Plant Environmental Physiology
Print ISSN: 7671-2423
Online ISSN: 2783-4689
Phycological Society of Iran

Effect of different environmental conditions on optimal cell density, biomass production, lipid and biodiesel production in Desmodesmus microalgae

Abulfazl Niazkhani[1], Ahmad Mohamadi[2]*, Hamid Mashhadi[3], Fahimeh Mahmoudnia[4]

[1]Department of Bio-system Engineering in Renewable Energy, Arak branch, Islamic Azad University, Arak, Iran, Email: a.niazkhani64@gmail.com
[2] Department of Bio-system mechanical, Arak branch, Islamic Azad University, Arak, Iran, Email: a-mohamady@iau-arak.ac.ir
[3] Department of Bio-system mechanical, Arak branch, Islamic Azad University, Arak, Iran, Emai: h-mashhadi@iau-arak.ac.ir
[4] Scientific member of Shahid Beheshti university, Qom, Iran, Email: f.mahmoudnia@cfu.ac.ir

Serial 68, 17th year, Number 4, Winter 2023 (37-54)

Article type:
Research Full Paper

Article history
Received: 11.12.2021
Revised: 21.02.2022
Accepted: 28.02.2022
Published:24.12.2022

Keywords
pH
Biofuel
Radiation intensity
Salinity
Temperature

Abstract

Microalgae are diverse group of simple organisms, which are incorporated in pharmaceutical, cosmic, nutritional and biodiesel productions. The amount of growth in microalgae is affected by physical and chemical conditions of growth environment. In commercial scale in order to achieve highest amount of biomass or biodiesel, it is necessary to use culture media with proper combination of materials. Therefore, in this study, effects of different values of temperature, light intensity, lighting period, saltiness and pH were tested by their effect on cell concentration, biomass, lipid and biodiesel production in desmodesmus microalgae. As a result, the best temperature for increase in cell concentration of microalgae was 25 degree of Celsius, light intensity of 4500 lux, light period of 17 hours, saltiness of 5 ppm and pH of 8. The highest amount of biomass was achieved in light intensity of 3000 lux, 18 hours of lighting, saltiness of 5 ppm and pH of 9. The highest amount of lipid was produced at temperature of 26, light intensity of 4200 lux, lighting period of 16 hours, saltiness of 12 and pH of 9. Finally, the highest amount of biodiesel was produced at temperature of 26, light intensity of 4200, lighting period of 16 hours, saltiness of 11 and pH of 9.

Please cite this article as: Niazkhani,A., Mohamadi,A., Mashhadi, H., Mahmoudnia, F. (2023). Effect of different environmental conditions on optimal cell density, biomass production, lipid and biodiesel production in Desmodesmus microalgae. *Journal of Plant Environmental Physiology.* 68(4): 37-54.

© 2023. All Rights Reserved
Doi: 10.30495/iper.2022.1946872.1754
Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.68.6.5

فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا چاپی: ۷۶۷۱-۲۴۲۳
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۸۹
PSI
انجمن جلبک شناسی ایران
Phycological Society of Iran
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد گرگان

تاثیر شرایط محیطی مختلف در میزان بهینه تراکم سلولی، تولید زیست توده، تولید لیپید و بیودیزل در میکروجلبک Desmodesmus

ابوالفضل نیازخانی[۱]، احمد محمدی[۲*]، حمید مشهدی[۳]، فهیمه محمودنیا[٤]

[۱] گروه مهندسی بیوسیستم گرایش انرژی‌های تجدید پذیر، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران، رایانامه: a.niazkhani64@gmail.com
[۲] گروه مهندسی بیوسیستم، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران، رایانامه: a-mohamady@iau-arak.ac.ir
[۳] گروه مهندسی بیوسیستم، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران، رایانامه: h-mashhadi@iau-arak.ac.ir
[٤] دانشگاه شهید بهشتی قم، قم، ایران، رایانامه: f.mahmoudnia@cfu.ac.ir

سال هفدهم، شماره ۶۸، زمستان ۱۴۰۱ / صفحات: ۵۴-۳۷

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۰۹/۲۰
تاریخ بازنگری: ۱٤۰۰/۱۲/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۱۲/۰۹
تاریخ چاپ: ۱٤۰۱/۱۰/۰۳

واژه‌های کلیدی:
اسیدیته محیط
سوخت زیستی
شدت تابش
شوری
دما

چکیده

میکروجلبک‌ها گروه بزرگی از موجودات ساده می‌باشند که در صنایع دارویی، آرایشی، بهداشتی، غذایی و تولید بیودیزل نقش دارند. میزان رشد میکروجلبک‌ها تحت تاثیر شرایط محیط فیزیکی و شیمیایی محیط رشد قرار می گیرد. در مقیاس تجاری به منظور دستیابی به بالاترین میزان زیست توده و یا افزایش میزان تولید سوخت زیستی، استفاده از محیط های کشت با ترکیبات مناسب ضروری است. بنابراین در این پژوهش تاثیر مقادیر مختلف دما، شدت تابش نور،مدت تابش نور، شوری و اسیدیته بر تراکم سلولی، تولید زیست توده، تولید لیپید و بیودیزل میکروجلبک Desmodesmus بررسی شد. در این مطالعه بهترین دما برای افزایش تراکم سلولی جلبک دسمودسموس، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ٤۵۰۰ لوکس، ۱۷ ساعت نوردهی، شوری برابر با ppm ۵ و pH ۸ به دست آمد. بیشترین میزان زیست توده تولیدی در شدت تابش نور ۳۰۰۰ لوکس،مدت تابش برابر با ۱۸ ساعت، شوری برابر با ppm ۵ و pH برابر با ۹ به دست آمد. بالاترین میزان تولید لیپید در دمای ۲٦ درجه سانتی گراد، شدت تابش نور برابر با ٤۲۰۰ لوکس، مدت تابش برابر با ۱٦ ساعت، شوری برابر با ppm ۱۲ و pH برابر با ۹ بود. بالاترین بیودیزل تولید شده در دمای ۲٦ درجه سانتی گراد، شدت تابش نور ٤۲۰۰ لوکس، مدت تابش نور برابر با ۱٦ ساعت، شوری برابر با ۱۱ و اسیدیته برابر با ۹ مشاهده گردید.

استناد: نیازخانی، ا.، محمدی، ا.، مشهدی، ح.، محمودنیا، ف. (۱٤۰۱). تاثیر شرایط محیطی مختلف در میزان بهینه تراکم سلولی، تولید زیست توده، تولید لیپید و بیودیزل در میکروجلبک Desmodesmus. *نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ٦۸ (٤)، ٥٤-۳۷.

Doi: 10.30495/iper.2022.1946872.1754
Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.68.6.5

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

میکروجلبک‌ها گروه بزرگی از موجودات ساده را تشکیل می‌دهند که نقش مهمی در تثبیت نیتروژن فسفر و کربن دارند (Moreno and Garrido, 2008). این موجودات به دلیل دارا بودن ترکیباتی مانند بتاکاروتن، آستاگزانتین، ویتامین و اسیدهای چرب در صنایع دارویی، آرایشی، بهداشتی و غذایی کاربرد فراوانی دارند (Meireles et al., 2003). از دیگر کاربردهای آنها می‌توان به تولید بیودیزل اشاره کرد (Ratledge and Cohen, 2008). میکروجلبک‌ها به عنوان فن آوری نسل سوم به منظور تولید سوخت زیستی در طبیعت محسوب شده و به عنوان منبع تولید انرژی زیستی تجدید پذیر محسوب می‌شوند (Deniz, 2020). میزان رشد میکروجلبک‌ها تحت تاثیر شرایط محیط فیزیکی شیمیایی محیط رشد قرار می‌گیرد (Naderi Farsani, et al., 2015). همانگونه که پژوهشگران بسیاری گزارش نموده‌اند، ارتباط زیادی بین شرایط محیط کشت و میزان تولید ریزجلبک‌ها وجود دارد (Sanchez et al., 2000). بنابراین در مقیاس تجاری به منظور دستیابی به بالاترین میزان زیست توده و بهبود ارزش غذایی و یا افزایش میزان تولید سوخت زیستی، استفاده از محیط‌های کشت با ترکیبات مناسب ضروری است. در سال‌های اخیر مطالعات زیادی به منظور بهبود محیط کشت برای پرورش میکروجلبک‌ها انجام شده است (Fabregas et al., 2000; Imamogul et al., 2007).

Desmodesmus: جلبک سبز تک سلولی متعلق به تیره Scenedesmaceae و رده Chlorophyceae می‌باشد (Hegewald, 1997). این میکروجلبک علاوه بر نقشی که در زنجیره غذایی و تغذیه ژتوپلانتکون‌ها و ماهی‌ها دارد به عنوان شاخص زیستی برای مطالعات بوم شناختی، فیزیولوژیکی و میزان مواد مغذی آب‌ها استفاده می‌شود. این میکروجلبک اهمیت اقتصادی در زمینه‌های غذایی، دارویی، ویتامینی و غیره دارد (Naderi Farsani et al., 2015). با توجه به کابردهای بیان شده امکان رشد سریعتر و ارزان تر جلبک همواره وجود دارد. بنابراین در این تحقیق تاثیر شرایط مختلف محیط کشت بر تولید این میکروجلبک بررسی می شود تا بتوان شرایطی را یافت که تحت آن تولید میکروجلبک به حداکثر مقدار خود می رسد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی میکروجلبک: ریزجلبک دسمودسموس از جهاد دانشگاهی مشهد تهیه شد. برای کشت آن از محیط کشت عمومی BBM[1] و ظرف‌های شیشه‌ای یک لیتری از پیش استریل استفاده شد (Andersen, 2005). از محصولات شرکت مرک برای تهیه محیط کشت استفاده گردید. دمای آبی که ریز جلبک دسمودسموس در آن قرار داده شد بین ۲۲ تا ۲۵ درجه سلسیوس بود. برای نوردهی از تابش لامپ‌های فلورسنت با شدت ۳۰۰۰ لوکس استفاده گردید. هوادهی نیز با پمپ آکواریم مدل آکوا انجام گردید. پس از ۵ روز، ۱۰۰سی‌سی از ریزجلبک به هریک از محیط‌های آماده در فتوبیوراکتور منتقل شد. کنترل عوامل محیطی در مرحله دوم تولید در فتوبیوراکتور لوله‌ای عمودی انجام گردید (Afsharbakhsh et al., 2020). فاکتورها و سطوح بررسی شده در جدول ۱ به صورت کامل آورده شده است.

1. Bold's Busal Medium

جدول ۱: مشخصات عوامل محیطی و متغیرهای تحقیق

میزان دی اکسید کربن (درصد)	شدت نور (lux)	مدت روشنایی (ساعت)	pH	دما (سلسیوس)	میزان شوری ppm	طول دوره (روز)	محیط کشت
۱۵	۳۰۰۰-۳۵۰۰-۴۰۰۰-۴۵۰۰-۵۰۰۰	۱۴-۱۵-۱۶-۱۷-۱۸	۵-۶-۷-۸-۹	۲۰-۲۲-۲۴-۲۶-۲۸-۳۰	۵-۸-۱۱-۱۴-۱۷-۲۰	۱۵	BBM

میزان زیست توده: برای اندازه‌گیری زیست توده، ۴۰۰ میلی لیتر محلول جلبکی از نمونه مورد نظر برداشته شده و با کاغذهای صافی غشایی که از قبل توزین شده‌اند، فیلتر می گردند. کاغذ صافی حاوی محلول جلبکی در آون الکتریکی در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ٤ ساعت خشک گردید و پس از خشک شدن، کاغذ صافی در دسیکاتور نگهداری شد و پس از همدما شدن با محیط آزمایشگاه بوسیله یک ترازوی دیجیتالی مورد توزین قرار گرفت تا با محاسبه اختلاف وزن حاصل، وزن خشک جلبک به دست آید.

با توجه به اینکه اختلاف وزن مربوط به ۴۰۰ میلی لیتر جلبک فیلتر شده می باشد، لذا برای محاسبه وزن خشک یک میلی لیتر جلبک، عدد ۴۰۰ به‌عنوان V در فرمول زیر لحاظ می‌گردد تا وزن خشک بر حسب میلی‌گرم بر میلی لیتر محاسبه شود (Ikedo Omori, 1984).

$$DW(mg/ml) = \frac{DWA - DWC}{V} * 1000 \quad (۱)$$

DWA = وزن خشک کاغذ صافی و جلبک

DWC = وزن خشک کاغذ صافی قبل از فیلتر کردن جلبک

V = حجم محلول جلبکی فیلتر شده

N= تراکم جلبک بر حسب سلول بر میلی‌لیتر

استخراج لیپید: روش‌های شیمیایی که برای استخراج لیپید استفاده می‌شوند شامل استفاده از حلال‌های آلی سنتی (هگزان،اتر، کلروفرم و ...) استفاده از سیال فوق بحرانی ($SC\text{-}CO_2$) و استخراج با استفاده از دستگاه سوکسله است. در این تحقیق استخراج از طریق دستگاه سوکسله مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور ۱۰ گرم از هر نمونه زیست توده خشک شده، به آرامی توسط هاون یکنواخت گردید و استخراج لیپید از آن توسط دستگاه سوکسله مدل Soxtec 2050 انجام شد. هر سیکل شامل جوشیدن به مدت ۲۵ دقیقه، استخراج لیپید به مدت ٤٠ دقیقه و بازیابی حلال به مدت ۱۵ دقیقه بود. استخراج تمامی نمونه‌ها بطور یکسان در سه سیکل انجام گردید. جهت استخراج سه حلال متداول دی اتیل تر،ان هگزان و ان پنتان با دمای جوش متفاوت و درجه خلوص بالا مورد استفاده قرار گرفتند. برای حذف بقایای میکروجلبک، با استفاده از فیلتر ٤٥ میکرومتر لیپید استخراج شده صافسازی شد. هر یک از مراحل خشک کردن و استخراج لیپید با سه بار تکرار انجام گرفت و نتایج به صورت میانگین گزارش شد. پس از تعیین مقدار لیپید، لیپید خشک شده در ٤ میلی لیتر الکل ایزوپروپیل حل نموده و مقدار تری گلیسرید در لیپید طبق روش Xin و همکاران اندازه‌گیری شد (Xin et al., 2010).

استخراج بیودیزل: ترنس استریفیکاسیون اسیدهای چرب در فلاسک‌های حاوی سولفوریک اسید به عنوان کاتالیزور با نسبت مولی ۱: ٤٠ متانول به روغن استخراج شده در ۱۸۰rpm به مدت ۵ ساعت صورت گرفت. دو لایه پس از آن تشکیل شد که لایه بالایی

حاوی سوخت زیستی بوده و به واسطه پترولیوم اتر جداسازی شد (Dai et al., 2007). برای تعیین درصد تولید لیپید از فرمول زیر استفاده شد (El-Fadaly et al., 2009).

(۲)

۱۰۰× وزن خشک بیومس / وزن روغن استخراج شده= درصدتولید لیپید یا محتوای لیپیدی

تعیین درصد تولید بیودیزل:

(۳)

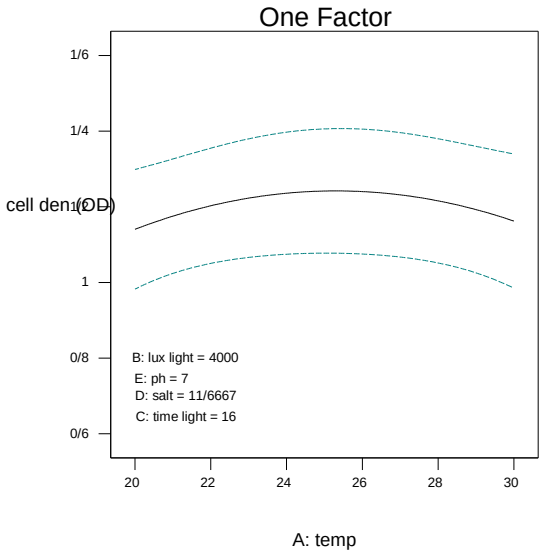
۱۰۰× وزن لیپید / وزن بیودیزل استخراج شده= درصدتولید بیودیزل

آنالیز آماری

در این پژوهش، با وارد کردن متغیرها و تعداد سطوح آنها در نرم‌افزار Design expert و استفاده از بخش سطح بهینه تعداد متغیرهایی که باید اندازه‌گیری شوند ۳۹ نمونه اعلام شد. بعد از انجام آزمایش‌ها داده‌های به دست آمده ازمیزان تراکم سلولی، میزان زیست‌تودهٔ ، میزان لیپید و درصد بیودیزل تولیدی محاسبه وبابه کارگیری شاخص آنالیز واریانس برای مقایسه داده‌ها در سطح معنی‌داری ۱ درصد و ۵ درصد استفاده گردید. برای رسم نمودارها از همین نرم‌افزار استفاده شد (Soltani et al., 2015)

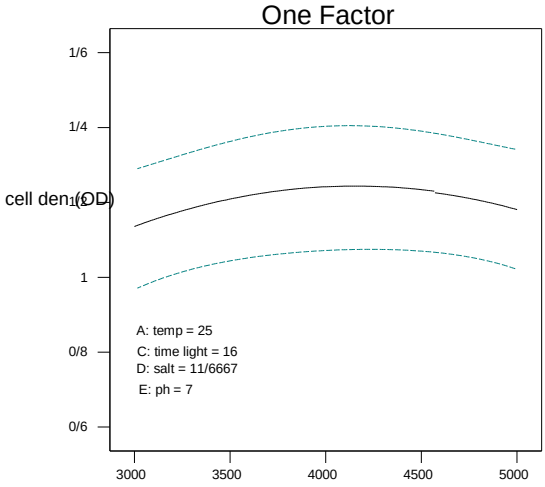
نتایج

در بررسی تاثیر پارامترهای مختلف بر میزان تراکم سلولی، نتایج بدست آمده از آنالیز دادها نشان دادکه بیشتر پارامترهای محیطی تاثیر معناداری بر میزان رشد و تراکم سلولی میکروجلبک دسمودسموس داشته‌اند. در خصوص تاثیر پارامتر دما بر میزان تراکم سلولی با توجه به اینکه پارامترهای دیگرمانند شدت نوردهی ٤۰۰۰ لوکس، اسیدیته ۷، میزان شوری ۱۱ppm و مدت نوردهی ١٦ ساعت به صورت ثابت درنظر گرفته شده است. نتایج بدست آمده نشان می دهد که با افزایش دما از محدوده ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد مقدار تراکم سلولی نیزافزایش و در نهایت با شیب ملایمی کاهش می‌یابد.



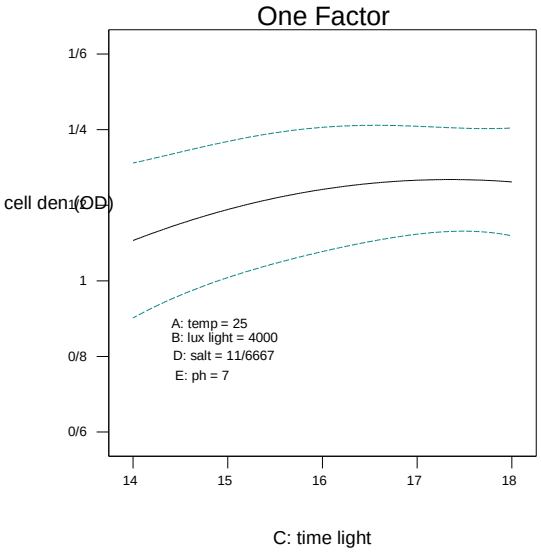
شکل ۱: تاثیر دما بر تراکم سلولی جلبک دسمودسموس

با توجه به شکل ۱ مشاهده می‌گردد کـه بیشـترین میزان این تراکم درمحدوده ۲۵ درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاده و با کاهش یـا افـزایش ایـن دمـا میـزان تـراکم سلولی نیز کاهش می یابد.



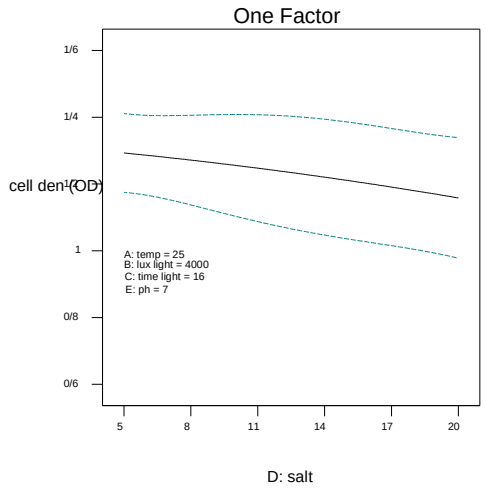
شکل ۲: تاثیر شدت نوردهی بر تراکم سلولی جلبک دسمودسموس

درخصوص تاثیر گذاری شدت نوردهی برمیـزان تراکم سلولی نمودار نتایج بدست آمده نشان مـی‌دهـد که بیشترین میزان تراکم سلولی در شـدت تـابش نـور ٤٥٠٠ لوکس اتفاق افتاده است (شکل ۲).



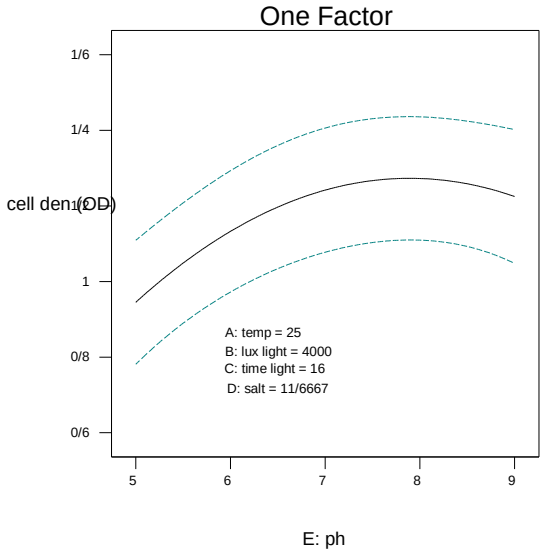
شکل ۳: تاثیر مدت نوردهی بر تراکم سلولی جلبک دسمودسموس

با توجه به نقش مهم نور در انجام فرایند فتوسـنتز علاوه بر شدت نور میزان نوردهی نیـز مـورد بررسـی قرار گرفت که با توجه به شکل ۳ ملاحظـه مـی‌گـردد که بـا افـزایش میـزان نـوردهی میـزان تـراکم سـلولی افزایش یافته و بیشترین میزان آن مربوط بـه محـدوده ۱۷ ساعت نوردهی بوده و پـس از ایـن مقـدار ثابـت مانده است (شکل ۳).



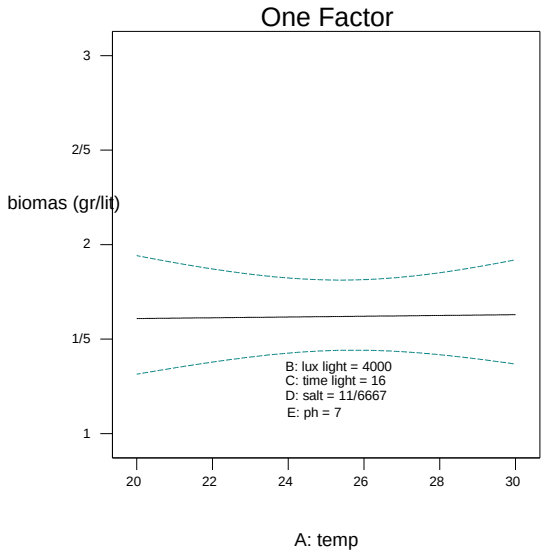
شکل ٤: تاثیر شوری بر تراکم سلولی جلبک دسمودسموس

در خصوص تاثیر شوری بر میزان تراکم سلولی با توجه به اینکه پارامترهای به صورت ثابت درنظر گرفته شده است نتایج بدست آمده نشان می دهد که با افزایش شوری تراکم سلولی افزایش می‌یابد (شکل ٤) و بیشترین تراکم سلولی در شوری برابر ۵ است.

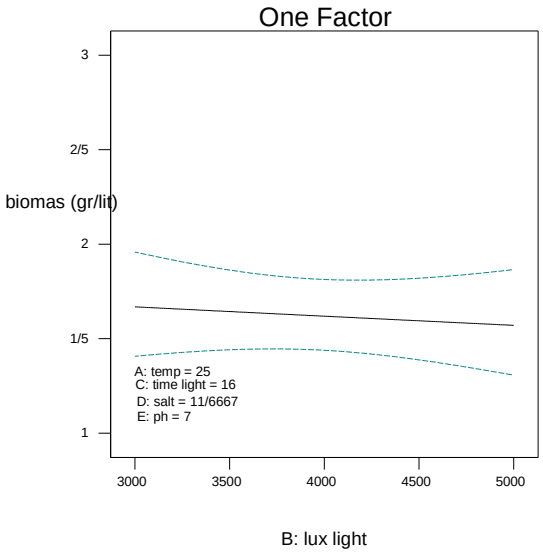


شکل ۵: تاثیر اسیدیته بر تراکم سلولی جبک دسمودسموس

در خصوص تاثیر پارامتر pH بر میزان تراکم سلولیتایج بدست آمده نشان می دهد که با افزایش pH از محدوه ۵ تا ۸ مقدار تراکم سلولی نیزافزایش و نهایتا با شیب ملایمی کاهش میابد و بیشترین تراکم سلولی در pH برابر با ۸ مشاهده می‌شود (شکل ۵). بررسی تاثیر پارامترهای مختلف بر میزان زیست توده تولیدی در میکروجلبک دسمودسموس در مورد تاثیر دما بر تولید زیست توده در میکروجلبک دسمودسموس با ثابت نگاه داشتن شدت تابش ٤۰۰۰ لوکس، مدت تابش نور ١٦ ساعت، شوری برابر با یک مولار و اسیدیته برابر با ۷ مشاهده می شود که با افزایش دما از ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد بر میزان زیست توده تولیدی افزوده نمی‌شود (شکل ٦).

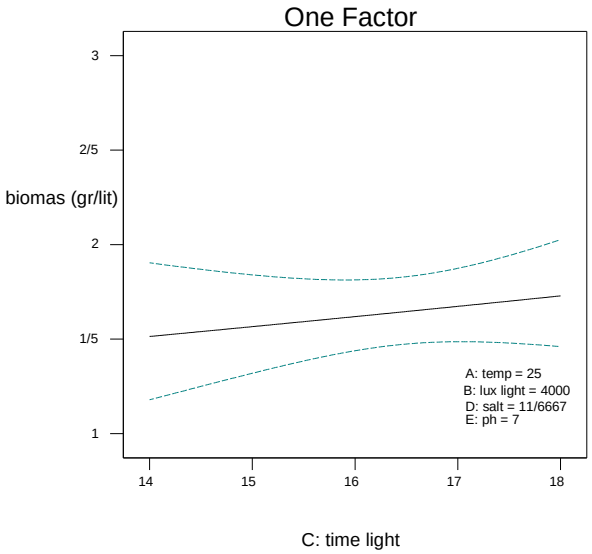


شکل ٦: تاثیر دما بر زیست توده تولیدی در میکروجلبک دسمودسموس



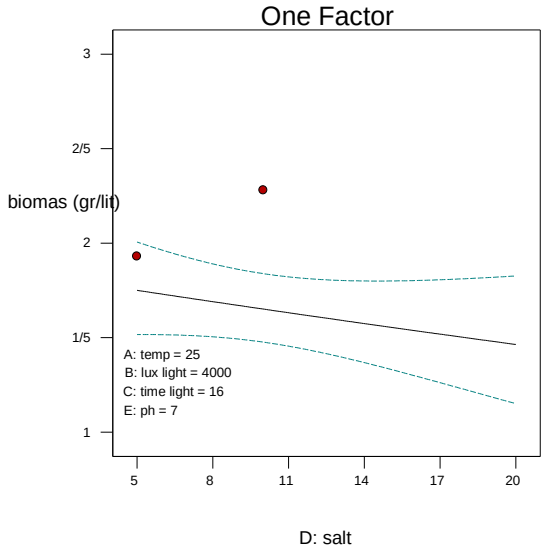
شکل ۷: تاثیر شدت تابش نور بر زیست توده تولیدی در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر شدت تابش نور بر تولید زیست توده در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می شود که با افزایش شدت تابش نور از ۳۰۰۰ تا ۵۰۰۰ به آرامی میزان تولید زیست توده کاهش می‌یابد و بیشترین میزان زیست توده تولیدی در شدت تابش نور برابر با ۳۰۰۰ لوکس است (شکل ۷).



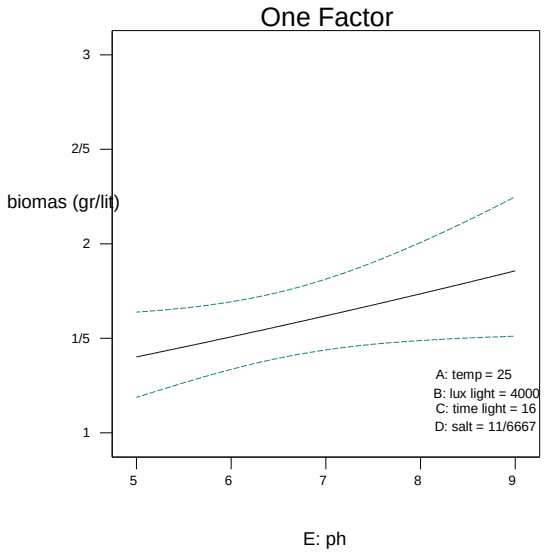
شکل ۸: تاثیر مدت تابش نور بر زیست توده تولیدی در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر مدت تابش نور بر تولید زیست توده در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می شود که با افزایش مدت تابش نور از ١٤ ساعت تا ١٨ ساعت به آرامی میزان تولید زیست توده افزایش می‌یابد (شکل ۸).



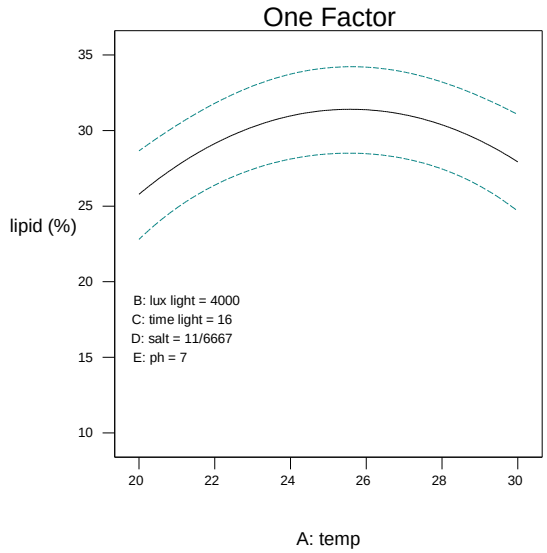
شکل ۹: تاثیر شوری بر زیست توده تولیدی در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر شوری بر تولید زیست توده در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می شود که با افزایش شوری از ۵ تا ۲۰ به آرامی میزان تولید زیست توده کاهش می‌یابد. بنابراین بیشترین میزان تولید زیست توده در شوری برابر ۵ است (شکل ۹).



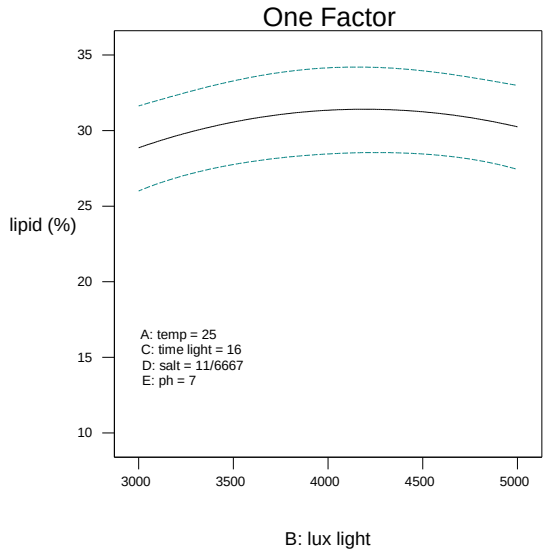
شکل ۱۰: تاثیر اسیدیته بر زیست توده تولیدی در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر اسیدیته بر تولید زیست توده در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می‌شود که با افزایش اسیدیته از ۵ تا ۹ به آرامی میزان تولید زیست توده افزایش می‌یابد و بیشترین میزان زیست توده تولیدی در pH برابر با ۹ است (شکل ۱۰). در بررسی تاثیر پارامترهای مختلف بر میزان لیپید تولیدی در میکروجلبک دسمودسموس نتایج بدست آمده نشان می دهد که عوامل محیطی همانگونه که بر میزان رشد سلولی تاثیر معنادار داشتند بر میزان لیپید تولیدی نیز تاثیرگذار هستند هرچند در برخی موارد این تاثیرات مشابه تغییرات تراکم سلولی نمی‌باشد. در مورد تاثیر دما بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس با ثابت نگاه داشتن شدت تابش نور برابر با ٤٠٠٠ لوکس، مدت تابش نور برابر با ١٦ ساعت، شوری برابر با ۱۱ppmو اسیدیته برابر با ۷ مشاهده می شود که با افزایش دما از ۲۰ تا ٢٦ درجه سانتی‌گراد بر تولید لیپید افزوده و پس از این دما با افزایش دما میزان تولید لیپید کاهش می‌یاد. بیشترین لیپید تولید شده در دمای ٢٦ درجه مشاهده می‌شود (شکل ۱۱).



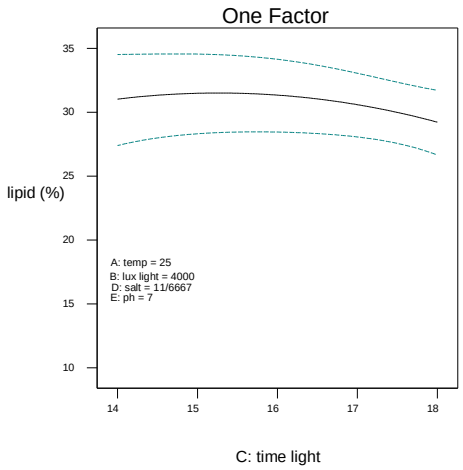
شکل ۱۱: تاثیر دما بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر شدت تابش نور بر تولید لیپید مشاهده می‌شود که با افزایش شدت تابش نور از ۳۰۰۰ تا ٤٢٠٠ بر میزان تولید لیپید افزوده می‌شود و بالاترین تولید لیپید در شدت تابش نور برابر با ٤٢٠٠ می باشد (شکل ۱۲).



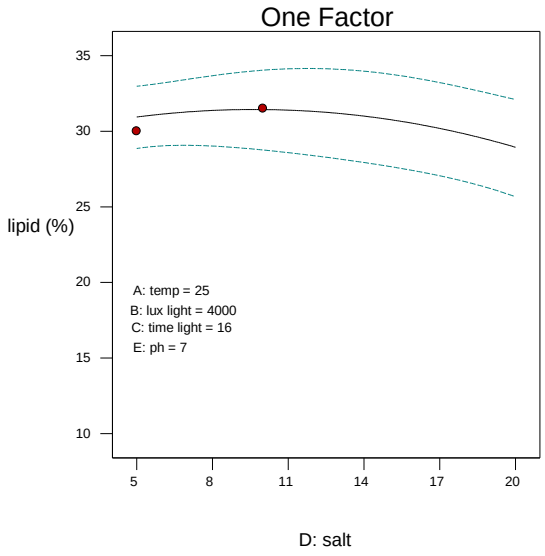
شکل ۱۲: تاثیر شدت تابش نور بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر مدت تابش نور بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می شود که با افزایش مدت تابش نور از ١٤ تا ١٦ ساعت بر میزان تولید لیپید افزوده می شود و بالاترین تولید لیپید در مدت تابش برابر با ١٦ ساعت است (شکل ۱۳).



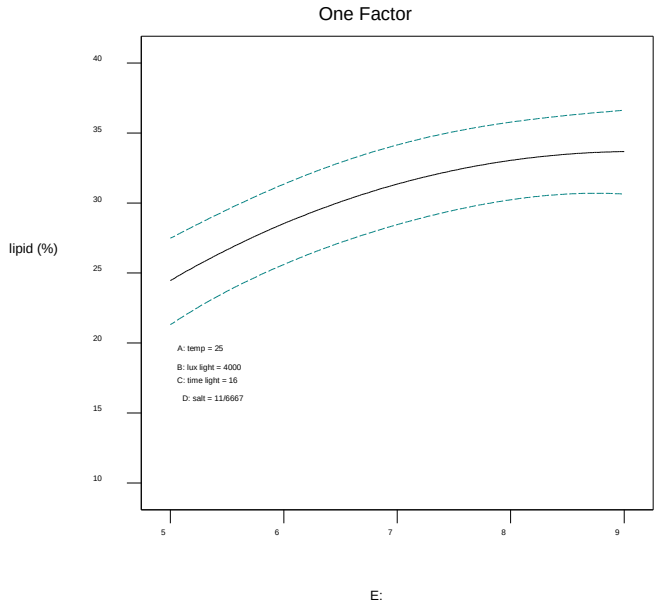
شکل ۱۳: تاثیر مدت تابش بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر میزان شوری بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می‌شود که با افزایش شوری از ۵ تا ۱۲ بر میزان لیپید تولیدی افزوده و پس از آن با افزایش شوری میزان تولید لیپید کاهش میابد. بیشترین تولید لیپید در شوری برابر با ۱۲ مشاهده می‌شود (شکل ١٤).

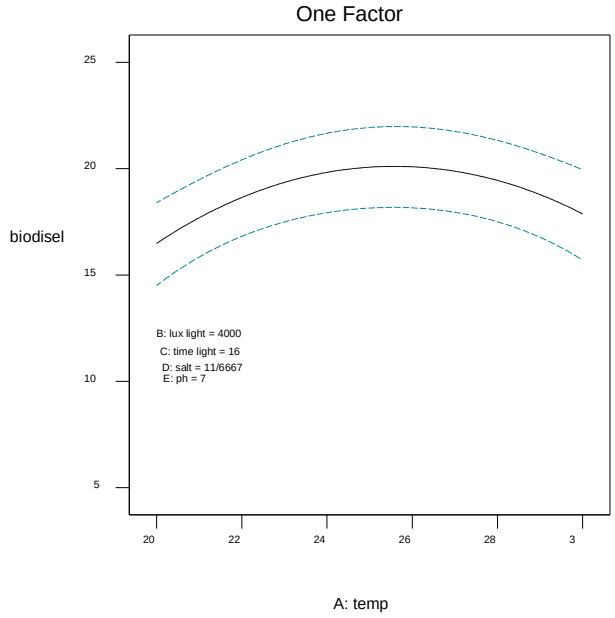


شکل ۱٤: تاثیر شوری بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر اسیدیته بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می‌شود که با افزایش اسیدیته از ۵ تا ۹ بر میزان تولید لیپید افزوده می‌شود. بالاترین میزان تولید لیپید در اسیدیته برابر با ۹ است (شکل ۱۵).



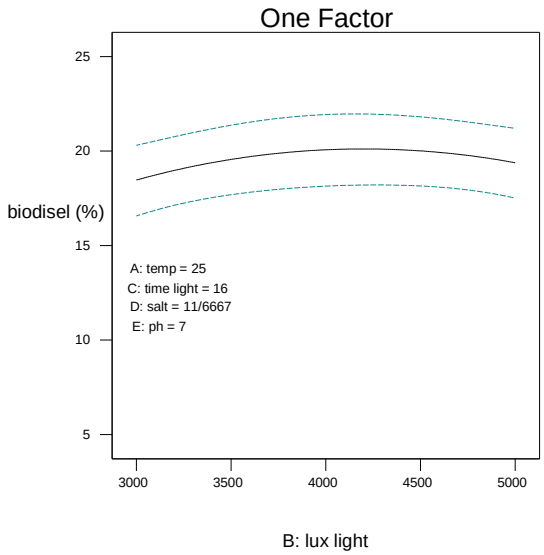
شکل ۱۵: تاثیر اسیدیته بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس



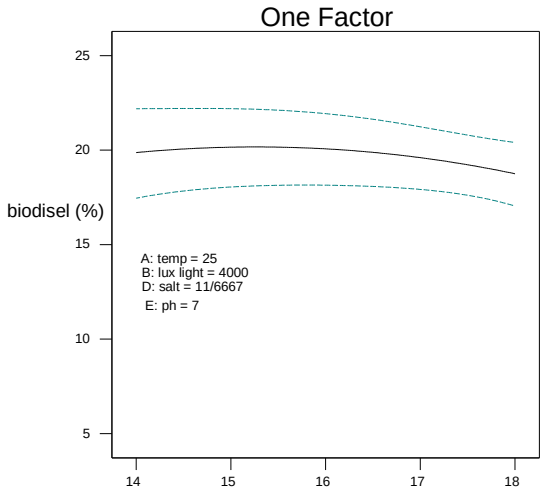
شکل ۱۶: تاثیر دما بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس

بررسی تاثیر پارامترهای مختلف بر میزان بیودیزل تولیدی در میکروجلبک دسمودسموس در مورد تاثیر دما بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می‌شود که با افزایش دما از ۲۰ تا ۲۶ درجه بر تولید بیودیزل افزوده شده و بیشترین تولید بیودیزل در دمای ۲۶ درجه مشاهده می‌شود (شکل ۱۶).

در مورد تاثیر شدت تابش نور بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می شود که با افزایش شدت تابش نور از ۳۰۰۰ تا ۴۲۰۰ بر تولید بیودیزل افزوده شده و بیشترین تولید در شدت تابش نور برابر با ۴۲۰۰ لوکس می‌باشد (شکل ۱۷).

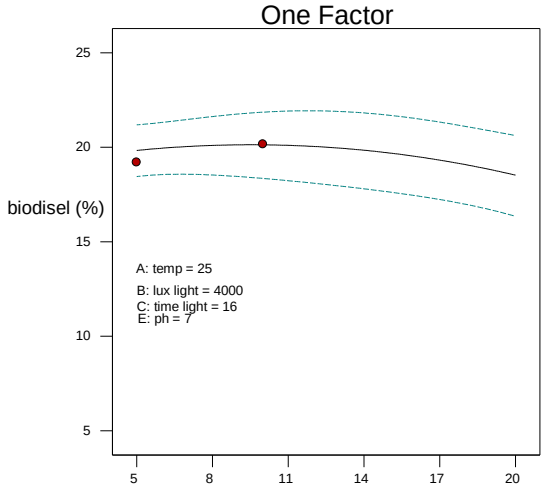


شکل ۱۷: تاثیر شدت تابش نور بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس



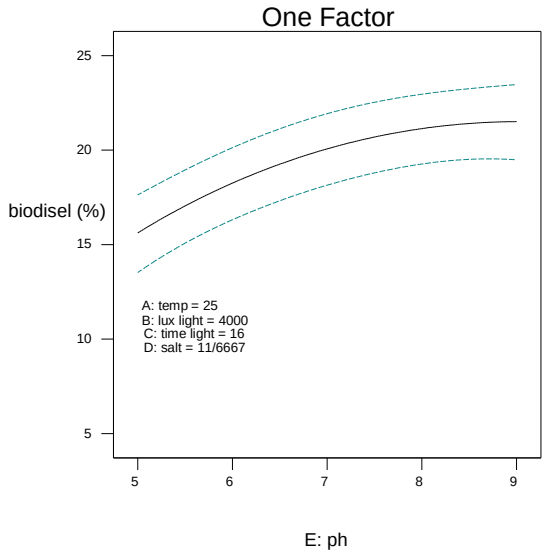
شکل ۱۸: تاثیر مدت تابش نور بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر مدت تابش نور بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می شود که با افزایش مدت تابش نور از ١٤ تا ١٦ ساعت بر تولید بیودیزل افزوده شده و بیشترین تولید در مدت تابش نور برابر با ١٦ ساعت می‌باشد (شکل ۱۸).



شکل ۱۹: تاثیر شوری بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر شوری بر تولید بیودیزل در میکروجلبک مشاهده می‌شود که با افزایش شوری از۵ تا ۱۱ بر تولید بیودیزل افزوده شده و بیشترین تولید در شوری برابر با ۱۱ می‌باشد. پس از آن با افزایش شوری از تولید بیودیزل میکروجلبک کاسته می‌شود (شکل ۱۹).



شکل ۲۰: تاثیر اسیدیته بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر اسیدیته بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می‌شود که با افزایش اسیدیته از ۵ تا ۹ بر مقدار تولید بیودیزل افزوده شده و بیشترین تولید در اسیدیته برابر با ۹ می‌باشد (شکل ۲۰).

بحث

با توجه به بحران‌های امروزی مرتبط با منابع انرژی فسیلی و اثرات مخرب آن‌ها بر محیط زیست، سوخت‌های با منشأ مواد آلی ازجمله بیودیزل می‌تواند به‌عنوان یک سوخت جایگزین مناسب مطرح گردد. در سال‌های اخیر مطالعات زیادی جهت یافتن منبع مناسب تولید سوخت‌های زیستی، استفاده از پسماندهای کشاورزی یا گیاهان(مانند دانه‌های روغنی) انجام گرفته است (Rostami et al., 2010) با توجه به اهمیت امنیت غذایی و اینکه روغن‌های گیاهی در زنجیره غذایی انسان قرار می‌گیرند استفاده از منابع و محصولات کشاورزی بعنوان منبع تولید بیودیزل چالشهای زیادی را به همراه داشت. لذا چنین مشکلاتی، سبب شد تا محققین به دنبال منابع دیگری از جمله استخراج روغن از ریزجلبک‌ها با شند. نجفی و همکاران ریزجلبک کلرلا ولگاریس را برای تولید بیودیزل معرفی نمودند و اذعان داشتند که استفاده از بیودیزل تأثیر محسوسی بر مصرف سوخت و کاهش تولید مونوکسید کربن دارد و علاوه بر بهره‌دهی مطلوب لیپید، اسید چرب مستخرج از نمونه‌های انتخاب شده دارای خواص فیزیکی و شیمیایی مورد نیاز برای تولید بیودیزل نیز می‌باشد (Najafi et al., 2012).

Malek ahmadi و همکاران (۲۰۱۹) در تحقیق خود بالاترین میزان رشد و تولید بیومس، کمترین زمان تقسیم و همچنین بیشترین میزان تولید لیپید در بین جلبک‌های سبز را به میکروجلبک *Scenedesmus* sp نسبت داده و به‌دلیل تولید بالاترین و بهترین محتوای لیپیدی آن را به عنوان یک کاندید مناسب برای سوخت بیو دیزل معرفی کردند. به علاوه، آنالیز لیپیدها نشان داد که ۸۰ درصد اسیدهای چرب از نوع اشباع و غیراشباع با یک پیوند دوگانه بودند. همچنین پالمیتیک اسید و اولئیک اسید مهم ترین اسیدهای چرب جداسازی شده می باشند.

با توجه به معنادار بودن تاثیر پارامترهای محیطی از جمله دما، مدت و شدت نوردهی و اسیدیته محیط کشت یافته‌های بدست آمده نشان می دهد که شرایط بهینه ای افزایش تراکم سلولی جلبک دسمودسموس، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ٤٥٠٠ لوکس، ۱۷ ساعت نوردهی، شوری برابر با ۵ppm و pH۸ می‌باشد. علیرغم اینکه انتظار می رود با افزایش میزان تراکم سلولها میزان زیست توده تولیدی افزایش یابد اما مشاهده می‌گردد که ماکزیمم میزان زیست توده تولیدی در شدت تابش نور ۳۰۰۰ لوکس، مدت تابش برابر با ۱۸ ساعت، شوری برابر با ۵ppm و pH برابر با ۹ بدست آمده است. این اختلاف می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که در برخی موارد شرایط محیطی ممکن است باعث تکثیر بشتر سلولها شده اما باعث افزایش حجم سلول‌ها نگردد. به‌عبارت دیگر افزایش یک واحدی اسیدیته محیط، مدت تابش و کاهش۱۵۰۰واحدی شدت تابش در شوری و دمای یکسان باعث افزایش میزان زیست توده گردیده است. بالاترین میزان تولید لیپید در دمای ۲٦ درجه سانتی‌گراد، شدت تابش نور برابر با ٤۲۰۰ لوکس، مدت تابش برابر با ۱٦ ساعت، شوری برابر با ۱۲ppm و pH برابر با ۹ است. این شرایط در مقایسه با شرایط بهینه تولید زیست توده بیانگر این است که با افزایش دما، شوری، مدت تابش و شدت تابش در اسیدیته محیط یکسان می توان لیپید بالاتری را تولید کرد. یعنی با اعمال تنش‌های محیطی به میکروجلبک می توان درصد لیپید بالاتری را دریافت نمود. kiaei وهمکاران(۲۰۱٤) در بررسی اثر فاکتور دما، درصد نیترات و اسیدیته محیط کشت بر روی سیانوباکتری Synechococcus elongatus عنوان کردند که بهترین شرایط رشد در غلظت ۱/۵ درصد $NaNO_3$ و pH ۷ و بیشترین تولید رنگیزه، اسید چرب و اسید آمینه در غلظت ۰/۲۵ درصد $NaNO_3$ و pH ۹ در روز ۱۵ انکوباسیون و دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود. به عبارت دیگر اعمال شرایط استرس را باعث افزایش میزان لیپید بیان کردند. در مقایسه با نتایج این تحقیق می توان عنوان نمود که ترکیب تغییرات شدت و مدت زمان نوردهی در شرایط یکسان اسیدیته محیط توانسته است در دمای پایین تر نیز لیپید را تولید نماید. از سوی دیگر بالاترین بیودیزل تولید شده در دمای ۲٦ درجه سانتی گراد، شدت تابش نور ٤۲۰۰ لوکس، مدت تابش نور برابر با ۱٦ ساعت، شوری برابر با ۱۱ppm و اسیدیته برابر با ۹ است. این نتیجه بدست آمده نشان می‌دهد که شرایط فوق که مشابه با شرایط بهینه تولید لیپید می باشد توانسته است میزان درصد بیودیزل بالاتری را هم تولید کند.

در مطالعه‌ای که توسط Naderi Farsani و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد مشخص گردید که بهترین محیط کشت برای رشد جلبک دسمودسموس محیط رشد RM است. Wang و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه ای که بر روی کشت دسمودسموس داشتند اعلام کردند که دمای بهینه برای رشد جلبک دمای۲۷ درجه سانتی گراد، شدت نور ۱۰۸ میکرومول بر متر مربع در ثانیه، pH برابر با ۷ و جریان هوای نیم لیتر در دقیقه است که از نظر دما و pH نزدیک به نتایج به دست آمده است. Nzayisenga و همکاران (۲۰۲۰)اثر شدت نور بر رشد و تولید چربی در میکروجلبک‌های رویش یافته در پساب را بررسی کردند. نتایج مطالعه ایشان نشان داد که افزایش شدت نور باعث افزایش تولید زیست توده در جلبک دسمودسموس می‌شود. در این مطالعه نیز از شدت تابش ۳۰۰۰ لوکس تا ٤۵۰۰ لوکس بر تولید جلبک افزوده شد. Chaudhary و همکاران(۲۰۱۷) در مطالعه ای که بر روی تولید چربی و رشد جلبک دسمودسموس انجام دادند بیشترین رشد جلبک را در pH برابر با ٦/٤ مشاهده نمودند. Matusiak-Mikulin و همکاران (۲۰۰۷) در

تحقیقی که بر روی الگوی رشد جلبک *Demodesmus armatus* انجام دادند، از دوره تابشی ۱٤ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی استفاده کردند.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که شرایط بهینه برای میزان تراکم سلولی، میزان زیست توده، درصد تولید لیپید و بیودیزل از نظر تاثیرگذاری پارامترهای محیطی متفاوت می‌باشد. با توجه به اینکه افزایش عمکلرد ارتباط مستقیم با میزان زیست توده و درصد لیپید دارد لذا افزایش عملکرد نهایی بیودیزل در شرایط بهینه دمای ۲٦درجه سلسیوس، مدت زمان نوردهی ۱٦ ساعت با شوری ۱۱ppm در ۹ ph حاصل می شود. درصورت وجود امکان کنترل دقیق شرایط می‌توان دوره رشد لگاریتمی میکروجلبک را به صورت دوفازی تنظیم نمود که در فاز اول شرایط بهینه تولید زیست توده با عملکرد بالا انجام گرفته و در فاز دوم با اعمال شرایط بهینه تولید لیپید و بیودیزل باعث افزایش راندمان سیستم گردید.

References

Afsharbakhsh M., Mohammadi, A., Mashadi, H. and Mahmoudnia, F. (2020). Effect of culture medium temperature and pH on performance of micro algae of *Spirolinaplatensis* in vertical photobioreactor. System Researches and Agriculture Mechanisation, 21(76): 99-116. (in Persian)

Andersen, R.A. (2005). Algal culturing techniques. Elsevier, Amsterdam, 578 pp.

Chaudhary R., Khattar J.I.S. and Singh D.P. (2017). Growth and lipid production by Desmodesmus subspicatus and potential of lipids for biodiesel production. Journal of Energy and Environmental Sustainability, 26(3): 58-63.

Dai C., Tao J., Xie F., Dai, Y.J. and Zhao M. (2007). Biodiesel generation oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* with xylose assimilating capacity. African Journal of Biotechnology, 6(18):2130-2134.

Deniz I. (2020). Determination of growth conditions for *Chlorella vulgaris*. Mar.sci. Tech. Bull. 9(2): 114-117.

El-Fadaly, H., El-Ahmady, N. and Marvan, E.M. (2009). Single cell oil production by an oleaginous yeast strain in a low cost cultivation medium. Research Journal of Microbiology, 4(8):301-313.

Fabregas J., Domingue A., Regueiro M., Maseda A., and Otero, A. (2000). Optimazation of culture medium for the continuous cultivation of the microalgae *Haematococcus pluvialis.* Journal of Microbiology and Biotechnology, 53 (5): 530- 5.

Hegewald, E. (1997). Taxonomy and phylogeny of *Scenedesmaceae* Algae. 12:235-246.

Imamogul, E., Sukan, F.V. and Dalay, M.C. (2007). Effect of different culture media and light intensities on growth of *Haematococcus pluvialis.* Natural Enginrring Science, 3 (1): 05- 09.

Kiaei, E., Soltani, N., Mazaheri Assadi, M., Khavarinegad, R., and Dezfulian, M. (2013). Study of optimal conditions in order to the use of the cyanobacteria *Synechococcus* sp. ISC106 as a candidate for biodiesel production. Journal of Aquatic Ecology. 2(4): 40-51.

Malek Ahmadi, F., Khavari Nejad, R., Soltani, N., Najafi, F., and Nejad atari, T. (2019). Investigation of physiological properties of green algae in order to use them as biodiesel fuel. Plant Environmental Physiology, 14 (1): 30-46.

Matusiak-Mikulin, K., Tukaj, C. and Tuka, Z. (2007). Relatinships between growth, development and photosynthetic activity during the cell cycle of *Desmodesmus* armatus (Chlorophyta) in synchronous cultures. European Journal of Phycology, 41(1):38-49

Moreno-Garrido, I. (2008). Microalgae immobilization: Current techniques and uses. Bio resource Technology, 99: 3949-3964.

Meireles, L.C., Catarina, A., Guedes, A.C. and Malcata, F.X. (2003). Lipid class composition of the microalgae *Pavlova lutheri*: Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic acids. Agriculture Food Chemistry, 51: 2237-2241.

Naderi Farsani, M., Meshkini, S. and Manaffar, R. (2013). Investigation of optimal growth and nutritional value of two micro algae *Hematococcus* and *Desmodesmus* in different culture media. Journal of microorganism biology, 14: 49-60 (In Persian).

Naderi Farsani, M., Meshkini, S., Manaffar, R. and Banayi, M. (2015). Effects of different level of nitrogen on growth and lipid contents of two species of freshwater micro algae (*Desmodesmus cunaetus* and *Haematococcus* sp). Utilization and culture of water organism, 4(1): 15-27.

Najafi, B., Torkian, M., Hejazi, M.A., and Zamzamian, A.A. (2012). Effect of Microalgae Biodiesel on Performance Parameters and Exhaust Emissions from IDI Diesel Engine. Fuel and Combustion. 4(2): 29-42.

Nzayisenga, J., Farge, X., Groll, S.L. and Sellstedt, A. (2020). Effects of light intensity on growth and lipid production in microalgae grown in wastewater. *Biotechnology for Biofuels*, 13(4):135-147

Ratledge, C. and Cohen, Z. (2008). Microbial and algal oils: Do they have a future for biodiesel or as commodity oils? Technology, 20(7): 155-160

Rostami, S., Ghobadian, B., Savadkouhi, L., and Ebrahimi, R. (2010). Experimental Investigation of Effect of Injection Pressure on Performance of a Diesel Engine Using Blends of Biodiesel and Diesel. The Journal of Engine Research. 21: 73-83.

Sanchez, S., Martinez, E. and Espinola, F. (2000). Biomass production and biochemicalvariability of the marine microalgae *Isochrysis galbana* in relation to culturemedium. Biochemistry Enginering, 6(1): 13- 18.

Wang, S., Cao, M., Wand, B., Deng, R., Gao, Y. and Liu, P. (2019). Optimization of growth requirement and scale-up cultivation of freshwater algae *Desmodesmus* armatus using response surface methodology. Aquaculture Research, 50(11): 3313-3325.

Xin, L., Hong-Ying, H., Jia, Y. and Yin-Hu, W. (2010). Enhancement effect of ethyl-2-methyl acetoacetate on triacylglycerols production by a freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1. Bioresource Technology, 101(24): 9819-21.