Archive of SID

مجله علمی شیلات ایران (DOI): 10.22092/ISFJ.2019.118398 سال بیست و هفت/ شماره ۶

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118398]
Downloaded from isfj.ir at 15:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

اثر منابع مختلف نیتروژنی بر میزان زیتوده و محتوی پروتئینی جلبک سبز–آبی اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*)

محمد گرگیج جاسکی[۱]، مازیار یحیوی*[۱]، کیومرث روحانی قادیکلایی[۲]، علیرضا سالارزاده[۱]

*Maziar_yahyavi@yahoo.com

۱- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرعباس، بندرعباس، ایران.
۲- پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۷

چکیده

نیتروژن به عنوان یکی از عناصر مهم موثر بر متابولیسم لیپید و پروتئین در ریزجلبک‌ها شناخته شده است. در این پژوهش به منظور بهینه‌سازی میزان زیتوده جلبک *Spirulina platensis* و همچنین میزان پروتئین آن، از منابع مختلف نیتروژنی همچون KNO_3، NH_4NO_3 و اوره استفاده گردید. جلبک اسپیرولینا در محیط کشت زاروک محتوی منابع مختلف نیتروژن در ارلن‌های ۳ لیتری محتوی ۲/۵ لیتر آب دریای استریل شده تحت شرایط یکسان با درجه‌حرارت ۲۵°C-۲۲، شوری ppt ۳۰، قلیائیت ۸ و دوره نوری h ۱۲:۱۲ (تاریکی: روشنایی) کشت گردید. مطابق با نتایج، جلبک اسپیرولینا بطور موفقیت‌آمیزی در محیط کشت زاروک حاوی منابع مختلف نیتروژنی رشد نمود و با وجودیکه بیشینه زیتوده جلبکی در محیط کشت حاوی NH_4NO_3 بدست آمد، ولی اختلاف معنی‌داری با سایر منابع نیتروژنی نشان نداده است ($p>۰/۰۵$). همچنین اگرچه بیشینه میزان پروتئین محتوی سلول جلبکی بترتیب در محیط کشت‌های حاوی NH_4NO_3 و KNO_3 بدست آمد، ولیکن اختلاف معنی‌داری با محیط کشت حاوی اوره نشان نداد ($p>۰/۰۵$). از سوی دیگر، در تمام کشت‌های جلبک اسپیرولینا، افزایش میزان نیتروژن منجر به افزایش زیتوده و افزایش میزان پروتئین گردید. میزان کلروفیل *a* در تمام تیمارها با افزایش غلظت نیتروژن، افزایش یافت و بیشینه میزان کلروفیل *a* (۹/۱۸ µg/ml) در محیط کشت حاوی KNO_3 و در روز چهاردهم دوره پرورش مشاهده گردید. بهرحال نتایج این تحقیق به روشنی نشان داد که اگرچه اختلاف معنی‌داری بین منابع مختلف نیتروژنی از نظر میزان زیتوده و محتوی پروتئینی مشاهده نگردید، ولی استفاده از NH_4NO_3 می‌تواند دارای کارایی نسبتاً بالاتری نسبت به سایر منابع نیتروژنی باشد.

لغات کلیدی: نیتروژن، پروتئین، زیتوده، ریزجلبک، *Spirulina platensis*

*نویسنده مسئول

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118398]
Downloaded from isfj.ir at 15:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

مقدمه

ریزجلبک‌ها موجوداتی هستند که قادر به تولید ترکیبات با ارزش همچون رنگدانه‌ها، پروتئین، مواد معدنی، اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب و ویتامین به عنوان افزودنی‌های غذایی، مقاصد داروئی و بهداشتی می‌باشند. در حال حاضر، ۳ گونه ریزجلبک که از نظر اقتصادی مورد توجه قرار گرفته‌اند، شامل کلرلا، اسپیرولینا و دونالیلا هستند که از میان آنها ریزجلبک اسپیرولینا با توجه به اینکه به آسانی قابل کشت است و برداشت و خشک کردن آن نیز راحت می‌باشد، به عنوان بهترین گزینه در زیست فن‌آوری ریزجلبک‌ها قرار می‌گیرد (Jime´nez *et al.*, 2003). ریزجلبک اسپیرولینا یک گونه گرمادوست است و بهینه درجه حرارت ۳۵-۳۷°C را برای رشد می‌پسندد. از اینرو، کشت تجاری این گونه به مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری محدود می‌گردد. ریزجلبک اسپیرولینا به طور تجاری در سراسر دنیا کشت داده می‌شود و به شکل مکمل در تهیه محصولات با ارزش غذایی بکار می‌رود. این ریزجلبک غنی از پروتئین (۷۰-۶۰٪ وزن خشک)، ویتامین‌ها (بویژه ویتامین B_{12})، مواد معدنی و همچنین حاوی بسیاری از اسیدهای آمینه ضروری و اسیدهای چرب می‌باشد. از آنجائیکه دیواره سلولی این گونه فاقد سلولز می‌باشد، ۹۵-۸۵٪ آن قابل هضم برای موجودات می‌باشد. از اینرو، در آبزی‌پروری به عنوان غذای ماهی، سخت‌پوستان، نرمتنان و دوکفه‌ای‌ها کاربرد دارد (Oliveira *et al.*, 1999). مطالعات نشان داده است که پس از ۱۸ ساعت بیش از ۸۵٪ پروتئین موجود در اسپیرولینا هضم و جذب می‌گردد (Sasson, 1997). این جلبک علاوه بر ارزش تغذیه‌ای دارای ویژگی ضدباکتریایی و انتی اکسیدانی قوی می‌باشد که می‌تواند در مکمل‌های غذایی نیز بکار گرفته شود (Safari, *et al.*, 2019). در ریزجلبک‌ها که با عنوان میکروارگانیسم‌های تک‌سلولی شناخته می‌شوند، تولید زیتوده‌ای می‌کنند که می‌توانند به عنوان غذا به مصرف انسان یا در آبزی‌پروری به عنوان منبع غذایی مناسب در تغذیه ماهی و میگو بکار روند (Spolaore *et al.*, 2006).

تولید زیتوده و متابولیت‌ها در جلبک سبز-آبی اسپیرولینا در مقیاس وسیع، بستگی به فاکتورهای زیادی همچون درجه‌حرارت (Richmond, 1992)، میزان شدت نور (Pandey and Tiwari, 2010)، دی‌اکسیدکربن (Zilli *and* Converti, 2008; Ravelonandro *et al.*, 2011)، منابع نیتروژنی (Uslu *et al.*, 2011) و آمونیوم (Yuan *et al.*, 2011) دارد.

بررسی میزان رشد، زیتوده و کلروفیل *a* جلبک سبز-آبی اسپیرولینا، در شدت نور و درجه‌حرارت‌های مختلف و با استفاده منابع مختلف نیتروژنی نشان داد که اسپیرولینا هنگامی که با اوره کشت داده شود، نسبت به پتاسیم نیترات رشد بهتری دارد (Danesi *et al.*, 2011) و افزایش میزان پتاسیم نیترات اثر معنی‌داری بر میزان رشد و محتوی پروتئین این جلبک ندارد (Colla *et al.*, 2007). وجود نیتروژن کافی در محیط کشت تولید پروتئین را در سلول جلبکی پشتیبانی و سنتز کربوهیدرات را متوقف می‌کند و در مقابل سنتز کربوهیدرات هنگامی افزایش می‌یابد که میزان نیتروژن محیط کشت کاهش چشمگیری داشته باشد (Fernandez-Reiriz *et al.*, 1989).

مطالعات معدودی در استفاده از منابع مختلف نیتروژنی برای کشت جلبک اسپیرولینا متمرکز شده است (Rodrigues *et al.*, 2011; Madkour *et al.*, 2012). از آنجائیکه قیمت مواد مغذی محیط کشت، پس از هزینه‌های کارگری، بر هزینه تمام شده تولید اسپیرولینا تاثیر دارد، از اینرو کاهش هزینه‌های تولید با استفاده از محیط کشت‌های ارزان قیمت، یکی از فاکتورهای کلیدی در فرآیند توسعه تولید اسپیرولینا می‌باشد. اگرچه نیترات به عنوان یکی از منابع نیتروژنی مرسوم در ساختار تهیه محیط کشت این جلبک به کار می‌رود، ولی بکارگیری منابع نیتروژنی ارزان قیمت همچون اوره، نیتروژن مورد نیاز رشد این جلبک را فراهم می‌کند (Danesi *et al.*, 2011). از اینرو، هدف از انجام این تحقیق، تعیین بهترین منبع نیتروژنی است که بهینه رشد و زیتوده جلبک اسپیرولینا و پروتئین را دربرداشته باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118398]
Downloaded from isfj.ir at 15:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

مواد و روش کار

کشت ریزجلبک

محل اجرای این تحقیق در کارگاه تکثیر میگوی سنتدرف واقع در ۵ کیلومتری شرق جاسک بود. جلبک سبز-آبی *S. platensis* از فایکولب بخش آبزی‌پروری پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان تهیه گردید و در ارلن های ۳ لیتری محتوی ۲/۵ لیتر آب دریای استریل شده حاوی محیط Zarrouk (۱۹۶۶) شامل منابع مختلف نیتروژنی اوره (NH_2CONH_2)، نیترات آمونیوم (NH_4NO_3)، نیترات پتاسیم (KNO_3) با غلظت‌های ۰/۰۱۰، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵۰ مولار تحت شرایط یکسان با درجه‌حرارت ۲۵°C-۲۲، شوری ۳۰ppt، قلیائیت ۸ و پریود نوری h ۱۲:۱۲ (تاریکی: روشنایی) کشت داده شد (Guillard and Ryther, 1962).

تعیین زیتوده خشک

به منظور تعیین میزان زیتوده خشک، مقدار ml ۲۵۰ از جلبک *S. platensis* کشت یافته با محیط کشت‌های مختلف، در مرحله رشد لگاریتمی برداشت گردید و از خلال تور پلانکتون با چشمه ۲۵ میکرون عبور داده شد. سپس جلبک جمع‌آوری شده، روی کاغذ صافی وزن شده درون انکوباتور فن‌دار با درجه‌حرارت ۵۰°C به مدت ۱۲ ساعت قرار داده شد تا وزن خشک ثابت بدست آید (AOAC, 1995).

تعیین میزان پروتئین

تعیین میزان پروتئین نمونه جلبکی با استفاده از روش ارائه شده توسط Lowry و همکاران (۱۹۵۱) صورت گرفت و میزان آن نیز با استفاده از آلبومین به عنوان استاندارد و دستگاه اسپکتروفتومتری تعیین گردید.

تعیین کلروفیل *a* و کاروتنوئید

برای تعیین میزان کلروفیل*a* و کارتنوئید، حجم معینی از نمونه جلبکی (۱۰-۵ میلی‌لیتر)، در پایان آزمایش برداشت شد و از بین کاغذ صافی ۰/۴۵µ عبور داده شد و با استفاده از استن ۹۰٪ کلروفیل*a* محتوی سلولی استخراج گردید و مقدار آن از طریق اسپکتروفتومتری و معادله ارائه شده توسط Strickland و Parsons (۱۹۸۹) بدست آمد. میزان کارئنوئید (مجموع گزانتوفیل و کاروتن) نیز از طریق اسپکتروفتومتری و با استفاده از معادله ارائه شده توسط Wellburn (۱۹۹۴) تعیین گردید.

$$C_a\ (\mu g/ml) = 11.24\ A_{661.6} - 2.04\ A_{644.8}$$

$$C_b\ (\mu g/ml) = 20.13\ A_{644.8} - 4.19\ A_{661.6}$$

$$C_{(x+c)}\ (\mu g/ml) = 1000\ A_{470} - 1.90\ C_a - 63.14\ C_b$$

$$C_{(x+c)} = \text{کاروتن + گزانوفیل}$$

Ca ، Cb و A بترتیب بیانگر کلروفیل *a* و کلروفیل b و میزان جذب کلروفیل در طول موج مشخص شده می‌باشند.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری نتایج در برنامه SPSS و با بکارگیری آزمون‌های پارامتری (آنالیز و واریانس یک‌طرفه) و آزمون‌های تفریقی دانکن جهت مقایسه داده‌ها و سطح معنی‌دار برای داده‌ها $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد (Duncan, 1955).

نتایج

جدول شماره ۱ زیتوده جلبک *S. platensis* کشت داده شده با محیط کشت‌های مختلف را ارائه می‌دهد. با توجه به جدول ۱، اگرچه بیشینه زیتوده جلبکی ($g.L^{-1}$) در محیط کشت حاوی NH_4NO_3 بدست آمد، ولی اختلاف معنی‌داری با سایر منابع نیتروژنی مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). همچنین با افزایش غلظت نیتروژن میزان زیتوده جلبکی نیز افزایش یافت و بیشینه آن در محیط کشت‌های با مولاریته ۰/۰۵ مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با سایر غلظت‌های محیط کشت‌های مورد مطالعه نشان داد ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲ میزان پروتئین را در جلبک *S. platensis* کشت داده شده با محیط کشت‌های مختلف ارائه می‌دهد. همانگونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، بیشینه میزان پروتئین جلبک اسپیرولینا بترتیب در محیط کشت‌های

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118398]

Downloaded from isfj.ir at 15:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

حاوی NH_4NO_3 و KNO_3 بدست آمد، ولی اختلاف معنی‌داری با محیط کشت حاوی اوره مشاهده نشد ($p>0/05$). از سوی دیگر، در تمام کشت‌های جلبک اسپیرولینا، افزایش میزان نیتروژن منجر به افزایش میزان پروتئین گردید.

میزان کلروفیل *a* در جلبک *S. platensis* طی ۱۸ روز پرورش با محیط کشت‌های مختلف حاوی منابع مختلف نیتروژنی با غلظت‌های ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵ مولار در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به شکل، بیشینه میزان کلروفیل *a* در روز ۱۴ در هر ۳ تیمار مورد مطالعه مشاهده گردید و میزان آن در روز ۱۸ کاهش یافت. میزان کلروفیل *a* در روز ۱۴و در تیمار حاوی غلظت ۰/۰۲۵ مولار به کمتر از ۷ µg/ml و در غلظت ۰/۰۵ مولار به کمتر از ۱۰ µg/ml در محیط کشت حاوی NH_4NO_3 رسید (شکل۱).

میزان کلروفیل *a* در روز ۱۴ دوره پرورش در جلبک *S. platensis* که با محیط کشت‌های مختلف کشت داده شده در جدول ۳ ارائه شده است. میزان کلروفیل *a* در تمام تیمارها با افزایش غلظت، افزایش یافت که دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<0/05$). همچنین بیشینه میزان کلروفیل *a* در محیط کشت حاوی NH_4NO_3 مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد ($p<0/05$) (جدول ۴).

جدول۱: زیتوده جلبک اسپیرولینا کشت داده شده با منابع مختلف نیتروژنی در روز چهاردهم

Table 1: Biomass of *S. platensis* cultivated by using different nitrogen regimes in 14th day of culturing period.

محیط کشت	زیتوده جلبکی ($g.L^{-1}$)		
مولاریته	۰/۰۵۰	۰/۰۲۵	۰/۰۱۰
KNO_3	۱/۵۰±۰/۱۰	۱/۳۵±۰/۱۸	۱/۰۸±۰/۰۵
NH_4NO_3	۱/۷۲±۰/۱۸	۱/۴۰±۰/۰۷	۱/۱۶±۰/۲۲
NH_2CONH_2	۱/۴۷±۰/۳۵	۱/۱۲±۰/۰۴	۰/۹۵±۰/۳۰

جدول۲: میزان پروتئین جلبک اسپیرولینا کشت داده شده با منابع مختلف نیتروژنی در روز چهاردهم

Table 2: Protein content of *S. platensis* cultivated by using different nitrogen regimes in 14th day of culturing period.

محیط کشت	زیتوده جلبکی ($g.L^{-1}$)		
مولاریته	۰/۰۵۰	۰/۰۲۵	۰/۰۱۰
KNO_3	۵۸۶±۳۰	۵۷۸±۲۰	۵۶۳±۶۰
NH_4NO_3	۶۰۷±۴۵	۵۸۴±۸۰	۵۷۲±۷۵
NH_2CONH_2	۵۷۰±۳۰	۵۵۹±۱۵	۵۳۶±۲۵

جدول۳: میزان کلروفیل *a* جلبک اسپیرولینا کشت داده شده با منابع مختلف نیتروژنی در روز چهاردهم

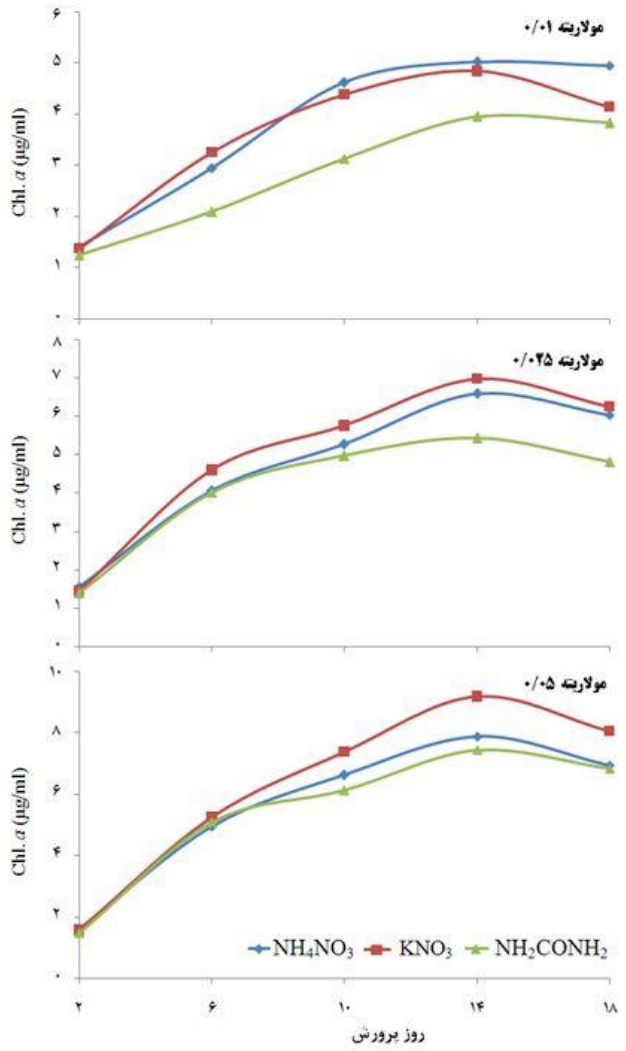
Table 3: Chlorophyll *a* content of *S. platensis* cultivated by using different nitrogen regimes in 14th day of culturing period.

محیط کشت	زیتوده جلبکی ($g.L^{-1}$)		
مولاریته	۰/۰۵۰	۰/۰۲۵	۰/۰۱۰
KNO_3	۹/۱۸±۰/۲۳	۶/۹۷±۰/۱۴	۴/۸۴±۰/۲۶
NH_4NO_3	۷/۸۹±۰/۱۷	۶/۹۵±۰/۴۲	۵/۰۲±۰/۳۰
NH_2CONH_2	۷/۴۴±۰/۴۰	۵/۱۳±۰/۳۹	۳/۹۵±۰/۱۸

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118398]
Downloaded from isfj.ir at 15:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019



شکل ۱: میزان کلروفیل *a* جلبک اسپیرولینا طی دوره پرورش با منابع مختلف نیتروژنی

Figure 1: Chlorophyll *a* content of *S. platensis* cultivated by using different nitrogen regimes during culturing period.

جدول۴: میزان کارتنوئید جلبک اسپیرولینا کشت داده شده با منابع مختلف نیتروژنی در روز چهاردهم

Table 4: Carotenoid content of *S. platensis* cultivated by using different nitrogen regimes in 14th day of culturing period.

محیط کشت	زی‌توده جلبکی ($g.L^{-1}$)		
مولاریته	۰/۰۵۰	۰/۰۲۵	۰/۰۱۰
KNO_3	۳۹/۵۲±۲/۵۰	۳۱/۴۹±۱/۹۳	۲۴/۰۷±۱/۰۵
NH_4NO_3	۳۶/۱۰±۲/۳۸	۳۱/۴۰±۲/۰۱	۲۴/۶۸±۱/۳۴
NH_2CONH_2	۳۴/۰۳±۱/۹۵	۲۵/۲۲±۱/۷۴	۱۹/۴۸±۱/۶۸

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118398]
Downloaded from isfj.ir at 15:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

بحث

کمبود مواد مغذی در محیط کشت، بویژه نیتروژن باعث می‌شود تا رشد و ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبک‌ها از روش‌های مختلف تحت تاثیر قرار گیرد. برای مثال، وجود نیتروژن کافی (در غلظت‌های بالاتر) در محیط کشت ریزجلبک اسپیرولینا میزان زیتوده و همچنین محتوی پروتئین را در سلول این ریزجلبک پشتیبانی می‌کند. از سوی دیگر، سنتز کربوهیدرات هنگامی افزایش می‌یابد که میزان نیتروژن محیط کشت محدود گردد (Fernandez-Reiriz *et al.*, 1989). نتایج حاصل از این مطالعه بوضوح نشان داد که افزایش میزان نیتروژن در تمام محیط کشت‌ها باعث افزایش میزان پروتئین در ریزجلبک *S. platensis* گردیده است و بیشینه این میزان پروتئین در محیط کشت حاوی NH_4NO_3 بدست آمد؛ اگرچه اختلاف معنی‌داری با سایر محیط کشت‌ها نشان نداد ($p<۰/۰۵$). بنظر می‌رسد سرعت تهی شدن میزان نیتروژن در کشت‌هایی که زیتوده بیشتری را شامل می‌باشند، سریعتر از سایر کشت‌هایی با زیتوده کمتر صورت گیرد، زیرا فقدان نیتروژن کافی (در غلظت‌های پائین‌تر) سبب می‌گردد تا کارایی سلول جلبکی برای تکثیر کاهش یابد (Göksan *et al.*, 2007). بهرحال، نتایج این پژوهش نشان داد که در غلظت‌های پائین‌تر نیتروژن در هر ۳ محیط کشت از نظر میزان زیتوده و نیز پروتئین کاهش معنی‌داری مشاهده می‌شود. از اینرو، بنظر می‌رسد با افزودن یا محدود نمودن میزان نیتروژن در محیط کشت ریزجلبک اسپیرولینا بتوان نوع و میزان ترکیب بیوشیمیایی مدنظر را در این ریزجلبک افزایش یا کاهش داد. Danesi و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیقی در استفاده منابع مختلف نیتروژنی در کشت ریزجلبک اسپیرولینا نشان دادند، هنگامی که این ریزجلبک با اوره کشت داده شود، نسبت به پتاسیم نیترات رشد بهتری را در پی خواهد داشت. از سوی دیگر، Colla و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که افزایش میزان پتاسیم نیترات به محیط کشت ریزجلبک اسپیرولینا اثر معنی‌داری بر میزان رشد و محتوی پروتئین این ریزجلبک نداشته است. این درحالیست که مطالعه اخیر بوضوح نشان داد که ریزجلبک اسپیرولینا به طور موفقیت‌آمیزی در محیط کشت زاروک حاوی منابع مختلف نیتروژنی رشد می‌کند و اختلاف معنی‌داری در میزان زیتوده و پروتئین در این ریزجلبک تیمارهای مختلف مشاهده نگردید. از اینرو، بنظر می‌رسد نتایج متفاوت در مطالعات انجام گرفته می‌تواند ناشی از ویژگی این ریزجلبک در پاسخ به منابع مختلف نیتروژن باشد.

افزایش یا کاهش غلظت نیتروژن در محیط کشت علاوه بر تاثیر آن بر میزان زیتوده و پروتئین ریزجلبک اسپیرولینا می‌تواند باعث تغییر میزان رنگدانه‌های کلروفیلی و کارتنوئید یا به عبارتی، تغییر رنگ محیط کشت نیز گردد (Cohen, 1997). در مطالعه حاضر، میزان رنگریزه‌های کلروفیل *a* و کارتنوئید با افزایش میزان نیتروژن افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری را نشان داد، اگرچه بین تیمارهای مختلف منابع نیتروژنی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. به طور مشابه نیز در مطالعه‌ای که توسط Akbarnejad *et al.*, 2018 در زمینه بررسی اثر غلظت‌های مختلف نیتروژن به شکل $NaNO_3$ بر میزان رشد و کلروفیل *a* ریزجلبک *Chaetoceros calcitrans* انجام گرفت، افزایش میزان نیتروژن سبب افزایش میزان رشد و کلروفیل *a* در این ریزجلبک گردیده است (Akbarnejad, *et al.*, 2018). Sarada و همکاران (۱۹۹۸) بیان داشتند که رنگ محیط کشت ریزجلبک اسپیرولینا پس از روز ۱۳، از سبز-آبی به سبز تبدیل شد که به دلیل تهی شدن محیط کشت از نیتروژن در پی مصرف آن بوسیله سلول ریزجلبکی ایجاد شده است که این خصوصیت از ویژگی‌های جلبک‌های سیانوفیت‌ها می‌باشد همچنین هنگامیکه نیتروژن محیط کشت تهی می‌شود، رنگریزه فیکوسیانین که مسئول رنگ سبز-آبی این ریزجلبک است، به عنوان منبع نیتروژن بکار می‌رود و رنگ ریزجلبک از سبز-آبی به سبز تبدیل می گردد و رنگ ثابت کلروفیل بیانگر وجود نیتروژن کافی در محیط کشت می‌باشد.

تولید ریزجلبک‌ها در کارگاه‌های تکثیر آبزیان حدود ۳۰٪ هزینه کل تولید را در بر می‌گیرد (Coutteau and Sorgeloos, 1992). از اینرو، یکی از فاکتورهای مهم در فرآیند تولید ریزجلبک‌ها، کاهش هزینه‌های تولید از طریق

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118398]
Downloaded from isfj.ir at 15:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

استفاده از محیط کشت‌های ارزان قیمت می‌باشد. در این میان نیترات‌ها به عنوان یکی از منابع نیتروژنی مرسوم در ساختار تهیه محیط کشت جلبک اسپیرولینا بکار می‌روند (Danesi *et al.*, 2011). نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که جلبک اسپیرولینا در حضور منابع نیتروژنی بکار رفته بخوبی رشد می‌کند و اگرچه میزان زیتوده و پروتئین و رنگریزه‌ها در تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری نشان نداد، ولی استفاده از NH_4NO_3 به عنوان منبع نیتروژنی می‌تواند کارایی نسبتاً بالاتری را نسبت به سایر منابع نیتروژنی مورد مطالعه در تولید زیتوده و میزان پروتئین داشته باشد.

منابع

Akbarnejad, M., Rajabi Islami, H., Javaheri Baboli, M., Shamsaie Mehrgan, M. and Filizadeh, Y. 2018. Effect of light and nitrogen concentration on the growth and lipid content of marine diatom, *Chaetoceros calcitrans. Iranian Journal of Fisheries Sciences*, DOI: 10.22092/ijfs.2018.117035

AOAC, 1995. Official methods of analysis of AOAC International. 16th Ed. Vol. 2, Association of Analytical Communities, USA.

Cohen, Z., 1997. The chemicals of Spirulina. In: Vonshak A. ed. *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology. Taylor and Francis; London, pp. 175–204.

Colla, L.M., Reinehr, C.O., Carolina, R. and Jorge, A.V.C., 2007. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*, 98: 1489–1493. DOI: 10.1016/j. biortech. 2005. 09.030

Coutteau, P. and Sorgeloos, P., 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve mollusks: an international survey. *Journal of Shellfish Research*, 11:467–476. DOI:10.1016/0044-8486(94)90229-1.

Danesi, E.D.G., Rangel-Yagui, C.O., Sato, S. and de Carvalho, J.C.M., 2011. Growth and content of *Spirulina platensis* biomass and chlorophyll cultivated at different values of light intensity and temperature using different nitrogen sources. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42: 362–373. DOI:10.1590/S1517-83822011000100046

Duncan, D.B., 1955. Multiple Ranges and multiple F Tests. *Biometrics*, 11: 1–42.

Fernandez-Reiriz, M.J., Perez-Camacho, A. and Ferreiro, M.J., 1989. Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipid and fatty acids) of seven marine microalgae. *Aquaculture*, 83: 17–37. DOI:10.1016/0044-8486(89) 90057-4

Göksan, T., Zekerüyaoúlu, A. and Ülknur, A.K., 2007. The Growth of *Spirulina platensis* in Different Culture Systems under Greenhouse Condition. *Turkish Journal of Biology*, 31: 47–52.

Guillard, R.R.L. and Ryther, J.H., 1962. Studies on marine planktonic diatoms. I.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118398]

Downloaded from isfj.ir at 15:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

Cyclotella nana Hustedt, and Detonula confervacea (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 18:229–239. DOI: 10.1139/m62-029

Jime´nez, C., Cossı´o, B.R., Labella, D. and Niell, F.X., 2003. The Feasibility of industrial production of *Spirulina* (Arthrospira) in Southern Spain. *Aquaculture*, 217: 179–190. DOI:10.1016/S0044-8486(02)00118-7

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265–275.

Madkour, F.F., Kamil, A. and Nasr H.S., 2012. Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *Egyptian Journal of Aquaculture Research*, 38: 51–57. DOI:10.1016/j.ejar.2012.09.003

Oliveira, M.A.C.L., Monteiro, M.P.C., Robbs, P.G. and Leite, S.G.F., 1999. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. *Aquaculture International*, 7: 261–275. DOI:10.1023/A:1009233230706

Pandey, J.P. and Tiwari, A., 2010. Optimization of biomass production of *Spirulina maxima*. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 1: 20–32.

Ravelonandro, P.H., Ratianarivo, D.H., Joannis–Cassan, C., Isambert, A. and Raherimandimby, M., 2011. Improvement of the growth of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* from Toliara (Madagascar): Effect of agitation, salinity and CO2 addition. *Food and Bioproducts Processing*, 89: 209–216. DOI:10.1016/j.fbp.2010.04.009

Richmond, A., 1992. Mass culture of Cyanobacterium**.** In: *Photosynthetic Prokaryotes;* Mann N.H., Carr N.G., (Eds.)., Plenum Press, New York, pp:181–209.

Rodrigues, M.S., Ferreira, LS., Converti, A. and Sato, S., 2011. Influence of ammonia sulphate feeding time on fed-batch *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* cultivation and biomass composition with and without pH control. *Bioresource Technology*, 102: 6587–6592. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.03.088

Safari, R., Raftani Amiri, Z., and Esmaeilzadeh Kenari, R. 2019. Antioxidant and antibacterial activities of C-phycocyanin from common name *Spirulina platensis*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, DOI: 10.22092/ijfs.2019.118129

Sarada, R., Pillai, M.G. and Ravishankar, G.A., 1998. Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. *Process Biochemistry*, 34: 795–801. DOI:10.1016/S0032-9592(98)00153-8

Sasson, A., 1997. Micro Biotechnologies*:* Recent Developments and Prospects for Developing Countries. BIOTEC Publication 1/2542. pp. 11–31. Place de Fontenoy, Paris. France. United Nations

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118398]
Downloaded from isfj.ir at 15:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO).

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

Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R., 1989. Discussion of spectrophotometric determination of marine plant pigments with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids. *Journal of Marine Research*, 21: 155–163.

Uslu, L., Işik, O., Koç, K. and Göksan, T., 2011. The effects of nitrogen deficiencies on the lipid and protein contents of *Spirulina platensis*. *African Journal of Biotechnology*, 10: 386–389. DOI: 10.5897/AJB10.1547

Wellburn, A.R., 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 144:307–313. DOI:10.1016/S0176-1617(11)81192-2

Yuan, X., Kumar, A., Sahu, A.K. and Ergas, S.J., 2011. Impact of ammonia concentration on *Spirulina platensis* growth in an air lift photobioreactor. *Bioresource Technology*, 102: 3234–3239. DOI:10.1016/j.biortech.2010.11.019

Zarrouk, C., 1966. Contribution a` l'e´tude d'une cyanophyce´e. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthe`se de *Spirulina maxima* (Setch. et Gardner) Geitler. Thesis, University of Paris, Paris, France.

Zilli, M. and Converti, A., 2008. Effects of carbon dioxide feeding rate and light intensity on the fed–batch pulse–feeding cultivation of *Spirulina platensis* in helical photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 39: 369–375. DOI:10.1016/j.bej.2007.10.007

.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118398]

Downloaded from isfj.ir at 15:21 +0330 on Saturday February 23rd 2019

The effect of different Nitrogen sources on growth rate and protein content of *Spirulina platensis*

Gorgij Jaski M.[1]; Yahyavei M.[1*]; Rohani-Ghadikolaei K.[2]; Salarzadeh A.R.[1]

[*]Maziar_yahyavi@yahoo.com

1-Fisheries Group, Islamic Azad University, Bandar Abbas Branch, Iran
2-Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran.

Abstract

Nitrogen is known to have a strong influence on the metabolism of lipids and protein in various microalgae. In the present study, the production of *S. platensis* was optimized in terms of biomass and protein by using different Nitrogen sources as NH_4Cl, NH_4NO_3 and Urea. *S. platensis* was grown in Zarrouk's medium in a 3000 ml Erlenmeyer flask, in which the $NaNO_3$ was replaced by NH_4Cl, NH_4NO_3 and Urea with concentrations of 0.010, 0.025 and 0.050 M. Cultures were incubated at temperature of 30^oC, salinity of 25 ppt and initial pH of 9.5 under 12/12 hour light-dark photo period with normal white light. The results clearly showed that *S. platensis* successfully cultivated by using different Nitrogen regimes, and though the maximum biomass was produced in medium containing NH_4NO_3, but there is not significant differences between treatments ($p>0.05$). The maximum protein content was obtained in culture containing NH_4NO_3 followed by NH_4Cl and KNO_3, and there is not significant differences between treatments ($p>0.05$). Moreover, in all *S. platensis* cultures, increasing in nitrogen concentrations, led to an increase in maximum biomass and protein content. The chl. *content* increased with increasing Nitrogen concentrations in all treatments and relatively high values (9.18 µg/ml) were found with KNO_3 as a Nitrogen source at 14th day of culturing period. Overall, though the results of present study clearly showed no significant differences between treatments, but using of NH_4NO_3 could have relatively more effectiveness than the other Nitrogen sources.

Keywords: Nitrogen, Protein, Biomass, *Spirulina platensis*

[*]Corresponding author

www.SID.ir