مقاله مروری

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال شانزدهم، شماره ۶۳، پاییز ۱۴۰۰ / صفحات: ۱۴۸-۱۲۹
Doi: 10.30495/iper.2022.689654 ***Dor: 20.1001.1.24237671.1400.16.64.10.4***

فاکتورهای پیشرفته موثر بر کشت بزرگ مقیاس انواع ریزجلبک و اثرات آن در افزایش بهره‌وری

ساسان قبادیان[۱]، ندا سلطانی[۲*]

[۱]گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده مهندسی عمران و محیط زیست، دانشگاه ملی ملایر، ملایر، ایران

[۲]گروه میکروبیولوژی نفت، پژوهشکده علوم پایه کاربردی جهاد دانشگاهی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۰۵

چکیده

شاید سخن گفتن در باب کاربری انواع گونه‌های ریزجلبکی در زمینه‌های مختلف، رویکردهای جهانی جهت افزایش بهره‌وری کشت این موجودات و نیل به برتری اقتصادی در کنار منافع عظیم زیست‌محیطی (مانند تصفیه فاضلاب و تثبیت CO_2) گزاف باشد. جهت دستیابی به این افزایش بهره‌وری، تمرکز بر فاکتورهای مختلف موثر بر کشت در پژوهش‌های اخیر جهانی مشاهده می‌شود. در مورد برخی از این فاکتورها نظیر شرایط نوری، دما، غلظت مواد مغذی، میزان CO_2 و نظایر آن پژوهش‌های مختلفی صورت گرفته است. لذا در این مقاله سعی شده با پرهیز از تکرار مقدمات و ذکر مجدد کاربری‌ها و یا بازگوئی اثرات فاکتورهای مذکور، صرفا پژوهش‌هائی مرور شوند که بر روی برخی فاکتورهای کمتر آزموده اما با تاثیرات مهم بر افزایش بهره‌وری کشت به ویژه در مقیاس بزرگ تمرکز کرده‌اند. لذا در ابتدا محیط‌های مختلف کشت شامل آب شیرین، آب دریا و فاضلاب جهت به کارگیری در کشت انبوه تشریح و مقایسه شده و گونه‌های برتر هریک از محیط‌ها معرفی شده‌اند و سپس روش‌های مختلف کشت شامل فتواتوتروفیک، هتروتروفیک، میکسوترفیک و فتوهتروتروفیک مقایسه شده‌اند. به استفاده مجدد از آب بازیافتی فرآیند کشت ریزجلبک‌ها جهت کاهش هزینه‌های تصفیه و پمپاژ و چالش‌های مرتبط با آن نگاهی شده و در انتها اثر تنش‌ها (که بواسطه تجهیزات بکارگرفته شده و در فرآیندهای کشت بزرگ‌مقیاس از دغدغه‌های اصلی است) بر روی بهره‌وری کشت و راهکارهای کاهش این اثرات مورد نظر قرار گرفته است.

واژه‌های کلیدی: بازیافت آب در کشت، تنش برشی در ریزجلبک‌ها، کشت بزرگ مقیاس، کشت ریزجلبک، محیط کشت

ریزجلبکهای آب‌های شیرین

اکولوژی زیستگاه و رشد: ترکیب زیستگاه آب شیرین دارای نمک کم بوده و می‌تواند برای کشت بسیاری از گونه‌ها استفاده شود. چکیده انواع اکوسیستم آب‌های شیرین و شرایط هر یک در جدول ۱ آورده شده است. این زیستگاه‌ها شامل برکه‌ها، دریاچه‌ها، نهرها، رودها و مرداب‌ها می‌باشد. در دسترس بودن مواد مغذی در برکه‌ها و همچنین مواجهه با شرایط گرم و پر نور منتج به تشکیل بلوم‌های جلبکی می‌گردد. اما در نهرها و رودخانه‌ها

*نویسنده مسئول: nedasoltan@irias.ac.ir

جریـان در بخـش‌هـای مختلـف رودخانـه متفـاوت است. در برخی نواحی جریان‌های سریـــــع و دارای اکسیژن بالا با مقادیر کم جلبک دیده می‌شود. معمـولاً در این جریان‌ها مواد مغـذی ماننـد نیتـروژن و فسـفر ناشی از پساب‌های زمین‌های کشاورزی وجود دارنـد. در میانه رودها که عرض افزایش یافتـه و جریـان آرام تر است، به دلیل تجمع مواد مغـذی ناشـی از حرکـت آرامتر آب، در مقایسه بـا جریـان‌هـای نـواحی سـریع شرایط بهتری برای رشد جلبک‌ها فراهم مـی‌شـود؛ در نزدیکی دهانه رودها جریـان شـدیدا آرام شـده و آب تیره می‌شود اما هر چنـد رکـود آب بیشـتر اسـت، بـه سبب کاهش نفوذ نور شرایط برای رشد جلبک چندان مناسب نیست. سیستم‌های آب‌های شیرین بـه جـز در شـرایط ورود مـواد مغـذی ناشـی از فاضـلاب‌هـا و تصفیه‌خانه‌ها و همینطور رواناب‌های حاوی کودها در مناطق شهری، معمولاً فاقد مقادیر بالایی از نیتـروژن و فسفر هستند. هرچند ایـن شـرایط محـدود نیتروژنـی می‌تواند برای کشت انبوه به کـار گرفتـه شـود. نتـایج زیادی مبنی بر کشت جلبک در شرایطی با محـدودیت نیتروژن برای افـزایش رشـد و بهـره‌وری وجـود دارد (Kalana et al., 2016).

جدول ۱: مقایسه اکوسیستم‌های مختلف آب شیرین و ارزیابی رشد جلبک (Chew et al., 2018)

اکوسیستم آب شیرین	محتوای مغذی	جریان آب	تنوع زیستی	مناسب بودن رشد جلبک
برکه / دریاچه	متوسط	آرام	زیاد	بله
بالادست رودخانه	کم	سریع	متوسط	خیر
میانه رودخانه	متوسط	متوسط	بالا	بله
پائین دست رودخانه	کم	آرام	کم	خیر

انواع و خصوصیات گونـه‌هـای آب‌هـای شـیرین:

هریک از گونه‌های جلبـک‌هـای آب‌هـای شـیرین در مقایسـه بـا گونـه دیگـر، عملکـرد رشـد و ترکیبـات بیولوژیکی متفاوتی دارد. این امر اهمیت جداسازی و انتخاب گونه‌هـا را بـرای افـزایش بهـره‌وری رشـد در کشت‌های بزرگ مقیاس آشـکار مـی‌کنـد (Duong et al., 2012). ردیف‌های بالای جدول ۲ انواع گونه‌های آب‌های شیرین را بـه همـراه جزئیـات مـورد نیـاز بـا تمرکز بر کشت‌های بزرگ مقیاس ارائـه مـی‌دهـد. بـه سبب نتایج موفق قبلی گونه کلرلا در انواع روش‌هـای کشـت بـرای رفـع نیازهـای مـواد مغـذی انسـانی و حیـوانی، در بسـیاری از حـوزه‌هـای پژوهشـی و همین‌طور تجاری مورد توجه می‌باشد. این گونه قـادر است مواد مغذی را به سرعت برداشت کـرده و بـرای رشد سریع استفاده کند که جهت کشت بزرگ مقیـاس جهت انواع محصولات مناسب اسـت (Liu and Hu, 2013). در آلمان و ژاپن کشت بزرگ مقیاس این گونه انجام می‌شود.

جدول ۲: گونه‌های مناسب کشت در آب‌های شیرین و شور (Chew et al., 2018).

آب	گونه	توصیف	ترکیب مغذی	مناسب بودن برای کشت تجاری	اهداف تولید بزرگ مقیاس	مرجع
شیرین	*Ankistrodesmus falcatus*	ریزجلبک سبز، تشکیل کلونی، سوزنی‌شکل اما منحنی با گوشه‌های تیز	فسفر محدود، نسبت بالای پروتئین به چربی، مقادیر زیاد سیانوباکتری	امکانپذیر ناشی از پتانسیل رشد در فاضلاب	برداشت N و P و گزینه تصفیه فاضلاب،	(KILHAM et al., 1997)
شیرین	*Botoyococcus braunii*	ریزجلبک سبز، شکل بیضی، تخم‌مرغی، پخش در زیستگاه مختلف	مقادیر مختلف کربوهیدرات، اغلب ترکیب چربی بالا	نتایج خوب رشد در آب شیرین	تولید هیدروکربن و تصفیه زائدات حیوانی	(Yamaguchi et al., 1987)
شیرین	*Chlamydomonas reinhardtii*	ریزجلبک سبز، کروی، پیرنوئید بزرگ در داخل سلول	مقادیر مناسب پروتئین و کربوهیدرات در داخل عصاره	دشواری کشت تجاری، استفاده در پژوهش و مدل سلولی	-	(Kightlinger et al., 2014)
شیرین	*Chlorella emersonii*	ریزجلبک سبز، کروی، منفرد یا گروهی، پیرنوئید بزرگ در داخل سلول	محتوای بالای پروتئین، قابلیت انباشت چربی و کربوهیدرات تحت شرایط تنش مناسب	تولید مواد مغذی بالا، رشد مناسب و بهره‌وری، پتانسیل مناسب به ویژه در کشت انبوه	قابل استفاده در تولید سوخت زیستی، تصفیه فاضلاب، کاهش CO_2	(Guccione et al., 2014)
شیرین	*Chlorella protothecoides*	مشابه *Chlorella emersonii*				(Al Hattab et al., 2015)
شیرین	*Chlorella sorokiniana*	مشابه ویژگی‌های سایر گونه‌های کلرلا. نرخ رشد بالا، تاب اور در مقابل تغییرات تابش، دما و غلظت CO_2				(Al Hattab et al., 2015)
شیرین	*Chlorella vulgaris*	نزدیک به شکل کروی، بیضوی پیرنوئید بیضی شکل با دانه‌های نشاسته اطراف				(Guccione et al., 2014)
شیرین	*Scenedesmus obliquus*	ریزجلبک سبز، سلول‌هایی به‌صورت خطی مرتب شده، مستقیم با لبه‌های تیز	پروتئین خام بین ۲۰ تا ۴۰ ٪ .در حالی که لیپیدها بین ۱۰ تا ۲۰ ٪	رشد خوب در فاضلاب و محیط‌های ارزان قیمت.پتانسیل خوبی برای افزایش مقیاس	تولید بیودیزل به دلیل پروفایل اسیدهای چرب مناسب	(Álvarez-Díaz et al., 2017)
شور	*Tetraselmis suecica*	معمولاً در استخرهای جزر و مدی یا دریای آزاد یافت می‌شود. منفرد، متحرک، کلروفیت و حاوی مقدار زیادی چربی است	مقادیر بالایی از اسیدهای چرب را می توان در این جلبک یافت	بسیار مناسب و در حال حاضر برای آبزی پروری استفاده می شود	آبزی پروری و تولید سوخت زیستی به دلیل محتوای لیپید بالا	(Otero and Fábregas, 1997)
شور	*phaeodactylum tricornutum*	جلبک‌های نوع دیاتومه در اشکال و مورفولوژی متفاوت	مقادیر زیادی اسیدهای چرب تولید می‌شود . مقادیر زیادی اسید چرب C16	مشکل است زیرا در حال حاضر هیچ تحقیقی در جهت افزایش مقیاس از این نوع انجام نشده است	محصولات غذایی و تولید سوخت زیستی	(Siron et al., 1989)
شور	*Chlamydomonas reinhardtii*	دیاتوم‌های کوچک با رشد سریع، معمولا در نمای والو	مشابه دو گونه بالا	به‌دلیل تمایل کشت به افت و مرگ، مناسب نیست	-	(Kaspar et al., 2014)
شور	*Isochrysis galbana*	جلبک سبز کوچک بیضوی	مقادیر بالای کربوهیدرات	به دلیل تمایل کشت به افت و مرگ، مناسب	در آبزی پروری برای تغذیه ماهیان	(Yu et al., 2010)

				نیست	جوان و سخت پوستان و همچنین لارو دوکفه ای در جوجه کشی نرم تنان	
شور	*Nannochloropsis oculata*	جلبک تک سلولی شناور آزاد، حاوی کلروپلاست زرد مایل به سبز	مقادیر بالای امگا ۳ و کلروپلاست	نرخ رشد بالا قابل دستیابی و مناسب برای کشت بزرگ مقیاس	به عنوان محصولات غذایی، برای آبزی پروری و تولید سوخت زیستی	(Al Hattab et al., 2015)

ریزجلبک‌های آب‌های شور

اکولوژی زیستگاه و رشد: از آنجا که کشت جلبک وابستگی زیادی به منابع آبی دارد و نامحدودترین این منابع، آب شور اقیانوس‌ها هستند، کشت بزرگ مقیاس در این آب‌ها برای کاهش هزینه‌ها راه‌حل اقتصادی مناسبی است. از میان انواع گونه‌های مختلف جلبک‌های میکرو و ماکرو و سیانوباکتری‌ها، برخی گونه‌ها به سبب خواص سازگاری ویژه غالب می‌شوند (Wei et al., 2013) که مقاومت در برابر شوری اصلی‌ترین خصوصیت است؛ هر چند بسته به موقعیت، بارش می‌تواند محیط کشت را رقیق کرده و بر شوری آب اثر گذارد اما در بعضی مواقع آب شیرین برای رقیق سازی و کاهش شوری لازم است. اگرچه زیستگاه آب شور اغلب برای جلبک‌های مقاوم به شوری بسیار مناسب است اما به سبب تعداد بالای شکارچی‌ها در این بوم‌گاه، رشد کلی کاهش می‌یابد (Mata et al., 2010). لذا در طی کشت ریز جلبک‌های دریایی در آب شور، زیستگاه باید به طور مستمر پایش شود تا همه پارامترها برای دستیابی به بیشینه رشد و بهره‌وری در حالت بهینه باشند (Kumar et al., 2015).

تجربه‌های کشت دریایی در صورت عدم کنترل مناسب می تواند مضر نیز باشد زیرا با توجه به عدم رقابت کشت ریزجلبک با کشاورزی بر سرزمین‌های حاصلخیز، امکان نزدیکی کشت‌ها در خط ساحلی فراهم است (Greene et al., 2016). این امر می‌تواند منجر به تغییرات جدی مانند کاهش تنوع بیولوژیکی و توزیع صخره‌های مرجانی گردد. بنابراین دقت زیادی در طی انتخاب محل کشت جهت پرهیز از آسیب‌های زیست محیطی لازم است.

انواع و خصوصیات گونه‌های آب‌های شور: در مقایسه با ریز جلبک‌های آب‌های شیرین، تنوع گونه‌های آب‌های شور کمتر بوده و اغلب جلبک‌ها در اقیانوس‌ها از نوع ماکرو هستند. همچنین بیشتر ریزجلبک‌های آب‌های شور دارای خواص سمی و مضر می‌باشند. از آنجایی که اقیانوس‌ها نور زیادی دریافت می‌کنند، جلبک‌هایی با سازگاری بیشتر نسبت به جلبک‌های آب شیرین را در خود جای می‌دهند. جلبک‌های دریایی نرخ تبدیل نوری بالاتری داشته و بنابراین می‌توانند از نور استفاده بهتری برای سنتز سریع‌تر بیومس بکنند. علاوه بر این کمبود همی‌سلولز یا لیگنین منجر به قابلیت پردازش آسان تر آنها نسبت به سایر محصولات می‌گردد (Wei et al., 2013).

با انتخاب دقیق گونه مناسب حتی در شرایط سخت آب‌های شور می‌توان به رشد بهینه دست یافت. در جدول ۲ برخی مثال‌ها از کشت‌های ریزجلبکی آب‌های شور در پژوهش‌هائی برای کشت‌های بزرگ مقیاس آورده شده است. پژوهش‌های اخیر بر روی گونه‌های *Tetraselmis*

suecica و *Nannochloropsis oculata* به‌دلیل پتانسیل بالا برای تولید سوخت‌های زیستی متمرکز شده است (Lee et al., 2011). همین گونه در مطالعات Lee و همکاران (2011) دارای سریع‌ترین نرخ رشد و برداشت مواد مغذی برای تولید بیومس بوده که به سبب حضور یون +Na و سازگاری بالای مکانیسم‌های تنظیم اسمزی جهت غلبه بر تغییرات سریع یا تدریجی مقادیر شوری در بازه‌های گسترده است (Kumar et al., 2015). در حالی که گونه *I. galbana* نتایج مشابهی از تولید بالای بیومس را نشان داد اما برای رسیدن به فاز ثابت رشد، بازه زمانی بیشتر نیاز دارد (Lee et al., 2011).

در مطالعه‌ای توسط Lee و همکاران پنج گونه ریز جلبکی دریایی به لحاظ تولید وزن خشک، نرخ رشد مخصوص، بهره‌وری بیومس، محتوای چربی و ترکیب اسیدهای چرب مقایسه شدند. گونه *T.suecica* سریع‌ترین نرخ رشد و برداشت مواد مغذی برای تولید بیومس را نشان داد. عملکرد بهتر گونه *T.suecica* در کشت‌های بزرگ مقیاس انجام شده در آب‌های شور مناطق مختلف موید آن است که این روش در مقایسه با کشت آب شیرین برتری دارد. در کشت‌های جلبک‌های دریایی هزینه‌ها به سبب محتوای مغذی آب شور تا حدی کاهش می یابد. همین روند امکان بهره گیری از فاضلاب به عنوان محیط کشت را نشان می‌دهد.

ریزجلبک‌های فاضلابی

اکولوژی زیستگاه و رشد: جلبک‌ها با استفاده از مواد مغذی فاضلاب به عنوان یک منبع آبی دارای پتانسیل برای کشت‌های ریزجلبکی، امکان بازگشت پساب تصفیه شده به منابع آبی را ایجاد می‌کنند. انواع فاضلاب‌ها می توانند به فاضلاب‌های شهری، کشاورزی، پالایشگاهی و صنعتی و زه‌آب‌ها طبقه بندی گردد (Gonçalves et al., 2017). تمام فاضلاب‌های لیست شده دارای محتوای آلی مشابه هستند اما مقادیر مواد غیرآلی متفاوت است. سه چهارم از کربن آلی داخل فاضلاب به صورت کربوهیدرات، چربی‌ها، پروتئین‌ها، آمینو اسیدها و اسیدهای فرار است. اجزای غیرآلی شامل غلظت‌های بالایی از سدیم، کلسیم، پتاسیم، منیزیم، کلر، گوگرد، فسفات، بی‌کربنات، نمک‌های آمونیوم و فلزات سنگین است. این امر فاضلاب را به جایگزین ایده‌آلی برای محیط‌های کشت گران قیمت در کشت‌های بزرگ مقیاس بدل می‌سازد. این فاضلاب‌ها همچنین حاوی مقادیر بسیار زیادی از نیتروژن و فسفر بوده که در صورت ورود به منابع آب‌های محلی باعث ایجاد یوتریفیکاسیون و آسیب‌های کاهش عمر آب آبی می‌شود. از آنجا که ریزجلبک‌ها از این مواد مغذی برای رشد استفاده می‌کنند می‌توانند به عنوان تصفیه ثانویه آب به کار گرفته شود (Abdel-Raouf et al., 2012). به‌عنوان مثال در یک مطالعه از خروجی کارخانه تولید روغن به عنوان محیط‌کشت استفاده شده است زیرا حاوی مقادیر بالایی نیتروژن و سایر مواد مغذی ناشی از کودها و خوشه‌های میوه است (Cheah et al., 2016).

هرچند حجم بالای مواد مغذی برای رشد جلبک‌ها مطلوب است اما می‌تواند مضر نیز باشد زیرا تمام گونه‌های جلبکی توانایی سازگاری با شرایط وفور مواد مغذی را ندارند. از سوی دیگر فاضلاب می تواند شامل مواد بازدارنده و پاتوژن‌ها هم باشد که باعث کاهش رشد و کیفیت بهره‌وری در جلبک‌ها می‌گردد. بنابراین انتخاب دقیق ریزجلبک برای سازگاری تدریجی با فاضلاب جهت دستیابی به بیشینه رشد و بهره‌وری لازم است. تمایل به استفاده از منابع جایگزین مشتق شده از فاضلاب‌ها به عنوان منبع مغذی کشت، رو به افزایش است. به‌طور مثال

استرواویت که از ته نشینی فاضلاب حاصل می‌شود می‌تواند به عنوان منبعی از نیتروژن و فسفر جهت کاهش هزینه‌های کشت استفاده گردد (Moed et al., 2015).

انواع و خواص گونه‌های قابل کشت در فاضلاب: در حال حاضر گونه خاص جلبکی که ویژه کشت در فاضلاب باشد وجود ندارد و از بین انواع گونه‌های آب‌های شور و شیرین به دقت انتخاب می‌شوند. هرچه مقاومت گونه بیشتر باشد انعطاف پذیری آن در مقابل تغییرات شرایط زیست محیطی بیشتر بوده و در مقابل بازدارنده‌ها حساسیت کمتری دارد (P. Chen et al., 2010). این هم شانس بقای گونه انتخابی و سازگاری آن در شرایط سخت فاضلاب را افزایش می‌دهد. هشت گروه مقاوم برای شرایط فاضلابی عبارت از *Euglena*، *Oscillatoria*، *Chlamydomonas*، *Scenedesmus*، *Chlorella*، *Nitzschia*، *Navicula* و *Stigeoclonium* هستند.

در بین انواع گونه‌های آب‌های شیرین، گونه‌های مرسوم *Scenedesmus* و *Chlorella* نقش مهمی در تصفیه آب‌های یوتریفیک ایفا می‌کنند (Abdel-Raouf et al., 2012). *Nannochloropsis oculata* و *Tetraselmis suecica* هر دو از گونه‌های دریایی بوده که به خوبی در فاضلاب رشد می‌کنند. برای افزایش موفقیت کشت‌های بزرگ مقیاس، باید خواصی نظیر محتوای بالای چربی، اسیدهای چرب اشباع، نرخ رشد مخصوص بالا، مقاومت در برابر شوری، قابلیت ته‌نشینی، خواص مناسب ساختاری، مقاومت در برابر دمای بالا و تنش برشی در گونه وجود داشته باشد (Duong et al., 2012).

جبران هزینه‌های اضافی برای برداشت مواد مغذی و تصفیه فاضلاب، در مقابل کاهش هزینه‌های تامین مواد برای کشت و نیز امکان استفاده مقادیر زیاد دی‌اکسیدکربن از اتمسفر توسط جلبک‌ها که منجر به کاهش آلودگی می‌گردد، نمونه‌ای از این مزایای کشت جلبک در فاضلاب است (Chen et al., 2010).

در بسیاری موارد گونه کشت داده شده در فاضلاب به سبب آلودگی منابع خارجی مانند باکتری‌ها و سایر مواد به صورت کشت واحد و تک‌گانه باقی نمی‌ماند (Gouveia et al., 2016). در واقع کنسرسیوم جلبکی شامل تعداد زیادی ریزجلبک به کار گرفته می‌شود تا از طریق همزیستی‌های در محیط، باعث ارتقاء رشد و بهره‌وری گردد. در برخی موارد از اثر سینرژی باکتری‌ها که دی‌اکسیدکربن را برای جلبک‌ها تولید می‌کنند استفاده شده که باعث کاهش هوادهی مورد نیاز و هزینه‌های عملیاتی می‌شود (Kim et al., 2014). در واقع کشت جلبکی در اختلاط با سایر جلبک‌ها یا باکتری‌ها منجر به تشکیل کنسرسیوم‌های ریزجلبکی یا کنسرسیوم‌های ریز جلبک- باکتری می‌شود (Gonçalves et al., 2017). در یک تحقیق دریایی در فنلاند با کشت انواع مختلف، بررسی اثر جمعیت گونه‌های چندگانه مطالعه شد (Stockenreiter et al., 2016). نتایج حاکی از آن بود که با افزایش تعداد گونه‌ها تغییرپذیری مواردی نظیر برداشت مواد مغذی و بازدهی منابع مورد استفاده بین جمعیت‌ها کاهش می‌یابد. اما برای تولید بیومس نتایج حاصله در مقایسه با کشت تک گونه بیانگر آن است که استفاده از کنسرسیوم‌ها ممکن است منجر به نتایج بهینه نگردد. کشت بزرگ مقیاس روباز به طور قطع شامل کنسرسیوم‌ها خواهد بود زیرا سایر گونه‌های ریز جلبکی و باکتری‌ها در کشت‌های باز وارد می‌شوند.

گروهی از فاکتورها و شرایط عملگری که شامل فاکتورهای بیوتیک، فاکتورهای آبیوتیک، و فاکتورهای عملگری است می‌توانند باعث محدودیت در رشد جلبک‌ها در فاضلاب شوند (Gonçalves et al., 2017). در همه انواع فاضلاب‌ها، کمیت و کیفیت

نور، وجود پاتوژن‌ها یا ترکیبات سمی و مواد مغذی مختلف اصلی‌ترین پارامترهای مورد توجه هستند. در مقایسه با آب‌های شیرین و شور، فاکتورهایی نظیر دما، pH و شوری عملکرد مشابهی داشته و در شرایط بهینه باعث دستیابی به بیشترین رشد می‌شوند. فاضلاب‌های مختلف اغلب نسبت‌های مختلفی از مواد مغذی را دارند؛ به طور مثال نسبت نیتروژن به فسفر که شدیداً در تولید بیومس ریز جلبکی و برداشت مواد مغذی موثر است. تلاش‌های اخیر برای استفاده از فاضلاب‌ها بیانگر آن است که مناسب‌ترین فاضلاب‌ها با نسبت مناسب نیتروژن به فسفر شامل پساب‌های صنایع لبنی، خوک‌داری، فاضلاب‌های خانگی و فاضلاب‌های شهری بعد از هضم بی هوازی می‌باشد (Gonçalves et al., 2017). مکانیزم‌های برداشت مواد مغذی که موجب بهینه شدن فرایند تصفیه فاضلاب می‌شوند شامل سیکل کلوین برای برداشت دی اکسیدکربن، متابولیسم پایه تنفسی برای برداشت کربن آلی، کاهش یون‌های نیترات به آمونیوم، تبدیل مستقیم یون‌های آمونیوم به آمینو اسیدها و فسفریلاسیون برای برداشت یون‌های فسفر است.

چالش‌هایی که به کارگیری این رویکرد با تمرکز بر کنسرسیوم‌های ریزجلبکی برای کشت بزرگ مقیاس با آن‌ها مواجه است توسط Gonçalves و همکاران (۲۰۱۷) بررسی شده است. آن‌ها گام‌های چندگانه‌ای را برای انتخاب میکروارگانیسم‌های مناسب و جلبک‌ها پیش از به کارگیری رویکرد کنسرسیوم مطرح کرده‌اند. مطالعات آتی برای کشف ترکیبات مناسب کنسرسیوم و برای طراحی جمعیت‌های میکروبی لازم است تا یکی از گونه‌ها به‌طور خاص برای برآورده کردن ملزومات کشت اصلاح شود. مثال‌هایی از برخی چالش‌ها که باید مورد نظر قرار گیرند شامل نگهداری طولانی مدت کشت‌ها، نگهداری بهره‌وری طولانی مدت، اطمینان از عملکرد پایدار و تنظیمات جزئی عملکردی در طی زمان می‌باشد. اگرچه چالش‌های متعدد دیگری پیشروی این فناوری است اما مزایای این کشت برتری و تداوم آن را در مقایسه با استفاده از آب‌های شور و شیرین روشن می‌سازد (Gonçalves et al., 2017).

مقایسه گونه‌های مختلف ریزجلبکی به جهت آب‌های مورد استفاده در کشت: عملکرد گونه‌های مختلف ریزجلبکی در آب‌های شیرین یا شور در هنگام کشت متفاوت است. تحقیقات اخیر بر روی هر دو نوع از ریزجلبک‌ها جهت تعیین تطابق ریزجلبک‌های مشخص با اهداف مختلف انجام شده است. برخی از گونه‌ها جهت تولید بیودیزل مناسب هستند در حالی که سایر آن‌ها بیشتر برای تولید چربی و یا استفاده در مکمل‌های غذایی مناسب هستند. گونه *Chlorella sorokiniana* یکی از ریزجلبک‌های آب‌های شیرین با پتانسیل بالا به سبب رشد کارا و قابلیت برداشت سریع مواد مغذی است. آزمایشات اخیر حاکی از عملکرد خوب این گونه در کشت‌های فاضلابی است. با محدود کردن منابع نیتروژن در کشت این گونه ۵۰ درصد افزایش بهره‌وری چربی در مقایسه با کشت کنترلی گزارش شده است (Babu et al., 2017). در حالی که برای گونه‌های مشابه *Chlorella vulgaris* نتایج متضادی به دست آمده و منابع بالای نیتروژنی در مقایسه با منابع محدود نتایج بهتری در تولید چربی دارد. تحقیقات نشان دادند که منبع اولیه نیتروژن جهت افزایش بهره‌وری چربی بسیار مهم است (Li et al., 2016). جنس *Scenedesmus* در تصفیه فاضلاب بسیار موثر است. در مطالعه توسط Nwoba و همکاران (2016) هر دو گونه *Scenedesmus* و *Chlorella* در فاضلاب خوک‌داری به کار گرفته شدند. غلظت

متوسط آمونیاک برای ریزجلبک‌ها سمی بوده اما نتایج تحقیق نشان داد که بیومس تولید شده جهت تغذیه حیوانی مناسب بوده و می‌تواند برای مصارف بیوانرژی به کار گرفته شود (Nwoba et al., 2016). بر پایه این نتایج مشاهده می‌شود که ریزجلبک‌های آب‌های شور کشت مناسبی در شرایط کشت فاضلابی دارند اما محتوای متفاوت مواد مغذی، نرخ رشد مختلف و تولید متفاوت بیومس دیده می‌شود. این فاکتورها برای انتخاب آن‌ها بسیار حیاتی است زیرا این گونه‌ها می‌توانند بر اساس ویژگی‌هایشان در صنایع مختلفی به کار گرفته شوند. در انتها شایان ذکر است که بدلیل تطبیق مناسب ریزجلبک‌های مختلف با محیط‌های فاضلابی، تحقیقات بیشتری در این زمینه موجب ارتقاء فرآیند و رسیدن به حالت بهینه برای تصفیه فاضلاب خواهد بود.

مشخصات رشد و شرایط کشت: مشخصات رشد و ترکیب سلولهای ریزجلبکی به شدت تحت تاثیر شرایط کشت می‌باشد (Chojnacka and Marquez-Rocha, 2004). شرایط کشت مختلف منابع مغذی و منابع انرژی متفاوتی را نیاز دارند. رشد ریز جلبک‌ها در شرایط مختلف کشت منجر به تفاوت در محتوای چربی و بهره‌وری زیست‌توده خواهد شد. هرچند محتوای چربی تنها فاکتوری نیست که برای قابلیت تولید روغن از ریزجلبک منظور می‌گردد. زیرا دستیابی به محتوای بالای چربی اغلب به سبب کاهش بهره‌وری بیومس پرهزینه است. بنابراین هر دو مورد محتوای چربی و بهره‌وری بیومس باید به‌طور همزمان مورد نظر قرار گیرند. لذا بهره‌وری چربی که بیانگر ترکیب اثرات محتوای چربی و بهره‌وری بیومس است یک شاخص عملگری مناسب‌تر برای قابلیت تولید روغن از ریزجلبک‌هاست (Chen et al., 2011). ریزجلبک‌ها برای پاکسازی محیط اطراف از مواد یا منابع مغذی سازگار شده‌اند و به وسیله مصرف و ذخیره سازی این مواد بهره‌وری استفاده از منابع مغذی را افزایش می‌دهند. آن‌ها بسته به شرایط محیط‌زیستی قادر به انتقال متابولیک هستند (Mata et al., 2010).

چهار دسته اصلی شرایط کشت عبارتند از کشت فتوتروفیک، کشت هتروتروفیک، کشت میکسوتروفیک و کشت فتوهتروتروفیک (Che et al., 2016). مزایا و معایب هر یک از آنها، نوع منابع مواد مغذی، روش‌های کشت و سایر اطلاعات هر یک از شرایط کشت در ادامه مورد بحث و مقایسه جزئیات قرار خواهد گرفت و چکیده موارد در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳: مقایسه انواع روش‌های کشت (Chew et al., 2018).

روش کشت	منبع انرژی	منبع کربن	خطر آلودگی	بهره‌وری چربی	مقایسه
فتواتوتروفیک	نور	غیر آلی	کم، مناسب برکه‌های باز	محتوای چربی ۵-۶۸٪، گزارش مقدار mg/L/d ۱۷۹ برای کلرلا،	امکان نزدیکی به منابع CO_2 کارخانه‌ها، ادغام با کشت قارچ‌ها جهت بهره‌گیری از CO_2 تولیدی آنها، غلظت بیومسی کم
هتروتروفیک	ترکیب آلی	آلی	زیاد، بدلیل منابع کربن آلی پایه قند	بهره‌وری چربی بیشتر نسبت به فتواتوتروف، گزارش مقدار mg/L/d ۳۷۰۰ برای کلرلا،	هزینه بالای محیط کشت، گونه‌هایی با قابلیت رشد در هر دو روش فتواتوتروفیک و هتروتروف و رفع مشکلات محدودیت نوری و کاهش بیومس، کربنی مانند ساکاروز، گلوکز، لاکتوز، گالاکتوز، گلیسیرول و فروکتوز
میکسوتروفیک	نور	آلی و غیر آلی	زیاد، بدلیل منابع کربن آلی پایه قند	بهره‌وری بیومس و چربی بالاتر از میکسوتروفیک،	گونه‌هایی با قابلیت حیات در هر دو شرایط فتواتوتروفیک و هتروتروفیک، امکان استفاده از CO_2 تولیدی فاز تنفس در هنگام حضور نور

فتوهتروتروفیک	نور	آلی	زیاد، بدلیل منابع کربن آلی پایه قند	قابل استفاده در تولید سوخت زیستی، تصفیه فاضلاب، کاهش CO_2	افزایش هزینه‌های بهره‌وری و سرمایه گذاری به دلیل نیاز به یک طراحی خاص فتوبیوراکتور

کشت فتواتوتروفیک: کشت فتواتوتروفیک یکی از روش‌های کشت است که در آن منبع نور به عنوان انرژی دریافت شده و کربن غیرآلی مانند دی‌اکسیدکربن به‌عنوان منبع کربنی برای تشکیل انرژی شیمیایی توسط فرایندهای فتوسنتز بعدی استفاده می‌شود (Huang et al., 2010). این روش به‌عنوان قدیمی‌ترین و مرسوم‌ترین شرایط کشت برای رشد ریزجلبک‌ها شناخته می‌شود. در کشت فتواتوتروفیک بازه تغییرات محتوای چربی بسته به گونه بین ۵ تا ٦٨ درصد متغیر است (Chen et al., 2011). برای افزایش بیشتر محتوای چربی ریزجلبک‌ها در طی رشد، شرایط محدودیت نیتروژنی یا محدودیت مواد مغذی می‌تواند اجرا شود (Mata et al., 2010). شرایط محدودسازی نیتروژن منجر به افزایش انباشت چربی‌ها می‌شود اما برای دستیابی به بالاترین مقدار بهره‌وری چربی، تنظیم و چیدمان بین محتوای چربی افزایش یافته و زمان برداشت اهمیت زیادی دارد (Widjaja et al., 2009). بالاترین بهره وری چربی ریزجلبک‌ها که تحت شرایط کشت فتواتوتروفیک در مقالات گزارش شده است برابر ۱۷۹ میلی‌گرم بر لیتر در روز برای گونه کلرلا با ۲ درصد دی‌اکسید کربن و ۰/۲۵ vvm هوادهی بوده است (Chiu et al., 2008). از آنجایی که در کشت فتواتوتروفیک، دی اکسید کربن موجود در اتمسفر به عنوان تنها منبع کربن برای رشد سلول وجود دارد، این کشت می تواند در کاهش دی‌اکسیدکربن جهانی دخیل باشد. لذا بهتر است محل‌های کشت در نزدیکی کارخانه‌ها یا نیروگاه‌ها احداث شود تا میزان بالایی از دی‌اکسیدکربن برای رشد بهتر ریزجلبک‌ها تامین گردد. زیرا این نوع کربن تنها منبع کربن موجود برای رشد است. ادغام کشت اتوتروفیک ریزجلبک‌ها با قارچ‌ها نیز انجام شده و در آن دی‌اکسیدکربن آزاد شده از کشت قارچ‌ها می‌تواند برای کشت ریز جلبک‌ها استفاده شود. این امر منجر به پایداری فرآیند کشت ریزجلبک‌ها به واسطه جذب دی‌اکسید کربن ایجاد شده از قارچ‌ها خواهد شد (Yen et al., 2016). قارچ، نرخ تثبیت بیولوژیکی کربن و تولید چربی را افزایش می‌دهد و بیودیزل تولید شده در مقایسه با سوخت‌های مشتق شده از کشت تک‌گانه، پایداری اکسیداتیو بهتری دارد (Shu et al., 2013). علاوه بر این خطر آلودگی در شرایط کشت اتوتروفیک در مقایسه با سایر روش‌های کشت به‌طور جدی کمتر است. بنابراین اغلب توصیه می‌شود که کشت‌های بزرگ مقیاس روباز برای ریزجلبک‌ها (برکه‌های روباز) با استفاده از شرایط فتواتوترفیک اجرا شود تا مشکلات آلودگی ایجاد نگردد. هرچند به واسطه آن که غلظت بیومس ریزجلبکی برداشت شده در این شرایط همواره کم است هزینه برداشت ریزجلبک بالاست (Cheirsilp and Torpee, 2012).

کشت هتروتروفیک: کشت هتروتروفیک شرایطی است که در آن ریزجلبک‌ها ترکیبات آلی را به عنوان هر دو منبع کربن و انرژی استفاده می‌کنند (Chojnacka and Marquez-Rocha, 2004). برخی گونه‌های ریزجلبکی قادرند هم در شرایط فتواتوتروفیک که نیازمند یک منبع نور است و هم در شرایط هتروتروفیک که نور حضور ندارد رشد کنند. لذا مشکلات مرتبط با منابع محدود نوری در فتوبیوراکتورهای بزرگ مقیاس کشت اتوتروفیک که مانع چگالی بالای سلولی می‌شوند با استفاده از کشت‌های هتروتروفیک قابل حل است (Huang et al., 2010). با استناد به ارجاعات بسیاری

از محققین مشخص است که مقادیر بیومس بالاتر و بهره‌وری بیشتر چربی از ریزجلبک‌هایی که توسط شرایط کشت هتروتروفیک رشد کردند قابل استحصال است.

برخی گونه‌های ریزجلبکی، محتوای چربی بالاتری با استفاده از کشت‌های هتروتروفیک ایجاد می‌کنند. به عنوان مثال *Chlorella protothecoides* در اثرتغییر شرایط کشت از فتواتوتروفیک به هتروتروفیک ٤٠ درصد افزایش در محتوای چربی نشان داده است (Cheirsilp and Torpee, 2012).

منابع متعددد کربنی مانند ساکاروز، گلوکز، لاکتوز، گالاکتوز، گلیسیرول و فروکتوز می‌توانند در طی رشد به وسیله ریزجلبک‌ها مصرف شوند (Liang et al., 2009). اخیرا یک منبع کربن آلی ارزان‌تر به نام پودر ذرت هیدرولیز شده (CPH) مورد تحقیق و بررسی قرار گرفته است. این ماده منجر به بیومس بالاتر (۲ گرم در لیتر در روز) و بهره‌وری چربی بیشتر در کشت هتروترفیک *Chlorella protothecoides* شده است (Xu et al., 2006). در طی شرایط کشت هتروتروفیک، بیشترین بهره‌وری چربی (۳۷۰۰ میلی‌گرم در لیتر در روز) در شرایط استفاده از یک راکتور تخمیر ۵ لیتری بچ ارتقاء یافته گزارش شده است (Xiong et al., 2008). هر چند یکی از موانع اصلی این شرایط کشت آن است که در اغلب موارد کشت‌های مبتنی بر کربن آلی بر پایه قند دارای خطر آلودگی هستند (Chen et al., 2011). بنابراین فرایند کشت بزرگ مقیاس روباز در این شرایط توصیه نشده و بیوراکتورهای میکروبی مرسوم یا فرمانتورهای بسته محیط‌های کشت مناسبی برای این روش خواهد بود. همچنین استفاده از ترکیبات آلی به‌عنوان منابع انرژی و کربن مستلزم هزینه بیشتر محیط کشت و در نتیجه افزایش هزینه تمام شده در شرایط کشت هتروتروفیک است.

کشت میکسوتروفیک: شرایط کشت میکسوتروفیک زمانی روی می‌دهد که ریزجلبک فتوسنتز را به عنوان منبع اصلی انرژی انجام داده و هر دو نوع کربن غیرآلی (CO_2) و ترکیبات آلی را به عنوان منبع کربن برای رشد استفاده می‌کند. گونه‌های ریزجلبکی که برای کشت میکسوتروفیک مناسب هستند، می‌توانند بسته به غلظت ترکیبات آلی و شدت نور در دسترس تحت هر دو شرایط فتواتوتروفیک یا هتروتروفیک زنده بمانند (Kong et al., 2012). ریز جلبک‌ها ترکیبات کربن آلی و دی اکسید کربن را به عنوان منابع کربن جذب کرده و دی‌اکسیدکربن آزاد شده در طی تنفس نیز می‌تواند در هنگام حضور نور و طی شرایط کشت فتواتوتروفیک مجدداً استفاده شود (Mata et al., 2010). مشابه با شرایط کشت فتواتوتروفیک، این روش از کشت نیز می‌تواند در کاهش دی اکسید کربن جهانی مشارکت داشته باشد. استفاده از ترکیبات آلی مانند مواد مغذی مبتنی بر قند می تواند منجر به مشکلات آلودگی برای این شرایط کشت گردد. بنابراین یک فتوبیوراکتور بسته برای این نوع کشت استفاده می‌شود. علاوه بر این ریزجلبک‌هایی که تحت شرایط کشت میکسو تروفیک رشد کردند در مقایسه با شرایط کشت هتروتروفیک بهره‌وری بیومس و چربی بالاتری دارند (Shu and Tsai, 2016). هر چند به منظور تولید روغن کشت میکسوتروفیک نسبت به کشت‌های اتوتروفیک و فوتوآتوتروفیک کمتر استفاده می‌شود.

کشت فتوهتروتروفیک: کشت فتوهتروتروفیک که به نام‌های فتوارگانیتوفی، فتومتابولیسم و جذب نوری هم شناخته می‌شود، شرایط کشتی است که در آن ریزجلبک‌ها در حال استفاده از ترکیبات آلی به‌عنوان منبع کربن نیازمند نور نیز هستند (Mata et al., 2010). تفاوت اصلی بین فتوهتروتروفیک و میکسوتروفیک لزوم وجود نور در اولی به عنوان منبع

انرژی است در حالی که در کشت میکسوتروفیک مصرف ترکیبات آلی می‌تواند این هدف را تامین کند (Chen et al., 2011). بنابراین کشت فتوهتروتروفیک نیازمند هر دو منبع نور و قند به طور همزمان است (Chojnacka and Marquez-Rocha, 2004). اگرچه تولید برخی متابولیت‌های مفید با استفاده از این روش کشت افزایش می‌یابد اما تولید بیودیزل با این روش همچنان نادر است (Ogbonna et al., 1999). مشابه با شرایط کشت هتروتروفیک و میکسوتروفیک، مشکلات آلودگی در کشت‌های فتوهتروتروفیک نیز به واسطه ترکیبات آلی مبتنی بر قند به عنوان منابع کربن همچنان زیاد است. همچنین این نوع کشت نیازمند به یک طراحی خاص فتوبیوراکتور به عنوان محیط کشت در طی فرایند تجاری‌سازی است که منجر به افزایش هزینه‌های بهره‌وری و سرمایه‌گذاری این کشت می‌گردد. منابع مختلف کربن و انرژی در شرایط مختلف کشت استفاده می‌شود. بنابراین شاخص عملگری آن‌ها (چگالی سلولی) متفاوت است و شرایط تجاری سازی وابسته به شرایط مختلف عملگری و زیست محیطی متفاوت خواهد بود.

مقایسه روش‌های مختلف کشت: اگرچه تولید روغن از ریزجلبک به نوع گونه جلبکی وابسته است، اما انواع مختلف روش‌های کشت اشاره شده نشان دادند که شرایط کشت هتروتروفیک بهترین شرایط برای رشد جلبک‌ها است. کشت هتروتروفیک می‌تواند ریزجلبکی با بهترین بهرهوری چربی و بیومس را در مقایسه با رشد فتواتوتروفیک تولید نماید. این رویکرد همچنین به واسطه بیشینه کردن منفعت با توجه به تولید روغن از جلبک بسیار مورد توجه قرار گرفته است. هرچند مشکلات آلودگی چالش مهمی در شرایط کشت هتروتروفیک است زیرا به ویژه در سیستم‌های کشت باز امکان آلوده شدن بسیار بالا بوده که خود مانع بزرگی در تولید بزرگ مقیاس است. در کنار آن هزینه محیط کشت (ترکیبات کربن آلی) یک چالش از منظر تجاری است. کشت‌های فتواتوتروفیک که مرسوم‌ترین شرایط کشت هستند در سیستم‌های برکه باز به سادگی قابلیت افزایش مقیاس داشته و به واسطه مشارکت در کاهش دی‌اکسید کربن جهانی به وسیله تبدیل آن از گاز کارخانه‌ها و نیروگاه‌ها به روغن جزء فرایندهای دوستدار محیط زیست هستند. هرچند به لحاظ اقتصادی به واسطه بیومس کم و بهره‌وری پایین چربی مطلوب نخواهد بود. در کنار آن چگالی کم سلولی ریزجلبک‌ها در شرایط کشت فتواتوتروفیک منجر به افزایش هزینه‌های برداشت می‌شود. تمایل به سمت کشت‌های میکسوتروفیک و فتواتوتروفیک به واسطه توسعه فتوبیوراکتورهایی با طراحی خاص برای افزایش مقیاس بوده است که طبیعتا افزایش هزینه‌های سرمایه گذاری و عمل‌گری را در پی خواهد داشت.

فاکتورهای موثر بر کشت در محیط بازیافت شده: در کلیه صنایع بازیافت و استفاده مجدد همواره یکی از روش‌های دارای صرفه اقتصادی بوده است. در کشت ریزجلبک‌ها نیز، استفاده مجدد از محیط کشت جلبک‌ها پس از برداشت بیومس یکی از روش‌های کاهش هزینه کل فرآیند است که منجر به کاهش هزینه‌های تصفیه و پمپاژ آب می‌شود. هرچند ترکیبات محلول، بقایای سلول‌ها و میکروارگانیسم‌ها که در آب باقی می‌ماند می‌توانند بر نسل بعدی جلبک موثر باشد. با بررسی نتایج ۸۶ مطالعه برای تعیین فاکتورهای مختلفی که بر روی رشد جلبک در محیط بازیافت شده موثر است، مشخص شد که گونه جلبکی بیشترین تاثیر و روش برداشت کمترین تاثیر را بر روی خروجی‌های رشد دارا می‌باشد. برپایه آزمایشات انجام شده نرخ رشد مخصوص و غلظت بیومس به‌طور قابل ملاحظه‌ای در محیط‌های بازیافت

شده کاهش می‌یابد. اما در برخی موارد جلبک‌ها در محیط بازیافتی در مقایسه با محیط تازه رشد مطلوب تری داشتند (Loftus and Johnson, 2017). هرچند اثرات محیط بازیافت شده بر روی رشد جلبک‌ها اغلب وابسته به شرایط خاص بوده و در ارتباط با متغیرهای زیست محیطی یا روش‌های برداشت نیست، اما به نظر می‌رسد برخی از گونه‌ها و همچنین انتخاب فازهای رشد برای کشت در محیط بازیافت شده مناسب‌تر باشند.

در سطح جنس، *Arthrospira*، *Desmodesmus*، *Hormotila* و *Tetraselmis* به دلیل تولید محیط کشت بازیافت شده مناسب پیشتاز هستند. در سطح طبقه‌بندی (تاکسونومیک) بالاتر، دیاتومه‌ها احتمال بیشتری برای ایجاد محیط بازیافتی رشد دارند. برداشت کشت هنگامی که آن‌ها هنوز در فاز نمایی هستند توصیه می‌شود زیرا محیط بازیافت شده از این فاز تنها موردی بود که در آن نه غلظت زیست توده و نه سرعت رشد مخصوص، به طور قابل توجهی کاهش نیافت. برداشت در فاز نمایی می‌تواند در کشت‌های پیوسته و یا راکتورهای بسته رشد سریع ایجاد شود. اگرچه به نظر می‌رسد که روش برداشت بر روی پاسخ‌ها تاثیری ندارد، اما مطالعات با جزئیات بیشتری نشان می‌دهد که برداشت با روش‌های لخته سازی مشخصا می‌تواند به لحاظ هزینه‌ها، اجرایی بودن و پاسخ‌های مطلوب رشد بهینه باشد (Lecina et al., 2016; Jiexia Liu et al., 2013; Sing et al., 2014; White and Ryan, 2015; Wu et al., 2015).

پالایش محیط با کربن فعال بعد از ذخیره‌سازی منجر به پاسخ‌های رشد مطلوب‌تری در محیط بازیافتی می‌شود هرچند تصفیه و کربن فعال هنوز برای تولید سوخت‌های زیستی ارزان امکان پذیر نیست. تحقیقات آتی می تواند با به کارگیری فاکتورهای بهینه به سمت استفاده مجدد از محیط‌های رشد حرکت کند و امکان استفاده برای کشت‌های بزرگ مقیاس روباز و تولید پیش‌سازهای سوخت زیستی را بررسی کند. درجه بهینه برای بازیابی محیط کشت با انجام ارزیابی‌های چرخه عمر و آنالیزهای اقتصادی مشخص می‌شود (Loftus and Johnson, 2017).

اثرات تنش: کشت ریزجلبک‌ها نیازمند توجه به تنش است. این تنش به وسیله فعالیت‌هایی نظیر اختلاط، باز چرخش، هوادهی و یا پمپاژ ایجاد می‌شود که برای تسهیل انتقال جرم یا حرارت طراحی شده اند و یا توزیع نور در کشت را ایجاد می کنند. از یک سو تنش در ارتباط با هوادهی و اختلاط می باشد که هر دو برای کشت‌های ریز جلبکی اساسی بوده و در مزارع کشت بزرگ مقیاس بسیار حائز اهمیت است. اما از سوی دیگر تنش اضافی ممکن است باعث کاهش رشد سلول‌ها و بهره‌وری گردد و آسیب‌های جدی به سلول‌ها اعمال و حتی منجر به لیز شدن سلولی شود (Gallardo Rodríguez et al., 2012).

اصلی‌ترین فعالیت‌های ایجاد کننده تنش در طی فرآیند کشت در سه دسته کلی اختلاط مکانیکی، هوادهی و پمپاژ قرار می‌گیرند.

در این بخش منابع ایجاد تنش برشی را در سیستم‌های مختلف کشت بررسی کرده و توان تحمل گونه‌های مختلف ریز جلبکی و نیز فاکتورهای فیزیولوژیکی و شرایط زیست محیطی که بر روی حساسیت مقابل تنش برشی موثرند و رویکردهای ممکن برای کاهش اثرات این تنش مطالعه می‌شود. در حالت کلی جلبکهای سبز بیشترین تاب تحمل در مقابل تنش برشی را دارند که پس از آن‌ها سیانوباکتری‌ها، پتوفیت‌ها، جلبک‌های قرمز و دیاتوم‌ها قرار دارند. دینوفلاژلاها حساس‌ترین گونه‌ها به تنش هستند. حساسیت به تنش در ریزجلبک‌ها، اساساً توسط قدرت دیواره سلولی آن‌ها، ریخت

شناسی سلولی و حضور تاژک تعیین می‌شود. جریان‌های آشفته و اندازه و ویسکوزیته آن‌ها مهمترین پارامترهای اثرگذار بر روی تنش برشی اعمالی بر سلول‌های جلبکی در طی کشت هستند.

اختلاط کافی هم در کشت‌های آزمایشگاهی و هم در مزارع صنعتی ریزجلبکی بسیار حائز اهمیت است زیرا ریزجلبک‌ها در چگالی‌های سلولی بسیار بالاتر از زیستگاه‌های طبیعی رشد داده می‌شوند (Suh and Lee, 2003).

این اختلاط باعث چرخش سیال شده تا دستیابی به یک کشت معلق هموژن و نیز دسترسی تمام سلول‌ها به دی اکسید کربن، نور و سایر مواد مغذی تضمین گردد (Contreras et al., 1998; Hodaifa et al., 2010). همچنین مانع رسوب سلول‌ها شده (Leupold et al., 2013)، امکان حذف اکسیژن به عنوان یک محصول جانبی فتوسنتز را تسهیل می‌کند و از رشد سلول در دیواره راکتور جلوگیری می‌کند (Ramírez-Duque et al., 2012).

هوادهی دراغلب کشت‌های ریز جلبکی به ویژه کشت‌های بزرگ مقیاس و با اهداف عملکردی زیر در مورد نیاز است:

۱- تامین دی‌اکسیدکربن ۲- در نقش یک گاز جایگزین برای حذف اکسیژن تولید شده در اثر فتوسنتز ۳- در برخی موارد تامین کننده نیروی اختلاط و بازچرخش

هرچند بازچرخش سیال که توسط هوادهی صورت می گیرد ممکن است در محدوده مشخصی روی دهد، اما تنش در هوادهی اغلب به وسیله ترکیدن حباب‌های هوا ایجاد می‌شود که گاه می‌تواند منجر به به سایر انواع نیروهای مضر گردد مانند نیروی کششی در سطح کشت و جایی که جدایی فاز مایع و گاز روی می دهد (Chalmers, 2015).

پمپاژ سلول‌های معلق در سیستم‌های کشت بزرگ مقیاس به هدف نقل و انتقال، باز چرخش، اکسیژن‌زدایی و اختلاط صورت می‌گیرد. وقتی از پمپ‌های سانتریفیوژی استفاده شود تنش به وسیله سرعت بالای گردش پروانه‌های پمپ ایجاد می‌شود. این امر اغلب تنش بیشتری نسبت به همزن‌های مکانیکی را باعث می‌شود. بنابراین پمپ‌های ایرلیفت یک گزینه جایگزین محبوب به حساب می‌آید. در یک پژوهش با ایجاد یک سیستم آسانسوری جایگزین پمپاژ در یک فتوبیوراکتور ابداعی، نتایج مناسبی در کاهش آسیب‌های ناشی از این پمپ‌ها گزارش شده است (Sasan Ghobadian et al., 2018).

با توجه به موارد فوق مشخص است که ایجاد تنش در طی فرآیند کشت ناگزیر است. تحمل این تنش به فاکتورهای مختلفی وابسته است که در دو گروه صفات ذاتی گونه و شرایط محیطی موثر قابل تفکیک هستند. لذا در ادامه این به برخی فاکتورهای محیطی که بر تحمل تنش‌ها ریزجلبک‌ها موثر است اشاره می‌شود (Wang and Lan, 2018).

ویسکاسیته: میزان تنش تابعی از نرخ تنش و ویسکوزیته سیال است. برای سیالات نیوتنی مقدار لزجت ثابت است (Michels et al., 2010). برای سیالات غیرنیوتنی لزجت وابسته به نرخ تنش است (Nienow, 1998). کشت‌های ریزجلبکی غالباً در غلظت‌های پایین بیومس مشابه سیالات نیوتنی رفتار می‌کنند و رفتارهای غیرنیوتنی در آستانه غلظتی که وابسته به نوع گونه است روی می‌دهد (Bernaerts et al., 2017).

برای یک کشت با اختلاط مکانیکی، افزایش لزجت در یک نرخ ثابت همزن، بر نرخ نهایی تنش اثر نخواهد داشت. لذا تنش نهایی افزایش خواهد یافت. هرچند آشفتگی محیط کشت کاهش می‌یابد

زیرا عدد رینولدز به نسبت عکس ویسکوزیته وابسته است. در نتیجه اندازه گرداب‌های ادی افزایش می‌یابد. از آنجایی که سلول‌ها مستقیماً به وسیله تنش برشی ناشی از میکروادی‌ها در نزدیکی خود متاثر می‌شوند، اثرات لزجت برحسب اندازه نسبی میکروادی‌ها متفاوت می‌باشد. اگر اندازه طول ادی کوچکتر یا قابل مقایسه با سلول‌ها باشد، تنش برشی وارده به سلول‌ها به وسیله لزجت افزایش می‌یابد. اگر افزایش ویسکوزیته کشت باعث شود که اندازه همه میکروگرداب‌ها بزرگتر از سلول‌ها شود، آنگاه اثر سرعت برشی و تنش برشی روی این سلول‌ها کاهش می‌یابد و در نتیجه آسیب سلولی ناشی از تنش برشی کاهش می‌یابد (Sobczuk et al., 2006).

تغلیظ کننده‌ها: چسب یا ژل دانه اقاقیا (Locust bean gum) به‌عنوان یک تقویت کننده مرسوم برای افزایش لزجت کشت (Prajapati et al., 2013) بدون اثر بر تداوم زنده‌مانی استفاده شده است. هرچند اثرات مضر برای ریزجلبک مشابه توسط گروه دیگری از نویسندگان گزارش شده است (Michels et al., 2010).

افزایش در بهره‌وری سلولی برای گونه *Dunaliella* در اثر افزودن کربوکسی متیل سلولز (CMC[1]) یا آگار برای افزایش لزجت کشت گزارش شده و موثرتر بودن افزودن CMC نیز ذکر شده است (Silva et al., 1987). استفاده از CMC برای افزایش آستانه بحرانی هوادهی در دیاتوم *P. tricornutum* گزارش شده است (Mirón et al., 2003). همچنین در یک فتوبیوراکتور ایرلیفت افزایش بهره‌وری و آستانه نرخ هوادهی بحرانی با افزودن CMC بررسی شده است (Silva et al., 1987). نقش حفاظتی تغلیظ کننده در کشت با همزن توسط هوا گزارش شده است. در این مطالعه افزایش لزجت کشت منجر به کاهش آشفتگی و در نتیجه افزایش اندازه حباب‌ها شده و ترکیدن حباب‌های بزرگتر آسیب کمتری نسبت به حباب‌های کوچکتر ایجاد می‌کند (Mirón et al., 2003).

سورفکتانت‌ها: افزودن سورفکتانت مناسب در کشت‌ها می‌تواند سلول‌ها را در مقابل تنش برشی محافظت کند. به عنوان مثال Pluronic F68 (PF68) به عنوان یک سورفکتانت غیریونی به طور گسترده‌ای برای حفاظت سلول‌ها از آسیب ناشی از هوادهی و هم زدن استفاده شده است (Michaels et al., 1991) و موثر بودن آن در کاهش آسیب‌ها به سلول‌های شکننده ریزجلبکی گزارش شده است (Gallardo Rodríguez et al., 2011; Mirón et al., 2003). PF68 می‌تواند در غلظت‌های بالا برای سلول‌ها سمی باشد (Gallardo Rodríguez et al., 2011) و لذا غلظت بهینه برای حفاظت از تنش مخرب مورد نیاز است. اثر حفاظتی در کشت همزن‌دار با غلظت مناسب این ماده در مطالعات Gallardo Rodríguez و همکاران (۲۰۱۲) ارائه شده است. هرچند مشاهده شده که PF68 رشد *P.reticulatum* دینوفلاژلا حساس به تنش برشی را در کشت‌های ساکن مهار می‌کند و هنگامی که در غلظت‌های بالا به آن اضافه می‌شود، سلول‌ها را از بین می‌برد. همچنین افزودن PF68 منجر به کاهش تراوش غشای سلولی و افزایش رشد سلول در کشت‌های *C.reinhardtii* شده است (Zhao et al., 2016).

هرچند افزایش PF68 بر لزجت کشت اثر نمی گذارد و همچنین اثری بر روی آشفتگی ندارد، اما می‌تواند کشش سطحی را کاهش دهد. در واقع قادر است با کاهش چسبندگی سلول‌ها به حباب‌های هوا، باعث بالا رفتن حباب‌های هوا شده و در نتیجه مانع آسیب به سلول‌ها به وسیله ترکیدن حباب‌ها در سطح محیط گردد (Sobczuk et al., 2006).

1. Carboxy methyl cellulose

یک مکانیسم ممکن دیگر برای حفاظت شامل کاهش سیالیت غشا در سلول‌ها، افزایش انتقال جرم ناشی از کشش سطحی کاهش یافته و تثبیت غشاء می‌باشد که توسط ادغام سورفاکتانت با غشاء سلولی ایجاد می‌شود (Chisti, 2000).

دما: Mitsuhashi و همکاران (۱۹۹۵) نشان دادند که سطح تحمل تنش برشی در نرخ بیشینه تولید اکسیژن توسط اسپیرولینا با افزایش دما کاهش می‌یابد. این امر به خاطر تغییر در ساختار فیزیکی غشاء سلولی تحت افزایش دما است که ظرفیت پائین‌تر تنش را ایجاد می‌کند.

pH: فعالیت فتوسنتزی کلرلا در سرعت‌های مختلف نوک همزن و سطوح مختلف pH در پژوهشی بررسی شد (Leupold et al., 2013). در حالی که بیشینه فعالیت در بازه pH بین ٦/٧ تا ٨/٥ اتفاق افتاده، بیشترین فعالیت در سرعت ٠/٦٣ متر بر ثانیه در pH٦ و سرعت ١/٢٦ متر بر ثانیه در٨/٥ و ٧ pHروی داده است. ضمناً بیشینه فعالیت فتوسنتزی گونه *Scenedesmus obliquus* در سرعت ١/٥٧ متر بر ثانیه در ٧/٥ و ٦ pH و سرعت ١/٢٦ متر بر ثانیه در٧ pH مشاهده شده است. در حالی که تغییر در pH بر فعالیت کشت *C.vulgaris* به صورت ساکن بی‌تاثیر بوده اما کاهش فعالیت در pH ٦ و ٨,٥ در گونه *S.obliquus* مشاهده شده است.

Juhl و همکاران (٢٠٠٠) افزایش pH از ٨,٢ تا ٨,٥ را بر حساسیت تنش *L.polyedrum* بی تاثیر گزارش کرده است. هرچند گزارشات متعددی در این زمینه وجود ندارد اما اثرات مخرب ناشی از تغییر از pH بهینه برای یک گونه ریزجلبکی بر روی سلول‌ها بسیار بیشتر از اختلاط است.

ترکیب محیط کشت: برخی ریزجلبک‌ها می‌توانند کربنیک آنهیدراز خارج سلولی تولید کرده و HCO_3 را به‌عنوان منبع کربن استفاده کنند. در یک مطالعه اخیر مشاهده شده که تزریق ١٦٠ میلی‌مولار از $NaHCO_3$ در محیط کشت می‌تواند به میزان زیادی حساسیت سلول‌ها را افزایش دهد در حالیکه اثرات مخرب با افزایش نرخ چرخش همزن از ١٠٠ rpm تا ٣٠٠ rpm در یک مخزن فتوبیوراکتور همزن‌دار ٢/٥ لیتری گزارش شده است. از سوی دیگر تزریق NaCl با غلظت مشابه منجر به تغییر قابل ملاحظه‌ای در حساسیت نشد (J. Li et al., 2018).

تابش: در تابش پائین، افزایش بیشتر فعالیت فتوسنتزی در گونه *S. platensis* در اثر افزایش تنش از ٠ تا ٠,٦ پاسکال گزارش شده است (Mitsuhashi et al., 1995). با افزایش تابش، اثر تنش کمتر قابل مشاهده بوده و در حالت اشباع نوری قابل صرف نظر است. آشفتگی *S. platensis* را قادر می‌کند حول هسته خود چرخیده و امکان رسیدن نور به رنگیزه‌ها فراهم شود که در حالت طبیعی بواسطه ساختار حلزونی در سایه قرار دارد. بنابراین فعالیت فتوسنتزی تا زمان رسیدن به اشباع نوری قابل افزایش است (Mitsuhashi et al., 1995). کشت‌های مرحله‌ای جهت افزایش میزان بیومس در شدت بهینه تابش و سپس افزایش محتوای رنگیزه در شدت کم تابش در مطالعات دیگری آورده شده است (S Ghobadian et al., 2018).

به‌طور مشابه بازدارندگی رشد ناشی از تنش برای گونه *L. polydrum* با افزایش نور کاهش یافته است (Juhl et al., 2000). اثر تابش می‌تواند به دسترسی بیشتر نور برای فتوسنتز منسوب شود. هرچند حتی در کشت‌های با تابش بالا نرخ رشد فقط به دو سوم از کشت‌های بدون هم زدن می‌رسد.

Refrences

Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. and Ibraheem, I. (2012). Microalgae and wastewater treatment. Saudi J Biology Science, 19: 257–275.

Al Hattab, M., Ghaly, A. and Hammouda, A. (2015). Microalgae harvesting methods for industrial production of biodiesel: critical review and comparative analysis. Journal of Fundamentals of Renewable Energy and Applications, 5(2):1000154.

Álvarez-Díaz, P., Ruiz, J., Arbib, Z., Barragán, J., Garrido-Pérez, M. and Perales, J. (2017). Freshwater microalgae selection for simultaneous wastewater nutrient removal and lipid production. Algal Research, 24:477-485.

Babu, A. G., Wu, X., Kabra, A. N. and Kim, D. P. (2017). Cultivation of an indigenous Chlorella sorokiniana with phytohormones for biomass and lipid production under N-limitation. Algal Research, 23:178-185.

Bernaerts, T. M., Panozzo, A., Doumen, V., Foubert, I., Gheysen, L., Goiris, K. and Van Loey, A. M. (2017). Microalgal biomass as a (multi) functional ingredient in food products: Rheological properties of microalgal suspensions as affected by mechanical and thermal processing. Algal Research, 25:452-463.

Chalmers, J. J. (2015). Mixing, aeration and cell damage, 30+ years later: what we learned, how it affected the cell culture industry and what we would like to know more about. Current Opinion in Chemical Engineering, 10:94-102.

Che, R., Ding, K., Huang, L., Zhao, P., Xu, J.-W., Li, T. and Yu, X. (2016). Enhancing biomass and oil accumulation of Monoraphidium sp. FXY-10 by combined fulvic acid and two-step cultivation. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 67:161-165.

Cheah, W. Y., Ling, T. C., Show, P. L., Juan, J. C., Chang, J. S. and Lee, D. J. (2016). Cultivation in wastewaters for energy: a microalgae platform. Applied Energy, 179:609-625.

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.

Chen, C.-Y., Yeh, K.-L., Aisyah, R., Lee, D. J.and Chang, J. S. (2011). Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. Bioresource Technology, 102(1):71-81.

Chen, P., Min, M., Chen, Y., Wang, L., Li, Y., Chen, Q. and Cheng, Y. (2010). Review of biological and engineering aspects of algae to fuels approach. International Journal of Agricultural and Biological Engineering, 2(4):1-30.

Chew, K. W., Chia, S. R., Show, P. L., Yap, Y. J., Ling, T. C. and Chang, J. S. (2018). Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 91:332-344.

Chisti, Y. (2000). Animal-cell damage in sparged bioreactors. Trends in biotechnology, 18(10): 420-432.

Chiu, S. Y., Kao, C. Y., Chen, C. H., Kuan, T.C., Ong, S. C. and Lin, C. S. (2008). Reduction of CO2 by a high-density culture of Chlorella sp. in a semicontinuous photobioreactor. Bioresource Technology, 99(9):3389-3396.

Chojnacka, K. and Marquez-Rocha, F. J. (2004). Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. Biotechnology, 3(1):21-34.

Contreras, A., García, F., Molina, E. and Merchuk, J. (1998). Interaction between CO2-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of Phaeodactylum tricornutum in a concentric tube airlift photobioreactor. Biotechnology and Bioengineering, 60(3):317-325.

Duong, V.T., Li, Y., Nowak, E. and Schenk, P.M. (2012). Microalgae isolation and selection for prospective biodiesel production. Energies, 5(6):1835-1849.

Gallardo-Rodríguez, J., García-Camacho, F., Sánchez-Mirón, A., López-Rosales, L., Chisti, Y. and Molina-Grima, E. (2012). Shear-induced changes in membrane fluidity during culture of a fragile dinoflagellate microalga. Biotechnology Progress, 28(2):467-473.

Gallardo Rodríguez, J., Sánchez Mirón, A., García Camacho, F., García, C., Belarbi, E., Chisti, Y. and Molina Grima, E. (2011). Carboxymethyl cellulose and Pluronic F68 protect the dinoflagellate Protoceratium reticulatum against shear-associated damage. Bioprocess and Biosystems Engineering, 34(1):3-12.

Ghobadian, S., Ganjidoust, H., Ayati, B. and Soltani, N. (2018). Chlorophyll and Carotenoid Optimization of Spirulina Biomass by Innovative Photobioreactor. Modares Journal of Biotechnology, 9(3):483-494.

Ghobadian, S., Ganjidoust, H., Ayati, B. and Soltani, N. (2018). The innovative engineered photobioreactor to optimize the amount of microalgae Spirulina biomass. Nova Biol Repert, 5(1):13-25.

Gonçalves, A. L., Pires, J. C. and Simões, M. (2017). A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. Algal Research, 24:403-415.

Gouveia, L., Graça, S., Sousa, C., Ambrosano, L., Ribeiro, B., Botrel, E. P. and Silva, C. M. (2016). Microalgae biomass production using wastewater: treatment and costs: scale-up considerations. Algal Research, 16:167-176.

Greene, C.H., Huntley, M.E., Archibald, I., Gerber, L.N., Sills, D.L., Granados, J. and Bidigare, R.R. (2016). Marine microalgae: climate, energy, and food security from the sea. Oceanography, 29(4):10-15.

Guccione, A., Biondi, N., Sampietro, G., Rodolfi, L., Bassi, N. and Tredici, M. R. (2014). Chlorella for protein and biofuels: from strain selection to outdoor cultivation in a Green Wall Panel photobioreactor. Biotechnology for Biofuels, 7(1):1-12.

Hodaifa, G., Martínez, M. E., Órpez, R. and Sánchez, S. (2010). Influence of hydrodynamic stress in the growth of Scenedesmus obliquus using a culture medium based on olive-mill wastewater. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 49(11):1161-1168.

Huang, G., Chen, F., Wei, D., Zhang, X. and Chen, G. (2010). Biodiesel production by microalgal biotechnology. Applied Energy, 87(1):38-46.

Juhl, A. R., Velazquez, V. and Latz, M.I. (2000). Effect of growth conditions on flow-induced inhibition of population growth of a red-tide dinoflagellate. Limnology and Oceanography, 45(4):905-915.

Kalana, U., Kalpage, C. and Yatigammana, S. (2016). Evaluation of the suitable environmental conditions for selected freshwater microalgae species with the potential for the production of biodiesel. Ceylon Journal of Science, 45(3).

Kaspar, H.F., Keys, E.F., King, N., Smith, K.F., Kesarcodi-Watson, A. and Miller, M.R. (2014). Continuous production of Chaetoceros calcitrans in a system suitable for commercial hatcheries. Aquaculture, 420:1-9.

Kightlinger, W., Chen, K., Pourmir, A., Crunkleton, D. W., Price, G. L.and Johannes, T. W. (2014). Production and characterization of algae extract from Chlamydomonas reinhardtii. Electronic Journal of Biotechnology, 17(1):3-3.

Kilham, S., Kreeger, D., Goulden, C. and Lynn, S. (1997). Effects of nutrient limitation on biochemical constituents of Ankistrodesmus falcatus. Freshwater Biology, 38(3):591-596.

Kim, B.-H., Kang, Z., Ramanan, R., Choi, J. E., Cho, D. H., Oh, H. M. and Kim, H.-S. (2014). Nutrient removal and biofuel production in high rate algal pond using real municipal wastewater. Journal of Microbiology and Biotechnology, 24(8):1123-1132.

Kong, W.-B., Hua, S.-F., Cao, H., Mu, Y.-W., Yang, H., Song, H. and Xia, C.-G. (2012). Optimization of mixotrophic medium components for biomass production and biochemical composition biosynthesis by Chlorella vulgaris using response surface methodology. Journal

of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 43(3):360-367.

Kumar, K., Mishra, S. K., Shrivastav, A., Park, M. S. and Yang, J. W. (2015). Recent trends in the mass cultivation of algae in raceway ponds. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 51:875-885.

Lecina, M., Nadal, G., Solà, C., Prat, J. and Cairó, J.J. (2016). Optimization of ferric chloride concentration and pH to improve both cell growth and flocculation in Chlorella vulgaris cultures. Application to medium reuse in an integrated continuous culture bioprocess. Bioresource Technology, 216:211-218.

Lee, S.-J., Go, S., Jeong, G.-T. and Kim, S.-K. (2011). Oil production from five marine microalgae for the production of biodiesel. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 16(3):561-566.

Leupold, M., Hindersin, S., Gust, G., Kerner, M. and Hanelt, D. (2013). Influence of mixing and shear stress on Chlorella vulgaris, Scenedesmus obliquus, and Chlamydomonas reinhardtii. Journal of Applied Phycology, 25(2):485-495.

Li, J., Li, C., Lan, C. Q. and Liao, D. (2018). Effects of sodium bicarbonate on cell growth, lipid accumulation, and morphology of Chlorella vulgaris. Microbial Cell Factories, 17(1):1-10.

Li, T., Xu, J., Gao, B., Xiang, W., Li, A. and Zhang, C. (2016). Morphology, growth, biochemical composition and photosynthetic performance of Chlorella vulgaris (Trebouxiophyceae) under low and high nitrogen supplies. Algal Research, 16:481-491.

Liang, Y., Sarkany, N. and Cui, Y. (2009). Biomass and lipid productivities of Chlorella vulgaris under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. Biotechnology Letters, 31(7):1043-1049.

Liu, J. and Hu, Q. (2013). Chlorella: industrial production of cell mass and chemicals. Handbook of microalgal culture: Applied Phycology and Biotechnology, 327-338.

Liu, J., Zhu, Y., Tao, Y., Zhang, Y., Li, A., Li, T. and Zhang, C. (2013). Freshwater microalgae harvested via flocculation induced by pH decrease. Biotechnology for Biofuels, 6(1):1-11.

Loftus, S. E. and Johnson, Z. I. (2017). Cross-study analysis of factors affecting algae cultivation in recycled medium for biofuel production. Algal Research, 24:154-166.

Mata, T. M., Martins, A. A. and Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14(1):217-232.

Michaels, J.D., Petersen, J.F., Mclntire, L.V. and Papoutsakis, E.T. (1991). Protection mechanisms of freely suspended animal cells (CRL 8018) from fluid-mechanical injury. Viscometric and bioreactor studies using serum, pluronic F68 and polyethylene glycol. Biotechnology and Bioengineering, 38(2):169-180.

Michels, M. H., van der Goot, A.J., Norsker, N. H. and Wijffels, R. H. (2010). Effects of shear stress on the microalgae Chaetoceros muelleri. Bioprocess and Biosystems Engineering, 33(8):921-927.

Mirón, A.S., Garcıa, M. C.C., Gómez, A.C., Camacho, F.G., Grima, E.M. and Chisti, Y. (2003). Shear stress tolerance and biochemical characterization of Phaeodactylum tricornutum in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors. Biochemical Engineering Journal, 16(3):287-297.

Mitsuhashi, S., Hosaka, K., Tomonaga, E., Muramatsu, H. and Tanishita, K. (1995). Effects of shear flow on photosynthesis in a dilute suspension of microalgae. Applied microbiology and biotechnology, 42(5): 744-749.

Moed, N.M., Lee, D.J. and Chang, J.S. (2015). Struvite as alternative nutrient source for cultivation of microalgae Chlorella vulgaris. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 56:73-76.

Nienow, A. (1998). Hydrodynamics of stirred bioreactors.

Nwoba, E.G., Ayre, J.M., Moheimani, N.R., Ubi, B.E. and Ogbonna, J.C. (2016). Growth comparison of microalgae in tubular photobioreactor and open pond for treating anaerobic digestion piggery effluent. Algal Research, 17:268-276.

Ogbonna, J.C., Tomiyama, S. and Tanaka, H. (1999). Production of α-tocopherol by sequential heterotrophic-photoautotrophic cultivation of Euglena gracilis Progress in Industrial Microbiology, 35: 213-221, Elsevier.

Otero, A. and Fábregas, J. (1997). Changes in the nutrient composition of Tetraselmis suecica cultured semicontinuously with different nutrient concentrations and renewal rates. Aquaculture, 159(1-2): 111-123.

Prajapati, V.D., Jani, G.K., Moradiya, N.G., Randeria, N.P., Nagar, B.J., Naikwadi, N.N. and Variya, B.C. (2013). Galactomannan: a versatile biodegradable seed polysaccharide. International Journal of Biological Macromolecules, 60:83-92.

Ramírez-Duque, J.L., Marín-Quintero, D.A. and García-Pulido, C.H. (2012). Evaluation of microalgal mortality in a centrifugal pump of a tubular photobioreactor. Ingeniería y Universidad, 16(2):333-347.

Shu, C.H. and Tsai, C.C. (2016). Enhancing oil accumulation of a mixed culture of Chlorella sp. and Saccharomyces cerevisiae using fish waste hydrolysate. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 67:377-384.

Shu, C.H., Tsai, C.C., Chen, K.Y., Liao, W.H. and Huang, H.C. (2013). Enhancing high quality oil accumulation and carbon dioxide fixation by a mixed culture of Chlorella sp. and Saccharomyces cerevisiae. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 44(6): 936-942.

Silva, H.J., Cortifas, T. and Ertola, R.J. (1987). Effect of hydrodynamic stress on Dunaliella growth. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 40(1):41-49.

Sing, S.F., Isdepsky, A., Borowitzka, M. and Lewis, D. (2014). Pilot-scale continuous recycling of growth medium for the mass culture of a halotolerant Tetraselmis sp. in raceway ponds under increasing salinity: a novel protocol for commercial microalgal biomass production. Bioresource Technology, 161:47-54.

Siron, R., Giusti, G. and Berland, B. (1989). Changes in the fatty acid composition of Phaeodactylum tricornutum and Dunaliella tertiolecta during growth and under phosphorus deficiency. Marine Ecology Progress Series, 95-100.

Sobczuk, T.M., Camacho, F.G., Grima, E.M. and Chisti, Y. (2006). Effects of agitation on the microalgae Phaeodactylum tricornutum and Porphyridium cruentum. Bioprocess and Biosystems Engineering, 28(4):243-250.

Stockenreiter, M., Haupt, F., Seppälä, J., Tamminen, T. and Spilling, K. (2016). Nutrient uptake and lipid yield in diverse microalgal communities grown in wastewater. Algal Research, 15:77-82.

Suh, I.S. and Lee, C.G. (2003). Photobioreactor engineering: design and performance. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 8(6):313-321.

Wang, C. and Lan, C. Q. (2018). Effects of shear stress on microalgae–A review. Biotechnology Advances, 36(4):986-1002.

Wei, N., Quarterman, J. and Jin, Y.-S. (2013). Marine macroalgae: an untapped resource for producing fuels and chemicals. Trends in Biotechnology, 31(2):70-77.

White, R.L., and Ryan, R.A. (2015). Long-term cultivation of algae in open-raceway ponds: lessons from the field. Industrial Biotechnology, 11(4):213-220.

Widjaja, A., Chien, C.-C. and Ju, Y.H. (2009). Study of increasing lipid production from fresh water microalgae Chlorella vulgaris. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 40(1):13-20.

Wu, J., Liu, J., Lin, L., Zhang, C., Li, A., Zhu, Y. and Zhang, Y. (2015). Evaluation of several flocculants for

flocculating microalgae. Bioresource Technology, 197:495-501.

Xiong, W., Li, X., Xiang, J. and Wu, Q. (2008). High-density fermentation of microalga Chlorella protothecoides in bioreactor for microbio-diesel production. Applied Microbiology and Biotechnology, 78(1):29-36.

Xu, H., Miao, X. and Wu, Q. (2006). High quality biodiesel production from a microalga Chlorella protothecoides by heterotrophic growth in fermenters. Journal of Biotechnology, 126(4):499-507.

Yamaguchi, K., Nakano, H., Murakami, M., Konosu, S., Nakayama, O., Kanda, M. and Iwamoto, H. (1987). Lipid composition of a green alga, Botryococcus braunii. Agricultural and Biological Chemistry, 51(2):493-498.

Yen, H.W., Hsu, C.Y. and Chen, P.W. (2016). An integrated system of autotrophic Chlorella vulgaris cultivation using CO_2 from the aerobic cultivation process of Rhodotorula glutinis. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 62:158-161.

Yu, C.C., Chen, H.W., Chen, M.J., Chang, Y.C., Chien, S.C., Kuo, Y.H. and Yu, H.H. (2010). Chemical composition and bioactivities of the marine alga Isochrysis galbana from Taiwan. Natural Product Communications, 5(12):1934578X1000501222.

Zhao, X., Jarboe, L. and Wen, Z. (2016). Utilization of pyrolytic substrate by microalga Chlamydomonas reinhardtii: cell membrane property change as a response of the substrate toxicity. Applied Microbiology and Biotechnology, 100(9):4241-4251.

Journal of Plant Environmental Physiology, Serial 63, 16th year, Number 3, Autumn 2021
Doi: 10.30495/iper.2022.689654
Dor: 20.1001.1.24237671.1400.16.64.5.10

Advanced factors affecting microalgae large-scale cultivation and their effects on productivity improvement

Sasan Ghobadian[1], Neda Soltani[2]*
[1]Department of Environmental Engineering, Faculty of Civil and Environmental Engineering, Malayer National University, Malayer, Iran
[2]Department of Petroleum Microbiology, Research Institute of Applied Sciences, ACECR, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received date: 2021/11/11 Accepted date: 2021/12/26

Abstract

Perhaps talking about the use of microalgae species in various fields, global approaches to increase the productivity and achieving economic superiority alongside great environmental benefits is superfluous. Some of these factors such as illumination conditions, temperature, nutrient concentration, CO_2 content and the like have been researched befor. Therefore, in this article, simply review researches that focuses on some less tested factors but with significant effects on increasing culture productivity, especially on a large scale. Therefore, at first, different cultivation environments including fresh water, sea water and sewage for use in mass cultivation are described and compared and the superior species of each environment are introduced. Then different culture methods including photototrophic, heterotrophic, mixotrophic and photothetrophic were compare. Reuse of recycled water for microalgae cultivation process to reduce treatment and pumping costs and related challenges is considered. Finally, the effect of shear stresses (coused by equipments and is a major concern in large-scale cultivation) on cultivation productivity and ways to reduce these effects is considered.

Keywords: Recycled water in cultivation, Shear stress in microalgae, Large-scale cultivation, Cultivation of microalgae, Culture medium

*Corresponding author; nedasoltan@irias.ac.ir