

ارزیابی تولید سوخت بیودیزل از میکروجلبک در یک فتوبیوراکتور و تعیین برخی از خواص فیزیکی و شیمیایی آن

طیبه موذنی^۱، مریم صدرنیا^{۱*}، رضا حاجی حسینی^۲

*msadrnia@yahoo.com

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۸

چکیده

بیودیزل متیل استر یا اتیل استر روغن‌های طبیعی می‌باشد که شباهت زیادی به گازوئیل دارد و می‌تواند به عنوان یک سوخت جایگزین در موتورهای دیزل استفاده شود. در این تحقیق تولید بیودیزل از میکروجلبک در یک فتوبیوراکتور و برخی خواص فیزیکی و شیمیایی آن مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش مخلوط میکروجلبک کشت داده شده از آب راکد، در یک فتوبیوراکتور در دو شدت نور ۸۰۰۰ و ۱۶۰۰۰ لوکس پرورش و میزان بیومس تولید شده مقایسه شد. بیومس تولیدی از نور ۸۰۰۰ لوکس پس از جداسازی و خشک شدن تحت فرایند ترانس استریفیکاسیون مستقیم قرار گرفته و بیودیزل تولید گردید. آنالیز پروفایل اسیدهای چرب تشکیل دهنده بیودیزل با استفاده از GC/MS تعیین گردید. برخی از خصوصیات بیودیزل تولید شده نظیر چگالی، نقطه ابری شدن، نقطه ریزش و نقطه انجماد مورد مطالعه قرار گرفت. حداکثر نرخ رشد ویژه در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس ۰/۷ (در روز) و در شدت نور ۱۶۰۰۰ لوکس ۰/۵۹ (در روز) بود. علاوه بر این، زمان دو برابر شدن سلول‌ها و میزان تولید بیومس در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس نسبت به شدت نور ۱۶۰۰۰ لوکس برتری داشت. نتایج GC/MS نشان داد که ۵۷/۵۹ درصد وزن خشک میکروجلبک متشکل از انواع لیپید بوده و بیودیزل حاصل از ترانس استریفیکاسیون آن، حاوی ۵۰/۳۱٪ اسید چرب اشباع و ۴۹/۶۹٪ اسید چرب غیراشباع بود. اسیدهای چرب اشباع پالمیتیک (C16:0) با ۳۹/۱۶٪، اسیداستئاریک (C18:0) ۹/۶۵٪، اسیدآراشیدیک (C20:0) ۰/۷۹٪، اسید مارژریک (C17:0) ۰/۷۱٪ و اسیدهای چرب غیراشباع لینولئیک (C18:2) با ۲۷/۴۰ درصد، اسیداولئیک (C18:1) با ۲۰/۰۴ و اسید پالمیتولئیک (C16:1) ۲/۲۵ درصد بیودیزل تولیدی را تشکیل دادند. چگالی بیودیزل تولید شده برابر با ۰/۸۵۳ گرم بر سانتیمتر مکعب و نقطه ابری شدن و نقطه ریزش آن ۳- و ۱۰- درجه سانتی‌گراد بود. نتایج تحقیق نشان داد که امکان کشت میکروجلبک در فتوبیوراکتور با به حداقل رساندن هزینه و زمان وجود دارد. همچنین پروفایل اسیدهای چرب و خواص فیزیکی بیودیزل تولید شده، حاکی از آن بود که بیودیزل حاصل از میکروجلبک دارای کیفیت بالایی بوده و روش تبادل استری مستقیم می‌تواند گزینه مناسبی جهت تولید بیودیزل، نسبت به سایر روش‌ها باشد.

لغات کلیدی: بیودیزل، میکروجلبک، فتوبیوراکتور

*نویسنده مسئول

مقدمه

استفاده از سوخت‌های فسیلی، افزایش انتشار گازهای گلخانه‌ای و ایجاد پدیده گرمایش جهانی را در پی داشته و باعث توجه بیشتر به منابع انرژی پایدار با انتشار آلودگی کم شده است (Huang et al., 2010). استفاده از سوخت‌های زیستی به عنوان سوخت جایگزین نفت و گاز مورد توجه بسیاری قرار گرفته است که می‌تواند هزینه تولید انرژی و نگرانی‌های حاصل از بکارگیری سوخت‌های فسیلی را پایین آورد و سبب ارتقاء امنیت انرژی شود (Brennan et al., 2010). در مورد انرژی‌های جایگزین، سوخت مطلوب سوختی است که از لحاظ فنی امکان‌پذیر، از لحاظ زیست‌محیطی قابل قبول و دارای سهولت دسترسی و از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه باشد (Rawat et al., 2013). بیودیزل یکی از مهم‌ترین سوخت‌های زیستی است که تقریباً در تمام وسایل نقلیه صنعتی مورد استفاده برای کشاورزی، حمل و نقل و تجارت بکار گرفته می‌شود. در دهه گذشته، صنعت تولید بیودیزل رشد چشمگیری در جهان داشته است بطوریکه در هر دو سال بیش از دو برابر می‌شود (Gouveia, 2011). بیودیزل یک سوخت جایگزین، غیر سمی و تجدیدپذیر و سازگار با محیط زیست است (Gunawan et al., 2011).

بر اساس تعریف استاندارد تست و مواد آمریکا (ASTM) بیودیزل شامل منوالکیل استرهای اسیدهای چرب با زنجیره بلند است که از مواد خام چرب تجدیدپذیر مانند روغن‌های گیاهی یا چربی‌های حیوانی تهیه می‌گردد. بهترین منبع برای تولید بیودیزل میکرو جلبک می‌باشد در حالیکه تجمع لیپید در سلول‌های میکرو جلبک در محدوده ۲۵-۷۵٪ وزن خشک آن می‌باشد که بالاترین میزان تولید را داراست. میکرو جلبک منبع بالقوه و اقتصادی بیودیزل است، زیرا دارای تولید بالا بوده و نیازی به زمین زراعی یا آب سالم ندارد (Huang et al., 2010). از اینرو، تولید بیودیزل از میکرو جلبک‌ها یک گام نویدبخش به عنوان سوخت جایگزین مناسب برای موتور دیزل می‌باشد. ریز جلبک‌ها میکروارگانیسم‌های فتوسنتزی یوکاریوت یا پروکاریوت با ساختار تک سلولی یا چند سلولی ساده

می‌باشند که رشد سریعی دارند و در شرایط سخت قادر به زندگی می‌باشند. سیانوباکتری‌ها^۱ نمونه‌هایی از ریز جلبک‌های پروکاریوتی و جلبک ای سبز^۲ و دیاتوم‌ها^۳ نمونه‌هایی از ریز جلبک‌های یوکاریوتی هستند. تاکنون گونه‌های مختلفی از میکرو جلبک‌ها از جمله کلرلا^۴، دونالیا^۵ و اسپیرولینا^۶ با هدف تولید سوخت بررسی شده‌اند (Chisti, 2007). مهم‌ترین اسیدهای چرب تولید شده توسط میکروارگانیسم‌های مولد چربی شامل میریستیک اسید (C14:0)، اسید پالمیتیک (C16:0)، استئاریک اسید (C18:0)، اولئیک اسید (C18:1)، لینولئیک اسید (C18:2) می‌باشد که اجزاء اصلی سوخت زیستی هستند.

در این تحقیق تولید بیودیزل از میکرو جلبک در دو شدت نور، مقایسه شده و برخی خواص فیزیکی و شیمیایی بیودیزل تولیدی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تولید بیومس میکرو جلبک

به منظور کشت نمونه میکس، نمونه‌های آب راکد حاوی میکرو جلبک تهیه گردید. مخلوط میکرو جلبک در محیط کشت combo با pH حدود ۷ کشت داده شد. این محیط کشت اصلاح شده، از محیط کشت Guillard و WC Lorenzen's گرفته شده است. از محیط کشت combo برای رشد سیانوباکتری‌ها، کریپتوفیت‌ها، جلبک‌های سبز و دیاتوم‌ها در آب شیرین استفاده می‌شود (Kilham et al., 1998).

محیط کشت به ازاء هر لیتر حاوی عناصر اصلی به مقدار ذیل بود:

CaCl₂.2H₂O , ۳۶/۷۶ mg; MgSO₄.7H₂O, ۳۶/۹۷ mg; K₂HPO₄, 8/71 mg; NaNO₃, ۸۵/۳۶ mg; Na₂SiO₃.9H₂O, ۲۸/۴۲ mg; H₃BO₃, ۲۴ mg

¹ Cyanophyceae

² Chlorophyta

³ Bacillariophyta

⁴ Chlorella

⁵ Dunaliella

⁶ Spirulina

شده و پس از سانتریفوژ بوسیله کاغذهای صافی غشایی از قبل وزن شده، فیلتر و در دستگاه آن مدل (Gallenkamp) در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شبانه روز قرار داده شد (Velasco *et al.*, 2016). میزان سرعت رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت جلبک با استفاده از رابطه‌های ذیل محاسبه شد: Tang *et al.*, 211; Anderse, 2005)

$$\mu(d^{-1}) = \ln(N_t/N_0)/(t-t_0)$$

$$DT = \ln 2 / \mu$$

μ ، ضریب رشد ویژه (در روز) و N_t تراکم سلولی در زمان t و N_0 تراکم سلولی در آغاز مرحله رشد (t_0) می باشد.

تولید بیودیزل و آنالیز پروفایل اسیدهای چرب

در این تحقیق از روش ترانس استریفیکاسیون مستقیم برای تولید بیودیزل استفاده شد (Ehimen *et al.*, 2010). در این روش جلبک در انتهای مرحله لگاریتمی رشد برداشت و با دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. خمیر میکروجلبک در دستگاه آن در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو شبانه روز خشک شد. سپس پودر بیومس خشک میکروجلبک، در فالكون پلاستیکی ریخته و سپس بازا هر ۱ گرم بیومس ۱۰ میلی لیتر محلول اسید سولفوریک/متانول (با نسبت حجمی ۱:۱۰) به آن اضافه گردیده و درب ظرف محکم بسته شد. محتویات فالكون در دمای کنترل شده ی ۹۰ درجه سانتی‌گراد درون بن ماری به مدت ۴۵ دقیقه همزده شده و سپس فالكون در محیط قرار داده شد تا دمای آن کاهش یافته و به دمای محیط برسد. در نهایت به محلول فوق بازا هر ۱ گرم بیومس ۶ سی سی حلال هگزان افزوده و درب ظرف را محکم بسته و در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد در بن ماری به مدت ۱۵ دقیقه حرارت دهی و همزدن ادامه یافت. سپس نمونه از بن ماری خارج شده و پس از انجام فرایند میعان هگزان و رسوب بیومس سلولی، جدایی دو فاز از یکدیگر صورت گرفت. لایه فوقانی، فاز آلی و حاوی لیپید محلول در هگزان بوده و لایه زیرین، فاز آبی که شامل کلروفیل و سایر اجزای سلولی بود. در

عناصر کمیاب به ازای هر لیتر محیط کشت افزوده شد که شامل مواد ذیل در یک لیتر می‌باشد:

Na₂EDTA.2H₂O, ۴/۳۶ mg; FeCl₃.H₂O, ۱ mg; MnCl₂.H₂O, ۰/۱۸ mg; CuSO₄.5H₂O, ۰/۰۰۱ mg; ZnSO₄.7H₂O, ۰/۰۲۲ mg; CoCl₂.6H₂O, ۰/۰۱۲ mg; NaMoO₄.2H₂O, ۰/۰۲۲ mg; H₂SeO₃, ۰/۰۰۱۶ mg; Na₃VO₄, ۰/۰۰۱۸ mg

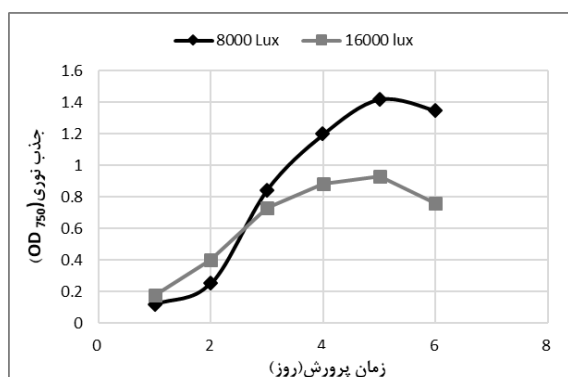
مقدار مایه تلقیح^۱ جهت راه اندازی هر دوره کشت میکروجلبک با نسبت حجمی (V_{inoculation}/V_{media}) ۱۰٪ بود (Wang *et al.*, 2010). یعنی به ۹۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت، ۱۰۰ میلی‌لیتر از مایه تلقیح افزوده شد. روشنایی (منبع نور) از طریق لامپ نوری LED سفید یخی میکروجلبک با شدت نورهای ۸۰۰۰ و ۱۶۰۰۰ لوکس تأمین شد. هوادهی (منبع کربن) میکروجلبک در طول دوره رشد درون فتوبیوراکتور، از طریق پمپ هوا و به طور مداوم انجام گردید. کنترل pH در طول دوره رشد میکروجلبک به صورت روزانه انجام و اطلاعات آن ثبت گردید. دمای محیط کشت ها به صورت روزانه به کمک دماسنج جیوه‌ای مورد کنترل قرار گرفت. کشت میکروجلبک در pH حدود ۷ و درجه حرارت حدود ۳۰ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. دوره روشنایی (L) و تاریکی (D) توسط تایمر اتوماتیک به صورت تناوب (D/L: ۸/۱۶ ساعت اعمال گردید).

اندازه‌گیری پارامترهای رشد

رشد میکروجلبک به صورت روزانه (هر ۲۴ ساعت) و با سه تکرار از طریق اندازه‌گیری جذب نوری توسط اسپکتوفتومتر (UNICO-UV/Vis2150) در طول موج ۷۵۰ نانومتر تعیین گردید (Chioccioli *et al.*, 2014). شمارش جلبک‌ها به صورت روزانه و با استفاده از لام هموسیتومتر و با روش پیشنهادی (مارتینز و همکاران، ۱۹۷۵) انجام شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک با روش پیشنهادی Strickland و Parsons (۱۹۷۲) به طور روزانه از محیط حاوی جلبک مقدار ۱۰ میلی لیتر برداشته

¹ Stock

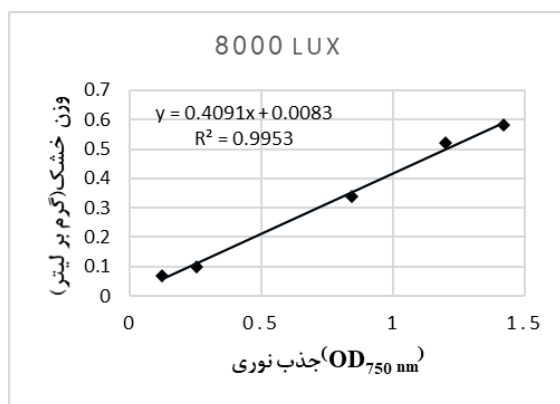
در شدت نور ۱۶۰۰۰ لوکس در $OD=0.93$ به $10^6 \times 18/68 \text{ cell.ml}^{-1}$ رسید.



شکل ۱: نمودار نقطه ای رشد میکرو جلبک بر حسب جذب نوری/زمان در دو شدت نور ۸۰۰۰ و ۱۶۰۰۰ لوکس

Figure 1: Microalgae Growth Point Diagram in Optical / Time Absorption at Two Light Intakes of 8000 and 16000 lux.

شکل ۲ مربوط به منحنی کالیبراسیون وزن خشک/جذب نوری در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس می باشد. وزن خشک سلولی در آغاز مرحله لاگ برابر با 0.07 گرم بر لیتر و در انتهای فاز رشد لگاریتمی ($OD=1/42$) به 0.58 گرم بر لیتر رسید.



شکل ۲: منحنی کالیبراسیون وزن خشک/جذب نوری در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس

Figure 2: Dry weight / light absorption calibration curve at 8000 lux light intensity.

انتهای کار فاز آلی توسط سرنگ جدا شد. برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود، نمونه ی مشتق سازی شده به آزمایشگاه مرکز تحقیق و توسعه دانشگاه صنعتی شریف ارسال گردید.

دستگاه GC/MS مورد استفاده مدل GC:HP6890، MSD:HP5973، ساخت شرکت Agilent امریکا بود. این دستگاه مجهز به ستون TRB-5MS با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر، ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر می باشد. دتکتور دستگاه از نوع FID و هلیوم نیز با میزان ۱ میلی متر/دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. ترکیبات تشکیل دهنده اسید چرب بر حسب درصد اسید چرب کل و بر اساس پیک‌های بدست آمده از آنالیز محاسبه گردید و در نهایت به تفسیر اطلاعات بدست آمده از آنالیز پرداخته شد.

بررسی برخی از خصوصیات فیزیکی بیودیزل
برای اندازه گیری چگالی از دستگاه چگالی متر دیجیتال تحت استاندارد ASTM D4052 استفاده شد. از دستگاه Pour/Cloud point tester ASTM D97-D2500 جهت سنجش شاخص‌های نقطه ابری شدن، و نقطه ریزش استفاده شد. همچنین با توجه به اینکه دمای نقطه انجماد برای یک ماده ناخالص، حدود ۵ درجه سانتی‌گراد از دمای نقطه ریزش کمتر می‌باشد، نقطه انجماد سوخت زیستی تولید شده محاسبه گردید.

نتایج

تولید بیومس میکرو جلبک

شکل ۱ رشد بر اساس جذب نوری در دو شدت نور ۸۰۰۰ و ۱۶۰۰۰ لوکس را نشان می دهد. در روزهای چهارم و پنجم، میکرو جلبک دارای بیشترین میزان رشد بوده و پس از آن وارد فاز سکون کوتاه مدتی گشته و نهایتاً وارد فاز مرگ می‌شود. بیشینه جذب نوری (OD) میکرو جلبک در شدت نورهای ۸۰۰۰ و ۱۶۰۰۰ لوکس بترتیب برابر با $1/42$ و 0.93 بود. حداکثر تعداد سلول در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس در $OD=1/42$ به $10^6 \times 26/08 \text{ cell.ml}^{-1}$ و

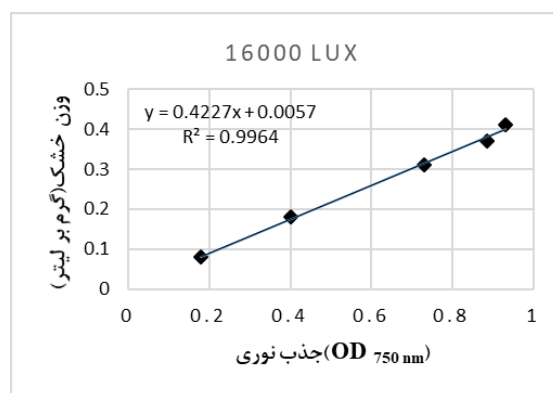
۱۶۰۰۰ لوکس معادل ($DT=1/17 d^{-1}$) به دست آمد.

تولید بیودیزل و آنالیز پروفایل اسیدهای چرب

لیپید استخراج شده از بیومس میکروجلبک در شرایط بهینه رشد (شدت نور ۸۰۰۰ لوکس) و پس از فرایند ترانس استریفیکاسیون مستقیم جهت شناسایی و تعیین درصد اسیدهای چرب موجود در آن، با دستگاه GC/MS مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج بدست آمده از آنالیز با دستگاه GC/MS نشان داد که ۵۷/۵۹ درصد وزن خشک میکروجلبک متشکل از انواع لیپید بوده است. پروفایل و مقدار اسیدهای چرب بدست آمده در جدول ۱ ارائه شده است.

مقدار ۵۰/۳۱ درصد اسیدچرب مربوط به اسیدهای چرب اشباع و ۴۹/۶۹ درصد مربوط به اسید چرب غیراشباع می باشد. اسیدهای چرب اشباع پالمیتیک (C16:0) با ۳۹/۱۶ درصد، اسید استئاریک (C18:0) ۹/۶۵ درصد، اسید آراشیدیک (C20:0) ۰/۷۹ درصد، اسید مارژریک (C17:0) ۰/۷۱ درصد و اسیدهای چرب غیراشباع لینولئیک (C18:2) با ۲۷/۴۰ درصد، اسید اولئیک (C18:1) با ۲۰/۰۴ و اسید پالمیتولئیک (C16:1) ۲/۲۵ درصد بیودیزل تولیدی را تشکیل دادند.

مقدار وزن خشک میکروجلبک در شدت نور ۱۶۰۰۰ لوکس در آغاز مرحله لاگ با ($OD=0/18$) برابر با ۰/۰۸ گرم بر لیتر و در انتهای فاز رشد لگاریتمی با ($0/93$) ($OD=$) مقدار ۰/۴۱ گرم بر لیتر بود (شکل ۳).



شکل ۳: منحنی کالیبراسیون وزن خشک/جذب نوری در شدت نور ۱۶۰۰۰ لوکس

Figure 3: Dry weight / light absorption calibration curve at 16,000 lux light intensity.

حداکثر نرخ رشد ویژه در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس ۰/۷ (در روز) و در شدت نور ۱۶۰۰۰ لوکس ۰/۵۹ (در روز) می باشد. همچنین زمان دو برابر شدن سلول ها، در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس ($DT=0/99 d^{-1}$) و در شرایط نوری

جدول ۱: پروفایل و مقدار اسیدهای چرب بدست آمده از بیومس میکروجلبک
Table 1: Profile and amount of fatty acids obtained from microalgae biomass.

نماد علمی ترکیب	نماد علمی ترکیب	نام عمومی ترکیب	مقدار اسید چرب از وزن خشک (%)	مقدار اسید چرب لیپید کل سلول (%)
C16:0	Hexadecanoic acid	اسید پالمیتیک (اشباع)	۲۳/۳۳	۳۹/۱۶
C16:1 n-7	9-Hexadecenoic acid	اسید پالمیتولئیک (غیراشباع)	۱/۳۴	۲/۲۵
C17:0	Heptadecanoic acid	اسید مارژریک (اشباع)	۰/۴۲	۰/۷۱
C18:0	Octadecanoic acid	اسید استئاریک (اشباع)	۵/۷۵	۹/۶۵
C18:1 n-9	9-Octadecenoic acid	اسید اولئیک (غیراشباع)	۱۱/۹۴	۲۰/۰۴
C18:2 n-6	9,12-Octadecadienoic acid	اسید لینولئیک (غیراشباع)	۱۶/۳۲	۲۷/۴۰
C20:0	Eicosanoic acid	اسید آراشیدیک (اشباع)	۰/۴۷	۰/۷۹
جمع کل			۵۷/۵۹	۱۰۰

بررسی برخی از خصوصیات فیزیکی بیودیزل

نتایج حاصل از اندازه گیری چگالی و سایر ویژگی های فیزیکی بیودیزل تولیدی (جدول ۲) نشان داد که چگالی بیودیزل برابر با ۰/۸۵۳، نقطه ابری شدن برابر ۳- درجه سانتی-گراد، نقطه ریزش ۱۰- درجه سانتی-گراد و نقطه انجماد برابر ۱۵- درجه سانتی-گراد می باشد.

جدول ۲: مشخصات فیزیکی بیودیزل تولید شده

Table 2: Physical characteristics of produced biodiesel.

مقدار	روش مورد استفاده	خصوصیات
۰/۸۵۳	D4052 ASTM	چگالی (kg/lit)
۳-	D2500 ASTM	نقطه ابری شدن (□C)
۱۰-	ASTM D97	نقطه ریزش (□C)
۱۵-	-	نقطه انجماد (□C)

بحث

Kilham و همکاران (۱۹۹۸) بیان کردند که محیط کشت combo، محیط مصنوعی مناسب برای رشد و تکثیر میکرو جلبک های آب شیرین و زئوپلانکتون ها می باشد (Kilham et al., 1998). استفاده از محیط کشت combo در این تحقیق نشان داد، این محیط کشت اصلاح شده از محیط کشت Guillard و WC ۱۹۷۲ و Lorenzen's برای رشد انواع میکرو جلبک مناسب است. نتایج تحقیقات Cheirsilp و همکاران (۲۰۱۲) بر اثر شدت نور بر رشد میکرو جلبک *Chlorella* sp. و *Nannochloropsis* sp. نشان داد که این دو نوع میکرو جلبک در شدت نور ۱۰۰۰۰ - ۸۰۰۰ لوکس نور سفید بیشترین میزان تولید بیومس را دارند (Cheirsilp et al., 2012).

تحقیقات سیف آبادی و همکاران (۱۳۸۹) که بر روی اثر سه شدت نور و دوره های متناوب روشنایی/ تاریکی انجام گرفت، حاکی از آن است که بالاترین نرخ رشد ۱/۱۳ در روز در شدت ۱۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه و دوره نوری ۸:۱۶ تولید شده است.

استفاده از دو شدت نور سفید مورد استفاده در این پژوهش به حصول نتایج متفاوتی انجامید. هر گاه میزان نور دریافتی توسط جلبک کمتر از آستانه مورد نیاز آن باشد، جلبک قادر به کسب انرژی لازم و عمل فتوسنتز نخواهد بود و در شدت نور بالاتر از آستانه تحمل آن به دلیل آسیب وارده به رنگدانه های جمع کننده نور، فتوسنتز متوقف می شود (Richmond, 2004).

روند رشد در دو شدت نور در انتهای فاز رشد لگاریتمی نشان داد که حداکثر تعداد سلول ها و میزان وزن بیومس خشک در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس بترتیب برابر با $26/08 \times 10^6$ cell.mL⁻¹ و ۰/۵۸ گرم بر لیتر و در شدت نور ۱۶۰۰۰ لوکس برابر با $18/68 \times 10^6$ cell.mL⁻¹ و ۰/۴۱ گرم بر لیتر بود. نرخ رشد ویژه و زمان دو برابر شدن در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس بترتیب معادل ۰/۷، ۰/۹۹ و در شدت نور ۱۶۰۰۰ لوکس برابر با ۰/۵۴، ۱/۲۸ حاصل شد. نتایج مربوط به وزن خشک زیست توده در طول دوره رشد میکرو جلبک تا انتهای فاز لگاریتمی حاکی از آن بود که میزان زیست توده خشک با تعداد سلول های شمارش شده و جذب نوری رابطه مستقیم دارد و با افزایش تعداد سلول ها، جذب نوری افزایش یافته و متناسب با آن وزن زیست توده خشک افزایش می یابد.

نتایج رشد سلولی در دو شدت نوری نشانگر بالاتر بودن نرخ رشد ویژه و میزان تولید بیومس بیشتر در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس نسبت به شدت نور ۱۶۰۰۰ لوکس بود. همچنین مقایسه زمان دو برابر شدن سلول ها در شدت نورهای مختلف نشان داد، مدت زمان لازم برای دو برابر شدن سلول ها دارای اختلاف می باشد. کمترین زمان برای دو برابر شدن سلول ها، در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس (DT=۰/۹۹) و بیشترین در شرایط نوری ۱۶۰۰۰ لوکس معادل (DT=۱/۱۷ d⁻¹) بدست آمد. با توجه به نتایج حاصل شده از رشد میکرو جلبک در دو شدت نور مورد آزمون، فرآیند تولید بیومس در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس به عنوان شدت نور مناسب، در دوره روشنایی : تاریکی ۸:۱۶ در دمای ۳۰ و pH حد ۷ انجام گرفت.

با توجه به اینکه لیپید تولید شده در میکرو جلبک یک محصول درون سلولی است، بایستی جهت استخراج آن از

شده است (Feng et al., 2011). در تحقیق حاضر عمده ترین اسیدهای چرب متشکله بیودیزل تولید شده عبارت از اسید پالمیتیک (C16:0)، اسید اولئیک (C18:1 n-) (9)، اسید لینولئیک (C18:2 n-6) و اسید استئاریک (C18:0) بودند. همچنین میزان اسید چرب اشباع بیودیزل ۵۰/۳۱٪ و اسید چرب غیراشباع ۴۹/۶۹٪ بود. نتایج بدست آمده در این تحقیق مشابه نتایج پژوهش‌های مذکور می‌باشد.

تعیین چگالی، نقاط ریزش و ابری شدن برای سوخت هایی که در مناطق سردسیر مورد استفاده هستند بسیار حائز اهمیت است. حد مجاز برای نقاط ریزش و ابری شدن بسته به شرایط آب و هوایی مصرف کننده باید تعیین شود (Canakci et al., 2008).

ترکیان بلداجی و همکاران (۱۳۸۹) با استفاده از جلبک کلرلا ولگاریس تولید بیودیزل نموده و خصوصیات فیزیکی این سوخت را مورد بررسی قرار دادند. چگالی سوخت تولیدی آنها برابر با ۰/۸۶۱ گرم بر سانتی‌متر مکعب بود. چگالی، نقطه ابری شدن و ریزش سوخت دیزل مرسوم مورد استفاده بترتیب برابر با ۰/۸۲۸۰ گرم بر سانتی‌متر مکعب، ۲- و ۳- درجه سانتی‌گراد است (حمید مشهدی میغانی و همکاران، ۱۳۸۷). چگالی، نقطه ابری شدن^۱، نقطه ریزش^۲ و نقطه انجماد از مهمترین ویژگی‌های مورد بررسی جهت کاربرد بیودیزل در موتور خودرو هستند. مطالعات بسیاری نشان داده است که مشخصات مذکور به طور گسترده‌ای تابع ترکیب اسیدهای چرب سوخت بیودیزل است. چگالی بیودیزل تولیدی در تحقیق حاضر برابر با ۰/۸۵۳ گرم بر سانتی‌متر مکعب می‌باشد. در صورت مقایسه نقطه ابری شدن و نقطه ریزش نمونه بیودیزل تولیدی با سوخت دیزل مرسوم مورد استفاده، شاخصه‌های مذکور برای بیودیزل تولیدی ۳- و ۱۰- و برای سوخت دیزل مرسوم ۲- و ۳- است. با توجه به اینکه هر چه نقطه ابری شدن پایین‌تر باشد، قابلیت استفاده از سوخت در شرایط سرد بالا می‌رود و احتمال گرفتگی فیلتر و مجاری سیستم سوخت رسانی کاهش می‌ابد و همچنین این نکته

روش‌های شکست سلولی استفاده شود تا اینکه لیپید در معرض حلال استخراج کننده قرار گیرد. از سویی، روش های فیزیکی شکست سلولی در اغلب موارد پرهزینه بوده و از لحاظ اقتصادی و مصرف انرژی سبب غیراقتصادی بودن فرایند تولید بیودیزل از ریزجلبک می‌گردند. بنابراین، بهره‌گیری از روش‌های ساده و کم هزینه جهت استخراج بسیار حائز اهمیت می‌باشد. تولید بیودیزل که در آن از لیپید های تصفیه شده استفاده می‌شود، شامل ۷۰٪ کل هزینه‌های تولید می‌شود. بنابراین، تسهیل جداسازی لیپید میکروجلبک یک تکنیک مفید برای کاهش هزینه‌های تولید بیودیزل از میکروجلبک می‌باشد (Hidalgo et al., 2013) در تبادله استری مستقیم، استخراج لیپید و ترانس استریفیکاسیون در یک مرحله و توسط واکنش مستقیم از تبدیل لیپید به بیودیزل انجام می‌شود. Wahlen و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که با استخراج اسیدهای چرب از غشای فسفولیپیدی سلول‌های میکروجلبک، بازده تولید بیودیزل افزایش می‌یابد (Wahlen et al., 2011). نتایج تحقیقات Johnson و Zhiyou (۲۰۰۹) برای تولید بیودیزل به روش ترانس استریفیکاسیون مستقیم از میکروجلبک *Schizochytrium limacinum* نشان داد بازده بیودیزل در این روش بسیار بالاتر بوده و از سویی، محتوای اسیدچرب حاصل از بیومس مرطوب در ترانس استریفیکاسیون مستقیم نسبت به بیومس خشک به طور قابل توجهی پایین‌تر می‌باشد و استفاده از بیومس خشک در این روش امری ضروری است. در پژوهش حاضر با استفاده از انجام فرآیند ترانس استریفیکاسیون مستقیم بر بیومس خشک، زمان واکنش تبادله استری به حداقل رسانده شد و تولید بیودیزل تسهیل گردید.

براساس گزارش‌های قبلی (Knothe, 2008)، پالمیتیک، استئاریک، اولئیک و لینولئیک اسید به عنوان شایع‌ترین اسیدهای چرب موجود در بیودیزل شناخته شده‌اند. Feng و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که اسیدهای چرب C16 و C18 در میکروجلبک‌ها به مقدار زیاد وجود دارند. همچنین نیمی از اسیدهای چرب سنتز شده مربوط به اسیدهای چرب اشباع و نیمی دیگر مربوط به اسیدهای چرب غیر اشباع و اسید اولئیک بیشترین اسید چرب سنتز

¹ Cloud point

² Pour point

که نقطه ریزش پایین ترین دمایی است که جریان سوخت هنوز می‌تواند پمپاژ شود و کمترین دمایی است که می‌توان از سوخت استفاده کرد، در نتیجه، بیودیزل تولیدی از نظر این شاخصه‌ها دارای کیفیت بسیار بالاتری نسبت به سوخت دیزل مرسوم بوده و امکان استفاده از آن بخصوص در فصول سرد سال و مناطق سرد بسیار بیشتر است. همچنین استفاده از بیودیزل تولیدی، در دماهای کمتر امکان‌پذیر بوده و استفاده از آن سبب اختلال در عملکرد موتور و سیستم سوخت رسانی نمی‌شود. دلیل این امر می‌تواند مربوط به وجود اسیدهای چرب غیراشباع به میزان نزدیک به ۵۰٪ کل محتویات لیپید بیودیزل باشد. این امر از تشکیل ترکیبات مومی شکل در دماهای نه چندان پایین ممانعت می‌کند و موجب پایین آمدن نقطه ابری شدن و ریزش می‌گردد. این پدیده نقش مهمی در بهبود عملکرد موتور و امکان نگهداری آن دارد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش کشت میکرو جلبک برای تولید بیودیزل با به حداقل رساندن هزینه و زمان در تمام مراحل فرآیند تولید، انجام گردید. نتایج نشان داد که امکان کشت میکرو جلبک در فتوبیوراکتور و استحصال بیودیزل با کیفیت مناسب از آن وجود دارد. همچنین پروفایل اسیدهای چرب و خواص فیزیکی بیودیزل تولید شده، حاکی از آن بود که بیودیزل حاصل از میکرو جلبک دارای کیفیت بالایی بوده و روش تبادل استری مستقیم گزینه مناسبی جهت تولید بیودیزل، نسبت به سایر روش‌ها می‌باشد.

منابع

ترکیان بلداجی م.، نجفی ب. و حجازی م. ۱۳۸۹. تولید بیودیزل از ریز جلبک *Chlorella vulgaris* و تعیین برخی از خواص فیزیکی و شیمیایی آن. مجله علوم پایه. ۹۹-۱۱۰: (۱/۷۸) دانشگاه آزاد اسلامی
سیف آبادی، س.ج.، امینی خوئی، ز. و رمضانپور، ز.، ۱۳۸۹. اثر شدت و دوره های نور بر رشد و زیتوده

میکرو جلبک *Chlorella vulgaris*. مجله علمی شیلات ایران. ۱۳۸۹؛ ۱۹ (۳): ۲۰-۱۱
DOI:10.22092/ISFJ.2017.109952
مشهدی میغانی، ح.، الماسی، م.، باخدا، ح. و محسنی فر، م. ۱۳۸۷. مقایسه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی متیل استر روغن سویا به عنوان بیودیزل با سوخت دیزل مرسوم در ایران، پنجمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی و مکانیزاسیون، مشهد، انجمن مهندسی ماشین‌های مکانیزاسیون ایران، دانشگاه فردوسی مشهد کشاورزی و COI: NCAMEM05_107

Andersen R. A., Kawachi M. 2005. Traditional Microalgae Isolation Techniques, Biology, DOI:10.1016/b978-012088426-1/50007-x

Brennan, L. and Owende, P., 2010. Biofuels from Microalgae— A Review of Technologies of Production, Processing and Extraction of Biofuels and Co-Products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 2, 2010, pp. 557–577. DOI:10.1016/j.rser.2009.10.009

Canakci M., Sanli H., 2008. Biodiesel production from various feed stocks and their effects on the fuel properties, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, Volume 35, Issue 5, pp 431–441, DOI: 10.1007/s10295-008-0337-6

Cheirsilp, B. and Torpee, S., 2012. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed batch cultivation. *Bioresource*

- Technology*, 110, 510–516. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.01.125
- Chioccioli, M., Hankamer, B. and Ross, I.L., 2014.** Flow Cytometry Pulse Width Data Enables Rapid and Sensitive Estimation of Biomass Dry Weight in the Microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlorella vulgaris*. *PLoS ONE*, 9(5): e97269. doi:10.1371/journal.pone.0097269.
- Chisti, Y., 2007.** Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 22(1), 194–326. doi:10.1016/j.biotechadv.2007.02.001
- Ehimen, E.A., Sun, Z.F., Carrington, C.G., 2010.** Variables affecting the in situ transesterification of microalgae lipids. *Fuel*, 89, 677–684. DOI: 10.1016/j.fuel.2009.10.011
- Feng, D., Chen, Z., Xue, S. and Zhang, W., 2011.** Increased lipid production of the marine oleaginous microalgae *Isochrysis zhangjiangensis* (Chrysophyta) by nitrogen supplement. *Bioresource Technology*, 102(12), pp. 6710–6716. DOI:10.1016/j.biortech.2011.04.006
- Gouveia, L., 2011.** Microalgae as a Feedstock for Biofuels, SpringerBriefs in Microbiology.
- Gunawan, S., Maulana, S., Anwar, K. and Widjaja, T., 2011.** Rice bran, a potential source of biodiesel production in Indonesia. *Industrial Crops and Products*, 33(3): 624–62. DOI:10.1016/j.indcrop.2010.12.027.
- Hidalgo P., Toro C., Ciudad G., Navia R., 2013.** Advances in direct trans esterification of microalgal biomass for biodiesel production, *Reviews in Environmental Science and BioTechnology*, Volume 12, Issue 2, pp 179–199, DOI: 10.1007/s11157-013-9308-0
- Huang, G., Chen, F., Wei, D., Zhang, X. and Chen, G., 2010.** Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Applied Energy*, 87(1), 38–46. DOI.org/10.1016/j.apenergy.2009.06.016
- Johnson m., Zhiyou W., 2009.** Production of Biodiesel Fuel from the Microalga *Schizochytrium limacinum* by Direct Transesterification of Algal Biomass Energy Fuels, 23, 10, 5179–5183, doi.org/10.1021/ef900704h
- Kilham, S. Kreeger, D., Lynn, S., Goulden, C. and Herrera, L., 1998.** COMBO: a defined freshwater culture medium for algae and zooplankton. *Hydrobiologia*, 377:147–159. DOI: 10.1023/A:1003231628456
- Knothe, G., 2008.** “Designer” Biodiesel: Optimizing Fatty Ester Composition to Improve Fuel Properties. *Energy & Fuels*, 22, 1358–1364.
- Rawat, I., Kumar, R.R., Mutanda, T. and Bux, F., 2013.** Biodiesel from microalgae : A critical evaluation from laboratory to large scale production. *Applied Energy*, 103, 444–467. doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.10.004
- Richmond A., 2004.** Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview, *Hydrobiologia*, Volume 512, Issue 1–3, pp 33–37,

- DOI:10.1023/B:HYDR.0000020365.06145.36
- Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R. ,1972.** A Practical Hand Book of Seawater Analysis. Fisheries Research Board of Canada Bulletin 157, pp 143–157
- Tang, D., Han, W., Li, P., Miao, X. and Zhong, J., 2011.** CO2 biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO2 levels. *Bioresource Technology*, 102, 3071–3076. doi:10.1016/j.biortech.2010.10.047
- Velasco, L., Carreram S. and Barros, J., 2016.** Isolation, culture and evaluation of *Chaetoceros muelleri* from the Caribbean as food for the native scallops, *Argopecten nucleus* and *Nodipecten nodosus*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(3): 557-568. DOI: 10.3856/vol44-issue3-fulltext-14.
- Wahlen, D. Bradley, Robert M. Willis and Lance, C. Seefeldt., 2011.** Biodiesel production by simultaneous extraction and conversion of total lipids from microalgae, cyanobacteria, and wild mixed-cultur. *Bioresource Technology*, 102, 2724–2730. DOI:10.1016/j.biortech.2010.11.026
- Wang, L., Min, M., Li, Y. and Chen, P., 2010.** Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162:1174–1186. DOI 10.1007/s12010-009-8866-7

Evaluation of biodiesel production from micro-algae in a photobioreactor and study of its physical and chemical properties

Moazeni T.¹; Sadrnia M.^{1*}; Haji Hosseini R.¹

*msadrnia@yahoo.com

1-Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

Abstract

Biodiesel methyl ester or ethyl ester is a natural oil that is very similar to diesel and can be used as an alternative fuel for diesel engines. Micro-algae are able to produce and store high amounts of lipids. In this research, the production of biodiesel fuel from microalgae was investigated in a biofilm and some of its physical and chemical properties were determined. In this study, a mixture of microalgae cultured from stagnant water was compared in a photobioreactor at two light intensities of 8000 and 16000 lux and the amount of biomass produced. The biomass produced under the light intensity of 8000 lux after isolation and drying was subjected to a direct trans-esterification process and biodiesel was produced. Analysis of biodiesel constituents of fatty acids was determined using GC / MS. Some biodiesel characteristics, such as density, cloudy point, spin point, and freezing point, were also studied. The light intensity of 8000 lux was superior to the magnitude of doubling of cells, specific growth rate and biomass production compared to 16000 lux light intensity, and was used to produce microalgae biomass. The results of GC / MS showed that biodiesel resulting from transesterification of lipid micro-algae contained 50.31% saturated fatty acid and 49.69% unsaturated fatty acid. Palmitic acid saturated fatty acids (C16: 0) with 39.16%, acetanilic acid (C18: 0), 65.6%, arachidic acid (0.72% C20: 0%), margaric acid (0.17% C17: 0%) and acids. The unsaturated linoleic fat (C18: 2) with 27.47%, lauric acid (C18: 1) with 20.04 and palmitoleic acid (C16: 1) formed 25.2% biodiesel. The produced biodiesel was 0.853 g / cm³ and the cloud was cloudy and its dropping point was 3- and 10 ° C. The results of the study showed that the microalgae culture in the photobioreactor can be minimized by minimizing the cost and time. Also, fatty acid profiles and biodiesel physical properties indicated that the micro-algae biodiesel was of high quality and direct steady-state exchange could be a good option for producing biodiesel, as compared to other methods.

Keywords: Biodiesel, Microalgae, Photobioreactor

*Corresponding author