ریزجلبک‌ها و عوامل مؤثر بر کشت آنها

مهدخت ارشدی[1]، سهیلا یغمایی[2*]، سید مرتضی ضمیر[3]

۱- دانشجوی دکتری مهندسی شیمی- بیوتکنولوژی، دانشگاه صنعتی شریف

۲- استاد مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی شریف

۳- استادیار مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۲/۱۹

پیام‌نگار: Yaghmaei@sharif.edu

چکیده

ریزجلبک‌ها از انرژی نور خورشید برای کاهش کربن‌دی‌اکسید و تبدیل آن به زیست توده‌ای (توده جرمی) با ارزش حرارتی زیاد، استفاده می‌کنند. یکی از خواص مهم ریزجلبک‌ها توانایی فوتوسنتز هر یک از سلول‌های ریزجلبک است. ریزجلبک‌ها نسبت به گیاهان خاکی بسیار سریع‌الرشدند و می‌توانند انرژی نور خورشید را با کارایی ۱۰ تا ۵۰ برابر سایر گیاهان خاکزی به دام اندازند و زیست تودهٔ فراوانی تولید کنند. در چندین دهه اخیر، کاربردهای فراوانی برای ریزجلبک‌ها بیان شده است. در مقدمه این پژوهش ریزجلبک‌ها، مزایا، اهمیت و کاربردهای صنعتی آن‌ها بیان، و سپس در بخش بعدی انواع کشت آن‌ها بررسی شده است. بخش مهمی از این مقاله نیز به بررسی عوامل مؤثر در کشت آن‌ها اختصاص یافته است. کربن، حذف اکسیژن، توازن بین کربن دی‌اکسید و اکسیژن و مبادله گاز، نیتروژن، ریزمغذی‌ها، اختلاط، نور، دما، pH، فشار و شوری، از عوامل مؤثر در کشت ریزجلبک به‌شمار می‌آیند که به تفصیل بررسی شده‌اند. سترون‌سازی و قابلیت تمیزکاری نیز عوامل مهم در ساخت فوتوزیست‌راکتورند که برای یک کشت مؤثر باید مورد توجه قرار گیرند.

کلیدواژه‌ها: ریزجلبک، انواع کشت ریزجلبک، محیط کشت ریزجلبک، شرایط رشد ریزجلبک.

۱. مقدمه

جلبک‌ها یکی از بزرگترین اندامگانهای روی زمین به‌شمار می‌آیند و می‌توانند در شرایط بسیار متفاوتی رشد کنند[۱]. خاصیت منحصر به فردی که سبب تمایز جلبک‌ها از سایر گیاهان می‌شود، حضور کلروفیل[1] و توانایی فوتوسنتز در هر یک از سلول‌های جلبک است که به عملیات آسان تولید زیست توده و امکان تحقیقات ژنتیکی و سوخت‌وسازی در یک دوره کوتاه مدت نسبت به سایر گیاهان می‌انجامد[۲]. از آنجا که ریزجلبک‌ها از انرژی نور خورشید برای کاهش کربن‌دی‌اکسید (یعنی جذب آن از محیط) و تبدیل آن به زیست توده‌ای با ارزش حرارتی زیاد، استفاده می‌کنند، بسیار جذاب و مورد توجه‌اند[۳]. ریزجلبک‌ها نسبت به گیاهان خاکی از رشد سریعی برخوردارند و به این ترتیب بهره بالاتری در تثبیت کربن‌دی‌اکسید دارند و می‌توانند انرژی نور خورشید را با کارایی ۱۰ تا ۵۰ برابر سایر گیاهان خاکزی به دام اندازند[۴] و زیست تودهٔ

---

* تهران، دانشگاه تربیت مدرس

1. Chlorophyll

فراوانی تولید کنند[۵]. برای کشت ریزجلبک‌ها نیازی به زمین‌های زراعی نیست و می‌توانند از پسماندها و مواد زائد مانند گازهای دودکش و فاضلاب‌ها به عنوان منبع مغذی استفاده کنند[۶].

در چندین دهه گذشته، پژوهشگران بسیاری توانایی جلبک‌ها را در تولید محصولات زیستی جدید و کاربردهای ممکن زیست‌محیطی آنها را بررسی کرده‌اند. برخی از گونه‌های جلبک در مقیاس صنعتی برای تولید پروتئین‌های تک‌سلولی، پلی‌ساکاریدها، ترکیبات غذایی سالم مانند بسپار اسیدهای چرب غیر اشباع و ویتامین‌ها در صنعت دارویی و صنایع رژیم غذایی تولید می‌شوند. در سال‌های اخیر نیز علاقه زیادی به تولید بسیاری از مواد شیمیایی زیستی در پزشکی و درمان‌های بالینی از جلبک‌ها، معطوف شده است که بسیاری از این مواد با سنتز شیمیایی قابل استخراج نیستند[۷-۹]. تلاش‌های بسیاری نیز برای به‌کارگیری جلبک‌ها در حوزه‌های کاربردی زیست‌محیطی، شامل تصفیه فاضلاب و تجمع فلزات سنگین[۱۱و۱۰] به‌عمل آمده است. علاوه بر این، ریزجلبک‌ها در کنترل آلودگی‌ها نیز بسیار مؤثرند[۱]. با افزایش هزینه انرژی کاربردهای آن به تثبیت کربن‌دی‌اکسید و تولید گاز هیدروژن نیز تعمیم یافته است[۱۲-۱۶]. از سوی دیگر، در سال‌های اخیر با توجه به خطر پایان‌یافتن سوخت‌های فسیلی و البته مشکلات زیست‌محیطی ناشی از سوزاندن آن‌ها محققان بسیاری تولید سوخت‌های زیستی را بررسی کرده‌اند. برخی از گونه‌های ریزجلبک اخیراً برای تولید سوخت‌های زیستی مانند زیست‌سوخت، زیست‌اتانول و زیست‌هیدروژن بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند[۱]. تولید این سوخت‌های زیستی از ریزجلبک‌ها امکان بالقوهٔ قدرتمندی برای گسترش انرژی تجدیدپذیر است. متأسفانه هزینه تولید ریزجلبک‌ها به‌عنوان زیست‌سوخت بسیار گزاف است که سبب می‌شود امکان تجاری‌سازی آن دست ندهد[۵].

برای کشت مناسب ریزجلبک و بهره‌وری از مزایای آن، شناخت انواع کشت ریزجلبک و نحوه کشت آن ضروری و اجتناب‌ناپذیر است. با توجه به منابع بالقوه موجود برای بهره‌وری از این ریزاندامگان پرفایده در ایران، لازم است ابتدا تحقیقات جامع و گسترده‌ای برای شناخت آن‌ها انجام شود. در این تحقیق سعی شده است اطلاعات لازم برای انجام کشت ریزجلبک گردآوری شود. ابتدا تمامی انواع کشت ریزجلبک‌ها بررسی و سپس همه شرایط لازم برای کشت و نگهداری آن‌ها توصیف شده است.

۲. نوع کشت ریزجلبک

شاخصه‌های رشد و ترکیب ریزجلبک‌ها به طور محسوسی به شرایط کشت بستگی دارد. به طور کلی، چهار نوع شرط کشت برای ریزجلبک‌ها وجود دارد: کشت نورپرورد[۱]، کشت دگرپرورد[۲]، کشت آینده‌پرورد[۳] و کشت نوردگرپرورد[۴] [۱۷].

۲-۱ کشت نورپرورد

کشت نورپرورد یعنی ریزجلبک‌ها از کربن غیرآلی مانند کربن‌دی‌اکسید یا بی‌کربنات استفاده می‌کنند[۱۸]. کشت نورپرورد زمانی اتفاق می‌افتد که ریزجلبک‌ها از یک منبع نوری مانند نور خورشید به عنوان منبع انرژی و از کربن غیرآلی مانند کربن‌دی‌اکسید به عنوان منبع کربن استفاده می‌کنند تا انرژی شیمیایی مورد نیاز فتوسنتز را فراهم کنند[۱۹]. این نوع کشت معمول‌ترین روش کشت ریزجلبک‌هاست[۲۰-۲۲]. بسته به گونه ریزجلبک محتوای چربی ریزجلبک‌ها از ۵٪ تا ۶۸ ٪ فرق می‌کند[۲۳]. معمولاً از محدودیت نیتروژن یا مواد مغذی برای افزایش محتوای چربی بهره گرفته می‌شود[۲۴]. بنابراین، دستیابی به محتوای چربی معمولاً با کاهش زیست توده همراه است[۲۵]. در این نوع کشت در قیاس با سایر انواع کشت، مشکل آلودگی محیط کشت کم‌رنگ‌تر است. بنابراین، در کشت‌های بیرونی در بزرگ مقیاس مانند حوضچه‌های روباز، معمولاً از کشت نورپرورد استفاده می‌شود[۲۴]. بیشترین بهره‌وری[۵] چربی حدود ۱۷۹ mg/l/d گزارش شده است[۲۵].

۲-۲ کشت دگرپرورد

برخی از گونه‌های ریزجلبک می‌توانند علاوه بر شرایط نورپرورد در شرایط دیگری نیز رشد کنند، برخی از آن‌ها مانند باکتری‌ها از کربن آلی می‌توانند در شرایط تاریکی نیز استفاده کنند. یعنی، بعضی ریزجلبک‌ها در حضور و یا غیاب نور می‌توانند به طور مستقیم از کربن آلی استفاده کنند. به طور کلی، شرایطی که در آن ریزجلبک‌ها از کربن آلی هم به عنوان منبع انرژی و هم منبع کربنی استفاده می‌کنند کشت دگرپرورد نامیده می‌شود[۱۷]. این نوع

1. Phototrophic
2. Hetrotrophic
3. Mixotrophic
4. Photohetrotrophic
5. Productivity

کشت می‌تواند از مشکلاتی که ناشی از محدودیت نور است و باعث کاهش زیست توده در نورزیست‌راکتورهای بزرگ مقیاس در کشت نورپرورد می‌شود، جلوگیری کند[۱۹]. ریزجلبک‌ها می‌توانند تنوعی از منابع کربن آلی مانند گلوکز، استات، گلیسرول، فروکتوز، لاکتوز، گالاکتوز و مانانوز را برای رشد مصرف کنند. بیشترین بهره‌وری چربی در این نوع کشت mg/l/d ۳۷۰۰ گزارش شده است. استفاده از رشد دگرپرورد، منجر به بهره‌وری چربی بالاتری می‌شود به طوری که بیشترین بهره‌وری چربی دگرپرورد حدود ۲۰ برابر بیشترین بهره‌وری چربی نورپرورد بوده است. اگرچه منبع قندی این سامانه همواره با مشکلات ناشی از آلودگی همراه است و کشت به آسانی می‌تواند آلوده شود. علاوه بر این، هزینه منبع کربن آلی مهم‌ترین نگرانی تجاری‌سازی این نوع کشت به‌شمار می‌آید. اگرچه هزینه‌های پایین افزایش مقیاس کشت دگرپرورد سبب گرایش به استفاده از این نوع کشت شده است[۲۳].

۲-۳ کشت آینده‌پرورد[1]

کشت آینده‌پرورد زمانی اتفاق می‌افتد که ریزجلبک‌ها در هنگام فوتوسنتز برای رشد بتوانند هم از کربن آلی و هم از کربن غیرآلی مصرف کنند. یعنی، ریزجلبک‌ها در شرایط نورپرورد، دگرپرورد و یا هر دو می‌توانند رشد کنند[۲۴]. جی[2] و همکارانش (۲۰۱۶) با کشت آینده‌پرورد گونه‌های *نفروسلمیس*[3] و با استفاده از فاضلاب صنعتی توانستند تولید زیست تودهٔ جلبک‌ها را افزایش بدهند[۲۶].پراوین کومار[4] و همکارانش (۲۰۱۴) نیز با استفاده از کشت آینده‌پرورد *کلورلا*[5] توانستند تولید زیست‌توده و چربی را افزایش دهند. آن‌ها در این تحقیق از گاز دودکش اتش زغال سنگ به عنوان منبع کربن استفاده کردند[۲۷].

اما در مقایسه با سایر انواع کشت از کشت مخلوط (آینده‌پرورد) به ندرت استفاده می شود[۲۳].

۲-۴ کشت نوردگرپرورد

کشت نوردگرپرورد حالتی است که ریزجلبک‌ها برای استفاده از کربن آلی به عنوان منبع کربن‌شان به نور نیاز دارند. تفاوت اصلی بین کشت نوردگرپرورد و آینده‌پرورد، نیاز به نور به عنوان منبع انرژی است. در حالیکه کشت آینده‌پرورد می‌تواند از ترکیبات آلی بدون حضور نور استفاده کند ولی کشت نوردگرپرورد همزمان به قند و نور نیاز دارد[۱۷]. این نوع کشت نیز به ندرت استفاده می‌شود[۲۳]. مثلاً، هوآنگ و همکاران در سال ۲۰۱۴ در تحقیقی از *میکراکتینیوم ریسیری*[6] یک ریزاندامگان تولیدکننده هیدروژن برای کشت نوردگرپرورد استفاده کرده‌اند[۲۸].

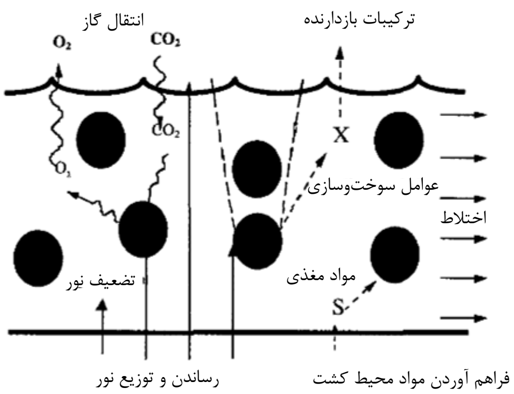
۳. عوامل مؤثر در کشت ریزجلبک و ساخت نورزیست‌راکتور

وقتی یک گونه خاص جلبک کشت داده می‌شود، باید چرخه حیات جلبک، نرخ رشد، بهره‌وری محصول مطلوب، پایداری ژنتیکی، مواد مغذی مورد نیاز و توانایی تحمل تنش برشی[7] در نظر گرفته شود. ارتباط داخلی بین مشخصه‌های مؤثر در رشد جلبک و عوامل مهم در طراحی یک نورزیست‌راکتور باید با فهم دقیق محیط کوچک اطراف هر یک از سلول‌های جلبک آغاز شود. نمودار آن را در شکل (۱) مشاهده می‌کنید. عوامل مهم در دستیابی به بهره‌وری بالای کشت شامل فراهم آوردن انرژی نور، تغذیه کربن‌دی‌اکسید، حذف اکسیژن، تهیه محیط کشت مناسب و فراهم آوردن مواد مغذی لازم، آمیزش و کنترل سایر عوامل محیطی مانند دما و pH است. هر یک از این عوامل، به صورت جداگانه بحث خواهد شد[۲۹]. ترکیب محیط رشد به گونه جلبک کشت داده شده بستگی دارد. برای یک گونه مشخص مواد مورد نیاز معدنی لازم برای جلبک می‌تواند با روش‌های متفاوتی مانند اندازه‌گیری مستقیم مصرف آنها یا آنالیز ترکیب عنصری‌شان تعیین شود. البته این روش برای اندازه‌گیری مواد مغذی اصلی کارامد است[۳۰ و ۳۱]. به این ترتیب تشخیص ریزمغذی‌های مورد نیاز بسیار دشوار است و به روش‌های اندازه‌گیری مشخصی نیاز دارد. برای دستیابی به جزئیات بیشتر مقاله کوگنه و همکاران، ۲۰۰۳ مطالعه شود[۳۲].

مواد معدنی مورد نیاز در شکل معادله استوکیومتری بیان می‌شود که با مطالعه آن از محدودیت مواد معدنی در محیط کشت جلوگیری می‌شود[۳۰]. مثال‌های زیر معادله استوکیومتری گونه *کلامیدوناس رینهاردتی*[8] (معادله (۱)) و *نئوکلوریز الئوآبوندانس*[9]

1. Mixotrophic Condition
2. Ji
3. *Nephroselmis* Sp.
4. Praveenkumar
5. *Chlorella* Sp.
6. *Micractinium Reisseri*
7. Shear Stress
8. *Chlamydomonas Reinhardtii*
9. *Neochloris Oleoabundans*

(معادله (۲)) را نشان می‌دهد.



شکل ۱. پیوند درونی بین مشخصه‌های جلبک و عوامل طراحی یک نورزیست‌راکتور[۲۹].

$$CO_2 + 0.593H_2O + 0.176\,NH_4^+ + 0.007SO_4^{2-} + 0.018\,PO_4^{3-} \rightarrow CH_{1.781}O_{0.437}N_{0.176}S_{0.007}P_{0.018} + 0.108H^+ + 1.127O_2 \quad (۱)$$

$$CO_2 + 0.751H_2O + 0.148\,NO_3^- + 0.014SO_4^{2-} + 0.012\,PO_4^{3-} + 0.212H^+ \rightarrow CH_{1.715}O_{0.427}N_{0.148}S_{0.014}P_{0.012} + 1.437O_2 \quad (۲)$$

معادلات (۱) و (۲) بیانگر نیاز زیاد زیستی به کربن‌دی‌اکسیدند. همچنین، معادله‌های (۱) و (۲) تفاوت منبع نیتروژن را نیز نشان می‌دهند. رهایش اکسیژن نیز ۲۵ تا ۳۰ درصد متفاوت است. علاوه بر این مصرف آمونیم با آزادسازی H^+ سبب کاهش pH می‌شود در حالی که مصرف نیترات با توجه به مصرف H^+ سبب افزایش pH می‌شود. بنابراین برای تنظیم pH باید به منبع نیتروژنی نیز دقت کرد[۳۰].

۳-۱ کربن

کربن تقریبا حیاتی‌ترین عنصر برای رشد ریزجلبک‌هاست. به طور کلی، ریزجلبک‌ها می‌توانند از منابع مختلف کربنی مانند کربن‌دی‌اکسید، متانول، استات، گلوکز یا سایر ترکیبات آلی دیگر بهره گیرند[۳۳]. متداولترین منبع کربن برای رشد ریزجلبک‌ها و محصولات زیست‌سوخت کربن‌دی‌اکسید یا بی‌کربنات است، زیرا منابع کربن آلی مانند سدیم‌بی‌کربنات و یا سایر نمک‌ها برای تولید محصولات ارزانی مانند زیست‌سوخت بسیار گران‌اند. بهای چنین نمک‌هایی معمولاً سه برابر هزینهٔ گاز کربن‌دی‌اکسید به ازای هر واحد کربن است[۲۹ و ۵]. نیاز محیط کشت به میزان کربن می‌تواند بر اساس محتوای کربن زیست توده محاسبه شود. نسبت کربن به ازای هر گرم زیست‌توده از ۰/۴۵ برای جلبک‌های با محتوای کربوهیدرات زیاد تا ۰/۸ برای سلول‌های غنی از روغن تغییر می‌کند. بنابراین، مقدار کربن‌دی‌اکسید مورد نیاز محیط کشت جلبک حداقل ۱/۸۵ گرم به ازای هر گرم زیست توده خواهد بود[۳۴].

کربن‌دی‌اکسید (یا بی‌کربنات بعد از انحلال در محیط کشت) منبع کربن سلول‌های در حال رشد نورپرورد است. حتی در زمانی که اختلاط شدید محیط فراهم می‌شود، نفوذ ساده کربن‌دی‌اکسید از هوا (۰/۰۳٪ کربن‌دی‌اکسید) به آب برای جذب کربن‌دی‌اکسید در سلول‌های در حال رشد بسیار آهسته است. بنابراین، معمولاً در نورزیست‌راکتورها محدودیت کربن‌دی‌اکسید وجود دارد و باید کربن‌دی‌اکسید بیشتری فراهم شود تا از رشد مناسب اطمینان حاصل شود. معمولاً اگر غلظت کربن‌دی‌اکسید بیشتر از ۱٪ حجمی در نظر گرفته شود، تأثیر معکوس بر رشد جلبک خواهد داشت[۳۵]. در نورزیست‌راکتورهای بسته، به یک منبع پیوسته کربن غیرآلی حل شده برای سلول‌های جلبک در حال رشد نیاز است. کربن غیرآلی مورد نیاز عموما به صورت حباب‌های غنی شده از مخلوط گاز کربن‌دی‌اکسید به محیط وارد می‌شود. گاز کربن‌دی‌اکسید در صورتی که از بازار خریداری شود گران است اما می‌توان از سوختن سوخت‌های فسیلی آنها را به‌دست آورد[۳۶].

۳-۲ حذف اکسیژن

اکسیژن محصول فوتوسنتز است، اما مقادیر زاید اکسیژن حل شده حتی در غلظت‌های زیاد کربن‌دی‌اکسید از رشد جلبک‌ها جلوگیری می‌کند. در نورزیست‌راکتورهای بسته حتی در شرایط اختلاط شدید غلظت اکسیژن فوق اشباع به ۴۰۰ تا ۵۰۰ درصد می‌رسد. سطح اکسیژن حل شده در یک محلول جلبکی از طریق تنفس در نواحی تاریک یا در طول شب تعیین می‌شود. بسیاری از گونه‌های جلبک نمی‌توانند بیشتر از ۲ تا ۳ ساعت غلظت اکسیژن بالاتر از حد اشباع (۷/۵ میلی گرم بر لیتر در ۳۰ درجه سلسیوس) را تحمل کنند. حذف اکسیژن مازاد همانند فراهم‌کردن کربن‌دی‌اکسید

یک مشکل انتقال جرمی است. با افزایش سرعت همزگی و افزایش دما فشار اکسیژن کاهش می‌یابد. در حال حاضر افزایش میزان درهمی جریان و یا خروج اکسیژن همراه هوا دو راه حل در طراحی نورزیست‌راکتورها و عملیات است[۲۹].

۳-۳ توازن بین کربن‌دی‌اکسید، اکسیژن و مبادله گاز

رشد سلولی ریزجلبک‌ها شامل سه مرحله رقابتی فوتوسنتز سلولی، تنفس نوری و تنفس (تاریکی) است. در فتوسنتز ریزجلبک‌ها انرژی نور را مصرف می‌کنند تا کربن‌دی‌اکسید را تثبیت و اکسیژن را به عنوان محصول جانبی رها کنند. هرچند برخی از آنزیم‌های جلبک در چرخه کالوین[1] در غلظت‌های بالای اکسیژن محلول می‌توانند اکسیژن را برای تنفس نوری مصرف و سپس کربن‌دی‌اکسید تولید کنند. اما غلظت‌های بالای اکسیژن محلول برای سلول‌های ریزجلبک سمی است. به محض قرارگیری در معرض نور شدید، برخی از گونه‌های فعال اکسیژن[2] مانند رادیکال اکسیژن تولید می‌شوند که به غشای سیتوپلاسمی و یا ترکیبات سلولی آسیب می‌زنند. دمای بالا و چگالی شار بالای فوتون‌های نور در حضور محدودیت کربن‌دی‌اکسید می‌تواند شدت بازدارندگی اکسیژن محلول را افزایش دهد. بنابراین، گزارش شده است که انباشت اکسیژن تولید شده حاصل فتوسنتز می‌تواند منجر به بازدارندگی شدید رشد جلبک‌ها شود. این موضوع به خصوص در سیستم‌های بسته که اکسیژن فقط می‌تواند از طریق گاززداها خارج شود، بیشتر مشاهده می‌شود [۳۷].

کربن‌دی‌اکسید نیز درصورتی‌که غلظت آن در گاز ورودی کم و یا در زمانی‌که اختلاط ناکافی وجود داشته باشد، می‌تواند عامل محدود کننده فرایند باشد. از سوی دیگر، غلظت‌های بالای کربن‌دی‌اکسید محلول و یا همان بی‌کربنات سبب کاهش pH محیط کشت می‌شود که می‌تواند بازدارنده رشد برخی از گونه‌های جلبک‌ها شود. بنابراین، نگهداری غلظت بی‌کربنات در محدوده بهینه یکی از عوامل مهم طراحی است.

برای ایجاد توازن بین غلظت کربن‌دی‌اکسید و اکسیژن محلول یک فضای اختصاصی برای مبادله گاز در نورزیست‌راکتورهای بسته در نظر گرفته می‌شود. علاوه بر این، در نظر گرفتن سیستم اختلاط مناسب روش مناسبی برای ارتقای میزان درهمی جریان و انتقال جرم بین فاز مایع و گاز در داخل نورزیست‌راکتور خواهد بود. در نهایت تغذیه سیستم با کربن‌دی‌اکسید و خروج اکسیژن از محلول می‌تواند یک توازن مناسبی بین اکسیژن و کربن‌دی‌اکسید محلول در محیط کشت جلبک برقرار کند[۳۸].

۴-۳ نیتروژن

انباشت چربی در ریزجلبک‌ها معمولا زمانی اتفاق می‌افتد که ریزجلبک‌ها در شرایط سختی مانند قحطی نیتروژن، کمبود مواد مغذی، تغییرات ناگهانی pH و دیگر شرایط سخت کشت داده شوند. محدودیت نیتروژن راه حل همیشگی برای افزایش انباشت چربی در ریزجلبک‌ها است[۵]. ماندل و مالیک در سال ۲۰۰۹ نشان داده‌اند که در شرایط قحطی نیتروژن، محتوای روغن و یا چربی ریزجلبک‌ها افزایش معناداری می‌یابد[۲۲]. به نظر می‌رسد در شرایط قحطی نیتروژن پروتئین‌های ریزجلبک‌ها تجزیه می‌شوند و به فراورده‌های پر انرژی و مفید مانند چربی تبدیل می‌شوند[۵].

۵-۳ ریزمغذی‌ها

درشت مغذی‌ها شامل کربن، نیتروژن، فسفر، هیدروژن، اکسیژن، گوگرد، کلسیم، منیزیم، سیدیم، پتاسیم و کلر است که برای رشد ضروری‌اند. ریزمغذی‌ها شامل آهن، بور، منگنز، مس، مولیبدن، وانادیم، کبالت، نیکل، سیلیکون و سلنیم در مقادیر بسیار کم در مقیاس میکرو، نانو و حتی پیکو گرم بر هر لیتر نیاز است[۳۹].

۶-۳ اختلاط

ریزجلبک‌ها معمولا در غلظت تقریبی $۱۰^{۳}$cell سلول و تقریبا با فاصله بیش از ۱۰۰۰μm بین سلول‌ها به صورت طبیعی زنده می‌مانند. اگر چه در کشت‌های با چگالی زیاد سلولی، غلظت سلولی می‌تواند تا $۱۰^{۹}$ سلول هم افزایش یابد، اما در این صورت به شدت انتقال نور کاهش و انباشت اکسیژن و مصرف کربن‌دی‌اکسید محلول افزایش می‌یابد[۳۸]. اختلاط پیوسته محلول جلبک‌ها بسیار مهم و ضروری است. بهبود اختلاط سبب بهبود موارد زیر می‌شود:

- جلوگیری از راسب شدن سلول‌ها
- بهبود کارآیی نور
- بهبود مبادله گاز بین محیط کشت و فاز هوا
- حذف ناحیه‌بندی دمایی (یکنواخت‌شدن دمای کل محلول)

1. Calvin
2. Reactive Oxygen Species

- کمک به توزیع همگن مواد مغذی[۳۸و۲۹].

هرگاه جریان بسیار آهسته باشد، ته‌نشینی اتفاق می‌افتد و هر چه درهمی جریان در ناحیه‌ای کمتر باشد، سلول‌های بیشتری آنجا ته‌نشین می‌شوند. انباشت سلول‌ها در نواحی مرده سبب زوال آن‌ها، تجزیه بی‌هوازی و کاهش کیفیت محصول می‌شود[۴۰]. بسته به مقیاس و نوع انتخاب سیستم کشت، اختلاط می‌تواند از طریق هوادهی، تلمبه‌زنی، هوادهی مکانیکی (همزن‌های ثابت، چرخ‌های چرخان) و یا ترکیبی از این روش‌ها انجام شود[۴۱و۴۲]. باید دقت شود همه انواع جلبک‌ها نمی‌توانند اختلاط شدید را تحمل کنند[۳۸]. بنابراین، باید از اختلاط شدید که سبب آسیب به سلول‌های ریزجلبک‌ها می‌شود جلوگیری کرد[۴۳]. معمولا هوادهی مکانیکی نیز سبب ایجاد فشار هیدرودینامیکی و کاهش فعالیت سوخت‌وسازی و رشد جلبک‌ها می‌شود[۴۰].

۷-۳ نور

انرژی نور در رشد نورپرورد جلبک‌ها بسیار مؤثر است؛ تا جایی که رساندن نور یک نگرانی اساسی در کشت‌های صنعتی است. بنابراین، تهیه منبع نور بدون شک قیدی بسیار مهم در طراحی مؤثر و اقتصادی یک نورزیست‌راکتور است[۲۹]. نوع منبع نور با توجه به اختلاف محدوده طول موج آن‌ها یک عامل بسیار مهم در رشد ریزجلبک‌ها شناخته شده است. علاوه بر این، شدت نور نیز در رشد ریزجلبک بسیار مهم است[۵]. برای موفقیت تجاری کشت جلبک‌ها به یک منبع نور قدرتمند و کافی نیاز است. کل مقدار مواد آلی ناشی از رشد سلول‌های جلبک که به واسطه انرژی نور می‌تواند تولید شود، با افزایش شدت نور تا یک نقطه معین (شدت اشباع) افزایش می‌یابد، اما از بعد از آن نقطه مقدار تولید شده به ازای هر واحد انرژی نور به سرعت با افزایش شدت نور کاهش می‌یابد[۲۹]. به طور کلی، تأثیر شدت نور روی رشد ریزجلبک‌های نوردگرپرورد به چند فاز تقسیم می‌شود : ۱. فاز کمبود نور؛ ۲. فاز اشباع؛ ۳. فاز نور بازدارنده[۴۴]. بازدارندگی نور با توجه به شدت و مدت زمانی که ریزجلبک‌ها در شرایط غیرعادی نور قرار گرفته‌اند، می‌تواند برگشت‌پذیر یا برگشت‌ناپذیر باشد[۳۸].

برای بیشینه‌کردن بهره‌وری[1] ریزجلبک باید در کل سیستم کشت ریزجلبک، شدت نور در فاز اشباع نگهداری شود. این موضوع در عمل ناممکن است، زیرا توزیع نور در داخل نورزیست‌راکتور معمولاً به صورت معناداری با فاصله از منبع نور به خصوص با رشد ریزجلبک و افزایش جرم آن و تشکیل زیست‌فیلم در سطح دیواره راکتور کاهش می‌یابد[۴۵]. با بهبود اختلاط در نورزیست‌راکتور می‌توان از آثار منفی کاهش نور در نواحی مختلف کاست[۵].

در کشت‌های بسته[2]، غلظت توده جرمی به طور پیوسته افزایش می‌یابد. بنابراین، با کشت آن‌ها در شرایط نوردهی ثابت، تابش شدید نور می‌تواند در مراحل اولیه کشت که غلظت سلول‌ها کم است بازدارنده باشد[۴۶]. همچنین شدت نور کم برای رشد سلول‌ها در مراحل بعدی کشت با توجه به چگالی بالای سلولی ناکافی خواهد بود[۴۷]. بنابراین، شدت نور ثابت همیشه در طول دوره کشت مناسب نیست و راهکار شدت نور افزایشی می‌تواند رشد را بهبود ببخشد[۴۸]. همچنین، وقتی سلول‌ها در یک کشت پیوسته رشد می‌کنند رشد می‌تواند با شرایط عملیاتی ثابت کنترل شود که در این صورت به یک جریان ثابت از مواد مغذی نیاز خواهد بود که منجر به چگالی سلولی و توزیع نور پیوسته می‌شود[۴۹].

کیفیت طیفی نور از عوامل مهم دیگری است که باید در طراحی نورزیست‌راکتورهای بسته در نظر گرفته شود. نور خورشید محدوده طیفی گسترده‌ای را شامل می‌شود، اما تنها نورهایی که بین محدوده ۴۰۰nm تا ۷۰۰ nm هستند و حدود ۵۰ ٪ مقدار نور خورشید را تشکیل می‌دهند در محدوده تابش فوتوسنتز قرار می‌گیرند[۵۰].

یکی دیگر از جنبه‌های مهم نور، چرخه‌های منظم نور/ تاریکی در طول شبانه‌روز است که آثار چشمگیری در بازده جذب انرژی خورشید دارد[۴۹]. با توجه به کمبود انرژی در طول شب، ریزجلبک‌ها برای زنده نگه داشتن سلول و حفظ سوخت‌وسازشان تنفس می‌کنند. در نتیجه بیش از ۴۲ درصد زیست توده تولیدی‌شان در طول روز، می‌تواند در طول شب از بین برود. بنابراین، تنفس در طول شب باید به حداقل برسد[۳۸]. تحقیقات نشان می‌دهد که چرخه بهینه بین تاریکی و روشنایی به شدتِ نور وابسته است. با توجه به جریان درهم در نورزیست‌راکتورها، سلول‌های جلبک بین نواحی تاریک و نوردهی شده در بسامدهای بالا می‌چرخد. این چرخه سبب ایجاد تأثیر نور لحظه‌ای[3] می‌شود که می‌تواند فوتوسنتز سلول‌های جلبک را بهبود ببخشد[۴۷]. براینداین و

1. Productivity

2. Batch
3. Flashing Light Effect

همکارانش در سال ۲۰۱۱ تأثیر نور لحظه‌ای را بررسی کرده‌اند. آن‌ها نشان داده‌اند که یک رژیم مناسب نوردهی یا همان نوردهی لحظه‌ای سبب می‌شود که فتوسنتز نسبت به شیوه نوردهی مداوم در آهنگ بالاتری انجام شود[۳].

شریواستاو و بوس (۲۰۱۵) رشد جلبک در نورزیست‌راکتور و اثر نوردهی بر آن را بررسی کرده‌اند. آزمایشهای آن‌ها در شدت نور متفاوت با نوردهی پیوسته و متناوب، ۱۲ ساعت نوردهی و ۱۲ ساعت تاریکی، انجام شد. بنابر نتایج به‌دست آمده، در شدت نوردهی زیاد، سلول‌های جلبک به سرعت کم می‌شوند و کاهش محتوای جلبکی به سطوح خیلی کمی از آن صدمات برگشت‌ناپذیری به سلول‌های جلبک وارد می‌آورد. سرانجام در این مطالعه نشان داده شد که رشد مناسب جلبک در نورزیست‌راکتور نیازمند یک رویه مناسب نوردهی است، به‌طوری‌که محتوای سلولی جلبک‌ها همواره بالاتر از یک آستانه معینی باشد[۵۱].

۳-۸ دما

در سامانه‌های تجاری کشت ریزجلبک، عامل دما نیز از جمله عوامل محیطی مؤثر در کشت و رشد ریزجلبک به‌شمار می‌آید[۵]. از عوامل مهم تغییر دمای نورزیست‌راکتورها (زیست‌راکتورهای نوری) تغییر دما در طول شبانه روز، تغییر فصل و منبع نور صورت می‌گیرد[۳۸و۲۹]. دما را معمولاً عامل ثابتی در نظر می‌گیرند و در طول عملیات نورزیست‌راکتور کنترل می‌شود. در یک نورزیست‌راکتور بسته، بدون کنترل دما در طول تابستان، دما می‌تواند به بیش از ۱۰ تا ۳۰ درجه سلسیوس بالاتر از دمای محیط، در مدّت چندین ساعت، برسد[۳۸]. بنابراین، به طرز متعارف از سایه‌انداز برای محدود کردن نور خورشید تا مقادیر مناسب، و سردکننده به صورت پخش کردن آب در هوا در سطح نورزیست‌راکتور استفاده می‌شده است. همچنین، در شرایط آب و هوایی سرد از سامانه‌های گرمایشی بهره می‌گیرند[۲۹]. گاهی هم کل کشت را در یک استخر آب غوطه‌ور می‌کنند. بنابراین، به طور کلی باید گفت انتخاب یک سیستم مفید و صرفه‌جویانه برای کنترل دما، یک چالش مهم در طراحی نورزیست‌راکتورهاست[۳۸].

۳-۹ pH

بهینهٔ pH بسیاری از گونه‌های ریزجلبک بین ۷ تا ۹ است[۵۲]. pH محیط بر واکنش‌های زیست‌شیمیایی تأثیر می‌گذارد. نگه داشتن محیط کشت در pH بهینه، امری بسیار حیاتی است زیرا خارج از این محدوده و با تغییر چند واحد pH ممکن است کل کشت ریزجلبک از بین برود[۵]. pH محیط کشت هم بر شیمی مایع ترکیبات قطبی و هم میزان دسترسی به مواد مغذی، مانند کربن‌دی‌اکسید، آهن و اسیدهای آلی تأثیر می‌گذارد[۲۹]. تغذیه نورزیست‌راکتور با کربن‌دی‌اکسید، همانند رشد میکروب بر pH مؤثر است. وقتی کربن‌دی‌اکسید از فاز گاز به محیط کشت وارد می‌شود، قسمتی از گاز کربن‌دی‌اکسید حل می‌شود و به شکل HCO_3^- در می‌آید؛ این تبدیل، به pH محیط بسیار وابسته است[۵۳]. در چنین مواردی، غلظت بی‌کربنات در محلول، نتیجه برقراری توازن بین انتقال جرم کربن‌دی‌اکسید از فاز گاز به فاز مایع و مصرف آن توسط سلول‌هاست. اضافه کردن محلول بازی به محیط کشت یکی از روشهای متعارف در زیست‌راکتورهاست که نمی‌تواند به صورت مؤثر pH را کنترل کند[۳۸]. بنابراین، استفاده از تنظیم‌کننده‌های pH برای تنظیم محیط کشت در pH بهینه لازم است[۲۹].

۳-۱۰ فشار

با توجه به گزارشهای ارائه شده، جلبک‌ها به فشار خیلی حساس نیستند. گفته شده است که آن‌ها می‌توانند در فشار بخار آب تا مقادیری بیشتر از ۱ اتمسفر رشد کنند. اما از آنجاکه فشار همراه با دما و pH تأثیر مستقیمی بر انحلال گازها دارد، به این ترتیب، فشار تأثیر نامستقیمی بر رشد جلبک‌ها می‌گذارد. فشار اسمزی جلبک‌ها با استفاده از برخی متابولیت(دگرگشته)های آلی مانند پلی هیدریک الکل‌ها، گلیکوزید، آمینواسیدها و سایر تنظیم‌کننده‌ها کنترل می‌شود[۲۹].

۳-۱۱ شوری

توانایی رشد ریزجلبک‌ها در دریا بسیار چشمگیر است؛ آن‌ها می‌توانند بیش از1/۷ M املاح و نمک را در دریا تحمل کنند. ریزجلبک‌ها می‌توانند تأثیر فشار اسمزی با محیط را متعادل کنند. آن‌ها با تولید برخی از متابولیت‌ها نیز خود را در مقابل صدمات املاح، محافظت می‌کنند[۵].

۳-۱۲ سترون‌سازی

قطعاً، در زمان طراحی نورزیست‌راکتورها به منظور تولید محصولات ارزانی چون تولید زیست‌سوخت و تجزیه کربن‌دی‌اکسید، حضور مقادیری از ناخالصی در کشت ریزجلبک‌ها باید در نظر گرفته شود. با این احوال، باید از آلودگی زیاد پرهیز شود. خوشبختانه در کشت ریزجلبک‌های خودپرورد، آلودگی سیستم به ریزاندامگانهای دگرپرورد، به دلیل کمبود منبع کربنی جای نگرانی زیادی ندارد. هرچند کنترل گونه‌های بیگانه و مهاجم جلبک‌ها برای عملیات مداوم و پایدار بسیار حیاتی است. کنترل رشد سایر گونه‌ها به خصوص در کشت ریزجلبک‌هایی با سرعت رشد نسبتاً کم دشوار است [۳۵].

۱۳-۳ قابلیت تمیزکاری

قابلیت تمیزکاری در نورزیست‌راکتورهای بسته بسیار ضروری و حیاتی است. با تمیز کردن نورزیست‌راکتور از تشکیل زیست‌فیلم بر روی دیوار راکتور جلوگیری می‌شود و بنابراین انتقال نور به خوبی انجام خواهد شد. همچنین، با تمیز کردن، احتمال انتقال آلاینده به محیط کشت به حداقل می‌رسد. برای افزایش قابلیت تمیزکاری باید موارد زیر رعایت شود:

۱. باید سطح داخلی نورزیست‌راکتور کاملاً صاف باشد.
۲. تعداد شاخه‌های درونی راکتور باید به حداقل برسد.
۳. باید ابعاد قطعات داخلی به اندازه کافی بلند باشد تا امکان تمیزکاری مناسب فراهم آید[۳۸].

۴. نتیجه‌گیری کلی

امروزه جلبک‌ها در صنایع گوناگون اهمیت ویژه‌ای یافته‌اند. یکی از بحث‌انگیزترین کاربردهای ریزجلبک‌ها تولید زیست‌سوخت از آن‌هاست. شناخت ریزجلبک‌ها و عوامل مؤثر بر آن‌ها برای بهره‌وری از کاربردهای آن‌ها اهمیت خاصی دارد. به طور کلی، چهار نوع شرط کشت شامل کشت نورپرورد، کشت دگرپرورد، کشت آمیزه‌پرورد و کشت نوردگرپرورد برای ریزجلبک‌ها وجود دارد. کشت نورپرورد متداولترین روش کشت ریزجلبک‌هاست. عوامل متعددی در کشت ریزجلبک‌ها مؤثرند. ازجملهٔ مهم‌ترین این عوامل می‌توان از این عوامل یاد کرد: کربن (حیاتی‌ترین عنصر رشد ریزجلبک‌ها)، حذف اکسیژن (محصول فوتوسنتز)، برقراری توازن بین کربن‌دی‌اکسید، اکسیژن و مبادله گاز (تغذیه سیستم با کربن دی اکسید و خروج اکسیژن از محلول می‌تواند توازن مناسبی بین اکسیژن و کربن‌دی‌اکسید محلول در محیط کشت جلبک ایجاد کند)، نیتروژن (در شرایط قحطی نیتروژن محتوای روغن و یا چربی ریزجلبک‌ها افزایش معناداری می‌یابد)، ریزمغذی‌ها (شامل آهن، بورن، منگنز، مس، مولیبدن، وانادیم، کبالت، نیکل، سیلیکون و سلنیم در مقادیر بسیار کم در مقیاس میکرو، نانو و حتی پیکو گرم بر هر لیتر نیاز است)، آمیختگی (بهبود آمیختگی سبب بهبود جلوگیری از راسب شدن سلول‌ها، بهبود راندمان نور، بهبود مبادله گاز بین محیط کشت و فاز هوا، حذف ناحیه‌بندی دمایی و کمک به توزیع همگن مواد مغذی می‌شود)، نور (برای بیشینه‌کردن بهره‌وری ریزجلبک باید در کل سیستم کشت ریزجلبک، شدت نور در فاز اشباع نگهداری شود)، دما (از عوامل مهم تغییر دمای نورزیست‌راکتورها، تغییر دما در طول شبانه‌روز، تغییر فصل و منبع نور است)، pH (pH بهینه بسیاری از گونه‌های ریزجلبک‌ها بین ۷ تا ۹ است)، فشار(فشار با دما و pH در ارتباط است و تأثیر مستقیمی در انحلال گازها دارد)، شوری (توانایی رشد ریزجلبک‌ها در دریا بسیار قابل توجه است.

سترون‌سازی (در کشت ریزجلبک‌های خودپرورد آلودگی سیستم به ریزاندامگانهای هتروتروف به دلیل کمبود منبع کربنی جای نگرانی زیادی ندارد، اما در سایر موارد سترون‌سازی بسیار حائز اهمیت است) و قابلیت تمیزکاری (به منظور افزایش قابلیت انتقال نور) نیز از جمله عوامل مهم در ساخت نورزیست‌راکتور به‌شمار می‌آیند که برای یک کشت مؤثر باید مورد توجه قرار گیرند.

مراجع

[1] Singh, R. N., Sharma, S., "Development of suitable photobioreactor for algae production- A review. Renewable and sustainable energy reviews", 16: 2347-2353, (2012).

[2] Pelczar, J. M., Chan, E., Krieg, N. Microbiology, 5th ed. Tata McGraw Hill Publishing Company Limited, (2008).

[3] Brindley, C., Fernandez, F. G. A., Fernandez-Sevilla, J. M., "Analysis of light regime in continuous light distributions in photobioreactors", Bioresource technology. 102: 3138-3148, (2011).

[۴] بخشی‌پور، هاجر. "کاربرد ریزجلبک‌ها در تولید سوخت‌های زیستی"، آموزش زیست شناسی. دوره بیست و ششم شماره ۲: صفحه ۴۳-۴۷، (۱۳۹۱).

[5] Yen, H. W., Hu, I., Chen, C., Chang, J., "Design of photobioreactors for algal cultivation", Chapter 2. Elsevier B.V. (2014).

[6] Sforza, E., Enzo, M., Bertucco, A., "Design of microalgal biomass production in a continuous photobioreactor: An integrated experimental and modeling approach", Chemical engineering research and design. 92: 1153-1162, (2014).

[7] Metting, B., Pyne, J. W. Biologically active compounds from microalgae. Enzyme Microb. Technol. 8: 386-394, (1986).

[8] Glombitza, K. W., Koch, M., "Secondary metabolites of pharmaceutical potential", In: R C. Cresswell, T. A. V. Rees, and H. Shah (eds.). Algal and Cyanobacterial Biotechnology. Longman Scientific & Technical, Harlow, UK. 161-238, (1989).

[9] Cannell, R. J. P., "Algae as a source of biologically active products", Journal of Pesticide Science. 39: 147-153, (1993).

[10] Lee, K., Lee, C. G., "Nitrogen removal from wastewaters by microalgae without consuming organic carbon sources", Journal of Microbiology and Biotechnology. 12: 979-985, (2002).

[11] Eroglu, E., Gunduz, U., Yucel, M., Turker, L., Eroglu, I., "Photobiological hydrogen production by using olive mill wastewater as a sole substrate source", International Journal of Hydrogen Energy. 29: 163-171, (2004).

[12] Zhang, K., Kurano, N., Miyachi, S., "Optimized aeration by carbon dioxide gas for microalgal production and mass transfer characterization in a vertical flat-plate photobioreactor", Bioprocess and Biosystems Engineering. 25: 97-101, (2002).

[13] Keffer, J. E., Kleinheinz, G. T., "Use of Chlorella vulgaris for CO2 mitigation in a photobioreactor", Journal of Industrial Microbiology Biotechnology. 29: 275-280, (2002).

[14] Melis, A., "Green alga hydrogen production: progress, challenges and prospects", International of Hydrogen Energy. 27: 1217-1228, (2002).

[15] Lee, J. S., Lee, J. P., "Review of advances in biological CO_2 mitigation technology", Biotechnology and Bioprocess Engineering. 8: 354-359, (2003).

[16] Akkerman, I., Janssen, M., Rocha, J., Wijffels, R. H., "Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design", International of Hydrogen Energy. 27: 1195-1208, (2002).

[17] Chojnacka, K., Marquez-Rocha, F. J., "Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae", Biotechnology 3: 21–34, (2004).

[18] Ren, L. J., Ji, X. J., Huang, H., Qu, L., Feng, Y., Tong, Q. Q., "Development of a stepwise aeration control strategy for efficient docosahexaenoic acid production by Schizochytrium sp", Applied Microbiology and Biotechnology. 87: 1649–1656, (2010).

[19] Huang, G. H., Chen, F., Wei, D., Zhang, X. W., Chen, G., "Biodiesel production by microalgal biotechnology", Applied Energy. 87: 38–46, (2010).

[20] Gouveia, L., Marques, A. E., da Silva, T. L., Reis, A., "Neochloris oleabundans UTEX #1185: a suitable renewable lipid source for biofuel production", Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 36: 821–826, (2009).

[21] Gouveia, L., Oliveira, A. C., "Microalgae as a raw material for biofuels production", Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 36: 269–274, (2009).

[22] Mandal, S., Mallick, N., "Microalga Scenedesmus obliquus as a potential source for biodiesel production", Applied Microbiology and Biotechnology. 84: 281–291, (2009).

[23] Chen, C. Y., Yeh, K. L., Aisyah, R., Lee, D. J., Chang, J. S., "Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for production: a critical review", Bioresource technology. 102: 71-81, (2011).

[24] Mata, T. M., Martins, A. A., Caetano, N. S., "Microalgae for biodiesel production and other applications: a review", Renewable and Sustainable Energy Reviews. 14: 217–232, (2010).

[25] Chiu, S. Y., Kao, C. Y., Chen, C. H., Kuan, T. C., Ong, S. C., Lin, C. S., "Reduction of CO by a high-density culture of Chlorella sp. in a semi continuous photobioreactor", Bioresource Technology. 99: 3389–3396, (2008).

[26] Ji, M., Yun, H., Hwang, B., Kabra, A., Jeon, B., Choi, J., "Mixotrophic cultivation of Nephroselmis sp. Using industrial wastewater for enhanced microalgal biomass production", Ecological Engineering. 95: 527-533, (2016).

[27] Praveenkumar, R., Kim, B., Choi, E., Lee, K., Park, J., Lee, J., Lee, Y., Oh, Y., "Improved biomass and lipid production in a mixotrophic culture of Chlorella sp. KR-1 with addition of coal-fired flue-gas", Bioresource Technology. 171: 500-525, (2014).

[28] Hwang, J., Kabra, A., Kim, J., Jeon, B., "Photoheteterotrophic microalgal hydrogen production using acetate-and butyrate-rich wastewater effluent", Energy, 78: 887-894, (2014).

[29] Suh, I. S., Lee, C. G., "Photobioreactor engineering: design and performance", Biotechnology and bioprocess engineering. 8: 313-321, (2003).

[30] Pruvost, J., "Cultivation of algae in photobioreactors for biodiesel production", Chapter 19. 439-464, (2011).

[31] Pruvost, J., Van Vooren, G., Cogne, G., Legrand, J., "Investigation of biomass and lipids production with Neochloris oleoabundans in photobioreactor", Bioresource Technology. 100: 5988–5995, (2009).

[32] Cogne, G., Lehmann, B., Dussap, C. G., Gros, J. B., "Uptake of macrominerals and trace elements by the cyanobacterium Spirulina platensis (Arthrospira platensis PCC 8005) under photoautotrophic conditions: culture medium optimization",

Biotechnology and Bioengineering. 81: 588–593, (2003).

[33] Xu, H., Miao, X., Wu, Q., "High quality biodiesel production from a microalga Chlorella protothecoides by heterotrophic growt h in fermenters", Journal of Biotechnology. 126: 499–507, (2006).

[34] Posten, C., "Design principles of photobioreactors for cultivation of microalgae", Institute of life science engineering. 3: 165-177, (2009).

[35] Lee, V. X., Tay, H. S., "High CO_2 partial pressure depresses productivity and bioenergetic growth yield of Chlorellapyrenoidosa culture", Journal of Applied Phycology. 3: 95- 101, (1991).

[36] Negoro, M., Hamasaki, A., Ikuka, Y., Makita, T., Hirayama, K., Suzuki, S., "Carbon dioxide fixation by microalgae photosynthesis using actual flue gas discharged from a boiler", Applied Biochemistry and Biotechnology. 39/40: 643-653, (1993).

[37] Weissman, J. C., Goebel, R. P., Benemann, J. R., "Photobioreactor design, carbon utilization, and oxygen accumulation", Biotechnology and Bioengineering. 313: 36–44, (1988).

[38] Wang, B., Lan, C., Horsman, M., "Closed photobioreactors for production of microalgal biomass", Biotechnology advanced. 30: 604-612, (2012).

[39] Mandalam, R. K., Palsson, B. O., "Elemental balancing of biomass and medium composition enhances growth capacity in high-density Chlorella vulgaris cultures", Biotechnology and Bioengineering. 59: 605-611, (1998).

[40] Camacho, F. G., Gomez, A. C., Sobezuk, T. M., Grima, E. M., "Effects of mechanical and hydrodynamic stress in agitated, sparged cultures of Porphyridium cruentum", Process Biochemistry. 35: 1045-1050, (2000).

[41] Suh, I. S., Lee, C. G., "Photobioreactor engineering: design and performance", Biotechnology and Bioprocess Engineering. 8: 313–21, (2003).

[42] Vunjak-Novakovic, G., Kim, Y., Wu, X., Berzin, I., Merchuk, J. C., "Air-lift bioreactors for algal growth on flue gas: mathematical modeling and pilot-plant studies", Industrial and Engineering Chemistry Research. 44: 6154–6163, (2005).

[43] Barbosa, M. J., Albrecht, M., Wijffels, R. H., "Hydrodynamic stress and lethal events in sparged microalgae cultures", Biotechnology and Bioengineering. 83: 112–120, (2003).

[44] Ogbonna, J. C., Tanaka, H., "Light requirement and photosynthetic cell cultivation-Development of processes for efficient light utilization in photobioreactors", Journal of Applied Phycology. 12: 207–218, (2000).

[45] Chen, C. Y., Saratale, G. D., Lee, C. M., Chen, P. C., Chang, J. S., "Phototrophic hydrogen production in photobioreactors coupled with solar-energy-excited optical fibers", International Journal of Hydrogen Energy. 33: 6878–6885, (2008).

[46] Jeong, H., Lee, J., Cha, M., "Energy efficient growth control of microalgae using photobiological methods", Renewable Energy. 54: 161–165, (2012).

[47] Das, P., Lei, W., Aziz, S. S., Obbard, J. P., "Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light", Bioresource Technology.102: 3883–3887, (2011).

[48] Wang, S. K., Stiles, A., Guo, C., Liu, C. Z., "Microalgae cultivation in photobioreactors: an overview of light characteristics", Engineering in life science. 14: 550-559, (2014).

[49] Williams, J. A., "Keys to bioreactor selections", Chemical Engineering Progress. 98: 34–41, (2002).

[50] Suh, I. S., Lee, C. G., "Photobioreactor engineering: design and performance", Biotechnology and Bioprocess Engineering. 8: 313–21, (2003).

[51] Shriwastav, A., Bose, P., "Algal growth in photobioreactors: impact of illumination strategy and nutrient avalibility", Ecological engineering. 77: 202-215, (2015).

[52] Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., "Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances", The Plant Journal. 54: 621–639, (2008).

[53] Mirón, A. S., Garcia, C. M. C., Camacho, F. G., Grima, E. M., Chisti, Y., "Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture. Enzyme and Microbial Technology", 31: 1015–23, (2002).