کارگاه‌های آموزشی مرکز اطلاعات علمی

آموزش نرم‌افزار Word برای پژوهشگران

روش تحقیق کمی

آموزش مهارت‌های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI

بررسی میزان لیپید 16 ایزوله جلبک بومی دونالیلا جهت استفاده در تولید بیودیزل

محمد امین حجازی[1] *، حسین محمد زاده جلالی[2]، امیر باغبان زاده کجاباد[2]، شادی جانسوز[2]، مدیحه مظاهری مقدم[2]، مرضیه مظاهری مقدم[2]، سمانه حیدرزاده[2]

1. **استاد، پژوهشکده بیوتکنولوژي کشاورزي ایران، منطقه شمالغرب و غرب کشور، تبریز، ایران**
aminhejazi@abrii.ac.ir
2. **همکاران، پژوهشکده بیوتکنولوژي کشاورزي ایران، منطقه شمالغرب و غرب کشور، تبریز، ایران**
jalaly1365@yahoo.com

Archive of SID

چکیده

به دلیل افزایش قیمت سوخت و ماهیت تمام شدنی سوخت‌های فسیلی، سوخت‌های زیستی از ارزش زیادی به عنوان ماده سوختی برخوردارند. جلبک‌ها منبع بالقوه مناسبی برای تولید زیست سوخت شناخته شده‌اند چون می‌توانند میزان زیادی چربی‌های خنثی سنتز و انباشته کنند. به این منظور میزان لیپید تولیدی 16 ایزوله جلبک دونالیلا شامل ایزوله‌های G22,G28,G29 و G36 از باتلاق گاوخونی، M10 و M15 از دریاچه مهارلو، Q1,Q2,Q3 و Q4 از دریاچه قم و A,B,U1/1,CH5 و CH26 از دریاچه ارومیه و نمونه استاندارد (D.*salina* CCAP19/18) از بانک سلولی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمالغرب و غرب کشور مورد مطالعه قرار گرفتند. آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی در 2 تکرار به اجرا درآمد. میزان لیپید تولیدی ایزوله‌های موردنظر به روش تجربی حاصل در آزمایشگاه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین ایزوله‌های مورد بررسی از نظر میزان لیپید تولیدی اختلاف معنی داری وجود دارد. مقایسه میانگین بین نمونه‌ها حاکی از آن بود که در شرایط آزمایشی انجام یافته ایزوله‌های G28وG36 از دریاچه گاوخونی، ایزوله M10 از دریاچه مهارلو وایزوله Q4 از قم بیشترین میزان تولید لیپید (40تا 50 درصد وزن خشک) را به خود اختصاص دادند که با توجه به قابلیت بالا می توانند گزینه مناسبی جهت استحصال لیپید و تولید زیست سوخت باشند.

کلمات کلیدی: لیپید، ریزجلبک، دونالیلا، زیست سوخت

www.SID.ir

مقدمه

در نتیجه افزایش قیمت سوخت و نگرانی‌هایی در مورد گرمایش کره زمین که با سوختن سوخت‌های فسیلی ایجاد می‌شود و همچنین به دلیل ماهیت تمام شدنی سوختهای فسیلی(1)، زیست سوخت از ارزش زیادی به عنوان ماده سوختی برخوردار است(2). استفاده وسیع و صادرات نفت خام و گاز طبیعی ایران در اینده نزدیک محدود خواهد شد و لازم است منابع سوخت‌های تجدید پذیر به صورت جدی جایگزین سوخت های مشتق شده از نفت شوند. برای این منظور دو راه حل پیشنهاد شده است. اولین پیشنهاد استفاده از گیاهان تراریخت شده با میزان تولید لیپید بالا (3) و دیگری استفاده از ریزجلبک ها برای تولید سوخت های زیستی می باشد (4و5). امروزه میکروارگانسیم‌های مولد چربی به دلیل سرعت رشد بالا، چرخه زندگی کوتاه وتوانایی درجذب منابع کربنی متفاوت مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته‌اند(6). در سال 1990 رادولف دیزل برای اولین بار دیزل را از روغن گیاهی استخراج کرد. انتخاب ماده خام مناسب اولیه در تولید بیودیزل مهم است. از مهمترین میکروارگانیسم‌هایی که برای تولید بیودیزل مورد استفاده قرار می‌گیرد می‌توان جلبک‌ها، باکتری‌ها، مخمرها، کپک‌ها و سیانوباکتری ها را نام برد(4و7). ریز جلبک‌ها به عنوان منبع بالقوه مناسب برای تولید زیست سوخت شناخته شده‌اند چون می‌توانند میزان زیادی چربی‌های خنثی سنتز و انباشته کنند(8). تحقیقات نشان می‌دهد که حدود 8-60 درصد وزن خشک اغلب ریزجلبک‌ها را ترکیبات لیپیدی تشکیل می‌دهد(9و10). در مقایسه با گیاهان، ریزجلبکها محتوای لیپیدی بیشتری دارند. تولید بیودیزل از ریزجلبک‌ها به دلیل نیاز به حداقل زمین و فعالیت‌های زراعی متمرکز کمتر نسبت به زیست سوخت حاصل از محصولات زراعی مزایای بیشتری دارد و محتوی انرژی بیشتری نسبت به بیواتانول می‌باشد. برای تولید زیست سوخت گزینش گونه‌هایی از ریزجلبک با محتوای لیپیدی زیاد، رشد سلولی سریع و توانایی کشت درزمین غیر قابل کشت بیشترین اهمیت را دارد (11و12). در این پژوهش سعی گردید که نمونه‌های پر تولید لیپید از بین نمونه‌های مورد مطالعه انتخاب و برای استحصال لیپید جهت تولید زیست سوخت مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش ها

به منظور انجام آزمایش از طرح کاملاً تصادفی با 2 تکرار استفاده گردید. این ایزوله‌ها با کدهای G22,G28,G29 و G36 ازباتلاق گاوخونی،M10 و M15 ازدریاچه مهارلو،Q1,Q2,Q3 و Q4ازدریاچه قم، A,B,U1/1,CH5 و CH26 از دریاچه ارومیه و 19/18 نمونه استاندارد از اروپا می‌باشند که ازبانک سلولی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمالغرب و غرب کشور تهیه شدند. درنخستین مرحله، نمونه‌ها درمحیط کشت مایع اختصاصی دونالیلا با غلظت نمک 1.5 مولار به روش حجازی و همکاران2010 (13) واکشت شدند و در دمای° 26 سانتیگراد تحت نور 80 میکرومول برمترمربع برثانیه ($\mu mol\ photon\ m^{-2}\ s^{-1}$) در پریود نور– تاریکی 16-8 نگهداری شدند. با استفاده از میکروسکوپ تک کلونی‌ها از نمونه‌های رشد یافته جداسازی شدند. سپس تعداد 16 ایزوله به منظور یافتن ایزوله‌ای با بیشترین مقدار لیپید ذخیره‌ای مورد بررسی قرار گرفت. اندازه گیری لیپید در این مطالعه طبق روش تجربی حاصل در آزمایشگاه صورت گرفت. بدین منظور پس از تولید بیومس خشک چربی موجود در ایزوله ها با استفاده از پترولیوم بنزن به عنوان حلال استخراج گردید. سپس از اختلاف وزن بیومس حاوی لیپید و بیومس فاقد لیپید مقدار لیپید ذخیره شده در هر ایزوله بدست آمد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه گیری

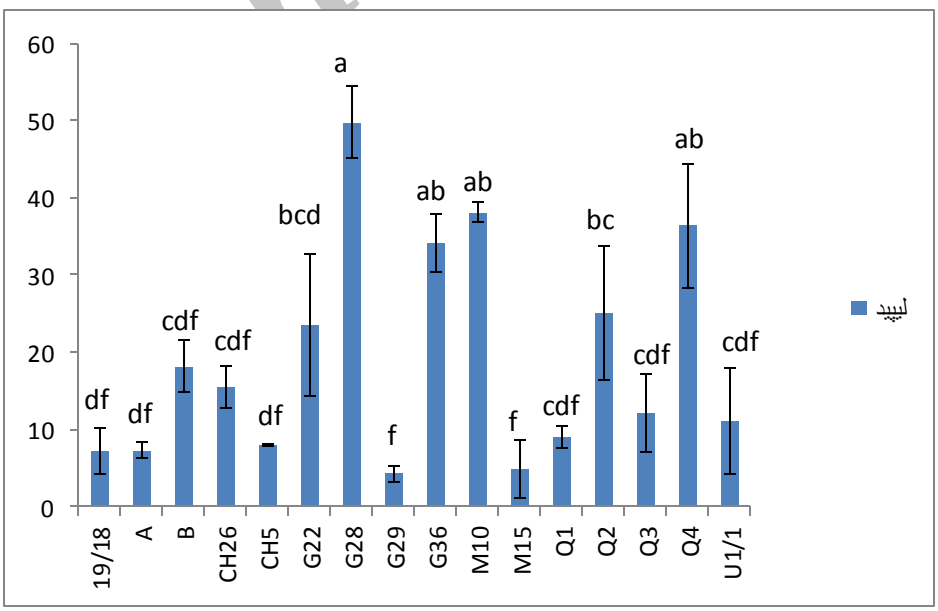
نتایج حاصل از تجزیه واریانس نمونه‌ها، حاکی از آن بود که بین ایزوله‌های مورد مطالعه در این تحقیق از نظر میزان تولید لیپید اختلاف معنی داری در سطح احتمال 1 درصد وجود داشت (جدول1).

جدول 1: نتایج حاصل از تجزیه واریانس بین ایزوله های مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
ایزوله ها	15	392.751**
خطا	16	47.763
کل	31	

** نشان دهنده معنی داری در سطح احتمال 1 درصد

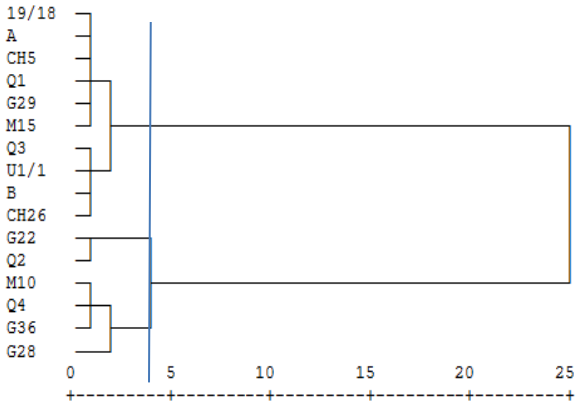
مقایسه‌های میانگین بین نمونه‌ها نشان داد که ایزوله‌های G28 و G36 از باتلاق گاوخونی و ایزوله Q4 از دریاچه قم و ایزوله M10 از دریاچه مهارلو بیشترین میزان تولید لیپید (40تا 50 درصد وزن خشک) را بخود اختصاص دادند و در مقابل کمترین میزان تولید لیپید (نزدیک 5 درصد وزن خشک) مربوط به ایزوله های G29 از باتلاق گاوخونی و M15 از دریاچه مهارلو می‌باشد. (شکل 1). در تحقیقی که توسط چیستی و همکاران انجام شد مشخص شد که محتوای لیپید اکثر ریزجلبک-ها معمولا بین 20تا 50 درصد وزن خشک است (14). درحالی که برای برخی از استرین ها این عدد می تواند تا 80 درصد وزن خشک جلبک نیز برسد (16و15).



شکل 1: نمودار مربوط به مقایسات میانگین ایزوله های مورد مطالعه (درصد وزن خشک)

www.SID.ir

نتایج حاصل از تجزیه کلاستر، نمونه‌ها را در سه گروه مجزا قرار داد (شکل 2). در گروه اول نمونه استاندارد 19/18 به همراه ایزوله‌هایی از دریاچه ارومیه (CH26,CH5,A,B,U1/1) ، دریاچه قم (Q1وQ3)، باتلاق گاوخونی (G29) و دریاچه مهارلو (M15) قرار داشتند. گروه دوم شامل ایزوله G22 ازباتلاق گاوخونی و ایزوله Q2 از دریاچه ارومیه قرار گرفتند. در گروه سوم ایزوله‌های پر تولید G28 و G36 از باتلاق گاوخونی و ایزوله Q4 از دریاچه قم و ایزوله M10 از دریاچه مهارلو قرار گرفتند.



شکل 2: دندگرام حاصل از گروه بندی ایزوله های مورد مطالعه

منابع

1. Gavrilescu, M. and Y. Chisti. Biotechnology-A Sus- tainable Alternative for Chemical Industry," Biotechnol- ogy Advances. (2005). 23: pp. 471-499.
2. Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. and Isambert, A. Commercial Applications of Microalgae," Journal of Bioscience and Bioengineering. (2006). 101: pp. 87-96.
3. Somers, D.A., Wyse D.L., Gronwald, J.W. Transgenic plants expressing maizeacetyl CoA carboxylase gene andmethod of altering oil content. UnitedStates Patent. (2001).6222099.
4. Tabatabaeia, M., Tohidfard, M., SalehiJouzania, G., Safarnejada, M., Pazoukib, M. Biodiesel production from genetically engineered microalgae: Future of bioenergy in Iran. Renewable and Sustainable Energy Reviews. (2011). 15: 1918–1927.
5. Widjaja, A., Chien, C.C., Ju, Y.H. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae Chlorella vulgaris.Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. (2009). 40: 13–20.
6. Enshaeieh, M., Abdoli, A., Nahvi, I., Madani, M. Isolation and molecular identification of Rhodotorula musilaginosa and its potential for applications in biodiesel production. Journal of Microbial World. (2013). 6(2): 105-116.
7. Angermayr, S.A., Hellingwerf, K.J., Lindblad, P., Mattos, M.J. Energy biotechnology with cyanobacteria. Current Opinion in Biotechnology. (2009). 20: 257–263.
8. Rukminasari, N. Enhanced lipid production of three microalgae Dunaliella Tertiolecta, Nannochloropsis sp and Scenedesmus sp by manipulating of cultivation condition. Jl. Perintis

Archive of SID
www.SID.ir

Kemerdekaan Km. 10, Makassar - 90245, South Sulawesi – Indonesia 2 School of Biological Science, Monash University – Australia. (2012).

9. Jansson, C. Metabolic Engineering of Cyanobacteria for Direct Conversion of CO2 to Hydrocarbon Biofuels.Progress in Botany. (2011). 73: 81-93.

10. Mutanda, T., Ramesh, D., Karthikeyan, S., Kumari, S., Anandraj, A., Bux, F. Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production. Bioresource Technology. (2011). 102: 57–70.

11. Chisti, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol.Trends in Biotechnology (2008).26(3): 126-131.

12. Lv, J.M., Cheng, L.H., Xu, X.H., Zhang, L. And Chen, H-L. Enhanced lipid production of Chlorella vulgaris by adjustment of cultivation conditions. Bioresource Technology, (2010). vol. 101: 6797-6804.

13. Hejazi, M. A., de-Lamarliere, C., Rocha, J.M.S., Vermuë, M., Tramper, J., &Wijffels, R.H. "Selective extraction of carotenoids from the alga Dunaliellasalina with retention of the viability". Biotechnology & Bioengineering, (2002). 79: 29-36.

14. Chisti, Y. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances 25: 294–306.

15. Metting, F.B. (1996). Biodiversity and application of microalgae. Journal of Industrial Microbiology (2007). 17: 477–89.

16. Spolaore, P., C. Joannis-Cassan, E. Duran, and A. Isambert. Commercial application of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering (2006). 101: 87–96.

Archive of SID

Evaluation of lipid content of 16 indigenous isolates of microalga Dunaliella for use in biodiesel production

Hejazi Mohammad Amin*, Mohammadzadeh Jalaly Hossein, Baghbanzadeh Kojabad Amir, Jansouz Shadi, Mazaheri Mogaddam Madiheh, Mazaheri Mogaddam marziyeh, Heydarzadeh Samaneh

Branch of West and North-West Region of Iran, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABIINW)

*Corresponding author: aminhejazi@abrii.ac.ir

Abstract

Due to rising fuel prices and mortal nature of fossil fuels, bio-fuels are of great value. Since microalgae could synthesize and accumulate large amount of neutral lipidsm they are considered as a potential source for the bio-fuels production. In this study, the lipid-production in 16 native isolates of microalga Dunaliella was studied. The isolates G22, G28, G29 and G36 from Gavkhooni marsh, M10 and M15 from Maharlu lake, Q1, Q2, Q3 and Q4 from Qom lake, A, B, U 1/1, CH5 and CH26 from Urmia lake along with standard sample (D.salina CCAP 19/18) were obtain from Cell Bank of Agriculture biotechnology Research Institute of Iran Northwest and West Region. Results of the sample analyzes showed significant differences in terms of lipid production among the isolates. Further, the mean comparison between the samples demonstrated that the isolates G28 and G36 from Gavkhooni marsh ,M10 from Maharlu lake and as well as Q4 from Qom lake respected the highest amount of lipid (40 to 50 % dry weight) under the condition they grown in our study. This makes them as efficient source for future studies on lipid extraction and biofuel production.

key words: Lipid, Microalga, *Dunaliella*, biofuel

www.SID.ir

کارگاه‌های آموزشی مرکز اطلاعات علمی

آموزش نرم‌افزار Word برای پژوهشگران

روش تحقیق کمی

آموزش مهارت‌های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI