



مهر تو زم و رشد تو لید^{۱۴۰۲}

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی



موسسه آموزش و ترویج کشاورزی

معاونت علمی و فناوری

شبکه دانش کشاورزی

سلسله برنامه‌های ویدیو کنفرانس انتقال دانش به‌روز در گستره ملی بخش کشاورزی

عنوان:

تولید جلبکها : روش های کشت نانوکلروپسیس و کاربرد آن

سخنران:

سیروس سنگری

عضو هیأت علمی موسسه آموزش و ترویج کشاورزی

۱۹ آذر ۱۴۰۲ - ساعت: ۱۱:۳۰

جلبکها

❖ جلبک ها گروه متنوعی از موجودات فتوسنتزی هستند که در زیستگاه های مختلف به ویژه آبی (شیرین یا شور) زندگی کنند.

❖ آنها می توانند تک سلولی، چند سلولی یا کلنی باشند

❖ می توانند اشکال، اندازه ها و رنگ های متفاوتی داشته باشند.

❖ جلبک ها برخلاف گیاهان زمینی ریشه، ساقه یا برگ واقعی ندارند

❖ برخی از جلبک ها مانند جلبک دریایی، کلپ و فیتوپلانکتون برای اکثر مردم آشنا هستند، در حالی که برخی دیگر میکروسکوپی هستند و کمتر شناخته شده اند

BACILLARIOPHYTA (diatoms)

❖ جلبکها از لحاظ شکل و اندازه ، تنوع وسیعی دارند

CHAROPHYTA (stoneworts)

❖ برای اولین بار ، **لینه** گیاه شناس ، در سال ۱۷۵۴ ، این

CHLOROPHYTA (green algae)

موجودات را با نام **آلجی Algae** معرفی کرد. رومیها از واژه

fucus، چینیها از واژه tsao و مردم هاوایی از واژه limo

CHRYSTOPHYTA (golden algae)

برای معرفی این گیاهان استفاده می کردند

CYANOBACTERIA (blue-green algae)

❖ در تقسیمات جهانی گیاهی ، جلبکها ۱۸۰۰ جنس و

۲۱۰۰۰ گونه دارند. بیشتر جلبکها ، آبی هستند. در جلبکها

DINOPHYTA (dinoflagellates)

هر سلول دارای ۱ تا ۲ عدد کلروپلاست و بندرت

PHAEOPHYTA (brown algae)

دارای **کروماتوفور** هستند.

RHODOPHYTA (red algae)

جلبک ها کاربردهای مختلفی در سوخت های زیستی، مواد غذایی، زیست پالایی و آبی پروری دارند



The green algae *Ulva lactuca*, commonly known as sea lettuce, is easily harvested when it is exposed at low tide. Many people living in coastal societies consume sea lettuce in salads and soups.

The macroscopic genus of algae known as *Acetabularia* is commonly called “mermaid's wine glass” because of the distinctive umbrella-like shape of the tips of its stalks



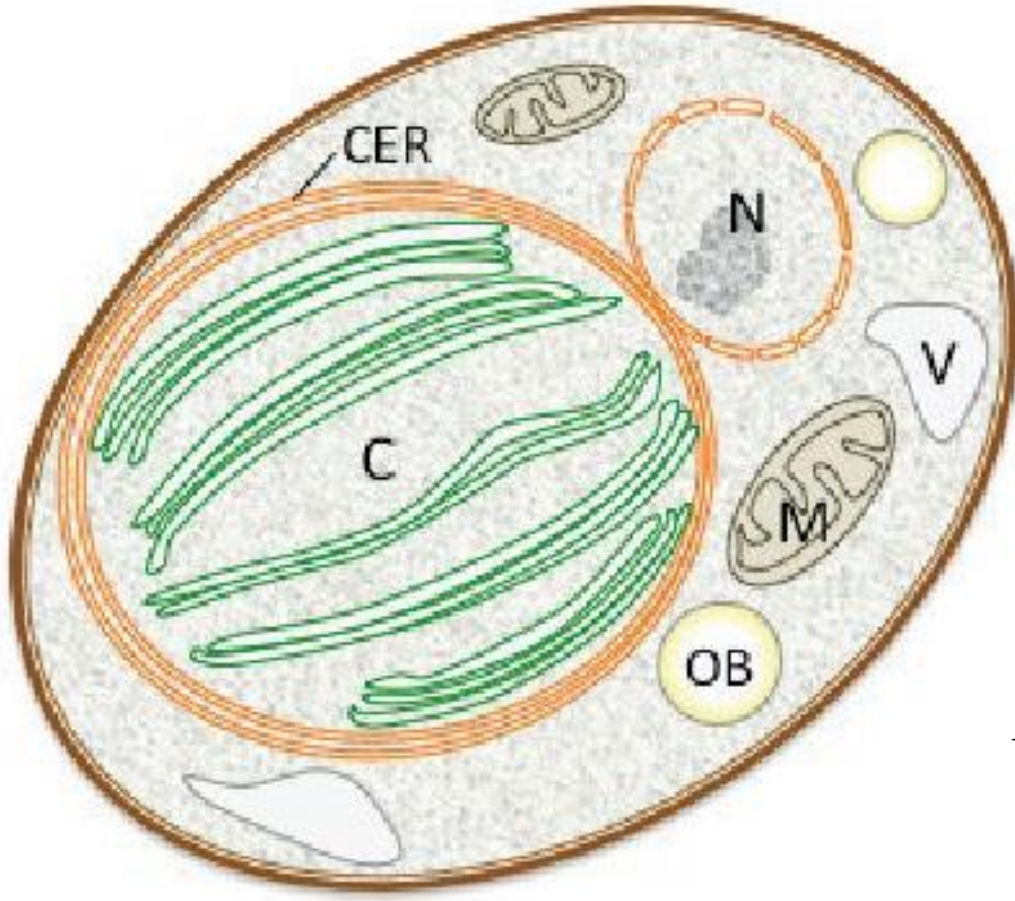
جلبک‌ها

جلبک های خوراکی در حال خشک شدن در ساحلی در نزدیکی ایزانوهاما در (استان فوکوشیما کن)، ژاپن



❖ جلبک‌ها کاربردهای گوناگونی در زندگی بشر دارند، از جمله:

- در صنایع غذایی، تغذیه، و دارویی: جلبک‌ها حاوی مواد مغذی مهمی مانند پروتئین، ویتامین، مواد معدنی، اسیدهای چرب، و آنتی‌اکسیدان
- جلبک‌ها در برخی از غذاهای سنتی و مدرن به عنوان ماده اصلی یا افزودنی استفاده می‌شوند
- در صنایع شیمیایی، رنگ‌دانه، و سوخت
- در صنایع کشاورزی، آبی‌پروری، و بیوتکنولوژی
- جلبک‌ها به عنوان خوراک یا کود برای گیاهان و حیوانات
- در بخش محیط زیست، تصفیه آب، و زیست پالایی



❖ **Nannochloropsis** یک ارگانیسم گلابی شکل، کروی یا بیضی

شکل تک سلولی با ابعاد $3-5 \times 2-4$ میکرومتر

❖ نانوکروپسیس دارای دیواره های سلولی نسبتاً ضخیم و سفت و

سخت و صاف تقریباً ۸۵ تا ۱۱۳ نانومتر ضخامت است

❖ لایه داخلی دیواره سلولی ساخته از سلولز است، در حالی که لایه

بیرونی نازک تر ساختار آلجینانی دارد.

❖ ساختار دیواره سلولی در *M. gaditana* تقریباً از ۷۵ درصد سلولز

تشکیل شده است

ساختار سلولی نانوکروپسیس در شرایط مملو از مواد مغذی.

، وزیکول V، بدنه روغن (قطره چربی)؛ OB، هسته؛ N، میتوکندری؛ M، شبکه آندوپلاسمی کلروپلاست. CER، کلروپلاست (پلاستید)؛ C

ارزش غذایی نانوکلوپسیس

❖ نانوکلوپسیس نوعی جلبک سبز با ارزش غذایی بالا برای سلامت انسان و کاربرد متعدد در سایر موارد است

❖ نانوکلوپسیس حاوی:

❖ پروتئین با کیفیت بالا، با مشخصات اسید آمینه کامل و محتوای پروتئین حدود ۴۰ درصد از وزن خشک

❖ اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه (PUFA) به ویژه اسیدهای چرب امگا ۳ مانند ایکوزاپنتانوئیک اسید

❖ حدود ۵٪ وزن خشک رنگدانه های آنتی اکسیدانی مانند کلروفیل، کاروتنوئیدها و زانتوفیل ها

▪ که می توانند رادیکال های آزاد را از بین ببرند

ارزش غذایی و کاربرد

❖ - حدود ۱۰٪ از وزن خشک ویتامین ها و مواد معدنی مانند ویتامین های C، E، K، آهن، کلسیم، منیزیم و

ید

❖ بنابراین، نانوکلوپسیس یک ماده غذایی بسیار امیدوارکننده برای بهبود سلامت و رفاه انسان است

▪ می توان به عنوان یک مکمل غذایی، یک پیش ماده غذایی کاربردی، یا خوراک آبزیان و دام استفاده کرد

▪ مثال: می تواند عملکرد رشد، ترکیب بدن، پروفایل لیپیدی و پاسخ ایمنی ماهی های مانند تیلاپیا نیل را

بیافزاید

▪ همچنین می تواند جایگزین گیاهی برای روغن ماهی باشد

کاربرد نانوکروپسیس

❖ برخی دیگر از کاربردهای نانوکروپسیس عبارتند از:

❖ تولید سوخت زیستی یک ماده اولیه امیدبخش تولید بیودیزل و بیواتانول است

▪ محتوای چربی بالا (تا ۶۰ درصد وزن خشک خود)- بیودیزل

▪ کربوهیدرات هایی تولید می کند که می توانند به بیواتانول تخمیر شوند

❖ نانوکروپسیس دارای برتری هایی نسبت به سایر ریزجلبک ها برای تولید سوخت زیستی است

▪ سرعت رشد بالاتر، راندمان فتوسنتزی بالا، تحمل به شوری و سطوح CO₂ بالا، و سهولت در کشت و برداشت

❖ پاکسازی زیستی: حذف مواد غذایی پس آب ها مانند نیتروژن و فسفر و (کاهش اوتروفیکاسیون) کاهش دی

اکسید کربن حاصل سوخت ها و انتشار گازهای گلخانه ای و افزایش اکسیژن

تاریخچه کشت

❖ تلاش های اولیه برای رشد جلبک در حوضچه های باز توسط آلمانی ها (اروپا) در طول جنگ جهانی دوم به

عنوان مکمل های غذایی انجام شد

❖ در واشنگتن کشت انبوه جلبک ها را برای کاهش CO2 اجرا کردند (، Burlew 1953)

❖ دهه ۱۹۷۰، تولید تجاری جلبک در اروپای شرقی، اسرائیل و ژاپن آغاز شد

▪ کشت تجاری در حوضچه های باز به عنوان غذای سالم

❖ در آفریقا، دریاچه چاد و دریاچه تککوکو تولید زیست توده اسپیرولینا برای تغذیه مردم آن مناطق

❖ در واقع، هدف از رشد جلبک به نیازهای خاص مردم بستگی دارد.

تاریخچه کشت

❖ در مقطعی در ایالات متحده، استفاده از حوضچه جلبکی برای تصفیه آب توسعه یافت. زیست توده حاصله به متان

تبدیل می شد

❖ با گذشت زمان، زیست توده جلبکی در زمینه آبرزی پروری بسیار اهمیت یافت

❖ اخیرا جلبک ها به دلیل پتانسیل هایشان در تولید مواد شیمیایی و به عنوان مکمل های مفید در انسان و

حیوانات توجه زیادی را به خود جلب کرده اند

❖ همچنین اهمیت جلبک ها را در تثبیت دی اکسید کربن روشن شد

کشت

❖ هنگام انتخاب یک سیستم برای رشد ریز جلبک ها، عوامل مختلفی باید در نظر گرفته شود، از جمله:

- زیست شناسی جلبک
- هزینه زمین
- نیروی کار
- مصرف انرژی و آب
- مواد مغذی مورد نیاز
- آب و هوای مورد نظر (اگر فرهنگ در فضای باز است)
- و نوع محصول نهایی

- ❖ گونه ی **نانوکلروپسیس اوکوالتا** دارای با ویژگیهای خاص برای پرورش در آبی پروری ایده آل است:
- ❖ اندازه ی مناسب (۲ تا ۳ میکرومتر)،
- ❖ غنی از اسید های چرب ضروری به خصوص ایکوزاپنتائنوویک اسید (۲ تا ۳ درصد وزن خشک)، رنگدانه های مفید و قابلیت هضم بسیار زیاد می باشد.
- ❖ ویژگی هایی نظیر رشد سریع، همچنین
- ❖ محتوی انرژی و چربی مناسب (۳۷ تا ۶۰ درصد وزن خشک)
- ❖ (، قابلیت آداپته شدن زیاد (سازگاری) با شرایط محیطی مختلف و مقاومت به آلودگی

انواع روشهای کشت

❖ ریز جلبک ها به منظور متفاوت با شرایط و روش گوناگونی کشت می شوند در کل :

۱. کشت آزمایشگاهی خالص سازی و نگهداری سویه های اصلی / مادری

▪ در بخش آزمایشگاه، خالص سازی جلبک، شمارش جلبک، استریل کردن ادوات و آب صورت می پذیرد

۱۱. تولید محلولهای پایه خالص و تغلیظ شده برای کشت اصلی

▪ در این مرحله بخشی از ذخیره برای کشت در مراحل بعدی در ظروف آزمایشگاهی بزرگ مانند ارلن

های ۱ تا ۵ لیتری و بیشتر (به تدریج) کشت داده می شود تا مقدار و غلظت مورد نظر برای محیط

کشت های تولید فراهم شود

۱۱۱. کشت انبوه به روشهای مختلف مناسب با سویه ها

▪ افزودن مقدار مناسب کشت خالص تهیه شده از مرحله قبل برای تولید نهایی

کشت نانوکلوپسیس

- ❖ شرایط عمومی پرورش
 - ❖ ۱- دما: ۲۰-۲۴ درجه سانتی گراد
 - ❖ ۲- اسیدیته: ۸/۲ تا ۸/۷
 - ❖ ۳- شوری: ۲۰-۲۵ (N.oceanica) در غلظت نمک ۲۲-۴۹ گرم در لیتر، معادل ۶۳-۱۴۰٪ به خوبی رشد می کند)
 - ❖ ۴- شدت نور: ۵۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس - دوره نوری: ۱۶: ۸ ساعت روشنایی / تاریکی
 - ❖ ۵- هوادهی مناسب
 - ❖ محیط کشت مناسب :
۱. (محیط کانوی کشت (Conway) جهت پرورش ذخیره سازی و پایه کشت های اولیه
۱۱. محیط کشت TMRL برای پرورش در فضای باز

پرورش نانوکلوپسیس تجاری به شیوه ی یک باره/بچ در جنوب ایران

:

❖ بهتر است که نمونه مادر در هر حال ابتدا خالص شودخالص سازی جلبک با روش های مختلف از جمله

▪ سریالی

▪ گسترده روی محیط جامد

▪ یا جدا سازی تک سلولها یا استفاده از دستگاه های آزمایشگاهی

❖ کشت کلنی های تک در لوله های 10 cc حاوی محیط کشت کانوی برای ذخیره و شروع کشت

❖ برای شروع کشت نسبت تلقیح در لوله ها با جلبک به نسبت ۱۰به ۲۰میلیون عدد در میلی لیتر می باشد

▪ لوله ها در دمای ۲۴درجه سانتی گراد نگهداری می شود

❖ پس از ۲۰ روز به ارلن های ۱۰۰سی سی منتقل می شوند

❖ پس از طی حدود دو هفته میتوان به ارلن های بزرگتر ۱ تا ۲ لیتری منتقل کرد

▪ یک هفته بعد تراکم جلبک به ۸۰ تا ۱۶۰ میلیون سلول در میلی لیتر رسیده که می توان به بخش بینابینی انتقال داد (

داخل ساختمان)

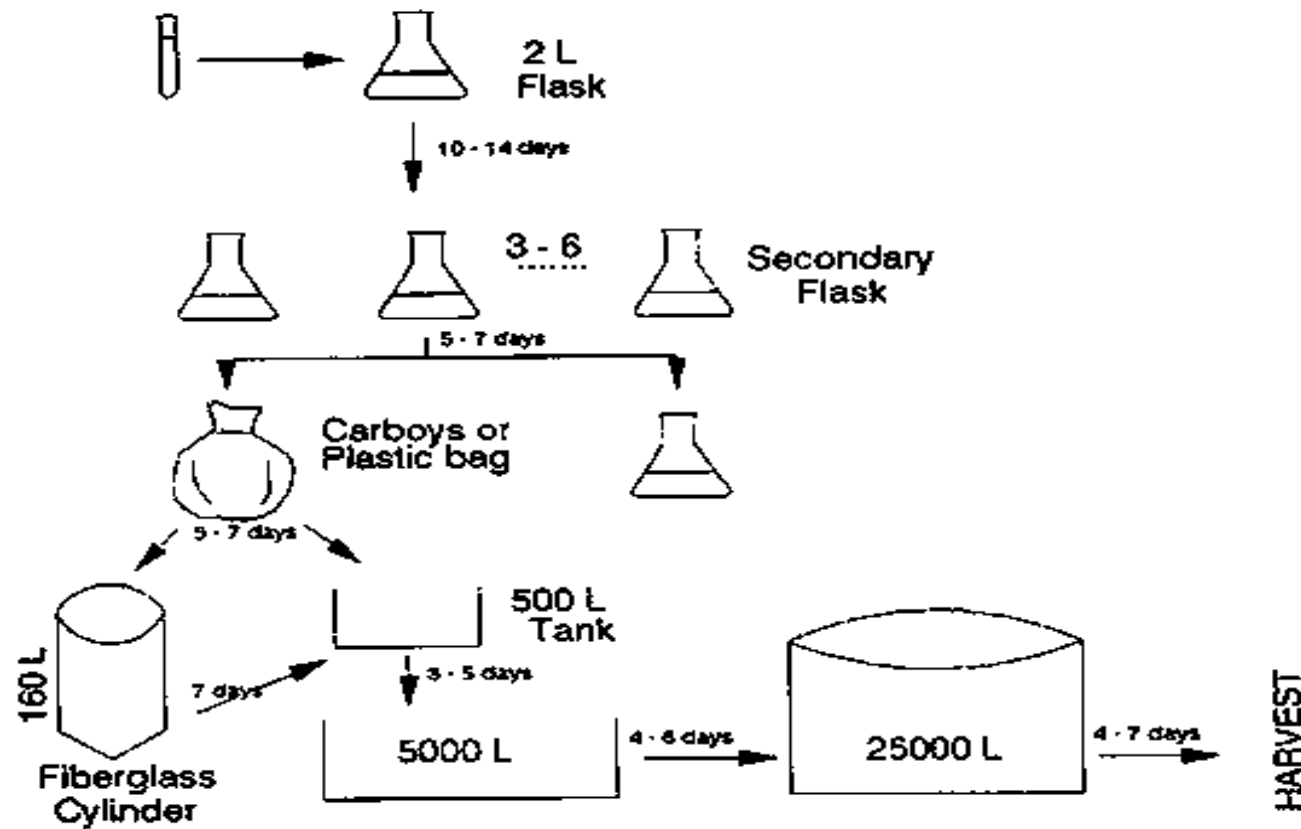
Streak Plate Method



Inoculation procedure (flame loop between streaks)

Formation of discrete colonies

Figure 2.6. Production scheme for batch culture of algae (Lee and Tamaru, 1993).





بخش استوک یا ذخیره و کشت‌های ریز جلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا موجود در آن در فایکولب ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره)

پرورش نانوکلوپسیس تجاری به شیوه ی یک باره/بچ در جنوب ایران

❖ برای تلقیح یک تانک ۳۰۰ لیتری از ۳ عدد بشکه ۱۰ لیتری استفاده می شود (۳ تا ۵ میلیون سلول در میلی لیتر)

▪ پس از یک هفته تراکم جلبک به ۴۰ میلیون عدد در میلی لیتر خواهد رسید.

❖ محتوی دو عدد تانک ۳۰۰ لیتری به تانک های ۲ تنی منتقل می شود (میزان ۳ تا ۵ میلیون سلول در میلی لیتر

باید ذخیره سازی صورت گیرد)

❖ و بعد از یک هفته محتوی این تانک ها قابل انتقال به تانک های ۱۰ تنی خواهند بود

❖ در نهایت جلبک موجود در تانک های ۱۰ تنی برای تغذیه ی بخش روتیفر و یا لاروی مورد استفاده قرار خواهد

گرفت.



بخش بینابینی فایکولب، بشکه های ۱۵ لیتری (سمت راست) و استوانه های پلاستیکی (سمت چپ) در فایکولب
ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره)





انواع روشهای کشت

❖ برای تولید اتوتروف زیست توده میکرو جلبکی دو سیستم اصلی استفاده می شود،

❖ جلبک ها یا در سیستم های کشت باز یا سیستم های بسته (فتوبیورآکتورها) رشد می کنند

❖ سیستم های باز

❖ امروزه اکثر سیستم های تجاری در مقیاس بسیار بزرگ، سیستم های باز در هوای آزاد هستند، زیرا از نظر

اقتصادی گزینه ای مقرون به صرفه تر

▪ با این حال بسیار حساس به آلودگی هستند، زیرا آنها به طور مداوم در معرض جو هستند

❖ بنابراین تنها برخی که مقاوم به این شرایط متغیر و آلوده محیطی هستند می توانند پرورش یابند

▪ به عنوان مثال، دونالایلا و اسپیرولینا در حال حاضر به ترتیب در سیستم های باز با استفاده از شرایط شوری

و قلیایی بالا تولید می شوند



❖ انواع سیستم‌های محیط آزاد در حال حاضر شامل:

❖ منابع آبی طبیعی

❖ حوضچه‌های مدور

❖ حوضچه‌های گردشی

❖ و سیستم‌های آبشاری لایه نازک

❖ حوضچه‌های گردشی (شکل روبرو) پر استفاده ترین

طرح برای تولید ریزجلبک های صنعتی است

▪ زیرا امکان دستیابی به بهره وری بالا با هزینه کم را

فراهم می کند (Bux, 2013)

❖ حوضچه های/کانال گردش باز سیستم های کانال / گردش با عمق معمول ۰/۲

متر هستند.

❖ توسط یک چرخ پارویی با سرعت ۰,۲۵ متر بر ثانیه مخلوط می شود

❖ تراکم سلولی کم تا ۰,۳ گرم در لیتر است

❖ حوضچه های/کانال گردش باز در حال حاضر بیشترین استفاده داشته و ارزان

ترین سیستم کشت برای تولید تجاری ریز جلبک ها است



انواع روشهای کشت

سیستم های بسته

❖ فتوبیوراکتورهای (PBRs) بسته دنیای جدیدی از امکانات را می گشایند زیرا:

- توان پایش آسان تر **متغیرهای فیزیوشیمیایی** مهم مانند pH، دما، CO₂ محلول و حتی شوری
- تبادل گازها را به شدت محدود می کنند
- آلاینده های موجود در محیط کشت را کاهش می دهند
- نرخ تبخیر را کاهش می دهند
- امکان کشت گونه های حساس تر فراهم است
- به دست آوردن عملکرد بالاتر را فراهم می کنند چه از نظر رشد و چه از نظر ترکیبات بیوشیمیایی
- نگهداری یک تک کشت آسان تر می شود

انواع روشهای کشت

سیستم های بسته



(a) Flat panel bioreactors, or Green Wall Panels.

❖ برخی از ریزجلبک ها برای به دست آوردن محصولات با ارزش بالا (انواع

ویتامین ها) مورد استفاده در صنایع دارویی و آرایشی کشت می شوند

❖ برای اینگونه محصولات وجود یک محیط عاری از آلودگی اجباری است

پس در PBRهای بسته کشت شوند

❖ بیوراکتورهای صنعتی را می توان به سه گروه بزرگ، ستونی عمودی،

صفحه تخت و لوله ای طبقه بندی کرد ؟؟؟؟؟/؟؟؟؟



(b) Pilot-scale serpentine tubular photobioreactor.

انواع روشهای کشت

سیستم های بسته

- ❖ فتوبیوراکتورهای لوله‌ای متشکل از لوله‌های شفاف هستند سرعت گردش محیط حدود ۰/۵ متر بر ثانیه
- ❖ برای کاهش غلظت اکسیژن، از مخزن گاززدا یا **stripper** استفاده می شود (اکسیژن با تزریق هوا خارج می شود)
- ❖ سیستم های لوله ای را می توان با ساختار هندسی در جهت های مختلف تهیه کرد
- ❖ محیط های کشت معمولاً توسط پمپ هوا یا یک سیستم **Airlift** به گردش در می آیند که دارای مزیت تنش منجر به پارگی کم تر و انتقال جرم خوب است
- ❖ **لوله های افقی** - در یک صفحه و چندین صفحه به روی هم چیده شده اند (سیستم های پرچین مانند)

انواع روشهای کشت سیستم های بسته

❖ فتوبیوراکتورهای لوله ای عمودی

❖ PBR های ستونی عمودی معمولاً سیلندرهایی با شعاع کوچک هستند تا نسبت سطح را افزایش دهند

❖ قطر لوله ها (با توجه به جهت آنها) متفاوت است به طور معمول بزرگتر از ۳ سانتی متر و

کوچکتر از ۱۰ سانتی متر

❖ فتوبیوراکتورهای لوله ای گران تر از حوضچه های روباز باز هستند، به ویژه فتوبیوراکتورهای

لوله ای عمودی.

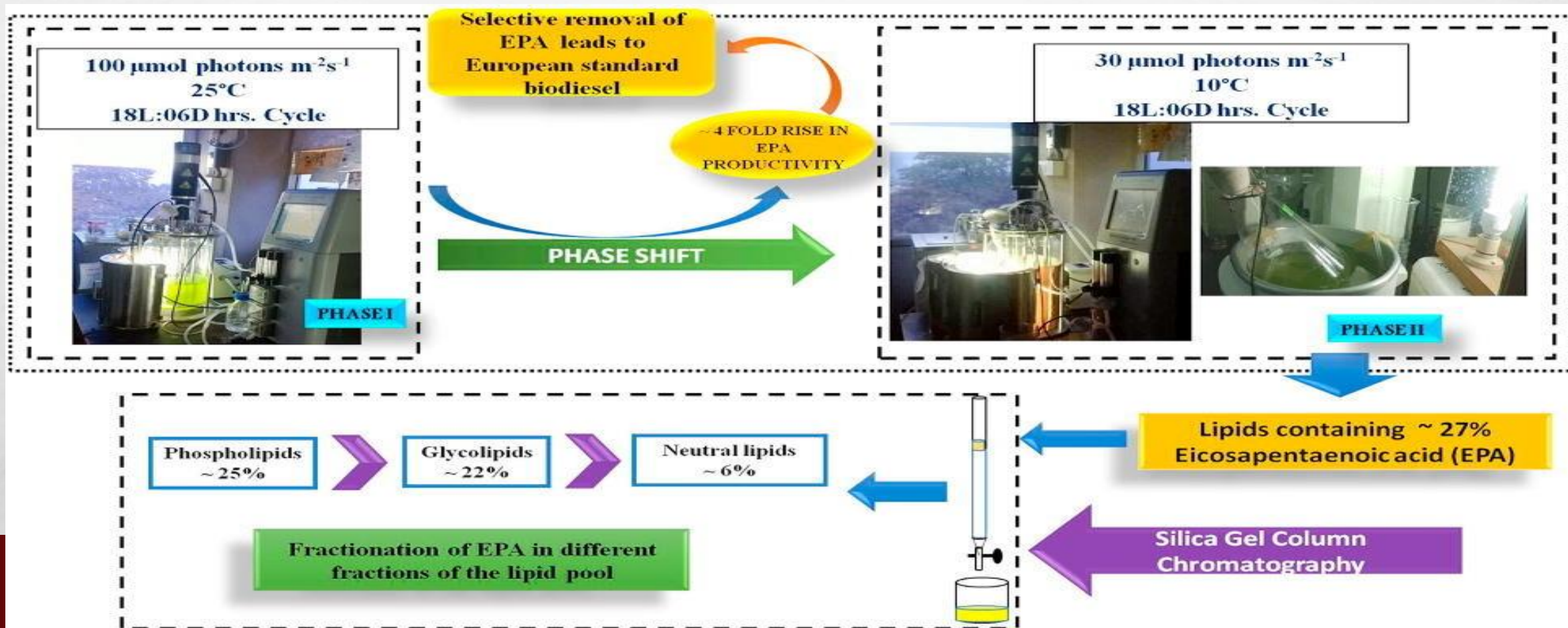
چند نمونه از تحقیقات میدانی

۱. بررسی کشت در دو مرحله و تاثیر دما و شوری

۲. کشت و مقایسه چهار فتو بیوراکتور

۳. مقایسه کشت یک باره، نیمه پیوسته و پیوسته

دما و شدت نور دو عامل محیطی غالب اثر گذار بر محتوای چربی گزارش شده اند
بنابراین در مطالعه حاضر *Nannochloropsis sp. CCNM 1081* از سواحل غربی هند برای افزایش EPA در
فتوبیوراکتور در دو مرحله مجزا، با تغییر شدت نور و دما در مرحله بعد مورد ارزیابی قرار گرفت.



انواع روشهای کشت مقایسه چهار فتو بیوراکتور

- ❖ در فتوبیوراکتورهای عمودی، بهره‌وری سطحی و بازده فتوسنتزی بالاتر بود، $19-24$ (gr m⁻² day⁻¹) و $2.4-4.2$ درصد در مقایسه با فتوبیوراکتورهای افقی $12-15$ (گرم در مترمربع روز) و $1.5-1.8\%$ یافت شد.
- ❖ بهره‌وری بالاتر در واحد سطح زمین در سیستم عمودی به دلیل رقت نور در ترکیب با جذب نور بالاتر است
- ❖ در حوضچه گردشی به دلیل طولانی بودن مسیر نوری در این سیستم، بهره‌وری پایینی به دست آمد
- ❖ بهره‌وری سطح در همه سیستم‌ها با افزایش چگالی شار فوتون تا 30 مول مترمربع در روز افزایش می‌یابد
- ❖ بازده فتوسنتزی در تمام سیستم‌ها با افزایش چگالی شار فوتون ثابت باقی می‌ماند
- ❖ بالاترین بازده فتوسنتزی به دست آمده بود. 4.2% برای فتوبیوراکتور لوله ای عمودی، 3.8% برای راکتور صفحه ای تخت، 1.8% برای راکتور لوله ای افقی، و 1.5% برای حوضچه گردشی

انواع روشهای کشت

نتیجه گیری



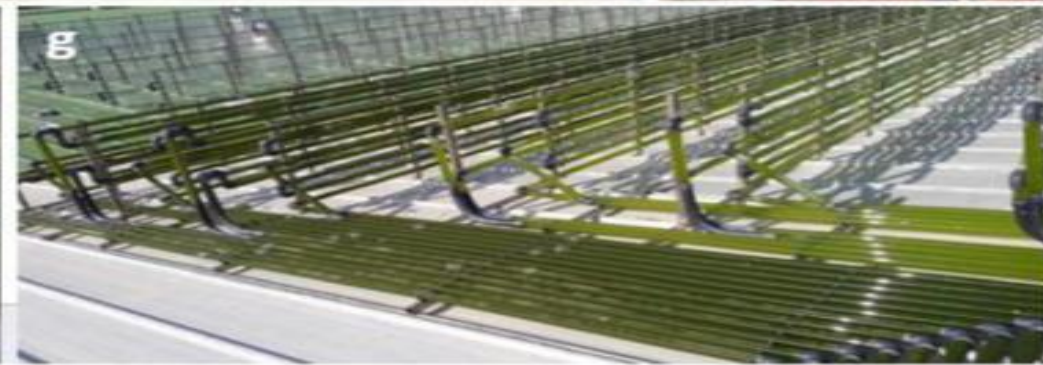
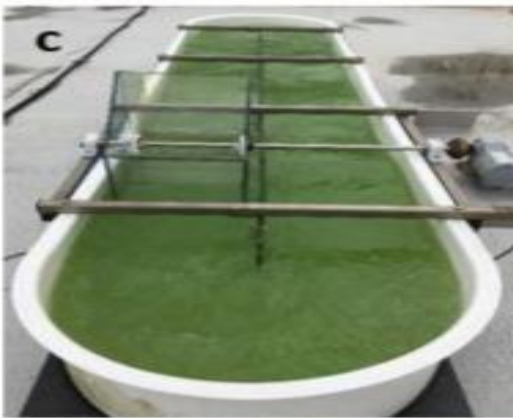
❖ فتوبیوراکتورهای عمودی به دلیل چگالی شار فوتون فرودی کمتر در

سطح راکتور، بهره‌وری سطحی بالاتری نسبت به فتوبیوراکتورهای افقی دارند

❖ فتوبیوراکتور صفحه‌ای تخت در میان فتوبیوراکتورهای عمودی مورد مطالعه، بالاترین میانگین راندمان فتوسنتزی، بازده سطحی و حجمی را به دلیل مسیر نوری کوتاه داشت. رهگیری نور فتوبیوراکتور باید بیشتر بهینه شود تا بهره‌وری سطحی و کارایی فتوسنتزی به حداکثر برسد.

مقایسه کشت یک باره، نیمه پیوسته و پیوسته

- ❖ چندین آزمایش در طول فصول بهار/تابستان در فتوبیوراکتورهای لوله‌ای ۲٫۶ متر مکعبی انجام شد
- ❖ نتایج به دست آمده نشان داد که *N. oceanica* رشد کرده با استفاده روش کشت نیمه پیوسته و پیوسته باعث افزایش ۱٫۵ برابری در بهره‌وری حجمی/زیتوده شد (به ترتیب ۰٫۱۶۵ و ۰٫۱۵۴ گرم در لیتر در روز) در مقایسه با کشت بچ (۰٫۱۰۸ گرم L-1-روز-۱)
- ❖ با این حال، رژیم‌های نیمه پیوسته و پیوسته تقریباً دوبرابر مقدار آب را نسبت به روش بچ کالچر مصرف می‌کنند (۰٫۰۳ ± ۱٫۰۴ و ۰٫۱۴ ± ۱٫۲۵ در مقایسه با ۰٫۰۷ ± ۰٫۶۲ متر مکعب به ازای هر کیلوگرم زیست توده تولید شده)
- محیط کشت برای سنجش رشد، محیط F/2 Guillard با ۰٫۳۱ گرم در لیتر NO_3^- ، تکمیل شده با ۱۲ میکرومولار آهن، ۳۰ گرم در لیتر (NaCl سالکسپور، کویمبرا، پرتغال) و مکمل غنی شده با منیزیم (نکتون، فارو، پرتغال)





مهر تو زم و رشد تو لید^{۱۴۰۲}

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی



موسسه آموزش و ترویج کشاورزی

معاونت علمی و فناوری

شبکه دانش کشاورزی

سلسله برنامه‌های ویدیو کنفرانس انتقال دانش به‌روز در گستره ملی بخش کشاورزی

عنوان:

تولید جلبکها : روش های کشت نانوکلروپسیس و کاربرد آن

سخنران:

سیروس سنگری

عضو هیأت علمی موسسه آموزش و ترویج کشاورزی

۱۹ آذر ۱۴۰۲ - ساعت: ۱۱:۳۰