فصلنامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری/ سال دوم/ شماره چهارم/ پاییز ۹۳/ صفحات ۶۶-۵۵

لخته سازی و تهیه خمیر از میکرو جلبک سندسموس

علی گنجیان خناری*[۱]، مریم قاسم‌نژاد[۲]، متین شکوری[۱]، فاطمه گنجیان خناری[۲]، یداله چاشنی‌دل[۳]، معصومه خسروی[۴]، ابوالقاسم روحی[۴]، وحید فارابی[۴]

چکیده

تا کنون بسیاری از گونه‌های مختلف خانواده و جنس هایی از جلبک‌های تک سلولی برای صنعت آبزی پروری معرفی شده و از خانواده Scenedesmaceae به عنوان یکی از ریزجلبک مهم که متعلق به رده Chlorophyceae می‌باشد، برای این هدف نام برده شده است. میکرو جلبک سبز سندسموس (Scenedesmus) اثر احتمالی آنها از جمله منابع بیولوژیک Bioresources برای برنامه های کاربردی به عنوان خوراک ماهی، غذای انسانی، مواد مغذی انسان، مکمل ها و محصولات دارویی مورد مطالعه قرار گرفته است. برداشت از زیست توده به یک یا چند مرحله جداسازی جامد و مایع نیاز دارد. در این مطالعه اثر آلوم (Al2(SO4)3) در تهیه خمیر (جداسازی فازجامد و مایع) میکرو جلبک سبز سندسموس بعد از دوره رشد میکرو جلبک مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از تیمارهای چهار گانه آلوم (mg /l ۳۰ و ۲۰ و ۱۰ و۵) با سه تکرار همراه با یک تیمار شاهد بدون آلوم در شرایط یکسان مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج این آزمایشات نشان داد که سرعت لخته‌شدن با مقدار تزریقی آلوم رابطه مستقیم داشته بطوریکه ۵ دقیقه بعد از تزریق آلوم تیمارهای ۳۰= T4، ۲۰ =T3 و ۱۰ =T2 به ارلن های حاوی میکرو جلبک سندسموس شروع به بهم چسبیدن و لخته شدن کردند. در تیمار یک (T1) غلظت ۵ سی سی آلوم تزریقی بعد از ۱۵ دقیقه، ۱۰ درصد و بعد از ۲۱۰ دقیقه سلول‌های میکرو جلبک سندسموس از سوسپانسیون خارج شده و سلول‌ها بهم چسبیده و رسوب دادند ولی در تیمار ۴ (T4) با غلظت ۳۰ سی سی آلوم تزریقی به سوسپانسیون میکرو جلبک بعد از ۱۵ دقیقه بیش از ۸۰ درصد و بعد از ۲۵ دقیقه کاملاً رسوب داده و آب رویی کاملاً صاف و شفاف شدند. تغییرات PH بعد از تزریق آلوم در تیمارهای ۲و۳و۴ کاهش را نشان داد. از آنجایی‌که بازیابی زیتوده میکروجلبک یک مرحله مهم در فرایند تولید زی توده میکروجلبک بوده و بیش از ۳۰ درصد هزینه کل تولید میکرو جلبک را شامل می شود، این روش می‌تواند با هزینه بسیار پایین قابل اجرا باشد.

کلید واژه: میکروجلبک، سندسموس، لخته، آلو.

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ساری، ساری، ایران (نویسنده مسؤول) ganjiankhenariali@gmail.com

۲- گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر (کاسپین)، ساری، ایران

۳- گروه علوم دامی ، دانشکده منابع طبیعی و شیلات ، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، ایران

۴- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ساری، ساری، ایران

۱- مقدمه

جلبک‌شناسان در کشورهای مختلف، در کنار تحقیقات زیستی خود درباره‌ی جلبک‌ها، به دنبال کشف خواص مفید و روش‌های استفاده اقتصادی از آنها هستند. میکروجلبک‌ها برای مصارف گوناگون به‌صورت صنعتی تولید می‌شوند. تعدادی از آن‌ها در مقیاس وسیع تولید و به عنوان غذای سالم منبع ویتامین و مواد معدنی در غذای انسان و خوراک دام، پرورش آبزیان و برای تصفیه بیولوژیک آب‌های صنعتی بکار می‌روند. میکرو جلبک ها دارای میزان بالایی پروتئین بوده و قدرت سنتز همه اسیدهای آمینه ضروری را دارند. کربوهیدارت‌های جلبک‌ها به صورت نشاسته، گلوکز و سایر پلی ساکاریدهاست و به دلیل قابلیت هضم بالا محدودیتی برای استفاده خوراکی ندارند. میکرو جلبک ها به دلیل دارا بودن مواد مغذی ارزشمند می‌توانند ضمن بهبود کیفیت غذای انسان و دام در ارتقای سلامت آنها نیز نقش مؤثری داشته باشند (گنجیان و همکاران ۱۳۹۱). همچنین این ریز جلبک‌ها جزو منابع ارزشمند برای تولید مواد غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی به شمار می‌روند. میکروجلبک ها کارخانه های سلولی نوری می‌باشند و می‌توانند دی اکسید کربن را به انواع سوخت های بیولوژیکی، غذاها و توده های فعال زیستی با ارزش تبدیل کنند(Brennan and Owende, 2010; Taheripour *et al*, 2010) .بعلاوه این میکروارگانیسم های فتوسنتزی به عنوان ترمیم کننده های زیستی و کودهای زیستی برای تثبیت نیترژن مورد استفاده قرار می‌گیرند(Sims *et al*, 2010). میکروجلبک ها قادرند انواع مختلفی از سوخت های بیولوژیکی تجدیدپذیر تولید نمایند. این محصولات شامل متان که از هضم بی‌هوازی بیوماس جلبک بوجود می‌آید(Demirbas, 2010)، بیودیزل که از روغن میکروجلبک ها مشتق می‌شود(Bilanovic, 2009; Mata *et al*, 2010) و بیو هیدرژن تولید شده به روش فتوبیولوژیکی می‌باشد(Ho *et al*, 2010). برخلاف سایر گیاهان روغنی، میکروجلبک‌ها بسیار سریع رشد می‌کنند و تعداد زیادی از آنها دارای مقادیر زیادی روغن می‌باشند. میکروجلبک ها قادرند که بیوماس خود را ظرف ۲۴ ساعت دو برابر کنند. دو برابر شدن بیوماس در طول زمان رشد نمایی معمولاً به کوتاهی ۳/۵ ساعت می‌باشد. محتوی روغن میکروجلبک ها می‌تواند بیش از ٪۸۰ وزن خشک بیوماس نیز باشد(Brennan and Owende, 2010; Demirbas, 2010).

اغلب میکروجلبک‌ها به طور مستقیم و به صورت مایع برای تغذیه به کار می‌روند، اما تمایل برای ساخت خمیر جلبکی یا جلبک تغلیظ شده وجود دارد. به تازگی انواع کنسرو شده و خمیر جلبکی توسط شرکت‌های مختلف تولید شده‌اند (آذری ۱۳۸۷). بازیابی زیتوده میکروجلبک که معمولاً به یک یا بیش از یک فرایند جداسازی جامد- مایع نیاز دارد، یک مرحله مهم در فرایند تولید زی توده میکروجلبک بوده(Wang *et al*., 2008) و بین ۲۰ تا ٪۳۰ کل هزینه‌های مربوط به تولید را شامل می‌شود(de la Noue & de Pauw, 1988). این فرآیندها شامل فیلتراسیون، شناور سازی، ته نشینی

سانتریفوژی و لخته سازی می‌باشند. انجام برخی از این فرأیندها نیازمند صرف انرژی زیاد می‌باشند. هنگامی‌که دانسیته سلول پایین باشد (معمولاً بین ۰/۳ تا ۵ گرم بر لیتر)، نفوذ نور کم باشد و اندازه سلول‌های جلبک کوچک باشد (بین ۲۰ تا ۴۰ میکرومتر) بازیابی بیومس کار دشواری خواهد بود(Li *et al*, 2008). انتخاب تکنیک جمع‌آوری به خواص میکروجلبک از جمله اندازه، دانسیته و ارزش محصول نهایی بستگی دارد(Olaizola, 2003). معمولاً جمع‌آوری میکروجلبک یک فرایند دو مرحله-ای است که عبارتند از: بعد از تولید انبوه نیاز به جداسازی فاز مایع رویی از زی‌توده[1] یا فاز جامد آغاز می‌شود. انتخاب تکنولوژی جمع آوری محصول در تولید اقتصادی بیومس میکروجلبک بسیار تعیین کننده است (Schenk *et al*, 2008). ALUM یک فلوکولاسیون مؤثری برای گونه های میکرو جلبک سبز سندسموس و کلرلا است (Molina *et al*., 2003). از آنجایی که سلول های میکروجلبکی حاوی بار منفی می‌باشند و در نتیجه از تجمع و تراکم سلولها در سوسپانسیون به طور طبیعی ممانعت می‌کنند، اضافه نمودن مواد لخته ساز نظیر کاتیون های چند ظرفیتی و پلیمرهای کاتیونی این بارهای منفی را کاهش داده و یا خنثی می‌کنند. این مواد همچنین می‌تواند بطور فیزیکی دو یا چند ذره را طی فرآیند پل زدن بهم متصل کند و امکان توده سازی را فراهم آورد. نمک فلزات چند ظرفیتی مثل کلرید آهن ($FeCl_3$)، سولفات آلومینیوم ($Al_2(SO_4)_3$) و سولفات آهن ($Fe_2(SO_4)_3$) جز لخته سازهای مناسب می‌باشد. روش‌های جمع آوری به صورت لخته سازی توسط محققین بسیاری مورد آزمایش قرار گرفته است. فاکتوری مانند انتخاب گونه میکروجلبک بسیار مهم است زیرا جمع آوری بیوماس برخی از گونه‌ها ساده‌تر است. با توجه به اهمیت تکثیر و پرورش میکرو جلبک در صنایع آبزی پروری و صنایع مختلف از جمله تغذیه انسانی، دام و طیور، داروسازی، بیودیزل (سوخت سبز) ، کود سبز و غیره...و نبود اطلاعات جامع و مفید کاربردی در زمینه میکرو جلبک در کشور مخصوصاً جداسازی میکرو جلبک (تولید انبوه) از سوسپانسیون آن نیاز به بررسی و مطالعه بیشتر در این زمینه دارد. لخته‌سازی میکرو جلبک اولین مرحله در فرآیند جمع آوری توده می‌باشد. هدف از انجام این مرحله متراکم نمودن سلول های میکروجلبکی به منظور افزایش سایز موثر ذرات می‌باشد. لخته سازی یک مرحله مقدماتی پیش از سایر روش‌های جمع آوری می‌باشد. از آنجاییکه در کشورهای مختلف تولید بالای میکرو جلبک در صنایع مختلف دارند جهت رسوب دادن از ماده شیمیایی آلوم استفاده می‌نمایند و همچنین تاکنون در ایران بطور جدی و علمی‌این ماده مورد استفاده قرار نگرفته است، با توجه به فواید و تولید آسان میکرو جلبک ها و امکانات موجود جهت کاهش هزینه تولید پروتئین از منابع جلبکی نسبت به محصولات دیگر کشاورزی،بررسی روش های مختلف جمع‌آوری میکروجلبک-

1 . Biomass

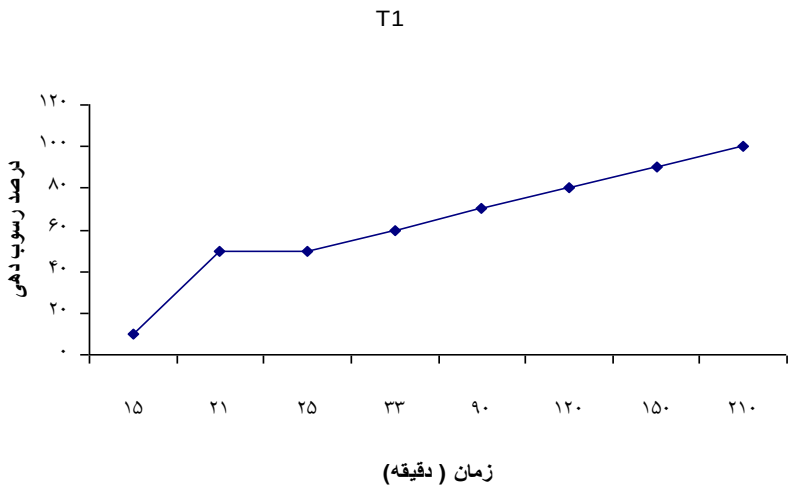
ها را می‌طلبد، تا بتوان با معرفی روش مناسب گامی‌برای کاهش هزینه تولید پروتئین گیاهی و فواید حاصل از آن در صنایع دیگر صورت گیرد.

۲- مواد و روش‌ها

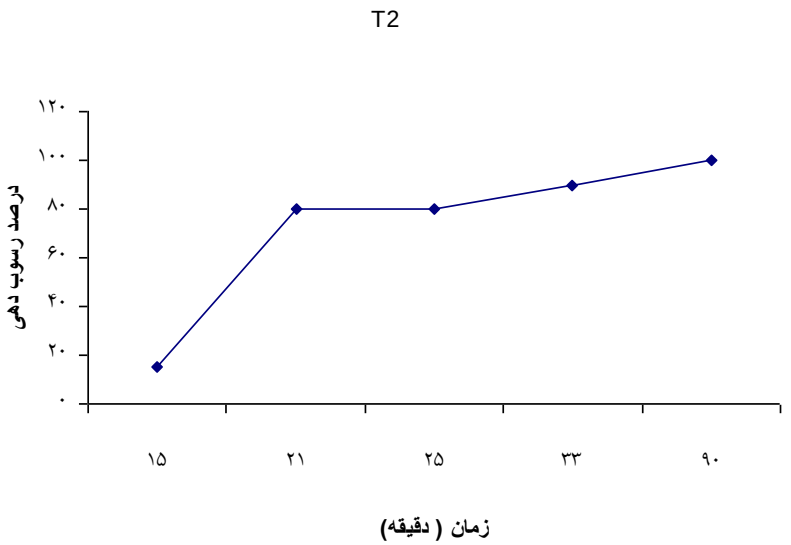
در این بررسی از میکروجلبک سبز سندسموس استفاده گردید در ابتدا جلبک سبز سند سموس در ظروف شیشه ای ارلن های ۵ لیتری شرایط آزمایشگاهی با محیط کشت TMRL(AG) در دمای میانگین ۲±۲۵ درجه سانتی گراد و دوره نوری میکسوتروف L۱۲ / D۱۲ و لوکس نوری۳۵۰ ±۳۵۰۰ و هوادهی توسط پمپ مرکزی طی یک دوره ۱۵ روزه کشت تا به تولید انبوه برسد و بعد از دوره رشد میکرو جلبک سندسموس در ارلن های ۲۵۰ میلی لیتر که شامل ۴ تیمار و هر تیمار ۳ تکرار می‌باشد تزریق گردید. تیمار های چهارگانه آلوم (mg /l ۳۰ و ۲۰ و ۱۰ و۵) همراه با یک تیمار شاهد بدون آلوم مورد آزمایش قرار گرفت. سرعت لخته سازی (زمان تزریق) و درصد رسوب دهی یادادشت گردید. لخته های تشکیل شده در کف ارلن جمع شده آب رویی آن جدا شده و برای کشت جدید مورد آزمایش قرار گرفت و رسوب توسط تور پلانکتون گیر عبور داده تا آب اضافی از آن خارج گردد. خمیر بدست آمده در دمای ۵۵-۷۰ درجه سانیگراد خشک و سپس پودر گردید.

۳- یافته‌ها

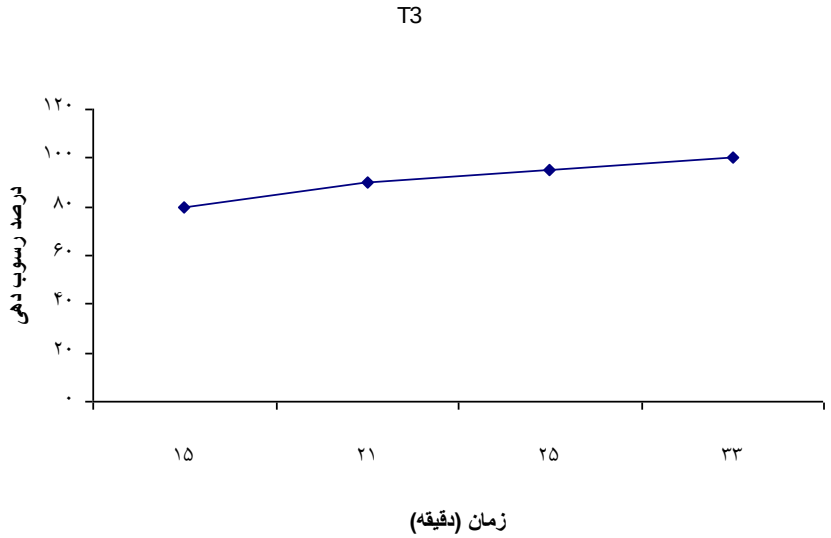
در این بررسی pH (۷/۳۱) اولیه و دما (۲۵/۱) اولیه برای همه نمونه ها یکسان بوده است. و سرعت لخته شدن نمونه ها بعد از تزریق آلوم مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش سرعت لخته شدن با مقدار تزریقی آلوم رابطه آن مستقیم بوده طوری که بعد از ۵ دقیقه تزریق آلوم تیمارهای ۳۰= T4، ۲۰ =T3 و ۱۰ =T2 به ارلن های حاوی میکرو جلبک سندسموس شروع به بهم چسبیدن و لخته شدن کردند. در صد رسوب‌دهی (لخته‌شدن) در تیمارهای مختلف در شکل های ۱-۴ نشان داده است. در تیمار یک (T1) غلظت ۵ سی سی آلوم تزریقی بعد از ۱۵ دقیقه ۱۰ درصد و بعد از ۲۱۰ دقیقه سلول‌های میکرو جلبک سندسموس از سوسپانسیون خارج شده و سلول ها بهم چسبیده و رسوب دادند (شکل ۱). در تیمار دو (T2) با غلظت ۱۰ سی سی آلوم تزریقی در ۱۵ دقیقه اول کمتر از ۲۰ درصد سلول‌ها به هم چسبیده و بعد از ۹۰ دقیقه کاملاً لخته در ته ظرف رسوب کرد (شکل ۲). در تیمار سه (T3) با غلظت ۲۰ سی سی آلوم تزریقی در ۱۵ دقیقه اول بیش از ۸۰ درصد و در ۳۳ دقیقه ۱۰۰ درصد سلول های میکرو جلبک رسوب دادند (شکل۳). در تیمار آخر ۴ (T4) با غلظت ۳۰ سی‌سی آلوم تزریقی به سوسپانسیون میکرو جلبک بعد از ۱۵ دقیقه بیش از ۸۰ درصد و بعد از ۲۵ دقیقه کاملاً رسوب داده و آب رویی کاملا صاف و شفاف شدند. تغییرات pH بعد از تزریق آلوم در تیمارهای مختلف نشان از کاهش PH در تیمار های ۲و۳و۴ بوده است (شکل ۵).



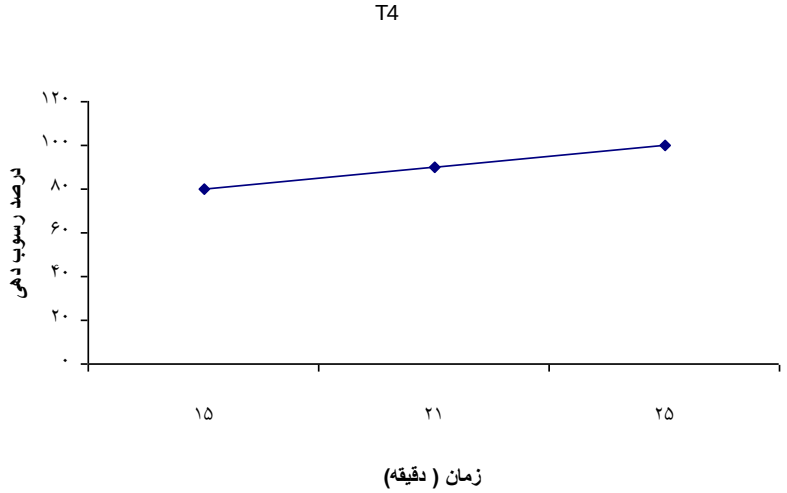
شکل ۱- درصد رسوب دهی میکرو جلبک سندسموس در زمان های مختلف در تیمار یک



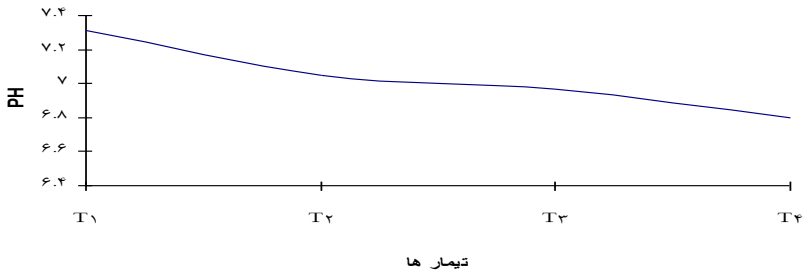
شکل ۲- درصد رسوب دهی میکرو جلبک سندسموس در زمان های مختلف در تیمار دو



شکل ۳- درصد رسوبدهی میکرو جلبک سندسموس در زمان های مختلف در تیمار سه



شکل ۴- درصد رسوبدهی میکرو جلبک سندسموس در زمان های مختلف در تیمار چهار



شکل ۵- pH تیمارهای مختلف بعد از تزریق آلوم

۴- بحث

میکروجلبک ها در زمین‌های حاشیه‌ای و آب‌هایی (تحمل شوری) که مناسب زراعت نیستند می-توان برای رشد میکروجلبک ها مورد استفاده قرارگیرند. میکروجلبک ها نرخ رشد بالا، زمان کوتاه‌تر، چربی و پروتئین بالاتر مورد توجه زیاد هستند (Violeta *et al* ; Wawrik & Harriman, 2010 2010). جلبک‌های سبز پلانکتونی مانند گونه‌های مختلف جنس سندسموس برای تست سموم شیمیایی بر روی موجودات بسیار مفید هستند، زیرا آنها در سطح جهان پراکنش داشته و در تمام زیستگاه‌های آبزیان و عوامل استرس زا زیست محیطی وجود دارند. پاسخ جنس های میکروجلبک سندسموس به تغییرات و شرایط زیست محیطی بسیار بلاست و یکی از اولین سیگنال های اثرات زیست محیطی هستند. همچنین برای حذف سموم و علف‌کش‌ها در استخرها و دریاچه‌ها اثر بسزایی دارند (Laszlo et al.,2009; Barsanti & Gualtieri,2006; Geoffroy et al.,2004;McCormick &Cairns,1997). انواع ریز جلبک‌ها آبزی، از جمله جلبک سبز سندسموس، اثر احتمالی آنها مورد مطالعه قرار گرفته است از جمله منابع بیولوژیک Bioresources برای برنامه های کاربردی به عنوان خوراک ماهی، غذای انسانی، مواد مغذی انسان مکمل ها و محصولات دارویی(Belay *et al*., 1993) و همچنین برای bioremediation آب آلوده (Chong et al., 2000; Kim et al.,2001) میکرو جلبک سندسموس در همه جا، و اغلب در دریاچه ها و رودخانه‌های آب شیرین غالب است (Borowitaka, 1998; Kim et al.,2007) تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در سلول های میکرو جلبک ها از جمله سلول های سندسموس، می تواند توسط محیط کشت‌ها، شرایط در حال رشد، و ترکیب مواد مغذی، علاوه بر ژن فن آوری تحول به اجرا درآورد((Kim et al.,2001) . ریز جلبک ها برای تولیدات زیستی ارزش بالایی دارند (Pulz, 2001).

ریز جلبک ها در حال حاضر در مقیاس محدود و توسط چند شرکت کوچک در سراسر جهان تولید می شود. هدف اصلی تولید محصولات باارزش مثل رنگدانه ها، محصولات دارویی بهداشتی،

غذای زنده برای لارو ماهی و یا به عنوان یک منبع اسیدهای چرب اشباع نشده است (Raja *et al* ., 2008). بیوماس ریزجلبک ها با ترکیبات روغن بالا یک منبع قابل توجه و پایدار برای تولید بیودیزل است که قادر به جایگزینی با سوخت های فسیلی می باشد. تولید انرژی در مقیاس وسیع از چندین جهت زیست محیطی، اقتصادی و اجتماعی می تواند به توسعه پایدار کمک کند (Ding and Jailani, 2011). در طی لخته سازی، سلول های پراکنده میکروجلبک ها تجمع یافته و به شکل ذرات بزرگتر تجمع می یابند. فلوکولاسیون می تواند با استفاده از چندین ماده شیمیایی مثل Zn2+,Al3+,Fe3+ انجام شود (Papazi, 2010) . Knuckey و همکاران (۲۰۰۶)گزارش کردند که تنظیم PH با افزودن هیدروکسید سدیم به منظور برداشت سلول‌های *Chaetoceros calcitrans, C. muelleri, Thalassiosira pseudonana, Attheyaseptent rionalis, Nitzschia closterium, Skeletonema* sp., *Tetraselmis suecica* and *Rhodomonas salina*, بازدهی بیشتر از ۸۰درصد دارد. Harith و همکاران (۲۰۰۹) از هیدروکسید سدیم (NaoH) (۵M) و هیدروکسید پتاسیم (KoH) (۵M) برای فلوکولاسیون *Chaetoceros calcitrans* استفاده نمودند و در پایان بازدهی فلوکولاسیون در استفاده از هیدروکسید پتاسیم در مقایسه با هیدروکسید سدیم کمی بیشتر بود و بازدهی ۹۸٪ در pH = ۲.۱۰ و بیشتر حاصل گردید. به طور مشابه،مطالعه انجام شده توسط Lee و همکاران (۱۹۹۸) نیزنشان داد که تنظیم pH با استفاده ازهیدروکسید سدی مدربرداشت سلول های *Botryococcus braunii* نسبت به سولفات آلومینیوموپلی الکترولیت‌های کاتیونی مؤثرتربود. Dries و همکاران (۲۰۰۹) برای فلوکولاسیون میکروجلبک های پاراکلرلا و سندسموس از نشاسته کاتیونی SG120 Greenfloc 120 استفاده نمودند و در غلظت ۲۰-۱۰ میلی گرم در لیتر بیشترین بازدهی را نشان دادند. در غلظت مطلوب بیش از ۹۰٪ زیست توده برداشت می شود. میزان برداشت با غلظت زیست توده ارتباط خطی دارد. ارتباط خطی بین غلظت فولوکولانت و اندازه ذره در CSG برقرار است. استفاده از عصاره M.Oleifra جهت رسوب‌گیری و به عنوان یک فولوکالانت توسط Katayon و همکاران در سال ۲۰۰۴ مورد بررسی قرار گرفت و در غلظت ۴۰۰ میلی گرم در لیتر بازدهی ۹۴درصد حاصل گردید. Ding و Jailani (۲۰۱۱) از کلراید فریک برای رسوب گیری از میکروجلبک استفاده کردند و در غلظت1 مول در لیتر و pH ۸/۴۵، بازدهی بیشتر از ۹۹٪ را بدست آوردند. Aziz و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که استفاده از افزایش غلظت سولفات آهن میلی گرم تا ۵۰۰ میلی گرم در لیتر به عنوان یک فولوکالانت بازدهی مناسبی خواهد داشت. همچنین گزارش شده است که سولفات آلومینیوم در مقایسه با سایر نمک‌های معدنی از لحاظ دوزمناسب، pH و کیفیت برداشت شده از بقیه برتر بوده است. در این بررسی جهت جداسازی فاز مایع محیط کشت از زی توده (رسوب دادن و تهیه لخته) میکرو جلبک سبز سندسموس از آلوم ($Al_2(SO_4)3$)یک میلی گرم در لیتر در دز

های ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش pH و درجه حرارت محیط و نمونه سوسپانسیون میکرو جلبک سندسموس ثابت بوده است. برخی از آنها در مقیاس صنعتی به ویژه در تصفیه فاضلاب نیز انجام می شود. مطالعات دیگری از فلوکولاسیون برای برداشت میکروجلبک توسط Leeetal.(1998), andMcGarry(1970) انجام شده است که از دزهای به ترتیب ۳۰۰ و ۱۲۵ میلی گرم در لیتر $Al3+$استفاده شده است (Lee, 1998, PAPAZIA و همکاران(۲۰۱۰)از فلوکولاسیون برای جداسازی بیوماس میکروجلبک استفاده کردند و بازده ۶۰٪ را از *Chlorella minutissima* با افزودن یک گرم در لیتر $Al_2(SO_4)_3$ و $ZnCl_2$ به ترتیب در زمان ۱/۵ و ۶ ساعت بعد بدست آوردند (Papazi, 2010). در تحقیق حاضر با توجه به سرعت لخته‌شدن میکرو جلبک سندسموس در دوز های مختلف زمان رسوب دهی آنها متفاوت بوده بطوریکه در دوز ۳۰، ۲۰ و ۱۰ تیمار چهار، سه و دوم دقیقا بعد از ۵ دقیقه تزریق آلوم (یک میلی گرم در لیتر محلول اولیه) سلول های میکرو جلبک سندسموس شروع به بهم چسبیدن و لخته شدن کردند. و با توجه به شکل های ۱تا۴ و ۸تا۹ سلول های میکرو جلبک سندسموس در تیمار های سه و چهار بعد از ۱۵ دقیقه بیش از ۸۰ درصد رسوب دادند. Azov (۱۹۸۲) نشان داد که محدوده PH کمتر محیط کشت باعث تولید زیست توده بیشتر خواهد شد و PH بهینه را ۹-۷ گزارش نمود. Ferriols و Aguilar (۲۰۱۲) اثر فولوکولانت های NaOH، $Al2(SO_4)3FeSO_4$، $CaCl_2$ و عصاره M. Oleifera را با غلظت های ۱۵۰،۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتررا برای رسوب گیری از *Tetraselmistetrahele* استفاده کردند ومشاهد نمودند که هیدروکسید سدیم وسولفات آلومینیوم در غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر بازدهی به ترتیب ۱۵/ ۹۶و ۹۸/۶۵ درصد را نشان دادند. سریع ترین واکنش با اضافه کردن سولفات آلومینیوم با غلظت های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بعد از گذشت ۱ ساعت مشاهده گردید.غلظت ۱۰۰ میلی گرم سولفات آلومینیوم و ۲۰۰ میلی گرم سولفات آهن بعد از ۲ ساعت و تیمارهای دریافت کننده غلظت های مختلف هیدروکسید سدیم بعد از ۳ ساعت رسوب کردند.فولوکولانت سولفات آهن کمترین بازدهی را نشان داد.اگرچه هیدروکسید سدیم وسولفات آلومینیوم بازدهی بهتری داشتند اما عصاره M.Oleifra از نظر اقتصادی از مواد شیمیایی به صرفه تر است.مشاهدات میکروسکوپی سلول های دریافت کننده فولوکولانت های مختلف، شرایط فیزیکی خوبی را نشان دادند. پلاسمولیز یا آسیب در دیواره سلولی هیچ کدام از تیمارها دیده نشد.میانگین pH در تیمارهای دریافت کننده هیدروکسید سدیم بیشتر از بقیه تیمارها بود(۸/۴۲-۸/۰۲). Dong و همکاران (۲۰۱۱) ازغلظت‌های مختلف $Cacl_2$ و $Fecl_3$ برای برداشت میکروجلبک سندسموس استفاده کردند و در غلظت های به ترتیب ۸/۵ و ۰/۲ میلی مول بازدهی بیشتر از ۹۵٪ بدست آوردند. با توجه به شکل‌های ۱تا۴ سرعت لخته شدن سلول های میکرو جلبک سندسموس در دوز های مختلف متفاوت بوده بطوریکه در تیمار چهار (با دوز تزریقی ۳۰ آلوم) بعد

از ۲۵ دقیقه سلول های میکرو جلبک از فاز مایع ۱۰۰ درصد جدا شده و کـاملا لختـه و در تـه ظـرف رسوب دادند. در تیمار سه (دوزر تزریقی ۲۰) سلول های میکرو جلبک سندسموس بعد از حـدود ۳۰ دقیقه کاملا از فاز مایع جدا شده و کاملا لخته تشکیل شده و رسوب کردند بطوریک آب رویـی کـاملا صاف و روشن شدند. در تیمار دو (دوز تزریقی ۱۰) سلو ل های میکـرو جلبـک سندسـموس بعـد از یک و نیم ساعت زمان برای لخته شدند نیاز داشت و در این مدت سلو لهای میکرو جلبک کاملا در تـه ظرف رسوب دادند. در تیمار یک (دوز ۵) سلول هلی میکرو جلبـک سندسـموس بعـد از سـه و نـیم ساعت طول کشید تا سلول ها بهم بچسبند و لخته شوند و آب رویی تمام تیماره‌ها روشن بوده و بدون هیچ مشکلی با اضافه کردن استوک و محیط کشت دوباره برای کشت میکرو جلبک مورد استفاده قـرار گرفتند یعنی در این روش هیچ آبی از دور خارج نشد. همچنین در این بررسی pH اولیه ۷/۱۳ بوده در تیمار یک بدون تغییر و در تیمار های ۲ تا۴ به ترتیب ۷/۰۵ ، ۶/۹۷ و ۶/۸۰ کاهش داشته است. با توجه به هزینه بالا روش های سانتریفوژ و بازیابی زیتوده میکروجلبک که معمولاً بـه یـک یـا بـیش از یـک فرایند جداسازی جامد- مایع نیاز دارد، یک مرحله مهم در فرأیند تولیدزی تـوده میکروجلبـک بـوده و بیش از ۳۰ درصد هزینه کل تولید میکرو جلبک‌ها مربوط به جداسازی زی توده از محیط کشـت اسـت این روش می‌تواند با هزینه بسیار پایین قابل اجرا باشد.

فهرست منابع

۱. **آذری تاکامی، ق.؛ امینی چرمهینی، م. (۱۳۸۷)** . دستورالعمل تکثیر و پرورش پلانکتون ها. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ اول.

۲. **علی گنجیان خناری، متین شکوری ،مریم قاسم نژاد ، فاطمه گنجیان خناری ، وحید فارابی. (۱۳۹۱).** بررسی تأثیر بی کربنات سدیم بر رشد میکروجلبک کلرلا(Chlorella sp.) در محیط کشت TMRL. مجله توسعه آبزی پروری، سال ششم، شماره دوم، زمستان۱۳۹۱.

3. **Aziz H. A., Alias S., Assari F., Adlan M. N., (2007).** The use of alum, ferric chloride and ferrous sulpHate as coagulants in removing suspended solids, colour and COD from semi-aerobic landfill leachate at controlled pH. Waste Manag Res 25:556-565.
4. **Azov Y.(1982).** Effect of pH on inorganic carbon uptake in algal cultures. Applied and Environmental Microbiology 43:1300-1306.
5. **Barsanti, L., Gualtieri, P. (2006)**. Algae: anatomy, biochemistry and biotechnology, CRC Press, New York, 97-126.
6. **Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K., Shimamatsu, H.(1993**). Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. J. Appl. PHycol. 5, 235–241.
7. **Bilanovic, D., Andargatchew, A., Kroeger, T. and Shelef, G., (2009)**.Freshwater and marine microalgae sequestering of CO2 at different C and N concentrations - Response surface methodology analysis, Energy Conversion and Management, 50, 2, 262-267.

8. **Brennan, L. and Owende, P. (2010**) .Biofuels from microalgae. A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14, (2), 557-577.
9. **Borowitzka, M.A., Borowitzka, L. (Eds.), (1998**). Scenedesmus. Micro- Algal Biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 57–84
10. **Chong, A.M.Y., Wong, Y.S., Tam, N.F.Y. (2000**). Performance of different microalgal species in removing nickel and zinc from industrial waste water. ChemospHere 41, 251–257.
11. **de la Noue, J. and de Pauw, N. (1988)**.The potential of microalgal biotechnology: A review of production and uses of microalgae, Biotechnology Advances, 6, (4), 725-770.
12. **Demirbas, A.(2010**). Competitive liquid biofuels from biomass, Applied Energy, 88, 1, 17-28.
13. **Ding, G. T., Jailani, S. (2011).** The optimsation of levels of the variables PH and concentration of ferric chloride for harvesting marine microalgae by flocculation .2011 International Conference on Food Engineering and Biotechnology IPCBEE vol.9 (2011) © (2011)IACSIT Press, Singaoore.
14. **Dong-Geol Kim a, Hyun-Joon La a,1, Chi-Yong Ahn a, Yong-Ha Park b, Hee-Mock Oh(2011**). Harvest of Scenedesmus sp. with bioflocculant and reuse of culture medium for subsequent high-density cultures. Bioresource Technology 102.3163–3168.
15. **Dries, V., Imogen, F., Boudewijn, M., Koenraad, M. (2009)**. Flocculation of microalgae using cationic starch.
16. **Geoffroy, L., Frankart, C., Eullaffroy, P. (2004**). Comparison of different pHysiological parameters in Lemna minor and Scenedesmus obliquus in response to herbicide flumioxazin, Environmental Pollution 131: 233-241.
17. **Ho, S.-H., Chen, C.-Y., Lee, D.-J. and Chang, J.-S. (2010).** Perspectives on microalgal CO2-emission mitigation systems. A review, Biotechnology Advances, In Press, Corrected Proof.
18. **Katayon S., Megat Mohd Noor M. J., Asma M., Thamer A. M., Liew Abdullah A. G., Idris A., Suleyman A. M., Aminuddin M. B., Khor B. C., (2004).** Effects of storage duration and temperature of Moringa oleifera stock solution on its performance in coagulation. International Journal of Engineering and Technology 1:146–151.
19. **Kim, M.K., J.W. Park, C.S. Park, S.J. Kim, K.H. Jeune, M.U. Chang, J. Acreman. (2007**). Enhanced production of Scenedesmus spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. Bioresource Technology 98: 2220–2228.
20. **Kim, M.K., Smith, R.E.H. (2001).** Effect of ionic copper toxicity on the growth of green alga, Selenastrum capricornutum. J. Microbiol. Biotechnol. 11, 211–216.
21. **Knuckey R. M., Brown M. R., Robert R., Frampton D. M. F. (2006)**. Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. Aquacultural Engineering 35:300-313.
22. **Laszlo Fodorpataki, Csaba Bartha, Zsolt Gyula Keresztes. (2009)**. Stress-physiological reactions of the green alga of sceneddesmus opolienisis to water

polution with herbiciedes. Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie. Tom. XVI / 1, 2009, pp. 51-56.

23. **Lee, S., Kim, S., Kim, J., Kwon, G., Yoon, B., Oh, H .(1998)**. Effects of harvesting Effects of harvesting method and growth stage on the flocculation of the green alga Botryococcus braunii. Letters in Applied Microbiology, 27: pp.14-18.
24. **Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C. Q. and Dubois-Calero, N. (2008**). Biofuels from Microalgae, Biotechnology Progress, 24, (4), 815-820.
25. **Mata, T. M., Martins, A. n. A. and Caetano, N. S. (2010)**. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14, (1), 217-232.
26. **McCormick, P.V., Cairns, J. (1997)**. Algal indicators of aquatic ecosystem condition and change. pp. 177-208.
27. **Molina Grima, E., Belarbi, E. H., Acién Fernandez, F. G., Robles Medina, A. and Chisti, Y. (2003)**. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics, Biotechnology Advances, 20, 7-8, 491-515.
28. **Olaizola, M. (2003)**. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace, Biomolecular Engineering, 20, (4-6), 459-466.
29. **Papazi A, Makridis P, Divanach P. (2010)**. Harvesting Chlorella minutissima using cell coagulants. J Appl PHycol 22:349–355.
30. **Pulz, A. (2001).** PHotobioreactors: production systems for pHototropHic microorganisms ,Applied Microbiology and Biotechnology, 57, (3), 287-293.
31. **Schenk, P., Thomas-Hall, S., StepHens, E., Marx, U., Mussgnug, J., Posten, C., Kruse, O. and Hankamer, B. (2008)**. Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production ,BioEnergy Research, 1, (1), 20-43.
32. **Sims, R. E. H., Mabee, W., Saddler, J. N. and Taylor, M. (2010)**. An overview of second generation biofuel technologies, Bioresource Technology, 101, (6), 1570-1580.
33. **Taheripour, F., Hertel, T. W., Tyner, W. E., Beckman, J. F. and Birur, D. K. (2010)**. Biofuels and their by-products: Global economic and environmental implications, Biomass and Bioenergy, 34, 3, 278-289.
34. **Victor Marco Emmanuel N. Ferriols, Riza O. Aguilar. (2012)**. Efficiency of various flocculants in harvesting the green microalgae Tetraselmis tetrahele (ChlorodendropHyceae: Chlorodendraceae).AACL Bioflux 2012,Vol 5, Issue 4.
35. **Violeta Makarevičienė, Vaida Andrulevičiūtė, Virginija Skorupskaitė and Jūratė Kasperovičienė. (2011)**. Cultivation of Microalgae Chlorella sp. and Scenedesmus sp. as a Potentional Biofuel Feedstock. Environmental Research, Engineering and Management, 3(57), 21 – 27.
36. **Wang, B., Li, Y., Wu, N. and Lan, C. (2008)**. CO2 bio-mitigation using microalgae, Applied Microbiology and Biotechnology, 79, (5), 707-718.
37. **Wawrik, B., Harriman B. Rapid, (2010).** Colorimetric Quantification of Lipid from Algal Cultures. The Journal of Microbiological Methods,. 80: 262–266.
38. **Zuharlida Tuan Harith1, Fatimah Mohd Yusoff1, Mohd Shamzi Mohamed2, Mohamed Shariff. (2009)**. Effect of different flocculants on the flocculation performance of microalgae, Chaetoceros calcitrans, cells. African Journal of Biotechnology 8 (21)5971-5978.