

# ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR8263 ด้วยอนุภาคแม่เหล็กที่สังเคราะห์โดยวิธีการตกตะกอนร่วมและวิธีการใช้คลื่นไมโครเวฟ

## Harvesting Efficiency of *Chlorella* sp. TISTR8263 Biomass by Magnetic Particles Synthesized from Co-Precipitation and Microwave Assisted Synthesis

กานต์ธิดา แจ้งยุบล และ สุเปญญา จิตตพันธ์

Kanthida Jangyubol and Supenya Chittapun\*

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Centre

Received : 10 November 2017

Accepted : 1 February 2018

Published online : 8 February 2018

### บทคัดย่อ

เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวชีวมวล *Chlorella* sp. TISTR8263 โดยใช้อนุภาคแม่เหล็กที่สังเคราะห์ได้จากวิธีการตกตะกอนร่วม (อนุภาคแม่เหล็ก MNPs) และวิธีการใช้คลื่นไมโครเวฟ (อนุภาคแม่เหล็ก IOMMs) ทดลองเก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. TISTR8263 ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตรในอาหาร BG-11 ที่พีเอช  $9.1 \pm 0.5$  โดยแปรผันปริมาณของอนุภาคที่ใช้ตั้งแต่ 200 ถึง 800 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอนุภาคแม่เหล็ก MNPs ส่วนใหญ่มีขนาด  $> 5.0-10.0$  ไมโครเมตร (ร้อยละ 41.17) ซึ่งเล็กกว่าอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ที่ส่วนใหญ่มีอนุภาคขนาด  $> 10.0-20.0$  ไมโครเมตร (ร้อยละ 34.83) อนุภาคแม่เหล็ก MNPs มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. TISTR8263 ดีกว่าอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.023$ ) ปริมาณแม่เหล็กที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายมีผลต่อประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.001$ ) และชนิดของแม่เหล็กและปริมาณที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวมีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.001$ ) ที่ปริมาณอนุภาคแม่เหล็กเท่ากับ 800 มิลลิกรัมต่อลิตร อนุภาคแม่เหล็ก MNPs มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์เท่ากับ ร้อยละ  $95.30 \pm 0.44$  (สาหร่าย  $1.906 \pm 0.009$  กรัมต่อ 1 กรัม MNPs) และอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์เท่ากับร้อยละ  $91.55 \pm 0.39$  (สาหร่าย  $1.831 \pm 0.008$  กรัมต่อ 1 กรัม IOMMs) จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าอนุภาคแม่เหล็ก MNPs ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นโดยวิธีการตกตะกอนร่วมมีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สูงกว่าอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ฉะนั้นอนุภาคแม่เหล็ก MNPs จึงเหมาะสมในการนำไปพัฒนาเป็นคอมโพสิตเพื่อใช้ในการเก็บเกี่ยวเซลล์จุลสาหร่ายต่อไป

**คำสำคัญ :** อนุภาคแม่เหล็ก การสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็ก ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยว จุลสาหร่าย

\*Corresponding author. E-mail : supenyac@tu.ac.th, chittapun@gmail.com

### Abstract

Harvesting efficiencies of *Chlorella* sp. TISTR8263 biomass by magnetic particles synthesized from co-precipitation (Magnetic nanoparticles: MNPs) and microwave assisted synthesis (Iron oxide magnetic microparticles: IOMMs) were compared. A dose of 200 - 800 mg/L MNPs and IOMMs were used as agents to separate 1g/L *Chlorella* sp. TISTR8263 cells from BG-11 medium at pH  $9.1 \pm 0.5$ . Most of MNPs particles were smaller in size than IOMMs. Size distribution analysis showed that 41.17% of MNPs particles ranged from  $> 5.0-10.0 \mu\text{m}$ , whereas 34.83% of IOMMs ranged from  $> 10.0-20.0 \mu\text{m}$ . In addition, MNPs showed a significantly higher efficiency in algal cell harvesting than IOMMs ( $p=0.023$ ). Doses of used agents significantly effected on effectiveness of cell separation ( $p<0.001$ ). There was a significantly interaction between used doses and magnetic particle products ( $p<0.001$ ). At 800 mg/L, MNPs showed higher harvesting efficiency ( $95.30 \pm 0.44 \%$  or  $1.906 \pm 0.009 \text{ g algae/ g MNPs}$ ) than IOMMs ( $91.55 \pm 0.39 \%$  or  $(1.831 \pm 0.008 \text{ g algae/ g IOMMs})$ ). The results indicated that MNPs synthesized by co-precipitation exhibited higher efficiency in algal cell harvesting than IOMMs created from microwave assisted synthesis. Therefore, MNPs was selected as a core agent to further develop a new composite for harvesting algal cells.

**Keywords:** magnetic particles, magnetic synthesis, harvesting efficiency, microalgae

### บทนำ

จุลสาหร่าย (microalgae) เป็นสาหร่ายขนาดเล็ก สามารถพบได้ทั่วไปทั้งบนบกและแหล่งน้ำต่างๆ ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม จุลสาหร่ายเจริญเติบโตด้วยการสังเคราะห์แสง จึงมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศแหล่งน้ำคือเป็นผู้ผลิตเบื้องต้นในห่วงโซ่อาหาร นอกจากนี้จุลสาหร่ายยังมีองค์ประกอบของสารชีวโมเลกุลและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญมากมาย จึงนิยมนำจุลสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ทางเทคโนโลยีชีวภาพด้านต่างๆ อย่างแพร่หลาย เช่น ทางเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม โดยผลิตชีวมวลของ *Arthrospira platensis* และ *Chlorella* sp. เป็นอาหารเสริมของมนุษย์และเป็นอาหารสัตว์ รวมทั้งการสกัดซี-ไฟโคไซยานินจาก *A. platensis* เพื่อใช้เป็นสีผสมอาหารและเครื่องสำอาง (Chu, 2012) ทางเทคโนโลยีชีวภาพการเกษตร โดยใช้ชีวมวลของ *Nostoc commune* TUBT05 เป็นปุ๋ยชีวภาพในการปลูกข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 (Chittapun *et al.*, 2017) ทางเทคโนโลยีชีวภาพสิ่งแวดล้อม โดยใช้ชีวมวลของ *Chlorella pyrenoidosa* ในการกำจัดไนเตรท แอมโมเนียม และฟอสเฟตในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม (Lekshmi *et al.*, 2015) และทางเทคโนโลยีชีวภาพการแพทย์ โดยการสกัดซี-ไฟโคไซยานินจากชีวมวลของ *A. platensis* เพื่อใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ หรือเป็นสารติดตามการเกิดปฏิกิริยาในงานด้านชีวการแพทย์ (Sekar & Chandramohan, 2008) เป็นต้น

คลอเรลลา (*Chlorella* sp.) เป็นสาหร่ายสีเขียว มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-12 ไมโครเมตร นิยมเพาะเลี้ยงและนำชีวมวลมาใช้ในการผลิตสารปฏิชีวนะ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้ยังนิยมนำมาใช้บำบัดไนเตรท ฟอสเฟต และดูดซับโลหะหนักออกจากน้ำเสีย (Safi *et al.*, 2014) โดยในกระบวนการผลิตชีวมวล *Chlorella* sp. เพื่อนำไปใช้ประโยชน์นั้นประกอบไปด้วยกระบวนการสำคัญดังนี้ การเพาะเลี้ยง การเก็บเกี่ยว การทำให้

เซลล์แตก และการเก็บเกี่ยวสารต่างๆ จากเซลล์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป จากกระบวนการทั้งหมดที่กล่าวมานี้ กระบวนการเก็บเกี่ยว *Chlorella* sp. เป็นกระบวนการที่มีต้นทุนสูงโดยมีค่าใช้จ่ายร้อยละ 20-30 ของค่าใช้จ่ายตลอดกระบวนการ (Girma *et al.*, 2003) ทั้งนี้เนื่องจาก *Chlorella* sp. มีขนาดเล็ก (นาโนแพลงก์ตอน 2-20 ไมโครเมตร) ความเข้มข้นของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้น้อย (0.5-5 กรัมต่อลิตร) และเซลล์มีการกระจายแบบคอลลอยด์ซึ่งเป็นผลมาจากประจุบนผนังเซลล์ (Girma *et al.*, 2003; Uduman *et al.*, 2010; Vandamme *et al.*, 2010) ทำให้การเก็บเกี่ยวชีวมวลของ *Chlorella* sp. ต้องใช้ต้นทุนสูง โดยเทคนิคที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวชีวมวลจุลสาหร่าย ได้แก่ การกรอง (filtration) การลอยตัว (flotation) การหมุนเหวี่ยง (centrifugation) และการตกตะกอน (flocculation) เป็นต้น อย่างไรก็ตามเทคนิคเหล่านี้ยังประสบปัญหาในเรื่องประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยว ความซับซ้อนในการดำเนินการ และอาจต้องประยุกต์ใช้เทคนิคมากกว่า 1 เทคนิคร่วมกัน ส่งผลให้ใช้พลังงานมากและใช้เวลานาน จึงทำให้การเก็บเกี่ยวชีวมวลของสาหร่ายยังคงมีต้นทุนสูง

ปัจจุบันจึงได้ประยุกต์ใช้เทคนิคการแยกด้วยแม่เหล็ก (magnetic separation) ในการเก็บเกี่ยวชีวมวลของสาหร่าย เทคนิคการแยกด้วยแม่เหล็กเป็นการแยกอนุภาคที่แขวนลอยออกจากสารละลายโดยอาศัยคุณสมบัติของแม่เหล็กเป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อย และมีประสิทธิภาพสูง (Cerff *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2015) จากรายงานของ Xu *et al.* (2011) ศึกษาการเก็บเกี่ยวสาหร่าย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Botryococcus braunii* และ *Chlorella ellipsoidea* โดยใช้อนุภาคนาโน  $Fe_3O_4$  พบว่ามีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายมากถึงร้อยละ 98 ในสภาวะที่มีการกวนด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที ภายในเวลา 1 นาที โดยความสามารถในการดูดซับของอนุภาค  $Fe_3O_4$  ของ *B. braunii* มีค่าเท่ากับ 55.9 มิลลิกรัมเซลล์แห้งต่ออนุภาคแม่เหล็กนาโน และความสามารถในการดูดซับของอนุภาค  $Fe_3O_4$  ต่อ *C. ellipsoidea* มีค่าเท่ากับ 5.83 มิลลิกรัมเซลล์แห้งต่ออนุภาคแม่เหล็กนาโน Hu *et al.* (2013) ศึกษาประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวจุลสาหร่ายทะเล *Nannochloropsis maritima* โดยใช้อนุภาคนาโนแม่เหล็ก  $Fe_3O_4$  พบว่าอนุภาคแม่เหล็กนาโนปริมาณ 120 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายได้ภายในเวลา 4 นาที และมีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวสูงถึงร้อยละ 95 และ Prochazkova *et al.* (2013) ศึกษาการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ด้วยอนุภาคแม่เหล็ก พบว่าการใช้อนุภาคแม่เหล็ก 0.4 กรัมต่อเซลล์สาหร่าย 0.3 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 4 มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สูงกว่าร้อยละ 95 และในอาหารเพาะเลี้ยงที่ไม่เติมฟอสฟอรัส มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวสูงถึงเกือบร้อยละ 100 อย่างไรก็ตามจากปัญหาอนุภาคแม่เหล็กเปลือยถูกออกไซด์ซีได้ง่าย รวมทั้งยังเป็นกลุ่มก้อน ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์ลดลง (Hu *et al.*, 2013, Khan *et al.*, 2014) เพื่อลดข้อบกพร่องดังกล่าวการปรับปรุงพื้นผิวของอนุภาคแม่เหล็กโดยการห่อหุ้มด้วยสารที่มีประจุบวกจะช่วยป้องกันการถูกออกไซด์ซีและยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวได้อีกด้วย

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็กเปลือยนั้นสามารถสังเคราะห์ได้ 2 วิธีคือ วิธีการตกตะกอนร่วมระหว่าง  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$  และ  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  (Mikhaylova *et al.*, 2004) และวิธีการสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็กจาก  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  โดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (Prochazkova *et al.*, 2013) ซึ่งอนุภาคแม่เหล็กที่สังเคราะห์ได้จากสองวิธีนี้สามารถนำมาพัฒนาเพื่อให้ได้คอมโพสิตที่มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายต่อไปได้ โดยหนึ่งในการพิจารณาคุณลักษณะเบื้องต้นของอนุภาคแม่เหล็กคือค่าศักย์ซีต้า ค่าศักย์ซีต้า คือ ค่าความต่างศักย์ระหว่างศักย์ไฟฟ้าบริเวณพื้นผิวของอนุภาคแม่เหล็กกับศักย์ไฟฟ้าในชั้นสารละลาย ซึ่งสามารถใช้ทำนายการกระจายตัวของอนุภาคแม่เหล็กในสารละลายได้ (Salopex *et al.*, 1992) อย่างไรก็ตามการสังเคราะห์คอมโพสิตที่มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายควรเลือกพัฒนาจากอนุภาคแม่เหล็กที่มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวสูง ฉะนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของอนุภาค

แม่เหล็กเปลือยที่สังเคราะห์ได้จากวิธีการตกตะกอนร่วม และวิธีการสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็กโดยใช้คลื่นไมโครเวฟในการเก็บเกี่ยวชีวมวล *Chlorella* sp. TISTR8263 เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเลือกวิธีสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็กเปลือยที่มีประสิทธิภาพสูงไปพัฒนาเป็นคอมโพสิตเพื่อใช้ในการเก็บเกี่ยวชีวมวลจุลสาหร่ายต่อไป รวมทั้งศึกษาปริมาณอนุภาคแม่เหล็กเปลือยที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวชีวมวลของ *Chlorella* sp. TISTR8263

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็ก (Magnetic Nanoparticles)

1.1 การสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็กโดยการตกตะกอนร่วม (co-precipitation) (ดัดแปลงมาจากวิธีของ Mikhaylova *et al.*, 2004)

การสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็ก (Magnetic Nanoparticles: MNPs) ทำโดยผสมสารละลายเฟอร์ริคลอไรด์ ( $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) ความเข้มข้น 0.1 โมลลาร์ และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) ความเข้มข้น 0.2 โมลลาร์ และปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร กวนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนสารเป็นเวลา 30 นาที พร้อมเติมก๊าซไนโตรเจน จากนั้นเติมสารละลายแอมโมเนียร้อยละ 30 และกวนอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิเป็น 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จนเกิดตะกอนสีดำ เก็บตะกอนอนุภาคแม่เหล็กที่สังเคราะห์ได้และล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำกลั่น และเก็บรักษาอนุภาคแม่เหล็ก MNPs ให้กระจายตัวอยู่ในน้ำกลั่น

1.2 การสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็กโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (microwave assisted synthesis) (ตามวิธีของ Prochazkova *et al.*, 2013)

การสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็ก (Iron Oxide Magnetic Microparticles: IOMMs) โดยซิงสาร  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับพีเอชของสารละลายด้วย 1 M NaOH ให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 11 และปรับปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร นำสารละลายไปให้ความร้อนด้วยเครื่องไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลานำสารละลายออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เก็บตะกอนอนุภาคแม่เหล็กและล้างด้วยน้ำกลั่น และเก็บรักษาอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ให้กระจายตัวอยู่ในน้ำกลั่น

### 2. การวิเคราะห์ขนาดอนุภาคแม่เหล็ก

วิเคราะห์ขนาดอนุภาคแม่เหล็กโดยนำอนุภาคแม่เหล็กเปลือยมากระจายตัวในน้ำกลั่นและวัดขนาดของอนุภาค โดยเครื่อง Mastersizer (Mastersizer 3000) (Malvern, UK)

### 3. การศึกษาปริมาณอนุภาคแม่เหล็กที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย

เพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR8263 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ในอาหาร BG-11 บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส ให้แสง 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 24 วัน จากนั้นเก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที

ออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล โดยนำอนุภาคแม่เหล็ก 2 ชนิด คือ อนุภาคแม่เหล็ก MNPs และอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ที่ปริมาณ 200 300 400 500 600 700 และ 800 มาทดลองเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR8263 ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช  $9.1 \pm 0.5$  โดยเริ่มต้นด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (OD) ของเซลล์สาหร่ายที่แขวนลอยในอาหาร BG-11 จากนั้นเติมอนุภาคแม่เหล็กทั้งสองชนิดที่ปริมาณ 200 ถึง

800 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร BG-11 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) เป็นเวลา 1 นาที นำแม่เหล็กขนาดกว้าง 25 มิลลิเมตร ยาว 50 มิลลิเมตร สูง 10 มิลลิเมตร ซึ่งมีแรงแม่เหล็ก 0.19 เทสลา มาเก็บเกี่ยวแม่เหล็กเป็นเวลา 2 นาที นำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ( $OD_750$ ) บันทึกค่าที่ได้ จากนั้นคำนวณหาประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายดังสมการจาก Hu *et al.* (2013) ต่อไปนี้ (1)

$$\text{ประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวเซลล์ (\%)} = ((OD_i - OD_f) / OD_i) \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ  $OD_i$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตรของเซลล์สาหร่ายก่อนการเก็บเกี่ยว

$OD_f$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตรของเซลล์สาหร่ายหลังจากการเก็บเกี่ยวเซลล์

#### 4. การวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษานี้ทำการทดลองทั้งสิ้น 3 ซ้ำ ค่าที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Average  $\pm$  SE) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายโดยใช้อนุภาคแม่เหล็ก 2 ชนิด และปริมาณที่แตกต่างกันโดยใช้การวิเคราะห์ตัวแปรครั้งละสองตัว จากนั้นเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายของอนุภาคแม่เหล็กแต่ละชนิดที่ปริมาณแตกต่างกันโดยใช้ One-way ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณที่ใช้แต่ละคู่โดยใช้ Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

#### ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

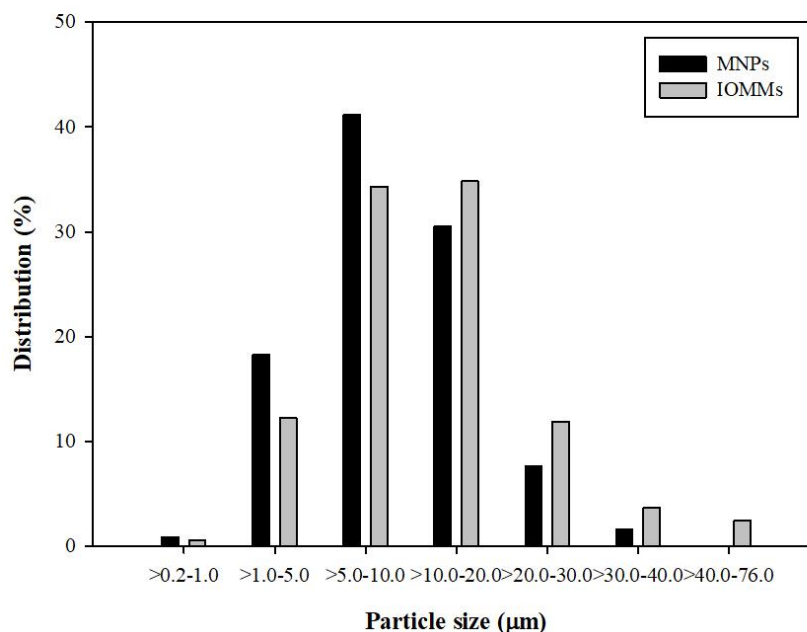
##### 1. ขนาดของอนุภาคแม่เหล็ก MNPs และอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs

จากการศึกษาขนาดของอนุภาคแม่เหล็ก MNPs และอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ด้วยเครื่องวัดขนาดอนุภาค พบว่าอนุภาคแม่เหล็ก MNPs มีขนาดตั้งแต่ 0.2 ถึง 40 ไมโครเมตร โดยส่วนใหญ่มีขนาด  $>5.0 - 10.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 41.17 รองลงมาคือ ขนาด  $>10.0 - 20.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 30.47 ขนาด  $>1.0 - 5.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 18.27 ขนาด  $>20.0 - 40.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 9.14 และขนาด  $>0.2 - 1.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 0.86 ตามลำดับ ส่วนอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs มีขนาดตั้งแต่ 0.2 ถึง 76 ไมโครเมตร โดยส่วนใหญ่มีขนาด  $>10.0 - 20.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 34.83 รองลงมาคือ ขนาด  $>5.0 - 10.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 34.33 ขนาด  $>1.0 - 5.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 12.23 ขนาด  $>20.0 - 30.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 11.87 ขนาด  $>30.0 - 40.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 3.63 ขนาด  $>40.0 - 76.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 2.44 และขนาด  $>0.2 - 1.0$  ไมโครเมตร เท่ากับร้อยละ 0.58 ตามลำดับ (ภาพที่ 1) จะเห็นได้ว่าอนุภาคแม่เหล็กที่สังเคราะห์โดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (IOMMs) มีขนาดใหญ่กว่าอนุภาคแม่เหล็กที่สังเคราะห์โดยวิธีตกตะกอนร่วม (MNPs)

##### 2. ค่าศักยภาพของอนุภาคแม่เหล็ก MNPs อนุภาคแม่เหล็ก IOMMs และสาหร่าย *Chlorella sp.* TISTR8263

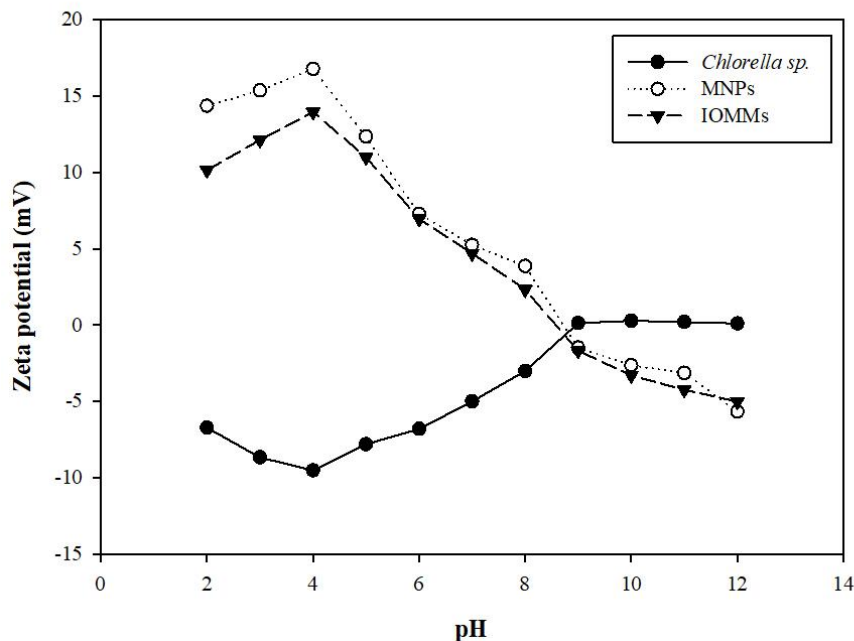
จากการศึกษาค่าศักยภาพของอนุภาคแม่เหล็ก MNPs และอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs พบว่าอนุภาคแม่เหล็ก MNPs และอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs มีค่าศักยภาพเป็นบวกเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีค่าพีเอช 2 ถึง 8 และมีค่าศักยภาพเป็นลบเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีค่าพีเอช 9 ถึง 12 โดยอนุภาคแม่เหล็ก MNPs มีค่าศักยภาพอยู่ในช่วง -5.67 ถึง +16.78 มิลลิโวลต์ และ

อนุภาคแม่เหล็ก IOMMs มีค่าศักย์ซีต้าอยู่ในช่วง  $-5.00$  ถึง  $+13.96$  มิลลิโวลต์ (ภาพที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Xu *et al.* (2011) ที่รายงานว่าค่าศักย์ซีต้าของอนุภาคแม่เหล็ก MNPs เป็นบวกเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีค่าพีเอช 4 ถึง 7 และมีค่าเป็นลบเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีค่าพีเอช 8 ถึง 10 เช่นเดียวกับอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ที่ศึกษาโดย Prochazkova *et al.* (2013) ได้รายงานว่าอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs มีค่าศักย์ซีต้าเป็นบวกเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีค่าพีเอช 2 ถึง 6 และมีค่าศักย์ซีต้าเป็นลบเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีค่าพีเอช 7 ถึง 12 จากผลการวิเคราะห์ค่าศักย์ซีต้าจะเห็นได้ว่าอนุภาคแม่เหล็ก MNPs และ IOMMs มีค่าน้อยกว่า  $-30$  และ  $+30$  มิลลิโวลต์ แสดงให้เห็นว่าอนุภาคแม่เหล็กที่สังเคราะห์ได้ทั้งสองมีแนวโน้มที่จะรวมตัวกัน ซึ่งเป็นข้อด้อยของอนุภาคแม่เหล็กเปลือย



ภาพที่ 1 ขนาดของอนุภาคแม่เหล็ก MNPs และขนาดของอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs

การวิเคราะห์ค่าศักย์ซีต้าของสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR8263 พบว่าค่าศักย์ซีต้าของเซลล์สาหร่ายเป็นลบเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีพีเอช 2 ถึง 8 และเป็นบวกเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีพีเอช 9 ถึง 12 โดยมีค่าศักย์ซีต้าอยู่ในช่วง  $-9.51$  ถึง  $+0.28$  มิลลิโวลต์ (ภาพที่ 2) นอกจาก *Chlorella* sp. TISTR8263 แล้ว Xu *et al.* (2011) ได้เคยรายงานค่าศักย์ซีต้าของสาหร่ายในสกุล *Chlorella* ได้แก่ *Chlorella ellipsoidea* โดยค่าศักย์ซีต้าของ *C. ellipsoidea* เป็นบวกเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีพีเอช 4 ถึง 7 และเป็นลบเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีพีเอช 8 ถึง 10 ซึ่งแตกต่างจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR8263 ทั้งนี้ค่าศักย์ซีต้าของเซลล์สาหร่ายที่แตกต่างกันนั้น อาจเนื่องมาจากโครงสร้างและองค์ประกอบของหุ้มฟังก์ชันบนผนังเซลล์สาหร่ายแตกต่างกันในแต่ละชนิด และนอกจากนี้สภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงหรือไอออนในสารละลายอาจเป็นปัจจัยที่มีผลต่อค่าศักย์ซีต้าของเซลล์สาหร่ายได้ (Xu *et al.*, 2011)



ภาพที่ 2 ศักย์ซีต้าของอนุภาคแม่เหล็ก MNPs อนุภาคแม่เหล็ก IOMMs และสาหร่าย *Chlorella sp.*

### 3. ผลการเก็บเกี่ยว *Chlorella sp.* โดยอนุภาคแม่เหล็ก MNPs และ IOMMs

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยว *Chlorella sp.* TISTR8263 ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ในอาหาร BG-11 พีเอช  $9.1 \pm 0.5$  โดยแปรผันปริมาณอนุภาคแม่เหล็ก MNPs (ภาพที่ 3) และอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs (ภาพที่ 4) ปริมาณ 200 ถึง 800 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย *Chlorella sp.* TISTR8263 ของอนุภาคแม่เหล็กทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.023$ ) โดยอนุภาคแม่เหล็ก MNPs มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายสูงกว่าอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs นอกจากนี้ปริมาณแม่เหล็กที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายส่งผลต่อประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวสาหร่าย *Chlorella sp.* TISTR8263 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.001$ ) และชนิดของแม่เหล็กและปริมาณที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวมีปฏิสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.001$ )

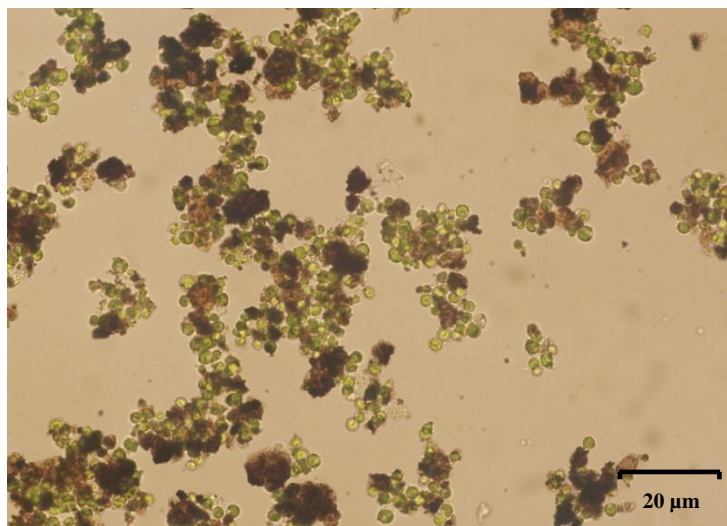
อนุภาคแม่เหล็ก MNPs ปริมาณ 800 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ  $95.30 \pm 0.44$  รองลงมาคือ อนุภาคแม่เหล็ก MNPs ปริมาณ 700 มิลลิกรัมต่อลิตรมีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์เท่ากับร้อยละ  $90.94 \pm 0.33$  และอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ปริมาณ 800 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ  $91.55 \pm 0.39$  รองลงมาได้แก่อนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ปริมาณ 700 มิลลิกรัมต่อลิตรมีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์เท่ากับร้อยละ  $85.78 \pm 0.29$  ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากการคำนวณหาประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยว *Chlorella sp.* TISTR8263 ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ในอาหาร BG-11 พีเอช  $9.1 \pm 0.5$  โดยใช้อนุภาคแม่เหล็กปริมาณ 800 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอนุภาคแม่เหล็ก MNPs 1 กรัมสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายได้เท่ากับ  $1.906 \pm 0.009$  กรัม และอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs 1 กรัมสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายได้เท่ากับ  $1.831 \pm 0.008$  กรัม ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าหากต้องการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายให้ได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ต้องใช้อุณหภูมิแม่เหล็ก MNPs ปริมาณ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งใช้ใน

ปริมาณที่น้อยกว่าการเก็บเกี่ยวโดยใช้อนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ซึ่งต้องใช้สูงถึง 800 มิลลิกรัมต่อลิตร และหากใช้อนุภาคแม่เหล็กในปริมาณที่เท่ากัน อนุภาคแม่เหล็ก MNPs จะสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายได้ดีกว่าอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs

**ตารางที่ 1** ประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายของอนุภาคแม่เหล็ก MNPs และอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ในปริมาณแตกต่างกัน

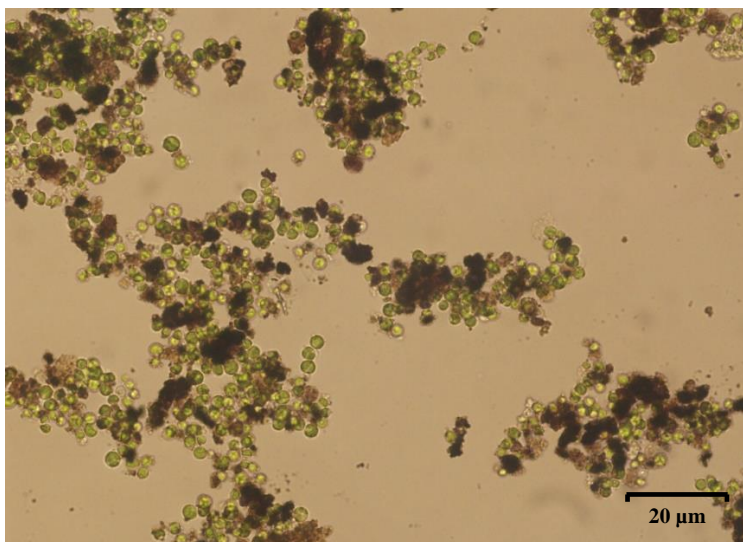
ปริมาณอนุภาคแม่เหล็ก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยว (ร้อยละ)	
	MNPs	IOMMs
200	40.36±0.86 <sup>g</sup>	32.40±1.36 <sup>g</sup>
300	49.00±0.38 <sup>f</sup>	47.67±0.75 <sup>f</sup>
400	61.14±0.76 <sup>e</sup>	60.63±0.34 <sup>e</sup>
500	73.87±0.55 <sup>d</sup>	76.67±1.17 <sup>d</sup>
600	86.41±0.97 <sup>c</sup>	82.91±0.45 <sup>c</sup>
700	90.94±0.33 <sup>b</sup>	85.78±0.29 <sup>b</sup>
800	95.30±0.44 <sup>a</sup>	91.55±0.39 <sup>a</sup>

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแนวสดมภ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



**ภาพที่ 3** การเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายด้วยอนุภาคแม่เหล็ก (MNPs)





ภาพที่ 4 การเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายด้วยอนุภาคแม่เหล็ก (IOMMs)

Prochazkova *et al.* (2013) ได้เคยรายงานอยู่ที่พีเอชเท่ากับ 4 อนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ปริมาณ 800 มิลลิกรัม ต่อลิตรสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย *C. vulgaris* ได้ร้อยละ 95 ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยนี้ อย่างไรก็ตามค่าพีเอชที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวในงานวิจัยทั้งสองงานแตกต่างกัน โดยงานวิจัยนี้ได้ทดลองเก็บเกี่ยวที่พีเอชเท่ากับ  $9.1 \pm 0.5$  นอกจากนี้ Hu *et al.* (2013) ได้ทดลองใช้อนุภาคแม่เหล็ก MNPs ปริมาณ 120 มิลลิกรัมต่อลิตรเก็บเกี่ยว *Nannochloropsis maritime* พบว่าสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายได้เท่ากับร้อยละ 95 ภายในเวลา 4 นาที และ Boli *et al.* (2017) ได้ทดลองใช้อนุภาคแม่เหล็ก MNPs ในอัตราส่วนของอนุภาคแม่เหล็กต่อเซลล์สาหร่ายเท่ากับ 10 เก็บเกี่ยว *Nannochloropsis oceanica* พบว่าสามารถเก็บเกี่ยวเซลล์ได้เท่ากับร้อยละ 99.7 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายโดยใช้อนุภาคแม่เหล็กนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของอนุภาคแม่เหล็ก ชนิดของเซลล์สาหร่าย และค่าพีเอชของสารละลาย ทั้งนี้เนื่องจากสารละลายที่มีพีเอชแตกต่างกัน มีผลให้อนุภาคแม่เหล็กและเซลล์สาหร่ายมีประจุบนพื้นผิวต่างกัน ซึ่งมีผลต่อความแรงของพันธะที่จะเกิดขึ้นระหว่างอนุภาคแม่เหล็กและเซลล์สาหร่าย และส่งผลให้ประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์แตกต่างกัน ในการศึกษาครั้งนี้เลือกศึกษาการเก็บเกี่ยวชีวมวล *Chlorella* sp. TISTR8263 ที่แขวนลอยในอาหาร BG-11 ที่พีเอช  $9.1 \pm 0.5$  ซึ่งเป็นสภาวะการเพาะเลี้ยงตามปกติ เนื่องจากต้องการนำไปประยุกต์ใช้เก็บเกี่ยวชีวมวลหลังจากเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหาร เพื่อช่วยลดค่าใช้จ่ายในการเติมกรดลงในอาหารเพื่อปรับให้พีเอชลดลงก่อนการเก็บเกี่ยว รวมทั้งการเติมกรดลงในอาหารก่อนการเก็บเกี่ยวอาจส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ที่ต้องการจากสาหร่ายได้ ถึงแม้ว่าอนุภาคแม่เหล็ก MNPs จะมีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR8263 ได้ดีกว่าอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs แต่กระบวนการสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็ก MNPs นั้นมีกระบวนการที่ซับซ้อนและใช้ระยะเวลาในการสังเคราะห์นานกว่าการสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็ก IOMMs (ตารางที่ 2) อย่างไรก็ตามกระบวนการสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็กโดยการตกตะกอนร่วมนั้นเป็นกระบวนการที่ให้ผลผลิตของอนุภาคแม่เหล็กที่สังเคราะห์ได้สูง (Laurent *et al.*, 2008) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบวิธีการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายด้วยอนุภาคแม่เหล็กกับวิธีการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายโดยใช้เทคนิคอื่น จะเห็นได้ว่าวิธีการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายด้วยอนุภาคแม่เหล็กเป็นวิธีที่ไม่มีการเติมสารอื่นในระหว่างกระบวนการ ใช้ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวสั้น และใช้พลังงานน้อย (ตารางที่ 3) ซึ่งสามารถช่วยลดต้นทุนในการเก็บเกี่ยวสาหร่ายในภาคอุตสาหกรรมได้

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการสังเคราะห์อนุภาคแม่เหล็ก MNPs และ IOMMs

พารามิเตอร์	MNPs	IOMMs
สารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์	FeCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O (20.02 กรัมต่อลิตร) และ FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O (54.44 กรัมต่อลิตร)	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (5 กรัมต่อลิตร)
สภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา	การกวนผสม ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน โดยใช้ก๊าซไนโตรเจน	ละลายในน้ำกลั่น
ตกตะกอนด้วย	30% แอมโมเนีย (NH <sub>3</sub> )	1M NaOH
อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้	80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที	ในไมโครเวฟที่ 700 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที
ผลผลิต	20 กรัมต่อลิตร	10 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของแต่ละเทคนิคที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย

เทคนิค	สารที่เติมในกระบวนการ	ระยะเวลา (นาที)	รายงานวิจัย
การตกตะกอน	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> , Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	10	Barros <i>et al.</i> , 2014
การลอยตัว	อากาศ, C <sub>19</sub> H <sub>42</sub> BrN และ anionic NaC <sub>12</sub> H <sub>25</sub> SO <sub>4</sub>	10-30	Chen <i>et al.</i> , 1998
การกรอง	-	5-10	Uduman <i>et al.</i> , 2010
การหมุนเหวี่ยง	-	10	Barros <i>et al.</i> , 2014
การตกตะกอนโดยแรงโน้มถ่วง	-	30-60	Pragya <i>et al.</i> , 2013
การแยกด้วยแรงแม่เหล็ก	-	2-3	Wang <i>et al.</i> , 2015

### สรุปผลการวิจัย

อนุภาคแม่เหล็ก MNPs ที่สังเคราะห์ได้จากวิธีการตกตะกอนร่วมส่วนใหญ่มีขนาดเล็กกว่าอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ที่สังเคราะห์ได้จากการใช้คลื่นไมโครเวฟในการให้ความร้อน โดยอนุภาคแม่เหล็ก MNPs มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR8263 ดีกว่าอนุภาคแม่เหล็ก IOMMs ปริมาณแม่เหล็กที่ใช้ในการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายส่งผลต่อประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยว และชนิดของแม่เหล็กและปริมาณที่ใช้มีปฏิสัมพันธ์กัน โดยที่พีเอช 9.1±0.5 อนุภาคแม่เหล็ก MNPs ปริมาณ 800 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการเก็บเกี่ยวเซลล์สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 95.30±0.44 ฉะนั้นจึงเลือกอนุภาคแม่เหล็ก MNPs ที่สังเคราะห์ได้โดยวิธีการตกตะกอนร่วมไปใช้ในการพัฒนาเป็นคอมโพสิตเพื่อใช้เก็บเกี่ยวชีวมวลของสาหร่ายต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ที่อำนวยความสะดวกในการวิจัยทั้งสถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือในการศึกษาวิจัยนี้ ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ เพื่อการวิจัยขั้นสูง มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ที่ให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ และขอขอบคุณ ดร.กิตติวุฒิ เกษมวงศ์ สำหรับคำปรึกษาทางด้านเครื่องสำอางค์หรืออนุภาคแม่เหล็ก

## เอกสารอ้างอิง

- Barros, A.I., Gonçalves, A.L., Simões, M., & Pires, J.C.M. (2015). Harvesting techniques applied to microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41, 1489-1500.
- Boli, E., Savvidou, M., Logothesis, D., Louli, V., Pappa, G., Voutsas, E., Kolosis, F., & Magoulas, K. (2017). Magnetic harvesting of marine algae *Nannochloropsis oceanica*. *Separation Science and Technology*, 1-8.
- Cerff, M., Morweiser, M., Dillschneider, R., Michel, A., Menzel, K., & Posten, C. (2012). Harvesting fresh water and marine algae by magnetic separation: Screening of separation parameters and high gradient magnetic filtration. *Bioresource Technology*, 118, 289-295.
- Chen, Y.M., Liu, J.C., & Ju, Y.H. (1998). Flotation removal of algae from water. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 12, 49-55.
- Chittapun, S., Limbipichai, S., Amnuaysin, N., Boonkerd, R., & Charoensook, M. (2017). Effects of using cyanobacteria and fertilizer on growth and yield of rice, Pathum Thani I: a pot experiment. *Journal of Applied Phycology*.
- Chu, W.L. (2012). Biotechnological application of microalgae. *JeJSME*, 6, 24-37.
- Girma, E., Belarbi, E.H., Fernandez, G.A., Medina, A.R., & Chisti, Y. (2003). Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnology Advances*, 20, 491-515.
- Hu, Y.R., Wang, F., Wang, S.K., Liu, C.Z., & Guo, C. (2013). Efficient harvesting of marine microalgae *Nannochloropsis maritima* using magnetic nanoparticles. *Bioresource Technology*, 136, 387-390.
- Khan, K., Rehman, S., Rahman, H. U., & Khan, Q. (2014). Synthesis and application of magnetic nanoparticles. In J.M. Gonzalez Estevez (Ed.), *Nanomagnetism*. (pp. 135-159). Manchester: One Central Press (OCP).
- Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Elst, L.C., & Muller, R.N. (2008). Magnetic Iron oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and biological Application. *Chemical Reviews*, 108, 2064-2110.
- Lekshmi, B., Rebekah, S.J., Anitta Jose, S., Abinandan, S., & Shanthakumar, S. (2015). Studies on reduction of inorganic pollutants from wastewater by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus abundans*. *Alexandria Engineering Journal*, 54, 1291-1296.

- Mikhaylova, M., Kim, D.K., Bobrysheva, N., Osmolowsky, M., & Semenov, V. (2004). Superparamagnetism of magnetite nanoparticles: dependence on surface modification. *Langmuir*, 20(6), 2472-2477.
- Pragya, N., Pandey, K.K., & Sahoo, P.K. (2013). A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 24, 159-71.
- Prochazkova, G., Safarik, I., & Branyik, T. (2013). Harvesting microalgae with microwave synthesized magnetic microparticles. *Bioresource Technology*, 130, 472-477.
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P., & Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology composition production processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265-278.
- Saker, S., & Chandramohan, M. (2008). Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization. *Journal of Applied Phycology*, 20, 113-136.
- Salopek, B., Krasic, D., & Filipovic, S. (1992). Measurement and application of zeta-potential. *Rudarsko-geolosko-naftni zbornik*, 4, 147-151.
- Uduman, N., Qi, Y., Danquah, M.K., Forde, G.M., & Hoadley, A. (2010). Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 2, 012701.
- Vandamme, D., Foubert, I., Meesschaert, B., & Muylaert, K. (2010). Flocculation of microalgae using cationic starch. *Journal of Applied Phycology*, 22, 525-530.
- Wang, S.K., Stiles, A.R., Guo, C., & Liu, C.Z. (2015). Harvesting microalgae by magnetic separation: A review. *Algal Research*, 9, 178-85.
- Xu, L., Guo, C., Wang, F., Zheng, S., & Liu, C.Z. (2011). A simple and rapid harvesting method for microalgae by in situ magnetic separation. *Bioresource Technology*, 102, 10047-10051.
- Zhao, Y., Liang, W., Liu, L., Li, F., Fan, Q., & Sun, X. (2015). Harvesting *chlorella vulgaris* by magnetic flocculation using Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> coating with polyaluminium chloride and polyacrylamide. *Bioresource Technology*, 198, 789-796.