مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بهینه‌سازی رشد *اسپیرولینا پلاتنسیس* و تولید رنگدانه های طبیعی با کمک روش سطح پاسخ

نیلوفرصالحیان لنجی[۱]، مهشید جهادی[۲،۳*]، میترا عطاآبادی[٤]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۳- مرکز تحقیقات و تولید بذر، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

٤- گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۱

کلمات کلیدی:

اسپیرولینا پلاتنسیس،

تخمیر غوطه‌وری،

ضایعات خرما،

فیکوسیانین،

ویتامین ب ۱۲.

DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8

* مسئول مکاتبات:

m.jahadi@khuisf.ac.ir

چکیده

اسپیرولینا پلاتنسیس **به دلیل دارا بودن رنگدانه‌های طبیعی با ویژگی‌های عملکردی خاص در صنایع مختلف، توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده است. در این پژوهش تاثیر پارامترهای ویتامین ب ۱۲ (۰/۵ تا ۱/۵ میکروگرم در لیتر)، عصاره ضایعات خرما به عنوان منبع کربن (۱ تا ۱/۵ گرم در لیتر گلوکز) و اوره به عنوان منبع نیتروژن (۵۰ تا ۱۵۰ میلی گرم در لیتر) نیز به روش خوراک دهی نیمه مداوم در شرایط کشت غوطه‌وری بهینه‌سازی شد و میزان تولید *اسپیرولینا پلاتنسیس* و رنگدانه‌های فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین،کاروتنوئید و کلروفیل در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد که اضافه کردن اوره و عصاره ضایعات خرما باعث افزایش میزان تولید زیست‌توده و رنگدانه‌های فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین، کاروتنوئید وکلروفیل می‌شود. نتایج حاصل از تاثیر ویتامین ب۱۲ نشان داد که این ویتامین در غلظت کم تاثیر مثبت بر تولید اسپیرولینا و رنگدانه های فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین، کاروتنوئید و کلروفیل دارد. علاوه‌بر این مشاهده شد که برهمکنش اوره- ضایعات خرما و ویتامین ب۱۲ در غلظت مناسب، تاثیر، افزاینده بر میزان تولید اسپیرولینا و رنگدانه‌های فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین ، کاروتنوئید و کلروفیل دارد. همچنین استفاده از عصاره ضایعات خرما با ویتامین ب۱۲ باید به صورت بهینه در ارتباط با یکدیگر استفاده شود تا بیشترین بهره‌وری تولید زیست‌توده و رنگدانه های فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین، کاروتنوئید و کلروفیل حاصل شود. درشرایط بهینه کشت در محدوده ویتامین ب ۱۲، ۰/۵ میکروگرم در لیتر، عصاره ضایعات خرما، ۱/۵ گرم در لیتر گلوکز، اوره، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر میزان بیومس، فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین، کاروتنوئید و کلروفیل به ترتیب ۲۰۳ (g/100g)، ۱۲۸، ۸/۴۲ ، ٤/۰۹ و ۷/۲ میلی گرم در لیتر است. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که وجود ویتامین ب ۱۲ به همراه استفاده از ضایعات خرما شرایط میکسوتروفی را در رشد *اسپیرولینا پیلاتنسیس* ایجاد می کند که منجر به افزایش تولید زیست توده و رنگدانه‌های حاصل می شود.**

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر تولید و استفاده از رنگدانه‌های طبیعی در صنایع غذایی به علت بیماری‌زایی و ایجاد آلودگی محیط‌زیست رنگ‌دانه‌های سنتزی، افزایش چشمگیری یافته است [۱و۲]. در این میان ریزجلبک‌ها[1] توجه فراوانی را به خود جلب کرده‌اند زیرا زیست‌توده آن‌ها منبع بزرگی از لیپیدها، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، ضد اکسایندهها و رنگدانه‌ها است. در بین ریز جلبک‌ها، اسپیرولینا یکی از محبوب‌ترین ریز جلبک‌هاست. گونه‌های متعلق به جنس اسپیرولینا که اکنون آرتروسپیرا[2]نامیده می‌شوند، ازجمله ریززنده‌های فتوسنتزی با اهمیت تجاری بالا هستند که شامل سه گونه *آرتروسپیرا ماکسیما*[3] ، *آرتروسپیرا پلاتنسیس*[4] و*آرتروسپیرا فوزیفورمیس*[5] می‌باشند. اسپیرولینا منبع غنی و ارزان رنگدانه‌ایی مانند فیکوسیانین است که مورد بررسی تجاری قرارگرفته‌اند [۳و٤].

فیکوسیانین یک رنگدانه طبیعی به رنگ آبی است و دارای خاصیت ضد اکسایندگی، ضدالتهابی، حفافت از کبد و توانایی مهار رادیکال‌های آزاد است. فیکوسیانین مهمترین فیکوبیلی‌پروتئین[6] در اسپیرولینا است و ممکن است تا ۲۰٪ از وزن خشک آن را تشکیل دهد [٤]. تولید زیست‌توده اسپیرولینا، به دلیل بهره‌وری بسیار بالای زیست‌توده و امکان کشت در محیط آزمایشگاهی، تولید و کشت مداوم و استفاده مجدد از محیط کشت که موجب کاهش مصرف آب می‌شود به یک گزینه بسیار امیدوارکننده جهت تولید انبوه و استفاده در صنایع غذایی تبدیل‌شده است. دی‌اکسید کربن یا منابع کربن آلی باقیمانده حاصل از فرآیندهای صنعتی می‌تواند به‌عنوان منبع کربن برای رشد استفاده شود [۵]. در حال حاضر تولید تجاری فیکوسیانین با استفاده از کشت *فتوتروفیک* آرتروسپیرا در حوضچه‌های باز و نهرها انجام می‌گیرد. علاوه بر این، تولید بهبودیافته کشت‌های *فتوتروفیک* آرتروسپیرا در فتوبیوراکتورهای بسته انجام می‌پذیرد [٦].

امروزه محققان بهینه‌سازی محیط کشت جلبک اسپیرولینا با کمک ضایعات صنایع غذایی و کشاورزی به منظور افزایش راندمان و کاهش هزینه تولید رنگدانه فیکوسیانین پیشنهاد می کنند. ضایعات خرما می‌تواند گزینه‌ی مناسبی برای این امر باشد. سطح زیرکشت خرما در کشور ایران حدود ۲۱۸ هزار هکتار است و با تنوع حدود ٤۰۰ رقم، یک منبع کربن برای کشت اسپیرولینا محسوب می‌شود که جایگاه ویژه‌ای را درکشاورزی کشور ما دارد. آمار نشان می‌دهد ۳۰ درصد تولید خرما به علت نبود صنایع تبدیلی خرما به‌صورت ضایعات به هدر می‌رود. خرما حاوی ترکیبات ارزشمند از قبیل قند، پروتئین، فیبر، ویتامین و مواد معدنی است. با استفاده از ضایعات خرما در تولید رنگدانه‌ی ارزشمند فیکوسیانین و افزایش خاصیت ضد اکسایندگی جلبک اسپیرولینا، می‌توان با کاهش نیاز به مصرف محیط کشت‌های گران‌قیمت صنعتی، هزینه‌های تولید آن را کاهش داده و سبب جلوگیری از هدر رفت ضایعات خرما، این محصول مهم در کشور شد [۷]. علاوه بر آن در رشد ریزجلبک‌ها مواد مغذی مانند آهن، نیتروژن و فسفر به وضوح نقش مهمی ایفا می‌کنند اما بسیاری از ریز جلبک‌ها برای رشد به ویتامینب۱ (تیامین)، ب۷ (بیوتین) یا ب۱۲ نیز نیاز دارند. ب۱۲ به عنوان یک کوفاکتور برای فعالیت متیونین سنتاز، آنزیم کلیدی متابولیسم تک کربنی سلولی مهم است [۸]. بررسی ۳۲٦ گونه جلبک نشان داد که ۱۷۱ گونه برای رشد به ویتامین ب۱۲ نیاز دارند [۹]. تاثیر ویتامین‌ها بر رشد سویه k-2 اسپیرولینا نشان داد که اگرچه سویه K-2 اساساً به ویتامین نیاز ندارد، اما رشد تنها با ویتامینب۱۲ در بین ویتامین‌های ب مورد آزمایش، افزایش یافت. این تفاوت قابل‌توجهی در عملکرد رشد در تیمارهای با ویتامینب۱۲ به تنهایی و در ترکیب با ویتامین‌های دیگر در مقایسه با شاهد نشان داد. بنابراین، عملکرد رشد سویه K-2 در تیمارهای با ویتامینب۱۲ و ترکیب آن‌ها تفاوت معنی‌داری با شاهد داشت [۱۰]

تولید متابولیت در ریزجلبک‌ها نیز به طور مستقیم با منبع نیتروژن و غلظت آن مرتبط است. به طور خاص، ترکیب بیوشیمیایی با توجه به نوع و مقدار نیتروژن مورد استفاده در محیط متفاوت است. نیتروژن یک جزء ضروری در بیوسنتز پروتئین و کربوهیدرات است [۱۱].. استفاده از اوره به‌عنوان منبع نیتروژن برای *اسپیرولینا پلاتنسیس* در کشت‌های مداوم و نیمه مداوم، تولید زیست‌توده را افزایش داد. ازجمله منابع نیتروژن مورداستفاده برای کشت اسپیرولینا KNO_3،

1. microalgae
2. Arthrospira
3. *Arthrospira maxima*
4. *Arthrospira platensis*
5. *Arthrospira fusiformis*
6. Phycobiliprotein

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

$NaNO_3$، اوره، $(NH_4)_2HPO_4$، NH_4NO_3 و $(NH_4)_2SO_4$ می‌باشد [۱۲]. پژوهش توکلی و ولی افتری (۲۰۱۸) نشان داد که افزایش غلظت عصاره خرما از ۰ تا ۲ گرم در لیتر به محیط کشت استاندارد زاروک[7]، سبب افزایش تولید فیکوسیانین توسط جلبک اسپیرولینا کشت داده‌شده طی مدت ۱۰ روز در این محیط می‌گردد. عصاره خرما با دارا بودن مقادیر بالایی از قندهای ساده و ریزمغذی‌ها می‌تواند منبع مناسبی برای غنی‌سازی محیط کشت جلبک اسپیرولینا به منظور افزایش هر چه بیشتر تولید رنگدانه ارزشمند فایکوسیانین و خاصیت ضد اکسایندگی عصاره حاصل از جلبک اسپیرولینا باشد [۷].

پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر سه عامل عصاره ضایعات خرما به‌عنوان منبع کربن(۱ تا ۱/۵ گرم در لیتر گلوکز)، غلظت‌های مختلف ویتامین ب۱۲ (۰/۵ تا ۱/۵ میکروگرم در لیتر) و اوره به‌عنوان منبع نیتروژن (۵۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در شرایط کشت مناسب برای بهینه‌سازی تولید زیست-توده‌ی *اسپیرولینا پلاتنسیس* و همچنین افزایش تولید رنگدانه‌های فیکوسیانین، آلوفایکوسیانین، کاروتنویید و کلروفیل با کمک روش سطح پاسخ، با توجه به این‌که هنوز مطالعات جامعی در زمینه استفاده از ضایعات خرما به‌عنوان منبع کربن و غلظت‌های مختلف ویتامین ب۱۲ برای افزایش تولید رنگدانه فیکوسیانین از *اسپیرولینا پلاتنسیس* وجود ندارد، موردبررسی قرار گرفت.

۲ – مواد و روشها

۲-۱-سویه ریزجلبک و محیط کشت

سویه *اسپیرولینا پلاتنسیس* مورداستفاده در این مطالعه از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه مشهد، ایران خریداری شد. محیط رشد مورداستفاده برای کشت، محیط زاروک بود که با ویتامین ب۱۲ غنی شده بود و از ضایعات خرما به‌عنوان منبع کربن و از اوره به‌عنوان منبع نیتروژن استفاده شد روش کشت در این سیستم به صورت نیمه مداوم بود. محلول ویتامین ب ۱۲ در روز صفر به محیط زاروک اضافه شد. محلول های عصاره ضایعات خرما و اوره به صورت نیمه مداوم در سه مرحله در روز های صفر، چهار و هشت به محیط زاروک اضافه شد. محیط ابتدا در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاوبه مدت ۱۵ دقیقه استریل شد(زنگ و همکاران، ۲۰۱۲).چرخه کشت به‌کاررفته در ۱۴ روز بود و با ۱۶ ساعت دوره روشنایی و ۸ ساعت دوره تاریکی انجام شد. دمای کشت ۰/۵ ±۲۸درجه سانتی گراد بود [۱۳].

۲-۲-اندازه‌گیری زیست‌توده

۱۰۰ میلی‌لیتر از نمونه جمع‌آوری شد.غلظت توده زیستی به کمک روش خشک کردن توسط کاغذ صافی (اندازه حفرات ۰/۴۵میکرومتر) و در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد (ساخت شرکت Memmert، مدل ۱۰۰-۸۰۰، آلمان)به مدت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد [۱۴].

۲-۳- تعیین غلظت فایکوبیلی پروتئین‌ها

۵ میلی‌لیتراز زیست‌توده نمونه در شرایط ۱۰۰۰۰×g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد (پل ایده‌آل تجهیز، مدل Universal 320R، ایران) و سلول‌های جمع‌آوری‌شده با ۵ میلی‌لیتر از محلول بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با pH=۶/۸ همگن‌سازی شد. قرائت میزان جذب محلول استخراجی توسط اسپکتروفتومتر (ساخت شرکت Unico، مدل ۲۱۰۰) در طول موج (OD615) ۶۱۵ و (OD652) ۶۵۲ نانومتر به دست آمد و محتوای فیکوسیانین و آلوفیکوسیانین توسط روابطه ۱ و ۲مورد محاسبه قرار گرفت [۱۳].

رابطه (۱)

$$\text{فیکوسیانین (g/l)} = (OD615 - 0.474 \times OD652)/5.34$$

رابطه (۲)

$$\text{آلوفیکوسیانین (g/l)} = (OD652 - 0.208 \times OD615)/5.09$$

۲-۴-اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنویید

۵ میلی‌لیتر از نمونه‌ی کشت شده‌ی *اسپیرولینا پلاتنسیس* سانتریفیوژ شد و با ۵ میلی‌لیتر محلول متانول ۹۰٪همگن شد. محلول استخراج‌شده دردستگاه اسپکتروفتومتردر ۶۶۵، ۶۵۰ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و میزان کلروفیل و کاروتنویید با توجه به روابطه ۳ و ۴ محاسبه شد [۱۵].

رابطه(۳)

$$\text{محتوای کلروفیل (mg/l)} = 16.5 \times OD665 - 8.3 \times OD650$$

که دراین رابطه OD665 جذب نوری خوانده شد در ۶۶۵nm و OD650 جذب نوری خوانده شد در ۶۵۰nm می‌باشد.

7. Zarrouk

رابطه (٤)

کاروتنوئید (mg/L)=
(1000× OD470 −1.63 ×Chla)/221

در این رابطه OD470 جذب نوری خوانده شد در ٤٧٠ nm می‌باشد.

۲-۵-تحلیل آماری

جهت بررسی تاثیر مقدار کربن (ضایعات خرما)، غلظت اوره و مقدار ویتامین ب۱۲ بر بهینه‌سازی و افزایش *تولیداسپیرولینا پلاتنسیس* و تولیدفیکوسیانین، آلوفیکوسیانین، کلروفیل و کاروتنوئید در این آزمایش از روش سطح پاسخ، طرح مرکب مرکزی در سطح اطمینان ۹۵٪ توسط نرم‌افزار Design-Expert7.0.0انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تاثیر ضایعات خرما، اوره و ویتامین ب ۱۲ در افزایش تولید زیست‌توده

جدول (۱) تاثیر متغیرهای مستقل بر میزان تولید رنگدانه‌های فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین، کلروفیل، کاروتنوئید و تولید زیست‌توده را نشان می‌دهد.جدول آنالیز واریانس نهایی (۲) نشان داد مدل معنادار بوده (p<۰/۰۵) و عدم برازش معنادار نمی‌باشد (P= ۰/۱۱۲٦). ضریب تغییرات برابر با ۱۰/٤۸ می‌باشد و محدوده عددی انتخاب‌شده، قابل‌اطمینان است.

در مدل فوق، متغیر مستقل اوره و ویتامین ب ۱۲ به‌صورت خطی تاثیر معناداری بر زیست‌توده دارد. همچنین برهم‌کنش ویتامین ب ۱۲–ضایعات خرما، ویتامین ب۱۲–اوره و ضایعات خرما نیز به صورت توان ۲ تاثیر معناداری بر تولید زیست‌توده دارد. اوره وضایعات خرما به صورت خطی تاثیر افزاینده و ویتامین ب ۱۲ به صورت خطی تاثیر کاهنده در تولید زیست دارند. استفاده از محیط میکسوتروف حاوی ترکیبات ارگانیک غنی از کربوهیدرات‌ها می‌تواند تاثیر بسیار مطلوبی بر رشد جلبک اسپیرولینا داشته باشد. در مطالعه‌ای که توسط آندراده و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد، ملاس را به عنوان سوبسترای آلی برای کشت میکسوتروف اسپیرولینا تائید و استفاده از محصولات فرعی کشاورزی ارزان قیمت برای کشت چنین ریز سازواره‌ایی را پیشنهاد کردند [١٦]. با توجه به شکل (۱–a) در برهمکنش ویتامین ب ۱۲ و ضایعات خرما، ابتدا در غلظت کم

ویتامین ب ۱۲ تاثیر افزاینده در تولید زیست توده مشاهده می‌شود، ولی با افزایش تدریجی غلظت ویتامین ب۱۲ با تغییرات افزایشی ضایعات خرما میزان تولید زیست توده کاهش می یابد. در نهایت در بیشینه میزان ویتامین ب ۱۲ و همچنین بیشینه میزان ضایعات خرما، کمترین میزان زیست توده تولید می شود. ازآنجا که ضایعات عصاره خرما منبع غنی از گلوگز است در مطالعات انجام شده نشان داده شد که افزودن غلظت بالاتر از ۰/۵ گرم درلیتر گلوکز به محیط کشت میکسوتروف سبب افزایش میزان رشد درجلبک اسپیرولینا می‌گردد [۱۷].

با توجه به شکل (۱–b) در برهمکنش ویتامین ب ۱۲ و اوره نیز ابتدا در غلظت کم ویتامین ب ۱۲ روند افزایشی در تولید زیست‌توده مشاهده می‌شود. اما به تدریج با افزایش غلظت ویتامین ب۱۲، تغییرات افزایشی اوره باعث کاهش میزان تولید زیست توده می شودو در بیشترین مقدار ویتامین ب۱۲ و اوره ، کمترین میزان زیست توده مشاهده می شود. دانشمندان در تحقیق خود بیان کردند کاهش ازت سبب توقف سیکل سلولی و مهار تولید انواع ترکیبات سلولی می‌شود [۱۸]. کمبود نیترات سبب کاهش زیست‌توده و افزایش لیپید می‌گردید؛ بنابراین میزان کم نیتروژن در محیط کشت با کاهش رشد رابطه مستقیم دارد [۱۹]. علاوه بر آن تحقیقات نشان داده است که وجود اوره در محیط کشت موجب تحریک بیشتر سرعت رشد توده سلولی می‌شود [۲۰].

شکل (۱–a و ۱–b) نشان داد، افزایش غلظت ویتامین ب ۱۲ تولید زیست‌توده را افزایش داد. طی تحقیقاتی مشخص شد که افزایش ویتامین تاثیر کاملاً مشهودی بر رشد جلبک *تتراسلمیس سیکا* [۸] دارد. با توجه به اثر افزایش نرخ رشد جلبک *تتراسلمیس سیکا* با وجود ویتامین‌های گروه ب، مشخص می‌شود که وجود ویتامین‌های گروه ب باعث افزایش رشد می‌شود [۱۱]. همچنین مشخص شد که تیامین در میان ویتامین‌هایک فاکتور رشد برای *هماتوکوکوس پلوویالیس*[9] است. به همین ترتیب، استفاده از ویتامین‌ها درکشت‌های مداوم تعداد سلول‌ها را تقریباً ۱۵٪ افزایش داد [۲۱].

8. *Tetraselmis suecica*
9. *Heamatcoccus pluvialis*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

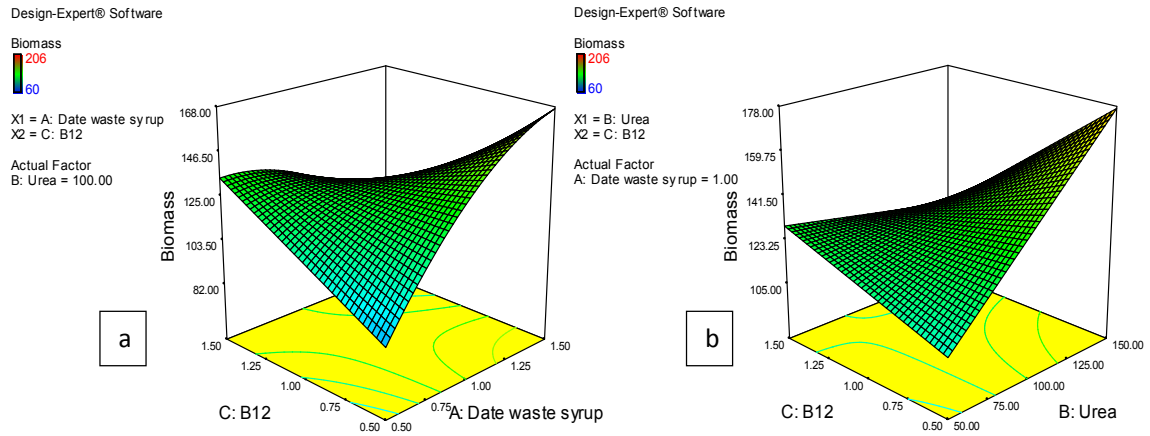

Fig 1 (a) The effect of vitamin B_{12} and date waste extract and (b) effect of urea and B_{12} on *Spirulina platensis* biomass production

Table 1 Effect of independent variables on phycocyanin, allophycocyanin, chlorophyll, carotenoids and biomass production by *Spirulina platensis*

	independent variable			The dependent variable				
experiment	Date waste (g / l)	Urea (mg / l)	Vitamin B12 (µg / l)	Phycocyanin	Allofycocyanin	carotenoid	Chlorophyll	Biomass
				(mg / l)				(g/100g)
1	0.5	50	0.5	21	3.4	3.1	7.6	60
2	1.5	50	0.5	27	1.6	3.72	8.1	116
3	0.5	150	0.5	56	4.6	3.71	7.5	125
4	1.5	150	0.5	120	8.1	3.98	7.2	206
5	0.5	50	1.5	20	1.7	3.60	8.62	135
6	1.5	50	1.5	17	1.9	3.49	7.5	73
7	0.5	150	1.5	26	2	4.07	10.71	128
8	1.5	150	1.5	110	9	3.76	9.77	63
9	0.1	100	1	14	2.5	3.25	8.4	73
10	1.8	100	1	56	4.9	3.38	7.8	124
11	1	15.9	1	17	1.9	3.06	8.2	114
12	1	184	1	127	9.8	4.13	7.92	150
13	1	100	0.1	86	4	3.89	6.8	132
14	1	100	1.8	17	2.1	4	8.18	120
15	1	100	1	23	2.9	3.67	8.42	140
16	1	100	1	26	3.2	3.67	8.98	133
17	1	100	1	32	3	3.67	8.69	140
18	1	100	1	32	3.1	3.9	10	152
19	1	100	1	38	3.5	3.60	8.5	130
20	1	100	1	41	2.7	3.58	8.6	130

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

Table 2 Results of analysis of variance of effect of 3 variables (date wastes (A), urea (B) and B12 (C)) on biomass and phycocyanin and alloficocyanin production by *Spirulina platensis*

	Biomass				Phycocyanin				Allofycocyanin			
Source	df	Mean Square	F Value	P Value	df	Mean Square	F Value	P Value	df	Mean Square	F Value	P Value
Model	6	3342.2	20.38	0.0001[a]	6	3926.5	36.9	0.0001[a]	6	18.14	90.9	0.0001[a]
A	1	671.6	4.1	0.0640	1	3596.8	33.81	0.0001[a]	1	12.31	61.67	0.0001[a]
B	1	2886.4	17.6	0.001[a]	1	12429.0	116.82	0.0001[a]	1	59.36	729.45	0.0001[a]
C	1	1203.1	7.3	0.0179[a]	1	2043.1	19.2	0.0007[a]	1	2.79	13.97	0.0025[a]
AB	-	-	-	-	1	2628.1	24.7	0.0003[a]	1	18.1	90.69	0.0001[a]
AC	1	8712	53.1	0.0001[a]	-	-	-	-	1	3.9	19.52	0.0007[a]
BC	1	3698	22.5	0.0004[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
A2	1	2882.4	17.5	0.0011[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
B2	-	-	-	-	1	2530.9	23.79	0.0003[a]	1	12.39	62.06	0.0001[a]
C2	-	-	-	-	1	513.3	4.82	0.0468		-	-	-
Residual	13	163.9	-	-	13	106.4	-	-	13	0.2		-
Lack of Fit	8	222.01	3.1	0.1126	8	143.6	3.07	0.1161	8	0.29	4.54	0.0561
Pure Error	5	71.1	-	-	5	46.8	-	-	5	0.036	-	-
Cor Total	19	-	-	-	19	3926.5	-	-	19	-	-	-
R-Square			0.9039				0.9445				0.9767	
R-(adj)			0.8596				0.9189				0.9660	
R-(Pred)			0.6712				0.8042				0.9252	

In each column, the numbers marked with a (a) are significant at the five percent level.

Table 3 Results of final analysis of variance The effect of 3 variables variables (date wastes (A), urea (B) and B12 (C)) on carotenoid and chlorophyll production by *Spirulina platensis*

	carotenoid				Chlorophyll			
Source	df	Mean square	F Value	P Value	df	Mean square	F Value	P Value
Model	6	0.26	19.15	0.0001[a]	4	2.81	6.95	0.0023[a]
A	1	0.036	2.67	0.1261	-	-	-	-
B	1	0.85	63.93	0.0001[a]	1	0.62	1.53	0.2354
C	1	0.027	2.06	0.1749	1	5.33	13.16	0.0025[a]
AB	-	-	-	-	-	-	-	-
AC	1	0.22	16.6	0.0013[a]	-	-	-	-
BC	-	-			1	3.60	8.88	0.0094[a]
A2	1	0.19	14.28	0.0023[a]	-	-	-	-
B2	-	-						
C2	1	0.17	12.68	0.0035[a]	1	1.71	4.23	0.0576
Residual	13	0.013	-	-	15	0.41	-	-
Lack of Fit	8	0.014	1.09	0.4865	10	0.43	1.26	0.4232
Pure Error	5	0.013	-	-	5	0.35	-	-
Cor Total	19	-	-	-	19	-	-	-
R-Square			0.8983				0.6495	
R-(adj)			0.8514				0.5560	
R-(Pred)			0.7750				0.3498	

In each column, the numbers marked with a (a) are significant at the five percent level.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

۳-۲ تاثیر ضایعات خرما، اوره و ویتامین ب ۱۲ در افزایش تولید فیکوسیانین

با توجه به جدول (۲) مدل معنادار است (p<۰/۰۵) و عدم برازش معنی‌دار نمی‌باشد (P= ۰/۱۱۶۱). ضریب تبیین برابر با ۰/۹۰۳۹ می‌باشد. در مدل فوق، متغیرهای مستقل اوره، ضایعات خرما و ویتامین ب ۱۲، به‌صورت خطی، همچنین برهم‌کنش اوره–ضایعات خرما و اوره به‌صورت توان ۲ و همچنین ویتامین ب ۱۲ به‌صورت توان ۲ به‌طور معناداری بر میزان فیکوسیانین مؤثر است.

شکل (۲–a) نشان داد اوره وضایعات خرما به صورت خطی باعث افزایش تولید فیکوسیانین می‌شوند با افزایش غلظت محلول خرما در محیط، غلظت فیکوسیانین افزایش می‌یابد. هرچند در ابتدا این تغییر زیاد معنادار نمی‌باشد ولی با افزایش غلظت به بیش از ۰/۵ گرم در لیتر مقدار فیکوسیانین تولیدی رو به افزایش می‌گذارد تا اینکه در غلظت ۲ گرم در لیتر به حداکثر مقدار خود می‌رسد [۷]. عصاره ضایعات خرما منبع غنی از گلوکز است [۲۲]. مشاهدات حاکی از آن است که گلوکز بیشترین تولید فیکوسیانین را داشت [۲۳]. افزایش غلظت اوره همراه با تغییرات افزایشی ضایعات خرما سبب افزایش تولید فیکوسیانین باشیب زیاد می‌شود. در کشت‌های میکسوتروف، متابولیسم فتوسنتزو سوخت و ساز اکسیداتیو گلوکز به‌طور همزمان انجام می‌گیرد (توکلی و ولی-افتری،۱۳۹۷) در کشت میکسوتروف حاوی گلوکز میزان فیکوسیانین در طول ۲۷۰ ساعت کشت به‌طور یکنواختی افزایش‌یافته و به حداکثر میزان تولید می‌رسد [۲٤]. تولید انواع رنگ‌دانه بالاخص فیکوسیانین در کشت میکسوتروف حاوی گلوکز در مقایسه باکشت استاندارد اسپیرولینا به میزان ۱/۵ تا دو برابر افزایش نشان می‌دهد. یافته‌ها نشان داد که جلبک اسپیرولینا به طور همزمان از کربن عالی طی هتروتروف و معدنی طی فتوسنتزاستفاده می‌کند [۲۵]. افزایش میزان نیتروژن در تمام محیط کشت‌های موردمطالعه باعث افزایش میزان پروتئین در ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس*گردیده است [۲٦]. در شرایط کمبود منبع نیتروژن متوجه کاهش فیکوسیانین‌ها شدند که از مهم‌ترین رنگ‌دانه‌ها (تا ۱۵ درصد وزن خشک) می‌باشد [۱۲]. همانطور که در شکل (۲–b) با افزایش ویتامین ب ۱۲ میزان تولید فیکوسیانین به صورت خطی کاهش می یابد اما در ادامه افزایش ویتامین ب ۱۲ به صورت توان ۲ میزان تولید فیکوسیانین افزایش می یابد. در این رابطه مطالعات محدود و اندکی صورت گرفته اما احتمال می‌رود غلظت‌های بالای ویتامین ب ۱۲ بر چرخه‌ی تولید رنگدانه فیکوسیانین تاثیر گذاشته و تولید آن را کاهش می‌دهد.

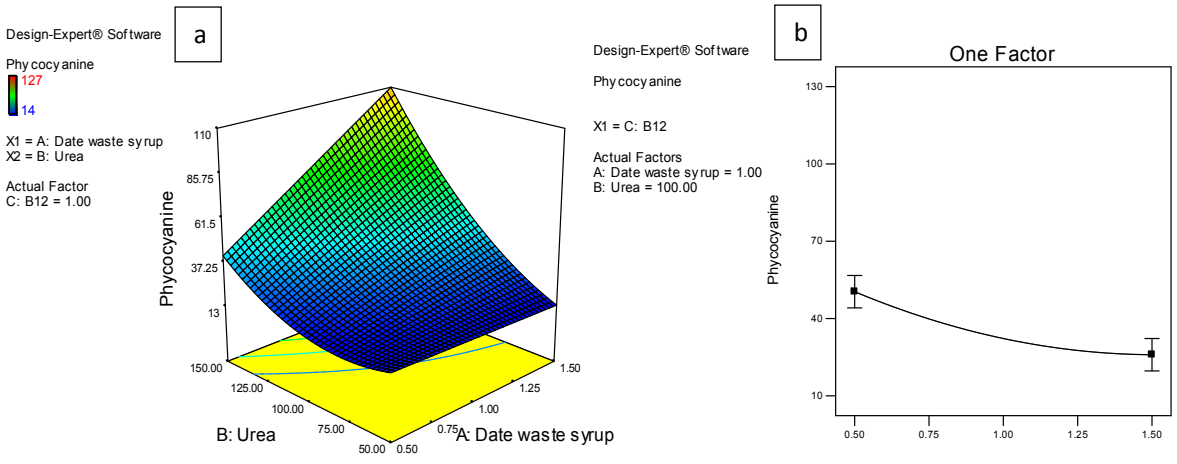

Figure 2 (a) The effect of urea and date waste extract and (b) vitamin B_{12} on production of phycocyanin by *Spirulina platensis*

۳-۳- تاثیر ضایعات خرما، اوره و ویتامین ب ۱۲ در افزایش تولید آلوفیکوسیانین

همان‌گونه که در جدول ۲ مشخص‌شده، مدل معنادار بوده (p<۰/۰۵) و عدم برازش معنادار نمی‌باشد (P= ۰/۰۵٦۱). بالا بودن ضریب تبین حاکی از مناسب بودن مدل فوق جهت پیش

بینی میزان منغیر پاسخ است.

متغیرهای مستقل اوره، ضایعات خرما و ویتامین ب ۱۲، به‌صورت خطی، همچنین برهم‌کنش اوره–ضایعات خرما و برهم‌کنش ضایعات خرما–ب ۱۲ و درنهایت اوره به‌صورت توان ۲ برمیزان آلوفیکوسیانین معنادار است. براساس شکل (۳-a) تاثیر اوره وضایعات خرما به صورت خطی همچنین اوره به صورت توان ۲ تاثیر افزاینده درتولید آلوفیکوسیانین دارد. در برهمکنش اوره وضایعات خرما در غلظت کم اوره با تغییرات افزایشی ضایعات خرما تاثیر چندانی در افزایش تولید الوفیکوسیانین مشاهده نمی شود ولی با افزایش غلظت اوره تغییرات افزایشی ضایعات خرما باعث افزایش میزان تولید الوفیکوسیانین می شود. این نتایج با پژوهش‌های آجایان و همکاران در سال ۲۰۱۲ مطابقت دارد. آن‌ها دریافتند که مقدارفیکوسیانین و آلوفیکوسیانین درشدت نور ٤ کیلولوکس زمانی که اوره به‌عنوان منبع نیتروژن استفاده می‌شود به حداکثر رسید [۲۷].

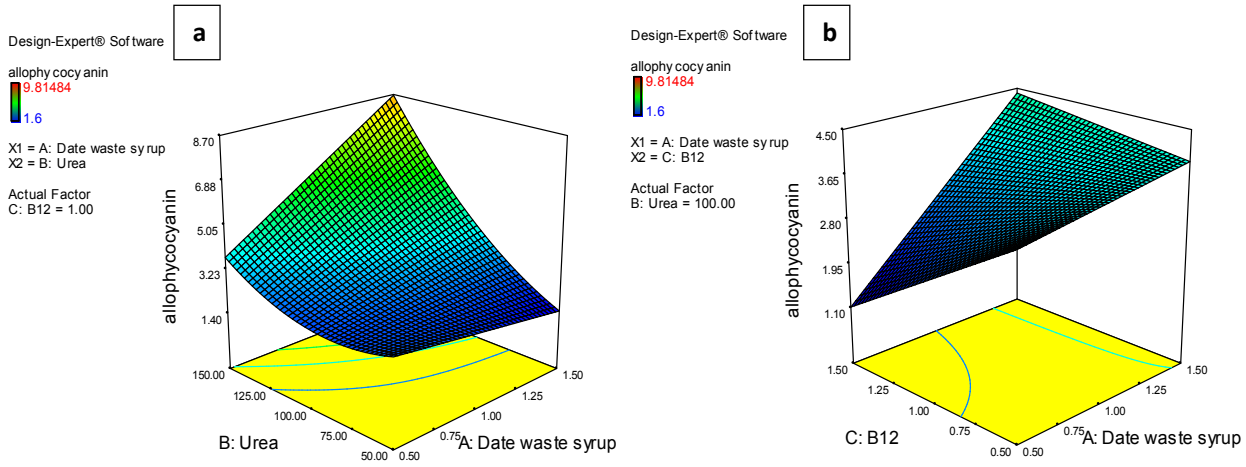

Figure 3 (a) The effect of urea and date waste extract and (b) vitamin B_{12} and date waste extract on production of allophycocyanin by *Spirulina platensis*

اوره از سوبستراهای نیتروژنی ارزان قیمتی است که غلظت مشخصی از آن باعث بهبود رشد و نیز تولید رنگدانه در *اسپیرولینا پلاتنسیس* می‌شود [۲۰]. ویتامین ب ۱۲ به صورت خطی روند کاهشی در تولید الوفایکوسیانین دارد. متاسفانه پژوهش های اندکی در این رابطه وجود دارد. بررسی شکل (۳-b) نشان می‌دهد در برهمکنش ویتامین ب ۱۲ و ضایعات خرما در غلظت کم ویتامین ب ۱۲ تغییرات افزایشی ضایعات خرما تاثیر قابل توجهی در افزایش تولید الوفایکوسیانین دارد ولی در غلظت کم ضایعات خرما با افزایش میزان ویتامین ب ۱۲ میزان تولید الوفایکوسیانین کاهش می یابد. در همین راستا مشخص شد که حضور گلوکز در محیط باعث تحریک رشد و تولید فیکوبیلی‌پروتئین در سیانو باکتری *کالوتریکس النکنی*[10] شد [۲۸]. کواک و همکاران در سال ۲۰۱۷ دریافتند که محتوای فیکوبیلی پروتئین در حضور گلوکز در ۳ سویه (اسپیرولینا و دو سویه انابینا[11])، افزایش یافت. تأثیر ویژه سوبستراهای آلی در سویه‌های *S2* اسپیرولینا مشاهده شد که روی محیط کشت با گلوکز رشد کردند که در آن محتوای فیکوسیانین ۲۳ برابر بیشتر بودو محتوای آلوفیکوسیانین ۱۹ برابر در مقایسه با شاهد بیشتر بود [۲۹]. با توجه به نتایج بالا می‌توان نتیجه گرفت که عصاره ضایعات خرما بر تولید رنگدانه در اسپیرولینا تاثیر گذار است.

۳-٤- تاثیر ضایعات خرما، اوره و ویتامین ب ۱۲ در افزایش تولید کاروتنوئید

همان‌گونه که در جدول (۳) مشخص‌شده، مدل معنادار بوده ($p<۰/۰۵$) و عدم برازش معنادار نمی‌باشد ($P= ۰/٤٨٦٥$). ضریب تغییرات (C.V) برابر با ۳/۱۵، مقدار ضریب تبیین تعدیل‌شده (adjusted-R^2) برابر با ۰/۸۵۱٤ می‌باشد. در مدل

10. *Calothrix elenkenii*

11. Anabaena

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

فوق، متغیر مستقل اوره، ضایعات خرما و ویتامین ب ۱۲ به‌صورت خطی، همچنین برهم‌کنش ضایعات خرما و ویتامین ب ۱۲ و درنهایت ضایعات خرما به‌صورت توان ۲ و ویتامین ب ۱۲ نیز به‌صورت توان ۲ بر متغیر کاروتنوئید تاثیر معناداری دارد.

اوره (با توجه به شکل (٤-b))، ضایعات خرما و ویتامین ب ۱۲ به صورت خطی تاثیر افزاینده در تولید کاروتنوئید دارند. نتایج نشان داد عصاره خرما منبع انواع کربوهیدرات‌ها می‌باشد [۲۲]. با توجه به پژوهش‌های پیشین مشاهده شد افزایش غلظت کربن در محیط باعث افزایش زیست‌توده و ترکیبات سلولی ازجمله رنگدانه‌هاو لیپیدها در اسپیرولینا می‌شود[۳۰]. به‌طورکلی باافزایش منبع کربنی در سیستم‌های تولید تجاری، می‌توان بازده تولید ترکیبات باارزش نظیر چربی و رنگدانه را افزایش داد [۳۱]. محتوای کاروتنوئید اسپیرولینا تحت شرایط رشد با استفاده ازاوره به عنوان منبع نیتروژن و شدت نور پایین به‌طورقابل‌ملاحظه‌ایی افزایش می‌یابد [۲۷]. ضایعات خرما هم به صورت توان ۲ تاثیرکاهنده در تولید کاروتنوییید دارد. ویتامین ب ۱۲ به صورت توان ۲ تاثیر افزاینده در تولید کاروتنوییید دارد. این تفاوت در تاثیر ویتامین ب ۱۲ بر تولید رنگدانه‌ها احتمالا به دلیل ماهیت پروتئینی و لیپیدی رنگدانه‌ها است. بررسی شکل (٤-a) نشان می‌دهد که در برهمکنش ویتامین ب ۱۲ وضایعات خرما ابتدا در غلظت کم ویتامین ب ۱۲ با تغییرات افزایشی ضایعات خرما بیشترین میزان کاروتنوییید تولید می شود. همچنین در غلظت کم ضایعات خرما با تغییرات افزایشی ویتامین ب ۱۲ میزان تولید کاروتنوییید افزایش می یابد. ولی برهمکنش ویتامین ب ۱۲ وضایعات خرما به صورت معکوس تاثیرگذار است. در بیشینه میزان ضایعات خرما وویتامین ب ۱۲ روندی کاهشی در تولید کاروتنوییید مشاهده می شود.

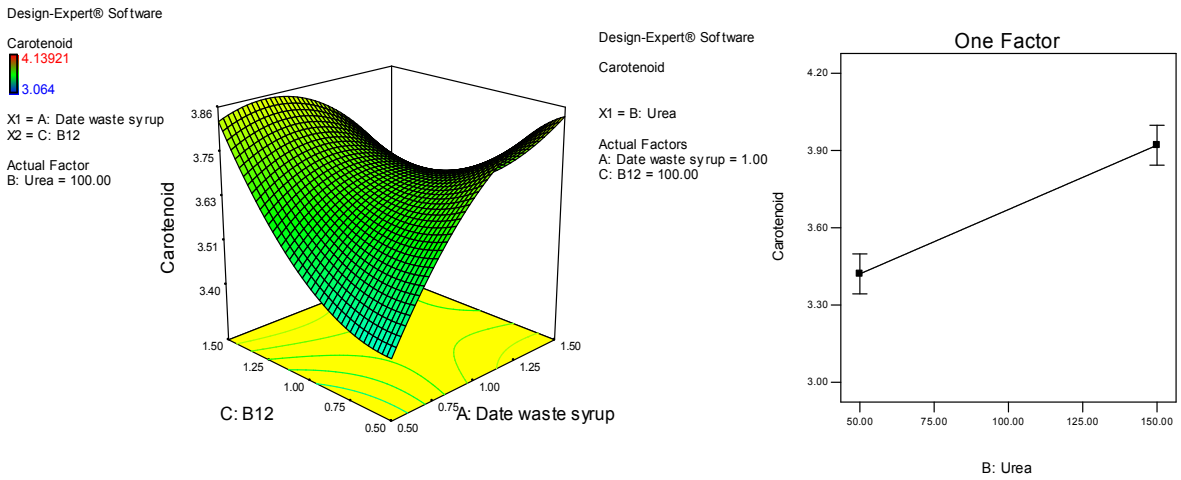

Fig 4 (a) The effect of vitamin B_{12} and date waste extract and (b) urea on carotenoid production by *Spirulina platensis*

۳-۵- تاثیر ضایعات خرما، اوره و ویتامین ب ۱۲ در افزایش تولید کلروفیل

مشاهدات جدول (۳) نشان داد، مدل معنادار بوده (p<۰/۰۵)و عدم برازش معنادار نمی‌باشد (P= ۰/٤۲۳۲)، ضریب تبیین برابر ۰/٦٤۹۵می‌باشد. در این مدل، متغیر مستقل ویتامین ب ۱۲، به‌صورت خطی ، همچنین برهم‌کنش ویتامین ب۱۲ و اوره و ویتامین ب ۱۲ به‌صورت توان ۲ تاثیر معناداری دارد. اوره و ویتامین ب۱۲ به صورت خطی باعث افزایش تولید کلروفیل می شوند. مطابق با یافته‌های دامیچی و همکاران (۲۰۱۸)غلظت کلروفیل می‌تواند به عنوان یک سنجش غیرمستقیم ازغلظت زیست‌توده، استفاده شود به طوری‌که غلظت کلروفیل با افزایش غلظت زیست‌توده افزایش می‌یابد [۳۲].

ویتامین ب ۱۲ به صورت توان ۲ تاثیر منفی در تولید کلروفیل دارد. با توجه به شکل ۵ در برهمکنش ویتامین ب ۱۲ واوره

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

ابتدا درغلظت کم ویتامین ب ۱۲ باتغییرات افزایشی اوره افزایش میزان تولید کلروفیل نسبتا ثابت است . به تدریج با افزایش میزان ویتامین ب ۱۲ تغییرات افزایشی اوره باعث افزایش تولید کلروفیل با شیب نسبتا تندی می شود این روند افزایشی ادامه می یابد تا در بیشترین میزان ویتامین ب ۱۲ وبیشترین میزان اوره میزان تولید کلروفیل به بیشینه خود می رسد. در همین راستا مشخص شد که میزان رنگدانه‌های کلروفیلa و کارتنوئید با افزایش میزان نیتروژن افزایش می‌یابد [۲۶]. علاوه بر آن شناخته‌شده است، تحت کمبود منبع نیتروژن، محتوای کلروفیل *اسپیرولینا پلاتنسیس* کاهش می‌یابد و به جای رنگ سبز-آبی کلاسیک، یک رنگ سبز-زرد نشان می‌دهد [۳۳]. با توجه به اینکه افزایش ویتامین ب۱۲ باعث افزایش تولید کلروفیل می شود مطالعات اندکی در این مورد صورت گرفته است. با توجه به ماهیت متفاوت رنگدانه کلروفیل، انتظار میرود ویتامین ب ۱۲ بر رشد اسپیرولینا تاثیر مثبت می‌گذارد.

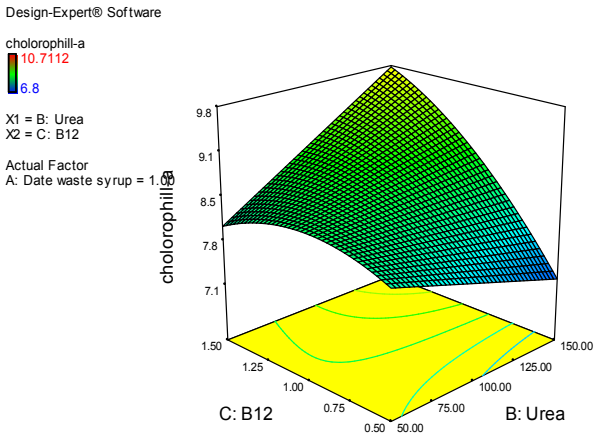

Fig 5 The effect of vitamin B_{12} and urea on production of chlorophyll by *Spirulina platensis*

٤- نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش تاثیر سه عامل عصاره ضایعات خرما، اوره و ویتامین ب ۱۲ در بهینه‌سازی و افزایش تولید *اسپیرولینا پلاتنسیس* و تولید رنگدانه‌های فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین، کاروتنوئید و کلروفیل را مورد بررسی قرار داد. با توجه به نتایج می‌توان نتیجه گرفت که اضافه کردن اوره و عصاره ضایعات خرما به محیط کشت باعث افزایش میزان تولید زیست‌توده و افزایش تولید رنگدانه‌های فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین، کاروتنوئید و کلروفیل می‌شود. از این رو می-توان از اوره به عنوان یک منبع غنی و ارزان نیتروژن و از ضایعات خرما به عنوان یک منبع کربن غنی از انواع کربوهیدرات‌ها برای کشت اسپیرولینا استفاده کرد. نتایج حاصل از تاثیر ویتامین ب ۱۲ نشان داد که ویتامین ب ۱۲ باعث افزایش تولید زیست‌توده و رنگدانه کاروتنوئید وکلروفیل شد. علاوه بر این استفاده از ویتامین ب ۱۲ در محیط کشت در غلظت بالا، تاثیر منفی بر تولید رنگدانه فیکوسیانین و آلوفیکوسیانین داشت. می‌توان نتیجه گرفت که غلظت ویتامین ب ۱۲ در ارتباط با رنگدانه‌ی مورد نظر باید به صورت بهینه استفاده شود تا بیشترین تولید رخ دهد.

درشرایط بهینه کشت در محدوده ویتامین ب ۱۲، ۰/۵ میکروگرم در لیتر، عصاره ضایعات خرما، ۱/۵ گرم در لیتر گلوکز، اوره، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر میزان بیومس، فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین، کاروتنوئید و کلروفیل به ترتیب ۲۰۳ (g/100g)، ۱۲۸، ۸/۴۲ ، ٤/۰۹ و ۷/۲ میلی گرم در لیتر است. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که غلظت ویتامین ب ۱۲ به همراه استفاده از ضایعات خرما شرایط میکسوتروفی را در رشد *اسپیرولینا پیلاتنسیس* ایجاد می کند که منجر به افزایش تولید زیست توده و رنگدانه‌های حاصل می شود.

٥-منابع

[1] Baneshi F, Azizi M, Saberi M, Farsi M. Gibberellic acid, amino acids (glycine and L-leucine), vitamin B2 and zinc as factors affecting the production pigments by

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

Monascus purpureus in a liquid culture using response surface methodology. African Journal of Biotechnology. 2014;13(13).

[2] Velmurugan P, Hur H, Balachandar V, Kamala-Kannan S, Lee KJ, Lee SM, Chae JC, Shea PJ, Oh BT. Monascus pigment production by solid-state fermentation with corn cob substrate. Journal of bioscience and bioengineering. 2011 Dec 1;112(6):590-4.

[3] Soni RA, Sudhakar K, Rana RS. Comparative study on the growth performance of Spirulina platensis on modifying culture media. Energy Reports. 2019 Nov 1;5:327-36.

[4] Doke JM. An improved and efficient method for the extraction of phycocyanin from Spirulina sp. International Journal of Food Engineering. 2005 Dec 5;1(5).

[5] Lima GM, Teixeira PC, Teixeira CM, Filócomo D, Lage CL. Influence of spectral light quality on the pigment concentrations and biomass productivity of Arthrospira platensis. Algal research. 2018 Apr 1;31:157-66.

[6] Shi WQ, Li SD, Li GR, Wang WH, Chen QX, Li YQ, Ling XW. Investigation of main factors affecting the growth rate of Spirulina. Optik. 2016 Aug 1;127(16):6688-94.

[7] Tavakoli M, Vali Aftari R. In vitro effects of dates waste on phycocyanin production by Spirulina algae and evaluation of antioxidant activity. Iranian Food Science and Technology. 2018 *15*(78) :25-31

[8] Helliwell KE, Lawrence AD, Holzer A, Kudahl UJ, Sasso S, Kräutler B, Scanlan DJ, Warren MJ, Smith AG. Cyanobacteria and eukaryotic algae use different chemical variants of vitamin B12. Current Biology. 2016 Apr 25;26(8):999-1008.

[9] Croft MT, Lawrence AD, Raux-Deery E, Warren MJ, Smith AG. Algae acquire vitamin B 12 through a symbiotic relationship with bacteria. Nature. 2005 Nov;438(7064):90-3.

[10] Baldia SF. Effects of physico-chemical factors and nutrients on the growth of Spirulina platensis isolated from Lake Kojima, Japan. 1991;57(3):481-90.

[11] Shanthi G, Premalatha M, Anantharaman N. Effects of L-amino acids as organic nitrogen source on the growth rate, biochemical composition and polyphenol content of Spirulina platensis. Algal research. 2018 Nov 1;35:471-8.

[12] Soletto D, Binaghi L, Lodi A, Carvalho JC, Converti A. Batch and fed-batch cultivations of Spirulina platensis using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources. Aquaculture. 2005 Jan 3;243(1-4):217-24.

[13] Torabi S, Jahadi M, Ghasemi SN. Effects of Agitation and Aeration on GrowthKinetics of Spirulina platensisandProduction of Natural Pigments in Stirred Photobioreactor. Research and Innovation in Food Science and Technology. 2021 Dec: 19;10(3):261-72

[14] Zhang L, Chen L, Wang J, Chen Y, Gao X, Zhang Z, Liu T. Attached cultivation for improving the biomass productivity of Spirulina platensis. Bioresource technology. 2015 Apr 1;181:136-42.

[15] Banayan S, Jahadi M, Fazel M. Investigation of Influencing Factors on Production of Chlorophyll and Carotenoid Pigments from Spirulina Platensis Using Platelet-Burman Design. Journal of Food Microbiology. 2020. 7(2): 70-81.

[16] da Rosa Andrade M, Vieira Costa JA. Culture of microalga Spirulina platensis in alternative sources of nutrients. Ciência e Agrotecnologia. 2008 Sep 1;32(5):1551-6.

[17] Chojnacka K, Noworyta A. Evaluation of Spirulina sp. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. Enzyme and microbial technology. 2004 Apr 2;34(5):461-5.

[18] Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, Ghirardi M, Posewitz M, Seibert M, Darzins A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. The plant journal. 2008 May;54(4):621-39.

[19] Griffiths MJ, Harrison ST. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. Journal of applied phycology. 2009 Oct;21(5):493-507.

[20] Soheili M, Rezaei K, Mortazavi AS, Khosravi Darani K, Hashemi M, Komili R, Ahmadi N. Production of phycocyanin by the alga Spirulina platensis. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Industry, 2013 Mar 10;7(5):787-97

[21] Göksan T, Ak İ, Kılıç C. Growth characteristics of the alga Haematococcus pluvialis flotow as affected by nitrogen source, vitamin, light and aeration. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 2011 Sep 1;11(3).

[22] Al-Farsi M, Alasalvar C, Al-Abid M, Al-Shoaily K, Al-Amry M, Al-Rawahy F. Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. Food chemistry. 2007 Jan 1;104(3):943-7.

[23] Faraji D, Rezaei K, Kalantari M, Hashemi Ravan M, Gol Makani M, Faraji N. Optimization of different conditions (temperature, change of light intensity, culture methods (discontinuous and semi-continuous) and type of carbon source) for maximum phycocyanin production by the microalgae Spirulina platensis (Arthrospira platensis). Food Science and Nutrition. 2015. 12 (1): 91-99.

[24] Chen F, Zhang Y. High cell density mixotrophic culture of Spirulina platensis on glucose for phycocyanin production using a fed-batch system. Enzyme and microbial technology. 1997 Feb 15;20(3):221-4.

[25] Marquez FJ, Nishio N, Nagai S, Sasaki K. Enhancement of biomass and pigment production during growth of Spirulina platensis in mixotrophic culture. Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental and Clean Technology. 1995 Feb;62(2):159-64.

[26] Gargij Jaski M, Yahya M, Rouhani Qadiklayi K, Salarzadeh O'R. The effect of different nitrogen sources on the amount of biomass and protein content of green-blue alga Spirulina platensis. Iranian Journal of Fisheries. 2019. 27 (6): 57-65.

[27] Ajayan KV, Selvaraju M, Thirugnanamoorthy K. Enrichment of chlorophyll and phycobiliproteins in Spirulina platensis by the use of reflector light and nitrogen sources: An in-vitro study. Biomass and bioenergy. 2012 Dec 1;47:436-41.

[28] Hyperproduction of phycobiliproteins by the cyanobacterium Anabaena fertilissima PUPCCC 410.5 under optimized culture conditions.

[29] Kovač D, Babić O, Milovanović I, Mišan A, Simeunović J. The production of biomass and phycobiliprotein pigments in filamentous cyanobacteria: the impact of light and carbon sources. Applied Biochemistry and Microbiology. 2017 Sep;53(5):539-45.

[30] Banayan S, Jahadi M, Khosravi_darani K, Pigment Productions by Spirulina platensis as a Renewable Resource. 10.30491/JABR.2021.292076.1406

[31] Sujatha K, Nagarajan P. Influence of different carbon concentrations on growth and biochemical constituents of Spirulina platensis (Geitler). J Ecotoxicol Environ Monit. 2013. 21(4): 249–252.

[32] Deamici KM, Santos LO, Costa JA. Magnetic field action on outdoor and indoor cultures of Spirulina: Evaluation of growth, medium consumption and protein profile. Bioresource technology. 2018 Feb 1;249:168-74.

[33] Carvalho JC, Pandey AS, Babitha SU, Soccol CR. Production of Monascus biopigments: an overview. Agro Food Industry Tech–Hi. 2003 Nov 1;14(6):37-43.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Optimization of *spirulina platensis* and natural pigment production by response surfaces production

Salehian Lenji, N. [1], Jahadi, M. [2,3*], Ataabadi, M. [4]

1. MSc. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Isfahan Branch (Khorasgan), Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Isfahan Branch (Khorasgan), Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
3. Seed Research and Production Center, Isfahan Branch (Khorasgan), Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
4. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Isfahan Branch (Khorasgan), Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 09/ 12
Accepted 2022/ 12/ 12

Keywords:

Date waste,
Phycocyanin,
Spirulina platensis,
Submerged fermentation,
Vitamin B_{12}.

DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8

*Corresponding Author E-Mail:
m.jahadi@khuisf.ac.ir

ABSTRACT

Spirulina platensis has attracted special attention in various industries due to its natural pigments with specific performance characteristics. In this study, the effects of vitamin B_{12} (0.5 to 1.5 µg/l), date waste extract as a carbon source (1 to 1.5 g/l of glucose), and urea as a source of nitrogen (50 to 150 mg / l) parameters by fed-batch feeding under submerged culture was optimized and the production of *Spirulina platensis* and natural pigments were examined. The results showed that the addition of urea and date waste extract increased the production of biomass and phycocyanin, allophycocyanin, carotenoids, and chlorophyll. The results of the effect of vitamin B_{12} showed that this vitamin in low concentration has a positive effect on the production of spirulina and the pigments phycocyanin, allophycocyanin, carotenoids, and chlorophyll. Also, the use of date waste extract with vitamin B12 should be used optimally in combination with each other to achieve the highest production efficiency of biomass and pigments phycocyanin, allophycocyanin, carotenoids, and chlorophyll. At low concentrations of vitamin B_{12}, increasing changes in date waste increase carotenoid production. Also, in low concentrations of date waste, with increasing changes in vitamin B_{12}, carotenoid production increases, but in the highest concentration of these two variables, carotenoid production decreases due to the opposite effect. In high concentrations of vitamin B_{12}, increasing changes in urea increase chlorophyll production. At the optimized condition, (vitamin B_{12} 0.5 µg.l^{-1}, date waste extract 1.5 g.l^{-1} of glucose, urea 150 mg.l^{-1}) the biomass, phycocyanin, allophycocyanin, carotenoids and chlorophyll contents were 203 (g/100g) 128, 8.42, 4.09 and 7.2 (mg.l^{-1}). It can be concluded that vitamin B_{12} along with the use of date waste creates mixotrophic conditions in the growth of *Spirulina platensis*, which leads to increased production of biomass and natural pigments.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-29]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.131.27.8]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.131.343]