntemiyle su uygulanır. Su biyodizelin içinden geçerken katalizör ve diğer yabancı maddeleri de alarak alt tarafta toplanır. Bu işlem bittikten sonra yıkama tankının altındaki vana açılarak su uzaklaştırılır.
6. Biyodizelin depolanması : Yıkama işleminden sonra elde edilen biyodizel filitasyon işlemine tabi tutularak depolanır.

Mikroalgal yağlarda kullanılacak katalizörlerin etkisini karşılaştırmak için biyodizel üretiminde asidik ve bazik olmak üzere iki farklı katalizörün kullanılacağı iki yöntem uygulanacaktır.

Birinci yöntem

Bu yöntemde katalizör olarak KOH kullanılmıştır. Metanol yağ oranı 6:1 (mol:mol) olarak ayarlanmıştır. Katalizör olarak kullanılacak bazik bir katalizör olan KOH, kullanılan yağ miktarı ağırlığının %0,4'ü kadar olacaktır. Bu yöntemde reaksiyon sıcaklığı 60 °C, süresi 90 dakika olarak planlanmıştır. Reaksiyon öncesinde yağ 65 °C sıcaklığa kadar ısıtılmıştır. Reaksiyon süresince karıştırma 600 d/d'da tutulmuştur (Nouredini ve Zhu, 1997; Tüccar, 2011).

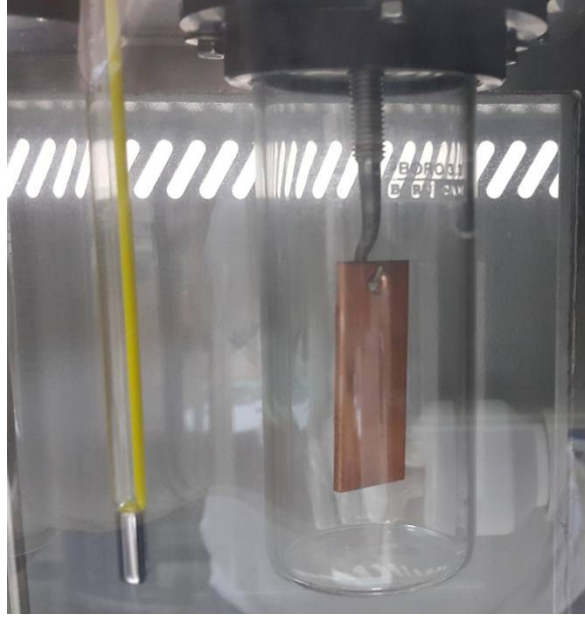
İkinci yöntem

Katalizör olarak asidik bir katalizör olan H₂SO₄ kullanılacak bu yöntemde, metanol ve yağ oranı 9:1 (mol/mol), katalizör miktarı yağ ağırlığının % 0,5'u, reaksiyon sıcaklığı 100 °C ve reaksiyon süresi 8 saat olarak ayarlanmıştır. Karıştırma hızı 600 d/d dir. Ön ısıtma uygulanmamıştır (Guff ve ark., 2004).

Biyodizelin Özelliklerinin saptanması

İki yöntem ile elde edilen biyodizelin kalitesini karşılaştırmak amacıyla aşağıda belirtilen fiziksel ve kimyasal analizler yapılmıştır. Bu amaçlar için Vizkozite test ve bakır korozyon test cihazları bu proje kapsamında alınmıştır (Şekil 10).

1. Biyodizel veriminin saptanması : Reaksiyon sonucu elde edilen biyodizel ile kullanılan yağ oranlanarak saptanacaktır (Zheng ve ark., 2006; Lou ve ark., 2008)
2. Parlama noktası tayini (TS EN ISO 3679)
3. Kinematik viskozite tayini (TS 1451 EN ISO 3104)
4. Yoğunluk tayini (TS EN ISO 12185)
5. Akma bulutlanma noktası tayini (TS 1233 ISO 3016)
6. Bakır şerit korozyon tayini (TS 2741 EN ISO 2160)



Şekil 10. Viskozite ve bakır korozyon test düzeneği

Bulgular ve Tartışma/Sonuç

Çalışma sonucunda üretilen biyodizel örneklerinin yapılan analizleri sonucunda iki yöntem içinde elde edilen veriler Çizelge-4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4. İki farklı yöntemle algal yağdan üretilen biyodizelin fiziksel ve kimyasal özellikleri

ÖZELLİK	BİRİM	AVRUPA STANDART SINIRLARI		BİYODİZEL ÖRNEKLERİ	
		En az	En Çok	KOH	H2SO4
Verim	%	90	-	91,7	86,3
Yoğunluk 25°C'de	kg/m ³	860	900	884	893,7
Viskozite 40°C'de	mm ² /s	3,5	5,0	4,8	4,65
Parlama noktası	°C	120	-	172	167°C
Bakır çubuk korozyonu	50°C'de 3h	-	1	1a	1a
Bulutlanma noktası	°C	-	-	4	6
Akma noktası	°C	-	-	-2	-3

Biyodizel üretiminde verimin %90 ve üzeri olması istenmektedir. Birinci yöntemde bu değer %91,7, ikinci yöntemde %86,3 olmuştur. Verim açısından birinci yöntem istenen özellikleri sağlamıştır.

Yoğunluk biyodizelin akışkanlığının ölçüsüdür. Yoğunluğun 860-900 kg/m³ arasında olması istenmektedir. Bu değer her iki yöntemde de sırasıyla 884 ve 893,7 kg/m³ değeriyle istenen değerler arasında olmuştur.

Viskozite biyodizelin en önemli karakteristik özelliklerinden birisidir. Yüksek viskozite yakıtın fakir atomizasyonuna, kötü yanmaya, enjektörlerin tıkanmasına ve segmanlarda karbon birikmesine neden olmaktadır. Biyodizel için bu değer 3.5-6 mm²/s arasında olmalıdır. Bu değer birinci yöntemde 4,8 mm²/s iken, ikinci yöntemde 4,65 mm²/s olmuştur. Her iki yöntemde elde edilen viskozite değeri sınır ölçüler içerisinde kabul edilebilir.

Bakır çubuk korozyon değerleri her iki yöntemde de istenen değerlerde olmuştur.

Akma ve Bulutlanma noktası; öngörülen koşullar altında sıvının soğutulmasıyla kristal bulutlarının ilk görüldüğü noktadır. Soğuk havalarda dizel yakıtların performansı için bulutlanma noktası kritik faktördür. Bu durum yakıtların çok soğuk hava şartlarında kullanımında sorun çıkarır.

Bulutlanma noktası biyodizelin elde edildiği hammadde yağın özelliklerine göre değişmektedir. Örneğin ASTM D2500 standartlarıyla yapılan ölçümde, kolza yağı ile elde edilen biyodizelde bulutlanma noktası -3 °C iken, gıda nitelikli don yağında bu değer 19 °C olmaktadır (Öğüt ve Oğuz, 2006). Mikroalg yağı kullanılarak biyodizel elde edilen bu araştırmada, akma noktası sırasıyla -2 °C ve -3 °C ve bulutlanma noktası 4 °C ve 6 °C olmuştur.

Sonuç

Yürütülen bu projede mikroalg yağından biyodizel üretimi sağlanmış ve yapılan analizlerin sonuçları Avrupa Biyodizel Standart değerleriyle karşılaştırılması sonucunda birinci yöntemle üretilen biyodizel örneğinin standartlara daha uygun olduğu görülmüştür.

Elde edilen sonuçlar katalizör olarak KOH kullanılan birinci yöntemi ile elde edilen biyodizelin dizel yakıtına belirli oranlarda katılarak kullanılmasının mümkün olduğunu göstermektedir.

Proje neticesinde üniversitemiz biyoyakıt üretiminin ve analizlerinin yapılabileceği, sonraki projelere altyapı olabilecek, ayrıca bu konuda eğitim gören öğrencilerimize tanıtım ve uygulama olanakları sağlayabileceği modern bir laboratuvar, fakültemize kazandırılmıştır.

Kaynaklar

- Agarwal AK., 2007. Biofuel (alcohol and biodiesel) applications as fuel for internal combustion engine. *Prog Energy Combust Sci.* 33:233–71.
- Alptekin E., M. Çanakçı (2005). Biyodizel ve Türkiye’de ki durumu, *Mühendislik ve Makine*, Cilt : 47, Sayı: 561, 57-64
- Banerjee A, Sharma R, Chisti Y, Banerjee UC., 2002. *Botryococcus braunii*: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Crit Rev Biotechnology.* 22:245–79.
- Borowitzka M.A., 1992, *Algal biotechnology products and processes: matching science and economics.* *J Appl Phycol* 4; 267–279.
- Borowitzka, M.A., and Borowitzka, L.J., 1992, *Microalgal biotechnology*, Cambridge University Press.
- Borowitzka, M.A., Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes, and fermenters, *Journal of Biotechnology*, 70, 313-321, (1999).
- Carioca, J.O.B., Filho, J.J.H., Leal, M.R.L.V., Macambira, F.S., 2009, “The hard choice for alternative biofuels to diesel in Brazil”, *Biotechnology Advances.* (In press)
- Casadevall, E, Dif, D, Largeau, C, Gudin, C, Chaumont, D and Desant, O. 1985. Studies on batch and continuous cultures of *Botryococcus braunii*: Hydrocarbon production in relation to physiological state, cell ultrastructure, and phosphate nutrition. *Biotechnology and Bioengineering Vol. 27*, pp. 286–295.
- Cheng-Wu Z, Zmora O, Kopel R, Richmond A. An industrial-size flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae) *Aquaculture.* 2001;195:35–49. doi: 10.1016/S0044-8486(00)00533-0.
- Chisti, Y., 1980. An unusual hydrocarbon. *J Ramsay Soc.* 27–28.
- Chisti, Y., 1981. An unusual hydrocarbon. *J Ramsay Soc.* 24–6.
- Chisti, Y., 2007, “Biodiesel from microalgae”, *Biotechnology Advances* 25, 294–306.
- Cirik S, E.Koru, Ş.S.Can, G.Turan, H.Tekoğul, 2011. Mikroalglerden Yenilenebilir Temiz Bir Enerji Kaynağı Olan Biyodizelin Elde Edilmesi, TUBİTAK PROJE NO: 107Y013.
- Cohen, Z., *Chemicals from microalgae*, Taylor& Francis publishers, (2000). Pp 419.
- Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P. and Del Borghi, M., 2009, Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production, *Chemical Engineering and Processing*, 48: 1146- 1151p.

- Coutteau P., 1996, Microalgae, Manual on the production and use of live food for aquaculture, Lavens,P.; Sorgeloos,P. (Eds). FAO Fisheries Technical Paper No. 361. (<http://www.aquaculture.ugent.be/coursmat/online%20courses/faoman/mc d/micro/index.htm>)
- Demirbaşı A., (2009). Biodiesel from waste cooking oil via base-catalytic and supercritical methanol transesterification. *Energy Convers Manage* (50),923–927.
- Dipasmita, P., I. Khozin Goldberg, Z. Cohen and S.Boussiba, 2011. The effect of light, salinity, and nitrogen availability on lipid production by *Nannochloropsis* sp. *Applied Microbial And Cell Physiology* (2011) 90:1429–1441. DOI 10.1007/s00253-011-3170-1
- Doan T. Y., B. Sivaloganathan, J.P. Obbard, 2011. Screening of Marine Microalgae for Biodiesel Feedstock. *Biomass and Bioenergy*, 35 (2011) 2534e2544.
- Doan T.Y., J. P. Obbard, 2011. Improved Nile Red staining of *Nannochloropsis* sp. *J Appl Phycol* (2011) 23:895–901, DOI 10.1007/s10811-010-9608-5.
- Freedman B, Pryde EH, Mounts TL. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. *J Am Oil Soc Chem* 1984;61:1638.
- Goff JM, Bauer SN, Lopes S, Sutterlin RW, Suppes JG. Acid-Catalyzed Alcoholysis of Soybean Oil. *J Am Oil Chem Soc* 2004;81: 415.
- Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. pp 26- 60. In Smith W.L. and Chanley M.H (Eds.) *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, USA.
- Guschina, I.A. and Harwood, J.L., 2006. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. *Prog. Lipid Res.* 45:160–86.
- Hu, Q., Guterman, H. and Richmond, A., 1996b, A flat inclined modular photobioreactor for outdoor mass cultivation of photoautotrophs, *Biotech & Bioeng*, 51: 51-60p.
- Lee, S.L., Yoon, B.D., Oh, H.M., 1998. Rapid method for the determination of lipid from the green alga *Botryococcus braunii*. *Biotechnology Techniques*, Vol. 12, pp. 553–556.
- Liu ZY., Wang GC., Zhou BC., 2007. Effect of Iron on Growth and Lipid Accumulation in *Chlorella vulgaris*, *Bioresour. Technol.*, 99, (2007) pp.4717–4722.
- Lou W., M. Zong, Z. Duan (2008). Efficient production of biodiesel from high free fatty acid-containing waste oils using various carbohydrate-derived solid acid catalysts, *Bioresource Technology* (99), 8752-8758
- Makulla, A., 2000, Fatty Acid Composition of *Scenedesmus obliquus*: Correlation to Dilution Rates, *Limnologica* 30: 162-168.
- Maruyama, I., Nakamura, T., Matsubayashi, Y., and Naeda, O, T., 1986, Identification of the alga known as 'marine chlorella' as a member of the Eustigmatophyceae, *Jap. J. Phyco*, 34: 319-325p.

- Mayo, A. W., 1997, Effects of temperature and pH on the kinetic growth of unialgal *Chlorella vulgaris* cultures containing bacteria, *Water Environment Research*, 69(1): 64-72p.
- McGinnis, K.M., Dempster, T.A., and Sommerfeld, M.R., 1997. Characterization of the growth and lipid content of the diatom *Chaetoceros muelleri*. *Journal of Applied Phycology* Vol. 9, pp. 19–24.
- Metting, F.B., 1996. Biodiversity and application of microalgae. *J. Ind. Microbiol.* 17:477–89.
- Metzger, P. and Largeau, C., 2005. *Botryococcus braunii*: a rich source for hydrocarbons and related ether lipids. *Appl Microbiol Biotechnol.* 66:486–96.
- Miao, X. And Wu, Q., 2006. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresource Technology* 97 841–846
- Nagle, N, Lemke, P., 1990. Production of methyl-ester fuel from microalgae. *Appl Biochem Biotechnol.* 24–5:355–61.
- Neenan, B., Feinberg, D., Hill, A., McIntosh, R., Terry, K., 1986. Fuels from microalgae: Technology status, potential, and research requirements. Publ. No. SERi/SP-231-2550, Solar Energy Research institute.
- Noureddini H, Zhu D. Kinetics of transesterification of soybean oil. *J Am Oil Soc Chem* 1997;74:1457.
- Nurfitri I., G.P. Maniam, N. Hindryawati, M.M. Yusoff, S. Ganesan (2013). Potential of feedstock and catalysts from waste in biodiesel preparation: a review, *Energy Conversion and Management* (74), 395-402
- Oğut, H. ve Oğuz, H., 2006. *Biyodizel (Ucuncu Milenyum Yakıtı)*. Nobel Yayınları. 13-24, 169-176.
- Oğut, H., Oğuz, H., Arısoy, H., 2003. *Kolzadan Biyodizel Üretimini Analizi*. Tarımsal Mekanizasyon 21. Ulusal Kongresi 3-5 Eylül 2003. Konya.
- Pintoa, A.C., Guarieiroa, L.L.N., Rezendea, G.M.J.C., Ribeiroa, N.M., Torresb, E.A., Lopesc, W.A., 2005. Biodiesel: an overview. *J Braz Chem Soc.* 15:1313–30.
- Pushparaj B., Pelosi E., Tredici M.R., Pinzani E., Materassi R., An integrated culture system for outdoor production of microalgae and cyanobacteria, *Journal of Applied Phycology*, 9, 113–119, (1997).
- Ratledge, C. and Wynn, J.P., 2002. The biochemistry and molecular biology of lipid accumulation in oleaginous microorganisms. *Adv. Appl. Microbiol.* 51:1–51.
- Ratledge, C., 1993 Single cell oils have they a biotechnological future? *Trends Biotechnol* 1993;11:278–84.
- Reichardt T. A. , A. M. Collins, O. F. Garcia, A. M. Ruffing, H.D.T. Jones, J.A. Timlin, 2012. Spectroradiometric Monitoring of *Nannochloropsis salina* Growth. *Algal Research* 1 (2012) 22–31

- Richmond A., Z. Cheng-Wu, 2001. Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. Outdoors. *Journal of Biotechnology* 85 (2001) 259–269
- Richmond, A. and Cheng-Wu, Z., 2000, Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. outdoors, *Journal of Biotechnology* 85: 259-269p.
- Richmond, A. and Zou, N., 1999, Effect of light-path length in outdoor flat plate reactors on output rate of cell mass and of EPA in *Nannochloropsis* sp., *J Biotechnol*, 70: 351–356p.
- Richmond, A., 2004, *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*, Blackwell Publishing Ltd.
- Richmond, A., Cheng-Wu, Z. and Zarmi, Y., 2003. Efficient use of strong light for high photosynthetic productivity: interrelationships between the optical path, the optimal population density and cell-growth inhibition, *Biomolecular Engineering*, 1, 8, (2003).
- Rodolfi, L., Zittelli, G.C., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G. and Tredici, 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.
- Sawayama, S., Inoue, S., Dote, Y., Yokoyama, S.Y., 1995. CO₂ fixation and oil production through microalga. *Energy Convers Manag.*, 36: 729–31.
- Schuchardt, U., Sercheli, R., Vargas, R.M., 1998. Transesterification of vegetable oils a review. *J Braz Chem Soc.* 9:199–210.
- Shen Y., Y. Cui, W. Yuan, 2013. Flocculation Optimization of Microalga *Nannochloropsis oculata* *Appl Biochem Biotechnol* (2013) 169:2049–2063, DOI 10.1007/s12010-013-0123-4
- Shifrin, N.S., Chisholm, S.W., 1981. Phytoplankton lipids: interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light-dark cycles. *J. Phycol.* 17: 372–84.
- Siaut, M., Heijde, M., Mangogna, M., Montsant, A., Coesel, S., Allen, A., Manfredonia, A., Falciatore, A., Bowler, C., 2007. Molecular toolbox for studying diatom biology in *Phaeodactylum tricornutum*. *Gene*. doi:10.1016/j.gene.2007.05.022 Golden, CO, 149p.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., 2006. Commercial applications of microalgae. *J Biosci Bioeng.* 101:87–96.
- Sukenik A. and Y. Carmeli, 1990. Lipid Synthesis and Fatty Acid Composition in *Nannochloropsis* Sp. (*Eustigmatophyceae*) Grown in a Light-Dark Cycle, *Phycol.* 26, 463-469 (1990).
- Thomsen, L. (2010). “How ‘green’ are algae farms for biofuel production”. *Biofuels.* 1(4): 515-517

- Tredici, M.R., Abdulqader, G. and Barsanti, L., Harvest of *Arthrospira platensis* from Lake Kossorom (Chad) and its household usage among the Kanembu, *Journal of Applied Phycology*, 12, 493–498, (2000).
- Tredici, M.R., Rodolfi, L., Zittelli, G. C., Barsanti, L., Rosati, G., Growth medium recycling in *Nannochloropsis* sp. mass cultivation, *Biomolecular Engineering*, 1, 6, (2003).
- Tsuzuki, M., Ohnuma, E., Sato, N., Takaku, T. and Kawaguchi, A., 1990, Effects of co₂ concentration during growth on fatty acid composition in microalgae, *Plant Physiol*, 93: 851-856p.
- Tüccar, G., 2011. Biodiesel Production from Microalgae. Çukurova University, Institute of Natural and Applied Sciences, Department of Mechanical Engineering, MSc Thesis.
- Zheng S, M. Kates, M.A. Dube, D.D. McLean (2006). Acid-catalyzed production of biodiesel from waste frying oil. *Biomass Bioenergy* (30), 267–272.
- Zittelli C. G., R. Pastorelli, M. R. Tredici, 2000. A Modular Flat Panel Photobioreactor (MFPP) for indoor mass cultivation of *Nannochloropsis* sp. under artificial illumination, *Journal of Applied Phycology* 12: 521–526, 2000.
- Zittelli G.C., L. Rodolfi and M.R. Tredici, 2003. Mass cultivation of *Nannochloropsis* sp. in annular reactors. *Journal of Applied Phycology* 15: 107–114, 2003.
- Zou N., A. Richmond, 2000. Light-path length and population density in photoacclimation of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae) *Journal of Applied Phycology* 12: 349–354, 2000.