

برداشت زیتوده ریزجلبک *Nanochloropsis oculata* با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیونعلی جابری^(۱)*؛ کیومرث روحانی^(۲)؛ فلورا محمدی زاده^(۱)

alijaberi52@yahoo.com

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

۲- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بخش آبزی پروری، صندوق پستی: ۷۹۱۴۵-۱۵۹۷

تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: مرداد 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 می‌گردد. 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 آبزی پروری و کارگاه‌های تکثیر در نظر گرفته شود.

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

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).

۱. مقدمه

کشت انبوه ریزجلبک‌ها در کارگاه‌های تکثیر آبریان 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 می‌باشد. تکنیک‌های زیادی همچون فیلتراسیون، سانتریفیوژ، رسوب‌دهی و فلوکولاسیون برای برداشت زیتوده ریزجلبکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۸)، اما به هر حال هر کدام 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 می‌باشد (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 در کارگاه‌های 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

۲. مواد و روش‌ها

کشت ریزجلبک *N. oculata*

ریزجلبک *N. oculata* از فایکولب بخش آبرزی پروری پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس 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 $25-22^{\circ}\text{C}$ ، شوری ppt ۳۰، قلیائیت ۸ و پرید نور (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 هموسیومتر 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_1 و N_0 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 12×3 سانتی‌متر و ضخامت ۲ میلی‌متر در آن تعبیه گردید. فاصله صفحات از یکدیگر ۲ سانتی‌متر و به یک مولد برق AC با ولتاژ $5-60 \text{ V cm}^{-1}$ 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.

قرار گیرد. برای تعیین میزان وزن خشک، حجم مشخصی از جلبک تغلیظ شده را درون انکوباتور فن دار و در درجه حرارت 54°C به مدت ۲ ساعت قرار داده تا وزن خشک ثابت بدست آید و خاکستر نیز از طریق وزن سنجی بعد از سوزاندن در کوره در درجه حرارت 540°C با استفاده از روش های مرسوم AOAC (۱۹۹۷) اندازه گیری گردید (۲). میزان پروتئین کل با استفاده از روش ارائه شده صورت گرفته و میزان آن با استفاده از آلومین 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 وزن سنجی 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 داده های بدست آمده در نرم افزار Excel وارد شده و نتایج توصیفی بصورت جدول و نمودار تهیه گردید. تحلیل آماری نتایج در برنامه SPSS و با استفاده از آزمون های پارامتری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تفریقی Duncan جهت مقایسه میانگین داده ها مورد بررسی بکار رفته و سطح معنی دار برای داده ها $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

پارامترهای رشد

جدول شماره ۱ پارامترهای رشد [نرخ رشد (day^{-1})، تراکم سلولی ($\times 10^6 \text{ cell mL}^{-1}$)، 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.



شکل ۱: تغلیظ ریزجلبک نانوکروپسیس با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون

محاسبه کارایی برداشت (Harvest Efficiency) ریزجلبک ها

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_i و C_f به ترتیب نشان دهنده تراکم سلول جلبکی پس از تغلیظ و پیش از تغلیظ می باشد (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 ارلن های ۱ لیتری محتوی ۷۵۰ میلی لیتر آب دریای استریل شده محتوی محیط کشت $f/2$ تحت شرایط یکسان با درجه حرارت 25°C - ۲۲، شوری ۳۰ ppt، قلیائیت ۸ و پریرود نوری h (light: ۱۲:۱۲ dark) در آزمایشگاه فایکولب کشت داده شد تا امکان کشت دوباره آن مورد آزمایش قرار گیرد.

آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبک نانوکروپسیس

ریزجلبک نانوکروپسیس در مرحله رشد لگاریتمی برای تعیین میزان زیتوده خشک، خاکستر، کلروفیل، پروتئین، لیپید و کربوهیدرات برداشت شده و با استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون تغلیظ گردیده تا مورد آنالیز بیوشیمیایی

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

آزمایشگاهی

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

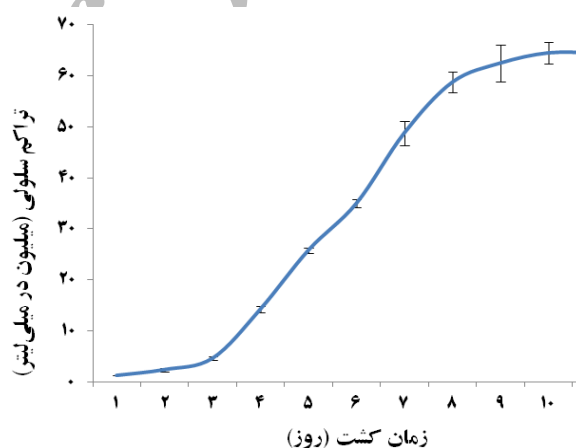
ترکیبات بیوشیمیایی (% وزن خشک) در ریزجلبک *N. oculata* در ولتاژهای مختلف

جدول شماره ۲ ترکیبات بیوشیمیایی (% وزن خشک) در ریزجلبک *N. oculata* و در ولتاژهای مختلف را نشان می‌دهد. بیشینه میزان ترکیبات بیوشیمیایی در ریزجلبک نانوکروپسیس 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 نانوکروپسیس 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 ($P < 0.05$).

شکل ۲ تراکم ریزجلبک *N. oculata* را در ارلن ۳ 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 $64/4 \times 10^6 \text{ cell mL}^{-1}$ رسیده است.



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

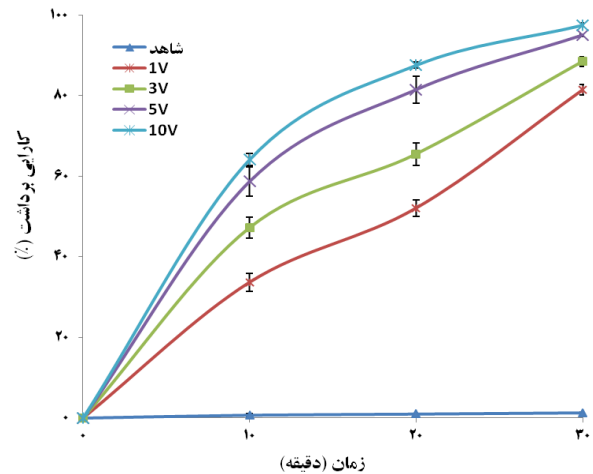
جدول ۲: ترکیبات بیوشیمیایی (% وزن خشک) ریزجلبک *N. oculata* در ولتاژهای مختلف

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

۴. بحث

ریزجلبک‌ها که تحت عنوان میکروارگانیسم‌های تک‌سلولی شناخته می‌شوند تولید زیتوده‌ای می‌نمایند که می‌تواند به عنوان غذا به مصرف انسان برسد و یا در آبی‌پروری 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 آبیان 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 $0.44 \text{ (day}^{-1}\text{)}$ ، $64/4 \times 10^6 \text{ cell mL}^{-1}$ و $3/32 \text{ (g L}^{-1}\text{)}$ رسیده است. از اینرو این ریزجلبک می‌تواند به خاطر نرخ رشد زیاد و قابلیت تولید زیتوده بالا به منظور تغذیه لارو ماهی در آبی‌پروری مورد توجه پرورش دهندگان قرار گیرد (۲۹).

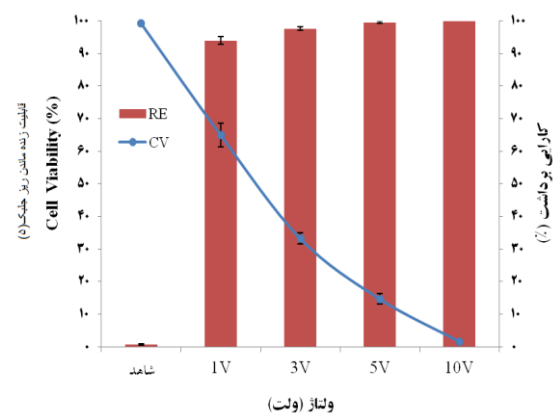
علاوه بر این، ریزجلبک نانوکروپسیس (*N. oculata*) بخاطر دارا بودن میزان بالای چربی ویژه اسیدهای چرب غیراشباع مورد توجه قرار گرفته است. از اینرو، این ریزجلبک می‌تواند بخاطر تولید زیتوده بالا و روغن زیاد همچنین به عنوان ماده اولیه در تولید سوخت زیستی مورد توجه بخش صنعت قرار گیرد (۲۹). نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی (پروتئین، لیپید، خاکستر و کربوهیدرات) ریزجلبک نانوکروپسیس نشان داده است که بیشینه میزان ترکیبات بیوشیمیایی در ریزجلبک نانوکروپسیس پس از تغلیظ شدن با استفاده از روش فلوکولاسیون با جریان الکتریسته 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



شکل ۳: کارایی برداشت ریزجلبک نانوکروپسیس 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٪ می‌باشد 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)

ولتاژهای ۱۰، ۵، ۳ و ۱ ولت بوده است و اختلاف معنی داری 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 آبی‌پروری پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان انجام گرفته است، از اینرو از کلیه کارشناسان و پرسنل بخش آبی‌پروری و همچنین رئیس

مختلفی بستگی دارد. برخی از محققین اظهار داشته‌اند که میزان چربی در ریزجلبک نانوکروپسیس با توجه به فاز رشد، درجه حرارت، میزان CO₂ و نیتروژن قابل دسترس در محیط کشت می‌تواند بین ۸ تا ۵۰٪ نوسان داشته باشد (۷، ۸، ۹). در ریزجلبک نانوکروپسیس میزان چربی (لیپید) هنگامیکه با استفاده از جریان الکتریسته فلوکوله گردید با افزایش شدت جریان اندکی کاهش یافته و از ۱۴.۵۷٪ در شاهد به ۱۳.۴۵٪ در تیمار با ولتاژ ۱۰ V 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 معنی داری بین تیمارها و شاهد مشاهده نگردیده است. به هر حال 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 نانوکروپسیس تغلیظ شده با استفاده از جریان الکتریسته با افزایش شدت جریان اندکی افزایش یافته و از ۲۳.۹۵٪ در شاهد به ۲۴.۹۹٪ در تیمار با ولتاژ ۱۰ V 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 معنی دار 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 الکتریسته بر روی میزان کارایی برداشت ریزجلبکی نانوکروپسیس نشان داده است که بیشینه کارایی برداشت با افزایش میزان ولتاژ افزایش یافته و همچنین کارایی برداشت در ولتاژهای بالاتر در زمان پائین تر صورت می‌گیرد. به عبارتی بیشینه کارایی برداشت به ترتیب در

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 nanoplankton, 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

پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان که در انجام این پژوهش ما را یاری نموده اند قدردانی می گردد.

منابع

1-Alfajara 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.; Khatoun 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

- 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 the unicellular 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 determination 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-electroflocculation Process for Algae Removal. 2nd International 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 *Nanochloropsis 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-Coagulation-Flocculation for Harvesting Marine and Freshwater Microalgae. *Biotech. Bioengin.*, 108:2320-2329.