

بررسی تجربی و مدل سازی ترمودینامیکی فرآیند استخراج لیپید از ریز جلبک مرطوب

محمد ملک زاده^۱، حامد عابدینی نجف آبادی^۱، منوچهر وثوقی^۱ و داود رشتچیان^۱

۱- دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات مهندسی بیوشیمی و کنترل محیط زیست، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۱۱

چکیده

در این مقاله، نسبت‌های مختلف متانول به‌عنوان حلال قطبی و هگزان به‌عنوان حلال ناقطبی برای استخراج لیپید از ریز جلبک خشک و مرطوب با رطوبت‌های ۷۰ و ۸۵ درصد استفاده شدند. مقدار لیپید استخراجی تا نسبت هم‌حجم مخلوط هگزان و متانول روند صعودی دارد که با افزایش بیش‌تر متانول این روند کاهش می‌یابد. یک کاهش عمده لیپیدهای خام استخراجی با افزایش رطوبت در نسبت‌های پایین متانول به هگزان مشاهده شد. بیش‌ترین مقدار اسیدهای چرب استخراجی با استفاده از مخلوط هم‌حجم هگزان:متانول به دست آمد (۲/۳۰±۰/۵۳ درصد). با افزایش رطوبت بازیابی اسید چرب کاهش یافت، ولی پروفایل اسیدهای چرب برای مخلوط حلال متفاوت تقریباً مشابه با ریز جلبک خشک بود. بیش‌ترین بازیابی اسید چرب با اعمال مخلوط هم‌حجم هگزان:متانول به‌عنوان حلال به دست آمد که درصد آن برای رطوبت ۷۰ و ۸۵ درصد زیست‌توده به‌ترتیب ۲/۳۳±۰/۱۶ و ۰/۹۵±۰/۱۶ است. هم‌چنین اثر دما بر عمل کرد استخراج نیز بررسی شد که نتایج نشان دادند بازیابی لیپید خام و اسید چرب با افزایش دما بهبود می‌یابد (به‌ترتیب ۱۷ و ۳۶ درصد برای دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با ۲۵ درجه سانتی‌گراد). مدل ترمودینامیکی UNIQUAC برای تحقیق درباره تاثیر مقدار رطوبت و نسبت حلال بر فرآیند استخراج لیپید به کار گرفته شد. پارامترهای برهم‌کنش انرژی با به‌کارگیری داده‌های تجربی به دست آمدند. نتایج تخمینی با ۸/۶۵ درصد AAD < درصد دقت مدل UNIQUAC را اثبات کردند.

کلمات کلیدی: ریز جلبک، کلرلا ولگاریس، لیپید، استخراج، مدل سازی ترمودینامیکی.

مقدمه

که ادامه استفاده از سوخت‌های فسیلی به‌علت رو به اتمام بودن ذخایر جهانی و انتشار گازهای گل‌خانه‌ای^۱ غیرممکن است [۱]. در دهه‌های پیشین در موقعیت‌های اضطراری، روغن‌های گیاهی به‌عنوان سوخت دیزل استفاده شدند. اخیراً تولید بیودیزل^۲ توجه زیادی را در سراسر جهان به خود جلب کرده است [۲].

توسعه پایدار یک اصل کلیدی در مدیریت منابع طبیعی است که بهره‌وری عملیاتی، به حداقل رساندن اثرات زیست‌محیطی و ملاحظات اجتماعی و اقتصادی را که همه آنها به هم وابسته‌اند در بر می‌گیرد. این موضوع به‌وضوح نشان می‌دهد

1. GHGs
2. Biodiesel

Vosoughi@sharif.edu

*مسئول مکاتبات
آدرس الکترونیکی

پدیده که آب باقی مانده در میکروجلبک چه تاثیری بر استخراج لیپید دارد تاکنون به درستی فهمیده نشده است و سناریوهایی مختلف در این زمینه مطرح شده اند. در سال ۱۹۹۸، مدینا و همکارانش به این نتیجه رسیدند که وجود رطوبت موجب کاهش ضریب انتقال جرم و متعاقباً کاهش بازده استخراج می شود [۱۶]. طبق این نظریه، خشک کردن زیست توده اختیاری نیست و باید قبل از فرآیند استخراج انجام شود. از طرف دیگر، در سال ۲۰۱۱، هلیم و همکارانش نشان دادند که وجود رطوبت تاثیری بر بازده استخراج ندارد [۱۷].

در سال ۲۰۱۳، برویتزکا و همکارانش بیان داشتند که وجود رطوبت به دلیل ایجاد تورم سلولی باعث افزایش بازده استخراج می شود [۱۸]. البته تاثیر رطوبت به چندین عامل مانند گونه ریزجلبک، نوع رطوبت، دما و فشار استخراج وابسته است؛ بنابراین این موضوع به تحقیقات بیش تری نیاز دارد. پس از قرار گرفتن زیست توده در معرض حلال برای استخراج، پس از مدتی یک تعادل فازی جامد-مایع به وجود می آید که در آن چهار جزء آب، حلال قطبی، حلال ناقطبی و لیپید درگیر هستند. برای تعیین مقدار تاثیر نسبت حلال قطبی به ناقطبی، رطوبت و دما بر فرآیند استخراج، مدل سازی ترمودینامیکی ضروری است. تاکنون چندین مدل برای این منظور پیشنهاد شده اند [۱۷، ۱۹ و ۲۰]، ولی در هیچ یک از آنها اثر رطوبت و ترکیب حلال در نظر گرفته نشده است.

مدل سازی ترمودینامیکی یک روش مناسب برای مطالعه رفتار سیستم های تعادلی مانند استخراج است و می تواند برای تحلیل اثر پارامترهای مهم فرآیند به کار رود [۲۱-۲۳].

بیودیزل مزیت های زیادی دارد؛ از جمله زیست تجزیه پذیری [۳]، قابلیت ترکیب با سوخت های فسیلی دیگر [۴] و غیرسمی بودن [۵].

تولید بیودیزل شامل تبادل استری تری آسیل گلیسرول^۱ موجود در لیپیدهای گیاهی و جانوری است [۶ و ۷]. اخیراً، ریزجلبک، به علت داشتن لیپید فراوان [۸]، سرعت رشد بالا [۹] و توانایی کشت در آب شور و زمین های غیرقابل کشت [۱۰]، توجهات زیادی را به عنوان یک منبع مناسب تولید بیودیزل به خود جلب کرده است. فرآیندهای کلیدی درگیر در تولید بیودیزل از ریزجلبک کشت، برداشت، استخراج لیپید و تبادل استری لیپیدها هستند. همه این مراحل ضروری هستند، اما استخراج لیپید مهم تر است. روغن جلبک را می توان با روش های زیادی استخراج کرد که از میان آنها می توان استخراج با استفاده از حلال آلی، استخراج سوکسله^۲ و استخراج با سیال فوق بحرانی را نام برد [۱۱]. یکی از این معروف ترین این فرآیندها استخراج با استفاده از حلال آلی است [۱۲ و ۱۳].

یکی از اصول زیربنایی استخراج لیپیدهای ریزجلبک با استفاده از حلال آلی این مفهوم شیمیایی است: "هم نوع، هم نوع را حل می کند." براساس برهم کنش زنجیره های طویل اسید چرب آب گریز، لیپیدهای خنثی در برهم کنش ضعیف وان دروالس^۳ شرکت می کنند و گلبول هایی را در سیتوپلاسم^۴ تشکیل می دهند؛ بنابراین، از مخلوط حلال آلی قطبی و غیرقطبی برای استخراج همه لیپیدهای خنثی استفاده شده است [۱۲، ۱۴ و ۱۵]. از این رو، انتخاب نسبت بهینه مخلوط حلال آلی غیرقطبی/قطبی برای استخراج مقدار بیشینه لیپیدها به تحقیقات بیش تری نیاز دارد.

به دلیل بالا بودن هزینه های خشک کردن، فرآیند تولید بیودیزل از ریزجلبک تاکنون صنعتی نشده است. به همین سبب، اعمال تکنیک استخراج روی میکروجلبک مرطوب باید بررسی شود. ولی این

1. Triacylglycerol
2. Soxhlet
3. Van Der Waals
4. Cytoplasm

و $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (mg/l74/1) نیز در این محیط استفاده شده‌اند. $0/1 \text{ g/l/d}$ سدیم استات برای تامین منبع کربنی به محیط اضافه شد. محیط تحت نور مصنوعی $300 - 400 \mu\text{mole/m}^2/\text{s}$ رشد کرد و دمای آن در 25°C تنظیم شد. نرخ هوادهی 1 vvm تحت چرخه تزریق/عدم تزریق 1 min به 3 min بود.

برداشت و آماده سازی

برای آب زدایی اولیه، زیست توده در 4000 rpm ، 10 دقیقه سانتریفیوژ^۸ شد. یک نمونه از زیست توده جلبک سانتریفیوژ شده جمع آوری و با استفاده از خشک کن انجمادی در دمای -40°C و فشار $0/002$ میلی بار طی حدود 24 ساعت کاملاً خشک شد. وزن زیست توده خشک شده برای تعیین مقدار رطوبت زیست توده سانتریفیوژ شده طبق رابطه (۱) استفاده شد:

$$(1) \quad \text{وزن خشک} - \text{وزن مرطوب} \times 100 = \frac{\text{وزن خشک}}{\text{وزن مرطوب}} \text{ درصد رطوبت}$$

برای رسیدن به مقادیر مطلوب رطوبت، می توان به اندازه اختلاف رطوبت مطلوب و محاسبه شده آب مقطر دی یونیزه به زیست توده مرطوب ریز جلبک اضافه کرد.

استخراج لیپید خام

در یک ارلن، $0/5 \text{ gr}$ از زیست توده جلبک خشک شده با انجماد با 15 ml از مخلوط حلال مخلوط شد. مخلوط حلال استفاده شده، برای داشتن توان استخراج تمام لیپیدهای موجود در ریز جلبک، باید از یک حلال قطبی و یک حلال ناقطبی تشکیل شده باشد [۱۲].

پس از مقایسه نتایج حاصل از استخراج با استفاده از حلال های

در پژوهش حاضر، مخلوط هگزان به عنوان حلال غیرقطبی و متانول به عنوان حلال قطبی برای استخراج یک مرحله ای روغن از کلرلا ولگاریس^۱ استفاده و اثر نسبت های متنوع مخلوط حلال هگزان/متانول در لیپیدها و اسیدهای چرب بررسی شد. برای تحقیق درباره اثر مقدار رطوبت بر بازیابی لیپید و اسید چرب، استخراج روی ریز جلبک مرطوب با رطوبت 70 تا 85% و در پنج دمای متفاوت بین 25 تا 65°C انجام شد. مدل ترمودینامیکی برپایه تعادل جامد-مایع برای تخمین مقدار بازیابی اسید چرب در فرآیند استخراج به کار گرفته شد.

مواد و روش ها

حلال های استفاده شده در این کار هگزان ($99/9\%$ ، مرک^۲) و متانول ($99/5\%$ ، مرک) بودند. پتاسیم هیدروکسید ($99/5\%$ ، مرک) به عنوان کاتالیست برای واکنش ترانس استریفیکاسیون^۳ به کار رفت. متیل هپتا دکانوات^۴ (99 درصد، سیگما-آلدریج^۵) به عنوان استاندارد داخلی برای ارزیابی کمیت اسید استفاده شد.

گونه ریز جلبک و شرایط کشت

ریز جلبک سبز کلرلا ولگاریس از بانک میکروبی پژوهشکده انرژی کرج (وابسته به سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران) تهیه و در یک فوتوبیوراکتور^۶ 5 لیتری با قطر داخلی 16 و ارتفاع 25 cm ، شامل محیط کشت BBM^۷ [۲۴]، برای حدود دو هفته (یک هفته آن تحت استرس) کشت داده شد. محیط BBM عمدتاً شامل فسفات ها مانند $(75 \text{ mg/l}) \text{K}_2\text{HPO}_4$ و $(175 \text{ mg/l}) \text{KH}_2\text{PO}_4$ ؛ نیترات ها شامل $(250 \text{ mg/l}) \text{NaNO}_3$ ؛ سولفات ها شامل $(75 \text{ mg/l}) \text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، $(4/98 \text{ mg/l}) \text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ و $(17/76 \text{ mg/l}) \text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ؛ $(3/14 \text{ mg/l}) \text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ و همچنین کلریدها شامل $(2/88 \text{ mg/l}) \text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ، $(25 \text{ mg/l}) \text{NaCl}$ ، $(25 \text{ mg/l}) \text{KOH}$ و مواد دیگر مانند $(0/8 \text{ mg/l}) \text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ و $(31 \text{ mg/l}) \text{Na}_2\text{EDTA}$ ، $(50 \text{ mg/l}) \text{H}_3\text{BO}_3$ ، $(11/42 \text{ mg/l})$

1. Chlorella Vulgaris
2. Merck
3. Transesterification
4. Methyl Heptadecanoate
5. Sigma-Aldrich
6. Photobioreactor
7. Bold's Basal Media
8. Centrifuge

در متانول به متیل استرهای اسید چرب^۲ تبدیل می‌شوند. پس از استخراج با استفاده از ۲ ml هگزان، ۱ μlit از نمونه با استفاده از دستگاه GC-MS آنالیز شد. دستگاه GC-MS مجهز به یک ستون FID^۳ با دمای ۵۲۳/۱۵ K و یک تزریق کننده جداساز خودکار^۴ با دمای ۵۱۳/۱۵ K است. نسبت جداسازی ۱۰۰:۱ در نظر گرفته شد. برنامه دمایی اعمال شده به ستون به این گونه بود: دمای اولیه K ۳۲۳/۱۵ به مدت یک ساعت، سپس افزایش دما تا K ۴۵۳ با نرخ ۱۵ k/min، ۵۰۳/۱۵ K با نرخ ۷ K/min و در نهایت تا K ۶۱۳/۱۵ با نرخ ۳۰ K/min و در کل زمان اجرای آنالیز ۲۰ min. نحوه انجام این آنالیز را حکیم و همکارانش شرح داده‌اند [۲۱] بازیابی اسید چرب (R_{lib}) از زیست‌توده با رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$(۳) \quad \text{وزن اسید چرب} \times 100 = \frac{\text{وزن اسید چرب}}{\text{وزن مرطوب}} \times 100 = \text{درصد بازیابی اسید چرب}$$

تعیین تاثیر دما

بازیابی لیپید خام و اسید چرب با نسبت هم‌حجم مخلوط حلال هگزان/متانول در دماهای ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۵۵ و ۶۵°C انجام شد تا با استفاده از نتایج تاثیر دما بر مقدار استخراج لیپید و بازیابی اسید چرب با افزایش دما از دمای محیط تا حداکثر دمای ممکن، که از نظر صنعتی بدون صرف انرژی بیش از حد قابل حصول و با یک نرخ ثابت باشد، درک شود.

مدل‌سازی ترمودینامیکی

بر اساس روابط بنیادی ترمودینامیک، برای فرآیند استخراج در حالت تعادل، فعالیت هر جزء در فاز پالایش^۵ (فاز خوراک) و فاز استخراج^۶ (فاز حلال) باید برابر باشد:

$$(۴) \quad a_i' = a_i''$$

مختلف قطبی مانند متانول، اتانل و ایزوپروپانول و حلال‌های ناقطبی مانند استون، هگزان و اتیل استات، بیشینه استخراج با استفاده از مخلوط حلال‌های متانول و هگزان به دست آمد و در نتیجه، حلال متانول به‌عنوان حلال قطبی و حلال هگزان به‌عنوان حلال ناقطبی انتخاب شد. برای شکست دیواره‌های سلولی زیست‌توده، نمونه به مدت ۲۰ دقیقه در یک حمام یخ تحت امواج مافوق صوت با شدت ۳۸ کیلوهرتز گذاشته شد.

برای استخراج لیپید، مخلوط با یک هم‌زن مغناطیسی با سرعت چرخشی ۱۸۰ rpm در ۲۵°C برای ۲۴ hr هم زده شد. این زمان طولانی استخراج تعادلی شیمیایی بین حلال و زیست‌توده جلبک به وجود می‌آورد. برای استخراج لیپید خام از ریزجلبک خشک، یک مقدار معلوم زیست‌توده مرطوب (برابر ۰/۵ gr از زیست‌توده خشک) وزن شد و همان روندی که برای زیست‌توده خشک رخ داد تکرار شد. مخلوط حاصل ۱۰ دقیقه با سرعت چرخشی ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ و محلول شناور روی زیست‌توده جمع‌آوری شد. هر آزمایش حداقل ۳ مرتبه انجام گرفت [۲۵].

تعیین لیپید خام و اسید چرب

برای تعیین مقدار لیپیدهای خام، حلال با استفاده از تبخیرکن برگشتی^۱ در دمای ۵۰°C و تحت خلاء ۲۰۰ mm جیوه حذف شد. پس از تبخیر کامل حلال، لیپیدهای باقی‌مانده در ارلن وزن‌کشی شدند. بازیابی لیپید خام (RLipid) از زیست‌توده جلبک با رابطه زیر محاسبه شد:

$$(۲) \quad \text{وزن لیپید} \times 100 = \frac{\text{وزن لیپید}}{\text{وزن خشک}} \times 100 = \text{درصد بازیابی لیپید خام}$$

روند تعیین اسید چرب مانند آن چه که در منبع ۲۶ شرح داده شده بود. مختصر آن که اسیدهای چرب باقی‌مانده پس از خشک شدن حلال با استفاده از ۲ ml مخلوط ۱/۵٪ حجمی پتاسیم هیدروکسید

1. Rotary Evaporator
2. FAMES
3. Flame Ionization Detector
4. Automated Split Injector
5. Hakim et al
6. Raffinate
7. Extract

بنابراین:
برای جفت‌های اسید چرب/ هگزان، اسید چرب/ متانول و اسید چرب/ آب (در مجموع ۶ پارامتر) با حداقل سازی تابع هدف زیر به دست می‌آیند:

$$\Omega = \sum_{i=1}^N (w_{fa}^{calc.} - w_{fa}^{expt.})^2 \quad (13)$$

N، تعداد نقاط تجربی است و زیرنویس fa برای اسید چرب و بالانویس‌های .expt. و .calc. برای نتایج محاسبه‌شده و تجربی به کار می‌روند. مقدار AAD (%) بین نتایج تجربی برای بازیابی اسید چرب و تخمین آنها با مدل ترمودینامیکی طبق رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$AAD(\%) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \left| \frac{R_{fa}^{expt.} - R_{fa}^{calc.}}{R_{fa}^{expt.}} \right| \times 100 \quad (14)$$

نتایج و بحث

استخراج لیپید از زیست‌توده خشک

نسبت‌های مختلف مخلوط حلال هگزان:متانول (۱:۰، ۱:۱، ۱:۲ و ۱:۳، به صورت حجمی) برای استخراج لیپید از ریزجلبکی که با انجماد خشک شده بود به کار رفتند. نتایج بازیابی لیپید خام و اسید چرب در شکل ۱ نشان داده و پروفایل‌های اسید چرب در Error! Reference source not found ثبت شده‌اند. بیش‌ترین مقدار استخراج لیپید خام ۱۱/۳۰±۰/۵۰ درصد بود. در سال ۲۰۱۰، لی و همکارانش استخراج لیپید را با روش‌های بدون شکست سلولی^۲، اتوکلاو کردن^۳، آسیاب کردن^۴، میکروویو^۵، آوانمایی^۶ و شوک اسمزی^۷ روی ریزجلبک کلرلا ولگاریس انجام دادند [۱۱] و در بهترین حالت ممکن مقدار استخراج لیپید خام به حدود ۱۰ درصد رسید. در این پژوهش، استخراج لیپید خام روی ریزجلبک با دیگر پژوهش‌ها هم‌خوانی دارد و تا حدودی نیز بهتر است.

$$w_i^I \gamma_i^I = w_i^{II} \gamma_i^{II} \quad (5)$$

w_i و γ_i ، به ترتیب کسر وزنی و ضریب فعالیت جز i در هر فاز هستند و بالانویس‌های I و II، به ترتیب به فاز پالایش و فاز استخراج اختصاص دارند. از رابطه (۵) می‌توان به رابطه‌ای برای توزیع ترکیب بین فازها رسید:

$$w_i^{II} = (\gamma_i^I / \gamma_i^{II}) w_i^I \quad (6)$$

یک مدل ترمودینامیکی معروف، مدل UNIQUAC [۲۷]، طبق روابط زیر برای بیان ضرایب فعالیت استفاده شد:

$$\ln \gamma_i = (1 - V_i + \sum_j V_j) - \frac{z}{2} q_i \left(1 - \frac{V_i}{F_i} + \sum_j \frac{V_j}{F_j} \right) + q_i \left(1 - \sum_j \frac{q_j x_j \tau_{ji}}{\sum_j q_j x_j} - \sum_j \frac{q_j x_j \tau_{ji}}{\sum_k q_k x_k \tau_{kj}} \right) \quad (7)$$

$$V_i = \frac{r_i}{\sum_j q_j x_j} \quad (8)$$

$$F_i = \frac{q_i}{\sum_j q_j x_j} \quad (9)$$

$$\tau_{ij} = \exp \left(-\frac{\Delta a_{ij}}{T} \right) \quad (10)$$

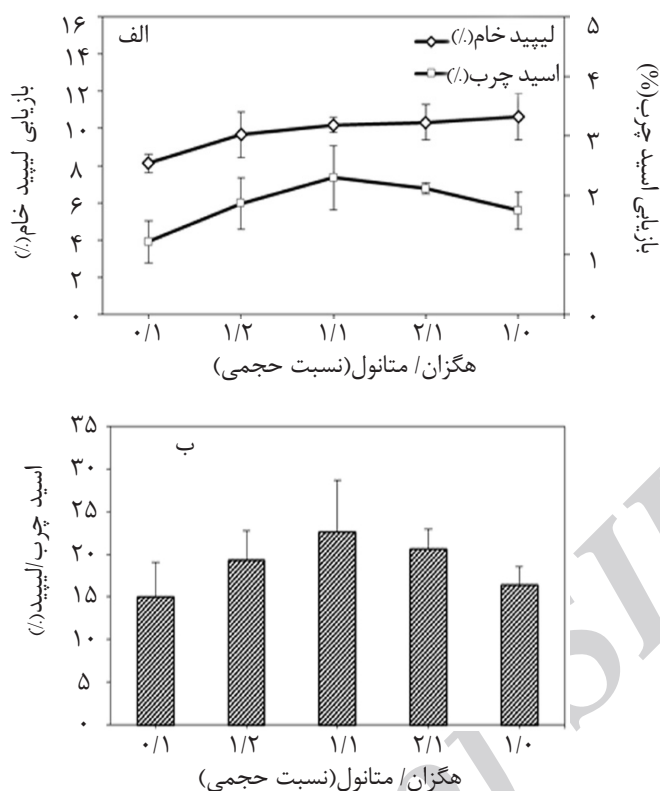
$$r_i = \sum_j w_j \sum_k v_k^{(i)} R_k \quad (11)$$

$$q_i = \sum_j w_j \sum_k v_k^{(i)} Q_k \quad (12)$$

z، عدد همسایگی^۱ (بین ۶ و ۱۲)؛ q_i مساحت نسبی سطح برای جزء i؛ v_i حجم نسبی وان‌دروالس برای جزء i؛ V_i کسر حجمی برای جزء i به‌ازای یک مول مخلوط؛ F_i کسر مساحت سطح جزء i؛ Δa_{ij} پارامتر برهم‌کنش جفت j-i؛ $v_k^{(i)}$ تعداد گروه‌های نوع k در مخلوط i؛ R_k حجم نسبی گروه k و Q_k مساحت نسبی گروه k است.

این مدل پارامترهای برهم‌کنش متنوع بین هر جفت دارد که معمولاً قابل تنظیم در نظر گرفته می‌شوند. این نکته را باید در نظر گرفت که در این پژوهش، پارامترهای برهم‌کنش جفت‌های هگزان/ متانول، متانول/ آب و هگزان/ آب از منابع علمی به آمدند [۲۸]. همه اسیدهای چرب یک بخش جفت در نظر گرفته می‌شوند و پارامترهای برهم‌کنش

1. Coordination Number
2. Average Absolute Deviation (%)
3. Non-Disruption
4. Autoclaving
5. Bead-Beating
6. Microwaves
7. Sonication
8. Osmotic Shock



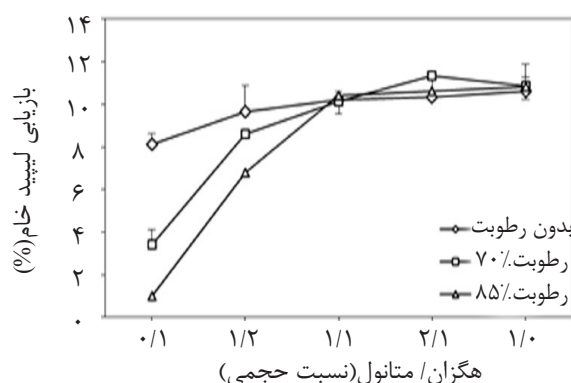
شکل ۱ الف) بازیابی لیپید خام و اسید چرب از زیست توده خشک؛ ب) تعیین نسبت اسید چرب/ لیپید خشک با استفاده از نسبت های مختلف مخلوط هگزان:متانول.

است که علت آن می تواند محدودیت تماس هگزان آب گریز و زیست توده پراکنده در فاز آبی باشد. برای هگزان:متانول با نسبت ۱:۲، استخراج لیپید خام موثرتر از هگزان خالص است. در حالت استفاده از این مخلوط حلال، بازده استخراج لیپید خام از زیست توده جلبک مرطوب پایین تر از زیست توده خشک است، ولی کاهش مقدار لیپید خام کم تر از استخراج با استفاده از هگزان خالص است چون زیست توده مرطوب می تواند با مخلوط حلال هگزان: متانول با نسبت ۱:۲ مخلوط شود که ناشی از امتزاج پذیری متانول و آب است. کاهش عمل کرد استخراج لیپید برای رطوبت ۸۵٪ شدیدتر است. برای زیست توده با رطوبت ۷۰٪ اختلاف کمی مشاهده می شود، ولی بازیابی لیپید خام از زیست توده با رطوبت ۸۵٪ تفاوتی واضح با زیست توده خشک دارد. وقتی مخلوط هم حجم هگزان: متانول استفاده شود، بازیابی های لیپید خام از زیست توده های خشک و مرطوب یکسان اند.

بازیابی $2/30 \pm 0/53$ اسید چرب به استفاده از مخلوط هم حجم هگزان: متانول به عنوان حلال مربوط است، زیرا حلال ناقطبی از استخراج لیپیدهای متصل به غشای سلولی ناتوان است و حلال با قطبیت بالا نمی تواند تمام تری اسیل گلیسرولها را در خود حل کند. بیشترین نسبت اسید چرب/ لیپید به مخلوط هم حجم متانول: هگزان تعلق دارد که نشان دهنده موثر بودن مخلوط حلال است.

اثر رطوبت بر فرآیند استخراج

اثر رطوبت زیست توده بر عمل کرد استخراج لیپید در نظر گرفته شده است. لیپید از ریز جلبک مرطوب، با همان نسبت های مخلوط حلال قطبی و غیرقطبی به کار رفته برای زیست توده خشک، استخراج شد. نتایج استخراج لیپید خام در دو رطوبت ۷۰ و ۸۵٪ در شکل ۲ آورده شده اند. بازده استخراج لیپید خام با استفاده از هگزان خالص برای ریز جلبک مرطوب به شدت کاهش می یابد. اختلاف بازیابی لیپید خام از زیست توده های خشک و مرطوب کاملاً مشخص



شکل ۲ نتایج استخراج لیپید خام از ریز جلبک خشک و مرطوب با نسبت‌های مختلف مخلوط هگزان:متانول.

چرب را در همه نسبت‌های مخلوط حلال کاهش می‌دهد، اما وقتی هگزان بخش غالب مخلوط حلال است، این کاهش شدیدتر می‌شود. همانند زیست‌توده خشک، بیش‌ترین بازیابی حلال با استفاده از مخلوط هم‌حجم هگزان: متانول به دست آمد که برای رطوبت ۷۰ و ۸۵٪ زیست‌توده به ترتیب $۲/۲ \pm ۰/۳۳$ و $۰/۹۵ \pm ۰/۱۶$ بود.

اثر دما بر عمل‌کرد استخراج

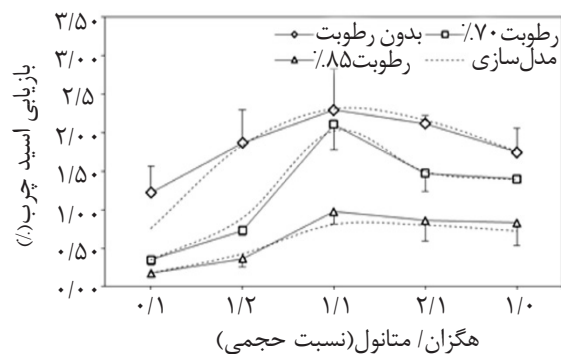
برای تعیین اثر دما، لیپید از ریز جلبک مرطوب با رطوبت ۷۰ درصد در دماهای ۲۵، ۳۵، ۴۵، ۵۵ و ۶۵°C ، با استفاده از مخلوط هم‌حجم هگزان: متانول، استخراج شد. نتایج استخراج لیپید خام و اسیدهای چرب در شکل ۴ نشان داده شده‌اند. همان‌گونه که دیده می‌شود، افزایش دما به افزایش بازیابی لیپید خام و اسید چرب، هر دو، می‌انجامد که علت آن را می‌توان افزایش جنب و جوش مولکولی و در نتیجه انرژی جنبشی در دماهای بالاتر دانست که به افزایش انتقال جرم می‌انجامد. سیر صعودی عمل‌کرد استخراج در دمای بالاتر شدیدتر می‌شود طوری که در دمای ۶۵°C ، بازیابی لیپید خام و اسید چرب به ترتیب ۱۷ و ۳۶٪ نسبت به دمای ۲۵°C افزایش یافته است.

مدل‌سازی ترمودینامیکی

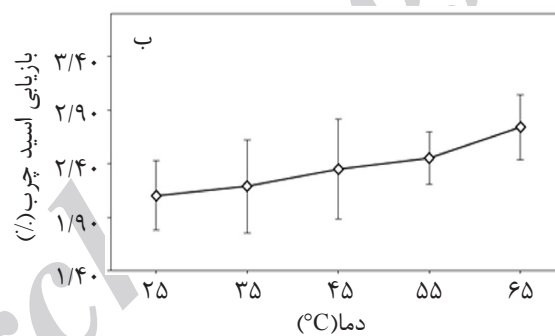
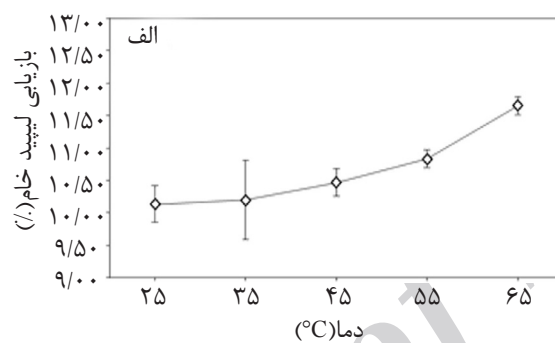
مدل UNIQUAC برای تخمین ضرایب فعالیت فرآیندهای استخراج استفاده شد.

با استفاده از مخلوط حلال‌های با نسبت بالاتر متانول(هگزان:متانول با نسبت ۲:۱ و ۱:۰)، رفتاری مشابه مشاهده می‌شود. از این رو، مقدار رطوبت زیست‌توده بر بازده استخراج لیپید خام تأثیری ندارد. نتایج استخراج اسید چرب از زیست‌توده‌های خشک و مرطوب با رطوبت ۷۰ و ۸۵٪ در شکل ۳ با هم مقایسه شده‌اند و ترکیب اسید چرب آزاد در Error! Reference source not found گزارش شده است.

نتایج نشان دادند که در صورت وجود رطوبت در زیست‌توده، بازیابی اسید چرب کاهش یافته است، ولی پروفایل اسیدهای چرب آزاد برای مخلوط حلال‌های مختلف تقریباً مشابه ریز جلبک خشک است. وقتی از هگزان خالص به‌عنوان حلال استفاده می‌شود، بازیابی اسید چرب از زیست‌توده خشک اختلاف زیادی با زیست‌توده مرطوب دارد. بازده پایین هگزان خالص در استخراج لیپید خام به بازیابی پایین اسید چرب منجر شد که بیانگر این اختلاف زیاد است. وقتی نسبت‌های دیگر مخلوط حلال هگزان: متانول استفاده می‌شوند نیز بازده استخراج اسید چرب از زیست‌توده مرطوب کاهش می‌یابد. علاوه بر این، اختلاف در بازیابی اسید چرب برای بیش‌تر نقاط داده مشخص است که دلیلش حضور آب است که نرخ انتقال جرم تری‌اسیل‌گلیسرول در حلال استخراج را کاهش می‌دهد. افزایش رطوبت از ۷۰ به ۸۵٪ بازیابی اسید



شکل ۳ داده‌های تجربی و تخمینی برای بازیابی اسید چرب از ریزجلبک خشک و مرطوب با نسبت‌های مختلف مخلوط هگزان:متانول.



شکل ۴ تاثیر دما بر بازیابی الف) لیپید خام و ب) اسید چرب از ریزجلبک مرطوب با رطوبت ۰.۷٪ با استفاده از مخلوط هم‌حجم هگزان:متانول.

گزارش شده‌اند. نتایج تخمین بازیابی اسید چرب در شکل ۳ ترسیم شده است.

همان‌گونه که دیده می‌شود، مدل پیشنهادی می‌تواند به‌دقت بازیابی اسید چرب را در مقادیر مختلف رطوبت زیست‌توده و با استفاده از مخلوط‌های مختلف حلال تخمین بزند. این مقدار برای مدل پیشنهادی $AAD < 8/65\%$ است که موثر بودن مدل ترمودینامیکی را در تخمین بازیابی اسید چرب در طول فرآیند استخراج نشان می‌دهد.

داده‌های تجربی برای بازیابی اسید چرب که در جدول ۱ گزارش شده‌اند برای برازش مدل استفاده شدند. پارامترهای تطبیق‌پذیر مدل پیشنهادی با استفاده از حداقل‌سازی رابطه (۱۳) تنظیم شدند که در جدول ۲ نیز گزارش شده‌اند. پارامترها با استفاده از الگوریتم ژنتیک در نرم‌افزار MATLAB تخمین زده شدند.

پارامترهای برهم‌کنش جفت‌های هگزان/متانول، متانول/آب و هگزان/آب با استفاده از منابع علمی به دست آمدند [۲۸] که آنها هم در جدول ۲

جدول ۱ بازیابی لیپید خام، اسید چرب و ترکیب اسید چرب لیپید استخراج شده از زیست توده خشک و مرطوب.										
ترکیب درصد اسید چرب								درصد بازیابی لیپید خام	درصد بازیابی لیپید خام	هگزان:متانول (حجمی)
C ₂₀ :0	C ₁₈ :3	C ₁₈ :2	C ₁₈ :1	C ₁₈ :0	C ₁₆ :2	C ₁₆ :0	C ₁₄ :0			
زیست توده خشک										
۰/۵±۳/۶	۲/۵±۴۷/۰	۳/۶±۱۱/۹	۰/۳±۱/۹	۰/۲±۰/۳	۰/۴±۰/۶	۳/۲±۲۹/۵	۲/۲±۵/۳	۰/۳۵±۱/۲۷	۰/۵۰±۸/۲۰	۰:۱
۰/۸±۴/۰	۲/۳±۴۷/۳	۲/۵±۸/۹	۰/۲±۱/۹	۰/۱±۰/۴	۰/۳±۱/۱	۷/۶±۳۰/۲	۲/۸±۶/۳	۰/۴۴±۱/۸۸	۱/۲۲±۹/۸۰	۱:۲
۰/۱±۴/۲	۲/۲±۴۰/۹	۰/۷±۴/۹	۰/۲±۲/۱	۰/۲±۰/۴	۰/۴±۱/۰	۱/۰±۳۹/۴	۱/۹±۷/۲	۰/۵۳±۲/۳۰	۰/۴۰±۱۰/۲۰	۱:۱
۰/۱±۴/۲	۰/۵±۴۲/۸	۱/۰±۷/۴	۰/۲±۲/۱	۰/۱±۰/۴	۰/۱±۱/۲	۰/۶±۳۴/۸	۰/۸±۷/۰	۰/۱۰±۲/۱۲	۰/۹۵±۱۰/۰۰	۲:۱
۰/۶±۴/۰	۲/۳±۴۳/۸	۲/۴±۶/۷	۰/۱±۲/۴	۰/۱±۰/۲	۰/۱±۱/۲	۴/۳±۳۳/۸	۱/۵±۷/۸	۰/۳۱±۱/۷۷	۰/۵۰±۱۱/۳۰	۱:۰
زیست توده مرطوب با رطوبت ۷۰ درصد										
۲/۰±۵/۷	۳/۰±۳۳/۹	۱/۴±۹/۲	۱/۴±۵/۱	-	۰/۸±۱/۵	۱/۶±۴۲/۰	۰/۶±۲/۷	۰/۰۵±۰/۲۵	۰/۷۱±۳/۶۰	۰:۱
۱/۵±۸/۱	۱/۷±۴۱/۵	۱/۳±۵/۳	۰/۱±۱/۱	۰/۱±۰/۳	۰/۷±۱/۵	۶/۴±۳۴/۷	۳/۸±۷/۵	۰/۰۶±۰/۷۲	۰/۱۴±۸/۷۰	۱:۲
۱/۷±۶/۰	۰/۹±۳۹/۰	۲/۶±۷/۱	۰/۲±۱/۸	۰/۲±۰/۳	۰/۴±۱/۱	۱/۹±۳۸/۰	۱/۲±۶/۷	۰/۳۳±۲/۰۲	۰/۲۸±۱۰/۰۰	۱:۱
۰/۷±۳/۸	۱/۳±۳۸/۹	۰/۳±۵/۲	۰/۱±۱/۸	۰/۱±۰/۶	۰/۲±۱/۴	۴/۵±۴۰/۲	۰/۶±۸/۱	۰/۲۴±۱/۴۶	۰/۱۴±۱۱/۵۰	۲:۱
۰/۴±۴/۰	۱/۷±۳۶/۸	۰/۱±۵/۳	۰/۵±۲/۴	۰/۱±۰/۴	۰/۳±۱/۲	۰/۳±۴۰/۱	۱/۰±۹/۷	۰/۰۴±۱/۴۰	۰/۴۲±۱۰/۹۰	۱:۰
زیست توده مرطوب با رطوبت ۸۵ درصد										
۱/۳±۸/۲	۳/۴±۳۲/۵	۱/۴±۴/۱	۱/۳±۴/۲	-	۰/۹±۳/۵	۱/۳±۴۶/۲	۱/۳±۴/۲	۰/۰۳±۰/۱۷	۰/۱۴±۱/۰۰	۰:۱
۰/۷±۸/۷	۵/۹±۴۰/۲	۱/۳±۲/۲	۰/۳±۱/۸	۰/۱±۰/۴	۰/۸±۱/۵	۶/۲±۳۹/۶	۰/۶±۸/۵	۰/۱۱±۰/۳۹	۰/۱۴±۶/۷۰	۱:۲
۲/۹±۷/۲	۲/۰±۳۵/۹	۰/۸±۴/۸	۰/۴±۱/۴	۰/۱±۰/۶	۰/۹±۰/۶	۳/۸±۳۹/۳	۲/۸±۶/۰	۰/۱۶±۰/۹۵	۰/۸۵±۱۰/۴۰	۱:۱
۲/۴±۷/۱	۵/۶±۳۴/۸	۰/۳±۵/۰	۰/۵±۲/۲	۰/۱±۰/۴	۰/۸±۱/۸	۰/۲±۳۶/۴	۱/۶±۸/۴	۰/۲۷±۰/۸۶	۰/۳۷±۱۰/۷۰	۲:۱
۱/۰±۵/۸	۲/۰±۳۶/۹	۱/۳±۶/۸	۱/۷±۳/۴	۰/۲±۱/۰	۰/۵±۱/۱	۷/۹±۳۹/۵	۱/۴±۸/۵	۰/۳۰±۰/۸۴	۰/۵۵±۱۰/۸۰	۱:۰

جدول ۲ پارامترهای تطبیق پذیر مدل UNIQUAC.

به دست آمده از منبع علمی ۲۸		به دست آمده از حداقل سازی رابطه (۱۳)	
Δa_{12}	۶۱۳/۴۷۷	Δa_{14}	۲۳۹۷/۲۷۸
Δa_{13}	۵/۳۲۶-	Δa_{24}	۷۶۴/۴۳۶
Δa_{23}	۵۰۳/۸۶۱-	Δa_{34}	۲۰۴۳/۶۹۴
Δa_{21}	۱۵۴/۲۹۵	Δa_{41}	۱۰/۱۸۹۵
Δa_{31}	۵۴۲/۰۸۱	Δa_{42}	۳۹۲/۵۱۵
Δa_{32}	۷۵۵/۴۶۴	Δa_{43}	۷۲۶/۲۸۰

نتیجه گیری

مرطوب ریز جلبک کلرلا ولگاریس استفاده شد. اثر نسبت مخلوط هگزان:متانول بر بازیابی لیپید خام و اسیدهای چرب بررسی شد. نتایج استخراج از زیست توده خشک نشان دادند که مقدار استخراج لیپید خام با افزایش سهم متانول در نسبت مخلوط حلال افزایش می یابد. مقدار استخراج لیپید از زیست توده خشک، در مقایسه با نتایج گزارش شده در دیگر مقالات، معقول بود. با این حال، بیشترین

در این پژوهش، پس از چندین مرحله کشت تحت استرس با استفاده از سدیم استات به عنوان منبع کربنی و برداشت ریز جلبک کلرلا ولگاریس و رسیدن به مقدار مناسب زیست توده برای انجام آزمایش های استخراج، مخلوط حلال آلی هگزان، به عنوان حلال غیرقطبی، و متانول، به عنوان حلال قطبی، برای استخراج لیپید از زیست توده خشک و

علائم و نشانه‌ها

- a_i : فعالیت جزء (i)
- f_i : کسر مساحت سطح جزء (i)
- g_i : مساحت نسبی سطح جزء (i)
- Q_k : مساحت نسبی گروه (k)
- Γ_i : حجم نسبی وان دروالس برای جزء (i)
- N : تعداد نقاط تجربی؛
- R : مقدار بازیابی؛
- R_k : حجم نسبی گروه k
- v_k^i : تعداد گروه‌های نوع k در مخلوط (i)
- V_i : کسر حجمی برای جزء i به‌ازای یک مول مخلوط؛
- w_i : کسر وزنی جزء (i)
- z : عدد همسایگی؛
- Δa_{ij} : پارامتر برهم‌کنش جفت i-j
- γ_i : ضریب فعالیت جزء (i)
- Q : تابع هدف
- زیرنویس fa مربوط به اسید چرب
- بالانویس $calc$: برای داده‌های محاسباتی
- بالانویس $expt$: برای داده‌های تجربی؛
- بالانویس I : فاز پالایش
- بالانویس II : برای فاز استخراج

بازیابی اسید چرب در استفاده از مخلوط هم‌حجم هگزان: متانول برای استخراج به دست آمد. وقتی که هگزان سهم بیش‌تری در مخلوط حلال دارد، حضور آب در زیست‌توده جلبک به کاهش استخراج لیپید خام می‌انجامد؛ ولی، وقتی متانول بخش غالب مخلوط حلال باشد، تغییر مقدار استخراج لیپید خام اندک است. همچنین عمل‌کرد استخراج اسید چرب با حضور آب در زیست‌توده کاهش می‌یابد. مشابه با استخراج از زیست‌توده خشک، بیش‌ترین مقدار بازیابی اسید چرب با اعمال مخلوط هم‌حجم هگزان: متانول به‌عنوان حلال به دست آمد. بنابراین، بهترین عمل‌کرد استخراج از آن مخلوط هم‌حجم هگزان: متانول است. همچنین اثر دما بر عمل‌کرد استخراج بررسی شد و نتایج نشان دادند مقدار بازیابی لیپید خام و اسید چرب با افزایش دما بهبود می‌یابد. از مدل‌سازی ترمودینامیکی برای بررسی اثر نسبت مخلوط حلال هگزان: متانول و مقدار رطوبت بر عمل‌کرد استخراج استفاده شد. نتایج نشان دادند که مدل‌ها می‌توانند به‌دقت بازیابی اسید چرب را با $8/65$ درصد $AAD <$ درصد تخمین بزنند.

مراجع

- [1]. Medina C. H., MacCoitir B., Sattar H., Slatter D. J. F., Phylaktou H. N., Andrews G. E. and Gibbs B. M., "Comparison of the explosion characteristics and flame speeds of pulverised coals and biomass in the ISO standard 1 m(3) dust explosion equipment," Fuel. Vol. 151, pp. 91 – 101, 2015.
- [2]. Shahid E. M. and Jamal Y., "A review of biodiesel as vehicular fuel," Renewable and Sustainable Energy Reviews, Vol. 12, pp. 2484–2494, 2008.
- [3]. Kaercher J. A., Schneider R. d. C. d. S., Klamt R. A., da Silva W. L. T., Schmatz W. L., da Silva Szarblewski M. and Machado E. L., "Optimization of biodiesel production for self-consumption: considering its environmental impacts," Journal of Cleaner Production, Vol. 46, pp. 74-82, 2013.
- [4]. Srithar K., Arun Balasubramanian K., Pavendan V. and Ashok Kumar B., "Experimental investigations on mixing of two biodiesels blended with diesel as alternative fuel for diesel engines," Journal of King Saud University-Engineering Sciences, In Press Corrected Proof — Note to users.,

- [5]. Sánchez Arreola E., Martín Torres G., Lozada Ramírez J. D., Hernández L. R., Bandala-González E. R. and Bach H., "Biodiesel production and de-oiled seed cake nutritional values of a mexican edible *Jatropha curcas*," *Renewable Energy*, Vol. 76, pp. 143-147, 2015.
- [6]. Tarakowski R., Malanowski A., Rostocki A. J., Kowalczyk M., Modzelewski P., Ptasznik S. and Siegoczyński R. M., "Could RME biodiesel be potentially harmful to modern engine? solidification process in RME," *Fuel*, Vol. 146, pp. 28-32, 2015.
- [7]. Savaliya M. L., Dholakiya B. Z., "Silica supported microporous melamine tri sulfonic acid catalyst towards biodiesel fuel production from waste cooking oil and utilization of side stream," *Applied Catalysis A: General*, Vol. 494, pp. 12-21, 2015.
- [8]. Mata T. M., Martins A. A. and Caetano N. S., "Microalgae for biodiesel production and other applications: a review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 14, pp. 217-232, 2010.
- [9]. Rawat I., Ranjith Kumar R., Mutanda T. and Bux F., "Biodiesel from microalgae: a critical evaluation from laboratory to large scale production," *Applied Energy*, Vol. 103, pp. 444-467, 2013.
- [10]. Mackay S., Gomes E., Holliger C., Bauer R. and Schwitzguébel J. P., "Harvesting of *Chlorella sorokiniana* by co-culture with the filamentous fungus *Isaria fumosorosea*: a potential sustainable feedstock for hydrothermal gasification," *Bioresource Technology*, Vol. 185, pp. 353-361, 2015.
- [11]. Lee J. Y., Yoo C., Jun S. Y., Ahn C. Y. and Oh H. M., "Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae," *Bioresource Technology*, Vol. 101, pp. 75-77, 2010.
- [12]. Halim R., Danquah M. K. and Webley P. A., "Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: a review," *Biotechnology Advances*, Vol. 30, pp. 709-732, 2012.
- [13]. Hita Peña E., Robles Medina A., Jiménez Callejón M. J., Macías Sánchez M. D., Esteban Cerdán L., González Moreno P. A. and Grima E. M., "Extraction of free fatty acids from wet *Nannochloropsis gaditana* biomass for biodiesel production," *Renewable Energy*, Vol. 75, pp. 366-373, 2015.
- [14]. Medina A. R., Grima E. M., Giménez A. G. and González M. J. I., "Downstream processing of algal polyunsaturated fatty acids," *Biotechnology Advances*, Vol. 16, pp. 517-580, 1998.
- [15]. Islam M. A., Brown R. J., O'Hara I., Kent M. and Heimann K., "Effect of temperature and moisture on high pressure lipid/oil extraction from microalgae," *Energy Conversion and Management*, Vol. 88, pp. 307-316, 2014.
- [16]. Medina A. R., Grima E. M., Giménez A. G. and Gonzalez M., "Downstream processing of algal polyunsaturated fatty acids," *Biotechnology Advances*, Vol. 16, pp. 517-580, 1998.
- [17]. Halim R., Gladman B., Danquah M. K. and Webley P. A., "Oil extraction from microalgae for biodiesel production," *Bioresource Technology*, Vol. 102, pp. 178-185, 2011.
- [18]. Borowitzka M. A. and Moheimani N. R., "Algae for biofuels and energy," Springer, pp. 187-206, 2013.
- [19]. Liu C. Z., Zheng S., Xu L., Wang F. and Guo C., "Algal oil extraction from wet biomass of *Botryococcus braunii* by 1, 2-dimethoxyethane," *Applied Energy*, Vol. 102, pp. 971-974, 2013.
- [20]. Harrison R. G., Todd P. W., Rudge S. R. and Petrides D. P., "Bioprocess engineering," Oxford University Press, pp. 520-524, 2015.

- [21]. Hakim M., Abedini Najafabadi H., Pazuki G., Vossoughi M., "Novel Approach for Liquid-Liquid Phase Equilibrium of Biodiesel (Canola and Sunflower) + Glycerol + Methanol," Industrial & Engineering Chemistry Research, Vol. 53, pp. 855-864, 2014, 2013.
- [22]. Nautiyal P., Subramanian K. A., Dastidar M. G., "Kinetic and Thermodynamic Studies on Biodiesel Production from *Spirulina Platensis* Algae Biomass using Single Stage Extraction-Transesterification Process," Fuel, Vol. 135, pp. 228-234, 2014.
- [23]. Abedini Najafabadi H., Pazuki G., Vossoughi M., "Estimation of Biodiesel Physical Properties Using Local Composition Based Models," Industrial & Engineering Chemistry Research, Vol. 51, pp. 13518-13526, 2012.
- [24]. Stein J. R., "Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements," Vol. 1: CUP Archive, 1979.
- [25]. Bligh E. G., Dyer W. J., "A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification," Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, Vol. 37, pp. 911-917, 1959.
- [26]. Lamers P. P., van de Laak C. C., Kaasenbrood P. S., Lorier J., Janssen M., De Vos R. C., Bino R.J., Wijffels R.H., "Carotenoid and Fatty Acid Metabolism in Light-Stressed *Dunaliella Salina*," Biotechnology and Bioengineering, Vol. 106, pp. 638-648, 2010.
- [27]. Abrams D. S., Prausnitz J. M., "Statistical Thermodynamics of Liquid Mixtures: A New Expression for the Excess Gibbs Energy of Partly or Completely Miscible Systems," AIChE Journal, Vol. 21, pp. 116-128, 1975.
- [28]. Iglesias M., Gonzalez-Olmos R., Salvatierra D., Resa J., "Analysis of Methanol Extraction from Aqueous Solution by *n*-hexane: Equilibrium Diagrams as A Function of Temperature," Journal of Molecular Liquids, Vol. 130, pp. 52-58, 2007.

Archive of SID