

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

**BİYOHİDROJEN ÜRETİMİ VE YAKIT
HÜCRELERİNDE KULLANILMASI**

Suphi Ş. ÖNCEL

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Bilimdalı kodu: 612.01.00

Sunuş Tarihi: 04.06.2009

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fazilet VARDAR SUKAN

Bornova-İzmir

III

Suphi Ş. ÖNCEL tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak sunulan **“Biyohidrojen Üretimi ve Yakıt Hücrelerinde Kullanılması”** başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 04 / 06 / 2009 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Fazilet VARDAR SUKAN

Raportör Üye: Prof Dr. Murat ELİBOL

Üye: Doç. Dr. Oğuz BAYRAKTAR

Üye: Prof. Dr. Rengin ELTEM

Üye: Prof. Dr. Şebnem HARSA

ÖZET**BİYOHİDROJEN ÜRETİMİ VE YAKIT HÜCRELERİNDE
KULLANILMASI****ÖNCEL, Ş., Suphi****Doktora Tezi, Biyomühendislik Bölümü****Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fazilet VARDAR SUKAN****Haziran, 2009, 115 sayfa**

Bu çalışmada *Chlamydomonas reinhardtii* CC124, model organizma olarak kullanılarak foto-biyohidrojen üretimi incelenmiştir. Üretimler farklı tip fotobiyoreaktörlerde kesikli ve yarı sürekli olarak gerçekleştirilmiş farklı üretim parametreleri ve üretim üzerinde yarattıkları etkileri belirlenmiş, üretim sürecinde üretilen hidrojenin miktarı takip edilmiş ve gazın içeriği analiz edilmiştir. Ayrıca organizmanın fotosentetik aktivitesi ölçülmüş, pigment üretim takibi ve mikroskop altında gözlemleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan yakıt hücresi çalışmalarında ise yakıt hücresinde oluşan gerilim ve akım değişimleri gözlenmiştir.

Panel tip fotobiyoreaktörlerde kesikli üretim esasına göre sürekli aydınlatma sağlanarak, farklı ışık şiddetlerinin hidrojen üretimine etkileri incelenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda ışık şiddetinin hidrojen üretimine doğrudan etkisi belirlenmiştir. Hidrojen üretimi bakımından en iyi sonuç veren ışık şiddeti seçilerek sürekli aydınlatma yerine farklı aydınlık/karanlık ışık döngüleri çalışmaları yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda sürekli aydınlatmayla karşılaştırıldığında kültüre

VI

uygulanan aydınlık/karanlık döngülerin hidrojen üretimine olumsuz etkileri gözlenmiştir.

Karıştırmalı tank fotobiyoreaktörlerinde ise üretim hacmi arttırılarak hidrojen üretimi gerçekleştirilmiştir. Kesikli üretimlerden sağlanan veriler ışığında sürekli aydınlatma sağlanarak yarı sürekli üretimler gerçekleştirilmiş ve kesikli üretim yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Yarı sürekli üretim sürecinin kesikli üretime göre hidrojen üretimi bakımından daha verimli olduğu belirlenmiştir.

Hidrojen üretimi çalışmalarının devamı olarak, üretilen hidrojenin yakıt hücrelerinde kullanım potansiyeli incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda yakıt hücresinin, *Chlamydomonas reinhardtii* CC124 kültürleriyle hidrojen üretim sürecinin takip edilmesinde etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca üretilen hidrojenin doğrudan yakıt hücresinde kullanımıyla elektrik üretimi gerçekleştirilmiştir.

Anahtar sözcükler: *Chlamydomonas reinhardtii* CC124, fotobiyohidrojen, Polielektrolit membran, Proton geçirgen membran, Proton değişim membran, PEM yakıt hücresi, yarı-sürekli üretim, fotobiyoreaktör.

ABSTRACT

BIOHYDROGEN PRODUCTION AND USAGE IN FUEL CELLS

ÖNCEL, Ş., Suphi

Ph. D. in Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. Fazilet VARDAR SUKAN

June, 2009, 115 pages

In this work photo-biohydrogen production was investigated using *Chlamydomonas reinhardtii* CC124 as a model organism. Different types of photobioreactors were tested in order to produce hydrogen in batch and semi-continuous regimes. The effect of various parameters and their effects on the production were monitored.

During the studies hydrogen production was monitored and gas content was analyzed. Photosynthetic activity of the culture was also monitored during the process addition to pigment analysis and the microscopic observations of the cells.

The effect of different light intensities on hydrogen production was investigated in the panel type photobioreactors, using batch cultivation methods. Continuous illumination with increasing light intensity was observed to affect the hydrogen production. Light intensity selected based on the best hydrogen production was applied for the light/dark cycles in order to observe the effect of cycling light regimes. Light/dark cycles had a negative effect on the hydrogen production.

VIII

Based on batch cultivation data, a semi-continuous system was investigated in a continuously stirred type photobioreactor. Results showed superiority toward semi-continuous system compared to the batch systems with respect to hydrogen production.

Direct usage of fuel cells was also studied in order to determine their potential in monitoring the hydrogen production process as well as monitoring electricity production utilizing the hydrogen produced by *Chlamydomonas reinhardtii* CC124.

Keywords: *Chlamydomonas reinhardtii* CC124, Photo-biohydrogen, Polyelectrolyte membrane, Proton exchange membrane, PEM fuel cell, Semi-continuous production, Photobioreactor.

IX

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımnda bana her zaman destek olan tez danışmanım Prof. Dr. Fazilet VARDAR SUKAN'a ve tezimin her aşamasında bilgi ve önerileriyle bana yardımcı olan, desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Murat ELİBOL'a ve Doç.Dr. Oğuz BAYRAKTAR'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca tez süresince her an çalışan organizma arkadaşlarım *Chlamydomonas*'lara teşekkür ederim.

Değerli Aileme,

Suphi

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET.....	V
ABSTRACT	VII
TEŞEKKÜR.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XV
ÇİZELGELER DİZİNİ	XVII
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1. Hidrojen Üretim Yöntemleri	6
2.1.1. Doğal gazın buhar reformasyonu	10
2.1.2. Kısmi oksidasyon	11
2.1.3. Ototermal reformasyon	11
2.1.4. Plazma reformasyonu	12
2.1.5. Sıvı faz reformasyonu	12
2.1.6. Amonyak reformasyonu	12
2.1.7. Elektroliz	13
2.1.8. Fotoelektroliz	13
2.1.9. Termoliz	14
2.1.10. Piroliz	14
2.1.11. Gazlaştırma.....	15
2.1.12. Karanlık fermantasyon	15
2.1.13. Foto-fermentatif hidrojen üretimi.....	16
2.1.14. Foto-biyo hidrojen üretimi	16
2.1.15. Entegre biyo-hidrojen üretim yöntemi	18

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa No

2.2. Mikroalglerde foto-biyohidrojen üretiminde etkili olan mekanizmalar	19
2.2.1. Fotosentez ve fotosistemler.....	19
2.2.2. Suyun ayrıştırılması ve fotosistemler.....	21
2.3. Hidrojen ve Chlamydomonas reinhardtii.....	23
2.4. Fotobiyoreaktörler	25
2.5. Yakıt hücreleri	27
2.5.1. Alkali yakıt hücreleri	29
2.5.2. Fosforik asit yakıt hücreleri	30
2.5.3. Doğrudan metanol beslemeli yakıt hücreleri	30
2.5.4. Ergimiş karbonat yakıt hücreleri.....	31
2.5.5. Katı oksit yakıt hücreleri.....	32
2.5.6. Polimer elektrolit membran yakıt hücreleri	32
2.5.7. Mikrobiyal yakıt hücreleri	34
3. MATERYAL ve METOT.....	36
3.1. Materyal	36
3.1.1. Mikroorganizma.....	36
3.1.2. Kültür Ortamı	36
3.1.3. Fotobiyoreaktörler.....	37
3.1.4. Yakıt Hücreleri.....	38
3.1.5. Denemelerde yapılan ölçümler	38
3.2. Metot.....	40
3.2.1. Aşı kültürü üretimleri.....	40
3.2.2. Ön Üretimler	40
3.2.3. Panel PBR’lerde hidrojen üretimi	41
3.2.4. Karıştırılmalı tank tip PBR’de hidrojen üretimleri	42

İÇİNDEKİLER (devam)**Sayfa No**

3.2.5. Yakıt hücresi denemeleri.....	43
3.2.6. Analitik yöntemler.....	46
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	47
4.1. Farklı ışık şiddeti denemeleri.....	47
4.1.1. Chlamydomonas reinhardtii CC124 kültürlerinin fotomiksotrofik üretimi sürecinde ışık şiddeti etkisi	47
4.1.2. Chlamydomonas reinhardtii CC124 kültürlerinin hidrojen üretimi sürecinde ışık şiddeti etkisi	48
4.2. Aydınlık/karanlık döngü etkisi.....	54
4.2.1. Chlamydomonas reinhardtii CC124 kültürlerinin fotomiksotrofik üretimi sürecinde aydınlık/karanlık döngü etkisi.....	54
4.2.2. Chlamydomonas reinhardtii CC124 kültürlerinin hidrojen üretimi sürecinde aydınlık/karanlık döngü etkisi.....	58
4.3. Karıştırılmalı tank tip fotobiyoreaktörde kesikli ve yarı-sürekli üretimler	63
4.3.1. Kesikli üretimler.....	63
4.3.2. Yarı-sürekli üretimler	65
4.4. Yakıt hücresi denemeleri.....	79
4.4.1. Hidrojen üretimleri	79
4.4.2. Hidrojen üretimleri ve voltaj değişimleri	80
4.4.3. Farklı dirençlerin gerilim ve akım oluşumuna etkileri.....	84
4.4.4. Yakıt hücresi aracılığıyla elektrik üretimi.....	86
4.5. Sonuç.....	88
5. ÖNERİLER.....	89

XIV

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa No

KAYNAKLAR DİZİNİ.....	90
ÖZGEÇMİŞ.....	115

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa No</u>
2.1. Katı, sıvı ve gaz yakıtların kullanılmasıyla hidrojen üretim yöntemleri	7
2.2. Farklı enerji kaynaklarından hidrojen dönüşümleri	8
3.1. Panel tip fotobiyoreaktörler.....	37
3.2. Karıştırmalı tank tip fotobiyoreaktör.	38
3.3. Yakıt hücresi sistemi: Panel tip PBR (1), Su kolonu (2), Aydınlatma sistemi (3), PEM yakıt hücresi çıkış vanası (4), Manyetik karıştırıcı (5), PEM yakıt hücresi (6), Dijital multimetre, akım ölçümü (7), Dijital multimetre, voltaj ölçümü (8), Direnç (9), Veri kaydedici (10), PEM yakıt hücresi besleme vanası (11).	44
3.4. Yarı-sürekli hidrojen üretim sistemi: Karıştırmalı PBR (1), Manyetik karıştırmalı besleme tankı (2), Manyetik karıştırmalı atık tankı (3), Peristaltik pompalar (4), Kontrol ünitesi (5), Aydınlatma sistemi (6), Ölçüm sensörleri (sıcaklık, pH, çözünmüş oksijen), 2 bıçaklı karıştırma sistemi (7), Su kolonu (8).	45
4.1. Hidrojen üretim sürecinde sürekli aydınlatma ile farklı ışık şiddetlerinin PSII aktivitesi üzerinde etkileri.	49
4.2. Sürekli aydınlatma altında farklı ışık şiddetleriyle gerçekleşen toplam hidrojen üretimi.	51
4.3. Sürekli aydınlatma altında farklı ışık şiddetleriyle gerçekleşen günlük hidrojen üretimi.	51

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa No</u>
4.4. Hidrojen üretim sürecinde sabit ışık şiddetinde ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), farklı A/K döngülerin PSII aktivitesi üzerinde etkileri.....	59
4.5. Sabit ışık şiddetinde ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), farklı A/K döngülerinde gerçekleşen toplam hidrojen üretimleri.	60
4.6. Sabit ışık ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), farklı A/K döngülerinde gerçekleşen günlük hidrojen üretimleri.	62
4.7. Sürekli aydınlatma altında sabit ışık şiddetinde ($140 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) gerçekleşen günlük hidrojen üretimleri.	64
4.8. Yarı-sürekli üretim sırasında farklı setlerde gerçekleşen günlük hidrojen üretimleri.	66
4.9. Yarı-sürekli üretim sırasında farklı setlerde gerçekleşen toplam hidrojen üretimleri.	67
4.10. Yarı-sürekli üretim sırasında farklı setlerde gerçekleşen PSII aktivite değişimleri	68
4.11. Yarı-sürekli üretim sırasında farklı setlerde gerçekleşen klorofil miktarı değişimleri.....	70
4.12. Sürekli aydınlatma altında sabit ışık şiddetinde ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) gerçekleşen günlük hidrojen üretimleri.....	79
4.13. Hidrojen üretimi ve yakıt hücresi voltaj değişimi.	82
4.14. Farklı dirençlerin akım-gerilim (mA-mV) üzerinde oluşturduğu değişimler.....	84
4.15. Farklı dirençlerin verim üzerinde etkisi.....	85

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa No</u>
2.1. Hidrojen enerji miktarı.....	5
2.2. Farklı hidrojen üretim ve kullanım teknolojileri.....	10
2.3. Yakıt hücrelerinin özellikleri	27
2.4. Yakıt hücrelerinde gerçekleşen reaksiyonlar	29
3.1. Kültür ortamı kompozisyonu	36
4.1. <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC124 üretimi sırasında aerobik ortam koşullarında meydana gelen klorofil değişimleri (TAP ortamı)	48
4.2. Hidrojen üretimi sırasında anaerobik ortam koşullarında meydana gelen klorofil değişimleri (TAP-S ortamı).	49
4.3. Hidrojen üretimi sırasında meydana gelen PSII aktivite değişimleri.....	50
4.4. Hidrojen üretim süreci.....	52
4.5. <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> CC124 üretimi sırasında aerobik ortam koşullarında meydana gelen klorofil değişimleri (TAP ortamı)	55
4.6. Hidrojen üretimi sırasında anaerobik ortam koşullarında meydana gelen klorofil değişimleri (TAP-S ortamı).	58
4.7. Hidrojen üretimi sırasında meydana gelen PSII aktivite değişimleri.....	59
4.8. Hidrojen üretim süreci.....	61
4.9. Kesikli ve yarı-sürekli üretim süreçlerinde su sütununda meydana gelen değişimler esas alınarak gözlenen farklılıklar.....	71

XVIII

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa No</u>
4.10. Farklı çalışmalarla yapılan denemelerin karşılaştırılması.	74
4.11. Biyomas üretimi sırasında aerobik ortam koşullarında meydana gelen değişimler (TAP ortamı).	79
4.12. Hidrojen üretim süreci.	80

1. GİRİŞ

Günümüzde enerji dünyanın en önemli ihtiyacı olmasına rağmen çok hassas dengeler üzerinde idame ettirilmeye çalışılmaktadır. Artan talebi karşılamak için yıllarca kullanılan fosil yakıtların rezervlerindeki azalma, mali piyasalardaki çalkalanmalar, siyasi belirsizlikler ve en dikkat edilmesi gereken çevresel etkiler göz önüne alındığında öngörülemez bir noktaya doğru hızla gidildiğinin açıklığı tüm insanlık adına birşeyler yapılması gerekliliğini vurgulamaktadır.

Alternatif enerji kaynaklarının üzerine yönelimler sonucunda nükleer enerji ve yenilenebilir enerji kaynakları dünya için umut olmuştur ancak bu alternatiflerin de önemli dezavantajları olduğu görülmüştür. Özellikle nükleer enerjinin, meydana gelen kazalarda karşılaşılan büyük felaketler göz önüne alındığında, yadsınamaz riskleri bulunmaktadır. İnşa sürelerinin uzunluğu, toplumda yükselen huzursuzluk, çok yüklü bakım, atık bertaraf ve güvenlik maliyetleri nedeniyle dünya genelinde yeni nükleer santrallerin yapımı büyük ölçüde yavaşlamış olsa da yeni tür reaktörlerin tasarlanması çalışmaları devam etmektedir.

Yenilenebilir enerji kaynakları ise bölgesel çözümlere yatkın oldukları, çevreye duyarlı oluşları, gelişen teknolojilerle maliyetlerinin azalma eğilimine girmesi, toplumsal desteği alması gibi avantajları olsa da karşılanması beklenen enerji talebinin çok küçük bir bölümünün tedarikinde kullanılmaktadırlar.

Temel sorun artıları ve eksileriyle gerçek anlamda bir enerji değerlendirilmesinin yapılarak çevresel sorunları göz ardı etmeden en verimli şekilde doğa dostu bir enerji dönüşümünü gerçekleştirebilmektir.

Hidrojen işte bu noktada önemli bir aktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde kullanılan neredeyse tüm enerji kaynaklarından doğrudan veya dolaylı olarak üretilmektedir. Bu açıdan belki en önemli özelliği, fosil ve nükleer yakıtlar gibi riskleri daha fazla olan enerji kaynaklarıyla çevreci, yenilenebilir enerji kaynakları arasında dönüşümü gerçekleştirecek ve insanlığa biraz daha zaman kazandırabilecek bir köprü vazifesi görebilecek olmasıdır.

Teknolojinin gelişmesi ile birlikte aşılacağı öngörülen depolama sorunları, düşük üretim verimleri, üretim maliyetleri, çevre dostu üretim yöntemleri gibi etkenler sonucunda günlük kullanıma entegre olacak şekilde adapte edilecek hidrojen, gelecek için çok büyük önem taşımaktadır.

Son noktada, hidrojenin merkezinde olduğu bir ekonominin küresel olarak oluşturulması ile daha barışçıl, eşitlikçi, yeşil ve hepsinin sonucu olarak bütün canlıları kucaklayan dünyaya yaraşır bir yaşamın kurulabilmesi ulaşılmak istenen gelecektir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Dünya genelinde ekonomik büyüme uzun yıllar boyu doğrudan fosil yakıtlardan elde edilen enerjiyle ilişkili olmakla birlikte, bu tür yakıtların gittikçe azalması ve çevresel kaygılar sonucu daha sürdürülebilir ve temiz enerji kaynaklarına yönelim önem kazanmıştır. Özellikle fosil yakıtlardan açığa çıkan karbondioksitin çevresel olarak negatif etkileri hidrojen gibi yeni kaynaklara ilgiyi arttırmıştır (Morarity and Honnery, 2009; Nalan et al., 2009; Das and Veziroğlu, 2001).

Hidrojen ideal bir enerji taşıyıcısı olmanın yanısıra, birlikte oksijen ile yandığında açığa sadece su çıkarması nedeniyle hava kirliliğine yol açmaması ve dolayısıyla küresel ısınmaya katkısı olmaması açısından önemli bir enerji kaynağıdır. Hidrojen elde edilmesinde çevreci yöntemlerin ve yenilenebilir sistemlerin de kullanılabiliyor olması, iklim değişimi üzerinde etkili olan fosil yakıt kaynaklı sera gazlarının giderilmesi konusunda ortak bir yaklaşımın belirlenmeye çalışıldığı günümüzde hidrojen üretimine verilen önemi arttırmıştır (Muradov and Veziroğlu, 2008; Adamson, 2004; Demirci, 2009).

Özellikle dünya genelinde hızla artan insan nüfusu fosil yakıtların kullanımını sürdürülebilir olmaktan uzaklaştırmaktadır. Nüfus artışıyla orantılı artan endüstriyel faaliyetler, özellikle gelişmekte olan ülkelerin, enerji ihtiyacında önemli bir artışı tetikleyecektir (Baretto et al., 2003; Ball and Wietschel, 2009).

Dünyanın enerji ihtiyacının çevre dostu bir yaklaşımla karşılanması enerji sektörü açısından önemli bir sorundur. Özellikle enerji ihtiyacının dünya ekonomisindeki etkileri dikkate alındığında artan hassasiyetlerin sektör üzerinde bir baskı yarattığı da açıktır. Bu noktada enerji güvenliği, sürdürülebilirlik, insan ve çevre gelecek açısından birbirlerinden ayrılamayacak bir noktaya gelmiştir. Hidrojen her ne kadar dünya genelinde uzun zamandır kullanımda olan bir yakıt olsa da özellikle 1970'lerdeki petrol krizi ile mevcut potansiyelinin bir alternatif olarak değerlendirilmesine neden olmuştur (İbrahim et al., 2008; Johnston, et al., 2005; Momirlan and Veziroğlu, 1999).

Özellikle hidrojenin bir enerji kaynağı olarak yaygınlaşması için aşılması gereken en önemli engel olan depolama sorunlarının çözümlenmesi konusunda gelişen teknoloji ile birlikte etkili adımlar atılabilmektedir. Daha ekonomik, basit ve rahat kullanılabilir depolama sistemlerinin geliştirilmesi ile gerçek anlamda hidrojen geçiş olanaklı olacaktır (Penner, 2006; Kim et al., 2008; Chen et al., 2008).

Hidrojen ulaşımda yakıt olarak günümüzde önem kazanmıştır. Yakıt hücrelerinin geliştirilmesi hem depolama hem de kullanımın yaygınlaşması bakımından katkıları büyüktür. Bu noktada hidrojenin temiz bir yakıt olması da önemli bir avantaj sağlamaktadır (Ross, 2006; Mock and Schmitt, 2009).

Günümüzde hidrojen yüksek basınç veya düşük sıcaklıklarda sıvılaştırma sistemlerinde depolanabilmektedir. Bu sistemlerin en büyük zayıflıkları ise depolamada harcanan enerjinin depolanan hidrojenden

elde edilecek enerjinin önemli bir miktarına karşılık gelmesidir (Çizelge 2.1). Bu oran, yüksek basınç altında depolamada %20, sıvılaştırma ile depolamada ise %40'a kadar çıkabilmektedir (Chen and Zhu, 2008).

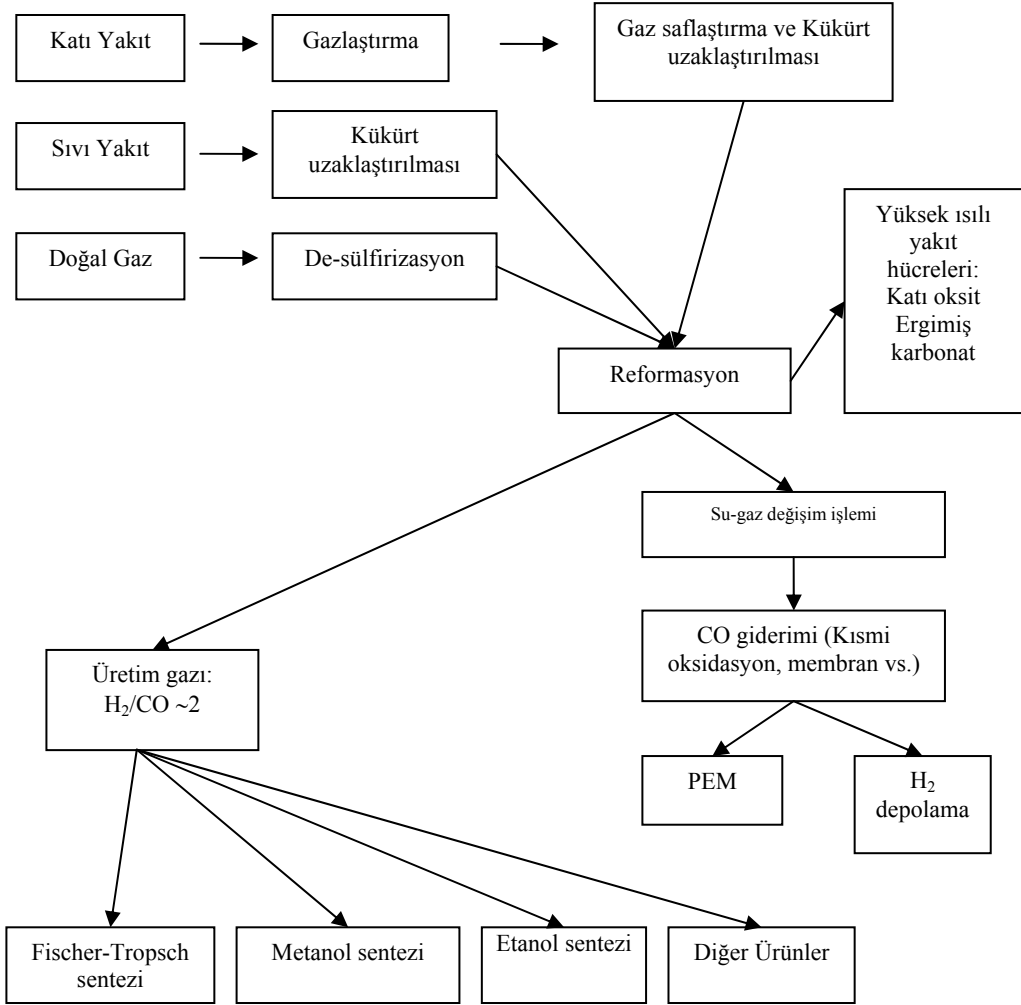
Çizelge 2.1. Hidrojen enerji miktarı (Edwards et al., 2008).

Yakıt	Spesifik enerji (kW/kg)	Enerji yoğunluğu (kW/dm³)
Sıvı Hidrojen	33.3	2.37
Hidrojen (200 bar)	33.3	0.53
Sıvı doğal gaz	13.9	5.6
Doğal gaz (200 bar)	13.9	2.3
Petrol	12.8	9.5
Dizel	12.6	10.6
Kömür	8.2	7.6
Amonyaboran (NH ₃ BH ₃)	6.5	5.5
Metanol	5.5	4.4
Odun	4.2	3.0
Li-iyon pil	0.55	1.69

Hidratların kullanımıyla katı fazda gerçekleştirilen hidrojen depolama sistemleri ise kullanım bakımından potansiyeli olan depolama yöntemlerindendir. Bu sistemlerin geliştirilmesi ve yaygınlaştırılması sonucu hidrojenin daha yoğun şekilde depolanabilmesi ile hidrojenin tam bir enerji alternatifi olarak kabul edilmesi olanaklı olacaktır. Bu sayede hidrojenin merkezinde olduğu bir ekonominin oluşturulması hız kazanacaktır (Jang, 2008; Johnston et al., 2005).

2.1.Hidrojen Üretim Yöntemleri

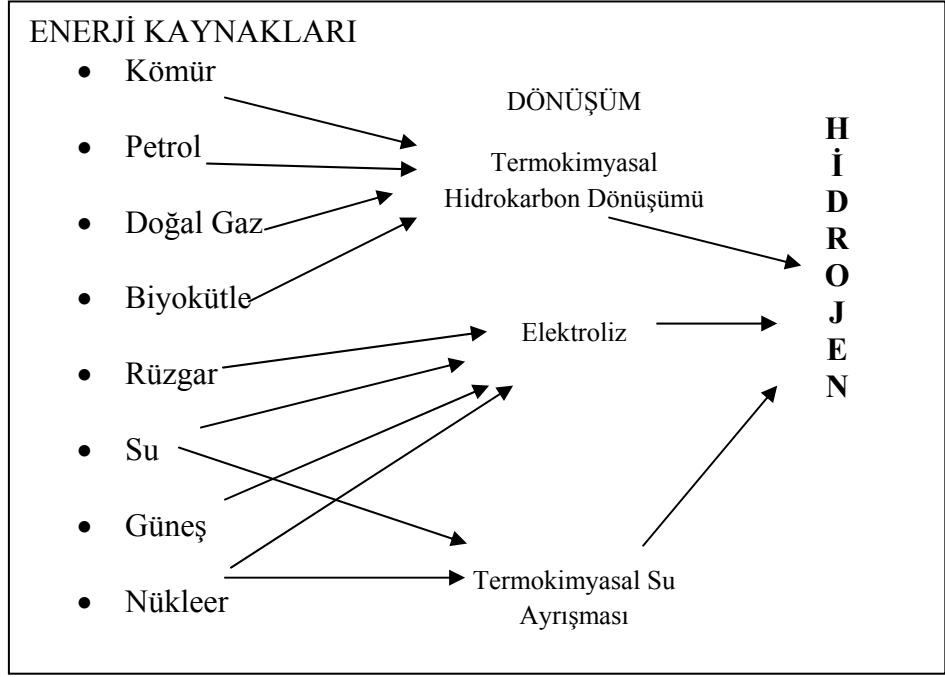
Hidrojen dünya üzerinde yoğun olarak bulunmasına rağmen diğer elementlerle kimyasal bağlarla bağlı olarak bulunduğundan saf olarak elde edilmesi için ek enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır. Bu durum farklı doğal kaynaklarda hapsedilmiş hidrojenin kazanılması için geliştirilen yöntemlerin çeşitlenmesine yol açmıştır, Şekil 2.1 (Nielsen, 2005; Profeti et al., 2009; Das and Veziroğlu, 2008).



Şekil 2.1. Katı, sıvı ve gaz yakıtların kullanılmasıyla hidrojen üretim yöntemleri (Holladay et al., 2009).

Hidrojen fosil, nükleer ve yenilebilir kaynaklardan su elektrolizi, doğal gaz reformasyonu, kömür ve biyokütle gazlaştırması, yüksek sıcaklıkta su ayrıştırması, fotoelektroliz ve biyolojik yöntemler gibi farklı uygulamalarla da elde edilebilmektedir, Şekil 2.2 (Feng et al, 2009;

Saxena et al., 2009; Khader, 2009; Holladay et al., 2009; Sherif et al., 2005).



Şekil 2.2. Farklı enerji kaynaklarından hidrojen dönüşümleri (Yang, 2008).

Günümüzde özellikle metan gibi hidrokarbonlardan reformasyon yöntemi ile hidrojen üretilmekle beraber yan ürün olarak açığa çıkan karbondioksitin ve karbonmonoksitin yarattığı çevresel kirlilik önemli bir sorun teşkil etmektedir (Sharma et al., 2008; Moriarty and Honnery, 2009; Ahmed et al., 2009).

Diğer bir yöntem olan yüksek sıcaklık altında piroliz, hidrokarbonlar, biyokütle ve atıkların kullanımına uygun olması nedeniyle endüstriyel olarak yaygındır. Ancak bugün için bu yöntemin

maliyeti doğal gaz reformasyonundan daha yüksektir (Holladay et al, 2009; Dufour et al., 2009).

Suyun ayrıştırılmasıyla hidrojen elde edilmesi yöntemi ise yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem elektroliz, foto-elektroliz, termoliz (yüksek sıcaklık altında ayrıştırma) ve foto-biyolojik olarak suyun ayrıştırılması gibi farklı alt türleri kapsamaktadır. Ancak bu yöntem fosil yakıtlardan hidrojen elde edilmesine göre daha maliyetli olması nedeniyle geliştirilmeye ihtiyaç duyulmaktadır (Holladay et al, 2009).

Sürdürülebilir bir gelişmeye duyulan ihtiyaç ve giderek artan çevresel kaygılar nedeniyle hidrojenin biyolojik yolla üretimi için geliştirilen yöntemler günümüzde giderek önem kazanmaktadır. Biyolojik yolla hidrojen üretim yöntemleri temelde yakıt olarak suyun kullanıldığı fotoliz ve organik maddelerin kullanıldığı fermentasyon olarak sınıflandırılmaktadır (Desmukh and Boehm, 2008; Rupprecht et al., 2006). Farklı hidrojen üretim yöntemleri Çizelge 2.2’de özetlenmiştir.

Hidrojen üretim yöntemlerinin seçimi coğrafi konum, enerji maliyetleri, ham madde tedariki gibi farklı parametrelere bağlıdır. Özellikle yenilenebilir kaynakların kullanımı fosil kaynakların az olduğu, ham madde tedarik sürecinin maliyeti arttırdığı, insan nüfusunun az olduğu koşullarda tercih edilebilir, ancak uzun vadede yaygın uygulanabilir bir seçenek olabilmesi için daha fazla geliştirilmeye gereksinim duymaktadır. Ancak bu durumda çevreye duyarlı, insanlığın refahına katkıda bulunacak şekilde hidrojenin yaşamın bir parçası haline

gelebilmesi bu çalışmaların başarısına bağlı olacaktır (Bauen, 2006; Clark and Rifkin, 2006; Ball and Wieteschel, 2009).

Çizelge 2.2. Farklı hidrojen üretim ve kullanım teknolojileri (Holladay et al., 2009).

Teknoloji	Yakıt	Verim (%)	Gelişim
Buhar reformasyonu	Hidrokarbon	70-85	Ticari
Kısmi oksidasyon	Hidrokarbon	60-75	Ticari
Ototermal reformasyon	Hidrokarbon	60-75	Kısa vade
Plazma reformasyonu	Hidrokarbon	9-85	Uzun vade
Sıvı faz reformasyonu	Karbohidrat	35-55	Orta vade
Amonyak reformasyonu	Amonyak	----	Kısa vade
Biyokütle gazlaştırılması	Biyokütle	35-50	Ticari
Fotoliz	Güneş+Su	0.5	Uzun vade
Karanlık fermentasyon	Biyokütle	60-80	Uzun vade
Foto fermentasyon	Biyokütle+Güneş	0.1	Uzun vade
Mikrobiyal elektroliz hücresi	Biyokütle+Elektrik	78	Uzun vade
Alkali yakıt hücresi	Su+elektrik	50-60	Ticari
PEM yakıt hücresi	Su+elektrik	55-70	Kısa vade
Katı oksit yakıt hücresi	Su+elektrik+ısı	40-60	Kısa vade
Termokimyasal su ayrışması	Su+ısı	----	Uzun vade
Fotoelektrokimyasal su ayrışması	Su+Güneş	12.4	Uzun vade

2.1.1. Doğal gazın buhar reformasyonu

Doğal gazın buhar reformasyonu kimya ve petro-kimya endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Günümüzde kullanılan en düşük maliyetli yöntemlerden biridir. Fosil kaynakların kullanıldığı diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında, en az karbondioksit açığa çıkaran yöntemlerden biridir. Bu yöntemde ek bir ısı kaynağına

ihtiyaç duyulmakla birlikte, kısmi oksidasyon ve ototermal reformasyona göre daha düşük sıcaklıklarda gerçekleşmektedir. Oksijen gerektirmeden buhar eşliğinde 3:1 oranında $H_2:CO$ üretilbilmektedir. Kullanılan nikel, platin, rodyum gibi katalizörlerin türüne göre buhar reformasyonun verimliliği değişmekle beraber günümüzde genelde daha ucuz olan nikel katalizörler endüstriyel olarak kullanılmaktadır (Go et al., 2009; Holladay et al, 2009; Dufour J. et al, 2009).

2.1.2. Kısmi oksidasyon

Kısmi oksidasyon yönteminde hidrokarbonların oksijen ile kontrollü yanma reaksiyonu sonucu hidrojen üretilmesi gerçekleştirilmektedir. İşlem 1300-1500 °C gibi yüksek sıcaklıklarda gerçekleşmekte ve 1:1-2:1 oranlarında $H_2:CO$ açığa çıkmaktadır. Kısmi oksidasyon sistemlerine de katalizör eklenerek sıcaklığın düşürülmesi sağlanabilse de ekzotermik reaksiyonlar nedeniyle oluşan sıcaklık kontrolündeki zorluklar önemli bir sakınca yaratmaktadır (Cheng et al., 2009; Ball and Wietshel, 2009).

2.1.3. Ototermal reformasyon

Ototermal reformasyon temel olarak kısmi oksidasyon prosesinde buhar eklenmesiyle gerçekleştirilir ve buhar reformasyonu ile kısmi oksidasyon yöntemlerinin birleştirilmesi olarak da değerlendirilebilir. Bu yöntem termal olarak nötr bir prosestir. Buhar reformasyonunda ihtiyaç duyulan sıcaklık oksidasyonla sağlanırken ek bir ısıtma gereği ortadan kalkmaktadır. Ayrıca buhar reformasyonuna göre daha çabuk işletilebilmekte ve oksidasyona göre daha fazla hidrojen elde

edilebilmektedir. Bu yöntemde dikkat edilmesi gereken en önemli basamaklardan biri sisteme beslenen oksijen ve buhar oranlarının kontrolüdür (Youn et al., 2008; Holladay et al, 2009).

2.1.4. Plazma reformasyonu

Temelde diğer reformasyon yöntemlerine benzemekle beraber reaksiyonların ihtiyaç duyduğu enerji elektrik veya ısıl işlemlerle üretilen plazma ile sağlanmaktadır. Bu yöntemde diğer reformasyon yöntemlerine göre kontrol edilebilirlik, farklı hidrokarbonlarla kullanılabilme, yüksek ürün gazı saflığı, daha düşük sıcaklıklarda ve basınçlarda çalışma olanağı gibi avantajlar sağlanmaktadır. Plazma reformasyon teknolojisi için en önemli kısıt ihtiyaç duyulan enerjisinin getirdiği maliyettir. Günümüzde plazma reformasyonu hidrokarbon reformasyonunda ve zararlı gazların giderilmesinde kullanılmaktadır (Holladay et al, 2009; Chen et al., 2008).

2.1.5. Sıvı faz reformasyonu

Oksijen içeren hidrokarbonların veya karbonhidratların işlenmesi amacıyla geliştirilme sürecinde olan bir yöntemdir. Sıvı faz sistemlerinin önemli bir üstünlüğü buharlaşmaya gerek duyulmadan düşük sıcaklıklarda tek bir basamakta gerçekleştirilebilmeleridir (Holladay et al, 2009).

2.1.6. Amonyak reformasyonu

Genelde yakıt hücreleri ile birlikte kullanılan bir yöntemdir. Amonyak düşük maliyetli ve kolay bulunabilir olduğu için yöntemin kullanım potansiyeli yüksektir. Temelde amonyağın parçalanma

reaksiyonuna dayalı bu yöntem endotermik olup 800-900 °C civarında sıcaklıkta ve oluşum reaksiyonuna göre daha düşük basınç altında gerçekleşmektedir. Demir oksit, molibden, ruthenium ve nikel gibi katalizörler kullanılabilmektedir (Ball and Wietcshel, 2009; Holladay et al, 2009).

2.1.7.Elektroliz

Suyun elektrik akımı yardımı ile hidrojen ve oksijenine parçalanması esasına dayanan basit bir prensipte çalışmaktadır. Temelde elektrik enerjisinin hidrojen kaynaklı kimyasal enerjiye dönüştürülmesi olarak açıklanabilir. Elektroliz genelde saf hidrojen gereken işlemler için tercih edilen bir yöntemdir. Bugün için ekonomik maliyeti diğer yöntemlere göre daha yüksek olsa da gelecekte özellikle kullanılan doğal gaz, kömür gibi kaynakların fiyatlarında oluşabilecek artışlarla önemli bir alternatif olma potansiyeli bulunmaktadır. Yakıt hücreleri elektroliz prensibine dayanarak geliştirilmişlerdir. Yaygın olarak kullanılan alkali, proton membran, katı oksit gibi hücrelerin temelinde suyun elektrolizi bulunmaktadır (Barbir, 2005; Li et al., 2009; Holladay et al, 2009).

2.1.8.Fotoelektroliz

Güneş enerjisi yardımıyla, fotovoltaiik güneş pillerinde oluşan reaksiyon benzeri bir prensiple, suyun doğrudan hidrojen ve oksijenine ayrışması yöntemidir. Katalizör olarak yarı iletkenlerin veya metallerin kullanıldığı bu yöntemde güneşten gelen fotonların tetiklemeyle su hidrojenine ve oksijenine ayrılmaktadır. Kullanılan katalizörün türüne,

elektrot malzemesine bağlı olarak üretim verimleri değişmektedir (Tributsch, 2008; Holladay et al, 2009).

2.1.9. Termoliz

Suyun ısı etkisiyle ayrıştırılması olarak açıklanabilir. Suyun 2500 °C gibi yüksek sıcaklıklarda ayrışmasını temel alan bu yöntemin en önemli sakıncası bu sıcaklıklara dayanıklı ve ekonomik sistemlerin bulunma zorluğudur. Bu nedenle reaksiyonların daha düşük sıcaklıklarda kimyasallar eşliğinde gerçekleştirildiği çeşitli kimyasal döngüler bulunmuştur. Bu yöntem üzerinde çalışılsa da özellikle 1980'lerden sonra araştırmalar bu konudan uzaklaşmıştır (Andress et al., 2009; Saxene et al., 2008; Holladay et al, 2009; Nath and Das, 2003).

2.1.10. Piroliz

Hidrokarbonların su veya oksijen reaksiyonları olmaksızın hidrojene ve karbona ayrıştırılmasıdır. Su ve oksijen olmadığı için karbon oksitler oluşmadığından sera gazı etkisi azdır. Her ne kadar su veya hava varlığında da yöntem uygulanabilmekteyse de ağığa çıkan karbon oksitlerin giderilmesi için ek maliyet gerekmektedir. Düşük emisyonlarının yanı sıra biyokütle gibi farklı yakıtların kullanımına izin vermesi, basit tasarımı sistemlerle gerçekleştirilebilmesi gibi özellikleri nedeniyle işletim bakımından esnek bir yöntemdir (Dufour A. et al., 2009; Ahmed and Gupta, 2009; Holladay et al, 2009).

2.1.11. Gazlaştırma

Kömür, biyokütle gibi yakıtlar kullanılarak piroliz benzeri kısmi oksidasyon temelli bir yöntemdir. Bu yöntem katalizörlü veya katalizörsüz gerçekleştirilebilmekle beraber kullanılan yakıtların kısmi oksidasyonu ile hidrojenin yanında metan, nitrojen, karbonmonoksit ve karbondioksit gazları da açığa çıkmaktadır. Kullanılan yakıt türüne bağlı olarak verim değişmektedir. Günümüzde her ne kadar kömürden daha az verimli olsa da biyokütleden bu sistemlerle yüksek saflıkta hidrojen elde edilebilmektedir. Ancak veriminin yükseltilebilmesi için biyokütle içindeki nemin giderilebilmesi amacıyla ek bir ısıtma işlemine ihtiyacı olmaktadır (Guoxin and Hao, 2009; Kruse, 2009; Guell et al., 2009).

2.1.12. Karanlık fermentasyon

Anaerobik bakterilerin ve bazı alglerin karbonhidratlı besinleri karanlıkta parçalamaları işlemidir. Metabolik yollar, kullanılan substrata göre değişmekle birlikte teorik olarak 1 mol glukoz başına 4 mol hidrojen üretilmektedir. Parçalanma esnasında hidrojen, karbondioksit, metan, karbonmonoksit ve hidrojen sülfür açığa çıkmaktadır. Bu nedenle hidrojenin saflaştırılması için ek bir ayırma işlemi gerekmektedir. Bu işlemde diğer bir önemli nokta ise hidrojenin kısmi basıncının artışının üretime olan negatif etkisidir. Bu sakınca üretilen gazın doğrudan sistemden uzaklaştırılması ile aşılabilmektedir. Karanlık fermentasyon işleminin basit sistemlerde gerçekleştirilebilmesi, substratların biyolojik olarak bozunur olmaları, rahatça bulunabilmeleri ve maliyetlerinin düşük

olması gibi bazı avantajları da vardır (Wang and Wan, 2009; Hallenbeck and Ghosh, 2009; Urbaniec and Grabarczyk, 2009).

2.1.13. Foto-fermentatif hidrojen üretimi

Fotosentetik bakteriler tarafından gerçekleştirilen bir işlemdir. Bu işlemde anaerobik koşullarda fotosentetik pigmentler ışık enerjisini kullanarak organik bileşiklerin parçalanmasını gerçekleştiren reaksiyonları tetiklerler. Temel olarak nitrogenaz ve hidrojenaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlar olduğu için bu enzimlerin oksijene olan duyarlılığı nedeniyle hidrojen veriminde değişkenlik gözlemlenebilir. Bu nedenle ortamın anaerobik tutulması gerekliliği özellikle büyük ölçekte önemli bir ek maliyet getirmektedir. Ayrıca ışık dönüşümlerinin düşük verimlerle gerçekleşmesi elde edilen hidrojenin miktarının diğer endüstriyel ölçekte uygulanan yöntemlere göre çok az oluşu önemli bir dezavantajdır. Ancak günümüzde oksijene dirençli yeni türlerin genetik olarak geliştirilmeye çalışılması, yeni teknolojiler ile daha verimli ışık kullanımı, farklı üretim yöntemlerinin uygulanması gibi gelişmeler sayesinde bu yönteminde bir alternatif olabileceği görülmüştür (Hallenbeck and Benemann, 2002; Asada and Miyake, 1999; Esper et al., 2006).

2.1.14. Foto-biyo hidrojen üretimi

Temelde hidrojenaz ve nitrogenaz enzimleri aracılığıyla gerçekleşen reaksiyonlar yardımıyla hidrojen üretim sürecidir. Mikroalgler ve siyanobakteriler tarafından hidrojenaz enzimi katalizörlüğünde güneşten alınan enerjiyle suyun doğrudan hidrojene kadar parçalanması

izlenebilecek birinci yoldur. Bu yolla, hidrojen üretimi sadece su ve gün ışığı eşliğinde ve karbondioksit açığa çıkarmadan gerçekleşebildiği için diğer üretim yöntemleriyle karşılaştırıldığında oldukça dikkat çekmektedir. Ancak özellikle kullanılan hidrogenazın oksijene olan duyarlılığı nedeniyle süreç içerisinde eş zamanlı açığa çıkan oksijen verim kayıplarına neden olmaktadır. Oksijenden korunmak için absorblayıcı ajanların kullanımı, gaz giderim sistemlerinin eklenmesi gibi ek işlemlerin ise özellikle ölçek büyütme çalışmalarında gözlenen kullanım güçlüğü ve verim düşüşleri bu yöntemin başlıca sakıncalarıdır. Günümüzde, helyum eklemesi ile sistemde üretilen gazların sistemden uzaklaştırılması ile oksijenin inhibisyonuna olanak vermeden hidrojenin ayrıştırılması gerçekleştirilebilmektedir. Diğer bir yöntemde ise oksijenin hidrojen ile eş zamanlı üretiminin engellendiği iki basamaklı işlem ile önce oksijenin üretim mekanizmasının kimyasallar veya besin kısıtlı ortamları kullanılarak kilitlenmesi ve sonra hidrojen üretimine geçilmesi gibi uygulamalar sayesinde bu yöntem gelecek vaad etmektedir (Pinto et al., 2002; Esper et al., 2006; Melis, 2002).

Bir diğer yol da azot fikse edebilen fotoheterotrofik bakterilerin veya siyanobakterilerin nitrogenaz enzimi ve ışık enerjisi ile organik substratların hidrojene parçalanmasıdır. Nitrogenaz enziminin oksijene olan duyarlılığı ve ortamda bulunan fazla azotun negatif etkisi üretim veriminde önemli bir rol oynar. Nitrogenazın hidrogenaza göre daha fazla enerjiye ihtiyaç duyması fotokimyasal olarak kullanılan ATP enerjisinin hidrojene dönüşüm veriminde kayıplara neden olmaktadır. Bu durum sadece ışık enerjisine destek olarak organik asitlerinde kullanılmasını gerekli kılabilir. Fotoheterotrofiklerin fotoototrofik

canlılara göre ışık spektrumunun daha geniş bir bölümünü kullanma yeteneklerine karşı ışık şiddetine daha hassas olmaları verim problemleri yaratmaktadır. Bu nedenlerle kullanılacak sistemlerin anaerobik ortam koşullarını sağlaması, azot kısıt ortam kullanılması gerekliliği, uygun ışık şiddetinin sağlanması ölçek büyütme işlemlerinde dikkat edilmesi gereken hususlardır. Ancak bu yöntem sırasında oksijen açığa çıkmaması önemli bir üstünlüktür. Diğer bir avantajda, fotofermentatif yöntemde sorun olan, hidrojenin kısmi basıncının doygunluğa ulaşmadan sistemden uzaklaştırılması gerekliliği bu sistemde söz konusu değildir (Manish and Banarjee, 2008; Vijayaraghavan and Soon, 2006).

2.1.15. Entegre biyo-hidrojen üretim yöntemi

Entegre sistemlerde ise karanlık ve foto fermentasyon yöntemleri birlikte kullanılmaktadır. Bu yöntem, karanlık fermentasyon işlemi ile substratın bakterilerce hidrojen ve organik asite parçalanması basamağıyla başlamaktadır. İlk basamakta üretilen organik asitçe zengin fermentasyon sıvısı fotofermentatif bakterilerce besin olarak kullanılır ve ışık enerjisine destek olur. Bu şekilde daha yüksek verimle hidrojen üretilir. Bu yöntemde kullanılan ortamlar açısından hem bir geri dönüşüm sağlanmakta hem de her basamakta hidrojen üretimi gerçekleştirilmektedir. Yürütülen çalışmalar verimi arttırıcı farklı basamaklar eklenmesi doğrultusundadır (Akkerman et al., 2008; Kargı and Karapınar, 2006).

2.2. Mikroalglerde foto-biyohidrojen üretiminde etkili olan mekanizmalar

Fotosentez güneşten aldıkları enerji ile su ve karbondioksiti karbohidrat ve oksijene dönüştürebilen canlıların metabolik mekanizmasıdır. Fotosentetik canlılar ışık enerjisini suyun parçalanmasında da kullanabildikleri için hidrojen üretiminde önemli bir role sahiptirler. Mikroalgler, siyanobakteriler fotoototrofik canlılar olarak sadece ışık enerjisiyle ve karbondioksiti karbon kaynağı olarak kullanarak bu işlemleri yapabilirken, fotoheterotrofik canlılar ışıktan aldıkları enerjiyi ve organik karbonları karbon kaynağı olarak kullanarak bu işlemleri gerçekleştirebilmektedirler (Benemann, 1997; Akkerman et al., 2002; Ghirardi et al., 2002).

2.2.1. Fotosentez ve fotosistemler

Mikroalgler gibi organizmalar ışıktan aldıkları enerjiyi kendi yaşamsal aktiviteleri için ihtiyaç duydukları enerjiye fotosentetik mekanizmalarını kullanarak dönüştürebilirler. Fotosistemler bu fotosentetik mekanizmaların temel ünitelerini oluşturan merkezlerdir. Bu merkezlere gelen enerji yüklü ışık parçaları; fotonları, karotenoidler ve klorofiller gibi pigmentler bulunduran alıcılar aracılığıyla soğurularak kullanılmaktadır. Fotosistemi oluşturan bu alıcılara anten kompleksleri denilmektedir. Anten kompleksleri fotosentetik pigmentleri barındıran yapılardır. Bu yapılar fotosistemin diğer bir yapı taşı olan reaksiyon merkezlerine soğurdukları fotonları iletirler ve bu merkezlerde bulunan

özel moleküller aracılığıyla kimyasal enerji dönüşümünü gerçekleştirirler (Polle et al., 2002; Rochaix, 2002).

Bir foton reaksiyon merkezinde bulunan anten pigmentine çarptığı anda bu molekülün elektronlarından birini uyararak daha yüksek bir enerji seviyesine çıkartır. Bu uyarılma fotosentezin reaksiyonlarını tetikler ve bu aşamada elektronlar aracılığıyla aktarılan enerji bir sıra halinde dizili bulunan pigment moleküllerinin birinden diğerine doğru akar. Bu süreç esnasında bir elektronu kaybeden pigment molekülü, pozitif elektrik yüklü hale gelirken, elektronu kabul eden alıcı molekül negatif yüklü olur. Elektron transfer zinciri adı verilen ve taşıyıcı moleküllerden oluşan bu süreç içerisinde elektronlar bir taşıyıcı molekülden diğerine doğru ilerlerler. Bu durum her elektron taşıyıcısının bir öncekinden daha düşük bir enerji seviyesine sahip olmasına yol açar ki elektronlar zincir boyunca bir molekülden diğerine akarken kademeli olarak enerjilerini kaybederken artan enerji sistemden uzaklaştırılır. Fotonun soğurulmasından elektron transferine uzanan bu enerji transferi zincirinde her reaksiyon merkezinde kimyasal enerjiye dönüşüm gerçekleşir. Fotosentezden artan bu enerjinin uzaklaştırılması ise farklı şekillerde olabilir. Bunlardan biri ısı şeklinde diğeri ise anlık ışıma, floresans, şeklinde olmaktadır. Enerjinin korunumu dikkate alındığında farklı enerji uzaklaştırma yöntemleri fotosentezin verimi açısından önemli veriler sunmaktadırlar. (Vulgusheva et al., 2007; Rech et al., 2003; Mouget et al., 2002).

Fotosentezde fotokimyasal olayların gerçekleştirilmesinde ışığın 400-700 nm bandı kullanılmaktadır. Oluşan ışıma, soğrulan ışığa göre

dalga boyunun yüksekliği (kıvıl/kıvıl ötesi; ≥ 685 nm) ve önemli bir kısmının (~%95) fotosistem2'den kaynaklanması gibi özelliklerinden ayrılabilir, izlenmesi olanaklıdır. Bu nedenle her ne kadar floresans soğurulan ışığın çok küçük bir kısmını (%1-2) oluştursa da kolay takip edilebilir. (Melis and Happe, 2001; Maxwell and Johnson, 2000).

2.2.2. Suyun ayrıştırılması ve fotosistemler

Kloroplastlarda gerçekleşen fotosentez sürecinde, lumeni çevreleyen lipid tabakalı thylakoid membranda bulunan fotosistem1 (PSI) ve fotosistem2 (PSII) seri olarak çalışmaktadır. PSI reaksiyon merkezi, P700 olarak adlandırılan molekülleri içerir ve 700nm bandı ve üstünde soğurma gerçekleştirir. PSII reaksiyon merkezi, P680 olarak molekülleri içerir ve 680nm bandı ve altına kadar gelen fotonları soğurarak reaksiyonlar gerçekleştirebilir. PSII merkezleri geniş spektrumda aktif olmaları ve daha yoğun fotosentetik pigment içermeleri nedeniyle fotosentez mekanizmasında çok önemli bir yer alırlar (Melis, 1999; Kosourov et al., 2007).

PSII suyun doğrudan oksijene, elektronlara ve protonlara ayrıldığı reaksiyon merkezidir. Açığa çıkan protonlar lumende kalmaktadırlar. Oluşan elektronlar ise sürekli bir şekilde reaksiyona girerek plastokinona (PQ) transfer edilirler. Protonlar iç ortamdan alınarak plastokinonun tamamen indirgenmesinde (PQH₂) kullanılarak membranda çözünebilen protein yapılara dönüştürülürler. Bu proteinler difüzlenerak sitokrom b₆f kompleksine aktarılır. Plastokinon kompleksinde yer alan elektronlar da suda çözünebilen elektron taşıyıcısı plastotosiyanine aktarılır.

Plastosiyanın kompleksi protonun lipid tabakadan geçişine imkan veren özel bir mekanizmaya sahiptir. Lumende biriken plastosiyanın ışık altında oksidasyon reaksiyonlarında kullanılacağı PSI reaksiyon merkezine difüzlenir. Plastosiyonin burada sahip olduğu elektronları serbest bırakarak PSI reaksiyon merkezinin indirgenmesine yol açar. Daha sonra ışık etkisiyle tekrar uyarılan merkez aracılığıyla serbest elektronlar ferrodoksin elektron taşıyıcısına aktarılır. Ferrodoksin NADP-redüktaz ile reaksiyona girerek nikotinamid dinükleotit fosfat (NADP+) indirgenmesini gerçekleştirerek NADPH oluşumunu sağlar. Tilakoid membranda bulunan protonlar ATP sentezinde ve indirgen NADPH ile birlikte Calvin emberindeki Rubisco aracılığıyla karbondioksitin tutulmasında kullanılır. Bu olay ökaryotik organizmalarda (mikroalgler) kloroplastlarda gerçekleşirken, prokaryotiklerde (siyanobakteriler) sitoplazmada gerçekleşir. Calvin çemberinden yağların, yağ asitlerinin, amino asitlerin ve karboksilik asitlerin yapıtaşı olan fosfogliseraldehit açığa çıkar. Takip eden reaksiyonlarla organizmanın yaşam faaliyetleri için ihtiyaç duyduğu enerjinin üretimini sağlayacak depo maddeleri olan karbohidratlar üretilir (Richmond, 2004; Masojidek et al., 2004).

Normal aerobik koşullarda gerçekleşen fotosentez reaksiyonları sonucunda karbohidratlar açığa çıkarken anaerobik koşullar altında veya çok yoğun atıl enerjinin biriktiği durumlarda ferrodoksinde tutulan elektronlar protonların indirgenmesinde kullanılarak hidrojen oluşumu gerçekleşir. Hidrogenaz enziminin katalizlediği bu reaksiyon ile herhangi bir ek ATP ihtiyacı olmadan su fotobiyolojik yolla doğrudan elektrolizlenmektedir (Greenbaum and Lee, 1998; Lindblad, 2004).

2.3.Hidrojen ve *Chlamydomonas reinhardtii*

Fotobiyolojik hidrojen üretimi hem temiz ve yenilenebilir olması nedeniyle hem de mikroalglerin kullanıldığı sistemlerde hidrojenin yanısıra mikroalgal ürünlerin de elde edilmesi nedeniyle özel bir yere sahiptir (Hallenbeck, 2004).

Chlamydomonas reinhardtii fotobiyolojik yollarla hidrojenin üretimini gerçekleştirebilen tek hücreli, kamçılı bir yeşil algtir. Özellikle yüksek bitkilerdeki gibi fotosistem mekanizmasına sahip olması, diğer yeşil alg türleriyle karşılaştırılabilir özelliklerinin olması, basit ve esnek üretim özellikleri ve son yıllarda tamamlanan genom sekansının bulunması gibi özellikleri fotosentez mekanizmasının incelenmesinde, moleküler biyoloji ve genetik çalışmalarında model olarak kullanılan bir mikroorganizmadır (Rochaix, 2002; Germano et al., 2002).

Hidrojen üretimi açısından ise özellikle son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Her ne kadar 1940'lı yıllarda Gaffron ve Rubin'in yaptıkları çalışmalarda yeşil alglerin hidrojen üretim potansiyelleri anlaşılmış olsa da özellikle 2000'li yıllarda farklı yöntemlerin geliştirilmesiyle üretim sürecindeki iyileştirmeler bu canlılara ilgiyi tekrar tetiklemiştir (Gaffron and Rubin, 1942; Stuart and Gaffron, 1972).

Chlamydomonas tarafından hidrojen üretimi, fotonlardan sağlanan enerji ile kloroplastlarda gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda suyun ayrıştırılması ile gerçekleşir. Fotobiyolojik reaksiyonlar ile PSII de parçalanmış suyun açığa çıkardığı elektronların PSI de bulunan ferrodoksine transferiyle anaerobik koşullar altında, hidrogenaz

katalizörlüğünde protonları kullanmasıyla hidrojen üretimi gerçekleşir. Ancak hidrojen üretiminin etkeni olan hidrogenaz enziminin oksijene olan duyarlılığı bu yöntemin kolay uygulanmasında önemli sorunlar ortaya çıkarmıştır. Bu sorunun aşılması için iki basamaklı bir yöntem geliştirilmiştir (Melis et al., 2000).

Bu yöntemin temelini oksijen üretiminin gerçekleştiği PSII reaksiyon merkezinin kilitlenmesi esası oluşturmaktadır. Önceleri inhibe edici bazı kimyasallar (DCMU, SAL, C1-CCP) denenmiştir (Gfeller and Gibbs, 1984; 1985). Ancak organizma üzerinde yarattıkları geri dönüşümler zararlı etkileri nedeniyle sürekli uygulamaya elverişli olmadıkları için tercih edilmemişlerdir.

2000 yılında Melis tarafından açıklanan yöntemde ise PSII reaksiyon merkezinin kilitlenmesi için kükürt kısıtlamasının yeterli olacağı belirtilmiştir. İki basamaklı üretim yöntemi olarak adlandırılan bu yöntemin temelinde, oksijeni açığa çıkartan reaksiyonların gerçekleştiği PSII reaksiyon merkezinin işlevini sürdürebilmesi için ihtiyaç duyduğu proteinlerin sentezinde kullanılan sistein, metyonin gibi aminoasitlerin, yapıtaşlarını oluşturan kükürtün yokluğunda üretilmemesi ve bunun sonucunda protein sentezleyemeyen merkezin kilitlenmesi ilkesi yatmaktadır. Kükürt yokluğunda PSII reaksiyon merkezinin fotokimyasal aktivitesi azalarak fotosentetik oksijen oluşumu yavaşlamakta ve oksijen tüketiminin gerçekleştiği solunum hızının altına düşmektedir. Bu durumda net oksijen kullanımı arttığı için hava teması kesilen aydınlık ortamlarda da anaerobik koşullar kendiliğinden sağlanmaktadır. Anaerobik koşullar sağlandıktan sonra hidrogenaz kendiliğinden devreye

girerek elektron transferini gerçekleştirmekte ve hidrojen üretimi başlamaktadır. Bu süre içerisinde hücrelerin fotosenteze devam edemedikleri için depoladıkları besinleri parçaladıkları görülmüştür. Tekrar kükürt eklemesi ile hücrelerin PSII aktivitelerinin artması bu yöntemin geri dönüşümlü bir etki sağladığını bir göstergesi olarak büyük önem taşımaktadır (Melis et al., 2000; Tsygankov et al., 2006; Kosourov et al., 2005; Ghirardi et al., 2002).

Bu yöntem oksijenik fotosentez, mitokondrial solunum, hücresel metabolizmanın regülasyonu ve Fe-hidrojenaz ile elektron transferi sonucunda hidrojen oluşum mekanizmasını birlikte kullanması nedeniyle bu sistemlerin anlaşılmasında önemli bilgiler sunmaktadır (Melis et al., 2002; Ghirardi et al., 2005).

2.4.Fotobiyoreaktörler

Fotobiyoreaktörler fotosentetik canlıların, genelde mikroalglerin üretimlerinde optimum koşulları sağlayan ve ışık geçişine izin veren sistemlerdir. Temelde potansiyel kontaminantlara karşı kültürü koruyan ve ortam koşullarının tam kontrolüne izin veren bu sistemlerin tasarımında belli unsurlara dikkat edilmektedir. Bunlar, yapılacak üretimin niteliği, seçilen tür, ortam koşulları, kontrol mekanizmalarına olan gereksinim, ışık ihtiyacı gibi başlıklar altında toplanabilir. Yeterli ve verimli ışık sağlanması ve ışıktan maksimum yararlanılması, kütle ve gaz kayıplarının minimum seviyelere indirilmesi, kültürü yıpratıcı ve metabolizmayı inhibe edici faktörlerin (atık oksijen, kimyasallar vb.)

giderilmesi, ölçek büyötmeye uygunluk gibi başlıca konular tasarımıda önemli rol oynamaktadır (Öncel, 2004; Oñcel and Akpolat, 2006).

İhtiyaca göre çok farklı çeşitleri olsa da temelde kolon sistemler (karıştırmalı tank, hava kaldırmalı, kabarcık kolon), panel sistemler, tübüler sistemler olarak sınıflandırılabilirler. Her sınıfın kendine özgü ışık kullanım verimliliği, aydınlık karanlık senkronu, akış rejimi, ölçek büyötmeye kapasiteleri olmakla birlikte kullanılan organizma ve üretimin amacına göre tercih edilmektedirler (Oñcel and Vardar, 2008; Benemann, 2000).

Hidrojen üretimi söz konusu olduğunda en büyük sorun üretilen hidrojenin sistemden kayıplar olmadan uzaklaştırılıp kullanıma hazır halde korunabilmesidir. Özellikle fotobiyolojik hidrojen üretiminde rol alan enzimlerin oksijene duyarlılıkları üretimlerin gerçekleştiği fotobiyoreaktörlerin tamamen hava ile temaslarının kesilebilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu önemli zorunluluk yapım malzemesinden bakım işlemlerine, karıştırma sisteminden aydınlatma sistemlerine kadar tasarımın tüm bileşenlerini etkilemektedir. Tübüler sistemler, panel sistemler, karıştırmalı tank sistemler üretimlerde kullanılabilir. Fotobiyolojik yolla hidrojen üretiminin geleceği uygun maliyetli rekabet edebilir sistemlerin geliştirilmesiyle yakından ilişkili olacaktır. Özellikle elde edilecek değerli kimyasallar, biyokütle gibi yan ürünlerin geri kazanılması maliyet açısından avantaj sağlayacak potansiyele sahiptir (Modigell and Holle, 1998; Kargı and Karapınar, 2006).

2.5.Yakıt hücreleri

Hidrojen elde edilebildiği kömür, doğal gaz, nükleer, su, rüzgar, güneş, biyokütle, jeotermal, dalga gibi birbirinden çok farklı kaynaklar göz önüne alındığında fosil kaynaklı yakıtlara göre önemli bir üstünlük taşımaktadır. Elde edilen hidrojenin kullanımında ise yakıt hücreleri büyük bir önem taşımaktadır (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Yakıt hücrelerinin özellikleri (Edwards et al., 2008).

Yakıt Hücresi	Çalışma sıcaklığı (°C)	Kullanım alanları	Güç aralığı (kW)	Elektriksel verim (%)
Alkalin	70-130	Uzay, askeri, cep tel.	0.1-50	50-70
Proton Geçirgen	60-110	Cep tel., taşınabilir sistemler, düşük güç üniteleri	0.01-250	40-55
Fosforik Asit	175-210	Orta-büyük ölçek ısı güç sistemleri	50-1000	40-45
Ergimiş Karbonat	550-650	Büyük ölçek güç üretimi	200-100,000	50-60
Katı Oksit	500-1000	Orta-büyük ölçek güç, ısı sistemleri, araç güç üniteleri, mikro çipler üniteleri	0.5-2000	40-72
Metanol	60-120	Cep tel., taşınabilir sistemler	0.001-100	40

Bu sistemler ulaşımdan, elektronik cihazlara kadar çok geniş bir yelpazede kullanım potansiyeli sergilemektedir (Bullen et al., 2006; Abram, 2008; Hallenbeck and Benemann, 2002).

Yakıt hücreleri hidrojeni oksijen veya hava kullanarak oksidasyon yolu ile doğrudan elektrik üretiminde kullanılırlar. Bu nedenle yakıt hücreleri dünya genelinde hidrojen kullanımının yaygınlaşmasında önemli bir rol üstlenmektedirler (Edwards et al., 2008).

Farklı kullanım alanlarının gelişmesine karşılık özellikle ulaşım sektöründe hidrojenin petrole önemli bir alternatif olarak değerlendirilmeye başlanmasından sonra yakıt hücreleri çalışmalarına yoğunluk verilmiştir (Mock and Schmitt, 2009).

Yakıt hücrelerinin farklı yakıtların kullanıldığı konvansiyonel elektrik üretimine göre en önemli üstünlüğü kimyasal, termal ve mekanik basamaklar olmaksızın, hidrojeni oksijen yardımıyla doğrudan elektriğe dönüştürebilmeleridir. Verimliliklerinin yüksek olması da bu nedenledir (Zegers, 2006; Yang, 2008).

Bu noktada özellikle ulaşım sektöründe kullanılan içten yanmalı sistemlerle karşılaştırıldığında da yakıt hücreleri yüksek verimlerinin yanı sıra düşük gaz emisyonları, ses kirliliği, hareketli parça içermemeleri, modüler olmaları, kullanım pratikliği bakımından da üstündür. Gelişen teknoloji ile sistemlerin ekonomik maliyetlerinin azaltılması, toplum bilincinin gelişmesi ile kullanım yaygınlığının artma potansiyeli günümüzde yakıt hücrelerine verilen önemi arttırmıştır (Ross, 2006; Qi et al., 2007; Moch and Schmitt, 2009).

Yakıt hücreleri, pillere benzer bir şekilde elektrik üretseler de, piller gibi enerji depolamasında kullanılamamaktadırlar. Bu nedenle sürekli bir yakıt beslemesine ihtiyaç duyarlar (Chen et al., 2009; Edwards et al, 2008).

Günümüzde kullanım alanlarına yönelik yakıt pilleri arasında farklılıklar olmakla birlikte tüm yakıt pilleri temel olarak birbirlerinden katı veya sıvı bir elektrolit ile ayrılan iki elektrottan (anot ve katod) oluşmaktadır (Çizelge 2.4).

Çizelge 2.4. Yakıt hücrelerinde gerçekleşen reaksiyonlar (Sherif et al., 2005; Zhao et al., 2009).

Yakıt Hücresi	Anot reaksiyonları	Katot reaksiyonları
Alkalın	$H_2 + 2OH \rightarrow 2H_2O + 2e^-$	$1/2O_2 + H_2O + 2e^- \rightarrow 2OH^-$
Proton Geçirgen	$H_2 \rightarrow 2H^+ + 2e^-$	$1/2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$
Fosforik Asit	$H_2 \rightarrow 2H^+ + 2e^-$	$1/2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$
Ergimiş Karbonat	$H_2 + CO_3^{2-} \rightarrow H_2O + CO_2 + 2e^-$	$1/2O_2 + CO_2 + 2e^- \rightarrow CO_3^{2-}$
Katı Oksit	$H_2 + O^{2-} \rightarrow H_2O + 2e^-$	$1/2O_2 + 2e^- \rightarrow O^{2-}$
Metanol	$CH_3OH + H_2O \rightarrow CO_2 + 6H^+ + 6e^-$	$6H^+ + 6e^- + 3/2 CO_2 \rightarrow 3 H_2O$

Hidrojen anot, oksitleyici ise katot bölmesine beslenerek elektrokimyasal indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarının gerçekleşmesi sağlanır. Elektrolitler asit, baz, tuz, polimer veya seramik gibi farklı iletkenlerden oluşabilmektedir. Elektrolit, elektrotlar arasında iyon transferine olanak sağlarken elektronlar dış direnç üzerinden geçerek elektrik akımı (doğru akım) ve ısı oluşturur. Protonlar katotta oksijenle birleşerek yakıt türüne göre su ve/veya karbondioksit açığa çıkarır. Yakıt hücreleri çalışma sıcaklıkları, yakıt çeşidi ve kullanım alanlarını belirleyen, elektrolitlerinin özelliklerine göre sınıflandırılır (Smitha et al., 2005; Barbir, 2006).

2.5.1. Alkali yakıt hücreleri

Yaygın olarak kullanılan, düşük maliyetli ve ilk geliştirilen yakıt hücreleri alkali hücrelerdir. Özellikle uzay programında eş zamanlı elektrik üretimi ve su ihtiyacının karşılanması amacıyla yoğun olarak

kullanılmışlardır. Bu sistemler potasyum hidroksit ve su karışımı bir elektrolit ile farklı elektrotlar eşliğinde esnek çalışma imkanı sağlamaktadırlar. Kullanılan elektrotların düşük değerli metallere seçilebilmesi, maliyeti olumlu yönde etkilemektedir. Ancak özellikle kullanım ömrünü azaltan ve verim kaybına yol açan karbondioksit gazına olan duyarlılık, hammadde olarak kullanılan yakıtların saflaştırılma zorunluluğunu gerektirmektedir (Chen et al., 2009; Edwards et al., 2008).

2.5.2. Fosforik asit yakıt hücreleri

Teflon bazlı silikonkarbit matrise hapsedilmiş fosforik asit elektrolit kullanılan, platin katalizörlü karbon elektrotların oluşturduğu yakıt hücreleridir. Bu sistemler modern olarak tanımlanan yakıt hücrelerinin ilk jenerasyonunu oluşturmakta ve ticari boyutta kullanılan ilk yakıt hücreleridir. PEM veya alkali yakıt hücrelerine göre yakıta bağlı safsızlıklara daha toleranslı olmakla birlikte özellikle kullanılan platin elektrotlar ek bir ekonomik maliyet getirmektedir. Sadece elektrik üretiminde verimleri düşük olsa da, ısı ve elektriğin kojenere üretiminde verimleri çok daha fazladır. Diğer yakıt hücrelerine göre boyut ve ağırlık olarak çok daha büyük boyutlarda olmaları önemli bir kısıtlardır. Boyutları nedeniyle genelde sabit sistemlerde kullanılmakla birlikte otobüsler gibi büyük ulaşım araçlarında da uygulama alanı bulmuşlardır (İbrahim et al., 2008; Holladay et al., 2009).

2.5.3. Doğrudan metanol beslemeli yakıt hücreleri

Hidrojenin doğrudan sisteme beslendiği yakıt hücrelerinden farklı olarak, bu tiplerde buharla karıştırılan saf metanol yakıt hücresine

doğrudan beslenmektedir. Hidrojen kullanılan sistemlere göre daha yeni olsalar da metanol beslemeli yakıt hücreleri metanolün kolay taşınımı, depolanması, sıvı olması nedeniyle kolay kullanımı nedeniyle bu sistemler üzerinde çalışmaları arttırmıştır. Özellikle pillerin yerine günlük kullanımda önem taşıyan cep telefonu, dizüstü bilgisayar gibi elektronik cihazların enerji gereksinimini karşılamaya yönelik potansiyelleri bulunmaktadır (Apanel and Johnson, 2004; Zhao et al., 2009).

2.5.4. Ergimiş karbonat yakıt hücreleri

Askeri, endüstriyel kullanımların yanında doğal gaz ve kömür santralleri gibi büyük çaplı enerji üretim sistemlerinde de kullanılmak üzere geliştirilmişlerdir. Bu yakıt hücreleri elektrolit olarak ergimiş karbonat tuzlarını içeren geçirgen inert seramik bazlı lityum alüminyum oksit matrislerin kullanıldığı, yüksek sıcaklıklarda çalışan sistemlerdir. Bu sistemler diğer yakıt hücrelerinden farklı olarak yüksek çalışma sıcaklıklarının bir getirisi olarak ek bir hidrojen üretim sistemine ihtiyaç duymadan gereken hidrojenin yakıt hücresi içinde oluşmasını sağladıkları için maliyet açısından bir üstünlüğe sahiptirler. Safsızlıklara olan dirençleri, verimlerini olumlu etkilese de özellikle yüksek sıcaklıklar, kullanılan korosif elektrolitler gibi etkiler işletme ömürlerini sınırlandırmaktadır. Yeni malzemelerin geliştirilmesiyle bu sorunların aşılmasına çalışılmaktadır (Holladay et al., 2009; Edwards et al, 2008).

2.5.5. Katı oksit yakıt hücreleri

Geçirgen olmayan seramik elektrolitlerin kullanımı ile diğer yakıt hücrelerinde olduğu gibi tabaka şeklinde elektrolit üretimine ihtiyaç duymayan sistemlerdir. Ergimiş karbonat sistemlerde olduğu gibi çok yüksek sıcaklıklarda çalışan bu yakıt hücreleri yüksek değerlikli metal katalizörlere ihtiyaç duymamaktadır. Ayrıca sistem kendi içinde yakıtını oluşturabildiği için kömür, doğal gaz gibi farklı kaynakların kullanımı mümkündür. Özellikle kömür kullanımında açığa çıkan kükürde karşı ergimiş karbonat yakıt hücrelerinden bile daha dayanıklı oldukları için verimleri yüksektir. Açığa çıkan artık ısı da geri dönüştürülebilirse verimleri daha da artmaktadır. Ancak yüksek sıcaklıklarda çalışma nedeniyle dayanıklılık, bakım maliyetleri gibi konular önemli kısıtlar getirmekle birlikte gelişen teknoloji ile birlikte daha dirençli malzemelerin kullanımı ve daha düşük sıcaklıklarda çalışabilecek katı oksit sistemlerin üzerinde çalışılmaktadır (Sammes et al., 2006; Holladay et al., 2009; Edwards et al, 2008).

2.5.6. Polimer elektrolit membran yakıt hücreleri

Diğer adıyla proton geçirgen membran yakıt hücreleri basitlikleri, kolay kullanımları, esnek çalışma alanları gibi özelliklerinden dolayı ulaşım araçları gibi büyük sistemlerden cep telefonlarına kadar geniş bir yelpazede kullanım potansiyelleri gösterirler (Cheng et al., 2007; Barbir, 2006). Elektronik sistemlerin haricinde özellikle biyolojik yollarla hidrojen üretiminde doğrudan elektrik üretimi amacıyla kullanımı,

laboratuar çapında çalışmaktadır (Dante, 2005; He et al., 2005; Nakada et al., 1999; Dante et al., 2004).

Temelde platin içerikli iki geçirgen karbon elektrot arasında, proton geçirgen bir membranın elektrolit olarak kullanıldıkları sistemlerdir. Hidrojen anot tarafına beslendikten sonra proton ve elektronlarına ayrılmakta, protonlar membrandan geçerken, elektronlar membranın diğerk tarafından iletken elektrotlar zeriden dış dirence geçerek elektrik akımı üreterek tekrar membranın diğerk tarafına geçmektedirler. Bu noktada membrandan doğruca geçen protonlarla, katot tarafından beslenen oksijen birleşerek suyu oluşturmaktadırlar. Bu süreç sonunda atık oksijen ve su sistemden uzaklaşmaktadır (Vishnyakov, 2006; Barbir, 2005).

Düşük sıcaklıklarda çalıştıkları için kısa bir ısınma süresi yeterli olmaktadır. Bu sistemler yakıt olarak sadece hidrojene ve oksitleyici olarak hava ve/veya oksijene ihtiyaç duyduklarından diğerk sistemlerde karşılaşılan koroziyel elektrolitlere bağlı dayanıklılık sorunları söz konusu değildir, sağlamdırlar ve kullanımları basittir. Ancak platin gibi değerli metallerin kullanım zorunluluğu maliyet açısından önemli yükler getirmektedir. Ayrıca platinin karbonmonoksit'e olan duyarlılığı nedeniyle besleme gazlarının sağlaştırılması ek bir mali yük getirmektedir. Bu yakıt hücreleri özellikle araçlarda büyük bir potansiyel içermekle birlikte yakıt olarak hidrojene ihtiyaç duyulması nedeniyle hidrojen tedarik ve depolanmasında karşılaşılan sorunların aşılması önem kazanmaktadır (Barbir and Gomez, 1997; 2005; Barbir et al., 2005).

2.5.7. Mikrobiyal yakıt hücreleri

Biyolojik yakıt hücreleri olarak da belirtilen bu sistemlerde elektrotlarda bulunan, elektrisijenler ve eksoelektrojenler olarak adlandırılan mikroorganizmalar, organik materyalleri yükseltgeyerek elektron ve protonlar açığa çıkarırlar. Bu sistemler temelde mikrobiyal katabolik faaliyetlere dayanmaktadır. Diğer yakıt hücrelerinden farkları ise, elektrotlarda bulunan organizmalar aracılığıyla bir yakıt beslemesine gereksinim duymadan, ihtiyaç duyulan yakıtın organik materyalden üretimi şeklindedir. Farklı konfigürasyonlarda tasarlanmış sistemler aracılığıyla elektron transferi gerçekleştirilerek elektrik eldesi sağlanmaktadır. Bu tip yakıt hücreleri organik maddelerden doğrudan hidrojen elde edilmesinde de kullanılabilir. Bu sistemlere mikrobiyal destekli elektroliz hücreleri de denilmektedir. Bu sistemlerde, anaerobik ortam koşullarında, PEM yakıt hücrelerine benzer bir prensipte açığa çıkan elektron ve protonların membran aracılığıyla transferi ile doğrudan elektrik üretimi gerçekleşmektedir (Nandi and Sengupta, 1998; Watanabe, 2008; Lovley, 2006; Chae et al., 2009; Du et al., 2007).

Bu çalışmada temel amaç *Chlamydomonas reinhardtii* aracılığıyla foto-biyolojik yolla üretilen hidrojenin üretim sürecinde ışığın etkisinin incelenmesi, bu sürecin yakıt hücreleri kullanılarak takip edilebilirliğinin belirlenmesidir. Ayrıca üretilen hidrojenin yakıt hücreleri aracılığı ile doğrudan elektrik akımı üretiminde kullanılma potansiyeli incelenerek, elde edilen veriler doğrultusunda uygun ortam koşullarında uzun süreli üretimleri olanaklı kılacak yarı sürekli üretim sistemlerinin karşılaştırılması hedeflenmiştir.

Tez süresince yapılan çalışmalar ışığında hidrojenin foto-biyolojik yollarla üretim süreci ve yakıt hücrelerinde kullanım potansiyelleri hakkında özgün bilgiler elde edilmiştir. Yapılan çalışmanın bilimsel literatüre katkı sağlarken özellikle ülkemizde yapılacak bu tip çalışmalara kaynak olabilmesi ve gelişmelerde rol alabilmesi hedeflenen amaçtır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Mikroorganizma

Model olarak seçilen *Chlamydomonas reinhardtii*, CC124 suşu CNR-İtalya araştırma merkezinin kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.1.2. Kültür Ortamı

Üretimlerde iki tür ortam kullanılmıştır. Bu ortamlar Tris-asetat-fosfat (TAP) ve bu ortamdan kükürtün uzaklaştırılmasıyla elde edilen TAP-S ortamıdır.

Çizelge 3.1. Kültür ortamı kompozisyonu

TAP ortamı:	TAP-S ortamı:
Fosfat Buffer: 1 ml/l	
K ₂ HPO ₄ : 108 g/l	K ₂ HPO ₄ : 108 g/l
KH ₂ PO ₄ : 56 g/l	KH ₂ PO ₄ : 56 g/l
Besin Stok: 10 ml/l	
NH ₄ Cl : 40 g/l	NH ₄ Cl : 40 g/l
CaCl ₂ x 2H ₂ O : 5 g/l	CaCl ₂ x 2H ₂ O : 5 g/l
MgSO ₄ x 7H ₂ O : 10 g/l	MgCl ₂ x 6H ₂ O : 6.67 g/l
Hutner Metal Çözeltisi : 1 ml/l	
Na ₂ EDTA : 57.05 g/l	Na ₂ EDTA : 57.05 g/l
H ₃ BO ₃ : 11.4 g/l	H ₃ BO ₃ : 11.4 g/l
MnCl ₂ x 4H ₂ O : 5.06 g/l	MnCl ₂ x 4H ₂ O : 5.06 g/l
CoCl ₂ x 6H ₂ O : 1.61 g/l	CoCl ₂ x 6H ₂ O : 1.61 g/l
Mo ₇ O ₂₄ (NH ₄) ₆ x 4H ₂ O : 1.1 g/l	Mo ₇ O ₂₄ (NH ₄) ₆ x 4H ₂ O : 1.1 g/l
ZnSO ₄ x 7H ₂ O : 22 g/l	ZnCl ₂ : 16.67 g/l
FeSO ₄ x 7H ₂ O : 4.99 g/l	Fe(III) sitrat : 4.7 g/l
CuSO ₄ x 5H ₂ O : 1.57 g/l	CuCl ₂ x 2H ₂ O : 1.07 g/l
Tris Baz: 20 ml/l (121.14 g/l)	
Asetik Asit : 1 ml/l	

3.1.3. Fotobiyoreaktörler

Üretimlerde 3 farklı tip fotobiyoreaktör (PBR) kullanılmıştır. Bunlar;

- Biyokütle üretimlerinin gerçekleştirildiği 500 ml hacimli, 5 cm çaplı silindirik kabarcık kolon PBR'ler,
- Farklı ışık şiddeti ve aydınlık/karanlık döngü denemelerinin gerçekleştirildiği Roux tip şişelerin kullanıldığı, 1100 ml kültür hacimli, panel PBR'ler (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Panel tip fotobiyoreaktörler.

- Yarı sürekli üretimlerin gerçekleştirildiği 2500 ml kültür hacimli, karıştırılmalı tank (Sartorius Biostat A-plus; Almanya) tip PBR (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Karıştırmalı tank tip fotobiyoreaktör.

3.1.4. Yakıt Hücreleri

Denemelerde PEM yakıt hücreleri (H-Tec, Almanya, H₂/Air PEMFC; 4 cm²) kullanılmıştır.

3.1.5. Denemelerde yapılan ölçümler

3.1.5.1. Işık şiddeti ölçümleri

LI-250A (Licor, Lincoln, USA) quantum fotometre ile gerçekleştirilmiştir.

3.1.5.2. Gaz ölçümleri

Üretilen gaz miktarı sızdırmaz şekilde bağlantı yapılan su sütunlarında oluşan hacimsel değişimlere göre takip edilmiştir.

3.1.5.3. Floresans ölçümleri

Florimetre cihazı (Hansatech FMS1, Norfolk, İngiltere) kullanılarak ölçülmüştür.

3.1.5.4. Voltaj ve akım ölçümleri

Mastech (MY 64) marka multimetreler ile ölçülmüştür.

3.1.5.5. Voltaj değişimleri

Süreç içerisinde meydana gelen voltaj değişimleri multimetreye bağlanan veri kaydedici (Linseis 6012) ile sürekli takip edilmiştir.

3.1.5.6. Çözünmüş oksijen ölçümleri

Reaktör üretimlerinde Hamilton marka (Oxyferm FDA 225) çözünmüş oksijen sensörü ile takip edilmiştir.

3.1.5.7. pH değişimleri

Ortam hazırlanmasında taşınabilir ADWA marka (ECO200; İtalya) pH metre, reaktör denemelerinde ise Hamilton marka (Easyferm plus, K8-200) pH metre kullanılmıştır.

3.1.5.8. Hücre sayımı

Hücre sayımı hemositometre (Neubauer, Almanya) kullanılarak yapılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Aşı kültürü üretimleri

Chlamydomonas reinhardtii, CC124 suşu, üretimlerin başlangıcında agarlardan sıvı TAP ortamına (250 ml Erlenmayer flasklerde 100 ml kültür) aktarılmıştır. Erlenler 27 °C sıcaklıkta, sürekli aydınlatmalı ($\sim 40 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde), 100 rpm karıştırma hızında çalkalamalı inkübatörlere alınmışlardır. Kültür klorofil miktarı yeterli seviyeye ($22 \pm 2 \text{ mg klorofil l}^{-1}$) ulaştığında fotomiksotrofik koşullarda, 500 ml hacimli kabarcık kolon PBR'lerde transfer edilmiştir. Kültürler 27 °C sıcaklıkta, pH 7,2 koşullarında, sabit ışık şiddetinde, sürekli aydınlatma altında (cool-white floresanlar kullanılarak, $\sim 40 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde), steril CO₂-hava karışımıyla (%3 v/v) beslenmiştir.

3.2.2. Ön Üretimler

Logaritmik evrelerine kadar kolonlarda yetiştirilen ($22 \pm 2 \text{ mg klorofil l}^{-1}$) aşı kültürleri hidrojen üretimine geçilmeden önce, %10'luk inokulasyon oranında manyetik karıştırıcılı ($\sim 450 \text{ rpm}$; Gerhardt MAG-H, Bonn), hava beslemeli (1 vvm, %3 CO₂), panel tip PBR'lere aktarılmışlardır. PBR'ler iki taraftan eşit miktarda ışık şiddeti uygulanan, homojen bir aydınlatma sağlanması amacıyla da aynalarla desteklenen, düzeneğe yerleştirilmişlerdir.

3.2.3. Panel PBR’lerde hidrojen üretimi

Logaritmik evrelerine ulaşan ön üretim kültürleri TAP ortamından (3500 g’de 3 dakika sentrifugasyon ile) ayrılmışlardır. Hasat edilen bu hücreler hidrojen üretiminin gerçekleştirileceği TAP-S ortamı içeren benzer panel PBR’lere (5 yıkama yapılarak) klorofil miktarı ayarlanarak (12 mg klorofil l⁻¹) aktarılmışlardır. Hava geçirmez şekilde ağızları tıpalarla kapatılan PBR’ler gaz ölçümünün yapılabilmesi için tasarlanan hacimce kalibre edilmiş su kolonlarına bağlanmışlardır. Farklı etkiler altında hidrojen üretimi denemeleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.1. Farklı ışık şiddeti denemeleri

Kültürler panel tip PBR’lerde, sabit ışık şiddetlerinde iki taraftan eşit miktarda (50, 70, 80 ve 100 × 2 µEm⁻²s⁻¹) sürekli aydınlatma altında üretime alınmıştır. Ön üretimlerde ve hidrojen üretimlerinde ortam koşulları değiştirilmeden üretimlere devam edilmiştir.

3.2.3.2. Farklı aydınlatma döngüsü denemeleri

Işık şiddeti denemelerini takiben seçilen ışık şiddeti sabit tutularak sürekli aydınlatma yerine farklı aydınlık/karanlık evrelerin üretimlerde yarattığı etkilerin gözlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda benzer prosedürler takip edilerek TAP ortamı içeren PBR’ler, zaman ayarlayıcılar kullanılarak, farklı aydınlık/karanlık evrelere (günlük olarak, 18/6, 14/10, 12/12 saat aydınlık/karanlık döngü; saatlik 45/15, 35/25, 30/30 dakika aydınlık/karanlık döngü) maruz bırakılmışlardır

ardından TAP-S ortamına aktarılarak benzer eş koşullarda hidrojen üretimleri paralel denemelerle takip edilmiştir.

3.2.4. Karıştırma tankı tip PBR’de hidrojen üretimleri

3.2.4.1. Kesikli üretim denemeleri

Panel tip PBR’lerde seçilen sabit ışık şiddeti altında üretilen kültürler logaritmik evreye girdiklerinde karıştırma tankı tip fotobiyoreaktöre inokule (%10 h/h) edilmiştir. Bu sistemde sabit ışık şiddetinde ($140 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) hava beslenerek (%3 CO_2) üretilen kültürler yeterli klorofil miktarına ($24 \pm 2 \text{ mg klorofil l}^{-1}$) ulaştıktan sonra hidrojen üretiminin gerçekleştirileceği TAP-S ortamına yine sentrifugasyon işlemi ile ayrılıp, 12 mg l^{-1} klorofil içerecek şekilde aktarılmışlardır. Hidrojen üretim miktarı panel sistemlerde olduğu gibi su kolonları kullanılarak takip edilmiştir. Sıcaklık tüm üretimlerde 27°C ’de sabit tutulmuştur. pH ve çözünmüş oksijen miktarları PBR sistemine entegre sensörler ile kaydedilmiştir.

3.2.4.2. Yarı-sürekli üretim denemeleri

Kesikli üretim sistemden elde edilen veriler doğrultusunda yarı-sürekli üretime geçilmiştir. Hidrojen üretim aşamasına gelene kadar kesikli üretim prosedürü takip edilmiştir. Hücreler TAP-S ortamına aktarıldıktan sonra 5’er set halinde farklı seyreltme miktarları (%50 ve %30 h/h) ve farklı seyreltme hızları (haftada 1 ve 2) uygulamaları yapılmıştır. Ayrıca kontrol amaçlı kültür eklemesi ile seyreltme yerine 2 set taze ortam eklenmesi (%50 seyreltme h/h, haftada 1 seyreltme sıklığı) denemeleri de gerçekleştirilmiştir. Panel tip fotobiyoreaktörlerden

üretileen kùltürler manyetik olarak karıştıırılan şişelere (1 l, Schott, Almanya) 12 mg l⁻¹ klorofil içerecek şekilde hidrojen üretimi amacıyla aktarılmıştır. Sürekli aydınlatma uygulanarak (70×2 µEm⁻²s⁻¹), 32± 2 saat bekletildikten sonra karıştıırmalı ana reaktöre, aseptik şartlarda, seyreltme miktarı kadar eklenmişlerdir (Şekil 3.4).

3.2.5. Yakıt hücresi denemeleri

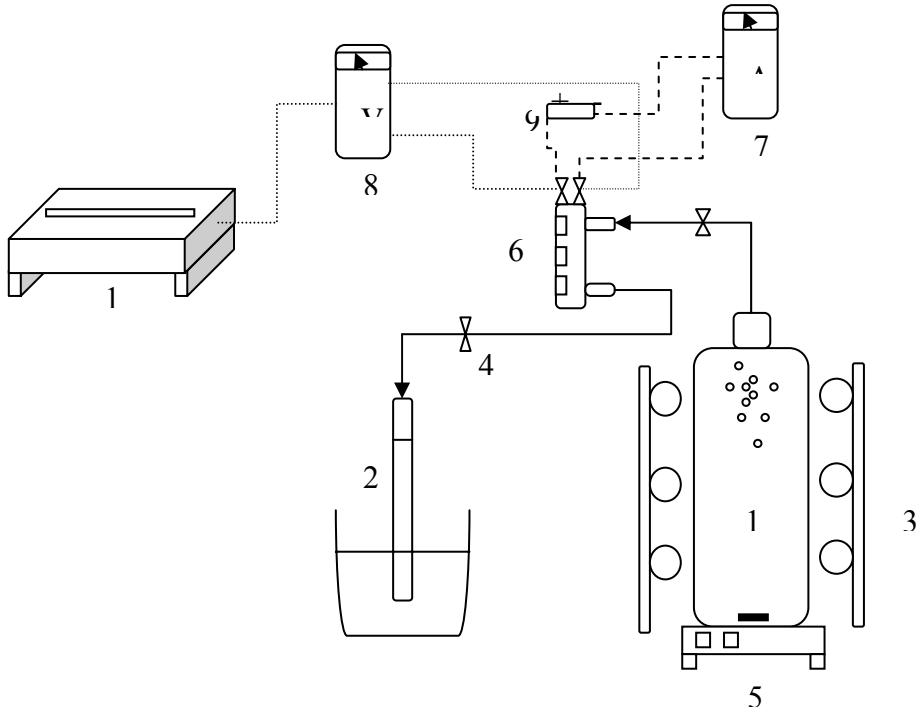
3.2.5.1. Üretilen hidrojenin yakıt hücresinde yarattığı voltaj farkının incelenmesi

Yakıt hücresi denemelerinde ilk etapta önceki çalışmalarda seçilen ışık şiddetinde sürekli aydınlatma ile hidrojen üretimleri gerçekleştirilmiştir. Bu üretimlerden sonra PEM yakıt hücresi su kolonlarıyla reaktör arasına yerleştirilmiştir (Şekil 3.3). Kùltürler hidrojen üretim ortamına alındıktan sonra yakıt hücresi çıkışı kapatılarak kapalı hat formasyonu sağlanmış bu sayede oluşturulan tıkalı hat oluşan gazın yakıt hücresinde hapsolmasını sağlanmış ve tamamen kullanılmasını olanaklı kılmıştır. Üretilen hidrojenin meydana getirdiğı voltaj değışimleri veri kaydedici aracılığıyla süreç boyunca takip edilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda üretim süreci hacimsel üretimle voltaj değışimi açısından karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

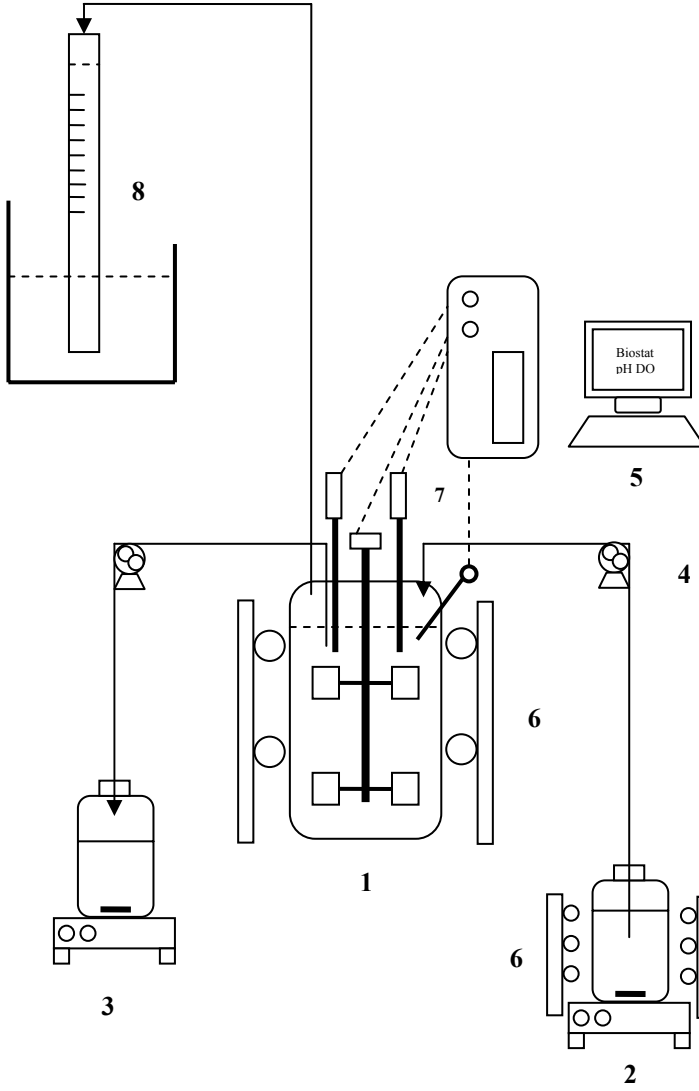
3.2.5.2. Farklı dirençlerin etkilerinin incelenmesi

Yakıt hücrelerinde yapılan diğeri bir çalışmada ise farklı dirençlerin voltaj ve akım üzerinde yarattığı etki incelenmiştir. Bu amaçla farklı dirençler (1-100 Ω) yakıt hücresine bağlanarak hidrojen üretimiyle oluşan elektrik akımı takip edilmiştir. Uzun süreli denemelerden farklı

olarak gaz üretimi su kolonunda meydana gelen değişimlerle takip edilmiş, gaz üretiminin başlamasından sonra kolona bağlı yakıt hücresi çıkış hattı (Şekil 3.3, hat 4) kapatılmıştır. Gaz akışı serbest olarak sağlanarak sistemin 800 mV seviyesine çıkması sağlanmış sonra dirençler devreye alınmış ve voltaj-akım değişimleri takip edilmiştir. Çalışmalar sonunda seçilen dirençler kullanılarak çıkış hatları kapatılmış uzun süreli elektrik akımı denemeleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3. Yakıt hücresi sistemi: Panel tip PBR (1), Su kolonu (2), Aydınlatma sistemi (3), PEM yakıt hücresi çıkış vanası (4), Manyetik karıştırıcı (5), PEM yakıt hücresi (6), Dijital multimetre, akım ölçümü (7), Dijital multimetre, voltaj ölçümü (8), Direnç (9), Veri kaydedici (10), PEM yakıt hücresi besleme vanası (11).



Şekil 3.4. Yarı-sürekli hidrojen üretim sistemi: Karıştırılmalı PBR (1), Manyetik karıştırılmalı besleme tankı (2), Manyetik karıştırılmalı atık tankı (3), Peristaltik pompalar (4), Kontrol ünitesi (5), Aydınlatma sistemi (6), Ölçüm sensörleri (sıcaklık, pH, çözülmüş oksijen), 2 bıçaklı karıştırma sistemi (7), Su kolonu (8).

3.2.6. Analitik yöntemler

3.2.6.1. Gaz analizleri

Hem fotobiyoreaktörlerin hemde su kolonlarının tepe gazından alınan gaz örnekleri gaz kromatografi sisteminde analiz edilerek hidrojen içerikleri tespit edilmiştir (Azbar et al, 2009).

3.2.6.2. Hücre gözlemleri

Kültürden alınan örnekler düzenli olarak mikroskop altında incelenerek hücrelerin büyümesi ve hareketliliği takip edilmiş ve hücre sayımları yapılmıştır.

3.2.6.3. Klorofil miktarının tayini

Kültürden alınan örnekler toplam klorofil miktarının belirlenmesi amacıyla (3500g altında sentrifügasyon ile ortamdan ayrıldıktan sonra % 90 lık aseton kullanılarak) spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir (Jeffrey and Welschmeyer, 1997).

3.2.6.4. Floresans ölçümü

Fotobiyoreaktörlerin yüzeylerine temas ettirilen cihazın özel probu ile 3 farklı noktadan yapılan ölçümlerin ortalaması alınmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Chlamydomonas reinhardtii CC124 suşu kullanılarak gerçekleştirilen farklı çalışmalarda hidrojen üretim süreçleri ve yakıt hücrelerinde kullanım potansiyelleri incelenmiştir.

4.1.Farklı ışık şiddeti denemeleri

4.1.1.*Chlamydomonas reinhardtii* CC124 kültürlerinin fotomiksotrofik üretimi sürecinde ışık şiddeti etkisi

Kabarcık kolonlarda üretilen *Chlamydomonas reinhardtii* CC124 kültürleri yeterli klorofil konsantrasyonuna ulaşıldığında $50-100 \times 2 \mu\text{E.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ arası ışık şiddetlerinin denendiği sürekli aydınlatılan panel fotobiyoreaktörlere (PBR) aktarılmıştır. Kültürlerde artan ışık şiddetiyle hücre sayısı ve klorofil miktarı artışı gözlenmiştir. Ortalama 2 gün içerisinde, $100 \times 2 \mu\text{E. m}^{-2} .\text{s}^{-1}$ kültürü en hızlı olmak üzere, tüm kültürler istenilen klorofil miktarına ($24 \pm 2 \text{ mg/l}$) ve hücre sayısına ulaşmışlardır ($8 \pm 1 \times 10^6$ hücre/ml). Ancak hücre başına klorofil miktarı en fazla olan kültür $3,18 \text{ mg/hücre}$ değeri ile $70 \times 2 \mu\text{E.m}^{-2} .\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti uygulanan olmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. *Chlamydomonas reinhardtii* CC124 üretimi sırasında aerobik ortam koşullarında meydana gelen klorofil değişimleri (TAP ortamı)

Farklı ışık şiddetlerinde sürekli aydınlatma ($\mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)				
Işık şiddeti	Periyot (gün)	Ulaşılan klorofil (a+b) miktarı mg/l	Hücre sayısı ($n \times 10^4/\text{ml}$)	Klorofil/Hücre (mg Chl/n) $\times 10^6$
50 x 2	2	20	725	2,76
70 x 2	2	24	755	3,18
80 x 2	2	25	825	3,03
100 x 2	2	26	876	2,97

Aerobik koşullarda ışık şiddeti ile gözlenen hücre ve klorofil artışı ışığın hücreler tarafından kullanımı ile ilişkilendirilebilir. Özellikle ışığın daha homojen olarak dağıtılmasını sağlayan deneme düzeneği sayesinde birim hacim başına aydınlanma yüzeyi artışı ışığın verimli kullanılmasını sağlayarak pigment artışını tetiklemiş olabileceği farklı çalışmalarda da belirtilmiştir (Ogbonna et al., 1996; Greenbaum, 1988; Neidhardt et al., 1998; Vonshak and Torzillo, 2004).

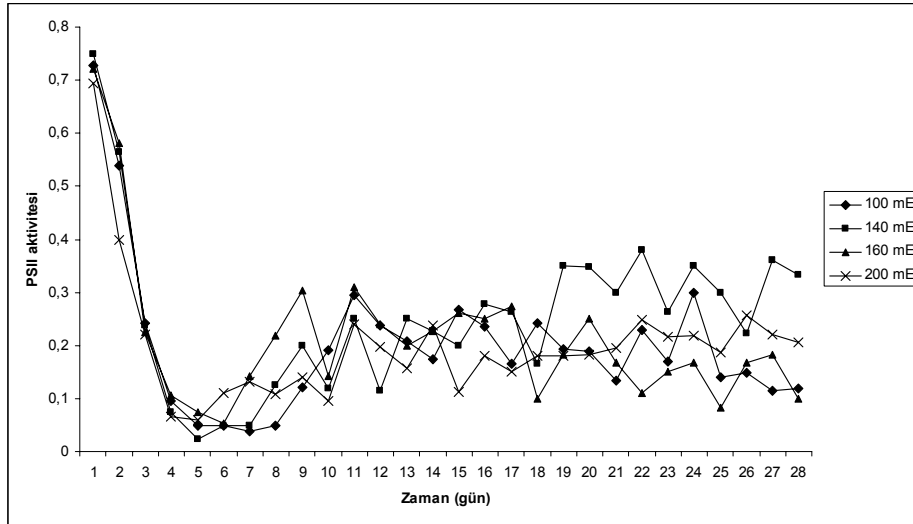
4.1.2. *Chlamydomonas reinhardtii* CC124 kültürlerinin hidrojen üretimi sürecinde ışık şiddeti etkisi

Aerobik üretim süreci sonunda hidrojen üretimi için TAP-S ortamına aktarılan kültürlerin ışık şiddeti değişimlerine tepkileri gözlenmiştir. Klorofil miktarında, başlangıçta sabit olarak ayarlanan miktara göre (12 mg/l) tüm kültürlerde bir azalma gözlenmiş olsa da, ışık şiddeti arttıkça daha fazla bir azalma olmuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Hidrojen üretimi sırasında anaerobik ortam koşullarında meydana gelen klorofil değişimleri (TAP-S ortamı).

Farklı ışık şiddetlerinde sürekli aydınlatma ($\mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)			
Işık şiddeti	Başlangıç Klorofil (mg/lt)	Bitiş Klorofil (mg/lt)	% azalma
50 x 2	12	7,96	33,67
70 x 2	12	7,2	40
80 x 2	12	6,94	42,17
100 x 2	12	6,99	41,75

Fotosistem 2 (PSII) üzerinde ışık şiddetinin etkisi, floresans değişimi ile incelendiğinde, hidrojen üretim sürecinin fotosistem aktivitesinde oluşan düşüşle eş zamanlı gerçekleştiği gözlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Hidrojen üretim sürecinde sürekli aydınlatma ile farklı ışık şiddetlerinin PSII aktivitesi üzerindeki etkileri.

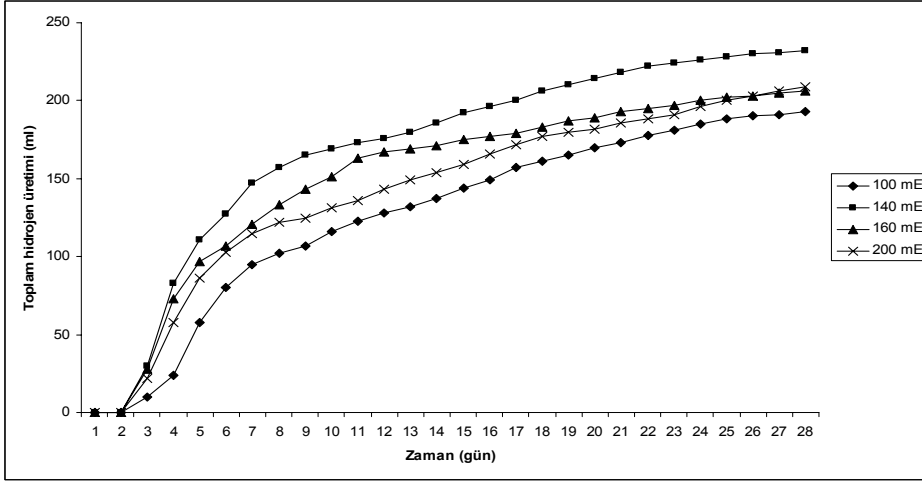
Başlangıç değerleri 0.750 bandında seyrederken PSII aktivitesi ortalama 0.220-0.250 aralığına düştüğünde hidrojen üretim süreci başlamakta, gecikme zamanı ise aktivite düşüşüyle orantılı olmaktadır. Gecikme zamanı uzadıkça fotosistem aktivitesinde daha fazla azalma meydana gelmektedir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Hidrojen üretimi sırasında meydana gelen PSII aktivite değişimleri.

Farklı ışık şiddetlerinde sürekli aydınlatma ($\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)					
Işık şiddeti	PSII başlangıç	PSII H₂ başlangıcında	% azalma	PSII maks. H₂ anında	% azalma
50 x 2	0,728	0,242	66,81	0,048	93,41
70 x 2	0,75	0,238	68,25	0,075	90
80 x 2	0,721	0,225	68,79	0,105	85,4
100 x 2	0,693	0,222	68,02	0,066	90,48

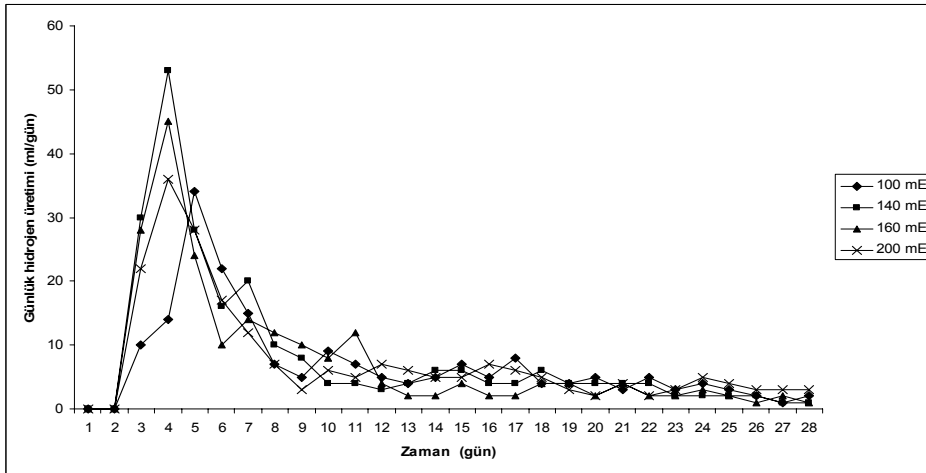
Hidrojen üretim miktarları da ışık şiddetine bağlı olarak değişim göstermiştir. Üretilen miktar olarak en yüksek değerler, $70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ışık şiddeti uygulamalarında gözlenmiştir. 80×2 ve $100 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ışık şiddetleri arasında önemli bir fark oluşmamış en düşük üretim miktarı ise $50 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ kültürlerinde görülmüştür (Çizelge 4.4).

Tüm üretim süreci değerlendirildiğinde, 27 gün sonunda, en yüksek hidrojen miktarı $70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ışık şiddeti uygulamalarında gerçekleşmiştir (Şekil 4.2). Günlük üretimler dikkate alındığında da bu ışık şiddetinde ulaşılan 48 ml/l ile benzer bir durum gözlenmiştir (Çizelge 4.4).



Şekil 4.2. Sürekli aydınlatma altında farklı ışık şiddetleriyle gerçekleşen toplam hidrojen üretimi.

Tüm üretim süreci değerlendirildiğinde ışık şiddeti etkili olmasına rağmen, günlük üretim dikkate alındığında esas değişimin tüm kültürlerde ilk 7-8 gün içinde meydana geldiği ve daha sonra hızla azalarak düşük seviyelerde devam ettiği belirlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Sürekli aydınlatma altında farklı ışık şiddetleriyle gerçekleşen günlük hidrojen üretimi.

Hidrojen üretimi için geçen süre ışık şiddeti değişimiyle ilişkili olsa da etki çok sert farklılıklar meydana getirmemiştir. En düşük ışık şiddetinde gecikme 24 ± 6 saat aralığında olmakta iken tüm üretimlerde bu süre 18-34 saat arasında meydana gelmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Hidrojen üretim süreci.

Farklı ışık şiddetlerinde sürekli aydınlatma ($\mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)						
Işık şiddeti	Bekleme süresi (saat)	Başlangıç H_2 miktarı (ml/l)		Maks. üretim günü	Maks. üretim gününde H_2 miktarı (ml/ l)	27 gün sonunda toplam H_2 miktarı (ml/l)
		Gün	O gün içinde üretilen H_2 miktarı (ml/l)			
50 x 2	24 ± 6	2	9,09	4	30,91	175,45
70 x 2	26 ± 6	2	27,27	3	48,18	210,91
80 x 2	26 ± 3	2	25,45	3	40,91	187,27
100 x 2	28 ± 6	2	20	3	32,73	190

Bu verilerden yola çıkarak en yüksek hidrojen üretim değerlerine ulaşılan $70 \times 2 \mu\text{E.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ışık şiddeti seçilerek aydınlık/karanlık evre denemelerinde kullanılmıştır.

Hücreler hidrojen üretim evresine geçtiklerinde ışık şiddeti arttıkça, belli bir doygunluk miktarına kadar, üretimde artış göstermişlerdir. Bu doygunluk noktasından sonra fazla ışık şiddeti hidrojen üretiminde negatif etki yaratmıştır (Healey, 1970; Greenbaum and Lee, 1998). Işık şiddeti artışında gözlenen bu azalma kültür üzerinde de negatif etki yaratıldığının bir göstergesidir (Wykoff et al., 1998, Laurinavichene et al., 2004). Ancak sürekli aydınlatma altında $200 \mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ eşik değerine kadar *Chlamydomonas reinhardtii* kültürlerinde hidrojen artışı görülmüştür (Kim et al., 2006, Laurinavichene et al., 2004). Bu

çalışmada elde edilen en yüksek değerlerin gerçekleştiği $70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ışık şiddeti diğer çalışmalarda ki eşik değerinden düşük olmuştur. Bu noktada dikkat edilmesi önemli fark 2 taraftan yapılan aydınlatma ile tek yönden ışıklandırmaya göre daha verimli bir aydınlatma sağlandığı gerçeğidir. Yapılan farklı çalışmalarda ışık sağlama katsayısı (light supply coefficient) olarak belirtilen bu değere göre, eşit miktarda 2 yanal yüzeyden verilen ışığın, tümünün sisteme tek yönden verilmesine göre yaklaşık 1,6 kat daha verimli dağıldığını göstermektedir (Ogbonna et al., 1995; 1996).

Işığın verimli kullanılması kültürlerin özellikle hidrojen üretimi sırasında maruz kaldıkları ortam koşullarında önem kazanmaktadır. Kükürt yokluğunda hücreler ihtiyaç duydukları reaksiyonları gerçekleştirmek için gerekli olan D1 proteinini üretemeyecekleri için süreç içerisinde PSII aktivitelerini hızla kaybetmektedirler. Bu durum floresans ölçümlerinden de görülebilmektedir (Ghirardi et al., 2005; Melis et al., 2000; Antal et al., 2001; 2003; Masojidek et al., 2004).

Anaerobik faza geçiş hem kültür içinde aerobik üretimden kalan oksijene hem de hidrojen üretiminin ilk evrelerinde devam eden fotosentez ile biriken oksijene bağlı olmaktadır. Hava beslemeli süreçte oluşan oksijen miktarı, ışık şiddeti arttıkça artan fotosentezle orantılı olduğundan, düşük ışık şiddeti uygulanan kültürlerde daha az birikim gerçekleşmektedir. Fotosentez ile oluşan oksijen, hidrojen üretim sürecinin devamında kültür tarafından kullanılmakta ve sonuçta anaerobik evreye geçilmektedir. Ancak yüksek ışık şiddeti altında protein üretimi gerçekleştiremeyen ve PSII aktiviteleri düşen hücrelerin düşük

ışık şiddetli kültürlerle göre daha fazla üretilmiş olan oksijeni tüketmesi uzun sürmektedir (Hell, 1997; Laurinavichene et al., 2004, Kosourov et al., 2002, Torzillo et al., 2009).

Klorofil miktarları, üretim sonunda, tüm denemelerde azalma göstermiştir. Ancak düşük ışık şiddeti altında daha düşük bir azalma gözlenmiştir. Kükürtsüz ortam koşullarında, ihtiyaç duyulan D1 proteininin üretimi için gerekli olan kükürt yapıları amino asitlerin üretilmemesi hidrojen üretimlerinde önem taşımaktadır. PSII merkezlerinin ışık şiddetinin artışıyla daha hızlı reaksiyonlar gerçekleştirmesi ve bu doğrultuda ihtiyaç duyulan protein takviyesinin yapılamaması nedeniyle, ışık şiddeti artışı klorofil miktarlarında daha fazla azalmaya neden olmuştur (Ghirardi et al., 2000; Kim et al., 2006, Melis, 1999; Melis, 2007).

4.2. Aydınlik/karanlık döngü etkisi

4.2.1. *Chlamydomonas reinhardtii* CC124 kültürlerinin fotomiksotrofik üretimi sürecinde aydınlık/karanlık döngü etkisi

En uygun ışık şiddeti ($70 \times 2 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) seçildikten sonra sürekli aydınlatmaya alternatif olarak aydınlık/karanlık (A/K) döngü denemelerine geçilmiştir. Döngüler 24 saat içinde ve 1 saat içinde olmak üzere iki şekilde uygulanmıştır. İlk denemelerde 24 saatlik bir üretim günü, içinde dış alan üretimlerinde karşılaşılabilecek doğal gün içi aydınlanma evrelerini simüle 12:12, 14:10, 18:6 saat:saat, A/K döngüler uygulanmıştır.

Aerobik üretim sürecinde bu evrelerin kültürler üzerinde etkisi doğrudan gözlenmiştir. Sürekli aydınlatma denemelerinde ulaşılan klorofil miktarına (24 ± 2 mg/l) yaklaşık 1 gün daha sonra ulaşılmıştır. Farklı döngüler karşılaştırıldığında en yüksek klorofil miktarı ve hücre sayısı 18:6 A/K döngüsünde meydana gelmiştir. Bu durum birim hücre başına oluşan klorofil miktarında da gözlenmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. *Chlamydomonas reinhardtii* CC124 üretimi sırasında aerobik ortam koşullarında meydana gelen klorofil değişimleri (TAP ortamı)

Seçilen ışık şiddetinde günlük döngü ($70 \times 2 \mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)				
A/K döngü	Periyot (gün)	Ulaşılan klorofil (a+b) miktarı mg/l	Hücre sayısı ($n \times 10^4/\text{ml}$)	Klorofil/Hücre (mg Chl/n) $\times 10^6$
12:12 (saat)	3	20	785	2,55
14:10 (saat)	3	22	825	2,67
18:06 (saat)	3	24	840	2,86
Seçilen ışık şiddetinde saatlik döngü ($70 \times 2 \mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)				
A/K döngü	Periyot (gün)	Ulaşılan klorofil (a+b) miktarı mg/l	Hücre sayısı ($n \times 10^4/\text{ml}$)	Klorofil/Hücre (mg Chl/n) $\times 10^6$
30:30 (dk)	3	22	705	3,12
35:25 (dk)	3	23	745	3,09
45:15 (dk)	3	24	830	2,89

Denemelerin ikinci aşamasında saatlik üretim süreleri 30:30, 35:25, 45:15 dk:dk A/K evrelere bölünmüştür. Bu denemelerde ise kısa periyotlu değişimlerin etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar sürekli aydınlatma ve günlük döngülerle karşılaştırılmıştır.

Saatlik döngülerde, günlük döngülerle benzer bir durum gözlenerek, aydınlık evresi daha uzun olan üretimlerin saatlik döngülerde de istenilen klorofil miktarlarına daha çabuk ulaştıkları gözlenmiştir.

Ancak günlük döngüler karşılaştırıldığında kısa süreli saatlik döngülerde, klorofil miktarları daha yüksek seviyelere ulaşmıştır ( izelge 4.5).

Aydınlık ve karanlık evreler fotosentezin iki temel basamağıdır. A/K döngünün etkilerinin görülmesi için yapılan farklı çalışmalarda genelde izlenen yol hücreleri aerobik fazda A/K döngüye maruz bıraktıktan sonra hidrojen üretim fazında sürekli aydınlatma uygulanmasıdır (Melis et al., 2000; Tsygankov et al., 2002, Kim et al., 2006). Diğ r çalışmalarda farklı bir hidrojen üretim yolu takip edilerek kültürler mikroaerobik koşullarda hidrojen üretimi için A/K döngüye maruz bırakılmışlardır. Burada amaç aydınlık evrede fotosentez ile üretilen besinlerin karanlık evrede parçalanarak oksijen t k timinin hızlanması ve hidrojenaz enziminin azalan oksijenden etkilenmeden hidrojen üretiminin tetiklenmesidir (Yagi et al., 1982; Miura et al., 1985; 1997).

Bu çalışmanın literatürdeki uygulamalardan farkı ise hem aerobik hemde anaerobik süreç boyunca A/K döngü uygulanmasının sonucunda meydana gelen değişimlerin izlenmesidir.

Sürekli aydınlatma ile karşılaştırıldığında klorofil miktarlarında ulaşılan değerlerin düşük olması fotosentez mekanizması ile yorumlanabilir.

Aydınlık evrede hücreler depo malzemelerini üretirken karanlık evrede bunları t k terek yaşamlarına devam etmektedirler (Spudich and Sager, 1980; Masojidek et al., 2004; Janssen et al., 1999). Bu nedenle aydınlık evre uzadıkça hücreler besinlerini üreterek hem kütle hemde pigment miktarlarında artış göstermektedirler (Tsygankov et al., 2002; Fabregas et al., 2002). Hücreler karanlık evreye geçtiklerinde ise parçalanma reaksiyonları gerçekleştiğinden gece kaybı olarak

adlandırılan kütle kaybını yaşamaktadırlar (Ogbonna and Tanaka, 1998). Ancak fotomiksotrofik ortam koşulları sağlanan kültürlerde karanlık evrede, tüketilecek depo besinlerine ek olarak kullanabilecekleri asetat gibi kaynaklar da mevcut olduğundan, kütle kayıpları fotootorofik ortama göre daha az olmaktadır (Fischer et al., 2006). Bu çalışmada, sürekli aydınlatmalı üretimlerle karşılaştırıldığında gözlenen gecikmeler bu nedenlere bağlanabilir.

Günlük ve saatlik A/K döngüleri karşılaştırıldığında daha küçük periyotlu saat döngülerinde gözlenen klorofil artışı hücrelerin aydınlık evrenin uzamasında verdikleri tepkilerle ilgilidir. Işığın kısıtlı olduğu durumlarda hücreler ışıktan daha iyi yararlanmak için fotosentetik pigmentlerinde artışa gitmektedirler, diğer bir deyişle klorofil miktarlarında artış meydana gelmektedir. Uzun süreli karanlık olduğunda ise aktif duruma geçen reaksiyon merkezlerinin uyarılmaları kesilmekte ve sistem yatışkın duruma dönmekte bu süreçte hücreler normal karanlık reaksiyonlarına dönerek besinleri kullanmaktadırlar. Ancak A/K döngü frekansları arttığında, diğer bir deyişle periyotlar küçüldüğünde, reaksiyon merkezleri sürekli uyarılma durumunda kalacakları için yatışkın hale gelemeden pigment arttırmaya devam etmektedir (Polle et al., 2002; Masojidek et al., 2004; MacIntyre and Cullen, 2005).

Hücre sayılarında oluşan değişimlerde de benzer bir durum söz konusudur. Mikroskop altında izlendiğinde hücre bölünmesinin A/K döngü uygulamasında arttığı belirlenmiştir. Bu durum senkronize büyüme olayı olarak adlandırılmaktadır. Senkronize bir kültürde hücreler aydınlık evrede boyutlarını arttırırken karanlık evrede bölünme evresine geçmektedirler. Farklı çalışmalarda günlük döngüler senkronizasyon amacıyla kullanılmıştır (Tsygankov et al., 2002; Kosourov et al., 2002; MacIntyre and Cullen, 2005). Bu sayede hücre sayıları az bir gecikmeyle de olsa istenilen seviyelere ulaşmıştır (Çizelge 4.5).

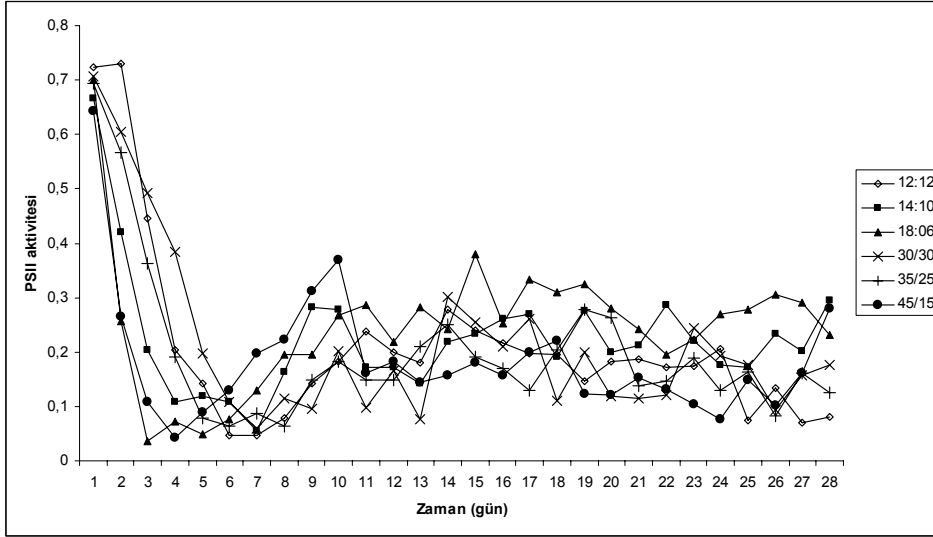
4.2.2. *Chlamydomonas reinhardtii* CC124 kültürlerinin hidrojen üretimi sürecinde aydınlık/karanlık döngü etkisi

Aerobik üretim sürecinden sonra TAP-S ortamına aktarılan kültürler hidrojen üretim sürecinde A/K döngülere farklı tepkiler vermişlerdir. Klorofil miktarı sürekli aydınlanma denemelerinde olduğu gibi azalma göstermiştir. Günlük A/K döngü denemelerinde aydınlık evre uzadıkça klorofil miktarında meydana gelen düşüş yüzdesi artmış, ancak bu durum saatlik döngülerde tam tersi olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Hidrojen üretimi sırasında anaerobik ortam koşullarında meydana gelen klorofil değişimleri (TAP-S ortamı).

Seçilen ışık şiddetinde günlük döngü ($70 \times 2 \mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)			
A/K döngü	Başlangıç Klorofil (mg/l)	Bitiş Klorofil (mg/l)	% azalma
12:12 (saat)	12	8,74	27,16
14:10 (saat)	12	7,09	40,91
18:06 (saat)	12	6,45	46,26
Seçilen ışık şiddetinde saatlik döngü ($70 \times 2 \mu\text{E. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)			
A/K döngü	Başlangıç Klorofil (mg/l)	Bitiş Klorofil (mg/l)	% azalma
30:30 (dk)	12	7,44	38,01
35:25 (dk)	12	7,59	36,72
45:15 (dk)	12	7,83	34,78

PSII aktivitesinde meydana gelen değişim dikkate alındığında (Şekil 4.4) üretimler arasında çok belirgin farklılıklar olmasa da genel olarak aydınlık evre uzadıkça PSII aktivitesi daha fazla azalmıştır (Çizelge 4.7).



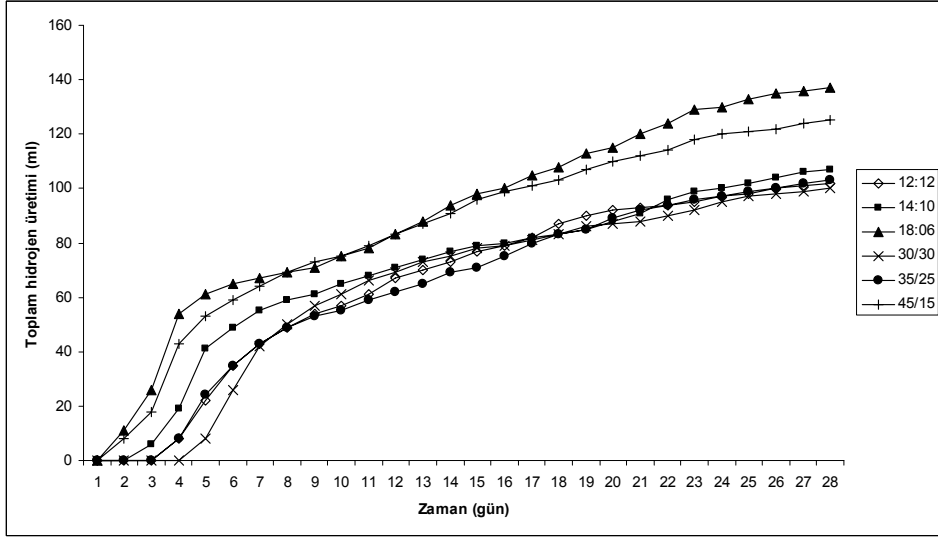
Şekil 4.4. Hidrojen üretim sürecinde sabit ışık şiddetinde ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), farklı A/K döngülerin PSII aktivitesi üzerindeki etkileri.

Çizelge 4.7. Hidrojen üretimi sırasında meydana gelen PSII aktivite değişimleri.

Seçilen ışık şiddetinde günlük döngü ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)					
A/K döngü	PSII başlangıç	PSII H ₂ başlangıcında	% azalma	PSII maks. H ₂ anında	% azalma
12:12 (saat)	0,724	0,203	71,98	0,143	80,23
14:10 (saat)	0,667	0,204	69,47	0,118	82,3
18:06 (saat)	0,643	0,256	60,19	0,072	88,8
Seçilen ışık şiddetinde saatlik döngü ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)					
A/K döngü	PSII başlangıç	PSII H ₂ başlangıcında	% azalma	PSII maks. H ₂ anında	% azalma
30:30 (dk)	0,707	0,197	72,08	0,108	84,79
35:25 (dk)	0,695	0,191	72,57	0,079	88,62
45:15 (dk)	0,643	0,265	58,86	0,042	93,47

Sürekli aydınlatma ile karşılaştırıldığında hidrojen üretiminde ulaşılan üretim miktarları daha düşük seviyelerde kalmıştır. Diğer yandan A/K döngüler karşılaştırıldığında saatlik döngülerin dakikalık döngülere

göre biraz daha yüksek hidrojen miktarlarına ulaştıkları gözlenmiştir. Aydınlık evre azaldıkça hidrojen üretimlerinde azalma gözlenmiştir (Şekil 4.5).



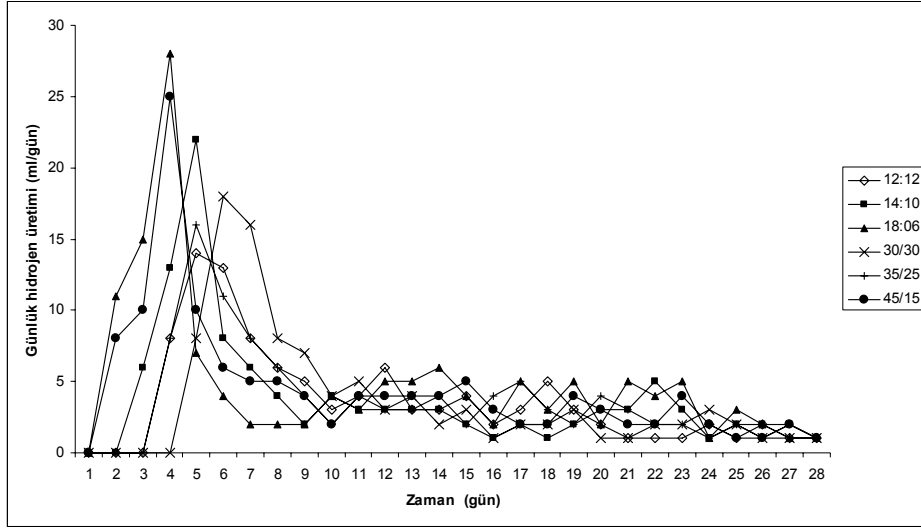
Şekil 4.5. Sabit ışık şiddetinde ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), farklı A/K döngülerinde gerçekleşen toplam hidrojen üretimleri.

Gecikme süreleri ise artan aydınlık evreyle azalmıştır. Tüm A/K döngü denemelerinde gözlenen gecikme süresi uzaması, uzun aydınlık evreli denemelerde kısalma olarak gözlenmiştir. Günlük ve dakikalık döngülerde sürekli aydınlatma denemelerine göre daha kısa bir gecikme süresi ile hidrojen üretimi başlamıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Hidrojen üretim süreci.

Seçilen ışık şiddetinde günlük döngü ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)						
A/K döngü	Bekleme süresi (saat)	Başlangıç H_2 miktarı (ml/l)		Maks. üretim günü	Maks. üretim gününde H_2 miktarı (ml/ l)	27 gün sonunda toplam H_2 miktarı (ml/l)
		Gün	O gün içinde üretilen H_2 miktarı (ml/l)			
12:12 (saat)	60 ± 12	3	7,27	4	12,73	92,73
14:10 (saat)	30 ± 6	2	5,45	4	20	97,27
18:06 (saat)	20 ± 6	1	10	3	25,45	124,55
Seçilen ışık şiddetinde saatlik döngü ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)						
A/K döngü	Bekleme süresi (saat)	Başlangıç H_2 miktarı (ml/l)		Maks. üretim günü	Maks. üretim gününde H_2 miktarı (ml/ l)	27 gün sonunda toplam H_2 miktarı (ml/l)
		Gün	O gün içinde üretilen H_2 miktarı (ml/l)			
30:30 (dk)	78 ± 6	4	7,27	5	16,36	90,91
35:25 (dk)	60 ± 12	3	7,27	4	14,55	93,64
45:15 (dk)	24 ± 6	1	7,27	3	22,73	113,64

Hidrojen üretim miktarları sürekli aydınlanmalı kültürlerle göre daha düşük seviyelerde kalmıştır. Maksimum üretim miktarına ulaşılması için gereken zaman da A/K döngülü denemelerde daha uzun olmuştur (Çizelge 4.8). Ancak hidrojen üretimi için kısa gecikme süresine sahip uzun aydınlanma evreli günlük (18:6) ve dakikalık döngüler (45:15), yine sürekli aydınlatmalı kültürler gibi 3. gün içinde maksimum hidrojen miktarına ulaşmışlardır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Sabit ışık ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), farklı A/K döngülerinde gerçekleşen günlük hidrojen üretimleri.

Hidrojen üretimi sürecinde A/K döngülerde görülen hidrojen miktarındaki azalma karanlık evrede hidrojen üretiminin daha az olmasına bağlanabilir (Melis et al., 2000; Gaffron and Rubin, 1942). Hidrojen üretimi için geçen sürenin artışı ise karanlık evrede asetat etkisinde inaktivasyon hızının aydınlık evreye göre düşük olmasından kaynaklanmaktadır (Ghirardi et al., 2000). Bu durum aydınlık evrenin kısalmasıyla gecikme sürelerinde artışa neden olmaktadır. Hidrojen üretimi için oluşan gecikme süresi PSII aktivitesinde meydana gelen azalmayla ilişkilidir (Torzillo et al., 2009).

Klorofil miktarlarında oluşan azalmalar hücrelerin kükürt yokluğunda gerekli proteinleri üretememeleri ve karanlık evrede depo malzemelerinin parçalanmasıyla kalan tüm enerjinin tüketilmesi sonucu yeteri kadar klorofil üretilmemesiyle ilişkilidir (Kim et al., 2006, Melis

et al., 2000). Ancak karanlık evrede yatışkın hale gelindiği için sürekli aydınlatmadan farklı olarak A/K döngülerde karanlık evrenin uzamasıyla verilen tepkilerin yavaşlaması aktivite kayıplarında daha fazla azalmaya neden olmuştur (White and Melis, 2006). Dakika seviyesinde uygulanan A/K döngülerde de günlük döngülerle benzer durum söz konusudur. Klorofil miktarında belirli bir azalma gözlenirken karanlık evre uzadıkça hidrojen üretiminin başlaması için geçen süreler artmaktadır.

Günlük döngülerde aydınlık evre uzadıkça klorofil miktarları PSII aktivitesi ile doğrudan ilişkili olarak değişmektedir. Saatlik döngülerde ise tam tersi bir durum söz konusu olmaktadır, aydınlık evre arttıkça klorofil değişimi azalırken, PSII aktivitesinde meydana gelen değişim oranı artmaktadır.

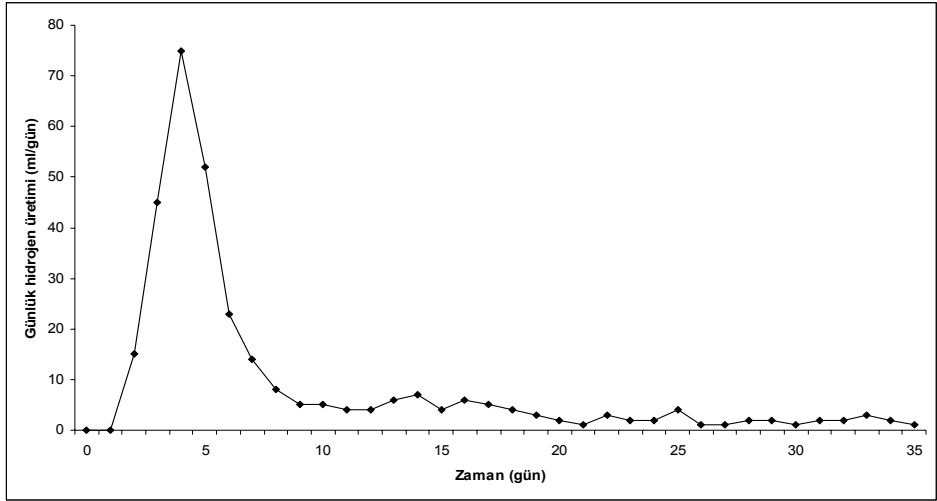
Bu durum hücrelerin kükürt yokluğunda ışığı daha verimli kullanmak için klorofil artışı yoluna gitmeleri ve yüksek frekansta A/K etkiye maruz kaldıklarında daha aktif olmalarıyla açıklanabilir (Janssen et al., 1999). Tüm süreç dikkate alındığında toplam aydınlık evre her iki döngüde eşit olsa da oluşan klorofil azalmasının, dakika döngülerine göre daha az olması bu yaklaşımı desteklemektedir.

4.3. Karıştırmalı tank tip fotobiyoreaktörde kesikli ve yarı-sürekli üretimler

4.3.1. Kesikli üretimler

Hidrojen üretim ortamına aktarılan kültürlerin oksijen miktarı 18 ± 2 saat içinde tüketilmiş ve anaerobik ortam koşulları sağlanmıştır.

Hidrojen gazının kabarcıklar halinde gözlenmeye başlaması 30. saat içinde gerçekleşmiştir. Bu süreyi takiben yaklaşık 400 ml'lik tepe gazı hacmi tamamen hidrojenle dolduktan sonra gazın su sütununa geçişi başlamıştır. İkinci günün sonunda su kolonunda hidrojen miktarı 15 ml olmuştur. Maksimum üretim 4. günde 75 ml hacime ulaşmış, 35 günlük üretim sonunda su kolonunda toplam gaz üretimi 316 ml olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.7).



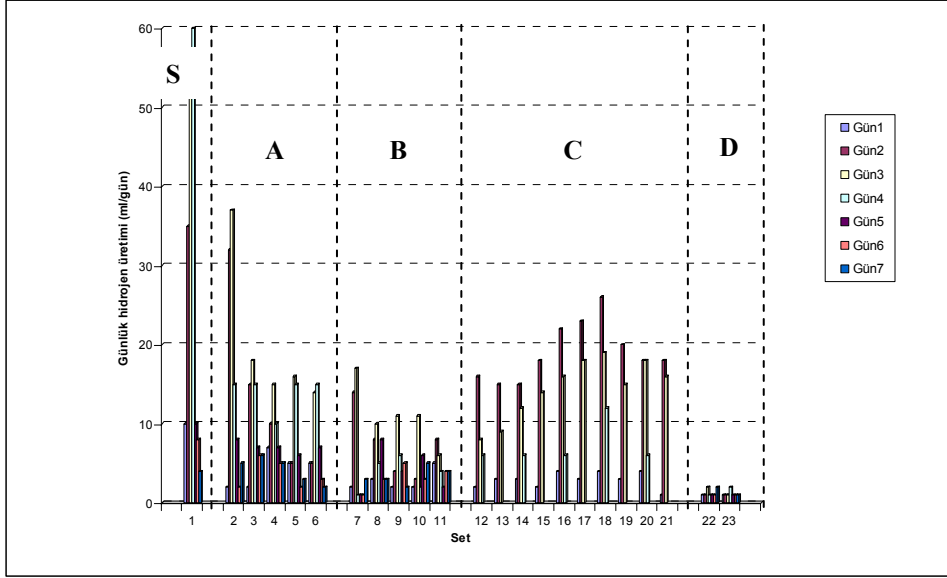
Şekil 4.7. Sürekli aydınlatma altında sabit ışık şiddetinde ($140 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) gerçekleşen günlük hidrojen üretimleri.

Üretim başlangıcında 0,750'den olan PSII aktivitesi hidrojen üretim başlangıcında 0,250'ye düşmüş maksimum üretimin gerçekleştiği 4. günde 0,090'değerine kadar azalmaya devam etmiştir. Toplam klorofil miktarı üretim başında sabitlenen 12 mg/l seviyesinden 35 gün sonunda 6,65 mg/l seviyesine düşmüştür. 35 günlük üretim süreci ışığında kültürlerin panel tip PBR üretimlerinde de görüldüğü gibi, hidrojen

üretimine geçmeleri için ortalama 2 günlük bir adaptasyon sürecine ihtiyaç gösterdikleri, maksimum üretim miktarına 3-4 gün içinde ulaştıkları, üretimin ortalama 7 gün içinde azalmaya başladığı gözlenmiştir.

4.3.2. Yarı-sürekli üretimler

Kesikli üretimlerde karşılaşılan en büyük sorun hidrojen üretiminin ilk 3-4 gün içinde maksimum değerlerine ulaştıktan sonra azalmasıdır. Üretim miktarının korunması amacıyla yarı-sürekli üretimlerin denenmiştir. Sürekli bir üretim süreci yerine yarı-sürekli bir sistem tercih edilmesinin nedeni ise kesikli üretimler ışığında elde edilen veriler doğrultusunda maksimum üretimin gerçekleştiği üretim kesitlerinin herhangi bir etki olmadan sürdürülebilmesini olanaklı kılmaktır. Kesikli üretimlerden elde edilen veriler doğrultusunda yarı-sürekli üretim için taze kültür eklenmesinin 2 günlük adaptasyon evresine izin verecek şekilde gerçekleştirilmesi, üretimlerin 7 günlük setler halinde yapılması ve seyreltme sıklığı artışlarının haftada 2 kere maksimum üretimin gerçekleştiği 4. gün esas alınarak gerçekleştirilmesi kararlaştırılmıştır. Yarı sürekli hidrojen üretim sürecinin başlangıç aşamasında sistem, kesikli kültürde olduğu gibi başlatılmıştır. Amaç kültürleri 7 günlük üretim aşamasına ulaştırarak yapılacak seyreltmelere hazır olmasını sağlamaktır. Maksimum üretim evresinde 4. günde su kolonunda 60 ml hacim değişimi oluşturacak kadar hidrojen üretimi gerçekleştirmiştir (Şekil 4.8S).

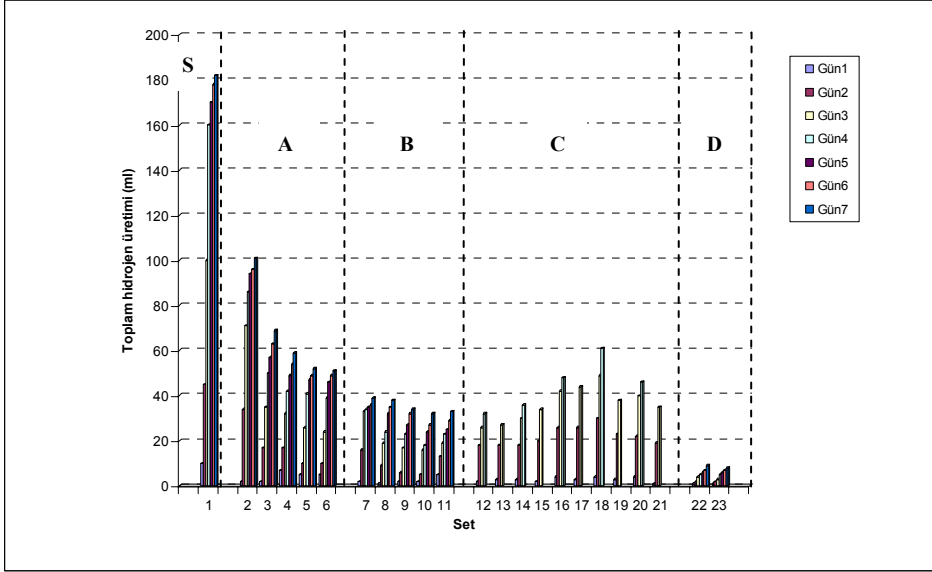


Şekil 4.8. Yarı-sürekli üretim sırasında farklı setlerde gerçekleşen günlük hidrojen üretimleri (S: başlangıç seti; A: %50 seyreltme oranlı setler; B: %30 seyreltme oranlı setler; C: seyreltme sıklığı, 2/hafta, %50 seyreltme oranlı setler; D: taze kültür eklenen setler, %50 seyreltme oranı).

Toplam H_2 üretimi 182 ml'ye ulaşmıştır (Şekil 4.9S). PSII aktivitesi 0,762 değerinden maksimum üretim anında 0,086 değerine düşmüştür (Şekil 4.10S). Klorofil miktarı 12 mg/l den 7,78 mg/l'ye azalmıştır, bu miktar 35 günlük kesikli üretimle karşılaştırıldığında azalma %40 ilk 7 gün içinde oluşan azalma %35 olarak hesaplanmıştır. Bu durum üretimlerde görülen temel değişimin ilk 7-8 gün içerisinde meydana geldiğini destekler niteliktedir (Şekil 4.11S).

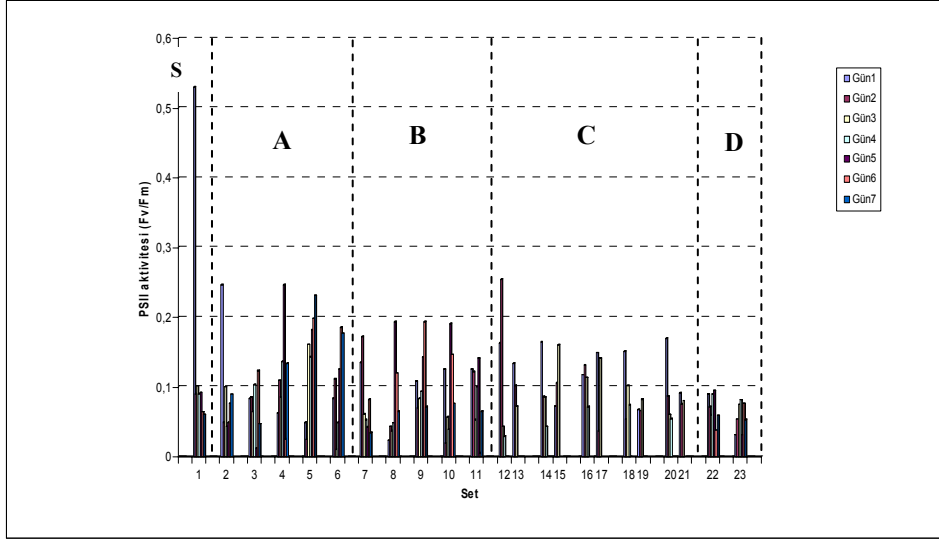
4.3.2.1. Seyreltme oranı etkisi

Yarı-sürekli üretim sürecinde ilk etapta 2 farklı seyreltme oranı denenmiştir.



Şekil 4.9. Yarı-sürekli üretim sırasında farklı setlerde gerçekleşen toplam hidrojen üretimleri (S: başlangıç seti; A: %50 seyreltme oranlı setler; B: %30 seyreltme oranlı setler; C: seyreltme sıklığı, 2/hafta, %50 seyreltme oranlı setler; D: taze kültür eklenen setler, %50 seyreltme oranı).

Seyreltme uygulandıktan sonra hidrojen üretiminde belirli bir artış gözlenmiştir (Şekil 4.8A). Hazırlık üretiminde gözlemlendiği gibi ilk 3-4 günde üretim maksimum seviyelere ulaşmıştır. Seyreltmede kullanılan kültürlerin adapte olması nedeniyle hidrojen miktarı artışı sağlanmakla birlikte, özellikle kültürden hidrojen çıkışının hız kazandığı 48 saat beklenmeden ortalama 32 ± 4 saatte seyreltme yapıldığı için seyreltme sırasında gaz kaybının önüne geçilmiştir. Seyreltme oranı %50 olarak uygulanan süreçte tepe gazı miktarı korunarak su kolonunda 332 ml hidrojen tespit edilmiştir (Şekil 4.9A). Üretim sürecinde adapte kültür eklemesi gerçekleştiği için PSII aktivitesi 0,250 değerinin altında seyretmiştir (Şekil 4.10A).



Şekil 4.10. Yarı-sürekli üretim sırasında farklı setlerde gerçekleşen PSII aktivite değişimleri (S: başlangıç seti; A: %50 seyreltme oranlı setler; B: %30 seyreltme oranlı setler; C: seyreltme sıklığı, 2/hafta, %50 seyreltme oranlı setler; D: taze kültür eklenen setler, %50 seyreltme oranı).

Toplam klorofil miktarı eklenen taze kültürle değişmiştir. Üretim başlangıcında 12 mg/l olarak ayarlanan bu miktar ilk seyreltmelerin gerçekleştiği setler sırasında benzer değerler aralığında değişmiştir. Setlerin başlangıcında ortalama klorofil miktarı $8,90 \pm 0,20$ mg/l iken sonunda $7,50 \pm 0,30$ mg/l seviyelerine düşmektedir (Şekil 4.11A).

%50 seyreltme denemelerini takiben %30 seyreltme oranlarında denemelere geçilmiştir. Seyreltme oranının daha yüksekte başlatılması ile üretim sırasında genç hücrelerin baskınlığı korunmaya çalışılmıştır. Bu sayede %30 seyreltme ile yaratılan etki üretimin ilk aşamalarıyla karşılaştırılabilmiştir. %30 seyreltme oranında da benzer etkiler

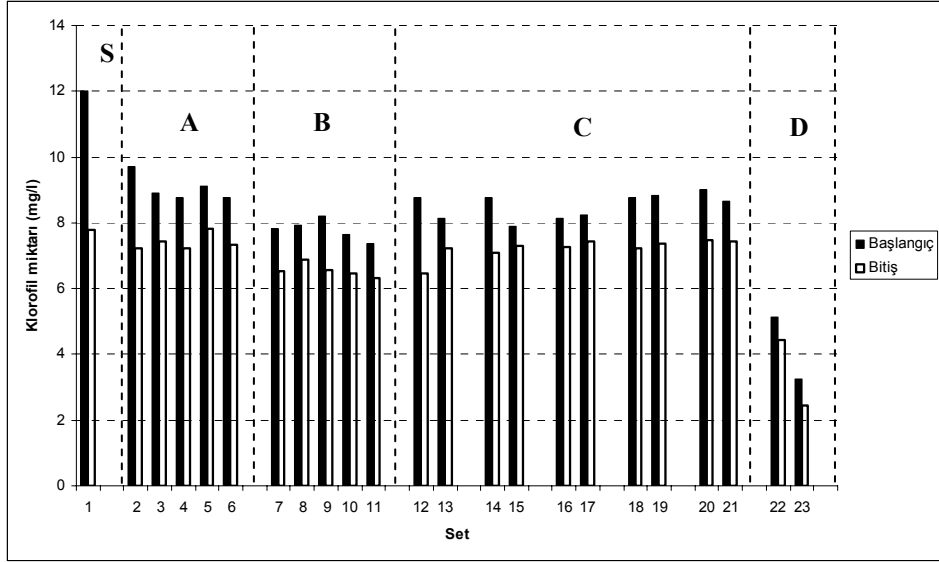
gözlenmiştir. Gerek hidrojen üretimlerinde (Şekil 4.9B) gerekse klorofil miktarlarında azalmalar gözlenmiştir (Şekil 4.11B).

4.3.2.2. Seyreltme sıklığının etkisi

Seyreltme oranları denemeleri sonucunda hidrojen üretimi açısından daha iyi sonuç sağlayan %50 seyreltme oranıyla seyreltme sıklığı denemeleri gerçekleştirilmiştir. İlk bölümde gerçekleştirilen haftalık seyreltmeler, kesikli üretim verileri ışığında belirlenen zamanlar iki kez olmak üzere arttırılmıştır. Denemeler sonucunda günlük maksimum üretim miktarı 61 ml olmuştur (Şekil 4.8C). PSII aktivitesi diğer üretilere benzer bir aralıkta seyretmiştir. Klorofil miktarları diğer üretimlerde olduğu gibi setlerin başlangıcına göre sonunda azalma göstermiştir (Şekil 4.11C).

4.3.2.3. Taze ortam eklenmesi

Taze kültür eklenmesi yerine haftalık seyreltme yapılarak kontrol amacıyla sadece taze ortam eklenmesinin hidrojen üretimine etkisi ani düşüş şeklinde gözlenmiştir. Günlük hidrojen üretimleri tüm setler boyunca çok düşük seviyelerde kalmıştır (Şekil 4.8D). Üretim sonuna kadar toplam 17 ml hidrojen üretilenmiştir (Şekil 4.9D). PSII aktivitesi ise diğer üretilere göre daha düşük, 0,100 seviyelerinde, meydana gelmiştir (Şekil 4.10D). Benzer bir azalma klorofil miktarında da gözlenmiştir. Yapılan 2 set seyreltme sırasında klorofil miktarları yarı yarıya azalma göstermiştir (Şekil 4.11D).



Şekil 4.11. Yarı-sürekli üretim sırasında farklı setlerde gerçekleşen klorofil miktarı değişimleri (S: başlangıç seti; A: %50 seyreltme oranlı setler; B: %30 seyreltme oranlı setler; C: seyreltme sıklığı, 2/hafta, %50 seyreltme oranlı setler; D: taze kültür eklenen setler, %50 seyreltme oranı).

Yarı-sürekli hidrojen üretimi toplam 127 gün boyunca farklı etkilerin sonuçları gözlenerek sürdürülmüştür. Kesikli üretimden de elde edilen verilerden de yararlanılarak yarı-sürekli üretim sürecinin yorumlanmasına gidilmiştir. Yarı-sürekli üretimlerle kesikli üretimler ilk 35 günlük değişimler kapsamında karşılaştırıldığında daha yüksek hacimlerde üretim gerçekleştirildiği görülmüştür. Ayrıca üretim miktarları incelendiğinde en iyi sonuçların %50 seyreltme oranında ve haftada 2 kez yapılan seyreltme sıklığında daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Kesikli ve yarı-sürekli üretim süreçlerinde su sütununda meydana gelen değişimler esas alınarak gözlenen farklılıklar.

Sistem	Süre (gün)	Su kolonunda birikim	Günlük hidrojen üretimi ml/l gün	
Kesikli	35	316	3,61	
Yarı-sürekli				
<i>Set</i>				
Başlangıç	8	182	9,1	
<i>Etki</i>				
Seyreltme sıklığı; Seyreltme miktarı				Set boyunca ortalama üretim
	7	101	5,77	
	7	69	3,94	
Hafta bir; 50% seyreltme miktarı	7	59	3,37	3,79
	7	52	2,97	
	7	51	2,91	
Süre (gün)	35			
	7	39	2,23	
	7	38	2,17	
Hafta bir; 30% seyreltme miktarı	7	34	1,94	2,01
	7	32	1,83	
	7	33	1,89	
Süre (gün)	35			
	4	32	3,2	
	3	27	3,6	
	4	36	3,6	
	3	34	4,53	
Hafta iki; 50% seyreltme miktarı	4	48	4,8	4,6
	3	44	5,87	
	4	61	6,1	
	3	38	5,07	
	4	46	4,6	
	3	35	4,67	
Süre (gün)	35			
Hafta bir; 50% taze ortam ile seyreltme	7	9	0,51	0,51
	7	9	0,51	
Süre (gün)	14			

Araştırmacılar genel olarak hidrojen üretiminde fotosentez, mitokondriyal solunum, besin parçalanması ve elektron transport mekanizmasının etkili olduğu iki basamaklı üretim yönteminde sistemin ışıkla yakından ilişkili olduğunu belirtmektedirler (Zhang and Melis, 2002; Zhang et al., 2002). Daha önceden de belirtildiği gibi kükürt kısıtlı ortamda *C. reinhardtii* kültürleri solunum hızları değişmeden fotosentez aktivitesi yavaşlamakta, bu nedenle oksijen hızla tüketilmekte ve sistem anaerobik sürece girmektedir (Melis et al., 2000; Kosourov et al., 2002, Kosourov et al., 2005). Bu durum çözünmüş oksijen miktarında üretimin ilk saatlerinde azalmayla tespit edilmiş ve yaklaşık 18 saat içinde anaerobik koşulların sağlanmasıyla tamamlanmıştır.

Yarı-sürekli üretim sürecine geçilmesiyle eklenen taze kültürün etkisi incelendiğinde, seyreltme oranına bağlı olsa da eklenen hücrelerin hidrojen üretimini arttırıcı yönde bir etki yaptıkları gözlenmiştir. Bu durum özellikle adapte edilmiş hücrelerin kısa sürede hidrojen üretimine geçerek seyreltme sırasında oluşabilecek gecikmeleri aşabilmesiyle açıklanabilir.

Fotosentetik aktivite kaybı takip edildiğinde temelde kükürt etkisiyle oluşan azalma (Ghirardi et al., 2000; Wykoff et al., 1998; Hell, 1997) dikkat çekmekle birlikte kesikli üretimlerden farklı olarak seyreltme etkisiyle oluşan farklılıklar yeni hücrelerin etkilerine bağlanabilir. Özellikle eklenen yeni hücrelerle üretim sonunda fotosistem mekanizmaları etkilenen hücrelerin klorofil miktarlarındaki azalmalar ve dolayısıyla oluşan hücre kayıpları (Kim et al., 2006; Melis, 1999) telafi edildiği için gözlenen değişimler pozitif yönde olmuştur.

Sürekli sistemde farklı seyreltme oranlarına veya sıklığına bağlı kültür tepkileri temelinde, sistem içinde bulunan genç hücrelerle ilişkilendirilebilir (Fedorov et al., 2005). Seyreltme oranı arttıkça sistemde genç hücre bulunması olasılığı da arttığı için daha etkili hidrojen üretimi sağlanabilmektedir. Bu durum, ilk setlerden sonra üretim miktarlarında gözlenen azalmalarla açıklanabilir. Özellikle haftalık seyreltme sıklığında seyreltme oranlarından bağımsız olarak ilk 2 setten sonra üretimler daha düşük bir seviyede kararlı hale geçmişlerdir. Ancak seyreltme sıklığı arttığında ilk 2 setten sonra iyice tazelenen kültür diğer üretimlerden farklı olarak daha yüksek seviyelerde bir üretim performansı sergilemiştir (Çizelge 4.9).

Kontrol olarak sisteme sadece taze ortam eklendiğinde gözlenen ani üretim azalmaları bu gözlemleri desteklemektedir çünkü eklenen yeni hücre olmadığında taze ortamdan kaynaklanan etki üretim üzerinde önemli bir değişim yaratamamaktadır. Normalde aerobik fazda hücreler tarafından kullanılabilen asetat, üretim sürecinin başlangıcında solunum sırasında kullanılarak anaerobik evreye geçişi hızlandırmaktadır. Ancak anaerobik koşullarda ortama eklendiğinde hücrelere önemli bir katkı sağlamamaktadır (Antal et al., 2001; Markov et al., 2006; Kosourov et al., 2007). Bu durum özellikle yarı-sürekli üretim sırasında eklenen ortamın neden önemli bir değişim yapmadığını açıklamaktadır.

Elde edilen veriler doğrultusunda yapılan hidrojen üretim denemelerin farklı çalışmalarla karşılaştırılması yapılmıştır (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Farklı çalışmalarla yapılan deneylerin karşılaştırılması.

Mikroalg	Koşullar	Amaç	H2 üretimi	Kaynak
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , CC124	PBR: 1.2 l; 4 cm genişlik, Panel tip, manyetik. Işık: ~300 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Ortam: TAP (% CO_2); TAP-S; yıkama. Sıcaklık: 28 ± 1.5 °C. Süre: 140 saat. Klorofil: 9-12 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Senkronizasyon (14/10 A/K uygulama ile) ve kükürt eklenmesinin hidrojen üretimine etkisinin incelenmesi	TAP-S: Senkronlu hücreler; 80 ± 31 ml/l. Senkronsuz hücreler; 86 ± 19 ml/l. TAP-S+kükürt: Senkronlu hücreler; 241 ± 56 ml/l, 25 μM sülfat. Senkronsuz hücreler; 191 ± 27 ml/l, 50 μM kükürt.	Ghirardi et al., 2001.
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , (Dang 137c+)	PBR: 500 ml; 60 mm çap, Şişe, manyetik, 250 rpm. Ortam: TAP (hava); TAP-S. Sıcaklık: 28-30 °C. Süre: 120-150 saat. Klorofil: 9-30 $\mu\text{g}/\text{ml}$.	Aktarma metodunun, ışık şiddetinin ve asetat miktarının hidrojen üretimi üzerine etkisinin incelenmesi	Yıkama: $40-60$ $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 22-30 mg/l klorofil; 150-175 ml/l H_2 . TAP-S ortamına %10 inokulasyon: 20-30 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 15 mg/l klorofil, 17-30 mM asetat, 120-140 ml/l H_2 .	Laurinavichene et al., 2004.

Çizelge 4.10. (devam)

Mikroalg	Koşullar	Amaç	H ₂ üretimi	Kaynak
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , (UTEX, 90)	PBR: 100 ml (40ml kültür); 2,3 mm çap, Şişe, shaker, 150 rpm. Ortam: TAP (12/12 senkronize hücreler); TAP-S, yıkama. Sıcaklık: 25 °C. Süre: 140 saat. Klorofil: 28-29 mg/l.	Işık şiddetinin hidrojen üretimine etkisinin incelenmesi	Işık şiddeti: 60µE.m ⁻² .s ⁻¹ ; 85±3.6 ml/l 130µE.m ⁻² .s ⁻¹ ; 158±6.4 ml/l 200µE.m ⁻² .s ⁻¹ ; 225±10.4 ml/l 300µE.m ⁻² .s ⁻¹ ; 185±5.2 ml/l	Kim et al., 2006.
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , (Dang 137c+)	PBR:500 ml; 60 mm çap, Şişe, manyetik, 250 rpm. Işık: 110 µE.m ⁻² .s ⁻¹ . Ortam: HS, TAP TAP-S, HS-S, yıkama. Sıcaklık: 28±1 °C. Süre: 80 saat. Klorofil: 14-18 mg/l.	Farklı üretim yöntemlerinin hidrojen üretimine etkisinin incelenmesi	Fotoototrofik (HS, HS-S): 30-40 ml/l. Fotoheterotrofik: (TAP, TAP-S): 30-40 ml/l. Fotomixotrofik (TAP+%2CO ₂ , TAP-S): 120-140 ml/l.	Kosourov et al., 2007.

Çizelge 4.10. (devam)

Mikroalg	Koşullar	Amaç	H ₂ üretimi	Kaynak
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	PBR: 1.1 l, Panel tip, manyetik. Işık: 70×2 µE.m ⁻² .s ⁻¹ . Ortam: TAP+%3 CO ₂ , TAP-S, ylkama. Sıcaklık: 28 °C. Klorofil: 12 mg/l.	Farklı strainlerin ve mutant sujun hidrojen üretimlerinin karşılaştırılması.	CC124: 80±8 ml/l; toplam: 79-127 saat üretim. Mutant: 504±22 ml; toplam 263- 381 saat üretim. Wild Type: 29±9 ml; 120-170 saat üretim.	Torzillo et al., 2009.
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , CC124	PBR: 1050 ml, panel tip, manyetik, 350 rpm, 5cm genişlik. Ortam: TAP+%3CO ₂ , TAP-S. Sıcaklık: 25 °C. Klorofil: 10 mg/l. Süre: 4000 saat	Sürekli sistemde farklı seyreltme hızlarının, ışık şiddetinin ve sülfat eklenmesinin hidrojen üretimine etkilerinin	Işık şiddeti 50×2 µE.m ⁻² .s ⁻¹ ; farklı seyreltme hızları, 50,60,75 µM sülfat; 0.11-0.58 ml/l H ₂ . 60 µM sülfat; farklı seyreltme hızları, 25-150 µE.m ⁻² .s ⁻¹ ışık şiddeti, 0.23-0.58 ml/l H ₂ .	Federov et al., 2005.

Çizelge 4.10. (devam)

Mikroalg	Koşullar	Amaç	H2 üretimi	Kaynak
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , CC124	PBR: 1.1 l, Panel tip, manyetik, 450 rpm. Ortam: TAP+%3CO ₂ , TAP-S, ylkama. Sıcaklık: 27 °C. Klorofil: 12 mg/l Süre: 27 gün	Farklı ışık şiddetlerinin ve A/K döngülerinin uzun süreli hidrojen üretimine etkisinin incelenmesi.	Farklı ışık şiddeti, sürekli aydınlatma; (ilk 7 gün; 160 saat içinde toplam üretim) 50×2 µE.m ⁻² .s ⁻¹ ; 175.45 ml/l (~100 ml/l). 70×2 µE.m ⁻² .s ⁻¹ ; 197.27-210.91 ml/l (~150 ml/l). 80×2 µE.m ⁻² .s ⁻¹ ; 187.27 ml/l (~130 ml/l). 100×2 µE.m ⁻² .s ⁻¹ ; 190 ml/l (~120 ml/l). 70×2 µE.m ⁻² .s ⁻¹ . Işık şiddeti, A/K döngü: 12:12 saat: 92.73 ml/l (~45 ml/l).	Bu çalışma

Çizelge 4.10. (devam)

Mikroalg	Koşullar	Amaç	H2 üretimi	Kaynak
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , CC124	PBR: 2,5 l kültür, 400 ml tepe, Karıştırılmalı tank tip, 100 rpm, 2 bıçaklı system. Işık: 140 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Ortam: TAP+%3CO ₂ , TAP-S, yıkama. Sıcaklık: 27 °C. Klorofil: 12 mg/l	Karıştırılmalı tank tip konvasiyonel bir biyoreaktör sisteminde, kesikli ve yarı sürekli hidrojen üretiminin gerçekleştirilmesi, yarı sürekli üretim sürecinde farklı etkilere incelenmesi.	Kesikli üretim: Su sütununda değişim, 35 gün; 126.4 ml/l. Yarı sürekli üretim: 7 günlük settler toplam 35'er gün; Haftalık, %50, seyreltme: 132.8 ml/l Haftalık, %30 seyreltme: 70.4 ml/l Haftada 2, %50 seyreltme: 160.4 ml/l 7 günlük 2 set, toplam 14 gün: Haftalık, %50, taze ortamla seyreltme: 7.2 ml/l.	Bu çalışma

4.4.Yakıt hücresi denemeleri

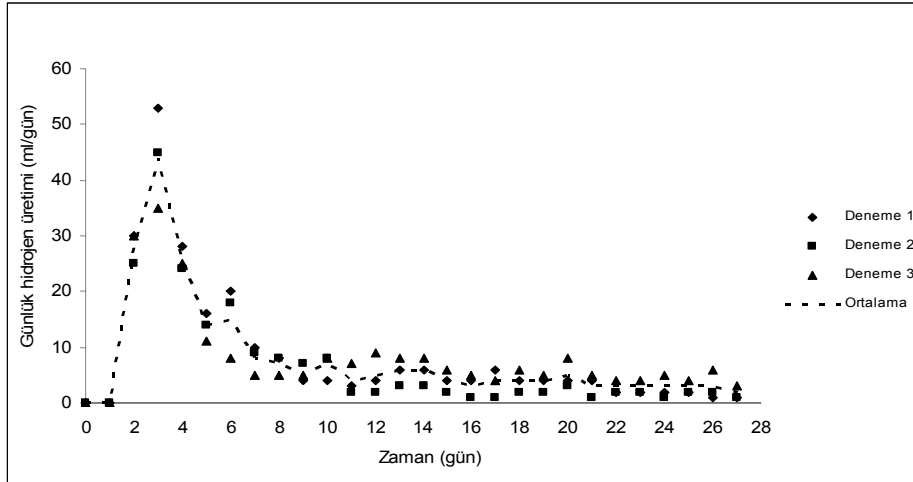
4.4.1.Hidrojen üretimleri

Hidrojen üretimi *Chlamydomonas reinhardtii* CC124 kültürü ile panel tip PBR’lerde fotomiksotrofik koşullarda gerçekleştirilmiştir. Önceki çalışmalara dayandırılarak belirlenen en uygun ışık şiddeti ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) bu denemelerde esas alınmıştır (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Biyomas üretimi sırasında aerobik ortam koşullarında meydana gelen değişimler (TAP ortamı).

Işık şiddeti	Peryot (gün)	Ulaşılan klorofil (a+b) miktarı mg/l	Hücre sayısı ($n \times 10^4/\text{ml}$)	Klorofil/Hücre ($\text{mg Chl}/n \times 10^6$)
$70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	2	24	755	3,18

Denemeler 3 kez tekrarlanarak ortalama hidrojen üretim değerleri elde edilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Sürekli aydınlatma altında sabit ışık şiddetinde ($70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) gerçekleşen günlük hidrojen üretimleri.

Önceki bölümde açıklandığı üzere H_2 üretimi sürecinde sürekli aydınlatmanın üretimler üzerinde yarattığı PSII’de aktivite düşmesi,

klorofil azalması, üretim miktarı değişimleri gibi etkiler gözlenmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Hidrojen üretim süreci.

Işık şiddeti: $70 \times 2 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$				
PSII aktivitesinde meydana gelen değişimler				
Başlangıç	H ₂ üretim başlangıcı	% azalma	Maks. H ₂ üretimi anında	% azalma
0,755	0,275	63,58	0,065	91,39
Hidrojen üretim miktarlarında meydana gelen değişimler				
Gecikme (saat)	H ₂ başlangıç miktarı		Maks. üretim	
	gün	ml/l	gün	ml/ l
28 ± 4	2	25,75	3	40,3
				197,27
Klorofil miktarında meydana gelen değişimler				
Başlangıç klorofil miktarı (mg/l)		Bitiş klorofil miktarı (mg/l)		% azalma
12		7,3		39,17

4.4.2. Hidrojen üretimleri ve voltaj değişimleri

Çalışmanın esas amacı *Chlmaydomonas reinhardtii* CC124 kültürleri ile üretilen hidrojenin yakıt hücreleri aracılığıyla hem üretim sürecinin takip edilmesi hem de doğrudan elektrik üretiminin gerçekleştirilmesidir. Bu doğrultuda hidrojen miktarının belirlenmesi amacıyla yapılan denemelere paralel gerçekleştirilen voltaj değişimi denemelerinde üretilen hidrojen doğrudan yakıt hücresine beslenerek süreç takip edildiğinde gaz üretimiyle voltaj değişimi arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.13).

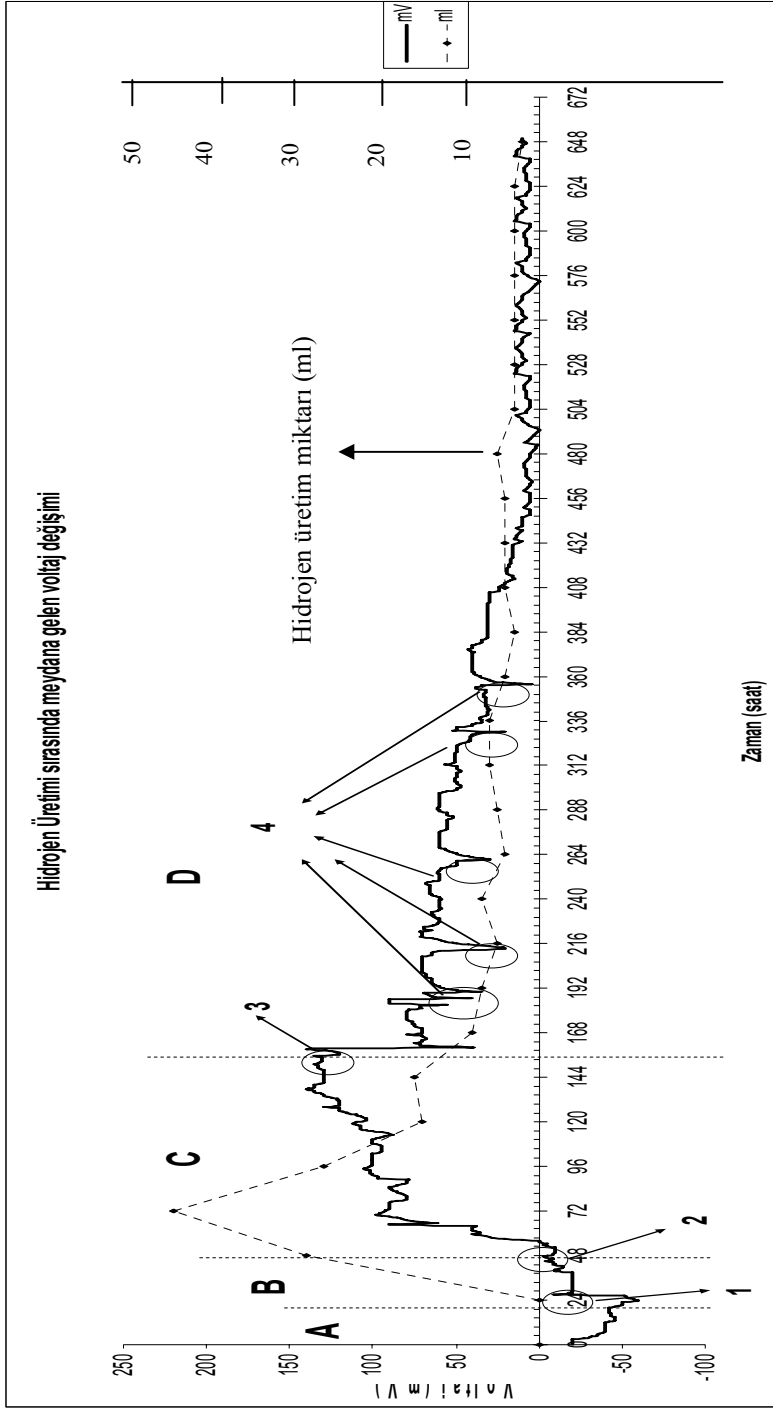
Üretim başlangıcında görülen hacimsel değişim voltajla karşılaştırıldığında aralarında belli bir zaman farkı olduğu gözlenmiştir. Bu farkın yakıt hücresinin çıkış hattının kapalı tutulduğu çalışma şekliyle ilgili olabileceği düşünülmektedir. Çıkış hattı kapalı olduğu durumda

kültür tarafından hidrojen gazının ilerlemesi için belli bir hacme ulaşması ve kapalı hattın yarattığı ters basıncı aşacak şekilde yeterli basınç sağlayarak yakıt hücresine geçmesi gerekmektedir. Bu durum ilk başta ters bir etki yaratıyor gibi görünse de, özellikle hattın açık olduğu durumda gözlenen artan gazın kullanılmadan kaybını önlediği için, uzun süreli tam kullanımı olanaklı kılmaktadır. Ayrıca gazın hat içinde basıncının korunması hidrojen üretiminin azaldığı süreçte ani voltaj azalmalarını da önlemektedir (Şekil 4.13).

Çeşitli çalışmalarda (Tsyngankov et al., 2002; Kosourov et al., 2002; Ghirardi et al., 2005) belirlenen hidrojen üretim evrelerinin izlenebilmesi açısından yakıt hücresinin voltaj değişimleri ölçülmüştür. Bu evreler farklı başlıklar altında değerlendirildiğinde;

Faz 1: Üretime alınan hücreler ilk etapta fotosentetik oksijen üretimine devam etmekte ancak üretim giderek azalmaktadır. Bu süreç voltaj olarak izlendiğinde negatif değerler gözlenmiştir (Şekil 4.13A). Değerlerin bu şekilde oluşması yakıt hücresinin anot bölümünün saf hidrojen yerine oluşan oksijenle kontamine olması ve oksijen kısmi basıncının katod bölümüne göre daha fazla olması nedeniyle ters bağlı pil etkisi göstermesi gibi farklı nedenlere bağlanabilir. Diğer bir önemli etki ise yakıt hücresinin ihtiyaç duyduğu hidrojenin üretilmemesi nedeniyle yakıt sıkıntısına bağlı olarak voltaj kaybının gözlenmesidir (Cheng et al., 2007; Brujin et al., 2008).

Faz 2: Aktivite kaybı ile fotosentetik oksijen üretimi azalmaya başlayınca solunum ile tüketim baskın hale geçmekte ve net oksijen kaybı oluşmaktadır (Şekil 3, A-1). Bu noktada oksijen kısmi basıncına bağlı negatif etki azalacağı için voltaj değişim hareketi pozitif yöne dönmektedir (Şekil 4.13B).



Şekil 4.13. Hidrojen üretimi ve yakıt hücresi voltaj değişimi.

Faz 3: Solunum sayesinde tüketilen oksijen bittikten sonra anaerobik koşulların sağlanmasıyla yakıt hücresinde pozitif eşik aşılr (Şekil 4.13-B2). Bu nokta aynı zamanda hidrojen üretiminin kültür ortamı içinde doaygunlaşmaya başladığı eşiktir. Ortalama olarak hidrojen üretimine bakıldığında bu süre 28 ± 4 saat civarındadır.

Faz 4: Anaerobik koşulların tamamen oluşması ile hidrogenaz aktivitesi artar. Bu artış ile kültür ortamından gaz kabarcıkları halinde gözlenen hidrojen akışı yakıt hücresine ulaşarak voltaj değişimde bir sıçrama yaratır (Şekil 4.13C). Bu durumda maksimum hidrojen üretimiyle doğru orantılı olarak, 3. fazda geçen süreye ek olarak yaklaşık 24 saatlik bir süre daha maksimum üretim için geçtiğinden, ulaşılan maksimum voltaj değeri 140 mV'a kadar çıkmaktadır.

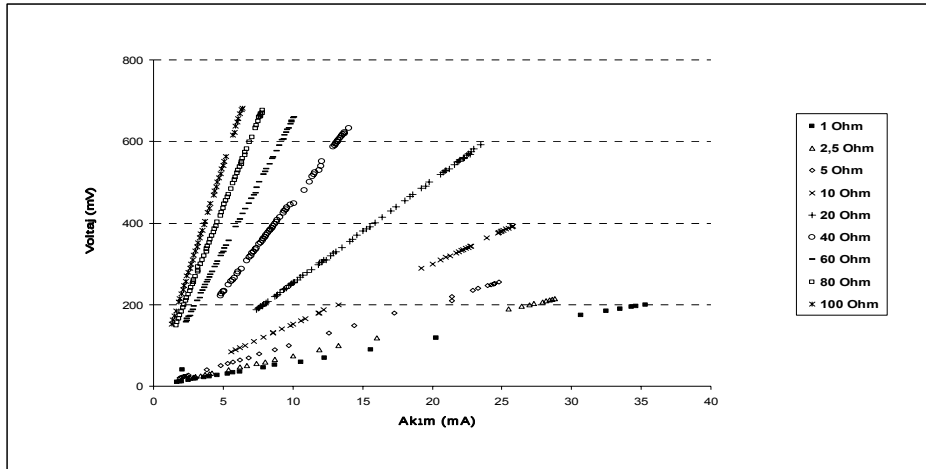
Faz 5: Hidrojen üretiminde düşüşler başlamış olsa da kapalı hat tasarımı sayesinde yüksek voltaj değerleri 100 saat kadar devam etmektedir (Şekil 4.8, Hidrojen üretimi). Ancak üretim azalması devam ettikçe voltaj değerlerinde de düşüşler başlamıştır. Özellikle hidrojenin yakıt hücresinde kullanımı üretimle karşılanamadığı eşik noktasında bu azalma çok keskin bir şekilde gözlenmektedir (Şekil 4.13C-3).

Faz 6: Hücre aktivitesi iyice düştükten sonra süreç içerisinde voltaj değişimi de benzer bir azalma bandına oturmuştur (Şekil 4.13D). Hidrojen üretiminde meydana gelen azalmanın etkisi kapalı hat tasarımı ile bir miktar azaltılmış olduğu için voltaj değişimi uzun bir süre devam etmektedir. Hatta ani düşüşlerde etki yumuşatılmış ve zamana yayılabilmektedir (Şekil 4.13D-4). Voltaj düşmeleri yakıt hücresinin elektrolit yüzeyinde azalan hidrojen ile meydana gelen düşük kütle transferlerine bağlanabilir (Huang et al., 2008; Fowler et al., 2002).

4.4.3. Farklı dirençlerin gerilim ve akım oluşumuna etkileri

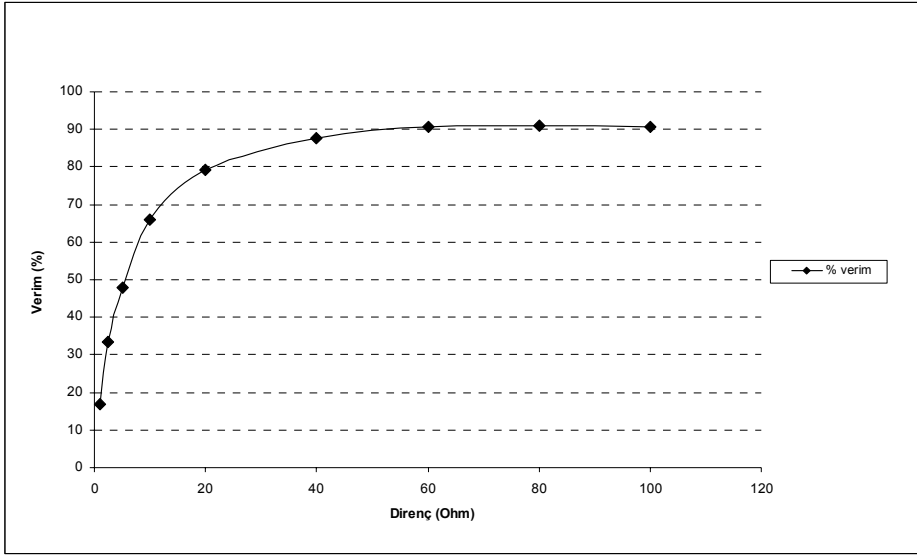
Yakıt hücresinin çıkış hattının belirli bir süre hidrojen ile beslemesini takiben kapatıldığında, yakıt hücresinin membranında oluşan hidrojen transferi daha hızlı ve rahat gerçekleşmektedir (Barbir and Gomez, 1997). Böylece voltaj değerleri tamamen kapalı formasyona göre daha yüksek seviyelere (800 mV) ulaşmaktadır. Ancak bu değerler, gaz akışının serbestçe sağlandığı zaman diliminde kullanılmayan gazın sistemden kaçmasına yol açtığı için meydana gelen basınç kaybı nedeniyle, uzun süre aynı seviyelerde kalamamaktadır saniyeler içinde 100 mV altına düşmektedir.

Bu çalışmada voltaj değerleri 800 mV değerine ulaşıldıktan sonra hat kapatılıp direnç devreye alındığında oluşan voltaj ve akım değişimleri değerlendirilmiştir. Devreye alınan dirençlerin doğrudan akımı etkilediği gözlenmiştir. Direncin değeri azaldıkça akım değerleri artsa da voltaj düşüşü hızlanmıştır (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Farklı dirençlerin akım-gerilim (mA-mV) üzerinde oluşturduğu değişimler.

Teorik olarak Ohm kanununa bağılı olarak hesaplanan değerlerle (a) deneysel değerler karşılaştırıldığında farklılıklar göze çarpmaktadır. Oluşan farklılıklar voltaj ve akımı beraber yorumlayacak bir parametre olan yakıt hücresinin güç üretimiyle izlenebilir (b).



Şekil 4.15. Farklı dirençlerin verim üzerinde etkisi

Teorik güç değerleri ile deneysel güç değerlerinin oranı yakıt hücresinin verimi (c) olarak tanımlanırsa, direnç artışı ile azalan akımın verim üzerinde %91'e kadar bir artış sağladığı gözlenmiştir (Şekil 4.15).

$$V = I \times R \quad (a)$$

I: Akım (mA),

V: Yakıt hücresi voltajı (mV),

R: Direnç (Ω)

$$P = V \times I \quad (b)$$

P: Güç (mW)

$$\% \text{ verim} = (P_{ex} / P_d) \times 100 \quad (c)$$

P_t : Teorik güç

P_d : Deneysel güç

Bu durum yakıt hücresinde termodinamik ve kinetik faktörlerin bir bütün olarak oluşturdıkları etki ile değerlendirilebilir (Barbir et al., 2005; Dante et al., 2003; Wunschiers and Lindblad, 2002). Verim üzerinde etkili olan bu faktörler hidrojenin membran üzerinde transferine kadar geçen süreye, yeterli birikimin sağlanması gerekliliğine, dirençten kaynaklanan etkiye dayandırılarak açıklanmaktadır (Huang et al., 2008; Fowler et al., 2002). Verim kayıpları bu bağlamda elektrokimyasal reaksiyonlara, yakıt hücresinin kendi yapısından kaynaklanan iç elektrik ve iyonik dengesine, kütle transfer kısıtlarına, yakıt miktarına bağlıdır (Barbir et al., 2005; Moriera and Silva, 2009; Barbir 2006).

4.4.4. Yakıt hücresi aracılığıyla elektrik üretimi

Yapılan denemelerde elde edilen veriler kullanılarak fotobiyoreaktörde üretilen hidrojen ile doğrudan elektrik üretilmesi hedeflenmiştir. Hidrojen üretim süreci ve voltaj değişimleri dikkate alındığında kültürün üretimin ilk 48 saatlik bölümünde belirli bir adaptasyon süreci geçirdiği gözlenmiştir. Direnç denemelerinden elde edilen veriler ışığında 10 Ω ve 100 Ω değerlerindeki dirençler yüksek

verimli ve sabit bölgeyi temsil ettikleri için seçilmişler ve elektrik üretim denemelerinde kullanılmışlardır (Şekil 4.14).

Bu noktadan hareketle bu evre boyunca yakıt hücresine gaz akışı kesilmiştir. Adaptasyon evresi sonunda gaz basıncı iyice artınca besleme hattı açılarak yine kapalı hat tasarımıyla çalıştırılan, 10 Ω ve 100 Ω direnç bağlanan yakıt hücresine beslenmiştir ve oluşan akım kaydedilmiştir. Süreç içerisinde ortalama 110 mV değerinin korunduğu zaman dilimi esas alınarak veriler değerlendirildiğinde, 10 Ω direnç kullanıldığında yakıt hücresi 50 saat boyunca ortalama 7,22 mA akım üretirken, 100 Ω direnç 80 saat boyunca ortalama 0,91 mA akım üretmiştir. 10 Ω direnç kullanıldığında verim %66 olurken, 100 Ω direnç % 83 olması karşılaştırıldığında dirençteki 10 katlık bir artışın verimde 1,26 katlık bir artış sağlaması dikkat çekmektedir. Elde edilen güç hesaplandığında ise bu fark sadece 0,13 lük bir artış meydana getirmiş ve üretim süresini ancak 1,38 kat uzatmıştır. Literatürde de yakıt hücrelerinin kısmi dirençlerle etkili çalışıklarına ilişkin bilgiler mevcuttur (Ball and Wietschel, 2009; Barbir and Gomez, 1997). Ayrıca yüksek dirençler her ne kadar verim açısından daha etkili olsalar da elektrik üretimi bakımından aynı derecede etkin olmamaktadırlar.

Denemeler bütünüyle değerlendirildiğinde PEM yakıt hücrelerinin hidrojen üretim sürecinin izlenmesinde kullanılmalarının yanı sıra, doğrudan fotobiyoreaktöre bağlantılı olarak elektrik üretimi için kullanım potansiyelleri olduğu da anlaşılmıştır.

4.5.Sonuç

Bu çalışmanın ilk aşamasında kesikli üretimler aracılığıyla farklı ışık şiddetlerinin ve A/K döngülerin etkileri incelenmiş ve hidrojen üretimi üzerinde doğrudan ilişkileri belirlenmiştir. Diğer çalışmalardan farklı olarak, kültürlerin ön üretim koşulları hidrojen üretimi sürecinde kullanılan ortam koşullarıyla eş kılınarak, farklı koşullardan kaynaklanabilecek etkiler elenmeye çalışılmıştır. Bu sayede sadece belirlenen ışığa ve aydınlatma döngüsüne bağlı değişimin incelemesi olanaklı kılınmıştır.

Panel tip PBR'lerin kullanıldığı üretimlerinden elde edilen veriler doğrultusunda konvansiyonel bir biyoreaktör kullanılarak yarı sürekli üretim gerçekleştirilerek uzun süreli hidrojen üretimi incelenmiştir. Farklı seyreltme oranları ve sıklıklarının üretim üzerinde doğrudan etkisi gözlenmiştir.

Diğer yandan yapılan yakıt hücresi denemeleriyle model organizma olarak belirlenen *Chlamydomonas reinhardtii* CC124'ün foto-biyohidrojen üretim sürecinin, oluşan voltaj farkıyla doğrudan ilgisi saptanmıştır. Bu ilişki üretim sürecinin takibini olanaklı kılmaktadır. Ayrıca farklı dirençler kullanılarak elde edilen hidrojenin doğrudan kullanılarak, elektrik akımı üretimi potansiyeli belirlenmiştir.

Çalışmada elde edilen bulgular foto-biyohidrojen üretimi alanında bilinen bilgilere ek oluşturabilecek özgün bulgulardır. Ayrıca, özellikle Aydınlık / Karanlık döngü denemelerinde elde edilen bulgular, büyük ölçekli fotobiyoreaktörlerdeki heterojen koşulları simüle etmeleri açısından ölçek büyütme ve ticari ölçekte üretim çalışmalarına da ışık tutacak niteliktedir.

5. ÖNERİLER

Günümüzde yenilenebilir enerji kaynaklarına olan ilgi hızla artmaktadır. Ülkemiz açısından değerlendirildiğinde çevre dostu bu kaynakların incelenmesi büyük önem taşımaktadır. Özellikle hidrojenin enerji elde edilmesinde kullanım potansiyeli hızla değişen dünyada dikkatleri üzerinde toplamaktadır. Bu noktada ülkemizin öncü bir rol üstlenmesi amacıyla hidrojen üretiminde ihtiyaç duyulan altyapının oluşturulması gerekmektedir. Doğal olarak oluşturulacak alt yapının temellerinin bilimsel veriler üzerine atılması süreklilik ve gelişimin ivmesi bakımından çok değerli katkılar sağlayacaktır.

Yapılan çalışmaların bir başlangıç olacağı fikriyle gelecekte devam niteliğindeki çalışmalara ağırlık verilmesi planlanmaktadır. Bu amaçla farklı organizmaların hidrojen üretim potansiyellerinin incelenmesi, büyük ölçekte üretime uyarlanabilir sistemlerin geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Üniversite ile sanayi arasında bu önemli konu hakkında bilgi alışverişi sağlanarak çalışmaların toplum adına yaygınlaşmasına hız verilmesi hedeflenmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abram, T., Ion, S.**, 2008, Generation-IV nuclear power: A review of the state of the science, *Energy Policy* 36: 4323-4330.
- Adamson, K.A.**, 2004, Hydrogen from renewable resources-the hundred year commitment, *Energy Policy* 32: 1231–1242.
- Ahmed, S., Aitani, A., Rahman, F., Dawood, A.A., Muhaish, F.A.**, 2009, Decomposition of hydrocarbons to hydrogen and carbon, *Applied Catalysis A: General*, 359: 1-24.
- Ahmed, I., Gupta, A.K.**, 2009, Syngas yield during pyrolysis and steam gasification of paper, *Applied Energy* 86: 1813–1821.
- Akkerman, I., Janssen, M., Rocha, J., Wijffels, R.H.**, 2002, Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design, *International Journal of Hydrogen Energy* 27: 1195 – 1208.
- Andress, R.J., Huang, X., Bequette, B.W., Martin, L.L.**, 2009, A systematic methodology for the evaluation of alternative thermochemical cycles for hydrogen production, *International journal of hydrogen*, Article in press, 1-9.
- Antal, T.K., Krendeleva, T.E., Laurinavichene, T.V., Makarova, V.V., Ghirardi, M.L., Rubin, A.B., Tsygankov, A.A., Seibert, M.**, 2003, The dependence of algal H₂ production on Photosystem II and O₂ consumption activities in sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* cells, *Biochimica et Biophysica Acta* 1607: 153– 160.

KAYNAKLAR (devam)

- Antal, T.K., Krendeleva, T.E., Laurinavichene, T.V., Makarova, V.V., Tsygankov, A.A., Seibert, M., Rubin, A.B.,** 2001, The relationship between the photosystem 2 activity and hydrogen production in sulfur deprived *Chlamydomonas reinhardtii* cells, Doklady Biochemistry and Biophysics, 381: 371–374.
- Apanel, G., Johnson, E.,** 2004, Direct methanol fuel cells ready to go commercial, Fuel cells bulletin, 12-17.
- Asada, Y., Miyake, J.,** 1999, Photobiological hydrogen production, Journal of bioscience and bioengineering, 88: 1-6.
- Azbar, N., Dokgöz, F.T., Keskin, F., Eltem, R., Korkmaz, K.S., Gezgin, Y., Akbal Z., Öncel, S., Dalay, M.C., Gönen, C., Tutuk, F.,** 2009, Comparative evaluation of bio-hydrogen production from cheese whey wastewater under thermophilic and mesophilic anaerobic conditions, International journal of green energy, 6: 192-200.
- Ball, M., Wietschel, M.,** 2009, The future of hydrogen – opportunities and challenges, International journal of hydrogen energy, 34: 615-627.
- Barbir, F.,** 2005, PEM electrolysis for production of hydrogen from renewable energy sources, Solar Energy 78: 661–669.
- Barbir F.,** 2006, PEM fuel cells, Fuel cell technology reaching towards commercialization, Edited by. Nigel Sammes, Springer –Verlag, London, 298 pp.

KAYNAKLAR (devam)

- Barbir, F., Gomez, T.**, 1997, Efficiency and economics of proton exchange membrane (PEM) fuel cells, *International Journal of Hydrogen Energy* 22: 1027-1037.
- Barbir, F., Gorgun, H., Wang, X.**, 2005, Relationship between pressure drop and cell resistance as a diagnostic tool for PEM fuel cells, *Journal of Power Sources*, 141: 96-101.
- Barbir, F., Gorgun, H., Wang, X.**, 2005, Relationship between pressure drop and cell resistance as a diagnostic tool for PEM fuel cells. *Journal of Power Sources*, 141: 96-101. **Barreto, L., Makihira, A., Riahi, K.**, 2003, The hydrogen economy in the 21st century: a sustainable development scenario, *International Journal of Hydrogen Energy* 28: 267- 284.
- Bauen, A.**, 2006, Future energy sources and systems - Acting on climate change and energy security, *Journal of Power Sources* 157: 893–901.
- Benemann, J. R.**, 1997, Feasibility analysis of photobiological hydrogen production, *International journal of hydrogen energy*, 22: 979-987.
- Bullen, R.A., Arnot, T.C., Lakeman, J.B., Walsh, F.C.**, 2006, Biofuel cells and their development , *Biosensors and Bioelectronics*, 21: 2015-2045.

KAYNAKLAR (devam)

- Bruijn, F.A., Dam, V.A.T., Janssen, G.J.M.,** 2008, Review: durability and degradation issues of PEM fuel cell components. *Fuel Cells*, 1: 3-22.
- Chae, K.J., Choi, M.J., Lee, J.W., Kim, K.Y., Kim, I.S.,** 2009, Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells, *Bioresource Technology* 100: 3518-3525.
- Chen, H., Cong, T.N., Yang, W., Tan, C., Li, Y., Ding, Y.,** 2009, Progress in electrical energy storage system: A critical review, *Progress in Natural Science* 19: 291–312.
- Chen, P., Zhu, M.,** 2008, Recent progress in hydrogen storage, *Materials today*, 11: 36-43.
- Chen, H.L., Lee, H.M., Shiao Huei Chen, S.H., Chao, Y., Chang, M.B.,** 2008, Review of plasma catalysis on hydrocarbon reforming for hydrogen production—Interaction, integration, and prospects, *Applied Catalysis B: Environmental* 85: 1-9.
- Chen ,Y.L., Liu, B., Wu, J., Huang, Y., Jiang, H., Hwang, K.C.,** 2008, Mechanics of hydrogen storage in carbon nano tubes, *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* 56: 3224–3241.
- Cheng, Y.S., Pena, M.A., Yeung, K.L.,** 2009, Hydrogen production from partial oxidation of methane in a membrane reactor, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, Article in pres, 1-8.

KAYNAKLAR (devam)

- Cheng, X., Shi, Z., Glass, N., Zhang, L., Zhang, J., Song, D., Liu, Z.S., Wang, H., Shen, J.,** 2007, A review of PEM hydrogen fuel cell contamination: Impacts, mechanisms, and mitigation, *Journal of Power Sources* 165: 739–756.
- Clark, W.W., Rifkin, J.,** 2006, A green hydrogen economy, *Energy Policy* 34: 2630–2639.
- Dante, R.C.,** 2005, Hypotheses for direct PEM fuel cells applications of photobioproduced hydrogen by *Chlamydomonas reinhardtii* *International Journal of Hydrogen Energy*, 30: 421 – 424.
- Dante, R.C, Armenta, S., Gutierrez, M., Celis, J.,** 2004, Temporal phenomena of hydrogen photobioproduction. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29: 1219-1226.
- Dante, R.C., Escamilla, J.L., Madrigal, V., Theuss, T., Calderon, J.D., Solorza, O., Rivera, R.,** 2003, Fractional factorial design of experiments for PEM fuel cell performances improvement. *International Journal of Hydrogen Energy*, 28: 343-348.
- Das, D., Veziroğlu, T.N.,** 2008, Advances in biological hydrogen production processes, *International journal of hydrogen energy*, 33: 6046 - 6057.
- Das, D., Veziroglu, T.,** 2001, Hydrogen production by biological processes: a survey of Literature, *International Journal of Hydrogen Energy* 26: 13-28.

KAYNAKLAR (devam)

- Demirci, U.B.**, 2009, How green are the chemicals used as liquid fuels in direct liquid-feed fuel cells?, *Environment International* 35: 626–631.
- Deshmukh, S.S., Boehm, R.F.**, 2008, Review of modeling details related to renewably powered hydrogen systems, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 12: 2301–2330.
- Du, Z., Li, H., Gu, T.**, 2007, A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy, *Biotechnology Advances* 25: 464-482.
- Dufour, A., Girods, P., Masson, E., Rogaume, Y., Zoulalian, A.**, 2009, Synthesis gas production by biomass pyrolysis: Effect of reactor temperature on product distribution, *International journal of hydrogen energy*, 34: 1726-1734.
- Dufour, J., Serrano, D.P., Galvez, J.L., Moreno, J., Garcia, C.**, 2009, Life cycle assessment of processes for hydrogen production. Environmental feasibility and reduction of greenhouse gases emissions, *International journal of hydrogen*, 34: 1370-1376.
- Dutta, D., De, D., Chaudhuri, S., and Bhattacharya, S.K.**, 2005, Microbial cell factories: hydrogen production by cyanobacteria, *Biomedcentral*, 4:36.
- Edwards, P.P., Kuznetsov, V.L., David, W.I.F., Brandon, N.P.**, 2008, Hydrogen and fuel cells: Towards a sustainable energy future, *Energy Policy* 36: 4356–4362.

KAYNAKLAR (devam)

- Esper, B., Badura, A., Rogner, M.,** 2006, Photosynthesis as a power supply for (bio-) hydrogen production, *TRENDS in Plant Science*, 11: 543-549.
- Fabregas, J., Maseda, A., Dominguez, A., Ferreira, M., Otero, A.,** 2002, Changes in the cell composition of the marine microalga, *Nannochloropsis gaditana*, during a light:dark cycle, *Biotechnology Letters* 24: 1699–1703.
- Fedorov, A.S., Kosourov, S., Ghirardi, M.L., Seibert, M.,** 2005, Continuous hydrogen photoproduction by *Chlamydomonas reinhardtii* using a novel two-stage, sulfate-limited chemostat system, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 121-124: 403-412.
- Feng, X., Wang, L., Min, S.,** 2009, Industrial energy evaluation for hydrogen production systems from biomass and natural gas, *Applied energy*, 86: 1767-1773.
- Fischer, B.B., Wiesendanger, M., and Eggen, R.I.L.,** 2006, Growth condition-dependent sensitivity, photodamage and stress response of *Chlamydomonas reinhardtii* exposed to high light conditions, *Plant cell physiology*, 47: 1135–1145.
- Fowler, M.W., Mann, R.F., Amphlett, J.C., Peppley, B.A., Roberge, P.R.,** 2002, Incorporation of voltage degradation into a generalized steady state electrochemical model for a PEM fuel cell. *Journal of power sources*, 106: 274-283.

KAYNAKLAR (devam)

- Gaffron, H., Rubin, J.,** 1942, Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae, The journal of general physiology, 26: 219-240.
- Gardner, D.,** Hydrogen production from renewable, Renewable energy focus, 34-37.
- Germano, M., Yakushevskaya, A.E., Gorkom, H.J., Dekker, J.P., Boekma, E.J.,** 2002, Supramolecular organization of photosystem I and light-harvesting complex I in *Chlamydomonas reinhardtii*, FEBS Letters 525: 121-125.
- Gfeller, R.P., Gibbs, M.,** 1984, Fermentative Metabolism of *Chlamydomonas reinhardtii*, I. Analysis of fermentative products from starch in dark and light, Plant Physiology, 75: 212-218.
- Gfeller, R.P., Gibbs, M.,** 1985, Fermentative Metabolism of *Chlamydomonas reinhardtii*, II. Role of plastoquinone, Plant Physiology 77: 509-511.
- Ghirardi, M.L., King, P.W., Posewitz, M.C., Maness, P.C., Fedorov, A., Kim, K., Cohen, J., Schulten, K., Seibert, M.,** 2005, Approaches to developing biological H₂-photoproducing organisms and processes, Biochemical Society Transactions, Volume 33, part 1: 70-72.

KAYNAKLAR (devam)

- Ghirardi, M.L., Kosourov, S., Tsygankov, A., Seibert, M.,** 2000, Two-phase photobiological algal H₂-production system, Proceedings of the 2000 DOE Hydrogen Program Review NREL/CP-570-28890; 1-13.
- Ghirardi, M.L., Kosourov, S., Seibert, M.,** 2001, Cyclic photobiological algal H₂-production, Proceedings of the 2001 DOE Hydrogen Program Review NREL/CP-570-30535.
- Ghirardi, M.L., Kosourov, S., Tsygankov, A., Rubin, A., Seibert, M.,** 2002, Cyclic photobiological algal H₂-production, Proceedings of the 2002 U.S. DOE Hydrogen Program Review.
- Ghirardi, M.L., Zhang, L., Lee, J.W., Flynn, T., Seibert, M., Greenbaum, E., Melis, A.,** 2000, Microalgae: a green source of renewable H₂, TIBTECH December Vol. 18: 506-511.
- Gibbs, M., Gfeller, R.P., Chen, C.,** 1986, Fermentative metabolism of *Chlamydomonas reinhardtii*; III. photoassimilation of acetate, Plant Physiology, 82: 160-166.
- Go, K.S., Son, S.R., Kim, S.D., Kang, K.S., Park, C.S.,** 2009, Hydrogen production from two-step steam methane reforming in a fluidized bed reactor, International journal of hydrogen energy, 34: 1301-1309.
- Greenbaum, E.,** 1988, Energetic efficiency of hydrogen photoevolution by algal water splitting, biophysical journal volume 54: 365-368.

KAYNAKLAR (devam)

- Greenbaum, E., Lee, J.W.**, 1998, Photosythetic hydrogen and oxygen production by green algae, an overview, *BioHydrogen*, 31: 235-241, edited by Zaborsky et al Plenum Press., 552 pp.
- Guell, B.M., Silva T.I.M., Seshan, K., Lefferts, L.**, 2009, Sustainable route to hydrogen-Design of stable catalysts for the steam gasification of biomass related oxygenates, *Applied Catalysis B: Environmental* 88: 59–65.
- Guoxin, H., Hao, H.**, 2009, Hydrogen rich fuel gas production by gasification of wet biomass using a CO₂ sorbent, *Biomass and Bioenergy*, 33:899-906.
- Hallenbeck, P.C.**, 2004, Fundamentals and limiting processes of biological hydrogen production, *Renewable energy system by biological solar energy conversion*, 93-100, Edited by. Miyake et al., Elsevier Press. 187 pp.
- Hallenbeck, P.C., Benemann, J.R.**, 2002, Biological hydrogen production; fundamentals and limiting Processes, *International Journal of Hydrogen Energy*, 27: 1185 – 1193.
- Hallenbeck, P.C., Ghosh, D.**, 2009, Advances in fermentative biohydrogen production: the way forward?, *Trends in biotechnology*, 27: 287-297.

KAYNAKLAR (devam)

- He, D., Bultel, Y., Magnin, J.P., Roux, C., Willison, J.C.,** 2005, Hydrogen photosynthesis by *Rhodobacter capsulatus* and its coupling to a PEM fuel cell. Journal of Power Sources, 141: 19–23.
- Healey, F. P.,** 1970, The Mechanism of Hydrogen evolution by *Chlamydomonas moewusii*, Plant physiology 45: 153-159.
- Hell, R.,** 1997, Molecular physiology of plant sulfur metabolism, Planta 202: 138-148.
- Holladay, J.D., Hu, J., King, D.L., Wang, Y.,** 2009, An overview of hydrogen production Technologies, Catalysis Today 139: 244–260.
- Huang, S.R., Lin, C.Y., Wu, C.C., Liu, S.T., Lin, L.C., Yun, S.J.,** 2008, Optimizing circuit parameters of the biohydrogen real-time power generating system by genetic algorithm. International Journal of Hydrogen Energy, 33: 1598-1606.
- Ibrahim, H., Ilinca, A., Perron, J.,** 2008, Energy storage systems- Characteristics and comparisons, Renewable and Sustainable Energy Reviews 12: 1221–1250.
- Jang, Y.C.,** Material based hydrogen storage, International journal of hydrogen energy, 33: 4424-4426.

KAYNAKLAR (devam)

- Janssen, M., Kuijpers, T.C., Veldhoen, B., Ternbach, M.B., Tramper, J., Mur, L.R., Wijffels, R.H.**, 1999, Specific growth rate of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella sorokiniana* under medium duration light:dark cycles: 13–87 s, Journal of Biotechnology 70 (1999) 323–333.
- Jeffrey S.W., Welschmeyer N.A.**, 1997, Spectrophotometric and fluorometric equations in common use in oceanography, 597-613, Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods, Edited by, Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C. and Wright S.W., UNESCO publishing, 661 p.
- John R. Benemann**, 2000, Hydrogen production by microalgae, Journal of Applied Phycology, 12: 291–300.
- Johnston, B., Mayo, M.C., Khare, A.**, 2005, Hydrogen: the energy source for the 21st century, Technovation 25: 569–585.
- Kargı, F., Karapınar, İ.**, 2006, Bio-hydrogen production from waste materials, Enzyme and Microbial Technology 38 (2006) 569-582.
- Maxwell, K., Johnson, G.N.**, 2000, Chlorophyll fluorescence a practical guide, journal of experimental botany, 51: 659-668.
- Khader, M.M.A.**, 2009, Recent advances in nuclear power: A review, Progress in Nuclear Energy 51: 225–235.

KAYNAKLAR (devam)

- Kim, J.H., Shim, J.H., Cho, Y.W.,** 2008, On the reversibility of hydrogen storage in Ti- and Nb-catalyzed $\text{Ca}(\text{BH}_4)_2$, Journal of power sources, 181: 140-143.
- Kim, J.P., Kang, C.D., Park, T.Y., Kim, M.S., Sim, S.J.,** 2006, Enhanced hydrogen production by controlling light intensity in sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* culture, International Journal of Hydrogen Energy, 31: 1585 – 1590.
- Kosourov, S., Makarova, V., Fedorov, A.S., Tsygankov, A., Seibert, M., Ghirardi, M.L.,** 2005, The effect of sulfur re-addition on H_2 photoproduction by sulfur-deprived green algae, Photosynthesis Research, 85: 295–305.
- Kosourov, S., Patrusheva, E., Ghirardi, M.L., Seibert, M., Tsygankov, A.,** 2007, A comparison of hydrogen photoproduction by sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* under different growth conditions, Journal of Biotechnology 128: 776–787.
- Kosourov, S., Tsygankov, A., Seibert, M., and Ghirardi, M.L.,** 2002, Sustained hydrogen photoproduction by *Chlamydomonas reinhardtii*: effects of culture parameters, Biotechnology and bioengineering, 78: 731-740.
- Kovacs, K.L., Maroti, G., Rakhely, G.,** 2006, A novel approach for biohydrogen production, International Journal of Hydrogen Energy 31: 1460 – 1468.

KAYNAKLAR (devam)

- Kruse, A.**, 2009, Hydrothermal biomass gasification, *Journal of Supercritical Fluids* 47: 391 -399.
- Laurinavichene, T., Tolstygina, I., Tsygankov, A.**, 2004, The effect of light intensity on hydrogen production by sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii*, *Journal of Biotechnology* 114; 143–151.
- Li, S.D., Wang, C.C., Chen, C.Y.**, 2009, Water electrolysis in the presence of an ultrasonic field, *Electrochimica Acta*, 54: 3877-3883.
- Lindblad, P.**, 2004, The potential of using cyanobacteria as producers of molecular hydrogen, *Biohydrogen III, Renewable energy system by biological solar energy conversion*, 75-82, Elsevier Press., 187 pp.
- Lovley, D.R.**, 2006, Microbial fuel cells: novel microbial physiologies and engineering approaches, *Current Opinion in Biotechnology*, 17: 327-332.
- MacIntyre, H.L., Cullen, J.J.**, 2005, Using cultures to investigate the physiological ecology of microalgae, *Algal culturing techniques*, Edited by. Robert A. Andersen, Elsevier academic pres, 578 p.
- Manish, S., Banerjee, R.**, 2008, Comparison of biohydrogen production processes, *International Journal of Hydrogen Energy* 33: 279-286.

KAYNAKLAR (devam)

- Markov, S.A., Eivazova, E.R., Greenwood, J.,** 2006, Photostimulation of H₂ production in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* upon photoinhibition of its O₂-evolving system, International Journal of Hydrogen Energy, 31: 1314-1317.
- Masojidek, J., Koblizek, M., Torzillo, G.,** 2004, Photosynthesis in microalgae, Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology, Edited by. Amos Richmond, Blackwell Science Ltd., 566 pp.
- Melis, A.,** 1999, Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo?, Trends in plant science, 4: 130-135.
- Melis, A.,** 2002, Green alga hydrogen production: progress, challenges and Prospects, International Journal of Hydrogen Energy 27: 1217 – 1228
- Melis, A.,** 2007, Photosynthetic H₂ metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii* (unicellular green algae), Planta 226:1075-1086.
- Melis, A., Happe, T.,** 2001, Update on Hydrogen Production. Green Algae as a Source of Energy, Plant Physiology, 127: 740–748.
- Melis, A., Zhang, L., Forestier, M., Ghirardi, M.L., Seibert, M.,** 2000, Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, Plant Physiology, 122: 127–135.

KAYNAKLAR (devam)

- Mertens, R. Liese, A.**, 2004, Biotechnological applications of hydrogenases, *Current opinion in biotechnology*, 15:343–348.
- Miura, Y., Akano, T., Fukatsu, K., Miyasaka, H., Mizoguchi, T., Yagi, K., Maeda, I., Ikuta, Y., Matsumoto, H.**, 1997, Stably sustained hydrogen production by biophotolysis in natural day/night cycle, *Energy Conversion Manegament*, 38: 533-537.
- Miura, Y., Miyamoto, K., Yagi, K.**, 1985, Process for producing hydrogen by alga in alternating light/dark cycle and environmental aerobic/microaerobic conditions, *United States Patent*, 4532210.
- Mock, P., Schmid, S.A.**, 2009, Fuel cells for automotive powertrains-A techno-economic assessment, *Journal of Power Sources*, 190: 133-140.
- Modigell, M., Holle, N.**, 1998, Reactor development for a bio-solar hydrogen production process, *Renewable energy*, 14: 421-426.
- Momirlan, M. and Veziroğlu, T.**, 1999, Recent directions of world hydrogen production *Renewable and sustainable energy reviews*, 3: 219-231.
- Moreira, M.V., Silva, G.E.**, 2009, A practical model for evaluating the performance of proton exchange membrane fuel cells, *Renewable Energy*, 34: 1734-1741.

KAYNAKLAR (devam)

- Moriarty, P., Honnery, D.,** 2009, Hydrogen's role in an uncertain energy future, *International journal of hydrogen energy*, 34: 31-39.
- Mouget, J.L., Trembling, G.,** 2002, Suitability of the Fluorescence Monitoring System (FMS, Hansatech) for measurement of photosynthetic characteristics in algae, *Aquatic Botany* 74: 219-231.
- Muradov, N.Z., Veziroğlu, T.N.,** 2008, "Green" path from fossil-based to hydrogen economy: An overview of carbon-neutral Technologies, *International journal of hydrogen energy*, 33: 6804-6839.
- Nakada, E., Nishikata, S., Asada, Y., Miyake, J.,** 1999, Photosynthetic bacterial hydrogen production combined with a fuel cell. *International Journal of Hydrogen Energy*, 24: 1053-1057.
- Nalan, Ç.B., Murat, Ö., Nuri, Ö.,** 2009, Renewable energy market conditions and barriers in Turkey, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 13: 1428–1436.
- Nandi, R., Sengupta, S.,** 1998, Microbial Production of Hydrogen: An Overview, *Critical Reviews in Microbiology*, 24: 61–84.
- Nath K., Das, D.,** 2003, Hydrogen from biomass, *Current science*, 85: 265-271.

KAYNAKLAR (devam)

- Neidhardt, J., Benemann, J.R., Zhang, L., Melis, A., 1998,** Photosystem-II repair and chloroplast recovery from irradiance stress: relationship between chronic photoinhibition, light-harvesting chlorophyll antenna size and photosynthetic productivity in *Dunaliella salina* (green algae), *Photosynthesis Research* 56: 175–184.
- Nielsen, T.R., 2005,** Manufacture of hydrogen, *Catalysis Today* 106: 293-296.
- Ogbonna, J.C., Tanaka, H., 1998,** Cyclic autotrophic/heterotrophic cultivation of photosynthetic cells: a method of achieving continuous cell growth under light/dark cycles, *Bioresource Technology*, 65: 65-72.
- Ogbonna, J.C., Yada, H., Tanaka, H., 1995,** Light supply coefficient: a new engineering parameter for photobioreactor design, *Journal of fermentation and bioengineering*, 2: 369-376.
- Ogbonna, J.C., Yada, H., Masui, H., Tanaka, H., 1996,** A novel internally illuminated stirred tank photobioreactor for large-scale cultivation of photosynthetic cells, *Journal of fermentation and bioengineering*, 82: 61-67.
- Oncel, S., Vardar, F.S., 2008,** Comparison of two different pneumatically mixed column photobioreactors for the cultivation of *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*), *Bioresource technology*, 99: 4755-4760.

KAYNAKLAR (devam)

- Öncel, S.**, 2004, Siyanobakteri/mikroalg üretimi için uygun fotobiyoreaktör tasarımı, Yüksek lisans tezi, 246 sayfa.
- Öncel, S.S., Akpolat, O.**, 2006, An integrated photobioreactor system for the production of *Spirulina platensis*, *Biotechnology*, 5: 365-372.
- Penner, S.S.**, 2006, Steps toward the hydrogen economy, *Energy* 31: 33-43.
- Pinto, F.A.L., Troshina, O., Lindblad, P.**, 2002, A brief look at three decades of research on cyanobacterial hydrogen evolution, *International Journal of Hydrogen Energy* 27: 1209 – 1215.
- Profeti, L.P.R. Dias, J.A.C., Assaf, J.M., Assaf, E.M.**, 2009, Hydrogen production by steam reforming of ethanol over Ni-based catalysts promoted with noble metals, *Journal of Power Sources* 190: 525–533.
- Polle, J.E.W., Kanakagiri, S., Jin, E.S., Masuda, T., Melis, A.**, 2002, Truncated chlorophyll antenna size of the photosystems a practical method to improve microalgal productivity and hydrogen production in mass culture, *International Journal of Hydrogen Energy* 27: 1257 – 1264.
- Qi, A., Peppley, B., Karan, K.**, 2007, Integrated fuel processors for fuel cell application: A review, *Fuel Processing Technology* 88: 3–22.

KAYNAKLAR (devam)

- Rech, M., Mouget, J.L., Tremblin, G.,** 2003, Modification of the Hansatech FMS fluorometer to facilitate measurements with microalgal cultures, *Aquatic Botany* 77: 71-80.
- Richmond, A.,** 2004, Biological Principles of mass cultivation, *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*, Edited by. Amos Richmond, Blackwell Science Ltd., 566 pp.
- Rochaix, J.D.,** 2002, Chlamydomonas, a model system for studying the assembly and dynamics of photosynthetic complexes, *FEBS Letters* 529: 34-38.
- Ross, D.R.,** 2006, Hydrogen storage: The major technological barrier to the development of hydrogen fuel cell cars, *Vacuum* 80: 1084-1089.
- Rupprecht, J., Hankamer, B., Mussgnug, J.H., Ananyev, G., Dismukes, C., Kruse, O.,** 2006, Perspectives and advances of biological H₂ production in microorganisms, *Applied Microbiol Biotechnology*, 72: 442–449.
- Sammes, N.M., Bove, R., Pusz, J.,** 2006, Solid oxide fuel cells, *Fuel cell technology reaching towards commercialization*, Edited by. Nigel Sammes, Springer –Verlag, London, 298 pp.
- Saxena, R.C., Adhikari, D.K., Goyal, H.B.,** 2009, Biomass-based energy fuel through biochemical routes: A review, *International journal of hydrogen energy*, 13: 167-178.

KAYNAKLAR (devam)

- Saxena, R.C., Seal, D., Kumar, S., Goyal, H.B.**, 2008, Thermochemical routes for hydrogen rich gas from biomass: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 12:1909–1927.
- Sharma, S.D., Dolan, M., Park, D., Morpeth, L., Ilyushechkin, A., McLennan, K., Harris, D.J., Thambimuthu, K.V.**, 2008, A critical review of syngas cleaning Technologies- fundamental limitations and practical problems, *Powder Technology* 180: 115–121.
- Sherif, S.A., Barbir, F., Veziroglu, T.N.**, 2005, Wind energy and the hydrogen economy review of the technology, *Solar Energy* 78: 647–660.
- Smitha, B., Sridhar, S., Khan, A.A.**, 2005, Solid polymer electrolyte membranes for fuel cell applications—a review, *Journal of Membrane Science* 259: 10–26.
- Solomon, B.D., Banerjee, A.**, 2006, A global survey of hydrogen energy research, development and policy, *Energy Policy* 34: 781–792.
- Spudich, J.L. and Sager, R.**, 1980, Regulation of the chlamydomonas cell cycle by light and dark, *The journal of cell biology*, 85: 136-145.
- Stuart, T.S., Gaffron, H.**, 1972, The mechanism of hydrogen photoproduction by several algae, I. the effect of inhibitors of photophosphorylation, *Planta (Berl.)* 106: 91-100.

KAYNAKLAR (devam)

- Torzillo, G., Scoma, A., Faraloni, C., Ena, A., Johanningmeier, U.,** 2009, Increased hydrogen photoproduction by means of a sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* D1 protein mutant, *International journal of hydrogen*, 34: 4529-4536.
- Tributsch, H.,** 2008, Photovoltaic hydrogen generation, *International Journal of Hydrogen Energy* 33: 5911-5930.
- Tsygankov, A., Kosourov, S., Seibert, M., Ghirardi, M.L.,** 2002, Hydrogen photoproduction under continuous illumination by sulfur-deprived, synchronous *Chlamydomonas reinhardtii* cultures, *International Journal of Hydrogen Energy* 27: 1239 – 1244.
- Tsygankov, A.A., Kosourov, S.N., Tolstygina, I.V., Ghirardi, M.L., Seibert, M.,** 2006, Hydrogen production by sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* under photoautotrophic conditions, *International Journal of Hydrogen Energy*, 31: 1574-1584.
- Urbaniec, K., Grabarczyk, R.,** 2009, Raw materials for fermentative hydrogen production, *Journal of Cleaner Production* 17: 959–962.
- Vardar F., Lilly, M.D.,** 1982, Effect of cycling dissolved oxygen concentrations on product formation in penicillin fermentations, *Applied microbiology and biotechnology*, 14: 203-211.

KAYNAKLAR (devam)

- Vijayaraghavan, K., Soom M.A.M,** 2006, Trends in biological hydrogen production a review, Journal of Integrative Environmental Sciences, 3: 55-271.
- Vishnyakov, V.M.,** 2006, Proton exchange membrane fuel cells, Vacuum 80: 1053–1065.
- Volgusheva, A.A., Zagidullin, V.E., Antal, T.K., Korvatovsky, B.N., Krendeleva, T.E., Paschenko, V.Z., Rubin, A.B.,** 2007, Examination of chlorophyll fluorescence decay kinetics in sulfur deprived algae *Chlamydomonas reinhardtii*, Biochimica et Biophysica Acta, 1767: 559-564.
- Vonshak, A., and Torzillo, G.,** 2004, Environmental stress physiology, Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology, Edited by. Amos Richmond, Blackwell Science Ltd., 566 pp.
- Wang, J., Wan, W.,** 2009, Factors influencing fermentative hydrogen production: A review, International journal of hydrogen energy, 34: 799-811.
- Watanabe K.,** 2008, Recent Developments in Microbial Fuel Cell Technologies for Sustainable Bioenergy, Journal of bioscience and bioengineering, 106: 528-536.

KAYNAKLAR (devam)

- White, A.L., Melis, A.**, 2006, Biochemistry of hydrogen metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii* wild type and a Rubisco-less mutant , International Journal of Hydrogen Energy 31: 455 – 464.
- Wunschiers, R., Lindblad, P.**, 2002, Hydrogen in education a biological approach. International Journal of Hydrogen Energy, 27: 1131 – 1140.
- Wykoff, D.D., Davies, J.P., Melis, A., and Grossman, A.R.**, 1998, The regulation of photosynthetic electron transport during nutrient deprivation in *Chlamydomonas reinhardtii*, Plant Physiology, 117: 129–139.
- Yagi, K., Shoga, M., Miyamoto, K.**, 1982, Hydrogen production by a green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*, in an alternating light/dark cycle, Biotechnology and bioengineering, 24(7):1555-63.
- Yang, C.**, 2008, Hydrogen and electricity: Parallels, interactions, and convergence, International journal of hydrogen energy, 33: 1977-1994.
- Youn, M.H., Seo, J.G., Park, S., Jung, J.C., Park, D.R., Song, I.K.**, 2008, Hydrogen production by auto-thermal reforming of ethanol over Ni catalysts supported on ZrO₂: Effect of preparation method of ZrO₂ support , International Journal of Hydrogen Energy, 33: 6457-7463.

KAYNAKLAR (devam)

- Zegers, P.**, 2006, Fuel cell commercialization: The key to a hydrogen economy, *Journal of Power Sources*, 154: 497-502.
- Zhang, L., Melis, A.**, 2002, Probing green algal hydrogen production, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 357: 1499–1509.
- Zhang, L., Happe, T., Melis, A.**, 2002, Biochemical and morphological characterization of sulfur-deprived and H₂-producing *Chlamydomonas reinhardtii* (green alga), *Planta*, 214: 552–561.
- Zhao, T.S., Xu, C., Chen, R., Yang, W.W.**, 2009, Mass transport phenomena in direct methanol fuel cells, *Progress in Energy and Combustion Science*, 35: 275–292.

ÖZGEÇMİŞ

Suphi Ş. ÖNCEL Orta ve lise eğitimini İzmir Amerikan Lisesinde tamamlamıştır. Ege Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümünden 2001 yılında mezun olmuştur. Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümünde Yüksek Lisans Öğrenimini 2004 yılında tamamlamıştır ve aynı bölümde doktora eğitimine başlamıştır. Halen görevini sürdürdüğü Biyomühendislik Bölümüne 2001 yılında Araştırma Görevlisi olarak atanmıştır.