مقاله علمی – پژوهشی:

بررسی تاثیر روش لخته سازی بر راندمان برداشت زی‌توده و محتوی اسیدهای چرب ریزجلبک *Dunaliella salina*، جداسازی شده از تالاب لیپار، چابهار

سامره اربابی[۱]، پریا اکبری[۱]، زهرا امینی خویی[۲*]

[*]zamini.41@gmail.com

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
۲- مرکز تحقیقات شیلات آبهای دور چابهار، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۹

چکیده

امروزه، ریزجلبک‌ها به عنوان یکی از منابع مهم برای تولید سوخت‌های زیستی و محصولات دارویی مورد توجه قرار گرفته‌اند. با این وجود فقدان یک روش کارآمد و اقتصادی برای آب‌گیری و برداشت زی‌توده آنها یک چالش مهم برای دستیابی به این هدف است. در انتخاب روش برداشت، مواردی مانند ویژگی‌های گونـه، ارزش نهایی محصول و میزان مصـرف انـرژی اهمیت دارند. لذا، در این مطالعه تأثیر روش لخته‌سازی با تکنیک تغییرات pH در دامنه۱۱-۶، با استفاده از هیدروکسید سدیم و کلرید هیدروژن بر راندمان برداشت، چربی و محتوی اسیدهای چرب ریزجلبک *Dunaliella salina*، مورد آزمون قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزودن هیدروکسید سدیم و افزایش pH در دامنه ۹/۸-۸/۲ روند لخته‌سازی به صورت صعودی افزایش یافت و از ۱۸ به ۹۰ درصد رسید و سپس تا pH معادل ۱۱، به طور ثابت باقی ماند. در مقابل افزودن کلرید هیدروژن و ایجاد محیط اسیدی تا pH معادل ۶ تاثیر در تحریک لخته‌سازی نداشت. بالاترین ضریب تغلیظ زی‌توده نیز در تیمار قلیایی با pH معادل با ۹/۸ به میزان ۱۰ برابر غلظت اولیه (در pH معادل ۸/۲) مشاهده شد. در مرحله بعد، تاثیر تکنیک افزایش pH قلیایی بر محتوی چربی و اسیدهای چرب زی‌توده جمع‌آوری شده مورد آزمون بررسی قرار گرفت. در این آزمایش از تکنیک سانتریفیوژ به عنوان شاهد استفاده شد. آنالیزها نشان داد که با افزایش pH قلیایی درصد چربی و اسیدهای چرب زی‌توده جمع‌آوری شده کاهش یافت. بر اساس نتایج به‌دست آمده روش لخته‌سازی از طریق افزایش pH به میزان ۹/۸، تکنیکی ساده و نسبتاً ارزان با راندمان بالاست و برای برداشت زی‌توده ریزجلبک *Dunaliella salina* در راستای اهداف خاص مناسب می‌باشد.

لغات کلیدی: ریزجلبک *Dunaliella salina*، تغییر pH، راندمان برداشت، اسیدهای چرب

[*]**نویسنده مسئول**

مقدمه

یکی از مهم‌ترین موضوعات امروزی در جهان به‌کارگیری انرژهای پایدار و مسائل زیست محیطی مربوط به آنهاست. انتشار دی‌اکسید کربن حاصل از سوخت‌های فسیلی و سایر فعالیت‌های انسانی و در نتیجه گرم شدن کره زمین خطری جدی است. در این میان، گزینه استفاده از ریزجلبک‌ها به عنوان جایگزین سوخت‌های فسیلی مطرح می‌باشد (Borowitzka and Borowitzka, 1988; Moheimani, 2013; Ali *et al*., 2014). ریزجلبک‌ها قادرند از طریق فتوسنتز دی‌اکسید کربن را جذب کنند و با تبدیل آن به زی‌توده، منبع اولیه مناسبی برای استفاده در سوخت‌های زیستی فراهم آورند (وزیرزاده و مقدس زاده، ۱۳۹۸؛ شکوری و همکاران، ۱۳۹۹). تولید ریزجلبک‌ها نسبت به سایر گیاهان خشکی چند مزیت ویژه دارد که از جمله آن می‌توان به رشد بسیار سریع آنها در تمام طول سال، کشت و پرورش در زمین‌های لایزرع و با آبهای شور اشاره کرد (Mercz, 1994; Spolaore *et al*., 2006).

با وجود آن‌که مطالعات متعدد نشان داده است که ریزجلبک‌ها دارای مزایای زیادی نسبت به سایر منابع سوخت و انرژی هستند، اما به دلیل هزینه‌های بالای فرآیندهای پایین دستی و قیمت گران محصول نهایی آنها نسبت با سایر منابع، بازاریابی گسترده‌ای برای ارائه آنها به بازار انرژی صورت نگرفته است و دلیل این امر حجم نسبتا کم محصول تولیدی و قیمت بالای آن است (Cakmak *et al*., 2014, Morowvat and Ghasemi, 2016). فرآیندهای بعدی تولید ریزجلبک‌ها شامل برداشت، خشک کردن زی‌توده تر و استخراج و تخلیص روغن و سایر فرآورده‌ها می‌باشد. عملیات برداشت، شامل جمع‌آوری و تغلیظ سلول‌های بسیار کوچک (۵۰-۵ میکرون) و شناور از محیط رقیق آبی که در واقع، یک آب‌گیری اولیه به‌حساب می‌آید. عملیات جمع‌آوری زی‌توده غلیظ نیاز به انرژی قابل توجهی دارد و تقریباً ۴۰-۳۰ درصد هزینه‌های کل تولید را به‌خود اختصاص می‌دهد (Vandamme *et al*., 2015; Widowati *et al*., 2017; Maji *et al*., 2018). بنابراین، اگر اقتصاد پایدار از سوخت‌های مبتنی بر جلبک مد نظر باشد، بایستی عملیات برداشت و آب‌گیری بهینه و مقرون به‌صرفه به‌کار گرفته شود که این امر مستلزم استفاده از فن‌آوری‌های آب‌گیری کارآمد و چند منظوره با بهره‌وری و بازیافت بالاست. افزایش غلظت خمیر برداشت شده سبب کاهش هزینه‌های خشک کردن، استخراج و تخلیص مشتقات مستخرج از جلبک می‌شود (Mercz, 1994, Kwon *et al*., 2014). نکته قابل ملاحظه آن است که روش آب‌گیری مورد استفاده نباید برای سیستم آلودگی و سمیت ایجاد کند و امکان بازیافت مجدد آب و محیط کشت پس از برداشت مقدور باشد. فرآیند آب‌گیری با توجه به محصول هدف بایستی غلظت سوسپانسیون را ۰/۰۵ -۰/۰۲ درصد به خمیر با غلظت ۲۵-۵ درصد تبدیل کند (Spolaore *et al*., 2006; Spilling *et al*., 2011; Sanyano *et al*., 2013). در حال حاضر، در برداشت و بازیابی ریزجلبک‌ها از تکنیک‌های اصلی نظیر سانتریفیوژ، لخته‌سازی، فیلتراسیون، رسوب گرانشی، شناورسازی و الکتروفورز اصلی استفاده می‌شود. از میان روش‌های مذکور، روش لخته‌سازی که تنوع گسترده‌ای در تکنیک‌های مورد استفاده دارد، بیشتر مورد توجه است. تکنیک‌های مختلف لخته‌سازی شامل استفاده از مواد شیمیایی مانند نمک‌های آهن یا آلومینیوم، به‌کارگیری ترکیبات زیستی مانند برخی باکتری‌ها یا گیاهان یا لخته‌سازهای به روش الکتریکی می‌باشد. تغییر pH یا استفاده همزمان از لخته‌سازهای با تغییر pH نیز برای برخی از گونه‌های ریزجلبک مورد استفاده قرار گرفته است (Liu *et al*.,2013). به‌کار بردن هر یک از این روش‌ها، منجر به تولید راندمان‌های متفاوت در گونه‌های مختلف ریزجلبک شده است (Milledge and Heaven, 2013).

در زمینه استفاده از لخته‌سازها، مطالعاتی نیز در ایران صورت گرفته است. برای مثال، گنجیان خناری و همکاران (۱۳۹۳) از غلظت‌های مختلف ماده شیمیایی آلوم ($Al_2(SO_4)_3$) برای جداسازی فاز جامد و مایع ریزجلبک *Scenedesmus* استفاده کردند. مشهدی‌نژاد و همکاران (۱۳۹۴) از روش لخته‌سازی الکتریکی[1] برای برداشت

[1] Electro-Coagulation-Flotation

ریزجلبک *Chlorella* sp. استفاده کردند و بالاترین راندمان برداشت زی‌توده را با ایجاد جریان ۱۶ میلی‌آمپر بر ثانیه در مدت زمان ۳۰ دقیقه ثبت کردند. محققان و بهره برداران معتقدند که یک لخته‌سازی ایده آل بایستی میزان مصرف پایین، قیمت ارزان و غیر سمی باشد.

در فهرست ریزجلبک‌های تجاری و اقتصادی دنیا، *Dunaliella salina* یک گونه مشهور و با ارزش است. همچنین این ریزجلبک سبز به دلیل دارا بودن خصوصیات ویژه برای تولید سوخت زیستی مناسب می‌باشد (Ahmed *et al*., 2017). سایر مزیت‌های زیستی این گونه دامنه تحمل بسیار بالای آن در برابر تغییرات عوامل محیطی مانند شوری، دما و شدت نور است. این ویژگی‌های منحصربه‌فرد سبب شده تا به عنوان یک گونه هدف پرورش در بسیاری از نقاط دنیا مورد توجه پرورش‌دهندگان تجاری قرار گیرد. لذا، این گونه به همراه ریزجلبک‌های اسپیرولینا و کلرلا جزو معدود گونه‌های تولید انبوه تجاری در دنیا می‌باشد. شرکت‌های بزرگ تولید کننده ریزجلبک دونالیلا در استرالیا و سرزمین‌های فلسطین اشغالی سالانه مقادیر زیادی از پودر خام این جلبک یا محصول بتاکاروتن و روغن آن را به بازارهای جهانی عرضه می‌کنند (Aasen *et al*., 1969; Borowitzka, 2013; Ahmed *et al*., 2017). با توجه به اهمیت تجاری ریزجلبک دونالیلا سالینا به عنوان یک گونه مناسب برای پرورش و نیز چالش عملیات برداشت زی‌توده این ریزجلبک، این مطالعه با هدف بررسی میزان تاثیر روش لخته‌سازی با تکنیک تغییر pH بر راندمان برداشت و محتوی چربی و اسید چرب سویه بومی جداسازی شده از تالاب لیپار چابهار طراحی شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، خالص‌سازی و کشت سویه بومی ریز جلبک *D. salina*: نمونه برداری از سویه بومی ریزجلبک *D. salina*، درسال ۱۳۹۷ از تالاب لیپار (دریاچه صورتی) واقع در در۱۹کیلومتری شرق چابهار صورت گرفت و سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه فایکولب مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور چابهار انتقال و عملیات خالص‌سازی سویه بومی با استفاده از روش رقت‌سازی متوالی و تکرار کشت مایع انجام شد. محیط کشت Johnson اصلاح شده با کمی تغییرات برای کشت ریزجلبک خالص‌سازی شده استفاده شد. مواد لازم برای تهیه محیط کشت شامل ماکروالمنت مانند KNO_3، KH_2PO_4، $NaHCO_3$ و میکروالمنت $ZnCl_2$، $FeC1_3.6H_2O$، $CoCl_2.6H_2O$، $CuC_{12}.2H_2O$، $MnCI2_2.4H_2O$ و $NH_46Mo_7O_24{\cdot}4H_2O$ از شرکت سیگما تهیه شدند و مورد استفاده قرار گرفتند. pH محیط کشت در حدود ۷/۵ تنظیم شد (Ben-Amotz, 1999). سپس محیط کشت ساخته شده در دستگاه اتوکلاو ضدعفونی و در یخچال نگهداری شد. همچنین کشت ریزجلبک در طول دوره تحقیق (طی سال‌های ۹۸-۱۳۹۷) به روش دسته‌ای (دوره‌ای)[1] انجام شد. شرایط محیطی اتاق کشت در شدت نور ۳۳۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه و دمای ۲±۲۹ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. همچنین ویژگی‌های ظاهری و نحوه حرکت ریز جلبک *D. salina* خالص شده با میکروسکوپ اینورت مجهز به دوربین مشاهده و ثبت شد.

آزمایش اعمال تغییرات pH و اندازه‌گیری راندمان برداشت و ضریب تغلیظ

در تحقیق حاضر، تاثیر تغییرات pH در دامنه ۱۱-۶ با استفاده از محلول ۱-۰/۱ مولار هیدروکسید سدیم و کلرید هیدروژن بر میزان لخته‌سازی محیط کشت ریزجلبک نمک دوست دونالیلا سالینا در فاز سکون جلبک مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های پرورشی ریز جلبک که در فاز سکون قرار داشتند، در مزورهای یک لیتری آزمایشگاهی ریخته و در دمای آزمایشگاه به صورت ثابت و به شکل ساکن بدون هوادهی به مدت چند ساعت نگهداری شدند. در این حالت pH محیط کشت تمام نمونه توزیع شده در ظروف یک لیتری یکسان و در حدود ۸/۲ (pH طبیعی محیط کشت پرورشی با تالاب لیپار) اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس برای تعیین تاثیر محیط قلیایی بر روند لخته‌سازی، هیدروکسیدسدیم به محیط کشت اضافه شد. برای آزمایش تغییرات pH، به منظور

[1] Batch culture

رعایت شرایط یکسان در همه تیمارها ۱۲ لیتر جلبک از یک ظرف کشت مادر (حجم ۱۵ لیتری) با غلظت سلولی همگن برداشته شد. سپس محیط کشت مایع جلبک در ۱۲ مزور شیشه‌ای مخروطی شکل با ظرفیت (یک لیتر) توزیع شده و میزان OD[1] نمونه‌ها در طول موج ۶۸۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Evolution™ 300 UV-Vis Spectrophotometer) اندازه‌گیری شد. تغییر pH نمونه‌ها با افزودن غلظت‌های مختلف ۱-۰/۱ مولار هیدروکسید سدیم (NaOH) و کلرید هیدروژن (HCl) صورت گرفت. پس از تنظیم pH با استفاده از دستگاه pH متر (WTW 330i)، ظروف شیشه‌ای حاوی محیط کشت در دمای اتاق به‌صورت ثابت باقی ماندند. سپس روند انعقاد و تجمع توده‌های جلبک به‌دقت تحت کنترل بود. برای تعیین راندمان برداشت، پس از گذشت هفت ساعت از زمان انعقاد و ته نشینی با نمونه‌برداری از قسمت فوقانی مزورهای شیشه‌ای میزان OD آن‌ها در طول موج ۶۸۰ نانومتر مجددا قرائت شد. شاخص دیگری که برای میزان کارایی برداشت در نظر گرفته شد، ضریب تغلیظ بود. ضریب تغلیظ با اندازه‌گیری نسبت بین غلظت جلبک در فاز شناور و مقایسه آن با غلظت اولیه در حالت تعلیق محاسبه شد. درصد راندمان برداشت و ضریب تغلیظ ریزجلبک مطابق رابطه‌های ذیل محاسبه شدند.

$$R = \left(\frac{(ODi - ODt)}{ODi}\right) \times 100$$

R: راندمان برداشت ریز جلبک. OD_i : قبل از تغییرpH. ODt: بعد از تغییر pH (Teixeira *et al*., 2012).

$$CF = \frac{ODiVi - ODtVt}{ODiVf}$$

CF: ضریب تغلیظ: OD_i : جذب نوری قبل از تیمار; ODt: جذب نوری نمونه بعد از تیمار، ODi و Vi جذب نوری اولیه در ۶۸۰ نانومتر و حجم جلبک شناور (قبل از افزودن لخته‌ساز)، ODt: جذب نوری نمونه بعد از تیمار است. Vt و Vf به‌ترتیب حجم فاز آبی و حجم فاز محیط کشت جلبک ته نشین شده (Perez *et al*., 2017).

تعیین تاثیر روش لخته‌سازی با تکنیک افزایش pH قلیایی بر محتوی چربی و اسید چرب زی‌توده جمع آوری شده

در مرحله بعد آزمایشی جهت تعیین میزان تاثیر تکنیک تغییر pH قلیایی بر محتوی چربی و اسیدهای چرب زی‌توده ریزجلبک جمع‌آوری شده طراحی شد. برای این منظور با توجه با راندمان برداشت در مرحله قبل pHهای قلیایی (۱۱-۹) که راندمان بالاتری داشتند، انتخاب شدند. از روش سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه (مدلLabofge 200) به عنوان شاهد بدون استفاده از لخته‌ساز استفاده شد. زی‌توده جلبک برداشت شده از تیمارهای pH قلیایی و شاهد (روش سانتریفیوژ)، با بی‌کربنات آمونیوم ۰/۵ مولار برای کاهش شوری شسته شدند. پس از شستشو، زی‌توده با استفاده از فریزدرایر (Jalteb، ایران) در دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد لیوفیلیزه شد. استخراج و آنالیز اسیدهای چرب نمونه‌ها با استفاده پروتکل انتقال مایع منتشره (Pal *et al*., 2013) انجام شد. به طور خلاصه، به ویال‌های حاوی ۵۰ میلی‌گرم، پودر جلبک متانول حاوی ۲ درصد H_2SO_4 اضافه شد. سپس ویال‌ها حاوی نمونه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱/۵ ساعت تکان شدند. سپس نمونه‌ها در دمای اتاق خنک شدند و ۱ میلی‌لیتر ان- هگزان به آن اضافه شد. دوباره نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد گرم و مجدداً سرد شدند. پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر آب دیونیزه شده به نمونه‌های اسیدهای چرب کاملاً در فاز آلی جدا شدند (Bligh and Dyer, 1959). فاز آلی برای آنالیز اسیدهای چرب به دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC-2010; Shimadzu, Tokyo, Japan) تزریق شد. این دستگاه مجهز به یک انژکتور خودکار (Shimadzu ،AOC-20i) بود و دمای آشکارساز یونیزاسیون و شعله به‌ترتیب در ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. از نیتروژن به عنوان گاز

[1] Optical density

حامل استفاده شد. اسیدهای چرب با مقایسه زمان احتباس نسبی با استانداردهای مرجع مشخص شدند.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون مقایسه چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارهای مختلف صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS 16 و برای ترسیم نمودارها از نرم افزار اکسل ویرایش ۲۰۱۰ استفاده شد.

نتایج

مشاهدات میکروسکوپی سویه بومی *D. salina* جداسازی شده از آبهای تالاب لیپار چابهار

در شکل ۱ تصویر میکروسکوپی سویه بومی دونالیلا سالینا جداسازی شده از تالاب لیپار نشان داده شده است. با مشاهده میکروسکوپی، شکل ظاهری ریزجلبک، گلابی شکل، با دو تاژک و کلروپلاست نعل اسبی به رنگ نارنجی- قرمز قابل مشاهده می‌باشد.

شکل۱: سویه بومی دونالیلا سالینا جداسازی شده از تالاب لیپار-چابهار

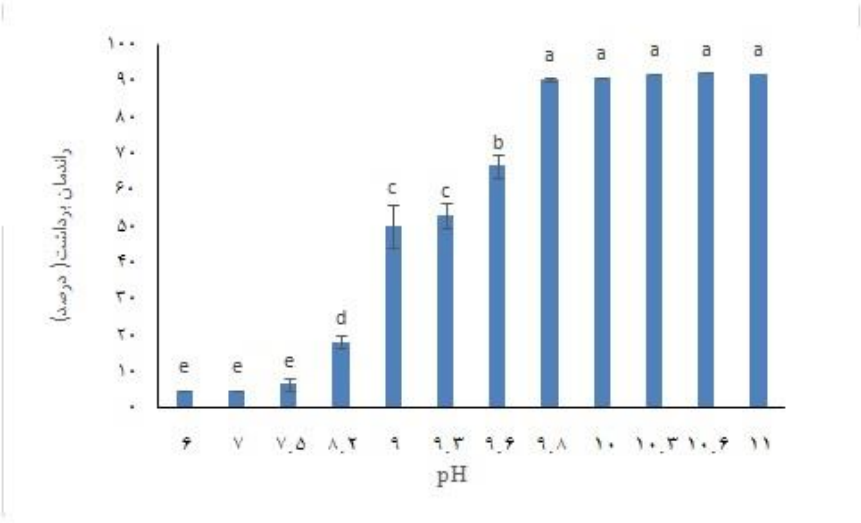
Figure 1: Native strain of *Donalila salina* isolated from Lipar-Chabahar lagoon

مقایسه راندمان لخته‌سازی در pHهای مختلف

تاثیر تغییرات pH در دامنه ۱۱-۶ با استفاده از محلول ۱-۰/۱ مولار هیدروکسید سدیم و کلرید هیدروژن بر میزان لخته‌سازی محیط کشت ریزجلبک نمک دوست دونالیلا سالینا در فاز سکون جلبک در شکل ۲ نشان داده شده است. مشاهدات اولیه نشان داد که نمونه‌های پرورشی ریزجلبک در دمای آزمایشگاه بدون هوادهی به مدت چند ساعت نگهداری شدند. با سپری شدن زمان ۲۴ ساعت و عدم استفاده از ماده لخته‌کننده میزان رسوب و ته نشینی معنی‌داری در محیط کشت آنها مشاهده نشد ($p>0/05$) در حالی‌که با افزایش pH در دامنه ۹/۸-۸/۲ روند انعقاد سلولی شروع به افزایش کرد و توده‌های به‌هم چسبیده سلولی شکل گرفت. محاسبه راندمان لخته‌سازی در محیط قلیایی نشان داد که روند افزایشی از ۱۸ درصد در pH=۸/۲ (در محیط طبیعی) تا حدود ۹۰ درصد در pH قلیایی ۹/۸ ادامه داشت. از pH ۹/۸ به بالا الی pH ۱۱ روند تشکیل توده ثابت باقی ماند و افزایش معنی‌داری در لخته‌سازی مشاهده نشد ($p>0/05$). در ضمن، محیط کشت pH در دامنه ۱۱-۱۰ به حالت ژل مانند و شیری رنگ درآمد. نحوه افزودن هیدروکسید سدیم چه به شکل آرام و با سرعت کم و شکل افزودن یک‌باره و ناگهانی، تفاوت معنی‌داری در روند انعقاد سلولی نداشت ($p>0/05$).

نتایج آزمایش تغییر pH در دامنه اسیدی که با افزودن کلرید هیدروژن به نمونه‌های تا pH معادل ۶ انجام شد، هیچ انعقاد یا لخته‌ای در نمونه‌های توزیع شده در مزورهای یک لیتری آنها مشاهده نشد و سلول‌ها به صورت شناور در محیط کشت باقی ماندند. شکل ظاهری محیط کشت و مشاهدات میکروسکوپی سلول‌ها در محیط اسیدی نشانگر لیز شدن نسبی سلول‌ها و آزاد شدن مواد داخل سلولی به‌ویژه رنگدانه‌ها به داخل محیط کشت اطراف آنها بود. مشاهدات میکروسکوپی نمونه سلول‌های ریزجلبک *D. Salina* نشان داد که این سلول‌ها نسبت به pH

اسیدی حساسیت بیشتری داشتند و تقریباً فعالیت خود را
از دست دادند.

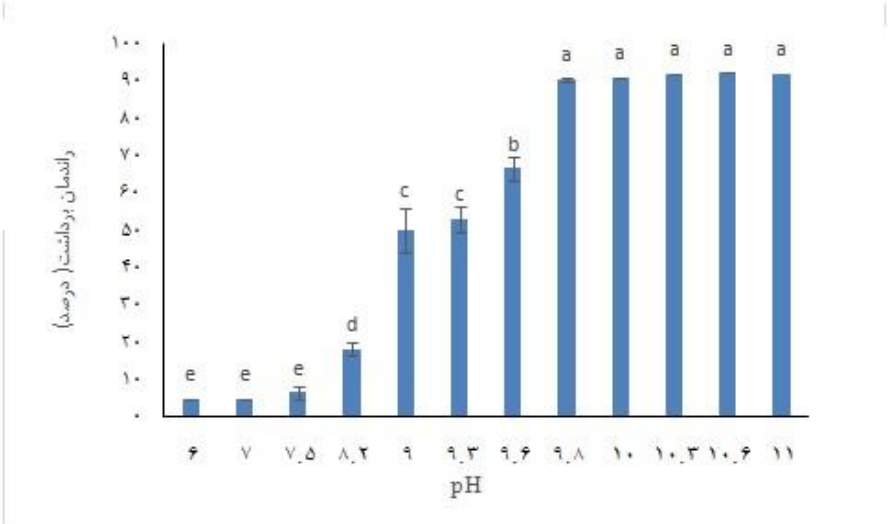


شکل۲: روند تغییرات راندمان برداشت ریزجلبک *D. salina* با تغییرات pH

Figure 2: Trend changes in *D. salina* microalgae harvest efficiency with pH changes

مقایسه ضریب تغلیظ در pHهای مختلف

نتایج محاسبه ضریب تغلیظ نشان داد که با افزایش pH ضریب تغلیظ افزایش یافت و بالاترین میزان تغلیظ در pH قلیایی ۹/۸ به میزان ۱۰ برابر غلظت اولیه (در pH معادل ۸/۲) به‌دست آمده است (شکل ۳).



شکل۳: روند تغییرات ضریب تغلیظ ریزجلبک *D.salina* با تغییرات pH

Figure 3: Trend of changes in the concentration coefficient of *D. salina* microalgae with changes in pH

تأثیر تکنیک‌های لخته‌سازی بر محتوای چربی و پروفایل اسیدهای چرب زی‌توده جمع‌آوری شده

تاثیر تکنیک برداشت بر محتوای چربی و پروفایل اسیدهای چرب زی‌توده جمع‌آوری شده ریزجلبک *D. Salina* در جدول ۱ ارائه شده است. طبق نتایج، با افزایش pH قلیایی در دامنه ۱۱-۹ میزان چربی و اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع در زی‌توده جمع‌آوری شده کاهش یافته است (p<۰/۰۵). پروفایل اسیدهای چرب اشباع C۱۶:۰، C۱۸:۰، تک اشباع C۱۸:۱ و چند غیراشباع C۲۰:۴ زی توده *D. salina* جمع‌آوری شده با تیمارهای قلیایی کمتر از روش شاهد سانتریفیوژ بود. همچنین آنالیزها نشان داد اسیدهای چرب چند غیر اشباع مانند C۲۰:۴ در pHهای بالاتر از ۹/۸ کاهش چشم‌گیری داشته اشت (p<۰/۰۵).

جدول ۱: مقایسه میزان چربی و پروفایل اسیدهای چرب زی‌توده برداشت شده ریزجلبک *D. salina*

Table 1: Comparison of fat content and fatty acid profile of harvested biomass of microalgae *D. salina*

اسیدهای چرب (درصد)	تکنیک سانتریفیوژ	تکنیک افزایش pH					
		۸/۲	۹	۹/۳	۹/۶	۹/۸	۱۰	۱۱
C۱۴:۰	۵/۵۹±۰/۸۱	۵/۶۰±۰/۰۶	۵/۵۸±۰/۱۵	۵/۶۱±۰/۰۶	۵/۶۴±۰/۰۴	۵/۵۸±۰/۱۷	۵/۶۲±۰/۰۸	۵/۶۰±۰/۰۷
C۱۶:۰	۲۴/۳۸±۵/۰۹^{a}	۲۳/۳۰±۴/۷۲^{b}	۲۳/۳۲±۹/۱۷^{b}	۲۳/۲۷±۴/۷۲^{c}	۲۲/۸۱±۸/۱۴^{d}	۲۲/۷۰±۲/۱۸^{e}	۲۱/۵۷±۳/۴۳^{f}	۲۰/۵۳±۲/۲۷^{g}
C۱۸:۰	۱۳/۸۴±۰/۶۷^{a}	۱۳/۷۴±۰/۸۱^{b}	۱۳/۶۷±۰/۳۱^{c}	۱۳/۶۱±۰/۵۱^{d}	۱۲/۷۲±۰/۷۸^{e}	۱۲/۸۵±۰/۱۷^{f}	۱۱/۸۰±۲۳^{g}	۱۱/۷۲±۰/۳۳^{h}
اسیدهای چرب اشباع	۴۳/۸۶±۳/۲۶^{a}	۴۲/۶۴±۲/۰۶^{b}	۴۲/۵۷±/۰۵^{c}	۴۲/۴۹±۴/۰۶^{d}	۴۱/۱۸±۵/۰۴^{e}	۴۱/۱۵±۸/۴۰^{f}	۳۸/۹۹±۵/۲۸^{g}	۳۷/۸۵±۶/۰۷^{h}
C۱۶:۱	۳/۷۶±۰/۱۱^{a}	۳/۳۸±۰/۳۱^{b}	۳/۴۱±۰/۱۵^{b}	۳/۲۸±۰/۲۱^{b}	۳/۰۱±۰/۱۱^{c}	۳/۰۵±۰/۵۱^{c}	۲/۸۹±۰/۷۰^{d}	۱/۸۵±۰/۴۱^{e}
C۱۸:۱	۳۱/۹۷±۲/۶۸^{a}	۳۰/۲۳±۶/۵۴^{b}	۳۰/۲۶±۴/۱۵^{b}	۳۰/۲۰±۶/۵۸^{b}	۲۸/۹۱±۴/۲۳^{c}	۲۸/۲۹±۱/۱۷^{d}	۲۵/۶۴±۲/۰۳^{e}	۲۴/۹۶±۱/۳۰^{f}
اسیدهای چرب تک غیراشباع	۳۵/۷۲±۷/۰۴^{a}	۳۳/۶۱±۶/۱۵^{b}	۳۳/۶۷±۶/۱۸^{b}	۳۳/۴۸±۶/۱۵^{c}	۳۱/۹۱±۳/۰۸^{d}	۳۱/۳۴±۱/۱۶^{e}	۲۸/۵۴±۲/۴۰^{f}	۳۵/۷۲±۷/۰۴^{a}
C۱۸:۲	۱۴/۲۷±۲/۱۰^{a}	۱۳/۸۶±۰/۸۰^{b}	۱۳/۸۳±۰/۱۵^{b}	۱۱/۵۶±۰/۸۰^{c}	۸/۴۴±۰/۸۴^{d}	۸/۳۰±۰/۲۵^{e}	۲/۸۶±۰/۱۳^{f}	۲/۸۳±۰/۳^{f}
C۱۸:۳	۲/۱۱±۰/۲۱^{a}	۱/۸۳±۰/۰۶^{b}	۱/۵۳±۰/۰۵^{c}	۱/۲۷±۰/۰۸^{d}	۰/۷۸±۰/۰۴^{e}	۰/۲۵±۰/۰۳^{f}	۰	۰
C۲۰:۴	۰/۷۸±۰/۰۱^{a}	۰/۶۱±۰/۰۳^{b}	۰/۴۹±۰^{c}	۰/۴۱±۰/۰۳^{d}	۰/۳۴±۰/۰۵^{e}	۰/۲۹±۰/۰۵^{f}	۰	۰
C۲۰:۵	۱/۵۳±۰/۰۴^{a}	۰/۸۸±۰/۰۴^{b}	۰/۵۳±۰/۰۴^{c}	۰	۰	۰	۰	۰
اسیدهای چرب چند غیر اشباع	۱۸/۴۱±۲/۱۰^{a}	۱۷/۱۸±۱/۰۴^{b}	۱۶/۲۸±۴/۱۳^{c}	۱۳/۲۴±۳/۳۴^{d}	۱۱/۱۴±۱/۵۱^{e}	۹/۹۷±۰/۹۸^{f}	۲/۸۶±۰/۵۱^{g}	۲/۸۳±۰/۴۴^{h}
چربی (درصد وزن خشک زی‌توده جلبک)	۳۰/۴۰±۷/۱۱^{a}	۴۲/۵۱±۸/۰۸^{c}	۲۹/۵۰±۱۰^{b}	۴۲/۵۱±۸/۰۸^{c}	۲۸/۶۰±۸/۶۶^{d}	۲۸/۵۰±۳/۴۰^{d}	۲۷/۰۳±۶/۱۴^{e}	۲۵/۱۶±۸/۱۲^{f}

حروف نامشابه هرستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست (p<۰/۰۵).

بحث

فرآیند برداشت ریزجلبک‌ها تحت تاثیر چند ویژگی اختصاصی ریزجلبک‌ها مانند اندازه کوچک سلول (عموما قطر ۵۰-۵ میکرون)، شارژ سطحی سلول‌ها و حضور مواد آلی در محیط کشت آنهاست. در واقع، علت شناور بودن ریز جلبک‌ها در محیط کشت، چگالی مشابه با آب اطراف و همچنین بار سطحی منفی است که سبب دافعه سلول‌ها از یکدیگر می‌گردد (Yang *et al.*, 2016). روش‌های مختلفی برای غلبه بر این شناوری و نیروی دافعه (دامنه ۷/۵mV- الی ۴۰-) و انباشت زی‌توده وجود دارد (Wu *et al.*, 2012; Perez *et al.*, 2017). در این مطالعه تاثیر استفاده از روش لخته‌سازی با تکنیک تغییر pH محیط کشت در ریزجلبک *D. salina* بررسی شد. مشاهدات اولیه نشان داد که بدون استفاده از ماده لخته کننده پس ازگذشت ۲۴ ساعت رسوب معنی‌داری در محیط کشت ایجاد نشده است که نشان دهنده عدم کارایی روش لخته‌سازی طبیعی[1] برای این جلبک ریز اندازه ۱۵-۱۰ میکرون می‌باشد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزودن کلرید هیدروژن و کاهش pH تا ۶، تغییر معنی‌داری در روند لخته سازی و انعقاد سلول‌های ریزجلبک ایجاد نشده است در حالی‌که افزایش pH از حالت طبیعی محیط کشت یعنی pH در دامنه ۹/۸-۸/۲ سبب افزایش معنی‌داری در روند لخته‌سازی و انعقاد سلول‌ها شد و راندمان برداشت در pH=۹/۸، به میزان ۹۰درصد حاصل شد اما از این نقطه به بعد افزایش هیدورکسید سدیم به محیط کشت تا pH=۱۱ تاثیر معنی‌داری در راندمان لخته‌سازی ایجاد نکرد. در دامنه pH ۱۱-۱۰، حالت بافری در محیط کشت اتفاق افتاد و مقادیر بیشتری هیدورکسید سدیم برای افزایش واحد pH مورد نیاز بود. این ثبات می‌تواند مربوط به خنثی سازی تمام بار منفی سلول‌های جلبک در این ناحیه مشخص باشد. این نتایج با مطالعات سایر محققین قابل مقایسه است. برای مثال، Wu و همکاران (۲۰۱۲) نیز از این تکنیک برای برداشت گونه های آب شور *Nannochloropsis oculata* و *Phaeodactylum tricornutum* استفاده کردند و دریافتند که pH در دامنه ۱۰/۶-۸/۶ مناسب برای لخته‌سازی و برداشت زی‌توده می‌باشد. علاوه بر این، Yang و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که افزایش pH با استفاده از NaOH (۵ یا ۷ میلی مولار) در ریزجلبک *Chlorella* sp.، لخته‌سازی را تا ۹۰ درصد و غلظت را تا ۲۰ برابر افزایش داده است. همچنین Perezو همکاران (۲۰۱۷)، pH اسیدی (۶-۲) و pH بازی (۱۲-۸) را در دو گونه *Skeletonema costatum* و *Chaetoceros gracilis* مورد بررسی قرار دادند. در pH قلیایی بازده لخته‌سازی بالاتر از pH اسیدی مشاهده شد. برخی محققین مکانیسم انعقاد و به‌هم پیوستگی در pHهای قلیایی محیط کشت جلبک را به واکنش کاتیون‌های فلزی با یون هیدروکسید (OH) بالا در محیط نسبت می‌دهند. در برخی از این گزارش‌ها، غلظت کاتیون‌های فلزی قبل و بعد از لخته‌سازی در محیط کشت اندازه‌گیری و مشخص شده که برای مثال، غلظت یون منیزیم (Mg^{+2}) به طور قابل توجهی کاهش و در مقابل هیدروکسید منیزیم افزایش یافته که با اتصال به سلول‌های ریزجلبک باعث رسوب آنها در محیط کشت شده است.

مشاهدات عینی حاکی از شکل‌گیری یک رسوب شیری و سفید رنگ در محیط کشت در pH ۱۱-۱۰ بود که با وجود انعقاد و لخته شدن، اختلاط ناهمگنی در محیط ایجاد کرد و جداسازی زی‌توده جلبک از محیط آن را با مشکل مواجه ساخت. تشکیل رسوب شیری و سفید می‌تواند مربوط به حضور یک یا چند ترکیب معدنی موجود در محیط کشت باشد. علاوه بر این، روش افزودن هیدروکسید سدیم به محیط کشت در هر دو حالت به شکل تدریجی و سرعت کم و نیز با افزودن یکباره و سریع، تفاوت معنی‌داری در میزان انعقاد و لخته‌سازی ایجاد نکرد. از دیگر شاخص‌های مهم برای ارزیابی تکنیک مناسب برداشت ریزجلبک‌ها شاخص، ضریب تغلیظ است. در این تحقیق بالاترین ضریب تغلیظ در pH=۹/۸، تا ۱۰ برابر رسید. بدین‌معنا که در این pH، یک شبکه از زی‌توده جلبک تشکیل شد که نسبت به حالت ۸/۲، ۱۰ برابر فشرده تر و غلیظ تر بود.

[1] Autoflocculation

محققان زیادی بیان داشتند که روش برداشت ریزجلبک‌ها نقش مهمی در کیفیت محصولات نهایی دارد (Teixeira *et al*., 2012; Kwon *et al*., 2014). لذا در مرحله بعد، تاثیر این تکنیک برداشت بر محتوی چربی و پروفایل اسیدهای چرب زی‌توده سویه بومی ریز جلبک دونالیلا سالینا جمع‌آوری شده، آنالیز شد. نتایج نشان داد که محتوی اسیدهای چرب چند غیر اشباع مانند C۲۰:۴ در pHهای بالاتر از ۹/۸ و C۲۰:۵ در pH های بالاتر از ۹ کاهش یافته است. از سویی، میزان چربی و اسیدهای چرب زی‌توده لخته شده با روش افزایش pH قلیایی نسبت به روش سانتریفیوژ به عنوان شاهد کمتر بود. پروفایل اسیدهای چرب زی‌توده*D. Salina* جمع‌آوری شده با سانتریفیوژ، درصد بالاتری را از اسیدهای چرب C۱۶:۰، C۱۸:۰ و C۱۸:۱ نشان داد (جدول ۱). نتایج مشابهی در زمان استفاده از لخته‌سازهای کاتیونی در ریزجلبک *N. oculat* مشاهده شد (Wu *et al*., 2012). دانشمندان معتقدند که اسیدهای چرب موجود در ریزجلبک‌ها به‌شدت تحت تأثیر عوامل محیطی مانند نور، دما و pH قرار دارند (Borowitzka, 2013; Moheimani, 2013; Ahmed *et al*., 2017). اگرچه در تحقیق Yang و همکاران (۲۰۱۶) تفاوت معنی‌داری در ترکیب اسیدهای چرب ریزجلبک *Chlorella* sp. با توجه به روش برداشت وجود نداشت. تفاوت در ساختار دیواره سلولی ریزجلبک دونالیلا و کلرلا می‌تواند علت این اختلاف باشد. ریزجلبک دونالیلا سالینا دیواره سلولی واقعی ندارد و ترکیبات شیمیایی داخل سلولی آن می‌تواند به‌شدت تحت تاثیر محیط قلیایی پیرامونی باشد. pH قلیایی ممکن است سبب کاهش لیپیدهای غشایی شود. بنابراین، به‌نظر می‌رسد در صورتی‌که هدف تولید به طور ویژه محصولی با اسیدهای چرب چند غیراشباع مانند C ۲۰:۴ یا C۲۰:۵ باشد، بایستی نوع و میزان استفاده از لخته‌سازها با دقت و احتیاط بیشتر صورت گیرد. نکته قابل توجه پیرامون انتخاب روش برداشت آن است که در ابتدا باید هدف از تولید زی‌توده و محصول نهایی مشخص گردد. در سیستم‌های تجاری با حجم تولید بالا باید هزینه‌های تمام شده برای تولید هر محصول با تکنیک‌های مختلف به‌دقت محاسبه شود. برای مثال، ممکن است در مواردی برداشت زی‌توده با لخته‌ساز ارزان و میزان چربی نسبتاً پایین‌تر مقرون به صرفه‌تر از تولید با تکنیک سانتریفیوژ گران با میزان چربی بیشتر باشد. علاوه بر آن، در مواردی که هدف تولید محصول برای سوخت زیستی با چربی اشباع بالاست، روش برداشت متفاوت از زمانی است که تولید مکمل با اسیدهای چرب چند غیراشباع مورد نظر است. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق روش لخته‌سازی با تکنیک افزایش pH قلیایی برای برداشت زی‌توده ریزجلبک دونالیلا سالینا مناسب است. برای به حداقل رساندن میزان مصرف هیدروکسید سدیم و تاثیر منفی آن بر محتوی چربی و اسیدهای چرب زی‌توده جمع آوری شده در مقیاس آزمایشگاهی یا صنعتی، بهتر است میزان افزایش هیدروکسید سدیم در pH های بالا به‌دقت تنظیم گردد. بر اساس نتایج راندمان برداشت و ضریب تغلیظ، pH در نقطه ۹/۸ مناسب تشخیص داده شد. از نظر میزان چربی و اسیدهای چرب نیز زی‌توده جلبک جمع آوری شده در pH مذکور وضعیت متوسطی دارد. بنابراین، با توجه به هزینه‌های بالا و صرف انرژی زیاد در تکنیک سانتریفیوژ، در مقیاس صنعتی، برداشت ریزجلبک دونالیلا سالینا در pH=۹/۸ برای تولید انبوه و اقتصادی مناسب می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از همکاری ریاست محترم و کارشناسان گرانقدر مرکز تحقیقات شیلات آبهای دور چابهار در انجام این پروژه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

شکوری، م.، رضایی، م.، چاشنی دل، ی.، صفری، ر. و قلی‌پور، ح.، ۱۳۹۹. اثرات تغذیه با پودر جلبک اسپیرولینای (*Spirulina platensis*) ریزکپسوله شده و غیر کپسوله بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و قابلیت هضم مواد مغذی جوجه‌های گوشتی (راس ۳۰۸). مجله علمی شیلات ایران، ۲۹ (۲): ۱۴۶-۱۳۹.
DOI: 10.22092/ISFJ.2020.121802

گنجیان خناری، ع.، قاسم نژاد، م.، شکوری، م.، گنجیان خناری، ف.، چاشنی دل، ی.، خسروی، م.، روحی، ا. و فارابی، و.، ۱۳۹۳. لخته‌سازی و تهیه خمیر از میکرو جلبک سندسموس. فصلنامه علوم تکثیر و آبزی پروری، ۴: ۶۶-۵۵.

مشهدی نژاد، ا.، ریحانی، ر.، سرمد، ج. و زمانی ح. ا.، ۱۳۹۴. جداسازی بیومس ریزجلبک تک سلولی *Chlorella* sp. با روش Electro-Coagulation-Flotation. نشریه علمی فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۳(۴): ۴۹-۳۳.

وزیر زاده، آ. و مقدس زاده، ح.، ۱۳۹۸. بررسی قابلیت ریزجلبک *Chlorella vulgaris* برای حذف نیترات و فسفات درغلظت و شرایط محیطی متفاوت با استفاده از رویه سطح پاسخ. مجله علمی شیلات ایران، ۲۸ (۱): ۱۷۷-۱۸۷. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118936

Aasen, A., Eimhjellen, K. and Liaaen-Jensen, S., 1969. An extreme source of beta-carotene. *Acta chemica scandinavica*, 23: 2544-2549.

Ahmed, R.A., He, M., Aftab, R. A., Zheng, S., Nagi, M., Bakri, R. and Wang, C., 2017. Bioenergy application of *Dunaliella salina* SA 134 grown at various salinity levels for lipid production. *Scientific Reports*, 7: 1-10. DOI: 10.1038/s41598-017-07540-x

Ali, H.E.A., Shanab, S.M.M., Shalaby, E.A.A., Eldmerdash, U. and Abdullah, M.A., 2014. Screening of microalgae for antioxidant activities, carotenoids and phenolic contents. *Applied Mechanics and Materials*, 625: 156-159. DOI:10.4028/www.scientific.net/AMM.625.156

Ben-Amotz, A., 1999. Dunaliella β-carotene.In: Seckbach, J., (ed) Enigmatic microorganisms and life in extreme environments. 1 rd edn. Springer, Netherlands, UK. pp. 399-410

Bligh, E.G. and Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8)**:** 911-917. DOI: 10.1139/o59-099

Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J., 1988. Micro-algal biotechnology, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 488P.

Borowitzka, M.A., 2013. Dunaliella: biology, production, and markets. In: Richmond, A. and Qiang-Hu, E., (ed) Handbook of microalgal culture. 2rd edn.Wiley**,** New York, USA. pp. 359-368 .

Cakmak, Y.S., Kaya, M. and Asan-Ozusaglam, M., 2014. Biochemical composition and bioactivity screening of various extracts from *Dunaliella salina*, a green microalga. *EXCLI Journal*, 13(3): 679-683. DOI: 10.17877/DE290R-6669

Kwon, H., Lu, M., Lee, E. Y. and Lee, J., 2014. Harvesting of microalgae using flocculation combined with dissolved air flotation. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 19(1): 143-149. DOI: 10.1007/s12257-013-0433-y

Liu, J., Zhu, Y., Tao, Y., Zhang, Y., Li, A., Li, T., Sang, M. and Zhang, C., 2013. Freshwater microalgae harvested via flocculation induced by pH decrease. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1): 98-103. DOI: 10.1186/1754-6834-6-98

Maji, G., Choudhury, S., Hamid, S., Prashanth, R. and Sibi, G., 2018. Microalgae harvesting via flocculation: impact of pH, algae species and biomass concentration. *Methods of Microbiology and Molecular Biology,* 1**:** 106-110. DOI: 10.31021/mmmb.20181106

Mercz, T.I., 1994. A study of high lipid yielding microalgae with potential for large-scale production of lipids and polyunsaturated fatty acids, Murdoch University.

Milledge, J.J. and Heaven, S., 2013. A review of the harvesting of micro-algae for biofuel production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology,* 12(2): 165-178. DOI: 10.1007/s11157-012-9301-z

Moheimani, N.R., 2013. Long-term outdoor growth and lipid productivity of *Tetraselmis suecica*, *Dunaliella tertiolecta* and *Chlorella* sp. (Chlorophyta) in bag photobioreactors. *Journal of Applied Phycology,* 25(1): 167-176. DOI: 10.1007/s10811-012-9850-0

Morowvat, M.H. and Ghasemi, Y., 2016. Culture medium optimization for enhanced β-carotene and biomass production by *Dunaliella salina* in mixotrophic culture. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology,* 7: 217-223. DOI: 10.1016/j.bcab.2016.06.008

Pal, D., Khozin-Goldberg, I., Didi-Cohen, S., Solovchenko, A., Batushansky, A., Kaye, Y., Sikron, N., Samani, T., Fait, A. and Boussiba, S., 2013. Growth, lipid production and metabolic adjustments in the euryhaline eustigmatophyte *Nannochloropsis oceanica* CCALA 804 in response to osmotic downshift. *Applied Microbiology and Biotechnology,* 97(18): 8291-8306. DOI: 10.1007/s00253-013-5092-6

Perez, L., Salgueiro, J.L., Maceiras, R., Cancela, Á. and Sanchez, Á., 2017. An effective method for harvesting of marine microalgae: pH induced flocculation. *Biomass and Bioenergy,* 97**:** 20-26. DOI: 10.1016/j.biombioe.2016.12.010

Sanyano, N., Chetpattananondh, P. and Chongkhong, S., 2013. Coagulation–flocculation of marine *Chlorella* sp. for biodiesel production. *Bioresource Technology,* 147**:** 471-476. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.08.080

Spilling, K., Seppala, J. and Tamminen, T., 2011. Inducing autoflocculation in the diatom Phaeodactylum tricornutum through CO 2 regulation. *Journal of Applied Phycology,* 23(6): 959-966. DOI: 10.1007/s10811-010-9616-5

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. and Isambert, A., 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering,* 101(2): 87-96. DOI:10.1263/jbb.101.87

Teixeira, C.M.L.L., Kirsten, F.V. and Teixeira, P.C.N., 2012. Evaluation of Moringa oleifera seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae. *Journal of Applied*

Phycology, 24(3): 557-563. DOI: 10.1007/s10811-011-9773-1

Vandamme, D., Beuckels, A., Markou, G., Foubert, I. and Muylaert, K., 2015. Reversible flocculation of microalgae using magnesium hydroxide. *BioEnergy Research*, 8(2): 716-725. DOI: 10.1007/s12155-014-9554-1

Widowati, I., Zainuri, M., Kusumaningrum, H. P., Susilowati, R., Hardivillier, Y., Leignel, V., Bourgougnon, N. and Mouget, J.L., 2017. Antioxidant activity of three microalgae *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* and *Isochrysis galbana* clone Tahiti. Paper presented at 2nd International Conference on Tropical and Coastal Region Eco Development, IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, *I*OP Publishing, 012067, February 2017. DOI: 10.1088/1755-1315/55/1/012067

Wu, Z., Zhu, Y., Huang, W., Zhang, C., Li, T., Zhang, Y. and Li, A., 2012. Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium. *Bioresource Technology*, 110**:** 496-502. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.01.101

Yang, F., Xiang, W., Fan, J., Wu, H., Li, T. and Long, L., 2016. High pH-induced flocculation of marine Chlorella sp. for biofuel production. *Journal of Applied Phycology*, 28(2): 747-756. DOI: 10.1007/s10811-015-0576-7

Evaluation of flocculation induced by pH increase on harvest efficiency and fatty acids content of microalgae *Dunaliella salina*, isolated from Lipar lagoon- Chabahar

Arbabi, S.[1]; Akbary, P.[1]; Aminikhoei, Z.[2]*

*zamini.41@gmail.com

1-Department of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Fisheries group, Chabahar, Iran.
2-Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Chabahar Offshore Fisheries Research Center, Chabahar, Iran.

Abstract

Today, microalgae are considered as an important source for the production of biofuels and pharmaceutical products. However, the lack of an efficient and economical method for dewatering and harvesting their biomass is is an important challenge to achieve this goal. The important issue for choosing the harvesting method are species characteristics, final product value and energy consumption. Therefore, in this study, the effect of flocculation method with pH change technique (range 6 to 11) using sodium hydroxide and hydrogen chloride on harvesting efficiency, and fatty acid content of *Dunaliella salina* was tested. The results of this study showed that with the addition of sodium hydroxide and increasing the pH from 8.2 to 9.8, the flocculation process increased upwards from 18 to 90% and then remained constant until: pH 11. In contrast, increasing hydrogen chloride and creating an acidic environment up to: pH equal to 6 had no effect on clot stimulation. The highest coefficient of biomass concentration was observed in alkaline treatment with pH: equivalent to 9.8 which was 10 times the initial concentration (at pH equal to 8.2 the effect of alkaline pH induction technique and the centrifuge technique on the fatty acids content of biomass was tested. In the next stage, the effect of alkaline pH induction technique and the centrifuge technique on the fatty acids content of biomass was tested. The analysis showed that the percentage of lipid and fatty acids of harvested biomass were significantly different from each other. Based on the obtained results, the flocculation method by increasing the pH by 9.8 is a simple and relatively inexpensive technique with high efficiency and is suitable for harvesting Dunaliella salina microalgae for specific purposes.

Keywords: Microalgae *Dunaliella salina*, pH change, Harvest efficiency and fatty acids

*Corresponding author