



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

Mohammad Niazkhani¹, Ahmad Mohamadi^{2*}, Hamid Mashhadi³,
Fahimeh Mahmoudnia⁴

¹Department of Bio-system Engineering in Renewable Energy, Islamic Azad University, Arak branch, Arak, Iran, Email: a.niazkhani64@gmail.com

² Department of Bio-system mechanical, Islamic Azad University, Arak branch, Arak, Iran, Email: a-mohamady@iau-arak.ac.ir

³ Department of Bio-system mechanical, Islamic Azad University, Arak branch, Arak, Iran, Email: h-mashhadi@iau-arak.ac.ir

⁴ Scientific member of Shahid Beheshti university, Qom, Iran, Email: f.mahmoudnia@cfu.ac.ir

Article type:

Research Article

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.

Article history

Received: 11.12.2021

Revised: 21.02.2022

Accepted: 28.02.2022

Published: 22.02.2023

Keywords

pH

Biofuel

Radiation intensity

Salinity

Temperature

Cite this article as: 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.



©The author(s)

Doi: 10.30495/iper.2022.1946872.1754

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.68.6.5

تاثیر شرایط محیطی مختلف در میزان بهینه تراکم سلولی، تولید زیست توده،

تولید لیپید و بیودیزل در میکروجلبک *Desmodesmus*

محمد نیازخانی^۱، احمد محمدی^{۲*}، حمید مشهدی^۳، فهیمه محمودنیا^۴

۱ گروه مهندسی بیوسستم گرایش انرژی‌های تجدید پذیر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، اراک، ایران، رایانامه: a.niazkhani64@gmail.com

۲ گروه مهندسی بیوسستم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، اراک، ایران، رایانامه: a-mohamady@iau-arak.ac.ir

۳ گروه مهندسی بیوسستم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، اراک، ایران، رایانامه: h-mashhadi@iau-arak.ac.ir

۴ دانشگاه شهید بهشتی قم، قم، ایران، رایانامه: f.mahmoudnia@cfu.ac.ir

نوع مقاله:	چکیده
مقاله پژوهشی	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 می‌گیرد. در مقیاس تجاری به منظور دستیابی به بالاترین میزان زیست توده و یا افزایش میزان تولید سوخت زیستی، استفاده از محیط‌های 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 <i>Desmodesmus</i> بررسی شد. در این مطالعه بهترین دما برای افزایش تراکم سلولی جلبک دسمودسموس، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۴۵۰۰ لوکس، ۱۷ ساعت نوردهی، شوری برابر با ۵ ppm 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 ۵ ppm و pH برابر با ۹ به دست آمد. بالاترین میزان تولید لیپید در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد، شدت تابش نور برابر با ۴۲۰۰ لوکس، مدت تابش برابر با ۱۶ ساعت، شوری برابر با ۱۲ ppm و pH برابر با ۹ بود. بالاترین بیودیزل تولید شده در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد، شدت تابش نور ۴۲۰۰ لوکس، مدت تابش نور برابر با ۱۶ ساعت، شوری برابر با ۱۱ و اسیدیته برابر با ۹ مشاهده گردید.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۰	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۲/۰۲	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۹	
تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۱۲/۰۳	
واژه‌های کلیدی:	
اسیدیته محیط	
سوخت زیستی	
شدت تابش	
شوری	
دما	

استناد: نیازخانی، محمد؛ محمدی، احمد؛ مشهدی، حمید؛ محمودنیا، فهیمه. (۱۴۰۱). تاثیر شرایط محیطی مختلف در میزان بهینه تراکم سلولی،

تولید زیست توده، تولید لیپید و بیودیزل در میکروجلبک *Desmodesmus*. *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۶۸ (۴)، ۵۴-۳۷.

Doi: 10.30495/iper.2022.1946872.1754

Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.68.6.5

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان

© نویسنده‌گان.



مقدمه

بر نقشی که در زنجیره غذایی و تغذیه ژئوپلانتکون‌ها و ماهی‌ها دارد به عنوان شاخص زیستی برای مطالعات بوم‌شناختی، 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 کاربردهای بیان شده امکان رشد سریعتر و ارزان‌تر جلبک همواره وجود دارد. بنابراین در این تحقیق تاثیر شرایط مختلف محیط کشت بر تولید این میکروجلبک بررسی می‌شود تا بتوان شرایطی را یافت که تحت آن تولید میکروجلبک به حداکثر مقدار خود می‌رسد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی میکروجلبک: ریزجلبک دسمودسموس از جهاد دانشگاهی مشهد تهیه شد. برای کشت آن از محیط کشت عمومی^۱ BBM 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 آکواریوم مدل آکوا انجام گردید. پس از ۵ روز، ۱۰۰ سی‌سی 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.

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 تییره Scenedesmeaceae و رده Chlorophyceae می‌باشد (Hegewald, 1997). این میکروجلبک علاوه

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	۱۴-۱۵-۱۶	۹-۸-۷-۶-۵	۲۰-۲۲-۲۴	۱۴-۱۱-۸-۵	۱۵	BBM
۵۰۰۰	۴۰۰۰-۴۵۰۰	۱۸-۱۷		۳۰-۲۸-۲۶	۲۰-۱۷		

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 می‌گردند. کاغذ صافی حاوی محلول جلبکی در آون الکتریکی در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت خشک گردید و پس از خشک شدن، کاغذ صافی در دسیکاتور نگهداری شد و پس از هم‌دم 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 می‌باشد، 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).

$$DW(\text{mg/ml}) = \frac{DWA - DWC}{V} * 1000 \quad (1)$$

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-CO₂) 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 توسط‌هاون 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 ۴۰ 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 تران، هگزان و ان پنتان با دمای جوش متفاوت و درجه خلوص بالا مورد استفاده قرار گرفتند. برای حذف بقایای میکروجلبک، با استفاده از فیلتر ۴۵ 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 ۴ 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: ۴۰ متانول به روغن استخراج شده در rpm ۱۸۰ 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

درصد استفاده گردید. برای رسم نمودارها از همین نرم‌افزار استفاده شد (Soltani et al., 2015)

جداسازی شد (Dai et al., 2007). برای تعیین درصد تولید لیپید از فرمول زیر استفاده شد (El-Fadaly et al., 2009).

(۲)

$$100 \times \text{وزن خشک بیومس} / \text{وزن روغن استخراج شده} = \text{درصد تولید لیپید یا محتوای لیپیدی}$$

تعیین درصد تولید بیودیزل:

(۳)

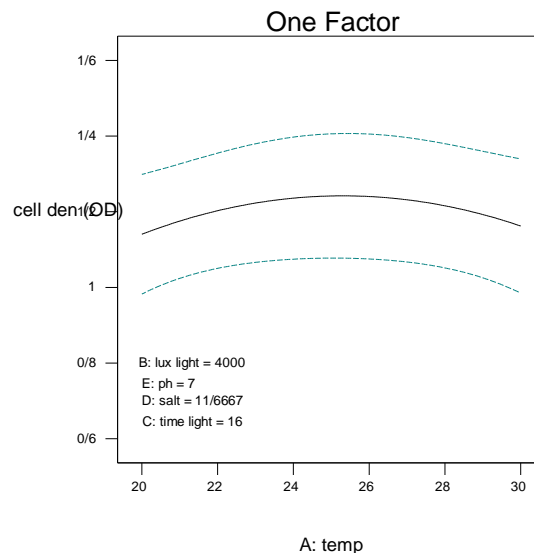
$$100 \times \text{وزن لیپید} / \text{وزن بیودیزل استخراج شده} = \text{درصد تولید بیودیزل}$$

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 از میزان تراکم سلولی، میزان زیست‌توده، میزان لیپید و درصد بیودیزل تولیدی محاسبه و بابه کارگیری شاخص آنالیز واریانس برای مقایسه داده‌ها در سطح معنی‌داری ۱ درصد و ۵

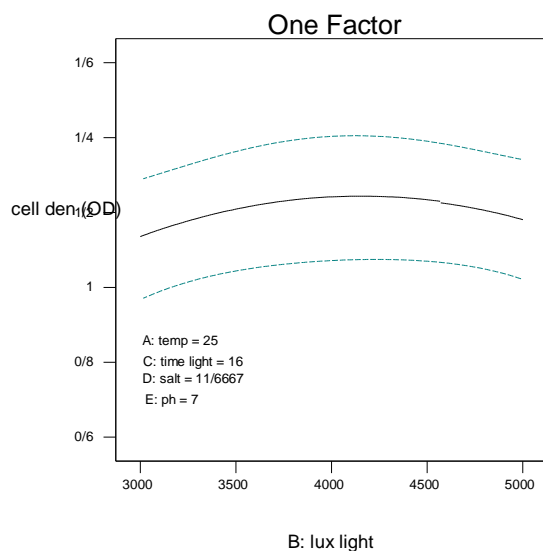
نتایج

در بررسی تاثیر پارامترهای مختلف بر میزان تراکم سلولی، نتایج بدست آمده از آنالیز داده‌ها نشان داد که بیشتر پارامترهای محیطی تاثیر معناداری بر میزان رشد و تراکم سلولی میکرو جلبک دسمودسموس داشته‌اند. در خصوص تاثیر پارامتر دما بر میزان تراکم سلولی با توجه به اینکه پارامترهای دیگر مانند شدت نوردهی ۴۰۰۰ لوکس، اسیدیته ۷، میزان شوری ۱۱ ppm و مدت نوردهی ۱۶ ساعت به صورت ثابت در نظر گرفته شده است. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که با افزایش دما از محدوده ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد مقدار تراکم سلولی نیز افزایش و در نهایت با شیب ملایمی کاهش می‌یابد.



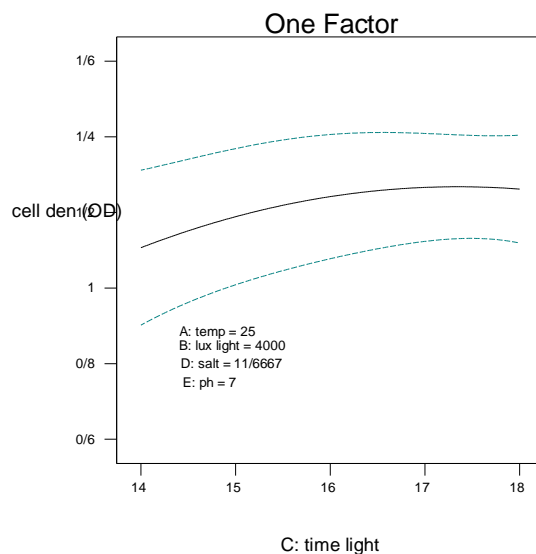
شکل ۱: تاثیر دما بر تراکم سلولی جلبک دسمودسموس

با توجه به شکل ۱ مشاهده می‌گردد که بیشترین میزان این تراکم در محدوده ۲۵ درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاده و با کاهش یا افزایش این دما میزان تراکم سلولی نیز کاهش می‌یابد.



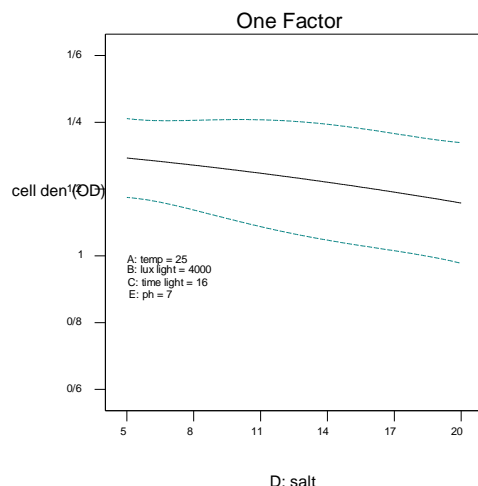
شکل ۲: تأثیر شدت نوردهی بر تراکم سلولی جلبک دسمودسموس

درخصوص تأثیر گذاری شدت نوردهی بر میزان تراکم سلولی نمودار نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که بیشترین میزان تراکم سلولی در شدت تابش نور ۴۵۰۰ لوکس اتفاق افتاده است (شکل ۲).



شکل ۳: تأثیر مدت نوردهی بر تراکم سلولی جلبک دسمودسموس

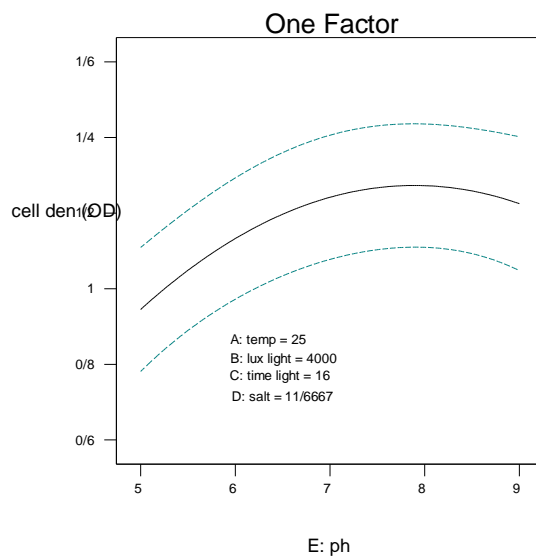
با توجه به نقش مهم نور در انجام فرایند فتوسنتز علاوه بر شدت نور میزان نوردهی نیز مورد بررسی قرار گرفت که با توجه به شکل ۳ ملاحظه می‌گردد که با افزایش میزان نوردهی میزان تراکم سلولی افزایش یافته و بیشترین میزان آن مربوط به محدوده ۱۷ ساعت نوردهی بوده و پس از این مقدار ثابت مانده است (شکل ۳).



شکل ۴: تاثیر شوری بر تراکم سلولی جلبک دسمودسموس

با افزایش شوری تراکم سلولی افزایش می‌یابد (شکل ۴) و بیشترین تراکم سلولی در شوری برابر ۵ است.

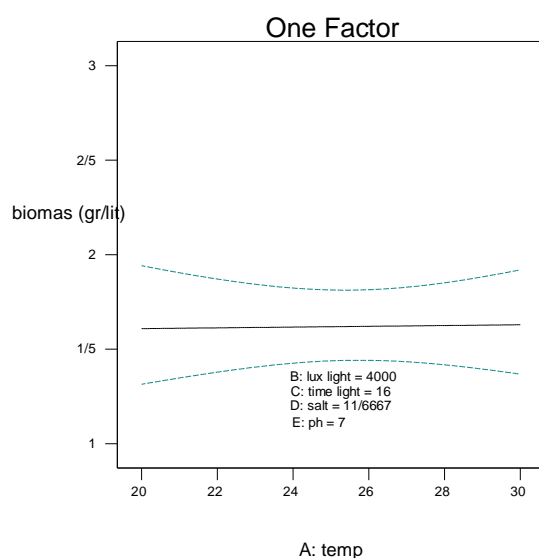
در خصوص تاثیر شوری بر میزان تراکم سلولی با توجه به اینکه پارامترهای به صورت ثابت در نظر گرفته شده است نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که



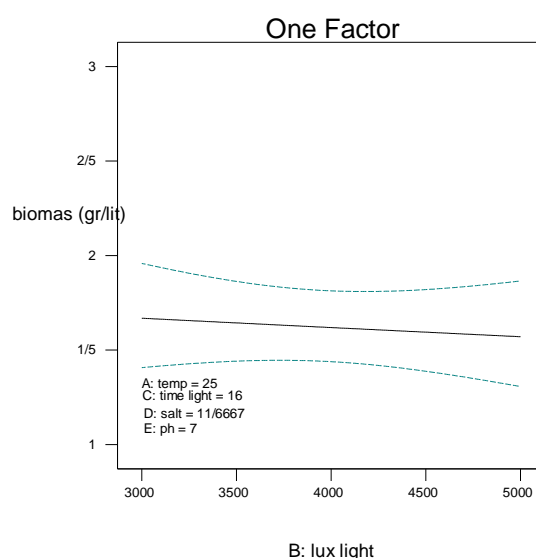
شکل ۵: تاثیر اسیدیته بر تراکم سلولی جلبک دسمودسموس

بر تولید زیست توده در میکروجلبک دسمودسموس با ثابت نگاه داشتن شدت تابش ۴۰۰۰ لوکس، مدت تابش نور ۱۶ ساعت، شوری برابر با یک مولار و اسیدیته برابر با ۷ مشاهده می‌شود که با افزایش دما از ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد بر میزان زیست توده تولیدی افزوده نمی‌شود (شکل ۶).

در خصوص تاثیر پارامتر pH بر میزان تراکم سلولینتایج بدست آمده نشان می‌دهد که با افزایش pH از محدوده ۵ تا ۸ مقدار تراکم سلولی نیزافزایش و نهایتا با شیب ملایمی کاهش می‌یابد 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



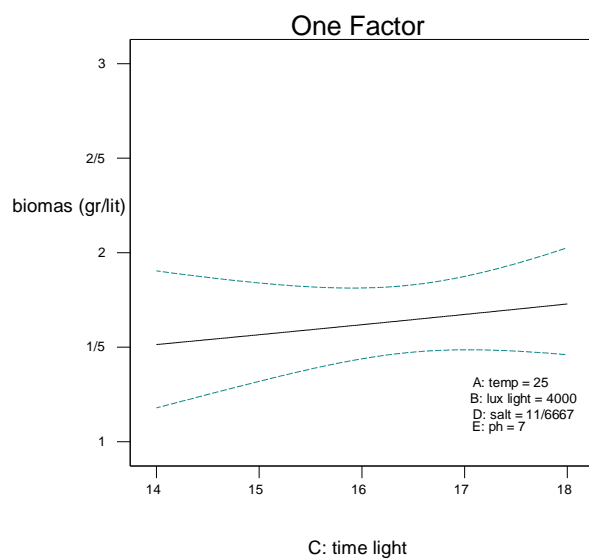
شکل ۶: تاثیر دما بر زیست توده تولیدی در میکروجلبک دسمودسموس



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

آرامی میزان تولید زیست توده کاهش می‌یابد و بیشترین میزان زیست توده تولیدی در شدت تابش نور برابر با ۳۰۰۰ لوکس است (شکل ۷).

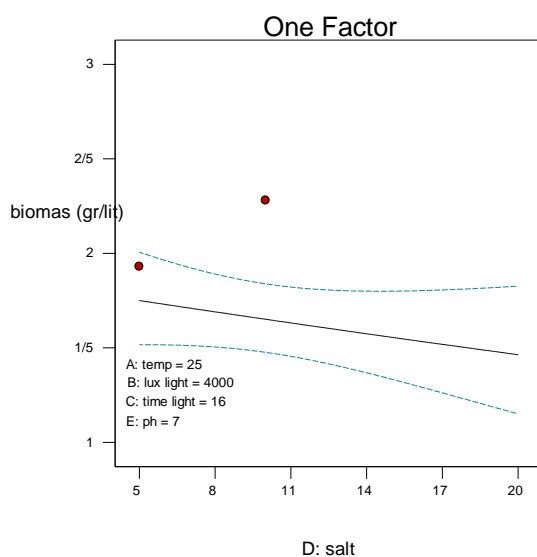
در مورد تاثیر شدت تابش نور بر تولید زیست توده در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می‌شود که با افزایش شدت تابش نور از ۳۰۰۰ تا ۵۰۰۰ به



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

ساعت به آرامی میزان تولید زیست توده افزایش می‌یابد (شکل ۸).

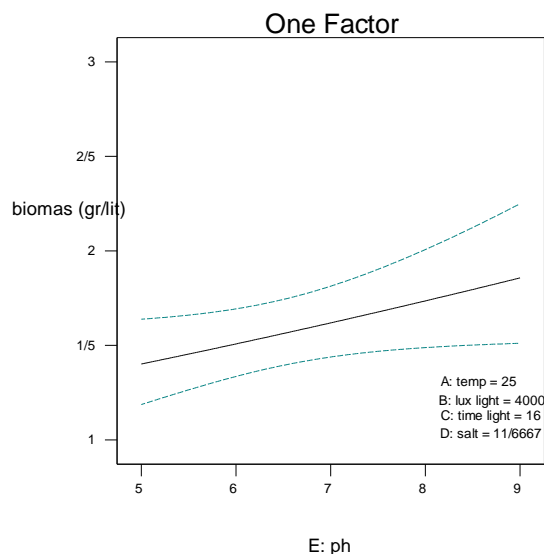
در مورد تاثیر مدت تابش نور بر تولید زیست توده در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می‌شود که با افزایش مدت تابش نور از ۱۴ ساعت تا ۱۸



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

توده کاهش می‌یابد. بنابراین بیشترین میزان تولید زیست توده در شوری برابر ۵ است (شکل ۹).

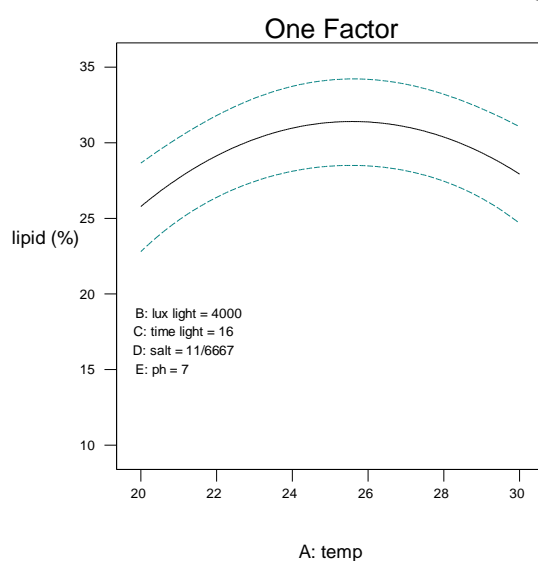
در مورد تاثیر شوری بر تولید زیست توده در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می‌شود که با افزایش شوری از ۵ تا ۲۰ به آرامی میزان تولید زیست



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

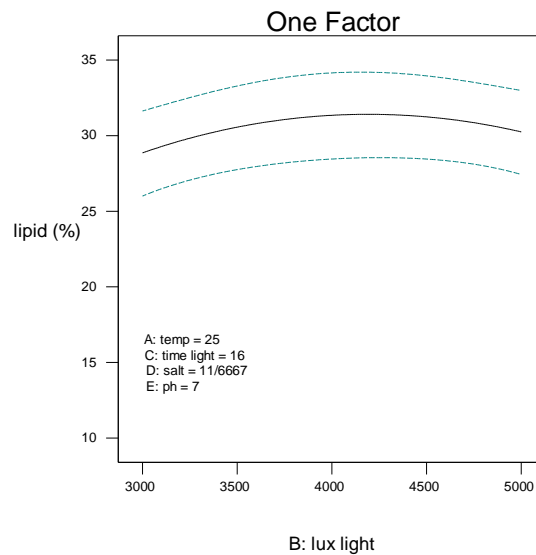
مشابه تغییرات تراکم سلولی نمی‌باشد. در مورد تأثیر دما بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس با ثابت نگاه داشتن شدت تابش نور برابر با ۴۰۰۰ لوکس، مدت تابش نور برابر با ۱۶ ساعت، شوری برابر با ۱۱ ppm و اسیدیته برابر با ۷ مشاهده می‌شود که با افزایش دما از ۲۰ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد بر تولید لیپید افزوده و پس از این دما با افزایش دما میزان تولید لیپید کاهش می‌یابد. بیشترین لیپید تولید شده در دمای ۲۶ درجه مشاهده می‌شود (شکل ۱۱).

در مورد تأثیر 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 تأثیر پارامترهای مختلف بر میزان لیپید تولیدی در میکروجلبک دسمودسموس نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که عوامل محیطی همانگونه که بر میزان رشد سلولی تأثیر معنادار داشتند بر میزان لیپید تولیدی نیز تأثیرگذار هستند هرچند در برخی موارد این تأثیرات



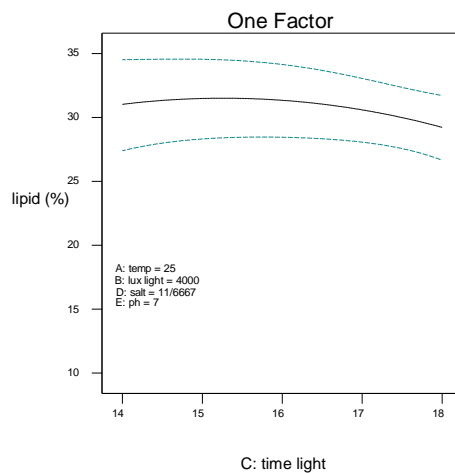
شکل ۱۱: تأثیر دما بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر شدت تابش نور بر تولید لیپید مشاهده می شود که با افزایش شدت تابش نور از ۳۰۰۰ تا ۴۲۰۰ بر میزان تولید لیپید افزوده می شود و بالاترین تولید لیپید در شدت تابش نور برابر با ۴۲۰۰ می باشد (شکل ۱۲).



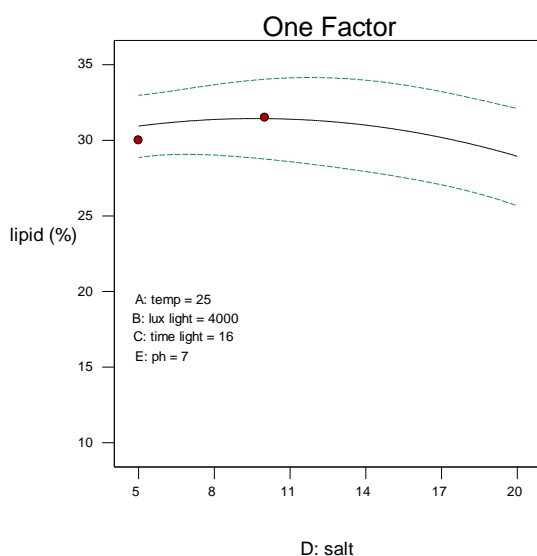
شکل ۱۲: تاثیر شدت تابش نور بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس

در مورد تاثیر مدت تابش نور بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می شود که با افزایش مدت تابش نور از ۱۴ تا ۱۶ ساعت بر میزان تولید لیپید افزوده می شود و بالاترین تولید لیپید در مدت تابش برابر با ۱۶ ساعت است (شکل ۱۳).



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

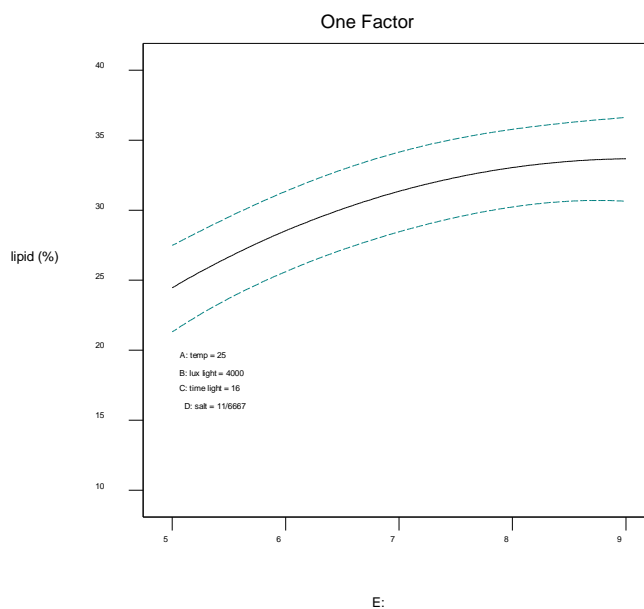
در مورد تاثیر میزان شوری بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می شود که با افزایش شوری از ۵ تا ۱۲ بر میزان لیپید تولیدی کاهش مییابد. بیشترین تولید لیپید در شوری برابر با ۱۲ مشاهده می شود (شکل ۱۴).



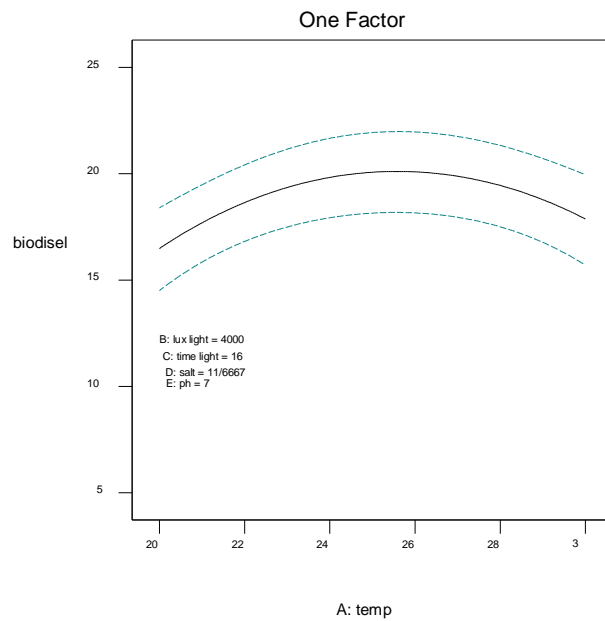
شکل ۱۴: تاثیر شوری بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس

می‌شود. بالاترین میزان تولید لیپید در اسیدیته برابر با ۹ است (شکل ۱۵).

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



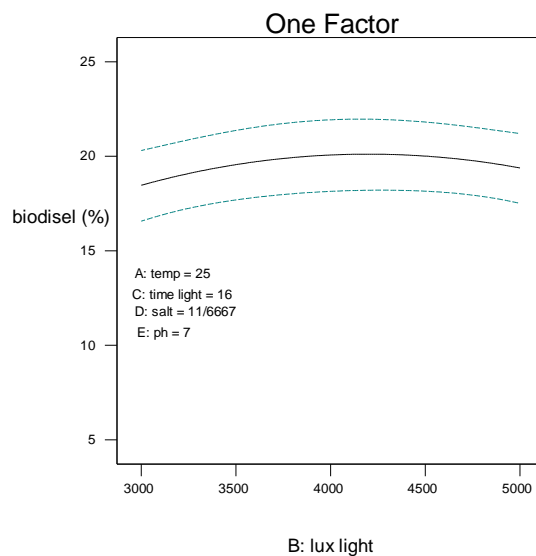
شکل ۱۵: تاثیر اسیدیته بر تولید لیپید در میکروجلبک دسمودسموس



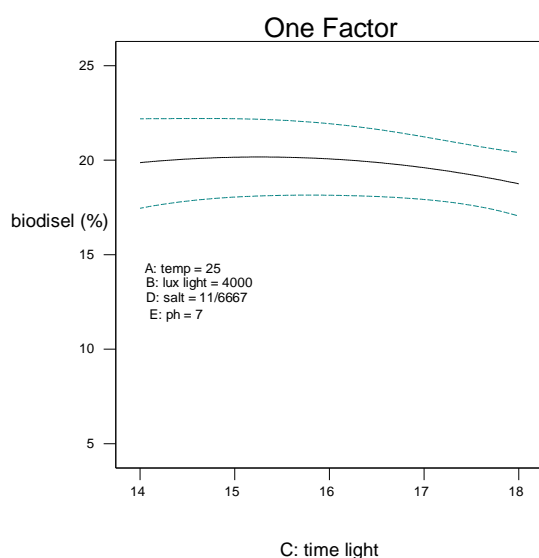
شکل ۱۶: تاثیر دما بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس

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 می باشد (شکل ۱۷).

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



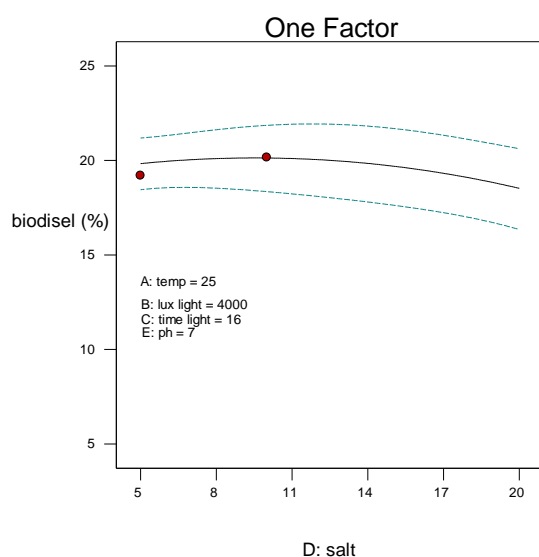
شکل ۱۷: تاثیر شدت تابش نور بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس



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

بیودیزل افزوده شده و بیشترین تولید در مدت تابش نور برابر با ۱۶ ساعت می‌باشد (شکل ۱۸).

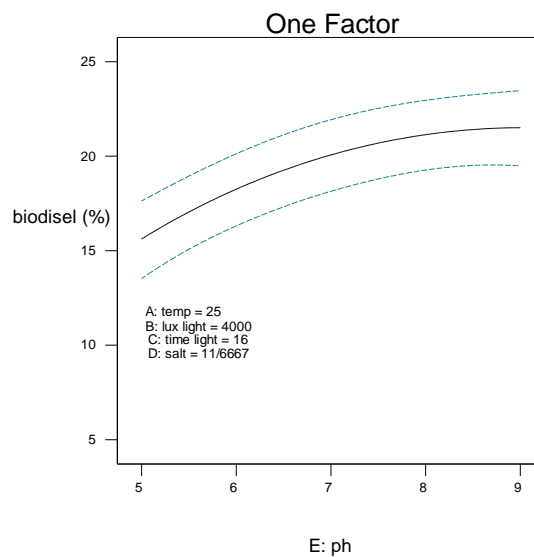
در مورد تاثیر مدت تابش نور بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس مشاهده می‌شود که با افزایش مدت تابش نور از ۱۴ تا ۱۶ ساعت بر تولید



شکل ۱۹: تاثیر شوری بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس

در شوری برابر با ۱۱ می‌باشد. پس از آن با افزایش شوری از تولید بیودیزل میکروجلبک کاسته می‌شود (شکل ۱۹).

در مورد تاثیر شوری بر تولید بیودیزل در میکروجلبک مشاهده می‌شود که با افزایش شوری از ۵ تا ۱۱ بر تولید بیودیزل افزوده شده و بیشترین تولید



شکل ۲۰: تاثیر اسیدیته بر تولید بیودیزل در میکروجلبک دسمودسموس

از جمله استخراج روغن از ریزجلبک‌ها با شند. نجفی و همکاران ریزجلبک کلرلا و لگاریس 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 به دلیل 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.

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 از جمله 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

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 می‌توان عنوان نمود که ترکیب تغییرات شدت و مدت زمان نوردهی در شرایط یکسان اسیدیته محیط توانسته است در دمای پایین‌تر نیز لیپید را تولید نماید. از سوی دیگر بالاترین بیودیزل تولید شده در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد، شدت تابش نور ۴۲۰۰ لوکس، مدت تابش نور برابر با ۱۶ ساعت، شوری برابر با ۱۱ ppm و اسیدیته برابر با ۹ است. این نتیجه بدست آمده نشان می‌دهد که شرایط فوق که مشابه با شرایط بهینه تولید لیپید می‌باشد 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 مطالعه‌ای که بر روی کشت دسمودسموس داشتند اعلام کردند که دمای بهینه برای رشد جلبک دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد، 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 ۴۵۰۰ لوکس بر تولید جلبک افزوده شد. Chaudhary و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای که بر روی تولید چربی و رشد جلبک دسمودسموس انجام دادند بیشترین رشد جلبک را در pH برابر با ۶/۴ مشاهده نمودند. Matusiak-Mikulin و همکاران (۲۰۰۷) در

با توجه به معنادار بودن تاثیر پارامترهای محیطی از جمله دما، مدت و شدت نوردهی و اسیدیته محیط کشت یافته‌های بدست آمده نشان می‌دهد که شرایط بهینه‌ای افزایش تراکم سلولی جلبک دسمودسموس، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۴۵۰۰ لوکس، ۱۷ ساعت نوردهی، شوری برابر با ۵ ppm و pH ۸ می‌باشد. علیرغم اینکه انتظار می‌رود 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 ۵ ppm 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 بیشتر سلولها شده اما باعث افزایش حجم سلولها نگردد. به عبارت دیگر افزایش یک واحدی اسیدیته محیط، مدت تابش و کاهش ۱۵۰۰ واحدی شدت تابش در شوری و دمای یکسان باعث افزایش میزان زیست توده گردیده است. بالاترین میزان تولید لیپید در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد، شدت تابش نور برابر با ۴۲۰۰ لوکس، مدت تابش برابر با ۱۶ ساعت، شوری برابر با ۱۲ ppm 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 می‌توان لیپید بالاتری را تولید کرد. یعنی با اعمال تنش‌های محیطی به میکروجلبک می‌توان درصد لیپید بالاتری را دریافت نمود. Kiaei و همکاران (۲۰۱۴) 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

عمککرد ارتباط مستقیم با میزان زیست توده و درصد لیبید دارد لذا افزایش عملکرد نهایی بیودیزل در شرایط بهینه دمای ۲۶ درجه سلسیوس، مدت زمان نوردهی ۱۶ ساعت با شوری ۱۱ ppm در ۹ ph حاصل می شود. در صورت وجود امکان کنترل دقیق شرایط می توان دوره رشد لگاریتمی میکرو جلبک 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 لیبید و بیودیزل باعث افزایش راندمان سیستم گردید.

تحقیقی که بر روی الگوی رشد جلبک *Desmodesmus armatus* انجام دادند، از دوره تابشی ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی استفاده کردند.

نتیجه گیری نهایی

نتایج بدست آمده نشان می دهد که شرایط بهینه برای میزان تراکم سلولی، میزان زیست توده، درصد تولید لیبید و بیودیزل از نظر تاثیرگذاری پارامترهای محیطی متفاوت می باشد. با توجه به اینکه افزایش

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-Mikulín, K., Tukaj, C. and Tuka, Z. (2007). Relationships 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 biochemical variability of the marine microalgae *Isochrysis galbana* in relation to culture medium. *Biochemistry Engineering*, 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