

دستیابی به دانش فنی ساخت نانومواد ترمیم شونده پایه‌های بتن‌های تخریب‌شده در سازه‌های صنعت برق

NRI-ER-694-PNTPN24-2-L

مدیر پروژه: سارا محسنی

محقق: داریوش عربیان

مجری: نسترن ریاحی نوری

DOI: 10.30503/nripress.2020.233


بسم الله الرحمن الرحيم

دستیابی به دانش فنی ساخت نانومواد ترمیم‌شونده پایه‌های بتن‌های تخریب‌شده در سازه‌های صنعت برق

مدیر پروژه:

سارا محسنی

محقق: داریوش عربیان

همکاران:

حسین جهانبخش

محسن یزدانمهر

علی کیانی

پیوند امیری

مجری:

نسترن ریاحی نوری

انتشارات پژوهشگاه نیرو

۱۳۹۹

کد گزارش: *NRI-ER-694-PNTPN24-2-L*

DOI: 10.30503/nripress.2020.233

ایران. وزارت نیرو. پژوهشگاه نیرو. مرکز پژوهشی توسعه فناوری نانو

دستیابی به دانش فنی ساخت نانومواد ترمیم شونده پایه های بتن‌های تخریب‌شده در سازه‌های صنعت برق/سارا محسنی، محقق: داریوش عربیان/کارفرما: توانیر، ۱۳۹۹.

۲۲۸ص.: مصور، ۸۶ نمودار، ۴۱جدول

۱. نام خانوادگی، نام، همکار/همکاران پروژه. حسین جهانبخش، محسن یزدانمهر، علی کیانی، پیوند امیری ۲. نام خانوادگی، نام، مجری. نسترن ریاحی نوری ۳. نام سازمان، کارفرما. توانیر ۴. محور/ محورهای اصلی پروژه. نانوفناوری ۵. محور/ محورهای فرعی پوشش خود ترمیم شونده پروژه.

انتشارات پژوهشگاه نیرو
مرکز پژوهشی توسعه فناوری نانو

کلیه حقوق قانونی این اثر متعلق به پژوهشگاه نیرو است.

نشانی: تهران،شهرک‌غرب،انتهای‌بلوارشهیددادمان،پژوهشگاه‌نیرو، کدپستی: ۱۴۶۸۶۱۳۱۱۳
تلفن: ۹-۸۸۰۷۹۴۰۱
نمابر: ۸۸۰۷۸۲۹۶
وبگاه: *www.nri.ac.ir*
پست الکترونیک انتشارات: *publications@nri.ac.ir*

پژوهشگاه نیرو

بسمه تعالی

شماره:
تاریخ:
پیوست:

فرم تعهدنامه اصالت اثر

اینجانب سارا محسنی (مدیر پروژه) و داریوش عربیان (محقق پروژه) متعهد می‌شویم که مطالب مندرج در این گزارش حاصل کار پژوهشی اینجانب و همکاران به شرح زیر است و به دستاوردهای پژوهشی دیگران که در این پژوهش از آن استفاده شده است، مطابق مقررات ارجاع و در فهرست منابع و مآخذ ذکر گردیده است.

کلیه حقوق مادی و معنوی این اثر متعلق به پژوهشگاه نیرو است.

همکاران :

۱. حسین جهانبخش

۲. محسن یزدانمهر

۳. علی کیانی

۴. پیوند امیری

فهرست مطالب:

فصل اول: مقدمه..... ۱

۱- مقدمه..... ۲

۱-۱- خصوصیات بتنی های بکار رفته در صنعتی برق..... ۸

۱-۲- ترمیم بتن به روش های سنتی..... ۱۰

۱-۳- مصالح ترمیم..... ۱۱

۱-۴- روش ها و نکات اجرایی ترمیم بتن..... ۱۲

۱-۵- محافظت از بتن ترمیم شده..... ۱۳

۱-۶- بتن خودترمیم شونده..... ۱۴

۱-۷- بررسی علمی استفاده از باکتری در بتن..... ۱۵

۱-۸- عملکرد بتن خودترمیم شونده..... ۱۶

۱-۹- بتن خودترمیم شونده و محیط زیست..... ۱۶

۱-۱۰- سیمان زیستی چیست؟..... ۱۶

۱-۱۱- نتیجه گیری..... ۲۳

فصل دوم: میکروجلبک ها..... ۲۵

۲-۱- جلبک‌ها و ساختار سلولی آن‌ها..... ۲۶

۲-۲- زیست‌فنّاوری ریزجلبک‌ها..... ۲۶

۲-۳- ریزجلبک‌های مورداستفاده برای کاربردهای صنعتی..... ۲۷

۲-۳-۱- ریزجلبک دونالیلا..... ۲۸

۲-۳-۲- کلرلا ولگاریس..... ۲۸

۲-۳-۳- سندسموس اوبلیکوس..... ۳۲

۲-۴- جمع بندی..... ۳۲

فصل سوم:کشت ریزجلبک..... ۳۵

۳-۱- مقدمه..... ۳۶

۳-۲- کشت جلبک‌ها در روش‌های باز..... ۳۶

۳-۳- کشت جلبک در روش‌های بسته (راکتورهای زیستی نوری)..... ۳۹

۳-۳-۱. فاکتورهای مهم در طراحی راکتور زیستی نوری..... ۴۰

۳-۳-۲. انواع مختلف راکتور زیستی نوری..... ۴۱

۳-۴- مقایسه بین روش‌های باز و بسته کشت ریزجلبک..... ۵۸

۳-۴-۲- خصوصیات مهم در طراحی راکتور زیستی‌نوری..... ۶۰

۳-۴-۳- مقایسه راکتورهای زیستی نوری..... ۶۱
۳-۴-۴- مقیاس‌پذیری راکتورهای بسته..... ۶۱
۳-۴-۵- اقتصاد راکتورهای بسته..... ۶۲
۳-۴-۶- ترکیب روش‌های باز و بسته..... ۶۳
۳-۳- جمع بندی..... ۶۳
فصل چهارم :عوامل مؤثر بر رشد ریزجلبک‌ها..... ۶۶
۴-۱- مقدمه..... ۶۷
۴-۲- عوامل شیمیایی مؤثر در رشد ریزجلبک‌ها..... ۶۷
۴-۳- عوامل فیزیکی مؤثر در رشد ریزجلبک‌ها..... ۷۱
۴-۴- تأثیر شرایط کشت..... ۷۸
۴-۴-۱. کشت فتوتروفیک..... ۸۰
۴-۴-۲. کشت هتروتروفیک..... ۸۰
۴-۴-۳. کشت میکسوتروفیک..... ۸۰
۴-۴-۴. کشت فتوهتروتروفیک..... ۸۱
۴-۴-۵. مقایسه شرایط مختلف کشت..... ۸۱
فصل پنجم: بررسی روش های جمع آوری ریزجلبک..... ۸۵
۵-۱- مقدمه..... ۸۶
۵-۲- روش‌های برداشت..... ۸۷
۵-۲-۱. سانتریفیوژ..... ۸۷
۵-۲-۲- صاف کردن..... ۸۹
۵-۲-۳- منعقد سازی..... ۹۱
۵-۲-۴- شناورسازی..... ۱۰۴
۵-۳- جمع بندی..... ۱۰۵

فصل ششم: مواد و روشها..... ۱۰۸
۶-۱- مقدمه..... ۱۰۹
۶-۲- مواد و دستگاه‌های مورد استفاده ۱۰۹
۶-۲-۱- گونه ریزجلبک مورد استفاده در پژوهش..... ۱۰۹
۶-۲-۲- مواد و محیط کشت های مورد استفاده..... ۱۰۹
۶-۲-۳- دستگاه های مورد استفاده..... ۱۱۱
۶-۳- تهیه مایع تلقیح..... ۱۱۲
۶-۴- تهیه بانک سلولی از ریزجلبک استفاده شده..... ۱۱۲
۶-۵- آزمایش‌های انجام شده..... ۱۱۲
۶-۵-۱- آزمایش بررسی تاثیر محیط کشت‌های مختلف بر رشد ریزجلبک ۱۱۲
۶-۵-۲- آزمایش بررسی نوع منبع نیتروژنی بر رشد ریزجلبک ۱۱۳
۶-۵-۳- آزمایش بررسی شرایط کشت بر رشد ریزجلبک ۱۱۳
۶-۵-۴- آزمایش بررسی تاثیر غلظت سدیم بی‌کربنات و کربن دی اکسید بر رشد ریزجلبک ۱۱۳
۶-۵-۵- آزمایش تعیین مهم‌ترین اجزا محیط کشت و بهینه‌سازی مقادیر آن‌ها با استفاده از نرم افزار..... ۱۱۴
۶-۶- نحوه آماده‌سازی‌ها و شرایط کشت..... ۱۱۶
۶-۷- اندازه‌گیری پارامترهای رشد..... ۱۱۸
۶-۷-۱- اندازه‌گیری دانسیته نوری..... ۱۱۸
۶-۷-۲- اندازه‌گیری وزن خشک سلولی..... ۱۱۸
۶-۷-۳- انجام شمارش سلولی..... ۱۱۹
۶-۷-۴- اندازه‌گیری نرخ رشد ویژه و بهره‌وری بیومس..... ۱۱۹
۶-۸- تولید انبوه سیمان بیولوژیک..... ۱۲۰
۶-۸-۱-فتوبیورآکتور پلاستیکی ساخته شده..... ۱۲۰
۶-۸-۲- ساخت پمپ ایرلیفت و تغییرات انجام شده بر فتوبیورآکتور ساخته شده..... ۱۲۶

فصل هفتم: یافته‌های تحقیق و تجزیه و تحلیل یافته‌ها..... ۱۳۱
۷-۱- مقدمه..... ۱۳۲
۷-۲- رسم منحنی استاندارد غلظت بیومس *کلرلا ولگاریس* بر حسب دانسیته نوری..... ۱۳۲
۷-۳- بررسی تاثیر محیط کشت‌های مختلف بر رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*..... ۱۳۳
۷-۴- بررسی تاثیر نوع منبع نیتروژنی بر رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*..... ۱۳۶
۷-۵- بررسی شرایط کشت بر رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* ۱۳۸
۷-۶- اثر افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات بر رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*..... ۱۴۱
۷-۷- اثر افزایش غلظت کربن دی اکسید بر رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*..... ۱۴۳
۷-۸- نتایج حاصل از آزمایش غربالی پلاکت بورمن..... ۱۴۵
۷-۹- نتایج حاصل از طراحی آزمایش مخلوط..... ۱۴۹
فصل هشتم جمع بندی، نتیجه گیری ۱۵۵
۸-۱- جمع بندی..... ۱۵۶
۸-۱-۱- الزامات ایمنی و زیست محیطی..... ۱۵۶
۸-۱-۲- اثرات مثبت و منفی استفاده از سیمان بیولوژیک..... ۱۵۷
۸-۲- نتیجه گیری..... ۱۵۷
فصل نهم: ساخت نمونه های بتن..... ۱۵۹
۹-۱- ساخت نمونه های بتن..... ۱۶۰
۹-۱-۱- مراحل اختلاط..... ۱۶۱
۹-۱-۲- خاصیت این روش..... ۱۶۱
۹-۲- بررسی استانداردهای بتن ساخته شده..... ۱۶۳
۹-۲-۱- مقاومت فشاری بتن..... ۱۶۳
۹-۲-۱-۱- نحوه انجام دادن آزمایش مقاومت فشاری بتن بوسیله نمونه مکعبی..... ۱۶۶
۹-۲-۲- اندازه گیری مقاومت خمشی بتن..... ۱۶۸

۹-۲-۲-۱- اندازه ی نمونه ی آزمایش خمشی ۱۶۹
۹-۲-۳- وسایل آزمایش خمشی بتن..... ۱۶۹
۹-۲-۳-۱- آماده سازی نمونه ی بتنی..... ۱۷۰
۹-۲-۳-۲ فرآیند آزمایش مقاومت خمشی بتن..... ۱۷۱
۹-۲-۴ آزمایش کشش بتن به روش برزیلی یا دو نیم کردن..... ۱۷۳
۹-۳-۱- اصول کلی آزمون کشش غیر مستقیم بتن..... ۱۷۵
۹-۲-۴-۱ وسایل آزمایش ۱۷۶
۹-۲-۴- ۲شرایط نمونه ها ۱۷۶
۹-۲-۴-۳ روش اجرای آزمون کشش بتن به روش دو نیم کردن (برزیلی)..... ۱۷۶
۹-۳- نتایج ۱۷۹
۹-۳-۱- نتایج مقاومت فشاری..... ۱۷۹
۹-۳-۲- نتایج مقاومت کششی نمونه ها..... ۱۷۹
۹-۳-۳- نتایج مقاومت خمشی..... ۱۸۰
۹-۳-۴- نتایج خود ترمیم شوندگی..... ۱۸۱
۹-۴- نتیجه گیری..... ۱۸۷

فصل دهم: تهیه استانداردها..... ۱۹۰

۱۰- تهیه و ارایه استانداردها و سایر مستندات فنی مربوط به فرمولاسیون نهایی سیمان بیولوژیک..... ۱۹۰
۱۰-۱- مقدمه..... ۱۹۰
۱۰-۲-دستیابی به فرمولاسیون نهایی بتن خود ترمیم شونده با بهینه سازی بتن..... ۱۹۰
۱۰-۳-انجام تست های استاندارد بتن بر روی فرمولاسیون جدید..... ۱۹۲
۱۰-۴-نتایج بهینه سازی..... ۱۹۳
۱۰-۴-۱-تاثیر آب حاوی ریزجلبک ۲۰۰
۱۰-۴-۲-تاثیر میزان سیمان..... ۲۰۱

۱۰-۴-۳-تاثیر میزان ماسه ۲۰۲
۱۰-۴-۴- تاثیر میزان شن. ۲۰۳
۱۰-۵-تاثیر متقابل سیمان و ماسه ۲۰۴
۱۰-۶-تاثیر متقابل سیمان و شن ۲۰۵
۱۰-۷- استاندارد نهایی ساخت بتن خودترمیم شونده..... ۲۰۶
۱۰-۷-۱-مراحل اختلاط ۲۰۶
۱۰-۸- نتایج تست های استاندارد بتن بر روی فرمولاسیون به دست آمده.. ..... ۲۰۶
۱۰-۸-۱-نتایج مقاومت فشاری ۲۰۶
۱۰-۸-۲- نتایج مقاومت کششی نمونه ها..... ۲۰۸
۱۰-۸-۳- نتایج مقاومت خمشی..... ۲۰۹
۱۰-۹- نتایج مقاومت الکتریکی بتن..... ۲۰۹
۱۰-۱۰- نتایج تست نفوذ یون کلراید در بتن..... ۲۱۰
۱۰-۱۱-جمع بندی..... ۲۱۱
فصل یازدهم: نتیجه گیری و جمع بندی ۲۱۳

 DOI: 10.30503/nripress.2020.233

فصل اول:
مقدمه و بتن خود ترمیم

۱- مقدمه

یکی از عوامل اجتناب ناپذیر در بسیاری از سازه های بتنی بوجود آمدن ترک های ریز در این سازه هاست که علاوه بر تغییر شکل ظاهری بتن باعث نفوذ آب و مواد شیمیایی وارد به آن می شود، ورود آب و مواد شیمیایی باعث خوردگی آرماتورها و افت مقاومت سازه می شود در نتیجه هزینه های ناشی از نگهداری و تعمیر سازه های از این قسم بسیار بالا است. بنابراین استفاده از یک مکانیزم خودکار جهت کاهش هزینه های تعمیرات و افزایش پایداری مصالح می تواند بسیار مفید باشد.

امروزه یکی از مهمترین مسائلی که در محافل علمی دنیا مطرح است بحث فن آوری نانو است. یکی از این فن آوری های نوین بتن هوشمند می باشد که در سال های اخیر تحقیقات فراوانی در مراکز معتبرعلمی دنیا در مورد آن انجام پذیرفته است که بتن خود ترمیم شونده از آن جمله است. بتن یکی از عناصر بسیار مهم در پروژ ه های عمرانی است که به طورعمده در زیرساخت ها استفاده می شود ولی این یک واقعیت است که سازه های بتنی مستعد ترک خوردگی هستند. فرایندهای طبیعی از جمله فرونشست زمین، زلزله، تغییرات رطوبت و دما سبب ایجاد ترک در بتن می شوند و ازطریق این ترک ها مواد مضر وارد بتن شده و موجب خوردگی میلگردها و زوال بتن می شوند. جهت مقابله با این مسئله بایستی کیفیت بتن را بهبود بخشید ولی باز هم فقط تا حدی می توان جلوی ترک خوردگی را گرفت و همچنین هزینه های گزافی در پی دارد به همین جهت دانشمندان با تحقیق و مطالعه روی استفاده از باکتری ها در تولید بتن به فن آوری بتن خودترمیم [1]شونده دست پیدا کردند که دوام و عمر بتن را به مقدار قابل توجهی افزایش می دهد. ایجاد میکروترک ها در بتن یک واقعیت انکارناپذیراست که در روش سنتی مقابله با آن از مواد ترمیم کننده بتن بخصوص انواع پلیمرها استفاده می شود که علاوه بر هزینه های بالای آن برای محیط زیست نیز مضر می باشند. روش جایگزینی که دانشمندان به آن دست پیدا کردند استفاده از باکتری ها در بتن و تولید بتن خودترمیم شونده است که علاوه بر کاهش هزینه های تعمیر و نگهداری بتن برای محیط زیست نیز مضر نبوده و به دوام وعملکرد بتن کمک کرده و عمر مفید بتن را افزایش می دهد.

از این رو یک گروه تحقیقاتی از دانشگاه دلف هلند نوعی بتن به نام خود ترمیم شونده را مورد بررسی قرار داده است. این ماده با کمک یک نوع باکتری قادر به ترمیم ترک های ایجاد شده داخل بتن است. باکتری استفاده شده در این طرح به همراه کلسیم لاکتات [2]که به عنوان منبع تغذیه باکتری است به صورت غیر فعال داخل بتن قرار می گیرد و بعد از ایجاد ترک در مجاورت آب فعال شده و با تغذیه کلسیم لاکتات و ایجاد واکنش شیمیایی، کربنات کلسیم یا سنگ آهک تولیده کرده و ترکهای درون آن را ترمیم می کند.ترکهای بزرگ در بتن سبب از بین رفتن انسجام سازه می شوند که به تبع آن نیازمند به تعمیرات هستیم. از طرفی به دلیل بوجود آمدن تنش های کششی و انقباض در بتن بوجود آمدن ترک در آن اجتناب ناپذیر است. ترک های ریز به پهنای ۲/۰ میلیمتر عمدتا بر روی سازه تاثیر خاصی ندارد اما می تواند نفوذپذیری و تخلخل بتن را بالا برده و باعث ورود مواد شیمیایی مزاحم از قبیل کلرایدها، سولفات ها و اسیدها شود که در طولانی مدت منجر به خوردگی زود هنگام آرماتورها و افت کیفیت سازه خواهد شد. در یکی از مطالعات صورت گرفته نوع خاصی باکتری به نام باسیلوس به عنوان عامل ترمیم کننده به طرح اختلاط بتن اضافه می شوند. این باکتری بعد از فعالسازی با ورود آب به داخل ترک ها شروع به ر شد می کنند و مقادیر بسیار زیادی کلسیم کربنات تولید می کنند، که منجر به پرکردن ترک ها می شود. در واقع

[1] Self healing concrete (SHC)
[2] Calicium lactat

این عمل از طریق اضافه کردن ترکیبات ارگانیک به طرح اختلاط صورت می پذیرد. میکروب مورد استفاده باید قادر به بستن ترک های ایجاد شده به طور موثر در عمر مفید سازه باشد. همچنین باکتری با تولید ترکیبات کلسییم کربنات به عنوان فیلر مبتنی بر رسوب مواد معدنی به عنوان یک Bio-cement که می تواند ترک های تازه شکل گرفته را ببندد عمل می کند. برای خود ترمیم شوندگی موثر، هم باکتری و هم ترکیبات پیشرفویی همچون Bio-cement باید درون ساختار مخلوط شوند. با این حال وجود میکروب و ترکیبات ارگانیک نباید تاثیر منفی بر روی ویژگی های بتن داشته باشد. این میکروب باعث پایداری اتصال و پیوستگی ریز ساختار بتن می شود و در طبیعت وجود دارد، همچنین باید در محیط قلیایی مصالح مقاوم باشد. ویژگی این باکتری این است که قادر به تشکیل اسپور هایی هستند که زیست پذیر اند اما غیر فعال و قادر به تحمل تنش های مکانیکی و شیمیایی می باشند و می توانند در حالت خشک برای بیش از ۵۰ سال زنده بمانند.

زمانی که میکروب بطور مستقیم (غیر محافظت شده) به طرح اختلاط بتن اضافه می شوند طول عمر آنها محدود به یک یا دو ماه است. این کاهش طول عمر سلول های میکروبی از چندین دهه در حالت خشک به دو ماه در حالت غیر محافظت شده درون ساختار بدلیل هیدراسیون پی در پی سیمان می باشد که باعث بوجود آمدن سوراخ هایی با قطر ۱ میکرومتر کوچکتر از قطر اسپورهای باکتری درون ساختار بتن می شود. مساله دیگر اضافه کردن ترکیباتی جهت تغذیه باکتری ممکن است باعث از دست رفتن خصوصیات بتن شود. اضافه کردن ترکیباتی همچون شیره مخمر و کلسیم استات باعث کاهش چشمگیر مقاومت فشاری بتن می شود. اما افزودن کلسیم الکتات در کنار باکتری باسیلوس باعث افزایش ده درصدی مقاومت فشاری می گردد. برای حفاظت و نگهداری باکتری و کلسیم الکتات بصورت غیر فعال به این نتیجه رسیدند که آن را درون ذرات رس با تخلخل بالا قرار دهند و بعد به بتن اضافه شود که به طرز چشمگیری باعث افزایش عمر باکتری می شود.

مواد خودترمیم شونده، موادی هستند که توانایی بازگشت به حالت اولیه را دارند. مفهوم بتن خودترمیم شونده (SHC) که‌ترمیم آن به مرور زمان اتفاق می‌افتد (اتوژنیک)، نخستین بار در حدود دو دهه پیش مطرح شد و می توان آن را در بسیاری از سازه‌های مشاهده کرد که به رغم عدم تعمیر و نگهداری قابل ملاحظه، برای مدت زمان طولانی پایدار و پابرجا مانده‌اند. بنابرین در نگاه اول می‌توان نتیجه گرفت که فعل و انفعالات رطوبت با کلینکر سیمان غیرهیدراته، سبب ترمیم خود به خود ترک‌ها شده است. با این وجود،در سال‌های اخیر به دلیل استفاده از روش های مدرن ساخت و ساز، کاربری سیمان در ساخت سازه کاهش چشمگیری داشته است. از این رو، میزان سیمان غیر هیدراته موجود نیز کمتر شده است که کاهش اثر خودترمیمی طبیعی را به دنبال دارد.

فازهای اصلی توانایی‌ترمیم طبیعی، آماس و هیدراتاسیون خمیر سیمان هستند که با ته‌نشست کربنات کلسیم ($CaCO_3$)ادامه می‌یابند و درنهایت باعث انسداد مسیرهای جریان و رسوب ناخالصی‌های آبی و یا حرکت برخی ذرات بتنی جداشده در طول فرآیند ترک‌خوردگی می‌شود. من‌جمله عوامل دخیل درروش طبیعی‌ترمیم می‌توان از دما، درجه آسیب، چرخه یخ‌زدگی، طول عمر بتن و وضعیت ملات نام برد. اما روش مصنوعی‌ترمیم ترک در بتن، که یک فرایند خودترمیمی با دخالت انسان است در سال ۱۹۹۴ اختراع شد. نخستین واصلی‌ترین روش مصنوعی‌ترمیم بتن، استفاده از یک عامل‌ترمیم‌کننده (چسبنده) بود که در داخل یک کپسول کوچک قرار می‌گرفت. در این روش، شکل‌گیری ترک باعث شکستن کپسول‌های میکرو و آزاد شدن عوامل ترمیم‌کننده‌ای می‌شد که بهبود و ترمیم ترک را بر عهده داشتند. چسب‌ها می‌توانستند در رشته‌های کوتاه یا لوله‌های طولانی ذخیره شوند.

نانو ذرات سیلیس با ایجاد واکنش با کریستال‌های هیدروکسید کلسیم $Ca(OH)_2$ ژل متراکم یکپارچه و نامحلول هیدروکسید کلسیم سیلیکات (C-S-H) تشکیل و نانو سیلیس به علت داشتن سطح ویژه بسیار زیاد مانند هسته عمل کرده

و چسبندگی بسیار قوی باسیمان هیدراته تشکیل می‌دهد. نانو سیلیس با هیدروکسید کلسیم واکنش نشان داده و از رشد بیشتر بلورهای هیدروکسید کلسیم جلوگیری و مانند پوزولانها ترکهای ریز و منافذ مویین را پرکرده و درنهایت سبب تراکم ساختار سیمان و کاهش نفوذپذیری و افزایش مقاومت و دوام و عمر مفید سازه بتنی می‌گردد. پروفسور ویکتور لی در دانشگاه میشیگان در رابطه با خود ترمیمی بتن در پل‌ها و جاده‌ها به نتایج جالبی رسیده است. به‌طوری‌که ترک‌های ریز و منافذ مویین در حد ۳۰ میکرون (یک‌سوم تار مو) در اثر آب‌وهوا خودترمیم شده و بتن استحکام خود را دوباره به دست می‌آورد. خود ترمیمی بتن از ورود آب و نمک و یون کلر و مواد شیمیایی داخل سازه بتنی جلوگیری کرده و از خوردگی فولاد و تخریب بتن پیشگیری خواهد کرد. در فناوری نانو مواد به اندازه‌هایی در مقیاس نانو کوچک‌شده و با دوباره‌سازی، به موادی با خصوصیات جدید، به صنعت عرضه می‌شوند.اکسیدهای مختلف نظیر نانو سیلیس،نانو اکسید آهن،نانو اکسید آلومینیم و نانو اکسید تیتانیوم سبب بهبود خواص فیزیکی، مکانیکی و دوام بتن می‌شوند. به‌عنوان‌مثال نانو ذرات اکسید تیتانیوم در بتن، در اثر تابش نور فعال‌شده و خاصیت خود تمیز شوندگی توأم با اضمحلال آلودگی هوا صورت می‌گیرد.

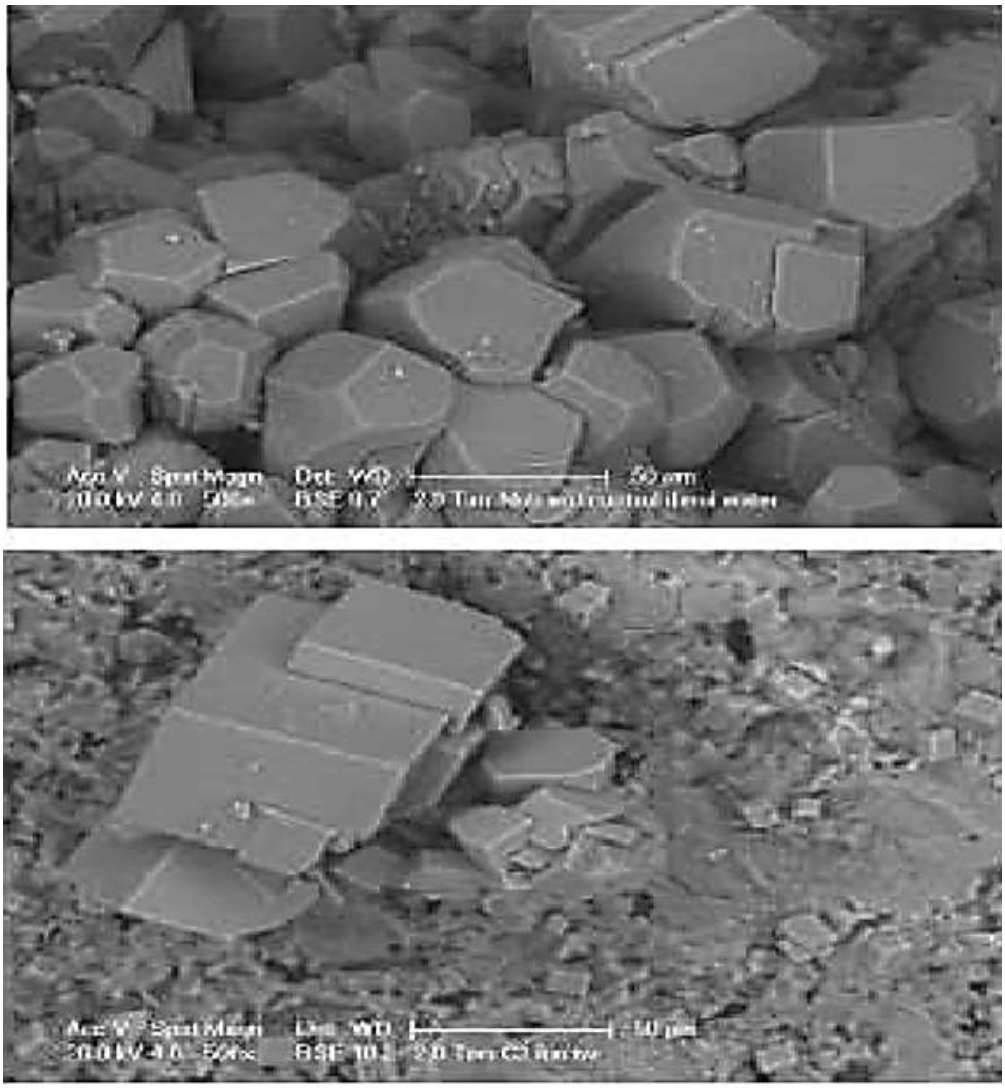
استفاده از این نانو مواد در سطوح خارجی ساختمان‌ها، جاده‌ها و به‌ویژه نقاط پرتردد و دارای آلودگی، سبب کاهش خسارات زیست‌محیطی و اقتصادی خواهد شد و از سال ۲۰۰۸ تاکنون در بسیاری از کشورهای پیشرفته مورداستفاده قرارگرفته است. نمونه آن استفاده از اکسید تیتانیوم در ۷۰۰۰ مترمربع جادها در میلان و کاهش ۶۰ درصدی سطح دی‌اکسید نیتروژن هوا می‌باشد.

ترک خوردگی در بتن ممکن است به‌صورت داخلی تحت تأثیر مصالح تشکیل دهندهٔ خود بتن صورت گرفته و یا تحت اثر عوامل و محیط خارجی نظیر محیطهای شیمیایی خورنده که دارای سولفات و کلرید بوده، نفوذ نمک‌ها و اسیدها، اثرات جوی و محیطی، تغییرات شدید دمایی و ضربات و بارهای وارد بر بتن ایجاد گردد. نه‌تنها این‌گونه ترک‌ها بلکه حتی ترک‌های ریز میکروسکوپی در ناحیهٔ کششی بتن که امری بدیهی تلقی می‌شود در شرایطی ممکن است عملکرد سازه بتنی را مختل نماید. چراکه ترک‌ها مسیرهایی ساده برای نفوذ مواد خورنده نظیر یون کلر، نفوذ نمک‌ها و اسیدهای مضر و یا پدیدهٔ کربناسیون در اثر نفوذ CO_2 به همراه آب در بتن بوده و سبب خوردگی میلگردها و درنتیجه زوال عضو بتن آرمه می‌گردند. تاکنون تحقیقات زیادی برای کنترل و ترمیم ترک‌ها و محافظت در برابر خوردگی اعضای بتن آرمه صورت گرفته است. در حال حاضر روش‌هایی نظیر بازسازی عضو آسیب‌دیده، پوشش‌های مختلف شیمیایی و استفاده از مواد پرکنندهٔ ترک، روش‌های سنتی و متداول برای ترمیم ترک‌های قابل شهود در یک سازهٔ بتنی مورداستفاده قرار می‌گیرد. در فناوری نانو مواد به اندازه‌هایی در مقیاس نانو کوچک‌شده و با دوباره‌سازی آن، به موادی با خصوصیات جدید، به صنعت عرضه می‌شوند. ورود فنّاوری نانو به صنعت بتن با پیدایش کامپوزیت‌های خودترمیم، تداعی‌کنندهٔ ساخت سازه‌های هوشمند با شناسایی خرابی و ترمیم اتوماتیک می‌باشد. این فناوری با الگوبرداری و الهام از مکانیزم ترمیم در بدن موجودات زنده و شبیه‌سازی آن در بتن، درحال‌توسعه می‌باشد.

بتن خودترمیم که به‌عنوان بتن خودترمیم شونده زیستی نیز شناخته می‌شود، از یک فرایند ساده در راستای مهروموم کردن ترک‌ها بهره می‌برد. مکانیزم اصلی به کار گرفته‌شده در ساخت این بتن، ایجاد مخلوط بتنی است که شامل یک پیش ماده مانند لاکتات کلسیم $Ca(C_3H_5O_2)_2$ و یا کپسول‌های کوچک حاوی باکتری با مخلوط بتن باشد. این باکتری‌ها پس‌ازاینکه آب به مخلوط بتن اضافه شد، شروع به رشد می‌کنند. به‌محض این که باکتری‌ها شروع به رشد کردند، سنگ آهکی را تولید می‌کنند $(CaCo_3)$ که ناشی از چند برابر شدن باکتری‌هاست.

به گفته دکتر ریچارد کوپر از گروه زیست‌شناسی و بیوشیمی دانشگاهBATH ، ترکیب باکتری‌ها در بتن باعث ایجاد لایه‌های محافظ می‌شود که از خوردگی فولاد جلوگیری می‌کنند. بااین‌حال وی در سخنان خود از بهره‌گیری باکتری‌ها از اکسیژن که خوردگی در فولاد را به دنبال دارد، سخنی به میان نیاورده است؛ چراکه باکتری‌هایی که در این نوع بتن استفاده می‌شوند، باکتری‌های مقاوم در برابر قارچ و اسپور هستند. باکتری‌های این گروه به سبب شکل میکروبی و نیز طول عمر ۲۰۰ ساله خود، مناسب‌ترین نوع باکتری‌ها به شمار می‌روند. بنابراین، استفاده از باکتری‌ها به‌عنوان مکانیزم ترمیم ترک، به دلیل خواص آلی پایدار آن‌ها، یکی از بهترین مکانیزم‌ها برای تولید بتن خودترمیم شونده است.

در این روش به‌طور دقیق‌تر مواد به‌صورت تلفیقی از مواد طبیعی و نانو مواد جهت ترمیم هوشمند بتن توسعه‌یافته است. این روش با کمک نوع خاصی از باکتری‌های موجود در طبیعت که قادر به زیست در محیط قلیایی بالای بتن هستند، برای ساخت بتن خودترمیم استفاده می‌شود. هرچند که ایده افزودن باکتری در بتن ممکن است در ابتدا عجیب به نظر برسد ، اما منظور از بررسی آن ، ارزیابی میکروبیولوژی آن نمی‌باشد. باکتری‌ها تقریباً به‌طور طبیعی در همه جای کره زمین نه‌تنها بر روی سطح آن بلکه در اعماق آن مثل حضور در رسوبات و صخره‌ها در عمق بیش 1Km حضور دارند. گونه‌های مختلفی از باکتری‌های اکستروموفیل یعنی باکتری‌هایی که علاقه‌مند به حداکثر شدن می‌باشند ، در محیط‌های خشک ازجمله بیابان‌ها و همچنین درون صخره‌ها یافت می‌شوند. مشخصه باکتری‌های موجود در محیط خشک و یا گونه‌های باکتریایی مقاوم قلیایی ، توانایی جهت تشکیل غشاهای درونی می‌باشد. این سلول‌های مخصوص که به‌وسیله یک فعالیت متابولیک بسیار ناچیز ایجاد می‌شوند ، قادر به تحمل تنش‌های شیمیایی و مکانیکی می‌باشند و برای دوره‌های بیش از ۲۰۰ سال پایدار و مقاوم می‌باشند. در برخی از نشریات ، کاربرد باکتری‌ها جهت تمیز کردن سطح بتن به اثبات رسیده است) موینک ۲۰۰۸ (و همچنین افزایش مقاومت ملات ماسه سیمان گزارش‌شده است (بنگ ۲۰۰۱) هرچند که نتایج قابل‌اطمینانی حاصل‌شده‌اند ، مانع اصلی در مورد مطالعات اخیر این است که باکتری و ترکیبات موردنیاز برای رسوب معدنی می‌توانند تنها به‌صورت خارجی بر روی س طح سازه‌ها پس از وقوع ترک رخ دهند. الزام این موضوع به دلیل عمرمحدود(از چند ساعت تا چند روز) فعالیت آنزیمی و امکان ادامه حیات گونه‌های باکتریایی اعمال‌شده می‌باشد. در شکل ۱-۱ کریستال های کلسیمی توسط رسوب باکتریایی نشان داده‌شده است.



شکل ۱-۱- کریستال های کلسیمی توسط رسوب باکتریایی

بتن باکتریایی را می‌توان به دو صورت آماده کرد:

- کاربرد مستقیم
- کپسوله کردن آن در بتن سبک

در روش کاربرد مستقیم بتن، اسپورهای باکتریایی و کلسیم لاکتات زمانی که مخلوط کردن بتن پایان یافت به طور مستقیم وارد آن می‌شوند. استفاده از این باکتری و کلسیم لاکتات در ویژگی‌های بتن تغییری ایجاد نخواهد کرد. زمانی که به برخی از دلایل ترک‌هایی در بتن ایجاد می‌شوند، باکتری‌ها در معرض تغییرات آب و هوایی قرار گرفته و زمانی که آب در تماس با آن‌ها قرار می‌گیرد، باکتری جوانه زده و از کلسیم لاکتات تغذیه کرده و سنگ آهک تولید می‌کند که درنهایت سبب بسته شدن ترک خواهد شد.در روش کپسوله کردن، باکتری به همراه غذای آن (کلسیم لاکتات) درون پالت‌های سفالی مخصوصی قرار گرفته و بتن آماده می‌شود. حدود ۶ درصد حجم بتن را پالت‌های سفالی تشکیل می‌دهند تا بتن خودترمیم ایجاد شود.زمانی که سازه‌های بتنی با استفاده از بتن خودترمیم ساخته می‌شوند و ترکی در ساختار بتن ایجاد می‌شود. این

پالت‌های سفالی شکسته و باکتری‌ها برای خوردن کلسیم لاکتات جوانه می‌زنند و سنگ آهک تولید می‌کنند که درنهایت منجر به بسته شدن ترک و سفت شدن مجدد بتن خواهد شد. ترک‌های ریز با عرض حدود ۰،۵ میلیمتر را می‌توان با استفاده از بتن خودترمیم از بین برد.در بین این دو روش، از روش کپسوله کردن بیشتر استفاده می‌شود باوجود اینکه قیمت این روش از روش کاربرد مستقیم بالاتر است.

از طرفی دیگر بر اساس بیانات و آزمایش‌های انجام‌شده توسط یاکنرز و همکاران، در باکتری‌های غشائی قلیایی در ترکیب با مخلوط بتن می‌باشد که باعث تشکیل رسوب کلسیم کربنات می‌شود . آب موردنیاز جهت شروع فعالیت ساختار بتنی می‌تواند باعث تشکیل ترک‌های تازه شود. علاوه براین ، در مورد رسوبات معدنی، سلول‌های فعال نیاز به تشکیل زیر لایه‌های ارگانیک که می‌توانند به‌صورت متابولیک تبدیل به کربن غیر ارگانیک که قابل رسوب‌دهی با کلسیم آزاد موجود در کلسیم کربنات می‌باشد ، دارند . کلسیم آزاد که همواره در مخلوط بتن حضور دارد ، اما کربن ارگانیک همواره در مخلوط بتن حضور ندارند. در آزمایش‌های اولیه ، کربن ارگانیک به‌صورت خارجی به‌عنوان قسمتی از محیط واکنش‌دهنده اعمال می‌شود ، درحالی‌که به‌صورت ایده آل باید به‌عنوان قسمتی از مخلوط بتنی وارد واکنش شود. در این مورد تنها استفاده از آب جهت فعال‌سازی بتن باکتریایی غیرفعال موردنیاز می‌باشد . با افزودن آب باکتری تبدیل کربن ارگانیک در مخلوط بتن به کلسیم کربنات می‌شود که باعث آب‌بندی ترک‌های تازه تشکیل‌شده نیز می‌گردد. بنابراین استفاده از دو ترکیب ترمیم‌کننده زیست–شیمیایی متشکل از سلول‌های باکتری و ترکیب ارگانیک زیست سیمانی مناسب است. هم‌سلول‌ها و هم خوراک در مخزن متخلخل گسترش‌یافته غیرفعال می‌شوند.در این صورت سلول‌ها و باکتری‌ها در حین تولید و سخت شدگی بتن موردحفاظت قرارگرفته و برای مدت طولانی تا زمان انجام خودترمیم شوندگی زنده خواهد ماند.

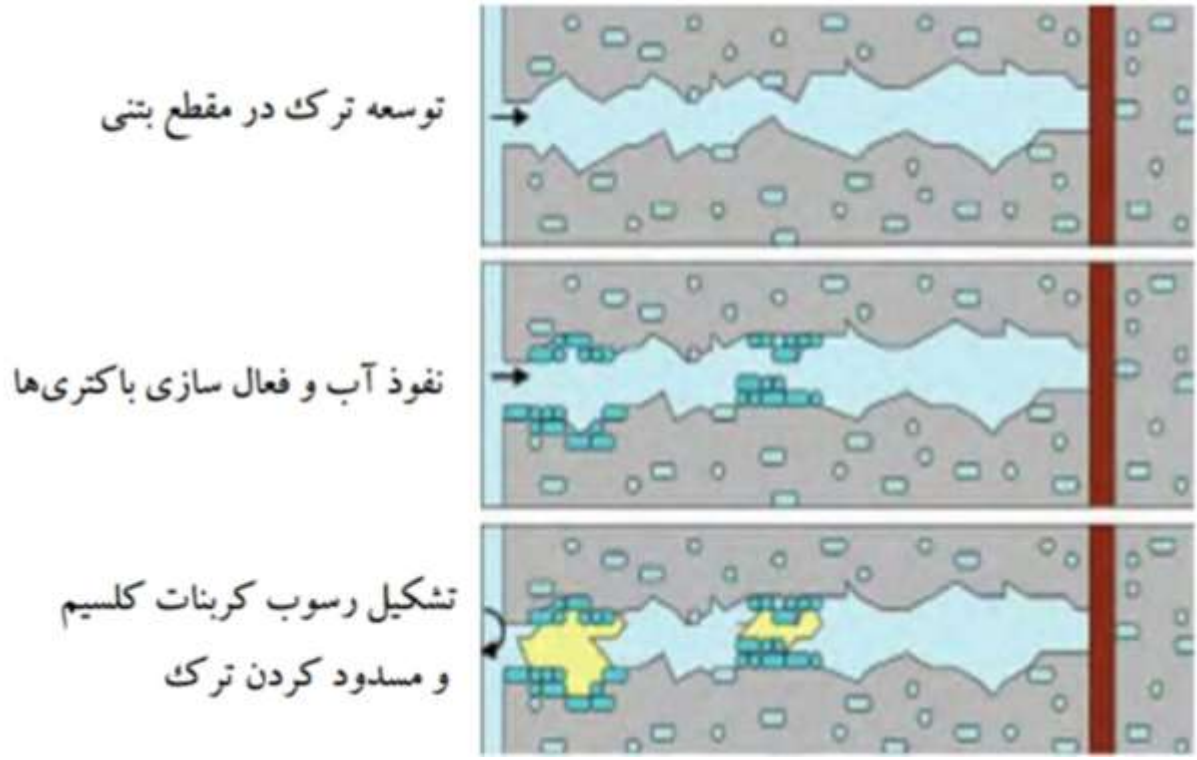
صفحات بتنی آماده‌شده شامل سنگ‌دانه‌های متخلخل پرشده توسط ترکیب حاصل از باکتری و مخلوط می‌باشند. نمونه‌ها طی ۵۶ روز عمل‌آوری شده و سپس با استفاده از آزمایش بارگذاری شکافت کششی به‌منظور تشکیل این ترک‌های جزئی مورد آزمایش قرار می‌گیرند. پس از تشکیل این ترک‌ها ، نمونه‌ها در توپک‌های نفوذپذیر آزمایشی که طی آن آب ازیک‌طرف نمونه به مدت ۲۴ ساعت به آن اعمال می‌شود،قرار می‌گیرد. نتیجه این آزمایش نشان می‌دهد که‌ترمیم ترک‌ها در بتن باکتریایی بسیار کاراتر از بتن با ترکیبات مشابه اما بدون افزودن ماده‌ترمیم شونده بیوشیمیایی می‌باشد. دلیل این موضوع را می‌توان توسط فرایندهای شیمیایی سخت در حالت کنترل و انجام فرایندهای بیولوژیکی اضافی در بتن باکتریایی تفسیر نمود. در سطح بتن ترک‌خورده مورد آزمایش (یاکنرز و همکاران ۲۰۰۷)، برخی از ترکیبات کلسیم کربنات به دلیل واکنش CO_2 در ترک با کلسیم هیدروکسید موجود در مخلوط بتن طبق واکنش زیر انجام می‌شوند:

$$CO_2 + Ca(OH)_2 \rightarrow CaCO_2 + H_2O$$

میزان کلسیم کربنات تولیدشده در این حالت به دلیل میزان محدود CO_2، ناچیز می‌باشد. ازاینجایی‌که کانی پرتلندیت(کلسیم کربنات) به‌صورت یا ماده معدنی محلول می‌باشد، در حقیقت بیشتر ترکیبات ایجادشده آن‌ها در ترک ، در توده آب اصلی حل و پراکنده می‌شوند. هرچه قدر میزان CO_2 بیشتر باشد، پورتلندیت حل‌شده به‌صورت رسوب به شکل کلسیم کربنات خواهد بود، اما اندکی دورتر از ترک ایجاد می‌شود که در شکل زیر نشان داده‌شده است. فرایند خودترمیم شوندگی در بتن باکتریایی به دلیل تبدیل متابولیک کلسیم توسط باکتری‌های موجود، بسیار مفید می‌باشد:

$$Ca(C_3H_5O_2)_2 + 7O_2 \rightarrow CaCO_3 + 5CO_2 + 5H_2O$$

این فرایند صرفاً کلسیم کربنات ره به‌طور مستقیم تولید نمی‌کند، بلکه به‌صورت غیرمستقیم باعث ایجاد CO_2 با پرتلندیت در سطح ترک می‌شود. در حالت آخر، پرتلندیت در سطح ترک حل و یا از سطح آن پراکنده نمی‌شود، اما بجای آن به‌صورت مستقیم در یک نقطه با CO_2 تولیدشده باعث ایجاد کلسیم کربنات اضافی می‌شود. این فرایند باعث ایجاد این بندی ترک همانند شکل زیر می‌گردد .نتیجه این عمل این است که دو ماده‌ترمیم کننده بیوشیمیایی متشکل از سلول‌های باکتریایی و پیش ماده بیو سیمانی ارگانیک که هر دو در فضای متخلخل ذرات غیرفعال می‌شوند، نشان دهنده یک جایگزین مناسب نسبت به مواد ترمیم‌کننده سیمانی و شیمایی می‌باشد.



شکل ۱-۲- سازوکار ترمیم خرابی با استفاده از باکتری‌ها

۱-۱- خصوصیات بتنی های بکار رفته در صنعت برق

پایه‌های سیمانی در حال حاضر به طور وسیعی در شبکه‌های توزیع به کار برده می‌شوند. پایه‌های بتنی یا فلزی بیشتر در مکانهایی مورد استفاده قرار می‌گیرند که استحکام زیاد و شکل ظاهری از اهمیت بالایی برخوردار باشد. در کشورهای جهان پایه‌های سیمانی در رنگ‌ها و شکل‌های متفاوتی ساخته می‌شوند.

پایه‌های بتنی را بصورت توخالی یا لانه زنبوری می‌سازند تاوزن آن‌ها که عیب این پایه هاست کم شود، زیرا سنگینی آن‌ها

به خصوص در محل‌های نامناسب یا سطوح شیبدار کوهپایه‌ها، کار نصب را با مشکل مواجه می‌کند به طوری که این عامل عدم رغبت به کاربرد پایه‌ها با قدرت سنگین را موجب می‌شود.

برای تقویت پایه‌های بتنی مسلح از میلگردهای فولادی آجدار به طور سرتاسری در تمام طول استفاده می‌شود. این میلگردهای طولی باید یکپارچه، آجدار و حداقل از نوع A-H با مقاومت جاری شدن ۳۰۰۰ کیلوگرم بر سانتی متر مربع و مقاومت نهایی ۵۰۰۰ کیلو گرم بر سانتی متر مربع باشد. برای جلوگیری از جابجا شدن این میل گردها در حین بتن ریزی از سیم‌های فولادی دیگری به صورت عمود بر آرماتورهای طولی استفاده می‌شود که آن‌ها را لصطلاح خاموت می‌گویند.

تیرهای سیمانی به دو دسته زیر تقسیم می‌شوند:

الف.) تیرهای بتنی مسلح یا توپر با مقطع H.

ب.) تیرهای بتنی پیش تنیده یا مقطع گرد (توخالی)

الف.) پایه‌های بتنی مسلح

پایه‌های سیمانی مسلح به تیری گفته می‌شود که میلگردها و سیم‌های فولادی قبل از ریختن بتن بصورت اسکلت فولادی در قالب قرار گرفته و پس از اینکه بتن ریخته شد مقاومت آن را افزایش دهد. پایه‌های نوع توپر با مقطع چند ضلعی که از میل گردهای بلند و بتن ساخته می‌شوند، که بطور معمول بصورت H. شکل (I. شکل) و یا مقطع چهار گوش باشند به اصطلاح بتن مسلح می‌گویند، زیرا دو ماده آرماتور و بتن در ایجاد نیروی مقاوم پایه بطور مشترک عمل می‌نمایند.

جدول ۱ – ۱ اطلاعات تیرهای بتنی مسلح ساخت ایران به پیشنهاد استاندارد وزارت نیرو را نشان می‌دهد. دراین استاندارد منظور از قدرت اسمی تیرهای بتنی مقدار بار قابل تحمل تیر در شرایط کار همیشگی است و قدرت نامی یا قدرت نرمال نیز گفته می‌شود. مقاومت در مرحله ارتجاعی تیر به مقدار ۵ / ۱ برابر قدرت اسمی تیر است که در صورت وارد شدن به تیر و پس از برداشتن نباید در آن تغییر شکل همیشگی ایجاد شود. در پایه بتنی سالمی که برابر مشخصات فنی تهیه شده باشد نیرویی که تحمل خواهد کرد برای تیرهای با قدرت ۴۰۰ کیلو گرم نیرو و کمتر باید بالاتر از سه برابر و برای تیرهایی با قدرت بیش از ۴۰۰ کیلو. گرم نیرو باید بالاتر از ۵ / ۲ برابر نیروی مجاز باشد.

جدول ۱–۱– اطلاعات تیرهای بتنی مسلح

طول متر (متر)	قدرت اسمی(کیلو گرم نیرو)	مقاومت در مرحله ارتجاعی(کیلو گرم نیرو)	مقاومت نهایی(کیلو گرم نیرو)
۹	۲۰۰	۳۰۰	۶۰۰
۹	۴۰۰	۶۰۰	۱۲۰۰
۹	۶۰۰	۹۰۰	۱۵۰۰
۹	۸۰۰	۱۲۰۰	۲۰۰۰
۱۲	۲۰۰	۳۰۰	۶۰۰
۱۲	۴۰۰	۶۰۰	۱۲۰۰
۱۲	۶۰۰	۹۰۰	۱۵۰۰

۱۲	۸۰۰	۱۲۰۰	۲۰۰۰
۱۲	۱۲۰۰	۱۸۰۰	۳۰۰۰
۱۵	۴۰۰	۶۰۰	۱۲۰۰
۱۵	۶۰۰	۹۰۰	۱۵۰۰
۱۵	۸۰۰	۱۲۰۰	۲۰۰۰
۱۵	۱۲۰۰	۱۸۰۰	۳۰۰۰

تیرهای بتنی بر اساس نسبت نیروی مجاز عرضی به قدرت اسمی از نظر کلاس و پایه به سه دسته زیر تقسیم می‌شوند:
۱ – پایه‌ی بتنی مسلح چهار گوش – کلاس آ.: نیروی مجاز عرضی معادل ۳ / ۰ تا ۴ / ۰ قدرت اسمی.
۲ - پایه‌ی بتنی مسلح چهار گوش – کلاس ب.: نیروی مجاز عرضی معادل ۴ / ۰ تا ۶ / ۰ قدرت اسمی
۳ - پایه‌ی بتنی مسلح چهار گوش – کلاس پ.: نیروی مجاز عرضی معادل قدرت اسمی که در استاندارد (وزارت نیرو) ایران فقط تیرهای بتنی کلاس آ. قابل تولید و استفاده می‌باشند.

۲ – خصوصیات پایه‌های بتنی مسلح
پایه‌های بتنی مسلح در هر ارتفاع استاندارد شده‌ای که ساخته شوند، باید بر اساس نیروی کششی نرمال و در یکی از انواع ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۱۲۰۰ کیلوگرم نیرو باشد
شکل پایه‌ها بصورتی است که با داشتن قالب پایه ۱۵ متری به آسانی می‌توان با حذف قسمتی از انتهای قالب به ترتیب برای ساخت پایه‌های ۱۴، ۱۳، ۱۲، ۱۱، ۱۰ و ۹ متری اقدام نمود. قدرت کششی که هر یک از این پایه‌ها می‌توانند تحمل کنند همان نیروی کششی پایه ۱۵ متری خواهد بود.

۱-۲- ترمیم بتن به روش های سنتی

ترمیم بتن از زمان اجرای اولین بتن ریزی آغاز می شود ، اما بیشتر از این واژه برای اصلاح سطح بتن پس از ترک خوردگی، کنده شدگی و به طور کلی تخریب بتن استفاده می شود. برای شروع عملیات ترمیم ابتدا باید یک ارزیابی صحیح و جامع درباره علت و تاثیر تخریب بتن صورت بگیرد. با استفاده از نتایج این ارزیابی می توان به نوع مصالح و روش ترمیم مناسب دست پیدا کرد. سطح ترمیم شده بتن باید جایگزین بتن آسیب دیده شود و عملکرد سازه ای مورد نیاز مثل حالت اولیه را به دست آورد و از لایه زیرین نیز محافظت نماید. تمام تنش های احتمالی در مصالح مصرفی قسمت ترمیم شده و همچنین تنش ها در فصل مشترک قسمت ترمیم شده و لایه زیرین باید بررسی و تحلیل شوند. تنش ها در قسمت ترمیم شده در اثر تغییر حجم نسبی بین قسمت ترمیمی و لایه بتن زیرین و همچنین در اثر انواع بارگذار یها ایجاد می شوند. تنش ها در قسمت ترمیم شده باید درحد ظرفیت مصالح موجود و مصالح جدید باشد ، در غیر این صورت ممکن است خرابی اتفاق بیفتد [۱]. در جایی که مقداری از مصالح تحت تاثیر انواع تنش ها از بین می روند در اطراف قسمت ترمیم شده مجددا بارها توزیع می شوند. برای اینکه بارگذاری مجدد تاثیر منفی بر روی قسمت ترمیم شده نگذارد باید در طی انجام عملیات ترمیم باربرداری

کامل از روی عضو ترمیم شونده توسط شمع زنی و جک زنی انجام پذیرد ، مصالح ترمیم بطور کامل استفاده شده، عمل آورده شوند و بعد از رسیدن به مقاومت تعیین شده که تحمل بارگذاری را داشته باشد، بارگذاری مجدد روی عضو موردنظر انجام پذیرد تا به قسمت ترمیم شده آسیبی وارد نشود [۲].

۱-۳- مصالح ترمیم

برای انتخاب صحیح مصالح ترمیم باید درک درستی از رفتار مصالح ترمیم در حالت های عمل آمده و عمل نیامده و در شرایط بهره برداری و شرایط محیطی متفاوت داشت. یکی از بزرگترین چالش های عملکرد موفقیت آمیز مصالح ترمیم، رفتار آن ها نسبت به لایه زیرین یا همان بتن موجود است تغییرات نسبی ابعاد باعث ایجاد تنش های داخلی در مصالح ترمیم و لایه زیرین می شود. تنش های داخلی بالا امکان دارد سبب ایجاد ترک های کششی یا خرابی شود. برای به حداقل رساندن این تنش ها باید مصالحی جهت ترمیم انتخاب کرد که تغییرات نسبی ابعاد در آنها با سازه موجود سازگار باشد. مشکل دیگر برای انتخاب مصالح ترمیم، استفاده از ان ها برای کاربردهای سازه ای می باشد. هدف نهایی انتخاب مصالحی برای ترمیم است که با به کارگیری آنها بتوان سطح تحمل تنش را در قسمت ترمیم شده به حالت قبل از تخریب برگرداند. برای دستیابی کامل به این هدف باید موارد زیر مد نظر قرار بگیرد : یکی اینکه در حین ترمیم، بارگذاری از روی قسمت مورد نظر برداشته شود و دیگری رفتار متقابل قسمت ترمیم شده با قسمت زیرین یا مجاور و معمولا بسیار مشکل است که بتوان مصالحی پیدا کرد که بتواند بطور کامل ترک یا حفره را پرکند ، درحین عمل ترمیم منقبض نشود و دربرابر تغییرات درجه حرارت و رطوبت رفتاری مانند مصالح اولیه را داشته باشد و در نهایت به طور کامل بتواند مانند بتن قبل از تخریب عمل کند. در بیشتر مصالح به کاررفته برا ی ترمیم های عمیق از ملات ماسه سیمان و مصالح سنگی خوب دانه بندی شده استفاده می شود. با افزودن پوزولان های خاص مثل میکروسیلیس، پلیمرها مثل لاتکس و یا افزودنی های کاهش دهنده نفوذپذیری ، دوام این مصالح ترمیم افزایش پیدا می کند. برای استفاده از مصالح ترمیم حاوی سیمان های پرتلند باید پدیده انقباض و عمل آوری بتن مورد توجه خاص قراربگیرد. بایستی دقت شود تا حتی المقدور از مصالح باانقباض کم استفاده شود[۳, ۴]. پوزولان از اسم دهکده pouzzuoli در نزدیکی آتش فشان وزو قرار دارد و برای اولین بار خاکستر آتش فشانی را در این محل پیدا نموده اند، گرفته شده است. این سیمان ها از آسیاب کردن و مخلوط کردن پوزولان ها (خاک های طبیعی و مصنوعی جایگزین سیمان) با سیمان پرتلند ساخته می شود.

بر طبق آیین ناهای ASTM C ۶۱۸-a۹۴ پوزولان را چنین تعریف کرده اند: پوزولان سیلیسی یا سیلیس آلومینیومی است که به تنهایی خاصیت چسبندگی ندارد و یا چسبندگی کمی دارد. این مصالح در حالت گرد شدن (ذرات ریز) و در مجاورت رطوبت و حرارت معمولی طی واکنش های شیمیایی با هیدروکسید کلیسیم ترکیب هایی با خاصیت سیمانی به وجود می آورد.

در استاندارد ملی ایران پوزولان ها را چنین معرفی نموده "مواد سیلیسی یا آلومینو سیلیسی که خود دارای قابلیت سیمانی شدن کم یا هیچ باشند اما به صورت پودر شده بسیار نرم در حضور رطوبت با هیدرواکسیدهای قلیایی و قلیایی خاکی در دمای معمولی واکنش های شیمیایی می دهند تا ترکیباتی را که خواص سیمانی شدن را دارند تشکیل دهند یا به تشکیل آن ها کمک کنند."

مقررات ملی ساختمان پوزولان را چنین مشخص می کند "پوزولان ها عبارتند از مواد سیلیسی یا سیلیسی آلومینی که خود بتن هایی فاقد ارزش چسباننده‌گی هستند یا ارزش چسباننده‌کی آن ها کم است ، اما به صورت ذرات بسیار ریز ، در دمای

متعارف در مجاورت رطوبت با هیدرواکسید کلسیم واکنش می دهد و ترکیباتی را تولید می کنند که ساختار آن ها تا حدودی شبیه ترکیباتی است که بر اثر آبگیری سیمان پرتلند تولید می شود. پوزولان ها بر دو نوع هستند.

پوزولان های طبیعی و پوزولان های مصنوعی یا صنعتی

پوزولان های طبیعی در انواع خام و یا تکلیس شده وجود دارند و به طور عمده شامل خاکستر های آتش فشانی غیر بلورین باشند.

پوزولان های مصنوعی یا صنعتی به طور عمده شامل دوده سیلیسی، خاکستر بادی و خاکستر پوسته برنج می باشند.

دوده سیلیسی یا میکروسیلیس محصول فرعی کوره های قوس الکتریکی صنایع فروآلیاژ و فروسیلیس بوده و ماده ای است با فعالیت پوزولانی بسیار شدید که بیش از ۸۵ درصد سیلیس بلوری نشده دارد.

خاکستر بادی محصول فرعی زغال سنگ است که شامل سیلیس، آلومین و اکسید آهن و کلسیم است.

خاکستر بادی در انواع F و C وجود دارد. نوع C خاکستر بادی به دلیل دارا بودن بیش ار ده درصد اکسید کلسیم خاصیت سیمانی شدن دارد.

خاکستر پوسته برنج از سوختن پوسته برنج به دست می آید و دارای میزان زیادی سیلیس غیر کریستالی است. بنابراین ضروری است که باید ماده پوزولانی به شکل پودر نرم باشد زیرا فقط در این صورت پوزولان ها می تواند در مجاورت آب با هیدروکسید کلسیم تشکیل سیلیکات های کلسیم پایدار که دارای خواص چسبندگی است بدهد.

مصرف مواد پوزولانی در بتن می تواند برای تامین یک یا چند خاصیت مشروح زیر باشد.

۱. کاهش میزان سیمان به کار رفته در بتن
۲. کاهش سرعت و میزان حرارت حاصل از فرآیند آبگیری سیمان
۳. بهبود کارایی بتن
۴. افزایش مقاومت دراز مدت بتن
۵. افزایش پایایی بتن از طریق کاهش نفوذپذیری و عملکرد مناسب در برابر تهاجم یون کلرید و سولفات

۱-۴- روش ها و نکات اجرایی ترمیم بتن

در هریک از روش های اجرای مصالح ترمیم باید بتوان مصالح ترمیم انتخاب شده را طبق مشخصات فنی بر روی لایه آماده شده زیرین اجرا کرد. مصالح ترمیم باید چسبندگی و پیوند مناسب و کافی با لایه موجود داشته ، منافذ را پر کرده و میلگرد را کاملا بپوشاند. چسبندگی مصالح ترمیم به لایه زیرین تا حد زیادی بستگی به قفل و بست مکانیکی با سطح بتن آماده شده دارد. برای آنکه چنین اتفاقی بیفتد باید نیروی کافی به مصالح ترمیم وارد شود تا تماس کاملی با سطح آماده شده برقرار کند. همچنین مصالح ترمیم باید دارای ملات کافی بوده تا به درون منافذ لایه زیرین نفوذ کرده و با سطح آماده شده، اندرکنش داشته باشند. نحوه اعمال بار به مصالح ترمیم برای دستیابی به چسبندگی لازم به روش اجرا بستگی دارد. در روش هایی که از ماله کشی استفاده می شود در اثر فشار وارده به ماله، مصالح ترمیم داخل منافذ و خلل و فرج سطح آماده شده می شوند[۵].

۱-۵- محافظت از بتن ترمیم شده

سازه های بتنی در معرض شرایط مختلفی که ممکن است تاثیر نامطلوب برعملکرد آنان داشته باشد قرار دارند. این شرایط نامطلوب گاهی پس از ترمیم نیز به وجود می آیند که در نتیجه باعث شکست عملیات ترمیم و خرابی سازه ترمیم شده، می شود . محافظت روشی برای کنترل و جلوگیری از علت های خرابی و بهره دهی نامناسب سازه است که از طرق زیر اعمال می شود:

۱. اصلاح شرایط بهره برداری و محیطی
۲. بهبود خاصیت فیزیکی بتن
۳. نصب یک مانع بین شرایط محیطی و بتن
۴. اصلاح رفتار الکتروشیمیایی وقتی موضوع خوردگی فولاد داخل بتن مسلح باشد.

روش های محافظت از بتن معمولا به نحوی انتخاب می شوند که فواصل زمانی بین دوره های ترمیم و نگهداری طولانی باشد. محافظت بتن در برابر شرایط بهره برداری و محیطی مهاجم و آسیب رسان با استفاده از اندودها ، غشاها، پوشش و روکشها انجام می شود. اما محافظت بتن در رابطه با بهره دهی نامناسب سازه از طریق اصلاح و تغییر شرایطی است که بهره برداری از سازه را مختل می کنند.

تکنیک ها وروش های متعددی برای محافظت بتن وجود دارد. سیستم های محافظت می تواند در زمان ساخت و یا هر زمان در طول عمر سازه نصب گردد طراحی خوب برای ساختمان جدید نیازهای حفاظتی مورد انتظار را تامین می کند. محافظت سازه های موجود معمولا بسیار مشکل است و حق انتخاب کمتری را نسبت به ساختمان های جدید در اختیار ما می گذارد. هدف راهبردهای محافظت ، جلوگیری از خوردگی فولاد مسلح کننده بتن و در نتیجه ایجاد ترک ها، تخریب لایه ای و کنده شدگی لایه بتنی روی آن است. یکی از موارد مهم خوردگی میلگرد در اثر ورود یون کلرید است. حفاظت از فولاد در برابر خوردگی یک روش مستقیم مقابله با تاثیرات خورندگی کلریدهاست. ترکیب پوشش اپوکسی که به روش همجوشی روی میلگرد چسبانده می شود متداول ترین روش پوشش میلگردها است.همچنین مواد افزودنی به مخلوط بتن می توانند مثل نیتریت کلسیم از خرابی های کلریدها جلوگیری کنند . روش دیگر برای محافظت در برابر کلریدها بتن با نفوذپذیری کم است. یکی از روش های مؤثر برای کاستن مقدار نفوذ یون های کلرید دربتن غشاهای پوششی و اندودهای نفوذی روی سطوح هستند.اندودهای نفوذی عبارت است از : سیلان و سیلوکسان ، و غشاهای پوششی عبارت از : اپوکسی ها ، یورتا نها ، لاستیک های مصنوعی کلردار و متاکریات ها. کربناته شدن شرایط دیگری در بتن است که اجازه می دهد خوردگی فولاد مسلح کننده در بتن در مجاورت رطوبت و اکسیژن ، اتفاق بیفتد. واکنش کربناته شدن جسم بتن در اثر مجاورت آن با گازهای اسیدی رخ می دهد و بهترین روش مقابله با آن استفاده از بتن با نفوذپذیری کم است. تهاجم مواد شیمیایی مخرب به سطح بتن می تواند با افزودن مواد شیمیایی مقاوم در مخلوط بتن یا با استفاده از پوشش های مانع سطحی ، غشاها یا سایر سیستم ها ی سطحی کنترل شود[۵].

۱-۶- بتن خودترمیم شونده

یکی از بتن های هوشمند که در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته است ، بتن خودترمیم شونده می باشد. مصالح بتنی را تصور کنید که در هنگام ترک ، خود به خود و بدون دخالت انسان شروع به ترمیم و بازسازی تنها توسط آب و دی اکسید کربن می نماید. ایجاد میکروترک ها در بتن یک واقعیت انکارناپذیر است که در روش سنتی مقابله با آن از مواد ترمیم کننده بتن بخصوص انواع پلیمرها استفاده می شود که علاوه بر هزینه های بالای آن برای محیط زیست نیز مضر می باشند. روش جایگزینی که دانشمندان به آن دست پیدا کردند استفاده از باکتری ها در بتن و تولید بتن خودترمیم شونده می باشد که علاوه بر کاهش هزینه های تعمیر و نگهداری بتن برای محیط زیست نیز مضر نبوده و به دوام و عملکرد بتن کمک کرده و عمر مفید بتن را افزایش می دهد. در شرایط اعمال خمش، در بتن خود ترمیم شونده تنها ترک های ریز خمشی حاصل می گردد، در حالیکه با وارد آمدن همان میزان تغییر شکل خمشی به بتن های غیر مسلح سنتی (معمولی) شاهد شکست و فروپاشی عمده خواهیم بود. با مثالی ساده به شرح بتن خود ترمیم شونده می پردازیم. اگر دست انسان خراش کوچکی بردارد مادامی که ابعاد و عمق گسترش خراش کوچک باشد بدن می تواند به آسانی به ترمیم خود به خود آن بپردازد ولی اگر جراحت تا حد زیادی گسترده و عمیق باشد نیاز به اعمال عملیات جراحی خارجی مانند بخیه بوجود می آید. عملکرد بتن های خود ترمیم شونده نیز بر همین روال می باشد، بدین گونه که با ترمیم مداوم و نگهداری از ترک های ریز حاصله، به هیچ وجه اجازه گسترش ترک و ایجاد شکاف عمیق را نمی دهد. حتی اگر قطعه بتنی مذکور بارها تحت بارگذاری قرار گیرد.این مسئله برای اولین بار در آوریل سال ۲۰۰۹ توسط محققان دانشگاه میشیگان اعلام شد. پروفسور ویکتورلی از دانشگاه میشیگان در اصل مخترع آن بوده که در زیر به نتایج آزمایشات ایشان می پردازیم: اگر نیروی اصلی وارده تا میزان ۳٪ افزایش طول داشته باشد ، این نمونه ترک های حاصله را ترمیم نموده و یا به عبارت دیگر در برابر این میزان کرنش استقامت می کند. فولاد در این حالت به سختی تغییر شکل می دهد و بتن معمولی به طرز وحشتناکی از هم می پاشد.همچنین در اروپا در کشور هلند نیز عده ای از محققان به تحقیق در این مورد پرداختند. هانک جونکیر[3] از دانشگاه فن آوری دلف [4]هلند یک بتن زیستی ابداع کرد که با استفاده از باکتری خود را ترمیم می کند. این بتن همانند سایر بتن های عادی ترکیب می شود اما دارای یک ماده اولیه دیگری نیز هست ، همان ماده ای که باعث ترمیم آن می شود. این ماده در طول فرایند ترکیب دست نخورده باقی می ماند و تنها در صورت بروز ترک در بتن و نفوذ آب حل شده و فعال می شود. وی در سال ۲۰۰۶ کارروی این پروژه را آغاز کرد. در آن زمان یک متخصص بتن از او سوال کرد که آیا می توان از باکتری در بتن استفاده کرد تا بتنی که خود را ترمیم می کند ساخت یا خیر؟ چند سال طول کشید تا هانک جونکیر این مسئله را حل کند اما همچنان یک سری چالش وجود داشت که بایستی بر آنها غلبه می کرد. او به نوعی باکتری نیاز داشت که بتواند در محیط خشن بتن زنده بماند. چون بتن یک ماده سخت و بسیار خشک است. بتن به شدت قلیایی است و باکتری ترمیم کننده باید قبل از فعال شدن توسط آب سال ها در حالت غیرفعال منتظر بماند. وی از باکتری باسیل برای این کار استفاده کرد زیرا این باکتری ها در شرایط قلیایی زنده می مانند و هاگ هایی تولید می کنند که می توانند تا ده ها سال بدون غذا یا اکسیژن زنده بمانند.چالش بعدی فعال کردن باکتری در بتن بود، همچنین بایستی این باکتری ها مواد ترمیم کننده ای برای بتن می ساختند و این مواد همان سنگ آهک بود. برای تولید سنگ آهک باکتری باید تغذیه می شد. می توانستند از شکر استفاده کنند اما شکر باعث ضعیف شدن بتن می گردید.در نهایت از لاکتیک کلسیم استفاده کردند و این باکتری را با لاکتیک کلسیم درون کپسول هایی از جنس پلاستیک

[3] HankJonkers
[4] Delft

از بین رونده توسط باکتری قراردادند و این کپسول ها را به بتن مرطوب اضافه کردند. زمانی که بتن ترک بخورد آب به آن نفوذ کرده و باعث باز شدن کپسول می شود. سپس باکتری رشد می کند ، تکثیر می شود و از لاکتیک تغذیه می کند. در این روند کلسیم با یون های کربنات ترکیب می شوند تا کربنات کلسیم یا همان سنگ آهک را بسازند که ترک را می پوشاند[۶].

۱-۷- بررسی علمی استفاده از باکتری در بتن

تاکنون جهت رسیدن به بتن با کیفیت بالا از مواردی نظیر خاکستر ، سرباره کوره بلند ، دوده سیلیسی ، متاکائولن و مواد مشابه به عنوان افزودنی استفاده شده است. اخیرا فن آوری جدیدی با عنوان رسوب معدنی باکتریایی ابداع شده است که این رسوب از فعالیت های متابولیکی میکروارگانیسمهای خاص در بتن منشا شده و باعث بهبود، دوام و پایداری خواص بتن در طولانی مدت می شود. این فرایند می تواند در داخل یا خارج سلول میکروبی یا حتی با فاصله از آن در داخل زمینه بتنی اتفاق بیفتد. اغلب فعالیت این نوع از باکتری ها مبتنی بر تغییر در شیمی محلول موجود در محیط فعالیت باکتری جهت ایجاد فوق اشباع و رسوب مواد معدنی می باشد.استفاده از این فن آوری زیست معدنی در بتن منجر به ایجاد پتانسیل جدیدی برای انجام ابداعات در زمینه تولید نوع جدیدی از بتن به عنوان بتن باکتریایی شده است. بتن باکتریایی بر اساس قابلیت رسوب دهی کلسیت بوسیله باکتری ها طراحی و ساخته می شود. رسوبات کربنات MICP[۵] پدیده رسوب کلسیت تحریک شده با میکروب یا به اختصار کلسیم به عنوان یک درزگیر میکروبی توانمندی بالای خود را در پرکردن ترک ها و شکا ف های ریز در گرانیت ها و سنگ ها و ماسه ها اثبات کرده اند. فن آوری رسوب کلسیت با استفاده از میکروب یک فرایند جذاب و ارزشمند محسوب می شود. عمده این جذابیت ناشی از عدم ایجاد آلودگی زیست محیطی و طبیعی بودن این فناوری می باشد. این فناوری می تواند برای بهبود استحکام فشاری و سختی نمونه های بتنی ترک دار یا ساز ه های بتنی تحت تنش استفاده شود. میکروب ها می توانند به صورت مداوم یک لایه کلسیت فوق العاده غیر قابل نفوذ را روی سطح بتن ایجاد کند. رسوب ایجاد شده ساختار کریستالی درشتی دارد که به آسانی به شکل پوسته هایی به سطح بتن می چسبد.علاوه بر توانایی تولید و رشد مداوم، این لایه ها فوق العاده غیرقابل نفوذ در مقابل آب هستند.آنها در مقابل نفوذ عوامل مضر (کلریدها، سولفاتها، دی اکسید کربن) به داخل بتن مقاومت کرده و بنابراین مقدار تاثیر این عوامل زیان بار بر بتن کاهش می یابد. به دلیل توانایی ذاتی ایجاد رسوب مداوم کلسیت به وسیله میکروب ، این نوع بتن می تواند به عنوان یک زیست ماده هوشمند برا ی ترمیم بتن در نظر گرفته شود. اسیدیته یا pH عامل مهمی در فعالیت یا عدم فعالیت میکروب ها در محیط بتن می باشد. مکانیسم اساسی ترمیم ترک میکروجلبک ها بر این پایه است که میکروجلبک ها به عنوان یک کاتالیزورعمل می کنند. مواد اولیه آغازگر را به یک پرکننده مناسب تبدیل می کنند. مواد تولید شده جدید نظیر مواد معدنی بر پایه کربنات کلسیم که رسوب می کنند ، باید به عنوان یک نوع سیمان زیستی عمل کرده و به طور موثری ترک های ایجاد شده را ببندند. بنابراین برای یک قابلیت خودترمیم کننده مناسب هم میکروب ها و هم ماده آغازگر بایستی در زمینه بتن موجود باشند. وجود این مواد اضافه شده به بتن نباید خواص مورد نظر بتن را عوض کند. باکتری هایی که بتوانند شرایط محیط بتن را تحمل کنند در طبیعت موجود و مربوط به یک دسته ویژه از باکتری های تشکیل دهنده اسپور مقاوم به قلیا می باشند. مشخصه جالب این باکتری تولید سلول هایی با دیواره های ضخیم کروی مشابه بذر گیاهان است.این اسپورها به صورت سلول های نهفته در بتن قابلیت زیست داشته و می توانند تنش های محیط بتن را تحمل کنند. در محیط خشک این باکتری ها می توانند برای بیش از۵۰ سال زنده بمانند.

[5] Microbiologically induced calcite precipitation

متاسفانه زمانی که این باکتری ها مستقیم به بتن اضافه می شوند عمرشان محدود به یک یا دو ماه می باشد. کاهش عمر در اسپورهای باکتری ها از چند دهه در محیط خشک به چند ماه در بتن می تواند ناشی از هیدراتاسیون مداوم سیمان باشد. نکته مهم این است که افزودن مواد آغازگر زیستی، آلی و معدنی به بتن موجب کاهش خواص بتن نگردد. در مطالعات گذشته مشخص شده که این مواد نظیر عصاره مخمرها و استات کلسیم موجب کاهش شدید استحکام فشاری بتن می شوند تنها نکته استثنا مربوط به لاکتات کلسیم است که موجب افزایش استحکام نسبت به نمونه ی اولیه تا ۱۰ درصد می شود [۳, ۷].

۱-۸- عملکرد بتن خودترمیم شونده

به زبان ساده تر، بتن خود ترمیم شونده به گونه ا ی عمل می کند که به هنگام ایجاد ترک در آن ، مقداری از مواد سیمانی خشکی که در درز ترک ها موجود است در مجاورت دی اکسید کربن و آب واکنش داده و لایه ی بسیار نازک سفید رنگی از کربنات کلسیم عمل کرده و مانع از گسترش ترک می گردد و در واقع ترک ها را ترمیم می کند. کربنات کلسیم ترکیب بسیار مقاومی است که در طبیعت به وفور در استحکامات محکمی مانند لاک ، لاک پشت و حلزون یافت می شود. سیکل تر و خشک کردن بتن جهت ترمیم درزممکن است ۴ تا ۵ بار لازم گردد. این فرآیند بصورت خود بخود تکرار و انجام می گردد. امروز سازندگان ساختمان ها برای کوچک نگه داشتن هرچه بیشتر ترک ها در بتن ، آن را توسط میلگرد های فولادی مسلح می کنند ولی باز هم این ترک ها آنقدر کوچک نیستند که قابل ترمیم باشند به این سبب نمک هایی که به جهت یخ زدایی گاها از طریق ترک ها به بتن نفوذ می کنند در آرماتورها ایجاد خوردگی نموده و سبب کاهش مقاومت کلی بتن مسلح می گردند. بتن خود ترمیم از آن جایی که نیازی به آرماتوربندی و مسلح نمودن جهت کوچک نگه داشتن ترک ها ندارد از خطر خوردگی مصون می باشد با معکوس نمودن روند زوال بتن و کاهش چشمگیر هزینه ها و اثرات محیطی در ایجاد ساختمان های جدید با استفاده از این بتن خود ترمیم شونده می توان تا یک دوره طولانی تر ساختمان را مرمت نمود و از بتن خود ترمیم شونده استفاده بهینه کرد[۸].

۱-۹- بتن خودترمیم شونده و محیط زیست

بیش از هفت درصد انتشار CO_2 در جهان از سیمان بعنوان جزء اصلی سازنده بتن ناشی می شود [۹] و باید مواد جدیدی تولید شوند که روند انتشار گازهای گلخانه ای را کاهش دهند. بتن خودترمیم شونده عمر ساختمان را ٪ ۵۰ افزایش داده و نیاز به تعمیرهای سالانه را کاهش می دهد [۱۰]. همچنین می تواند از زنگ زدگی پایه های فولادی جلوگیری کند و بدین وسیله بتن خودترمیم شونده می تواند به عنوان عاملی برای حفظ محیط زیست به کار رود.

همان طور که ذکر شد در واقع عمل خود ترمیم شوندگی توسط سیمان زیستی صورت می گیرد که در ادامه به شرح این ماده می پردازیم

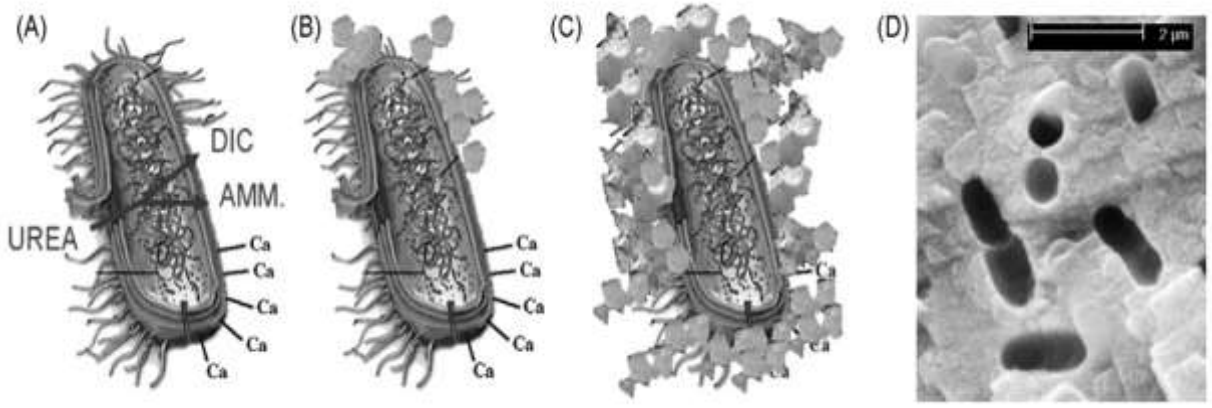
۱-۱۰- سیمان زیستی چیست؟

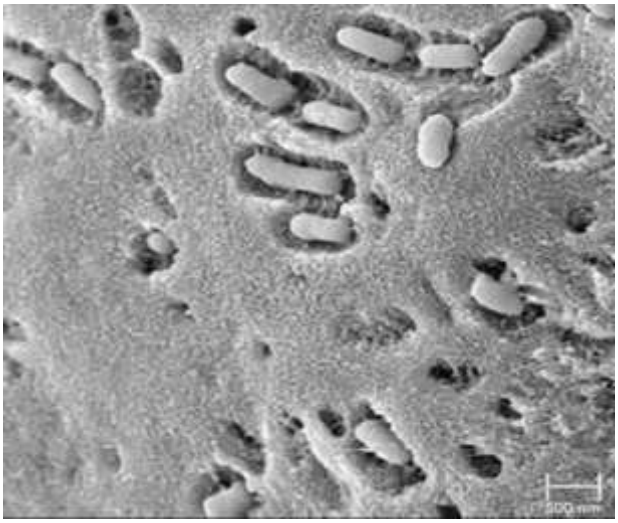
در سیمان زیستی، همان مصالح معمول ساختمانی با باکتری‌های دسته باسیل و کپسول‌های لاکتات کلسیم ترکیب می‌شود. باسیل‌ها می‌توانند شکل مقاومی به نام اسپور تولید کنند که سال‌ها بدون هوا و غذا، در شرایط نهفته زندگی کند. اما همین

که ساختمان ترک برمی‌دارد، آب به درون راه می‌یابد و باکتری فعال می‌شود و کلسیم را جذب می‌کند و از این طریق ترک را ترمیم می‌کند

بیوسیمنتاسیون فرآیندی است که میکروبها باعث رسوب کربنات کلسیم شده و از طریق تولید موادی باعث چسبیدن ذرات می شوند این فرایند در زمینه های مختلف؛ ساخت وساز، نفت، کنترل فرسایش، و محیط زیست کاربرد دارد. کاربرد در ساخت وساز: پوشش دیوار و ساختمان، استحکام و محکم کردن خاک در مناطق زلزله خیز است. سیمان بیولوژیک در مقایسه با سیمان معمولی در زمان کمتری ساخته می شود و امکان تولید در محل سیمان بیولوژیک وجود دارد نکته بسیار مهم این است که سیمان بیولوژیک در دمایی محیط تولید می شود ولی سیمان معمولی در دمایی ۱۵۰۰ درجه سانتی گراد تولید می گردد و در پروسه تولید سیمان بیولوژیک هیچ گونه گاز گلخانه ای تولید نمی شود. سیمان بیولوژیک دارای خصوصیات مکانیکی مشابه و قابل رقابت سیمان معمولی است و خصوصیات و مقاومت آن قابل کنترل و تغییر است حتی رنگ و شکل سیمان بیولوژیک قابل کنترل و تغییر بوده و قابلیت کاربرد در هر دو شکل اشباع و غیراشباع را دارد. سیمان بیولوژیک از همان مواد اولیه سیمان معمولی تولید می شود. در رابطه با هزینه تولید سیمان بیولوژیک در مقایسه با سیمان معمولی باید ذکر شود که ۲۰ تا ۴۰٪ قیمت نهایی سیمان مربوط به مصرف انرژی است به علت دمایی بالای ۹۵۰ درجه سانتی گراد در تولید سیمان معمولی و با توجه به تولید سیمان بیولوژیک در دمایی ۲۵ تا ۳۰ درجه هزینه تولید سیمان بیولوژیک ۲۰ تا ۳۰ ٪ کمتر از سیمان معمولی خواهد بود.

همان طور که در شکل ۱–۳ مشاهده می شود به صورت شماتیک فرآیند تولید سیمان بیولوژیک قابل مشاهده است. در این فرآیند ابتدا به علت بار منفی دیواره سلولی میکروبها کلسیم با بار مثبت جذب سلول می شود و در ادامه به علت فعالیت اوره آزی میکروب، اوره تجزیه شده (در واقع میکروب مربوطه دارای آنزیم اوره آز می باشد که در زمانی که در محیط پیرامون خود با اوره مواجه شود این آنزیم را ترشح کرده و باعث تجزیه اوره می گردد) و باعث افزایش pH محیط کشت می گردد که این pH قلیایی باعث رسوب کربنات شده و ترکیب کربنات کلسیم شکل می گیرد





شکل ۱-۳- فرایند تولید سیمان زیستی

در تصویر بالا سلولهای میکروبی در ساختار سیمان بیولوژیک قابل مشاهده است. قابل ذکر است که این پدیده شرح داده شده مربوط به استفاده از سلول های باکتریایی است ولی در کنار سلولهای باکتریایی امروزه از پتانسیل میکروجلبک ها برای تولید سیمان بیولوژیک استفاده می شود که در دانشگاه مالک اشتر نیز از همین سیستم نوین استفاده شده که در ادامه علل توجیح فنی و اقتصادی این پدیده شرح داده خواهد شد.

میکرو جلبک ها فتوسنتز کننده هستند و نیازی به مواد غذایی خاص و گران قیمت ندارند این موجودات از دی اکسید کربن هوا به عنوان منبع غذایی استفاده می کنند و ضمن تثبیت دی اکسید کربن انواع مواد ارزشمند زیستی تولید می کنند همچنین استفاده از دی اکسید کربن هوا در حذف گازهایی گلخانه ای موثر می باشد. همچنین میکروجلبکها در محیط فاضلاب به خوبی رشد می کنند و ضمن تصفیه فاضلاب قادر به حذف انواع آلاینده بوده و همچنین می توانند آب سخت را به آب سبک تبدیل کنند. پتانسیل رشد در آب سخت باعث می شود که امکان تولید اقتصادی سیمان بیولوژیک و حذف کربنات کلسیم فرآهم شود. میکروجلبک ها قادر به رسوب بالای کربنات کلسیم هستند و مواد پلیمری متنوعی تولید می کنند. همچنین این موجودات از نور خورشید به عنوان منبع انرژی استفاده می کنند که مجددا در کاهش هزینه کشت میکروارگانیسم و تولید سیمان بیولوژیک بسیار تاثیر گذار است.

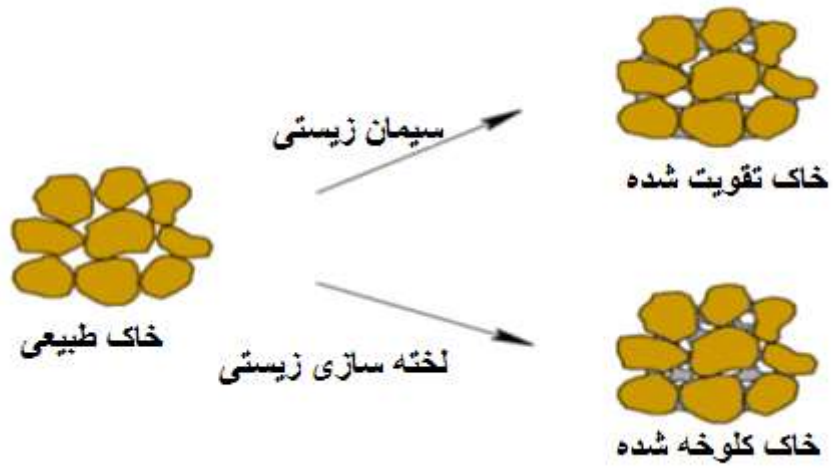
$$CO_2 + H_2O \rightarrow (CH_2O) + O_2 \quad (1)$$

$$2HCO_3^- \leftrightarrow CO_2 + CO_3^{2-} + H_2O \quad (2)$$

$$CO_3^{2-} + H_2O \leftrightarrow HCO_3^- + OH^- \quad (3)$$

$$Ca^{2+} + HCO_3^- + OH- \leftrightarrow CaCO_3 + 2H_2O \quad (۴)$$

با توجه به واکنش های شیمیایی بالا که مراحل تثبیت دی اکسید کربن توسط میکروجلبک و نهایتا ترسیب کربنات کلسیم و تشکیل سیمان بیولوژیک را نشان می دهد می توان مشاهده کرد که در فرایند تولید سیمان بیولوژیک توسط میکروجلبک نیازی به تجزیه اوره نبوده و طبق واکنش شماره ۳ و تولید هیدروکسیل pH محیط افزایش می یابد که منجر به رسوب کربنات کلسیم و تشکیل سیمان بیولوژیک می گردد. عدم نیاز به فعالیت اوره آزی و اضافه نمودن اوره به محیط کشت باعث کاهش هزینه تولید سیمان بیولوژیک توسط میکروجلبک در مقایسه با سیمان بیولوژیک باکتریایی می شود.



شکل ۱-۴- چگونگی عملکرد سیمان بیولوژیک در چسباندن ذرات خاک

تولید سیمان بیولوژیک توسط میکروجلبک دارای ۳ مرحله می باشد که شامل مرحله تغییر pH مرحله واکنشهای رسوبی و مرحله تعادل است که هر یک از این مراحل در میکروجلبک های مختلف زمان مخصوص به خود را داشته که در جدول زیر مثال های از این جمله آورده شده که همان طور که دیده می شود کمترین زمان مربوط به گونه کلرلا می باشد که در این طرح نیز از همین گونه استفاده شده است که در طی ۲۴ ساعت پروسه تولید سیمان را تکمیل می کند.

جدول۱-۱- مدت زمان لازم برای تولید سیمان بیولوژیک توسط میکروجلبک های مختلف

Experiment	Cell abundance [10^3cells.ml^{-1}]	Chlorophyll [µg.l^{-1}]	pH drift time [h]	pH at Start of prec.	Length of prec. [h]	% of Ca^{2+} precipitation
Mychonastes sp. (1)	13.2	142	45	9.05	50	41
Mychonastes sp. (2)	22.9	448	18	9.20	30	34
Chlorella sp. (1)	6.85	222	25	9.00	10	26
Chlorella sp. (2)	8.71	379	11	8.95	4	29
Synechococcus (1)	33.4	130	40	8.95	40	13
Synechococcus (2)	94.1	324	30	9.05	8	32

استفاده از سیمان بیولوژیک در دنیا به اهداف مختلف صورت پذیرفته که از آنجمله می توان به ساخت نخستین ساختمان خودترمیم دنیا در هلند، استفاده در جاده سازی و بیابان زدایی در آمریکا اشاره کرد. در همین زمینه تصویر زیر منطقه بیابانی در آمریکا را نشان می دهد که از این پروسه در رابطه با بیابان زدایی استفاده نموده اند. تصویر میکروسکپی چگونگی اتصال ذرات به یکدیگر را نشان می دهد



شکل ۱-۵- منطقه بیابانی در آمریکا که توسط سیمان بیولوژیک مالچ پاشی شده است

همان طور که ذکر شد بیوسیمنتاسیون فرآیندی است که میکروجلبک باعث رسوب کربنات کلسیم شده و از طریق تولید موادی باعث چسبیدن ذرات می شوند. سیمان بیولوژیک در مقایسه با سیمان معمولی در زمان کمتری ساخته می شود و امکان تولید در محل سیمان بیولوژیک وجود دارد نکته بسیار مهم این است که سیمان بیولوژیک در دمای محیط تولید می

شود ولی سیمان معمولی در دمای ۱۵۰۰ درجه سانتی گراد تولید می گردد و در پروسه تولید سیمان بیولوژیک هیچ گونه گاز گلخانه ای تولید نمی شود. سیمان بیولوژیک دارای خصوصیات مکانیکی مشابه و قابل رقابت سیمان معمولی است و خصوصیات و مقاومت آن قابل کنترل و تغییر است حتی رنگ و شکل سیمان بیولوژیک قابل کنترل و تغییر بوده قابلیت کاربرد در هر دو شکل اشباع و غیراشباع را دارد و سیمان بیولوژیک از همان مواد اولیه سیمان معمولی تولید می شود. در رابطه با هزینه تولید سیمان بیولوژیک در مقایسه با سیمان معمولی باید ذکر شود که ۲۰ تا ۴۰٪ قیمت نهایی سیمان مربوط به مصرف انرژی است به علت دمایی بالایی ۹۵۰ درجه سانتی گراد در تولید سیمان معمولی و با توجه به تولید سیمان بیولوژیک در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه هزینه تولید سیمان بیولوژیک ۲۰ تا ۳۰ ٪ سیمان معمولی خواهد بود

جدول ۱-۲ میزان تولید این محصول را با استفاده از ۶۰ متر مکعب پساب صنعتی بر روز نشان می دهد که بر این اساس میزان تولید ماهانه این محصول در این حجم ۶۸۰ کیلوگرم می باشد. با افزایش حجم پساب مورد استفاده جهت رشد ریز جلبک میزان تولید نیز به همین نسبت افزایش خواهد یافت.

جدول ۱-۲- محاسبات میزان تولید سیمان زیستی

واحد	مقدار	توضیحات	اطلاعات فرایند
m^3	۶۰		حجم پساب
g/L	۳	برحسب وزن خشک	دانسیته سلولی
%	۳۰	بر حسب درصد وزن خشک ریزجلبک	میزان رسوب کربنات کلسیم
kg	۱۸۰		وزن کل ریزجلبک تولیدی در روز
kg	۵۴		وزن کربنات کلسیم کل تولیدی در روز
	۳۲,۴	بر حسب درصد وزن خشک	محتوای بیوسیمان کل تولیدی در روز
%	۷۰	فرض مینمم مقدار تبدیل	میزان درصد تبدیل در راکتور
kg	۲۲,۶۸		تولید روزانه بیوسیمان
kg	۶۸۰		تولید ماهیانه بیوسیمان

سه سال پیش بود که یک تیم هلندی ادعا کرد که سیمان زیستی‌ای ساخته است که می‌تواند ترک‌هایش را التیام دهد. اما تا زمان به‌کارگیری عملی این سیمان در یک ساختمان و تکمیل شدن طرح، زمانی لازم بود. و حالا با همکاری دو دانشمند هلندی، اریک شلانگن و هنک یونکرز، برای اولین بار از این سیمان در ساختن یک بنا استفاده شده است.



شکل ۱–۵– نخستین ساختمان خودترمیم دنیا، یک ایستگاه حیات وحش است

در رابطه با مطالعات انجام شده بر روی سیمان بیولوژیک می توان به پتنت ارائه شده توسط کوچارسکی[۶] و همکاران در سال ۲۰۰۸ اشاره کرد همچنین تحقیقات انجام شده [۱۱]. در کشورهای دیگر مثل اندونزی توسط آریانتی[۷] و همکاران در سال ۲۰۱۲ که امکان سنجی استفاده از میکروجلبک در تولید سیمان زیستی را مورد مطالعه قرار دادند [۱۲] . استفاده از باکتری پروتئوس توسط وارالاکشمی[۸] و همکاران در سال ۲۰۱۴ در هند مورد بررسی قرار گرفته [۱۳]. همچنین موینک[۹] و همکاران در سال ۲۰۱۱ این پدیده را در قابل مقاله مروری با تاکید بر جایگزینی در مواد ساخت و ساز مورد بررسی قرار دادند [۱۴]. همچنین ویکتوریا[۱۰] در سال ۲۰۰۴ این پدیده را در قالب یک تز دکترا در دانشگاه موردوک مورد بررسی قرار داد [۱۵]. در ایران نیز بررسی خواص اوره آزی، باکتری پروتئوس ولگاریس[۱۱] جهت تولید سیمان بیولوژیک توسط خنافاری[۱۲] و همکاران در سال ۲۰۱۱ صورت گرفته ولی تست های کاربردی از آن انجام نشده و رفع سختی آب هدف مطالعه کنندگان طرح بوده است.

[6] Kucharski
[7] Ariyanti
[8] Varalakshmi
[9] Muynck
[10] Victoria
[11] Proteus vulgaris
[12] Khannafari

۱-۱۱- نتیجه گیری

با به کارگیری بتن خود ترمیم شونده به جای روش های سنتی ترمیم بتن از هزینه های گزاف تعمیر و نگهداری سازه های بتنی کاسته می شود. همچنین با مصرف کمتر سیمان و عدم استفاده از مواد پلیمری به کار رفته در مصالح ترمیم، به حفظ محیط زیست کمک شایانی خواهد شد. در مورد بتن خودترمیم شونده بلافاصله پس از بروز ترک، خودترمیمی شروع می شود و مواد مضر به داخل بتن نفوذ پیدا نکرده و بتن آسیب نمی بیند ولی در مورد بتن معمولی ابتدا بتن ترک می خورد و مواد مضر وارد بتن می شود و به بتن آسیب می رساند و بایستی با صرف وقت و هزینه به جستجوی ترک و آسیب دیدگی پرداخته ، مصالح مناسب ترمیم پیدا کرد و پس از عملیات ترمیم نیز باز به نگهداری از قسمت ترمیم شده پرداخته شود.

از آنجایکه در این طرح از میکروجلبک ها جهت تولید بتن خود ترمیم استفاده می شود در فصول بعدی بررسی خواص این میکروب ها و شرایط رشد و کشت آنها می پردازیم

مراجع:

1. Ventolà L, Vendrell M, Giraldez P, Merino L. Traditional organic additives improve lime mortars: New old materials for restoration and building natural stone fabrics. Construction and Building Materials. 2011;25(8):3313-8.
2. Arıoglu N, Acun S. A research about a method for restoration of traditional lime mortars and plasters: A staging system approach. Building and Environment. 2006;41(9):1223-30.
3. Van Tittelboom K, De Belie N, De Muynck W, Verstraete W. Use of bacteria to repair cracks in concrete. Cement and Concrete Research. 2010;40(1):157-66.
4. Fowler DW. Polymers in concrete: a vision for the 21st century. Cement and concrete composites. 1999;21(5-6):449-52.
5. Choi S-G, Wang K, Wen Z, Chu J. Mortar crack repair using microbial induced calcite precipitation method. Cement and Concrete Composites. 2017;83:209-21.
6. Jonkers H, Lankhorst MM, ter Doest HW, Arbab F, Bosma H, Wieringa RJ. Enterprise architecture: Management tool and blueprint for the organisation. Information systems frontiers. 2006;8(2):63-6.
7. Ivanov V, Chu J. Applications of microorganisms to geotechnical engineering for bioclogging and biocementation of soil in situ. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. 2008;7(2):139-53.
8. Yoo D-Y, Min K-H, Lee J-H, Yoon Y-S. Shrinkage and cracking of restrained ultra-high-performance fiber-reinforced concrete slabs at early age. Construction and Building Materials. 2014;73:357-65.
9. Andrew R. B. (2018), Global CO2 emissions from cement production. Earth System Science Data.10, 195-217
10. Amiri M., Sardroud J., Pahlaviani A., (2018), Self-healing concerte and environmental health. International Journal of Epidemiologic Research. 5(3). 107-112
11. Kucharski ES, Ruwisch RC, Whiffin V, Al-thawadi SM (2008) Microbial Biocementation. US Patent.
12. Ariyanti Dessy, Noer Abyor Handayani and Hadiyanto, (2012) Feasibility of Using Microalgae for Biocement Production through Biocementation J Bioproces Biotechniq, 2:11, 1-4

13. Varalakshmi, Anchana devi, (2014) Isolation and Characterization of Urease Utilizing Bacteria to Produce Biocement Journal of Environmental Science, *Toxicology and Food Technology*, 8, 52-57
14. Muynck WD, Belie ND, Verstraete W (2010) Microbial Carbonate Precipitation in Construction Materials: A Review. Ecolo Eng 36: 118-136.
15. Victoria Whiffin S (2004) Microbial CaCO3 Precipitation for The Production of Biocement, PhD Thesis, School of Biological Science & Biotechnology, Murdoch University.

فصل دوم:

میکروجلبک ها

۲-۱- جلبک‌ها و ساختار سلولی آن‌ها

جلبک‌ها ارگانیسم‌هایی شبیه گیاهان بوده و توانایی سنتز نوری کردن دارند. براساس فرضیه‌ای، میلیاردها سال پیش جو زمین پر از گاز CO_2 بود، بنابراین هیچ حیاتی روی زمین وجود نداشت، اما زندگی با سیانوباکتری‌ها و جلبک‌ها آغاز شد. این سازواره‌های سنتز نوری‌کننده CO_2 اتمسفر را در خود جذب کرده و شروع به تولید اکسیژن نموده‌اند. درنتیجه میزان CO_2 تا زمانی که حیات روی زمین آغاز شد، کاهش یافت[۱].

جلبک‌ها در اصطلاح علمی، آلگی[۱۳] و علم جلبک‌شناسی فایکولوژی[۱۴] نامیده می شود. این میکرواگانیسم‌ها ساده‌ترین موجودات سنتز نوری‌کننده هستند که همگی دارای کلروفیل و فاقد آوند هستند. براساس مورفولوژی و اندازه، جلبک‌ها به‌طورمعمول به دو دسته عمده درشت جلبک‌ها (ماکروآلگا[۱۵]) و ریزجلبک‌ها (میکروآلگا[۱۶]) تقسیم‌بندی می‌شوند. برای مثال خزه‌های دریایی که از سلول‌های چندتایی تشکیل‌شده‌اند و اکثراً شبیه ریشه‌ها، شاخک‌ها و برگ‌های درختان هستند به‌عنوان ماکروجلبک شناخته می شود؛ اما ریزجلبک‌ها، سازواره‌های میکروسکوپی هستند که در آب‌های شیرین و محیط‌های دریایی یافت می‌شوند. این سازواره‌های سنتز نوری‌کننده تک‌سلولی یا کلونی‌مانند بوده که توجه عده زیادی را برای صنعتی‌سازی آن با اهداف تولید مواد شیمیایی خاص و تأمین مواد غذایی به خود جلب نموده است[۲]. در دهه ۴۰ میلادی مشخص شد که بسیاری از گونه‌های ریزجلبک، مقدار زیادی روغن (با شرایط کشت خاص) تولید می‌کنند. اما پیشنهاد استفاده از جلبک‌ها به‌عنوان منبعی برای تولید انرژی در دهه ۵۰ میلادی توسط *مایر*[۱۷]، *اسوالد*[۱۸] و *گولک*[۱۹] ارائه شد، آن‌ها پیشنهاد استفاده از اجزای کربوهیدرات سلول‌های جلبک برای تولید گاز متان را ارائه دادند[۳]

۲-۲- زیست‌فنّاوری ریزجلبک‌ها

در حال حاضر فقط تعداد محدودی از ریزجلبک‌ها برای استفاده در مقیاس تجاری و صنعتی مطلوب شناخته‌شده‌اند که شامل جنس‌های *اسپیرولینا*[۲۰]، *کلرلا*، *دونالیلا*[۲۱]، *سندسموس*[۲۲] و *هائماتوکوکوس*[۲۳] است [۴]. ازجمله ویژگی‌هایی که ریزجلبک‌ها را کاندیدای مناسبی برای تولید انبوه ساخته است، می‌توان به موارد زیر اشاره نمود:

۱. بسیاری از ریزجلبک‌ها توان تولید زیست‌توده بالایی دارند؛

۲. در حضور CO_2 توانایی سنتز نوری بیشتری دارند؛

---

[13] Algae
[14] Phycology
[15] Macroalgae
[16] Microalgae
[1] Meier
[18] Oswald
[19] Golueke
[20] *Spirulina*
[21] Chlorella dunaliella
[22] *Scenedesmus*
[23] *Haematococcus*

۳. قابلیت برداشت[۲۴] و بازیافت زیست‌توده تولیدشده به‌سادگی امکان‌پذیر است؛

۴. مقاومت بالا به انواع آلودگی‌ها دارند؛

۵. تحمل سطوح بالای اکسیژن را نیز دارند؛

۶. دماهای خیلی بالا یا پایین را تحمل می‌کنند؛

۷. بسیاری از آن‌ها محتوای چربی (مناسب برای تولید زیست‌دیزل)، نشاسته (برای تولید بیواتانول) و پروتئین (مناسب برای تولید پروتئین تک‌یاخته) بالایی دارند.

لازم به یادآوری است مقادیر ارائه شده در جدول‌ها برای بیان و محتوای چربی، میزان تولید چربی و تولید زیست‌توده مطلق نبوده و در منابع مختلف بسته به شرایط، مقادیر متفاوتی گزارش شده است. برای نمونه *لیو*[۲۵] و همکارانش گونه‌ای از *کلرلا ولگاریس* را گزارش کردند که محتوای چربی آن حدود ٪۵۶ وزن خشک است[۵]. یا در مطالعه دیگری میزان تولید روزانه چربی در *کلرلا ولگاریس* حدود ۴۰ mg/L day گزارش شده است[۶]. ویژگی مشترک بیشتر جلبک‌هایی که برای مصارف تجاری استفاده می‌شوند این است که در محیط‌های خیلی انتخابی رشد می‌کنند که این ویژگی باعث می‌شود بدون آلوده شدن به دیگر جلبک‌ها یا انگل‌ها در محیط‌های کشت باز به‌خوبی رشد کنند. مثل *اسپیرولینا* که در محیط‌های قلیایی، *دونالیلا*[۲۶] که در شوری بالا یا کلرلا که در محیط‌های غنی از ریزمغذی‌ها به‌خوبی رشد می‌کنند [۶]. از معایب اصلی کشت ریزجلبک‌ها در مقیاس وسیع، ناتوانی آن‌ها در رشد در حجم‌های خیلی بالا در حد صدها مترمکعب است. استثناهایی مانند کلرلا و سند سموس وجود دارند که در مقیاس‌های خیلی زیاد در کشت‌های آبی[۲۷] رشد می‌کنند[۷]. شرایط فیزیکی نیز از عوامل پراهمیت و تأثیرگذار بر رشد جلبک‌ها هستند. بنابراین عوامل موردنیاز برای رشد جلبک‌ها به دودسته شیمیایی و فیزیکی تقسیم می‌شوند. باید در نظر داشت که حتی با فراهم بودن شرایط مناسب برای کشت، پس از مدت‌زمان مشخصی (بسته به نوع گونه) به‌واسطه تولید متابولیت‌های سمی یا سایر ترکیبات، رشد ریزجلبک‌ها در محیط با محدودیت‌هایی مواجه خواهد شد. بنابراین هر چند وقت یک‌بار باید محیط کشت تازه‌ای برای آن فراهم نمود. به این عمل، به‌اصطلاح واکشت[۲۸] اطلاق می‌شود. برای انجام واکشت مقدار کمی از توده سلولی اولیه[۲۹] به محیط کشت تازه اضافه می‌شود تا سلول رشد و زندگی مجدد خود را از سر گیرد.

۲-۳- ریزجلبک‌های مورداستفاده برای کاربردهای صنعتی

در بین هزاران گونه موجود ریزجلبک‌ها، برخی گونه‌ها با توجه به ویژگی‌های منحصربه‌فرد (دوره رشد، دیواره سلولی) برای کاربردهای صنعتی مناسب هستند که به معرفی برخی از آن‌ها می‌پردازیم.

[24] Harvestability
[25] Liu
[26] *Dunaliella*
[27] Aquaculture
[28] Subculturing process
[29] Inoculum

۲-۳-۱- ریزجلبک *دونالیلا*

اف.دونال (۱۸۳۸) روی تولید نمک از آب دریا، در جنوب فرانسه کار می‌کرد، وی برای اولین‌بار جلبک‌های قرمزرنگ شناور روی آب دریا را مشاهده نمود. تئودورانس[۳۰] (۱۹۰۵م.) این‌گونه را برر سی نمود و به‌افتخار دونال آن را به نام *دونالیلا سالینا* نام‌گذاری کرد. لرچه[۳۱] در سال ۱۹۳۷م. مشاهده نمود، با مورد تنش قراردادن این ریزجلبک، همانند محرومیت مواد مغذی یا شدت نوربالا، باعث القا رنگ قرمز در *دونالیلا سالینا* می‌شود[۸].

ریزجلبک *دونالیلا* جلبکی تک‌سلولی[۸]، با دو تاژک و بدون دیواره سلولی بوده [۹] و در گروه جلبک‌های سبز در شاخه کلروفیتا[۳۲] و رده کلروفایسه[۳۳] دسته‌بندی می‌شوند.

جلبک *دونالیلا* تنها سازواره سنتز نوری‌کننده یوکاریوتی[۳۴] است که قادر به رشد در دامنه وسیعی از غلظت شوری است. همان‌طور که در بالا اشاره شد *دونالیلا* فاقد دیواره سلولی سخت است، در عوض به‌وسیله غشا پلاسمای انعطاف‌پذیر احاطه‌شده است.

بااینکه این ریزجلبک‌ها منبع منحصربه‌فردی برای تولید مواد باارزش هستند، اما استفاده ازاین‌گونه به‌عنوان محصولی اقتصادی کاربرد گسترده‌ای پیدا نکرده است. مهم‌ترین گلوگاه برای استفاده بیشتر ریزجلبک‌ها بازدهی فرایند تا زمان حاضر است. یکی از دلایل اصلی و پایه برای آن، سرعت رشد پایین به‌طور عمده به دلیل استفاده نامناسب از نور (به‌طور عمده از نور خورشید) است. ازاین‌رو زمان زیادی برای تولید زیست‌توده لازم خواهد بود[۸].

۲-۳-۲- *کلرلا ولگاریس*

ترکیبات شیمیایی *کلرلا ولگاریس* توسط مارویاما[۳۵] و همکارانش در سال ۱۹۹۷م. شناسایی شد و شامل ۵۵٪ پروتئین، ۱۰٪ چربی، ۲۳٪ کربوهیدرات و ۱٪ الیاف بود. البته این مقادیر از یک منبع علمی به منبع دیگر تغییر می‌کند [۱۰]. ماده ذخیره‌ای سلول نشاسته است که تجمع آن در کلروپلاست صورت می‌گیرد. علاوه بر آن دانه‌های روغنی نیز به‌صورت ماده ذخیره‌ای در سیتوپلاسم حضور دارند.

کلرلا هم در آب‌های شیرین و هم در آب‌های شور یافت می شود. همچنین در سطح خاک نمناک و دیگر زیستگاه‌ها نیز وجود داشته و دارای پراکندگی جهانی است. طیف گسترده‌ای از نیازمندی‌های غذایی گونه‌های مختلف این جنس مشخص شده‌اند [۱۱]. یکی از ویژگی‌های جالب *کلرلا ولگاریس* توانایی تولید زیاد زیست‌توده است. زمان دو برابر شدن آن کمتر از ۲۰ ساعت گزارش شده است[۶]. بیشتر گونه‌های *کلرلا* فقط در دمایی تا ۳۲ درجه سانتی‌گراد رشد می‌کنند، ولی تعداد کمی از آن‌ها گرمادوست‌اند. یک گونه از *کلرلا* قادراست در pH، ۲ رشد کند درحالی‌که بیشتر آن‌ها در pH بالاتر از ۶ توانایی رشد دارند. برخی گونه‌ها غلظت‌های ۴-۵ درصد نمک را تحمل می‌کنند و برخی حتی غلظت ۱٪ NaCl را

[30] Teodoresco
[31] Lerche
[32] Chlorophyta
[33] Chlorophyceae
[34] Eukaryotic
[35] Maruyama

تحمل نمی‌کنند. محتوای GC گونه‌های *کلرلا* بسیار متغیرند [۶]. دانشمندان روش‌های مختلفی برای کشت انبوه *کلرلا* استفاده کردند [۱۲]. علاقه اولیه به کشت ریزجلبک‌ها بیشتر به مصرف آن‌ها به‌عنوان یک منبع پروتئینی در سفرهای فضایی معطوف بود [۱۳] بهره‌برداری تجاری از *کلرلا* اولین‌بار در سال ۱۹۶۱م. از سوی شرکت نیهون کلرلا[۳۶] و با استفاده از تأ سی سات مؤ س سه تحقیقاتی ریزجلبک‌ها در ژاپن صورت گرفت. این مؤ س سه ابتدا منطقه‌ای با م ساحت ۴۰۰۰ مترمربع متشکل از ۳ استخر که از سوی گروه پروفسور تامیا[۳۷] طراحی شده بود، را زیر کشت جلبک برد و آن را به ۶ استخر دایره‌ای مستقل از هم بسط داد. مؤسسه مقادیر فراوانی از توده خشک‌شده *کلرلا* را برای تحقیقات غذایی و دارویی از سوی بسیاری از آزمای شگاه‌های دان شگاهی و بیمار ستانی تهیه کرد. ایجاد فناوری ک شت انبوه و تولید زی ست‌توده خ شک باقدرت ه ضم مطلوب و تهیه آن به‌صورت قرص‌هایی که به‌راحتی قابل‌استفاده بودند، صنعت *کلرلا* را به یک غذای سالم جدید تبدیل نمود. طی ۳۵ سال اخیر تولید تجاری *کلرلا*، ابتدا به‌عنوان یک غذای سالم و بعدها به‌عنوان منبع تغذیه موجودات آبزی افزایش یافته است [۱۲، ۱۳]. در حال حاضر ازنظر اقتصادی و تجاری کشت گسترده *کلرلا* فقط زمانی مقرون‌به‌صرفه خواهد بود که محصولات در سطح بالایی در بازار م صرف شوند. تایوان یکی از ک شورهای عمده تولیدکننده جلبک *کلرلا* بوده که کشت و پرورش آن در تانک‌های مدور با قطرهای ۳۶- ۱۸ متر صورت می‌گیرد. در خلال تابستان دوره کشت در حدود هفت روز و در زم ستان به‌دلیل افزایش طول شب به ۱۰- ۱۵ روز می‌ر سد. محصول جلبک قابل‌برداشت تقریباً یک در صد حجم آب است. یک تانک با قطر ۳۶ متر می‌تواند یک و نیم تن جلبک تازه یا ۱۵۰ کیلوگرم *کلرلا* ی خشک‌شده در یک دوره کشت تولید نماید. مصرف اصلی *کلرلا* به‌صورت قرص‌های شفابخش است [۱۳].

۲-۳-۲-۱- تاکسونومی[۳۸] *کلرلا ولگاریس*

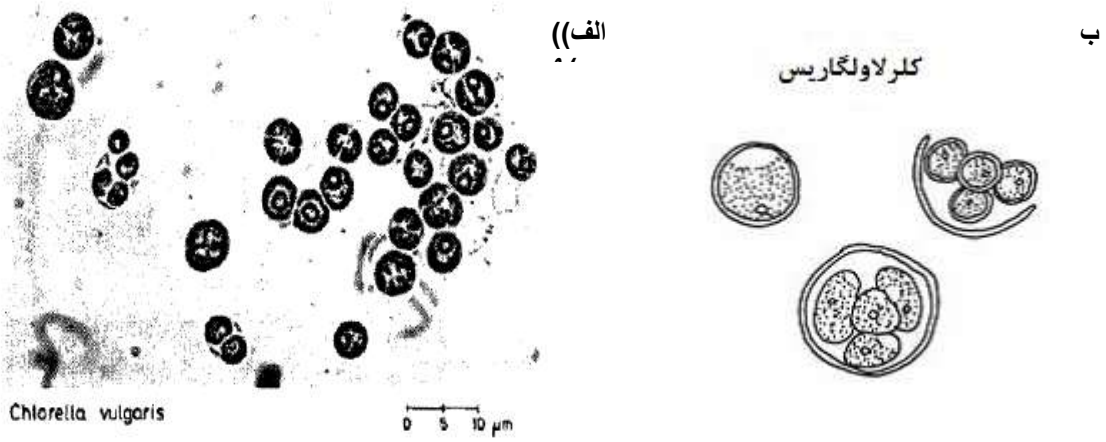
کلرلا به معنی سبز کوچک، متعلق به شاخه کلروفیتا، رده کلروفی سه، را سته کلروکوکال[۳۹]، تیره اوو سی ستا سه[۴۰] و خانواده *کلرلا سه* است که جلبک‌های سبز خوانده می‌شوند[۵] طبقه‌بندی گونه‌های جنس کلرلا پیچیده است، زیرا نمی‌توان آن‌ها را براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی از هم تمیز داد. به‌همین علت تاکسونومی این جنس هنوز کامل نیست. بنابراین پیشنهاد شده است که برای شناسایی گونه‌های مختلف از شاخص‌های بیو شیمیایی و فیزیولوژیک به‌جای خصو صیات مورفولوژیک استفاده شود[۱۱] کسلر[۴۱] در سال ۱۹۷۶م. جنس کلرلا را به ۱۲ گونه تقسیم کرد که به‌واسطه یکسری شاخص‌های فیزیولوژیک و بیو شیمیایی از هم متمایز می شوند. امروزه به دلیل تعارض‌های موجود بین رویکردهای فیلوژنتیکی مولکولی و مورفولوژیکی، در استفاده از این قواعد تجدیدنظر شده است.

۲-۳-۲-۲- ریخت‌شناسی، سازمان‌دهی سلولی و تولیدمثل *کلرلا ولگاریس*

از *کلرلا* گاهی با عنوان "توپ‌سبز" یاد می‌کنند که به علت رنگ سبز و شکل تقریباً کروی آن است. *کلرلا ولگاریس* یکی از گونه‌های *کلرلا* ست و حدود ۲- ۱۰ میکرون قطر دارد (شکل 2-۱)، با یک دیواره سلولی به‌نسبت ضخیم از جنس سلولز و

[36] Nihon Chlorella
[37] Tamiya
[38] Taxonomy
[39] *Chlorococcales*
[40] Oocystaceae
[41] Kessler

اغلب در آب‌های شیرین رشد می‌یابد[۹]. *کلرلا* نمونه تک‌سلولی غیر متحرکی است که به شکل کروی یا بیضوی دیده می‌شود. یک هسته با غشای واقعی دارد که حاوی یک مجموعه از کروموزوم‌ها و هستک است. سیتوپلاسم به ارگانل‌های[۴۲] محصور در غشا شامل میتوکندری[۴۳]، دستگاه گلژی[۴۴]، شبکه اندوپلاسمی[۴۵]، واکوئل‌ها[۴۶] و پلاستیده[۴۷]ا تقسیم شده است، که هر یک عملکردهای خاصی را برعهده می‌گیرند. عمده پلاستید موجود در *کلرلا ولگاریس* را کلروپلاست‌های فنجانی شکل بزرگی تشکیل می‌دهند که حاوی پیرنوئید (اجسامی پروتئینی و مراکزی حامل آنزیم‌های تولید نشاسته که تعداد آن‌ها درون هر کلروپلاست متغیر است) هستند، البته برخی از گونه‌ها فاقد پیرنوئیدند[۱۰]. تولیدمثل در *کلرلا* فقط از طریق غیرجنسی و ایجاد اتوسپور (سلول‌های دختری با ظاهری کاملاً مشابه سلول‌های والدی) صورت می‌گیرد. چرخه سلولی از دو فاز میتوز و اینترفاز تشکیل شده است. به این صورت که ابتدا در طول اینترفاز اندازه سلول بزرگ و ارگانل‌ها زیاد می‌شوند، سپس طی میتوز DNA همانندسازی کرده تا درنهایت هر سلول بالغ تقسیم‌شده و تولید ۴ یا ۶ (به‌ندرت ۱۶) اتو سپور را می‌نماید که با پاره‌شدن دیواره سلولی والدی رها می‌شوند[۱۱، ۱۲].



شکل ۰-۱: الف) سلول‌های *کلرلا ولگاریس* و ابعاد آن‌ها. ب) نمایشی از اتو سپورهای درون یک سلول[۱۴].

۲-۳-۲-۳- بوم‌شناسی و فیزیولوژی *کلرلا ولگاریس*

کلرلا ولگاریس فاقد هیدروژناز، آنزیمی که تولید هیدروژن را کاتالیز می‌کند، است. در شرایط فقر نیتروژن رنگ‌پریده به‌نظر می‌رسد که به‌علت از دست دادن کلروفیل و کارتنوئیدهاست. محصولات حاصل از تخمیر گلوکز در بیشتر سویه‌های آن شامل CO_2 و لاکتوز است، ولی در برخی سویه‌ها فرمیک اسید، گلیسرول و هیدروژن تولید می‌شود. *کلرلا ولگاریس* به تیامین[۴۸] (ویتامین B_1) نیاز ندارد، ولی افزودن این ویتامین و چندین آمینواسید رشد آن را تحریک می‌کند[۱۱]. این ریزجلبک

[42] Organelles
[43] Mitochondira
[44] Golgi apparatus
[45] Endoplasmic network
[46] Vacuoles
[47] Plastides
[48] -Thiamine

قادر است در pH بالاتر از ۴ رشد کند و pH بهینه آن ۷ – ۶ است. ۳ ٪ NaCl را نیز تحمل می‌کند[۵]. یکی از ویژگی‌های مهم *کلرلا ولگاریس* دمای بهینه آن است که بین ۳۷– ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار دارد، که آن را حتی نسبت به سویه‌های معمولی کلرلا متمایز می‌سازد. البته دمای بهینه و قابل‌تحمل از سویه‌ای به سویه دیگر و بسته به شرایط محیطی، تغییر می‌کند[۱۱].

۲-۳-۲-۴- آنالیز شیمیایی جلبک *کلرلا*

در آنالیز ترکیبات شیمیایی جلبک *کلرلا* می‌توان عناصر و ترکیبات زیر را (جدول ۲–۱) مشاهده نمود.

جدول ۲-۱: عناصر و ترکیبات شیمیایی جلبک *کلرلا*. [۱۱]

پروتئین	۶۰/۳۰ گرم در ۱۰۰ گرم
چربی	۱۲/۱۰ گرم در ۱۰۰ گرم
کربوهیدرات (گلوسیدها)	۸/۴۰ گرم در ۱۰۰ گرم
خاکستر	۶/۴۰ گرم در ۱۰۰ گرم
الیاف	۸/۲۰ گرم در ۱۰۰ گرم
رطوبت	۴/۵۰ گرم در ۱۰۰ گرم
ارزش حرارتی	۳۸۴ کیلوکالری

همان‌طور که در جدول ۲–۱ ملاحظه می‌شود در اثر آنالیز شیمیایی ۱۰۰ گرم جلبک *کلرلا*، بیش از ۶۰ گرم پروتئین (بالاترین مقدار) می‌توان استخراج نمود، این درحالی است که میزان چربی و کربوهیدرات به‌ترتیب بیش از ۱۲ و ۸ گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر (۴/۵ درصد رطوبت) جلبک یادشده است. میزان انرژی که در اثر این فرایند شیمیایی تولید می‌شود حدود ۳۸۴ کیلوکالری است. از طرفی میزان خاکستر و الیاف هم در جلبک فوق به ازا هر ۱۰۰ گرم وزن تر به ترتیب ۶/۴ و ۸/۲ گرم است.

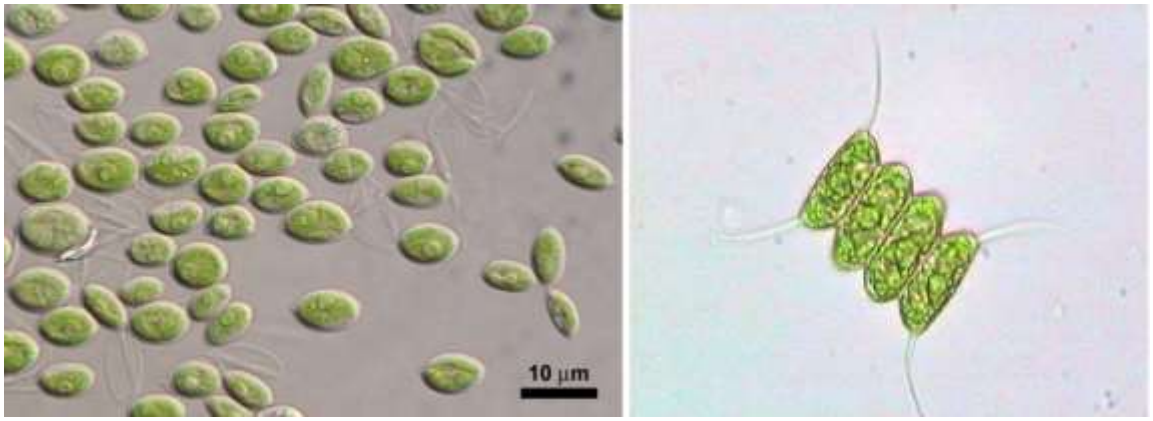
۲-۳-۲-۵- تاریخچه کشت انبوه ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*

دانشمندان روش‌های مختلفی برای کشت انبوه *کلرلا* استفاده کرده‌اند[۱۱]. علاقه اولیه به کشت ریزجلبک‌ها بیشتر به مصرف آن‌ها به‌عنوان یک منبع پروتئینی در سفرهای فضایی معطوف بود[۱۲]. بهره‌برداری تجاری از *کلرلا* اولین‌بار در سال ۱۹۶۱م. از سوی شرکت نیهون کلرلا و با استفاده از تأسیسات مؤسسه تحقیقاتی ریزجلبک‌ها در ژاپن صورت گرفت. این مؤسسه ابتدا منطقه‌ای با مساحت ۴۰۰۰ مترمربع متشکل از ۳ استخر که از سوی گروه پروفسور تامیا طراحی شده بود، را زیر کشت جلبک برد، سپس آن را به ۶ استخر دایره‌ای مستقل از هم بسط داد. انستیتو مقادیر فراوانی از توده خشک‌شده *کلرلا* را برای تحقیقات غذایی و دارویی توسط بسیاری از آزمایشگاه‌های دانشگاهی و بیمارستانی تهیه کرد. ایجاد فنّاوری کشت انبوه و تولید زیست‌توده خشک با قدرت هضم مطلوب و تهیه آن به‌صورت قرص‌هایی که به‌راحتی قابل‌استفاده بودند، صنعت *کلرلا* را به

یک غذای سالم جدید تبدیل نمود. طی ۳۵ سال اخیر تولید تجاری *کلرلا*، در ابتدا به‌عنوان یک غذای سالم و بعدها به‌عنوان منبع تغذیه موجودات آبزی افزایش یافته است[۱۱، ۱۲]. در حال حاضر ازنظر اقتصادی و تجاری کشت گسترده *کلرلا* فقط زمانی مقرون‌به‌صرفه خواهد بود که محصولات در سطح بالایی در بازار مصرف شوند. تایوان یکی از کشورهای عمده تولیدکننده جلبک *کلرلا* بوده که کشت و پرورش آن در داخل تانک‌های مدور با قطرهای ۳۶- ۱۸ متر صورت می‌گیرد. در خلال تابستان دوره کشت در حدود هفت روز و در زمستان به‌دلیل افزایش طول شب به ۱۰- ۱۵ روز می‌رسد. محصول جلبک قابل‌برداشت تقریباً یک درصد حجم آب است. یک تانک با قطر ۳۶ متر می‌تواند یک و نیم تن جلبک تازه و یا ۱۵۰ کیلوگرم *کلرلا* ی خشک‌شده در یک دوره کشت تولید نماید. مصرف اصلی *کلرلا* به‌صورت قرص‌های شفابخش است[۱۳].

۲-۳-۳- *سندسموس اوبلیکوس*

این جلبک، یک جلبک سبز تک سلولی است که به‌طور خاص به *کلروفیسه* تعلق دارد. اندازه آن کوچک بوده و قابلیت حرکت ندارد و متشکل از سلول‌هایی است که به صورت ردیف مانند در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. سلول شامل یک تک جداره کلروپلاست صفحه مانند با یک تاژه قطبی واحد است. دیواره‌های سلول ممکن است با برجستگی‌ها یا شبکه‌بندی‌هایی پوشانده شده باشند که با اسکن میکروسکوپ الکترونی قابل‌مشاهده است. تصاویر این ریزجلبک در شکل زیر (شکل ۲-۲شکل) نشان داده شده است. [۱۶]



شکل۲-۲- ریزجلبک *سندسموس اوبلیکوس*. [۱۶]

۲-۴- جمع بندی

در زمینه معیارهای حاکم جهت انتخاب ریزجلبک مناسب برای تولید بتن خودترمیم شونده ... مشخصه وجود دارد. ۱- نحوه تغذیه ریزجلبک: ریزجلبک های که زندگی اتوتروفی دارند برای تولید بتن خودترمیم مناسب تر هستند زیرا این ریزجلبک ها از نورخورشید به عنوان منبع انرژی و از دی اکسید کربن هوا به عنوان منبع کربن استفاده می کنند لذا در محیط های طبیعی بدون نیاز به افزودن مواد غذای خاص ریزجلبک رشد نموده و تولید سیمان بیولوژیک می کند. ۲- معیار دوم انتخاب توانایی زندگی و رشد در آب شیرین و آب شور بطور همزمان است که در نتیجه هم در مناطق ساحلی و در داخل آب دریا و هم در مناطق غیر ساحلی امکان استفاده از بتن خود ترمیم وجود دارد. ۳- توانایی تکثیر سریع و تولید حجم زیاد زیست توده

معیار سوم انتخاب می باشد ۴-توانایی تحمل دما تا ۴۵ درجه سانتی گراد نیز معیار آخر انتخاب است. با توجه به معیارهای ذکر شده و خصوصیات انواع میکروجلبک های موجود جلبک *کلرلا ولگاریس* برای تولید سیمان زیستی و بتن خود ترمیم انتخاب گردید. این ریزجلبک هم در آب شیرین و هم در آب شور و خاک های شور نمناک قابلیت رشد دارد و نحوه تغذیه آن نیز فوتواتوتروف است که بیشتر گونه های آن تا دمای ۴۵ درجه قابلیت رشد دارند که دمای ۳۲ درجه دمای بهینه آنها می باشد. در مقایسه با دیگر ریزجلبک ها، کلرلا سریع ترین سرعت رشد را دارد.

مراجع:

[۱] A. Demirbas and M. F. Demirbas, *Algae Energy: Algae as a New Source of Biodiesel*: Springer, 2010.

[۲] M. Tabatabaei, *et al.*, "Biodiesel production from genetically engineered microalgae: Future of bioenergy in Iran," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 15, pp. 1918-1927, 2011.

[۳] J. Ferell, *National algal biofuels technology roadmap a technology roadmap resulting from the National Algal Biofuels Workshop, December 9-10, 2008, University of Maryland*. Washington, DC: U.S. Dept. of Energy, Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, Office of the Biomass Program, 2010.

[۴] Z.-Y. Liu, *et al.*, "Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*," *Bioresource Technology*, vol. 99, pp. 4717-4722, 2008.

[۵] D. J. Debska, *Cultivation of Microalgae Chlorella Vulgaris in Photobioreactor for Biodiesel Production*: University of Ottawa, 2009.

[۶] T. M. Mata, *et al.*, "Microalgae for biodiesel production and other applications: A review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, pp. 217-232, 2010.

[۷] C. Dayananda, *et al.*, "Autotrophic cultivation of *Botryococcus braunii* for the production of hydrocarbons and exopolysaccharides in various media," *Biomass and Bioenergy*, vol. 31, pp. 87-93, 2007.

[۸] M. Francavilla, *et al.*, "Phytosterols from *Dunaliella tertiolecta* and *Dunaliella salina*: A potentially novel industrial application," *Bioresource Technology*, vol. 101, pp. 4144-4150.۲۰۱۰ ,

[۹] R. Raja, *et al.*, "A perspective on the biotechnological potential of microalgae," *Critical reviews in microbiology*, vol. 34, pp. 77-88, 2008.

[۱۰] A. Edberg, "Growth of *Chlorella Vulgaris* at high carbon dioxide levels in Swedish light conditions," 2010.

[۱۱] A. Richmond, *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*: John Wiley & Sons, 2008.

[۱۲] M. A. Borowitzka, "Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters," *Journal of Biotechnology*, vol. 70 ,pp. 313-321, 1999.

[۱۳] م. صلواتیان، "تکثیر و پرورش غذای زنده " مرکز تحقیقات شیلاتی استان گیلان، بندرانزلی ۱۳۷۶.

[۱۴] J.-Y. Lee, *et al.*, "Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae," *Bioresource Technology*, vol. 101, pp. S75-S77, 2010.

[۱۵] M. Griffiths and S. L. Harrison, "Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production," *Journal of Applied Phycology* ,vol. 21, pp. 493-507, 2009/10/01 2009.

[۱۶] S. Mandal and N. Mallick, "Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 84, pp. 281-291, 2009/08/01 2009.

 DOI: 10.30503/nripress.2020.233

فصل سوم:
کشت ریزجلبک

۳-۱- مقدمه

جلبک این پتانسیل را دارد که به‌عنوان منبعی برای تولید سیمان بیولوژیک استفاده‌شود. در این روش به‌منظور استفاده از جلبک، روش‌های مختلفی برای کشت و طراحی موردمطالعه قرار گرفت. روش‌های کشت بین ماکروجلبک‌ها (جلبک دریایی) و ریزجلبک بسیار متفاوت‌اند.

توسعه سیستم‌های اختصاصی کشت ریزجلبک در سال ۱۹۵۰م. زمانی که جلبک‌ها به‌عنوان یک منبع پروتئین جایگزین برای افزایش جمعیت جهان موردبررسی قرارگرفتند، آغاز شد. پس‌ازآن، جلبک برای تولید ترکیبات موردعلاقه، به‌طور مثال برای تبدیل CO_2 به O_2 در طول سفر به فضا و برای اصلاح فاضلاب موردبررسی قرار گرفت. بحران انرژی در سال ۱۹۷۰م. سبب شد که تحقیقات روی جلبک به‌عنوان یک منبع انرژی تجدیدپذیر آغاز شود. برای رشد جلبک‌ها، چند عامل به‌نسبت ساده مانند نور، منبع کربن، آب، مواد مغذی و درجه حرارت مناسب کنترل‌شده باید فراهم باشد. بسیاری از روش‌های کشت در طول سال‌ها با توجه به این نیازها رشد و توسعه داده شده‌اند. فناوری لازم برای توسعه سودآور تولید سوخت بر پایه جلبک، هنوز در کشورهای مختلف در حال توسعه است و پیکربندی نهایی باید تعیین و در مقیاس صنعتی اثبات شود.

کشت ریزجلبک در روش‌های باز (دریاچه‌ها، حوضچه‌ها) و در روش‌های بسته کنترل‌شده به‌نام راکتورهای زیستی نوری [۴۹](PBR) انجام می‌شود.

۳-۲- کشت جلبک‌ها در روش‌های باز

ساده‌ترین روش‌های کشت جلبک در فضای باز، حوضچه‌های[۵۰] کم‌عمق و دارای همزن است. محدوده اندازه این حوضچه‌ها، از چند مترمربع تا ۲۵۰ هکتار (شکل ۳-۱شکل) است. روش‌های حوضچه باز، هزینه ساخت نسبت به راکتورهای زیستی نوری کمتری دارند که حداقل نیاز آن‌ها یک گودال یا حوضچه است. حوضچه‌های بزرگ، نسبت به دیگر روش‌هایی که ازلحاظ هزینه قابل‌مقایسه با این روش‌ها هستند، بیشترین ظرفیت تولید را دارند. همچنین، کشت حوضچه باز می‌تواند از شرایط غیرمعمول که تنها برای جلبک‌های خاص مناسب است، بهره‌برداری کند. به‌عنوان‌نمونه، *اسپرولینا* در آب با غلظت بالای بی‌کربنات‌سدیم و *دونالیلا سالینا* در آب بسیارشور رشد می‌کند. در کشت باز اگر یک روش حذف جلبک موردنظر و تلقیح حوضچه‌های جدید با غلظت شروع بالا از جلبک‌های دلخواه وجود داشته باشد، می‌تواند کار کند. بزرگ‌ترین مزیت حوضچه‌های باز، سادگی آن‌هاست که درنتیجه هزینه‌های تولید و هزینه‌های عملیاتی پایین است[۱].

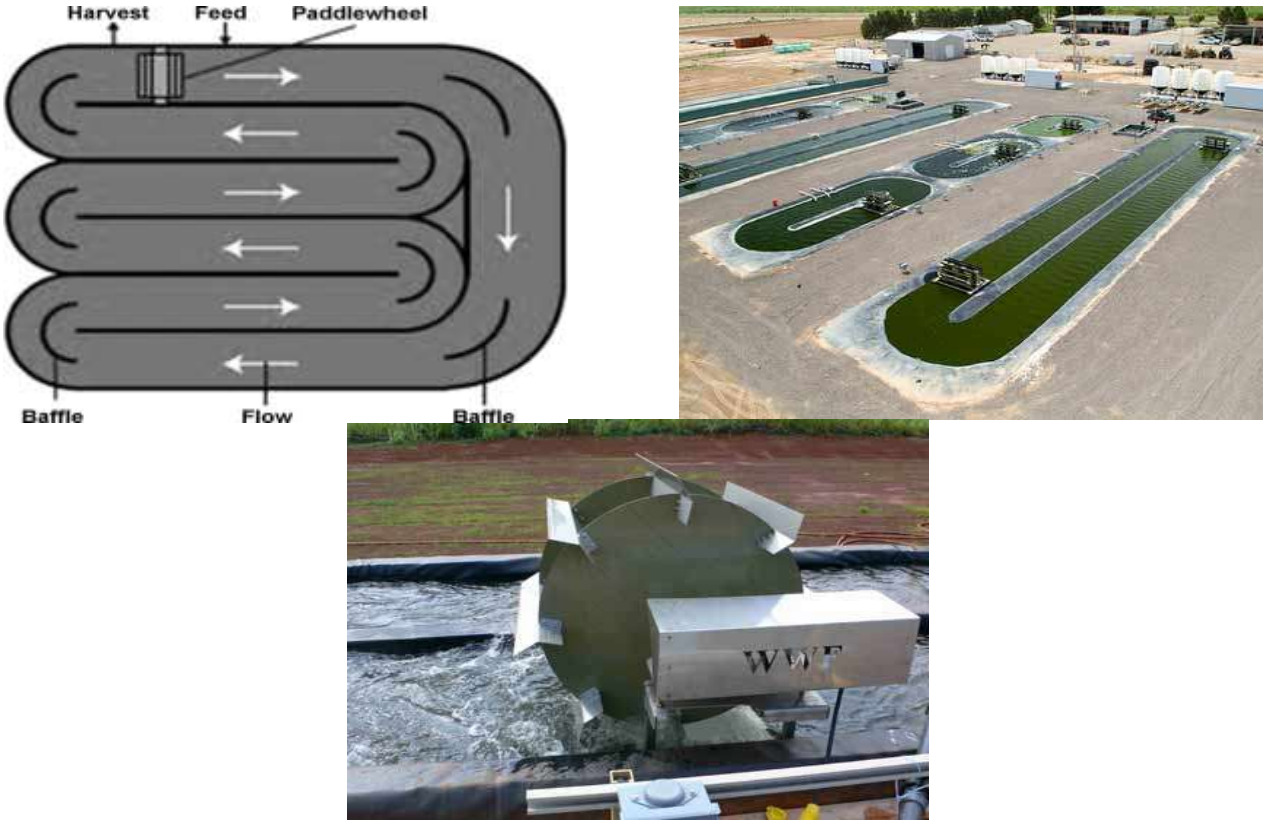
[49] Photobioreactor
[50] ponds



شکل۳-۱: حوضچه‌های باز در مقیاس بزرگ و کوچک. [۱]

حوضچه‌های باز می‌توانند به آب‌های طبیعی (دریاچه‌ها، تالاب‌ها و برکه‌ها) و حوضچه‌های مصنوعی طبقه‌بندی شوند. حوضچه‌هایی که در آن جلبک کشت می‌شوند، اغلب حوضچه‌های نهری[51] نامیده می‌شوند (شکل ۳-۲شکل). در مقاله‌های علمی، این روش گاهی اوقات، تنها روش باز برای تولید در مقیاس بزرگ ذکرشده است. در این حوضچه‌ها، جلبک‌ها، آب و مواد مغذی در اطراف یک مسیر می‌چرخند. با فراهم‌کردن چرخ‌های پره‌دار در جریان، جلبک‌ها در آب معلق نگه داشته می‌شوند و دوباره با یک بسامد منظم به سطح، گردش می‌کنند. حوضچه‌ها اغلب کم‌عمق نگه داشته می‌شوند زیرا جلبک‌ها نیاز به قرار گرفتن در معرض نور خورشید و آفتاب که فقط می‌توانند در آب حوضچه با عمق محدود نفوذ کنند، دارند.

[51] Raceway pond



شکل ۳-۲- طرح کلی از حوضچه نهری. [۱]

نهرها اغلب از بتن ریخته ساخته شده‌اند یا به‌سادگی در زمین حفر شده‌اند و با آستر پلاستیکی برای جلوگیری از غوطه‌ور شدن خاک در مایع، اندود شده‌اند. بافل‌ها در کانال، جریان را به دور خم‌ها به‌منظور کم کردن فضا هدایت می‌کنند. اغلب این روش در حالت پیوسته عمل می‌کند که در آن خوراک تازه (شامل مواد مغذی حاوی نیتروژن، فسفر و نمک‌های معدنی) به جلو چرخ‌های پره‌دار اضافه می‌شوند و براث جلبکی (محیط کشت مایع جلبکی) در پشت چرخ‌های پره‌دار بعد از آن که در سرتاسر حلقه به گردش درآمد، برداشت می‌شود. بسته به نوع مواد مغذی موردنیازِ گونه‌های جلبکی، چندین منبع از آب فاضلاب می‌تواند برای کشت جلبک‌ها استفاده شود. برای برخی از ریزجلبک‌های نوع دریایی، آب دریا یا آب با شوری بالا را می‌توان مورداستفاده قرارداد. حوضچه باز در واقع از ساده‌ترین تکنیک های رشد است اما برخی مشکلات مانند این‌که محیط در داخل و خارج حوضچه کاملاً تحت کنترل نیست، وجود دارد. حوضچه‌های باز به‌شدت در معرض آلودگی با میکروسازواره‌های دیگر مانند سایر گونه‌های جلبک یا باکتری است؛ بنابراین کشت‌کنندگان معمولاً روش‌های بسته را برای کشت‌های خاص انتخاب می‌کنند. روش‌های باز نیز، بر دما و نور کنترلی ندارند[۱]. فصل رشد تا حد زیادی به مکان وابسته بوده و صرف‌نظر از مناطق گرمسیری، به ماه‌های گرم‌تر محدود است. آب‌وهوای بد در اغلب موارد می‌تواند مانع از رشد جلبک شود. بااین‌حال، محدودیت‌های عمده در حوضچه‌های باز عبارتند از: شدت نور ناهموار و نابرابر، تلفات تبخیر، نفوذ دی‌اکسیدکربن به اتمسفر و نیاز به مساحت وسیعی از زمین[۱]. علاوه‌براین، آلودگی توسط شکارچیان و دیگر هتروتروف‌های[۵۲] در حال رشد سریع، تولید اقتصادی جلبک در روش‌های کشت باز را به تنها سازواره‌های که می‌توانند در شرایط سخت رشد

[52] Heterotrophic

کنند، محدودکرده است. همچنین، با توجه به سازوکارهای هم‌زدن ناکارآمد در روش‌های کشت باز، نرخ انتقال جرم بسیار محدود است که نتیجه‌اش تولید زیست‌توده پایین است. برای غلبه بر مشکلات مربوط به روش باز، محققان روی حوضچه‌های بسته کارکردند. در این روش‌ها کنترل محیط بسیار بهتر از حوضچه‌های باز است. هزینه روش‌های حوضچه‌ای بسته بیش از حوضچه‌های باز است، و به‌طور قابل‌توجهی کمتر از راکتورهای زیستی نوری با همان مساحت مشابه عملیاتی است. به‌عنوان یک تغییر در روش حوضچه باز، حوضچه بسته یک ایده است که با یک مانع شفاف یا ترانسلوسنت[۵۳] که آن را به یک گلخانه تبدیل می‌کند، پوشش می‌یابد. این روش‌های بسته با استفاده از پلکسی گلاس ساخته شده‌اند که اجازه رشد گونه‌های بیشتر و همچنین غالب ماندن گونه‌های در حال رشد را می‌دهند و فصل رشد را در صورت فراهم شدن گرمایش به حوضچه در طول سال، طولانی‌تر می‌کنند. همچنین افزایش مقدار دی اکسیدکربن در روش‌های نیمه بسته ممکن است افزایش نرخ رشد جلبک را به‌همراه داشته باشد[۱].

۳-۳- کشت جلبک در روش‌های بسته (راکتورهای زیستی نوری[۵۴])

یک راکتور زیستی نوری می‌تواند به‌عنوان یک محفظه کشت طراحی‌شده محصور و نوردهی شده برای تولید زیست‌توده زیر کنترل تو صیف شود. راکتورهای زیستی نوری به روش‌های بسته که از محیط بیرون جدا شده‌اند و تبادل مستقیم گاز و آلاینده‌ها با محیط زیست ندارند، اطلاق می شود. راکتورهای زیستی نوری، با وجود هزینه‌های خود، چندین مزیت عمده بر روش‌های باز دارند:

- راکتورهای زیستی نوری آلودگی را به حداقل می‌رسانند و اجازه کشت جلبک به‌صورت خالص را می‌دهند؛
- کنترل بهتر شرایط مانند pH، دما، نور، غلظت دی اکسیدکربن و غیره را ارائه می‌کند؛
- به از دست دادن کمتر CO_2 منجر می‌شوند؛
- از تبخیر آب جلوگیری می‌کنند؛
- اجازه غلظت‌های سلولی بالاتر را می‌دهند؛
- اجازه تولید بیودارو[۵۵]ی پیچیده را می‌دهند.

تسوگلین[۵۶] و همکارانش نکات زیر را برای طراحی راکتور زیستی نوری پیشنهاد داده‌اند [۲]:

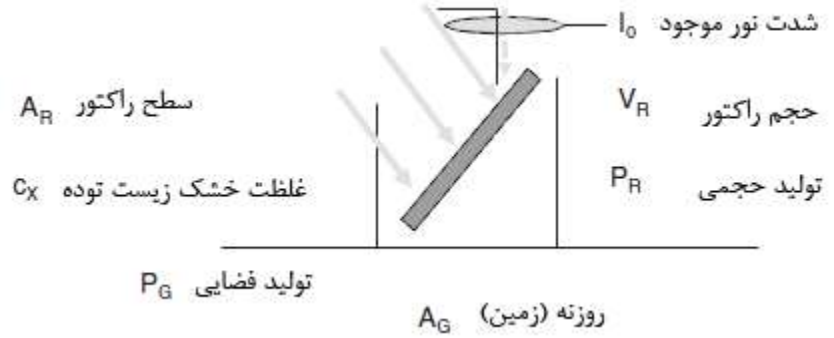
- راکتور باید اجازه کشت گونه‌های مختلف ریزجلبک را بدهد؛
- طراحی راکتور باید طوری باشد که روشنایی یکنواخت سطح کشت و انتقال جرم سریع CO_2 و O_2 را فراهم کند؛
- سلول‌های ریزجلبک بسیار چسبنده هستند که به رسوب‌گیری سریع سطوح انتقال نور راکتورها منجر می‌شود. این امر به خاموش کردن مکرر راکتورها برای پاکیزه‌سازی مکانیکی و استریلیزه‌کردن می‌انجامد. طراحی راکتور باید از رسوب گرفتگی راکتور جلوگیری کند یا به حداقل برساند، به‌خصوص از رسوب گرفتگی سطوح انتقال نور؛

[53] Translucent
[54] Photobioreactor
[55] biopharmaceuticals
[56] Tosgilin

- نرخ بالای انتقال جرم باید به‌دست آید، به این معنا که نه صدمه‌ای به سلول‌های کشت شده وارد شود و نه رشد آن‌ها را متوقف کند؛
- راکتور زیستی نوری باید در شرایط کف شدید که اغلب در راکتور با نرخ‌های بالای از انتقال جرم اتفاق می‌افتد، کار کند؛
- در راکتور باید قسمتی که در معرض نور قرار نمی‌گیرد، حداقل باشد.

۳-۳-۱.فاکتورهای مهم در طراحی راکتور زیستی نوری

در طراحی یک راکتور زیستی مناسب برای رشد و تکثیر ریزجلبک عوامل گوناگونی تأثیرگذارند که این عوامل شامل حجم کل راکتور، میزان نور موجود، سطح راکتور، مساحت زمین راکتور، تولید حجمی (حجمی از راکتور که برای تولید اشغال می‌شود) و غیره است که در کنار یکدیگر روابطی را به‌وجود می‌آورند که بازده تولید فتوبیوراکتور را مشخص می‌کند. شکل ۳-۳ طرح کلی از عوامل مهم برای طراحی راکتور زیستی نوری را نشان می‌دهد.



شکل ۳-۳- عوامل طراحی راکتور زیستی، تعاریف و عناوین برای ارزیابی عملکرد آن.

$V_R(L)$: حجم کاری کل راکتور که شامل فاز مایع و گاز است.

$A_R(m^2\ or\ ha)$: مساحت کل سطح قسمت شفاف راکتور که به‌وسیله‌ی مقدار نوری که درنهایت به سطح راکتور می‌رسد، تعیین می‌شود. محاسبه‌ی اینکه چقدر نور به سطح برخورد می‌کند، نیازمند تجزیه‌وتحلیل دقیق است. این عامل سهم مهمی در هزینه راکتور دارد.

$A_G(m^2)$: مساحت دیافراگم (زمین) راکتور: که به‌وسیله‌ی مساحتی که انرژی نور را جمع می‌کند، اندازه‌گیری می‌شود.

$P_R(gL^{-1}d^{-1}) = \frac{dm_X}{V_R.dt_c}$: بهره‌وری حجمی که میزان تولید محصول به ازای حجم راکتور و زمان سپری‌شده است. این عامل در کاربردهای باارزش بالا مثلاً تولید دارو برای ارزیابی میزان شدت یافتن فرایند، بسیار مهم است[۳].

$P_G(gm^{-2}d^{-1} = 36.5tha^{-1}a^{-1}) = \frac{dm_X}{A_G.dt_C}$: تولید فضایی، که مهم‌ترین عامل برای ارزیابی واحدهای بزرگ راکتور زیستی نوری است. این عامل امکان موازنه بین ترم‌های بازده انرژی (بین نورتابشی به‌عنوان منبع اصلی انرژی و تشکیل زیست‌توده یا محصول براساس فضا) را می‌دهد و معیار تعیین‌کننده عملکرد است. بهره‌وری فضایی به‌ویژه در تبدیل انرژی خورشید به انرژی شیمیایی مثل تولید زیست‌دیزل توسط ریزجلبک صادق است. اگرچه بهره‌وری فضایی برای مقایسه طراحی‌ها بسیار مفید است، اما مقدار آن تا حدود زیادی به تابش در طول مدت اندازه‌گیری بستگی دارد[۳].

I_0: تابش (به سطح) که به‌عنوان چگالی شار فوتون[۵۷] نشان داده‌می‌شود. PPFD[۵۸] چگالی شار فوتون سنتز نوری است. این عامل، در نظر گرفتن این واقعیت است که فوتون‌ها تنها می‌توانند در محدوده تابش فعال سنتز نوری[۵۹] PAR مورداستفاده قرار گیرند. در محاسبات مساحت‌های بزرگ، به‌عنوان‌نمونه، مطالعات امکان‌سنجی تولید بیوانرژی، تابش به‌عنوان چگالی توان[۶۰] داده می‌شود. درحالی‌که برای بررسی‌های میکروسکوپ، تابش در جهت نرمال به زمین اندازه‌گیری می‌شود و برای مطالعات سینتیکی در جهت نرمال به سطح راکتور اندازه‌گیری می‌شود.

PCE[۶۱]: بازده تبدیل نوری[۶۲] که به‌عنوان کسری از انرژی خورشید که به انرژی شیمیایی در فتو- بیوراکتور تبدیل می‌شود، شناخته می گردد. مقدار نظری حداکثر ۹٪ برآورد شده است. در حالت نور کامل خورشید، در عمل مقادیر PCE_{par} در محدوده ۱۰٪ برای تابش فعال سنتز نوری یا ۵٪ برای طیف کامل نور آفتاب دست‌یافتنی است. برای محاسبه بازده فتوتبدیل، باید محتوای انرژی زیست‌توده‌ای اندازه‌گیری شود که محتوای انرژی زیست‌توده می‌تواند در محدوده $20\frac{MJ}{Kg}$ تا $30\frac{MJ}{Kg}$ برای جلبک غنی از روغن باشد. نمونه‌های مختلف از راکتورهای زیستی نوری برای تولید جلبک طراحی و توسعه یافته است.

۳-۳-۲.انواع مختلف راکتور زیستی نوری

۳-۳-۲-۱-راکتورهای‌زیستی نوری لوله‌ای عمودی

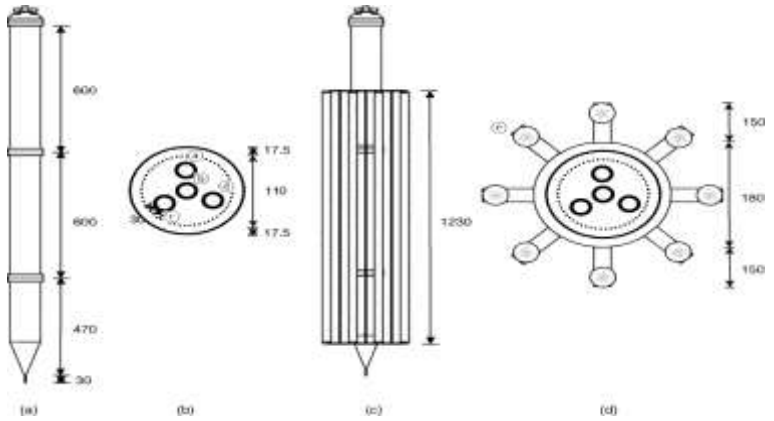
این راکتور زیستی نوری از لوله‌های عمودی که برای اجازه دادن به نفوذ نور، ذاتاً شفاف هستند، ساخته شده است. حباب‌ساز در پایین راکتور برای تبدیل گازهای پخش‌شده به حباب‌های ریز متصل شده است. پخش به‌وسیله مخلوط گاز، اختلاط کامل، انتقال جرم CO_2 و حذف O_2 تولیدشده در طول سنتز نوری را فراهم می‌کند[۴]. راکتورهای زیستی نوری لوله‌ای عمودی را می‌توان به راکتور ستون حبابی و راکتور ایرلیفت براساس حالت جریان مایع تقسیم نمود.

۳-۳-۲-۲-راکتور زیستی نوری ستون حبابی[۶۳]

راکتورهای ستون حبابی، محفظه‌های استوانه‌ای با ارتفاع بیشتر از دو برابر قطر هستند. مزایای این راکتور زیستی نوری عبارت است از: هزینه سرمایه‌گذاری پایین، نسبت بالای مساحت سطح به حجم، عدم وجود قطعات متحرک، انتقال رضایت‌بخش حرارت و جرم، محیط کشت به‌نسبت همگن، رهایی کارآمد O_2 و مخلوط گاز باقی‌مانده. اختلاط و انتقال جرم CO_2 در طول حباب‌سازی مخلوط گاز به‌واسطه حباب‌ساز انجام می‌شود (شکل ۳-۴شکل). در مقیاس‌گذاری[۶۴]، صفحه‌های سوراخ شده در ستون حبابی بلند، برای شکستن و توزیع مجدد حباب‌های همبسته استفاده می‌شود [۵]. در دبی جریان گاز

[57] PFD ($\frac{\mu E}{m^2.S}$)
[58] Photosynthetic photon flux density
[59] Photosytheticlly active radition
[60] Power density($\frac{w}{m^2}$)
[61] Photo Conversition Efficiency
[62] Photoconversion
[63] Bubble column photobioreactor
[64] Scale up

کمتر از $60.01\frac{m}{s}$، الگوی جریان چرخشی به‌دلیل عدم وجود اختلاط به عقب[۶۵] (تمایل مواد شیمیایی واکنش یافته به مخلوط شدن با خوراک بدون واکنش در راکتور) ، وجود ندارد. بازده سنتز نوری به میزان قابل‌توجهی با افزایش دبی جریان گاز که به چرخه‌ی تاریکی و روشنایی کوتاه‌تر منجر می‌شود، می‌تواند افزایش یابد[۶].

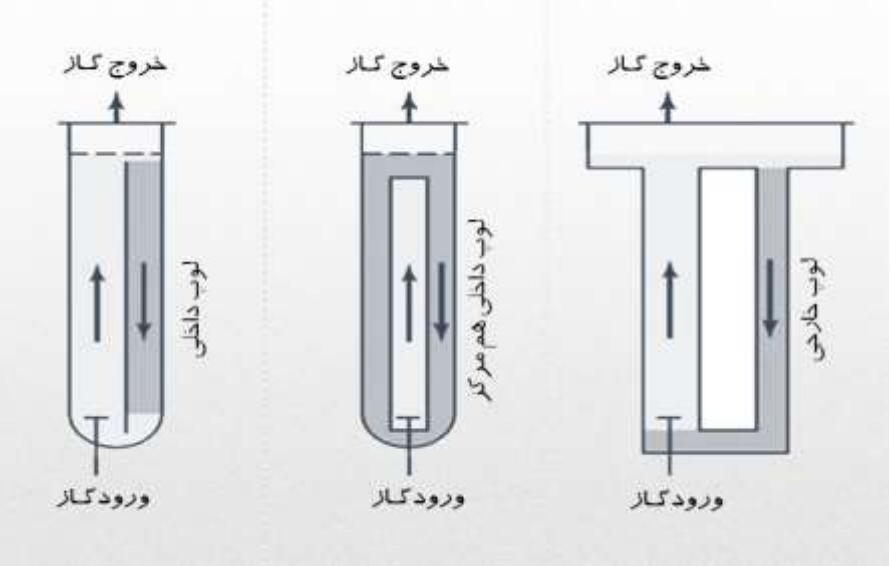


شکل۳-۴: طرح کلی از راکتور زیستی نوری ستون حبابی. [۵]

۳-۳-۲-۳-راکتور زیستی نوری لوله‌ای ایرلیفت

راکتورهای ایرلیفت محفظه با دو منطقه متصل‌به‌هم هستند. یکی از لوله‌ها بالابرنده نامیده می‌شود که در آن مخلوط گاز پخش می‌شود، درحالی‌که منطقه دیگر پایین‌آورنده نامیده می‌شود که گاز را دریافت نمی‌کند (شکل ۳-۵شکل). به‌طورکلی، به دو شکل وجود دارد: حلقه داخلی و خارجی. در راکتور حلقه داخلی، مناطق با یک لوله یا با یک تک سیلندر از هم جداشده‌اند. راکتور حلقه داخلی به راکتور ایرلیفت حلقه داخلی تقسیم‌شده و به راکتور لوله‌ای متحدالمرکز حلقه داخلی تغییر نام یافته است. در حلقه خارجی، بالا برنده و پایین‌آورنده به‌صورت فیزیکی با دو لوله مختلف از هم جداشده‌اند. اختلاط با حباب‌سازی گاز از طریق حباب‌ساز در لوله بالابرنده بدون هیچ‌گونه تلاطم فیزیکی انجام می‌شود. بالابرنده شبیه به ستون حبابی است که گاز پخش‌شده به‌صورت تصادفی به سمت بالا حرکت می‌کند. این حرکت به سمت بالا سبب کاهش دانسیته و درنتیجه جدایی گاز از مایع می‌شود. در منطقه رهایی، گاز مایع را ترک می‌کند و عملکرد آن به طراحی این بخش و شرایط عملیاتی بستگی دارد. مقدار گاز که در منطقه رهایی، رها نمی‌شود، در مایع در حال حرکت به سمت پایین در پایین آورنده به تله افتاده است. انباشتگی گاز در پایین‌آورنده تأثیر قابل‌توجه در دینامیک سیالات راکتور ایرلیفت دارد. مایع گاززدایی‌شده به سمت پایین در فضای حلقوی در حالت آرام با حرکت تعریف‌شده محوری حرکت می‌کند. افزایش اختلاف انباشتگی گاز بین بالابرنده و پایین آورنده معیار مهمی است که باید در طراحی راکتور ایرلیفت در نظر گرفته شود[۷].

[65] Back mixing



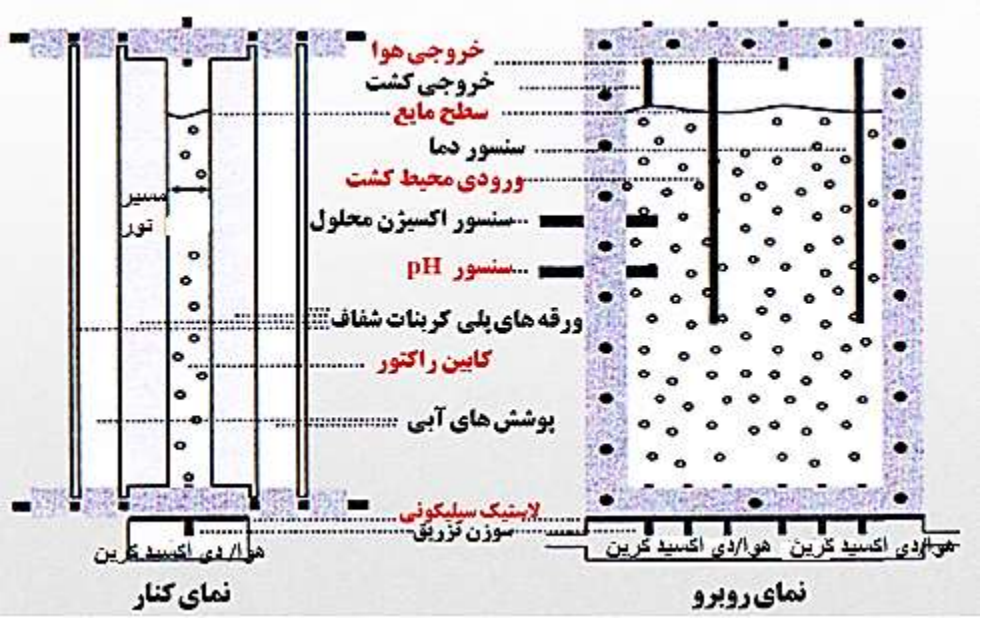
شکل۳-۵. نمونه‌های مختلف راکتور ایرلیفت

لوبری[۶۶] و همکارانش یک راکتور زیستی نوری ایرلیفت با حلقه خارجی که حرکت پرتلاطم را تولید می‌نمود، طراحی کرده‌اند[۸].

۳-۳-۲-۴-راکتور زیستی نوری صفحه صاف

راکتور زیستی نوری صفحه صاف به دلیل سطح جذب نوربالایی که دارد بسیار موردتوجه قرار گرفته است. به‌طورکلی راکتور زیستی نوری صفحه صاف از دو صفحه‌ی مسطح شفاف تشکیل‌شده که به‌صورت مکعب مستطیل به هم متصل می‌شوند و شکل یک آکواریوم با قطر کم را پدید می‌آورند. راکتور صفحه صاف، حداقل مسیر نور را دارد (شکل ۳-۶). این راکتور را می‌توان از مواد شفاف مانند شیشه، پلکسی گلاس، پلی‌کربنات و غیره ساخت. این راکتور با نسبت سطح به حجم بالا و روش باز رهایی گاز مشخص می‌شود. تلاطم، به‌وسیله‌ی حباب‌سازی هوا از طریق لوله‌ی سوراخ شده یا با چرخش مکانیکی از طریق موتور فراهم می‌شود.

[66] Lobry



شکل۳-۶. نمای جلو و جانبی راکتور زیستی نوری صفحه صاف

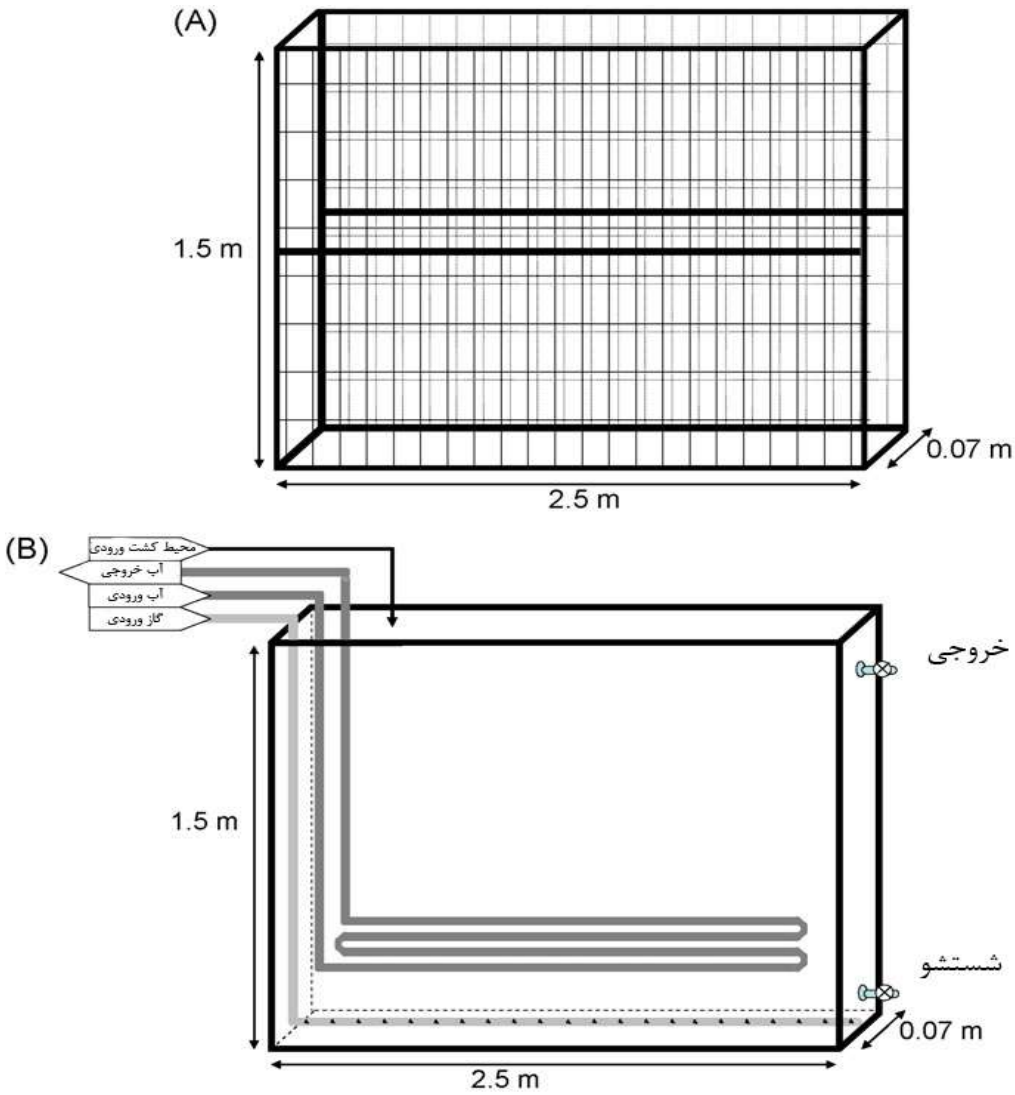
باربوسا[۶۷] و همکارانش، راکتور زیستی نوری صفحه صاف از پلی‌کربنات با نسبت سطح به حجم $0.34cm^{-1}$ را طراحی کردند[۹]. مخلوط CO_2 و هوا از طریق ۱۷ سرنگ با قطر ۰/۸ میلی‌متر سوراخ کردند و به یک قطعه سیلیکون قراردادهشده در انتهای راکتور، پخش شد. راکتور در یک سطح با لوله‌های فلورسانس ۱۰ با شدت نور کلی تقریباً $1000\ \mu mol\ photons\ m^{-2}s^{-1}$ نوردهی شده است. این نوع راکتور توسط ژانگ[۶۸] و همکارانش با گنجاندن بافل‌ها برای بهبود تلاطم اصلاح شد[۱۰، ۱۱]. ایکبال[۶۹] و همکارانش راکتور صفحه صاف را به‌وسیله‌ی برخی از ویژگی‌های مهندسی مثلاً دادن شکل V برای دستیابی به میزان اختلاط بالا، از بین بردن گوشه‌ها که تنش برشی را حداقل می‌کند و چسبندگی سلول‌ها به دیواره راکتور را حداقل می‌سازد، تغییر دادند [۱۱]. محققان دیگر صفحه صاف افقی که به‌صورت طولی به پنج کانال با دو منیفولد پلکسی‌گلاس در بالا و پایین تقسیم شده بود، را طراحی کردند. نسبت مساحت سطح به حجم $40m^{-1}$ و ظرفیت انباشتگی[۷۰] گاز ٪۱۰/۳ بود. مخلوط گازی دی اکسیدکربن به‌صورت محوری از طریق منیفولدهای پلکسی‌گلاس لوله‌ای در انتهای راکتور تزریق می‌شد. این راکتور بازده سنتز نوری ٪۴/۸ داشت که در مقایسه با راکتور لوله‌ای مایل (٪۵/۶)در فضای باز با استفاده از *اسپرولینا*، کمتر است. این ممکن است به دلیل سطح منحنی راکتور باشد که باعث کاهش اثر اشباع‌شده نور، در نیمروز است[۱۲]. در یک کشت پیوسته *کلرلا سوروکینا*[۷۱] با استفاده از صفحه صاف با داشتن طول مسیر کوتاه در شرایط تابش بالا، تولید حجمی به‌دست‌آمده $12.2\ gL^{-1}d^{-1}$ بود که بالاترین تولید جلبک سبزکشف شده در شرایط نور بیش‌ازحد اشباع تا به امروز است. این راکتور می‌تواند با تنظیم چندین صفحه روی یک منطقه مقیاس‌گذاری شود. بیشتر کردن طول راکتور برای افزایش مقیاس توصیه نمی‌شود، بلکه افزایش در ارتفاع مایع و گستردن مسیر نور، راه‌حلی برای

[67] Barbosa
[68] Jang
[69] Ekball
[70] hold up
[71] Chlorella Sorokiniana

افزایش مقیاس است که توصیه می‌شود [۱۳]. راکتور صفحه صاف طراحی‌شده توسط دیگن[۷۲] و همکارانش، حالت ایرلیفت گردشی دارد [۱۴]. آن راکتور، منطقه پایین‌آورنده کوچک‌تر و بالابرنده بزرگ‌تری داشت که هوای فشرده‌شده تزریق می‌شد. علاوه بر این، بافل‌ها از ویژگی‌های دیگر این راکتورها بودند که به‌نوبت به جلو و عقب سطح‌های بزرگ‌تر پانل متصل شده بودند.

سیرا[۷۳] و همکارانش در سال ۲۰۰۸م. راکتور زیستی نوری صفحه صاف با حجم ۲۵۰ لیتر (شکل ۳–۷) را ساختند [۱۵]. این راکتور زیستی نوری شامل کیسه‌های پلاستیکی یک‌بارمصرف U شکل است که بین دو قاب آهنی با فاصله ۰/۰۷ میلی متر از هم قرارگرفته‌اند. کیسه‌های پلاستیکی از پلی‌اتیلن ۰/۷۵ µm با شاخص شفافیت[۷۴] ۰/۹۵ در طیف فعال سنتز نوری ساخته شده‌اند. افشانک[۷۵] گاز (۲۰ میلی‌متر لوله پی‌وی‌سی با ۱ میلی‌متر سوراخ در هر ۳ سانتی‌متر) در پایین کیسه‌های پلاستیکی برای هوادهی از یک سو به سوی دیگر و یک مبدل حرارتی شامل ۴ لوله ۲ متری با قطر ۰/۲۰۵ متر از جنس استیل ضدزنگ، ۰/۵ متر بالاتر از افشانک گاز در کیسه برای کنترل دما قرار داده‌شده‌بود. پروب‌های اندازه‌گیری اکسیژن محلول، pH و دما در قسمت بالای راکتور زیستی نوری نصب شده است[۱۵].

[72] Degen
[73] Ciera
[74] Transparency index
[75] sparger



شکل ۳-۷- طرح کلی از راکتور زیستی‌نوری صفحه صاف سیرا و همکارانش (الف: چهارچوب، ب: طرح کلی از روش‌های هوادهی، مبدل حرارتی، ورودی و خروجی برداشت برای عملیات پیوسته در راکتور زیستی نوری) [۱۵]

برای طراحی راکتور زیستی نوری صفحه صاف سه عامل مهم در کشت ریزجلبک که عبارتند از: اختلاط، دما و نور را باید در نظر گرفت. در ادامه طراحی هر یک از این عوامل به‌صورت جداگانه توضیح داده شده است.

- دینامیک سیال و خصوصیات اختلاط

تأثیر سرعت جریان هوا بر انباشتگی گاز و ضریب انتقال جرم راکتور باید بررسی شود. انباشتگی کل گاز (ε)، اغلب با استفاده از روش انبساط حجم محاسبه می‌شود. ضریب انتقال جرم حجمی کل، K_La_L ، با استفاده از روش دینامیکی خارج کردن گاز انجام می‌شود[۱]. برای محاسبه K_La_L، ابتدا اکسیژن محلول در راکتور با تزریق کردن نیتروژن در راکتور، تا جایی که غلظت اکسیژن محلول نزدیک به صفر شود، جمع‌آوری می‌شود. غلظت اکسیژن محلول (C) در مقابل زمان (t) تا نزدیک به حالت اشباع ثبت می‌شود. برای روش شرح داده‌شده، معادله زیر به‌خوبی جواب می‌دهد [۱۶]:

$$\frac{dC_L}{dt} = K_L a_L (C^* - C_L) \qquad (۱-۳)$$

که با انتگرال‌گیری برای $C_L = C_0$ در $t=0$ به معادله‌ی زیر منجر می‌شود:

$$Ln\left(\frac{C^*-C_L}{C^*-C_0}\right) = -K_L a_L . t \qquad (۲-۳)$$

اگر سمت چپ معادله را بر اساس زمان رسم کنیم، $-K_L a_L$ به‌عنوان شیب به ما می‌دهد.

توان ورودی هوادهی در واحد حجم $\left(\frac{P_G}{V_L}\right)$ به‌عنوان تابعی از دانسیته مایع (ρ_l)، شتاب گرانشی زمین (g) و سرعت سطحی گاز[۷۶] (U_g) در محیط هوادهی، محاسبه می‌شود.

$$\frac{P_G}{V_L} = \rho_L g U_G \qquad (۳-۳)$$

اختلاط را به روش پالس- پاسخ[۷۷] که نیازمند جریان پیوسته مایع در راکتور است، می‌توان محاسبه کرد. برای این کار، یک پالس محلول قلیایی به‌عنوان ردیاب استفاده می‌شود که در ورودی راکتور تزریق و غلظت ردیاب در خروجی اندازه‌گیری می‌شود. این آزمایش با استفاده از آب مقطر و هوای بدون CO_2 برای جلوگیری از تأثیر و نفوذ بافر بی‌کربنات انجام و غلظت هیدروکسید $[OH^-]$ با استفاده از اندازه‌گیر pH در خروجی اندازه‌گیری می‌شود. تابع زمان اقامت در خروجی (E) و زمان بی‌بعد (θ_t) با دو معادله زیر قابل‌محاسبه است:

$$E = \frac{[OH^-]}{\frac{m_{OH}}{V}} \qquad \text{رابطه (۳-۴)}$$

$$\theta_t = \frac{t}{t_r} \qquad \text{رابطه (۳-۵)}$$

ازآنجاکه t زمان، m_{OH} جرم قلیای تزریقی و V حجم کاری راکتور است، زمان اقامت (t_r)، از داده‌های تجربی به‌دست می‌آید:

$$t_r = \frac{\int_0^\infty t[OH^-]dt}{\int_0^\infty [OH^-]dt} \qquad \text{رابطه (۳-۶)}$$

سازگاری داده‌ها همواره باید مورد آزمایش قرار گیرد، سپس برای هر آزمایش واریانس درون راکتور (σ^2)، که نشان‌دهنده درجه اختلاط است محاسبه شود [۱۶]:

$$\sigma^2 = \int \theta_t^2 E d\theta_t - 1 \qquad \text{رابطه (۳-۷)}$$

واریانس می‌تواند از مقدار صفر که نشان‌دهنده جریان ایده‌آل پلاگ است تا مقدار یک که نشان‌دهنده مخزن کاملاً مخلوط است، به‌دست آید که این اجازه شناسایی رفتار کلی روش را می‌دهد. برای روش‌های واقعی، مقادیر واریانس بالاتر از ۰/۲ مطابق با راکتورهای مخلوط شده در نظر گرفته می‌شود، درحالی‌که زیر این مقدار، رفتار جریان پلاگین قابل‌قبول است. ضریب پراکندگی (D_Z)، به کمک مقدار واریانس با روش نمونه پراکندگی و استفاده از محاسبات تکرارشونده به‌دست می‌آید [۱۶]

[76] superficial gas velocity
[77] Pulse-response method

$$\sigma^2 = 2Nd - 2Nd^2(1 - exp\left(\frac{-1}{Nd}\right)) \quad \text{رابطه (۳-۸)}$$

$$Dz = \frac{Q_L}{S}.L.Nd \quad \text{رابطه (۳-۹)}$$

که در آن Nd عدد گسترش بی‌بعد، $\mathrm{Q_L}$ دبی جریان مایع در راکتور، S مساحت سطح مقطع راکتور در مسیر جریان مایع و L طول کلی راکتور در مسیر جریان است. زمان اختلاط (t_{m})، با آزمایش پالس – پاسخ در حالت ناپیوسته محاسبه می‌شودکه به‌عنوان زمان موردنیاز برای دستیابی به ۵٪ انحراف از یکنواختی کامل بعد از تزریق یک پالس ردیاب در راکتور، محاسبه می‌شود. زمان اختلاط (t_{m})، شاخص مستقیم از ظرفیت اختلاط راکتور است و اجازه مقایسه بین زمان‌های مشخصه فرایند که در راکتور اتفاق می‌افتد را می‌دهد.

- انتقال حرارت

ضریب کلی انتقال حرارت برای مبدل حرارتی داخلی (انتقال حرارت از محیط کشت مایع به مایع گردشی در مبدل حرارتی) و برای سطح بیرونی در معرض هوا (تبادل حرارتی بین محیط کشت مایع و محیط اطراف) به‌صورت جداگانه باید تعیین‌شود. ازآنجاکه محیط اطراف سردتر از راکتور است، گرما در هوای اطراف تلف می‌شود. هنگامی‌که روش به حالت پایدار می‌رسد، ضریب انتقال حرارت کلی برای بخش‌های داخلی و خارجی راکتور با استفاده از تعادل یا موازنه‌ی گرمای زیر به‌دست می‌آید [۱۵]:

$$m_{water}.C_{P_{water}}.(T_{inlet} - T_{outlet}) = U_1 A_1 \frac{(T_{culture} - T_{inlet}) - (T_{culture} - T_{outlet})}{Ln\frac{(T_{culture} - T_{inlet})}{(T_{culture} - T_{outlet})}} \quad \text{رابطه (۳-۱۰)}$$

سمت چپ این معادله مربوط به جریان گرم در مبدل حرارتی و سمت راست، انتقال گرما به محیط کشت در راکتور است. ضریب انتقال حرارت کلی ($\mathrm{U_1}$)، طبق معادله ۱۰ به‌دست می‌آید که $\mathrm{m_{water}}$ جریان جرمی آب گرم در مبدل حرارتی است، $\mathrm{T_{inlet}}$ و $\mathrm{T_{outlet}}$ دما در ورودی و خروجی مبدل حرارتی، $\mathrm{T_{culture}}$ دمای مایع داخل راکتور و $\mathrm{A_1}$ مساحت خارجی مبدل حرارتی است.

ضریب کلی انتقال حرارت ($\mathrm{U_2}$) بین راکتور و هوای اطراف، با استفاده از معادله‌ی زیر قابل‌محاسبه است، در آن $\mathrm{T_{air}}$، دمای هوای اطراف راکتور و $\mathrm{A_2}$ مساحت راکتور در معرض هواست:

$$m_{water}.C_{P_{water}}(T_{inlet} - T_{outlet}) = U_2 A_2 (T_{culture} - T_{air}) \quad \text{رابطه (۳-۱۱)}$$

- تابش خورشید

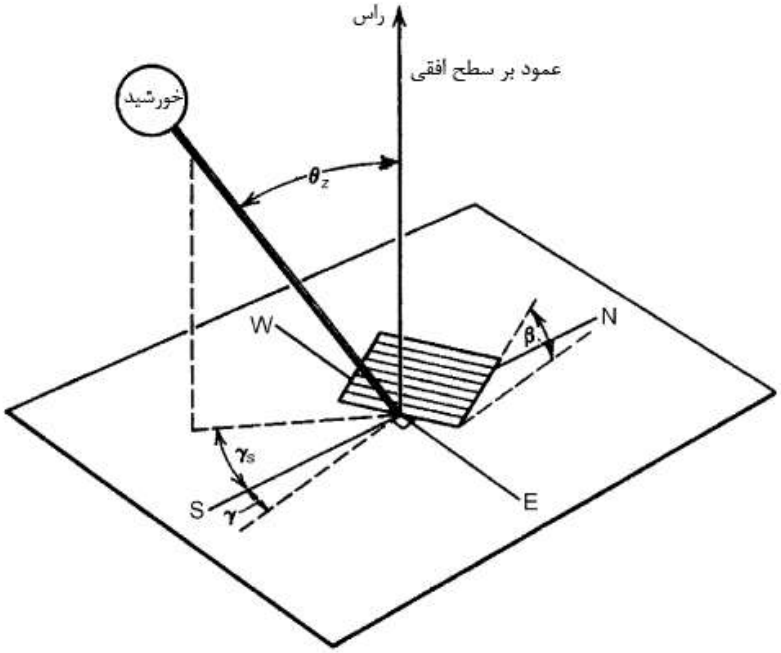
تابش خورشید بر سطوح راکتور زیستی نوری را می‌توان با حس‌گرهای مناسب اندازه‌گیری کرد. مقدار تابش بر سطوح در هر یک ساعت در طول دوره روشنایی روز را می‌توان اندازه‌گیری نمود که با یکپارچه‌سازی داده‌ها، کل تابش روزانه محاسبه می‌شود. اغلب، اندازه‌گیری‌هایی که در تاریخ‌های متفاوت و همیشه در روز روشن انجام می‌شود، برای تعیین تأثیر موقعیت سطح راکتور بر قطع‌کنندگی تابش کلی است.

علاوه بر اندازه‌گیری‌های تجربی، تخمین تابش خورشید بر سطح ثابت به‌عنوان تابعی از مکان و موقعیت، امکان‌پذیر است. شکل ۳–۸شکل ، خلاصه ملاحظات هندسی اصلی برای تخمین تابش خورشید بر سطح است. برای یک موقعیت ثابت از عرض جغرافیایی ($\emptyset$)، تابش جهانی روزانه (H_0)، به‌عنوان تابعی از روزی از سال n، انحراف (δ)، زاویه طلوع خورشید (W_S)، با روابط زیر داده می‌شود [۱۷]:

$$H_0 = \left(\frac{24}{\pi} I_{SC}\right)\left(1 + 0.033\ Cos\ \left(\frac{360n}{365}\right)\right) \times (Cos\emptyset.Cos\delta.SinW_s + \frac{2\pi W_S}{360} Sin\emptyset.Sin\delta)$$ رابطه (۳–۱۲)

$$\delta = 23.45\ Sin\ (360\frac{284+n}{365})$$ رابطه (۳–۱۳)

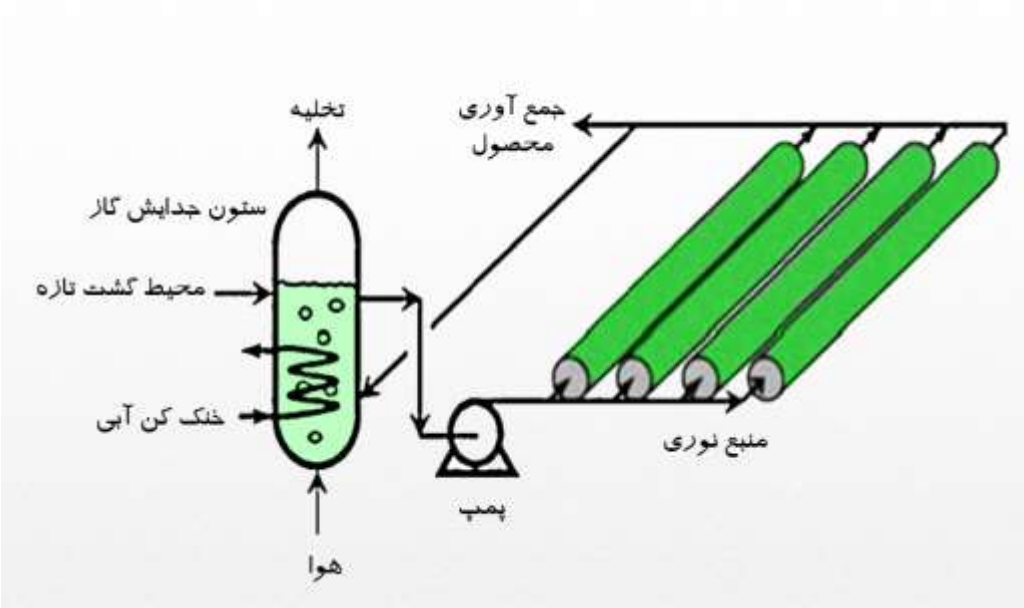
$$CosW_s = -tan\delta.tan\emptyset$$ رابطه (۳–۱۴)



شکل ۳–۸ محاسبه تابش خورشید به‌عنوان تابعی از زمان، موقعیت و محل سطح [۱۷]

۳–۳–۲–۵–راکتور زیستی نوری لوله‌ای افقی

راکتورهای لوله افقی به‌صورت افقی قرارداده می‌شوند که طراحی مجموعه موازی از لوله‌ها، حلقه شکل، α شکل، متمایل به شکل لوله‌ای یا راکتور لوله‌ای افقی را می‌دهند (شکل ۳–۹شکل). این شکل، با کشت در فضای بیرون و جهت‌گیری در جهت نور خورشید، بازده تبدیل نوری بالا را نتیجه می‌دهد.



شکل ۳-۹- طرح کلی از راکتور زیستی نوری لوله‌ای افقی. [۱۸].

اکسیژن تولیدشده در طول سنتز نوری باعث کاهش راندمان سنتز نوری می‌شود [۱۸]. روش‌های سازگار برای خنک‌کردن روش، پاشش آب روی سطح لوله‌ها، قراردادن واحد جمع‌آوری نور در داخل استخر آب با درجه حرارت کنترل شده و تنظیم دمای خوراک یا جریان بازچرخشی است. یکی از اشکال‌های عمده این نوع راکتور، مصرف بالای انرژی در حدود $2000\,\frac{\mathrm{w}}{\mathrm{m}^3}$ در مقایسه با مقدار $50\,\frac{\mathrm{w}}{\mathrm{m}^3}$ برای راکتورهای زیستی نوری ستون حبابی و صفحه صاف است. این انرژی ورودی بالا برای رسیدن به سرعت‌های بالای خطی مایع در حدود $20-50\,\frac{\mathrm{m}}{\mathrm{s}}$ برای دستیابی به شرایط آشفته با چرخه‌های نور/تاریکی کوتاه مناسب، لازم است [۱۹]. لوله‌ای مایل، شبیه به راکتور لوله‌ای افقی است، بااین‌حال چند درجه به سمت خورشید شیب دارد. این شیب کمک می‌کند که مهار نور مؤثرتر باشد. تولید حجمی و بازده سنتز نوری، بالاتر از راکتور صفحه صاف بود.

۳-۳-۲-۶-راکتور زیستی نوری لوله‌ای مارپیچ ایرلیفت

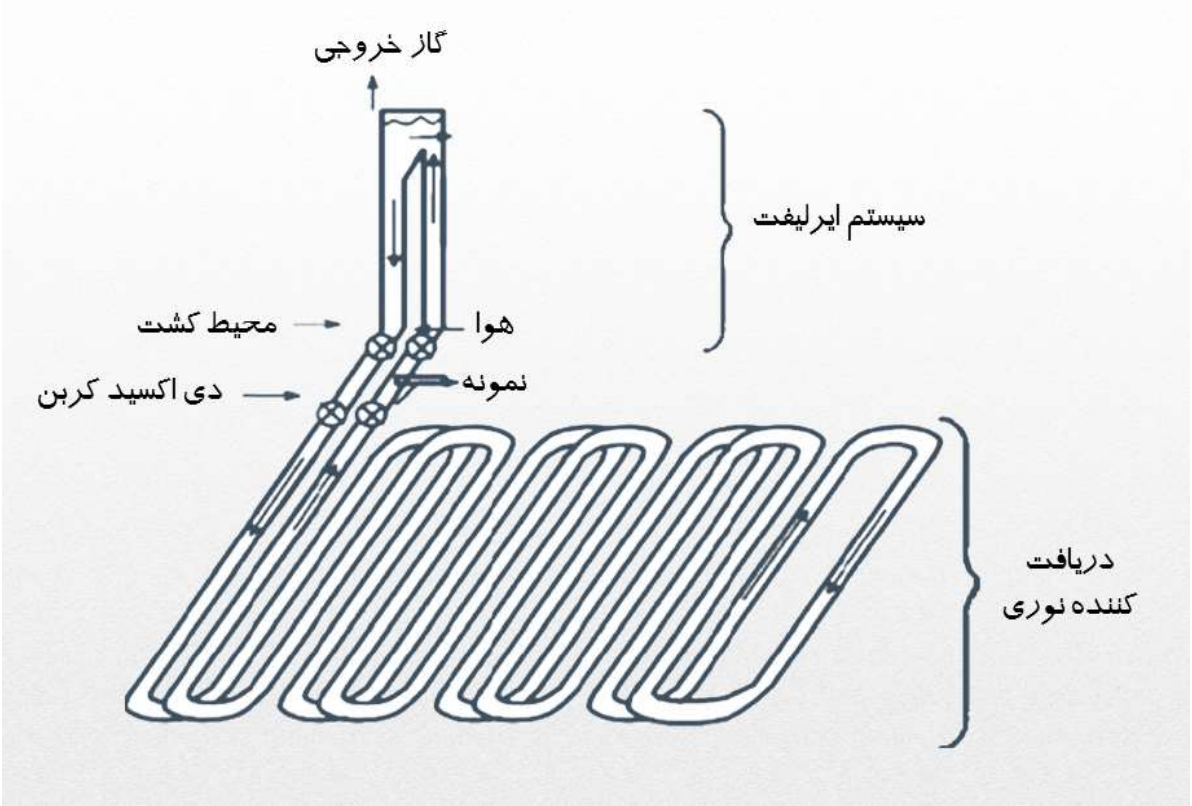
راکتورهای زیستی نوری لوله‌ای که در آن‌ها کشت به کمک دستگاه ایرلیفت گردش می‌کند، به چند دلیل جذاب هستند:

- گردش کشت بدون حرکت قطعات متحرک به‌دست می‌آید؛
- یک روش کشت قوی با پتانسیل کاهشی برای آلودگی را فراهم می‌کند؛
- از آسیب سلولی مرتبط با پمپ کردن مکانیکی اجتناب می‌شود؛
- دستگاه ایرلیفت ترکیبی از عملکرد یک پمپ و تبادل‌کننده گاز است که در آن اکسیژن تولیدشده با سنتز نوری، حذف می‌شود.

راکتور زیستی نوری نوع لوله‌ای مارپیچ متشکل از لوله‌ی شفاف و قابل‌انعطاف مارپیچی با قطر کوچک، با واحد گاز زدایی جدا یا متصل است. از یک پمپ هوا برای راندن کشت از طریق لوله بلند به واحد گاز زدایی استفاده می شود. بازده کشت به‌طور ویژه به طراحی بهینه‌ای که جریان لازم و تبادل گاز مناسب را فراهم کند، وابسته است. علاوه براین، هندسه راکتور زیستی نوری باید طوری باشد که جذب نور خورشید را حداکثر و سطح زمین اشغالی را حداقل نماید[۲۰]. مزیت این راکتور شامل لوله‌های بلند قرارداده شده در مساحت کمی از زمین، انتقال بهتر CO_2 از فاز گاز به فاز مایع به دلیل مسیر جذب طولانی CO_2 است. راکتور زیستی نوری، با توجه به توازن میان ورودی انرژی و بازده سنتز نوری مزیت بسیاری دارد. انرژی کمتر موردنیاز برای عملیات و تنش مکانیکی کمتر تحمیل‌شده به سلول‌های جلبک، از دیگر مزایای این راکتور است.

مولینا و همکارانش در سال ۲۰۰۱ روش طراحی یک راکتور زیستی نوری لوله‌ای ایرلیفت با جمع‌کننده خورشیدی[۷۸] (شکل ۳-۱۰) به‌طور مستمر در حال کار را شرح داده‌اند. تأثیر طول لوله، سرعت جریان، ارتفاع ستون ایرلیفت و پیکربندی هندسی گیرنده خورشیدی روی عامل‌های عملکردی مختلف موردبحث قرار گرفته است.

فرناندز و همکارانش از روش ایرلیفت ادغام‌شده با حلقه لوله‌ای خارجی قرارداده‌شده به‌صورت افقی در حوضچه ترموستاتیک آب استفاده کردند. راکتور حجم کلی ۲۰۰ لیتر داشت. ازیک سو، حلقه خارجی مانند واحد جمع‌آوری نور عمل می‌کند که نسبت مساحت سطح به حجم بالا را می‌دهد و دمای کشت را کنترل می‌کند، از سوی دیگر روش ایرلیفت به‌عنوان یک روش گاز زدا عمل می‌کند. مزیت این راکتور، کنترل بهتر بر متغیرهای کشت، امکان تولید بالاتر و کاهش مصرف برق است[۲۰].



شکل۳-۱۰: راکتور زیستی نوری لوله‌ای ایرلیفت با کالکتور خورشیدی. [۲۰]

[78]Solar Collector

ستون ایرلیفت، کشت را در طول لوله‌های جمع‌کننده نور خورشید که بیشتر سنتز نوری در آن‌ها اتفاق می‌افتد، به گردش در می‌آورد. اکسیژن تولیدشده در اثر سنتز نوری در محیط کشت تجمع می‌یابد تا زمانی که سیال به منطقه ایرلیفت بازمی‌گردد که در آن منطقه اکسیژن تجمع‌یافته حذف می‌شود. جداکننده گاز- مایع در قسمت فوقانی ستون ایرلیفت از چرخش حباب‌های گاز در گیرنده خورشیدی جلوگیری می‌کند. حلقه خورشیدی باید به شکلی کارا برای جمع‌آوری تابش خورشیدی، به حداقل رساندن مقاومت در برابر جریان و اشغال حداقل سطح زمین طراحی شود. علاوه بر این قطر لوله‌های گیرنده نور خورشید باید طوری انتخاب شود که حجم ناحیه تاریک حداقل باشد و تبادل سیال بین نواحی تاریک و روشن در حلقه خورشیدی باید به اندازه کافی سریع باشد که سیال به‌طور مداوم در ناحیه تاریک برای مدت طولانی اقامت نداشته باشد. عامل‌های موردنیاز برای طراحی راکتور زیستی نوری لوله‌ای ایرلیفت با جمع‌کننده‌ی نور خورشیدی، با تقسیم طراحی به دو بخش طراحی جمع‌کننده‌ی خورشیدی و ستون ایرلیفت در قسمت بعد بیان شده است.

۳-۳-۲-۶-۱. اصول طراحی جمع‌کننده نور خورشید

تولید زیست‌توده به‌طور عمده با میزان نور در دسترس کنترل می‌شود. در کشت پیوسته، نرخ خاص رشد زیست‌توده به متوسط تابش به لوله‌های گیرنده‌ی نور خورشید وابسته است. روابط مختلفی برای بیان این وابستگی ارائه شده است، یک رابطه مناسب به‌صورت زیر است[۲۰].

$$\mu = \frac{\mu_{max} I_{av}^n}{I_k^n + I_{av}^n}$$ رابطه (۳-۱۵)

که μ نرخ خاص رشد، μ_{max} مقدار حداکثر μ، I_{av} تابش متوسط درون راکتور، I_k ثابت وابسته به گونه‌ی جلبک و شرایط کشت و n یک توان تجربی است. هنگامی‌که نرخ خاص رشد مشخص باشد، تولید حجمی زیست‌توده به‌راحتی قابل‌محاسبه است:

$$P_{bv} = \mu C_b$$ رابطه (۳-۱۶)

که P_{bv} تولید حجمی و C_b غلظت زیست‌توده در جریان برداشتی پیوسته راکتور زیستی است. تولید فضایی (P_{ba}) با تولید حجمی (P_{bv}) با رابطه زیر در ارتباط است:

$$P_{ba} = P_{bv} \frac{\pi d_t}{4 n_t} = P_{bv}$$ رابطه (۳-۱۷)

n_t تعداد قطرهای لوله انفصال بین لوله‌ها، V حجم راکتور و A مساحت زمین اشغال‌شده توسط راکتور است.

محاسبه μ و تولید زیست‌توده، نیازمند اطلاعات کافی در مورد تابش متوسط I_{av} است. تابش متوسط با استفاده از اصول شناخته‌شده نجوم (برای ایجاد موقعیت مناسب راکتور زیستی نوری نسبت به خورشید)، مهندسی انرژی خورشیدی (به‌منظور تعیین شدت‌تابش) و روابط بییر لامبرت قابل ارزیابی است [۲۰]. تابش متوسط به درون محیط کشت با معادله زیر نشان داده شده است:

$$I_{av} = \frac{I_0}{\emptyset_{eq} K_a C_b} [1 - \exp(-\emptyset_{eq} K_a C_b)]$$ رابطه (۳-۱۸)

که K_a ضریب انهدام زیست‌توده، I_0 تابش بر سطح کشت، $\emptyset_{eq}$ طول مسیر نور از سطح تا هر نقطه در راکتور زیستی است. برای روش‌های لوله‌ای قراردادهشده در فضای آزاد، $\emptyset_{eq}$ با قطر لوله در ارتباط است که به‌صورت زیر بیان شده:

$$\emptyset_{eq} = \frac{d_t}{\cos\theta}$$ رابطه (۳-۱۹)

که d_t قطر لوله‌هاست. معادله ۱۸ غیر وابسته به میدان تابش در اطراف یک راکتور است و برای تمام هندسه‌ها معتبر است؛ بنابراین با آگاهی از عامل‌های کرنش جلبکی (به‌طور مثال μ_{max}، K_a، I_k و n) و استفاده از معادله‌ی ۱۵ تا ۱۹، تعیین تولید زیست‌توده برای هر ترکیب تابش خارجی و قطر لوله جمع‌کننده نور خورشید امکان‌پذیر است.

برای شرایط ثابت غیر این، آرایش هند سی لوله‌های جمع‌کننده نور خور شیدی نیز، تابش بر سطح لوله‌ها را تعیین می‌کند زیرا سایه متقابل با لوله‌ها، چگونگی چیدمان بر مساحت سطح را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. یک حلقه دولایه (شکل ۳-۱۰شکل) که توسط *تورزیلو* و همکارانش در سال ۱۹۹۳م. استفاده شده است، حداکثر بهره‌وری استفاده از زمین را می‌دهد. مجموعه پایین‌تر لوله‌ها همگی قابل‌مشاهده هستند. علاوه براین، در طراحی این اطمینان باید حاصل شود که جریان در لوله‌های خور شیدی به صورت متلاطم با شد (باید حداقل عدد رینولدز بیش از ۳۰۰۰ با شد) به‌طوری‌که سلول‌ها در فضای تاریک لوله راکد نباشند. روش‌هایی برای اندازه‌گیری اندازه میکروادی‌ها در جریان آشفته به‌خوبی شناخته شده است. نیاز به کنترل سایز ادی، یکی دیگر از محدودیت‌ها در طراحی جمع‌کننده نور خورشیدی است که با میزان سنتز نوری، سرعت مایع در لوله، حد بالایی قابل‌قبول غلظت اکسیژن محلول تحمیل شده است:

حداکثر طول لوله (L_d) در روش پیوسته، محدودشده که برابر است با:

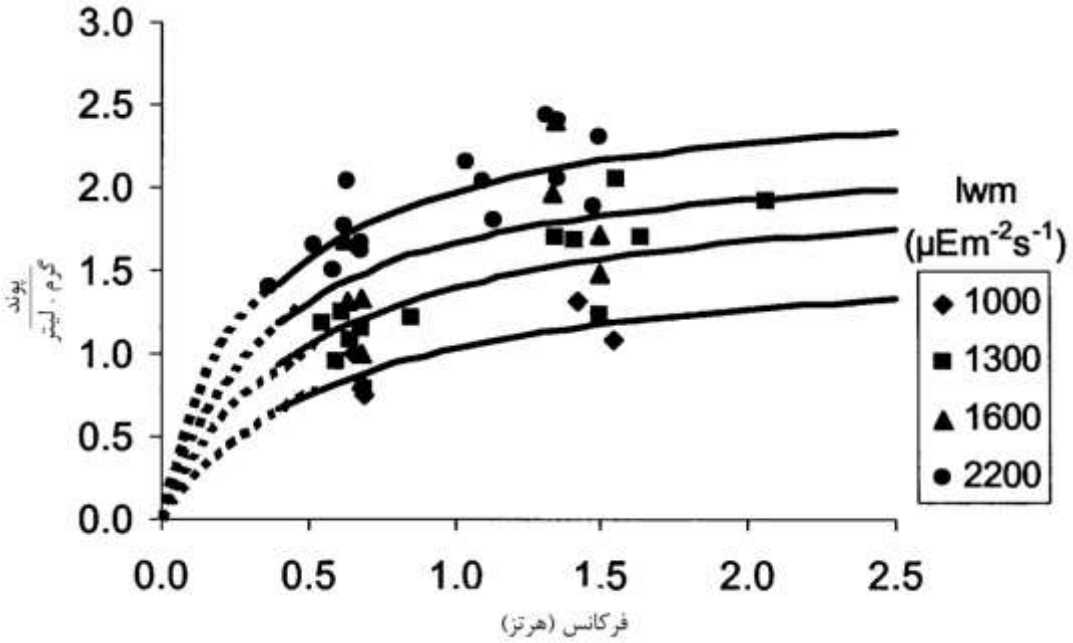
$$L_d = \frac{U_L([O_2]_{out}-[O_2]_{in})}{R_{O_2}}$$ رابطه (۳-۲۰)

که در آن U_L حداکثر سرعت مجاز کشت با در نظر گرفتن ملاحظات آسیب سلولی هست. در معادله‌ی ۲۰، غلظت اکسیژن در ورودی لوله خورشیدی به‌طورکلی برابر مقدار اشباع، هنگامی‌که سیال در تعادل با اتمسفر است. غلظت در خروجی $[O_2]_{out}$، حداکثر مقدار قابل قبول که از سنتز نوری جلوگیری نمی‌کند، است. R_{O_2}، دبی حجمی اکسیژن تولیدی با سنتز نوری در لوله‌هاست[۲۰].

۳-۳-۲-۶-۲. ملاحظات افزایش مقباس راکتور زیستی نوری

برای اهداف عملی، افزایش مقیاس یک راکتور زیستی نوری نیازمند افزایش مقیاس گیرنده‌ی خورشیدی و دستگاه ایرلیفت است. مقیاس‌گذاری دستگاه ایرلیفت به‌عنوان یک محدودیت برای مقیاس‌گذاری راکتور زیستی نوری با هر اندازه مطرح نشده است، اما محدودیت برای مقیاس‌گذاری حلقه خورشیدی در روش پیوسته وجود دارد[۱۹]. حلقه خورشیدی بخش تولیدی راکتور زیستی نوری است. در اصل، حجم حلقه ممکن است با افزایش قطر و طول لوله، افزایش یابد. در عمل، تنها قطر لوله ممکن است متغیر باشد، اما حداکثر طول لوله محدود است (معادله ۳-۲۰). هرگونه تغییر در قطر لوله، یک تغییر در حجم نسبی نواحی تاریک و روشن می‌دهد. در شرایط داده‌شده (تابش خورشید، غلظت زیست‌توده و محتوای رنگ‌دانه)، عمق که با افزایش آن شدت نور کاهش می‌یابد و یک عامل محدودکننده رشد است، تحت تأثیر قطر لوله نیست، اما عمق ناحیه تاریک افزایش خواهد یافت. تولید راکتور در مقیاس‌گذاری روبه وخامت می‌رود مگر اینکه بسامد تبادل نور/تاریکی ثابت نگه داشته شود. شواهد حاکی از این است که حداقل مقدار قابل‌قبول بسامد دوره روشنایی/تاریکی کشت *P.tricornutum* در حدود $1s^{-1}$ است و مقادیر پایین‌تر بسامد، بهره‌وری کشت را کاهش می‌دهد، همان‌طور که در شکل ۳-۱۱شکل برای

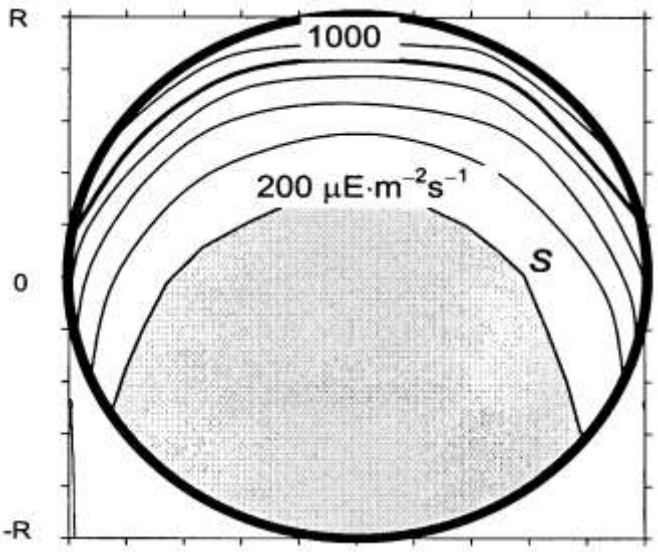
مقادیر مختلف متوسط تابش نشان داده شده است. بنابراین قطر لوله خورشیدی باید طوری طراحی شود که در حداکثر سرعت مجاز در لوله، بسامد دوره به زیر $1s^{-1}$ کاهش نیابد.



شکل۳-۱۱: تغییرات تولید حجمی زیست‌توده با بسامد چرخه نور/تاریکی و تابش متوسط خارجی. [۱۹]

زمان دوره نور/تاریکی در داخل محیط کشت، توزیع نور و سرعتی که سلول‌ها در داخل راکتور دارند، نیاز به تعیین دارد. حجم نوری کشت (حجمی که محدودیت نور ندارد) ممکن است با محاسبه نمایه نور در لوله همان‌طور که در شکل ۳-۱۲شکل نشان داده شده است، به‌دست آید [۱۸] حجم تاریک (کل حجم منهای حجم نوری) به همین‌روش انتخاب می‌شود. کل حجم تاریک کشت باید به منطقه نورانی در یک زمان کوتاه، حرکت کند. دبی حجمی سیال جابجا شده از ناحیه تاریک (Q_R) به‌صورت زیر بیان می‌شود:

$$Q_R = \frac{dark\ zone\ volume}{t_d}$$ رابطه (۳-۳۱)



شکل ۳-۱۲. نمایه‌های تابش درون لوله جمع‌کننده نور خورشیدی در ظهر و برای نرخ رقیق‌سازی $0.04h^{-1}$ و قطر لوله $0.06\ m$ [۱۸].

که در آن t_{d} مقدار حداکثر قابل‌قبول دوره تاریکی بین دوره‌های نوری متوالی است. مقدار Q_{R} در معادله‌ی ۱۷ بر پایه طول واحد لوله است. ازآنجاکه تمام سیال خارج‌شده از منطقه تاریکی باید از طریق مرز بین نواحی نور و تاریکی عبور کند، سرعت تبادل سیال (U_R) را می‌توان به‌صورت زیر تعریف نمود:

$$U_R = \frac{Q_R}{s}$$ رابطه (۳-۳۲)

که S، طول مرز بین دو ناحیه است (شکل ۳-۱۲شکل).

برای اطمینان از عملکرد یکسان در دو مقیاس، زمان چرخه نور/تاریکی t_{c}، یعنی مجموع زمان سپری‌شده توسط سلول‌ها در نواحی روشنایی و تاریکی در دو مقیاس باید ثابت نگه داشته شود. به این معنا که $\mathrm{t_c = t_d + t_f}$ باید ثابت نگه داشته شود که t_{f} و t_{d} به ترتیب زمان‌ها در نواحی روشن و تاریک هستند. دوره‌های روشنایی (t_f) و تاریکی (t_d) با بسامد چرخه محاسبه می‌شوند و برابر است با $\frac{1}{\mathrm{t_f+t_d}}$. همان‌طور که قبلاً اشاره شد، برای یک سطح شناخته‌شده از تابش خارجی، غلظت زیست‌توده و ضریب جذب زیست‌توده، کسر حجم کشت $\emptyset$ که نورانی شده (کسر حجمی نورانی شده) را می‌توان از نمایه نور محاسبه نمود: $\emptyset = \frac{\mathrm{V_f}}{\mathrm{V}_f+\mathrm{V_d}}$.

اگر فرض کنیم که حجم V_{f} با دوره فلش t_{f} و حجم تاریکی V_{d} با دوره تاریکی t_{d} متناسب باشد، زمان چرخه t_{c} را می‌توان بر اساس $\emptyset$ به‌صورت زیر بیان نمود:

$$t_c = t_d(\frac{1}{1-\emptyset})$$ رابطه (۳-۳۳)

به‌این‌ترتیب، بسامد v به‌صورت زیر است:

$$v = \frac{1-\emptyset}{t_d}$$ رابطه (۳-۳۴)

برای اطمینان از عملکرد یکسان در دو مقیاس، بسامد چرخه نور/تاریکی باید یکسان باشد. با استفاده از این معادله‌ها، سرعت تبادل نور/تاریکی در مقیاس بزرگ *(URL)* و در مقیاس کوچک *(URS)* ممکن ا ست طبق معادله ۳۵ به عامل مقیاس f وابسته باشد [۱]

$$U_{\mathrm{RL}} = \frac{\mathrm{f}}{\alpha}\mathrm{U}_{\mathrm{RS}}$$ رابطه (۳-۳۵)

عامل f را به‌سادگی می‌توان به‌صورت نسبت قطر لوله‌ها در مقیاس بزرگ و کوچک بیان نمود. عامل α در معادله‌ی ۳۵ وابسته به مقادیر $\emptyset$ در دو مقیاس دارد، بنابراین داریم:

$$\alpha = \frac{1-\emptyset_L}{1-\emptyset_s}$$ رابطه (۳-۳۶)

سرعت تبادل U_{R} به‌عنوان مؤلفه نوسانی سرعت حالت پایدار در جریان متلاطم تخمین زده شده است[۲۱]:

$$U_R = 0.2(\frac{U_L^7 \mu}{d_t \rho})^{\frac{1}{8}}$$ رابطه (۳-۳۷)

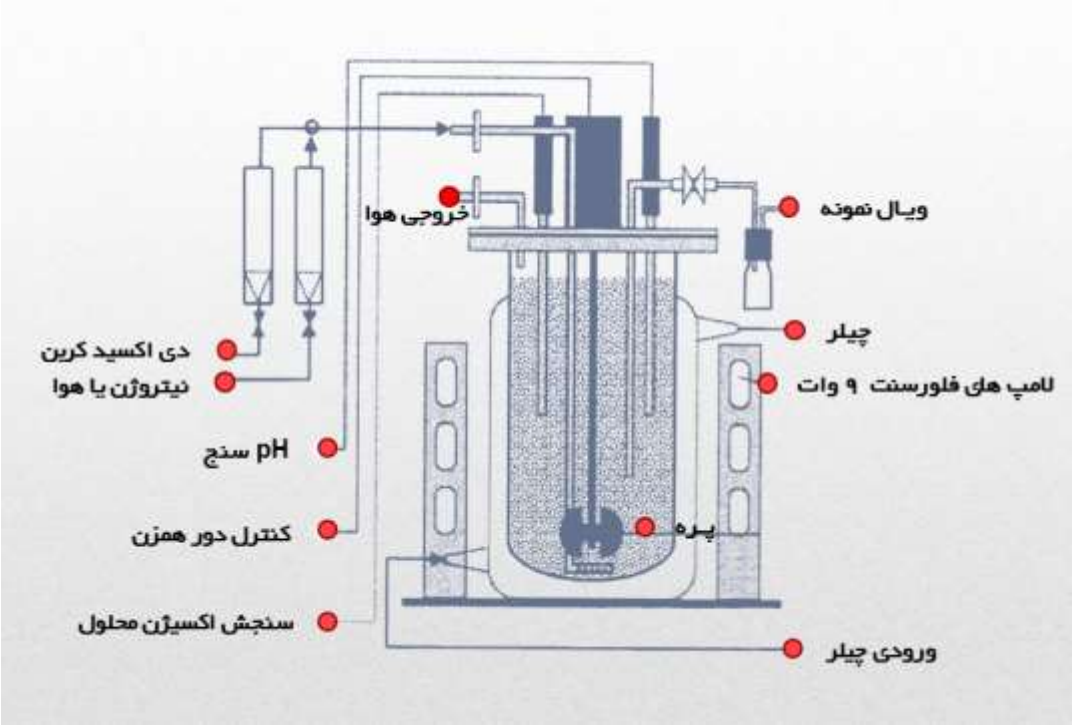
که اجازه محاسبه سرعت شعاعی U_{R} در هسته آشفته به‌عنوان تابعی از سرعت ظاهری مایع (U_L)، قطر لوله (d_t)، دانسیته (ρ) و ویسکوزیته (μ) محیط کشت را می‌دهد. مقیاس‌گذاری، خواستار سرعت‌های خطی جریان در دو مقیاس طبق معادله زیر است:

$$U_{LL} = \frac{f^{\frac{9}{7}}}{\alpha^{\frac{8}{7}}} U_{LS}$$ رابطه (۳-۳۸)

۳-۳-۲-۷-راکتور زیستی نوری مخزنی همزن‌دار[۷۹]

راکتور مخزنی همزن‌دار بسیار رایج است که در آن تلاطم به‌صورت مکانیکی به کمک همزن با اندازه و شکل‌های مختلف انجام می‌شود. بافل‌ها به‌منظور کاهش گردابه استفاده می‌شوند (شکل ۳-۱۳). هوای غنی‌شده از CO_2 در پایین برای فراهم کردن منبع کربن در رشد جلبک به‌صورت حباب در آمده است. این نوع از راکتور زیستی به راکتور زیستی نوری در خارج نوردهی شده به‌وسیله‌ی لامپ‌های فلورسنت یا الیاف‌های نوری تبدیل شده است، اما نقطه‌ضعف اصلی این روش، نسبت پایین مساحت سطح به حجم آن است که به نوبه خود باعث کاهش بازده جمع‌آوری نور می‌شود. استفاده از الیاف‌های نوری نیز مدنظر قرار گرفته است، اما استفاده از الیاف‌های نوری برای نوردهی معایبی دارد، زیرا خود مانعی در الگوی اختلاط است. منطقه رهایی بزرگ، گاز پخش‌شده مصرف نشده و اکسیژن تولیدشده در طول سنتز نوری از مایع گازی به فاز گاز را جدا می‌کند [۴].

[79] Stired tank photobioreactor



شکل۳-۱۳: راکتور زیستی نوری مخزنی همزن‌دار. [۴].

۳-۳-۲-۸-پیشرفت‌های اخیر درزمینهٔ راکتورهای زیستی نوری

راکتور زیستی نوری لوله‌ای- مارپیچی (شکل ۳-۱۴شکل) توسط بریاسولیس و همکارانش برای تولید کنترل‌شده پیوسته گونه *نانوکلروپسیس*[۸۰] طراحی شده است. مزیت‌های این راکتور زیستی نوری عبارتند از: ترکیب نسبت‌های بالای حجم کشت به مساحت سطح در کنار عمق نفوذ نوری بهینه‌شده، کنترل آسان دما و آلاینده‌ها، توزیع مؤثر هوای تازه و دی‌اکسید کربن، انتقال بهتر CO_2 در طول سطح واسط بین هوای تازه، محیط کشت مایع و حس‌گر خودکار جریان که غلظت سلولی را به‌صورت پیوسته نشان می‌دهد. حس‌گر جدید کاملاً خودکار جریان به‌کاررفته در این راکتور زیستی نوری؛ غلظت سلولی را به‌صورت پیوسته نشان می‌دهد که محرک یک روش برداشت کاملاً خودکار است. داده‌های اندازه‌گیری شده بهره‌وری چگالی سلولی و تخمین‌زده‌شده بهره‌وری حجمی در بازه $1.1-3.03 gl^{-1}day^{-1}$ بود؛ که بالاترین مقدار گزارش‌شده بهره‌وری برای گونه‌ی نانوکلورپسیس در مقاله‌های منتشر شده است.

[80] *Nanochloropsis*



شکل۳-۱۴: راکتور زیستی نوری لوله‌ای- مارپیچی طراحی‌شده توسط بریاسولیس و همکارانش.

هینرارید و همکارانش پتانسیل کشت نیمه‌پیوسته گونه‌های سیانوبیوم در راکتور زیستی لوله‌ای بسته را با ترکیب عامل‌هایی مانند غلظت مخلوط، نرخ تجدید و غلظت بی‌کربنات سدیم مورد ارزیابی قراردادند، کشت در راکتور زیستی نوری لوله‌ای عمودی با حجم ۲ لیتر، در ۳۰ درجه سانتی‌گراد و با دوره تاریکی/روشنایی ۱۲ ساعت انجام شده است. بیشینه نرخ رشد $0.127d^{-1}$ گزارش شده است، زمانی که کشت، غلظت مخلوط $1gL^{-1}$، نرخ تجدید ۵۰٪ و غلظت بی‌کربنات سدیم $1gL^{-1}$ بوده است. مقادیر بیشینه بهره‌وری ($0.07gL^{-1}day^{-1}$) و تعداد چرخه‌ها (۱۰) در غلظت مخلوط $1gL^{-1}$، نرخ تجدید ۳۰٪ و غلظت بی‌کربنات سدیم $1gL^{-1}$ به‌دست آمده است.

جانسن و همکارانش رژیم نور، بازده سنتز نوری، مقیاس‌گذاری و چشم‌انداز آینده راکتورهای زیستی نوری محصور در فضای باز را مطالعه کردند. در این مطالعه نشان داده شده است که بهره‌وری راکتورهای زیستی نوری با رژیم نور در راکتورهای‌زیستی تعیین می‌شود. علاوه بر رژیم نور، تجمع اکسیژن و تنش، بهره‌وری در طراحی‌های خاص را محدود می‌کند. در این تحقیق برای روش‌های با مسیر نورانی کوتاه، بالاترین راندمان ۱۰ تا ۲۰٪ براساس تابش فعال سنتز نوری (PAR 400-700 nm) در غلظت‌های بالای توده جرمی -بیشتر از ۵ کیلوگرم (وزن خشک) بر مترمکعب- گزارش شده است.

۳-۴- مقایسه بین روش‌های باز و بسته کشت ریزجلبک

در جدول ۳-۱جدول عامل‌های مختلفی در راکتورهای زیستی نوری، استخرها و حوضچه‌های باز مورد بررسی و محاسبه قرار گرفته است:

جدول۳-۱: مقایسه بین روش‌های بازکشت و راکتورهای زیستی نوری.

عامل	حوضچه‌های باز یا نهرها	راکتورهای زیستی نوری
فضای موردنیاز	زیاد	تنها برای خود راکتور زیستی نوری، کم است
اتلاف آب	بسیار بالا، همچنین ممکن است باعث رسوب نمک شود	پایین
اتلاف دی‌اکسیدکربن	بالا (بستگی به عمق حوضچه دارد)	پایین
غلظت اکسیژن	به دلیل خروج خودبه‌خودی پیوسته گاز، اغلب به اندازه کافی پایین است	انباشتگی در روش راکتور زیستی نیازمند دستگاه‌های تبادل گازاست (اکسیژن برای این که سنتز نوری را کاهش ندهد و جلوگیری از خطر اکسیداسیون، باید حذف شود)
دما	بسیار متغیر است، گاهی کنترل از طریق عمق حوضچه امکان‌پذیراست	خنک کردن اغلب نیاز است (به‌وسیله‌ی پاشش آب روی راکتور زیستی یا فروبردن لوله‌ها در حمام خنک‌کننده)
تنش	اغلب پایین است (اختلاط ملایم)	اغلب بالاست (جریان‌های متلاطم و سریع برای اختلاط خوب نیاز است، پمپاژ در طول دستگاه‌های تبادل گاز نیاز است)
تمیز کردن	بدون مشکل	نیاز دارد (رشد نزدیک دیواره سبب کاهش شدت نور می‌شود)، اما باعث سایش و طول عمر راکتور زیستی نوری می‌شود
خطر آلودگی	بالا (تعداد گونه‌هایی که می‌توانند رشد کنند را محدود می‌کند)	پایین (متوسط به پایین)
کیفیت زیست‌گاز	متغیر	بالا
غلظت زیست‌توده	پایین (بین ۰,۱ تا ۰,۵ گرم بر لیتر)	بالا (اغلب ۰,۵ تا ۸ گرم بر لیتر)
انعطاف‌پذیری تولید	فقط برای چندگونه امکان‌پذیراست، از طرفی در آن تغییر سخت است	زیاد، تغییر در آن امکان‌پذیر است
کنترل فرایند و تکرارپذیری	محدود (سرعت جریان، اختلاط و دما)	با یک تلورانس امکان‌پذیر است
وابستگی به آب‌وهوا	زیاد (شدت نور، دما و بارندگی)	متوسط (شدت نور، نیاز به خنک‌کننده)

راه‌اندازی	۶ تا ۸ هفته	۲ تا ۴ هفته
هزینه‌های سرمایه‌گذاری	بالا (تقریباً ۱۰۰۰۰۰ دلار در هر هکتار)	خیلی بالا – تقریباً ۲۵۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰۰ دلار در هر هکتار (راکتور زیستی نوری به‌علاوه پشتیبان‌ها)
هزینه‌های عملیاتی	پایین (چرخ پارویی و دی‌اکسیدکربن اضافه‌شده)	بالا (دی اکسیدکربن اضافه‌شده، اکسیژن حذف‌شده، خنک و تمیز کردن روش، نگهداری)
هزینه برداشت	بالا، وابسته به گونه‌هاست.	با توجه به غلظت بالای زیست‌توده و کنترل بهتر بر گونه‌ها و شرایط، پایین‌تر است
کاربردهای تجاری کنونی	تقریباً ۵۰۰۰ تن در سال	محدود به فرایندهای با ترکیبات با ارزش‌افزوده بالا یا جلبک‌های مورداستفاده در مواد غذایی و لوازم‌آرایشی

۳-۴-۲- خصوصیات مهم در طراحی راکتور زیستی‌نوری

طراحی یک راکتور زیستی نوری مناسب برای تولید اقتصادی جلبک‌ها بسیار دارای اهمیت است. راکتورهای زیستی نوری برای تولید بهینه باید خصوصیات زیر را داشته باشند:

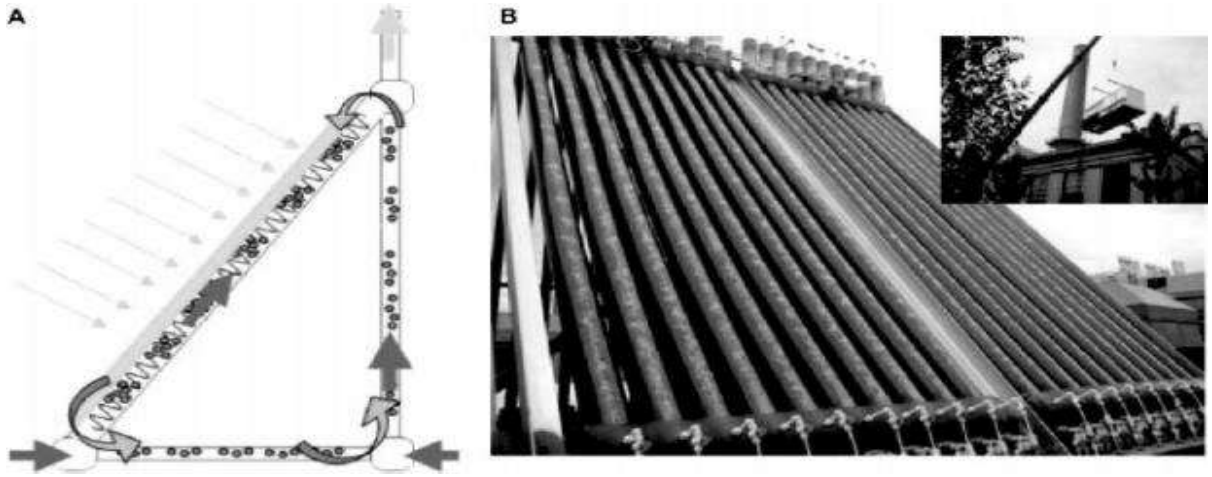
- سطح جذب نوربالایی داشته باشند، افزایش سطح مستقیم باعث افزایش تولید می‌شود؛
- به صورت مناسب هوادهی شود، این عمل دی اکسید کربن فرایند سنتز نوری را تأمین می‌کند. هر چه میزان دی اکسید کربن محلول در آب افزایش یابد میزان تولید توده‌ی زنده افزایش می‌یابد؛
- اکسیژن تولیدشده در فرایند سنتز نوری از داخل محیط کشت جلبک خارج شود و تا حد امکان از تجمع و افزایش میزان اکسیژن در راکتور جلوگیری شود. افزایش اکسیژن باعث انجام فرایندی به نام تنفس نوری می‌شود که بازده سنتز نوری را به‌شدت کاهش می‌دهد؛
- دمای راکتور زیستی نوری باید قابل تنظیم باشد و از افزایش زیاد دما در فصل‌های گرم و کاهش زیاد دما در فصل‌های سرد سال جلوگیری به عمل آید؛
- داخل راکتور باید همیشه جریان‌های گردشی آب وجود داشته باشد. این جریان‌ها به سمت مرکز و سطوح بیرونی راکتور باعث جابه‌جایی جلبک‌ها بین محیط تاریک (اعماق راکتور) و روشن (سطح تحت تابش نور راکتور) می‌شود. این حرکت‌ها باعث افزایش توان سنتز نوری جلبک و هم خوردن محلول و یکنواخت شدن غلظت مواد و دما در داخل راکتور می‌شود؛
- چسبندگی، تجمع و ته‌نشینی جلبک‌ها در راکتور باعث از دور خارج شدن این جلبک‌ها و مشکلات بعدی می‌شود که باید از آن جلوگیری شود؛
- ارزان‌قیمت و قابل‌اجرا در سطوح زیاد باشد و در هر زمین و شرایطی قابل بهره‌برداری باشد.

۳-۴-۳- مقایسه راکتورهای زیستی نوری

مزیت عمده راکتور زیستی ستون حبابی، هزینه‌های سرمایه‌گذاری پایین، نسبت بالای مساحت سطح به حجم، عدم وجود قطعات متحرک، انتقال رضایت‌بخش جرم و حرارت، رهاسازی کارآمد O_2 و مخلوط گاز باقی‌مانده است. راکتورهای‌زیستی اصلاح شده صفحه صاف، بالاترین تولید در شرایط نوری بیش‌ازحد اشباع را گزارش کرده‌اند. تولید انبوه حجمی، ۱/۷ برابر بزرگ‌تر از راکتور ستون حبابی مشابه بود. شکل راکتور زیستی لوله‌ای افقی کشت در فضای بیرون، برای جهت‌گیری به سمت نور و درنتیجه بازده بالای تبدیل نور سودمند است. همچنین بازده سنتز نوری و تولید حجمی این راکتور نسبت به راکتور زیستی صفحه صاف، بالاتر بود. راکتور زیستی نوری لوله‌ای مارپیچی ایرلیفت مزایایی بیشتر از دیگر راکتورهای‌زیستی به دلیل نیاز به زمین کمتر، انتقال بهتر CO_2 از فاز گاز به فاز مایع و جذب نور و بازه سنتز نوری بالا دارد، اما عیب عمده این راکتور رسوب‌گیری داخل راکتور و انرژی لازم برای پمپ سانتریفیوژ در گردش کشت و تنش برشی مربوط که استفاده تجاری از آن را محدود می‌کنند، است.

۳-۴-۴-مقیاس‌پذیری راکتورهای بسته

در بررسی‌های سیرا و همکارانش، راکتورهای‌زیستی‌نوری صفحه صاف و لوله‌ای تا بیش از ۱۰۰۰ لیتر مقیاس‌گذاری شده‌اند؛ اما راکتورهای عمودی محدود به اندازه بهینه ۱۲۵ لیتر شده‌اند. نمونه‌های محدودی از کاربردهای در مقیاس بزرگ راکتورهای ایرلیف وجود دارد. نواکویچ و همکارانش، طراحی و بهره‌برداری از یک واحد در مقیاس آزمایشگاهی مثلثی ایرلیف که با استفاده از گاز دودکش خوراک‌دهی می‌شد را توضیح داده‌اند. واحد شامل ۳۰ راکتور ایرلیف با حجم هرکدام ۳۰ لیتر بود. این روش روی سقف نیروگاه تولید برق در مؤسسه فناوری ماساچوست نصب و در شرایط واقعی مورد آزمایش قرار گرفته است. شکل ۳-۱۵، تصاویری از ساختار این راکتور ایرلیف مثلثی را نشان می‌دهد.



شکل ۳-۱۵: ساختار راکتور ایرلیف مورب لوله‌ای. [۱۹]

راکتورهای لوله‌ای با افزایش طول یا قطر لوله‌ها می‌توانند مقیاس‌گذاری شوند که هر دو روش با چالش‌های فنی روبه‌رو هستند. افزایش در طول لوله به غلظت‌های غیرقابل‌قبول اکسیژن محلول در طول لوله‌ها منجر می‌شود. در مقابل، افزایش قطر لوله می‌تواند نسبت به افزایش طول لوله امیدوارکننده‌تر باشد؛ البته درصورتی‌که کل کشت به‌خوبی نوردهی شود. بااین‌حال، یکی از مشکلات اصلی افزایش قطر لوله، لایه‌بندی شدن نور است [۱۹] . چیستی در مورد مقیاس‌گذاری راکتورهای لوله‌ای خوش‌بین بوده و ادعا کرده است که تنها راکتورهای لوله‌ای و استخرهای نهری برای تولید در مقیاس بزرگ مناسب هستند [۱۱].

تاکنون درباره راکتورهای زیستی نوری بسته در مقیاس تجاری به‌طور گسترده در مقاله‌های علمی گزارشی بیان نشده است. برای اولین‌بار روش‌های بسته در مقیاس تجاری در ژاپن، آلمان و رژیم صهیونیستی به‌کار گرفته شدند. جانسن و همکارانش مدعی ساخت بزرگ‌ترین نمونه روش راکتورهای بسته در سال ۲۰۰۳م. شدند. روش تولید لوله‌ای ۷۰۰ مترمکعبی در کلن آلمان (متشکل از ۲۰ واحد جدای ۳۵ مترمکعبی) برپاشده است. کلرلا ولگاریس به‌صورت مکانیکی از طریق لوله‌های شیشه‌ای افقی با قطر ۴ سانتی‌متر و ۲۵۰۰۰ متر طول در هر واحد پمپ می‌گشت. نویسندگان بهره‌وری تخمینی ۱۵۰ تن زیست‌توده در سال را گزارش کرده‌اند. شکل ۱۶ تأسیسات کلن را نشان می‌دهد.



شکل ۳-۱۶: تأسیسات راکتور زیستی نوری در مقیاس تجاری در کلن آلمان.

۳-۴-۵- اقتصاد راکتورهای بسته

مزیت‌های برجسته روش‌های بسته، کنترل بیشتر عامل‌های طراحی و رشد مناسب سلول به‌عنوان تنها محصول‌نهایی است. بااین‌حال، درحال‌حاضر؛ اقتصاد مشکل اصلی روش‌های بسته است. بین سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۴، $100\$/m^2$ برآورد هزینه‌های سرمایه‌گذاری راکتور زیستی‌نوری با در نظر گرفتن کاهش قابل‌توجه این مقدار طی سال‌های بعد به دلیل پیشرفت فناوری، در مقاله‌ها بوده است. در یک بررسی که توسط شینک[۸۱] و همکارانش انجام‌شده، بیان شده است که هزینه‌های راکتور

[81] Sheink

نباید بیشتر از $15\$/m^2$ بر اساس هزینه‌های انرژی و تولیدها در سال ۲۰۰۸ باشد. برآورد هزینه‌های راه‌اندازی راکتورهای بسته به‌طورکلی ۱۰ برابر بیشتر از هزینه‌های استخرهای باز است.

در بررسی چیستی[۸۲]، مقایسه بین هزینه‌های تولیدی تأسیسات فرضی که ۱۰۰۰۰۰ کیلوگرم زیست‌توده در سال با استفاده از راکتور زیستی نوری یا استخر نهری تولید شود، انجام شد. چیستی، هزینه‌های برآورد شده تولیدی را برای راکتورهای بسته و استخرهای باز به ترتیب $2.95\$/kg$ و $3.8\$/kg$ به ازای هر کیلوگرم زیست‌توده بیان کرده است [۱]. براساس یک طرح مقیاس‌گذاری ۱۰۰۰۰ تن زیست‌توده تولیدی در سال، هزینه‌های برآورد شده تولیدی $0.47\$ و $0.6\$ به ازای هر کیلوگرم زیست‌توده به ترتیب برای راکتورهای بسته و استخرهای باز بودند. البته در این تجزیه‌وتحلیل هزینه‌های سرمایه‌گذاری در نظر گرفته نشده است، اما همان‌طور که انتظار می‌رود هزینه‌های تولید در روش‌های بسته پایین‌تر است. با توجه به ملاحظات اقتصادی، بسیاری از محققان به این نتیجه رسیده‌اند که راکتورهای بسته تنها می‌تواند برای تولید محصولات با ارزش‌بالا مورداستفاده قرار گیرد [۱].

۳-۴-۶-ترکیب روش‌های باز و بسته

برخی از محققان بر این باورند که ترکیب روش‌های باز و بسته، بهترین و مؤثرترین ساختار برای رشد جلبک است. محققان دیگر روش تولید در مقیاس تجاری دومرحله‌ای که به‌صورت پیوسته از دسامبر ۱۹۹۷ تا سپتامبر ۲۰۰۱ فعالیت می‌کرد را توصیف کرده‌اند. این روش که در هاوایی برپاشده بود؛ از راکتورهای زیستی نوری بسته ۲۵۰۰۰ لیتری و استخرهای باز ۵۰۰۰۰ لیتری با ظرفیت کل بیشتر از ۶۰۰۰۰۰ لیتر که به‌صورت مساوی بین راکتورهای زیستی نوری و استخرها تقسیم شده بود، تشکیل شده است. در پایان سال عملیاتی، بهره‌وری متوسط فضایی $10.2g/m^2.day$ به دست آمده که منطبق با بازده سنتز نوری ۳٪ است. فرایند دومرحله‌ای، با رشد در راکتور بسته در مقیاس صنعتی شروع شد. محیط کاملاً کنترل‌شده در این مرحله سبب حداکثر رشد شده است. سپس، جلبک با انتقال به استخرهای باز در معرض کمبود مواد غذایی قرار گرفته است. درنهایت، تنش سبب افزایش محتوای چربی هر سلول می‌شود. هنگامی‌که از طرح راکتور ترکیبی برای کشت جلبک استفاده می‌شود، باید زمان اقامت جلبک در استخر باز حداقل باشد، زیرا در معرض خطرآلودگی هستند.

روش ترکیبی نیز با اشکالاتی مواجه است. هزینه‌های سرمایه‌گذاری و عملیاتی راکتور در مقیاس صنعتی بسته و استخر باز در مقیاس صنعتی به میزان قابل‌توجهی بیشتر از هزینه‌های یک راکتور است. همچنین برای روش ترکیبی زمین اشغال‌شده به‌مراتب بیشتر است که نتیجه کاهش بهره‌وری در واحد سطح است.

۳-۵- جمع بندی:

با توجه به اینکه بین سیستم های کشت باز و بسته در جدول ۳-۱ مقایسه کامل صورت گرفت و مشخص گردید که سیستم های کشت بسته مناسب تر هستند در قسمت جمع بندی معیار های موجود برای انتخاب بین سیستم های کشت بسته را مرور می کنیم. معیارهای حاکم جهت انتخاب سیستم کشت مناسب جهت تولید انبوه میکوجلبک و سیمان زیستی برای ساخت بتن خود ترمیم شامل موارد زیر است:

[82] Chesti

۱- سادگی و عدم پیچیدگی راکتور انتخابی: از آنجایکه در مقیاس بزرگ می بایست تولید بیومس و سیمان بیولوژیک در محل ساخت بتن انجام شود لذا نوع بیوراکتور انتخابی باید ساده و قابل پیاده سازی در هر محلی باشد.
۲- قابل حمل بودن فوبیوراکتور: راکتور انتخابی باید پرتابل بوده تا در هر مکانی که لازم به تولید سیمان زیستی بود امکان جابجایی وجود داشته باشد حتی مناطق صعب العبور
۳- جنس بنده بیوراکتور از مواد ساده و ارزان قیمت با شد که در زمان جابجای ها در صورت آ سیب به راکتور هزینه مالی زیادی تحمیل نشود مثل کیسه های پلاستیکی
۴- قیمت تمام شده فوتوبیوراکتور معیار بعدی بوده که در صورت رعایت موارد قبلی این مورد نیز د ست یافتنی خواهد شد
۵- بیشترین میزان نفوذ نور در راکتور و عدم کدر شدن بدنه در طول زمان معیار بعدی انتخاب است
۶- بیشترین میزان انتقال جرم (انتقال دی اکسید کربن) به داخل راکتور معیار نهایی انتخاب است

لذا با توجه به موارد ذکر شده از سیستم کشت راکتور نوری ایرلیفت دار استفاده خواهیم کرد که بدنه اصلی بیوراکتور از پلاستیک می باشد که ضمن کاهش هزینه، بیشترین میزان نفوذ نور را در مقایسه با مواد دیگر مثل پلکسی گلاس دارد و همچنین به راحتی قابل حمل بوده و در هر مکانی قابلیت اجراء دارد. این بیوراکتور مجهز به یک سیستم پمپ ایرلیفت می باشد که باعث به حداکثر رسیدن انتقال جرم و تلاطم در داخل راکتور می گردد. همچنین سیستم کشت اتوتروف[۸۳] نیز با توجه به اینکه کم هزینه ترین سیستم کشت می باشد انتخاب گردید

مراجع

[1] Y. Chisti, "Biodiesel from microalgae," *Biotechnology advances*, vol. 25, pp. 294-306, 2007.
[2] B. Wang, C. Q. Lan, and M. Horsman, "Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses," *Biotechnology advances*, vol. 30, pp. 904-912, 2012.
[3] C. Posten, "Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae," *Engineering in Life Sciences*, vol. 9, pp. 165-177, 2009.
[4] K. Kumar, C. N. Dasgupta, B. Nayak, P. Lindblad, and D. Das, "Development of suitable photobioreactors for CO2 sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria," *Bioresource Technology*, vol. 102, pp. 4945-4953, 2011.
[5] P. M. Doran, *Bioprocess Engineering Principles*: Elsevier Science, 1995.
[6] M. Janssen, J. Tramper, L. R. Mur, and R. H. Wijffels, "Enclosed outdoor photobioreactors: Light regime, photosynthetic efficiency, scale-up, and future prospects," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 81, pp. 193-210, 2003.
[7] M. J. Barbosa, M. Janssen, N. Ham, J. Tramper, and R. H. Wijffels, "Microalgae cultivation in air-lift reactors: Modeling biomass yield and growth rate as a function of mixing frequency," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 82, pp. 170-179, 2003.
[8] K. Loubière, E. Olivo, G. Bougaran, J. Pruvost, R. Robert, and J. Legrand, "A new photobioreactor for continuous microalgal production in hatcheries based on external-loop airlift and swirling flow," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 102, pp. 132-147, 2009.
[9] M. J. Barbosa, J. W. Zijffers, A. Nisworo, W. Vaes, J. van Schoonhoven, and R. H. Wijffels, "Optimization of biomass, vitamins, and carotenoid yield on light energy in a flat-

[83] Autotroph

panel reactor using the A-stat technique," *Biotechnology and Bioengineering,* vol. 89, pp. 233-242, 2005.

[10] K. Zhang, S. Miyachi, and N. Kurano, "Evaluation of a vertical flat-plate photobioreactor for outdoor biomass production and carbon dioxide bio-fixation: effects of reactor dimensions, irradiation and cell concentration on the biomass productivity and irradiation utilization efficiency," *Applied Microbiology and Biotechnology,* vol. 55, pp. 428-433, 2001/05/01 2001.

[11] M. Iqbal, D. Grey, F. Stepan-Sarkissian, and M. W. Fowler, "A flat-sided photobioreactor for culturing microalgae," *Aquacultural Engineering,* vol. 12, pp. 183-190, 1993.

[12] M. R. Tredici and G. C. Zittelli, "Efficiency of sunlight utilization: Tubular versus flat photobioreactors," *Biotechnology and Bioengineering,* vol. 57, pp. 187-197, 1998.

[13] K. Zhang, N. Kurano, and S. Miyachi, "Optimized aeration by carbon dioxide gas for microalgal production and mass transfer characterization in a vertical flat-plate photobioreactor," *Bioprocess and Biosystems Engineering,* vol. 25, pp. 97-101, 2002/06/01 2002.

[14] J. Degen, A. Uebele, A. Retze, U. Schmid-Staiger, and W. Trösch, "A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect," *Journal of Biotechnology,* vol. 92, pp. 89-94, 2001.

[15] E. Sierra, F. G. Acién, J. M. Fernández, J. L. García, C. González, and E. Molina, "Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae," *Chemical Engineering Journal,* vol. 138, pp. 136-147, 2008.

[16] O. Levenspiel, *The chemical reactor omnibook*: Distributed by OSU Book Stores, 1989.

[17] B. Y. H. Liu and R. C. Jordan, "The interrelationship and characteristic distribution of direct, diffuse and total solar radiation," *Solar Energy,* vol. 4, pp. 1-19, 1960.

[18] A. Prokop, M. F. Quinn, M. Fekri, M. Murad, and S. A. Ahmed, "Spectral shifting by dyes to enhance algae growth," *Biotechnology and Bioengineering,* vol. 26, pp. 1313-1322, 1984.

[19] M. H. Spalding, "Microalgal carbon-dioxide-concentrating mechanisms: Chlamydomonas inorganic carbon transporters," *Journal of experimental botany,* vol. 59, pp. 1463-1473, 2008.

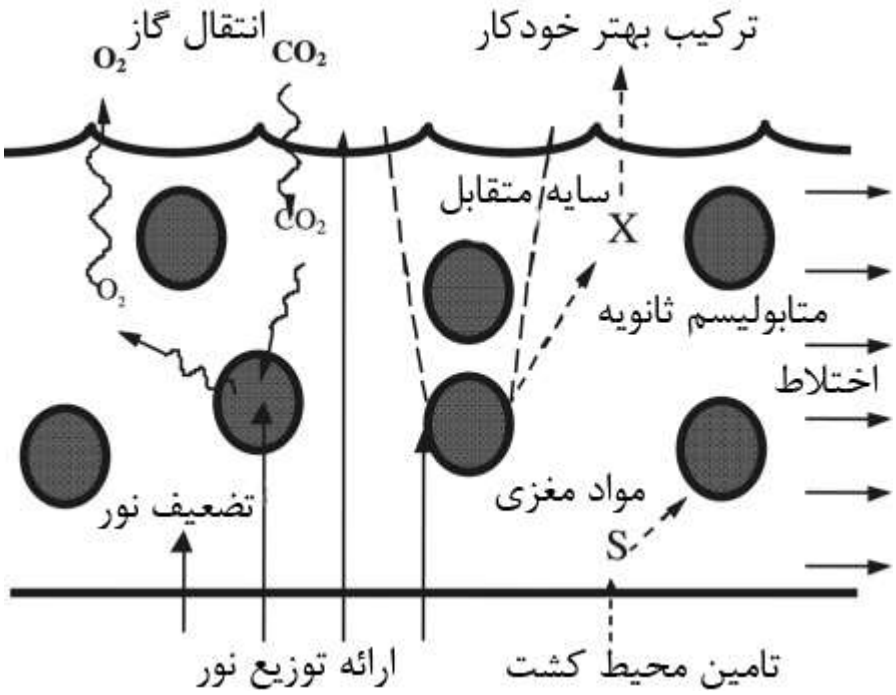
[20] E. Molina, F. G. Acién Fernández, F. García Camacho, F. Camacho Rubio, and Y. Chisti, "Scale-up of tubular photobioreactors," *Journal of Applied Phycology,* vol. 12, pp. 355-368, 2000/10/01 2000.

[21] J. Simmer, V. Tichý, and J. Doucha, "What kind of lamp for the cultivation of algae?," *Journal of Applied Phycology,* vol. 6, pp. 309-313, 1994/06/01 1994.

فصل چهارم :عوامل مؤثر بر رشد ریزجلبک‌ها

۴-۱- مقدمه

میزان مواد موجود در ریزجلبک‌ها و سرعت رشد آن‌ها از عوامل مختلفی تاثیر می شوند. بدیهی است افزایش میزان رشد آن‌ها راندمان تولید را افزایش خواهد داد. دراین‌بین عوامل مختلفی بر میزان رشد ریزجلبک‌ها تأثیرگذارند. این عوامل به‌طورکلی به دو بخش فیزیکی و شیمیایی تقسیم می شوند. مهم‌ترین عامل‌ها در کشت جلبک عبارتند از: منبع تغذیه نور (دریافت و توزیع)، دی‌اکسیدکربن، حذف اکسیژن، منبع تغذیه مناسب، اختلاط و کنترل عامل‌های محیطی (دما، pH و شوری) و مواد مغذی موردنیاز برای رشد. هر یک از این پارامترها به صورت جداگانه در ادامه بررسی شده است [۱]. رابطه متقابل بین خصوصیات جلبک و عامل‌های طراحی راکتور زیستی نوری باید با تصور محیط کوچک کشت جلبک در نظر گرفته شود که طرح کلی آن در شکل ۴-۱ شکل نشان داده شده است. هنگامی‌که کشت جلبک خاص برای تولید تجاری مدنظر است، عامل‌های زیر باید در نظر گرفته شود: چرخه زندگی جلبک‌ها، میزان رشد، پایداری ژنتیکی، نیاز تغذیه‌ای و تحمل تنش برشی.



شکل۴-۱: نمایش طرح کلی از عامل‌های مؤثر بر عملکرد سوخت‌وساز و رشد جلبک [۱].

۴-۲- عوامل شیمیایی مؤثر در رشد ریزجلبک‌ها

برای رشد اتوتروف ریزجلبک‌ها تأمین بیش از سی عنصر ضروری است [۲]. ارگانیسم‌های فتوتروفیک با استفاده از انرژی‌های نوری بیشتر مواد مغذی موردنیاز خود را از ترکیبات غیرآلی به‌دست می‌آورند. مهم‌ترین مواد مغذی مؤثر بر رشد ریزجلبک‌ها عبارتند از نیتروژن، فسفر و کربن. البته به آهن و در برخی گونه‌ها سیلیس نیز نیاز است. هرگونه ریزجلبکی

نیازمندی‌های اختصاصی خود را به مواد مغذی مختلف برای داشتن بهترین رشد دارد. دسترسی زیستی هرگونه به این مواد متفاوت است. برای مثال فسفر ازنظر زیستی به‌آسانی در دسترس قرار نمی‌گیرد و با بسیاری از یون‌های فلزی مخلوط تشکیل می‌دهد، درنتیجه باید مقادیر بیشتری از آن به محیط کشت افزوده شود. محدودیت مواد مغذی در محیط کشت روی نرخ رشد و ترکیبات تشکیل‌دهنده سلول‌های ریزجلبکی تأثیر می‌گذارد[۳، ۴].

- کربن

دی‌اکسیدکربن هوا بسیار کم است. به‌هرحال افزایش دی‌اکسیدکربن حل‌شده در آب محیط کشت جلبک‌ها، باعث افزایش زیادی در رشد آن‌ها می‌شود. دی‌اکسیدکربن (بی‌کربنات (جوش‌شیرین) بعد از حل شدن در محیط کشت) منبع کربن برای سلول‌های در حال رشد است. حتی زمانی که اختلاط شدید کشت فراهم شده است، نفوذ دی‌اکسیدکربن از هوا به آب برای جایگزین شدن با دی‌اکسیدکربن که توسط جلبک در حال رشد جذب‌شده، کند و آهسته است [۵]؛ بنابراین کشت جلبک در راکتورهای‌زیستی نوری با کمبود دی‌اکسیدکربن روبه‌روست و CO_2 اضافی برای اطمینان از رشد رضایت‌بخش جلبک، باید فراهم شود. راکتورهای‌زیستی‌نوری بسته به شرایط به یک منبع مداوم از کربن غیرآلی محلول برای فراهم‌کردن منبع کربن سلول‌های در حال رشد جلبک نیاز دارند. کربن غیر آلی موردنیاز اغلب به شکل حباب‌های مخلوط گازی غنی از دی‌اکسیدکربن در محیط کشت تأمین می‌شود. گاز CO_2 ممکن است گران باشد- حتی اگر از احتراق سوخت‌های فسیلی به دست آمده باشد- به همین دلیل یک روش پاششی کارآمد و به دنبال آن الگوی اختلاط مناسب، که حباب‌ها را تا زمانی که همگی در درون محیط کشت توسط ریز جلبک جذب شوند ، نیاز است. سرعت انحلال دی‌اکسیدکربن‌گازی به زمان تماس حباب‌ها با محیط کشت، اندازه حباب‌ها و میزان اشباع‌پذیری محیط کشت از دی‌اکسیدکربن، دما و فشار راکتور بستگی دارد. بی‌کربنات سدیم و نمک مشابه آن نیز می‌توانند به‌عنوان منبع کربن جایگزین مورداستفاده قرار گیرند، اما نمک‌ها اغلب هزینه‌شان بیش از سه برابر هزینه CO_2 گازی در هر واحد کربن است [۵].

دی‌اکسیدکربن موردنیاز کشت براساس محاسبه میزان محتوای کربن زیست‌توده اندازه‌گیری می‌شود. محتوای کربن زیست‌توده از ۴۵٪ برای جلبک با کربوهیدرات بالا تا بالاتر از ۸۰٪ برای سلول‌های غنی از روغن است. براین‌اساس، میزان CO_2 موردنیاز جلبک، $1.85\frac{gCO_2}{g\ biomass}$ یا بیشتر است. برای‌نمونه برای نرخ رشد $\mu = 1\frac{\text{g}}{\text{g.d}}$ در غلظت زیست‌توده $1\frac{g}{\text{L}}$، دی‌اکسیدکربن موردنیاز $1.85\frac{g}{L.d}$ است. این میزان دی‌اکسیدکربن به‌طور مداوم به راکتور تغذیه می‌شود و این اغلب با حباب‌سازی[۸۴] گاز غنی از CO_2 انجام می‌شود [۶، ۷].

برای داشتن میزان بالایی از تولید اتوتروفیک، تأمین منابع کافی CO_2 و HCO_3^- مهم‌ترین مسئله است. برخلاف گیاهان خشکی، CO_2 اتمسفری قادر نیست نیازمندی کربن مدل‌های تولید اتوتروفی جلبک را به‌ویژه در مقیاس‌های وسیع تأمین کند. مدل $CO_2 - H_2CO_3 - HCO_3^- - CO_3^{2-}$ مهم‌ترین بافر موجود در آب‌های شیرین است و بهترین وسیله برای کنترل و حفظ مقادیر خاصی از pH اپتیمم در رشد گونه‌هایی است که به مقدار انبوه کشت داده می‌شوند [۸]. مدل بافری بی‌کربنات – کربنات می‌تواند از طریق واکنش‌های زیر CO_2 را برای سنتز نوری فراهم کند:

$$2HCO_3^- \leftrightarrow CO_3^{2-} + H_2O + CO_2$$
$$HCO_3^- \leftrightarrow CO_2 + OH^-$$

[84] bubbling

$CO_3^{2-} + H_2O \leftrightarrow CO_2 + 2OH^-$

این واکنش‌ها نشان می‌دهند که در طول تثبیت سنتز نوری CO_2، تجمع OH^- در محیط کشت افزایش‌یافته و با رشد جلبک باعث افزایش تدریجی pH محیط می شود؛ بنابراین غیرطبیعی نیست که در مدل‌های تولید انبوه جلبک که با یک منبع اضافی CO_2 تغذیه نمی‌شوند، افزایش شدید pH حتی تا ۱۱ مشاهده می‌شود. کنترل ثبات pH با تزریق مستقیم CO_2 به درون محیط کشت بهترین و راحت‌ترین روش کنترل pH و تأمین‌کننده CO_2 موردنیاز برای افزایش بازده در کشت‌های جلبکی انبوه است. این روش همچنین برای تهیه محیط‌های غنی از HCO_3^- مثلاً برای رشد *اسپیرولینا* نیز مناسب است. البته برای گونه‌های خاصی می‌توان کربن موردنیاز را از گلوکز، اسیدها و الکل‌ها به‌منظور رشد میکسوتروفی[85] (رشد میکسو تروف یعنی ریزجلبک در زمان حضور مواد آلی در محیط کشت از آنها به عنوان منبع کربن استفاده می کند و در عدم حضور مواد آلی بصورت اتوتروف از دی اکسید کربن استفاده می نماید) تأمین نمود. برای مثال از منبع اسیداستیک می‌توان برای کنترل pH چنین کشت‌هایی نیز استفاده کرد[۹]. هیو و گائو[86] گزارش کردند محتوای چربی در گونه *نانوکلروپسیس*[87] وقتی در غلظت CO_2 ۰/۲۸٪ رشد می‌کند مقدار بیشتری را نسبت به رشد در غلظت ۰/۰۳۵٪ شامل می‌شود[۱۰]. هسوئه[88] و همکارانش گزارش کردند زمانی که مقدار دی‌اکسیدکربن از مقدار موجود آن در هوا (CO_2 ۰/۰۴٪) بیشتر شده و نزدیک ۸٪ برسد هم وزن سلول و هم محتوای چربی در *نانوکلروپسیس اوکولتا*[89] افزایش می‌یابد اما اگر مقدار غلظت CO_2 به ۱۰٪ برسد هردوی آن ها کاهش خواهند یافت[۱۱] . اگر چه کلرلا در بازه ۵٪- ۲٪ از دی‌اکسیدکربن دارای مقدار بیشتری چربی است [۱۲]، البته محاسبه شده است که کلرلا در مقدار ۱٪ از دی‌اکسید کربن دارای بیشترین سرعت در تثبیت CO_2 است [۱۳]. نظر به اینکه مقدار CO_2 موجود در گازهای خروجی از دودکش‌ها ۲۰٪- ۱۰٪ است؛ بنابراین گزینه خوبی برای آزمون رشد *کلرلا* با غلظت بالای CO_2 است. تفاوت محیط کشت اصلی ریزجلبک و محیط کشت مایه تلقیح در تریس‌بیس (نمک های معدنی که به مقدار بسیار کم به محیط اضافه می شود) است. تریس‌بیس به علت خاصیت بافری باعث ثابت ماندن pH محیط خواهد شد. بنابراین با توجه به تزریق دی‌اکسید کربن نیازی به اضافه کردن این ماده در محیط کشت اصلی ریزجلبک نخواهد بود. با اضافه کردن ریزجلبک از محیط کشت مایه تلقیح به محیط کشت اصلی ریزجلبک، پس از دو روز با هماهنگ شدن ریزجلبک با محیط کشت جدید و وارد شدن آن به فاز لگاریتمی، دی‌اکسید کربن را به‌عنوان منبع کربن تزریق می‌کنند. زیرا ریزجلبک‌ها با وارد شدن به فاز لگاریتمی و رشد بیشتر، با افزایش pH محیط روبه‌رو می‌شوند و برای تنظیم pH محیط از دی‌اکسیدکربن استفاده می‌شود.

- نیتروژن

پس از کربن، نیتروژن مهم‌ترین ماده غذایی مؤثر در تولید زیست‌توده است. محتوای نیتروژن زیست‌توده می‌تواند در دامنه‌ای بین ۱٪ تا بیش از ۱۰٪ قرار داشته باشد. این میزان نه‌تنها بین گونه‌های مختلف بلکه حتی بین سویه‌های مختلف یک گونه بسته به منبع و مواد در دسترس تغییر می‌کند. در بسیاری از موارد نسبت بین مقدار نیتروژن و کربن در

[85] Mixotrophic
[86] Hu and Gao
[87] *Nannochloropsis* sp.
[88] Hsueh
[89] *Nannochloropsis oculta*

محیط کشـــت از اهمیت بالایی برخوردار اســـت. به‌عنوان‌مثال، محدود کردن میزان نیتروژن، به تولید متابولیت‌هایی مانند اسیدهای چرب غیراشباع و پلی‌ساکاریدهای ویژه‌ای می‌انجامد. پاسخ معمول جلبک‌ها به فقر نیتروژن، بی‌رنگ شدن سلول‌ها (به‌دلیل کاهش کلروفیل‌ها و افزایش کارتنوئیدها) و تجمع ترکیبات آلی کربنی مانند پلی‌ساکاریدها و روغن‌های خاص است. نیتروژن بی شتر به فرم نیترات (NO_3^-) تأمین می شود، ولی گاهی آمونیوم (NH_4^+) و اوره نیز ا ستفاده می شود که میزان ر شد م شابهی برای همه گزارش شده ا ست. با اینکه ترکیبات آلی نیتروژنی متنوعی تو سط ریزجلبک‌ها موردا ستفاده قرار می‌گیرند، ولی نیتروژن آمونیومی ترجیح داده می‌شـــود. تجمع NO_3^- یا NH_4^+ به pH محیط کشـــت بســـتگی دارد. هنگامی‌که NH_4^+ به‌عنوان تنها منبع نیتروژن استفاده شود، ممکن است pH در طول رشد فعال به میزان قابل‌توجهی افت کند که علت آزاد شدن یون‌های H^+ است. هنگامی‌که نیترات تنها منبع نیتروژن باشد، pH افزایش می‌یابد. یک عامل مهم در انتخاب منبع نیتروژن حذف آمونیوم به‌دلیل فراربودن به‌ویژه در pH بالا از محیط کشـــت می‌باشـــد. اینکه ازنظر انرژی کدام‌یک از این منابع برای ر شد انبوه جلبکی منا سب‌تر ه ستند، هنوز م شخص نی ست و میزان تولید در هر دو منبع م شابه ا ست. برخی سیانوباکتری‌ها قادر به ا ستفاده از نیتروژن عن صری از طریق احیای N_2 به NH_4^+، فرایندی که به‌و سیله‌ی آنزیم نیتروژناز کاتالیز می‌شود، هستند[۲]. مسئله مهم در زیست‌فنّاوری جلبک‌ها برای دستیابی به بازده بالا این است که از تأمین مقادیر کافی این ماده غذایی مهم اطمینان حا صل شود. درواقع محیط‌های ک شت به نحوی تهیه می شوند که چنین مواد غذایی بیش‌ازاندازه در دســترس باشــند تا هرگز به‌عنوان عامل محدودکننده رشــد عمل نکنند. باوجوداین برای مقاصــد خاص و به‌طور هدفمند می‌توان غلظت‌های محدودکننده‌ای از آن را در اختیار جلبک قرارداد؛ به‌عنوان‌نمونه برای حداکثر سنتز کاروتن[۹۰] در *دونالیلا* به‌منظور تولید بتا – کاروتن [۱۴]، یا کربوهیدرات و چربی‌های خاص در بسیاری از جلبک‌ها [۱۵] یا اسیدهای چرب غیراشباع با چندین پیوند دوگانه در جلبک‌هایی که رشد میکسوتروفی دارند مانند جلبک *کلرلا* [۲]. آیلمن[۹۱] و همکارانش در سال ۲۰۰۰ م شاهده کردند که محتوای چربی (۴۰٪) *کلرلا ولگاریس* در مقدار پایین نیتروژن تقریباً دو برابر مقدار آن در محیط کشت شاهد (۱۸٪) بود [۱۶]. رودولفی[۹۲] و همکارانش در سال ۲۰۰۹ دریافتند که کمبود نیتروژن می‌تواند باعث تحریک انبا شتگی در چربی شود، اما حا صلخیزی زی ست‌توده را کاهش خواهد داد[۱۷]. اغلب، مقدار نیتروژن کمتر از ۵ mM نیاز ریزجلبک را برطرف نمی‌کند. در بازه بین ۲۰-۳ mM $NaNO_3$، لی[۹۳] و همکارانش بیشـــترین بازده حاصـلخیزی چربی را در مقدار ۵ mM $NaNO_3$ و بیشـترین مقدار محتوای چربی را در ۳ mM $NaNO_3$ به‌دسـت آوردند. افزایش محتوای چربی در اثر فقدان نیتروژن را به بازداری تقســیمات ســلولی ریزجلبک توســط نیتروژن به‌وســیله تنش‌های محیطی نیز من سوب می‌کنند[۱۸]. این ن شان‌دهنده آن ا ست که در حالت کلی انبا شتگی چربی به همراه نیتروژن محدودیت سرعت رشد و به دنبال آن حاصلخیزی پایین چربی را خواهد داشت.

- فسفر

فسفر برای ر شد و بسیاری از فرایندهای سلولی مانند انتقال انرژی، بیو سنتز ا سیدهای نوکلئیک، DNA و غیره لازم است. جلبک‌ها قادرند مقادیر اضافی فسفر را به شکل گرانول‌های پلی فسفاته در طول مرحله‌ای از رشد که به‌اصطلاح

[90] Carotene
[91] Illman
[92] Rodolfi
[93] Li

مرحله مصرف لوکس (تزئینی[۹۴]) نامیده می شود، ذخیره کنند. این گرانول‌ها در شرایطی که منابع خارجی فسفر کم شوند، مورداستفاده قرار می‌گیرند. منبع فسفر بر ترکیبات زیست‌توده تولیدشده نیز تأثیر می‌گذارد؛ به‌ویژه محتوای چربی و کربوهیدرات‌ها تحت‌تأثیر منابع خارجی و درونی فسفر قرار می‌گیرند. البته نسبت N:P نیز عامل مهمی است، نه‌تنها به‌دلیل تعیین‌کننده پتانسیل تولید بودن، بلکه به‌خاطر اهمیتی که در تعیین و حفظ غالب گونه‌های مطلوب در کشت دارد [۲].

- اکسیژن

افزایش غلظت‌های اکسیژن در محیط کشت که طی فرایند سنتز نوری تولید می شوند، یک عامل مهم مهارکننده رشد مهم محسوب می‌شود که بایستی در کشت ریزجلبک‌ها به آن توجه داشت. غلظت‌های فوق اشباع اکسیژن باعث مهار تنفس نوری و درنتیجه مرگ فتواکسیداتیو ریزجلبک‌ها می شود[۲]. رشد بسیاری از گونه‌های ریزجلبکی در مقادیر اکسیژن زیادتر از میزان موجود در هوای اتمسفر مختل می شود. چنین مهاری ناشی از غلظت‌های بالای اکسیژن، هم در مدل‌های باز و هم در انواع بسته مشاهده شده است. چندین مطالعه نیز گزارش کرده‌اند که O_2 و گونه‌های فعال آن مانند O_2^- و $^{\circ}OH$ باعث مهار نوری فرایند سنتز نوری می‌شوند. از طرفی افزایش اکسیژن به تنفس نوری بیشتر جلبک‌ها و درنتیجه مهار رشد آن‌ها منجر می‌شود[۱۹، ۲۰].

- سایر ترکیبات و مواد مغذی

علاوه بر سه ترکیب اساسی گفته‌شده برخی ترکیبات نیز وجود دارند که حضور یا عدم حضور آن‌ها میزان رشد ریزجلبک را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. ازجمله این ترکیبات که شامل ترکیبات فلزی و غیرفلزی است می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

سولفور، کلسیم، منیزیم، پتاسیم، روی، هالوژن‌ها، سیلیکون، کبالت، آهن، بور، مس، منگنز، ویتامین‌ها و غیره.

۴-۳- عوامل فیزیکی مؤثر در رشد ریزجلبک‌ها

- نور

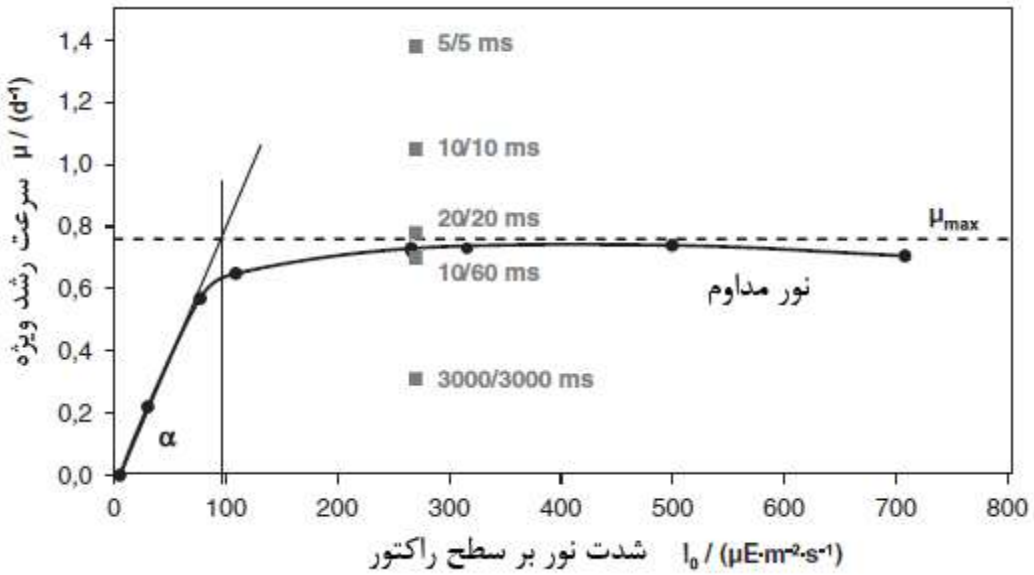
همانند گیاهان، در ریزجلبک‌ها نیز نور منبع انرژی لازم برای به جریان انداختن واکنش‌های فتوسنتزی است، در این رابطه شدت نور، کیفیت طیف نور و طول مدت مواجهه با آن را بایستی موردتوجه قرارداد. شدت نور نقش مهمی دارد، اما نیازمندی به آن به شدت با تغییر عمق کشت و تراکم آن تغییر می‌کند: در عمق‌های بیشتر یا در غلظت‌های سلولی بالا شدت نور بیشتری لازم است تا قادر به نفوذ در میان محیط کشت ریزجلبک‌ها باشد. البته شدت نور خیلی بالا ممکن است به پدیده "مهار نوری[۹۵]" منجر شود. پدیده مهار نوری به کاهش سنتز نوری درنتیجه آسیب‌های ایجادشده در مواجهه با تابش‌های شدید نور گفته می‌شود. همچنین به کاهش سنتز نوری درنتیجه کاهش دسترسی به نور هم گفته می‌شود که این حالت را در محیط‌های غلیظ و در اثر سایه‌اندازی سلول‌ها روی یکدیگر مشاهده می‌کنیم [۲۱]. نور منتشر شده از خورشید

[94] Luxury uptake
[95] Photoinhibition

شـــامل امواج فرابنفش[۹۶]، مرئی[۹۷] و مادون‌قرمز[۹۸] اســـت که به‌ترتیب در طول‌موج‌های ۲۹۰ تا ۳۸۰، ۳۸۰ تا ۷۶۰ و ۷۶۰ تا ۳۰۰۰ نانومتر قرار دارد. حدود نیمی از انرژی نور در محدوده ۳۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر قرار می‌گیرد و بخش عمده باقی‌مانده آن در محدوده ۷۰۰ الی ۳۰۰۰ نانومتر قرار گرفته اســـت. فرایند ســـنتز نوری، انرژی نورانی محدوده ۳۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر را مورداستفاده قرار می‌دهد. به‌طورمعمول شدت نور مورداستفاده برای رشد ریزجلبک‌ها در دامنه‌ای بین ۲۰۰ $\mu E\ sec^{-1}\ m^{-2}$ – ۱۰۰ قرار می‌گیرد. باید از گرم شدن بیش‌ازحد محیط ک شت نا شی از نورهای طبیعی یا م صنوعی اجتناب نمود. منبع نور ممکن اســت طبیعی باشــد یا توســط لامپ‌های فلورســنت با طیف نورهای آبی و قرمز تأمین شــود که این طیف‌های نوری فعال‌ترین طیف نور برای فرایند ســنتز نوری محســوب می‌شــوند. شــدت و کیفیت نور را می‌توان با فیلترهایی کنترل نمود. اگرچه فیتوپلانکتون‌ها در تابش نور م ستمر ر شد می‌کنند، بسیاری از گونه‌های ریزجلبکی زیر تابش م ستمر نور ر شد خوبی ندارند[۲۲]. نور پیو سته باعث آ سیب به آنزیم‌های م سیر سنتز نوری شده و درنهایت به مهار نوری و کاهش نرخ تولید منجر می‌شــود[۲۳]. بنابراین یک چرخه نوری/تاریکی(LD[۹۹]) (غالباً دوره‌های LD ۱۶:۸ و گاهی ۱۴:۱۰ یا ۱۲:۱۲) برای آن‌ها به‌کار گرفته می‌شود[۲۲].

انرژی نور به‌آسانی به‌وسیله‌ی جلبک جذب می‌شود، رنگ‌دانه موج‌گیر مرکزی سلول‌های جلبک بسیار کارا هستند؛ بنابراین باید شدت نور تابیده‌شده به محیط کشت، تنظیم شده باشد، زیرا نور اضافی اغلب به کاهش نرخ رشد جلبک‌ها منجر می‌شود. این باور که نور زیاد برای رشد ریزجلبک مناسب است، کاملاً غلط است. بسیاری از گونه‌های ریزجلبک با شدت‌های پایین نور سازگار هستند. یک نمونه از روند رشد برای گونه *پورفیریدیوم پورپوریوم*[۱۰۰] در شکل ۴-۲شکل نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل می‌بینیم بعد از شدت نور $300\ \frac{\mu E}{m^2.s}$، نرخ رشد ثابت شده است و در ادامه با تاباندن نور بیشتر، این رشد کاهش یافته است (درحالی‌که این نور تابیده‌شده فقط ۱۰٪ از شدت نور خورشید در ظهر در فصل تابستان اروپاست). نور در مقادیر زیاد به‌عنوان فلورسنت و درنهایت به‌صورت حرارت تلف خواهد شد [۲۴]. یک راه‌حل برای تنظیم شدت نور، استفاده از نور ناگهانی[۱۰۱] است. استفاده از نور ناگهانی می‌تواند تأثیر مثبتی در افزایش بازده به‌کارگیری نور داشته باشد.

[96] Ultraviolet
[97] Visible
[98] Infrared
[99] Light/Dark
[100] Porphyridium purpureum
[101] Flashing light



شکل۴-۲: سینتیک رشد *پروفیریدیوم پورپوریوم* [۲۴]

برای اینکه یک راکتور به‌صورت صحیح طراحی شده و به‌صورت اقتصادی عمل کند، باید نسبت مساحت کل سطح قسمت شفاف راکتور A_R به مساحت زمین اشغال‌شده راکتور A_G در محدوده ۱۰ یا بالاتر باشد. همچنین برای رسیدن به تراکم سلولی بالای ریزجلبک در راکتور زیستی، باید ضخامت راکتور تا حد امکان کوچک در نظر گرفته شود. اغلب راکتورها با در نظر گرفتن این اصل که هر چه نسبت سطح به حجم راکتور بالاتر باشد، راکتور بازده نوری بالاتری دارد، طراحی می‌شوند[۲۵]. جلبک‌ها برای سنتز نوری به نور احتیاج دارند. محیط کشت جلبک‌ها هر چه سطح زیر تابش نور بیشتری داشته باشد تولید افزایش می‌یابد، زیرا نور به مقدار کمی در عمق آب نفوذ می‌کند. نتایج مطالعه گروبلار[۱۰۲] روی نور محیط کشت، به شرح زیر است:

- شدت سنتز نوری به‌صورت نمایی با افزایش بسامد تاریک و روشن شدن محیط افزایش می‌یابد؛
- یک دوره تاریکی طولانی‌تر در ارتباط با دوره روشنی، می‌تواند بازده سنتز نوری را افزایش دهد، ولی عکس موضوع صادق نیست؛
- جلبک به بسامدهای تاریکی و روشنی ویژه‌ای عادت نمی‌کند، اما خوگیری آن نسبت به بسامدهای طولانی، کم و نسبت به بسامدهای کوتاه، زیاد است[۲۶].

در شـــدت نور کم میزان تولید چربی افزایش‌یافته ولی نرخ تولید زیســـت‌توده کاهش می‌یابد، در مقابل با افزایش شـدت نور بازده تولید چربی کم شـده، ولی میزان تولید زیسـت‌توده بالا می‌رود؛ بنابراین برای رسـیدن به حداکثر تولید باید مخلوطی از نور خورشید در روز و نور مصنوعی در شب یا روزهای ابری به‌کار گرفته شود [۲۷]. به‌عنوان‌نمونه برای ریزجلبک *سلتونما کوستاتیوم*[۱۰۳] در شدت نوری $100\ \mu mol\ photons\ m^{-2}s^{-1}$ و ۵۰ سرعت رشد ویژه $0/04h^{-1}$ و محتوای

[102] Grobbelaar
[103] Skeletonemacoststum

چربی ٪۴۷- ٪۴۴ به‌دست آمده است درصورتی که به علت ممانعت و محدودیت نوری در شدت نوری ۲۰ یا ۴۰۰ $\mu mol\ photons\ m^{-2}s^{-1}$ همین ریزجلبک دارای سرعت رشد ویژه ۰/۰۱ h^{-1} و محتوای چربی ٪۳۵- ٪۴۰ است. از دیگر عوامل مؤثر در رشد و از مؤلفه‌های ضروری در سنتز نوری جلبک‌های سبز کلروفیل است که در تثبیت CO_2 و استفاده از انرژی خورشید برای رشد سلول نقش اساسی را ایفا می‌کند، بنابراین اندازه‌گیری کلروفیل سلول در فرایند کشت برای درک بهتر ارتباط بین رشد سلول و انباشتگی چربی می‌تواند مفید باشد.

- دما

بعد از نور، دما مهم‌ترین عامل محدودکننده برای کشت ریزجلبک‌ها در مدل‌های باز و بسته محسوب می‌شود[۲۸]. ایده‌آل این است که دمایی که کشت ریزجلبکی در آن نگه داشته می‌شود، تا آنجا که امکان دارد نزدیک به دمایی باشد که در محیط زیست طبیعی آن وجود دارد. دمای کشت بر بهره‌وری کلی یا ترکیب سلولی به‌عنوان‌مثال بر سنتز نوری و واکنش‌های تنفسی اساساً مبتنی بر واکنش‌های آنزیمی تأثیر بسیاری دارد [۲۹]. دما تقریباً همواره در طول عملیات راکتور زیستی‌نوری اندازه‌گیری و کنترل می‌شود.

به‌طور متداول بیشتر گونه‌های ریزجلبکی کشت‌شده گستره دمایی ^{o}C ۲۷-۱۶ را تحمل می‌کنند. اگرچه این گستره با تغییر ترکیبات محیط کشت، گونه‌ها و سوش‌های کشت‌شده تغییر می‌کند. اغلب دمایی بین $^{\circ}C$ ۲۰-۱۸ به‌کار گرفته می‌شود [۲۲]. بسیاری از ریزجلبک‌ها قادرند دمایی تا $^{\circ}C$ ۱۵ کمتر از دمای بهینه رشدشان را تحمل کنند، اما فقط $^{\circ}C$ ۴-۲ بالاتر از دمای بهینه می‌تواند باعث از دست رفتن کل کشت شود. جلبک در راکتورهای‌زیستی نوری در فضای باز، در معرض تغییرات فصلی، روزانه دما و شدت نور است. بدون تجهیزات کنترل دما، دما در طول تابستان در راکتورهای زیستی نوری در فضای باز، می‌تواند به ۱۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد بالاتر از دمای محیط به مدت چند ساعت برسد. برای غلبه بر این مشکل، از خنک‌کننده‌های تبخیری که آب را به سطح راکتور زیستی نوری می‌پاشند، استفاده می‌شوند. مبدل‌های حرارتی به‌طور عمده برای گرما دادن کشت در آب‌وهوای سرد در نظر گرفته می‌شوند. اکثر جلبک‌ها در دمای ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد بهترین رشد را دارند. کاهش و افزایش دما تأثیر زیادی بر رشد جلبک‌ها می‌گذارد و می‌تواند باعث مرگ آن‌ها شود [۳۰]. اغلب دمای کمتر از $^{\circ}C$ ۱۶ رشد جلبک‌ها را کند می‌کند، ولی دمای بیشتر از $^{\circ}C$ ۳۵ برای بسیاری از آن‌ها کشنده است[۲۲]. دما مؤثرترین عامل در تولید متابولیت های جلبکی است. دما علاوه بر تأثیری که روی ترکیبات سلولی دارد، نرخ رشد و میزان تولید زیست‌توده را نیز تحت‌تأثیر قرار می‌دهد[۳۱].

- همزن زدن[۱۰۴] و هوادهی[۱۰۵]

هوادهی نیز یکی از عوامل مهم در رشد و پرورش جلبک‌هاست. ممکن است هوادهی به‌وسیله پمپ‌های آکواریم، کمپرسور یا ایربلوئر[۱۰۶] صورت گیرد. استفاده از کمپرسورها برای هوادهی خیلی توصیه نمی‌شود؛ چون باعث تزریق روغن در

[104] Shaking
[105] Aeration
[106] Air blower

محیط کشت می شود، برای حل این مسئله می‌توان از صافی‌های مخصوصی استفاده کرد. پمپ‌های آکواریوم اغلب برای کشت‌های با سطح کم مناسب بوده، ولی برای کشت‌های وسیع مناسب نیست و برای کشت‌های وسیع و حتی در شرایط آزمایشگاهی بهتر است از ایربلوئرها استفاده شود. در پرورش‌های وسیع (تانک‌ها- حوضچه‌ها) بهترین شیوه برای هوادهی، هوادهی از لایه‌های پایین محیط کشت به‌وسیله لوله‌های تعبیه‌شده در کف است. اغلب در کشت‌های وسیع به مساحت ۱۰۰ مترمربع و عمق یک متر بهتر است در هر ساعت پنج دقیقه هوادهی روشن باشد. اختلاط پیوسته سوسپانسیون جلبکی برای نگه‌داشتن سلول‌ها در حالت تعلیق و تأخیر، به‌منظور افزایش بهره‌وری استفاده از نور، بهبود تبادل گاز، از بین بردن لایه‌بندی حرارتی و کمک به توزیع مواد مغذی بسیار مهم و ضروری است. مطالعات نشان داده که اختلاط به میزان قابل‌توجهی بهره‌وری جلبکی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد [۳۲]. مخلوط سازی برای همگن سازی توزیع سلول‌ها و گرما در محیط کشت و اطمینان از اینکه همه سلول‌ها دسترسی یکسانی به متابولیت‌ها و مواد غذایی دارند، لازم است [۱۳، ۲۸]. این عمل همچنین باعث تسهیل تبادلات گازی بین هوا و محیط کشت می شود. مورد اخیر از اهمیت زیادی برخوردار است چرا که هوا حاوی منبع کربن برای انجام سنتز نوری است. ته‌نشینی زمانی روی می‌دهد که جریان خیلی آهسته است و در مناطقی که تلاطم کمتری دارند بسیار بیشتر خواهد بود. تجمع سلول‌ها در مناطق مرده بر زوال سلول‌ها، تجزیه بی‌هوازی و کیفیت محصول اثر می‌گذارد. بااین‌حال، تلاطم مکانیکی و فروپاشی حبابی، اغلب به تنش هیدرودینامیکی می‌انجامد که نتیجه‌اش محدودیت رشد و فعالیت متابولیک جلبک است[۳۳]. تلاطم همچنین سبب تغییر پیوسته در موقعیت‌های نسبی سلول‌ها نسبت به منطقه نوری است. در یک روش اختلاط طراحی‌شده با مقیاس زمانی مطلوب و بهینه، هر سلول می‌تواند انرژی نور را زمانی که در معرض آن است جذب نماید، سپس از فوتون جذب‌شده درحالی‌که در لایه تاریک است، استفاده کند[۳۴].

زمانی که نیازهای تغذیه‌ای برطرف شده و دیگر شرایط محیطی، رشد را محدود نمی‌کنند، اختلاط طراحی‌شده برای ایجاد جریان آشفته، مهم‌ترین شرط لازم برای ایجاد بازده بالای مداوم توده جلبکی است. بهره‌وری از روش‌های جلبکی و هزینه ساخت‌و ساز و عملیات تا حدود زیادی به‌و سیله‌ی روش اختلاط به‌کار گرفته شده تعیین می شود. باید توجه داشت که اختلاط به دو دلیل باید صحیح طراحی شود: ۱- اختلاط بسیار زیاد سبب وارد شدن صدمه به جلبک‌ها می شود ۲- انرژی زیادی نیاز است که هزینه‌ها را بالا می‌برد[۵].

مخلوط‌سازی در شرایط خاصی لازم است مانند:

۱. مواردی که برای رشد سلول‌ها بایستی آن‌ها را در سوسپانسیونی نگهداری کرد؛
۲. در کشت‌های متراکم برای جلوگیری از اثرات نامطلوب ناشی از محدودیت مواد غذایی.

بسته به مقیاس مدل‌های کشت مورداستفاده، مخلوط‌سازی به روش‌های مختلفی انجام می‌شود:

۱. مخلوط‌سازی روزانه با دست (برای لوله‌های آزمایش و ارلن مایر)؛
۲. مدل هوادهی (در تانک‌ها و کیسه‌های کشت)؛
۳. با استفاده از پدال‌های چرخنده و پمپ‌های جت (در استخرهای روباز).

یادآور می شویم که همه گونه‌های جلبکی قادر به تحمل مخلوط سازی‌های شدید نیستند. به‌ویژه در گونه‌های اقیانوسی که در محیط طبیعی خود به‌ندرت متحمل برهم‌زدگی می‌شوند. این سلول‌ها در اثر تنش‌های ناشی از جریان‌های ایجادشده صدمه‌دیده و از بین می‌روند. بسیاری از کشت‌ها نیز بدون مخلوط‌سازی به‌خوبی رشد می‌کنند، ولی در صورت امکان

مخلوط‌سازی دستی و ملایم روزی یک‌بار توصیه می‌شود. شدت مخلوط‌سازی مناسب و مدت آن یک عامل اختصاصی گونه است و باید برای اجتناب از کاهش بهره‌برداری از کشت‌های جلبکی به‌خوبی موردمطالعه قرار گیرد[۲۲، ۲۶، ۲۸].

- اسیدیته (pH)

به‌طورکلی در pH های خیلی بازی و اسیدی از میزان رشد ریزجلبک‌ها کاسته می شود. دامنه pH مناسب برای بیشتر گونه‌های جلبکی کشت شده بین ۹-۷ است و pH بهینه برای اغلب آن‌ها در دامنه‌ای بین ۸/۲- ۷/۸ قرار دارد. البته گونه‌هایی وجود دارند که در محیط‌های اسیدی یا بازی رشد می‌کنند. متلاشی شدن ساختار ریزجلبک‌ها به‌دلیل اختلال در بسیاری از فرایندهای سلولی می‌تواند از عدم توانایی در ثابت نگه‌داشتن pH قابل‌قبول برای رشد آن‌ها ناشی شود. این مسئله ممکن است از مدل هوادهی کشت موردنظر ناشی‌شده باشد. وضعیت شیمیایی و pH آب بر ظرفیت ذخیره و جذب CO_2 در محیط کشت اثرگذار است[۱۳]. برای کاهش pH روش‌های متنوعی وجود دارد:

- در مورد کشت‌های جلبکی با تراکم بالا، با تزریق CO_2 می‌توان pH افزایش‌یافته را که باعث محدود شدن رشد جلبک‌ها می شود، اصلاح و تعدیل نمود[۲۲]. مزیت این روش این است که pH به‌طور ناگهانی به طرف اسیدی شدن نوسان نمی‌کند و از طرف دیگر به علت ثابت ماندن غلظت کربن غیرآلی در محیط کشت، سلول‌ها با کمبود کربن مواجه نمی‌شوند؛
- روش دیگر پایین آوردن pH، استفاده از HCl است که باید دقت شود مقادیر اضافی اسید وارد محیط نشود چون ممکن است باعث کاهش شدید pH و درنتیجه مهار رشد سلول‌ها شود؛
- استفاده از بافرها روش دیگری برای جلوگیری از افزایش pH است. بافرهایی مانند Tris، HEPES و ...[۲].

- شوری

شوری از عواملی است که در مدل‌های بسته و باز روی رشد و ترکیبات سلولی ریزجلبک‌ها تأثیرگذار است. هر جلبک دارای یک دامنه شوری بهینه است. جلبک‌های دریایی نسبت به تغییرات شوری بسیار مقاوم هستند. بیشتر گونه‌ها در دامنه‌ای از شوری که کمی کمتر از میزان شوری محل سکونت طبیعی‌شان باشد، بهترین رشد را دارند. اغلب شوری بهینه در دامنه‌ای بین gl^{-1} ۲۴ -۲۰ در نظر گرفته می شود. در شرایط آب و هوایی گرم به‌علت تبخیر زیاد، شوری محیط کشت افزایش می‌یابد. تغییرات شوری بیشتر از سه طریق روی فیتوپلانکتون‌ها اثر می‌کنند:

۱. تنش‌های اسمزی؛
۲. تنش‌های یونی (نمک)؛
۳. تغییرات نسبت‌های یونی سلول ناشی از نفوذپذیری انتخابی غشا نسبت به یون‌ها.

- آلودگی‌های زیستی

آلودگی‌های زیستی متداول مشاهده‌شده شامل؛ جلبک‌های ناخواسته، کپک‌ها، مخمرها، قارچ‌ها و باکتری‌ها هستند. داشتن یک کشت تک جلبکی بزرگ‌ترین چالشی است که در تولید انبوه ریزجلبک‌ها با آن مواجه می‌شویم. از علل اصلی عدم موفقیت در تولید انبوه بسیاری از گونه‌های ریزجلبکی به‌ویژه در استخرهای روباز، هجوم پرتوزوآها (حمله تک یاخته ها مثل دیاتومه ها و فیتوپلانکتون ها و مصرف ریزجلبک ها یه عنوان ماده غذایی) یا آلودگی به دیگر گونه‌های جلبکی نامطلوب است که باعث کاهش بازده تولید می‌شوند، به‌عنوان نمونه ریچموند[۱۰۷] و همکارانش گزارش کردند که آلودگی استخرهای *اسپیرولینا پلاتنسیس*[۱۰۸] به جلبک‌های *دونالیلا* و *کلرلا* باعث کاهش بازده تولید تا ٪۳۵ شد[۳۵]. همان‌طور که موهیمانی[۱۰۹] اشاره کرده است، یک راه برای کاهش آلودگی و بهبود بازده این است که پس از حذف ارگانیسم‌های ناخواسته، کشت را در معرض تغییرات شدید و موقتی عوامل محیطی مانند دما، pH یا نور قرار دهیم تا شرایط را برای رشد گونه‌های نامطلوب نامناسب سازیم. در کشت‌های بسته درجه بالاتری از کنترل را می‌توان روی عامل‌های محیط کشت اعمال نمود و کشت را از انواع آلودگی حفاظت نمود. از این طریق کشت بسیاری از ریزجلبک‌های مهم میسر و ممکن می‌شود [۳۶].

- استریل‌کردن

ظروف شیشه‌ای مورداستفاده برای جداسازی، نگهداری، کشت آزمایشگاهی و انبوه باید قبل از مرحله استرلیزه تمیز شده با شند، این کار به‌و سیله بخار یا اتوکلاو انجام می شود. ا ستریل نمودن به روش‌های زیر صورت می‌گیرد: ۱) از طریق اتوکلاو یا فور ۲) به‌و سیله فیلتر کاغذی[۱۱۰] ۰/۴۵ میکرون ۳) به‌و سیله ا شعه ماوراءبنفش (ا شعه UV). در آزمایشگاه برای ا ستریل نمودن محیط ک شت‌های مایع و جامد از د ستگاه اتوکلاو در ف شار ۱/۶ اتم سفر که ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد حرارت را تولید می‌کند، ا ستفاده می شود. همه ابزارآلات آزمایشگاهی شیشه‌ای و فلزی از قبیل؛ پی‌پت، ارلن، بشر و غیره را در درجه حرارت ۱۶۵ درجه سانتی‌گراد فور یا آون به مدت ۲ ساعت گذا شته تا پس از خشک شدن ا ستریل شوند. صافی‌های ۰/۴۵ میکرون (کاغذ GF/F) را نیز برای خ شک‌کردن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد آون به مدت ۲ ساعت قرار می‌دهیم. از اشعه ماوراءبنفش برای استریل نمودن محیط آزمایشگاه و اتاق کشت جلبک استفاده کرده که برای این منظور اشعه ماوراءبنفش را که به صورت لامپ‌های ۲۰ واتی ا ست به مدت ۳۰ دقیقه رو شن گذا شته، آنگاه تهویه اتاق ک شت را رو شن نموده تا گاز ازن ایجاد شده برطرف شود، درنهایت ن سبت به ک شت جلبک‌ها در اتاق ک شت اقدام می‌نماییم. برای ا ستریل نمودن سی ستم هوادهی، هوا را ابتدا از درون ظرف ا سید سولفوریک رقیق و آب مقطر عبور داده، پس از گذراندن آن از پنبه استریل به دستگاه فلومتر که در تنظیم میزان ورودی هوا نقش دارد وصل کرده تا جریان هوای مناسب برای ارلن‌های کشت جلبک مهیا شود.

[107] Richmond
[108] *S. platensis*
[109] Mohemani
[110] Membrane filter

- حذف اکسیژن

اکسیژن محصول سنتز نوری است، میزان بالای اکسیژن محلول مانع از رشد جلبک‌ها حتی در غلظت‌های بالای دی‌اکسیدکربن می‌شود. همچنین دم و بازدم در منطقه تاریک یا در طول شب، سطح اکسیژن محلول در سوسپانسیون جلبکی را بالا می‌برد. بسیاری از گونه‌های جلبکی نمی‌توانند تحمل کنند که ۲ تا ۳ ساعت در معرض اکسیژن بسیار بالاتر از اشباع ($7.5\frac{mg}{L}$ در $30°C$) قرار گیرند. حذف اکسیژن اضافی، مشکل انتقال جرم در مقایسه با تهیه $CO2$ است. در حال حاضر برای کاهش اکسیژن دو راه وجود دارد: ۱- افزایش تلاطم ۲- زدودن اکسیژن با هوا. اختلاط شدید، میزان O_2 در محیط کشت را کاهش می‌دهد، به‌خصوص هنگامی‌که اختلاط مناسب به‌درستی به‌وسیله دستگاه طراحی‌شده، اجرا شود. روش‌های مؤثر زدودن اکسیژن به‌عنوان ایستگاه گاز زدایی[111] در راکتورهای زیستی نوری معرفی می‌شوند[۵].

۴-۴- تأثیر شرایط کشت

ویژگی‌های رشد و ترکیب ریزجلبک به میزان قابل‌توجهی به شرایط کشت بستگی دارد. چهار نوع اصلی شرایط کشت برای ریزجلبک وجود دارد: فتواتوتروفیک[112]، هتروتروفیک[113]، میکسوتروفیک[114] و کشت فتوهتروتروفیک[115] [۳۷]. در جدول ۴-۱جدول تولید زیست‌توده ریزجلبکی در شرایط مختلف کشت برای گونه‌های مختلف ریزجلبک به‌صورت خلاصه بیان شده است. هر نوع کشت با جزئیات در بخش‌های بعدی، موردبحث قرارگرفته است [۳۸].

جدول۴-۱: مقدار زیست توده گونه‌های مختلف ریزجلبک در شرایط مختلف کشت (*a*: دی‌اکسید کربن، *b*: هوا، *c*: گلوکز، *d*: استات، *e*: گلیسیرول، *f*: سیب‌زمینی ترشی هیدرولیز شده، *g*: پودر ذرت هیدرولیز شده). [۴۰].

گونه‌های ریزجلبک	شرایط کشت	بهره‌وری زیست‌توده (g/Ld)
بوتریوکوکوس برانی UTEX 572	فتوتروفیک a	۰/۰۳
چیتوسیروس کالکیترانس CS 178	فتوتروفیک a	۰/۰۴
چایتوسیروس مولیری F&M-M43	فتوتروفیک a	۰/۰۷

[111] degassing
[112] photoautotrophic
[113] heterotrophic
[114] mixotrophic
[115] photoheterotrophic

کلرلا ایمرسونی CCAP211/11N	فتوتروفیک b	۰/۰۴
کلرلا ایمرسونی CCAP 211/11N	فتوتروفیک a	۰/۰۵–۰/۰۳
کلرلا مینوتیسیما UTEX 2341	فتوتروفیک a	۰/۰۳–۰/۰۲
کلرلا پروتوکودیس CCAP 211/8D	فتوتروفیک a	۰/۰۲–۰/۰۰۲
کلرلا پروتوکودیس	هتروتروفیک f	۴/۴–۴
کلرلا پروتوکودیس	هتروتروفیک c	۷/۴–۲/۲
کلرلا پروتوکودیس	هتروتروفیک c,g	۲
کلرلا پروتوکودیس	هتروتروفیک c	۲–۱/۷
کلرلا سوروکینیانا UTEX 1230	فتوتروفیک a	۰/۰۰۵–۰/۰۳۳
کلرلا سوروکینیانا IAM-212	فتوتروفیک a	۰/۲۳
کلرلا F&M-M48	فتوتروفیک a	۰/۲۳
کلرلا .	فتوتروفیک a	۰/۵۳–۰/۳۷
کلرلا ولگاریس KCTC AG10032	فتوتروفیک a	۰/۱
کلرلا ولگاریس #259	فتوتروفیک a	۰/۰۱
کلرلا ولگاریس #259	هتروتروفیک c,d	۰/۱۵–۰/۰۸
کلرلا ولگاریس #259	مزوتروفیک c,e	۰/۲۵–۰/۰۹
کلرلا ولگاریس INETI 58	فتوتروفیک b	۰/۱۸

۴-۴-۱. کشت فتوتروفیک

کشت فتوتروفیک کشتی است که از نور (مانند نور خورشید) به‌عنوان منبع انرژی و کربن غیرآلی (به‌عنوان‌مثال، دی‌اکسید کربن) به‌عنوان منبع کربن به شکل انرژی شیمیایی از طریق سنتز نوری، استفاده شود[۳۹]. این رایج‌ترین شرایط کشت مورداستفاده برای رشد ریزجلبک است. جدول ۴-۱جدول شرایط کشت فتوتروفیک را نشان می‌دهد. به‌طورمعمول شرایط محدودکننده نیتروژن یا مواد مغذی برای افزایش رشد ریزجلبک مورداستفاده قرار می‌گیرد. به‌عنوان یک نتیجه، دستیابی به مقدار متابولیت بالاتر اغلب در ازای بهره‌وری بیومس پایین‌تر است. بالاترین میزان تولید چربی گزارش‌شده در مقاله‌ها حدود ۱۷۹ $mg/L/d$ به‌وسیله کلرلا در کشت نورپرورده با استفاده از ۲٪ دی اکسیدکربن با هوادهی vvm ۰/۲۵ است (جدول ۴-۱)[۴۰]. مزیت عمده استفاده از کشت اتوتروفیک برای تولید نفت ریزجلبکی، مصرف CO_2 به‌عنوان منبع کربن برای رشد سلول است. با این حال، هنگامی‌که CO_2 تنها منبع کربن است، مکان کشت ریزجلبک باید نزدیک به کارخانه‌ها و نیروگاه‌های برق باشد که می‌توانند مقادیر زیادی دی‌اکسید کربن برای رشد ریزجلبک را تأمین کنند. علاوه‌براین، در مقایسه انواع دیگر کشت، مشکل آلودگی در زمان استفاده از رشد خودپرورد از شدت کمتری برخوردار است. بنابراین، در روش‌های کشت ریزجلبک مقیاس‌گذاری شده در فضای باز (استخرهای باز و نهری) بیشتر در شرایط کشت فتوتروفیک عمل می‌کند[۲۸].

۴-۴-۲. کشت هتروتروفیک

بعضی از گونه‌های ریزجلبک فقط در شرایط فتوتروفیک نمی‌توانند رشد کنند، اما از کربن‌آلی در شرایط تاریک، درست مانند باکتری‌ها استفاده می‌کنند. وضعیتی که ریزجلبک از کربن آلی هم به‌عنوان منبع انرژی و هم به‌عنوان کربن استفاده می‌کند، کشت هتروتروفیک نامیده می‌شود[۳۷]. این نوع کشت می‌تواند از مشکلات مرتبط با نور محدود که مانع تراکم بالای سلول در مقیاس بزرگ راکتور زیستی نوری در طول کشت فتوتروفیک می‌شود، جلوگیری کند[۲۸]. همان‌طور که در جدول ۴-۱ نشان داده‌شده، تولید زیست‌توده با استفاده از کشت هتروتروفیک قابل‌دستیابی است. ریزجلبک می‌تواند انواع مختلفی از منابع کربن آلی را (گلوکز، استات، گلیسرول، فروکتوز، ساکروز، لاکتوز، گالاکتوز و مانوز) برای رشد جذب کند. برخی از مطالعات بر منابع کربن‌آلی ارزان‌تر متمرکزشده‌اند، مانند پودر ذرت هیدرولیزشده[۱۱۶] به‌جای قند، که نتیجه آن زیست‌توده بیشتر $(2g/Ld)$ (جدول ۴-۱) است[۴۰].

۴-۴-۳. کشت میکسوتروفیک

کشت میکسوتروفیک کشتی است که هنگام سنتز نوری، از هر دو کربن‌آلی و غیرآلی (CO_2) به‌عنوان منبع کربن برای رشد استفاده کند، به این معنی که ریزجلبک‌ها می‌توانند در هر دو شرایط فتوتروفیک یا هتروتروفیک یا هر دو زندگی کنند. ریزجلبک ترکیبات آلی و CO_2 را به‌عنوان منبع کربن جذب می‌کند و CO_2 منتشرشده از سوی ریزجلبک از طریق تنفس به دام خواهد افتاد و درکشت فتوتروفیک مورداستفاده مجدد قرار می‌گیرد [۲۹]. در مقایسه با کشت فتوتروفیک و هتروتروفیک، کشت میکسوتروفیک به‌ندرت در تولید ریزجلبک استفاده می‌شود (جدول ۴-۱)[۳۸].

[116] Corn Powder Hydrolysate (CPH)

۴-۴-۴.کشت فتوهتروتروفیک

کشت فتوهتروتروفیک کشتی است که ریزجلبک هنگام استفاده از ترکیبات آلی به‌عنوان منبع کربن، به نور هم نیاز داشته باشد. تفاوت اصلی بین کشت میکسوتروفیک و فتوهتروتروفیک، این است که دومی به نور به‌عنوان منبع انرژی نیاز دارد (جدول ۴-۲)، درحالی‌که کشت میکسوتروفیک می‌تواند از ترکیبات‌آلی برای رسیدن به این هدف استفاده کند. ازاین‌رو، کشت فتوهتروتروفیک هم قند و هم نور را هم‌زمان نیاز دارد[۳۷]. اگرچه تولید برخی از متابولیت‌های مفید تنظیم نور می‌تواند با استفاده از کشت فتوهتروتروفیک بالا رود.

جدول۴-۲: مقایسه خصوصیات انواع کشت[۳۷]..

شرایط کشت	منبع انرژی	منبع کربن	تراکم سلول	مقیاس‌گذاری راکتور	هزینه	مشکلات مربوط به مقیاس‌گذاری
فتوتروفیک	نور	غیرآلی	کم	استخر باز یا راکتور زیستی‌نوری	کم	تراکم سلولی پایین هزینه بالای تراکم
هترتروفیک	آلی	آلی	زیاد	فرمانتور معمولی	متوسط	آلودگی هزینه بالای بستر
میکستروفیک	نور و آلی	آلی و غیرآلی	متوسط	راکتور بسته	زیاد	آلودگی هزینه بالای تجهیزات هزینه بالای بستر
فتوتروفیک	نور	آلی	متوسط	راکتور بسته	زیاد	آلودگی هزینه بالای تجهیزات هزینه بالای بستر

۴-۴-۵.مقایسه شرایط مختلف کشت

اگرچه میزان رشد ریزجلبک به گونه بستگی‌دارد، جدول ۴-۱ نشان می‌دهد که رشد هتروتروفیک می‌تواند بهره‌وری را از سایر شرایط کشت بهترکند، ازاین‌رو این رویکرد منافع قابل‌توجهی را به خود جلب کرده است. بااین‌حال، کشت هتروتروفیک می‌تواند به‌راحتی آلوده شود، به‌ویژه در روش‌های کشت باز که باعث بروز مشکلاتی در تولید مقیاس بزرگ است (جدول ۴-۲جدول). به‌علاوه، هزینه منبع کربن آلی نیز از جنبه تجاری یک نگرانی عمده است. کشت فتوتروفیک اغلب استفاده می‌شود و آسان‌ترین کشت برای مقیاس‌گذاری است، به‌دلیل این‌که در آن ریزجلبک می‌تواند CO_2 را از گاز دودکش کارخانه‌ها جذب و به روغن تبدیل کند. بااین‌حال، بهره‌وری این رویکرد، اغلب به‌طور قابل‌توجهی پایین‌تر از کشت هتروتروفیک است که بیشتر به‌دلیل کاهش سرعت رشد سلول و بهره‌وری زیست‌توده پایین‌تر است. از سوی دیگر، هزینه کمتر برای

مقیاس‌گذاری کشت فتوتروفیک به این معنی است که این روش هنوز هم بسیار جذاب است (جدول ۴-۲جدول). تا به امروز، اطلاعات کمی در مقاله‌های مربوط به استفاده از کشت‌های میکسوتروفیک و فتوهتروتروفیک برای تولید ریزجلبک وجود دارد، اما این دو شرط کشت نیز به دلیل خطر آلودگی و تجهیزات نوری موردنیاز، محدود شده‌اند و ممکن است به طراحی خاصی از راکتور زیستی نوری نیاز داشته باشند که درنتیجه هزینه عملیاتی افزایش می‌یابد[۳۸].

مراجع

[1] K. T. Tan, *et al.*, "Role of energy policy in renewable energy accomplishment: The case of second-generation bioethanol," *Energy Policy*, vol. 36, pp. 3360-3365, 2008.

[2] A. Richmond, *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*: John Wiley & Sons, 2008.

[3] V. H. Smith, "Light and Nutrient Dependence of Photosynthesis by Algae1," *Journal of Phycology*, vol. 19, pp. 306-313, 1983.

[4] N. Cromar and H. Fallowfield, "Effect of nutrient loading and retention time on performance of high rate algal ponds," *Journal of Applied Phycology*, vol. 9, pp. 301-309, 1997/08/01 1997.

[5] I. Suh and C.-G. Lee, "Photobioreactor engineering: Design and performance," *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, vol. 8, pp. 313-321, 2003/12/01 2003.

[6] J. Doucha, *et al.*, "Utilization of flue gas for cultivation of microalgae Chlorella sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor," *Journal of Applied Phycology*, vol. 17, pp. 403-412, 2005/10/01 2005.

[7] M. H. Spalding, "Microalgal carbon-dioxide-concentrating mechanisms: Chlamydomonas inorganic carbon transporters," *Journal of experimental botany*, vol. 59, pp. 1463-1473, 2008.

[8] Y.-K. Lee, *et al.*, "Design and performance of an α-type tubular photobioreactor for mass cultivation of microalgae," *Journal of Applied Phycology*, vol. 7, pp. 47-51, 1995/02/01 1995.

[9] A. Richmond and J. U. Grobbelaar, "Factors affecting the output rate of Spirulina platensis with reference to mass cultivation," *Biomass*, vol. 10, pp. 253-264, 1986.

[10] H. Hu and K. Gao, "Optimization of growth and fatty acid composition of a unicellular marine picoplankton, Nannochloropsis sp., with enriched carbon sources," *Biotechnology Letters*, vol. 25, pp. 421-425, 2003/03/01 2003.

[11] H. T. Hsueh, *et al.*, "Carbon bio-fixation by photosynthesis of Thermosynechococcus sp. CL-1 and Nannochloropsis oculta," *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 95, pp. 33-39, 2009.

[12] S.-Y. Chiu, *et al.*, "Reduction of CO2 by a high-density culture of Chlorella sp. in a semicontinuous photobioreactor," *Bioresource technology*, vol. 99, pp. 3389-3396, 2008.

[13] L. Cheng, *et al.*, "Carbon dioxide removal from air by microalgae cultured in a membrane-photobioreactor," *Separation and Purification Technology*, vol. 50, pp. 324-329, 2006.

[14] A. Ben-Amotz and M. Avron, "On the Factors Which Determine Massive β-Carotene Accumulation in the Halotolerant Alga Dunaliella bardawil," *Plant Physiology*, vol. 72, pp. 593-597, July 1, 1983 1983.

[15] M. A. Borowitzka, "Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters," *Journal of biotechnology*, vol. 70, pp. 313-321, 1999.

[16] A. M. Illman, *et al.*, "Increase in Chlorella strains calorific values when grown in low nitrogen medium," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 27, pp. 631-635, 2000.
[17] L. Rodolfi, *et al.*, "Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor," *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 102, pp. 100-112, 2009.
[18] T. Li, *et al.*, "Responses in growth, lipid accumulation, and fatty acid composition of four oleaginous microalgae to different nitrogen sources and concentrations," *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, vol. 31, pp. 1306-1314, 2013/11/01 2013.
[19] Matsumoto, *et al.*, *Influence of CO[2], SO[2] and NO in flue gas on microalgae productivity* vol. 30. Tokyo, JAPON: Society of Chemical Engineers, 1997.
[20] K. G. Zeiler, *et al.*, "The use of microalgae for assimilation and utilization of carbon dioxide from fossil fuel-fired power plant flue gas," *Energy Conversion and Management*, vol. 36, pp. 707-712, 1995.
[21] M. G. Morais, *et al.*, "Pilot scale semicontinuous production of Spirulina biomass in southern Brazil," *Aquaculture*, vol. 294, pp. 60-64, 2009.
[22] L. Barsanti and P. Gualtieri, *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*: CRC press, 2014.
[23] G. Vunjak-Novakovic, *et al.*, "Air-Lift Bioreactors for Algal Growth on Flue Gas: Mathematical Modeling and Pilot-Plant Studies," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 44, pp. 6154-6163, 2005/08/01 2005.
[24] R. M. R. Sastre, *Kopplung physiologischer und verfahrenstechnischer Parameter beim Wachstum und bei der Produktbildung der Rotalge Porphyridium purpureum*: Karlsruher Institut für Technologie, 2010.
[25] C. Posten, "Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae," *Engineering in Life Sciences*, vol. 9, pp. 165-177, 2009.
[26] J. Grobbelaar, "Factors governing algal growth in photobioreactors: the "open" versus "closed" debate," *Journal of Applied Phycology*, vol. 21, pp. 489-492, 2009/10/01 2009.
[27] Y. Chisti, "Biodiesel from microalgae," *Biotechnology advances*, vol. 25, pp. 294-306, 2007.
[28] T. M. Mata, *et al.*, "Microalgae for biodiesel production and other applications: A review," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, pp. 217-232, 2010.
[29] J. A. Raven and R. J. Geider, "Temperature and algal growth," *New Phytologist*, vol. 110, pp. 441-461, 1988.
[30] T. Abu-Rezq, *et al.*, "Optimum production conditions for different high-quality marine algae," *Hydrobiologia*, vol. 403, pp. 97-107, 1999/05/01 1999.
[31] S. Chinnasamy, *et al.*, "Biomass production potential of a wastewater alga Chlorella vulgaris ARC 1 under elevated levels of CO2 and temperature," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 10, pp. 518-532, 2009.
[32] D. Chaumont, "Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture," *Journal of Applied Phycology*, vol. 5, pp. 593-604, 1993.
[33] F. G. a. Camacho, *et al.*, "Effects of mechanical and hydrodynamic stress in agitated, sparged cultures of Porphyridium cruentum," *Process Biochemistry*, vol. 35, pp. 1045-1050, 2000.
[34] J. Degen, *et al.*, "A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect," *Journal of biotechnology*, vol. 92, pp. 89-94, 2001.

[35] A. Richmond, *et al.*, "Quantitative assessment of the major limitations on productivity ofSpirulina platensis in open raceways," *Journal of Applied Phycology*, vol. 2, pp. 195-206, 1990/09/01 1990.
[36] N. R. Moheimani, "The culture of coccolithophorid algae for carbon dioxide bioremediation," Murdoch University, 2005.
[37] K. Chojnacka, "Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbonmetabolism in the culture of microalgae," *Biotechnology (Pakistan)*, 2004.
[38] C.-Y. Chen, *et al.*, "Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review," *Bioresource technology*, vol. 102, pp. 71-81, 2011.
[39] G. Huang, *et al.*, "Biodiesel production by microalgal biotechnology," *Applied energy*, vol. 87, pp. 38-46, 2010.
[40] H. Xu, *et al.*, "High quality biodiesel production from a microalga Chlorella protothecoides by heterotrophic growth in fermenters," *Journal of biotechnology*, vol. 126, pp. 499-507, 2006.
[41] W. Xiong, *et al.*, "High-density fermentation of microalga Chlorella protothecoides in bioreactor for microbio-diesel production," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 78, pp. 29-36, 2008/02/01 2008.

فصل پنجم: بررسی روش‌های جمع آوری ریزجلبک

۵-۱- مقدمه

میکروجلبک جزء سریع‌ترین گونه‌های زیستی شناخته شده در جهان است؛ اما همواره مشکلاتی در جمع‌آوری میکرو جلبک به‌دلیل کوچک بودن اندازه ($۰/۳-۵gl^{-1}$) و تک‌سلولی بودن ($۴۰\mu m$ -۲) آن وجود دارد. با توجه به مطالب گفته‌شده یک رابطه بسیار قوی بین فن جمع‌آوری میکروجلبک و انتخاب گونه آن وجود دارد. انتخاب فن جمع‌آوری، وابسته به مشخصه‌های میکروجلبک مانند دانسیته و اندازه ذرات -که نحوه ته‌نشینی و فیلتراسیون ذرات را مشخص می‌کند- داشته و با نوع ماده تولیدی نهایی نیز ارتباط دارد. هزینه جمع‌آوری میکروجلبک (بازیابی میکروجلبک) به‌دلیل اندازه بسیار کم آن در محیط کشت و بار منفی ذرات بسیار چالش‌برانگیز است و حدود ۲۰ الی ۳۰ در صد هزینه تولید را در برمی‌گیرد. پس از کاشت میکرو جلبک، مرحله آب‌زدایی برای تولید میکرو جلبک خشک و استفاده در مراحل بعدی از مراحل بسیار مهم به‌شمار می‌آید. روش‌های کلی برداشت میکرو جلبک دارای دو مرحله زیراست:

- برداشت بالک: هدف، جداسازی میکروجلبک از سوسپانسیون بالک است. با استفاده از این روش مقدار کل ماده جامد می‌تواند با درصد تغلیظ ۸۰-۱۰۰ و استفاده از انعقاد[۱۱۷]، شناورسازی[۱۱۸] یا ته‌نشینی جاذبه‌ای[۱۱۹] به ۲ تا ۷ درصد برسد؛
- تغلیظ‌سازی: فیلتراسیون، سانتریفیوژ و اولتراسونیک روش‌های برداشتی هستند که برای تغلیظ محلول به کار می‌روند. این فرایندها نسبت به حالت قبل دارای مصرف انرژی بیشتری هستند.

تکنیک‌های اصلی برداشت میکروجلبک عبارتند از:

- فیلتراسیون و روش‌های برداشت میکروجلبک وابسته به فیلتراسیون با استفاده از غشاهای قوی مانند میکرواسکرین‌ها و صافی‌های میکرویی؛
- ته‌نشینی و رسوب‌گذاری جاذبه‌ای و رسوب‌گذاری سانتریفیوژ؛
- روش‌های شیمیایی مانند برداشت شیمیایی یا زیستی میکروجلبک ازجمله برداشت توسط انعقادکننده‌ها مانند خود انعقادکننده‌ها[۱۲۰]، انعقادکننده‌های شیمیایی، انعقاد کننده‌های غیرآلی، آلی، ترکیبی و انعقاد با استفاده از جریان الکتریسیته؛
- شناورسازی[۱۲۱]: شناورسازی با استفاده از ایجاد کف، روشی است که در آن با استفاده از دمیدن هوا درون محیط کشت می‌توان جلبک و مقداری آب را درون کف ایجادشده قرارداد و عملیات برداشت را انجام داد[۱].

در ادامه انواع روش‌هایی که برای برداشت ریزجلبک به‌کار می‌رود را موردبررسی قرارداده و درنهایت نیز مروری کوتاه بر روش‌های تغلیظ‌سازی خواهیم داشت.

[117] flocculation
[118] flotation
[119] Gravity sedimentation
[120] autoflocculation
[121] flotation

۵-۲- روش‌های برداشت

۵-۲-۱.سانتریفیوژ

سانتریفیوژ یک فرایند با عامل تغلیظ‌کننده است که برای برداشت میکروجلبک استفاده می‌شود. این روش به‌عنوان یک روش نیمه‌پیوسته یا پیوسته کاربرد دارد که با استفاده از نیروهای گریز از مرکز جداسازی ذرات میکروجلبک از محیط کشت را فراهم می‌کند. سانتریفیوژ یک فن صنعتی بر پایه جداسازی سوسپانسیون‌هاست که در برداشت و جداسازی میکروجلبک نیز به‌کاربرده می‌شود. در جدول ۵-۱ تعدادی از مطالعات انجام‌شده در ارتباط با استفاده از سانتریفیوژ موردبررسی قرار گرفته است [۲].

جدول۵-۱: سانتریفیوژ و اطلاعات مربوطه. [۲].

نوع ماشین سانتریفیوژ و سازنده	کارکرد عملیاتی	روش تغلیظ-سازی	نوع میکروجلبک	درصد جامد تغلیظ‌شده (ضریب تغلیظ)	انرژی مصرف‌شده (KWh) بر مترمکعب	هزینه نسبی بازیافت (دلار)	اعتبار	منبع
خود تمیزشونده، صفحه‌ای ; Westfalia	سوسپانسیون های پیوسته یا تغلیظ ناپیوسته	تک‌مرحله‌ای	*سندسموس، کلاستروم پروبوسادیوم*	۱۲(۱۲۰)	۱	۱	بسیار خوب	[۳]
تخلیه با نازل Westfalia	عملیات پیوسته	برای تغلیظ سازی نهایی یا برای پیش تغلیظ‌سازی	*سندسموس، کلاستروم پروبوسادیوم*	۲-۱۵ (۲۰-۱۵)	۰/۰۹	۰/۷۲	خوب	[۳]
کاسه‌ای ; Westfalia	عملیات پیوسته	برای تغلیظ‌سازی نهایی	*سندسموس، کلاستروم پروبوسادیوم prabassida*	۲۲ درصد (۱۱)	۸	-	خیلی خوب	[۳]
هیدروسیکلونA KW	عملیات پوسته	برای پیش تغلیظ‌سازی	*کلاستروم پروبوسادیوم*	۰/۴(۴)	۰/۳	۹	ضعیف	[۳]
صفحه‌ای مدل Alfa Laval Model	عملیات پیوسته	برای تغلیظ‌سازی نهایی	*کلرلا*	۵-۴ درصد	۱/۳		خوب	[۳]

Elecrem	عملیات پیوسته	برای تغلیظ‌سازی نهایی	*ایزوکریسیس*	بازده ۴۶ – ۹۶ درصدی			بسیار خوب	[۳]
سوپر سانتریفیوژ alfa laval	عملیات پیوسته	برای تغلیظ‌سازی نهایی	*ایزوکریسیس*	بازده ۹۷–۱۰۰ درصد			بسیار عالی	[۳]
سطلی hitachi	مقیاس آزمایشگاهی	برای تغلیظ‌سازی نهایی	*ایزوکریسیس*	بازده ۵ – ۶۵ درصدی			خوب	[۳]

۵-۲-۱،۱. عملکرد

سانتریفیوژاسیون به دلیل طبیعت سرعت بالای آن در بازیابی میکروجلبک هنوز یکی از روش‌های مقدم برای تغلیظ و بازیابی سلول‌های جلبک است. اگر میدان گرانشی که ذرات ریزجلبک درون آن قرار می‌گیرند بزرگ‌تر باشد، سرعت جداسازی می‌تواند سریع‌تر باشد؛ اما اگر میدان گرانشی بزرگ‌تر شود، به‌دلیل امکان آسیب رساندن به ساختار سلول مشکلاتی را ایجاد می‌کند. میزان بازیابی زیست‌توده به عوامل متعددی ازجمله؛ زمان ماند زیست‌توده در محیط سانتریفیوژ، رفتار ته‌نشینی سلول و عمق ته‌نشینی بستگی دارد[۱].

۵-۲-۱-۲-هزینه

با افزایش اندازه دستگاه و میزان دبی ورودی، هزینه‌ها نیز افزایش می‌یابند. اساساً هزینه‌های‌ثابت و جاری در این فرایند در مقابله با ته‌نشینی بسیار بالاتر است، اما بازده این روش نیز بسیار بالاتر است؛ درهرصورت سانتریفیوژ را باید به‌عنوان مرحله دوم استفاده‌کرد تا بتوان غلظت جامد را به ۲۰ درصد رساند. به‌طورکلی؛ استفاده از مدل سانتریفیوژ با فرایند کوپل‌شده به آن، به مورفولوژی و تعدادی از متغیرها مانندگونه‌های میکروجلبک، محیط رشد، مدل تولید ریزجلبک (مدل باز یا بسته)، محصول نهایی و آنالیزهای سود محصول نهایی، بستگی دارد [۱].

۵-۲-۱-۳-انرژی مصرفی

سانتریفیوژ یک عملیات با انرژی مصرفی بالاست. انرژی موردنیاز برای انواع مختلف سانتریفیوژ در محدودهkW/hm^{-3} ۰/۳–۰/۸ است[۱].

۵-۲-۲- صاف‌کردن

انواع مختلفی از صاف‌کردن برای تغلیظ سلول‌های ریزجلبک مورداستفاده قرار می‌گیرد. اصول کاربری اساس عبور یا به تله‌افتادن ذرات از روی یک غشـــاء با اندازه مش‌های خاص اســـت. انواع فرایندهای صـــاف‌کردن عبارتند از: میکرو اسکرین‌ها، صافی میکرویی، صاف‌کردن انتهایی بسته، صاف‌کردن در خلأ یا زیرفشار و جریان متقاطع، صافی‌های درام خلأ و صـافی‌های پرسـی که بیشـترین اسـتفاده را در دبی‌های بالای بازیابی ریزجلبک دارند[۱]. در جدول ۵-۲جدول اطلاعات انواع روش‌های صاف‌کردن آورده‌شده‌است.

جدول ۵-۲: انواع صاف‌کردن و اطلاعات مربوطه. [۱].

نوع صاف‌کردن	گونه میکروجلبک	بازدهی یا غلظت جامدنهایی	انرژی مصرفی kWh/m^3	هزینه $	ملاحظات	مرجع
صافی فشاری- Netzsch chamber filter	*کلاستروم پروبوسادیوم*	۲۲-۲۷	0.88	0.4	فرایند ناپیوسته- تک‌مرحله‌ای	[۳]
صافی فشاری- Belt press	*کلاستروم پروبوسادیوم*	۱۸	0.5	1.1	فرایند پیوسته- نیاز به پیش تغلیظ‌سازی تا ۴ درصد جامد	[۳]
صافی فشاری- Suction filter	*کلاستروم پروبوسادیوم*	۱۶	-	-	فرایند ناپیوسته- نیاز به پیش تغلیظ‌سازی تا ۱,۵ درصد جامد	[۳]
صافی فشاری- Cylindrical sieve rotators	*کلاستروم پروبوسادیوم*	۷/۵	0.3	۱,۹	فرایند پیوسته- تک‌مرحله‌ای برای پیش تغلیظ‌سازی	[۳]
صافی فشاری- Filter basket	*کلاستروم پروبوسادیوم*	۵	0.2	0.48	فرایند غیر پیوسته- برای پیش تغلیظ‌سازی	[۳]
صافی خلأ- Non-precoat vacuume drum filter	*کلاستروم پروبوسادیوم*	۱۸	5.9	3.9	فرایند پیوسته- تک‌مرحله‌ای	[۳]
صافی خلأ- Potato	*سندسموس*	۳۷	-	-	فرایند پیوسته	[۳]

starch precoat vacuum drum filter						
صافی خلأ- Suction filter	*کلاستروم پروبوسادیوم*	۸	0.1	4.5	فرایند ناپیوسته	[۳]
صافی خلأ- Belt filter	*کلاستروم پروبوسادیوم*	۹،۵	0.45	0.88	فرایند پیوسته	[۳]
صافی خلأ- Filter thickener	*سندسموس*	۷-۵	1.6	3.2	فرایند ناپیوسته	[۳]
TFF	*تتراسلمیس*	۴،۶۶	1.97	-	فرایند پیوسته- دبی ۳ لیتر بر دقیقه	[۴]
TFF	*تتراسلمیس*	۸،۸۸	2.15	-	فرایند پیوسته- دبی ۵ لیتر بر دقیقه	[۴]
غوطه‌وری	*کلرلا ولگاریس*	۹۸ درصد	0.27	-	-	[۵]
غوطه‌وری	*پائلودیتیکوم تریکورنوتوم*	۷۷ درصد	0.25	-	-	[۵]

۵-۲-۲-۲-مواد سازنده

صافی میکرویی‌ها می‌توانند به‌عنوان صافی‌های دارای چرخش با مش‌های ریز و با قابلیت شست‌وشو استفاده شوند. کارکرد آن‌ها ساده بوده، دارای هزینه پایین و ضریب صاف کردن بالایی هستند. صاف کردن انتهایی بسته برای مقدار زیاد سوسپانسیون جلبک فقط برای حالت صافی‌های ساچمه بسته‌بندی‌شده (مخلوطی از محیط و شن) قابل‌استفاده بوده و کاربرد آن به علت مشخصه‌های رئولوژیکی ریزجلبک که کیک متراکمی را تشکیل می‌دهد و باعث گرفتگی صافی می‌شود، محدود به غلظت‌های پایین ریزجلبک است[۱].

۵-۲-۲-۳-عملکرد

بازیابی ریزجلبک‌های بزرگ و حفظ ساختار آن‌ها، برخی از برتری‌های صاف‌کردن‌های در خلأ و صاف کردن‌های در جریان در مقایسه با صاف کردن‌های مرسوم است. صافی خلأ دارای قابلیت بازیابی مقادیر زیادی از ریزجلبک‌هاست؛ هر چند آن‌ها در هنگام استفاده برای موجوداتی در اندازه باکتری بازده کمتری دارند. بازده حدود ۸۰ الی ۹۰ درصد برای بازیابی ریزجلبک‌های

آب تازه در حالت استفاده از TFF[۱۲۲] به‌دست آمده است. درصورتی‌که برای سلول‌های‌شکننده میکرو، صاف‌کردن مناسب‌تر بوده زیرا به فشار غشاء و سرعت کمتری نیاز است. برای فرایندهای حدود ۲ مترمکعب در روز صاف‌کردن غشایی نسبت به سانتریفیوژ ارزش اقتصادی بالاتری دارد. برای فرایندهای با دبی بالا مانند روزانه ۲۰ مترمکعب، سانتریفیوژ در مقابله با فرایندهای غشایی ارزش اقتصادی بالاتری دارد. فرایندهای معمول صاف‌کردن برای بازیابی ریزجلبک‌های تقریباً بزرگ (بزرگ‌تر از ۷۰ میکرون) مانند *کلاستورمن و اسپیرولینا* مناسب هستند و نمی‌توانند برای جلبک‌هایی مانند سندسموس و *دونالیلا و کلرلا* به‌کار بروند [۱].

۵-۲-۲-۴-هزینه

فرایند صاف‌کردن بسیار ساده و درعین‌حال بسیار گران است. متغیرهایی مانند اندازه منافذ صافی، تجمع ریزجلبک، نوع گونه ریزجلبک و مواد سازنده صافی می‌توانند نقش بسزایی را در قیمت صاف‌کردن ایفا کنند[۱].

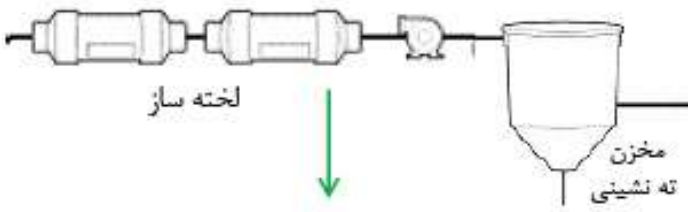
۵-۲-۲-۵-انرژی مصرفی

صاف کردن انتهایی بسته، به‌خودی‌خود دارای انرژی مصرفی پایینی است، اما بسامد شست‌وشو به همراه بار ایجادشده باعث افزایش میزان هزینه انرژی مصرفی و درنتیجه کاهش بازدهی صافی می‌شود. صاف‌کردن خلأ و فشاری هزینه انرژی مصرفی بالاتری داشته زیرا که دارای انرژی مصرفی به اندازه $kW/h\ m^{-3}$ ۲-۰/۳ است. تحقیقات‌دیگری این میزان انرژی مصرفی را بین $kW/h\ m^{-3}$ ۰/۲-۰/۸۸ و $kW/h\ m^{-3}$ ۰/۱-۰/۵۹ نیز گزارش کرده‌اند [۱].

۵-۲-۳- منعقد سازی

به دلیل اندازه بسیار کوچک و دانسیته بسیارکم اکثر گونه‌های میکروجلبکی و ناتوانی در ته‌نشینی آن‌ها، انعقادسازی را می‌توان از روش‌های بسیار موفق در برداشت میکروجلبک به‌شمارآورد. انعقادسازی را می‌توان به جمع شدن ذرات پخش‌شده و تبدیل به یک جسم مجتمع تعبیرکرد که اغلب شامل افزودن یک ماده شیمیایی خواهد بود[۱]. طرح کلی فرایند انعقاد در شکل ۵-۱ نشان داده شده است.

[122] Tangentional flow filtration



شکل۵-۱: شمای فرایند انعقاد [۱].

افزودن مواد شـــیمیایی به محیط کشـــت میکروجلبک برای افزایش انعقاد به‌عنوان یک روش مرســـوم در فرایندهای جداســـازی جامد- مایع بوده که پیش مرحله‌ایی برای برداشـــت بســـیاری از انواع میکروجلبک‌ها محســـوب می‌شـــود. گاهی انعقادســـازی می‌تواند به‌وســـیله‌ی جریان الکتریکی نیز صـــورت گیرد. لخته‌ســـازی می‌تواند به‌وســـیله لخته‌ســـازی شـــیمیایی، خودبه‌خودی، زیستی یا میکروبی انجام گیرد. لخته‌سازی شیمیایی از نمک‌ها یا پلیمرهای باردار برای تشکیل لخته‌ها استفاده می‌کند، درحالی‌که در لخته‌سازی خودبه‌خودی طبق گزارش‌ها لخته شدن با تنظیم pH، رسوب با کمک یون‌های فلزی که از قبل در محیط کشت بوده تشکیل می‌شود[۶]. لخته‌سازی زیستی به استفاده از گونه‌های ریزجلبکی اشاره‌دارد که قابلیت کاهش بار دیواره گونه موردنظر را داشـــته و اغلب در طول دوره ســـکون انجام می‌گیرد [۷]. لخته‌ســـازی میکروبی، روشـــی غیررایج برای برداشت ریزجلبک‌هاست که در آن محیط کشت ریزجلبکی به‌وسیله یک باکتری آلوده می‌شود که پلیمرهای ترشحی از آن‌ها سبب لخته شدن می‌شود[۸].

لخته شـــدن اشـــاره به جمع شـــدن ۲ یا چند ســـلول که در نتیجه جذب چند ســـلول به یکدیگر یا با مشـــارکت یک ماده شیمیایی همچون پلیمرها یا یون‌ها ایجاد می‌شود، دارد. به‌منظور انجام لخته‌سازی، سلول‌ها باید بر نیروهای دافعه حاصل از بارهای همنام غلبه کنند و به‌قدرکافی به یکدیگر نزدیک شـــوند تا نیروهای جاذبه واندروالس بتوانند ســـبب جذب شـــوند [۲]. لخته‌سازی مستلزم این است که چندین سلول به یکدیگر وصل شوند تا یک توده تشکیل شود که می‌توان آن را با نیروهایی همچون رسوب‌ثقلی، شناورسازی، یا صاف‌کردن جمع‌آوری کرد [۶]. عوامل تقویت لخته‌سازی شامل حرکات براونوی، مواد آلی خارج از سلولی، متابولیسم سلولی، نیروهای یونی و مقدار اکسیژن حل‌شده در محیط می‌شود [۲، ۶].

از مؤثرترین و سایل و روش‌های در د سترس برای مطالعه و تو سعه فرایند لخته سازی؛ ا ستفاده از روش جار آزمون و اندازه‌گیری پتانسیل زتاست. جار آزمون که به آزمون رسوب‌سازی نیز مشهور است، مقدار تنش موردنیاز برای مخلوط‌کردن لخته‌کننده‌ها و تشـــکیل تجمع مؤثر را هنگام فراهم آمدن عامل‌های اســـتاندارد اندازه‌گیری می‌کند تا ســـرعت ته‌نشـــینی را مشـــاهده و اندازه‌گیری کند. اندازه‌گیری پتانســـیل زتا، پتانســـیل الکتریکی یا نیروهای دافعه اطراف ســـلول‌های جلبکی را مشـــخص می‌کند. این ابزار و مفاهیم مفید برای توســـعه فرایند لخته‌ســـازی به‌کار می‌رود. روش‌های لخته‌ســـازی با توجه به عواملی مانند منبع تولید، شیمیایی یا زیستی‌بودن آن‌ها به چندین بخش تقسیم‌بندی می شوند. گاهی آن‌ها را به گروه‌های خود انعقاد، یونی، پلیمری و الکترولیتی و گاهی نیز به منعقدکننده‌های‌آلی و غیرآلی تقســـیم‌بندی می‌کنند که در بخش‌های زیر به شرح آن‌ها پرداخته شده است.

۵-۲-۳-۲-خود انعقادی

افزودنی‌های شیمیایی ازجمله کربنات‌ها و هیدروکسیدها می‌توانند باعث انجام واکنش‌های فیزیکی-شیمیایی بین جلبک و بهبود خود انعقادی شوند که این به‌دلیل ته‌نشینی کربنات، افزایش میزان pH و کاهش دی‌اکسیدکربن، روی می‌دهد. در جدول ۵-۳ انواع مواد مورداستفاده برای فرایند خودانعقادی، بازده و اطلاعات دیگر نیز آورده شده است[۱].

جدول ۰۵-۳: خود انعقادی و مشخصه‌های آن [۱].

ماده منعقدکننده	گونه میکروجلبک	بازده	pH	هزینه	محیط کشت	مرجع
سدیم هیدروکسید +منیزیم	کلرلا ولگاریس	۷۵ درصد	۱۱	۱۸ دلار به ازای هر	فتوبیوراکتور-۳۰ لیتر	[۹]
سدیم هیدروکسید +منیزیم	کلرلا ولگاریس	۹۵ درصد	۱۱/۵	۱۸ دلار به ازای هر	فتوبیوراکتور-۳۰ لیتر	[۹]
سدیم هیدروکسید +منیزیم	کلرلا ولگاریس	۹۵ درصد	۱۲	۱۸ دلار به ازای هر	فتوبیوراکتور-۳۰ لیتر	[۹]
$NA(OH)+ Mg^{2+}$	سندسموس	۵۰-۸۰	۱۲-		فتوبیوراکتور-۷۰ لیتر	[۱۰]
$NA(OH)+ Mg^{2+}$	کلرلا	۱۰-۴۰	۱۲-		فتوبیوراکتور-۷۰ لیتر	[۱۰]
$CA(OH)_2+ Mg^{2+}$	سندسموس	۷۵-۸۵	۱۲-		فتوبیوراکتور-۷۰ لیتر	[۱۰]
$CA(OH)_2+ Mg^{2+}$	کلرلا	۱۰-۷۰	۱۲-		فتوبیوراکتور-۷۰ لیتر	[۱۰]
NAOH+ Mg2+	کلرلا	۴۰-۱۰۰	۱۲/۵-		فتوبیوراکتور	[۱۱]
NAOH+ Mg2+	سندسموس	۴۰-۱۰۰	۱۲/۵-		فتوبیوراکتور	[۱۱]
NAOH+ Mg2+	*کلروکوکوم*	۴۰-۱۰۰	۱۲/۵-		فتوبیوراکتور	[۱۱]
NAOH+ Mg2+	*پاوداکتیلوم*	۴۰-۱۰۰	۷/۵-۱۰		فتوبیوراکتور	[۱۱]
NAOH+ Mg2+	*نانوکلروپسیس*	۴۰-۱۰۰	۷/۵-۱۰		فتوبیوراکتور	[۱۱]

همان‌طورکه از اطلاعات جدول ۵-۳ برمی‌آید از این روش برای برداشت اکثر ریزجلبک‌ها (*کلرلا*، *سندسموس*، *نانوکلروپسیس* و غیره) استفاده شده که بیشترشان بازده بالایی دارند و نشان می دهد که استفاده از این روش به همراه یکی از روش‌های پیش تغلیظ‌سازی می‌تواند به بازده بالایی منجر می شود.

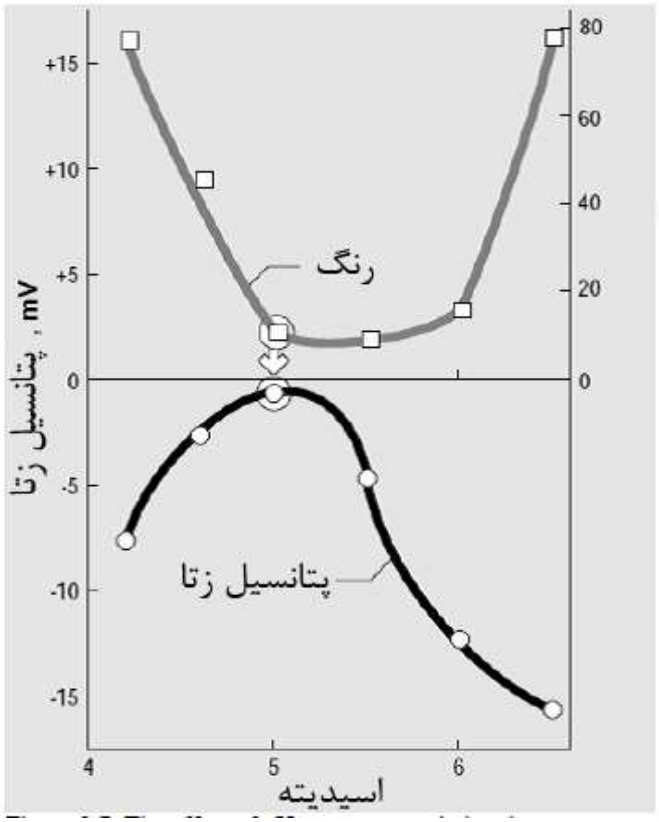
۵-۲-۳-۳-لخته‌سازی یونی

در لخته‌سازی یونی از یون‌های باردار مثبت برای کاهش بار منفی روی پوسته سلولی میکروجلبکی استفاده می‌شود (صفر میلی ولت). دافعه بین سلولی پایداری سو سپانسیون ریزجلبکی را افزایش می‌دهد. مقدار کاهش یا خنثی سازی بار موردنیاز برای استفاده از مقدار لخته‌ساز بهینه به نوع گونه‌ها و دانسیته بار سلولی وابسته است[۲]. برای ناپایدارکردن سوسپانسیون ریزجلبک‌ها باید از یون‌های باردار چندظرفیتی، همچون یون‌های آهن و آلومینیوم با بار مثبت ۳ استفاده کرد؛ زیرا این محلول‌ها دانسیته سلولی پایین، بار منفی قوی و توانایی بیولوژیکی خودترمیمی (جبران کاهش بار روی سلول) دارند [۱۲]. استفاده از لخته‌سازی یونی دارای مشکلاتی از جمله آلوده‌کردن زیست‌توده است که کاربرد غذایی ریزجلبک‌ها را محدود می‌کند و اقداماتی برای تصفیه فاضلاب حاصل از فرایند باید انجام گیرد[۱۳].

لخته سازی یونی نسبت به تغییرات اسیدیته حساس است، برای مثال مقدار دز مصرفی آلومینیوم در اسیدیته ۶٫۵ حدود ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر است. درصورتی‌که مقدار دز مصرفی برای اسیدیته ۵٫۵ به ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش می‌یابد. کلرید آهن سه‌ظرفیتی با کاهش اسیدیته به حدود ۳٫۵ دز مصرفی آن به ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌رسد[۶]. تنظیم اسیدیته برای لخته سازی بسیار ضروری است چنان چه در مورد این یون‌های فلزی دیده می شود در اسیدیته بالای ۷ لخته سازی انجام نمی‌شود.

بازده لخته سازی یونی به شدت حساس به اسیدیته محیط کشت است؛ اسیدیته با اثر گذاشتن بر حلالیت و انواع یون‌ها به‌وسیله هیدرولیز تشکیل می‌شود[۳، ۱۴، ۱۵]. حساسیت لخته شدن به اسیدیته از هیدرولیز شدن یون‌ها در شرایط اسیدی و اثر آن بر حلالیت آن‌ها حاصل می‌شود. در فرضیه شیلف و همکاران در سال ۱۹۸۴ اظهار شده است که نمک‌های آلومینیوم و آهن با محصولات هیدرولیز شده نه با یون‌های فلزی حاصل از آن‌ها ایجاد می‌شود [۱۶].

اثر پتانسیل زتا را می‌توان با مثال زیر توضیح داد که در آن ۰٫۰۶ گرم بر لیتر از سولفات آلومینیوم به محیط اضافه‌می شود. کاهش رنگ بهینه بین اسیدیته ۵ و ۶ اتفاق می‌افتد که در آنجا پتانسیل زتا از ۱۵- میلی ولت در اسیدیته ۷ به پتانسیل ۱۲- ، ۵- و ۰٫۵- به ترتیب برای اسیدی ته ۶، ۵ و ۴٫۵ می‌رسد که حداکثر میزان شفافیت در اسیدیته ۴٫۵ به‌دست‌می‌آید؛ بنابراین هر چه میزان پتانسیل زتا به صفر نزدیک شود نشان از خنثی شدن بار روی دیواره سلولی و ناپایدار شدن سوسپانسیون است که در شکل ۵-۲ نشان داده شده است[۴].

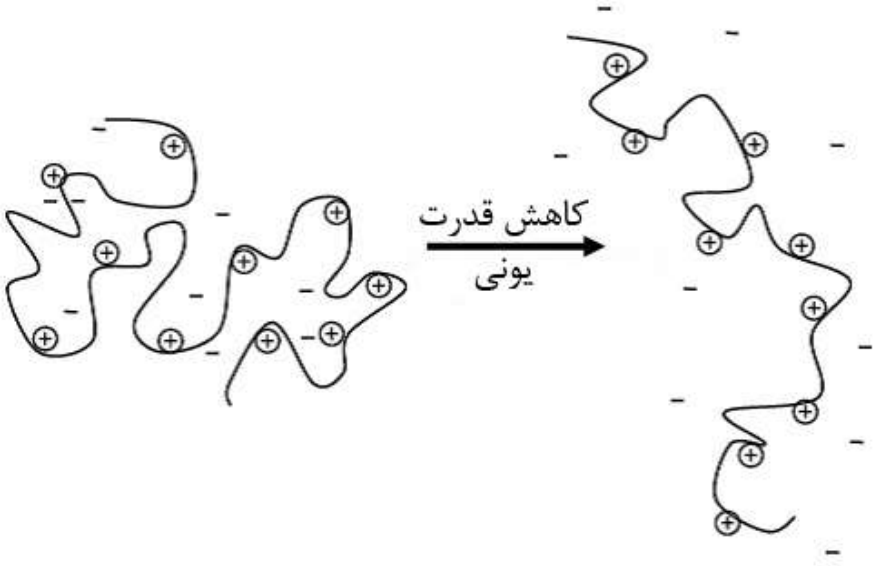


شکل۵-۲: اثر پتانسیل زتا بر لخته‌سازی[۴].

۵-۲-۳-۴-لخته‌سازی پلیمری

در لخته سازی پلیمری از زنجیره پلیمرهای بارداری که قادرند به دو یا چند سلول ریزجلبکی متصل شوند، استفاده می شود. این سلول‌ها با سازوکار تشکیل پل با پلیمرها آن‌ها را به تجمع و تشکیل لخته‌های چگال وادار می‌کنند که قابلیت رسوب را به آن‌ها می‌دهد. پلیمرها همچنین قادرند که پتانسیل زتا ذرات را کاهش دهند [۵]. پلیمرهای کاتیونی با بار مثبت، همچون پلی‌اتیلن آمین، بازده بالایی را در اتصال به ریزجلبک‌ها از خود نشان می‌دهند و درست مانند اتصال گروه‌های باردار یونی مثبت با سلول‌هایی با بار منفی است. پلیمرها برای بعضی از محلول‌ها که به سختی فرایند لخته شدن در آن‌ها صورت می‌گیرد، بسیار مفید می‌باشند زیرا همچون یون‌ها حساسیت زیادی به اسیدیته ندارند. از طرف دیگر، سرعت رسوب کردن لخته‌ها در حدود چند ثانیه است که در مقایسه با سرعت رسوب یون‌ها و فرایند رسوب خودبه‌خودی بسیار بالاتر است. آب‌های با مقدار نمک بالا می‌تواند به‌وسیله رسانش بالای خود از فرایند لخته‌سازی پلیمری جلوگیری کنند. وجود نمک بالا در محیط سبب می‌شود که دانسیته بار پلیمر کاهش یابد و دافعه بین گروه‌های باردار که باعث می‌شود پلیمر به‌صورت گسترده باقی بماند و تمام زنجیره پلیمری مورداستفاده قرار گیرد، کم شود[۱، ۱۷]. پلیمرهای یونی به‌صورت تصادفی به دور ذرات کوچک‌تر می‌پیچند که هنوز قادرند به سلول‌های باردار ریزجلبکی متصل شوند، اما قادر نیستند به چندین سلول متصل شوند و یک لخته را ایجاد کنند. اثر قدرت یونی بر شکل یک پلیمر باردار در شکل ۵-۳شکل نشان داده شده است. ممانعت نمک‌ها را می‌توان با استفاده از پلیمرهایی با زنجیره اصلی صلب یا با افزایش زمان به هم‌زدن قبل از انعقاد به حداقل رساند[۱۸]. تنظیم اسیدیته همچنین می‌تواند به آماده‌سازی پلیمر نیز کمک کند، برای نمونه می‌توان پلیمرهای

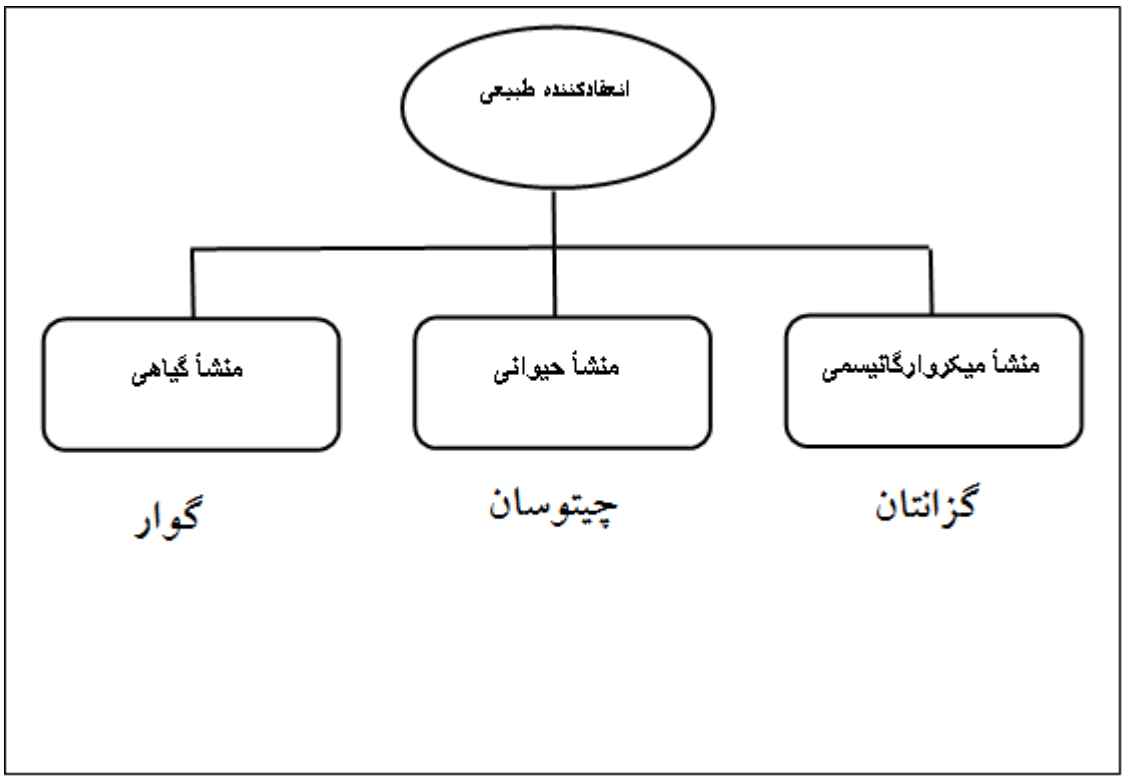
حساس به اسیدیته همچون چیتوسان را نام برد. در آماده‌سازی چیتوسان کاهش اسیدیته سبب می‌شود، ویسکوسیته محلول پلیمری کاهش یابد و این باعث می‌شود مخلوط همگن‌تری به‌دست‌آید.



شکل۵-۳: اثر قدرت یونی بر شکل یک بَسپار [۱۸].

لخته سازی با یک افزایش ا سیدیته در محیط می‌تواند سبب افزایش وی سکوزیته چیتو سان به صورت آنی و جمع شدن سلولی و شروع ته‌نشینی اولیه شود [۱، ۱۸]. چیتوسان یک انعقادکننده بسیار ایده‌آل برای حذف ریزجلبک‌ها در صنایع دریایی اســت زیرا می‌توان از آن به‌عنوان یک افزودنی در صــنایع غذایی اســتفاده کرد [۱۸]. پلیمرهای ســنتزی همچون پلی‌اتیلن آمین و پلی‌اتیلن آمید برای حذف ذرات باردار منفی در محلول‌های رقیق مورداســتفاده قرار می‌گیرند[۱۷]. مزیت لخته‌کننده‌های زی ستی این ا ست که زی ست‌توده به‌د ست‌آمده را آلوده نمی‌کنند. این جاذب‌ها با دارا بودن گروه‌های عاملی روی ساختار خود می‌توانند یون‌های فلزی با بار مثبت، رنگ‌دانه‌های محلول در آب و ریزجلبک‌های دارای بار منفی را جذب کنند. برای مثال از گروه‌های عاملی اســتامید روی چیتین، گروه‌های ســولفیدریل و کربوکســیل در پروتئین‌ها و گروه‌های هیدروک سیل در پلی ساکاریدها می‌توان به‌عنوان گروه‌های عاملی موجود در زی ست‌توده‌ها نام برد، که قادرند ذرات باردار را جذب کنند [۱۹]. از مهم‌ترین مزا یای اســتفاده از لخته‌کننده های زیســتی بازده بالا به خاطر بالا بودن جرم مولکولی پلیمرهایشان که آنان را به تولید لخته‌های بزرگ و فشرده توانا می‌سازد [۲۰]، حذف فرایند تصفیه فاضلاب پس از برداشت و سالم ماندن زی ست‌توده برای ا ستفاده مجدد در پرورش ریزجلبک ا ست. ب سیاری از محققان اثر منعقدکننده‌های طبیعی متنوعی را بررســی کردند که از حیوانات یا گیاهان به‌دســت‌می‌آید[۲۱]. اغلب منعقدکننده‌های طبیعی درون دســته‌ی پلی ساکاریدها قرار می‌گیرند. بر اساس منشأ تولید، منعقدکننده‌های طبیعی به سه دسته که در شکل ۵-۴شکل نشان داده‌شده تقسیم‌بندی می‌شوند. منعقدکننده‌های طبیعی اغلب دارای دو نوع سازوکارند:

۱) جذب و خنثی‌سازی بار؛
۲) جذب و اتصال بین ذرات.



شکل۵-۴: دسته‌بندی منعقدکننده‌های طبیعی[۲۱]

این پلیمرها ازاین‌رو که دارای جرم مولکولی بالا هستند و ساختاری با زنجیره کربنی طولانی دارند، تعداد مکان‌های جذب در د سترس آن‌ها بالا ست. برای مثال وجود جذب سطحی و اتصال بین ذره‌ی با بار منفی رنگ‌دانه و پلی ساکارید به‌دلیل کنش بین روش الکترونی پی در رنگ‌دانه و گروه عاملی هیدروکسیل موجود در پلی‌ساکارید است.

۵-۲-۳-۴-۱. پلیمرهایی با منشأ گیاهی به‌عنوان منعقدکننده

پلیمرها از گیاهان متنوعی همچون نشاسته، صمغ گوار، صمغ عربی و ... تهیه می‌شوند که اغلب به‌عنوان منعقدکننده نیز شناخته می‌شوند. این پلیمرها کاربردهای صنعتی متنوعی همچون استفاده از آن‌ها در صنایع کاغذسازی و افزودنی‌های غذایی دارند. برای نمونه حذف متیلن آبی به‌عنوان رنگ‌دانه با کمک هیدروژل تشکیل‌شده از صمغ عربی اصلاح‌شده، پلی اکریلات و پلی اکریل آمید موردبررسی قرار گرفت، حذف رنگ‌دانه در حدود ۹۸ درصد در اسیدیته ۸ گزارش شد؛ اما استفاده از صمغ عربی و گوار برای حذف رنگ‌دانه‌ها در صنایع رنگ به دلیل گستردگی جنس رنگ‌دانه‌ها هنوز در دست مطالعه است [۲۱].

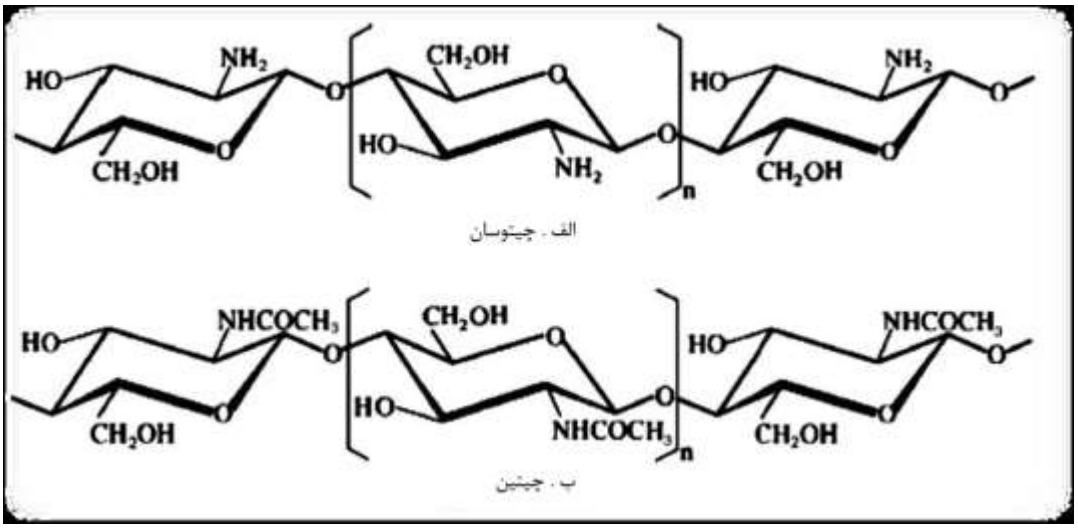
۵-۲-۳-۴-۲. پلیمرهایی با منشأ میکروسازواره‌ای به‌عنوان منعقدکننده

صمغ گزانتان یک پلی‌ساکارید است که از باکتری *زانتوموناس کمپستریس* به‌دست می‌آید و به‌عنوان افزودنی غذایی استفاده می‌شود که با تخمیر گلوکز با باکتری *زانتوموناس کمپستریس* تولید می‌شود. پس از تخمیر، پلی‌ساکارید از محیط رشد با کمک

فن‌های جداسازی و استفاده از حلّال جدا می‌شود. استفاده از صمغ گزانتان برای تصفیه فاضلاب حاصل از صنایع نساجی هنوز در نوشته‌های علمی گزارش نشده است [۲۱].

۵-۲-۳-۴-۳. پلیمرهایی با منشأ حیوانی به‌عنوان منعقدکننده

چیتوسان یک کوپلیمر است که از د-گلوکز آمین وان- استیل گلوکز آمین تشکیل‌شده و با استفاده از دی استیل کردن چیتین که مهم‌ترین و فراوان‌ترین پلیمر حیوانی است، به‌دست می‌آید که در شکل ۵-۵شکل ساختار آن‌ها نشان داده شده است. درجه دی استیل‌کردن به‌وسیله اسپکتروسکوپی NMR اندازه‌گیری می‌شود. چیتین در ساختار سخت‌پوستان مانند خرچنگ و میگو یافت می‌شود [۲۲].



شکل۵-۵: ساختار مولکولی الف) چیتوسان ب) چیتین[۲۲].

چیتوسان چندین خاصیت ذاتی همچون غیر سمی بودن، تجزیه‌پذیر بودن و کی لیت شونده دارد که باعث می‌شود به‌عنوان یک منعقدکننده مؤثر برای حذف آلوده‌کننده‌ها در محیط‌های آبی ا ستفاده شود. در اواخر دهه ۷۰ مطالعات متنوعی روی ا ستفاده از چیتو سان برای حذف فا ضلاب صنعتی با ا ستفاده از چیتو سان انجام گرفته ا ست. آن‌ها اثر چیتو سان برای لخته‌سازی و بازیابی جامدهای معلق از فاضلاب صنایع غذایی را بررسی کردند و دریافتند که این منعقدکننده توانایی بسیار بالایی در کاهش COD همچون حذف کدورت و جامدات معلق دارد. کارهای مطالعاتی متنوع ادعا کرده‌اند که چیتوسان با دو سازوکار که شامل خنثی‌سازی بار و سازوکار بریدجینگ است، عمل می‌کند [۲۲].

درجه دی استیل‌شدن می‌تواند به‌عنوان مقیاس مناسبی برای تشخیص چیتوسان و چیتین به‌کار رود زیرا می‌تواند مقدار گروه آمینو در پلی ساکارید را تعیین کند. در حقیقت چیتوسان نسبت به چیتین دو برتری دارد. به‌منظور حل کردن چیتین می‌بایست حلّال سمی کلرید لیتیم را مورداستفاده قرارداد، درصورتی‌که چیتوسان در محلول رقیق اسید استیک به‌خوبی حل می‌شود. دومین برتری چیتوسان این است که گروه عاملی آزاد آمینو دارد و به‌خوبی در واکنش‌ها شرکت می‌کند [۲۳].

درجه دی استیل شدن چیتوسان بازه‌ای بین ۵۶ تا ۹۹ درصد دارد که یک متوسط ۸۰ درصد را برای آن در نظر می گیرند، اغلب چیتین با درجه دی استیل شدن بالای ۷۵ درصد را چیتوسان گویند[۲۳]. روش‌های بسیاری برای اندازه‌گیری درجه دی استیلاسیون ارائه شده است زیرا این کمیت تأثیر زیادی بر مشخصات شیمیایی و فیزیکی ماده چیتین دارد. آنالیز عنصری یکی از روش‌های است که به‌صورت گسترده مورداستفاده قرار می‌گیرد؛ اما به دلیل جرم مولکولی بالای این پلیمر و مقدار آلودگی‌های همراه بسیار بالا دقت کافی ندارد. روش دیگر استفاده از اسپکتروسکوپی فروسرخ برای تعیین مقدار دی استیل‌شدن است که در مقایسه با روش‌های دیگر سریع‌تر است [۲۳].

چیتین به‌صورت اولیه یک ماده ساختاری است که نسبت به پلیمرهای کاربردی دیگر همچون پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک اهمیت کمتری دارد. بااین‌حال با شناخته شدن ویژگی‌های ریخت شناسی و زیستی آن در سال‌های اخیر، نقش چیتین بسیار مهم‌تر شده است و مطالعه در مورد کاربردهایش توجه زیادی را به خود جلب کرده است. کاربرد چیتین، چیتوسان و مشتقاتش بسیاری از زمینه‌ها همچون داروسازی و صنایع غذایی را پوشش می‌دهد[۲۴]. در جدول ۵-۴ خلاصه‌ای از کاربردهای رایج چیتین و مشتقاتش گزارش شده است. با توجه به محدودیت کاربرد چیتین، توجه بیشتر روی مشتقات قابل‌حل چیتین مانند چیتوسان و کربوکسی متیل چیتین است [۲۴].

جدول۵-۴: کاربردهای چیتین و مشتقاتش [۲۴].

کاربرد	نمونه
مهندسی	عامل کیلیت- یون فلزات سنگین- پروتئین و پپتد
صنایع غذایی	نگهدارنده‌های غذایی و افزودنی‌های طبیعی
پزشکی	داروهای ضد انعقادخون- دارو- پانسمان زخم- ترمیم استخوان- لنزهای تماسی
زیست‌فناوری	تثبیت آنزیم- بازیافت سلولی و جداسازی- کروماتوگرافی-تثبیت سلولی

۵-۲-۳-۵-لخته‌سازی الکترولیتی

اثبات شده که لخته سازی الکترولیتی بیش از ۹۵ درصد ریزجلبک‌ها را در آب‌های شیرین حذف می‌کند [۲۷]. این نوع لخته‌سازی با خنثی‌کردن بار و ترغیب تشکیل توده به‌وسیله نیروی میدان الکتریکی انجام می‌شود. در لخته‌سازی الکترولیتی، الکترودها که از آهن یا آلومینیوم ساخته شده، در محیط کشت قرار داده می شود و جریانی بین الکترودها برقرار می شود. الکترودها اکسید خواهند شد، یون‌های فلزی در آب حل می شوند، منعقدکننده یونی در محلول پخش‌می شود. این روش ممکن است از اضافه کردن نمک‌های فلزی مؤثرتر باشد زیرا جریان یونی همچون Cl^-یاSO_4^- همراه یون آلومینیوم به وجود نمی‌آید. جریان برقرارشده باعث انتقال سلول‌های ریزجلبکی با بار منفی به‌سوی الکترود با بار مثبت می شود و کنش بین سلول- سلول را ارتقا می‌دهد و سبب تجمع آن‌ها می شود[۵]. اما نگرانی‌ها در استفاده از لخته سازی الکترولیتی در آب با شوری بالا افزایش می‌یابد زیرا مقدار یون بالای موجود در آب سبب کاهش حلالیت یون فلزی حاصل از الکترود و افزایش سطح جریان موردنیاز می شود. شرایط اختلاط بهینه شامل زمان اختلاط و سرعت آن (rpm)، تنش

برای تشکیل لخته‌های بزرگ و حذفشان به‌وسیله ته‌نشینی یا شناورسازی، ضروری است. اختلاط بهینه کنش بین سلول- سلول را افزایش می‌دهد و افزایش سرعت اختلاط موجب شکسته شدن لخته‌ها می‌شود. علاوه‌براین فرایند اختلاط به‌طورمعمول در دو مرحله انجام می‌گیرد که شامل اختلاط با سرعت بالا و به دنبال آن اختلاط با سرعت آرام می‌شود. معمولاً یک مرحله اختلاط سریع در بازه زمانی ۱ تا ۳ دقیقه انجام می‌گیرد تا لخته‌های در اندازه کوچک تشکیل شود. سپس یک مرحله اختلاط آرام به مدت ۵ تا ۳۰ دقیقه صورت می‌گیرد تا لخته‌ها فرصت رشد کردن و بزرگ شدن داشته باشند. هر دو این مراحل باید انجام شود تا لخته‌سازی به‌صورت مؤثر انجام شود.

۵-۲-۳-۶-منعقدکننده‌های غیرآلی

سلول‌های میکروجلبک بارهای منفی دارند که هم می‌توانند بارهای مخالف را جذب کنند و هم باعث جذب گروه‌های عاملی شوند. با استفاده از برهم زدن پایداری مدل، می‌توان برداشت خوب میکروجلبک را به دست آورد. افزودن منعقدکننده‌های بر پایه آهن و آلومینیوم باعث خنثی شدن یا کاهش بار سطوح می‌شود. از آلومینیوم برای برداشت میکروجلبک‌هایی مانند *سندسموس* و *کلرلا* با خنثی‌سازی بار استفاده می‌شود. از منعقدکننده‌های غیرآلی در pHهای پایین نیز می‌توان برای برداشت میکروجلبک استفاده کرد. بااینکه منعقد کننده‌های غیرآلی مزایای بسیاری دارند، معایبی نیز دارند که عبارتند از:

۱) غلظت زیادی از منعقدکننده‌های شیمیایی را باید برای جدا سازی جامد- مایع استفاده کرد و به همین دلیل مقدار زیادی پسماند تولید می‌شود؛
۲) فرایند حساسیت زیادی به pH پیدا می‌کند؛
۳) همه منعقدکننده را نمی‌توان برای تمامی گونه‌های میکروجلبک به کار برد.

محصولات نهایی ممکن است شامل نمک‌های آلومینیوم یا آهن باشند[۲۵].

۵-۲-۳-۷- منعقدکننده‌های آلی

برای ایجاد ته‌نشینی مؤثر، ذرات منعقدکننده باید اندازه‌ای بزرگ‌تر از ۱۰۰ میکرومتر داشته‌باشند که با افزودن یک پل پلیمری با وزن مولکولی بالا اندازه ذرات منعقدکننده افزایش‌یافته و ته‌نشینی بهبود یابد. انعقاد با آلومینیوم‌سولفات و در ادامه با پلی الکترولیت‌های معین در برداشت میکروجلبک بسیار مؤثر است.

منعقدکننده‌های آلی قابل‌تخریب مانند چیتوسان[۱۲۳] از منابع طبیعی ساخته‌شده و باعث آلودگی محیط میکروجلبک نمی‌شوند. اکثر منعقدکننده‌های مؤثر برای بازیابی میکروجلبک کاتیونی هستند. پلی الکترولیت‌های آنیونی و غیریونی منعقدکننده‌های خوبی نیستند و دلیل آن را می‌توان در دفع بارهای همنام یا فاصله ناکافی برای اتصال ذرات دانست. وزن مولکولی پلیمرها، دانسیته بار مولکول‌ها، غلظت موردا ستفاده، غلظت میکروجلبک، بار یون‌ها و pH، همچنین میزان هم‌زدن سیال بر میزان بازده انعقاد تأثیر دارد. یکی از مشکلات استفاده از این روش وجود نمک زیاد در محیط کشت‌های دریایی است که باعث

[123] Chitosan

جلوگیری از فعالیت کاتیون‌های پلیمری می‌شـــود. پلی‌الکترولیت‌های دارای وزن مولکولی بالا عامل‌های ارتباطی بهتری هستند. محیط کشت با غلظت بالای میکروجلبک به دلیل برخورد بیشتر سلول- سلول انعقاد بهتری خواهند داشت [۱، ۲۵].

۵-۲-۳-۸- انعقاد ترکیبی

فرایند انعقاد ترکیبی فرایندی چندمرحله‌ای با استفاده از بیش از یک منعقدکننده است. بیشتر مطالعات انجام‌شده در این زمینه مربوط به میکروجلبک‌های دریایی بوده اســت. در این حالت‌ها برای افزایش انعقاد در آب دریا دو روش پیشـــنهاد شـده اسـت؛ روش اول مربوط به ترکیب پلی‌الکترولیت‌ها با یک منعقدکننده غیرآلی مانند فریک کلراید یا آلومینیوم اسـت و روش دوم مربوط به اکسیداسیون توسط اوزون و در ادامه استفاده از منعقدکننده دیگر است.

جدول۵-۶: منعقدکننده‌های شیمیایی [۲۵]

ماده منعقدکننده	گونه میکروجلبک	بازدهی	pH	غلظت (mg/L مورداستفاده)	محیط کشت	مرجع
منعقدکننده‌های کاتیونی + 71305 Nalco اتریش	*کلروکوکوم*	۸۵,۳		۳	فتوبیوراکتور نیمه‌پیوسته ۱۰۰ لیتری	[۱۸]
منعقدکننده‌های کاتیونی + 71303 Nalco اتریش	*کلروکوکوم*	۸۹,۹		۴	فتوبیوراکتور نیمه‌پیوسته ۱۰۰ لیتری	[۱۸]
منعقدکننده‌های کاتیونی + 71301 Nalcoاتریش	*کلروکوکوم*	۷۸		۳	فتوبیوراکتور نیمه‌پیوسته ۱۰۰ لیتری	[۱۸]
منعقدکننده آنیونی + 82230 Nalco	*کلروکوکوم*	۸۴,۵		۵	فتوبیوراکتور نیمه‌پیوسته ۱۰۰ لیتری	[۱۸]
منعقدکننده آنیونی Magnafloc 155 +Ciba	*کلروکوکوم*	۸۳,۹		۲	فتوبیوراکتور نیمه‌پیوسته ۱۰۰ لیتری	[۱۸]
منعقدکننده آنیونی Magnafloc 156 +Ciba	*کلروکوکوم*	۸۴,۵		۳	فتوبیوراکتور نیمه‌پیوسته ۱۰۰ لیتری	[۱۸]

منعقدکننده غیر آنیونیMagnafloc 351 +Ciba	*کلروکوکوم*	۷۹,۹		۱۰	فتوبیوراکتور نیمه‌پیوسته ۱۰۰ لیتری	[۱۸]
چیتوسان	*اسکیلتونیما کستاتوم*	۱۰۰	۷/۴	۱۰۰	فتوبیوراکتور ۱۰۰ لیتری	[۲۶]
چیتوسان	*دونالیلا ترتیولیکتا*	۱۰۰	۷/۱	۴۵	فتو بیوراکتور ۱۰۰ لیتری	[۲۶]
چیتوسان	*تالاسیوسیرا نوردینسکولدی*	۱۰۰	۷/۱	۴۰	فتو بیوراکتور ۱۰۰ لیتری	[۲۶]
چیتوسان	*کلرلا*	۱۰۰	۷/۱	۴۰	راکتور زیستی نوری ۱۰۰ لیتری	[۲۶]
چیتوسان	تالاسنیم	۹۰	۷/۱	۹۵/۲	راکتور زیستی نوری ۱۰۰ لیتری	[۲۶]
چیتوسان US + $40 – 70/kg	کلرلا	۹۹		۱۰	فتوبیوراکتور	[۲۷]
آلوم	*کلرلا استیگماتوفرا*	>۹۹	۵/۵	۱۴۰	پوند	[۲۸]
آلوم	*ایزوکرسیس گالبانا*	>۹۹	۵/۵	۲۲۵	پوند	[۲۸]
آلوم	*کلرلا ولگاریس*	>۹۹	۵/۵	۲۵	پوند	[۲۸]
فریک کلرید	*کلرلا استیگماتوفرا*	>۹۹	۵	۵۵	پوند	[۲۸]
فریک کلرید	*ایزوکرسیس گالبانا*	>۹۹	۵	۱۲۰	پوند	[۲۸]
فریک کلرید	*کلرلا ولگاریس*	>۹۹	۵	۱۱	پوند	[۲۸]
γ-PGA	*کلرلا ولگاریس*	۸۲	۷/۵	۲۰	فتوبیوراکتور ۱۰ لیتری	[۲۹]
γ-PGA	*کلرلا پروتوتیکوئدس*	۹۰	۷/۵	۲۰	فتوبیوراکتور ۱۰ لیتری	[۲۹]
Greenfloc 120	*پارا کلرلا 0.3+*	۹۰		۲۰–۱۰	فتوبیوراکتور	[۳۰]
Greenfloc 120	*پارا کلرلا 0.15+*	۹۰		۲۰–۱۰	فتوبیوراکتور	[۳۰]
Greenfloc 120	*پارا کلرلا 0.075+*	۹۰		۲۰–۱۰	فتوبیوراکتور	[۳۰]
Greenfloc 120	*سندسموس*	۸۰		<۱۰	فتوبیوراکتور	[۳۰]
پلی الکترولیت EM16	*موریلوپسیس sp*	۹۰		۱۰	فتوبیوراکتور ۵ لیتر	[۱۳]

همان‌طور که از اطلاعات جدول ۵-۶جدول پیداست این نوع از انعقاد نیز برای بیشتر گونه‌های ریزجلبک مانند *کلرلا*، *سند سموس* و ... قابل‌استفاده بوده و بازده بسیار بالایی دارد، در قسمت‌های بعدی گفته می شود که استفاده از پلی الکترولیت‌های کاتیونی به‌دلیل استفاده به مقدار کمتر هم ازلحاظ هزینه‌ای و هم ازنظر اثرات سوء کمتر، مناسب خواهد بود.

۵-۲-۳-۹-انعقاد با استفاده از الکتریسیته

سازوکار فرایند انعقاد با استفاده از الکتریسیته شامل ۳ مرحله است:

۱- تولید منعقدکننده‌ها با اکسیداسیون الکترولیتی الکترودهای معین‌شده؛

۲- ناپایدارکردن سوسپانسیون ذرات و شکستن امولسیون؛

۳- جمع‌آوری فازهای پراکنده‌شده برای تشکیل منعقدشده‌ها.

برخی از مطالعات نیز نشان داده‌اند که بازیابی ریزجلبک با استفاده از این روش به‌صورت پیوسته امکان‌پذیر است. انعقاد بر اساس الکتریسیته بر پایه حرکت ریزجلبک‌ها به سمت الکترود آند به‌منظور خنثی‌کردن بارشان استوار است. به‌طورکلی بازده انعقاد در این روش بین ۸۰ تا ۹۵ درصد است[۲۵]. در این فرایند مصرف انرژی $0/3\ kW/hm^{-3}$ است[۱]. در جدول ۵-۷جدول ۰ تحقیقات مختلف انجام‌شده روی گونه‌های مختلف با استفاده از انعقاد الکتریکی آورده‌شده است.

جدول ۰۵-۷: انعقاد با الکتریسیته [۲۵].

میزان برق مصرفی	گونه میکروجلبک	بازدهی	عامل کمک‌کننده	مدت‌زمان	محیط کشت	مرجع
۶۰ ولت (۱۰۱ آمپر)	*بوتریکوکوس برانی*	۸۸	بدون هوا	۳۰	راکتور زیستی نوری ۲ لیتری	[۳۱]
۶۰ ولت (۱۰۱ آمپر)	*بوتریکوکوس برانی*	۹۰	با ۱۵ میلی‌لیتر بر دقیقه هوا	۲۲	راکتور زیستی نوری ۲ لیتری	[۳۱]
۶۰ ولت (۱۰۱ آمپر)	*بوتریکوکوس برانی*	۹۹	با ۳۰ میلی‌لیتر بر دقیقه هوا	۱۸ دقیقه	راکتور زیستی نوری ۲ لیتری	[۳۱]
۶۰ ولت (۱۰۱ آمپر)	*بوتریکوکوس برانی*	۹۰	با ۶۰ میلی‌لیتر بر دقیقه هوا	۲۲ دقیقه	راکتور زیستی نوری ۲ لیتری	[۳۱]
۱۰ ولت	*کلروکوکوم*	۹۸		۱۵ دقیقه	راکتور زیستی نوری ۱۰۰ لیتری	[۳۲]
۱۰ ولت	*تتراسلمیس sp*	۹۹		۱۵ دقیقه	راکتور زیستی نوری ۱۰۰ لیتری	[۳۲]
۱۲ میلی‌آمپر بر سانتیمتر مربع	*کلرلا ولگاریس*	۹۱	الکترود آلومینیوم	۱۰ دقیقه	راکتور زیستی نوری ۳۰ لیتری	[۳۳]

۱۲ میلی‌آمپر بر سانتیمتر مربع	*پاوداکتیلوم تریکرموتوم*	۷۸	الکترود آلومینیوم	۱۰ دقیقه	راکتور زیستی نوری ۳۰ لیتری	[۳۳]
۱,۲ واتساعت بر کیلوگرم	*نانوکلروپسیس اوکولاتا*	۹۹	Al–Pt	۱۵ دقیقه	راکتور زیستی نوری	[۳۴]
۱,۲ واتساعت بر کیلوگرم	*نانوکلروپسیس اوکولاتا*	۹۹	Al–DSA	۱۵ دقیقه	راکتور زیستی نوری	[۳۳]

۵-۲-۴- شناورسازی

شناور سازی، فرایند جدا سازی جاذبه‌ای ا ست که در آن حباب هوا یا گاز به جسم جامد چسبیده و آن را به سطح مایع می‌رساند. با توجه به انتقال ریزجلبک در فرایند شناورسازی، این فرایند در مقایسه با فرایند ته‌نشینی دارای بازده بهتری ا ست. شناور سازی می‌تواند ذرات دارای اندازه کمتر از ۵۰۰ میکرومتر را به‌دلیل برخورد بین حباب و ذره؛ همچنین خا صیت چسبندگی حباب و ذرات جدا سازی نماید. بر ا ساس اندازه حباب‌های موردا ستفاده در فرایند شناور سازی، کاربردها می‌تواند به‌صورت شناورسازی آب حل‌شده (DAF[۱۲۴]) و آب دیس پرس شده تقسیم شوند[۲۵].

۵-۲-۴-۲-حوضچه‌های DAF

این فرایند مستلزم کاهش فشار جریان آب است که باعث پیش اشباع شدن با هوا در فشار زیاد شده و حباب‌هایی با اندازه‌های ۱۰ تا ۱۰۰ میکرون را تولید می‌کند. عامل‌های مرتبط با برداشت DAF، عبارتند از: فشار تانک، سرعت بازیافت، زمان بازداری هیدرولیک و سرعت شناورسازی. منعقدسازی شیمیایی از روش‌هایی است که می‌تواند با روش DAF برای بازیابی ریزجلبک مورداستفاده قرار گیرد. همچنین در مطالعاتی دیگر استفاده از روش خود انعقاد با اکسیژن حل‌شده پس از انعقاد توسط آلومینیوم و پلیمر C-31 انجام‌شده و ۸۰–۹۰ درصد بازیابی برای غلظت ۱۶ میلی‌گرم بر لیتر ریزجلبک را به‌دست آورده است. مطالعات نشان می‌دهند که روش DAF در مقابله با روش ته‌نشینی روش بهتری است؛ درصورتی‌که در این حالت نیاز به یک پیش مرحله مانند منعقدسازی وجود دارد[۲۵].

۵-۲-۴-۳-شناورسازی به‌روش هوای پخش‌شده

شناورسازی هوای دیس پرس شده حباب‌هایی با اندازه ذرات ۷۰۰ تا ۱۵۰۰ میکرون را با یک همزن مکانیکی سرعت بالا و یک روش تزریق هوا تولید می‌کند [۲۵]

[124] Dissolved air flotation

۵-۳- جمع بندی

در رابطه با انتخاب روش مناسب جهت برداشت ریزجلبک معیارهای زیر در نظر گرفته شد:

۱- روش مورد استفاده می بایست قابلیت افزایش مقیاس برای حجم های زیاد ریزجلبک را دارا باشد

۲- مقرون به صرفه بودن روش مورد استفاده چه از لحاظ هزینه سرمایه گذاری و چه از لحاظ هزینه بهره برداری

۳- داشتند راندمان بالا برداشت ریزجلبک بدون آسیب رساندن به ساختار ریز جلبک

۴- امکان ساخت نمونه های پرتابل جهت کوبل شدن با سیستم کشت پرتابل در هر مکانی

۵- عدم ترکیب شدن مواد خارجی با محتوای بیومس و بیوسیمان

با بررسی معیارهای ذکر شده روش ترثیب شیمیایی با توجه به مخلوط شدن مواد شیمیایی با محتوای بیومس از بین روش های انتخابی مردود می گردد. همچنین روش سانتریفیوژ با توجه به هزینه سرمایه گذاری بالا، عدم امکان افزایش مقیاس و جابجایی نیز از بین روش های انتخابی حذف می گردد. در مجموع جهت برداشت ریزجلبک از میان روشهای مختلف بررسی شده تنها روش انعقاد الکتریکی هر دارای خصوصیات هر ۵ معیار ذکر شده است. این سیستم به علت راحتی ساخته می شود و بصورت پرتابل تا حجم های بالا مثل ۱۲۰ متر مکعب بر روز قابل بهره برداری است. راه اندازی پایلوت بسیار ساده بوده و نیاز به اپراتور حرفه ای ندارد همچنین هزینه ساخت و بهره بهره بردای از آن نسبت به دیگر روشها کمتر است در انتها نیز این سیستم هیچ گونه آسیبی به ساختار بیومس وارد نمی کند و هیچ ماده شیمیایی خارجی نیز به ترکیب اضافه نمی گردد. لذا این روش برای برداشت ریزجلبک انتخاب شد که پایلوت آن در فاز بعدی ساخته خواهد شد

مراجع

[1] D. Bilanovic, *et al.*, "Flocculation of microalgae with cationic polymers Effects of medium salinity," *Biomass*, vol. 17, pp. 65-76, 1988.

[2] R. Henderson, *et al.*, "Successful removal of algae through the control of zeta potential," *Separation Science and Technology*, vol. 43, pp. 1653-1666, 2008.

[3] J. Gregory and J. Duan, "Hydrolyzing metal salts as coagulants," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 73, pp. 2017-2026, 2001.

[4] I. Zeta-Meter, *Everything You Want to Know about Coagulation & Flocculation*: Zata-Meter, 1988.

[5] N. Uduman, *et al.*, "Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels," *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, vol. 2, p. 012701, 2010.

[6] E. W. Becker, *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*: Cambridge University Press, 1994.

[7] M. R. Bilad, *et al.*, "Harvesting microalgal biomass using submerged microfiltration membranes," *Bioresource technology*, vol. 111, pp. 343-352, 2012.

[8] A. Lee, *et al.*, "Microbial flocculation, a potentially low-cost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel," *Journal of Applied Phycology*, vol. 21, pp. 559-567, 2009/10/01 2009.

[9] M. Castrillo, *et al.*, "High pH-induced flocculation–sedimentation and effect of supernatant reuse on growth rate and lipid productivity of Scenedesmus obliquus and Chlorella vulgaris," *Bioresource technology*, vol. 128, pp. 324-329, 2013.

[10] Z. Wu, *et al.*, "Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium," *Bioresource technology*, vol. 110, pp. 496-502, 2012.

[11] C.-Y. Chen, *et al.*, "Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review," *Bioresource technology*, vol. 102, pp. 71-81, 2011.
[12] J. Clasen, *et al.*, "An improved method for detecting electrophoretic mobility of algae during the destabilisation process of flocculation: flocculant demand of different species and the impact of DOC," *Journal of Water Supply Research and Technology*, vol. 49, pp. 89-101, 2000.
[13] E. Molina Grima, *et al.*, "Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics," *Biotechnology Advances*, vol. 20, pp. 491-515, 2003.
[14] M. Xiaoying, *et al.*, "Characteristics of BPA removal from water by PACl-Al13 in coagulation process," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 337, pp. 408-413, 2009.
[15] D. Shooter, "Aqueous environmental chemistry of metals, Allen J. Rubin, Ann Arbor Science Publishers, Inc. (1974). 390 pages. $20.00," *AIChE Journal*, vol. 22, pp. 202-202, 1976.
[16] G. Shelef and A. Sukenik, *Microalgae Harvesting and Processing: A Literature Review a Subcontract Report*: Technion Research and Development Foundation, 1984.
[17] B. Bolto and J. Gregory, "Organic polyelectrolytes in water treatment," *Water Research*, vol. 41, pp. 2301-2324, 2007.
[18] J. Morales, *et al.*, "Harvesting marine microalgae species by chitosan flocculation," *Aquacultural Engineering*, vol. 4, pp. 257-270, 1985.
[19] D. C. Grant, *et al.*, "Removal of radioactive contaminants from West Valley waste streams using natural zeolites," *Environmental Progress*, vol. 6, pp. 104-109, 1987.
[20] F. Renault, *et al.*, "Chitosan for coagulation/flocculation processes – An eco-friendly approach," *European Polymer Journal*, vol. 45, pp. 1337-1348, 2009.
[21] A. K. Verma, *et al.*, "A review on chemical coagulation/flocculation technologies for removal of colour from textile wastewaters," *Journal of Environmental Management*, vol. 93, pp. 154-168, 2012.
[22] J. C. Y. Ng, *et al.*, "Equilibrium studies for the sorption of lead from effluents using chitosan," *Chemosphere*, vol. 52, pp. 1021-1030, 2003.
[23] J. Brugnerotto, *et al.*, "An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization," *Polymer*, vol. 42, pp. 3569-3580, 2001.
[24] J. D. Merrifield, "Synthesis and characterization of thiol-grafted chitosan beads for mercury removal," The University of Maine, 2002.
[25] N. Uduman, *et al.*, "Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement," *Chemical Engineering Journal*, vol. 162, pp. 935-940, 2010.
[26] A. L. Ahmad, *et al.*, "Optimization of microalgae coagulation process using chitosan," *Chemical Engineering Journal*, vol. 173, pp. 879-882, 2011.
[27] A. Sukenik, *et al.*, "Flocculation of microalgae in brackish and sea waters," *Biomass*, vol. 15, pp. 187-199, 1988.
[28] H. Zheng, *et al.*, "Harvesting of microalgae by flocculation with poly (γ-glutamic acid)," *Bioresource technology*, vol. 112, pp. 212-220, 2012.
[29] D. Vandamme, *et al.*, "Flocculation of microalgae using cationic starch," *Journal of Applied Phycology*, vol. 22, pp. 525-530, 2010/08/01 2010.
[30] M. Granados, *et al.*, "Evaluation of flocculants for the recovery of freshwater microalgae," *Bioresource technology*, vol. 118, pp. 102-110, 2012.

[31] N. Uduman, *et al.*, "A parametric study of electrocoagulation as a recovery process of marine microalgae for biodiesel production," *Chemical Engineering Journal,* vol. 174, pp. 249-257, 2011.
[32] D. Vandamme, *et al.*, "Evaluation of electro-coagulation–flocculation for harvesting marine and freshwater microalgae," *Biotechnology and Bioengineering,* vol. 108, pp. 2320-2329, 2011.
[33] J. Kim, *et al.*, "Continuous microalgae recovery using electrolysis with polarity exchange," *Bioresource technology,* vol. 111, pp. 268-275, 2012.
[34] D. Vandamme, *et al.*, "Developing flocculation-based harvesting techniques for microalgal biomass," *Kortrijk, Belgium: Katholieke University Leuven,* 2010.

 DOI: 10.30503/nripress.2020.233

فصل ششم:
مواد و روشها

۶-۱- مقدمه

در این فصل محیط کشت‌ها، تمامی تجهیزات و مواد مصرفی، شرایط مختلف استفاده شده برای کشت ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*، نحوه انجام آزمایش‌ها و آنالیزهای صورت گرفته، تشریح می‌شود.

۶-۲- مواد و دستگاه‌های مورد استفاده

۶-۲-۱- گونه ریزجلبک مورد استفاده در پژوهش

گونه مورد استفاده در این پژوهش *کلرلا ولگاریس* می‌باشد که ریزجلبک سبز تک سلولی ساکن آب‌های شیرین است (شکل ۶-۱). دلیل انتخاب این سویه نرخ رشد بالا در محیط کشت‌های نه چندان غنی از مواد مغذی می‌باشد. در این پژوهش از دو سویه *کلرلا ولگاریس* استفاده شد. سویه ۱ که از تالاب انزلی جداسازی شده است، از پژوهشکده آبزی پروری ماهیان استخوانی واقع در شهرستان بندر انزلی تهیه گردید و سویه ۲ از پژوهشگاه مواد و انرژی تهیه شد.



شکل ۶-۱- تصویر میکروسکوپی سویه ریزجلبک مورد استفاده در پژوهش

۶-۲-۲- مواد و محیط کشت‌های مورد استفاده

به منظور یافتن محیط کشت مناسب که ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* در آن میزان رشد مناسبی داشته باشد، چند محیط که برای کشت ریزجلبک‌ها معمول است، با نام‌های بی‌جی۱۱[۱۲۵]، بی بی ام[۱۲۶]، ام بی ام[۱۲۷]، زاروک[۱۲۸] و رودیک[۱۲۹] انتخاب شد. در جدول ۶-۱ محیط کشت‌ها و اجزای تشکیل دهنده آن‌ها به همراه مقادیر مصرفی آورده شده است. به منظور تامین منبع کربنی در شرایط متفاوت کشت از کربن دی اکسید، سدیم بی‌کربنات و ملاس استفاده شد. برای تنظیم pH محیط کشت از

[125]. Blue green algae-11 medium (BG11)
[126]. Bold Basal medium (BBM)
[127]. Modified Bristol’s medium (MBM)
[128]. Zarrouk
[129]. Rudic

محلول‌های اسید سولفوریک و سود یک نرمال استفاده شد. تمام مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان و یا سیگما–آلدریچ تهیه شده‌اند.

جدول ۶–۱– اجزای تشکیل دهنده محیط کشت‌های ریزجلبک[۱, ۲]

اجزای تشکیل دهنده	بی‌جی ۱۱ (g/l)	بی بی ام(g/l)	ام بی ام(g/l)	زاروک (g/l)	رودیک (g/l)
$NaNO_3$	۱/۵	۰/۲۵		۲/۵	۰/۳
KNO_3			۰/۲۵		
$MgSO_4.7H_2O$	۰/۰۷۵	۰/۰۷۵	۰/۰۷۵	۰/۲	۰/۰۱
K_2HPO_4	۰/۰۴	۰/۱	۰/۰۷۵	۰/۵	۰/۰۸
KH_2PO_4		۰/۱۷۵	۰/۱۷۵		۰/۰۲
Ferric Ammonium citrate	۰/۰۰۶				
Citric acid	۰/۰۰۶				
$FeSO_4.7H_2O$		۰/۰۰۴۹۸	۰/۰۰۲	۰/۰۱	
$FeCl_3.6H_2O$					۰/۰۱۷
$CaCl_2.2H_2O$	۰/۰۳۶	۰/۰۲۵	۰/۰۱	۰/۰۴	۰/۰۵۸۵
K_2SO_4				۱	
KOH		۰/۰۳۱			
NaCl		۰/۰۲۵	۰/۰۲۵	۱	۰/۰۲
EDTA.2Na	۰/۰۰۱	۰/۰۵		۰/۰۸	۰/۰۰۸۶۸
Trace element solution					
H_3BO_3	۰/۰۰۲۸۶	۰/۰۱۱۴۲	۰/۰۰۲۸۶	۰/۰۰۲۸۶	۰/۰۰۰۳
$MnCl_2.4H_2O$	۰/۰۰۱۸۱	۰/۰۰۱۴۴		۰/۰۰۱۸۱	
$MnSO_4.7H_2O$			۰/۰۰۲۵		۰/۰۰۱۵
$ZnSO_4.7H_2O$	۰/۰۰۰۲۲۲	۰/۰۰۸۸۲	۰/۰۰۰۲۲۲	۰/۰۰۰۲۲۲	۰/۰۰۰۱
$Na_2MoO_4.2H_2O$	۰/۰۰۰۳۹	۰/۰۰۱۰۷	۰/۰۰۰۰۲۱	۰/۰۰۰۰۱۷۷	۰/۰۰۰۰۶
$CuSO_4.5H_2O$	۰/۰۰۰۰۷۹	۰/۰۰۱۵۷	۰/۰۰۰۰۷۹	۰/۰۰۰۰۷۹	۰/۰۰۰۰۸
$Co(NO_3)_2.6H_2O$	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۴۹			۰/۰۰۰۲۶

۶-۲-۳- دستگاه‌ها و وسایل مورد استفاده

در این قسمت دستگاه‌ها و وسایل مورد استفاده و هدف استفاده از آن‌ها جهت انجام آزمایش‌ها معرفی می‌شوند که هر یک در جدول ۶-۲ آورده شده است.

جدول۶-۲- دستگاه‌ها و وسایل مورد استفاده

نام دستگاه	هدف استفاده
شیکر انکوباتور	کشت، تنظیم دما و سرعت همزدن
اتوکلاو	استریل کردن مواد و لوازم
هود میکروبی	حفظ شرایط سترون برای انجام تلقیح
هود شیمیایی	به منظور کار با حلال‌های آلی
سانتریفیوژ	بدست آوردن رسوب سلولی
دستگاه انعقاد الکتریکی	بدست آوردن رسوب سلولی
آون	خشک کردن
اسپکتروفتومتر UV-vis	اندازه‌گیری غلظت سلولی
pH متر	تنظیم pH محیط کشت
ترازوی دیجیتالی دقیق	توزین
میکروسکوپ	بررسی مورفولوژی و شمارش سلولی
لام نئوبار[۱۳۰]	شمارش سلولی
نور سنج	اندازه‌گیری شدت نور
لامپ مهتابی	تامین نور برای فتوسنتز ریزجلبک
پمپ آکواریوم	هوادهی کشت ریزجلبک
فیلتر سرسرنگی	استریل کردن مواد حساس به حرارت
فیلتر هوا	استریل کردن هوای ورودی به کشت ریزجلبک
کووت سل	اندازه‌گیری دانسیته نوری
کپسول CO_2	به منظور تامین منبع کربن ریزجلبک
کربن، هیدروژن و نیتروژن آنالایزر	اندازه گیری میزان کربن، هیدروژن و نیتروژن در ماده

[130]. Neubauer

۶-۳- تهیه مایع تلقیح

نمونه ریزجلبک تهیه شده به محیط کشت بی جی۱۱ تلقیح شد و تحت شرایط دمایی $30^{\circ}C$ و نور لامپ‌های فلورسنت با شدت $60\ \mu mol\ photon/m^2.s$ معادل با $3000\ lux$ و چرخه نور/تاریکی ۱۶/۸ ساعت/ساعت در شیکر انکوباتور با سرعت $130\ rpm$ کشت داده شد. سپس کشت به دست آمده با دانسیته بالا روی پلیت‌های آگاردار بی جی۱۱ کشت داده شد و در دمای $30^{\circ}C$ و نوردهی پیوسته با شدت $60\ \mu mol\ photon\ /m^2.s$ قرار داده شد. کلنی‌های مجزا تشکیل شده در همان محیط کشت قبلی پیش کشت شدند تا سویه خالص میکروارگانیسم بدست آید. اطمینان از عدم آلودگی کشت‌ها با مشاهده منظم زیر میکروسکوپ حاصل شد[۱].

۶-۴- تهیه بانک سلولی از ریزجلبک استفاده شده

جهت تهیه بانک سلولی و نگه‌داری طولانی مدت سویه مورد نظر به روش زیر عمل شد. ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* در محیط کشت تلقیح شد و بعد از رسیدن به انتهای فاز لگاریتمی با سرعت $1500\ g\ (RCF)$ و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد (سانتریفیوژ اپندورف R ۵۸۱۰). مایع رویی دور ریخته شد و در ادامه به رسوب سلولی $2\ ml$ محیط تازه استریل اضافه شد و بعد در میکروتیوب‌های استریل، $500\ \mu l$ از رسوب سلولی و $500\ \mu l$ گلیسرول ۵۰٪ اضافه شد. بدین ترتیب بانک‌های سلولی غلیظ از میکروارگانیسم مورد نظر تهیه شد که ابتدا در $-20^{\circ}C$ و سپس در $-70^{\circ}C$ نگه‌داری شدند. در طی تمامی مراحل برای جلوگیری از ورود آلودگی، شرایط استریل حفظ شد[۳]. البته به منظور نگه‌داری و ذخیره‌سازی ریزجلبک مورد نظر پلیت‌های حاوی محیط کشت بی جی۱۱ که حاوی ۲٪ آگار است نیز آماده شد و سویه موردنظر در آن کشت داده شد. پلیت‌ها دور از نور و در دمای $4^{\circ}C$ نگه‌داری شدند.

۶-۵- آزمایش‌های انجام شده

۶-۵-۱- آزمایش بررسی تاثیر محیط کشت‌های مختلف بر رشد ریزجلبک

به منظور یافتن محیط کشت مناسب که ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* در آن میزان رشد مناسبی داشته باشد، پنج محیط کشت معمول با نام‌های بی‌جی۱۱، بی بی ام، ام بی ام، زاروک و رودیک انتخاب شد که در جدول ۶-۱ اجزای تشکیل دهنده آن‌ها آورده شده است. به منظور مقایسه رشد ریزجلبک در این محیط کشت‌ها، شرایط کشت فتوتروف در نظر گرفته شد و از سدیم بی‌کربنات با غلظت $1\ g/l$ به عنوان منبع کربنی استفاده شد. هر چند که نوع منبع نیتروژنی در همه محیط کشت‌ها نیترات است، اما غلظت آن در زاروک تقریبا ۱۰ برابر سه محیط کشت بی بی ام، ام بی ام و رودیک و در بی‌جی۱۱ تقریبا ۶ برابر محیط کشت‌های ذکر شده است. از این رو دو محیط کشت زاروک و بی‌جی۱۱ محیط‌های غنی از نیتروژن محسوب می‌شوند. عناصر کم مقدار[131] (آهن، روی، منگنز، مولیبدن، مس و کبالت) نیز در این محیط کشت‌ها یکسان است. البته از میان محیط کشت‌ها، غلظت اجزای محیط رودیک کمتر از سایر محیط کشت‌ها می‌باشد.

[131]. Trace elements, microelements

۶-۵-۲- آزمایش بررسی نوع منبع نیتروژنی بر رشد ریزجلبک

در این بخش به منظور یافتن بهترین نوع منبع نیتروژنی برای مصرف سویه مورد نظر، سه منبع سدیم نیترات، اوره و آمونیوم کلراید مورد استفاده قرار گرفتند و نتایج به دست آمده مقایسه شد. از نظر استوکیومتری مقادیر نیتروژن در هر سه حالت با هم برابر است و مطابق با غلظت محیط کشت زاروک می باشد.

۶-۵-۳- آزمایش بررسی شرایط کشت بر رشد ریزجلبک

در این قسمت سویه مورد نظر تحت شرایط فتوتروف با سدیم بی‌کربنات ($1g/l\ NaHCO_3$) یا کربن دی اکسید (۰/۰۳٪)، فتوهتروتروف (ملاس $1g/l$) و میکسوتروف (ملاس $1g/l$+ $1g/l\ NaHCO_3$)کشت داده شد و نتایج به دست آمده مقایسه شد. البته از آن جایی که ملاس دارای ناخالصی‌های بسیاری است، قبل از آن که مورد استفاده قرار گیرد نیاز به آماده‌سازی دارد. از سوی دیگر، ترکیب درصد اجزای آن نیز باید مشخص باشد که در ادامه نحوه آماده‌سازی و آنالیز اجزای آن توضیح داده خواهد شد.

۶-۵-۳-۱- نحوه آماده‌سازی ملاس

ابتدا ملاس خام به نسبت ۵ برابر (حجمی/ وزنی) با آب مقطر رقیق سازی شد و بعد با سرعت (RCF)g ۴۵۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا مواد جامد جدا شوند. سپس با استفاده از اسید سولفوریک، pH آن به ۳ رسانده شد و بعد در دمای $120^{\circ}C$ به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد. محلول حاصل به مدت یک شب در دمای اتاق نگه داری شد و بعد سانتریفیوژ شد. ملاس در این مرحله آماده‌سازی شده است. بدین ترتیب ناخالصی‌ها از جمله مواد سنگین و مواد رنگ‌زا از بین رفته و مهار کننده‌های زیادی حذف می‌شوند. آماده‌سازی به این روش به هیدرولیز ساکاروز به گلوکز و فروکتوز کمک می‌کند. هم‌چنین این عمل به دپلیمریزاسیون هر نوع الیگوساکارید موجود در ملاس نیز کمک می‌کند[۴].

۶-۵-۳-۲- اندازه‌گیری کربن و نیتروژن موجود در ملاس

از آنالیز عنصری CHN[۱۳۲] (کربن، هیدروژن و نیتروژن) برای اندازه‌گیری مقدار کربن و نیتروژن موجود در ملاس استفاده شد. با استفاده از این آنالیز می‌توان مقدار نسبت وزنی و مولی کربن، نیتروژن و هیدروژن را بدست آورد. در واقع دستگاه CHN آنالایزر یک دستگاه تخصصی است که ترکیب بنیادی یک نمونه را نشان می‌دهد. این دستگاه از یک فرایند سوزاندن جهت شکستن مواد به ترکیبات ساده استفاده می‌کند که در آخر معمولا با اسپکتروسکوپی مادون قرمز توصیف می‌شوند. در این آنالیز برای نمونه‌های مایع، mg ۱/۵ و برای نمونه‌های جامد، g۱ مورد نیاز است.

۶-۵-۴- آزمایش بررسی تاثیر غلظت سدیم بی‌کربنات و کربن دی اکسید بر رشد ریزجلبک

در این بخش از آزمایش‌ها، غلظت‌های متفاوت از سدیم بی‌کربنات (۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۸ و ۱۰گرم بر لیتر) بر رشد *کلرلا ولگاریس* در شرایط یکسان نور و دما و سرعت همزدن (بدون هوادهی) بررسی شد. همچنین طی آزمایشی درصد کربن دی اکسید هوای ورودی به ۵٪ افزایش یافت تا رشد ریزجلبک مورد بررسی قرار گیرد.

[132] Carbone, Hydrogen & Nitrogen Analyser

۶-۵-۵- آزمایش تعیین مهم‌ترین اجزا محیط کشت و بهینه‌سازی مقادیر آن‌ها با استفاده از نرم افزار

روند کلی بهینه‌سازی متغیرهای مؤثر بر یک فرآیند با استفاده از نرم افزار آماری دیزاین اکسپرت[۱۳۳] به شرح زیر است:

۱. تعیین سطح بالا و پایین برای متغیرها:

در این مرحله با توجه به مطالعات انجام شده و امکانات موجود در آزمایشگاه، برای عوامل دو سطح بالا و پایین تعیین می‌گردد.

۲. غربالگری متغیرها:

در این مرحله کلیه متغیرهای فرآیند بررسی می‌شوند و متغیرهای مهم شناسایی می‌گردند. در این مرحله، به صورت کلی نحوه اثر هر عامل و وجود اثر متقابل بین عوامل مشخص می‌شود. در این مرحله با کمترین تعداد آزمایش، بیشترین تعداد متغیر (در دو سطح) مورد بررسی قرار می‌گیرد. برای این منظور از روش‌های آماری چون فاکتوریل جزئی[۱۳۴] و پلاکت بورمن[۱۳۵] استفاده می‌شود. در این مرحله، اثر عوامل بر پاسخ نهایی به صورت معادله‌ای خطی بدست می‌آید.

۳. تعیین محدوده بهینه متغیرها:

در این مرحله، با توجه به نتایج بدست آمده از مرحله قبل، برای عواملی که مهم شناخته شده‌اند، محدوده بهینه تعیین می‌شود.

۴. بهینه‌سازی دقیق‌تر متغیرها:

در این مرحله، با استفاده از روش‌های آماری چون پاسخ سطحی[۱۳۶]، مخلوط[۱۳۷] و ترکیبی[۱۳۸] و با توجه به محدوده بهینه‌ای که در مرحله قبل تعیین شد، آزمایش‌های جدیدی با تعداد بیشتر، طراحی می‌شود. بسته به روش استفاده شده، هر عامل در ۳ یا ۵ سطح مورد بررسی قرار می‌گیرد. در این مرحله، اثر عوامل بر پاسخ نهایی به صورت معادله درجه ۲ یا ۳ بدست می‌آید.

در صورتی که از روش‌های طراحی آزمایش استفاده نشود و به روش‌های موجود آزمایش‌ها انجام گیرند، تعداد زیاد آن‌ها می‌تواند منجر به افزایش هزینه‌ها و هم چنین زمان عملیات گردد که امروزه با ارائه روش‌های ریاضی طراحی آزمایش، این مشکل بر طرف می‌گردد.

۶-۵-۵-۱- طراحی آزمایش غربالی پلاکت بورمن

به طور کلی می‌توان گفت روش پلاکت بورمن برای طراحی آزمایش‌ها زمانی که تعداد عامل‌ها بالا و تعداد سطوح دو سطح می‌باشد، روش ایده آلی به حساب می‌آید. در این بخش از آزمایش‌ها با استفاده از نرم افزار طراحی آزمایش Design)

133. Design Expert
134. Fractional factorial
3. Plackett Burman

136. Response surface methodology
137. Mixture
138. Combine

Expert 7.1.3) و طرح غربالی پلاکت بورمن، اثر اجزا محیط کشت بر بهره‌وری بیومس و بهره‌وری تولید سیمان زیستی *کلرلا ولگاریس* بررسی شد. با توجه به دلایل ذکر شده در قسمت‌های قبلی شرایط فتوتروف برای رشد ریزجلبک ارجح است اما با توجه به نتایج که نشان می‌دهند دو حالت میکسوتروف و فتوتروف نتایج تقریبا مشابهی دارند و از آن جایی که در آزمایشگاه امکان فراهم آوردن غلظت‌های متفاوتی از کربن دی اکسید در هوای ورودی به کشت وجود نداشت، شرایط را میکسوتروف در نظر گرفته و از ملاس به همراه سدیم بی‌کربنات به عنوان منبع کربنی استفاده شد. برای ۱۱ جز موجود در محیط کشت زاروک در شرایط میکسوتروف، با توجه به مقالات[۵] دو مقدار بالا و پایین در نظر گرفته شد که این مقادیر در جدول ۶-۳ نشان داده شده است. با استفاده از طرح پلاکت بورمن، ۱۲ آزمایش به همراه سه آزمایش در نقطه مرکزی طراحی شد. بهره‌وری بیومس و بهره‌وری سیمان به عنوان پاسخ در نظر گرفته شدند.

جدول ۶-۳- سطوح بالا و پایین و مرکزی برای هر یک از اجزا محیط کشت در طرح پلاکت بورمن

اجزا	واحد	سطح پایین (-۱)	نقطه مرکزی	سطح بالا (+۱)
Molasses	g/l	۵	۱۰	۱۵
$NaHCO_3$	″	۰/۲	۰/۶	۱
$NaNO_3$	″	۰/۲	۱/۶	۳
K_2HPO_4	″	۰/۱	۱/۰۵	۲
K_2SO_4	″	۰/۱	۱/۰۵	۲
NaCl	″	۰/۱	۱/۵۵	۳
$MgSO_4.7H_2O$	″	۰/۲	۱/۶	۳
$CaCl_2$	″	۰/۰۱	۰/۰۵۵	۰/۱
$FeSO_4.7H_2O$	″	۰/۰۱	۰/۰۵۵	۰/۱
EDTA-Na_2	″	۰/۰۴	۰/۱۲	۰/۲
Trace solution	ml/l	۱	۳	۵

۶-۵-۵-۲- طراحی آزمایش مخلوط

با توجه به نتایج و آنالیز واریانس به دست آمده از طرح پلاکت بورمن، موثرترین اجزا بر بهره‌وری جلبک تعیین شد. این اجزا عبارتند از ملاس، سدیم نیترات و پتاسیم دی هیدروژن فسفات که در ادامه به منظور بدست آوردن مقادیر بهینه هر یک از این اجزا، از طرح مخلوط استفاده شد. روش مخلوط مجموعه‌ای از فنون ریاضی و آماری مفید برای مدل سازی و تحلیل مسائلی است که پاسخ مورد نظر تابعی از چندین متغیر است. هدف از بکارگیری این روش بهینه نمودن پاسخ می‌باشد. با به کارگیری این روش می‌توان، ضمن انجام تعداد آزمایش‌های کمتر و در نتیجه صرف هزینه و زمان کمتر، محدوده بهینه عوامل

مؤثر بر فرآیند و رابطه بین عوامل و پاسخ نهایی را تعیین کرد. طرح آماری مخلوط یکی از موثرترین روش‌های طراحی آزمایش با هدف بهینه‌سازی مخلوط‌ها است. چرا که خصوصیات نهایی مخلوط بستگی به نسبت اجزا مخلوط دارد. در واقع در این طرح ترکیب مخلوط تغییر می‌کند تا مشخص شود که چگونه تغییرات بر خصوصیات نهایی تاثیر می‌گذارند[۶].
مشخصه اصلی یک مخلوط این است که مجموع نسبت اجزا باید برابر با ۱ باشد. علاوه بر این، پاسخ به نسبت‌های اجزا در مخلوط بستگی دارد و نه به حجم مخلوط. به طور کلی با در نظر گرفتن این که مخلوط دارای q جز می‌باشد و این که x نشان دهنده نسبت اجزا در مخلوط است، خواهیم داشت:

$$0 \le x_i \le 1 \qquad i=1, 2, \ldots, q \quad \sum_{i=1}^{q} x_i = 1 \qquad (۱-۳)$$

در طرح مخلوط محدودیت دیگری نیز در مورد نسبت اجزا وجود دارد و محدوده ممکن اجزا را بین محدوده بالا و پایین محدود تر می‌کند. شکل کلی این محدودیت به صورت زیر است:

$$i=1, 2,\ldots, q \qquad 0 \le L_i \le x_i \le U_i \le 1 \qquad (۲-۳)$$

در این مرحله نیز از نرم افزار Design Expert 7.1.3، استفاده گردید. در جدول ۶-۴ دو سطح بالا و پایین هر سه جز در طرح مخلوط آورده شده است. در این جا نیز از آن جایی که محیط کشت مورد بررسی یک مخلوط از ۱۱ جز محسوب می شود، به غیر از سه جز موثر گفته شده، آب به همراه مقادیر ثابت سایر اجزا به عنوان پارامتر چهارم در نظر گرفته شد. همان طور که در بالا گفته شد مشخصه اصلی یک مخلوط این است که مجموع نسبت اجزا باید برابر با ۱ باشد. در فصل بعد نتایج حاصل از آزمایش‌های انجام شده، آنالیز واریانس و نمودارهای به دست آمده بیان خواهد شد.

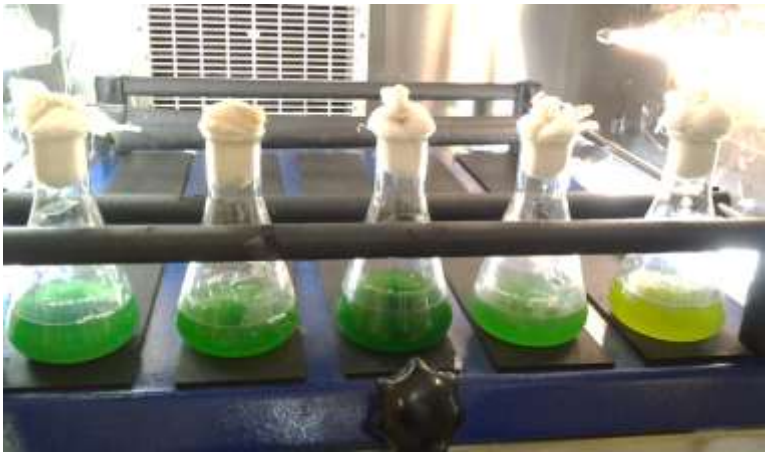
جدول ۶-۴- سطوح بالا و پایین برای موثرترین اجزا محیط کشت در طرح مخلوط

اجزا	واحد	سطح پایین	سطح بالا
Molasses	g/l	۲/۵	۱۹
$NaNO_3$	″	۰/۱	۵
K_2HPO_4	″	۰/۱	۲/۵
water	″	۹۸۰/۸	۹۹۰

۶-۶- نحوه آماده‌سازی‌ها و شرایط کشت

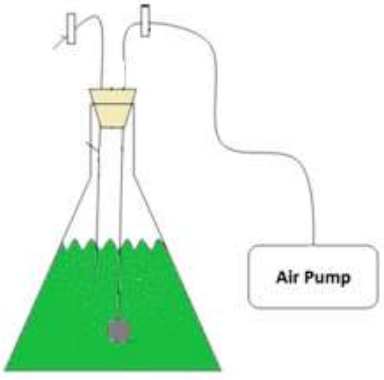
تمام محلول‌های تهیه شده و وسایل شیشه‌ای مورد استفاده برای کشت، در ۱۲۱°C و فشار ۱۵ psi به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. بعضی از اجزای تشکیل دهنده این محیط کشت‌ها نظیر سدیم بی‌کربنات، ملاس، منیزیم سولفات و پتاسیم دی

هیدروژن فسفات در صورت اتوکلاو شدن به همراه سایر اجزا باعث تشکیل رسوب می‌شوند که به همین دلیل به صورت جداگانه استریل شدند. علاوه بر این، محلول آهن سولفات در دمای بالا تشکیل رسوب می‌دهد که با استفاده از فیلتر سر سرنگی ۰/۲۲ میکرون استریل شد. محلول‌های حاوی ریزمغذی‌ها نیز جداگانه استریل شدند. تمام کشت‌ها در ارلن‌های ۲۵۰ml حاوی ۱۰۰ ml محیط کشت و ۱۰٪ مایع تلقیح انجام شد. قبل از تلقیح، pH محیط کشت روی ۷ تنظیم شد. تمام کشت‌ها ۶ روز به طول انجامید و از شیکر انکوباتور برای تنظیم دما و سرعت هم‌زدن استفاده شد.



شکل۶-۲- نمایی از ارلن‌های کشت جلبک

دما و سرعت همزدن در تمام آزمایش‌ها به ترتیب روی مقادیر ۳۰°C و ۱۳۰ rpm تنظیم شد. در مواردی که هوادهی لازم بود، با استفاده از یک پمپ آکواریوم هوادهی انجام شد. هوا پس از عبور از یک فیلتر ۰/۲۲ میکرونی از یک ظرف حاوی آب (رطوبت زن) برای به دست آوردن هوای اشباع از آب نیز عبور داده شد تا از کاهش محیط کشت به علت تبخیر جلوگیری شود. علاوه بر این برای توزیع مناسب حباب‌های هوا و کاهش قطر حباب‌ها و در نتیجه افزایش زمان ماند از اسپارژر استفاده شد و یا این که روی لوله هوادهی منافذی ریز ایجاد شد. در شکل ۶-۳ نمایی از ارلن کشت جلبک که هوادهی می‌شود نشان داده شده است.



شکل ۶-۳. نمایی از ارلن کشت جلبک به همراه پمپ هوادهی

در طی فرایند کشت، نور مورد نیاز برای فتوسنتز با استفاده از لامپ‌های فلورسنت سفید با شدت نور lux ۳۰۰۰–۲۰۰۰ به همراه چرخه نور/تاریکی ۱۶/۸ (ساعت/ساعت) فراهم شد. با استفاده از یک زمان سنج، چرخه نور/ تاریکی مورد نیاز اعمال گردید. هم‌چنین برای اندازه‌گیری شدت نور از دستگاه نور سنج استفاده شد. در شکل ۳–۴ نمایی از دستگاه نور سنج نشان داده شده است.



شکل ۶–۴– نمایی از دستگاه نور سنج

۶–۷– اندازه‌گیری پارامترهای رشد

به منظور بررسی رشد ریزجلبک مورد نظر چندین پارامتر نظیر دانسیته نوری[۱۳۹]، وزن خشک سلولی[۱۴۰]، شمارش سلولی[۱۴۱] و نرخ رشد ویژه[۱۴۲] اندازه‌گیری شد.

۶–۷–۱– اندازه‌گیری دانسیته نوری

به طور منظم هر ۲۴ ساعت از کشت‌ها نمونه‌گیری شد و دانسیته نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-vis (Jenway 6310)، در طول موج ۶۰۰ nm اندازه‌گیری شد. کلروفیل در این طول موج جذب کمی دارد. البته رقیق سازی مناسب با آب مقطر صورت گرفت تا محدوده جذب بین ۰/۰۵ تا ۰/۸ باشد. البته به منظور اندازه‌گیری غلظت بیومس (g/l)، روزانه علاوه بر اندازه‌گیری دانسیته نوری، وزن خشک هم اندازه‌گیری شد و نمودار غلظت برحسب دانسیته نوری رسم شد[۷].

۶–۷–۲– اندازه‌گیری وزن خشک سلولی

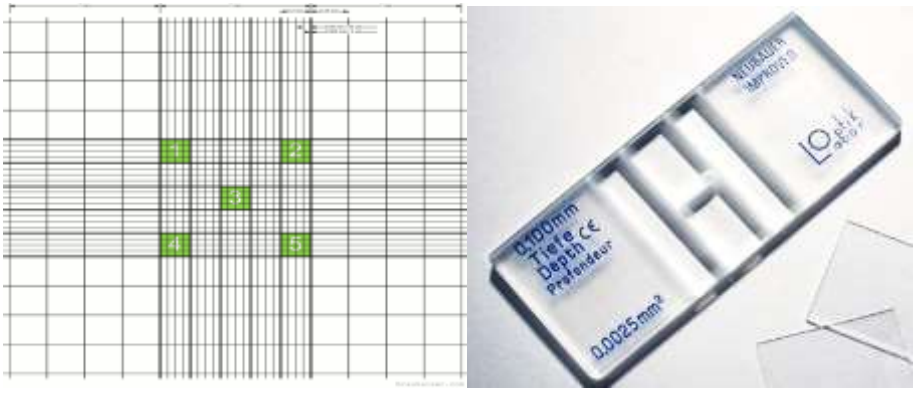
به منظور اندازه‌گیری وزن خشک بیومس به دست آمده، ۵۰ml نمونه در g ۱۵۰۰ برای ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی دور ریخته شد، رسوب سلولی به دست آمده با آب مقطر شست‌وشو داده شد و در آون با دمای $70^{\circ}C$ خشک شد و بعد از ثابت

[139]. Optical density
[140]. Cell dry weight
[141]. Cell count
[142]. Specific growth rate

شدن وزن، توزین شد[۷]. البته در تعدادی از آزمایش‌ها از کاغذ فیلتر واتمن، نوع GF/C به منظور اندازه‌گیری وزن خشک استفاده شد.

۶-۷-۳- انجام شمارش سلولی

به منظور شمارش سلولی از لام نئوبار استفاده شد (شکل ۶-۵). این لام در واقع حاوی یک محفظه میکروسکوپی به حجم $۰/۱mm^3$ ($۱mm \times ۱mm \times ۰/۱mm$) می‌باشد. پس از یکنواخت کردن کشت مایع حاوی ریزجلبک مورد نظر، ۱۰ میکرولیتر از آن در محفظه مخصوص این لام قرار داده شد و در زیر میکروسکوپ در بزرگنمایی مناسب شمارش انجام شد، به این ترتیب که مربع مرکزی و ۴ مربع کناری مورد شمارش قرار گرفتند و میانگین تعداد آن‌ها گزارش شد[۸]. با در نظر گرفتن ضریب رقت و این که حجم محفظه $۰/۱mm^3$ بود، تعداد سلول‌ها در یک میلی لیتر نمونه از فرمول ۶-۱ محاسبه شد.



شکل۶-۵- لام نئوبار

(۶-۱) ضریب رق $\times ۱۰^۴ \times$ میانگین تعداد سلول شمارش شده = تعداد سلول در یک میلی‌لیتر نمونه

۶-۷-۴- اندازه‌گیری نرخ رشد ویژه[۱۴۳] و بهره‌وری بیومس[۱۴۴]

نرخ رشد ویژه (μ, day^{-1}) با استفاده از معادله ۶-۲ محاسبه شد که در این معادله N_1 و N_2، به ترتیب غلظت سلولی بر حسب (g/l) در ابتدا (t_1) و انتهای مرحله رشد لگاریتمی (t_2) است[۹].

$$\mu = \left(\ln N_2 - \ln N_1\right)/(t_2-t_1) \quad (۶-۲)$$

143. Specific growth rate
144. Biomass productivity

میزان بهره‌وری بیومس P_{max} (g/l/d) در طول دوره کشت از معادله ۳-۳ محاسبه شد که در آن N_t (g/l) غلظت نهایی بیومس در زمان t_x (day) و N_0 (g/l) غلظت ابتدایی بیومس در زمان t_0 (day) است[۹].

$$P_{max}= (N_t-N_0)/(t_x-t_0) \quad (۳-۶)$$

۶-۸- تولید انبوه سیمان بیولوژیک

جهت تولید انبوه سیمان بیولوژیک از راکتور نوری ایرلیفت دار[۱۴۵] (فوتوبیوراکتور مجهز شده به پمپ ایرلیفت جهت تزریق و گردش CO_2 در راکتور) مطابق شکل ۳-۶ استفاده شد و ترکیب محیط کشت بهینه به دست آمده از آزمایشات بهینه سازی به مقدار ۲۰۰۰ لیتر تهیه و در داخل راکتور ریخته شد و کشت ریز جلبک صورت پذیرفت.

۶-۸-۱- فتوبیوراکتور پلاستیکی ساخته شده

در ساخت این فتوبیوراکتور سه هدف اصلی دنبال می شود:

- ✓ کارایی مناسب
- ✓ ارزان بودن
- ✓ راحتی ساخت

کارایی مناسب فتوبیوراکتور با انتخاب سیستم بسته تامین می شود. برای پایین آوردن هزینه ها نیز از پلاستیک پلی اتیلن دانسیته پایین استفاده شده است. تنها مورد چالش برانگیز؛ فرآیند ساخت این فتوبیوراکتور است. به عبارتی فرآیند ساخت فتوبیوراکتور باید به گونه ای باشد که بتوان آنرا به راحتی و مدت زمان اندک ساخت.

در ادامه اجزای مختلف این فتوبیوراکتور به همراه نحوه ساخت این اجزا آورده می شود.

فتوبیوراکتور مذکور از ۳ قسمت تشکیل شده است:

۱. بدنه اصلی
۲. شیرهای ورودی و خروجی مایع
۳. سیستم هوادهی

[145] Airlift Photobioreactor

۶-۸-۱-۱- بدنه اصلی

بدنه اصلی فتوبیورآکتور همانطور که در فصل۳ توضیح داده شد از پلی اتیلن شفاف است. برای ساخت بدنه از پلاستیک با عرض ۱/۲۰ متر استفاده شد. مشکل اصلی ساخت این بخش جوش دادن و آب بندی درزهای دو طرف آن است. برای این منظور ابتدا از یک دستگاه پرس پلاستیکی (شکل (۶-۶)) استفاده شد. استفاده از این دستگاه دو مشکل بوجود می آورد:



شکل ۶-۶- دستگاه پرس پلاستیکی

این دستگاه در هر بار پرس حدود ۶۰ سانتی متر را پرس می کرد (دستگاه های پرس موجود در بازار نیز نهایتا می توانند تا دو متر را پرس کنند) و ساختن یک فتوبیورآکتور با طول زیاد بسیار زمان بر و سخت بود. همچنین پرس کردن روی یک خط به صورت کامل نیز مشکل می بود.

پرس مذکور توانایی تحمل فشار وارد شده را نداشت و ممکن بود در حین عملکرد دستگاه در اثر نور آفتاب باز شود. برای رفع کردن مشکل فوق از درزبندهای آلومینیومی استفاده (شکل (۶-۷)) شد.



شکل ۶-۷- درزبندهای آلومینومی بکار رفته در ساخت فتوبیورآکتور

مزایای استفاده از این درزبندها عبارتند از:

- ✓ راحتی کار کردن و درزبندی توسط آنها
- ✓ سبک بودن این درزبندها به دلیل جنس آلومینیومی آنها
- ✓ ارزان بودن این درزبندها
- ✓ امکان باز کردن این درزبندها در صورت ایجاد مشکل در داخل فتوبیورآکتور ها و نیز برای تمیز کردن آنها
- ✓ تحمل فشار بالا
- ✓ سرعت بالای ساخت فتوبیورآکتور با استفاده از این درزبندها

برای تعبیه شیرهای مورد نیاز بر روی بدنه پلاستیکی دستگاه دو چالش اصلی وجود داشت:

۱- این شیرها باید به گونه ای باشند که بتوان آنها را به راحتی بر روی بدنه دستگاه تعبیه کرد.

۲- درزهای ایجاد شده بر روی بدنه پلاستیکی توانایی تحمل فشار وارده را داشته باشند.

به همین منظور از فیتینگهای با جنس تفلون استفاده شد. این فیتینگها به گونه ای اند که پلاستیک بین دو سطح پیچ و مهره آنها قرار می گیرد و به کمک واشر کاملا سفت و آب بند می شود. در دو طرف این فیتینگها شیرهای مورد نیاز می توانند به آسانی نصب شوند. در شکل (۶-۸) تصویر این شیرها به همراه فیتینگ نشان داده شده است.



شکل۶-۸- شیرهای بکار رفته در ساخت فتوبیورآکتور

۶-۸-۱-۲- سیستم هوادهی

برای هوادهی فتوبیورآکتورها باید دو نکته اساسی را در نظر گرفت:

۱- هوادهی در طول فتوبیورآکتور باید یکنواخت باشد.

۲- در صورت نیاز به تنظیم pH در نقاط مختلف امکان تزریق دی اکسید کربن در هر قسمت فتوبیورآکتور وجود داشته باشد.

با توجه به نکات بالا، نمی توان از یک لوله که تنها یک سر آن به ورودی جریان هوا متصل است استفاده کرد. زیرا به دلیل طول زیاد رآکتور (حدود ۱۰ متر یا بالاتر) افت فشار ایجاد شده در طول لوله؛ هوادهی یکنواخت را عملا غیر ممکن می ساخت. همچنین در صورت نیاز به تزریق دی اکسید کربن در نقطه خاص؛ این امکان وجود نخواهد داشت. برای رفع مشکلات بالا، سیستم هوادهی باید به گونه ای طراحی شود که امکان کنترل دبی هوای ورودی و نیز تنظیم جداگانه هر کدام از پخش کننده های هوا وجود داشته باشد. در شکل (۶-۹) این سیستم نشان داده شده است.



شکل ۶-۹- سیستم هوادهی بکار رفته در ساخت فتوبیورآکتور

همانطور که در شکل دیده می شود؛ تعدادی فیتینگ به فاصله مشخص (بین ۵۰ تا ۷۰ سانتی متر) در کف فتوبیورآکتور قرار داده شده است. فیتینگها توسط تعدادی لوله های سوراخدار به یکدیگر متصل شده اند. طرف دیگر هر کدام از این فیتینگها توسط لوله ای به لوله اصلی جریان هوا که در کنار فتوبیورآکتور قرار دارد متصل شده است. دبی هوای ورودی به هر کدام از این پخش کننده ها توسط شیر مجزایی تنظیم می شود. (شکل (۶-۱۰)) همچنین در صورت نیاز به تزریق دی

اکسید کربن به هرکدام از پخش کننده ها می توان با قرار دادن یک سه راه در لوله ورودی هوا این کار را به راحتی انجام داد.



شکل ۶-۱۰- سیستم ورودی هوا

و در نهایت فتوبیورآکتور ساخته شده در شکل (۶-۱۱) نشان داده شده است.



شکل ۶-۱۱- تصویر فتوبیورآکتور ساخته شده

فتوبیورآکتور ساخته شده توسط پساب موجود در محل پر شد. برای تلقیح اولیه از یک فتوبیورآکتور شیشه ای استفاده شد. هوادهی نیز توسط یک کمپرسور تامین شد.

۹-۱-۱. ساخت پمپ ایرلیفت و تغییرات انجام شده بر فتوبیورآکتور ساخته شده

مهمترین مشکل موجود در عملکرد فتوبیورآکتور مذکور عدم وجود اختلاط محوری است. عدم اختلاط محوری در طول فتوبیورآکتور باعث ته نشینی میکروجلبکها، مرگ آنها و نهایتا عملکرد بد فتوبیورآکتور می شود. ایجاد جریان پیوسته در فتوبیورآکتور به گونه ای که باعث ایجاد جریانی در طول رآکتور شود نیازمند اعمال نیروی خارجی توسط پمپ برای به حرکت در آوردن محیط کشت داخل رآکتور می باشد. استفاده از پمپهای معمول نظیر پمپهای سانتریفیوژی به دلیل آنکه تنش زیادی به مواد جامد وارد می کنند (در اینجا سلولهای میکروجلبک)؛ چندان مناسب به نظر نمی رسد. به همین دلیل ما به پمپی نیاز داریم که کمترین میزان تنش را به سلولهای میکروجلبک وارد نماید.

مشکل دیگر مربوط به فرآیند ساخت فتوبیورآکتور می باشد. همانطور که در ابتدای فصل بیان شد؛ هدف اصلی از ساخت این فتوبیورآکتور راحتی ساخت و عملکرد مناسب آن می باشد. بنابراین هرچه ساخت فتوبیورآکتور ساده تر باشد به اهداف پروژه نزدیکتر خواهیم شد. سیستم هوادهی تعبیه شده بر روی فتوبیورآکتور؛ همانگونه که توضیح داده شد؛ از تعدادی پخش کننده هوا تشکیل شده است که به فاصله های حدود ۷۰ سانتی متر در کف فتوبیورآکتور تعبیه شده اند. این پخش کننده ها با وجود مزایای ذکر شده چند مشکل دارند:

۱- در حجمهای بالا و رآکتورهای طویل تعبیه این پخش کننده ها و درزبندی آنها مشکل است.

۲- تنظیم میزان هوای ورودی به گونه ای که هوا به صورت یکنواخت بین پخش کننده ها توزیع شود کار مشکلی است.

۳- به دلیل ارتفاع مایع در فتوبیورآکتور میزان انتقال جرم بین حبابهای هوا و محیط کشت کم است و نیز حجم هوای ورودی برای تامین هوای مورد نیاز تمام پخش کننده ها بسیار زیاد است.

۴- در عمل مشاهده شد که این پخش کننده ها از لحاظ ایجاد اختلاط چندان مناسب نیستند.

با توجه به مشکلات ذکر شده در بالا، نیازمند استفاده از پمپی هستیم که علاوه بر آنکه بتواند مایع را به خوبی به حرکت درآورد؛ به دیواره سلولی میکروجلبکها آسیبی وارد نکند ومشکل هوادهی را نیز حل نماید. استفاده از ایرلیفت پمپ از می تواند تا حد بسیار مناسبی مشکلات بالا را مرتفع نماید.

- ✓ ایرلیفت پمپ از آنجا که هیچ قطعه متحرکی ندارد بنابراین آسیبی به دیواره سلولی میکروجلبکها وارد نمی سازد.
- ✓ به دلیل هوادهی انجام شده در ایرلیفت پمپ؛ دیگر نیازی به هوادهی در طول فتوبیورآکتور نیست و علاوه بر تامین دی اکسید کربن مورد نیاز میکروجلبک، فرآیند اکسیژن زدایی نیز انجام می گیرد.

- ✓ ایرلیفت پمپ فرآیند ساخت بسیار آسانی دارد. ضمن اینکه هزینه ساخت آن بسیار پایین است. در مقابل از لحاظ عملکردی بسیار مناسب است.

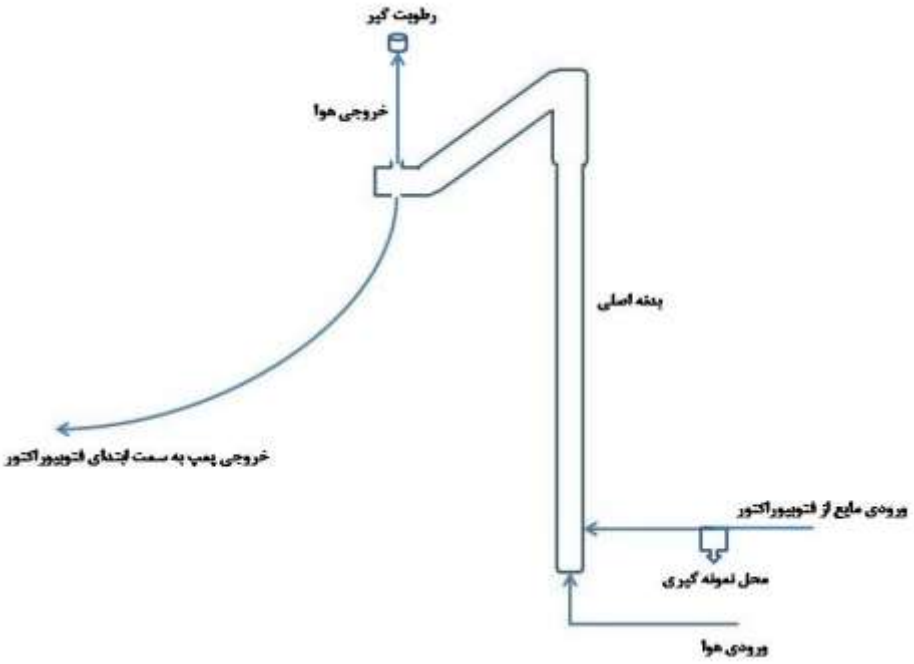
پمپ ایرلیفت ساخته شده دارای مراحل ساخت آسانی است. این پمپ از چندین لوله پلی اتیلنی ساخته شده است که در ارتفاعی هم سطح و در صورت امکان اندکی پایین تر از سطح مایع داخل فتوبیوراکتور تعبیه می شود. به دلیل قرار گرفتن سطح پمپ ایرلیفت در پایین تر از سطح مایع خروجی، مایع داخل فتوبیوراکتور بصورت خودبخودی وارد پمپ ایرلیفت می شود. در ابتدای بدنه اصلی، محل ورود هوا تعبیه شده است. هوای ورودی به داخل فتوبیوراکتور از طریق یک کمپرسور با فشار بالا تامین می شود که هوای با فشار بالا وارد بدنه اصلی می شود. محل ورود مایع به داخل بدنه اصلی کمی بالاتر از محل ورود هوا قرار دارد که باعث می شود پس از ورود مایع به داخل بدنه اصلی در اثر هوادهی که از پایین بدنه اصلی صورت می گیرد مایع در اثر فشار و نیروی هوای ورودی به بالای بدنه اصلی منتقل می شود.

در انتهای بند اصلی با قرار دادن خروجی شیب دار جریان مایع به سمت پایین هدایت می شود. در بخش شیب دار یک جداساز جریان هوا–جریان مایع وجود دارد که در این بخش با قرار دادن یک دو راهی دو فاز موجود کاملا از هم جدا می شوند. به عبارت دیگر مایع به دلیل وجود ارتفاع و اختلاف پتانسیل با سطح فتوبیوراکتور به داخل فتوبیوراکتور برگشت داده می شود و جریان گاز نیز از طریق یک مجرا وارد هوای محیط می شود. برای جلوگیری از خروج مایع که بصورت اشباع شده در داخل هوای خروجی وجود دارد در انتهای مجرای هوا از الیاف پلاستیکی برای جذب این آب استفاده می شود که این آب پس از انباگشتگی به صورت قطره، خودبخودی به داخل مجرا و از انجا به داخل لوله برگشت آب برگردانده می شود .

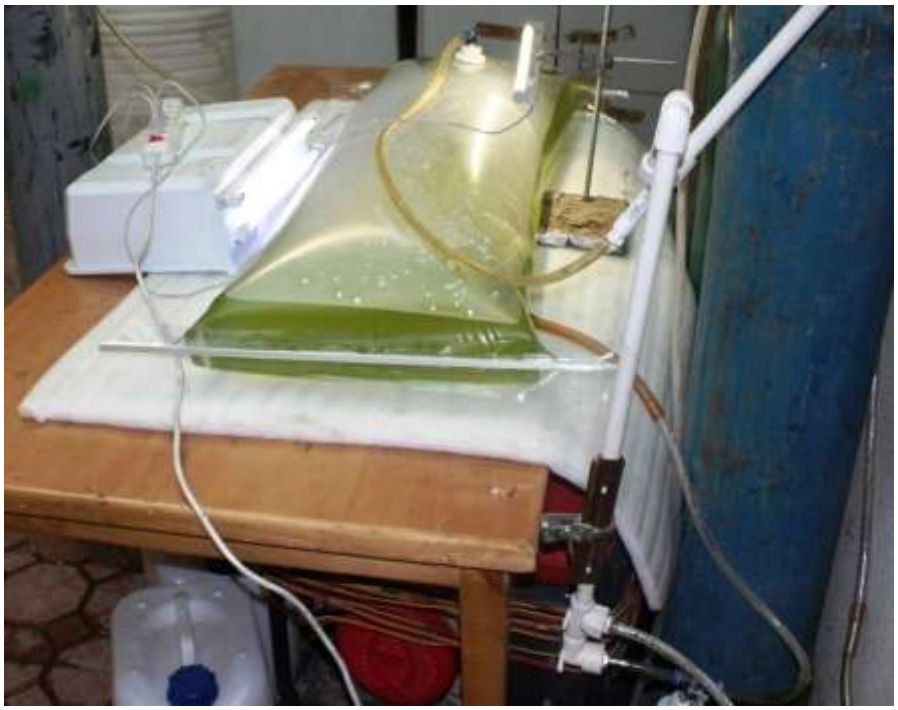
در مسیر خروج جریان از داخل فتوبیوراکتور و قبل از ورود آن به بند اصلی پمپ ایرلیفت، یک شیر برای نمونه گیری قرار داده شده است که برای اندازه گیری های مختلف مانندpH ، دانسیته نوری، آلودگی بیولوژیکی و غیره مورد استفاده قرار می گیرد .

در اثر حضور مایع در داخل بند اصلی پمپ ایرلیفت و ورود مایع از پایین بند اصلی، مسیر عبور جریان هوا بسته می شود. به دلیل فشار بالای جریان هوای ورودی، مایع در مسیر حرکت می کند که گاهی این نیرو بصورت ضرباتی در داخل بدنه اصلی انجام شود که در اصطلاح مکانیک سیالات به آن ضربه قوچ گفته می شود. بوجود آمدن ضربه قوچ در داخل بنده اصلی باعث پرتاب مایع و خروج بخش زیادی از مایع از بخش خروج هوا می شود. برای جلوگیری از این پدیده، بخش فوقانی بنده اصلی و مجرای خروجی جریان هوا با قطری بزرگتر از قطر بدنه اصلی ساخته می شود. این عمل باعث کاهش سرعت سیال شده و مانع از وارد آمدن ضربه به سیال داخل بدنه ایرلیفت می شود. در شکل (۶–۱۲) شمای پمپ ایرلیفت ساخته شده نشان داده شده است.

این پمپ در در یک فتوبیوراکتور ۱۰۰ لیتری مورد استفاده قرار گرفت که تصاویر آن در شکل (۶–۱۳) و شکل (۶–۱۴) نشان داده شده است.



شکل ۶-۱۲- شمای پمپ ایرلیفت ساخته شده



شکل ۶-۱۳-کاربرد ایرلیفت پمپ در فتوبیوراکتور ۱۰۰ لیتری



شکل ۶-۱۴- استفاده از یک ایرلیفت پمپ در یک فتوبیوراکتور ۱۰۰ لیتری

[۱] K.-L. Yeh, J.-S. Chang, Effects of cultivation conditions and media composition on cell growth and lipid productivity of indigenous microalga Chlorella vulgaris ESP-31, Bioresource Technology, 105 (2012) 120-127.

[۲] B. George, I. Pancha, C. Desai, K. Chokshi, C. Paliwal, T. Ghosh, S. Mishra, Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae Ankistrodesmus falcatus–A potential strain for bio-fuel production, Bioresource technology, 171 (2014) 367-374.

[۳] J. Day, J. Brand, Cryopreservation methods for maintaining microalgal cultures, Algal culturing techniques, (2005) 165-187.

[۴]D. Yan, Y. Lu, Y.F. Chen, Q. Wu, Waste molasses alone displaces glucose-based medium for microalgal fermentation towards cost-saving biodiesel production, Bioresour Technol, 102 (2011) 6493-6487.

[۵]W.-B. Kong, S.-F. Hua, H. Cao, Y.-W. Mu, H. Yang, H. Song, C.-G. Xia, Optimization of mixotrophic medium components for biomass production and biochemical composition biosynthesis by Chlorella vulgaris using response surface methodology, Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 43 (2012) 360-367.

[۶]E. Ghafari, H. Costa, E. Júlio, Statistical mixture design approach for eco-efficient UHPC, Cement and Concrete Composites, 55 (2015) 17-25.

[۷]W. Fu, O. Gudmundsson, A.M. Feist, G. Herjolfsson, S. Brynjolfsson, B.Ø. Palsson, Maximizing biomass productivity and cell density of Chlorella vulgaris by using light-emitting diode-based photobioreactor, Journal of Biotechnology, 161 (2012) 242-249.

[۸]J. Kim, J.-Y. Lee, T. Lu, Effects of dissolved inorganic carbon and mixing on autotrophic growth of Chlorella vulgaris, Biochemical Engineering Journal, 82 (2014) 34-40.

[۹]M.K. Lam, K.T. Lee, Effect of carbon source towards the growth of Chlorella vulgaris for CO2 bio-mitigation and biodiesel production, International Journal of Greenhouse Gas Control, 14 (2013) 169-176.

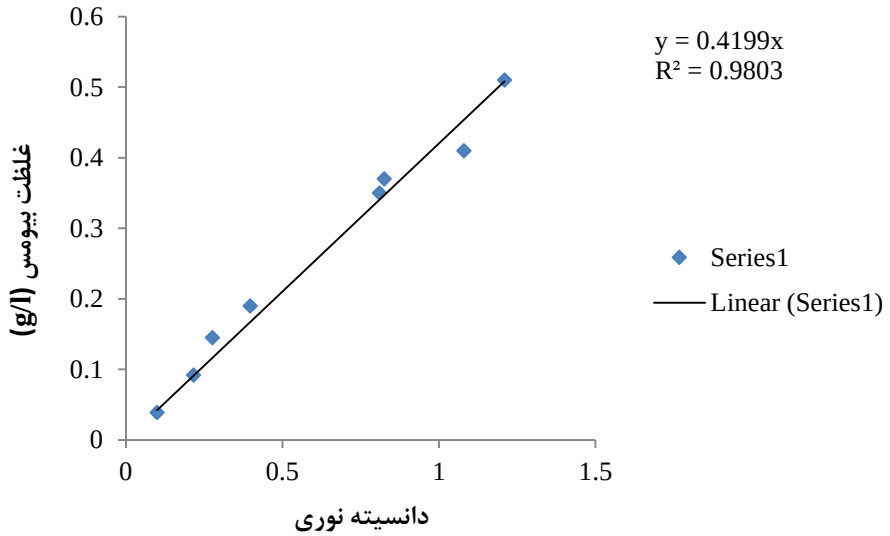
فصل هفتم:
یافته‌های تحقیق و تجزیه و تحلیل یافته‌ها

۷-۱- مقدمه

در تولید سیمان بیولوژیک از ریزجلبک به منظور تولید بتن خود ترمیم باید آن‌ها را در مقیاس وسیع کشت داد. سرعت رشد ریزجلبک‌ها و محتوای سیمان بیولوژیک آن‌ها تحت تاثیر شرایط مختلف متفاوت است[۱, ۲]. لذا ایجاد شرایط مساعد برای رشد از ضروریات فرایند تولید سیمان بیولوژیک از ریزجلبک می‌باشد. قبل از کشت گونه مورد نظر در مقیاس بزرگ باید شرایط رشد و نیازمندی‌های تغذیه‌ای آن ابتدا در مقیاس آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گیرد. بدیهی است ایجاد شرایطی که بتواند میزان تولید محصول را افزایش دهد باعث افزایش قابل توجهی در راندمان فرایند خواهد شد. بدین منظور یافتن سینتیک رشد گونه مورد نظر و بررسی تاثیر عوامل فیزیکی و اجزا محیط کشت برای آنالیز میزان بهره‌دهی و پاسخ ریزجلبک به این عوامل ضروری است. در این پژوهش تاثیر عناصر مغذی نظیر کربن، نیتروژن، فسفر و سایر ریز مغذی‌هایی که تغییر غلظت آن‌ها بر روی نرخ رشد و هم‌چنین ترکیبات تشکیل دهنده سلول‌های ریزجلبک تاثیر می‌گذارند مورد بررسی قرار می‌گیرد.

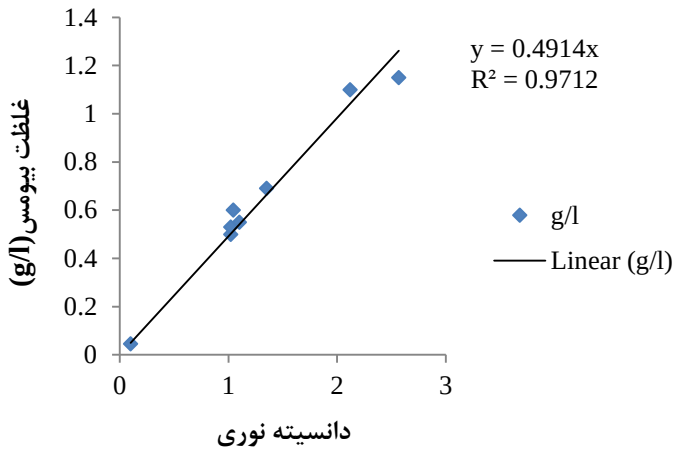
۷-۲- رسم منحنی استاندارد غلظت بیومس *کلرلا ولگاریس* بر حسب دانسیته نوری

با رسم میزان غلظت بیومس هر نمونه در مقابل دانسیته نوری (طول موج ۶۰۰ nm) آن و پیدا کردن محدوده خطی بودن، منحنی استاندارد و معادله آن به دست آمد. شکل۷-۱ و معادله۷-۱ مربوط به شرایط فتوتروف می‌باشند. شکل ۷-۲ و معادله ۷-۲ مربوط به شرایط فتوهتروتروف و میکسوتروف می‌باشند.



شکل ۷-۱- منحنی استاندارد غلظت بیومس بر حسب دانسیته نوری در شرایط فتوتروف (منحنی ها براساس اندازه گیری میزان دانسیته نوری محیط کشت با محلول کردن میزان معیین ریزجلبک به دست آمده است)

$$\text{Biomass concentration}\left(\frac{g}{l}\right) = 0.42\ OD_{600nm} \quad (R^2 = 0.98) \qquad (۱-۷)$$



شکل ۷-۲- منحنی استاندارد غلظت بیومس بر حسب دانسیته نوری در شرایط فتوهتروتروف و میکسوتروف

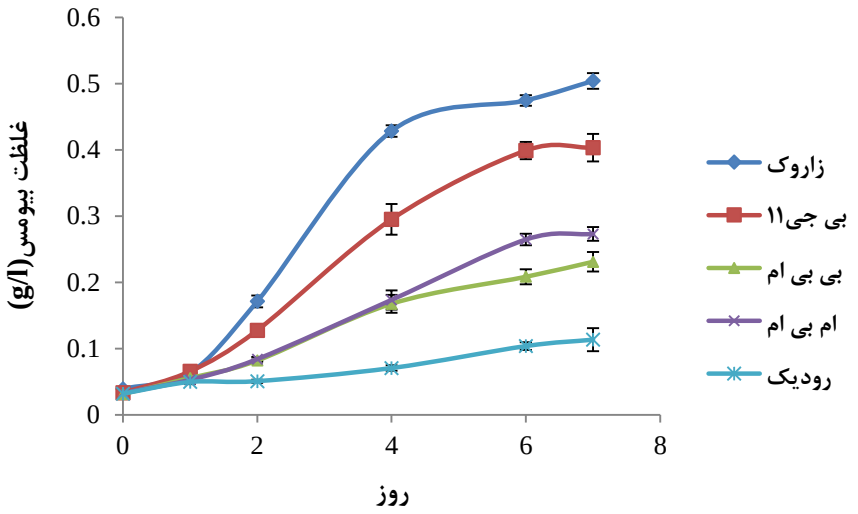
$$\text{Biomass concentration}\left(\frac{g}{l}\right) = 0.49\ OD_{600nm} \quad (R^2 = 0.97) \qquad (۷-۲)$$

۷-۳- بررسی تاثیر محیط کشت‌های مختلف بر رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*

در افزایش تولید ریزجلبک‌ها یکی از مهم‌ترین اقدامات، انتخاب محیط کشت مناسب است. محیط کشت‌های متعددی برای کشت ریزجلبک‌ها معرفی شده است اما از آن جا که نرخ رشد و ترکیبات تشکیل دهنده بیومس به دست آمده در محیط کشت‌های متفاوت، متغیر است، باید بررسی شود که کدام ترکیب برای رشد حداکثری ریزجلبک مورد نظر مناسب است۳]. به این منظور در این پروژه پنج نوع محیط کشت که از نظر غلظت اجزا به خصوص غلظت منبع نیتروژنی با هم تفاوت بارزی دارند انتخاب شد و ریزجلبک تحت شرایط یکسان دما، نور و سرعت همزدن در آن‌ها کشت داده شد. با توجه به تحقیقات قبلی انجام شده کمبود مواد مغذی به ویژه نیتروژن بر رشد ریزجلبک به میزان زیادی موثر است[۲, ۴, ۵, ۶]. شکل ۷-۳ منحنی رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه ۱) را در پنج محیط کشت نشان می‌دهد. در جدول ۷-۱ نرخ رشد ویژه، شمارش سلولی، غلظت بیومس، بهره‌وری بیومس، *کلرلا ولگاریس* (سویه ۱) در این محیط کشت‌ها آورده شده است.

در این آزمایش شرایط فتوتروف در نظر گرفته شد و در همه محیط کشت‌ها از سدیم بی‌کربنات با غلظت ۱g/l به عنوان منبع کربنی استفاده شد. غلظت منبع نیتروژنی در محیط زاروک تقریبا ۱۰ برابر سه محیط کشت بی بی ام، ام بی ام و رودیک و در محیط بی‌جی۱۱ تقریبا ۶ برابر محیط کشت‌های ذکر شده است. از این رو دو محیط کشت زاروک و بی‌جی۱۱ محیط‌های غنی از نیتروژن محسوب می‌شوند.

DOI: 10.30503/nripress.2020.233



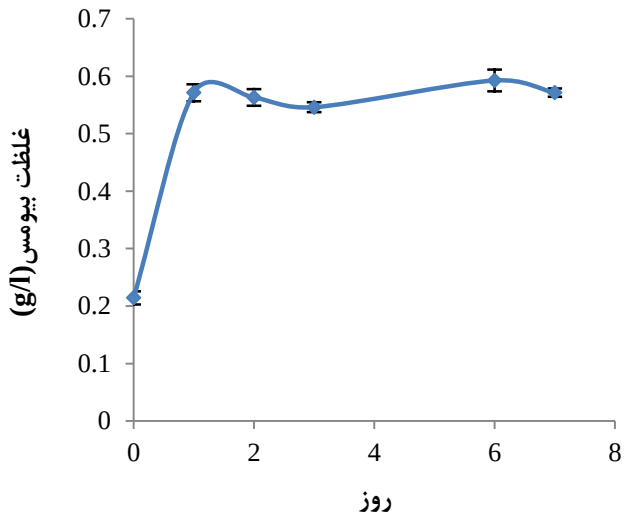
شکل۷-۳- منحنی رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه ۱) در پنج محیط کشت (منحنی ها براساس اندازه گیری میزان دانسیته نوری محیط کشت در زمان رشد زیر جلبک در فواصل زمانی معیین به دست آمده است)

جدول۷-۱- ویژگی‌های رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه ۱) طی هفت روز کشت در محیط کشت‌های متفاوت

محیط کشت	نرخ رشد ویژه (d^{-1})	شمارش سلولی (cells/ml)	غلظت بیومس (mg/l)	بهره‌وری بیومس (mg/l/d)
زاروک	۰/۶۱	۲/۰×۱۰^{۶}	۵۰۴±۲۰	۷۲/۰
بی‌جی۱۱	۰/۵۴	۱/۸×۱۰^{۶}	۴۰۳±۳۵	۵۷/۵
ام‌بی‌ام	۰/۴۱	۱/۴×۱۰^{۶}	۲۷۳±۱۷	۳۹/۰
بی‌بی‌ام	۰/۴	۱/۲۵×۱۰^{۶}	۲۳۱±۲۵	۳۳/۰
رودیک	۰/۱۸	۰/۸×۱۰^{۶}	۱۱۳±۳۰	۱۶/۱

بیش‌ترین مقدار بیومس و نرخ رشد به دست آمده پس از ۷روز کشت، ۰/۵۰۴ g/l و ۰/۶۱ d^{-1} می‌باشد که مربوط به محیط کشت زاروک است. با توجه به تحقیقات قبلی صورت گرفته نیز میزان غلظت بیومس *کلرلا ولگاریس* تحت شرایط فتوتروف (استفاده از ۱ g/l سدیم بی‌کربنات به عنوان منبع کربنی) و هتروتروف کمتر از ۰/۵ g/l خواهد بود[۷]. با توجه به نتایج به دست آمده نرخ رشد و میزان بیومس در محیط‌های غنی از نیتروژن (زاروک و بی‌جی۱۱) بالاتر است و این نشان دهنده آن است که غلظت منبع نیتروژنی در رشد فتوتروف این گونه از ریزجلبک بسیار مهم است[۷]. میزان بیومس و نرخ رشد *کلرلا ولگاریس* در دو محیط بی‌بی‌ام و ام‌بی‌ام که میزان نیترات یکسانی دارند، تقریبا یکسان می‌باشد. از نتایج کاملا مشخص است که هر چند محیط رودیک تقریبا دارای غلظت نیترات برابر با محیط‌های بی‌بی‌ام و ام بی‌ام است ولی نرخ رشد و میزان بیومس آن بسیار پایین‌تر می‌باشد و دلیل آن است که غلظت عناصری نظیر منیزیم و یا عناصر کمیاب آن بسیار کمتر است.

البته ذکر این مطلب ضروری است که غلظت منیزیم سولفات در محیط زاروک بسیار بیش‌تر از سایر محیط‌ها می‌باشد و این می‌تواند عاملی در بیشتر بودن نرخ رشد و بیومس به دست آمده در این محیط باشد (غلظت منیزیم سولفات در این محیط تقریبا ۲/۵ برابر غلظت منیزیم سولفات در بی‌جی۱۱، بی‌بی‌ام و ام‌بی‌ام و ۱۰ برابر غلظت در رودیک می‌باشد). دلیل اهمیت یون Mg^{2+} در مولکول کلروفیل و عملکرد آن در واکنش‌های نوری فتوسنتز در استروما[۱۴۶]، در رشد سلول‌های ریزجلبک بسیار تاثیر گذار می‌باشد[۸]. کشت‌هایی که غلظت منیزیم کمتری دارند، کلروفیل کمتری داشته که منجر به کاهش در نرخ فتوسنتز می‌شود. براساس تحقیقات قبلی انجام شده غلظت‌های بالاتر Mg^{2+} باعث تقسیم سلولی سریع‌تر در *کلرلا ولگاریس* می‌شود و وقتی که Mg^{2+} دیگر در دسترس نباشد، تولید و تکثیر سلولی متوقف می‌شود. طی تحقیقی در سال ۱۹۵۳ نشان داده شد که جمعیت سلولی *کلرلا ولگاریس* در محیط دارای منیزیم سولفات با غلظت ppm ۱، یک دهم جمعیت سلولی محیط با غلظت ppm ۴۹ از منیزیم سولفات است[۹]. در تحقیق دیگری با استفاده از طرح غربالی پلاکت بورمن در سال ۲۰۱۲ نشان داده شد که از میان ۱۱ جزء تشکیل دهنده محیط کشت *کلرلا ولگاریس*، ۴ عامل بسیار تاثیر گذار می‌باشند. این عوامل عبارتند از منبع کربنی، منیزیم سولفات، سدیم نیترات و سدیم کلرید که افزایش غلظت این اجزا در محیط تاثیر مثبت در میزان بیومس تولیدی *کلرلا ولگاریس* داشته است. در مطالعه حاضر نیز غلظت این اجزا در محیط زاروک بسیار بیشتر از سایر محیط‌هاست[۱۰].



شکل۷-۴- منحنی رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه۲) در محیط کشت زاروک

در مقایسه با سویه ۱ که روز چهارم کشت به انتهای فاز لگاریتمی رسید، منحنی رشد سویه ۲ نشان می‌دهد که تنها با گذشت یک روز به انتهای فاز لگاریتمی می‌رسد. از این رو در ادامه آزمایش‌ها زمان کشت سویه ۲ را به چهار روز کاهش دادیم. بنابراین بهره‌وری بیومس سویه ۲ بسیار بیشتر از سویه ۱ خواهد بود. در جدول ۷-۲ نرخ رشد ویژه، غلظت بیومس، بهره‌وری

[146]. Stroma

بیومس، ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه ۲) در محیط کشت زاروک آورده شده است. با مقایسه سویه ۲ با سویه ۱ می‌توان گفت که نرخ رشد ویژه آن (d^{-1} ۰/۹۸)، ۱/۵ برابر سویه ۱ می‌باشد.

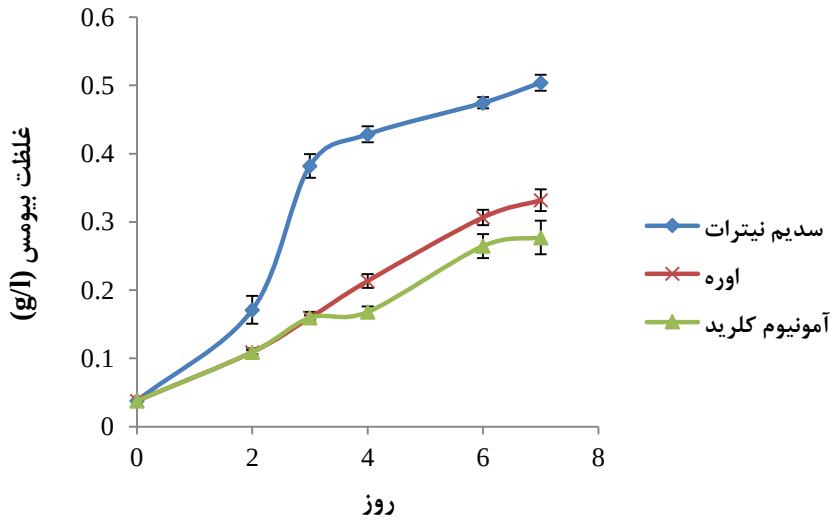
جدول۷-۲- ویژگی‌های رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه ۲) پس از ۴ روز کشت در محیط کشت زاروک

محیط کشت	نرخ رشد ویژه (day^{-1})	غلظت بیومس (mg/l)	بهره‌وری بیومس (mg/l/d)
زاروک	۰/۹۸	۵۷۱±۱۰	۱۴۲/۷

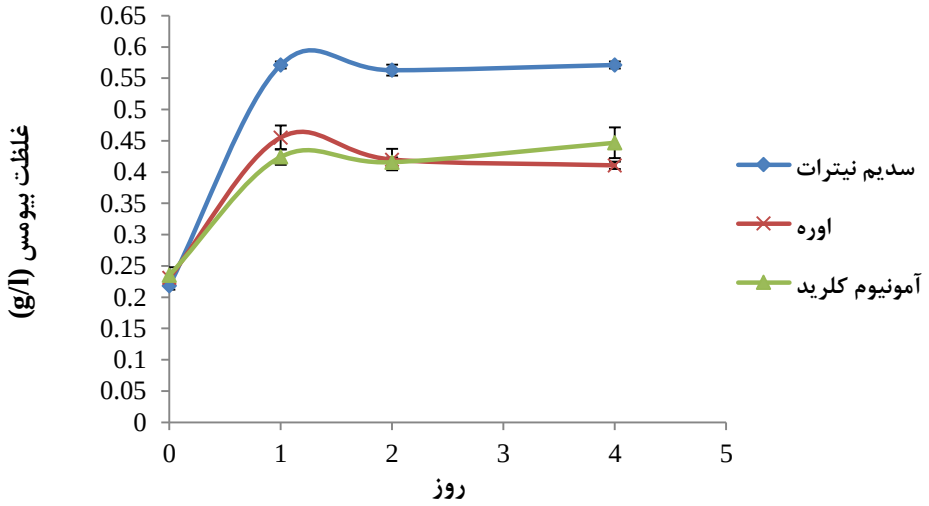
۷-۴- بررسی تاثیر نوع منبع نیتروژنی بر رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*

همان‌طور که قبلا اشاره شد، نیتروژن از مهم‌ترین مواد مغذی موثر بر رشد و بهره‌وری ریزجلبک‌ها می‌باشد. نیتروژن در سلول‌های میکروارگانیسم در جهت سنتز اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و اسید نوکلئیک‌ها مصرف می‌شود. البته نوع منبع نیتروژنی که در دسترس ریزجلبک قرار می‌گیرد، تاثیر قابل توجهی بر رشد سلول و تشکیل متابولیت دارد. در بررسی‌ها و مطالعات قبلی نشان داده شده است که ریزجلبک می‌تواند یون‌های آمونیوم، نیترات و اوره را به عنوان منابع نیتروژن مصرف کند، اما فرایندهای متابولیکی سلول در استفاده از هر کدام از منابع متفاوت است[۱۱]. در این بخش از آزمایش‌ها به منظور یافتن اثر منابع نیتروژنی متفاوت بر رشد ریزجلبک ، سه منبع نیتروژنی معمول (سدیم نیترات، اوره و آمونیوم کلرید) برای رشد سویه مورد نظر استفاده شدند و نتایج به دست آمده مقایسه شدند. از نظر استوکیومتری مقادیر نیتروژن در هر سه حالت با هم برابر است.

شکل‌های ۷-۵ و ۷-۶ منحنی رشد سویه ۱ و ۲ را در هر سه نوع منبع نیتروژنی نشان می‌دهد. در جدول ۷-۳ نیز پارامترهای رشد هر دو سویه بیان شده است.



شکل۷-۵- منحنی رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه ۱) در محیط کشت‌های با منابع نیتروژنی متفاوت



شکل۷-۶- منحنی رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه ۲) در محیط کشت‌های با منابع نیتروژنی متفاوت

همان‌طور که از نتایج مشخص است، نرخ رشد و میزان بیومس هر دو سویه در محیط همراه با منبع نیترات بسیار بیشتر از محیط‌های همراه با منبع اوره و یا آمونیوم است. البته سویه ۲ در آمونیوم و اوره نسبت به سویه ۱ رشد بهتری را نشان داد.

شی هسین هو و همکارانش[۱۴۷] در سال ۲۰۱۳ اثر منابع نیتروژنی مانند پتاسیم نیترات، آمونیوم کلرید، آمونیوم نیترات و اوره را بر رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* FSP-E بررسی کردند و نتایج آن‌ها نشان داد که پس از ۲۴ روز کشت و ۱۱ روز کشت تحت شرایط کمبود نیتروژن، بیش‌ترین نرخ رشد، تولید بیومس و بهره‌وری بیومس مربوط به حالتی است که از اوره برای رشد ریزجلبک استفاده شده است[۱۱].

از بین منابع نیتروژنی استفاده شده در این پروژه، اوره قیمت بسیار کمتری دارد. بنابراین می‌توان گفت که در کشت‌های با مقیاس زیاد استفاده از اوره از نظر اقتصادی به صرفه‌تر است. اما با توجه به آن که سویه مورد نظر رشد بهتری را در نیترات نشان داده است، می‌توان از پساب‌های شهری برای کشت استفاده کرد که حاوی مقادیر مناسبی از نیترات و آمونیوم می‌باشند. به عنوان مثال ابراهیمیان و همکارانش در سال ۲۰۱۴ از پساب شهری تهران که حاوی نیترات و آمونیوم بود برای کشت *کلرلا ولگاریس* استفاده کردند که بهره‌وری بیومس ۱۳۸/۷۶ mg/l/d و بازده حذف نیترات و آمونیوم به ترتیب ۸۲٪ و ۱۰۰٪ گزارش شد[۱۲].

جدول۷-۳- مقایسه ویژگی‌های رشد سویه ۱و۲ *کلرلا ولگاریس* در محیط کشت‌های با منابع نیتروژنی متفاوت

147. S. H. Ho et al.

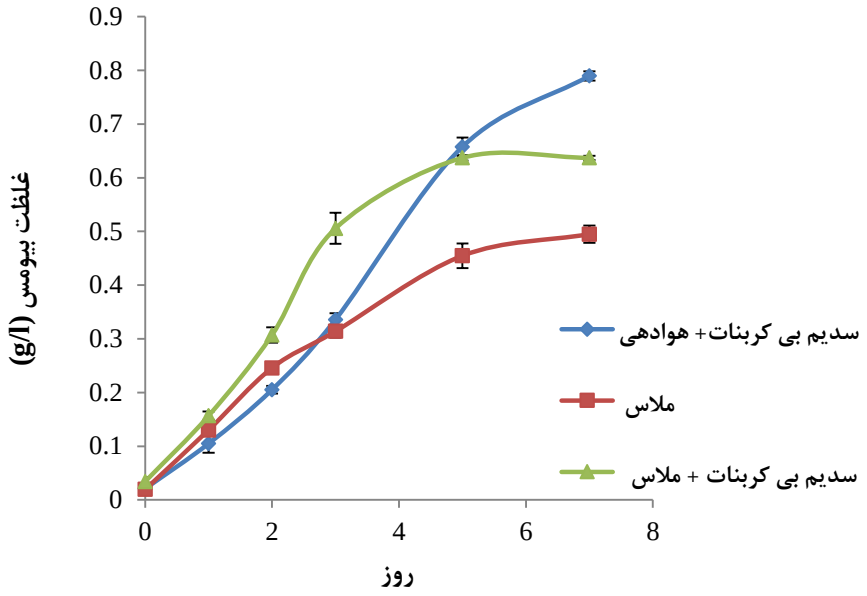
نوع سویه *کلرلا ولگاریس*	نوع منبع نیتروژنی	نرخ رشد ویژه(d^{-1})	غلظت بیومس (mg/l)	بهره‌وری بیومس (mg/l/d)
سویه ۱	سدیم نیترات	۰/۶۱	۵۰۴±۲۰	۷۱/۴
	اوره	۰/۴۶	۳۳۱±۲۷	۵۰/۷
	آمونیوم کلرید	۰/۴۲	۲۷۷±۴۲	۴۲/۴
سویه ۲	سدیم نیترات	۰/۹۸	۵۷۱±۱۰	۱۴۲/۷
	اوره	۰/۶۷	۴۱۰±۱۰	۱۰۲/۵
	آمونیوم کلرید	۰/۵۸	۴۴۰±۴۲	۱۱۰/۰

۷-۵- بررسی شرایط کشت بر رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*

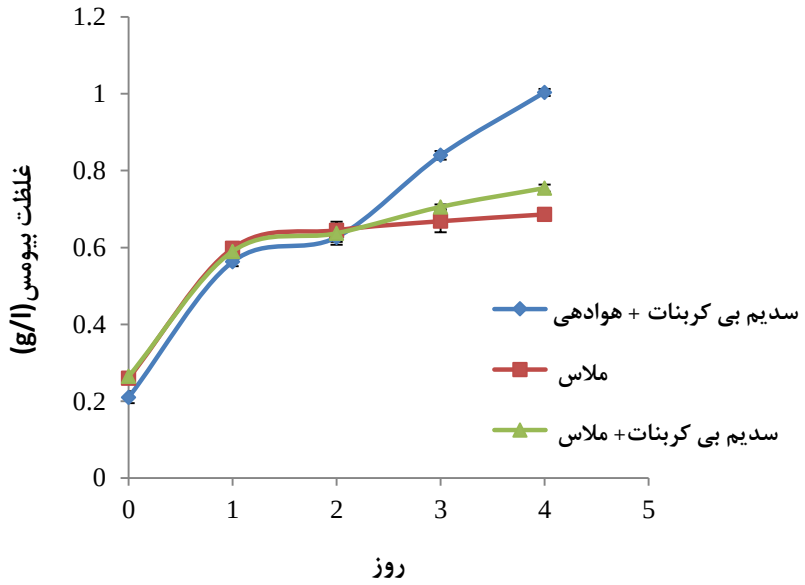
همان‌طور که در فصل ۲ اشاره شد استراتژی‌های متعددی برای بهبود رشد ریزجلبک وجود دارد که یکی از این استراتژی‌ها انتخاب بهترین نوع متابولیسم برای سویه مورد نظر است. در حقیقت، نوع منبع انرژی (نور یا منبع آلی) و منبع کربنی (آلی یا معدنی) فاکتورهای اساسی هستند که به شدت بر رشد و تجمع سیمان بیولوژیک در ریزجلبک تاثیرگذار می‌باشند[۷]. به طور کلی ریزجلبک‌ها می‌توانند تحت چهار نوع شرایط کشت فتوتروف، هتروتروف، فتوهتروتروف و میکسوتروف رشد کنند[۳, ۱۳, ۱۴]. در این تحقیق نیز سویه مورد نظر تحت شرایط ذکر شده، در محیط کشت زاروک رشد داده شد تا بررسی شود که بیشترین بیومس مربوط به کدام حالت است. منحنی‌های رشد سویه ۱ و ۲ *کلرلا ولگاریس*، تحت این شرایط به ترتیب در شکل‌های ۷-۷ و ۷-۸ نشان داده شده است. البته از آن جایی که در تحقیقات قبلی به طور مکرر اشاره شده است که *کلرلا ولگاریس* نمی‌تواند به خوبی تحت شرایط هتروتروف رشد کند و برای استفاده موثر از کربن آلی نیاز به نور دارد، در این تحقیق آزمایش در شرایط هتروتروف انجام نشد و فقط سه حالت، فتوتروف ($NaHCO_3$ ۱g/l+ هوادهی (CO_2 ٪۰/۰۳))، فتوهتروتروف (ملاس ۱g/l) و میکسوتروف (ملاس ۱g/l+ $NaHCO_3$ ۱g/l) مورد بررسی قرار گرفتند.

محققان طی آزمایشی در سال ۲۰۱۲ دریافتند که غلظت بیومس سویه *کلرلا ولگاریس* ESP-31 در حالت فتوهتروتروف ۱۵ برابر بیشتر از حالت رشد هتروتروف است[۷]. لیانگ و همکارانش[۱۴۸] در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که سویه *کلرلا ولگاریس* آن‌ها در شرایط کشت فتوهتروتروف با ۱٪ گلوکز بیش‌ترین مقدار بیومس و بهره‌وری را داشته است که بسیار بیش‌تر از مقادیر به دست آمده در شرایط هتروتروف با همان غلظت گلوکز بوده است[۱]. با این وجود، تعدادی از گونه‌های ریزجلبک وجود دارند که با استفاده از منابع کربنی آلی در تاریکی با نرخی سریع رشد می‌کنند[۱۵, ۱۶]. ارگانیسم‌های فتوهتروتروف تنها تحت شرایطی که هم نور و هم گلوکز وجود داشته باشد رشد می‌کنند و این نشان دهنده آن است که گلوکز منبع انرژی نبوده و ماده سازنده سلولی است. در شرایط کشت فتوهتروتروف نور به عنوان منبع انرژی است که به انرژی شیمیایی مثل ATP و NADPH تبدیل می‌شود[۱۷].

[148].Y. Liang et al.



شکل ۷-۷- منحنی رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه۱) تحت شرایط مختلف کشت



شکل ۷-۸- منحنی رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه۲) تحت شرایط مختلف کشت

نتایج حاصل در این تحقیق نشان می‌دهد که هر دو سویه *کلرلا ولگاریس* مورد بررسی برای رشد خود می‌توانند از منبع کربن آلی ملاس به همراه نور استفاده کنند. نتایج حاصل از آنالیز CHN نشان داد که ملاس مصرفی دارای ۲۵٪ کربن و ۱۴٪

نیتروژن می‌باشد. نتایج مربوط به این بخش از آزمایش‌ها شامل غلظت بیومس، نرخ رشد، بهره‌وری بیومس در جدول ۷-۴ آورده شده است.

جدول ۷-۴- ویژگی‌های رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه ۱و۲) در شرایط مختلف کشت

نوع سویه *کلرلا ولگاریس*	شرایط کشت	نرخ رشد ویژه (d^{-1})	غلظت بیومس (mg/l)	بهره‌وری (بیومس g/l/d)
سویه۱	سدیم بی-کربنات+هوادهی	۰/۷۷	۷۸۹±۱۵	۱۱۲/۷
	ملاس	۰/۷۳	۴۹۵±۲۷	۷۰/۷
	ملاس+ سدیم بی-کربنات	۰/۷۱	۶۳۷±۶	۹۱
سویه ۲	سدیم بی‌کربنات+ هوادهی	۰/۹۸	۱۰۰۰±۱۵	۲۵۰
	ملاس	۰/۸۳	۶۸۰±۲۵	۱۷۰
	ملاس+ سدیم بی-کربنات	۰/۸	۷۵۴±۱۵	۱۸۸/۵

در مورد هر دو سویه نرخ رشد و بهره‌وری بیومس در حالت فتوتروف (سدیم بی‌کربنات+هوادهی) بیشتر از سایر حالت‌ها می‌باشد. در مقایسه با نتایج آزمایش‌های قبلی که تنها از سدیم بی‌کربنات استفاده می‌شد و هوادهی انجام نمی‌شد، بازده تولید به میزان زیادی افزایش یافته است. هوادهی در مورد سویه ۱ باعث ۳۶/۲٪ افزایش و در مورد سویه ۲ باعث ۴۲/۹٪ افزایش در بهره‌وری بیومس شد. این نتایج نشان دهنده این است که تنها حضور ۰/۰۳٪ کربن دی اکسید در هوای ورودی تاثیر قابل توجهی بر رشد دارد. رشد سویه مورد نظر در حالت میکسوتروف نیز قابل توجه و بیشتر از تولید بیومس در رشد فتوهتروتروف می‌باشد. البته در حالت میکسوتروف درصد بیوسیمان بالاتری نسبت به حالت فتوتروف و فتوهتروتروف به دست آمد.
در ادامه با هدف دست یافتن به بازدهی بالاتر تولید بیومس، افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات و درصد کربن دی اکسید در هوای ورودی را بررسی می‌کنیم.

۷-۶- اثر افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات بر رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*

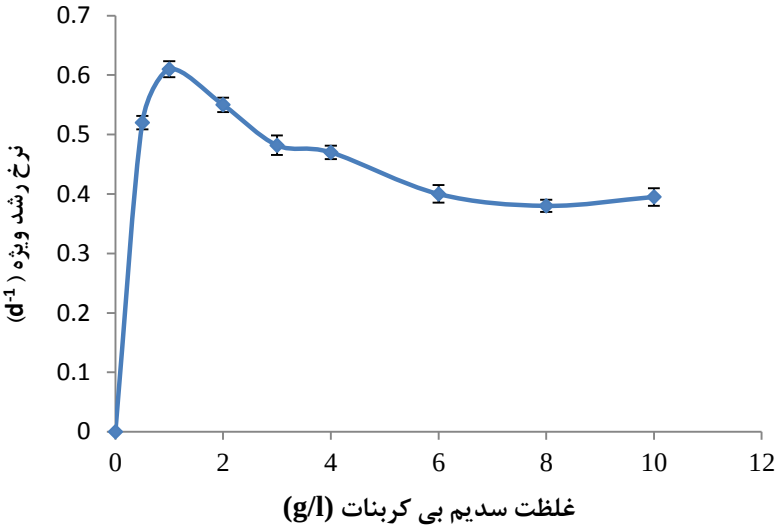
براساس بررسی‌های دیگر محققان، سدیم بی‌کربنات در محیط کشت به عنوان یک بافر شیمیایی عمل کرده و غلظت کربن معدنی حل شده[۱۴۹] (DIC) را در سطح مطلوبی نگه می‌دارد و همراه با ورود CO_2 به محیط کشت، محدوده pH مناسبی

[149]. Dissolved inorganic carbon

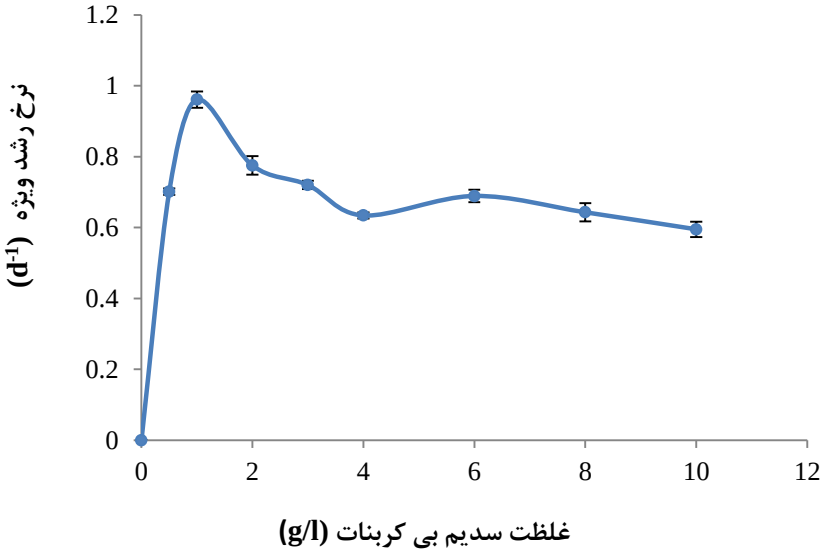
را برای رشد *کلرلا ولگاریس* می‌تواند تامین کند[۱۸]. اما این که تا چه میزان می‌توان غلظت آن را در محیط کشت افزایش داد و به چه میزان بر رشد و میزان بیومس تاثیرگذار است نیز باید بررسی شود. به این منظور در این بخش از آزمایش‌ها، غلظت‌های متفاوتی از سدیم‌بی‌کربنات بر رشد *کلرلا ولگاریس* در شرایط یکسان نور، دما و سرعت همزدن (بدون هوادهی) بررسی شد. در شکل‌های ۷-۹ و ۷-۱۰، تغییرات نرخ رشد ویژه براساس غلظت سدیم بی‌کربنات برای هر دو سویه رسم شده است.

از منحنی‌های رسم شده کاملا مشخص است که نرخ رشد ویژه سویه ۱ و ۲ با افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات از ۱ g/l-۰/۵ افزایش می‌یابد و بیشینه مقدار نرخ رشد آن‌ها به ترتیب به d^{-1} ۰/۶۱ و d^{-1} ۰/۹۶ در غلظت ۱ g/l از سدیم بی‌کربنات می‌رسد. افزایش بیش‌تر غلظت سدیم بی‌کربنات باعث کاهش نرخ رشد ویژه می‌شود. بنابراین سوبسترا اثر مهارکنندگی دارد که این امر ناشی از تغییر قدرت یونی است. در حقیقت، افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات در محیط کشت باعث می‌شود که یون‌های کربنات تشکیل شده، pH محیط کشت را افزایش دهد. در این صورت، سلول‌های ریزجلبک شروع به لخته شدن کرده و تراکم بالایی از سلول‌های ریزجلبک تشکیل می‌شود. لخته‌های متراکم شده ریزجلبک به دلیل اتصال محکم سلول‌ها به هم دارای نرخ تکثیر پایینی هستند و علاوه بر این حرکت سلول‌ها برای دریافت نور کافی جهت فتوسنتز محدود می-شود[۱۹]. در نتیجه با افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات (بیش‌تر از ۱ g/l) نرخ رشد سلول‌های ریزجلبک کاهش می‌یابد. جینسو کیم[۱۵۰] و همکارانش در بررسی اثر غلظت سدیم بی‌کربنات بر رشد سویه *کلرلا ولگاریس Beij* به این نتیجه رسیدند که غلظت‌های ۱۴۳۱ mg C/l و ۷۱۲ منجر به طولانی شدن فاز تاخیر و نرخ رشد کندتر ریزجلبک در مقایسه با غلظت ۱۴۲ mg C/l می‌شود[۱۸]. متابولیت‌های محلول حاصل از تخمیر *کلستریدیوم بوتیریکوم*[۱۵۱] در ساکاروز شامل استات، بوتیرات، لاکتات و غلظت بالایی HCO^-_3 است که در سال ۲۰۱۳ در آزمایشی از آن برای کشت *کلرلا ولگاریس* ESP6 استفاده شد. در بررسی اثر غلظت HCO^-_3 بر رشد *کلرلا ولگاریس* به این نتیجه رسیدند که غلظت ۲/۷۲ g/l از HCO^-_3 برای رشد *کلرلا ولگاریس* بهینه است و افزایش غلظت HCO^-_3 منجر به کاهش نرخ رشد ریزجلبک شده و اثر مهارکنندگی بر رشد دارد[۲۰]. در بررسی دیگری در مورد سویه وحشی *کلرلا ولگاریس* به این نتیجه رسیدند که وقتی غلظت بی‌کربنات استفاده شده بیشتر از ۰/۳ g CO_2/l باشد، pH محیط کشت بیش‌تر از ۸/۵ شده و سویه مورد نظر در این شرایط رشد ناچیزی خواهد داشت[۱۹].

[150] .Jinsoo Kim
[151] .*Clostridium butyricum*



شکل ۷-۹- اثر غلظت سدیم بی‌کربنات بر نرخ رشد ویژه *کلرلا ولگاریس* (سویه۱)



شکل ۷-۱۰- اثر غلظت سدیم بی‌کربنات بر نرخ رشد ویژه *کلرلا ولگاریس* (سویه۲)

در حقیقت سینتیک رشد *کلرلا ولگاریس* براساس غلظت بی‌کربنات مطابق با معادله هالدن[۱۵۲] می‌باشد:

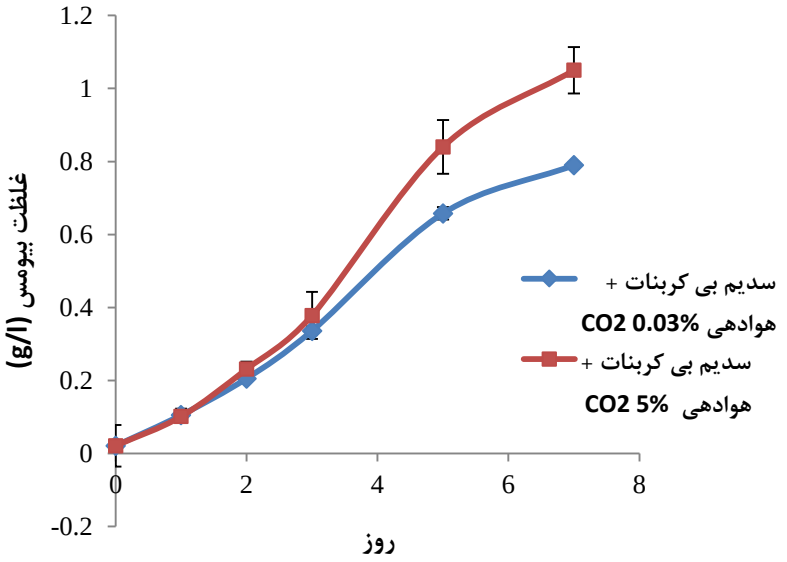
[152]. Haldane

$$\mu = \frac{\mu_{max}[S]}{K_s + [S] + \frac{[S]^2}{K_i}} \qquad (۳-۷)$$

در این رابطه، μ (d^{-1}) نرخ رشد ویژه، μ_{max} (d^{-1}) بیشینه نرخ رشد ویژه، S (g/l) غلظت سوبسترا، K_s ثابت نیمه اشباع مونود[۱۵۳] و K_i ثابت بازدارندگی[۱۵۴] است[۲۰].

۷-۷- اثر افزایش غلظت کربن دی اکسید بر رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس*

در این بخش از آزمایش‌ها، غلظت کربن دی اکسید در هوای ورودی به ۵٪ افزایش یافت تا بررسی شود که به چه میزان بر افزایش رشد و تولید بیومس موثر است. منحنی رشد سویه مورد نظر تحت این شرایط در شکل ۷-۱۱ آورده شده است و در جدول ۷-۵ نیز نتایج به دست آمده مقایسه شدند.



شکل ۷-۱۱- منحنی رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه۱) در غلظت‌های متفاوت از کربن دی اکسید

با توجه به نتایج می‌توان دریافت که افزایش غلظت کربن دی اکسید در هوای ورودی به کشت باعث افزایش نرخ رشد ویژه، بهره‌وری بیومس و بهره‌وری بیوسیمان شده است. افزایش غلظت کربن دی اکسید از ۰/۰۳٪ به ۵٪ تاثیر چندانی بر محتوای بیوسیمان نداشته است اما افزایش غلظت بیومس باعث ۲۸/۴ ٪ افزایش در بهره‌وری بیوسیمان شده است. مسلم است که با افزایش غلظت کربن دی اکسید در هوای ورودی به کشت، غلظت کربن معدنی حل شده افزایش یافته و سبب افزایش نرخ

153. Monod half-saturation constant
154. Inhibition constant

رشد می‌شود. علاوه بر این، فراوانی کربن‌دی اکسید بر فعالیت دو آنزیم کلیدی کربونیک آنهیدراز[۱۵۵] و روبیسکو[۱۵۶] که در متابولیسم کربن نقش دارند، اثر گذار است. افزایش غلظت کربن دی اکسید، فعالیت کربوکسیلاسیون را افزایش داده و فعالیت اکسیژن رسانی روبیسکو را سرکوب می‌کند که در نتیجه آن میزان فتوسنتز افزایش می‌یابد[۲۱]. آنجس و همکارانش[۱۵۷] طی آزمایش‌های خود نشان دادند که افزایش غلظت کربن دی اکسید از ۰٪ به ۶٪ در کشت *کلرلا ولگاریس*، موجب افزایش بهره‌وری بیومس به میزان ۴۵٪ شد. اما استفاده از غلظت‌های بالاتر کربن دی اکسید (۱۰٪) موجب شد که میزان بیومس کمتری نسبت به غلظت ۶٪ بدست آید. دلیل آن است که غلظت‌های زیاد کربن دی اکسید سبب کاهش pH محیط و کاهش رشد سلولی می‌شود. همان طور که در نتایج حاصل از آزمایش های این قسمت نشان داده شد که تغییر غلظت کربن دی اکسید، محتوای بیوسیمان را چندان تغییر نداد.

جدول ۷-۵- مقایسه ویژگی‌های رشد ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (سویه ۱) در غلظت‌های متفاوت از کربن دی اکسید

شرایط	نرخ رشد ویژه (d^{-1})	غلظت بیومس (mg/l)	بهره‌وری بیومس (mg/l/d)
سدیم بی کربنات + ۰/۰۳٪ CO_2	۰/۷۷	۷۸۹±۱۵	۱۱۲/۷
سدیم بی کربنات + ۵٪ CO_2	۰/۹۲	۱۰۵۰±۱۰۰	۱۵۰

۷-۸- نتایج حاصل از آزمایش غربالی پلاکت بورمن

در جدول ۷-۶، آزمایش‌های غربالی انجام شده و نتایج حاصل از آن‌ها نشان داده شده است. پاسخ نهایی، بهره‌وری بیومس و بهره‌وری بیوسیمان می‌باشد. در جدول ۷-۷، آنالیز واریانس[۱۵۸] نشان داده شده است. در جدول آنالیز واریانس، میزان اثر، F value و p-value برای هر یک از عوامل (اجزا محیط کشت) آورده شده است. عواملی که دارای مقادیر p-value کمتر از ۰/۰۵ باشند، معنا دار محسوب می‌شوند و بیشترین تاثیر را بر مقدار پاسخ دارند. عواملی که دارای مقادیر F value بالاتر باشند، دارای اهمیت بیش‌تری هستند. با توجه به جدول آنالیز واریانس به دست آمده از نرم افزار، در مورد هر دو پاسخ بهره‌وری بیومس و بهره‌وری بیوسیمان، تنها سه جز از اجزا محیط کشت که شامل ملاس، سدیم نیترات و دی پتاسیم هیدروژن فسفات می‌باشند، دارای مقدار p-value کوچکتر از ۰/۰۵ هستند. مدلی که نرم افزار در اینجا ارائه می‌دهد، معنی

155. Carbonic anhydrase
156. Rubisco
157 .M. Anjos et al.
1- Anova

دار اعلام شده است. R^2 که میزان مناسب بودن داده‌ها با مدل پیشنهادی را نشان می‌دهد برابر ۰/۹۹ می‌باشد. معادلات ۷-۴ و ۷-۵، رابطه بین عوامل مؤثر بر فرآیند و میزان بهره‌وری بیومس و بهره‌وری بیوسیمان را در آزمایش‌های غربالی نشان می‌دهند. در این معادلات، ضرایب مثبت، نشان دهنده اثر افزایشی عامل و ضرایب منفی، نشان دهنده اثر کاهشی عامل بر پاسخ نهایی است.

جدول ۷-۶- آزمایش‌های انجام شده و نتایج حاصل از آن‌ها در طرح پلاکت بورمن

شماره آزمایش	ملاس (g/l)	سدیم بی کربنات(g/l)	سدیم نیترات(g/l)	دی پتاسیم هیدروژن فسفات(g/l)	پتاسیم سولفات(g/l)	سدیم کلرید(g/l)	منیزیم سولفات(g/l)	کلسیم کلرید(g/l)	آهن سولفات(g/l)	سدیم.ا.د.ت.آ(g/l)	محلول ریزمغذی(ml/l)	بهره وری بیومس(mg/l.d)	درصد بیوسیمان(%)	بهره وری بیوسیمان (mg/l.d)
۱	۵	۰/۲	/۲ ۰	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۲	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۴	۱	۱۴۰	۹/۰	۱۲/۶
۲	۵	۱	۳	۲	۰/۱	۰/۱	۰/۲	۰/۱	۰/۰۱	۰/۲	۵	۱۸۰	۱۲/۷	۲۳
۳	۱۵	۰/۲	۳	۲	۰/۱	۳	۳	۰/۱	۰/۰۱	۰/۰۴	۱	۲۷۵	۱۸/۱	۵۰
۴	۱۵	۱	/۲ ۰	۰/۱	۰/۱	۳	۰/۲	۰/۱	۰/۱	۰/۰۴	۵	۲۰۰	۱۲/۵	۲۵
۵	۵	۰/۲	۳	۰/۱	۲	۳	۰/۲	۰/۱	۰/۱	۰/۲	۱	۱۵۷/۵	۱۰/۷	۱۷
۶	۱۵	۰/۲	۳	۲	۲	۰/۱	۰/۲	۰/۰۱	۰/۱	۰/۰۴	۵	۳۲۵	۱۶/۹	۵۵
۷	۱۵	۱	۳	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۳	۰/۰۱	۰/۱	۰/۲	۱	۲۵۰	۱۸/۰	۴۵
۸	۵	۰/۲	/۲ ۰	۲	۰/۱	۳	۳	۰/۰۱	۰/۱	۰/۲	۵	۱۴۲/۵	۹/۴	۱۳/۵
۹	۱۵	۰/۲	/۲ ۰	۰/۱	۲	۰/۱	۳	۰/۱	۰/۰۱	۰/۲	۵	۲۰۷/۵	۱۳/۰	۲۷
۱۰	۵	۱	۳	۰/۱	۲	۳	۳	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۴	۵	۱۵۰	۱۲/۰	۱۸

۱۱	۱۰	۰/۶	/۶ ۱	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۵۵	۱/۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۱۲	۳	۱۷۲/۵	۱۱/۵	۲۰
۱۲	۱۰	۰/۶	/۶ ۱	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۵۵	۱/۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۱۲	۳	۱۸۵	۱۲/۴	۲۳/۱
۱۳	۱۵	۱	/۲ ۰	۲	۲	۳	۰/۲	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۲	۱	۲۳۰	۱۴/۹	۳۴/۴
۱۴	۱۰	۰/۶	/۶ ۱	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۵۵	۱/۶	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۱۲	۳	۱۹۰	۱۲/۶	۲۴
۱۵	۵	۱	/۲ ۰	۲	۲	۰/۱	۳	۰/۱	۰/۱	۰/۰۴	۱	۱۶۲/۵	۱۰/۸	۱۷/۶

جدول ۷-۷- آنالیز واریانس طرح پلاکت بورمن

			بهره‌وری بیومس			بهره‌وری بیوسیمان			
	اجزا	واحد	میزان اثر	F value	p-value	میزان اثر	F value	p-value	میزان اهمیت
مدل	-	-	–	۴۲/۱۷	۰/۰۲۳۴	–	۴۸/۶	۰/۰۲۰۳	معنادار[۱۵۹]
X_1	ملاس	g/l	۹۲/۵	۳۱۵/۹۲	۰/۰۰۳۲	۲۲/۴۵	۳۴۳/۳۸	۰/۰۰۲۹	
X_2	سدیم بی کربنات	″	−۱۲/۵	۵/۷۷	۰/۱۳۸۳	−۲/۰۲	۲/۷۷	۰/۲۳۷۹	
X_3	سدیم نیترات	″	۴۲/۵	۶۶/۶۹	۰/۰۱۴۷	۱۲/۹۸	۱۱۴/۸۵	۰/۰۰۸۶	
X_4	دی پتاسیم هیدروژن فسفات	″	۳۵	۴۵/۲۳	۰/۰۲۱۴	۸/۱۵	۴۵/۲۵	۰/۰۲۱۴	
X_5	پتاسیم سولفات	″	۷/۵	۲/۰۸	۰/۲۸۶۳	−۰/۰۱۷	۰/۰۰۰۱	۰/۹۹۰۳	
X_6	سدیم کلرید	″	−۱۸/۳۳	۱۲/۴۱	۰/۰۷۲۰	−۳/۷۲	۹/۴۱	۰/۰۹۱۹	
X_7	منیزیم سولفات	″	−۷/۵	۲/۰۸	۰/۲۸۶۳	۰/۶۸	۰/۳۲	۰/۶۲۹۵	
X_8	کلسیم کلرید	″	−۹/۱۷	۳/۱	۰/۲۲۰۲	−۳/۱۵	۶/۷۶	۰/۱۲۱۵	
X_9	آهن سولفات	″	۹/۱۷	۳/۱	۰/۲۲۰۲	۱/۳۵	۱/۲۴	۰/۳۸۱۱	
X_{10}	سدیم.ا.د.ت.آ	″	−۱۴/۱۷	۷/۴۱	۰/۱۱۲۶	−۳/۰۵	۶/۳۴	۰/۱۲۸۱	

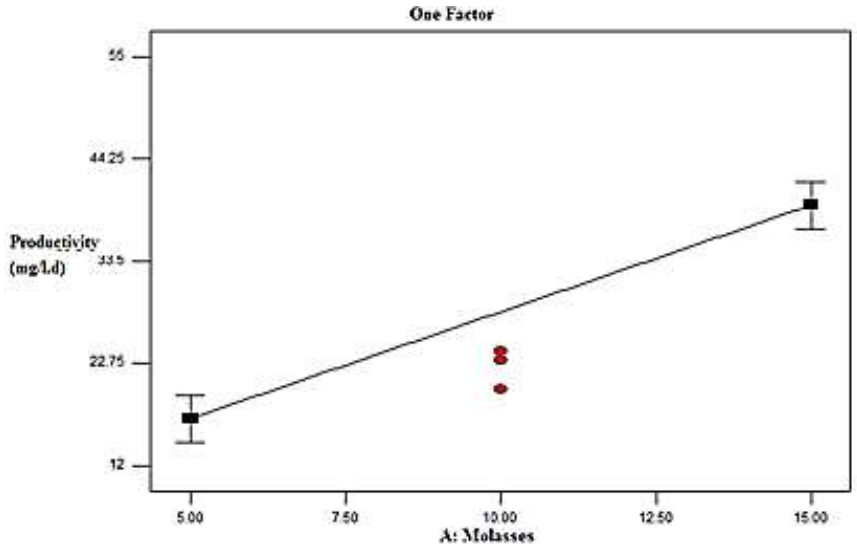
[159]. Significant

X_{11}	محلول ریزمغذی	ml/l	−۱/۶۷	۰/۱	۰/۷۷۹۱	−۲/۵۲	۴/۳۲	۰/۱۷۳۴	

$$\text{Biomass Productivity} = +96.72 + 9.25 \times [\text{Molasses}] - 15.62 \times [NaHCO_3] + 15.17 \times [NaNO_3] + 18.42 \times [K_2HPO_4] + 3.94 \times [K_2SO_4] - 6.32 \times [NaCl] - 2.67 \times [MgSO_4.7H_2O] - 101.85 \times [CaCl_2] + 101.85 \times [FeSO_4.7H_2O] - 88.5 \times [EDTA.Na_2] - 0.41 \times [\text{Trace Solution}] \quad (۴-۷)$$

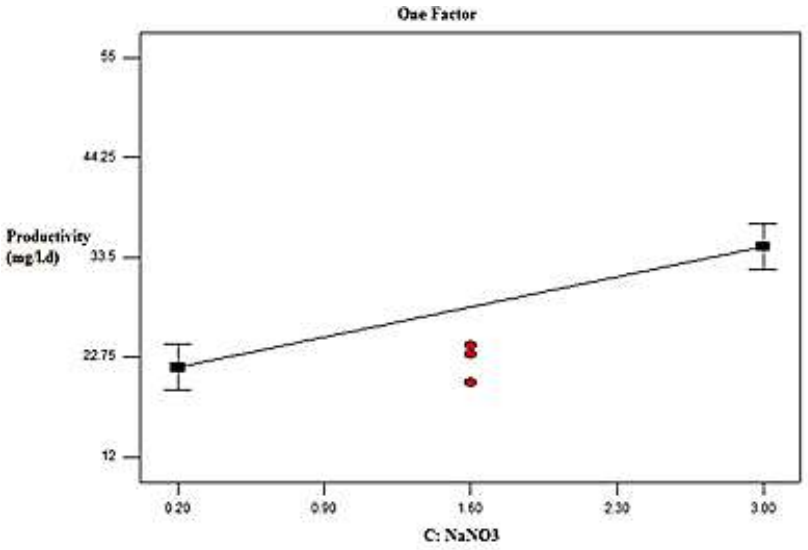
$$\text{Biocement Productivity} = +2.19 + 2.24 \times [\text{Molasses}] - 2.52 \times [NaHCO_3] + 4.63 \times [NaNO_3] + 4.28 \times [K_2HPO_4] - 0.0008 \times [K_2SO_4] - 1.28 \times [NaCl] + 0.24 \times [MgSO_4.7H_2O] - 35 \times [CaCl_2] + 15 \times [FeSO_4.7H_2O] - 19.06 \times [EDTA.Na] - 0.62 \times [\text{Trace Solution}] \quad (۵-۷)$$

نمودار اثر مهم‌ترین عوامل در شکل‌های ۷-۱۲، ۷-۱۳ و ۷-۱۴ آورده شده است.



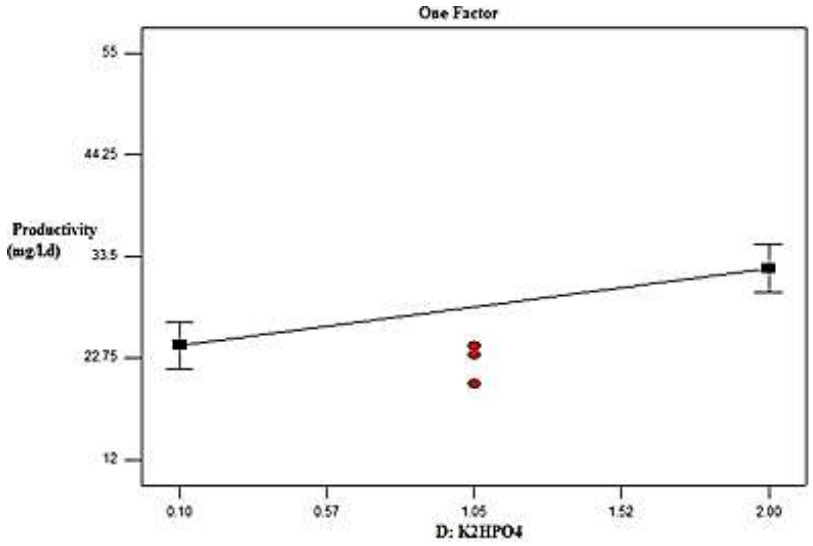
شکل ۷-۱۲- اثر ملاس بر میزان بهره‌وری بیوسیمان

همان طور که در نمودار شکل ۷-۱۲ مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت ملاس، بهره‌وری بیوسیمان افزایش می یابد. می‌توان این گونه توضیح داد که *کلرلا ولگاریس* مورد بررسی برای رشد خود می‌تواند از منبع کربن آلی ملاس به همراه نور استفاده کنند. نتایج حاصل از آنالیز CHN نشان داد که ملاس مصرفی دارای ۲۵٪ کربن و ۱۴٪ نیتروژن می‌باشد. بنابراین با افزایش غلظت ملاس، غلظت دو عامل تاثیرگذار بر بهره وری افزایش یافته اند.



شکل ۷-۱۳- اثر سدیم نیترات بر میزان بهره‌وری بیوسیمان

با توجه به نمودار ۷-۱۳، مشخصا افزایش غلظت سدیم نیترات از g/l ۰/۲ به g/l ۳ دارای اثر مثبت بر بهره وری بیوسیمان می‌باشد چرا که با افزایش این مقدار از سدیم نیترات، بهره‌وری بیوسیمان از mg/l.d ۲۲/۷۵ به mg/l.d ۳۳/۵ افزایش نشان داده است.



شکل ۷-۱۴- اثر دی پتاسیم هیدروژن فسفات بر بهره‌وری بیوسیمان

نتیجه به دست آمده از شکل ۷-۱۴ نیز حاکی از آن است که افزایش غلظت دی پتاسیم هیدروژن فسفات نیز از ۰/۱ g/l تا ۲ g/l موجب افزایش بهره‌وری بیوسیمان سویه مورد بررسی شده است.

در ادامه آزمایش‌ها از آن جایی که سه عامل ملاس، سدیم نیترات و دی پتاسیم هیدروژن فسفات بیشترین تاثیر را بر بهره‌وری بیومس و بیوسیمان داشتند، با استفاده از طرح مخلوط به بهینه سازی مقادیر آن‌ها پرداختیم.

۷-۹- نتایج حاصل از طراحی آزمایش مخلوط

با در نظر گرفتن سه عامل ملاس، سدیم نیترات و دی پتاسیم هیدروژن فسفات به عنوان مهم‌ترین اجزا موثر بر بهره‌وری بیوسیمان و تعیین دو سطح بالا و پایین برای آن‌ها، با استفاده از طرح مخلوط، ۲۰ آزمایش به دست آمد که نتایج حاصل از آن ها در جدول ۷-۸ آورده شده است.

جدول ۷-۸- نتایج آزمایشات پاسخ سطحی

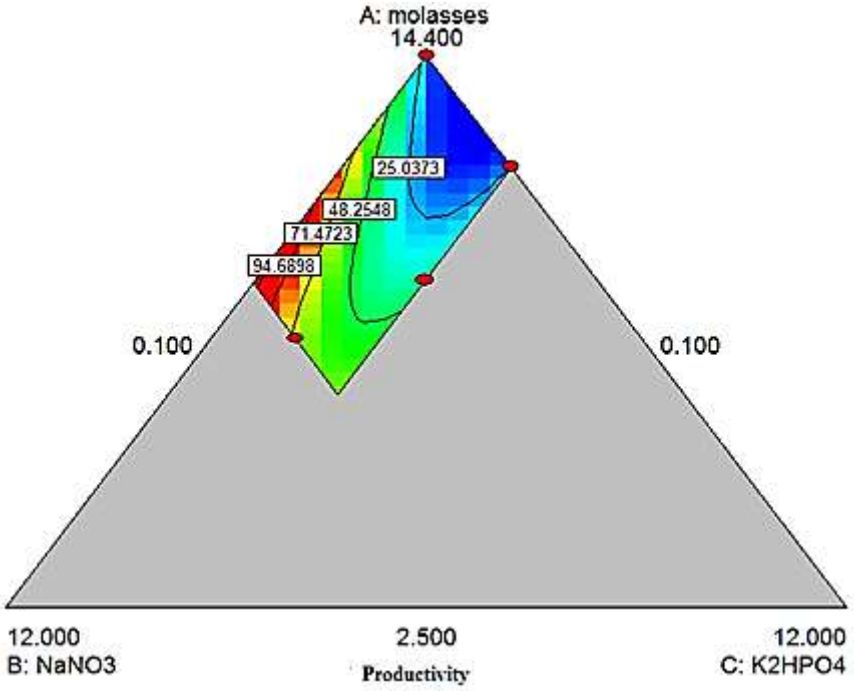
شماره آزمایش	ملاس A (g/l)	سدیم نیترات B (g/l)	دی پتاسیم هیدروژن فسفات C (g/l)	آب D (g/l)	بهره‌وری بیومس (mg/l.d)	درصد بیوسیمان (%)	بهره‌وری بیوسیمان (mg/l.d)
۱	۱۶/۶	۰/۱	۲/۵	۹۸۰/۸	۱۱۵	۱۸/۰۸	۲۰/۸
۲	۱۱/۷	۵	۲/۵	۹۸۰/۸	۲۰۵	۱۹/۱۷	۳۹/۳
۳	۱۴/۱	۵	۰/۱	۹۸۰/۸	۴۹۰	۲۰	۹۸
۴	۴/۹	۵	۰/۱	۹۹۰	۴۵۰	۱۹/۹۳	۸۹/۷
۵	۲/۵	۵	۲/۵	۹۹۰	۱۱۰	۱۸	۱۹/۸
۶	۴/۹	۵	۰/۱	۹۹۰	۴۰۵	۱۹/۸۷	۸۰/۵
۷	۹/۸	۰/۱	۰/۱	۹۹۰	۱۷۰	۱۸/۸۸	۳۲/۱
۸	۱۱/۷	۵	۲/۵	۹۸۰/۸	۱۹۰	۱۹/۰۵	۳۶/۲
۹	۶/۱۵	۲/۵۵	۱/۳	۹۹۰	۱۹۰	۱۹/۰۵	۳۶/۲
۱۰	۱۳/۰۵	۲/۵۵	۱/۳	۹۸۳/۱	۱۱۵	۱۸/۰۸	۲۰/۸
۱۱	۱۴/۴	۰/۱	۰/۱	۹۸۵/۴	۱۲۲/۵	۱۸/۲۰	۲۲/۳
۱۲	۹/۵۵	۲/۵۵	۲/۵	۹۸۵/۴	۲۱۵	۱۹/۲۵	۴۱/۴
۱۳	۷/۴	۰/۱	۲/۵	۹۹۰	۱۲۵	۱۸/۲۴	۲۲/۸

۱۴	۱۹	۰/۱	۰/۱	۹۸۰/۸	۷۵	۱۶/۸	۱۲/۶
۱۵	۲/۵	۵	۲/۵	۹۹۰	۱۷۵	۱۸/۹۱	۳۳/۱
۱۶	۱۶/۶	۰/۱	۲/۵	۹۸۰/۸	۲۱۵	۱۹/۲۵	۴۱/۴
۱۷	۸/۳	۵	۱/۳	۹۸۵/۴	۳۵۰	۱۹/۷۴	۶۹/۱
۱۸	۱۲	۰/۱	۲/۵	۹۸۵/۴	۱۴۵	۱۸/۶۲	۲۷
۱۹	۷/۴	۰/۱	۲/۵	۹۹۰	۱۵۵	۱۸/۷۰	۲۹
۲۰	۱۶/۵۵	۲/۵۵	۰/۱	۹۸۰/۸	۲۸۵	۱۹/۵۷	۵۵/۸

جدول ۷-۹- آنالیز واریانس طرح مخلوط

	F value	p-value	میزان اهمیت
Source Model	۱۶/۶۶	۰/۰۰۰۲	معنا دار
Linear Mixture	۳۵/۰۴	<- ۰/۰۰۰۱	
AB	۰/۳۳	۰/۵۸۲۵	
AC	۸/۱۶	۰/۰۲۱۳	
AD	۰/۵۸	۰/۴۶۷۶	
BC	۱۳/۱۹	۰/۰۰۶۷	
BD	۴/۳۳	۰/۰۷۱۰	
CD	۹/۱۵	۰/۰۱۶۴	
ABC	۷/۷	۰/۰۲۴۱	
ABD	۷/۲۵	۰/۰۲۷۴	
Lack of Fit	۰/۵۱	۰/۶۹۱۰	بی معنی
Pure Error			
Cor Total			

نتایج حاصل از آنالیز واریانس در جدول ۷–۹ نشان می‌دهد که مدل معنا دار است. عواملی که مقدار p-value آن‌ها کمتر از ۰/۰۵ باشد، عوامل تاثیرگذار هستند. اثر متقابل ملاس و پتاسیم دی هیدروژن فسفات، سدیم نیترات و پتاسیم دی هیدروژن فسفات، آب و پتاسیم دی هیدروژن فسفات و اثر متقابل هر سه عامل، عوامل مهم هستند.



شکل ۷–۱۵– نمودار کانتور اثر سه عامل ملاس، سدیم نیترات و دی پتاسیم هیدروژن فسفات بر بهره‌وری بیوسیمان

در شکل ۷–۱۵ نمودار کانتور اثر سه عامل ملاس، سدیم نیترات و دی پتاسیم هیدروژن فسفات بر بهره‌وری بیوسیمان نشان داده شده است. در این نمودار هر چه به مناطق قرمز رنگ نزدیک تر می شویم، بهره وری بیشتر می شود. در قسمت بهینه سازی نرم افزار، مقادیر بهینه هر یک از پارامترها جهت دستیابی به بالاترین میزان بیوسیمان به دست آمد که در جدول ۷–۱۰ نشان داده شده است.

در عمل با اعمال این مقادیر از ملاس، سدیم نیترات و پتاسیم دی هیدروژن فسفات در محیط کشت، بهره وری بیوسیمان به ۱۲۵/۲ mg/l.d و بهره وری بیومس به ۱۱۰ mg/l.d رسید.

جدول ۷–۱۰– مقادیر بهینه سه عامل موثر بر بهره وری بیوسیمان

بهره وری بیوسیمان(mg/l.d)	آب (g/l)	دی پتاسیم هیدروژن فسفات (g/l)	سدیم نیترات (g/l)	ملاس (g/l)	نقطه بهینه
۱۲۵/۲	۹۸۵/۴	۰/۱	۵	۹/۵	

مراجع:

[۱]Y. Liang, N. Sarkany, Y. Cui, Biomass and lipid productivities of Chlorella vulgaris under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions, Biotechnol Lett, 31 (2009) 1043-1049.

[۲]A. Widjaja, C.-C. Chien, Y.-H. Ju, Study of increasing lipid production from fresh water microalgae Chlorella vulgaris, Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 40 (2009) 13-20

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

[۴]A. Illman, A. Scragg, S. Shales, Increase in Chlorella strains calorific values when grown in low nitrogen medium, Enzyme and microbial technology, 27 (2000) 631-635.

[۵]C. Yeesang, B. Cheirsilp, Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand, Bioresource Technology, 102 (2011) 3034- 3040.

[۶]M.F. Blair, B. Kokabian, V.G. Gude, Light and growth medium effect on Chlorella vulgaris biomass production, Journal of Environmental Chemical Engineering, 2 (2014) 665-674.

[۷]K.-L. Yeh, J.-S. Chang, Effects of cultivation conditions and media composition on cell growth and lipid productivity of indigenous microalga Chlorella vulgaris ESP-31, Bioresource Technology, 105 (2012) 120-127.

[۸]F.J.M. Maathuis, Physiological functions of mineral macronutrients, Current Opinion in Plant Biology, 12 (2009) 250-258.

[۹]B.J. Finkle, D. Appleman, The effect of magnesium concentration on growth of Chlorella, Plant physiology, 28 (1953) 664.

[۱۰]W.-B. Kong, S.-F. Hua, H. Cao, Y.-W. Mu, H. Yang, H. Song, C.-G. Xia, Optimization of mixotrophic medium components for biomass production and biochemical composition biosynthesis by Chlorella vulgaris using response surface methodology, Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 43 (2012) 360-367.

[۱۱]S.H. Ho, S.W. Huang, C.Y. Chen, T. Hasunuma, A. Kondo, J.S. Chang, Characterization and optimization of carbohydrate production from an indigenous microalga Chlorella vulgaris FSP-E, Bioresour Technol, 135 (2013) 157-165.

[۱۲]A. Ebrahimian, H.-R. Kariminia, M. Vosoughi, Lipid production in mixotrophic cultivation of Chlorella vulgaris in a mixture of primary and secondary municipal wastewater, Renewable Energy, 71 (2014) 502-508.

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

[۱۴] C. Safi, B. Zebib, O. Merah, P.-Y. Pontalier, C. Vaca-Garcia, Morphology, composition, production, processing and applications of Chlorella vulgaris: A review, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 35 (2014) 265-278.

[۱۵]W. Xiong, X. Li, J. Xiang, Q. Wu, High-density fermentation of microalga Chlorella protothecoides in bioreactor for microbio-diesel production, Applied Microbiology and Biotechnology, 78 (2008) 29-36.

[۱۶]Y. Cheng, W. Zhou, C. Gao, K. Lan, Y. Gao, Q. Wu, Biodiesel production from Jerusalem artichoke (Helianthus Tuberosus L.) tuber by heterotrophic microalgae Chlorella protothecoides, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 84 (2009) 777-781.

[۱۷]K. Chojnacka, Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbonmetabolism in the culture of microalgae, Biotechnology (Pakistan), (2004).

[۱۸] J. Kim, J.-Y. Lee, T. Lu, Effects of dissolved inorganic carbon and mixing on autotrophic growth of Chlorella vulgaris, Biochemical Engineering Journal, 82 (2014) 34-40.

[۱۹]M.K. Lam, K.T. Lee, Effect of carbon source towards the growth of Chlorella vulgaris for CO2 bio-mitigation and biodiesel production, International Journal of Greenhouse Gas Control, 14 (2013) 169-176.

[۲۰] C.-H. Liu, C.-Y. Chang, Q. Liao, X. Zhu, J.-S. Chang, Photoheterotrophic growth of Chlorella vulgaris ESP6 on organic acids from dark hydrogen fermentation effluents, Bioresource Technology, 145 (2013) 331-336.

[۲۱]M. Anjos, B.D. Fernandes, A.A. Vicente, J.A. Teixeira, G. Dragone, Optimization of CO2 bio-mitigation by Chlorella vulgaris, Bioresource Technology, 139 (2013) 149-154.

فصل هشتم
جمع بندی، نتیجه گیری فاز اول

۸-۱- جمع بندی

از میان منابع موجود برای تولید سیمان بیولوژیک، ریزجلبک‌ها مزیت‌های ویژه‌ای دارند که از جمله آن می‌توان به نرخ فتوسنتز بالا، توانایی بالا در تثبیت کربن دی اکسید، توان رشد در آب‌های شور، شیرین و پساب اشاره کرد. از میان مراحل فرایند تولید سیمان بیولوژیک از ریزجلبک، مرحله کشت از اهمیت خاصی برخوردار است. فراهم کردن شرایط بهینه‌ای از دما، نور و مواد مغذی تاثیر چشمگیری در بازدهی فرایند تولید دارد. ویژگی‌های رشد و اجزا تشکیل دهنده ریزجلبک به شدت تحت تاثیر نوع متابولیسم، هوادهی، غلظت منبع کربن، نوع و غلظت منبع نیتروژن و ریزمغذی‌ها قرار دارد. یکی از مواردی که بسیار حائز اهمیت می‌باشد این است که علاوه بر در نظر داشتن هدف دستیابی به بازدهی بیش‌تر، نوعی از شرایط کشت انتخاب شود که با احتساب هزینه‌ها به راحتی امکان افزایش مقیاس وجود داشته باشد و کنترل کشت و اطمینان از عدم آلودگی به راحتی فراهم باشد. به این ترتیب در پروژه حاضر نیز مهم‌ترین عوامل موثر بر رشد *کلرلا ولگاریس* بررسی شد.

۸-۱-۱- الزامات ایمنی و زیست محیطی

در رابطه به الزامات ایمنی و زیست محیطی استفاده از سیمان بیولوژیک بر پایه ریزجلبک در بتن های خودترمیم شونده از آنجایکه روش تولید سیمان بیولوژیک در این طرح براساس تولید ریزجلبک انتخاب شده است و ریزجلبک ها علاوه بر اینکه هیچ گونه تاثیر بیماری زای در انسان یا حیوان ندارند بلکه امروزه هم برای انسان و هم برای دام به عنوان خوراک استفاده می شود. امروزه از ریزجلبک کلرلا برای خوراک دام و خوراک ماهی بصورت عمده استفاده می گردد و در رابطه با انسان نیز قرص های حاوی این ریزجلبک تحت عنوان الگومد[۱۶۰] جهت تنظیم چربی خون و لاغری به فروش می رسد. بنابراین از این جنبه تماس با بیومس و بیوسمیان تولیدی هیچ گونه مشکل ایمنی یا زیست محیطی ایجاد نمی کند این در حالی است که اگر از سیمان بیولوژیک بر پایه باکتری استفاده می شد و از آنجایکه باکتری مورد استفاده پروتئوس ولگاریس می باشد که یک باکتری بیماری زا برای انسان و حیوان بوده و ایجاد عفونت های شدید می کند تماس با بیومس می بایست ضمن استفاده از وسایل حفاظت فردی مثل ماسک ضد میکروبی و دستکش لاتکس انجام می شد و بتن ساخته شده نیز در محیط های عمومی قابلیت کاربرد نداشت.

جنبه مثبت دیگر زیست محیطی این طرح استفاده از پساب های ثانویه (پساب تصفیه شده حاوی نیتروژن و فسفر) به عنوان محیط کشت ریزجلبک جهت کشت انبوه آن است که ضمن تصفیه تکمیلی پساب و حذف نیتروژن و فسفر باقی مانده (امروزه در تصفیه خانه ها برای حذف نیتروژن و فسفر از تصفیه تکمیلی به روش شیمیایی استفاده می شود) بیومس و بیو سمیان نیز تولید می گردد. همچنین دیگر منبع تولید ریزجلبک و بیو سیمان آب های با سختی بالا بخصوص در مناطق کویری کشور است که ضمن حذف سختی آب، سیمان بیولوژیک نیز تولید می شود.

تنها نکته ضروری جهت حفظ ایمنی بخش برداشت ریزجلبک است که از آنجایکه با روش انعقاد الکتریکی کار می شود به منظور جلوگیری از برق گرفتگی تماس محیط مایع در حین عملیات برداشت باید با وسایل عایق انجام گردد. البته تا زمانی که ولتاژ بیشتر از ۵۰ ولت نگردیده امکام برق گرفتگی وجود ندارد که در این سیستم حداکثر ولتاژ مورد استفاده ۳۰ ولت می باشد.

[160] Algomed

۸-۱-۲- اثرات مثبت و منفی استفاده از سیمان بیولوژیک

مزایا و معایب استفاده از سیمان بیولوژیک و یا همان اثرات مثبت و منفی سیمان بیولوژیک بر بتن تولید در جدول ۸-۱ خلاصه گردیده است.

جدول ۸-۱- مزایا و معایب سیمان بیولوژیک

ردیف	مزایا	معایب
۱	امکان تولید در محل سیمان بیولوژیک و استفاده مستقیم از آن وجود دارد	در فصول سرد سال فعالیت ریزجلبک کاهش می یابد لذا سرعت خودترمیمی نیز کاهش خواهد یافت
۲	سیمان بیولوژیک در دمای محیط تولید می شود و نیاز به دما یا فشار بالا نداشته لذا هزینه تولید آن بسیار کمتر از سیمان های معمول است	برای رشد و فعالیت ریزجلبک حداقل مقدار ۴۰ درصد رطوبت لازم است که در مناطق خشک و کویری قابلیت کاربرد ندارد
۳	سیمان بیولوژیک نه تنها هیچ گونه گاز گلخانه ای تولید نمی کند بلکه باعث تثبیت و حذف CO_2 نیز می شود	بتن خود ترمیم تولیدی باید غنی از کلسیم باشد لذا نسبت به بتن های معمول میزان کلسیم مورد استفاده بیشتر خواهد بود
۴	خصوصیات مکانیکی بتن تولید شده با سیمان بیولوژیک مشابه سیمان معمولی است	از آنجایکه منبع انرژی ریزجلبک نور خورشید می باشد لذا بتن ساخته شده می بایست در معرض نور خورشید بوده و امکان نگهداری دائمی در تاریکی یا سایه وجود ندارد.
۵	خصوصیات و مقاومت سیمان بیولوژیک تولیدی قابل کنترل و تغییر است	

۸-۲- نتیجه گیری

- در آزمایش بررسی تاثیر محیط کشت‌های مختلف، رشد *کلرلا ولگاریس* در محیط زاروک بیش‌ترین بهره‌وری بیومس (۷۲ mg/l/d) و بهره‌وری سیمان بیولوژیک (۷/۱ mg/l/d) را نتیجه داد.
- نتایج به دست آمده از آزمایش بررسی نوع منبع نیتروژنی بر رشد *کلرلا ولگاریس* نشان داد که نرخ رشد و میزان بیومس هر دو سویه در محیط همراه با منبع نیترات بیش تر از محیط‌های حاوی اوره و آمونیوم است. علاوه بر این نوع منبع نیتروژنی تاثیر چندانی بر تولید سیمان ندارد.
- در آزمایش بررسی شرایط کشت، هر دو سویه در حالت فتوتروف (سدیم بی‌کربنات + هوادهی) نرخ رشد و بهره‌وری بیومس بیشتری داشتند و در مقایسه با حالتی که هوادهی انجام نمی شد، بهره‌وری بیومس سویه ۱ و ۲ به ترتیب ۳۶/۲٪ و ۴۲/۹٪ افزایش یافت. به علاوه نتایج این قسمت نشان داد که ریزجلبک توانایی مصرف ملاس به عنوان منبع کربنی را دارد. از سویی دیگر بازده تولید بیومس در حالت میک سوتروف کمتر از فتوتروف است اما محتوای سیمان بیشتر موجب شده است که هر دو حالت دارای بهره‌وری سیمان بیولوژیک تقریبا یکسانی باشند.

در مورد سـویه ۱ و ۲ در هر دو حالت فتوتروف و میکسـوتروف، بهره‌وری سـیمان به ترتیب ۱۲/۰ mg/l/d و ۳۰/۰mg/l/d به دست آمد.

- افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات به بیش‌تر از ۱ g/l در محیط کشت باعث می شود که یون‌های کربنات تشکیل شده، pH محیط کشت را افزایش دهد و در این صورت، سلول‌های ریزجلبک لخته شده و نرخ تکثیرشان کاهش می‌یابد.
- با افزایش غلظت کربن دی اکسـید به ۵٪ در هوای ورودی به کشـت، بهره‌وری بیومس افزایش یافت اما محتوای سیمان بیولوژیک تغییر چندانی نداشت.
- طرح غربالی نشان داد که سه جز ملاس، سدیم نیترات و پتاسیم دی هیدروژن فسفات دارای بیشترین تاثیر بر بهره وری تولید سـیمان بیولوژیک هسـتند و با اسـتفاده از طرح مخلوط می توان به مقادیر بهینه این اجزا دسـت یافت.
- در شرایط بهینه به دست آمده، تولید انبوه سیمان بیولوژیک جهت ساخت نمونه های بتن خودترمیم برای مرحله بعد تحقیقات در داخل فوتوبیوراکتور ایرلیفت صورت پذیرفت

فصل نهم:

ساخت نمونه های بتن

مقدمه:

با توجه به شرایط آب و هوای ایران و مناطق مختلفی که دکل های برق قرار دارند که از مناطق خشک و کویری تا مناطق با رطوبت بالا و همچنین دکل های قرار گرفته در آب دریا یا آب های شیرین دشتهای مختلف لذا سعی بر آن شد که شرایط تمامی مناطق ذکر شده در آزمایشگاه شبیه سازی شوند تا بتوان به یک دستورالعمل جامع برای مناطق مختلف دست یافت. در رابطه با مناطق آب و هوای ذکر شده در بخش عظیمی از کشور آب و هوای خشک و کویری همراه با آب یا خاک شور حاکم است که این شرایط آب و هوایی با قرار دادن بتن در یک محفظه بدون آب و با تابش مستقیم نور آفتاب ایجاد گردید. در بخش دیگری از کشور در مناطق شمالی و جنوبی وجود رطوبت بالا در طول سال شاخصه اصلی آب و هوایی است که این شرایط نیز با استفاده از معلق نمودن نمونه بتن بر روی یک محفظه حاوی آب که در اثر تابش نور خورشید رطوبت داخل محفظه به حدود ۷۰ تا ۸۵ درصد می رسید شبیه سازی گردید. شرایط دیگری که دکل های برق با آن مواجه هستند دکل های موجود در آب بوده که یا در دریا قرار دارند و یا در تالاب های آب شور و شیرین در بخش های مختلف کشور دیده می شوند این شرایط با مستغرق کردن نمونه های بتن در آب های شور و شیرین شبیه سازی گردید.

۹-۱- ساخت نمونه های بتن

بتن مصالحی شبیه سنگ است که از مخلوط کردن مقدار متناسبی از سیمان، شن، ماسه و آب و افزودنی های دیگر بدست می آید. توده اصلی بتن سنگ دانه های درشت و ریز (شن و ماسه) است و فعل و انفعال شیمیایی بین آب و سیمان که به صورت شیره ای اطراف سنگدانه ها را پوشانده است باعث یکپارچه شدن و چسبیدن سنگدانه ها به یکدیگر می شود. این سنگدانه ها اسکلت اصلی بتن را تشکیل داده و نیروی وارد بر بتن را تحمل می کنند. آب نیز در این مخلوط موجب ایجاد واکنش شیمیایی در سیمان می شود که سخت شدن مخلوط بتن را طی دوره حدود بیست و هشت روز و رسیدن به مقاومت نهایی بتن به همراه دارد. شن و ماسه (سنگدانه) حدود ۶۵ درصد مخلوط بتن و مابقی را خمیر سیمان و درصد بسیار کمی هوا تشکیل می دهد. برای ساخت بتن خودترمیم شونده تمامی مواد مورد استفاده و مراحل ساخت مشابه بتن معمولی است با این تفاوت که به جای آب خالص از آب حاوی ریز جلبک (محیط کشتی که ریزجلبک در آن رشد کرده است) استفاده می کنیم

مواد تشکیل دهنده بتن

۱- سیمان
۲- آب
۳- شن
۴- ماسه

برای تهیه هر متر مکعب بتن تقریبا ۱,۸ الی ۱,۹ تن شن و ماسه (۱۰۰۰ الی ۱۱۰۰کیلوگرم شن یا همان درشت دانه و ۸۰۰ الی ۹۰۰ کیلوگرم ماسه یا همان ریز دانه) همچنین ۳۰۰ الی ۳۵۰ کیلو (۶ الی ۷ پاکت ۵۰ کیلویی) سیمان و ۱۵۰ الی ۱۷۰ کیلو (۱۷۰ لیتر یا ۰,۱۷ متر مکعب) آب استفاده می شود. سنگدانه ها یا همان شن و ماسه (سنگدانه های بزرگتر از ۴,۷۵

میلی متر (الک شماره ۴) را سنگدانه درشت یا شن، و سنگدانه های ریزتر از ۴,۷۵ میلی متر را سنگدانه ریز یا ماسه می گویند.) در بتن تقریبا سه چهارم حجم آنرا تشکیل می دهند و ملات سیمان و آب یک چهارم

از آنجایکه ما در نظر داشتیم بتنی را که مقاومت ۳۰۰ کیلوگرم بر سانتی متر مربع دارد را بسازیم بنابراین نحوه محاسبه مقادیر مصالح به ترتیب زیر است:

- مقدار سیمان: ۳۰۰ کیلوگرم
- نسبت آب به سیمان برابر ۰,۵ است پس مقدار آب یا همان محیط کشت ریز جلبک می شود ۱۵۰ کیلوگرم (لیتر)
- با توجه به اینکه وزن مخصوص بتن برابر با ۲۴۰۰ کلیوگرم بر متر مکعب می باشد
- سپس مجموع سیمان و آب را از وزن مخصوص کم کرده تا وزن سنگدانه بدست آید
- 150+300=450
- 2400-450=1950
- حال ۲/۳ مقدار سنگدانه را شن در نظر گرفته و مابقی را ماسه
- کیلوگرم شن1950*2/3 = 1300
- کیلوگرم ماسه1950 *1/3 = 650
- در نتیجه مجموع کل اجزاء برابر با وزن مخصوص بتن یعنی ۲۴۰۰ باید گردد

لازم به ذکر است نرم افزار مخصوصی وجود دارد که با استفاده از و با توجه به مقاومت نهایی درخواستی میزان اختلاط مواد مختلف را محاسبه و در اختیار می گذارد که در این تحقیق نیز از آن استفاده شد [۱].

۹-۲- مراحل اختلاط

الف- در مرحله اول کل شن مصرفی را با نصف آب (محیط کشت) و نصف سیمان مصرفی مخلوط کرده و به مدت ۳۰ ثانیه الی ۱ دقیقه گردش در میکسر انجام شد. به این ترتیب قلیای سیمان اطراف شن را می گیرد.

ب: در مرحله دوم کل ماسه مصرفی را با ۱/۴ آب (محیط کشت) و نصف سیمان باقی مانده و افزودنی ها به مخلوط قبلی اضافه کرده و به مدت ۲ دقیقه گردش در میکسر انجام می گردد.

ج:در مرحله سوم ۱/۴ آب باقی مانده را به مخلوط فوق اضافه می گردد.

۹-۲-۱- خاصیت این روش

- ۳۰ تا ۴۰ درصد مقاومت بیشتر
- از واکنش قلیایی سنگدانه جلوگیری می شود
- کارایی بتن بیشتر

- ریزجلبکها در تمامی سطوح بتن (داخلی و خارجی) نفوذ می کنند

این روش اختلاط از یک شرکت مشاور در زمینه ساخت سازه های بتنی اخذ و مورد استفاده قرار گرفت [۲]

باید توجه گردد که نسبت آب به سیمان با توجه به رطوبت مصالح متغیر است و مقاومت مشخصه بتن تحت تاثیر درصد شن است. همچنین برای کارایی بهتر بتن می توان از افزودنی ها استفاده کرد. در این تحقیق ۱۰۰ تا ۲۰۰ گرم در هر ۱۰۰ کیلو گرم سیمان روانساز و بین ۶ تا ۱۰ درصد وزن سیمان از میکروسیلیس استفاده شد .

برای ساخت نمونه های بتنی از قالب های مکعبی چدنی مطابق شکل ۹-۱ استفاده شد.



شکل ۹-۱- قالب های بتنی برای ساخت نمونه های بتن

۹-۳- بررسی استانداردهای بتن ساخته شده

۹-۳-۱- مقاومت فشاری بتن

آزمایش تعیین مقاومت فشاری بتن یکی از متداول ترین آزمایش هایی است که بر روی بتن انجام می شود. این آزمایش چنان به تغییرات در روش آزمایش حساس است که لازم است دقیقا بر اساس روش استاندارد انجام پذیرد تا نتایج بدست آمده در آزمایش های مختلف (حتی در یک آزمایشگاه) با یکدیگر قابل مقایسه باشد. به همین دلیل، آزمایش تعیین مقاومت فشاری بتن مطابق با استاندارد جهانی ASTM انجام شد.

آزمایش تعیین مقاومت فشاری بتن می تواند با استفاده از هر دستگاه جک فشاری که دارای شرایط مناسب باشند انجام شود. در دستگاه جک فشاری (جک بتن شکن) دو قطعه سخت بارگذاری وجود دارد که یکی از آنها به صورت صلب است و نمونه بتنی روی آن قرار می گیرد و یک قطعه گوی شکل که روی سطح فوقانی نمونه قرار می گیرد (شکل۹-۲). این قطعه ها باید با دقت ۰,۰۵ میلیمتر و به صورت مسطح باشند. برای استوانه های بتنی با قطر ۱۵۰ میلیمتر حداکثر قطر قطعه گوی شکل نشیمن گاهی برابر ۲۲۵ میلی متر است. باید دقت شود که نسبت حداکثر قطر قطعه بارگذاری به قطر نمونه، نباید از مقادیر داده شده در ASTM بیشتر باشد، یک قطعه بارگذاری که بسیار بزرگ باشد، معمولا منجر به مقادیر مقاومت های فشاری زیاد می شود.



شکل ۹-۲- دستگاه اندازه گیری مقاومت فشاری

از آنجا که مقاومت بستگی به سرعت بارگذاری دارد؛ نمونه باید با یک سرعت کنترل شده بین ۰,۱۵ تا ۰,۳۵ مگاپاسکال بر ثانیه برای جک های هیدرولیکی و یا سرعت تغییر شکل برابر یک میلیمتر در دقیقه برای جک های مکانیکی بارگذاری شود و این بارگذاری تا نقطه شکست ادامه دارد، که به عنوان حداکثر باری است که نمونه تحمل می کند. آنگاه حداکثر بار و نحوه شکست گزارش می شود.

نمونه های مکعبی که با قالب مکعبی قالب گیری شده اند، برای آزمایش مقاومت فشاری در کشورهای انگلستان، آلمان و بعضی نقاط اروپا به کار می رود. در این تحقیق نیز از نمونه های مکعبی استفاده گردید. بر اساس استاندارد انگلستان (BS) نمونه های مکعبی ۱۵۰ میلیمتر هستند که در سه لایه پر شده اند و هر لایه ۲۵ مرتبه با یک میله سر مربعی ۲۵ میلیمتری

کوبیده می شود. همچنین به عنوان یک روش جایگزین، این مکعب بتنی می تواند بوسیله ویبراتور هم متراکم شود. آزمایش نمونه معکبی بتن در واقع یک ایده‌ی کلی از تمامی مشخصات بتن به ما ارائه می‌دهد. با همین آزمایش می‌توان تشخیص داد که بتن به حد کافی مناسب کار ما هست یا خیر. مقاومت فشاری بتن بر عوامل مختلفی هم چون نسبت آب به سیمان، مقاومت سیمان، کیفیت مواد بتن، کنترل کیفیت در طول تولید بتن و غیره بستگی دارد.

آزمایش مقاومت فشاری بتن بر روی قطعه‌های مکعب شکل از بتن انجام می‌شود. به همین دلیل آزمایش نمونه مکعبی نامیده می‌شود. این آزمایش بر روی قطعه‌های استوانه‌ای بتن نیز مرسوم است. بسته به اندازه‌ی سنگدانه‌های مورد استفاده در بتن از معکب‌های ۱۰ × ۱۰ × ۱۰ سانتی‌متر یا ۱۵ × ۱۵ × ۱۵ سانتی‌متر استفاده می‌شود.

بتن را در قالب‌هایی که تصویرش را در بالا مشاهده نمودید قرار داده و حرارت می دهیم تا حباب و فضای خالی دیگر در آن باقی نماند. بعد از بیست و چهار ساعت، عمل‌آوری بتن آغاز می شود. عمل‌آوری بتن باید به نحوی باشد که سطح خارجی بتن کاملاً صاف شود. برای این کار معمولاً از چسب سیمان استفاده می شود و آن را بر روی سطح خارجی بتن طوری پخش می کنند که کاملاً صاف شود. برای عمل‌آوری، قطعات بتن را بیست و چهار ساعت در هوای مرطوب قرار داده. سپس آن‌ها را علامت‌گذاری کرده و در هوای تازه قرار می دهیم، تا زمان انجام آزمایش اصلی بر روی آن‌ها فرا برسد. آب مورد استفاده در عمل‌آوری بتن باید هر هفت روز یک بار چک شود. هم چنین دمای این آب باید حدود ۲۷ درجه سانتی‌گراد (دو درجه بیشتر یا کمتر) باشد.

نمونه‌های بتن را پس از هفت و بیست و هشت روز عمل‌آوری در ماشین‌های آزمایش مقاومت فشاری قرار داده. در این ماشین‌ها، بارگذاری به صورت دقیقه‌ای ۱۴۰ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع افزایش می‌یابد تا نمونه شکسته شود. مقدار بارگذاری در لحظه‌ی شکست بتن، میزان مقاومت فشاری بتن را نشان می دهد. حداقل از هر آزمایش و در هر سن، بایستی ۳ نمونه‌ی بتن آزمایش شود. اگر نتایج نشان دهد که مقاومت آن‌ها بیش از ۱۵ درصد با یکدیگر اختلاف دارد، نتایج آزمایش رد می‌شود و بایستی آزمایش دوباره انجام شود. در غیر این صورت، میانگین مقاومت فشاری آن سه نمونه، به عنوان مقاومت فشاری بتن مورد ازمایش محسوب خواهد شد. مقاومت بتن با افزایش عمر، بیشتر می‌شود. در جدول ۹–۱ که در ادامه آمده است، نشان داده شده که در هر مقطع زمانی از عمل‌آوری، بتن چه مقدار از مقاومت اصلی‌اش را کسب می‌کند.

جدول ۹–۱– میزان افزایش مقاومت فشاری بتن با گذشت زمان

سن	درصد مقاومت کسب شده
۱ روز	۱۶ درصد
۳ روز	۴۰ درصد
۷ روز	۶۵ درصد

۱۴ روز	۹۰ درصد
۲۸ روز	۹۹ درصد

همانطور که مشاهده می‌کنید، بتن بیشتر مقاومت خود را در سنین اولیه به دست می‌آورد. بدین ترتیب که ۹۰ درصد مقاومتش در ۱۴ روز (دو هفته) کسب می‌شود. در ۲۸ روز بتن به ۹۹ درصدِ مقاومتش می‌رسد و در ادامه روند کسب مقاومت بتن بسیار کند تر دنبال می‌شود. به همین دلیل است که در آزمایش‌ها معمولاً نتایج ۲۸ روزه‌ی نمونه‌های بتنی مورد نظر و مهم هستند. بتن در ۲۸ روزگی مقاومتی تقریباً مساوی با مقاومت نهایی‌اش دارد.

مقاومت بتن با پیشرفت هیدراسیون سیمان افزایش می یابد. روند هیدراسیون سیمان نیز با گذشت زمان همچنین افزایش دما زیاد می شود. در نتیجه مقاومت بتن را میتوان به صورت تابعی از ترکیب دما- زمان بیان کرد . از آنجا که مقاومت بتن به هر دو عامل عمر و دما بستگی دارد، میتوان گفت که مقاومت تابعی از(دما × فاصله زمانی) است و حاصل این انتگرال را بلوغ بتن می نامند. برای ثابت نگاه داشتن تاثیر دما بر مقاومت بتن، تمام نمونه ها را در دمای ثابت (دمای محیط) نگهداری می کنند. مقاومت بتن معمولاً در عمر های ۳ ، ۷ ، ۲۸ روزه تعیین می شود. مبنای پذیرش بتن، آزمایش مقاومت در عمر ۲۸ روزه و در دمای محیط است. مقاومت در عمر های دیگر(مثلاً ۷ روزه) تنها برای به دست آوردن تخمینی از مقاومت ۲۸ روزه به کار می رود و نمی تواند مبنای رد یا قبول بتن باشد. مقاومت ۷ روزه تقریباً ۰/۷ تا ۰/۸ مقاومت ۲۸ روزه است.

علت اینکه مقاومت نمونه ها در سن ۲۸ روز ملاک است، یک کار آماری است. بدین صورت که با بررسی موارد بسیار متعدد در ساختمان های متعارف، به این نتیجه رسیده اند که روند اجرا و نحوه بارگذاری به گونه ای است که در ۲۸ روز به این مقاومت نیاز پیدا می کند.

در جایی که آیین نامه مدت زمان باز کردن قالب و یا برداشتن پایه های اطمینان یا مدت زمان مورد نیاز جهت عمل آوری را بیان کرده است، دقیقا با این فرض بوده که بتن در ۲۸ روز به این مقاومت برسد نه اینکه هر وقت رسید مشکلی ندارد.

خیلی از اوقات نمونه در سن ۲۸ روز شکسته می شود و مقاومت لازم را کسب نمی کند و دستگاه نظارت منتظر نتیجه آزمایش نمونه شاهد در سن ۹۰ روز می شود. برخی از ناظرین اگر مقاومت در ۹۰ روز به مقاومت مندرج در نقشه رسیده باشد، مشکل را حل شده تصور می کنند در حالی که این تصور اشتباه است زیرا که مستند به جدول، مقاومت نمونه شاهد زمانی قابل قبول بودن بتن را ضمانت می کند که مقاومت ۹۰ روزه، ۲۰ درصد از مقاومت مندرج در نقشه بیشتر باشد. پس ملاک پذیرش مقاومت ۲۸ روزه است.

۹-۳-۱-۱ نحوه انجام دادن آزمایش مقاومت فشاری بتن بوسیله نمونه مکعبی

الف- تجهیزات مورد نیاز

۱. دستگاه تست مکعب بتن
۲. دستگاه تست فشرده سازی
۳. چکش برای ویبره

ب- تهیه بتن مورد نیاز

نسبت و مواد لازم برای تهیه این نمونه های آزمایشی از همان بتن استفاده شده در مرحله قبل میباشد. باید دقت نمود به هیچ وجه نباید هیچ تغییری همانند اضافه کردن آب در بتن هنگام نمونه گیری صورت گیرد.

ج- نمونه ها

6 قالب اندازه ۱۵ سانتی متر استفاده شد.

د- نمونه برداری از مکعبهای آزمایش

ابتدا برآمدگی داخلی مکعب ها را تمیز کرده و با استفاده از روغن قالب بندی بتن سطح داخلی آن را چرب می کنیم (روغن قالب بندی یک نوع روغن شیمیایی بر پایه مواد نفتی است که مخلوط در آب بوده که در واکنش با موادشیمیایی موجود در بتن یک لایه نازک دافع آب در سطح بتن تشکیل می دهد که باعث جداسازی آسان قالب از بتن می شود). بتن ها را درون قالب ها در لایه هایی به ضخامت تقریباً ۵ سانتی متر پر کرده. هر لایه را با حداقل ۳۵ ضربه در هر لایه با استفاده از میله جمع کرده (نوار فولادی به قطر ۱۶ میلی متر و طول ۶۰ سانتی متر ، گلوله در انتهای پایین) و سطح بالا را صاف و آن را با ماله مایع صاف کرده.

ه-عمل آوری نمونه مکعب ها

نمونه های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در هوای مرطوب نگهداری شده و پس از گذشت این مدت نمونه ها از قالب ها جدا شده و تا قبل از آزمایش در آب شیرین شفاف غوطه ور شدند. در آزمایش مقاومت فشاری بتن، باید در نظر داشته باشیم که همواره نمونه های بتن یا در رطوبت کافی قرار گیرند و یا در آب غوطه ور شوند، دلیل اصلی این کار هم این میباشد که سرعت عمل آوری بالاتر از حد معمول رود و سرعت کار افزایش یابد.

و-روش آزمایش بتن مکعبی

۱. بعد از گذشت زمان لازم برای آزمایش ، نمونه را از آب جدا و آب اضافی را از سطح آن پاک کرده.

۲. سطح تحمل دستگاه تست را تمیز کرده.

۳. نمونه را در دستگاه قرار داده، به گونه ای که بار در طرف های مخالف بازیگران مکعب اعمال شود.

۴. نمونه را به طور مرکزی در صفحه اصلی دستگاه قرار داده.

۵. قسمت متحرک را به آرامی با دست چرخانیده تا سطح بالای نمونه لمس شود.

۶. بار را بتدریج و بدون شوک و به طور مداوم با سرعت ۱۴۰ کیلوگرم بر سانتیمتر مربع در دقیقه افزایش داده تا نمونه دچار شکست شود.

۷. حداکثر بار را یادداشت کرده .

ز- محاسبات مقاومت فشاری

مساحت هر بخش نمونه ۲۲۵ سانتی متر مکعب میباشد که اگر نیرو (معمولا بر حسب نیوتن میباشد) را بر آن تقسیم کنیم تنشی به ما می دهد که مقاومت فشاری بتن نامیده می شود. مقاومت فشاری نمونه ها در سن مشخص تحت سرعت بار گذاری معینی در دستگاه پرس تعیین می شود که از تقسیم حداکثر نیروی ثبت شده بر سطح مقطع نمونه به دست می آید.



شکل ۹-۳- نمونه انجام تست مقاومت فشاری

۹-۳-۲- اندازه گیری مقاومت خمشی بتن

در آزمایش مقاومت خمشی بتن به صورت غیر مستقیم به ارزیابی مقاومت کششی بتن پرداخته می شود. این آزمایش، قابلیت تیر یا دال بتنی غیر مسلح را به لحاظ مقاومت در برابر شکست ناشی از خمش مورد ارزیابی قرار می دهد. نتایج آزمایش مقاومت خمشی بتن به صورت یک مدول گسیختگی بیان می شود و با MR و واحد مگاپاسکال یا پوند بر اینچ مربع نشان داده می شود.

آزمایش خمشی بتن را می توان با استفاده از آزمایش سه بار نقطه ای (ASTM C78) یا آزمایش بار نقطه ای مرکزی (ASTM C293)انجام داد. روش آزمایشی که در این تحقیق استفاده شده بر ASTM C78 استوار است. باید توجه شود که مقدار مدول گسیختگی به دست آمده از آزمایش بار نقطه ای مرکزی، حدود ۱۵ درصد از مدول گسیختگی به دست آمده از آزمایش با سه بار نقطه ای کوچکتر است. به علاوه مشاهدات نشان داده اند که هر چه نمونه های بتنی بزرگتر باشند؛ مدول گسیختگی کمتر خواهد بود. به علاوه مدول گسیختگی حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد مقاومت فشاری بتن است. این مدول تحت تأثیر نسبت های اختلاط، اندازه و مقدار سنگدانه ی درشت استفاده شده برای ساخت نمونه قرار دارد. در

نهایت معادله ی زیر را می توان برای محاسبه ی مدول گسیختگی استفاده کرد، اما اگر این مدول در طراحی حائز اهمیت باشد باید این معادله را از طریق آزمایش تعیین کرد.

رابطه۱: $f_r=7.5\sqrt{f'c}$

fr=مدول گسیختگی

f'c=مقاومت فشاری بتن

چه عواملی باعث ایجاد تغییرات در نتایج آزمایش خمشی بتن می شوند ؟

- آماده سازی نمونه ی بتنی
- اندازه ی نمونه
- شرایط رطوبت نمونه ی بتنی
- عمل آوری نمونه ی بتنی
- تغییر به دلیل قالب گیری یا بریده شدن نمونه به اندازه ی دلخواه

۹-۳-۲-۱- اندازه ی نمونه ی آزمایش خمشی

بر اساس ASTM عرض، عمق و طول نمونه به ترتیب برابر با ۱۵۰ میلی متر، ۱۵۰ میلی متر و حداقل سه برابر عمق نمونه است. همچنین این استاندارد بیان می کند در صورتی که حداکثر اندازه ی سنگدانه بزرگتر از ۱۹ میلی متر نباشد می توان از اندازه ی ۱۰۰ میلی متر عرض، ۱۰۰ میلی متر عمق و ۵۰۰ میلی متر دهانه استفاده کرد. استاندارد بریتانیا سطح مقطع مربعی ۱۰۰ میلی متری یا ۱۵۰ میلی متری و دهانه ی چهار تا پنج برابر عمق نمونه را تعیین کرده است. با این وجود این استاندارد هم اندازه های ۱۵۰ میلی متر در ۱۵۰ میلی متر و دهانه ی ۷۵۰ میلی متر را ترجیح می دهد.

۹-۳-۲-۲- وسایل آزمایش خمشی بتن

۱ . قالب فولادی یا آهنی یا قالبی از جنس هر ماده غیر جاذب دیگر با اندازه ی ۱۵۰ میلی متر در ۱۵۰ میلی متر در ۷۵۰ میلی متر

۲ . میله های ضربه زن: دو میله ی بزرگ (با قطر ۱۶ میلی متر و طول ۶۰۰ میلی متر) و یک میله ی کوچک (۱۰ میلی متر قطر و ۳۰۰ میلی متر طول) مطابق باASTM

۳ . ماشین آزمایش که قادر به اعمال بارها به صورت یکنواخت و بدون وقفه باشد

۴ . بیلچه

۵ . ماله

۶ . ترازو با دقت ۱ گرم

۷ . مخلوط کن برقی بتن

۸ . میز ویبره در صورتی که از ویبره برای متراکم کردن بتن در قالب ها استفاده شود.

۹-۳-۲-۳- آماده سازی نمونه ی بتنی

- نسبت های مصالح شامل سیمان، ماسه، سنگدانه و آب را مطابق دستورالعمل ذکر شده تهیه کرده.
- مصالح را با استفاده از دست یا با استفاده از مخلوط کن مناسب مخلوط کرده.
- اسلامپ هر نمونه از بتن را بعد از مخلوط کردن اندازه گرفته. اسلامپ آزمایشی است که در آن مقدار روان بودن بتن (شل یا سفت بودن) تعیین می شود.
- قالب ها را روی سطح افقی قرار داده و سطح داخلی را با ماده ی مناسب روغن کاری کرده
- بتن تازه را در سه لایه داخل قالب ریخته.
- هر لایه را با میله ی ۱۶ میلی متری و با ۲۵ ضربه متراکم کرده یا کل قالب را در یک مرحله پرکرده و آن را با استفاده از میز ویبره متراکم می نمایم.
- بتن اضافی را از بالای قالب برداشته و بدون اعمال فشار آن را صاف کرده.
- روی نمونه ها را پوشانده و آن ها را در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت نگهداری می کنیم.
- قالب ها را برداشته و نمونه ها را در دمای ۲ ± ۲۳ درجه ی سانتی گراد و رطوبت عمل آوری کرده.

•سن آزمایش ۱۴ و ۲۸ روز است و سه نمونه از هر سن باید آماده شود (طبق استاندارد هندی، نمونه در آب با دمای ۲۴ تا ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت انبار شده و سپس آزمایش می شود).

۹-۳-۲-۴- فرآیند آزمایش مقاومت خمشی بتن

آزمایش باید بر روی نمونه بلافاصله بعد از خارج شدن از شرایط عمل آوری انجام داد تا از خشک شدن سطح نمونه که مقاومت خمشی را کاهش می دهد جلوگیری شود. نمونه را در نقاط بارگذاری قرار داده. سطح پرداخت شده با دست نمونه نباید در تماس با نقاط بارگذاری باشد. این کار باعث می شود که نمونه تماس قابل قبولی با نقاط بارگذاری داشته باشد. سیستم بارگذاری را نسبت به نیروی وارده در مرکز قرار داده. بلوک های اعمال کننده ی نیرو را در نقاط بارگذاری با سطح نمونه تماس می دهیم. مقادیر بارهای اعمالی باید بین ۲ تا ۶ درصد بار نهایی باشند.

از فیلر گیج های ۰،۱ میلی متر و ۰،۳۸ میلی متر استفاده کرده تا مشخص شود که آیا فاصله ی بین نمونه و محل اعمال بار یا فاصله نمونه تا بلوک های تکیه گاهی بزرگتر یا کوچکتر از فاصله ی گیج ها در فاصله ی ۲۵ میلی متر یا بیشتر است. هر فاصله ی بیش از ۱۰ میلی متر را با استفاده از درزگیرهای چرمی از بین برده می شود (ضخامت ۶،۴ میلی متر و طول ۲۵ تا ۵۰ میلی متر) و این کار باید در تمام عرض نمونه انجام شود. برای حذف فاصله های بیش از ۰،۳۸ میلی متر باید از اندودکاری استفاده کرد. نمونه را بدون شوک و به صورت پیوسته تا نقطه ی شکست با نرخ ثابت بارگذاری کرده (استاندارد هندی نرخ بارگذاری ۴۰۰ کیلوگرم در دقیقه برای نمونه ی ۱۵۰ میلی متری و ۱۸۰ کیلوگرم بر دقیقه برای نمونه ی ۱۰۰ میلی متری را پیشنهاد می کنند، نرخ افزایش تنش ۰،۰۰۴±۰،۰۰۶ نیوتون بر میلی متر مربع هم بر اساس استاندارد بریتانیایی پیشنهاد شده است).

نرخ بارگذاری طبق استاندارد ASTM را می توان با معادله ی زیر به دست آورد:

رابطه ۲

$$R=\frac{Sbd^2}{L}$$

• R نرخ بارگذاری

• S نرخ افزایش

• b عرض نمونه ی میانگین

• d عمق نمونه ی میانگین

• L طول دهانه

در نهایت سطح مقطع نمونه ی آزمایش شده در هر انتها و مرکز را اندازه گرفته و ارتفاع و عرض میانگین را محاسبه می گردد.

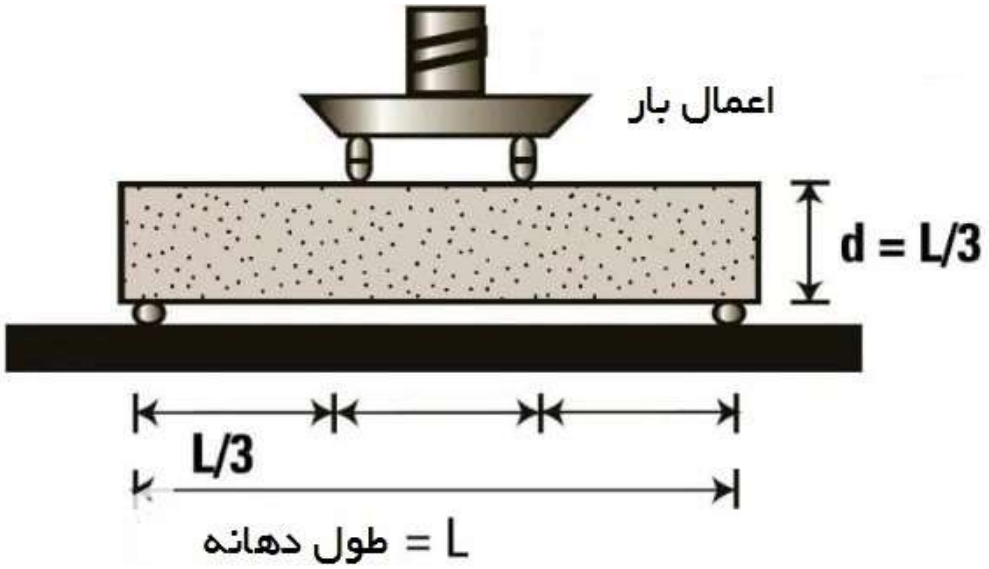
عدم وجود ترک در حفظ و تداوم سازه های بتنی به جهت حفظ میلگردها و جلوگیری از خوردگی میلگردهای فولادی بسیار حائز اهمیت می باشد. از آنجایی که اعمال کشش محوری به نمونه بتنی مشکل می باشد مقاومت کششی بتن به روش های غیر مستقیم یعنی آزمایش خمش و آزمایش برزیلی (شکافتن) تعیین می گردد. این روش ها به مقاومت هایی منتهی می شود که از مقاومت واقعی تحت بار کششی محوری بیشتر می باشد. در آزمایش مقاومت خمشی تنش کششی ماکزیمم تئوریکی در تارهای پائینی تیر مورد آزمایش به وجود می آید که مدول گسیختگی نامیده می شود و در طراحی بزرگراه ها و روسازی فرودگاه ها به کار می رود. (روش این آزمایش در BS۵۳۲۸-۸۱ توصیه شده است).

مقدار مدول گسیختگی به ابعاد تیر و بالاتر از همه به شکل بارگذاری بستگی دارد. امروزه بارگذاری لنگر خمشی ثابتی بین نقاط اعمال بار ایجاد می شود طوری که ۱/۳ دهانه در معرض تنش ماکزیمم قرار می گیرد و در نتیجه در این منطقه است که تمایل به ترک خوردن به وجود می آید.



شکل ۹-۴- نمونه مقاومت خمشی

بر طبق بند ۴ استاندارد ۴۹۰ ایران "فاصله بین نقطه تمرکز بار و نزدیکترین عکس العمل نباید از ارتفاع تیر کمتر باشد. دهانه نمونه آزمایشی باید حداقل ۳ برابر ارتفاع تیر مورد استفاده باشد. بار اولیه که می تواند سریعا وارد شود حداکثر تا ۵۰ درصد بار گسیختگی نمونه است و از آن به بعد سرعت ازدیاد بار باید به نحوی تنظیم گردد که تنش تارهای انتهای مقطع در هر دقیقه بیشتر از ۱۰ کیلوگرم بر سانتی متر مربع، افزایش نیابد."



شکل ۵- استاندارد اعمال بار در مقاومت خمشی

۹-۳-۴- آزمایش کشش بتن به روش برزیلی یا دو نیم کردن

آزمایش کشش بتن به سه روش صورت می گیرد که کاربردی ترین روش آن روش غیرمستقیم یا برزیلی است که بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۶۰۴۷ صورت می گیرد. در حالت کلی مقاومت کششی بتن به روش غیر مستقیم (دو نیم کردن) ، بزرگتر از مقاومت کششی مستقیم و کوچک تر از مقاومت خمشی (مدول گسیختگی) می باشد. به طور کلی بتن ها مقاومت کششی کمتری نسبت به مقاومت فشاری دارند. به خاطر همین مسئله آرماتورها نقش مهمی در تحمل نیروی کششی در اعضای سازه ای ایفا می کنند.

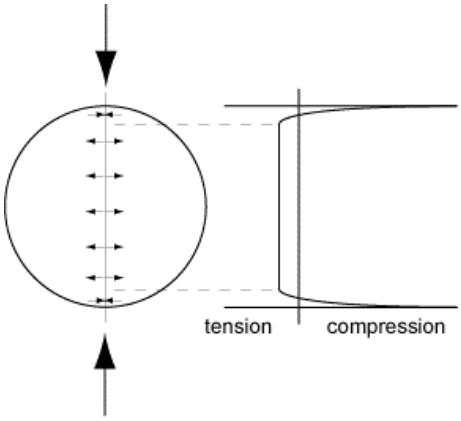
۹-۳-۴-۱- اصول کلی آزمون کشش غیر مستقیم بتن

در این روش یک نیروی فشاری قطری با سرعت مشخص در امتداد طول آزمونه استوانه ای بتن اعمال می شود تا گسیختگی رخ بدهد.



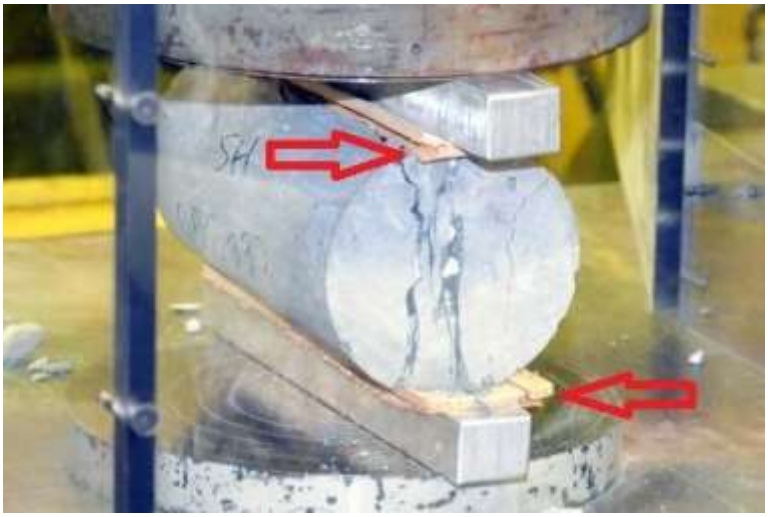
شکل ۹-۶- روش اعمال نیرو در مقاومت کششی

این بارگذاری باعث بوجود آمدن تنش های کششی در سطحی که تحت بار و تنش های فشاری نسبتا بالا قرار گرفته است، می شود.



شکل ۹-۷- محل دقیق اعمال فشار در مقاومت کششی

گسیختگی کششی نسبت به گسیختگی فشاری زودتر اتفاق می افتد زیرا سطوح اعمال بار در حالت فشاری سه محوری هستند. در نتیجه آنها تنش های فشاری خیلی بیشتری را نسبت به آزمون مقاومت فشاری تک محوره تحمل می نمایند. برای بارگذاری از نوارهای تکیه گاهی نازک از جنس تخته چندلا استفاده می شود تا بار اعمال شده در امتداد طول استوانه پخش شود.



شکل ۹-۸- استفاده از تخته چند لا برای اعمال فشار در تست مقاومت کششی

۹-۳-۳-۱- وسایل آزمایش

- دستگاه آزمون: دستگاه باید مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۶۰۴۸ (تعیین مقاومت فشاری آزمونه های استوانه ای) باشد و بتوان سرعت بارگذاری مشخص را ایجاد نمود.
- صفحه تکیه گاه کمکی: در صورتی که قطر یا بزرگترین بعد بلوک تکیه گاهی بالایی یا پایینی کوچکتر از طول استوانه مورد آزمون باشد، باید از صفحات تکیه گاهی کمکی ساخته شده از فولاد، استفاده کرد.
- نوارهای تکیه گاهی (چوبی): برای هر آزمونه یک تخته چندلایه با ضخامت اسمی ۳ میلی‌متر بین آزمونه و صفحات تکیه گاهی قرار می گیرد. طول این تخته باید حداقل برابر طول استوانه آزمون باشد.

۹-۳-۳-۲ شرایط نمونه ها

از لحاظ اندازه، قالب‌گیری و شرایط عمل آوری باید منطبق بر استاندارد شماره ۳۲۰۵ (برای آزمونه های کارگاهی) و استاندارد ملی شماره ۵۸۱ (برای آزمونه های آزمایشگاهی) باشد. نمونه های مغزه گیری (Core) شده باید منطبق بر الزامات استاندارد ASTM C۴۲/C۴۲M باشند.

۹-۳-۳-۳- روش اجرای آزمون کشش بتن به روش دو نیم کردن (برزیلی)

با استفاده از یک وسیله مناسب در انتهای نمونه خطوط قطری رسم نموده طوری که خطوط در صفحه ای که از محور آزمونه عبور میکند قرار بگیرد (شکل۹-۹).



شکل ۹-۹ نحوه رسم خطوط در تست کششی

قطر نمونه را با دقت ۰،۲۵ میلی‌متر از طریق محاسبه میانگین سه قطر در ابتدا، انتها و میانه استوانه محاسبه کرده و طول نمونه را با دقت ۲ میلی‌متر از طریق محاسبه میانگین حداقل دو طول اندازه گیری شده در صفحه خطوط نشانه گذاری شده در دو انتها، تعیین می کنیم. مرکز یکی از تخته های چندلایه را بر مرکز تکیه گاه پایینی منطبق نموده. نمونه را طوری بر روی نوار چوبی قرار می دهیم که خطوط نشانه گذاری شده در دو انتهای استوانه عمود بر محور نوار چوبی و در مرکز آن باشد. باید این شرایط پس از قرار گیری نمونه برقرار باشد:

الف- صفحه ای که از دو خط نشانه گذاری شده در دو انتهای نمونه حاصل می شود باید از مرکز تکیه گاهی بالایی عبور کند.

ب- در صورت استفاده از صفحات تکیه گاهی کمکی، مرکز نمونه باید مستقیم زیر مرکز اعمال بار بلوک تکیه گاهی کروی قرار بگیرد.



شکل ۹-۱۰- نحوه چیدمان نهایی در تست مقاومت کششی

بار گذاری را به صورت مداوم و با سرعت یکنواخت در حدود MPa/min (۱،۴ تا ۰،۷) اعمال کرده تا تنش کششی موجب گسیختگی نمونه شود. حداکثر بار اعمال شده که توسط دستگاه محاسبه می شود را ثبت نموده و به نوع شکستگی نیز مد نظر قرار می دهیم حداکثر مقاومت کششی آزمونه را می توانید از طریق رابطه زیر بدست آورید:

$$T = \frac{2P}{\pi l d}$$

T : مقاومت کششی دو نیم شدن بر حسب MPa

P : حداکثر بار اعمال شده توسط دستگاه به آزمونه بر حسب نیوتن (N)

l : طول آزمونه بر حسب (mm)

d : قطرآزمونه بر حسب (mm)

۹-۴- نتایج

۹-۴-۱- نتایج مقاومت فشاری

در این تحقیق، مقاومت فشاری نمونه‌های مکعبی پس از ساخت و عمل آوری در سنین ۷ و ۲۸ روز در آب، مطابق استاندارد ASTM-C39 اندازه‌گیری شد. برای طرح اختلاط مورد نظر سه نمونه ساخته شده و میانگین مقاومت فشاری این سه نمونه در ارائه نتایج استفاده شد. نتایج حاصل از مقاومت فشاری در جدول ۹-۲ ارائه شده است. با توجه به نتایج، طرح اختلاط بتن ساخته شده به همراه مخلوط ریزجلبک ، در همه سنین ، مقاومتی مشابه از بتن شاهد (بدون زیرجلبک) داشت.

جدول۹-۲- نتایج آزمایش مقاومت فشاری

نمونه	۷ روزه	۲۸ روزه
شاهد	۳۳/۱	۴۵/۶
نمونه شماره ۱	۳۵/۵	۴۶/۲
نمونه شماره ۲	۳۴/۲	۴۸/۶
نمونه شماره ۳	۳۴/۷	۴۶/۴

۹-۴-۲- نتایج مقاومت کششی نمونه ها

مقاومت کششی نمونه‌ها پس از ساخت و عمل آوری در سنین ۷، ۲۸ روز در آب، مطابق استاندارد ASTM-C496 اندازه گیری شد۰ برای طرح اختلاط مورد نظر، سه نمونه و همچنین برای شاهد نیز یک نمونه (بدون زیرجلبک) ساخته شده و میانگین مقاومت کششی این سه نمونه در ارائه نتایج مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل از مقاومت کششی در جدول ۹-۳ ارائه گردیده است. این نتایج بیانگر رفتاری مشابه با نمونه‌های آزمایش مقاومت فشاری است. با توجه به نتایج، در نمونه های حاوی ریزجلبک، مقاومتی بیشتر یا مساوی از بتن شاهد داشته‌اند.

جدول ۹-۳- نتایج آزمایش مقاومت کششی

نمونه	۷ روزه	۲۸ روزه
شاهد	۲/۳	۳/۱
نمونه شماره ۱	۲/۸	۳/۷
نمونه شماره ۲	۲/۷	۳/۶
نمونه شماره ۳	۲/۴	۳/۴

۹-۴-۳- نتایج مقاومت خمشی

مقاومت خمشی نمونه‌ها پس از ساخت و عمل آوری در سنین ۷، ۲۸ روز در آب، مطابق استاندارد ASTM-C293 اندازه گیری شد۰ برای طرح اختلاط مورد نظر، سه نمونه و همچنین برای شاهد نیز یک نمونه (بدون زیرجلبک) ساخته شده و میانگین مقاومت خمشی این سه نمونه در ارائه نتایج مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل از مقاومت خمشی در جدول ۹-۴ ارائه گردیده است. این نتایج بیانگر رفتاری مشابه با نمونه‌های آزمایش های مقاومت فشاری و کششی است. با توجه به نتایج، در نمونه های حاوی ریزجلبک، مقاومتی بیشتر یا مساوی از بتن شاهد داشته‌اند.

جدول ۹-۴- نتایج آزمایش مقاومت خمشی

نمونه	۷ روزه	۲۸ روزه
شاهد	۲/۸۳	۳/۴
نمونه شماره ۱	۲/۸	۳/۵
نمونه شماره ۲	۲/۸	۳/۵
نمونه شماره ۳	۲/۸۵	۳/۴

۹-۵- نتایج خود ترمیم شوندگی

جهت انجام تست های خود ترمیم شوندگی نمونه های بتنی ساخته شده در چهار شرایط مختلف شامل غرق شده در داخل آب شیرین، غرق شده در داخل آب شور، معلق بر روی محیط آبی (شرایط رطوبت بالای ۷۰ درصد) و در شرایط کاملا خشک قرار داده شدند و ترک های ایجاد شده در آنها بمدت ۳ ماه مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۹-۱۱ نمونه ها را در شرایط مختلف ذکر شده نشان می دهد. از آنجایکه از ریزجلبک جهت ساخت بتن های خود ترمیم شونده استفاده شد پارامترهای تاثیر گذار بر این پدید شامل موارد موثر بر رشد ریز جلبک است از آنجایکه ریزجلبک جهت رشد به نور خورشید به عنوان منبع انرژی و دی اکسید کربن به عنوان منبع کربن احتیاج دارد و همچنین جهت تکثیر به جذب رطوبت نیاز داشته لذا این سه عامل اساسی در فرآیند خود ترمیم شوندگی مورد بررسی قرار گرفت.

لازم به ذکر است ایجاد ترک در نمونه های بدین شکل بود که پس از ساخت تمامی نمونه های بتن در یک زمان مشخص و با استفاده از مواد اولیه یکسان با قراردادن نمونه ها بر روی دستگاه مقاومت فشاری به تمامی نمونه ها نیروی یکسان تا مرحله ایجاد ترک وارد می گردید بدین شکل تمامی نمونه ها تقریبا دارای ترک های مشابه و هم شکل می شدند. در خصوص حفره ها نیز برخی از حفره ها در حین ساخت نمونه ها بوجود می آمدند که یک حالت طبیعی در ساخت انواع بتن است و برخی از حفره ها در زمان وارد آوردن فشار ایجاد می شدند که این مورد نیز توزیع یکنواخت در تمامی نمونه های داشت که به غیر از بررسی چشمی نیز با ابزار اندازه گیری نیز تعداد، قطر، عمق و طول ترک ها و حفره اندازه گیری گردید و انحراف معیار به دست آمده از تمامی نمونه ها نشان از عدم معنی دار بودن تفاوت در مشخصات ذکر شده داشت که نشان می دهد توزیع ترک ها و حفره ها در تمام نمونه ها از نظر آماری یکسان است.

در خصوص میزان تابش نور نیز با استفاده از لوکس متر متوسط تابش اندازه گیری گردید که برابر با ۳۸۰۰۰ لوکس بود که با توجه به اینکه ریز جلبک به حدود ۳۵۰۰ تا ۵۰۰۰ لوکس برای رشد نیاز دارد که می توان نتیجه گرفت میزان مورد نیاز ریزجلبک را تامین نموده و مشکلی از این بابت وجود ندارد. همچنین باید در نظر داشت که میزان تابش خورشید در تابستان حدود ۱۰۰۰۰۰ لوکس و در زمستان ۱۰۰۰۰ لوکس است که متوسط آن حدود ۵۵۰۰۰ لوکس می گردد که تابش مورد بررسی در این آزمایشات به میزان متوسط نزدیک می باشد. تمامی نمونه ها بصورت یکسان در معرض تابش نور خورشید بودند.



الف- معلق بر روی آب (کیفیت آب تاثیری بر انجام واکنش ندارد و هدف داشتن رطوبت در محیط اطراف بتن است)



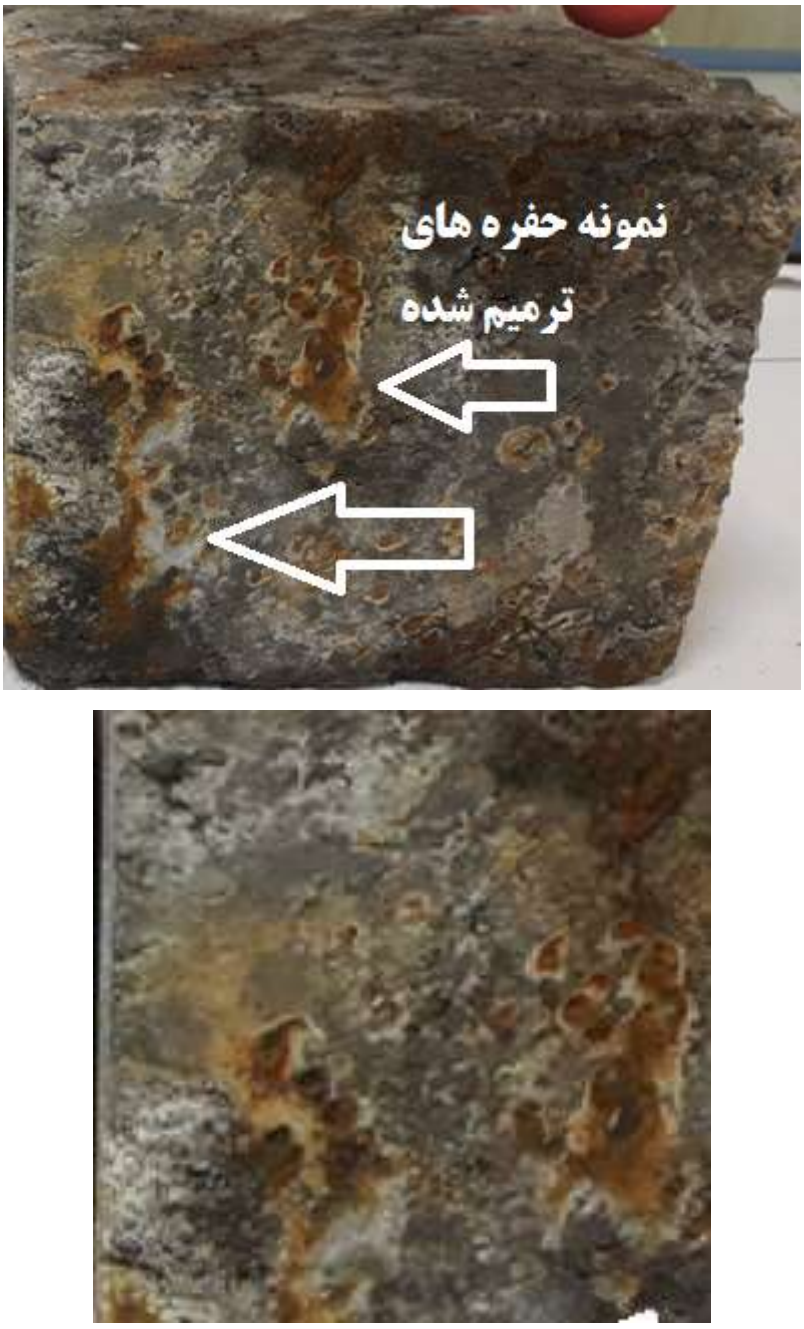
ب- مستغرق در داخل آب شور و شیرین



ج- در شرایط خشک

شکل ۹-۱۱- انکوبه کردن نمونه های بتنی در شرایط مختلف

نتایج بررسی خود ترمیم شوندگی در نمونه های ذکر شده نشان داد که در تمامی نمونه ها خاصیت خود ترمیم شوندگی در شرایط ایجاد ترک یا حفره وجود دارد ولی بیشترین میزان خود ترمیم شوندگی در شرایط معلق بر روی آب (رطوبت بالایی ۷۰ درصد) و کمترین میزان خود ترمیم شوندگی در شرایط خشک به دست آمد. اشکال ۹-۱۲ تا ۹-۱۴ نمونه های بتنی قرار داده شده در شرایط معلق بر روی سطح آب را پس از ترمیم ترک نشان می دهد . لازم ذکر است خودترمیم شوندگی هم به صورت چشمی از روی ظاهر بتن و هم با استفاده از ذره بین با قدرت بزرگنمایی ۴۰ برابر مورد بررسی قرار گرفت.



شکل ۹-۱۲- نمونه ترمیم شده بتن در شرایط معلق بر روی سطح آب (رنگ سبز ایجاد شده به علت رشد ریزجلبک است)



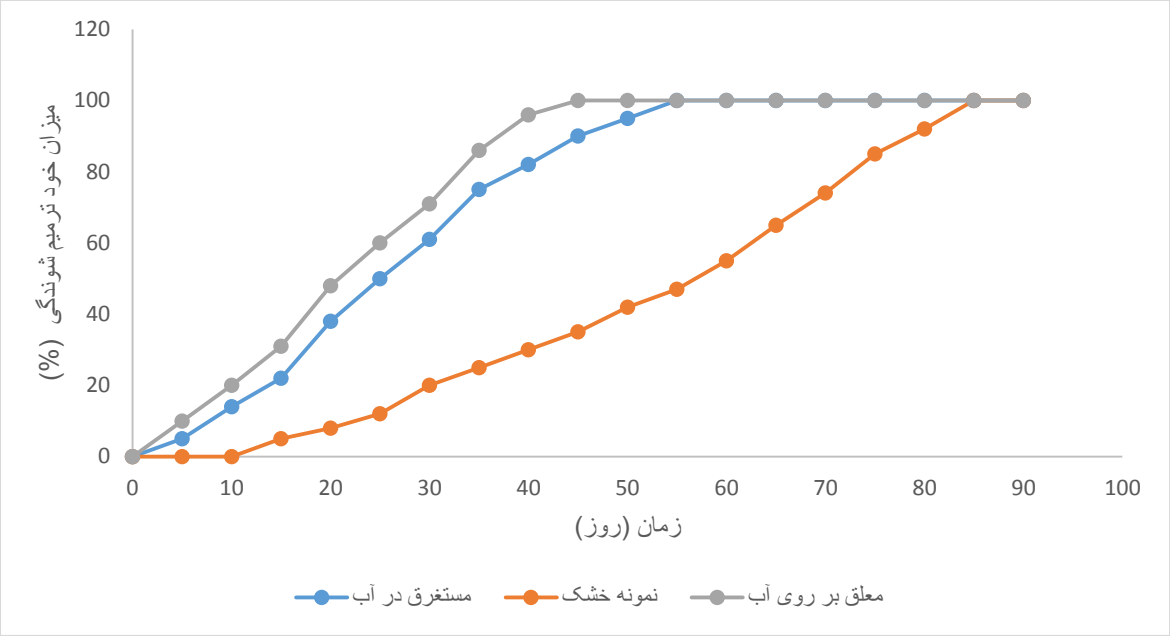
شکل ۹-۱۳- نمونه ترک ترمیم شده در بتن مستغرق در آب



شکل ۹-۱۴- نمونه ترک ترمیم شده در نمونه خشک

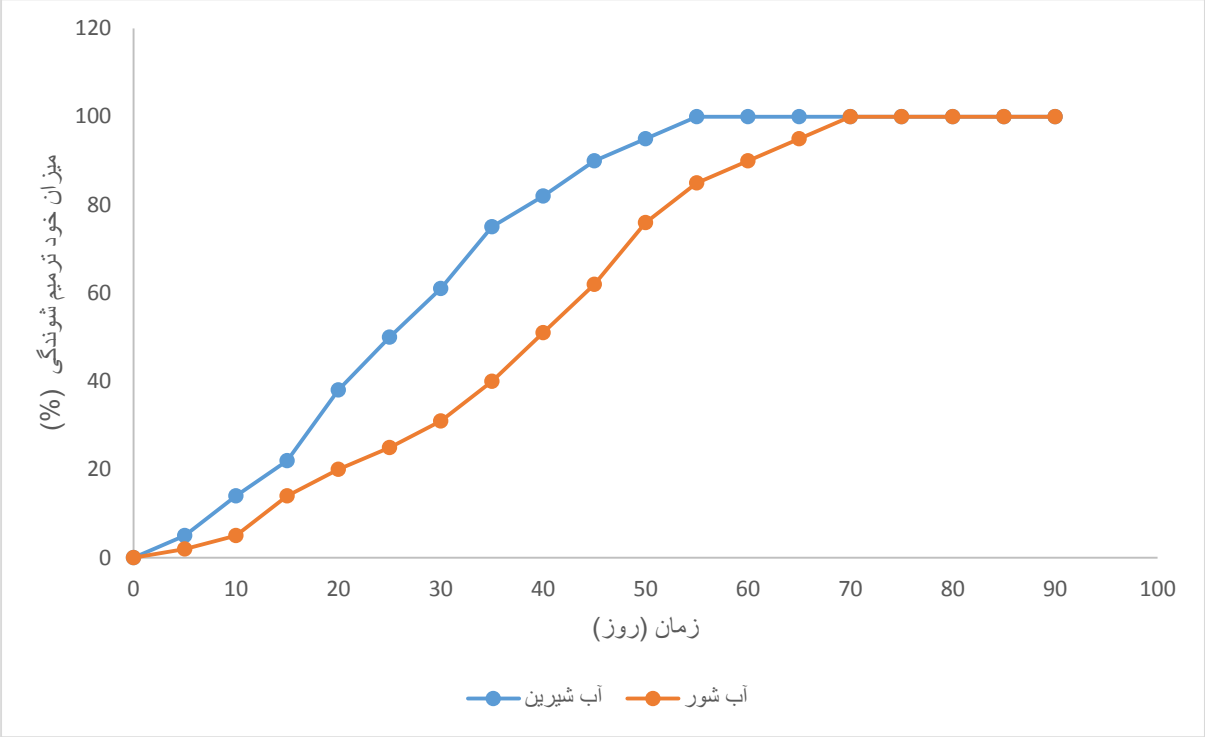
در شرایط مستغرق در آب و معلق بر روی آب در صورت بروز ترک یا حفره تمامی انواع ترک ها اعم از ریز یا درشت ترمیم می شوند ولی در نمونه خشک فقط ترک های بزرگ قابلیت ترمیم دارند. همان طور که در شکل ۹-۱۴ دیده می شود ترک ها یا حفره های ریز ترمیم نشده اند علت این امر این است که میزان جذب رطوبت هوا در ترک ها ریز بسیار کم بوده و فقط ترک های بزرگ به علت جذب بیشتر رطوبت موجود در هوا ترمیم می شوند اما در شرایط مستغرق در آب و رطوبت ۷۰ درصد تمامی سطوح و انواع ترک ها قادر به جذب رطوبت و فعال شدن جهت ترمیم هستند.

نمودار شکل ۹-۱۵ سرعت خود ترمیم شوندگی در انواع نمونه های تست شده را نشان می دهد. همان طور که در شکل دیده می شود نمونه معلق بر روی آب در مدت زمان ۴۵ روز به طور کامل ترمیم می شود که برای نمونه مستغرق در آب این زمان به ۵۶ و برای نمونه خشک به ۸۴ روز می رسد. علت کمتر بودن سرعت خود ترمیم شوندگی در نمونه مستغرق در آب در مقایسه با نمونه معلق بر روی آب، اول میزان نفوذ کمتر نور برای رشد ریزجلبک ها و دوم شسته شدن برخی از ریزجلبک ها در نمونه مستغرق در آب است.



شکل ۹-۱۵- مقایسه سرعت خود ترمیم شوندگی در نمونه های مختلف

در مقایسه دو نمونه آب شیرین و آب شور، سرعت خود ترمیم شوندگی در آب شیرین بیشتر از نمونه آب شور بود (شکل ۹-۱۶). بطوریکه سرعت خودترمیم شوندگی در نمونه آب شور از ۵۶ روز به ۶۸ روز می رسد. علت این امر نیز رشد بهتر ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* در آب شیرین در مقایسه با آب شور است و همچنین تاثیر مضاف یون کلراید موجود در آب شور در سرعت بخشیدن به خوردگی در مقابل ترمیم شوندگی است.



شکل ۹-۱۷- مقایسه سرعت خود ترمیم شوندگی در دو نمونه آب شیرین و آب شور

۹-۶- نتیجه گیری

جمع بندی نتایج به دست آمده در دو بخش قابل ارزیابی است، قسمت اول کیفیت بتن خود ترمیم ساخته شده و قسمت دوم کیفیت خود ترمیم شوندگی بتن در شرایط مختلف.

در بخش اول بررسی سه تست استاندارد بتن شامل تست مقاومت فشاری، مقاومت کششی و مقاومت خمشی و مقایسه آن با بتن معمولی ساخته شده (فاقد ریزجلبک) نشان داد که در هر سه تست مقاومتی انجام شده، نمونه بتن خود ترمیم نه تنها کاهشذمقاومت نداشته بلکه در برخی موارد در مقایسه با نمونه شاهد افزایش مقاومت نیز رخ داده است. علت افزایش مقاومت ها می تواند به وجود اسکلت زیرجلبک ها در ساختار بتن باشد که منجر به چسبندگی بیشتر ذرات شن و ماسه موجود در بتن می گردد.

در بخش دوم خود ترمیم شوندگی نمونه های بتنی در شرایط ایجاد ترک یا حفره در داخل بتن در سه حالت مستغرق در آب، معلق بر روی آب و در شرایط خشک ارزیابی شد که در هر سه حالت خاصیت خود ترمیم شوندگی چه در حالت ایجاد ترک و چه در حالت ایجاد حفره وجود داشت ولی با سرعت متفاوت که بیشترین سرعت مربوط به حالت معلق بر

روی آب یا همان رطوبت بالایی ۷۰٪ است که در این شرایط بیشترین جذب نور، دی اکسید کربن و رطوبت کافی وجود دارد لذا سرعت رشد ریزجلبک ها نسبت به حالات دیگر بیشتر می باشد در حالی که در شکل مستغرق در آب، میزان نفوذ نور و دی اکسید کربن (منابع انرژی و کربن ریزجلبک) کمتر می شود و تنها میزان رطوبت افزایش می یابد لذا سرعت رشد ریزجلبک ها کاهش و متعاقب آن سرعت خود ترمیم شوندگی نیز کم می گردد. در حالت خشک، نور و دی اکسید کربن در مقدار مناسب هستند ولی برای شروع رشد ریزجلبک جذب رطوبت مرحله اول می باشد که با توجه به حداقل بودن جذب رطوبت رشد ریزجلبک ها و خود ترمیم شوندگی به حداقل می رسد و همچنین برای خودترمیم شوندگی در این حالت قطر منفذ یا ترک ایجاد شده باید بزرگتر از دو حالت قبلی باشد تا جذب رطوبت افزایش یابد.

خاصیت خودترمیم شوندگی هم در آب شور و هم در آب شیرین وجود داشت که در آب شور سرعت خودترمیم شوندگی اندکی کمتر از آب شیرین است که علت آن رشد بهتر ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* در آب شیرین است.

در مجموع می توان نتیجه گیری کرد که بتن خودترمیم شونده ساخته شده چه از لحاظ مقاومت و چه از لحاظ خودترمیم شوندگی شرایط مناسبی دارد. بهترین حالت برای سازه های بتنی کنار دریا و مناطق با رطوبت بالا بوده و سپس سازه های بتنی داخل آب و نهایتا سازه های بتنی در مناطق شهری و معمولی است.

[1] http://www.civilan.ir/design/concmix

[2] https://mocp.ir/index.php/civil/98-concrete-concrete-mix-design

فصل دهم : تهیه استانداردها و سایر مستندات فنی

۱۰- تهیه و ارایه استانداردها و سایر مستندات فنی مربوط به فرمولاسیون نهایی سیمان بیولوژیک

۱۰-۱۲- مقدمه

در فاز قبلی طرح انجام تست های اولیه مربوط به بتن های خودترمیم شونده با استفاده از یک فرمولاسیون استاندارد تهیه بتن انجام شد. در این فاز از طرح برای بررسی این موضوع که آیا فرمولاسیون قبلی فرمولاسیون مناسبی برای ساخت نمونه های خود ترمیم شونده بوده است یا خیر و همچنین برای بهینه سازی فرمولاسیون نهایی تست های بهینه سازی فرمولاسیون با تغییر در غلظت مواد تشکیل دهنده انجام گردید. برای ارزیابی فرمولاسیون نهایی تست های استاندارد بتن (مقاومت فشاری، خمشی، کششی، الکتریکی و نفوذ کلراید) انجام شد. همچنین میزان خودترمیم شوندگی در طی ۹۰ روز نیز بررسی گردید.

۱۰-۱۳- دستیابی به فرمولاسیون نهایی بتن خود ترمیم شونده با بهینه سازی بتن

جهت بهینه سازی بتن خودترمیم شونده برای دستیابی به بهترین فرمولاسیون چهار جزء تشکیل دهنده بتن شامل مقدار سیمان مصرفی، میزان آب حاوی ریزجلبک مصرفی، مقدار شن و ماسه در محدوده های که در جدول ۱۰-۱ آورده شده است بررسی گردید. همان طور که ذکر شد این پارامترها در محدوده‌های ذکر شده در جدول ۱۰-۱ در نظر گرفته شدند با توجه به طراحی آزمایش صورت گرفته با بخش CCD نرم افزار DX10.0.0 که در جدول ۱۰-۲ نشان داده شده است آزمایش‌ها برای تک‌تک شرایط مشخص شده، بصورت پروتکل ذکر شده انجام شد:

جدول ۱۰-۱ – پارامترها و سطوح مورد نظر برای به دست آوردن فرمولاسیون بهینه بتن خود ترمیم

پارامتر	کمینه (۱-)	بیشینه (۱+)	سطوح			
آب حاوی ریزجلبک (لیتر)	۱۰۰	۱۷۵	۱۰۰	۱۲۵	۱۵۰	۱۷۵
سیمان (کیلوگرم)	۲۵۰	۳۲۵	۲۵۰	۲۷۵	۳۰۰	۳۲۵
ماسه (کیلوگرم)	۶۰۰	۶۷۵	۶۰۰	۶۲۵	۶۵۰	۶۷۵
شن (کیلوگرم)	۱۱۰۰	۱۴۰۰	۱۱۰۰	۱۲۰۰	۱۳۰۰	۱۴۰۰

همان طور که در جدول فوق دیده می شوح سطوح در نظر گرفته شده برای هر عامل مشخص می شود و با در نظر گرفتن کمینه وبیشینه عوامل در نرم افزار وارد می شود که نرم افزار با در نظر گرفتن ورودی ها و برای هر عامل یک سطح خارج از محدوده کمینه و بیشنه نیز نظر می گیرد و طراحی نهایی را انجام می دهد که طراحی نهایی در جدول ۱۰-۲ آورده شده است. شایان ذکر است بدون طراحی آزمایش می بایست ۱۲۰ آزمایش صورت می گرفت که با طراحی به ۳۰ آزمایش تقلیل یافت

جدول ۱۰-۲- طراحی آزمایش به دست آوردن فرمولاسیون بتن خود ترمیم

آزمایش	آب (ریزجلبک) (لیتر)	سیمان (کیلوگرم)	ماسه (کیلوگرم)	شن (کیلوگرم)
۱	۱۵۰	۲۵۰	۶۵۰	۱۴۰۰
۲	۱۵۰	۲۵۰	۶۵۰	۱۱۰۰
۳	۱۲۵	۱۲۵	۶۲۵	۱۳۰۰
۴	۱۰۰	۳۰۰	۶۵۰	۱۴۰۰
۵	۱۲۵	۲۷۵	۳۲۵	۱۳۰۰
۶	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰
۷	۱۵۰	۳۰۰	۶۰۰	۱۱۰۰
۸	۱۰۰	۲۵۰	۶۵۰	۱۴۰۰
۹	۱۰۰	۳۰۰	۶۰۰	۱۴۰۰
۱۰	۱۷۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰
۱۱	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰
۱۲	۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰
۱۳	۱۵۰	۳۰۰	۶۰۰	۱۴۰۰
۱۴	۱۵۰	۳۰۰	۶۵۰	۱۱۰۰
۱۵	۱۵۰	۲۵۰	۶۰۰	۱۴۰۰
۱۶	۱۰۰	۲۵۰	۶۵۰	۱۱۰۰
۱۷	۱۰۰	۲۵۰	۶۰۰	۱۴۰۰
۱۸	۱۰۰	۲۵۰	۶۰۰	۱۱۰۰
۱۹	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰
۲۰	۱۰۰	۳۰۰	۶۵۰	۱۱۰۰
۲۱	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰
۲۲	۱۲۵	۳۲۵	۶۲۵	۱۳۰۰
۲۳	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۲۶۰۰

۲۴	۱۲۵	۲۷۵	۶۷۵	۱۳۰۰
۲۵	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۵۵۰
۲۶	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰
۲۷	۱۰۰	۳۰۰	۶۰۰	۱۱۰۰
۲۸	۱۵۰	۲۵۰	۶۰۰	۱۱۰۰
۲۹	۵۰	۳۰۰	۶۵۰	۱۴۰۰
۳۰	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰

۱۰-۱۴- انجام تست های استاندارد بتن بر روی فرمولاسیون جدید

تمامی تست های استاندارد شامل مقاومت فشاری، مقاومت کششی و مقاومت خمشی مطابق روش ارائه شده در فاز قبلی طرح بر روی نمونه های ۷ روزه و ۲۸ روزه صورت پذیرفت. همچنین نمونه های ۹۰ روزه و بعد از ترمیم شوندگی نیز مورد ارزیابی با تست های استاندارد ذکر شده قرار گرفتند.

۱۰-۱۵- نتایج بهینه سازی

در فرآیند بررسی فرمولاسیون بهینه بتن خودترمیم شونده، آزمایشات بهینه ارائه شده توسط نرم افزار با توجه به مقادیر کمینه و بیشینه فاکتورهای تاثیر گذار که در جدول ۱۰-۱ نشان داده شده بود طراحی گردید (جدول ۱۰-۲) و مقادیر بدست آمده از هر آزمایش به صورت زیر در جدول۱۰-۳ نشان داده شده است که بر اساس میزان خودترمیم شوندگی می توان تاثیر هریک از فاکتورها را به وضوح دید. در واقع درصد خود ترمیم شوندگی در یک زمان معین آزمایشاتی که میزان آب حاوی ریزجلبک و سیمان افزایش یافته بیشتر می شود مثل آزمایش ۱۷ و ۲۶ ولی این تاثیر در مورد ماسه و شن کمتر است.

در این پژوهش آب حاوی ریزجلبک، سیمان، ماسه و شن به عنوان چهار فاکتور تاثیر گذار در نظر گرفته شده اند که مقادیرکمینه و بیشینه هر کدام از آنها در جدول ۱۰-۱ آمده است. برای بهینه سازی آنها از بخش RSM-CCD - نرم افزار۱۰ Design Expert استفاده شد. همانطور که از داده های جدول ۱۰-۳ مشخص است بیشترین مقدار خود ترمیم شوندگی مربوط به آزمایش شماره ۲۶ و ۱۹ با ترکیب میزان آب ۱۲۵ لیتر، سیمان ۲۷۵ کیلوگرم، ماسه ۶۲۵ کیلوگرم و شن ۱۳۰۰ کیلوگرم می باشد. داده های جدول مذکور با نرم افزار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و نتایج در جدول ۱۰-۴ نشان داده شده اند.

جدول ۱۰-۳- نتایج بهینه سازی فرمولاسیون بتن خود ترمیم شونده

آزمایش	آب (ریزجلبک) (لیتر)	سیمان (کیلوگرم)	ماسه (کیلوگرم)	شن (کیلوگرم)	درصد خود ترمیم شوندگی
۱	۱۵۰	۲۵۰	۶۵۰	۱۴۰۰	۸۶,۰۴
۲	۱۵۰	۲۵۰	۶۵۰	۱۱۰۰	۸۵,۷
۳	۱۲۵	۱۲۵	۶۲۵	۱۳۰۰	۸۸,۴
۴	۱۰۰	۳۰۰	۶۵۰	۱۴۰۰	۹۴,۰۲
۵	۱۲۵	۲۷۵	۳۲۵	۱۳۰۰	۹۰,۵۵
۶	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰	۹۲,۶۵
۷	۱۵۰	۳۰۰	۶۰۰	۱۱۰۰	۹۰,۳۵
۸	۱۰۰	۲۵۰	۶۵۰	۱۴۰۰	۹۰,۴۵
۹	۱۰۰	۳۰۰	۶۰۰	۱۴۰۰	۸۵,۲
۱۰	۱۷۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰	۹۲,۷

۱۱	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰	۹۸,۳۵
۱۲	۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰	۹۲,۱۳
۱۳	۱۵۰	۳۰۰	۶۰۰	۱۴۰۰	۹۲
۱۴	۱۵۰	۳۰۰	۶۵۰	۱۱۰۰	۹۰
۱۵	۱۵۰	۲۵۰	۶۰۰	۱۴۰۰	۸۳
۱۶	۱۰۰	۲۵۰	۶۵۰	۱۱۰۰	۸۸
۱۷	۱۰۰	۲۵۰	۶۰۰	۱۴۰۰	۹۸,۸
۱۸	۱۰۰	۲۵۰	۶۰۰	۱۱۰۰	۹۴
۱۹	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰	۱۰۰
۲۰	۱۰۰	۳۰۰	۶۵۰	۱۱۰۰	۹۸
۲۱	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰	۹۸,۵
۲۲	۱۲۵	۳۲۵	۶۲۵	۱۳۰۰	۸۴,۰۵
۲۳	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۲۶۰۰	۹۲
۲۴	۱۲۵	۲۷۵	۶۷۵	۱۳۰۰	۹۲,۲
۲۵	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۵۵۰	۸۷
۲۶	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰	۱۰۰
۲۷	۱۰۰	۳۰۰	۶۰۰	۱۱۰۰	۸۸
۲۸	۱۵۰	۲۵۰	۶۰۰	۱۱۰۰	۸۷,۷۲
۲۹	۵۰	۳۰۰	۶۵۰	۱۴۰۰	۹۰
۳۰	۱۲۵	۲۷۵	۶۲۵	۱۳۰۰	۹۸

جدول ۱۰-۴ تحلیل واریانس داده‌های مذکور را نشان می دهد. این مدل همانطور که در گزارش خود آورده با داشتن F-value=83.30 ، R^2=0/9873 و p-value کمتر از ۰/۰۰۰۱ کاملا پایدار و معنی دار است.

جدول ۱۰-۴ تحلیل واریانس

ANOVA for Response Surface Quadratic Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	996.79	14	71.20	83.30	< 0.0001	significant
A- Water	*136.04*	*1*	*136.04*	*159.16*	*< 0.0001*	
B- Cement	*7.46*	*1*	*7.46*	*8.73*	*0.0098*	
C- Sand-ماسه	*0.78*	*1*	*0.78*	*0.91*	*0.3553*	
D- Sand- تن	*30.20*	*1*	*30.20*	*35.33*	*< 0.0001*	
AB	*0.27*	*1*	*0.27*	*0.31*	*0.5857*	
AC	*0.23*	*1*	*0.23*	*0.27*	*0.6112*	
AD	*0.032*	*1*	*0.032*	*0.038*	*0.8482*	
BC	*5.98*	*1*	*5.98*	*6.99*	*0.0184*	
BD	*13.29*	*1*	*13.29*	*15.54*	*0.0013*	
CD	*0.24*	*1*	*0.24*	*0.28*	*0.6039*	
A^2	*323.13*	*1*	*323.13*	*378.05*	*< 0.0001*	
B^2	*195.51*	*1*	*195.51*	*228.73*	*< 0.0001*	
C^2	*344.66*	*1*	*344.66*	*403.23*	*< 0.0001*	
D^2	*274.51*	*1*	*274.51*	*321.16*	*< 0.0001*	
Residual	12.82	15	0.85			
Lack of Fit	*6.95*	*10*	*0.70*	*0.59*	*0.7752*	*not significant*
Pure Error	*5.87*	*5*	*1.17*			
Cor Total	1009.61	29				

Std. Dev.	۰,۹۲	R-Squared	۰,۹۸۷۳
Mean	۳۱,۳۸	Adj R-Squared	۰,۹۷۵۴
C.V. %	۲,۹۰	Pred R-Squared	۰,۹۵۲۰
PRESS	۴۸,۵۰	Adeq Precision	۲۸,۶۷

نکته قابل توجه در رابطه با جدول ۱۰-۴ این است که هر چقدر میزان F-value بیشتر و بزرگتر باشد نشانه تاثیر بیشتر آن عامل در خودترمیم شوندگی است که همان طور که در جدول دیده می شود عامل آب حاوی ریزجلبک با داشتن F-value ۱۵۹ دارای بیشترین تاثیر مثبت در خود ترمیم شوندگی است و عامل میزان ماسه با F-value ۰,۹ کمترین تاثیر را دارد.

پس از آب حاوی ریزجلبک عامل میزان شن و سیمان به ترتیب بیشترین تاثیر را دارند. در رابطه با P-value مقادیر کمتر از ۰,۰۵ نشانه معنی دار بودن تاثیر آن عامل در جلوگیری از خوردگی است که به غیر از میزان ماسه تمامی عوامل دارای p-valueکمتر از ۰,۰۵ بوده و معنی دار هستند. همچنین در میان برهم کنش ها، بر همکنش دو عامل سیمان و ماسه و همچنین بر هم کنش سیمان و شن دارای p-value کمتر از ۰,۰۵ هستند که نشان دهنده برهم کنش معنی دار این عوامل است.

مدل در نظر گرفته برای پاسخ‌های مذکور، با بررسی R^2 و پایایی تمام حالات ممکن، مدل درجه دوم تشخیص داده شده است. توانایی کلی مدل بطور معمول بوسیله اندازه‌گیری ضریب R^2 شرح داده می‌شود و معیاری از میزان تطبیق-پذیری مدل است. اما ضریب R^2 به تنهایی برای تأیید صحت مدل کافی نیست. از این رو محاسبات تحلیل واریانس برای مدل انجام می‌شود. که جزئیات آن در جدول ۱۰-۴ آورده شده است. این مدل همانطور که در گزارش خود آورده با داشتن F-value=83.30 و R^2=0/9873 (بیانگر انطباق مدل انتخاب شده به اندازه ۹۸,۷۳٪ است) و p-value کمتر از 0/0001 کاملا پایدار و معنی دار است. در این مدل پارامترهای A، B، D، BC, BD، A^2، B^2 وC^2 D^2 با داشتن p-value کمتر از 0/05 نشان دهنده‌ی همه‌گیر بودن آن فاکتور می‌باشد و دارای اهمیت هستند. اهمیت نسبی تمامی پارامترها و همچنین اندرکنش بین آن‌ها در مدل نهایی توسط ضریب تأثیر هر کدام در مدل ارائه شده است.

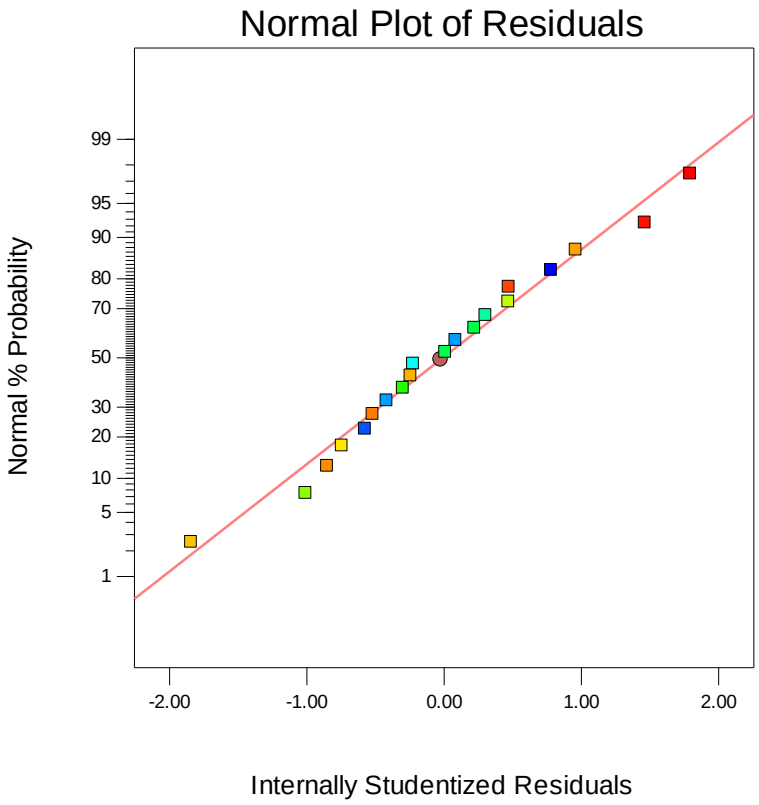
با توجه به مقدار ۰,۹۷۵۴ برای Adj R-Squared که حاصل از نتایج آزمایش‌ها می‌باشد مقدار پیش بینی شده توسط مدل یعنی ۰,۹۵۲۰ برای Pred R-Asquared یک مقدار مناسب می‌باشد که نشان دهنده‌ی صحیح و قابل اتکا بودن مدل طراحی شده بر اساس داده‌های آزمایش‌ها می‌باشد. Adeq Precision نشان دهنده‌ی نسبت سیگنال به نویز[1] می‌باشد که نسبت‌های بیشتر از ۴ مطلوب می‌باشند و در این آزمایش نسبت حاصل شده یعنی ۲۸,۶۷ نشان‌دهنده‌ی یک نسبت خیلی مناسب است و در نتیجه این مدل می‌تواند برای هدایت طراحی مناسب بکار برده شود.

با توجه به مطالب عنوان‌شده و آنالیز صورت‌گرفته توسط نرم‌افزار بر اساس اطلاعات آزمایشگاهی کسب شده برای میزان خود ترمیم شوندگی، مدل پیشنهاد شده توسط نرم‌افزار مدل درجه دوم[2] می‌باشد.

آزمون های آماری و بررسی مدل

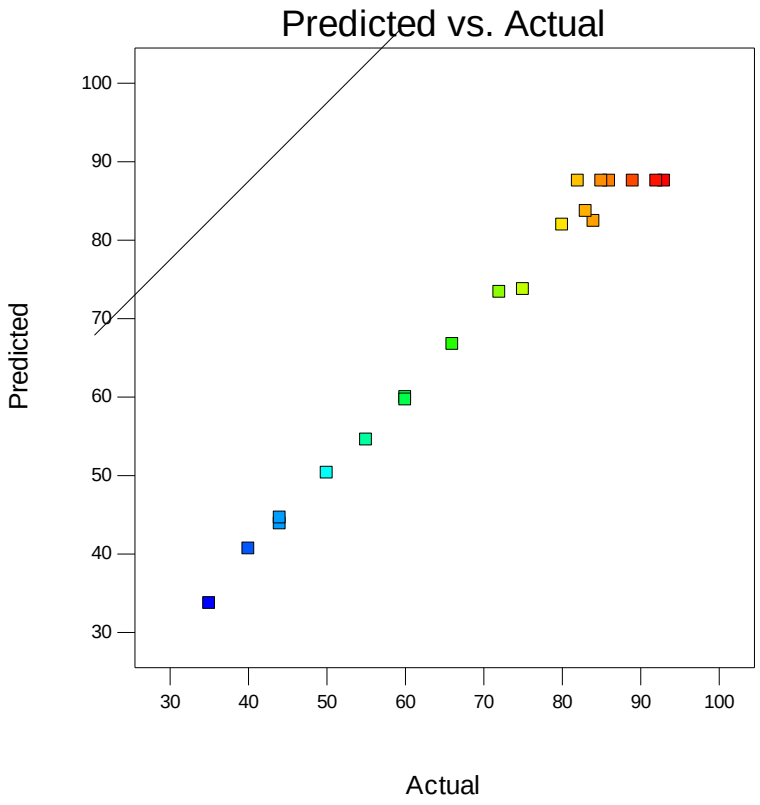
برای حصول اطمینان از عدم خطاهای معنی دار در داده های آزمایشگاهی و مدل ارائه شده، تعدای آزمون آماری بر روی آنها انجام می شود.

اولین آزمون، بررسی نمودار تابع نرمال (Normal Probability) باقیمانده ها (Residual) است. این نمودار که در شکل ۱۰-۱ آورده شده است نشان می دهد که نقاط آزمایشگاهی حول خط قرار گرفته اند بنابراین می توان اطمینان حاصل کرد که ترم غیرطبیعی در خطای سیستم وجود ندارد. اگر الگوی نقاط حالتی غیر خطی داشته باشند نشان دهنده ترم خطای غیر نرمال (Non-Normality) است. اما الگوی خطی نشان می دهد که داده ها مشکلی ندارند.



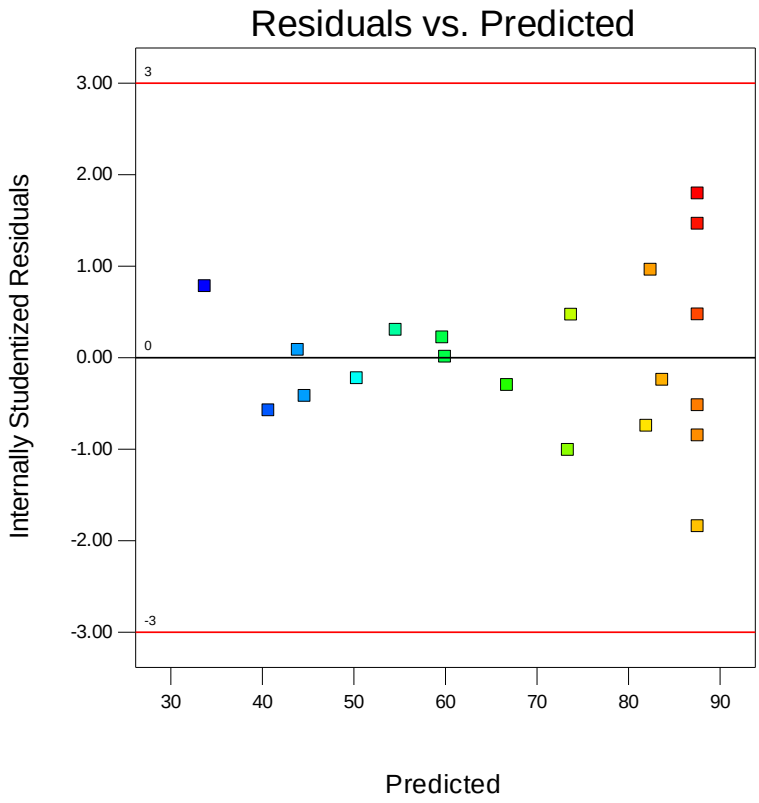
شکل ۱۰-۱- نمودار تابع نرمال (Normal Probability) مقادیر باقیمانده مربوط به میزان خود ترمیم شوندگی

آزمون بعدی مورد بررسی، کیفیت مدل را نشان می دهد. در این آزمون نقاط پیش بینی شده با استفاده از مدل، بر حسب داده های آزمایشگاهی رسم می شوند. در یک مدل مناسب نقاط حاصل از این نمودار حول خط ۴۵ درجه قرار می گیرند. این امر نشان دهنده ی تطابق خوب مدل و داده ها است. نمودار مقادیر پیش بینی شده بر حسب مقادیر آزمایشگاهی مربوط به این مطالعه در شکل ۱۰-۲ نشان داده شده است. می توان گفت که مدل تا حد مطلوبی داده ها را خوب پیش بینی می کند، زیرا داده ها حول خط ۴۵ درجه قرار گرفته اند.



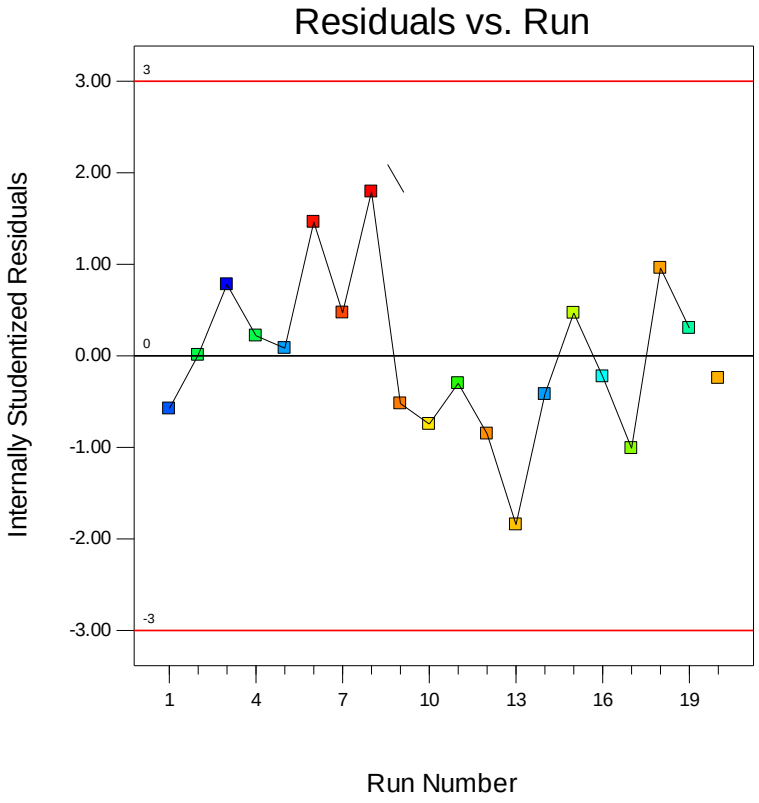
شکل ۱۰-۲- نمودار مقادیر پیش بینی شده بر حسب مقادیر آزمایشگاهی مربوط

شکل ۱۰-۳ نمودار خطا بر اساس مقادیر پیش بینی شده را نشان می دهد. مقادیر پیش بینی شده به صورت صعودی مرتب شده اند و نقاط باید از یک الگوی پراکندگی تصادفی تبعیت کنند. اگر الگوی نقاط بصورت قیفی شکل باشد و مقدار انحراف افزایش پیدا کند، نشان می دهد که نقاط باید به فرم دیگری انتقال یابند. از طرفی در یک مدل مناسب مقدار انحراف در محدوده ۳± از انحراف معیار قرار می گیرند. بنابراین مدل مربوط به میزان خودترمیم شوندگی این آزمون آماری را پشت سر می گذارد، زیرا الگوی نقاط رفتاری پراکنده داشته و هیچ کدام از نقاط پیش بینی شده در خارج از محدوده قرار نگرفته اند.



شکل ۱۰-۳- نمودار خطا بر اساس مقادیر پیش بینی شده

نمودار مقدار خطا بر حسب ترتیب انجام آزمایشات نشان دهنده خطاهای مخفی و تاثیر گذار بر روی پاسخ است. در حالت عادی این مقدار بایست از یک الگوی تصادفی پیروی کند. وجود یک روند خاص در نمودار نشان می دهد که یک فاکتور مربوط به زمان بر روی پاسخ تاثیر دارد. برای رفع این عیب می توان آزمایش ها را با ترتیب تصادفی انجام داد و یا اینکه آنها را بلوک بندی کرد. شکل ۱۰-۴ که مقدار خطا را بر حسب ترتیب انجام آزمایش ها نشان می دهد بیانگر این است که در این داده ها مشکلی وجود ندارد، زیرا به صورت تصادفی پراکنده شده اند و از حد انحراف معیار خارج نشده اند.

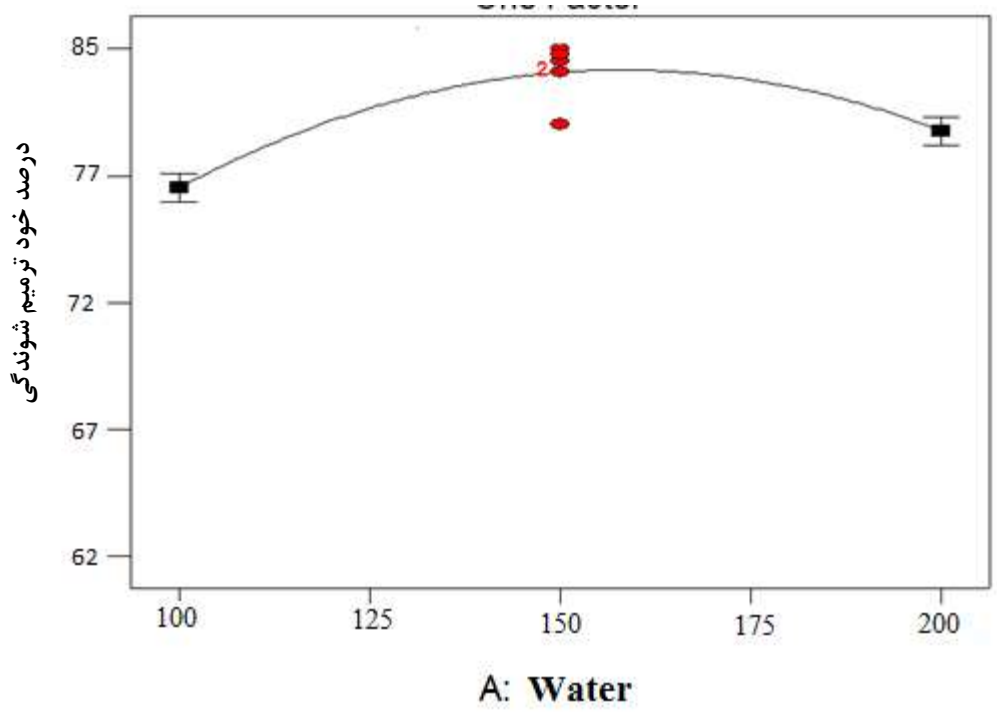


شکل ۱۰-۴- مقدار خطا را بر حسب ترتیب انجام آزمایش ها

۱۰-۴-۱- بررسی نمودارهای تک بعدی

۱۰-۴-۱-۱- تاثیر آب حاوی ریزجلبک

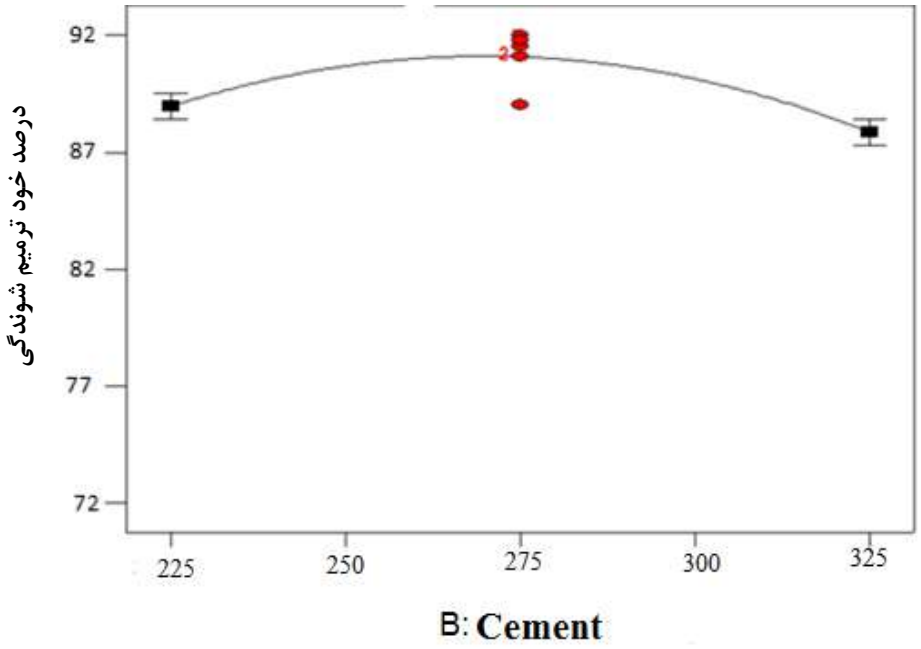
با توجه به شکل ۱۰-۵ مشاهده می‌شود با افزایش میزان آب حاوی ریزجلبک از ۱۰۰ تا ۱۲۵ لیتر ، بازده خودترمیم شوندگی افزایش می یابد. در غلظت های بالاتر میزان خودترمیم شوندگی کاهش می یابد که در غلظت ۱۵۰ لیتر نسبت به غلظت بهینه (۱۲۵ لیتر) میزان خودترمیم شوندگی حدود ۱۰٪ کاهش می یابد و بیشترین میزان خودترمیم شوندگی (۱۰۰ درصد) در غلظت ۱۲۵ لیتر بدست می آید.



شکل۱۰-۵- نمودار سطح تک بعدی اثر میزان آب حاوی ریزجلبک بر درصد خود ترمیم شوندگی

۱۰-۴-۱-۲- تاثیر میزان سیمان

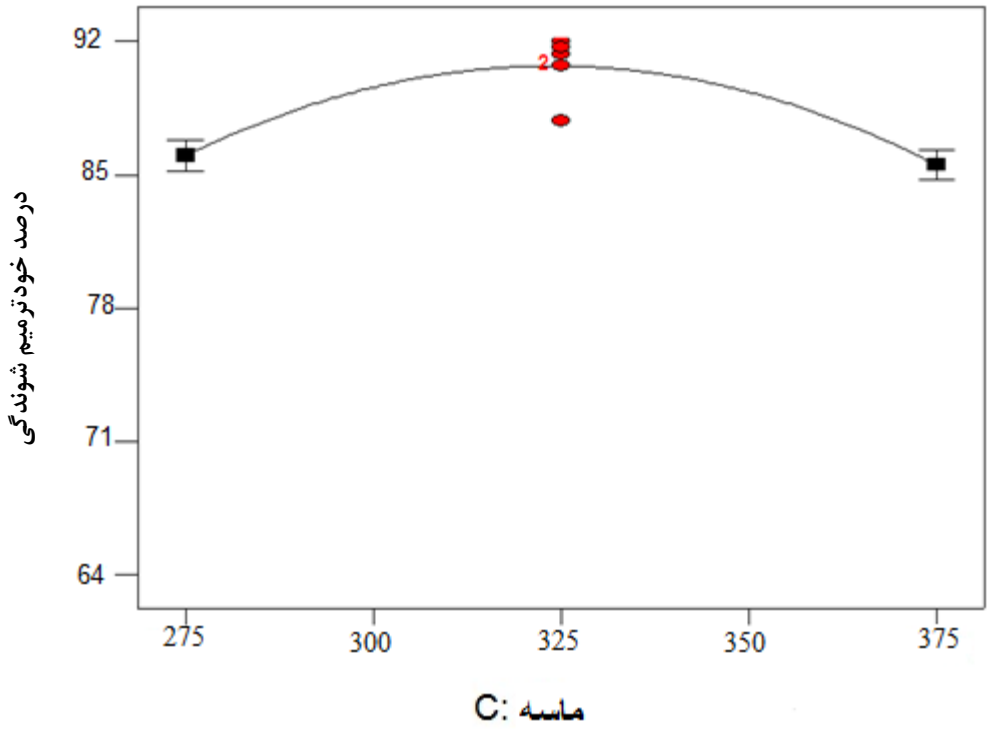
چنانچه در شکل ۱۰-۶ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت سیمان تاثیر کمتری نسبت به آب حاوی ریزجلبک در بازده خودترمیم شوندگی دارد و بازده با شیب کندی افزایش می‌یابد و مقدار بهینه آن در حدود ۲۷۵ کیلوگرم می باشد و پس از آن بازده حذف کاهش می یابد. بعبارتی غلظت های بالاتر کارایی در بهبود بازده خودترمیم شوندگی ندارند. همچنین غلظت های بالاتر باعث افزایش هزینه می‌شود.



شکل ۱۰-۶- نمودار سطح تک بعدی اثر سیمان بر بازده خودترمیم شوندگی

۱۰-۴-۱-۳- تاثیر میزان ماسه

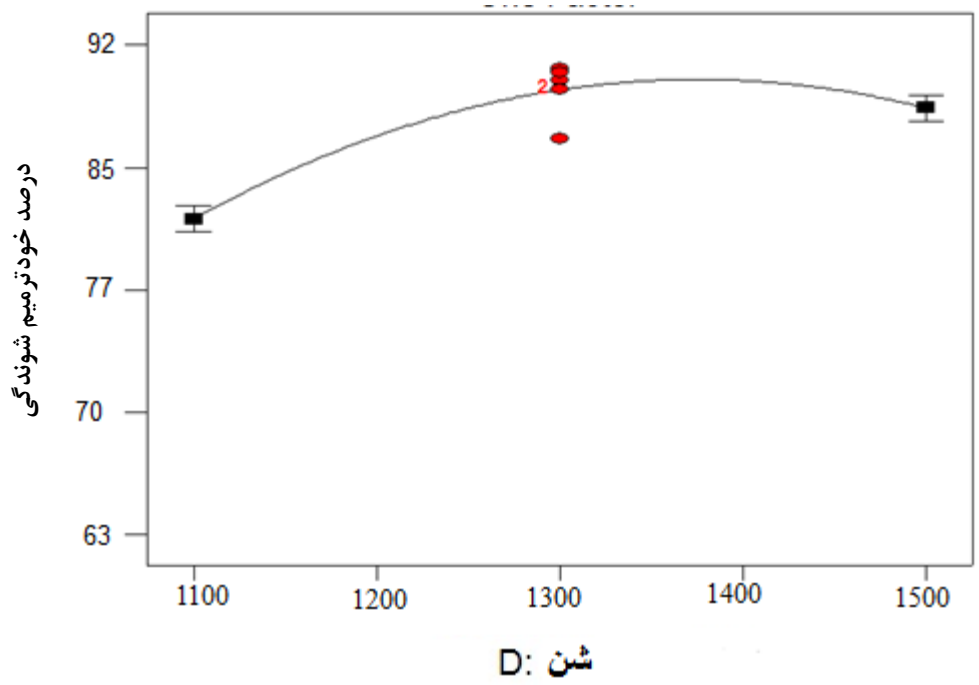
با بررسی شکل ۱۰-۷ مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت ماسه، خودترمیم شوندگی افزایش اندکی دارد و همان طور که در تحلیل واریانس مشاهده شد تاثیر این فاکتور در بازده حذف معنی‌دار نیست یا بعبارتی این پارامتر اثر کمی بر خاصیت خودترمیم شوندگی دارد.



شکل ۱۰-۷- نمودار سطح تک بعدی اثر ماسه بر درصد خودترمیم شوندگی

۱۰-۴-۱-۴- تاثیر میزان شن

با بررسی اثر میزان شن در نتایج بدست آمده و نمودار شکل ۱۰-۸ مشاهده می‌شود این فاکتور بیشترین شیب افزایش را در خودترمیم شوندگی دارد افزایش غلظت شن تا حدود ۱۲۵۰ کیلوگرم باعث افزایش بازده خودترمیم شوندگی می‌شود و در غلطت های بالاتر از آن با شیب بسیار کندی کاهش می یابد که از آنجایکه مصرف بیشتر ماده باعث افزایش هزینه می گردد میزان ۱۲۵۰ کیلوگرم شن به عنوان مقدار بهینه در نظر گرفته شد.

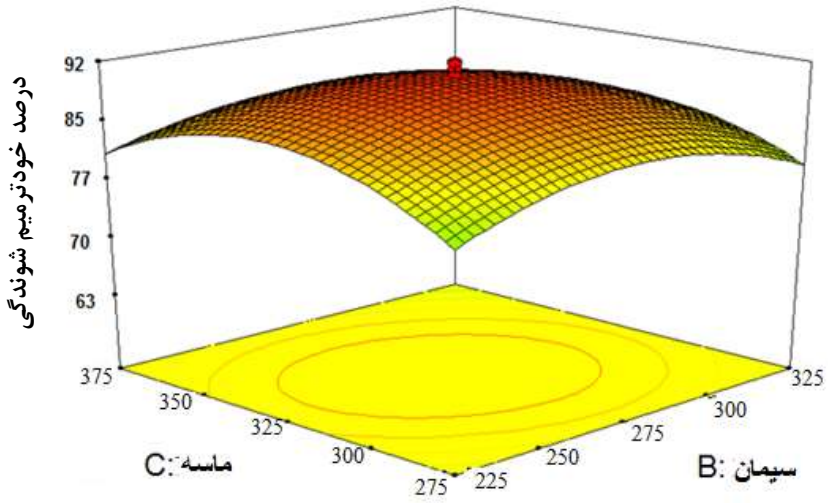


شکل ۱۰-۸ – نمودار سطح تک بعدی اثر میزان شن بر بازده درصد خودترمیم شوندگی

با توجه به نتایج تحلیل واریانس فقط پارامترهای سیمان و ماسه و سیمان و شن دارای برهم‌کنش معنی‌داری هستند. که بصورت نمودارهای رویه سطح نشان داده می‌شوند. در واقع نمودارهای رویه سطح، نمودارهای سه بعدی هستند که بعنوان تابعی از دو متغیر مستقل متفاوت در دامنه آزمایش‌ها، درحالی‌که متغیرهای دیگر در سطحی ثابت قرار دارند، رسم می‌شوند.

۱۰-۵- تاثیر متقابل سیمان و ماسه

طبق منحنی شکل ۱۰-۹ با افزایش غلظت سیمان در میزان آب حاوی ریزجابک ثابت ۱۲۵ لیتر و میزان شن ۱۲۵۰ کیلوگرم همزمان با افزایش میزان ماسه بازده خودترمیم شوندگی افزایش می‌یابد. بدین ترتیب همانطور که در منحنی شکل ۱۰-۹ مشهود است، دو پارامتر مذکور در بازه‌های ۲۹۰> سیمان>۲۷۵ و ۶۳۷,۵> ماسه >۶۲۵ در محدوده بهینه خود بوده. این برهم کنش باعث افزایش میزان سیمان لازم برای خودترمیم شوندگی نسبت به حالت تک فاکتوری می گردد

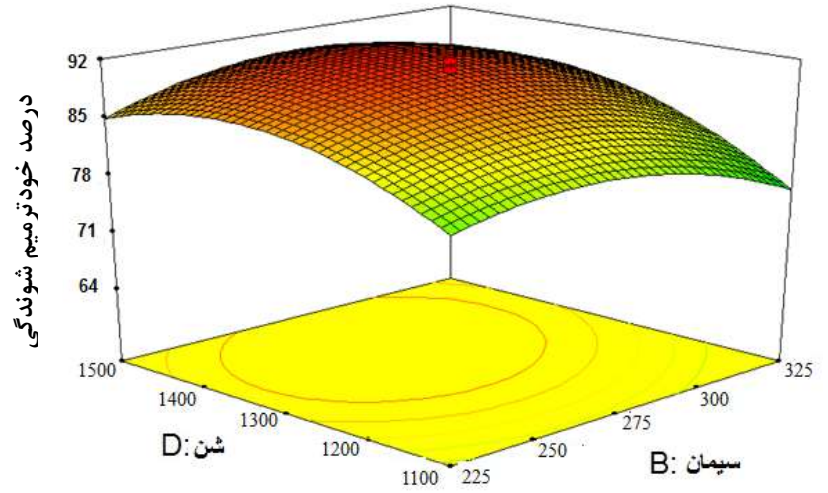


شکل ۱۰-۹- نمودار سطح سه بعدی اثر متقابل سیمان و ماسه در درصد خوترمیم شوندگی

۱۰-۶- تاثیر متقابل سیمان و شن

منحنی شکل ۱۰۲-۱۰ تاثیر متقابل سیمان و شن بر بازده خودترمیم شوندگی را نشان می دهد. افزایش میزان سیمان و شن لازم برای خودترمیم شوندگی را کاهش می دهد و در میزان سیمان کمتر از ۲۷۵ کیلوگرم به میزان بهینه خودترمیم شوندگی دست پیدا می کنیم این تاثیر در میزان آب ۱۲۵ لیتر و ماسه ۶۲۵ بدست می آید. بدین ترتیب همانطور که در منحنی شکل ۱۰-۱۰ مشهود است، دو پارامتر مذکور در بازه‌های ۲۸۰> سیمان >۲۷۰ و ۱۲۵۰> شن>۱۲۰۰ در محدوده بهینه خود بوده.

و بطورخاص حداکثر میزان خودترمیم شوندگی به ازایی آب ۱۲۵ لیتر، سیمان ۲۷۵ کیلوگرم، ماسه ۶۲۵ کیلوگرم و شن ۱۳۰۰ کیلوگرم بدست آمد



شکل ۱۰۲–۱۰– نمودار سطح سه بعدی اثر متقابل سیمان و شن بر درصد خودترمیم شوندگی

۱۰–۷– استاندارد نهایی ساخت بتن خودترمیم شونده

- مقدار سیمان: ۲۷۵ کیلوگرم
- مقدار آب یا همان محیط کشت ریز جلبک ۱۲۵ کیلوگرم (لیتر)
- مقدار شن ۱۳۰۰ کیلوگرم
- مقدار ماسه ۶۲۵ کیلوگرم
- ۱۰۰ تا ۲۰۰ گرم در هر ۱۰۰ کیلو گرم سیمان روانساز
- ۶ تا ۱۰ درصد وزن سیمان از میکروسیلیس

۱۰–۷–۱– مراحل اختلاط

الف– در مرحله اول کل شن مصرفی را با نصف آب (محیط کشت) و نصف سیمان مصرفی مخلوط کرده و به مدت ۳۰ ثانیه الی ۱ دقیقه گردش در میکسر انجام شد. به این ترتیب قلیای سیمان اطراف شن را می گیرد.

ب: در مرحله دوم کل ماسه مصرفی را با ۱/۴ آب (محیط کشت) و نصف سیمان باقی مانده و افزودنی ها به مخلوط قبلی اضافه کرده و به مدت ۲ دقیقه گردش در میکسر انجام می گردد.

ج:در مرحله سوم ۱/۴ آب باقی مانده را به مخلوط فوق اضافه می گردد.

باید توجه گردد که نسبت آب به سیمان با توجه به رطوبت مصالح متغیر است و مقاومت مشخصه بتن تحت تاثیر درصد شن است. برای کارایی بهتر بتن ۱۰۰ تا ۲۰۰ گرم در هر ۱۰۰ کیلو گرم سیمان روانساز و بین ۶ تا ۱۰ درصد وزن سیمان از میکروسیلیس استفاده شد

۱۰–۸– نتایج تست های استاندارد بتن بر روی فرمولاسیون به دست آمده

۱۰–۸–۱– نتایج مقاومت فشاری

در این تحقیق، مقاومت فشاری نمونه‌های مکعبی پس از ساخت و عمل آوری در سنین ۷ و ۲۸ روز در آب، مطابق استاندارد ASTM-C39 اندازه‌گیری شد. برای طرح اختلاط نهایی مورد نظر سه نمونه ساخته شده و میانگین مقاومت فشاری این سه نمونه در ابتدا و پس از ترمیم شوندگی در ارائه نتایج استفاده شد. نتایج حاصل از مقاومت فشاری در جدول ۱۰–۵– ارائه شده است.

جدول۱۰-۵- نتایج آزمایش مقاومت فشاری

نمونه	۷ روزه	۲۸ روزه
شاهد	۳۲/۵	۴۳/۲
نمونه شماره ۱	۳۴/۸	۴۴/۱
نمونه شماره ۲	۳۴/۵	۴۴/۳
نمونه شماره ۳	۳۴/۵	۴۴/۴

نمونه	۹۰ روز
نمونه ۱ بعد ترمیم شوندگی	۴۶/۲
نمونه ۲ بعد ترمیم شوندگی	۴۶/۶
نمونه ۳ بعد ترمیم شوندگی	۴۶/۸

۱۰-۸-۲- نتایج مقاومت کششی نمونه ها

مقاومت کششی نمونه‌ها پس از ساخت و عمل آوری در سنین ۷، ۲۸ روز در آب، مطابق استاندارد ASTM-C496 اندازه گیری شد. همچنین مقاومت کششی نمونه ها پس از خودترمیم شوندگی در ۹۰ روز اندازه گیری شد. برای طرح اختلاط مورد نظر، سه نمونه و همچنین برای شاهد نیز یک نمونه (بدون زیرجلبک) ساخته شده و میانگین مقاومت کششی این سه نمونه در ارائه نتایج مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل از مقاومت کششی در جدول ۱۰-۶ ارائه گردیده است.

جدول ۱۰-۶- نتایج آزمایش مقاومت کششی

نمونه	۷ روزه	۲۸ روزه
شاهد	۲/۱	۳/۰
نمونه شماره ۱	۲/۶	۳/۵
نمونه شماره ۲	۲/۶	۳/۵
نمونه شماره ۳	۲/۵	۳/۴

نمونه	۹۰ روز
نمونه ۱ بعد ترمیم شوندگی	۳/۲
نمونه ۲ بعد ترمیم شوندگی	۳/۹
نمونه ۳ بعد ترمیم شوندگی	۳/۸

۱۰-۸-۳- نتایج مقاومت خمشی

مقاومت خمشی نمونه‌ها پس از ساخت و عمل آوری در سنین ۷، ۲۸ روز در آب، مطابق استاندارد ASTM-C293 اندازه گیری شد. برای طرح اختلاط مورد نظر، سه نمونه و همچنین برای شاهد نیز یک نمونه (بدون زیرجلبک) ساخته شده و میانگین مقاومت خمشی این سه نمونه در ارائه نتایج مورد استفاده قرار گرفت. مقاومت خمشی نمونه های خودترمیم شده نیز پس از گذشت ۹۰ روز اندازه گیری شد.

جدول ۱۰-۷- نتایج آزمایش مقاومت خمشی

نمونه	۷ روزه	۲۸ روزه
شاهد	۲/۷۰	۳/۱
نمونه شماره ۱	۲/۶۵	۳/۵
نمونه شماره ۲	۲/۶	۳/۵
نمونه شماره ۳	۲/۶۵	۳/۴
نمونه		۹۰ روز
نمونه ۱ بعد ترمیم شوندگی		۳/۹
نمونه ۲ بعد ترمیم شوندگی		۴
نمونه ۳ بعد ترمیم شوندگی		۴

۱۰-۹- نتایج مقاومت الکتریکی بتن

مقاومت الکتریکی نمونه‌ها که نشانه ای از شدت خوردگی در بتن است پس از ساخت و عمل آوری در سنین ۷، ۲۸ روز در آب، مطابق استاندارد ASTM-C1760 اندازه گیری شد. برای طرح اختلاط مورد نظر، سه نمونه و همچنین برای شاهد نیز یک نمونه (بدون زیرجلبک) ساخته شده و میانگین مقاومت الکتریکی این سه نمونه در ارائه نتایج مورد استفاده قرار گرفت. مقاومت الکتریکی نمونه های خودترمیم شده نیز پس از گذشت ۹۰ روز اندازه گیری شد. همان که در نتایج دیده می شود نمونه های حاوی ریزجلبک فاقد هر گونه خوردگی در طول مدت بررسی بوده و مقاومت الکتریکی آنها پس از گذشت ۹۰ روز هیچ تغییر معنی داری نکرده است درحالی که مقاومت الکتریکی نمونه شاهد که فاقد ریز جلبک می باشد افزایش داشته که نشانه وقوع خوردگی در آن است

جدول ۱۰-۸- نتایج آزمایش مقاومت الکتریکی بتن

نمونه	۷ روزه	۲۸ روزه
شاهد	۱/۶	۳/۴
نمونه شماره ۱	۰/۴	۰/۴
نمونه شماره ۲	۰/۴	۰/۴
نمونه شماره ۳	۰/۴	۰/۴
	نمونه	۹۰ روز
	نمونه ۱ بعد ترمیم شوندگی	۰/۵
	نمونه ۲ بعد ترمیم شوندگی	۰/۴۵
	نمونه ۳ بعد ترمیم شوندگی	۰/۴۵

۱۰-۱۰- نتایج تست نفوذ یون کلراید در بتن

تست نفوذ یون کلراید در بتن در نمونه‌ها پس از ساخت و عمل آوری در سنین ۷، ۲۸ روز در آب، مطابق استاندارد ASTM-C1202 اندازه گیری شد. برای طرح اختلاط مورد نظر، سه نمونه و همچنین برای شاهد نیز یک نمونه (بدون زیرجلبک) ساخته شده و میانگین نتایج نفوذ یون کلراید این سه نمونه در ارائه نتایج مورد استفاده قرار گرفت. نفوذ یون کلراید نمونه های خودترمیم شده نیز پس از گذشت ۹۰ روز اندازه گیری شد. همان طور که در جدول ۱۰-۹ دیده می شود در نمونه های

حاوی ریز جلبک به علت تشکیل لایه محافظ نفوذ کلراید بسیار کم می باشد درحالی که در نمونه شاهد pH سطح بتن کاملا کاهش یافته و یون کلراید نفوذ کرده است.

جدول ۱۰-۹- درصد نفوذ یون کلراید در بتن

نمونه	۷ روزه	۲۸ روزه
شاهد	۱۴	۳۳
نمونه شماره ۱	۴	۵/۹
نمونه شماره ۲	۳/۸	۵
نمونه شماره ۳	۴	۵/۵
	نمونه	۹۰ روز
	نمونه ۱ بعد ترمیم شوندگی	۹
	نمونه ۲ بعد ترمیم شوندگی	۸/۶
	نمونه ۳ بعد ترمیم شوندگی	۸/۹

۱۰-۱۱- جمع بندی

در جمع بندی نتایج حاصل از این طرح؛ در فاز مطالعاتی انواع ریزجلبک ها، شرایط رشد و کشت آنها مورد بررسی قرار گرفت و ریزجلبک کلرلا ولگاریس به علت رشد سریع، زندگی در آب شور و شیرین به طور همزمان، نیازمندی غذایی کم و غیره برای ساخت بتن های خود ترمیم شونده انتخاب شد. در مرحله بعدی شرایط رشد و تولید سیمان بیولوژیک توسط ریزجلبک منتخب بهینه شد تا بتوان در شرایط بهینه رشد و فعالیت ریزجلبک، تولید انبوه آن را انجام داد. برای تولید انبوه ریزجلبک به منظور ساخت نمونه های بتنی یک فوتوبیوراکتور ایرلیفت دار طراحی و ساخته شد و کشت انبوه ریزجلبک در شرایط بهینه در داخل آن صورت گرفت. جهت انجام تست های استاندارد بر روی نمونه های بتنی خودترمیم شونده، با استفاده از یک فرمولاسیون استاندارد نمونه های بتنی ساخته شد که به جایی استفاده از آب در ساخت بتن از آب حاوی ریزجلبک استفاده شد. تست های استاندارد مقاومت فشاری، مقاومت خمشی و مقاومت کششی بر روی نمونه ها انجام شد که در مقایسه با نمونه شاهد که فاقد ریزجلبک است کاهشی در مقاومت های ذکر شده رخ نداد. همچنین با ایجاد ترک های مصنوعی در اثر فشار میزان و سرعت خودترمیم شوندگی نمونه ها در طی ۹۰ روز بررسی شد، که بتن در سه حالت مستغرق در آب، معلق بر روی آب و در شرایط خشک ارزیابی شد که در هر سه حالت خاصیت خود ترمیم شوندگی چه در حالت ایجاد ترک و چه در حالت ایجاد حفره وجود داشت ولی با سرعت متفاوت که بیشترین سرعت مربوط به حالت معلق بر روی آب یا همان رطوبت

بالایی ۷۰٪ است که در این شرایط بیشترین جذب نور، دی اکسید کربن و رطوبت کافی وجود دارد لذا سرعت رشد ریزجلبک ها نسبت به حالات دیگر بیشتر می باشد در حالی که در شکل مستغرق در آب، میزان نفوذ نور و دی اکسید کربن (منابع انرژی و کربن ریزجلبک) کمتر می شود و تنها میزان رطوبت افزایش می یابد لذا سرعت رشد ریزجلبک ها کاهش و متعاقب آن سرعت خود ترمیم شوندگی نیز کم می گردد. در حالت خشک، نور و دی اکسید کربن در مقدار مناسب هستند ولی برای شروع رشد ریزجلبک جذب رطوبت مرحله اول می باشد که با توجه به حداقل بودن جذب رطوبت رشد ریزجلبک ها و خود ترمیم شوندگی به حداقل می رسد و همچنین برای خودترمیم شوندگی در این حالت قطر منفذ یا ترک ایجاد شده باید بزرگتر از دو حالت قبلی باشد تا جذب رطوبت افزایش یابد. خاصیت خودترمیم شوندگی هم در آب شور و هم در آب شیرین وجود داشت که در آب شور سرعت خودترمیم شوندگی اندکی کمتر از آب شیرین است که علت آن رشد بهتر ریزجلبک کلرلا ولگاریس در آب شیرین است. در مجموع می توان نتیجه گیری کرد که بتن خودترمیم شونده ساخته شده چه از لحاظ مقاومت و چه از لحاظ خودترمیم شوندگی شرایط مناسبی دارد. بهترین حالت برای سازه های بتنی کنار دریا و مناطق با رطوبت بالا بوده و سپس سازه های بتنی داخل آب و نهایتا سازه های بتنی در مناطق شهری و معمولی است.

در مرحله آخر برای به دست آوردن فرمولاسیون بهینه بتن خود ترمیم شونده با تغییر غلظت اجزاء تشکیل دهنده بتن، فومولاسیون بهینه به دست آمد. با بهینه سازی صورت گرفته ضمن مشخص شدن بهترین فرمولاسیون جهت ساخت بتن خودترمیم آزمون های استاندارد نیز نشان داد که در فرمولاسیون جدید نیز تغییری در استانداردها صورت نمی گیرد و همچنین پس از ترمیم شوندگی نیز نه تنها افت استاندارد رخ نمی دهد بلکه افزایش تمامی هر پنج استاندارد مقاومتی و خوردگی را داشتیم.

فصل یازدهم:جمع بندی و نتیجه گیری

۱۱-۱- جمع بندی و نتیجه گیری

با به کارگیری بتن خود ترمیم شونده به جای روش های سنتی ترمیم بتن از هزینه های گزاف تعمیر و نگهداری سازه های بتنی کاسته می شود. همچنین با مصرف کمتر سیمان و عدم استفاده از مواد پلیمری به کار رفته در مصالح ترمیم، به حفظ محیط زیست کمک شایانی خواهد شد. در مورد بتن خودترمیم شونده بلافاصله پس از بروز ترک، خودترمیمی شروع می شود و مواد مضر به داخل بتن نفوذ پیدا نکرده و بتن آسیب نمی بیند ولی در مورد بتن معمولی ابتدا بتن ترک می خورد و مواد مضر وارد بتن می شود و به بتن آسیب می رساند و بایستی با صرف وقت و هزینه به جستجوی ترک و آسیب دیدگی پرداخته ، مصالح مناسب ترمیم پیدا کرد و پس از عملیات ترمیم نیز باز به نگهداری از قسمت ترمیم شده پرداخته شود.

از آنجایکه قرار بود در این طرح از میکروجلبک ها جهت تولید بتن خود ترمیم استفاده می شود در ابتدا خواص این میکروب ها و شرایط رشد و کشت آنها را مورد بررسی قرار دادیم. از میان منابع موجود برای تولید سیمان بیولوژیک، ریزجلبک‌ها مزیت‌های ویژه‌ای دارند که از جمله آن می‌توان به نرخ فتوسنتز بالا، توانایی بالا در تثبیت کربن دی اکسید، توان رشد در آب‌های شور، شیرین و پساب اشاره کرد.

در زمینه معیارهای حاکم جهت انتخاب ریزجلبک مناسب برای تولید بتن خودترمیم شونده ۴ مشخصه وجود دارد. ۱- نحوه تغذیه ریزجلبک: ریزجلبک های که زندگی اتوتروفی دارند برای تولید بتن خودترمیم مناسب تر هستند زیرا این ریزجلبک ها از نورخورشـــید به عنوان منبع انرژی و از دی اکســـید کربن هوا به عنوان منبع کربن اســـتفاده می کنند لذا در محیط های طبیعی بدون نیاز به افزودن مواد غذایی خاص ریزجلبک رشد نموده و تولید سیمان بیولوژیک می کند. ۲- معیار دوم انتخاب توانایی زندگی و رشد در آب شیرین و آب شور بطور همزمان است که در نتیجه هم در مناطق ساحلی و در داخل آب دریا و هم در مناطق غیر ساحلی امکان استفاده از بتن خود ترمیم وجود دارد. ۳- توانایی تکثیر سریع و تولید حجم زیاد زیست توده معیار سوم انتخاب می باشد ۴-توانایی تحمل دما تا ۴۵ درجه سانتی گراد نیز معیار آخر انتخاب است. با توجه به معیارهای ذکر شده و خصوصیات انواع میکروجلبک های موجود جلبک *کلرلا ولگاریس* برای تولید سیمان زیستی و بتن خود ترمیم در این طرح انتخاب گردید. این ریزجلبک هم در آب شـیرین و هم در آب شـور و خاک های شـور نمناک قابلیت رشـد دارد و نحوه تغذیه آن نیز فوتواتوتروف است که بیشتر گونه های آن تا دمای ۴۵ درجه قابلیت رشد دارند که دمای ۳۲ درجه دمای بهینه آنها می باشد. در مقایسه با دیگر ریزجلبک ها، کلرلا سریع ترین سرعت رشد را دارد.

با مقایسه کامل صورت گرفته بین سیستم های کشت باز و بسته مشخص گردید که سیستم های کشت بسته برای تولید بتن خودترمیم شونده مناسب تر هستند.. معیارهای حاکم جهت انتخاب سیستم کشت مناسب جهت تولید انبوه میکروجلبک و سیمان زیستی برای ساخت بتن خود ترمیم شامل موارد زیر است:

۱- سادگی و عدم پیچیدگی راکتور انتخابی: از آنجایکه در مقیاس بزرگ می بایست تولید بیومس و سیمان بیولوژیک در محل ساخت بتن انجام شود لذا نوع بیوراکتور انتخابی باید ساده و قابل پیاده سازی در هر محلی باشد.

۲- قابل حمل بودن فوتوبیوراکتور: راکتور انتخابی باید پرتابل بوده تا در هر مکانی که لازم به تولید سیمان زیستی بود امکان جابجایی وجود داشته باشد حتی مناطق صعب العبور
۳- جنس بدنه بیوراکتور از مواد ساده و ارزان قیمت با شد که در زمان جابجای ها در صورت آ سیب به راکتور هزینه مالی زیادی تحمیل نشود مثل کیسه های پلاستیکی
۴- قیمت تمام شده فوتوبیوراکتور معیار بعدی بوده که در صورت رعایت موارد قبلی این مورد نیز د ست یافتنی خواهد شد
۵- بیشترین میزان نفوذ نور در راکتور و عدم کدر شدن بدنه در طول زمان معیار بعدی انتخاب است
۶- بیشترین میزان انتقال جرم (انتقال دی اکسید کربن) به داخل راکتور معیار نهایی انتخاب است

لذا با توجه به موارد ذکر شده از سیستم کشت راکتور نوری ایرلیفت دار استفاده نمودیم که بدنه اصلی بیوراکتور از پلاستیک می باشد که ضمن کاهش هزینه، بیشترین میزان نفوذ نور را در مقایسه با مواد دیگر مثل پلکسی گلاس دارد و همچنین به راحتی قابل حمل بوده و در هر مکانی قابلیت اجراء دارد. این بیوراکتور مجهز به یک سیستم پمپ ایرلیفت می باشد که باعث به حداکثر رسیدن انتقال جرم و تلاطم در داخل راکتور می گردد. همچنین سیستم کشت اتوتروف[1] نیز با توجه به اینکه کم هزینه ترین سیستم کشت می باشد انتخاب گردید

در رابطه با انتخاب روش مناسب جهت برداشت ریزجلبک نیز معیارهای زیر در نظر گرفته شد:

۱- روش مورد استفاده می بایست قابلیت افزایش مقیاس برای حجم های زیاد ریزجلبک را دارا باشد
۲- مقرون به صرفه بودن روش مورد استفاده چه از لحاظ هزینه سرمایه گذاری و چه از لحاظ هزینه بهره برداری
۳- داشتن راندمان بالا برداشت ریزجلبک بدون آسیب رساندن به ساختار ریز جلبک
۴- امکان ساخت نمونه های پرتابل جهت کوبل شدن با سیستم کشت پرتابل در هر مکانی
۵- عدم ترکیب شدن مواد خارجی با محتوای بیومس و بیوسیمان

با بررسی معیارهای ذکر شده روش ترسیب شیمیایی با توجه به مخلوط شدن مواد شیمیایی با محتوای بیومس از بین روش های انتخابی مردود می گردد. همچنین روش سانتریفیوژ با توجه به هزینه سرمایه گذاری بالا، عدم امکان افزایش مقیاس و جابجایی نیز از بین روش های انتخابی حذف می گردد. در مجموع جهت برداشت ریزجلبک از میان روشهای مختلف بررسی شده تنها روش انعقاد الکتریکی دارای خصوصیات هر ۵ معیار ذکر شده است. این سیستم به راحتی ساخته می شود و بصورت پرتابل تا حجم های بالا مثل ۱۲۰ متر مکعب بر روز قابل بهره برداری است. راه اندازی پایلوت بسیار ساده بوده و نیاز به اپراتور حرفه ای ندارد همچنین هزینه ساخت و بهره بردای از آن نسبت به دیگر روشها کمتر است در انتها نیز این

[1] Autotroph

سیستم هیچ گونه آسیبی به ساختار بیومس وارد نمی کند و هیچ ماده شیمیایی خارجی نیز به ترکیب اضافه نمی گردد. لذا این روش برای برداشت ریزجلبک انتخاب شد که پایلوت آن نیز ساخته شد.

از میان مراحل فرایند تولید سیمان بیولوژیک از ریزجلبک، مرحله کشت از اهمیت خاصی برخوردار است. فراهم کردن شرایط بهینه‌ای از دما، نور و مواد مغذی تاثیر چشمگیری در بازدهی فرایند تولید دارد. ویژگی‌های رشد و اجزا تشکیل دهنده ریزجلبک به شدت تحت تاثیر نوع متابولیسم، هوادهی، غلظت منبع کربن، نوع و غلظت منبع نیتروژن و ریزمغذی‌ها قرار دارد. یکی از مواردی که بسیار حائز اهمیت می‌باشد این است که علاوه بر در نظر داشتن هدف دستیابی به بازدهی بیش‌تر، نوعی از شرایط کشت انتخاب شود که با احتساب هزینه‌ها به راحتی امکان افزایش مقیاس وجود داشته باشد و کنترل کشت و اطمینان از عدم آلودگی به راحتی فراهم باشد. به این ترتیب در پروژه حاضر نیز مهم‌ترین عوامل موثر بر رشد *کلرلا ولگاریس* بررسی شد.

- در آزمایش بررسی تاثیر محیط کشت‌های مختلف، رشد *کلرلا ولگاریس* در محیط زاروک بیش‌ترین بهره‌وری بیومس (۷۲ mg/l/d) و بهره‌وری سیمان بیولوژیک (۷/۱ mg/l/d) را نتیجه داد.
- نتایج به دست آمده از آزمایش بررسی نوع منبع نیتروژنی بر رشد *کلرلا ولگاریس* نشان داد که نرخ رشد و میزان بیومس هر دو سویه در محیط همراه با منبع نیترات بیش تر از محیط‌های حاوی اوره و آمونیوم است. علاوه بر این نوع منبع نیتروژنی تاثیر چندانی بر تولید سیمان ندارد.
- در آزمایش بررسی شرایط کشت، هر دو سویه در حالت فتوتروف (سدیم بی‌کربنات + هوادهی) نرخ رشد و بهره‌وری بیومس بیشتری داشتند و در مقایسه با حالتی که هوادهی انجام نمی شد، بهره‌وری بیومس سویه ۱ و ۲ به ترتیب ۳۶/۲٪ و ۴۲/۹٪ افزایش یافت. به علاوه نتایج این قسمت نشان داد که ریزجلبک توانایی مصرف ملاس به عنوان منبع کربنی را دارد. از سویی دیگر بازده تولید بیومس در حالت میکسوتروف کمتر از فتوتروف است اما محتوای سیمان بیشتر موجب شده است که هر دو حالت دارای بهره‌وری سیمان بیولوژیک تقریبا یکسانی باشند. در مورد سویه ۱ و ۲ در هر دو حالت فتوتروف و میکسوتروف، بهره‌وری سیمان به ترتیب ۱۲/۰ mg/l/d و ۳۰/۰mg/l/d به دست آمد.
- افزایش غلظت سدیم بی‌کربنات به بیش‌تر از ۱ g/l در محیط کشت باعث می شود که یون‌های کربنات تشکیل شده، pH محیط کشت را افزایش دهد و در این صورت، سلول‌های ریزجلبک لخته شده و نرخ تکثیرشان کاهش می‌یابد.
- با افزایش غلظت کربن دی اکسید به ۵٪ در هوای ورودی به کشت، بهره‌وری بیومس افزایش یافت اما محتوای سیمان بیولوژیک تغییر چندانی نداشت.

- طرح غربالی نشان داد که سه جز ملاس، سدیم نیترات و پتاسیم دی هیدروژن فسفات دارای بیشترین تاثیر بر بهره وری تولید سیمان بیولوژیک هستند و با استفاده از طرح مخلوط می توان به مقادیر بهینه این اجزا دست یافت.
- در شرایط بهینه به دست آمده، تولید انبوه سیمان بیولوژیک جهت ساخت نمونه های بتن خودترمیم برای مرحله بعد تحقیقات در داخل فوتوبیوراکتور ایرلیفت صورت پذیرفت

در مرحله بعد ساخت و ارزیابی بتن خودترمیم شونده مورد بررسی قرار گرفت. جمع بندی نتایج به دست آمده در این قسمت در دو بخش قابل ارزیابی است، قسمت اول کیفیت بتن خود ترمیم ساخته شده و قسمت دوم کیفیت خود ترمیم شوندگی بتن در شرایط مختلف.

در بخش اول بررسی سه تست استاندارد بتن شامل تست مقاومت فشاری، مقاومت کششی و مقاومت خمشی و مقایسه آن با بتن معمولی ساخته شده (فاقد ریزجلبک) نشان داد که در هر سه تست مقاومتی انجام شده، نمونه بتن خود ترمیم نه تنها کاهش مقاومت نداشته بلکه در برخی موارد در مقایسه با نمونه شاهد افزایش مقاومت نیز رخ داده است. علت افزایش مقاومت ها می تواند به وجود اسکلت زیرجلبک ها در ساختار بتن باشد که منجر به چسبندگی بیشتر ذرات شن و ماسه موجود در بتن می گردد.

در بخش دوم خود ترمیم شوندگی نمونه های بتنی در شرایط ایجاد ترک یا حفره در داخل بتن در سه حالت مستغرق در آب، معلق بر روی آب و در شرایط خشک ارزیابی شد که در هر سه حالت خاصیت خود ترمیم شوندگی چه در حالت ایجاد ترک و چه در حالت ایجاد حفره وجود داشت ولی با سرعت متفاوت که بیشترین سرعت مربوط به حالت معلق بر روی آب یا همان رطوبت بالای ۷۰٪ است که در این شرایط بیشترین جذب نور، دی اکسید کربن و رطوبت کافی وجود دارد لذا سرعت رشد ریزجلبک ها نسبت به حالات دیگر بیشتر می باشد در حالی که در شکل مستغرق در آب، میزان نفوذ نور و دی اکسید کربن (منابع انرژی و کربن ریزجلبک) کمتر می شود و تنها میزان رطوبت افزایش می یابد لذا سرعت رشد ریزجلبک ها کاهش و متعاقب آن سرعت خود ترمیم شوندگی نیز کم می گردد. در حالت خشک، نور و دی اکسید کربن در مقدار مناسب هستند ولی برای شروع رشد ریزجلبک جذب رطوبت مرحله اول می باشد که با توجه به حداقل بودن جذب رطوبت رشد ریزجلبک ها و خود ترمیم شوندگی به حداقل می رسد و همچنین برای خودترمیم شوندگی در این حالت قطر منفذ یا ترک ایجاد شده باید بزرگتر از دو حالت قبلی باشد تا جذب رطوبت افزایش یابد.

خاصیت خودترمیم شوندگی هم در آب شور و هم در آب شیرین وجود داشت که در آب شور سرعت خودترمیم شوندگی اندکی کمتر از آب شیرین است که علت آن رشد بهتر ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* در آب شیرین است.

در مجموع می توان نتیجه گیری کرد که بتن خودترمیم شونده ساخته شده چه از لحاظ مقاومت و چه از لحاظ خودترمیم شوندگی شرایط مناسبی دارد. بهترین حالت برای سازه های بتنی کنار دریا و مناطق با رطوبت بالا بوده و سپس سازه های بتنی داخل آب و نهایتا سازه های بتنی در مناطق شهری و معمولی است.

در مرحله آخر برای به دست آوردن فرمولاسیون بهینه بتن خود ترمیم شونده با تغییر غلظت اجزاء تشکیل دهنده بتن، فومولاسیون بهینه به دست آمد. با بهینه سازی صورت گرفته ضمن مشخص شدن بهترین فرمولاسیون جهت ساخت بتن خودترمیم آزمون های استاندارد نیز نشان داد که در فرمولاسیون جدید نیز تغییری در استانداردها صورت نمی گیرد و همچنین پس از ترمیم شوندگی نیز نه تنها افت استاندارد رخ نمی دهد بلکه افزایش تمامی هر پنج استاندارد مقاومتی و خوردگی را داشتیم.