Archive of SID

فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ٤، شمارهٔ ٣، پاییز ١٣٩٤، صفحه ٦١- ٧٦

تغلیظ کشت جلبکی تتراسلمیس (*Tetraselmis suecica*) به‌روش سانتریفیوژ و تاثیر ویتامین‌های C و E بر میزان بازماندگی و شاخص‌های آنالیز تقریبی

فرزانه زمانیان[1*]، فرناز رفیعی[2]، عبدالمحمد عابدیان کناری[3]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی
۲- استادیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی
۳- استاد، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

تاریخ دریافت: ۹٤/۰٤/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹٤/۰۸/۱۳

*نویسنده مسئول مقاله: fzamanian31@gmail.com

چکیده:

کنسانتره ریزجلبک *Tetraselmis suecica* تولید و اثرات ویتامین‌های C و E در افزایش ماندگاری و ارزش‌های غذایی آن طی ۸ هفته نگه‌داری در دمای یخچال (4°C) بررسی شد. برای تغلیظ کشت جلبکی، ابتدا کشت انبوه جلبک مورد نظر تا مرحله رشد لگاریتمی در محیط کشت استاندارد کانوی انجام شد و پس از تعیین میزان زنده مانی سلول ها، با روش سانتریفیوژ توسط دستگاه خامه‌گیر تغلیظ شد. کنسانتره های جلبکی سپس تحت تیمارهای ویتامینی شامل ویتامین C، ویتامین E و ترکیب مساوی دو ویتامین (همگی به میزان وزنی/وزنی ۰/۱٪) قرار گرفتند .تراکم جلبک در کنسانتره جلبکی حاصل از این روش حدود ۱۰۹ × ۱/۳۸ سلول در میلی لیتر و بازده تولید حدود ۱/۷ گرم به ازای هرلیتر محیط کشت بود. نتایج نشان داد که میزان زنده مانی تیمار ویتامین E در انتهای دوره۲/۱±۳۹/۹۹ ٪ و نسبت به تیمار شاهد بیشتربود (p>۰,۰۵) که مبین اثرمثبت نگه‌دارنده ها می‌باشد. نتایج آنالیز تقریبی نیز نشان داد که تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها کمترین تغییرات رطوبت (۸٦/۸٪)، تیمار ویتامین C بالاترین میزان پروتئین(۳٦/٦٪) و کمترین میزان خاکستر(۳۹/۹٪) و تیمار حاوی ترکیب مساوی دو ویتامین بالاترین میزان چربی (۱۳/٤٪) درطی دوره نگه داری را داشتند. مقادیرpH نیز در تیمار ویتامین C و شاهد کمتر از دو تیمار دیگر بود. در مجموع برای حفظ کیفیت کنسانتره این ریزجلبک، استفاده از ویتامین E وC و نگه‌داری آن در دمای یخچال پیشنهاد می گردد.

کلید واژگان: کنسانتره جلبکی، *(Tetraselmis suecica)*، ماندگاری، ویتامین C و E، سانتریفوژ، آنالیز تقریبی،pH

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

جلبک‌ها گروه بزرگی از گیاهان را تشکیل می دهند که قدیمیترین موجودات فتوسنتز کننده و تولید کننده اکسیژن بر روی کره زمین به شمار میروند . اگرچه تا به امروز بیش از ۲۵۰۰۰ گونه جلبک گزارش شده است اما تنها حدود ۷۰ گونه از جلبکها به عنوان غذا ، علوفه، کود شیمیایی مصرف می شوند,Farboodnia(2010).

آنچه مسلم است امروزه علوم مرتبط با استفاده از فرآورده های نوین با ارزش افزوده با سرعت زیادی در حال توسعه است و در این راستا می توان از کنسانتره های جلبکی در عرصه علوم جلبک شناسی نام برد. کنسانتره جلبکی در واقع یک محصول تغلیظ شده از سلولهای جلبک می باشد که به طرز صحیحی جمع آوری گردیده و با افزودن مواد نگاهدارنده مناسب در شرایط نگهداری مطلوب تا مدتها قابل استفاده می باشد . به طور معمول از هر ۲۰۰۰ لیتر محیط کشت و پرورش جلبک زنده در حدود ٤ لیترSlurryو ۳ لیترPaste که به ترتیب کنسانتره های رقیق و غلیظ جلبکی می باشند به دست می آید(Nunes et al., 2009). تولید کنسانتره جلبکی دارای معایبینیز می باشد که محققین در جهت رفع آنها به تحقیقات خود ادامه میدهند. از جمله مهمترین معایب کنسانتره های منجمد شده نرخ رسوب سریعتر نسبت به جلبک زنده، امکان تخریب جداره سلولی جلبکها و آزاد شدن مواد آلی درون آنها به درون آب و عدم تولید اکسیژن توسط جلبکهای منجمد درآب می باشد(Heasman et al.,2001).

از نظر اقتصادی قیمت کنسانتره ای جلبکی نسبتا بالا و بر حسب گونه های مختلف در حال حاضر هر کیلو حدود ۲۰۰ تا ٤۰۰ دلار می باشد(Heasman et al., 2001). در این خصوص شرکتها و موسسات خصوصی در دنیا وارد عرصه تولید و صادرات این محصول به تمام نقاط دنیا گردیده اند. اینگونه شرکتها معمولا تمایلی به ارائه روش کار و تکنیکهای تولید این محصول نداشته ، لذا لازم است تا در این زمینه تحقیقات کاربردی در داخل کشور توسعه یافته تا به تکنولوژی تولید انبوه کنسانتره ها و سایر فراورده های جلبکی برای تامین نیازهای داخلی و در صورت بازاریابی مناسب صادرات ارزآور آن نائل گردید . تولید کنسانتره جلبکی دارای چندین مزیت نسبت به جلبک زنده به شرح زیر می باشد

۱- کنسانتره جلبکی دارای غلظت بالایی می باشد و فضای کمی برای نگهداری نیاز دارد .

۲- با افزودن سطوح متفاوت نگاهدارنده های مواد غذایی می توان آنها را برای مدتی نسبتا طولانی استفاده نمود .

۳- مدیریت نگهداری از کنسانتره جلبکی بهتر از کشتهای تازه است

٤- کنسانتره جلبکی در صورت نیاز، می تواند حتی در شرایط کنترل شده به منظور عدم آلودگی آنها به انواع میکروارگانیزمها تولید شود.

۵- برای تولید آنها نیازی به استفاده از سموم و انواع کودها نمیباشد.

٦- از نقطه نظر اقتصادی تولید تجاری کنسانتره جلبکی در حجمهای بزرگ اقتصادی و قابل رقابت ا ست

تکنیک های مختلفی برای تغلیظ کشتهای جلبکی وجود دارد که از جمله می توان به فلوکولاسیون[1]، فیلتراسیون و سانتریفیوژ اشاره نمود(Nunes et al., 2009).درروش فلوکولاسیون یا ترسیب و انعقاد ریز جلبکها، از مواد مختلفی نظیر کلرید آهن، سولفات آهن، سولفات پلی فریک، کلرید آلومینیوم، سولفات آلومینیوم (آلوم) و کلراید پلی الومینیوم استفاده شده است Ives,

www.SID.ir

Archive of SID

(1959; Tenney et al., 1969; knuckey et al.2006). همچنین فلوکولاسیون ریزجلبک‌ها با استفاده از بیوپلیمر کیتوزان با موفقیت در برخی از گونه‌های جلبکی گزارش شده است (Lubian, 1989).جمع آوری ریزجلبکها از طریق سانتریفیوژ کردن، از جمله تکنیک های موفق جهت برداشت میکروجلبک ها در مقیاس‌های انبوه بوده (Becker, 1994) و مورد پسند بیشتر برنامه نویسان تغذیه آبزیان واقع شده است (Griffith et al., 1973; Waston, 1986; Donaldson, 1989). فرایند سانتریفیوژ امکان ذخیره سازی تعداد زیادی از سلول‌ها را در حجم کم فراهم می کند (Palanichamy and Rani, 2004).همچنین سانتریفیوژ موجب افزایش تحمل نیروی جاذبه توسط جلبک میگردد (Wheaton, 1977) به این معنی که با بکار بردن نیروی گریز از مرکز سرعت ته نشین شدن آن به نسبت افزایش پیدا می‌کند. روش سانتریفیوژ مقدار باکتری های موجود در کشت جلبک را کاهش داده و دوره ذخیره سازی کنسانتره را بهبود می بخشد(Aji, 2011). با توجه به اینکه غلظت جلبکهای حاصل از سانتریفیوژ معمولا بالا می باشد، معمولاً پس از سانتریفیوژ و جمع آوری جلبکها،غلظت آنرا با استفاده از محلول سوپرناتانت حاصل در حد مطلوب رقیق می نمایند. این روش با وجود مزایای اشاره شده مشکلاتی نیز دارد. در این فرایند از آنجا که سلول ها درمعرض نیروی جاذبه بالا قرار می گیرند ممکن است به ساختار سلول صدمه وارد شود. (Aji, 2011). بهره‌برداری از کنسانتره جلبکی به‌عنوان جایگزین برتر سلول‌های زنده، عرصه ای کاربردی و اقتصادی در حوزه علم جلبک شناسی ایجاد نموده است. با توجه به کاربردهای مختلف این محصول در زمینه‌های ارزشمندی همچون تغذیه آبزیان ، تولید ترکیبات زیستی، داروها و محصولات آرایشی، تولید سوخت‌های زیستی و غیره که همگی نیازمند تولید انبوه جلبکها، جمع‌آوری و نگهداری مناسب از سلول‌های جلبک می‌باشند.ریزجلبک *(Tetraselmis suecica)*از دسته جلبک های سبز است که به خاطر وجود ٤ تاژک بلند در یک طرف سلول بنام تتراسلمیس نامیده می شود .اندازه ان حدود ۲۰ تا ۳۰ میکرون است و بدلیل وجود تاژکها همیشه در محیط ابی متحرک است و مانند یک زئوپلانکتون فعال در زیر میکروسکوپ نوری حرکت ان قابل مشاهده است . از طریق تقسیم شدن تکثیر می یابد و سلول‌ها بصورت انفرادی بوده بیشتر انها در اب های لب شور و کاملا شور یافت می شوند ولی قدرت تکثیر و رشد در اب های شور بیشتر است(Heasman et al., 2001). این ریز جلبک درآبزی پروری و صنایع دارویی و غذایی به خوبی مورد بهره برداری قرار می گیرد.از آنجا که در تولید کنسانتره های جلبکی نحوه کشت انبوه، شیوه تغلیظ و کنسانتره نمودن و همچنین ترکیبات مواد نگاهدارنده بر اساس گونه های متفاوت متغیر می باشد، هدف این تحقیق آن است تا با بهینه سازی محیط کشت و افزودن ویتامینهای E و C بصورت مجزا و ترکیب آنها، گونه تتراسلمیس را بصورت کنسانتره جلبکی برای مدت حدود ۸ هفته با حفظ خواص کیفی اولیه نگهداری نمود. تاکنون در دنیا ، افزودن ویتامینهای E و C به عنوان مواد افزودنی نگاهدارنده به کنسانتره جلبکی تتراسلمیس گزارش نشده است.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه جلبکی :

ذخیره اولیه گونه تتراسلمیس از پژوهشکده نرمتنان سازمان تحقیقات شیلات ایران واقع در بندر لنگه تهیه و توسط یونولیت حاوی یخ و در شرایط دمایی خنک شده به محل انجام تحقیق منتقل گردید.جهت بررسی سلامت

www.SID.ir

Archive of SID

نمونه های تهیه شده ابتدا میزان زنده مانی سلولها با استفاده از میکروسکوپ نوری و لام هماسیتومتر بررسی و پس از اطمینان از خلوص نمونه ها و عدم آلودگی آنها توسط سایر گونه های جلبکی ، استوکهای کاملا خالص جهت انجام مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت .

بهینه‌سازی شرایط کشت

کشت اولیه جلبک مذکور در محیط کشت کانوی (Laing 1991, در مقادیر ١٠٠ و سپس ١٠٠٠ میلی لیتری و تحت شرایط کنترل شده در انکوباتور ژرمیناتور با دمای ١±٢٤واجد لامپهای فلورسنت با شدت نوری ٢٥٠٠ لوکس، ٨/٦ –٥ /٧ =pH و شوری ٤٠ PPT توام با هوادهی، کشت داده شد. (Lavens, 1996Sorgeloos and). پس از کشت اولیه جلبکها سپس در ظروف ١٠ لیتری و به میزان ٢٠٠ لیتر مورد کشت انبوه قرار گرفتند. در این مرحله میزان نور با استفاده از دستگاه لوکسی متر در ٣٥٠٠ لوکس تنظیم و به منظور حصول به حداکثر رشد در مرحله لگاریتمی جلبک‌ها به مدت ١٠ روز با هوادهی و تنظیم دمای محیط مورد کشت قرار گرفتند.از آنجا که میکرو جلبک تتراسلمیس یک گونه ی آب شور است و شوری بهینه در شرایط استاندارد برای پرورش آن حدود ٤٠ قسمت در هزارمی باشد. برای کشت این میکرو جلبک از آب دریای خزر با شوری ١٢ قسمت در هزار به عنوان محلول پایه استفاده شد و با اضافه نمودن نمک دریا به میزان لازم ، شوری آب در حد ٤٠قسمت در هزارو با استفاده از دستگاه رفراکتومتر (Atago Co., Japan)تنظیم گردید. قبل از اضافه کردن محیط کشت جلبک و استوک جلبکی ، آب را به مدت ٣٠ دقیقه زیر اشعه UV قرار داده شد تا کاملا استریل شود (Tompkins et al ، ١٩٩٥).

تغلیظ کشت جلبکی با استفاده از سانتریفوژ:

در این روش جمع آوری جلبکها توسط سانتریفیوژ (Arsan cream separator, Turkey)جداسازی ترکیبات معلق محلول که در واقع نوعی از دستگاه خامه گیر با حجم بالا و شتاب ١٢٠٠٠g بود صورت پذیرفت (Csordas, 2004). پس از رسوب و جمع شدن جلبکها در قسمت داخلی روتور دستگاه، جلبکهای تغلیظ شده جمع آوری و به ظروف استریل جداگانه منتقل شدند. تراکم جلبک در کنسانتره جلبکی حاصل از این روش حدود $١/٣٨ \times ١٠^{٩}$ سلول در میلی‌لیترو بازده تولید حدود ١/٧ گرم به ازای هرلیتر محیط کشت بود.

افزودن ویتامین‌ها به عنوان مواد نگهدارنده، نگهداری جلبک‌ها و نمونه‌برداری‌های دوره‌ای:

در این مرحله افزودنی های مورد نظرشاملویتامین C، ویتامینE و ترکیب مساوی دو ویتامین (همگی به میزانوزنی/وزنی ٠/١٪) به ظروف اضافه شده و سپس هموژن گردید (Nunes et al., 2009).تیمارهای مذکور در سه تکرار با تیمار شاهد که فاقد افزودنی بود مقایسه شدند.کنسانتره تولید شده به مدت ٨ هفته در شرایط محیط تاریک یخچال با دمای ٤ درجه سانتیگراد نگاهداری و هر ٧–١٥ روز یکبار (بر اساس نوع آزمایشات لازم) مورد نمونه برداری قرار گرفتند. بمنظور انجام آزمایشات آنالیز تقریبی(بجز شاخص رطوبت) ابتدا نمونه های مورد لزوم در آون٧٠ درجه سانتیگراد به مدت ١٢–١٤ ساعت خشک و نمونه های خشک شده به روش (Bezerra Neto et al., 1994, Moura junior et al., 2007) مورد آنالیز قرار گرفتند.

آنالیز تقریبی (AOAC. 1995, 2005):

قبل از انجام آنالیز تقریبی به منظور محاسبه دقیق شاخصهای مورد نظر، از انجا که نمونه ها ی جلبک حاوی

www.SID.ir

Archive of SID

املاح محیط کشت هستند ابتدا املاح آنها به روش شوری زدایی(Fernandez و همکاران ۱۹۸۹) حذف شد. در این خصوص نمونه ها دردو نوبت با استفاده از محلول بیکربنات آمونیوم ٤ درصد شستشو و پس از سانتریفیوژ (۱۵۷ g بمدت ۵ دقیقه) سوپرناتانت تخلیه و در انتها با آب مقطر شستشو داده وپس از سانتریفیوژ مجدد و تخلیه سوپرناتانت نمونه ها به آون با دمای مورد لزوم هر شاخص منتقل و پس از خشک شدن نهایی مورد سنجش قرار گرفتند.

- سنجش میزان پروتئین به روش کلدال:

ابتدا ۰,۰۵ گرم کنسانتره جلبکی که قبلا شوری زدایی شده بود توزین و به لوله های شیشه ای هضم دستگاه کجلدال منتقل گردید و به آن حدود ۱,۵ گرم سولفات پتاسیم، ۰,۱۵ گرم سولفات مس، ۸ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ افزوده شد و تا هنگام سبز شدن محتویات بالن محلول حرارت داده شد. دما به تدریج به ٤۰۰ درجه رسانده شد تا به ملایمت بجوشد. جوشاندن ۳-۲ ساعت به طول انجامید تا محلول شفافی به دست آمد که نشاندهنده فرایند هضم بود. بعد از آن حدود نیم ساعت تامل نموده تا لوله ای هضم حاوی نمونه ها سرد شده و سپس ۱۰ سی سی آب مقطر به هر لوله اضافه گردید و در جایگاه مخصوص در دستگاه کجلدال قرار داده شد. سپس مقدار درصد پروتئینی که دستگاه نشان داد، ثبت گردید.

- سنجش میزان چربی به روش Folch:

ابتدا مقدار ۰,۱ گرم نمونه خشک جلبک توزین و به همراه ۸۰۰ میکرولیتر متانول و سپس ۱٦۰۰ میکرو لیتر کلروفرم در دکانتور ریخته و به خوبی هموژن شد. همچنین ٦۰۰ میکرولیتر محلول کلرید سدیم افزوده شد (این مراحل ۳ نوبت تکرار گردید). نمونه های جلبکی در این مرحله ٤۰ دقیقه در معرض ترکیبات فوق قرار گرفتند. سپس محلول فوق در سانتریفیوژ ۱۵۷ gبه مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و لایه رویی تخلیه گردید. لایه زیرین که حاوی مواد آلی است از صافی عبور داده و در ویال شیشه ای (که قبلا کاملا خشک و توزین گردیده است) ریخته و سپس توسط گاز نیتروژن عمل حلال پرانی تا خشک شدن کامل ویال مذکورادامه یافت. سپس ویالها در آون ٦۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند و پس از سرد شدن در دسیکاتور محددا توزین گردیدند. میزان چربی بر حسب درصد از طریق رابطه ۱ به دست آمد.

درصدچربی :رابطه ۱ = (وزن نمونه / وزن ظرف - وزن ظرف وچربی) ×۱۰۰

- سنجش میزان خاکستر

ابتدا ۰/۰۲ گرم نمونه شوری زدایی شده کنسانتره جلبک در بوته چینی که قبلا توزین (وزن اولیه) شده بود ریخته شد و در داخل کوره با دمای ٦۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲٤ ساعت قرار گرفت . سپس نمونه ها در داخل دسیکاتور به مدت ۱۵-۲۰ دقیقه نگهداری و سرد شد و با ترازوی دیجیتالی توزین و نتایج حاصله به عنوان وزن ثانویه ثبت و میزان خاکستر نمونه با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید.

خاکستر:رابطه ۲ =میزان وزن ثانویه – وزن اولیه /وزن نمونه ×۱۰۰

- سنجش میزان رطوبت

ابتدا لوله های آزمایش به مدت ۳ ساعت در اتو با حرارت ۱۰۳درجه سانتیگراد قرار داده شد، پس از سرد کردن در داخل دسیکاتورتوزین گردید، این عمل آنقدرتکرار شد تا وزن لوله های آزمایش ثابت و به عنوان وزن اولیه ثبت گردید. سپس ۰,۵ گرم نمونه ی تر کنسانتره جلبکی شوری زدایی شده در لوله های مذکور ریخته شد و به مدت ۲-٤ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد آون قرار گرفتند.

www.SID.ir

Archive of SID

پس از خشک و خنک شدن مجدد در دسیکاتور آنها را وزن کرده (وزن ثانویه) و میزان رطوبت از رابطه ٣ محاسبه شد.

وزن نمونه×١٠٠/وزن اولیه –وزنثانویه= میزان رطوبت:رابطه ٣

بررسی میزان ماندگاری و ارزیابی تغییرات pH نمونه‌ها:

ابتدا میزان ١٠٠ میکرولیتر از کنسانتره جلبکی به وسیله ٩٠٠ میکرولیتر آب شور ٤٠ گرم بر لیتر رقیق گردید و از محلول حاصل ١٠٠ میکرولیتر به زیر لام هموسیتومتر منتقل و تعداد سلولهای زنده و متحرک از رابطه ٤ محاسبه گردید.

$$\text{درصد زنده مانی:رابطه ٤} = \frac{\text{تعداد سلول های زنده}}{\text{شدهشمارشهایسلولکلتعداد}} \times ١٠٠$$

برای سنجش میزان pH نمونه ها ابتدا میزان ٢٠٠ میلی گرم نمونه کنسانتره تر جلبکی (بدون شوری زدایی) در لوله آزمایش ریخته شد و به آن ١,٨ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و پس از رقیق شدن نمونه های جلبکی میزان pH نمونه‌ها در دمای اتاق با استفاده از دستگاه pH متر مدل ٣٥١٠ ساخت شرکت Jenway انگلستان اندازه‌گیری گردید (Suvanich و همکاران، ٢٠٠٠).

پردازش آماری داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از تحقیق از نرم افزارSPSS و برای رسم نمودارها از Excel ٢٠١٠ استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف–اسمیرنوف ارزیابی گردیده و پس از اطمینان از نرمال بودن داده ها مقایسه میانگین ها با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه و برای بررسی وجود اختلاف ها و تفاوت های معنی دار بین میانگین نمونه ها از آزمون چند دامنه ای Tukey با سطح معنی دار ٩٥٪ استفاده شد. سطح اطمینان آماری تحقیق ٠/٠٥ = P درنظر گرفته شد.

نتایج

آنالیزتقریبی نمونه

- نتایج سنجش رطوبت

میانگین میزان رطوبت نمونه‌های مورد آزمایش در ابتدای دوره ٠/٩٥ ±٨٥,٨٦ اندازه‌گیری شد که میزان آن در تیمار شاهد طی دوره نگهداری در مقایسه با روز صفر دارای افزایش بود، اما این افزایش در روز های نمونه گیری با نوسان همراه بود. بعد از گذشت ١٥ روز نگهداری مقدار آن افزایش یافت و با اختلاف معنی داری بالاتر از روز صفر وجود داشت (P <٠,٠٥) اما این افزایش ، اختلاف معنی داری با روز ٣٠ و ٤٥ نداشت (P >٠,٠٥). در روز ٦٠ دوره نگهداری در افزایش این مقدار نسبت به روز صفر اختلاف معنی داری مشاهده نشد (P >٠,٠٥) ولی میزان آن در روز ١٥ با اختلاف معنی داری بالاتر از روز صفر این دوره بود (P <٠,٠٥). در تیمار ویتامینC با اختلاف معنی داری، رطوبت بالاتر از تیمارهای ویتامین E و تیمار حاوی دو ویتامین مشاهده شد(P <٠,٠٥) و میزان این پارامتر در روز ٣٠ نگهداری در دو گروه شاهد و ویتامینC دارای روند کاهشی و در دو تیمار ویتامین E و تیمار حاوی دو ویتامین دارای روند افزایشی بوده به طوریکه در روز مذکور این میزان در بین گروه ها دارای اختلاف معنی داری نبود(P>٠,٠٥). مقدار رطوبت تیمار ویتامین C در روز ١٥ دوره با اختلاف معنی داری بالاتر از روز صفر مشاهده گردید (P<٠/٠٥) که در این تیمار مقدار مذکور با بالاترین میزان، اختلاف معنی داری با روزهای ٣٠–٤٥ و ٦٠ داشت (P<٠/٠٥). میزان رطوبت تیمار ویتامین E در روز ٤٥ با اختلاف معنی داری بالاتر از روز صفر مشاهده گردید (P<٠/٠٥) که این مقدار با روزهای ١٥ ، ٣٠ دوره نگهداری اختلاف معنی داری نداشت (P>٠,٠٥). مقدار رطوبت اندازه گیری شده در تیمار

www.SID.ir

Archive of SID

حاوی دو ویتامین نشاندهنده این بود که در روز ٤٥ مقدار آن با اختلاف معنی داری بالاتر از روز صفر وجود داشت (P<۰/۰۵) اما مقدار مذکور با روزهای ۱۵ و ۳۰ دارای اختلاف معنی داری(P >۰,۰۵) نبود(جدول۱).

جدول ۱ تغییراتمیزان رطوبت جلبک تتراسلمیس (بر حسب درصد)در تیمارهایمختلف، در طول مدت زمان نگهداریدردمایی خچال (٤ °C)

زمان نگهداری / (روز) تیمار	صفر	۱۵	۳۰	٤٥	٦٠
شاهد	۸۵,۸٦۵±.,۹۵۱^{c}	۹۲,۵۷٤±۱,۲۳۸^{ABa}	۸۸,٤۱۱±۵,۲۷۷^{abc}	۹۰,۷٤۵±۰,٤۲٦^{Bab}	۸٦,۸۰۰±۰,٦٤۹^{Babc}
ویتامین C	۸۵,۸٦۵±۰,۹۵۱^{c}	۹٤,۱۵۵±۰,۷۲٤^{Aa}	۹۱,۳۲۱±۱,٤۲۸^{b}	۹۲,۰۵٤±۱,۰۵٦^{ABb}	۹۱,٦۹۹±۰,۱۹۹^{Ab}
ویتامین E	۸۵,۸٦۵±۰,۹۵۱^{c}	۹۰,۹۹٤±۰,۱۱٦^{Ba}	۹۲,۰۹۹±۰,۱۷۰^{a}	۹۲,۲۰۰±۱,۷۳۵^{ABa}	۸۸,۳۹٦±۱,۷٦۸^{Bb}
ویتامین C+E	۸۵,۸٦۵±۰,۹۵۱^{c}	۹۱,۹۸۲±۱,۲۱۲^{Ba}	۹۲,۵۰۰±۰,٤۸۲^{a}	۹۳,۵۳٤±۰,۸۲۳^{Aa}	۸۸,۷۱۵±۱,٦۲٤^{Bb}

حروفکوچکدرهرردیفنشاندهندهاختلافمعنی داردرسطح P<۰,۰۵ درهرتیماردرطولنمونهبرداریاست.حروفبزرگدرهرستوننشاندهندهاختلافمعنیداردرسطح P <۰,۰۵ دربینتیمارهادرهرهفتهنمونهبرداریاست. عدموجودحروفدرهرستونردیف نشاندهندهعدموجوداختلافمعنی داردرسطح P>۰,۰۵ است. دادههابهصورتمیانگین ± انحرافمعیارسهتکرارگزارششدهاند.ویتامینهای C و E درکنسانتره جلبکی به میزان ۰/۱٪ و مخلوطویتامینهای E وC بهنسبتمساوی هر کدام به میزان ۰/۰۵٪ اضافه شده است.

- نتایج سنجش پروتئین

میانگین میزان پروتئین در ابتدای دوره نگهداری در گروه های آزمایشی ۲,۳۸ ± ۳۳,۹۰ ارزیابیشد. باگذشتزمان،تیمارشاهددارایروندافزایشییبود .درروز ٤٥ مقدارآندارایبالاترینمیزان،کهبااختلافمعنیداریبیشترازروزهایصفر، ۱۵ و ۳۰ ارزیابیشد (P<۰/۰۵) که مقدار مذکور با روز ٦۰ اختلاف معنی داری نداشت (P >۰,۰۵) . مقدار پروتئین گروه ویتامین C نیز دارای روند افزایشی بوده که در روز ٦۰ دوره نگهداری با بالاترین مقدار با اختلاف معنی داری بیشتر از روزهای صفر و۳۰ مشاهده شد (P<۰/۰۵) و مقدار مذکور با روزهای ۱۵ و ٤٥ اختلاف معنی داری نداشت (P>۰/۰۵). میزان پروتئین تیمار ویتامین E، دارای کاهش و افزایش بوده است به نحوی که در روز ٤٥ بالاترین مقدار آن مشاهده، که با اختلاف معنی داری بیشتر از روزهای ٦۰ -۱۵-۳۰ و صفر وجود داشت (P<۰/۰۵). مقدار پروتئین تیمار حاوی دو ویتامین، دارای روند افزایشی بوده ولی در طی دوره نگهداری اختلاف معنی داری نداشت (P>۰/۰۵).

مقایسه گروه های آزمایشی بیانگر این است که در روز ٤٥ با بالاترین میزان خود در تیمار شاهد ویتامین E مشاهده شد به نحوی که با اختلاف معنی داری بالاتر از تیمار ویتامین C و تیمار حاوی دو ویتامین وجود داشت (P<۰/۰۵) و همچنین مقدار پروتئین روز ٦۰ دوره نگهداری در تیمار ویتامین C با اختلاف معنی داری بالاتر از تیمار ویتامین E ارزیابی شد لذا تیمار ویتامین C از نظر دارا بودن بالاترین مقدار پروتئین در انتهای دوره نگهداری (روز ٦۰) بهترین تیمار بود (جدول۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٢ تغییراتمیزانپروتئین جلبک تتراسلمیس (بر حسب درصد)درتیمارهایمختلف، در طول مدت زمان نگهداریدردمای یخچال (٤ °C)

زمان نگهداری / (روز) تیمار	صفر	١٥	٣٠	٤٥	٦٠
شاهد	٣٣,٩٠٤±٢,٣٨^{bc}	٣٢,٢١٢±٠,٧٠٤^{Bc}	٣٤,٧٧٣±١,١٤٣^{bc}	٣٧,٨٨٧±١,٠٧٢^{Aa}	٣٦,٣٢٩±١,٠٦٦^{Aab}
ویتامینC	٣٣,٩٠٤±٢,٣٨	٣٥,٢٣٠±٠,٥١٩^{A}	٣٤,١٣٢±٠,٧٥٥	٣٥,٠٩٥±٠,٥٧١^{B}	٣٦,٦٤٩±٠,٥٩٨^{A}
ویتامینE	٣٣,٩٠٤±٢,٣٨^{b}	٣٠,٦١٠±٠,٢٣٧^{Bd}	٣٢,٦٧٠±١,٧٥٢^{bc}	٣٧,٧٥٠±١,٤٥٢^{Aa}	٣٠,٤٧٤±١,٠٣٦^{Bd}
ویتامینC+E	٣٣,٩٠٤±٢,٣٨	٣٥,٣٦٩±٢,٩٥٧^{A}	٣٤,٢٧٢±١,٩٤٢	٣٥,٢٧٨±١,٣٧٢^{B}	٣٥,٠٠٤±٣,٠١^{A}

حروفکوچکدرهرردیفنشاندهندهاختلافمعنی داردرسطح P<٠,٠٥ درهرتیماردرطولنمونهبرداریاست.حروفبزرگدرهرستوننشاندهندهاختلافمعنیداردرسطح P <٠,٠٥ دربینتیمارهادرهرهفتهنمونهبرداریاست.عدموجودحروفدرهرستونردیفنشاندهندهعدموجوداختلافمعنی داردرسطح P>٠,٠٥ است. دادههابهصورتمیانگین ± انحرافمعیارسهتکرارگزارششدهاند.ویتامین C ، ویتامین E و ترکیب مساوی دو ویتامین (همگی به میزانوزنی/وزنی ٠/١٪) اضافه شده است.

- نتایجسنجشچربی

مقدار اولیه چربی نمونههای مورد آزمایش ٠,٤٩ ± ١٢,٩٤ درصد بود، این میزان در گروه شاهد دارای روند کاهشی بوده به نحویکه بیشترین مقدار آن در روز صفر اندازه گیری و با اختلاف معنی داری بالاتر از روز ٦٠ و ٤٥ دوره نگهداری مشاهده شد (P<٠/٠٥). میزان چربی در سه گروه آزمایشی دیگر حاوی ویتامین دارای روندی افزایشی بود. میزان چربی در تیمار ویتامین C با توجه به روند افزایشی آن دارای اختلاف معنی داری نبود (P>٠/٠٥) . مقدار چربی در تیمار ویتامین E در روز ١٥ دارای بیشترین مقدار و با اختلاف معنی داری بالاتر از روزهای صفر -٦٠-٣٠ و ٤٥ مشاهده شد (P<٠/٠٥). مقدار چربی تیمار حاوی دو ویتامین در روز ١٥ دوره نگهداری با اختلاف معنی داری بالاتر از روزهای صفر-٦٠-٤٥ ارزیابی شد (P<٠/٠٥) ولی مقدار مذکور با روز ٣٠ دارای اختلاف معنی داری نبود (P>٠/٠٥).مقایسه تیمارها در طی دوره نگهداری نشاندهنده این است که مقدار چربی در سه گروه دارای ویتامین برخلاف گروه شاهد دارای روند افزایشی بوده است به نحوی که میزان آن در تیمار حاوی دو ویتامین در روز ١٥ دوره نگهداری دارای بالاترین مقدار (١٧/٤٣٪) بود و در روز ٦٠ مقدار چربی در تیمار ویتامین C با اختلاف معنی داری بالاتر از تیمار شاهد مشاهده شد (P<٠/٠٥) که باید توجه داشت که مقدار آن با تیمار ویتامین C و تیمار حاوی دو ویتامین اختلاف معنی داری نداشت (P>٠/٠٥) بنابراین نتایج نشان داد که کلیه تیمارها با محتوای ویتامین، در پایان دوره دارای میزان چربی بالاتری از گروه شاهد هستند ولی از این منظر، بهترین تیمار، با دقت به روند افزایشی آن تیمار حاوی دو ویتامین است (جدول٣).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳ تغییراتمیزانچربی جلبک تتراسلمیس (بر حسب درصد)در تیمارهایمختلف، در طول مدت زمان نگهداریدرماییخچال (٤ °C)

زمان نگهداری / (روز) تیمار	صفر	۱۵	۳۰	٤٥	٦٠
شاهد	۱۲,۹٤±۰,٤۹^{a}	۱۲,٥٦±۰,٤۳^{aB}	۱۲,٥۲±۰,۳۸^{aB}	۹,۷۳±۳,۰٤^{bB}	۷,٤۷±۰,٤۹^{bB}
ویتامینC	۱۲,۹٤±۰,٤۹	۱۳,۹۳±۰,٥۸^{B}	۱۳,۸۱±۱,٤^{B}	۱۳,٦٦±۰,٦۹^{A}	۱۳,٥۱±۰,٦۲^{A}
ویتامینE	۱۲,۹٤±۰,٤۹^{b}	۱٦±۱^{aA}	۱۳,۸٤±۰,۰٥^{bB}	۱۳,٤±۰,۹۲^{bA}	۱۲,۹۸±۰,۱۸^{bA}
ویتامینC+E	۱۲,۹٤±۰,٤۹^{c}	۱۷,٤۳±۱,٤۹^{aA}	۱٥,۸۳±۱,۱٦^{abA}	۱٤,۲۷±۱,۰۹^{bcA}	۱۳,٤٤±۱,۰۱^{cA}

حروفکوچکدرهرردیفنشاندهندهاختلافمعنی داردرسطح P<۰,۰٥ درهرتیماردرطولنمونهبرداریاست . حروفبزرگدرهرستونننشاندهندهاختلافمعنیداردرسطح P <۰,۰٥ دربینتیمارهادرهرهفتهنمونهبرداریاست.عدموجودحروفدرهرستونردیفنشاندهندهعدموجوداختلافمعنی داردرسطح P>۰,۰٥ است. دادههابهصورتمیانگین ± انحرافمعیارسهتکرارگزارششدهاند.

ویتامین C ، ویتامین E و ترکیب مساوی دو ویتامین (همگی به میزانوزنی/وزنی ۰/۱٪) اضافه شده است.

-نتایج سنجش خاکستر

میانگین میزان خاکستر در ابتدای دوره نگهداری تیمارهای آزمایشی ۲/٦٥ ± ۲٤/۸٤ بود. میزان خاکستردرتیمارشاهد درروز ٦۰ بااختلاف معنی داری بالاتر از روز ۳۰ وسایرروزهای نمونه گیری مشاهده شد (P<۰/۰٥) .مقدار خاکستر تیمار ویتامین C در روز ٦۰ با اختلاف معنی داری بالاتر از روز ۱٥-۳۰ و روز صفر ارزیابی شد (P<۰/۰٥) لذا مقدار مذکور با روز ٤٥ دارای اختلاف معنی داری نبود (P>۰/۰٥). میزان خاکستر ویتامین E در طول دوره نگهداری در روز ٦۰ با اختلاف معنی داری بالاتر از سایر روزهای آزمایش اندازه گیری شد (P<۰/۰٥) و میزان خاکستر در روزهای دیگر دارای اختلاف معنی داری با هم نبودند (P>۰/۰٥). مقدار خاکستر تیمار حاوی دو ویتامین، در روز ٦۰ با اختلاف معنی داری بالاتر از روزهای ۳۰-۱٥-٤٥ و روز صفر اندازه گیری شد (P<۰/۰٥) و میزان خاکستر در روزهای صفر-۱٥-۳۰ و ٤٥ دارای اختلاف معنی داری نبود (P>۰/۰٥). میزان خاکستر تمامی تیمارهای آزمایشی در پایان دوره نگهداری (روز ٦۰) با وجود افزایش دارای اختلاف معنی داری (P>۰/۰٥) نبودند (جدول٤).

جدول ٤ تغییراتمیزان خاکستر جلبک تتراسلمیس بر حسب درصد در تیمارهایمختلف، در طول مدت زمان نگهداریدرماییخچال (٤ °C)

زمان نگهداری / (روز) تیمار	صفر	۱۵	۳۰	٤٥	٦٠
شاهد	۲٤/۸٤±۲/٦٥^{b}	۲۰/۸۳±۳/۹۱^{ABbc}	۱۸/٥٤±۲/۹۲^{Bb}	۲۲/۲۲±۲/۳^{bc}	۳۱/۲۷±۲/۲۹^{a}
ویتامینC	۲٤,۸٤±۲,٦٥^{b}	۱۹,۳±۱,۹۸^{c}	۲٤,٦۸±۰,۱۸^{Ab}	۲۷,۱۹±۱,٦۲^{ab}	۲۹/۹٦±۰/۸^{a}
ویتامینE	۲٤,۸٤±۲,٦٥^{b}	۲٤,٤۹±۰,۲۲^{Ab}	۲۳,۹٦±۱,٤۱^{Ab}	۲٥,۲۹±۳,۷٥^{b}	۳۱,۳٤±۱,٤۹^{a}
ویتامینC+E	۲٤,۸٤±۲,٦٥^{b}	۲۳,۱٥±۲,٤٦^{ABb}	۲۲,۸۸±۲,۲۷^{Ab}	۲٤,۰٤±۱,٦۲^{b}	۳۱,٤۲±۰,٤۲^{a}

www.SID.ir

Archive of SID

حروف کوچک در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح$P<0,05$ در هر تیمار در طول نمونه برداری است. حروف بزرگ در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $P<0,05$ دربین تیمارها در هر هفته نمونه برداری است. عدم وجود حروف در هر ستون و ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح $P>0,0$ است. داده هابه صورت میانگین ± انحراف معیار سه تکرار گزارش شده اند .ویتامین C ، ویتامین E و ترکیب مساوی دو ویتامین (همگی به میزان وزنی/وزنی ٠/١٪) اضافه شده است.

نتایج سنجش pH

میزان pH در تیمار شاهد در روز صفر با اختلاف معنی داری بالاتر از هفته سوم بود ($p < 0/05$) و میزان آن نسبت به روز صفر روند کاهشی داشت . میزان pH در سه تیمار دیگر حاوی ویتامین نیز همانند گروه شاهد تا هفته چهارم دارای روند کاهشی معنی داری بودند ($p < 0/05$) البته شایان ذکر است میزان pH در تمامی تیمارها بعد از هفته سوم دارای روند کند افزایشی بود اما مقدار آن در سه هفته (٥-٦-٧) آخر دوره نگهداری در بین تیمارها اختلاف معنی داری ($P>0/05$).نداشت (جدول ٥)

جدول ٥ تغییرات میزان pH جلبک تتراسلمیس در تیمارهای مختلف، در طول مدت زمان نگهداریدردمای یخچال (٤ ^{o}C)

زمان نگهداری (هفته) / تیمار	صفر	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧
شاهد	٨/٢٦٨±٠^{a}	٨/٠٤٢±٠/٠٨٦^{Aa}	٧/٥٨٤±٠/٠٦٦^{Ab}	٦/٧٤٩±٠/١٠١^{Cc}	٦/٧٨٤±٠/٠٩١^{Cc}	٦/٩٨٤±٠/١٨٧^{c}	٧/٢٨٣±٠/٣٨٩^{b}	٧/٤٦٥±٠/١٢٤ b
ویتامینC	٨/٢٦٨±٠^{a}	٧/٨١±٠/٤٢^{Bb}	٧/٤٦٣±٠/٠٧٢^{Bc}	٦/٩٩٧±٠/١٦٢^{Bde}	٦/٨٥٢±٠/٠٥٩^{Ce}	٧/٠٢١±٠/١٤^{d}	٧/٤١٥±٠/٠٦٧^{c}	٧/٤٥٣±٠/٠٥٣ c
ویتامینE	٨/٢٦٨±٠^{a}	٨/٠٢٨±٠/٠٧٦^{Ab}	٧/٥٩٧±٠/٠٠٨^{Ac}	٧٧/١٩٧±٠/٠٨^{Ae}	٧/٢١٩±٠/٠٢٤^{Be}	٧/٠٥±٠/٠٢٤^{f}	٧/٦٠٦±٠/٠٥^{c}	٧/٤٨١±٠/٠١٣ d
ویتامینC+E	٨/٢٦٨±٠^{a}	٧/٩٦٣±٠/٠٨٣^{ABb}	٧/٦١٤±٠/٠٢٨^{Ac}	٧/٢٢٦±٠/٠٣٢^{Af}	٧/٣٥٠±٠/٠٢٤^{Ae}	٧/٠٨٣±٠/٠٥١^{g}	٧/٥٤٥±٠/٠١٧^{c} d	٧/٥٠٢±٠/٠٤٥

حروف کوچک در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی داردرسطح$P<0,05$ در هر تیمار در طول نمونه برداری است .حروف بزرگ در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $P <0,05$ دربین تیمارها در هر هفته نمونه برداری است. عدم وجود حروف در هر ستون و ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح $P>0,05$ است .داده ها به صورت میانگین ± انحرافم عیار سه تکرار گزارش شده اند. ویتامین C ، ویتامین E و ترکیب مساوی دو ویتامین (همگی به میزان وزنی/وزنی ٠/١٪) اضافه شده است.

بحث

امروزه توجه به محصولات با ارزش افزوده در زمینه های مختلف افزایش چشمگیری یافته و تلاش می گردد تا از موجوداتی که در طبقات بالاتر هرم زنجیره غذایی قرار دارند استفاده های مفید تری بعمل آید. در این راستا بهره برداری از کنسانتره جلبکی بعنوان جایگزین برتر سلولهای زنده، عرصه ای کاربردی و اقتصادی در حوزه علم جلبک شناسی ایجاد نموده است. با توجه به کاربردهای مختلف این محصول در زمینه های ارزشمندی همچون تغذیه آبزیان ، تولید ترکیبات زیستی، داروها و محصولات آرایشی، تولید سوختهای زیستی و غیره که همگی نیازمند تولید انبوه جلبکها، جمع آوری و نگهداری مناسب از سلولهای جلبک می باشند لذا لازم است این امر بدقت مورد تحقیقات عملی در کشور قرار گرفته تا پس ازطی مرحله پژوهشی به عرصه تولید انبوه وارد گردد.

پس از تولید کنسانتره های جلبکی و به منظور ارزیابی کیفی آنها معمولا از شیوه ها و شاخصهای مختلف استفاده می شود . از جمله این گونه شاخصها، تراکم و میزان زنده مانی جلبکها عامل مناسبی برای ارزیابی می باشد . این شاخص خود تابع عواملی از قبیل نوع گونه جلبکی، شیوه جمع آوری جلبک و نحوه ذخیره سازی آن می باشد(Salavatian et al. 1385). در تحقیق حاضر میزان و

www.SID.ir

Archive of SID

تراکم کنسانتره جلبکی با استفاده از روش سانتریفیوژ حدود $۱/۳۸ \times ۱۰^{۹}$ سلول در میلی‌لیتر به دست آمد که بیانگر ان است که روش سانتریفیوژ به لحاظ تولید کنسانتره با تراکم بیشتر سلولی روشی مناسب می باشد.شایان ذکر است که میزان تراکم سلولی تابع اندازه سلول جلبک می باشد . با توجه به اندازه متوسط جلبک تتراسلمیس(۲۰-۳۰ میکرون) میزان تراکم سلولی در مقایسه با جلبک ریز اندازه نانوکلروپسیس (۳-۵ میکرون) کمتر بوده است. در مطالعات سایر محققین تراکم خمیر جلبکی یا slurry برای گونه *Chaetoceros mulleri* ٤×۱۰^{۷} (Nunes و همکاران، 2009) و برای *Nanochloropsis* $۱۰^{۹} \times ٦٥$ سلول در میلی-لیتر (Pfeiffer و Ludwig، 2007) گزارش شده است.

تعیین مقادیر آب در کنسانتره های جلبکی به تبیین شیوه های بهتر، برای نگهداری آنها کمک خواهد نمود. در یک درجه حرارت ثابت، میزان رطوبت یک ماده غذایی (با جذب یا از دست دادن رطوبت)تغییر کرده تابه حالت تعادل با محیط اطراف خود (هوا) در آید. پس از این مرحله ماده غذایی در طول مدت نگهداری نه رطوبتی را جذب مینماید و نه رطوبتی را به محیط پس می دهد(Fatemi, 1392). لذا به نظر میرسد در طول مدت دو هفته اول پس از نگهداری کنسانتره جلبکی در ظروف نگهداری، ابتدا کنسانتره رطوبت محیط را جذب نموده و درتمامی تیمارها ، از جمله گروه شاهد میزان رطوبت به صورت معنی داری افزایش یافت. اما پس از گذشت دو هفته اول، میزان رطوبت تا پایان دوره نگهداری در تمام تیمارها تقریبا با روندی یکسان ، تغییرات محدودی را نشان داد بنابراین در نگهداری کنسانتره جلبک تتراسلمیس، حدود دو هفته زمان برای رسیدن نمونه ها به مرحله رطوبت متعادل زمان نیاز خواهد بود.

مطالعات گسترده ای در خصوص سنجش میزان خاکستر در کنسانتره های جلبکی در طی مدت نگهداری گزارش نشده است. اخیرا در طی مطالعه (Amuzad et al., 1392) و (Naghdi et al., 1393) در خصوص کنسانتره های جلبکی نانوکلروپسیس و کیتوسروس روندی افزایشی در میزان خاکستر این جلبکها در همه تیمارها گزارش شده است. در این مطالعات درصد خاکستر به عنوان شاخصی براینشان دادن میزان از دست رفتن ماده آلی در اثر فساد ذکر شده است. به طوری که مدتی بعد از نگهداری مقدار درصد خاکستر افزایش یافته که دلیل آن به از دست رفتن ماده آلی در نتیجه فساد نسبت داده شده و اظهار می گردد، اگرچه وزن واقعی خاکستر تغییری نکرد اما درصد آن (به خاطر کم شدن وزن کل در اثر فساد) افزایش یافته است . نتایج تحقیق حاضر با داشتن روند افزایشی میزان خاکستر تیمارها با نتایج مطالعات (Amuzad et al., 1392)(Naghdi et al., 1393)مطابقت داشته است.

در مطالعه حاضر مقایسه گروه های آزمایشی بیانگر این است که تیمار ویتامین C از نظر دارا بودن بالاترین مقدار پروتئین در انتهای دوره نگهداری (روز ٦٠) بهترین تیمار است. افزایش میزان پروتئین در روز ٤٥ دوره نگهداری برای تمامی تیمارها را می توان احتمالا به افزایش میزان پروتئین حاصل از بار میکروبی آنها نسبت داد. نتایج تحقیق حاضر متضاد نتایج مطالعات (Amuzad et al., 1392) و (Naghdi et al., 1393)می باشد ولی شایان ذکر است که در مطالعه مذکور مقادیر پروتئین تیمار شاهد در روز صفر با مقادیر آن در مطالعات گذشته توسط (Reiriz et al., 1989) مطابقت داشته است .

در مطالعه حاضر تمامی تیمارهای دارنده افزودنیهای ویتامینی، در پایان دوره دارای میزان چربی بالاتری از گروه شاهد بودند و از این منظر، بهترین تیمار، با توجهبه روند

www.SID.ir

Archive of SID

افزایشی آن تیمار حاوی ترکیب مساوی دو ویتامین بوده است. روند کاهشی چربی تیمار شاهد در طی دوره می تواند به علت اکسیداسیون چربیها باشد . افزایش میزان چربی در تیمار ویتامین E و تیمار حاوی ترکیب دو ویتامین در روز ١٥ دوره نگهداری احتمالا به سبب افزودن ویتامین E و امولسیفایر به تیمارهای مذکور می باشد که هر دو آنها دارای ساختاری چرب و روغنی می باشند که در آنالیز مقادیر چربی میزان آنها بر افزایش چربی موثر بوده است.. نتایج تحقیق حاضر در خصوص میزان چربی اولیه در این تحقیق با میزان آن در مطالعات گذشته توسط Utilling و همکاران ١٩٨٥ مطابقت داشته و روند کاهشی چربی تیمار شاهد، تیمار ویتامین E و تیمار حاوی ترکیب دو ویتامین با نتایج Arashisara و همکارانش در سال ٢٠٠٤ مطابقت دارد .

طی تاریخ طولانی مطالعات فساد فراورده های آبزیان همواره سنجش pH امری متداول بوده است. افزایش pH در طی دوره نگهداری را می توان به خاطر افزایش تولید بازهای فرار مثل آمونیاک، تری متیل آمین و ... به خاطر فعالیتهای آنزیمی باکتری ها و آنزیم های درونی دانست. با این وجود تغییرات زیاد ذاتی pH تحت تاثیر عوامل بیولوژیک موجود کاربرد آن بعنوان یک شاخص کارآمد فساد با محدودیت روبرو ساخته است (Rehebein و Oehlenschlager، 2009). با این وجود اگرچه pH بتنهایی شاخصی کارآمد جهت تعیین کیفیت بحساب نمی آید اما می تواند راهنمایی کارآمد کنترل کیفی هنگام کاربرد همراه با دیگر شاخص های کیفیت باشد (Mahmudzadeh et al., 2010). نتایج مربوط به تغییرات pH تیمارهای مختلف در طی دوره نگهداری در جدول (٣-٨) نشان داده شده است. میزان pH در تیمار شاهد در روز صفر با اختلاف معنی داری بالاتر از هفته سوم مشاهده شد و میزان آن نسبت به روز صفر روند کاهشی داشت . میزان pH در سه تیمار دیگر حاوی ویتامین نیز همانند گروه شاهد تا هفته چهارم دارای روند کاهشی معنی داری بودند البته شایان ذکر است میزان pH در تمامی تیمارها بعد از هفته سوم دارای روند کند افزایشی بود اما مقدار آن در سه هفته (٥-٦-٧) آخر دوره نگهداری در بین تیمارها اختلاف معنی داری نداشت .

علت روند کاهشی شاخص مذکور را برخی، حلالیت بیشتر دی اکسید کربن در آب در دماهای پایین می دانند و منشا دی اکسید کربن را ناشی از وجود فعالیتهای متابولیسمی میکرو جلبکهای زنده و باکتریهای هوازی در طی دوره نگهداری در ظروف درب بسته دانسته اند. درکنسانتره های جلبکی باغلظت بالا، با گذشت زمان نگهداری به سبب افزایش مصرف اکسیژن توسط سلولها، برای فعالیتهای متابولیسمی، ، ذخایر اکسیژنی کاهش یافته و در نتیجه افزایش نرخ مرگ و میر را به دنبال دارد که در پیامد آن تجمع دی اکسید کربن و یا تولید اسیدهای آلی ناشی از فرآیند تجزیه ملکولها در اثر فرمانتاسیون یا آنزیمها و به طور کلی مجموعه تغییرات شیمیایی که در این جریان به وجود می آید باعث کاهش میزان pH شده است (Montaini et al., 1995) برخی دیگر نیز این کاهش را به تجمع فراورده های ثانویه اکسیداسیون مانند آلدهید ها و کتون ها مرتبط دانسته اندKillincceker (et al., 2009). در تحقیق حاضر احتمالا به واسطه افزایش فرآورده های ثانویه اکسیداسیون بعد از هفته اول میزان pH کاهش داشته است و علت افزایش میزان pH بعد از هفته سوم به خاطر افزایش تولید بازهای فرار مثل آمونیاک، تری متیل آمین و دی متیل آمین و ترکیبات نیتروژن‌دار به خاطر فعالیت آنزیمی باکتری‌ها و آنزیم‌های داخل سلولی دانست ,.et al Kostakiet al., 2005;Manat (2009). نتایج تحقیق حاضر

www.SID.ir

Archive of SID

بـا مطالعـات گذشـته توسـط (Montaini et al., 1995) مطابقت داشته و متضاد نتایج مطالعات اخیر (Amuzad et al., 1392) و (Naghdi et al., 1393)در خصوص کنسـانتره های جلبکی نانوکلروپسیس و کیتوسروس بوده است.

در مطالعـه حاضـر درصـد زنـده‌مـانی در طـی دوره نگهداری یک روند کاهشی را نشان دادو نتـایج بـه دسـت آمده حاکی از آن است که این میزان در تیمار ویتامین E و تیمار حاوی ترکیب ویتامینهای E و C همواره با اخـتلاف معنی داری بالاتر از تیمار شاهد بوده اسـت . شـایان ذکـر است که تیمار ویتامین E در دو هفته ی پایانی با بـالاترین درصد باز ماندگی دارای بهترین تاثیر بـود. بـا ایـن حـال تیمـار حـاوی ویتـامین E و مخلـوط ویتـامین هـای E+C بیشترین بازماندگی را در مقایسه با گروه شاهد داشـت کـه این امر موید نقـش مثبـت افزودنیهـا در افـزایش کیفیـت ماندگاری کنسانتره های جلبکی مـی باشـد . بـالاتر بـودن درصد زنده‌مانی سلول‌ها در تیمارهای حاوی ویتامین C در این تحقیق را مـی‌تـوان بـه نقـش آنتـی باکتریـال و آنتـی اکسـیدانی آن نسـبت داد (Heasman et al., 2000). همچنین از آنجا که اسکوربیک اسید در آب محلول اسـت و ورود آن به بخش آب گریـز غشـا سـلولی امکـان پـذیر نیست ، چنین فرض می شـود کـه رادیکـال توکـوفرول (ویتامینE) می تواند برای احیا شدن توسـط اسـکوربیک اسید موجود در خارج از غشا به نزدیکی سطح غشـا نقـل مکان کند و از فرم رادیکالی به صورت احیـا شـده تبـدیل گردد. در واقع حضور ویتامین C میتواند موجب بازگردش ویتامین E و تشدید تاثیر آن در بهبود مانـدگاری محصـول شود(Gutteridge,Halliwell 1994). در مطالعه حاضر نیـز تاثیر متقابل این دو ویتامین می تواند از جمله عوامل مـوثر در بهبود ماندگاری کنسانتره جلبکی تتراسلمیس بوده باشد .

شیوه ها و روشهای تولید و نگهداری این محصـول در شرایط سرد موضوع جدیدی است کـه نیـاز بـه بررسـی و مطالعات زیاد دارد. لذا در این راستا انجام مطالعات تکمیلی از قبیل استفاده از روش فلوکولاسیون با کیتـوزان (بـدون تاثیر pH) برای تولید و ماندگاری بیشتر کنسـانتره جلبکـی تتراسـلمیس بـرای اهـداف تحقیقـاتی، اسـتفاده از سـایر افزودنی‌هـای غـذایی ماننـد گلیسـرول، اسـید سـیتریک و ترکیب ویتـامین‌هـای C و E بـه منظـور بهبـود مانـدگاری کنسانتره جلبکی، بکارگیری اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی سنتی به منظور لخته سـازی جلبـک هـا و بهبـود خـواص میکروبی کنسانتره جلبکی، استفاده از آنتی بیوتیـک هـا بـه منظور کنترل رشد و تکثیر باکتری‌ها در کنسـانتره جلبکـی، سنجش ویتامین‌ها و آمینواسیدهـا در طـی دوره نگهـداری کنسانتره جلبکی، بکارگیری روش‌های بسته‌بندی خـلا بـه منظور بهبود خواص کیفی کنسانتره جلبکی مـی توانـد در راستای بهبود تولید این گونه فراورده هـای جلبکـی مفیـد واقع گردد.

در جمعبندی نهایی نتایج ایـن پـژوهش نشـان داد کـه استفاده از ویتامین E و ترکیب ویتامین های E و C نسـبت بـه گـروه کنتـرل دارای میـزان زنـده‌مـانی بـالاتر و فسـاد اکسیداتیو کمتری بوده و موجـب حفـظ کیفیـت کنسـانتره جلبکی تولید شده گردیدند. بنابراین استفاده از ویتـامین E و ترکیب ویتامین هـای E و C بـرای حفـظ زنـده‌مـانی و کیفیت کنسانتره جلبکی توصیه می‌گردد.

منابع:

Aji, L. P. 2011. The use of algae concentrates dried algae and algae substitutes to feed bivalves. *Makara Sains,* 15 (1): 1-8.

AOAC. 2005.*Official Method of Analysis* (17th ed): Association of Official Analytical chemists.Washington, DC2000p.

www.SID.ir

Archive of SID

harvested by centrifugation for bivalve mollusks – a summary. *Aquaculture Research,* 31: 637-659.

Heasman, M. P.,Sushames,T. M., J. A., Diemar, W. A., O'Connor, L. A., Foulkes. 2001. Production of micro-algal concentrates for aquaculture. Part 2: development and evaluation of harvesting, preservation, storage and feeding technology. NSW Fisheries Final Report Series No. 34. NSW Department of Primary Industries, Port Stephens, *Australia*(FRDC Project No. 93/123 & 96/342).

Knuckey R. M., Brown M. R., Robert R., Frampton D. M. F., (2006). Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds*. Aquaculture Engineering*, 35: 300-313.

Kostaki M., Giatrakou V., Savvaidis I.N., Kontominas M.G. 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax)* fillets. *Journal of Food Microbiology,* 26: 475-482.

Lavens, P., and Sorgeloos P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*, 295 p.

Millamena OM, Aujero EJ, Borlongan I. G., 1990. Techniques on algae harvesting and preservation for use in culture as larval food. *Aquaculture,* 9: 295-304.

Montaini, E., G. C. Zittelli, M. C. Tredici, E. Molina Grima, J. M. F. Sevilla, and J. A. S. Pe´rez. 1995. Long term preservation of *Tetraselmis suecica*: influence of storage on viability and fatty acid profile. *Aquaculture*, 134: 81–90.

Naghdi.N, 1993,Production of *chaetoceros muelleri*concentrated algae and evaluation of effects of vitamins C and E on increasing shelf life during preservation. M.Sc. thesis. Khazaruniversity, 62 p.

Nunes, M., A. Pereira, J. F. Ferreira, and F. Yasumaru. 2009. Evaluation of the microalgae paste viability produced in a mollusk hatchery in Southern Brazil. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(1):87–94.

Palanichamy, S. and V. Rani. 2004. Observations on the long term preservation and culture of the marine microalga, *Nannochloropsis oculata*. *Italian Journal of Animal Science*, 46 (1): 98 – 103.

Amuzad.M, 1992,Production of *Nannochloropsis oculata* concentrated algae and evaluation of effects of vitamins C and E 0n increasing shelf life during preservation. M.Sc. thesis. Tarbiat Modares university, 61 p.

Becker, E. W. (1994). *Microalgae: biotechnology and microbiology* (Vol. 10). Cambridge University Press. 309 p.

Bezerra Neto, E.; Andrade A. G.; Barreto L. P. (1994),Análise química de tecidos e produtos vegetais,Recife, *UFRPE*.

Brown, M. R., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K., Dunstan, G. A., 1997. Nutritional properties of microalgae formariculture. *Aquaculture*, 151: 315-331

Divakaran, R. Pillai, V. S. (2002). Flocculation of algae using chitosan.*Journal of Applied Phycology,* 14(5), 419-422.

Farboodnia, T. 2010. Biology of algae**.***Oromiyeh university publication*, 300p.

Fatemi, H. 1392. Chemistry of nutrient elements. *Enteshar co. limited*., 210 p.

Fernández-Reiriz, M. J., Perez-Camacho, A., Ferreiro, M. J., Blanco, J., Planas, M., Campos, M. J., &Labarta, U. (1989). Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture*, 83(1), 17-37.

Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G.H. 1957.A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal's tissues.*Journal of Biological Chemistry*, 226: 497–509.

Harith Z. T, Yusoff F. M, Mohamed M. S, Din M. S, Ariff A. B. 2009. Effect of different flocculants on the flocculation performance of microalgae, *Chaetoceros calcitrans*, cells. *Journal of Biotechnology,* 8 (21): 5970- 5978.

O'Connor, W.A., Heasman, M.P., O'Connor, S.J., 2000. Algal diets for bloodstock maintenance of the doughboy scallop *Mimachlamys asperrima*(Lamarck*). Aquaculture Research,* 31, 627-635.

Heasman, M., Diemar, J., O'Connor, W., Sushames, T., Foulkes, L., 2000.Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets

www.SID.ir

Archive of SID

Robert, R., Trintignac, P., 1997. Substitutes for live microalgae in mariculture: a review. *Aquatic Living Resource,* 10 (5): 315–327.

Salavatian, S. M, Azaritakami, GH., Vahabzadeh Rodsarri, and H., Rajabinezhad, R., 1385. Assesment of groth and biomass of (*Nanochloropsis oculata*) in different media. *Journal of Marine Sciences*, 5: 43-53.

Pfeiffer J. and Ludwig M. 2007.Small-scale system for the mass production of rotifers using Algal Paste. *North American Journal of Aquaculture*, 69: 239–243.

Ponis, E., G. Paris, C. Zittelli, F. Lavista, F. R. Robert, and M. R. Tredici. 2008. *Pavlova lutheri* : production, preservation and use as food for *Crassostrea gigas* larvae. *Aquaculture,* 282:91–103.

Rani, V.,Divakaran N., Sivasankara Pillai, 2001. Flocculation of algae using chitosan. *Journal of Applied Phycology*, 14: 419–422.

www.SID.ir

Archive of SID

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 4, No. 3, Autumn 2015

Concentration of *Tetraselmis suecica* cultured algae by centrifugation and effects of vitamins E and C on its shelf life and proximate analysis index

Farzaneh Zamanian[1*], Farnaz Rafiee[2], Abdolmohammad Abedian Kenari[3]

1- M.Sc. Student, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Technology. Islamic Azad University

2- Assistant Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences and Technology. Islamic Azad University

3- Professor, Department of Aquaculture, Faculty of Marine Sciences. Tarbiat Modares University, Nur

Received: 10.07.2015 Accepted: 04.11.2015

*Corresponding author: fzamanian31@gmail.com

Abstract:

In this work, the paste of microalga, *Tetraselmis suecica*, was produced and the effects of vitamin C and E on its food value and shelf life improvement during eight weeks of storage in refrigerator (4°C) was investigated. The microalga was initially mass grown up to logarithmic phase in standard convey medium, then concentrated by cream skimmer centrifugation method. The obtained algal paste was treated by adding vitamins C, E and their mixture (all 0.1% weight/weight), and refrigerated for 8 weeks. The density of algal cells was1.38□109 cells/ml and the production yield was about 1.7 gr/l. The cell viability in vitE-treated pastes (39/99±2/1%) was higher than the control group ($p>0.05$), indicating the positive effect of the preservatives. The proximate analysis showed that the control group had the lowest moisture (86.8 %), the vit C-treated group had the highest protein (36.6%) and lowest ash (29.9%), and the mixture of vits-treated group had the highest fat content (13.4%) at the end of the storage period. pH in the control and vit- C treated groups was lower than the other two treatments ($p>0.05$). In conclusion, using of vitamins E and C as well as refrigerator storage are suggested for qualitative preservation of *T. suecica* algal paste.

Keywords: Algal paste, *Tetraselmis suecica*, Shelf life, Vitamin C, Vitamin E, Centrifugation, Proximate analysis, pH

www.SID.ir