برداشت زیتوده ریزجلبک *Nanochloropsis oculata* با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون

علی جابری[۱]*؛ کیومرث روحانی[۲]؛ فلورا محمدی‌زاده[۱]

alijaberi52@yahoo.com

۱-دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، صندوق پستی :۷۹۱۵۹/۱۳۱۱

۲-پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان، بخش آبزی‌پروری. صندوق پستی : ۱۵۹۷-۷۹۱۴۵

تاریخ دریافت : مرداد ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش : مهر ۱۳۹۱

چکیده

هزینه برداشت ریزجلبک‌ها به دلیل دارا بودن اندازه کوچک و میزان تغلیظ پائین شان در محیط کشت، به عنوان یک چالش بزرگ محسوب می گردد. در مطالعه حاضر، امکان استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون (جریان مستقیم برق) برای برداشت زیتوده ریزجلبک *Nanochloropsis oculata* از محیط کشت مورد آزمایش قرار گرفت. میزان ترکیبات بیوشیمیایی، کلروفیل *a* و میزان رویش‌پذیری (viability) ریزجلبک *N. oculata* ۱۰ روز پس از تغلیظ با جریان الکتریسیته تعیین گردید. نتایج اندازه‌گیری‌های ترکیبات بیوشیمیایی و کلروفیل *a* نشان داد که سلول تغلیظ شده ریزجلبک با این روش هیچگونه کاهشی در میزان ترکیبات بیوشیمیایی و کلروفیل *a* در مقایسه با شاهد را نشان نداد. همچنین نتایج نشان داد که کارایی فلوکولاسیون با افزایش میزان جریان مستقیم الکتریسیته افزایش یافت. میزان کارایی فلوکولاسیون در ولتاژهای ۳ تا ۱۰ ولت به اندازه ۸۵ تا ۹۷٪ بود. بیشینه کارایی فلوکولاسیون، ۹۷٪، در ولتاژ ۱۰ ولت پس از ۳۰ دقیقه و در کمترین زمان نشست ۲ ساعت صورت گرفت. میزان رویش‌پذیری بدست آمده برای ریزجلبک *N. oculata* پس از فلوکولاسیون با جریان برق مستقیم (۱۰-۳ ولت) نشان داد که سلول‌ها در شرایط خوبی از نظر شکل قرار داشته و تفاوت قابل تشخیصی بین آنها و سلول‌های غیر فلوکوله در زیر میکروسکوپ نوری دیده نشد. این مطالعه به روشنی نشان داده است که الکتروفلوکولاسیون روش موثر برای فلوکوله نمودن سلول ریزجلبک *N. oculata* بوده، از اینرو می‌تواند به عنوان یک جایگزین سودآور در تولید ریزجلبک تغلیظ شده برای صنعت آبزی‌پروری و کارگاه های تکثیر در نظر گرفته شود.

کلمات کلیدی: ریزجلبک، *Nanochloropsis oculata* ، کارایی فلوکولاسیون، الکتروفلوکولاسیون، آبزی‌پروری.

*نویسنده مسئول

۱.مقدمه

کشت انبوه ریزجلبک‌ها در کارگاه‌های تکثیر آبزیان به منظور تولید غذای زنده حدود ۳۰٪ هزینه کل تولید را در بر می‌گیرد (۱۰). راهکارهای جایگزین که دارای ارزش بهینه بوده و بیشتر مورد بررسی و توجه قرار گرفته شامل استفاده از روش میکروکپسوله و خشک کردن ریزجلبک، استفاده از مخمر یا غذاهایی برپایه مخمر و باکتری می‌باشد (۱۸). از سویی راهکار دیگری که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته تغلیظ زیتوده جلبکی بوده (۱۷) که دارای کارایی بالایی در برداشت زیتوده ریزجلبکی می باشد. تکنیک‌های زیادی همچون فیلتراسیون، سانتریفیوژ، رسوب‌دهی و فلوکولاسیون برای برداشت زیتوده ریزجلبکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۸)، اما به هرحال هرکدام از این روش‌ها نقطه ضعف خودشان را دارا می‌باشند. در این میان روش فلوکولاسیون بطور نسبی هم ساده و هم راهکار نوید بخش در برداشت زیتوده ریزجلبکی می باشد (۱۵، ۱۹).

مطالعات زیادی در استفاده از جریان برق مستقیم (DC) برای برداشت زیتوده ریزجلبکی از ستون آب انجام گرفته است و نوع جریان و شدت ولتاژ از فاکتورهای کلیدی و تعیین کننده در کارایی روش الکتروفلوکولاسیون می‌باشند (۳، ۱۱، ۳۰). شدت جریان و ولتاژ بالاتر علاوه بر افزایش میزان کارایی برداشت زیتوده ریزجلبکی، باعث کاهش زمان تغلیظ نیز می‌گردد (۱، ۳).

بیشترین مطالعات در بخش توسعه تکنیک‌های تغلیظ ریزجلبک‌ها، بر روی برداشت زیتوده جلبکی از آب‌های زائد (waste water) متمرکز شده است (۲۰)، علیرغم این برخی از این مطالعات به منظور تغلیظ ریزجلبک‌ها و با هدف استفاده درکارگاه‌های تکثیر ماهیان دریایی می‌باشد (۲۳). در داخل کشور تنها مطالعه‌ای که در این زمینه صورت گرفته استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون به منظور پالایش پساب ناشی از هرزآب‌های صنایع بوده است و نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که کارایی این روش در برداشت مواد معلق در پساب و کلروفیل به ترتیب به میزان ۹۹/۵٪ و ۱۰۰٪ رسیده است (۳).

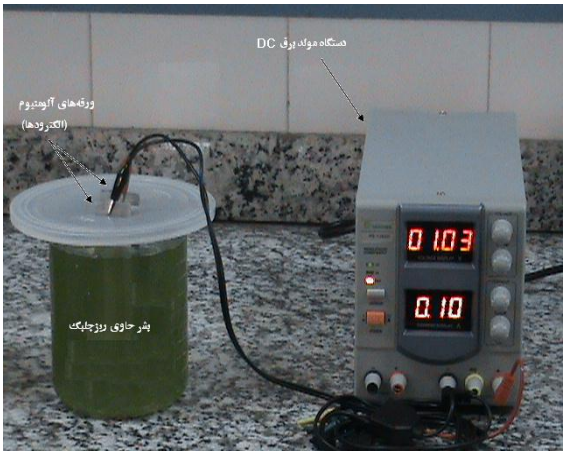
۲. مواد و روش‌ها

کشت ریزجلبک *N. oculata*

ریزجلبک *N. oculata* از فایکولب بخش آبزی‌پروری پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان تهیه گردید. ریزجلبک نانوکلروپسیس در ظرف‌های ۳ لیتری محتوی ۲/۵ لیتر آب دریای استریل شده محتوی محیط کشت f/2 تحت شرایط یکسان با درجه حرارت $^{\circ}C$ ۲۵-۲۲، شوری ppt ۳۰، قلیائیت ۸ و پریود نوری h (light: dark) ۱۲:۱۲ و به مدت ۱۰ روز در آزمایشگاه فایکولب کشت داده شد (۱۳). هر روز سه نمونه ۱ میلی‌لیتری از ریزجلبک کشت داده شده را برداشته و با محلول لوگل تثبیت و سپس با استفاده از لام شمارش هموسیتومتر اقدام به شمارش سلولی گردید. میزان رشد ویژه نیز با استفاده از فرمول $\mu = \ln (N_1/N_0)/ (t_1-t_0)$ ارائه شده توسط Guillard (۱۹۷۳) بدست آمد، که در آن μ رشد ویژه، N_0 و N_1 تراکم سلول فیتوپلانکتون در زمان‌های صفر و مشخص می‌باشد (۱۴).

روش‌های تغلیظ و برداشت (harvesting) ریزجلبک از طریق الکتروفلوکولاسیون

در این روش به میزان ۵۰۰ میلی‌لیتر از ریزجلبک نانوکلروپسیس را در پایان مرحله رشد لگاریتمی برداشت نموده و درون بشرهای ۸۰۰ میلی‌لیتر ریخته و یک جفت صفحه فلزی از جنس آلومینیوم به ابعاد ۳×۱۲ سانتی‌متر و ضخامت ۲ میلی‌متر در آن تعبیه گردید. فاصله صفحات از یکدیگر ۲ سانتی‌متر و به یک مولد برق AC با ولتاژ $V\ cm^{-1}$ ۶۰-۵ متصل گردید (۲۱). در این روش از ولتاژهای ۱، ۳، ۵ و ۱۰ ولت به منظور تغلیظ ریزجلبک‌ها استفاده گردید. شکل ۱ تغلیظ ریزجلبک نانوکلروپسیس را با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون نشان می‌دهد.



شکل ۱ : تغلیظ ریزجلبک نانوکلروپسیس با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون

محاسبه کارایی برداشت (Harvest Efficiency) ریزجلبک‌ها

کارایی برداشت با استفاده از رابطه ارائه شده توسط Harith و همکاران (۲۰۰۹) بدست آمده است:

$$HE= 100\% - [(C_f / C_i)] \times 100\%$$

که C_f و C_i به ترتیب نشان دهنده تراکم سلول جلبکی پس از تغلیظ و پیش از تغلیظ می‌باشد (۱۶).

بررسی کشت دوباره ریزجلبک تغلیظ شده

در این سری از آزمایش حجم مشخصی از ریزجلبک تغلیظ شده با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون را در ارلن‌های ۱ لیتری محتوی ۷۵۰ میلی‌لیتر آب دریای استریل شده محتوی محیط کشت f/2 تحت شرایط یکسان با درجه حرارت ۲۵ °C- ۲۲، شوری ۳۰ ppt، قلیائیت ۸ و پریود نوری (light: 12 h dark) ۱۲:۱۲ در آزمایشگاه فایکولب کشت داده شد تا امکان کشت دوباره آن مورد آزمایش قرار گیرد.

آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبک نانوکلروپسیس

ریزجلبک نانوکلروپسیس در مرحله رشد لگاریتمی برای تعیین میزان زیتوده خشک، خاکستر، کلروفیل a، پروتئین، لیپید و کربوهیدرات برداشت شده و با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون تغلیظ گردیده تا مورد آنالیز بیوشیمیایی قرار گیرد. برای تعیین میزان وزن خشک، حجم مشخصی از جلبک تغلیظ شده را درون انکوباتور فن‌دار و در درجه‌حرارت ۵۴۰ °C به مدت ۲ ساعت قرار داده تا وزن خشک ثابت بدست آید و خاکستر نیز از طریق وزن‌سنجی بعد از سوزاندن در کوره در درجه‌حرارت ۵۴۰ °C با استفاده از روش‌های مرسوم AOAC (۱۹۹۷) اندازه‌گیری گردید (۲). میزان پروتئین کل با استفاده از روش ارائه شده صورت گرفته و میزان آن با استفاده از آلبومین بعنوان استاندارد و اسپکتروفتومتری تعیین گردید (۲۲). میزان چربی کل با استفاده از روش های موجود و توسط محلول کلروفرم-متانول (۱:۲) به عنوان حلال و از طریق وزن‌سنجی صورت گرفت (۶). میزان کربوهیدرات کل نیز از تفاضل مجموع پروتئین، لیپید و خاکستر از ۱۰۰ بدست آمده است.

تعیین میزان کلروفیل *a*

کلروفیل *a* با استفاده از حلال استن ۹۰٪ استخراج شده و مقدار آن بوسیله اسپکتروفتومتری تعیین و به کمک معادلات ارائه شده توسط Strickland و Parsons (۱۹۸۹) بدست آمده است (۲۶).

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات و داده‌های بدست آمده در نرم‌افزار Excel وارد شده و نتایج توصیفی بصورت جدول و نمودار تهیه گردید. تحلیل آماری نتایج در برنامه SPSS و با استفاده از آزمون‌های پارامتری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تفریقی Duncan جهت مقایسه میانگین داده‌ها مورد بررسی بکار رفته و سطح معنی‌دار برای داده‌ها $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

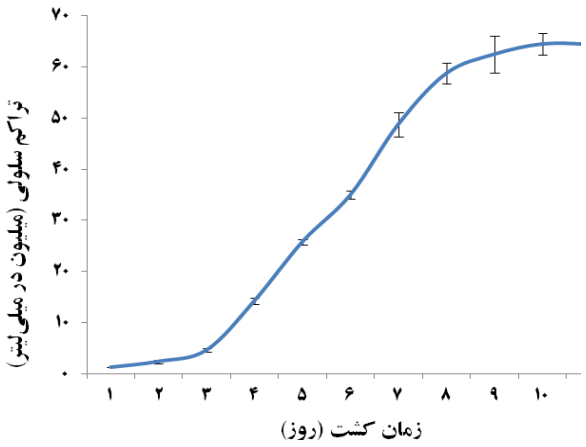
پارامترهای رشد

جدول شماره ۱ پارامترهای رشد [نرخ رشد (day^{-1})، تراکم سلولی ($\times 10^6$ cell mL^{-1})، وزن سلولی ($pg\ cell^{-1}$)، زیتوده خشک ($g\ L^{-1}$) و میزان کلروفیل *a* ($mg\ L^{-1}$)] را در ریزجلبک *N. oculata* در شرایط آزمایشگاهی نشان می دهد.

جدول ۱: پارامترهای رشد ریزجلبک *N. oculata* در شرایط آزمایشگاهی

پارامترهای رشد	ریزجلبک *N. oculata*
نرخ رشد	۰/۴۴
تراکم سلولی	۶۴/۳۹±۱/۲۹
وزن سلولی	۵/۱۷
زیتوده خشک	۳/۳۲±۰/۰۷
کلروفیل a	۶/۰۳±۰/۷۶

شکل ۲ تراکم ریزجلبک *N. oculata* را در ارلن۳ لیتری طی ۱۱ روز کشت در شرایط آزمایشگاه را نشان می‌دهد. همانگونه که در شکل دیده می‌شود، بیشینه تراکم ریزجلبک در پایان روز ۱۱ به $۶۴/۴\times۱۰^{۶}$ cell mL^{-1} رسیده است.



شکل ۲: تراکم ریزجلبک در ارلن ۳ لیتری طی ۱۱ روز کشت در شرایط آزمایشگاهی

ترکیبات بیوشیمیایی (٪ وزن خشک) در ریزجلبک *N. oculata* در ولتاژهای مختلف

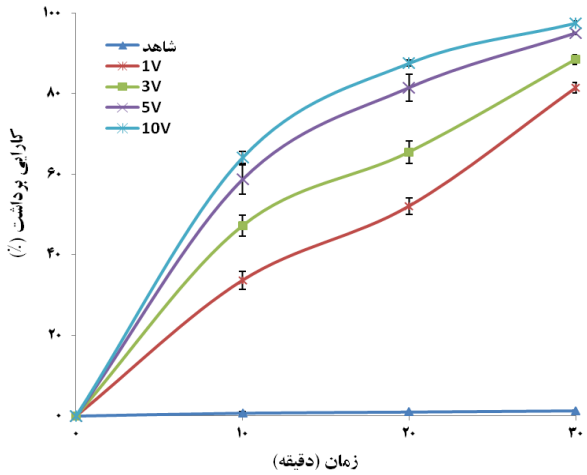
جدول شماره ۲ ترکیبات بیوشیمیایی (٪ وزن خشک) در ریزجلبک *N. oculata* و در ولتاژهای مختلف را نشان می‌دهد. بیشینه میزان ترکیبات بیوشیمیایی در ریزجلبک نانوکلروپسیس پس از تغلیظ شدن با استفاده از روش فلوکولاسیون به ترتیب شامل پروتئین، کربوهیدرات، خاکستر و لیپید بوده است.

کارایی برداشت ریزجلبک *N. oculata* با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون

شکل ۳ کارایی برداشت ریزجلبک نانوکلروپسیس را با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون و در ولتاژهای مختلف نشان می‌دهد. همانگونه که در شکل مشاهده می‌گردد بیشینه کارایی برداشت ریزجلبک با افزایش میزان ولتاژ افزایش یافته و همچنین کارایی برداشت در ولتاژهای بالاتر در زمان کمتر صورت گرفته است. به همین ترتیب بیشینه کارایی برداشت ۲۰ دقیقه پس از شروع آزمایش در ولتاژهای ۱۰ و ۵ بوده و در تیمار شاهد که از جریان برق برای فلوکوله کردن ریزجلبک استفاده نشده، کارایی برداشت نزدیک به صفر بدست آمده است. کارایی برداشت ریزجلبک در ولتاژ ۱۰ ولت نزدیک به بیش از ۹۸٪ رسیده است. نتایج به روشنی نشان داده است که اختلاف معنی داری بین تیمارهای مورد آزمایش و شاهد وجود دارد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲: ترکیبات بیوشیمیایی (٪ وزن خشک) ریزجلبک *N. oculata* در ولتاژهای مختلف

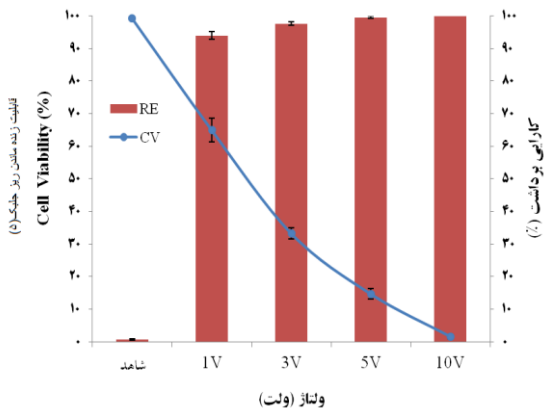
	ترکیبات بیوشیمیایی (٪ وزن خشک)			
	خاکستر	کربوهیدرات	لیپید	پروتئین
شاهد	۱۷/۹۱±۱/۸۴	۲۳/۹۵±۳/۸۲	۱۴/۵۷±۱/۲۱	۳۳/۹۸±۱/۱۰
۱ولت	۱۷/۳۷±۱/۰۷	۲۴/۴۸±۲/۸۴	۲۴/۴۸±۰/۶۲	۳۳/۷۵±۱/۴۲
۳ولت	۱۷/۶۸±۰/۸۱	۲۴/۵۰±۱/۳۶	۱۴/۳۳±۱/۰۲	۳۳/۵۱±۱/۴۸
۵ولت	۱۷/۲۰±۱/۳۹	۲۴/۳۵±۱/۴۲	۱۳/۹۵±۰/۹۰	۳۲/۹۰±۱/۱۰
۱۰ولت	۱۸/۲۷±۰/۷۲	۲۴/۹۹±۱/۲۵	۱۳/۴۵±۱/۱۲	۳۲/۳۰±۱/۰۱



شکل ۳: کارایی برداشت ریزجلبک نانوکلروپسیس با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون در ولتاژهای مختلف

قابلیت کشت مجدد ریزجلبک *N. oculata*

شکل ۴ قابلیت کشت مجدد (زندن ماندن) ریزجلبک *N. oculata* را پس از تغلیظ با استفاده از ولتاژهای مختلف در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهد. همانگونه در شکل مشاهده می‌گردد با افزایش میزان ولتاژ برق، میزان کارایی برداشت زیتوده ریزجلبکی افزایش یافته و قابلیت کشت مجدد کاهش می‌یابد. در ولتاژ ۱۰ ولت کارایی برداشت بیش از ۹۵٪ بوده و قابلیت کشت مجدد کمتر از ۵۰٪ رسیده است. کشت مجدد ریزجلبک در شاهد بیش از ۹۵٪ می باشد که اختلاف معنی‌داری را با تیمارهای مورد سنجش نشان داده است ($P<0/05$).



شکل ۴ : اثر ولتاژهای مختلف بر روی قابلیت زندن ماندن ریزجلبک *N. oculata* . (RE کارایی برداشت ریزجلبک و CV قابلیت زنده ماندن یا کشت مجدد)

۴. بحث

ریزجلبک‌ها که تحت عنوان میکروارگانیسم‌های تک‌سلولی شناخته می شوند تولید زیتوده‌ای می‌نمایند که می‌توانند به عنوان غذا به مصرف انسان برسد و یا در آبزی‌پروری به عنوان منبع غذایی خوب در تغذیه ماهی و میگو بکار روند (۱۹، ۲۵). تولید ریزجلبک شامل کشت، برداشت زیتوده و استخراج مواد با ارزش از زیتوده ریزجلبکی و یا استفاده آن در تغذیه آبزیان به عنوان غذای زنده می‌باشد. از تمامی مراحل اجرایی بکار رفته در تولید ریزجلبک، برداشت زیتوده از کشت دارای اهمیت بسیاری هم از دیدگاه اقتصادی و هم فن‌آوری می‌باشد (۵). برآورد می‌شود که برداشت زیتوده ریزجلبکی حداقل ۲۰ تا ۳۰٪ ارزش کل زیتوده جلبکی را در بر گیرد (۱۲). نتایج نشان داده است که میزان رشد ویژه، تراکم سلولی و زیتوده این ریزجلبک در روز ۱۱ کشت در ارلن ۳ لیتری به ترتیب $0/44(day^{-1})$، $64/4\times10^{6}$ $cell\ mL^{-1}$ و $3/32$ $(g\ L^{-1})$ رسیده است. از اینرو این ریزجلبک می‌تواند به خاطر نرخ رشد زیاد و قابلیت تولید زیتوده بالا به منظور تغذیه لارو ماهی در آبزی‌پروری مورد توجه پرورش دهندگان قرار گیرد (۲۹).

علاوه بر این، ریزجلبک نانوکلروپسیس (*N. oculata*) بخاطر دارا بودن میزان بالای چربی بویژه اسیدهای چرب غیراشباع مورد توجه قرار گرفته است. از اینرو، این ریزجلبک می‌تواند بخاطر تولید زیتوده بالا و روغن زیاد همچنین به عنوان ماده اولیه در تولید سوخت‌زیستی مورد توجه بخش صنعت قرار گیرد (۲۹). نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی (پروتئین، لیپید، خاکستر و کربوهیدرات) ریزجلبک نانوکلروپسیس نشان داده است که بیشینه میزان ترکیبات بیوشیمیایی در ریزجلبک نانوکلروپسیس پس از تغلیظ شدن با استفاده از روش فلوکولاسیون با جریان الکتریسیته به ترتیب شامل پروتئین، کربوهیدرات، خاکستر و لیپید بوده است. نتایج مشابهی توسط محققین از آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی این ریزجلبک بدست آمده است (۴). از سویی، میزان این ترکیبات در ریزجلبک‌ها به عوامل

مختلفی بستگی دارد. برخی از محققین اظهار داشته‌اند که میزان چربی در ریزجلبک نانوکلروپسیس با توجه به فاز رشد، درجه‌حرارت، میزان CO_2 و نیتروژن قابل دسترس در محیط کشت می‌تواند بین ۸ تا ۵۰٪ نوسان داشته باشد (۷، ۸، ۹). در ریزجلبک نانوکلروپسیس میزان چربی (لیپید) هنگامیکه با استفاده از جریان الکتریسیته فلوکوله گردید با افزایش شدت جریان اندکی کاهش یافته و از ۱۴.۵۷٪ در شاهد به ۱۳.۴۵٪ در تیمار با ولتاژ V ۱۰ رسیده است، یا به عبارتی با افزایش شدت جریان اگرچه میزان کارایی برداشت زیتوده جلبکی افزایش یافته، اما میزان چربی اندکی کاهش یافته، ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و شاهد مشاهده نگردیده است. به هرحال میزان چربی بدست آمده در این ریزجلبک با استفاده از این روش تغلیظ، مشابه با نتایج بدست آمده توسط سایر محققین می‌باشد (۴).

از سویی دیگر میزان کربوهیدرات ریزجلبک نانوکلروپسیس تغلیظ شده با استفاده از جریان الکتریسیته با افزایش شدت جریان اندکی افزایش یافته و از ۲۳.۹۵٪ در شاهد به ۲۴.۹۹٪ در تیمار با ولتاژ V ۱۰ رسیده است، یا به عبارتی با افزایش شدت جریان علاوه بر افزایش میزان کارایی برداشت زیتوده جلبکی میزان کربوهیدرات اندکی افزایش یافته است، اما این اختلاف معنی‌دار نبوده است. نتایج مشابهی در آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی این ریزجلبک بدست آمده است (۴).

مطالعات نشان داده است که زیتوده ریزجلبکی بصورت موثری با استفاده از جریان برق مستقیم برداشت می‌گردد و نوع جریان و شدت ولتاژ از فاکتورهای کلیدی و تعیین کننده در کارایی روش الکتروفلوکولاسیون می‌باشند (۳، ۳۰، ۲۷). نتایج حاصل از اثر ولتاژهای مختلف جریان الکتریسیته بر روی میزان کارایی برداشت ریزجلبکی نانوکلروپسیس نشان داده است که بیشینه کارایی برداشت با افزایش میزان ولتاژ افزایش یافته و همچنین کارایی برداشت در ولتاژهای بالاتر در زمان پائین‌تر صورت می‌گیرد. به عبارتی بیشینه کارایی برداشت به ترتیب در ولتاژهای ۱۰، ۵، ۳ و ۱ ولت بوده است و اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد آزمایش و شاهد وجود دارد. شدت جریان و ولتاژ بالاتر نه تنها باعث افزایش میزان کارایی برداشت زیتوده ریزجلبکی شده بلکه زمان اجرا و رسوب‌دهی را نیز کاهش می‌دهد (۱، ۳). یکی از دلایل برای این مسئله اینست که شدت جریان و ولتاژهای بالا میزان عوامل فلوکوله کننده تولید شده در این فرایند را افزایش می‌دهند. البته افزایش جریان و ولتاژ هزینه بالاتری را درخواست نموده، از اینرو موازنه بین کارایی و هزینه انرژی مورد نیاز بایستی در نظر گرفته شود (۲۴).

نتایج حاصل از کشت مجدد ریزجلبک *N. oculata* پس از تغلیظ با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون نشان داده است که با افزایش میزان ولتاژ برق، میزان کارایی برداشت زیتوده ریزجلبکی افزایش یافته و قابلیت کشت مجدد کاهش می‌یابد. از اینرو، اگرچه بیشینه کارایی برداشت زیتوده ریزجلبکی در ولتاژهای بالا در زمانی کوتاه صورت گرفته، اما امکان کشت مجدد آن به شدت کاهش یافته است. به عبارتی همبستگی منفی بین افزایش میزان ولتاژ و میزان کارایی برداشت وجود دارد. بنابراین، بایستی توجه شود اگر هدف از تغلیظ ریزجلبک استفاده مجدد آن برای تغذیه لارو آبزیانی باشد که نیاز به غذای زنده دارند ولتاژهای بالا مناسب نمی‌باشد. بنابراین برای برداشت زیتوده ریزجلبکی با حفظ قابلیت کشت مجدد (بیش از ۹۵٪)، بایستی با استفاده از ولتاژهای پائین و در زمان بیشتر (۳۰ دقیقه تا ۱ ساعت) اقدام به تغلیظ ریزجلبک نمود. همچنین اگر هدف از برداشت زیتوده ریزجلبکی کاربرد آن برای مصارف دیگر از جمله تولید سوخت زیستی، پلیت‌های غذایی، استخراج مواد باارزش و غیره باشد ولتاژها بالا می‌تواند کارایی داشته باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش در بخش آبزی‌پروری پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان انجام گرفته است، از اینرو از کلیه کارشناسان و پرسنل بخش آبزی پروری و همچنین رئیس

پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان که در انجام این پژوهش ما را یاری نموده‌اند قدردانی می گردد.

منابع

1-Alfafara C.G.; Nakano K.; Nomura N.; Igarashi T.; Matsumura M. 2002. Operating and scale-up factors for the electrolytic removal of algae from eutrophied lakewater. *J Chem Technol Biotechnol*, 77:871-876.

2-AOAC, 1997. Official Methods of Analysis of AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. 16th ed. AOAC International, Arlington, VA, USA.

3-Azarian G.; Mesdaghinia A.; Vaezi F.; Nabizadeh R.; Nematollahi D. 2007. Algae removal by electro-coagulation process, application for treatment of the effluent from an industrial wastewater treatment plant. *Iranian J Publ Health*, 36:57-64.

4-Banerjee S.; Hew W.E.; Khatoon H.; Shariff M.; Yusoff F.M. 2011. Growth and proximate composition of tropical marine *Chaetoceros calcitrans* and *Nannochloropsis oculata* cultured outdoors and under laboratory conditions. *African J. of Biotech*. 10: 1375-1383.

5- Bilanovic D.; Shelef G. 1988. Flocculation of microalgae with cationic polymers: effects of medium salinity. *Biomass*, 17:65-76.

6- Bligh, E.G. and Dyer W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, *37*, 911–917.

7-Brown M.R. 1991. The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *J. Experi. Mar. Bio. Eco*, 145:79-99.

8-Chiu S.Y.; Kao C.Y.; Tsai M.T.; Ong S.C.; Chen C.H.; Lin C.S. 2009. Lipid accumulation and CO2 utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO2 aeration. *Bioresource Techno*, 100:833-838.

9-Converti A.; Casazza A.A.; Ortiz E.Y.; Perego P.; Del Borghi M. 2009. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemi. Engine. Procesg. Process Intensification*, 48:1146-1151.

10-Coutteau P.; Sorgeloos P. 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. *J. Shellfish Res*, 11: 467–476.

11-Gao S.; Yang J.; Tian J.; Ma F.; Tu G.; Du M. 2010. Electro-coagulation-flotation process for algae removal. *J. Hazardous Materials*, 177:336-343.

12-Gudin C.; Thepenier C. 1986. Bioconversion of solar energy into organic chemicals by microalgae. *Advanc. Biotech. Proces*, 6:73-110.

13-Guillard R.R.L. & Ryther J.H. 1962. Studies on marine planktonic diatoms. I. Cyclotella nana Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol*. 8: 229–239.

14-Guillard, R. R. L. (1973). Methods for microflagellates and nannoplankton, In: Stein, J.R. (Eds.), Handbook of Phycological Methods. *Cambridge University Press, Cambridge*, 69–85.

15-Harrison R.G.; Todd P.W.; Rudge S.R.; Petrides D. 2003. Bioseparations science and engineering. New York: Oxford University Press.

16-Harith, Z.T.; Yusoff, F.M.; Mohamed, M.S.; Mohamed Din, M.S.; Ariff, A.B. 2009. Effect of different flocculants on the flocculation performance of microalgae, *Chaetoceros calcitrans*, cells. *African Journal of Biotechnology*, 8:5971-5978.

17-Heasman M.; Diemar J.; O'connor W. ; Sushames T. & Foulkes L. 2000. Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs. *Aquacul. Res*., 31:637–659.

18- Knauer J.; Southgate P.C. 1999. A review of the nutritional requirements of bivalves and

the development of alternative and artificial diets for bivalve aquaculture. *Rev. Fish. Sci.*, 7:241–280.

19-Knuckey R, Brown M, Robert R, Frampton D. 2006. Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. *Aquacul. Engin*, 35:300-313.

20-Koopman B.; Lincoln E.P.; Kang H.; Lee S. 1987. Biological flocculation of microalgae grown on anaerobic digester effluent. In Reddy, K.R., Smith, W.H., (Eds.), Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery. Magnolia Publishing Inc., 705-723.

21-Kumar HD, Yadava PK, Gaur JP. 1981. Electrical flocculation of theunicellular green alga *Chlorella vulgaris*Beijerinck. Aquatic Botany 11:187-195

22- Lowry O.H.; Rosebrough N.J.; Farr A.L. & Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*. 193, 265–275.

23-Millamena O.M.; Aujero E.J. & Borlongan I.G. 1990. Techniques on algae harvesting and preservation for use in culture and as larval food. *Aquacult. Eng.*, 9:295–304.

24-Poelman E, Pauw ND, Jeurissen B. 1997. Potential of electrolytic flocculation for recovery of microalgae. *Resources, Conservation and Recycling*, 19:1-10.

25-Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. 2006a. Commercial applications of microalgae. *J. Biosc. Bioengin*, 101:87-96.

26-Strickland J. D. H.; Parsons T. R. (1989). Discussion of spectrophotometric determinat - ion of marine plant pigments with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. *J. Mar. Res.*, 21*:* 155–163.

27-Tumsri K, Chavalparit O. 2011. Optimizing Electrocoagulation-electroflota- tion Process for Algae Removal. 2ndInterna- tional Conference on Environmental Science and Technology: IPCBEE.

28- Uduman N.; Qi Y.; Danquah M.K.; Forde G.M.; Hoadley A. 2010. Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels. *J. Renew. Sustain. En*, 2:012701.

29-Umdu E.S.; Tuncer M.; Seker E. 2009. Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga's lipid to biodiesel on Al2O3 supported CaO and MgO catalysts. *Bioresource Techno*., 100:2828-2831.

30- Vandamme D, Claudia S, Pontes V, Goiris K, Foubert I, Pinoy LJJ, Muylaert K. 2011. Evaluation of Electro-Coagualtion-Flocculation for Harvesting Marine and Freshwater Microalage. *Biotech. Bioengin.*, 108:2320-2329.

Harvesting of microalga *Nanochloropsis oculata* biomass using electro-flocculation technique

Jaberi A.[(1)]*; Rohani-Ghadikolaei K.[(2)]; Mohammadizadeh F.[(1)]

alijaberi52@yahoo.com

1-Islamic Azad University Bandar Abbass Branch, Iran. P.O.Box: 79159/1311.

2-Persian Gulf & Oman Sea Ecological Research Institute, Bandar Abbass, Iran, P.O.Box: 79145-1597.

Received: July 2012 Accepted: September 2012

Abstract

Due to small size of microalgae and low concentration in the culture medium, cost-efficient harvesting of microalgae is a major challenge. In the present study, the possibility of using electro-flocculation technique (direct current) for harvesting of microalga *Nanochloropsis oculata* biomass from the culture broth was investigated. The microalga biochemical composition and chlorophyll *a* content, and viability of *N. oculata* cells were determined on concentrated microalgal cells after 10 days of electro-flocculation. The results from the biochemical analysis and chlorophyll *a* measurements indicated that *N. oculata* flocculated cells showed no sign of degradation in biochemical composition and chlorophyll *a* from electro-flocculation as compared to control. Moreover, the results clearly showed that, flocculation efficiency improved with increasing direct current. Between 3-10 V; the flocculation efficiency was as high as 85-97.0%. The highest flocculation efficiency, 97.0%, was obtained at 10 V, of 30 minutes and with short settling time of 2 hours. The cell viability obtained in flocculation with direct current (3-10 V) showed cells in good shape and indistinguishable from non-flocculated cells when viewed by light microscopy. This study demonstrated that electro-flocculation is an effective method to flocculate *N. oculata* cells; therefore, it could be considered as a cost-effective alternative for preparing microalgal concentrates for the aquaculture industry and hatcheries.

Keywords: Microalgae, *Nanochloropsis oculata*, Flocculation efficiency, Electro-flocculation, Aquaculture.

*Corresponding author