

## مروری بر تولید سوخت زیستی از ریزجلبک‌ها

فرناز محسنی

گروه صنایع کاربردی، دانشگاه ملی مهارت، تهران، ایران

fmohseni@nus.ac.ir

### چکیده

افزایش جمعیت و در نتیجه تقاضای بیش از حد برای سوخت های فسیلی اثرات زیست محیطی مخربی از جمله اثرات مربوط به گازهای گلخانه ای ایجاد کرده است. شناسایی مشکلات اصلی ناشی از تولید و مصرف سوخت فسیلی امکان جستجو برای سوخت جایگزین تجدیدپذیر، پایدار و به صرفه را برای کاهش مشکل فعلی فراهم می کند. با پیشرفت فن آوری های مدرن، استفاده از سوخت های زیستی با توجه به پتانسیل بالای آنها گسترش یافته است. به ویژه تولید بیودیزل از ریزجلبک ها، به عنوان راهی برای به دست آوردن انرژی پاک و تجدیدپذیر، می تواند نقش مهمی در این زمینه ایفا کند. تولید بیودیزل از ریزجلبک ها به عنوان یک روش جدید چالش هایی پیش رو دارد و مسائلی مانند هزینه های تولید بالا، کاهش نرخ بهره وری و اثرات بالقوه زیست محیطی در این زمینه باید مورد توجه قرار گیرد. از طرفی چشم اندازهایی قوی برای این رویکرد نیز وجود دارد، چرا که این نوع سوخت زیستی بسیار کارآمد و سازگار با محیط زیست می باشد. از این رو، مقاله ی حاضر، به جنبه های اصلی مرتبط با تولید بیودیزل از ریزجلبک ها پرداخته و چالش های مرتبط با هر مرحله از تولید بیودیزل از ریزجلبک ها را مورد بحث قرار می دهد.

تاریخ دریافت:

۱۴۰۴/۰۶/۰۴

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۴/۱۱/۲۱

کلمات کلیدی:

سوخت زیستی

بیودیزل

ریزجلبک

انرژی های تجدیدپذیر

گرمایش جهانی

## ۱. مقدمه

امروزه گرمایش زمین، ناشی از انتشار بی‌رویه‌ی گازهای گلخانه‌ای می‌باشد، یک چالش زیست محیطی مهم در قرن بیست و یکم است [۱]. از طرفی افزایش جمعیت جهان، صنعتی شدن سریع و شهرنشینی منجر به افزایش چشمگیر تقاضای انرژی شده است. کاهش ذخایر سوخت‌های فسیلی و نیز بحران گرمایش جهانی باعث شده که تامین یک منبع سوختی در دسترس، مقرون به صرفه و تجدیدپذیر بسیار مورد توجه قرار گیرد [۲]. در حال حاضر، اشکال مختلف انرژی‌های پاک، مانند انرژی خورشیدی، انرژی جزر و مد اقیانوس، تامین برق توسط آب، انرژی ژئوترمال، انرژی باد و سوخت‌های زیستی، توسط کشورهای متعددی برای برآوردن نیازهای روزافزون انرژی در حال تحقیق و اجرا هستند [۳، ۴]. در میان آنها، سوخت‌های زیستی به عنوان تنها منبعی که قادر به جایگزینی سوخت‌های فسیلی است مورد توجه می‌باشد، در حالی که سایر انرژی‌های پاک به دلیل عملکرد اقتصادی وابستگی به محیط زیست و موقعیت جغرافیایی محدود می‌شوند و به طوری که فقط برای تولید برق و اهداف گرمایشی مناسب می‌باشند [۵]. استفاده از سوخت‌های زیستی در سال‌های اخیر به دلیل نگرانی‌های فزاینده در مورد تغییرات آب و هوایی، و یافتن منبع انرژی پایدار و تجدید پذیر مورد توجه قرار گرفته است [۶]. سوخت‌های زیستی مزایای متعددی نسبت به سوخت‌های فسیلی معمولی دارند، از جمله انتشار گازهای گلخانه‌ای کمتر، کاهش وابستگی به نفت خارجی و بهبود اقتصاد روستایی [۷]. سوخت‌های زیستی نیز پایدارتر هستند، زیرا از منابع تجدیدپذیر مشتق شده‌اند و می‌توانند به صورت محلی تولید شوند و نیاز به حمل و نقل سوخت از راه دور را برطرف سازند [۸]. علاوه بر این سوخت‌های زیستی منابع انرژی تجدیدپذیری هستند که از مواد آلی مانند گیاهان، جلبک‌ها و مواد زائد به دست می‌آیند، که آنها را به جایگزینی مناسب برای سوخت‌های فسیلی معمولی تبدیل می‌کنند [۹]. آنها به دلیل انتشار کربن دی اکسید کمتر و روش‌های تولید پایدار، جایگزین امیدوارکننده‌ای برای سوخت‌های فسیلی در نظر گرفته می‌شوند. چهار دسته از سوخت‌های زیستی بر اساس نوع مواد خام مورد استفاده در تولید آنها وجود دارد که به عنوان سوخت‌های زیستی نسل اول، نسل دوم، نسل سوم و نسل چهارم طبقه بندی می‌شوند [۷، ۱۰].

سوخت‌های زیستی نسل اول از محصولات غذایی مانند ذرت، نیشکر و سویا به دست می‌آیند [۷]. آنها از طریق فناوری‌های مرسوم، مانند تخمیر یا ترانس استریفیکاسیون، از تبدیل مواد گیاهی به اتانول، بیودیزل یا روغن نباتی تولید می‌شوند. در حالی که سوخت‌های زیستی نسل اول می‌توانند به کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای کمک کنند، اما باعث ایجاد تغییرات کاربری زمین، جنگل زدایی و رقابت با محصولات غذایی شوند. سوخت‌های زیستی نسل دوم از زیست توده غیر غذایی مانند بقایای کشاورزی و جنگلی و زباله‌های شهری تولید می‌شوند [۹]. آنها با استفاده از فن آوری‌های پیشرفته مانند گازی‌سازی، تجزیه در اثر حرارت، و مایع سازی هیدروترمال، زیست توده را به سوخت‌های مایع، مانند بیواتانول، بیودیزل یا بیوگاز تبدیل می‌کنند [۷]. سوخت‌های زیستی نسل دوم با محصولات غذایی رقابت نمی‌کنند و می‌توانند از مواد زائد به عنوان خوراک استفاده کنند از این رو نسبت به نسل اول بیش‌تر مورد توجه قرار دارند. سوخت‌های زیستی نسل دوم با چالش‌هایی مانند پیچیده بودن فرایند به دلیل مواد اولیه لیگنوسلولزی مواجه هستند که منجر به هزینه‌های تولید بالاتر و موانع فنی می‌شود [۱۱]. توسعه زیرساخت‌ها و زنجیره‌های تامین برای زیست توده دشوار بوده و تولید در مقیاس تجاری نیازمند سرمایه‌گذاری قابل توجه است [۱۲]. سوخت‌های زیستی نسل سوم از جلبک‌ها یا سایر میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند [۶، ۱۳]. آنها در حوضچه‌های کشت یا فوتوبیوراکتورها رشد می‌کنند و می‌توانند مقادیر زیادی نفت یا زیست توده در واحد سطح تولید کنند. سوخت‌های زیستی نسل سوم به دلیل بهره‌وری بالا، استفاده کم از زمین و توانایی رشد در زمین‌های غیر زراعی بسیار امیدوارکننده هستند [۱۴]. با این حال، آنها هنوز در مراحل اولیه توسعه هستند و قابلیت تجاری آنها هنوز مشخص نشده است. سوخت‌های زیستی نسل چهارم با استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک تولید می‌شوند. سوخت‌های زیستی با استفاده از جلبک‌های اصلاح شده ژنتیکی (GM)، و همچنین انرژی خورشیدی فوتوبیولوژیکی و سوخت‌های الکتریکی تحت پردازش قرار می‌گیرند. آنها پتانسیل کارآمدتر و مقرون به صرفه‌تر از سایر سوخت‌های زیستی را دارند، زیرا می‌توانند برای تولید انواع خاصی از سوخت با چگالی انرژی بالاتر طراحی شوند. با این حال، نگرانی‌هایی در مورد خطرات بالقوه مرتبط با ارگانیسم‌های اصلاح شده ژنتیکی و اثرات زیست محیطی تولید در مقیاس بزرگ وجود دارد [۱۵، ۱۶].

ریزجلبک‌ها که مواد اولیه مهم سوخت‌های زیستی نسل سوم و چهارم هستند، می‌توانند در آب دریا، فاضلاب، ضایعات مواد غذایی و حتی خاک‌های شور-قلیایی رشد کنند و می‌توانند زیست توده بالاتری نسبت به گیاهان زمینی با استفاده از مواد مغذی محدود به دست آورند [۱۷-۱۹]. ریزجلبک‌ها سرعت رشد سریع، بازده فتوسنتزی بالاتر و نرخ بهره برداری بهتر از زمین را نشان می‌دهند که می‌تواند طیف وسیعی از محصولات سوخت زیستی را تولید کند [۳]. با توجه شرایط ذکر شده، کشت این سلول‌ها نیاز به آب زیادی نداشته و با محصولات کشاورزی نیز رقابت نمی‌کند.

به طور کلی مراحل تولید بیودیزل از ریزجلبک‌ها به ترتیب عبارتند از: انتخاب و کشت گونه، تجمع چربی در سلول‌ها، جداسازی زیست توده، تخریب سلولی، استخراج چربی و ترنس استریفیکاسیون می‌باشد [۲۰]. در ابتدا بایستی گونه‌ی مناسب برای تولید بیودیزل انتخاب شود. گونه‌های انتخابی بایستی غنی از چربی بوده و سرعت رشد بالایی نیز داشته باشند. گونه‌هایی مانند *Chlorococcum*، *Chlorella sp.* و *Scenedesmus sp.* از جمله گونه‌های غنی از چربی می‌باشند که نرخ رشد بالایی نیز دارند. البته کشت ریزجلبک‌ها به پارامترهای مختلفی مانند دما، pH، میزان هوادهی، میزان نور و شوری محیط بستگی دارد [۲۱]. روش کشت مناسب و نحوه‌ی کشت دو پارامتر بسیار مهم هستند که بر میزان رشد و بازدهی کلی زیست توده موثر می‌باشند. تولید زیست توده‌ی بالا با محتوای چربی بالا در سلول برای تولید بیودیزل ضروری می‌باشد [۲۲]. پس از کشت، سلول‌ها بایستی از محیط کشت جدا شوند، که این مرحله یکی از مراحل مهم و پرهزینه در تولید بیودیزل به شمار می‌رود [۲۳]. علاوه بر این میزان و کیفیت بیودیزل تولیدی تحت تاثیر روش‌های استخراج لیپید و فرآیند ترنس استریفیکاسیون نیز قرار می‌گیرد [۲۴]. بنابراین هر چند تولید بیودیزل از ریزجلبک‌ها به عنوان یک جایگزین مناسب برای سوخت‌های فسیلی که سازگار با محیط زیست و سازگار با آب و هوا می‌باشد، بسیار امید بخش است با این حال، تحقق پتانسیل کامل آن به عنوان یک منبع انرژی بادوام از نظر اقتصادی و زیست محیطی مستلزم غلبه چالش‌های این روش است [۲۵]. از این رو در مقاله‌ی حاضر به مراحل مختلف تولید بیودیزل از ریزجلبک‌ها پرداخته و به بررسی مزایا و چالش‌های پیش‌روی هر کدام می‌پردازیم.

## ۲. ریزجلبک‌ها به عنوان بیودیزل

ریزجلبک‌ها موجودات میکرو سکویی تک سلولی هستند که به طور طبیعی در آب شیرین و محیط‌های دریایی یافت می‌شوند. موقعیت آنها در پایین زنجیره‌های غذایی است. ریزجلبک‌ها یکی از قدیمی‌ترین موجودات زنده در سیاره ما هستند. بیش از سیصد هزار گونه ریزجلبک وجود دارد که تنوع آنها بسیار بیشتر از گیاهان است [۲۶]. ریزجلبک‌ها به طور چشمگیری یک منبع محبوب برای غذا، خوراک دام و سوخت زیستی در دنیا به شمار می‌روند. استفاده از ریزجلبک‌ها به عنوان این منابع مزایای زیادی دارد از طرفی چالش‌هایی نیز در رابطه با این سلول‌ها نیز مطرح است. از جمله مزایای ریزجلبک‌ها می‌توان به راندمان بالای آنها (۱۰ برابر بیش‌تر از گیاهان)، قابلیت رشد در محیط‌های مختلف، کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای و کیفیت لیپید بسیار بالا اشاره کرد. از جمله معایب این سلول‌ها نیز می‌توان بالا بودن هزینه‌ی سرمایه‌گذاری و برداشت سلولی، مشکلات مربوط به آلودگی سلول‌ها، نیازمند توسعه‌ی زیرساخت برای این روش و محدود بودن بازار آن اشاره کرد [۲۷، ۲۸].

## ۳. انتخاب گونه

موفقیت در کشت میکرو جلیبک در مقیاس بزرگ به شدت به انتخاب گونه‌های مناسب بستگی دارد. لازم به ذکر است که بهره‌وری لیپیدی ریزجلبک‌ها که یک معیار حیاتی برای انتخاب سویه است، در مطالعات قبلی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. چرا که نوع لیپیدهای سنتز شده توسط ریزجلبک‌ها می‌تواند بر خواص بیودیزل تأثیر بگذارد [۲۹]. تری اسیل گلیسرول (TAG) که جزء لیپیدی ترجیحی برای استفاده به عنوان خوراک در فرآیند تولید بیودیزل است، معمولاً به صورت محتوای کل چربی به عنوان درصد وزن خشک بیان می‌شود [۳۰]. علاوه بر این گونه‌ای که انتخاب می‌شود بایستی سرعت رشد بالایی داشته باشد. بنابراین بهره‌وری لیپیدی که نشان دهنده‌ی وضعیت رشد ریزجلبک‌ها و میزان تجمع لیپید در واحد زمان است، یک فاکتور بسیار مهم در انتخاب گونه می‌باشد [۳۱].

#### ۴. کشت زیست توده

پس از انتخاب گونه‌ی مناسب نوبت به کشت سلول می‌رسد. به طور کلی دو شیوه‌ی کشت برای ریزجلبک‌ها وجود دارد: کشت اوتوتروفیک و کشت هتروتروفیک.

#### ۴-۱- کشت اوتوتروفیک

در این روش کشت ریزجلبک‌ها از نور به عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند و از طریق فوتوسنتز آن را به انرژی شیمیایی تبدیل می‌کنند. کشت در حوضچه‌های روباز و استفاده از فوتوبیوراکتورها دو روش اصلی در کشت اوتوتروفیک به شمار می‌روند.

#### ۴-۱-۱- کشت در حوضچه‌های روباز

کشت در حوضچه باز به فرآیند پرورش موجودات آبی در یک حوضچه در فضای باز ساخته شده از بتن یا اندود شده با مواد مصنوعی اطلاق می‌شود [۳۲]. مراحل ابتدایی کشت، شامل پر کردن حوضچه با آب و افزودن کشت جلبک است. پس از کشت، به جلبک‌ها نور کافی خورشید و مواد مغذی اضافی مانند نیتروژن یا فسفر برای تقویت رشد آنها داده می‌شود [۳۳].

#### ۴-۱-۲- کشت در فوتوبیوراکتورها

در ابتدا، سیستم‌های کشت باز از نظر تجاری نسبت به فوتوبیوراکتورها قابل قبول‌تر بودند، زیرا ساخت آن نسبتاً مقرون به صرفه بود، می‌توانست مقادیر زیادی از ریزجلبک را در خود جای دهد و نیز کار با آنها آسان بود [۵]. با این حال، چنین سیستم‌هایی قادر به کنترل شرایط محیطی پایدار (مانند دما و نور) نبوده، مستعد آلودگی هستند و باعث اتلافات ناشی از تبخیر آب و خروج کربن دی‌اکسید می‌شوند [۳۴]. با توجه به مشکلات سیستم‌های باز، استفاده از فوتوبیوراکتورها بیش‌تر مورد توجه قرار گرفت.

در این روش جلبک‌ها معمولاً در یک ظرف بسته رشد می‌کنند که در آن دما، شدت نور و مواد مغذی می‌توانند برای راندمان حداکثری از نزدیک کنترل شوند [۳۵]. ظروف مورد استفاده برای پرورش جلبک اغلب از مواد شیشه‌ای یا پلاستیکی تشکیل شده و ممکن است استوانه‌ای یا لوله‌ای شکل باشند. منابع روشنایی نیز می‌تواند شامل نور طبیعی خورشید یا منابع نور مصنوعی است [۳۶]. جلبک‌ها معمولاً با استفاده از محیط‌های غنی از مواد مغذی رشد می‌کنند. سیستم‌های حوضچه‌های بسته با این که کمتر در معرض آلودگی از منابع خارجی مانند گرد و غبار، حشرات و سایر آلاینده‌ها هستند، اما متأسفانه، این روش نیز دارای مجموعه‌ای از معایب خاص خود است، مانند هزینه‌های سرمایه‌گذاری و عملیاتی بالاتر نسبت به حوضچه‌های روباز، پیچیده بودن فرآیند تمیز کردن و تشکیل بیوفیلم در سطوح داخلی فوتوبیوراکتور [۳۷].

#### ۴-۲- کشت هتروتروفیک

کشت هتروتروف شامل رشد جلبک‌ها با منابع کربنی غیر از فوتوسنتز، مانند قندها و اسیدها است [۴۰]. این روش می‌تواند به ویژه در محیط‌هایی که جلبک‌ها نور کافی یا دی‌اکسید کربن دریافت نمی‌کنند، مانند فضاهای داخلی و مناطق بیرونی سایه دار موثر باشد. کشت هتروتروف در مقایسه با کشت اتوتروف می‌تواند منجر به عملکرد بالاتر و نرخ رشد سریع‌تر شود. با این حال، این رویکرد می‌تواند گران‌تر باشد زیرا نیاز به دسترسی مداوم به منابع کربن آلی دارد [۴۱].

## ۵- تولید لیپید

بر اساس قطبیت، لیپیدهای ریز جلبکی به عنوان (الف) لیپیدهای قطبی مانند گلیکولیپیدها و فسفولیپیدها و (ب) لیپیدهای خنثی مانند تری استیل گلیسرول (TAGS) طبقه بندی می شوند. لیپیدهای خنثی که به صورت TAG وجود دارند، بخش عمده روغن جلبک را تشکیل می دهند که تقریباً ۲۰ تا ۵۰ درصد وزن خشک سلول را تشکیل می دهد [۳۸].

ریزجلبک ها برای رشد خود به مواد مغذی مختلفی از جمله کربن، نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منیزیم، کلسیم و فلزات کمیاب مانند آهن، منگنز، بور، کبالت، مس و مولیبدن نیاز دارند. تولید و تجمع لیپید در سلول های ریزجلبک تا حد زیادی تحت تأثیر استرس ناشی از کمبود مواد مغذی مانند استرس ناشی از کمبود نیتروژن [۳۹]، کمبود فسفر [۴۰] و کمبود کربن [۳۹] و همچنین استرس های محیطی مانند استرس ناشی از نور [۴۱]، دما [۴۲]، pH [۴۳] و نرخ هوادهی [۴۴] است.

## ۶- جداسازی زیست توده از محیط کشت

این مرحله شامل جداسازی زیست توده از محیط کشت رقیق خود بوده که حاوی مقادیر بسیار زیادی آب می باشد و می تواند ۲۰ تا ۳۰ درصد هزینه ی تولید زیست توده را به خود اختصاص دهد [۴۵]. فن آوری های مختلفی برای برداشت ریزجلبک ها وجود دارد، از جمله روش های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی. که هر روشی مزایا و معایب خود را دارد [۴۶].

### ۶-۱- روش های فیزیکی

این روش ها شامل سانتریفیوژ، فیلتراسیون، ته نشینی و شناورسازی می باشد. سانتریفیوژ یک روش کارآمد برای برداشت سلول ها است، که از نیروی گریز از مرکز برای جداسازی ریزجلبک ها از محیط کشت آنها استفاده می کند [۴۷]. راندمان این روش بسیار بالا می باشد و قادر است میزان جداسازی بالای در مدت زمان کوتاهی را فراهم نماید. اما متأسفانه، سانتریفیوژ برای انجام عملیات در مقیاس بزرگتر در مقایسه با تکنیک های جایگزین مانند لخته سازی یا فیلتراسیون، انرژی بر و پرهزینه است [۴۸]. فیلتراسیون یک فناوری موثر و پرکاربرد برای برداشت ریزجلبک ها در سیستم های تولید در مقیاس بزرگ است. یک ماده متخلخل، مانند فیلتر یا غشاء، در تکنیک فیلتراسیون برای جداسازی سلول های جامد ریز جلبک از محیط کشت مایعشان استفاده می شود. اندازه غشاء فیلتر یا منافذ به اندازه ذرات زیست توده بستگی دارد [۴۹]. این روش زمان بر بوده و به دلیل گرفتگی و رسوب گیری نیاز به تمیز کردن دوره ای یا تعویض فیلترها دارد. وجود ذرات ریز یا باقی مانده در محیط کشت نیز بر اثربخشی فرآیند فیلتراسیون تأثیر می گذارد. با نظارت و بهینه سازی فرآیند فیلتراسیون می توان به نتیجه مطلوب دست یافت. این محدودیت ها را می توان با ترکیب آنها با تکنیک های دیگر مانند ته نشینی، لخته سازی، و سانتریفیوژ برای افزایش کارایی برداشت ریز جلبک ها برطرف کرد [۵۰].

در فرآیند سلول ها در یک مخزن بزرگ قرار می گیرند. با گذشت زمان سلول ریزجلبک به دلیل چگالی بیشتر در کف مخزن می نشیند. راندمان این فرآیند به عواملی مانند اندازه سلول ها، غلظت و ویسکوزیته محیط کشت و مدت زمان ته نشینی بستگی دارد. این روش برای سلول هایی با اندازه ی کوچک مناسب نمی باشد. ریزجلبک های کوچک یا سبک وزن غالب در محیط مایع خود به دلیل داشتن بارسطحی منفی معلق می مانند و جدا شدن آن ها دشوار می باشد. عملکرد این فرآیند را می توان با استفاده از تکنیک های مختلف مانند انعقاد و لخته سازی که منجر به تولید زیست توده ی جلبک می شود افزایش داد [۵۱، ۵۲].

ریزجلبک ها را می توان با استفاده از فرآیند شناورسازی از محیط کشت آنها استخراج کرد. در این روش، حباب های گازی مانند هوا یا نیتروژن به محیط کشت ریزجلبک ها تزریق می شود و باعث می شود سلول ها به سطح بیایند. در این روش هر سلول ریزجلبک توسط حباب های گازی که به آن متصل می شود به طرف بالا و به سمت سطح محیط خود حرکت می کند. هنگامی که سلول های ریزجلبک به سطح رسید، می توان آنها را جمع آوری کرد [۵۳]. تکنیک های جداسازی شناورسازی نسبت به سایر تکنیک ها ترجیح داده می شوند، زیرا سریع، ساده و مقرون

به صرفه هستند [۱۷۲، ۱۷۱]. علاوه بر این، شناورسازی در مقایسه با روش‌های سانتریفیوژ و فیلتراسیون به انرژی کمتری نیاز دارد و آن را به گزینه‌ای جذاب برای کشت ریزجلبک‌ها در مقیاس بزرگ تبدیل می‌کند [۵۰]. با این حال، موفقیت آن ممکن است به عوامل متعددی از جمله اندازه سلول، چگالی، غلظت در محیط رشد و نوع گاز مورد استفاده در طی شناورسازی بستگی داشته باشد.

## ۶-۲- روش‌های شیمیایی

سلول‌های ریزجلبک عموماً دارای اندازه‌ای بسیار کوچک با بار سطحی منفی بوده که به سختی ته نشین می‌شوند. روش‌های شیمیایی شامل جداسازی ریزجلبک‌ها با استفاده از مواد شیمیایی برای خنثی کردن بار سطحی سلول‌ها و لخته کردن یا انعقاد سلول‌ها به توده‌ها یا لخته‌هایی است که به راحتی می‌توانند از آب جدا شوند. مواد لخته‌کننده شامل نمک‌های فلزی (مانند نمک‌های آلومینیوم یا آهن) و برخی پلیمرها هستند [۵۴، ۵۵]. این روش می‌تواند در ترکیب با روش‌های ته نشینی یا شناورسازی مورد استفاده قرار گیرد. روش‌های شیمیایی ممکن است سریع و مقرون‌به‌صرفه باشند، اما برای اطمینان از اینکه تأثیر منفی بر ریزجلبک‌ها یا محیط‌زیست نمی‌گذارند، نیاز به نظارت شدید دارند [۵۶]. علاوه بر این، مواد شیمیایی باقیمانده باید از زیست توده برداشت شده حذف شوند تا بتوان از آن برای خوراک در فرآیند تولید بیودیزل استفاده کرد [۵۷].

## ۶-۳- روش‌های بیولوژیک

روش‌های بیولوژیکی برداشت ریزجلبک‌ها شامل استفاده از ترکیبات طبیعی یا موجوداتی است که به طور انتخابی ریزجلبک‌ها را به هم متصل می‌کنند و جداسازی آنها از محیط کشت را آسان‌تر می‌کنند. لخته‌سازی بیولوژیکی توسط باکتری‌ها یا بیوپلیمرها دو روش متداول در جداسازی بیولوژیکی می‌باشند [۵۸]. روش‌های بیولوژیکی نسبت به روش‌های مکانیکی یا شیمیایی مزایایی مثل کاهش اثرات زیست محیطی دارند. اما ممکن است باعث آلوده شدن زیست توده شده و نیز استفاده از آن‌ها به عوامل متعددی مانند نوع گونه و خواص سطحی سلول‌ها و نوع محیط کشت بسیار وابسته است [۵۹].

به طور کلی، نتایج مطالعات نشان می‌دهد که جداسازی سلولی رگامی حیاتی در تولید محصولات حاصل از ریزجلبک‌ها از جمله سوخت‌های زیستی است. روش‌های فیزیکی مانند سانتریفیوژ و فیلتراسیون معمولاً مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما می‌توانند انرژی‌بر و پرهزینه باشند. روش‌های بیولوژیکی جایگزین‌های سازگار با محیط زیست را ارائه می‌دهند، در حالی که روش‌های شیمیایی با کارایی بالا و ارزان هستند. انتخاب روش برداشت سلول به عواملی مانند گونه‌های ریزجلبک، شرایط کشت و کاربردهای مورد نظر بستگی دارد.

## ۶-۴- تخریب سلول

TAG ها مولکول‌های درون سلولی هستند. از این رو بازیابی و استخراج آنها قبل از تبدیل شدن به بیودیزل بایستی صورت گیرد [۶۰]. تخریب سلولی شامل شکستن دیواره‌ی سلول‌های ریزجلبک برای دسترسی به اجزای درون سلولی آنها از جمله لیپیدها است [۶۱]. متداول‌ترین روش‌های تخریب سلولی روش‌های مکانیکی مانند اولتراسونیک و امواج میکروویو، روش‌های شیمیایی، روش‌هایی بیولوژیکی و استفاده از حرارت می‌باشد.

## ۷-۱- روش اولتراسونیک

در این روش دیواره‌ی سلولی توسط امواج اولتراسونیک تخریب می‌شود. در این روش امکان اختلاط مخلوط فراهم شده و نیاز به حرارت بالا برای تخریب دیواره‌ی سلولی نمی‌باشد [۶۲]. دو پارامتر مهم در این روش که روی تخریب دیواره‌ی سلولی تأثیر گذار هستند عبارتند از فرکانس و زمان. ریزجلبک‌ها دارای دیواره‌ی سلولی مقاوم بوده که نیاز به فرکانس بالا و مدت زمان زیاد فرایند دارند [۶۳]. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که این روش می‌تواند بازدهی به میزان ۹۵ درصد داشته باشد [۶۴].

## ۲-۷- استفاده از ریزموج

این روش یک روش گرمایشی سریع می‌باشد که نیاز به میزان حلال بسیار پایینی دارد. و گرما به طور مساوی در سراسر نمونه توزیع می‌شود. با این حال استفاده از این روش از گونه‌ای به گونه‌ای دیگر متفاوت بوده و بستگی به میزان مقاومت دیواره‌ی سلولی دارد [۶۵]. استفاده از این روش نسبت به روش اولتراسونیک روش مقرون به صرفه‌تری بوده و در مقیاس بزرگ نیز ساده‌تر می‌باشد. حداکثر میزان بازدهی در این روش بیش از نود درصد گزارش شده است [۶۶].

## ۳-۷- روش‌های شیمیایی

روش‌هایی شیمیایی به روش‌هایی گفته می‌شوند که با استفاده از مواد شیمیایی نظیر اسیدها، بازها و حلال‌های آلی دیواره‌ی سلولی تخریب می‌شود تا ترکیبات درون سلولی آزاد شوند. اما از طرفی باعث تغییر ماهیت پروتئین‌ها نیز شده و بازدهی فرآیند را کاهش می‌دهند [۶۷].

## ۴-۷- روش‌های بیولوژیک

در روش‌های بیولوژیک از آنزیم‌ها به عنوان کاتالیزورهای زیستی برای تخریب دیواره‌ی سلولی استفاده می‌شود. این روش ایمن بوده و با محیط زیست نیز سازگار هستند با این حال میزان اثربخشی این روش به نوع گونه‌ی سلولی مورد استفاده و نیز نوع آنزیم بستگی دارد [۶۸].

## ۵-۷- روش اتوکلاو

اتوکلاو نوعی عملیات حرارتی است که در آن از دما و فشار بالا برای تخریب سلولی استفاده می‌شود. این روش نسبت به سایر روش‌ها راحت‌تر بوده اما بازدهی پایینی (حدود ۴۰ درصد) دارد [۶۱].

به طور کلی یافته‌ها نشان می‌دهد که تخریب سلولی و استخراج چربی گام مهمی در تولید بیودیزل به شمار می‌رود. هر کدام از روش‌های بالا مزایا و معایب خاص خود را دارند، که انتخاب روش به نوع گونه‌ی مورد استفاده بستگی دارد. از طرفی بهینه‌سازی این روش‌ها برای تولید اقتصادی بیودیزل از ریزجک‌ها امری ضروری می‌باشد.

## ۹- استخراج لیپید

ریزجلیک‌ها منبعی غنی از لیپیدها برای تولید سوخت زیستی و سایر کاربردهای با ارزش مانند لوازم آرایشی هستند. استخراج لیپید شامل مراحل متعددی از جمله استخراج با حلال و خالص‌سازی است. لیپیدها با استفاده از استخراج با حلال از بقایای سلولی جدا می‌شوند. حلال‌های آلی مانند هگزان، کلروفرم و متانول اغلب برای این منظور استفاده می‌شوند [۶۹]. زیست توده ریز جلیکی با یک حلال ترکیب می‌شود تا لیپیدهای آن حل شود و سپس مخلوط حاصل فیلتر می‌شود تا بقایای سلولی باقیمانده را حذف کند [۷۰]. سپس لیپیدهای استخراج شده از طریق فرآیندهایی مانند کروماتوگرافی، تقطیر، یا تبخیر خالص می‌شوند تا محصول لیپیدی خالص به دست آید. خلوص محصول نهایی به کیفیت ماده اولیه و اثربخشی مراحل استخراج و تصفیه بستگی دارد [۷۱]. در زیر به متداول‌ترین روش‌های استخراج لیپید از زیست توده می‌پردازیم.

## ۱-۹- روش Floch

این روش یک روش استاتیکی برای استخراج لیپید به شمار می‌رود [۷۲]. در این روش از حلال متانول و کلروفرم برای حل کردن لیپیدها و سپس جداسازی آنها استفاده می‌شود. عملکرد روش فولک بر اساس وجود نمک های معدنی و استفاده از مقدار قابل توجهی حلال است. این روش به طور گسترده ای برای استخراج لیپیدها از نمونه های بیولوژیکی استفاده می‌شود [۷۳].

## ۹-۲- روش Bligh and Dyer

یک روش استخراج با حلال دیگر که در مقیاس بزرگ مورد استفاده قرار می‌گیرد روش Bligh and Dyer می‌باشد. در این روش، سیستم‌های دو فازای ایجاد می‌شوند و لیپید از فاز کلروفرم محلول جدا می‌شود [۷۴]. این روش اگر چه برای استخراج لیپید از ریزجلبک‌ها موثر و کارآمد می‌باشد، اما بازیافت در این روش بسیار پرهزینه است. این روش همانند روش Folch بوده ولی نیاز به حلال کم‌تری دارد. روش Bligh and Dyer به عنوان معیاری برای مقایسه‌ی روش‌های استخراج استفاده می‌شود [۷۳].

## ۹-۳- روش Soxhlet

در این روش از دستگاه سوکسله و حلال‌های گرم مانند متانول، هگزان و اتانول برای استخراج لیپیدهای معمولی استفاده می‌شود [۷۵]. استخراج لیپید از طریق دستگاه سوکسله به ۵ تا ۲۰ گرم زیست توده ریز جلبکی خشک شده نیاز دارد در حالی که روش Folch and Bligh-Dyer به ۵۰ میلی گرم تا ۱ گرم از آن نیاز دارد. دستگاه سوکسله به استخراج کارآمدتر چربی کمک می‌کند زیرا این یک فرآیند پویا است در حالی که دو روش دیگر استخراج استاتیک ممکن است منجر به استخراج چربی کم شود [۳۸].

## ۱۰ ترنس استریفیکاسیون

فرآیند ترنس استریفیکاسیون یک فرآیند مهم در تولید بیودیزل به شمار می‌رود. این فرآیند شامل تبدیل تری گلسریدهای استخراج شده به متیل استرهای اسید چرب می‌باشد که جز اصلی بیودیزل می‌باشد. این واکنش را می‌توان با استفاده از کاتالیزورهای اسیدی یا بازی کاتالیز کرد [۷۶]. معادله‌ی شیمیایی برای واکنش ترنس استریفیکاسیون به صورت زیر می‌باشد [۷۷]:



در معادله‌ی بالا گلیسرول تولیدی محصول جانبی به شمار می‌رود. واکنش معمولاً در دمای بین ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتیگراد انجام می‌شود. الکل‌های مورد استفاده در این واکنش معمولاً متانول یا اتانول می‌باشند [۷۸].

انتخاب کاتالیزور برای افزایش تولید بیودیزل بسیار مهم است زیرا بر فرآیند ترانس استریفیکاسیون تأثیر می‌گذارد. وظیفه اصلی کاتالیزور کاهش مقدار انرژی فعال سازی مورد نیاز برای انجام واکنش است. سه دسته کلی از کاتالیزورها وجود دارد: اسیدها، بازها و بیوکاتالیست‌ها. اسیدها و بازها کاتالیزورهای معمولی هستند که فعالیت آنها به میزان اسیدهای چرب موجود در لیپید جلبک بستگی دارد [۲۲].

کاتالیزور بازی باعث صابونی شدن می‌شود که در آن کاتالیزور اضافی با اسیدهای چرب آزاد واکنش می‌دهد و در نتیجه صابون تشکیل می‌شود. این پدیده مانع از فرآیند ترانس استریفیکاسیون و نیز کاهش کارایی بیودیزل می‌شود. کاتالیزورهای اسیدی عموماً ترجیح داده می‌شوند زیرا بر خلاف کاتالیزورهای بازی، باعث صابونی شدن نمی‌شوند [۷۹]. بیوکاتالیست‌ها از منابع بیولوژیکی و از طریق سنتز شیمیایی یا بیولوژیک به دست می‌آیند. این کاتالیست‌ها مقرون به صرفه هستند اما میزان در دسترس بودن آنها به منابع بیولوژیکی بستگی دارد. اکسید کلسیم استخراج شده از پوسته‌ی صدف، نرم‌تنان و تخم مرغ از جمله کاتالیست‌های بیولوژیکی بوده که میزان استخراج بیش از ۹۰ درصد را نشان می‌دهد [۸۰].

## ۱۱- بحث و نتیجه گیری

تحقیقات انجام شده، نشان می‌دهد، بیودیزل تولیدی از ریزجلبک‌ها یک منبع انرژی تجدیدپذیر و بالقوه است، که از نظر تولید و مصرف میزان کربن دی‌اکسید خنثی می‌باشد. ریزجلبک‌ها تجدیدپذیر هستند بنابراین می‌توانند یک منبع پایدار به شمار آیند. زوسخت‌های زیستی مقرون به صرفه بوده، سازگار با محیط زیست است و جایگزینی مناسب برای سوخت‌های فسیلی به شمار می‌رود. همچنین از ریزجلبک‌ها می‌توان برای اهداف دیگری نیز استفاده کرد به عنوان مثال برای تولید کود یا منبع پروتئین برای خوراک دام [۸۱-۸۳].

با این حال تولید زیست توده ریز جلبک برای استخراج سوخت‌های زیستی عموماً گران و از نظر فناوری چالش برانگیز است. آلودگی ریزجلبک‌ها، میزان بهره‌وری لیپیدی، هزینه‌ی گران جداسازی سلولی از مهم‌ترین چالش‌های تولید بیودیزل از این سلول‌ها می‌باشد. استفاده از حوضچه‌های روباز احتمال آلودگی زیست‌توده را افزایش می‌دهد. از طرفی استفاده از فتوبیوراکتورها با وجود این که به دلیل شرایط کنترل شده، احتمال آلودگی در آن‌ها کم است، اما هزینه‌ی نگهداری آن‌ها بالا می‌باشد. بنابراین ارتقای تکنیک‌های و استفاده از روش‌های مقرون به صرفه برای توسعه‌ی فتوبیوراکتورها امری ضروری می‌باشد. یکی دیگر از چالش‌های تولید بیودیزل از این میکروارگانیسم‌ها پایین بودن بهره‌وری لیپیدی ریزجلبک‌ها می‌باشد. همان‌طور که در بالا ذکر شد، نخست این که میزان لیپید در گونه‌های مختلف متفاوت است و در گام دوم میزان بهره‌وری لیپیدی با میزان بهره‌وری زیست‌توده با هم نسبت عکس دارند. اعمال استرس به سلول‌ها از طرفی باعث افزایش تجمع لیپید در آن‌ها می‌شود و از طرف دیگر سرعت رشد سلول‌ها را به شدت کاهش می‌دهد. بنابراین به نظر می‌رسد اصلاح ژنتیکی سلول‌ها در این زمینه می‌تواند کارساز باشد.

یکی از مهم‌ترین مباحث در تولید بیودیزل از ریزجلبک‌ها مرحله‌ی جداسازی سلول از محیط کشت می‌باشد. با توجه به موارد ذکر شده به نظر می‌رسد با توجه به هزینه‌بر بودن روش‌هایی مانند فیلتراسیون و سانتریفیوژ استفاده از روش‌های ترکیبی مانند لخته‌سازی به همراه شناورسازی می‌تواند گزینه‌ی مناسبی برای جداسازی این سلول‌ها باشد. یک روش جداسازی ایده‌آل روشی است که خواص محصول، اندازه‌ی سلول‌های ریزجلبک و چگالی آن‌ها، تاثیر مواد افزودنی و بازیابی محیط کشت را در نظر بگیرد. با این وجود، نمی‌توان مزایای بالقوه‌ی این روش را در کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای و تولید سوخت پاک و پایدار دست کم گرفت. اگر تلاش‌های تحقیق و توسعه موفقیت‌آمیز باشد، استفاده از بیودیزل میکروجلبک ممکن است در نهایت بخشی از چرخه‌ی انرژی ما شود. این فناوری نوظهور باید توسط سیاست‌گذاران و سرمایه‌گذاران در اولویت قرار گیرد تا امکان استقرار موفقیت‌آمیز آن در چند سال آینده فراهم شود.

- [۱] Ferreira Mota G, Germano de Sousa I, Luiz Barros de Oliveira A, Luthierre Gama Cavalcante A, da Silva Moreira K, Thálysson Tavares Cavalcante F, et al. Biodiesel production from microalgae using lipase-based catalysts: Current challenges and prospects. *Algal Research* ۲۰۲۲;۶۲:۱۰۲۶۱۶.
- [۲] Lv, Chu, McAleer M, Wong. Modelling Economic Growth, Carbon Emissions, and Fossil Fuel Consumption in China: Cointegration and Multivariate Causality. *International Journal of Environmental Research and Public Health* ۲۰۱۶;۱۴:۱۱۷۶;۰۱۹
- [۳] Maliha A, Abu-Hijleh B. A review on the current status and post-pandemic prospects of third-generation biofuels. *Energy Systems* ۲۰۲۳;۱۴:۱۱۸۵.
- [۴] Saini R, Osorio-González C, Brar S, Kwong R. A critical insight into the development, regulation and future prospects of biofuels in Canada. *Bioengineered* ۲۰۲۱;۱۲:۹۸۴۷.
- [۵] Dutta K, Daverey A, Lin J-G. Evolution retrospective for alternative fuels: First to fourth generation. *Renewable Energy* ۲۰۱۴;۶۹:۱۱۴.
- [۶] Mahapatra S, Kumar D, Singh B, Sachan P. Biofuels and their sources of production: A review on cleaner sustainable alternative against conventional fuel, in the framework of the food and energy nexus. *Energy Nexus* ۲۰۲۱;۴:۱۰۰۰۳۶.
- [۷] Jeswani HK, Chilvers A, Azapagic A. Environmental sustainability of biofuels: a review. *Proc Math Phys Eng Sci* ۲۰۲۰;۴۷۶:۲۵.
- [۸] Mathiesen B, Lund H, Connolly D, Wenzel H, Østergaard P, Möller B, et al. Smart Energy Systems for coherent ۱۰۰% renewable energy and transport solutions. *Applied Energy* ۲۰۱۵;۱۴۵.
- [۹] Priya, Deora PS, Verma Y, Muhal RA, Goswami C, Singh T. Biofuels: An alternative to conventional fuel and energy source. *Materials Today: Proceedings* ۲۰۲۲;۴۸:۱۱۷۸.
- [۱۰] Paul PEV, Sangeetha V, Deepika RG. Chapter ۹ - Emerging Trends in the Industrial Production of Chemical Products by Microorganisms. In: Buddolla V, editor. *Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry*: Academic Press; ۲۰۱۹, p. ۱۰۷.
- [۱۱] Balan V. Current Challenges in Commercially Producing Biofuels from Lignocellulosic Biomass. *ISRN Biotechnology* ۲۰۱۴;۲۰۱۴.
- [۱۲] Holland RA, Eigenbrod F, Muggeridge A, Brown G, Clarke D, Taylor G. A synthesis of the ecosystem services impact of second generation bioenergy crop production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* ۲۰۱۵;۴۶:۳۰.
- [۱۳] Ullah K, Ahmad M, Sofia, Sharma VK, Lu P, Harvey A, et al. Assessing the potential of algal biomass opportunities for bioenergy industry: A review. *Fuel* ۲۰۱۵;۱۴۳:۴۱۴.
- [۱۴] Tan IS, Lam MK, Foo HCY, Lim S, Lee KT. Advances of macroalgae biomass for the third generation of bioethanol production. *Chinese Journal of Chemical Engineering* ۲۰۲۰;۲۸:۵۰۲.
- [۱۵] Abdullah B, Syed Muhammad SAFa, Shokravi Z, Ismail S, Kassim KA, Mahmood AN, et al. Fourth generation biofuel: A review on risks and mitigation strategies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* ۲۰۱۹;۱۰۷:۳۷.
- [۱۶] Bhowmik D, Chetri S, Enerijiofi KE, Naha A, Kanungo TD, Shah MP, et al. Multitudinous approaches, challenges and opportunities of bioelectrochemical systems in conversion of waste to energy from wastewater treatment plants. *Cleaner and Circular Bioeconomy* ۲۰۲۳;۴:۱۰۰۰۴۰.
- [۱۷] Maeda Y, Yoshino T, Matsunaga T, Matsumoto M, Tanaka T. Marine microalgae for production of biofuels and chemicals. *Current Opinion in Biotechnology* ۲۰۱۸;۵۰:۱۱۱.
- [۱۸] Abdelfattah A, Ali SS, Ramadan H, El-Aswar EI, Eltawab R, Ho S-H, et al. Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects. *Environmental Science and Ecotechnology* ۲۰۲۳;۱۳:۱۰۰۲۰۵.

- [۱۹] Chong JWR, Yew GY, Khoo KS, Ho S-H, Show PL. Recent advances on food waste pretreatment technology via microalgae for source of polyhydroxyalkanoates. *Journal of Environmental Management* ۲۰۲۱;۲۹۳:۱۱۲۷۸۲.
- [۲۰] Neeti K, Gaurav K, Singh R. The Potential of Algae Biofuel as a Renewable and Sustainable Bioresource. *Engineering Proceedings* ۲۰۲۳;۳۷:۲۲.
- [۲۱] Brindhadevi K, Mathimani T, Rene ER, Shanmugam S, Chi NTL, Pugazhendhi A. Impact of cultivation conditions on the biomass and lipid in microalgae with an emphasis on biodiesel. *Fuel* ۲۰۲۸;۱۱۹۰۵۸:۰۲۱
- [۲۲] Goh BHH, Ong HC, Cheah MY, Chen W-H, Yu KL, Mahlia TMI. Sustainability of direct biodiesel synthesis from microalgae biomass: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* ۲۰۱۹;۱۰۷:۵۹.
- [۲۳] Singh G, Patidar SK. Microalgae harvesting techniques: A review. *Journal of Environmental Management* ۲۰۱۸;۲۱۷:۴۹۹.
- [۲۴] Yoo G, Park MS, Yang J-W. Chapter ۱۲ - Chemical Pretreatment of Algal Biomass. In: Pandey A, Negi S, Binod P, Larroche C, editors. *Pretreatment of Biomass*. Amsterdam :Elsevier; ۲۰۱۵, p. ۲۲۷.
- [۲۵] Culaba AB, Ubando AT, Ching PML, Chen W-H, Chang J-S. Biofuel from Microalgae: Sustainable Pathways. *Sustainability* ۲۰۲۰;۱۲:۸۰۰۹.
- [۲۶] Alam F, Date A, Rasjidin R, Mobin S, Moria H, Baqui A. Biofuel from Algae- Is It a Viable Alternative? *Procedia Engineering* ۲۰۱۲;۴۹:۲۲۱.
- [۲۷] Enamala MK, Enamala S, Chavali M, Donepudi J, Yadavalli R, Kolapalli B, et al. Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* ۲۰۱۸;۹۴:۴۹.
- [۲۸] Tan J, Lee SY, Kit Wayne C, Lam M, Lim J-W, Ho S-H, et al. A review on microalgae cultivation and harvesting, and their biomass extraction processing using ionic liquids. *Bioengineered* ۲۰۲۰;۱۱.
- [۲۹] Shekh AY, Shrivastava P, Gupta A, Krishnamurthi K, Devi SS, Mudliar SN. Biomass and lipid enhancement in *Chlorella* sp. with emphasis on biodiesel quality assessment through detailed FAME signature. *Bioresource Technology* ۲۰۱۶;۲۰۱:۲۷۶.
- [۳۰] Hoekman SK, Broch A, Robbins C, Cenicerros E, Natarajan M. Review of biodiesel composition, properties, and specifications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* ۲۰۱۲;۱۶:۱۴۳.
- [۳۱] Wang M, Ye X, Bi H, Shen Z. Microalgae biofuels: illuminating the path to a sustainable future amidst challenges and opportunities. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts* ۲۰۲۴;۱۷.
- [۳۲] Cho D-H, Ramanan R, Heo J, Lee J, Kim B-H, Oh H-M, et al. Enhancing microalgal biomass productivity by engineering a microalgal-bacterial community. *Bioresource Technology* ۲۰۱۵;۱۷۵:۵۷۸.
- [۳۳] Jabłońska-Trypuć A, Wołejko E, Ernazarovna MD, Głowacka A, Sokołowska G, Wydro U. Using Algae for Biofuel Production: A Review. *Energies* ۲۰۲۳;۱۶:۱۷۵۸.
- [۳۴] Lee OK, Lee EY. Sustainable production of bioethanol from renewable brown algae biomass. *Biomass and Bioenergy* ۲۰۱۶;۹۲:۷۰.
- [۳۵] Abu Amr S, Abujazar M, Alazaiza M, Albahnasawi A, Bashir M, Nassani DE. The potential use of natural coagulants for microalgae harvesting: a review. *Water Quality Research Journal* ۲۰۲۳;۵۸.
- [۳۶] Assunção J, Malcata FX. Enclosed “non-conventional” photobioreactors for microalga production: A review. *Algal Research* ۲۰۲۰;۵۲:۱۰۲۱۰۷.
- [۳۷] Jerney J, Spilling K. Large Scale Cultivation of Microalgae: Open and Closed Systems. ۲۰۱۸.
- [۳۸] Pandey S, Narayanan I, Selvaraj R, Varadavenkatesan T, Vinayagam R. Biodiesel production from microalgae: A comprehensive review on influential factors, transesterification processes, and challenges. *Fuel* ۲۰۲۴;۳۶۷:۱۳۱۵۴۷.
- [۳۹] Morales M, Aflalo C, Bernard O. Microalgal lipids: A review of lipids potential and quantification for ۹۵ phytoplankton species. *Biomass and Bioenergy* ۲۰۲۱;۱۵۰:۱۰۶۱۰۸.
- [۴۰] Young C, Ingall E. Marine Dissolved Organic Phosphorus Composition: Insights from Samples Recovered Using Combined Electrodialysis/Reverse Osmosis. *Aquatic Geochemistry* ۲۰۱۰;۱۶:۵۶۳.
- [۴۱] Ananthi V, Raja R, Carvalho IS, Brindhadevi K, Pugazhendhi A, Arun A. A realistic scenario on microalgae based biodiesel production: Third generation biofuel. *Fuel* ۲۰۲۱;۲۸۴:۱۰۸۹۶۵

- [۴۲] Sachdeva N, Gupta RP, Mathur AS, Tuli DK. Enhanced lipid production in thermo-tolerant mutants of *Chlorella pyrenoidosa* NCIM ۲۷۳۸. *Bioresource Technology* ۲۰۱۶;۲۲۱:۵۷۶.
- [۴۳] Thomas J, Jayachithra EV. Growth kinetics of *Chlorococcum humicola* – A potential feedstock for biomass with biofuel properties. *Ecotoxicology and Environmental Safety* ۲۰۱۵;۱۲۱:۲۵۸.
- [۴۴] Zhou W, Wang Z, Xu J, Ma L. Cultivation of microalgae *Chlorella zofingiensis* on municipal wastewater and biogas slurry towards bioenergy. *Journal of Bioscience and Bioengineering* ۲۰۱۸;۱۲۶:۶۴۴.
- [۴۵] Molina Grima E, Belarbi EH, Ación Fernández FG, Robles Medina A, Chisti Y. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnology Advances* ۲۰۰۳;۲۰:۴۹۱.
- [۴۶] Krishnamoorthy N, Unpaprom Y, Ramaraj R, Maniam GP, Govindan N, Arunachalam T, et al. Recent advances and future prospects of electrochemical processes for microalgae harvesting. *Journal of Environmental Chemical Engineering* ۲۰۲۱;۹:۱۰۵۸۷۵.
- [۴۷] Udayan A, Sirohi R, Sreekumar N, Sang B-I, Sim SJ. Mass cultivation and harvesting of microalgal biomass: Current trends and future perspectives. *Bioresource Technology* ۲۰۲۲;۳۴۴:۱۲۶۴۰۶.
- [۴۸] Mathimani T, Mallick N. A comprehensive review on harvesting of microalgae for biodiesel – Key challenges and future directions. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* ۲۰۱۸;۹۱:۱۱۰۳.
- [۴۹] Laamanen CA, Desjardins SM, Senhorinho GNA, Scott JA. Harvesting microalgae for health beneficial dietary supplements. *Algal Research* ۲۰۲۱;۵۴:۱۰۲۱۸۹.
- [۵۰] Ghazvini M, Kavosi M, Sharma R, Kim M. A review on mechanical-based microalgae harvesting methods for biofuel production. *Biomass and Bioenergy* ۲۰۲۲;۱۵۸:۱۰۶۳۴۸.
- [۵۱] Gerardo ML, Van Den Hende S, Vervaeren H, Coward T, Skill SC. Harvesting of microalgae within a biorefinery approach: A review of the developments and case studies from pilot-plants. *Algal Research* ۲۰۱۵;۱۱:۲۴۸.
- [۵۲] Escapa C, Coimbra RN, Paniagua S, García AI, Otero M. Nutrients and pharmaceuticals removal from wastewater by culture and harvesting of *Chlorella sorokiniana*. *Bioresource Technology* ۲۰۱۵;۱۸۵:۲۷۶.
- [۵۳] Qi J, Lan H, Liu R, Liu H, Qu J. Fe(II)-regulated moderate pre-oxidation of *Microcystis aeruginosa* and formation of size-controlled algae flocs for efficient flotation of algae cell and organic matter. *Water Research* ۲۰۱۸;۱۳۷:۵۷.
- [۵۴] Mohseni F, Moosavi Zenooz A. Flocculation of *Chlorella vulgaris* with alum and pH adjustment. *Biotechnology and Applied Biochemistry* ۲۰۲۱;n/a.
- [۵۵] Choy SY, Prasad KMN, Wu TY, Raghunandan ME, Phang S-M, Juan JC, et al. Starch-based flocculant outperformed aluminium sulfate hydrate and polyaluminium chloride through effective bridging for harvesting acicular microalga *Ankistrodesmus*. *Algal Research* ۲۰۱۸;۲۹:۳۴۳.
- [۵۶] Yin Z, Zhu L, Li S, Hu T, Chu R, Mo F, et al. A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: Environmental pollution control and future directions. *Bioresource Technology* ۲۰۲۰;۳۰۱:۱۲۲۸۰۴.
- [۵۷] Sarwer A, Moussa S, Osman A, Jamil F, Al-Muhtaseb Aa, Alhajeri N, et al. Algal biomass valorization for biofuel production and carbon sequestration: a review. *Environmental Chemistry Letters* ۲۰۲۲.
- [۵۸] Li T, Hu J. Self-Flocculation as an Efficient Method to Harvest Microalgae: A Mini-Review. *Water* ۲۰۲۱;۱۳:۲۵۸۵.
- [۵۹] Vandamme D, Foubert I, Muylaert K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. *Trends in Biotechnology* ۲۰۱۳;۳۱:۲۳۳.
- [۶۰] Cooney MJ, Young G, Pate R. Bio-oil from photosynthetic microalgae :Case study. *Bioresource Technology* ۲۰۱۱;۱۰۲:۱۶۶.
- [۶۱] Rahman MM, Hosano N, Hosano H. Recovering Microalgal Bioresources: A Review of Cell Disruption Methods and Extraction Technologies. *Molecules* ۲۰۲۲;۲۷:۲۷۸۶.
- [۶۲] Gerde JA, Montalbo-Lombay M, Yao L, Grewell D, Wang T. Evaluation of microalgae cell disruption by ultrasonic treatment. *Bioresource Technology* ۲۰۱۲;۱۲۵:۱۷۵.
- [۶۳] Deenu A, Naruenartwongsakul S, Kim SM. Optimization and Economic Evaluation of Ultrasound Extraction of Lutein from *Chlorella vulgaris*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* ۲۰۱۴;۱۸:۱۱۵۱.

- [۶۴] Zhang X, Yan S, Tyagi RD, Drogui P, Surampalli RY. Ultrasonication aided biodiesel production from one-step and two-step transesterification of sludge derived lipid. *Energy* ۲۰۱۶;۹۴:۴۰۱.
- [۶۵] Dai Y-M, Chen K-T, Chen C-C. Study of the microwave lipid extraction from microalgae for biodiesel production. *Chemical Engineering Journal* ۲۰۱۴;۲۵۰:۲۶۷.
- [۶۶] Sharma AK, Sharma A, Singh Y, Chen W-H. Production of a sustainable fuel from microalgae *Chlorella minutissima* grown in a ۱۵۰۰ L open raceway ponds. *Biomass and Bioenergy* ۲۰۲۱;۱۴۹:۱۰۶۰۷۳.
- [۶۷] Karim A, Bin Khalid Z, Islam A, Faizal CK, Khan M, Yousuf A. Microalgal Cell Disruption and Lipid Extraction Techniques for Potential Biofuel Production. ۲۰, ۱۹p. ۱۲۹.
- [۶۸] Barati B, Zafar FF, Rupani PF, Wang S. Bacterial pretreatment of microalgae and the potential of novel nature hydrolytic sources. *Environmental Technology & Innovation* ۲۰۲۱;۲۱:۱۰۱۳۶۲.
- [۶۹] Gorgich M, Mata TM, Martins AA, Branco-Vieira M, Caetano NS. Comparison of different lipid extraction procedures applied to three microalgal species. *Energy Reports* ۲۰۲۰;۶:۴۷۷.
- [۷۰] Halim R, Webley PA, Martin GJO. The CIDES process: Fractionation of concentrated microalgal paste for co-production of biofuel, nutraceuticals, and high-grade protein feed. *Algal Research* ۲۰۱۶;۱۹:۲۹۹.
- [۷۱] Siddiqui SA, Pahmeyer MJ, Assadpour E, Jafari SM. Extraction and purification of d-limonene from orange peel wastes: Recent advances. *Industrial Crops and Products* ۲۰۲۲;۱۷۷:۱۱۴۴۸۴.
- [۷۲] Dhup S, Dhawan V. Effect of nitrogen concentration on lipid productivity and fatty acid composition of *Monoraphidium* sp. *Bioresour Technol* ۲۰۱۴;۱۵۲:۵۷۲.
- [۷۳] Breil C, Abert Vian M, Zemb T, Kunz W, Chemat F. "Bligh and Dyer" and Folch Methods for Solid-Liquid-Liquid Extraction of Lipids from Microorganisms. *Comprehension of Solvation Mechanisms and towards Substitution with Alternative Solvents. Int J Mol Sci* ۲۰۱۷;۱۸.
- [۷۴] Liu Z, Rochfort S, Cocks BG. Optimization of a single phase method for lipid extraction from milk. *Journal of Chromatography A* ۲۰۱۶;۱۴۵۸:۱۴۵.
- [۷۵] da Silva Nonato N, Nottar Escobar EL, Kochevka DM, Bianchini Derner R, Montes D'Oca MG, Corazza ML, et al. Extraction of *Muriella decolor* lipids using conventional and pressurized solvents and characterization of their fatty acid profile for biodiesel applications. *The Journal of Supercritical Fluids* ۲۰۲۰;۱۵۸:۱۰۴۷۵۰.
- [۷۶] Rezania S, Oryani B, Park J, Hashemi B, Yadav KK, Kwon EE, et al. Review on transesterification of non-edible sources for biodiesel production with a focus on economic aspects, fuel properties and by-product applications. *Energy Conversion and Management* ۲۰۱۹;۲۰۱:۱۱۲۱۵۵.
- [۷۷] Kim J, Yeom S. Optimization of Biodiesel Production from Waste Coffee Grounds by Simultaneous Lipid Extraction and Transesterification. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* ۲۰۲۰;۲۵.
- [۷۸] Folayan AJ, Anawe PAL. Synthesis and characterization of *Argania spinosa* (Argan oil) biodiesel by sodium hydroxide catalyzed transesterification reaction as alternative for petro-diesel in direct injection, compression ignition engines. *Heliyon* ۲۰۱۹;۵:e۰۲۴۲۷.
- [۷۹] Quah RV, Tan YH, Mubarak NM, Khalid M, Abdullah EC, Nolasco-Hipolito C. An overview of biodiesel production using recyclable biomass and non-biomass derived magnetic catalysts. *Journal of Environmental Chemical Engineering* ۲۰۱۹;۷:۱۰۳۲۱۹.
- [۸۰] Navarro López E, Robles Medina A, González Moreno PA, Esteban Cerdán L, Martín Valverde L, Molina Grima E. Biodiesel production from *Nannochloropsis gaditana* lipids through transesterification catalyzed by *Rhizopus oryzae* lipase. *Bioresource Technology* ۲۰۱۶;۲۰۳:۲۳۶.
- [۸۱] Yuan S, Lei W, Liu Q, Liu R, Liu J, Fu J, et al. Distribution and environmental impact of microalgae production potential under the carbon-neutral target. *Energy* ۲۰۲۳;۲۶۳:۱۲۵۵۸۴.
- [۸۲] Malode SJ, Prabhu KK, Mascarenhas RJ, Shetti NP, Aminabhavi TM. Recent advances and viability in biofuel production. *Energy Conversion and Management: X* ۲۰۲۱;۱۰:۱۰۰۰۷۰.
- [۸۳] Vieira de Mendonça H, Assemany P, Abreu M, Couto E, Maciel AM, Duarte RL, et al. Microalgae in a global world: New solutions for old problems? *Renewable Energy* ۲۰۲۱;۱۶۵:۸۴۲.