نشریه فرآوری و تولید مواد غذایی
سال هفتم، شماره اول، بهار ۱۳۹۶

# جداسازی و خالص‌سازی جلبک *کلرلا ولگاریس* با استفاده از امواج الکتریکی

*حمیدرضا صمدلوئی[۱]، محدثه‌السادات حسینی نوروزی[۲]، علی گنجیان خناری[۳]

[۱] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، [۲] دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت ا... آملی،[۳] استادیار گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر، ساری

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۲۸

*مسئول مکاتبه: hsamadlouie@yahoo.com

## چکیده

شناسایی دریاها موجب تامین فرآورده‌های بسیاری برای انسان گردید که یکی از این فرآورده‌ها، جلبک‌ها هستند و برای زندگی روزانه بشر فواید بسیاری دارند. میکروجلبک *کلرلا ولگاریس*، یکی از گونه‌های مهم تجاری جلبک در دنیا محسوب می‌شود که در حال حاضر از نظر تولید ومصرف انسانی، مقام اول را در میان سایرمیکروجلبک‌ها دارا می‌باشد. در بررسی حاضر پس از طی دوره رشد میکروجلبک (۱۵ روز)، ٦ تیمار رسوب جلبک حاصل از سوسپانسیون میکروجلبک *کلرلا* در بشرهای یک لیتری، تحت ولتاژها و آمپرهای متفاوت مورد ارزیابی قرار گرفتند (در ۳ تکرار). نتایج این تحقیق نشان داد که ولتاژ و آمپر حداقل، موجب شد تا زمان لخته‌سازی میکروجلبک *کلرلا* در هر دو الکترود افزایش یابد، به طوری که در الکترود آهن، ۸٦۲ و آلومینیوم، ۷۰۵ دقیقه بوده است. از سوی دیگر افزایش ولتاژ و آمپر سبب گردید تا سرعت لخته‌سازی بیشتر و زمان آن کمتر شود. در واقع، میان زمان رسوب‌دهی و لخته‌شدن سلول‌های میکروجلبک *کلرلا* با افزایش آمپر و ولتاژ،رابطه مستقیم وجود داشته است. نتایج تحقیق نشان داد که در تمام تیمارها حدود ۹۰ درصد توده زیستی در لایه بالایی سطح آب قرارگرفته و نزدیک به ۱۰ درصد این توده نیز در پایین ظرف، رسوب نموده است.

***واژگان کلیدی:*** *کلرلا ولگاریس*، لخته‌سازی، میکروجلبک، امواج الکتریکی

## مقدمه

اقیانوس‌ها، دریاها، رودخانه‌ها، نهرها، دریاچه‌ها و حتی پهنه‌های یخی، میزبان میکروارگانیسم‌های متنوعی هستند که قادرند از نور خورشید به عنوان تنها منبع انرژی برای فرایندهای زیستی خود استفاده کنند. جلبک‌ها یک گروه نسبتا ساده از ارگانیسم‌های گیاهی هستند که قادر به فتوسنتر می‌باشند. این میکروارگانیسم‌ها نور خورشید را دریافت نموده، دی اکسید کربن را مصرف می‌نمایند و به طور وسیعی در تولید جهانی اکسیژن مشارکت دارند (بین ۸۷-۵۰ درصد). در واقع جلبک‌ها یکی از مهمترین ارگانیسم‌های آبی و جزء اولین موجودات زنجیره غذایی محسوب می‌گردند. کاربرد جلبک‌ها در صنایع غذایی،

تغذیه، تولید دارو، رنگدانه، مواد شیمیایی و سوخت می‌باشد (یاماگوچی، ۱۹۹۷). تنوع این ارگانیسم‌های آبی بسیار بالا بوده و تنها تعداد محدودی از آنها به صورت تجاری مورد پرورش قرار می‌گیرند که عمده‌ترین این جلبک‌ها شامل کلرلا[1]، اسپیرولینا[2]، هاماتوکوکوس سندسموس[3] و دونالیلا[4] می‌باشد (برگ- نیلسن، ۲۰۰۶). همچنین از مهمترین جلبک‌های اقتصادی و دارای ارزش غذایی بالا که توسط محققین بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند، می‌توان به دو نمونه جلبک *Chlorella* sp. و *Spirulina*sp. اشاره نمود. جلبک *کلرلا* دارای بیش از ٪۵۰ پروتئین و ٪۱۲/۴ لیپید بوده و نیز سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع، ویتامین $B_6$، ویتامین $B_{12}$ (متیل کوبالامین) و اسپوروپولین (کاهش سمیت نوروتوکسین‌ها و فلزات سنگین) است (کانو و همکاران، ۲۰۰۵). به فرایند جداسازی توده زیستی از محیط کشت، جمع‌آوری[5] میکروجلبک-ها اطلاق می‌شود که یکی از مشکل‌ترین مراحل در تولید انبوه میکروجلبک می‌باشد. تکنیک‌های مختلفی در زمینه جمع‌آوری میکروجلبک‌ها وجود دارد اما هیچ‌کدام از آنها به عنوان یک روش اقتصادی و کارا، به طور عمومی پذیرفته نشده‌اند. با این وجود، خوشبختانه اطلاعات کافی و مناسبی برای توسعه تکنیک‌های جمع‌آوری میکروجلبک وجود دارد که از نظر اقتصادی مقرون به صرفه هستند. اگرچه بیشتر تحقیقات موجود در زمینه تکنیک‌های انعقاد الکتریکی مرتبط با تصفیه فاضلاب‌ها می‌باشد (پاپازی و همکاران، ۲۰۱۰) اما یکی از ویژگی‌های مهم در روش انعقاد الکتریکی، عدم نیاز به افزودن مواد شیمیایی است. از این رو، احتمال آلودگی محیط کشت با استفاده از این روش بسیار پایین می-باشد. اولین بار ایده بازیابی میکروجلبک با استفاده از روش انعقاد الکتریکی توسط پولمن[6] و همکاران (۱۹۹۷)ارائه گردید که تاثیر ولتاژ، جریان و فاصله کاتد و آند بر نسبت حذف میکروجلبک (موجود در فاضلاب) را مورد مطالعه قرار دادند. باید توجه داشت که اهمیت تکثیر و پرورش میکروجلبک در صنایع آبزی-پروری و صنایع مختلف از جمله تغذیه انسانی، دام و طیور، داروسازی، بیودیزل (سوخت سبز)، کود سبز و نیز عدم وجود اطلاعات جامع و مفید در زمینه میکروجلبک در کشور ایران، خصوصاً جداسازی میکروجلبک (تولید انبوه) از سوسپانسیون آن، نیاز به بررسی و مطالعه بیشتر در این زمینه را ضروری ساخته است. بازیابی توده زیستی (بیومس) میکروجلبک که معمولاً به یک یا بیش از یک فرآیند جداسازی جامد- مایع نیاز دارد، یک مرحله مهم در فرآیند تولید توده زیستی میکروجلبک بوده و بین ۲۰ تا ۳۰ درصد کل هزینه‌های مربوط به تولید را شامل می‌شود.

1-*Chlorella*
2-*Spirulina*
3-*HaematococcusScenedesmus*
4-*Dunaliella*
5-Harvesting
6- Poelman

انتخاب تکنولوژی جمع‌آوری محصول در تولید اقتصادی توده زیستی میکروجلبک بسیار تعیین کننده است. لخته‌سازی میکروجلبک اولین مرحله در فرآیند جمع‌آوری توده می‌باشد و هدف از انجام این مرحله، متراکم نمودن سلول‌های میکروجلبکی به منظور افزایش اندازه موثر ذرات است.

## مواد و روش‌ها

**تهیه استوک خالص و کشت میکروجلبک *کلرلا*:** در این آزمایش، استوک خالص میکروجلبک سبز *کلرلا* از آزمایشگاه کشت جلبک گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر(کاسپین) تهیه گردید و در مرحله اول، تحت شرایط کاملاً استریل با مجاورت چراغ الکلی، به لوله‌های آزمایش محتوی محیط کشت غنی شده انتقال یافت. سپس جهت تولید استوک بیشتر، با طی ۵ روز به ارلن‌های ۲۵۰ سی‌سی و پس از ٤ روز به ارلن ۵۰۰ سی‌سی و یک لیتری منتقل شدند تا استوک مورد نیاز جهت انعقاد الکتریکی به دست آید (پاپازی و همکاران، ۲۰۱۰).

**کشت میکروجلبک *کلرلا***

**آماده‌سازی اتاق کشت میکروجلبک *کلرلا*:** ۲ عدد لامپ فلورسنت به عنوان منبع تامین نور با شدت نوری ۳۵۰±۳۵۰۰ و پریود نوری برای شرایط میکسوتروف ۱۲D–۱۲L(۱۲ ساعت روشنایی – ۱۲ ساعت تاریکی) به نحوی که لامپ‌ها از سطح شیشه‌ای ۱۵ سانتی‌متر فاصله داشتند و نیز لامپ U.V برای ضدعفونی ساختن اتاق کشت در نظر گرفته شدند. دوره روشنایی (L) و تاریکی (D) توسط پریز اتوماتیک (تایمردار) به صورت تناوب (۱۲/۱۲):(L/D) ساعت تنظیم گردید و دمای اتاق کشت در تمام مدت آزمایش۲±۲۵ درجه سانتیگراد بود. هوادهی ارلن‌مایرهای حاوی میکروجلبک *کلرلا* و محیط کشت، بر روی میز و با استفاده از دستگاه پمپ آکواریوم مرکزی که توسط چند رابط به هم متصل شدند، انجام گرفت، به طوری که با ایجاد تلاطم، مواد مغذی مورد نیاز، در اختیار استوک قرار گیرد و از رسوب آن جلوگیری شود (گنجیان، ۱۳۸۹).

**عملیات لخته‌سازی میکروجلبک *کلرلا*:** طی یک دوره ۱۵ روزه، کشت به تولید انبوه رسید. آنگاه جداسازی فاز جامد توده زیستی از فاز مایع سوسپانسیون میکروجلبک *کلرلا* در بشرهای یک لیتری که شامل ٦ تیمار و هر تیمار ۳ تکرار بود، توسط دستگاه انعقاد الکتریکی (الکتروفلوکولاسیون) با الکترودهای آهن و آلومینیوم انجام گردید. جهت انجام این آزمایش، شرایط دما، pH و فاصله الکترودها از هم، یکسان در نظر گرفته شد و ٦ تیمار تحت ولتاژ و آمپر متفاوت مورد ارزیابی قرار گرفتند. در واقع میکروجلبک *کلرلا* با تراکم مشابه (تعداد سلول در میلی‌لیتر) در ۳ تکرار با آمپر، ولتاژ و الکترود مختلف در یک طرح کاملاً تصادفی متعادل (CRD) مورد آزمایش قرار گرفت و سرعت

(زمان به دقیقه) لخته شدن به دست آمده از هر تیمار به ثبت رسید (زو و همکاران، ۲۰۱۰).

**جدول ۱- میزان ولتاژ و آمپر در تیمارهای مختلف برای دو الکترود آهن و آلومینیوم**

| تیمارها | ولتاژ (V) | آمپر (A) |
|---|---|---|
| تیمار اول (T1) | ۳/۹ | ۰/۰۴ |
| تیمار دوم (T2) | ۹/۰ | ۰/۱۱ |
| تیمار سوم (T3) | ۱۴/۲ | ۰/۲۵ |
| تیمار چهارم (T4) | ۲۶/۹ | ۰/۳۸ |
| تیمار پنجم (T5) | ۲۸/۳ | ۰/۶۰ |
| تیمار ششم (T6) | ۳۱/۸ | ۰/۶۳ |

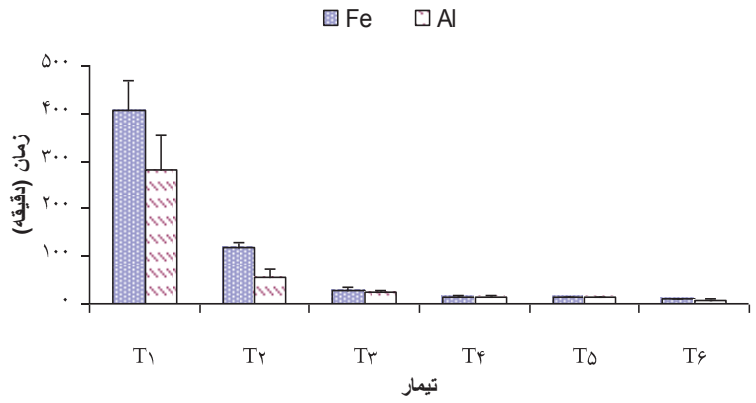
**جمع‌آوری محصول (توده زیستی) و لخته‌سازی میکروجلبک *کلرلا*:** با توجه به شکل (۱) در این بررسی بعد از تولید انبوه میکروجلبک *کلرلا* (سوسپانسیون) با روش انعقاد الکتریکی، جداسازی فاز مایع از فاز جامد با الکترودهای آهن و آلومینیوم انجام گردید. نتایج حاکی از آن است که در تمام تیمارها حدود ۹۰ درصد توده زیستی در لایه بالایی سطح آب قرارگرفته و نزدیک به ۱۰ درصد این توده، در پایین ظرف رسوب کرده است. برای تهیه خمیر و کاهش آب موجود در سلول‌های میکروجلبک *کلرلا* بعد از جمع‌آوری محصول، از تور پلانکتون‌گیر با مش ۱۰۰ میکرون استفاده گردید تا آبگیری و تغلیظ توده زیستی میکروجلبک *کلرلا* صورت پذیرد.

**شکل ۱- مراحل تهیه خمیر از میکروجلبک با روش انعقاد الکتریکی**

**تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:** با استفاده از نرم افزار SPSS18، میانگین، انحراف معیار، خطای معیار، حداقل و حداکثر و نیز دسته‌بندی داده‌ها انجام گرفت. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA)، برای مقایسه میانگین‌ها و وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها، از آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید. همچنین رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2007 صورت پذیرفت (زر، ۱۹۸٤).

## نتایج و بحث

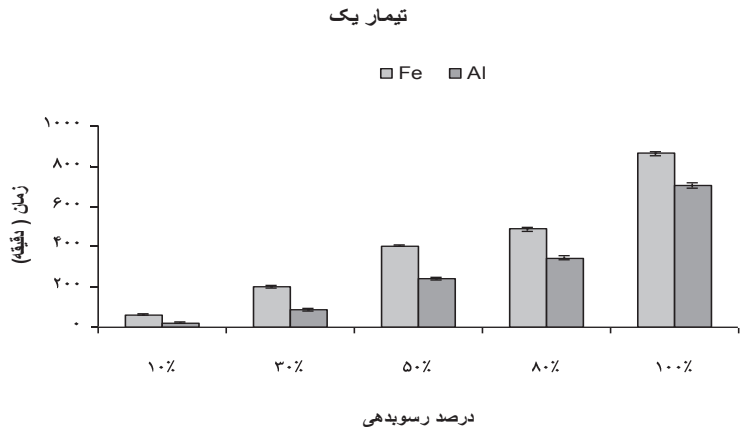
بعد از تولید انبوه میکروجلبک در شرایط آزمایشگاهی جهت جمع‌آوری محصول به روش انعقاد الکتریکی، تعداد سلول میکروجلبک *کلرلا* تقریبا به میزان $۲۵ \times ۱۰^{۶}$ تعداد سلول در میلی‌لیتر بوده است. همچنین نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه (میانگین، انحراف معیار) در محیط‌های کشت مختلف میکروجلبک *کلرلا* برای تیمارها و الکترودهای مختلف در ذیل آورده شد.




**شکل ۲- نمودار میانگین کل زمان رسوب‌دهی میکروجلبک *کلرلا* در تیمارهای مختلف با دو الکترود آهن و آلومینیوم**

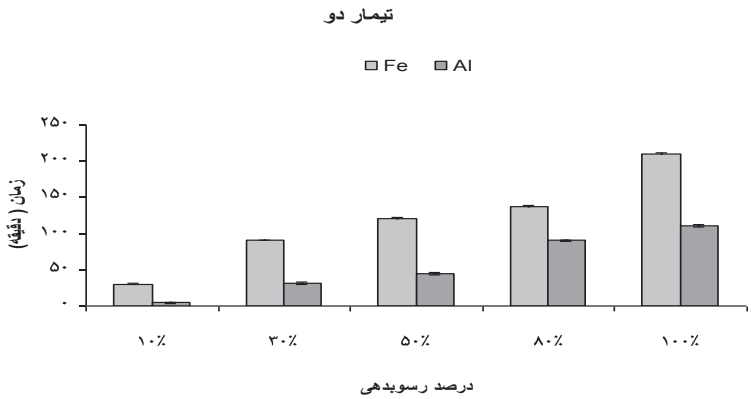
**تاثیر ولتاژ، آمپر و زمان در تیمارها و الکترودهای مختلف:** در **تیمار یک** از الکترود آهن، ولتاژ ۳/۹ و آمپر ۰/۰٤ استفاده شد. پس از ٦۲ دقیقه اولین نشانه لخته شدن در سلول‌های میکروجلبک کلرلا مشاهده گردید (حدود ۱۰ درصد لختگی) و با کاربرد الکترود آلومینیوم، ولتاژ ۳/۹ و آمپر ۰/۰٤ پس از ۲۲ دقیقه حدود ۱۰ درصد نشانه لخته شدن میکروجلبک *کلرلا* مشاهده گردید. در این تیمار سرعت لخته شدن سلول‌های میکروجلبک *کلرلا* در هر دو الکترود بسیار آهسته بوده و در این زمان، سلول‌های لخته شده (فاز جامد) در سطح بالایی مایع (فاز مایع) جمع گردیدند. البته در زمان‌های مختلف، این لایه ضخیم‌تر شده، در نهایت، در الکترود آهن و آلومینیوم به ترتیب پس از ۸٦۲ و

۷۰۵ دقیقه، کل سلول‌های میکروجلبک در سطح بالایی بشر به صورت لایه ضخیم درآمد که به راحتی قابل جمع‌آوری گردیدند و آب زیرین نیز کاملا شفاف و روشن شد. در واقع در این تیمار، جمع‌آوری محصول با الکترود آلومینیوم نسبت به الکترود آهن سریع‌تر صورت گرفت (شکل ۳). به طور کلی با توجه به جداول (۲) و (۳) و شکل (۲) بین زمان‌های مختلف رسوب‌دهی میکروجلبک *کلرلا* و هر دو الکترود، اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد وجود داشته است (P<0/05).



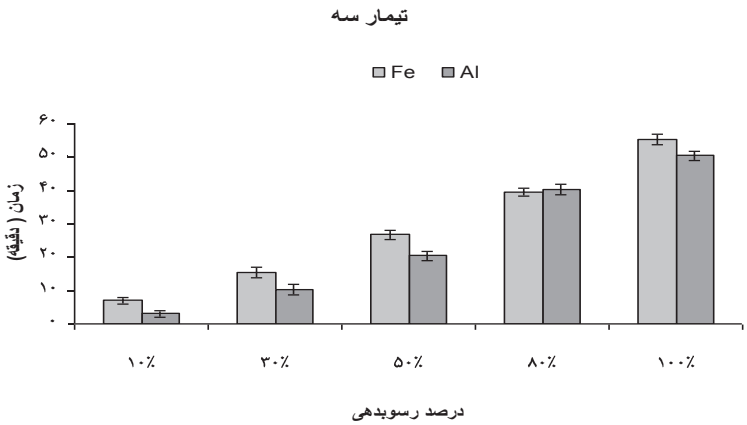

**شکل ۳- نمودار درصد رسوب‌دهی میکروجلبک *کلرلا* در زمان‌های مختلف با الکترود آهن و آلومینیوم در تیمار ۱**

در بررسی **تیمار دوم** با ولتاژ ۹ و آمپر ۰/۱۱ توسط الکترودهای آهن و آلومینیوم، به ترتیب بعد از ۳۰ و ٤ دقیقه حدود ۱۰ درصد اولین لخته و به هم چسبندگی سلول‌ها اتفاق افتاد و نسبت به تیمار اول، لخته‌سازی سلول‌های میکروجلبک *کلرلا* سریع‌تر صورت گرفت (شکل ٤). البته ضخامت توده زیستی در زمان‌های بعدی، بیشتر شد و در نهایت، با الکترود آهن و آلومینیوم به ترتیب در زمان های ۲۱۰ و ۱۱۰ دقیقه، کل سلول‌های میکروجلبک *کلرلا* به هم چسبیده و در سطح آب شناور شدند و لایه زیرین توده نیز کاملا شفاف گردید. در این تیمار نیز سرعت لخته شدن با الکترود آلومینیوم، بیشتر از آهن بوده است و بین زمان‌های مختلف رسوب‌دهی میکروجلبک *کلرلا* با هر دو الکترود اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<0/05).



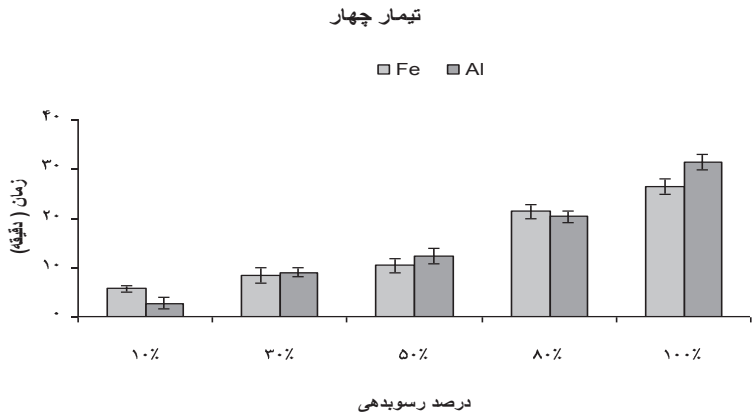

**شکل ٤- درصد رسوب‌دهی میکروجلبک *کلرلا* در زمان‌های مختلف با الکترود آهن و آلومینیم در تیمار ۲**

در **تیمار سوم** با ولتاژ ۱٤/۲، آمپر ۰/۲۵ و الکترودهای آهن و آلومینیوم به ترتیب بعد از ۷ و ۳ دقیقه، اولین لخته و به هم پیوستگی سلول‌های میکروجلبک *کلرلا* در سطح ۱۰ درصد اتفاق افتاد. در زمان‌های بیشتر، رنگ سوسپانسیون کمتر و ضخامت لایه بالایی سلول‌های میکروجلبک بیشتر شد. به طوری که در حضور الکترودهای آهن و آلومینیوم به ترتیب در زمان‌های ۵۵ و ۵۰ دقیقه کل سلول‌ها به هم چسبیده و آب کاملا شفاف گردید. در این تیمار، الکترود آهن و آلومینیوم تا ۱۰۰ درصد رسوب‌دهی تقریبا نزدیک بودند و مطابق با شکل (۵)، درصد رسوب‌دهی، اختلاف معناداری را میان زمان‌های مختلف در الکترود آهن و آلومینیوم نشان داده است ($P<0/05$).




**شکل ۵- درصد رسوب‌دهی میکروجلبک *کلرلا* در زمان‌های مختلف با الکترود آهن و آلومینیم در تیمار ۳**

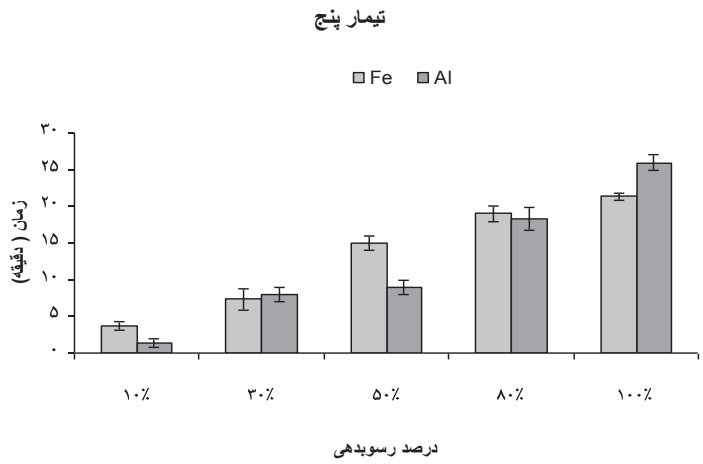
در **تیمار چهارم** با ولتاژ ۲۶/۹، آمپر ۰/۳۸ و الکترودهای آهن و آلومینیوم به ترتیب بعد از ٦ و ۳ دقیقه حدود ۱۰ درصد سلول‌های میکروجلبک *کلرلا* روی سوسپانسیون جمع گردیده و به هم چسبیدند. در واقع می‌توان گفت به ترتیب کمتر از ۲٦ و ۳۱ دقیقه، کل سلول‌ها به هم چسبیده و لایه ضخیمی از توده زیستی میکروجلبک *کلرلا* را تشکیل دادند. در این تیمار، سرعت رسوب‌دهی الکترود آهن نسبت به الکترود آلومینیوم بیشتر بوده است. با توجه به جداول (۲) و (۳) در حضور الکترود آهن، به جز مقادیر ۳۰ و ۵۰ درصد که در یک گروه قرار گرفتند، میان این دو زمان اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید اما با گروه‌های دیگر و نیز بین درصدها در زمان‌های مختلف، اختلاف معنادار بوده است، در حالی که در الکترود آلومینیوم، میان درصدها در زمان‌های مختلف، اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشته است ($P<0/05$).




**شکل ٦- درصد رسوب‌دهی میکروجلبک *کلرلا* در زمان‌های مختلف با الکترود آهن و آلومینیم در تیمار ٤**

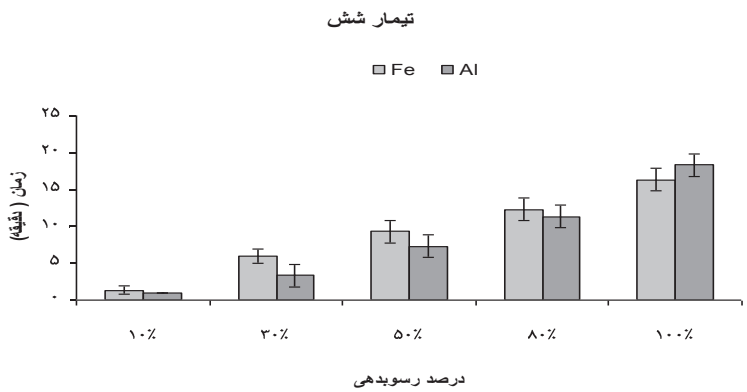
در **تیمار پنجم** با ولتاژ ۲۸/۳ و آمپر ۰/٦۰، شروع لخته شدن و به هم چسبیدن توده زیستی میکروجلبک *کلرلا* در حضور الکترودهای آهن و آلومینیوم به ترتیب در کمتر از ٤ و۱/۵ دقیقه، به میزان حدود ۱۰ درصد اتفاق افتاد. در نهایت توده زیستی این میکروجلبک، با وجود الکترودهای آهن و آلومینیوم به ترتیب در زمان‌های ۲۱ و ۲٦ دقیقه در لایه بالایی جمع‌آوری گردید و لایه‌های زیرین به صورت کاملا شفاف و عاری از سلول‌های میکروجلبک در آمد. در این تیمار نیز سرعت

رسوب‌دهی الکترود آهن بیشتر از الکترود آلومینیوم بوده و میان مقادیر ۳۰ و ۵۰ درصد در حضور الکترود آلومینیوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید اما بین درصدهای مختلف (زمان‌ها) در معرض الکترود آهن اختلاف معنی‌داری وجود داشته‌است (P<0/05) (شکل ۷).




**شکل ۷- درصد رسوب‌دهی میکروجلبک *کلرلا* در زمان‌های مختلف با الکترود آهن و آلومینیم در تیمار ۵**

**تیمار ششم** با داشتن ولتاژ ۳۱/۸ و آمپر ۰/۶۳ در حضور الکترودهای آهن و آلومینیوم به ترتیب در کمتر از ۱/۵ و حدود ۱ دقیقه، لخته شدن و به هم پیوستن توده زیستی میکروجلبک *کلرلا* را نشان داد و پس از ۱۶ و ۱۸ دقیقه، جمع‌آوری این توده به اتمام رسید. در حضور الکترود آهن، میان زمان‌ها و تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید اما با وجود الکترود آلومینیوم، زمان ۱-۳ دقیقه (۱۰ و ۳۰ درصد) در یک گروه قرار گرفتند و اختلاف معناداری وجود نداشت (P>0/05)، اما بین این دو گروه و تیمارهای دیگر در زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری دیده شد (P<0/05). با توجه به شکل (۲) با افزایش آمپر و ولتاژ، زمان جمع‌آوری محصول به صورت چشمگیری با کاهش همراه بوده و مطابق با شکل (۸) سرعت جمع‌آوری محصول در تیمار ٦، در حضور الکترود آهن نسبت به الکترود آلومینیوم، بیشتر گردیده است.




**شکل ۸- درصد رسوب‌دهی میکروجلبک *کلرلا* در زمان‌های مختلف با الکترود آهن و آلومینیم در تیمار ٦**

**جدول ۲- درصد رسوب‌دهی و میانگین زمان برای میکروجلبک *کلرلا* توسط الکترود آهن در تیمارهای مختلف**

| درصد رسوب‌دهی | انحراف معیار ± میانگین (زمان : دقیقه) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
| ۱۰ | ۶۲/ ۷ ± ۳/۸ a | ۳۰/ ۳ ±۱/۵ a | ۷/۰ ±۱/۰ a | ۵/۶±۵/۰ a | ۳/۶±۰/۶ a | ۱/۳±۰/۶ a |
| ۳۰ | ۲۰۳/۳±۶/۱ b | ۹۰/۳±۱/۵ b | ۱۵/۳±۱/۵ b | ۸/۳±۱/۵ b | ۷/۳±۱/۵ b | ۶/۰±۱/۰ b |
| ۵۰ | ۴۰۶/۰ ±۵/۶ c | ۱۲۰/۳±۱/۵ c | ۲۶/۷±۱/۵ c | ۱۰/۳±۱/۵ c | ۱۵/۰± ۱/۰ c | ۹/۳±۱/۵ c |
| ۸۰ | ۴۸۸/۳±۱۰/۰ d | ۱۳۷/۳±۱/۵ d | ۳۹/۳±۱/۱ d | ۲۱/۳±۱/۵ d | ۱۹/۰±۱/۰ d | ۱۲/۳±۱/۵ d |
| ۱۰۰ | ۸۶۲/۷±۱۱/۰ e | ۲۱۰/۳±۱/۵ e | ۵۵/۳±۱/۵ e | ۲۶/۳±۱/۵ e | ۲۱/۳±۰/۶ e | ۱۶/۳±۱/۵ e |
| کل | ۴۰۴/۶±۲۸۳/۲ | ۱۱۷/۷±۶۱/۰ | ۲۸/۷±۱۷/۸ | ۱۴/۴±۸/۳ | ۱۳/۲±۷/۰ | ۹/۱±۵/۴ |

**میانگین اعداد در یک سطر با حروف متفاوت، دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند ($P<0.05$)**

**جدول ۳- درصد رسوب‌دهی و میانگین زمان برای میکروجلبک *کلرلا* توسط الکترود آلومینیوم در تیمارهای مختلف**

| درصد رسوب‌دهی | انحراف معیار ± میانگین (زمان : دقیقه) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
| ۱۰ | ۲۲/۳±۱/۵ a | ۴/۳±۰/۶ a | ۳±۱ a | ۲/۷±۱/۱ a | ۱/۳±۰/۶ a | ۱±۰ a |
| ۳۰ | ۸۵/۳±۱/۵ b | ۳۱/۷±۱/۵ b | ۱۰/۳±۱/۵ b | ۹±۱ b | ۸±۱ b | ۳/۳±۱/۵ b |
| ۵۰ | ۲۳۹/۷±۰/۶ c | ۴۴/۷±۲/۱ c | ۲۰/۳±۱/۵ c | ۱۲/۳±۱/۵c | ۹±۱ c | ۷/۳±۱/۵ c |
| ۸۰ | ۳۴۵/۳±۱/۵ d | ۹۰/۳±۱/۵ d | ۴۰/۳±۱/۵ d | ۱۸/۳±۱/۱ d | ۱۸/۳±۱/۵ d | ۱۱/۳±۱/۵ d |
| ۱۰۰ | ۷۰۵/۳±۱/۵ e | ۱۱۰/۳±۱/۵ e | ۵۰/۳±۱/۵ e | ۳۱/۳±۱/۵ e | ۲۶±۱ e | ۱۸/۳±۱/۵ e |
| کل | ۲۷۹/۶±۲۴۹/۷ | ۵۶/۲±۴۰/۱ | ۲۴/۹±۱۸/۵ | ۱۵/۱±۱۰/۳ | ۱۲/۵±۸/۹ | ۸/۲±۶/۴ |

**میانگین اعداد در یک سطر با حروف متفاوت، دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند (P<0.05)**

جلبک‌های میکروسکوپی به دلیل دارا بودن مواد مغذی ارزشمند می‌توانند ضمن بهبود کیفیت غذای انسان و دام در ارتقای سلامت آنها نیز نقش موثری داشته باشند. این میکروارگانیسم‌ها دارای میزان بالایی پروتئین بوده و قدرت سنتز همه اسیدهای آمینه ضروری را دارند. کربوهیدارت‌های جلبک‌ها به صورت نشاسته، گلوکز و سایر پلی‌ساکاریدها بوده و به دلیل قابلیت هضم بالا، محدودیتی برای استفاده خوراکی ندارند. لیپیدهای جلبک‌ها نیز حاوی اسیدهای چرب اشباع شده و اشباع نشده از جمله اسیدهای چرب مهم امگا ۳ و امگا ٦ می‌باشند (گنجیان و همکاران، ۱۳۹۱؛ دوگوسوامی و همکاران، ۲۰۱۲). نتایج تحقیقات پلمن و همکاران (۱۹۹۷) نشان داد نسبت حذف میکروجلبک می‌تواند در حدود ۳۵ دقیقه به سطح ۹۰-۸۰ درصد برسد و ولتاژ کمتر، فاصله بیشتر آندها و کاتدها منجر به افزایش زمان جداسازی میکروجلبک گردد. راندمان بازیابی نیز در سطوح ولتاژ متفاوت (۸۵V-۱۸V) تقریبا در یک سطح می‌باشد. بعضی از محققان از قبیل واندامه و همکاران (۲۰۱۱) و زو و همکاران (۲۰۱۰) فرایند انعقاد الکتریکی را برای جمع‌آوری میکروجلبک با هدف تولید بیودیزل مورد مطالعه قرار دادند. وندامه و همکاران (۲۰۱۱) گونه‌های *کلرلا ولگاریس*[7] و *فائودستیلوم*

[7]- *Chlorella vulgaris*

*تریکورنوتوم*[8] را به عنوان نمونه، مورد مطالعه قرار دادند و به نتایج مشابهی رسیدند که شدت جریان کمتر ($۰/٦mAcm^{-2}$) در مقایسه با شدت جریان بالاتر ($۳mA\ cm^{-2}$)، زمان جمع‌آوری را طولانی می‌کند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. با این حال کارایی کلی جمع‌آوری میکروجلبک در پایان کار نزدیک به هم بوده است (حیدری، ۱۳۹۳). پاپازی و همکاران (۲۰۱۰) نیز در تحقیق خود، از فلوکولاسیون برای جداسازی توده زیستی (بیومس) میکروجلبک استفاده کردند و بازده ٪٦۰ را از *کلرلا مینوتیسیما*[9] با افزودن یک گرم در لیتر $Al_2(SO4)_3$ و $ZnCl_2$ به ترتیب در زمان ۱/۵ و ٦ ساعت بعد به دست آوردند. باید توجه داشت که مواد الکترود مختلف از جمله آلیاژ آلومینیوم، آهن، استیل، مس، برنج و برنز به منظور تعیین تاثیر یون-های مختلف فلزات بر تشکیل لخته و جداسازی مورد مطالعه قرار گرفتند و نتایج نشان داد که همه موادها در تولید لخته و درجه بالایی از جداسازی مناسب بودند. بنابراین می‌توان پیشنهاد کرد که ارزان‌ترین و در دسترس‌ترین ماده الکترود باید استفاده گردد (بالمر و فولدز، ۱۹۸٦). فاکس(۱۹۸۳) در مطالعه‌ی خود اثر ولتاژ، جریان و فاصله‌ی بین کاتد و آند بر نرخ حذف میکروجلبک‌ها (فاضلاب) را بررسی نمود و نشان داد می‌توان جمع‌آوری ریزجلبک‌ها تا حدود ٪۹۵-٪۸۰ را در عرض ۳۵ دقیقه به دست آورد. ولتاژ پایین‌تر، فواصل بزرگتر بین آند و کاتد منجر به زمان بیشتری برای جدا کردن ریزجلبک خواهد شد. اگرچه در سطوح مختلف ولتاژ (۱۸V-۸۵V) شرایط متفاوتی در زمان رسوب‌دهی مشاهده گردید اما به طور کلی با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشته است. گائو و همکاران (۲۰۱۰) به مطالعه اثر مواد مختلف الکترود، چگالی جریان، pH اولیه، تراکم سلولی اولیه جلبک و همچنین اثر دما به حذف جلبک از نمونه‌های تصفیه آب پرداختند و نتایج این محققان حاکی از آن بود که استفاده از الکترودهای متفاوت تاثیر قابل توجهی در زمان رسوب‌دهی داشته است. مشابه چنین یافته‌هایی در مورد کاربرد دو الکترود آهن و آلومینیوم در پژوهش حاضر نیز مشاهده گردید. بدین صورت که با توجه به سرعت لخته شدن میکروجلبک *کلرلا* در آمپر و ولتاژهای مختلف، زمان رسوب‌دهی و لخته شدن آنها متفاوت بوده و مشخصاً با افزایش ولتاژ و آمپر، زمان رسوب‌دهی در هر دو الکترود کوتاه‌تر شد. نتایج این تحقیق با مقالات چاپ شده مطالعات انعقاد الکتریکی توسط بلیک و همکاران (۲۰۱۵) نیز شباهت داشته است. همچنین در تحقیق حاضر، رابطه مستقیم بین زمان رسوب‌دهی و لخته شدن سلول‌های میکروجلبک *کلرلا* با افزایش آمپر و ولتاژ مشاهده شد. در تیمار ٦ نیز طی زمان کمتری در حضور هر دو الکترود،

---

8- *Phaeodctylum tricornutum*
9- *Chlorella minutissima*

توده زیستی میکروجلبک *کلرلا* از سوسپانسیون خارج شده و فاز مایع کاملا شفاف و عاری از سلول‌های میکروجلبک گردید. حیدری (۱۳۹۳) اثر آمپر و ولتاژهای مختلف بر دو استوک میکروجلبک MUR230 و MUR232 را جهت لخته‌سازی مورد مطالعه قرار دادند و نتایج نشان داد در لخته‌سازی با آمپر ۰/۱، سرعت لخته‌سازی خیلی آهسته بوده و چندین ساعت زمان می‌برد، در حالی که با افزایش ولتاژ، زمان لخته‌سازی میکروجلبک کاهش یافته است. در این تحقیق اشاره شده که با ولتاژ ۵۵ و آمپر ۵ بعد از ٤ دقیقه بین ۱۰۰-۹۰ درصد سلول های میکروجلبک از سوسپانسیون خارج شده و لخته گردیدند. همچنین آمپر بیش از ۲۵ باعث کاهش روند لخته‌سازی میکروجلبک خواهد شد (حیدری، ۱۳۹۳). در تحقیق حاضر با توجه به جداول (۲) و (۳) با هر دو الکترود آهن و آلومینیوم، در تیمار یک با آمپر ۰/۰٤ و ولتاژ ۳/۹ به ترتیب زمان ۸٦۲ و ۷۰۵ دقیقه به دست آمد که نسبت به تیمارهای دیگر زمان رسوب‌دهی طولانی‌تری داشته‌اند اما با افزایش ولتاژ (۳۱/۸) و آمپر (۰/٦۳)، سلول‌های میکروجلبک *کلرلا* با سرعت بیشتری به صورت لخته به هم چسبیده در سطح بالای آب قرار گرفتند (در الکترود آهن، ۱٦ دقیقه و در الکترود آلومینیوم، ۱۸ دقیقه). با توجه به تحقیقی که تحت عنوان بررسی تاثیر ولتاژ و الکترود در انعقاد الکتریکی، بر روی میکروجلبک سندسموس توسط بلیک و همکاران (۲۰۱۰) انجام گردید، مشخص شد که انعقاد با الکترود منگنز نسبت به الکترودهای آلومینیوم، روی، مس و آهن با سرعت بیشتر و زمان کمتری صورت گرفت و در تمام الکترودها، در ولتاژ بالای ٤۰ زمان کمتر و در ولتاژ ۱۰، مدت زمان بیشتری برای رسوب دادن سلول‌های میکروجلبک سندسموس لازم بوده است. در واقع مشابه با نتایج حاضر، افزایش ولتاژ سبب کوتاه‌تر شدن زمان رسوب‌دهی گردید. همچنین در این مطالعه با مقایسه الکترود آهن و آلومینیوم نشان داده شد که در تیمار دوم، با حضور الکترود آلومینیوم، سرعت لخته‌سازی بیشتر از آهن بوده در صورتی که از تیمار سوم به بعد، الکترود آهن با سرعت بیشتر و در بعضی از تیمارها تقریبا نزدیک به هم، در لخته‌سازی سلول‌های میکروجلبک *کلرلا* تاثیرگذار بوده‌است. در تحقیق حیدری (۱۳۹۳) با الکترود آلومینیوم نیز مشابه تحقیق حاضر به دست آمد، به طوری که با افزایش آمپر و ولتاژ، سرعت جمع‌آوری محصول (به هم چسبیدن سلول‌های میکروجلبک) بیشتر از ولتاژ و آمپر پایین گردید. با توجه به اینکه اندازه ریز میکروجلبک در ابعاد میکرونی و غلظت پایین به میزان (۲-۰/۵ گرم در لیتر) از مشکلات عمده در جمع‌آوری محصول میکروجلبک می‌باشد (هاسمن و همکاران، ۲۰۰۰)، می‌توان با استفاده از روش انعقاد الکتریکی، اندازه میکروجلبک را ٥٦-۳۰ برابر افزایش داد (لخته‌سازی) و پس از جمع‌آوری محصول اولیه، از سانتریفیوژ استفاده نمود که در کاهش هزینه بسیار

موثر است (اودومن و همکاران، ۲۰۱۰؛ واندامه، ۲۰۱۱).

## نتیجه‌گیری

در این تحقیق، امکان استفاده از روش الکتروفلوکولاسیون (انعقاد الکتریکی) با دو الکترود آهن و آلومینیوم برای برداشت توده زیستی میکروجلبک *کلرلا* بررسی گردید و با تغییر ولتاژ و آمپر در زمان لخته‌سازی و رسوب (برداشت محصول) تفاوت‌های بارزی مشاهده شد. نتایج نشان داد که با افزایش آمپر و ولتاژ در تیمارهای ۵ و ٦ که از نظر زمان جمع‌آوری محصول تقریباً یکسان بودند و با توجه به اهمیت هزینه کمتر انرژی می‌توان تیمار ۵ را به سبب کاهش هزینه پیشنهاد نمود. باید توجه داشت که روش انعقاد الکتریکی نسبت به روش‌های سانتریفیوژ و فیلتراسیون، هزینه انرژی کمتری نیاز دارد. همچنین با توجه به نتایج به دست آمده از کاربرد انعقاد الکتریکی می‌توان جمع‌آوری و بازیابی توده زیستی میکروجلبک *کلرلا* را با هزینه کمتر نسبت به فولوکولاسیون شیمیایی، انجام داد. از آنجا که در این بررسی روش انعقاد الکتریکی با استفاده از دو الکترود آهن و آلومینیوم، در ولتاژ بالاتر زمان رسوب‌دهی سلول‌های میکروجلبک *کلرلا* تقریبا برابر بودند، می‌توان از الکترودی که ارزان‌تر و دسترسی به آن آسانتر است، استفاده نمود. از سوی دیگر با توجه به اینکه ولتاژ و آمپر از عوامل مهم در بازدهی جمع‌آوری محصول میکروجلبک بوده و افزایش آنها باعث بازدهی بیشتر در زمان کمتر می‌گردد، این موضوع می‌تواند تا جایی مدنظر قرار گیرد که از نظر زمان و صرف انرژی مناسب و ارزان باشد البته این احتمال نیز وجود دارد که بسته به نوع جلبک و تراکم سلولی متفاوت باشد؛ از این رو استفاده از این نوع تکنولوژی با توجه به نتایج مطلوب به دست آمده، می‌تواند به عنوان یک روش مناسب و جایگزینی سودآور در بازیابی توده زیستی، تولید میکروجلبک تغلیظ شده و استفاده در صنایع مختلف پیشنهاد گردد.

## منابع

۱. حیدری، ف. ۱۳۹۳.جداسازی زی‌توده (بیوماس) میکروجلبک از محیط کشت با استفاده از تکنولوژی انعقاد الکتریکی. *پایان‌نامه کارشناسی ارشد*، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت ا...آملی.
۲. گنجیان، ع. ۱۳۸۹. *دوره آموزشی و کارگاه کشت جلبک*. گروه پژوهشی شیلات و آلاینده‌های آبی خزر، ساری، ۳۳ ص.

۳. گنجیان، ع.، شکوری، م.، قاسم‌نژاد، م.، گنجیان خناری، ف. و فارابی، و. ۱۳۹۱. بررسی تاثیر بی‌کربنات سدیم بر رشد میکروجلبک *کلرلا (Chlorella sp.)* در محیط کشت *TMRL*. *توسعه آبزی‌پروری*، دوره ٦، شماره ۲، ٦٥-٥٧.

4. Balmer, L.M. and Foulds, A.W. 1986.Separating oil from oil-in-water emulsions by electroflocculation/electroflotation. *Filhvction and Separation*, 23(6): 366-370.
5. Bleeke, F., Quante, G., Winckelmann, D. and Klöck, G. 2015. Effect of voltage and electrode material on electroflocculation of *Scenedesmus acuminatus*Bioresour. *Bioresources and Bioprocessing*, 2(1).
6. Berg-Nilsen, J. 2006.*Production of Micro Algea-Based Products*. Nordic Council of Ministers, Copenhagen, 29 p.
7. Devgoswami, Ch.R., Kalita, M.C, Talukdar, J., Bora, R. and Sharma, P. 2012. Studies on the growth behavior of Chlorella, Haematococcus and Scenedesmus sp. in culture media with different concentrations of sodium bicarbonate and carbon dioxide gas. *African Journal of Biotechnology*, 10(61): 13128-13138.
8. Fox, J.M. 1983. Intensive algal culture techniques. In: *Handbook of mariculture* (Editor: J.P. McVey). CRC Press, Boca Raton, pp: 43-69.
9. Gao, S., Yang, J., Tian, J., Ma, F., Tu, G. and Du, M.2010. Electro-coagulation-flotation process for algae removal. *Hazardous Materials*, 177:336-343
10. Kanno, T. and Uyama, K. 2005.*Chlorella vulgaris: The powerful Japanee Medicinal Green Algae as a biological Response Modifier*. Woodland publishing, Salt Lake, 32 p.
11. Poelman, E., Shelef,G. 1997. Potential of electrolytic flocculation for recovery of micro-algae.*Conservation and Recycling Resources*, 19: 1-10.
12. Papazi, A., Makridis, P. and Divanach, P. 2010. Harvesting *Chlorellaminutissima* using cell coagulants. *Applied Phycology*, 22: 349-355.
13. Heasman, M., Diemar, J. and O'connor W. 2000.Development of extended shelf- life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs–a summary.*Aquaculture Research*, 31: 637-659
14. Uduman, N. 2010. Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels. *Renewable Sustainable Energy*, 2(1): 1-15.
15. Vandamme, D., Robert, R. and Frampton, D.M. 2011. Evaluation of electro-coagulation-flocculation for harvesting marine and freshwater microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 10: 2320-2329
16. Xu, L., Wang, F.,Li, H., Hu, Z., Guo, C. and Liu,C. 2010. Development of an efficient electroflocculation technology integrated with dispersed-air flotation for harvesting microalgae. *Chemical Technology and Biotechnology*, 85(11): 1504-1507.
17. Yamaguchi, K. 1997. Recent advances in microalgal bioscience in Japan, with specialreference to utilization of biomass and metabolites: a review. *Applied Phycology*, 8:487-502.
18. Zar, J.H. 1984. *Biostatistics*. Prentic-Hall, New Jersey, 718 p.

# Isolation and purifiucation of *chlorella vulgaris* using electrical waves

***H.R. Samadlouie [1], M.S. Hoseini Norouzie [2], *A.* Ganjian Khanari [3]**
[1] Assistant Professor of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology,[2]MSc Graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Food Science, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch,[3]Assistant Professor in Caspian Research Group of Fisheries & Water Pollutants, Sari.
Received: 8-4-2017; Accepted: 18-5-2017

**Abstract**
Identification of seas has provided many products for humans, one of which are the algae that have many benefits to human daily life. Microalgae *Chlorella Vulgaris* is one of the most important commercial species in the world that is thefirst microalgae in terms of production and consumption. In the present study, after growth period of the microalgae (15 days), six treatments and three replications of algae were evaluated in one liter beaker of microalgae chlorella suspension with different voltages and ampers. The results of this study showed that the voltage and ampere minimally increased the time and clotting of the microalgae in both electrodes, which was 705 minutes in the iron electrode and 862 in aluminum electrode, respectively. Increasing voltages and ampers has led to a faster clotting process and less clotting time. There was a direct correlation between the time of deposition and clotting of chlorella microalgae with amplitude and voltage increase. The results showed that in all treatments about 90% of the algae was found at the upper layer of the water and about 10% was deposited at the bottom of the dish.

***Keywords:*** *Chlorella vulgaris*, Flocculation, Microalgae, Electric waves

*Corresponding author: hsamadlouie@yahoo.com