

اصلاح طیفی نور با استفاده از رنگدانه فیکوسیانین به منظور افزایش رشد ریز جلبک سبز کلرلا

حسین دلاوری امرئی⁺*

گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران

زهرا خوبکار

گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

چکیده: تمرکز این پژوهش اصلاح طیفی نور سفید توسط محلول فیکوسیانین به منظور افزایش رشد ریز جلبک کلرلا می باشد. بدین منظور، دو راکتور زیستی نوری صفحه تخت دو لایه ساخته شد. در راکتور اصلی و در لایه جلویی آن، ریز جلبک کلرلا کشت داده شد و لایه دیگر با محلول فیکوسیانین پر شد. همچنین در راکتور زیستی نوری شاهد (بدون فیکوسیانین) به جای فیکوسیانین از آب یون زدایی شده برای پر کردن لایه جلویی استفاده شد. راکتورهای زیستی نوری به مدت ۱۴ روز زیر تابش لامپ سفید به شدت $490 \mu\text{mol photons/m}^2\text{s}$ ، در دمای $27 \pm 1^\circ\text{C}$ قرار گرفتند. نتیجه‌ها نشان داد که، نرخ بهره وری زیست توده (P) و بیشینه نرخ رشد ویژه (μ_{max}) نسبت به سامانه شاهد، به ترتیب ۷۵٪ و ۹۰٪ افزایش داشته است. همچنین محتوای کلروفیل a به میزان چشمگیری افزایش پیدا کرد. در واقع در پایان کشت میزان کلروفیل در راکتور اصلی حدود ۹۳٪ بیش تر از راکتور شاهد به دست آمد. ولی میزان لیپید سلولی زیر تابش نور اصلاح شده توسط فیکوسیانین کاهش پیدا کرد.

واژه‌های کلیدی: ریز جلبک؛ راکتور زیستی نوری؛ فیکوسیانین؛ کلرلا؛ اصلاح طیفی.

KEYWORDS: Microalgae, Photobioreactor, Phycocyanin, Chlorella, Spectral modification.

مقدمه

ریز جلبک‌ها می‌توانند بین ۷۰-۵۰٪ از وزن خشک خود چربی تولید و ذخیره کنند که شامل اسیدهای چرب مناسب برای سنتز بیودیزل می باشد [۱-۵]. در کشت فتواتوتروفیک^۱، فوتون‌های نوری منبع انرژی برای رشد ریز جلبک‌ها محسوب می‌شوند. ویژگی‌های منابع نور، مانند توزیع و شدت طیف برای رشد ریز جلبک‌های فتواتوتروفیک حیاتی می‌باشد.

در مطالعه‌های بسیاری، پتانسیل ریز جلبک‌ها را به‌عنوان یکی از روش‌های پر بازده برای تولید زیست توده مورد بررسی قرار گرفته است. زیست توده ریز جلبک برتری‌های زیادی همانند کاربرد در فرآورده‌های صنعتی گوناگون از جمله داروها، غذاهای فراسودمند، لوازم آرایشی و بهداشتی و سوخت زیستی دارد. با توجه به نوع گونه و شرایط کشت،

* E-mail: h.delavari@ub.ac.ir

* عهده دار مکاتبات

(۱) Microalgae

(۲) Photoautotrophic

اصلاح طیف را در قسمت پستی راکتور قرار دادند به گونه ای که نور سبز با عبور از محیط کشت حاوی ریزجلبک به قسمت پشت راکتور رسیده و پس از برخورد با ماده اصلاح طیف پوشش داده شده بر روی آینه به طول موج‌های قرمز تبدیل شده و دوباره به علت بازتاب به درون راکتور باز می‌گشت. نتیجه‌ها نشان داد که تولید سلول در این راکتور زیستی نوری^۹ حدود ۳۶٪ بیش‌تر از راکتور زیستی نوری بدون ماده اصلاح طیف بوده است.

دلاوری/امرئی و همکاران در سال ۲۰۱۴ میلادی تغییرهای طیفی پرتو UV-A به ناحیه فعال فتوستنتز (PAR) با استفاده از ورق‌های پلی کربنات (PC) و پلی متیل متاکریلات (PMMA) پوشش داده شده با ماده اصلاح کننده طیف Uvitex OB به عنوان یک ابزار برای افزایش نرخ رشد ریزجلبک کلرلا را مورد بررسی قرار دادند [۱۷]. این پژوهشگران گزارش دادند که نرخ بهره‌وری زیست توده^{۱۰} نمونه‌هایی که در برابر نور اصلاح شده با ماده اصلاح طیف Uvitex OB قرار داشتند به مقدار ۷۴٪ و ۴۰٪ (به ترتیب برای PC و PMMA) در طی دوره یکسان کشت نسبت به نمونه شاهد افزایش پیدا کرده است. همچنین مطالعه پیشین این پژوهشگران در سال ۲۰۱۴ میلادی نشان داد که استفاده از رنگ فلورسنت Uvitex OB (برای تبدیل نور UV-A به نور آبی)، بر روی دیواره‌ی یک فلاسک کشت بهره‌وری زیست توده سیانوباکتری ساینوکوکوس^{۱۱} را حدود ۳۸٪ افزایش داده است [۱۴]. در پژوهش دیگری **دلاوری/امرئی و رنجبر** در سال ۲۰۱۷ میلادی از رنگ فلورسنت رودامین 6G به عنوان پوشش فلورسنت برای افزایش نرخ رشد ریزجلبک کلرلا در یک راکتور زیستی نوری استفاده کردند [۱۵]. نتیجه‌های این کار نشان داده که پوشش دیواره جلویی راکتور با رنگ فلورسنت مورد استفاده موجب کاهش رشد ریزجلبک شده است. ولی پوشش دیواره پستی با این رنگدانه، مشابه کار انجام شده توسط **وندراسیزک و همکاران** (۲۰۱۳ میلادی) که با رنگ فسفری انجام دادند، باعث افزایش ۵۰ درصدی تولید زیست توده شده است.

برخی از رنگدانه‌های طبیعی مانند کلروفیل و فیکوسیانیین موجود در ریزجلبک‌ها دارای خاصیت فلورسانس می‌باشند و می‌توان از آن‌ها برای اصلاح طیفی نیز استفاده نمود. فیکوسیانیین^{۱۲} پروتئینی از خانواده فیکوبیلی پروتئین‌ها و محلول در آب می‌باشد که از

بنابراین، نرخ رشد ویژه، محتوای رنگدانه‌های فتوستنتزی و ترکیبات بیوشیمیایی (به عنوان نمونه محتوای لیپید)، می‌تواند تحت تاثیر ویژگی‌های منبع نور قرار گیرد [۶،۷].

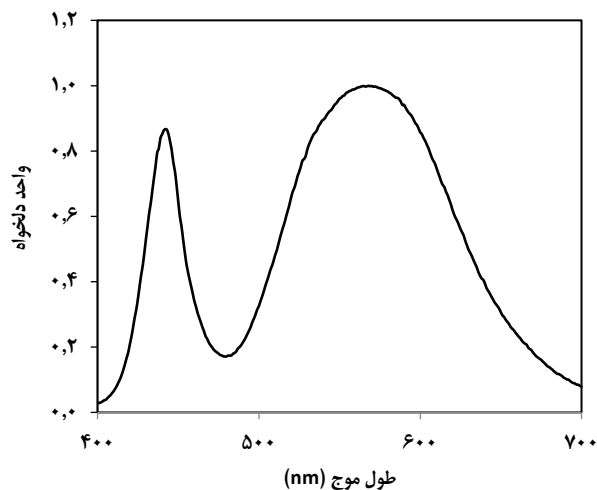
بسیاری از پژوهشگران به بررسی تاثیر طول موج بر رشد جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها^۱ پرداخته‌اند [۸،۹]. در حالت دلخواه، طول موج^۲ ساطع شده از منبع نور باید با منحنی طیف جذب رنگدانه خاص موجود در میکروارگانیسم^۳ مطابقت داشته باشد، تا میزان نور مورد استفاده برای فتوستنتز توسط میکروارگانیسم به بیشینه برسد. به عنوان نمونه، کلروفیل^۴ که یک رنگدانه فتوستنتزی می‌باشد قادر به جذب نور آبی و قرمز از طیف مرئی نور می‌باشد [۸،۱۰].

نور به عنوان منبع انرژی و کربن دی اکسید به عنوان منبع کربن در فرایند فتوستنتز توسط میکروارگانیسم مورد استفاده قرار می‌گیرد. اگرچه طیف طول موج نور خورشید بر روی سطح دریا از ۲۹۵ نانومتر به بالا می‌باشد، ولی تابش فعال فتوستنتزی (PAR)^۵، که ریزجلبک‌ها نیز از آن استفاده می‌کنند، در بازه‌ی بین ۴۰۰-۷۰۰ nm می‌باشد [۱۱]. همچنین با نگاهی دقیق‌تر به بازه طول موج مورد استفاده توسط ریزجلبک‌های سبز می‌توان گفت که این میکروارگانیسم‌ها به طورعموم طول موج‌های ناحیه‌های آبی (۴۰۰-۵۰۰ nm) و قرمز (۶۰۰-۷۰۰ nm) در فرایند فتوستنتز را مورد استفاده قرار می‌دهند و طول موج‌های ناحیه نور سبز در فرایند فتوستنتز آن‌ها به تقریب غیر قابل استفاده می‌باشد [۸]. بنابراین با تبدیل فوتون‌های نور سبز به فوتون‌هایی که در فرایند فتوستنتز بازدهی بیش‌تری دارند، سرعت رشد ریزجلبک‌ها افزایش پیدا خواهد کرد. در چند دهه‌ی اخیر، اصلاح طیفی^۶ نور یا همان تبدیل فوتون‌ها از یک بازه طول موج به بازه‌های دیگر، به منظور افزایش بازده سلول‌های خورشیدی به صورت گسترده مورد توجه پژوهشگران بسیاری قرار گرفته است [۱۲،۱۳]. در چند سال اخیر نیز پژوهشگران از این فناوری به منظور افزایش بازده تولید زیست توده جلبکی استفاده کرده‌اند [۱۴-۲۲].

وندراسیزک و همکاران^۷ در سال ۲۰۱۳ میلادی برای کشت ریزجلبک *هماتوکوکوس*^۸ در یک راکتور صفحه تخت از ماده تبدیل کننده طیفی $Ca_{0.59}Eu_{0.01}Sr_{0.4}$ به منظور اصلاح طیف استفاده کردند [۱۹]. این پژوهشگران آینه پوشش داده شده با ماده

(۱) Cyanobacteria
(۳) Microorganism
(۵) Photosynthetically Active Radiation
(۷) Wondraczek
(۹) Photobioreactor
(۱۱) Cyanococcus

(۲) Wavelength
(۴) Chlorophyll
(۶) Spectrum modification
(۸) Haematococcus
(۱۰) Productivity
(۱۲) Phycocyanin



شکل ۱- طیف انتشار لامپ LED

برای محاسبه و ترسیم نمودار پایداری فیکوسیانین در دمای 27 ± 1 °C مقدار ۱۰۰ mL از فیکوسیانین استخراج شده زیر تابش نور فلورسنت سفید با شدت $100 \mu\text{mol photons/m}^2\text{s}$ به مدت ۱۴ روز قرار گرفت و روزانه توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر میزان جذب فیکوسیانین در طول موج ۶۲۰ nm اندازه گیری شد.

منبع تابش

از یک لامپ LED سفید به عنوان منبع نور استفاده شد. این لامپ در ناحیه ی مرئی دارای دو پیک می باشد و به تقریب همه طول موج های نور در محدوده ۴۰۰-۷۰۰ nm را پوشش می دهد هر چند شدت آن در موج های گوناگون متفاوت می باشد (شکل ۱).

کشت در راکتور زیستی نوری دوجداره

ریز جلبک کلرلا پس از مرحله ی پیش کشت که درون یک فلاسک ارلن مایر به حجم ۵۰۰ mL (حجم کاری ۲۵۰ mL) و زیر تابش نور فلورسنت سفید با شدت $100 \mu\text{mol photons/m}^2\text{s}$ به یک ارلن مایر با حجم کاری ۲۰۰۰ mL دار ۱۸۰۰ mL محیط کشت رودیک منتقل شد. سپس محتویات ارلن مایر (محیط کشت به همراه ریز جلبک تلقیح شده) به طور مساوی بین دو راکتور صفحه مسطح دو لایه از جنس پلکسی گلاس (اندازه های راکتور $25 \times 4 \times 2$ cm³) با گنجایش ۱۵۰۰ mL (حجم کاری ۱۰۰۰ mL) توزیع شد. برای هر راکتور زیستی نوری در قسمت پشت آن یک قطعه آینه به منظور بازتابش نور تابانده شده، قرار داده شد (شکل شماره ۲). در راکتور زیستی نوری اصلی محفظه ی مجاور

اهمیت تجاری و صنعتی بالایی برخوردار است. از این رنگدانه به طور گسترده در صنایع غذایی و لوازم آرایشی و بهداشتی استفاده می شود، همچنین به دلیل دارا بودن ویژگی های فلورسانس در پژوهش های زیست پزشکی استفاده می شود [۲۳]. این رنگدانه نور را در بازه سبز و زرد جذب می کند و در محدوده نور قرمز انتشار می دهد. به همین دلیل رنگدانه طبیعی مناسبی به منظور اصلاح طیف نور سبز به منظور تبدیل آن به طول موج های مفیدتر می باشد.

در این کار از یک ایده نوآورانه برای افزایش رشد ریز جلبک سبز کلرلا در یک راکتور زیستی نوری صفحه تخت استفاده شد. بدین صورت که رنگدانه فیکوسیانین از ریز جلبک سبز - آبی اسپیرولینا^۱ استخراج شد و محلول به دست آمده با غلظتی مشخص در محفظه جلویی یک راکتور زیستی نوری صفحه تخت ریخته شده تا به عنوان اصلاح کننده طیفی تأثیر آن بر روی رشد ریز جلبک سبز کلرلا مورد بررسی قرار گیرد. افزون بر این که میزان کلروفیل، درصد لیپید^۲ و پایداری فیکوسیانین در طول آزمایش مورد بررسی قرار گرفت.

بخش تجربی

میکروارگانیزم

ریز جلبک کلرلا (*Chlorella* sp.; PTCC6010, Persian type culture collection) از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شد و برای آزمون کارایی تبدیل فوتون مورد استفاده قرار گرفت. این میکروارگانیزم در محیط کشت Rudic و با pH تقریبی ۸ کشت داده شد [۱۶].

رنگدانه فیکوسیانین

رنگدانه طبیعی فیکوسیانین از ریز جلبک اسپیرولینا استخراج شد و برای اصلاح طیف مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور مقدار ۱ g پودر خشک ریز جلبک اسپیرولینا به یک ارلن مایر یک لیتری دارای آب مقطر افزوده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ °C نگهداری شد و سپس سانتریفیوژ با ۴۰۰۰ rpm انجام شد و بقایای سلولی بیرون آمد و از فیکوسیانین به د به عنوان ماده مبدل طیف در راکتور زیستی نوری صفحه مسطح استفاده شد. شایان ذکر است ریز جلبک مورد نظر در فرایند خشک کردن پاششی خشک شده است که باعث شده تا دیواره سلولی ریز جلبک شکسته شود و برای استخراج تنها از حلال آب استفاده شود. بررسی پودر ریز جلبک مورد نظر در بزرگنمایی ۱۰۰۰ برابر میکروسکوپ نوری شکسته شدن کامل دیواره سلولی را تأیید می کند.

(۱) Spirulina

(۲) Lipid

که در رابطه بالا X_t غلظت زیست توده (mg/L) در زمان t و X_0 غلظت در آغاز کشت می‌باشد. همچنین نرخ بهره‌وری زیست توده P (g/L day) با رابطه زیر به دست آمده است:

$$P = \frac{(X_f - X_0)}{t_f}$$

که X_f در رابطه بالا غلظت زیست توده در آخرین روز آزمایش یا همان زمان t_f می‌باشد.

اندازه‌گیری محتوی کلروفیل a

برای اندازه‌گیری طیف جذب رنگدانه‌های استخراج شده، ۲ میلی لیتر از نمونه در ظرف مورد نظر ریخته شد و پس از انجام سانتریفیوژ مایع بالای ریزجلیک‌های ته نشین شده دور ریخته شده و به جای آن ۲ میلی لیتر متانول به ظرف نمونه افزوده شد. نمونه به دست آمده به مدت ۴۵ دقیقه درون حمام فراصوت قرار داده شد. سپس رنگدانه‌ها به همراه ۲ mL متانول درون حمام یخ به مدت یک شب قرار گرفتند و پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه با $2500 \times g$ سانتریفیوژ شد تا باقی مانده سلولی جدا شود. سرانجام برای تعیین میزان کلروفیل a جذب نمونه به دست آمده در طول موج‌های ۶۶۲ و ۶۴۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV/Vis به دست آمد و از رابطه زیر استفاده شد:

(۳)

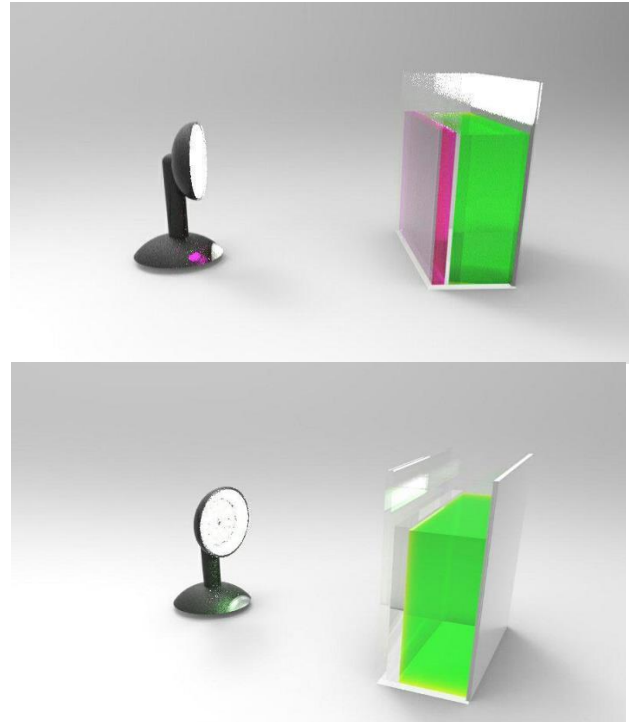
$$\text{Chlorophyll} - a (C_a) = 11.75 \times OD_{662} - 2.350 \times OD_{645}$$

طیف جذب، نشر و عبور

طیف جذب رنگ با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Philler Scientific SU6100) و استفاده از هوا به عنوان شاهد تعیین شد. همچنین با استفاده از یک دستگاه اسپکترومتر با وضوح زیاد (Lasertech, Aura 4000; England) طیف انتشار و عبور محلول رنگ، و طیف خروجی منبع تابش به دست آمد. افزون بر این که شدت نور مرئی توسط کوانتامتر (QUA SKP215) SKYE Instruments Ltd, UK اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری لیپید

در روش اصلاح شده بلایت و دایر (Bligh and Dyer)، ۴۵ mL از محیط کشت دارای ریزجلیک در ۴۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و پس از خارج کردن آب بالای نمونه به سلول‌های جدا شده



شکل ۲- راکتور زیستی نوری صفحه تخت دو لایه؛ راست: نمونه اصلی، چپ: نمونه شاهد.

منبع تابش با محلول فیکوسیانین پر شد (شکل ۲، راست) و در راکتور زیستی نوری شاهد محفظه‌ی مجاور منبع تابش با آب مقطر پر شد (شکل ۲، چپ). ضخامت این محفظه برابر با ۱ cm بوده است. کشت در دمای $27 \pm 1^\circ\text{C}$ انجام شد و مقدار تابش بر روی سطح راکتور برابر $490 \mu\text{mol photons/m}^2\text{s}$ بوده است.

مشخصه‌های رشد

دانسیتته نوری (OD) در طول موج ۵۶۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Philler Scientific SU6100) اندازه‌گیری شد. رابطه‌ی بین غلظت زیست توده X (g/L) یا همان وزن خشک سلولی و OD_{560} ، طبق معادله‌ی زیر به دست آمده است [۱۷]:

$$X = 0.49 \times OD_{560} \quad (1)$$

نرخ رشد ویژه μ (μ, day^{-1}) با استفاده از معادله‌ی (۲) محاسبه شد:

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{X_t}{X_0}\right)}{t} \quad (2)$$

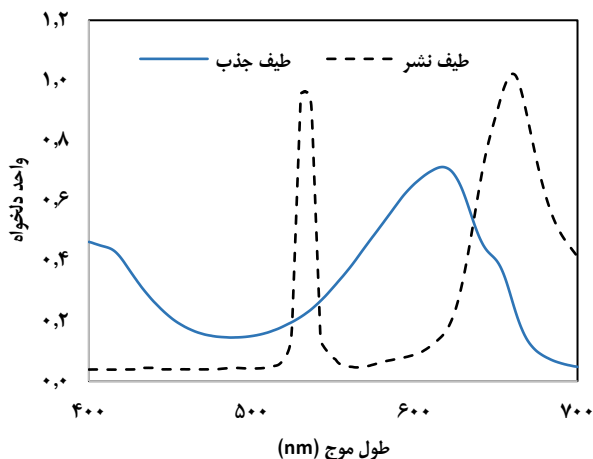
(۱) Optical density

(۳) Specific growth rate

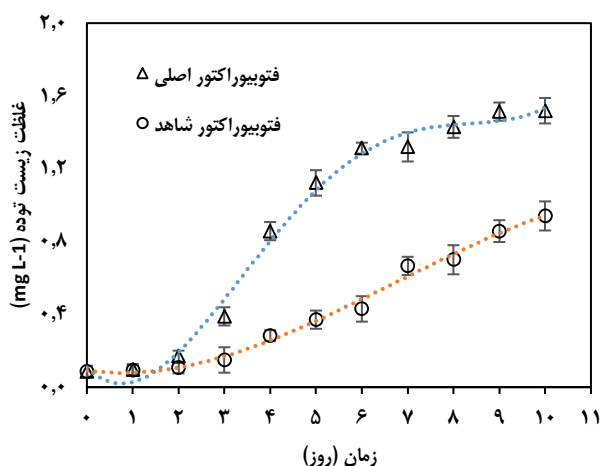
(۲) Biomass concentration

جدول ۱- مشخصه‌های رشد ریز جلبک کلرلا.

P (g/L day)	μ_{max} (day ⁻¹)	نمونه
۰/۱۴	۰/۵۷	راکتور زیستی نوری اصلی
۰/۰۸	راکتور زیستی نوری شاهد	



شکل ۳- طیف جذب و نشر فیکوسیانین



شکل ۴- منحنی رشد ریز جلبک کلرلا بر حسب زمان.

تغییر میزان کلروفیل a بر حسب زمان در شکل (۵) آمده است. با افزایش میزان رشد در هر دو راکتور آن طور که انتظار می‌رفت میزان کلروفیل افزایش یافته است. بررسی نسبت میزان کلروفیل a در دو راکتور مورد نظر نشان می‌دهد در روز آخر کشت میزان کلروفیل در راکتور اصلی حدود ۹۳٪ بیش‌تر از راکتور شاهد بوده است. با توجه به مقایسه غلظت زیست توده در دو راکتور در روز آخر کشت و عددهای به دست آمده برای میزان کلروفیل می‌توان گفت که محتوی سلولی کلروفیل a برای ریز جلبک موجود در راکتور اصلی افزایش یافته است. بنابراین می‌توان گفت به کارگیری فیکوسیانین نه تنها میزان تولید زیست توده را در راکتور دو جلاره افزایش داده است بلکه محتوی سلولی کلروفیل را نیز افزایش داده است.

به نسبت ۸:۲:۱ به ترتیب کلروفورم، متانول و آب مقطر افزوده شد و نمونه به مدت ۸ ساعت در دستگاه شیکر قرار داده شد. پس از آن با افزودن ۲ mL آب مقطر و ۲ mL کلروفورم محلولی دو فازی تشکیل شد. سانتریفیوژ مخلوط به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۲۰۰ rpm موجب ایجاد یک مخلوط سه فازی شد. فاز آلی که در پایین لوله قرار داشت به عنوان محلول دارای روغن برداشت شد. فاز بالایی پس از افزودن ۲ mL آب مقطر و ۲ mL کلروفورم دوباره سانتریفیوژ شد تا در دو مرحله روغن تولیدی به دست آید. کلروفورم محلول در روغن تحت خلأ تبخیر شد و روغن باقی‌مانده توزین شد [۲۴].

نتیجه‌ها و بحث

طیف جذب و نشر فیکوسیانین

بررسی طیف جذب رنگدانه فیکوسیانین نشان می‌دهد که رنگدانه مورد نظر در محدوده‌های انتهایی نور سبز، نور زرد و نور نارنجی قابلیت جذب فوتون‌ها را دارا می‌باشد. همچنین بررسی طیف نشر نشان می‌دهد که رنگدانه مورد نظر باز نشر مناسبی در بازه نور قرمز دارد. فوتون‌های موجود در نور قرمز برای انجام عمل فوتوسنتز مفیدتر می‌باشند [۱۵، ۱۹]. بنابراین منطقی به نظر می‌رسد که با استفاده از رنگدانه فلورسانس فیکوسیانین نورهای سبز، زرد و نارنجی را به نور قرمز که در آن بازدهی فوتوسنتز بیش‌تر می‌باشد تبدیل کرد و سرعت رشد ریز جلبک را افزایش داد.

بررسی مشخصه‌های رشد و محتوی کلروفیل a

در شکل ۴ منحنی رشد ریز جلبک کلرلا بر حسب زمان نشان داده شده است. بیشینه وزن خشک (g L⁻¹) ۱/۵ زیر تاثیر نور اصلاح شده با رنگدانه فیکوسیانین در مقایسه با راکتور زیستی نوری شاهد (بدون رنگدانه ی مبدل طیف) که برابر ۰/۹۴ (g/L) بود، به دست آمد. همچنین نرخ بهره وری زیست توده (P) در راکتور اصلی ۷۵٪ درصد بیش‌تر از راکتور شاهد در طول دوره آزمایش بوده است. این مقدار افزایش برای بیشینه نرخ رشد ویژه (μ_{max}) برابر با ۹۰٪ بوده است (جدول ۱). هر چند تفاوت ۹۰ درصدی در بیشینه نرخ رشد ویژه می‌توانست نرخ بهره‌وری زیست توده را در راکتور اصلی بیش از ۷۵٪ افزایش دهد ولی به هر حال افزایش دانسیته نوری در راکتور به مرور میزان نفوذ نور به درون راکتور را کاهش داده است و باعث شده است تا از ۷۵٪ بیش‌تر افزایش پیدا نکند. البته کاهش مواد مغذی در محیط کشت نیز می‌تواند عامل دیگری در این مورد باشد. ولی به هر حال باید توجه نمود که این افزایش در نرخ بهره وری زیست توده بسیار چشمگیر می‌باشد.

جدول (۲): تغییرهای محتوی لیپید سلولی بر حسب زمان.

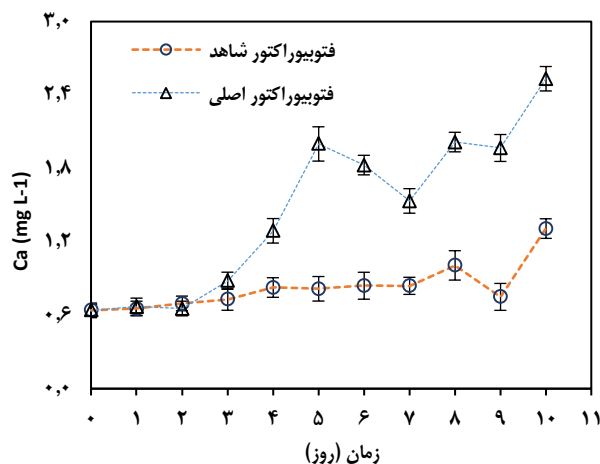
درصد لیپید $\left(\frac{g-lipid}{g-biomass}\right) \%$		
راکتور زیستی نوری شاهد	راکتور زیستی نوری اصلی	روز
۲۰	۲۰	اول
۴۰	۱۶	سوم
۱۳	۱۶	پنجم
۱۳	۶	هشتم
۳۰	۱۰	آخر

از روز سوم تا هشتم کاهش محتوی لیپید دیده شده است و در روز آخر برای هر دوی نمونه ها محتوی لیپید روند افزایشی نشان داده است که این مورد به دلیل کاهش نیترا در محیط کشت می باشد [۲۶]. به طور کلی به کارگیری رنگدانه فیکوسیانین باعث کاهش میزان لیپید در ریزجلیک کلرا شده است.

در پژوهشی که توسط محسن پور و همکاران در سال ۲۰۱۶ میلادی صورت گرفت بیشینه مقدار لیپید در یک راکتور زیستی نوری ستون جبابی نوردی شده با استفاده از مواد اصلاح طیف تولید کننده طیف آبی ۳۶٪ گزارش شده است. همچنین این پژوهشگران گزارش دادند که کمترین میزان لیپید در راکتور زیستی نوری های که در آنها از مواد اصلاح طیف تولید کننده طیف های قرمز و نارنجی بودند به دست آمده است [۱۸].

پایداری فیکوسیانین

بررسی میزان پایداری فیکوسیانین هنگامی که به عنوان یک ماده تبدیل کننده طیف به کار می رود، مهم می باشد. شکل میزان جذب فیکوسیانین در ۶۲۰ nm (طول موج تقریبی قله در طیف جذب فیکوسیانین) را بر حسب زمان نشان می دهد. همان گونه که دیده می شود میزان جذب به صورت به تقریب خطی کاهش پیدا کرده یا می توان گفت فیکوسیانین با سرعت ثابتی تخریب شده است. از آنجایی که فیکوسیانین از خانواده پروتئین ها می باشد و پروتئین ها نسبت به دما حساسیت بالایی دارند و با توجه به این که آزمایش در دمای به تقریب بالایی (حدود ۲۷ درجه سلسیوس) انجام شده است، مشخص شد که فیکوسیانین مورد استفاده به تقریب پایداری خود را در طی ۱۰ روز در شرایط محیط از دست داده است. بنابراین برای استفاده از این ماده در مقیاس های بالاتر باید فیکوسیانین مورد نظر را پایدارتر نمود تا نتیجه های مناسبی به دست آید. اگرچه فیکوسیانین با توجه به ماهیت خود نسبت به دمای محیط حساسیت بالایی دارد ولی در این پژوهش این نکته مد نظر قرار داده شد بدین صورت که نخست از محلول فیکوسیانین مورد استفاده طی ۲۴ ساعت، هر هشت ساعت یک بار دانسیته نوری (OD)



شکل ۵- تغییر میزان کلروفیل بر حسب زمان.

به طور کلی همان گونه که در شکل (۳) نشان داده شده است، فیکوسیانین دارای انتشار مناسبی در محدوده نور قرمز می باشد این مورد باعث شده است که علی رغم جذب طول موج های زرد و نارنجی توسط این رنگدانه، طول موج هایی که برای فتوسنتز مفید هستند، بازده فتوسنتز و سرانجام نرخ تولید زیست توده در راکتور اصلی افزایش یابد. در کارهای دیگری که توسط پژوهشگران انجام شده است به کارگیری رنگدانه رودامین 6G و یک ماده فسفری به نام $Str_{0.4} Ca_{0.59} Eu_{0.01} S$ به ترتیب موجب افزایش ۵۰٪ و ۳۶ درصدی در میزان نرخ بهره بری زیست توده و تعداد سلول ها شده است [۱۵، ۱۹]. هر دوی این مواد به تقریب کاری همانند فیکوسیانین استفاده شده در این پژوهش داشته اند یعنی تبدیل طول موج های کم فایده تر برای فتوسنتز مانند سبز یا زرد به طول موج های پرفایده تر مانند نارنجی یا قرمز. اما به هر حال استفاده از فیکوسیانین به عنوان یک رنگدانه طبیعی توانسته است حدود ۷۵٪ میزان رشد را افزایش دهد. طبق گزارش سئو و همکاران در سال ۲۰۱۴ میلادی نور قرمز نسبت به نور آبی بازده کوانتومی بهتری دارد و به همین دلیل آن ها شاهد افزایش رشد سلول ها و همچنین افزایش تولید رنگدانه کلروفیل a زیر تابش نور اصلاح شده به قرمز بوده اند [۲۵]. در این کار نیز افزایش محتوی کلروفیل a دیده است که می توان گفت علت آن افزایش فوتون های نور قرمز ورودی به راکتور اصلی بوده است.

بررسی میزان لیپید ریزجلیک کلرا

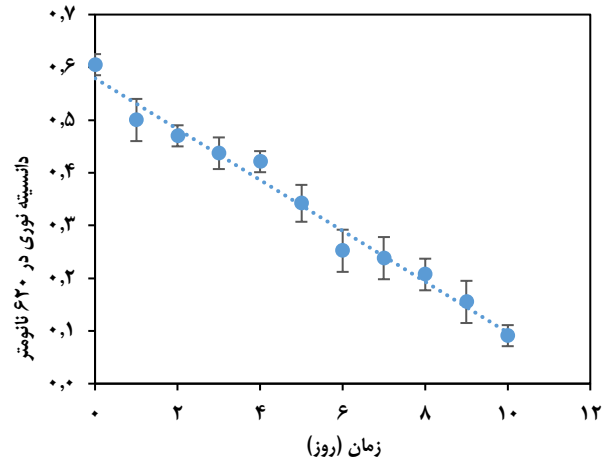
تغییر میزان لیپید سلولی بر حسب زمان در جدول ۲ ارائه شده است. بیشینه مقدار لیپید در راکتور زیستی نوری اصلی ۱۶٪ و در هفته اول کشت به دست آمد در حالی که تجمع لیپید در راکتور زیستی نوری شاهد در هفته اول کشت ۴۰٪ به دست آمد. در هر دوی نمونه ها با گذشت زمان

ریزجلبک سبز کلرلا داشته است به طوری که استفاده از محلول فیکوسیانیین در یک راکتور زیستی نوری دوجداره نرخ تولید زیست توده را تا ۷۵٪ افزایش داده است. همچنین استفاده از این رنگدانه باعث افزایش محتوی کلروفیل سلولی نیز شده است. به هر حال با توجه به نتیجه‌های چشمگیر به دست آمده در این کار میزان پایداری فیکوسیانیین در شرایط معمول کم می‌باشد که نیاز است تا برای استفاده از آن در یک راکتور زیستی نوری با مقیاس واقعی پایداری آن افزایش داده شود.

قدردانی

از پشتیبانی و حمایت صمیمانه جناب آقای دکتر سبحانی مدیر عامل شرکت حورا طب قدردانی می‌شود. همچنین از مسئولان آزمایشگاه مرکزی دانشگاه بجنورد برای استفاده از امکانات آزمایشگاه محیط زیست و انرژی در انجام برخی از آزمایش‌ها کمال تشکر را داریم.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۳۱، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۲۰



شکل (۶): میزان جذب نوری فیکوسیانیین بر حسب زمان

خوانده شد و در طول ۲۴ ساعت تغییر محسوس در OD دیده نشد و نتیجه گیری شد که در طول آزمایش روزانه محفظه فیکوسیانیین تخلیه شود و از محلول فیکوسیانیین تازه استفاده شود.

نتیجه گیری

استفاده از فناوری اصلاح طیفی توسط یک رنگدانه طبیعی استخراج شده از ریزجلبک سبز - آبی/سپیرولینا تأثیر چشمگیری در میزان رشد

مراجع

- [1] Chisti Y., *Biodiesel from Microalgae*. *Biotechnology Advances*, **25**(3): 294-306 (2007).
- [2] de Godos, I., Blanco, S., García-Encina, P.A., Becares, E., Muñoz, R., *Influence of Flue Gas Sparging on the Performance of High Rate Algae Ponds Treating Agro-Industrial Wastewaters*, *Journal of Hazardous Materials*, **179**(1): 1049-1054 (2010).
- [3] Ho, S.H., Chen, C.Y., Lee, D.J., Chang, J.S., *Perspectives on Microalgal CO₂-Emission Mitigation Systems - A Review*. *Biotechnology Advances*, **29**(2): 189-198 (2011).
- [4] Raes, E.J., Isdepsky, A., Muylaert, K., Borowitzka, M.A., Moheimani, N.R., *Comparison of Growth of Tetraselmis in a Tubular Photobioreactor (Biocoil) and a Raceway Pond*. *Journal of Applied Phycology*, **26**(1): 247-255 (2014).
- [5] Sidler W.A., "Phycobilisome and Phycobiliprotein Structures, in the Molecular Biology of Cyanobacteria", Bryant D.A. (Editor). Springer Netherlands: Dordrecht. 139-216 (1994).
- [6] Chrismadha T., Borowitzka M. A., *Effect of Cell Density and Irradiance on Growth, Proximate Composition and Eicosapentaenoic Acid Production of Phaeodactylum Pricornutum Grown in a Tubular Photobioreactor*. *Journal of Applied Phycology*, **6**(1): 67-74 (1994).

- [7] Danesi, E.D.G., Rangel-Yagui, C.O., Carvalho, J.C.M., Sato, S., [Effect of Reducing the Light Intensity on the Growth and Production of Chlorophyll by Spirulina Platensis](#). *Biomass and Bioenergy*, **26(4)**: 329-335 (2004).
- [8] Matthijs, H.C., Balke, H., Van Hes, U.M., Kroon, B.M., Mur, L.R., Binot, R.A., [Application of Light-Emitting Diodes in Bioreactors: Flashing Light Effects and Energy Economy in Algal Culture \(*Chlorella Pyrenoidosa*\)](#). *Biotechnology and Bioengineering*, **50(1)**: 98-107 (1996).
- [9] Wang C.-Y., Fu C.-C., Liu Y.-C., [Effects of Using Light-Emitting Diodes on the Cultivation of Spirulina Platensis](#). *Biochemical Engineering Journal*, **37(1)**: 21-25 (2007).
- [10] Choul-Gyun L., P.B. Ø., [High-Density Algal Photobioreactors Using Light-Emitting Diodes](#). *Biotechnology and Bioengineering*, **44(10)**: 1161-1167 (1994).
- [11] Kohen E., Santus R., Hirschberg G.G., "Photobiology". Academic Press, New York (1995).
- [12] Klampaftis, E., Ross, D., McIntosh, K.R., Richards, B.S., [Enhancing the Performance of Solar Cells via Luminescent Down-Shifting of the Incident Spectrum: A Review](#). *Solar Energy Materials and Solar Cells*, **93(8)**: 1182-1194 (2009).
- [13] Strümpel, C., McCann, M., Beaucarne, G., Arkhipov, V., Slaoui, A., Švrček, V., Del Cañizo, C., Tobias, I., [Modifying the Solar Spectrum to Enhance Silicon Solar Cell Efficiency—An Overview of Available Materials](#). *Solar Energy Materials and Solar Cells*, **91(4)**: 238-249 (2007).
- [14] Amrei, H.D., Nasernejad, B., Ranjbar, R., Rastegar, S., [Spectral Shifting of UV-A Wavelengths to Blue Light for Enhancing Growth Rate of Cyanobacteria](#). *Journal of Applied Phycology*, **26(3)**: 1493-1500 (2014).
- [15] Delavari Amrei H., Ranjbar R., [Influence of Fluorescent Coating at Rear and front Side of a Flat Panel Photobioreactor on Algal Growth](#). *Journal of Applied Phycology*, **30(2)**: 901-907 (2018).
- [16] Amrei H.D., Ranjbar R., Rastegar S., Nasernejad B., [Using Fluorescent Material for Enhancing Microalgae Growth Rate in Photobioreactors](#). *Journal of Applied Phycology*, **27(1)**: 67-74 (2015).
- [17] Delavari Amrei, H., Nasernejad, B., Ranjbar, R., Rastegar, S., [An Integrated Wavelength-Shifting Strategy for Enhancement of Microalgal Growth Rate in PMMA-and Polycarbonate-Based Photobioreactors](#). *European Journal Phycology*, **49(3)**: 324-331 (2014).
- [18] Mohsenpour S.F., Willoughby N., [Effect of CO₂ Aeration on Cultivation of Microalgae in Luminescent Photobioreactors](#). *Biomass and Bioenergy*, **85**: 168-177 (2016).
- [19] Wondraczek, L., Batentschuk, M., Schmidt, M.A., Borchardt, R., Scheiner, S., Seemann, B., Schweizer, P., Brabec, C.J., [Solar Spectral Conversion for Improving the Photosynthetic Activity in algae reactors](#). *Nature Communications*, **4**: 2047 (2013).
- [20] Wondraczek, L., Tyystjärvi, E., Méndez-Ramos, J., Müller, F.A., Zhang, Q., [Shifting the Sun: Solar Spectral Conversion and Extrinsic Sensitization in Natural and Artificial Photosynthesis](#). *Advanced Science*, **2(12)**: 1500 (2015).

- [21] Sung, M.G., Han, J.I., Lee, B., Chang, Y.K., [Wavelength Shift Strategy to Enhance Lipid Productivity of *Nannochloropsis Gaditana*](#). *Biotechnology for Biofuels, Biotechnology for Biofuels.*, **11(1)**: 70 (2018).
- [22] Esfahani, R.H., Shafii, M.B., Roshandel, R., [Energy Efficient Cultivation of Microalgae Using Phosphorescence Materials and Mirrors](#). *Sustainable Cities and Societ.*, **41**: 449-454 (2018).
- [23] Zou, L., Gu, Z., Zhang, N., Zhang, Y., Fang, Z., Zhu, W., Zhong, X., [Ultrafast Synthesis of Highly Luminescent Green- to Near Infrared-Emitting CdTe Nanocrystals in Aqueous Phase](#). *Journal of Materials Chemistry*, **18(24)**: 2807-2815 (2008).
- [24] Bligh E.G., Dyer W.J., [A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification](#). *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, **37(8)**: 911-917 (1959).
- [25] Seo, Y.H., Cho, C., Lee, J.Y., Han, J.I., [Enhancement of Growth and Lipid Production from Microalgae using Fluorescent Paint Under the Solar Radiation](#). *Bioresource Technology*, **173**: 193-197 (2014).
- [26] Zhang, Y.M., Chen, H., He, C.L., Wang, Q., [Nitrogen Starvation Induced Oxidative Stress in an Oil-Producing Green Alga *Chlorella Sorokiniana* C3](#). *PLoS ONE*, **8(7)**: e69225 (2013).