

Biofuel Production from Microalgae

ARTICLE INFO

Article Type

Analytical Review

Authors

Bos'ghagh F.¹ MSc,
Rostami Kh.*¹ PhD,
Moazemi N.¹ PhD

How to cite this article

Bos'ghagh F, Rostami Kh, Moazemi N. Biofuel Production from Microalgae. Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(1):109-123.

¹Chemical Technologies Department, Iranian Research Organization for Science & Technology (IROST), Tehran, Iran

*Correspondence

Address: Iranian Research Organization for Science & Technology (IROST), Hassanabad Khalese Road (Shahid Ibrahim Ehsanirad), Shahrivar Road, Karaj Old Road, Tehran, Iran.

Phone: +98 (21) 65276636

Fax: +98 (21) 65276636

khosrowrostami1395@gmail.com

Article History

Received: May 15, 2017

Accepted: February 18, 2018

ePublished: March 16, 2019

ABSTRACT

Introduction Biofuel production from renewable resource has been extensively paid attention as a sustainable alternative for fossil fuel. As the feed of third-generation biofuels, microalgae can produce variety of lipids, proteins, and carbohydrates in large quantities and in a relatively short time. Regarding the compatibility of these microorganisms with culture different conditions and independence from the seasons of the year, the rapid growth rate, absorbing carbon dioxide and improving air quality, renewability, non-competing with food supplies, the existence of large quantities of lipid and carbohydrate inside their cells, and ability of biofuels production, microalgae are known as one of the most suitable options for the biofuels production. Biofuel production from microalgae consists of several stages, including cultivation, harvesting, drying, cell disruption, extraction (lipids or carbohydrates), and the production of biofuels.

Conclusion In the present study, by reviewing each stage of the biofuels production from microalgae, its importance and application for bioenergy production is discussed. Algal biofuel is not yet competitive with fossil fuels due to its high costs. Researchers are trying to produce economic algal biofuel by improving the growth of microalgae and enriching their reserves of oil and carbohydrates, creating genetic changes, improving the design of photobioreactors, developing harvesting and drying methods, improving methods of extracting lipid and carbohydrate, and producing valuable products.

Keywords Bioethanol; Microalgae; Biodiesel; Biohydrogen

CITATION LINKS

[1] Biofuels for road transport: A seed ... [2] Biohydrogen production ... [3] Biohydrogen production by immobilized ... [4] Production of first and second generation ... [5] Production of liquid biofuels from ... [6] Biofuel production technologies ... [7] Microalgae for biodiesel production ... [8] Biofuels from algae for sustainable ... [9] Composition, properties and challenges of algae ... [10] Algae as a sustainable energy source for ... [11] Large-scale biodiesel production using ... [12] Biofuels from microalgae - a review of technologies ... [13] Third generation biofuels from ... [14] Biomass and lipid productivities of ... [15] Biofuels from algae: Challenges and ... [16] Biofuels from algae: Technology options ... [17] The promise and challenges of ... [18] Review: Biofuel production from plant ... [19] Algae - a quintessential and positive resource ... [20] Algae energy: Algae as a new source ... [21] Why microalgal biofuels won't save the ... [22] A review: Microalgae and their ... [23] Solar biofuels production with ... [24] Microalgae as sustainable renewable energy ... [25] Current status and outlook in the application ... [26] CO₂ bio-mitigation using ... [27] Recovery of microalgal biomass and metabolites ... [28] Algae for biofuels and energy. Dordrecht ... [29] A review of enzymatic transesterification ... [30] Microalgae harvesting methods for industrial ... [31] Algae: The future ... [32] Developments in oil extraction from ... [33] Biodiesel production with microalgae ... [34] Bioethanol production by carbohydrate-enriched ... [35] Recent trends in global production ... [36] Bioethanol production using carbohydrate-rich ... [37] Enzyme-based hydrolysis processes ... [38] Bioprocess engineering of microalgae to ... [39] Influence of acid pre-treatment on microalgal ... [40] Exploring alkaline pre-treatment of ... [41] Microalgal biomass as a fermentation ... [42] Enzymatic pretreatment of Chlamydomonas ... [43] A comprehensive review on biodiesel ... [44] Progress and recent trends in ... [45] Opportunities and challenges for ... [46] Macroalgae-derived biofuel: A review ... [47] Large-scale biodiesel production ... [48] Microalgae for oil: Strain selection ... [49] State of the art and progress in ... [50] Hydrogen fuel: Production, transport ... [51] Biohydrogen [52] Metabolic pathway engineering ... [53] Microalgal biomass ... [54] Thermophilic, anaerobic ... [55] Biogenic hydrogen and ... [56] Combination of dark- and ... [57] Hydrogen production ... [58] Direct fermentation of ... [59] Biofuel from microalgae ... [60] Renewable fuels ... [61] Energy from algae: Current status ... [62] The sapphire ...

تولید سوخت زیستی از ریزجلبک

فاطمه بسحاق MSc

پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

خسرو رستمی PhD

پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

نسرين معظمی PhD

پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: تولید سوخت زیستی از منابع تجدیدپذیر به عنوان جایگزینی پایدار برای منابع فسیلی مورد توجه گسترده قرار گرفته است. ریزجلبک به عنوان خوراک نسل سوم سوخت‌های زیستی می‌تواند انواع لیپید، پروتئین و کربوهیدرات را در مقادیر زیاد و در زمانی نسبتاً کوتاه تولید نماید. سازگاری این میکروارگانیسم با هر نوع شرایط کشت و عدم وابستگی تولید آن به فصول سال، سرعت رشد بالا، جذب دی‌اکسیدکربن و بهبود کیفیت هوا، تجدیدپذیری، عدم تقابل با منابع غذایی، وجود مقادیر بسیار زیاد لیپید و کربوهیدرات در ساختمان سلولی آن و قابلیت تولید انواع سوخت‌های زیستی باعث شده به عنوان یکی از مناسب‌ترین گزینه‌ها برای تولید سوخت‌های زیستی شناخته شود. تولید سوخت زیستی از ریزجلبک شامل چندین مرحله انتخاب ریزجلبک مناسب، کشت، برداشت، خشک کردن، شکستن دیواره سلولی، استخراج (لیپید یا کربوهیدرات) و تولید سوخت زیستی است.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه با مروری بر هر یک از مراحل تولید سوخت زیستی از ریزجلبک به اهمیت و کاربرد آن برای تولید انرژی زیستی پرداخته شده است. تولید سوخت زیستی جلبکی به دلیل هزینه‌های زیاد هنوز قابل رقابت با سوخت‌های فسیلی نیست. پژوهشگران تلاش می‌کنند با بهبود رشد ریزجلبک‌ها و غنی‌ساختن ذخایر روغنی و کربوهیدراتی آنها، ایجاد تغییرات ژنتیکی، بهبود طراحی زیست‌واکنش‌گاه‌های نوری، توسعه روش‌های برداشت و خشک کردن، بهبود روش‌های استخراج لیپید و کربوهیدرات و تولید محصولات جانبی با ارزش، سوخت زیستی جلبکی که از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه‌تر باشد تولید نمایند.

کلیدواژه‌ها: اتانل زیستی، ریزجلبک، دیزل زیستی، هیدروژن زیستی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۲۹

*نویسنده مسئول: khosrowrostami1395@gmail.com

مقدمه

وضعیت انرژی جهان به دلیل مشکلات زیست‌محیطی، اقتصادی و ژئوپلیتیکی ناپایدار است [1]. انتشار گازهای گلخانه‌ای ناشی از احتراق سوخت‌های فسیلی سبب گرم شدن زمین، بارش باران‌های اسیدی، ایجاد تغییرات آب و هوایی، تخریب لایه اوزن و آسیب به تنوع زیستی می‌شود. کاهش ذخایر سوخت‌های فسیلی و افزایش آلاینده‌ها و تغییرات اقلیمی ناشی از آن در جو زمین، تولید و به کارگیری انرژی‌های تجدیدپذیر که آلاینده‌های کمتری دارند را تبدیل به یک ضرورت اجتناب‌ناپذیر در عصر حاضر کرده است [2].

به طور کلی ۲۰٪ انرژی جهان از الکتریسیته و ۸۰٪ آن از سوخت تامین می‌شود. پیش‌بینی شده است تا سال ۲۰۵۰ جمعیت جهان به بیش از ۹ میلیارد نفر خواهد رسید که برای حفظ امنیت سیاسی، اجتماعی، سوخت و آب و هوا به ۵۰٪ سوخت، ۷۰٪ غذا و ۵۰٪ آب بیشتر و ۸۰٪ انتشار دی‌اکسیدکربن کمتر نیاز است. بنابراین استفاده از سیستم‌های سوختی بدون تولید دی‌اکسیدکربن و بدون رقابت با منابع غذا و آب اهمیت می‌یابد [3].

زیست‌توده چهارمین منبع انرژی بعد از نفت، زغال سنگ و گاز است [2]. سوخت زیستی نوعی سوخت جامد، مایع و یا گاز است که از دامنه وسیعی از منابع زیست‌توده شامل انواع محصولات زراعی،

بقایای کشاورزی و جنگلی، گیاهان آبی، فضولات حیوانی، پسماندهای شهری و صنعتی، چربی‌ها و روغن‌های گیاهی، حیوانی و ضایعاتی به دست می‌آید. سوخت زیستی می‌تواند جامد (مانند چوب سوختی، زغال چوبی و خاک اره)، مایع (مانند اتانل زیستی، بوتانل زیستی، دیزل زیستی) یا گاز (مانند گاز زیستی [متان] و هیدروژن زیستی) باشد [4]. هر چند تنوع گسترده‌ای از سوخت‌های زیستی وجود دارد، اما پرکاربردترین آن‌ها اتانل زیستی، دیزل زیستی و گاز زیستی هستند. به طور کلی سوخت‌های زیستی به دو دسته سوخت‌های زیستی اولیه و ثانویه تقسیم می‌شوند. سوخت‌های ثانویه نیز براساس مواد خام و فناوری به کاررفته در تولید آنها به سه دسته سوخت‌های زیستی نسل اول، دوم و سوم تقسیم می‌شوند. نسل اول از مواد غذایی (مانند گندم، جو، ذرت، برنج، سیب‌زمینی، کلزا، سویا، بادام، آفتابگردان، نخل، نارگیل، چغندر، نیشکر و غیره)، نسل دوم از زیست‌توده غیرخوراکی (مواد لیگنوسلولزی) شامل ضایعات کشاورزی و جنگلی، فاضلاب‌ها، پسماندهای شهری و صنعتی و درختانی که به طور خاص برای تولید انرژی کشت می‌شوند (مانند صنوبر و تبریزی) و نسل سوم از جلبک و ریزجلبک به عنوان خوراک برای تولید سوخت زیستی استفاده می‌کنند [5]. سوخت‌های زیستی نسل اول علی‌رغم تجربه تولید تجاری و استفاده در برخی کشورها با محدودیت‌هایی مانند تقابل با منابع غذایی، به کارگیری فقط بخش کوچکی از زیست‌توده گیاهی، کاهش بازده کاربری زمین زراعی و هزینه زیاد تولید به دلیل قیمت بالای خوراک روبرو هستند. سوخت‌های زیستی نسل دوم نیازمند تجهیزات تولیدی و فرآوری پیچیده‌تر، سرمایه‌گذاری بیشتر به ازای واحد تولیدی، تاسیسات بزرگ‌تر و مواد خام پایدارتر هستند و فناوری تجاری آنها هنوز به دست نیامده است [6]. جلبک و ریزجلبک به دلیل داشتن انواع لیپید و کربوهیدرات به عنوان خوراک نسل سوم سوخت‌های زیستی توانایی تولید انواع مختلف سوخت زیستی را دارند. در ۵۰ سال گذشته تحقیقات گسترده‌ای در زمینه کاربرد ریزجلبک‌ها در صنایع مختلف انجام شده است [7]. در این مطالعه به اهمیت ریزجلبک به عنوان منبعی تجدیدپذیر برای تولید انرژی زیستی و کاربرد آن برای تولید انرژی زیستی پرداخته شده است.

جلبک و ریزجلبک: جلبک یکی از قدیمی‌ترین اشکال حیات است که در تمام اکوسیستم‌های موجود روی کره زمین از اقیانوس‌ها و آب‌های تازه تا چشمه‌های آب گرم، برف و یخ و حتی در شن‌های صحرای وجود دارد. جلبک فاقد ریشه، ساقه و برگ و دارای کلروفیل به عنوان ماده اولیه رنگینه فتوسنتزی است. جلبک تحت شرایط رشد طبیعی، نور را از خورشید، دی‌اکسیدکربن را از هوا و مواد غذایی را از زیستگاه آبی جذب می‌کند [5]. ریزجلبک میکروارگانیسم فتوسنتزی پروکاریوتی یا یوکاریوتی است که می‌تواند به سرعت رشد کند. این میکروارگانیسم‌ها به سبب ساختار تک‌سلولی یا چندسلولی ساده خود توانایی زنده ماندن در شرایط ناملازم و سخت را دارند. ریزجلبک‌ها خیلی سریع رشد می‌کنند و در کمتر از یک روز دو برابر می‌شوند [7]. این میکروارگانیسم می‌تواند انواع لیپید، پروتئین و کربوهیدرات را در مقادیر زیاد در دوره زمانی بسیار کوتاه تولید نماید. این فرآورده‌ها می‌توانند به سوخت‌های زیستی و به محصولات با ارزش دیگر فرآوری شوند [8]. ریزجلبک نسبت به جلبک بازده بیشتری در هر هکتار دارد [9]. عوامل موثر بر رشد ریزجلبک‌ها شامل شدت و مقدار نور، دما، شوری، دی‌اکسیدکربن، اکسیژن، غلظت مواد غذایی، pH، کنترل مقدار نیتروژن، حضور مواد شیمیایی سمی، حضور باکتری‌ها، قارچ‌ها، و ویروس‌ها و رقابت

کلورادو اختصاص داد. یکی از اهداف اصلی این برنامه مطالعه زیست‌شیمی و فیزیولوژی تولید لیپید در ریزجلبک‌های روغنی بود. از سال ۱۹۸۷ تا سال ۱۹۹۰ دو استخر هزار متر مربعی در رازول نیومکزیکو عملیاتی شد. در این تحقیقات مشخص شد که استفاده از ریزجلبک برای تولید کم‌هزینه دیزل زیستی از لحاظ فنی امکان‌پذیر است، اما به تحقیق و توسعه بلندمدت برای رسیدن به بهره‌وری بالا نیاز دارد. هدف دیگر این برنامه تولید گونه‌های جلبک بهبودیافته با جستجوی تنوع ژنتیکی بین جلبک‌های جداسازی‌شده، اقدام به استفاده از جریان سیتومتری برای غربالگری طبیعی سویه‌های حاوی لیپید بالا و یافتن ویروس‌های جلبکی به‌عنوان وکتورهای پتانسیل ژنتیکی بود. در سال ۱۹۹۵ وزارت انرژی ایالات متحده بودجه تامین هزینه‌های این برنامه را کاهش داد و آن را قبل از اینکه آزمایش‌ها فراتر از مراحل مقدماتی انجام شود قطع کرد. برنامه DOE در سال ۱۹۹۶ متوقف شد [7, 17].

جدول ۱) مزایا و معایب زیست‌توده جلبکی [7, 9, 12, 15]

زیست‌توده جلبکی	مزایا
	تجدیدپذیر و دوستدار محیط زیست
	توانایی زنده ماندن در شرایط ناملایم و سخت
	بسته به نوع آن قابلیت کشت در آب تازه، شور، دریا و حتی فاضلاب
	آسان‌تر بودن کشت آن نسبت به دیگر گیاهان و قابلیت کشت در کشتزار و زیست‌واکنش‌گاه
	تثبیت زیستی دی‌اکسیدکربن از محیط زیست و گازهای خروجی صنعتی و کاهش گازهای گلخانه‌ای
	بازده بالای فتوسنتزی برای تولید زیست‌توده، سرعت رشد بالاتر و بارآوری و محتوای روغن بالا در مقایسه با منابع خوراکی و غیر خوراکی دیگر
	توانایی حذف یون‌های NO_3^- و PO_4^{3-} از فاضلاب
معایب	
	اثرات محیطی ناشناخته
	هزینه‌های عملیاتی بالا
	غلظت کم زیست‌توده
	استفاده از سوخت‌های فسیلی در طول فرآیند
	چگالی کم انرژی (ارزش حرارتی و چگالی توده)

جدول ۲) برخی از کاربردهای تجاری جلبک [9]

محصول	موارد استفاده
آگار	استفاده میکروبیولوژی، زیستی، دارویی، صنعت کاغذ، آبجوسازی و صنعت غذا
آلژینات	دارویی، پزشکی، کاغذ، منسوجات، غذا، آرایشی و کود
آنتی‌اکسیدان	صنایع شیمیایی، آرایشی، دارویی و غذا
بتاکارتن	مکمل ویتامین C و ماده متشکله ویتامین A، ماده افزودنی غذایی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و عامل رنگی
سوخت زیستی	اتانل زیستی، بوتانل زیستی، هیدروژن زیستی، متانل زیستی، دیزل زیستی، گاز زیستی، سوخت جت و سوخت جامد
جاذب زیستی	مواد تبادل یون
کارآزمینان	مواد افزودنی غذا، خمیردندان و ژل
کود	کودهای غنی از فسفات، نیترات و پتاس
رنگدانه	رنگ‌های طبیعی در صنعت کاغذ و پارچه
دارو	صنایع داروسازی
کاتالیزست	خواص کاتالیزستی با توجه به گونه‌های قلیایی خاک
استخراج پروتئین	خوراک ماهی/ حیوان، کود، صنایع آنزیم، پلاستیک زیستی و سورفکتانت
غذا و نوشیدنی	پنیر، کومبا، چای، پاستا، ماکارونی و مربا
منسوجات	صنایع پارچه و منسوجات
کاغذ	صنایع کاغذسازی
علوفه	غذای حیوانات

به‌طور تقریبی بیش از ۵۰,۰۰۰ گونه ریزجلبک وجود دارد که از این

آنها با ریزجلبک‌ها، شرایط عملیاتی مانند عمق، تنش ناشی از اختلاط و دوره برداشت است [7]. ریزجلبک‌ها می‌توانند با مصرف دی‌اکسیدکربن سطح آن را در اتمسفر کاهش دهند. یک کیلوگرم زیست‌توده خشک ریزجلبک ۱/۸۳ کیلوگرم دی‌اکسیدکربن مصرف می‌کند [10-13]. بنابراین کشت ریزجلبک می‌تواند به تثبیت زیستی دی‌اکسیدکربن از محیط زیست و گازهای خروجی صنعتی و در نتیجه کاهش گازهای گلخانه‌ای کمک شایانی نماید [8, 9, 14]. بیش از ۴۰٪ تثبیت کربن جهان بر عهده جلبک‌ها و بیشتر ریزجلبک‌های دریایی است [15]. ریزجلبک‌ها نیازی به زمین حاصلخیز یا آب تازه برای رشد ندارند. آنها می‌توانند در آب‌های فاضلاب یا آب‌های شور نیز کشت داده شوند. پس از استخراج روغن از زیست‌توده، ریزجلبک حاصل به‌سبب نسبت‌های بالای نیتروژن به فسفر می‌تواند به‌عنوان کود شیمیایی آلی به کار رود یا به‌طور ساده‌ای برای تولید همزمان انرژی (برق و حرارت) سوخته شود [8-9]. برخی از مزایا و معایب زیست‌توده جلبکی در جدول ۱ گزارش شده است.

جلبک کاربردهای تجاری زیادی در صنایع مختلف مانند کشاورزی، شیمی، داروسازی، انرژی، غذا، کاغذ، شیشه، منسوجات و غیره دارد که در جدول ۲ به نمونه‌هایی از این موارد اشاره شده است. انواع چربی‌ها، اسیدهای چرب غیراشباع، روغن، رنگ‌های طبیعی، رنگدانه‌ها، انواع قندها، آنتی‌اکسیدان‌ها، زیست پلیمرها، پروتئین‌ها، خوراک دام و غیره مواد باارزشی هستند که از این زیست‌توده استخراج می‌شوند [9].

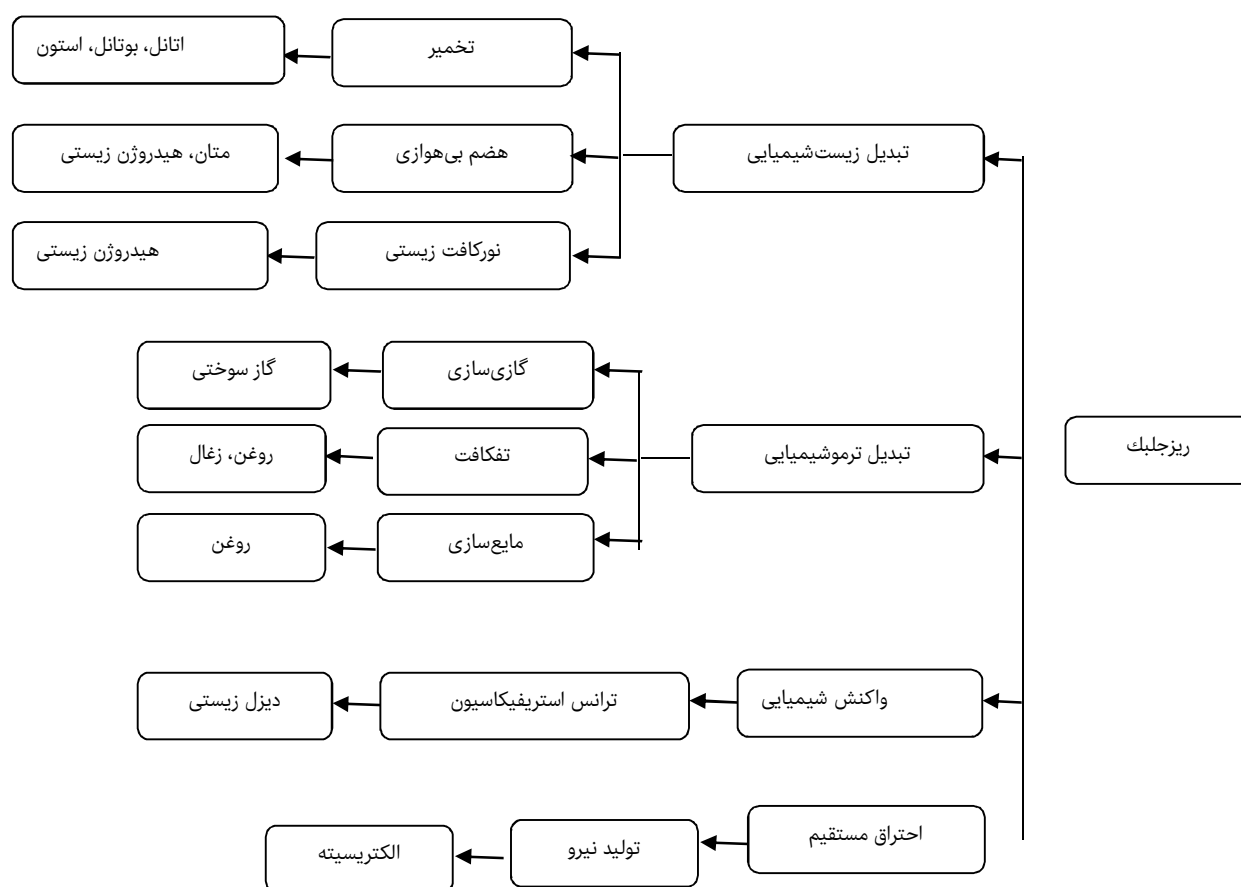
شدت رشد، رنگدانه، اندازه، وزن و ترکیب شیمیایی جلبک‌ها از شرایط محیطی زیستگاه آنها مانند نور، دما، شوری، pH، مواد مغذی، آلودگی و حتی حرکت آب به‌طور زیادی متأثر می‌شوند [9]. جلبک‌ها بر حسب رنگ مشتق‌شده از رنگدانه‌های مختلف فتوسنتزی به سه دسته سبز (کلروفیتا)، قرمز (رودوفیتا) و قهوه‌ای (فئوفیتا) تقسیم می‌شوند. ریزجلبک‌ها براساس ویژگی‌های مورفولوژی و شیمیایی در کلاس‌های مختلف دسته‌بندی شده‌اند که براساس رنگدانه، چرخه زیستی و ساختار سلولی به ۵ دسته دیاتومه (بایسلاریوفیسه)، سبز (کلروفیسه)، سیانوباکتری آبی و سبز آبی (سیانوفیسه)، طلایی (کرایزوفیسه) و قرمز (رودوفیسه) تقسیم می‌شوند [8, 9, 16]. ریزجلبک‌ها همچنین به گروه‌های اتوتروف (فتواتوتروف و کمواتوتروف)، هتروتروف (فتوهتروتروف و کموهتروتروف) و میکسوتروف تقسیم‌بندی می‌شوند.

فتواتوتروف‌ها از نور به‌عنوان منبع انرژی و از دی‌اکسیدکربن به‌عنوان منبع کربن استفاده می‌کنند، در حالی که کمواتوتروف‌ها از اکسیداسیون مواد معدنی به‌عنوان منبع انرژی و از دی‌اکسیدکربن به‌عنوان منبع کربن استفاده می‌کنند. فتوهتروتروف از نور به‌عنوان منبع انرژی و از مواد آلی به‌عنوان منبع کربن استفاده می‌کنند، در حالی که کموهتروتروف‌ها از مواد آلی مانند گلوکز، گلیسرول، استات و غیره به‌عنوان منبع کربن و از اکسیداسیون مواد معدنی به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند. میکسوتروف با توجه به شدت نور و غلظت منابع کربن آلی می‌توانند اتوتروف یا هتروتروف باشند [9, 13, 16]. اغلب جلبک‌ها فتواتوتروف‌اند یعنی کربن مورد نیاز خود را از دی‌اکسیدکربن و انرژی لازم برای رشد را از نور می‌گیرند. اولین کشت مقیاس بزرگ ریزجلبک در اوایل ۱۹۶۰ در ژاپن توسط نیهون کلرلا با کشت کلرلا آغاز شد. علاقه به استفاده از ریزجلبک برای انرژی‌های تجدیدپذیر در دهه ۱۹۷۰ در اولین بحران نفت افزایش یافت [7]. سازمان انرژی ایالات متحده (DOE) از سال ۱۹۷۸ تا ۱۹۹۶، ۲۵ میلیون دلار به‌منظور پژوهش درباره سوخت‌های جلبکی در آزمایشگاه ملی انرژی تجدیدپذیر (NREL) در گلدن

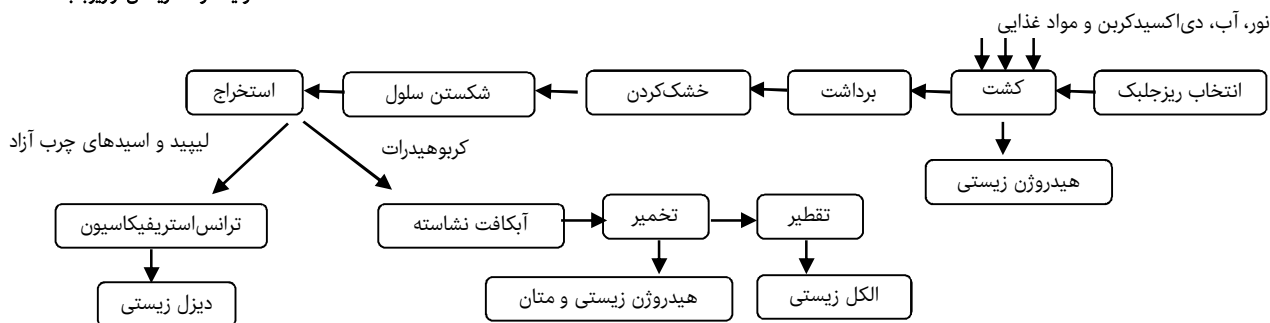
تعداد حدود ۳۰،۰۰۰ گونه مطالعه و ارزیابی شده است. طی دهه‌های گذشته مجموعه‌های بزرگی از ریزجلبک توسط پژوهشگران در کشورهای مختلف ایجاد شده است. به‌عنوان نمونه، بزرگ‌ترین مجموعه ریزجلبک آب‌های تازه در دانشگاه کوپیمبرا کشور پرتغال تنوع گسترده‌ای از ریزجلبک‌های مختلف را در اختیار دارد که می‌توانند برای کاربردهای گوناگون از قبیل فرآورده‌های بالارزش افزوده برای اهداف دارویی، فرآورده‌های غذایی برای مصارف بشری و نیز به‌عنوان منبع انرژی استفاده شوند. کلکسیون دیگر در دانشگاه گوتینگن آلمان است که از اوایل سال ۱۹۲۰ آغاز به کار کرده و حدود ۲۲۱۳ سویه و ۱۲۷۳ گونه را جمع‌آوری کرده است. حدود ۷۷٪ این سویه‌ها جلبک سبز و حدود ۸٪ نیز سیانوباکتری‌ها هستند. تعدادی از آنها جلبک آب‌های تازه و مابقی از آب‌های شور هستند. کلکسیون کشت جلبک دانشگاه تگزاس، مجموعه شناخته‌شده دیگری است که در سال ۱۹۵۳ تاسیس شده است. این مجموعه دارای ۲۳۰۰ سویه مختلف از جلبک آب‌های تازه است. در قاره آسیا نیز مجموعه انستیتو ملی مطالعات محیط زیستی (NIES) ایباراکی ژاپن حدود ۲۱۵۰ سویه و ۷۰۰ گونه مختلف از جلبک را نگهداری می‌کند. کلکسیون ریزجلبک زنده سسیرو (CCLM) در استرالیا نیز حدود ۸۰۰ سویه جلبک مختلف که اکثر آنها از آب‌های استرالیا جداسازی شده است را نگهداری می‌کند [7].

تولید سوخت زیستی از ریزجلبک: تبدیل زیست‌توده جلبکی به انرژی از طریق فرآیندهای مختلفی انجام می‌شود که به انواع منابع زیست‌توده، نگهداری و استفاده نهایی بستگی دارد [12]. همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است فرآیندهای تولید

انرژی از ریزجلبک به چهار دسته ترموشیمیایی، زیست‌شیمیایی، شیمیایی و احتراق مستقیم تقسیم می‌شوند [13]. عواملی که در انتخاب فرآیند تبدیل زیست‌توده به انرژی موثرند شامل نوع و کمیت خوراک زیست‌توده، ملاحظات اقتصادی و حالت محصول پایانی مورد نظر است [12]. تولید سوخت زیستی از ریزجلبک شامل چند مرحله از جمله انتخاب ریزجلبک و سایت، کشت ریزجلبک (نور، آب، دی‌اکسیدکربن و مواد غذایی)، برداشت، خشک‌کردن، شکستن دیواره سلولی، استخراج (لیپید یا کربوهیدرات) و تولید سوخت زیستی است [13، 18] (شکل ۲). سوخت‌های زیستی شامل الکل زیستی (اتانل زیستی، متانل زیستی، بوتانل زیستی و پروپانل زیستی)، دیزل زیستی، متان و هیدروژن زیستی هستند. غربالگری و انتخاب ریزجلبک مناسب عامل بسیار مهمی در تولید سوخت زیستی از ریزجلبک است. گونه‌های ریزجلبکی زیادی روی کره زمین وجود دارند اما شاید همه آنها نتوانند برای تولید سوخت زیستی استفاده شوند که این به عوامل مختلفی مانند شدت رشد، بازده فتوسنتزی، بهره‌وری زیست‌توده، میزان کربوهیدرات و لیپید و سازگاری با شرایط محیط زیستی مختلف بستگی دارد. همچنین مزایای دیگری مانند نیاز کم به مواد مغذی، تحمل گستره وسیعی از دما و تغییرات فصلی، ظرفیت بالای جذب دی‌اکسیدکربن و غیره از عوامل مهم انتخاب ریزجلبک هستند [19]. ریزجلبک شامل سه ترکیب اصلی لیپید، کربوهیدرات و پروتئین است. ترکیب درصد زیست‌توده برای چند نوع ریزجلبک در جدول ۳ گزارش شده است. فرمول زیست‌توده جلبکی به‌صورت $\text{CO}_{0.48} \text{H}_{1.83} \text{N}_{0.11} \text{P}_{0.01}$ است [13، 20].



شکل ۱) فرآیندهای تولید انرژی از ریزجلبک [13]



شکل ۲) مراحل تولید سوخت زیستی از ریزجلبک [13, 18]

جدول ۴) مقایسه روش های کشت ریزجلبک [13, 18, 19, 22-24]

ویژگی	استخر باز	زیست واکنش گاه نوری بسته
کشت	چندسویه	تک سویه
ریسک آلودگی	زیاد	هیچ یا کم
کنترل رشد	سخت	آسان
کنترل pH، دما، دی اکسیدکربن حل شده و آلودگی	سخت	آسان
بهره وری زیست توده	کم	زیاد
هزینه عملیاتی	کم	زیاد
هزینه برداشت	زیاد	کم
هزینه سرمایه گذاری	کم	زیاد
تنش	کم	زیاد
تبخیر	زیاد	بدون تبخیر
اتلاف آب	خیلی زیاد	کم
شدت انتقال دی اکسیدکربن	ضعیف	عالی
اتلاف دی اکسیدکربن	زیاد بسته به عمق استخر	کم
بازدهی اختلاط	ضعیف	عالی
بازدهی استفاده از نور	ضعیف	بالا
غلظت زیست توده	کم	زیاد

روش استخر باز یک روش ساده و ارزان است که برای کشت ریزجلبک مقیاس بالا استفاده می شود. این سیستم به دو دسته آب های طبیعی (دریاچه، تالاب، برکه و غیره) و آب های مصنوعی (استخر مصنوعی، تانک و غیره) تقسیم می شود. شکل، اندازه و انواع سیستم های باز به کاربرد آنها وابسته است. انواع استخرهای باز شامل بدون چرخش آب، با چرخش آب و نهري وجود دارند که در شکل ۳ نمای از آنها نشان داده شده است. استخرهای بدون چرخش آب به دلیل ساختار و مدیریت ساده اقتصادی هستند اما کاربرد آنها محدود است زیرا ریزجلبک تحت شرایط رشد ضعیف و رشد رقابتی با پروتوزوئرها و ویروس ها و باکتری ها نمی تواند رشد کند. استخر نهري از نظر استفاده پرکاربرد است. این استخر معمولاً کم عمق است. عمق آن بین ۲۵-۱۵ سانتی متر است. بهره وری زیست توده در این استخرها ۱۰۰-۶۰ میلی گرم وزن خشک بر لیتر در روز است. این استخرها اغلب برای کشت اقتصادی چهار گونه ریزجلبک شامل *کلرلا*، *اسپیرولینا پلاتنسیس*، *دونالیلا سالینا* و *هماتوکوکوس* استفاده می شوند. چرخش محیط کشت در این سیستم به وسیله پدال هایی انجام می شود. سرعت چرخش جریان آب باید بهینه باشد تا مانع توده ای شدن سلول ها و ته نشین شدن رسوب شود. استخر با چرخش آب قدیمی ترین روش کشت جلبک در مقیاس زیاد است که عمق آنها ۳۰-۲۵ سانتی متر است [22]. سامانه استخر باز محدودیت هایی نیز دارد. اتلاف و تبخیر آب این استخرها زیاد است. سطح جذب نور در این استخرها پایین است.

جدول ۳) ترکیب شیمیایی ریزجلبک ها بر مبنای وزن خشک [8, 20]

نوع ریزجلبک	پروتئین	کربوهیدرات	لیپید	نوکلیک اسید
کلرلا ولگاریس	۵۱-۵۸	۱۲-۱۷	۱۴-۲۲	۴-۵
کلرلا پیرنودوسا	۵۷	۲۶	۲	-
سندسمس ابلکیوس	۵۰-۵۶	۱۰-۱۷	۱۲-۱۴	۳-۶
سندسمس کوادریکایدا	۴۷	-	۱۹-۱۶	-
سندسمس دیمورفاس	۸-۱۸	۲۱-۵۲	۱۶-۴۰	-
کلامیدوموناس رینهاردتی	۴۸	۱۷	۲۱	-
پریمنیوم پروام	۲۸-۴۵	۲۵-۳۳	۲۲-۳۸	۱-۲
اسپیرولینا پلاتنسیس	۴۶-۶۳	۸-۱۴	۴-۹	۲-۵
اسپیرولینا ماکسیما	۶۰-۷۱	۱۳-۱۶	۶-۷	۳-۴/۵
سینکوکوس	۶۳	۱۵	۱۱	۵

روش های کشت ریزجلبک: میزان تولید جهانی زیست توده جلبکی حدود ۱۲ میلیون تن (بر مبنای خشک) و ۱۶ میلیون تن (بر مبنای تر) برای جلبک و حدود ۹۲۰۰ تن (بر مبنای خشک) برای ریزجلبک است که از زیستگاه های وحشی و زمین های آبی پرور به دست آمده است. میزان وزن زیست توده جلبکی کشت شده طی ۱۰ سال اخیر به طور متوسط ۱۰٪ افزایش یافته است [9]. در سال ۲۰۱۱ بیشترین میزان کشت جلبک در کشورهای آسیایی انجام شده و در صنایع غذایی، دارویی و شیمیایی استفاده شده است.

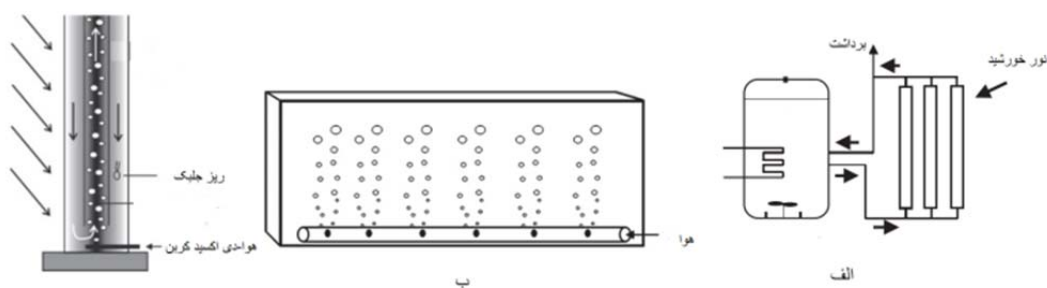
میان کشورهای آسیایی چین با ۷۵، فیلیپین ۱۰، اندونزی ۶، کره ۵، و ژاپن با ۴٪ در جایگاه های اول تا پنجم کشت جلبک قرار دارند. تقریباً ۹۹٪ گونه های کشت شده به گروه های قرمز و قهوه ای تعلق دارند. از نظر تولید جلبک های خودرو کشورهای چین ۲۸، شیلی ۲۷، نروژ ۱۳، ژاپن ۱۰، روسیه ۶، ایرلند ۲ و سایر کشورهای جهان ۱۴٪ را به خود اختصاص داده اند. کشت مقیاس تجاری ریزجلبک در آسیا، ایالات متحده آمریکا، اسرائیل و استرالیا از سال ۱۹۸۰ آغاز شده است. حدود ۹۲۰۰ تن ریزجلبک بر مبنای وزن خشک به طور سالیانه اساساً برای تغذیه انسان ها و افزودنی های غذایی تولید می شود. گونه هایی از ریزجلبک که بیشترین تولید را به خود اختصاص داده اند شامل *هماتوکوکوس پلوویالیس* و *آرتروسپیروپلاتنسیس* (هر کدام حدود ۳۰۰۰ تن وزن خشک)، *کلرلا* (حدود ۲۰۰۰ تن وزن خشک)، و *دونالیلا سالینا* (حدود ۱۲۰۰ تن وزن خشک) هستند. کاربرد تجاری کشت ریزجلبک برای تولید سوخت زیستی هنوز توسعه نیافته است [16].

سامانه های کشت ریزجلبک باید دارای بهره وری بالا، هزینه کم تولید و نگهداری و سادگی در کنترل پارامترها (دما، pH، اختلاط، دی اکسیدکربن) باشند [18]. برای کشت ریزجلبک از دو سیستم حوضچه های روباز و زیست واکنش گاه های نوری بسته استفاده می شود که در جدول ۴ مقایسه ای بین دو روش انجام شده است. تلاش های تحقیقاتی و تجاری روی زیست واکنش گاه های نوری بسته متمرکز هستند [21].

انواع ریزجلبک، باکتری و قارچ در این سیستم کمتر است. کنترل دما و حداقل تبخیر آب از دیگر مزایای این سامانه است. محدودیت اصلی زیست‌واکنش‌گاه‌های نوری پرهزینه‌بودن آنها است [22-24]. حدود ۹۸٪ تولید تجاری زیست‌توده جلبکی از سامانه حوضچه‌های روباز تولید می‌شود زیرا این روش از نظر اقتصادی مقرون‌به‌صرفه‌تر است [9]. انواع مختلف زیست‌واکنش‌گاه‌های نوری شامل لوله‌ای (افقی، مایل و عمودی)، صفحه تخت و ستونی (هوای بالارونده و ستونی حباب‌دار) هستند [22-24] که در شکل ۴ نمایی از آنها نشان داده شده است و در جدول ۵ مزایا و معایب هر یک ذکر شده است.



شکل ۳ (الف) انواع سیستم کشت استخر باز: با چرخش آب (الف)، نهری (ب) و بدون چرخش آب (ج) [22]



شکل ۴ (الف) انواع زیست‌واکنش‌گاه‌های نوری بسته: لوله‌ای (الف)، صفحه تخت (ب) هوای بالارونده (ج) [22]

جدول ۵) مقایسه انواع سیستم کشت ریزجلبک [12, 18, 22, 25]

معایب	مزایا	نوع
- بهره‌وری ضعیف زیست توده - نیاز به سطح زیادی زمین - نوردی نامناسب - اتلاف دی‌اکسیدکربن - کنترل شرایط سخت - امکان آلودگی زیاد - محدود به تعداد کمی گونه‌های ریزجلبک - اتلاف‌های تبخیر	- ساده و تقریباً ارزان - تمیزکردن آسان - ورودی انرژی کم - نگهداری آسان - استفاده از زمین غیرکشاورزی	استخر باز
- ایجاد رسوب - نیاز به فضای زیاد - ایجاد گرادیان اکسیژن، دی‌اکسیدکربن حل شده و pH در طول لوله‌ها - رشد ریزجلبک روی دیواره - سخت‌بودن و پرهزینه‌بودن تمیزکردن لوله‌ها	- مساحت زیاد برای جذب نور - نسبتاً ارزان - بهره‌وری خوب زیست توده - مناسب برای کشت در هوای آزاد - کنترل دمای عالی - کاهش احتمال آلودگی - افزایش مقیاس قابل قبول	زیست‌واکنش‌گاه نوری لوله‌ای
- مساحت کم برای جذب نور - پرهزینه نسبت به استخر باز	- ضریب انتقال جرم بالا - سترون سازی آسان - اختلاط خوب با استرس هیدرودینامیکی کم روی ریزجلبک - مصرف انرژی کم	زیست‌واکنش‌گاه نوری ستونی
- سخت‌بودن افزایش مقیاس - سخت‌بودن کنترل دما - رشد ریزجلبک روی دیواره - استرس هیدرودینامیکی روی برخی گونه‌های ریزجلبک - بازده فتوسنتزی کم	- بهره‌وری بالای زیست توده - مسیر نور خوب - سترون سازی آسان - مساحت زیاد برای جذب نور - مناسب برای کشت در هوای آزاد - مصرف کم انرژی	زیست‌واکنش‌گاه نوری صفحه تخت

غلظت کردن دوغاب جلبکی و سانتریفوژ (یا صاف سازی) به عنوان مرحله دوم پیشنهاد شده است [30]. مواد لخته کننده باید غیرسمی، ارزان و در غلظت کم موثر باشند. نمک های متداول استفاده شده به عنوان لخته کننده شامل کلرید آهن، سولفات آهن و سولفات آلومینیوم هستند [27].

روش های خشک کردن: خشک کردن گسترده زیست توده جلبکی برای تولید سوخت زیستی مورد نیاز است. میزان رطوبت دوغاب ریزجلبک باید با روش های خشک کردن به حداقل ۱۰٪ کاهش یابد. مرحله خشک کردن به انرژی نیاز دارد، بنابراین هزینه های کلی فرآیند افزایش می یابد. روش های خشک کردن ریزجلبک شامل خشک کردن خورشیدی، گرمخانه، انجمادی، پاششی و غلطکی هستند [29]. هر یک از این روش ها مزایا و معایبی دارند (جدول ۷).

جدول ۷) روش های خشک کردن ریزجلبک [22, 25, 29]

روش	مزایا	معایب
خشک کردن خورشیدی	- ارزان	- سخت و کند - نیاز به سطح بالا - وابسته به آب و هوا - آلوده شدن به آسانی
خشک کردن پاششی	- سریع - پیوسته - کار آ	- پرهزینه - تخریب گونه های ریزجلبک
خشک کردن غلطکی	- سریع - کار آ - سترون سازی دما بالا	- پرهزینه - تخریب گونه های ریزجلبک
خشک کردن گرمخانه	- سریع - کار آ - سترون سازی دما بالا - ناپیوسته یا پیوسته	- پرهزینه - تخریب گونه های ریزجلبک
خشک کردن انجمادی	- ملایم - تخریب کم گونه های ریزجلبک	- فرآیند کند - پرهزینه

انتخاب بهترین روش خشک کردن به مقیاس عملیاتی مورد نیاز و ارزش محصول مورد نظر بستگی دارد [22]. نور خورشید یک روش قدیمی و ارزان برای خشک کردن است، اما این روش به زمان طولانی و مساحت سطح زیاد نیاز دارد. نور خورشید برخلاف خشک کردن گرمخانه و غلطکی اثر سترون سازی ندارد. خشک کن پاششی می تواند برای مواد با ارزش بالا استفاده شود، اما این روش پرهزینه است و سبب تخریب ریزجلبک می شود. خشک کردن انجمادی برای شرایط عملیاتی ملایم مطلوب است. خشک کردن دمایی اگر چه در مقیاس آزمایشگاهی انجام می شود ولی توصیه نمی شود زیرا باعث تبخیر لیپیدهای فرار می شود و پودری با اندازه ذرات غیریکنواخت تولید می شود. خشک کردن انجمادی روشی کند و پرهزینه است [22, 26, 29].

روش های شکستن دیواره سلولی: هدف از شکستن دیواره سلولی ریزجلبک تخریب دیواره سلولی برای آزاد شدن اجزای درون سلولی و بهبود بازدهی استخراج است. ریزجلبک دارای دیواره سلولی بسیار سختی است و لازم است قبل از استخراج لیپید و کربوهیدرات دیواره سلولی آن با روش مناسب شکسته شود. روش های شکستن دیواره سلولی شامل روش های فیزیکی (آسیاب و خرد کردن، امواج فراصوت، تابش ریز امواج، لیزر، اتوکلاو، الکتریکی)، شیمیایی (اسید، مایعات یونی، عوامل اکسند) و زیستی (آنزیمی) هستند که مزایا و معایب هر کدام در جدول ۸ گزارش شده است. روش های فیزیکی ساده و سریع هستند اما دما، فشار و مصرف

روش های برداشت: برداشت ریزجلبک با توجه به تراکم سلولی پایین ریزجلبک (۵/۳-۰/۳ گرم بر لیتر) یک مرحله پرهزینه تولید صنعتی است. تراکم سلولی ریزجلبک در موارد استثنایی می تواند به ۵ گرم بر لیتر برسد، درحالی که میزان بهینه برای مقیاس صنعتی حداقل ۴۰۰-۳۰۰ گرم بر لیتر است. بنابراین دوغاب ریزجلبک خروجی باید ۱۰۰۰-۱۰۰۰ برابر غلیظ شود که این مرحله انرژی زیادی نیاز دارد (یک مگاژول به ازای هر کیلوگرم زیست توده) [26].

بعد از این که کشت ریزجلبک به فاز سکون می رسد، ریزجلبک از آب جدا می شود و زیست توده برای فرآیندهای پایین دستی بازیابی می شود. فرآیند برداشت ریزجلبک یک کار چالش برانگیز است، زیرا اندازه ریزجلبک کوچک است (قطر ۳-۳ میکرون) و در مایع معلق است. دوغاب ریزجلبک نسبتاً رقیق است (کمتر از نیم کیلوگرم بر مترمکعب زیست توده خشک در بعضی سامانه های تولید تجاری) بنابراین حجم های زیاد برای بازیابی زیست توده نیاز است [21, 27]. چندین روش برای برداشت ریزجلبک وجود دارد که شامل روش های لخته شدن، شناورسازی، ته نشینی، سانتریفوژ و صاف سازی هستند [28]. مزایا و معایب هر کدام از این روش ها در جدول ۶ گزارش شده است. فاکتور غلیظ سازی در دو روش لخته شدن و شناورسازی ۸۰۰-۱۰۰۰ برابر و در دو روش سانتریفوژ و صاف سازی ۳۰-۱۰۰ برابر است [26].

جدول ۶) روش های برداشت ریزجلبک [22, 25, 29]

نوع	مزایا	معایب
لخته شدن	- آسان برای استفاده - در دسترس بودن گستره وسیعی از لخته کننده ها - مصرف کم انرژی	- آلودگی شیمیایی - حساسیت زیاد به مقدار pH - حذف لخته کننده ها
شناورسازی	قابل برداشت در توده محیط کشت	چالش در مقیاس بزرگ
ته نشینی	- مصرف کم انرژی - مفید به عنوان یک مرحله قبل از غلیظ سازی - نیاز کم به اپراتورهای ماهر	- شدت های کند ته نشینی - بازیابی کم سلول
سانتریفوژ	- بازدهی بالای برداشت - فرآیند جداسازی سریع - تمیز کردن آسان	- هزینه بالای عملیات و سرمایه گذاری - مصرف بالای انرژی - سرعت بالا ممکن است سبب آسیب به سلول شود - برداشت سخت توده
صاف سازی	- استفاده مجدد از آب و مواد مغذی - در دسترس بودن گستره وسیعی از فیلترها و انواع غشاها	- گرفتگی غشاها - نیاز به جایگزینی دوره ای فیلترها - فرآیند کند - هزینه بالای نگهداری

هشت معیار برای ارزیابی روش های برداشت ریزجلبک شامل بازدهی آب زدایی، هزینه، سمیت، امکان پذیر بودن برای مقیاس صنعتی، زمان، استفاده مجدد از محیط کشت، نگهداری و اختصاصی بودن گونه ها هستند. از میان روش های مختلف فیزیکی برداشت ریزجلبک روش های سانتریفوژ، صاف سازی جریان متقاطع و لخته شدن برای استفاده در مقیاس بزرگ به دلیل موثر بودن، هزینه های کم، سریع بودن، کاربرد برای گونه های زیاد، دوست دار محیط زیست بودن و نیاز به حداقل نگهداری، مناسب ارزیابی شده اند. سایر روش ها برای مقیاس بزرگ نامناسب هستند [30]. مرحله آب زدایی ۳۰-۲۰٪ هزینه های کلی تولید و فراوری ریزجلبک را در بر می گیرد [21, 27, 29, 30]. برای کاهش زمان و هزینه های مرحله آب زدایی استفاده از لخته شدن در مرحله اول برداشت برای

انرژی بالایی دارند. روش های زیستی مصرف انرژی کم و بازده بالا دارند اما آهسته و پرهزینه هستند. روش های شیمیایی سریع بوده و برای همه انواع جلبک قابل استفاده هستند اما دما، فشار و مصرف انرژی بالایی دارند. ایجاد آلودگی و نیاز به تیمار فاضلاب (افزایش هزینه ها) نیز از دیگر معایب روش های شیمیایی محسوب می شوند [19, 22].

جدول ۸) روش های شکستن دیواره سلول ریزجلبک [19, 22]

روش	روش پیش تیمار	مزایا	معایب
فیزیکی	- مکانیکی (آسیاب و خردکردن) - امواج فراصوت - تابش مایکروویو - لیزر - اتوکلاو - الکتریکی	- روش عملیات ساده - واکنش سریع	- دما و فشار بالا - مصرف انرژی بالا
شیمیایی	- اسید - مایعات یونی - عوامل اکسنده (اوزن، پراکسید هیدروژن و غیره)	- هزینه تولید پایین تر - واکنش سریع - مناسب برای همه نمونه های جلبکی	- دما، فشار و مصرف انرژی بالا - ایجاد آلودگی - تشکیل آبکافت های سمی در طول تیمار که بازدارنده تخمیر میکربی است - نیاز به تیمار فاضلاب که هزینه های فرآیند را افزایش می دهد
زیستی	- آنزیمی	- مصرف انرژی کم، بازده بالا	- فرآیند گران و آهسته - نامناسب برای انواع گونه های جلبک

روش های استخراج لیپید و کربوهیدرات: لیپیدها یکی از اجزای اصلی ریزجلبک هستند که با توجه به گونه و شرایط رشد، میزان لیپید به طور تقریبی حدود ۶۰-۲۰٪ کل وزن خشک سلولی است. روغن لیپید مشتق شده از ریزجلبک شامل اسیدهای چرب آزاد (غالباً ۱۶ تا ۲۲ کربن در طول حلقه) و تری گلیسیریدها است که می توانند به دیزل زیستی تبدیل شوند [31]. روش های استخراج لیپیدها شامل روش استخراج با حلال های آلی، سوکسله و استخراج با سیالات فوق بحرانی است.

از میان تمام روش های استخراج لیپید، استفاده از حلال یکی از روش های سریع و کارآمد است و با وجود مصرف بالای انرژی برای جداسازی روغن از حلال توسط فرآیند تقطیر و همچنین خطر آتش سوزی و انفجار در اثر استفاده از حلال های قابل اشتعال، روش استخراج با حلال مقرون به صرفه ترین روشی است که در حال حاضر در دسترس است. از ویژگی های یک حلال مناسب می توان به نامحلول بودن در آب، حل کردن انتخابی ترکیب مورد نظر، داشتن نقطه جوش پایین برای تسهیل جداسازی پس از استخراج، اختلاف دانسیته زیاد با آب، ارزان بودن و همچنین قابلیت استفاده مجدد اشاره نمود. با توجه به ویژگی های ذکر شده هگزان به طور وسیعی به عنوان حلال استخراج لیپیدها استفاده شده است و حلال های دیگری مانند اتانل، بوتانل و ایزو پروپانل نیز استفاده شده است (جدول ۹).

جدول ۹) روش های استخراج لیپید [32, 33]

روش استخراج	حلال
حلال های آلی	بوتانل، اتانل، هگزان، ایزو پروپانل / هگزان
سوکسله	هگزان، متانل / کلروفرم، DBU / اکتانل
سیالات فوق بحرانی	دی اکسید کربن، آب

کلروفرم در استخراج لیپید از اکثر ریزجلبک ها موثر است، اما برای استفاده در مقیاس های بزرگ لازم است کلروفرم با یک حلال آلی دیگر که دارای آثار زیان آور کمتری است جایگزین شود. هرچند براساس نتایج مطالعات صورت گرفته، هگزان در استخراج لیپید از ریزجلبک ها دارای راندمان کمتری نسبت به کلروفرم است، اما سمیت کمتر، حداقل گرایش به سمت آلاینده های غیرلیپیدی و در مقابل تمایل زیاد به سمت لیپیدهای خنثی از مزیت های هگزان به شمار می رود. به دلیل سمیت متانل و کلروفرم و همچنین استخراج رنگدانه ها و آلاینده های غیرلیپیدی علاوه بر لیپیدها، استفاده از دیگر الکل ها همانند اتانل، ۱-بوتانل و ایزوپروپانل نیز در حال توسعه برای جایگزین شدن متانل هستند [32, 33].

یکی دیگر از اجزای اصلی ریزجلبک ها کربوهیدرات است که می تواند به عنوان منبع کربنی برای تخمیر توسط باکتری ها، قارچ ها و مخمرها استفاده شود. کربوهیدرات ریزجلبک توسط اسیدهای مختلف مانند اسید سولفوریک، اسید نیتریک، اسید کلریدریک، اسید فسفریک و غیره استخراج می شود [34].

اتانل زیستی: اتانل زیستی به عنوان پرکاربردترین سوخت زیستی می تواند به عنوان سوخت وسایل نقلیه به شکل خالص یا به صورت افزودنی بنزین به منظور افزایش عدد اکتان و کاهش آلاینده های وسیله نقلیه به کار رود. با افزودن اتانل زیستی به بنزین، محتوای اکسیژن سوخت افزایش یافته و احتراق بنزین نیز بهبود می یابد. بنابراین با کامل تر شدن احتراق، نشر آلاینده های احتراقی از قبیل مونوکسید کربن و هیدروکربن های حاصل از سوخت ناقص کاهش می یابد. متداول ترین مخلوط اتانل زیستی/ بنزین در غلظت های ۱۰٪ اتانل زیستی و ۹۰٪ بنزین است که به E۱۰ یا گازول معروف است. اتانل زیستی به صورت مخلوط ۵ درصدی با بنزین نیز به کار می رود. این مخلوط نیازی به تغییرات موتور ندارد [35]. برخی از مزایا و معایب اتانل زیستی در جدول ۱۰ گزارش شده است.

جدول ۱۰) مزایا و معایب اتانل زیستی [35]

اتانل زیستی
مزایا
عدد اکتان بالاتر (۱۰۸) نسبت به بنزین
نقطه اشتعال و گرمای تبخیر بیشتر
نسبت تراکم بالاتر و زمان سوختن کمتر
سوختی اکسیژن دار حاوی ۳۵ درصد اکسیژن
کاهش نشر آلاینده های NO _x و ذرات
بهبود احتراق بنزین با افزودن اتانل زیستی به بنزین
معایب
چگالی انرژی کمتر نسبت به بنزین (حدود ۶۶٪ بنزین)
خوردگی
فشار بخار پایین تر (مشکل روشن شدن در هوای سرد)
امتزاج پذیری در آب
افزایش نشر استالدهید

دو روش متداول تولید اتانل زیستی از زیست توده شامل روش های ترموشیمیایی مانند گازی سازی و زیست شیمیایی مانند تخمیر هستند. جلبک در مقایسه با سایر گیاهان لیگنوسلولزی درصد کمتری لیگنین و ترکیبات همی سلولزی دارد و این امر باعث می شود ظرفیت بالقوه بالایی برای تولید اتانل داشته باشد. ریزجلبک دارای کربوهیدرات، نشاسته و سلولز بالا و لیگنین محدود آسان تر از مواد لیگنوسلولزی به مونوساکاریدها تبدیل می شود [36]. ریزجلبک حاوی کربوهیدرات است که به عنوان منبع کربنی برای تخمیر توسط باکتری ها و مخمرها استفاده می شود و اتانل در

بنابراین انتشار گازهای گلخانه‌ای کاهش می‌یابد. تولید اتانل زیستی از ریزجلبک هنوز در دست مطالعه است و فناوری تجاری سازی آن در دست توسعه است [38].

دیزل زیستی: دیزل زیستی به شکل خالص به‌عنوان سوخت و افزودنی به دیزل به‌منظور کاهش سطوح ذرات معلق، مونوکسیدکربن و هیدروکربن‌های ناشی از وسیله نقلیه دیزلی به کار می‌رود [43, 44]. برخی از مزایا و معایب دیزل زیستی در جدول ۱۳ گزارش شده است. دیزل زیستی تولیدی باید با مشخصه‌های استاندارد بین‌المللی دیزل زیستی مثل استاندارد آزمون مواد آمریکا (ASTM۶۷۵۱) یا استاندارد اتحادیه اروپا (EN۱۴۲۱۴) توافق داشته باشد. برای تولید دیزل زیستی لازم است ساختار تری‌گلیسیریدهای روغن‌های طبیعی به اجزای ساده‌تری شکسته شود. این کار با روش‌های پیرولیز، رقیق‌سازی توسط مخلوط‌کردن با هیدروکربن‌ها، میکرومولسیون و ترانس‌استریفیکاسیون انجام می‌شود. هر یک از این روش‌ها مزایا و محدودیت‌هایی دارند (جدول ۱۴). روش ترانس‌استریفیکاسیون به لحاظ سادگی کاربرد بیشتری دارد. این فرآیند شبیه فرآیند آبکافت است با این تفاوت که به جای آب از الکل استفاده می‌شود [43-45].

ریزجلبک‌ها توانایی ذخیره مقادیر زیاد لیپید در سلول‌های خود را دارند که این لیپید می‌تواند به دیزل زیستی تبدیل شود. جلبک نسبت به ریزجلبک محتوای لیپید کمتری (۶-۳۰٪) دارد. محتوای لیپید ۵۰-۲۰٪ برای ریزجلبک متداول است [46].

تحقیقات نشان می‌دهد که از گازهای خروجی صنعتی می‌توان برای رشد ریزجلبک استفاده کرد، که فرصتی برای مصرف گازهای گلخانه‌ای در تولید زیست‌توده است. گازهای خروجی صنعتی حاوی بیش از ۱۵٪ دی‌اکسیدکربن هستند که منبعی غنی برای تولید ریزجلبک محسوب می‌شوند [26]. روغن‌های جلبک مشخصه‌هایی مشابه با روغن‌های گیاهی و حیوانی دارند [17]. ریزجلبک کلرلا به دلیل داشتن مقدار لیپید بالا به‌طور وسیعی برای تولید دیزل زیستی استفاده شده است. علاوه بر کلرلا ریزجلبک‌های دیگری مانند *نانوکروپسیس*، *سندسمس* و غیره نیز برای این منظور استفاده شده‌اند (جدول ۱۵).

میزان تولید دیزل زیستی ($g\cdot l^{-1}$) از حاصل ضرب غلظت زیست‌توده ($g\cdot l^{-1}$) در میزان لیپید (درصد) در نرخ تبدیل ترانس‌استریفیکاسیون (درصد) به دست می‌آید [47].

هیدروژن زیستی: هیدروژن یک حامل انرژی پاک است که از احتراق آن گازهای گلخانه‌ای و ترکیبات گوگردی تولید نمی‌شود و فقط آب تولید می‌شود. ضریب نفوذ آن در آب در دمای $20^{\circ}C$ حدود 4×10^{-4} مترمربع بر ثانیه و در هوا 0.61 مترمربع مربع بر ثانیه و انرژی احتراق آن حداقل $119/9$ مگاژول بر کیلوگرم و حداکثر $141/6$ مگاژول بر کیلوگرم است. هیدروژن قابلیت حل دو مشکل انرژی یعنی وابستگی به سوخت‌های فسیلی و انتشار گازهای گلخانه‌ای را دارد. هیدروژن از لحاظ شیمیایی در آب، زیست‌توده و سوخت‌های فسیلی وجود دارد. بنابراین باید از یکی از این مواد استحصال شود [49, 2, 50]. مزایا و معایب هیدروژن به‌عنوان سوخت در جدول ۱۶ گزارش شده است.

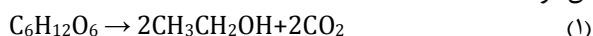
روش‌های تولید هیدروژن توسط ریزجلبک شامل چهار روش تخمیر نوری، تخمیر در تاریکی، نورکافت زیستی مستقیم و غیرمستقیم هستند. در دو روش تخمیر نوری و تخمیر در تاریکی باکتری‌های تخمیری از کربوهیدرات ریزجلبک به‌عنوان سوبسترای کربنی استفاده می‌کنند اما در دو روش نورکافت زیستی مستقیم (معادله ۲) و غیرمستقیم (معادلات ۳ و ۴) [معادله ۵ از دو معادله ۳ و ۴]

شرایط بی‌هوازی تولید می‌شود. در کنار اتانل، محصولات می‌مانند آب و دی‌اکسیدکربن نیز تولید می‌شوند [19]. مراحل تولید اتانل از ریزجلبک در شکل ۲ نشان داده شده است. به‌طورکلی تولید اتانل از زیست‌توده جلبکی شامل دو روش آبکافت و تخمیر جداگانه (SHF) و قندسازی و تخمیر همزمان (SSF) است. هر کدام از دو فرآیند مزایا و معایبی دارند که در جدول ۱۱ به نمونه‌هایی از این موارد اشاره شده است. در فرآیند SHF نخست زیست‌توده جلبکی با یکی از روش‌ها (فیزیکی، شیمیایی یا زیستی) آبکافت می‌شود، سپس محصول آبکافت‌شده به واحد جداگانه تخمیر توسط مخمر یا باکتری فرستاده می‌شود.

جدول ۱۱) مزایا و معایب روش‌های مختلف آبکافت- تخمیر [19, 37]

روش	مزایا	معایب
آبکافت و تخمیر جداگانه (SHF)	- قابلیت انجام هر مرحله تحت شرایط بهینه - به حداقل رساندن به‌هم‌کنش بین مراحل - امکان انجام فرآیند تخمیر در شرایط پیوسته با جریان برگشتی سلول	- رسیدن به بازده تولید اتانل قابل قبول مستلزم بارگذاری کمتر مواد جامد و بارگذاری بیشتر آنزیم است بنابراین هزینه‌ها افزایش می‌یابد و سرعت آبکافت کمتر می‌شود. - شرایط فرآیندی خیلی پیچیده‌تر از SSF است - زمان طولانی‌تر (۱ تا ۴ روز) - ممکن است آلودگی میکربی سوبسترا رخ دهد.
قندسازی و تخمیر همزمان (SSF)	- افزایش سرعت آبکافت به واسطه تبدیل قندهایی که همزمان بازدارنده فعالیت آنزیم سلولاز هستند - نیاز کمتر به آنزیم - بازده بیشتر محصول - نیاز کمتر به شرایط سترون زیرا گلوکز فوراً حذف می‌شود و اتانل تولید می‌شود - کاهش بازدارندگی محصول - کاهش هزینه سرمایه‌گذاری و هزینه کلی تولید - کاهش زمان فرآیند - حجم کمتر واکنش‌گاه - این فرآیند فقط به یک واکنش‌گاه نیاز دارد	- بهینه‌کردن شرایط SSF سخت است. نقطه بهینه شرایط برای قندسازی و تخمیر متفاوت است. - وقتی که اتانل در طول تخمیر تولید می‌شود ممکن است سبب واسرشت آنزیم و مرگ سلول مخمر و نهایتاً کاهش بازده شود.

نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهد حداکثر تولید اتانل از روش SSF بیشتر از روش SHF به دست آمده است [19]. ریزجلبک‌هایی مانند کلرلا، کلامیدوموناس، دونالیلا، سندسمس و تتراسلمیس دارای مقادیر زیادی کربوهیدرات هستند (بیش از ۴۰٪ وزن خشک) [36]. کلرلا و لگاریس و کربووکام به دلیل میزان بالای کربوهیدرات موجود در آنها به‌طور گسترده‌ای برای تولید اتانل زیستی استفاده شده‌اند. مطابق معادله ۱ به ازای یک کیلوگرم کربن، 0.51 کیلوگرم اتانل و 0.49 کیلوگرم دی‌اکسیدکربن از قندهایی مانند گلوکز تولید می‌شود [22].



در جدول ۱۲ میزان بازده تولید اتانل زیستی توسط میکروارگانیسم‌های مختلف و خوراک ریزجلبک مختلف گزارش شده است. فرآیند تولید اتانل زیستی از ریزجلبک به انرژی کمتری نیاز دارد و نسبت به سیستم تولید دیزل زیستی خیلی ساده‌تر است. دی‌اکسیدکربن تولیدشده به‌عنوان محصول جانبی فرآیند تخمیر را می‌توان به‌عنوان منبع کربن در تولید ریزجلبک استفاده کرد.

نتیجه شده است.) ریزجلبک می‌تواند تنها با استفاده از آب و نور طبیعی هیدروژن تولید کند. در جدول ۱۷ روش‌های زیستی تولید هیدروژن مقایسه شده است و مزایا و معایب هر یک ذکر شده است. یکی از مزایای تولید

هیدروژن به روش نورکافت زیستی این است که هیدروژن در شرایط کشت تجمع نمی‌کند، بلکه به شکل گاز آزاد می‌شود و این برخلاف سایر فرآورده‌های تخمیری است که تا سطوحی که برای سلول سمی و خطرناک‌اند ساخته می‌شوند.

جدول ۱۲) بازده تولید اتانل زیستی از گونه‌های مختلف ریزجلبک

ریزجلبک	میکروارگانیزم تخمیری	نوع آبکافت	بازده تولید اتانل زیستی (گرم ریزجلبک خشک/گرم اتانل)	منبع
کلرلا ولگاریس FSP-E	زیموموناس موبیلیس ATCC 29191	SSF	۰/۲۱۴	[36]
کلرلا ولگاریس FSP-E	زیموموناس موبیلیس ATCC 29191	SHF	۰/۲۳۳	[36]
کلرلا ولگاریس FSP-E	زیموموناس موبیلیس ATCC 29191	SHF	۰/۱۷۸	[36]
اسپیرولینا پلاتنسیس	ساکارومایسیس سرویزیا	SHF	۰/۱۶۳	[39]
کلروکوکام اینفاسیونام	ساکارومایسیس سرویزیا	SHF	۰/۲۶	[40]
کلروکوکام	ساکارومایسیس بایانوس	SHF	۰/۲۳۸	[41]
کلامیدوموناس رینهاردتی UTEX 90	ساکارومایسیس سرویزیا S288C	SHF	۰/۲۳۵	[42]

جدول ۱۳) مزایا و معایب دیزل زیستی [43]

مزایا
غیرسمی، فاقد دوده، قابل حمل و نقل، دسترس‌پذیر، زیست‌تخریب‌پذیر، غیرمتفجره، دوستدار محیط زیست و عاری از گوگرد و ترکیبات آروماتیک؛ کاهش ذرات معلق در هوای محیط و کاهش سمیت هوا؛ بهبود مشخصه‌های احتراق به دلیل داشتن ۱۱-۱۰٪ اکسیژن؛ کاهش نشر خالص دی‌اکسیدکربن تا ۸۷٪ در مقایسه با دیزل سنتی؛ خنثی از نظر تغییرات اقلیمی؛ داشتن عدد ستان بالاتر (حدود ۶۵-۶۰) باتوجه به نوع روغن) نسبت به دیزل نفتی (۵۳)؛ ایمن‌تر برای حمل و نقل، توزیع، مصرف و ذخیره‌سازی به سبب نقطه اشتعال بالاتر؛ عدم نیاز به تغییرات موتور تا B۲۰ (مخلوط‌های بالاتر ممکن است به اصلاحات کوچک نیاز پیدا کنند)
معایب
۱۲٪ محتوای انرژی کمتر نسبت به دیزل و افزایش مصرف سوخت تا حدود ۱۰-۲٪؛ نقاط ابری شدن و ریزش بالاتر نسبت به دیزل؛ ایجاد رسوب در موتور (احتراق ناقص)؛ گرانی نسبتاً بالاتر (۱۸-۱۱ برابر دیزل)؛ فراریت کمتر نسبت به دیزل و نیاز به فشار بالاتر انژکتور؛ سطوح NO_x نسبتاً بالاتر (۱۴-۱۰٪) نسبت به دیزل در طول احتراق؛ پایداری اکسیداسیون کمتر از دیزل (در حضور هوا به اسیدهای چرب؛ اکسید شده و خوردگی در مخزن سوخت، لوله و انژکتور ایجاد می‌شود)؛ گران بودن فرآیند ترانس‌استریفیکاسیون (افزایش هزینه سوخت)

جدول ۱۴) مقایسه فناوری‌های تولید دیزل زیستی [43, 45]

روش	مزایا	معایب
پیرولیز	- ساده - بدون آلودگی	- نیاز به دمای بالا - خلوص پایین - تجهیزات گران‌قیمت
میکروامولسیون یا رقیق‌سازی	ساده	- گرانروی بالا - فراریت بد (کم) - پایداری بد (کم)
ترانس‌استریفیکاسیون کاتالیزوری	- راندمان بالای تبدیل - هزینه کم - مناسب برای تولید صنعتی - خصوصیات سوخت به دیزل نزدیک است	- همراه با واکنش جانبی است - جداسازی محصولات واکنش سخت است - مقدار اسید چرب آزاد و آب باید کم باشد (برای کاتالیست بازی)
ترانس‌استریفیکاسیون به روش فوق بحرانی	- بدون نیاز به کاتالیست - زمان واکنش کم - تبدیل بالا - انطباق‌پذیری خوب	- نیاز به دما و فشار بالا - مصرف انرژی بالا - هزینه تجهیزات بالا

جدول ۱۵) برخی از گونه‌های ریزجلبک استفاده شده برای تولید دیزل زیستی [14, 47, 48]

ریزجلبک	زیستگاه	میزان لیپید (درصد)	بهره‌وری لیپید (میلی‌گرم بر لیتر در روز)	مقیاس	منبع
کلرلا ولگاریس F&M-M49	آب تازه	۱۸/۴	۳۶/۹	فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری	[48]
کلرلا ولگاریس CCAP 211/11b	آب تازه	۱۹/۲	۳۲/۶	فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری	[48]
نانوکلروپسیس F&M-M28	آب دریا	۳۵/۷	۶۰/۹	فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری	[48]
نانوکلروپسیس F&M-M26	آب دریا	۲۹/۶	۶۱	فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری	[48]
سندسمس F&M-M19	آب تازه	۱۹/۶	۴۰/۸	فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری	[48]
سندسمس DM	آب تازه	۲۱/۱	۵۳/۹	فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری	[48]
کلرلا F&M-M48	آب تازه	۱۸/۷	۴۲/۱	فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری	[48]
کلرلا سوروکینینا IAM-212	آب تازه	۱۹/۳	۴۴/۷	فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری	[48]
پاولووا سالیئا CS 49	آب دریا	۳۰/۹	۴۹/۴	فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری	[48]
پاولووا لوتری CS 182	آب دریا	۳۵/۵	۵۰/۲	فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری	[48]
نانوکلروپسیس	آب دریا	۵۲	۴۶/۵	سه استخر روباز نه‌ری ۲۰۰۰ لیتری	[14]
نئوکلریس	آب دریا	۴۶	۳۲/۶	سه استخر روباز نه‌ری ۲۰۰۰ لیتری	[14]
کلرلا	آب دریا	۳۸	۱۹/۳	سه استخر روباز نه‌ری ۲۰۰۰ لیتری	[14]
کلرلا پرتوتیکویدیس	آب تازه	۴۸/۷	-	زیست‌واکنش‌گاه ۷۵۰ لیتری	[47]
کلرلا پرتوتیکویدیس	آب تازه	۴۶/۱	-	زیست‌واکنش‌گاه ۵ لیتری	[47]
کلرلا پرتوتیکویدیس	آب تازه	۴۴/۳	-	زیست‌واکنش‌گاه ۱۰۰۰ لیتری	[47]

مزایا
تولید انرژی پاک و عدم تولید گاز گلخانه‌ای
بالاترین میزان انرژی در هر واحد جرم (محتوی انرژی بیش از ۲/۷ تا ۳/۱ برابر سوخت‌های فسیلی)
پایین‌ترین میزان انتشار دی‌اکسیدکربن
سمی نبودن
عدد اکتان موثر بالا (بیشتر از ۱۲۰)
اتومبیل‌هایی که از هیدروژن به عنوان سوخت استفاده می‌کنند مشکل اشتعال حتی در هوای سرد را ندارند
تولید فقط آب از احتراق آن
تبدیل هیدروژن به الکتریسته با استفاده از پیل‌های سوختی
معایب
چگالی کم (۰/۰۸۴ کیلوگرم بر متر مربع) و متعاقباً محتوای حرارتی حجمی کم آن (حدود ۲۵٪ گاز طبیعی)
ایمنی (بسیار مشتعل شونده است)
ذخیره‌سازی سخت و گران
دشواری تشخیص نشت هیدروژن

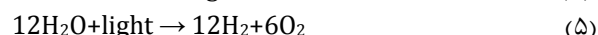
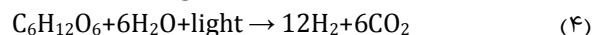
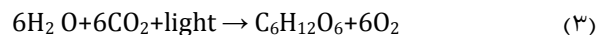
جدول ۱۷) مقایسه روش‌های زیستی تولید هیدروژن [2, 50, 51]

مزایا	چالش‌ها	واکنش کلی	میکروارگانیسم	فرآیند
- بالاترین بازده نسبت به سایر روش‌های زیستی - بالاترین سرعت تولید هیدروژن - عملیات ساده‌تر - حساسیت کمتر باکتری‌های تخمیری نسبت به سوبسترا (انواع منابع کربنی می‌تواند به عنوان سوبسترا استفاده شود) - مصرف انرژی کمتر (عدم نیاز به نور و غلبه بر محدودیت چرخه‌های روز و شب فرآیندهای تخمیر نوری و نورکافت زیستی) - هیچ سیستم PSII درگیر نمی‌کند از این رو هیچ اکسیژنی تولید نمی‌شود - استفاده از فاضلاب‌ها برای تولید هیدروژن - باکتری‌های شناخته شده قادر به استفاده از طیف گسترده‌ای از نور هستند.	- بازده کم سبب محدودیت در مقیاس بزرگ می‌شود. - با افزایش بازده، محدودیت‌های ترمودینامیکی رخ می‌دهد - محصول حاوی مخلوطی از گازهاست، که هزینه‌های جداسازی سبب افزایش هزینه کل فرآیند می‌شود	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2$	باکتری‌های بی‌هوازی	تخمیر در تاریکی
- استفاده از فاضلاب‌ها برای تولید هیدروژن - باکتری‌های شناخته شده قادر به استفاده از طیف گسترده‌ای از نور هستند.	- راندمان تبدیل نور بسیار کم است که باعث بازده کم فرآیند می‌شود. - نیاز به نور که هزینه فرآیند را افزایش می‌دهد. اگر نور خورشید به عنوان منبع مورد استفاده قرار گیرد، فرآیند توسط چرخه روز و شب محدود می‌شود.	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{H}_2\text{O} + \text{light} \rightarrow 12\text{H}_2 + 6\text{CO}_2$	باکتری‌های گوگردی و غیرگوگردی بنفش و گوگردی سبز	تخمیر نوری
- میکروارگانیسم تنها با استفاده از آب و نور طبیعی هیدروژن تولید می‌کند.	- فرآیند توسط نیاز به انرژی نور محدود شده است. تبدیل کل نور بسیار پایین است، که در نتیجه سبب بازده پایین فرآیند می‌شود. - زیست‌واکنش‌گاه‌های نوری خاصی مورد نیاز است که هزینه فرآیند را افزایش می‌دهد. - با توجه به دخالت PSII، تولید اکسیژن یک محدودیت است. - مخلوط اکسیژن و هیدروژن تولید می‌شود که این مخلوط خطرناک و منفجرشونده است و جداسازی آن‌ها هم پرهزینه است.	$2\text{H}_2\text{O} + \text{light} \rightarrow 2\text{H}_2 + \text{O}_2$	ریزجلبک سبز (کلرلا)	نورکافت زیستی مستقیم
- میکروارگانیسم تنها با استفاده از آب و نور طبیعی هیدروژن تولید می‌کند. - توانایی تثبیت N_2 اتمسفر	- فرآیند توسط نیاز به انرژی نور محدود شده است. تبدیل کل نور بسیار پایین است، که سبب بازده پایین فرآیند است. - حضور هیدروژناز بازده را کاهش می‌دهد. - مخلوط اکسیژن و هیدروژن تولید می‌شود که این مخلوط خطرناک و منفجرشونده است و جداسازی آن‌ها هم پرهزینه است. - با توجه به دخالت PSII، تولید اکسیژن یک محدودیت است.	$12\text{H}_2\text{O} + \text{light} \rightarrow 12\text{H}_2 + 6\text{O}_2$	سیانوباکتری‌ها (ریزجلبک‌های سبز آبی)	نورکافت زیستی غیرمستقیم

H_2 مطابق معادله ۶ انجام می‌شود. براساس ساختار جایگاه‌های فعال هیدروژنازها به سه دسته هیدروژناز آهنی، هیدروژناز نیکل-آهنی و هیدروژناز آهن-آهنی تقسیم می‌شوند [51]. کارآمدترین آنزیم تولید هیدروژن هیدروژنازهای آهن-آهنی است که فعالیت ۱۰۰-۱۰۰۰ برابر بیشتر از نیتروژناز و حدود ۱۰۰-۱۰۰۰ برابر بیشتر از

هیدروژناز و نیتروژناز دو آنزیم اصلی در فرآیند نورکافت زیستی هستند. هیدروژنازها آنزیم‌هایی هستند که تولید و مصرف هیدروژن را کاتالیز می‌کنند. هیدروژناز پروتون‌های موجود در محیط کشت را با الکترون‌های موجود در فردوکسین احیاشده ترکیب می‌کند تا هیدروژن آزاد شود. کاهش پروتون‌ها (H^+) به مولکول

هیدروژن‌های نیکل-آهنی دارد. هر سه این آنزیم‌ها به اکسیژن مولکولی حساس هستند^[52]. یکی از موانع اصلی در عدم صنعتی‌شدن تولید هیدروژن به روش نورکافت زیستی حساسیت شدید اغلب هیدروژن‌های آهن-آهنی به اکسیژن مولکولی است. مراحل رونویسی هیدروژناز، پردازش و فعالیت فتوکاتالیستی این آنزیم مستعد مهار توسط اکسیژن است. اکسیژن به یک اتم آهن در خوشه دوگانه آهن متصل شده و به‌طور رقابتی مانع اتصال پروتون مورد نیاز برای تشکیل هیدروژن می‌شود. هیدروژن‌های نیکل-آهنی نسبت به هیدروژن‌های آهن-آهنی حساسیت کمتری به مهارشدن با اکسیژن و مونواکسیدکربن دارند^[51]. یکی دیگر از معایب نورکافت زیستی این است که در این روش مخلوط اکسیژن و هیدروژن تولید می‌شود که این مخلوط خطرناک و منفجرشونده است و جداسازی آنها هم پرهزینه است^[2]. در تولید هیدروژن با روش نورکافت زیستی غیرمستقیم آنزیم نیتروژناز با کاتالیز و احیای نیتروژن به آمونیاک قادر به احیا پروتون‌ها به هیدروژن است (معادله ۷).



در میان گونه‌های ریزجلبک کلرلا به‌طور وسیعی برای تولید هیدروژن زیستی استفاده شده است. گونه‌های دیگر مانند *دونالیلا ترتیولکتا*، *کلامیدوموناس رینهاردتی* و *نانوکلوپسیس* نیز به این منظور استفاده شده‌اند. در جدول ۱۸ نمونه‌هایی از تولید هیدروژن زیستی به روش تخمیر در تاریکی که از ریزجلبک به‌عنوان سوپسترای کرینی استفاده شده است، گزارش شده است.

تجاری‌سازی سوخت زیستی جلبکی: توسعه استفاده از ریزجلبک با توسعه شرایط فنی کشت آنها در زیست‌واکنش‌گاه‌های نوری مرتبط است. امکان تولید تجاری در زیست‌واکنش‌گاه‌های نوری با ریزجلبک *هماتوکوکوس* (ژاپن و اسرائیل) و *کلرلا* (آلمان) وجود دارد^[21]. اگر ریزجلبک‌ها در مقیاس بزرگ و تحت شرایط مناسب و با استفاده از فناوری‌های مناسب تولید شوند، قیمت سوخت زیستی جلبکی می‌تواند کمتر از محصولات زراعی باشد^[59]. بازده فتوسنتزی، تراز انرژی و هزینه‌های تولید سه معیار اصلی در تجاری‌سازی سوخت زیستی جلبکی هستند. حداکثر بازده

فتوسنتزی (تبدیل انرژی خورشیدی به انرژی شیمیایی) ۱۰-۹٪ کل انرژی خورشیدی است. بازده زیست‌توده در استخرهای روباز آزمایشگاهی ۶۰-۳۰ تن بر هکتار در سال و در سامانه‌های تجاری ۳۰-۱ تن بر هکتار در سال است که مشابه محصولات کشاورزی گرمسیری (۲۵-۲۰ تن بر هکتار در سال برای محصولاتی مانند نیشکر و ذرت) است. اگر شرایط محیطی یکسان باشد بهره‌وری ریزجلبک در هر دو سامانه زیست‌واکنش‌گاه نوری و استخر روباز مشابه است. دما و کنترل شدت نور بهره‌وری زیست‌واکنش‌گاه نوری و باران سنگین و هوای سرد بهره‌وری استخرهای روباز را به‌طور زیادی متاثر می‌کنند. نسبت انرژی حاصل‌شده از سوخت زیستی نهایی به انرژی مصرف‌شده برای تولید آن تراز انرژی نامیده می‌شود. انرژی خروجی سوخت زیستی جلبکی باید بیش از انرژی ورودی باشد (فاکتور حدود ۱۰ برابر). مقادیر کمتر این فاکتور اثرات قابل توجهی روی هزینه‌ها، بازده سوخت زیستی در هر هکتار و اثرات زیست محیطی دارد. در تحقیقات کنونی بهترین فاکتور انرژی خروجی به انرژی ورودی ۲ به دست آمده است. گزارش شده است که زیست‌واکنش‌گاه نوری صفحه تخت تراز انرژی منفی دارند. زیست‌واکنش‌گاه نوری لوله‌ای نیز وضعیت بدتری در شاخص تراز انرژی نشان داده‌اند. هزینه تولید زیست‌توده جلبکی در استخرهای روباز ۱۵۰۰۰-۸۰۰۰ دلار بر تن و برای زیست‌واکنش‌گاه‌های نوری ۷۰۰۰-۳۰۰۰ دلار بر تن است که نسبت به هزینه زیست‌توده ضایعات کشاورزی و جنگلی (۵۰ دلار بر تن) خیلی گران‌تر است^[21]. تولید سوخت زیستی جلبکی به‌دلیل هزینه‌های زیاد هنوز قابل رقابت با سوخت‌های فسیلی نیست. تولید سوخت زیستی جلبکی با فناوری‌های فعلی ۲۶۰۰-۳۰۰ دلار در هر بشکه تخمین زده شده است^[15]. دوام تجاری سوخت‌های زیستی جلبکی نهایتاً وابسته به اقتصاد این فناوری است^[59].

در سال ۲۰۰۶ شرکت نفت پتروسان فعالیت برای تولید سوخت زیستی جلبکی برای بررسی تولید دیزل زیستی، اتانل زیستی، متانل زیستی، متان و هیدروژن زیستی از ریزجلبک در ایالات متحده و استرالیا را آغاز کرد. شرکت پتروسان نصف خوراک جلبکی (یا بیش از ۱۵۰ میلیون گالن در سال) شرکت بیوالترناتیو برای تولید سوخت زیستی را تهیه کرده است. در اکتبر ۲۰۰۷ شرکت چورون یک پروژه تحقیقاتی مشترک با آزمایشگاه NREL برای تولید سوخت حمل و نقل مانند سوخت جت از ریزجلبک را آغاز کرد^[60]. ده‌ها شرکت برای تجاری‌سازی سوخت‌های زیستی جلبکی فعالیت می‌کنند که در جدول ۱۹ برخی از شرکت‌های فعال گزارش شده است^[61, 62].

جدول ۱۸) بازده تولید هیدروژن زیستی به روش تخمیر در تاریکی با استفاده از ریزجلبک^[53-58]

ریزجلبک	منبع تلقیح	آماده‌کردن خوراک	بازده تولید هیدروژن (گرم ریزجلبک خشک/میلی لیتر هیدروژن)	منبع
کلرلا ولگاریس	لجن هاضم بی‌هوازی	نگهداری در دمای ۴°C	۳۱/۲	[53]
کلرلا ولگاریس	کمپوست غنی‌شده	روش برداشت لخته‌شدن و سپس سانتریفوژ، pH ۷، نگهداری در دمای ۲۰°C	۱۱۴	[54]
کلرلا ولگاریس	باکتری‌های طبیعی حاضر در دوغاب زیست‌توده ریزجلبک	روش برداشت لخته‌شدن و سپس سانتریفوژ، pH ۷، نگهداری در دمای ۲۰°C	۱۱	[55]
دونالیلا ترتیولکتا	باکتری‌های طبیعی حاضر در دوغاب زیست‌توده ریزجلبک	روش برداشت لخته‌شدن و سپس سانتریفوژ، pH ۷، نگهداری در دمای ۲۰°C	۱۳	[55]
کلرلا پیرنودوزا	باکتری جداشده از لجن هاضم بی‌هوازی	برداشت با سانتریفوژ و خشک‌شدن با خشک‌کن پاششی	۸/۸	[56]
کلامیدوموناس رینهاردتی	کستردیوم بوتریکام NCIB 9576	برداشت با سانتریفوژ (۶۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه)	۴۰	[57]
دونالیلا ترتیولکتا	کمپوست غنی‌شده	روش برداشت لخته‌شدن و سپس سانتریفوژ، pH ۷، نگهداری در دمای ۲۰°C	۵۸	[58]

وبسایت	مکان	شرکت
www.algenolbiofuels.com	ایالات متحده آمریکا	Algenol Biofuels
www.bionavitas.com	ایالات متحده آمریکا	Bionavitas, Inc.
www.petroalgae.com	ایالات متحده آمریکا	PetroAlgae Inc.
www.sapphireenergy.com	ایالات متحده آمریکا	Sapphire Energy, Inc.
www.algenol.com/	ایالات متحده آمریکا	Algenol Biofuels
http://algaesystems.com/	ایالات متحده آمریکا	Algae Systems
http://www.sapphireenergy.com/	ایالات متحده آمریکا	Sapphire Energy, Inc.
http://www.algaenergy.es/en/	اسپانیا	AlgaEnergy
http://www.biopetroleo.com/	اسپانیا	Bio Fuel systems (BFS)

Hydrogen Energy. 2018-Dec.

4- Naik SN, Goud VV, Rout PK, Dalai AK. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renew Sustain Energy Rev.* 2010;14(2):578-97.

5- Nigam PS, Singh A. Production of liquid biofuels from renewable resources. *Prog Energy Combust Sci.* 2011;37(1):52-68.

6- Larson ED. Biofuel production technologies: Status, prospects and implications for trade and development. United Nations Conference on Trade and Development. New York/Geneva: United Nations; 2008.

7- Mata TM, Martins AA, Caetano NS. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew Sustain Energy Rev.* 2010;14(1):217-32.

8- Fatih Demirbas M. Biofuels from algae for sustainable development. *Appl Energy.* 2011;88(10):3473-80.

9- Vassilev SV, Vassileva CG. Composition, properties and challenges of algae biomass for biofuel application: An overview. *Fuel.* 2016;181:1-33.

10- Najafi GH, Gholadian B, Yusaf TF. Algae as a sustainable energy source for biofuel production in Iran: A case study. *Renew Sustain Energy Rev.* 2011;15(8):3870-6.

11- Moazami N, Ashori AR, Ranjbar R, Tangestani M, Eghtesadi R, Sheykhi Nejad A. Large-scale biodiesel production using microalgae biomass of *Nannochloropsis*. *Biomass Bioenergy.* 2012;39:449-53.

12- Brennan L, Owende P. Biofuels from microalgae - a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew Sustain Energy Rev.* 2010;14(2):557-77.

13- Dragone G, Fernandes BD, Vicente AA, Teixeira JA. Third generation biofuels from microalgae. In: Méndez-Vilas A, editor. Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. Badajoz: Formatex Research Center; 2010. pp. 1355-66.

14- Moazami N, Ranjbar R, Ashori AR, Tangestani M, Sheykhi Nejad A. Biomass and lipid productivities of marine microalgae isolated from the Persian Gulf and the Qeshm island. *Biomass Bioenergy.* 2011;35(5):1935-9.

15- Hannon M, Gimpel J, Tran M, Rasala B, Mayfield S. Biofuels from algae: Challenges and potential. *Biofuels.* 2010;1(5):763-84.

16- Rocca S, Agostini A, Giuntoli J, Marelli L. Biofuels from algae: Technology options, energy balance and GHG emissions: Insights from a literature review [Internet]. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2015 [cited 2016 Mar 25]. Available from: <http://bit.ly/2Ty0ql5>

17- Pienkos PT, Darzins A. The promise and challenges of microalgal-derived biofuels. *Biofuels Bioprod Biorefin.* 2009;3(4):431-40.

نتیجه‌گیری

کاهش ذخایر سوخت‌های فسیلی و تجدیدنپذیر بودن آنها، کاهش امنیت انرژی، افزایش انتشار گازهای گلخانه‌ای و مشکلات زیست‌محیطی، تولید و استفاده از سوخت‌های جایگزین که تجدیدنپذیر باشند و آلودگی کمتری ایجاد کنند را تبدیل به یک ضرورت اجتناب‌ناپذیر کرده است. ریزجلبک به‌عنوان منبعی تجدیدنپذیر برای تولید سوخت زیستی مورد توجه محققین قرار گرفته است. در این مطالعه با مروری بر مراحل تولید سوخت زیستی از ریزجلبک به اهمیت و کاربرد آن برای تولید انرژی زیستی پرداخته شده است. انتخاب ریزجلبک مناسب، کشت، برداشت، خشک‌کردن، شکستن دیواره سلولی، استخراج (لیپید یا کربوهیدرات) و تولید سوخت زیستی مراحل تولید سوخت زیستی از ریزجلبک هستند. اتانل زیستی، دیزل زیستی و هیدروژن زیستی سه سوخت زیستی مهم هستند که برای تولید آنها ابتدا باید کربوهیدرات یا لیپید ریزجلبک استخراج شود. تولید سوخت زیستی جلبکی به‌دلیل هزینه‌های زیاد هنوز اقتصادی نیست و نیاز به یافتن فناوری‌ها و روش‌های جدید، مناسب و اقتصادی همچنان پابرجاست. پژوهشگران تلاش می‌کنند با یافتن سویه‌های جدید و بهبود سویه‌های فعلی و غنی‌ساختن ذخایر روغنی و کربوهیدراتی ریزجلبک‌ها، بهبود طراحی زیست‌واکنش‌گاه‌های نوری، مدیریت تولید و برداشت، بهبود روش‌های استخراج، تولید مواد جانبی به‌منظور افزایش ارزش افزوده و استفاده از زیست‌توده باقی‌مانده، سوخت زیستی جلبکی که از لحاظ اقتصادی مقرون‌به‌صرفه باشد تولید نمایند.

تشکر و قدردانی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

تأییدیه اخلاقی: این مقاله توسط همه نویسندگان تأیید شده است.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

سهم نویسندگان: فاطمه بسحاق (نویسنده اول)، پژوهشگر اصلی

(۴۰٪)؛ خسرو رستمی (نویسنده دوم)، روش‌شناس/نگارنده بحث

(۴۰٪)، نسرين معظمی (نویسنده سوم)، نگارنده مقدمه (۲۰٪)

منابع مالی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشد.

منابع

- 1- Reijnders L, Huijbregts M. Biofuels for road transport: A seed to wheel perspective. Heidelberg: Springer Science & Business Media; 2008.
- 2- Das D, Khanna N, Nag Dasgupta C. Biohydrogen production: Fundamentals and technology advances. Boca Raton: CRC Press; 2014.
- 3- Boshagh F, Rostami KH, Moazami N. Biohydrogen production by immobilized *Enterobacter aerogenes* on functionalized multi-walled carbon nanotube. *Int J*

- microalgae biomass as feedstock. *Bioresour Technol.* 2013;135:191-8.
- 37- Taherzadeh MJ, Karimi K. Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. *Bioresources.* 2007;2(4):707-38.
- 38- Harun R, Singh M, Forde GM, Danquah MK. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renew Sustain Energy Rev.* 2010;14(3):1037-47.
- 39- Harun R, Danquah MK. Influence of acid pre-treatment on microalgal biomass for bioethanol production. *Process Biochem.* 2011;46(1):304-9.
- 40- Harun R, Jason WSY, Cherrington T, Danquah MK. Exploring alkaline pre-treatment of microalgal biomass for bioethanol production. *Appl Energy.* 2011;88(10):3464-7.
- 41- Harun R, Danquah MK, Forde GM. Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production. *J Chem Technol Biotechnol.* 2010;85(2):199-203.
- 42- Choi SP, Nguyen MT, Sim SJ. Enzymatic pretreatment of *Chlamydomonas reinhardtii* biomass for ethanol production. *Bioresour Technol.* 2010;101(14):5330-6.
- 43- Atabani AE, Silitonga AS, Badruddin IA, Mahlia TMI, Masjuki HH, Mekhilef S. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. *Renew Sustain Energy Rev.* 2012;16(4):2070-93.
- 44- Demirbas A. Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy Convers Manag.* 2009;50(1):14-34.
- 45- Lin L, Cunshan Z, Vittayapadung S, Xiangqian Sh, Mingdong D. Opportunities and challenges for biodiesel fuel. *Appl Energy.* 2011;88(4):1020-31.
- 46- Milledge JJ, Smith B, Dyer PW, Harvey P. Macroalgae-derived biofuel: A review of methods of energy extraction from seaweed biomass. *Energies.* 2014;7(11):7194-222.
- 47- Li X, Xu H, Wu Q. Large-scale biodiesel production from microalga *Chlorella protothecoides* through heterotrophic cultivation in bioreactors. *Biotechnol Bioeng.* 2007;98(4):764-71.
- 48- Rodolfi L, Chini Zittelli G, Bassi N, Padovani G, Biondi N, Bonini G, et al. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol Bioeng.* 2009;102(1):100-12.
- 49- Azbar N, Levin DB, editors. State of the art and progress in production of biohydrogen. *Emirate of Sharjah: Bentham Science Publishers;* 2012.
- 50- Gupta RB, editor. Hydrogen fuel: Production, transport, and storage. Boca Raton: CRC Press; 2008.
- 51- Pandey A, Chang JS, Hallenbeck PC, Larroche C. Biohydrogen. Amsterdam: Elsevier's Science & Technology; 2013.
- 52- Mathews J, Wang G. Metabolic pathway engineering for enhanced biohydrogen production. *Int J Hydrog Energy.* 2009;34(17):7404-16.
- 53- Yun YM, Jung KW, Kim DH, Oh YK, Shin HS. Microalgal biomass as a feedstock for bio-hydrogen production. *Int J Hydrog Energy.* 2012;37(20):15533-9.
- 54- Carver SM, Hulatt CJ, Thomas DN, Tuovinen OH. Thermophilic, anaerobic co-digestion of microalgal biomass and cellulose for H₂ production. *Biodegradation.* 2011;22(4):805-14.
- 55- Lakaniemi AM, Hulatt CJ, Thomas DN, Tuovinen OH, Puhakka JA. Biogenic hydrogen and methane production from *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella*
- 18- Voloshin RA, Rodionova MV, Zharmukhamedov SK, Nejat Veziroglu T, Allakhverdiev SI. Review: Biofuel production from plant and algal biomass. *Int J Hydrog Energy.* 2016;41(39):17257-73.
- 19- Sirajunnisa AR, Surendhiran D. Algae - a quintessential and positive resource of bioethanol production: A comprehensive review. *Renew Sustain Energy Rev.* 2016;66:248-67.
- 20- Demirbas A, Demirbas MF. Algae energy: Algae as a new source of biodiesel. London: Springer Science & Business Media; 2010.
- 21- Van Beilen JB. Why microalgal biofuels won't save the internal combustion machine. *Biofuels Bioprod Biorefin.* 2010;4(1):41-52.
- 22- Klinthong W, Yang YH, Huang CH, Tan CS. A review: Microalgae and their applications in CO₂ capture and renewable energy. *Aerosol Air Qual Res.* 2015;15(2):712-42.
- 23- Hallenbeck PC, Grogger M, Mraz M, Veverka D. Solar biofuels production with microalgae. *Appl Energy.* 2016;179:136-45.
- 24- Medipally SR, Yusoff FM, Banerjee S, Shariff M. Microalgae as sustainable renewable energy feedstock for biofuel production. *Biomed Res Int.* 2015;2015:519513.
- 25- Zhang X, Rong J, Chen H, He C, Wang Q. Current status and outlook in the application of microalgae in biodiesel production and environmental protection. *Front Energy Res.* 2014;2:32.
- 26- Wang B, Li Y, Wu N, Lan CQ. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2008;79(5):707-18.
- 27- Molina Grima E, Belarbi EH, G Acién Fernández F, Robles Medina A, Chisti Y. Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics. *Biotechnol Adv.* 2003;20(7-8):491-515.
- 28- Borowitzka MA, Moheimani NR, editors. Algae for biofuels and energy. Dordrecht: Springer Science & Business Media; 2013.
- 29- Taher H, Al-Zuhair S, Al-Marzouqui AH, Haik Y, Farid MM. A review of enzymatic transesterification of microalgal oil-based biodiesel using supercritical technology. *Enzyme Res.* 2011;2011:468292.
- 30- Al Hattab M, Ghaly A, Hammouda A. Microalgae harvesting methods for industrial production of biodiesel: Critical review and comparative analysis. *J Fundam Renew Energy Appl.* 2015;5(2):1000154.
- 31- Desai NM. Algae: The future of bioenergy. In: Singh LK, Gaurav Chaudhary G, editors. *Advances in biofeedstocks and biofuels: Biofeedstocks and their processing.* 1st Volume. Hoboken: Wiley; 2017.
- 32- Mercer P, Armenta RE. Developments in oil extraction from microalgae. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2011;113(5):539-47.
- 33- Gong Y, Jiang M. Biodiesel production with microalgae as feedstock: From strains to biodiesel. *Biotechnol Lett.* 2011;33(7):1269-84.
- 34- Markou G, Angelidaki I, Nerantzis E, Georgakakis D. Bioethanol production by carbohydrate-enriched biomass of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Energies.* 2013;6:3937-50.
- 35- Balat M, Balat H. Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. *Appl Energy.* 2009;86(11):2273-82.
- 36- Ho SH, Huang SW, Chen CY, Hasunuma T, Kondo A, Chang JS. Bioethanol production using carbohydrate-rich

- 59- Najafi GH, Ghobadian B, Yusaf TF. Biofuel from microalgae: Alternative, sustainable and renewable fuel. 10th International Conference on Sustainable Energy Technologies (SET 2011), 4-7 Sep, 2011, Istanbul, Turkey. Toowoomba: University of Southern Queensland; 2011.
- 60- Singh A, Nigam PS, Murphy JD. Renewable fuels from algae: An answer to debatable land based fuels. *Bioresour Technol.* 2011;102(1):10-6.
- 61- Chisti Y, Yan J. Energy from algae: Current status and future trends: Algal biofuels - a status report. *Appl Energy.* 2011;88(10):3277-9.
- 62- Sapphire Energy. The sapphire story [Internet]. San Diego CA: Sapphire Energy; 2016 [cited 2017 Jun 25]. Available from: <http://www.sapphireenergy.com/tertiolectabiomass>. *Biotechnol Biofuels.* 2011;4:34.
- 56- Cheng J, Xia A, Liu Y, Lin R, Zhou J, Cen K. Combination of dark- and photo-fermentation to improve hydrogen production from *Arthrospira platensis* wet biomass with ammonium removal by zeolite. *Int J Hydrog Energy.* 2012;37(18):13330-7.
- 57- Kim MS, Baek JS, Yun YS, Sim SJ, Park S, Kim SC. Hydrogen production from *Chlamydomonas reinhardtii* biomass using a two-step conversion process: Anaerobic conversion and photosynthetic fermentation. *Int J Hydrog Energy.* 2006;31(6):812-6.
- 58- Shi X, Jung KW, Kim DH, Ahn YT, Shin HS. Direct fermentation of *Laminaria japonica* for biohydrogen production by anaerobic mixed cultures. *Int J Hydrog Energy.* 2011;36(10):5857-64.