

## تاثیر پساب نیشکر بر رشد و برخی ترکیبات بیوشیمیایی جلبک *Spirulina platensis*

یعقوب عابدی تبار، نصرالله احمدی فرد\*

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

### چکیده

### نوع مقاله

#### مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۳/۰۳/۲۰

\*نویسنده مسول:

n.ahmadifard@urmia.ac.ir

پساب‌های کشاورزی حاوی مواد مغذی از جمله فسفات، نترات و آمونیاک می‌باشد که باعث آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی می‌شوند. جلبک‌های آب شیرین از جمله *Spirulina* با جذب این مواد مغذی می‌تواند نقش مهمی در کاهش این نوع آلاینده‌ها را ایفا کند. از طرف دیگر این نوع پسابها با داشتن مواد مغذی می‌تواند به عنوان بستر جایگزین و ارزان قیمت کشت جلبک‌ها مورد استفاده قرار گیرند. پنج غلظت از پساب نیشکر (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) همراه با محیط کشت زاروک تهیه شد و میزان رشد، رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین، چربی و برخی از مواد معدنی جلبک *Spirulina* بعد از یک ماه کشت بررسی شد. در غلظت‌های بالای پساب (در تیمار ۷۵ و ۱۰۰ درصد پساب) رشد بسیار خوبی از جلبک *Spirulina* مشاهده شد. میزان کلروفیل a در تیمار حاوی مقادیر بالای پساب نیشکر افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ( $p < 0.05$ ). مقادیر رنگدانه کل در تیمار ۲۵ درصد پساب نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. حداکثر میزان کاروتنوئید کل در تیمار ۵۰ درصد پساب به میزان  $1559 \pm 226$  میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد که بیش از ۲ برابر مقدار کاروتنوئید کل تیمار کنترل بود. براساس نتایج فوق می‌توان بیان کرد که پساب نیشکر به عنوان محیط کشت ارزان قیمت قابلیت استفاده در کشت جلبک *Spirulina* را دارد. همچنین این جلبک با حذف مواد مغذی موجود در پساب باعث بهبود کیفیت آب و کاهش مخاطرات محیط زیستی آن می‌شود. علاوه بر آن جلبک‌های تولید شده قابلیت استفاده به عنوان غذای دام و آبزیان را دارا می‌باشد.

**کلیدواژه‌ها:** اسپیرولینا، پساب، نیشکر، رشد، رنگدانه‌ها، کلروفیل

### مقدمه

ازدیاد جمعیت مشکلات زیست محیطی، اجتماعی و اقتصادی فراوانی را با خود به همراه دارد. در بررسی و شناخت منابع آلوده‌کننده می‌توان از فاضلاب‌های شهری و خانگی، فاضلاب‌های صنعتی، مواد زائد جامد (زباله) شهری و روستایی، فاضلاب‌های کشاورزی و کشتارگاه‌ها نام برد [۱]. درحال حاضر بسیاری از کشورهای جهان حجم زیادی از پسابهای صنعتی و شهری تولید می‌کنند. این پسابها نباید مستقیماً و قبل از تصفیه وارد منابع آبی شده بلکه ابتدا غلظت مواد مضر موجود در آن باید کاهش یابد. پسابهایی که در مراکز تصفیه فاضلاب تا مرحله ثانویه تصفیه می‌گردند هنوز شامل مواد مضر از جمله فسفات، نترات و آمونیاک می‌باشند که به عنوان عوامل اصلی غنی سازی محیط و شکوفایی محیط‌های آبی شناخته شده‌اند. از اینرو پساب‌ها بایستی قبل از وارد شدن به محیط‌های آبی مرحله دیگری از تصفیه را بگذرانند تا مواد مغذی آنها جدا شوند [۲]. مشهودترین آلوده‌کننده‌های صنعتی عبارتند از کارخانه‌های الکتریکی، فرآورده‌های گوشتی، کارخانه‌های نوشابه‌سازی، کارخانه‌های فرش بافی، کشتارگاه و گاوداری‌ها و کارگاه‌های شیرینی‌پزی می‌باشد. در اثر توسعه صنایع و ورود پساب‌های کارخانجات صنعتی به محیط، اکوسیستم اطراف کارخانه‌ها و آب‌های سطحی و زیرزمینی، در خطر آلودگی می‌باشند که این امر هم در کوتاه مدت و هم در بلند مدت اثرات زیانباری بر روی موجودات زنده‌ی خاک و همچنین گیاهان و جانوران این مناطق از خود برجای می‌گذارد [۳]. فلزات سنگین از رایج‌ترین آلاینده‌هایی هستند که معمولاً در غلظت‌های بالا در فاضلاب صنایع یافت می‌شوند و موجب آسیب به محیط‌های آبی و به مخاطره افتادن سلامت موجودات زنده به خصوص انسان می‌گردند. بنابراین، این فلزات قبل از دفع باید از پساب‌ها حذف شوند. یکی از روش‌هایی که برای حذف این فلزات از پساب‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ استفاده از جلبک‌هاست [۲]. جلبک‌ها به دو گروه جلبک‌های میکروسکوپی یا فیتوپلانکتونها و جلبک‌های بزرگ تقسیم می‌شوند. این موجودات با تولید سالانه حدود  $10^9 \times 52$  تن کربن آلی و نیمی از اکسیژن تولید شده در سطح زمین نقش قابل ملاحظه‌ای در تداوم

حیات روی این کره را دارند. ریزجلبکها یا فیتوپلانکتونها گروه بزرگی از موجودات زنده هستند که نقش مهمی در اکوسیستمهای آبی و زنجیره غذایی ایفا می کنند [۳].

مطالعات مختلفی بر روی کشت جلبک اسپرولینا با پسابهای مختلف از جمله پساب مرغداریها [۱]، پساب حیوانات خونگرم از جمله خوک [۴]، ضایعات صنعتی محصولات کشاورزی [۵]، روغن زیتون [۶]، پساب روغن زیتون [۷] و پساب صنعت شیرینی سازی [۲] انجام شده است. در تحقیقی از جلبک اسپرولینا جهت تصفیه فاضلاب استفاده شد [۸]. آنها در این مطالعه نشان دادند که این ریزجلبک در پسابهای غنی از مواد غذایی رشد می کند و به عنوان جایگزینی برای تصفیه ثانویه مناسب می باشد.

جلبک اسپرولینا از گروه سیانوباکترها رشته ای بوده و می تواند در محیطهایی که برای سایر ارگانسیمها نامناسباند به خوبی رشد کند و همچنین قابلیت کشت در مقیاس تجاری را دارد [۶]. این جلبک به صورت تجاری توسط چند شرکت کشت و به فروش می رسد چرا که این جلبک منبع غنی از پروتئین، ویتامینها، مواد معدنی، اسیدهای چرب ضروری، اسیدهای آمینه ضروری و رنگدانههایی از قبیل کاروتنوئیدهای می باشند. در حال حاضر تولید بسیاری از رنگدانههای تجاری، از منابع سنتتیک و منابع طبیعی است. با این وجود روند رو به رشدی در جایگزین کردن منابع طبیعی همچون سیانو باکتریها بخصوص اسپرولینا با منابع سنتتیک در استفاده از رنگهای طبیعی در مصارف غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی وجود دارد. بدلیل فقدان سلولز در دیواره سلولی در حدود ۸۵ تا ۹۵ درصد آن توسط موجود مصرف کننده جذب می شود. در آبی پروری هم به عنوان غذا برای زئوپلانکتونها، ماهیان، سخت پوستان و در کشت های نرم تنان استفاده می شود [۹]. همچنین این جلبک کاربردهای دارویی زیادی دارد [۱۰]. از این گونه جلبکی برای تصفیه پسابها استفاده می شود. این جلبک از نظر بیوتکنولوژی قابلیت جذب مواد شیمیایی از طبیعت اطراف خود را دارد و می تواند نیازهای غذایی خود را برطرف کند.

تولید در مقیاس انبوه و تجاری این جلبک نیازمند استفاده از مواد مغذی با هزینه پایین می باشد. بعد از هزینه کارگری که برای تولید جلبک لازم است هزینه مواد مورد استفاده از اهمیت بالایی برخوردار بوده و در مقام دوم قرار دارد. از محیط کشت استاندارد Zarrouk برای سالیان زیادی در کشت های جلبک اسپرولینا استفاده می شود [۱۱]. بنابراین در طرح حاضر سعی بر این است تا رشد جلبک اسپرولینا و توانایی جذب عناصر توسط آن در پساب نیشکر مورد بررسی قرار گیرد و ترکیبات بیوشیمیایی آن با محیط کشت استاندارد Zarrouk مورد مقایسه و بررسی شود. این طرح به ما این نوید را خواهد داد که امکان تصفیه پسابهای صنعتی با کاهش هزینه کشت جلبک اسپرولینا و حفظ ترکیبات بیوشیمیایی وجود دارد.

## مواد و روش کار

### تهیه مواد اولیه

استوک اولیه جلبک *Spirulina platensis* از شرکت دانش بنیان زیست فناوری آبیان تهیه شد. بعد از تهیه استوک اولیه گونه خالص در محیط کشت زاروک به صورت دسته ای (batch culture) کشت شد. انواع مواد در محیط کشت زاروک و مقادیر آن در جدول ۱ آمده است. کشت در شرایط استاندارد (دمای  $28 \pm 2$  درجه سانتی گراد، شدت نوری  $2500-3500$  لوکس، دوره نوری ۲۴ ساعت روشنایی و هوادهی مدام انجام گرفت [۱۲]. به منظور جلوگیری از ته نشینی جلبکها، و تضمین اینکه تمام جمعیت سلولها به طور مساوی در معرض نور و مواد مغذی قرار گرفتند، هوادهی انجام شد. همچنین برای جلوگیری از ورود هرگونه آلودگی از طریق هوا، قبل از ورود هوا به محیط کشت از پیت های فیلتردار استفاده شد. درب ظروف پرورشی نیز توسط پنبه و فویل آلومینیوم در طول مدت زمان آزمایش بسته نگه داشته شد.

جدول ۱) ترکیبات تشکیل دهنده محیط کشت زاروک

محلول کم نیاز (گرم بر لیتر)		محلول پر نیاز (گرم بر لیتر)	
NaNO <sub>3</sub>	۲/۵	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	۲/۸۶
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	۰/۵	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	۱/۸۱
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	۱	ZnSO <sub>4</sub> . 4H <sub>2</sub> O	۰/۲۲۲
NaCl	۱	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	۰/۰۱۷۷
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۰/۲	CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	۰/۰۷۹
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	۰/۰۴		
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۰/۰۱		
EDTA	۰/۰۸		
NaHCO <sub>3</sub>	۱۶/۸		
محلول کم نیاز	یک میلی لیتر		

### تهیه پساب و تیمارهای آزمایش

در تحقیق حاضر پساب مزارع نیشکر از مزارع نیشکر جنوب تهیه شد. پساب‌های تهیه شده ابتدا با استفاده از اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند تا از رشد احتمالی باکتری‌ها جلوگیری شود.

تاثیر پساب‌های تهیه شده با ۴ غلظت مختلف در کنار تیمار شاهد به شرح زیر بر میزان رشد و ترکیبات جلبک اسپیرولینا بررسی شدند. تیمار ۱ (شاهد): پرورش جلبک اسپیرولینا با محیط کشت استاندارد زاروک، تیمار ۲- پرورش جلبک اسپیرولینا با پساب صنایع نیشکر با غلظت پایین (۲۵٪)، تیمار ۳- پرورش جلبک اسپیرولینا با پساب صنایع نیشکر با غلظت متوسط (۵۰٪)، تیمار ۴- پرورش جلبک اسپیرولینا با پساب صنایع نیشکر با غلظت بالا (۷۵٪) و تیمار ۵- پرورش جلبک اسپیرولینا با ۱۰۰٪ پساب نیشکر

### بررسی میزان رشد جلبک اسپیرولینا

در طول مدت زمان کشت جلبک تراکم سلولی هر دو روز یکبار بوسیله دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ۶۸۰ نانومتر قرائت و سپس با استفاده از فرمول زیر تعداد سلول‌های جلبکی محاسبه گردید [۱۳].

$$CD \text{ (trichomes/mL)} = [(OD + 0.127)/0.179].10$$

با بررسی روند رشد جلبک و اطمینان از اینکه جلبکها حداکثر میزان رشد خود را سپری کرده‌اند، با کمک سانتریفیوژ بیومس جلبک برداشت شدند. بیومس جلبکی جمع‌آوری شده به کمک آون در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و برای انجام آنالیزهای بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند.

### بررسی میزان کلروفیل جلبک

براس استخراج رنگدانه جلبک از روش Lichtenthaler and Wellburn [۱۴] استفاده گردید. به طور خلاصه ۵ سی سی از جلبکهای کشت شده برداشت و سانتریفیوژ شدند. بعد از دور ریختن آب رویی، ۵ سی سی حلال متانول ۹۹/۸ درصد به آنها اضافه گردید. پس از هموژن کردن با

استفاده از هموژنایزر و سپری شدن مدت زمان یک ساعت از کاغذ صافی با شماره ۰/۴۲ عبور داده شدند. میزان جذب محلول صاف شده در کنار تیمار شاهد (حلال خالص) در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۲ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر قرائت شدند. غلظت کلروفیل a و رنگدانه کل با استفاده از فرمول های زیر محاسبه گردید.

$$\text{Ca (mg L}^{-1}\text{)} = 11.75 \text{ Abs}_{662} - 2.350 \text{ Abs}_{645}$$

$$\text{Total carotenoids (mg L}^{-1}\text{)} = 1000 \text{ Abs}_{470} - 2.270 \text{ Ca} - 81.4 \text{ Cb} / 227$$

### آنالیز تقریبی بیومس جلبک اسپیرولینا

برای اندازه گیری پروتئین خام؛ ۰/۳ گرم پودر اسپیرولینا با اسید سولفوریک غلیظ و قرص کلدال داخل دستگاه هضم گذاشته شد و سپس داخل دستگاه تقطیر نیتروژن با اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال تیترا شده و درصد پروتئین تعیین شد [۱۵]. به منظور استخراج چربی کل نمونه ها، ۳ تکرار از هر تیمار بعد از خشک شدن در آون به ظروف درب دار منتقل و نمونه ها پودر شدند. با استفاده از ۱۰ میلی لیتر دی اتیل اتر نمونه ها در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور جهت استخراج چربی نگهداری شد. پس از این مدت زمان محلول رویی با سانتریفیوژ کردن برداشت شد. این عمل چند بار تکرار شده و سپس محلول تهیه شده از طریق حلال پراکنی شده و چربی استخراج شده در کف لوله های آزمایش جمع آوری گردیدند. درصد چربی کل هر نمونه با استفاده از اختلاف وزن محاسبه گردید [۱۶].

### بررسی میزان تجمع مواد معدنی در جلبک

نمونه های جلبک بعد از خشک شدن برای آنالیز مواد معدنی با استفاده از MLS-1200 MEGA Microwave در اسیدنیتریک (دمای ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت) هضم شدند. سپس برای ۳۰ دقیقه زیر آب سرد و با آب مقطر تا حجم مورد نیاز رقیق شدند. غلظت عناصر روی، سدیم و پتاسیم با استفاده از جذب اتمی بدست آمد [۱۷].

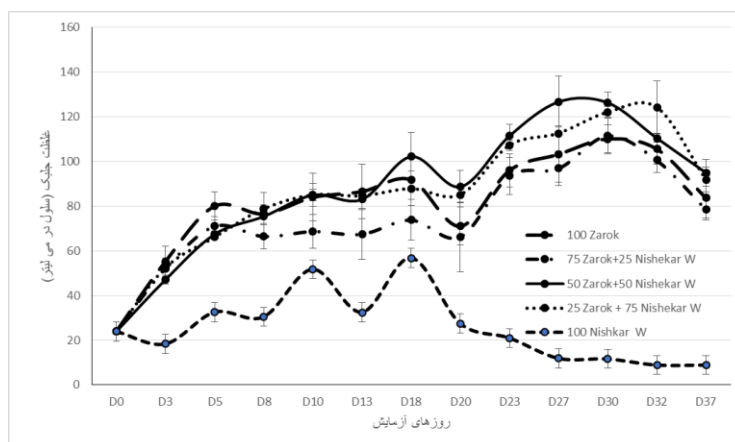
### تجزیه و تحلیل آماری داده ها

آزمایش ها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم افزار SPSS با نسخه ۲۱ و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد. بعد از انجام آزمایش، نرمال بودن داده های خام با استفاده از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف بررسی شد. برای آنالیز داده های نرمال از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف از آزمون Tukey استفاده شد. حداقل سطح معنی دار بودن آزمون ها  $p \leq 0.05$  در نظر گرفته شد. داده های به دست آمده به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شدند.

### نتایج

#### نتایج رشد جلبک در پساب نیشکر

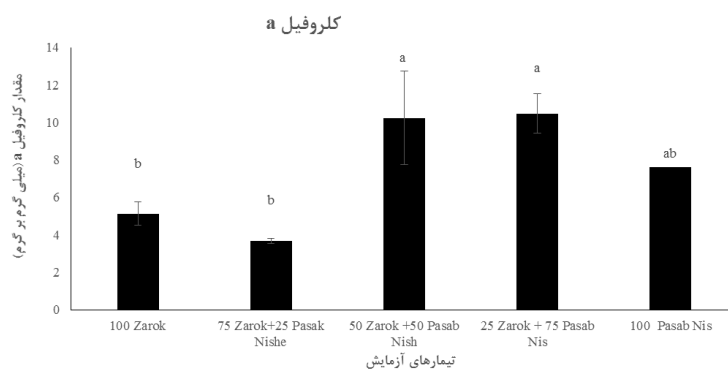
در نمودار ۱ میزان رشد جلبک اسپیرولینا در ۴ غلظت مختلف از پساب نیشکر آمده است. براساس نتایج، بیشترین میزان رشد جلبک اسپیرولینا در تیمارهای با ۵۰ درصد و ۷۵ درصد از پساب نیشکر بدست آمد. همانطور که در نمودار ۱ مشخص است میزان رشد جلبک اسپیرولینا وابسته به غلظت پساب نیشکر نبوده و حتی در غلظت های بالای نیشکر (در تیمار ۷۵ درصد نیشکر) رشد بسیار خوبی از جلبک مشاهده شد.



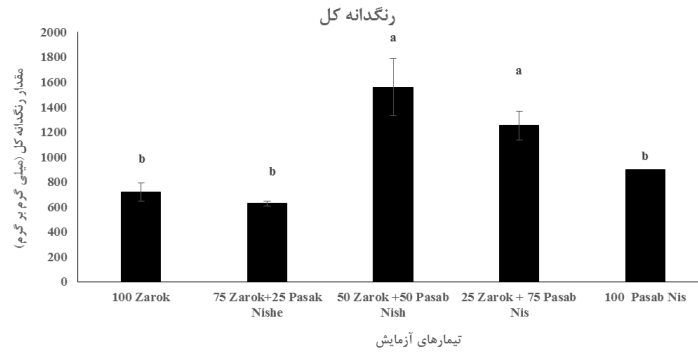
نمودار ۱) میزان رشد جلبک اسپیرولینای در غلظت‌های مختلف پساب نیشکر در روزهای مختلف آزمایش

### بررسی میزان رنگدانه‌ها در جلبک

میزان کلروفیل a و رنگدانه کل در جلبک اسپیرولینای کشت شده در غلظت‌های مختلف پساب نیشکر در پایان آزمایش سنجیده شد و نتایج آن در نمودارهای ۲-۳ آمده است. براساس نمودار ۲ میزان کلروفیل a در تیمارهای حاوی مقادیر بالای پساب افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ( $p < 0.05$ ). اگر چه بین دو تیمار ۵۰ درصد و ۷۵ درصد پساب اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). براساس نمودار ۳ حداکثر میزان کاروتنوئید کل در تیمار ۵۰ درصد پساب به مقدار  $1559 \pm 226$  میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد که بیش از ۲ برابر مقدار کاروتنوئید کل تیمار کنترل می‌باشد.



نمودار ۲) میزان کلروفیل a در جلبک اسپیرولینای کشت شده در غلظت‌های مختلف پساب نیشکر در پایان آزمایش



نمودار ۳) میزان رنگدانه کل در جلبک اسپیرولینای کشت شده در غلظت‌های مختلف پساب نیشکر در پایان آزمایش

### بررسی میزان مواد معدنی و آنالیز تقریبی در جلبک اسپیرولینا

نتایج میزان ترکیبات معدنی سدیم، پتاسیم و روی جلبک‌های کشت شده در تیمارهای مختلف پساب نیشکر در جدول ۲ آورده شده است. براساس نتایج در تیمارهای حاوی پساب میزان نمک سدیم به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته است ( $P < 0/05$ ). همچنین میزان نمک پتاسیم در تیمارهای ۲۵٪ پساب و همچنین ۷۵٪ پساب نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشته است. اما در تیمار ۵۰٪ پساب تفاوت معنی‌داری از نظر میزان پتاسیم مشاهده نشد. میزان عنصر روی ابتدا در تیمار ۲۵٪ افزایش نشان داد اما با افزایش غلظت دوباره میزان روی کاهش داشت. در جدول ۳ میزان پروتئین و چربی جلبک اسپیرولینای کشت شده در غلظت‌های مختلف پساب نیشکر آمده است. براساس نتایج، پساب نیشکر تاثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین و چربی جلبک اسپیرولینا نشان نداد ( $P < 0/05$ ).

جدول ۲) میزان مواد معدنی در جلبک‌های کشت شده در غلظت‌های مختلف پساب نیشکر به همراه تیمار شاهد (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

تیمارها	مواد معدنی (میلی گرم بر)				
۱۰۰٪ پساب	۷۵٪ زاورک + ۲۵٪ پساب	۵۰٪ زاورک + ۵۰٪ پساب	۷۵٪ زاورک + ۲۵٪ پساب	۱۰۰٪ زاورک	
۸۰۵۰ $\pm$ ۴۷ a	±۸۵۵۰ ۵۷ a	۹۹۰۰ $\pm$ ۶۰ a	۹۰۰۰ $\pm$ ۵۵ a	۴۰۵۰ $\pm$ ۵۰ b	سدیم
±۱۴۳۰ ۲۲ a	±۱۵۳۰ ۳۲ a	۹۹۰ $\pm$ ۳۷ b	۱۵۳۰ $\pm$ ۴۲ a	۹۰۰ $\pm$ ۴۲ b	پتاسیم
۴۰/۴ $\pm$ ۰/۲۲ d	۴۵/۴ $\pm$ ۰/۱۲ d	۷۲/۷ $\pm$ ۰/۳۹ b	۱۰۷/۷ $\pm$ ۰/۳۸ a	۶۰ $\pm$ ۰/۳۷ c	روی

جدول ۳) آنالیز تقریبی در جلبک‌های کشت شده در غلظت‌های مختلف پساب نیشکر به همراه تیمار شاهد (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

تیمارها	آنالیز تقریبی (میلی گرم بر کیلوگرم)				
۱۰۰٪ پساب نیشکر	۲۵٪ زاورک + ۷۵٪ پساب	۵۰٪ زاورک + ۵۰٪ پساب	۷۵٪ زاورک + ۲۵٪ پساب	۱۰۰٪ زاورک	
۷۱ $\pm$ ۴ a	۷۰/۰۸ $\pm$ ۱/۷ a	۶۹/۵ $\pm$ ۳ a	۶۸/۵ $\pm$ ۱/۵ a	۷۰ $\pm$ ۴ a	پروتئین
۸/۴۴ $\pm$ ۰/۵ a	۷/۵ $\pm$ ۰/۲ a	۸/۵ $\pm$ ۰/۵ a	۶/۵ $\pm$ ۲ a	۷/۸ $\pm$ ۲ a	چربی

## بحث:

در تحقیق حاضر استفاده از پساب نیشکر سبب رشد جلبک اسپیرولینا شد؛ بطوری که حتی در غلظت‌های بالای پساب نیشکر رشد بیشتری از شاهد نیز مشاهده شد. جلبک اسپیرولینا علاوه بر تولید اتوتروفیک، می‌تواند از با استفاده از مواد آلی موجود در پساب‌ها بصورت میکسوتروفیک (ترکیبی از اتوتروفیک و هتروتروفیک) در رشد خود بهره‌بردار [۱۸ و ۱۹]. Dunn و همکاران [۲۰] از پساب دباغی با مقادیر مختلف رقیق‌سازی برای کشت جلبک اسپیرولینا استفاده کردند. آنها گزارش کردند که جلبک فوق در پساب به بلوم رسیدند اما بیومس تولیدی در این نوع پساب پایدار نبوده و قابل پیش بینی نمی‌باشد اما با افزودن مواد معدنی بیومس ارزشمندی تولید شد. آنها بیان کردند که جلبک اسپیرولینا به خاطر خاصیت میکسوتروفی توان تولید بیومس بالا در محیط‌های کشت حاوی پروتئین بالا، کربنات پایین و تحت شرایط کنترل شده از نظر آمونیاک را دارد. میزان محدود کننده رشد در مقادیر بالای ۶۵ میلی‌گرم بر لیتر آمونیاک یافت شد. تولید به این روش هزینه‌های تولید جلبک اسپیرولینا را تا حدی زیادی کاهش می‌دهد. جلبک‌ها در آب‌های غنی از مواد غذایی نقش مهمی در حذف انواع مواد معدنی و مواد حاصل از فعالیت‌های متابولیکی موجودات زنده دارند [۲۱]. مواد غذایی به زیست توده جلبکی تبدیل می‌شود و بدین ترتیب بر روی کیفیت آب تاثیرگذار است [۲۲]. در سیستم توام پساب و جلبک فرایند بدین صورت است که پساب غنی از مواد مغذی به همراه دی اکسیدکربن و انرژی خورشیدی، فراهم کننده شرایط مناسب برای رشد و تکثیر ریزجلبک‌ها است که سرانجام منجر به تولید زیست توده جلبکی و کاهش مواد مغذی پساب می‌شود.

در تحقیق حاضر استفاده از مقادیر بالای پساب سبب افزایش مقدار کلروفیل a شده است. در تحقیق مشابه بر روی پساب نیشکر قانلی و همکاران [۲۲] افزایش ۵ برابری میزان کلروفیل a در تیمارهای حاوی مقادیر ۵۰ و ۷۵ درصد پساب نیشکر را نشان داده است. همچنین Kumar و همکاران [۲۳] میزان کلروفیل a را در *Spirulina platensis* ۱/۳۷ درصد بیان کردند. El-Baroty و Abd El-Baky [۲۴] بیان کردند که در شرایط استرس‌زا میزان رنگدانه‌ها افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند. افزودن پساب به محیط کشت شاید به دلیل ایجاد استرس سبب تحریک سلولهای تولید رنگدانه شده و سبب افزایش تولید کلروفیل a گردیده است. Jiménez و همکاران [۲۵] میزان کاروتنوئید پودر اسپیرولینا *Spirulina platensis* را ۶-۵/۹ گرم بر کیلوگرم و میزان کلروفیل آن را ۲/۹-۶/۶ گرم بر کیلوگرم گزارش کردند. مقایسه مطالعات مختلف نشان می‌دهد که مقدار رنگدانه‌های جلبک اسپیرولینا در ایران بیشتر از سایر کشورها می‌باشد که این شاید به دلیل شرایط پرورش این جلبک باشد که در مطالعه حاضر در دمای ۲۸-۳۰ درجه سانتی‌گراد مشابه با شرایط گرمسیری می‌باشد. افزایش رنگدانه‌ها یکی از فاکتورهای نشان دهنده افزایش بیومس می‌باشد. از طرف دیگر حسن سلطان و همکاران [۲۶] ارتباط و همبستگی بالایی بین مقدار رنگدانه کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پیدا کردند و بیان شده که بالا بودن مقادیر کلروفیل و رنگدانه کل استخراجی به روش متانولی نشان دهنده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره می‌باشد. بنابراین در مطالعه حاضر بالا بودن مقادیر کلروفیل و رنگدانه در جلبک‌های کشت شده در تیمار ۵۰ درصد پساب نشان می‌دهد که پساب نیشکر علاوه بر تحریک رشد در جلبک باعث بهبود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش رنگدانه در بیومس تولیدی شده است. نتایج این مطالعه نشان دهنده این است که پساب نیشکر را می‌توان به صورت اقتصادی استفاده کرد و در استخرهای خاکی جلبک‌های اسپیرولینا با حجم‌های بالا تولید کرد. جلبک‌های تولیدی علاوه بر این که می‌تواند به مصارف دامی و آبزیان برسد، همچنین کارایی مهمی در افزایش ایمنی بدنی موجودات تغذیه کننده از آنها دارند. در مطالعه‌ی Cheunbarn و Peerapornpisal [۲۷] اسپیرولینا با استفاده از پساب ناشی از مواد سوختی با رقت‌های مختلف صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد کشت شدند. در رقت ۱۰ درصد به همراه  $\text{NaHCO}_3$  و  $\text{NaNO}_3$  به ترتیب ۸ و ۱/۵ گرم در لیتر حداکثر رشد جلبک اسپیرولینا حاصل شد. همچنین پس از ۱۲ روز بیشترین میزان کارایی جلبک در حذف COD، BOD،  $\text{NO}_3$ ،  $\text{NH}_4$  و  $\text{PO}_4$  به ترتیب با ۲۳، ۴۵، ۴۹، ۹۲ و ۶۷ درصد در تیمار ۱۰ درصد بدست آمد. بیشترین میزان رشد اسپیرولینا با تراکم  $10^4 \times 17/8$  سلول در میلی‌لیتر و مقدار جذب ۱/۰۹ در طول موج ۵۶۰ اندازه‌گیری شد. این نشان می‌دهد که اسپیرولینا می‌تواند به عنوان یک ماده غذایی در صنایع مورد استفاده قرار گیرد که سبب کاهش هزینه‌های نهایی شود. Thongtong [۲۸] به بررسی کاهش فسفر و نیترات با استفاده از جلبک اسپیرولینا پرداخته است. ایشان بیان نموده که جلبک اسپیرولینا برای رشد به منبع نیترات و فسفر احتیاج دارد و اگر با رقت ۲۵

درصدی فاضلاب کشت داده شود مقدار نیترات را از  $۱۶ \pm ۴/۳۰$  میلی‌گرم در لیتر به  $۵/۵۰ \pm ۱/۵$  میلی‌گرم در لیتر کاهش می‌دهد. احمدپور و همکاران [۱۲] در تحقیقی حذف فسفات خروجی فاضلاب شهری توسط ریزجلبک‌های *Chlorella vulgaris* و *Spirulina platensis* را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. آنها این دو ریزجلبک را در شرایط آزمایشگاهی به  $۳۵۰$  میلی‌لیتر پساب فاضلاب شهری اضافه و طی دوره‌های ۸ روزه پرورش دادند و در مدت زمان آزمایش بیومس *S. platensis* و *C. vulgaris* به ترتیب  $۳/۹۳$  و  $۱/۹۳$  گرم در لیتر بود که با افزایش رشد جلبک‌ها فسفات بیشتری حذف می‌شود. آنها نتیجه گرفتند که جلبک‌ها توانایی جذب فسفات از فاضلاب را دارند و می‌تواند برای کاهش فسفات در پساب تصفیه خانه‌های فاضلاب مورد استفاده قرار گیرد.

در تحقیق حاضر مقدار پتاسیم بین  $۹۰$  تا  $۱۵۳$  میلی‌گرم بر  $۱۰۰$  گرم وزن خشک جلبک اسپیرولینا متغیر بود. Marrez و همکاران [۲۹] گزارش کردند که مقادیر پتاسیم بین تیمارهای مختلف بین  $۱۳۰/۷$  تا  $۵۹۳$  میلی‌گرم بر  $۱۰۰$  گرم متغیر است. در حالی که Koru و همکاران [۳۰] مقدار پتاسیم را بسیار بالا و به میزان  $۱۸۰۰$  میلی‌گرم بر  $۱۰۰$  گرم گزارش کردند. در تحقیق Albert و همکاران [۳۱] مقدار پتاسیم بین  $۱۲۸$  تا  $۱۸۸$  میلی‌گرم بر  $۱۰۰$  گرم وزن خشک جلبک اسپیرولینا گزارش شده است. مقدار سدیم گزارش شده Marrez و همکاران [۲۸]  $۷۶۶/۷$  میلی‌گرم بر  $۱۰۰$  گرم گزارش شده است. در حالی که مقدار سدیم توسط Koru و همکاران [۳۲] بسیار بالا و به میزان  $۱۰۹۰$  میلی‌گرم بر  $۱۰۰$  گرم وزن خشک بدست آمده است. Albert و همکاران [۳۱] بین مقدار پتاسیم و سدیم در جلبک اسپیرولینا ارتباط مثبت یافتند. به همین خاطر بالا بودن پتاسیم و سدیم در جلبک نشان دهنده بالا بودن آن در محیط کشت آنهاست که یافته‌های تحقیق حاضر نیز موید آن است. مقدار روی در جلبک اسپیرولینا در تحقیق حاضر  $۴۵$  تا  $۱۰۷$  میلی‌گرم بر کیلوگرم متغیر بود. یافته‌های Marrez و همکاران [۲۹] مقدار روی را بین  $۵$  تا  $۵۱$  میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گزارش کرده‌اند. این مقادیر بالاتر از مقادیر گزارش شده توسط Johnson و Schubert [۳۳] و Babazhanov و همکاران [۳۴] به میزان  $۱۰$  تا  $۱۲$  میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد. روی، یک ریزمغذی ضروری برای دام و آبزیان و همچنین انسانها می‌باشد. این ماده معدنی ضروری در غذاها کمیاب بوده و اغلب نیاز است به جیره غذایی افزوده شود. این عنصر در عملکردهای فیزیولوژیکی از جمله رشد، نمو، تولیدمثل، تشکیل استخوان، تکثیر سلولی و عملکرد ایمنی نیز نقش دارد [۳۵]. همچنین، روی به عنوان کوفاکتور در بیش از  $۳۰۰$  آنزیم از جمله کربونیک انیدراز، سوپراکسید دیسموتاز، آلکالین فسفاتاز، DNA پلیمرز و RNA پلیمرز وجود دارد که سبب حفظ پایداری غشای پلازما می‌شود [۳۶]. در مطالعه حاضر با کشت جلبک در پساب نیشکر و بررسی میزان عنصر روی کیفیت بیومس جلبکی تولید شده مورد بررسی قرار گرفت. از طرف دیگر جلبکها قادرند با جذب روی از محیط آب آن را به شکل آلی در خود ذخیره نمایند. مطالعات نشان داده که مواد معدنی به شکل آلی در مقایسه با شکل معدنی، قابلیت دسترسی زیستی بیشتر و سمیت کمتری دارند، همچنین دوستدار محیط زیست هستند [۳۷]. بنابراین وجود این ترکیب در جلبکها از اهمیت زیادی برخوردار است و از طرف دیگر می‌توان از جلبکها جهت جذب روی معدنی و تبدیل آن به شکل آلی استفاده کرد.

حضور پساب در محیط کشت می‌تواند باعث تغییر در ترکیب چربی و پروتئین جلبک شود. همچنین حضور مقادیر مختلف نیتروژن در محیط کشت جلبک باعث تغییر در مقادیر بیومس و ترکیب پروتئین آن می‌شود [۳۸]. در مطالعه حاضر مقدار پروتئین از  $۶۸$  تا  $۷۱$  درصد متغیر است. در مطالعه Jayanudin و Syaichurrozi [۳۹] مقادیر پروتئین در غلظت‌های مختلف (صفر تا  $۶$  درصد) پساب Tufu از  $۳۶/۷۳$  تا  $۶۶/۶۲$  درصد متغیر بود. همچنین آنها بیان کردند که افزایش غلظت پساب بیش از  $۶$  درصد منجر به کاهش مقدار پروتئین می‌شود. کاهش مقادیر پروتئین به مقادیر بیومس تولیدی نیز ارتباط دارد. با کاهش بیومس تولیدی مقادیر پروتئین نیز کاهش می‌یابد. در مطالعه حاضر مقادیر بیومس تا غلظت  $۷۵$  درصد پساب کاهش نیافت و از طرف دیگر مقادیر پروتئین بدست آمده در تیمارها تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت. در مطالعه حاضر میزان چربی در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد. در مطالعه Jayanudin و Syaichurrozi [۳۹] روند تغییر چربی مشابه با روند تغییر پروتئین بود. برعکس Markou [۴۰] نشان داده است که با کاهش مقدار پروتئین مقدار چربی و کربوهیدرات روند افزایشی داشته است. در مطالعه ای دیگری Markou و همکاران [۴۱] گزارش دادند که ارتباطی بین مقادیر چربی و پروتئین وجود ندارد و مقادیر چربی وابسته



تغییرات مقادیر فسفر محیط کشت می‌باشد. بنابراین عوامل مختلفی در تغییر بیومس و ترکیبات بیوشیمیایی از جمله پروتئین، چربی و کربوهیدرات جلبک های کشت شده با غلظت های مختلف پساب دارد.

### نتیجه گیری نهایی

در تحقیق حاضر جلبک اسپیرولینا با پساب نیشکر کشت شدند. نتایج کشت جلبک با پساب نیشکر نشان داد که میزان رشد جلبک اسپیرولینا در رقت ۷۵ درصد پساب نیشکر رشد بسیار خوبی از جلبک اسپیرولینا مشاهده شد. همچنین میزان کلروفیل a در تیمارهای حاوی مقادیر بالای پساب نیشکر افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از کارکنان بخش شیلات دانشگاه ارومیه جهت همکاری و ارائه امکانات لازم تشکر می‌کنند.

### تأییدیه اخلاقی

موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

### منابع مالی:

حمایت مالی این پژوهش از محل کمک هزینه پایان نامه کارشناسی ارشد تامین شده است.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچ تضادی در منافع برای اعلام ندارند و از ترتیب نام نوشته شده در مقاله رضایت دارند.

**مشارکت نویسندگان:** یعقوب عابدی تبار در انجام کارهای عملی این پژوهش مشارکت داشتند. احمدی فرد در تجزیه و تحلیل داده‌ها و تهیه پیش نویس نسخه مشارکت داشتند. همه نویسندگان نسخه نهایی را تأیید کردند.

### منابع:

- Promya J, Traichaiyaporn S, Deming R. Phytoremediation of kitchen wastewater by *Spirulina platensis* (Nordstedt) Geiteler: pigment content, production variable cost and nutritional value. Maejo International Journal of Science and Technology. 2008; 2(1): 159-171.
- El-Kassas HY, Heneash AM, Hussein NR. Cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* using confectionary wastes for aquaculture feeding. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 2015; 13(2): 145-155.
- Vonshak A. *Spirulina*: growth, physiology and biochemistry. In *Spirulina platensis (Arthrospira)* : Taylor & Francis, London. 1997; pp. 43-65
- Mezzomo N, Saggiorato AG, Siebert R, Tatsch PO, Lago MC, Hemkemeier M, Costa JAV, Bertolin TE, Colla LM. Cultivation of microalgae *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) from biological treatment of swine wastewater. Food Science and Technology. 2010; 30(1): 173-178.
- Markou G, Georgakakis D. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: a review. Applied Energy. 2011; 88(10): 3389-3401.
- El-Sheekh M, Hamouda R. Biodegradation of crude oil by some cyanobacteria under heterotrophic conditions. Desalination and Water Treatment. 2014; 52(7-9): 1448-1454.
- Markou G, Chatzipavlidis I, Georgakakis D. Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* in olive-oil mill wastewater treated with sodium hypochlorite. Bioresource technology. 2012; 112: 234-241.

9. Hoseini S, Khosravi-Darani K, Mozafari M. Nutritional and medical applications of spirulina microalgae. Mini reviews in medicinal chemistry. 2013; 13(8): 1231-1237.
10. Madkour FF, Kamil AE-W, Nasr HS. Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. The Egyptian journal of aquatic research. 2012; 38(1): 51-57.
12. Nogueira SMS, Souza Junior J, Maia HD, Saboya JPS, Farias WRL. Use of *Spirulina platensis* in treatment of fish farming wastewater. Revista Ciência Agronômica. 2018; 49(4): 599-606.
13. Lichtenthaler HK, Wellburn AR (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions. 1983; 11: 591-592.
14. Pervushkin S, Voronin A, Kurkin V, Sokhina A, Shatalaev I. Proteins from *Spirulina platensis* biomass. Chemistry of natural compounds. 2001; 37(5): 476-481.
15. Ötleş S, Pire R. Fatty acid composition of *Chlorella* and *Spirulina* microalgae species. Journal of AOAC international. 2001; 84(6): 1708-1714.
16. Lowry OH, Lopez JA. The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters. Journal of Biological Chemistry. 1946; 162: 421-428.
17. Chen T, Zheng W, Wong Y-S, Yang F, Bai Y. Accumulation of selenium in mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose. Bioresource Technology. 2006; 97(18): 2260-2265.
18. Vonshak A, Tomaselli L. *Arthrospira* (*Spirulina*): systematics and ecophysiology. In *The ecology of cyanobacteria*. Springer. 2000; pp. 505-522
19. Dunn K, Maart B, Rose P. *Arthrospira* (*Spirulina*) in tannery wastewaters. Part 2: Evaluation of tannery wastewater as production media for the mass culture of *Arthrospira* biomass. Water Sa. 2013; 39(2): 279-284.
20. Mohan SV, Ramanaiah S, Rajkumar B, Sarma P. Removal of fluoride from aqueous phase by biosorption onto algal biosorbent *Spirogyra* sp.-IO2: Sorption mechanism elucidation. Journal of Hazardous Materials. 2007; 141(3): 465-474.
21. Sriram S, Seenivasan R. Microalgae cultivation in wastewater for nutrient removal. Algal Biomass Utln. 2012; 3(2): 9-13.
22. Kumar M, Kulshreshtha J, Singh GP. Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature. Brazilian Journal of Microbiology. 2011; 42: 1128-1135.
23. Abd El-Baky HH, El-Baroty GS. Characterization and bioactivity of phycocyanin isolated from *Spirulina maxima* grown under salt stress. Food & function. 2012; 3(4): 381-388.
24. Jiménez C, Cossío BR, Labella D, Niell FX. The feasibility of industrial production of *Spirulina* (*Arthrospira*) in Southern Spain. Aquaculture. 2003; 217(1-4): 179-190.
25. Jiménez C, Cossío BR, Labella D, Niell FX. The feasibility of industrial production of *Spirulina* (*Arthrospira*) in Southern Spain. Aquaculture. 2003; 217(1-4): 179-190.
26. Cheunbarn S, Peerapornpisal Y. Cultivation of *Spirulina platensis* using anaerobically swine wastewater treatment effluent. Int. J. Agriculter Biology. 2010; 12(4): 586-590.
27. Thongtong T. Nitrogen and phosphorus reduction from community wastewater by algae. M.Sc. thesis. Kasetsart University, 1986, 155 pp
28. Marrez D, Naguib M, Sultan Y, Daw Z, Higazy A. Evaluation of chemical composition for *Spirulina platensis* in different culture media. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2014; 5(4): 1161-1171.
29. Koru E, Cirik S, Turan G. The use of *Spirulina* for fish feed production in Turkey, University-Industry Co-Operation Project (USIGEM). E. Koru, Penyunt.) Project principle investigator and consultant. 2008; 100pp
30. Albert N, Wague R, Mbaïlao M, Fabienne N. Changes in the physico-chemical properties of *Spirulina platensis* from three production sites in Chad. Journal of Animal & Plant Sciences. 2012; 13(3): 1811-1822.
31. Koru E. Earth food *Spirulina* (*Arthrospira*): production and quality standards. Food additive. 2012; 191-202.
32. Johnson PE, Shubert LE. Availability of iron to rats from spirulina, a blue-green alga. Nutrition Research. 1986; 6(1): 85-94.

33. Babadzhanov A, Abdusamatova N, Yusupova F, Faizullaeva N, Mezhlumyan L, Malikova MK. Chemical Composition of *Spirulina platensis* Cultivated in Uzbekistan. Chemistry of Natural Compounds. 2004; 40(3): 276-279.
34. Matsumoto, S., Satoh, S., Kotani, T., Fushimi, H. Examination of a practical method for zinc enrichment of euryhaline rotifers (*Brachionus plicatilis*). Aquaculture. 2009; 286: 113-120.
35. Molina-Poveda, C. Nutrient requirements. In: Nates, S.F. (Eds.), Aquafeed Formulation. Academic Press, San Diego. 2016; pp. 75-216.
36. Zhang, S., Zeng, X., Ren, M., Mao, X., Qiao, S. Novel metabolic and physiological functions of branched chain amino acids: a review. Journal of Animal Science and Biotechnology. 2017; 8: 1-10.
37. Uslu, L., Icik, O., Koc, K. and Goksan, T., "The effects of nitrogen deficiencies on the lipid and protein contents of spirulina platensis", African Journal of Biotechnology. 2011;10(3): 386-389.
38. Syaichurrozi, Iqbal, and Jayanudin Jayanudin. "Effect of Tofu Wastewater Addition on the Growth and Carbohydrate-Protein-Lipid Content of *Spirulina platensis* (RESEARCH NOTE)." International Journal of Engineering. (2017); 30.11: 1631-1638.
39. Markou, G., "Alteration of the biomass composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis* under various amounts of limited phosphorus", Bioresource Technology, (2012);116: 533- 535.
40. Markou, G., Chatzipavlidis, I. and Georgakakis, D., "Effects of phosphorus concentration and light intensity on the biomass composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis*", World Journal of Microbiology and Biotechnology. (2012);28(8): 2661-2670.

## The effect of sugarcane waste on the growth and some biochemical composition of *Spirulina platensis*

Yaghoob Abeditabar, Nasrollah Ahmadifard\*

Department of fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran.

### ABSTRACT

Agricultural effluents contain nutrients such as phosphates, nitrates and ammonia, which cause surface and underground water pollution. By absorbing these nutrients, freshwater algae such as *Spirulina* can play an important role in reducing these types of pollutants. On the other hand, this type of wastewater, having nutrients, can be used as an alternative and cheap substrate for algae cultivation. Five concentrations of diluted sugarcane effluent (0, 25, 50, 75, and 100%) were prepared with Zarrouk's medium and the growth rate, photosynthetic pigments, and the amount of some mineral substances, protein, and fat composition were evaluated. In high concentrations of wastewater (75 and 100% wastewater treatment), a very good growth of *Spirulina* was observed. The amount of chlorophyll a in the treatment of 100% of wastewater showed a significant increase compared to the control treatment ( $p < 0.05$ ). The maximum number of total carotenoids in the treatment of 50% of the Zarrouk's medium was obtained at the rate of  $1559 \pm 226$  mg/liter, which was more than 2 times the number of total carotenoids in the control treatment. The maximum amount of total carotenoid in the treatment of 50% of Zarrouk's medium was  $1559 \pm 226$  mg/liter, which was more than 2 times the amount of total carotenoid in the control treatment. Based on the above results, it can be stated that sugarcane waste can be used as a cheap culture medium for the cultivation of *Spirulina*. Also, this alga improves the quality of water and reduces its environmental hazards by removing the nutrients in the wastewater. In addition, the produced algae can be used as livestock and aquatic food.

**KEYWORDS:** Wastewater, Sugarcane, Growth, Chlorophyll, Carotenoid.

### ARTICLE TYPE

Original Research

### ARTICLE HISTORY

Received: 29 Feb 2024

Accepted: 4 June 2024

ePublished: 9 June  
2024

\* Corresponding Author:

Email address: n.ahmadifard@urmia.ac.ir

Tel: +98-4432770489

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2476-6887