सूक्ष्म शैवाल *नानोक्लोरोप्सिस ओक्युलेटा* के विभिन्न फसल संग्रहण तकनीकों की मूल्यांकन क्षमता

बिजी ज़ेवियर*, रितेश रंजन*, शेखर मेघराजन*, वंशी बल्ला*, नरसिंहुलू सादू*, जयश्री लोका*, षोजी जोसफ** और शुभदीप घोष*

*भा कृ अनु प-केन्द्रीय समुद्री मात्स्यिकी अनुसंधान संस्थान का विशाखपट्टणम क्षेत्रीय केन्द्र, विशाखपट्टणम-530 003, आंध्रा प्रदेश

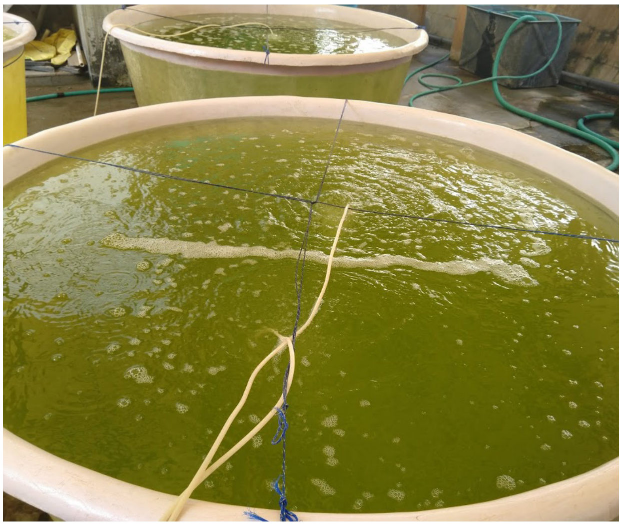
**भा कृ अनु प- केन्द्रीय समुद्री मात्स्यिकी अनुसंधान संस्थान, कोच्ची, केरल

*ई-मेल : bijicmfri@gmail.com

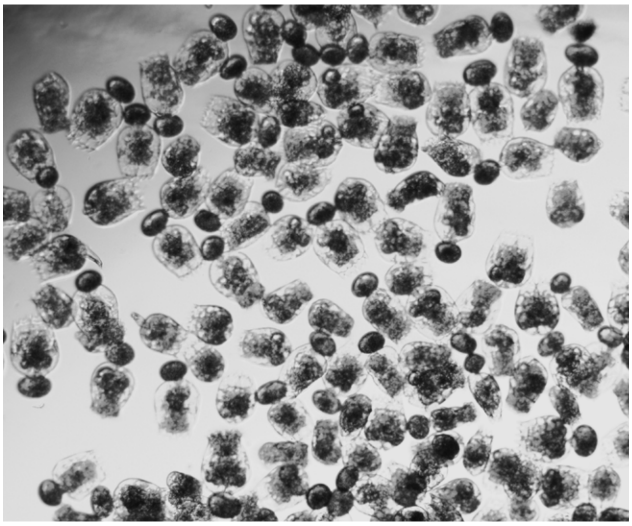
प्रस्तावना

सूक्ष्म शैवाल संवर्धन जलजीव पालन का मुख्य घटक है जो मुख्यतः पख मछली या कवच मछली के बीज उत्पादन के अंतर्गत आता है। सूक्ष्म शैवाल से उत्पन्न जैवमात्रा और उत्पादों की बढ़ती माँग के कारण इनका उत्पादन बड़े पैमाने में आवश्यक हैं। स्फुटनशाला की माँग पूरा करने और कार्यात्मक भोजन एवं न्यूट्रास्यूटिकल उत्पाद के जैव मात्रा उत्पादन के लिए वाणिज्यिक तौर पर सूक्ष्म शैवाल का व्यापक संवर्धन अनिवार्य है। परन्तु वर्तमान सूक्ष्म शैवाल प्रौद्योगिकियाँ किफायती नहीं है और विभिन्न मार्गावरोधों से बाधित है जिनमें से एक सूक्ष्म शैवाल

नानोक्लोरोप्सिस ओक्यूलेटा का संभरण एवं मध्यवर्ती संवर्धन



समुद्री पख मछली डिम्भक पालन के लिए ग्रीन वाटर पालन प्रणाली *(नानोक्लोरोप्सिस ओक्यूलेटा)*



नानोक्लोरोप्सिस ओक्यूलेटा सांद्रण पर संवर्धित रॉटिफर

जैव मात्रा का संग्रहण है। बड़े पैमाने में समुद्री शैवाल पालन के बाद, सूक्ष्म शैवाल कोशिकाओं के सांद्रण की मात्रा को कम करने की आवश्यकता है। उचित संग्रहण तकनीकों का मानकीकरण बहुत ही महत्वपूर्ण है और सामान्य तौर पर उपयोग किए जाने वाले संग्रहण तरीकों में सेंट्रीफ्यूगेशन, अवसादन, निस्यंदन, फ्लोटेशन तथा फ्लोकुलेशन शामिल हैं।

नानोक्लोरोप्सिस ओक्यूलेटा एक समुद्री सूक्ष्म शैवाल है, जो समुद्री पख मछली बीज उत्पादन में महत्वपूर्ण भूमिका निभाती है। यह छोटे आकार से युक्त शैवाल है जिसकी तेज़ी से वृद्धि होती है और क्लोरोफिल ए, अज़टाजान्तिन, जियाक्सानतिन एवं कांताक्सान्तिन से संपुष्ट हैं। शैवाल, समुद्री पख मछली स्फुटनशाला में प्रत्यक्ष या अप्रत्यक्ष रूप से डिम्भक पालन एवं रॉटिफर संवर्धन के लिए उपयोग किया जाता है। डिम्भक पालन के लिए मध्यवर्ती संवर्धित शैवाल एवं जीवित प्राणिप्लवक (रॉटिफर) संवर्धन के लिए बड़े पैमाने पर संवर्धित शैवाल का उपयोग किया जाता है। *नानोक्लोरोप्सिस ओक्यूलेटा* एक समशीतोष्ण प्रजाति है, गर्मी के मौसम में सूक्ष्म शैवाल का बड़े पैमाने में उत्पादन मुश्किल है जब कि इस अवधि में पख मछलियों का डिम्भक पालन चरम पर होता है। वर्ष भर के पख मछली डिम्भक उत्पादन में आने वाली कठिनाइयों में एक गर्मी के महीनों में शैवाल संवर्धन है। डिम्भक पालन एवं प्राणिप्लवक संवर्धन के लिए पर्याप्त मात्रा में सूक्ष्म शैवाल की उपस्थिति सुनिश्चित करने के लिए सूक्ष्म शैवाल सांद्रण एक वैकल्पिक दृष्टिकोण है। गर्मी के महीनों के दौरान रॉटिफर संवर्धन के लिए खाद्य के अतिरिक्त स्रोत के रूप में और समुद्री पख मछली और कवच मछली स्फुटनशालाओं के लिए निवेश द्रव्य के रूप में सेंट्रीफ्यूगेशन द्वारा परिरक्षित सूक्ष्म शैवाल सांद्रण का उपयोग किया जाता है।

यह शैवाल 18-21°C तापमान, 7.8-8.4 पी एच, 23-25 पी पी टी लवणता और 2000 lux प्रकाश की तीव्रता में कोनवे माध्यम से संवर्धित किया जाता है और घातीय चरण का संवर्धन विविध संग्रहण तरीकों के अध्ययन के लिए उपयोग किया जाता है।

सेंट्रीफ्यूगेशन

सेंट्रीफ्यूगेशन एक यांत्रिक प्रक्रिया है जिसमें आकार, घनत्व, श्यानता और रोटर स्पीड के आधार पर विलयन से कणों को अलग करने के लिए सेंट्रीफ्यूगल दबाव का उपयोग करता है। सूक्ष्म शैवाल के संवर्धन में कोशिकाओं के संग्रहण के लिए सेंट्रीफ्यूगेशन का उपयोग करता है ताकि बिना किसी संदूषण के कम मात्रा के विलयन से कोशिकाओं को सांद्रण करके अधिक कोशिकाओं को बनाए जाए। सूक्ष्म शैवाल कोशिकाओं का सांद्रण

सेंट्रीफ्यूगेशन के लिए *नानोक्लोरोप्सिस ओक्यूलेटा* का मध्यवर्ती संवर्धन

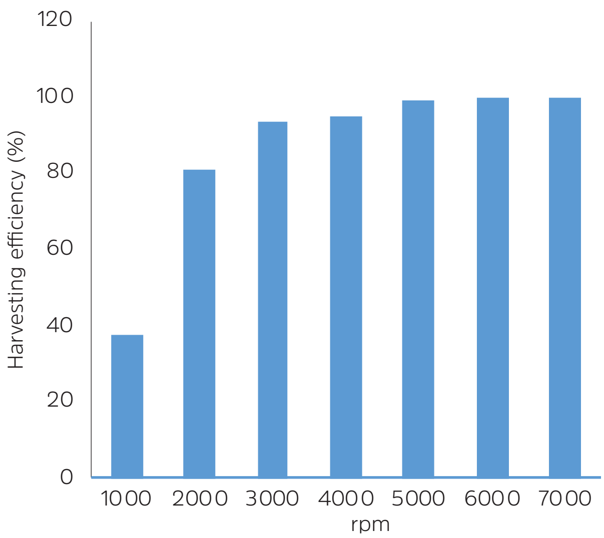
सेंट्रीफ्यूगेशन के बाद संग्रहित सांद्रण

रोटर की गति और उसके घूमने के समय पर निर्भर है। हमारे अध्ययन में, 5 मिनट के लिए 1000-7000 से लेकर विविध आर पी एम पर सेंट्रीफ्यूगेशन द्वारा *नानोक्लोरोप्सिस* के संग्रहण से 7000 आर पी एम पर 99.60% अधिकतम संग्रहण हुई ।हीमोसैटोमीटर का उपयोग करके कोशिका घनत्व को निर्धारित किया गया।

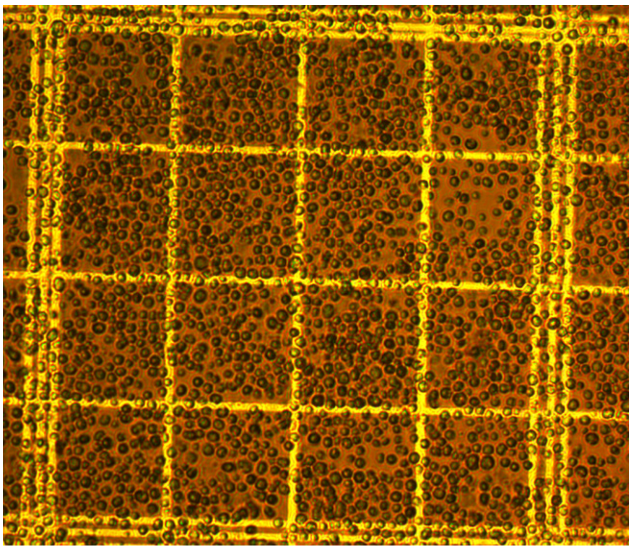
दक्षता का प्रतिशत 66.66 से 99.6 तक है और संग्रहण की अधिकतम दक्षता 7000 आर पी एम(99.60%) सहित पायी गयी जो कि 6000 आर पी एम (99.58%) से अधिक भिन्न नहीं हैं। सूक्ष्म शैवाल कोशिकाओं के विरूपण या संदूषण के बिना संरोपण के लिए कोशिकाएं 100% जीवनक्षम हैं।

इलेक्ट्रोफ्लोकुलेशन

यह इस सिद्धांत पर आधारित है कि सूक्ष्म शैवाल की सतह ऋणात्मक रूप से आवेश होता है और कोलायडीय कणों की तरह व्यवहार करता है जो कि विद्युत क्षेत्र में चल सकता हैं। जब ये एनोड की ओर एक बार आकर्षित होता है तो निष्प्रभावित होकर शैवाल समुच्चयों को बनाता है और इसका आसानी से संग्रहण कर सकता है। पानी के विद्युत् अपघटन के दौरान, H_2 और O_2 गैस बुलबुलों की तरह इलेक्ट्रोडों में उत्पादित होते हैं और सतह तक शैवाल समुच्चयों को लेकर पहुँचता है एवं सूक्ष्म शैवाल कोशिकाओं की परत बनाता है। काथोड और एनोड के रूप में ज़िंक (Zn), अलूमिनियम Al),



विविध आर पी एम सहित सेंट्रीफ्यूगेशन द्वारा *नानोक्लोरोप्सिस* की संग्रहण दक्षता

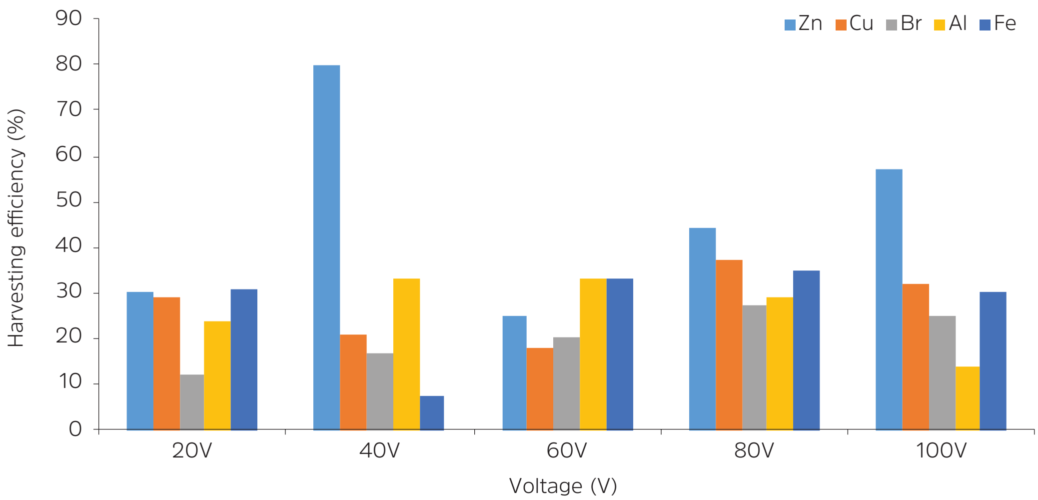


तनूकरण के बाद संकेंद्रित *नानोक्लोरोप्सिस ओक्यूलेटा*

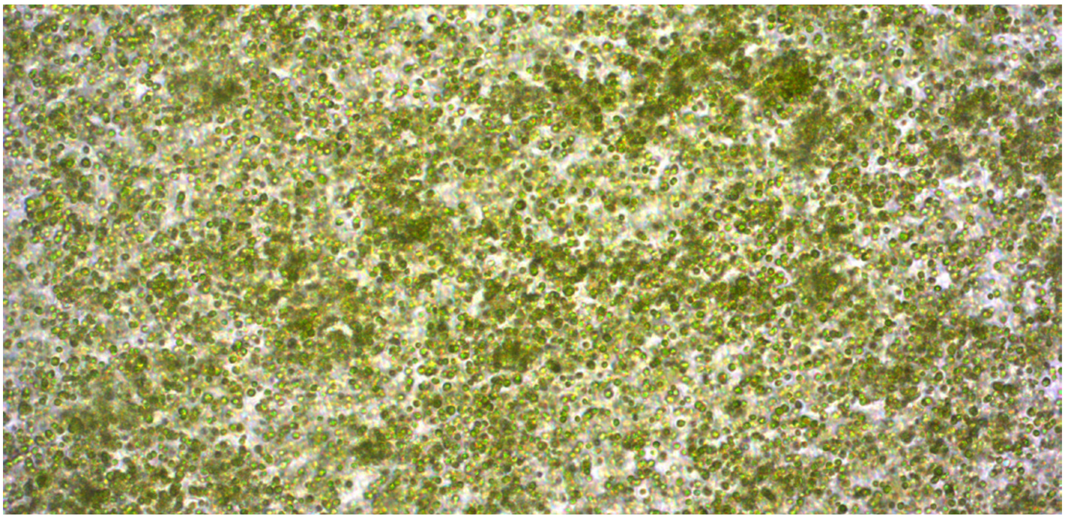
चित्र 1 : *नानोक्लोरोप्सिस संवर्धन के लिए इलेक्ट्रो फ्लोकुलेशन a)* नानो संवर्धन प्रक्रिया की शुरुआत *b)* फ्लोकुलेशन प्रक्रिया के बाद (ऊपर)फ्लोकुलेट की गयी नानो कोशिकाएं

कोपर (Cu), ब्रास (Br) और आयेर्न (Fe) का उपयोग अलग किया गया।

उपयोग किए गए विविध धातुओं में, 40 V (चित्र 1) में 80% संग्रहण दक्षता के साथ ज़िंक का निष्पादन बेहतर रहा जिसके बाद वही धातु का निष्पादन 100 V (57%) में आता है। 80V में तांबा इलेक्ट्रोड 37% अधिकतम संग्रहण दक्षता दिखायी। ब्रास, लोहा जैसे अन्य धातुओं में फ्लोकुलेशन दक्षता क्रमशः 27% तथा 35% थी। ताम्बा, ब्रास और लोहे का उपयोग किये जाने पर नीचे में स्कंदित कोशिकाएं ऊपर तक नहीं आती हैं। अलूमिनियम का उपयोग किए जाने पर शैवाल कोशिकाएं फ्लोकुलेटड हो जाती हैं और कुछ ऊपर तक आती हैं परन्तु ज़्यादातर सफेद अवक्षेपण निचले स्तर में पायी जाती हैं। अलूमिनियम इलेक्ट्रोड 40V एवं 60V में 33% अधिकतम संग्रहण दक्षता दिखायी पड़ी।



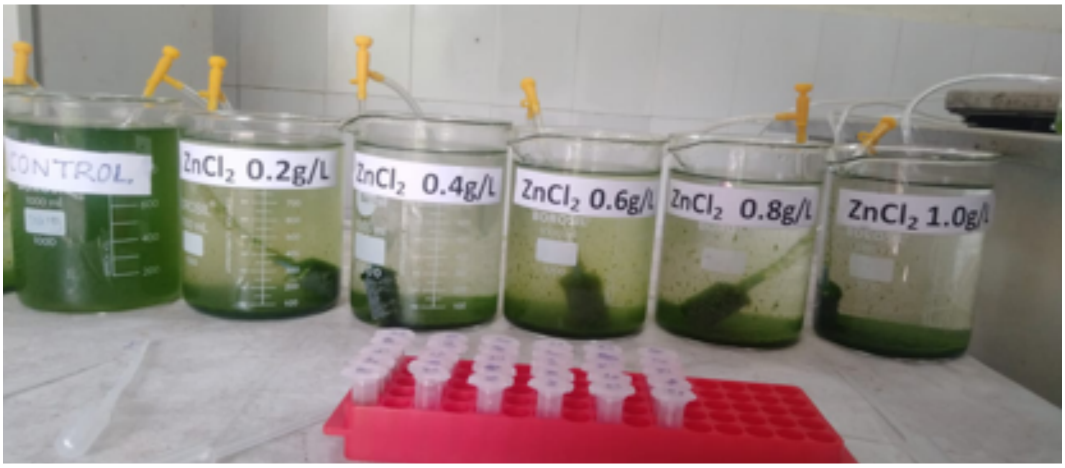
नानोक्लोरोप्सिस अक्युलेटा संवर्धन के इलेक्ट्रो फ्लोकुलेशन के दौरान विविध धातुओं की संग्रहण दक्षता



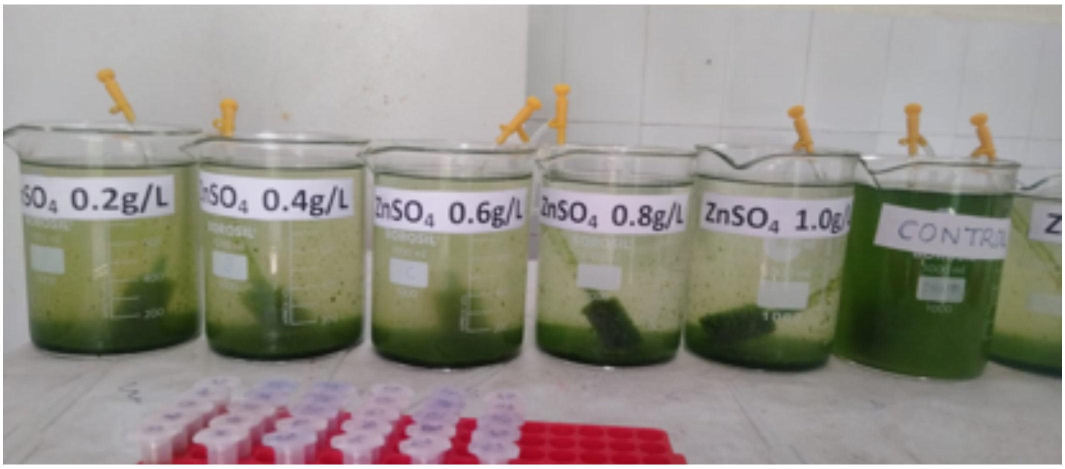
इलेक्ट्रो फ्लोकुलेट की गयी *नानोक्लोरोप्सिस अक्युलेटा* कोशिकाएं

रासायनिक फ्लोकुलेशन

विविध संग्रहण तरीकों में, सूक्ष्म शैवाल फ्लोक्स के अवसादन के साथ किये गए फ्लोकुलेशन में 90% से ज़्यादा कोशिकाओं की पुनः प्राप्ति हुई। सूक्ष्म शैवाल के फ्लोकुलेशन से उत्पन्न जैव मात्रा रासायनिक फ्लोकुलंट के कारण संदूषित हो सकता है और अंतिम उत्पाद को भी नुक्सान पहुँचा सकता है। फिर भी, संग्रहण के आर्थिक



विविध सांद्रता से युक्त $ZnCl_2$ के साथ फ्लोकुलेशन अध्ययन की प्रयोगात्मक व्यवस्था



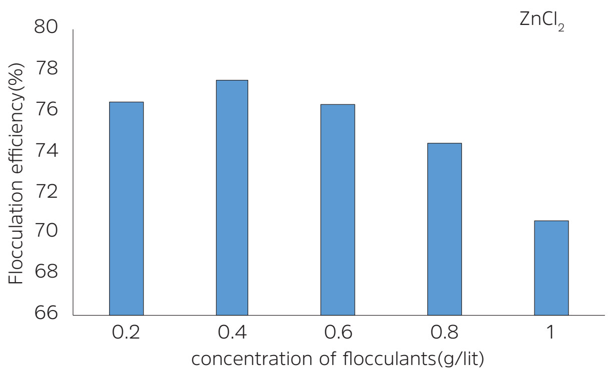
विविध सांद्रता से युक्त $ZnSO_4$ के साथ फ्लोकुलेशन अध्ययन की प्रयोगात्मक व्यवस्था

संतुलन और ऊर्जा सुधारने के आशाजनक तकनीक के रूप में फ्लोकुलेशन को माना जाता है। वर्तमान अध्ययन में, रासायनिक फ्लोकुलेशन के लिए 0.2ग्रा./लि. से 1.0 ग्रा./लि. तक विविध सांद्रता से युक्त $ZnSO_4$, और $ZnCl_2$ का उपयोग किया गया और पाया गया कि 0.8ग्रा./लि के साथ $ZnSO_4$ 92.54 % और 0.4 ग्रा./लि. के साथ $ZnCl_2$ 77.54% अधिकतम फ्लोकुलेशन दक्षता दिखायी पड़ी।

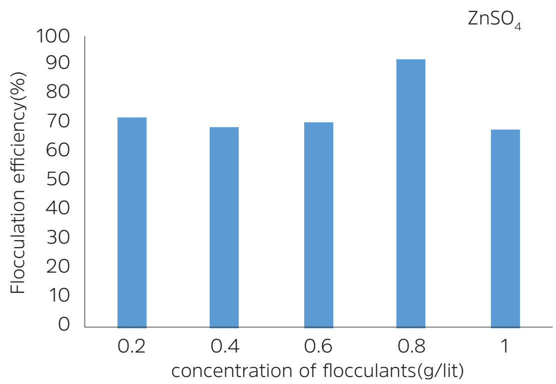
$ZnSO_4$0.8ग्रा./लि. के साथ 92.54 % अधिकतम फ्लोकुलेशन दक्षता दिखायी पड़ी जिसके बाद 0.2ग्रा./लि. आता है (71.79 %)। 1.0 ग्रा./लि. के समान 0.4ग्रा./लि. में कम दक्षता आकलित की गयी। विविध सांद्रण से युक्त $ZnCl_2$ में संग्रहण दक्षता 70.55 % से–77.54 %. तक हैं। $ZnCl_2$ की अधिकतम दक्षता 0.4 ग्रा./लि. में आकलित की गयी जिसके बाद 0.2 और 0.6 ग्रा./लि. आती हैं। 0.2 और 0.6ग्रा./लि. के बीच अधिक भिन्नताएँ नहीं पायी गयीं।1.0ग्रा./लि. सांद्रता से युक्त $ZnCl_2$ में कम संग्रहण दक्षता आकलित की गयी।

कोश जीवन क्षमता परीक्षण

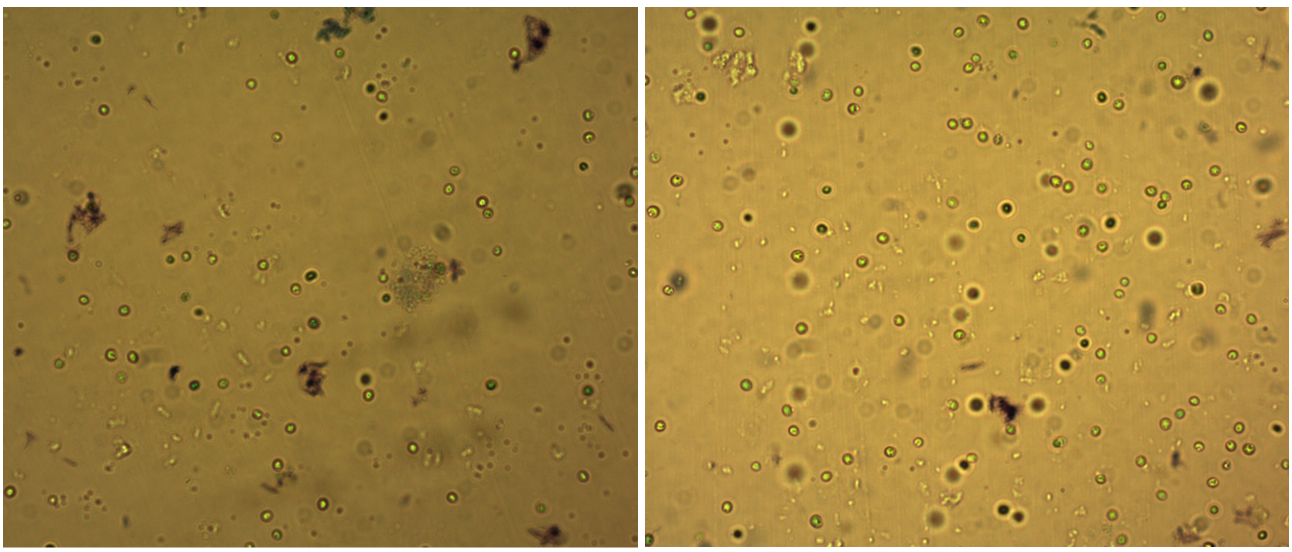
फ्लोकुलेट *नानोक्लोरोप्सिस* कोशिकाओं की जीवन क्षमता का परीक्षण करने के लिए इवान ब्लू स्टेइन का उपयोग किया गया।स्टैनिंग के लिए 20 मि. लि. फ्लोकुलेट *नानोक्लोरोप्सिस* नमूने को इवांस ब्लू स्टोक सोल्यूशन के 1 मी.लि. के 1% (w/v) के साथ उपयोग किया गया। सूक्ष्मदर्शी परीक्षण से पहले नमूनों को कम से कम तीस मिनिट के लिए कमरे के तापमान में रखता है । संशोधित न्यूबयर हीमोसैटोमीटर का उपयोग करके 40 X की बढ़ती में उप नमूनों का निरीक्षण किया गया ।



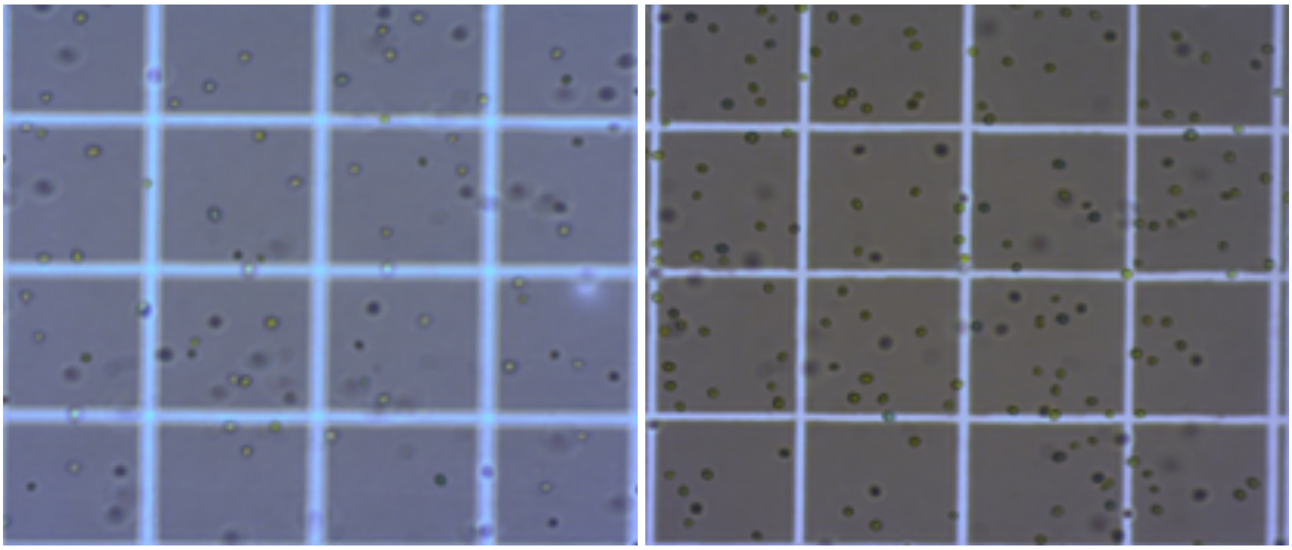
नानोक्लोरोप्सिस संवर्धन के विविध सांद्रण में $ZnCl_2$ की फ्लोकुलेशन दक्षता



नानोक्लोरोप्सिस संवर्धन के विविध सांद्रण में $ZnSO_4$ की फ्लोकुलेशन दक्षता



इवांस ब्लू स्टैनिंग के बाद इलेक्ट्रो फ्लोकुलेटड (Zn) *नानोक्लोरोप्सिस ओक्युलेटा* (a) 40V में फ्लोकुलेटड कोशिकाएं (b) 100V में फ्लोकुलेटड कोशिकाएं



इवांस ब्लू स्टैनिंग के बाद रासायनिक फ्लोकुलेटड *नानोक्लोरोप्सिस* कोशिकाएं
(a) $ZnCl_2$ (0.4ग्रा. / लि) (b) $ZnSO_4$ (0.8ग्रा. / लि)

Zn इलेक्ट्रोड के इलेक्ट्रोफ्लोकुलेटड कोशिकाओं के इवांस ब्लू स्टैनिंग के दौरान, ज़्यादातर *नानोक्लोरोप्सिस* कोशिकाओं का रंग हरा हो जाता है और जीवन क्षमता अधिक है (80%) । अन्य धातुओं में फ्लोकुलेटड कोशिकाओं की जीवन क्षमता कम है (< 5%)।

रासायनिक फ्लोकुलेशन के दौरान, $ZnSO_4$ (0.8 %) के साथ फ्लोकुलेट की गयी *नानोक्लोरोप्सिस* कोशिकाएं अन्य सांद्रताओं (0.2, 0.4, 0.6 &1.0ग्रा./लि.) की तुलना में अधिक जीवन क्षमता दिखायी। इवांस ब्लू स्टैनिंग के दौरान *नानोक्लोरोप्सिस* कोशिकाओं का रंग हरा हो जाता है और जीवन क्षमता अधिक है (80% ।)

फ्लोकुलेटड *नानोक्लोरोप्सिस* संवर्धन का संरोपण

फ्लोकुलेटड सूक्ष्म शैवाल के संरोपण के लिए धीमी रेत फिल्टर, यु वी फिल्टर के माध्यम से गुजरने वाले पूर्व उपचारित समुद्री जल, को बाद में ओज़ोन के साथ उपयोग किया जाता है । संरोपण के लिए उपयोग की जाने वाली फ्लोकुलेटड सूक्ष्म शैवाल कोशिकाएं तनूकृत करके चुम्बकीय उत्तेजक की मदद से मिलाया जाता है ताकि अलग – अलग कोशिकाओं में समान वितरण सुनिश्चित किया जा सके। प्रारम्भिक तौर पर, कोशिकाओं की संख्या $5x10^5$ cells/मि. लि. थी । ये कोनवे माध्यम सहित 18-21^{0}C तापमान, 7.8-8.4 पी एच, 23-25 पी पी टी लवणता और 2000lux प्रकाश की तीव्रता में संवर्धित किया जाता है । संरोपण के 7 दिनों बाद कोशिकाओं की संख्या का आकलन किया जाता है।

इलेक्ट्रोफ्लोकुलेटड नमूनों में, विविध वोल्टेज में अन्य धातुओं की तुलना में ज़िंक अधिक जीवन क्षमता दिखायी। उपयोग की गयी अन्य मेटल इलेक्ट्रोडों में ज़िंक इलेक्ट्रोड, 80V में अधिकतम कोशों की संख्या दिखायी। $ZnCl_2$ और $ZnSO_4$ द्वारा फ्लोकुलेट की गयी *नानोक्लोरोप्सिस* कोशिकायें आगे के जीवन चक्र में संरोपण के लिए समान जीवनक्षम है ।

सारांश

उत्तम संग्रहण दक्षता के साथ 0.8 ग्रा./लि. $ZnSO_4$ सहित *नानोक्लोरोप्सिस ओक्युलेटा* का रासायनिक फ्लोकुलेशन भारी मात्रा में सूक्ष्म शैवाल संवर्धन के लिए प्रभावकारी तरीका होंगे। इसके अतिरिक्त यह तरीका वाणिज्यिक तौर पर शैवाल आधारित *नानोक्लोरोप्सिस* संवर्धन को अर्जित करने का सरल, आसान, उच्च दक्षता और लागत प्रभावी संग्रहण प्रक्रिया माना जाता है।