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

Investigation of biomass productivity, lipid content, and biodiesel fuel in microalgae mixed cultures of *Scenedesmus* sp. and *Desmodesmus armatus*

Ammar Bagheri[1], Mohammad Gholami Parashkoohi [2*], Ahmad Mohammadi[3], Davood Mohammad Zamani[4]

[1] Department of Biosystem Engineering, Takestan Branch, Islamic Azad University, Takestan, Iran Email: ammarbagheri62@gmail.com
[2] Department of Mechanical Engineering, ShQ.C., Islamic Azad University, Shahr-e Qods, Iran. Email: mohammad.gholami@iau.ac.ir
[3] Department of Mechanical Engineering, ShQ.C., Islamic Azad University, Shahr-e Qods, Iran Email: A-mohamady@iau-arak.ac.ir
[4] Department of Biosystem Engineering, Takestan Branch, Islamic Azad University, Takestan, Iran. Email: davoodmohamadzamani@gmail.com

Article type:
Research article

Article history
Received:16.12.2024
Revised:18.03.2025
Accepted:04.04.2025
Published:22.06.2025

Keywords
Mixed Culture
Microalgae
Primary Metabolite
Secondary Metabolite
Pure Culture

Abstract

The significance of biotechnology in producing algae's primary and secondary metabolites is substantial. Pure and single-cell algae cultivation has been widely carried out in the past years. Although mixed cultures of microalgae offer advantages over pure cultures, there is still limited information regarding their performance. This research investigates the various factors influencing the growth of two types of freshwater microalgae in mixed culture, as well as their biological effects on growth rate, biomass, and lipid production. The selected species included *Scenedesmus* sp. and *Desmodesmus armatus* microalgae. After the initial culture and reaching the appropriate concentration, the sample was transferred to the vertical photobioreactor, and environmental factors were applied to the microalgae in pure and mixed cultures. Next, the effects of environmental parameters and cultivation types on biomass productivity and lipid content were examined. The results showed that the highest amount of cell density and biomass in the conditions of a temperature of 25 degrees Celsius, the light intensity of 3000 lux, 16 hours of exposure, and an acidity of 8 is related to the pure culture of *Scenedesmus* sp., and then the mixed culture of *Scenedesmus* sp. and *D. armatus*. The highest amount of lipid production in constant temperature conditions of 30 °C, 18 hours of exposure, the light intensity of 4000 lux, and acidity of 9 was related to *Scenedesmus* sp. and then *D. armatus*. Regarding the amount of biodiesel produced, the highest amount was related to *Scenedesmus* sp. microalgae, followed by *Desmodesmus*, under conditions of 16 hours of exposure, 4000 lux radiation, a temperature of 25 degrees Celsius, and a pH of 8. The results indicated that the mixed microalgae culture, in comparison to the pure culture, positively influenced the production of biomass and cell density but negatively impacted the production of secondary metabolites such as lipids. Notably, the percentage of extracted biodiesel was higher in the mixed culture than in the pure culture of *D. armatus* algae.

Introduction: The rapid depletion of fossil fuel reserves and increasing concerns over environmental sustainability have intensified the search for renewable and low-emission energy sources. Biodiesel has emerged as a promising alternative; however, first- and second-generation feedstocks compete with food production and are constrained by land use, climate dependency, and

greenhouse gas emissions. Microalgae, as third-generation biofuel resources, offer high growth rates, elevated lipid content, efficient carbon dioxide fixation, and the ability to grow on non-arable land and wastewater. Among green microalgae, *Scenedesmus* and *Desmodesmus* species exhibit high potential for biomass, lipid, and biodiesel production. This study aimed to optimize environmental conditions and cultivation strategies, including monoculture and mixed culture systems, to enhance primary and secondary metabolite production in these microalgae.

Materials and Methods: *Scenedesmus* and *Desmodesmus* microalgae were cultivated under controlled laboratory conditions using BBM medium in a semi-automated vertical photobioreactor. The effects of temperature, light intensity, photoperiod, pH, carbon dioxide concentration, and cultivation type (monoculture and mixed culture) were evaluated over a 15-day growth period. Cell density, dry biomass, lipid content, and biodiesel yield were measured using standard analytical techniques. Lipids were extracted by Soxhlet extraction, and biodiesel was produced via acid-catalyzed transesterification. Statistical optimization and analysis of variance were applied to determine significant effects and optimal conditions.

Results and Discussion: Environmental parameters and algal species significantly influenced cell density, biomass accumulation, lipid production, and biodiesel yield. *Scenedesmus* consistently exhibited higher cell density, biomass, lipid percentage, and biodiesel yield compared with *Desmodesmus*. Mixed cultures enhanced biomass production, particularly for *Desmodesmus*, likely due to competitive nutrient uptake, but did not improve lipid accumulation relative to monocultures. Optimal biomass production occurred at moderate temperatures and light intensities, whereas lipid and biodiesel production increased under higher light intensity, extended photoperiod, and slightly alkaline pH, indicating stress-induced lipid accumulation. The results demonstrate that optimal conditions for primary metabolites differ from those for secondary metabolites, emphasizing the need for targeted optimization depending on production goals.

Conclusion: Current study confirms that cultivation strategy and environmental conditions play critical roles in determining biomass, lipid, and biodiesel production in microalgae. *Scenedesmus* monoculture was identified as the most efficient system for lipid and biodiesel production, while mixed culture improved biomass yield in the more sensitive *Desmodesmus*. Overall, optimal conditions were achieved at moderate temperature, pH 8, a 16-hour photoperiod, and high light intensity. These findings highlight the potential of microalgae as sustainable biodiesel feedstocks and provide a basis for designing efficient cultivation systems that balance productivity, stability, and energy efficiency.

Cite this article as: Bagheri, A., Gholami Parshkohi, M., Mohammadi, A., Mohammad Zamani, D. (2025). Investigation of biomass productivity, lipid content, and biodiesel fuel in microalgae mixed cultures of *Scenedesmus* sp. and *Desmodesmus armatus*. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 78: 1-22.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
DOI: https://doi.org/10.71890/IPER.2025.984426

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

بررسی بهره وری زیست توده، محتوی لیپید و سوخت بیودیزل در کشت مخلوط ریز جلبکهای *Scenedesmus* sp. و *Desmodesmus armatus*

عمار باقری[۱]، محمد غلامی پرشکوهی[۲*]، احمد محمدی[۳]، داود محمد زمانی[٤]

[۱] گروه مهندسی بیوسیستم، واحد تاکستان، دانشگاه آزاد اسلامی، تاکستان، ایران.رایانامه: ammarbagheri62@gmail.com

[۲] گروه مهندسی مکانیک، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرقدس، ایران.رایانامه: mohammad.gholami@iau.ac.ir

[۳] گروه مهندسی مکانیک، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرقدس، ایران. رایانامه: A-mohamady@iau-arak.ac.ir

[٤] گروه مهندسی بیوسیستم، واحد تاکستان، دانشگاه آزاد اسلامی، تاکستان، ایران.ایران، رایانامه: davoodmohamadzamani@gmail.com

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۳/۰۹/۲٦
تاریخ بازنگری: ۱٤۰۳/۱۲/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱٤۰٤/۰۱/۱۵
تـاریخ چاپ:۱٤۰٤/۰٤/۰۱

چکیده

نقش بیوتکنولوژی در تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه جلبک از اهمیت بالایی برخوردار است. کشت جلبک بصورت خالص و تک سلولی به طور گسترده در سالهای گذشته انجام شده است. با این حال، اگرچه کشت مخلوط ریزجلبک مزایایی نسبت به کشت‌های خالص دارد، اما هنوز در مورد عملکرد کشت‌های مخلوط اطلاعات کافی وجود ندارد. در این تحقیق سعی شده است تمامی فاکتورهای موثر در رشد دو گونه ریز جلبک آب شیرین در کشت مخلوط و اثرات بیولوژیکی آنها بر میزان تراکم سلولی، میزان زیست توده و درصد لیپید نسبت به وزن خشک مورد بررسی قرار گیرد. گونه‌های انتخابی شامل ریز جلبک *سنده‌موس* و *دسمودسموس* بود. پس از کشت اولیه و رسیدن به تراکم مناسب نمونه به فتوبیوراکتور عمودی منتقل و فاکتورهای محیطی در دو سطح کشت خالص و مخلوط برای ریز جلبکها اعمال گردید. سپس اثرات پارامترهای محیطی و نوع کشت بر بهره وری زیست توده، و محتوای لیپید مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که بیشترین میزان تراکم سلولی و زیست توده در شرایط ثابت دمای ۲۵ درجه سلسیوس، تابش نور ۳۰۰۰ لوکس، مدت زمان ۱٦ ساعت نوردهی اسیدیته ۸ مربوط به کشت خالص سندسموس و سپس کشت مخلوط سندسموس و دسمودسموس بود. همچنین بیشترین میزان تولید لیپید در شرایط ثابت دمای ۳۰درجه سلسیوس،مدت زمان نوردهی ۱۸ ساعت، شدت تابش ٤۰۰۰ لوکس و اسیدیته ۹ به جلبک سندسموس و سپس دسمودسموس تعلق داشت. درخصوص میزان بیودیزل تولیدی نیز بیشترین میزان مربوط به ریز جلبک سندسموس و سپس دسمودسموس در شرایط ۱٦ساعت نوردهی ، تابش ٤۰۰۰ لوکس ، دمای ۲۵ درجه سلسیوس و اسیدیته ۸ بود. نتایج مقایسه کشت ترکیبی با کشت خالص بیانگر تاثیر مثبت کشت ترکیبی بر میزان تولید و تراکم سلولی و در مقابل کاهش لیپید بوده اما در مجموع درصد بیودیزل استخراجی از لیپید در کشت مخلوط نسبت به کشت خالص ریز جلبک دسمودسموس بالاتر بود البته در مورد درصد بیودیزل استخراجی از لیپید ملاحظه گردید که میزان بیودیزل در کشت مخلوط نسبت به کشت خالص ریز جلبک دسمودسموس بالاتر بود.

واژه‌های کلیدی:
کشت مخلوط
ریز جلبک
متابولیت اولیه
متابولیت ثانویه
کشت خالص

استناد: باقری، عمار؛ غلامی پرشکوهی، محمد؛ محمدی، احمد؛ محمدزمانی، داود (۱٤۰٤). بررسی بهره وری زیست توده، محتوی لیپید و سوخت بیودیزل در کشت مخلوط ریز جلبک‌های *Scenedesmus* sp. و *Desmodesmus armatus*. *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۷۸: ۲۲-۱.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی گرگان
DOI: https://doi.org/10.71890/IPER.2025.984426
© نویسندگان.

مقدمه

ذخایر سوخت فسیلی زمین به سرعت در حال اتمام است و نیاز به منابع انرژی تجدید پذیر افزایش یافته است. بیودیزل اخیراً توجه خاصی را به خود به عنوان سوختی با آلودگی کم و تجدید پذیر جلب کرده است. یکی از نگرانی‌های اصلی مربوط به منابع نسل اول و دوم تولید بیودیزل، استفاده از زمین‌های زراعی است که منجر به رقابت با بخش‌های دیگر مانند اتانول زیستی و کشاورزی،خوراک دام،تولید غذا می‌شود (Bharti et al., 2022). علاوه بر این، زمان تولید، وابستگی آب و هوایی و کیفیت خاک، از جمله عوامل موثر در تولید منابع نسل اول و دوم می باشند. از سوی دیگر تولید این محصولات بخاطر استفاده از کود، اکسید نیتروژن را آزاد می کند که یک گاز گلخانه قوی است (Karlsson et al., 2017).

میکروجلبک‌ها، به گیاهان شناور یا فیتوپلانکتوهایی اطلاق می شود که غذای آغازین جانوران را در اکوسیستم‌های آبی تشکیل می دهند و تمام حلقه‌های بالاتر شبکه غذایی انرژی خود را از مواد آلی ساخته شده از میکروجلبک‌ها دریافت می کنند. اکثر این موجودات تک سلولی بوده و از تولید کنندگان اولیه در زیستگاه‌های آبی محسوب می شوند. میکروجلبک‌ها منبع غنی از پروتئین، کربوهیدرات‌ها و به ویژه اسیدهای چرب ضروری می باشند (Saydanloo et al., 2020).

در بین منابع تولید بیودیزل، میکروجلبک‌ها به علت محتوای بالای چربی و رشد سریع جایگاه ویژه ای را کسب کرده است (Unpaprom et al., 2015). ایده استفاده از ریزجلبک‌ها در مقیاس زیاد اولین بار توسط دانشمندان آلمانی به منظور دستیابی به منابع پروتئین ارزان قیمت و جایگزینی آن با منابع پروتئین حیوانی مطرح شد (Soeder, 1986). علاوه بر این، ریزجلبک‌ها منبع اصلی اکسیژن در این سیاره هستند، و تثبت دی اکسیدکربن در فرایند فتوسنتز و تولید بیودیزل در جلبکها می تواند نوید تولید سوخت بدون کربن را در آینده بدهد. در این زمینه، استفاده از زیست توده ریز جلبک‌ها به عنوان منبع بیودیزل در حال رشد است (Karlsson et al., 2017). این میکروارگانیسم‌ها در مقایسه با محصولات معمولی نرخ رشد و بهره وری بالاتری از خود نشان می دهند. علاوه بر این، آنها را می توان با استفاده از فاضلاب کشت کرد، بنابراین از رقابت برای آب شیرین و افزایش بحران آب جلوگیری کرد (González-González et al., 2018). در بین گونه‌های مختلف ریز جلبک‌ها دسمودسموس۱ و سندسموس۲ از نظرقابلیت محتوی چربی تولیدی دارای قابلیت برتر می‌باشند (Niazkhani et al., 2023)

ریزجلبک دسمودسموس از شاخه کلروفیتا و معمولا به شکل یک کلونی مسطح، بیشتر درآب‌های شیرین دیده می شود . این ریزجلبک در زنجیره غذایی و در تغذیه زئوپلانکتون‌ها و ماهی‌ها اهمیت دارد همچنین از این ریز جلبک به عنوان شاخص زیستی در خود پالایی سیستم‌های آبی استفاده می‌شود (Farsani et al., 2015).

جلبک سندسموس در مطالعات آزمایشگاهی زمینه‌های مختلف علم لیمنولوژی بسیار پراستفاده بوده و کاربرد فراوانی در بخش تحقیقات دارد. سندسموس از خانواده Scenedesmaceae بوده و تا کنون ۱۷۱ گونه از این جنس شناسایی شده است. این جلبک‌ها به عنوان میکروارگانیزمهای استاندارد در بسیاری از پژوهش‌های علوم دریایی و آبی، تکنولوژی و مدیریت آب‌ها مطرح هستند (Hedayatifard et al., 2015). در آب‌های شیرین، خاک و سنگ‌های مرطوب پیدا می‌شود (Harati et al., 2009). به‌عنوان

[1] *Desmodesmus armatus*
[2] *Scenedesmus* sp

منبعی بالقوه برای تولید مواد اولیه بیودیزل پیشنهاد شده اند. میکروجلبک سندسموس و دسمودسموس دارای توانایی لازم برای تولید میزان زیادی لیپید بوده که می تواند برای تولید بیودیزل و یا بیواتانول مورد استفاده قرار گیرد (Malek Ahmadi et al., 2019).

بهینه سازی شرایط رشد جلبک‌های سبز پیچیده بوده و به عوامل مختلفی مرتبط است که هر کدام می توانند بازدارنده یا تحریک کننده باشند که از آن جمله می توان به مواد غذایی، دما،هوادهی، تغییرات گازی، میزان تابش نور، شوری و تراکم سلولی اشاره کرد. علاوه بر عوامل ذکر شده فوق نحوه کشت (کشت خالص یا کشت مختلط) می تواند در میزان تولید زیست توده و متابولیت‌های ثانویه تاثیر بسزایی داشته باشد (Salama et al., 2013).

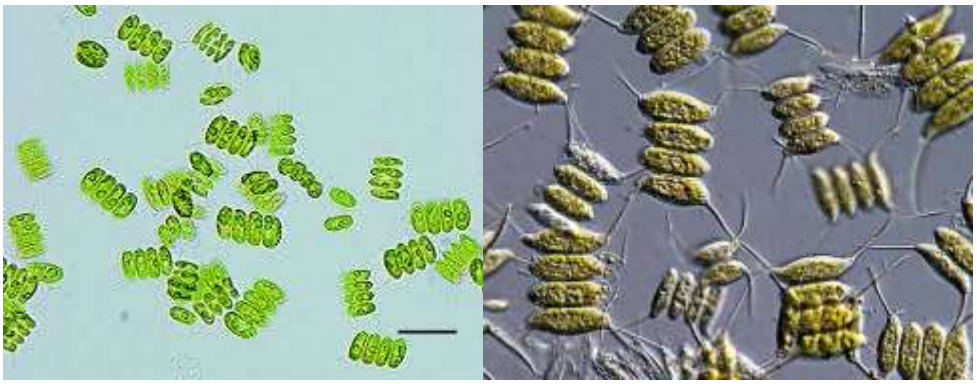
کشت خالص جلبک به‌طور گسترده در دهه‌های گذشته انجام شده است. با این حال، کشت خالص ممکن است خطر آلودگی توسط جلبک‌های غیر هدف غیرعمدی موجود (رقبا) یا چرندگان (شکارچیان) را افزایش دهد که ممکن است منجر به کاهش بهره‌وری زیست توده و همچنین کاهش پایداری اقتصادی سوخت‌های زیستی جلبکی شود. (Georgianna et al., 2012). در این راستا، خطر آلودگی حتی در محیط‌های شور بالاست که در آن گونه‌های جلبکی آب شیرین که در برابر شوری مقاوم هستند ، می‌توانند در بخشی از دوره کشت رشد کنند و کارایی کلی سیستم را کاهش دهند. از سوی دیگر، بیوتکنولوژی کشت مخلوط دارای مزایایی نسبت به فرهنگ خالص است. به عنوان مثال، تنوع میکروبی در بیشتر موارد باعث ایجاد شرایط سازگاری می شود که در آن نگرانی شدیدی در مورد آلودگی وجود نخواهد داشت و همچنین امکان یک فرآیند مداوم بیشتر است (Hall CAS, 2011; Novoveská et al., 2016) با این حال، اختلاف نظر در مورد امکان پذیری ادغام کشت گونه‌های جلبک آب شیرین و دریایی در یک کشت مخلوط با تصفیه فاضلاب شور وجود دارد (Mohan Devi, 2011) لذا در این تحقیق سعی گردید گونه‌های مورد استفاده محیط یکسانی داشته باشند.

مواد و روش‌ها

کشت جلبکها: مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه متعلق به شرکت مرک [1] (دارمشتات، آلمان) بود. تمام محلول‌ها که با آب دوبار تقطیر تهیه شده بودند، قبل از استفاده در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند. ریزجلبک‌های سندسموس و دسمودسموس از آزمایشگاه زیست فناوری جلبک مرکز تحقیقات علوم گیاهی کاربردی اراک تهیه شد و برای آزمایشات مورد نظر استفاده گردید. شکل (۱) نمایی از ساختار تک سلولی سندسموس و دسمودسموس است که توسط میکروسکوپ گرفته شده است.

محیط کشت مورد استفاده برای هر دو ریزجلبک پی پی ام۲ بود. کشت اولیه جلبکهای مذکور در محیط کشت BBM [2] در مقادیر ۱۰۰ و سپس ۱۰۰۰ میلی لیتری و تحت شرایط کنترل شده در انکوباتور ژرمیناتور با دمای ٢٤ درجه سلسیوس با لامپ‌های فلورسنت با شدت نوری ۲۵۰۰ لوکس و pH= ۷ کشت داده شد. هوادهی از طریق پمپ اکواریوم مدل AQUA 9805 ساخت کشور چین انجام گرفت. پس از ۵ روز مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر از آن با تراکم ۱۷۵۰۰×۱۰^{٤} در میلی لیتر به هرکدام از محیط کشت‌های آماده در فتوبیوراکتور لوله ای عمودی جهت کنترل عوامل محیطی منتقل گردید(شکل ۲).

[1] Merck
[2] Bold basal medium(BBM)



شکل ۱: میکروجلبک دسمودسموس(سمت راست) و سندموس (سمت چپ)

شکل ۲: فتوبیوراکتور عمودی نیمه اتوماتیک

از فتوبیوراکتوری استفاده شد که دارای ٤ محیط جداگانه بوده و تمام پارامترها از جمله میزان دما، شدت نور، مدت نوردهی و میزان هوادهی در هرکدام از محیط‌ها قابل کنترل بود. در هر کدام از محیط‌ها از سه استوانه شیشه ای استفاده شد که به عنوان تکرارِ هر کدام از نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت (Afsharbakhsh et al., 2020). فاکتورها و سطوح بررسی شده در جدول ۱ به صورت کامل آورده شده است.

جدول ۱: مشخصات عوامل محیطی و متغیرهای تحقیق

میزان دی اکسید کربن(٪)	شدت نور (لوکس)	مدت روشنایی(ساعت)	pH	دما(سلسیوس)	طول دوره(روز)	محیط کشت	نوع جلبک	
۱	۲	۳	۲	۳	۱	۱	۳	سطوح تیمار
۱۵	۳۰۰۰-٤۰۰۰	۱۸-۱٦-۱٤	۸-۹	۲۰-۲۵-۳۰	۱۵	BBM	دسمودسموس سندسموس مخلوط دسمودسموس و سندسموس	شرح تیمار

برداشت و بررسی نمونه‌ها: برای برداشت جلبک‌ها زیست توده از سانتریفوژ Arsan separator, Cream Turkey که در واقع نوعی دستگاه خامه‌گیر با حجم بالا و سرعت۱۲۰۰۰ دور در دقیقه بود استفاده شد. پس از رسوب و جمع شدن جلبک‌ها در قسمت داخلی روتور ، جلبک‌های تغلیظ شده جمع آوری و به ظروف استریل جداگانه منتقل شدند.پس از برداشت نمونه‌ها پارامترهای وابسته مورد بررسی قرار گرفت.

تراکم سلولی: تراکم سلولی توسط لام نئوبار، با استفاده از روش Lavens and Sorgeloos (۱۹۹٦) در پایان روز پانزدهم انجام گردید.

میزان زیست توده (وزن خشک): برای اندازه‌گیری زیست توده، در پایان روز پانزدهم از نمونه مورد نظر ٤۰۰ میلی لیتر محلول جلبکی برداشته شد و با کاغذهای صافی غشایی از قبل توزین شده، فیلتر گردید. 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 هم دما شدن با محیط آزمایشگاه بوسیله یک ترازوی دیجیتالی مورد توزین قرار گرفت تا اختلاف وزن حاصل نشان دهنده وزن خشک جلبک باشد. با توجه به اینکه اختلاف وزن مربوط به ٤۰۰ میلی لیتر جلبک فیلتر شده می‌باشد، لذا برای محاسبه وزن خشک یک میلی لیتر جلبک، عدد ٤۰۰ به‌عنوان V در فرمول زیر لحاظ گردید تا وزن خشک بر حسب میلی‌گرم بر میلی لیتر محاسبه گردد (Ikedo and Omori, 1984).

استخراج و اندازه‌گیری لیپید: برای استخراج لیپید از دستگاه سوکسله مدل Soxtec 2050 ساخت کشور سوییس استفاده گردید. ۱۰ گرم از هر نمونه زیست توده خشک شده، توسط هاون یکنواخت گردیده و از دستگاه سوکسله جهت استخراج استفاده شد. هر سیکل شامل جوشیدن به مدت ۲۵ دقیقه، استخراج لیپید به مدت ٤۰ دقیقه و بازیابی حلال به مدت ۱۵ دقیقه بود. استخراج تمامی نمونه‌ها بطور یکسان در سه مرحله انجام گردید. جهت استخراج از سه حلال متداول دی اتیل اتر، ان هگزان و ان پنتان با دمای نقطه جوش متفاوت و خلوص بالا استفاده گردید. برای حذف بقایای ریزجلبک، لیپید استخراج شده به وسیله

فیلتر ۰/٤٥ میکرومتر صاف شد. پس از تعیین مقدار لیپید، لیپید خشک شده را در ۰/٤ میلی لیتر الکل ایزوپروپیل حل نموده و مقدار تری گلیسرید در لیپید اندازه گیری گردید (Xin et al., 2010). جهت محاسبه درصد لیپید زیست توده فاز آلی جدا شده در یک ویال که از قبل وزن شده بود (W1) ریخته شد و در دمای ۵۰ درجه سلسیوس در آون مدل HD ساخت کشور آلمان قرار داده شد تا حلال تبخیر شود. پس از آن ویال‌ها دوباره وزن شدند (W2) و میزان لیپید کل با اختلاف بین وزن اولیه و ثانویه (W2-W1) برحسب درصد محاسبه شد (Nigam et al., 2011).

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 ۱۸۰ rpm به مدت ۵ ساعت صورت گرفت. پس از آن دو لایه تشکیل شد که لایه بالایی حاوی سوخت زیستی بوده و به واسطه پترولیوم اتر جداسازی شد (Dai et al., 2007).

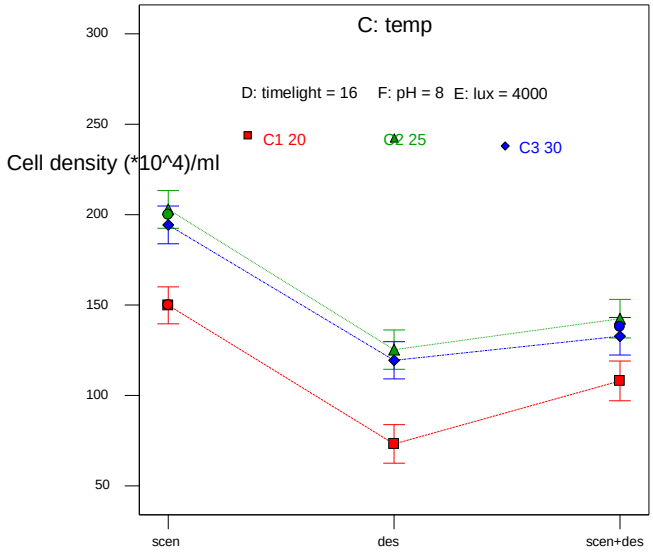
آنالیز آماری

در این پژوهش، پس از مشخص شدن سطوح تیمارها (جدول۱) جهت طراحی و اجرای تحقیق از نرم‌افزار Design Expert V18 استفاده گردید. با توجه به تعداد سطوح تیمارها و محدودیت اجرای طرح از بخش سطوح بهینه فاکتوریل استفاده گردید. تعداد نمونه‌های اندازه گیری شده ۷۰ نمونه بود. پس از انجام آزمایشها میزان تراکم سلولی، وزن خشک زیست توده، درصد لیپید و درصد بیودیزل تولیدی محاسبه و با بکارگیری شاخص آنالیز واریانس برای مقایسه داده‌ها در سطح معناداری ۱ و ۵ درصد استفاده گردید.

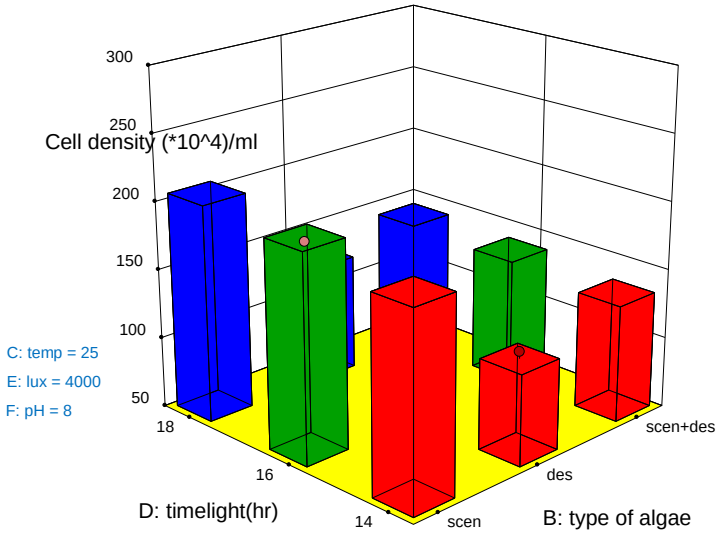
نتایج

تراکم سلولی: بررسی تاثیر نوع جلبک بر میزان تراکم سلولی در روش تولید سوسپانسیون در شرایط اسیدیته برابر با ۸، شدت تابش نور ۳۰۰۰ لوکس، زمان تابش نور برابر با ١٦ ساعت در تمامی دماهای مورد بررسی نشان می‌دهد بیشترین و کمترین تراکم سلولی به ترتیب متعلق به جلبک سندسموس و دسمودسموس است (شکل ۳). با توجه به معنادار بودن تاثیر پارامترهای محیطی بر میزان تراکم سلولی در هر سه جلبک، بیشترین میزان تکثیر سلول در دمای ۲۵ درجه سلسیوس می‌باشد و کمترین میزان آن مربوط به دمای ۲۰ دجه سلسیوس می‌باشد . با توجه به شکل ۳ می توان گفت که میزان تراکم سلولی در محدوده ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس بیشتر از دمای ۲۰درجه سلسیوس می‌باشد . این مقادیر در مدت زمان نوردهی ١٦ ساعت با اسیدیته ۸ و شدت نوردهی ٤۰۰۰ بدست آمده است. در تمامی مراحل تحقیق محیط کشت BBM و میزان درصد دی اکسیدکربن ۱۵٪ درنظر گرفته شد.

درخصوص تاثیر مدت زمان نوردهی می‌توان گفت که با توجه به تاثیر مستقیم نور در میزان فتوسنتز با افزایش مدت نوردهی در هر سه نوع جلبک میزان تراکم سلولی افزایش یافته است اما با توجه به بررسی انجام گرفته تفاوت معناداری بین مدت زمان ١٦ و ١٨ وجود ندارد لذا با توجه به هزینه انرژی بهینه ترین مدت زمان نوردهی ١٦ ساعت انتخاب گردید. این نتایج در شدت نوردهی ٤۰۰۰لوکس بدست آمده است و ممکن است در شدت نور بالاتر بعنوان عامل بازدارنده باعث کاهش میزان فتوسنتز گردد.

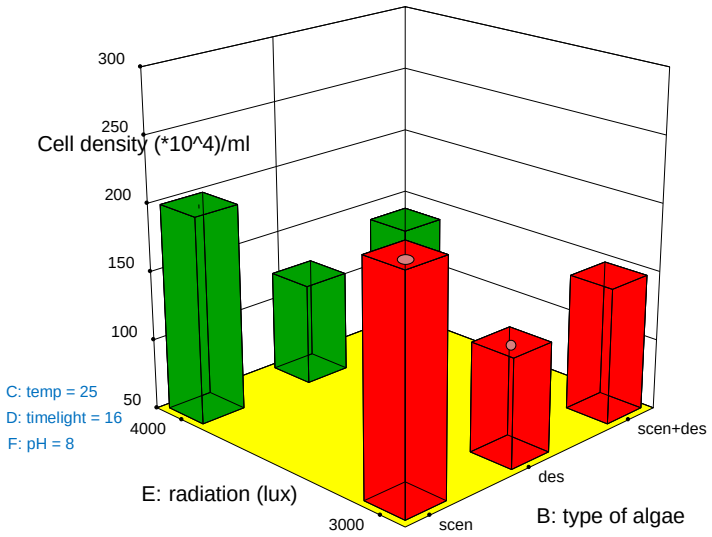


شکل ۳: تاثیر دما بر تراکم سلولی جلبکهای سندسموس، دسمودسموس و مخلوط دسمودسموس و سندسموس در شرایط ثابت pH8 و زمان نوردهی ۱۶ساعت و شدت نوردهی ٤۰۰۰ لوکس



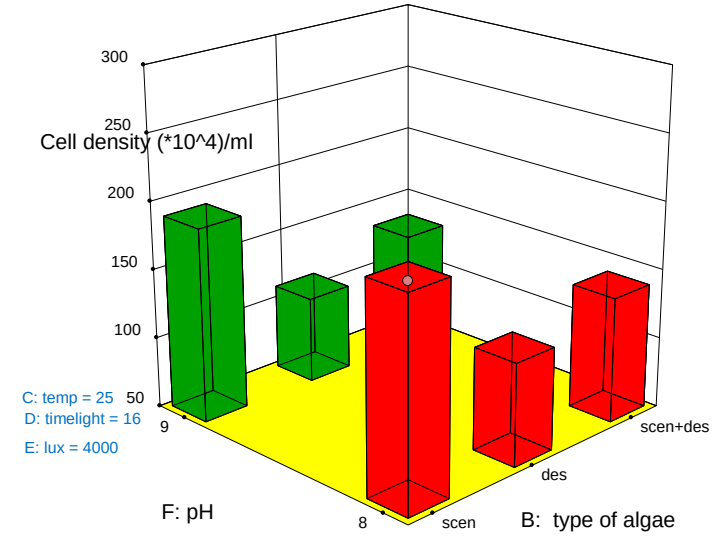
شکل ٤: تاثیر مدت زمان نوردهی بر تراکم سلولی جلبکهای سندسموس و دسمودسموس و مخلوط دسمودسموس و سندسموس در شرایط ثابت دمای۲۵درجه ، شدت نوردهی ٤۰۰۰لوکس در pH8

با توجه به تاثیر شدت نوردهی بر میزان رشد و فعالیت متابولیت‌های اولیه و ثانویه مشاهده می‌گردد که بیشترین میزان تراکم سلولی در هر دو شدت ۳۰۰۰ و ٤۰۰۰ لوکس مربوط به جلبک سندسموس و کمترین میزان مربوط به جلبک دسمودسموس می‌باشد. در مقایسه بین دو میزان شدت نور در جلبک سندسموس بیشترین میزان مربوط به ۳۰۰۰ لوکس می‌باشد.



شکل ۵: تاثیر شدت نور بر تراکم سلولی جلبکهای سندسموس و دسمودسموس و مخلوط دسمودسموس و سندسموس در شرایط دمای ۲۵درجه و مدت زمان نوردهی ۱۶ساعت با pH8

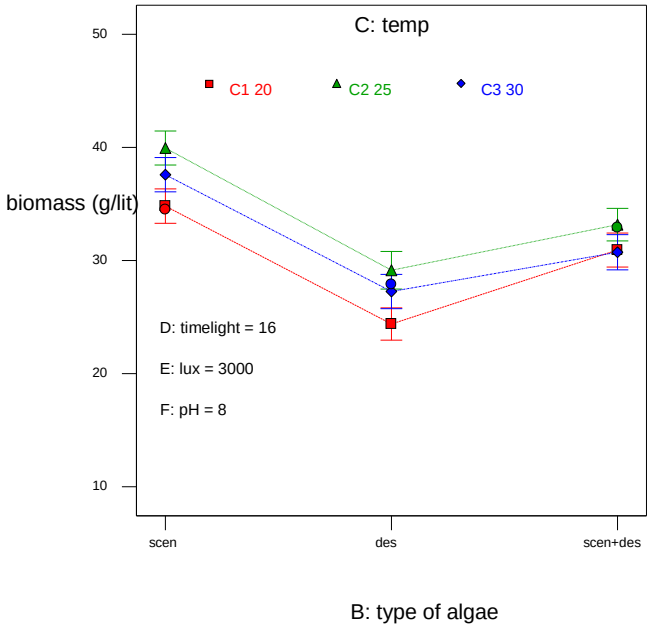
در خصوص تاثیر پارامتر pH بر میزان تراکم سلولی با توجه به اینکه پارامترهای دیگرمانند شدت نوردهی ٤۰۰۰لوکس،.مدت نوردهی ۱٦ ساعت و دما ۲۵ درجه سانتی گراد به صورت ثابت درنظر گرفته شده است نتایج بدست آمده نشان می دهد که مقدار تراکم سلولی در اسیدیته ۸ نسبت به اسیدیته ۹ بیشتر می‌باشد. البته با توجه به مقایسه میانگین انجام شده تفاوت معناداری بین این دو pH مشاهده نشد. در مقایسه بین میکروجلبکها ملاحظه میشود که بیشترین میزان مربوطه به سندسموس در pH ۸ و کمترین میزان مربوط به دسمودسموس در pH 9 می‌باشد (شکل ٦).



شکل ٦: تاثیر اسیدیته محیط کشت بر تراکم سلولی جلبکهای دسمودسموس،سندسموس و کشت مخلوط در دمای ۲۵ درجه سلسیوس ، مدت زمان نوردهی ۱٦ساعت و شدت نوردهی ٤۰۰۰ لوکس

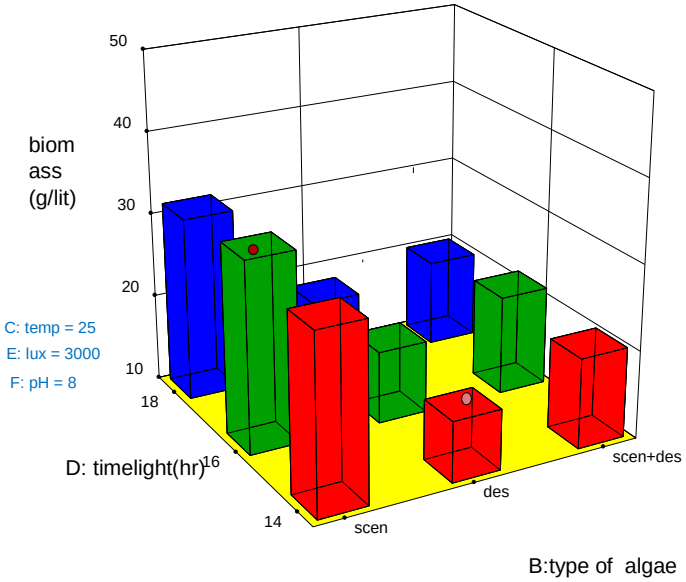
میزان زیست توده (وزن خشک): در مقایسه بین جلبکها در شرایطی که مدت زمان نوردهی ۱۶ساعت با شدت لوکس ۳۰۰۰ ، در هر سه دما و pH=8 مطابق شکل۷بیشترین میزان مربوط به جلبک سندسموس و کمترین میزان مربوط به دسموسموس می‌باشد. در مقایسه بین کشت مخلوط با دسموسموس تفاوت معناداری از نظر میزان زیست توده ملاحظه نگردید (شکل ۷). در خصوص تاثیر دما بر میزان زیست توده ملاحظه میگردد که در هر سه میکروجلبک بیشترین میزان مربوط به دمای ۲۵درجه سلسیوس و کمترین میزان مربوطه به دمای ۲۰درجه سلسیوس می‌باشد. نتایج ذکر شده در شرایط ثابت مدت زمان نوردهی ۱۶ ساعت، شدت نوردهی ۳۰۰۰ لوکس و اسیدیته ۸ بدست آمد (شکل ۷).

با توجه به نقش مهم نور در انجام فرایند فتوسنتز و تولید زیست توده علاوه بر شدت نور میزان نوردهی نیز مورد بررسی قرار گرفت که با توجه به شکل ۱۰ ملاحظه می گردد که با افزایش میزان نوردهی میزان تراکم سلولی افزایش یافته و بیشترین میزان آن مربوط به محدوده ۱۶ ساعت نوردهی در میکروجلبک سندسموس بوده کمترین میزان مربوط به میکروجلبک دسموسموس در ۱۴ ساعت نوردهی می‌باشد (شکل ۸).

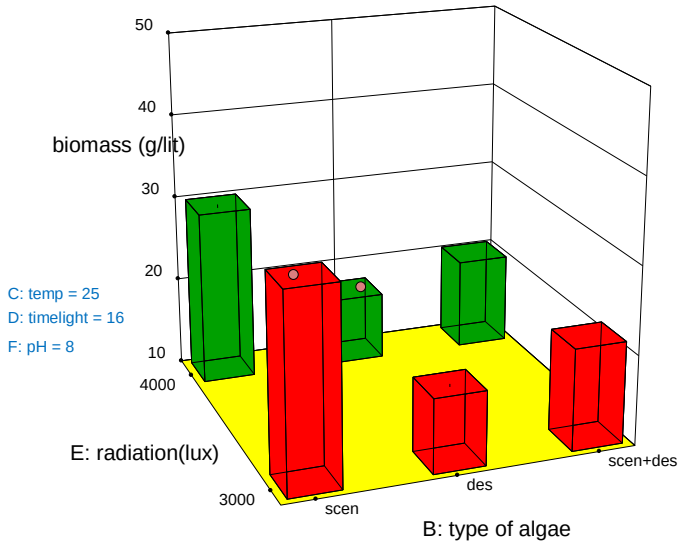


شکل ۷: تاثیر دما بر میزان زیست توده جلبک‌های دسموسموس، سندسموس و کشت مخلوط در شرایط ثابت مدت زمان نوردهی ۱۶ ساعت، شدت نور ۳۰۰۰ لوکس و pH8.

در بررسی بعمل آمده درخصوص تاثیر شدت نوردهی نتایج بدست آمده نشان داد که بیشترین میزان زیست توده تولیدی در میکروجلبک سندسموس در دمای ثابت ۲۵ درجه سلسیوس،مدت زمان نوردهی ۱۶ ساعت و اسیدیته ۸ مربوط به شدت نوردهی ۳۰۰۰ لوکس بوده و کمترین میزان مربوط به میکروجلبک دسموسموس در شدت نوردهی ۴۰۰۰ لوکس می‌باشد (شکل ۹).

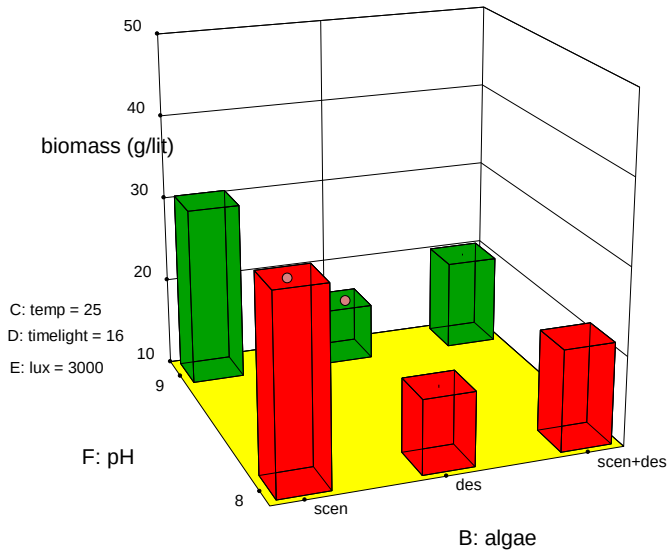


شکل ۸: تاثیر مدت زمان نوردهی بر میزان زیست توده جلبک‌های دسمودسموس،سندسموس و کشت مخلوط در شرایط ثابت pH8، شدت نوردهی ۳۰۰۰ و دمای ۲۵ درجه سلسیوس.



شکل ۹: تاثیر شدت نور دهی بر میزان زیست توده جلبک‌های دسمودسموس، سندسموس و کشت مخلوط در شرایط ثابت دمای ۲۵درجه سلسیوس، مدت نوردهی ۱۶ ساعت و pH8

در خصوص تاثیر پارامتر pH بر میزان تراکم سلولی نتایج بدست آمده نشان می دهد که بیشترین مقدار تراکم سلولی مربوط به pH8 در میکروجلبک سندسموس با در نظر گرفتن شرایط ثابت دمای ۲۵درجه سلسیوس، مدت نوردهی ۱۶ ساعت و شدت نورد هی ۳۰۰۰ لوکس می‌باشد. کمترین میزان تراکم سلولی در pH برابر با ۹ برای میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می‌شود (شکل۱۰).



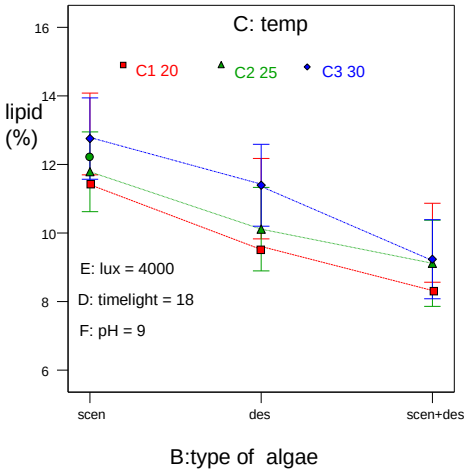
شکل ۱۰: تاثیر اسیدیته محیط کشت بر میزان زیست توده جلبک‌های دسمودسموس، سندسموس و کشت مخلوط در شرایط ثابت دمای ۲۵درجه سلسیوس،مدت زمان نوردهی ۱۶ساعت و شدت تابش ۳۰۰۰ لوکس

میزان لیپید: در بررسی تاثیر پارامترهای مختلف بر میزان لیپید تولیدی بر حسب درصدی از وزن خشک زیست توده در میکروجلبک‌های سندسموس، دسمودسموس و کشت مخلوط نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که نوع جلبک و عوامل محیطی همانگونه که بر میزان تراکم سلولی تاثیر معنادار داشتند بر میزان لیپید تولیدی نیز تاثیر گذار هستند هرچند در برخی موارد این تاثیرات مشابه تغییرات تراکم سلولی نمی‌باشد. با توجه به شکل ۱۱ بیشترین میزان لیپید تولیدی مر بوطه به میکروجلبک سندسموس و کمترین میزان مربوط به دسمودسموس می‌باشد. این نتایج در شرایط ثابت دمای ۳۰ درجه سلسیوس، مدت زمان نوردهی ۱۸ ساعت، شدت نوردهی ٤۰۰۰ لوکس و اسیدیته ۹ بدست آمد. همانگونه که ملاحظه می گردد میزان تولید لیپید در کشت مخلوط کمتر از میکروجلبک دسمودسموس می‌باشد در حالی که میزان زیست توده تولیدی در کشت مخلوط بالاتر بود. نتیجه بدست آمده می‌تواند موید این امر باشد که همزیستی این دو میکروجلبک در افزایش متابولیتهای ثانویه البته در شرایط محیطی ذکر شده تاثیر مثبتی نداشته است و همچنان بیشترین میزان مربوط به کشت تک میکروجلبک سندموس می‌باشد (شکل ۱۱).

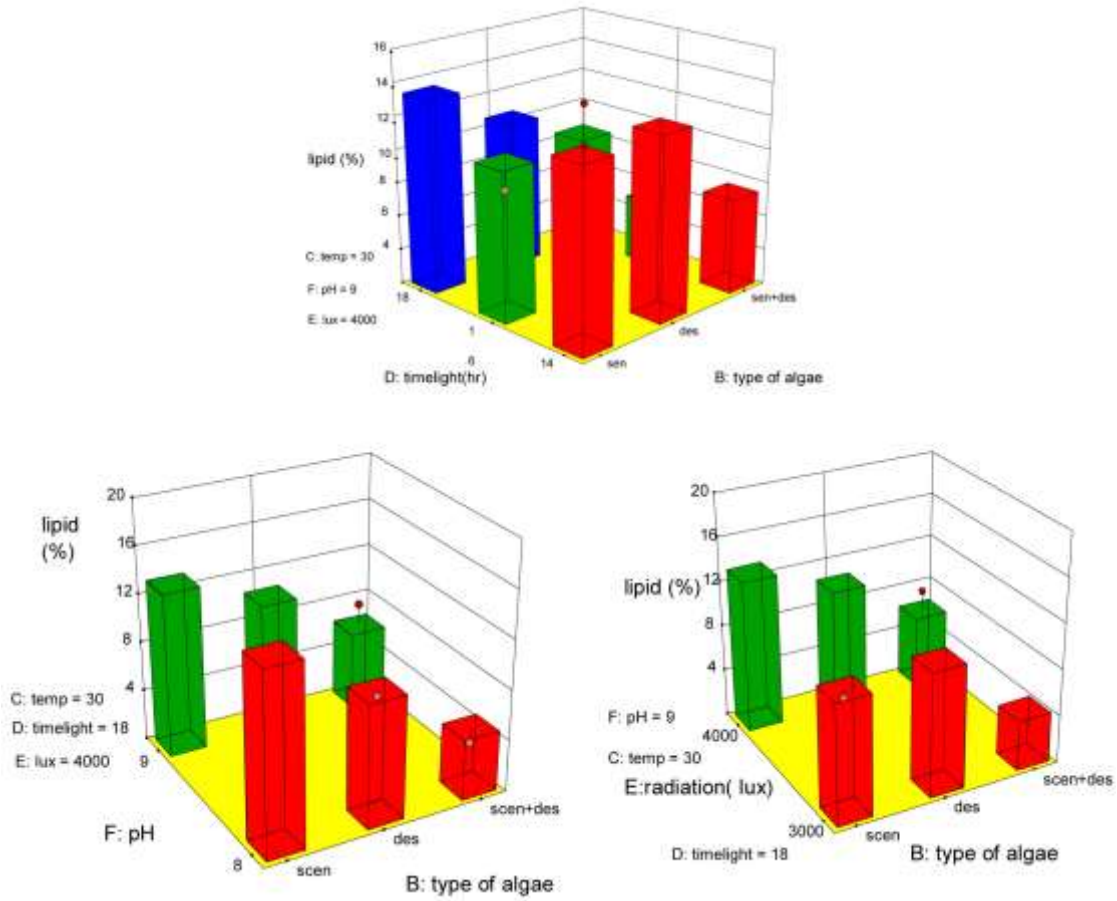
در مورد تاثیر دما بر تولید لیپید در میکروجلبک‌های سندسموس، دسمودسموس و کشت مخلوط مشاهد می شود که با ثابت نگاه داشتن شدت تابش نور برابر با ٤۰۰۰ لوکس، مدت تابش نور برابر با ۱۸ ساعت و اسیدیته برابر با ۹ بیشترین تولید لیپید مربوط به سندسموس و کمترین مربوط به کشت مخلوط می‌باشد در هر سه جلبک بالاترین میزان لیپید تولیدی در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و کمترین مربوط به دمای ۲۰ درجه می‌باشد (شکل ۱۱).

با توجه به نقش مهم نور در تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه، نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که بیشترین میزان لیپید تولید شده مربوط به ۱۸ ساعت نوردهی در میکروجلبک سندسموس می‌باشد. این نتیجه در شرایط ثابت دمای ۳۰ درجه سلسیوس با شدت نور ٤۰۰۰ لوکس در اسیدیته ۸ بدست آمده است. کمترین میزان تولید لیپید نیز مربوط به کشت مخلوط بوده و در تمامی مدت زمان نوردهی میزان

لیپید جلبک تک کشت دسمودسموس بیشتر از کشت مخلوط می‌باشد (شکل۱۲).

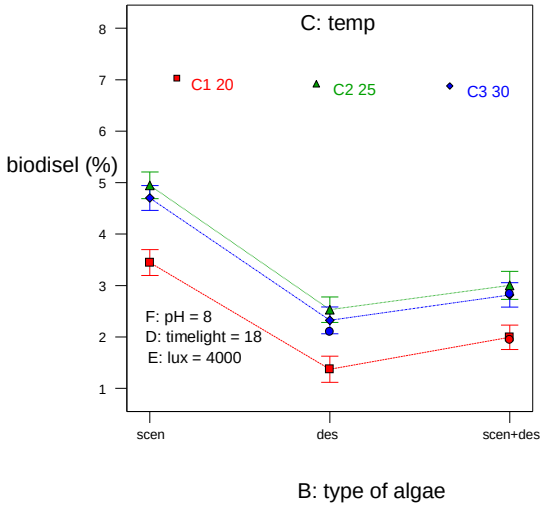


شکل۱۱: تاثیر دما بر میزان لیپید جلبک‌های دسمودسموس، سندسموس و کشت مخلوط در شرایط نوردهی ۱۸ساعت، شدت نور دهی ٤۰۰۰ لوکس و pH9



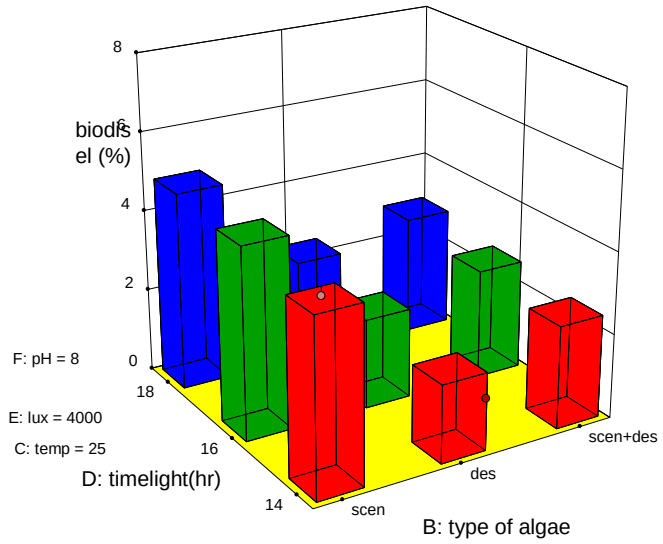
شکل ۱۲: تاثیر مدت زمان نوردهی (الف)، شدت نوردهی (ب) و اسیدیته محیط (ج) بر میزان بیودیزل تولید شده در شرایط ثابت دمای ۳۰ درجه سلسیوس، شدت نوردهی ٤۰۰۰ لوکس و مدت نوردهی ۱۸ ساعت.

میزان بیودیزل: محتوای لیپید تحت تاثیر عواملی مختلفی می‌باشد. عواملی مانند مدت زمان نوردهی، شدت نوردهی و مقدار نیتروژن بر حتوای لیپید بسیار موثر است. در این بررسی تاثیر نوع جلبک بر درصد بیودیزل تولیدی نسبت به ماده خشک در روش تولید سوسپانسیون در شرایط اسیدیته برابر با ۸، شدت تابش نور ٤٠٠٠ لوکس، زمان تابش نور برابر با ١٦ ساعت و دمای ۲۵ درجه سلسیوس نشان می‌دهد بیشترین و کمترین درصد بیودیزل تولیدی به‌ترتیب متعلق به جلبک سندسموس و دسمودسموس است. در مقایسه بین کشت مخلوط و جلبک دسمودسموس ملاحظه میگردد که کشت مخلوط با ایجاد رقابت در جذب مواد غذایی توانسته باعث افزایش میزان متابولیت ثانویه (بیودیزل) گردد (شکل ۱۳).



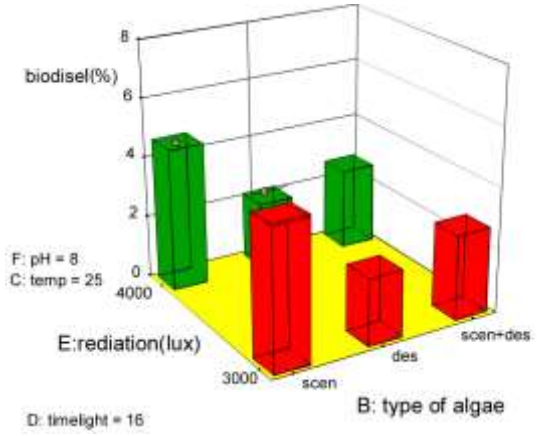
شکل ۱۳: تاثیر دما بر میزان بیودیزل تولیدی در شرایط ثابت شدت نوردهی ٤٠٠٠ لوکس، مدت نوردهی ۱۸ ساعت و pH8

در مورد تاثیر دما بر میزان بیودیزل تولیدی در میکروجلبک‌های سندسموس، دسمودسموس وکشت مخلوط مشاهده می شود که بیشترین درصد تولید در هر سه تیمار مربوط به دمای ۲۵ درجه سلسیوس بوده و بالاترین آن مربوط به میکروجلبک سندسموس می‌باشد. در مقایسه میانگین بین دو دمای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس اختلاف معناداری مشاهده نشده است. لذا بهترین دما در شرایط ثابت مدت نوردهی ۱۸ ساعت با شدت ٤٠٠٠ لوکس و اسیدیته ۸، دمای ۲۵درجه سلسیوس می‌باشد. همچنین کمترین میزان بیودیزل نیز مربوط به میکروجلبک دسمودسموس در دمای ۲۰ درجه سلسیوس می‌باشد (شکل ١٦). درخصوص مدت زمان نوردهی ملاحظه می گردد که بیشترین میزان بیودیزل تولیدی مربوط به ١٦ و ۱۸ ساعت نوردهی می‌باشد که با توجه به معنادار نبودن اختلاف بین آنها نوردهی ١٦ ساعت انتخاب گردید. درخصوص مقایسه بین تک کشت دسمودسموس و کشت مخلوط اختلاف معناداری مشاهده گردید که نشان دهنده تاثیر رقابت دو سویه در جذب مواد غذایی و میزان فتوسنتز در متابولیت‌های ثانویه تاثیر مستقیم داشته و باعث افزایش میزان لیپید و بیودیزل گردیده است (شکل ١٤).



شکل ١٤: تاثیر مدت زمان نوردهی بر میزان بیودیزل تولیدی در شرایط ثابت شدت نوردهی ٤٠٠٠لوکس، دمای ٢٥ درجه سلسیوس و pH8.

درخصوص تاثیر شدت نور بر میزان بیودیزل تولیدی با توجه به شکل ١٥ می توان گفت که در شرایط ثابت (دمای ٢٥ درجه سلسیوس،مدت زمان نوردهی ١٦ ساعت و اسیدیته ٨) بیشترین میزان لیپید تولید شده مربوط به جلبک سندسموس با شدت لوکس ٤٠٠٠ می‌باشد. میزان تولید بیودیزل در کشت مخلوط بالاتر از تک کشت میکروجلبک دسمودسموس می‌باشد. با توجه به بالا بودن میزان بیودیزل در هرسه تیمار در شدت ٤٠٠٠ لوکس می‌توان نتیجه گرفت که بالا بودن شدت لوکس در افزایش میزان بیودیزل تاثیر مثبت داشته است. درخصوص تاثیر گذاری اسیدیته محیط کشت با توجه به نتایج بدست آمده ملاحظه می گردد که بیشترین میزان بیودیزل تولید شده در میزان اسیدیته ٩ مربوط به میکروجلبک سندسموس می‌باشد. با توجه به شکل١٥ ملاحظه می گردد که میزان بیودیزل در کشت مخلوط نسبت به کشت تک دسمودسموس میزان بالاتری دارد.



شکل ١٥: تاثیر اسیدیته محیط و شدت نوردهی بر میزان بیودیزل در شرایط ثابت مدت زمان نوردهی ١٦ ساعت ، دمای ٢٥ درجه سلسیوس و pH8

بحث

جایگزین کردن منابع تولید بیودیزل از نسل اول و دوم به نسل سوم با توجه به اهمیت امنیت غذایی و بحران جمعیت از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. لذا تحقیقات گسترده‌ای در این زمینه انجام گرفته است. در این بین بهینه‌سازی شرایط تولید از اهمتی بالایی برخوردار است 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 بهره دهی 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 به‌عنوان 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.این نتیجه موید نتیجه تحقیق حاضر می‌باشد که با اختلاف معناداری کشت تک جلبک سندسموس را در میزان تولید لیپید و بیودیزل به‌عنوان کاندید اول معرفی می‌کند.

سلول‌های ریزجلبکی تمایل به عملکرد منظم در تک کشت دارند، تحقیقات زیادی در تک کشت انجام شده است. در حالی که در یک کشت مخلوط، عملکرد ریزجلبک‌ها به دلیل تعامل آنها پیچیده تر است. نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه نشان داد که در میزان تولید زیست توده، میکروجلبک سندسموس عملکرد بهتری داشته اما در مقایسه بین تک کشت جلبک دسمودسموس و کشت مخلوط میزان زیست توده کشت مخلوط میزان بالاتری را نشان می‌دهد. در تحقیقی نشان داده شده است که تنش رقابتی بین گونه‌های ریزجلبکی، سلول‌های جلبک را برای استفاده بیشتر از مواد مغذی محیط کشت تحریک می‌کند که در نتیجه نرخ تکثیر جلبک افزایش می‌یابد. دراین تحقیق، محتوای کلروفیل و کاروتنوئید کل کشت مخلوط ریزجلبک در مقایسه با تک‌کشت گونه‌های جلبکی نیز افزایش داشته است در تحقیق حاضر نیز در میکروجلبک دسمودسموس همین نتیجه مشاهده میگردد. اما در مورد میکروجلبک سندسموس ملاحظه میگردد که کشت تک این جلبک نتایج بالاتری نسبت به کشت مخلوط داشته است (Fallah et al., 2020).

در مطالعه Mohan و همکاران (۲۰۱۱) که در مورد پتانسیل ریزجلبک‌های مخلوط برای تولید بیودیزل با تصفیه همزمان انجام شده است نتایج نشان می دهد که رقابت بین سلول‌های جلبکی و همچنین محیط شور شرایط استرس‌زایی را برای کشت جلبکی مختلط فراهم می‌کند که در آن گونه‌های جلبکی می‌توانند مقادیر بیشتری از مواد مغذی مصرف کنند که این نتیجه با نتایج بدست آمده از این تحقیق سازگاری دارد به‌طوری‌که میزان زیست توده تولیدی در کشت مخلوط اختلاف معناداری با کشت تک سویه دسمودسموس دارد (Mohan et al., 2011). همچنین مشاهده شد که اگرچه در کشت مخلوط سویه‌ها تقریباً تمام مواد مغذی محیط کشت را مصرف کرد، اما در بسیاری از موارد آنها مواد مغذی را برای ذخیره رنگدانه‌های سلولی تخصیص ندادند ودر کشت مخلوط سلول‌های ریزجلبک، مواد مغذی را برای تکثیر سلولی جذب می‌کند و تاثیر کشت مخلوط تنها

در متابولیت‌های اولیه مشاهده می گـردد و بـر میـزان متابولیتهای ثانویه تاثیر چندانی ندارند که با نتایج ایـن تحقیق سازگاری دارد (Gupta et al., 2016).

نیتروژن یکی از عناصر کلیدی برای تکثیر سـلولی گونه‌های جلبکی است. در مطالعه Taskan به بررسـی میزان جذب نیتروژن در کشتهای تـک و مخلـوط سـه گونـه میکروجلبـک کلرلاولگـاریس، سندسـموس و نانوکلورپسیس در محیط آب شور و شـیرین پرداختـه شد نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که بـازده زیسـت توده در کشت جلبکـی مخلـوط بـه طـور معنـی‌داری بیشـتر از کشـت تـک‌کشـت در میکروجلبـک‌هـای *C.vulgaris* و *Scenedesmos obliquss* بود که نشـان داد کشت مخلـوط دریـایی و گونـه‌هـای جلبـک آب شیرین تمایل به تخصیص مقادیر نیتروژن برای تکثیـر سـلولی بـالاتر داشـتند. بنـابراین، اخـتلاط گونـه‌هـای مختلف جلبک می‌تواند یک اسـتراتژی مناسـب بـرای تحریک گونه‌های جلبکـی بـه منظـور بهبـود رانـدمان حذف مواد مغذی در پسابها یـا آبهـای غیـر متعـارف باشد (Taskan, 2016).

با توجـه بـه تـاثیر پارامترهـای تـنش زا از جملـه عوامـل محیطـی و همچنـین میـزان مـواد مغـذی بـر متابولیت‌های ثانویه در تحقیق انجام شده توسط حسن پور و همکاران نتایج نشان می دهد که محتوای لیپیـد کشت جلبک مخلوط در مقایسه با کشت تکی جلبـک دریایی *Nanochloropsis* sp. کمی کاهش یافته است. این نتیجـه بـا نتیجـه تحقیـق حاضـر همخـوانی دارد. اگرچه کشت تک کشت جلبک بـرای تولیـد سـوخت زیستی به طـور گسـترده در دهـه‌هـای گذشـته مـورد مطالعه قرار گرفته است، اما نشان داده شده اسـت کـه خطر آلودگی در تک کشت‌هـا بـالا اسـت کـه ممکـن است منجر به هزینه‌های بالای درمان شود و حتی مـی تواند منجر به توقف فرآیند شود (Hassanpour et al., 2015). در حالی که اگر سوخت زیستی هدف باشـد، کشت مخلوط سناریوی امیدوارکننده‌ای اسـت کـه در آن خطر آلودگی کم است و امکان فرآیند مستمر زیـاد اسـت کـه بـا نتـایج ایـن تحقیـق سـازگاری دارد (Kleerebezem et al., 2007).

با توجه به تـاثیر پـارامترهـای محیطـی بـر میـزان متابولیت‌های اولیـه و ثانویـه میکروجلبکهـا بیشـترین میزان زیست توده تولیدی جلبـک دسمودسـموس در شدت تابش نور ۳۰۰۰ لوکس، مدت تابش برابر با ۱۸ ساعت، شوری برابر با ۵ و pH برابر با ۹ به دست آمد. بالاترین میـزان تولیـد لیپیـد و بیـودیزل در دمـای ۲۶ درجه سانتی گراد، شـدت تـابش نـور برابـر بـا ٤۲۰۰ لوکس، مدت تابش برابر با ۱٦ ساعت و pH برابر با ۹ بود..این نتایج در مقایسـه بـا شـرایط محیطـی تحقیـق حاضر همخـوانی دارد (Niazkhani et al., 2022). بـه عبارت دیگـر اعمـال شـرایط اسـترس ماننـد افـزایش شدت نور،باعث افزایش میزان لیپیدگردیده است که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. نتایج این تحقیـق می توان نشان می دهد که ترکیـب تغییـرات شـدت و مدت زمان نوردهی در شرایط یکسان اسـیدیته محـیط توانسته است در دمـای پـایین تـر نیـز لیپیـد را تولیـد نماید. از سوی دیگربالاترین بیودیزل تولیـد شـده در دمای ۲٦ درجه سانتی گراد، شـدت تـابش نـور ٤۲۰۰ لوکس، مدت تابش نور برابـر بـا ۱٦ سـاعت، شـوری برابر با ۱۱ppm و اسیدیته برابر با ۹ است که بـا نتـایج تحقیق نیازخانی و همکاران سازگاری دارد.

Wang و همکـاران (۲۰۱۹) در مطالعـه‌ای کـه بـر روی کشت دسمودسموس داشـتند اعـلام کردنـد کـه دمـای بهینـه بـرای رشـد جلبـک دمـای۲۷ درجـه سانتی‌گراد، شدت نور ۱۰۸ میکرومول بر متر مربـع در ثانیه، pH برابر با ۷ و جریان هوای نیم لیتـر در دقیقـه است که از نظر دما و pH نزدیک به نتـایج بـه دسـت آمـده اسـت. Nzayisenga و همکـاران (۲۰۲۰) اثـر 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 ٤٥٠٠ لوکس بر تولید جلبک افزوده شد درحالی که نقطه اشباع تابش یا بازدارندگی نوری را ٤٥٠٠لوکس معرفی نمودند. نتیجه اعلام شده در مقایسه با نتیجه این تحقیق با توجه به اینکه شدت نور بهینه ٤٢٠٠لوکس بدست آمده سازگاری دارد. 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. درحالیکه در تحقیق حاضر شرایط بهینه برای اسیدیته محیط جهت رشد میکروجلبک دسمودسموس در **pH** ۹ است.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده نشان داد که شرایط بهینه برای تولید متابولیت‌های اولیه (میزان تراکم سلولی، میزان زیست توده) و متابولیت‌های ثانویه (درصد تولید لیپید و بیودیزل) از نظر انتخاب روش کشت(کشت تکی و یا کشت مخلوط) میکروجلبک سندسموس و دسمودسموسس و همچنین پارامترهای محیطی(دما، مدت و شدت نوردهی و اسیدیته محیط) متفاوت می‌باشد. درخصوص متابولیت‌های اولیه در برخی موارد مشاهده شد که علیرغم افزایش میزان تراکم سلولی میزان زیست توده افزایش چندانی نداشت و بواسطه تنش‌های محیطی اندازه سلولها رشد چندانی از خود نشان نداد اما در این تحقیق مشاهده گردید که میزان زیست توده با افزایش میزان تراکم سلولی افزایش یافت. در مورد متابولیت‌های ثانویه نیز ممکن است شرایط بهینه تولید زیست توده برای تولید متابولیت‌های ثانویه مناسب نبوده و بایستی در شرایط متفاوتی به دنبال بالاترین میزان تولید این متابولیت‌ها گشت. از سوی دیگر با توجه به تاثیر کشت مخلوط در مقاومت به آلودگی‌ها در صورتی که شرایط برای کنترل کشت‌های خالص وجود نداشته باشد بهتر است از گونه‌هایی با شرایط یکسان استفاده گردد تا در مجموع تاثیر مثبت در عملکرد تولید داشته باشد. با توجه به اینکه این کشت در شرایط کاملا کنترل شده انجام گرفت تفاوت معناداری در مقایسه کشت خالص با کشت مخلوط در جلبک سندموس مشاهد نگردید اما در ریزجلبک دسمودسموس که به نسبت حساس تر می‌باشد توانسته عملکرد بهتری نسبت به کشت خالص داشته باشد. همچنین در مورد تاثیر پارامترهای موثر محیطی نتایج نشان داد که شرایط بهینه برای تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه با هم متفاوت می‌باشد. اما می توان بهینه ترین شرایط را برای تولید زیست توده و متابولیتهای ثانویه بدست آورد که در این تحقیق بهترین شرایط دمای ۲۵، اسیدیته ۸ ، مدت زمان نوردهی ١٦ ساعت با لوکس ٤٠٠٠ بدست آمد. میتوان با انتخاب گونه‌های متفاوت تاثیرات سویه‌ها را بطور مشخص بررسی کرد. به‌طورکلی، نتایج متمایز تری را می توان با بررسی برهمکنش و همچنین رقابت بین سایر سویه‌های ریزجلبکی در یک کشت مخلوط به دست آورد.

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه و حمایت ارزشمند سرای نوآوری جلبک دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس تشکر و قدردانی می گردد.

References

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

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)

Bharti, R.K.; Singh, A.; Dhar, D.W. and Kaushik, A. (2022). Biological Carbon Dioxide Sequestration by Microalgae for Biofuel and Biomaterials Production. In Biomass, Biofuels, Biochemicals; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 137–153

Chaudhary, R., Khattar, J. I. S. Singh, D.P. (2017). Growth and lipid production by *Desmodesmus armatus 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*. Marine Science and Technology Bulletin. 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.

Fallahi, A., Hajinajaf, N., Tavakoli, O. and Sarrafzadeh, M.H. (2020). Cultivation of Mixed Microalgae Using Municipal Wastewater: Biomass Productivity, Nutrient Removal, and Biochemical Content. Iranian Journal Biotechnology. 18(4):e2586.

Farsani, M.N., Meshkiny, S., Manaffar, R. and Asal Pishe, Z. (2015). Response of growth, protein and fatty acid content of *Desmodesmus armatus cuneatus* to the repletion and depletion of nitrogen. Biological Journal of Microorganism; 3 (12): 59- 68.

Georgianna, D.R., Mayfield, S.P. (2012). Exploiting diversity and synthetic biology for the production of algal Biofuels. Nature. 448:329-335.

Gupta, P.L., Choi, H.J. and Lee, S.M. (2016). Enhanced nutrient removal from municipal wastewater assisted by mixotrophic microalgal cultivation using glycerol. Environmental Science and Pollution Research. 23(10):114–123.

González-González, L.M.; Correa, D.F.; Ryan, S.; Jensen, P.D.; Pratt, S. and Schenk, P.M.(2018). Integrated biodiesel and biogas production from microalgae: Towards a sustainable closed loop through nutrient recycling. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 82(1):1137–1148.

Hall, CAS. and Benemann, J.R. (2011). Oil from Algae? BioScience. 61(10):741–742.

Harati, P., Shokravi, SH., Sateei, A. and Azizi P. (2009). The effect of continuous illumination and short dark durations on growth and pigment composition of green algae Scenedesmus sp. From Golestan Province - Iran Journal of Plant Environmental Physiology. 15(4):10-17.

Hassanpour, M., Abbasabadi, M., Ebrahimi, S., Hosseini, M. and Sheikhbaglou, A. (2015). Gravimetric enrichment of high lipid and starch accumulating microalgae. Bioresource Technology.196:17–21.

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

Hedayatifard, M., Safari, R. and Rezaei, M. . (2015). Effect of Nutrient Changes and Light Density on the Growth Performance and Density of Commercial Microalgae *Scenedesmus* sp.. Journal of New Technologies in Aquaculture Development. 10(3):1-14.

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.

Karlsson, H.; Ahlgren, S.; Sandgren, M.; Passoth, V.;Wallberg, O. and Hansson, P.-A. (2017). Greenhouse Gas Performance of Biochemical Biodiesel Production from Straw: Soil Organic Carbon Changes and Time-Dependent Climate Impact. Biotechnology. Biofuels .,10:217.

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.

Kleerebezem, R. and van Loosdrecht, M.C. (2007). Mixed culture biotechnology for bioenergy production. Current Opinion in Biotechnology. 18(3):207–212.

Malek Ahmadi, F., and Khavari Nejad, R., and Soltani, N., and 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 Tukaj, 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. Bioresource Technology, 99:3949-3964.

Mohan, SV, Devi, M.P., Mohanakrishna, G., Amarnath, N., Babu, M.L., Sarma, P.N. (2011). Potential of mixed microalgae to harness biodiesel from ecological water-bodies with simultaneous treatment. Bioresource Technology. 102(2):109–117.

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 microalgae *Hematococcus* and *Desmodesmus armatus* 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 armatus 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.

Niazkhani, M., Mohamadi, A., Mashhadi, H., Mahmoudnia, F. (2022). 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.

Novoveská, L, Franks, DT, Wulfers, TA, & Henley, WJ. (2016). Stabilizing continuous mixed cultures of microalgae. Algal Research13:126–133

Nzayisenga, J., Farge X., Groll S.L. & 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.

Salama, S, Kim, HC, Abou-Shanab, RA, Ji MK, Oh YK, Kim SH., (2013). Biomass, lipid content, and fatty acid composition of freshwater *Chlamydomonas mexicana* and *Scenedesmus obliquus* grown under salt stress. Bioprocess and Biosystems Engineering; 36(6): 827-833.

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

Saydanloo, Z., Ganjian Khenari, A. and Ahmadi, S.E. (2020). The survey of Microalgae (*Scenedesmus* Sp.) growth within the different medium (TMRL and Z-8+N) culture in Indoor lab condition.. Journal of New Technologies in Aquaculture Development. 10(3):1-14.

Soeder, C. J. (1986). A historical outline of applied algology. In Handbook of Microalgal Mass Culture; Richmond, A., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL. pp. 25-41

Taskan, E. (2016). Performance of mixed algae for treatment of slaughterhouse wastewater and microbial community analysis. Environmental Science and Pollution Research. 23(20):474–482.

Unpaprom, Y., Tipnee, S. and Ramaraj, R. (2015). Biodiesel from green alga *Scenedesmus acuminatus*. International Journal of Sustainable and Green Energy, 4(1):1-6.

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.