

Research Article



DOI: 10.22034/ijche.2022.324250.1169



DOR: 20.1001.1.17355400.1402.22.127.1.2



This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license (CC BY-NC-ND 4.0).

Study of Parameters Effective on Flocculation of *Chlorella sp.* Microalgae with Alum

F. Mohseni^{1*}, A. Moosavi Zenooz²

1- Instructor of Chemical Engineering, Payame Noor University, Tehran, Iran

2- Ph. D. in Chemical Engineering, Amirkabir University of Technology

Email: f_mohseni@pnu.ac.ir

Abstract

Microalgae that can grow in seawater are considered as a source for biodiesel. Still, the low concentration and small size of microalgae cells are the main challenges in separation of biomass for biodiesel production. Among different commercial techniques for separation and dewatering, flocculation is considered the most efficient one. In this study, a full factorial design was used for studying the effect of cell concentration, pH and flocculant dosage on efficiency of Chlorella sp. flocculation with alum. The results have shown that flocculant dosage and interaction between pH and flocculant dosage are the most effective parameters in this regard. It was observed that the highest amount of flocculation efficiency per unit of coagulant consumed (7.05 g of DW cell per g of Alum) was obtained at cell density of $OD_{550}=3$, $pH=6$, and coagulant amount of 200 mg L⁻¹. Increase in pH amount led to increase in consumption of flocculant and increase in cell concentration led to decrease in flocculant consumption.

Received: 12 January 2022

Accepted: 14 July 2022

Page Number: 7-17

Keywords:

Flocculation,
Microalgae,
Chlorella sp.,
Alum

Please Cite this Article Using:

Mohseni, F., Moosavi Zenooz, A. R., "Study of Parameters Effective on Flocculation of *Chlorella sp.* Microalgae with Alum", Iranian Chemical Engineering Journal, Vol. 22, No. 127, pp. 7-17, In Persian, (2023).



DOI: 10.22034/ijche.2022.324250.1169



DOR: 20.1001.1.17355400.1402.22.127.1.2

This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license (CC BY-NC-ND 4.0).

بررسی پارامترهای مؤثر بر لخته‌سازی ریز جلبک *Chlorella sp.* به‌وسیله آلوم

فرناز محسنی^{۱*}، علیرضا موسوی زنونز^۲

۱- مربی مهندسی شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- دکتری مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر

پیام نگار: f_mohseni@pnu.ac.ir

چکیده

ریزجلبک‌هایی که قابلیت رشد در آب دریا را دارند گزینه مناسب تولید بیودیزل به‌شمار می‌روند، با این حال جداسازی سلول‌های ریزجلبک از محیط کشت به‌دلیل اندازه بسیار کوچک سلول‌ها به‌همراه غلظت پایین، یکی از چالش‌های اصلی در تولید بیودیزل با این ریزاندام‌هاست. در میان شکردهای مختلف برداشت سلول که به‌صورت تجاری به‌کار گرفته شده، لخته‌سازی آسان‌ترین و مقرون‌به‌صرفه‌ترین روش در تولید بیودیزل است. در مطالعه حاضر، روش طراحی فاکتوریل کامل برای بررسی اثر مشخصه‌های غلظت سلولی، pH و میزان ماده لخته‌کننده بر جداسازی زیست‌توده گونه *Chlorella sp.* به‌وسیله آلوم مطالعه شد. نتایج نشان می‌دهد که میزان ماده لخته‌کننده، غلظت سلولی و نیز برهم‌کنش متقابل pH و میزان ماده لخته‌کننده، اصلی‌ترین مشخصه‌های مؤثر در لخته‌سازی سلول‌ها به‌وسیله آلوم هستند. مشاهده شد که بیشترین میزان جداسازی سلولی به‌ازای ماده لخته‌کننده مصرفی (معادل ۷/۰۵ گرم سلول به‌ازای هر گرم از ماده لخته‌کننده مصرفی) در چگالی سلولی $OD_{550}=3$ و $pH=6$ و میزان ماده لخته‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر حاصل می‌شود. افزایش pH باعث افزایش میزان ماده لخته‌کننده مصرفی می‌شود و از طرف دیگر غلظت سلولی بالاتر باعث کاهش میزان ماده لخته‌کننده به‌ازای میزان سلول‌های جدا شده می‌شود.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۲۳

شماره صفحات: ۷ تا ۱۷

کلیدواژه‌ها:

لخته‌سازی،

انعقاد،

ریزجلبک،

Chlorella sp.

آلوم

* تهران، دانشگاه پیام نور، گروه مهندسی، تهران، ایران

استناد به مقاله:

محسنی، ف.، موسوی زنونز، ع. ر.، "بررسی پارامترهای مؤثر بر لخته‌سازی ریزجلبک *Chlorella sp.* به‌وسیله آلوم"، نشریه مهندسی شیمی ایران، سال بیست‌ودوم، شماره ۱۲۷، صص. ۱۷-۰۷، (۱۴۰۲).

اقتصاد و توسعه یک کشور به میزان انرژی آن بستگی دارد. در حال حاضر منابع متعارف در صنایع تولید و حمل و نقل به طور عمده از سوخت‌های فسیلی مانند زغال سنگ، نفت و گاز طبیعی تأمین می‌شود [۱]. با توجه به افزایش سریع جمعیت، صنعتی شدن، شهرنشینی و افزایش تعداد وسایل نقلیه، مصرف سوخت‌های فسیلی در چند دهه گذشته با سرعت نگران‌کننده‌ای افزایش یافته و باعث کاهش این منابع شده است. گزارش‌ها و بررسی‌های آماری نشان می‌دهد که ادامه بهره‌برداری از این سوخت‌ها باعث اتمام آن‌ها طی پنجاه سال آینده خواهد شد [۲]. علاوه بر این سوخت‌های فسیلی جزو منابع اصلی انتشار دی‌اکسید کربن هستند [۳]. احتراق سوخت‌های فسیلی منجر به تجمع گازهای گلخانه‌ای مضر در جو و در نتیجه گرمایش کره زمین می‌شود [۴]. پر واضح است که در نتیجه بهره‌برداری و مصرف سوخت‌های فسیلی در آینده‌ای نزدیک با بحران جهانی انرژی و زیست‌محیطی مواجه خواهیم بود. بنابراین تحقیقات اخیر روی توسعه سوخت‌های پایدار و سازگار با محیط زیست متمرکز شده است [۵]. امروزه سوخت‌های زیستی پاک، تجدیدپذیر و پایدار به عنوان جای‌گزین احتمالی برای سوخت‌های فسیلی مطرح هستند [۶].

در حال حاضر بیودیزل که مخلوطی از اسیدهای چرب متیل‌استر است، به عنوان یک منبع انرژی دوست‌دار محیط زیست و جای‌گزینی قابل اعتماد برای سوخت‌های فسیلی به‌شمار می‌رود [۷]. تا کنون منابع مختلفی برای تولید بیودیزل معرفی شده که از آن جمله می‌توان از دانه‌های خوراکی مانند ذرت، ضایعات لیگنوسلولزی و لیبیدهای تولیدشده ریزجلبک‌ها نام برد. اگرچه استفاده از تولید بیودیزل نیز منجر به انتشار دی‌اکسید کربن می‌شود؛ اما چون این منبع کربن از گیاهان و زیست‌توده جلبک‌ها به‌دست آمده، نرخ کلی انتشار دی‌اکسید کربن در مقایسه با سوخت‌های فسیلی صفر است [۸، ۹]. به‌تازگی استفاده از ریزجلبک به عنوان منبع تولید سوخت، بسیار جلب توجه کرده است. ریزجلبک‌ها مجموعه وسیعی از ریزاندام‌های با کلروفیل *a* هستند که توانایی انجام فرایند فتوسنتز را دارند. این موجودات می‌توانند دی‌اکسید کربن موجود در جو را برای تبدیل به زیست‌توده و نیز تجمع بیودیزل مصرف کنند [۱۰-۱۲].

خصوصیاتی از قبیل بی‌نیازی از زمین با وسعت زیاد برای کشت، بی‌نیازی از آب شیرین، نداشتن وابستگی رشد به فصل، امکان برداشت روزانه، نداشتن رقابت با محصولات غذایی و حیوانی، مقاومت در شرایط سخت و تولید محتوای بالای روغن، باعث شده که این سلول‌ها نسبت به سایر منابع تولید بیودیزل بیشتر جلب توجه کنند [۱۳، ۱۴]. با وجود همه برتری‌های ذکرشده برای ریزجلبک‌ها، فرایند تولید بیودیزل به دلیل نیاز به جداسازی سلول‌ها از محیط بسیار رقیق و هم‌چنین به علت اندازه بسیار ریز سلول‌ها، دارای محدودیت‌های بسیاری است و این امر یکی از چالش‌های بسیار مهم در تولید سوخت‌های بر پایه ریزجلبک است. مشخص شده که ۳۰-۲۰٪ از هزینه کلی تولید و هزینه عملیاتی در این فرایند صرف جداسازی سلول‌ها می‌شود [۱۵-۱۸]. روش‌های سنتی جداسازی سلولی مانند سانتریفیوژ و پالایش به دلیل ماهیت رقیق محیط کشت و اندازه کوچک سلول‌ها، از نظر عملی و اقتصادی امکان‌پذیر نیست [۱۹، ۲۰]. در میان تمام روش‌های جداسازی، لخته‌سازی ریزجلبک‌ها و به دنبال آن پالایش یا سانتریفیوژ تنها راه عملی برای برداشت مقادیر بالای سلولی به‌شمار می‌رود [۲۱].

لخته‌سازی عبارت است از فرایند تجمع ذرات معلق کوچک به لخته‌های بزرگ‌تر که به آسانی قابل جداسازی هستند [۲۲]. لخته‌سازی به‌طور کلی شامل سه مرحله است: خنثی‌سازی بار سلول‌های ریزجلبک با مواد لخته‌کننده (که دارای بار سطحی منفی هستند)، تشکیل توده‌های درشت یا همان لخته و در آخر ته‌نشینی لخته‌های شکل‌گرفته [۲۳، ۲۴]. از جمله متداول‌ترین روش‌های لخته‌سازی استفاده از نمک‌های معدنی است که در این بین نمک‌های آلومینیوم و آهن جزو رایج‌ترین نمک‌ها برای انعقاد به‌شمار می‌روند. مطالعات قبلی نشان داده که غلظت بالای از مواد لخته‌کننده (تا حدود 750 mg L^{-1}) برای جداسازی سلول‌های ریزجلبک نیاز است [۲۵]. در صورت نیاز به استفاده از زیست‌توده در کاربردهایی مانند تغذیه آبزیان، این روش جداسازی قابل قبول نیست [۲۶]. با این حال نتایج مطالعات نشان داده که محتوای کل چربی و ترکیب درصد اسیدهای چرب (برای تولید بیودیزل)، تحت تأثیر نمک‌های معدنی مانند آلوم قرار نمی‌گیرند [۲۷]. به‌علاوه، به دلیل ویژگی‌های شناخته‌شده مواد منعقدکننده معدنی، از این ترکیبات می‌توان به‌عنوان یک مدل خوب برای بررسی برهم‌کنش‌های سلولی-لخته‌سازی استفاده کرد [۲۸].

در مطالعات پیشین، مشخصه‌های مؤثر بر لخته‌سازی به صورت مطالعه تک‌مشخصه‌ای [۲۹-۳۱] یا روش‌های ترکیبی مانند RSM [۳۲، ۳۳] بررسی شده بودند و هدف آن‌ها به دست آوردن شرایط بهینه برای لخته‌سازی بوده است؛ اما به سبب رخداد تغییر سازوکار لخته‌سازی در حین تغییر pH [۳۴، ۳۵] نیاز به انجام مطالعه جامعی برای بررسی اثرگذاری این مشخصه و نیز برهمکنش آن با سایر مشخصه‌ها روی سازوکار لخته‌سازی احساس می‌شد. در این مطالعه با روش فاکتوریل کامل به بررسی اثر مشخصه‌های pH، غلظت سلولی و میزان ماده لخته‌کننده بر راندمان جداسازی سلول‌های *Chlorella sp.* و همچنین برهم‌کنش این مشخصه‌ها پرداخته شده و سازوکارهای مختلف انجام لخته‌سازی نیز لحاظ شده است. به علاوه با استفاده از تجزیه آماری، اثر هر مشخصه به تنهایی و یا در تعامل با یکدیگر بررسی شده است.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ تهیه گونه و محیط کشت

برای انجام آزمایش‌های لخته‌سازی، گونه دریایی *Chlorella sp.* انتخاب شد و با شماره سویه PTCC 6010 از مرکز کلکسیون ریزاندام‌های صنعتی ایران وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (IROTS) تهیه شد. با توجه به نوع سلول، محیط کشت Rudic با غلظت سدیم کلراید ۳۵ گرم بر لیتر برای رشد سلول‌ها در نظر گرفته شد. ترکیبات این محیط کشت به‌ازای هر لیتر عبارت‌اند از:

۳۰۰ mg NaNO₃, ۲۰۰ mg KH₂PO₄, ۸۰ mg K₂HPO₄, ۲۰ mg NaCl, ۴۷ mg CaCl₂, ۱۰ mg MgSO₄, ۰/۱ mg ZnSO₄.7H₂O, ۱/۵ mg MnSO₄.H₂O, ۰/۰۸ mg CuSO₄.5H₂O, ۰/۳ mg H₃BO₃, ۰/۳ mg (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O, ۱۷ mg FeCl₃.6H₂O, ۰/۲ mg Co(NO₃)₂.H₂O, ۷/۵ mg Na₂EDTA

برای کشت سلول‌ها از ظرف‌های پنج‌لیتری شفاف از جنس PET به‌عنوان زیست‌واکنشگاه استفاده شد. سلول‌ها در دمای اتاق نگهداری و با جریان هوای استریل با نرخ ۰/۵ L min⁻¹ که از یک فیلتر ۰/۲۲ μm عبور می‌کرد، به‌طور مرتب هوادهی شدند؛ هم‌چنین نوردهی پیوسته به‌وسیله دو لامپ فلورسنت که در دو طرف ظرف قرار داده شده بودند، با شدت ۶۰ μmol m⁻² s⁻² انجام گرفت.

۲-۲ روش‌های تجزیه

غلظت سلولی با اندازه‌گیری چگالی نوری در ۵۵۰ nm با دستگاه طیف‌سنج نوری مدل UV/VIS V-550 ساخت شرکت JASCO (Japan) اندازه‌گیری شد و چگالی نوری با روش اندازه‌گیری وزن خشک بدون خاکستر با وزن خشک سلولی واسنجی شد [۳۶]. میزان پتانسیل زتای سلول‌ها نیز با دستگاه Brookhaven Zetaplus zeta potential analyzer در چگالی‌های نوری مختلف اندازه‌گیری شد تا تغییرات بار سطحی سلول‌ها با افزایش سن سلول بررسی پذیرد. روش طراحی فاکتوریل مقوله‌ای چندسطحی^۱ به‌وسیله نرم‌افزار Design Expert 11.0 (Stat-Ease, Inc., USA) نیز برای تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) به کار رفت.

۲-۳ روش انجام آزمایش

آزمایش‌های لخته‌سازی در دو غلظت سلولی OD₅₅₀=1 و OD₅₅₀=3 انجام گرفت. این غلظت‌ها به ترتیب دارای وزن خشک ۰/۵ g L⁻¹ و ۱/۵ g L⁻¹ و متناسب با غلظت سلولی حاصل از حوضچه‌های کشت روباز و فوتوبیوراکتورها هستند. برای بررسی اثر غلظت سلولی، pH و میزان ماده لخته‌کننده بر راندمان جداسازی، روش طرح عاملی کلی به کار رفت. مقادیر مربوط به هر کدام از متغیرها و سطوح مورد بررسی در جدول (۱) ارائه شده است.

جدول ۱. متغیرهای مورد مطالعه در لخته‌سازی سلول‌ها با آلوم.

Table 1. Parameters Studied for microalgae flocculation with alum.

Parameters	Measurement Unit	Levels
Independent Parameters		
Optical Density (OD ₅₅₀)	-	1.0, 3.0
pH	-	6.0, 7.5, 9.0, 10.5, 12.0
Flocculant Dosage	g L ⁻¹	0.15, 0.05, 0.03, 0.30, 0.50, 1.25, 2.50, 3.75, 5.00
Dependent Parameters		
Flocculation Efficiency	%	0 – 100

1. Multilevel Categorical Factorial Design

منفی است [۳۹]. بنابراین انتظار می‌رود که در محدوده pH مورد بررسی با افزایش قلیابیت محیط، بار سطحی سلول‌ها کاهش یابد. چنان‌که در شکل (۱) مشاهده می‌شود، با افزایش pH تا ۹/۵، میزان پتانسیل زتای سلول‌ها از ۵- تا ۲۲- کاهش می‌یابد. افزایش pH تا ۱۲ باعث افزایش اندک میزان پتانسیل زتای سلول‌ها می‌شود (شکل (۱)) که این امر می‌تواند به دلیل تشکیل هیدروکسید منیزیم باشد. در pHهای بالا Mg^{2+} می‌تواند تشکیل رسوب‌های منیزیم هیدروکسید $Mg(OH)_2$ بدهد، که دارای بار مثبت و سطح جذب بالا هستند [۴۰]. این رسوب‌ها می‌توانند موجب جذب سلول‌های ریز جلبک و باعث فشردگی دو لایه الکتریکی^۱ و در نتیجه افزایش میزان پتانسیل زتای سلول‌ها شوند. روند مشاهده‌شده در این پژوهش با مطالعات قبلی کاملاً هم‌خوانی دارد [۳۳، ۴۱].

پژوهش‌های پیشین نشان داده که افزایش pH محیط، باعث تشکیل رسوب‌های فلزی به شکل هیدروکسید و این امر باعث هم‌رسوبی سلول‌ها و این مواد می‌شود [۴۱]. به‌منظور بررسی اثر قلیابیت روی جداسازی سلول‌ها، آزمایش لخته‌سازی با افزایش pH روی هر دو غلظت سلولی انجام شد. همان‌طور که در شکل (۱) نیز پیداست با افزایش pH تا میزان ۹/۵، هیچ‌گونه لخته‌سازی به‌صورت محسوس مشاهده نشد. افزایش pH از ۹/۵ تا ۱۲ تنها باعث تشکیل رسوب‌های اندکی شد که در طولانی‌مدت در انتهای لوله‌های آزمایش ته‌نشین شده و راندمان لخته‌سازی آن‌ها کم‌تر از ۲۰٪ حساب شد. بنابراین در این‌جا مشخص شد که برخلاف برخی از مطالعات قبل [۴۲] مبنی بر توانایی لخته‌سازی سلول‌ها با افزایش pH، در این‌جا قلیابیت تأثیر چندانی در انعقاد سلول‌ها ندارد که می‌تواند ناشی از غلظت پایین یون‌های کلسیم و منیزیم در محیط کشت باشد.

۳-۲ لخته‌سازی سلول‌ها با آلوم

شکل (۲) نشان‌دهنده راندمان لخته‌سازی سلول‌های *Chlorella sp.* تحت شرایط مختلف آزمایشگاهی است. نتایج بررسی‌ها نشان داد که در pHهای پایین‌تر از ۶ راندمان لخته‌سازی بسیار پایین بود (کم‌تر از ۳۰٪) که نتایج آن‌ها ارائه نشد. هندرسون و همکاران نیز مشاهده کردند که به دلیل پتانسیل زتای مثبت بالاتر در pH برابر با پنج، راندمان جداسازی سلول‌های ریز جلبک بسیار پایین است [۳۰].

ترکیب شیمیایی آلوم با فرمول شیمیایی $Al_2(SO_4)_3$ ساخت شرکت Merck (Germany) استفاده شد. پیش از انجام آزمایش‌های لخته‌سازی ماده لخته‌کننده به‌صورت محلول در آب و با غلظت ۵٪ وزنی آماده شد. میزان pH سلول‌ها نیز با محلول‌های یک نرمال سدیم کلراید و اسید هیدروکلریک تنظیم شد. برای انجام آزمایش لخته‌سازی میزان ۱۰ میلی‌لیتر از سلول‌هایی که از قبل pH آن‌ها تنظیم شده بود، به لوله آزمایش اضافه شد، سپس حجم مشخصی از ماده لخته‌کننده به آن افزوده و پس از بستن درب لوله‌ها به‌مدت ۲۰ ثانیه با دستگاه شیکر، به هم زده شدند. سپس لوله‌ها برای دو ساعت کنار گذاشته شدند تا لخته‌های شکل گرفته به‌طور کامل ته‌نشین شوند.

راندمان جداسازی نیز با فرمول زیر حساب شد [۳۷]:

$$\text{Harvesting Efficiency} = \frac{OD_i - OD_f}{OD_i} \times 100 \quad (1)$$

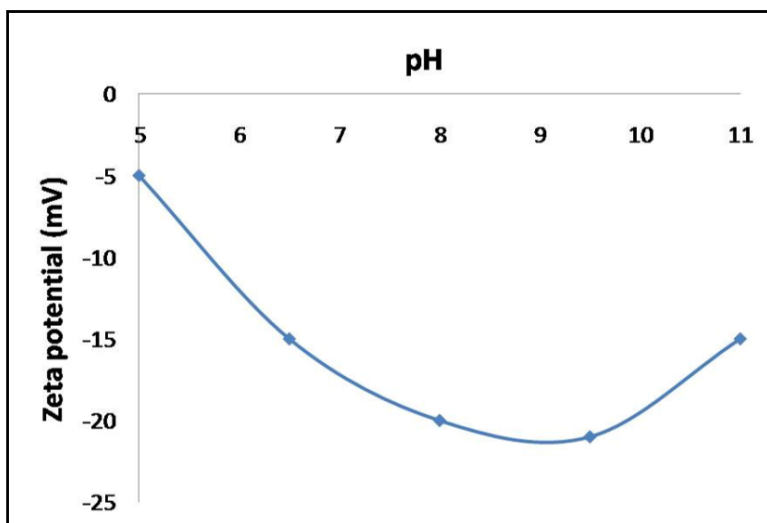
که در فرمول بالا OD_i چگالی نوری سلول‌ها قبل از انجام آزمایش و OD_f چگالی نوری سلول‌ها پس از انجام آزمایش است که در ارتفاع یک سوم از بالای مایع شفاف نمونه‌گیری شده است. برای بررسی اثر خالص pH بر انعقاد سلول‌ها آزمایش‌های جداگانه‌ای انجام شد. بدین منظور با استفاده از هیدروکسید سدیم pH سلول‌ها در هر دو غلظت سلولی از ۸ تا ۱۲، که محدوده pH مورد بررسی در آزمایش لخته‌سازی است، تنظیم شد و ۱۰ میلی‌لیتر از سلول‌ها داخل لوله‌های آزمایش ریخته شد و پس از دو ساعت مطابق فرمول (۱) راندمان جداسازی حساب شد.

۳. بحث و نتیجه‌گیری

۳-۱ بررسی اثر pH خالص

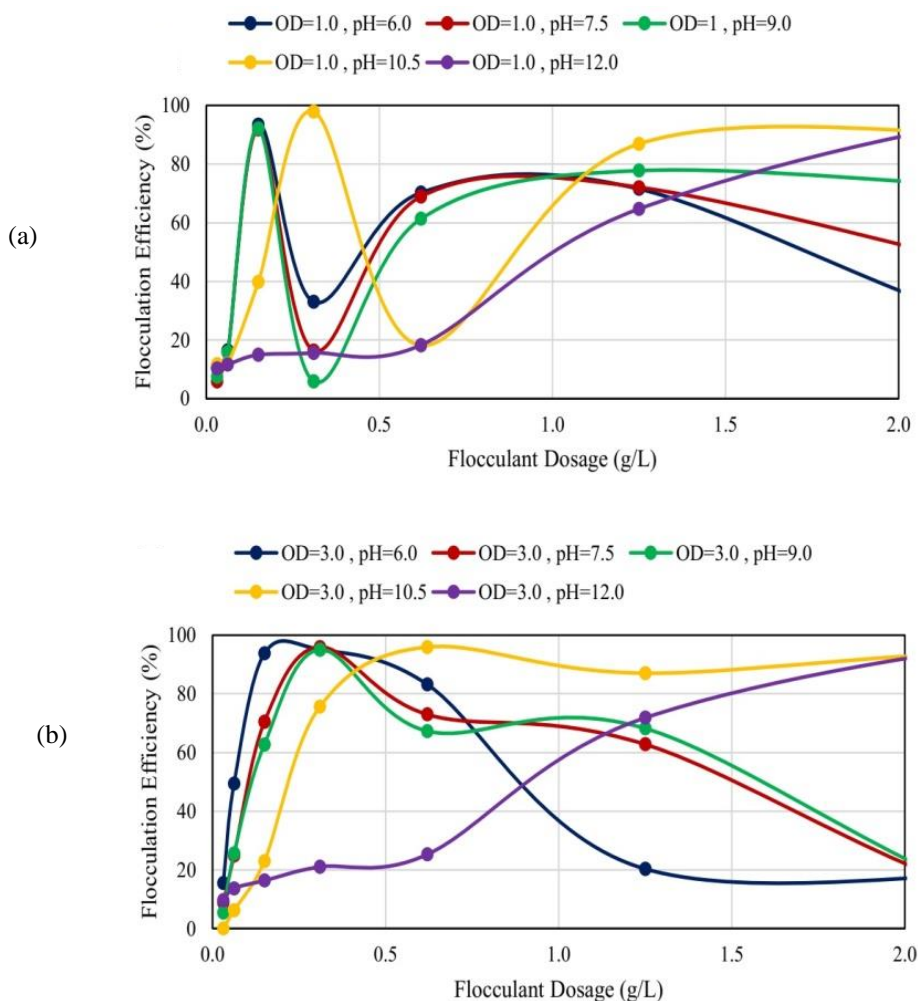
با توجه به این امر که pH محیط بر روی پتانسیل زتای سلول‌ها اثرگذار است، راندمان لخته‌سازی را نیز می‌تواند تحت تأثیر قرار دهد. pH ایزوالکتریک سلول‌های ریز جلبک حدود ۳ الی ۴ است [۳۸]. در این نقطه بار سطحی سلول‌ها صفر است و سلول‌ها از نظر الکتریکی خنثی هستند. در مقادیر کمتر از pH ایزوالکتریک، گروه‌های آمین دارای بار مثبت و گروه‌های کربوکسیل و فسفریل پروتونه باقی می‌مانند؛ اما در pHهای بالاتر از این نقطه، گروه‌های کربوکسیل و فسفریل دی‌پروتونه می‌شوند و بار سطحی سلول‌ها

1. Electrical Double Layer



شکل ۱. تغییرات پتانسیل زتای سلول‌ها با pH (OD₅₅₀ = 3).

Figure 1. Zeta potential for Chlorella sp. Vs pH.



شکل ۲. راندمان جداسازی با افزایش میزان ماده لخته‌کننده تحت سطوح مختلف pH: (a) OD=1 و (b) OD=3.

Figure 2. Change in flocculation efficiency versus flocculant dosage and different pH levels (A): OD = 1.0, (B): OD = 3.0.

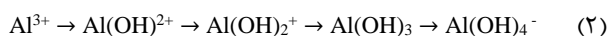
رابطه خطی بین میزان ماده لخته‌کننده و غلظت سلولی وجود دارد؛ این در حالی است که در غلظت‌های سلولی میزان ماده لخته‌کننده مورد نیاز مستقل از غلظت سلولی است [۳۹].

۳-۳ تجزیه آماری

جدول (۲) نتایج مربوط به تجزیه واریانس را برای آزمایش‌های انجام‌شده، نشان می‌دهد. مطابق با تحلیل مدل کاملاً شاخص است و متغیرهای OD و میزان ماده لخته‌کننده و نیز برهمکنش pH و میزان ماده لخته‌کننده مصرفی از نظر آماری روی فرایند تاثیرگذار هستند. عدم اثرگذاری مستقیم متغیر pH روی فرایند ناشی از این مسئله است که اگرچه رفتار لخته‌سازی در pHهای مختلف تفاوت دارد؛ ولی تغییر pH روی حداکثر میزان جداسازی به‌عنوان متغیر وابسته بی‌تأثیر است. به‌علاوه در واقع برهمکنش متغیرهای pH و میزان آلود (غلظت ماده لخته‌کننده) به‌طور مستقیم روی فرایند اثرگذار است. همان‌گونه که پیش از این ذکر شد، با افزایش pH، به ماده لخته‌کننده بیشتری برای یک میزان مشخص از جداسازی نیاز است. این امر می‌تواند به‌دلیل اثر pH روی ساختار شیمیایی آلود و نیز پتانسیل زتای سلول‌ها باشد. در شکل (۱) مشخص است که با افزایش pH چگالی بار منفی سلول‌ها افزایش یافته و بنابراین سلول‌ها برای خنثی‌شدن، به میزان بیشتری از ماده لخته‌کننده نیاز دارند.

۳-۴ رابطه بین آلود و pH

یون‌های آلومینیوم در آب هیدراته می‌شوند. این یون‌ها که از جای‌گزینی مولکول‌های آب به‌وسیله گروه کربوکسیل حاصل می‌شوند، به‌توالی در معادله زیر نشان داده شده‌اند [۳۵].



تفکیک یون‌های آلومینیوم در محلول آبی یک فرایند پیچیده است که به‌شدت تحت تأثیر غلظت آلومینیوم، pH و حضور آنیون‌های خاص جذب‌شده مثل سولفات است [۳۴، ۴۳]. مطالعات نشان داده که در pHهای اسیدی گونه‌های مونومری آلومینیوم مانند Al^{3+} ، $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ و $\text{Al}(\text{OH})_3$ غالب هستند. در pHهای اسیدی ملایم و خنثی، رفتار کمی پیچیده‌تر است و گونه‌های مونومری

همان‌گونه که در شکل (۲) نیز قابل مشاهده است، برای pHهای بین ۶ تا ۹ در ابتدا افزایش مقدار ماده لخته‌کننده به‌دلیل خنثی‌کردن بار سطحی سلول‌ها به‌تدریج باعث افزایش راندمان جداسازی تا میزان حداکثری آن می‌شود. از آن پس افزایش بیشتر ماده لخته‌کننده به‌دلیل تجمع بارهای مثبت اضافی منجر به پراکنده‌شدن دوباره سلول‌ها و در نتیجه کاهش راندمان می‌شود.

در pHهای بالاتر از ۹ راندمان لخته‌سازی بسیار پایین است و برای رسیدن به میزان مشخص از جداسازی نسبت به pHهای پایین‌تر نیاز به ماده لخته‌کننده بیشتری است. از طرفی حداکثر میزان جداسازی برای تمامی pHها تقریباً یکسان است؛ اما بین pH و مقدار ماده لخته‌کننده رابطه مستقیمی وجود دارد. به‌عبارت دیگر با افزایش pH، میزان ماده لخته‌کننده برای جداسازی بهینه نیز افزایش می‌یابد. بر این اساس میزان pH برابر ۶ به‌عنوان pH بهینه که در آن حداقل میزان ماده لخته‌کننده که برای حداکثر جداسازی لازم است، در نظر گرفته شد. دوان و گریگوری نیز اظهار کردند که چون حداقل میزان آلومینیوم آبکافت شده محلول در حدود $\text{pH}=6$ وجود دارد، این pH مناسب‌ترین pH برای جداسازی با این ماده لخته‌کننده است [۳۴].

مقایسه دو غلظت سلولی نشان می‌دهد که با افزایش OD، میزان ماده لخته‌کننده برای حداکثر جداسازی نیز افزایش می‌یابد؛ این امری کاملاً بدیهی و ناشی از افزایش سطح سلول‌های مورد آزمایش با افزایش چگالی سلولی است؛ اما همان‌طور که از شکل نیز مشخص است این رابطه خطی نیست و به‌عنوان مثال برای مقدار pH بهینه ($\text{pH} = 6$)، در $\text{OD} = 1$ با وزن خشک سلولی، برابر با 0.15 g L^{-1} به‌میزان 150 mg L^{-1} از ماده لخته‌کننده برای حداکثر میزان جداسازی نیاز است. در شرایط $\text{OD} = 3$ با وزن خشک $1/5 \text{ g L}^{-1}$ این میزان برابر 200 mg L^{-1} است؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد که با افزایش غلظت سلولی به‌دلیل افزایش احتمال برخورد بین سلول‌ها، میزان ماده لخته‌کننده کمتری به‌ازای گرم سلول جداشده نیاز است. این در حالی است که در مطالعات قبلی رفتارهای متفاوتی از اثر غلظت سلولی بر میزان ماده لخته‌کننده بهینه مشاهده شده است. شلزنر و همکاران مشاهده کردند که میزان ماده لخته‌کننده مورد نیاز با لگاریتم چگالی سلولی متناسب است [۴۲]. در حالی که ویات و همکاران گزارش کردند که در غلظت‌های سلولی پایین،

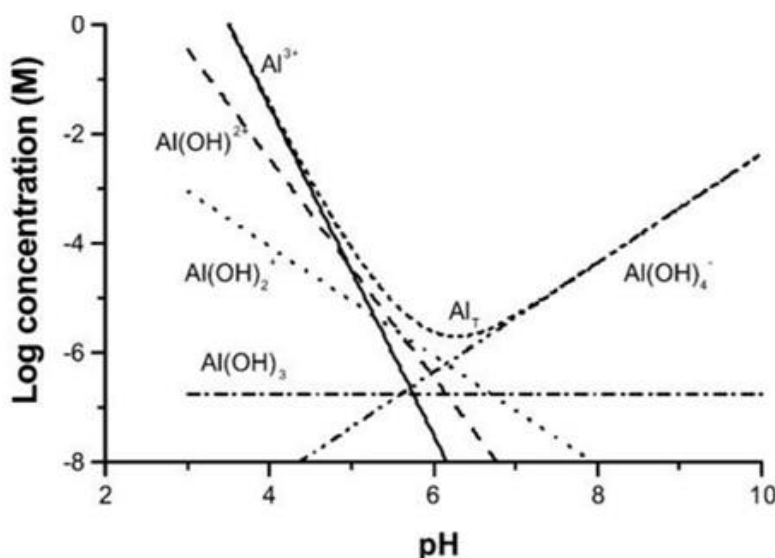
جدول ۲. تجزیه واریانس برای متغیرهای مورد مطالعه در لخته‌سازی سلول‌های ریز جلبک.

Table 2. ANOVA test of parameters involved in flocculation.

	Sum of Squares	Degree of Freedom	Average Squares	f-value	P-value
Statistical Model	66562.90	45	1479.18	5.37	< 0.0001
A: OD	4358.3	1	4358.3	15.82	0.0003
B: pH	1687.77	4	421.94	1.53	0.296
C: Dosage	32109.81	8	4013.73	14.57	< 0.0001
B*C	28407.28	32	887.73	3.22	0.0002
Error	12121.89	44	275.50		

مشاهده می‌شود و سلول‌ها از راه جذب آلومینیوم هیدرولیز شده با بار مثبت روی سطح خود با دو سازوکار خنثی‌سازی بار و هم‌رسوبی، دچار لخته‌سازی می‌شوند. با افزایش قلیائیت محیط، میزان پتانسیل زتای سلول‌ها منفی‌تر می‌شود که به معنی نیاز به ماده لخته‌کننده بیشتر است و هم‌زمان رسوب‌های آریخت تشکیل شده از هیدرولیز آلومینیوم، چگالی باری منفی‌تری پیدا می‌کنند و حلالیت کم‌تری نیز دارند که منجر به تغییر سازوکار به سمت لخته‌سازی روبشی^۱ می‌شوند و نیاز به ماده لخته‌کننده بیشتری برای به دام‌انداختن سلول‌ها و هم‌رسوبی آن‌ها وجود دارد [۴۳].

و هیدروکسوکاتیون‌های پلیمری و همین‌طور رسوب هیدروکسیدهای فلزی در محیط وجود دارد. هرچقدر که pH قلیایی‌تر باشد، رسوب‌های هیدروکسید فلزی با بار منفی که به شکل آریخت (آمورف) هستند در محیط غالب می‌شوند و آنیون‌های مونومری کاهش پیدا می‌کنند [۳۴، ۴۴]. شکل (۳) به صورت طرحواره، تغییر ساختار شیمیایی ترکیبات آلومینیوم را در مقابل تغییرات pH نشان می‌دهد. با توجه به این که حداقل میزان حلالیت آلومینیوم هیدرولیز شده در pH حدود ۶ قرار دارد و در این pH گونه‌های غالب دارای بار مثبت هستند، بنابراین کمترین میزان ماده لخته‌کننده برای جداسازی سلول‌ها در این میزان pH



شکل ۳. تفکیک یون‌های آلومینیوم با pH [46].

Figure 3. Aluminum ion dissociation with pH change [46].

۳-۵ مقدار ماده لخته‌کننده

سلولی به دلیل افزایش احتمال برخورد بین سلول‌ها، میزان سلول‌های جدا شده در واحد ماده لخته‌کننده مصرفی، کاهش می‌یابد.

همان‌طور که در شکل (۳) نیز مشخص است، در pHهای ۶ تا ۱۰، چون سازوکار جداسازی ترکیبی از خنثی‌سازی بار و لخته‌سازی روبشی است، با افزایش میزان ماده لخته‌کننده، راندمان جداسازی ابتدا به دلیل خنثی‌سازی بار سطحی سلول‌ها و هم‌رسوبی آن‌ها با بلورهای آلومینیوم، ابتدا افزایش می‌یابد تا به میزان حداکثر خود برسد. افزودن بیشتر ماده لخته‌کننده به دلیل تجمع بار مثبت، باعث کاهش راندمان می‌شود. پس از آن افزودن مجدد ماده لخته‌کننده دوباره شروع به افزایش مجدد می‌کند. علت این است که تجمع ماده لخته‌کننده باعث تشکیل بلورهای مختلف از آلومینیوم و در نتیجه لخته‌سازی روبشی در اثر تشکیل بلورهای جامد از ماده لخته‌کننده می‌شود [۳۴، ۳۵، ۴۵]. در pH برابر با ۱۲، چون گونه غالب $Al(OH)_4^-$ است (شکل (۳))، هم‌زمان با تشکیل رسوب‌های منفی، ترسیب هم‌زمان سلول‌ها و آریخت $Al(OH)_4^-$ سازوکار غالب لخته‌سازی است و همین امر باعث می‌شود که در این pH رفتار متفاوت باشد و میزان زیادی از ماده لخته‌کننده برای جداسازی سلول‌ها نسبت به سایر pHها نیاز باشد (شکل (۲)).

مراجع

- [1] Yin, Z., Zhu, L., Li, S., Hu, T., Chu, R., Mo, F., Hu, D., Liu, C., Li, B., "A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: Environmental pollution control and future directions", *Bioresource Technology*, 301: p. 122804, (2020).
- [2] Chhandama, M. V. L., Satyan, K. B., Changmai, B., Vanlalveni, C., Rokhum, S. L., "Microalgae as a feedstock for the production of biodiesel: A review", *Bioresource Technology Reports*, 15: p. 100771, (2021).
- [3] Sims, R. E. H., Rogner, H., Gregory, K., "Carbon emission and mitigation cost comparisons between fossil fuel, nuclear and renewable energy resources for electricity generation", *Energy Policy*, 31 (13), pp. 1315-1326, (2003).
- [4] Tang, D., Guo Yong, Y., Koyande, A., Kit Wayne, C., Vo, D., "Green technology for the industrial production of biofuels and bioproducts from microalgae: a review", *Environmental Chemistry Letters*, 18, (2003).
- [5] Pathak, G., Das, D., Rajkumari, K., Rokhum, S. L., "Exploiting waste: towards a sustainable production of biodiesel using *Musa acuminata* peel ash as a heterogeneous catalyst", *Green Chemistry*, 20 (10), pp. 2365-2373, (2018).
- [6] Peng, L., Fu, D., Chu, H., Wang, Z., Qi, H., "Biofuel production from microalgae: a review", *Environmental Chemistry Letters*, 18 (2), pp. 285-297, (2020).
- [7] Gharabaghi, M., Delavai Amrei, H., Moosavi Zenooz, A., Shahrivar Guzullo, J., Zokaee Ashtiani, F., "Biofuels: Bioethanol, Biodiesel, Biogas, Biohydrogen from Plants and Microalgae" in "CO₂ Sequestration, Biofuels and Depollution", Springer International Publishing, Cham, pp. 233-274, (2015).
- [8] Barati, B., Zeng, K., Baeyens, J., Wang, S., Addy, M., Gan, S., El-Fatah Abomohra, A., "Recent progress in genetically modified microalgae for enhanced carbon dioxide sequestration", *Biomass and Bioenergy*, 145, p. 105927, (2021).
- [9] Herrera, A., D'Imporzano, G., Acién Fernandez, F. G., Adani, F., "Sustainable production of microalgae in raceways: Nutrients and water management as key factors influencing environmental impacts", *Journal of Cleaner Production*, 287, p. 125005, (2021).

۴. نتیجه‌گیری

آلوم یکی از پرکاربردترین انواع مواد منعقدکننده است که در صنایع مختلف استفاده دارد. با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده شد که لخته‌سازی با آلوم یکی از روش‌های مؤثر و در عین حال ارزان برای جداسازی سویه *Chlorella sp.* در تولید بیودیزل است. راندمان لخته‌سازی تحت تأثیر غلظت سلولی، میزان ماده لخته‌کننده و برهم‌کنش بین pH و میزان ماده لخته‌کننده است. متغیر pH نه تنها روی ویژگی‌های سطحی سلول مانند پتانسیل زتای آن اثرگذار است، بلکه به دلیل تأثیری که روی تفکیک یونی آلومینیوم دارد روی راندمان لخته‌سازی تأثیر به‌سزایی می‌گذارد. بنابر نتایج، pH بهینه برای لخته‌سازی با آلوم برابر با ۶ است. در این pH پتانسیل زتای سلول‌ها مثبت‌تر است و ماده لخته‌کننده کم‌تری برای انجام لخته‌سازی نیاز است؛ هم‌چنین به دلیل این که گونه‌های تفکیک‌شده آلومینیوم به‌طور عمده بار مثبت دارند، نیاز به ماده لخته‌کننده به حداقل ممکن می‌رسد؛ بنابراین به نظر می‌رسد که مهم‌ترین عامل در تعیین راندمان بهینه pH محیط است. از طرفی با افزایش غلظت

- [10] Wang, B., Li, Y., Wu, N., Lan, C. Q., "CO₂ biomitigation using microalgae", Applied Microbiology and Biotechnology, 79 (5), pp. 707-718, (2008).
- [11] Syafaini Japar, A., Sobri Takriff, M., Haiza Mohd Yasin, N., "Microalgae acclimatization in industrial wastewater and its effect on growth and primary metabolite composition", Algal Research, V.53, p. 102163, (2021).
- [12] Rashedi, H., Yazdian, F., NaghizadehGharabaghi, S., "Microbial Enhanced Oil Recovery" in "Introduction to Enhanced Oil Recovery) EOR (Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites", IntechOpen, (2012).
- [13] Moosavi Zenooz, A., Zokae Ashtiani, F., Ranjbar, R., Javadi, N., "Synechococcus sp (PTCC 6021) cultivation under different light irradiances-Modeling of growth rate-light response", Preparative Biochemistry & Biotechnology, 46 (6), pp. 567-574, (2016).
- [14] Alishah Aratboni, H., Rafiei, N., Garcia-Granados, R., Alemzadeh, A., Morones-Ramírez, J. R., "Biomass and lipid induction strategies in microalgae for biofuel production and other applications", Microbial Cell Factories, 18 (1), pp. 019-1228, (2019).
- [15] Khan, M. I., Shin, J. H., Kim, J. D., "The promising future of microalgae: current status ,challenges ,and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels ,feed ,and other products", Microbial Cell Factories, 17 (1), p. 36, (2018).
- [16] Salim, S., Bosma, R., Vermuë, M. H., Wijffels, R. H., "Harvesting of microalgae by bio-flocculation", Journal of Applied Phycology, 23 (5), pp. 849-855, (2011).
- [17] Muhammad, G., Alam, M. A., Mofijur, M., Jahirul, M. I., Lv, Y., Xiong, W., Ong, H. C., Xu, J., "Modern developmental aspects in the field of economical harvesting and biodiesel production from microalgae biomass", Renewable and Sustainable Energy Reviews, 135, p. 110209, (2021).
- [18] Lucakova, S., Branyikova, I., Kovacikova, S., Pivokonsky, M., Filipenska, M., Branyik, T., Ruzicka, M. C., "Electrocoagulation reduces harvesting costs for microalgae", Bioresource Technology, 323, p. 124606, (2021).
- [19] Álvarez, X., Jiménez, A., Cancela, Á., Valero, E., Sánchez, Á., "Harvesting freshwater algae with tannins from the bark of forest species: Comparison of methods and pelletization of the biomass obtained", Chemosphere, 268, p. 129313, (2021).
- [20] Chisti, Y., "Biodiesel from microalgae", Biotechnology Advances, 25(3), pp. 294-306, (2007).
- [21] Uduman, N., Qi, Y., Danquah, M., Hoadley, A., "Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement", Chemical Engineering Journal, 162, pp. 935-940. (2010).
- [22] Gregory, J., "Flocculation Fundamentals" in "I Encyclopedia of Colloid and Interface Science", Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 459-491 (2013).
- [23] Malik, S., Khan, F., Atta, Z., Habib, N., Haider, M., Wang, N., Alam, M. A., Jambi, E., Gull, M., Mehmood, M., Zhu, H., "Microalgal flocculation: Global research progress and prospects for algal biorefinery", Biotechnology and Applied Biochemistry, 67, (2019).
- [24] Ogbonna, C. N., Nwoba, E. G., "Bio-based flocculants for sustainable harvesting of microalgae for biofuel production .A review", Renewable and Sustainable Energy Reviews, 139, p. 110690, (2021).
- [25] Papazi, A., Makridis, P., Divanach, P., "Harvesting Chlorella minutissima using cell coagulants", Journal of Applied Phycology, 22 (3), pp. 349-355, (2010).
- [26] Molina Grima, E., Belarbi, E. H., Acien Fernández, F. G., Robles Medina, A., Chisti, Y , "Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics", Biotechnology Advances, 20 (7), pp. 491-515, (2003).
- [27] Vandamme, D., Gheysen, L., Muylaert, K., Foubert, I., "Impact of harvesting method on total lipid content and extraction efficiency for Phaeodactylum tricornutum", Separation and Purification Technology, 194, pp. 362-367, (2018).
- [28] Vandamme, D., Foubert, I., Muylaert, K., "Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production", Trends in Biotechnology, 31 (4), pp. 233-239, (2013).
- [29] Eldridge, R., Hill, D., Gladman, B., "A comparative study of the coagulation behaviour of marine microalgae", Journal of Applied Phycology, 24, (2012).
- [30] Henderson, R. K., Parsons, S. A., Jefferson, B., "Successful Removal of Algae through the Control of Zeta Potential", Separation Science and Technology, 43 (7), pp. 1653-1666, (2008).
- [31] Reyes, J. F., Labra, C., "Biomass harvesting and concentration of microalgae scenedesmus sp. cultivated in a pilot phobioreactor", Biomass and Bioenergy, 87: pp. 78-83, (2016).
- [32] Sanyano, N., Chetpattananondh, P., Chongkhong, S., "Optimization of flocculation of marine Chlorella sp. by response surface methodology", proceedings of TICHE International Conference at Hatyai, Songkhla, Thailand, (2011).
- [33] Shen, Y., Cui, Y., Yuan, W., "Flocculation optimization of microalga Nannochloropsis oculata", Applied Biochemistry and Biotechnology, 169 (7), pp. 2049-63, (2013).

- [34] Duan, J., Gregory, J., "Coagulation by hydrolysing metal salts", *Advances in Colloid and Interface Science*, 100-102, pp. 475-502, (2003).
- [35] Gregory, J., Duan, J., "Hydrolyzing metal salts as coagulants", *Pure and Applied Chemistry*, 73 (12), pp. 2017-2026, (2001).
- [36] Ríos, S. D., Salvadó, J., Farriol, X., Torras, C., "Antifouling microfiltration strategies to harvest microalgae for biofuel", *Bioresource Technology*, 119, pp. 406-418, (2012).
- [37] Moosavi Zenooz, A., Zokaee Ashtiani, F., Ranjbar, R., Nikbakht, F., Bolouri, O., "Comparison of different artificial neural network architectures in modeling of *Chlorella sp.* Flocculation", *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 47 (6), pp. 570-577, (2017).
- [38] Henderson, R., Parsons, S. A., Jefferson, B., "The impact of algal properties and pre-oxidation on solid-liquid separation of algae", *Water Research*, 42 (8), pp. 1827-1845, (2008).
- [39] Wyatt, N., Gloe, L., Brady, P., Hewson, J., Grillet, A., Hankins, M., Pohl, P., "Critical conditions for ferric chloride-induced flocculation of freshwater algae", *Biotechnology and bioengineering*, 109, pp. 493-501, (2012).
- [40] Parks, G. A., "Aqueous Surface Chemistry of Oxides and Complex Oxide Minerals", in "Equilibrium Concepts in Natural Water Systems", American Chemical Society, pp. 121-160, (1967).
- [41] Wu, Z., Zhu, Y., Huang, W., Zhang, C., Li, T., Zhang, Y., Li, A., "Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium", *Bioresource Technology*, 110, pp. 496-502, (2012).
- [42] Schlesinger, A., Eisenstadt, D., Bar-Gil, A., Carmely, H., Einbinder, S., Gressel, J., "Inexpensive non-toxic flocculation of microalgae contradicts theories; overcoming a major hurdle to bulk algal production", *Biotechnology Advances*, 30 (5), pp. 1023-1030, (2012).
- [43] Cañizares, P., Martínez, F., Jiménez, C., Lobato, J., Rodrigo, M. A., "Comparison of the Aluminum Speciation in Chemical and Electrochemical Dosing Processes", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 45 (26), pp. 8749-8756, (2006).
- [44] Bottero, J. Y., Cases, J. M., Fiessinger, F., Poirier, J. E., "Studies of hydrolyzed aluminum chloride solutions. I. Nature of aluminum species and composition of aqueous solutions", *The Journal of Physical Chemistry*, 84 (22), pp. 2933-2939, (1980).
- [45] Dentel, S. K., "Application of the precipitation-charge neutralization model of coagulation", *Environmental Science & Technology*, 22 (7), pp. 825-832, (1988).
- [46] Mohseni, F., Moosavi Zenooz, A., "Flocculation of *Chlorella vulgaris* with alum and pH adjustment", *Biotechnology and Applied Biochemistry*, pp. 1-9, (2021).