دانشکده کشاورزی
گروه علوم و صنایع غذایی

بهینه‌سازی تولید فایکوسیانین توسط جلبک *Spirulina platensis*

مریم سهیلی

استادان راهنما
پروفسور علی مرتضوی
دکترکرامت الله رضایی

استادان مشاور
دکتر کیانوش خسروی دارانی
دکترمریم هاشمی

بهمن ۱۳۸۹

تعهد نامه

عنوان پایان نامه: بهینه‌سازی تولید فایکوسیانین توسط جلبک *Sprirulina platensis*

اینجانب مریم سهیلی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی جناب آقای دکتر سید علی مرتضوی و جناب آقای دکتر کرامت الله رضایی متعهد می شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد یگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.
- در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

تاریخ

نام و امضاء دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- **کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.**
- **استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.**

چکیده

در این مطالعه بهینه سازی تولید فایکوسیانین با استفاده از اوره به عنوان منبع نیتروژنی توسط *اسپیرولینا پلاتسیس* صورت گرفت. آرایه هشت تایی طرح پلاکت برمن برای بررسی اثر هفت متغیر مربوط به شرایط کشت و ترکیبات محیط کشت در آن استفاده شد . نتایج حاکی از معنی داری حضور اوره، نیترات پتاسیم، کلسیم و نور بود؛ که سطح مناسب آن ها به ترتیب ۸۰۰ mg/Lit، ۲/۵۷ gr/Lit، ۱ gr/Lit و ۵۰۰۰Lux به دست آمد. این ۴ فلکتور موثر اوره ، نیترات پتاسیم، کلرید کلسیم و نور برای بررسی بیشتر با طرح مرکب مرکزی در ۵ سطح مورد آزمایش قرار گرفتند . میزان تولید فایکوسیانین، پروتئین و توده زیستی نمونه ها اندازه‌گیری شد. برازش نتایج آزمایش ها با معادله چند جمله ایی درجه دوم و بهینه سازی پاسخ با استفاده از نرم افزار Design Expert صورت گرفت. نتایج نشان داد سطح بهینه متغیر های اوره، نیترات پتاسیم، کلرید کلسیم و نور به ترتیب ۱۱۰۵/۹۲ mg/Lit، ۲/۱۹ gr/L، ۱/۲۲ gr/Lit و ۵۵۰۰Lux باعث تولید بیشینه فایکوسیانین ۱۷۹/۴۹۵ mg/g می شود.

کلید واژه: فایکوسیانین، *اسپیرولینا پلاتنسیس*، اوره، طرح پلاکت برمن و طرح مرکب مرکزی

تقدیر و تشکر

نهال را باران باید
تا بشوید غبار نشسته بر برگهایش
و سیرابش کند از آب حیات
و آفتاب باید
تا بتاباند نیرو را
و محکم کند
شاخه های تازه روییده را

به نام مادر
بوسه ای باید زد
دست هایی را
که می شویند غبار خستگی روزگار را
و سیراب می کنند روح تشنه را

به نام پدر
بوسه ای باید زد
دست هایی را
که می تابانند
نیرو را
و محکم می کنند
استواری پایه های زیستن را

تقدیم به پیشگاه مقدس پدر و مادر عزیزم

مریم سهیلی
بهمن۱۳۸۹

فهرست مطالب

عنوان..... .....صفحه

۱- مقدمه ۱

۱-۱- کلیات جلبک‌شناسی ۲

۱-۱-۲- طبقه‌بندی جلبک‌ها ۳

۱-۱-۳- مروری بر ریزجلبک‌ها ۵

۱-۱-۴- ریزجلبک‌ها و تغذیه انسان ۶

۱-۱-۴-۱- امولسیون‌های روغن در آب ۷

۱-۱-۴-۲- بیسکوئیت‌ها ۸

۱-۱-۴-۳- ژل‌های خوراکی ۸

۱-۱-۵- کلروپلاست در ریزجلبک‌ها ۹

۱-۱-۶- تغذیه جلبک‌ها ۱۳

۱-۲- سیانوباکتری‌ها ۱۳

۱-۲-۱- اسپیرولینا چیست؟ ۱۴

۱-۲-۱-۱- مورفولوژی اسپیرولینا ۱۵

۱-۲-۲-۲- تولید تجاری اسپیرولینا ۱۵

۱-۲-۱-۳- خواص درمانی اسپیرولینا ۱۸

۱-۳- فایکوسیانین چیست؟ ۲۰

۱-۳-۱- ساختار فایکوسیانین ۲۰

۱-۳-۲- فایکوسیانین، فایکوبیلی‌زوم‌ها و گیرندگی نور ۲۱

۱-۳-۳- فایکوبیلی پروتئین‌ها به عنوان ترکیبات ذخیره‌ایی نیتروژن ۲۲

۱-۳-۴- روش‌های تولید فایکوسیانین ۲۳

۱-۳-۵- روش‌های استخراج ۲۳

۱-۳-۶- کاربردهای فایکوسیانین ۲۴

۱-۳-۷- خواص درمانی فایکوسیانین ۲۵

۱-۴-طراحی آزمایش‌ها و کاربرد آن ۲۵

۱-۴-۱- روش طرح عاملی کامل ۲۶

۱-۴-۲- روش طرح عاملی کسری ۲۷

۱-۴-۲-۱- طرح پلاکت برمن ۲۷

۱-۴-۳- طرح‌های سطح پاسخ ۳۰

۱-۴-۴- بهینه‌سازی محیط کشت و شرایط تخمیر ۳۱
۱-۴-۵- ارزیابی مدل‌ها ۳۳
۱-۴-۶- طرح آماری مورد استفاده در تحقیق ۳۴
۲- بررسی منابع ۳۶
۳- مواد و روش‌ها ۴۶
۳-۱- ریزسازواره ۴۶
۳-۲- مواد شیمیایی و دستگاه‌های مورد استفاده در تحقیق ۴۶
۳-۳- تهیه محیط کشت ۴۹
۳-۳-۱- روش افزودن اوره ۵۰
۳-۴- جداسازی بیومس از سوپرناتانت ۵۱
۳-۵- شمای کلی طرح ۵۱
۳-۶- طراحی آزمایش‌ها ۵۲
۳-۷- آزمون‌ها ۵۵
۳-۷-۱- وزن خشک سلولی ۵۵
۳-۷-۲- اندازه‌گیری pH ۵۶
۳-۷-۳- اندازه‌گیری فایکوسیانین ۵۶
۳-۷-۴- اندازه‌گیری پروتئین خام توده زیستی ۵۸
۳-۷-۵- تهیه بافرفسفات سدیم ۵۸
۴-نتایج وبحث ۶۰
۴-۱-غربالگری عوامل موثر بر فرایند تولید فایکوسیانین، رشد سلولی و پروتئین کل ۶۰
۴-۱-۱- تغییرات pH ۶۷
۴-۱-۲- نتایج مربوط به متغیرهای بررسی شده در طرح پلاکت برمن ۶۷
۴-۲- نتایج طراحی CCD و بررسی اثر سطوح مختلف اوره، نیترات‌پتاسیم، کلرید سدیم و نور بر محتوای فایکوسیانین، توده زیستی و پروتئین ۷۴
۴-۲-۱ اثیر متغیرهای مورد بررسی بر مقدار فایکوسیانین ۷۶
۴-۲-۱-۱- بهینه‌سازی محیط کشت با استفاده از روش طرح مرکب مرکزی ۷۶
۴-۲-۱-۲- انتخاب طرح و محاسبه مدل ریاضی ۷۶
۴-۲-۱-۳- نمودار قیاس همبستگی میان داده‌های تجربی و مقادیر پیش‌بینی شده فایکوسیانین ۸۰
۴-۲-۱-۴- بررسی نمودارهای کانتور و سه بعدی مربوط به فایکوسیانین ۸۱
۴-۲-۱-۵- ممیزی تناسب مدل طراحی شده برای تولید فایکوسیانین ۸۵
۴-۲-۱-۶- بهینه‌سازی تولید فایکوسیانین با استفاده از مدل طراحی‌شده ۸۶

۴-۲-۲- تاثیر متغیرهای مورد بررسی بر وزن خشک سلولی ۸۷
۴-۲-۲-۱- انتخاب طرح و محاسبه مدل ریاضی ۸۷
۴-۲-۲-۲- نمودار قیاس همبستگی میان داده‌های تجربی و مقادیر پیش‌بینی شده توده‌ی زیستی ۹۰
۴-۲-۲-۳- بررسی نمودارهای کانتور و سه بعدی مربوط به تولید توده زیستی ۹۰
۴-۲-۲-۴- ممیزی تناسب مدل طراحی شده برای تولید توده زیستی ۹۸
۴-۲-۳- تاثیر متغیرهای مورد بررسی بر تولید پروتئین ۹۹
۴-۲-۳- ۱- انتخاب طرح و محاسبه مدل ریاضی ۹۹
۴-۲-۳- ۲- نمودار قیاس همبستگی میان داده‌های تجربی و مقادیر پیش‌بینی شده پروتئین ۱۰۱
۴-۲-۳-۳- بررسی نمودارهای کانتور و سه‌بعدی اثر متغیرها بر میزان پروتئین ۱۰۲
۴-۲-۳-۴-ممیزی تناسب مدل برای تولید پروتئین ۱۰۶

۵- نتیجه گیری نهایی و پیشنهادات ۱۰۷

پیشنهادات ۱۰۸

۶- منابع ۱۱۱

فهرست نمودارها و تصویرها

شکل۱-۱- امولسیون‌های روغن در آب به همراه پایدارکننده پروتئین نخودفرنگی a) گروه کنترل b) امولسیون حاوی لوتئین c) امولسیون حاوی فایکوسیانین d) امولسیون حاوی مخلوطی از لوتئین و فایکوسیانین ۷

شکل ۱-۲- a) بیسکوئیت غنی شده با توده ی زیستی *کلرلا وولگاریس* در غلظت‌های مختلف b) بیسکوئیت‌های غنی شده با *کلرلا وولگاریس* کاروتنوئیدی (رنگ نارنجی) و *هماتوکوکوس پلوویالیس* (رنگ صورتی)..... ۸

شکل ۱-۳- دسرهای ژلی در ترکیب با a) توده‌ی زیستی جلبک و b) رنگ های تجاری..... ۹

شکل ۱-۴- ساختار پایه‌ایی کمپلکس‌های گیرنده نور ۱۰

شکل ۱-۵- محدوده انرژی نورانی مورد استفاده فایکوبیلی‌پروتئین‌ها در فتوسنتز..... ۱۱

شکل۱-۶- سازش رنگی در فایکوبیلی‌زوم یک سیانوباکتری..... ۱۲

شکل ۱-۷- تصاویر جلبک اسپیرولینا با استفاده از میکروسکوپ نوری (الف و ب) و میکروسکوپ الکترونی (پ) ۱۵

شکل۱-۸- ساختار شیمیایی کروموفور بیلین فایکوسیانین (زنجیره باز تتراپیرول)..... ۲۱

شکل۱-۹- ساختار مونومر زنجیره $\beta\alpha$ فایکوسیانین ۲۱

شکل۱-۱۰- ساختار یک فایکوبیلی‌زوم..... ۲۲

شکل ۳-۱- شرایط رشد نمونه‌ها بر طبق طراحی پلاکت‌برمن..... ۴۹

شکل ۳-۲- دستگاه اسپکتروفتومتر مورد استفاده در این پژوهش..... ۵۶

شکل ۳-۳- دستگاه pHمتر مورد استفاده در این پژوهش..... ۵۶

شکل ۳-۴-(الف) شیکر و (ب) سانتریفوژ مورد استفاده در این پژوهش..... ۵۷

شکل ۳-۵- رنگدانه فایکوسیانین استخراج شده (رقیق شده به نسبت ۱ به ۵۰)..... ۵۸

شکل ۴-۱- تصویر نمونه‌های رشدیافته در سطح پایین نور (۲۰۰۰lux) در روز ۱۲ کشت..... ۶۳

نمودار ۴-۲- مقایسه میزان فایکوسیانین طی آزمون های مختلف انجام شده بر طبق طرح پلاکت برمن ۶۵

نمودار ۴-۳- توصیف تاثیر عوامل عملیاتی بر محتوای فایکوسیانین توده‌ی زیستی توسط نمودار پارتو..... ۶۶

نمودار ۴-۴- توصیف تاثیر عوامل عملیاتی بر میزان توده‌ی زیستی تولید شده توسط نمودار پارتو..... ۶۶

شکل۴-۵- مکانیسم جذب بیکربنات توسط اسپیرولینا پلاتنسیس ۶۷

نمودار۴-۶- نمودار قیاس همبستگی داده های تجربی و پیش بینی مدل (معادله ۱-۴)..... ۸۰

شکل ۴-۷- تاثیر همزمان غلظت های مختلف اوره و نیترات پتاسیم بر تولید فایکوسیانین (الف) نمودار کانتور (ب) نمودار سه بعدی..... ۸۲

شکل ۴-۸- تاثیر همزمان غلظت های مختلف اوره و شدت های مختلف نور بر تولید فایکوسیانین (الف) نمودار کانتور (ب) نمودار سه بعدی..... ۸۳

شکل ۴-۹- تاثیر غلظت‌های مختلف اوره و کلرید سدیم بر تولید فایکوسیانین (الف) نمودار کانتور (ب) نمودار سه بعدی..... ۸۴

نمودار ۴-۱۰- نمودار توزیع باقیمانده پاسخ های پیش بینی شده ۸۵
نمودار ۴-۱۱- نمودار قیاس همبستگی داده های تجربی و پیش بینی شده مدل طراحی شده برای توده‌ی زیستی ۹۰
شکل ۴-۱۲- تاثیر غلظت‌های مختلف اوره و نیترات پتاسیم بر میزان توده زیستی (الف) کانتور (ب) سه بعدی ۹۳
شکل ۴-۱۳- تاثیرغلظت‌های مختلف اوره و شدت های مختلف نور بر میزان تولید توده زیستی (الف) نمودار کانتور (ب) نمودار سه بعدی..... ۹۴
شکل ۴-۱۴- تاثیر غلظت‌های مختلف نیترات پتاسیم و شدت های مختلف نور بر میزان تولید توده زیستی (الف) نمودار کانتور (ب) نمودار سه بعدی..... ۹۵
شکل ۴-۱۵- تاثیر غلظت های مختلف نیترات پتاسیم و کلرید سدیم بر میزان تولید توده زیستی (الف) نمودار کانتور (ب) نمودار سه بعدی..... ۹۶
نمودار ۴-۱۶- تاثیر شدت‌های مختلف نور و غلظت‌های مختلف کلریدسدیم بر میزان تولید توده زیستی ۹۷
نمودار ۴-۱۷- نمودار توزیع باقیمانده پاسخ های پیش بینی شده ۹۸
نمودار ۴-۱۸- نمودار قیاس همبستگی داده های تجربی و پیش بینی شده مدل طراحی شده پروتئین..... ۱۰۱
شکل ۴-۱۹- تاثیر غلظت های مختلف اوره و نیترات پتاسیم بر میزان تولید پروتئین (الف) نمودار کانتور (ب) نمودار سه بعدی ۱۰۳
شکل ۴-۲۰- تاثیر غلظت‌های مختلف اوره و کلرید بر میزان پروتئین (الف) نمودار کانتور (ب) نمودار سه بعدی..۱۰۴
شکل ۴-۲۱- تاثیر غلظت‌های مختلف اوره و شدت های مختلف نور بر میزان پروتئین (الف) نمودار کانتور (ب) نمودار سه بعدی ۱۰۵
نمودار ۴-۲۲- نمودار توزیع باقیمانده پاسخ های پیش بینی شده ۱۰۶

فهرست جداول

جدول ۱-۱- پروفایل ترکیبات مغذی پودر اسپیرولینا ۱۷
جدول۱-۲- ماتریس هشت تایی یک طرح پلاکت برمن ۲۸
جدول ۳-۱- مواد مورد استفاده برای ساخت محیط کشت و انجام آزمایش ها ۴۶
جدول۳-۲- لیست دستگاه‌های مصرفی در این تحقیق ۴۸
جدول۳-۳- متغیرهای هفت گانه در نظر گرفته شده‌ی موثر تولید فایکوسیانین در روش پلاکت برمن و سطوح آنها ۵۲
جدول ۳-۴- طرح هشت‌تایی پلاکت برمن با اعداد کد شده ۵۳
جدول۳-۵- آزمایشات طراحی شده بر حسب سطوح واقعی (کد نشده) در این پژوهش ۵۴
جدول۴-۱- تغییرات وزن خشک سلولی(mg/Lit) طی یک دوره‌ی ۱۴ روزه کشت ۶۲
جدول۴-۲- تغییرات pH طی یک دوره‌ی ۱۴روزه ۶۳
جدول ۴-۳- نتایج میزان فایکوسیانین و وزن خشک سلولی در طراحی پلاکت برمن ۶۴
جدول۴-۴- نتایج آماری پلاکت برمن – پاسخ : درصد تولید پروتئین ۶۴
جدول۴-۵- نتایج آماری پلاکت برمن – پاسخ: وزن خشک سلولی ۶۵
جدول۴-۶- دامنه آزمایش‌ها و سطوح متغیرها در طرح مرکب مرکزی ۷۴
جدول۴-۷- طرح آزمایشی مرکب مرکزی در مقادیر واقعی متغیرها و مقادیر واقعی پاسخ‌ها ۷۵
جدول۴-۸- نتایج تجزیه و تحلیل واریانس مدل برازش شده برای تولید فایکوسیانین ۷۸
جدول۴-۹- جدول ضرایب رگرسیون و اهمیت آماری آنها در معادله ۴-۱ ..... ۷۹
جدول۴-۱۰- شرایط فرایندهای بهینه و نتایج آنها ۸۶
جدول۴-۱۱- نتایج تجزیه و تحلیل واریانس مدل برازش شده برای تولید وزن خشک سلولی ۸۷
جدول۴-۱۲- ضرایب رگرسیون و اهمیت آماری آنها در معادله۴-۲ ..... ۸۹
جدول۴-۱۳- نتایج تجزیه و تحلیل واریانس مدل برازش شده برای تولید پروتئین ۱۰۰
جدول۴-۱۴- ضرایب رگرسیون و اهمیت آماری آنها در معادله۴-۳ ..... ۱۰۰

فهرست علائم و اختصارات

μ_{max}	maximum specific growth rate	بیشینه سرعت رشد ویژه
χ_{max}	maximum cellular concentrartion	بیشینه غلظت سلولی
APC	alophycocyanin	آلوفایکوسیانین
CCD	central composit design	طرح مرکب مرکزی
CDW	cell dry weight	وزن خشک سلولی
C-PC	phycocyanin	فایکوسیانین
PDB	plucket burman design	طرح پلاکت برمن
PE	phycoerythrin	فایکواریترین
P_{max}	biomass productivity	بیشینه بهره‌وری توده زیستی
RSM	response surface methodology	روش سطح پاسخ

فصل اول: مقدمه

ریزجلبک‌ها[1] به دلیل تعادل خوبشان در ترکیبات شیمیایی ، منابع زیستی مهمی برای محصولات و کاربرده‌ای جدید هستند و می‌توانند به عنوان بهبود دهنده‌ی ارزش تغذیه ای غذاها و خوراک دام مورد استفاده قرار گیرند . به علاوه آن ها منابع مهمی از مولکول های ارزشمند مثل اسیدهای چرب غیر اشباع، رنگدانه‌ها، آنتی اکسیدان‌ها، ترکیبات دارویی و دیگر ترکیبات فعال زیستی مورد کشت واقع می شوند. کاربرد توده زیستی ریزجلبک ها و متا بولیته‌ای آن ها روند جالبی در بهبود محصولات غذایی سالم است (گوویا و همکاران، ۲۰۰۸).

از میان بسیاری از ترکیبات مغذی حاصل از ریز جلبک ها، رنگدانه ها به دلیل کاربرد زیاد و استخراج آسان، اهمیت تجاری رو به رشدی یافته‌اند. در حال حاضر تولید بسیاری از رنگدانه‌های تجاری، از منابع سنتتیک و منابع طبیعی است. با این وجود، روند رو به رشدی در جایگزین کردن منابع طبیعی همچون

[1] Microalgae

سیانوباکتری‌ها[2] به‌خصوص اسپیرولینا[3] با منابع سنتتیک در استفاده از رنگ های طبیعی در مصارف غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی وجود دارد (برووِیتزکِ، ۱۹۹۵).

اگرچه استفاده از آن‌ها در برخی زمینه های یاد شده به خاطر قدرت پایین رنگ‌دهی و عدم ماندگاری بالا، محدود شده است. به دلیل اثرات سمی گزارش شده از رنگ‌های سنتتیک، دلایل مختلفی برای استفاده از رنگ‌های طبیعی در مصارف دارویی و غذایی وجود دارد. فایکوبیلی پروتئین‌ها[4] به عنوان رنگ‌های پروتئینی طبیعی در صنایع غذایی و دارویی به کار می‌روند (گوویا و همکاران، ۲۰۰۸). در چین و ژاپن فایکوسیانین[5] استخراج شده از *اسپیرولینا پلاتنسیس* به عنوان یک پیگمان طبیعی در انواع غذاها مث ل آدامس، محصولات لبنی، ژل ها و پاستیل ها مورد استفاده قرار می گیرد. علی‌رغم استقامت پایین آن به دما و نور سازگاری بیشتری نسبت به گاردینا و ایندیگو دارد و رنگ درخشانی به پاستیل و آب نبات های پوشش‌دار می دهد (جسپرسن و همکاران، ۲۰۰۵).

۱-۱- کلیات جلبک شناسی

علم شناسایی و طبقه‌بندی جلبک‌ها را فیکولوژی[6] می نامند. این اصطلاح از واژه یونانی فیکوز به معنی علف هرز دریایی و لوگوز به معنی شناخت و علم آمده است . نام متداول جلبک، نامی غیر رسمی است که لینه دانشمند معروف سوئدی و ارائه دهنده سامانه دو نامی برای طبقه بندی و نام‌گذاری علمی گیاهان و جانوران، در سال ۱۷۵۴ میلادی به این موجودات اطلاق نموده است . گاهی در زبان فارسی به آن ها آلگ می‌گوییم که ظاهرا برگردان همان واژه ی جلبک توسط لینه است. طبق شواهد موجود، جلبک ها موجوداتی بسیار قدیمی هستند. پروکاریوت‌ها اولین موجوداتی بودند که روی زمین ظاهر شدند و عقیده بر این است که

[2] Cyanobacterium(مفرد) و Cyanobacteria(جمع)
[3] Spirulina
[4] Phycobiliprotein
[5] Phycocyanin
[6] Phycology

موجودات کلروفیل‌دار از حدود ۳ بیلیون سال پیش به اکسیژنه کردن جو زمین پرداختند . از حدود ۴۰۰ میلیون سال قبل جلبک‌های سبز که مشهورترین گروه از جلبک ها را تشکیل می دهند چندین بار از آب به خشکی انتقال یافته و سرانجام منشا گیاهان موجود در خشکی شدند (کیان‌مهر، ۱۳۸۴).

جلبک‌ها را می توان این گونه تعریف نمود: " گیاهان سبز فتواتوتروف، به کلی دارای ساختمان تولید مثلی تک‌سلولی، بدون سلول ه‌ای پوششی و محافظ تی، آبزی و فاقد جنین ". همه جلبک ها بدون استثنا واجد کلروفیل و فاقد آوند هستند. در ساختمان رویشی این گیاهان ساده، ریشه، ساقه و برگ دیده نمی شود. به چنین انواعی از ساخ تمان های رویشی معمولا "ریسه" می‌گویند. در اطراف ساختارهای زایشی، سلول‌های نازایا یا محافظ دیده می شود . بر خلاف گیاهان عالی، در جلبک ها پس از به وجود آمدن تخم (زیگوت[۷]) تقسیمات جنینی صورت نمی‌گیرد. غیر از موارد استثنایی (از قبیل برخی جلبک های قهوه‌ای)، سایر جلبک‌ها تمایز بافتی ندارند (ریاحی، ۱۳۸۱).

.

۱-۱-۲- طبقه بندی جلبک‌ها

با وجود آن که سامانه‌های مختلفی جهت طبقه بندی جلبک ها ارائه شده است، بیشتر آن ها از ویژگی‌های مشابهی از جمله رنگدانه‌ها، ماهیت ذخایر سلولی، ریزساختارهای کلروپلاست، ترکیب دیواره سلولی و تعداد و آرایش تاژک‌ها بهره می‌گیرند.

باید توجه داشت که واژه "ریز جلبک" از سطوح طبقه‌بندی محسوب نمی‌گردد بلکه اصطلاحی است که برای نامیدن کلیه جلبک های میکروسکوپی اعم از پروکاریوتی و یوکاریوتی به کار می رود و آنها را از جلبک‌های ماکروسکوپی [۸] متمایز می سازد. علی‌رغم این که در برخی از سامانه‌ها، سیانوباکتری ها و پروکلرفیته‌ا[۹] را به سبب ماهیت پروکاریوتی آن ها جزء باکتری‌ها تقسیم‌بندی می‌کنند، به دلیل ویژگی های

[7] Zygot
[8] Macroalgae
[9] Prechlorophyta

فیزیولوژیکی هم‌چون فتوسنتز، این میکروارگانیسم‌ها غالبا در گروه جلبک ها جای می گیرند و حجم قابل توجهی از مطالعات را به خود اختصاص می‌دهند.

در سامانه‌های جدیدتر ریز ساختارهای اندامک های سلولی مانند کلروپلاست به عنوان شاخص مناس بی جهت بررسی ارتباط تکاملی جلبک ها مورد توجه قرا ر گرفته‌اند. بر این اساس جلبک ها در چهار گروه دسته‌بندی می گردند. گروه اول ساختار پروکلریوتی داشته و شامل سیانوباکتری ها و پرکلروفیت‌ها می‌باشند. گروه دوم شامل گلوکوفیتا[10] و رودوفیتا[11] بوده و مرکب از انواعی است که کلروپلاست در آن ها توسط دو غشا کلروپلاستی احاطه شده است. دینو فیتا[12] و اوگلنوفیتا[13] گروه سوم را تشکیل می دهند که علاوه بر دو غشا فوق‌الذکر دارای غشاء سومی مشتق از شبکه آندوپلاسمی هستند . گروه چهارم مشتمل بر کریپتوفیتا[14]، کریزوفیتا[15]، پریمز یوفیتا[16]، باسیلاریوفیتا[17]، گزانتوفیتا[18]، رافیدوفیتا[19] و فئوفیتا[20] بوده تفاوت آنها با گروه سوم داشتن دو غشاء با منشاء شبکه آندوپلاسمی است.

[10] Gloconophyta
[11] Rheodophyta
[12] Dinophyta
[13] Oglenophyteae
[14] Cryptophyta
[15] Crysophyta
[16] Prymsiophyta
[17] Bacillarriophyta
[18] Xanthophyta
[19] Rhaphidophyta
[20] Pheophyta

سامانه طبقه‌بندی استاندارد جلبک از دیدگاه گیاه شناسی از قرار زیر است (لی، ۲۰۰۸):

Phylum-phyta	راسته
Class-phyceae	رده
Order-ales	طبقه
Family-aceae	خانواده
Genus	جنس
Species	گونه

۱-۱-۳- مروری بر ریزجلبک‌ها

جلبک‌ها حدود یک سوم توده سلولی گیاهان دنیا را تشکیل می دهند . ریزجلبک‌ها کلیه میکروارگانیسم‌های یوکاریوتیک و پروکاریوتیک فتوسنتز کننده را شامل می شوند . ریزجلبک‌ها ارگانیسم‌های تک‌سلولی میکروسکوپیک هستند که در اکثر موارد به صورت کلنی رشد می کنند (اسلان و همکاران، ۲۰۰۶). تخمین زده شده است بیش از ۴۰ درصد فتوسنتز دنیا توسط ریز جلبک‌ها انجام می‌شود. ریزجلبک‌ها در تمامی اکوسیستم‌ها حتی محیط‌های غیر آبی دیده می شوند و قادر به رشد در شرایط محیطی گوناگون با استفاده از مواد اولیه ناچیز و آبی که قابل مصرف توسط انسان نیست، می‌باشند. آنها می توانند هرجایی که نور خورشید و مواد غذایی ساده باشد تکثیر یابند . تاکنون بیش از ۵۰۰۰۰ گونه جلبک شناخته شده که تنها حدود ۳۰ درصد آنها تحت مطالعه و آنالیز قرار گرفته است . در اوایل دهه ۱۹۵۰ کمبود قابل توجهی از منابع پروتئینی در رژیم غذایی مردم دنیا مشاهده شد که منجر به آغاز مطالعاتی جهت ی افتن منابع پروتئنی مناسب و قابل‌جایگزین گردید. در آن زمان توده سلولی جلبک ها انتخاب مناسبی جهت دستیابی به این هدف به نظر رسید (اسپولار و همکاران، ۲۰۰۶).

در میان گو نه‌های شناخته شده جلبک ها، *کلرلاوولگاریس* و *اسپیرولیناپلاتنسیس* ریزجلبک‌های خوراکی و رایج بدون عوارض جانبی می باشد. کلرلا جهت استفاده در زمینه های پزشکی مثل جلوگیری از روند نارسایی کلیه و رشد بیش از حد لاکتوباسیلوس روده‌ایی استفاده می‌شود. در ۳۰ سال گذشته محصولات طبیعی جهت استفاده در شیمی درمانی سرطان ها مورد توجه زیادی بوده است . الگوی اسید آمینه، کربوهیدرات و اسیدهای چرب موجود در جلبک ها بسیار منطبق با پروتئین های مواد غذایی دیگر است. استرول موجود در جلبک هایی همچون گونه های اسپیرولینا با عث پیشگیری از ابتلا به بیما ری‌های قلبی عروقی می‌شود (رناد و همکاران ، ۱۹۹۹، ویسولیس و همکاران ، ۲۰۰۱). جلبک‌ها و ریز جلبک‌ها به صورت بالقوه منبع بزر گی از ترکیبات طبیعی هستند که می توانند جهت تولید مواد اولیه غذاهای عملگر اس تفاده شوند. انواع زیادی از جلبک ها و ریز جلبک‌ها دارای مقادیر قابل توجهی اسید های چرب غیر اشباع هستند که آن‌ها نیز در کاهش ریسک ابتلا به بیماری های قلبی- عروقی نقش مهمی ایفا می کنند. پلی ساکارید اولترا فیلتر شده ازگونه های اسپیرولینا (PUF2) فعالیت موثر ضد انعقادی بر پایه مه ار ترومبین از خود بروز داده است. محتوای چربی موجود در جلبک از ۱ تا ۷۰ در صد وزن خشک آن ها را تشکیل می دهد، که شامل گلیسرول قند ها یا بازهای استریفیه شده به اسیدهای چرب اشباع یا غیر اشباع به خصوص امگ ۳ و مگا۶ می‌باشد (موتاکومار و همکاران، ۱۹۹۸). ریز جلبک ها منبع مهمی از ویتامین های A، C، E گروهB، اسید فولیک، اسید پانتوتنیک و بیوتین نیز هستند (سلوام و همکاران، ۲۰۰۲).

۱-۱-۴- ریزجلبک‌ها و تغذیه انسان

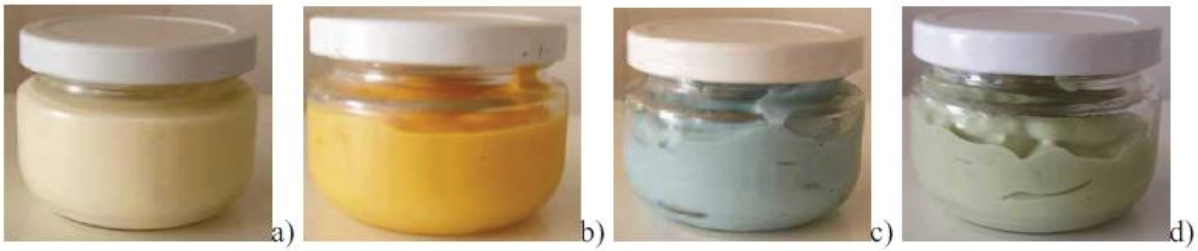
مخلوط بیشماری از ریز جلبک‌ها و دیگر غذاهای سلامتی در فروشگاه ها به شکل های قرص، پودر، کپسول دیده می‌شوند. همچنین می توان آن‌ها را با برخی محصولات غذایی (مثل پاستا، بیسکوئیت ها، نان، اسنک‌ها، آب نبات، ماست و نوشیدنی های غیر الکلی) ترکیب و اثرات تقویت کننده سلامتی که به توده ی زیستی ریزجلبک‌ها نسبت داده می شود را نشان داد. در برخی از کشور ها (آلمان، فرانسه، ژاپن، آمریکا، چین

و تایلند) شرکت‌های تولید و توزیع‌کننده غذا فعالیت‌های جدی در زمینه فروش غذاهای عملگر با ریزجلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها انجام داده‌اند.

قابلیت ترکیب توده‌ی زیستی ریزجلبک‌ها با سامانه‌های غذایی مشروط به نوع فرایند به کار برده شده و شدت آن (مثل فرایندهای حرارتی و مکانیکی) و طبیعت غذا (مثل امولسیون، ژل، سامانه‌های خمیری هوادهی شده) و همچنین واکنش های بین ترکیبات غذایی (پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها، لیپید ها، قند و نمک‌ها) می‌باشد. در کنار خواص رنگ‌زا و اهداف تغذیه‌ایی، ترکیب ریزجلبک‌ها با غذاها ممکن است تغییرات معنی‌داری در خواص ریزساختاری و رئولوژیکی غذاها ایجاد کند (گوویا، ۲۰۰۸).

۱-۱-۴-۱- امولسیون‌های روغن در آب

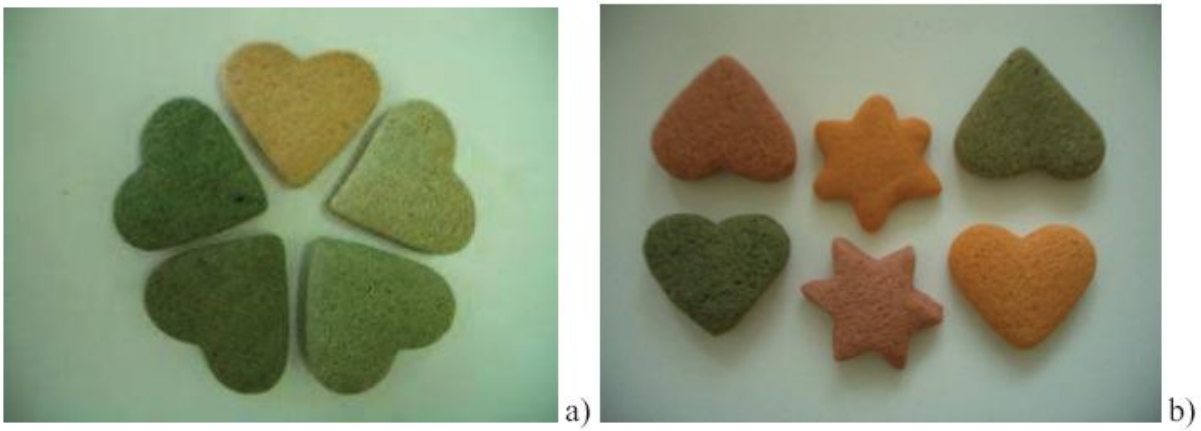
به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی بسیاری از رنگ دانه‌های طبیعی ریزجلبک ها، استفاده از آنها در افزایش مقاومت به اکسیداسیون لیپید امکان پذیر است. بر طبق گفته ی محققین افزودن فایکوسیانین باعث بهبود خواص رئولوژیکی امولسیون ها می گردد. همچنین افزودن توده ی زیستی ریزجلبک ها به امولسیون های روغن در آب باعث مقاومت رنگی و اکسیداسیونی این گونه امولسیون‌ها می‌گردد (باتیستا، ۲۰۰۶a، ۲۰۰۶b)(ریس، ۱۹۹۸) (شکل۱-۱).



شکل۱-۱. امولسیون‌های روغن در آب به همراه پایدارکننده پروتئین نخودفرنگی: a) گروه کنترل، b) امولسیون حاوی لوتئین، c) امولسیون حاوی فایکوسیانین، d) امولسیون حاوی مخلوطی از لوتئین و فایکوسیانین (گوویا، ۲۰۰۸)

۱-۱-۴-۲- بیسکوئیت‌ها

بیسکوئیت‌ها و کلوچه ها یکی از پرمصرف‌ترین محصولات غذایی هستند. استفاده از ریزجلبک‌ها در ترکیبات آن ها روش جالبی برای تولید محصولات غذایی جدید است. تحقیقات نشان داده که افزودن برخی ریزجلبک‌ها به بیسکوئیت و محصولات مشابه باعث بهبود بافت و افزایش ماندگاری می شود (هوسنی، ۱۹۸۹). (شکل ۱-۲).



شکل۱-۲. a) بیسکوئیت غنی شده با توده‌ی زیستی *کلرلاوولگاریس*[۲۱] در غلظت‌های مختلف و b) بیسکوئیت‌های غنی شده با *کلرلاوولگاریس* کاروتنوئیدی (رنگ نارنجی) و*هماتوکوکوس‌پلوویالیس*[۲۲] (رنگ صورتی) (گوویا، ۲۰۰۸)

۱-۱-۴-۳- ژل‌های خوراکی

در حال حاضر بررسی‌های زیادی بر ترکیب توده‌ی زیستی ریزجلبکی در محصولات ژلی غذایی بر پایه پروتئین و پلی‌ساکاریدهای مخلوط شده با سامانه‌های پلی‌مری در حال انجام است. همچنین تحقیقات نشان داده است که افزودن برخی ریزجلبک ها و رنگ های طبیعی باعث بهبود خواص ژلی و رئولوژیکی ژل ها و دسرها می‌شود (باتیستا و همکاران، ۲۰۰۷) (نونس و همکاران، ۲۰۰۳،۲۰۰۶) (شکل ۱-۳).

[21] Chlorella vulgaris
[22] Haematococcus pluvialis