





دانشگاه آزاد اسلامی

واحد شاهرود

دانشکده فنی و مهندسی - گروه مهندسی شیمی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.Sc)
گرایش: بیوتکنولوژی

عنوان:

بررسی عوامل موثر بر رشد و محتوای لیپید ریزجلبک‌ها در فرآیند تولید

بیودیزل

استاد راهنما

دکتر رسول خلیل زاده

استاد مشاور

دکتر داریوش عربیان

نگارش

آرمان حقیقی

اسفند ماه ۱۳۹۱

تقدیم می‌کنم به

پدر و مادر

که یار و یاور من بوده و با وجود آنها بود که من به چگاه تنهایی را حس نکردم

و

همسفر عزیزم که حس بودنش همیشه باعث دلگرمی است

قدردانی

منت خدای را عزوجل که طاعتش موجب قربت است و به شکر اندرش فریاد نعمت. هر نفس که فرومی رود، مدحیات است و چون برمی آید، مفرح ذات؛

پس در هر نفسی دو نعمت موجود است و بر هر نعمتی شکر واجب. از دست و زبان که برآید که عده شکرش به درآید...

کلمان سعدی

اعتراف می کنم که نه زبان شکر تو را دارم و نه توان شکر از بندگان تو، و اما بر حسب وظیفه از اساتید گرامی جناب آقای دکتر خلیل زاده و جناب آقای دکتر

عربیان شکر می کنم که در این مدت بارهسانی های خود بر بنده منت گذارده و در اتمام این پیمان نامه به ایجاب یاری رسانند.

از دوستان و کالانان پژوهشگاه فناوری زیستی دانشگاه صنعتی مالک اشتر که در این پروژه با من همراه بودند شکر ویژه ای دارم.

همچنین از دوست عزیزم جناب آقای مهندس فرزین عباسپور که در این مدت من را تحمل نمودند و آموزش های لازم در جهت پیشبرد این پژوهش را به من دادند

کمال شکر را دارم.

فهرست مطالب

ب	فهرست مطالب	۱
ج	فهرست جدول‌ها	۱
ح	فهرست اشکال	۱
	چکیده	۱
	Error! Bookmark not defined.	
۱	فصل ۱: مقدمه	۱
۲	۱-۱ مقدمه	۲
۴	۲-۱ تاریخچه	۴
۴	۳-۱ منابع تولید بیودیزل	۴
۴	۱-۳-۱ نسل اول منابع بیودیزل	۴
۵	۲-۳-۱ نسل دوم منابع بیودیزل	۵
۵	۳-۳-۱ نسل سوم منابع بیودیزل	۵
۷	۴-۱ ریز جلبک چیست؟	۷
۸	۵-۱ تاریخچه سیر تکامل سیستم‌های تولید کننده ریز جلبک	۸
۱۰	۶-۱ فعالیت‌های محققین درباره ریز جلبک	۱۰
۱۲	۷-۱ کیفیت ریز جلبک برای تولید بیودیزل	۱۲
۱۴	۸-۱ مراحل تولید بیودیزل بوسیله ریز جلبک	۱۴
۱۵	۹-۱ انواع روش‌های کشت ریز جلبک‌ها	۱۵
۱۵	۱-۹-۱ کشت بسته	۱۵
۱۶	۲-۹-۱ کشت پیوسته	۱۶
۱۹	۳-۹-۱ کشت نیمه پیوسته	۱۹
۱۹	۱۰-۱ فرآیندهای برداشت و فرآوری زیست توده	۱۹
۲۰	۱-۱۰-۱ برداشت زیست توده با سانتریفیوژ	۲۰
۲۰	۱۱-۱ تخریب و شکستن سلول‌ها	۲۰
۲۱	۱۲-۱ استخراج لیپید	۲۱
۲۳	۱۳-۱ ترانس استری فیکاسیون	۲۳
۲۵	۱۴-۱ هدف از انجام پایان نامه	۲۵

فصل ۲: مروری بر تحقیقات گذشته ۲۵

- ۱-۲ بیوتکنولوژی و کشت ریز جلبک‌ها ۲۷
- ۲-۲ عوامل شیمیایی موثر در رشد ریز جلبک‌ها ۲۹
- ۳-۲ عوامل فیزیکی موثر در رشد ریز جلبک‌ها ۳۶
- ۴-۲ معرفی، بیوتکنولوژی و کشت جلبک ۴۳
- ۱-۴-۲ تاکسونومی کلرلا و لگاریس ۴۳
- ۲-۴-۲ ریخت‌شناسی، سازماندهی سلولی و تولید مثل کلرلا و لگاریس ۴۳
- ۳-۴-۲ اکولوژی و فیزیولوژی کلرلا و لگاریس ۴۴
- ۴-۴-۲ آنالیز شیمیایی جلبک کلرلا و لگاریس ۴۵
- ۵-۲ مروری بر مطالعات انجام شده ۴۷
- ۱-۵-۲ تاریخچه کشت انبوه ریز جلبک کلرلا و لگاریس ۴۷
- ۲-۵-۲ مروری بر مطالعات انجام شده در ایران و جهان ۴۸
- ۶-۲ اهداف پژوهش ۵۴

فصل ۳: مواد، تجهیزات و روش‌ها ۵۶

- ۱-۳ اهداف پژوهش ۵۷
- ۲-۳ تهیه جلبک ۵۷
- ۳-۳ مواد لازم و تجهیزات مورد نیاز ۵۷
- ۱-۳-۳ محیط کشت جلبک مورد مطالعه ۵۸
- ۲-۳-۳ تجهیزات و دستگاه‌ها ۶۰
- ۳-۳-۳ طرز تهیه محیط کشت مایع ۶۰
- ۴-۳ شرایط نگهداری جلبک مورد مطالعه ۶۱
- ۵-۳ شرایط تلقیح اولیه جلبک‌ها ۶۱
- ۶-۳ شرایط کشت جلبک‌ها ۶۲
- ۱-۶-۳ کنترل pH ۶۳
- ۲-۶-۳ منبع نور ۶۳
- ۳-۶-۳ دمای محیط ۶۴
- ۴-۶-۳ مخلوط‌سازی ۶۴
- ۵-۶-۳ هوادهی ۶۴
- ۷-۳ اندازه‌گیری پارامترهای رشد ۶۴

۶۵ منحنی کالیبراسیون استاندارد شمارش / دانسیته نوری
۶۵ ۳-۷-۱-۱- نحوه شمارش کلرلا و لگاریس با استفاده از لام شمارش نئوبار
۶۷ ۳-۷-۲ منحنی کالیبراسیون استاندارد وزن خشک / دانسیته نوری
۶۸ ۳-۷-۳ روش اندازه‌گیری وزن خشک
۶۸ ۳-۷-۴ منحنی کالیبراسیون استاندارد کلروفیل a / دانسیته نوری
۶۹ ۳-۷-۵ روش استخراج و محاسبه محتوای لیپید کل
۷۱ فصل ۴: نتایج و بحث
۷۲ ۴-۱ مقدمه
۷۲ ۴-۲ کشت ریزجلبک و تیمارهای مختلف مورد استفاده در پژوهش
۷۳ ۴-۳ اندازه‌گیری تاثیر دما بر رشد ریزجلبک کلرلا و لگاریس
۷۸ ۴-۴ تاثیر غلظت کربن (بیکربنات) بر روی رشد، محتوای کلروفیل و محتوای لیپید
۸۳ ۴-۵ بررسی تاثیر سیکل‌های مختلف روشنایی / تاریکی در شدت نورهای مختلف بر رشد کلرلا و لگاریس
۸۵ ۴-۵-۱ تاثیر شدت نور ۲۰۰۰ لوکس در سیکل‌های مختلف نوری
۸۹ ۴-۵-۲ تاثیر شدت نور ۳۵۰۰ لوکس در سیکل‌های مختلف نوری
۹۳ ۴-۵-۳ تاثیر شدت نور ۵۰۰۰ لوکس در سیکل‌های مختلف نوری
۹۷ ۴-۵-۴ کالیبراسیون وزن خشک / دانسیته نوری برای کلرلا و لگاریس در شرایط بهینه
۹۸ ۴-۵-۵ کالیبراسیون کلروفیل a / دانسیته نوری برای کلرلا و لگاریس در شرایط بهینه
۹۹ ۴-۵-۶ کالیبراسیون شمارش سلولی / دانسیته نوری برای کلرلا و لگاریس در شرایط بهینه
۱۰۰ فصل ۵: نتیجه‌گیری و پیشنهادات
۱۰۲ ۵-۱ نتیجه‌گیری
۱۰۳ ۵-۲ پیشنهادات
۱۰۵ مراجع

فهرست جدول‌ها

- جدول ۱-۱ مقایسه برخی منابع بیودیزل ۶
- جدول ۲-۱ میزان روغن برخی گونه‌های ریزجلبک ۷
- جدول ۳-۱ مقایسه خواص نوعی نفت فسیلی و بیودیزل بدست آمده از پیرولیز چوب و ریزجلبک ۱۳
- جدول ۴-۱ معرفی مراحل شش گانه رشد برای یک جمعیت جلبکی در شرایط کشت بسته ۱۸
- جدول ۵-۱ دسته‌بندی لیپیدها ۲۲
- جدول ۱-۲ اسامی تعدادی از گونه‌های میکسوتروف و منابع کربنی مورد نیاز آنها ۳۲
- جدول ۲-۲ محدوده قابل تحمل عوامل مختلف در رشد ریزجلبک‌ها ۴۱
- جدول ۳-۲ گونه عناصر و ترکیبات شیمیایی جلبک کلرلا و لگاریس ۴۵
- جدول ۴-۲ میزان اسید چرب غیراشباع ۴۶
- جدول ۱-۳ ترکیبات محیط کشت Z_8 ۵۹
- جدول ۲-۳ دستگاه‌ها و تجهیزات ۶۰
- جدول ۱-۴ جدول درصد لیپید ریزجلبک کلرلا و لگاریس در دماهای ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتیگراد ۷۷
- جدول ۲-۴ مقدار pH اندازه‌گیری شده در روز اول و نهم در محیط‌های کشت بدون کنترل pH ۷۹
- جدول ۳-۴ درصد لیپید ریزجلبک کلرلا در محیط کشت غنی شده ۱۰ برابر، شاهد و رقت ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰ ۸۳
- جدول ۴-۴ درصد لیپید در سیکل‌های تاریکی/روشنایی و شدت نورهای مختلف ۹۷

فهرست شکل‌ها

- شکل ۱-۱- نمای کلی تولید بیودیزل از ریز جلبک..... ۱۵
- شکل ۱-۲ (a) منحنی رشد جمعیتی از سلول‌های جلبکی در شرایط کشت بسته (b) تغییرات سرعت رشد متناظر با هر مرحله..... ۱۷
- شکل ۱-۳ واکنش ترانس استری کردن..... ۲۳
- شکل ۱-۲ (A) سلول‌های کلرلا و لگاریس و ابعاد آنها؛ (B) نمایش اتوسپورهای درون یک سلول..... ۴۳
- شکل ۱-۳ شکل میکروسکوپی کلرلا و لگاریس..... ۵۸
- شکل ۲-۳ کشت ریز جلبک کلرلا و لگاریس در شیکر انکوباتور..... ۶۳
- شکل ۳-۳ استخراج کلروفیل از ریز جلبک کلرلا و لگاریس..... ۶۹
- شکل ۱-۴ دانسیته نوری (۶۰۰ nm) ریز جلبک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در دماهای ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتیگراد..... ۷۴
- شکل ۲-۴ وزن خشک ریز جلبک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در دماهای ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتیگراد..... ۷۵
- شکل ۳-۴ کلروفیل a ریز جلبک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در دماهای ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتیگراد..... ۷۶
- شکل ۴-۴ تعداد سلول‌های ریز جلبک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در دماهای ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتیگراد..... ۷۷
- شکل ۵-۴ دانسیته نوری ریز جلبک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در محیط کشت غنی شده ۱۰ برابر، شاهد و رقت ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰..... ۷۹
- شکل ۶-۴ وزن خشک ریز جلبک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در محیط کشت غنی شده ۱۰ برابر، شاهد و رقت ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰..... ۸۰
- شکل ۷-۴ کلروفیل ریز جلبک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در محیط کشت غنی شده ۱۰ برابر، شاهد و رقت ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰..... ۸۱
- شکل ۸-۴ شمارش سلولی ریز جلبک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در محیط کشت غنی شده ۱۰ برابر، شاهد و رقت ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰..... ۸۲
- شکل ۹-۴ دانسته نوری ریز جلبک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره تاریکی/روشنایی ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و ۸:۱۶ با شدت نور ۲۰۰۰ لوکس..... ۸۵
- شکل ۱۰-۴ وزن خشک ریز جلبک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره تاریکی/روشنایی ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و ۸:۱۶ با شدت نور ۲۰۰۰ لوکس..... ۸۶

- شکل ۱۱-۴ محتوای کلروفیل a ریز جلبک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره تاریکی / روشنایی
 ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و ۸:۱۶ با شدت نور ۲۰۰۰ لوکس ۸۷
- شکل ۱۲-۴ شمارش سلولی کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره نوری ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و ۸:۱۶ با شدت
 نور ۲۰۰۰ لوکس ۸۸
- شکل ۱۳-۴ دانسیته نوری کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره تاریکی / روشنایی ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و
 ۸:۱۶ با شدت نور ۳۵۰۰ لوکس ۸۹
- شکل ۱۴-۴ وزن خشک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره تاریکی / روشنایی ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و ۸:۱۶
 با شدت نور ۳۵۰۰ لوکس ۹۰
- شکل ۱۵-۴ کلروفیل a کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره تاریکی / روشنایی ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و ۸:۱۶ با
 شدت نور ۳۵۰۰ لوکس ۹۱
- شکل ۱۶-۴ شمارش سلولی کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره تاریکی / روشنایی ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و
 ۸:۱۶ با شدت نور ۳۵۰۰ لوکس ۹۲
- شکل ۱۷-۴ دانسیته نوری کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره تاریکی / روشنایی ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و
 ۸:۱۶ با شدت نور ۵۰۰۰ لوکس ۹۳
- شکل ۱۸-۴ وزن خشک کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره تاریکی / روشنایی ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و ۸:۱۶
 با شدت نور ۵۰۰۰ لوکس ۹۴
- شکل ۱۹-۴ کلروفیل a کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره تاریکی / روشنایی ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و ۸:۱۶ با
 شدت نور ۵۰۰۰ لوکس ۹۵
- شکل ۲۰-۴ شمارش سلولی کلرلا و لگاریس بر حسب زمان رشد در سه دوره تاریکی / روشنایی ۱۲:۱۲، ۱۶:۸ و
 ۸:۱۶ با شدت نور ۵۰۰۰ لوکس ۹۶
- شکل ۲۱-۴ منحنی کالیبراسیون استاندارد وزن خشک / دانسیته نوری برای ریز جلبک کلرلا و لگاریس در شرایط
 بهینه ۹۸
- شکل ۲۲-۴ منحنی کالیبراسیون استاندارد کلروفیل a / دانسیته نوری برای ریز جلبک کلرلا و لگاریس در شرایط
 بهینه ۹۹
- شکل ۲۳-۴ منحنی کالیبراسیون استاندارد شمارش سلولی / دانسیته نوری برای ریز جلبک کلرلا و لگاریس در
 دمای ۳۰ درجه سانتیگراد ۱۰۰

چکیده

از مشکلات جهان امروزی می‌توان به افزایش آلودگی محیط زیست، افزایش وابستگی به سوخت‌های فسیلی و غیره اشاره کرد. در آینده نزدیک سوخت‌های فسیلی به اتمام رسیده و جهان با بحران انرژی مواجه خواهد بود. لذا استفاده از انرژی‌های جایگزین که آلودگی کمتری دارند مورد توجه قرار گرفته است. بیودیزل از انرژی‌های تجدیدپذیری است که آلودگی کمتری داشته و با استفاده از منابع زیستی قابل تولید است. ریزجلبک به دلیل رشد سریعتر و تولید لیپید بیشتر، مورد توجه مراکز تحقیقاتی و سرمایه‌گذاران برای تولید بیودیزل قرار گرفته است. بیودیزل حاصل از ریزجلبک نسبت به سایر سوخت‌های زیستی انرژی بیشتری تولید می‌کند، در حالیکه انرژی آن هم‌تراز با سوخت فسیلی است. در این بین کشت ریزجلبک یکی از مهم‌ترین قسمت‌های فرآیند تولید بیودیزل می‌باشد، بطوریکه افزایش تولید زیست توده و نیز افزایش محتوای لیپید ریزجلبک تولید بیودیزل را تحت تاثیر قرار خواهد داد. عوامل بسیاری بر رشد و محتوای لیپید ریزجلبک تاثیرگذارند. در این پژوهش از ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* برای کشت در محیط Z_8 استفاده شد و عواملی مانند دمای رشد، مقدار کربن موجود در محیط کشت، چرخه تاریکی/روشنایی و شدت نور مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آزمایشات بیانگر آن است که دمای ۳۰ درجه سانتیگراد دمای مناسب برای رشد این ریزجلبک می‌باشد. مقدار کربن بهینه موجود در محیط کشت ۴ میلی‌گرم بدست آمد، که افزایش مقدار کربن به بیش از این مقدار اگرچه باعث افزایش تولید می‌شود ولی از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نمی‌باشد. سیکل‌های تاریکی/روشنایی و شدت نور از دیگر عوامل موثر بر رشد ریزجلبک می‌باشند که در طی آزمایشاتی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. نتایج بدست آمده حاکی از آن است که چرخه تاریکی/روشنایی ۱۶:۸ مناسب‌ترین چرخه بوده و شدت نور 3500 ± 200 لوکس به عنوان بهترین شدت نور انتخاب گردید. شدت نور کمتر از این مقدار به دلیل کاهش فتوسنتز و شدت نور بیش از این مقدار به دلیل پدیده مهار نوری باعث کاهش محصول می‌شود. در تمامی آزمایشات محتوای لیپید مورد بررسی قرار گرفت که بیشترین بازده آن در شرایط دمای ۳۰ درجه سانتیگراد، ۴ میلی‌گرم کربن، چرخه تاریکی/روشنایی ۱۶:۸ و شدت نور ۳۵۰۰ لوکس، مقدار ۲۵/۶٪ بدست آمد.

واژگان کلیدی فارسی: بیودیزل، ریزجلبک، چرخه تاریکی/روشنایی، شدت نور، محتوای لیپید.

مقدمه

۱-۱ مقدمه

انرژی نقش مهمی در زندگی افراد ایفا می‌کند به گونه‌ای از معیارهای استانداردهای رفاه زندگی در هر کشور، براساس میزان نسبت دسترسی افراد آن کشور به انرژی تعیین می‌شود. انرژی یکی از ضروریات لازم برای توسعه سیاسی و اجتماعی هر کشوری به شمار می‌رود. اما تولید آن همیشه برای محققان و دولت مردان مسئله قابل توجه بوده است. در حال حاضر انرژی‌های فسیلی منبع عمده تامین انرژی برای حمل و نقل، تولید و کشاورزی است. اما با افزایش ۱۷ برابری مصرف انرژی طی قرن اخیر و از طرفی آلودگی هوا که موجب بوجود آمدن گازهای گلخانه‌ای، باران‌های اسیدی، مشکلات لایه ازن و تغییرات آب هوایی شده است. از طرف دیگر پیش‌بینی می‌شود منابع نفتی در ۵۰ سال آینده با توجه به مصرف کنونی به اتمام رسد و به نظر می‌رسد باید منابع جدید جایگزین شود [۱].

انرژی موجود در جهان را می‌توان به دو دسته‌ی انرژی‌های با منابع تجدیدپذیر و تجدیدناپذیر تقسیم کرد. منابع تجدیدناپذیر شامل زغال‌سنگ، نفت، گاز، هیدرات‌ گاز و منابع تجدیدپذیر شامل منابع زیست توده، انرژی درون زمینی، خورشیدی و انرژی باد می‌باشد. زیست توده را به عنوان عمده‌ترین منبع جایگزین منابع فسیلی می‌شناسند که به دو دلیل عمده می‌تواند جایگزین قابل توجه سوخت‌های فسیلی باشد، دلیل اول بر اساس خواص و ویژگی‌های زیست محیطی آن است، به گونه‌ای که انتشار دی-اکسیدکربن نداشته و میزان کمی مواد حاوی سولفور آزاد می‌کند. دوم، با افزایش قیمت سوخت‌های فسیلی در آینده می‌تواند جایگزین مناسبی از لحاظ هزینه‌های اقتصادی باشد [۱].

به طور کلی سوخت‌های بیولوژیکی که از منابع تجدیدپذیر زیست توده تولید می‌شوند، به عنوان سوخت‌های مایع جهت حمل‌ونقل نیز قابل استفاده است. زیست توده‌هایی که برای تامین این سوخت‌ها استفاده می‌کنند باید دارای منابع قابل توجهی روغن، نشاسته و قند باشند. بسیاری از سوخت‌های جدید (بیودیزل، بیواتانول، بیوهیدروژن و بیوگاز) جهت سوخت‌های حمل‌ونقلی طی فرآیند سنتز فایشر- تراپش تولید می‌شوند [۱].

۲-۱ تاریخچه

در حدود ۱۱۰ سال پیش *رادولف دیزل*^۱ برای اولین بار از روغن گیاهی به عنوان سوخت برای موتور خویش استفاده کرد [۲]. بنابراین یکی از منابع تامین سوخت، گیاهان هستند، به گونه‌ای که این موجودات فتوسنتز کننده، انرژی خورشیدی را به انرژی شیمیایی تبدیل نموده و آنها را به شکل روغن، کربوهیدرات، پروتئین و غیره در خود ذخیره می‌کند. به طور کلی از هر منبعی که برای تولید بیودیزل استفاده می‌شود، باید حاوی اسیدهای چرب آزاد و یا تری‌گلیسریدها باشد. می‌توان علاوه بر روغن‌های گیاهی، از روغن‌های سوخته زاید، چربی حیوانات و گریس‌های دور ریختنی به عنوان منابع بیودیزل نام برد [۳].

۳-۱ منابع تولید بیودیزل

بیودیزل تولیدی از منابع زیست توده دارای ویژگی‌هایی مشابه سوخت‌های دیزلی حاصل از مشتقات نفتی است، بنابراین می‌توان بیودیزل را به عنوان جایگزین بالقوه سوخت‌های دیزلی در نظر گرفت. با توجه به اینکه هزینه تامین مواد خام، در حدود ۷۵٪ هزینه‌های کل تولید بیودیزل است، بنابراین باید به دنبال انتخاب مواد خام مناسب برای تولید بیودیزل با هزینه‌های تولید کمتر، جهت کاهش هزینه تمام شده آن بود. در این قسمت به طور خلاصه به بحث در مورد منابع مختلف بیودیزل پرداخته می‌شود.

۱-۳-۱ نسل اول منابع بیودیزل

منابع گیاهی همچون کلزا، دانه‌های سویا، روغن خرما، دانه‌های آفتابگردان به عنوان اولین نسل منابع بیودیزل شناخته می‌شود. استفاده از این منابع دارای معایبی می‌باشد. بیش از ۹۵٪ منابع آن،

^۱Rudolf Diesel

روغن‌های خوراکی هستند، که از منابع غذایی انسان به شمار می‌رود اما در صورت اختصاص دادن این بخش از منابع غذایی به تامین سوخت، دنیا با مشکلاتی از جمله تامین امنیت غذایی و در نتیجه اثر سوء آن بر بازار جهانی غذا می‌شود، که در نهایت موجب عدم تعادل در بازار جهانی غذا خواهد شد [۴].

۱-۳-۲ نسل دوم منابع بیودیزل

از جمله این منابع می‌توان به گیاهان غیر خوراکی همانند جatroفا، دانه‌های تنباکو، روغن سالمون و همچنین روغن‌های زاید سرخ کردنی و چربی حیوانات اشاره نمود. این نسل از منابع بیودیزل دارای مزایای از جمله حذف مشکلات مشترک بودن منابع غذایی و سوخت، کیفیت بالاتر از لحاظ کیفیت سوخت نسبت به منابع نسل اول، مساحت زمین کمتر برای کشت منابع گیاهی و همچنین عدد استان بالاتر برای چربی‌های حیوانی اشاره کرد. اما معایب منابع بیودیزل نسل دوم شامل: عدم کفایت میزان منابع برای جایگزینی سوخت‌های حمل‌ونقلی و همچنین عملکرد نسبتاً ضعیف منابع نسل اول و دوم در دماهای پایین اشاره کرد. علاوه بر این بیشتر روغن‌های گیاهی دارای مقدار زیادی اسیدهای چرب اشباع است که فرآیند ترانس استریفیکاسیون را با مشکل مواجه می‌کند. به همین دلایل منابع نسل دوم به طور عمده تاکنون، برای تولید بیودیزل استفاده نشده است [۷].

۱-۳-۳ نسل سوم منابع بیودیزل

منابع اولیه تامین سوخت در نسل سوم منابع بیودیزل، ریزجلبک‌ها هستند. در جدول ۱-۱ که برای مقایسه مشاهده می‌شود، تقریباً ۱-۳٪ زمین مناسب برای کشت ریزجلبک در آمریکا می‌توان اختصاص داد و با آن می‌توان ۵۰٪ از سوخت‌های مورد نیاز برای حمل‌ونقل را تامین کرد [۵].

از دیدگاه جدول ۱-۱ ریزجلبک‌ها تنها منبع بیودیزل است که به طور کامل توانایی جایگزینی دیزل-های فسیلی را دارند. برخلاف دیگر محصولات، ریزجلبک‌ها به سرعت رشد کرده و به حد زیادی روغن تولید می‌کنند به گونه‌ای که زیست توده ریزجلبک‌ها به طور معمول طی ۲۴ ساعت دو برابر شده و محتوای روغن زیست توده برخی گونه‌ها به ۸۰٪ می‌رسد.

جدول ۱-۲ میزان روغن موجود در برخی از گونه‌های ریزجلبک را نشان می‌دهد. جلبک‌ها ارگانسیم-هایی شبیه گیاهان بوده و توانایی فتوسنتز کردن دارند. بر اساس فرضیه‌ای، بیلیون‌ها سال پیش جو زمین پر از گاز دی‌اکسیدکربن بود، بنابراین هیچ حیاتی روی زمین وجود نداشت، اما زندگی با سیانوباکتری‌ها و جلبک‌ها آغاز شد. این اورگانسیم‌های فتوسنتز کننده دی‌اکسیدکربن اتمسفر را در خود جذب کرده و شروع به تولید اکسیژن نموده‌اند [۶].

در دهه ۴۰ میلادی مشخص شد که بسیاری از گونه‌های ریزجلبک، مقدار زیادی روغن (با شرایط کشت خاص تولید) می‌کنند. اما پیشنهاد استفاده از جلبک‌ها به عنوان منبع‌ای جهت تولید انرژی در دهه ۵۰ میلادی توسط مایر^۱، اوسوالد^۲ و گولک^۳ ارائه شد، آنها پیشنهاد استفاده از اجزای کربوهیدرات سلول-های جلبک جهت تولید گاز متان را ارائه دادند [۷].

جدول ۱-۱ مقایسه برخی منابع بیودیزل [۵]

محصول	درصد زمین موجود در امریکا ^۱	سطح مورد نیاز (M ha) ^۲	بازده روغن (L/ha)
ذرت	۸۴۶	۱۵۴۰	۱۷۲
دانه سویا	۳۲۶	۵۹۴	۴۴۶
جاتروفا	۷۷	۱۴۰	۱۸۹۰
نارگیل	۵۴	۹۹	۲۶۸۹
ریزجلبک ^۵	۱/۱	۲	۱۳۶۹۰۰
ریزجلبک ^۶	۲/۵	۴/۵	۵۸۷۰۰

¹ Meier
² Oswald
³ Golueke

^۴ برای تامین ۵۰٪ سوخت‌های مورد نیاز در آمریکا
^۵ ۷۰٪ روغن (بر اساس وزنی) در بیوماس
^۶ ۳۰٪ روغن (بر اساس وزنی) در بیوماس

جدول ۲-۱ میزان روغن برخی گونه‌های ریزجلبک [۸]

ریزجلبک	میزان لیپید (% وزن خشک)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	۱۱-۲۲/۳۵
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	۶-۷/۱۶
<i>Chlorella vulgaris</i>	۱۴-۴۰/۵۶
<i>Chlorella emersonii</i>	۶۳
<i>Chlorella sorokiana</i>	۲۲
<i>Chlorella minutissima</i>	۵۷
<i>Dunaliella bioculata</i>	۸
<i>Dunaliella salina</i>	۱۴-۲۰
<i>Neochloris oleoabundans</i>	۳۵-۶۵
<i>Spirulina maxima</i>	۴-۹

۴-۱ ریزجلبک چیست؟

ریزجلبک‌ها میکروارگانیسم‌های فتوسنتزی یوکاریوتیک یا پروکاریوتیک تک سلولی و یا چند سلولی هستند که می‌توانند در شرایط خشن به علت ساده بودن ساختارشان، به سرعت رشد و زندگی کنند. مثالی برای میکروارگانیسم‌های پروکاریوتیک سیانوباکتری‌ها^۱، برای یوکاریوتیک‌ها جلبک‌های سبز^۲ مانند کلروفیتا و برای جلبک‌های دیاتم^۳ باسیلاریوفیتا هستند [۹-۱۰]. جلبک‌ها عمدتاً موجوداتی فتواتوتروف هستند و همه آنها بدون استثنا واجد کلروفیل a می‌باشند. مراحل متابولیکی آنها بطور کلی مشابه گیاهان سبز خشکی است و طی فرآیند فتوسنتز مانند گیاهان پیشرفته در برابر نور، اکسیژن متصاعد نموده و

¹ Cyanophyta

² Chlorophyta

³ Bacillariophyta (Diatoms)

انیدریدکربنیک را احیاء کرده، و در سنتز کربوهیدرات مورد استفاده قرار می‌دهند. جلبک‌های فتواتوتروف در تبدیل انرژی خورشیدی به زیست توده بسیار کارآمدتر از گیاهان خشکی عمل می‌کنند [۱۱]. بعلاوه جلبک‌ها نسبت به گیاهان خشکی به طیف گسترده‌تری از پرتوهای خورشیدی مقاوم بوده و توانایی بیشتری در سازگاری با شرایط محیطی مختلف دارند [۱۲]. جلبک‌ها از نظر تولید مثل بسیار متنوع هستند و انواع شیوه‌های تولید مثلی را می‌توان در گروه‌های مختلف آنها مشاهده نمود. جلبک‌های سبز-آبی فاقد تولید مثل جنسی هستند و تنها از طریق تقسیم دوتایی و آمیتوزی تکثیر می‌شوند [۱۳]. ریزجلبک‌ها اگرچه عمدتاً آبی هستند ولی اکوسیستم‌های آبی و خشکی متنوعی را بر روی کره زمین اشغال می‌کنند و گونه‌های متنوعی از آنها در طیف گسترده‌ای از شرایط محیطی زندگی می‌کنند. حتی در زیستگاه‌های آبی، حضور و گسترش آنها به شرایط خاص بستگی دارد. برخی از آنها در آبهای شیرین^۱ یافت می‌شوند، در حالیکه برخی دیگر تنها در آب اقیانوس‌ها زندگی می‌کنند، لذا دریازی^۲ محسوب می‌شوند. البته برخی در آب شیرین و دریا هر دو یافت می‌شوند. از دیگر اکوسیستم‌های اشغال شده توسط آنها می‌توان به سطح و درون خاک، صخره و سنگ‌های سخت، چشمه‌های آب گرم، برف و یخ، حتی بر سطح و درون گیاهان و جانوران، اشاره کرد [۱۴]. ریزجلبک‌ها در تمام کره زمین پخش شده‌اند و زندگی آنها تنها در محیط‌های آبی نیست بلکه گونه‌های بسیاری از آنها در یک محدوده بزرگی از شرایط محیطی خاکی زندگی می‌کنند. طی برآوردهای به عمل آمده مشخص شده که بیش از ۵۰۰۰۰ گونه ریزجلبک وجود دارد که تنها تعداد محدودی از آنها نزدیک به ۳۰۰۰۰ گونه مطالعه و آنالیز شده‌اند [۱۵].

۱-۵ تاریخچه سیر تکامل سیستم‌های تولیدکننده ریزجلبک

افزایش قیمت نفت خام و افزایش قیمت آن در آینده و اصرار برای کاهش آلودگی و گازهای گلخانه‌ای یک علاقمندی جدید برای تولید بیودیزل با استفاده از ریزجلبک را ایجاد کرده است. تمرکز

¹ Fresh water

² Marine Algae

برروی استفاده از عوامل موثر بیشتر و تکنولوژی ارزان تر برای تولید مقدار بیشتری روغن، بازده بالای بیوسوخت و غیرقابل استفاده بودن آنها برای منابع غذایی مصرفی انسان مانند: جاتروفا، تفاله‌ها (پسماندهای) کشاورزی و ... اخیراً محققین را بر این واداشته تا با بکارگیری مهندسی متابولیک و روش‌های ژنتیکی به تصحیح ریزجلبک از لحاظ بهینه‌سازی ارگانیزم برای افزایش بهره‌وری و افزایش انرژی بپردازند. بسیاری از ریزجلبک‌ها می‌توانند به صورت ذاتی دارای حجم بالایی از لیپید در خود باشند که این حجم بالا می‌تواند بازده تولید روغن را افزایش دهد. میانگین محتوای لیپید در ریزجلبک‌ها بین ۱ تا ۷۰ درصد است که تحت شرایط معین بعضی گونه‌ها می‌توانند حتی به ۹۰٪ محتوای لیپید در وزن خشک خود برسند [۱۰، ۱۴، ۱۶]. بیشتر جلبک‌های معمولی مانند کلرلا^۱، کریپتوکودینیوم^۲، نئوکلریس^۳، نیتزشیا^۴، سیلیندروثکا^۵، دونالیلا^۶، ایزوچریسیس^۷، نانوکلوپسیس^۸، نانوکلوپسیس^۹، فائوداکتیلیوم^{۱۰}، پورفیریدیوم^{۱۱}، تتراسلمیس^{۱۲}، شیزوچیتریوم^{۱۳} دارای روغن بین ۲۰ تا ۵۰ درصد هستند اما بهره‌وری می‌تواند افزایش یابد. برای انتخاب جلبک فاکتورهایی باید در نظر گرفته شود مانند: توانایی ریزجلبک برای استفاده از مواد مغذی در دسترس یا تحت شرایط محیطی ویژه بودن ریزجلبک، تمام این پارامترها باید به طور همزمان برای انتخاب یک گونه یا نژاد ریزجلبک در تولید بیودیزل مورد توجه و بررسی قرار گیرند. پراهمیت‌ترین فاکتور ترکیب اسیدهای چرب در گونه‌های مختلف ریزجلبک است که می‌تواند

¹ *Chlorella*

² *Cryptocodinium*

³ *Neochloris*

⁴ *Nitzschia*

⁵ *Cylindrotheca*

⁶ *Dunaliella*

⁷ *Isochrysis*

⁸ *Nannochloris*

⁹ *Nannochloropsis*

¹⁰ *Phaeodactylum*

¹¹ *Porphyridium*

¹² *Tetraselmis*

¹³ *Schizochytrium*

تأثیرات مهمی بر مشخصه بیودیزل تولیدی داشته باشد. اگرچه بازده روغن ریزجلبک به نژاد آنها وابسته است اما در حالت کلی از روغن محصولات گیاهی بیشتر است.

۱-۶ فعالیت‌های محققین درباره ریزجلبک

کونورتی و همکارانش^۱ کوشش‌های بسیاری را برای افزایش محتوای لیپید در ریزجلبک‌ها بوسیله تغییرات در دما و غلظت نیتروژن در طول کشت آنها بخصوص بر روی *نانوکلروپسیس/اوکولاتا*^۲ و *کلرلا ولگاریس*^۳ انجام دادند و مشاهده کردند که تغییرات دما و غلظت نیتروژن شدیداً بر روی محتوای لیپید ریزجلبک‌ها تأثیر گزار است [۱۷]. لی و همکارانش^۴ از بررسی روش‌های مختلف به این نتیجه رسیدند که بهترین روش موثر برای استخراج لیپید از بوتریکوکوس، *کلرلا ولگاریس*، سندسموس روش مایکروویو می-باشد که ساده ولی موثر در استخراج لیپید است [۱۸]. در ادامه این دانشمندان دریافتند که بوتریکوکوس بیشترین محتوای لیپید را در مقایسه با گونه‌های دیگر تولید می‌کند. به هر حال هریسون و گریفیتس^۵ دریافتند که لیپید تولید شده توسط بوتریکوکوس *براونی* به علت اینکه هیدروکربن تولید شده توسط آن دارای زنجیره کربن با طول بیش از ۳۰ کربن می‌باشد مناسب برای تولید بیودیزل نمی‌باشد [۱۹]. انباشتگی لیپید در سندسموس اوبلیوس توسط *مالیک و ماندال*^۶ در شرایط‌های مختلف کشت مطالعه شد، آنها به این نتیجه رسیدند که بیودیزل تولید شده از سندسموس *اوبلیکوس* شامل اسیدهای چرب اشباع و مونواسیدهای چرب غیراشباع که باعث پایداری اکسایشی می‌شوند، می‌باشد. بدین وسیله جلبک سندسموس اوبلیوس می‌تواند پتانسیل لازم برای تولید بیودیزل را داشته باشد [۲۰]. *اولیویرا و گووی*^۷ شش گونه ریزجلبک زیر را برای تعیین بهترین منبع روغن برای تولید بیودیزل از لحاظ کیفی و کمی

¹ *Converti et al.*

² *Nannochloropsis oculata*

³ *Chlorella vulgaris*

⁴ *Lee et al.*

⁵ *Harrison and Griffiths*

⁶ *Mallick and Mandal*

⁷ *Oliveira and Gouvei*