

היבטים שונים בהפקת ביו-אתנול ממקרו-אצות בישראל

October, 2015 ב20

גיליון סתיו 2015 / כרך 6 (3) / דלקים חלופיים
ואנרגיה

חזית המחקר

אלוארו ישראל

חקר ימים ואגמים לישראל

אהרון גדנקן

המחלקה לכימיה, אוניברסיטת בר אילן

מרדכי שכטר

הפקולטה לניהול משאבי טבע וסביבה,
אוניברסיטת חיפה

אביגדור אבלסון

המחלקה לזואולוגיה, אוניברסיטת תל-אביב

שירי צמח שמיר

הפקולטה לניהול משאבי טבע וסביבה,
אוניברסיטת חיפה

ליאור קורזן

חקר ימים ואגמים לישראל; המחלקה לזואולוגיה,
אוניברסיטת תל-אביב

נמרוד קרופניק

חקר ימים ואגמים לישראל; הפקולטה לחקלאות
מזון וסביבה ע"ש רוברט ה. סמית, האוניברסיטה
העברית בירושלים

אנדי קרי

ימים ואגמים לישראל

יואב פלד

חקר ימים ואגמים לישראל; הפקולטה לניהול
משאבי טבע וסביבה, אוניברסיטת חיפה

ציטוט

ישראל א, גדנקן א, שכטר מ ואחרים. 2015.
היבטים שונים בהפקת ביו-אתנול ממקרו-אצות
בישראל. *אקולוגיה וסביבה* 6(3).
העתק

תקציר

מחקר בין-תחומי מקיף וייחודי המתבצע בישראל מצביע על היתכנות יישומית וכלכלית להפקת ביו-אתנול מאצות ימיות. לאצה חסנית (*Ulva*) קצב גידול גבוה (עלייה של כ-20% ממוצע במשקל הרטוב ליום) וריכוז סוכרים רב (כ-35% ממוצע ממשקלה היבש). הסוכרים זמינים לתהליכי תסיסה ולייצור ביו-אתנול. במסגרת מחקר זה נבדק גידול החסנית במערכות שונות הכוללות ניסוי מעבדה, מתקנים יבשתיים וימיים ובשילוב עם גידול דגים. כמו כן, נבדק ההרכב הכימי התוך-תאי בזני *Ulva* שהוגדרו מורפולוגית, פיזיולוגית ומולקולרית. מאמר זה סוקר היבטים שונים של הפקת ביו-אתנול ממקרו-אצות, ומציג תוצאות ניתוח עלות-תועלת להפקתו, שבוצע עבור תרחיש שמשלב מערכות גידול דגים. תוצאות הניתוח הכלכלי מצביעות על היתכנות כלכלית במגוון היקפי גידול, אולם לפי התכניות העתידיות לחקלאות ימית בישראל, המודל אינו מניב רווח. ניתוח רגישות של המודל מראה כי לקצב הגידול היומי ולמחיר מוצרים משניים בייצור (כגון חלבון אכיל או חומרים פעילים אחרים) יש השפעה מכרעת על רווחיות עתידית בייצור ביו-אתנול.

על קצה המזלג

- מאמץ עולמי נרחב מושקע בפיתוח דלקים נזליים שניתן להפיק אותם מביומסה צמחית מתחדשת.
- מקור שכזה הוא ביו-אתנול, המופק כיום בעיקר מביומסה הגדלה בשטחי יבשה. לטובת הגדלה משמעותית של החומר הצמחי הזמין נבדקת אפשרות הפקת אנרגיה מאצות הגדלות בסביבה הימית הטבעית.
- המחקר בחן אצה חסנית (מהסוג *Ulva*) הגדלה בחופי הים התיכון הישראלי. אצה זו מאופיינת בקצב גידול גבוה וריכוז סוכרים רב, שזמינים לתהליכי תסיסה ועל כן גם לייצור ביו-אתנול.
- במחקר נבחנו העלות והתועלת להפקת ביו-אתנול מהאצה חסנית.
- על פי ממצאי המחקר, בתנאים המקומיים גידול אצות בים לחופי ישראל לא יהיה רווחי. ניתוח הרגישות מצביע על שני גורמים בעלי פוטנציאל לשנות את מגמת הרווחיות העתידית בייצור ביו-אתנול: העלאת קצב הגידול של האצות, ופיתוח שוק למוצרים משניים המתקבלים בתהליך הייצור.

המערכת

מבוא

צריכת האנרגיה העולמית לאורך השנים גרמה לא רק לדלדול מקור האנרגיה העיקרי (שכַּפת דלקים מחצבים) אלא גם לנוזקים סביבתיים, שחלק מהם בלתי הפיכים. במרוץ אחר חיפוש מקורות אנרגיה חלופיים מצטייר נושא האנרגיה המתחדשת כאפשרות סבירה [1,14]. עיקר המאמצים מושקע סביב פיתוח דלקים נזליים המופקים מביומסה

צמחית מתחדשת, כדוגמה תירס, סויה, קנולה, קנה סוכר, בוטנים, חמניות ודומיהם [4]. הפקת האנרגיה הטמונה בתוצרי היצרנות הראשונית מתבצעת על-ידי התססת סוכרים (fermentation) המצויים בדופן התא הצמחי להפקת ביו-אתנול (אתיל אלכוהול - C₂H₅OH). כיום המקור העיקרי להפקת ביו-אתנול הוא קנה סוכר, תירס וחיתה, המגדלים ביבשה במיוחד למטרה זו [13]. לצורך הפקת דלק מביומסה צמחית נדרשים שטחי גידול עצומים ומים זמינים להשקיה, היוצרים בעיה אקולוגית וכלכלית. מכאן נובעת חשיבותה הרבה של יוזמה שבוחנת הפקת אנרגיה ירוקה על-ידי שימוש באצות שונות כחומר גלם לתהליך [3, 6, 11]. רתימת תוצרי היצרנות הראשונית בים, כגון מְקָרו-אצות, תאפשר ליצור אנרגיה מתחדשת כאשר רוב המשאבים הנדרשים לגידול, כדוגמת קרינת השמש, מים וחומרים מזינים, קיימים בסביבה הימית בצורה טבעית, ובדרך כלל ללא הגבלה [13]. מְקָרו-אצות ימיות ניתנות לגידול במערכות יעילות מאוד המספקות ביומסה גבוהה, ואף ניתן לשלבן כמסננים ביולוגיים עם גידולים חקלאיים שונים כגון מדגה, כך שמתקבל ערך מוסף לשמירת איכות הסביבה הימית. מְקָרו-אצות הן צמחים רב-תאיים ירודים הגדלים רוב השנה. הן מכילות רמות גבוהות (25–30%) של סוכרים הניתנים לפירוק, כך שהן מקור יעיל להפקת ביו-אתנול.

מחקרים במעבדתנו הראו כי מינים של מְקָרו-אצה חסנית (*Ulva spp.*) יכולים לשמש מקור יעיל להפקת ביו-אתנול. במאמר זה אנו מציגים בצורה תמציתית תוצאות מחקר רב-תחומי של גידול החסנית בתנאי מעבדה דרך מתקנים יבשתיים ועד גידול משולב עם דגים בים. בחנו שיטות וגישות שונות לגידול האצה ולהפקת ביו-אתנול, ולבסוף חושבו באמצעות מודלים כלכליים הכדאיות והרווחיות של תעשיית הביו-אתנול בישראלית.

מגוון מיני חסנית בחופי הים התיכון הישראלי

החסנית שייכת למשפחת הירוקיות (Chlorophyta) ונפוצה במרבית האוקיינוסים בעולם. בשנת 2002, בעקבות בחינה מחדש באמצעים מולקולריים, צורפו הסוגים חסנית (*Ulva*) ופרשדונית (*Enteromorpha*) לסוג אחד, הקרוי חסנית וכולל כ-600 מינים. מבנה החסנית פשוט, והיא מורכבת ממספר עלים הגדלים מבסיס יחיד (ומכונים יָצֵע [thallus], איור 1). בדומה לכל מְקָרו-אצה, לחסנית אין מערכות הובלה ושורשים כפי שניתן למצוא בצמחים עילאיים. לחסנית שימושים תעשייתיים רבים, כגון בתהליכי סינון ביולוגי, כמקור למזון בחקלאות ימית משולבת וכמקור לתזונת האדם (בעיקר במדינות אסייתיות). לאחרונה נבחנה החסנית כחומר גלם ליצירת דלקים ביולוגיים בהתססה. רוב מיני החסנית גדלים באזור הגאות והשפל (איור 2) ועד עומק של מטרים בודדים. באמצעות מאפיינים מורפולוגיים ומולקולריים ששימשו במחקר זה ובמחקרים קודמים בחקר ימים ואגמים אנו מעריכים שישנם בחופי הים התיכון הישראלי לפחות ארבעה או חמישה מינים של חסנית, מתוכם שלושה מינים זהו באופן ודאי (איורים 1א, 1ב, 1ג).



איור 1. תצורות שונות של מיני חסנית הנפוצים בחופי הים התיכון הישראלי | צילום: נמרוד קרופניק
 א. *Ulva ohnoi*; ב. *Ulva compressa*; ג. *Ulva compressa haplotype*; ד. *Ulva fasciata*. ייתכנו מינים נוספים בעלי עונתיות ברצועת החוף שטרם הוגדרו (גודל סימן = 1 ס"מ). המינים זוהו בטקסונומיה קלסית, שבוחנת מאפיינים מורפולוגיים של האצה, וכן על-ידי ריצוף שני גנים (RbcL, tufA) והשוואתם לרצפים הקיימים במאגרי מידע שונים (NCBI, BOLD).

איור 1 תצורות שונות של מיני חסנית הנפוצים בחופי הים התיכון הישראלי | צילום: נמרוד קרופניק

Ulva compressa haplotype (= *Ulva* ג.; *Ulva compressa* ב.; *Ulva ohnoi* א.). ייתכנו מינים נוספים בעלי עונתיות ברצועת החוף שטרם הוגדרו (גודל סימן = 1 ס"מ). המינים זוהו בטקסונומיה קלסית, שבוחנת מאפיינים מורפולוגיים של האצה, וכן על-

איור 2. מראה אופייני של פריחת חסנית בטבלאות גידוד בחקופת האביב. חוף תל ברוך, מרץ 2015 | צילום: גלית צלרמאיר



איור 2
מראה אופייני של פריחת חסנית בטבלאות גידוד
בתקופת האביב. חוף תל ברוך, מרץ 2015 | צילום: גלית
צלרמאיר

גידול אצות לביומסה, באילו מינים להשתמש?

גידול אצות מושפע בעיקר מכמות האור, מריכוז של נוטריינטים חיוניים (חנקן, זרחן ופחמן דו-חמצני שמקורו ברובו ב- HCO_3^-) ומטמפרטורת המים. בטבע חשופות המְקָרוֹ-אצות לשינויים הללו, ולרוב הפעילות הפוטוסינתטית מוגבלת, דבר המשפיע על קצב גידולן. במתקני גידול יבשתיים או ימיים ניתן לווסת, באופן חלקי לפחות, את תנאי הגידול, וכך ליצור תנאים מתאימים לקצב גידול מהיר ולתפוקה גדולה יותר של ביומסה. היכולת לגדל את המְקָרוֹ-אצות בצורה מסחרית וכלכלית מחייבת הכרה מעמיקה של שלבי מחזורי החיים של האצה, וכך יתאפשרו השבחה, תרבות וגידול בר-קיימא במערכות חקלאיות ימיות [11]. בעוד שהמאפיינים המולקולריים ברורים למדי, המאפיינים המורפולוגיים מקשים על הזיהוי, וזאת לאור השינוי המורפולוגי הגדול שמתרחש תוך מספר ימים בודדים. לעתים, למינים השונים מאפיינים פיזיולוגיים ברורים משל עצמם. כאשר בחנו את ריכוז הפחמימנים על בסיס משקל יבש נמצא כי במין *Ulva ohnoi* קיים ריכוז גבוה של כ-40% בממוצע לעומת 28% בממוצע בלבד במין *Ulva compressa* ובתת-המין שלו. בתנאי מעבדה מבוקרים הראו כל המינים קצב גידול זהה של כ-4% בממוצע, קצב גידול נמוך בהשוואה לקצבי גידול במתקנים פתוחים, שיכולים להגיע ל-20% ויותר. במתקנים פתוחים אלה ביבשה גדלו מיני חסנית שונים במכלים בעלי נפחים שונים (40, 800, 3,400 ו-27,000 ליטר) וכן ברשתות ליד כלובי דגים בים הפתוח. קצב הגידול נקבע כ-קצב הגידול היומי (DGR – Daily Growth Rate) על-ידי שקילות של ביומסה רטובה לפני ואחרי פרקי זמן מוגדרים מראש, בדרך כלל עד שבוע ימים. קצבי גידול יומיים במכלים יבשתיים נעו בין 23.5% במכל בן 40 ליטר לבין 8.7% בברכה בת 27,000 ליטר, בממוצע. על פי הספרות ולאור התוצאות העולות ממחקרנו ניתן להסיק כי הגידול בקנה מידה גדול (מכלים בעלי נפח של 3,400 ו-27,000 ליטר) הביא להפחתה משמעותית בגידול הביומסה. עם זאת, למרות ירידה משמעותית בקצב הגידול, יציבות הגידול של החסנית ואיכותה כחומר גלם לתעשיית ביו-אתנול לאורך זמן לא נפגעו במכלים בעלי נפח גדול.

תהליכי הכנה לתסיסה ולייצור אתנול (biorefinery)

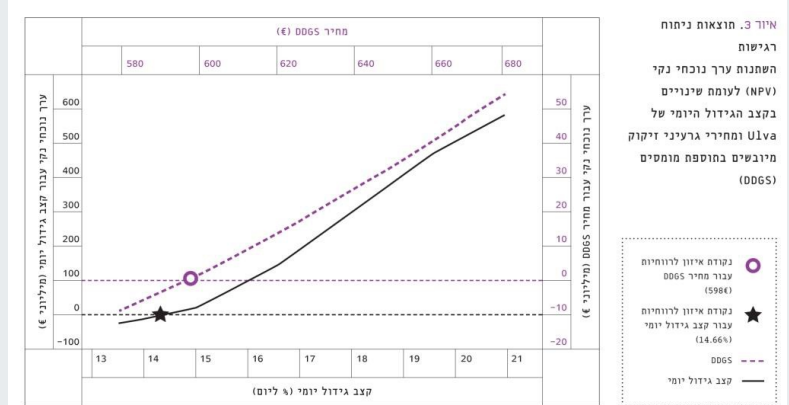
שני גורמים מרכזיים בעלי משקל זהה מצביעים על היתכנות השימוש בחסנית כמקור לדלק [12,10]. הראשון הוא קצב הגידול של החסנית, שידוע כי הוא בין הגבוהים מבין מיני המְקָרו-אצות; השני הוא ריכוז הפחמימנים שבה. הסוכרים שאגורים כפולימרים בדפנות תאי המְקָרו-אצות ניתנים לביקוע על-ידי תגובת ההידרוליזה [6]. יש לציין כי נתח ניכר מכמות הפחמימנים בחסנית מורכב מרב-סוכר הקרוי ulvan. חומר זה בונה את דופן התא, ואינו זמין לתהליכי התססה. על כן, יש לבחון את השוני הקיים בין המינים ביחס בין ה-ulvan לכלל הפחמימנים. בד ובד, יש לאתר תהליכים שונים, ביולוגיים, כימיים או פיזיקליים לפירוק סוכר זה, או סוכרים מורכבים למיניהם. הידרוליזה כימית כוללת חומרים כימיים המסוגלים לבקע את תאי האצות ולהפוך מולקולות של רב-סוכרים לחד-סוכרים. חומרים כימיים אלה מורכבים מחומצות חלשות ומחומצות חזקות, כדוגמת החומצה הגפרתית (H_2SO_4). תהליך נוסף של ביקוע פולימרים סוכריים נקרא הידרוליזה אנזימטית. הידרוליזה זו כוללת אנזימים המסוגלים להפוך מולקולות של רב-סוכרים לחד-סוכרים. פולימרים סוכריים המרכיבים את דופן תאי המְקָרו-אצות, כדוגמת התאית, קשורים ביניהם בקשרים כימיים רבים (בעיקר בקשרי פחמן). כדי לשבור את קשרי הפחמן-מימן הרבים יש צורך להשתמש באנזים צלולז המסוגל לבקע את הקשר במקום המיועד לכך, ולהפוך את הפולימר הרב-סוכרי למולקולות של חד-סוכר-גלוקוז. תהליכי ההידרוליזה נועדו להפיק את מרב מולקולות הסוכר מתאי דופן המְקָרו-אצות ולהפכן לזמינות כמולקולות חד-סוכר לתהליכי התססה [14,13,10,3]. את תהליך ההתססה מבצעים שמרים (ולעתים חיידקים) המסוגלים לבצע את התהליך בהיעדר חמצן [7,5,2]. [14,13,12,10]. השמר הנפוץ ביותר להתססת סוכרים הוא *Saccharomyces cerevisiae*, ובמחקר זה נבחנו הפוטנציאל הגלום בחסנית המקומית לקבלת מיצוי אלכוהולי לאחר תהליך של גידול מבוקר והכנתה לתסיסה בהתאם. האצה הטרייה יובשה ונטחנה לקראת הידרוליזות כימיות ואנזימטיות. נמצא, שסך הפחמימות באצה חסנית שגודלה במכלי הגידול יבשתיים ובמתקנים בים נע בין 16.1% ל-53.8%. הערך הגבוה התקבל לאחר תהליכי "הרעבה" מכוונת מנוטריינטים למשך יממה. נוסף על כך, מתוצאות ההידרוליזה הכימית והאנזימטית נקבע שתהליך זה מעלה את כמות סך הפחמימות ב-13% בממוצע. טיפולים מסוג סוניקציה ו-SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation) משפרים את ייצור הביו-אתנול באופן משמעותי [8]. היבולים של הביו-אתנול בכל המקרים היו כ-350 מ"ג אתנול לגרם אצה יבשה, כלומר יעילות של כ-35%.

ניתוח כלכלי להפקת ביו-אתנול ממְקָרו-אצות

כדי לבדוק את היתכנות הכלכלית של ייצור ביו-אתנול ממְקָרו-אצות, נבחנו במסגרת המחקר תרחיש ייצור המורכב מגידול ימי משולב של דגים וחסניות בחוות ייעודיות ועיבוד החסניות במתקן יבשתי בסמוך לחוף [9,8]. הניתוח בחן את הערך הנוכחי הנקי (NPV) של מגוון נפחי ייצור שונים המוגדר כהיוון סכום ההוצאות וההכנסות במשך תקופה מוגדרת (15 שנים). נוסף על כך, נבחנו תרחיש ייצור המבוסס על תכנית עתידית של משרד החקלאות ופיתוח הכפר להקצאת שטח ימי של 6,000 דונם לפעילויות של חקלאות ימית. בשלב הסופי נערך ניתוח רגישות למודל הכלכלי כדי לזהות שינויים ברווחיות ובנפחי הייצור לנוכח עלייה אפשרית בקצב הגידול היומי של האצות ובמחירי מוצר הלוואי של ייצור אתנול: גרעיני זיקוק מיובשים בתוספת מומסים (Dried Distillers Grains with Solubles – DDGS). על פי תרחיש זה, החסנית גדלה תחילה במתקן תרבית התחלתית (inoculum) יבשתי, כמלאי ראשוני עבור המשך הגידול בים ולצורך השבחת הזן. לאחר מכן, נשתלים שתילי האצה לאורך חבלי גידול (longlines) בחוות ימיות. לאחר שבועיים (קצב גידול יומי של 15%) נקצרת הביומסה הרטובה על-ידי ספינה רב-תכליתית בעלת מערכת מכנית לאיסוף מהיר. לאחר איסופה מגיעה הביומסה למפעל יבשתי, שם היא מעובדת לביו-אתנול ו-DDGS. תהליך העיבוד חולק לחמישה תתי-שלבים נפרדים שחלק מהם הוזכרו למעלה: הכנה מוקדמת (ייבוש וגריסה מכנית), SSF, זיקוק, הפקת תוצרי הלוואי ואחסון התוצרים. בהיעדר תעשייה קיימת של עיבוד מְקָרו-אצות לאתנול, הסתמכו עלויות ההון והתפעול של שלב העיבוד על תעשיית האתנול

שמקורו בגידולי תירס [14,1]. ההכנסות נובעות ממכירת אתנול ו-DDGS לאחר עיבודם.

תוצאות הניתוח הכלכלי מראות כי בתרחיש מיטבי, הערך הנוכחי הנקי המרבי של הייצור עומד על כ-19 מיליון אירו, בנפח עיבוד שנתי של 62,050 טונות יבשות [8,9]. השטח הימי הדרוש לתרחיש זה הוא 25,390 דונם. בתרחיש משרד החקלאות של 6,000 דונם, לעומת זאת, הערך הנוכחי הנקי שלילי, (-13.8) מיליון אירו, ונפח העיבוד מצומצם ועומד על 14,235 טונות יבשות בשנה. ניתוח הרגישות (איור 3) מצביע על חשיבות קצב הגידול היומי לרווחיות כוללת. על פי הניתוח, עלייה של 1% בקצב הגידול היומי (מ-15% ל-16%) תניב רווחיות לפי תרחיש משרד החקלאות ולערך נוכחי נקי של כ-1.7 מיליון אירו, ואילו התרחיש המיטבי של קצב גידול זה מוביל לערך נוכחי נקי של מעל 90 מיליון אירו. למחירי DDGS השפעה חיובית, אך פחותה יותר, על רווחיות הייצור. לדוגמה, לתרחיש משרד החקלאות תידרש עלייה של 94 אירו במחיר טון DDGS כדי להציג רווחיות.



איור 3

תוצאות ניתוח רגישות

השתנות ערך נוכחי נקי (NPV) לעומת שינויים בקצב הגידול היומי של Ulva ומחירי גרעיני זיקוק מיובשים בחוספת מומסים (DDGS)

מסקנות

לאצות ים חלק מהותי במגוון תעשיות מזון ופרמקולוגיה, ובשנים האחרונות הודגשה יכולתן לשמש מקור לדלק ביולוגי. אנו עדים למגמה גוברת של מחקרים חקלאיים ותעשייתיים בגידול ובשימוש של מקרו-אצות בעולם. למדינת ישראל גישה נוחה לים, קרינת שמש ברוב ימות השנה ושטחים רבים שחקלאות קלסית אינה מתאימה להם. מציאות שכזו יכולה לשמש מצע פורה לניסיונות בגידולי אצות ולאפשר לישראל להיות מהמדינות המובילות בקידום ובפיתוח אמצעים טכנולוגיים ותעשייתיים לענף זה. מהמודל הכלכלי עולה כי לקצב הגידול היומי יש השפעה מכרעת על רווחיות הייצור. לפיכך, ולמרות הידע העצום הקיים בנושא גידול אצות ימיות גם בישראל, יש לשים דגש על המשך פיתוח טכנולוגי להבטחת קצבי גידול נאותים כדי להשיג רווחיות כוללת. תרחיש כלכלי מקומי יכול להסתיים ברווח, מותנה בהנחה שיופקו מוצרים משניים בתהליך הכולל, כגון חלבון אכיל או חומרים פעילים שונים בעלי ערך כלכלי.

תודות

ברצוננו להודות למשרד המדע, הטכנולוגיה והחלל של מדינת ישראל על מימון מחקר מס' 3-9763/3-9711. תודה מיוחדת לגיא פז מהמכון לחקר ימים ואגמים על עזרה בהכנת האיוורים ובעריכת הטקסט.



פיתוח טכנולוגי שייגביר את קצב גידול האצות יוכל לשפר באופן משמעותי את הרווחיות הכלכלית של גידול אצות להפקת אנרגיה

מקורות

1. Borines MG, Leon RL, and McHenry MP. 2011. Bioethanol production from farming non-food macroalgae in Pacific island nations: Chemical constituents, bioethanol yields, and prospective species in the Philippines. *Renewable and Sustainable Energy Review* 15: 4432-4435.
2. Bruhn A, Dahl J, Nielsen HB, et al. 2011. Bioenergy potential of *Ulva lactuca*. Biomass yield, methane production and combustion. *Bioresource Technology* 102: 2595-2604.
3. Chen R, Yue Z, Deitz L, et al. 2012. Use of an algal hydrolysate to improve enzymatic hydrolysis of lignocelluloses. *Bioresource Technology* 108: 149-154.
4. Girio FM, Fonseca C, Carvalheiro F, et al. 2010. Hemicelluloses for fuel ethanol: A review. *Bioresource Technology* 101: 4775-4800.
5. Harun R, Yip JWS, Thiruvankadam S, et al. 2014. Algal biomass conversion to bioethanol – A step-by-step assessment. *Biotechnology Journal* 9: 73-86.
6. Jones CS and Mayfield SP. 2012. Algae biofuels: Versatility for the future of bioenergy. *Current Opinion in Biotechnology* 23: 346-351.
7. Kexun L, Shun L, and Xianhua L. 2014. An overview of algae bioethanol production. *International Journal of Energy Research* 38: 965-977.
8. Korzen L, Neel Pulidindi I, Israel A, et al. 2015. Single step production of bioethanol from the seaweed *Ulva rigida* using sonication. *Royal Society of Chemistry Advances*. DOI:

9. Korzen L, Peled Y, Zemah Shamir S, et al. 2015. An economic analysis of bioethanol production from the marine macroalga *Ulva* (Chlorophyta). *Technology* (in press).
 10. Noraini MY, Ong HC, Badrul MJ, and Chong WT. 2014. A review on potential enzymatic reaction for biofuel production from algae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **39**: 24-34.
 11. Rojan PJ, Anisha GS, Madhavan NK, and Ashok P. 2011. Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. *Bioresource Technology* **102**: 186-193.
 12. Saqib A, Tabssum MR, Rashid U, et al. 2013. Marine macro algae *Ulva*: A potential feed-stock for bio-ethanol and biogas production. *Asian Journal Agriculture and Biology* **1**: 155-163.
 13. Sivakumar G, Vail DR, Xu J, et al. 2010. Bioethanol and biodiesel: Alternative liquid fuels for future generations. *Engineering in Life Sciences* **10**: 8-18.
 14. Trivedi N, Gupta V, Reddy CRK, and Jha B. 2013. Enzymatic hydrolysis and production of bioethanol from common macrophytic green alga *Ulva fasciata* Delile. *Bioresource Technology* **150**: 106-112.
-