وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور

عنوان:

تاثیر روش های برداشت بیومس تولیدی *Dunaliella salina* بر میزان استخراج بتاکاروتن

مجری:
زهرا امینی خوئی

شماره ثبت
۵۹۲۸٤

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور

عنوان طرح/پروژه: تاثیر روش های برداشت بیومس تولیدی *Dunaliella salina* بر میزان استخراج بتاکاروتن
کد مصوب: ۹۷۰۳۳۳-۰۰۵-۱۲-۷۸-۲
نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: زهرا امینی خوئی
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) : -
نام و نام خانوادگی مجری: زهرا امینی خوئی
نام و نام خانوادگی همکار(ان): محمود حافظیه، هادی غفاری، الناز عرفانی‌فر، امام‌بخش دلوکیان، سلیم جدگال، سید عباس حسینی، گل‌محمد بلوچ، واحد بخش هوت، علیرضا رجب پور، حیدر امیریان، نعیمه کسلخه، قاسم رحیمی‌قره‌میرشاملو، پریا اکبری، خالد دشتی، محمدرضا میرزایی، علیرضا صوفی‌مقدم، محمدرفیق لعل‌شناس، منصور کریمی
نام و نام خانوادگی مشاور(ان): محمود حافظیه، هادی غفاری، الناز عرفانی‌فر، امام‌بخش دلوکیان، سلیم جدگال، سید عباس حسینی، گل‌محمد بلوچ، واحد بخش هوت، علیرضا رجب پور، حیدر امیریان، نعیمه کسلخه، قاسم رحیمی‌قره‌میرشاملو، پریا اکبری، خالد دشتی، محمدرضا میرزایی، علیرضا صوفی‌مقدم، محمدرفیق لعل‌شناس، منصور کریمی
نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -
محل اجرا: استان سیستان و بلوچستان
تاریخ شروع: ۱۳۹۷/۰۱/۰۱
مدت اجرا: ۲ سال و ۵ ماه
ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
تاریخ انتشار: سال ۱۳۹۹
حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: تاثیر روش های برداشت بیومس تولیدی *Dunaliella salina* بر میزان استخراج بتاکاروتن

کد مصوب : ۹۷۰۳۳۳-۰۰۵-۱۲-۷۸-۲

شماره ثبت (فروست) : ۵۹۲۸٤ تاریخ : ۱۳۹۹/۱۲/۲۵

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم زهرا امینی خوئی دارای مدرک تحصیلی دکتری تخصصی در رشته بیوتکنولوژی می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست‌فناوری و فرآوری آبزیان در تاریخ ۱۳۹۹/۱۰/۱۴ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده □ مرکز ■ ایستگاه □

با سمت عضو هیئت علمی در مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه

چکیده ۱
۱- مقدمه ۲
۱-۱-کشت و پرورش ریزجلبک *Dunaliella salina*، فرصتها و چالشها ۲
۱-۲- فرصتهای تولید تجاری ریزجلبک *دونالیلا سالینا* ۲
۱-۴- چالش مهم تولید تجاری ریزجلبک *دونالیلا سالینا* ۵
۱-۵- تکنیک لخته سازی یا انعقاد (Flocculation) برای برداشت زی¬توده ریزجلبک¬ها ۶
۲- مواد و روشها ۹
۲-۱- دستگاههای و تجهیزات مورد استفاده در این پژوهش: ۹
۲-۲- ابزارآلات و وسایل شیشه ای مورد نیاز ۹
۲-۳- نمونه برداری ۹
۲-۴- سنجش ویژگی‌های فیزیک و شیمیایی آب تالاب لیپار ۹
۲-۵- آماده سازی محیط کشت ۱۰
۲-۶- خالص سازی و جداسازی ریزجلبک *D. salina* ۱۰
۲-۷- شناسایی گونه ۱۱
۲-۸- کشت ریزجلبک *D. salina* در دو فاز شرایط مطلوب رشد (Optimal) و شرایط تحریک سنتز بتاکاروتن ۱۱
۲-۹- اندازه گیری روند رشد ریزجلبک *D. salina* ۱۲
۲-۹-۱- اندازه گیری جذب نوری ۱۲
۲-۹-۲- اندازه گیری غلظت زیتوده ۱۲
۲-۱۰- طراحی آزمایشها وتیمارهای روشهای مختلف برداشت زیتوده ۱۲
۲-۱۰-۱- آزمایش تاثیر تغییرات pH بر روند لخته سازی ۱۲
۲-۱۰-۲- آزمایش تاثیر پودر دانه گیاه *مورینگا اولیفرا* و ماده شیمیایی کلرید آلومینیوم بر روند لخته سازی ۱۳
۲-۱۱- سنجش راندمان لخته سازی ۱۳
۲-۱۱-۱- سنجش ضریب تغلیظ ۱۴
۲-۱۱-۲-اندازه گیری بازده لخته سازی با غلظتهای مختلف زیتوده ریزجلبک ۱۴

۳-۱۱-۲- مشاهدات روند لخته سازی ۱۴
۴-۱۱-۲- استفاده مجدد از محیط کشت پس از لخته سازی ۱۴
۱۲-۲- سنجش کلروفیل و کارتنوئید کل ریزجلبک *D. salina* ۱۵
۱۳-۲- سنجش بتاکاروتن ریزجلبک *D. salina* ۱۵
۱۴-۲- تحلیل آماری ۱۵
۳- نتایج ۱۶
۱-۳- مشخصات ایستگاه نمونه برداری، تالاب فوق شور لیپار ۱۶
۲-۳- شناسایی مورفولوژیک ۱۷
۳-۳- شرایط کشت ریزجلبک *D. salina* ۱۷
۴-۳- تعیین راندمان برداشت ۱۸
۱-۴-۳- راندمان لخته سازی در سه روش مورد آزمایش شامل القاء تغییر pH، استفاده از ماده شیمیایی کلرید آلومینیوم و گیاه *M. oleifera* ۱۸
۲-۴-۳- مقایسه ضریب تغلیظ در تیمارهای مختلف ۱۹
۳-۴-۳- تأثیر غلظت محیط کشت ریزجلبک *D. salina* بر بازده لخته سازی ۲۰
۵-۳- تأثیر زمانهای مختلف رسوب گذاری بر راندمان لخته سازی ۲۱
۶-۳- استفاده مجدد از محیط رشد برای کشت ۲۱
۷-۳- تأثیر تکنیکهای برداشت بر محتوی کاروتنوئید کل زیتوده لخته شده ریزجلبک *D. salina* ۲۲
۸-۳- تأثیر تکنیکهای برداشت بر محتوی بتاکاروتن زیتوده لخته شده ریزجلبک *D. salina* ۲۳
۴- بحث ۲۴
۱-۴- جداسازی و بررسی خصوصیات زیستی و روند رشد سویه جداسازی شده *D. salina* از تالاب فوق شور لیپار ۲۴
۲-۴- آزمونهای برداشت زیتوده ریزجلبک پس از کشت در محیط مایع ۲۵
۱-۲-۴- تاثیر تکنیک تغییرات pH محیط بر راندمان لخته سازی ۲۵
۲-۲-۴- تاثیر استفاده از لخته ساز شیمیایی کلرید آلومینیوم بر راندمان لخته سازی ۲۷
۳-۲-۴-تاثیر استفاده از لخته سازهای پودر گیاه *مورینگا* بر راندمان لخته سازی ۲۷
۳-۴- بازیافت و استفاده مجدد از آب، مواد مغذی محیط کشت و سلولهای زنده به جا مانده در محیط کشت ۲۸
۴-۴- تاثیر غلظت های مختلف زیتوده محیط کشت بر روند لخته سازی ۲۹

۵-۴- تاثیر روشهای برداشت بر رنگدانههای کارتنوئید و بتاکاروتن..... ۲۹
۶-۴- مقایسه روشهای برداشت از نظر راندمان و هزینههای اقتصادی..... ۳۰
۵- نتیجه گیری نهایی..... ۳۱
پیشنهادها..... ۳۲
منابع..... ۳۳
چکیده انگلیسی..... ۳۶

چکیده

یکی از فرآیندهای مهم در تولید تجاری ریزجلبک‌ها که در حدود ۲۰-۳۰ درصد از هزینه‌های کل تولید را به خود اختصاص داده است، مرحله برداشت یا جداسازی سلول‌های ریزجلبک از محیط کشت مایع اطراف آن و تهیه خمیر غلیظ می‌باشد. در انتخاب روش برداشت باید مواردی از جمله مصرف انرژی، راندمان برداشت، ویژگی‌های گونه و هدف استفاده نهایی زی‌توده مورد توجه قرار گیرد. در مطالعه حاضر تاثیر تکنیک‌های مختلف لخته سازی با استفاده از مواد شیمیایی هیدروکسید سدیم و اسیدکلریدریک با تغییرات pH (دامنه ۶ تا ۱۱)، کلرید آلومینیوم و همچنین پودر دانه گیاه (*Moringa oleifera*) بر راندمان برداشت و ترکیب بتاکاروتن ریزجلبک، *Dunaliella salina* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزودن هیدروکسید سدیم و افزایش pH از ۸/۲ تا ۹/۸ روند لخته سازی به صورت صعودی افزایش یافته و از ۱۸ به ۹۰٪ رسیده و سپس تا pH، ۱۱ به طور ثابت باقی مانده است. استفاده از کلرید آلومینیوم نیز سبب تحریک لخته سازی و افزایش راندمان تا ۹۲٪ شده است. در مقابل افزودن اسید کلریدریک و تشکیل محیط اسیدی تا pH ۶ و همچنین استفاده از پودر دانه گیاه *M. oleifera* تاثیر معنی‌داری در بازده لخته سازی نداشته است. بالاترین ضریب تغلیظ در تیمار کلرید آلومینیوم و pH قلیایی ۹/۸ به میزان ۱۰ برابر غلظت اولیه مشاهده شد.

علاوه بر این، موضوع بازیافت و استفاده مجدد از آب، محیط کشت و سلول‌های باقی مانده پس از فرآیند برداشت مورد آزمون قرار گرفت. نتایج نشان داد که در تیمارهای قلیایی پس ازخنثی سازی با اسید کلریدریک و بازگشت به pH طبیعی اولیه تنها بخش یک سوم بالایی محیط کشت قابل استفاده مجدد برای کشت‌های جدید بودند. در حالی‌که سلول‌های باقی مانده در محیط قلیایی فعالیت خود را از دست داده و قابلیت تلقیح به کشت جدید را نداشتند. در مرحله بعد، تاثیر تکنیک القاء pH قلیایی و کلرید آلومینیوم بر محتوی رنگدانه‌های زی‌توده جمع‌آوری شده مورد بررسی قرار گرفت (روش سانتریفیوژ به‌عنوان شاهد استفاده شد). نتایج آنالیزها نشان داد میزان کارتنوئید کل و رنگدانه بتاکاروتن زی‌توده جلبک جمع‌آوری شده در تیمارهای pH قلیایی و کلرید آلومینیوم اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشته اند.

بر اساس نتایج به دست آمده القاء محیط قلیایی در pH ۹/۸ تکنیک مقرون به صرفه ای برای برداشت ریزجلبک *دونالیلا سالینا* بوده و تاثیر نسبتا محدودی بر محتوی بتاکاروتن این ریزجلبک داشته است.

کلمات کلیدی: ریزجلبک *Dunaliella salina*، تغییرات pH، کلرید آلومینیوم، *Moringa oleifera*، راندمان برداشت، بتاکاروتن