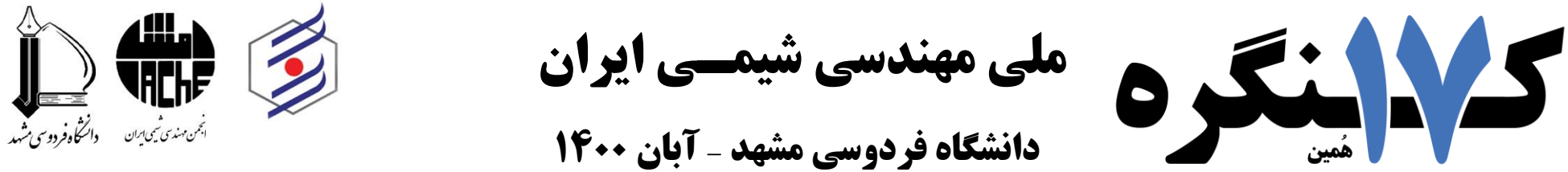


کنگره ۱۷ هُمین

ملی مهندسی شیمی ایران

دانشگاه فردوسی مشهد - آبان ۱۴۰۰

دانشگاه فردوسی مشهد

انجمن مهندسی شیمی ایران

گواهی ارائه مقاله

بدین وسیله گواهی می شود که مقاله با عنوان

جداسازی رنگدانه کلروفیل از ریزجلبک با استفاده از فرآیند دفع سطحی

با نویسندگی: **مهسا رستگار جویباری، محمود اخوان مهدوی و رضا قشلاقی**

در هفدهمین کنگره ملی مهندسی شیمی ایران که در تاریخ ۱۸ تا ۲۰ آبان در گروه مهندسی شیمی دانشگاه فردوسی مشهد برگزار گردید، مورد پذیرش قرار گرفته و ارائه شده است.

اکبر شاهسوند
دبیر علمی کنگره

وحید تقی خانی
دبیر انجمن مهندسی شیمی ایران

مهدی پور افشاری
دبیر کنگره

جداسازی رنگدانه کلروفیل از ریزجلبک با استفاده از فرآیند دفع سطحی

مهسا رستگار جویباری[۱]، محمود اخوان مهدوی[،۲]، رضا قشلاقی[۳]**

گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

*mahdavi@um.ac.ir***

چکیده

کلروفیل های موجود در میکرو جلبک ها گروهی از رنگدانه هایی با ارزش هستند که جداسازی آن ها از عصاره ریزجلبک با استفاده از فرایند جذب و دفع سطحی امکانپذیر است. جاذب گرافن تمایل به جذب کلروفیل ها دارد که در طی فرآیند دفع کلروفیل ها به صورت خالص قابل بازیابی هستند. در این مطالعه با تمرکز بر فرایند دفع، اثر پارامتر های موثر بر بازده دفع از جمله دما، pH و استفاده از امواج صوتی بررسی شده است. نتایج نشان داد که بیشترین بازده دفع کلروفیل از ساختار جاذب گرافن (۶۰ ٪≈) در دمای محیط و pH بالاتر از ۱۰ (حدود ۱۰/۵) بدست می آید. قرار دادن محلول جاذب تحت امواج صوتی به مدت ۱۵ دقیقه توانست بازده دفع را به ۶۷ ٪≈ برساند.

واژه‌های کلیدی: کلروفیل،جداسازی، دفع سطحی، گرافن، بازده دفع، دما، pH.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی شیمی گرایش بایوتکنولوژی

۲-دانشیار گروه مهندسی شیمی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- دانشیار گروه مهندسی شیمی دانشگاه فردوسی مشهد

۱- مقدمه

کلروفیل ها خانواده ای از رنگدانه های ارزشمند هستند که وظیفه جمع آوری انرژی تابشی در گیاهان فتوسنتز کننده را دارند و به صورت عمده شامل کلروفیل های a و b است. این گروه از رنگدانه ها به علت دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی، کاربرد گسترده ای در زمینه های مختلف از جمله صنایع دارویی، آرایشی، بهداشتی و غذایی داشته و سبب تقویت سیستم ایمنی بدن و کاهش ابتلا به سرطان می باشند [۱, ۲]. ریز جلبک ها یکی از منابع غنی، دردسترس و به صرفه به منظور استخراج این رنگدانه ها می باشند. اما در فرآیند استخراج، کلروفیل ها همراه با دیگر مواد موجود در ریزجلبک مانند رنگدا نه های کاروتنوئید و لیپید ها هستند. به این علت، جداسازی رنگدانه ها به منظور به دست آوردن کلروفیل خالص دارای اهمیت می باشد [۱, ۳-۵].

یکی از روش های مورد توجه برای جداسازی، استفاده از فرآیند جذب سطحی با استفاده از جاذب گرافن می باشد. در این روش با استفاده از مقدار مناسب جاذب، دیگر رنگدانه ها مانند کاروتنوئید ها، از بستر جاذب عبور کرده و کلروفیل ها جذب بستر می شوند. در مرحله دفع کلروفیل ها به صورت خالص بازیابی میشوند [۶]. عوامل مختلفی بر راندمان دفع سطحی کلروفیل تاثیر گذار است، از جمله این عوامل میتوان به حجم حلال مورد استفاده، شرایط محیطی مانند دما و pH و امواج فراصوت اشاره کرد[۷]. در این پژوهش فرآیند دفع سطحی کلروفیل از جاذب گرافن مورد بررسی قرار گرفته و تاثیر عوامل مذکور بر بازده دفع مطالعه شده است.

۲- مواد و روش ها

مواد مورد استفاده در این مطالعه شامل پودر جلبک خشک، اتانول ۹۶٪ (شرکت تقطیر خراسان)، کربنات منیزیم (Merck Chemicals) و گرافن صنعتی(United nanotech innovations Pvt. Ltd, India) می باشد. تجهیزات مورد استفاده نیز شامل ترازوی دیجیتال (Sartoriou, Te153S, Germany) با دقت ۰/۰۰۱گرم، اسپکتروفتومتر (UNICO 2100, UV-Visible, ,USA) ، حمام فراصوت (WUC-A03H, Korea)، سانتریفوژ (Eppendorf, Germany)، شیکر انکوباتور(Tadbirtarah, Iran)، آون (Wiseven, Korea)، ستون جذب شیشه ای به طول ۳۰ سانتی متر و قطر داخلی ۴ میلی متر، ارلن و دیگر لوازم معمول آزمایشگاهی بودند.

برای استخراج رنگدانه ها از حلال اتانول استفاده شد [۸]. در یک فالکون ۱۵ میلی لیتری به ترتیب ۰/۲۵گرم پودر جلبک، ۰/۰۲۵گرم کربنات منیزیم و ۸ میلی لیتر اتانول ریخته و مخلوط حاصل به مدت ۳ دقیقه ورتکس شد. سپس به مدت نیم ساعت و در دمای ۴ درجه سلسیوس تحت امواج فراصوت با فرکانس ۵۰ کیلوهرتز قرار گرفت. در مرحله بعد به مدت ۱۸ ساعت در شیکر انکوباتور در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. در نهایت سانتریفوژ شده و محلول بالایی برداشته شد. طی دو مرحله، با افزودن ۸ میلی لیتر اتانول و سانتریفوژ در هر مرحله، ۲۴ میلی لیتر عصاره به دست آمد.

به منظور تعیین غلظت رنگدانه ها در هر مرحله، ابتدا جذب نمونه در طول موج های مربوط به هر رنگدانه با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری و سپس با استفاده از معادلات لیچتنتالر[1] برای حلال اتانول غلظت کلروفیل های a، b محاسبه شد [۹].

برای انجام فرآیند جذب سطحی ۵ میلی لیتر از عصاره استخراج شده با غلظت ثابت ۱/۵±۸۵ میکروگرم بر میلی لیتر از کلروفیل a به ستون جذب حاوی ۰/۱۵ گرم گرافن صنعتی تزریق شد تا کلروفیلها با جذب شدن به بستر از کاروتنوئید ها جدا شوند. کاروتنوئیدها در خروجی ستون دریافت می شوند.

برای انجام فرآیند دفع سطحی، جاذب حاوی کلروفیلها با ۴۰ میلی لیتر اتانول در فلاسک پوشیده شده با فویل ریخته شد و در شرایط محیطی مناسب قرار گرفت تا فرآیند دفع انجام شود. به منظور ایجاد نیروی محرکه لازم برای فرایند دفع از ۴۰ میلی لیتر اتانول تازه یعنی ۸ برابر حجم مورد استفاده در فرایند جذب استفاده شد. شرایط محیطی مناسب با تغییر دما در محدوده دمای محیط (۲۵ درجه سلسیوس) تا ۶۱ درجه سلسیوس، تغییر pH در محدوده ۱ تا ۱۴، و اعمال امواج صوتی با فرکانس ۴۰ کیلوهرتز و با مدت مشخص فراهم شد. در هر آزمایش بازده دفع کلروفیل a (بر حسب درصدی از مقدار جذب شده) توسط معادله ۵ محاسبه شد.

$$E_d = \frac{C_d}{C_i - C_o} \times 100 \qquad (۵)$$

که C_i غلظت کلروفیل a در عصاره ورودی، Co غلظت کلروفیل a در خروجی ستون جذب و C_d غلظت پس از دفع می باشد. اعداد گزارش شده بر اساس قانون اعداد معنادار[2] می باشد. همچنین تمام آزمایش ها با دو بار تکرار انجام شد و مقادیر گزارش شده به صورت میانگین همراه با حاشیه خطا[3] و سطح اطمینان ۹۵٪ می باشد.

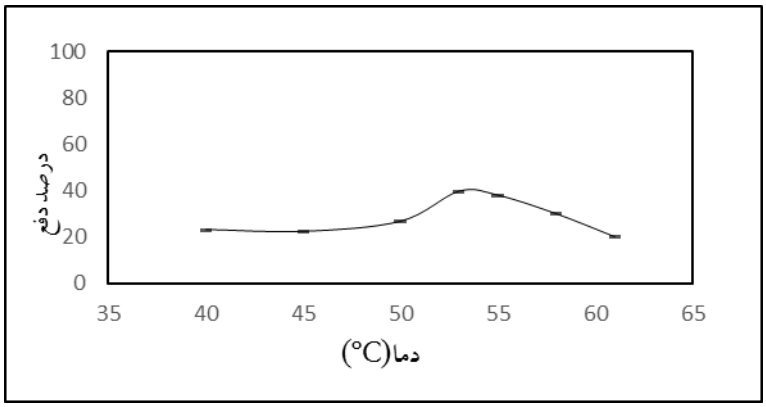
۳- نتایج و بحث

در طی فرآیند جذب، کلروفیلها و کاروتنوئیدها از یکدیگر جداسازی شدند. شکل ۱ جداسازی دو رنگدانه از یکدیگر را به صورت کیفی نشان میدهد.

شکل ۱- نمونه های حاصل از مراحل استخراج، جذب سطحی و دفع سطحی

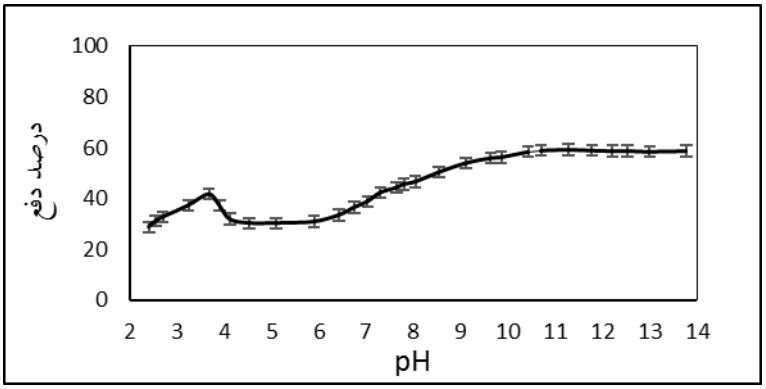
[1] Lichtenthaler
[2] Significant figures rule
[3] margin of errors

شکل ۲ بازده دفع کلروفیل a در شرایط دمایی ۴۰ تا ۶۱ درجه سلسیوس را نشان میدهد. همانطور که در این شکل دیده میشود در دمای ۵۳ درجه سلسیوس بازده دفع به مقدار ماکزیمم ۳۹/۵۳ ٪ رسید. در دماهای بالاتر با اینکه از نظر تئوری بازده دفع باید بیشتر شود چون ثابت های سینتیکی دفع مطابق رابطه آرنیوس با افزایش دما افزایش می یابند، کاهش بازده دفع مشاهده شد که احتمالا میتواند به دلیل تخریب کلروفیل در دماهای بالاتر از ۵۵ درجه سلسیوس باشد .



شکل ۲- تاثیر دما بر بازده دفع کلروفیل *a* از جاذب گرافن.در pH_{avg}=7.3

شکل ۳ اثر تغییرات pH بر بازده دفع کلروفیل a را نشان می دهد. همانطور که در شکل دیده میشود اثر این عامل بر بازده دفع قابل توجه بوده و در pH های بالاتر از ۱۰/۵ و در دمای محیط بازده دفع به نزدیک ۶۰ ٪ رسید. نتایج نشان داد که در pH های اسیدی نیز بازده دفع تا حدود ۴۲ ٪ افزایش یافت اما از pH های حدود ۶ تا ۱۰ روند افزایشی بازده دفع کاملا مشهود بود و در pH حدود ۱۰/۵ به ماکزیم خود رسید و با افزایش بیشتر pH تغییر قابل ملاحظه ای پیدا نکرد.



شکل ۳- تاثیر pH بر بازده دفع کلروفیل از جاذب گرافن. T=25 °C

با توجه به اینکه نتایج نشان داد افزایش دما تا حدود ۵۳ درجه سلسیوس و افزایش pH تا ۱۰/۵ باعث افزایش بازده دفع میشود اثر ترکیبی این دو پارامتر مورد بررسی قرار گرفت. جدول ۱ نتایج بازده دفع کلروفیل a در محدوده دمایی ۴۰ تا ۶۱ درجه سلسیوس در دو pH را نشان میدهد. همانطور که در جدول دیده میشود، در pH های بالاتر از ۱۰، بازده دفع بطور کلی بیشتر است و بیشترین بازده دفع در محدوده دمایی ۴۵ تا ۵۳ درجه سلسیوس اتفاق افتاده است. اما از مقایسه نتایج این جدول با نتایج شکل ۳ میتوان دریافت که بازده دفع در pH های بالاتر از ۱۰ و دمای ۲۵ درجه سلسیوس (۶۰ ٪ ≈) بالاتر از مقدار آن در دماهای محدوده ۴۵ تا ۵۳ درجه سلسیوس(۵۷ ٪ ≈) است. لذا بهترین شرایط محیطی برای دفع کلروفیل از جاذب گرافن دمای محیط و pH بالاتر از ۱۰ می باشد.

جدول ۱- بازده دفع کلروفیل از جاذب گرافن در دو pH قلیایی و خنثی

دما (سانتی گراد)	pH=۷/۳	pH=۱۰/۹
۴۰	۲۳/۰۱±۰/۲۹	۵۰/۲۸±۰/۳۲
۴۵	۲۲/۱۹±۰/۲۴	۵۵/۲۵±۰/۳۰
۵۰	۲۶/۵۹±۰/۲۸	۵۶/۸۴±۰/۲۳
۵۳	۳۹/۵۳±۰/۳۴	۵۵/۷۴±۰/۲۳
۵۵	۳۷/۷۹±۰/۳۱	۴۵/۹۸±۰/۲۷
۵۸	۲۹/۷۶±۰/۲۹	۵۳/۷۵±۰/۲۲
۶۱	۱۹/۰۸±۰/۲۸	۴۷/۲۸±۰/۲۰

به منظور بررسی تاثیر امواج صوتی بر افزایش بازده دفع کلروفیل از ساختار جاذب گرافن، محلول حاوی جاذب تحت امواج صوتی در دو مدت زمان ۱۵ دقیقه و ۳۰ دقیقه قرار گرقت.

جدول ۲-اثر امواج صوتی بر بازده دفع کلروفیل از جاذب گرافن

زمان حمام فرا صوت (دقیقه)	درصد دفع
۱۵	۶۶/۵۳±۰/۲۶
۳۰	۶۱/۹۹±۰/۲۵

جدول ۲ نشان میدهد که بازده دفع کلروفیل تحت امواج صوتی به مدت ۱۵ دقیقه به میزان حدود ۶۷٪ میرسد که حدود ۱۰٪ افزایش را نشان میدهد. مدت زمان های طولانی تر باعث کاهش بازده دفع میشود که برای بررسی دلیل آن آزمایش های بیشتری باید صورت گیرد.

٤- نتیجه گیری

یکی از روشهای جداسازی رنگدانه ها از عصاره ریزجلبک جذب سطحی با استفاده از جاذب گرافن است. این جاذب تمایل بیشتری به جذب کلروفیل ها دارد. با دفع سطحی کلروفیل ها از ساختار جاذب میتوان جداسازی کلروفیل ها را از دیگر رنگدانه ها کامل نمود. نتایج نشان داد که بهترین بازده دفع در محیط های قلیایی و در دمای محیط بدست می آید. اعمال امواج صوتی بر محلول جاذب نیز میتواند به افزایش بازده دفع کمک کند.

مراجع

[1] Christaki, E., E. Bonos, and P. Florou-Paneri, *Innovative microalgae pigments as functional ingredients in nutrition*, in *Handbook of marine microalgae*. 2015, Elsevier. p. 233-243.
[2] Gujar, A., et al., *Development, production and market value of microalgae products.* Appli Microbiol Open Access, 2019. 5: p. 162.
[3] Hosikian, A., et al., *Chlorophyll extraction from microalgae: A review on the process engineering aspects.* International journal of chemical engineering, 2010. 2010.
[4] Michalak, I. and K. Chojnacka, *Algal extracts: Technology and advances.* Engineering in Life Sciences, 2014. 14(6): p. 581-591.
[5] Butnariu, M., *Methods of analysis (extraction, separation, identification and quantification) of carotenoids from natural products.* J. Ecosyst. Ecography, 2016. 6(2): p. 1-19.
[6] Ramesha, G., et al., *Graphene and graphene oxide as effective adsorbents toward anionic and cationic dyes.* Journal of colloid and interface science, 2011. 361(1): p. 270-277.
[7] Kyzas, G.Z., et al., *Graphene composites as dye adsorbents.* Chemical Engineering Research and Design, 2018. 129: p. 75-88.
[8] Azarmehr, M., M. Akhavan Mahdavi, and R. Gheshlaghi. *Extraction of algal chlorophyll (a+ b) pigment using adsorption*. in *The16th Iranian National Congress of Chemical Engineering*. 2019.
[9] Lichtenthaler, H.K., *[34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes.* Methods in enzymology, 1987. 148: p. 350-382.

Separation of chlorophylls from microalgae extract using desorption

Mahsa Rastegar Jooybari, Mahmood Akhavan Mahdavi, Reza Gheshlaghi
mahsa.rastgar.95@gmail.com
mahdavi@ferdowsi.um.ac.ir

Abstract
Chlorophylls are a group of valuable pigments that can be separated from microalgae extract using the adsorption and desorption processes. The graphene adsorbent has a higher specificity to adsorb chlorophylls, which can be recovered purely during the chlorophyll desorption. In this study, focusing on the desorption, the effect of parameters affecting the desorption efficiency including temperature, pH, and ultrasonication is investigated. The results showed that the highest chlorophyll desorption efficiency was obtained (60%) at room temperature and pH above 10 (about 10.5). Ultrasound treatment of adsobant for 15 minutes increased the desorption efficiency to ≈67%.

Keywords: Chlorophyll, separation, adsorption, graphene, desorption efficiency, temperature, pH.