The effect of different light intensities on biomass, protein and pigments of the cyanobacterium *Spirulina platensis*

Pages
89-103

S. Nazeri[1*], F. Vasighi Jamil[2]

1 & 2) Department of Plant Genetics and Production, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

*Corresponding author : **snazeri@basu.ac.ir**

Received date: 2025.08.19 **Accepted date: 2025.11.19**

Abstract

Spirulina (family Microcoleaceae) is a cyanobacterium formerly known as algae. Spirulina is highly valued in the animal feed, poultry and aquaculture industries, cosmetics and health care industries, as a source of energy and wastewater treatment. Spirulina is a rich source of protein, vitamins, minerals, fatty acids and pigments. These carotenoid pigments and phycobiliproteins (allophycocyanin, phycoerythrin and phycocyanin) have high commercial value. The pigment content depends on environmental conditions such as light intensity and light quality. In this study, the effect of light intensities (35, 55 and 75 µmol photons/m2s) on the biomass, protein, phycobiliprotein pigments and photosynthesis of Spirulina was investigated using a completely randomized design. The results showed that the best result was at a light intensity of 55 µmol photons/m2s in the production of phycobilin pigments, chlorophylls and pheophytin. While the highest protein and carotenoid pigments were produced at a light intensity of 75 µmol photons/m2s. Both light intensities of 55 and 75 µmol photons/m2s were suitable for biomass production, but the light intensity of 35 µmol photons/m2s was not sufficient for biomass and metabolite production in the cyanobacterium Spirulina. This study showed that different light intensities can have different effects on the biological factors of cyanobacteria.

Keywords: Spirulina, light intensity, phycobilin pigment, phycocyanin and carotenoid.

تاثیر شدت‌های نوری مختلف بر زیست توده، پروتئین و رنگدانه‌های سیانوباکتر *اسپیرولینا پلاتنسیس*

شماره صفحات
۸۹-۱۰۳

سنبل ناظری[1*] و فاطمه وثیقی جمیل[2]

۱و ۲) گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

*. نویسنده مسئول: **snazeri@basu.ac.ir**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۸

چکیده

اسپیرولینا (متعلق به خانواده Microcoleaceae) یک سیانوباکتر است که در گذشته به عنوان جلبک شناخته می‌شد. اسپیرولینا در صنعت خوراک دام و طیور و آبزیان، صنایع آرایشی و بهداشتی و به عنوان منبع انرژی و تصفیه فاضلاب مورد بسیار با ارزشی است. اسپیرولینا منبع غنی از پروتئین، ویتامین، مواد معدنی، اسیدهای چرب و رنگدانه‌ها می‌باشد. این رنگدانه‌های کاروتنوئیدی و فیکوبیلی‌پروتئین‌ها (آلوفیکوسیانین، فیکواریترین و فیکوسیانین) ارزش تجاری بالایی دارند. محتوای رنگدانه به شرایط محیطی مانند شدت نور و کیفیت نور بستگی دارد. در این مطالعه تاثیر شدت‌های نوری (۳۵، ۵۵ و ۷۵ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه) بر زیست توده، پروتئین، رنگدانه‌های فیکوبیلینی و فتوسنتزی اسپیرولینا با استفاده از طرح کاملا تصادفی بررسی شده‌است. نتایج به دست آمده نشان داد که بهترین نتیجه در شدت نوری ۵۵ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه در تولید رنگدانه‌های فیکوبیلینی، کلروفیل‌ها و فئوفتین بود. درحالیکه بیشترین پروتئین و رنگدانه کاروتنوئید در شدت نوری ۷۵ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه تولید شد. هر دو شدت نوری ۵۵ و ۷۵ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه برای تولید زیست توده مناسب بودند، اما شدت نوری ۳۵ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه برای تولید زیست توده و متابولیت‌ها در سیانوباکتر اسپیرولینا کافی نبود. این مطالعه نشان داد که شدت‌های نوری مختلف می‌تواند اثرات متفاوتی در فاکتورهای زیستی سیانوباکتر داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: اسپیرولینا، شدت نوری، رنگدانه فیکوبیلینی، فیکوسیانین وکاروتنوئید.

مقدمه

امروزه افزودنی‌های غذایی مصنوعی از مشکلات اساسی در صنایع غذایی به شمار می‌روند، بنابراین انتخاب آنتی‌اکسیدان‌های جدید و ایمن از اهمیت بالایی برخوردار است (Anvar and Nowruzi, 2021). میکروارگانیسم‌ها از جمله سیانوباکتر منبع خوبی برای انواع ترکیبات آنتی‌اکسیدان هستند. رنگ‌های طبیعی که از میکروارگانیسم‌ها استخراج می‌شوند دارای خواص با ارزشی همچون اثر آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و آنتی‌بیوتیکی هستند. این ترکیبات در صنایع مختلف دارویی، آرایشی، غذایی، نساجی و چاپ کاربرد دارند.

میکروارگانیسم‌های تولید کننده رنگ‌های طبیعی شامل ریزجلبک‌ها و باکتری‌ها هستند که از این میان استفاده از باکتری‌ها برای تولید این رنگ‌ها از لحاظ تجاری ارزانتر، و از لحاظ بازده بالاتر می‌باشد (Banyan *et al*, 2020). اسپیرولینا سیانوباکتر فتوسنتزی متعلق به شاخه Cyanobacteria (که قبلاً به عنوان جلبک سبز آبی شناخته می شد) است (Sinetova *et al*, 2024). این باکتری چند سلولی و مارپیچی شکل می‌تواند در خاک، مرداب، آب شیرین و شور، آب دریا و دریاچه‌های قلیایی، چشمه‌های آب گرم زندگی کند. اسپیرولینا به دلیل وجود موادمعدنی، فنولیک‌ها، ویتامین‌ها، آمینواسیدها و اسیدهای چرب ضروری و رنگدانه‌ها به عنوان یک مکمل با ارزش برای انسان، خوراک دام و آبزیان کاربرد دارد (Habib *et al*, 2008 ; Shah et al, 2024). اسپیرولینا همچنین غنی از رنگدانه‌های با ارزش مانند فیکوبیلین‌ها، کلروفیل‌ها و کاروتنوئید می‌باشد (Dineshkumar *et al*, 2016).

این رنگدانه‌ها ارزش بالایی به دلیل اثرات دارویی خاص مانند آنتی اکسیدان، ضد میکروبی، ضد التهاب، ضد چاقی و ... دارند (Saini *et al*, 2018). کلروفیل‌ها رنگدانه‌های ضروری برای فتوسنتز در همه موجودات فوتواتوتروف از جمله سیانوباکترها هستند. کلروفیل‌ها رنگدانه‌های محلول در چربی‌اند (Aizpuru *et al*, 2024). کاروتنوئیدها رنگدانه‌هایی هستند که عمدتا با کلروفیل یافت می‌شوند. آنها نور را در ناحیه طیف مرئی جذب می‌کنند، که توسط کلروفیل جذب نمی‌شود (Saini *et al*, 2018). رنگدانه‌های فیکوبیلین‌های اصلی شامل؛ فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین و فیکواریترین هستند (Dineshkumar *et al*, 2016).

فیکوبیلی‌پروتئین‌ها از اهمیت بالایی در صنایع مختلف برخوردارند و امروزه به عنوان رنگ خوراکی استفاده می‌شوند. این مواد غیر سمی، غیر سرطان زا هستند و در مقایسه با رنگ‌های خوراکی مصنوعی، که ممکن است سمی و سرطان زا باشند، دارای خواص درمانی هستند. خاصیت آنتی‌اکسیدان این رنگدانه‌ها در تنظیم تمایز سلولی، آپوپتوز و چرخه سلولی کمک می‌کنند (Saini *et al*, 2018). مطالعات نشان داده است که شدت نور مورد استفاده می‌تواند بر رشد و غلظت متابولیت‌های گونه‌های اسپیرولینا اثر بگذارد. زیرا همانطور که گفته شد اسپیرولینا آنتن‌های جذب کننده نور (رنگدانه‌ها) بسیاری دارد و بنابراین یافتن بهترین شدت نور که بتواند موجب افزایش زیست توده و متابولیت‌های با ارزش سیانوباکتر اسپیرولینا شود، حائز اهمیت است.

مواد و روش‌ها

کشت اسپیرولینا

آزمایش در آزمایشگاه بیوتکنولوژی، گروه ژنتیک و تولیدات گیاهی، دانشگاه بوعلی سینا و آزمایشگاه زیست شرکت ژرف پژوهان به آزما انجام شد. استوک *اسپیرولینا پلاتنسیس* از شرکت پارس جلبک تهیه شد و در محیط جردن اصلاح شده ۴ (Vasighi and Nazeri, 2024) با نسبت تلقیح ۱:۱۰ (محیط کشت: استوک)، دوره نوری ۸:۱۶ (روشنایی: تاریکی)، نور قرمز و دمای ۲±۲۵ درجه سانتی گراد به روش بن ماری ابتدا بهینه و بعد کشت شد (Jung et al, 2022). برای تنظیم نور، ارلن‌ها از منبع نوری در فواصل مختلف (به ترتیب فواصل۳۰، ۲۰ و ۱۰ سانتی متر) قرار داده شدند و توسط لوکس متر شدت نوری اندازه‌گیری شد (Hotos, 2023). آزمایش با سه تیمار شدت نوری ۳۵، ۵۵ و ۷۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه (Hajong *et al*, 2019) در سه تکرار انجام شد.

بررسی میزان رنگدانه‌های فیکوبیلینی

برای ابتدا ۴/۵ میلی لیتر کشت فعال اسپیرولینا جدا شده و در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانترفیوژ (سانتریفیوژ یخچال دار، کاوش مگا، ایران) شد. سپس مایع بالایی خارج و رسوب به عنوان گلوله لیوفلیزه در فریزر قرار داده شد (Palmer *et al*, 2021). برای استخراج رنگدانه‌های فیکوبیلینی سه میلی لیتر بافر فسفات سدیم یک مولار با pH ۷، به گلوله لیوفلیزه تهیه شده اضافه شد. نمونه بعد از ۳۰ ثانیه ورتکس، دو ساعت در فریزر و یک شب در یخچال قرار داده شد. این کار سه بار تکرار شد. روز آخر نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۱۰ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. مایع آبی رنگ بالایی برای قرائت با اسپکتروفتومتر (اسپکتروفتومتر، HANON، چین) جدا شد (Julianti et al, 2019). اندازه گیری غلظت (میلی گرم بر میلی لیتر) رنگدانه‌های فیکوبیلینی شامل فیکوسیانین (PC)، آلوفیکوسیانین (APC) و فیکواریترین (PE) براساس روش بنت و بوگوراد (رابطه ۱) انجام شد (Bennett and Bogorad, 1973).

رابطه ۱:

$$PC = A_{615} - 0.474\,(A_{652})\,/5.34$$
$$APC = A_{652} - 0.208\,(A_{615})\,/5.09$$
$$PE = A_{562} - 2.41\,(PC) - 0.849\,(APC)\,/9.62$$

بررسی میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی

برای استخراج رنگدانه‌های فتوسنتزی سه میلی لیتر استون، به گلوله لیوفلیزه تهیه شده اضافه شد. نمونه بعد از ۳۰ ثانیه ورتکس، دو ساعت در یخچال و یک شب در دمای اتاق قرار داده شد. این کار سه بار تکرار شد. روز آخر نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۱۰ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد. مایع زرد رنگ بالایی برای قرائت با اسپکتروفتومتر جدا شد (Palmer *et al*, 2021). اندازه گیری غلظت (میکرو گرم بر میلی لیتر) رنگدانه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a (Ca)

کلروفیل b (Cb)، کاروتنوئید کل (Tc) و فئوفتین کل (Tp) براساس روش هینستوا و همکاران (۲) انجام شد (Hynstova *et al*, 2018).

رابطه ۲:

$$Ca = 11.24\ (A_{662}) - 2.04\ (A_{645})$$
$$Cb = 20.13\ (A_{645}) - 4.19\ (A_{662})$$
$$Tc = (1000\ (A_{470}) - 1.9\ (Ca)\ 63.14\ (Cb))/214$$
$$Tp = 321.3\ (A_{653}) - 208.4\ (A_{654})$$

بررسی میزان پروتئین

برای آنالیز پروتئین از روش برادفورد استفاده شد (Bradford, 1976). برای این آزمایش، مایع آبی استخراج شده برای آنالیز رنگدانه‌های فیکوبیلینی استفاده شد. ۴۰۰ میکرو لیتر از آن با ۶۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه و ۵ میلی لیتر معرف برادفورد ترکیب شد. همزمان محلول استاندارد (جدول۱) تهیه و جذب نمونه و استاندارد در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد.

جدول ۱: تهیه منحنی استاندارد (برادفورد) برای قرائت پروتئین

Table 1: Preparation of standard curve (Bradford) for protein readings

ترتیب مراحل Order of steps	تیمار Treatment					
	شاهد Control	۱	۲	۳	۴	۵
استاندارد سرم آلبومین گاوی Bovine serum albumin standard (µl)	-	20	40	60	80	100
آب Water (µl)	-	980	960	940	920	900
معرف برادفورد Bradford reagent (ml)	5	5	5	5	5	5

بررسی میزان زیست توده

برای برداشت اسپیرولینا از توری مخصوص برداشت که از شرکت ایران آلجی تهیه شده بود استفاده شد، در روز هفتم کشت (روز نمونه برداری) از هر تیمار ۱۵۰ میلی لیتر جدا شده و بعد از جداسازی سلول‌ها و خشک شدن در دمای محیط و تاریکی، وزن شدند.

آنالیز داده‌ها

ابتدا نرمالیتی تست (لون تست) انجام شد. آنالیز تجزیه واریانس در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. تجزیه واریانس (آنووا) با نرم افزار ۲۰۱۶ اس پی اس اس و برای رسم نمودارها از نرم افزار۲۰۱۶ اکسل استفاده شد. همچنین از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

انتخاب شدت نوری مناسب برای تولید رنگدانه‌های فیکوبیلینی و فتوسنتزی با اندازه‌گیری غلظت رنگدانه‌ها انجام شد. نتایج

تجزیه واریانس بررسی رنگدانه‌های فیکوبیلینی نشان داد که شدت نوری اثر معنی داری در سطح یک درصد بر غلظت رنگدانه فیکوسیانین و اثر معنی داری در سطح پنج درصد بر غلظت رنگدانه‌های آلوفیکوسیانین و فیکواریترین داشت (جدول۲).

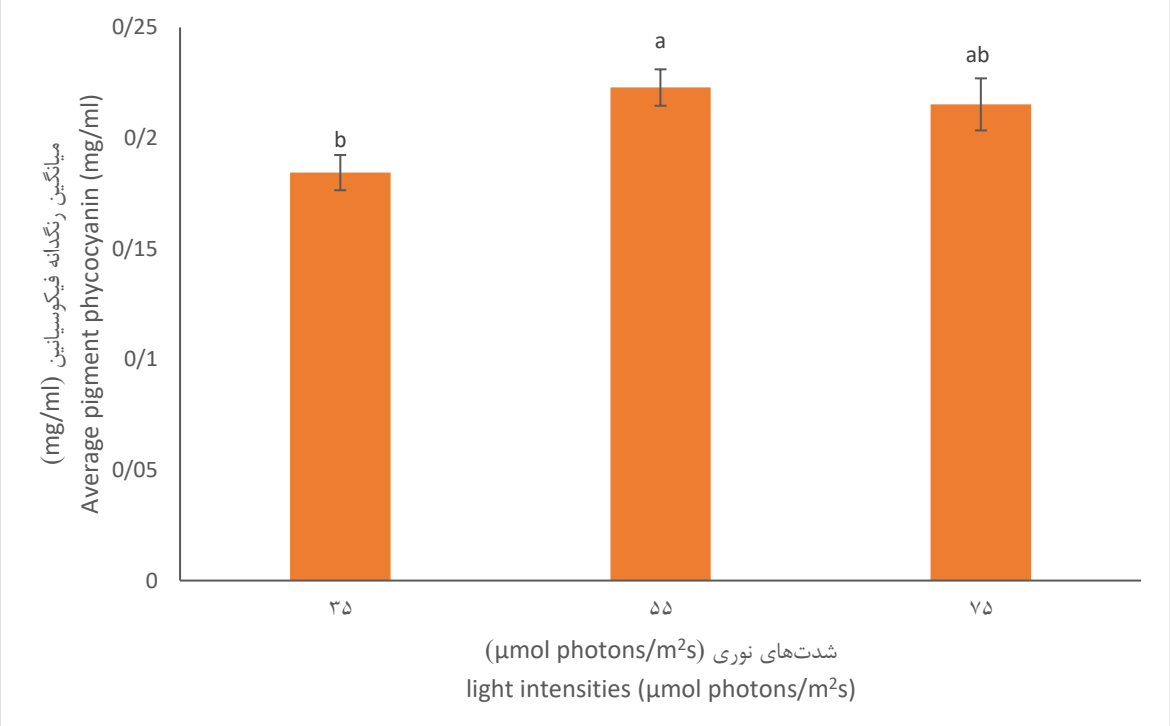
جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس اثر سه شدت نوری بر رنگدانه‌های فیکوبیلینی اسپیرولینا

Table ۲: Results of variance analysis of the effect of three light intensities on phycobilin pigments of Spirulina

منبع تغییرات S. O.V	میانگین مربعات Mean Squares (MS)			
	درجه آزادی df	فیکوسیانین Phycocyanin (mg/ml)	آلوفیکوسیانین Allophycocyanin (mg/ml)	فیکواریترین Phycoerythrin (mg/ml)
تیمار Treatment	2	0.001*	0.001*	0*
خطا Error	6	0	0	0
کل Total	8	-	-	-
ضریب تغییرات CV (%)	-	7.77	10.77	13.56

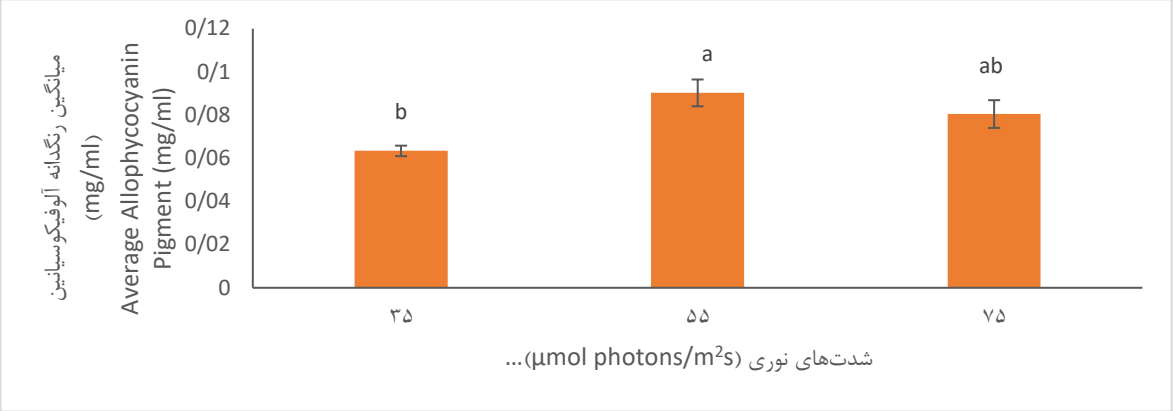
*در سطح پنج درصد معنی دار است.

در مطالعه حاضر، شدت‌های نوری ۳۵، ۵۵ و ۷۵ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد غلظت رنگدانه‌های فیکوبیلینی در شدت نور ۵۵ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه بیشتر مقدار عددی را نشان داد هرچند از نظر آماری با شدت نوری ۷۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه تفاوتی مشاهده نشد. از نظر مقداری برای هر سه رنگدانه شدت نور ۳۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه از همه کمتر بود (شکل‌های ۱، ۲ و ۳).



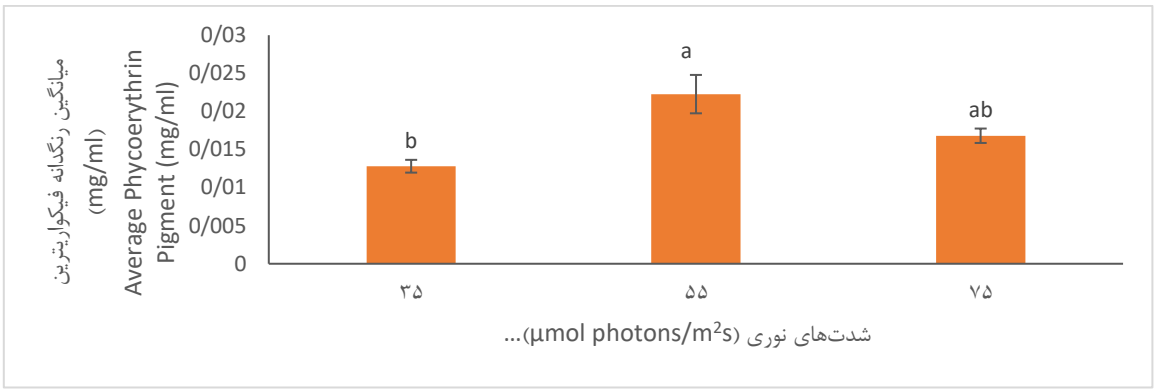
شکل ۱- نمودار مقایسه میانگین رنگدانه فیکوسیانین اسپیرولینا در شدت‌های نور مختلف. نمودارهای دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p<0.05$)

Figure 1- Comparison chart of average phycocyanin pigment of Spirulina at different light intensities. Graphs with the same letters do not have statistically significant differences. ($p < 0.05$)



شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین رنگدانه آلوفیکوسیانین اسپیرولینا در شدت‌های نور مختلف. نمودارهای دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p<0.05$)

Figure 2 - Comparison chart of average Spirulina allophycocyanin pigment at different light intensities. Graphs with the same letters do not have statistically significant differences. ($p < 0.05$)



شکل ۳- نمودار میانگین رنگدانه فیکواریترین اسپیرولینا در شدت‌های نور مختلف. نمودارهای دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p<0.05$)

Figure 3- Average graph of Spirulina phycoerythrin pigment at different light intensities. Graphs with the same letters do not have statistically significant differences. ($p < 0.05$)

نتایج این مطالعه مطابق با یافته‌های تاکانو و همکاران و کوسومانینگتیاس و همکاران در بررسی اثر شدت نور بر رنگدانه افزایش غلظت فیکوسیانین در شدت ۵۵ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه است (Takano *et al*, 1995; Kusumaningtyas *et al*, 2023). مادیاستا و واتسالا نیز بیان داشتند افزایش شدت نور در تولید فیکوسیانین و فیکواریترین در *Spirulina fussiformis* موثر بود (Madhyastha *et al*, 2007). با این حال برخی محققین شدت‌های دیگر نوری را برای تولید این رنگدانه‌ها مناسب دانستند. از جمله هوتوس و همکاران در بررسی اثر دو شدت نوری (۲۰۰و ۸۰۰ لوکس) بر تولید رنگدانه‌ها در سیانوباکتری *Anabaena sp* بیان کردند بیشترین فیکوسیانین با شدت نوری ۲۰۰ لوکس (معادل ۴ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه) به دست آمد (Hotos, 2023). مطالعات نشان داده است که عوامل مختلف از جمله نوع منبع نور، شرایط کشت و نیز گونه سیانوباکتر می‌تواند در شدت نور مناسب در تولید رنگدانه موثر باشد (Chilmawati *et al*, 2024; Bortolini *et al*, 2022). نتایج تجزیه واریانس بررسی رنگدانه‌های فتوسنتزی نشان داد که شدت نور اثر معنی داری در سطح

یک درصد بر تولید رنگدانه‌های کلروفیل b و فئوفتین کل و همچنین اثر معنی داری در سطح پنج درصد بر تولید رنگدانه‌های کلروفیل a و کاروتنوئید کل داشت (جدول ۳).

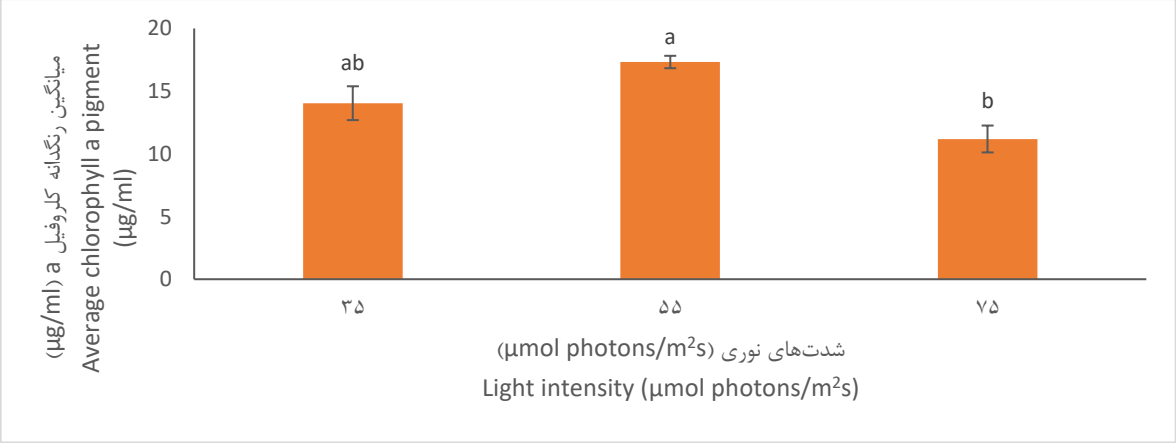
جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس اثر سه شدت نوری بر کلروفیل a ، کلروفیل b، کاروتنوئید کل و فئوفتین کل اسپیرولینا

Table ۳- Analysis of variance of the effect of three light intensities on chlorophyll a, chlorophyll b, total carotenoids and total pheophytin of Spirulina

منبع تغییرات S. O.V	میانگین مربعات Mean Squares (MS)				
	درجه آزادی df	کلروفیل a chlorophyll a (µg/ml)	کلروفیل b chlorophyll b (µg/ml)	کاروتنوئید کل total carotenoids (µg/ml)	فئوفتین کل total pheophytin (µg/ml)
تیمار Treatment	2	28.311*	4.84**	1.695*	1842.491**
خطا Error	6	3.213	0.07	0.24	30.575
کل Total	8	-	-	-	-
ضریب تغییرات CV (%)	-	12.72	13.36	6.76	9.48

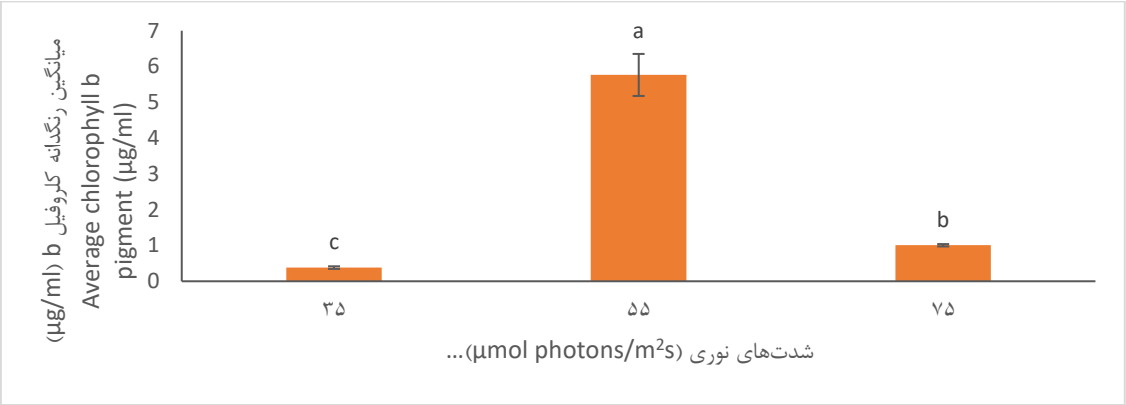
**** در سطح یک درصد و * در سطح پنج درصد معنی دار است.**

نتایج مقایسه میانگین نشان داد میزان تولید کلروفیل a در شدت نوری ۵۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه بیشترین مقدار (عدم تفاوت معنی دار با شدت ۳۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه) و کمترین مقدار در شدت نور ۷۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه بود. تولید کلروفیل b در شدت نوری ۵۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه تفاوت آشکار با سایر تیمارهای نوری داشت. تولید کاروتنوئید کل در شدت نوری ۷۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه بیشترین میزان را نشان داد. شدت نور ۵۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه (مشابه کلروفیل a و b) برای تولید فئوفتین کل اثر بهتری را نشان داد (شکل‌های ۴، ۵، ۶ و۷).



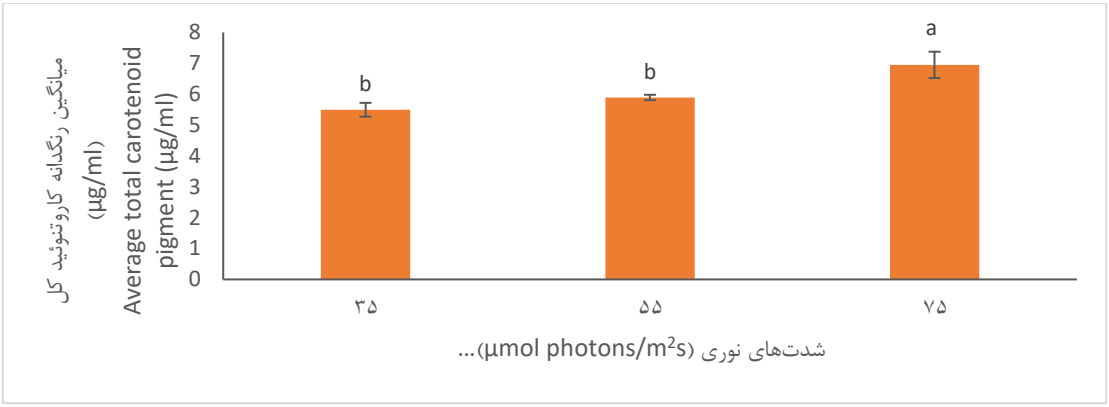
شکل ۴- نمودار میانگین رنگدانه کلروفیل a اسپیرولینا در شدت‌های نور مختلف. نمودارهای دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p<0.05$)

Figure ۴- Graph of the average chlorophyll a pigment of Spirulina at different light intensities. Graphs with the same letters do not have statistically significant differences. ($p < 0.05$)



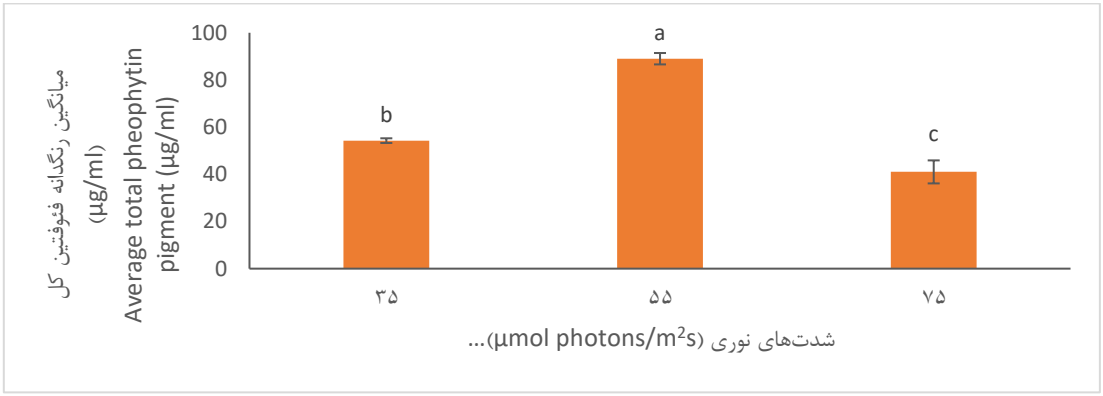
شکل 5- نمودار میانگین رنگدانه کلروفیل b اسپیرولینا در شدت‌های نور مختلف. نمودارهای دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p<0.01$)

Figure ۵- Graph of average chlorophyll b pigment of Spirulina at different light intensities. Graphs with the same letters do not have statistically significant differences. ($p < 0.01$)



شکل ۶- نمودار میانگین رنگدانه کاروتنوئید کل اسپیرولینا در شدت‌های نور مختلف. نمودارهای دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p<0.05$)

Figure ٦- Graph of the average total carotenoid pigment of Spirulina at different light intensities. Graphs with the same letters do not have statistically significant differences. ($p < 0.05$)



شکل ۷- نمودار میانگین رنگدانه فئوفتین کل اسپیرولینا در شدت‌های نور مختلف. نمودارهای دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p<0.01$)

Figure ۷- Graph of the average total pheophytin pigment of Spirulina at different light intensities. Graphs with the same letters do not have statistically significant differences. ($p < 0.01$)

مطابق با نتایج این مطالعه، کوسومانینگتیاس و همکاران نیز بیشترین کلروفیل و کاروتنوئید را در محدوده شدت‌های نوری ۴۰ تا ۷۰ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه به دست آوردند (Kusumaningtyas *et al*, 2023). در مطالعه دیگر شدت نوری ۵۲ بهترین نقش را در تولید کلروفیل سیانوباکتر داشت (Kumar *et al* 2011). با این حال در برخی مطالعات شدت‌های متفاوت نوری مناسب نشان داده شده است (Jourdan, 2001). یکی از دلایل تفاوت در تاثیر شدت نور موثر در تولید رنگدانه های فتوسنتزی، مرتبط با گونه سیانوباکتر مورد آزمایش است. همچنین محققین اثر ترکیبات محیط کشت و شرائط دیگر آزمایشگاهی مانند نوع منبع نوری مورد استفاده را موثر دانستند (Banayan *et al*, 2022). نتایج تجزیه واریانس نشان داد شدت نور اثر معنی داری در سطح یک درصد بر تولید زیست توده اسپیرولینا و در سطح پنج درصد بر میزان پروتئین داشت (جدول ۴).

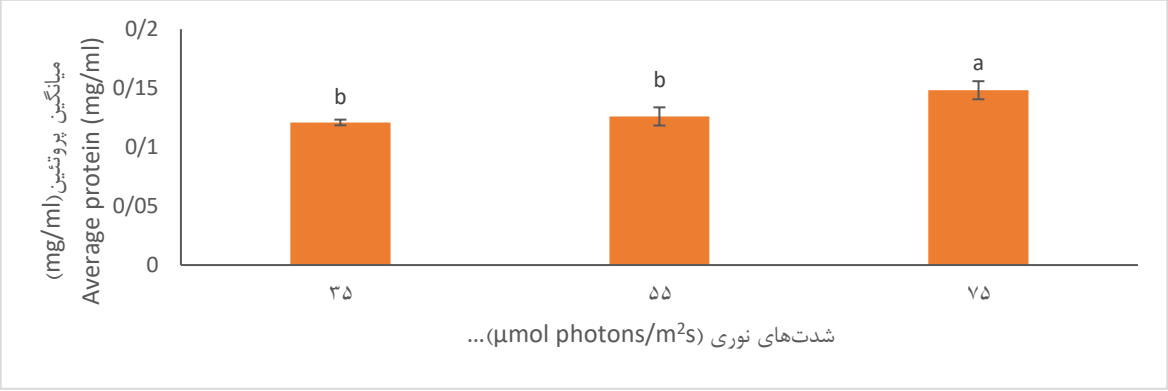
جدول ۴: نتایج تجزیه واریانس اثر سه شدت نوری بر زیست توده و پروتئین اسپیرولینا

Table 3- Results of analysis of variance of the effect of three light intensities on Spirulina biomass and protein

منبع تغییرات **S. O.V**	میانگین مربعات **Mean Squares (MS)**		
	درجه آزادی **df**	زیست توده **biomass** (g/l)	پروتئین **protein** (mg/ml)
تیمار Treatment	2	0.049**	0.001*
خطا Error	6	0.007	0
کل Total	8	-	-
ضریب تغییرات CV (%)	-	9.82	7.65

**** در سطح یک درصد و * در سطح پنج درصد معنی دار است.**

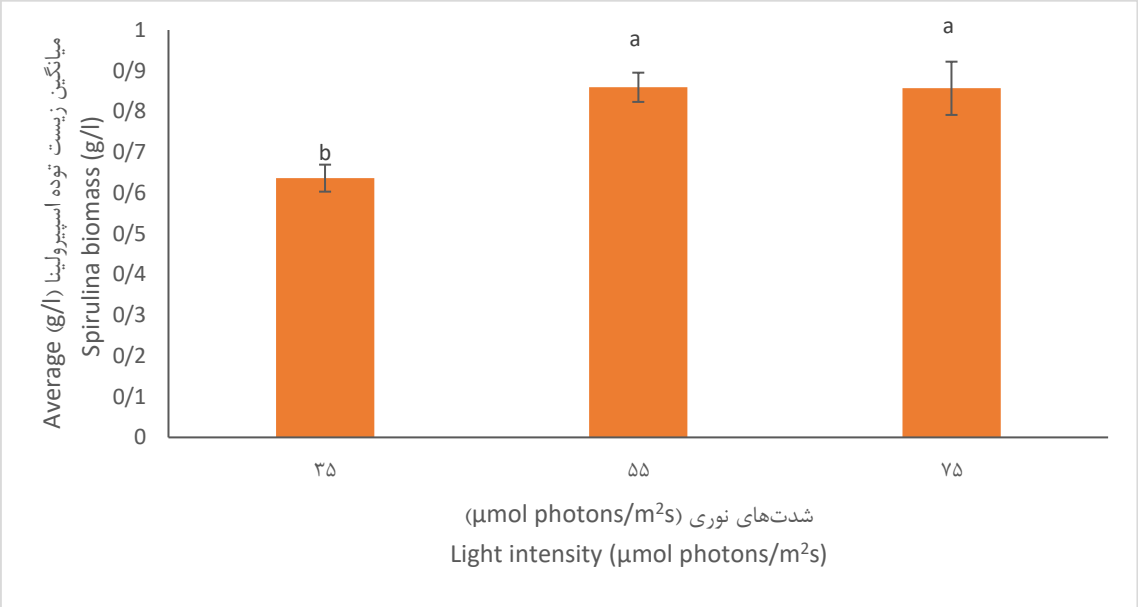
نتایج مقایسه میانگین نیز نشان داد که میزان تولید پروتئین در شدت نور ۷۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه نسبت به دو شدت نوری دیگر بهتر بود. درحالیکه دو شدت نوری ۳۵ و ۵۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه تفاوت معنی داری با هم نداشتند (شکل 8).



شکل ۸- نمودار میانگین غلظت پروتئین اسپیرولینا در شدت‌های نور مختلف. نمودارهای دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p<0.05$)

Figure 8- Graph of average Spirulina protein concentration at different light intensities. Graphs with the same letters do not have statistically significant differences. ($p < 0.05$)

نتایج مقایسه میانگین نیز نشان داد که برای تولید زیست توده اسپیرولینا هر دو شدت نور ۵۵ و ۷۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه نسبت به شدت نور ۳۵ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه نتیجه بهتری داشتند (شکل 9).



شکل ۹- نمودار میانگین زیست توده اسپیرولینا در شدت‌های نور مختلف. نمودارهای دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند ($p<0.01$)

Figure ۹- Graph of average Spirulina biomass at different light intensities. Graphs with the same letters do not have statistically significant differences. ($p < 0.01$)

مشابه با این تحقیق، مطالعات دیگر نیز بیان داشتند که با افزایش شدت نور، جذب نوری بیشتر شده و تولید متابولیت‌های سلولی از جمله پروتئین ها، که برای تکثیر سلول های اسپیرولینا مورد نیاز هستند، افزایش می یابد. از جمله یافته‌های هو و ریچموند و نیز نزایسنگا و همکاران بیان کردند هر چقدر شدت نور افزایش پیدا کند بهره وری زیست توده اسپیرولینا افزایش می‌یابد (Qiang and Richmond, 1996; Nzayisenga *et al*, 2020). در بررسی دیگر شدت نوری ۶۰ برای تکثیر و تولید پروتئین به عنوان بهترین شدت نوری معرفی شده است (Danesi *et al*, 2011). درحالیکه در مطالعه دیگری بهترین شرایط رشد از جمله مقدار پروتئین در *آرتروسپیرا پلاتنسیس* با شدت نور ۱۲۰۰ لوکس (معادل ۲۶ میکرو مول فوتون بر متر مربع در ثانیه) بدست آمد (Ravelonandro *et al*, 2008). بنظر میرسد علت تفاوت به دلیل شرایط متفاوت آزمایش باشد. مطالعات نشان داده است که سویه اسپیرولینا مورد استفاده و نیز نوع و ترکیبات محیط‌های کشت در میزان رشد و تولید پروتئین موثر هستند (Chilmawati *et al*, 2024; Bortolini *et al*, 2022).

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر شدت نوری میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه ۵۵ در بیشتر پارامترهای مورد بررسی مناسب‌ترین شدت نوری تشخیص داده شد. هرچند در رنگدانه‌های فیکوبیلینی، کلروفیل a و زیست توده تفاوت معنی داری با شدت ۷۵ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه مشاهده نگردید. از طرف دیگر غلظت پروتئین و کاروتنوئید در شدت ۷۵ میکرومول فوتون

بر متر مربع در ثانیه بیشتر بود.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه با عنوان "تاثیر غلظت‌های مختلف Nacl و طیف‌های مختلف نوری بر رنگدانه فیکوسیانین سیانوباکتر اسپیرولینا" در مقطع کارشناسی ارشد سال ۱۴۰۳ با شماره ثبت ایرانداک ۲۳۱۰۹۱۳۵ است که با حمایت دانشگاه بوعلی سینا و شرکت ژرف پژوهان به آزما اجرا شده‌است. نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات آقای مهندس قائمی و خانم دکتر مظاهری که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، قدردانی نمایند.

منابع

Aizpuru, A., & González-Sánchez, A. (2024). Traditional and new trend strategies to enhance pigment contents in microalgae. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 40(9): 1-26.

Anvar, A. A., & Nowruzi, B. (2021). Bioactive properties of spirulina: A review. Microb. Bioact. 4: 134-142.

Athiyappan, K. D., Routray, W., & Paramasivan, B. (2024). Phycocyanin from Spirulina: a comprehensive review on cultivation, extraction, purification, and its application in food and allied industries. Food and Humanity. 2: 100235.

Banayan, S., Jahadi, M., & Khosravi-Darani, K. (2022). Pigment productions by *Spirulina platensis* as a renewable resource. Journal of Applied Biotechnology Reports. 9(2): 614-621.

Banyan, S., Jihadi, M. & Fazel, M. (2020). Investigation of factors affecting the production of chlorophyll and carotenoid pigments from *Spirulina platensis* using the Berman Platelet Design. Journal of Food Microbiology. 2: 70-81. [In Persian]

Bennett, A., & Bogorad, L. (1973). Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. The Journal of cell biology. 58(2): 419-435.

Bortolini, D. G., Maciel, G. M., Fernandes, I. D. A. A., Pedro, A. C., Rubio, F. T. V., Branco, I. G., & Haminiuk, C. W. I. (2022). Functional properties of bioactive compounds from *Spirulina spp*. Current status and future trends. Food Chemistry: Molecular Sciences, 5: 100134.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry. 72(1-2): 248-254.

Chilmawati, D., Martaningrum, A., Widowati, L. L., Candra, P., & Putra, P. (2024). Effect of Different Purities of Seed Cells and Culture Media on the Growth Pattern and Protein Content of *Spirulina Platensis*. Journal of Zoology and Systematics, 2(1): 49-58.

Dineshkumar, R., Narendran, R., & Sampathkumar, P. (2016). Cultivation of *Spirulina platensis* in different selective media. NISCAIR-CSIR, India. 45(12): 1749-1754.

Habib, M. A. B., Parvin, M., Huntington, T. C., & Hasan, M. R. (2008). A review on culture, production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034.

Hajong, S. Kumaria, S. & Tandon, P. (2019). Synergistic Effect of PPFD and Mycorrhization for Efficient in vitro Propagation of Dendrobium chrysanthum Wall. ex Lindl. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 8(10): 1290-1308.

Hotos, G. N. (2023). Quantity and Quality of Light on Growth and Pigment Content of *Dunaliella sp*. and *Anabaena sp*. Cultures and the Use of Their Absorption Spectra as a Proxy Method for Assessment. Journal of Marine Science and Engineering. 11(9): 1673.

Hynstova, V., Sterbova, D., Klejdus, B., Hedbavny, J., Huska, D., & Adam, V. (2018). Separation, identification and quantification of carotenoids and chlorophylls in dietary supplements containing *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* using high performance thin layer chromatography. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 148: 108-118.

Ismaiel, M. M., Piercey-Normore, M. D., & Rampitsch, C. (2018). Proteomic analyses of the cyanobacterium *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* under iron and salinity stress. Environmental and Experimental Botany. 147: 63-74.

Jourdan, J. P. (2001). Grow your own Spirulina. Geneva Switz.

Jung, C. H., Waldeck, P., Sykora, S., Braune, S., Petrick, I., Küpper, J. H., & Jung, F. (2022). Influence of different light-emitting diode colors on growth and phycobiliprotein generation of *Arthrospira platensis*. Life. 12(6): 895.

Julianti, E., Susanti, S., Singgih, M., & Mulyani, L. N. (2019). Optimization of extraction method and characterization of phycocyanin pigment from *Spirulina platensis*. J. Math. Fundam. Sci. 51: 168-176.

Kumar, M., Kulshreshtha, J., & Singh, G. P. (2011). Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature. Brazilian Journal of Microbiology. 42: 1128-1135.

Kusumaningtyas, P., Gultom, S. D., & Usman, U. (2023). Production of Photosynthetic Pigments from *Spirulina platensis* Under Different Light Intensities. BERKALA SAINSTEK 11(3): 161-165.

Madhyastha, H. K., & Vatsala, T. M. (2007). Pigment production in *Spirulina fussiformis* in different photophysical conditions. Biomolecular engineering. 24(3): 301-305.

Nunes, E., Odenthal, K., Nunes, N., Fernandes, T., Fernandes, I. A., & de Carvalho, M. A. P. (2024). Protein extracts from microalgae and cyanobacteria biomass. Techno-functional properties and bioactivity: A review. Algal Research. 82: 103638.

Nzayisenga, J. C., Farge, X., Groll, S. L., & Sellstedt, A. (2020). Effects of light intensity on growth and lipid production in microalgae grown in wastewater. Biotechnology for Biofuels. 13: 1-8.

Palmer, J. S., Lawton, L. A., Kindt, R., & Edwards, C. (2021). Rapid analytical methods for the microalgal and cyanobacterial biorefinery: Application on strains of industrial importance. MicrobiologyOpen. 10(1): e1156.

Qiang, H., & Richmond, A. (1996). Productivity and photosynthetic efficiency of *Spirulina platensis* as affected by light intensity, algal density and rate of mixing in a flat plate photobioreactor. Journal of Applied Phycology. 8: 139-145.

Ravelonandro, P. H., Ratianarivo, D. H., Joannis-Cassan, C., Isambert, A., & Raherimandimby, M. (2008). Influence of light quality and intensity in the cultivation of Spirulina platensis from Toliara (Madagascar) in a closed system. Journal of Chemical Technology and Biotechnology: International Research in Process, Environmental and Clean Technology. 83(6): 842-848.

Saini, D. K., Pabbi, S., & Shukla, P. (2018). Cyanobacterial pigments: Perspectives and biotechnological approaches. Food and chemical toxicology. 120: 616-624.

Shah, M. A. R., Zhu, F., Cui, Y., Hu, X., Chen, H., Kayani, S. I., & Huo, S. (2024). Mechanistic insights into the nutritional and therapeutic potential of *Spirulina (Arthrospira) spp*.: Challenges and opportunities. Trends in Food Science and Technology. 104648.

Sinetova, M. A., Kupriyanova, E. V., & Los, D. A. (2024). Spirulina/Arthrospira/Limnospira—Three Names of the Single Organism. Foods, 13(17): 2762.

Takano, H., Arai, T., Hirano, M., & Matsunaga, T. (1995). Effects of intensity and quality of light on phycocyanin production by a marine cyanobacterium Synechococcus sp. NKBG 042902. Applied Microbiology and Biotechnology. 43: 1014-1018.

Vasighi Jamil, F. & Nazeri, S. (2024). The effect of different NaCl concentrations and different light spectra on the phycocyanin pigment of the cyanobacterium Spirulina. Thesis. Bu-Ali Sina University, Hamadan. [In Persian]