

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT EKSTRAKSİYONU İLE
MİKROALGLERDEN BİYODİZEL AMAÇLI YAĞ ELDESİ**

NURCAN ERTÖY BAYRAKTAR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. MESUT AKGÜN**

İSTANBUL, 2018

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT EKSTRAKSİYONU İLE
MİKROALGLERDEN BİYODİZEL AMAÇLI YAĞ ELDESİ

Nurcan ERTÖY BAYRAKTAR tarafından hazırlanan tez çalışması 19.06.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mesut AKGÜN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mesut AKGÜN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Tuba GÜRKAYNAK ALTINÇEKİÇ
İstanbul Üniversitesi

Prof. Dr. Hasan SADIKOĞLU
Yıldız Teknik Üniversitesi



Bu çalışma, Hollanda Overijssel Bölgesi Twente Üniversitesi Yeşil Enerji İnisiyatifi tarafından desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

“Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu ile Mikroalglerden Biyodizel Amaçlı Yağ Eldesi” isimli tez çalışmamın her aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mesut AKGÜN’e, her türlü laboratuvar imkânını kullanımına sunarak çalışmadaki deneyleri gerçekleştirmemi sağlayan Twente Üniversitesi’ndeki danışmanım Sayın Doç. Dr. Derk Willem Frederik BRILMAN’a ve sevgili Dr. Laura GARCIA ALBA ARIN’a, Bolonya Üniversitesi’nde analiz çalışmalarıyla bana destek olan Dr. Chiara SAMORI’ye, hayatım boyunca yanımda olan, bugünlere gelmemde maddi ve manevi olarak sonsuz katkıları bulunan, arkamda büyük bir güç olduklarını bildiğim, anneme, babama, kardeşime ve canım eşim Muharrem BAYRAKTAR’a, sonsuz saygı ve sevgilerimle teşekkür ederim.

Haziran, 2018

Nurcan ERTÖY BAYRAKTAR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvi
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Hipotez	2
BÖLÜM 2	
ALGLER.....	3
2.1 Alglerin Genel Özellikleri	3
2.2 Alglerin Sınıflandırılması.....	5
2.3 Alglerin Genel Kullanım Alanları	6
2.3.1 Gıda	8
2.3.2 Tarım ve Hayvancılık	8
2.3.3 Tıp ve Eczacılık.....	9
2.3.4 Kozmetik	9
2.3.5 Atıkların Arıtılması	10
2.4 Mikroalglerin Biyoyakıt Alanında Kullanımı	10
2.4.1 Mikroalglerin Yetiştirilmesi	11
2.4.2 Mikroalg Üretim Sistemleri.....	13
2.4.3 Mikroalglerin Hasat Edilmesi.....	16
2.4.4 Kurutma.....	16

2.5	Mikroalglerin Biyoyakıta Dönüştürülmesi.....	16
2.5.1	Termokimyasal Dönüşüm	17
2.5.2	Biyokimyasal Dönüşüm	18
2.5.3	Doğrudan Sekresyon	19
2.5.4	Ekstraksiyonu Takiben Dönüşüm.....	19
2.5.5	Doğrudan (in-situ) Ekstraksiyon ve Dönüşüm	24
BÖLÜM 3		
	SÜPERKRİTİK AKIŞKAN TEKNOLOJİSİ.....	25
3.1	Süperkritik Akışkan Çeşitleri	29
3.2	Süperkritik Akışkanların Uygulama Alanları.....	29
3.3	Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu	31
3.3.1	Statik Ekstraksiyon Yöntemi.....	32
3.3.2	Dinamik Ekstraksiyon Yöntemi	32
3.4	Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu ile Mikroalglerden Yağ Eldesi	33
3.5	Süperkritik Akışkanlarda Çözünürlük	35
3.6	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonunda Kütle Aktarımı	38
3.7	Önceki Çalışmalar	40
BÖLÜM 4		
	DENEYSEL ÇALIŞMA.....	47
4.1	Hammadde.....	47
4.2	Ekstraksiyon Solventi	50
4.3	Deney Düzeneği ve Çalışma Prensipleri	51
4.4	Yağ Analizi.....	53
BÖLÜM 5		
	DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA	55
5.1	CO ₂ Akış Debiğine Göre Yağ Veriminin İncelenmesi	56
5.2	Basınca Göre Yağ Veriminin İncelenmesi	59
5.3	Sıcaklığa Göre Yağ Veriminin İncelenmesi.....	65
5.4	Numune Türlerine Göre Yağ Veriminin İncelenmesi	67
5.5	Su İçeriğine Göre Yağ Veriminin İncelenmesi	68
5.6	Deney Sonuçlarının Kütle Aktarım Modeliyle Karşılaştırılması	69
BÖLÜM 6		
	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	70
	KAYNAKLAR	72
EK-A		
	KULLANIM TALİMATI VE TEKNİK ÇİZİMLER.....	82
EK-B		
	TEKRARLANABİLİRLİK VERİLERİ.....	87

EK-C

DEBİ VE BASINCA GÖRE DENEYSEL VERİLER..... 88

ÖZGEÇMİŞ 90



SİMGE LİSTESİ

I	Işık şiddeti
k	Yağ kütle transfer katsayısı
$m_{s,t}^*$	Faz dengesi sağlandığında, ekstraksiyona uğramamış hücre içi yağ miktarı
m_e	t zamandaki yağ verimi
$m_{s,t}$	t zamanında ekstrakte edilmemiş halde kalan ekstrakte edilebilen hücre içi yağ miktarı
P	Basınç
P_E	Ekstraktörde ölçülen basınç değeri
P_k	Kritik basınç
t	Ekstraksiyon süresi
T	Sıcaklık
T_E	Ekstraktörde ölçülen sıcaklık değeri
T_G	Gaz sayacında ölçülen sıcaklık değeri
T_k	Kritik sıcaklık
μ	Spesifik büyüme oranı

KISALTMA LİSTESİ

B&D	Bligh and Dyer Metodu
BPR	Geri Basınç Düzenleyicisi
BYA	Bağlı Yağ Asitleri
DHA	Dokosaheksaenoik Asit
EPA	Eikosapentaenoik Asit
FAME	Fatty Acid Methyl Ester
FBR	Fotobiyoreaktör
GC	Gaz Kromatografisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SK CO ₂	Süperkritik Karbondioksit
SKA	Süperkritik Akışkan
SYA	Serbest Yağ Asileri
TAG	Triasilgliserol
TK	Toplam Katı
TYA	Toplam Yağ Asidi
YAME	Yağ Asidi Metil Esterleri

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	Siyonabakteri (<i>Synechococcus</i>), mikroalg (<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>) ve makroalglerin (<i>Spirogyra</i>) tipik hücre yapıları [15].....	3
Şekil 2.2	Işık şiddetinin fotosentez hızına ve alg büyümesine etkisi [59].....	12
Şekil 2.3	Fotobiyoreaktör örnekleri a) silindirik boru, b) torba şeklinde, c) düz plaka [15].....	14
Şekil 2.4	Açık kanal havuzları [15].....	15
Şekil 2.5	Mikroalglerden elde edilen biyoyakıt çeşitleri ve dönüşüm yöntemleri [67]	17
Şekil 2.6	Organik çözücüler kullanılarak yağların mikroalglerden ekstrakte edilmesindeki aşamalar	21
Şekil 2.7	Süperkritik CO ₂ ile yağların mikroalglerden ekstraksiyonundaki aşamalar ..	22
Şekil 3.1	Saf bir maddenin basınç ve sıcaklığa bağlı faz diyagramı [105]	26
Şekil 3.2	CO ₂ 'in süperkritik faza geçiş evreleri [108]	27
Şekil 3.3	Süperkritik CO ₂ yoğunluğunun sıcaklık ve basınçla değişimi [111]	28
Şekil 3.4	Süperkritik akışkan içindeki çözünürlüğün sabit sıcaklıkta basınç artışıyla değişimi [110]	36
Şekil 3.5	Süperkritik akışkan içindeki çözünürlüğün sabit basınçta sıcaklık artışıyla değişimi [110]	37
Şekil 3.6	Süperkritik CO ₂ içinde çözünen 2-naftolün çözünürlüğünün üç farklı eşsıcaklık eğrisinde basınca göre değişimi [110].....	38
Şekil 4.1	Kullanılan mikroalgler (a) Peletler, (b) Dondurularak kurutulmuş hücreler ..	48
Şekil 4.2	Ağırlığı 16 g olan ' <i>Desmodesmus sp</i> ' mikroalg peleti örneği.....	49
Şekil 4.3	Deneyde kullanılan süperkritik karbondioksit ekstraktörü	51
Şekil 4.4	Süperkritik karbondioksit ekstraktörü şematik çizimi	52
Şekil 5.1	Yağ veriminin üç farklı debide ekstraksiyon süresine göre değişimi	57
Şekil 5.2	Yağ veriminin üç farklı debide kullanılan CO ₂ miktarına göre değişimi	57
Şekil 5.3	Yağ veriminin üç farklı basınçta ekstraksiyon süresine göre değişimi	60

Şekil 5.4	Yağ veriminin üç farklı basınçta kullanılan CO ₂ miktarına göre değişimi	60
Şekil 5.5	50 °C sabit sıcaklıkta 250 bar’da (Üst) Toplam yağ ve YAME verimleri (Alt) Elde edilen yağdaki YAME ve YAME dışı kısımların oranları	62
Şekil 5.6	50 °C sabit sıcaklıkta 350 bar’da (Üst) Toplam yağ ve YAME verimleri (Alt) Elde edilen yağ içeriğindeki YAME ve YAME dışı kısımların oranları	64
Şekil 5.7	Yağ veriminin sıcaklığa göre değişimi.....	66
Şekil 5.8	Kinetik kütle aktarım modeli ve deney sonuçlarının karşılaştırılması	69



ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 Siyonabakteri, mikroalg ve makroalglerin farklılıkları [15]	4
Çizelge 2.2 Alglerin sınıflandırılması ve karşılaştırılması [21].....	7
Çizelge 2.3 Mikroalg üretiminde kullanılan açık kanal havuzları ile fotobiyoreaktörlerin karşılaştırılması [5].....	15
Çizelge 3.1 Süperkritik akışkan özelliklerinin sıvı ve gazlarla karşılaştırılması [109]	27
Çizelge 3.2 Süperkritik akışkanlar ve kritik özellikleri [109]	29
Çizelge 3.3 Süperkritik akışkanların uygulama alanları [114]	30
Çizelge 3.4 Organik çözücü ve süperkritik CO ₂ ekstraksiyonunun karşılaştırılması (* zayıf, ** orta, *** iyi) [115]	34
Çizelge 3.5 Önceki çalışmalar	44
Çizelge 4.1 Ekstraksiyon deneylerinde kullanılan mikroalglerin özellikleri.....	50
Çizelge 4.2 Kullanılan CO ₂ 'nin içeriği	50
Çizelge 5.1 Zamana göre farklı debilerde elde edilen deney sonuçlarına oturtulan kinetik kütle aktarım modeli sonuçları	58
Çizelge 5.2 Kullanılan CO ₂ miktarına göre farklı debilerde elde edilen deney sonuçlarına oturtulan kinetik kütle aktarım modeli sonuçları	58
Çizelge 5.3 Zamana göre farklı basınçlarda elde edilen deney sonuçlarına oturtulan kinetik kütle aktarım modeli sonuçları	61
Çizelge 5.4 Kullanılan CO ₂ miktarına göre farklı basınçlarda elde edilen deney sonuçlarına oturtulan kinetik kütle aktarım modeli sonuçları	61
Çizelge 5.5 360 dakika sürede, 200 bar basınçta, 2,9 g/dk çözücü debisiyle ve %4,13 su içeren mikroalg peletleriyle yapılan ekstraksiyonda yağ veriminin sıcaklığa göre değişimi	66
Çizelge 5.6 50 °C sıcaklıkta, 2,9 g/dk CO ₂ debisiyle yapılan ekstraksiyonlarda farklı numune türlerinden elde edilen yağ verimleri	67
Çizelge 5.7 50 °C sıcaklıkta, 2,9 g/dk CO ₂ debisiyle yapılan ekstraksiyonlarda farklı su içeriğine sahip numunelerden elde edilen yağ verimleri	68
Çizelge B.1 Tekrarlanabilirlik	87

Çizelge C.1	250 Bar basınçta, 50 °C sıcaklıkta ve %4,13 su içeren alg peletleriyle üç farklı çözücü debisiyle yapılan ekstraksiyonlarda yağ veriminin zamana ve kullanılan CO ₂ miktarına göre değişimi	88
Çizelge C.2	50 °C sıcaklıkta, 2,9 g/dk çözücü debisiyle ve %4,13 su içeren alg peletleriyle üç farklı basınçta yapılan ekstraksiyonlarda yağ veriminin zamana ve kullanılan CO ₂ miktarına göre değişimi	89



SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT EKSTRAKSİYONU İLE MİKROALGLERDEN BİYODİZEL AMAÇLI YAĞ ELDESİ

Nurcan ERTÖY BAYRAKTAR

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mesut AKGÜN

Günümüzde, dünya enerji ihtiyacının büyük çoğunluğunu karşılayan fosil yakıtların neden olduğu kirlilik ve artan enerji ihtiyacı nedeniyle yenilenebilir enerji kaynağı olarak biyokütleyle olan ilgi artmaktadır. Biyokütle türleri arasında mikroalgler, yüksek yağ içerikleri ve hızlı büyüme oranları gibi nedenlerle son yıllarda öne çıkmaktadır. Mikroalglerden biyoyakıt olarak kullanmak üzere yağ ekstraksiyonunda süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi, seçiciliğinin ayarlanabilir olması ve yüksek saflıkta ekstraksiyon yapılabilmesi nedeniyle organik çözücülerle ekstraksiyona önemli bir alternatiftir.

Bu çalışmada biyodizel üretimi amacıyla “*Desmodesmus sp.*” mikroalg türündeki 16 gramlık peletlerden süperkritik karbondioksit ekstraksiyon yöntemi kullanılarak yağ elde edilmiştir. Ekstraksiyon deneylerinde basınç, sıcaklık, karbondioksit debisi, mikroalgin su içeriği ve numunenin tanecik boyutunun yağ verimine etkisi incelenerek optimum şartlar bulunmaya çalışılmıştır. Deneyler 40-80 °C sıcaklık aralığında, 200, 250 ve 350 bar basınçta, 1,4, 2,9 ve 5,7 g/dk CO₂ debilerinde gerçekleştirilmiştir. Sabit sıcaklık (50 °C) ve basınçta (250 bar) farklı debilerde yapılan deneylerde toplam yağ verimi ve makul ekstraksiyon süreleri göz önünde bulundurularak 2,9 g/dk CO₂ debisi ile deneylere devam edilmiştir.

Sabit sıcaklık (50 °C) ve debide (2,9 g/dk), 200, 250 ve 350 bar’da gerçekleştirilen deneylerde basıncın hem yağ verimine hem de yağ asidi metil esteri (YAME) oranına etkisi incelenmiştir. En yüksek yağ verimi (%9,45) 350 bar’da, en yüksek YAME oranı

(%90,5) 250 bar'da elde edilmiştir. YAME oranları 350 bar'da yapılan deneylerde %70 civarında olmasına rağmen elde edilen toplam YAME miktarı (toplam alg kütlesinin %6,1'i) 250 bar'da bulunan YAME miktarından daha yüksektir.

Sıcaklığın yağ verimi üzerindeki etkisini incelemek için 200 bar basınç ve 2,9 g/dk debide 40 °C ile 80 °C aralığında 5 farklı sıcaklıkta deneyler yapılmıştır. En yüksek yağ verimi 40 °C ve 50 °C'de elde edilmiş, sıcaklık arttırılmaya devam edildiğinde verimin hızla düştüğü gözlemlenmiştir. Bu davranış düşük basınçlarda sıcaklık arttırıldığında elde edilen yağın büyük kısmını oluşturan triasilgliserol çözünürlüğünün düşmesiyle açıklanabilmektedir.

Numune türünün etkisini incelemek için pelet, öğütülmüş pelet ve dondurularak kurutulmuş mikroalg hücreleri kullanılmıştır. Deneylerin genelinde kullanılan pelet ile karşılaştırıldığında öğütülmüş peletlerden ve dondurularak kurutulmuş mikroalg hücrelerinden daha yüksek yağ verimi elde edilmiştir. Su içeriğinin yağ verimine etkisini incelemek için deneylerin genelinde kullanılan %4,13 su içeren numuneler yerine %25 ve %80 su içeren numuneler kullanıldığında yağ veriminde belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir. Deney sonuçlarına ampirik kinetik kütle aktarım modeli oturtulmuş ve elde edilen sonuçların çok büyük bir kısmının ± 5 'lik hata payı içerisinde kaldığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu, mikroalg, *Desmodesmus sp.*, biyodizel, YAME.

ABSTRACT

SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE EXTRACTION OF OIL FROM MICROALGAE FOR BIODIESEL PRODUCTION

Nurcan ERTÖY BAYRAKTAR

Department of Chemical Engineering

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Mesut AKGÜN

Nowadays, there is a growing interest in biomass as a renewable energy resource due to pollution caused by the fossil fuels, which is supplying the majority of world's energy demand, and the increasing energy need. Microalgae, amongst the biomass types, comes into prominence in the recent years due to its high oil content and high production rate. In oil extraction from microalgae to be used as biofuel, usage of supercritical fluid extraction, due to its adjustable selectivity and the ability to perform high purity extraction, is an important alternative to organic solvent extraction.

In this thesis, oil has been extracted using supercritical carbon dioxide technique from 16 g pellets of "Desmodesmus sp." type of microalgae. Optimum extraction conditions were searched in the extraction experiments by investigating the effects of pressure, temperature, carbon dioxide flow rate, water content of microalgae and particle size of the sample on the oil yield. Experiments were conducted in the temperature range of 40-80 °C, at pressures 200, 250 and 350 bar, and CO₂ flow rates of 1.4, 2.9 and 5.7 g/min. Based on the experiments performed at constant temperature (50 °C), constant pressure (250 bar) and varying flow rates, the experiments were continued to be performed at 2.9 g/min considering the total oil yield and reasonable extraction times.

Influence of pressure on both the oil yield and fatty acid methyl ester (FAME) fraction has been investigated at pressures of 200, 250 and 350 bar, at constant temperature (50

°C) and CO₂ flow (2,9 g/min). Highest oil yield (9.45%) was obtained at 350 bar and highest FAME fraction (90.5%) was obtained at 250 bar. Although the FAME fraction was around 70% in experiments at 350 bar, the total FAME amount (6.1% of the total algae mass) is higher than FAME amounts at 250 bar.

In order to investigate the influence of temperature on oil yield, experiments have been conducted at 5 different temperatures between 40 °C and 80 °C at 200 bar pressure and 2.9 g/min flow rate. Highest oil yields have been obtained at 40 °C and 50 °C, a fast decrease in yield has been observed as the temperature increased. This behavior can be explained to be due to decrease in the solubility of triacylglycerol, which is forming major part of the obtained lipids, while increasing the temperature at low pressures.

To investigate the influence of sample type pellets, crushed pellets and freeze-dried microalgae cells have been used. In comparison to pellets that has been used in most part of the experiments, higher oil yield has been obtained from crushed pellets and freeze-dried microalgae cells. A clear decrease in oil yield has been observed when samples with 25% and 80% water content has been used in order to investigate the influence of water content to oil yield instead of the samples with 4.13% water content that has been used in most of the experiments. Empirical kinetic mass transfer model has been fitted to the experimental results and it has been observed that a vast majority of the obtained results stay in the $\pm 5\%$ error margin.

Keywords: Supercritical carbon dioxide extraction, microalgae, *Desmodesmus* sp., biodiesel, FAME.

1.1 Literatür Özeti

Günümüzde, dünya enerji ihtiyacının büyük çoğunluğu kömür, petrol ve doğal gaz gibi fosil yakıtlardan sağlanmaktadır. Ancak artan nüfus ve endüstrinin enerji ihtiyacındaki artış göz önüne alındığında, mevcut enerji kaynaklarının sürdürülebilirliği mümkün görünmemektedir. Enerji ihtiyacının yanı sıra fosil yakıtların neden olduğu sera etkisi ve iklim değişiklikleri gibi problemler yenilenebilir enerji kaynaklarının geliştirilmesini gerekli kılmaktadır [1], [2], [3]. Yenilenebilir enerji kaynakları arasında biyokütle enerjisi küresel yenilenebilir enerji arzının %77,4'ünü temsil eden en büyük yenilenebilir enerji kaynağı olarak gösterilmektedir [4]. Biyoetanol, biyodizel ve yeşil dizel gibi biyokütle bazlı yakıtlar, özellikle ulaştırma sektöründe, fosil yakıtların kademeli olarak değiştirilmesine katkıda bulunabilir [5], [6].

En yaygın kullanılan biyoyakıtlardan biri olan biyodizel üretiminde günümüzde bitkisel yağlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bitkisel yağların aynı zamanda besin olarak kullanılması besin arzında sorunlara neden olabilir. Başlıca sorunlar gıda sınıfı yağ fiyatlarında artış ve üretim için arazi rekabeti şeklinde sosyal ve çevresel sonuçlar şeklinde ortaya çıkabilmektedir. Son yıllarda mikroalgler, yüksek yağ içerikleri, hızlı büyüme oranları, yetiştirilmeleri için ekilebilir araziye ihtiyaç duyulmaması ve baca gazlarındaki karbondioksiti özümseyebilmeleri gibi nedenlerle güçlü bir biyokütle kaynağı olarak öne çıkmaktadır [7], [8]. Örneğin mikroalgler üstel büyüme fazındayken 3,5 ile 24 saat arasında değişen kısa sürelerde sayılarını ikiye katlayabilmektedirler [9]. Ayrıca yağ içerikleri bazı mikroalg türlerinde kuru ağırlıklarının %90'ına kadar çıkabilirken, %20-50 arasında yağ içeriğine sahip mikroalgler rutin olarak

yetiştirilebilmektedir. Bu oran biyokütle olarak kullanılan soya fasulyesi ve palm yağı gibi yağlı tohumlu bitkilerde ancak %5 mertebesine çıkmaktadır [9], [10].

Mikroalglerden biyoyakıt olarak kullanmak üzere yağ ekstraksiyonunda geleneksel olarak organik çözücüler (hekzan, kloroform vb.) kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu organik çözücülerin toksisite, yüksek tutuşabilirlik ve nötr yağlara karşı düşük seçicilik gibi özellikleri yağ ekstraksiyonunda bazı dezavantajlara neden olmaktadır [11], [12]. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, seçiciliğinin ayarlanabilir olması ve yüksek saflıkta ekstraksiyon yapılabilmesi nedeniyle organik çözücülerin kullanımına önemli bir alternatiftir. Özellikle süperkritik CO₂, nispeten düşük basınçta (73,8 bar) ve sıcaklıkta (31,06 °C) süperkritik hale gelmesi, düşük toksisiteli olması, yanıcı olmaması, çevre dostu inert bir çözücü olması, nötr ve apolar yağlara karşı yüksek seçiciliğe sahip olması nedeniyle büyük bir potansiyele sahiptir [12]. Buna rağmen mikroalglerden süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu yöntemi kullanılarak biyodizel üretimi amacıyla yağ elde edilmesi konusunda yapılan çalışmalar sınırlıdır [6], [11], [12], [13].

1.2 Tezin Amacı

Bu çalışmada mikroalglerden süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu yöntemi kullanılarak biyodizel üretimi amacıyla yağ elde edilmesi konusu araştırılmıştır. Bu amaç için “*Desmodesmus sp.*” türü mikroalg kullanılmıştır. Sıcaklık, basınç, karbondioksit debisi, kullanılan mikroalgin su içeriği ve numune türünün yağ verimine olan etkileri incelenmiştir. Biyodizel elde edilmesi amacıyla mikroalglerden yağ ekstraksiyonu söz konusu olduğu için yağ ve YAME veriminin en yüksek olduğu koşulların belirlenmesi hedeflenmiştir. Karbondioksit debisi ve ekstraksiyon basıncının etkisini incelemek için yapılan deneylerde elde edilen yağ verimleri kinetik kütle aktarım modeli ile açıklanmıştır.

1.3 Hipotez

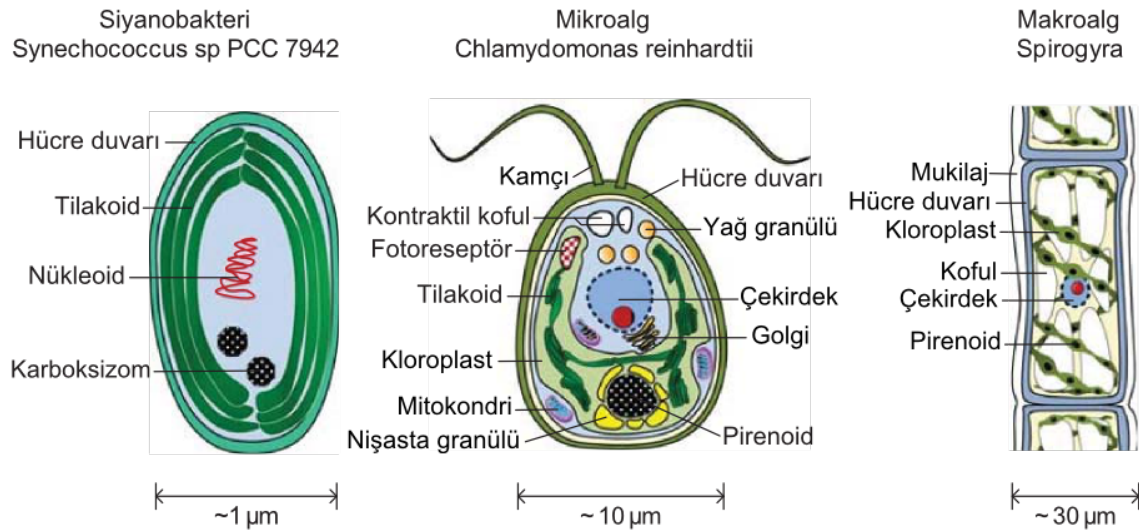
“*Desmodesmus sp.*” türü mikroalgin yağının ekstrakte edildiği süperkritik karbondioksit yöntemi B&D metoduna göre daha yüksek triasilgliserol seçiciliğine sahiptir. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu yönteminde sıcaklık ve basınç değerleri değiştirilerek istenilen yağ verimini elde etmek mümkündür.

BÖLÜM 2

ALGLER

2.1 Alglerin Genel Özellikleri

Algler, tallus ismi verilen kök, gövde ve yapraklara ayrışmamış basit vücut yapısına sahip olan ve yapılarında bulundurdıkları klorofil *a* aracılığıyla fotosentez yaparak besin üretebilen organizmalardır [14]. Algler hücre yapılarının gelişmişlik düzeyine göre siyanobakteriler, mikroalgler ve makroalgler olmak üzere üç gruba ayrılırlar. Bu üç alg türünün tipik örnekleri ve hücre yapıları Şekil 2.1'de gösterilmiştir [15].



Şekil 2.1 Siyanobakteri (Synechococcus), mikroalg (Chlamydomonas reinhardtii) ve makroalglerin (Spirogyra) tipik hücre yapıları [15]

En basit alg türü olan siyanobakteriler, zar ile sınırlandırılmış organellerden yoksun prokaryotlardır. Mikroalgler ve makroalgler ise hücrelerinde farklı görevler için özelleşmiş organelleri olan ve bu organelleri zarla çevrilmiş ökaryotlardır. Siyanobakteriler ve mikroalgler genellikle tek hücrelidir, ancak bunlardan bazıları

koloniler halinde yaşayabilirler. Makroalgler ise siyanobakteriler ve mikroalglerin aksine gelişmiş bitkilerde bulunan yaprak, gövde ve kökleri andıran yapıları ile çok hücreli organizmalardır [16].

Çoğu alg fotoototroftir; ana enerji ve karbon kaynağı olarak sadece ışık ve CO₂'ye gereksinim duyar. Fotoototrofik algler diğer fotoototrofik organizmalar gibi ışıktan enerji absorbe etmek için klorofil kullanırlar. Algal hücrelerde klorofil, tilakoid adı verilen membrana bağlı bir bölme içine gömülür. Siyanobakteride, tilakoidler doğrudan sitoplazma içerisinde yer alır. Mikroalgler ve makroalglerde tilakoidler kümelenmiş ve kloroplast olarak bilinen organel içerisinde gömülüdür. Siyanobakteriler, fotosentez yapmak için gerekli olan CO₂ seviyesini yeterli seviyede tutmak için sitoplazmalarında CO₂ yoğunlaştırmaya yarayan karboksizom içerirler. Benzer şekilde, mikroalgler ve makroalgler, kloroplastlarında CO₂ yoğunlaştırmaya yarayan pirenoid içerirler. Alglerin hücre tiplerinin ve fotosentezde kullandıkları yapıların farklılıkları Çizelge 2.1'de verilmiştir [15]. Alglerde bulunan diğer organeller takip eden paragrafta listelenmiştir.

Çizelge 2.1 Siyanobakteri, mikroalg ve makroalglerin farklılıkları [15]

Alg türü	Hücre tipi	Yapı	Tilakoidin konumu	CO ₂ yoğunlaştıran bileşen
Siyanobakteri	Prokaryodik	Tek hücreli	Sitoplazma	Karboksizom
Mikroalg	Ökaryodik	Tek hücreli	Kloroplast	Pirenoid
Makroalg	Ökaryodik	Çok hücreli	Kloroplast	Pirenoid

Synechococcus: Deniz suyunda yaygın görülen bir siyanobakteridir.

Chlamydomonas reinhardtii: İki kamçısını kullanarak yüzebilen bir mikroalg örneğidir.

Spirogyra: Tatlı suda yaygın olarak bulunan bir makroalgdir.

Hücre duvarı: Hücreyi bir arada tutan selülozdan oluşmuş yapıdır.

Nükleoid: Etrafında herhangi bir zar bulunmayan kromozom içeren düzensiz şekilli bölgedir.

Kamçı: Hareket için kullanılan kuyruk benzeri yapıdır.

Kontraktil koful: Fazla suyu hücreden uzaklaştıran (osmoregulasyon) organeldir.

Fotoreseptör: Işık yoğunluğunu ve yönünü algılayabilen organeldir.

Mitokondri: Ökaryodik hücreler için enerji (ATP) sağlayan zar ile çevrelenmiş organeldir.

Çekirdek: Ökaryodik hücrelerde bulunan DNA'yı içeren zarla kaplı organeldir.

Golgi aygıtı: Golgi aygıtı protein ve yağ gibi makromoleküllerin hücrede saklanması (sekresyon) için paketlenmesinde, türlerine göre ayrılmasında ve modifiye edilmesinde bütünleyici bir göreve sahiptir. Golgi aygıtı üst üste yığılmış keselerden oluşur.

Mukilaj: Hücresinin en dışını kaplayan yoğun ve mumsu yapıda maddedir.

Kloroplast: Fotosentezin gerçekleştiği organeldir.

Koful: İçerisinde su, organik ve inorganik moleküller bulunan organeldir.

Algler çok farklı ortamlarda yaşamlarını sürdürebilirler. Büyük çoğunluğu deniz, göl ve nehirlerde su ortamında, bazıları da karada toprak, ağaç ve kayalara tutunarak yaşayabilirler. Hayvan ve bitkilerle simbiyotik yaşam kurabilirler. Buzla kaplı alanlarda, 70 °C veya daha yüksek sıcaklıktaki kaynak sularında, çok tuzlu su ortamlarında, düşük ışık yoğunluğu ve yüksek basınç altındaki göl ve deniz ortamlarında kısaca fotosentez yapmak için ışık bulabildikleri her yerde yaşayabilirler [17], [18], [19], [20]. Mikroalgler, makro yosunlara ve herhangi bir kara kökenli fotosentetik yaşam biçimine kıyasla daha yüksek fotosentetik verim, daha fazla besin maddesi alımı ve daha hızlı hücre bölünmesi gösterirler. Algler su ortamında primer üretici canlılardır. Fotosentez yaparak su ortamındaki besin değerinin ve çözünmüş oksijen oranının artmasını sağlarlar. Sonuçta hem kendi gelişimlerini sağlar hem de besin zincirinin ilk halkasını oluştururlar [18].

2.2 Alglerin Sınıflandırılması

Algler, Whittaker'ın beş âlem sınıflandırma sistemine göre iki farklı âlemin altındaki yedi şubede yer almaktadır [21]. Bu sınıflandırma aşağıda listelenen hücresel özelliklere dayanarak yapılmıştır.

- 1- Hücre duvarı (varsa) kimyası ve morfolojisi
- 2- Yiyecek veya asimile edici fotosentez ürünlerinin depolandığı form
- 3- Klorofil molekülleri ve aksesuarları fotosenteze katkıda bulunan pigmentler
- 4- Kamçı sayısı ve bunların hareketli hücrelere eklenti yerleri

- 5- Hücrelerin ve/veya gövdenin (tallus) morfolojisi
- 6- Habitat
- 7- Üreme yapıları
- 8- Yaşam öyküsü modelleri

Bu özelliklere dayanarak alglerin sınıflandırılması ve önemli özelliklerinin karşılaştırılması Çizelge 2.2'de sunulmuştur.

2.3 Alglerin Genel Kullanım Alanları

Algler içerdikleri protein, şeker ve yağ nedeniyle çok geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bu kullanım alanları gıda, tarım, hayvancılık, tıp, eczacılık, kozmetik, atıkların arıtılması ve enerji şeklinde sıralanabilir. Enerji dışındaki kullanım alanları bu bölümde kısaca anlatılmıştır. Bu tezin odak noktasını oluşturan biyoyakıt alanındaki kullanımı ise daha detaylı olarak Bölüm 2.4'te anlatılmıştır.

Algler; agar-agar, aljinat ve karragen gibi endüstriyel polisakkaritlerin ana kaynağını oluşturmaktadır [22]. Bu polisakkaritlerin ne tür alglerden elde edildikleri ve özellikleri aşağıda anlatılmıştır.

Agar-agar: *Gracilaria* ve *Gelidium* isimli kırmızı alg türlerinden elde edilir. Kuru, şekilsiz ve kaynadığında akıcı hale gelen bir karbonhidrattır. Mikrobiyolojide besi yerlerinin hazırlanmasında önemli bir yere sahiptir. Ayrıca mobilyacılıkta yapıştırıcı, dericilikte parlaklık ve sağlamlık artırıcı, film endüstrisinde jelatin inceltici ve sıcaklık dayanımını artırıcı olarak kullanılır [19], [23], [24], [25].

Aljinat: Aljinat, *Laminaria Digitata* gibi esmer alglerden elde edilir. Bileşimindeki Na^+ , K^+ ve Mg^{++} tuzları ve suda erimeyen ağır metaller nedeniyle plastik madde oluşturma özelliğine sahiptir. Islatıldığında yumuşama, kurutulduğunda sertleşme özelliğine sahiptir. Sıcakta koagülasyona uğramaz, soğukta ise jel haline gelmez [26]. Tatsız ve kokusuzdur. Bu özellikleri nedeniyle boya, tekstil, kâğıt, plastik, metalurji ve deri endüstrisinde apre edici, emülsiyon sağlayıcı olarak kullanılır [19], [27].

Karragen: Kimyasal yapısı agar-agara benzemektedir. Kırmızı alglerden filtrasyon, ağartma ve kurutma yoluyla elde edilir. Bira endüstrisinde renk açıcı olarak kullanılır. Ayrıca dondurma, pasta, diş macunu ve deterjanların hazırlanmasında kullanılır [19], [28], [29].

Çizelge 2.2 Alglerin sınıflandırılması ve karşılaştırılması [21]

Şube (âlem)	Şube (Genel isim, örnek)	Tahmini tür sayısı	Klorofil	Tilakoid sayısı	Depo ürünler	Kamçı	Hücre duvarı	Habitat
Protista	Chlorophyta (Yeşil algler, örn: <i>Chlamydomonas</i>)	7500	a, b	3-6	Şeker, nişasta, fruktoz	1, 2-8; eş, tepe veya tepe altı	Selüloz, mannas (polisakkarit), protein, CaCO ₃	Tatlı su, acı su, tuzlu su, karasal
Protista	Charophyta (Stonewortlar, örn: <i>Chara</i>)	250	a, b	Çok	Nişasta	2; tepe altı	Selüloz, CaCO ₃	Tatlı su, acı su
Protista	Euglenophyta (Öglenoidler örn: <i>Öglena</i>)	700	a, b	3	Paramylon (nişasta benzeri karbonhidrat), yağ, şeker	1-3; kısmen tepe	Mevcut değil	Tatlı su, acı su, tuzlu su, karasal
Protista	Chrysophyta (Altın rengi, sarı-yeşil algler, diatomlar, örn: <i>Cyclotella</i>)	6000	a, c ₁ /c ₂ , nadiren d	3	Chrysolaminarin (polisakkarit), yağ	1-2; eş veya değil, tepe ya da mevcut değil	Selüloz, silika, protein, CaCO ₃ , kitin veya mevcut değil	Tatlı su, acı su, tuzlu su, karasal
Protista	Pyrrhophyta (Dinoflagellatlar, örn: <i>Gymnodinium</i>)	1100	a, c ₁ , c ₂	3	Yağ, nişasta, glukan	2; 1 kuyruk şeklinde, 1 enine kuşak	Selüloz veya mevcut değil	Tatlı su, acı su, tuzlu su
Bitki	Phaeophyta (Kahverengi algler, örn: <i>Sargassum</i>)	1500	a, c	3	Laminarin(nişasta benzeri karbonhidrat), manitol, yağ	2; eş değil, yanal	Selüloz, aljinik asit, fucoidan (polisakkarit)	Acı su, tuzlu su
Bitki	Rhodophyta (Kırmızı algler, örn: <i>Corallina</i>)	3900	a, nadiren d	1	Glikojen benzeri nişasta (floridean glycoside)	Mevcut değil	Selüloz, ksilan, galaktan, CaCO ₃	Tatlı su, acı su, tuzlu su

2.3.1 Gıda

Makroalglerin büyük çoğunluğunun gıda olarak tüketildiği bilinmektedir. Özellikle Uzakdoğu ülkelerinde algler salata, çorba, yemek ve sos şeklinde tüketilmektedir. Kırmızı alglerin besin analizleri incelendiğinde karbonhidrat, protein ve yağ asidi içerdikleri saptanmıştır. Algler tam bir protein kaynağıdır. Ayrıca canlılar için gerekli birçok aminoasidi de içermektedir [27], [30].

Batılı ülkelerin mutfağında alg kullanımı çok yaygın değildir. Ancak son yıllarda çoğunlukla alglerden elde edilen, “jelatan” olarak da isimlendirilen agar-agar, karragen, aljinat gibi maddelerin tüketiminin artmasıyla daha çok kullanım alanı bulmuştur. Bu maddeler jelleştirici, yoğunlaştırıcı, süspande (asılı) edici özellikleri nedeniyle pasta, reçel, marmelat ve dondurma yapımında kullanılmaktadır. Ayrıca gıda endüstrisinde sucuk ve sosis kılıflarının hazırlanmasında ve balıkçılığın geliştiği Avrupa ülkelerinde uskumru gibi yağlı balıkların saklanmasıyla faydalanılmaktadır [24], [27].

2.3.2 Tarım ve Hayvancılık

Alglerin bilinen en eski uygulama alanlarından birisi de gübre olarak kullanılmasıdır. Algler azot içeriği bakımından çiftlik gübresi kadar zengin olması, toprağı havalandırma ve nem tutma özellikleri, makro ve mikro besin maddeleri ile absisik asit ve sitokinin gibi biyoaktif maddeler içermesi nedeniyle birçok ülkede gübre olarak kullanılmaktadır [18], [31], [32]. Algler tarım alanında tohumların çimlenmesi, fide oluşumu, köklenme, çiçeklenme, meyve ve ürün verimi, raf ömrü ve zararlılara karşı dayanıklılık sağlama gibi olumlu etkilere sahiptir [31], [33].

Birçok Avrupa ülkesinde büyük baş hayvancılık alanında iyot eksikliğine bağlı olarak süt verimlerinin düştüğü bilinmektedir [34]. Alglerin besin değeri yüksek olduğu için hayvan yemlerine karıştırıldığında da çok iyi sonuçlar vermektedir. Örneğin Hollanda’da yemlere alg unu katıldığında süt üretimi ve sütteki A vitamini oranının arttığı gözlemlenmiştir, bunun yanı sıra kuzularda da yün ve et miktarı % 20 oranında artmıştır. Kanada’da inek sütündeki yağ miktarı ve benzer şekilde Norveç’te yumurta sarısı büyüklüğü de alg içeren yemler kullanıldığında artmıştır. Yemlerde kullanılan algler genelde kuru ağırlıklarının %20’si kadar proteine sahiptir [24], [27], [35], [36], [37].

Su ürünleri yetiştiriciliğine makroalglerin etkisini belirlemek için yapılan çalışmalarda ise balığın kas dokularındaki trigliserit ve protein miktarının arttığı, düşük yem dönüşüm oranına sahip olduğu, bağışıklık sistemlerinin kuvvetlendiği, sindirim oranının yükseldiği ve çevreye balıklar tarafından bırakılan azot miktarının azaldığı saptanmıştır [38], [39], [40], [41].

2.3.3 Tıp ve Eczacılık

Algler tıp alanında; yaralanmalarda, ağır metal zehirlenmelerinde, bağışıklık sisteminin dengelenmesinde, yüksek ateşi düşürmede, kan dolaşımının düzenlenmesinde, deri rejenerasyonunda, damar tıkanıklıklarının giderilmesinde ve kolesterolü düşürmede kullanılmaktadır [42], [43], [44], [45], [46].

Esmer alglerden elde edildiği bilinen aljinatlar ilaç sanayisinde etken madde ve yardımcı madde olarak kullanılır. İnsülin, antibiyotik, hormon, vitamin benzeri ilaçların enjektabl ve oral ilaç formlarında etken madde olarak, tabletlerde dolgu maddesi olarak, bağırsakta çözünen ilaçların kaplanması kullanımları örnek olarak verilebilir. Ayrıca, aljinatların; flaster, sargı ve bandajların ana maddesini oluşturdukları da bilinmektedir. [19], [26].

2.3.4 Kozmetik

Karragenler ilaç ve kozmetik sanayisinde akıcı özellikleri nedeniyle çok fazla kullanılan maddelerden biridir. Şampuanlarda, tıraş köpüklerinde ve sabunlarda köpüğü korurlar. Ayrıca saç balsamları içinde sabitleyici ve yüz maskesi gibi ürünlerde de emilimi artırıcı olarak kullanılırlar. Koltuk altı deodorantlarında terin bozunmasından sorumlu olan ve istenmeyen ter kokularına yol açan bakterilerin gelişimini engellemek amacıyla karragen kullanılır [47], [48], [49].

Agar-agar jel oluşturma özelliği nedeniyle ilaç ve kozmetik sanayisinde önemli bir yere sahiptir. Agar jelleri parfümlü kol altı kremleri, güneş kremleri ve penisilin veya çinko oksit içeren dermatolojik kremlerde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda aljinat içeren kremlerin cilt üzerinde hızlı buharlaşma etkileri nedeniyle deride ferahlık ve rahatlama hissi verdiği saptanmıştır [33], [47].

Aljinatlar saç losyonlarında saç parlaklık kazandırma ve saçın kolayca şekil alması gibi özellikler kattıkları için kullanılırlar. Sodyum aljinat sabunlarda ve tıraş köpüklerinde

kayganlaştırıcı ajan olarak, köpüksüz tıraş kremlerine yağlı bir özellik katmak, köpüklü tıraş kremlerinde ise köpüğün devamlılığını sağlamak için kullanılır. Ayrıca yapışkan özellikleri nedeniyle yara bantlarının yapımında da sodyum aljinatlardan faydalanılır [47].

Algler son yıllarda zengin mineral içerikleri ve deri yenileme gibi özellikleri nedeniyle *tallosterapi* (deniz kürü) uygulamalarında oldukça yaygın şekilde kullanılmaktadır [50].

2.3.5 Atıkların Arıtılması

Evsel ve endüstriyel atıklar, çözünmüş veya askıda organik ve inorganik bileşikleri içerir. Bu atıkların temizlenme prosesleri oksijenli bir ortamda gerçekleşir ve bu oksijenlendirme bazı alg türleri kullanılarak sağlanır. Ayrıca, güçlkle arıtılan azot ve fosfor gibi bileşikler alglerin bulunduğu tanklara alındıklarında algler tarafından besin kaynağı olarak kullanılarak ortamdan uzaklaştırılabilmektedirler [51].

2.4 Mikroalglerin Biyoyakıt Alanında Kullanımı

Günümüz dünyasında nükleer enerji ve hidroelektrik enerjisi istisnaları dışında enerji ihtiyacının büyük bir kısmı petrol, kömür ve doğal gaz gibi fosil yakıtlardan sağlanmaktadır. Fosil yakıtlar çevre kirliliğine neden olmalarının yanında dünya üzerinde sınırlı miktarda bulunmaları yüzünden bir süre sonra tükenecek olmaları nedeniyle artan enerji ihtiyacını sürdürülebilir olarak karşılamaktan uzaktır. Bunun yerine sürdürülebilir kullanım imkânı sağlayacak yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanılması dünya üzerinde yaygın eğilim haline gelmektedir. Yenilenebilir enerji kaynakları arasında biyokütleden üretilen biyodizel, biyoetanol, biyogaz ve biyohidrojen gibi farklı tipteki biyoyakıtlar enerji arzının %77,4'ünü oluşturarak çok önemli bir yer tutmaktadır [1], [2]. Mikroalgler biyokütle olarak birçok avantaja sahiptir. Bunlar:

- 1- Üretimleri için ekilebilir araziye ihtiyaç duyulmaması,
- 2- Yüksek büyüme hızına sahip olmaları,
- 3- Yüksek biyokütle verimliliği sağlamaları,
- 4- Yüksek yağ içerikleri,
- 5- Atık gazlardaki CO₂ özümseme yetenekleri [52],

- 6- Biyodizel üretimi için kullanılan diğer ürünlerin (soya yağı, ayçiçeği, kanola gibi) aksine insanlar tarafından asıl gıda kaynağı olarak kullanılmadıkları için biyodizel üretiminde en uygun hammadde olarak görülmektedir [53], [54].

Mikroalglerden biyodizel üretimi laboratuvar ortamında başarılı şekilde rutin olarak gerçekleştirilebilen bir işlemdir. Fakat mikroalglerden biyodizel üretim sürecinin laboratuvarda üretim aşamasından seri üretimde yaygın olarak kullanılabilir hale gelmesi için bazı zorlukların aşılması gerekmektedir. Bu zorlukların başında biyodizel üretim sürecinin yüksek maliyetli olması gelmektedir [55], [56]. Maliyetlerin düşürülmesi birçok araştırmacının ilgisini çeken yoğun bir araştırma alanını oluşturmaktadır [7], [10], [57], [58]. Maliyetin düşürülmesi için mikroalg biyokütlesinden biyodizel üretimine kadar olan bütün süreçlerin göz önünde bulundurulmasını gerekmektedir. Bu sürecin aşamaları mikroalgal biyokütlenin üretilmesi, hasat edilmesi, kurutulması, biyokütleden yağ ekstraksiyonu ve yağın biyodizele dönüşümü şeklinde açıklanabilir. Bu aşamaların her biri takip eden bölümlerde detaylı olarak açıklanmıştır.

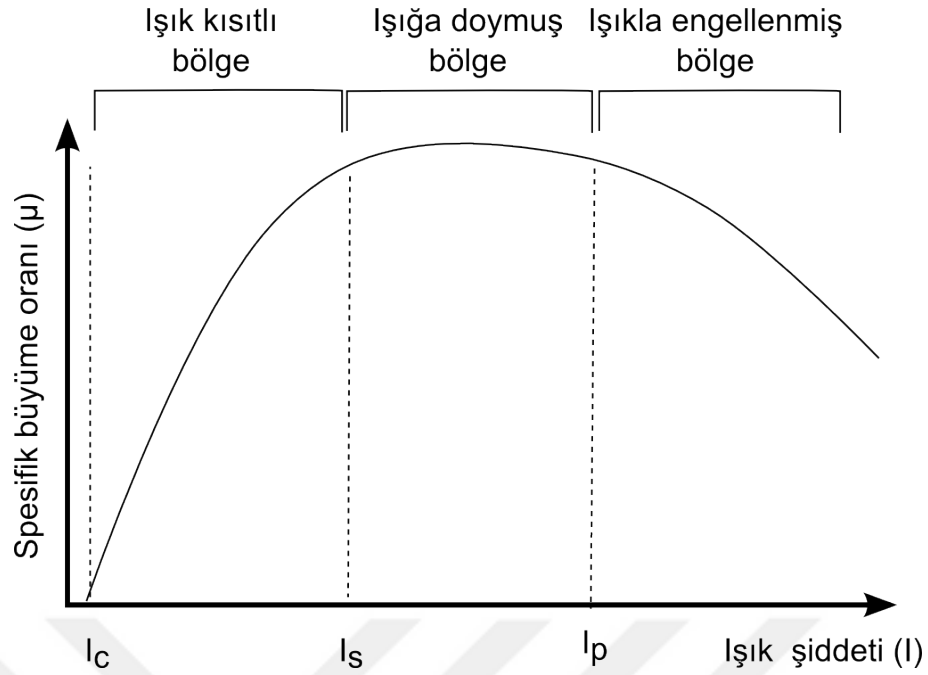
2.4.1 Mikroalglerin Yetiştirilmesi

Alglerin büyümesi, ışık, CO₂ konsantrasyonu, sıcaklık, pH, tuzluluk ve besin maddeleri gibi bir takım fizikokimyasal faktörlerce belirlenir [15]. Alglerin yüksek verimde yetiştirilmesi için her faktörün alg büyümesini nasıl etkilediğinin bilinmesi önemlidir.

2.4.1.1 Işık

Işık alg büyümesini genellikle iki yönüyle etkiler: Işık şiddeti ve ışık süresi. Işık şiddeti fotosentez hızını doğrudan etkileyen bir faktördür [15]. Fotosentez hızının ışık şiddetine göre değişimi Şekil 2.2'de gösterildiği gibi üç ana bölgede incelenebilir:

- 1- Işık kısıtlı bölge: Düşük ışık şiddetinde, ışık şiddeti arttıkça fotosentez oranı da artar.
- 2- Işık doymuş bölge: Alglerin ışık şiddetine doymuş olması nedeniyle fotosentez hızı yaklaşık olarak sabittir ve ışık şiddeti artsa da fotosentez hızı sabit kalır.
- 3- Işıkla engellenmiş bölge: Işık şiddetinin doymuş hale geldiği süreci takiben, artan ışık şiddeti ile fotosentez oranı azalır.



Şekil 2.2 Işık şiddetinin fotosentez hızına ve alg büyümesine etkisi [59]

2.4.1.2 CO₂ Konsantrasyonu

Çözünmüş CO₂, su ile reaksiyona girerek bikarbonat (HCO₃⁻) ve hidrojen iyonlarını (H⁺) oluşturur ve bu nedenle ortamın pH'sını düşürür. Düşük pH genellikle karboksom ve pirenoidlerin anahtar enzimi olan karbonik anhidraz aktivitesini ve alglerin büyümesini engeller. Çoğu alg için optimum CO₂ konsantrasyonu hacimce %0,038-%10 aralığında yer alır. Bazı algler CO₂ konsantrasyonuna daha duyarlıdır ve hacimce %1'den yüksektir. Bunun yanında, hacimce %70-%100 gibi yüksek CO₂ konsantrasyonlarını tolere edebilecek istisnai birkaç alg türü de vardır [60].

2.4.1.3 Sıcaklık, pH ve Tuzluluk

Alg hücrelerdeki enzimlerin optimum aktivitesini sağlamak için sıcaklık, pH ve tuzluluk önemlidir. Günümüzde kullanılan çoğu alg türü 16 ila 26 °C sıcaklıkları arasında iyi bir şekilde büyümektedir. Düşük sıcaklık (<16 °C), ortamdaki CO₂'nin çözünürlüğünü çok düşürebilir, bu da alglerin büyümesini yavaşlatır. Çok yüksek sıcaklıklar (> 35 °C) algleri öldürebilir. Bununla birlikte, bazı alg türleri, uyarılmış iklimlendirme işleminden sonra 40 °C'ye kadar yüksek sıcaklıklara tolerans göstermiştir [60].

Alg büyümesi için ortak pH aralığı yaklaşık 6-9'dur. Ancak bazı alg türleri 4'ün altında pH değerlerine tolerans gösterebilir [60].

Optimum tuzluluk seviyeleri alg türlerine göre değişiklik gösterir. Tatlı su alglerinde düşük tuzluluk (<1 g/L) oranlarına gerek duyulurken, 20-35 g/L aralığındaki tuzluluk seviyeleri deniz alglerine daha uygundur. *Dunaliella salina* gibi bazı algler, 30-300 g/L aralığında tuz konsantrasyonlarına tolerans gösterebilir [61].

2.4.1.4 Besin

Fotoototrofik büyüme için gerekli olan besinler, azot (N) ve fosfor (P)'dur. Algler tarafından azot alımı genellikle nitrat (NO_3^-) ve amonyum (NH_4^+) şeklindedir. Alg hücreleri fosforu çözünür fosfat (PO_4^{3-}) olarak alırlar. Fe, K, Mg, Ca ve Na gibi besin maddeleri de fotosentez mekanizması için önemlidir [62].

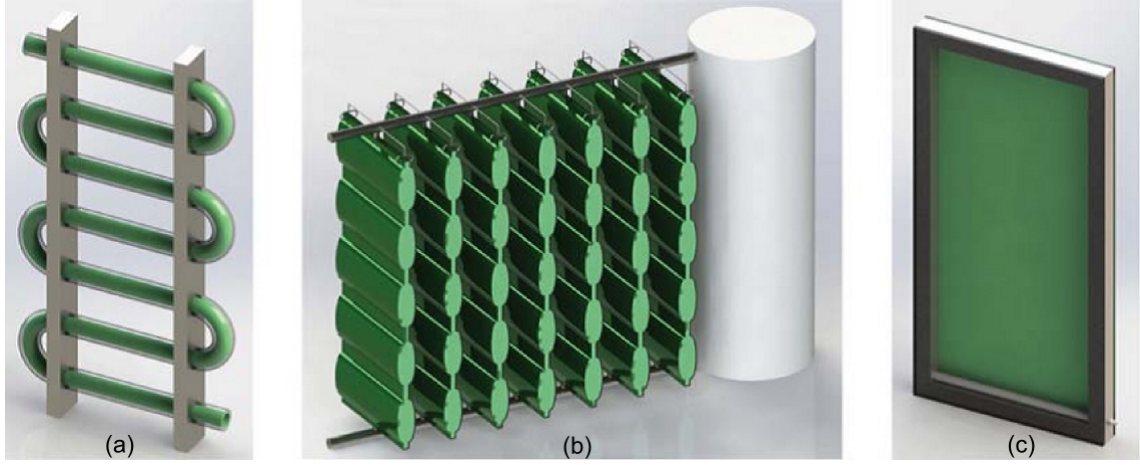
2.4.2 Mikroalg Üretim Sistemleri

Alg üretiminde açık (örneğin göl veya havuzlar) ve kapalı (örneğin fotobiyoreaktörler) olmak üzere iki tip sistem kullanılır.

Kapalı sistemlerde alg üretimi şeffaf fotobiyoreaktörlerde (FBR) gerçekleştirilmektedir. Bu tip sistemlerde çevre şartları kontrol altında tutularak fotoototrofik alg üretiminin artırılması amaçlanmıştır. Fotobiyoreaktörlerde alg üretimi yüksek hücre yoğunluğu ve minimum oranda kontaminasyon içeren alg kültürü elde edilmesi gibi avantajlara sahiptir. En yaygın görülen FBR'ler Şekil 2.3'de gösterilen silindirik boru, düz-plaka veya torba şeklindedir. FBR'ler cam ya da plastikten üretilir. Çoğu FBR karışık hava ve CO_2 içerir. Bunun amacı biyoreaktör içinde karıştırma sağlanarak inorganik karbonu dağıtmak ve alglerin gölgede kalmasını engellemektir. Silindirik boru ve düz-plaka fotobiyoreaktörleri şekilleri nedeniyle ışıktan maksimum seviyede yararlanma avantajına sahiptir. Torba biyoreaktör sistemi düşük maliyetli bir tasarım olan büyük plastik torbalardan oluşur. Dâhili veya harici yapay ışık kaynakları ışık enerjisi sağlamak için kullanılabilir. Ancak bu uygulama maliyeti büyük ölçüde arttırmaktadır [15].

Kapalı sistemler, yüksek hücre verimliliği ve minimum kirlenme gibi avantajları nedeniyle tıp eczacılık ve kozmetik alanlarında kullanılan alglerin yetiştirilmesinde tercih edilir. Pilot ölçekli sistemlerde alg biyokütle üretkenliği 0.5-3.0 g/(L.d) aralığındadır. FBR'lerin düşük buharlaşma kaybı vardır, bu da üretim esnasında gerekli su miktarını azaltır. Bununla birlikte, aşırı ısınma ve duvardaki mikrobik büyümeden

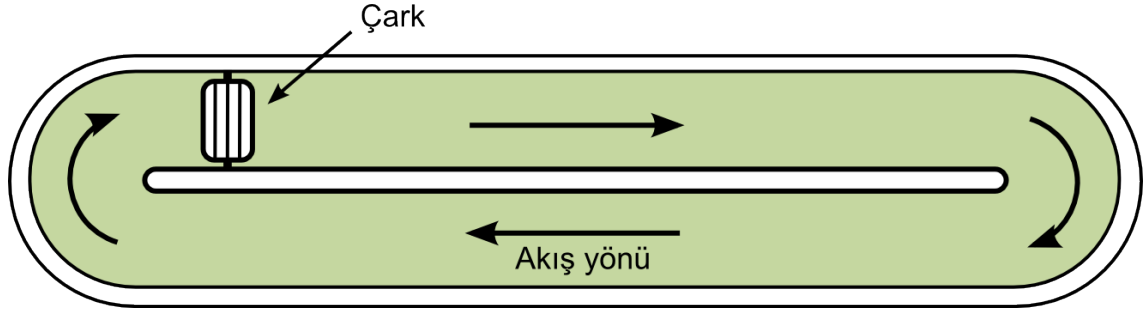
kaynaklanan biyolojik bozulma gibi dezavantajlara sahiptir [63]. Buna ek olarak, kapalı sistemde alg üretim maliyeti, açık havuz sisteminden daha yüksektir.



Şekil 2.3 Fotobiyoreaktör örnekleri a) silindirik boru, b) torba şeklinde, c) düz plaka [15]

Açık sistemlerde, alg biyokütlesi çevre koşullarının asgari kontrolü ile yaklaşık 0,3 m derinliğinde sığ bir havuzda yetiştirilir. Optimum fotosentetik hızı yükseltmek için havuz tabanına CO₂ enjekte edilebilir. Alg biyokütlesi üretiminde doğal havuzlar kullanılmakla birlikte en yaygın kullanılan sistem yüksek verimleri nedeniyle açık kanal havuz sistemleridir.

Açık kanal havuzları, beton dökülerek veya zemin içine kazarak inşa edilmektedir. Genellikle plastik ile kaplanmıştır. Sistemde karıştırma ve akış kontrolünü arttırmak için Şekil 2.4'de gösterildiği gibi çark kullanılır. Pilot ve büyük ölçekli sistemlerde alg biyokütle üretkenliği 0,05-0,50 g/(L.d) aralığındadır. Açık kanal havuzlarının en önemli avantajı yatırım ve işletme maliyetinin kapalı sistemlere oranla daha düşük olmasıdır. Bunun nedeni kapalı sisteme göre yapım maliyetinin daha düşük olması ve daha az ekipman gereksinimi duyulmasıdır. Bununla birlikte açık kanal havuzlarının bazı dezavantajları mevcuttur. Açık sistemler çevre şartlarından etkilendikleri için ışık ve sıcaklık dalgalanmaları görülebilir. Ayrıca buharlaşma nedeniyle su kaybına uğrama ve başka mikroorganizmalarla kontaminasyon riski taşırlar. Bu sistemlerin düşük yüzey alanı, CO₂'nin havuza kütle transferini ve alg kültürün ışığa maruz kalmasını da sınırlar.



Şekil 2.4 Açık kanal havuzları [15]

Bütün bu özellikler göz önünde bulundurulduğunda, açık kanal havuzları ile fotobiyoreaktörlerin özellikleri Çizelge 2.3'teki gibi karşılaştırılabilir. Kapalı fotobiyoreaktörlerde sistem kontrolü daha kolay olması nedeniyle, bu sistemler özellikle yüksek değerlikli yağ asitlerinin üretimi (DHA, EPA gibi) için önerilmektedirler. Bununla birlikte yatırım ve işletme maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle bu sistemlerin mikroalglerden biyodizel üretimi amacıyla büyük ölçeğe geçirilmesinin ekonomik olmadığı belirtilmektedir [64]. Açık havuz sistemler biyodizel üretimi amacıyla mikroalg yetiştirilmesi açısından oldukça düşük işletme maliyetleri nedeniyle kapalı fotobiyoreaktörlere göre daha uygun sistemler olarak değerlendirilmektedir [64].

Çizelge 2.3 Mikroalg üretiminde kullanılan açık kanal havuzları ile fotobiyoreaktörlerin karşılaştırılması [5]

Parametre	Açık kanal havuzları	Fotobiyoreaktörler
Yatırım maliyeti	Düşük	Yüksek
İşletme maliyeti	Düşük	Yüksek
Biyokütle üretkenliği	Düşük	Yüksek
Karbondioksit kullanımı	Düşük	Yüksek
Işık kaynağı	Doğal	Doğal/Yapay
Geniş ölçekli üretim	Evet	Hayır
Kontaminasyon riski	Yüksek	Düşük
Proses kontrol	Zor	Mümkün
Tür kontrolü	Mümkün değil	Mümkün
Karışım	Düzenli değil	Düzenli ve tamamen karışmış
İz	Çok geniş	Çok küçük
Alan/Hacim oranı	Düşük (5-10, 1/m)	Yüksek (20-200, 1/m)
Su kaybı	Çok yüksek	Düşük
Verimli ışık kullanımı	Düşük	Yüksek
Üretkenlik	Düşük	Yüksek (3-5 kat)
Biyokütle konsantrasyonu	Düşük	Yüksek (3-5 kat)
Kütle transferi	Düşük	Yüksek

2.4.3 Mikroalglerin Hasat Edilmesi

Mikroalglerin hasadı, mikroalg hücrelerinin kültür ortamından geri kazanılması işlemidir. Tipik bir açık kanal havuz sisteminde, başlangıçta toplam katı (TK) konsantrasyonu yaklaşık 0,5 g/L'dir. Bu süspansiyon, yağ ekstraksiyonu öncesi veya depolama için kurutmadan hemen önce en az 200 g/L'ye konsantre edilmelidir. Alglerin hasat edilmesi genelde iki aşamada gerçekleştirilir. İlk aşamada biyokütle konsantrasyonları 10-20 g/L'ye çıkarılır. İkinci aşamada ise biyokütle konsantrasyonları 150-250 g/L'ye arttırılır. Mikroalglerin hasat edilmesinde yüksek maliyet temel sorunlardan biridir. Hasat işlemi mikroalg toplam üretim maliyetinin % 20-30'unu oluşturur [65]. Alg hasadı teknolojileri yerçekimine dayalı sedimantasyon, mikrofiltrasyon, ultrasonik titreşim, membran ayırma (mikro ve ultrafiltrasyon dâhil), santrifüjleme, çöktürme, köpüklü yüzdürme (flokülasyon) ve otoflokülasyon gibi işlemleri içerir.

2.4.4 Kurutma

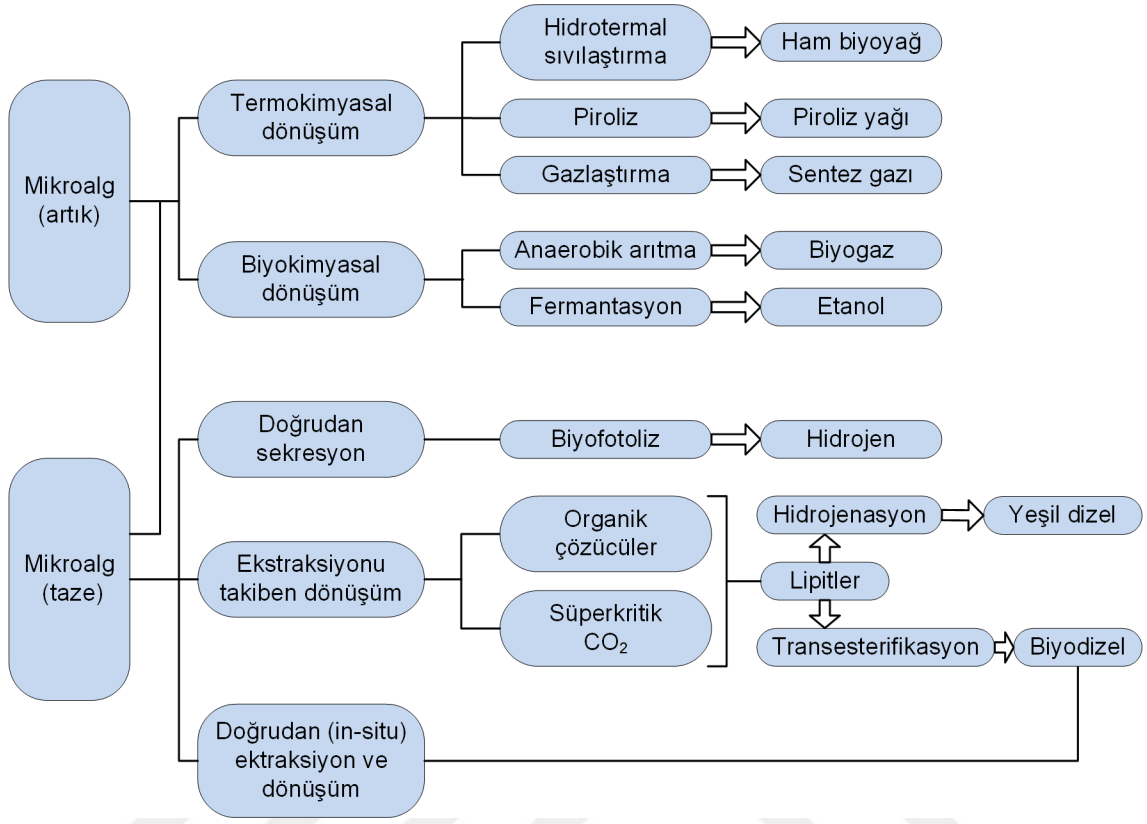
Hasat edilen alg biyokütlesinin, yağ ekstraksiyonundan önce ağırlıkça % 12-15 nem içeriğine kadar kurutulması gerekmektedir. Alg biyokütlesinin depolanması ve sonraki aşamada endüstriyel ölçekli alg arıtma işlemi için de kurutma gereklidir. Kurutma işlemi, toplam üretim maliyetinin % 70-80'ine karşılık gelir.

Güneşte kurutma alglerin % 20-90 aralığında kurumasını sağlayan en ucuz yöntemdir. Bununla birlikte, iklimin bölgesel ve mevsimsel değişimi, ürün kalitesi kaybı ve hoş olmayan kokular nedeniyle kurutma işlemi sonucunda istenilen özellikte ürün elde edilmesi zordur. Güneşte kurutma esnasında yağ yapısının kararlılığının korunup korunmadığı halen şüphelidir [66].

2.5 Mikroalglerin Biyoyakıtı Dönüştürülmesi

Mikroalglerden biyoyağ, biyogaz, etanol, biyodizel ve yeşil dizel gibi farklı biyoyakıt türleri elde edilebilmektedir. Elde edilen biyoyakıtlardaki bu çeşitlilik dönüşüm için de çok sayıda ve farklı yöntemin kullanılması anlamına gelmektedir. Bu bölümde mikroalglerden biyoyakıtı dönüşüm için kullanılan başlıca yöntemler açıklanmıştır. Bu yöntemler başlıca beş farklı grup altında şu şekilde toplanmıştır: a) Termokimyasal dönüşüm, b) Biyokimyasal dönüşüm, c) Doğrudan sekresyon, d) Ekstraksiyonu takiben dönüşüm ve e) Doğrudan (in-situ) ekstraksiyon ve dönüşüm. Bu beş grup ve altlarında

yer alan dönüşüm yöntemleri Şekil 2.5'te gösterilmiş ve takip eden bölümlerde detaylı olarak açıklanmıştır.



Şekil 2.5 Mikroalglerden elde edilen biyoyakıt çeşitleri ve dönüşüm yöntemleri [67]

2.5.1 Termokimyasal Dönüşüm

2.5.1.1 Hidrotermal Sıvılaştırma

Mikroalglerin hidrotermal sıvılaştırılması, mikroorganizmanın mekanik karıştırma ile paslanmaz çelik otoklav içinde biyoyağa dönüştürülmesi yöntemidir [68]. Dönüşüm esnasında mikroalg hücreleri bir çözeltiye (tatlı su veya deniz suyu) eklenir. Hidrojen (H_2) ve/veya karbon monoksit (CO) gibi indirgeyici bir gaz kullanmadan 10 MPa basınçta ve 300 °C sıcaklıkta termal olarak muamele edilir. Reaksiyon sıcaklığı 5-60 dakika süresince sabit tutulur [67]. Elde edilen ürün ilk olarak reaktörden bir çözücü (diklorometan veya kloroform gibi) ile ekstrakte edilir ve süzülür. Süzme işleminden sonra sulu ve çözücü fazlar ayrılır. Çözücünün buharlaştırılması sonucunda biyoyağ ürün olarak elde edilir. Bu yöntemde kullanılan reaktörler ve yakıt besleme sistemleri karmaşık ve pahalı olduğu için hidrotermal sıvılaştırma prosesine ilgi azdır. Buna rağmen birkaç çalışma mikroalgler gibi bazı ıslak biyokütle türlerinin enerjiye

dönüştürülmesinde bu yöntemin bazı avantajları olduğunu göstermektedir [69], [70], [71].

2.5.1.2 Piroliz

Piroliz yönteminde mikroalg oksijensiz ortamda yaklaşık 500 °C sıcaklığa ısıtılır. Bu işlem sonucunda biyoyağ, odun kömürü ve yoğunlaşmayan gazlar olmak üzere üç tip ürün elde edilir [72], [73]. Oluşan ana ürün olan biyoyağ motorlarda ve türbinlerde bazı uygulamalar için kullanılabilir. Elde edilen kömür ve yoğunlaştırılmayan gazlar ise ısı üretimi için yine piroliz işleminde kullanılabilir [73]. Birçok biyokütle piroliz teknolojisi ticarileşmiştir [69]. Bununla birlikte, algler genellikle yüksek nem içeriğine sahip olduklarından, piroliz öncesinde kurutma işlemine gereksinim duyulur [67].

2.5.1.3 Gazlaştırma

Gazlaştırma işlemi esnasında mikroalgler, hava, oksijen ve/veya buharla 800-900 °C aralığındaki yüksek sıcaklıklarda kısmi oksitlenme yoluyla sentez gazına dönüştürülür [67], [69], [70]. Üretilen sentez gazı doğrudan ısı üretmek üzere yakılabilir veya gaz motorları ve türbinleri için yakıt olarak kullanılabilir. Ayrıca kimyasal üretim için hammadde olarak (örn., metanol) kullanımı mevcuttur. Biyokütle gazlaştırma teknolojisi eski bir teknolojidir ve ticari alanda özellikle ısı ve elektrik üretimi için başarısı kanıtlanmıştır [69], [74].

2.5.2 Biyokimyasal Dönüşüm

2.5.2.1 Anaerobik Arıtma

Anaerobik arıtma sürecinde, mikroalgler anaerobik (oksijensiz) bir ortamda bakteriler tarafından doğrudan bir biyogaza dönüştürülür. Oluşan biyogaz, metan (CH₄), karbondioksit (CO₂) ve az miktarda hidrojen sülfid içerir [70]. Üretilen biyogaz, buji ile ateşlenen gaz motorlarında ve gaz türbinlerinde doğrudan yakıt olarak kullanılabilir. Anaerobik arıtma yüksek nemli organik atıkların (%80 - %90 nem) arıtımında yaygın olarak kullanılan, ticari olarak kanıtlanmış bir işlemdir [69].

2.5.2.2 Fermantasyon

Fermantasyonda mikroalglerden öğütme ekipmanı veya enzim kullanarak nişasta elde edilir. Daha sonra, enzimler mikroalg nişastasını şekere dönüştürür [67], [70]. Süreç, *Saccharomyces cerevisiae* mayası kullanılarak şekerin etil alkole dönüşümüyle sonuçlanır. Elde edilen etanol, %100 saf halde veya benzine %10 oranında eklenerek yakıt olarak kullanılabilir. Etanol doğrudan yakıt olarak yakıt hücresine güç vererek elektrik üretmek için de kullanılabilir. Anaerobik arıtmada olduğu gibi fermantasyon da, birçok ülkede şeker ve nişasta mahsullerinden etanol üretmek için yaygın olarak ticari ölçekte kullanılmaktadır [67].

2.5.3 Doğrudan Sekresyon

2.5.3.1 Biyofotoliz

Biyofotoliz yönteminde, mikroalgler su moleküllerini hidrojen iyonuna ve oksijene ayırabilirler. Direkt biyofotoliz prosesinde mikroalgler güneş enerjisini kullanarak suyu doğrudan fotosentetik reaksiyonlar ile hidrojen iyonu ve oksijene ayırır. Bu proses sonucu üretilen hidrojen iyonları, hidrojenaz enzimi ile hidrojen gazına dönüşür [75], [76]. Mikroalgler, yeşil algler ve siyanobakteriler gibi hidrojenaz enzimine sahiptir ve uygun şartlar altında hidrojen üretebilirler. Üretilen oksijen, hidrojenaz enzimi üzerinde engelleyici bir etkiye sahip olduğu için bu prosesin en önemli sınırlayıcı etmenidir [77].

Endirekt biyofotoliz üç aşamada meydana gelir. İlk aşama fotosistemde biyokütlenin oluşumudur. İkinci aşama, alg hücrelerindeki glikozun 1 molü başına 2 mol asetat ve 4 mol hidrojenin aerobik karanlık fermantasyonda üretimidir. Son aşama ise 2 mol asetatın hidrojene dönüşümü şeklinde gerçekleşir. Alg ile hidrojen üretiminde, su ve CO₂ kullanıldığı için ekonomik ve sürdürülebilir metot olarak düşünülebilir [77].

2.5.4 Ekstraksiyonu Takiben Dönüşüm

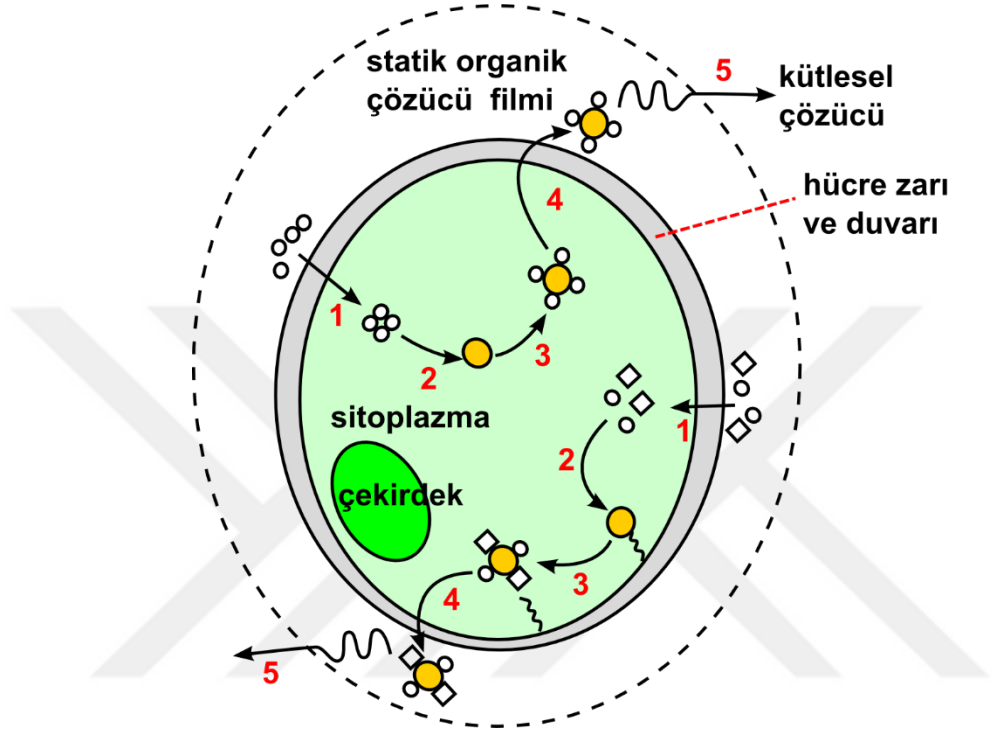
Bu gruptaki yöntemlerde ilk aşamada mikroalglerden yağ ekstrakte edilmekte ve ikinci aşamada ise ekstrakte edilen yağ biyoyakıta dönüştürülmektedir. Ekstraksiyon için organik çözücüler ve süperkritik akışkan fazındaki CO₂ kullanılmaktadır [54]. Ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen yağ, farklı olası yöntemler kullanılarak biyoyakıta dönüştürülebilir. Transesterifikasyon işlemiyle kimyasal olarak biyodizel haline getirilir veya hidrojenasyon adı verilen bir işlemle termokimyasal olarak yeşil

dizele dönüştürülür. Bu ekstraksiyon ve dönüşüm yöntemleri detaylı olarak takip eden bölümlerde anlatılmıştır.

2.5.4.1 Organik Çözücü Ekstraksiyonu

Bu yöntemde, mikroalglerdeki yağlar n-hekzan, etanol, dietil eter, kloroform/metanol, diklorometan/metanol, hekzan/izopropanol gibi organik çözücüler kullanılarak ekstrakte edilir. Apolar organik çözücülerle ekstraksiyon süreci Şekil 2.6'nın üst kısmında gösterildiği gibi beş adımda gerçekleşmektedir. Mikroalg hücresi, hekzan veya kloroform gibi apolar bir organik çözücüye maruz kaldığında, organik çözücü hücre zarından sitoplazmaya geçer (1. adım), van der Waals kuvvetleri nedeniyle nötr yağlarla etkileşir (2. adım) ve çözücü-yag kompleksi oluşturur (3. adım). Sitoplazma içindeki organik çözücü-yag kompleksi konsantrasyon farkı nedeniyle hücre zarından, hücre duvarından (4. adım) ve hücreyi saran statik organik çözücü filminden geçerek kütsel organik çözücüye dağılır (5. adım). Sonuç olarak, nötr yağlar hücrelerden çıkarak apolar organik çözücü içinde çözünür. Organik çözücü ve hücre duvarı arasındaki etkileşime bağlı olarak statik organik çözücü film oluşur. Bu film mikroalg hücresini sarar ve herhangi bir çözücü akışı veya çalkalama durumunda dahi bozulmadan kalır [13]. Bununla birlikte, sitoplazmada bazı nötr yağlar polar yağlar ile birlikte kompleks halinde bulunabilir. Bu kompleksteki, polar yağlar hücre zarındaki proteinlere hidrojen bağları ile güçlü bir şekilde bağlanabilir. Apolar organik çözücü ile nötr yağlar arasında oluşan van der Waals etkileşimleri, yağ-protein birlikteliğindeki hidrojen bağlarını bozmak için yeterli değildir. Ancak metanol veya isopropanol gibi polar organik çözücüler, kompleks içinde polar yağlar ile hidrojen bağları oluşturarak yağ-protein kompleksini bozabilir [78], [79]. Bu mekanizma Şekil 2.6'nın alt kısmında beş adımda gösterilmiştir. Organik çözücü (polar ve apolar) hücre zarından sitoplazmaya geçer (1. adım) ve yağ kompleksi ile etkileşir (2. adım). Bu etkileşim sırasında, polar olmayan organik çözücü yağ kompleksini çevreler ve kompleks içindeki nötr yağlar ile van der Waals bağlarını oluşturur, polar organik çözücü de yağ kompleksini çevreler ve kompleks içinde polar yağlar ile hidrojen bağları oluşturur. Hidrojen bağları, yağ kompleksini hücre zarına bağlayan yağ-protein ilişkilerini yerinden çıkaracak kadar güçlüdür. Bir organik çözücü-yag kompleksi oluşur ve hücre zarından ayrılır (3. adım). Organik çözücü-yag kompleksi daha sonra hücre zarından, hücre duvarından (4. adım) ve hücreyi saran statik organik çözücü filminden geçerek kütsel organik çözücüye

dağılır (5. adım). Bu şekilde, polar organik bir çözücünün apolar organik bir çözücüye eklenmesi, hücre zarına bağlı nötr yağ komplekslerinin ekstraksiyonunu kolaylaştırır. Bununla birlikte, bu işlem aynı zamanda kaçınılmaz olarak polar yağların ekstraksiyonuna da yol açmaktadır.



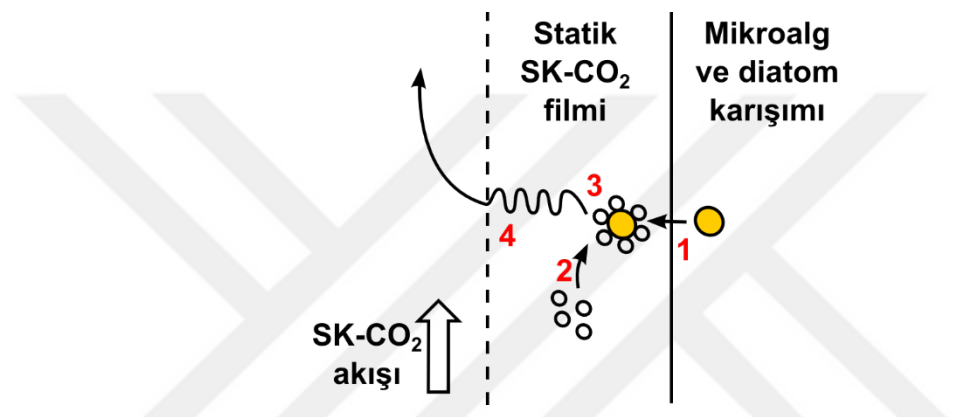
Şekil 2.6 Organik çözücüler kullanılarak yağların mikroalglerden ekstrakte edilmesindeki aşamalar

Mikroalglerin yağ içeriğinin belirlenmesinde Soxhlet (n-hekzan kullanılır) ve Bligh&Dyer (kloroform/metanol kullanılır) metotları en sık kullanılan iki yöntemdir [3], [80], [81], [82], [83]. Hekzan ucuz olması nedeniyle çok tercih edilen bir kimyasal çözücüdür. Ancak toksik ve parlayıcı olması nedeniyle çevre ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sahiptir [84]. Ayrıca kloroform ile karşılaştırıldığında, hekzanın nötral yağlar için daha düşük seçiciliğe sahip olduğu, yağ dışındaki kirleticilere karşı afinitesinin daha yüksek olduğu ve bu nedenle daha düşük ekstraksiyon verimine sahip olduğu belirlenmiştir [2], [3].

Ayrıca hücresel yağ ekstraksiyonunu kolaylaştırarak ekstraksiyon veriminin artırılması amacıyla ultrases, mikrodalga ve “bead-beating” gibi çeşitli hücre parçalama yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalar mevcuttur [3], [8], [63], [85], [86].

2.5.4.2 Süperkritik CO₂ Ekstraksiyonu

Bu yöntemde mikroalglerden yağ ekstraksiyonu için süperkritik fazdaki CO₂ kullanılır. Süperkritik CO₂ ekstraksiyonu Şekil 2.7'de gösterilen dört adımda gerçekleşir. İlk adım yağların mikroalg biyokütlesinden statik süperkritik CO₂ filmine desorpsiyonudur. İkinci adım desorbe olan yağların süperkritik CO₂ içinde çözünmesidir. Üçüncü adımda süperkritik CO₂-yağ kompleksi oluşur ve son adımda süperkritik CO₂-yağ kompleksi statik süperkritik CO₂ filminden süperkritik CO₂ akışına difüzyonu ile sonlanır [13]. Bu tez, süperkritik CO₂ ekstraksiyonu üzerine yoğunlaştığı için süperkritik akışkan teknolojisi Bölüm 0'te daha detaylı olarak anlatılmıştır.



Şekil 2.7 Süperkritik CO₂ ile yağların mikroalglerden ekstraksiyonundaki aşamalar

2.5.4.3 Hidrojenasyon

Hidrojenasyon, doymamış karbon bağları içeren organik bileşiklerdeki karbon atomlarının yüksek sıcaklıkta ve bir katalizör varlığında hidrojenle (H₂) indirgenme tepkimesine sokularak doyurulması işlemidir. Hidrojenasyon tepkimesi (2.1)'de gösterilmiştir.



Heterojen olarak katalizlenen hidrojenasyon tepkimesi üç aşamada gerçekleşmektedir [87], [88]:

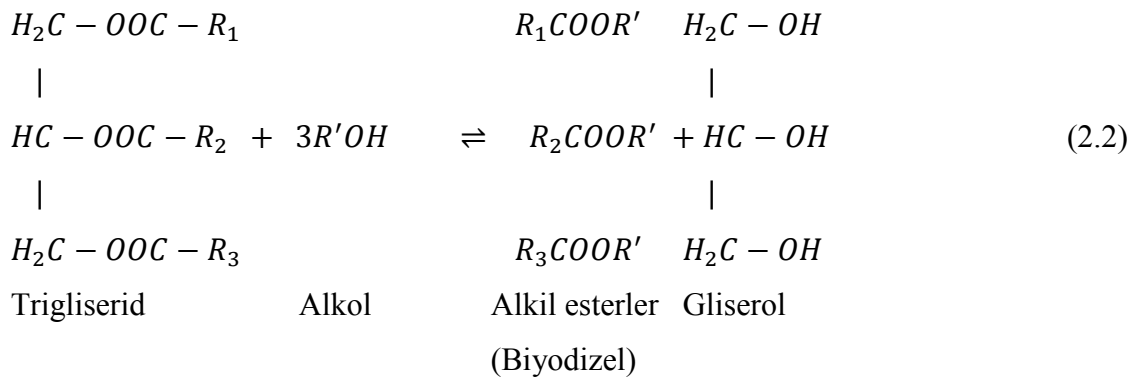
- 1- Hidrojen gazının gaz/sıvı ara yüzeyini geçerek yağda çözünmesi,
- 2- Yağda çözünen hidrojenin trigliserit molekülleri ile birlikte katalizör yüzeyine transfer olarak katalizör gözeneklerinde tutulması (kemisorbsiyon),
- 3- Katalizör yüzeyinde tepkimenin gerçekleşmesi ve tepkime ürünlerinin katalizör yüzeyini terk etmeleri (desorbsiyon).

Mikroalg yağında gerçekleşen tepkime sonucu ortaya çıkan ürün yeşil dizel olarak adlandırılır. Trigliseritlerin hidrojenasyonu için kullanılan katalizörler, günümüzde ham petrolün hidrojenasyonu için rafineri endüstrisinde kullanılanla katalizörlerle (Ni-SiO₂ / Al₂O₃, Ni-Mo/γ-Al₂O₃) benzerdir. Hidrojenasyon işlemi yüksek hidrojen fiyatları nedeniyle önceleri tercih edilmemesine rağmen günümüzde sürdürülebilir yakıtlara talebin artmasıyla beraber üzerine yapılan araştırmalar artmaya başlamıştır [89].

2.5.4.4 Transesterifikasyon

Mikroalglerden elde edilen yağın viskozitesi çok yüksek olduğu için doğrudan yakıt olarak kullanıma uygun değildir. Bu nedenle mikroalg yağının viskozitesinin azaltılması için bir dönüşüm prosesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçlar literatürde en yaygın kullanılan yöntemin transesterifikasyon prosesi ile biyodizel üretimi olduğu görülmektedir [2], [3], [90], [91], [92].

Transesterifikasyon veya alkoliz, bitkisel yağların temel bileşeni olan trigliseridin katalizör varlığında kısa zincirli bir alkolle tepkimeye sokularak ana ürün olarak yağ asidi metil esterleri (YAME) ve gliserol oluşturulması işlemidir [3], [93], [94]. Transesterifikasyon reaksiyonu, alkali katalizörlü (NaOH, KOH, karbonatlar ve sodyum/potasyum alkoksitler), asit katalizörlü (sülfürik asit, sülfonik asit ve hidroklorik asit) veya enzim katalizörlü (lipaz enzimi) olarak gerçekleştirilmektedir [3], [91], [93], [95]. Denklem 2.2’de katalizör eşliğinde meydana gelen transesterifikasyon tepkimesi gösterilmiştir [96]. Reaksiyonda alkol olarak metanol, etanol, propanol, bütanol ve pentanol kullanılabilir ancak metanol kolay bulunması ve ucuz olması nedeniyle en çok tercih edilen alkol türüdür [3], [93]. Transesterifikasyon sonucu ortaya çıkan YAME bazlı ürün biyodizel olarak adlandırılmaktadır.



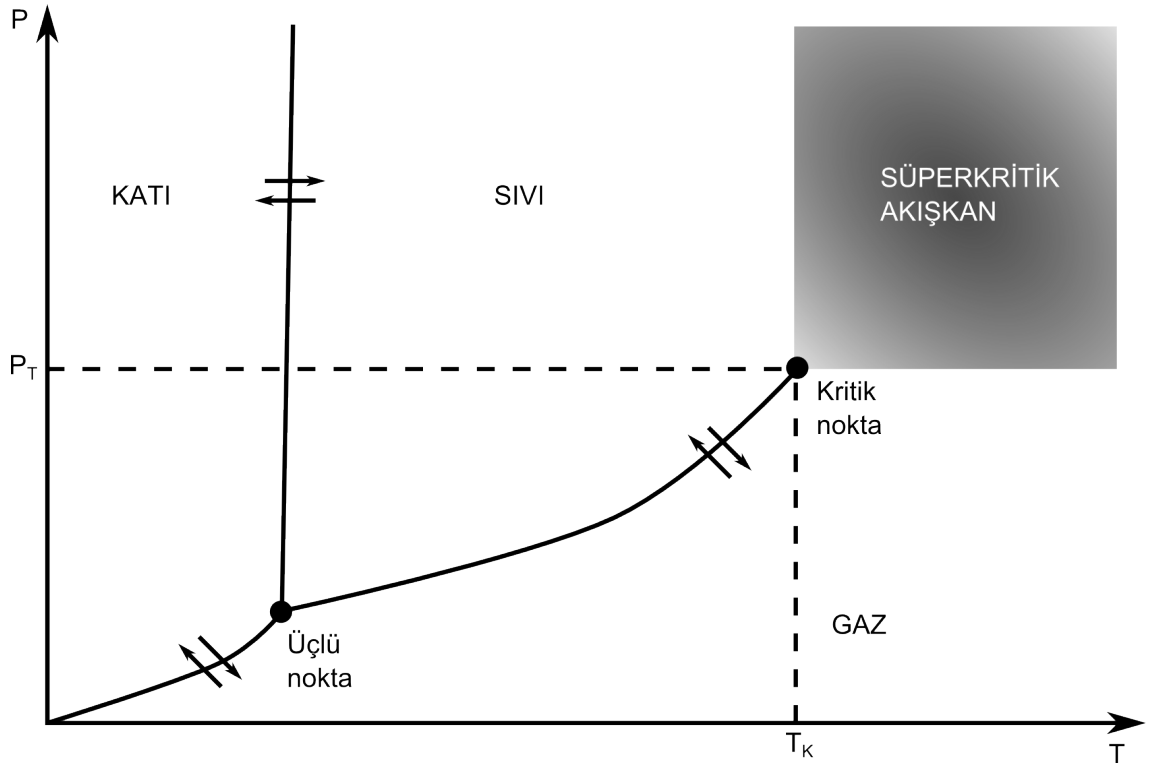
Transesterifikasyon yönteminde katalizör tipi, karışımın yoğunluğu, reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, yağın serbest yağ asidi ve su içeriği gibi faktörlerin yanında alkolün yağa molar oranı da reaksiyon verimini etkilemektedir [3], [97]. Reaksiyonun ürünler yönüne kayabilmesi için alkol:yağ oranının 3:1'den yüksek olması gerekmektedir. Endüstriyel uygulamalarda %98 (g/g)'den daha yüksek metil ester verimi sağlamak için kullanılan molar oran genel olarak 6:1'dir [3], [98].

2.5.5 Doğrudan (in-situ) Ekstraksiyon ve Dönüşüm

Mikroalglerden geleneksel biyodizel üretimi, biyokütleden yağ ekstraksiyonu ve ekstraksiyon sonucu elde edilen yağın transesterifikasyonu şeklinde iki aşamalı bir prosestir. Ancak son dönemlerde ekstraksiyon ve transesterifikasyon proseslerinin tek adımda gerçekleştirildiği in-situ transesterifikasyon yöntemi de sıklıkla kullanılmaktadır [3], [82], [83], [99], [100], [101], [102]. Bu proses yağ içeren mikroalg biyokütlesinin katalizör varlığında kimyasal çözücü ile (metanol) doğrudan temasına izin vermektedir. In-situ transesterifikasyon prosesinde kullanılan kimyasal çözücü biyokütleden yağın ekstrakte edilmesine ve reaktan olarak transesterifikasyon reaksiyonuna katkıda bulunmaktadır [3], [103].

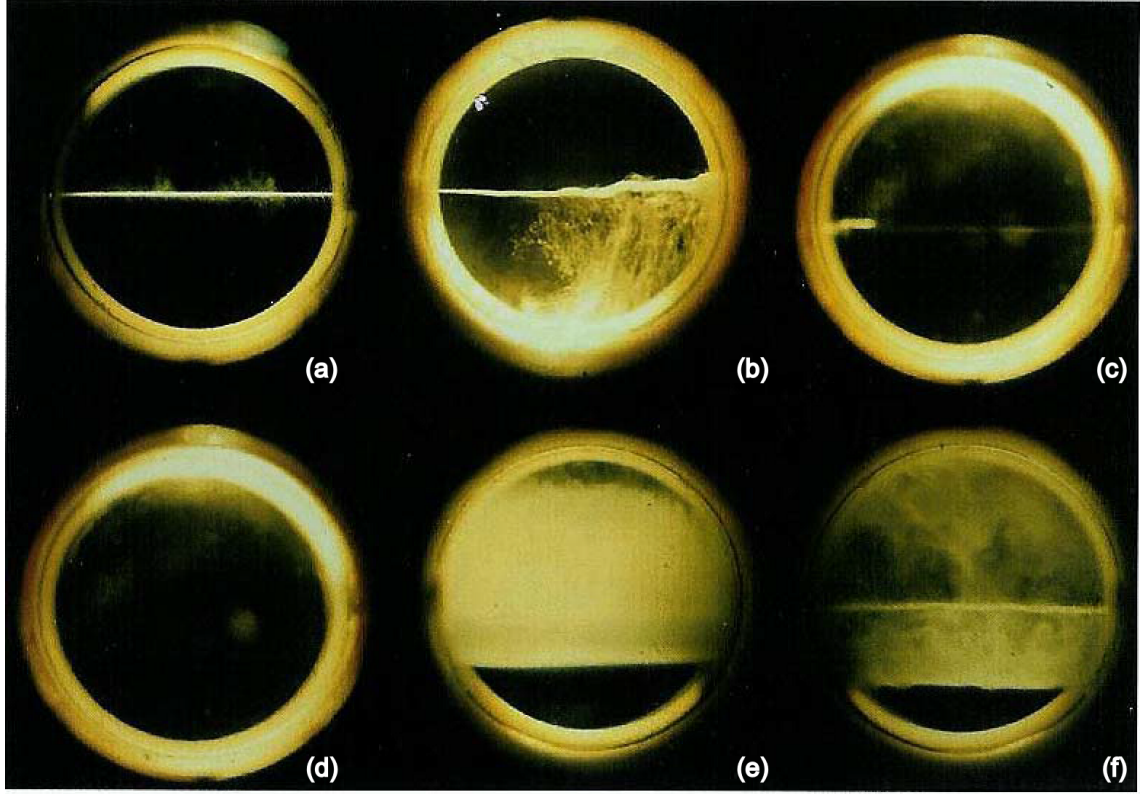
SÜPERKRİTİK AKIŞKAN TEKNOLOJİSİ

Herhangi bir saf maddenin sıcaklık ve basınca göre faz diyagramı Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Faz diyagramında katı ve gaz fazları arasındaki eğri katı-gaz denge eğrisi (süblimleşme eğrisi), katı ve sıvı fazları arasındaki eğri katı-sıvı denge eğrisi (erime/donma eğrisi), sıvı ve gaz fazları arasındaki eğri ise sıvı-buhar denge eğrisi (kaynama/yoğuşma eğrisi) olarak adlandırılır. Bu eğriler üzerindeki sıcaklık-basınç değerlerinde fazlar bir aradadır ve denge halindedir. Bu üç eğrinin kesiştiği üçlü noktada maddenin üç hali de bir aradadır ve dengededir. Sıvı-buhar denge eğrisi üzerinde sıcaklık ve basınç değerleri arttırılmaya devam edildiğinde ise belli bir noktadan sonra denge eğrisi son bulur. Sıvı-buhar dengesinin son olarak sağlanabildiği bu nokta **kritik nokta** olarak adlandırılır. Bu noktaya karşılık gelen sıcaklık **kritik sıcaklık** (T_k) ve basınç da **kritik basınç** (P_k) olarak adlandırılır. Kritik noktada doymuş sıvı ve doymuş buharın tüm fiziksel özellikleri karşılıklı olarak aynı değerdedir. Bu nedenle fazlar arası fark ortadan kalkar [104], [105]. Kritik noktanın ötesinde madde homojen tek bir fazdan oluşur, uygulanan sıcaklık ve basınç değişiklikleri faz değişimine neden olmaz. Bu durum tanecikler arası çekim kuvvetlerinin, taneciklerin yüksek sıcaklık nedeniyle hızlı olan hareketlerini yenememesinden kaynaklanır. Bu bölgedeki akışkanlar **süperkritik akışkan** olarak tanımlanır [105], [106].



Şekil 3.1 Saf bir maddenin basınç ve sıcaklığa bağlı faz diyagramı [105]

Sık kullanılan süperkritik akışkanlardan biri olan CO_2 'nin ısıtıldığında süperkritik faza geçişi ve soğutulmasıyla tekrar normal koşullara dönüş evreleri Şekil 3.2'de gösterilmiştir. Şekil 3.2(a)'da CO_2 kritik noktanın altındadır ve belirgin şekilde iki faz vardır. Sıcaklık artışı ile sıvı ve gaz özkütle değerleri birbirine benzer hale gelmeye başlar (b). Sıcaklık artışının devam etmesiyle fazlar arasındaki fark belirsizleşmeye başlar (c). Kritik değerlere ulaşıldıktan sonra süperkritik faz oluşarak aradaki faz ayrım çizgisi tamamen kaybolur ve madde homojen bir haldedir (d). Sistem soğutulmaya başlandığında faz ayrımı tekrar belirir ve aradaki çizgi tekrar oluşur (e, f) [107].



Şekil 3.2 CO₂'in süperkritik faza geçiş evreleri [108]

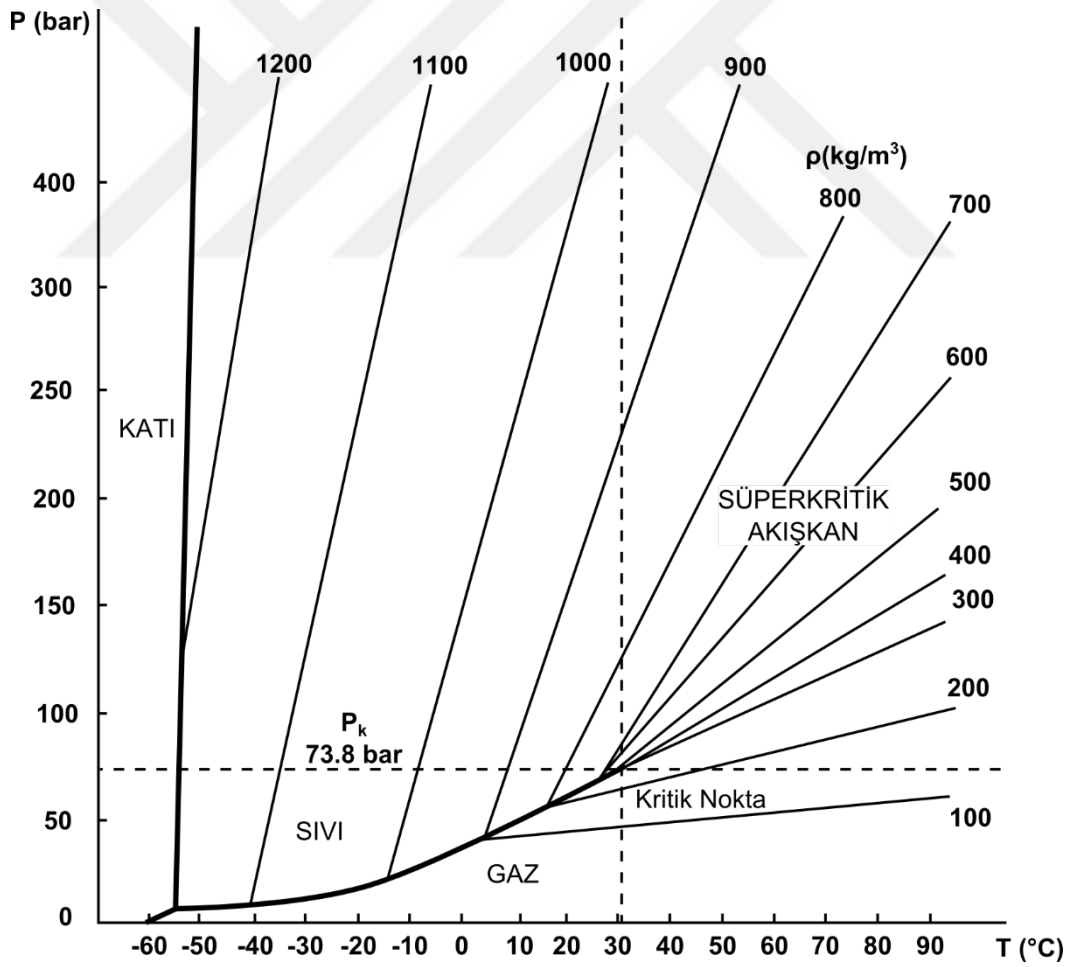
Maddelerin basınç ve sıcaklıkları artırılarak süperkritik faza yaklaştırıldıklarında, termofiziksel özelliklerinden (yoğunluk, difüzivite, dielektrik sabiti, vb.) bazıları sıvılara bazıları da gazlara benzeyecek şekilde değişmeye başlar. Sıvı, gaz ve süperkritik akışkanların difüzivite, viskozite ve yoğunluk aralıkları Çizelge 3.1'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Çizelge 3.1 Süperkritik akışkan özelliklerinin sıvı ve gazlarla karşılaştırılması [109]

	Sıvı	Süperkritik akışkan	Gaz
Difüzyon katsayısı (m ² /s) × 10 ⁹	0,2-2	20-70	10000-40000
Viskozite (Pa.s) × 10 ⁵	20-300	1-9	1-3
Yoğunluk (kg/m ³)	600-1600	200-900	0,6-2

Çizelge 3.1'den de görüleceği üzere SKA'ların difüzyon katsayıları sıvı ve gaz fazdaki değerlerden birkaç mertebe fazla, viskoziteleri ise sıvı fazdan yaklaşık 100 kat düşük ve gaz fazdaki değerlere yakındır. SKA'lar sahip oldukları yüksek difüzyon katsayısı ve

düşük viskoziteleri sayesinde hızlı şekilde faz dengesine ulaşabilir ve ekstrakte edilecek maddenin gözeneklerine nüfuz edebilirler. Yoğunluk değerleri ise gazlardan yaklaşık 100 kat fazla ve sıvı fazdaki değerlere yakındır. Yoğunluğun SKA fazındaki değerini etkileyen en önemli değişkenler basınç ve sıcaklıktır. Süperkritik CO₂ için yoğunluğun sıcaklık ve basınçla nasıl değiştiği Şekil 3.3'te gösterilmiştir. Yoğunluk, kritik nokta etrafında sabit sıcaklıktaki basınç artışıyla çok hızlı bir artış gösterebilmektedir. Sabit basınçta sıcaklık artışında ise nispeten daha az da olsa yoğunluk artmaktadır. Sonuçta çözünürlük gibi birçok özellik yoğunlukla doğrudan ilişkili olduğu için kritik sıcaklık etrafında yoğunluğun hızlı değişimi fazın belirlenmesinde ve ekstraksiyon sürecinde zorluklara neden olabilmektedir. Bunun yanında SKA fazındaki yoğunluk geniş bir aralıkta basınç ve sıcaklık kullanılarak değiştirilebilmektedir. Bu sayede basınç ve sıcaklık ayarlamalarıyla SKA ekstraksiyonu istenilen madde için seçici hale getirilebilmektedir [110].



Şekil 3.3 Süperkritik CO₂ yoğunluğunun sıcaklık ve basınçla değişimi [111]

3.1 Süperkritik Akışkan Çeşitleri

Sıklıkla süperkritik akışkan olarak kullanılan bazı maddeler kritik özellikleriyle birlikte Çizelge 3.2'de listelenmiştir. Çizelge 3.2'de de görüldüğü gibi kritik sıcaklık ve basınç değerleri çok geniş bir aralığa sahiptir.

Çizelge 3.2 Süperkritik akışkanlar ve kritik özellikleri [109]

Süperkritik akışkan	T _k (K)	P _k (MPa)	ρ _k (mol/L)
İnorganik			
Karbondiyoksit (CO ₂)	304,18	7,380	10,6
Azot oksit (N ₂ O)	309,56	7,238	10,3
Amonyak (NH ₃)	405,4	11,300	Mevcut değil
Su (H ₂ O)	647±2	22,064	17,9
Hidrokarbon			
Metan (CH ₄)	190,6±0,3	4,61±0,03	10,1±0,2
Etilen (C ₂ H ₄)	282,5±0,5	5,06±0,05	7,63±0,004
Etan (C ₂ H ₆)	305,3±0,3	4,9±0,1	6,9±0,4
Propen (C ₃ H ₆)	365,2±0,8	4,60±0,03	5,42±0,03
Propan (C ₃ H ₈)	369,9±0,2	4,25±0,01	5,1±0,4
n-Pentan (C ₅ H ₁₂)	469,8±0,5	3,36±0,06	3,22±0,07
n-Hekzan (C ₆ H ₁₄)	507,6±0,5	3,02±0,04	2,71±0,02
Benzen (C ₆ H ₆)	562,0±0,8	4,89±0,04	3,9±0,2
Toluen (C ₇ H ₈)	593±2	4,1±0,1	3,17±0,010
Oksijenatlar			
Dietil eter (C ₄ H ₁₀ O)	467±2	3,6±0,1	3,5±0,4
Aseton (CH ₃ COCH ₃)	508±2	4,8±0,4	4,63
Metanol (CH ₄ O)	513±1	8,1±0,1	8,51±0,07
Etanol (C ₂ H ₆ O)	514±7	6,3±0,4	6,0±0,2
Diğer Bileşikler			
Klorotriflorometan (CClF ₃)	301,8±0,3	3,885	5,773
Trikloroflorometan (CCl ₃ F)	471,1	4,466	4,151
Piridin (C ₅ H ₅ N)	619±2	5,660	Mevcut değil

3.2 Süperkritik Akışkanların Uygulama Alanları

Süperkritik akışkanların kullanım alanları çok geniştir. En yaygın kullanılan süperkritik akışkanlar CO₂ ve sudur. Karbondiyoksit kolay bulunması, ucuz olması, zehirleyici ve yanıcı olmaması gibi özelliklerinden dolayı en çok tercih edilen süperkritik akışkandır. Gıda ve farmakolojik uygulamalarda geleneksel organik çözücüler yerine alternatif olarak kullanılabilir [112], [113]. Süperkritik akışkanların uygulama alanları detaylı olarak Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3 Süperkritik akışkanların uygulama alanları [114]

Gıda	Çay ve kahveden kafeinin giderilmesi Tütünden nikotin ve katranın uzaklaştırılması Yağlı çekirdeklerden yağ ekstraksiyonu Aroma ekstraktlarının hazırlanması Kolesterolün uzaklaştırılması Reçel sterilizasyonu Şerbetçiotu ekstraktı elde edilmesi Yağ ve aromaların fraksiyonlanması Narenciye sularının acılığını giderme
Çevre	Sulu çözeltilerden organik atıkların giderilmesi Toksik malzemelerin uzaklaştırılması Topraktan ağır metallerin uzaklaştırılması
Polimer	Polimerizasyon, polimerik köpüklerin üretimi, polimer aşılama Polimerlerin fraksiyonlanması Kaplama Polimer işleme
Eczacılık	Doğal ürünlerden aktif bileşenlerin ekstraksiyonu Biyokimyasal karışımların ayrılması Tanecik tasarımı, yüksek basınç mikronizasyonu, püskürtmeli kurutma Kristalizasyon Yüksek basınç sterilizasyonu
Kimyasal işlemler	Düşük buhar basınçlı yağların fraksiyonlanması, saflaştırılması Seramik işleme Aktif karbon rejenerasyonu Polar ve Polar olmayan bileşiklerin ayrılması
Hidrokarbon işlemleri	Kömür sıvılaştırma Kömürden ve bitümden gazlaştırılabilir maddelerin ekstraksiyonu Yağlardan asfaltın uzaklaştırılması Jeolojik oluşumlarda yağ ve gaz kazanımı
Malzeme	İmplant malzemelerin tasarımı Mikro- ve nanotaneciklerin tasarımı Aerojel eldesi Yüksek basınç dizel yakıt enjeksiyon borularının muamelesi
Yüzey işlemleri	Tekstil boyama Tekstil temizleme ve kuru temizleme
Reaksiyon	Fischer-Tropsch sentezi Hidrojenasyon Alkilleme Oksidasyon Transesterifikasyon Biyoreaksiyonlar Hidroformülasyon
Analitik	SKA kromatografisi

Süperkritik akışkan teknolojileri, son yıllarda bilimsel ve teknolojik açıdan çok hızlı ilerleme kaydetmiştir. Başta Almanya olmak üzere Amerika ve Japonya'da bu konuyla ilgili çalışmalar yoğun bir şekilde yürütülmektedir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, kuru temizleme, süperkritik akışkan kromatografisi, kimyasal reaksiyonlar, nano ve mikro parçacık oluşturma, süperkritik kurutucu, süperkritik su oksidasyonu, biyodizel üretimi ve soğutma gibi birçok kullanım alanına sahiptir [107]. Ayrıca çözünürlüğünün ayarlanabilir olmasından dolayı, süperkritik akışkanlar ayırma ve saflaştırma, fraksiyonlama, yağların modifikasyonu, suların arıtılması gibi uygulamalarda da kullanılmaktadır [112].

3.3 Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu

Süperkritik karbondioksit düşük kritik sıcaklık ve basınç değerlerine sahip olması ($T_k = 31,06$ °C ve $P_k = 73,8$ bar), toksik, korozif ve yanıcı olmaması, ucuz ve inert olması nedeniyle en çok kullanılan süperkritik akışkandır. Kritik sıcaklık değeri diğer akışkanlara göre düşük olduğu için, ısıya karşı dayanıksız bileşiklerin ekstraksiyonu termal bozunma olmadan gerçekleştirilebilir. Süperkritik karbondioksit apolar bir çözücüdür yani CO_2 molekülü tamamıyla simetrik olup, dipol momenti mevcut değildir. Bu nedenle apolar veya zayıf polarite gösteren bileşenlerin ekstraksiyonunda tercih edilir. Bununla birlikte, su, etanol ya da metanol gibi bir polar sürükleyici (entrainer) ilavesiyle, polar bileşiklerin ekstraksiyonu da gerçekleştirilebilir [115].

Süperkritik CO_2 ekstraksiyonunda karbondioksitin süper kritik hale getirilmesi basınç ve sıcaklık kontrolünün sağlandığı bir cihazla gerçekleştirilir [116]. Süperkritik faza geçiş ve ekstraksiyon için kullanılan cihazlar statik, dinamik ve statik/dinamik sirkülasyon sistemleri olarak sınıflandırılabilir. Bu üç sistemin çalışma şekilleri farklı olsa da amaçları aynıdır: sıvı ve gaz fazı arasında dengeye ulaşmak. Statik yöntemde ölçümler belirli miktarda çözünen içeren bir cihazda gerçekleştirilir. Numune süperkritik fazda çözününceye kadar sıcaklık ve basınçta ayarlamalar yapılmaya devam edilir. Dinamik yöntemde, süperkritik CO_2 sürekli şekilde numune üzerinden geçirilir. CO_2 'nin debisi akışkan-numune arasında denge oluşmasına elverecek şekilde ayarlanır. Sirkülasyon yönteminde ise sistem dengeye ulaşıncaya kadar sıvı ve gaz fazının sürekli dönüşümü gerçekleştirilir. Sistem dengeye ulaştığında ise her iki fazdan örnek alınarak fazların bileşimi tayin edilir. Numunenin durumuna uygunluğuna bağlı olarak

sistemlerden biri tercih edilir [117], [118], [119]. Bu çalışmada dinamik yöntem tercih edilmiştir. Takip eden bölümlerde statik ve dinamik ekstraksiyon yöntemleri detaylı olarak anlatılmıştır.

3.3.1 Statik Ekstraksiyon Yöntemi

Statik ekstraksiyon sistemlerinde sabit ya da değişebilir hacimli bir denge hücresi kullanılır. Sistemde faz geçişlerini gözlemlemek amacıyla yüksek basınca dayanıklı gözetleme camı bulunabilir. Deneylere ekstraksiyon hücresine çözünen bir madde doldurularak başlanır. Karbondioksit, yüksek basınç pompasıyla denge hücresine pompalanır. Belli bir basınç ve sıcaklıkta, sistemin dengeye ulaşması için yaklaşık 30 dakika beklenir. Gaz ve sıvı fazlar arasında denge olduğu zaman, her iki fazdan ayrı ayrı numune alınır. Örnek alma tüplerindeki numuneler atmosfer koşullarına genleştirilirken çözünen madde toplama kabında toplanır. Kullanılan karbondioksit miktarı gazölçer ile tespit edilir [117], [118], [119].

Statik yöntemin avantajları:

- 1- Denge kolonunda faz değişimleri gözlemlenebilir, faz geçişlerini tespit etmek kolaydır,
- 2- İkili sistemdeki katı ve sıvıların çözünürlük verileri örnek almaksızın elde edilebilir,
- 3- Ağır katılar, sıvılar veya polimerlerle çalışılabilir,
- 4- Minimum oranda çözünen ve karbondioksit harcanır,
- 5- Sabit bileşim ve sıcaklıkta karışımın basıncı sürekli olarak ayarlanabilir,
- 6- Çok bileşenli karışımlarda denge fazı örneklenebilir.

Bu avantajların yanında bazı dezavantajlara sahiptir:

- 1- Sıyırılma veya fraksiyonlama verileri elde edilmesi kolay değildir,
- 2- Genellikle her hücre yüklemesi başına sadece bir makro-boyutlu örnek alınabilir,
- 3- Gözetleme penceresi yüksek basınçlara dayanamayabilir [117], [118], [119].

3.3.2 Dinamik Ekstraksiyon Yöntemi

Dinamik yöntemde süperkritik CO₂ pompa veya kompresör aracılığıyla sisteme sürekli olarak gönderilir ve istenilen çalışma koşullarını sağlamak için ekstraksiyon hücresine (ekstraktör) girmeden önce sabit sıcaklıktaki banyodan veya bir fırından geçirilir. Süperkritik CO₂ ekstraktör içinden geçerken çözüneni çözmeye başlar. Daha sonra sistemi terk ettiğinde atmosferik koşullara ulaşır ve çözüneni toplama kabına bırakır. Bu

esnada akışkanın toplam hacmi de ölçülür. Ölçümlerin değişik debilerde tekrarlanması önemlidir. Çözünürlük debiden bağımsız olsa da, farklı debiler için çözücü ve çözünenin dengede olduğu durumlarda ölçülen değerler arasındaki fark %2'den az olmalıdır. Çözünenin katı olduğu durumlarda ölçümler yapılırken numune kaybını önlemek için çözünen, ekstraksiyon hücresine cam bilyalar, cam yünü veya diğer inert maddelerle birlikte konulmalıdır [117], [118], [119].

Dinamik yöntemin avantajları:

- 1- Hazır ekipmanlar kullanması,
- 2- Çözünürlük verilerinin hızlı ve tekrarlanabilir şekilde elde edilmesi,
- 3- Denge, sıyırılma veya fraksiyonlama verileri elde edilebilmesi,
- 4- Basit bir örnekleme prosedürü uygulanmasıdır.

Bu avantajların yanında bazı dezavantajlara sahiptir:

- 1- Denge kolonunda faz değişimleri gözlemlenemez,
- 2- Sadece süperkritik fazdan örnek alınabilir, sıvı fazda süperkritik akışkanın çözünürlüğünü ölçmek mümkün değildir,
- 3- Çok bileşenli karışımların denge deneyleri, deney sırasında bileşenlerin biri veya birkaçının tamamen bitmesi durumundan kaçınmak için detaylı şekilde tasarlanmalıdır,
- 4- Çözünen vanayı tıkayabilir, bu durum da çözünürlük ölçümlerinde hatalara neden olabilir [117], [118], [119].

3.4 Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu ile Mikroalglerden Yağ Eldesi

Mikroalglerden biyoyakıt olarak kullanmak üzere yağ ekstraksiyonunda geleneksel olarak organik çözücüler (hekzan, kloroform vb.) kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu organik çözücülerin toksisite, yüksek tutuşabilirlik ve nötr yağlara karşı düşük seçicilik gibi özellikleri yağ ekstraksiyonunda bazı dezavantajlara neden olmaktadır [11], [12]. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, organik çözücülerin kullanımına önemli bir alternatiftir. Özellikle süperkritik CO₂, nispeten düşük basınçta (73,8 bar) ve sıcaklıkta (31,06 °C) süperkritik hale geldiği için büyük bir potansiyele sahiptir [12]. Organik çözücü ve süperkritik CO₂ ekstraksiyonu Çizelge 3.4'de ayrıntılı olarak karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.4 Organik çözücü ve süperkritik CO₂ ekstraksiyonunun karşılaştırılması
(* zayıf, ** orta, *** iyi) [115]

Özellik	Organik Çözücü Ekstraksiyonu	Süperkritik CO ₂ Ekstraksiyonu
Nötr yağ seçiciliği	(**) Seçicilik kolayca ayarlanamaz. Apolar organik çözücü kullanıldığında, sadece sınırlı miktarda nötr yağ ekstrakte edilebilir. Apolar/polar organik çözücü karışımı kullanıldığında, hem nötr hem de polar yağlar ekstrakte edilebilir.	(***) Polar dönüştürücü ilavesiyle seçiciliği ayarlanabilir. Bu şekilde, asilgliserol ekstraksiyonu esnasında kontaminasyon riskinin (polar yağlar ve asilgliserol olmayan nötr yağlar) en az seviyeye indirilmesi mümkündür.
Toplam yağ verimi	(**)	(***) Süperkritik CO ₂ sıvı-gaz arası özellikleri nedeniyle hücresel matrislerden hızla geçebilir ve böylelikle daha yüksek toplam yağ verimi elde edilebilir.
Ekstraksiyon süresi	(**) Yağ ekstraksiyon hızı yavaştır ve ekstraksiyonun tamamlanması için uzun bir süre gereklidir.	(***) Süperkritik CO ₂ sıvı-gaz arası özellikleri nedeniyle hücresel matrislerden hızla geçebilir. Bu nedenle ekstraksiyon hızı yüksektir ve kısa sürede yağ ekstraksiyonu tamamlanabilir.
Enerji gereksinimi	(**) Ortam koşullarına uygun şekilde yağ ekstraksiyonu yapıldığı için az enerji tüketir. Bununla birlikte, organik çözücünün yağlardan yoğun enerji gerektiren sıvı-sıvı ayırma yöntemleriyle (distilasyon gibi) uzaklaştırılması gerekmektedir.	(*) CO ₂ 'nin süperkritik hale dönüştürülmesi için sıkıştırmaya ve ısıtmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu işlem için oldukça fazla enerji gereklidir. Bununla birlikte çözücünün yağlardan uzaklaştırılmasına gerek yoktur.
Kurulum ve işletme maliyeti	(**) Pahalı organik çözücülere gereksinim duyulur. Tüm organik çözücüler geri dönüştürülemeyebilir.	(*) Süperkritik CO ₂ ekstraksiyonu için gerekli olan basınç reaktörünün kurulumu son derece pahalı olabilir.
Mikroalg konsantrasi ya da ıslak hammaddeye uygulanabilirlik	(***) Yağ ekstraksiyonu herhangi bir ön işlem gerektirmez, doğrudan mikroalg konsantranesine uygulanabilir.	(*) Mikroalg biyokütlesinde yüksek miktarda su içeriği akışı sınırlayıcı tıkanmaya neden olur.
Tehlike ve zehirlilik	(*) Zehirli organik çözücüler kullanılmaktadır.	(***)
Yağlar ile tepkime	(**) Organik çözücüler yağlar ile tepkimeye girmez. Bununla birlikte organik çözücülerin yağlardan uzaklaştırılmasında distilasyon yöntemi kullanıldığında yağların yüksek sıcaklığa maruz bırakılması ve artefakt oluşumu olasıdır.	(***) Süperkritik CO ₂ yağlar ile tepkimeye girmez.

Süperkritik CO₂ ekstraksiyonunun genel avantajları şöyle listelenebilir [6], [12], [13], [120]:

- 1- CO₂ düşük toksisiteli, yanıcı olmayan, çevre dostu inert bir çözücüdür;
- 2- Basınç ve sıcaklık aracılığıyla çözücülüğü rahatlıkla ayarlanabilir;
- 3- Düşük viskozite ve yüksek difüzyiviteye sahiptir. Gazlar gibi yüksek sıkıştırılabilirliğe ve geçirgenliğe, sıvılar gibi yüksek çözme özelliğine sahiptir;
- 4- Nötr ve apolar yağlara karşı yüksek seçiciliğe sahiptir;
- 5- Ekstrakte edilen yağ çözücü içermez;
- 6- CO₂ çözücüsünün kendisi, herhangi bir atık oluşturmada kolayca geri kazanılabilir.

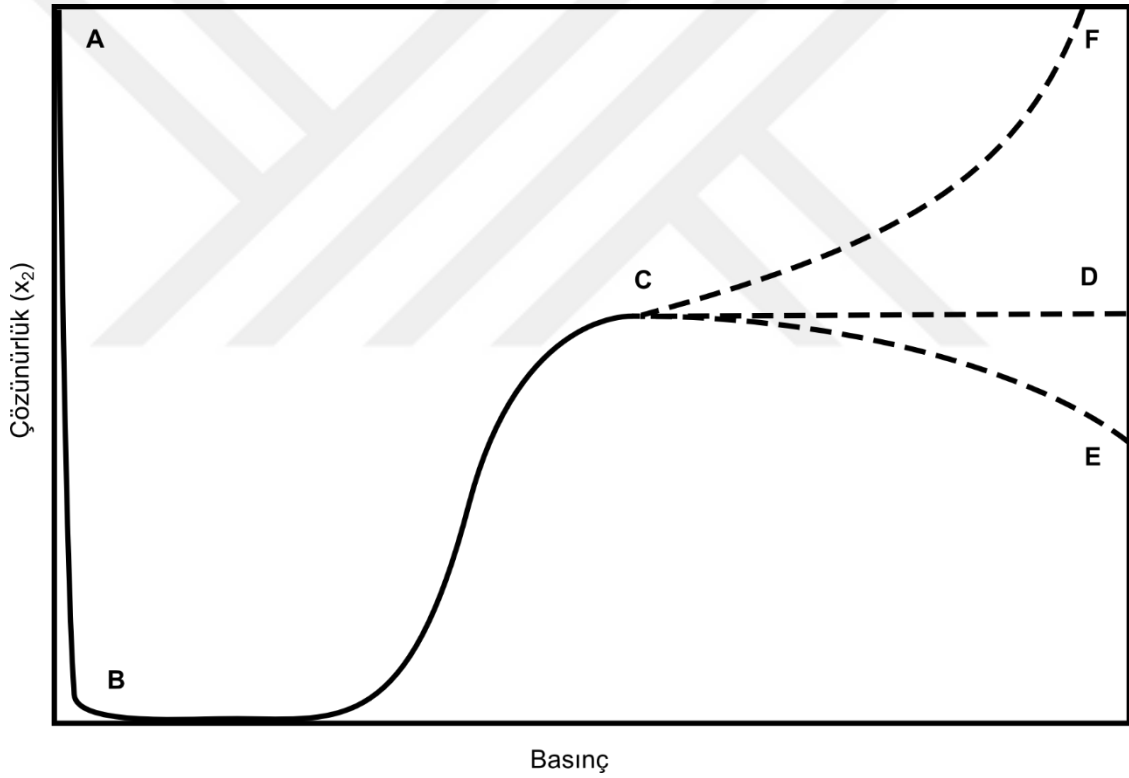
Bununla birlikte, süperkritik CO₂ ekstraksiyonu, uygulanan yüksek basınçtan dolayı yüksek sermaye ve yoğun enerji gerektiren bir prosestir. Süperkritik CO₂ ekstraksiyonu genellikle yüksek maliyetlerin yüksek ürün kalitesi ve katma değeri ile telafi edilebildiği gıda, ilaç ve nutrasötik uygulamalarda kullanılmaktadır. Yakıt endüstrisinde ise kar marjları daha düşüktür ve bu nedenle maliyetin en aza indirilmesi için ekstraksiyon sürecinin önceden optimize edilmesi gereklidir [6], [11], [13].

3.5 Süperkritik Akışkanlarda Çözünürlük

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda çözünürlük, sürecin verimini, tasarımını ve maliyetini etkileyen en önemli özelliklerden birisidir. Çözünürlük davranışı ve faz dengesi hesabı araştırmacıların ilgisi çekmekte ve birçok faz dengesi denklemi önerilmektedir. Bunlardan en bilinenleri olan Redlich-Kwong-Aspen, Soave-Redlich-Kwong ve Peng-Robinson denklemleri van der Waals kuramını baz alarak farklı çekme ve itme terimleri içermektedirler [119]. İkili karışımlar bu denklemler aracılığıyla fazlar ve çözünürlük doğru şekilde kestirilebilirken, çoklu karışımlarda kestirim yapmak zordur. Bu yüzden yüksek hassasiyetli deneysel çalışmalar kullanılmaktadır [119], [121]. Bunun yanında özellikle yüksek molekül ağırlığına sahip maddelerin ve katıların çözünürlük davranışı ise daha kolay açıklanabilmektedir.

Çözünürlüğü etkileyen en önemli değişkenler yoğunluk aracılığıyla sıcaklık ve basınçtır. Şekil 3.4'te çözünürlüğün basınca göre değişimi şematik olarak gösterilmiştir. Düz çizgi düşük basınçlardaki çözünürlük davranışını, kesikli çizgi ise yüksek basınçlarda farklı çözünenlerin gösterebileceği olası davranışları ifade etmektedir. Çözünürlük eğrisi (x_2) çok düşük basınçlarda A noktasında B noktasına hızlı bir düşüş

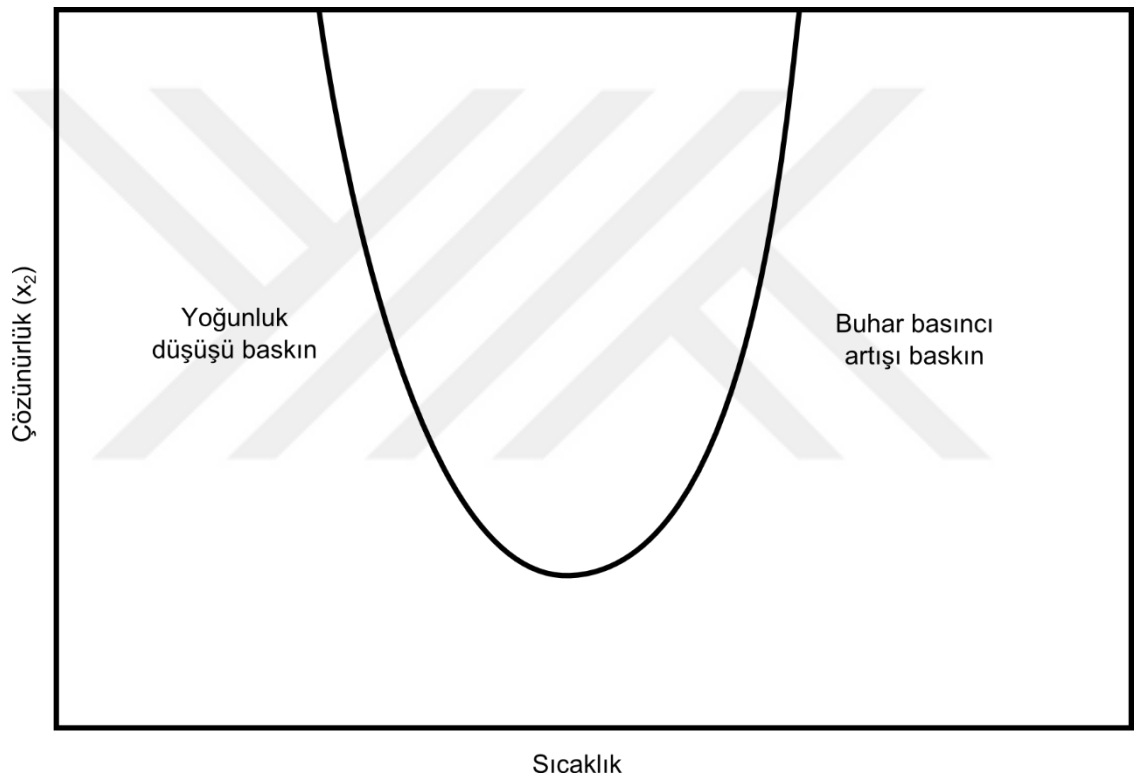
göstermektedir. Bu düşüş çözücü eklenmeden önceki çözünenin ham halini ve çözünen eklenmesiyle birlikte düşük oranlarda çözünmeye başlamasını ifade eder. Basınç artırıldığında çözünürlük artarak B noktasından C noktasına gelmektedir. Bu artış çözünen ile çözen molekülleri arasındaki çekim gücü nedeniyle ortaya çıkan çözünme olarak açıklanabilir. En yüksek artışın görüldüğü bölge kritik basınç etrafındaki ani yoğunluk yükselişine karşılık gelmektedir. Basınç arttırılmaya devam ettiğinde çözünürlük yaklaşık olarak sabit kalabilir (CD eğrisi) veya düşüşe geçebilir (CE eğrisi). Düşüş eğilimi SKA'nın sıkıştırılması nedeniyle çözücü ve çözünen arasındaki itme kuvvetlerinin önemli hale gelmesi nedeniyle gerçekleşebilir. Son ihtimal olan çözünürlüğün artış eğilimi gösterdiği CF eğrisinde ise basınç artışıyla eşsıcaklık eğrisinde ilerlendiği zaman eğer bir kritik eğri geçiliyorsa gerçekleşebilir [110].



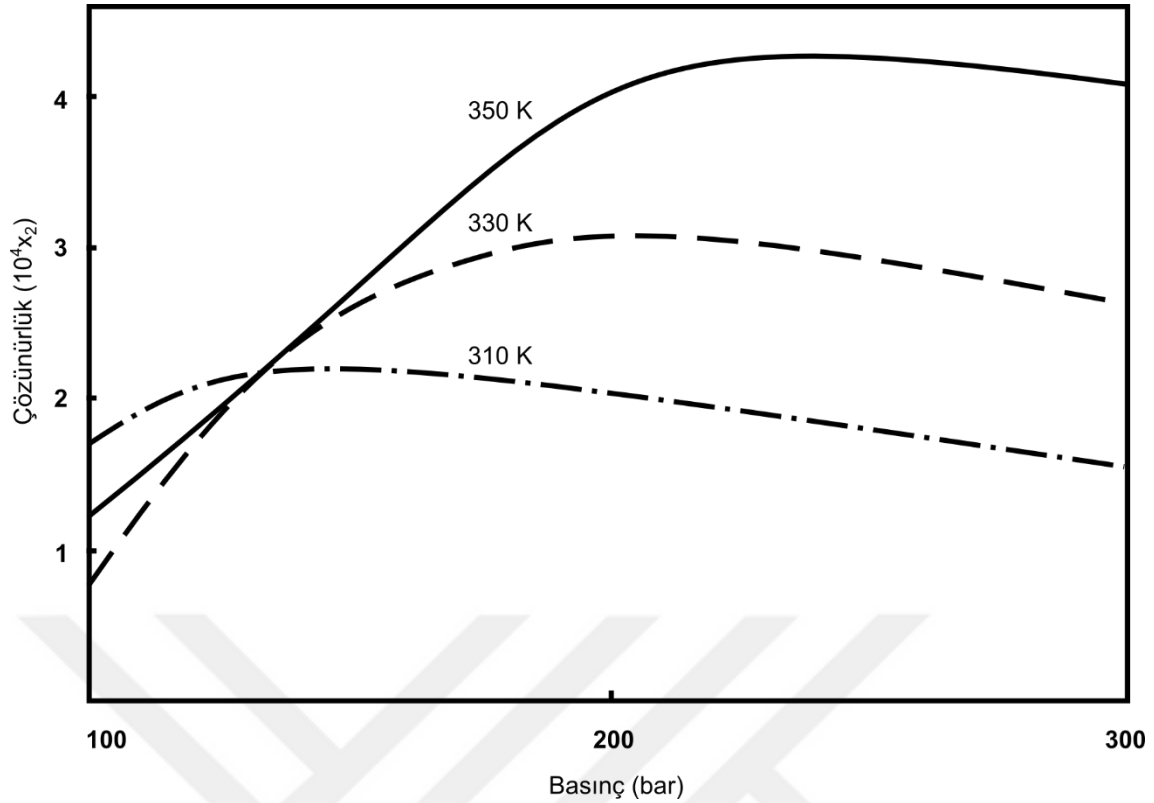
Şekil 3.4 Süperkritik akışkan içindeki çözünürlüğün sabit sıcaklıkta basınç artışıyla değişimi [110]

Çözünürlüğün sabit basınçta sıcaklıkla değişimi Şekil 3.5'te şematik olarak gösterilmiştir. Sıcaklık artışıyla çözünürlük ilk önce düşmekte ve daha sonra yükselebilmektedir. Bu davranış sadece bazı maddelerde ve şartlarda gözlemlenmekte, çoğu maddede ise ilk bölgede görülen sıcaklıkla artışıyla çözünürlüğün düşmesi davranışı gözlemlenmektedir. İlk bölgede çözünürlüğün düşmesi, yoğunluktaki düşmenin neden olduğu çözünme kaybının baskın olmasıyla açıklanabilir. İkinci

bölgedeki çözünürlük artışı ise buhar basıncındaki artışın baskın olması nedeniyle daha fazla çözünmeye neden olması şeklinde açıklanabilir. Sonuç olarak çözünürlük düşük basınçlarda sıcaklık artışıyla düşerken, yüksek basınçlarda sıcaklık artışıyla artış gösterebilir. Birbirine zıt yöndeki bu iki eğilim sonucunda basınç artışıyla birlikte eşsıcaklık eğrilerinde kesişim noktaları ortaya çıkabilir. Örnek olarak Şekil 3.6'da 2-naftolün süperkritik CO₂ içindeki çözünürlüğü incelendiğinde eşsıcaklık eğrilerinin kesişim davranışı gösterdiği görülmektedir. SKA süreci tasarımımda eğer ekstrakte edilecek maddeler arasında kesişim davranışı gösteren maddeler varsa bu özelliğin göz önünde bulundurulması önemlidir.



Şekil 3.5 Süperkritik akışkan içindeki çözünürlüğün sabit basınçta sıcaklık artışıyla değişimi [110]



Şekil 3.6 Süperkritik CO₂ içinde çözünen 2-naftolün çözünürlüğünün üç farklı eşsıcaklık eğrisinde basınca göre değişimi [110]

Görüldüğü gibi çözünürlük basınç ve sıcaklığa bağlı olarak karmaşık davranışlar gösterebilmektedir. Çözünürlük, yoğunluk ile ilişkilendirildiğinde ise bu ilişki genellikle daha basit ampirik denklemlerle ifade edilebilmektedir. Bu denklemlerden en bilinenlerinden biri olan Chrastil denklemi özellikle çözünen derişiminin düşük olduğu durumlarda başarılı sonuçlar vermektedir [122]. Çözünen derişimi düşük olduğunda bileşke yoğunluk SKA yoğunluğuna yakınsamakta ve Chrastil denklemi sadece yoğunluk ve sıcaklığa bağlı hale gelmektedir.

$$s = \rho^k \exp\left(\frac{a}{T} + b\right) \quad (3.1)$$

Bu denklemde s (g/l) çözünürlük, ρ (g/l) SKA'nın deney basıncı ve sıcaklığındaki yoğunluğu, T (K) mutlak sıcaklık, k ortalama denge assosiasyon numarası, a ve b ise çözen ve çözünenin moleküler ağırlıklarına bağlı serbest parametrelerdir.

3.6 Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonda Kütle Aktarımı

Süperkritik CO₂ ekstraksiyonu esnasında yağ moleküllerinin kütle transfer davranışını tanımlamak için aşağıdaki kinetik model kullanılmıştır [123]:

$$\frac{dm_e}{dt} = k(m_{s,t} - m_{s,t}^*) \quad (3.2)$$

m_e : t zamandaki yağ verimi (g yağ ekstrakt / g kuru mikroalg),

t : ekstraksiyon süresi (dk),

k : yağ kütle transfer katsayısı (1/dk),

$m_{s,t}$: t zamanında ekstrakte edilmemiş halde kalan ekstrakte edilebilen hücre içi yağ miktarı (g yağ / g kuru mikroalg),

$m_{s,t}^*$: mikroalg hücreleri ile süperkritik CO₂ arasındaki yağ konsantrasyonu dengede olduğunda, ekstraksiyona uğramamış hücre içi yağ miktarı (g yağ / g kuru mikroalg).

Bu model Fick Difüzyon Yasası'nın sadece zamana bağlı toplu (lumped) versiyonudur [13]. Bu denklemde kullanılan kütle transfer katsayısı, k , uzamsal profillerin toplam etkisini de içermektedir. $m_{s,t}$ ve $m_{s,t}^*$ arasındaki fark, mikroalgdeki yağ moleküllerinin kütsel (bulk) sıvı fazına difüzyonu için itici güç olarak hizmet eder ve denge durumundan çıkışı temsil eder. Ancak ekstraksiyon hücresinden sürekli olarak taze süperkritik CO₂ geçtiği için denge halindeki yağ moleküllerinin konsantrasyonu herhangi bir anda teorik olarak sıfıra yakınsamaktadır, $m_{s,t}^* \rightarrow 0$.

$$\frac{dm_e}{dt} = k(m_{s,t} - 0) = k \cdot m_{s,t} \quad (3.3)$$

Bu denklemdeki $m_{s,t}$, ilk baştaki ekstrakte edilebilecek toplam hücresel yağ miktarı olan $m_{s,0}$ ile t zamanına kadar ekstrakte edilen yağ miktarı olan m_e arasındaki farkı ifade etmektedir.

$$m_{s,t} = m_{s,0} - m_e \quad (3.4)$$

Bu bilgi (3.3)'de kullanıldığında:

$$\frac{dm_e}{dt} = k(m_{s,0} - m_e) \quad (3.5)$$

Denklem (3.5), birinci dereceden doğrusal bayağı türevsel denklemdir. Başlangıç koşulu olarak $m_e(t=0) = 0$ denkliği kullanılarak çözülebilir [124], [125].

$$m_e = m_{s,0}(1 - e^{-kt}) \quad (3.6)$$

Elde edilen bu denklemde $m_{s,0}$ teriminin aynı zamanda en yüksek ekstraksiyon verimini ifade ettiği varsayımı da yapılabilir.

3.7 Önceki Çalışmalar

Solana vd. [126], süperkritik CO₂ ekstraksiyonu yöntemi ile mikroalglerden esansiyel yağ asitlerinin elde edilmesi üzerine ‘*Scenedesmus obliquus*’, ‘*Chlorella protothecoides*’ ve ‘*Nannochloropsis salina*’ türleri ile araştırmalar yapmıştır. Deneyler 15-30 MPa basınç ve 45-65 °C sıcaklık aralığında maksimum 90 dakika sürecek şekilde yapılmıştır. Deney sonuçları incelendiğinde, *S. obliquus* çalışılan üç mikroalg türü arasında en iyi α -linoleik esansiyel yağ asidi kaynağı olduğu tespit edilmiş ve sonuçlar bu alg türü için verilmiştir. Süperkritik CO₂ ve Soxhlet yağ ekstraksiyonu deneyleri karşılaştırıldığında süperkritik CO₂ ekstraksiyonunda Soxhlet ekstraksiyonuna göre daha yüksek yağ verimi ve yağ asidi verimi elde edilmiştir. Sıcaklık etkisini incelemek için yapılan deneyler (150 ve 300 bar) sabit basınçta, 45, 55 ve 65°C sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir. 150 bar’da yapılan deneyde sıcaklık arttıkça yağ verimi artarken 300 bar’da sıcaklık arttıkça verim azalmıştır. 55 °C sabit sıcaklıkta basınç (150, 200, 250, 300 bar) etkisini gözlemlemek için yapılan deneyler incelendiğinde basınç arttıkça yağ veriminin arttığı görülmüştür. Maksimum ekstraksiyon verimi 30 MPa basınç ve 65 °C sıcaklıkta elde edilmiştir. Ekstrakte edilen yağların serbest yağ asidi içeriği karşılaştırıldığında, omega-3 içeriğinin yüksek sıcaklıktan, yüksek basınçtan ve uzun ekstraksiyon sürelerinden olumsuz etkilendiği ve bu nedenle maksimum α -linoleik esansiyel yağ asidi veriminin 45 °C sıcaklıkta 15 MPa basınçta 30 dakikalık ekstraksiyon sonucu elde edildiği bulunmuştur.

Mouahid vd. [127], ‘*Nannochloropsis oculata*, *Cylindrotheca closterium*, *Chlorella vulgaris* ve *Spirulina platensis*’ olmak üzere dört farklı mikroalg türünden nötr yağ eldesi üzerine çalışmalar yürütmüştür. Bu çalışmada süperkritik CO₂ ekstraksiyonu yöntemiyle elde edilen deneysel sonuçlar ve modelleme sonuçları incelenmiştir. Tüm ekstraksiyon deneyleri 40 MPa ve 333 K’de gerçekleştirilmiştir. Deneyde kullanılan numuneler üzerinde farklı ön işlemler uygulanmıştır. Farklı ön kurutma proseslerinin ve tanecik büyüklüklerinin ekstraksiyona etkisi incelenmiştir. Hava akışıyla kurutulan mikroalgler kullanıldığında ekstraksiyon hızının dondurularak kurutulan mikroalglerle gerçekleştirilen ekstraksiyon hızından daha yüksek olduğu bulunmuştur. Tanecik boyutları karşılaştırıldığında tanecik boyutu küçüldükçe ekstraksiyon hızının arttığı tespit edilmiştir.

Bjornsson vd. [12], mikroalglerden triasilgliserollerin geri kazanımı için pilot ölçekli süperkritik karbondioksit ekstraksiyon yönteminin kullanılması üzerine araştırmalar yürütmüştür. Deneylerde “*Nannochloropsis granulata* ve *Botryococcus braunii*” türü mikroalgler kullanılmıştır. Karşılaştırma yöntemi olarak Hekzan (Soxhlet) ekstraksiyonu yöntemine başvurulmuştur. Süperkritik CO₂ ekstraksiyonu deneylerinde basınç, sıcaklık ve ekstraksiyon süresinin yağ verimine etkisi incelenmiştir. Basınç etkisini gözlemek üzere 35, 45 ve 55 MPa’da deneyler yapılmış ve ekstraksiyon basıncının yağ verimi üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı görülmüştür. 50 °C sıcaklık, 35 MPa basınç ve 100 g/dk CO₂ debisiyle 180, 270 ve 360 dakikalık sürelerle deneyler gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon süresi 180 dakikadan 270 dakikaya çıkarıldığında yağ verimi yaklaşık iki katına çıkmıştır. Yağ verimi açısından 270 ve 360 dakikalık ekstraksiyon süreleri arasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir. Sıcaklık etkisinin incelendiği deneyler 50 °C, 70 °C ve 90 °C’ de 35 MPa sabit basınçta 270 dakika süreyle yapılmıştır. En yüksek yağ verimi 70 °C’de (28,45 mg/g – külsüz kuru ağırlık) elde edilmiştir. Bu çalışmada yağ verimini en fazla etkileyen değişkenin sıcaklık olduğu görülmüştür. Hekzan ekstraksiyonu deneylerinde elde edilen yağ verimi süperkritik CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen sonuçlardan daha yüksek çıkmıştır. Ancak YAME içerikleri incelendiğinde yağ verimleri arasındaki farka rağmen benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Halim vd. [13], süperkritik CO₂ ve Hekzan (Soxhlet) ekstraksiyon yöntemlerini kullanarak biyodizel üretimi için ‘*Chlorococcum sp.*’ türü mikroalgden yağ eldesi üzerine araştırmalar yapmış ve iki yöntemin performanslarını karşılaştırmıştır. Süperkritik CO₂ ekstraksiyonunda sıcaklık, ekstraksiyon süresi ve basıncın yağ verimine ve YAME içeriğine olan etkisi incelenmiştir. Süperkritik CO₂ ekstraksiyonu deneylerinde, azalan sıcaklık ve artan basıncın yağ verimini arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca deneylerin bir bölümünde ıslak mikroalg kütlesi kullanılarak su içeriğinin ekstraksiyon sürecine etkisi incelenmiştir. Aynı şartlarda (T = 60 °C, P = 30 MPa) kuru ve ıslak mikroalglerle deneyler yapılmıştır. Literatürde yer alan bazı çalışmaların aksine ıslak mikroalg biyokütlesine diatomik toprak eklendiğinde kuru mikroalglerle göre daha yüksek yağ verimi elde edilmiştir. Ayrıca YAME içerikleri incelendiğinde ıslak mikroalgden elde edilen yağ ekstraktları, kurutulmuş biyokütleden elde edilen ekstraktlardan daha yüksek miktarda C16:0, C16:1, C18:0 ve C18:2 içermektedir.

Süperkritik CO₂ ve Hekzan (Soxhlet) ekstraksiyon sonuçları karşılaştırıldığında süperkritik CO₂ yöntemi ile daha yüksek verim elde edilmiştir.

Soh ve Zimmerman [11], SK CO₂ ekstraksiyon metodunu kullanarak biyodizel üretimi için ‘*Scenedesmus dimorphus*’ türü mikroalgden yağ eldesi üzerine araştırmalar yapmıştır. Referans metot olarak B&D metodu kullanılmıştır. Deneyler 50-100 °C sıcaklık aralığında ve 2400, 4800 ve 6000 psi basınçlarında 1 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Araştırmalar YAME verimi ve içeriğine odaklanmıştır. Sıcaklık, basınç, mikroalgin su içeriği ve mikroalge ön işlem uygulanması gibi faktörlerin YAME verimi ve içeriğine olan etkileri üzerine çalışmalar yapılmıştır. SK CO₂ ekstraksiyon deneylerinde sıcaklık ve basınç değerleri arttırıldığında YAME veriminin de arttırdığı görülmüştür. YAME içerikleri incelendiğinde sıcaklık artışının YAME profilinde anlamlı bir etkisi olmadığı ancak basınç artışının polar YAME içeriğinde azalmaya, daha apolar YAME içeriğinde ise artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Mikroalg su içeriğindeki artışın da YAME miktarında ve içeriğinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. Mikroalg üzerine liyofilizasyon, selenleme (sonifikasyon), bead-beating ve mikrodalga gibi ön işlemler uygulanmış, mikrodalga yönteminin diğer yöntemlere göre daha etkili olduğu bulunmuştur.

Sajilata vd. [128], nutrasötik alanda sıklıkla kullanılan ‘*Spirulina platensis*’ türü siyanobakteriden süperkritik CO₂ yöntemiyle γ -linolenik asit (GLA) eldesi için çalışmalar yürütmüştür. Deneyler 100-500 bar basınç aralığında 9,64-16,4 ml etanolün (yardımcı solvent) ilavesiyle 26-94 dakika aralığındaki sürelerde gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyonda mevcut şartlarda en iyi sonuç 40 °C’de, 60 dakika sürede, 400 bar’da, minimum 13,7 ml etanolün 16 g’lık numuneye eklenmesiyle elde edilmiştir (%102’lik geri kazanım). Bu nedenle, yardımcı çözücü kullanılarak gerçekleştirilen süperkritik CO₂ ekstraksiyonu, *S. platensis*’ten GLA’nın geri kazanımı için geleneksel çözücülerden daha iyi bir seçenek olarak önerilmiştir.

Andrich vd. [124], deniz mikroalglerinden elde edilen biyoaktif yağların hastalığı önleyici ve tedavi edici özellikleri üzerine yoğunlaşarak ‘*Nannochloropsis sp*’ türü mikrolglerden süperkritik CO₂ yöntemi ile yağ eldesini araştırmıştır. Deneyler 40, 55, 70 MPa basınç ve 40, 50 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verimler beklenen değerlerden düşük olsa da sonuçlar ‘*Nannochloropsis sp*’ türünün biyoaktif yağ eldesi için iyi bir kaynak olduğunu doğrulamıştır.

Mendes vd. [129], farmasötik önemleri nedeniyle 'Botryococcus braunii Chlorella vulgaris, Dunaliella salina ve Arthrospira (Spirulina) maxima' türleri üzerinde çalışmalar gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada basınç, sıcaklık, tanecik boyutu ve yardımcı solvent ilavesi gibi faktörlerin ekstraksiyon sonucu elde edilen yağ hidrokarbon, β -karoten izomerleri ve karetonoid üzerine etkileri araştırılmıştır. Yağ verimi üzerine yapılan çalışmalar 'Arthrospira (Spirulina) maxima' üzerine yoğunlaşmıştır. 100-350 bar basınç ve 50-60 °C sıcaklık aralığında çalışılmış, optimum koşullar 350 bar basınçta, 60 °C sıcaklıkta ve etanol kullanımıyla sağlanmıştır. Deneyler esnasında mikroalglerin her bir türü için farklı koşulların (sıcaklık, basınç, mikroalgin öğütülüp öğütülmediği, etanol ilavesi vb.) etkileri araştırılmıştır. Çizelge 3.5'te yer alan sonuçlar çalışmanın bütününden elde edilen genel verilerdir. Çizelge 3.5'te 'Arthrospira (Spirulina) maxima' türü mikroalgden elde edilen γ -linolenic asit (GLA) verimi için en uygun koşullar verilmiştir.

Cheung P. [130], "Hypnea charoides" türünden süperkritik CO₂ yöntemiyle yağ ekstraksiyonu üzerinde basınç ve sıcaklık etkisini incelemiştir. Bunun için 40-50 °C sıcaklık ve 24,1-37,9 MPa basınç aralığında deneyler gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullar 37,9 MPa basınçta ve 50 °C sıcaklıkta sağlanmıştır. Süperkritik CO₂ ekstraksiyon koşullarının, hem yağ asidi içeriğini hem de yağ ekstraktının bileşimini etkilediği görülmüştür.

Mendes vd. [131], 'Chlorella vulgaris' alg türü üzerinde çalışmalar gerçekleştirmiştir. Ekstraksiyon 200 ve 350 bar basınçta 40 ve 55 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Öğütülmüş mikroalg kullanılan deneylerde daha yüksek yağ verimi elde edilmiştir. Optimum koşullar 350 bar basınçta ve 55 °C sıcaklıkta sağlanmış ve öğütülmüş mikroalglerden %13,3 oranında yağ verimi elde edilmiştir.

Mikroalglerden süperkritik CO₂ kullanarak yağ ekstraksiyonu üzerine yapılan çalışmalar Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.5 Önceki çalışmalar

Çalışma	Mikroalg türü	Deneş koşulları (Basınç; Sıcaklık; Debi; Süre)	Polar dönüştürücü (Miktar)	Sonuçlar ve optimum koşullar	Optimum koşullardaki yağ verimi (%ağırlık)
Solana vd. [126]	Scenedesmus obliquus	15, 25, 30 MPa; 45, 55, 65 °C; 0,4 ± 0,05 kg/sa; maks. 90 dk.	Etanol (%5)	Sıcaklık artışıyla yağ verimi, düşük basınçta (15 MPa) azalmış, yüksek basınçta (30 MPa) artışıyla artmıştır. Sabit sıcaklıkta, toplam yağ verimi basınç artışıyla artmıştır. Maksimum ekstraksiyon verimi 30 MPa basınç ve 65 °C sıcaklıkta elde edilmiştir. Maksimum α-linoleik yağ asidi verimine 45 °C sıcaklıkta 15 MPa basınçta 30 dakika ekstraksiyonda ulaşılmıştır.	18,15
Mouahid vd. [127]	Nannochloropsis oculata, Cylindrotheca clost., Chlorella vulgaris, Spirulina platensis	40 MPa; 60 °C; 0,5 kg/sa; -	-	Hava akışıyla kurutulan mikroalgler kullanıldığında ekstraksiyon hızının dondurularak kurutulan mikroalglerle gerçekleştirilen ekstraksiyon hızından daha yüksek olduğu bulunmuştur. Tanecik boyutu küçüldükçe ekstraksiyon hızı artmıştır.	-
Bjornsson vd. [12]	Nannochloropsis granulata, Botryococcus braunii	35, 45, 55 MPa; 50, 70, 90 °C; 100 g/dk; 180, 270, 360 dk.	-	En yüksek yağ verimi 70 °C'de 35 MPa basınçta elde edilmiştir. Yağ verimini en fazla etkileyen değişkenin sıcaklık olduğu görülmüştür. Basıncın yağ verimi üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı görülmüştür. Hekzan ve SK CO ₂ ekstraksiyonları karşılaştırıldığında hekzan ekstraksiyonunda daha yüksek yağ verimi elde edilmesine rağmen YAME içerikleri birbirine çok yakın bulunmuştur.	2,85
Halim vd. [13]	Chlorococcum sp.	100-500 bar; 60, 80 °C; 400 mL/dk; 80-120 dk.	-	Islak mikroalg biyokütlesinden (diatomik toprak eklenmiştir) daha yüksek yağ verimi elde edilmiştir. Islak mikroalgden elde edilen yağ ekstraktları kurutulmuş mikroalglerden elde edilenlere göre daha yüksek miktarda YAME içermektedir.	-

Çizelge 3.5 Önceki çalışmalar (Devamı)

Çalışma	Mikroalg türü	Deney koşulları (Basınç; Sıcaklık; Debi; Süre)	Polar dönüştürücü (Miktar)	Sonuçlar ve optimum koşullar	Optimum koşullardaki yağ verimi (%ağırlık)
Soh ve Zimmerman [11]	Scenedesmus dimorphus	2400-6000 psi; 40-100 °C; - 1 saat	-	Sıcaklık ve basınç artışıyla YAME verimi artmıştır. Basınç artışı polar YAME içeriğinde azalmaya, daha apolar YAME içeriğinde ise artışa neden olmuştur. Mikroalg su içeriğindeki artış YAME miktarında ve içeriğinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu çalışmada en etkili ön işlem mikrodalga yöntemidir.	-
Sajilata vd. [128]	Spirulina platensis	316-484 bar; 40 °C; 0,7 l/dk; 26,4-94 dk.	Etanol (9,64, 11, 13, 15, 16,36 ml)	Basınç artışı ile toplam yağ verimi artmıştır. Optimum koşullar 400 bar basınçta, 60 dakika sürede ve 13,7 ml etanol kullanımıyla sağlanmıştır.	8,6
Andrich vd. [124]	Nannochloropsis sp.	40, 55, 70 MPa; 40, 55 °C; 0,7 kg/dk; 360 dk.	-	Sabit sıcaklıkta, basınç artışıyla ekstraksiyon hızı artmış, sabit basınçta, ekstraksiyon hızı sıcaklık artışıyla bir miktar artmıştır. Basıncın toplam yağ verimi üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı görülmüştür. Herhangi bir sıcaklık ve basınç değerinde nihai toplam yağ verimi aynıdır.	25,0
Mendes vd. [129]	Botryococcus braunii, Chlorella vulgaris, Dunaliella salina, Spirulina maxima	100-350 bar; 40-60 °C; - -	Etanol (mol.%10 CO ₂)	Sabit sıcaklıkta, toplam yağ verimi basınç artışıyla artmıştır. Sabit basınçta, toplam yağ verimi sıcaklık artışıyla azalmıştır. Sabit sıcaklık ve basınçta, polar değiştirici ilavesi ile toplam yağ verimi belirgin şekilde artmıştır. Mikroalglerin öğütülmesi ile yağ verimi artmıştır. Arthrospira (Spirulina) maxima' türü mikroalgden elde edilen γ-linolenic asit (GLA) verimi için optimum koşullar 350 bar basınçta, 60 °C sıcaklıkta ve etanol kullanımıyla sağlanmıştır.	3,1

Çizelge 3.5 Önceki çalışmalar (Devamı)

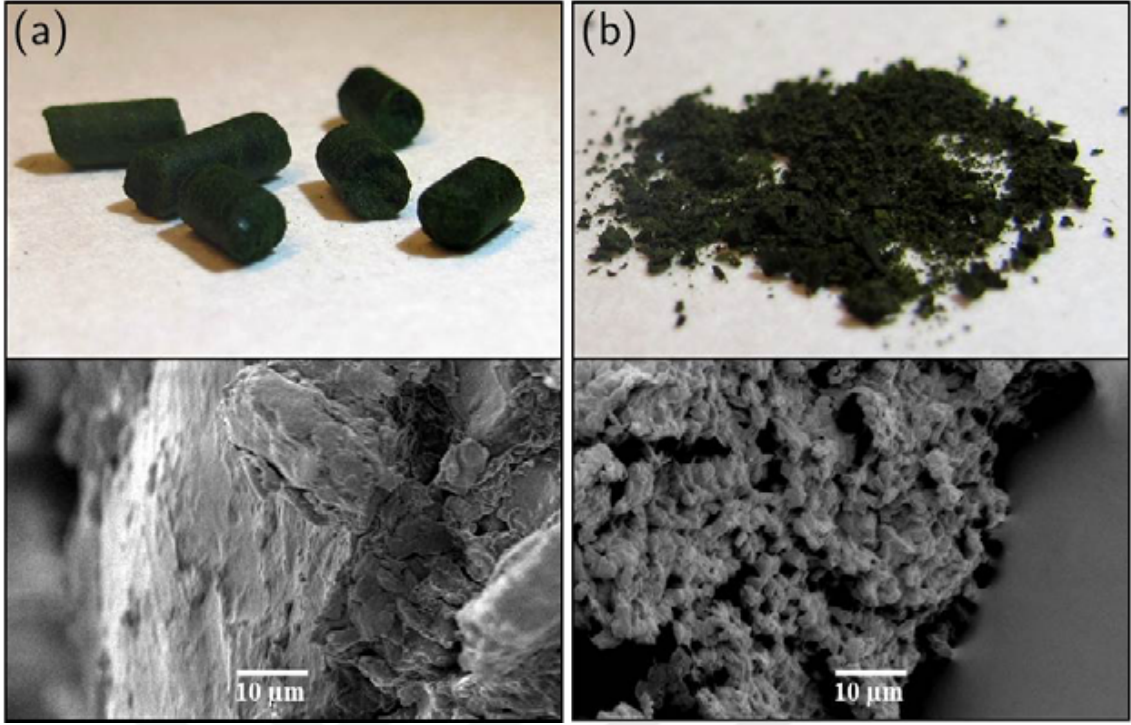
Çalışma	Mikroalg türü	Deney koşulları (Basınç; Sıcaklık; Debi; Süre)	Polar dönüştürücü (Miktar)	Sonuçlar ve optimum koşullar	Optimum koşullardaki yağ verimi (%ağırlık)
Cheung [130]	Hypnea charoides	24,1, 31,0, 37,9 MPa; 40, 50 °C; 1 l/dk; 120 dk.	-	Sabit sıcaklıkta, toplam yağ verimi basınç artışıyla artmıştır. Düşük basınçta (24,1 MPa), toplam yağ verimi sıcaklık artışıyla azalmıştır. Ortalama ve yüksek basınçta (31,0 ve 37,9 MPa), toplam yağ verimi sıcaklık artışıyla artmıştır. Optimum koşullar 37,9 MPa basınçta ve 50 °C sıcaklıkta sağlanmıştır.	6,7
Mendes vd. [131]	Chlorella vulgaris	200, 350 bar; 40, 55 °C; 0,4 l/dk; 500 dk.	-	Sabit sıcaklıkta, yağ verimi basınç artışıyla artmıştır. Düşük basınçta (200 bar), yağ verimi sıcaklık artışıyla azalmıştır. Yüksek basınçta (350 bar), toplam yağ verimi sıcaklık artışıyla artmıştır. Optimum koşullar 350 bar basınçta ve 55 °C sıcaklıkta sağlanmıştır.	13,3

BÖLÜM 4

DENEYSEL ÇALIŞMA

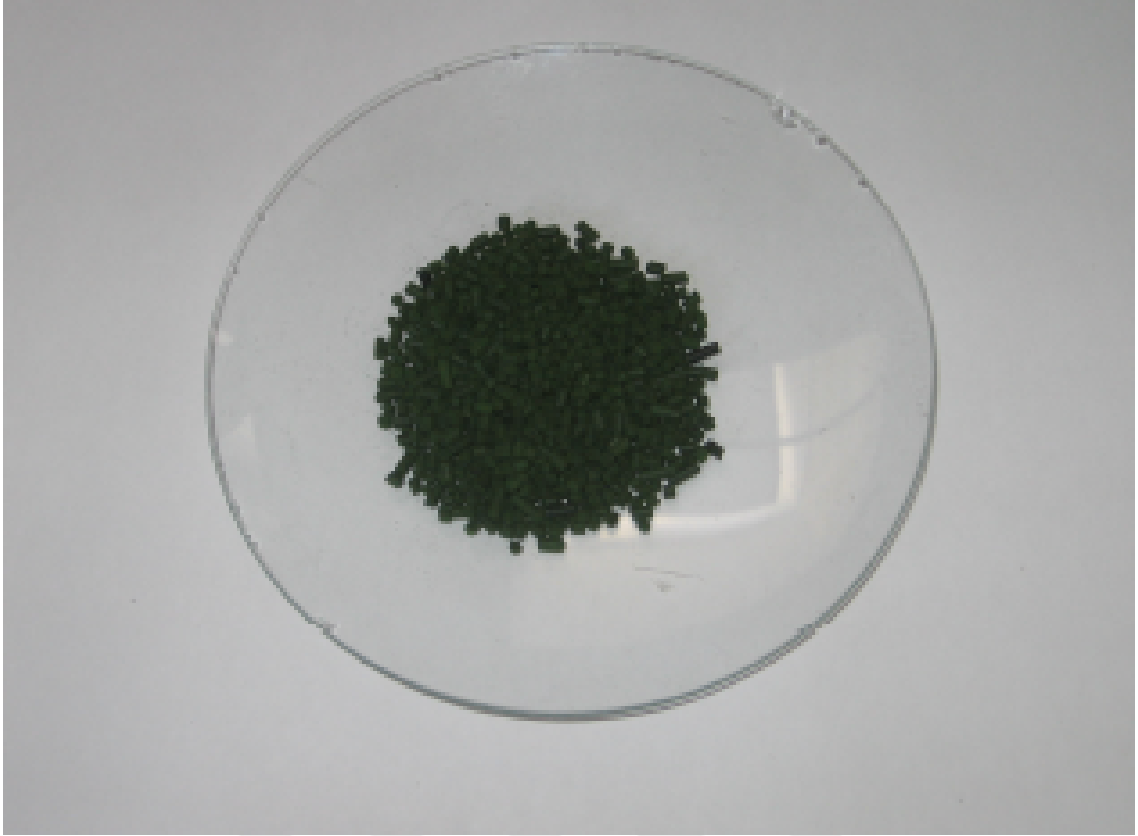
4.1 Hammadde

Ekstraksiyon deneyleri esnasında kullanılan '*Desmodesmus sp*' cinsi mikroalg biyokütlesi Ingrepo B.V. (Hollanda) firmasından temin edilmiştir. Mikroalgler açık kanal havuz sistemlerinde yetiştirilmiştir. Kullanılan biyokütlenin su içeriği 105 °C'de 24 saat kurutularak belirlenmiştir. Daha sonra kuru biyokütlenin kül içeriğini ölçmek için, 5 saat boyunca oksitleme koşulları altında 550 °C'de muamele edilmiştir. Aksi belirtilmedikçe tüm sonuçlar kuru kül içermeyen alg kütlesi (kuru külsüz, k.k.) üzerinden verilmiştir. Deneylerde kullanılan mikroalg numuneleri pelet ya da dondurularak kurutulmuş mikroalg hücreleri şeklindedir. Numunelerin optik mikroskop (Carl-Zeiss) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM; JEOL TSM 5600) görüntüleri Şekil 4.1' de verilmiştir.



Şekil 4.1 Kullanılan mikroalgler (a) Peletler, (b) Dondurularak kurutulmuş hücreler

Ekstraksiyon deneylerinin büyük bir çoğunluğunda kullanılan mikroalgler silindirik (pelet) yapıdadır ve ağırlıkça % 4,13 nem içeriğine sahiptir. Ortalama tanecik çapı 2,5 mm ve ortalama tanecik uzunluğu 3,8 mm'dir. Numune türünün ve su oranının yağ verimine etkisinin incelendiği sırasıyla Bölüm 5.4 ve Bölüm 5.5'te ağırlıkça %7,66 (k.k.) su oranına sahip mikroalg bulamacı santrifüje tabi tutularak yüzeyde kalan kısım atılmıştır. Santrifüj sonrası oluşan macun kıvamındaki mikroalg hücreleri dondurulup kurutularak nem içeriği deneylerde gerekli olan orana getirilmiştir. Peletlerle yapılan deneylerde 16 g'lık mikroalg peletleri kullanılmıştır. Ekstraksiyonda kullanılan pelet numunesinin görsel bir temsili Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2 Ağırlığı 16 g olan '*Desmodesmus sp.*' mikroalg peleti örneği

Deneylerde kullanılan pelet ve dondurularak kurutulmuş haldeki alg numunelerinin nem ve yağ içerikleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Numunelerin yağ içeriklerinin belirlenmesinde Bligh ve Dyer (B&D) metodu kullanılmıştır. B&D metodu ile ekstrakte edilen yağ miktarı, genellikle maksimum ekstrakte edilebilir yağ miktarı için referans olarak kullanılır. Bu çalışmada da B&D metodu, mikroalglerden yağ ekstraksiyonunda ve sonrasında elde edilen yağın transesterifikasyon reaksiyonu sonucu elde edilen toplam yağ asidi (TYA) ve yağ asidi metil esterleri (YAME) içeriğinin belirlenmesinde referans metot olarak kullanılmıştır. Ancak, B&D gibi organik çözücü kullanılarak elde edilen yağ verimi ve içeriğinin süperkritik CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen değerlerden farklılık gösterebileceğini göz önünde bulundurmak gerekmektedir. Bunun ana nedeni B&D metodundaki triasilgliserol (TAG) seçiciliğinin süperkritik CO₂ ekstraksiyonuna göre daha düşük olmasıdır.

Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi, ekstraksiyonda kullanılan iki mikroalg türünün yağ verimleri ve YAME içerikleri farklıdır. Bu fark mikroalglerin farklı sezonlarda hasat edilmesinden kaynaklanmaktadır. Ancak bu iki grup mikroalg deneylerde farklı amaçla kullanıldığı için deney sonuçlarına önemli bir etkisi bulunmamaktadır.

Çizelge 4.1 Ekstraksiyon deneylerinde kullanılan mikroalglerin özellikleri

Özellikler (%ağırlık, i.g. ^a)	Pelet	Dondurularak kurutulmuş alg hücreleri
Nem içeriği	4,13	1,33
Organik içerik	82,6	83,5
Kül içeriği	13,3	15,1
B&D yöntemiyle ekstrakte edilmiş yağ içeriği (%ağırlık, k.k.^b)		
Yağ	21,4	15,5
YAME	9,89 ± 2,2	5,99 ± 1,0
Yağ Asidi İçeriği		
(YAME %ağırlık)		
C16:0	17,2 ± 0,3	25,5 ± 0,4
C16:2	1,5 ± 0,3	4,2 ± 0,3
C16:3	3,3 ± 0,3	12,4 ± 0,5
C18:0	2,8 ± 0,5	2,9 ± 1,0
C18:1	15,0 ± 0,5	12,2 ± 0,3
C18:2	52,0 ± 0,9	32,0 ± 0,4
C18:3	6,8 ± 0,4	6,9 ± 0,3
C18:4	1,5 ± 0,4	3,9 ± 0,3

^a İlk temin edildiği haliyle, işlem görmemiş, i.g.

^b Kuru, külsüz, k.k.

4.2 Ekstraksiyon Solventi

Deneylerde süperkritik ekstraksiyon solventi olarak kullanılan sıvı karbondioksit Praxair B.V. (Hollanda) firmasından temin edilmiştir. Kullanılan yüksek saflıktaki karbondioksitin içeriği Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Kullanılan CO₂'nin içeriği

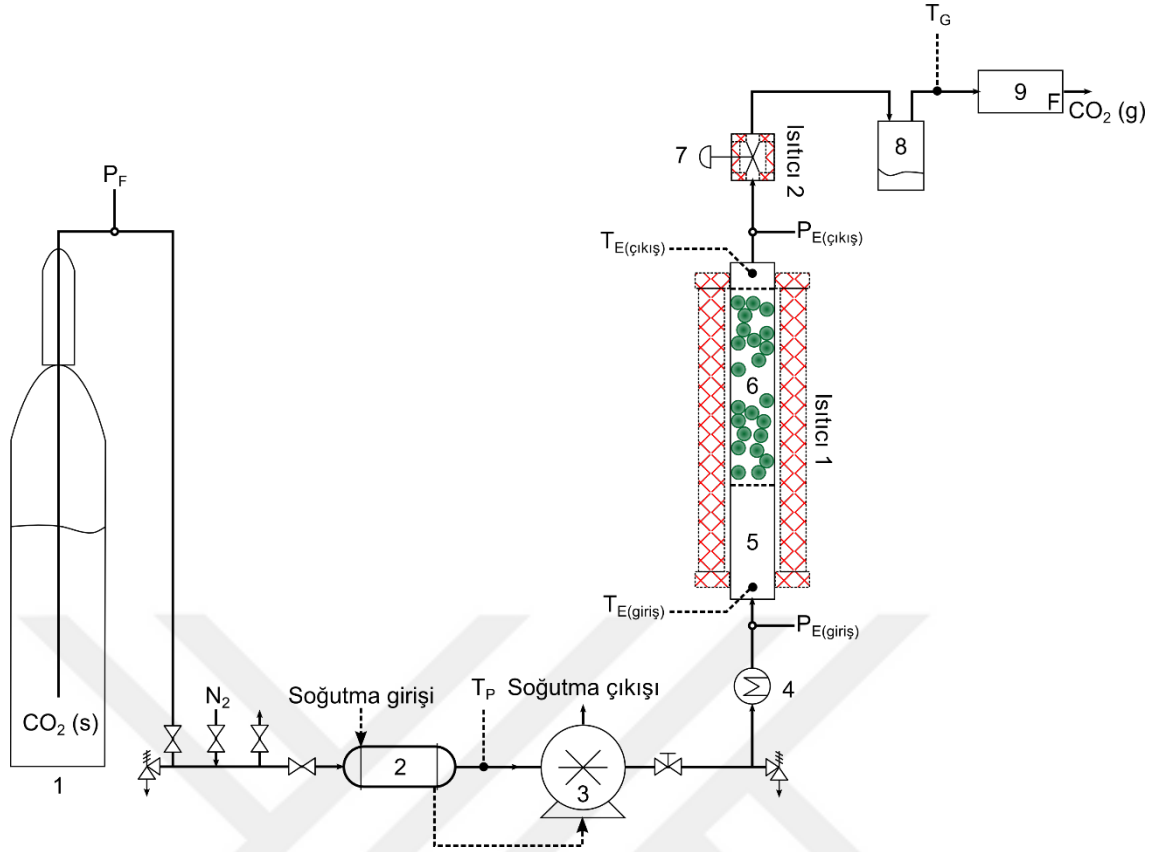
Bileşen	Miktar (%hacim)
CO ₂	99,996
H ₂ O	0,001
CH ₄	0,0005
O ₂	0,0005
N ₂	0,002

4.3 Deney Düzeneği ve alışma Prensibi

Deneylerde süperkritik ekstraksiyon için kullanılan düzeneğin fotoğrafı ve şematik gösterimi sırasıyla şekil 4.3 ve şekil 4.4'de verilmiştir. Sistemin kullanım talimatı ve teknik çizimleri EK-A'da verilmiştir.



şekil 4.3 Deneyde kullanılan süperkritik karbondioksit ekstraktörü



Şekil 4.4 Süperkritik karbondioksit ekstraktörü şematik çizimi

Deneyler için hacimsel % 99.996 saflıktaki sıvı karbondioksit (Praxair B.V., Hollanda) kullanılmıştır. Tüm ekstraksiyon deneyleri CO₂ akış hızı sabit tutularak dinamik modda gerçekleştirilmiştir. Sıvı CO₂, tüpten (Şekil 4.4’de 1 numara ile gösterilmiştir) HPLC pompası (3) kullanılarak ekstraktörün (5 ve 6) içine beslenmiştir. Besleme pompası CO₂’in gaz faza geçmesini önlemek için döngüsel akışkan soğutucusu (2, soğutucu akışkan: -38 NF, Kroon Oil, Almelo, Hollanda) ile soğutulmuştur. Sıkıştırma esnasında ortaya çıkan ısı nedeniyle CO₂’nin gaz faza geçmesini önlemek için pompanın başlıkları da aynı soğutucu ile soğutulmuştur. CO₂ ekstraktöre girmeden önce elektrikli ön ısıtıcı (4) ile ısıtılmıştır. Ekstraktör 316 paslanmaz çelikten yapılmış olup 16,3 mm çapında ve 625 mm uzunluğundadır. Ekstraktörün alt kısmı (5) 210 mm uzunluğunda, numunenin yerleştirileceği üst kısmı (6) ise 415 mm uzunluğundadır. Alt kısım ile üst kısım arasında 5 µm gözenekli 316 paslanmaz çelikten yapılmış filtre yerleştirilmiştir. Üst kısma numune koyulduktan sonra ekstraksiyon esnasında numunenin sürüklenmesini önlemek için aynı özellikteki ikinci bir filtre ekstraktörün çıkışına yerleştirilmiştir. Deneyler süresince ekstraktör sıcaklığı elektrikli ısıtıcı (Isıtıcı 1) aracılığıyla sabit tutulmuştur.

Deneyler için ekstraktörün içindeki süperkritik CO₂'in basınç ve sıcaklık koşulları kontrol altında tutulmuştur. Ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraktörün girişindeki ve çıkışındaki iki ısılıçiftin [sırasıyla T_{E(giriş)} ve T_{E(çıkış)}] ölçtüğü sıcaklık değerlerinin ön ısıtıcı ve ekstraktör ısıtıcısına geri beslenmesiyle düzenlenmiştir. Ekstraksiyon basıncı ise geri basınç düzenleyicisi (BPR) (7) tarafından kontrol edilmiştir. BPR'nin ayar noktaları ekstraktör giriş ve çıkış basıncının [sırasıyla P_{E(giriş)} ve P_{E(çıkış)}] ölçülmesiyle belirlenmiştir. Deneyler esnasında süperkritik CO₂'nin CO₂ gazına adyabatik olarak genişlemesi nedeniyle BPR içerisinde katı oluşumunu engellemek için BPR elektrikli ısıtıcı (Isıtıcı 2) aracılığıyla ısıtılmıştır. Her deneyde BPR ısıtıcısının ayar noktası 90 °C' de sabit tutulmuştur. Deneylere sistemin sıcaklık ve basıncının istenilen değerlerde dengeye ulaştığından emin olduktan sonra başlanmıştır.

Basıncsızlaştırmadan sonra ekstrakte edilen yağ cam bir şişede (8) toplanmış ve miktarı tartılarak belirlenmiştir. Yağın miktarını belirlerken BPR'nin tüm parçaları, toplama kabının hortumları ve ekstraksiyon işleminden arta kalan alg kalıntıları da tartılarak kütle dengliği kurulmuştur. Sadece kütle dengliğinin %95'in üzerinde olduğu deneyler analize tabi tutulmuştur.

Sistemi terk eden basınçsızlaştırılmış CO₂ gazının hacimsel akış hızı kuru gaz sayacı (9) ile sık sık ölçülmüş ve kontrol altında tutulmuştur. Kuru gaz sayacının girişindeki gaz sıcaklığı ısılıçift (T_G) aracılığıyla ölçülmüştür. Ekstraktör, her deneyden önce 4 MPa basınçtaki azot gazı (N₂) kullanılarak test edilmiş ve kaçak olmadığı teyit edilmiştir.

4.4 Yağ Analizi

Süperkritik CO₂ ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen yağlardaki serbest yağ asitleri (SYA) ve sterollerin miktarı, sililasyon ile belirlenmiştir [132]. Numuneler (5 mg) tridekanoik asit (0,02 mg) ve metil nonadekanoat (0,02 mg) içeren CH₃CN (0,1 ml) içinde çözülmüştür. Daha sonra %1 oranında trimetilklorosilan ve piridin (0.1 ml) içeren bis-trimetilsililtrifloroasetamit (0.1 ml) eklenmiştir. Numuneler, 1 saat boyunca 60 °C' de inkübatöre yerleştirilmiş ve sonrasında GC-MS ile analiz edilmiştir. Yağdaki asilgliserol miktarı (bağlı yağ asitleri, BYA), YAME ve SYA içerik miktarı arasındaki fark (BYA = YAME - SYA) bulunarak hesaplanmıştır.

GC-MS analizleri, 5975 Agilent HP dört-kutuplu (quadrupole) kütle spektrometresine bağlı 6850 Agilent HP gaz kromatografisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon

girişinin sıcaklığı 280 °C'dir. Analitler taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılarak (sabit basınçta, 200 °C'de 33 cm/s doğrusal hız), HP-5 kaynaşmış silika kılcal kolon [sabit faz poli(%5 difenil / %95 dimetil)siloksan, 30 m, 0,25 mm iç çapında, 0,25 mm film kalınlığında] ile ayrılmıştır. Kütle spektrumları 12-600 m/z aralığında 1 tarama/s sıklığında elektron iyonizasyonu (70 eV) altında kaydedilmiştir. Bu bölümde bahsi geçen analizler Samori vd. [132] tarafından yapılmış olup her analiz üçer kez tekrar edilmiştir.



BÖLÜM 5

DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Sistemli deneylere başlanmadan önce, ekstraksiyon sisteminin performansını ve deney sonuçlarının tutarlılığını tespit etmek amacıyla tekrarlanabilirlik deneyleri yapılmıştır. Deneyler farklı basınç, CO₂ debisi ve ekstraksiyon sürelerinde ikili setler halinde gerçekleştirilmiştir. Tekrarlanabilirlik deneylerinin sonuçları EK-B'de verilmiştir. Elde edilen veriler bir nokta dışında %95 güvenilirlik seviyesinin üzerindedir. Bu nokta 350 bar basınçta ekstraksiyonun başındaki deneysel noktadır. Bu noktadaki sapmanın yüksek basınç nedeniyle deneyin başlangıcında hassas ölçüm yapılamamasından kaynaklanmaktadır. Tekrarlanabilirlik deneyleri ekstraksiyon sisteminin düzgün çalıştığını, deney sonuçlarının güvenilir ve tutarlı olduğunu, yapılan tek deneylerden eğilim analizi yapılabileceğini göstermiştir.

Bu bölümde ilk olarak, mikroalg yağlarının süperkritik CO₂'de tamamen doyuma ulaştığından emin olmak için yağ veriminin süperkritik CO₂ debisine (1,4, 2,9 ve 5,7 g/dk) göre değişimi incelenmiştir. Deney sonuçlarının sunulduğu grafiklerde yağ verimi:

$$\text{Yağ verimi (\%ağırlık)} = \frac{\text{Ekstrakte edilen yağın ağırlığı}}{\text{Algin kuru külsüz ağırlığı}} \times 100 \quad (5.1)$$

olarak tanımlanmıştır. Süperkritik CO₂ ekstraksiyon sürecini anlatmak amacıyla elde edilen yağ veriminin hem zamana ve hem de kullanılan CO₂ miktarına göre değişimi verilmiştir. Deney sonuçlarından 2,9 g/dk CO₂ debisinin, yüksek miktarda yağın ekstraksiyonunu tolere edilebilir sürelerde sağladığı görülmüştür. Takip eden deneylerde bu debi kullanılarak yağ veriminin basınca ve sıcaklığa göre değişimi incelenmiştir. Basınç etkisi 50 °C sabit sıcaklıkta 200, 250 ve 350 bar (deney

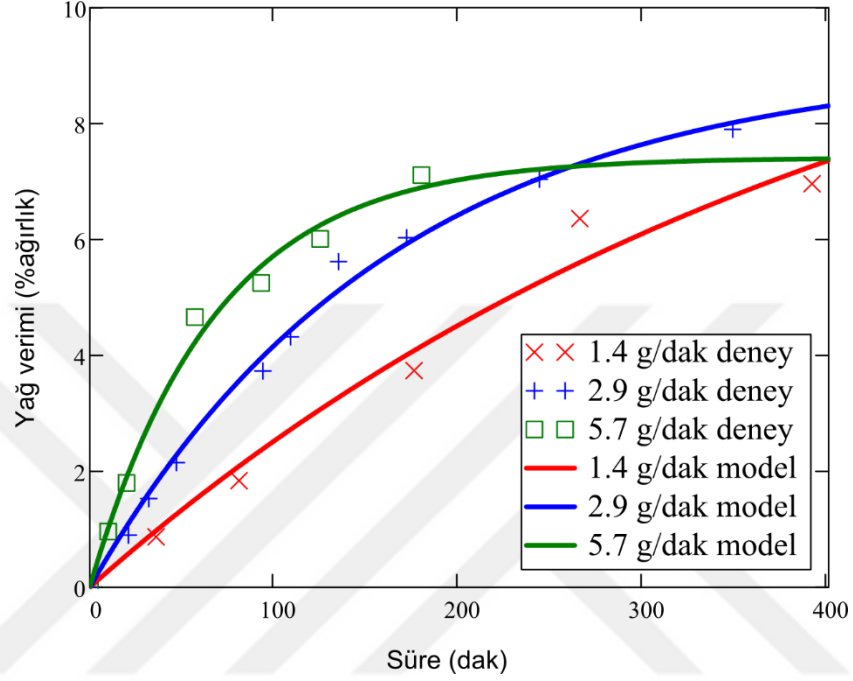
düzenğinde çıkılabilecek en yüksek basınç) değerlerinde incelenmiştir. Deneylerdeki yağ verimi kütle aktarım modeli sonuçlarıyla karşılaştırılmış ve elde edilen yağlara YAME analizi uygulanarak içerikleri belirlenmiştir. Sıcaklık etkisi 200 bar sabit basınçta 40, 50, 60, 70 ve 80 °C sıcaklık değerlerinde incelenmiştir. Son olarak yağ veriminin mikroalg numunelerinin durumuna (pelet türüne) ve su içeriğine göre incelemesi verilmiştir.

5.1 CO₂ Akış Debisine Göre Yağ Veriminin İncelenmesi

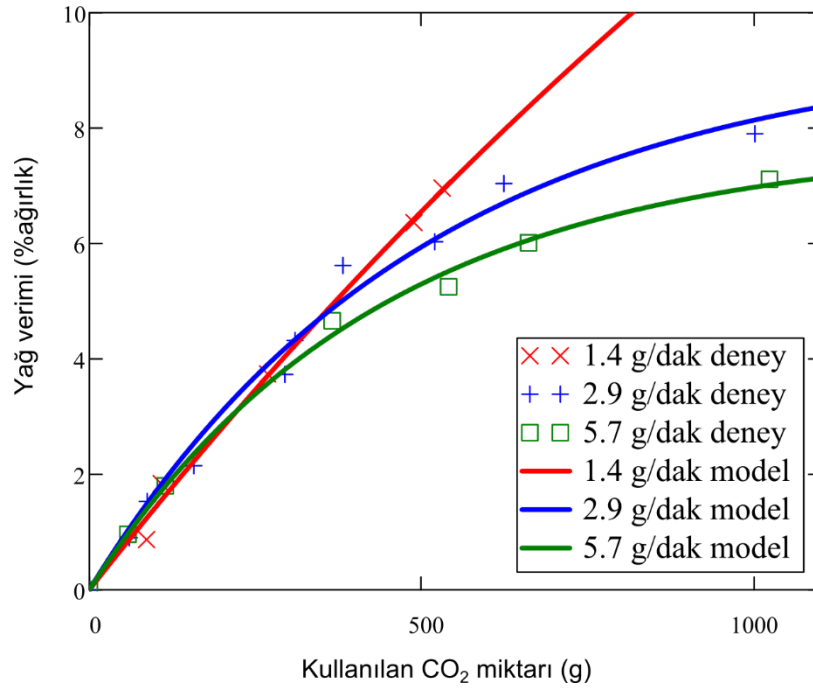
Sabit basınç (250 bar) ve sıcaklıkta (50 °C) karbondioksit debisinin yağ verimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı ve basıncı deney sisteminin performansı göz önüne alınarak, mikroalglerden yağ ekstraksiyonu üzerine yapılan önceki çalışmalar doğrultusunda belirlenmiştir [126], [129], [130], [131]. Debi olarak 1,4, 2,9, ve 5,7 g/dk değerleri kullanılmış ve 10-349 dakika arasında değişen sürelerde deneyler gerçekleştirilmiştir. Deney sonucu elde edilen yağ verimlerinin ağırlıkça % cinsinden ekstraksiyon süresine ve kullanılan CO₂ miktarına göre değişimi sırasıyla Şekil 5.1 ve Şekil 5.2'de gösterilmiş, değerler EK-C'de çizelge halinde verilmiştir. Aynı zamanda bu şekillerdeki noktalara Bölüm 3.6'de anlatıldığı şekilde kütle aktarım modeli eğrisi oturtulmuştur.

Yağ veriminin süreye göre değişimi incelendiğinde özellikle 5,7 g/dk debide yapılan ekstraksiyonda belirgin şekilde üç farklı bölge göze çarpmaktadır. Ekstraksiyon hızının yüksek olduğu ilk bölge, hızın yavaşladığı geçiş bölgesi ve yağ veriminin sabit kaldığı üçüncü bölge. İlk bölgede debinin artmasıyla birlikte ekstraksiyon hızının da neredeyse debiyle orantılı olarak arttığı görülmektedir. Bu ilk bölge, genellikle süperkritik akışkanın çözünenle tamamen doymun hale geldiği, çözünürlük sınırlı bölgedir. Aynı bölge Şekil 5.2'de incelendiğinde üç debideki ekstraksiyon eğrilerinin yaklaşık 400 g CO₂'ye kadar örtüştüğü görülebilir. Bu şekildeki eğrilerin eğimi kullanılan CO₂ başına elde edilen yağ verimini ifade etmektedir ve üç debi için de sabittir. Bu eğimin sabit olması üç debide de ekstraksiyonun ilk bölümünde çözünürlük sınırlı bölgeye ulaşıldığına işaret etmektedir. Ekstraksiyonun devamında, yağların azalması ve daha zor ulaşılır bölgelerde kalması nedeniyle hız düşerek difüzyon sınırlı üçüncü bölgeye ulaşılmaktadır. Bunun yanında tek bir debide yapılan deneylerde doğrudan difüzyon sınırlı bölgeye geçiş nedeniyle de doğrusal bir yağ verimi eğrisi gözlemlenebilir. Bu yüzden debi yükselterek üç bölgenin belirgin şekilde gözlemlenmesi önemlidir.

Şekillerde gözlemlenen bir diğer nokta ise 5,7 g/dk ekstraksiyon debisinde doğrusal bölgenin çok daha kısa sürede sona ermesi ve ulaşılan en yüksek yağ veriminin diğer debilerde ulaşılan değerlerden düşük olmasıdır. Bunun nedeni yüksek debilerde CO₂'nin ekstraktörde kalma süresinin daha kısa olması nedeniyle daha zor ulaşılabilir bölgelerdeki yağların tamamen ekstrakste edilememesi olarak yorumlanabilir.



Şekil 5.1 Yağ veriminin üç farklı debide ekstraksiyon süresine göre değişimi



Şekil 5.2 Yağ veriminin üç farklı debide kullanılan CO₂ miktarına göre değişimi

Deney sonuçlarının modellenmesi için Bölüm 3.6'de anlatılan ampirik kütle aktarım denklemi deneysel sonuçlara Mathcad 15 yazılım paketi kullanılarak oturtulmuştur. Kullanılan kütle aktarım denklemi zaman ve CO₂ miktarı değişkenlerini yağ verimiyle ilişkilendirmektedir.

$$m_e = m_{s,0}(1 - e^{-kt}) \quad (5.2)$$

Denklemdaki deney sonucu elde edilen toplam yağ verimi değeri olan m_e ve zamanı (veya kullanılan CO₂ miktarını) ifade eden t değeri kullanılarak, numunedeki toplam yağ oranını ifade eden $m_{s,0}$ ve toplu kütle transfer katsayısı k kestirilebilir. Zamana ve kullanılan CO₂ miktarına göre elde edilen kestirim sonuçları sırasıyla Çizelge 5.1 ve Çizelge 5.2'de verilmiştir. Her iki çizelgedeki %98'in üzerine ulaşan R² değerleri kestirimlerin güvenilirliğini göstermektedir.

Çizelge 5.1 Zamana göre farklı debilerde elde edilen deney sonuçlarına oturtulan kinetik kütle aktarım modeli sonuçları

Debi	$m_{s,0}$	k	R ²
1,4 g/dk	12,113	2,336e-3	%98,0
2,9 g/dk	9,075	6,151e-3	%99,4
5,7 g/dk	7,413	0,015	%99,2

Çizelge 5.2 Kullanılan CO₂ miktarına göre farklı debilerde elde edilen deney sonuçlarına oturtulan kinetik kütle aktarım modeli sonuçları

Debi	$m_{s,0}$	k	R ²
1,4 g/dk	31,893	4,611e-3	%99,4
2,9 g/dk	9,42	1,996e-3	%98,6
5,7 g/dk	7,748	2,307	%99,6

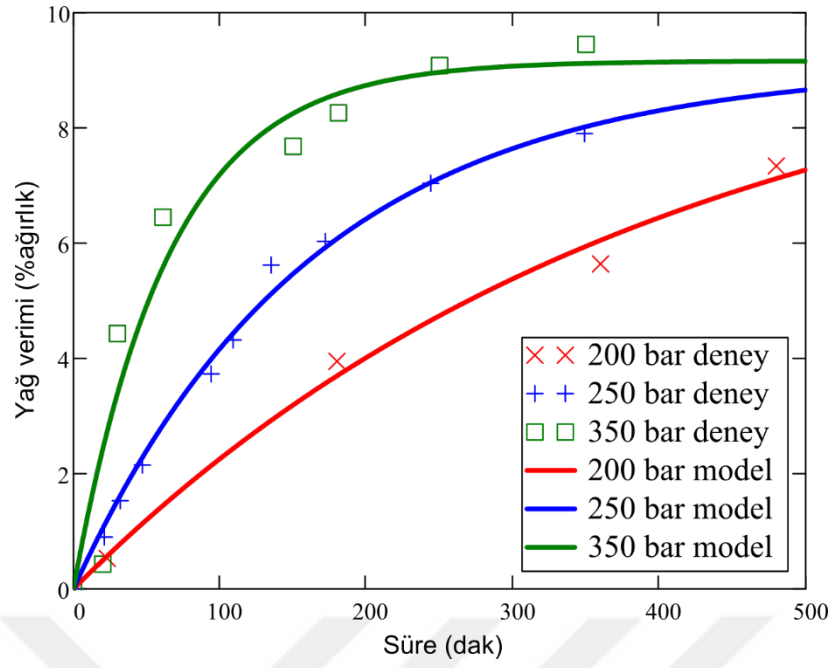
Yağ veriminin üç farklı debide kullanılan CO₂ miktarına göre değişimi ve kütle aktarım modeli sonuçları incelendiğinde 1,4 g/dk debi ile ekstraksiyon gerçekleştirildiğinde diğer debilere oranla daha yüksek verim elde edilebileceği görülmektedir. Ancak yüksek verim eldesi için uzun ekstraksiyon süreleri gerekmektedir. Bu ise süreç açısından ve ekonomik açıdan istenilen bir durum değildir. Deneyler 5,7 g/dk CO₂

debisiyle gerçekleştirildiğinde ise ekstraksiyon süreleri kısalsa da toplam mikroalg yağ içeriğinin istenilen verimde ekstrakte edilemediği görülmüştür. Ekstraksiyon şartları, elde edilen yağ verimleri ve kütle aktarım modeli sonuçları göz önüne alındığında optimum koşulların 2,9 g/dk CO₂ debisi ile yapılan deneylerde sağlandığı görülmüştür. Bu yüzden bundan sonraki deneylere 2,9 g/dk CO₂ debisi ile devam edilmiştir.

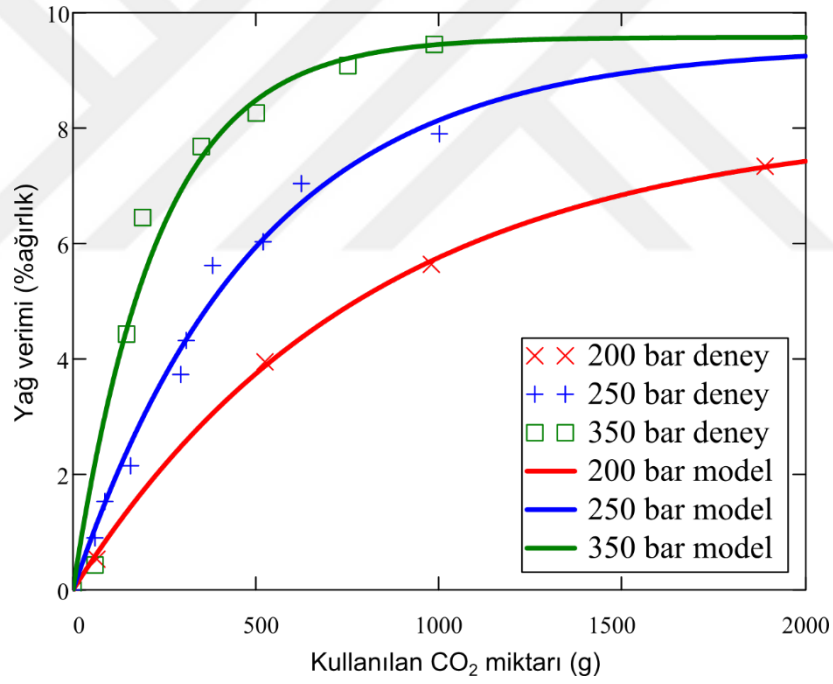
Literatürde benzer şartlarda benzer ekstraksiyon eğrilerinin elde edildiği çalışmalar mevcuttur. Ancak süperkritik CO₂ ile mikroalglerden yağ eldesi konusunda doğrudan debinin etkisi üzerine yapılmış çalışmalar sınırlıdır [6].

5.2 Basınca Göre Yağ Veriminin İncelenmesi

Basıncın yağ verimine etkisini incelemek için 200, 250 ve 350 bar'da 50 °C sabit sıcaklık ve 2,9 g/dk sabit CO₂ debisinde ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Yağ veriminin zamana ve CO₂ miktarına göre değişimi sırasıyla Şekil 5.3 ve Şekil 5.4'de gösterilmiş, değerler EK-C'de çizelge halinde verilmiştir. Şekillerden eşit ekstraksiyon sürelerinde ve kullanılan karbondioksit miktarlarında basınç arttıkça toplam yağ veriminin arttığı görülmüştür. Süperkritik akışkan sistemlerinde çözünenin çözünürlüğünün SKA'nın yoğunluğuna ve yoğunluğun basınca göre değişimi göz önünde bulundurulduğunda bu eğilim beklenen bir sonuçtur. Süperkritik karbondioksit yoğunluğu sabit sıcaklıkta basınç arttıkça artar. Bu nedenle basınç arttıkça süperkritik CO₂'nin çözme gücü de artışa geçer ve daha yüksek yağ verimleri elde edilebilir. Maksimum yağ verimi (%9,45) 350 bar'da, toplamda yaklaşık 986 g karbondioksitin kullanıldığı deney şartlarında elde edilmiştir. Literatürde basınç etkisinin incelendiği ve benzer basınç eğilimlerinin görüldüğü çalışmalar mevcuttur [130], [131]. Örneğin Cheung [130] un benzer basınç ve sıcaklık aralığında (241, 310, 379 bar basınç ve 40, 50 °C sıcaklık) yaptığı deneylerde de aynı eğilim görülmüştür. Ancak basıncın yağ ekstraksiyonu verimi üzerinde etkili olmadığı çalışmalar da mevcuttur [12], [124]. Basıncın etkili olmadığı çalışmaların ortak özelliği basınç değerlerinin 350 bar'dan yüksek olmasıdır. Bu çalışmada kullanılan ekstraksiyon düzeneğinde kullanılabilecek en yüksek basınç 350 bar olduğu için daha yüksek basınçlarda deneyler yapılamamıştır.



Şekil 5.3 Yağ veriminin üç farklı basınçta ekstraksiyon süresine göre değişimi



Şekil 5.4 Yağ veriminin üç farklı basınçta kullanılan CO₂ miktarına göre değişimi

Süreye ve kullanılan CO₂ miktarına göre elde edilen deney sonuçlarına kütle aktarım denklemi oturtulduğunda ulaşılan değişkenler sırasıyla Çizelge 5.3 ve Çizelge 5.4'te verilmiştir.

Çizelge 5.3 Zamana göre farklı basınçlarda elde edilen deney sonuçlarına oturtulan kinetik kütle aktarım modeli sonuçları

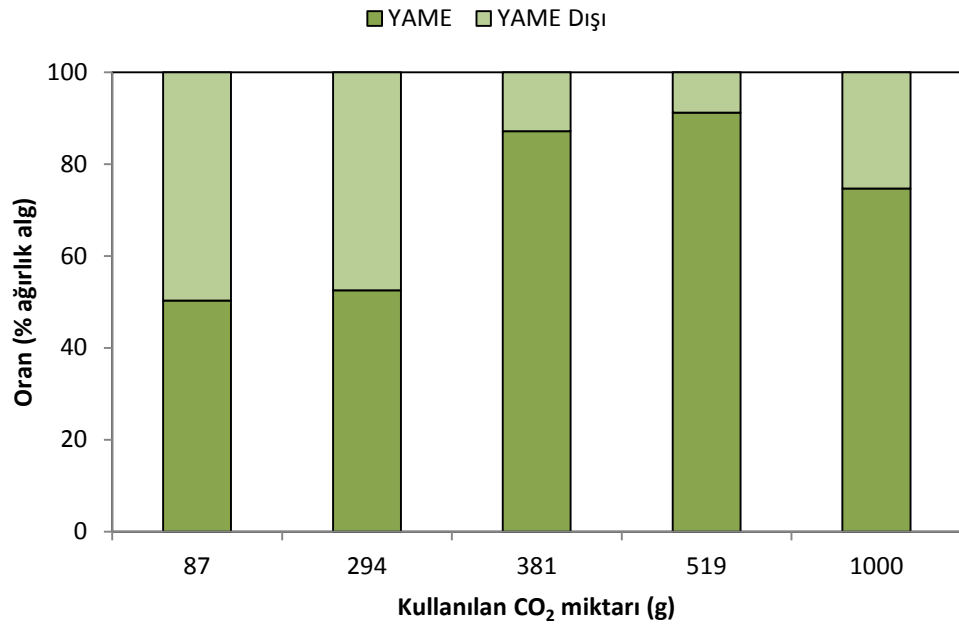
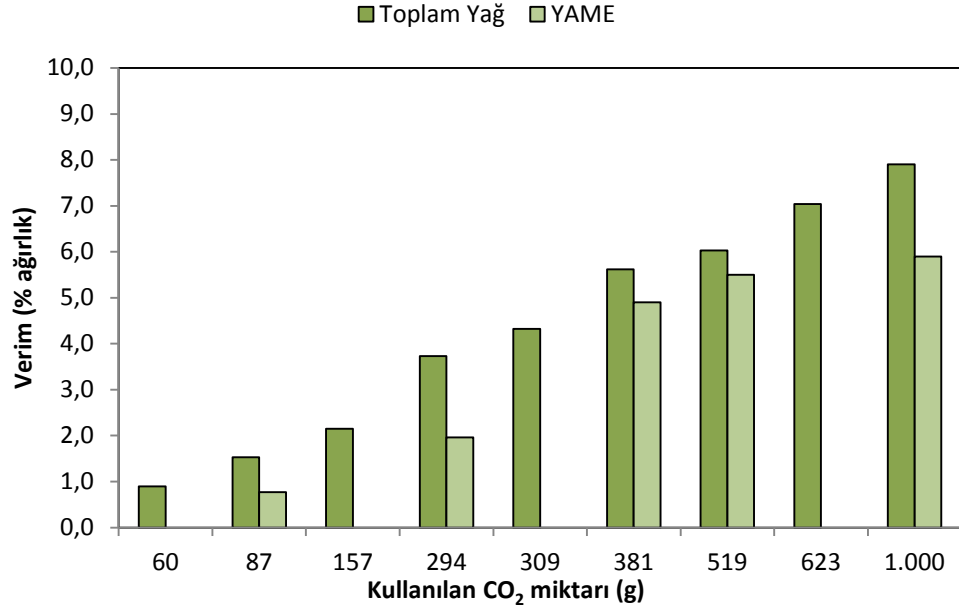
Basınç	$m_{s,0}$	k	R^2
200 bar	10,163	2,513e-3	%99,4
250 bar	9,075	6,151e-3	%99,4
350 bar	9,16	0,015	%93,7

Çizelge 5.4 Kullanılan CO₂ miktarına göre farklı basınçlarda elde edilen deney sonuçlarına oturtulan kinetik kütle aktarım modeli sonuçları

Basınç	$m_{s,0}$	k	R^2
200 bar	8,099	1,243e-3	%99,9
250 bar	9,42	1,996e-3	%98,6
350 bar	9,573	4,35e-3	%96,0

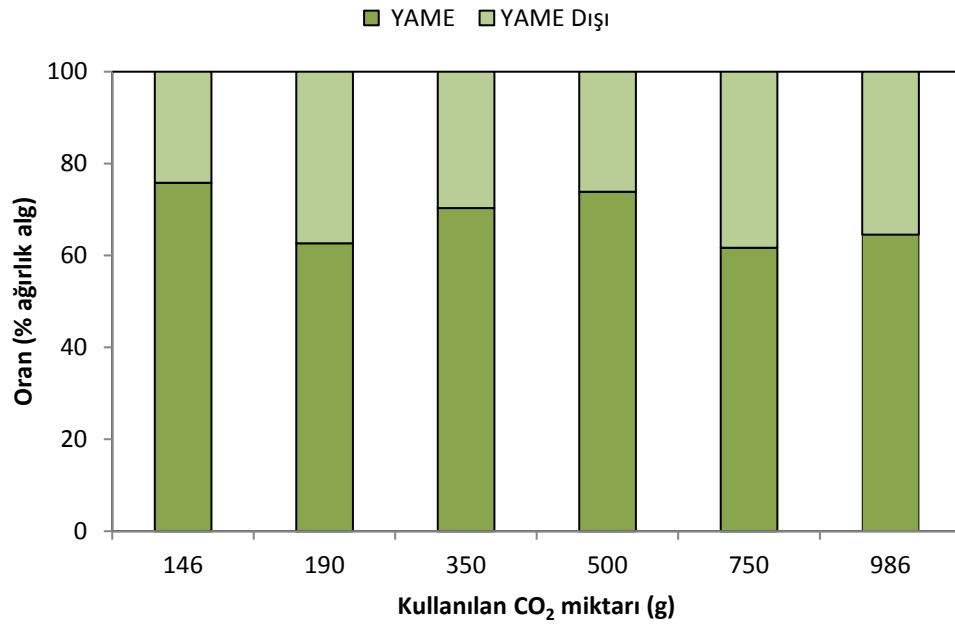
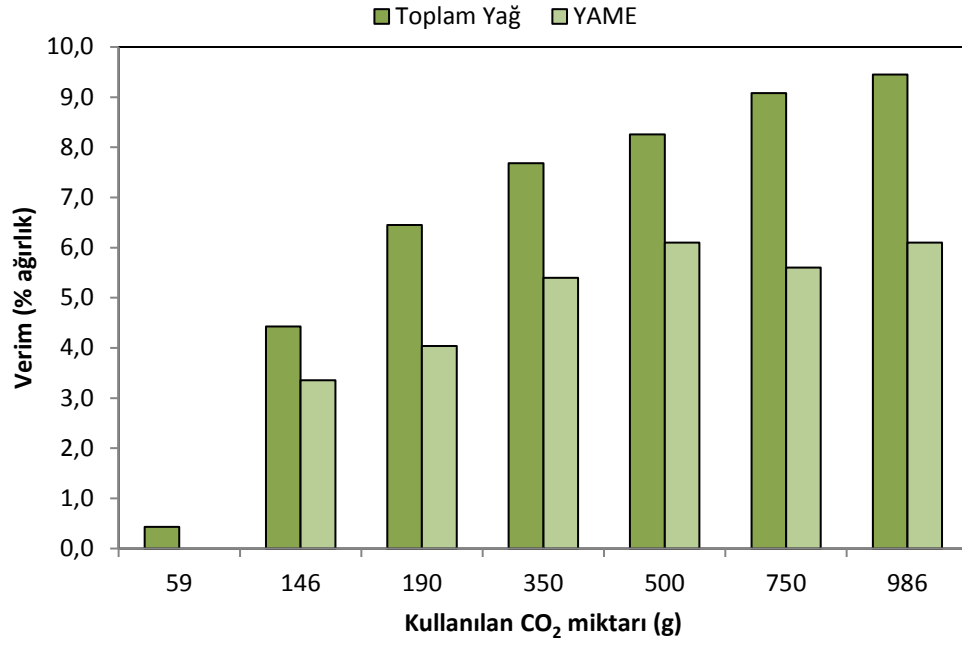
Bu çalışmada mikroalglerden yağ ekstraksiyonunun amacı biyodizel eldesi olduğu için 250 bar ve 350 bar basınçlarındaki yağ içeriği de incelenmiştir. Bu amaçla transesterifikasyon reaksiyonu gerçekleştirilerek elde edilen yağın hangi fraksiyonunun YAME'lere dönüştürülebildiği incelenmiştir. YAME analizi elde edilecek biyodizel ve yeşil dizelin kalitesi açısından önemlidir. Yüksek kalitede dizel için BYA (asilgliserol) düzeyinin artırılması ve SYA düzeyinin azaltılması istenmektedir. Benzer şartlarda elde edilen yağlardaki SYA düzeyi %5'in altında olduğu için YAME oranı, BYA oranı hakkında doğrudan bir fikir vermektedir [6].

250 bar basınçta ve 50 °C sıcaklıkta yapılan deneylerde Şekil 5.5'de görüldüğü gibi yağ verimi artışıyla birlikte YAME verimi de artmıştır. Yağ içeriği incelendiğinde yüksek YAME oranlarına 381 g ve üzeri karbondioksit kullanıldığı zaman ulaşılmıştır. 519 g CO₂ kullanımında maksimum YAME oranına (%90,5) ulaşılmış ancak daha fazla CO₂ kullanıldığında toplam YAME verimi artmasına rağmen YAME dışı kısmın oranında kısmi artış gözlenmiştir.



Şekil 5.5 50 °C sabit sıcaklıkta 250 bar'da (Üst) Toplam yağ ve YAME verimleri (Alt) Elde edilen yağdaki YAME ve YAME dışı kısımların oranları

350 bar 50 °C’de yapılan deneylerde elde edilen yağ verimi değerleri ve YAME oranları Şekil 5.6’da verilmiştir. YAME verimi 500 g CO₂ kullanılan bölüme kadar CO₂ miktarı ile birlikte artış göstermiştir, sonrasında sabit kalmıştır. Her iki basınçta elde edilen en yüksek YAME verimi değerleri yaklaşık olarak aynıdır, sadece 250 bar’da en yüksek YAME verimine 1000 g CO₂ ile ulaşılırken, 350 bar’da 500 g CO₂ ile ulaşılmaktadır. YAME ve YAME dışı kısımların oranları karşılaştırıldığında 350 bar’da elde edilen YAME oranları 250 bar’da bulunan oranlara göre daha düşük çıkmıştır. 250 bar’da YAME oranı 519 g CO₂ miktarına kadar artarak %90’ı bulurken, 350 bar’da YAME oranı dalgalı bir davranış göstermekte ve %80’i geçmemektedir. Ancak yağ içerisindeki YAME miktarı, 250 bar’da benzer karbondioksit miktarları kullanıldığında elde edilen sonuçlardan daha yüksektir ve en yüksek YAME verimi 350 bar’da elde edilmiştir. Elde edilen en yüksek YAME verimi %6,10’dur. 500 g ve üzerindeki karbondioksit kullanımında bu değere ulaşılmıştır. 500 g ve sonrası CO₂ kullanımında aynı verimin alınması yağ içerisindeki muhtemel YAME içeriğinin tamamına yakın bir kısmının ekstrakte edildiğini göstermektedir. Bu durum yüksek basınçta karbondioksit yoğunluğunun ve dolayısıyla çözme gücünün artmasından kaynaklanabilir. Soh ve Zimmerman [11] ın yaptığı çalışmada da benzer basınç aralığında basınç artışıyla YAME verimi artış eğilimi göstermektedir.



Şekil 5.6 50 °C sabit sıcaklıkta 350 bar'da (Üst) Toplam yağ ve YAME verimleri (Alt) Elde edilen yağ içeriğindeki YAME ve YAME dışı kısımların oranları

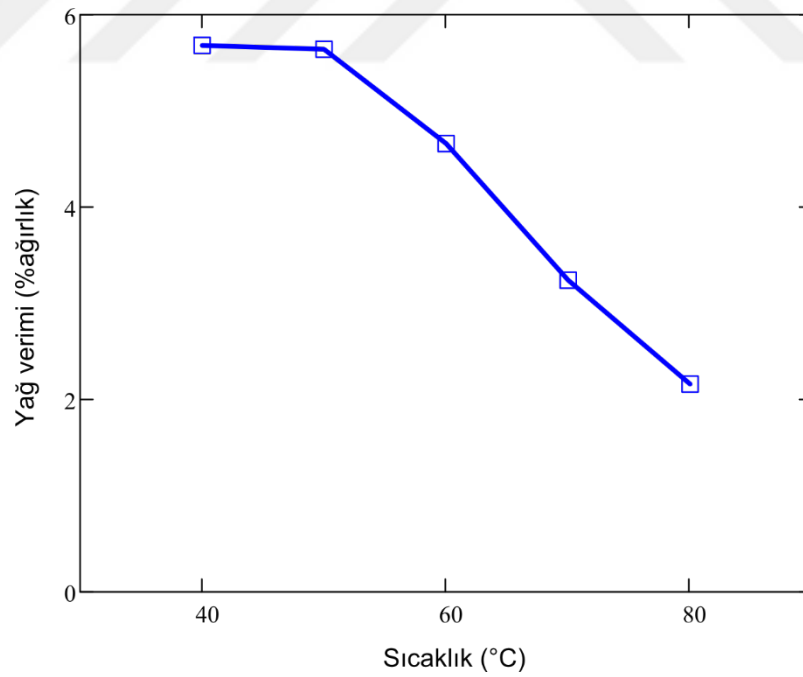
5.3 Sıcaklığa Göre Yağ Veriminin İncelenmesi

Sıcaklığın yağ verimi üzerindeki etkisini incelemek için 40 °C ile 80 °C aralığında 5 farklı sıcaklıkta deneyler yapılmıştır. Deneylerde 200 bar basınç ve 2,9 g/dk debide CO₂ kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 5.5 ve Şekil 5.7'de sunulmuştur. En yüksek yağ verimi 40 °C ve 50 °C'de elde edilmiştir. Sıcaklık arttırılmaya devam edildiğinde verimin hızla düştüğü gözlemlenmiştir. Bu düşüş sabit basınçta sıcaklığın arttırılması sonucu yağın karbondioksit içindeki çözünürlüğünün azalmasıyla açıklanabilir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde sıcaklık etkisine dair birbirinden farklı sonuçlar bulunmaktadır. Solana vd. [126] düşük (150 bar) ve yüksek (300 bar) sabit basınçlarda sıcaklığın yağ verimi üzerine etkisini görmek için 'Scenedesmus obliquus' türü mikroalg ile deneyler gerçekleştirmiş ve iki deneyden birbirinin zıttı sonuçlar elde etmiştir. Düşük basınçta, yağ verimi sıcaklık artışıyla azalırken yüksek basınçta, yağ verimi sıcaklık artışıyla artmıştır. Garcia Alba [6], bu çalışmada da kullanılan 'Desmodesmus sp' alg türü üzerinde benzer çalışma şartlarında deneyler yürütmüş, 250 ve 350 bar'da yapılan deneylerde en yüksek verimleri 50 °C'de elde etmiştir. Bjornsson [12] 'Nannochloropsis granulata' türü alg kullanarak 350 bar'da 270 dakika sabit ekstraksiyon süresinde sıcaklığı 55 °C'den 70 °C'ye yükselttiklerinde verimin yaklaşık iki katına çıktığını gözlemlemiştir. Mendes vd. [129] sabit basınçta yaptıkları deneylerde sıcaklık arttıkça yağ veriminin düştüğünü görmüştür. Cheung [130] ve Mendes vd. [131] de sıcaklık etkisini incelemek için deneylerini düşük ve yüksek olmak üzere iki farklı basınçta gerçekleştirmiş, sonuçları Solana vd. [126] çalışması ile benzer çıkmıştır. Tüm bu çalışmalar incelendiğinde genellikle 300 bar'ın altındaki basınçlarda sıcaklık artışıyla yağ veriminin düştüğü gözlemlenmiştir. Bunun yanında genellikle 300 bar ve üzerindeki yüksek basınçlarda yapılan deneylerde ise sıcaklık artışıyla verimin artış eğilimi gösterdiği görülmüştür. Bütün çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda sıcaklık artışı düşük basınçlarda verim düşüşüne ve yüksek basınçlarda verim artışına neden olduğu söylenebilir. Bu davranış ekstrakte edilen yağ veriminin eşsıcaklık eğrilerinin kesişim davranışı gösterdiğine işaret etmektedir. Ancak kesişim basıncının mikroalg türüne bağlı olarak her çözücü-çözünen sistemi için farklı olduğu görülmektedir. Bu çalışmada da kullanılan 'Desmodesmus sp' mikroalg türü için ise ekstraksiyon sisteminin çalışma aralığı olan 200-350 bar basınç aralığında kesişim davranışı gözlemlenmemiştir. Bu çalışmada elde edilen yağın içeriğini büyük oranda triasilgliserol oluşturmaktadır [6]. Triasilgliserol'ün çözünürlük davranışı önceki

Çalışmalardan incelendiğinde 400 bar'da kesişim noktası gösterdiği görülmektedir [121]. Bu yüzden gelecekte 400 bar ve üzerinde deneyler yapılarak sıcaklık artışıyla yağ verimi artışı gözlemlenebilir.

Çizelge 5.5 360 dakika sürede, 200 bar basınçta, 2,9 g/dk çözücü debisiyle ve %4,13 su içeren mikroalg peletleriyle yapılan ekstraksiyonda yağ veriminin sıcaklığa göre değişimi

Sıcaklık (°C)	CO ₂ miktarı (g)	Yağ verimi (%ağırlık)
40	980	5,68
50	978	5,64
60	976	4,66
70	984	3,24
80	991	2,16



şekil 5.7 Yağ veriminin sıcaklığa göre değişimi

5.4 Numune Türlerine Göre Yağ Veriminin İncelenmesi

Deneyler esnasında tanecik boyutunun verime etkisini incelemek için pelet numunesi boncuk bilyalı öğütücü (bead mill) kullanılarak toz haline getirilmiştir. Eş miktarda CO₂ kullanılarak gerçekleştirilen deneylerde elde edilen yağ verimleri Çizelge 5.6'da gösterilmiştir. Ekstraksiyonlarda öğütülmüş pelet kullanıldığında normal peletlere göre en fazla %40 daha yüksek (%1,42'den %2'ye artış) verim elde edilmiştir. Dondurularak kurutulmuş mikroalg kullanılarak yapılan ekstraksiyon deneylerinde elde edilen yağ verimi de pelet kullanılan deneylerden daha yüksektir. Literatürde mikroalglerden süperkritik CO₂ yöntemi ile ekstraksiyon sürecinde tanecik boyutu üzerine yoğunlaşan çok fazla çalışma bulunamamıştır. Mendes vd. [129], 'Chlorella vulgaris' türü mikroalgi farklı tanecik boyutlarında kullanarak ekstraksiyon deneyleri gerçekleştirmiş, öğütülmemiş mikroalg kullanımında %15 civarında olan toplam yağ verimi, öğütülmüş mikroalg kullanıldığında üç kattan fazla artarak %50'nin üzerine çıkmıştır. Bu çalışmada gözlemlenen artışın Mendes vd. [129] tarafından gözlemlenen artıştan çok daha az olması kullanılan öğütme yönteminin 'Desmodesmus sp' türü mikroalgin hücre duvarını tamamen parçalayamadığına işaret etmektedir. Mikroalg hücrelerinin yapıları ve öğütmeye karşı dirençleri farklılık gösterebileceğinden öğütme yöntemi mikroalg türüne göre seçilmelidir.

Çizelge 5.6 50 °C sıcaklıkta, 2,9 g/dk CO₂ debisiyle yapılan ekstraksiyonlarda farklı numune türlerinden elde edilen yağ verimleri

Numune türü	Su oranı (%)	Basınç (bar)	Süre (dk)	CO ₂ miktarı (g)	Yağ verimi (%ağırlık)
Öğütülmüş pelet	4,13	250	183	516	6,34
Pelet	4,13	250	172	512	6,03
Öğütülmüş pelet	4,13	250	30	140	2,00
Pelet	4,13	250	32	146	1,42
Dondurularak kurutulmuş alg hücresi	1,33	350	240	500	9,42
Pelet	4,13	350	181	500	8,25

5.5 Su İçeriğine Göre Yağ Veriminin İncelenmesi

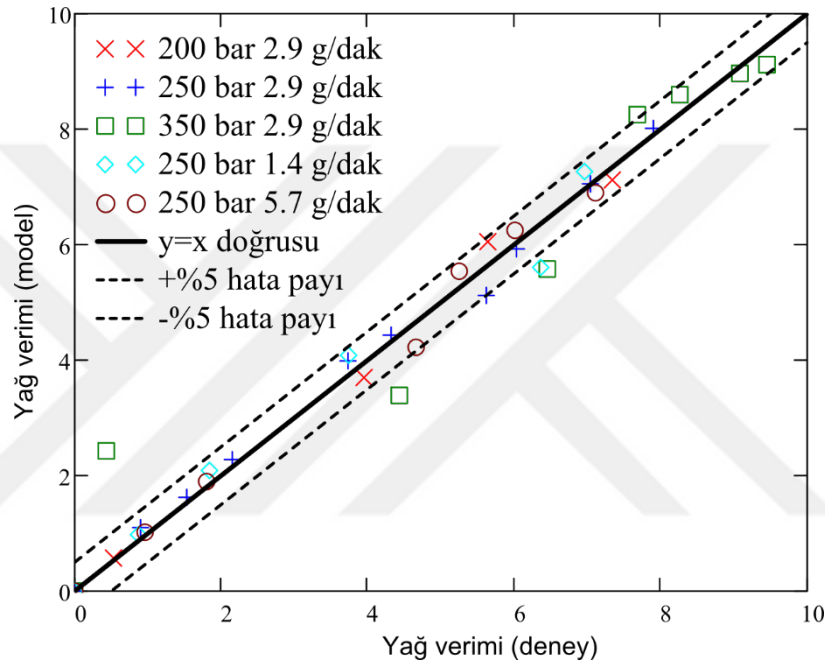
Birçok araştırmacı tarafından, ekstraksiyonda kullanılan biyokütlenin nem içeriğinin önemli olduğu ve kuru biyokütle kullanılmasıyla daha iyi sonuçlar alındığı raporlanmıştır [3], [84], [85]. Bu çalışmada da nem içeriğinin yağ verimine etkisini incelemek üzere deneyler gerçekleştirilmiştir. Deneyler esnasında yüksek nem içeriğine sahip mikroalg numuneleri sıklıkla ekstraktör giriş ve çıkışındaki filtrelerin tıkanmasına neden olmuş bu nedenle çok fazla sonuç alınamamıştır. Elde edilebilen bazı sonuçlar ise izelge 5.7'de sunulmuştur. Düşük nem içeriğine sahip numunelerden belirgin şekilde daha fazla yağ verimi elde edilmiştir. Mikroalglerden yağ ekstraksiyonunda suyun etkisini araştıran çalışma sayısı kısıtlıdır. Soh ve Zimmerman [11], eklenen suyun YAME içeriğine önemli bir etkisinin olmadığını söylerken, Halim vd. [13], su içeriği yüksek mikroalglerle diyatomit toprak ekleyerek daha fazla yağ ekstrakte ettiğini söylemektedir. Süperkritik CO₂ ekstraksiyonunda suyun etkisi hakkında iki farklı görüş hâkimdir [6]. İlk görüş suyun numuneye CO₂ difüzyonunu ve yağın numunenin dışına difüzyonunu engellediğı yönündedir [133]. İkinci görüş ise suyun mikroalg hücre duvarının şişmesine neden olarak yağ geçirgenliğini arttırdığı yönündedir [134]. Bu çalışmada yüksek nem içeriği yağ veriminde belirgin bir düşüşe neden olmuştur. Bu düşüşün diğerk bir nedeni de nemli alglerin ekstraktrdeki filtreleri tıkanması olabilir. Tıkanmayı engellemek için numunenin ekstraksiyon esnasında karıştırıldığı sistemler önerilebilir.

Çizelge 5.7 50 C sıcaklıkta, 2,9 g/dk CO₂ debisiyle yapılan ekstraksiyonlarda farklı su içeriğine sahip numunelerden elde edilen yağ verimleri

Su oranı (%)	Basınç (bar)	Süre (dk)	CO ₂ miktarı (g)	Yağ verimi (%ağırlık)
4,13	300	361	980	8,52
25	300	360	951	7,34
4,13	250	135	381	5,62
80	250	176	404	1,21

5.6 Deney Sonuçlarının Kütle Aktarım Modeliyle Karşılaştırılması

Kinetik kütle aktarım modeli sonuçları Şekil 5.8'de deney sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçların çok büyük bir kısmı $\pm 5\%$ hata payının içerisinde kalmaktadır. Sapmanın en fazla olduğu nokta 350 bar basınçta ekstraksiyonun başındaki deneysel noktadır. Bu noktadaki sapma tekrarlanabilirlik deneylerinde de gözlemlenen yüksek basınç nedeniyle deneyin başlangıcında hassas ölçüm yapılamaması nedeniyle gerçekleşmektedir. Sapmaya neden olan bu nokta elendiğinde, model ile deney arasında bir uyum gözlemlenmektedir.



Şekil 5.8 Kinetik kütle aktarım modeli ve deney sonuçlarının karşılaştırılması

BÖLÜM 6

SONUÇ VE ÖNERİLER

Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu yöntemiyle mikroalglerden yağ eldesi deneylerinde basınç, sıcaklık, karbondioksit debisi, mikroalgin su içeriği ve numunenin tanecik boyutunun yağ verimine etkisi incelenerek en uygun şartlar bulunmaya çalışılmıştır. Sabit sıcaklık (50 °C) ve basınçta (250 bar) CO₂ debisinin yağ verimine etkisini incelemek için 1,4, 2,9 ve 5,7 g/dk CO₂ akış hızlarıyla deneyler gerçekleştirilmiştir. En yüksek debi olan 5,7 g/dk'da diğer debilere göre daha düşük toplam yağ verimi elde edilmiştir. En düşük debide (1,4 g/dk) toplam yağ veriminin daha yüksek olabileceği tahmin edilirken bu verimlere ulaşmak için 7 saatten uzun deneyler gerekmektedir. Toplam yağ verimi ve makul ekstraksiyon süreleri göz önünde bulundurularak 2,9 g/dk CO₂ debisinin en uygun değer olduğuna karar verilmiş ve deneylere bu debiyle devam edilmiştir.

Basıncın etkisini incelemek için sabit sıcaklık (50 °C) ve sabit debide (2,9 g/dk) 200, 250 ve 350 bar'da deneyler gerçekleştirilmiştir. Bu deneylerde basıncın hem yağ verimine hem de YAME oranına etkisi incelenmiştir. Yağ verimi basınç artışıyla artış göstermiş ve en yüksek verim (%9,45) 350 bar'da, toplamda yaklaşık 986 g karbondioksitin kullanıldığı deney şartlarında elde edilmiştir. YAME miktarı da basınçla doğru orantılı olarak artmıştır. Yağ içindeki YAME oranları incelendiğinde, 250 bar'da daha yüksek değerlere (%90,5) ulaşılmıştır. YAME oranları 350 bar'da yapılan deneylerde %70 civarında olmasına rağmen elde edilen toplam YAME miktarı (toplam alg kütlelerinin %6,1'i) 250 bar'da bulunan YAME miktarından daha yüksektir. Süperkritik ekstraksiyonla elde edilen yağ verimleri referans metod olarak kullanılan B&D metoduyla elde edilen yağ veriminden (%21,4) daha düşük olmasına rağmen

biyodizel kalitesi için YAME oranlarının da göz önünde bulundurulması gereklidir. B&D metodunda elde edilen YAME oranı ($\%9,89 / \%21,4 = \%46$) çok düşüktür. Bu nedenle kaliteli biyodizel eldesi için süperkritik CO₂ metodunun kullanılması daha uygundur.

Sıcaklığın yağ verimi üzerindeki etkisini incelemek için 40 °C ile 80 °C aralığında 5 farklı sıcaklıkta deneyler yapılmıştır. Deneylerde 200 bar basınç ve 2,9 g/dk debide CO₂ kullanılmış, en yüksek yağ verimi 40 °C ve 50 °C'de elde edilmiştir. Sıcaklık arttırılmaya devam edildiğinde verimin hızla düştüğü gözlemlenmiştir. Bu davranış düşük basınçlarda sıcaklık arttırıldığında elde edilen yağın büyük kısmını oluşturan triasilgliserol çözünürlüğünün düşmesiyle açıklanabilir. Literatürde bazı alg türleri için düşük ve yüksek sabit basınçlarda sıcaklık artışının yağ veriminde birbirine zıt davranışlara neden olduğu görülmüştür. Bu çalışmada kullanılan mikroalg türüyle 350 bar'a (sistemin çıkabildiği en yüksek basınç) kadar yapılan deneylerde bu davranış gözlemlenmemiştir. Deney sonuçları ve triasilgliserolün çözünürlük davranışı göz önünde bulundurulduğunda sıcaklık artışıyla yağ veriminde artış gözlemlemek için daha yüksek basınçlarda çalışılması önerilebilir.

Numune türünün etkisini incelemek için üç tür numune (pelet, öğütülmüş pelet ve dondurularak kurutulmuş mikroalg hücreleri) kullanılmıştır. Deneylerin genelinde kullanılan pelet ile karşılaştırıldığında öğütülmüş peletlerden ve dondurularak kurutulmuş mikroalg hücrelerinden daha yüksek yağ verimi elde edilmiştir. Yağ verimini arttırmak için mikroalglerin öğütülmesi veya dondurularak kurutulması önerilebilir. Su içeriğinin yağ verimine etkisini incelemek için deneylerin genelinde kullanılan %4,13 su içeren numuneler yerine %25 ve %80 su içeren numuneler kullanıldığında yağ veriminde belirgin bir düşüş gözlemlenmiştir. Bu düşüş nemli alglerin ekstraktördeki filtreleri tıkamasından kaynaklanabilir. Tıkanmayı engellemek için numunenin ekstraksiyon esnasında karıştırıldığı sistemler önerilebilir.

Deney sonuçlarına ampirik kinetik kütle aktarım modeli oturtulmuştur. Elde edilen sonuçların çok büyük bir kısmı ± 5 hata payının içerisinde kalmaktadır. Sapmanın en fazla olduğu nokta 350 bar basınçta ekstraksiyonun başındaki deneysel noktadır. Bu noktadaki sapma tekrarlanabilirlik deneylerinde de gözlemlenen yüksek basınç nedeniyle deneyin başlangıcında hassas ölçüm yapılamaması nedeniyle gerçekleşmektedir. Sapmaya neden olan bu nokta elendiğinde, model ile deney arasında bir uyum gözlemlenmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Meher, L.C., Vidya Sagar, D. ve Naik, S.N., (2006). “Technical Aspects Biodiesel Production by Transesterification—A Review”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 10 (3): 248-268.
- [2] Pragma, N., Pandey, K.K. ve Sahoo, P.K., (2013). “A Review on Harvesting, Oil Extraction and Biofuels Production Technologies from Microalgae”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 24: 159-171.
- [3] Soydemir, G., (2016). Atıksu Ortamında Yetiştirilen Mikroalgelerin Yağının Karakterizasyonu ve Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [4] Suganya T., Varman M., Masjuki H.H. ve Renganathan, S., (2016). “Macroalgae and Microalgae as a Potential Source for Commercial Applications along with Biofuels Production: A Biorefinery Approach”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55: 909-941.
- [5] Mata, T.M., Martins, A.A. ve Caetano, N.S., (2010). “Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14: 217-232.
- [6] Garcia Alba, L., (2013). Algae Biorefinery: An Experimental Study on Liquid Fuels Production and Nutrients Recycling, Phd. Thesis, University of Twente, Enschede.
- [7] Sturm, B.S. ve Lamer, S.L., (2011). “An Energy Evaluation of Coupling Nutrient Removal from Wastewater with Algal Biomass Production” *Applied Energy*, 88 (10): 3499-3506.
- [8] Chen C.L., Huang C.C., Ho K.C., Hsiao P.X., Wu M.S. ve Chang J.S., (2015). “Biodiesel Production from Wet Microalgae Feedstock Using Sequential Wet Extraction/Transesterification and Direct Transesterification Processes”, *Bioresource Technology*, 194: 179-186.
- [9] Metting, F.B., (1996). “Biodiversity and Application of Microalgae”, *Journal of Industrial Microbiology*, 17(5-6): 477-489.
- [10] Chisti, Y., (2007). “Biodiesel from Microalgae.”, *Biotechnology Advances*, 25 (3): 294-306.

- [11] Soh, L. ve Zimmerman, J., (2011). “Biodiesel Production: The Potential of Algal Lipids Extracted with Supercritical Carbon Dioxide”, *Green Chem.*, 13(6): 1422-1429.
- [12] Bjornsson, W.J., MacDougall, K.M., Melanson, J.E., O’leary, S.J.B., ve McGinn, P. J., (2012). “Pilot-Scale Supercritical Carbon Dioxide Extractions for the Recovery of Triacylglycerols from Microalgae: A Practical Tool for Algal Biofuels Research” *Journal of Applied Phycology*, 24(3): 547-555.
- [13] Halim, R., Gladman, B., Danquah, M.K. ve Webley, P.A., (2011). “Oil Extraction from Microalgae for Biodiesel Production”, *Bioresource Technology*, 102(1):178–85.
- [14] Lee, R.E., (1989). *Phycology*, 2nd Ed., Cambridge University Press, Cambridge.
- [15] Li, Y., (2016). *Bioenergy: Principles and Applications*, Chapter 11, John Wiley & Sons.
- [16] Schirrmester, B.E., Antonelli, A., ve Bagheri, H.C., (2011). “The Origin of Multicellularity in Cyanobacteria”, *BMC Evolutionary Biology*, 11: 45.
- [17] Demiriz, T., (2008). Bazı Alg Türlerinin Antibakteriyal Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [18] Cirik, Ş. ve Cirik, S. (2011), Su Bitkileri I (Deniz Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi, Yetiştirme Teknikleri), Ege Üniversitesi Yayınları, Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No: 58, Bornova-İzmir, 135 – 145.
- [19] Gümüş, G., (2006). Deniz Marulunun Kimyasal Kompozisyonunun Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- [20] Aktar, S. ve Cebe G., (2010). “Alglerin Genel Özellikleri, Kullanım Alanları ve Eczacılıktaki Önemi”, *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 39 (3):237-264.
- [21] Prescott, L.M., Harley, J.P. ve Klein, O.A., (2002). *The Diversity of the Microbial World, The Algae, Microbiology*, 5th Edition, McGraw-Hill Publisher, New York.
- [22] Bixler, H.J. ve Porse, H., (2010). “A Decade of Change in the Seaweed Hydrocolloids Industry”, *Journal of Applied Phycology*, 23: 321-335.
- [23] Gamal, A.A., (2010). “Biological Importance of Marine Algae”, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18: 1-25.
- [24] Mchugh, D.J., (2003). *A Guide to the Seaweed Industry*, Fao Fishers, Technical Paper, No 441, FAO, Rome.
- [25] Zhang, J., Tiller, C., Shen, J., Wang, C., Girouard, G.S., Dennis, D., Barrow, C.J., Miao, M. ve Ewart, H.S., (2007). “Antidiabetic Properties of Polysaccharide and Polyphenolic Enriched Fractions from the Brown Seaweed *Ascophyllum Nodosum*”, *Canadian Journal of Physics and Pharmacy*, 85: 115-123.
- [26] Guner, H. ve Aysel, V., (1989). Tohumuz Bitkiler I. Cilt Algler, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 45-56.

- [27] Zeybek, N., Zeybek, U. ve Saygıner, B., (2003). *Farmasötik Botanik*, Meta Basımevi, İzmir, 102-103.
- [28] Hoppe, H. A., Levring, T. ve Tanaka, Y., (1979). *Marine Algae in Pharmaceutical Science*, Walter de Gruyter, Berlin, New York.
- [29] Guven, K.C., Bora, A. ve Sunam, G., (1969). "Alkaloid Content of Marine Algae: I. Hordenine from *Phyllophora Nervosa*", *Eczacılık Bülteni* XI., 177-184.
- [30] Mason, C.P., (1977). "Studies of Marine Algal Proteins Using Acrylamide Gel Electrophoresis", Abstracts of the IX. International Seaweed Symposium, Santa Barbara, California, *Journal of Phycology*, 13. Supplement.
- [31] Blunden, G., (1991). "Agricultural Uses of Seaweeds and Seaweed Extracts", *Seaweed Resources in Europe: Uses and Potential*. Ed.; Derleyen: Guiry, M. ve Blunden, G., John Wiley and Sons, New York, 66 – 81.
- [32] Chapman, V.J. ve Chapman, D.G., (1980). *Seaweeds and Their Uses*, 2nd Edition, London.
- [33] Mouritsen, O.G., (2013). *Seaweeds: Edible, Available, and Sustainable*, University of Chicago Press, Chicago, 272.
- [34] Indergaard, M. ve Minsaas, J., (1991). "Animal and Human Nutrition", *Seaweed Resources in Europe: Uses and Potential*. Ed.; Derleyen: Guiry, M. ve Blunden, G., John Wiley and Sons, New York, 22 – 65.
- [35] Guner, H. ve Aysel, V., (1977). "A Taxonomic Study on Some Species *Ulva* (Chlorophyta) in Izmir Bay", *Ege University Journal of Faculty of Science*, B1, 241-251.
- [36] Haris, R.S., (1963). Vitamin K in *Comprehensive Biochemistry* Vol. 9: Pyrrole Pigments, Isoprenoid Compounds and Phenolic Plant Constituents; Derleyen: Florkin M. ve Stotz E., Elsevier, New York, 192-198.
- [37] Nwosu, F., Morris, J., Lund, V.A., Stewart, D., Ross, H.A. ve McDougall, G.J., (2011). "Antiproliferative and Potential Antidiabetic Effects of Phenolic Rich Extracts from Edible Marine Algae", *Food Chemistry*, 126: 1006-1012.
- [38] Becker, W., (2004). "Microalgae in Human and Animal Nutrition"; Derleyen: Richmond, A., *Handbook of Microalgal Culture*, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 312–351.
- [39] Fleurence, J., Morancais, M., Dumay, J., Decottignies, P., Turpin, V., Munier, M., Garcia- Bueno, N. ve Jaouen, P., (2012). "What are the Prospects for Using Seaweed in Human Nutrition and for Marine Animals Raised Through Aquaculture?", *Trends Food Sci. Technol.*, 27: 57–61.
- [40] Rajapakse, N. ve Kim, S.K., (2011). "Nutritional and Digestive Health Benefits of Seaweed", *Adv. Food Nutr. Res.*, 64: 17–28.
- [41] MacArtain, P., Gill, C.I., Brooks, M., Campbell, R. ve Rowland, I.R., (2007). "Nutritional Value of Edible Seaweeds", *Nutr. Rev.*, 65: 535–543.
- [42] Takagi, M., (1975). *Seaweeds as Medicine*, in *Advance of Phycology in Japan*; Derleyen: Tokida, J. ve Hirose, H., Gustav Fischer Verlag, Jena, 321-327.

- [43] Meenakshi, S., Umayaparvathi, S., Arumugam, M. ve Balasubramanian, T., (2012). "In Vitro Antioxidant Properties and FTIR Analysis of Two Seaweeds of Gulf of Mannar", *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 66-70.
- [44] Orhan, B.S., Atici, T., Brun, R., Perozza, R. ve Tasdemir, D., (2006). "Turkish Freshwater and Marine Macrophyte Extracts In Vitro Anti Protozoal Activity and Inhibit FabI, a Key Enzyme of Plasmodium Falciparum Fatty Acid Biosynthesis", *Phytomedicine*, 13: 388-393.
- [45] Schwimmer, M. and Schwimmer, D., (1955). *The Role of Algae and Plankton in Medicine*, Grune&Stratton, New York, London, 5-22.
- [46] Tanka, Y., (1969). "Application of Metal Binding Properties of Marine Algae in Medicine", In *Proceedings of the Food-drugs from the Sea Symposium*, Marine Technology Society, 351-357.
- [47] De Roeck-Holtzhauer, Y., (1991). "Uses of Seaweeds in Cosmetics.", *Seaweed Resources in Europe: Uses and Potential*; Derleyen: Guiry, M. ve Blunden, G., John Wiley and Sons, New York, 83 – 94.
- [48] Dhargalkar, V.K. ve Pereira, N., (2005). "Seaweed: Promising Plant of the Millenium", *Science and Culture*, 71(3-4): 60-66.
- [49] Fitton, J.H., Irhimeh, M. ve Falk, N., (2007). "Macroalgal Fucoidan Extracts: A New Opportunity for Marine Cosmetics", *Cosmetics and Toiletries Magazine*, 122(8): 55 – 64.
- [50] Charlier, R.H. ve Chaineux, M.C.P., (2009). "The Healing Sea: A Sustainable Coastal Ocean Resource: Thallasotherapy", *Journal of Coastal Research*, 25 (4): 838-856.
- [51] Sharma, O. P., (1986). *Text Book of Algae*, 395, New Delhi.
- [52] Maity, J.P., Bundschuh, J., Chen, C.Y. ve Bhattacharya, P., (2014). "Microalgae for Third Generation Biofuel Production, Mitigation of Greenhouse Gas Emissions and Wastewater Treatment: Present and Future Perspectives – A Mini Review", *Energy*, 78: 104-113.
- [53] Sanchez E., Ojeda K., El-Halwagi M. ve Kafarov V., (2011). "Biodiesel from Microalgae Oil Production in Two Sequential Esterification/Transesterification Reactors: Pinch Analysis of Heat Integration", *Chemical Engineering Journal*, 176: 211-216.
- [54] Rawat I., Ranjith Kumar R., Mutanda T. ve Bux F., (2011). "Dual Role of Microalgae: Phycoremediation of Domestic Wastewater and Biomass Production for Sustainable Biofuels Production", *Applied Energy*, 88 (10): 3411-3424.
- [55] Say, A.N., Keriş, Ü.D., Şen, Ü. ve Gürol, M.D., (2010). "Mikroalglerden Biyokütle Enerjisi Üretimi ve Türkiye", 8. Ulusal Temiz Enerji Sempozyumu (UTES10), 1-5 Aralık, Bursa, Türkiye, 263-271.
- [56] Yang, F., Cheng, C., Long, L., Hu, Q., Jia, Q., Wu, H., Xiang, W. ve Accepted, J., (2015). "Extracting Lipids from Several Species of Wet Microalgae Using Ethanol at Room Temperature", *Energy and Fuels*, 29 (4): 2380-2386.

- [57] Li, Y., Horsman, M., Wang, B., Wu, N. ve Lan, C.Q., (2008). "Effects of Nitrogen Sources on Cell Growth and Lipid Accumulation of Green Alga *Neochloris Oleoabundans*", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81 (4): 629-636.
- [58] Pittman, J.K., Dean, A.P. ve Osundeko, O., (2011). "The Potential of Sustainable Algal Biofuel Production Using Wastewater Resources", *Bioresource Technology*, 102 (1): 17-25.
- [59] Razeghifard, R., (2013). *Natural and Artificial Photosynthesis: Solar Power as an Energy Source*, Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
- [60] Zhao, B., ve Su, Y., (2014). "Process Effect of Microalgal-Carbon Dioxide Fixation and Biomass Production: A Review Renewable and Sustainable Energy Reviews", 31: 121-32.
- [61] Preetha, K., John, L., Subin, C.S. ve Vijayan, K.K., (2012). "Phenotypic and Genetic Characterization of *Dunaliella* (Chlorophyta) from Indian Salinas and Their Diversity", *Aquatic Biosystems*, 8: 27.
- [62] Cai, T., Park, S.Y. ve Li, Y. (2013), "Nutrient Recovery from Wastewater Streams by Microalgae: Status and Prospects", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 19: 360-69.
- [63] Shen, Y., Yuan, W., Pei, Z.J., Wu, Q. ve Mao, E., (2009). "Microalgae Mass Production Methods", *Transactions of the ASABE*, 52: 1275-87.
- [64] Huang G., Chen F., Wei D., Zhang X. ve Chen G., (2010). "Biodiesel Production by Microalgal Biotechnology", *Applied Energy*, 87 (1): 38-46.
- [65] Gudín, C. ve Thepenier, C., (1986). "Bioconversion of Solar Energy into Organic Chemicals by Microalgae", *Advances in Biotechnological Processes*, 6: 73-110.
- [66] Lardon, L., Helias, B. Steyer, J. ve Bernard, O., (2009). "Life-Cycle Assessment of Biodiesel Production from Microalgae", *Environmental Science and Technology*, 43(17): 6475-6481.
- [67] Amin, S., (2009). "Review on Biofuel Oil and Gas Production Processes from Microalgae", *Energy Conversion and Management*, 50, 1834-1840.
- [68] Patil, V., Tran, K-Q. ve Giselräd, H.R., (2008). "Towards Sustainable Production of Biofuels from Microalgae", *International Journal of Molecular Science*, 9: 1188-1195.
- [69] Huber, G.W., Iborra, S. ve Corma, A., (2006). "Synthesis of Transportation Fuels From Biomass: Chemistry, Catalysts and Engineering", *Chemical Reviews*, 106: 4044-4098.
- [70] Brennan, L. ve Owende, P., (2010). "Biofuels from Microalgae – A Review of Technologies for Production, Processing and Extractions of Biofuels And Co-Products", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14: 557 – 557.
- [71] McKendry, P., (2002). "Energy Production from Biomass (part 2): Conversion Technologies", *Bioresource Technology*, 83: 47-54.

- [72] Papadikis, K., Gu, S., Bridgwater, A.V. ve Gerhauser, H., (2009). "Application of CFD to Model Fast Pyrolysis of Biomass" *Fuel Processing Technology*, 90: 505-5012.
- [73] Bridgwater, A.V., (1999). *Fast Pyrolysis of Biomass: A Handbook*, Vol.1, Ed.; CPL Press: Newbury, Berkshire, U.K.
- [74] Bridgwater, A.V., Toft, A.J. ve Brammer, J.G., (2002). "A Techno-Economic Comparison Of Power Production By Biomass Fast Pyrolysis With Gasification And Combustion", *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, 6, 181-248.
- [75] Manish, S. ve Banerjee, R., (2008). "Comparison of Bio Hydrogen Production Processes", *International Journal of Hydrogen Energy*, 33, 279-286.
- [76] Kapdan, I.K. ve Kargi, F., (2006), "Bio-Hydrogen Production from Waste Materials", *Enzyme and Microbial Technology*, 38: 569-582.
- [77] Genç, N., (2009). "Biyolojik Hidrojen Üretim Prosesleri", *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(2): 17-36.
- [78] Kates, M., (1986). *Lipid Extraction Procedures, Techniques of Lipidology Isolation, Analysis and Identification of Lipids*, Amsterdam: Elsevier Science Publisher.
- [79] Medina, A.R., Grima, E.M., Gimenez, A.G. ve Ibanez, M.J., (1998). "Downstream Processing of Algal Polyunsaturated Fatty Acids", *Biotechnology Advances*, 16(3): 517-80.
- [80] Bligh E.G. ve Dyer W.J.A., (1959). "Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification", *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37 (8): 911-915.
- [81] Mansour M.P., (2005). "Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography Purification of Methyl Esters of C16-C28 Polyunsaturated Fatty Acids in Microalgae, Including Octacosaoctanoic Acid [28:8(n-3)]", *Journal of Chromatography A*, 1097 (1-2): 54-58.
- [82] Johnson M.B.ve Wen Z., (2009). "Production of Biodiesel Fuel from the Microalga *Schizochytrium Limacinum* by Direct Transesterification of Algal Biomass", *Energy and Fuels*, 23 (10): 5179-5183.
- [83] Sanchez A., Maceiras R., Cancela A. ve Rodriguez M., (2012). "Influence of n-hexane on in Situ Transesterification of Marine Macroalgae", *Energies*, 5 (2): 243-257.
- [84] Cheng C.H., Du T.B., Pi H.C., Jang S.M., Lin Y.H. ve Lee H.T., (2011). "Comparative Study of Lipid Extraction From Microalgae by Organic Solvent and Supercritical CO₂", *Bioresource Technology*, 102 (21): 10151-10153.
- [85] Lewis T., Nichols P.D. ve McMeekin T.A., (2000). "Evaluation of Extraction Methods for Recovery of Fatty Acids from Lipid-Producing Microheterotrophs", *Journal of Microbiological Methods*, 43: 107-116.
- [86] Lee J.Y., Yoo C., Jun S.Y., Ahn C.Y. ve Oh H.M., (2010). "Comparison of Several Methods for Effective Lipid Extraction from Microalgae.", *Bioresource Technology*, 101 Suppl (1): 75-77.

- [87] Allen, R.R., (1982). "Hydrogenation" in Bailey's Industrial Oil and Fat Products: Derleyen: Swern, D., Vol. 2, 4th Ed., John Wiley & Sons Inc., New York, USA,1-95.
- [88] Bayaz, M., (2001). "Yağların Katalitik Hidrojenasyonunda İşlem Parametrelerinin Selektivite ve İzomer Yapı Oluşumu Üzerindeki Etkileri", Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- [89] Van Der Spek, J.J., (2010). "Oil from Microalgae", Technical Report TCCB / University of Twente, 7-33.
- [90] Miao X. ve Wu Q., (2006). "Biodiesel Production from Heterotrophic Microalgal Oil.", Bioresource Technology, 97 (6): 841-846.
- [91] Velasquez-Orta, S.B., Lee, J.G.M. ve Harvey, A., (2012). "Alkaline in situ Transesterification of Chlorella Vulgaris", Fuel, 94: 544-550.
- [92] Kim, J., Yoo G., Lee, H., Lim, J., Kim, K., Kim, C.W., Park, M.S., ve Yang, J.W. (2013). "Methods of Downstream Processing for the Production of Biodiesel From Microalgae", Biotechnology Advances, 31 (6): 862-876.
- [93] Ma, F., ve Hanna, M.A., (1999). "Biodiesel Production: A Review". Bioresource Technology, 70(1): 1-15.
- [94] Zhang, Y., Dube, M.A., McLean, D. ve Kates, M., (2003). "Biodiesel Production from Waste Cooking Oil: 1. Process Design and Technological Assessment", Bioresource Technology, 89 (1): 1-16.
- [95] Georgogianni, K.G., Katsoulidis, A.P., Pomonis, P.J. ve Kontominas, M.G., (2009). "Transesterification of Soybean Frying Oil to Biodiesel Using Heterogeneous Catalysts", Fuel Processing Technology, 90 (5): 671-676.
- [96] Sprules, F.J. ve Price, D., (1950). "Production of Fatty Esters". U.S. Patent 2,494,366.
- [97] Sharma, Y.C., Singh, B. ve Upadhyay, S.N., (2008). "Advancements in Development and Characterization of Biodiesel: A Review", Fuel, 87 (12): 2355-2373.
- [98] Barnwal, B.K. ve Sharma, M.P., (2005). "Prospects of Biodiesel Production from Vegetable Oils in India", Renewable and Sustainable Energy Reviews, 9 (4): 363-378.
- [99] Ehimen, E.A., Sun, Z. ve Carrington, G.C., (2012). "Use of Ultrasound and Co-Solvents to Improve the In-Situ Transesterification of Microalgae Biomass", Procedia Environmental Sciences, 15: 47-55.
- [100] Haas, M.J. ve Wagner, K., (2011). "Simplifying Biodiesel Production: The Direct or In Situ Transesterification of Algal Biomass", European Journal of Lipid Science and Technology, 113 (10): 1219-1229.
- [101] Velasquez-Orta, S.B., Lee, J.G.M. ve Harvey, A.P., (2013). "Evaluation of YAME Production from Wet Marine and Freshwater Microalgae by In Situ Transesterification", Biochemical Engineering Journal, 76: 83-89.
- [102] Kim, B., Im, H. ve Lee, J.W., (2015). "In Situ Transesterification of Highly Wet Microalgae Using Hydrochloric Acid", Bioresource Technology, 185: 421-425.

- [103] Lam, M.K. ve Lee, K.T., (2012). "Microalgae Biofuels: A Critical Review of Issues, Problems and the way Forward", *Biotechnology Advances*, 30 (3): 673-690.
- [104] Sarıkaya, Y., (1993). *Fizikokimya*, Gazi Büro Kitabevi, ISBN:975-7313-00-9, Ankara.
- [105] Söğüt, O.Ö., (2011). *Süperkritik Su Oksidasyonu ile Endüstriyel Atık Suların Arıtılması*, Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [106] Krammer, P. ve Vogel, H., (2000). "Hydrolysis of Esters in Subcritical and Supercritical Water", *Journal of Supercritical Fluids*, 16: 189–206.
- [107] Gümüş, D., (2009). *Bir Tekstil Fabrikası Atıksuyunun Süperkritik Su Oksidasyonu ile Arıtımı*, Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [108] Johnston, K., (1984). In *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 3rd Ed.; Derleyen: Grayson, M. ve Eckroth D., John Wiley & Sons, New York, Supplement Volume.
- [109] Vazquez da Silva, M., (2010). "Supercritical Fluids and Its Applications", *Recent Progress in Chemical Engineering*, 293-312.
- [110] Clifford, A. ve Clifford, T., (1999). *Fundamentals of Supercritical Fluids*, Oxford University Press.
- [111] Erkonak, H., (2007). *Süperkritik Su Ortamında Zeytin Karasuyunun Arıtımı*, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [112] Dinçer, S., Acarlı B.N., Uzun, N. ve Deniz, S., (2007). "A Second Option in Special Separation Operations: Supercritical Fluid Processes", *Journal of Engineering and Natural Sciences*, Sigma, 25(2): 106-122.
- [113] Söğüt, O.Ö., Erkonak, H. ve Akgün, M., (2007). "Süperkritik Su Oksidasyonu Yöntemi ile Atıksuların Arıtılması", *Kimya ve Sanayi Dergisi*, 40 (229): 28-33.
- [114] Dinçer, S., Akgün, M., Akgün, N., Deniz, S., Baran, N., Emel, S.D. ve Uzun, N., (2003). "Süperkritik Akışkan Uygulamaları", *Çağrılı Tebliğ*, 17. Ulusal Kimya Kongresi, İstanbul Üniversitesi, 8-11 Eylül 2003, İstanbul.
- [115] Halim R., Danquah M.K. ve Webley P.A., (2012). "Extraction of Oil from Microalgae for Biodiesel Production: A Review", *Biotechnology Advances*, 30 (3): 709-732.
- [116] Büyüktuncel, E., (2012). "Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I", *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, Cilt 32, Sayı 2, 209-242.
- [117] Maxwell, R.J., (1996). *Supercritical Fluid Technology in Oil and Lipid Chemistry*; Derleyen: King, J.W. ve List, G.R., AOCS Press, Champaign, Illinois, 20-21 .
- [118] McHugh, M. ve Krukonis, V., (2013). *Supercritical Fluid Extraction: Principles and Practice*, Elsevier.

- [119] Akgün, M., (1999), Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonunda Termodinamik ve Taşınım Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [120] Crampon, C., Charbit, G. ve Neau, E., (1999). “High-Pressure Apparatus for Phase Equilibria Studies: Solubility of Fatty Acid Esters in Supercritical CO₂”, J. Supercritical Fluids, 16(1): 11-20.
- [121] Gupta, R.B., ve Shim, J.J., (2007). Solubility in Supercritical Carbon Dioxide, CRC Press.
- [122] Chrastil, J., (1982). “Solubility of Solids and Liquids in Supercritical Gases”, The Journal of Physical Chemistry, 86(15): 3016-3021.
- [123] Özkal, S.G., Salgin, U. ve Yener M.E., (2005). “Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Hazelnut Oil”, Journal of Food Engineering, 69: 217–23.
- [124] Andrich, G., Nesti, U., Venturi, F., Zinnai, A. ve Fiorentini, R., (2005). “Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Lipids from the Microalga Nannochloropsis Sp.”, European Journal of Lipid Science and Technology, 107(6): 381-386.
- [125] Andrich, G., Zinnai, A., Nesti, U. ve Venturi, F., (2006). “Supercritical Fluid Extraction of Oil from Microalga Spirulina (Arthrospira) Platensis”, Acta Alimentaria, 35(2): 195-203.
- [126] Solana, M., Rizza, C.S. ve Bertucco, A., (2014). “Exploiting Microalgae as a Source of Essential Fatty Acids by Supercritical Fluid Extraction of Lipids: Comparison Between Scenedesmus Obliquus, Chlorella Protothecoides and Nannochloropsis Salina”, The Journal of Supercritical Fluids, 92: 311-318.
- [127] Mouahid, A., Crampon, C., Toudji, S.A.A. ve Badens, E., (2013). “Supercritical CO₂ Extraction of Neutral Lipids from Microalgae: Experiments and Modelling”, The Journal of Supercritical Fluids, 77: 7-16.
- [128] Sajilata, M.G., Singhal, R.S. ve Kamat, M.Y., (2008). “Supercritical CO₂ Extraction of γ -Linolenic Acid (GLA) from Spirulina Platensis ARM 740 Using Response Surface Methodology”, Journal of Food Engineering, 84(2): 321-326.
- [129] Mendes, R.L., Nobre, B.P., Cardoso, M.T., Pereira, A.P. ve Palavra, A.F., (2003). “Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Compounds with Pharmaceutical Importance from Microalgae”, Inorganica Chimica Acta, 356: 328-334.
- [130] Cheung, P.C., (1999). “Temperature and Pressure Effects on Supercritical Carbon Dioxide Extraction Of N-3 Fatty Acids From Red Seaweed”, Food Chemistry, 65(3): 399-403.
- [131] Mendes, R.L., Coelho, J.P., Fernandes, H.L., Marrucho, I.J., Cabral, J., Novais, J.M. ve Palavra, A.F., (1995). “Applications of Supercritical CO₂ Extraction to Microalgae and Plants”, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 62(1): 53-59.
- [132] Samori, C., Barreiro, D.L., Vet, R., Pezzolesi, L., Brilman, D.W., Galletti, P. ve Tagliavini, E., (2013). “Effective Lipid Extraction from Algae Cultures Using Switchable Solvents”, Green Chemistry, 15(2): 353-356.

- [133] Güçlü-Üstündağ, Ö. ve Temelli, F., (2004). “Correlating the Solubility Behavior of Minor Lipid Components in Supercritical Carbon Dioxide” The Journal of Supercritical Fluids, 31(3): 235-253.
- [134] Dunford, N.T. ve Temelli, F., (1997). “Extraction Conditions and Moisture Content of Canola Flakes as Related to Lipid Composition of Supercritical CO₂ Extracts”, Journal of Food Science, 62(1): 155-159.



KULLANIM TALİMATI VE TEKNİK ÇİZİMLER

Set-up preparation

1. Weight 2 filters together
2. Place filter on the extractor "down-part"
3. Connect "upper-part" of the extractor
4. Weight metal funnel
5. Connect funnel with the "upper-part" of the extractor
6. Weight plastic vessel (with cup) and re-zero
7. Add pellets in the vessel
8. Add 16 g of pellets (with metallic tablespoon)
9. Add the dust around the funnel with a wooden stick
10. After removing the funnel, add the algae around
11. Connect "Connection 2" to the extractor
12. Weight the plastic vessel again to know the amount of pellets added
13. Weight metal funnel to know the residue lost
14. Close "Connection 2" tight
15. Disconnect collection vessel, clean all the parts and dry them with air
16. Weight all the parts of the collection vessel
17. Re-connect all the parts of the collection vessel and place it in the set-up
18. Open BPR and weight the white and the yellow rings and the small metal piece
19. Weight small ring
20. Place BPR in the set-up
21. Place extractor inside the oven
22. Connect thermocouples to extractor (inside the extractor and between white ring and extractor)
23. Connect preheater to extractor and thermocouple

Leakage test with N2

1. Close the top end of the extractor with a metal cup
2. Open valve 8 (V-8)
3. Open N2 valve (in the wall) to 5 bar
4. Open N2 valve in the control panel (V-3)
5. Open valve "pump" in control panel (V-6)
6. Add more pressure and look at the indicator extractor outlet and inlet until 35 bar (I-3 and I-5)
7. Close N2 valve and pump valve (V-3 and V-6 in control panel). If there is any leakage is because of the pump leakage.
8. Close valve 8 (V-8) and if indicator extractor outlet gives a constant value of pressure is that the extractor is free of leakage.
9. To depressurize, close N2 valve (in the wall) and decrease slowly the pressure
10. Open slowly the metal cup of the extractor
11. After all the N2 is released, slowly open valve 8 (V-8)
12. Open spui valve (V-4 in control panel)
13. Close valve that gives pressure of N2 (from wall, see pressure going down in manometer)
14. Close N2 valve and spui (V-3 and V-4 in control panel)

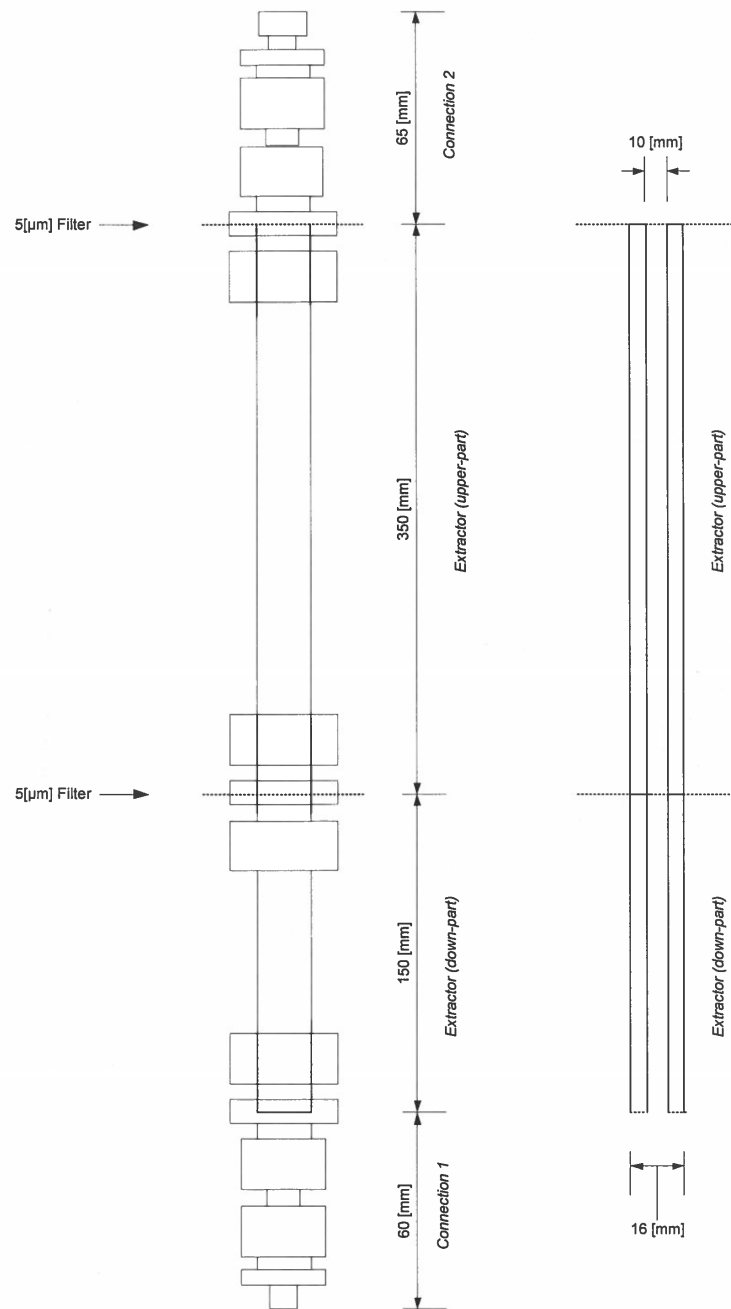
Starting experiment

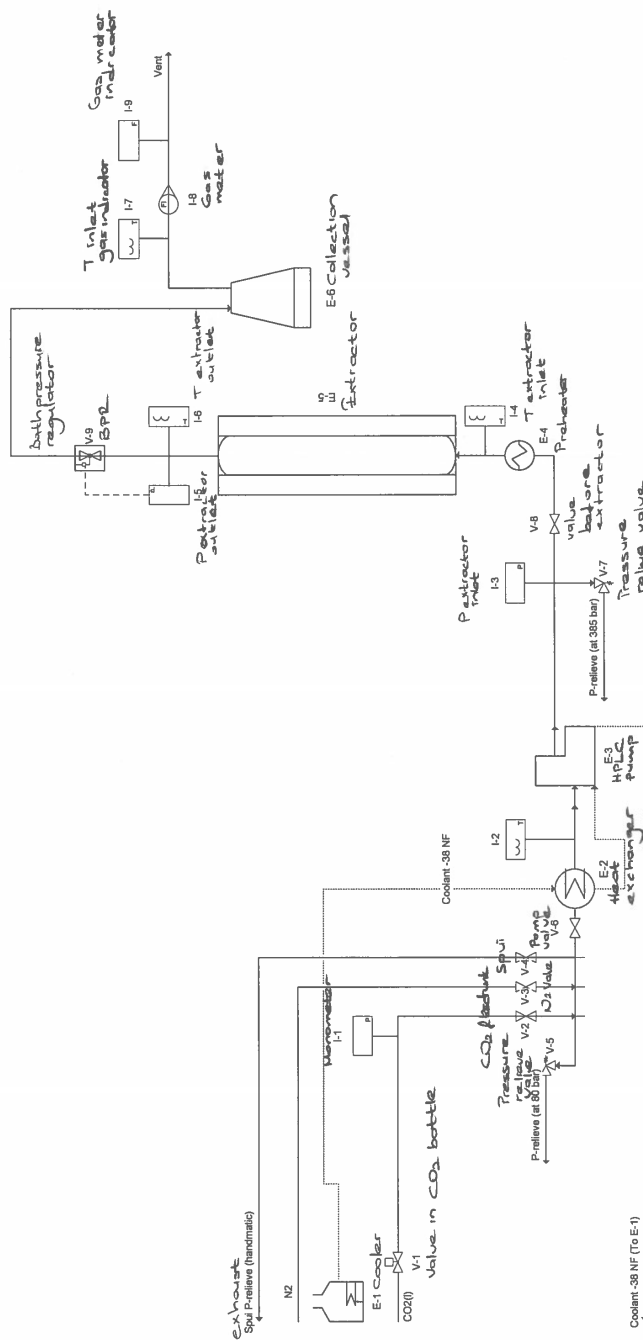
1. Connect metal tub from the collection vessel to extractor
2. Isolate BPR, metal tub of collection vessel and the bottom of the extractor
3. Press red switch BPR next to P-I & Data switch

4. Press red switch and set it at 90C
5. Start heating extractor by pressing red switch called extractor (next to BPR and P-I & Data)
6. Set extractor temperature to desired temperature
7. By looking in the computer, wait until temperature extractor inlet and outlet are at 35C
8. Write the value given by the gas meter (starting value)
9. Close BPR until the manometer indicates 1
10. Press CO2 safety valve
11. Check that valve 8 is open
12. Open valve CO2 bottle completely and close it 3 times clock wise
13. Open CO2 flesdruk (V-2 control panel)
14. Open valve pump (V-6 in control panel). The gas pressure goes up
15. Check the value in the pressure meter. If it does not change, it means that the BPR is closed
16. Press the pump switch
17. In the remote control of pump: go to control pump F-2, flow press A, press 4, press enter and start the timer
18. Start the preheater and set it at 75C (do it in stages: start with 30C, then when it reaches that temperature go to 50C and so on)
19. Start tuning the BPR to reach the desired pressure

Shut-down

1. Turn off F5 (from remote control of pump)
2. Note down the number in the gas meter
3. Turn off the pump (red switch)
4. Close valve CO2 pump (V-6)
5. Close valve CO2 in control panel (V-2)
6. Close valve pump (red switch)
7. Set to 0C the preheater
8. Start opening the BPR very slowly (expansion will occur)
9. Open spui valve and CO2 flesdruk (control panel) to release the 60 bar from the CO2 flask to valve 5
10. Leave the system for 5 min after depressurizing to 0bar
11. Set extractor and BPR to 0C
12. After the 5 min, write down the number in the gas meter
13. Remove isolation material
14. Open tub from BPR to collection vessel
15. Weight everything





V-1	Valve in CO2 bottle
V-2	CO2 flesdruk (in control panel)
V-3	N2 valve (in control panel)
V-4	Spui (in control panel)
V-5	Pressure relieve valve
V-6	Pomp valve (in control panel)
V-7	Pressure relieve valve
V-8	Vale before extractor (by hand)
V-9	BPR
I-1	Manometer (CO2 bottle and also CO2 flask red reader)
I-2	T indicator after CO2 flows to trough the cooler (reader in computer)
I-3	P extractor inlet (reader control panel and computer)
I-4	T extractor inlet (reader computer)
I-5	P extractor outlet (reader control panel and computer)
I-6	T extractor outlet (reader computer)
I-7	T inlet gas indicator (reader computer)
I-8	Gas meter
I-9	Gas meter indicator
E-1	Cooler
E-2	Heat exchanger
E-3	HPLC pump
E-4	Preheater
E-5	Extractor
E-6	Collection vessel

TEKRARLANABİLİRLİK VERİLERİ

Çizelge B.1 Tekrarlanabilirlik

Numune	Su oranı (%)	P (bar)	T (C ⁰)	CO ₂ debisi (g/dk)	CO ₂ miktarı (g)	Süre (dk)	Yağ verimi (%ağırlık)
Tekrar-1	4,13	250	50	5,7	983	177	7,09
	4,13	250	50	5,7	1022	180	7,11
Tekrar-2	4,13	250	50	2,9	1000	349	7,90
	4,13	250	50	2,9	1020	356	7,84
Tekrar-3	4,13	350	50	2,9	750	250	9,08
	4,13	350	50	2,9	750	241	8,80
Tekrar-4	4,13	350	50	2,9	986	350	9,45
	4,13	350	50	2,9	980	361	9,30
Tekrar-5	4,13	350	50	2,9	190	61	6,45
	4,13	350	50	2,9	223	61	6,86
Tekrar-6	4,13	250	50	2,9	294	96	3,74
	4,13	250	50	2,9	294	94	3,73
Tekrar-7	4,13	200	50	2,9	978	360	5,64
	4,13	200	50	2,9	980	360	5,68

DEBİ VE BASINCA GÖRE DENEYSEL VERİLER

Çizelge C.1 250 Bar basınçta, 50 °C sıcaklıkta ve %4,13 su içeren alg peletleriyle üç farklı çözücü debisiyle yapılan ekstraksiyonlarda yağ veriminin zamana ve kullanılan CO₂ miktarına göre değişimi

Çözücü debisi (g/dk)	Süre (dk)	CO ₂ miktarı (g)	Yağ verimi (%ağırlık)
1,4	36	86	0,87
1,4	81	108	1,84
1,4	176	268	3,74
1,4	266	488	6,36
1,4	392	530	6,96
2,9	21	60	0,90
2,9	32	87	1,53
2,9	47	157	2,15
2,9	94	294	3,73
2,9	109	309	4,32
2,9	135	381	5,62
2,9	172	519	6,03
2,9	244	623	7,04
2,9	349	1000	7,90
5,7	10	58	0,96
5,7	20	114	1,80
5,7	57	365	4,66
5,7	93	540	5,25
5,7	125	660	6,01
5,7	180	1022	7,11

Çizelge C.2 50 °C sıcaklıkta, 2,9 g/dk çözücü debisiyle ve %4,13 su içeren alg peletleriyle üç farklı basınçta yapılan ekstraksiyonlarda yağ veriminin zamana ve kullanılan CO₂ miktarına göre değişimi

Basınç (Bar)	Süre (dk)	CO₂ miktarı (g)	Yağ verimi (%ağırlık)
200	23	65	0,53
200	180	524	3,95
200	360	978	5,64
200	480	1889	7,34
250	21	60	0,90
250	32	87	1,53
250	47	157	2,15
250	94	294	3,73
250	109	309	4,32
250	135	381	5,62
250	172	519	6,03
250	244	623	7,04
250	349	1000	7,90
350	20	60	0,43
350	30	146	4,43
350	61	190	6,45
350	150	350	7,68
350	181	500	8,26
350	250	750	9,08
350	350	986	9,45

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Nurcan ERTÖY BAYRAKTAR
Doğum Tarihi ve Yeri : 05.07.1984 / Afyonkarahisar
Yabancı Dili : İngilizce, Almanca (Başlangıç Seviyesi),
Flemenkçe (Başlangıç Seviyesi)
E-posta : ertoynurcan@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Kimya Mühendisliği	Yıldız Teknik Üniversitesi	2018
Lisans	Kimya Mühendisliği	Gazi Üniversitesi	2007
Lise	Fen Bilimleri	Afyon Çay IMKB Anadolu Lisesi	2002

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2013 – 2016	Laurus İlaç San. A.Ş.	Ruhsatlandırma Uzmanı
2008 – 2011	Recordati İlaç San. A.Ş.	Kalite Güvence ve Dokümantasyon Uzmanı