sina-pub.ir

تولید بیودیزل از روغن جلبک در اسیدهای چرب آزاد با تبدیل کاتالیزوری دومرحله‌ای

چکیده

تأثیر دما و زمان ذخیره‌سازی بر ترکیب لیپید Scenedesmus sp مورد مطالعه قرار گرفت. هنگامی‌که در دمای 4 درجه سانتی‌گراد یا بالاتر نگهداری شود، محتوای اسید چرب آزاد در زیست‌توده مرطوب در طی 4 روز از یک مقدار کم تا 62٪ افزایش می‌یابد. روغن جلبک با محتوای بالای اسیدچرب آزاد، توسط تبدیل کاتالیزوری دومرحله‌ای، پیش استرسازی و تبادل استری به بیودیزل تبدیل شد. سرعت تبدیل تری گلیسرولها در نسبت مولی 1:12 متانول به روغن، استفاده از هیدروکسید پتاسیم 2٪ به عنوان کاتالیزور در دمای 65 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه 100 درصد افزایش یافت. مقیاس فرآیند تولید بیودیزل از روغن جلبک‌های Scenedesmus sp. و Nannochloropsis sp افزایش یافت. بیودیزل خام با استفاده از خاک رنگبر خالص‌سازی شد. به جز برای محتوای رطوبت، بیودیزل با استانداردهای ملی چین مطابقت دارد.

1. مقدمه

بیودیزل از آلکیل استرهای اسید چرب ساخته‌شده از تری گلیسیریدها (TAG)، دی آسیل گلیسرول ها (DAG)، اسیدهای چرب آزاد (FFA) و فسفولیپیدها (PL) تشکیل می‌شود که به طور سنتی از روغن‌های گیاهی یا چربی‌های حیوانی حاصل می‌شود (Leung و همکاران 2010، Vyas et 2010). در مقایسه با سوخت دیزل معمولی، بیودیزل مقادیر بالاتری از گوگرد و نیتروژن دارد و درنتیجه پس از احتراق SO_X ، NO_x، CO، بنزن و تولوئن کمتری آزاد می‌شود. یک تنگنای عمده‌ی محدود کردن توسعه صنعت بیودیزل، تهیه و قیمت مواد اولیه می‌باشد (Greenwell و همکاران، 2010؛ Naik و همکاران، 2010). یک منبع امیدبخش برای بیودیزل، ریز جلبک است که بدون استفاده از زمین زراعی و رقابت برای تولید غذا می‌تواند در آب تازه یا دریا رشد کند (Singh et al. 2011a). برخی از میکرو جلبک‌ها دارای بیومس و بهره‌وری بالای روغن هستند (Hu و همکاران، 2008؛

sina-pub.ir

ویلیامز و لورنز، 2010). تولید بیودیزل از جلبک‌ها به‌طورکلی توسط یکی از سه روش زیر انجام می‌شود. اولین پروتکل دومرحله‌ای این است که در آن روغن جلبک با حلال‌های آلی استخراج می‌شود و سپس با استفاده از یک کاتالیزور، مانند اسید، به عنوان مثال یک اسید (Krohn و همکاران، 2011؛ Nagle و Lemke، 1990)، یک باز (Umdu و همکاران، 2009؛ Vijayaraghavan و Hemanathan، 2009) یا یک آنزیم (Li و همکاران 2007) به بیودیزل تبدیل می‌شود. روش دوم به‌طور مستقیم با استفاده از کاتالیزور اسیدی در فشار اتمسفر و دمای محیط بیودیزل را از بیومس جلبک تولید می‌کند (Ehimen و همکاران، 2010؛ جانسون و ون، 2009؛ Wahlen و همکاران، 2011). روش سوم، تبدیل یک مرحله‌ای برای تولید بیودیزل در فشار و درجه حرارت بالا، بدون نیاز به استفاده از کاتالیزور است (Huang و همکاران 2011، Patil و همکاران 2011). هر روش ذاتاً دارای مزایا و معایبی است. روش 2 نیاز به غلظت بالای اسیدسولفوریک دارد زیرا رطوبت در بیومس عامل محدود کننده‌ای برای بازده تبدیل است (Ehimen و همکاران، 2010؛ جانسون و ون، 2009). در مقابل، رطوبت را می‌توان تحت شرایط بحرانی یا فوق بحرانی روش 3 نادیده گرفت (Patil و همکاران، 2011)؛ بااین‌حال، در شرایط بحرانی یا فوق بحرانی واکنش‌های جانبی اتفاق می‌افتد که اسیدهای آلی و ترکیبات نیتروژن هتروسیکلی از تخریب پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها تولید می‌شوند (Huang و همکاران، 2011). این آلاینده‌ها کیفیت بیودیزل را کاهش می‌دهند و یا در فرآیند تصفیه دخالت می‌کنند. از دیدگاه اقتصادی و ارزش انرژی، استخراج مستقیم روغن از دوغاب جلبک مرطوب، مورد توجه قرار گرفته است (Xu و همکاران، 2011)، اما مسائل مربوط به پایداری روغن در جلبک‌های مرطوب برداشت شده هنوز باید مورد توجه قرار گیرد. چربی‌های سلولی در بیومس جلبک‌های مرطوب ممکن است به کمک آنزیم‌های داخلی تجزیه شود (Singh و همکاران، 2011 b). در طی ذخیره‌سازی طولانی، چربی‌های سلولی می‌توانند به اسیدهای فرار (Foree و Mccarty 1970) یا اسید چرب آزاد تجزیه شوند (Alencar و همکاران، 2010). Krohn و همکاران (2011) گزارش کردند که اسید چرب آزاد در روغن استخراج‌شده از بیومس جلبک می‌تواند به بالاتر از 84٪ برسد (وزن روغن). چنین سطح بالایی از FFAs در طی رشد جلبک غیرمحتمل است زیرا آن‌ها روی سلول اثر سمی دارند (Wu و همکاران 2006). در مطالعه حاضر،

sina-pub.ir

تغییرات در FFA و TAG در بیومس جلبک ذخیره شده‌ی مرطوب در شرایط مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. روغن جلبک از گونه‌های Scenedesmus sp. موجود درآب‌تازه، نمونه‌های دریایی Nannochloropsis sp؛ و Dinoflagellate؛ و بیگانه‌خوار شامل سطوح مختلف اسید چرب آزاد با استفاده از دو مرحله فرآیند تحت شرایط بهینه به بیودیزل تبدیل شدند و راندمان بیودیزل و خواص سوخت تجزیه‌وتحلیل شد.

2. روش‌ها

2.1 کشت و برداشت جلبک

دکتر Hu Qiang در دانشگاه ایالتی آریزونا Scenedesmus sp. را تهیه کرد. این جلبک در پنل یک بیو راکتور 500 لیتری با محیط اصلاح‌شده BG11 حاوی 0/375 گرم بر لیتر رشد کرد. کشت‌ها به مدت 14 روز تحت $200\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ از نور مصنوعی رشد کرده و با هوای فشرده (1٪ CO_2) حباب‌ها شکل گرفتند. Nannochloropsis sp. جداشده از ساحل چینگدائو، چین تحت شرایط مشابه Scenedesmus sp. ما در محیط اصلاح‌شده f/2 حاوی0/375 گرم بر لیتر نیترات سدیم به مدت 10 روز کشت داده شدند. این کشت‌ها به حدود 100 گرم بر لیتر با استفاده از غشاء میکروفیلتراسیون با فیبر توخالی PVDF (Motimo Co., Tianjin, China) تغلیظ شدند و سپس به مدت 5 دقیقه در 2632g سانتریفیوژ انجام شد. این فرایند منجر به تولید جلبک با رطوبت حدود 75 درصد می‌شود. روغن Dinoflagellate. از Hubei Fuxing Biotechnology Co., Ltd., China خریده شد و عصاره هگزان یک محیط کشت بیگانه‌خوار بود.

2.2 ذخیره‌سازی خمیر جلبک

جلبک‌های Scenedesmus sp. به دو بخش تقسیم شدند. یک بخش از آن برای مدت طولانی در دمای 80- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. قسمت دیگر آن به چند قسمت کوچک‌تر تقسیم شد و در دماهای مختلف (80-، 20-، 4، 20 و 37 درجه سانتی‌گراد) ذخیره گردید. پس از 24، 48 و 72 ساعت، نمونه‌ها در دمای 80- درجه سانتی‌گراد توسط روش خشک‌کن انجمادی خشک شدند و محتوای چربی آن‌ها مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت.

2.3 آنالیز وزن سنجی محتوای چربی

sina-pub.ir

مقدار کل لیپید با استفاده از روش اصلاح‌شده Bligh و Dyer و آنالیز وزن سنجی تعیین گردید (Bligh و Dyer 1959). حدود 100 میلی‌گرم از پودر جلبک خشک‌شده در دمای 65 درجه سانتی‌گراد با 5 میلی‌لیتر از محلول کلروفرم/متانول (2:1)در طول 1 ساعت مخلوط شدند. سپس مخلوط به مدت 5 دقیقه در 948g سانتریفیوژ شد. ماده شناور رویی جمع‌آوری شد و زیست‌توده باقی‌مانده بیشترتر از دو بار استخراج شد. مایعات رویی ترکیب شدند و محلول کلروفرم و 1٪ کلرید سدیم با نسبت حجمی نهایی 1:1: 0/9 (کلروفرم / متانول / آب) به آن‌ها اضافه شدند. سپس اجازه داده شد تا محلول ته‌نشین شود و با دقت به یک بطری انتقال داده شد و در دمای ثابت 60 درجه سانتی‌گراد تحت جریان نیتروژن خشک شد. مقدار کل چربی به‌صورت درصد وزنی جلبک خشک محاسبه شد.

2.4. آنالیز ترکیبات لیپیدی

اجزای لیپید با استفاده از یک سیستم کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) (TLC-FID, MK-6, Iatron Laboratories, Inc., Japan) آنالیز شدند (Fedosov و همکاران، 2011). نمونه‌ها با غلظت 5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در کلروفرم حل شد. آن‌ها سپس بر روی میله‌های کوارتز پوشش داده‌شده با سیلیکا Chroma-rod S-III پدیدار شدند. میله‌ها در یک سیستم حلال بنزن توسعه داده شدند: کلروفرم: متانول (150:60:2, v/v/v) در اولین مهاجرت 7 سانتی‌متر، به دنبال آن مهاجرت دوم در محلول بنزن: هگزان (50:50, v/v) 10 سانتی‌متر بود. میله‌ها به مدت 1 دقیقه در آون 70 درجه سانتی‌گراد خشک شدند و قبل از آن در آنالایزر Iatroscan اسکن شدند، که با سرعت جریان 160 میلی‌لیتر در دقیقه برای هیدروژن و 2 لیتر بر دقیقه برای هوا کار می‌کرد. هرکدام از اجزای لیپید توسط استانداردهای خالص با استفاده از کروماتوگرافی شناسایی شدند (استرول استر، SE، متیل استر اسید چرب، FAME، FFA، TAG، DAG، مونو آسیل گلیسرول، MAG، PL از شرکت سیگما، MO, USA خریداری شدند). مقادیر هرکدام از اجزاء از مساحت‌های پیک استانداردهای خالص برآورد شده است. برای تعیین مقدار اسید، نمونه‌ها در مخلوطی از اتانول آبدار و دی اتیل اتر (1: 1) حل شد و طبق استاندارد ملی

sina-pub.ir

چین (GB/T 264-1983) با 0/1 KOH مول بر لیتر تیتر شد. نتایج به‌صورت میلی‌گرم KOH در گرم روغن بیان می‌شود.

2.5. استخراج روغن از خمیر جلبک مرطوب

روش توصیف‌شده توسط چن و همکاران (2011) برای استخراج از روغن خمیر جلبک مرطوب دنبال شد. به‌طور خلاصه، خمیر جلبک (75/4٪ رطوبت) در دمای اتاق خنک گردید و قبل از اینکه با اتانول مخلوط شود با فشار بالا به محفظه استخراج بارگیری شد. گاز نیتروژن به محفظه رانده شد تا فشار 1.5 مگاپاسکال حفظ شود. دمای استخراج‌کننده 50 دقیقه در 120 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌ها قبل از کاهش فشار تا دمای اتاق خنک شدند. مخلوط استخراج برای جداسازی محلول روغن و جلبک‌های باقی‌مانده، به مدت 5 دقیقه در 2632g سانتریفیوژ شد. درنهایت، برای بازیافت روغن جلبک، حلال با استفاده از یک بخار ساز روتاری تبخیر شد.

2.6 تولید بیودیزل از روغن جلبک

با هم زدن 1٪ اسید فسفریک و 10٪ آب در دمای 85 درجه سانتی‌گراد به مدت 1 ساعت اکثر فسفولیپیدها و ناخالصی‌های غیر لیپیدی روغن Dinoflagellate. حذف شدند. مخلوطی از نسبت‌های مختلف روغن Dinoflagellate و FFAs، که توسط هیدرولیز روغن تولید شده از Dinoflagellate. که در آزمایشگاه ما تهیه شد، برای رساندن نمونه‌های روغن به غلظت 8.5٪، 23٪ و 96٪ FFA آماده شدند. روغن گرفته شده یا مخلوطی از روغن‌های استخراج شده و FFA در ابتدا برای رساندن به سطح پایین FFA با استفاده از کاتالسیت اسیدی پیش‌تصفیه شد. 5 گرم از نمونه با 2.0 میلی‌لیتر متانول حاوی اسیدسولفوریک 3/3 درصد (g/100 mL) مخلوط شد. این مخلوط‌ها به مدت 120 تا 180 دقیقه در دمای 65 درجه سانتی‌گراد هم زده شد. برای نمونه‌ای با بیشترین مقدار FFA، 2 میلی‌لیتر متانول به مخلوط اضافه شد و استرسازی گزارش شد. مقدار اسید هر نمونه روغن، هر 15 دقیقه تعیین شد. روغن‌های تصفیه شده (5 گرم) با 2 میلی‌لیتر متانول حاوی یکی از کاتالیست های زیر (هیدروکسید پتاسیم، KOH، هیدروکسید سدیم، NaOH یا پتاسیم متوکسید، $KOCH_3$)، 10%, (g/100 Ml) در دمای 60 درجه سانتی‌گراد در مدت 60 دقیقه با سرعت دور 100 چرخش در یک ساعت

sina-pub.ir

مخلوط شدند. نمونه‌هایی که در فواصل 10 دقیقه جمع‌آوری شده‌اند، برای حذف متانول و کاتالیزور واکنش نداده با آب دی‌یونیزه شسته شدند و مقادیر نسبی TAG و FAME تعیین شدند. هنگامی‌که شرایط تبدیل مطلوب تعیین شد، 100 گرم از روغن جلبک Scenedesmus sp. و Nannochloropsis sp. برای تهیه بیودیزل خام استفاده شد.

2.7 خالص‌سازی بیودیزل خام جلبک

در دمای 80 درجه سانتی‌گراد و تحت خلاء، 10 گرم از خاک رنگ‌بر (Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd., China) به 50 گرم بیودیزل خام جلبک اضافه شد و برای حذف رنگ‌دانه‌ها و سایر ناخالصی‌ها به مدت یک ساعت در تبخیرکننده چرخان قرار گرفت. خاک رنگ‌بر با استفاده از سانتریفوژ در 3790 g به مدت 10 دقیقه جدا شد. بیودیزل خالص‌شده و بیودیزل خام با هپتان تا غلظت 2/74 گرم بر لیتر رقیق شدند. نمونه رقیق‌شده با استفاده از یک اسپکتروفتومتر UV–Visible (Varion Inc., US) از 400 تا 800 نانومتر اسکن شد. مقدار کل کلروفیل و کاروتنوئیدها به‌وسیله Wellburn (1994) توصیف شد.

$$\text{Chlorophyll } a\ (C_a)(\mu g\ mL^{-1}) = 10.05(OD_{662}) - 0.77(OD_{644})$$
$$\text{Chlorophyll } b\ (C_b)(\mu g\ mL^{-1}) = 16.37(OD_{644}) - 3.14(OD_{662})$$
$$\text{Total carotenoids}(C_{x+c})(\mu g\ mL^{-1}) = (1000OD_{470} - 1.28C_a - 56.7C_b)/205 \quad (1)$$

2.8 آنالیز اسید چرب

یک نمونه 0/5 میلی‌گرم از بیودیزل خالص در 1 میلی‌لیتر هپتان حاوی 50 میکروگرم هپتادکانیک اسید متیل استر ($C_{18}H_{37}COOCH_3$) به‌عنوان استاندارد داخلی برای آنالیز FAME بر روی Varian 450GC (Varian Inc., USA) مجهز به یک آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID) و ستون مویین Agilent HP-5 GC (0.25 µm × 0.25mm × 30m) حل شد و نیتروژن به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. دمای انژکتور در دمای 280 درجه سانتی‌گراد با یک حجم تزریق 2 میکرولیتر در حالت تقسیم (1: 10) تنظیم شد و دمای آشکارساز در 280 درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. جزء FAME از مقایسه با استانداردهای معتبر کروماتوگرافی

sina-pub.ir

(سیگما) شناسایی شد. مقادیر جزء FAME با استفاده از معادله (2) محاسبه شد، که در آن W مقدار نسبی هر اسید چرب است که در درصد کل اسید چرب ارائه می‌شود؛ m_s جرم استاندارد داخلی، f_i مقدار ضریب بخش i است، A_i مساحت پیک بخش i، m وزن نمونه و A_s مساحت استاندارد است.

$$W = \frac{m_s \times f_i \times A_i}{m \times A_s} \times 100\% \qquad (2)$$

2.9 بررسی بیودیزل جلبک

دانسیته، ویسکوزیته سینماتیک، پایداری اکسایشی، محتوای رطوبت، گوگرد، خاکستر سولفاته شده، گلیسرول آزاد و دمای **تقطیر** (دمای معادل اتمسفر ، 90٪ بازیافت شده) مطابق با روش‌های توصیه‌شده توسط استاندارد ملی چین GB/T 20828-2007 مورد آزمایش قرار گرفت. مقدار فسفر بر اساس ASTM D4951 تعیین شد و مقدار بالای گرمایش با استفاده از کالریمتر IKA C2000 (آلمان) با توجه به استاندارد ملی چین GB/T 384-81 تعیین شد. هیدروژناسیون FAME با استفاده از Pd/C به‌عنوان کاتالیزور و هیدروژن به‌عنوان دهنده هیدروژن انجام شد. به‌طور خلاصه، 0/1 گرم Pd/C، (5 درصد وزنی شرکت Aladdin Chemistry، چین) در 25 میلی‌لیتر اتانول مطلق تحت‌فشار 0.2 MPa هیدروژن و خروجی 20 میلی‌لیتر در دقیقه پراکنده شد. پس از آن یک محلول 5 گرمی از FAME و 25 میلی‌لیتر اتانول مطلق در داخل راکتور قرار داده شد، در دمای 45 درجه سانتی‌گراد به مدت 2 ساعت نگهداری و سپس خنک شد. در نهایت، کاتالیزور با استفاده از یک فیلتر (0/45 میکرومتری) جدا شد و حلال با استفاده از یک تبخیرکننده چرخان برای بازیافت بیودیزل تبخیر گردید.

2.10 آنالیز آماری

آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 11.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) انجام شد. ANOVA برای ارزیابی معنی‌دار بودن اختلافات فردی با مقادیر آستانه 0/05 آزمون Post-HocTukey به کار گرفته شد.

3. نتایج و بحث

3.1 اثر شرایط ذخیره‌سازی بر ترکیب روغن جلبک

sina-pub.ir

تغییرات در ترکیب لیپید خمیر مرطوب جلبک در یک دوره 1 روزه در جدول 1 آورده شده است.

جدول 1 ترکیب شیمیایی لیپیدهای استخراج‌شده از مواد خام جلبک ذخیره‌شده در دمای مختلف.

Storage temperature (°C)	Lipid class content (% oil)					Total lipid (% biomass)	Acid value (mg KOH/g)
	SE & HC	TAG	FFA	DAG	PL		
−80	1.7	72.1	ND	1.7	24.3	33.4	9.1
−20	1.8	68.4	ND	2.0	28.1	30.6	8.2
4	2.3	40.5	26.9	6.3	24.2	35.7	66.3
25	2.5	4.4	70.3	2.8	19.5	36.6	117.1
37	3.1	3.3	66.8	4.3	22.6	35.4	115.8

ND: not detected.

صرف نظر از دمای ذخیره‌سازی، مقادیر لیپید 30 تا 36٪ وزن بیومس خشک بود. اختلاف بین محتوای لیپید معنی‌دار نبود ($p > 0.05$)؛ بااین‌حال، ترکیب لیپیدها تحت دمای مختلف ذخیره‌سازی تغییر کرد.

زمانی که نمونه‌ها به‌جای 80- درجه سانتی‌گراد در 37 درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند محتوای TAG (درصد وزن روغن) به‌طور معنی‌داری ($p < 0.01$) از 72.1 به 3.3 درصد کاهش یافت؛ درعین‌حال، با افزایش دمای ذخیره‌سازی، به‌جز معنی‌دار نبودن تفاوت آماری بین 80- و 20- درجه سانتی‌گراد، محتوای FFA به‌طور معنی‌داری (از لحاظ $P < 0.01$) از یک سطح ناچیز تا 70/3 درصد افزایش یافت.

زمانی که دمای نگهداری از 80°C- تا 4°C افزایش یافت مقدار DAG همچنین اندکی افزایش پیدا کرد. محتوای SE و PL تقریباً ثابت باقی می‌ماند. تغییرات در ترکیب لیپید نمونه‌هایی که در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند پس از 24، 48 و 72 ساعت بعد در جدول 2 ذکر شده است.

جدول 2 ترکیب شیمیایی لیپید استخراج‌شده از مواد خام جلبک در دمای 4 درجه سانتی‌گراد برای زمان‌های مختلف ذخیره می‌شود

Storage time (day)	Lipid class content (% oil)					Total lipid (% biomass)	Acid value (mg KOH/g)
	SE & HC	TAG	FFA	DAG	PL		
0	1.7	72.2	ND	1.7	24.4	33.4	9.1
1	2.3	51.7	19.2	6.1	20.6	35.5	63.1
2	2.5	27.2	43.8	4.2	22.3	35.4	95.3
3	2.6	19.8	55.6	2.3	19.8	36.0	108.3
4	2.5	11.2	62.0	2.4	22.0	35.6	116.9

ND: not detected.

به‌طورکلی، FFA در بیومس هایی که به مدت طولانی ذخیره شده، بیشتر یافت می‌شود. برعکس، TAG در نمونه‌هایی که برای مدت‌های طولانی ذخیره شدند کاهش پیدا می‌کند، اما محتوای نسبی کل لیپید و لیپید قطبی

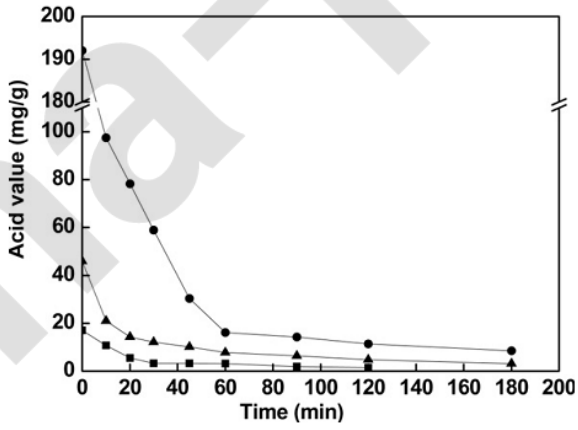
sina-pub.ir

تغییر نمی‌کند. همان‌طور که در جداول 1 و 2 نشان داده شده است، کاهش در TAG با افزایش نسبی FFAs همراه بود، که این واقعیت را تأیید کرد که محتوای خالص TAG و FFA ثابت باقی مانده است. علاوه بر این، افزایش محتوای DAG می‌تواند به‌عنوان اثباتی برای شکست TAG ارائه شود، زیرا DAG محصول تجزیه TAG است. بنابراین، منطقی است فرض کنیم که FFA توسط هیدرولیز از TAG تولید شده است. اجزای چربی سلول‌های جلبک (TAG، DAG، فسفولیپیدها و غیره می‌توانند توسط لیپازها، پراکسیدازها و فسفولیپازهای موجود در سلول‌های جلبک یا تولیدشده از میکروارگانیسم‌های موجود در جلبک دریایی تجزیه شوند (Singh و همکاران 2011b). هیدرولیز آنزیمی با زمان و دما تا حدود 40 درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد (Alencar و همکاران، 2010). از نقطه‌نظر فرآیندی، فرایند با کاتالیزور قلیایی از فرآیند با کاتالیزور اسیدی، کارآمدتر و ارزان‌تر می‌باشد (Leung و همکاران ، 2010)؛ بااین‌حال، فرآیند کاتالیز شده با قلیا می‌تواند سطح بالاتر از 3٪ FFA را به دلیل استفاده از کاتالیزور قلیایی مهار کند (Vyas و همکاران، 2010). متأسفانه، محتوای FFAs روغن جلبک می‌تواند به مقدار بالا 70/3٪ برسد که بسیار بالاتر از حد مجاز است (Leung و همکاران، 2010).

3.2 بهینه‌سازی تولید بیودیزل جلبک از روغن جلبک با محتوای بالای FFA

3.2.1 استرسازی اسیدی

در طی انکوباسیون مقدار اسید هر نمونه روغن کاهش می‌یابد (شکل 1).



sina-pub.ir

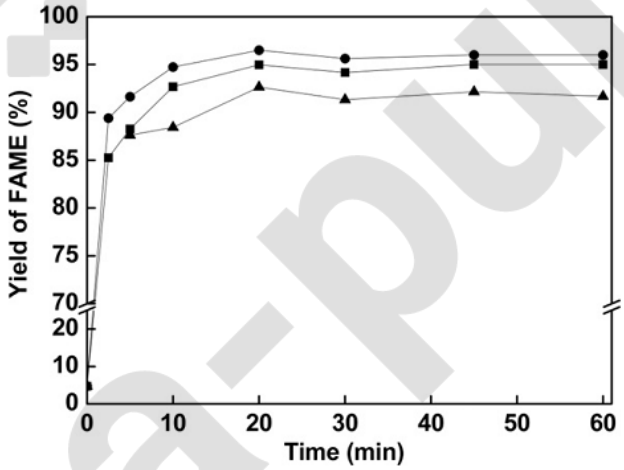
عکس. 1. مقادیر اسید روغن جلبک با محتوای متفاوت FFA اولیه به دنبال پیش‌استرسازی.

سطوح مورد آزمایش FFA عبارت بودند از: ■, 17 mg/g; ▲, 46 mg/g; ●, 192 mg/g.

پس از 120 دقیقه، محتوای FFA نمونه‌ها با غلظت اولیه FFA، 8/5٪، 23٪ و 96٪ به ترتیب 0.73٪، 2.35٪ و 5.7٪ محاسبه شد. پس از افزایش زمان واکنش تا 3 ساعت، محتوای FFA نمونه با بالاترین مقدار اولیه FFA (96٪) تنها به 4/35٪ کاهش یافت که هنوز بالاتر از مقدار آستانه (2/5٪) برای تبادل استری کاتالیزشده با باز است (Leung و همکاران، 2010). بااین‌حال، هنگامی‌که روغن حاوی 96٪ FFA با استرسازی در حضور اسید اضافی عمل می‌کند محتوای FFA در الزامات مورد نیاز برای تبادل استری قلیایی به 0/415٪ کاهش می‌یابد. به‌این‌ترتیب، تمام محتویات FFA برای سه نمونه روغن کاملاً با هم متفاوت است که آن را برای فرآیند کاتالیز شده با قلیا مناسب می‌سازد.

3.2.2 تبادل استری در محیط قلیایی

سه کاتالیزور به‌طور مؤثری تبدیل TAG به FAME را کاتالیز می‌کند (شکل 2).



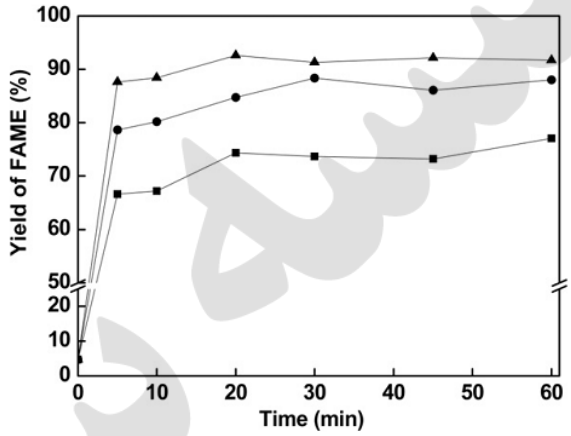
شکل 2 تبادل استری روغن جلبک از قبل استرسازی شده با استفاده از کاتالیزورهای مختلف.

کاتالیستهای آزمایش‌شده عبارت بودند از ■, NaOH; ▲, $KOCH_3$; ●, KOH.

محتوای نسبی FAME کاتالیز شده با NaOH، KOH و $KOCH_3$ به ترتیب به 88.3٪، 91/6٪ و 87.6٪ افزایش یافت. این افزایش در FAME با کاهش 6.1٪، 3.3٪ و 4.2٪ در محتوای TAG همراه بود. KOH

sina-pub.ir

بهتر از سایر کاتالیزورها عمل کرد و برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شد. پس از اولین 5 دقیقه تبادل استری، هنگامی‌که مقدار کاتالیزور از 0.6٪ به 2.0٪ افزایش یافت محتوای نسبی FAME از 66.6٪ به 87.6٪ تغییر کرد (شکل 3).

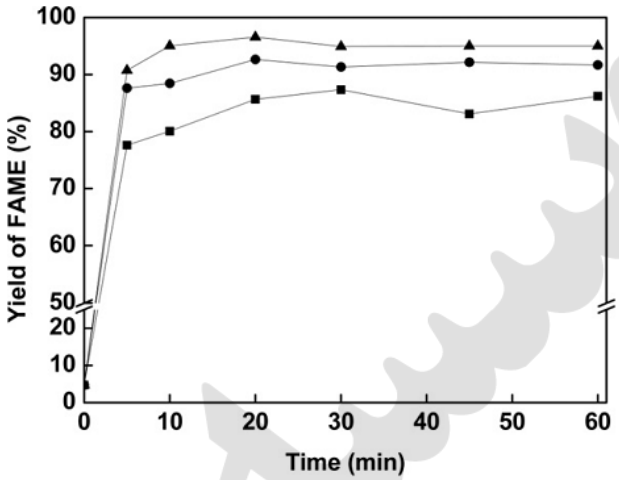


شکل 3: تبادل استری روغن جلبک قبل از پیش استری شدن با استفاده از مقادیر مختلف KOH.

مقدار کاتالیزورهای مورد آزمایش 2.0% ,▲ ;1.2% ,● ;0.6% ,■ بودند.

بالاترین مقدار FAME با استفاده از KOH 2.0٪ (وزن نفت) 91.7٪ بود. همان‌طورکه مطالعات قبلی نشان داد سطح بالای کاتالیزور بازی (بیش از 2 درصد) سبب صابونی شدن جدی مخلوط واکنش و از دست دادن TAG می‌شود که در فرآیند جداسازی با جریان پایین افزودن کاتالیزور منطقی است (Veljkovic و همکاران 2006). برای شناسایی نسبت مولی مطلوب متانول به روغن، سه سطح متانول / روغن در دمای 65 درجه سانتی‌گراد آزمایش شد و با 2٪ KOH (بر اساس وزن روغن) کاتالیز گردید. همان‌طور که در شکل 4 نشان داده شده است، پس از یک زمان واکنش 20 دقیقه‌ای، محتوای نسبی FAME بر اساس وزن خالص بیودیزل برای نسبت متانول/ روغن 1:6، 1:9 و 1:12 به ترتیب 85.7٪، 92.6٪ و 96.6٪ بودند.

sina-pub.ir



شکل 4 تأثیر نسبت مولی متانول به روغن در روغن جلبکی که از قبل استرسازی شده.

نسبت‌ها ■, 6:1; ●, 9:1; ▲, 12:1 بودند.

اختلاف در محتوای FAME معنی‌دار بود ($p < 0.05$)، که نشان‌دهنده همبستگی مثبت بین مقدار متانول و سرعت تبدیل روغن بود. در هر یک از نسبت‌های متانول / روغن TAG مشاهده نشد که نشان می‌دهد نرخ تبدیل تقریباً 100٪ است. بنابراین، شرایط بهینه برای تبدیل روغن جلبک استخراج‌شده از Dinoflagellate، متانول با دوز 30٪، اسیدسولفوریک با غلظت 1٪ و زمان واکنش 2 ساعت بودند. مقدار اسید روغن از مقدار اولیه اسید 17 تا 46 میلی‌گرم KOH /گرم به کمتر از 2 میلی‌گرم KOH/ گرم کاهش یافت. در طی کاتالیز با KOH (2٪)، نسبت مولی الکل به روغن 1:12 بود و دمای 65 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه مورد استفاده قرار گرفت.

3.3. استفاده از تبدیل دومرحله‌ای روغن جلبک از سه منبع

هنگامی‌که شرایط تبدیل مطلوب مشخص شد، روغن‌های حاصل از جلبک Scenedesmus sp. و Nannochloropsis sp. مورد آزمایش قرار گرفتند. روغن Dinoflagellate. دارای بالاترین مقدار TAG از 82.9٪ بود (جدول 3). اما ماده اولیه دو روغن دیگر دارای مقادیر کمتر TAG ، از 42/1٪ تا 70/0٪ بود اما لیپیدهای قطبی بیشتری داشت. بالاترین راندمان FAME به‌دست‌آمده از روغن Dinoflagellate. مقدار 90/1٪ بود، و این مقدار تنها کمی کمتر از راندمان تئوری است. راندمان FAME حاصل از Scenedesmus sp. و

sina-pub.ir

Nannochloropsis sp.به ترتیب 78/3٪ و 70/4٪ بود. در بیودیزل خام TAG و FFAs یافت نشدند و محتوای بیودیزل تقریباً برابر یا کمی بالاتر از مجموع TAGs و FFAs بود. علاوه بر FFAs و TAG ها، فسفولیپیدها نیز در روغن جلبک موجود بودند (جدول 3). فسفولیپیدها می‌توانند در شرایط مناسب به FAME تبدیل شوند؛ بااین‌حال، به دلیل تسریع و صابونی شدن، واکنش ناقص فسفولیپیدها می‌تواند منجر به از بین رفتن محصول تا 45٪ شود (Balasubramanian و Obbard، 2011). در مطالعه حاضر، یک رسوب ژل‌مانند بین FAME و فاز آب مشاهده شد. رسوب جمع‌آوری شد، با استفاده از کلروفرم تجزیه و با استفاده از TLCFID آنالیز شد. نتایج نشان داد که lysophosphatidylcholine (LPC) و دیگر فسفولیپیدها (PL) در رسوب وجود داشتند (داده‌ها نشان داده نمی‌شود). Balasubramanian و Obbard (2011) گزارش دادند که برخی از LPC که در بیودیزل خام یافت می‌شود منجر به سطح بالای فسفر باقی‌مانده می‌شود. غلظت فسفر در بیودیزل خام حاصل از Scenedesmus sp.، 295/6 ppm است (داده‌ها نشان داده نشده است) که بالاتر از حد استاندارد ASTM، 10 ppm می‌باشد. این مشاهدات در توافق با نتایج Krohn و دیگران است (2011)، که نتیجه گرفتند که تنها FFA و TAG می‌تواند به بیودیزل با رتبه ASTM خالص تبدیل شود.

جدول 3. نتایج آماده‌سازی بیودیزل با روغن لیپید جلبک‌های مختلف.

Microalgae	Lipid component					Acid value	FAME yield	Predicted yield [a]
	SE	TAG	FFA	DAG	PL			
Scenedesmus sp. [b]	2.2	70.0	1.6	1.3	25.0	8.7	78.3	82.9
Scenedesmus sp. [c]	1.8	42.1	14.7	4.1	37.3	32.2	56.2	76.4
Nannochloropsis sp.	2.3	67.3	0.0	12.0	18.3	6.5	70.4	86.1
Dinoflagellate [d]	2.8	82.9	7.2	0.8	6.4	17.0	90.1	93.8

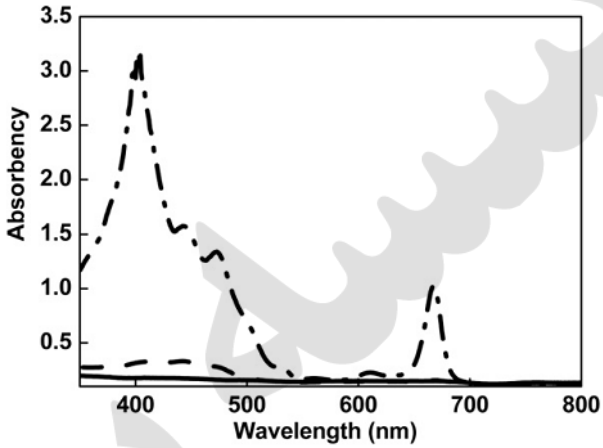
[a] Calculated from chemical reaction equation, FAME yield for 100 g of SE, TAG, FFA, DAG and PL at completely conversion are 0, 100, 105, 96 and 40 g.
[b] Cultured for 14 days.
[c] Cultured for 7 days.
[d] After refined by degumming.

3.4. خالص‌سازی بیودیزل خام

بیودیزل خام حاوی ناخالصی‌هایی مانند کلروفیل، صابون و فسفولیپیدها است که کیفیت بیودیزل را کاهش می‌دهد (Balasubramanian و Obbard، 2011؛ Kulkarni و همکاران، 2006). با استفاده از خاک رنگ‌بر، این ناخالصی‌ها برداشته شد. بیودیزل خام به دلیل وجود کلروفیل و کاروتین، دارای پیک‌های قوی جذب به ترتیب در

sina-pub.ir

667 و 470 نانومتر بود (Kulkarni و همکاران، 2006). پس از تصفیه با خاک رنگ‌بر، پیک در 667 نانومتر ناپدید شد و پیک در 470 نانومتر به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت (شکل 5).



شکل 5 جذب بیودیزل خام از روغن Scenedesmus sp. قبل و بعد از تصفیه با 20٪ (وزن روغن) خاک رنگ‌بر در دمای 80 درجه سانتی‌گراد برای 1 ساعت، هپتان؛ -، بیودیزل خام، ---، بیودیزل تصفیه‌شده.

مقدار کل کلروفیل و کاروتین به ترتیب از 4296/7 و 1918/9 ppm به 40/3 و 199/0 ppm کاهش یافت و راندمان حذف برای کلروفیل 99/1٪ و برای کاروتین 89/6٪ است. بیودیزل تصفیه‌شده دارای رنگ قرمز یا نارنجی بود. به دلیل حضور ضد اکسیداسیون کاروتین، این امر می‌تواند مزایای بیشتری را در افزایش پایداری اکسایشی روغن (گولسون و ورتسن، 1999) ارائه دهد. پس از تصفیه، غلظت فسفر در بیودیزل حاصل از Scenedesmus sp.. به 2.4 ppm کاهش یافت (جدول 5)، که حدود ASTM را راضی می‌کند.

3.5 آنالیز اسید چرب بیودیزل جلبک

ترکیبات اسید چرب بیودیزل‌های تولیدشده توسط سه روغن ریزجلبک در جدول 4 نشان داده شده است. هر منبع به یک اسید چرب غالب تبدیل شد. روغن Scenedesmus sp. به‌طور عمده شامل C18:1 (49/6٪)؛ روغن Dinoflagellate. C22:6 (44/98٪) و روغن Nannochloropsissp C16:1 (32/9٪) است. اسیدهای چرب با زنجیره متوسط (6C18) بیودیزل Scenedesmus sp. و Nannochloropsis sp.شامل 96.6٪ و 91/6٪ هستند. محتوای اسیدهای چرب با زنجیره متوسط در بیودیزل Dinoflagellate. پایین‌تر از

sina-pub.ir

بیودیزل جلبک‌های دیگر بود. جدول 4 همچنین نشان می‌دهد که اسیدهای چرب تک و چند غیراشباعی اجزاء غالب هستند که شامل 62.6 تا 71.6٪ از کل اسیدهای چرب در بیودیزل‌های به‌دست‌آمده از هر سه جلبک است.

به‌خصوص، بیودیزل تولیدشده از Dinoflagellate. شامل 66.14٪ اسیدهای چرب غیراشباع است، که در مقایسه با 22.82٪ و 8.57٪ به ترتیب برای Scenedesmus sp و Nannochloropsis sp.sp قابل‌توجه است.

جدول 4: ترکیبات اسیدهای چرب بیودیزل‌های تبدیل‌شده از سه روغن ریز جلبک

	Scenedesmus sp. FAME	*Nannochloropsis* sp. FAME	*Dinoflagellate* FAME
C14:0	ND	5.37	6.01
C16:0	18.42	28.83	16.65
C16:1	2.31	32.93	3.35
C16:2	3.26	ND	ND
C18:0	3.43	0.98	ND
C18:1	49.64	21.16	2.10
C18:2	11.30	2.24	ND
C18:3	8.26	ND	ND
C20:5	ND	6.33	2.89
C22:5	ND	ND	18.27
C22:6	ND	ND	44.98
C24:0	ND	ND	2.65
Others	3.38	2.14	3.10
Saturated	21.85	35.18	25.31
Mono-unsaturated	51.95	54.09	5.45
Poly-unsaturated	22.82	8.57	66.14

ND: not detected.

جدول 5. ویژگی‌های بیودیزل جلبک.

Items	*Scenedesmus* sp.	*Nannochloropsis* sp.	*Dinoflagellate*	Limitation	Test methods
Density at 15 °C (kg/L)	0.852	0.854	0.878	0.82–0.90	GB/T 2540
Acid value (mg KOH/g oil)	0.52	0.46	0.44	0.80	GB/T 264
Kinematic viscosity at 40 °C (mm^2/s)	4.15	5.76	3.74	1.9–6.0	GB/T 265
Oxidative stability at 110 °C (h)	5.42	1.93	1.02	>6	EN 14112
After hydrogenation	60.3	42.4	11.2		
Moisture content (%)	0.04	ND	0.07	0.05	SH/T 0246
Sulfur content (%)	0.02	0.06	0.04	<0.05	SH/T 0689
Sulfated ash (%)	ND	ND	0.01	<0.02	GB/T 2433-2001
Free glycerol (%)	ND	ND	ND	<0.02	SHT 0796-2007
Phosphorus content (ppm)	2.4	4.5	2.8	10.0	ASTM D4951
Methyl ester content (%)	91.0	92.2	96.6	>96.5	EN 14103
Distillation temperature (°C)	266	300	368	<360	GB/T 6536
Gross heating value (MJ/kg)	39.76	39.81	39.84	>35	GB/T 384-81

ND: not detected.

3.6. مشخصه بیودیزل

دانسیته، ویسکوزیته سینماتیک، مقدار اسید، خاکستر سولفاته شده، گوگرد و فسفر، معیارهای تعیین شده توسط استانداردهای ملی چین را برآورده می‌کند (جدول 5). مقادیر گرمایش نمونه‌های بیودیزل برای

sina-pub.ir

Dinoflagellate، Scenedesmus sp. و Nannochloropsis sp. 39.84، 39.76 و 39.81 مگاژول در کیلوگرم است که قابل‌مقایسه با نفت فسیل است که 42 مگاژول در کیلوگرم می‌باشد. یک استثناء محتوای متیل استر Scenedesmus sp. (91.0٪) و Nannochloropsis sp.(92/2٪) است که کمی پایین‌تر از مقدار موردنیاز 96.5٪ می‌باشد. بیودیزل Dinoflagellate دارای محتوای رطوبت بالاتر از حد 0.7٪ بود. پایداری اکسایشی بیودیزل‌های Scenedesmus sp.، Nannochloropsis sp.و Dinoflagellate به ترتیب 5.42، 1.93 و 1.02 ساعت بود. این بسیار کوتاه‌تر از 6 ساعت توصیه شده توسط استاندارد ملی چینی است. همان‌طور که انتظار می‌رفت، پس از فرایند هیدروژناسیون کاتالیز شده با Pd/C، پایداری اکسایشی به‌طور قابل‌توجهی به 11.2 تا60.3 ساعت بهبود یافت (جدول 5). Knothe (2005) گزارش داد که خصوصیات مولکولی اسیدهای چرب مانند طول زنجیره کربن و درجه اشباع نشدن، به‌شدت بر خواص بیودیزل تأثیر می‌گذارد، مانند پایداری اکسایشی و کیفیت احتراق. همان‌طور که در جداول 4 و 5 نشان داده شده است، صرف‌نظر از منابع جلبک، یک رابطه مثبت بین محتوای نسبی اسیدهای چرب با زنجیره طولانی (C20 ≥)،(0, 6.3٪ و 68٪ جدول 4) و دمای تقطیر (266، 300 و 683 درجه سانتی‌گراد، جدول 5) مشاهده شد. دمای تقطیر کمی بالاتر از حد مجاز 365 درجه سانتی‌گراد بود و بنابراین ممکن است برای کاهش دمای تقطیر فرایند اضافی مورد نیاز باشد.

4. نتیجه‌گیری

نشان داده شده است که اجزای لیپید در طول ذخیره‌سازی بیومس جلبک مرطوب تغییر می‌کنند. مقادیر بالای اسید چرب آزاد توسط هیدرولیز TAG در دمای بالای نقطه انجماد تولید می‌شود. پس از به‌کارگیری روش‌های بهینه استرسازی-تبادل استری، سرعت تبدیل TAG و FFA به 100٪ رسید. بیشترین بیودیزل به دست آمده استری‌شده (اما نه همه آن‌ها) با استانداردهای ملی چین (GB/T 20828-2007) مطابقت دارد. بنابراین پیشنهاد تبدیل دومرحله‌ای کاتالیزوری، پتانسیل خوبی برای تولید بیودیزل از روغن جلبک در اسیدهای چرب آزاد نشان می‌دهد.