Archive of SID.ir

Research Article

DOI: 10.22034/ijche.2023.369180.1251

This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license(CC BY-NC-ND 4.0).

# Investigating the Effect of Solvent Type on Chlorophyll and Carotenoid Extraction from Dry and Wet Microalgae

**L. Nedaei[1], H. Shokrkar[2*]**

1- Ph. D. Student of Chemical Engineering, Sahand University of Technology

2- Associate Professor of Chemical Engineering, Sahand University of Technology

**Email: h_shokrkar@sut.ac.ir**

## Abstract

*Chlorophyll and carotenoids can be extracted from microalgae using different solvents. In this study, for the first time, the extraction yield of pigments from mixed microalgae was compared in wet and dry conditions. The extraction yield of chlorophyll a, b and carotenoid using acetone solvent (without stirring) from wet algae equal 21.83%, 78.12%, and 66.01% respectively and from dry algae equals 61.34%,57.19%, and 53.27%, respectively. Then, to select the suitable solvent, acetone, ethanol, methanol, dimethyl ether, and tween (20% and 85% ) as non-ionic surfactants were used. Due to the difficult storage conditions of wet algae, dry algae was used in these experiments. The results show that the highest extraction yield of chlorophyll a, b, and carotenoid using tween (85%) without stirring on the tenth day is 91.70%, 87.12%, and 79.9% respectively. Also, the extraction yield with methanol solvent after 10 hours was 82.70%, 65.12%, and 62.90%. To reduce the extraction time using tween (85%), stirring was used. According to the results, the use of stirring increases the extraction rate of pigments, so that the extraction yield reached 98% within 50 min.*

Received: 9 November 2022
Accepted: 19 March 2023
Page Number: 56-65

**Keywords:**
Mixed Microalgae,
Solvent,
Extraction,
Chlorophyll,
Carotenoid

**Please Cite this Article Using:**

Nedaei, L., & Shekarkar, H. (2024). Investigating the Effect of Solvent Type on Chlorophyll and Carotenoid Extraction from Dry and Wet Microalgae. *Iranian Chemical Engineering Journal*, 23(132), 55-65, [In Persian].





Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



مقـــالـــه پـــژوهشی

DOI: 10.22034/ijche.2023.369180.1251

This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license(CC BY-NC-ND 4.0).

# بررسی تأثیر نوع حلال بر استخراج کلروفیل وکاروتنوئید از ریزجلبک خشک و مرطوب

لیلا ندایی[۱]، هانیه شکرکار[۲*]

۱- دانشجوی دکتری مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند

۲- دانشیار مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند

پیام نگار: h_shokrkar@sut.ac.ir

## چکیده

*کلروفیل و کاروتنوئیدها را می‌توان با استفاده از حلال‌های مختلف از ریزجلبک‌ها استخراج کرد. در این تحقیق برای نخستین بار، بازده استخراج این رنگدانه‌ها از ریزجلبک مختلط در شرایط مرطوب و خشک بررسی و مقایسه شد. بازده استخراج کلروفیل a،b و کاروتنوئید با استفاده از حلال استون (بدون همزدگی) از جلبک مرطوب به‌ترتیب برابر ۸۳/۲۱٪، ۷۸/۱۲٪، ۶۶/۰۱٪ و از جلبک خشک به‌ترتیب برابر با ۶۱/۳۴٪، ۵۷/۱۹٪ و ۵۳/۲۷٪ است. برای انتخاب حلال مناسب در استخراج رنگدانه‌ها از استون، اتانول، متانول، دی‌میتل اتر و سورفکتانت‌های غیریونی توئین (۲۰٪ و ۸۵٪) استفاده شد. به‌دلیل شرایط سخت نگهداری جلبک مرطوب، از جلبک خشک در این آزمایش‌ها استفاده شد. نتایج نشان می‌دهد که بالاترین بازده استخراج کلروفیل a، b و کاروتنوئید با استفاده از توئین ۸۵٪ در شرایط بدون همزدگی در روز دهم به‌ترتیب برابر با ۹۱/۷۰٪، ۸۷/۱۲٪، ۷۹/۹۰٪ است. نیز، بازده استخراج با استفاده از حلال متانول بعد از گذشت ۱۰ ساعت برابر ۸۲/۷۰٪، ۶۵/۱۲٪ و ۶۲/۹۰٪ به‌دست آمد. برای کاهش مدت زمان استخراج با استفاده از توئین ۸۵٪، از همزدگی استفاده شد. براساس نتایج، استفاده از همزدگی، باعث افزایش سرعت استخراج رنگدانه‌ها می‌شود، به‌طوری‌که در مدت ۵۰ دقیقه، بازده استخراج به ۹۸٪ رسید.*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۸
شماره صفحات: ۵۶ تا ۶۵

**کلیدواژه‌ها:**
ریزجلبک مختلط،
حلال،
استخراج،
کلروفیل،
کاروتنوئید

* تبریز، دانشگاه صنعتی سهند، دانشکده مهندسی شیمی

**استناد به مقاله:**
ندایی، لیلا، و شکرکار، هانیه. (۱۴۰۳). بررسی تأثیر نوع حلال بر استخراج کلروفیل وکاروتنوئید از ریزجلبک خشک و مرطوب ، *نشریه مهندسی شیمی ایران*، ۲۳(۱۳۲)، ۵۶-۶۵.



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



## ۱. مقدمه

ریزجلبک‌ها موجودات تک‌سلولی، میکروسکوپی هستند که توانایی تولید بیومولکول‌های با ارزش متنوع (مانند رنگدانه‌ها، اسیدهای چرب، استرول‌ها، ترکیبات فنلی، ترپن‌ها، آنزیم‌ها، پلی‌ساکاریدها، آلکالوئیدها و سموم) را دارند[۱]. در حال حاضر، محصولات طبیعی مبتنی‌بر ریزجلبک‌ها موضوع مورد علاقه در صنایع دارویی، غذایی و زیست‌فناوری است[۲]. کلروفیل‌ها یکی از ترکیبات زیست‌فعال مهمی هستند که به‌وسیلهٔ ریزجلبک‌ها به‌مقدار زیاد تولید می‌شوند. کلروفیل‌های a، b در ریزجلبک‌های سبز به‌وفور یافت می‌شوند[۳]. آن‌ها به‌عنوان یک عامل رنگ‌آمیزی طبیعی مواد غذایی استفاده می‌شوند و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ترمیم‌کنندهٔ زخم و هم‌چنین ضد جهش‌زایی هستند[۴]. کاروتنوئیدها هم‌چنین یک ترکیب فعال زیستی با ارزش بالا هستند که می‌توانند از گونه‌های ریزجلبکی نیز استخراج شوند[۵].

در چند دههٔ اخیر، تحقیقات گسترده‌ای درخصوص امکان تولید کلروفیل و کاروتنوئید از جلبک‌ها شروع شده است که این امر به‌دلیل بازده بالای فتوسنتز، سرعت رشد بالا، امکان کشت در تمام طول سال و فرایندهای پایین‌دستی آسان است[۶]. به‌طور وسیعی بررسی شده است که برخی از ریزجلبک‌ها در محدودیت‌های مختلف مانند نور، نمک و نیتروژن توانایی رشد و تولید مقادیر بالایی از رنگدانه‌ها را دارند[۷].

کلروفیل‌ها را می‌توان از ریزجلبک‌ها با استفاده از حلال‌های معمولی (مانند متانول، اتانول، استون و دی‌متیل‌اتر) یا باکمک روش مایعات فوق بحرانی پیشرفته (استفاده از $CO_2$ به عنوان حلال) استخراج کرد[۶]. امروزه استفاده از مایعات یونی نیز برای استخراج رنگدانه از ریزجلبک‌ها گزارش شده است[۷]. استخراج با حلال معمولی به قابلیت نفوذ حلال به غشای سلولی برای حل‌کردن لیپیدها و هم‌چنین لیپوپروتئین غشاهای کلروپلاست بستگی دارد[۴]. طبق مطالعات متانول یک حلال برتر است[۲]. با این حال، استخراج با متانول منجربه یک محلول بسیار ناپایدار می‌شود[۳]. براساس تحقیقات، فرمالدهید نسبت‌به متانول ۹۰٪، اتانول ۱۰۰٪، استون ۹۰٪ برای استخراج کلروفیل حلال برتری است[۸]. با این حال، فرمالدهید به‌دلیل ماهیت سمی آن برای استخراج کلروفیل‌های غذایی ارجحیت ندارد[۱]. پیش‌تیمارهای اضافی (به‌عنوان مثال، مایکروویو، اولتراسوند، همگن‌سازی، آسیاب) بازده فرایند استخراج را افزایش می‌دهد[۹،۱۰]. در این پژوهش بعد از عملیات کشت و برداشت ریزجلبک، فرایند استخراج کلروفیل a, b و کاروتنوئید از ریزجلبک مختلط با استفاده از حلال‌های مختلف انجام شد. باتوجه‌به نتایج تعدادی از تحقیقات در رابطه با تولید و استخراج کلروفیل و کاروتنوئید از کشت خالص جلبک، در این تحقیق از کشت‌های مختلط جلبک استفاده شده است. استفاده از کشت خالص منجربه هزینه‌های استریلیزاسیون نگهداری و فرایند کشت و سبب بالارفتن هزینه‌های سرمایه گذاری و عملیاتی می‌شود؛ لذا استفاده از کشت مختلط، به‌طور قابل توجهی باعث کاهش هزینه‌های تولید می‌شود[۱۲،۱۱]. هم‌چنین با استفاده از کشت‌های مختلط، از آن‌جایی که نیازی به ضدعفونی‌کردن محیط کشت نیست، کنترل و عملیات فرایند آسان‌تر و باعث توجیه‌پذیری اقتصادی فرایند خواهد شد. طبق پژوهشی[۴] که برای تولید رنگدانه از جلبک انجام گرفت، هزینهٔ استفاده از کشت جلبک مختلط، تقریباً نصف هزینهٔ تمام‌شده برای کشت خالص جلبک است. بنابراین، هدف از این مطالعه مقایسهٔ جلبک خشک و مرطوب، مقایسهٔ حلال‌های مختلف (استون، اتانول، متانول، دی‌میتل اتر و سورفکتانت غیریونی توئین ۲۰٪ و ۸۵٪ در شرایط بدون عمل همزدگی ) در استخراج رنگدانه از محیط کشت مختلط است. هم‌چنین برای اولین بار بررسی استخراج رنگدانه از محیط کشت مختلط جلبک به‌کمک سورفکتانت غیریونی توئین ۸۵٪ مطالعه می‌شود.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲-۱ کشت ریزجلبک

گونه‌های مختلط و بومی ریزجلبک از آب استخر ائل‌گولی واقع در استان آذربایجان شرقی، شهرستان تبریز جمع‌آوری شد. سپس عملیات کشت ریزجلبک ابتدا در ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری همراه با عمل همزدگی انجام شد. بعد از رشد ریزجلبک‌ها در ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری، از این محیط، برای کشت اصلی ریزجلبک در فتوبیوراکتور صفحه‌ای تخت ( با حجم کل ۱۲ لیتر و حجم کاری ۱۰ لیتر) استفاده شد. نوردهی با لامپ‌های فلورسنت با شدت نور $260\ \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ انجام و برای اندازه‌گیری و ثبت شدت نور از نورسنج استفاده شد. شرایط عملیاتی فتوبیوراکتور در دمای محیط،



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



pH برابر ۷ با دبی برابر ۸ لیتر بر دقیقه هوادهی شد. محیط کشت ریزجلبک در ارلن و فتوبیوراکتور، شامل سدیم نیترات، بی‌کربنات سدیم، پتاسیم فسفات، سدیم کلرید، پتاسیم کلرید و منیزیم سولفات به‌ترتیب با غلظت‌های گرم بر لیتر به‌ترتیب با غلظت‌های ۰/۸، ۱/۲۵، ۰/۲، ۰/۱، ۰/۱، ۰/۱g/l است.

### ۲-۲ آنالیز کاروتنوئید و کلروفیل‌ها

در تحقیق حاضر میزان کل رنگدانه‌ها با روش اسپکتروفتومتریک اندازه‌گیری شده است. برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل a, b ابتدا ۲ mL از نمونهٔ مورد نظر برداشته شد و به‌مدت ۵ min و در ۴۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد، سپس به نمونهٔ حاصل از سانتریفیوژ پس از دو بار شست‌وشو با آب مقطر و دور ریختن مایع رویی، ۲ میلی‌لیتر حلال استون ۸۰٪ اضافه شد. در مرحلهٔ بعد، محلول حاصل به‌مدت ۵ min و در ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. هنگامی‌که رسوب حاصل سفید شد، جذب مایع رویی در دو طول موج ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. چنان‌که رسوب به‌طور کامل سفید نشده باشد، باید حجم حلال را تا زمانی که رسوب کاملاً سفید شود، اضافه کرد. درنهایت محتوی کلروفیل a, b از معادلات زیر حساب شد[۱۲].

$$Chl_a = 16.72\ A_{663} - 9.16\ A_{646} \quad (۱)$$

$$Chl_b = 34.09\ A_{646} - 15.28\ A_{663} \quad (۲)$$

اندازه‌گیری محتوای کاروتنوئیدها نیز همانند مراحل بالا انجام شد، فقط جذب مایع رویی در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه گیری و از معادلهٔ زیر استفاده شد[۱۲].

$$Carotenoeid = (1000\ A_{470} - 1.63\ Chl_a - 104.9\ Chl_b) / 221 \quad (۳)$$

### ۲-۳ بررسی استخراج کاروتنوئید و کلروفیل از جلبک مرطوب و خشک

از حلال استون برای مقایسهٔ بازده استخراج کلروفیل و کاروتنوئید از جلبک مرطوب و خشک استفاده شد. البته لازم به ذکر است که این آزمایش‌ها در شرایط بدون همزدگی، pH برابر ۷ و دمای محیط انجام می شوند. بازده استخراج کاروتنوئید و کلروفیل در زمان‌های ۲۰، ۳۰، ۶۰، ۷۵ و ۹۰min اندازه‌گیری شد. تمام آزمایش‌های این تحقیق، دو مرتبه تکرار شده است.

### ۲-۴ بررسی استخراج کاروتنوئید و کلروفیل‌ها از جلبک خشک با استفاده از حلال‌های مختلف آلی و بدون همزدگی

استخراج رنگدانه‌ها از جلبک مختلط، در بازه‌های زمانی مختلف و با استفاده از حلال‌های مورد قرار گرفته است. استخراج به‌روش حلال موجب کاهش هزینه از نظر زیرساخت‌ها و فرایندهای عملیاتی می‌شود. باتوجه‌به مطالعات انجام‌گرفته، حلال‌های اتانول و متانول ۱۰۰-۹۰٪ (حجمی/ حجمی) بیشتر استفاده شده‌اند[۱۰-۱۲]. بنابراین در این تحقیق، برای استخراج کاروتنوئید و کلروفیل a، b از حلال‌های متانول ۹۵٪، اتانول ۹۹/۹ ٪، استون ۸۰٪، دی‌متیل اتر استفاده شد. هم‌چنین، آزمایش‌ها در شرایط بدون همزدگی، pH برابر ۷، دمای محیط و در بازه زمانی ۲ روز انجام شده است. برای بررسی استخراج رنگدانه به‌روش‌های شیمیایی، از سورفکتانت‌های غیر یونی ۲۰٪ و ۸۵٪ در مدت زمان ۱۰ روز در شرایط بدون همزدگی،pH برابر ۷و دمای محیط استفاده شده است.

### ۲-۵ بررسی استخراج کاروتنوئید و کلروفیل از جلبک خشک همراه با همزدگی

برای دست‌یابی به بازده بالا، میزان استخراج کاروتنوئید و کلروفیل a با استفاده از سورفکتانت غیر یونی توئین ۸۵٪ و همراه همزدگی (۳۰۰ rpm)، pH برابر ۷ بررسی شد.

## ۳. بحث و نتایج

### ۳-۱ انتخاب جلبک مرطوب یا خشک برای استخراج کاروتنوئید و کلروفیل

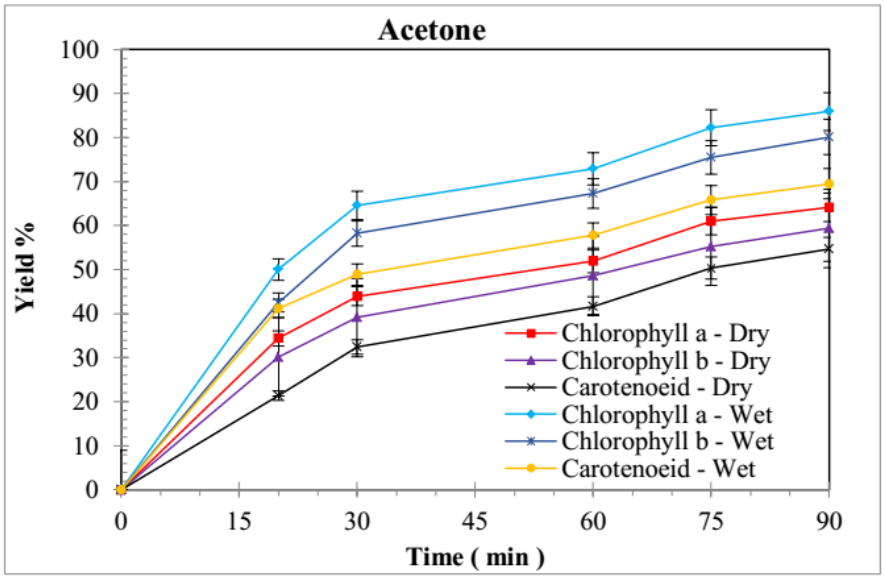
نتایج استخراج کاروتنوئید و کلروفیل برای هر دو نوع جلبک (مرطوب و خشک) در شرایط عملیاتی دمای محیط، بدون همزدگی و pH برابر ۷ در نمودارهای شکل (۱) ارائه شده است.



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir






**شکل ۱. بررسی بازده استخراج کاروتنوئید و کلروفیل a، b از جلبک مرطوب و خشک به‌وسیلهٔ حلال استون (دمای محیط، بدون همزدگی و pH خنثی).**

**Figure 1. Comparison of extraction efficiency of chlorophyll a, b and carotenoid from dry and wet algae using solvent acetone (without stirring, ambient temperature and neutral pH).**

بازده استخراج کاروتنوئید و کلروفیل a ،b به‌وسیلهٔ حلال استون از جلبک خشک در زمان ۹۰ دقیقه به‌ترتیب ۶۱/۳۴٪، ۵۷/۱۹٪ و ۵۳/۲۷٪ و برای جلبک مرطوب به‌ترتیب دارای بازده ۸۳/۲۱٪، ۷۸/۱۲٪ و ۶۶/۰۱٪ است. مطالعات اندکی، استخراج کاروتنوئید و کلروفیل را از جلبک مرطوب و خشک مقایسه کرده‌اند. در مطالعهٔ مارتلی و همکاران[۱۳] با روش‌های آون، نور خورشید، انجمادی و پاششی، خشک‌کردن جلبک *ایزوکریسس گالبانا*[1] و نیز جلبک مرطوب را بررسی کردند. نتایج نشان می‌دهد که عمل خشک‌کردن جلبک باعث کاهش بازده استخراج کاروتنوئید و کلروفیل a در مقایسه با بازده استخراج جلبک مرطوب می‌شود[۸]. در پژوهش سامبیت و همکاران[۱۰]، مقایسهٔ بازده استخراج کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها از زیست‌تودهٔ ریزجلبک مرطوب و خشک‌شده (*کلرلا ترموفیلا*) با استفاده از اتانول بررسی شده است. نتایج نشان می‌دهد که بازده استخراج کلروفیل از زیست‌تودهٔ مرطوب ۲/۷ برابر بیشتر از زیست‌تودهٔ خشک است. در حالی‌که بازده استخراج کاروتنوئید ۶/۷ برابر بیشتر بود. البته تحقیقات نشان می‌دهد که، دما منجربه تخریب کاروتنوئید و کلروفیل می‌شود[۱۰]. استفاده از جلبک مرطوب نه‌تنها بازده استخراج بالاتری نسبت‌به جلبک خشک دارد، بلکه جلبک مرطوب می‌تواند باعث کاهش هزینهٔ عملیاتی با حذف مرحلهٔ خشک‌کردن شود؛ اما از کاستی‌های فرایند استخراج رنگدانه از جلبک مرطوب، زمان نگهداری و افزایش هزینه در جابه‌جایی است[۳]. زیرا جلبک‌های مرطوب بعد از گذشت یک هفته در شرایط دمای محیط از بین می‌رود، لذا جلبک مرطوب را باید بلافاصله بعد از مرحلهٔ کشت و برداشت استفاده یا در دمای زیر ۲۰°C- نگهداری کرد[۱۴]. در این تحقیق نیز باتوجه‌به شرایط سخت نگهداری جلبک مرطوب و انجام آزمایش‌های متعدد در مدت زمان‌های طولانی، در ادامهٔ آزمایش‌ها از جلبک خشک برای بررسی میزان استخراج کاروتنوئید و کلروفیل استفاده شده است.

### ۳-۲ بررسی استخراج کاروتنوئید و کلروفیل‌ها از جلبک خشک با استفاده از حلال‌های آلی، بدون همزن

محتوای کاروتنوئید و کلروفیل‌های به‌دست آمده از جلبک خشک با استفاده از حلال‌های انتخابی در شرایط بدون همزدگی، pH خنثی، دمای محیط و در بازه‌های زمانی مختلف در شکل (۲) نشان داده شده است.

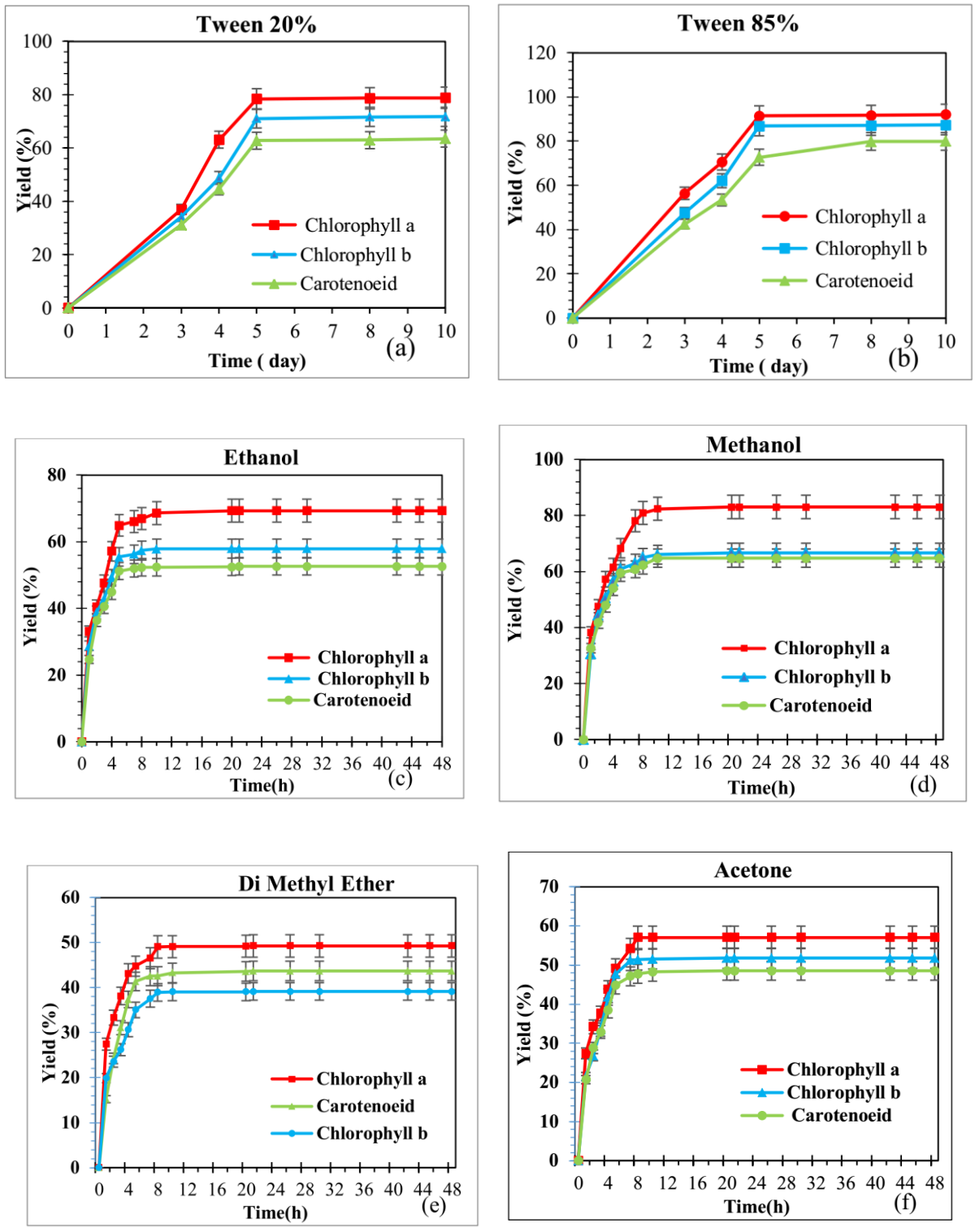
1. I. Galbana



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir






شکل ۲. بررسی محتوای استخراج کاروتنوئید و کلروفیل به‌وسیلهٔ (a) توئین ۲۰٪ (b) توئین ۸۵٪ (c) اتانول (d) متانول (e) دی متیل‌اتر (f) استون (دمای محیط، بدون عمل همزدگی و pH برابر ۷).

**Figure 2. Chlorophyll and carotenoid extraction content by (a) tween20%, (b) tween) 85% , (c) ethanol, (d) methanol, (e) dimethyl ether, (f) acetone (without stirring, at ambient temperature and pH equal to 7).**



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



انتخاب حلال مهم‌ترین عامل برای استخراج مؤثر رنگدانه‌ها از زیست‌توده‌هاست. ظرفیت استخراج‌پذیری حلال به نفوذپذیری دیوارهٔ سلولی ریزجلبک بستگی دارد. باتوجه‌به نتایج، سورفکتانت غیریونی توئین ۸۵٪ (شکل (۲)-b) از بالاترین بازده برخوردار است. هرچند استخراج کاروتنوئید و کلروفیل و اثر توئین بر ریزجلبک کند است، اما بعد از گذشت ۱۰ روز، میزان استخراج کاروتنوئید با توئین ۸۵٪ از ۵۳/۶۰٪ به ۷۹/۹۰٪، کلروفیل a از ۵۶/۳۶٪ به ۹۱/۹۹٪، کلروفیل b از ۴۷/۵۱٪ به ۸۷/۲۹٪ افزایش یافته است. سورفکتانت توئین نه‌تنها نقش منبع کربن را به‌خوبی ایفا می‌کند، بلکه موجب تقویت جذب مواد مغذی به تودهٔ سلولی می‌شود. به این مفهوم که توئین، نفوذپذیری به غشای سلولی را افزایش می‌دهد. بعد از توئین ۸۵٪، بالاترین میزان استخراج کاروتنوئید و کلروفیل a، b به‌ترتیب مربوط‌به متانول (شکل (۲)-d)، اتانول (شکل (۲)-c)، استون (شکل (۲)-e) و دی‌متیل اتر (شکل (۲)-f) است. در تمام حلال‌های مورد استفاده، در زمان‌های اولیه میزان استخراج کاروتنوئید و کلروفیل مقادیر کمی مشاهده می‌شود، اما بعد از گذشت h ۱۰ بازده بالاتری حاصل شده است. بازده استخراج در حلال‌های انتخابی بعد از گذشت h ۱۰ به حالت پایدار می‌رسد. البته باید در نظر داشت که تماس طولانی‌مدت نمونهٔ جلبک مورد آزمایش با حلال‌ها، باعث کاهش میزان استخراج کاروتنوئید و کلروفیل و تخریب آن خواهد شد. میزان بازده استخراج کلروفیل a، b و کاروتنوئید مربوط‌به دی‌متیل اتر ۴۹/۴٪، ۳۹/۲٪ و ۴۴/۵٪، برای استون ۵۷/۴٪، ۵۲/۱٪ و ۴۹/۵٪، برای اتانول ۷۵/۸٪، ۵۸/۴٪ و ۵۲/۷٪ و برای متانول به‌ترتیب: ۹۰٪، ۶۵/۶٪ و ۶۷٪ به‌دست آمد. استفاده از حلال‌ها در pH پایین منجر به تخریب کلروفیل می‌شود. تخریب به‌دلیل از دست‌دادن یون‌های منیزیم (Mg) کلروفیل رخ می‌دهد و باعث به‌وجود آمدن فئوفیتین و محصولات آلومریزاسیون که در استخراج کلروفیل تداخل دارد، می‌شود. طبق نتایج پژوهش میس و همکاران[۱۵] متانول حلال برتر نسبت‌به اتانول و استون برای استخراج کلروفیل و کاروتنوئید است. علاوه‌بر این، براساس برخی مطالعات دیگر[۱۶،۱۷] در جلبک‌های سبز و قهوه‌ای نیز میزان استخراج کاروتنوئید با حلال متانول بیشتر از حلال‌های استون و اتانول است و این بازده بالا به‌دلیل قطبیت بالای حل‌شونده و حلال است. هم‌چنین نتایج کنگ و همکاران[۱۸] حاکی از این بود که بازده استخراج کلروفیل از جلبک *کلرا ولگاریس* به‌کمک حلال‌های متانول، استون و اتانول نسبت‌به حلال خالص بیشتر بوده و بالاترین بازده استخراج به‌ترتیب مربوط‌به حلال‌های متانول، اتانول و استون است. نتایج پژوهش جسپرسن و کریستوفرسن[۱۹] نیز نشان داد که حلال اتانول نیز همانند متانول در استخراج کاروتنوئید و کلروفیل مؤثر و کارامد است. به‌دلیل وجود گروه‌های هیدروکسیل در انتهای زنجیره، کاروتنوئیدها تمایل بیشتری برای حل‌شدن در حلال‌های آلی دارند. هم‌چنین تفاوت در راندمان کاروتنوئید و کلروفیل به‌دلیل قطبیت مختلف حلال‌های آلی است. باتوجه‌به نتایج مطالعات سایمون و هلیول[۲۰]، سارتوری و گروبلار[۲۱]، اقبالی و همکارانش[۲۲]، واسموند و شوریز[۲۳] و جفری و همکاران[۲۴] اتانول و متانول را به‌عنوان حلال مورد استفاده در استخراج کاروتنوئید وکلروفیل از گونه‌های مختلف جلبک گزارش کردند. باتوجه‌به نتایج این پژوهش، سورفکتانت غیریونی توئین ۸۵٪ از بالاترین بازده برخوردار بود، لذا برای بالابردن سرعت استخراج با سورفکتانت غیر یونی توئین ۸۵٪، تأثیر همزن (عمل همزدگی) مطالعه و بررسی شد.

### ۳-۳ بررسی استخراج کاروتنوئید و کلروفیل از جلبک خشک همراه با همزدگی به‌وسیلهٔ سورفکتانت غیریونی توئین ۸۵٪

باتوجه‌به نتایج بخش قبل، سورفکتانت توئین ۸۵٪ از بازده استخراج بالاتری برخوردار بود. در این مرحله در راستای افزایش بازده استخراج با سورفکتانت غیر یونی توئین ۸۵٪، میزان استخراج کاروتنوئید و کلروفیل a در pH برابر ۷، سرعت همزدگی ۳۰۰ rpm بررسی شده است. نتایج استخراج کاروتنوئید وکلروفیلa برحسب زمان در شکل (۳) نشان داده شده است.

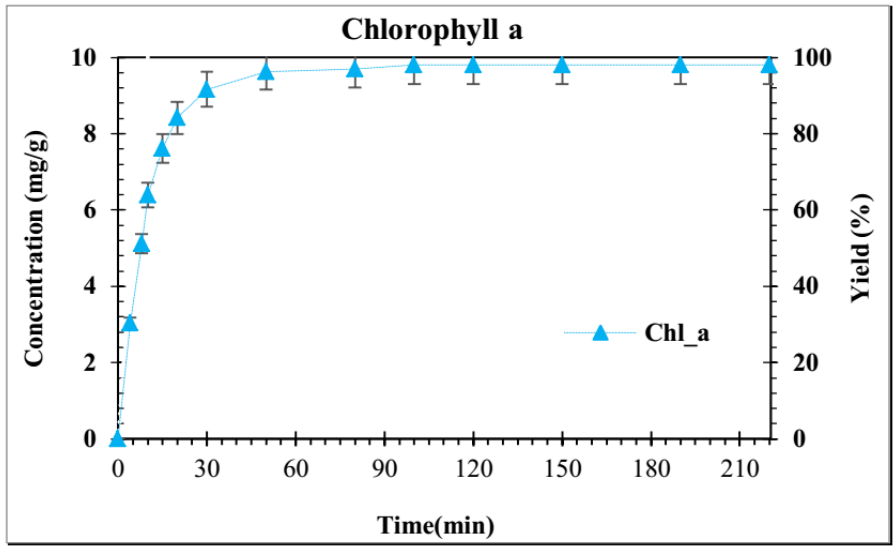
همان‌طورکه مشاهده می‌شود، بازده کاروتنوئید و کلروفیل a با گذشت زمان و اعمال همزدگی، افزایش یافت. نتایج حاصل نشان می‌دهد که بالاترین میزان بازده استخراج کاروتنوئید و کلروفیل a با سورفکتانت توئین ۸۵٪ در زمان ۵۰ دقیقه به‌ترتیب ۹۱/۰۶٪ و ۹۸/۹۷٪ است. ازسوی دیگر، با افزایش زمان تا ۲۲۰ دقیقه، بازده کاروتنوئید و کلروفیل a افزایش یافت. با اعمال همزدگی، بازده استخراج حدود ۷ درصد در مقایسه با شرایط



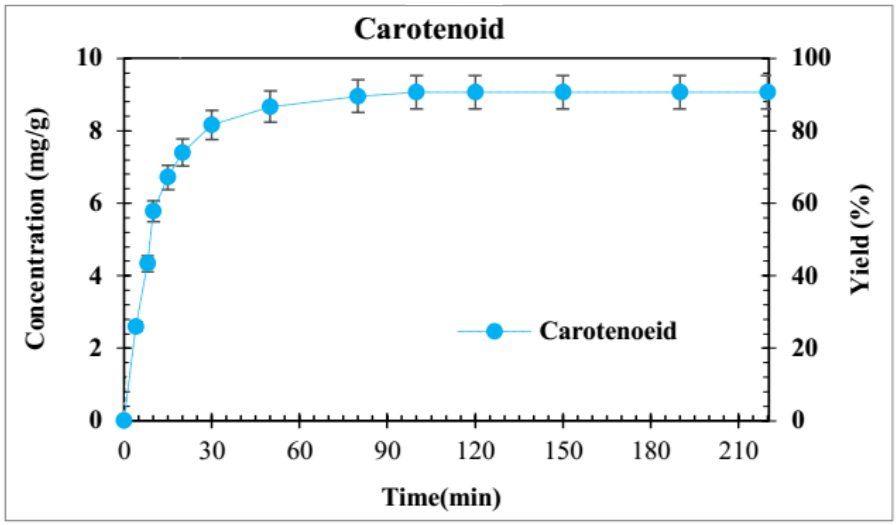
Archive of SID.ir

Archive of SID.ir






(a)




(b)

**شکل ۳. بررسی بازده استخراج (a) کلروفیل a (b) کاروتنوئید با توئین ۸۵٪ (۳۰۰rpm، pH ۷).**

**Figure 3. Investigating the extraction yields of (a) chlorophyll a, (b) carotenoid with tween 85% (300 rpm, pH 7).**

بدون همزدگی افزایش یافت. هم‌چنین، مدت زمان کوتاه‌تری برای استخراج نیاز بود. بنابراین، همزدگی موجب افزایش حلالیت، کاهش محسوس زمان استخراج و افزایش بازده استخراج می‌شود. همان‌طورکه قبلاً ذکر شد، در این پژوهش برای اولین‌بار از سورفکتانت غیریونی توئین ۸۵٪ برای استخراج کاروتنوئید و کلروفیل از ریزجلبک مختلط استفاده شده است؛ لذا سورفکتانت توئین ۸۵٪ را می‌توان به‌عنوان یک مادهٔ جدید، برای استخراج کاروتنوئید و کلروفیل از ریزجلبک‌ها معرفی کرد.

## ۴. نتیجه‌گیری

ریزجلبک‌ها، حاوی رنگدانه‌های با ارزشی مانند کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها هستند. در این تحقیق بعد از عملیات برداشت و خشک‌کردن ریزجلبک‌ها، فرایند استخراج رنگدانه‌ها از ریزجلبک مرطوب و خشک بررسی شد. بازده استخراج کلروفیل a، b و کاروتنوئید با حلال متانول، از جلبک خشک به‌ترتیب برابر ۶۱/۳۴٪، ۵۷/۱۹٪ و ۵۳/۲۷٪ و از جلبک مرطوب برابر ۸۳/۲۱٪، ۷۸/۱۲٪ و ۶۶/۰۱٪ است. نتایج نشان می‌دهد که زیست‌تودهٔ ریزجلبکی مرطوب



Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



برای استخراج رنگدانه‌ها مناسب‌تر است؛ اما به‌دلیل شرایط سخت نگهداری جلبک مرطوب، در این تحقیق از جلبک خشک در بررسی استخراج رنگدانه‌ها استفاده شد. هم‌چنین، بالاترین بازده استخراج کلروفیل a، b و کاروتنوئید از جلبک خشک مربوطبه توئین ۸۵٪ به‌ترتیب برابر با ۹۱/۷۰٪، ۸۷/۱۲٪ و ۷۹/۹۰٪ است. در ادامه بازده استخراج رنگدانه‌ها از ریزجلبک، با سورفکتانت غیریونی توئین ۸۵٪ با اعمال همزدگی بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد که همزدگی، به‌طور چشم‌گیری عملکرد استخراج را تسهیل می‌کند. بنابراین، رنگدانه‌ها در مدت زمان کمتری استخراج می‌شوند، لذا می‌توان عمل همزدگی را به‌عنوان یکی از شرایط عملیاتی مهم در راستای استخراج رنگدانه برای صرفه‌جویی در زمان و هزینه مطرح کرد.

## مراجع


[1] Ruiz-Domínguez, M. C., Vaquero, I., Obregón, V., de la Morena, B., Vílchez, C., & Vega, J. M. (2015). Lipid accumulation and antioxidant activity in the eukaryotic acidophilic microalga Coccomyxa sp.(strain onubensis) under nutrient starvation. *Journal of applied phycology*, 27, 1099-1108.

[2] Marker, A. F. H. (1972). The use of acetone and methanol in the estimation of chlorophyll in the presence of phaeophytin. *Freshwater Biology*, 2(4), 361-385.

[3] Nedaei, L., & Shokrkar, H. (2022). A Review on the Extraction of Chlorophyll and Carotenoids from Microalgae. *Iranian Chemical Engineering Journal*, *21*(123), 45-58, [In Persian].

[4] Jajic, I., Sarna, T., & Strzalka, K. (2015). Senescence, stress, and reactive oxygen species. *Plants*, 4(3), 393-411.

[5] Mehta, P., Singh, D., Saxena, R., Rani, R., Gupta, R. P., Puri, S. K., & Mathur, A. S. (2018). High-value coproducts from algae—An innovational way to deal with advance algal industry. *Waste to wealth*, 343-363.

[6] Shokrkar, H., & Keighobadi, A. (2021). Investigation of the Hydrodynamic Condition Effects and Mass Transfer Rate on Enzymatic Hydrolysis of Mixed Microalgae.

[7] Shokrkar, H., & Nedaei, L. (2023). Chlorophyll and carotenoid extraction from mixed microalgae; experimental and kinetic study. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-13.

[8] Keshav, A. (2010). Thermal degradation of coriander leaves: kinetic modelling. International Journal of Chemical Sciences, 8(5), 321-323.

[9] Pyle, D. J., Garcia, R. A., & Wen, Z. (2008). Producing docosahexaenoic acid (DHA)-rich algae from biodiesel-derived crude glycerol: effects of impurities on DHA production and algal biomass composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(11), 3933-3939.

[10] Sarkar, S., Manna, M. S., Bhowmick, T. K., & Gayen, K. (2020). Extraction of chlorophylls and carotenoids from dry and wet biomass of isolated Chlorella Thermophila: Optimization of process parameters and modelling by artificial neural network. *Process Biochemistry*, 96, 58-72.

[11] Razi, N., Shamsaie Mehrgan, M., & Hosseini Shekarabi, S. P. (2020). A comparative study of different drying methods on some proximate composition and pigments of marine microalgae Isochrysis galbana. *Aquaculture Sciences*, 7(2), 12-20.

[12] Hartmut, K., & Alan, R. W. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls b of leaf extracts in different solvents. *Analysis*, 4, 142-196.

[13] Krishnan, R. Y., & Rajan, K. S. (2016). Microwave assisted extraction of flavonoids from Terminalia bellerica: Study of kinetics and thermodynamics. *Separation and Purification Technology*, 157, 169-178.

[14] Bernaerts, T. M., Verstreken, H., Dejonghe, C., Gheysen, L., Foubert, I., Grauwet, T., & Van Loey, A. M. (2020). Cell disruption of Nannochloropsis sp. improves in vitro bioaccessibility of carotenoids and ω3-LC-PUFA. *Journal of Functional Foods*, *65*, 103770.

[15] Zhang, T. Y., Hu, H. Y., Wu, Y. H., Zhuang, L. L., Xu, X. Q., Wang, X. X., & Dao, G. H. (2016). Promising solutions to solve the bottlenecks in the large-scale cultivation of microalgae for biomass/bioenergy production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 60, 1602-1614.

[16] Natarajan, R., Ang, W. M. R., Chen, X., Voigtmann, M., & Lau, R. (2014). Lipid releasing characteristics of microalgae species through continuous ultrasonication. *Bioresource technology*, 158, 7-11.

[17] Zou, T. B., Jia, Q., Li, H. W., Wang, C. X., & Wu, H. F. (2013). Response surface methodology for ultrasound-assisted extraction of astaxanthin from Haematococcus pluvialis. *Marine drugs*, 11(5), 1644-1655.

[18] Kong, W., Liu, N., Zhang, J., Yang, Q., Hua, S., Song, H., & Xia, C. (2014). Optimization of ultrasound-assisted extraction parameters of chlorophyll from Chlorella vulgaris residue after lipid separation using response surface methodology. *Journal of food science and technology*, 51, 2006-2013.




Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



[19] Jespersen, A. (1987). Measurements of chlorophyll a from phytoplankton using ethanol as extraction solvent. *Arch. Hydrobiol.*, 109, 445-454.

[20] Simon, D., & Helliwell, S. (1998). Extraction and quantification of chlorophyll a from freshwater green algae. *Water research*, 32(7), 2220-2223.

[21] Sartory, D. P. (1985). The determination of algal chlorophyllous pigments by high performance liquid chromatography and spectrophotometry. *Water Research*, 19(5), 605-610.

[22] Babadi, F. E., Boonnoun, P., Nootong, K., Powtongsook, S., Goto, M., & Shotipruk, A. (2020). Identification of carotenoids and chlorophylls from green algae Chlorococcum humicola and extraction by liquefied dimethyl ether. *Food and bioproducts processing*, 123, 296-303.

[23] Wasmund, N., Topp, I., & Schories, D. (2006). Optimising the storage and extraction of chlorophyll samples. *Oceanologia*, 48(1).

[24] Abaychi, J. K., & Riley, J. P. (1979). The determination of phytoplankton pigments by high-performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 107, 1-11.



Archive of SID.ir