

(OPEN ACCESS)

Assessment of Protein Synthesis and Accumulation Rate in Cultivated *Spirulina (Spirulina platensis)* Microalgae in Dairy Industry Wastewater

Fatemeh Zahra Jafari^{*1}, Seyed Abbas Hosseini², Moazameh Kordjazi³,
Hadise Kashiri⁴

1. Corresponding Author, Ph.D. Student of Aquatics Fishing and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: jafarizahra293@gmail.com
2. Professor, Dept. of Aquatics Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: seyedabbas_hosseini@yahoo.com
3. Assistant Prof., Dept. of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: kordjazi.m@gmail.com
4. Assistant Prof., Dept. of Aquatics Production and Exploitation, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hadiskashiri@gmail.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: Microalgae, photosynthetic microorganisms, are highly valued due to their protein, lipid, and carbohydrate compounds. They are capable of thriving in environments rich in organic and mineral substances, making them highly effective in industrial wastewater treatment. Moreover, microalgae possess antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties. The main objective of this study was to investigate the impact of wastewater dilution ratio on protein accumulation in <i>Spirulina</i> microalgae. By altering the wastewater dilution ratio in the cultivation medium, the effect on protein synthesis and accumulation processes in <i>Spirulina</i> was evaluated.
Article history: Received: 01.01.2024 Revised: 01.17.2024 Accepted: 01.20.2024	
Keywords: Growth, Microalgae, <i>Spirulina platensis</i> , Wastewater Treatment	Materials and Methods: The study consisted of 4 treatments and a control group, where the treatments involved different levels of wastewater utilization, and the control group utilized only the culture medium without wastewater. Furthermore, nutrient levels including nitrates, phosphates, and ammonia were measured in both wastewater samples and the culture medium. For protein and amino acid analysis, the <i>S. platensis</i> microalgae samples were separated using centrifugation and then the algal biomass was dried. The samples were stored at an appropriate freezing temperature. The total protein content of each sample was measured. For measuring crude protein, the samples were digested, and then the crude protein content was calculated. Subsequently, the amino acid profile of the microalgal treatment with the highest protein content was determined and prepared for the next phase of analysis.
	Results: The results indicated that the 100% treatment had the highest levels of nitrates, phosphates, ammonia, biomass, and protein, while the 25% treatment showed the lowest levels. Additionally, similar trends in biomass variations were observed in the 75% and 50% treatments. In the analysis of amino acids, different levels were observed among the different

treatments, with Aspartic acid showing the highest amount and Ornithine showing the lowest amount.

Conclusion: Overall, the results of this study demonstrated that the use of wastewater as a water source in the cultivation of *Spirulina platensis* microalgae can lead to significant improvements in growth and the production of nutrients and biochemical compounds in these algae. Furthermore, for optimal utilization of wastewater, adjusting the concentration ratios of different wastewater components can be considered, and further studies can be conducted to enhance cultivation conditions and investigate the biochemical changes in microalgae.

Cite this article: Jafari, Fatemeh Zahra, Hosseini, Seyed Abbas, Kordjazi, Moazameh, Kashiri, Hadise. 2025. Assessment of Protein Synthesis and Accumulation Rate in Cultivated *Spirulina platensis* Microalgae in Dairy Industry Wastewater. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 14 (2), 69-86.



© The Author(s).

Doi: 10.22069/japu.2024.22051.1842

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

ارزیابی نرخ سنتز و تجمع پروتئین ریز جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) کشت یافته در پساب صنایع لبنی

فاطمه زهرا جعفری^{۱*}، سیدعباس حسینی^۲، معظمه کردجزی^۳، حدیثه کشیری^۴

۱. نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری صید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: jafarizahra293@gmail.com
۲. استاد گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: seyedabbas_hosseini@yahoo.com
۳. استادیار گروه عمل‌آوری فرآورده‌های شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: kordjazi.m@gmail.com
۴. استادیار گروه تولید و بهره‌برداری آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: hadiskashiri@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: سابقه و هدف: ریزجلبک‌ها، میکروارگانیسم‌های فتوسنتزکننده هستند که به دلیل داشتن ترکیبات با ارزش پروتئینی، لیپیدی و کربوهیدرات، مورد توجه قرار می‌گیرند. آن‌ها قادر به رشد در محیط‌های غنی از مواد آلی و معدنی هستند و می‌توانند در تصفیه پساب‌های صنعتی نقش بسیار مؤثری داشته باشند. هدف اصلی این مطالعه بررسی تأثیر نسبت رقیق‌سازی فاضلاب بر ذخیره پروتئین در جلبک اسپیرولینا بود و با تغییر نسبت رقیق‌سازی فاضلاب در محیط کشت، تأثیر آن بر فرایندهای سنتز و تجمع پروتئین در اسپیرولینا مورد ارزیابی قرار گرفت. تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۱ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۳۰	مواد و روش‌ها: مطالعه شامل ۴ تیمار و یک گروه شاهد بود، در نهایت، میزان مواد مغذی از جمله نیتрат، فسفات و آمونیاک در نمونه‌های پساب و محیط کشت اندازه‌گیری شد. برای آنالیز پروتئین و اسیدآمینه، نمونه‌های ریزجلبک <i>S. platensis</i> توسط سانتریفیوژ جدا شدند و سپس بیوماس جلبک خشک شد. نمونه‌ها در دمای مناسب فریز شدند. سپس میزان پروتئین کل هر نمونه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری پروتئین خام، نمونه‌ها هضم شدند و سپس پروتئین خام محاسبه شد. سپس پروفایل اسیدهای آمینه تیمار جلبکی با بیش‌ترین میزان پروتئین مشخص شد. یافته‌ها: نتایج نشان داد که تیمار ۱۰۰ درصد (۱۰۰ درصد پساب) بیش‌ترین مقدار نیترات، فسفات، آمونیاک، زیست‌توده و پروتئین را داشت و تیمار ۲۵ درصد (۲۵ درصد پساب)
واژه‌های کلیدی: اسپیرولینا پلاتنسیس، تصفیه پساب‌ها، رشد، ریزجلبک‌ها	

کم‌ترین مقادارها را نشان داد. هم‌چنین، در تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد، روند مشابهی در تغییرات زیست‌توده مشاهده شد. در بررسی اسیدآمین‌ها نیز، مقادیر مختلف در تیمارهای مختلف تفاوت داشتند، به‌طوری‌که اسپارتیک اسید بیش‌ترین میزان و ارنیتین کم‌ترین میزان را نشان می‌دهند.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی، نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از پساب به‌عنوان منبع آب در کشت جلبک اسپیرولینا پلاستیس می‌تواند بهبودهای قابل‌توجهی در رشد و تولید مواد مغذی و ترکیبات بیوشیمیایی این جلبک به همراه داشته باشد. هم‌چنین، برای استفاده بهینه از پساب، می‌توان نسبت غلظت‌های مختلف پساب را تنظیم کرده و مطالعات بیش‌تری در زمینه بهبود شرایط کشت و تغییرات بیوشیمیایی جلبک‌ها انجام داد.

استناد: جعفری، فاطمه زهرا، حسینی، سید عباس، کردجزی، معظمه، کشیری، حدیثه (۱۴۰۴). ارزیابی نرخ سننتر و تجمع پروتئین ریزجلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) کشت‌یافته در پساب صنایع لبنی. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۴ (۲)، ۸۶-۶۹.

Doi: 10.22069/japu.2024.22051.1842



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

ریز جلبک‌ها میکروارگانیسم‌های تک‌سلولی یوکاریوتی میکروسکوپی و فتوسنتزکننده هستند و دارای اجزای مشابهی مانند کلروپلاست و هسته هستند (۱). آن‌ها می‌توانند به صورت سلول‌های جداگانه یا گروهی از سلول‌های چسبیده به یکدیگر وجود داشته باشند. بعضی از ریز جلبک‌ها می‌توانند به شکل فتوتروفیک یا هتروتروفیک وجود داشته باشند. اکثر ریز جلبک‌ها فتوتروف هستند و با استفاده از آب، نور و مواد مغذی، کربن غیرآلی مانند کربن دی‌اکسید را به مولکول‌های آلی تبدیل کرده و اکسیژن را آزاد می‌کنند. جلبک‌های فتوتروف در تبدیل نور خورشید به بیوماس، تأثیر بیشتری از گیاهان خشکی دارند (۲). اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) یک جلبک سبز-آبی است که در محیط‌های مختلفی مانند خاک، شن و ماسه، لجن‌زار، آب‌شور، آب دریا و آب شیرین یافت می‌شود. این جلبک از رشته‌های سلولی استوانه‌ای منظم تشکیل شده است و در تریکوم‌های مارپیچی غیرمنشعب و اندازه‌های میکروسکوپی مشاهده می‌شود. اسپیرولینا قابلیت حرکت دارد و در طول محورشان حرکت کرده و هتروسیست نیستند (۳). این ریز جلبک در شرایط پی‌اچ ۳/۸ تا ۱۱ و دمای بالای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بهترین رشد را دارد و قادر است در پساب رشد کرده و با دوره مواد مغذی، پروتئین تولید کند و آلاینده‌های معدنی و مواد زائد را از آب حذف کند (۴). اسپیرولینا در صنایع غذایی سالم جایگاه ویژه‌ای دارد و به عنوان مکمل پروتئین و ویتامین در جیره‌های غذایی آبزی‌پروری استفاده می‌شود. این جلبک در آب رشد می‌کند و به راحتی قابل برداشت و فرآوری است. هم‌چنین، اسپیرولینا دارای مقادیر زیادی مواد مغذی ماکرو و میکرو است. تحلیل فواید تغذیه‌ای این جلبک نشان می‌دهد که در حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد وزن خشک آن از مواد مغذی

تشکیل شده است. اسپیرولینا هم‌چنین دارای پروتئین‌های با کیفیتی است که حاوی اسیدهای آمینه ضروری و متعادل هستند (۵).

تصفیه پساب‌ها چند هدف اصلی دارد که شامل حذف اجزای مختلف می‌شود. این اجزا شامل حذف اکسیژن بیوشیمیایی، جامدات معلق، مواد مغذی (نیتрат، نیتريت، آمونیوم و فسفات)، باکتری‌های کلیفرم و سمیت هستند. در فرآیند حذف اکسیژن بیوشیمیایی، اکسیژن مولکولی توسط میکروارگانیسم‌ها برای تبدیل مواد آلی به کربن دی‌اکسید و آب به عنوان عوامل اکسیدکننده استفاده می‌شود. اما این فرآیند می‌تواند باعث تخلیه اکسیژن محلول در بدنه آبی پساب شده و در نتیجه باعث از بین رفتن موجودات هوازی، از جمله ماهی‌ها، می‌شود (۶). بنابراین، حذف اکسیژن بیوشیمیایی به عنوان هدف اصلی و مهم‌ترین هدف در تصفیه پساب مورد توجه قرار می‌گیرد. جامدات معلق که در پساب وجود دارند، از طریق رسوب‌گذاری فیزیکی از پساب جدا می‌شوند. در طراحی سیستم‌های تصفیه پساب، جداکردن مواد مغذی و حذف نیتروژن و فسفر محلول معمولاً به عنوان یک گام مهم محسوب می‌شود. آزاد شدن مواد مغذی به سیستم‌های آبی حساس می‌تواند باعث رشد ناخواسته گیاهان، از جمله جلبک‌ها و ماکروفیت‌های آبی، و در نتیجه یوتروفیکاسیون شود (۷). علاوه بر این، آزاد شدن ترکیبات نیتروژنی به محیط‌های آبی می‌تواند به سمیت آمونیاک یونیزه نشده برای ماهیان و سایر آبزیان منجر شود، به خصوص در صورت وجود غلظت زیاد نیترات در آب آشامیدنی (بیش از ۴۵ گرم در مترمکعب) که مضر است (۸).

در صنایع لبنی، پساب‌هایی تولید می‌شود که حاوی مواد آلی بسیار زیادی هستند. به همین دلیل، آب‌های متعفن با میزان اکسیژن کم‌تری به عنوان

میلی لیتر) با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. و در نهایت، تیمار ۴ که پساب را به میزان ۱۰۰ درصد از حجم کل (۱۰۰ میلی لیتر) استفاده شد. گروه شاهد نیز فقط با استفاده از محیط کشت زاروک بود. تمامی تیمارها و گروه شاهد به مدت ۱۴ روز کشت داده شدند. قبل از شروع آزمایش، محیط کشت باید استریل شده و حداقل ۲۴ ساعت قبل از استفاده آماده شده باشد.

تهیه پساب: نمونه پساب از کارخانه پگاه در استان گلستان، شهرستان گرگان، تهیه شده و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای حذف ذرات بزرگ، از یک صافی میکرو فیبر (واتمن سایز ۴۲) استفاده شد. سپس، نمونه پساب به آزمایشگاه منتقل شده و برای استریل شدن، در دستگاه اتوکلاو قرار گرفت. به منظور افزایش شفافیت، نمونه پساب از طریق سانتریفیوژ اصلاح شد. سپس، رقت های مورد نیاز ساخته شده و با استفاده از دستگاه pH متر، مقدار pH مورد نظر اندازه گیری شد. در صورت نیاز، با افزودن محلول NaOH (با غلظت ۰/۱ مولار)، مقدار pH در بازه ۸/۵ تا ۸/۸ تنظیم شد.

اندازه گیری مواد مغذی: برای اندازه گیری مواد مغذی نیترات و فسفات، از کیت های شرکت وگتک (ساخت انگلستان) و دستگاه فتومتر مدل ستی استفاده شد. این فرآیند روزانه انجام می شد. برای اندازه گیری نیترات، ابتدا یک حجم ۱۰ سی سی از نمونه آب را به عنوان بلانک برای تنظیم دستگاه اسپکتوفتومتر استفاده شد. سپس، ۲۰ سی سی از نمونه آب را در یک ظرف قرار دادیم و قرص نیترات موجود در کیت را به آن اضافه کردیم. سپس، پس از گذشت ۵ دقیقه، از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور دادیم. در نهایت، ۱۰ سی سی از محلول نمونه را در سل های مخصوص دستگاه فتومتر ریختیم و آن را در دستگاه قرار دادیم. سپس، میزان نیترات را اندازه گیری کردیم. برای اندازه گیری

فسفات، ۱۰ سی سی از نمونه آب را در سل قرار دادیم. سپس، با اضافه کردن قرص مربوطه به آن، و پس از گذشت ۱۰ دقیقه، آن را در دستگاه قرار دادیم. سپس، مقدار فسفات را اندازه گیری کردیم. برای اندازه گیری مقدار آمونیاک، ابتدا نمونه ها را سانتریفیوژ کردیم. سپس، جلبک ها را حذف کرده و معرفی به باقی مانده اضافه کردیم. سپس، با ساخت محلول استاندارد و نگهداشت آن ها در یک محیط تاریک و خنک به مدت یک ساعت، میزان جذب نوری هر کدام را در طول موج ۶۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر یادداشت کردیم. هم چنین، یک شاهد آب مقطر استفاده شد و با رسم منحنی استاندارد، مقدار آمونیاک را اندازه گیری کردیم. برای اندازه گیری مقدار آمونیاک، در فرآیند نمونه برداری از نمونه ها، معرف های زیر به آب اضافه شد. معرف ۱ شامل ۸۰ گرم سدیم سالیلات، ۰/۷ گرم سدیم نیتروپروساید و ۲۲۷ سی سی آب مقطر بود. معرف ۲ شامل ۷/۴ گرم سدیم هیدروکسید، ۴۰ گرم سدیم سیترات ۲ آبه و ۴۰۰ سی سی آب مقطر بود. هم چنین، معرف ۳ شامل ۱۸ سی سی از محلول معرف ۲ به علاوه ۲ سی سی سدیم هیپوکلرید بود (۱۰).

آنالیز مواد مغذی: در آنالیز حذف مواد مغذی، از رابطه زیر برای محاسبه درصد جذب استفاده می شود:

$$W\% = (C_i - C_0) / C_0 \times 100\%$$

در این رابطه، متغیرها به شرح زیر تعریف شده اند: W% درصد جذب مواد مغذی، C₀ غلظت مواد مغذی در زمان آغازین t_i، C_i غلظت مواد مغذی در زمان t_i.

این رابطه براساس مقایسه غلظت مواد مغذی در زمان های مختلف، اندازه گیری جذب مواد مغذی را به صورت درصدی نسبت به غلظت ابتدایی (در زمان آغازین) محاسبه می کند (۱۳).

افزودن جلبک: به‌منظور اضافه کردن جلبک در هر تیمار، از یک قاعده تعداد یکسان برای هر تیمار استفاده شد. برای این منظور، از غلظت معینی جلبک (۰/۱ گرم بر لیتر) استفاده شد. در هر بطری ۱۰۰۰ میلی‌لیتری (که پیش‌تر با استفاده از اتوکلاو استریل شده بود)، یک مقدار ۱۰۰۰ میلی‌لیتر پساب با غلظت ۰/۱ گرم بر لیتر اضافه شد. براساس محاسبات و فرمول مربوطه، غلظت ۰/۱ گرم بر لیتر برابر با ۱۶۶ و ۸۳ سی‌سی تعیین شد. این مقدار از محیط کشت مادر جدا شده و به ظروف مورد استفاده برای رشد جلبک در محیط‌های پساب لبنی اضافه شد.

آماده‌سازی جهت اندازه‌گیری پروتئین و اسیدآمینه: برای آنالیز پروتئین و اسیدهای آمینه، نمونه‌های ریزجلبک *S. platensis* توسط سانتریفیوژ در سرعت ۷۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه از محیط کشت جدا شدند. سپس بیوماس جلبک در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت در آون خشک شد. نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز و ذخیره شدند تا برای آنالیز پروتئین و اسیدهای آمینه آماده شوند.

اندازه‌گیری میزان پروتئین: بعد از رسیدن ریزجلبک به فاز لگاریتم، میزان پروتئین کل هر یک از نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری پروتئین خام نمونه، از دستگاه میکروکژل‌دال استفاده شد. ۰/۵ گرم پودر جلبک خشک را به همراه ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ و قرص هضم در لوله‌های مخصوص قرار داده و به مدت ۴ ساعت ایجاد هضم کردیم. سپس نمونه‌ها را با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تیترو کردیم. در نهایت، پروتئین خام را با ضرب مقدار ازت در عدد ثابت ۶/۲۵ محاسبه کردیم. پس از اندازه‌گیری میزان پروتئین، پروفایل اسیدهای آمینه تیمار جلبکی که بیش‌ترین میزان پروتئین را داشت، در این مرحله مشخص شد و وارد مرحله بعدی آنالیز گردید.

اندازه‌گیری اسیدهای آمینه: برای بررسی نحوه هضم نمونه‌ها، ابتدا ماده خشک هر نمونه را توزین کرده و به ویال‌های کوارتز مخصوص دستگاه ماکروویو Ethos Up Milestone قرار دادیم. سپس ۲۵۰ میکرولیتر اسید ۶HCl نرمال به نمونه اضافه شد. در مرحله بعد، نمونه‌ها تحت برنامه دمایی زیر پرچ با ازت قرار گرفتند:

مرحله (۱): ۱۰ دقیقه با دمای ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد و قدرت ۸۰۰ وات

مرحله (۲): ۲۰ دقیقه با دمای ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد و قدرت ۷۰۰ وات

در این مراحل، هضم کامل پروتئین‌های ساختاری به اسیدهای آمینه تشکیل‌دهنده انجام شد. سپس برای آماده‌سازی و رقیق‌سازی نمونه‌ها جهت تزریق، pH نمونه‌های هضم شده در ۲۵۰ میکرو لیتر اسید ۶HCl نرمال با افزودن آب و NaOH در محدوده ۱/۲ تا ۵/۲ تنظیم شد. حجم نهایی رقیق‌سازی برای هر نمونه، ۲۰ میلی‌گرم در ۱۵ میلی‌لیتر بود. قبل از تزریق، هر نمونه از فیلتر ۰/۴۵ میکرونی عبور داده شد. حجم تزریق برای هر نمونه، ۲۰ میکرولیتر بود.

برای آنالیز اسیدآمینه، از دستگاه Knauer HPLC آلمان با مشخصات زیر استفاده شد. سیستم شامل Smartline Manager 5000 و Smartline Pump 1000 بود. برای انجام آنالیز، از ستون Li Ion-exchange با ابعاد ۴/۶*۷۵ میلی‌متر با بازدهی بالا استفاده شد. همچنین، برای تشخیص اسیدآمینه‌ها از دو دتکتور UV با طول موج ۴۴۰ و ۵۷۰ نانومتر استفاده شد. جهت مشتق‌سازی پس از ستون، از دستگاه PICKERING AMERICA استفاده شد. برای انجام آنالیز، از کیت PICKERING LABORATORIES آمریکا با نام ۷۰-minute physiological fluid sample kit و برنامه گرادیانت مطابق دستورالعمل شرکت استفاده شد. فاز متحرک مورد استفاده در این

استفاده از آزمون یک طرفه آنوا (One-way ANOVA) تجزیه و تحلیل شدند و میانگین‌ها با استفاده از آزمون پشتیبان LSD در سطح اطمینان ۵ درصد مقایسه شدند. برای انجام این تجزیه و تحلیل، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ استفاده شد.

نتایج و بحث

در صنایع لبنی، یکی از مشکلات اساسی پساب‌ها غلظت بالای مواد مغذی، به‌ویژه نیتروژن و فسفر کل است. تصفیه شیمیایی این پساب‌ها اغلب هزینه‌بر است. علاوه بر این، غلظت بالای نیتروژن و فسفر می‌تواند منجر به یوتریفیکاسیون و اختلال در تعادل اکوسیستم شود (۱۴). ریزجلبک‌ها می‌توانند با رشد در این شرایط، تأثیر قابل‌توجهی در تصفیه پساب و کاهش هزینه‌ها داشته باشند. فرایند حذف در واقع به تولید ریزجلبک‌ها وابسته است و هر چقدر میزان بیش‌تری نیتروژن و فسفر از پساب حذف شود، تولید بیومس افزایش می‌یابد (۱۵).

نیترات: مقادیر نیترات برای تیمارهای مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. طبق نتایج، بیش‌ترین مقدار نیترات در روز اول به تیمار ۱۰۰ درصد و کم‌ترین مقدار آن به تیمار ۲۵ درصد تعلق داشت که بین این دو تیمار تفاوت معنادار مشاهده شد ($P < 0/05$). همچنین، بیش‌ترین مقدار نیترات در روز سوم به تیمار ۱۰۰ درصد و کم‌ترین مقدار آن به تیمار ۲۵ درصد مربوط بود که نیز تفاوت معناداری بین این دو تیمار وجود داشت ($P < 0/05$). در روز پنجم، بیش‌ترین مقدار نیترات در تیمار ۱۰۰ درصد و کم‌ترین مقدار آن در تیمار ۵۰ درصد نشان داده شد و بین این دو تیمار تفاوت معناداری مشاهده شد ($P < 0/05$). در روز هفتم، بیش‌ترین مقدار نیترات در تیمار ۱۰۰ درصد و کم‌ترین مقدار آن در تیمار ۲۵ درصد مشاهده شد که تفاوت معناداری بین این دو

آنالیز شامل Lithium Eluant 1700-1125، Lithium Eluant Li375، Lithium Eluant Li365 و RG3 lithium column regenerant بود.

پس از خروج نمونه از ستون، مشتق‌سازی پس از ستون (post-column) با استفاده از دستگاه Pinnacle PCX و کیت Ninehydrin reagent انجام شد. در این روش، نمونه با استفاده از دستگاه Pinnacle PCX و با استفاده از کیت Ninehydrin reagent ترکیب شد.

مشخصات فنی مشتق‌سازی پس از ستون عبارتند از:

نرخ جریان Eluant: ۰/۵۵ میلی‌لیتر در دقیقه

نرخ جریان ریاکتور (Reactor): ۰/۳ میلی‌لیتر در دقیقه

دمای اولیه ستون: ۳۴ درجه سانتی‌گراد

دمای راکتور: ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد

برای محاسبه غلظت نهایی اسیدهای آمینه، از مقادیر غلظت محاسبه شده در نرم‌افزار با توجه به منحنی کالیبراسیون استاندارد، ضریب رقیق‌سازی و جرم مولی هر اسید آمینه برحسب میلی‌گرم در گرم ماده خشک استفاده شد.

استخراج عصاره: در روش استخراج عصاره، ۵۰۰ میلی‌گرم از زیست‌توده جلبک با استفاده از ۳ میلی‌لیتر متانول ۱۰۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق استخراج شد. سپس نمونه سانتریفیوژ شد و مایع رویی به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در آن در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا خشک شود. سپس ۳ میلی‌لیتر دیگر از متانول روی بقایای ریزجلبک ریخته شده و استخراج مجدد انجام شد. در نهایت، تمام مواد رویی را در آن قرار دادیم تا کاملاً خشک شوند و وزن موردنظر را به دست آوردیم.

تجزیه و تحلیل آماری: در آزمایش مذکور، از یک طرح کاملاً تصادفی با سه فاکتور پساب و غلظت آن‌ها در چهار سطح (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) و با استفاده از جلبک در سه تکرار استفاده شد. داده‌ها با

تیمار وجود داشت ($P < 0.05$). در روز نهم، بیش‌ترین مقدار نیتрат در تیمار ۱۰۰ درصد و کم‌ترین مقدار آن در تیمار ۲۵ درصد مشاهده شد که بین این دو تیمار تفاوت معناداری وجود داشت ($P < 0.05$).

جدول ۱- آزمون اثرات محیط کشت، غلظت جلبک و رقت روی میزان حذف نیترات.

Table 1. Testing the effects of culture medium, algae concentration, and dilution on nitrate removal rate.

تیمار (درصد) Treatment (%)	25	50	75	100
روز اول Day 1	39.2±1.6 ^d	46.6±1.81 ^c	53.8±1.1 ^b	57.7±1.4 ^a
روز سوم Day 3	32.8±1.2 ^c	34.34±1.46 ^c	39.3±1.4 ^b	45.2±1.2 ^a
روز پنجم Day 5	24.8±0.3 ^c	23.5±1.18 ^c	30.3±1.9 ^b	33.3±1.2 ^a
روز هفتم Day 7	12.6±1.7 ^c	14.8±1.1 ^{ab}	16.5±1.6 ^b	22.3±1.4 ^a
روز نهم Day 9	-	2±0.6 ^b	1.9±0.7 ^b	13.3±1.7 ^a

Different lowercase letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$)

جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس برای رشد خود به نیترات و آمونیوم نیاز دارد و قادر است نیتروژن را از منابع مختلف مانند نیترات، اوره، آمونیاک، اسیدهای آمینه، پپتون، عصاره مخمر و پورین جذب کند (۱۶). در پژوهش‌هایی که انجام شده است، اسپیرولینا پلاتنسیس با تیمارهای دارای غلظت متفاوت نیترات و فسفات، به‌طور قابل‌توجهی رشد کرده و نقش مهمی در تصفیه پساب داشته است. نتایج این پژوهش نشان داده است که در تیمارهای با رقت ۵۰ و ۷۵ درصد پساب و فاضلاب، بیش از ۹۰ درصد از نیترات پس از فرایند تصفیه حذف می‌شود. اما در تیمارهای با رقت ۱۰۰ و ۲۵ درصد، این مقدار کم‌تر است. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که پساب در رقت‌های میانی، شرایط مناسبی برای رشد اسپیرولینا را فراهم می‌کند به دلیل وجود مواد مغذی لازم در محیط کشت. همچنین، مشاهدات نشان می‌دهند که در تیمارهای با رقت ۵۰ و ۷۵ درصد، میزان نیترات به تقریب صفر می‌رسد (۱۶). احتمالاً به‌دلیل کاهش نور و کاهش نفوذ نور در

این تیمارها، نور کافی برای فتوسنتز جلبک اسپیرولینا فراهم می‌شود و میزان مواد مغذی موجود در پساب نقش مهم‌تری را ایفا می‌کند. در یکی از پژوهش‌هایی که توسط سندپ و همکاران (۲۰۱۵) انجام شد (۱۷)، نشان داده شد که افزایش تولید بیومس اسپیرولینا پلاتنسیس، منجر به افزایش حذف نیتروژن می‌شود. همچنین، پژوهش‌های انجام شده توسط نشان داد که سیانوباکتری *Desertifilum tharense* قابلیت حذف تا ۹۴ درصد نیترات را دارد. همچنین، مطالعه‌ها نشان دادند که استفاده از ریزجلبک‌های *Oscillatoria*، *Phormidium* و *Consortium* می‌تواند منجر به کاهش مقدار نیتروژن در فاضلاب لبنی به ترتیب ۸۶، ۹۴ و ۹۰/۶۶ درصد شود (۱۹). پژوهش‌های بیش‌تر نیز نشان دادند که با کشت اسپیرولینا پلاتنسیس در فاضلاب لبنی، میزان حذف نیترات تا ۹۹/۶ درصد ممکن است و بیش‌ترین میزان حذف در این پژوهش ۸۵/۹۹ درصد بود (۱۰).

فسفات: مطابق با نتایج، در جدول ۲ مقادیر فسفات برای تیمارهای مختلف آورده شده است. بیشترین میزان نیتрат در روز اول مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد و کمترین میزان نیترات مربوط به تیمار ۲۵ درصد بوده است و بین این دو تیمار اختلاف معنی‌دار مشاهده شده است ($P < 0.05$). همچنین، بیشترین میزان فسفات در روز سوم مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد و کمترین میزان فسفات مربوط به تیمار ۲۵ درصد مشاهده شده است و بین این دو تیمار نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده شده است ($P < 0.05$). در روز پنجم، بیشترین میزان فسفات در تیمار ۱۰۰ درصد و کمترین میزان فسفات در تیمار ۲۵ درصد مشاهده شده است و بین این دو تیمار نیز اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0.05$). در روز نهم نیز بیشترین میزان فسفات در تیمار ۱۰۰ درصد و کمترین میزان فسفات در تیمار ۲۵ درصد مشاهده شده است و بین این دو تیمار نیز اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0.05$).

جدول ۲- آزمون اثرات محیط کشت، غلظت جلبک و رقت روی میزان حذف فسفات.

Table 2. Testing the effects of culture medium, algae concentration, and dilution on phosphate removal rate.

تیمار (درصد) Treatment (%)	25	50	75	100
روز اول Day 1	5.7±4.6 ^d	6.9±6 ^c	7.6±4.5 ^b	8±3.5 ^a
روز سوم Day 3	4.6±1.5 ^d	6±2.6 ^c	6.2±3 ^b	7.1±2.6 ^a
روز پنجم Day 5	3.2±2.5 ^d	5.2±2.5 ^b	5.1±3.1 ^c	5.7±3.5 ^a
روز هفتم Day 7	3.1±2.5 ^d	4.5±3.1 ^b	4±2.8 ^c	5.4±3 ^a
روز نهم Day 9	-	4±2.6 ^c	3.4±1.1 ^b	4.6±2.5 ^a

Different lowercase letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$)

می‌توانند آن را از محیط جذب و ذخیره کرده و باعث کاهش آن در پساب شوند. در این مطالعه، مشاهده شد که میزان حذف فسفر در تیمارهای رقیق‌تر کم‌تر از تیمارهای غلیظ‌تر است و در کل، روند کلی حذف فسفر مشابه نیترات است (المومنی و همکاران، ۲۰۱۹) به‌طورکلی، به‌نظر می‌رسد که ریزجلبک اسپیرولینا در حذف نیترات و فسفر به‌طور مشابه عمل می‌کند. اولگویی و همکاران (۲۰۰۳) با کشت اسپیرولینا

فسفر یکی از آلاینده‌های معدنی موجود در فاضلاب است که به‌عنوان یکی از مشکل‌ترین عناصر برای حذف در نظر گرفته می‌شود. روش‌های حذف فسفر شامل جامدسازی و ته‌نشینی می‌باشد (۲۰). علاوه بر این، در شرایط هوازی، می‌توان فسفر را به‌وسیله جذب مستقیم سلولی از فاضلاب حذف کرد. فسفر به‌عنوان یک محدودکننده در رشد جلبک‌ها شناخته شده است، بنابراین سلول‌های جلبکی

پلاتنسیس در فاضلاب خوکی، میزان حذف فسفات را تا ۷۲-۸۷ درصد کاهش دادند که با نتایج مطالعه ما مشابه است (۲۱). در تصفیه فاضلاب خوکی با استفاده از جلبک *S. platensis*، درصد حذف فسفات را ۶۷ درصد گزارش کردند. در پژوهشی که انجام شد (۲۲)، مشاهده شد که بیش‌ترین درصد حذف فسفات پس از تصفیه با جلبک *S. platensis* در غلظت ۷/۵ درصد پساب لبی بود که معادل ۹۵/۶۷ درصد بود و کم‌ترین درصد حذف فسفات در غلظت ۱ درصد این پساب بود که معادل ۷۸/۴۶ درصد بود.

آمونیاک: با توجه به نتایج جدول ۳، مشاهده می‌شود که بیش‌ترین میزان آمونیاک در روز اول به تیمار ۱۰۰ درصد تعلق داشته و کم‌ترین میزان آن مربوط به تیمار ۲۵ درصد است. بین این دو تیمار، اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$). هم‌چنین، در روز سوم نیز بیش‌ترین میزان آمونیاک به تیمار ۱۰۰ درصد و کم‌ترین آن به تیمار ۲۵ درصد تعلق دارد و بین این دو تیمار نیز اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$). در روز پنجم، بیش‌ترین میزان آمونیاک در تیمار ۱۰۰ درصد و کم‌ترین آن به تیمار ۲۵ درصد تعلق دارد و بین این دو تیمار نیز اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$). در روز نهم، بیش‌ترین میزان آمونیاک در تیمار ۱۰۰ درصد و کم‌ترین آن به تیمار ۲۵ درصد تعلق دارد و بین این دو تیمار نیز اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$).

جدول ۳- آزمون اثرات محیط کشت، غلظت جلبک و رقت روی میزان حذف آمونیاک.

Table 3. Testing the effects of culture medium, algae concentration, and dilution on ammonia removal rate.

تیمار (درصد) Treatment (%)	25	50	75	100
روز اول Day 1	27.4±1.1 ^d	31.9±1.6 ^c	37.6±0.9 ^b	41.8±1.5 ^a
روز سوم Day 3	20.5±0.8 ^d	24.3±0.7 ^c	29±0.9 ^b	32.9±1.2 ^a
روز پنجم Day 5	12.3±1.2 ^c	12.6±0.6 ^c	17.7±0.7 ^b	20.8±1.1 ^a
روز هفتم Day 7	8.6±1.3 ^b	8.7±0.7 ^b	9.2±1.1 ^b	12.7±1.2 ^a
روز نهم Day 9	-	4.5±0.8 ^a	1.9±0.3 ^b	5.5±0.6 ^a

Different lowercase letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$)

آمونیاک در pHهای بالا، عمدتاً به صورت غیریونیزه (NH_3) و سمی است، در حالی که در pHهای پایین، میزان سمیت آن کم‌تر بوده و به صورت یونیزه (NH_4^+) حضور دارد. افزایش pH و دما باعث جذب و حذف آمونیاک می‌شود (۲۳). هم‌چنین، افزایش غلظت آمونیاک در محیط منجر به سمیت

دریا با استفاده از ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس را بین ۱۰ تا ۲۰ درصد گزارش کردند (۱۷)، که این میزان کم‌ترین میزان حذف آمونیاک در این مطالعه بود. چیانگ و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که جلبک‌ها تنها زمانی می‌توانند از نیترات استفاده کنند که مقدار آمونیوم صفر یا کم‌تر از یک حد مشخص باشد. این به دلیل نیاز به زمان برای تولید آنزیم‌هایی مانند نیترات ردوکتاز جلبکی است که برای استفاده از نیترات به آن نیاز دارند (۲۷).

زیست‌توده: بررسی نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد دارای روند مشابه در تغییرات زیست‌توده بوده‌اند. در واقع، تیمار ۵۰ درصد در روز هفتم و تیمار ۷۵ درصد در روز نهم آزمایش حداکثر مقدار زیست‌توده را نشان داده‌اند. به عبارت دیگر، در این دو تیمار، زیست‌توده به مقدار بیشینه خود رسیده است. در مقابل، تیمار ۱۰۰ درصد از ابتدای آزمایش با تفاوت، مقادیر بیشتری از زیست‌توده را نسبت به سایر تیمارها نشان داده است و در نهایت به حداکثر مقدار خود رسیده است. هم‌چنین، مطالعه نشان می‌دهد که در طول آزمایش، میزان زیست‌توده در رقت‌های مختلف پساب و در غلظت اولیه جلبک (با مقدار ۰/۰۱ گرم بر لیتر) به‌طور قابل‌توجهی و معنی‌داری افزایش یافته است ($P < 0/05$). بیش‌ترین شیب افزایش مربوط به تیمار ۲۵ درصد مشاهده شده است. از نظر زیست‌توده، تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد دارای روند مشابهی بوده‌اند، به این معنی که تغییرات زیست‌توده در این دو تیمار به شکل مشابهی رخ داده است.

برای سیانوباکتری‌ها و ریزجلبک‌ها می‌شود، و در چنین مواردی، مقدار زیادی آمونیاک به جو آزاد می‌شود. با این‌حال، سمیت در ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس کم‌تر است. رشد ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در فاضلاب حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک متوقف می‌شود (۲۴). سیانوباکتری‌ها قادرند گاز نیتروژن را درون آمونیاک تثبیت کنند و می‌توانند آن را در ترکیبات نیتروژنی مانند آمینواسیدها یافت کنند. در غیر این صورت، گاز نیتروژن به بیرون دفع می‌شود. افزایش غلظت آمونیاک می‌تواند منجر به توقف جذب نیترات شود؛ زیرا آمونیاک باعث توقف تولید نیترات ردوکتاز می‌شود. هم‌چنین، افزایش غلظت نیترات نیز می‌تواند منجر به توقف جذب آمونیاک گردد. هنا و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که غلظت آمونیاک در فاضلاب لبنی با غلظت اولیه ۰/۹۹۸ میلی‌گرم بر لیتر، با کشت کنسرسیوم جلبکی و افزایش بیومس، طی ۱۸ ساعت به صفر می‌رسد (۱۰). در یک مطالعه دیگر توسط هنا و همکاران (۲۰۱۸)، آمونیاک موجود در فاضلاب لبنی با استفاده از ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس به نسبت ۱۰۰ درصد حذف شد (۲۵). اولگوین و همکاران (۲۰۰۳) با کشت ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در فاضلاب خاکی، میزان آمونیاک را بین ۸۴ تا ۹۶ درصد کاهش دادند (۲۶)، که با نتایج پژوهش حاضر سازگار است. هم‌چنین، بالاترین درصد حذف آمونیاک در پژوهش حاضر ۹۵ درصد است. چانگ و همکاران (۲۰۱۳) نیز اعلام کردند که اسپیرولینا پلاتنسیس باعث کاهش ۹۷ درصد آمونیاک در ادرار می‌شود. در مطالعه سندپ و همکاران (۲۰۱۵) نیز میزان حذف آمونیاک در آب

جدول ۴- آزمون اثرات محیط کشت، غلظت جلبک و رقت روی میزان زیست‌توده.

Table 4. Testing the effects of culture medium, algae concentration, and dilution on biomass.

100	75	50	25	تیمار (درصد) Treatment (%)
0.11±0.01 ^a	0.1±0.002 ^a	0.1±0.003 ^a	0.1±0.001 ^a	روز اول Day 1
0.25±0.004 ^a	0.21±0.004 ^a	0.16±0.003 ^b	0.14±0.004 ^b	روز سوم Day 3
0.33±0.004 ^a	0.31±0.005 ^c	0.23±0.004 ^d	0.36±0.004 ^a	روز پنجم Day 5
0.81±0.005 ^a	0.7±0.004 ^b	0.42±0.006 ^c	0.38±0.003 ^d	روز هفتم Day 7
0.91±0.007 ^a	0.89±0.008 ^b	0.41±0.003 ^c	-	روز نهم Day 9

Different lowercase letters indicate significant differences between treatments (P<0.05)

اسید آمینه و نرخ سنتز و تجمع پروتئین: با توجه به نتایج جدول ۵، مشاهده می‌شود که با افزایش درصد رقیق‌سازی پساب، میزان پروتئین افزایش می‌یابد. به عبارت دیگر، درصد رقیق‌سازی مستقیماً به میزان پروتئین موجود در پساب تأثیر می‌گذارد. به عنوان مثال، تیماری که از پساب با غلظت ۱۰۰ درصد استفاده شده است، مقدار بیش‌تری پروتئین نسبت به تیماری که از پساب با غلظت ۲۵ درصد استفاده شده است، دارد. میزان پروتئین در روز آخر آزمایش در تمامی تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$). بنابراین محیط کشت پساب می‌تواند به عنوان یک محیط مناسب برای تولید پروتئین استفاده شود.

میزان حذف عمده به تولید ریزجلبک بستگی دارد. هرچه حذف نیتروژن و فسفر از فاضلاب بیش‌تر باشد، زیست‌توده بیش‌تری تولید می‌شود. با این حال، در ادامه، به دلیل کاهش مواد مغذی یا عوامل دیگر، این روند کاهش می‌یابد (۲۸). همچنین، سوکوماران و همکاران (۲۰۱۴) با کشت اسپیرولینا پلاتنسیس در پساب کارخانه روغن زیتون، متوجه شدند که مقدار زیست‌توده اسپیرولینا در رقت ۱ درصدی پساب به ۱/۸ گرم بر لیتر زیست‌توده و ۲۱۶/۰ گرم بر لیتر فیکوسیائین رسید (۲۹). این نتایج با مطالعه ما همخوانی دارد. پژوهش‌های ژو و همکاران (۲۰۱۷) برای بررسی پتانسیل ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در تصفیه فاضلاب شور، که ترکیبی از آب دریا و آب شیرین به نسبت‌های ۳:۷ و ۵:۵ بود (۳۰)، با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت.

جدول ۵- اثر محیط کشت، غلظت جلبک و رقت روی میزان پروتئین.

Table 5. Effect of culture medium, algae concentration, and dilution on protein content.

میزان پروتئین Protein content	تیمار (درصد) Treatment (%)
21.11±1.74 ^c	25
38.72±2.67 ^b	50
48.76±1.35 ^a	75
52.66±3.2 ^a	100

Different lowercase letters indicate significant differences between treatments (P<0.05)

بر اساس نتایج جدول ۶، مشاهده گردید که سطوح اسید آمینه‌های جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در روز آخر آزمایش در رقت و غلظت‌های مختلف پساب متفاوت هستند. اسید آمینه‌های Ornithine و Aspartic acid به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان خود را با اختلاف فراوان در مقایسه با سایر اسید آمینه‌ها در هر رقت نشان داده‌اند. به علاوه، مقادیر Ornithine در تیمار رقت ۲۵ درصد فاضلاب به صفر گزارش شده است. در اکثر اسیدهای آمینه، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آمینو اسید به ترتیب در رقت‌های ۱۰۰ درصد و ۲۵ درصد پساب مشاهده شده است.

جدول ۶- اثر محیط کشت، غلظت جلبک و رقت روی مقدار اسید آمینه.

Table 6. Effect of culture medium, algae concentration, and dilution on amino acid content.

100	75	50	25	تیمار (درصد) Treatment (%)
16.3±0.6 ^a	13.5±0.8 ^b	9.2±0.4 ^c	8.3±0.6 ^a	Asp
11.3±0.3 ^a	10.4±0.7 ^b	1.4±0.05 ^c	1.2±0.1 ^c	Thre
3.2±0.3 ^a	2.5±0.06 ^b	1.5±0.06 ^c	1.2±0.06 ^c	Ser
3.9±0.07 ^b	2.7±0.08 ^c	9.8±0.6 ^a	9.2±0.4 ^c	Glu
11±0.4 ^a	11.2±0.2 ^a	2.3±0.09 ^b	1.3±0.1 ^c	Gly
4.8±0.05 ^b	4.2±0.04 ^c	6.3±0.04 ^a	4.2±0.07 ^c	Ala
7.8±0.1 ^b	8.7±0.09 ^a	4.1±0.03 ^c	2.1±0.03 ^d	Val
7.9±0.05 ^a	6.9±0.08 ^b	0.25±0.02 ^c	0.12±0.01 ^d	Cys
1.6±0.09 ^a	0.8±0.05 ^c	1.1±0.04 ^b	0.8±0.03 ^c	Met
2.8±0.02 ^a	1.7±0.03 ^b	0.7±0.02 ^c	0.1±0.005 ^d	Try
1.6±0.05 ^c	0.9±0.02 ^d	6.1±0.03 ^a	3.2±0.01 ^b	Leu
4.9±0.03 ^a	4.9±0.02 ^a	4.5±0.03 ^a	4.7±0.005 ^a	Tyr
4.8±0.02 ^a	3.8±0.03 ^b	2.4±0.02 ^c	1±0.04 ^d	Phen
1.1±0.03 ^a	0.07±0.01 ^b	0.03±0.01 ^c	0	Omi
0.3±0.4 ^b	0.07±0.01 ^b	2.9±0.04 ^a	0.5±0.03 ^b	Lys
5.6±0.1 ^a	4.1±0.07 ^b	1.3±0.06 ^c	0.3±0.2 ^d	His
3.7±0.1 ^a	2.1±0.1 ^b	3.5±0.1 ^a	2.5±0.6 ^b	Arg
4.7±0.08 ^b	5.3±0.12 ^a	0.4±0.1 ^c	0.1±0.01 ^d	Hyd
1.5±0.08 ^c	0.7±0.08 ^d	3.2±0.2 ^a	2.3±0.1 ^b	Pro

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵)

Different lowercase letters indicate significant differences between treatments (P<0.05)

اسپیرولینا پلاتنسیس به عنوان یک ریزجلبک می‌تواند جایگزین مناسبی برای منابع پروتئینی باشد و به عنوان یک مکمل غذایی با ارزش افزوده بالا مورد استفاده قرار گیرد. این جلبک به دلیل داشتن میزان زیادی پروتئین در وزن خشک خود و هضم مناسب، اهمیت بالایی دارد. در واقع، اسپیرولینا پلاتنسیس با داشتن تقریباً ۶۳-۶۶ درصد پروتئین و هم‌چنین حاوی اسیدهای آمینه ضروری، به عنوان یکی از بهترین منابع پروتئینی شناخته می‌شود و این مقادیر با گوشت و سویا قابل مقایسه است (۵). اگرچه همه پروتئین‌ها از ۲۱ اسید آمینه اولیه تشکیل می‌شوند، اما بعضی از پروتئین‌ها یک یا تعدادی از این اسیدهای آمینه را ندارند. هم‌چنین، حضور و مقدار اسیدهای آمینه در پروتئین‌ها، کیفیت آن‌ها را نشان می‌دهد. به طور کلی، برای بازیابی پروتئین‌های ارزشمند از پساب‌های لبنی، پژوهش‌های زیادی صورت گرفته است. پروتئین‌های لبنی محصولات با ارزشی هستند و دارای خواص تغذیه‌ای فراوانی می‌باشند با توجه به نتایج در مورد میزان پروتئین در رقت‌ها و افزایش درصد رقیق‌سازی پساب، مشاهده می‌شود که مقدار پروتئین با افزایش درصد رقیق‌سازی پساب کاهش می‌یابد. به عبارت دیگر، تیماری که از پساب با غلظت ۱۰۰ درصد استفاده شده است، مقدار بیش‌تری پروتئین نسبت به تیماری که از پساب با غلظت ۲۵ درصد استفاده شده است، دارد. می‌توان ادعا کرد که حضور ترکیبات نیتروژنی مانند آمونیاک و نیتрат، برای تولید پروتئین در سلول‌های جلبک اسپیرولینا ضروری است (۱۰). در مطالعه انجام شده توسط لو و همکاران (۲۰۱۵)، ترکیب فاضلاب لبنی با فاضلاب کشتارگاهی مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که میزان پروتئین در زیست‌توده ریزجلبک اسپیرولینا با افزودن این ترکیبات تا ۹۸/۵۵-۶۶/۹۱ درصد افزایش می‌یابد. این زیست‌توده حاصل می‌تواند برای تغذیه جانداران

استفاده شود. نتایج این مطالعه با پژوهش حاضر سازگاری دارد. در این مطالعه برابر با ۶۳/۲ درصد بود. از بین اسیدهای آمینه مورد آنالیز، گلوتامیک اسید، آسپارتیک اسید، آلانین و لوسین به ترتیب به میزان ۴۳/۱۵ و ۴۵/۵۴ درصد از پروفایل اسیدهای آمینه در زیست‌توده اسپیرولینا پلاتنسیس در ۱۰۰ درصد پساب وجود داشت. مقدار کم‌ترین اسید آمینه متعلق به اسید آمینه اورنیتین بود. در مطالعه منجولا و سابساری (۲۰۱۸) در بررسی‌های خود بیان کردند بیش‌ترین مقدار پروتئین اسپیرولینا پلاتنسیس ۵۹/۶ درصد) در تیمار حاوی ۲۰ میلی‌لیتر پساب کارخانه برنج و کمترین پروتئین (۵۵/۳ درصد) در تیمار حاوی ۱۰ میلی‌لیتر پساب کارخانه برنج بود (۳۱). بنابراین هرچه میزان پساب افزایش یابد، درصد پروتئین نیز افزایش می‌یابد که در پژوهش حاضر نیز به همین نتیجه رسیدیم.

نتیجه‌گیری

با افزایش زیست‌توده، مقادیر بیش‌تری از مواد مغذی استفاده می‌شود و توانایی سلول‌ها برای جذب مواد مغذی و رشد سلولی افزایش می‌یابد. به عبارت دیگر، کارایی پساب به عنوان محیط کشت جلبک به مقدار جلبکی که تزریق می‌شود بستگی دارد. با کاهش درصد رقیق‌سازی محیط کشت (پساب) و افزایش میزان مواد مغذی در دسترس، زیست‌توده ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد محیط کشت پساب، برای تولید پروتئین و درصد اسیدهای آمینه ضروری، مناسب است. هم‌چنین، غلظت ثانویه ریزجلبک نسبت به غلظت اولیه، عملکرد بهتری را ارائه می‌دهد و با کاهش درصد رقیق‌سازی، میزان پروتئین ریزجلبک افزایش می‌یابد. بنابراین، این ریزجلبک‌ها می‌توانند به عنوان منبع پروتئین برای تغذیه جانداران در پساب صنایع غذایی

استاندارد مربوطه انجام شود. با این حال، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که مقادیر پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری در پساب در سطح قابل‌قبولی قرار دارند.

کشت شوند. البته، برای استفاده انسانی از این محصول، به دلیل احتمال حضور فلزات سنگین و آلودگی باکتریایی در زیست‌توده جلبکی حاصل از فاضلاب، توصیه می‌شود احتیاط لازم و آزمایش‌های

منابع

1. Garrido-Cardenas, J. A., Manzano-Agugliaro, F., Acien-Fernandez, F. G., & Molina-Grima, E. (2018). Microalgae research worldwide. *Algal research*, 35, 50-60.
2. Torres-Tijj, Y., Fields, F. J., & Mayfield, S. P. (2020). Microalgae as a future food source. *Biotechnology advances*, 41, 107536.
3. Soni, R. A., Sudhakar, K., & Rana, R. S. (2019). Comparative study on the growth performance of *Spirulina platensis* on modifying culture media. *Energy Reports*, 5, 327-336.
4. Soni, R. A., Sudhakar, K., & Rana, R. S. (2017). *Spirulina*—From growth to nutritional product: A review. *Trends in food science & technology*, 69, 157-171.
5. Ramírez-Rodrigues, M. M., Estrada-Beristain, C., Metri-Ojeda, J., Pérez-Alva, A., & Baigts-Allende, D. K. (2021). *Spirulina platensis* protein as sustainable ingredient for nutritional food products development. *Sustainability*, 13(12), 6849.
6. Zhang, F., Man, Y. B., Mo, W. Y., & Wong, M. H. (2020). Application of *Spirulina* in aquaculture: a review on wastewater treatment and fish growth. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 582-599.
7. Bhatt, P., Bhandari, G., Turco, R. F., Aminikhoei, Z., Bhatt, K., & Simsek, H. (2022). Algae in wastewater treatment, mechanism, and application of biomass for production of value-added product. *Environmental Pollution*, 309, 119688.
8. Wollmann, F., Dietze, S., Ackermann, J. U., Bley, T., Walther, T., Steingroewer, J., & Krujatz, F. (2019). Microalgae wastewater treatment: Biological and technological approaches. *Engineering in Life Sciences*, 19(12), 860-871.
9. Kaur, N. (2021). Different treatment techniques of dairy wastewater. *Groundwater for Sustainable Development*, 14, 100640.
10. Hena, S., Znad, H., Heong, K. T., & Judd, S. (2018). Dairy farm wastewater treatment and lipid accumulation by *Arthrospira platensis*. *Water research*, 128, 267-277.
11. Hassanzadeh, H., Lotfi, P., & Qanbarzadeh, B. (2018). An overview of the applications of *Spirulina platensis* algae in improving the nutritional and functional properties of dairy products and its use in the recycling of dairy industry waste. *Iranian Journal of Food Sciences and Industries*, 20(141), 176-199.
12. Jiang, L., Ma, G., Zhang, S., & Han, F. (2015). Integrated campus sewage treatment and biomass production by *Scenedesmus quadricauda* SDEC-13. *Bioresource Technology*. 175, 262-268.
13. Han, L., Pei, H., Hu, W., Jiang, L., Ma, G., Zhang, S., & Han, F. (2015). Integrated campus sewage treatment and biomass production by *Scenedesmus quadricauda* SDEC-13. *Bioresource Technology*. 175, 262-268.
14. Ashekuzzaman, S. M., Forrestal, P., Richards, K., & Fenton, O. (2019). Dairy industry derived wastewater treatment sludge: Generation, type and characterization of nutrients and metals for agricultural reuse. *Journal of Cleaner Production*, 230, 1266-1275.
15. Costa, J. A. V., Cruz, C. G., & da Rosa, A. P. C. (2021). Insights into the technology utilized to cultivate microalgae in dairy effluents. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102106.

- 16.Lim, H. R., Khoo, K. S., Chew, K. W., Chang, C. K., Munawaroh, H. S. H., Kumar, P. S., ... & Show, P. L. (2021). Perspective of Spirulina culture with wastewater into a sustainable circular bioeconomy. *Environmental Pollution*, 284, 117492.
- 17.Jiang, X., Shan, X., & Li, F. (2023). Improving the Quality of Reclaimed Water via Applying Spirulina platensis to Eliminate Residual Nitrate. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(3), 2117.
- 18.Sandeep, K. P., Shukla, S. P., Vennila, A., Purushothaman, C. S., & Manjulekshmi, N. (2015). Cultivation of *Spirulina (Arthrospira) platensis* in low cost seawater based medium for extraction of value added pigments. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences (IJMS)*, 44(3), 384-393.
- 19.Kabariya, J. H., & Ramani, V. M. (2018). Dairy wastewater treatment by cyanobacteria for removal of nutrients with extraction of high value compounds from biomass. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7, 1527-1538.
- 20.Liang, C., Zhang, N., Pang, Y., Li, S., Shang, J., Zhang, Y., ... & Fei, H. (2023). Cultivation of *Spirulina platensis* for nutrient removal from piggery wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(36), 85733-85745.
- 21.Cheunbarn, S., & Peerapornpisal, Y. J. I. J. A. B. (2010). Cultivation of *Spirulina platensis* using anaerobically swine wastewater treatment effluent. *Int. J. Agric. Biol.* 12(4), 586-590.
- 22.Kulkarni, S. D., Auti, T., & Saraf, S. (2016). Bioremediation study of dairy effluent by using *Spirulina platensis*. *Res. J. Life Sci. Bioinform. Pharm. Chem. Sci.* 1(6), 325.
- 23.Abdelfatah, A. G. E., Ali, M. A., & Abdelbary, K. M. (2022). Recent Used Techniques and Promised Solutions for Biofiltration Treatment of Fish Wastewater. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(11), 181-197.
- 24.Ashour, M., Alprol, A. E., Heneash, A. M., Saleh, H., Abualnaja, K. M., Alhashmialameer, D., & Mansour, A. T. (2021). Ammonia bioremediation from aquaculture wastewater effluents using *arthrospira platensis* niof17/003: Impact of biodiesel residue and potential of ammonia-loaded biomass as rotifer feed. *Materials*, 14(18), 5460.
- 25.Hena, S., Znad, H., Heong, K. T., & Judd, S. (2018). Dairy farm wastewater treatment and lipid accumulation by *Arthrospira platensis*. *Water research*, 128, 267-277.
- 26.Olguín, E. J., Galicia, S., Mercado, G., & Pérez, T. (2003). Annual productivity of *Spirulina (Arthrospira)* and nutrient removal in a pig wastewater recycling process under tropical conditions. *Journal of applied phycology*, 15, 249-257.
- 27.Jiang, X., Gao, G., Zhang, L., Tang, X., Shao, K., & Hu, Y. (2020). Denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in freshwater lakes of the Eastern Plain, China: Influences of organic carbon and algal bloom. *Science of the Total Environment*, 710, 136303.
- 28.Araujo, G. S., Santiago, C. S., Moreira, R. T., Neto, M. P. D., & Fernandes, F. A. (2021). Nutrient removal by *Arthrospira platensis* cyanobacteria in cassava processing wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 40, 101826.
- 29.Sukumaran, P., Nulit, R., Zulkifly, S., Halimoon, N., Omar, H., & Ismail, A. (2014). Potential of fresh POME as a growth medium in mass production of *Arthrospira platensis*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3(4), 235-250.
- 30.Zhou, W., Li, Y., Gao, Y., & Zhao, H. (2017). Nutrients removal and recovery from saline wastewater by *Spirulina platensis*. *Bioresource technology*, 245, 10-17.
- 31.Manjula, M., & Subasri, J. (2018). Biochemical analysis of spirulina platensis (single cell protein, scp) under in different concentration of rice mill effluent. *International Journal of Current Research in Life Sciences*, 7(04), 1539-1541.