



## Hydrothermal Liquefaction of Microalgae with Metal Halides for Bio-crude Production

Mehmet Kuddusi Akalın\*

Karabük University, Environmental Engineering Department, Istanbul, 78050, Turkey

### Highlights:

- The microalgae *Spirulina* was converted into bio-crudes with metal halides
- The effects of metal halides on the bio-crudes were investigated
- The aromatic content of the bio-crudes increased with the use of metal halides

### Keywords:

- Microalgae
- *Spirulina*
- Hydrothermal liquefaction
- Metal halides
- Bio-crudes

### Article Info:

Research Article  
Received: 02.05.2016  
Accepted: 30.05.2018

### DOI:

10.17341/gazimmfd.460484

### Correspondence:

Author:  
Mehmet Kuddusi Akalın  
e-mail:  
mehmetakalin@karabuk.edu.tr  
phone: +90 370 418 7050

### Graphical/Tabular Abstract

The microalgae *Spirulina* was converted into bio-crudes under hydrothermal conditions without and with metal halides. The effects of different hydrothermal processing temperatures, different initial pressures and residence times on the bio-crude and solid residue yields and the effects of metal halides (CsCl, CsCl-KCl, CsCl-NaCl, CsCl-ZnCl<sub>2</sub>, and CsCl-SnCl<sub>2</sub>) on the bio-crude yields and compositions were investigated.

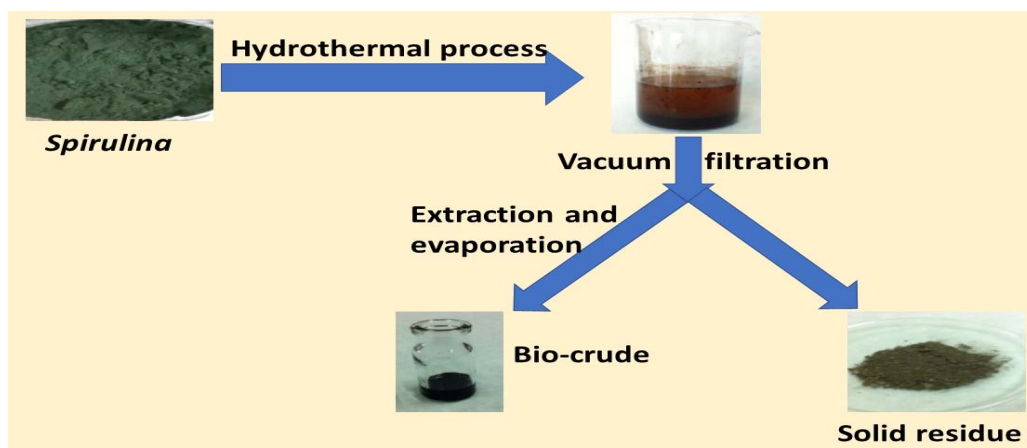


Figure A. Hydrothermal liquefaction of microalgae *Spirulina*

**Purpose:** The aim of this study is to investigate the effects of process conditions and using metal halides on the product yields and compositions for hydrothermal liquefaction of *Spirulina* for bio-crude production.

### Theory and Methods:

The hydrothermal liquefaction of microalgae *Spirulina* was carried out without additives at different temperatures (ranged from 250 to 375°C), different initial pressures (ranged from 1 to 4 MPa) and residence times (ranged from 30 to 120 min) in the first part. In the second part, metal halides (CsCl, CsCl-KCl, CsCl-NaCl, CsCl-ZnCl<sub>2</sub> and CsCl-SnCl<sub>2</sub>) were used as additives in the hydrothermal liquefaction experiments and the effects of metal halides on the yield and composition of bio-crudes were investigated.

### Results:

The highest bio-crude yield was about 36wt% for the experiments without additives and obtained at 350°C with a residence time of 30 min and an initial pressure of 1 MPa. The metal halides used in the experiments were ineffective on bio-crude yields. The highest diesel fuel content of the bio-crude was 78wt% and obtained from the run with CsCl-NaCl. The use of catalysts slightly increased the carbon content and slightly decreased the oxygen content in bio-crudes in comparison with the run without a catalyst. The key compounds in bio-crudes were nitrogen containing compounds including amines, amides, pyrrolidines.

### Conclusion:

The use of catalysts had no effect on bio-crude yields from the hydrothermal liquefaction of *Spirulina* at 300 °C with a residence time of 30 min. The carbon content and aromatic content of bio-crudes increased with the use of metal halides. The identified compounds in bio-crudes were mainly composed of nitrogen containing heterocyclic compounds, alkanes, and alkenes.



## Biyo-yağ üretimi için mikroalgin metal halojenürler ile hidrotermal sıvılaştırılması

Mehmet Kuddusi Akalın\*

Karabük Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Karabük, 78050, Türkiye

### Ö N E Ç I K A N L A R

- Spirulina mikroalgi metal halojenürler kullanılarak biyo-yağa dönüştürülmüştür
- Metal halojenürlerin biyo-yağlara etkisi incelenmiştir
- Metal halojenürlerin kullanılmasıyla biyo-yağların aromatik içeriği artmıştır

#### Makale Bilgileri

Araştırma Makalesi

Geliş: 02.05.2016

Kabul: 30.05.2018

DOI:

10.17341/gazimmfd.460484

#### Anahtar Kelimeler:

Mikroalg,  
Spirulina,  
Hidrotermal sıvılaştırma,  
Metal halojenürler,  
Biyo-yağ

#### ÖZET

Bu çalışmada, bir mikroalg olan *Spirulina* hidrotermal koşullarda biyo-yağa dönüştürülmüştür. İlk kısımda (katkı kullanılmayan deneylerde) farklı hidrotermal proses sıcaklıklarının (250 ile 375°C arasında), farklı ilk basınçların (1 ile 4 MPa arasında) ve farklı reaksiyon sürelerinin (30 ile 120 dakika arasında) biyo-yağ ve katı ürün verimlerine etkisi incelenmiştir. En yüksek biyo-yağ verimi ağ. %36 olarak bulunmuş ve 350°C'de 30 dakika reaksiyon süresinde ve 1 MPa başlangıç basıncında gerçekleştirilen deneyden elde edilmiştir. İkinci kısımda (metal halojenür katkıları kullanılan deneyler) metal halojenürlerin (CsCl, CsCl-KCl, CsCl-NaCl, CsCl-ZnCl<sub>2</sub>, and CsCl-SnCl<sub>2</sub>) biyo-yağ verimlerine etkisi ve biyo-yağların bileşimleri incelenmiştir. Deneylerde kullanılan metal halojenürlerin biyo-yağ verimlerine önemli bir etkisi olmamıştır. Biyo-yağın en yüksek dizel yakıt içeriği ağ. %78 olarak bulunmuş ve CsCl-NaCl katalizörü kullanılan deneyden elde edilmiştir. Katalizör kullanılmayan deneylerle karşılaştırıldığında katalizör kullanımı biyo-yağların karbon içeriğini az miktarda artırmış, oksijen içeriğini ise az miktarda azaltmıştır. Biyo-yağların içeriğindeki önemli bileşenler aminler, amidler, piroolidinler, indoller ve pirazinler gibi azot içeren bileşiklerdir. En yüksek ısı değere (yaklaşık 33 MJ/kg) sahip biyo-yağlar CsCl ve CsCl-SnCl<sub>2</sub> kullanılan deneylerden elde edilmiştir.

## Hydrothermal liquefaction of microalgae with metal halides for bio-crude production

### H I G H L I G H T S

- The microalgae *Spirulina* was converted into bio-crudes with metal halides
- The effects of metal halides on the bio-crudes were investigated
- The aromatic content of the bio-crudes increased with the use of metal halides

#### Article Info

Research Article

Received: 02.05.2016

Accepted: 30.05.2018

DOI:

10.17341/gazimmfd.460484

#### Keywords:

Microalgae,  
Spirulina,  
Hydrothermal liquefaction,  
Metal halides,  
Bio-crudes

#### ABSTRACT

In this study, the microalgae *Spirulina* was converted into bio-crudes under hydrothermal conditions. In the first part (non-additive experiments), the effects of different hydrothermal processing temperatures (ranged from 250 to 375°C), different initial pressures (ranged from 1 to 4 MPa) and residence times (ranged from 30 to 120 min) on the bio-crude and solid residue yields were investigated. The highest bio-crude yield was about 36wt% and obtained at 350°C with a residence time of 30 min and an initial pressure of 1 MPa. In second part (experiments with metal halide additives), the effect of metal halides (CsCl, CsCl-KCl, CsCl-NaCl, CsCl-ZnCl<sub>2</sub>, and CsCl-SnCl<sub>2</sub>) on the bio-crude yields and compositions were investigated. The metal halides used in the experiments were ineffective on bio-crude yields. The highest diesel fuel content of the bio-crude was 78wt% and obtained from the run with CsCl-NaCl. The use of catalysts slightly increased the carbon content and slightly decreased the oxygen content in bio-crudes in comparison with the run without a catalyst. The key compounds in bio-crudes were nitrogen containing compounds including amines, amides, pyrrolidines, indoles, and pyrazines. The highest heating value of the bio-crude was about 33 MJ/kg and obtained in the runs with CsCl and CsCl-SnCl<sub>2</sub>.

\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: mehmetakalin@karabuk.edu.tr / Tel: +90 370 418 7050

## 1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Fosil yakıtların giderek tükeniyor olması sonucu fiyatlarındaki artışı, ayrıca küresel iklim sorunları gibi etkenler sebebiyle son yıllarda yeni ve yenilenebilir enerji kaynaklarına yönelim artmıştır [1]. Fosil yakıtlara alternatif olan en önemli yenilenebilir enerji kaynaklarından birisi biyoyakıtlardır. Çok sayıda biyokütle türü biyoyakıt kaynağı olarak kullanılabilir. Bu biyoküteller arasında hızlı büyüme özellikleri ve ılımlı koşullarda yetişebilme özellikleriyle alglerin çeşitli türleri biyoyakıt üretiminde önemli yer tutmaktadır [2]. Yosun tabanlı biyokütleden biyoyakıt iki aşamalı bir prosesle üretilir [3]. Birinci aşamada uygun bir çözücü kullanılarak biyokütleden lipid ekstraksiyonu gerçekleştirilir. İkinci aşamada yağ ile alkolün ester yani biyodizel oluşturmak üzere tepkimeye girdiği bir çeşit katalitik reaksiyon olan transesterifikasyon prosesi ile lipidler biyodizele dönüştürülür [3, 4]. Atık hayvan yağı [4], kanola yağı [5], soya fasulyesi yağı [6], pamuk metal esteri [7], palm yağı [8], mısır yağı [9], hamsi yağı [10] gibi birçok bitkisel ve hayvansal biyokütle kaynağının bu yöntemle biyodizel üretimi için kullanıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak bu prosesin teknik olarak düşük lipid içeriğine sahip olmalarından dolayı yosun tabanlı biyokütellere uygulanması fazla uygun değildir [3]. Alglerden biyoyakıt elde edilmesi için alternatif bir yöntem hidrotermal prosesidir. Bu süreçte biyokütle sıcak basınçlı su içerisinde biyoyakıtla dönüştürülür. Bu proses çevre dostu olmasının yanında tüm biyokütellere uygulanabilen bir prosesdir [11, 12]. Ayrıca biyokütlenin ön kurutmasına gerek olmayan tek proses hidrotermal prosesidir. Bu özellik hidrotermal prosesi algler gibi nem içeriği yüksek biyoküteller için çok uygun hale getirmektedir. Lipidlerdeki ester bağlarının, proteinlerdeki peptit bağlarının ve karbohidratlardaki glikozidik eter bağlarının hidrolitik yarılmasıyla alg biyoküteller hidrotermal ortamda biyoyakıtla dönüştürülmektedir [13]. Sürdürülebilir biyoyakıt üretimi için endüstriyel uygulamalarda kullanılan proseslerin fizibilitesi önemli bir kriterdir [14]. Alglerin hidrotermal sıvılaştırma döngüsü bu prosesin sıvı faz ve yan ürünler etkili olarak kullanıldığında uygulanabilir olduğunu göstermektedir [15].

Hidrotermal proses koşullarında biyoyakıt elde etmek amacıyla lipid ekstrakte edilmiş alg [16], *Phaeodactylum tricornutum* [17], ıslak makroalg çamurları [18], *Spirulina* ve *Nannochloropsis salina* [19], *Spirulina platensis* [20], *Chlorella pyrenoidosa* [21] gibi çeşitli mikro- ve makro algin hammadde olarak kullanıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların büyük bir kısmında proseslerin optimizasyonu incelenmiştir. Alglerin hidrotermal sıvılaştırılmasında Ce/HZSM-5 [22], Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> [23, 24], Pd/C, Pt/C, Ru/C, CoMo/γ-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Ni/SiO<sub>2</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, zeolit [25], HCOOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> [26] gibi çeşitli katalizörlerin kullanılması konusundaki araştırmalar büyük önem kazanmıştır. Bu çalışmalar temel olarak katalizörlerin biyo-yağ verimi ve biyo-yağ bileşimi üzerine etkisine odaklanmıştır.

*Chlorella pyrenoidosa*'ın hidrotermal sıvılaştırılması 300°C sıcaklıkta 20 dakika reaksiyon süresinde katalizörsüz ve katalizör olarak HZSM-5 ve Ce/HZM-5 kullanılarak gerçekleştirilmiştir [22]. Katalizör olarak Ce/HZSM-5 kullanılması biyo-yağ verimini ağı. ~%32'den ~%50'ye çıkararak verime önemli ölçüde etki etmiştir. Ayrıca katalizör kullanımı biyo-yağın karbon içeriğini artırmış ve azot içeriğini de azaltmıştır. Ancak biyo-yağın oksijen içeriği HZSM-5 kullanıldığında değişmezken, Ce/HZSM-5 kullanılmasıyla bir miktar azalmıştır. *Dunaliella tertiolecta* küspesinin hidrotermal sıvılaştırılması 280-380°C sıcaklıkta, 10-90 dakika reaksiyon süresinde katalizörsüz olarak ve Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> varlığında (ağı. %2,5-10) gerçekleştirilmiştir [23]. Ağırlıkça %5 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> eklenmesi biyo-yağ veriminde ağı. ~%21'den ~%25'e az bir artışa neden olmuştur. En yüksek biyo-yağ verimi yaklaşık ağı. %25 olarak 360°C sıcaklıkta, 50 dakika reaksiyon süresinde ve ağı. %5 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> kullanılmasıyla elde edilmiştir. Bir alg türü olan *Microcystis viridis*'in sıvılaştırılması 300-340°C'de, 30-60 dakika reaksiyon süresinde katalizörsüz olarak ve katalizör olarak Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> kullanılarak hidrotermal ortamda gerçekleştirilmiştir [24]. En yüksek biyo-yağ verimi (ağı. %33) 340°C sıcaklıkta, 30 dakika reaksiyon süresinde katalizör olarak Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> kullanılmasıyla elde edilmiştir. Mikroalg *Nannochloropsis sp.* 350°C'de inert ve yüksek basınç koşullarında çeşitli heterojen katalizörler kullanılarak (Pd/C, Pt/C, Ru/C, Ni/SiO<sub>2</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CoMo/γ-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (sülfittenmiş), ve zeolit) hidrotermal ortamda sıvılaştırılmıştır [25]. İnert koşullarda katalizör kullanılması katalizör kullanılmadan gerçekleştirilen deneylere göre daha yüksek biyo-yağ verimi elde edilmesine neden olmuştur. Ancak hem karbon içeriği hem de ısı değerler katalizör kullanılmasıyla değişiklik göstermemiştir. Yukarıda tartışılan literatür örneklerinde görüldüğü gibi hidrotermal ortamda yosun tabanlı biyokütlenin sıvılaştırılmasında çok çeşitli homojen ve heterojen katalizörler kullanılmıştır. Ancak yosun tabanlı biyokütlenin metal halojenürler kullanılarak hidrotermal sıvılaştırılmasıyla ilgili çalışma bulunmamaktadır. Literatürdeki bu boşluk metal halojenürler kullanılarak yosun tabanlı biyokütlenin hidrotermal sıvılaştırılmasının gerçekleştirilmesini sağlamıştır. Bu çalışmada, *Spirulina* mikro-alginin hidrotermal sıvılaştırılmasında reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi, başlangıç basıncı gibi deneysel parametrelerin optimizasyonu rapor edilmiştir. Ayrıca hidrotermal koşullarda metal halojenürlerin (CsCl-KCl, CsCl-NaCl, CsCl-ZnCl<sub>2</sub>, and CsCl-SnCl<sub>2</sub>) kullanımının biyo-yağ ve katı ürünlerin karakterizasyonuna etkisi de rapor edilmiştir. Biyo-yağın bileşimi elementel analiz cihazı, termogravimetrik analiz cihazı ve gaz kromatografi kütle spektrometresi (GC-MS) kullanılarak belirlenmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOD (MATERIALS AND METHOD)

### 2.1. Hammadde (Feedstock)

Deneylerde kullanılan mikro alg *Spirulina* Adana şehrindeki ticari bir firmadan toz halinde temin edilmiştir. *Spirulina*'nın

kısmî ve nihâî analiz sonuçları şu şekildedir: Ağırılıkça %6,40 nem (belirlenmiş); ağ. %65,50 protein (firmadan temin edilmiş); ağ. %20 karbohidrat [26]; ağ. %5 lipid [26]; ağ. %6,6 kül (belirlenmiş); ağ. %46,43 C; %7,25 H, %10,86 N; %0,68 S; ve %35,46 O.

## 2.2. Hidrotermal Sıvılaştırma Deneyleri (Hydrothermal Liquefaction Experiments)

Hidrotermal sıvılaştırma deneyleri 500 mL hacme sahip, maksimum 500°C ve 35 MPa basınçta çalışabilen kesikli reaktörde gerçekleştirilmiştir. (Parr 4848 High Pressure Reactor, Parr Instrument Co., Moline, Illinois, USA). Reaktörle ilgili detaylar önceki çalışmamızda bulunabilir [27]. Katkı kullanılmayan tipik bir deneyde 15 g (kuru bazda) *Spirulina* mikro algı 150 mL distile su ile birlikte reaktöre konulmuştur. Katkı kullanılan deneylerde ise aynı miktarda *Spirulina* ve distile su konulduktan sonra kullanılacak katkı da (CsCl (5mmol), CsCl-KCl (5mmol-5mmol), CsCl-NaCl (5mmol-5mmol), CsCl-ZnCl<sub>2</sub> (5mmol-5mmol), ve CsCl-SnCl<sub>2</sub> (5mmol-5mmol)) reaktöre konulmuştur. Bu işlemde sonra içerisindeki havayı boşaltmak için reaktör üç defa azot gazı geçirilerek ile yıkanmıştır. Ardından sıcaklık istenen seviyelere çıkarılmıştır. Deneysel koşulların optimizasyonu için çeşitli başlangıç basınçlarında (1, 2, 4 MPa), sıcaklıklarda (250, 275, 300, 325, 350 and 375°C), ve reaksiyon sürelerinde (30, 60, 90 and 120 dakika) deneyler gerçekleştirilmiştir.

## 2.3. Ayırma ve Ekstraksiyon Prosedürü (Separation and Extraction Procedure)

Ayırma ve ekstraksiyon prosedürü önceki çalışmaya [28] göre yapılmıştır. Hidrotermal deneyler tamamlandığında reaktor içindeki gaz uzaklaştırılmış ve ardından katı ile sıvı ürünler reaktörden 100 mL su ve 100 mL diklorometanla yıkanarak alınmıştır. Katı ve sıvı ürünler vakum filtrasyonunda ayrıldıktan sonra sıvı kısım eşit miktarda diklorometan ile ekstrakte edilmiştir. Elde edilen diklorometan çözeltisi susuz sodyum sülfat kullanılarak kurutulmuş; filter edilmiş; ve döner buharlaştırıcıda buharlaştırılmıştır. Çözününün uzaklaştırılmasından sonra bu fraksiyonun miktarı belirlenerek biyo-yağ olarak adlandırılmıştır. Biyo-yağ verimi biyo-yağın kütesinin kuru bazda reaktöre konulan *Spirulina* mikro alginin kütesine bölünmesiyle bulunmuştur. Filtre kağıdında kalan katı ürünün miktarı ise 105°C'de kurutulduktan sonra belirlenmiştir. Katı ürün verimi de elde edilen katı ürün kütesinin kuru bazda reaktöre konulan *Spirulina* mikro alginin kütesine bölünmesiyle bulunmuştur.

## 2.4. Analiz (Analysis)

Biyo-yağlar gaz kromatografisi kütle spektrometresiyle (GC-MS) analiz edilmiştir. Ayırma 6890 Gas Chromatograph Agilent kullanılarak 30m×0,25mm i.d. fenil metil siloksan kapiler kolonda (HP-5MS) gerçekleştirilmiştir. Biyo-yağlar için gaz kromatografisi fırını şu programda çalıştırılmıştır: 40°C'de başlangıç, 5 dakika bekleme, sonra 2°C artışla 170°C sıcaklık, 5 dakika

bekleme, 4°C artış ile 260°C, 5 dakika bekleme, 12°C artışla 300°C sıcaklık, ve bu son sıcaklıkta 5 dakika bekleme. Enjektör sıcaklığı 250°C'dir. 1 mL dak<sup>-1</sup> akış hızındaki helyum taşıyıcı gazdır. Kolonun sonu direkt olarak elektron etki iyonizasyon ile yürütülen iyon kaynağı Agilent 5973 serisi kütle seçici detektöre bağlıdır. Deneylerde kullanılan veri sistemi NIST kütüphanesine sahip G1035A yazılımdır. Mikro-alg *Spirulina*, biyo-yağlar, ve katı ürünlerin elementel analizi LECO CHNS 932 ile yapılmıştır. Isıl değerler Dulong formülü (ÜID = 0,338C + 1,428(H-O/8) + 0,095S) kullanılarak hesaplanmıştır. Termal gravimetrik analizör (TGA 7200 system SII Nano Technology Inc., Chiba, Japan) biyo-yağlardaki hidrokarbonların kaynama noktası dağılımlarını belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Bu analiz Ross ve arkadaşlarının önceki çalışmasına göre yapılmıştır [10]. Sıcaklık 40'tan 800°C'ye, 50 ml.dak<sup>-1</sup> N<sub>2</sub> akış hızında, 10°C.dak<sup>-1</sup> artışla yükseltmiştir.

## 3. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR (RESULTS AND DISCUSSIONS)

### 3.1. Hidrotermal Sıvılaştırma Koşullarının Optimizasyonu (Optimization of Hydrothermal Liquefaction Conditions)

Tablo 1'de reaksiyon süresinin biyo-yağ ve katı ürün verimine etkisi gösterilmiştir. Reaksiyon sürelerinin değiştirilmesi biyo-yağ verimi ile katı ürün verimini önemli ölçüde etkilemese de en yüksek biyo-yağ verimi 30 dakika reaksiyon süresinde elde edilmiştir. Azot başlangıç basıncının biyo-yağ ve katı ürün verimine etkisinin gösterildiği Tablo 2'den başlangıç basıncının biyo-yağ ve katı ürün verimine etkisinin olmadığı anlaşılmaktadır.

**Tablo 1.** *Spirulina*'nin farklı reaksiyon sürelerinde hidrotermal sıvılaştırılmasından elde edilen biyo-yağ ve katı ürün verimleri (T= 300°C, P=1 MPa).  
(Yields of bio-crudes and solid residues from the hydrothermal liquefaction of *Spirulina* at different residence times)

Süre (dak)	Biyo-yağ verimi (ağ,%)	Katı ürün verimi (ağ,%)
30	34,31 (0,46)	2,08 (0,36)
60	33,03 (0,73)	2,14 (0,33)
90	32,76 (0,44)	2,33 (0,45)
120	32,06 (0,81)	2,03 (0,34)

(T=Sıcaklık. P=Başlangıç basıncı. Deneylerin standart sapmaları parantez içinde verilmiştir)

**Tablo 2.** *Spirulina*'nin farklı başlangıç basınçlarında hidrotermal sıvılaştırılmasından elde edilen biyo-yağ ve katı ürün verimleri (T= 300°C, t=30 dak).  
(Yields of bio-crudes and solid residues from the hydrothermal liquefaction of *Spirulina* at different initial pressures)

Başlangıç basıncı (MPa)	Biyo-yağ verimi (ağ,%)	Katı ürün verimi (ağ,%)
1	34,31 (0,46)	2,08 (0,36)
2	34,17 (0,68)	1,94 (0,45)
4	34,09 (0,84)	2,17 (0,38)

(T=Sıcaklık. t=Reaksiyon süresi. Deneylerin standart sapmaları parantez içinde verilmiştir)

Hidrotermal sıvılaştırma sıcaklığının en önemli parametre olduğu Tablo 3’de görülmektedir. *Phaeodactylum tricornutum* [17], *Spirulina platensis* [20], *Desmodesmus sp.* [29], kurutulmuş damıtıcı posası (çözünenlerle) [30], *Nannochloropsis sp.* [31], *Enteromorpha prolifera* [32] gibi çeşitli yosun tabanlı biyokütlelerinin hidrotermal sıvılaştırmasıyla ilgilenen önceki çalışmalarda da biyo-yağ verimini etkileyen en önemli faktör hidrotermal sıvılaştırma sıcaklığı olmuştur. Sıcaklıktaki artış biyo-yağ veriminin büyük oranda artmasına ve 350°C’de katı ürün veriminin önemli ölçüde düşmesine neden olmuştur. En yüksek biyo-yağ verimi (ağ. %36,31) 350°C’deki koşuldan elde edilmiştir.

**Tablo 3.** *Spirulina*’nın farklı reaksiyon sıcaklıklarında hidrotermal sıvılaştırılmasından elde edilen biyo-yağ ve katı ürün verimleri (t= 30 dak, P=1 MPa).

(Yields of bio-crudes and solid residues from the hydrothermal liquefaction of *Spirulina* at different reaction temperatures)

Sıcaklık (°C)	Biyo-yağ verimi (ağ,%)	Katı ürün verimi (ağ,%)
250	23,77 (1,02)	2,90 (0,49)
275	31,97 (0,56)	2,22 (0,22)
300	34,31 (0,46)	2,08 (0,36)
325	35,78 (0,21)	1,86 (0,13)
350	36,31 (0,32)	1,91 (0,32)
375	32,29 (0,63)	2,65 (0,22)

(t=Reaksiyon süresi. P= Başlangıç basıncı. Deneylein standart sapmaları parantez içinde verilmiştir).

Çeşitli yosun biyokütlelerinden hidrotermal ortamda biyo-yağ elde edildiği önceki çalışmalarda biyo-yağ verimi yosun biyokütle türüne göre değişiklik gösterse de *Phaeodactylum tricornutum* [17], *Spirulina platensis* [20], *Nannochloropsis sp.* [31], *Dunaliella tertiolecta* [33], *Sargassum patens C. Agardh* [34] yosun türlerinin kullanıldığı çalışmalarda en yüksek biyo-yağ verimi genel olarak 350°C sıcaklıkta elde edilmiştir. Ancak istisna olarak bazı çalışmalarda da en yüksek biyo-yağ veriminin 300°C’de elde edildiği de rapor edilmiştir [32, 35]. *Spirulina* yosununun hidrotermal sıvılaştırılmasının gerçekleştirildiği bu çalışmadan elde edilen biyo-yağ verimi aynı yosun türünün sıvılaştırılmasının gerçekleştirildiği önceki çalışmalarla karşılaştırılabilir. Önceki çalışmalarda rapor edilen bazı biyo-yağ verimleri [19, 20] bu çalışmadan elde edilen verimlerden yüksek

olurken; rapor edilen bazı verimler de [26, 35] düşük olmuştur. Hidrotermal sıvılaştırma sıcaklığı 350’den 375°C’ye artırıldığında biyo-yağ verimi de ağ. %36,31’den %32,39’a düşmüştür. Benzer eğilim *Desmodesmus sp.* [29], *Nannochloropsis sp.* [31] ve karışık kültürlü alg biyokütlesi [36] gibi çeşitli yosun türlerinin hidrotermal sıvılaştırılmasının gerçekleştirildiği çalışmalarda da görülmüştür. Sıcaklığın artırılması biyo-yağ veriminin artarak en yüksek seviyeye gelmesine neden olurken, bu pik noktadan sonra sıcaklığın daha fazla artırılması biyo-yağ veriminin de azalmasına neden olmaktadır. Bunu nedeni olarak yüksek sıcaklıklarda yosun biyokütlesinin parçalanmış türlerinin daha küçük parçalara bozularak gazlaşmaya yol açtığı düşünülmektedir.

### 3.2. *Spirulina*’nın Metal Halojenürler ile Hidrotermal Sıvılaştırılması

(Hydrothermal liquefaction of *Spirulina* with metal halides)

Tablo 4’de *Spirulina*’nın metal halojenür kullanılmadan ve metal halojenürler varlığında hidrotermal sıvılaştırılmasından elde edilen biyo-yağ verimleri gösterilmiştir. Genel olarak bakıldığında metal halojenür kullanılmamasının biyo-yağ verimini etkilemediği görülmektedir. Yosun biyokütlelerinin hidrotermal sıvılaştırılmasının gerçekleştirildiği önceki çalışmalarda da çeşitli katalizörlerin hidrotermal ortamda kullanılmasının biyo-yağ verimi üzerinde çok az bir pozitif etkiye [32, 37] ya da negatif bir etkiye [26] sahip olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada deneylerde katalizör kullanılmasının biyo-yağ verimine pek bir etkisi olmamıştır.

Billar ve Ross [26] çeşitli yosun biyokütlelerinin hidrotermal sıvılaştırılmasını formik asit (HCOOH) ile sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) kullanarak ve kullanmadan gerçekleştirmişler. Deneylerde kullanılan yosun türleri *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis occulata*, *Porphyridium cruentum*, ve cyanobacteria *Spirulina*’dır. Bu türlerin hepsi farklı biyokimyasal içeriğe sahip olmasına rağmen HCOOH veya Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> kullanılması negatif etkiye neden olarak katalizör kullanılan deneylerdeki biyo-yağ verimleri azalmıştır.

Norveç makro-alginin hidrotermal sıvılaştırılması katalizör kullanılmadan ve KOH kullanılarak 350°C’de 15 dakika reaksiyon süresinde gerçekleştirilmiştir [37]. Katalizör

**Tablo 4.** *Spirulina*’nın katkısız ve katkı varlığında hidrotermal sıvılaştırılmasından elde edilen biyo-yağ ve katı ürün verimleri ( T=300°C, t=30 dak, P=1 MPa).

(Yields of bio-crudes and solid residues from the hydrothermal liquefaction of *Spirulina* with and without additives)

Katkı	Biyo-yağ verimi (ağ,%)	Katı ürün verimi (ağ,%)	Biyo-yağ ÜİD (MJ/kg)
-	34,31 (0,46)	2,08 (0,36)	31,78
CsCl	34,57 (0,61)	1,83 (0,21)	33,14
CsCl-KCl	34,85 (0,51)	1,73 (0,30)	32,67
CsCl-NaCl	34,51 (0,29)	1,90 (0,20)	32,36
CsCl-ZnCl <sub>2</sub>	34,04 (0,57)	5,67 (0,44)	31,99
CsCl-SnCl <sub>2</sub>	33,55 (0,36)	6,33 (0,36)	33,18

(T=Sıcaklık t=Reaksiyon süresi P=Başlangıç basıncı. Deneylein standart sapmaları parantez içinde verilmiştir.

<sup>a</sup>Üst ısıl değer Dulong formülüyle hesaplanmıştır.)

olarak KOH kullanımı biyo-yağ veriminde %2 gibi çok az bir artışa (ağ. %65'den %67'ye) neden olmuştur.

Deniz makro-algi *Enteromorpha prolifera* 280 ve 300°C sıcaklıklar arasında katalizörsüz olarak ve sodyum karbonat  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  katalizörü varlığında hidrotermal ortamda sıvılaştırılmıştır [32]. Sodyum karbonat kullanılması biyo-yağ verimini ağ. %2,5 gibi çok az bir oranda artırmıştır.

Metal halojenürlerin (CsCl, CsCl-KCl ve CsCl-NaCl) kullanılması katı ürün veriminin azalmasına neden olurken biyo-yağların ısı değerini az miktarda artırmıştır. İlginç bir şekilde CsCl-ZnCl<sub>2</sub> ve CsCl-SnCl<sub>2</sub> kullanılması ise katı ürün veriminin artmasına neden olmuştur.

Tablo 5'de katkısız ve katkı kullanılarak gerçekleştirilen deneylerden elde edilen biyo-yağların elementel bileşimleri

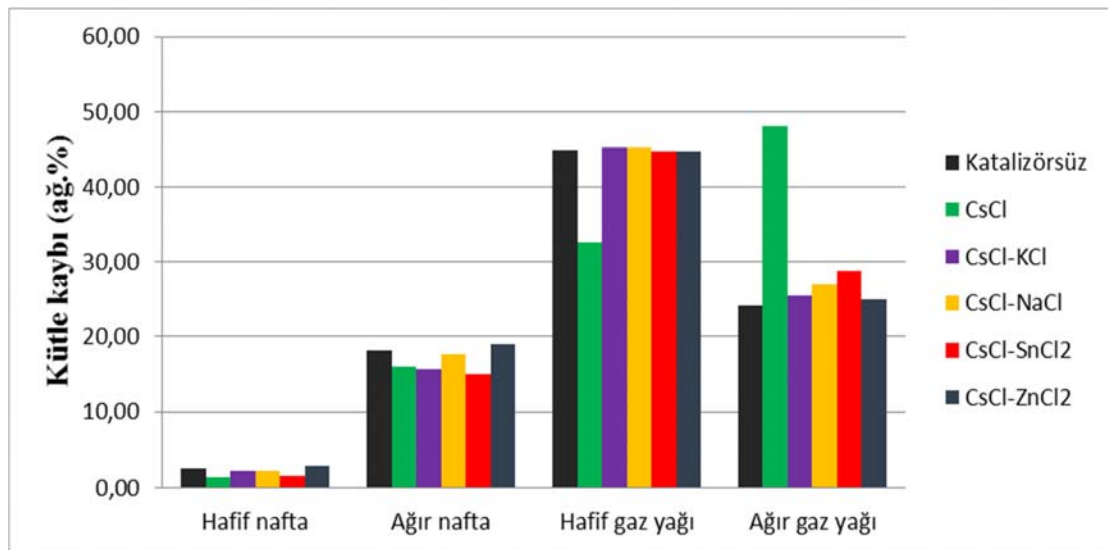
gösterilmiştir. Hammaddenin karbon içeriği ağ. %46,43 iken, biyo-yağların karbon içeriği ağ. %67,87 ile %71,29 arasında değişmektedir. Bu sonuç yosunun hidrotermal prosesinin yüksek karbon içeriğine sahip biyo-yağ elde edilmesine yol açtığının göstergesidir. Katkı kullanılarak elde edilen biyo-yağların karbon içeriği katkı kullanılmadan elde edilen biyo-yağlardan fazla olmuştur. En yüksek karbon içeriği ağ. %71,29 ile CsCl-ZnCl<sub>2</sub> kullanılan deneyden elde edilmiştir. Biyo-yağların O/C ve N/C oranlarının azalması, katkısız ve katkı kullanılarak gerçekleştirilen hidrotermal proses deneylerinin önemli ölçüde deoksijenasyona ve denitrojenasyona neden olduğunun göstergesidir. Katalizör kullanılması düşük oksijen içeriğine sahip biyo-yağ elde edilmesine de neden olmuştur. En düşük O/C oranı 0,14 ile CsCl- ZnCl<sub>2</sub> kullanılarak elde edilmiştir. H/C oranı kuru *Spirulina* için 1,87 iken, katkı kullanılmayan deneyden elde edilen biyo-yağın H/C oranı 1,44 olmuştur. Katkı kullanılan

**Tablo 5.** Hammadde ve *Spirulina*'nin hidrotermal sıvılaştırılmasından elde edilen biyo-yağlar ile katı ürünlerin elementel bileşimi (ağ.%). (T=300°C, t=30 dak, P=1 MPa).

(Elemental compositions (wt%) of the raw material and bio-crudes, solid residues from the hydrothermal liquefaction of *Spirulina*)

Katkı	Ürün çeşidi	C	H	N	O <sup>a</sup>	S	H/C	O/C	N/C
-	Hammadde	46,43	7,25	10,86	34,61	0,85	1,87	0,56	0,20
-	Biyo-yağ	67,87	8,13	7,25	15,94	0,81	1,44	0,18	0,09
CsCl	Biyo-yağ	70,77	8,04	7,31	13,09	0,79	1,36	0,14	0,09
CsCl-KCl	Biyo-yağ	69,54	8,16	7,19	14,34	0,77	1,41	0,15	0,09
CsCl-NaCl	Biyo-yağ	70,57	7,64	7,08	13,91	0,80	1,30	0,15	0,09
CsCl-SnCl <sub>2</sub>	Biyo-yağ	69,60	7,72	7,21	14,72	0,75	1,33	0,16	0,09
CsCl-ZnCl <sub>2</sub>	Biyo-yağ	71,29	7,92	7,44	12,77	0,58	1,33	0,13	0,09
-	Katı ürün	6,63	1,13	0,83	91,33	0,08	2,04	10,33	0,11
CsCl	Katı ürün	7,72	1,33	0,87	90,02	0,06	2,07	8,75	0,10
CsCl-KCl	Katı ürün	7,00	1,33	0,89	90,70	0,08	2,28	9,72	0,11
CsCl-NaCl	Katı ürün	5,72	1,07	0,73	92,39	0,09	2,25	12,11	0,11
CsCl-SnCl <sub>2</sub>	Katı ürün	4,28	1,29	0,53	93,75	0,15	3,62	16,43	0,11
CsCl-ZnCl <sub>2</sub>	Katı ürün	7,63	1,40	1,16	89,74	0,07	2,19	8,82	0,13

(T=Sıcaklık t=Reaksiyon süresi P=Başlangıç basıncı. <sup>a</sup>Farktan)



**Şekil 1.** *Spirulina*'nin katkısız ve katkı varlığında hidrotermal sıvılaştırılmasından elde edilen biyo-yağlardaki hidrokarbonların kaynama noktası dağılımları. ( T=300°C, t=30 dak, P=1 MPa). (The boiling-point distributions of hydrocarbons in bio-crudes obtained from the hydrothermal liquefaction of *Spirulina* without and with additives)

deneylemlerden elde edilen biyo-yagların H/C oranı ise 1,33 ve 1,41 arasındadır. Bu sonuç hidrotermal proses sonrası biyo-yagların aromatik içeriğinin arttığına göstermektedir [31]. *Desmodosmus sp.* [29] ve *Nannochloropsis sp.* [31] kullanılarak gerçekleştirilen önceki çalışmalar da yosunun hidrotermal prosesinin düşük H/C oranına sahip biyo-yag elde edilmesine neden olduğunu göstermektedir.

Biyo-yaglardaki hidrokarbonların kaynama noktası dağılımını belirlemek için minyatür distilasyon uygulanmıştır. Biyo-yaglardaki hidrokarbonların kaynama noktası dağılımları Şekil 1’de gösterilmiştir. Hidrokarbonlar petrol fraksiyonlarına göre hafif nafta (<K.N: 93°C), ağır nafta (K.N.: 93–204°C), hafif gaz yağı (K.N.: 204–343°C) ve ağır gaz yağı (>343°C) olmak üzere sınıflandırılmıştır. Biyo-yaglardaki en yüksek hafif nafta (ağ. %2,89) ve ağır nafta fraksiyonları (ağ. %19,01) CsCl-ZnCl<sub>2</sub> kullanılmasıyla elde edilmiştir. Diğer katkıların kullanıldığı deneyler katkı kullanılmayan deneylere kıyasla bir miktar daha az hafif nafta ve ağır nafta fraksiyonları elde edilmesine neden olmuştur.

Katkısız ve katkı kullanılan deneylerden elde edilen biyo-yaglardaki hafif gaz yağı değerleri birbirine yakın olmuştur. En yüksek ağır gaz yağı fraksiyonu CsCl kullanılan deneyden elde edilmiştir. Biyo-yagların dizel yakıt içeriği de çalışmada incelenmiştir. Dizel yakıtın kaynama noktası sınırları 119 ve 412°C olarak seçilmiştir [16]. Sonuçlar Tablo 6’da verilmiştir.

**Tablo 6.** *Spirulina*’nın katkısız ve katkı varlığında hidrotermal sıvılaştırılmasından elde edilen biyo-yagların dizel yakıt içeriği ( T=300°C, t=30 dak, P=1 MPa). (Diesel fuel contents of bio-crudes from the hydrothermal liquefaction of *Spirulina* without and with additives)

Katkı	Biyo-yagların biyodizel içeriği (ağ.%)
-	75,71
CsCl	63,71
CsCl-KCl	74,48
CsCl-NaCl	78,02
CsCl-SnCl <sub>2</sub>	75,31
CsCl-ZnCl <sub>2</sub>	77,24

Biyo-yagın en yüksek dizel yakıt içeriği ağ. %78 ile CsCl-NaCl kullanılan deneyden elde edilmiştir. CsCl kullanılan deneyden elde edilen biyo-yagın dizel yakıt içeriği yaklaşık olarak ağ. %64 olup; CsCl kullanılması dizel yakıt içeriğini azaltarak negatif etkiye neden olmuştur. Bu sonuç katkı kullanılmayan deneylerden daha düşük bir değerdir.

*Spirulina*’dan elde edilen biyo-yaglar koyu siyah sıvı olup 150’den fazla bileşik içermektedir. Biyo-yaglar genel olarak heterosiklik bileşiklerden, aminler, amidler, alkanlar, ketonlar, asitler ve pirodinlerden oluşmaktadır. Biyo-yaglarda azot içeren heterosiklik bileşikler öne çıkmaktadır. *Spirulina*’daki proteinlerin öncelikle amino asitlere hidroliz olduğu düşünülmektedir. Amino asitlerin dekarboksilasyon

ve deaminasyon reaksiyonlarıyla daha fazla bozunması da aminlerin, amid türevlerinin, indollerin ve kinolinlerin oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir [10, 20]. Pirazin türevlerinin de (2,5-dimetilpirazin, 2,6-dimetilpirazin, etilpirazin, 2,3-dimetilpirazin, 2-etil-6-metilpirazini, vb) aminlerin ve şekerlerin reaksiyonları sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Biyo-yagların içeriğindeki alkanların (hekzadekan, heptadekan, vb) ve alkenlerin (1-pentadeken, 1-trideken ve 1-hekzadeken) oluşumunun da algin yapısındaki yağ asitlerinin dekarboksilasyon reaksiyonlarıyla bozunması sonucu oluşmasıyla açıklanabilir. Biyo-yaglarda fenol, 4-metilfenol, 4-etilfenol, 3-etilfenol, ve 2,3-dimetil-2-siklopenten-1-on bileşikleri de gözlenmiştir. Bu bileşiklerin algin karbohidrat kısmının bozunması sonucu oluştuğu düşünülmektedir.

#### 4. SONUÇLAR (CONCLUSIONS)

Bu çalışmada, *Spirulina*’nın katkısız olarak ve katkı olarak metal halojenürlerin kullanılmasıyla hidrotermal sıvılaştırılması gerçekleştirilmiştir. *Spirulina*’nın 300°C’de 30 dakika reaksiyon süresinde hidrotermal sıvılaştırılmasında katkı kullanılması bir etkisi olmamıştır. Metal halojenür kullanılması biyo-yagların karbon içeriğini artırmıştır. En yüksek dizel yakıt içeriği ağ. %77,24 ile CsCl-ZnCl<sub>2</sub> kullanılarak gerçekleştirilen deneyden elde edilmiştir. Biyo-yagların aromatik içeriği katkı kullanılmasıyla artmıştır. Katkısız ve katkı kullanılan deneylerden elde edilen katı ürünler yüksek oksijen ve düşük karbon içeriğine sahiptir. Katkısız ve katkı varlığında elde edilen biyo-yagların ısı değerleri 31,78 ile 33,18 MJ/kg arasında değişmektedir. Biyo-yaglar çoğunlukla azot içeren heterosiklik bileşiklerden, alkanlardan ve alkenlerden oluşmaktadır.

#### KAYNAKLAR (REFERENCES)

- Balbaş M., Bartan A., Ar İ., Gürü M., Development of low cost heterogeneous catalysts for biodiesel processes, Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, 33 (11), 1035-1047, 2011.
- Savage P.E., Algae under pressure and in hot water, Science, 338, 1039-1040, 2012.
- Ross A.B., Biller P., Kubacki M.L., Li H., Lea-Langton A., Jones J.M., Hydrothermal processing of microalgae using alkali and organic acids, Fuel, 89, 2234-2243, 2010.
- Gürü M., Artukoğlu B.D., Kesin A., Koca A., Biodiesel production from waste animal fat and improvement of its characteristics by synthesized nickel and magnesium additive, Energy Conversion and Management, 50, 498-502, 2009.
- Boz N., Calcium oxide based heterogeneous catalyst design for the production of methyl esters from canola oil, Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University, 30 (4), 641-648, 2015.
- Li F.J., Li H.Q., Wang L.G., Cao Y., Waste carbide slag as a solid base catalyst for effective synthesis of

- biodiesel via transesterification of soybean oil with methanol, *Fuel Processing Technology*, 131, 421-429, 2015.
7. Çelik M., Solmaz H., Yücesu H.S., Examination of the effects of n-heptan addition to cotton methyl ester on the engine performance and combustion characteristics, 30 (3), 361-369, 2015.
  8. Wong Y.C., Tan Y.P., Taufiq-Yap Y.H., Ramli I., Tee H.S., Biodiesel production via transesterification of palm oil by using CaO-CeO<sub>2</sub> mixed oxide catalysts, *Fuel*, 162, 288-293, 2015.
  9. Gülüm M., Bilgin A., Çakmak A., Comparison of optimum reaction parameters of corn oil biodiesels produced by using sodium hydroxide (NaOH) and potassium hydroxide (KOH), *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 30 (3), 503-511, 2015.
  10. Sekmen Y. ve Şen S., biodiesel production from anchovy (*Engraulis encrasicolus*) oil and its effect on diesel engine performance and emissions, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 31 (1), 19-27, 2016.
  11. Karagöz S., Bhaskar T., Muto A., Sakata Y., Uddin M.A., Low-temperature hydrothermal treatment of biomass: Effect of reaction parameters on products and boiling point distributions, *Energy & Fuels*, 18, 234-241, 2004.
  12. Peterson A.A., Vogel F., Lachance R.P., Fröling M., Antal J.M.J., Tester J.W., Thermochemical biofuel production in hydrothermal media: A review of sub- and supercritical water technologies, *Energy & Environmental Science*, 1 (1), 32-65, 2008.
  13. Yeh T.M., Dickinson J.G., Franck A., Linic S., Thompson L.T., Savage P.E., Hydrothermal catalytic production of fuels and chemicals from aquatic biomass, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 88, 13-24, 2013.
  14. Fan J., De bruyn M., Budarin V.L., Gronnow M.J., Shuttleworth P.S., Breeden S., Macquarrie D.J., Clark J., Direct microwave-assisted hydrothermal depolymerization of cellulose, *Journal of American Chemical Society*, 135, 11728-11731, 2013.
  15. Tekin K., Karagöz S., Bektaş S., A review of hydrothermal biomass processing, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 40, 673-687, 2014.
  16. Zhu Y., Albrecht K.O., Elliott D.C., Hallen R.T., Jones S.B., Development of hydrothermal liquefaction and upgrading technologies for lipid-extracted algae conversion to liquid fuels, *Algal Research*, 2, 455-464, 2013.
  17. Christensen P.S., Peng G., Vogel F., Iversen B.B., Hydrothermal liquefaction of the microalgae *Phaeodactylum tricornutum*: Impact of reaction conditions on product and elemental distribution, *Energy & Fuels*, 28, 5792-5803, 2014.
  18. Elliott D.C., Hart T.R., Neuenschwander G.G., Rotness L.J., Roesijadi G., Zacher A.H., Magnusson J.K., Hydrothermal processing of macroalgal feedstocks in continuous-flow reactors, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2, 207-215, 2014.
  19. Toor S.S., Reddy H., Deng S., Hoffmann J., Spangsmark D., Madsen L.B., Holm-Nielsen J.B., Rosendahl L.A., Hydrothermal liquefaction of *Spirulina* and *Nannochloropsis salina* under subcritical and supercritical water conditions, *Bioresource Technology*, 131, 413-419, 2013.
  20. Jena U., Das K.C., Kastner J.R., Effect of operating conditions of thermochemical liquefaction on biocrude production from *Spirulina platensis*, *Bioresource Technology*, 102, 6221-6229, 2011.
  21. Yu G., Zhang Y., Schideman L., Funk T., Wang Z., Hydrothermal liquefaction of low lipid content microalgae into bio-crude oil, *Transactions of the ASABE*, 54, 239-246, 2011.
  22. Xu Y., Zheng X., Yu H., Hu X., Hydrothermal liquefaction of *Chlorella pyrenoidosa* for bio-oil production over Ce/HZSM-5, *Bioresource Technology*, 156, 1-5, 2014.
  23. Shuping Z., Yulong W., Mingde Y., Kaleem I., Chun L., Tong J., Production and characterization of bio-oil from hydrothermal liquefaction of microalgae *Dunaliella tertiolecta* cake, *Energy*, 35, 5406-5411, 2010.
  24. Yang Y.F., Feng C.P., Inamori Y., Maekawa T., Analysis of energy conversion characteristics in liquefaction of algae, *Resources, Conservation and Recycling*, 43, 21-33, 2004.
  25. Duan P. and Savage P.E., Hydrothermal liquefaction of a microalga with heterogeneous catalysts, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50, 52-61, 2010.
  26. Biller P. and Ross A.B., Potential yields and properties of oil from the hydrothermal liquefaction of microalgae with different biochemical content, *Bioresource Technology*, 102, 215-225, 2011.
  27. Tekin K., Karagöz S., Bektaş S., Hydrothermal liquefaction of beech wood using a natural calcium borate mineral, *Journal of Supercritical Fluids*, 72, 134-139, 2012.
  28. Duan P., Jin B., Xu Y., Yang Y., Bai X., Wang F., Zhang L., Miao J., Thermo-chemical conversion of *Chlorella pyrenoidosa* to liquid biofuels, *Bioresource Technology*, 133, 197-205, 2013.
  29. Garcia Alba L., Torri C., Samorì C., van der Spek J., Fabbri D., Kersten S.R.A., Brilman D.W.F., Hydrothermal Treatment (HTT) of microalgae: Evaluation of the process as conversion method in an algae biorefinery concept, *Energy & Fuels*, 26, 642-657, 2012.
  30. Mørup A.J., Christensen P.R., Aarup D.F., Dithmer L., Mamakhel A., Glasius M., Iversen B.B., Hydrothermal liquefaction of dried distillers grains with solubles: A reaction temperature study, *Energy & Fuels*, 26, 5944-5953, 2012.
  31. Brown T.M., Duan P., Savage P.E., Hydrothermal liquefaction and gasification of *Nannochloropsis* sp., *Energy & Fuels*, 24, 3639-3646, 2010.
  32. Zhou D., Zhang L., Zhang S., Fu H., Chen J., Hydrothermal liquefaction of macroalgae *Enteromorpha prolifera* to bio-oil, *Energy & Fuels*, 24, 4054-4061.



33. Zou S., Wu Y., Yang M., Li C., Tong J., Bio-oil production from sub- and supercritical water liquefaction of microalgae *Dunaliella tertiolecta* and related properties, *Energy & Environmental Science*, 3, 1073-1078, 2010.
34. Li D., Chen L., Xu D., Zhang X., Ye N., Chen F., Chen S., Preparation and characteristics of bio-oil from the marine brown alga *Sargassum patens* C. Agardh, *Bioresource Technology*, 104, 737-42, 2012.
35. Vardon D.R., Sharma B.K., Scott J., Yu G., Wang Z., Schideman L., Zhang Y., Strathmann T.J., Chemical properties of biocrude oil from the hydrothermal liquefaction of *Spirulina* algae, swine manure, and digested anaerobic sludge, *Bioresource Technology*, 102, 8295-8303, 2011.
36. Chen W.T., Zhang Y., Zhang J., Yu G., Schideman L.C., Zhang P., Minarick M., Hydrothermal liquefaction of mixed-culture algal biomass from wastewater treatment system into bio-crude oil, *Bioresource Technology*, 152, 130-139, 2014.
37. Bach Q.V., Sillero M.V., Tran K.Q., Skjermo J., Fast hydrothermal liquefaction of a Norwegian macro-alga: Screening tests, *Algal Research*, 6, 271-276, 2014.

