



جداسازی بیومس ریزجلبک تک سلولی *Chlorella sp.* با روش Electro-Coagulation-Flotation

احمد مشهدی نژاد^۱، رقیه ریحانی^۱، جنت سرمد^{۲*}، حجت الله زمانی^۲

تاریخ دریافت: بهمن ۹۴

تاریخ پذیرش: اسفند ۹۴

چکیده

ریزجلبک‌ها به دلیل داشتن موادمعدنی، رشد سریع، عدم نیاز به زمین حاصلخیز برای رشد و تولید محصولات جانبی ارزشمند در صنایع مختلف دارویی، غذایی و تولید بیودیزل مورد استفاده قرار می‌گیرند. پس از اتمام دوره کشت ریزجلبک، یکی از مشکلاتی که در فرآیند تولید بیومس وجود دارد، نبود دستگاهی مناسب جهت جداسازی ریزجلبک با هزینه اندک از محیط کشت آن است. جداسازی بیومس ریزجلبک با توجه به اندازه کوچک سلول و ثبات کلوئیدی آن نیاز به مصرف انرژی بالایی دارد و این امر یک محدودیت بزرگ در کاربرد تجاری آن است. در این مطالعه از روش Electro-Coagulation-Flotation برای برداشت ریزجلبک *Chlorella sp.* از محیط کشت استفاده شد و تاثیر سه پارامتر شدت جریان، الکترولیت و مدت زمان اجرا در راندمان برداشت ریزجلبک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مدت زمان اجرا بیشترین تاثیر را در جداسازی بیومس ریزجلبک دارد به طوری که بیشترین راندمان برداشت بیومس در مدت زمان طولانی‌تر به دست آمد. از طرف دیگر افزایش میزان شدت جریان باعث افزایش سرعت انعقاد و برداشت ریزجلبک شد ولی انرژی بالایی را مصرف کرد. بیشترین راندمان برداشت بیومس ۸۸/۳ درصد بود که در شدت جریان 16 mA.cm^{-2} و مدت زمان ۳۰ دقیقه به دست آمد.

واژگان کلیدی: الکترولیت، شدت جریان، انعقاد سلول.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۲- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول: sarmad@guilan.ac.ir

مقدمه

می‌شود هزینه‌های بالای جداسازی بیومس ریزجلبک از محیط کشت است (Pienkos and Darzins, 2009). با توجه به اندازه کوچک سلول و ثبات کلونیدی ریزجلبک، انرژی مورد نیاز برای فرآیند برداشت، بسیار بالا بوده و اغلب بیش از محتوای انرژی بیومس ریزجلبک است (Vandamme et al., 2013).

روش‌های مختلفی برای جداسازی بیومس ریزجلبک از محیط کشت وجود دارد. این روش‌ها شامل Tangential Flow Filtration, Polymer Flocculation, Gravity Sedimentation, Centrifugation, Ultra Filtration and Microscreening و Filtration است (Greenwell et al., 2010). انتخاب روش برداشت به چگالی و اندازه ریزجلبک و همچنین ارزش محصولات مورد نظر بستگی دارد. برای محصولاتی مانند بیودیزل، روش‌های سانتریفیوژ و فیلتراسیون بسیار انرژی‌بر و پرهزینه هستند که از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نیست.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که دیواره سلولی ریزجلبک دارای بارالکتریکی منفی است. این بار منفی به علت وجود پلی‌ساکاریدهای اسیدی (پکتین) در ترکیب دیواره سلولی ریزجلبک

ریزجلبک‌ها گروهی از میکروارگانیسم‌های فتوسنتزی ساده یک یا چند سلولی هستند که می‌توانند از یک سو مواد آلی بسازند و از سوی دیگر با سرعت مناسب رشد و تکثیر یابند. *Chlorella sp.* یکی از مشهورترین ریزجلبک‌ها به شمار می‌آید. این جلبک میکروسکوپی با قطر ۲ تا ۱۰ میکرومتر ساکن آب‌های شیرین است. *Chlorella* مشابه گیاهان، از فعال‌ترین موجودات فتوسنتزکننده و دارای کلروفیل با تراکم بالا است. بخشی از خواص درمانی *Chlorella* مربوط به مقدار زیاد کلروفیل و ساختمان دیواره سلولی، به ویژه مواد متشکله این دیواره است. این جلبک، سلامتی و قدرت دفاعی بدن را بهبود می‌بخشد. از عصاره آن در تهیه لوازم آرایشی و با توجه به پلی‌ساکاریدهای موجود در آن در داروسازی استفاده می‌شود (صفری و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین ریزجلبک *Chlorella sp.* دارای پتانسیل بسیار زیادی به عنوان یک منبع مناسب برای تولید بیودیزل است که علت آن را می‌توان رشد سریع، کشت آسان و ارزان، نگهداری راحت و ساده در یک محیط کشت معدنی دانست (Rawat et al., 2011). یکی از علت‌هایی که باعث محدود شدن استفاده از ریزجلبک‌ها در صنایع مختلف

برداشت زیست توده (بیومس) مورد استفاده قرار گیرد (Safi et al., 2014).

جداسازی بیومس ریزجلبک با روش الکتروشیمیایی، رویکرد نوینی است که بر اساس خنثی سازی بار الکتریکی و اصل انعقادی عمل می کند. این تکنیک الکتروشیمیایی در حال حاضر روشی کاربردی برای برنامه های زیست محیطی است (Misra et al., 2009). همچنین امکان ارائه یک روش ابتکاری، ارزان و موثر در برداشت بیومس ریزجلبک را با حداقل نیاز به مواد شیمیایی فراهم می کند (Alfafara et al., 2002). این تکنیک اولین بار در تصفیه فاضلاب مورد بررسی قرار گرفت و نشان داد که یک تکنولوژی کارآمد با راندمان بالا است که مصرف انرژی پایینی دارد. همچنین بر خلاف روش های جداسازی رایج، به ماده منعقد کننده نیاز ندارد (Kuokkanen et al., 2013).

هدف این مطالعه جداسازی بیومس ریزجلبک *Chlorella sp.* از محیط کشت آن با تکنیک Electro-Coagulation-Flotation است و تاثیر سه پارامتر شدت جریان، الکترولیت و مدت زمان اجرا در راندمان برداشت ریزجلبک مورد بررسی قرار می گیرد.

است (Crist et al., 1994). با توجه به وجود بار منفی، سلول های ریزجلبک به صورت پراکنده در محیط کشت باقی می ماندند که بعد از خنثی سازی این بار منفی می توانند تجمع پیدا کرده و به حالت توده ای در آیند. تکنیک Electro-Coagulation-Flotation (ECF) یک روش الکتروشیمیایی است که برای تولید یون های فلزی منعقد کننده، از الکترودهای فلزی اکسید کننده طراحی شده است (Perreault et al., 2010; Kim et al., 2012). به منظور افزایش سرعت واکنش طی انجام تکنیک Electro-Coagulation-Flotation می توان از الکترولیت استفاده کرد (Gao et al., 2010). در این روش یک جریان الکتریکی از طریق نصب دو الکتروده فعال (به عنوان مثال الکتروده آلومینیوم) برقرار می شود. الکترودها در محیط کشت جلبک قرار داده می شوند. الکترودی که به عنوان قطب آند عمل می کند دچار اکسیداسیون می شود و در آزادسازی یون های فلزی نقش دارد. این یون های فلزی به عنوان عامل انعقاد کننده در شکل گیری توده های جلبکی عمل می کنند (Golzary et al., 2015). پدیده انعقاد سلول های ریزجلبک با خنثی سازی بار الکتریکی، می تواند برای

مواد و روش‌ها

جداسازی و خالص‌سازی ریزجلبک *Chlorella* sp.

جلبک سبز تک سلولی *Chlorella* sp. از موسسه تحقیقات ماهیان خاویاری (سنگر، شهرستان رشت) تهیه شد. به منظور خالص‌سازی، ابتدا کشت مجدد استوک *Chlorella* sp. بر روی محیط کشت جامد و سپس چندین بار بر روی محیط کشت مایع به شرح زیر انجام شد.

کشت مقدماتی ریزجلبک در محیط کشت جامد

در این روش ابتدا محیط کشت Zinder (Z-8+N) تهیه شد (Zinder et al., 1984). سپس ۱/۵ درصد آگار (۱/۵ گرم پودر آگار در ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت) قبل از اتوکلاو (مدل F2000، تایوان)، مطابق روش Wegmann و همکاران (۱۹۷۱) به محیط کشت اضافه شد. محیط کشت محتوی آگار پس از استریل و قبل از سرد شدن، به داخل لوله آزمایش استریل ریخته شد. بعد از این که محتویات لوله به دمای اتاق رسید سویه مورد نظر در کنار شعله روی آن کشت داده شد. به منظور کاهش میزان تبخیر و جلوگیری از نفوذ آلودگی، درب لوله‌ها با پارافیلیم مسدود شد و نمونه‌ها برای رشد به اتاقک کشت انتقال یافتند.

کشت مقدماتی ریزجلبک در محیط کشت مایع

کشت مایع ریزجلبک در محیط کشت Eutech (pH) Zinder (Z-8+N) انجام شد، (Instruments pH 510، استرالیا) آن در محدوده ۶/۸-۷ تنظیم شد و برای حذف آلودگی‌های میکروبی و قارچی، محیط کشت مورد نظر با استفاده از دستگاه اتوکلاو در فشار ۱ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل شد. پس از این مرحله، انتقال به درون ارلن‌های ۱۰۰۰ میلی‌لیتری در شرایط استریل انجام گرفت. به این ترتیب که به ازای هر ۷۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع، ۳۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون جلبکی که در مرحله لگاریتمی رشد قرار داشت اضافه شد (در مجموع ۷۸۰ میلی‌لیتر). پس از تلقیح، با استفاده از فویل و پارافیلیم دهانه ارلن، به منظور ممانعت از نفوذ آلودگی و تبخیر مسدود شد.

کشت انبوه ریزجلبک *Chlorella* sp. به منظور تولید بیومس

برای کشت انبوه ریزجلبک از اتاقک کشت استفاده شد. بدین صورت که ابتدا نمونه خالص شده در محیط کشت Zinder و در ظرف‌های یک لیتری دستگاه کشت داده شد. سپس برای کشت انبوه به ظرف‌های ۱۰ لیتری انتقال داده

شد. شدت جریان‌های مورد بررسی ۴، ۸ و 16 mA.cm^{-2} بود که برای شدت جریان 4 mA.cm^{-2} بازه‌های زمانی مختلف (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه) در نظر گرفته شد ولی برای شدت جریان‌های ۸ و 16 mA.cm^{-2} فقط مدت زمان ۳۰ دقیقه لحاظ شد. مدت زمان رسوب‌گذاری برای تیمارهای مختلف ۳۰ دقیقه و ۲۴ ساعت در نظر گرفته شد. در نمونه شاهد هیچ کدام از پارامترهای مذکور برای آن اعمال نشد و سوسپانسیون جلبک بر اساس وزن مخصوص خود رسوب کرد. کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون دانکن برای بررسی اختلافات بین میانگین‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

جداسازی بیومس ریزجلبک با تکنیک

Electro-Coagulation-Flotation

در این آزمایش از ۱۰۰۰ میلی‌لیتر نمونه ریزجلبک که در اتاقک کشت رشد یافته بود، استفاده شد. الکترودهای مسطح آلومینیومی (با ابعاد 2×8 سانتی‌متر مربع) که به منبع تغذیه متصل بودند در فاصله ۶ سانتی‌متری از یکدیگر در داخل محیط کشت قرار گرفتند (شکل ۱). بازده این تکنیک در شدت جریان‌های مختلف (۴، ۸ و ۱۶ میلی‌آمپر بر

شد. نمونه‌ها در شرایط پایه با دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و شدت نوری ۲۵۰۰ لوکس با دوره نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی تحت شرایط هوادهی قرار گرفتند. برای نوردهی از لامپ‌های فلورسنت (مهتابی) و همگن ساختن محیط از لوله و پمپ هوا (Air 8000، چین) استفاده شد.

رسم منحنی رشد ریزجلبک بر اساس کدورت

سنجی (طول موج ۷۵۰ nm)

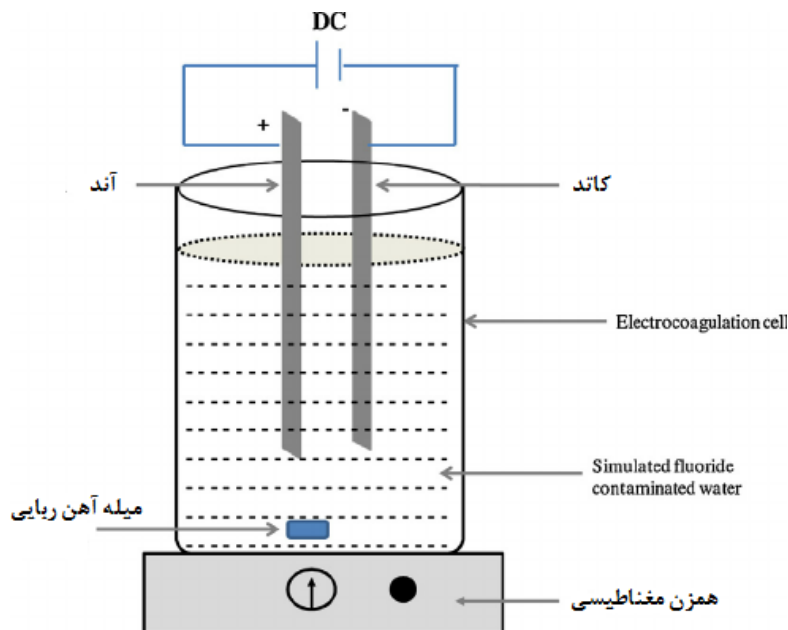
به منظور بررسی روند رشد ریزجلبک *Chlorella sp.* هر دو روز یک بار جذب نوری نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (CamSpec M501 Single Beam) در طول موج ۷۵۰ nm (UV/Visible، چین) در طول موج ۷۵۰ nm اندازه‌گیری شد (محسنی، ۱۳۹۲) و منحنی رشد روزانه بر اساس جذب نوری (OD) در طول موج ۷۵۰ nm رسم شد.

طراحی آزمایش و تیماردهی

در مطالعه حاضر پارامترهای مدت زمان، شدت جریان و غلظت نمک به عنوان تیمارهای مختلف برای بررسی تاثیر تکنیک Electro-Coagulation-Flotation در جداسازی بیومس ریزجلبک در نظر گرفته

سانتی‌متر مربع)، در بازه‌های زمانی مختلف (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه) و غلظت‌های مختلف الکترولیت (NaCl) در محیط کشت جلبک (۲، ۴ و ۶ گرم در لیتر)، بررسی شد. در طول مدت آزمایش، سوسپانسیون جلبک توسط همزن مغناطیسی

(Stirrer HP-3000، چین) در دور ۱۰۰ rpm مخلوط می‌شد و در پایان هر مرحله برای ایجاد رسوب، همزن مغناطیسی خاموش می‌شد که در دو مدت زمان ۳۰ دقیقه و ۲۴ ساعت، رسوب‌گذاری بررسی شد.



شکل ۱: طرحی از سیستم Electro-Coagulation-Flotation

اندازه‌گیری شد، سپس ۱ mL از نمونه‌های تیمار در زمان‌های مختلف از اجرای این تکنیک برداشته شد و جذب نوری آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۸۰ nm خوانده شد و با جذب نمونه شاهد مقایسه شد.

محاسبه راندمان جداسازی بیومس ریزجلبک برای بررسی راندمان بازیافت ریزجلبک از جذب نوری آن‌ها استفاده شد. بدین صورت که ابتدا جذب نمونه شاهد که مربوط به جداسازی بیومس بدون اعمال این تکنیک بود

نتایج

رسم منحنی رشد ریزجلبک *Chlorella sp.* به منظور تعیین زمان برداشت بیومس رشد جلبک از طریق اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج ۷۵۰nm طی ۲۱ روز، هر دو روز یکبار اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از رسم منحنی رشد نشان داد که بهترین زمان برای برداشت بیومس *Chlorella sp.* در شرایط پایه اتاقت کشت روز ۱۰ است. در این زمان سلول‌های ریزجلبک در انتهای فاز لگاریتمی و ابتدای فاز ایستایی رشد قرار دارند (شکل ۲).

راندمان جداسازی ریزجلبک در شدت جریان‌های مختلف و زمان‌های مختلف

مراحل جداسازی بیومس ریزجلبک با استفاده از تکنیک Electro-Coagulation-Flotation در شکل ۳ نشان داده شده است. در این مطالعه تاثیر شدت جریان‌های مختلف (۴، ۸ و 16 mA.cm^{-2}) در راندمان جداسازی ریزجلبک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد راندمان برداشت ریزجلبک با افزایش شدت جریان افزایش پیدا می‌کند (جدول ۱).

همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود بیش‌ترین راندمان برداشت بیومس در این بررسی در شدت جریان ۱۶ میلی‌آمپر به دست

تولید گاز H_2 در سمت کاتد و گاز O_2 در سمت آند باعث شناور شدن ریزجلبک می‌شود به همین علت جمع‌آوری نمونه‌ها برای خواندن OD، از فاصله ۵ سانتی‌متری زیر سطح آب انجام شد. راندمان جداسازی ریزجلبک بر اساس کاهش جذب نوری سوسپانسیون و مطابق رابطه ۱ قابل محاسبه است (Vandamme et al., 2011).

رابطه ۱:

$$\mu_a = [(OD_i - OD_f) / OD_i] \times 100$$

μ_a : راندمان جداسازی ریزجلبک؛ OD_i : جذب نوری نمونه قبل از تیمار؛ OD_f : جذب نوری نمونه بعد از تیمار.

محاسبه میزان مصرف انرژی

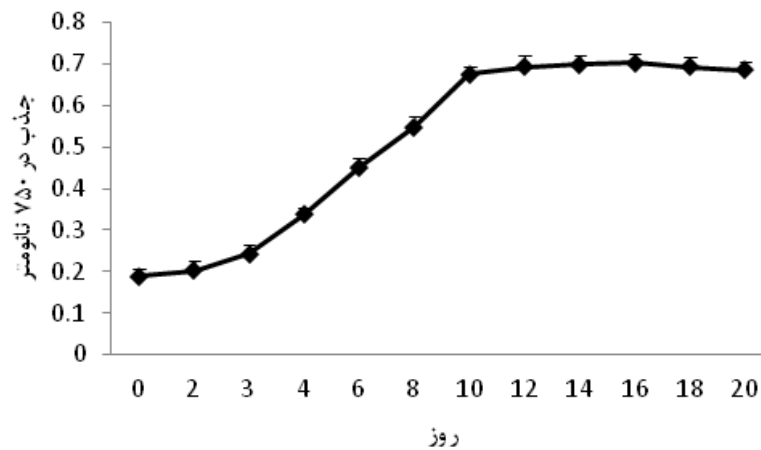
میزان انرژی مصرف شده (برحسب کیلووات ساعت بر کیلوگرم) از رابطه ۲ به دست می‌آید (Guldhe et al., 2015).

رابطه ۲:

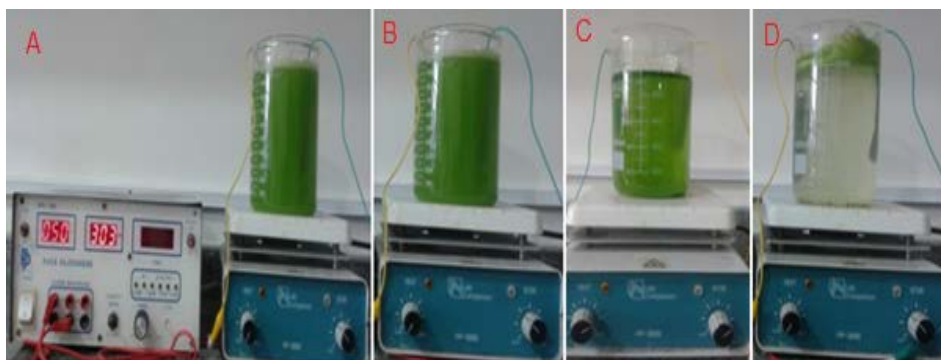
$$E = (P \times t) / (1000 \times V \times \mu_a \times C_i)$$

P : توان مصرفی بر حسب وات (W)؛ t : زمان انجام تیمار برحسب ساعت (h)؛ V : حجم سوسپانسیون ریزجلبک بر حسب متر مکعب (m^3)؛ μ_a : راندمان برداشت ریزجلبک؛ C_i : غلظت اولیه بیومس ریزجلبک بر حسب کیلوگرم بر متر مکعب (Kg.m^{-3}).

آمد ولی با شدت جریان ۸ میلی‌آمپر اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین در شدت جریان ۴ میلی‌آمپر، بیش‌ترین راندمان برداشت بیومس در مدت زمان ۶۰ دقیقه به دست آمد که با زمان ۵۰ دقیقه فاقد اختلاف معنی‌دار بود.



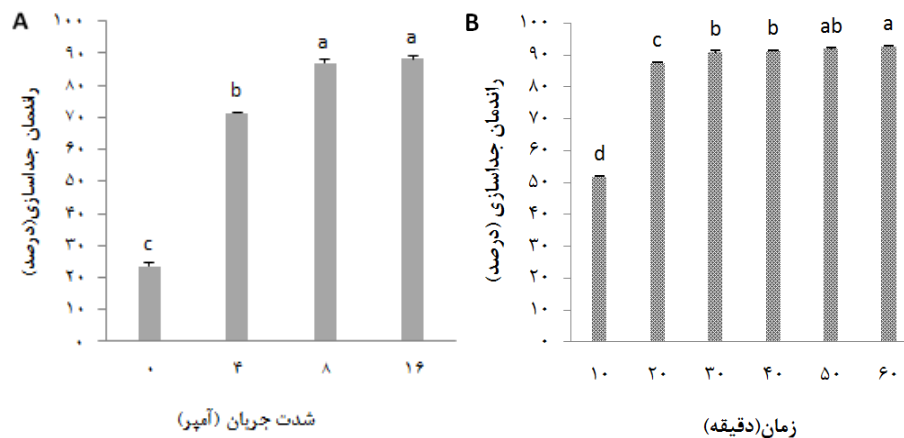
شکل ۲: منحنی رشد ریز جلبک *Chlorella sp.* (میانگین \pm خطای استاندارد)



شکل ۳: جداسازی ریز جلبک *Chlorella sp.* با تکنیک Electro-Coagulation-Flotation: A: آماده‌سازی سوسپانسیون جلبک، قراردادن الکترودها در آن و اتصال به منبع تغذیه. B: سوسپانسیون جلبک قبل از انجام تکنیک. C: بعد از گذشت ۵ دقیقه از شروع جداسازی. D: در پایان جداسازی.

جدول ۱: برداشت بیومس ریزجلبک *Chlorella sp.* با تکنیک *Electro-Coagulation-Flotation* در شرایط مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد). حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار است.

شدت جریان ($\text{mA}\cdot\text{cm}^{-2}$)	زمان (دقیقه)	بعد از ۳۰ دقیقه رسوب گذاری (%)	بعد از ۲۴ ساعت رسوب گذاری (%)
۰	۰	۲۳/۶ \pm ۰/۲۴	۸۱/۲ \pm ۰/۳۱
۴	۱۰	۵۱/۷ \pm ۰/۳۶ ^f	۸۴/۸ \pm ۰/۲۳ ^f
۸	۲۰	۶۴/۸ \pm ۰/۲۱ ^e	۸۷/۴ \pm ۰/۲۶ ^e
۱۶	۳۰	۷۱/۴ \pm ۰/۲۳ ^d	۹۰/۷ \pm ۰/۲۹ ^d
	۴۰	۷۶/۹ \pm ۰/۳۸ ^c	۹۱/۲ \pm ۰/۳۴ ^c
	۵۰	۸۱/۳ \pm ۰/۱۸ ^b	۹۱/۸ \pm ۰/۳۱ ^b
	۶۰	۸۴/۶ \pm ۰/۲۴ ^a	۹۲/۶ \pm ۰/۲۸ ^a
۸	۳۰	۸۶/۹ \pm ۰/۳۳	۹۴/۳ \pm ۰/۳۶
۱۶	۳۰	۸۸/۳ \pm ۰/۲۹	۹۴/۸ \pm ۰/۳۴

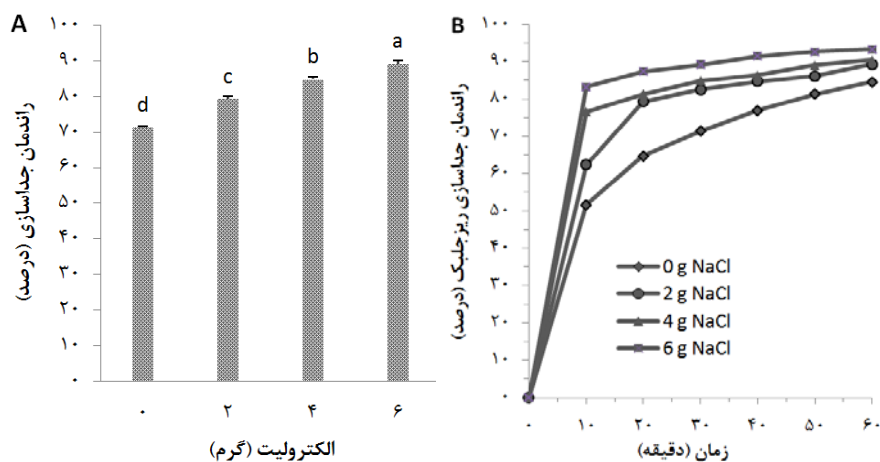


شکل ۴: راندمان جداسازی ریزجلبک در شرایط مختلف آزمایش (میانگین \pm خطای استاندارد). A: راندمان جداسازی در شدت جریان‌های مختلف در مدت زمان ۳۰ دقیقه. B: راندمان جداسازی در شدت جریان

بهینه ۴ میلی‌آمپر و زمان‌های مختلف. حروف انگلیسی مشابه در هر نمودار نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است.

شده است. این بررسی نشان می‌دهد که افزودن NaCl در غلظت‌های ۰، ۲ و ۴ g.L^{-1} به محیط به ترتیب باعث افزایش ۸۴/۹٪ و ۷۹/۳٪ در راندمان جداسازی ریزجلبک شد. در حالی که راندمان جداسازی ۷۱/۴٪ مربوط به محیط فاقد الکترولیت بود. همچنین افزایش غلظت الکترولیت باعث کاهش مصرف انرژی در طی فرآیند جداسازی شد (جدول ۲).

تاثیر افزودن الکترولیت در راندمان جداسازی نتایج به دست آمده از مطالعه اثر غلظت‌های مختلف NaCl در راندمان برداشت ریزجلبک نشان داد که افزایش غلظت الکترولیت باعث بهبود راندمان جداسازی ریزجلبک می‌شود. تاثیر غلظت NaCl در بهبود راندمان جداسازی ریزجلبک و در شدت جریان 4mA.cm^{-2} در طی انجام این تکنیک در شکل ۵ نشان داده



شکل ۵: تاثیر غلظت NaCl در راندمان جداسازی *Chlorella sp.*: A: راندمان جداسازی در غلظت‌های مختلف الکترولیت (میانگین \pm خطای استاندارد). حروف انگلیسی مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار است. B: تاثیر غلظت‌های مختلف الکترولیت در زمان‌های مختلف.

محاسبه میزان مصرف انرژی
 شد که میزان مصرف انرژی آن‌ها به ترتیب برابر با ۰/۰۵۰، ۰/۱۱۰، ۰/۲۷۵ (کیلو وات ساعت) بود. همچنین بررسی‌ها نشان داد که با افزودن الکترولیت می‌توان میزان مصرف انرژی را تا حد قابل توجهی کاهش داد (جدول ۲).

جدول ۲: راندمان جداسازی ریزجلبک (μa) و مصرف انرژی (E) در شرایط مختلف (میانگین \pm خطای استاندارد). حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است.

پارامتر	شدت جریان (میلی آمپر)	ولتاژ (ولت)	راندمان جداسازی (%)	مصرف انرژی (کیلووات ساعت)
بدون الکترولیت	۴	۵۰	۷۱/۴ \pm ۰/۲۸ ^f	۰/۰۵ \pm ۰/۰۰۳ ^c
	۸	۶۷	۸۶/۹ \pm ۰/۲۱ ^c	۰/۱۱ \pm ۰/۰۰۱ ^b
	۱۶	۸۵	۸۸/۳ \pm ۰/۳۷ ^b	۰/۲۷ \pm ۰/۰۰۲ ^a
غلظت الکترولیت (NaCl) ۲ g/L	۰/۲	۴۲	۷۹/۳ \pm ۰/۴۱ ^e	۰/۰۳ \pm ۰/۰۰۳ ^d
۴ g/L	۰/۲	۳۶	۸۴/۹ \pm ۰/۲۹ ^d	۰/۰۳ \pm ۰/۰۰۲ ^d
۶ g/L	۰/۲	۲۹	۸۹/۲ \pm ۰/۳۴ ^a	۰/۰۲ \pm ۰/۰۰۱ ^e

ریزجلبک *Scenedesmus acuminatus*

توسط این تکنیک مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش دادند که الکترودهای منیزیم بیش‌ترین راندمان جداسازی را داشت و باعث جداسازی ۹۰٪ سوسپانسیون شد. بعد از آن به ترتیب الکترودهای آلومینیوم، روی، مس و آهن بیش‌ترین راندمان جداسازی را داشتند (Bleeke et al., 2015). در این مطالعه از الکترودهای آلومینیوم برای جداسازی بیومس

بحث

راندمان جداسازی در تکنیک Electro-Coagulation-Flotation به پارامترهای مختلف از جمله الکترودها (جنس، شکل و فاصله آن‌ها از یکدیگر)، شدت جریان کاربردی، مدت زمان اجرا و رسانایی سوسپانسیون جلبک بستگی دارد. Bleeke و همکاران (۲۰۱۵) تاثیر الکترودهای مختلف (منیزیم، آلومینیوم، روی، مس و آهن) را در راندمان جداسازی

استفاده شد. همچنین تاثیر شدت جریان کاربردی، مدت زمان اجرا، و رسانایی سوسپانسیون جلبک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش شدت جریان، میزان راندمان جداسازی افزایش یافت که با نتایج Guldhe و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت داشت. همچنین Golzary و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که شدت جریان کاربردی در راندمان جداسازی تاثیرگذار است. Matos و همکاران (۲۰۱۳) جداسازی دو گونه ریزجلبک *Nannochloropsis sp.* و *Chlorella vulgaris* را مورد بررسی قرار دادند. آنها شدت جریان‌های مختلف (۳۳/۳۳، ۸/۳۳ و ۱۶/۶۷ میلی‌آمپر) و زمان‌های مختلف را در این تکنیک استفاده کردند. بر اساس گزارش آن‌ها بیش‌ترین راندمان جداسازی ریزجلبک *Chlorella vulgaris*، ۸۸٪ بود که در شدت جریان ۳۳/۳۳ میلی‌آمپر و مدت زمان ۳۰ دقیقه به دست آمد. راندمان برداشت ریزجلبک با افزایش شدت جریان افزایش پیدا می‌کند که علت آن افزایش تولید ذرات باردار در محلول است. افزایش تولید ذرات باردار متناسب با شدت جریان بوده که در نهایت راندمان برداشت ریزجلبک را افزایش می‌دهد. بر اساس گزارش آن‌ها با افزایش شدت جریان

بیش‌تر از $33/33 \text{ mA.cm}^{-2}$ و افزایش مدت زمان آزمایش بیش‌تر از ۳۰ دقیقه نمی‌توان به راندمان بالاتری دست یافت بلکه برای افزایش راندمان می‌توان مدت زمان رسوب‌گذاری را افزایش داد (Matos et al., 2013) که با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مطابقت داشت. ریزجلبک *Chlorella sp.* به علت اندازه کوچکی که دارد مقاومت بالایی را در برابر جریان الکتریکی از خود نشان می‌دهد. این مطالعه نشان داد که با افزودن الکترولیت‌هایی مانند NaCl می‌توان رسانایی الکتریکی سوسپانسیون جلبک را افزایش داد و راندمان این روش را بهبود بخشید که با نتایج Misra و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت داشت. آن‌ها گزارش دادند که علاوه بر شدت جریان الکتریکی و الکترولیت، سرعت تولید حباب‌های گازی، اندازه و رشد توده‌های جلبکی می‌تواند در راندمان برداشت این تکنیک تاثیرگذار باشد (Misra et al., 2014). اندازه سلول‌ها و چگالی محیط تاثیر مهمی در راندمان برداشت ریزجلبک دارد به طوری که در سلول‌های با اندازه کوچک‌تر، نسبت سطح به حجم افزایش می‌یابد که باعث افزایش جداسازی آن می‌شود. همچنین اندازه کوچک‌تر سلول به شناور شدن سریع‌تر آن کمک می‌کند. Misra و همکاران

رسانایی سوسپانسیون جلبک بستگی دارد. در این بررسی بیشترین راندمان برداشت بیومس ۸۸/۳ درصد بود که در شدت جریان 16 mA.cm^{-2} و مدت زمان ۳۰ دقیقه به دست آمد. همچنین مشاهده شد که با افزایش الکترولیت می‌توان رسانایی الکتریکی سوسپانسیون جلبک را افزایش داد و راندمان این روش را بهبود بخشید. این تکنیک با توجه به راندمان بالا، مصرف انرژی کم‌تر و عدم نیاز به اضافه کردن ماده منعقدکننده می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های برداشت متعارف ریزجلبک از محیط کشت باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از سرکارخانم دکتر رمضان‌پور به واسطه در اختیار قرار دادن استوک *Chlorella sp.* و زحمات بی‌دریغ جناب آقای علوی و سرکار خانم هادوی کارشناس محترم آزمایشگاه‌های گروه زیست‌شناسی دانشگاه گیلان، ابراز می‌نمایند.

(۲۰۱۴) در طی بررسی‌های خود در مورد دو ریزجلبک *Chlorella sorokiniana* و *Scenedesmus obliquus* گزارش دادند که در شدت جریان ۱/۵ آمپر راندمان جداسازی آن‌ها به ترتیب برابر با ۷۹٪ و ۵۷٪ بود. همچنین میزان بیومس تولید شده توسط آن‌ها به ترتیب ۲/۸ و ۰/۹۲ گرم بر لیتر گزارش شد. میانگین قطر ریزجلبک‌های مورد بررسی به ترتیب برابر با ۳/۷۱ و ۴/۱ میکرومتر بود (Misra et al., 2014). Matos و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که ریزجلبک *Nannochloropsis sp.* با قطر ۲-۳ میکرومتر راندمان جداسازی بیش‌تری (۹۷/۲٪) را نسبت به ریزجلبک *Chlorella vulgaris* با قطر ۱۰-۲ میکرومتر از خود نشان داد.

پژوهش حاضر با هدف جداسازی بیومس ریزجلبک *Chlorella sp.* با تکنیک Electro-Coagulation-Flotation انجام شد. نتایج این بررسی نشان داد که راندمان جداسازی در این تکنیک به پارامترهای مختلف از جمله شدت جریان کاربردی، مدت زمان اجرا و

منابع

- صفری ر.، ابطحی ب. و طیبی ب. ۱۳۹۰. بررسی اثرات بازدارندگی عصاره جلبک *Chlorella vulgaris* روی باکتری *Bacillus subtilis* در محیط کشت آزمایشگاهی. مجله علمی پژوهشی علوم و فناوری غذایی، ۳(۲): ۲۷-۳۳.
- محسنی ن. ۱۳۹۲. بررسی میزان جذب زیستی و اثرات فیزیولوژیک فلز سنگین سرب در جلبک سبز کلرلا. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گیلان. ۸۸ص.
- Alfafara C.G., Nakano K., Nomura N., Igarashi T. and Matsumura M. 2002.** Operating and scale-up factors for the electrolytic removal of algae from eutrophied lakewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77(8): 871–876.
- Bleeke F., Quante G., Winckelmann D. and Klock G. 2015.** Effect of voltage and electrode material on electroflocculation of *Scenedesmus acuminatus*. *Journal of Bioresources and Bioprocessing*, 2: 1-8 (2:36).
- Crist D.R., Grist R.H., Martin J.R. and Watson J.R. 1994.** Ion exchange systems in proton-metal reactions with algal cell walls. *FEMS Microbiology Reviews*, 14: 309–313.
- Gao S., Du M., Tian J., Yang J., Yang J., Ma F. and Nan J. 2010.** Effects of chloride ions on electro-coagulation–flotation process with aluminum electrodes for algae removal. *Journal of Hazardous Materials*, 182: 827–834.
- Greenwell H.C., Laurens L.M., Shields R.J., Lovitt R.W. and Flynn K.J. 2010.** Placing microalgae on the biofuels priority list: A review of the technological challenges. *Journal of the Royal Society Interface*, 7: 703–726.
- Golzary A., Imanian S., Abdoli M.A., Khodadadi A. and Karbassi A. 2015.** A cost-effective strategy for marine microalgae separation by electro-coagulation–flotation process aimed at bio-crude oil production. *Separation and Purification Technology*, 147: 156–165.
- Guldhe A., Misra R., Singh P., Rawat I. and Bux F. 2015.** An innovative electrochemical process to alleviate the challenges for harvesting of small size microalgae by using non-sacrificial carbon electrodes. *Chemical Engineering Journal*, 255: 327–333.
- Kim J., Ryu B.G., Kim B.K., Han J.I. and Yang J.W. 2012.** Continuous microalgae recovery using electrolysis with polarity

- exchange. *Bioresource Technology*, 111: 268–275.
- Kuokkanen V., Kuokkanen T., Ramo J. and Lassi U. 2013.** Recent applications of electrocoagulation in treatment of water and wastewater. *Green and Sustainable Chemistry*, 3: 89–121.
- Matos C.T., Santos M., Nobre B.P. and Gouveia L. 2013.** Microalgae biomass harvesting by electro-coagulation. *Energy for Sustainability*, 135: 128–133.
- Misra R., Guldhe A., Singh P., Rawat I. and Bux F. 2014.** Electrochemical harvesting process for microalgae by using nonsacrificial carbon electrode. *Chemical Engineering Journal*, 255: 327–333.
- Misra R., Gedam N., Waghmare S., Masid S. and Rao N.N. 2009.** Landfill leachate treatment by combination of physico-chemical and electrochemical method. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 51: 315–320.
- Perreault F., Dewez D., Fortin C., Juneau P., Diallo A. and Popovic R. 2010.** Effect of aluminum on cellular division and photosynthetic electron transport in *Euglena gracilis* and *Chlamydomonas acidophila*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29: 887–892.
- Pienkos P.T. and Darzins A. 2009.** The promise and challenges of microalgal-derived biofuels. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining Journal*, 3: 431–440.
- Rawat I., Ranjith R., Kumar R., Mutanda T. and Bux F. 2011.** Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy Journal*, 88: 3411–3424.
- Safi C., Zebib B., Merah O., Pontalier P.Y. and Vaca-Garcia C. 2014.** Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35: 265–278.
- Vandamme D., Foubert I. and Muylaert K. 2013.** Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. *Trends in Biotechnology*, 31: 233–239.
- Vandamme D., Pontes S.C., Goiris K., Foubert I., Pinoy L.J. and Muylaert K. 2011.** Evaluation of electro-coagulation–flocculation for harvesting marine and freshwater microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 108: 2320–2329.
- Wegmann T.G., Hellstrom I. and Hellstrom K.E. 1971.** Immunological tolerance:

"Forbidden clones" allowed in tetraparental mice. Proceedings of the National Academy of Sciences, 68(7): 1644–1647.

Zinder S.H., Cardwell S.C., Anguish T., Lee M. and Koch M. 1984. Methanogenesis in a

thermophilic (58°C) anaerobic digester. *Methanotherix* sp. as an important acetoclastic methanogen. Applied and Environmental Microbiology, 47: 796–807.



Harvesting the biomass of single-celled microalga *Chlorella* sp. with Electro-Coagulation-Flotation method

Ahmad Mashhadinejad¹, Roghayeh Reihani¹, Jannat Sarmad^{2*},
Hojjatolah Zamani²

Received: February 2016

Accepted: March 2016

Abstract

Microalgae are rich in inorganic compounds and can grow rapidly, thereby producing valuable byproducts in various fields, such as pharmaceutical and food industrials. At the end of the growth phase of the microalgae, one of the problems that exist in harvesting the biomass is lack of a suitable machine for the isolation of microalgae from culture with low-cost is not available. In this study, the Electro-coagulation- flotation method was used to harvest *Chlorella* sp. from the culture medium, the impact of three parameters, current, electrolytes and duration of the process was evaluated for its efficiency. The results show that the run time has the greatest impact in harvesting, so that the highest recovery efficiency was attained in the longest time. On the other hand the increase in currency speeds up the clotting and harvesting of the microalgae; but the energy consumption is high. The highest efficiency of biomass harvesting was obtained 88.3 % with a currency of 16 mA.cm⁻² and duration of 30 minutes.

Key words: *Electrolyte, Currency, Cell Coagulation.*

1- M.Sc. Student in Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.

2- Assistant Professor in Department of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran.

*Corresponding Author: sarmad@guilan.ac.ir