



Mikroalg üretimi ve mikroalglerden biyoyakıt eldesi

Harun Elcik^{1*}, Mehmet Çakmakcı²

¹Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 69000, Bayburt, Türkiye

²Yıldız Teknik Üniversitesi, İnşaat Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 34000, İstanbul, Türkiye

Ö N E Ç İ K A N L A R

- Mikroalg üretiminde etkili faktörler
- Biyoyakıt üretimi için mikroalglerin hasadı
- Biyoyakıt üretiminde mikroalglerin kullanım potansiyeli

Makale Bilgileri

Tarama Makalesi

Geliş: 17.05.2016

Kabul: 29.05.2017

DOI:

10.17341/gazimmfd.337627

Anahtar Kelimeler:

Mikroalgler,
kültivasyon,
fotobiyoreaktörler,
hasat,
biyoyakıt

ÖZET

Enerji ihtiyacının büyük bir bölümünü karşılayan fosil yakıt rezervleri hızla tükenmektedir ve bu yakıtların çevresel zararları her geçen gün artmaktadır. Bu sebeple, tüm gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler gibi ülkemiz de yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımına yönelmiştir. Bu kapsamda ülkemizde, yenilenebilir enerji yasası çıkarılarak yenilenebilir enerji kaynaklarının ekonomiye kazandırılması, sürdürülebilir enerji üretiminin desteklenmesi ve çevrenin korunması amaçlanmıştır. Son dönemde önemi artan yenilenebilir enerji kaynaklarından bir tanesi de biyokütle enerjisidir. Biyokütle enerji kaynağı olarak, ana bileşenleri karbonhidrat bileşikler olan bitkisel ve hayvansal kökenli tüm organik maddeler kullanılabilir. Bu enerji kaynakları içerisinde mikroalgler, yüksek fotosentetik etkinlikleri, yüksek biyokütle üretimleri ve hızlı çoğalmaları gibi avantajlarıyla biyoyakıt üretimi için umut verici görülmektedir. Mikroalglerden, biyokimyasal yöntemler ile elektrik, etanol, hidrojen, metan ve biyodizel üretilbildiği gibi termokimyasal yöntemler kullanılarak da sentez gazı, biyolojik kömür, biyodizel ve elektrik üretilmektedir. Bu derleme makalesinde, mikroalglerin izolasyonu, mikroalgal biyokütle üretimi, biyokütlenin hasadında kullanılan yöntemler ve mikroalglerin yenilenebilir biyoyakıtlar için ham madde kaynağı olarak kullanılabilirliği incelenmiştir.

Microalgae production and biofuel from microalgae

H I G H L I G H T S

- Factors affecting microalgae production
- Microalgae harvesting for biofuel production
- Potential for use of microalgae in biofuel production

Article Info

Review Article

Received: 17.05.2016

Accepted: 29.05.2017

DOI:

10.17341/gazimmfd.337627

Keywords:

Microalgae,
cultivation,
photobioreactors,
harvest,
biofuel

ABSTRACT

Fossil fuel reserves which supplying a major portion of energy needs, are depleting rapidly, and its environmental damages increases day by day. Therefore, like all developed and developing countries, our country have focused on the use of renewable energy sources. Within this scope in the our country, it was aimed gain of renewable energy sources to economy, promotion of sustainable energy production, and protection of environmental. Recently, one of the growing importance of renewable energy sources is the biomass energy. As an biomass energy source, all vegetable and animal organic substances which the main components are comprising carbohydrate compounds can be used. In these energy sources, microalgae seem promising for biofuel production due to their many advantages such as they have high photosynthetic efficiency, high biomass production, and they grow quickly. From microalgae, by using biochemical methods electricity, ethanol, hydrogen, methane and biodiesel and thermochemical methods syngas, biochar, biodiesel and electricity can be produced. In this review article, isolation of microalgae, microalgal biomass production, the methods used to biomass harvesting, and the availability of microalgae as a source of raw materials for renewable biofuels were viewed.

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

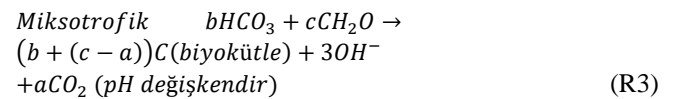
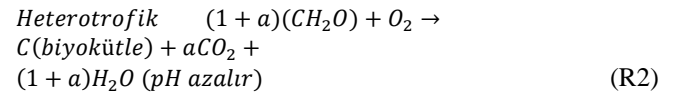
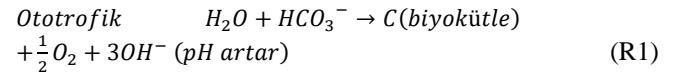
Fosil yakıtların rezerv ömürlerinin kısıllığı, nüfus artışı ve teknolojinin gelişimiyle birlikte kullanımındaki artış ve meydana getirdiği çevresel etkiler dikkate alındığında, dünya genelinde yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımına ilginin her geçen gün arttığı görülmektedir [1, 2]. Yenilenebilir enerji kaynakları, biyokütle, hidrojen, jeotermal, güneş, rüzgâr ve dalga enerjisi olarak sınıflandırılmaktadır [3, 4]. Son dönemde yenilenebilir enerji kaynaklarından biyokütle enerjisine ilgi oldukça artmıştır [5, 6]. Ana bileşenleri karbonhidrat bileşikleridir olan bitkisel ve hayvansal kökenli tüm organik maddeler biyoyakıt olarak kullanılabilir. Biyokütleden bitkisel yağ, biyodizel, biyoetanol, biyogaz, biyoyağ, biyohidrojen gibi birçok biyoyakıt üretilmektedir [7]. Biyoyakıtlar, konvansiyonel enerji kaynaklarına göre birçok avantaja sahiptir ve çevre dostu sürdürülebilir enerji kaynaklarıdır [8]. Enerji kaynağı olarak biyoyakıtların kullanımı ile fosil yakıtlardan kaynaklanan karbondioksit emisyonları azalmakta ve fosil yakıt rezervlerine bağlı kalımsızlık, enerji güvenliği artmaktadır [9]. Biyoyakıtlar, 1. nesil, 2. nesil ve 3. nesil olarak ifade edilen ham maddelerden üretilmektedir [8, 10]. Jatrofa, badem, arpa, ketencik, hindistan cevizi, yer fıstığı, defne, yulaf, haşhaş, bamyaya tohumu, pirinç, kepek, susam, ay çiçeği, kolza 1. nesil ham maddeler, hayvansal yağlar ve yemek atıkları 2. nesil ham maddeler ve mikroorganizmalar ise 3. nesil ham maddeler olarak adlandırılmaktadır [8]. Hali hazırda, yağlı bitkilerden ve atık yağlardan üretilen biyoyakıtlar mevcut yakıt ihtiyacını karşılayacak potansiyele sahip değilken, mikroalgler yakıt üretimi için umut verici bir ham madde kaynağı olarak görülmektedir [6, 11]. Mikroalglerin fotosentez hızı biyoyakıt üretiminde kullanılan diğer karasal bitkilere göre yaklaşık 50 kat daha fazladır [12]. Karasal bitkilere göre biyoyakıt verimleri (>12000 L/ha) oldukça yüksektir [13]. Trigliserit üretiminde karasal bitkilere göre 45-220 kat daha fazla verim elde edilmektedir [14]. Yetiştirilmeleri için verimli tarımsal topraklar gerekmemektedir. Bu çalışmada, mikroalglerin karakteristik özellikleri, mikroalgal biyokütle üretimine etki eden faktörler ve üretim yöntemleri, biyokütle üretiminden sonra uygulanan hasat yöntemleri ve ham madde kaynağı olarak farklı biyoyakıtların üretiminde kullanılma potansiyeli ayrıntılı bir şekilde ele alınmıştır.

2. MİKROALGLER (MICROALGAE)

Mikroalg, sucul ortamda gelişen, tek hücreli ve çok hücreli yapılarda olabilen, basit mikroskopik heterotrofik ve/veya ototrofik fotosentetik organizmadır [15]. Prokaryotik veya ökaryotik yapıda bulunabilen mikroalgler, hızlı bir şekilde çoğalabilmekte ve tek hücreli veya basit çok hücreli yapıları sayesinde olumsuz şartlarda bile yaşayabilmektedir [16]. Mikroalg'in kimyasal formülü bazı kaynaklarda $CO_{0.48}H_{1.83}N_{0.11}P_{0.01}$ [17, 18] olarak, bazı kaynaklarda ise $C_{106}H_{181}O_{45}N_{16}P_1$ [19] olarak ifade edilmektedir.

Mikroalglerin 50000'den fazla türü olduğu tahmin edilmektedir, ancak yaklaşık 30000'e yakın tür belirlenebilmiştir [16]. Mikroalglerin yapısında başlıca lipitler (%4-55) [20, 21], karbonhidratlar (%6-57) [22, 23], proteinler (%10-63) [20, 21] olmak üzere birçok bileşen yer almaktadır. Bazı mikroalg türlerinin de ayrıca %70'den (kuru ağırlık bazında) fazla lipit içerdiği rapor edilmiştir [12, 13]. Mikroalg'in kimyasal kompozisyonu çoğunlukla türe ve kültür şartlarına göre değişiklik göstermektedir [15]. Bazı mikroalg türlerinin yapısındaki bileşenlerin yüzdelik oranları Tablo 1'de verilmiştir. Mikroalgler, genellikle ototrofik olarak yaşarlar ve pigmentlerini kullanarak fotosentez yaparlar. Fotosentez yaparak, karbondioksit, su ve güneş ışığını biyokütleye dönüştürürler [7, 15]. Ancak, türlerin spesifik özelliklerine göre ototrofik şartlar haricinde, heterotrofik ve miksotrofik olarak da gelişebilirler. Örneğin, *Haematococcus pluvialis* [24], *C. Sorokiniana* [25], *Chlorella vulgaris* [26], ototrofik, heterotrofik ve miksotrofik şartlarda gelişebilmektedir [27].

Heterotrofik mikroalgler, karanlık şartlarda karbon kaynağı olarak organik karbonu kullanırlar [28]. Miksotrofik algler, ototrofik ve heterotrofik beslenmenin birleşimi bir karakteristik gösterirler, karbon kaynağı olarak hem organik karbonu hem de inorganik karbonu kullanırlar [27, 28]. Heterotrofik ve miksotrofik gelişimde, yaygınlıkla organik karbon kaynağı olarak glikoz, galaktoz, mannoz, fruktoz, sükröz ve laktöz kullanılmaktadır [29]. Organik karbondan elde edilen enerji, hücre sentezinde kullanılırken, ışık enerjisinden dönüştürülen kimyasal enerji depolanmaktadır [27]. Ortamın pH değeri şartlara göre değişim göstermektedir. Ototrofik, heterotrofik ve miksotrofik şartlarda pH değişiminin metabolik reaksiyonları reaksiyon 1, reaksiyon 2 ve reaksiyon 3'te verilmiştir.



Ototrofik mikroalgler, inorganik karbonu kullanırlar ve hidroksil üreterek pH'ı yükseltirler. Heterotrofik mikroalgler, organik karbonu kullanırlar ve CO₂ üreterek pH'ı düşürürler. Miksotrofik mikroalgler eş zamanlı olarak hem organik hem de inorganik karbonu kullanırlar ve pH değeri değişkenlik göstermektedir.

3. MİKROALG ÜRETİMİNİN TARİHÇESİ (HISTORY OF MICROALGAE PRODUCTION)

Mikroalglerin laboratuvar ortamında yetiştirilmesi yaklaşık 140, ticari olarak yetiştirilmesi ise yaklaşık 60 yıllık bir süreyle kapsamaktadır [36]. İlk kültür çalışması Cohn [37]

Tablo 1. Bazı mikroalg türlerinin yapısındaki bileşenlerin yüzdelik oranları
(Compositions of some microalgae species in percentage basis)

Mikroalg	Bileşenler (% kuru ağırlık olarak)			Referans
	Karbonhidrat	Protein	Lipit	
<i>Chlorella vulgaris</i>	6-10	25-30	30-40	[22]
<i>Scenedesmus obliquus</i>	10-17	50-56	12-14	[30]
<i>Spirulina platensis</i>	8-14	46-63	4-9	[20]
<i>Pavlova lutheri</i>	11,7	28,8	37	[31]
<i>Isochrysis sp.</i>	26,7	21,5	31,9	[31]
<i>Chlorella protothecoides*</i>	15,4	10,2	55,2	[21]
<i>Prymnesium parvum</i>	25-33	28-45	22-38	[32]
<i>Dunaliella salina</i>	32	57	6	[33]
<i>Porphyridium cruentum</i>	40-57	28-39	9-14	[23]
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	17	48	21	[34]
<i>Chlamydomonas sp. JSC4</i>	33,2	17,9	41,1	[35]

Büyüme * *işaretili* türde heterotrofik, diğer türlerde ototrofikdir.

tarafından *Haematococcus pluvialis* türü ile yapılmış, daha sonra Famintzin [38] tarafından yeşil alglerden *Chlorococcum infusionum* ve *Desmococcus olivaceus* basit inorganik kültür ortamında geliştirilmiştir [36]. Modern mikroalg kültür çalışmaları Beijerinck [39] tarafından *Chlorella vulgaris* ile başlamıştır [36]. İlk olarak, zengin lipit içeriklerine sahip olan mikroalglerin, besin ve yakıt üretimi için kullanılabilirliği Harder ve von Witsch tarafından önerilmiştir [40,41]. Daha sonra Milner tarafından algleri kullanarak fotosentetik yağ üretiminin mümkün olabileceği ifade edilmiştir [42]. Bu konuyla ilgili detaylı araştırma Aach tarafından *Chlorella pyrenoidosa* ile yapılmış, mikroalglerin azot sınırlayıcı ortamda bünyelerinde %70 (kuru ağırlık)'den fazla lipit biriktirebildikleri rapor edilmiştir [36, 43].

1948-1950'li yıllarda alg yetiştirme sistemleri için büyük ölçekli çalışmalar Stanford Araştırma Enstitüsü'nde başlamıştır [36]. 1951 yılında pilot ölçekli açık sistemler kullanılarak *Chlorella* türü mikroalg üretimi çalışmaları Cambridge, ABD'de gerçekleştirilmiştir. 1960'larda William (Bill) Oswald ve ekibi Kaliforniya Üniversitesinde biyokütle üretimi ve atıksu arıtımı için büyük ölçekli alg geliştirme çalışmalarına odaklanmıştır [44, 45]. 1960'ların başında 2700 m² alanda 1000 m³ kapasiteli kıvrımlı havuz Richmond tarafından Kaliforniya'da kurulmuştur. Mikroalglerin, Meksika [46], Afrika, Asya'da besin kaynağı olarak kullanımı yüzyıllar öncesine dayansa da [47, 48], mikroalg yetiştiriciliği yakın zamanda gelişmeye başlamıştır [36]. 1960 yıllarında Tayvan ve Japonya'da ticari amaçlı, besin kaynağı olarak *Chlorella* yetiştirilmiş ve 1970'li yıllarda gelişerek Asya'daki Çin ve diğer ülkeler de yetiştirmeye başlamıştır. İlk *Spirulina* üretim tesisi 1970'li yılların başında Meksiko şehrinin yakınındaki Texcoco gölü üzerinde kurulmuş, 1995 yılına kadar faaliyet göstermiştir [36]. 1980 yılında ABD'de geliştirilen yarış pisti tipi kültürasyon (yetiştirme) havuzlarında *Spirulina* üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu *Spirulina* havuzlarının yıllık kapasitesi 1000 ton kuru *Spirulina* biyokütle olarak rapor edilmiştir [36]. 1980 yıllarında İsrail, ABD ve Avustralya'da tuzlu suda yaşayan *Dunaliella salina* türü yeşil alg'in, β -karoten kaynağı olarak ticari amaçlı üretimi

gerçekleştirilmiştir. Günümüzde Avustralya ve İsrail'de yıllık >1000 ton kuru *Dunaliella* biyokütle üretimi gerçekleşmekte, içeriğindeki β -karoten tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır. Tatlı su yeşil alg'i olan *Haematococcus pluvialis*'in karoten kaynağı olarak kullanımı 1990'ların sonunda Cyanotech firmasıyla Hawaii'de başlamıştır. 1970'lerin ortalarından 1990'ların ortalarına kadar ABD Ulusal Yenilenebilir Enerji Laboratuvarı, mikroalglerin biyodizel kaynağı olarak kullanımının geliştirilmesiyle ilgili projeler gerçekleştirmiştir [16, 49]. 1990'ların ortalarında ABD Enerji Bakanlığı (ABDEB) benzin fiyatlarının düşüklüğü sebebiyle bu çalışmalara son vermiştir [49]. 2008 yılında ABDEB algal biyoyakıtlarla ilgili projelere yatırım yapmaya tekrar başlamıştır [49]. Günümüzde, algal yakıtların ticarileştirmesi için birçok şirket araştırmalarını sürdürmektedir [50]. Örneğin, ExxonMobil firması mikroalglerden biyoyakıt üretimi için 600 milyon dolar yatırım yapmıştır [49]. OriginOil firması yaptığı son çalışmalarda üretim maliyetini 0,60\$/L'ye düşürmüştür [51]. Singh ve Gu [52] dünya genelinde algal yakıt üreten bu firmaların %78'inin ABD'de %13'ünün Avrupa'da ve %9'unun diğer bölgelerde olduğunu rapor etmiştir.

4. MİKROALG İZOLASYONU (MICROALGAE ISOLATION)

Mikroalglerin izolasyonu ve seçilmesi kullanım amacına göre değişmektedir [8]. Örneğin, kirlenmiş bir bölgeden toplanan türler, kontaminantlara daha dayanıklı olacağı için atıksu arıtımında kullanılabilir [8]. Benzer şekilde, yağ içeren bir bölgeden toplanan türler, besin olarak yağı kullanıp, bünyelerinde depolayacakları için yağ biriktirme yetenekleri gelişmiş olacaktır [8] ve biyoyakıt üretiminde kullanılabilir. Doğru mikroalg türünün seçimi için belirli parametrelerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir [8]. Genel olarak, seçilecek mikroalg türü sıcaklık, ışık, pH, besin miktarı, karbon miktarı ve bakteriyel kontaminasyon gibi çevresel değişimlere dirençli olmalıdır [8]. Özellikle biyoyakıt üretimi için gerçekleştirilen büyük ölçekli mikroalg kültürasyonunda başarılı olabilmek için o bölgenin belirli çevresel ve iklimsel koşullarına adapte olmuş yerli

mikroalg türleri seçilmelidir [53]. Mikroorganizmaların sınıflandırılmasında, suş (strain) bir mikroorganizmanın farklı alt türlerinin aralarında genetik farklılıklar bulunan gruplarını, tür (species) aynı soydan gelen ve benzer özellikleri taşıyan mikroorganizmaları, cins (genus) benzer türlerin meydana getirdiği daha büyük grubu ifade etmektedir. Doğada, 1-10 milyon arasında algal tür olduğu rapor edilmiştir [53, 54]. Bu türler tatlı su, göl, hafif tuzlu su, deniz, olgunlaşma (maturasyon) havuzları ve yüksek tuzlu vb. sucul ortamlarda bulunmaktadır [53]. Ayrıca, birçok mikroalg türünün temin edilebildiği kültür koleksiyonlarından uygun türlerin satın alınarak çoğaltılması mümkündür. UTEX (ABD), ACOI (Portekiz), ANACC (Avustralya), CCAP (İngiltere), NIES (Japonya), SAG (Almanya), CPCC (Kanada) yaygın olarak bilinen kültür koleksiyonlarıdır. UTEX (The University of Texas Algal Culture Collection), 1953 yılında Texas Üniversitesinde kurulmuştur ve koleksiyonunda 2300 farklı mikroalg suşu bulundurmaktadır [16]. ACOI (Coimbra collection of algae), Coimbra Üniversitesinde kurulmuş olup, koleksiyonunda 4000'den fazla suş ve 1000'den fazla tür bulundurmaktadır [16]. SAG, 1920 yılında Goettingen Üniversitesinde kurulmuştur ve koleksiyonunda yaklaşık 2213 suş ve 1273 tür bulunmaktadır [16]. Tablo 2'de yaygın olarak bilinen mikroalg koleksiyonları ile ilgili bilgiler verilmiştir. Kültür koleksiyonlarında yetiştirilen birçok mikroalg türü kontrollü ve sabit şartlar altında yetiştirildikleri için yıllar geçtikçe çoğalma yetenekleri ve çevresel şartlara olan dirençleri gibi orijinal özelliklerini kaybedebilmektedir [55]. Bundan dolayı, o bölgenin çevresel şartlarına adapte olmuş yeni türlerin doğadan izole edilmesi daha doğrudur. Literatürde, doğadan numune alınması ile ilgili belirlenmiş bir numune alma prosedürü bulunmamaktadır [54]. Bu yüzden araştırmacılar basit ve ucuz numune alma metodlarını

kullanmaktadır [54]. Numuneler, kaya yüzeylerinden veya dip sedimentlerden yontma, ayıklama, fırçalama yolu ile toplanabilmektedir. Fırçalama yöntemi en etkili yöntem olup, mikroalg hücreler zarar görmeden toplanabilmektedir. Derin tatlı su göllerinden ve barajlardan numune alma işleminde, en az üç farklı derinlikten numuneler alınarak, farklı aydınlatma düzeylerine toleranslı türler seçilebilmektedir [54]. Doğadan toplanan mikroalg türlerinin izolasyonu için birçok yöntem kullanılmaktadır. Mikropipet ile tek hücre izolasyonu, agar yöntemi ile izolasyon, seyreltme tekniği, ağırlığa göre ayırma en çok bilinen izolasyon yöntemleridir. İzolasyon işleminde izlenen prosedür genel olarak: (1) doğadan toplanarak laboratuvara getirilen numunedan, büyük boyuttaki istenmeyen türlerin filtre edilerek ayrılması, (2) filtre edilen numunedan seyreltmeler yapılarak kademeli bir şekilde hücre sayısının azaltılması, (3) seyreltilmiş numune mikroskopta incelenerek, belirlenen mikroalg türünün petri kaplarında hazırlanan agar besi ortamına ekilmesi, (4) agar besi ortamında, belirlenen büyüme şartları altında (ör. sıcaklık 20-30°C, ışık 20-200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) üretilen mikroalglerin mikroskopta incelenerek iğne uçlu öze ile sıvı besi ortamına ekilmesi adımlarından oluşmaktadır.

5. MİKROALGAL BİYOKÜTLE ÜRETİMİ (MICROALGAL BIOMASS PRODUCTION)

Mikroalglerden biyoyakıt üretim teknolojisi, mikroalglerin izolasyonu ve karakterizasyonu, mikroalg biyokütle üretimi, hasat ve ürün işleme prosesleri olmak üzere temelde dört aşamadan oluşmaktadır [55]. Mikroalglerden biyoyakıt üretiminin geliştirilmesinde birçok faktör önemli olmakla birlikte, bunların arasında mikroalg kültürasyonu işlemi anahtar rol oynamaktadır [55].

Tablo 2. Yaygın olarak bilinen mikroalg kültür koleksiyonları (Commonly known microalgae culture collections)

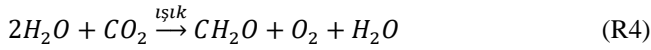
Koleksiyon Adı	Ülke	Algal suş sayısı	İnternet adresi
ACOI, Coimbra Collection of Algae	Portekiz	4000	http://acoi.ci.uc.pt/
ANACC, Australian National Algae Culture Collection	Avustralya	1149	http://www.csiro.au/ANACC
CCAC, Culture Collection of Algae at the University of Cologne	Almanya	1370	http://www.ccac.uni-koeln.de/
CCAP, Culture Collection of Algae and Protozoa	İngiltere	2500	http://www.ccap.ac.uk
CCMP, Provasoli-Guillard National Center for Marine Algae and Microbiota	ABD	2799	http://ncma.bigelow.org/
FACHB, Freshwater Algae Culture Collection, Chinese Academy of Sciences	Çin	1138	http://algae.ihb.ac.cn/
KMMCC, Korea Marine Microalgae Culture Center	Kore	1299	http://www.kmcc.re.kr/
NIES, Microbial Culture Collection at National Institute for Environmental Studies	Japonya	2159	http://mcc.nies.go.jp/
SAG, Sammlung von Algenkulturen at University of Goettingen	Almanya	2041	http://epsag.uni-goettingen.de/
SCCAP, Scandinavian Culture Collection of Algae & Protozoa	Danimarka	1033	http://www.sccap.dk/
UTEX, The Culture Collection of Algae at the University of Texas Austin	ABD	2300	http://www.utex.org/

5.1. Mikroalg Üretiminde Etkili Olan Faktörler (Factors Affecting Microalgae Production)

Mikroalglerin üretiminde, biyolojik, biyolojik olmayan ve işletme parametrelerinden kaynaklanan birçok faktör etkili olmaktadır [16]. Işık [56, 57], sıcaklık [55], besin maddesi [58], oksijen [8], karbondioksit [59, 60], pH, tuzluluk [11] ve toksik kimyasallar biyolojik olmayan faktörlerdendir [16]. Bakteri, fungi virüs gibi patojenler ve diğer alg türlerinden kaynaklanan rekabet ortamı ise biyolojik faktörler içerisinde yer almaktadır [16]. Ayrıca karıştırma [8], seyreltme oranı, hasat sıklığı [61, 62], gibi işletme parametreleri de mikroalgal büyükle üretimini etkilemektedir [16].

5.1.1. Işık (Light)

Günümüzde, mikroalglerin yetiştirilmesinde kullanılan en yaygın yöntem fotoototrofik kültürasyondur [63]. Fotoototrofik mikroalgler, karbondioksit ve ışığı kullanarak fotosentez yaparlar [8]. Işık kaynağına bağlı olarak absorbe edilen enerjiyi, adenosin trifosfat (ATP) ve nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP) gibi kimyasal enerjiye dönüştürürler [64]. Fotosentez reaksiyonu temel olarak reaksiyon 4'te verilmiştir.



Mikroalglerin fotoototrofik kültürasyonu önemli ölçüde ışık enerjisine bağlıdır [65]. Işık, mikroalglerin fotosentetik etkinliğini doğrudan etkilemektedir [66]. Fotosentetik etkinlik, fotoototrofik gelişim süresince ışık enerjisinin kimyasal enerjiye dönüştürülmesi olarak ifade edilmektedir [60]. Fotosentetik etkinlik, ışık spektrumuna göre farklılık göstermektedir. Mikroalgler fotosentez için genellikle, 400-700 nm dalga boyundaki ışığı kullanırlar [64, 67]. Absorbe edilen dalga boyu mikroalg türüne bağlı olarak değişebilmektedir [64]. Örneğin, yeşil mikroalgler fotosentez sırasında klorofil (yeşil) pigmentleri ile en iyi 450-475 nm ve 630-675 nm aralığındaki ışık enerjisini absorbe etmektedir [67, 68]. Mikroalglerin büyüme hızı ve lipit üretimleri aydınlatma düzeyine göre değişebilmektedir [64]. Aşırı ışık yoğunluğu fotooksidasyon ve fotoinhibisyona sebep olabilirken [8, 69], düşük ışık

seviyeleri büyüme sınırlayıcı olabilmektedir [68]. Bu sebeple, mikroalg gelişiminde, ışığın hangi şiddetinde yeterli doygunluğa ulaştığı, ışık kullanım verimliliğinin belirlenmesinde önemli bir faktördür. Genel olarak, birçok fotosentetik mikroorganizmanın doygunluğa ulaştığı aydınlatma düzeyi yaklaşık $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ olduğu rapor edilmiştir [68]. Sharma vd. [70] yaptıkları çalışmada, aydınlatma düzeyini $20 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 'den $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 'ye çıkardıklarında mikroalglerin spesifik büyüme hızının üç kat arttığını ifade etmiştir. Mikroalglerin gelişiminde etkili olan faktörlerden bir tanesi de fotoperiyot zamanıdır [71]. Fotoperiyot, mikroalglerin gün içinde maruz kaldığı aydınlık/karanlık saatleri ifade etmektedir. Wahidin vd. [72] *Nannochloropsis sp.* ile fotoperiyot zamanının mikroalg gelişimine ve lipit üretimine etkisini araştırmış, en iyi sonuçları (maksimum hücre konsantrasyonu: 6.5×10^7 hücre·ml⁻¹, lipit: %31,3 kuru ağırlık) 18 saat aydınlık 6 saat karanlık döngüde bulmuştur. Lee vd. [73], karbon giderimi için fotoperiyot süresi içerisinde, karanlık döngünün uzatılmasının avantaj, azot ve fosfor giderimi için dezavantaj olduğunu ifade etmiştir. Ayrıca, Lee vd. [73] mikroalgal biyokütle üretimi için aydınlık sürenin uzun tutulmasının avantajlı olacağını belirtmiştir. Bazı mikroalg türlerinin kültürasyonunda kullanılan fotoperiyot zamanları ve ışık şiddetleri Tablo 3'te verilmiştir.

5.1.2. Sıcaklık (Temperature)

Sıcaklık, mikroalg gelişimini, özellikle hücre morfolojisi ve fizyolojisini etkileyen önemli faktörlerdendir [81]. Genellikle, yüksek sıcaklıklar metabolizma hızını artırırken, düşük sıcaklıklar mikroalgal büyümeyi engellemektedir [82, 83]. Mikroalg hücrelerindeki enzimler, optimum sıcaklık şartlarında en yüksek aktiviteye sahiptir [66]. Optimum sıcaklık değerleri mikroalg türüne göre değişiklik göstermekle birlikte ışık yoğunluğu gibi çevresel faktörlerden de etkilenmektedir [66, 83]. Mikroalgler, 5-35°C gibi geniş sıcaklık değerlerinde gelişebilmektedir [8]. Ancak birçok mikroalg türü için optimum büyüme sıcaklığı 20-30°C arasındadır [11, 84]. Sıcaklık, aynı zamanda mikroalgler için bir fiziksel stres faktörüdür [85]. Hücrenin lipit kompozisyonu, besin maddesi alımı, karbon fiksasyonu ve büyüme hızı sıcaklıktan etkilenmektedir [85]. Sıcaklık

Tablo 3. Bazı mikroalglerin kültürasyonunda kullanılan fotoperiyot zamanları ve ışık şiddetleri
(Photoperiod times and light intensities used in the cultivation of some microalgae)

Mikroalg	Aydınlık/karanlık döngü (saat)	Aydınlatma düzeyi ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	Referans
Chlorella vulgaris	14/10	250	[74]
Tetraselmis suecica	12/12	125	[75]
Phaeodactylum tricornutum	12/12	125	[75]
Chlorococcum sp. RAP-13	13/11	40	[76]
Scenedesmus obliquus	14/10	250	[74]
Desmodesmus sp. EJ9-6	15/9	120	[77]
Nannochloropsis oculata	24/0	150	[78]
Cheatoceros sp.	16/8	40	[63]
Spirulina platensis	12/12	27	[79]
Botryococcus braunii-TN101	16/8	30	[80]

stresi, sitoplazmik viskozite değişikliklerine sebep olmakta, karbon ve azot kullanımını azaltabilmektedir [85]. Bazı mikroalglerin büyüme sıcaklıkları Tablo 4'te verilmiştir. Sakamoto vd. [86] *Synechococcus sp. PCC 7002* ile yaptığı çalışmada, en kısa ikilenme süresini (3,5 saat) 38°C kültivasyon sıcaklığında bulmuştur. Chokshi vd. [87] *Acutodesmus dimorphus* ile yaptıkları çalışmada en iyi büyümenin 35°C'de gerçekleştiğini ve bünyesinde %22,7 lipit, %33,7 karbonhidrat ve %38 protein biriktirebildiğini ifade etmiştir. Converti vd. [88] *N. oculata* ile yaptıkları çalışmada, optimum sıcaklık şartlarında (25°C), lipit üretiminin iki katına çıktığını belirlemiştir.

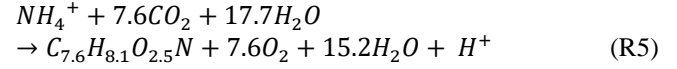
5.1.3. Besin Maddesi (Nutrient)

Karbon, azot ve fosfor mikroalglerin yetiştirilmesinde gerekli olan başlıca besin maddeleridir [6, 100]. Ayrıca eser miktarda silika, kalsiyum, magnezyum, potasyum, demir, mangan, sülfür, çinko, bakır, kobalt gibi mikro besin maddelerine ihtiyaç vardır [6]. **Karbon:** Mikroalgal biyokütlenin kuru ağırlık olarak yaklaşık %50'si karbon içermektedir [88, 101]. Mikroalgler hem organik hem de inorganik karbon kaynaklarını kullanabilmektedir [8]. Ototrof mikroalgler inorganik karbonu kullanırken, heterotrof mikroalgler organik karbonu kullanmaktadır [8]. Ototrofik mikroalgler inorganik karbon kaynağı olarak öncelik sırasına göre karbondioksit (CO₂) > bikarbonat (HCO₃⁻¹) > karbonat (CO₃⁻²)'ı kullanırlar [6]. Mikroalg kültürüne verilen karbondioksit genellikle atmosferden temin edilmektedir. CO₂'nin sudaki çözünürlüğü düşük olduğu için, bir hava pompası yardımı ile sürekli besleme gerekmektedir [8]. Sisteme verilen CO₂, su ile reaksiyona girip pH'ı düşürebilmektedir. Bunu önlemek için, yüksek yoğunlukta aşı kullanılarak CO₂'nin tamamının mikroalgal kültür tarafından kullanılması sağlanmalıdır [8]. Rashid vd. [8] %1-15 CO₂ seviyesinde mikroalg büyüme hızı ve biyokütle üretiminin arttığını ifade etmiştir.

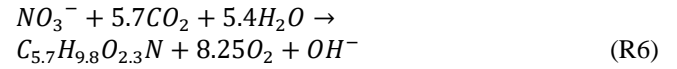
Azot: Azot, mikroalg'in büyüme, çoğalma ve diğer fizyolojik aktiviteleri için gerekli olan elementlerden bir tanesidir [55]. Mikroalgler azotu nitrat, nitrit, amonyum ve üre formunda kullanmaktadır [8]. Mikroalglerin hangi azot formunu

kullanacağı türe göre değişmekle birlikte, büyük çoğunluğu azot kaynağı olarak amonyumu tercih etmektedir [8]. Mikroalgler, genellikle öncelik sırasına göre amonyum > üre > nitrat > nitriti kullanırlar [55].

Azot kullanımı mikroalgal kültürün pH'ını değiştirmektedir. Mikroalglerin amonyumu kullanması durumunda H⁺ iyonu açığa çıkarak pH azalmaktadır. Bu reaksiyon, reaksiyon 5'te verilmiştir.



Amonyumun fazla kullanılması durumunda pH (<6) düşerek bazı mikroalg türlerinin gelişimini durdurabilir. Mikroalglerin nitratı kullanması durumunda pH artmaktadır. Teorik olarak bir mol nitrat kullanıldığında, 1 mol OH⁻ üretilmektedir [8, 102]. Bu reaksiyon, reaksiyon 6'da verilmiştir.



Nitrat kullanımı ile ortamın pH'ı ve mikroalgal gelişim arasında doğrusal bir ilişki vardır. Nitrat'ın fazla kullanılması durumunda pH artarak 10'un üzerine çıkabilir ve mikroalg gelişimini etkileyebilmektedir. Bu sebeple, azot kaynağı olarak amonyum ve nitratın kullanılması durumunda pH'ın ayarlanması gerekmektedir. Azot eksikliği, mikroalgler için kimyasal bir stres faktörüdür [103]. Birçok çalışmada, azot sınırlayıcı büyüme şartlarında mikroalglerin, daha fazla lipit biriktirebildikleri ifade edilmiştir [104, 105]. Radakovits vd. [106] mikroalglerin azot sınırlayıcı şartlarda çoğalmayı yavaşlatarak bünyelerinde lipit depolamaya başladıklarını ifade etmiştir. Zhila vd. [107] azot eksikliğinin mikroalglerin yapısındaki lipit türlerini değiştirdiğini rapor etmiştir. Guo vd. [108] mikroalg türlerine göre azot eksikliğinin mikroalglerin lipit üretimi üzerindeki etkilerinin değişebileceğini ifade etmiştir. Schenk vd. [109], birçok alg türünün normal şartlarda yaklaşık %10-30 (kuru ağırlık) arasında yağ içerdiğini, azot

Tablo 4. Bazı mikroalglerin büyüme sıcaklıkları (Growth temperatures of some microalgae)

Mikroalg	Kültivasyon sıcaklığı, °C	Referans
Chlorella sp. ADE5	30±2	[89]
Spirulina platensis	25±1	[79]
Botryococcus braunii	26±1	[90]
Desmodesmus sp. EJ9-6	24±1	[77]
Desmodesmus communis	18-25	[58]
Chlorella zofingiensis	25±1	[91]
Coccomyxa actinabiotis	24±2	[92]
Platymonas subcordiformis	25	[93]
Chlorella vulgaris	22±2	[94]
Anabaena sp. PCC 7120	30	[95]
Chodatella sp.	25	[96]
Scenedesmus obliquus	30±3	[97]
Chaetoceros sp.	35	[98]
Monoraphidium sp. SB2	25-35	[99]

sınırlayıcı şartlarda yağ üretiminin 2-3 katına çıkabileceğini ifade etmiştir. Breuer vd. [110], *Chlorella vulgaris*, *Chlorella zofingiensis*, *Neochloris oleoabundans* ve *Scenedesmus obliquus* türlerinin azot sınırlayıcı büyüme şartlarında kuru ağırlık olarak %35'den fazla lipid biriktirebildiğini rapor etmiştir. *Fosfor*: Fosfor, mikroalglerin önemli bir bileşenidir [111]. Fosfolipit, nükleik asit veya nükleotit gibi temel hücre bileşenleri içerisinde bulunmaktadır [111]. Ayrıca fosfor, hücre gelişimi ve mikroalg metabolizması için gerekli bir besin maddesidir [33]. Enerji transferi, hücre sel sinyal iletimi, fotosentez ve solunum gibi hücre sel metabolik süreçlerde önemli rol oynamaktadır [112]. Mikroalgler üzerinde, fosforun farklı formlarının metabolik mekanizması değişmektedir [55]. Örneğin, ortofosfatlar mikroalgler tarafından kolay absorbe edilmekte ve mikroalg gelişimine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır [55]. Fosfor, mikroalglerin lipid üretimini etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda, fosfor sınırlayıcı şartlarda mikroalglerin lipid üretimlerinin arttığı görülmüştür [104, 112]. Liang vd. [113] *Chlorella sp.* ile yaptıkları çalışmada, düşük fosfor konsantrasyonlarında mikroalglerin lipid içeriklerinin ve lipid üretimlerinin arttığını ifade etmiştir.

Diğer Besin Maddeleri: Mikroalglerin yetiştirilmesinde, temel besin maddeleri (karbon, azot, fosfor)'nin dışında eser miktarda silika, kalsiyum, magnezyum, potasyum, demir, bakır, çinko gibi mikro besin maddelerine de ihtiyaç vardır. Ancak, mikro besin maddelerinin çoğu, yüksek konsantrasyonlarda birçok mikroalg türü için toksik etki oluşturmaktadır [114]. Ayrıca, mikro besin maddelerinin bazıları, diğer temel elementler ile çökelti oluşturarak, bu elementlerin kullanılabilirliğini azaltmaktadır [114]. Örneğin, pH 9-11 arasında fosfor, kalsiyum fosfat olarak çökelmektedir [114, 115]. Mikroalglerin büyüme hızı ve hücre sel bileşimi, besin ortamının içeriğine bağlı olarak önemli ölçüde değişmektedir [35]. Mikroalglerin yetiştirilmesinde, doğal ve yapay besin ortamları kullanılmaktadır. Doğal besin ortamları daha ucuz olmalarına rağmen, mikroalglerin gelişimi için yeterli miktarda gereken besin maddelerini içermemeleri sebebiyle tercih edilmemektedir [8]. Yapay besin ortamları içerisindeki besin maddeleri ve konsantrasyonları mikroalg türüne göre değişmektedir [8]. Mikroalgler için yaygın kullanılan sentetik besin ortamları Tablo 5'te verilmiştir.

5.1.4. pH Değişimi (Changing of pH)

pH değeri, mikroalglerin metabolik aktivitelerini değiştirmektedir [8]. pH, besin alımı ile doğrudan ilişkilidir [8]. Karbondioksit ve nitrat alımında pH yükselirken, amonyak alımında düşmektedir [8]. Genel olarak, pH 10-11'in üzerinde, mikroalglerin gelişimi inhibe olmaktadır. Birçok alg türünün gelişimi için uygun pH değeri 7-9 arasındadır [140,141]. Ancak, bazı türler asidik veya alkali şartlarda da optimum gelişim gösterebilirler [66]. Örneğin, *Spirulina platensis* ve *C. Littorale* türleri için optimum pH değeri sırasıyla 9 ve 4 olarak belirlenmiştir [66]. Mikroalgal kültürasyon işleminde pH çoğunlukla karbondioksit, karbonat ve bikarbonat ile kontrol edilir. Bu karbon türleri pH'ı tamponlama etkisi gösterirler [8]. pH değeri 5'in altında iken, çözülmüş inorganik karbonların büyük çoğunluğu CO₂ formundadır [55]. pH 6,6 iken, CO₂ ve HCO₃⁻ eşit miktarda, pH 8,3 iken neredeyse tamamı HCO₃⁻ formundadır [55]. Bundan dolayı, mikroalg kültürasyon işleminde mikroalglerin karbondioksit kullanımını arttırmak için pH kontrol edilmelidir. Mikroalgler fotosentez yaparak CO₂'yi kullanırlar ve pH yükselir [55]. Yükselen pH'ı kontrol etmek için hidroklorik asit veya asetik asit kullanılır. Asetik asit, aynı zamanda karbon kaynağı olarak mikroalglerin gelişimine katkı sağladığı için hidroklorik asite göre daha avantajlıdır [55].

5.1.5. Karıştırma (Mixing)

Karıştırma, mikroalgler için önemli bir büyüme parametresidir [16]. Optimum karıştırma, ışık, sıcaklık ve gazların (O₂ ve CO₂) homojen dağılımı için gerekmektedir [8]. Ayrıca, mikroalglerin çökmesini önlemek ve besin maddelerinin kullanımını arttırmak için karıştırma gereklidir [9]. Karıştırma işlemi yavaş olursa, mikroalgal kültür içerisinde karanlık bölgeler oluşabilir [8]. Ayrıca, anaerobik bölgeler oluşarak, mikroalglerin gelişimini etkileyebilir. Karıştırma hızlı olursa, kesme gerilmesinden dolayı mikroalgal hücreler zarar görebilir [16, 142]. Karıştırma işlemi, mekanik karıştırıcılar (ör. çark, karıştırma kolu), mekanik pompalar veya gaz (hava veya diğer gaz karışımları) dağıtıcı sistemler ile yapılabilir [9]. Çoğunlukla, mekanik karıştırıcılar açık sistemlerde kullanılırken, pompalar ve gaz dağıtıcılar kapalı sistemlerde kullanılmaktadır [9]. Mikroalgal kültür ortamının

Tablo 5. Mikroalgler için yaygın kullanılan besin ortamları (Commonly used nutrient media for microalgae)

Mikroalg	Besin ortamı
<i>Chlorella zofingiensis</i>	BG-11 [116], Kuhl [117]
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	F/2 [118], Walne [119]
<i>Nannochloropsis oculata</i>	F/2 [120], Erdshriber [121]
<i>Nannochloropsis salina</i>	ASW [122], BG-11 [123], Walne [124]
<i>Chlorella vulgaris</i>	Bold Basal [125], BG-11 [126], Convey [127]
<i>Dunaliella salina</i>	De Walne's [128], F/2 [129]
<i>Spirulina platensis</i>	Zarrouk [130], SOT [131]
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Detmer's [132], BG-11 [133], KC [134]
<i>Anabaena sp.</i>	Arnon [135], Fogg's [136], BG-11 [137]
<i>Tetraselmis suecica</i>	Walne [138], F/2 [139]

biyoreaktör içerisinde dolaşımını sağlayarak karıştırma işlemini gerçekleştiren pompaların kullanılması durumunda, verimli bir karıştırma sağlanmaktadır ancak gaz transfer hızı düşüktür [83]. Kapalı sistemlerde kullanılan diğer bir yöntem gaz enjeksiyonudur. Gaz enjeksiyonu daha az hidrodinamik stres oluşturmaktadır, iyi bir gaz transferi ve karıştırma verimi sağlamaktadır [83]. Bununla birlikte, gaz enjeksiyonunda biyoreaktör içerisindeki biyokütle konsantrasyonunun artması durumunda uygun karıştırmanın sağlanması için karıştırma hızının artırılması, mikroalgal hücrelere zarar verebilmektedir [83]. Açık sistemlerde kullanılan mekanik karıştırma ile iyi bir karıştırma ve gaz transferi verimi elde edilebilmektedir ancak hidrodinamik stres oluşumu muhtemeldir [83]. Bu problem, yeterli sayıda bölme (perde) kullanıp, türbülansı kontrol ederek önlenebilir [83]. Uygun karıştırma sisteminin seçilmesi durumunda, biyokütle üretimi %75'e kadar artırılabilir [8]. Pawlowski vd. [143] 20 m³'lük yarış pisti tipi biyoreaktörde karıştırma işlemi için 8 bıçaklı 1,2 metre çapında mekanik çark kullanmıştır. De Bhowmick vd. [144] mikroalgal kültürü 0,3 m/s'lik sabit hızda mekanik çark karıştırıcı ile sürekli olarak karıştırmıştır. Rao vd. 80 litrelik işletme kapasitesine sahip yarış pisti tipi havuzu, 15 rpm karıştırma hızında işletmiştir [90]. Komolafe vd. [145] mikroalg kültürasyonu için kullandığı açık havuz biyoreaktörde, besin maddelerinin homojen dağılımı için hava pompası kullanmıştır.

5.1.6. Tuzluluk (Salinity)

Tuzluluk, mikroalgal biyokütle üretimini etkileyen faktörlerden bir tanesidir [8, 109]. Her mikroalg türünün kültürasyonu için gereken optimum tuzluluk değeri değişmektedir [16]. *Synechococcus sp.*, *Nannochloropsis salina*, *Chlorococcum littorale*, ve *Botryococcus braunii* gibi deniz mikroalgleri, yüksek tuzlu büyüme ortamında daha iyi gelişebilmektedir [8]. *Chlorella vulgaris* ve *Microcystis aeruginosa* gibi tatlı su mikroalgleri ise daha az tuzlu besin ortamında gelişebilmektedir [8]. Örneğin, deniz mikroalglerinden *Nannochloropsis salina* genellikle 34 psu tuzlulukta yetişmektedir [146]. *Nannochloropsis salina* 68 psu'nun üzerinde ve 8 psu'nun altında yetişmemektedir [146]. Shaleh [147] tarafından *Chlorella vulgaris* kültürasyonu için en iyi tuzluluk değeri 30 psu olarak belirlenmiştir. Fathi ve Asem [148] *Chlorella sp.* türünün en iyi gelişim gösterdiği tuzluluk değerini aynı şekilde 30 psu olarak bulmuştur. Abu-Rezq vd. [149] optimum üretim şartlarını *Nannochloropsis* için 20-40 psu, *Tetraselmis* için 20-35 psu, *Isochrysis* için 25-35 psu arasında bulmuştur. Tuzluluk mikroalglerin lipid üretimini etkilemektedir [150, 151]. Bartley vd. [146] *Nannochloropsis salina* ile yaptıkları çalışmada en yüksek lipid üretimini (%37,5 biyokütle eş değeri) 34 psu ile elde etmiştir.

5.1.7. Biyolojik Faktörler (Biological Factors)

Mikroalg kültürasyonunda küf, maya, mantar, bakteri ve istenmeyen algler tarafından biyolojik kontaminasyon meydana gelebilmektedir [16]. Azot, fosfor gibi besin

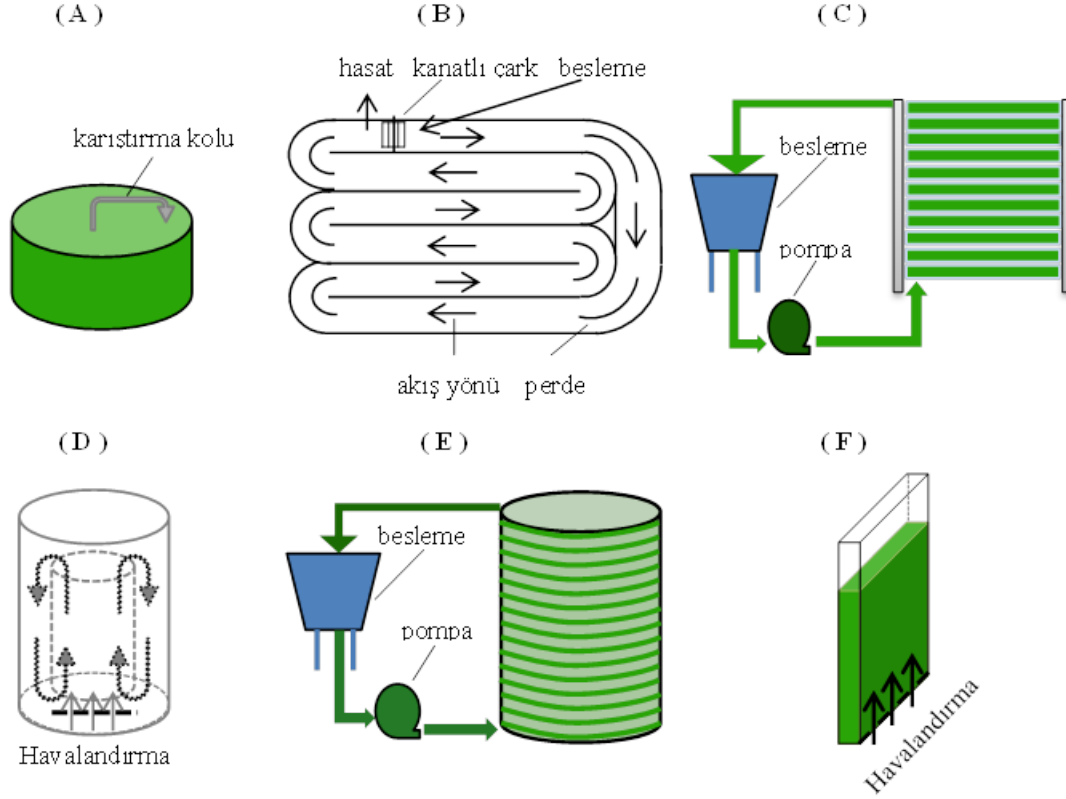
maddelerinin bu mikroorganizmalar tarafından tüketilmesi mikroalgal büyümeyi inhibe edebilmektedir. Biyolojik kontaminasyon, sıcaklık, pH, ışık gibi çevresel faktörler geçici olarak değiştirilerek önenebilir [16]. Örneğin, *Chytridium sp.* gibi yüksek aerobik şartlarda gelişen parazit mantarların kontaminasyonunu, günlük 1 saat gibi kısa zaman diliminde oksijen seviyesini düşürerek kolayca önlemek mümkündür [82].

5.2. Mikroalg Üretim Sistemleri (Microalgae Cultivation Systems)

Mikroalglerin üretiminde açık ve kapalı sistemler kullanılmaktadır [12] (Şekil 1). Açık sistemlerdeki mikroalg kültürasyonu, dairesel, eğimli, karıştırmaz (sığ) ve yarış pisti olarak kategorize edilmiş açık havuzlarda gerçekleşir [12]. Kapalı sistemlerdeki mikroalg kültürasyonu ise tübüler, düz plaka, fermentör tipi ve içten aydınlatmalı fotobiyoreaktörlerde gerçekleşir [12].

Açık havuzlarda mikroalg yetiştirilmesi 1950'li yıllarda başlamıştır [114, 143]. Mikroalg kültürasyonunda en yaygın kullanılan büyük ölçekli sistemler yarış pisti (raceway) havuzlardır [6, 53]. Yarış pisti tipi havuzlar oval biçimli kapalı döngü resirkülasyon kanalından oluşurlar. Derinlikleri 0,2-0,5 metre arasında olup [60], genişlikleri yaklaşık olarak 0,25 metredir [13]. 0,15-0,20 metre derinlikte işletilen yarış pisti tipi havuzlarda muhtemel mikroalg konsantrasyonu 1 g/L kuru ağırlık ve üretkenlik 60-100 mg/L gün arasındadır [109, 152]. Uygulamada bazı kaynaklarda mikroalg üretim veriminin 10-20 g/m²gün aralığında değiştiği rapor edilmiştir [6]. *Chlorella sp.*, *Spirulina platensis*, *Hematococcus sp.* ve *D. salina* yarış pisti tipi havuzlarda ticari olarak üretilen en yaygın türlerdir [33]. Yarış pisti tipi havuzlarda, sürekli çalışan kanatlı çark yardımı ile mikroalglerin çökmesi engellenir [11, 60]. Kanatlı çark ayrıca, alglerin ve besin maddelerinin sirkülasyonunu sağlar [6]. Sürekli üretim döneminde besleme, kanatlı çark'ın önünden yapılırken [60], hasat işlemi çarkın arka tarafından yapılır [11, 152]. Akıntı, kanal içindeki perdeler yardımı ile yönlendirilir [11]. Yarış pisti tipi havuzların temel avantajları: (1) yatırım ve işletme maliyetleri nispeten ucuzdur [6], (2) atıkların besin kaynağı olarak kullanılması ile üretim maliyeti azalır [53], (3) zirai amaçlar için uygun olmayan alanlar kullanılabilir [53], (4) soğutma ihtiyacı yoktur [13]. Ancak, bazı çevresel faktörler sebebiyle kapalı fotobiyoreaktörlere göre mikroalg üretim verimi düşüktür [53]. Örneğin, yarış pisti tipi havuzlar atmosfere açık olduğu için buharlaşma ile su kaybı olmakta, kültür ortamının iyon konsantrasyonu artarak mikroalglerin gelişimine zarar vermektedir [53]. Mikroalglerin büyümesine engel olan diğer mikroorganizmalar tarafından kolayca kontamine olabilmektedir [13]. Sıcaklık ve güneş ışığının günlük ve sezonsal değişimleri de mikroalg üretimini etkilemektedir.

Ayrıca, kültür yoğunluğunun artmasıyla CO₂ transfer hızının azalması üretim verimliliğini düşürmektedir. Kapalı fotobiyoreaktörler, açık havuz sistemlerin dezavantajlarını gidermek için tasarlanmıştır [13]. Fotobiyoreaktörler, açık havuzlara göre daha iyi pH ve sıcaklık kontrolü, daha iyi



Şekil 1. Tipik mikroalg üretim sistemlerinin şematik şekilleri A) Dairesel karıştırılmalı havuz B) Yarış pisti tipi havuz C) Yatay tübüler fotobiyoreaktör D) Hava kaldırmalı reactor E) Sarmal tübüler fotobiyoreaktör F) Düz plaka fotobiyoreaktör
(Schematic figures of typical microalgae cultivation systems A) Circular stirred pond B) Raceway type pond C) Horizontal tubular photobioreactor D) Airlift reactor E) Helical tubular photobioreactor F) Flat plate photobioreactor)

karıştırma, daha az buharlaşma kayıpları, yüksek biyokütle üretimi, yüksek yüzey-hacim oranı gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca, açık havuzların aksine, kontaminasyon riski daha düşük olup, tek tür mikroalg kültürasyonu için uygundur [60].

Literatürde, fotobiyoreaktörlerin mikroalg üretim veriminin 20-40 g/m²gün aralığında değiştiği rapor edilmiştir [6]. Avantajlarının yanı sıra, kurulum maliyetleri açık havuzlara göre oldukça fazladır. Kapalı fotobiyoreaktörlerin tübüler, düz plaka, dikdörtgen, sürekli karıştırılmalı vb. birçok çeşidi vardır [153]. Tübüler fotobiyoreaktörler, en yaygın kullanılan kapalı biyoreaktörlerdir [152]. Tübüler fotobiyoreaktörler camdan veya plastik malzemeden üretilmiş şeffaf tüplerden meydana gelmektedir [11]. Tüplerin tasarımına göre dikey [154], yatay [155], sarmal [156] ve eğimli [157] konfigürasyonları vardır. Tüplerin çapları, ışığın yoğun kültür ortamına temasını etkilediği için genellikle 0.1 m veya daha azdır [11, 53]. Literatürde tüpler içerisindeki akış hızının 0,3-0,5 m/s olması tavsiye edilmektedir [12]. Tübüler fotobiyoreaktörde mikroalg kültür, pompa yardımıyla besleme haznesi ile reaktör arasında dolaşır [153]. Böylelikle besin maddelerinin kültür ortamında karışımı sağlanır, gaz transferi artar, mikroalglerin çökmesi en aza indirilir [153]. Düz plaka (DP) fotobiyoreaktörler, kapalı sistemlerin en eski

konfigürasyonlarından [60]. DP fotobiyoreaktörlerin ışığa temas eden yüzey alanlarının büyük olması sebebiyle biyokütle yoğunlukları (>80 g/L) yüksektir [60]. Işık kaynağının reaktöre temasını artırmak için şeffaf malzemeden imal edilirler [53]. Karıştırma işlemi için sisteme 1 L/L_{reaktör}-dakika hızda hava verilir [53]. DP reaktörlerin fotosentetik verimlilikleri yüksektir [53]. Reaktörlerin maliyeti ucuzdur, yapımı ve temini kolaydır [153]. Ancak, yüzey alanlarının büyük olması sebebiyle sıcaklık ve CO₂ dağılım hızı kontrolü zordur, mikroalgler yüzeye yapışma eğilimindedirler [153].

Dikdörtgen fotobiyoreaktörler, tübüler reaktörlerden farklı olarak karıştırma donanımı gerektirmez [153]. Reaktörün alt kısmına yerleştirilmiş gaz dağıtıcı sistem ile karıştırma sağlanır [153]. Sürekli karıştırılmalı tank reaktörler açık veya kapalı mekanlarda kullanılabilen kontaminasyon riskleri düşük sistemlerdir [153]. Mekanik karıştırıcı ve ışık kaynağı reaktörün üst kısmına yerleştirilir [153]. Tahliye kanalı ve gaz enjektörü reaktörün alt kısmındadır [153]. Hava kaldırmalı (HK) fotobiyoreaktörler birçok mikroalg türünün üretiminde kullanılan basit ve ucuz reaktörlerdir [13]. Genellikle ucuz ve kolay temin edilebilen pleksiglas malzemeden üretilirler [13]. Hava kaldırmalı reaktörün içerisinde dikey sirkülasyon akımını oluşturan akış kolonu bulunur [9].

Biyoreaktörlerin çapı genellikle 0,15-0,40 metre arasındadır [9]. HK fotobiyoreaktörde kontaminasyon riski düşüktür [13]. HK fotobiyoreaktörler günlük 0,21 $\frac{g_{biyokütle}}{L_{reaktör}}$ üretim hızıyla *Chlorella sp.* türünün kültivasyonu için uygun sistemlerdir [158]. Schenk vd. [109], açık sistemlere göre su, kimyasal ve enerji tasarrufu sağlayan fotobiyoreaktörlerin mikroalgal biyokütle üretimi için daha uygun olduğunu ifade etmiştir. Ancak, yüksek verimli laboratuvar ölçekli fotobiyoreaktörlerin endüstriyel ölçekte kullanılmasında bazı problemler bulunmaktadır. Reaktör hacmi ve boyutlarının endüstriyel uygulamalar için büyütülmesi ile biyokütle üretim verimlerinde azalma görülebilmektedir. Tablo 6'da farklı mikroalgal biyokütle üretim sistemlerinin karşılaştırılması verilmiştir. Fotobiyoreaktörler ile açık havuzları iki aşamalı bir proses olarak birleştirip her iki sistemin avantajlarını kullanarak istenilen mikroalgal biyokütle üretimini gerçekleştirmek mümkündür [159]. Bu sistemler birleştirildiğinde toplam yatırım ve işletme maliyetleri de azalacaktır. Literatürdeki farklı üretim sistemlerinin biyokütle üretim verimlerinin karşılaştırılması zordur. Yapılan deneysel çalışmalarda üretim şartları, kullanılan mikroalg türü ve biyokütle üretim amaçları birbirinden farklıdır. Bazı çalışmalar açık mekanlarda bazıları ise kapalı mekanlarda gerçekleştirilmiştir. Bazı sistemler yıl boyunca ve bazıları ise yaz dönemi boyunca işletilmiştir. Kullanılan sistemlerin hacimleri de oldukça önemlidir. Tablo 7'de farklı mikroalg üretim sistemlerinin biyokütle üretim verimleri listelenmiştir.

6. MİKROALGLERİN HASADI (HARVESTING OF MICROALGAE)

Hasat, kültivasyon ortamı içerisinde oldukça seyreltik (% 0,02-0,06 toplam askıda katı madde (TAKM)) konsantrasyona sahip mikroalgal biyokütlenin, sonraki kurutma, yağ ekstraksiyonu vb. işlemler için %5-25 TAKM oranında konsantrasyon edilmiş işlemidir. İstenilen mikroalg konsantrasyonunu bir ya da iki aşamadan oluşan hasat uygulamaları ile elde etmek mümkündür [167, 168]. İki aşamalı hasat işleminde, ilk olarak %2-7 askıda katı madde konsantrasyonunda algal çamur, ikinci adımda %15-25 askıda katı madde konsantrasyonunda algal kek elde edilmektedir [167]. Mikroalglerin hasat işlemi, toplam mikroalg üretim maliyetinin yaklaşık %20-30 arasında olmaktadır [169, 170]. Bu maliyetin temel nedeni, kültür ortamının yoğunluğunun düşük olması [171], mikroalglerin boyutunun küçük olması (3-30 μm çapında) ve büyük hacimli suları işleme almanın zorluğundan kaynaklanmaktadır [172]. İdeal bir hasat yöntemi, mikroalgal türlerin birçoğu için uygulanabilmeli ve düşük işletme maliyetleriyle yüksek biyokütle konsantrasyonlarına ulaşabilmelidir [170]. Doğru hasat yönteminin seçimi, elde edilecek ürünün özelliğine bağlıdır [168]. Bu sebeple mikroalgal kültür ortamının, nem içeriği, tuz konsantrasyonu ve yoğunluk, boyut gibi özelliklerinin kabul edilebilir aralıklarının bilinmesi gerekmektedir [168]. Mikroalgal hasat prosesi, hasattan sonraki işlemler için toksik etki göstermemeli ve kontaminasyona sebep olmamalıdır [168]. Seçilecek hasat yöntemi, kültür ortamının yeniden

kullanımına uygun olmalıdır. Mikroalg hasadı fiziksel, kimyasal, biyolojik yöntemler ile yapılmaktadır. Santrifüj, flokülasyon, yer çekimi ile çöktürme, hava flotasyonu ve elektroforez gibi katı-sıvı ayırımında kullanılan mevcut teknolojiler, düşük hücre yoğunluklu mikroalgal kültürün hasadı için hem maliyetli olmakta hem de enerji sarfiyatı fazla olmaktadır [173]. Düşük maliyetle yüksek ayırma oranları elde etmek için bu yöntemlerin iki ya da daha fazlasının bir arada kullanımı yaygındır. Örneğin, flokülasyon-sedimentasyon ile santrifüjün birlikte kullanımı işletme maliyetlerini düşürebilmektedir [168, 174]. Yeni geliştirilen biyolojik yöntemler ile de işletme maliyetleri azaltılabilmektedir [168]. Ayrıca, mikroalg hasadı için yaygın olarak kullanılan mekanik yöntemlerin kimyasal veya biyolojik yoğunlaştırma aşamalarından önce kullanılmasıyla hasat verimlerinin artırılması, işletme ve bakım maliyetlerinin azaltılması mümkündür [168].

6.1. Koagülasyon/Flokülasyon (Coagulation / Flocculation)

Koagülasyon, kolloid halde ve askıdaki maddelerin, bazı koagülantların (kimyasal madde) eklenmesi ile çökebilir hale getirilmesi işlemidir. Flokülasyon ise hızlı çöken bir flok oluşturmak için gerçekleştirilen hafif çalkalama ve karıştırma işlemidir. Kimyasal koagülasyon/flokülasyon yöntemi büyük hacimli mikroalg sistemleri için uygundur. Bu yöntem ile biyokütle 20-100 kat arasında konsantrasyon edilebilir [168, 175]. Koagülasyon/flokülasyon prosesinde pH ayarlaması ve katyonik polimer ilavesi gerekmektedir [168, 176]. Mikroalglerin hasadında $Al_2(SO_4)_3$, $Fe_2(SO_4)_3$ ve $FeCl_3$ gibi çok değerlikli tuzlar koagülant madde olarak kullanılmaktadır [60,177]. Ancak bu kimyasalların yüksek konsantrasyonları mikroalglerin hücre duvarına zarar verebilmektedir [8]. Ayrıca, kitosan [178] ve katyonit poliakrilamid [179] gibi katyonik polimerler de mikroalg hasadında kullanılabilir. Kitosan, dünyada en yaygın bulunan biyopolimerdendir, metal tuzları gibi toksik değildir, biyolojik olarak ayrışabilir [177, 180]. Rashid vd. [181] yaptığı çalışmada, *Chlorella vulgaris*'in hasadı için kitosan kullanarak, %92 hasat verimi elde etmiştir. Papazi vd. [176] *Chlorella minutissima*'nın koagülasyonla hasadında $AlCl_3$ kullanmış, 0,5 g/L başlangıç alg konsantrasyonunda %80 hasat verimi elde etmiştir.

6.2. Biyoflokülasyon (Bioflocculation)

Biyoflokülasyon, mikroalglerin sentezlediği biyopolimerlerle (özellikle ekzopolisakaritler (EPS)) gerçekleşmektedir [168]. Bazı mikroalg türleri diğerlerine göre daha kolay floküle olabilmektedir [175]. Kolay floküle olan bu mikroalg türleri diğer türler ile karıştırılarak da biyoflokülasyon gerçekleştirilebilmektedir [175]. Son zamanlarda, *Skeletonema* türlerinin de diğer mikroalg türleri içerisinde biyoflokülasyon amacıyla kullanılabilirliği rapor edilmiştir [175]. Biyoflokülasyon yöntemi, kimyasal kullanımını ortadan kaldırarak, işletme maliyetini düşürmektedir. Fakat bakteri ve fungi gibi diğer türlerin kontaminasyonu, mikroalgal biyokütlenin gıda ve yem sektörü gibi kullanımları için uygun olmamaktadır [175].

Tablo 6. Farklı mikroalg üretim sistemlerinin karşılaştırılması (Comparison of different microalgae cultivation systems)

Üretim sistemi	Avantaj	Dezavantaj
Yarış pisti tipi havuz	Yatırım ve işletme maliyetleri ucuzdur. İşletilmesi kolaydır. Zirai amaçlar için uygun olmayan alanlara kurulabilir.	Biyokütle üretim verimi düşüktür. Alan ihtiyacı fazladır. Karıştırma, aydınlatma ve CO ₂ kullanım verimliliği düşüktür. Üretilen mikroalg türleri sınırlıdır. Buharlaşma ile su kayıpları fazladır. Kültürlerin kontaminasyon riski yüksektir. Fotoinhibisyona karşı hassastır. Sıcaklık kontrolü gerektirir. Mikroalgler yüzeye tutunma eğilimindedir. Açık sistemlere göre kurulumu maliyetlidir.
Tübüler fotobiyoreaktör	Yüzey alanı büyüktür. Biyokütle üretim verimi yüksektir. Dış ortamda üretim için uygundur. Kültürlerin kontaminasyon riski düşüktür. Sistem kontrolü yüksektir. Alan ihtiyacı azdır.	Mikroalgler yüzeye tutunma eğilimindedir. Sıcaklık kontrolü zordur. Açık sistemlere göre kurulumu maliyetlidir. Ölçek büyütme zordur.
Düz plaka fotobiyoreaktör	Biyokütle üretim verimi yüksektir. Sterilizasyonu kolaydır. Yüzey alanı büyüktür. Sistemde O ₂ birikimi azdır. Güneş ışığına karşı yönlendirilebilir. Kültürlerin kontaminasyon riski düşüktür. Alan ihtiyacı azdır.	Mikroalgler yüzeye tutunma eğilimindedir. Sıcaklık kontrolü zordur. Açık sistemlere göre kurulumu maliyetlidir. Ölçek büyütme zordur.
Hava kaldırmalı fotobiyoreaktör	Kompakt bir sistemdir, alan ihtiyacı azdır. Enerji tüketimi azdır. Kütle transferi yüksektir. Sterilizasyonu kolaydır. Karıştırma verimi iyidir. Kültürlerin kontaminasyon riski düşüktür.	Aydınlatma alanı azdır. Reaktör tasarımı komplikedir. Ölçek büyütme zordur. Açık sistemlere göre kurulumu maliyetlidir.

Ayrıca, flokülasyon için kullanılan bakterilerin gelişimi için ekstra organik madde ve enerji kaynağı gerekebilmektedir [168]. Salim vd. [182] *Ettlia texensis*, *Scenedesmus obliquus*, *Ankistrodesmus falcatus* mikroorganizmalarını kullanarak *Chlorella vulgaris*'in biyoflokülasyonu üzerine araştırma yapmış, sırasıyla, %55, %34, %50 hasat verimi elde etmiştir.

6.3. Flotasyon (Flotation)

Diğer bir hasat yöntemi olan flotasyon, partiküllerin maddelerin hava kabarcıkları yardımıyla yukarı doğru iletilmesi ve ayrılması esasına dayanır ve ters çevrilmiş çökeltme olarak tanımlanmaktadır [168]. Uygulamada, çözünmüş hava flotasyonu, günlük hava flotasyonu, ozon flotasyonu ve elektrot flotasyonu olmak üzere 4 farklı flotasyon yöntemi mevcuttur [8, 168]. Flotasyon verimi, mikroalg hücrelerinin ve hava kabarcıklarının boyutuna bağlıdır [8].

Küçük boyutlu kabarcıkların yüzey alanı daha fazla olduğu için partiküllere daha hızlı tutunur [168]. Ayrıca hava kabarcıklarının hareketi de önemli bir faktördür [168, 183]. Flotasyon yöntemi, 10-30 µm çapındaki mikroalgler için uygundur [8]. 3-7 µm çapındaki *Microcystis sp.* türünün

etkili bir şekilde flotasyon yöntemi ile hasat edilmesi için ön koagülasyon/flokülasyon işlemi yardımıyla minimum 10 µm çapında floklar oluşturulmalıdır [168]. Flotasyon ile %80-90 oranında hasat verimi elde etmek mümkündür [8]. Liu vd. [184] *Chlorella sp.* türü mikroalg hasadında flotasyon yöntemini kullanmış, %90 hasat verimi elde etmiştir. Flotasyon işlemi nispeten düşük işletme süresi gerektirir, bu yöntemde alan ihtiyacı ve ilk yatırım maliyeti düşüktür [185]. Ancak, büyük ölçekli uygulamalarda kontaminasyon problemleri maliyeti artırmaktadır. Ayrıca flotasyon işlemi, genellikle flokülant madde kullanımı gerektirmektedir [168].

6.4. Elektriksel esaslı yöntemler (Electrical Based Methods)

Mikroalg hasadı için kullanılan elektriksel esaslı yöntemler henüz çok yaygın değildir [168]. Ancak bu yöntemler birçok mikroalg türü için kullanılabilir ve ek kimyasal gerektirmediği için çevre dostudur [167, 186]. Elektrik esaslı yöntemlerde, kullanılan elektrot çeşidine göre hasat verimi değişmektedir [168]. Bu yöntemlerde genellikle alüminyum ve demir elektrotlar tercih edilmektedir. Alüminyum elektrotlarda demir elektrotlara göre daha yüksek verim elde edilmektedir [168].

Tablo 7. Farklı mikroalg üretim sistemlerinin biyokütle üretim verimleri
(Biomass production yields of different microalgae cultivation systems)

Üretim sistemi	Işık kaynağı	Hacim (L)	Mikroalg türü	Biyokütle konsantrasyonu (g/L)	Biyokütle üretimi	Referans
Boru tipi reaktör	Güneş ışığı	70	Chaetoceros calcitrans	2,5	37,3 ^a	[160]
Dairesel kolon	Güneş ışığı	120	Tetraselmis suecica	1,7	38,2 ^a	[161]
Eğimli tübüler	Güneş ışığı	6	Chlorella sorokiniana	1,5	1,47 ^b	[157]
Hava kaldırmalı	Beyaz floresan	3	Botryococcus braunii	2,31	-	[162]
Hava kaldırmalı tübüler	Güneş ışığı	200	Phaeodactylum tricornutum	2,38	20 ^a	[163]
Kabarçık kolon	Güneş ışığı	55	Haematococcus pluvialis	1,4	0,55 ^b	[164]
Tübüler	Güneş ışığı	65	Spirulina platensis	2,2	32,5 ^a	[165]
Yarış pisti	Güneş ışığı	375	Neochloris oleoabundans	2,8	20 ^a	[166]
Yarış pisti	Güneş ışığı	150	Chlorella variabilis	1,6	8,1 ^a	[144]

a= g/m² gün, b= g/L gün

6.5. Santrifüj (Centrifuge)

Diğer bir hasat yöntemi olan santrifüj, hızlı bir yöntemdir [7]. Fakat, enerji sarfiyatının yüksek olması sebebiyle maliyetli bir yöntemdir [53]. Santrifüj'ün pahalı bir hasat yöntemi olması yağ asidi eldesinde ve ilaç sektörü gibi alanlarda kullanımını sınırlandırmaktadır [171, 187]. Molina Grima vd. [169] *Scenedesmus sp.* ve *Coelastrum proboscideum* türleri ile yapılan çalışmalarda, başlangıç konsantrasyonu 0,1 g/L'den 12 g/L konsantre alg elde edildiğini rapor etmiştir.

6.6. Membran Filtrasyonu (Membrane Filtration)

Son yıllarda, membran filtrasyon yöntemi mikroalglerin hasat işleminde umut verici gelişmiş bir metot olarak görülmektedir [172]. Membran teknolojisi genel olarak santrifüjden daha ucuz bir yöntemdir [188]. Ayrıca, algal biyokütlenin hemen hemen tamamı tutulmakta, protozoa ve virüslerin giderimiyle dezenfeksiyon sağlanmaktadır [188]. Koagülant madde gibi kimyasal madde ihtiyacı bulunmamaktadır [188]. Membran sistemlerin enerji sarfiyatları da düşüktür [189]. Membran filtrasyonda, filtre edilen sudaki besin maddeleri tekrar kültür ortamına geri beslenebilmektedir ve böylelikle mikroalg hasadı için maliyet ve enerji sarfiyatı azaltılabilmektedir. Membran prosesler, işletme prensibine, kullanılan membranın çeşidine ve proses konfigürasyonuna bağlı olarak sınıflandırılmaktadır [190]. Mikroalg hasadında yaygın kullanılan basınç sürücülü ultrafiltrasyon (UF) ve mikrofiltrasyon (MF) membranları, nanofiltrasyon ve ters

osmoz membranlarına göre daha yüksek akı değerlerine ulaşabilmektedir. UF ve MF membranları düşük transmembran basınçlarında işletildiği için enerji sarfiyatları düşüktür [191]. Gözenek boyutları, mikroalgal hücrelerinin (>1µm) tutulması için uygundur [191]. Gözenek boyutları mikroalg hücrelerinden daha küçük olması sebebiyle UF ve MF membranları ile mikroalglerin tamamı tutulabilmektedir [191]. Basınç sürücülü membran sistemler dışında son yıllarda ileri osmoz yöntemi de konsantre mikroalg üretiminde kullanılmaktadır [192]. Bu yöntem, düşük tıkanma eğilimleri ve kararlı akı değerleri ile umut veren bir proses olarak görülmektedir [191]. Ancak, çekme çözeltisi olarak deniz suyu kullanıldığında, yüksek osmotik basınç altında tıkanma eğilimleri yüksektir [191]. Ayrıca, membran diyaliz yöntemi de, konsantre mikroalgal biyokütle üretiminde kullanılmaktadır [193, 194].

Filtrasyon yöntemi ile hasat, çoğunlukla kültürasyondan sonra tek adımlı olarak uygulanır. Ayrıca, fotobiyoreaktör içerisinde batık membran fotobiyoreaktör olarak da uygulanabilmektedir. Ancak, tek adımlı hasat uygulamalarında yüksek biyokütle konsantrasyonlarına ulaşıldığında membran tıkanma problemleri meydana gelmektedir [191]. Zhang vd.'nin [172] UF membranıyla tek adımlı kesikli olarak gerçekleştirdiği çalışmada *Scenedesmus quadricauda* türünü %15'in üzerinde konsantre hale getirmiştir. Bhave vd. [195] iki adımlı membran filtrasyon yöntemi ile hasat işlemini gerçekleştirmiştir. Çalışmada, ilk adımda, polimerik membran, ikinci adımda seramik membran kullanılmıştır. Membran sistemlerin birçok avantajı olmasına rağmen

konsantrasyon polarizasyonu, membran tıkanması, düşük membran ömrü, düşük filtrasyon akısı gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Mikroalgal biyokütle hasadında kullanılan hasat yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları Tablo 8'de özetlenmiştir.

7. MİKROALGLERDEN BİYİYAKIT ÜRETİMİ (BIOFUEL PRODUCTION FROM MICROALGAE)

Mikroalgler, birçok türde biyoyakıt için ham madde kaynağı olarak kullanılabilir. Örneğin, mikroalgal biyokütlenin anaerobik bozunması ile metan, mikroalgal yağlardan biyodizel ve fotobiyolojik reaksiyonlar ile biyohidrojen üretimi mümkün olabilmektedir.

7.1. Yağ Ekstraksiyonu ve Biyodizel Üretimi (Oil Extraction And Biodiesel Production)

7.1.1. Mikroalglerin Yağ içeriği ve mikroalgal yağ ekstraksiyonu (Oil content of microalgae and microalgal oil extraction)

Yağ asitlerinin temel yapısı nötral (doymuş) ve polar (doymamış) yağ moleküllerinden meydana gelmektedir [196]. Doymuş yağ asitleri çift bağlara sahip değilken doymamış yağ asitlerinin yapısında en az bir adet çift bağ bulunmaktadır. Mikroalglerin yağ miktarı türe göre

değişiklik gösterebilmektedir. Ayrıca, türlerin yağ asidi profili sıcaklık, ışık, büyüme ortamı gibi kültürasyon şartlarına göre değişebilmektedir. Mikroalglerin sahip oldukları yağ asidi profili C12-C22 arasındadır [197]. Mikroalgal yağlar çoğunlukla düşük seviyede doymamış yağ içeren nötral yağlardır. Mikroalglerden yağ çıkarma işlemlerinde mekanik ve kimyasal yöntemler kullanılmaktadır [197]. Mekanik yöntemler, mikrodalga yardımıyla ekstraksiyon, ultrasonik esaslı ekstraksiyon ve mekanik sıkıştırıcı kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemleridir. Kimyasal yöntemler, solvent yardımıyla yapılan ekstraksiyon, süperkritik CO₂ esaslı ekstraksiyon ve iyonik sıvılar ([Bmim] [CF₃SO₃], [Bmim] [MeSO₄] vb. gibi) kullanılarak yapılan ekstraksiyon işlemleridir [196]. Ayrıca mekanik ve kimyasal yöntemlerin birlikte kullanıldığı geliştirilmiş yöntemler de bulunmaktadır [198, 199]. Örneğin Teo ve Idris [198] 4 farklı solvent ekstraksiyon yöntemi içerisinde mikrodalga ile ısıtma işlemi uygulamıştır. Geliştirdikleri bu yöntem ile yağ ekstraksiyon verimini arttırmayı başarmışlardır. Diğer bir çalışmada Keris-Sen vd. [199] geliştirdikleri ultrasonik yardımcı solvent ekstraksiyon yöntemi ile yağ ekstraksiyon verimini 1,5-2 kat arttırmışlardır. Yağ çıkarma işleminde kullanılan yöntemlere göre yağ elde etme verimi değişiklik gösterebilmektedir. Tablo 9'da ekstraksiyon yöntemlerinin yağ çıkarma verimleri karşılaştırılmıştır. Yağ ekstraksiyonu için

Tablo 8. Mikroalgal biyokütle hasadında kullanılan farklı hasat yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları
(Advantages and disadvantages of different harvesting methods used in microalgal biomass harvesting) [168]

Hasat yöntemi	Avantaj	Dezavantaj
Kimyasal koagülasyon/flokülasyon	Basit ve hızlı bir yöntemdir. Enerji gereksinimi yoktur.	Kimyasal flokülant pahalı ve mikroalgal biyokütle için toksik olabilir. Kültür ortamının tekrar kullanımı sınırlıdır.
Biyoflokülasyon	Pahalı olmayan bir yöntemdir. Kültür ortamı tekrar kullanılabilir. Mikroalgal biyokütle için toksik değildir.	Hücre konsantrasyonunda değişiklik. Mikrobiyolojik kontaminasyon olabilir.
Yerçekimi çöktürme	Basit ve pahalı olmayan bir yöntemdir.	Zaman ihtiyacı fazladır. Biyokütlenin bozunma ihtimali vardır. Algal kek konsantrasyonu düşüktür.
Flotasyon	Büyük hacimli uygulamalar için uygun. Maliyeti düşük yöntem. Alan ihtiyacı az. Kısa işletme zamanı.	Genellikle kimyasal flokülant ihtiyacı gerekir. Deniz mikroalglerinin hasadı için uygun değildir.
Elektriksel esaslı prosesler	Birçok mikroalg türü için uygulanabilir. Ek kimyasal flokülant ihtiyacı gerektirmez.	Düşük konsantrasyon üretimi. Yüksek enerji ve ekipman maliyeti.
Filtrasyon	Yüksek geri kazanım verimi. Hassas türlerin ayrışımına izin verir.	Filtre tıkanma durumları işletme maliyetini artırabilir. Membran düzenli olarak temizlenmelidir. Pahalı bir yöntemdir.
Santrifüj	Hızlı yöntem. Yüksek geri kazanım verimi. Neredeyse bütün mikroalg türleri için uygulanabilir.	Enerji gereksinimi yüksektir. Sadece yüksek değerli ürünlerin geri kazanımında uygundur. Hücre yapısına zarar verebilir.

kullanılan yöntemlerin avantaj ve dezavantajları göz önünde bulundurularak en uygun yöntem seçilmelidir. Bu avantaj ve dezavantajlar Tablo 10'da özetlenmiştir.

7.1.2. Biyodizel Üretimi (Biodiesel Production)

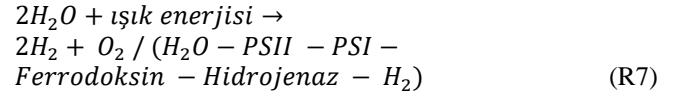
Biyodizel, trigliserid içeren bitkisel ve hayvansal yağlardan üretilmektedir [200]. Biyodizel üretiminde gliserol ile metanolün reaksiyonu sonucunda yağ asidi metil esterleri (FAME) (biyodizel) ve gliserol (yan ürün) meydana gelmektedir. Yan ürün gliserol, faz ayrımı yöntemi ile biyodizelden ayrılabilir. Bu dönüşüm reaksiyonları transesterifikasyon olarak adlandırılmaktadır ve katalizör kullanarak metanol ve gliserolün kimyasal reaksiyonla yer değiştirmesi esasına dayanmaktadır. Transesterifikasyon prosesinde metanol yerine etanol, propanol, butanol vb.'de kullanılabilir. Katalizör olarak ise bazik katalizör (potasyum hidroksit, sodyum hidroksit ve sodyum metoksit), asit katalizör (hidroklorik asit, sülfürik asit, sülfonik asit fosforik asit), lipazları içeren enzimatik katalizör ve inorganik heterojen katalizör (katı faz katalizörü) kullanılmaktadır [7]. Mikroalg esaslı biyodizel üretimi genel olarak, mikroalglerden yağların ekstraksiyonu, fazla solventin giderilmesi ve homojen veya heterojen katalizör ile katalize edilen biyodizelin üretimi aşamalarından oluşmaktadır [201, 202]. Konvansiyonel transesterifikasyon yöntemi, mikroalglerden ticari ölçekte biyodizel üretimini kısıtlayan birçok dezavantaja sahiptir. Örneğin bu yöntemin uygulanması zordur, enerji tüketimi yüksektir ve pahalıdır [7]. Bununla birlikte biyodizelin saflaştırılması sırasında birçok atık sıvı oluşmaktadır ve bu atıkların bertarafı problem teşkil etmektedir [7]. Konvansiyonel yöntemin yanı sıra literatürde mikroalglerden biyodizel üretimi ile ilgili geliştirilmiş birçok yöntem bulunmaktadır [203, 204]. Ma vd. [205] yaptıkları çalışmada birleştirilmiş ultrasonik ve mikrodalga yardımcı transesterifikasyon yöntemi ile yüksek biyodizel üretim verimi elde etmişlerdir.

Gülyurt vd. [206] gerçekleştirdikleri mikrodalga yardımcı transesterifikasyon çalışmasında, reaksiyon süresinin önemli bir parametre olduğunu rapor etmişlerdir. Cheng vd. [203] ıslak mikroalg biyokütle ile gerçekleştirdiği mikrodalga yardımcı transesterifikasyon çalışmasında, hekzan ekstraksiyonu da uygulayarak yaklaşık %87 saflıkta biyodizel üretmiştir. Macías-Sánchez vd. [207] ıslak biyokütleden doğrudan transesterifikasyon yöntemi ile asetil klorür katalizörü kullanarak bentonit adsorpsiyonu yardımıyla %83 saflıkta biyodizel elde etmiştir. Huang vd. [208] Lipaz GH2 olarak adlandırılan enzimatik biyokatalizör kullanarak %90'dan yüksek saflıkta biyodizel elde etmiştir. Huang vd. [208] ayrıca uyguladıkları yöntemin biyodizel üretim maliyetini azalttığını ifade etmiştir. Guerra vd. [209] ve Azcan ve Yılmaz [210] mikrodalga yardımcı transesterifikasyon yöntemlerini kullanarak sırasıyla %96 ve %97 biyodizel dönüşüm oranları elde etmişlerdir. Mikroalglerden biyodizel üretiminde kullanılacak mikroalg türü önemli rol oynamaktadır. Her bir türün yağ üretme hızı

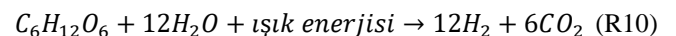
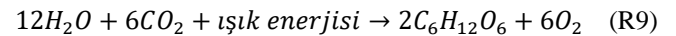
farklılık göstermektedir. Tablo 11'de farklı mikroalg türlerinin yağ içeriği ve yağ üretim hızları verilmiştir.

7.2. Biyohidrojen Üretimi (Biohydrogen Production)

Hidrojen enerjisi, artan enerji ihtiyaçlarıyla birlikte çevresel etkileri de dikkate alındığında yenilenebilir, sürdürülebilir ve çevre dostu alternatif bir enerji kaynağı olarak kabul edilmektedir [150]. Günümüzde fosil yakıtların kullanıldığı konvansiyonel ve yeni geliştirilmiş birçok yöntem ile hidrojen üretimi gerçekleştirilmektedir. Fosil yakıtların kullanıldığı kimyasal hidrojen üretim prosesleri yaygın olmasına karşın 1920'lerden itibaren biyolojik prosesler de ilgi çekmeye başlamıştır [150]. Bu proseslerden bir tanesi de hidrojen üreticisi olarak mikroalglerin kullanıldığı sistemlerdir. Bazı mikroalg türleri güneş enerjisini ve hidrojenaz/nitrojenaz enzimlerini kullanarak anaerobik şartlarda suyu hidrojen ve oksijene ayırıp biyolojik hidrojen üretimini gerçekleştirebilmektedir. *Anabaena sp.*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris*, *Platymonas subcordiformis*, *Spirulina platensis* ve özellikle *Chlamydomonas reinhardtii* biyohidrojen üretimi için yaygın olarak kullanılan mikroalg türleridir [150]. Mikroalgler tarafından suyun fotolizi direkt ve indirekt fotoliz olmak üzere iki farklı mekanizma ile gerçekleşir. Direkt fotoliz ile suyun hidrojen ve oksijene ayrılak hidrojen üretilme mekanizması reaksiyon 7'de verilmiştir.



Direkt fotoliz mekanizmasında, fotosistem II ışığı absorbe eder ve elektronları üretir [13]. Daha sonra elektronlar, absorbe edilen ışık enerjisi kullanılarak fotosistem I aracılığıyla ferredoksin'e gönderilir [9]. Son olarak, mikroalglerin kloroplastlarında bulunan hidrojenaz enzimleri ferredoksin'den gelen elektronları kabul eder ve protonlarla (H^+) birleştirerek H_2 üretimini gerçekleştirir [13]. H_2 üretimiyle birlikte gerçekleşen O_2 ($H_2/O_2:2/1$) üretimi anaerobik şartlarda aktif olan hidrojenaz enzimlerini inhibe etmektedir. Bu sebeple üretilen oksijen sistemden sürekli olarak uzaklaştırılmalıdır. Fe-Fe-Hidrojenaz ve Ni-Fe-Hidrojenaz enzimleri mikroalglerin yapısında faaliyet gösteren iyi bilinen enzimlerdir. Fe-Fe-Hidrojenaz enzimlerinin aktiviteyi Ni-Fe-Hidrojenaz enzimlerine göre 10-100 kat daha fazla verimlidir [211]. Zhang ve Melis [212] *Chlamydomonas reinhardtii* türünün 2-7 mM metilamin hidroklorür varlığında %10-20 oranında H_2 ürettiğini rapor etmiştir [13]. Ayrıca, aynı tür için Kruse vd. [213] maksimum H_2 üretim hızını 4 mL/saat ve 540 ml H_2/L kültür, Torzillo vd. [214] 5,8 mL/saat ve 504 mL H_2/L kültür olarak rapor etmiştir [9]. Mikroalglerin kullanıldığı diğer bir H_2 üretim mekanizması da reaksiyon 9 ve reaksiyon 10'da ifade edilen indirekt biyofotolizdir [13].



Tablo 9. Ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırması (Comparison of extraction methods) [196]

Ekstraksiyon metodu	Kullanılan solvent	İşletme şartları	Kullanılan mikroalg türü	Yağ verimi (%)
Süperkritik	CO ₂ ve etanol	40 °C, 35 MPa, 30 dak.	Shizochytrium	33,9
	CO ₂		limacinum	34
Soxhlet	n-Hekzan	40 °C, 0,1 MPa, 18 saat	Pavlova sp.	45
	Diklorometan		Shizochytrium	9
	n-Hekzan		limacinum	5,79
	Etanol		Nannochloropsis oculata	40,90
	n-Hekzan		Nannochloropsis oculata	45,2
	Petrol etheri		Pavlova sp.	8,2
Karışık solvent ekstraksiyonu	Etanol	200 °C, 0,1 MPa, 2 saat	Nannochloropsis oculata	48
	Hekzan/etanol		Synechocystis PCC 6803	52
	Hekzan/izopropanol		Synechocystis PCC 6803	36
	Kloroform/metanol		Synechocystis PCC 6803	40
Basınçlı sıvı ekstraksiyonu	Kloroform/metanol/su	60 °C, 10-12 MPa, 10 dak.	Synechocystis PCC 6803	42
	n-Hekzan		Nannochloropsis oculata	6,1
	n-Hekzan/propan-2-ol (2:1 % hacim)		Nannochloropsis oculata	20
Ultrasonik yardımcı ekstraksiyon	Etanol %96 hacim	Frekans 40 kHz, 1 saat	Nannochloropsis oculata	36
	Petrol etheri		Nannochloropsis oculata	3,3
Islak ekstraksiyon	Hekzan	60 °C, 0,1 MPa	Chlorella and Scenedesmus sp.	59,3

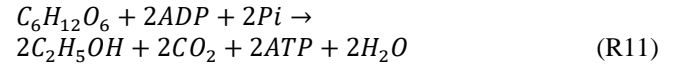
Tablo 10. Farklı yağ ekstraksiyon yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları (Advantages and disadvantages of different oil extraction methods) [52, 196]

Metot	Avantaj	Dezavantaj
Mekanik sıkıştırma	Uygulaması kolay. Solvent gereksinimi yok.	Çok miktarda biyokütle gerekmektedir. Uygulama yavaştır.
Ultrasonik yardımcı ekstraksiyon	Ekstraksiyon zamanı düşüktür. Solvent gereksinimi düşüktür. Solventin hücrelere tesiri daha iyi olduğu için yağ verimi yüksektir. Daha ekonomiktir.	Yüksek enerji tüketimi.
Mikrodalga yardımcı ekstraksiyon	Çevre dostudur. Ekstraksiyon zamanı düşüktür. Solvent gereksinimi düşüktür. Yağ ekstraksiyon verimi yüksektir.	Katı kalıntıların giderilmesi için filtrasyon veya santrifüj gereklidir. Çözelti içerisinde polar olmayan ve uçucu bileşenlerin olması durumunda mikrodalga verimi düşüktür. Ekstraksiyon zamanı uzundur.
Solvent ekstraksiyon	Ucuz ve kolaydır. Küçük ölçekli çalışmalarda iyidir. Verim yüksektir.	Fazla miktarda yanabilir ve toksik solvent gereklidir. Solvent geri kazanımı enerji gerektirir.
Süperkritik CO ₂	Ekstraksiyon zamanı düşüktür. Sıcaklık ve basıncı değiştirerek çözücü gücü ayarlanabilir ve seçicilik artırılabilir. Düşük solvent toksisitesi.	Altyapı ve işlem maliyeti yüksektir.
Islak ekstraksiyon	Akışkan difüzyon/viskozite özellikleri vasıtasıyla uygun kütle transfer dengesi. Solvent içermeyen ekstrakt eldesi. Biyokütle kurutma işlemi için gereken enerji korunur. Solvent gereksinimi düşüktür.	Ekstrakte edilen yağın kalitesi kurutulmuş biyokütleden ekstrakte edilen yağın kalitesinden düşük olabilir.

İndirekt fotoliz mekanizmasında mikroalglerin ürettiği fermente edilebilir organik besinler fotosentetik bakteriler tarafından kullanılarak H₂ üretimi gerçekleşir [9]. Kawaguchi vd. [215] *Rhodobium marinum* ve *Lactobacillus amylovorus* türlerinden oluşan karışık kültürde sırasıyla *Chlamydomonas reinhardtii* ve *Dunaliella tertiolecta* biyokütlelerini kullanarak H₂ üretimi gerçekleştirmiştir [9]. Çalışmalarında 0.85 (*C. reinhardtii*) ve 1,55 (*D. tertiolecta*) mmol H₂/saat L kültür H₂ üretim hızına ulaşmışlardır [9].

7.3. Biyoetanol Üretimi (Bioethanol Production)

Son yıllarda etanol önemli bir alternatif yakıt veya yakıt katkısı olmuştur. Biyoetanol yakıtı kurşun, kükürt, karbonmonoksit ve partikül emisyonları azaltmaktadır. Brezilyada yakıt olarak kullanılan etanol toplam emisyonu %15 düşürerek karbon emisyonlarının azalmasına katkı sağlamıştır [13]. Mikroalglerin yapısında bulunan zengin karbonhidrat içeriği, besin kaynağı olarak bakterilerin fermentasyonunda kullanılmasıyla biyoetanol üretimi gerçekleştirilebilmektedir [13]. Biyokütleden etanol üretim mekanizması reaksiyon 11'de verilmiştir.



Etanol üretimi iki adımda gerçekleşir. İlk olarak, enzimatik şekerlenme ile büyük yapıli karbonhidratlar ve hücre duvarı nişasta üretimi için hidrolize edilir. Daha sonra, *Saccharomyces cerevisiae* gibi mayalar şekerleri etanole dönüştürmesi için ilave edilir. Son olarak üretilen etanol distilasyon ile saflaştırılır.

C. vulgaris ve *Chlorococcum sp.* yüksek nişasta içerikleri sebebiyle biyoetanol üretiminde yaygın olarak kullanılan türlerdir [13]. Ueno vd. [216] *C. Littorale* türü ile yaptıkları çalışmada 30°C'lik fermentasyon sıcaklığında 450 µmol_{etanol}/gram_{alg} üretmiştir. Fermentasyon enzimlerinin 25°C'de 35°C'ye göre daha aktif olduğu belirlenmiştir [216]. Wu vd. [217] *Gracilaria sp.* türünü kullanarak gerçekleştirdikleri biyoetanol üretimi çalışmasında şekerlenme için ardışık asit ve enzim hidrolizi yöntemini kullanmıştır. Geliştirdikleri bu yöntem ile 1 gr kuru *Gracilaria* türünü 0,236 g etanole dönüştürmüşlerdir [217]. Harun ve Danquah [218] alglerden biyoetanol üretiminde

Tablo 11. Farklı mikroalg türlerinin yağ içeriği ve verimliliği (Oil content and productivity of different microalgae species) [16]

Mikroalg türü	Yağ içeriği (% kuru ağırlık biyoküttele)	Yağ üretkenliği (mg/L gün)	Biyokütlenin hacimsel üretkenliği (g/L gün)	Biyokütlenin alansal üretkenliği (g/m ² gün)
Ankistrodesmus sp.	24,0–31,0	–	–	11,5–17,4
Botryococcus braunii	25,0–75,0	–	0,02	3,0
Chlorella emersonii	25,0–63,0	10,3–50,0	0,036–0,041	0,91–0,97
Chlorella sorokiniana	19,0–22,0	44,7	0,23–1,47	–
Chlorella vulgaris	5,0–58,0	11,2–40,0	0,02–0,20	0,57–0,95
Chlorella sp.	10,0–48,0	42,1	0,02–2,5	1,61–16,47/25
Chlorella protothecoides	14,6–57,8	1214	2-7,7	-
Dunaliella salina	6,0–25,0	116,0	0,22–0,34	1,6–3,5/20–38
Haematococcus pluvialis	25,0	–	0,05–0,06	10,2–36,4
Nannochloropsis oculata	22,7–29,7	84,0–142,0	0,37–0,48	–
Nannochloropsis sp.	12,0–53,0	37,6–90,0	0,17–1,43	1,9–5,3
Oocystis pusilla	10,5	–	–	40,6–45,8
Phaeodactylum tricornutum	18,0–57,0	44,8	0,003–1,9	2,4–21
Scenedesmus sp.	19,6–21,1	40,8–53,9	0,03–0,26	2,43–13,52
Spirulina platensis	4,0–16,6	–	0,06–4,3	1,5–14,5/24–51
Spirulina maxima	4,0–9,0	–	0,21–0,25	25
Tetraselmis suecica	8,5–23,0	27,0–36,4	0,12–0,32	19

uygulanan asit ön işleminde zaman, sıcaklık, mikroalg yüklemesi ve asit konsantrasyonu değişkenlerinin etkilerini araştırmıştır. Gerçekleştirdikleri çalışmada en yüksek biyoetanol konsantrasyonunu (7,20 g/L), 15 g/L mikroalg konsantrasyonunda, 140 °C'de, %1'lik sülfürik asit kullanarak 30 dakika reaksiyon süresinde elde etmişlerdir [218].

Ayrıca, istatistiksel analiz sonuçlarına göre biyoetanol üretimini etkileyen en önemli parametrenin sıcaklık olduğunu belirlemişlerdir [218]. Borines vd. [219] biyoetanol üretimi için *Sargassum spp.* türünü kullanmıştır ve *Saccharomyces cerevisiae* türünün 40 °C'de pH 4,5'de 48 saat boyunca fermentasyonu sonucunda %89 oranında etanol dönüşümü elde etmiştir. Lee vd. [220] düşük yoğunlukta (%0.06) sülfürik asit ile ön işlem uygulayarak *Saccharina japonica* türünden 6,65 g/L biyoetanol elde etmiştir.

Çalışmalarında, düşük yoğunluktaki asit ön işleminde sonrasında algal biyokütle içerisindeki selülozik olmayan bileşenlerin giderilmesiyle *Saccharina japonica* türünün glukoz içeriğinin ve enzimatik sindirilebilirliğinin arttığını ifade etmişlerdir [220]. Harun vd. [221] *Chlorococcum infusionum* türünden biyoetanol üretimi için NaOH kullanılarak bazik ön işlem gerçekleştirmiş ve NaOH konsantrasyonunun, sıcaklığın ve ön işlem süresinin biyoetanol üretim verimine etkilerini araştırmıştır. Çalışma sonuçlarına göre en yüksek biyoetanol üretimi (0,26 g_{etanol}/g_{alg.}) %0,75 (m/v) NaOH kullanarak, 120°C sıcaklıkta ve 30 dakika ön işlem süresinde elde edilmiştir [221]. Mikroalglerden biyoetanol fermentasyonu biyodizel üretimine göre daha az enerji gerektirmektedir. Ayrıca, istenilmeyen CO₂ yan ürünü mikroalg kültürasyonunda kullanılabilir. Ancak, ticari olarak mikroalglerden biyoetanol üretimi halen araştırma aşamasındadır [13].

7.4. Biyogaz Üretimi (Biogas Production)

Alglerin kullanıldığı metan fermentasyon uygulamaları biyogaz gibi faydalı yan ürün üretimleri sebebiyle önemli ölçüde ilgi görmüştür [200]. Biyogaz anaerobik mikroorganizmalar tarafından parçalanmış organik maddelerden oluşur ve ağırlıklı olarak metan (%55-75) ve karbondioksitten (%25-45) meydana gelir [200]. Üretilen

metan, yakıt gazı olarak veya elektrik üretimi için kullanılabilir. Anaerobik parçalanma sonucunda kalıntı biyokütle gübre olarak kullanılabilir. Böylelikle sürdürülebilirlik sağlanabilir ve üretim maliyeti azaltılabilir. Mikroalglerin yapısında lignin yoktur ve selüloz muhtevası düşüktür. Bu sebeple, metan üretimi için organik maddelerin parçalanması daha kolay gerçekleşmektedir ve proses stabilitesi sağlanmaktadır [222].

Tablo 12'de farklı alg türlerinden üretilen biyometan verimleri verilmiştir. Anaerobik parçalanma prosesleri ile biyogaz üretiminde organik yüklemeye, sıcaklık, pH ve bekletme süreleri metan verimi etkileyen başlıca parametrelerdir. Genel olarak, yüksek bekletme süreleri ve organik yüklemeye hızları yüksek metan verimleri ile sonuçlanmaktadır. Ek olarak, anaerobik parçalanma mezofilik (35°C) ve termofilik (55°C) şartlarda gerçekleştirilebilmektedir [200]. Otsuka ve Yoshino [227] sabit mezofilik sıcaklık derecesinde *Ulva sp.* türü algin anaerobik parçalanması sonucunda 180 mL/g (uçucu katı) metan üretimi elde etmiştir.

8. MİKROALGAL BİYİYAKITLARIN TİCARİLEŞME DURUMU (COMMERCIALIZATION STATUS OF MICROALGAL BIOFUELS)

Mikroalgal yakıtlar henüz ticarileşmiş değildir [50]. Mikroalgal biyoyakıt üretiminin ticarileşmesindeki en önemli engel üretim maliyetinden kaynaklanmaktadır [13]. Gelecekte fosil yakıt rezervlerinin ihtiyacı karşılayamayacak duruma gelmesi ve çevresel etkileri göz önünde bulundurulduğunda mikroalg esaslı biyoyakıt üretimi daha fazla önem kazanacaktır. Mikroalglerden yakıt üretimi ham petrol fiyatlarının ≥ 100 \$/varil'i geçmesi durumunda ekonomik olarak uygulanabilir olacağı düşünülmektedir [50]. Hali hazırda birçok şirket mikroalg biyoyakıtların ticarileşmesi için girişimlerini sürdürmektedir. Bu şirketlerin %78'i Amerikada, %13'ü Avrupada ve kalan %9'u diğer bölgelerde bulunmaktadır. Tablo 13'te mikroalg biyoyakıt üretiminin ticarileşmesi için yatırım yapan bazı şirketlerin listesi verilmiştir. Ayrıca, birçok araştırma grubu ve devlet kurumu algal biyoyakıtların ticarileşmesine katkıda bulunmaktadır [13].

Tablo 12. Farklı alg türlerinden üretilen biyometan verimleri (Biomethane yields from different algal species)

Biyokütle	Metan verimi (m ³ /kg)	Referans
Laminaria sp.	0,26-0,28	[223]
Gracilaria sp.	0,28-0,4	[224]
Macrocyctis	0,39-0,41	[223]
L. Digitata	0,5	[225]
Ulva sp.	0,2	[226]

Tablo 13. Algal biyoyakıtların ticarileşmesi için girişimde bulunan şirketler
(Companies attempting to commercialize algal biofuels) [13, 50]

Şirket	Bulunduğu yer	İnternet adresi
Algenol Biofuels	Bonita Springs, FL, ABD	www.algenolbiofuels.com
Aquaflow	Nelson, Yeni Zelanda	www.aquaflowgroup.com
Alga Fuel	S.A., Sines, Portekiz	www.a4f.pt
Bioalgene	Seattle, WA, ABD	www.bioalgene.com
Bionavitas, Inc.	Redmond, WA, ABD	www.bionavitas.com
Cellana	Hawaii, ABD	www.cellana.com
Community Fuels	Encinitas, CA, ABD	www.communityfuels.com
Diversified Energy	Gilbert, Arizona, ABD	www.diversified-energy.com
Eni	İtalya	www.eni.com
Galp Energia	Lisbon, Portekiz	www.galpenergia.com
HR Biopetroleum	Hawaii, ABD	www.hrbiopetroleum.com
Ingrepro B.V.	Zutphen, Hollanda	www.ingrepro.nl
LiveFuels, Inc.	San Carlos, CA, ABD	www.livefuels.com
Neste Oil	Helsinki, Finlandiya	www.nesteoil.com
Origin Oil	Los-Angeles, CA, ABD	www.originoil.com
PetroAlgae Inc.	Melbourne, FL, ABD	www.petroalgae.com
Phyco Biosciences	Chandler, AZ, ABD	www.phyco.net
Sapphire Energy, Inc.	San Diego, CA, ABD	www.sapphireenergy.com
Seambiotic Ltd.	Tel Aviv, İsrail	www.seambiotic.com
Solazyme, Inc.	San Francisco, ABD	www.solazyme.com
Solix Biofuels, Inc	Fort Collins, CO, ABD	www.solixbiofuels.com
XL Renewables	Phoenix, Arizona, ABD	www.xlrenewables.com

9. SONUÇLAR (CONCLUSIONS)

Bu çalışmada, mikroalgal biyoyakıt üretimde rol oynayan, mikroalglerin kültivasyonu, kültivasyon sonrasında üretilen biyokütlenin hasadı ve elde edilen biyokütleden farklı biyoyakıtların elde edilmesi işlemleri detaylı bir şekilde araştırılmıştır. Mikroalgal biyokütleden biyoyakıt üretiminde öncelikli olarak kullanılacak alg türünün belirlenmesi oldukça önemlidir. Örneğin, biyodizel üretimi için kullanılacaksa yağ içeriği yüksek türlerin, biyohidrojen üretimi için kullanılacaksa hidrojen üreten türlerin, biyoetanol üretimi için kullanılacaksa karbonhidrat içeriği yüksek türlerin seçilmesi gerekmektedir. Ayrıca, kullanılacak besin ortamı, çevresel şartlar ve uygun biyoreaktörün seçilmesi de biyoyakıt verimini etkileyen önemli parametrelerdir. Mikroalgal biyoyakıtların ticarileşmesindeki en büyük engel üretim maliyetlerinden kaynaklanmaktadır. Örneğin, mikroalglerin

yetiştirilmesinde besin kaynağı olarak atıksuların kullanılması ile üretim maliyetleri azaltılabilir. Ayrıca, üretim maliyetlerinin önemli bir bölümünü oluşturan (%20-30) biyokütle hasadı için verimli ve ekonomik bir yöntemin seçilmesi de oldukça önemlidir. Hali hazırda birçok firma ve araştırma gurubu mikroalgal biyoyakıtların ticarileşmesi için araştırmalarını sürdürmektedir. Gelecekte fosil yakıt rezervlerinin tükenmesi ve çevresel etkilerinin canlı yaşamı için risk oluşturacak seviyelere gelmesi durumunda mikroalgal biyoyakıtların kullanımı daha fazla önem kazanacaktır.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Gülüm M., Bilgin A., Çakmak A., Comparison of optimum reaction parameters of corn oil biodiesels produced by using sodium hydroxide (NaOH) and potassium hydroxide (KOH), Journal of the Faculty of

- Engineering and Architecture of Gazi University, 30 (3), 503-511, 2015.
2. Genç N., Atıkların biyohidrojen üretim potansiyellerinin değerlendirilmesi, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 17 (2), 63-77, 2011.
 3. Amponsah N.Y., Troldborg M., Kington B., Aalders I., Hough R.L., Greenhouse gas emissions from renewable energy sources: A review of lifecycle considerations, Renewable Sustainable Energy Rev., 39, 461-475, 2014.
 4. Singh B., Guldhe A., Rawat I., Bux F., Towards a sustainable approach for development of biodiesel from plant and microalgae, Renewable Sustainable Energy Rev., 29, 216-245, 2014.
 5. Boz N., Calcium oxide based heterogeneous catalyst design for the production of methyl esters from canola oil, Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University, 30 (4), 641-648, 2015.
 6. Christenson L., Sims R., Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts, Biotechnol. Adv., 29 (6), 686-702, 2011.
 7. Pragya N., Pandey K.K., Sahoo P.K., A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae, Renewable Sustainable Energy Rev., 24, 159-171, 2013.
 8. Rashid N., Ur Rehman M.S., Sadiq M., Mahmood T., Han J.-I., Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production, Renewable Sustainable Energy Rev., 40, 760-778, 2014.
 9. Lakaniemi A.M., Microalgal cultivation and utilization in sustainable energy production, Ph. D., Tampere University of Technology, Department of Chemistry and Bioengineering, Tampere, 2012.
 10. Farooq W., Suh W.I., Park M.S., Yang J.-W., Water use and its recycling in microalgae cultivation for biofuel application, Bioresour. Technol., 184, 73-81, 2015.
 11. Chisti Y., Biodiesel from microalgae, Biotechnol. Adv., 25 (3), 294-306, 2007.
 12. Suali E., Sarbatly R., Conversion of microalgae to biofuel, Renewable Sustainable Energy Rev., 16 (6), 4316-4342, 2012.
 13. Bahadar A., Bilal Khan M., Progress in energy from microalgae: A review, Renewable Sustainable Energy Rev., 27, 128-148, 2013.
 14. Huber G.W., Iborra S., Corma A., Synthesis of transportation fuels from biomass: Chemistry, catalysts, and engineering, Chem. Rev., 106 (9), 4044-4098, 2006.
 15. Zhu L., Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework, Renewable Sustainable Energy Rev., 41, 1376-1384, 2015.
 16. Mata T.M., Martins A.A., Caetano N.S., Microalgae for biodiesel production and other applications: A review, Renewable Sustainable Energy Rev., 14 (1), 217-232, 2010.
 17. Singh A., Nigam P.S., Murphy J.D., Mechanism and challenges in commercialisation of algal biofuels, Bioresour. Technol., 102 (1), 26-34, 2011.
 18. Medeiros D.L., Sales E.A., Kiperstok A., Energy production from microalgae biomass: carbon footprint and energy balance, J. Cleaner Prod., 96, 493-500, 2015.
 19. Xu M., Bernards M., Hu Z., Algae-facilitated chemical phosphorus removal during high-density *Chlorella emersonii* cultivation in a membrane bioreactor, Bioresour. Technol., 153, 383-387, 2014.
 20. Becker E.W., Micro-algae as a source of protein, Biotechnol. Adv., 25 (2), 207-210, 2007.
 21. Miao X., Wu Q., High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*, J. Biotechnol., 110 (1), 85-93, 2004.
 22. Yeh K.-L., Chang J.-S., Chen W.-m., Effect of light supply and carbon source on cell growth and cellular composition of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31, Eng. Life Sci., 10 (3), 201-208, 2010.
 23. Hariskos I., Posten C., Biorefinery of microalgae - opportunities and constraints for different production scenarios, Biotechnol. J., 9 (6), 739-752, 2014.
 24. Kobayashi M., Kakizono T., Yamaguchi K., Nishio N., Nagai S., Growth and astaxanthin formation of *Haematococcus pluvialis* in heterotrophic and mixotrophic conditions, J. Ferment. Bioeng., 74 (1), 17-20, 1992.
 25. Wang H., Xiong H., Hui Z., Zeng X., Mixotrophic cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* with diluted primary piggery wastewater to produce lipids, Bioresour. Technol., 104, 215-220, 2012.
 26. Mitra D., van Leeuwen J., Lamsal B., Heterotrophic/mixotrophic cultivation of oleaginous *Chlorella vulgaris* on industrial co-products, Algal Res., 1 (1), 40-48, 2012.
 27. Kim S., Park J.-e., Cho Y.-B., Hwang S.-J., Growth rate, organic carbon and nutrient removal rates of *Chlorella sorokiniana* in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions, Bioresour. Technol., 144, 8-13, 2013.
 28. Chen C.-Y., Yeh K.-L., Aisyah R., Lee D.-J., Chang J.-S., Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review, Bioresour. Technol., 102 (1), 71-81, 2011.
 29. Abreu A.P., Fernandes B., Vicente A.A., Teixeira J., Dragone G., Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source, Bioresour. Technol., 118, 61-66, 2012.
 30. Bruton T., Lyons H., Lerat Y., Stanley M., Rasmussen M.B., A review of the potential of marine algae as a source of biofuel in Ireland, Sustainable Energy Ireland, 1-88, 2009.
 31. Knuckey R.M., Brown M.R., Barrett S.M., Hallegraef G.M., Isolation of new nanoplanktonic diatom strains and their evaluation as diets for juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*), Aquaculture, 211 (1-4), 253-274, 2002.
 32. Carioca J.O.B., Hiluy Filho J.J., Leal M.R.L.V., Macambira F.S., The hard choice for alternative biofuels to diesel in Brazil, Biotechnol. Adv., 27 (6), 1043-1050, 2009.

33. Razzak S.A., Hossain M.M., Lucky R.A., Bassi A.S., de Lasa H., Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing—A review, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 27, 622-653, 2013.
34. Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A., Commercial applications of microalgae, *J. Biosci. Bioeng.*, 101 (2), 87-96, 2006.
35. Ho S.-H., Nakanishi A., Ye X., Chang J.-S., Hara K., Hasunuma T., Kondo A., Optimizing biodiesel production in marine *Chlamydomonas* sp JSC4 through metabolic profiling and an innovative salinity-gradient strategy, *Biotechnol. Biofuels*, 7 (97), 1-16, 2014.
36. Borowitzka M.A., Moheimani N.R., *Algae for Biofuels and Energy*, Cilt 5, Springer, 978-94-007-5479-9, India, 2013.
37. Cohn F., Zur naturgeschichte des protocooccus pluvialis kützing, *Nova Acta Academia Leopoldensis Caroliensis*, 22, 607, 1850.
38. Famintzin A., Die anorganischen Salze als ausgezeichnete Hilfsmittel zum Studium der Entwicklung niederer chlorophyllhaltiger Organismen, *Bull Acad Sci St Petersburg*, 17, 31-70, 1871.
39. Beijerinck M.W., Kulturversuche mit Zoochloren, Lichenengonidien und anderen niederen Algen, *Bot Z*, 48, 725-785, 1890.
40. Harder R., von Witsch H., Bericht über Versuche zur Fettsynthese mittels autotropher Microorganismen, *Forschungsdienst Sonderheft*, 16, 270-275, 1942a.
41. Harder R., von Witsch H., Die Massenkultur von Diatomeen, *Ber Deutsch Bot Ges*, 60, 146-152, 1942b.
42. Milner H.W., Possibilities in photosynthetic methods for production of oils and proteins, *JAOCS*, 28, 363-367, 1951.
43. Aach H.G., Über Wachstum und Zusammensetzung von *Chlorella pyrenoidosa* bei unterschiedlichen Lichtstärken und Nitratmengen, *Arch Mikrobiol*, 17, 213-246, 1952.
44. Oswald W.J., Gotaas H.B., Golueke C.G., Kellen W.R., Algae in waste treatment, *Sewage Wastes*, 29, 437-457, 1957.
45. Oswald W.J., Golueke C.G., Biological transformation of solar energy, *Adv. Appl. Microbiol.*, 2, 223-262, 1960.
46. Farrar W.V., Tecuitlatl: a glimpse of Aztec food technology, *Nature*, 211, 341-342, 1966.
47. Johnston H.W., The Biological and Economic Importance of Algae, Part 3. Edible Algae of Fresh and Brackish Waters, *Tuatara*, 18, 19-24, 1970.
48. Ciferri O., *Spirulina*, the edible microorganism, *Microbiol. Rev.*, 47, 551-578, 1983.
49. Deng X., Li Y., Fei X., Microalgae: A promising feedstock for biodiesel, *African Journal of Microbiology Research*, 3 (13), 1008-1014, 2009.
50. Chisti Y., Yan J., Energy from algae: Current status and future trends: Algal biofuels – A status report, *Appl. Energy*, 88 (10), 3277-3279, 2011.
51. Gendy T.S., El-Temtamy S.A., Commercialization potential aspects of microalgae for biofuel production: An overview, *Egypt. J. Pet.*, 22 (1), 43-51, 2013.
52. Singh J., Gu S., Commercialization potential of microalgae for biofuels production, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 14 (9), 2596-2610, 2010.
53. Rawat I., Ranjith Kumar R., Mutanda T., Bux F., Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production, *Appl. Energy*, 103, 444-467, 2013.
54. Mutanda T., Ramesh D., Karthikeyan S., Kumari S., Anandraj A., Bux F., Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production, *Bioresour. Technol.*, 102 (1), 57-70, 2011.
55. Zhu J., Rong J., Zong B., Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel, *Chin. J. Catal.*, 34 (1), 80-100, 2013.
56. Blanken W., Cuaresma M., Wijffels R.H., Janssen M., Cultivation of microalgae on artificial light comes at a cost, *Algal Res.*, 2 (4), 333-340, 2013.
57. Hidaka T., Inoue K., Suzuki Y., Tsumori J., Growth and anaerobic digestion characteristics of microalgae cultivated using various types of sewage, *Bioresour. Technol.*, 170, 83-89, 2014.
58. Samorì G., Samorì C., Guerrini F., Pistocchi R., Growth and nitrogen removal capacity of *Desmodesmus communis* and of a natural microalgae consortium in a batch culture system in view of urban wastewater treatment: Part I, *Water Res.*, 47 (2), 791-801, 2013.
59. de Morais M.G., Costa J.A.V., Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide, *Energy Convers. Manage.*, 48 (7), 2169-2173, 2007.
60. Brennan L., Owende P., Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 14 (2), 557-577, 2010.
61. Chiu S.-Y., Kao C.-Y., Tsai M.-T., Ong S.-C., Chen C.-H., Lin C.-S., Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration, *Bioresour. Technol.*, 100 (2), 833-838, 2009.
62. Widjaja A., Chien C.-C., Ju Y.-H., Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, 40 (1), 13-20, 2009.
63. Cheirsilp B., Torpee S., Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation, *Bioresour. Technol.*, 110, 510-516, 2012.
64. Blair M.F., Kokabian B., Gude V.G., Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production, *J. Environ. Chem. Eng.*, 2 (1), 665-674, 2014.
65. Gonçalves A.L., Simões M., Pires J.C.M., The effect of light supply on microalgal growth, CO₂ uptake and nutrient removal from wastewater, *Energy Convers. Manage.*, 85, 530-536, 2014.
66. Zeng X., Danquah M.K., Chen X.D., Lu Y., Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 15 (6), 3252-3260, 2011.

67. Kim T.-H., Lee Y., Han S.-H., Hwang S.-J., The effects of wavelength and wavelength mixing ratios on microalgae growth and nitrogen, phosphorus removal using *Scenedesmus* sp. for wastewater treatment, *Bioresour. Technol.*, 130, 75-80, 2013.
68. Teo C.L., Atta M., Bukhari A., Taisir M., Yusuf A.M., Idris A., Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths, *Bioresour. Technol.*, 162, 38-44, 2014.
69. Gris B., Morosinotto T., Giacometti G.M., Bertuccio A., Sforza E., Cultivation of *Scenedesmus obliquus* in Photobioreactors: Effects of Light Intensities and Light-Dark Cycles on Growth, Productivity, and Biochemical Composition, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 172 (5), 2377-2389, 2014.
70. Sharma Y.C., Singh B., Korstad J., A critical review on recent methods used for economically viable and eco-friendly development of microalgae as a potential feedstock for synthesis of biodiesel, *Green Chem.*, 13 (11), 2993-3006, 2011.
71. George B., Pancha I., Desai C., Chokshi K., Paliwal C., Ghosh T., Mishra S., Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae *Ankistrodesmus falcatus* – A potential strain for bio-fuel production, *Bioresour. Technol.*, 171, 367-374, 2014.
72. Wahidin S., Idris A., Shaleh S.R.M., The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp, *Bioresour. Technol.*, 129, 7-11, 2013.
73. Lee C.S., Lee S.-A., Ko S.-R., Oh H.-M., Ahn C.-Y., Effects of photoperiod on nutrient removal, biomass production, and algal-bacterial population dynamics in lab-scale photobioreactors treating municipal wastewater, *Water Res.*, 68, 680-691, 2015.
74. Arbib Z., Ruiz J., Álvarez-Díaz P., Garrido-Pérez C., Perales J.A., Capability of different microalgae species for phytoremediation processes: Wastewater tertiary treatment, CO₂ bio-fixation and low cost biofuels production, *Water Res.*, 49, 465-474, 2014.
75. Goiris K., Van Colen W., Wilches I., León-Tamariz F., De Cooman L., Muylaert K., Impact of nutrient stress on antioxidant production in three species of microalgae, *Algal Res.*, 7, 51-57, 2015.
76. Ummalyma S.B., Sukumaran R.K., Cultivation of microalgae in dairy effluent for oil production and removal of organic pollution load, *Bioresour. Technol.*, 165, 295-301, 2014.
77. Ji F., Liu Y., Hao R., Li G., Zhou Y., Dong R., Biomass production and nutrients removal by a new microalgae strain *Desmodesmus* sp. in anaerobic digestion wastewater, *Bioresour. Technol.*, 161, 200-207, 2014.
78. Chen F., Liu Z., Li D., Liu C., Zheng P., Chen S., Using ammonia for algae harvesting and as nutrient in subsequent cultures, *Bioresour. Technol.*, 121, 298-303, 2012.
79. Nautiyal P., Subramanian K.A., Dastidar M.G., Production and characterization of biodiesel from algae, *Fuel Process. Technol.*, 120, 79-88, 2014.
80. Ashokkumar V., Agila E., Sivakumar P., Salam Z., Rengasamy R., Ani F.N., Optimization and characterization of biodiesel production from microalgae *Botryococcus* grown at semi-continuous system, *Energy Convers. Manage.*, 88, 936-946, 2014.
81. Raeesossadati M.J., Ahmadzadeh H., McHenry M.P., Moheimani N.R., CO₂ bioremediation by microalgae in photobioreactors: Impacts of biomass and CO₂ concentrations, light, and temperature, *Algal Res.*, 6, Part A, 78-85, 2014.
82. Muñoz R., Guieysse B., Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review, *Water Res.*, 40 (15), 2799-2815, 2006.
83. Kumar A., Ergas S., Yuan X., Sahu A., Zhang Q., Dewulf J., Malcata F.X., van Langenhove H., Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions, *Trends Biotechnol.*, 28 (7), 371-380, 2010.
84. Wang B., Li Y., Wu N., Lan C.Q., CO₂ bio-mitigation using microalgae, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 79 (5), 707-718, 2008.
85. Venkata Subhash G., Rohit M.V., Devi M.P., Swamy Y.V., Venkata Mohan S., Temperature induced stress influence on biodiesel productivity during mixotrophic microalgae cultivation with wastewater, *Bioresour. Technol.*, 169, 789-793, 2014.
86. Sakamoto T., Bryant D.A., Growth at low temperature causes nitrogen limitation in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002, *Arch. Microbiol.*, 169 (1), 10-19, 1998.
87. Chokshi K., Pancha I., Trivedi K., George B., Maurya R., Ghosh A., Mishra S., Biofuel potential of the newly isolated microalgae *Acutodesmus dimorphus* under temperature induced oxidative stress conditions, *Bioresour. Technol.*, 180, 162-171, 2015.
88. Converti A., Casazza A.A., Ortiz E.Y., Perego P., Del Borghi M., Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production, *Chem. Eng. Process. Process Intensif.*, 48 (6), 1146-1151, 2009.
89. Cho S., Lee N., Park S., Yu J., Luong T.T., Oh Y.-K., Lee T., Microalgae cultivation for bioenergy production using wastewaters from a municipal WWTP as nutritional sources, *Bioresour. Technol.*, 131, 515-520, 2013.
90. Ranga Rao A., Ravishankar G.A., Sarada R., Cultivation of green alga *Botryococcus braunii* in raceway, circular ponds under outdoor conditions and its growth, hydrocarbon production, *Bioresour. Technol.*, 123, 528-533, 2012.
91. Zhu L.D., Takala J., Hiltunen E., Wang Z.M., Recycling harvest water to cultivate *Chlorella zofingiensis* under nutrient limitation for biodiesel production, *Bioresour. Technol.*, 144, 14-20, 2013.
92. de Gouvion Saint Cyr D., Wisniewski C., Schrive L., Farhi E., Rivasseau C., Feasibility study of microfiltration for algae separation in an innovative

- nuclear effluents decontamination process, *Sep. Purif. Technol.*, 125, 126-135, 2014.
93. Guo Z., Liu Y., Guo H., Yan S., Mu J., Microalgae cultivation using an aquaculture wastewater as growth medium for biomass and biofuel production, *J. Environ. Sci.*, 25, Supplement 1, S85-S88, 2013.
 94. Araujo G.S., Matos L.J.B.L., Fernandes J.O., Cartaxo S.J.M., Gonçalves L.R.B., Fernandes F.A.N., Farias W.R.L., Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: Prospection of the optimal extraction method, *Ultrason. Sonochem.*, 20 (1), 95-98, 2013.
 95. Nayak B.K., Das D., Improvement of carbon dioxide biofixation in a photobioreactor using *Anabaena* sp. PCC 7120, *Process Biochem.*, 48 (8), 1126-1132, 2013.
 96. Li Y.-R., Tsai W.-T., Hsu Y.-C., Xie M.-Z., Chen J.-J., Comparison of Autotrophic and Mixotrophic Cultivation of Green Microalgal for Biodiesel Production, *Energy Procedia*, 52, 371-376, 2014.
 97. Mata T.M., Melo A.C., Meireles S., Mendes A.M., Martins A.A., Caetano N.S., Potential of microalgae *Scenedesmus obliquus* grown in brewery wastewater for biodiesel production, *Chem. Eng. Trans.*, 32, 901-906, 2013.
 98. Renaud S.M., Thinh L.-V., Lambrinidis G., Parry D.L., Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures, *Aquaculture*, 211 (1-4), 195-214, 2002.
 99. Wu L.F., Chen P.C., Lee C.M., The effects of nitrogen sources and temperature on cell growth and lipid accumulation of microalgae, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 85, 506-510, 2013.
 100. Ramaraj R., Tsai D.D.-W., Chen P.H., Carbon dioxide fixation of freshwater microalgae growth on natural water medium, *Ecol. Eng.*, 75, 86-92, 2015.
 101. Mirón A.S., García M.C.C., Gómez A.C., Camacho F.G.a., Grima E.M., Chisti Y., Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricorutum* in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors, *Biochem. Eng. J.*, 16 (3), 287-297, 2003.
 102. Song W., Rashid N., Choi W., Lee K., Biohydrogen production by immobilized *Chlorella* sp. using cycles of oxygenic photosynthesis and anaerobiosis, *Bioresour. Technol.*, 102 (18), 8676-8681, 2011.
 103. Pancha I., Chokshi K., George B., Ghosh T., Paliwal C., Maurya R., Mishra S., Nitrogen stress triggered biochemical and morphological changes in the microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077, *Bioresour. Technol.*, 156, 146-154, 2014.
 104. Courchesne N.M.D., Parisien A., Wang B., Lan C.Q., Enhancement of lipid production using biochemical, genetic and transcription factor engineering approaches, *J. Biotechnol.*, 141 (1-2), 31-41, 2009.
 105. Gao Y., Yang M., Wang C., Nutrient deprivation enhances lipid content in marine microalgae, *Bioresour. Technol.*, 147, 484-491, 2013.
 106. Radakovits R., Jinkerson R.E., Darzins A., Posewitz M.C., Genetic engineering of algae for enhanced biofuel production, *Eukaryotic Cell*, 9 (4), 486-501, 2010.
 107. Zhila N.O., Kalacheva G.S., Volova T.G., Influence of nitrogen deficiency on biochemical composition of the green alga *Botryococcus*, *J. Appl. Phycol.*, 17 (4), 309-315, 2005.
 108. Guo F., Wang H., Wang J., Zhou W., Gao L., Chen L., Dong Q., Zhang W., Liu T., Special biochemical responses to nitrogen deprivation of filamentous oleaginous microalgae *Tribonema* sp, *Bioresour. Technol.*, 158, 19-24, 2014.
 109. Schenk P.M., Thomas-Hall S.R., Stephens E., Marx U.C., Mussgnug J.H., Posten C., Kruse O., Hankamer B., Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production, *Bioenergy Res.*, 1 (1), 20-43, 2008.
 110. Breuer G., Lamers P.P., Martens D.E., Draaisma R.B., Wijffels R.H., The impact of nitrogen starvation on the dynamics of triacylglycerol accumulation in nine microalgae strains, *Bioresour. Technol.*, 124, 217-226, 2012.
 111. Ruiz-Martinez A., Serralta J., Pachés M., Seco A., Ferrer J., Mixed microalgae culture for ammonium removal in the absence of phosphorus: Effect of phosphorus supplementation and process modeling, *Process Biochem.*, 49 (12), 2249-2257, 2014.
 112. Singh P., Guldhe A., Kumari S., Rawat I., Bux F., Investigation of combined effect of nitrogen, phosphorus and iron on lipid productivity of microalgae *Ankistrodesmus falcatus* KJ671624 using response surface methodology, *Biochem. Eng. J.*, 94, 22-29, 2015.
 113. Liang K., Zhang Q., Gu M., Cong W., Effect of phosphorus on lipid accumulation in freshwater microalga *Chlorella* sp, *J. Appl. Phycol.*, 25 (1), 311-318, 2013.
 114. Cai T., Park S.Y., Li Y.B., Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 19, 360-369, 2013.
 115. Laliberté G., Lessard P., de la Noüe J., Sylvestre S., Effect of phosphorus addition on nutrient removal from wastewater with the cyanobacterium *Phormidium bohneri*, *Bioresour. Technol.*, 59 (2-3), 227-233, 1997.
 116. Feng P., Deng Z., Fan L., Hu Z., Lipid accumulation and growth characteristics of *Chlorella zofingiensis* under different nitrate and phosphate concentrations, *J. Biosci. Bioeng.*, 114 (4), 405-410, 2012.
 117. Sun Z., Liu J., Zeng X., Huangfu J., Jiang Y., Wang M., Chen F., Astaxanthin is responsible for antiglycoxidative properties of microalga *Chlorella zofingiensis*, *Food Chem.*, 126 (4), 1629-1635, 2011.
 118. Islam M.A., Magnusson M., Brown R.J., Ayoko G.A., Nabi M.N., Heimann K., Microalgal species selection for biodiesel production based on fuel properties derived from fatty acid profiles, *Energies*, 6 (11), 5676-5702, 2013.

119. Caporgno M.P., Olkiewicz M., Torras C., Salvadó J., Clavero E., Bengoa C., Effect of pre-treatments on the production of biofuels from *Phaeodactylum tricornutum*, *J. Environ. Manage.*, 177, 240-246, 2016.
120. Teo S.H., Islam A., Yusaf T., Taufiq-Yap Y.H., Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga's oil to biodiesel using calcium methoxide catalyst, *Energy*, 78, 63-71, 2014.
121. Kandilian R., Lee E., Pilon L., Radiation and optical properties of *Nannochloropsis oculata* grown under different irradiances and spectra, *Bioresour. Technol.*, 137, 63-73, 2013.
122. Boussiba S., Vonshak A., Cohen Z., Avissar Y., Richmond A., Lipid and biomass production by the halotolerant microalga *Nannochloropsis salina*, *Biomass*, 12 (1), 37-47, 1987.
123. Chatsungnoen T., Chisti Y., Continuous flocculation-sedimentation for harvesting *Nannochloropsis salina* biomass, *J. Biotechnol.*, 222, 94-103, 2016.
124. Marudhupandi T., Sathishkumar R., Kumar T.T.A., Heterotrophic cultivation of *Nannochloropsis salina* for enhancing biomass and lipid production, *Biotechnol. Rep.*, 10, 8-16, 2016.
125. Ebrahimian A., Kariminia H.-R., Vosoughi M., Lipid production in mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* in a mixture of primary and secondary municipal wastewater, *Renewable Energy*, 71, 502-508, 2014.
126. Gao F., Yang Z.-H., Li C., Zeng G.-M., Ma D.-H., Zhou L., A novel algal biofilm membrane photobioreactor for attached microalgae growth and nutrients removal from secondary effluent, *Bioresour. Technol.*, 179, 8-12, 2015.
127. Xaaldi Kalhor A., Mohammadi Nassab A.D., Abedi E., Bahrami A., Movafeghi A., Biodiesel production in crude oil contaminated environment using *Chlorella vulgaris*, *Bioresour. Technol.*, 222, 190-194, 2016.
128. Jayappriyan K.R., Rajkumar R., Venkatakrishnan V., Nagaraj S., Rengasamy R., In vitro anticancer activity of natural β -carotene from *Dunaliella salina* EU5891199 in PC-3 cells, *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 3 (2), 99-105, 2013.
129. Imamoglu E., Demirel Z., Dalay M.C., Evaluation of culture conditions of locally isolated *Dunaliella salina* strain EgeMacc-024, *Biochem. Eng. J.*, 92, 22-27, 2014.
130. Zhang L., Chen L., Wang J., Chen Y., Gao X., Zhang Z., Liu T., Attached cultivation for improving the biomass productivity of *Spirulina platensis*, *Bioresour. Technol.*, 181, 136-142, 2015.
131. Andemichael H., Lee J.W., Toxicological study of biofuel ethanol with blue green alga *Spirulina platensis*, *Algal Res.*, 18, 110-115, 2016.
132. Chan M.-C., Ho S.-H., Lee D.-J., Chen C.-Y., Huang C.-C., Chang J.-S., Characterization, extraction and purification of lutein produced by an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N, *Biochem. Eng. J.*, 78, 24-31, 2013.
133. Kim K., Jung J.-Y., Shin H., Choi S.-A., Kim D., Bai S.C., Chang Y.K., Han J.-I., Harvesting of *Scenedesmus obliquus* using dynamic filtration with a perforated disk, *J. Membr. Sci.*, 517, 14-20, 2016.
134. Abomohra A.E.-F., Jin W., El-Sheekh M., Enhancement of lipid extraction for improved biodiesel recovery from the biodiesel promising microalga *Scenedesmus obliquus*, *Energy Convers. Manage.*, 108, 23-29, 2016.
135. Chiang C.-L., Lee C.-M., Chen P.-C., Utilization of the cyanobacteria *Anabaena* sp. CH1 in biological carbon dioxide mitigation processes, *Bioresour. Technol.*, 102 (9), 5400-5405, 2011.
136. Jana A., Bhattacharya P., Swarnakar S., Majumdar S., Ghosh S., *Anabaena* sp. mediated bio-oxidation of arsenite to arsenate in synthetic arsenic (III) solution: Process optimization by response surface methodology, *Chemosphere*, 138, 682-690, 2015.
137. Marques A.E., Barbosa A.T., Jotta J., Coelho M.C., Tamagnini P., Gouveia L., Biohydrogen production by *Anabaena* sp. PCC 7120 wild-type and mutants under different conditions: Light, nickel, propane, carbon dioxide and nitrogen, *Biomass Bioenergy*, 35 (10), 4426-4434, 2011.
138. Michels M.H.A., Camacho-Rodríguez J., Vermuë M.H., Wijffels R.H., Effect of cooling in the night on the productivity and biochemical composition of *Tetraselmis suecica*, *Algal Res.*, 6, 145-151, 2014.
139. Wong D.M., Nguyen T.T.N., Franz A.K., Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) enhances intracellular lipid staining with Nile red in microalgae *Tetraselmis suecica*, *Algal Res.*, 5, 158-163, 2014.
140. Lavens P., Sorgeloos P., Manual on the production and use of live food for aquaculture, FAO Fisheries, 361, 1-295, 1996.
141. Katarzyna L., Sai G., Singh O.A., Non-enclosure methods for non-suspended microalgae cultivation: literature review and research needs, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 42, 1418-1427, 2015.
142. Eriksen N.T., The technology of microalgal culturing, *Biotechnol. Lett.*, 30 (9), 1525-1536, 2008.
143. Pawlowski A., Mendoza J.L., Guzmán J.L., Berenguel M., Ación F.G., Dormido S., Effective utilization of flue gases in raceway reactor with event-based pH control for microalgae culture, *Bioresour. Technol.*, 170, 1-9, 2014.
144. De Bhowmick G., Subramanian G., Mishra S., Sen R., Raceway pond cultivation of a marine microalga of Indian origin for biomass and lipid production: A case study, *Algal Res.*, 6, Part B, 201-209, 2014.
145. Komolafe O., Velasquez Orta S.B., Monje-Ramirez I., Noguez I.Y., Harvey A.P., Orta Ledesma M.T., Biodiesel production from indigenous microalgae grown in wastewater, *Bioresour. Technol.*, 154, 297-304, 2014.
146. Bartley M.L., Boeing W.J., Corcoran A.A., Holguin F.O., Schaub T., Effects of salinity on growth and lipid accumulation of biofuel microalga *Nannochloropsis salina* and invading organisms, *Biomass Bioenergy*, 54, 83-88, 2013.
147. Shaleh S.R.M., Optimum growth parameters for both indoor and outdoor propagation of microalgae,

- Chlorella vulgaris* and *Isochrysis galbana*, Ph. D., Universiti Putra Malaysia, Department of Science, Serdang, 2004.
148. Fathi M., Asem A., Investigating the impact of NaCl salinity on growth, β -carotene, and chlorophyll a in the content life of halophytes of algae *Chlorella* sp., *AACL Bioflux*, 6 (3), 241-245, 2013.
 149. Abu-Rezq T.S., Al-Musallam L., Al-Shimmari J., Dias P., Optimum production conditions for different high-quality marine algae, *Hydrobiologia*, 403, 97-107, 1999.
 150. Oncel S.S., Microalgae for a macroenergy world, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 26, 241-264, 2013.
 151. Ruangsomboon S., Effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of newly isolated strain of the green microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2, *Bioresour. Technol.*, 109, 261-265, 2012.
 152. Khan S.A., Rashmi, Hussain M.Z., Prasad S., Banerjee U.C., Prospects of biodiesel production from microalgae in India, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 13 (9), 2361-2372, 2009.
 153. Demirbas A., Use of algae as biofuel sources, *Energy Convers. Manage.*, 51 (12), 2738-2749, 2010.
 154. Sánchez Mirón A., Contreras Gómez A., García Camacho F., Molina Grima E., Chisti Y., Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae, *J. Biotechnol.*, 70 (1-3), 249-270, 1999.
 155. Molina E., Fernández J., Ación F.G., Chisti Y., Tubular photobioreactor design for algal cultures, *J. Biotechnol.*, 92 (2), 113-131, 2001.
 156. Watanabe Y., Saiki H., Development of a photobioreactor incorporating *Chlorella* sp. for removal of CO₂ in stack gas, *Energy Convers. Manage.*, 38, Supplement, S499-S503, 1997.
 157. Ugwu C.U., Ogbonna J.C., Tanaka H., Improvement of mass transfer characteristics and productivities of inclined tubular photobioreactors by installation of internal static mixers, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 58 (5), 600-607, 2002.
 158. Zhang X., Zhou B.C., Zhang Y.P., Cai Z.L., Cong W., Fan O.Y., A simple and low-cost airlift photobioreactor for microalgal mass culture, *Biotechnol. Lett.*, 24 (21), 1767-1771, 2002.
 159. Huntley M.E., Redalje D.G., CO₂ mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: A new appraisal, *Mitig. adapt. strategies glob. chang.*, 12 (4), 573-608, 2006.
 160. Sato T., Usui S., Tsuchiya Y., Kondo Y., Invention of outdoor closed type photobioreactor for microalgae, *Energy Convers. Manage.*, 47 (6), 791-799, 2006.
 161. Chini Zittelli G., Rodolfi L., Biondi N., Tredici M.R., Productivity and photosynthetic efficiency of outdoor cultures of *Tetraselmis suecica* in annular columns, *Aquaculture*, 261 (3), 932-943, 2006.
 162. Ge Y., Liu J., Tian G., Growth characteristics of *Botryococcus braunii* 765 under high CO₂ concentration in photobioreactor, *Bioresour. Technol.*, 102 (1), 130-134, 2011.
 163. Ación Fernández F.G., Fernández Sevilla J.M., Sánchez Pérez J.A., Molina Grima E., Chisti Y., Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance, *Chem. Eng. Sci.*, 56 (8), 2721-2732, 2001.
 164. López M.C.G.-M., Sánchez E.D.R., López J.L.C., Fernández F.G.A., Sevilla J.M.F., Rivas J., Guerrero M.G., Grima E.M., Comparative analysis of the outdoor culture of *Haematococcus pluvialis* in tubular and bubble column photobioreactors, *J. Biotechnol.*, 123 (3), 329-342, 2006.
 165. Masojidek J., Papacek S., Sergejevova M., Jirka V., Cerveny J., Kunc J., Korecko J., Verbovikova O., Kopecky J., Stys D., Torzillo G., A closed solar photobioreactor for cultivation of microalgae under supra-high irradiance: basic design and performance, *J. Appl. Phycol.*, 15 (2-3), 239-248, 2003.
 166. da Silva T.L., Reis A., Medeiros R., Oliveira A.C., Gouveia L., Oil Production Towards Biofuel from Autotrophic Microalgae Semicontinuous Cultivations Monitored by Flow Cytometry, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 159 (2), 568-578, 2009.
 167. Uduman N., Qi Y., Danquah M.K., Forde G.M., Hoadley A., Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels, *J. Renewable Sustainable Energy* 2(1), 2010.
 168. Barros A.I., Gonçalves A.L., Simões M., Pires J.C.M., Harvesting techniques applied to microalgae: A review, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 41, 1489-1500, 2015.
 169. Molina Grima E., Belarbi E.H., Ación Fernández F.G., Robles Medina A., Chisti Y., Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics, *Biotechnol. Adv.*, 20 (7-8), 491-515, 2003.
 170. Danquah M.K., Gladman B., Moheimani N., Forde G.M., Microalgal growth characteristics and subsequent influence on dewatering efficiency, *Chem. Eng. J.*, 151 (1-3), 73-78, 2009.
 171. Rawat I., Ranjith Kumar R., Mutanda T., Bux F., Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production, *Appl. Energy*, 88 (10), 3411-3424, 2011.
 172. Zhang X., Hu Q., Sommerfeld M., Puruhito E., Chen Y., Harvesting algal biomass for biofuels using ultrafiltration membranes, *Bioresour. Technol.*, 101 (14), 5297-5304, 2010.
 173. Zhang W., Zhang W., Zhang X., Amendola P., Hu Q., Chen Y., Characterization of dissolved organic matters responsible for ultrafiltration membrane fouling in algal harvesting, *Algal Res.*, 2 (3), 223-229, 2013.
 174. Schlesinger A., Eisenstadt D., Bar-Gil A., Carmely H., Einbinder S., Gressel J., Inexpensive non-toxic flocculation of microalgae contradicts theories; overcoming a major hurdle to bulk algal production, *Biotechnol. Adv.*, 30 (5), 1023-1030, 2012.
 175. Vandamme D., Foubert I., Muylaert K., Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk

- biomass production, *Trends Biotechnol.*, 31 (4), 233-239, 2013.
- 176.** Papazi A., Makridis P., Divanach P., Harvesting *Chlorella minutissima* using cell coagulants, *J. Appl. Phycol.*, 22 (3), 349-355, 2010.
- 177.** Xu Y., Purton S., Baganz F., Chitosan flocculation to aid the harvesting of the microalga *Chlorella sorokiniana*, *Bioresour. Technol.*, 129, 296-301, 2013.
- 178.** Kurniawati H.A., Ismadji S., Liu J.C., Microalgae harvesting by flotation using natural saponin and chitosan, *Bioresour. Technol.*, 166, 429-434, 2014.
- 179.** Beach E.S., Eckelman M.J., Cui Z., Brentner L., Zimmerman J.B., Preferential technological and life cycle environmental performance of chitosan flocculation for harvesting of the green algae *Neochloris oleoabundans*, *Bioresour. Technol.*, 121, 445-449, 2012.
- 180.** Renault F., Sancey B., Badot P.M., Crini G., Chitosan for coagulation/flocculation processes – An eco-friendly approach, *Eur. Polym. J.*, 45 (5), 1337-1348, 2009.
- 181.** Rashid N., Rehman M.S.U., Han J.-I., Use of chitosan acid solutions to improve separation efficiency for harvesting of the microalga *Chlorella vulgaris*, *Chem. Eng. J.*, 226, 238-242, 2013.
- 182.** Salim S., Bosma R., Vermuë M.H., Wijffels R.H., Harvesting of microalgae by bio-flocculation, *J. Appl. Phycol.*, 23, 849-855, 2011.
- 183.** Hanotu J., Bandulasena H.C.H., Zimmerman W.B., Microflotation performance for algal separation, *Biotechnol. Bioeng.*, 109 (7), 1663-1673, 2012.
- 184.** Liu J.C., Chen Y.M., Ju Y.H., Separation of algal cells from water by column flotation, *Sep. Sci. Technol.*, 34 (11), 2259-2272, 1999.
- 185.** Rubio J., Souza M.L., Smith R.W., Overview of flotation as a wastewater treatment technique, *Miner. Eng.*, 15 (3), 139-155, 2002.
- 186.** Zenouzi A., Ghobadian B., Hejazi M.A., Rahnemoon P., Harvesting of microalgae *Dunaliella salina* using electroflocculation, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15 (5), 879-888, 2013.
- 187.** Zhou W., Min M., Hu B., Ma X., Liu Y., Wang Q., Shi J., Chen P., Ruan R., Filamentous fungi assisted bio-flocculation: A novel alternative technique for harvesting heterotrophic and autotrophic microalgal cells, *Sep. Purif. Technol.*, 107, 158-165, 2013.
- 188.** Bilad M.R., Vandamme D., Foubert I., Muylaert K., Vankelecom I.F.J., Harvesting microalgal biomass using submerged microfiltration membranes, *Bioresour. Technol.*, 111, 343-352, 2012.
- 189.** Bilad M.R., Discart V., Vandamme D., Foubert I., Muylaert K., Vankelecom I.F.J., Harvesting microalgal biomass using a magnetically induced membrane vibration (MMV) system: Filtration performance and energy consumption, *Bioresour. Technol.*, 138, 329-338, 2013.
- 190.** Gürel L., Büyükgüngör H., Kütle aktarımının membran sistemlerindeki rolü, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 21 (6), 224-238, 2015.
- 191.** Bilad M.R., Arafat H.A., Vankelecom I.F.J., Membrane technology in microalgae cultivation and harvesting: A review, *Biotechnol. Adv.*, 32 (7), 1283-1300, 2014.
- 192.** Buckwalter P., Embaye T., Gormly S., Trent J.D., Dewatering microalgae by forward osmosis, *Desalination*, 312, 19-22, 2013.
- 193.** Trent J.D., Gormly S.J., Delzeit L.D., Flynn M.T., Embaye T.N., Algae bioreactor using submerged enclosures with semi-permeable membranes, in United States patent application US 20100216203, US. 2010.
- 194.** Dor I., High density, dialysis culture of algae on sewage, *Water Res.*, 9 (3), 251-254, 1975.
- 195.** Bhave R., Kuritz T., Powell L., Adcock D., Membrane-based energy efficient dewatering of microalgae in biofuels production and recovery of value added co-products, *Environ. Sci. Technol.*, 46 (10), 5599-5606, 2012.
- 196.** Mubarak M., Shaija A., Suchithra T.V., A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production, *Algal Res.*, 7, 117-123, 2015.
- 197.** Halim R., Danquah M.K., Webley P.A., Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review, *Biotechnol. Adv.*, 30 (3), 709-732, 2012.
- 198.** Teo C.L., Idris A., Enhancing the various solvent extraction method via microwave irradiation for extraction of lipids from marine microalgae in biodiesel production, *Bioresour. Technol.*, 171, 477-481, 2014.
- 199.** Keris-Sen U.D., Sen U., Soydemir G., Gurol M.D., An investigation of ultrasound effect on microalgal cell integrity and lipid extraction efficiency, *Bioresour. Technol.*, 152, 407-413, 2014.
- 200.** Harun R., Singh M., Forde G.M., Danquah M.K., Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 14 (3), 1037-1047, 2010.
- 201.** Hossain A.S., Salleh A., Boyce A.N., Chowdhury P., Naquiuddin M., Biodiesel fuel production from algae as renewable energy, *Am. J. Biochem. Biotechnol.*, 4 (3), 250-254, 2008.
- 202.** Li Y., Lian S., Tong D., Song R., Yang W., Fan Y., Qing R., Hu C., One-step production of biodiesel from *Nannochloropsis* sp. on solid base Mg-Zr catalyst, *Appl. Energy*, 88 (10), 3313-3317, 2011.
- 203.** Cheng J., Huang R., Li T., Zhou J., Cen K., Biodiesel from wet microalgae: Extraction with hexane after the microwave-assisted transesterification of lipids, *Bioresour. Technol.*, 170, 69-75, 2014.
- 204.** Patil P.D., Gude V.G., Mannarswamy A., Cooke P., Nirmalakhandan N., Lammers P., Deng S., Comparison of direct transesterification of algal biomass under supercritical methanol and microwave irradiation conditions, *Fuel*, 97, 822-831, 2012.
- 205.** Ma G., Hu W., Pei H., Jiang L., Song M., Mu R., In situ heterogeneous transesterification of microalgae using combined ultrasound and microwave irradiation, *Energy Convers. Manage.*, 90, 41-46, 2015.
- 206.** Gülyurt M.Ö., Özçimen D., İnan B., Biodiesel Production from *Chlorella protothecoides* Oil by

- Microwave-Assisted Transesterification, *Int. J. Mol. Sci.*, 17 (4), 579, 2016.
207. Macías-Sánchez M.D., Robles-Medina A., Hita-Peña E., Jiménez-Callejón M.J., Estéban-Cerdán L., González-Moreno P.A., Molina-Grima E., Biodiesel production from wet microalgal biomass by direct transesterification, *Fuel*, 150, 14-20, 2015.
208. Huang J., Xia J., Jiang W., Li Y., Li J., Biodiesel production from microalgae oil catalyzed by a recombinant lipase, *Bioresour. Technol.*, 180, 47-53, 2015.
209. Martínez-Guerra E., Gude V.G., Mondala A., Holmes W., Hernandez R., Microwave and ultrasound enhanced extractive-transesterification of algal lipids, *Appl. Energy*, 129, 354-363, 2014.
210. Azcan N., Yilmaz O., Microwave irradiation application in biodiesel production from promising biodiesel feedstock: microalgae (*Chlorella protothecoides*), *Proc. World Congr. Eng. Comput. Sci.*, San Fransisco 2,737-742, October 24-26, 2012.
211. Rashid N., Rehman M.S.U., Memon S., Ur Rahman Z., Lee K., Han J.-I., Current status, barriers and developments in biohydrogen production by microalgae, *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 22, 571-579, 2013.
212. Zhang L.P., Melis A., Probing green algal hydrogen production, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 357, 1499-1511, 2002.
213. Kruse O., Rupprecht J., Bader K.P., Thomas-Hall S., Schenk P.M., Finazzi G., Hankamer B., Improved photobiological H₂ production in engineered green algal cells, *J. Biol. Chem.*, 280 (40), 34170-34177, 2005.
214. Torzillo G., Scoma A., Faraloni C., Ena A., Johanningmeier U., Increased hydrogen photoproduction by means of a sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* D1 protein mutant, *Int. J. Hydrogen Energy*, 34 (10), 4529-4536, 2009.
215. Kawaguchi H., Hashimoto K., Hirata K., Miyamoto K., H₂ production from algal biomass by a mixed culture of *Rhodobium marinum* A-501 and *Lactobacillus amylovorus*, *J. Biosci. Bioeng.*, 91 (3), 277-282, 2001.
216. Ueno Y., Kurano N., Miyachi S., Ethanol production by dark fermentation in the marine green alga, *Chlorococcum littorale*, *J. Ferment. Bioeng.*, 86 (1), 38-43, 1998.
217. Wu F.-C., Wu J.-Y., Liao Y.-J., Wang M.-Y., Shih I.-L., Sequential acid and enzymatic hydrolysis in situ and bioethanol production from *Gracilaria* biomass, *Bioresour. Technol.*, 156, 123-131, 2014.
218. Harun R., Danquah M.K., Influence of acid pre-treatment on microalgal biomass for bioethanol production, *Process Biochem.*, 46 (1), 304-309, 2011.
219. Borines M.G., de Leon R.L., Cuello J.L., Bioethanol production from the macroalgae *Sargassum* spp, *Bioresour. Technol.*, 138, 22-29, 2013.
220. Lee J.y., Li P., Lee J., Ryu H.J., Oh K.K., Ethanol production from *Saccharina japonica* using an optimized extremely low acid pretreatment followed by simultaneous saccharification and fermentation, *Bioresour. Technol.*, 127, 119-125, 2013.
221. Harun R., Jason W.S.Y., Cherrington T., Danquah M.K., Exploring alkaline pre-treatment of microalgal biomass for bioethanol production, *Appl. Energy*, 88 (10), 3464-3467, 2011.
222. Vergara-Fernández A., Vargas G., Alarcón N., Velasco A., Evaluation of marine algae as a source of biogas in a two-stage anaerobic reactor system, *Biomass Bioenergy*, 32 (4), 338-344, 2008.
223. Chynoweth D.P., Renewable biomethane from land and ocean energy crops and organic wastes, *Hortscience*, 40 (2), 283-286, 2005.
224. Bird K., Chynoweth D., Jerger D., Effects of marine algal proximate composition on methane yields, *J. Appl. Phycol.*, 2 (3), 207-213, 1990.
225. Morand P., Briand X., Anaerobic digestion of *Ulva* sp. 2. Study of *Ulva* degradation and methanisation of liquefaction juices, *J. Appl. Phycol.*, 11 (2), 165-177, 1999.
226. Briand X., Morand P., Anaerobic digestion of *Ulva* sp. 1. Relationship between *Ulva* composition and methanisation, *J. Appl. Phycol.*, 9 (6), 511-524, 1997.
227. Otsuka K., Yoshino A., A fundamental study on anaerobic digestion of sea lettuce, *Oceans '04. Mts/Ieee Techno-Ocean '04*, Kobe, 1770-1773, November 9-12, 2004.