کشت میکسوتروف (*Arthrospira platensis*) و مقایسه اثرات افزودن منابع کربنی مختلف به محیط کشت در تولید زیتوده و محتوای فیکوبیلی پروتئین ها

زهرا سلطانی‌فر، محمدعلی نعمت اللهی*، سید ولی حسینی

[1]گروه شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران. کرج، ایران.

*نویسنده مسئول: malahi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۱۸

چکیده

میکروجلبک اسپیرولینا (*Arthrospira platensis*) حاوی متابولیت‌های ارزشمندی مانند پروتئین‌ها، ترکیبات آنتی‌اکسیدان، لیپیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشد و به عنوان غذای انسان، جانوران و نوعی غذا دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد. ثابت شده است که تغییرات فیزیولوژیک در جلبک به شرایط محیطی در حین رشد بستگی دارد. مطالعه حاضر اثر افزودن منابع کربنی مختلف را بر تولید زی‌توده و محتوای ترکیبات درون سلولی با تمرکز بر تولید فیکوبیلی پروتئین‌ها سنجیده است و افزودن منبع کربن به محیط کشت بصورت روزانه (مشابه غذادهی روزانه) صورت گرفت تا همواره غلظت یکسانی از مواد کربنی در اختیار ارگانیسم‌ها قرار داشته باشد. بدین منظور قند سدیم استات در سه غلظت ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر و قند گلیسرول با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ سی سی به صورت روزانه به محیط کشت اضافه گردید. نتایج نشان داد که افزودن قند سدیم استات در هر مقدار می‌تواند جلبک را به سمت تولید زی‌توده بیشتر سوق دهد و اثر معناداری در افزایش تولید فیکوسیانین درون سلول جلبکی داشته باشد ($P\leq0.05$). به این ترتیب همبستگی معنادار مثبتی بین مقادیر سدیم استات و تولید زی‌توده جلبکی و مقدار فیکوسیانین مشاهده گردید. قند گلیسرول اما بیشتر بصورت اثرگذاری بر تولید زیتوده عمل می‌کند و به‌نظر می‌رسد که تاثیر مثبتی در افزایش وزن زی‌توده دارد و تاثیر آن بر تولید رنگدانه‌های فیکوبیلی پروتئینی نیاز به مطالعه بیشتر دارد.

واژگان کلیدی: اسپیرولینا، کشت میکسوتروف، منابع کربنی، فیکوسیانین، زی‌توده.

مقدمه

با توجه به افزایش جمعیت و بحران غذا، تولید پروتئین از منابع گیاهی به‌عنوان جایگزین پروتئین‌های حیوانی همواره مورد توجه بوده است. میکروجلبک اسپرولینا (*Arthrospira platensis*) به‌عنوان منبعی غنی از پروتئین‌های گیاهی اخیراً بسیار مورد توجه قرار گرفته است. این جلبک حاوی متابولیت‌های ارزشمندی مانند پروتئین‌ها، ترکیبات آنتی‌اکسیدان، لیپیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشد و به‌عنوان غذای انسان، جانوران و نوعی غذادارو مورد استفاده قرار می‌گیرد. حضور این گیاهان کوچک در جیره غذایی، به دلیل دارا بودن ترکیبات خاص مانند اسیدهای آمینه ضروری، تری‌گلیسریدها و خواص آنتی‌اکسیدانی قوی باعث بهبود مقاومت در برابر بیماری‌ها و افزایش سلامت عمومی بدن می‌شود (Khan *et al*., 2005). این جلبک‌ها به طور بالقوه می‌توانند جایگزین برخی از مواد خام معمول در غذای آبزیان شوند و یا مصرف آن‌ها را کاهش دهند. از مزایای دیگر این ریزجلبک‌ها می‌توان به رشد آن‌ها در طیف وسیعی از زیستگاه‌ها، تولید چند برابری زی توده نسبت به گیاهان، داشتن نیازهای تغذیه‌ای ساده، بالا بودن سرعت تقسیم آن‌ها و توانایی ساخت و گردآوری متابولیت‌های مهم اشاره کرد (Chia *et al*., 2013).

میکروجلبک‌ها معمولاً به سه طریق کشت اتوتروفیک، کشت هتروتروفیک (با افزودن منبع کربنی) و یا کشت میکسوتروفیک بسته به نوع گونه و نیاز پرورش دهنده کشت می‌شوند. کشت میکسوتروفیک معمولاً ترکیب کشت‌های هتروتروفیک و کشت اتوتروفیک با استفاده از نور می‌باشد که جهت افزایش تولید زی‌توده و همچنین افزایش تولید

پروتئین‌ها و سایر ترکیبات ارزشمند درون سلولی استفاده می‌گردد (Garcia *et al*., 2011). تغییرات فیزیولوژیک در جلبک به شرایط محیطی در حین رشد بستگی دارد (Chia *et al*., 2013) و مواد غذایی به ویژه ترکیبات نیتروژنی و فسفری اثر زیادی بر رشد و تولید پروتئین و رنگیزه‌ها در جلبک‌ها دارند (Ribeiro *et al*., 2013).

گونه‌های متنوعی از جلبک‌های اتوتروف وجود دارند که می‌توانند افزودن مصنوعی مواد قندی را به عنوان منبع کربن در محیط کشت در شرایط هتروتروفیک و میکسوتروفیک تحمل کنند. طیف گسترده‌ای از ترکیبات استاندارد می‌توانند در مقیاس آزمایشگاهی به‌عنوان منبع قندی اضافی به محیط کشت اضافه گردند؛ با این حال در کشت‌های انبوه و مقیاس صنعتی موفقیت چندانی در این زمینه حاصل نشده است زیرا که جلبک‌های حاصل از این روش‌ها در مقیاس صنعتی معمولاً تراکم پایین و محتوای چربی پایینی دارند (Ritu verma *et al*., 2020). مطالعاتی که اثر افزودن منابع کربنی مختلف را در تولید زی‌توده یا محتوی ترکیبات سلول می‌سنجند، عموماً بر میزان اسیدهای چرب تمرکز دارند. همچنین افزودن منابع کربنی به صورت یک یا دو بار در طی کشت انجام می‌گیرد. هدف کلی این پروژه تحقیقاتی دست‌یابی به حداکثر بازدهی در تولید رنگدانه‌های فیکوبیلین در اسپیرولینا می‌باشد و با توجه به این که میزان تولید رنگدانه شاخص فیکوسیانین در اسپیرولینا می‌تواند تحت شرایط مختلف اکولوژیکی و تغذیه‌ای و حتی تحت تنش‌های مختلف تغییر نماید، تلاش شده است که بهترین شرایط اکولوژیکی و محیط کشت برای تولید حداکثری بیوماس و تولید حداکثری فیکوسیانین معرفی گردد. می‌توان گفت نوآوری پروژه حاضر استفاده از منابع کربنی به‌صورت اضافه کردن دوز مشخص روزانه در مرحله کشت جلبک است؛ چرا که طی مرور منابع مشخص گردیده است که معمولاً منابع کربنی که به محیط کشت اضافه می‌گردد یک باره و طی یک مرحله در ابتدا و یا نهایتاً دو مرحله در ابتدا و میانه کشت جلبک بوده و اضافه کردن قند به محیط کشت به صورت روزانه و مشابه حالت غذادهی روزانه صورت نگرفته و اثرات آن بر رشد زی‌توده و کیفیت رنگدانه‌های تولیدی بررسی نشده است. به علاوه، مطالعاتی که اثر افزودن منابع کربنی مختلف را در تولید زی‌توده یا محتوی ترکیبات سلول می‌سنجند، عموماً بر میزان اسیدهای چرب تمرکز دارند و کمتر مطالعه‌ای بر تولید پروتئین‌ها درون سلول بوده است. ازاین رو مطالعه حاضر اثر افزودن منابع کربنی مختلف را بر تولید زی‌توده و محتوای ترکیبات درون سلولی با تمرکز بر تولید فیکوبیلی پروتئین‌ها می‌سنجد.

مواد و روش‌ها

گونه‌ی ریزجلبکی استفاده شده در این مطالعه گونه اسپرولینا (*Arthrospira platensis*) بود و ذخیره جلبک از موسسه تحقیقاتی گرین گولد استان قم وابسته به جهاد دانشگاهی تهیه گردید که آزمایش‌های باکتریایی و ارزش مواد غذایی (Nutrient content) روی آن انجام شده (جدول ۱) و خالص و با کیفیت بود. با توجه به مطالعه منابع علمی در مورد ترکیبات مغذی مورد نیاز برای کشت اسپیرولینا محیط کشت زاروک برای کشت انتخاب گردید و همه پارامترهای این محیط کشت به جز منبع کربنی که در تیمارهای مختلف متغیر است برای همه تیمارهای کشت ثابت در نظر گرفته شد. محیط کشت به‌صورت آماده از شرکت Iranalgae خریداری شد. ترکیب محیط کشت در جدول ۲ گزارش شده است. کشت در ظروف پلاستیکی یک لیتری (پلاستیک فشرده) با درب‌های دارای قسمت چرخنده جهت قراردهی شلنگ هوا و به‌صورت کشت و برداشت یکباره (Batch Culture) انجام شد. پارامترهای کشت به صورت ثابت در طول کشت تنظیم شدند. دمای کشت ۲±۲۶ درجه سلسیوس و pH در حدود ۹ تنظیم شد.

ابتدا محیط کشت به وسیله مایکرویو در دمای

۱۸۰ºf به مدت ۱۰ دقیقه استریل گردید به‌جز محلول B6 که حاوی مینرال‌ها و ویتامین B12 می‌باشد و به‌صورت جداگانه جهت استریلیزاسیون از فیلترهای غشایی ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد.کشت به نسبت ۱:۱۰ انجام شد و بر اساس اطلاعات همراه ذخیره، غلظتی در حدود ۲۰۰۰۰ سلول در میلی‌لیتر به‌دست آمد (۲۰۰±۲۰۰۰۰۰). نوردهی در تمام مدت کشت به تمام ظروف یکسان صورت گرفت و حدود ۵۰±۱۰۰۰۰ لوکس تنظیم گردید و در طول کشت هر پنج روز یکبار به وسیله لوکس متر (مدل Testo Inc., Sparta, NJ 542, USA) اندازه‌گیری شد. نوردهی با استفاده از یک مهتابی ۸۰ وات و یک لامپ حبابی ۲۰ وات فلئورسنت با نور زرد رنگ انجام شد. زمان نوردهی به‌صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تنظیم شد و با استفاده از ساعت زنگ دار لامپ‌ها به صورت دستی خاموش و روشن شدند. همچنین فاصله همه ظرف‌های کشت از منبع نوری به شکل یکسان تنظیم گردید. جهت جلوگیری از کاهش آب محیط کشت روزانه مقداری (۳-۱ سی‌سی) آب مقطر به محیط کشت افزوده می‌شد که معمولاً منبع کربنی اضافی به شکل قند در آن حل می‌گردید و سپس به محیط کشت اضافه می شد. pH به وسیله پی‌اچ متر دیجیتالی (مدل HANNA HI98100 ساخت آمریکا) هر پنج روز یک‌بار اندازه‌گیری شد. هوادهی به کشت‌ها با استفاده از ۲ عدد پمپ هوای آکواریوم با درجه تنظیم شدت به تمام ظرف‌ها انجام گرفت. سرعت هوادهی برای همه کشت‌ها به مقدار ۰/۳ vvm (۰/۳ لیتر از هوا طی مدت ۱ دقیقه از مقدار ۱ لیتر محیط کشت عبور می کند) تنظیم گردید. طول مدت کشت ۲۰ روز برای تمامی ظرف‌ها درنظر گرفته شد. کشت‌ها در ۱۸ ظرف به سرح زیر صورت گرفت.

ظروف اول تا سوم: تیمارهای شاهد یا فتواتوتروف

ظروف چهارم تا ششم: تیمارهای میکسوتروف با افزودن ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر سدیم استات روزانه یک دوز. ظروف هفتم تا نهم: تیمارهای میکسوتروف با افزودن ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سدیم استات روزانه یک دوز. ظروف دهم تا دوازدهم: تیمارهای میکسوتروف با افزودن ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر سدیم استات روزانه یک دوز. ظروف سیزدهم تا پانزدهم: تیمارهای میکسوتروف با افزودن نیم سی‌سی گلیسیرین در لیتر روزانه یک دوز و ظرف‌های شانزدهم تا هجدهم: تیمارهای میکسوتروف با افزودن یک سی‌سی از گلیسرین در یک لیتر به‌صورت یک دوز روزانه.

اندازه‌گیری زی‌توده جلبک در فازهای لگاریتمی (Logarithmic Phase-Exponential Phase) (روزهای پنجم و دهم)، فاز ثبات (Stationary Phase) (روز پانزدهم) و دقیقاً قبل از شدت گرفتن فاز افول (Death Phase) در روز بیستم انجام گرفت. برای اندازه‌گیری زی‌توده جلبک از لام هموسیتومتر یا لام نئوبار استفاده شد که به‌دلیل غلظت بالای نمونه‌ها در روز دهم نمونه‌ها توسط آب مقطر به نسبت ۱:۲۰ و در روزهای پانزدهم و بیستم به نسبت ۱: ۱۰۰ رقیق‌سازی شد. از فرمول زیر برای محاسبه تعداد سلول در میلی‌لیتر استفاده گردید(Lund *et al*., 1958):

$$Total\frac{Cells}{mL} = TotalCells\ counte \times Dilution\frac{Factor}{Number\ of\ squares} \times 10000\ cells/mL$$

که در آن Dilution Factor= میزان رقیق‌سازی و Number of squares= تعداد مربع‌های شمارش شده می‌باشد. همچنین اندازه‌گیری غلظت زی‌توده به وسیله سنجش تراکم نوری محیط کشت توسط اسپکتروفوتومتری در طول موج ۶۸۰ نانومتر (Unico Model S-2150UV) و رسم منحنی کالیبراسیون چگالی نوری در برابر غلظت زیست توده (گرم وزن خشک بر لیتر) با استفاده از فرمول زیر تعیین گردید (Soltani *et al*., 2006):

$$\mu = \ln(OD\ t2) - \ln(OD\ t1)/t2 - t1$$

منحنی‌های کالیبراسیون جهت نشان دادن تغییرات غلظت اسپکتروفوتومتری و سطوح زی‌توده

تولیدی به‌وسیله روش Leduy و Therien (۱۹۹۷) و با اندازه‌گیری وزن خشک‌زی توده تولیدی در هر نمونه صورت گرفت. روش کار به این صورت بود که محیط کشت ابتدا سانتریفیوژ شد (مدل SIGMA 3-16L) به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۴°C و مایع رویی دور ریخته شد، سپس طی دو مرحله شستشوی پلت انجام شد به این ترتیب که هر بار حدود ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر به پلت افزوده شد و توسط شیکر به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شد تا سوسپانسیون یکنواخت گردد و مجدداً نمونه با شرایط قبلی سانتریفیوژ گردید و عصاره رویی دور ریخته شد. در نهایت پلت جلبکی به‌دست آمده در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲۴ ساعت خشک شد.

محاسبه نرخ رشد: برای محاسبه نرخ رشد ویژه (Specific Growth Rate-SGR) (Trenkenshu, 2019) از فرمول زیر استفاده گردید:

$$SGR = \frac{Ln\left(\frac{m2}{m1}\right)}{t2 - t1} \; ; t2 \geq t1$$

که در آن M2 = تراکم سلولی در آخرین روز (Cell/mL)، M1 = تراکم سلولی در اولین روز (Cell/mL)، T1 = اولین روز و T2 = آخرین روز است.

اندازه‌گیری فیکوبیلی پروتئین‌های استحصالی: برای مشخص کردن درصد خلوص فیکواریترین، میزان جذب نوری این پروتئین به نسبت جذب کل (جذب نوری کل پروتئین‌های عصاره یا همان جذب نوری عصاره خام) سنجیده می‌شود و آن را به شکل A565/A280 نشان می‌دهند که نسبت فیکواریترین به سایر پروتئین‌های سلولی است و برخی هم آن را با نسبت A620/A565 می‌سنجند که مقایسه فیکواریترین و پروتئین مشابه آن فیکوسیانین است. درصد خلوص فیکوسیانین و آلوفیکوسیانین هم بصورت A620/A280 و A650/A280 محاسبه می‌گردد (Vicente *et al*., 2019). در این مطالعه چون هدف مقایسه اثر محیط‌های مختلف کشت بر میزان محصول تولیدی بوده است؛ نیازی به محاسبه

جدول ۱- جدول آنالیز ارزش غذایی اسپیرولینا تولید شرکت گرین گلد استان قم.

ماده	نتیجه	واحد
پروتئین	۶۰/۰۷	درصد
چربی	۱/۶	درصد
کربوهیدرات	۱۰/۶۶۴	درصد
فیبر	۱/۴۱۵	درصد
نمک	۰/۶۷۴	درصد
انرژی	۲۹۴/۸	کیلوکالری
فسفر	۰/۹۴۵	درصد
سدیم	۲۹۶/۹۹	میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم
ویتامین C	شناسایی شد	
ویتامین B1	شناسایی شد	
ویتامین B2	شناسایی شد	
ویتامین B3	شناسایی شد	
ویتامین B6	شناسایی شد	
ویتامین B12	۱/۱۷۵	ppm
روی	۰/۰۰۶	درصد
پتاسیم	۰/۷	
کلسیم	۰/۵۸	
منیزیوم	۰/۱۶	
آهن	۸۹/۳	میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم
فولیک اسید	شناسایی شد	
زمان باز شدن	۴۵	
سختی	۴۸	نیوتون
میریستیک اسید c14	۰/۱۳	
پالمتیک اسید c16	۰/۱۶	
لینولئیک اسید c18:2	۰/۴۲	
لینولنیک اسید c18:3	۰/۳۶	

دقیق مقدار هریک از فیکوبیلی پروتئین‌ها برحسب میکروگرم در میلی‌لیتر نبوده است و داده‌های حاصل از مقایسه جذب نوری برای داشتن یک نگرش خوب در انتخاب بهترین محیط کشت می‌تواند کافی باشد.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش‌ها به شکل طرح فاکتوریل کامل با سه تکرار صورت گرفت. معنی‌داری اختلافات داده‌ها با استفاده از آزمون پارامتریک تحلیل واریانس یک‌طرفه One Way ANOVA در نرم افزار سیستمیک آنالیز آماری (IBM SPSS

جدول ۲- ترکیبات مورد استفاده در محیط کشت زاروک بهینه سازی شده ارائه شده توسط شرکت Iranalgae.

Reagents	Amount(gL^{-1})
$NaHCO_3$	۱۶/۸
K_2HPO_4	۰/۵
$NaNO_3$	۲/۵
SK_2SO_4	۱
NaCl	۱
$MgSO_4.7H_2O$	۰/۲
$CaCl_2$	۰/۰۴
$FeSO_4.7H_2O$	۰/۰۱
EDTA	۰/۰۸
Solution A5	۱mm
Solution B6	۱mm

Statistics) نسخه ۱۶ مورد بررسی قرار گرفت و سطوح معنی‌داری میانگین داده‌ها در بین تیمارها بر اساس $P\leq$۰/۰۵ مقایسه گردید. برای مشخص کردن دسته‌های مورد اختلاف از آزمون تعقیبی با واریانس‌های همگن LSD (Least Significant Differences) استفاده گردید. همچنین برای مشخص کردن میزان اثر گذاری هریک از منابع کربنی مورد استفاده برروی تولید زی‌توده و میزان فیکوبیلی پروتئین‌ها از آزمون همبستگی پارامتری پیرسون (Pearson parametric correlation test) استفاده شد. گراف‌ها و نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم‌افزار Origin Pro نسخه ۲۰۲۱ و Microsoft Excel نسخه ۲۰۲۱ رسم شدند.

نتایج

تغییرات pH در محیط کشت در تیمارهای مختلف در جدول ۲ نشان داده شده اند. pH در ابتدای کشت در تمام تیمارها ۹/۲ ثبت گردید (به دلیل یکسان بودن محیط کشت) ولی در طی فرایند رشد جلبک‌ها این مقدار در تیمارهای مختلف از حدود ۹/۷ تا ۱۰/۲ تغییر نمود. آزمون معنی‌داری تفاوت ها بین تیمارها از نظر pH اختلاف معنی‌داری بین همه تیمارها به جز تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر سدیم استات با تیمار شاهد نشان داد ($P\leq$۰/۰۵) (جدول ۳). نمودار رشد ویژه (شکل ۱) نشان داد که سرعت سازگار شدن جلبک‌ها با محیط کشت و شروع فاز رشد لگاریتمی (Logarithmic phase) پس از فاز تاخیری (Lag Phase) در تمامی کشت‌ها که دارای مقادیری از قند اضافه شده بوده‌اند نسبت به تیمار شاهد سریعتر بوده است (شیب تندتر منحنی در روز ۰ تا ۵).

در تیمار چهارم یعنی کشت با افزودن ۷۵ میلی‌گرم سدیم استات روزانه مقدار شیب خط (جدول ۴) در فاز رشد بیان می‌کند که سریع‌ترین سازگاری با محیط کشت در این تیمار حاصل شده و رشد نمایی جلبک‌ها با حداکثر سرعت در این تیمار صورت گرفت (۰/۲۴۲۲۶±۰/۰۰۸۶) و پس از آن سریع‌ترین افول نیز مربوط به همین تیمار است (شیب خط افول ۰/۲۲۳۵۴±۰/۰۰۴۲).

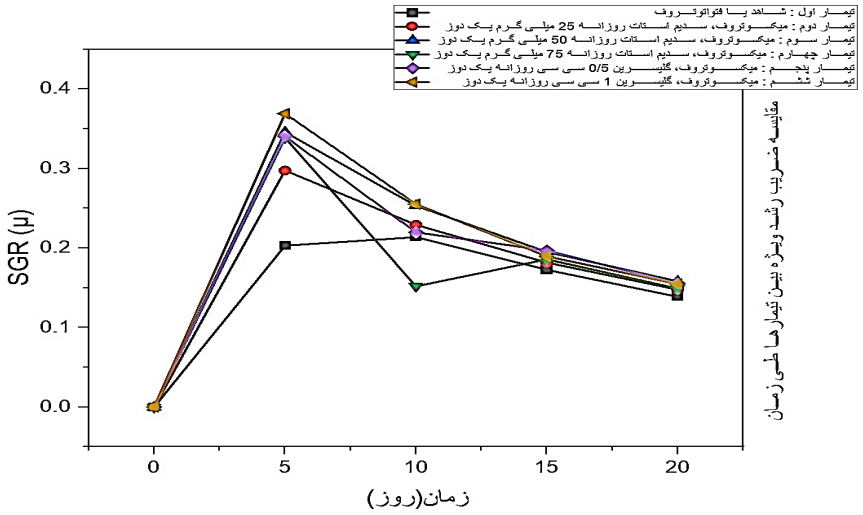
همچنین در نمودار رشد ویژه (SGR) در پایان دوره رشد نمایی به نظر می‌رسد که افزودن قند مصنوعی، طول دوره رشد ثابت (Stationary phase) را کاهش داده است به‌طوری که در اکثر تیمارها بلافاصله پس از نقطه اوج؛ شروع فاز افول مشاهده می‌شود.

با توجه به معادله خط افول مشاهده می‌شود که سریع‌ترین افول در میزان رشد مربوط به تیمار ۷۵ میلی‌گرم سدیم استات بود (۰/۲۲۳±۰/۰۰۴) و پس از آن به ترتیب تیمارهای ۰/۵ سی‌سی گلیسرین، ۱ سی‌سی گلیسرین، ۵۰ میلی‌گرم سدیم استات و ۲۵ میلی‌گرم سدیم استات قرار دارند و تیمار شاهد عملاً یک فاز ثبات را به مدت ۵ روز طی کرده و سپس با ۵ روز تاخیر نسبت به سایر تیمارها وارد فاز افول می‌شود. در مورد تیمار ۷۵ میلی‌گرم سدیم استات عملاً تا روز دهم از شروع کشت سرعت رشد به نصف کاهش یافته است و پس از آن توده جلبکی مجدداً وارد یک فاز افزایشی کند در سرعت رشد می‌شود (فاز ثابت رشدی با تاخیر).

جدول ۳- مشخصات کشت به تفکیک تیمار برای یک لیتر.

تیمار ها	pH اولین روز	pH بیستمین روز	بیوماس روز اول Cell/L	بیوماس روز بیستم Cell/L	وزن جلبک gr DM*	SGR (μ/d)
تیمار شاهد فتواتوتروف	۹/۲±۰/۰۰۱	۹/۶۳ ± ۰/۰۴۷	۲×۱۰^۷ ±۰/۰۰۱	۳۲/×۱۰^۷ ± ۴۷۱۴۰۴۵	۳/۴۱ ± ۰/۰۰۴	۰/۱۴ ± ۰/۰۰۱
۲۵ میلی گرم بر لیتر سدیم استات	۹/۲±۰/۰۰۱	۹/۹۰± ۰/۱۶	۲×۱۰^۷ ±۰/۰۰۱	۳۸×۱۰^۷ ± ۱۲۴۷۲۱۹۱	۴/۰۴ ± ۰/۲۲	۰/۱۵ ± ۰/۰۰۱
۵۰ میلی گرم بر لیتر سدیم استات	۹/۲±۰/۰۰۱	۱۰/۷± ۰/۱۲	۲×۱۰^۷ ±۰/۰۰۱	۴۷×۱۰^۷± ۱۲۴۷۲۱۹۱	۴/۹۶ ± ۰/۰۷	۰/۱۶ ± ۰/۰۰۱
۷۵ میلی گرم بر لیتر سدیم استات	۹/۲±۰/۰۰۱	۹/۸۰± ۰/۰۸	۲×۱۰^۷ ±۰/۰۰۱	۳۹×۱۰^۷ ±۱۶۹۹۶۷۳۲	۴/۰۳ ± ۰/۰۲۸	۰/۱۵ ± ۰/۰۰۲
۰/۵ سی سی گلیسرول	۹/۲±۰/۰۰۱	۱۰/۷± ۰/۱۲	۲×۱۰^۷ ±۰/۰۰۱	۴۴×۱۰^۷ ± ۹۴۲۸۰۹۰	۴/۰۷ ± ۰/۰۸۵	۰/۱۶ ± ۰/۰۰۰
۱ سی سی گلیسرول	۹/۲±۰/۰۰۱	۱۰ ± ۰/۰۸	۲×۱۰^۷ ±۰/۰۰۱	۴۴×۱۰^۷±۸۱۶۴۹۶۵	۴/۵۴ ± ۰/۰۸	۰/۱۵ ± ۰/۰۰۱

*گرم وزن خشک



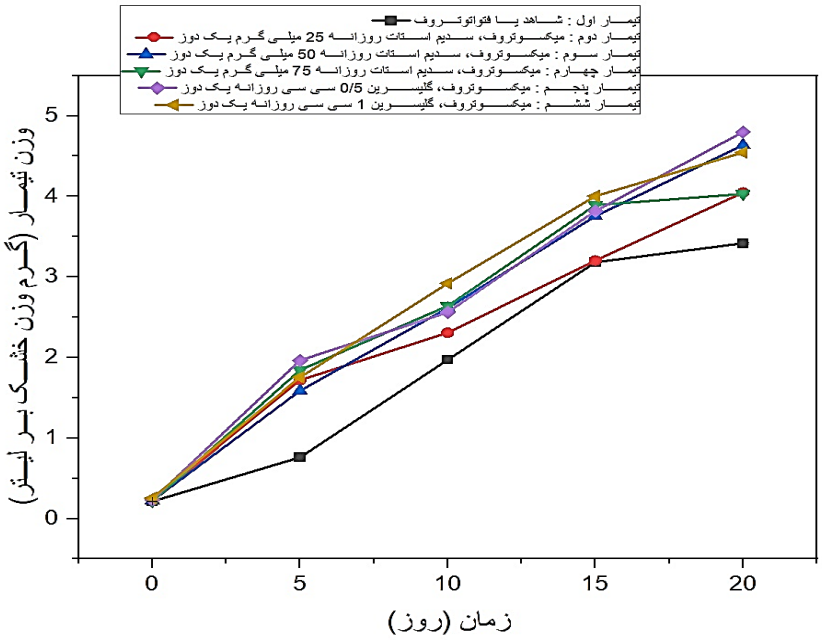
شکل ۱- مقایسه ضریب رشد ویژه بین تیمارها طی زمان.

بررسی روند رشد ویژه (SGR) نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری از این نظر بین همه تیمارها با تیمار شاهد وجود دارد ($P\leq$۰/۰۵). نمودار افزایش وزن زی‌توده طی زمان نیز نشان داد (شکل ۲) که تقریباً تمامی تیمارها به جز از شاهد بلافاصله پس از معرفی به محیط کشت جدید شروع به رشد نموده‌اند ولی در تیمار شاهد این روند بسیار کندتر بوده و شاهد یک دوره فاز تاخیری بودیم. همچنین نمودار مقایسه میانگین نرخ رشد ویژه بین تیمارها (شکل ۳) نشان داد که در مجموع تیمار سوم با افزودن روزانه ۵۰ میلی‌گرم سدیم استات به‌عنوان منبع قندی دارای بیشترین نرخ رشد بوده است (۱۶/۰μ ±۰/۰۰۱۲). به‌علاوه نمودارهای رشد زی‌توده طی زمان (شکل‌های ۱ و ۲) نشان می‌دهند که همه تیمارها از روز پانزدهم به شرایط یکسانی از نظر میزان رشد رسیده و تا روز بیستم روند افولی تقریباً مشابهی را جدا از میزان و نوع قند اضافه شده طی کرده‌اند (۰/۱۷۵۳±۰/۰۲۴).

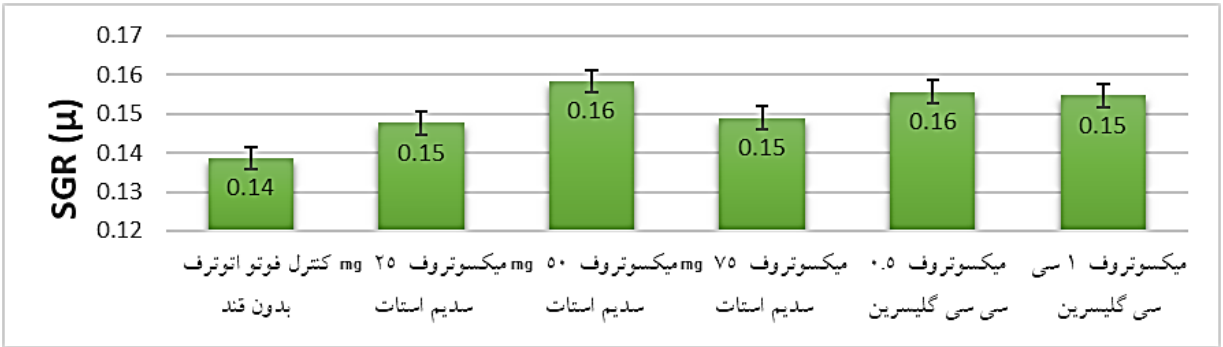
نمودارهای زی‌توده استحصالی بر اساس وزن خشک محصول (شکل ۵)، بر اساس جذب اسپکتروفتومتری (شکل ۴) و زی‌توده استحصالی بر اساس تراکم سلولی (شکل ۶) هرسه میزان محصول تولیدی را از سه منظر بین تیمارها مقایسه می‌کنند و با بررسی هرسه نمودار به آسانی قابل مشاهده است که بیشترین زی‌توده تولید شده مربوط به تیمار شماره سه با افزودن روزانه ۵۰ میلی‌گرم سدیم استات می باشد (۴/۹±۰/۰۷ گرم وزن خشک در لیتر) که این نتایج با حداکثر نرخ رشد ویژه (SGR) که مربوط به همین تیمار می‌باشد تطابق دارد. پس از تیمار ۵۰ میلی‌گرم سدیم استات روزانه؛ بیشترین تولید زی‌توده مربوط به تیمار ۰/۵ سی-سی گلیسرین در روز می‌باشد با مقدار وزن خشک ۴/۸±۰/۰۸ گرم بر لیتر که این تیمار همچنین دومین رتبه را از نظر نرخ رشد ویژه به خود اختصاص می‌دهد (۰/۱۶μ±۰/۰۰۱۲). آزمون‌های تعقیبی معنی‌داری، اختلاف بین تیمارها را

جدول ۴- اطلاعات مربوط به نمودار افزایش وزن زی‌توده طی زمان بیست روز.

نوع منبع کربنی	معادله خط رشد	شیب خط
شاهد یا فتواتوتروف	Y= a+b*x	۰/۰±۱۷۶۵/۰۱۹
سدیم استات ۲۵ میلی گرم در لیتر	Y= a+b*x	۰/۰±۱۹۸۱/۰۱۲۷
سدیم استات ۵۰ میلی گرم در لیتر	Y= a+b*x	۰/۰±۲۲۷۸/۰۰۵۷
سدیم استات ۷۵ میلی گرم در لیتر	Y= a+b*x	۰/۰±۲۴۲۲۶/۰۰۸۶
گلیسرول ۰/۵ سی سی در لیتر	Y= a+b*x	۰/۰±۲۳۲۰۴/۰۱۱
گلیسرول ۱ سی سی در لیتر	Y= a+b*x	۰/۰±۲۳۲۱۷/۰۱۵



شکل ۲- مقایسه روند رشد وزن تیمارها طی زمان.



شکل ۳ - مقایسه میانگین نرخ رشد ویژه بین تیمارها.

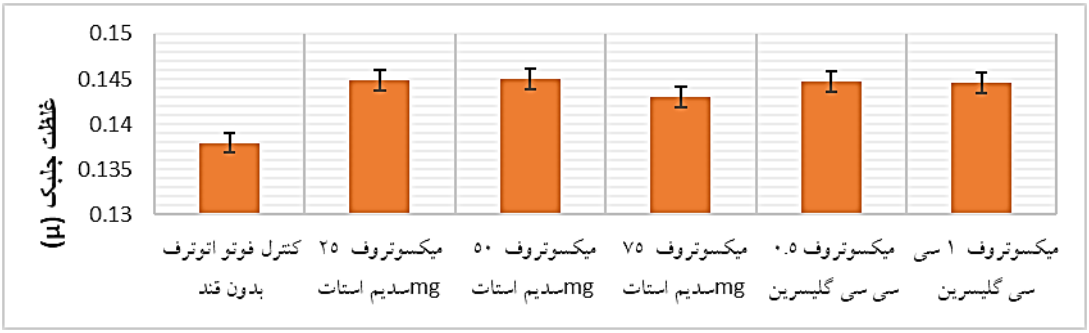
نشان می‌دهند که از نظر میزان تولید زی‌توده جلبکی بر حسب گرم وزن خشک در لیتر فقط دو تیمار ۰/۵ و ۱ سی‌سی گلیسرین تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان می‌دهند؛ اما از نظر تراکم سلولی (تعداد سلول بر لیتر) کلیه تیمارها اختلاف شان با تیمار شاهد معنی‌دار است. همچنین از نظر SGR یا شاخص ویژه رشد و همین‌طور از نظر غلظت سلولی براساس سنجش اسپکتوفتومتری کلیه تیمارها با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان دادند ($P\leq$۰/۰۵) که می‌تواند بیانگر این باشد که استفاده از شاخص وزن خشک محصول نسبت به سایر روش‌های اندازه‌گیری محصول از دقت کمتری برخوردار است و

جدول ۵- همبستگی و جهت آن بین منابع مختلف کربنی و میزان محصول.

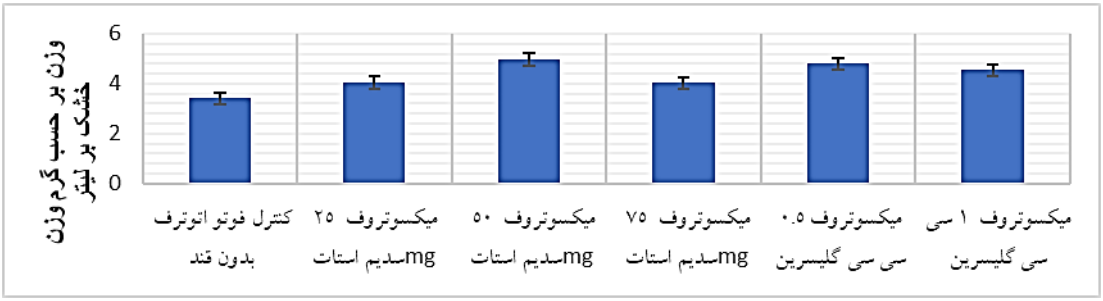
آزمون همبستگی پیرسون		وزن زیتوده grDM/L	تراکم سلولی تعداد سلول/لیتر	غظلت زیتوده جذب اسپکتروفتومتری	ضریب رشد ویژه SGR	غلظت فیکوسیانین از عصاره خام/.
سدیم استات	Sig	۰/۰۵۰*	۰/۰۳۵*	۰/۰۶۸	۰/۰۲۲*	۰/۰۰۰
	عدد همبستگی	۰/۵۷۶	۰/۶۱۲	۰/۵۴۳	۰/۶۵۱	۰/۹۰۸**
گلیسرول	Sig	۰/۰۴۱*	۰/۴۹۲	۰/۲۸۴	۰/۴۱۷	۰/۰۰۰
	عدد همبستگی	-۰/۸۳۱	-۰/۳۵۴	۰/۵۲۵	-۰/۴۱۲	-۰/۹۹۱**

*همبستگی در سطح α = ۰/۰۵ معنی‌دار است.

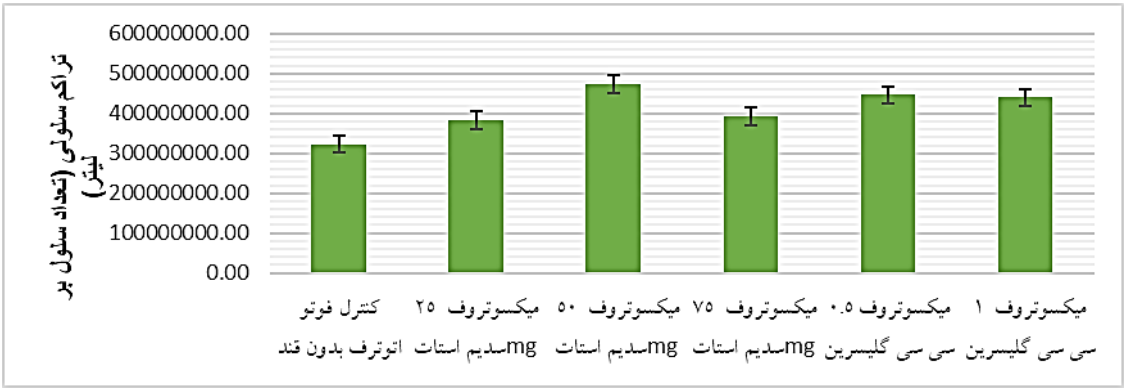
**همبستگی در سطح α = ۰/۰۱ معنی‌دار است.



شکل ۴ - مقایسه زی‌توده استحصالی در تیمارهای مختلف براساس جذب اسپکتروفتومتری.



شکل ۵ - مقایسه زی‌توده استحصالی در تیمارهای مختلف بر اساس وزن خشک محصول.



شکل ۶ - مقایسه زی توده استحصالی در تیمارهای مختلف بر اساس تراکم سلولی.

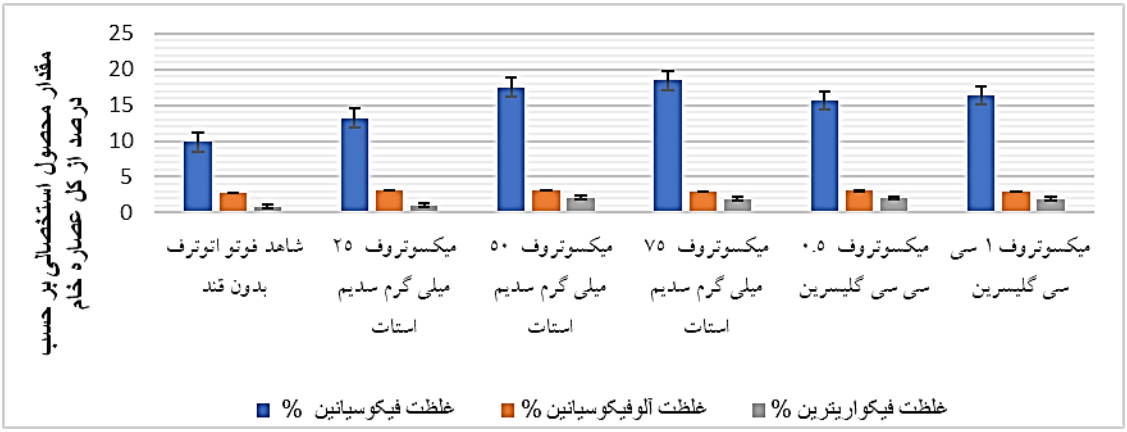
اندازه‌گیری وزن خشک نمی‌تواند به درستی بیانگر تفاوت‌های تیمارهای مختلف در میزان تولید زی‌توده باشد چرا که احتمال خطا در مراحل خشک کردن محصول (از نظر میزان آب باقی مانده) و توزین محصول (دقت ترازوی مورد استفاده) بسیار بالاست.

بررسی میزان فیکوبیلی پروتئین ها: نتایج آزمون ANOVA برای اثر هریک از محیط‌های کشت در تولید فیکوبیلی پروتئین‌ها نشان می‌دهد که تیمارهای

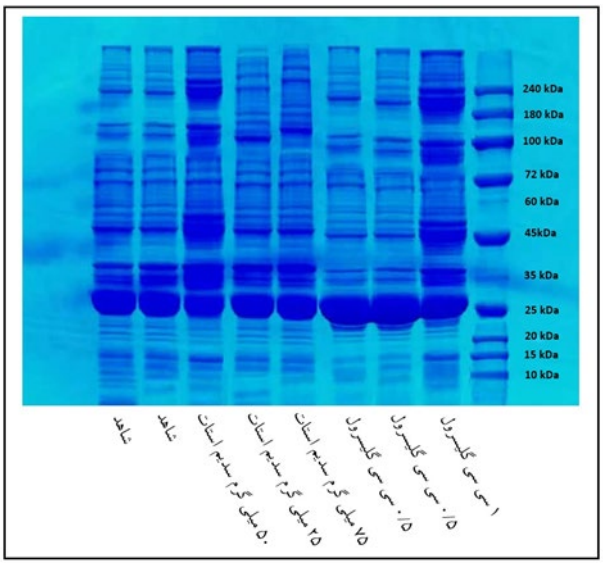
مختلف همگی در تولید میزان فیکوسیانین و فیکواریترین تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد (جدول ۴). اما در مورد آلوفیکوسیانین تنها در غلظت‌های کمتر تفاوت‌ها معنی‌دار می‌شود (۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سدیم استات و ۰/۵ سی‌سی گلیسرین) و در غلظت‌های بالای قند (۱ سی‌سی گلیسرین و ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر سدیم استات) تفاوت‌ها معنی‌دار نیست. در مورد آلوفیکوسیانین بیشترین تولید مربوط به تیمار ۲۵ میلی‌گرم سدیم استات با ۳/۱۳±۰/۱۳ درصد از کل عصاره خام می‌باشد.

شکل ۷ یک نمای کلی از میزان هریک از فیکوبیلی پروتئین‌ها را در هر تیمار نشان می‌دهد. براساس نتایج، بیشترین تولید رنگدانه آبی فیکوسیانین به‌ترتیب مربوط به تیمارهای ۷۵ میلی‌گرم سدیم استات (۱۸/۴۵±۰/۰۷ درصد از عصاره خام) و ۵۰ میلی گرم سدیم استات (۱۷/۰±۵۳/۰۹ درصد از عصاره خام) می‌باشد و تیمار ۱ سی‌سی گلیسرین در رتبه سوم تولید فیکوسیانین قرار دارد (۱۶/۳۳±۰/۰۲ درصد از عصاره خام). نتایج تحلیل‌های همبستگی؛ همبستگی ضعیفی از نوع منفی بین قند گلیسرول و میزان فیکوسیانین تولیدی جلبک نشان داده‌اند (جدول ۵). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که قند گلیسرول نسبت به قند سدیم استات اثرکمتری در تولید فیکوسیانین در سلول اسپیرولینا ایفا می‌کند و افزایش مقدار فیکوسیانین تولیدی در تیمارهای گلیسرول نسبت به تیمار شاهد به دلیل افزایش زی‌توده بوده است (همبستگی مثبت گلیسرول بر تولید زی‌توده). همچنین فیکواریترین با مقدار ۲/۰۹±۰/۰۰۷ از کل عصاره خام در تیمار ۵۰ میلی‌گرم سدیم استات بیشترین تولید را نشان می‌دهد و پس از آن تیمار ۰/۵ سی‌سی گلیسرین در رتبه دوم قرار دارد (۲/۰۶±۰/۰۲ درصد از کل عصاره خام). آزمون‌های معنی‌داری تفاوت‌ها نیز برای این رنگدانه پروتئینی اختلاف معنی‌داری را در تمام تیمارها با تیمار کنترل نشان می‌دهند ($P\leq$۰/۰۵).

آزمون‌های همبستگی (Correlation Tests): به‌منظور مشخص کردن این که کدام یک از دو نوع منبع کربن مورد استفاده اثر قوی‌تری در تولید زی‌توده و همچنین در تولید فیکوسیانین نشان داده است؛ و یا این که اساساً از این نظر تفاوتی بین دو نوع قند وجود دارد یا خیر، از آزمون همبستگی پیرسون استفاده گردید تا مقدار همبستگی استفاده از هرنوع منبع کربن با پارامتر هدف مشخص گردد. لازم به ذکر است که هر منبع کربن به‌طور جداگانه بررسی گردید و اعداد مربوط به آن در جدول ۵ ارایه شده است. نتایج آزمون همبستگی نشان می‌دهد که قند سدیم استات همبستگی معنی‌داری با مقدار وزن خشک زی‌توده در لیتر نشان می‌دهد و این همبستگی در جهت مثبت می‌باشد که حضور این منبع کربن باعث افزایش وزن زی‌توده گردیده است (r =۰/۵۷۶). اما مقدار این همبستگی در محدوده متوسط می‌باشد (۰/۶-۰/۴ رابطه متوسط) (Miller and Haden, 2013). همچنین این ماده اثر مثبتی بر افزایش تراکم (تعداد سلول در لیتر) نشان می‌دهد (r=۰/۶۱۲) که بیان کننده اثری قوی حضور سدیم استات در جهت مثبت بر افزایش زی‌توده داشته است. در مورد تولید فیکوسیانین در سلول‌ها همبستگی بیشتر است. همبستگی بین سدیم استات و درصد فیکوسیانین استحصالی نسبت به کل عصاره خام در محدوده α = ۰/۰۱ معنی‌دار شده است و عدد این همبستگی نزدیک به ۱ می‌باشد. هر دو این نتایج از لحاظ آماری حاکی از یک همبستگی بالا است. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که استفاده از سدیم استات به‌عنوان منبع کربن در عین حال که بر افزایش زی‌توده اسپیرولینا تاثیرگذار است، تاثیر زیادی نیز بر محتوای فیکوسیانین تولیدی توسط سلول دارد و اثرگذاری این منبع کربن بر تولید فیکوسیانین بیش از اثرگذاری آن بر مقدار زی‌توده است.



شکل ۷ - مقایسه تیمارها در ترکیبات استخراج شده.



شکل ۸ - تصویر حاصل از الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید عصاره خام بدست آمده از تیمارهای مختلف کشت *Arthrospira platensis*.

در مورد سایر پارامترهای نشان دهنده رشد شامل ضریب رشد ویژه نیز شاهد اثرگذاری مثبت سدیم استات بودیم. در مورد گلیسرول نتایج اندکی متفاوت است. آزمون همبستگی پیرسون، همبستگی زیادی از نوع مثبت در میزان وزن زی‌توده با این منبع کربنی نشان می‌دهد ولی در سایر پارامترهای مربوط به رشد از جمله ضریب رشد ویژه یا تراکم سلولی و غلظت زی‌توده براساس جذب اسپکتروفتومتری همبستگی معنی‌داری مشاهده نمی‌شود؛ که افزودن این منبع کربن تاثیر معنس‌داری بر تغییرات این پارامترها ندارد.

در مورد غلظت فیکوسیانین تولیدی در سلول‌ها اما وضعیت به گونه‌ای دیگر است. همبستگی معنی‌دار پایین (r = -۰/۲۰۱) در جهت منفی بین این منبع کربن و فیکوسیانین وجود دارد که بیان کننده حضور این منبع کربن تا حدی باعث کاهش تولید فیکوسیانین درون سلول‌ها شده است. هرچند که این اثرگذاری کم است (۰/۲-۰/۴ رابطه ضعیف) (Miller and Haden, 2013)، اما به لحاظ آماری معنی‌دار بود (α =۰/۴).

آزمون الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید: جهت بررسی پروفایل پروتئینی اسپیرولینا و مقایسه کیفی نتایج با داده‌های کمی حاصل از بیومتری و اسپکتروفتومتری، نمونه‌های عصاره خام حاصل از تیمارهای مختلف کشت اسپیرولینا تحت آزمون ژل الکتروفورز (SDS-PAGE) با ژل پلی‌اکریل آمید قرار

گرفتند (شکل ۸). در بررسی آنالیز ژل الکتروفورز در محدوده وزنی ۲۰ تا ۲۵ کیلودالتون، باندهای مشخص و ضخیم فیکوسیانین قابل مشاهده می‌باشد و براساس نتایج ضخامت باندها بیانگر غلظت بالای این پروتئین در نمونه‌ها است. همچنین پروتئین آلوفیکوسیانین در محدوده وزنی ۱۰۰ کیلودالتون باندهای مشخصی به وجود آورد ولی در تیمارهای ۱ سی‌سی گلیسرول و ۵۰ میلی‌گرم سدیم استات این باندها ضخیم‌تر به نظر می‌رسند. رنگدانه فیکواریترین نیز با محدوده وزنی ۲۴۰ کیلودالتون باندهای کاملاً روشنی را نشان داد. نتایج الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید به خوبی داده‌های حاصل از اسپکتروفتومتری را در مورد حضور هریک از پروتئین‌های هدف در نمونه‌های مورد بررسی و همچنین غلظت و مقدار کیفی هریک از فیکوبیلی پروتئین‌ها تایید کرد.

بحث

تغییر ترکیبات درون جلبکی در اثر تغییرات محیط کشت را می‌توان یکی از ویژگی‌های مهم زیست-فناورانه در صنعت تولید جلبک در نظر گرفت؛ یعنی دستکاری برای کنترل شرایط بیوشیمیایی و رشد با هدف تمرکز بر تولید ترکیبات خاص و بهره‌وری بالاتر، امکان‌پذیر است. در مطالعه‌ی Ritu Verma و همکاران (۲۰۲۰)، محیط کشت‌های اتوتروف، هتروتروف و میکسوتروف مقایسه شدند و مشخص شد محیط کشت میکسوتروف، زی‌توده و محتوی چربی بیشتری را در کشت‌های اسپیرولینا، کلرلا و نانوکلروپسیس دارد. تعادل نیتروژن، کربن و ویتامین‌ها در محیط کشت می‌تواند تا ۷۷ درصد افزایش تولید زی‌توده را همراه داشته باشد.

در مطالعه دیگری Rosenberg و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که رشد هتروتروفیک جلبک *Chlorella sorokiniana* با افزودن گلوکز به محیط کشت، ۱ تا ۱/۷ برابر بیشتر از رشد اتوتروف آن بود و محتوای لیپید جلبک در کشت هتروتروف بیشتر از اتوتروف بود (Rosenberg *et al*., 2014).

از دو مطالعه بالا نتیجه‌گیری می‌شود که محیط کشت میکسوتروف می‌تواند محیط کشت بهتری برای اسپیرولینا باشد. در مطالعه دیگر، افزایش مواد نیتروژنی، خصوصاً اوره سبب افزایش بیوماس جلبک *C. sorokiniana* گردید (Ramanna *et al*., 2014). Golmakani و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که با ایجاد تغییر در محیط کشت به وسیله افزودن منابع کربنی مختلف مثل گلوگز، استیک اسید و اتانول شاهد افزایش تولید زی‌توده بوده‌اند. همچنین تغییرات معنی‌داری در میزان تولید چربی و گاما لینولئیک اسید مشاهده شد (Golmakani *et al*., 2012). بنابراین، فرمول‌بندی محیط کشت با کیفیت و ارزان را می‌توان استراتژی ارزشمندی برای تولید محصول از ریزجلبک‌ها به حساب آورد (Rahman Shah *et al*., 2017).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از سدیم استات در محیط کشت میکسوترفیک اسپیرولینا می‌تواند به طور معنی‌داری تولید بیوماس را افزایش دهد. که افزودن این منبع کربنی باعث تولید مقدار بیشتری فیکوسیانین در سلول جلبک می‌گردد و در مجموع بازدهی تولید را به صورت تاثیرگذاری بالا می‌برد. همچنین قند گلیسرول می‌تواند زی‌توده را به سمت تولید مثل و تکثیر بیشتر سوق دهد و در مدت زمان مشابهی وزن بیشتری از زی‌توده را تولید کند ولی در مورد ضریب رشد ویژه تاثیر چندانی نداشته باشد؛ به عبارت دیگر سرعت رشد سلول را به‌طور معنی‌داری افزایش نمی‌دهد. همچنین افزایش وزنی زی‌توده در مدت زمان کمتر می‌تواند تاثیر منفی اندکی بر تولید فیکوسیانین در داخل سلول داشته باشد به این معنی که تکثیر بیشتر زمان کمتری برای تولید فیکوبیلی پروتئین‌ها در اختیار سلول قرار می‌دهد. با این حال نتایج در مورد گلیسرول چندان شفاف نبود و انجام مطالعات تکمیلی با غلظت‌های مختلف از این منبع کربن بر روی تولید بیوماس، ضریب رشد و تولید فیکوبیلی پروتئین‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد.

در مجموع افزودن منابع کربنی اضافی به صورت روزانه از طریق کاهش زمان و افزایش حجم تولید تاثیر مثبتی روی بهره‌وری کشت میکسوتروفیک اسپیرولینا دارد و در کنار تولید محصولی با کیفیت‌تر از قبل می‌تواند جزء جنبه‌های نوآوری این پروژه باشد که درصورت تولید محصول با کیفیت، کشور را از واردات این کالا بی نیاز می‌گرداند. زیرا که پودر فیکوسیانین به عنوان رنگدانه طبیعی پروتئینی دارای رنگ آبی فلئورسنت و بی‌ضرر برای بدن انسان بسیار مورد نیاز صنایع غذایی، دارویی، پزشکی و صنعتی می‌باشد.

قدردانی

نویسندگان مراتب امتنان و سپاسگزاری خود را از کارشناسان محترم گروه شیلات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران به جهت کمک در اجرای هرچه بهتر این پروژه اعلام می‌دارند.

منابع

Chia M.A., Lombardi A.T., Melãno M.D.G.G. 2013. Growth and biochemical composition of *Chlorella vulgaris* in different growth media. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 85, 1427-1438.

Ferreira A.F. Lauro A., Ribeiro A.P. Batista P.A.S. Marques S., Beatriz P., Nobre A., Palavra M.F., Pereira da Silva P., Gouveia L., Silva C. 2013. A biorefinery from *Nannochloropsis sp*. microalga-energy and CO_2 emission and economic analyses. *Food Science and Biotechnology* 138, 235-244.

Golmakani M.T., Rezaei K., Mazidi S., Razavi S.H. 2012. Effect of alternative C2 carbon sources on the growth, lipid, and γ-linolenic acid production of spirulina (*Arthrospira platensis*). *Food Science and Biotechnology* 21, 355-363.

Khan Z., Bhadouria P., Bisen, P.S. 2005. Nutritional and therapeutic potential of spirulina. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 6(5), 373-379

Leduy A., Therien N. 1977. An improved method for optical density measurement of the semimicroscopic blue green algae *Spirulina maxima*. *Biotechnology and Bioengineering* 19, 1219-1224.

Lund J.W.G., Kipling C., Le Cren E.D. 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11, 143-170.

Perez-Garcia O., Escalante F.M., de-Bashan L.E., Bashan Y. 2011. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. *Water Research* 45(1), 11-36.

Rahman Shah M.D.M., Lutzu G.A., Alam M.D.A., Sarker P., Chowdhury M.A.K., Parsaeimehr A., Liang Y., Daroch M. 2017. Microalgae in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry. *Applied Phycology* 289, 1-17.

Ramanna L., Guldhe A., Rawat I., Bux F. 2014. The optimization of biomass and lipid yields of *Chlorella sorokiniana* when using wastewater supplemented with different nitrogen sources. *Bioresources Technology* 168, 127-135.

Rosenberg J.N., Kobayashi N., Barnes A., Noel E.A., Betenbaugh M.J., Oyler G.A. 2014. Comparative analyses of three *Chlorella* species in response to light and sugar reveal distinctive lipid accumulation patterns in the microalga *C. sorokinian*a. *PLoS One* 9, E 92460

Soltani N., Khavari-Nejad R.A., Tabatabaie M. 2006. Variation of Nitrogenase Activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacterium *Fischerella ambigua* strain FS18 under different irradiance and pH. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 22(6), 571-576.

Trenkenshu R.P. 2019. Calculation of the specific growth rate of microalgae. *Marine Biological Journal* 4(1)1, 100-108.

Verma R., Kumari, K.K., Srivastava A., Kumar, A. 2020. Photoautotrophic,

mixotrophic, and heterotrophic culture media optimization for enhanced microalgae production. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 8(5), 104149.

Vicente D., Rodríguez-Sinobas L., Salazar F., Garrote L. 2019. Analysis of temporal and spatial variability of water balance components in a Mediterranean river basin: The Spanish part of the Duero basin. *Geophysical Research Abstracts* 21, 1.

Mixotrophic culture of *Arthrospira platensis* and a comparison of the effects of adding different carbon sources to culture medium on biomass production and phycobilin protein content

Zahra Soltani Far, Mohammad Ali Nematollahi*, Seyed Vali Hosseini

Department of Fisheries, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
*Corresponding author: malahi@ut.ac.ir

Received: 2021/9/20 Accepted: 2021/11/9

Abstract

Arthrospira platensis contains valuable metabolites such as proteins, antioxidants, lipids, vitamins, and minerals and is used as a food source for humans and animals. The microalgae are usually cultured in three ways: autotrophic culture, heterotrophic culture (with added extra carbon sources) or mixotrophic culture depending on the species and human needs. Physiological changes in algae have been proved to happen depending on environmental conditions during growth. Also, there are a variety of algae species that can tolerate additional sugars as a carbon source in culture media under heterotrophic and mixotrophic conditions. The present study compares the subsequent effects of adding different carbon sources on biomass production and content of intracellular compounds specially phycobiliproteins. The results showed that sodium acetate in any concentrations can lead the stock produce more biomass and also has a significant positive effect on phycocyanin production within the algal cell ($P \leq 0.05$). Glycerol, however, is showed to be more effective in biomass proliferation and seems to have a positive effect on biomass dry weight yield.

Keywords: Spirulina, Mixotrophic culture, Carbon sources, Phycocyanin, Biomass.