



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:

روشهای استخراج چربی از جلبک های تک سلولی

سخنران:

سیروس سنگری

عضو هیأت علمی موسسه آموزش و ترویج جهاد کشاورزی

یکشنبه ۱۴۰۲/۱۱/۰۱ ساعت: ۱۱:۳۰ الی ۱۲:۴۵

اهمیت و کاربرد ریز جلبکها

- ❑ ریزجلبک ها دارای ذخیره گسترده ای از ترکیبات با ارزش بالا با کاربردهای آرایشی، غذایی، دارویی و سوخت های زیستی مانند
- ❑ رنگ ها، عطرها، آنتی اکسیدان ها، عوامل بافت ...
- ❑ برخی در محصولات تجاری مراقبت از پوست استفاده شده اند (ضد پیری، بازسازی کننده، کرم ضد تحریک و عوامل اتصال دهنده آب).
- ❑ برخی برای محافظتی در برابر اشعه UV استفاده شده است
- ❑ همچنین منبعی از پروتئین به عنوان مکمل غذایی

اهمیت و کاربرد ریز جلبکها

□ رنگدانه ها

❖ *Dunaliella salina* با محتوای بالای کاروتنوئیدها

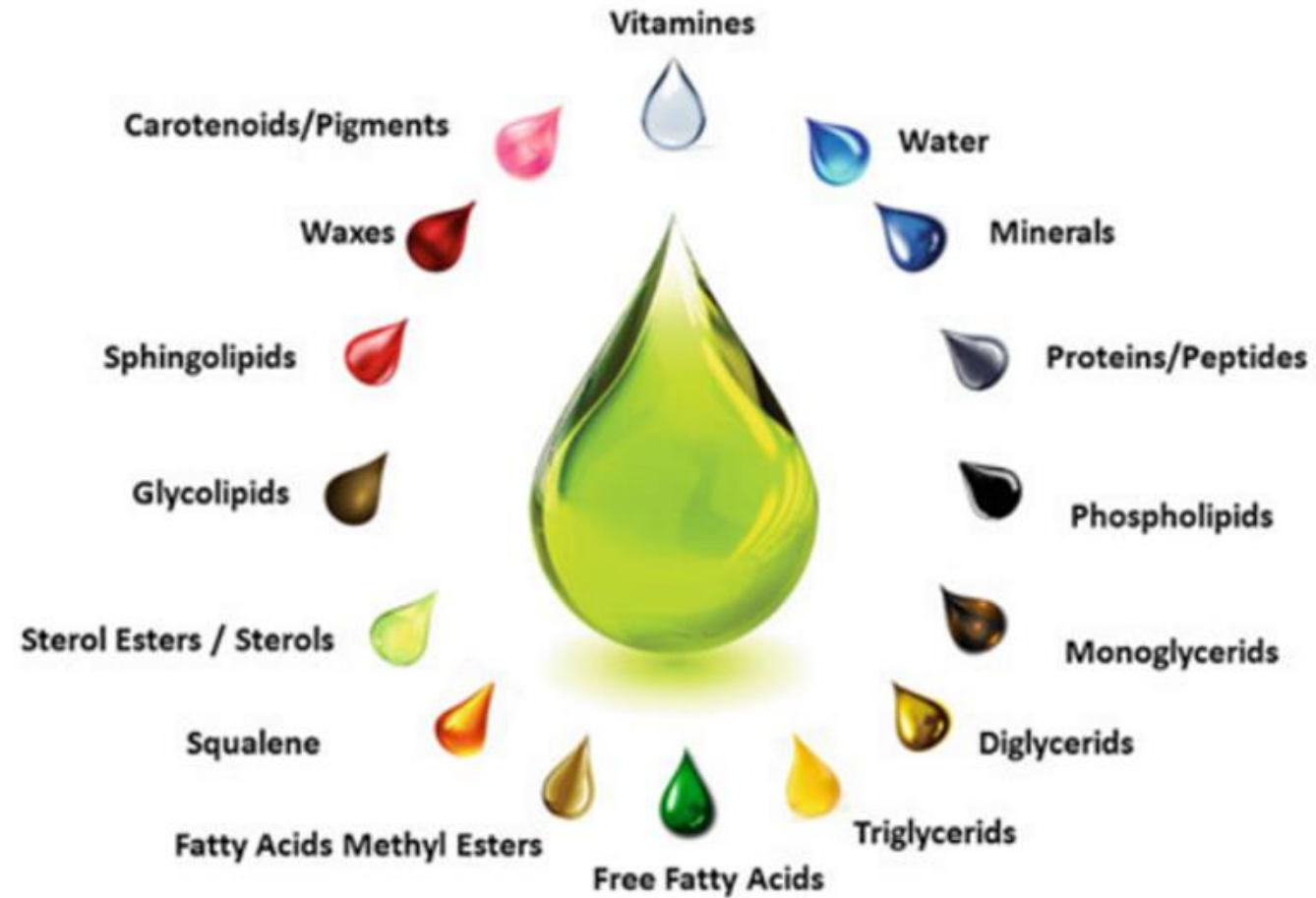
- به عنوان رنگ، آنتی اکسیدان یا مکمل غذایی استفاده می شود

❖ برخی با داشتن مواد معدنی و ویتامین های مفید برای سلامتی کشت می شوند

❖ فیکوبیلیپروتئین ها

❖ فیکوسیانین، به عنوان مکمل غذایی فروخته می شود

Microorganisms: Source of High Value Added Compounds



اهمیت و کاربرد ریز جلبکها

+ اقیانوس ها ۷۰ درصد از سطح زمین را تشکیل می دهند

+ ۳۰۰۰۰ نوع متابولیت از موجودات دریایی که به **گنجینه ای** تبدیل شده اند

+ اکتشاف و توسعه این ترکیبات پایه و اساس کاربرد آنها را در پزشکی، غذا، مواد و در سایر

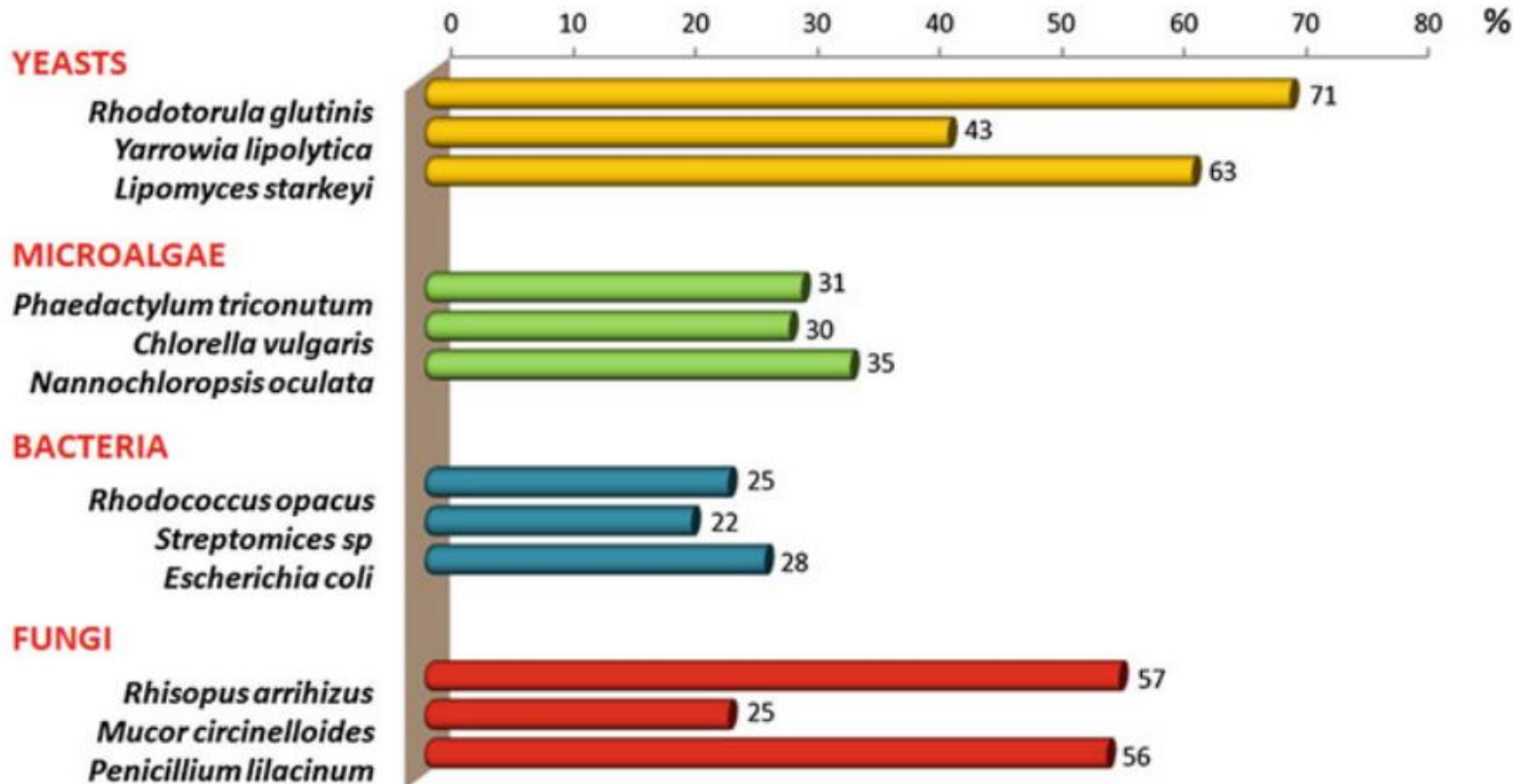
زمینه ها بنیان گذاشته است

+ در میان این ترکیبات زیست فعال مشتق شده از دریا، **سهم جلبک ها چیست؟**

ریز جلبکها به عنوان سوخت

ریز جلبکها به دلیل ویژگیهای منحصربهفردشان :

- سریع و قابلیت جذب بالا CO₂
- مناسب بودن رشد در مخازن کشت و حوضچههای باز
- توانایی رشد در شرایط مختلف
- عدم تداخل در زنجیره غذایی
- و بهره وری بالای تولید چربی
- زیست توده جلبک برای تولید سوخت زیستی در آینده



تعریف و انواع چربیها

❖ لیپید/چربی ها که در در محاوره به عنوان روغن های خوراکی شناخته می شود، از نیازهای لازم بدن موجودات زنده بوده

❖ که برای حیوان و انسان بخشی از طریق تغذیه باید تامین شود

❖ مهمترین منبع دانه های روغنی هستند.

❖ لیپیدها ← مولکول های زیستی ← ترکیبات آلی ← هیدروکربن

❖ مواد بنیادین برای ساختار و کارکرد سلول ها

❖ لیپیدها ترکیبات آلی نامتجانس

❖ در آب نامحلول در حلال های غیرقطبی محلول هستند

❖ آیا با حلال های آلی می توان آن ها را از بافت های مختلف استخراج کرد

تعریف و انواع چربیها

+ کاربرد خوراکی، بهداشتی، سلامتی و صنعتی

+ برای مثال

۱. آیا سویا برای سرخ کردن مناسب است یا مصرف خام؟

پروتئین آن بسیار بالاست

۲. روغن آفتابگردان هم برای **پخت و پز** و هم **خام** مناسب است،

۳. چربی کرچک صنعتی است

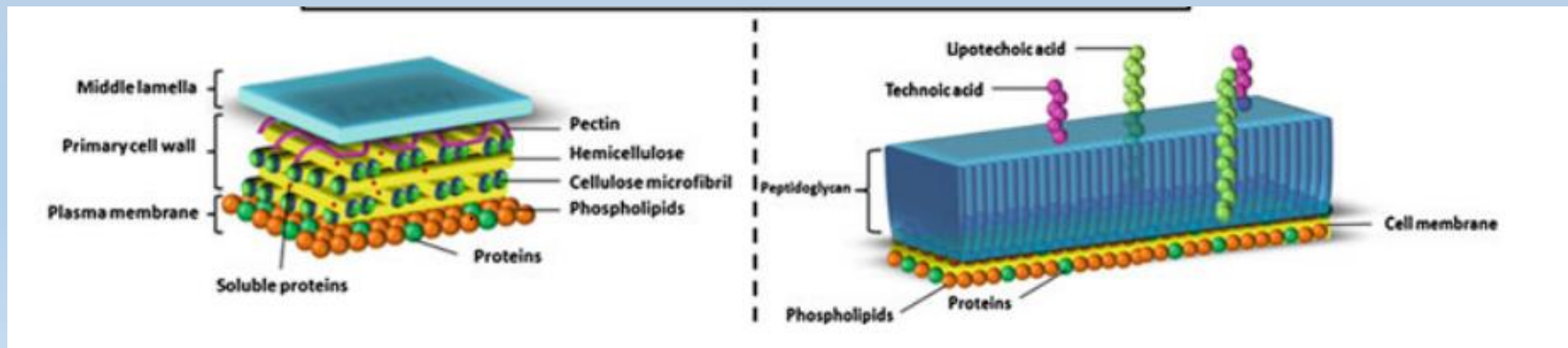
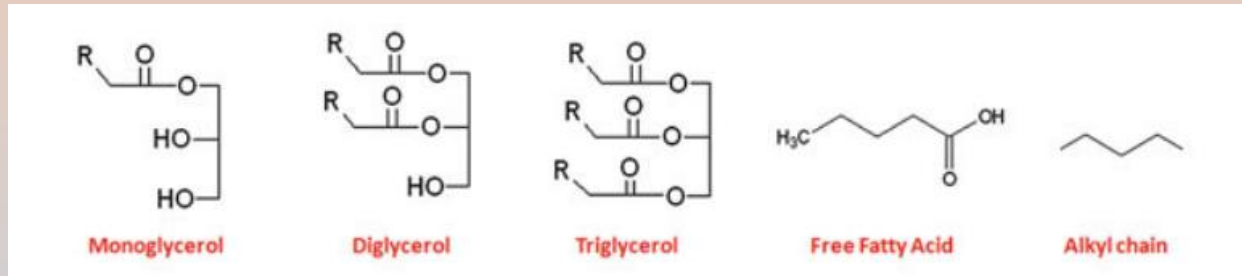
+ بسته به گیاه پایه، روغنهای بدست آمده تنوع ویژگی بسیار بالایی دارند

ترکیب اسیدهای چرب و رده‌های چربی در چربیهای میکروبی

Organism	Fatty acids composition (relative % w/w)							others
	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	
YEAST								
<i>Rhodotorula glutinis</i>	tr	17	1	2	42	21	9	9
<i>Yarrowia lipolytica</i>	tr	13	17	6	55	7	tr	2
<i>Lipomyces starkeyi</i>	tr	34	6	5	51	3	tr	1
MICROALGAE								
<i>Phaedactylum tricornutum</i>	9	27	45	1	5	tr	tr	C22:6 (13%)
<i>Chlorella sp</i>	tr	17	6	1	12	41	19	4
<i>Nannochloropsis oculata</i>	2	15	17	1	tr	1	1	C20:1 (57,5%)
BACTERIA								
<i>Rhodococcus opacus</i>	5	26	10	3	22	tr	tr	C15 (6%), C17 (13%), C17:1 (15%)
<i>Streptomices sp</i>	10	31	13	tr	tr	tr	tr	C15 (19%), others (27%)
<i>Escherichia coli</i>	4	37	9	4	5	tr	tr	C15 (12,2%), C17 (25,2%), C19 (2,9%)
FUNGI								
<i>Rhisopus arrhizus</i>	19	18	tr	6	22	10	12	13
<i>Mucor circinelloides</i>	tr	22	tr	5	38	10	15	10
<i>Penicillium chrysogenum</i>	3	13	tr	12	19	43	6	4

Compositions of fatty acids and classes of lipids in microbial oils

گروه بندی چربیها



تعریف و انواع چربیہا

Categories of Lipids

Triglycerides

Phospholipids

Steroids

Waxes

تعريف و انواع چربیها

Triglycerides

Fats

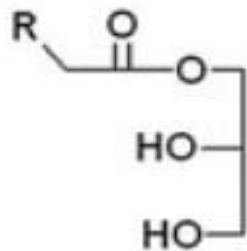


solid at room temperature
used by animals

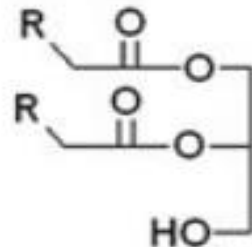
Oils



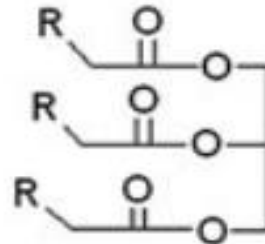
liquid at room temperature



Monoglycerol



Diglycerol



Triglycerol



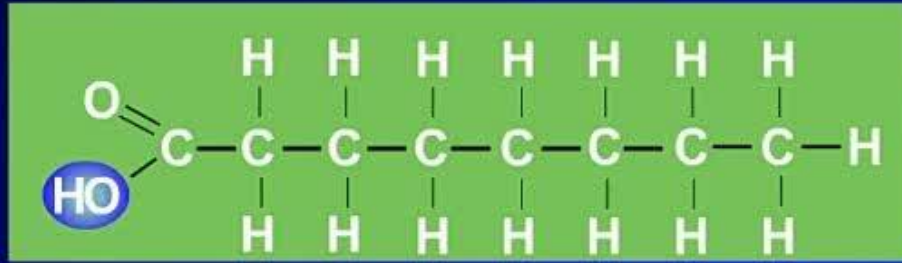
Free Fatty Acid



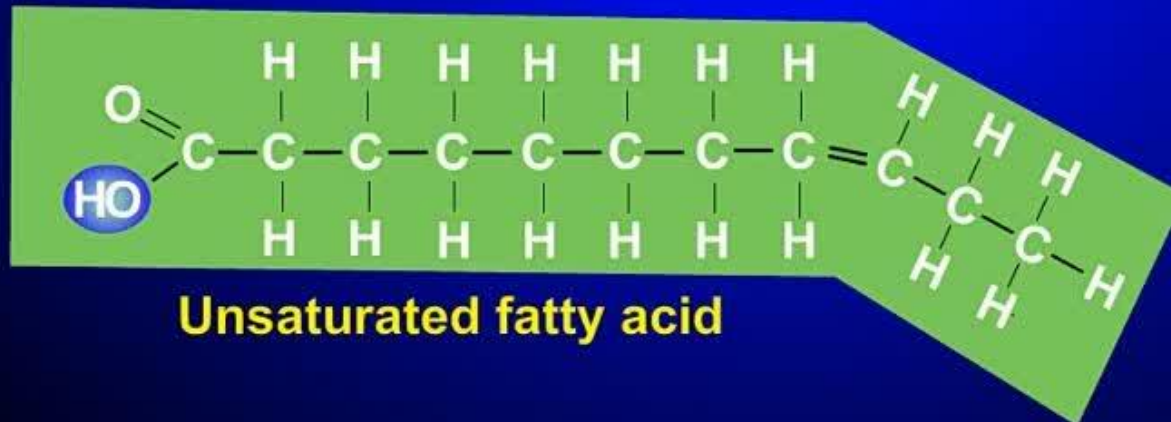
Alkyl chain

تعريف و انواع چربيها

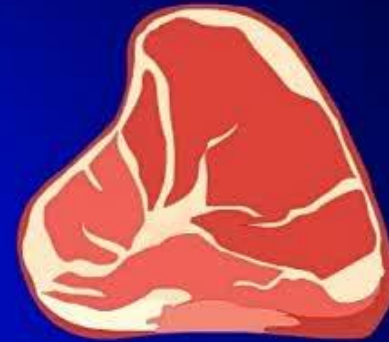
Fatty Acids



Saturated fatty acid

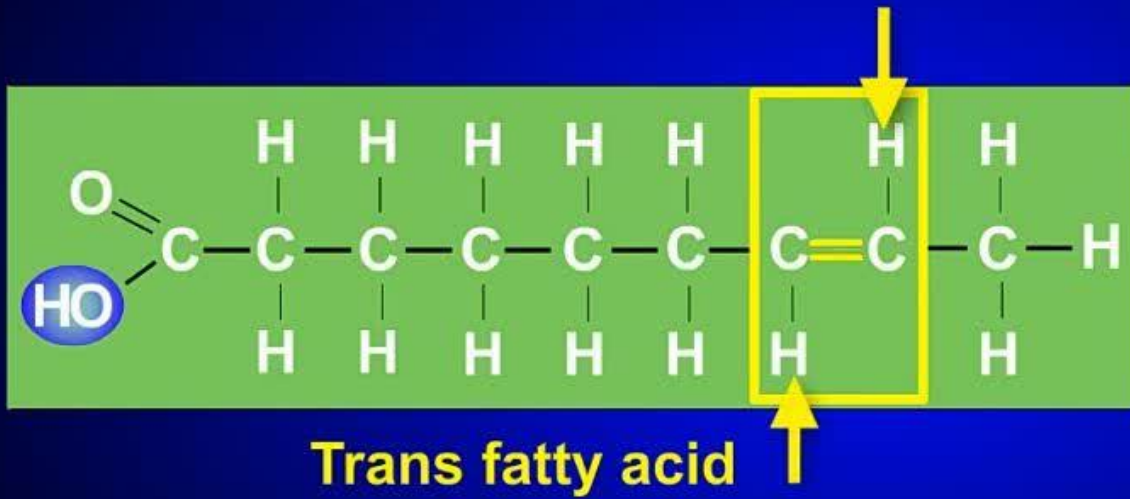


Unsaturated fatty acid

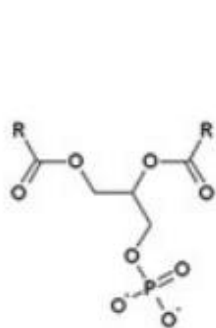
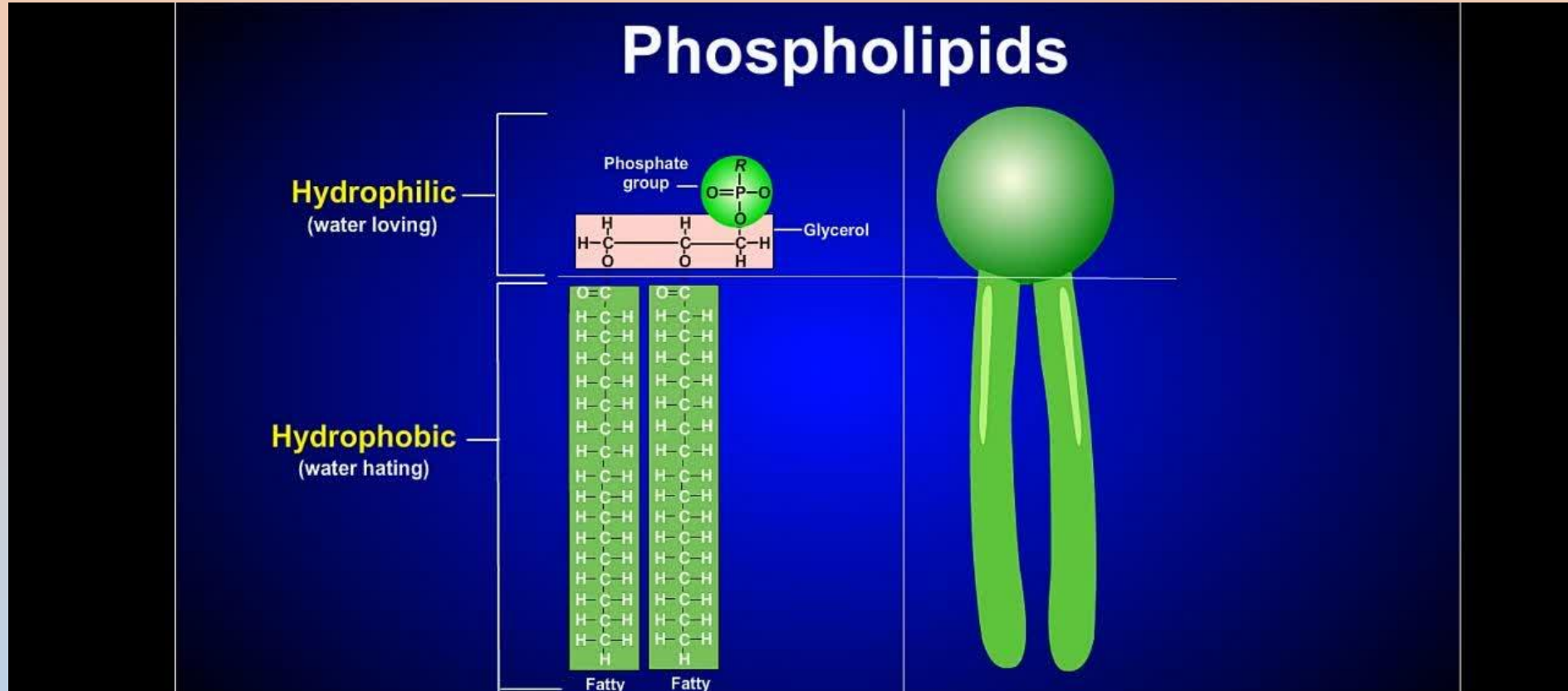


تعريف و انواع چربیها

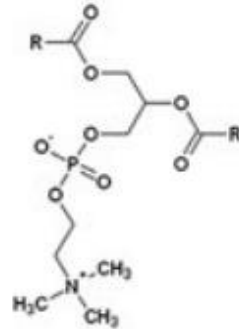
Fatty Acids



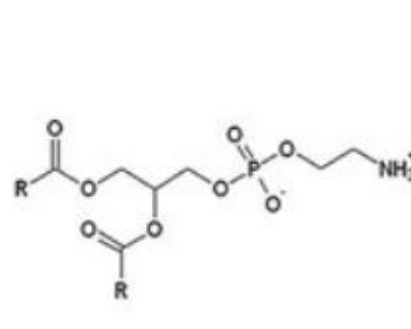
تعريف و انواع چربيها



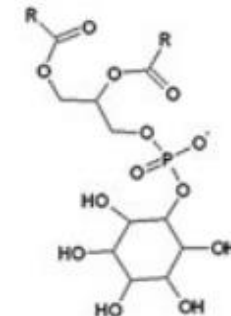
Phosphatidic acid



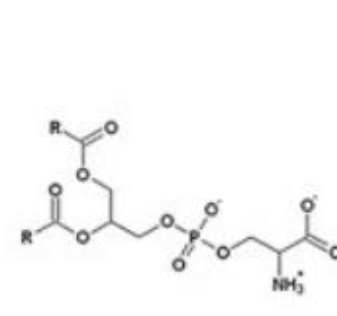
Phosphatidylcholine



Phosphatidylethanolamine



Phosphatidylinositol



Phosphatidylserine

تعريف و انواع چربیها

Steroids

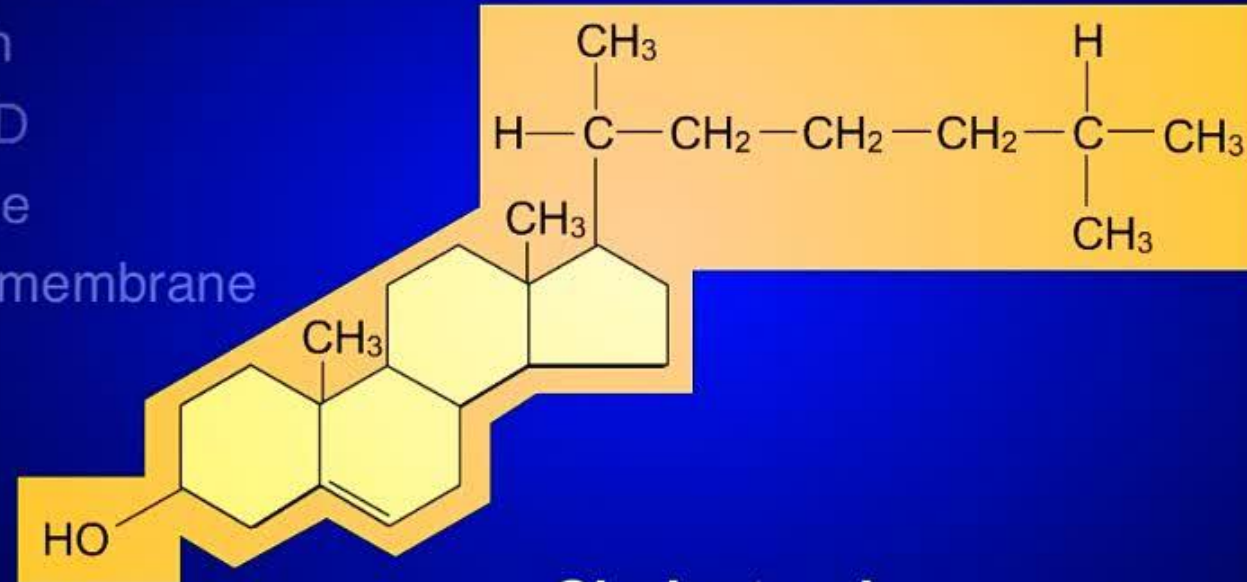
Testosterone

Estrogen

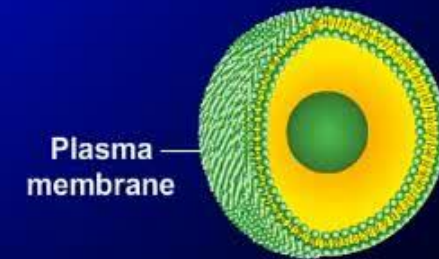
Vitamin D

Cortisone

Plasma membrane

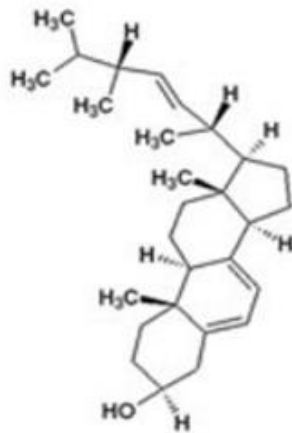
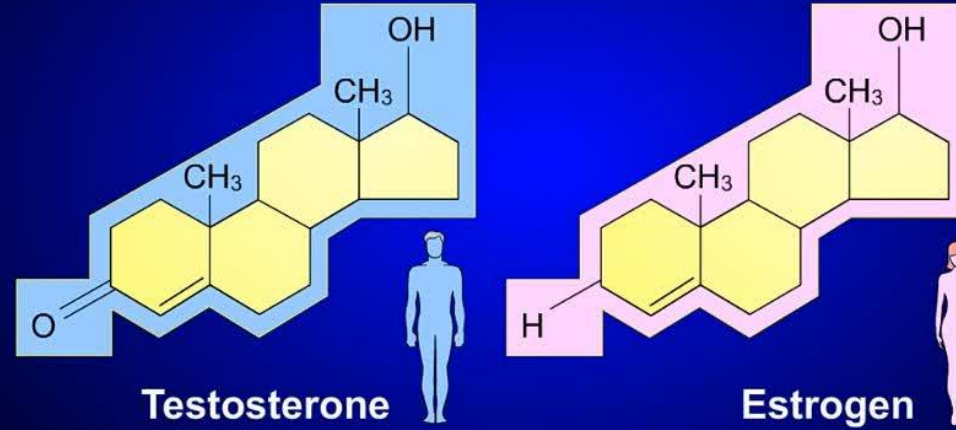


Cholesterol

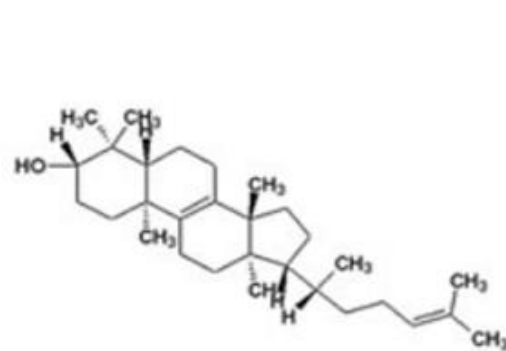


تعريف و انواع چربيها

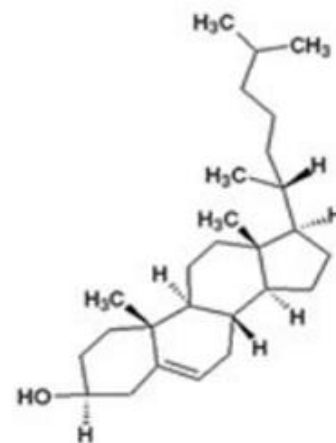
Steroids



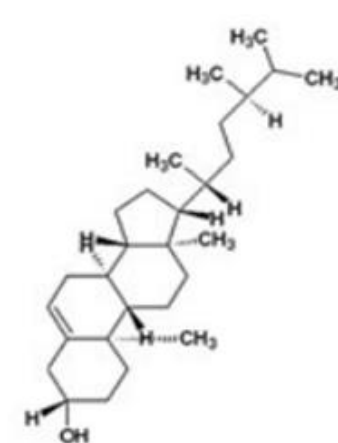
Ergosterol



Lanosterol



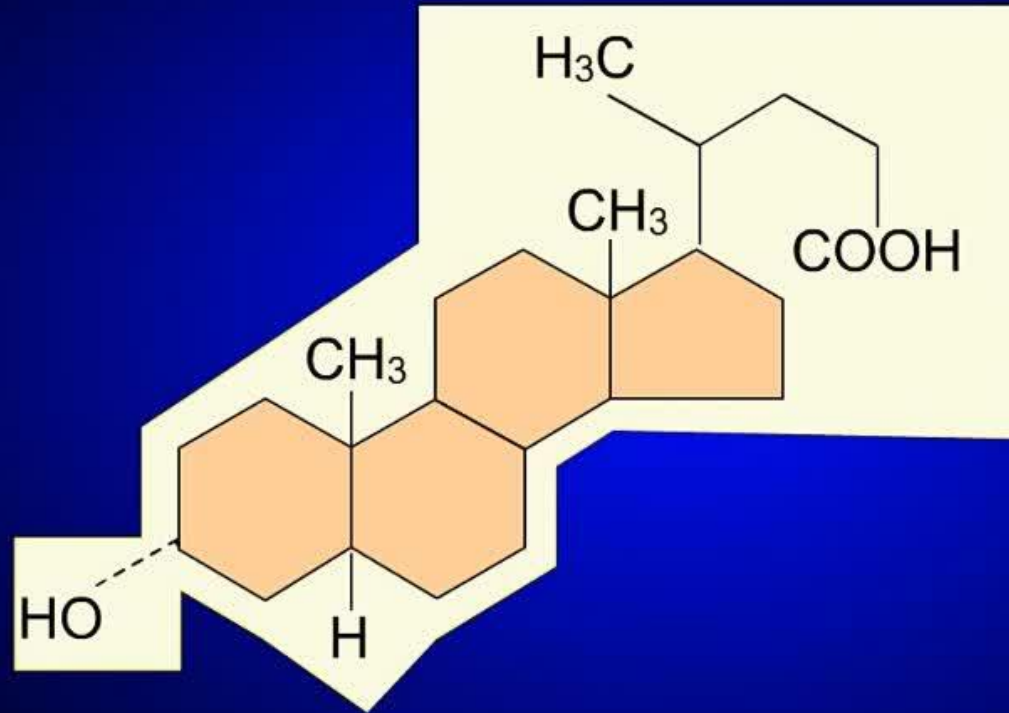
Cholesterol



Campesterol

تعريف و انواع چربیها

Waxes



مقدمه

□ تجزیه و تحلیل لیپیدها از ریزجلبکهای چرب

□ با استخراج کل لیپید شروع می شود

❖ سوکسله برای نمونه های خشک

❖ Bligh و Dyer برای نمونه های مرطوب

❖ Folch و برای نمونه های مرطوب

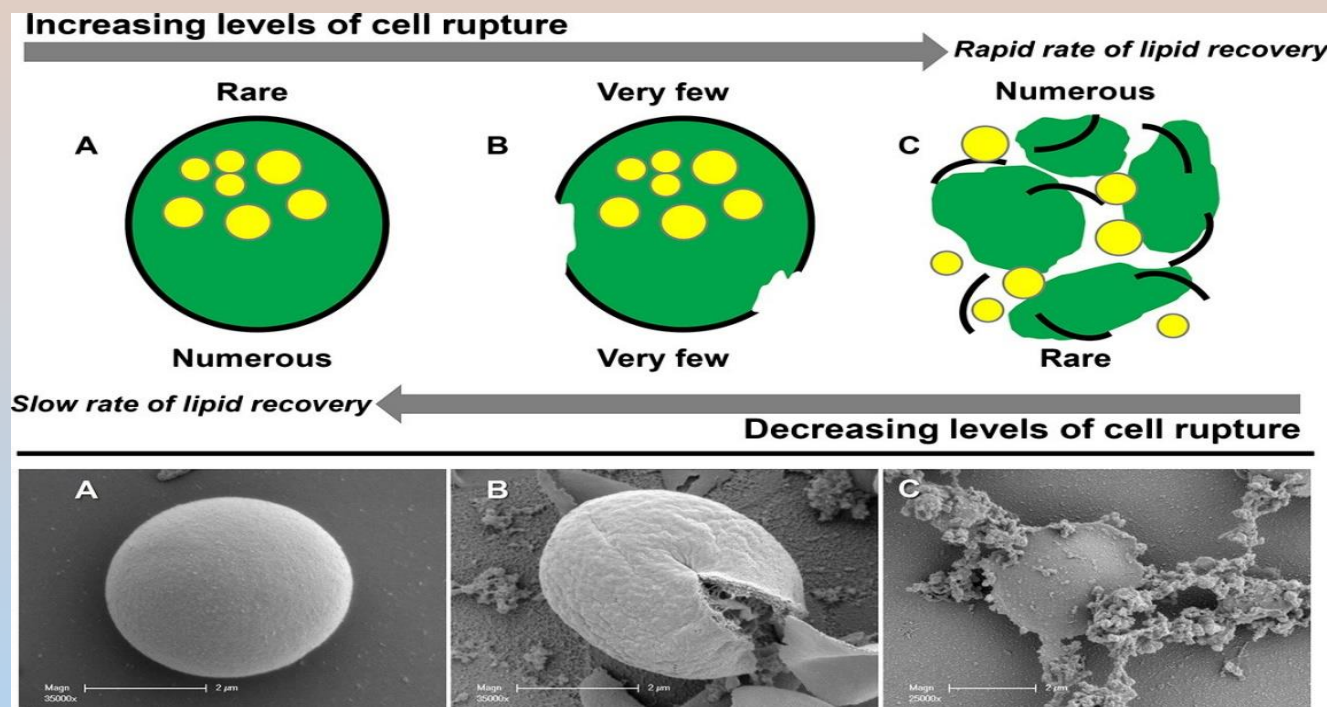
□ به دنبال آن

(۱) اندازه گیری چربی گرانشی

(۲) شناسایی و کمی سازی

پیش تیمار تخریب سلولها

□ برای شکستن سلول ریز جلبکها از پروتکلهای مختلفی می توان استفاده کرد شامل



❖ روشهای مکانیکی

❖ الکتریکی

❖ گرمایشی

❖ شیمیایی

❖ میکروویوی

❖ فرا صوت

❖ آنزیمی

□ انتخاب یک روش کارآمد تخریب سلولها با توجه به چندین نکته

پیش تیمار تخریب سلولها

❑ تخریب دیواره سلول

❖ **اول** روش های مکانیکی

❖ **دوم** روش های غیر مکانیکی

❑ اتوکلاو کردن؛ حرارت دادن ۱۲۱ درجه - فشار ۱/۵

❑ منجمد کردن؛ تشکیل بلور یخ، منهای ۲۰- درجه

❑ ذرات ریز شیشه ای

پیش تیمار تخریب سلولها : نمونه

□ کلرلا ولگاریس یک ریزجلبک یوکاریوتی آب شیرین متعلق به رده کلروفیتا است

□ مورد توجه ویژه ← انباشتن مقادیر زیادی ترکیبات ارزشمند شامل :

❖ پروتئین ها - اسیدهای چرب غیراشباع - کربوهیدرات ها - ویتامین ها - مواد معدنی - کلروفیل و

سایر رنگدانه ها

□ جنبه اقتصادی بودن استخراج تمام این ترکیبات درون سلولی، بسیار مهم است

□ این ترکیبات در قسمت های مختلف سلول ها قرار

✓ دیواره سلولی تا ۵۰ درصد ریزجلبک ها را تشکیل می دهد

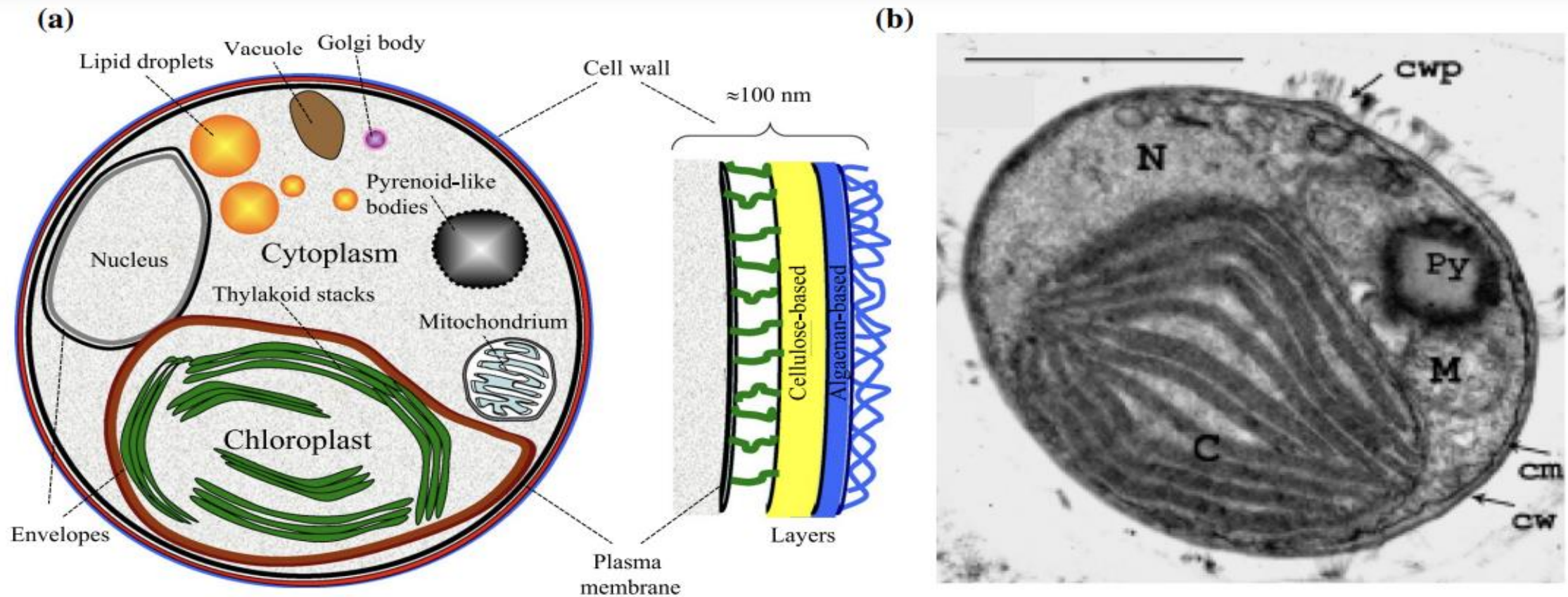
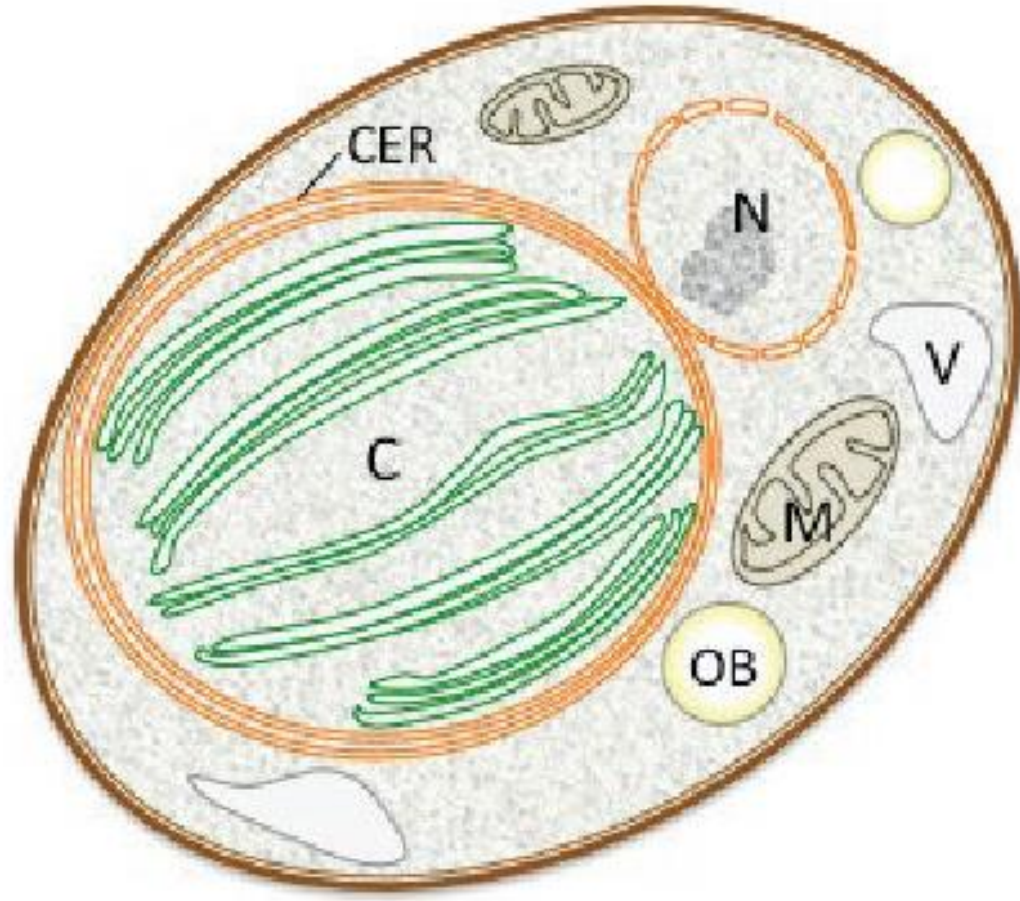


Fig. 1 **a** Schematic presentation of the structure of *Nannochloropsis gaditana* cell. The chloroplast contains a series of parallel lamellae formed by thylakoids. The cell wall contains cellulose- and algaenan-based layers. **b** Example of transmission electron microscopy (TEM) image of *Nannochloropsis* strain baik03. Here, **C** is the chloroplast,

M is the mitochondrion, **N** is the nucleus, **PY** is the pyrenoid-like bodies (the sites of carbohydrate storage), **cm** is the cell membrane, **cw** is the cell wall, and **cwp** is the cell wall papilla. Scale bar is 1 μ m. **b** with permission from [16]



Nannochloropsis یک ارگانیسم گلابی شکل،

کروی یا بیضی شکل

دیواره سلولی صاف، با یک پاپیلای کوچک (ساختاری

پلاگین مانند) است

دیواره های سلولی نسبتاً ضخیم و سفت و سخت،

ساختار دیواره سلولی بیشتر سلولز و بقیه آن از

بیوپلیمرهای آلجینان ، پروتئین ها،

یک غشای پلاسمایی داخلی توسط پایه هایی به دولایه

دیواره سلولی متصل می شود

پیش تیمار تخریب سلولها

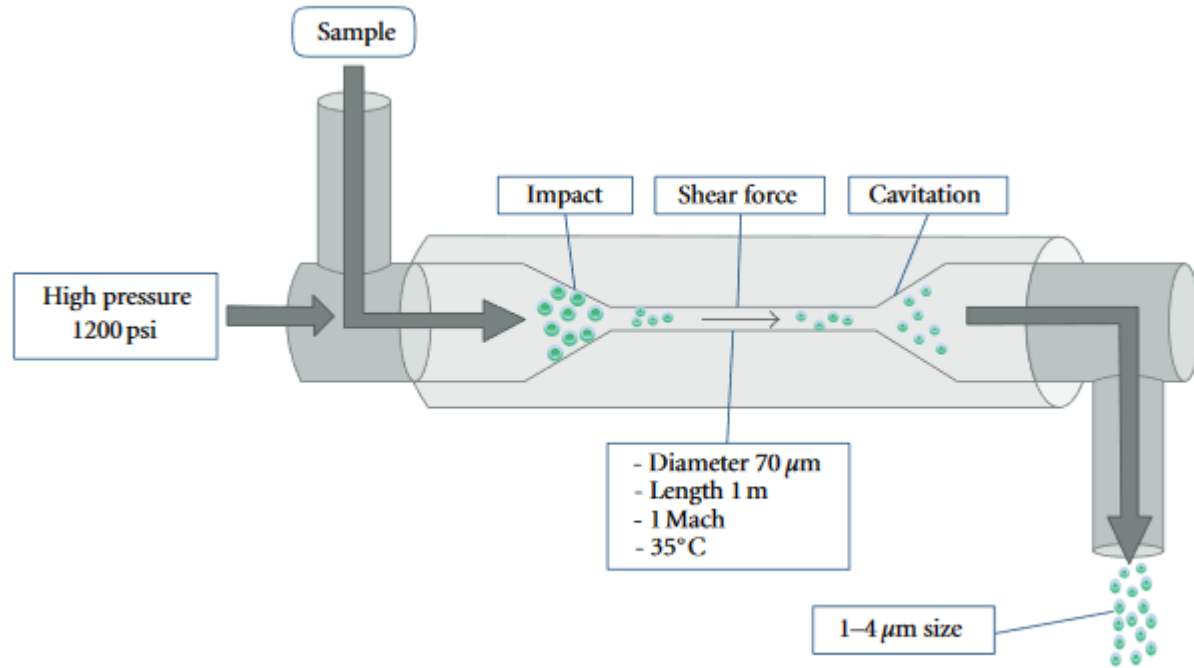
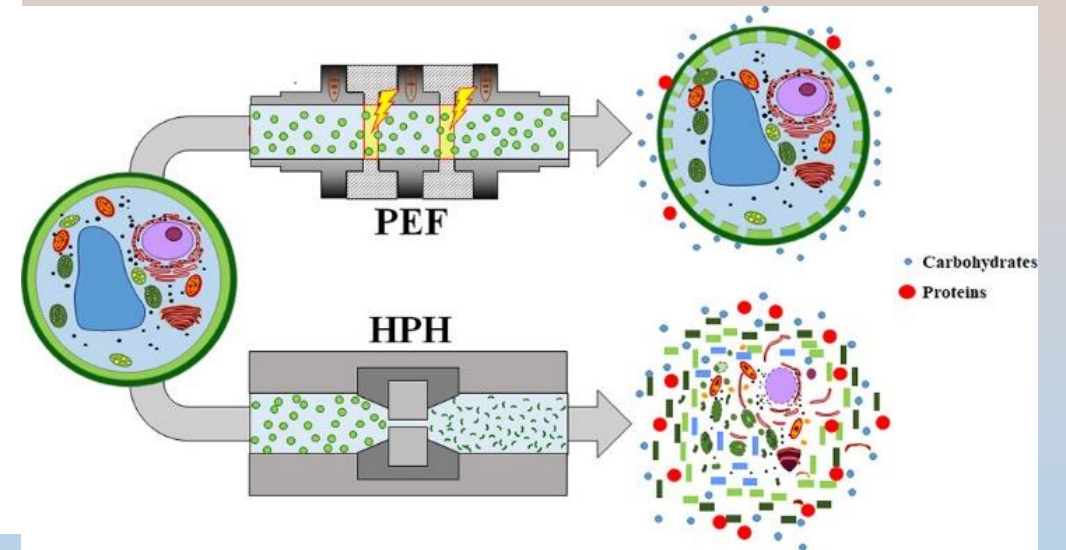


FIGURE 2: A schematic diagram of high-pressure homogenizer employed for pretreatment of algal biomass.



استخراج با حلال

□ لیپیدهای ساده اغلب در بافت‌های ذخیره ای انباشته می‌شوند

□ لیپیدهای درگیر معمولاً اجزای تشکیل دهنده غشاهای بیولوژیکی

□ حلالیت لیپیدها در حلال های مختلف

استخراج با حلال

□ لیپیدهایی (غیر قطبی) مانند **تری گلیسریدها** یا **استرهای استرول**

❖ در حلال های هیدروکربنی مانند هگزان آیل محلول هستند؟

❖ آیا در حلال های قطبی مانند متانول محلولند؟

□ اما، لیپیدهای قطبی مانند **فسفولیپیدها** چگونه اند در حلال های قطبی یا قطبی حل

می شوند ؟

□ بنابراین، برای استخراج لیپیدها از بافت های بیولوژیکی، **حلال** استخراج باید **لیپیدها را**

به آسانی حل کند

Polarity of Solvents

Water
Acetic Acid
Ethyleneglycol
Methanol
Ethanol
Isopropanol
Pyridine
Acetonitrile
Nitromethane
Dichylamine
Aniline
Dimethylsulfoxide
Ethylacetate
Dioxane
Acetone
Dichloroethane
Tetrahydrofuran
Dichloromethane
Chloroform
Diethylether
Benzene
Toluene
Xylene
Carbontetrachloride
Cyclohexane
Petroleum ether
Hexane
Pentane

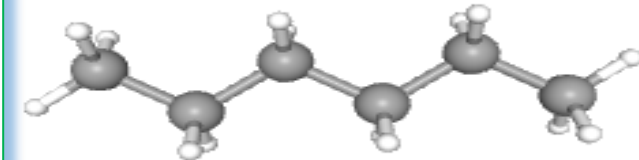
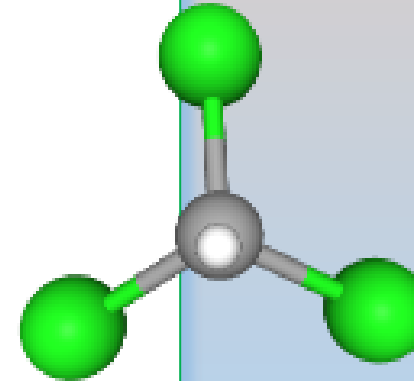
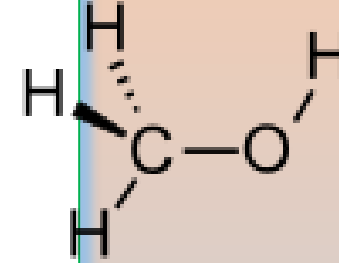
Polar

قطبی

CHCl₃

غير قطبی

Non-polar



استخراج با حلال

اما متداول ترین روش های مورد استفاده برای تعیین محتوای چربی کل در میکروآرگانیزم ها

❖ (۱) استخراج با هگزان به کمک سوکسله برای نمونه های خشک

❖ با استفاده از مخلوطی از کلروفرم و متانول

▪ (۲) توسط Folch و همکارانش

▪ (۳) و بلی و دایر

❖ این روش ها همچنان استانداردهای طلایی در آزمایشگاه های تحقیقاتی دانشگاهی و صنعتی هستند

Folch روش

□ سیستم سه فازی را برای استخراج لیپیدها از مواد بیولوژیکی توسعه دادند

□. این روش هنوز به عنوان کلاسیک ترین و مطمئن ترین روش برای استخراج کمی لیپیدها در

نظر گرفته می شود

▪ متکی بر مخلوطی از کلروفرم و متانول است

▪ تولید سیستم دو فازی

▪ ترکیبات قطبی در کدام فاز بالایی یا پایینی؟

▪ و لیپیدها کجا قرار خواهند داشت؟

Bligh and Dyer

❑ بیشترین استناد در رفرنس نویسی برای استخراج لیپیدها از مواد بیولوژیکی است

❑ اقتباس ساده ای از روش Folch است

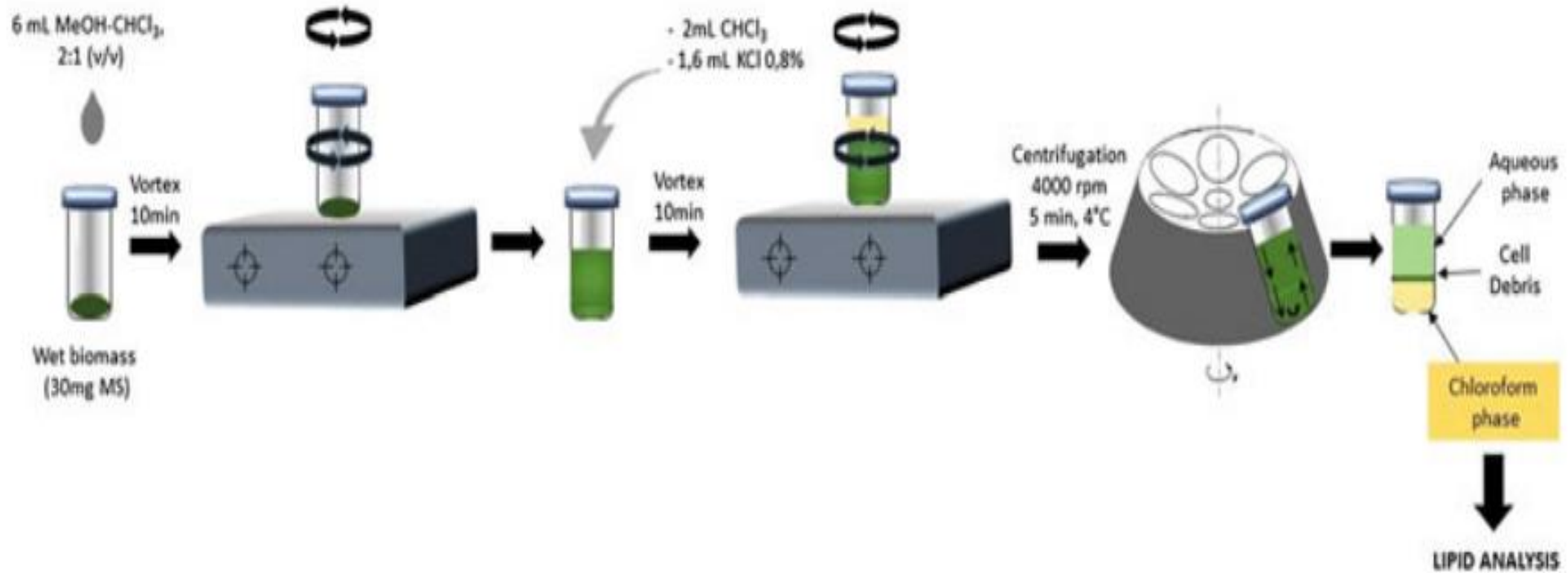
❑ تفاوت های اصلی بین پروتکل های Folch و همکاران. و Bligh و Dyer

❖ نه تنها نسبت حجم حلال به مقدار نمونه، بلکه نسبت بین خود حلال های و وجود یا

عدم وجود نمک در فاز آبی است.

❖ Bligh and Dyer مرحله استخراج کلروفرم- متانول ۱:۲ و ۱:۱ (۷/۷) چهار برابر حجم

Bligh and Dyer



2 Bligh and Dyer procedure

استخراج با سوکسله

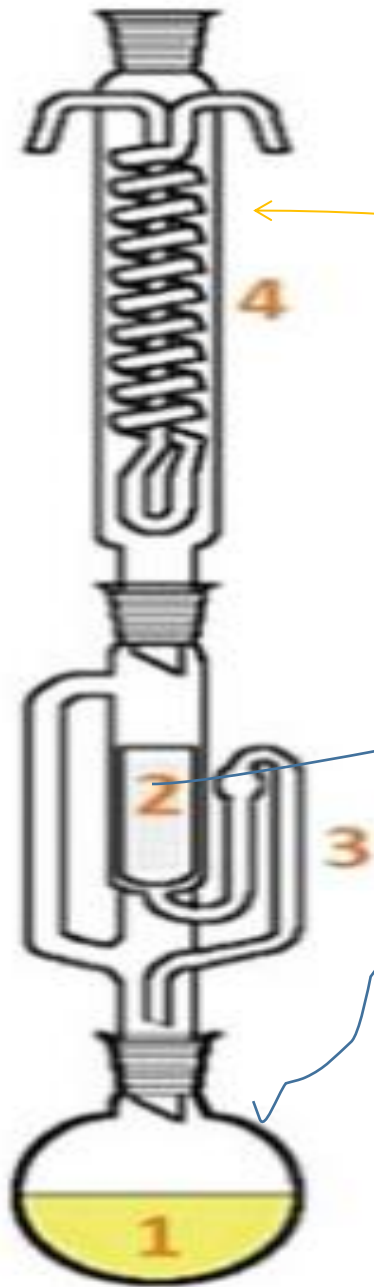
□ فرآیند و روش سوکسله در سال ۱۸۷۹ معرفی

□، محبوب ترین روش برای استخراج لیپید از مواد غذایی و محصولات طبیعی است

□ شستشوی مکرر لیپیدها از مواد جامد با یک حلال آلی

□ هگزان همچنین یکی از مطلوب ترین حلال های هیدروکربنی است

استخراج با سوکسله



- نمونه خشک شده به صورت ذرات ریز
- در یک ظرف سلولزی متخلخل قرار می گیرد
- یک محفظه استخراج (۲) قرار می گیرد
- که در بالای یک فلاسک تقطیر (۱)
- و زیر یک کندانسور (۴)
- فلاسک گرم می شود و حلال تبخیر می شود و به سمت کندانسور حرکت می کند
- در پایان فرآیند فلاسک حاوی حلال و لیپید
- حلال موجود در فلاسک (۱) تبخیر می شود
- و جرم سنجی و محاسبه مقدار چربی

استخراج به کمک مایکروویو

□ روش استخراج با کمک مایکروویو کارایی خوب برای ترکیبات چربی و

□ کاهش زمان استخراج ← کاهش انرژی مصرفی

□ این فناوری اولین بار در استخراج ترکیبات مختلف از محصولات غذایی بکار گرفته شد

(مرکبات، گیاهان معطر، غلات و غیره)

استخراج به کمک مایکروویو

✓ حلال توسط انرژی مایکروویو گرم می

شود که گرمایش و انتشار گرما یکنواخت
و بسیار کارآمد را در نمونه تضمین می
کند.

✓ FMASE برای تجزیه و تحلیل کنترل

کیفیت چربی ها و روغن ها در محصولات
گیاهی یا غذایی با راندمان بالاتر نسبت به
استخراج معمولی سوکسله در زمان
استخراج کوتاه و کاهش حلال و انرژی
مصرفی مناسب است.

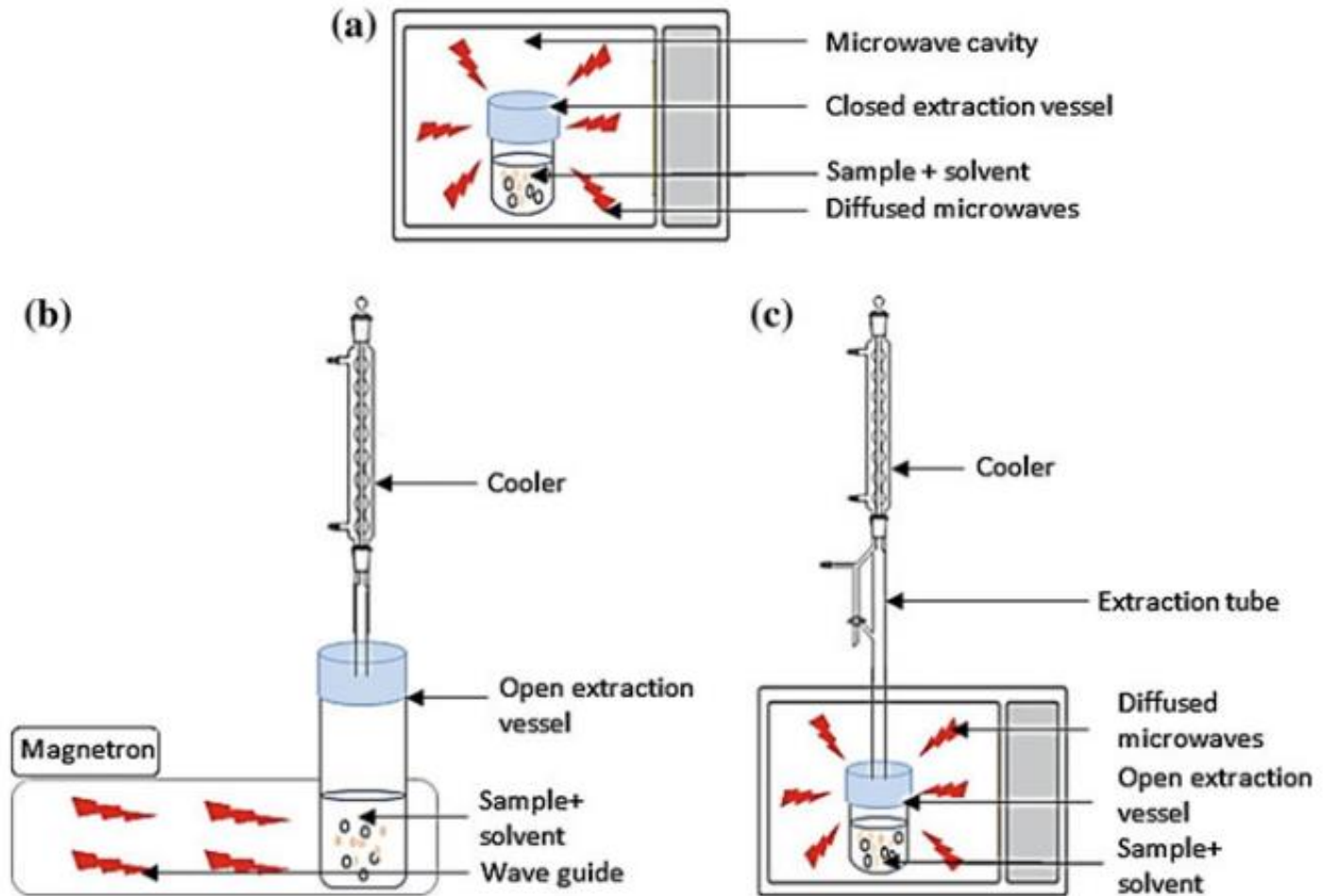


Fig. 3.6 Experimental set-up for laboratory microwave-assisted extraction apparatus

استخراج به کمک اولتراسوند/فرا صوت

□ این فرآیند شامل حرارت دادن ماده گیاهی غوطه ور در یک حلال با جذب بالا (مانند متانول) با

مایکروویو برای استخراج ترکیبات قطبی یا در یک حلال با جذب کم (مانند n-هگزان) برای

استخراج ترکیبات غیر قطبی بود

□ مخلوط (ماده گیاهی + حلال) برای دوره‌های کوتاه، بدون رسیدن به نقطه جوش، حرارت داده شد

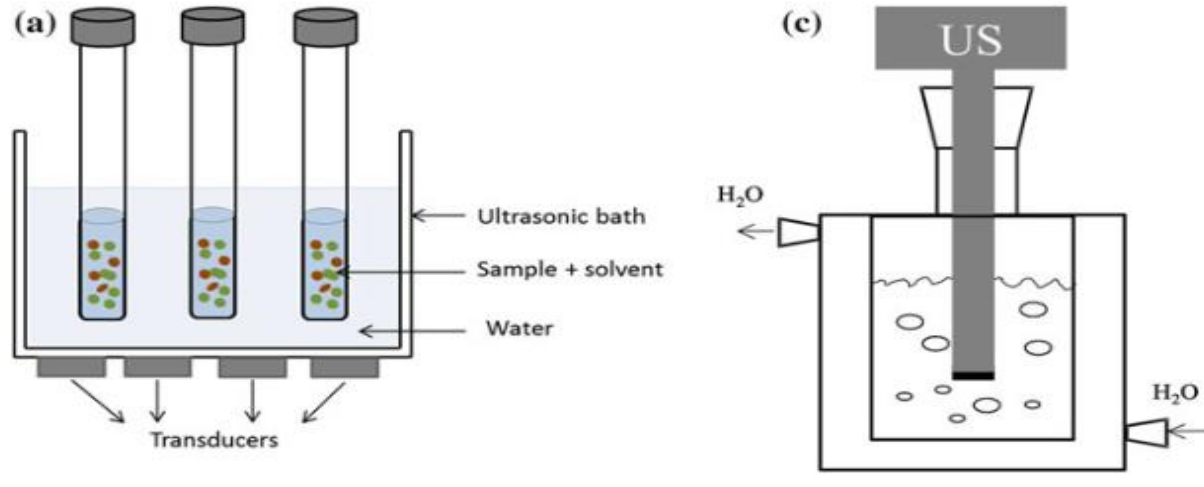
و سپس مراحل خنک‌سازی انجام شد.

□ **هنگامی که اجسام روغنی گیاه تحت تنش حرارتی شدید و فشار زیاد موضعی قرار**

می‌گیرند، گسیختگی آن‌ها سریع‌تر از استخراج معمولی می‌شود متابولیت‌ها آزاد شده

فراصوت

Collapse of cavitation bubble



Laboratory ultrasound apparatus: ultrasonic bath (a, b) and ultrasonic probe (c, d)



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:

روشهای استخراج چربی از جلبک های تک سلولی

سخنران:

سیروس سنگری

عضو هیأت علمی موسسه آموزش و ترویج جهاد کشاورزی

یکشنبه ۱۴۰۲/۱۱/۰۱ ساعت: ۱۱:۳۰ الی ۱۲:۴۵