مقاله پژوهشی

تولید زی‌توده، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و حذف نیترات و فسفات توسط ریزجلبک دریایی *Tetraselmis tetrathele* کشت‌شده در پساب کارخانه مواد غذایی

الهام نظافتیان، امیدوار فرهادیان* و فاطمه رستمی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۰۸/۲۳، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۲/۱۷)

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی کشت ریزجلبک دریایی ***Tetraselmis tetrathele*** در پساب مواد غذایی و تأثیر غلظت‌های مختلف پساب بر مقدار رشد ویژه، زی‌توده، کلروفیل ***a***، کلروفیل ***b***، کاروتنوئید کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی و مقایسه آنها با محیط‌کشت کانوی انجام شد. در این آزمایش درصد حذف فسفات و نیترات پساب مواد غذایی توسط ریزجلبک ***T. tetthele*** نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور جلبک ***T. tetrathele*** در دو غلظت ۵ درصد و ۱۰ درصد از پساب کارخانه مواد غذایی نامی‌نو و محیط‌کشت کانوی به‌مدت ۹ روز کشت داده شد. آزمایش با روشنایی کامل و دمای ۲ ± ۲۴ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۳۵ میکرومول بر متر مربع در ثانیه انجام شد. بیش-ترین میزان زی‌توده تولیدی (۰/۲۷ گرم در لیتر)، میزان کلروفیل ***a*** (۲/۵۷ میلی‌گرم در لیتر) و رشد ویژه (۱/۶۲ در روز) در تیمار کانوی مشاهده شد. بیشترین میزان کاروتنوئید کل نیز در تیمار با غلظت ۱۰ درصد پساب به‌دست آمد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریزجلبک نشان داد که در هر دو سنجش **DPPH** و **ABTS** فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت عصاره است و در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره در تیمار با غلظت ۱۰ درصد پساب با ۲۸/۴ درصد بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد **DPPH** را نشان داد. سنجش **ABTS** بیانگر آن بود که در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره هر سه تیمار بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (بیش از ۹۰ درصد مهار رادیکال آزاد **ABTS**) را داشتند و اختلاف معنی‌داری بین سه تیمار مشاهده نشد ($P > 0/05$) اما در غلظت‌های کمتر عصاره تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود داشت به گونه‌ای که در غلظت ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ظرفیت آنتی‌اکسیدان در تیمار کانوی، پساب ۱۰٪ و پساب ۵٪ به‌ترتیب ۵۳/۳٪، ۷۳/۳٪ و ۹۶/۲٪ بود. نتایج نشان داد که ریزجلبک ***T. tetrathele*** به‌خوبی می‌تواند در این مقادیر کم پساب رشد کرده و ۷۴ درصد فسفات (در تیمار ۱۰ درصد پساب) و ۲۴ درصد نیترات (تیمار ۵ درصد پساب) را طی یک دوره کوتاه ۹ روزه از محیط حذف کند. بنابراین با توجه به اینکه ***T. tetrathele*** می‌تواند به‌طور معنی‌داری نیترات و فسفات را حذف و زی‌توده جلبکی تولید نماید. نتایج این مطالعه نشان داد که با کشت ریزجلبک ***T. tetrathele*** می‌توان در کنار حذف آلاینده‌ها در پساب، به تولید زی‌توده‌ای با رشد مناسب و ترکیبی ارزشمند با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا دست یافت که می‌تواند نوید بخش تولید محصولی ارزشمند و مقرون به صرفه جهت استفاده در صنایع مختلف چون آرایشی بهداشتی و صنایع غذایی باشد.

کلمات کلیدی: پساب مواد غذایی، حذف نیترات و فسفات، رشد، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، ریز جلبک دریایی ***Tetraselmis tetrathele***

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: omfarhad@iut.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

مقدمه

ریزجلبک‌ها موجودات فتوسنتز کننده‌ای که دارای طیف وسیعی از ترکیبات شیمیایی با کاربردهای متفاوت هستند. از مهم‌ترین جنبه‌های پرورش ریزجلبک‌ها، تصفیه آب و استفاده از آب‌های آلوده یا پساب‌های کارخانه‌جات دارای مواد آلی و معدنی به‌عنوان محیط‌کشت است. پساب کارخانه‌های مواد غذایی یکی از بیشترین پساب‌هایی است که در سرتاسر جهان تولید می‌شود و تصفیه آنها به‌عنوان یک مسئله اجتماعی مهم است (Ji *et al*.,2014). پساب مواد غذایی غنی از مواد مغذی چون نیتروژن، فسفر، کلسیم، آهن، آلومینیوم و کربن آلی است (Shin *et al*., 2015). استفاده از این نوع پساب‌ها که حامل مواد مغذی اولیه برای رشد ریزجلبک‌ها هستند به‌عنوان محیط کشت، می‌توانند برای پروش‌دهندگان و محققان در جهت تولید زی‌توده‌ای مناسب بسیار جذاب باشد؛ چرا که علاوه بر آن که در مسیر تولید زی‌توده می‌تواند یک عامل پالایش زیستی محسوب شود، از طرفی باعث تولید متابولیت‌هایی می‌شود که خواص تغذیه‌ای و دارویی به‌ویژه آنتی‌اکسیدانی بی‌نظیری داشته و به‌عنوان یک محصول جانبی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Borowitzka, 2013; Jacob-Lopes and Franco, 2013). توانایی تطبیق‌پذیری ریزجلبک‌ها در محیط‌های متفاوت این امکان را فراهم می‌کند که تولید زی‌توده بر پایه منابع آلی فاقد ارزش اقتصادی همچون پساب‌های صنعتی بنا گردد. در واقع علاوه بر آنکه یک زی‌توده خوب از ریزجلبک‌ها با محصولات بیولوژیکی مناسب به‌دست می‌آید، می‌تواند به‌طور همزمان بار مواد آلی، اکسیژن‌خواهی زیستی (BOD) و اکسیژن‌خواهی شیمیایی (COD) را نیز کاهش دهد (Shin *et al*., 2015; Daneshvar *et al*., 2019).

جنس *Tetraselmis* از ریزجلبک‌های دریایی متعلق به رده کلروفیسه‌ها است که دارای ۳۱ درصد پروتئین، ۱/۱۲ درصد کربوهیدرات و ۱۷ درصد چربی است (Helena *et al*., 2018). ریزجلبک *Tetraselmis* sp. به‌علت تنوع گسترده در کاروتنوئیدهایی چون بتا کاروتن، لوتئین و ویولازانتین شناخته شده است و با وجود اینکه معمولاً در آبزی‌پروری استفاده می‌شود، اتحادیه اروپا اخیراً استفاده از زی‌توده این جنس را به‌عنوان غذای جدید در تغذیه انسان تصویب کرده است. علت گنجاندن این ریزجلبک در تغذیه انسان نشان می‌دهد که نه تنها به‌دلیل دارابودن سطوح کاروتنوئیدهایی قابل‌مقایسه با سبزیجات است، همچنین به‌علت خواص آنتی‌اکسیدانی آن و عملکرد ترمیم سلول در برابر سرطان ریه نیز می‌تواند پیشنهاد گردد. این ریزجلبک دامنه ۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد را تحمل می‌کند و توانایی رشد در پساب‌ها و همچنین در آب‌های شور با شوری ۷۵ گرم در لیتر را دارد. تمامی این خصوصیات نشان می‌دهند که این گونه می‌تواند به‌طور موفقیت‌آمیزی در مقیاس صنعتی رشد یابد (Schuler *et al*., 2020). هدف از انجام این مطالعه بررسی عملکرد حذف نیترات و فسفات با پرورش ریزجلبک *T. tetrathele* در پساب کارخانه مواد غذایی و مقایسه میزان رشد و تولید رنگدانه‌های کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئیدها و بررسی زی‌توده حاصل از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی است.

مواد و روش‌ها

تهیه استوک ریزجلبک: استوک خالص ریزجلبک *T. tetrathele* از مرکز مطالعات دانشگاه خلیج‌فارس بوشهر تهیه و در آزمایشگاه کشت و نگهداری جلبک‌های میکروسکوپی دانشکده منابع طبیعی در دانشگاه صنعتی اصفهان مورد استفاده قرار گرفت. جهت اطمینان از خالص‌بودن استوک، مشاهده آن با میکروسکوپ اینورت مدل CETA ساخت بلژیک انجام شد و کلیدهای شناسایی جنس و گونه (همچون بررسی برخی خصوصیات ریخت‌شناسی از جمله وجود یا عدم‌وجود دیواره سلولی، شکل و اندازه سلول‌ها، و نیز وجود یا عدم‌وجود تاژک و تعداد و نوع آن و همچنین وجود و یا عدم‌وجود لکه چشمی (Eye spot) برای اطمینان مورد استفاده قرار گرفت.

خصوصیات پساب مورد استفاده برای پرورش ریزجلبک: پساب موردنظر از کارخانه مواد غذایی نامی‌نو (واقع در شهر کمشچه استان اصفهان) تهیه شد. پساب جمع-

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

آوری‌شده در آزمایشگاه توسط کاغذ صافی واتمن با اندازه مش ۴۲ میلی‌متر در دو نوبت فیلتر گردید تا ذرات بزرگ و مواد جامد نامحلول آن جدا گردند و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد (Martinez *et al.*, 2000). pH پساب خام اولیه مورد استفاده ۶/۵ اندازه‌گیری شد که با افزودن ۵ و ۱۰ درصد به آب دریا به ۷/۵ تا ۸/۵ تنظیم گردید. میزان نیترات و فسفات، BOD و COD پساب در غلظت ۵ و ۱۰ درصد قبل از شروع و در انتهای آزمایش طبق روش استاندارد (Baldev *et al.*, 2021) سنجش گردید. میزان COD با استفاده از دی کرومات پتاسیم و سولفات نقره و راکتور COD با قرائت مقدار جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر تعیین شد. مقدار BOD پنج روزه با اندازه‌گیری مقدار اکسیژن محلول در ابتدا و انتها برآورد شد. اندازه‌گیری فسفات با استفاده از اسید سولفوریک و پتاسیم آنتی‌مونی تارتارات و آمونیوم مولیبدات و آسکوربیک اسید و قرائت نمونه‌ها در طول‌موج ۸۸۰ نانومتر تعیین شد. اندازه‌گیری نیتروژن کل نیز براساس روش کلدال با استفاده از جیوه واسید سولفوریک غلیظ انجام شد.

پرورش ریزجلبک: پرورش ریزجلبک*T. tetrathele* در ارلن مایرهای یک لیتری با رعایت سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. سه تیمار در این آزمایش طراحی گردید. ریزجلبک‌ها در محیط‌کشت کانوی (تیمار ۱) شامل $NaNO_3$ (100.0 g)، disodium EDTA ($C_{10}H_{16}N_2O_8$) (45.0 g)، H_3BO_3 (33.6 g)، $NaH_2PO_4.4H_2O$ (20.0 g)، $FeCl_3.6H_2O$ (1.3 g)، $MnCl_2.4H_2O$ (0.36 g)، trace metal solution (1.0 ml) شامل: $ZnCl_2$ (2.1 g)، $CoCl_3.6H_2O$ (2.0 g)، $(NH4)_2\ 6MO_7O_2.4H_2O$ (0.9 g)، thiamine(0.2 g)، cynocobalamin B_{12} (0.01 g)، KNO_3 (20.0 g) همراه با آب دریا (تهیه‌شده از پژوهشکده خلیج‌فارس و دریای عمان) که با افزودن آب شیرین به شوری ۲۵ گرم در لیتر رسانده شد، پرورش داده شدند. محیط‌کشت تیمار ۲ شامل پنج درصد پساب و تیمار ۳ شامل ۱۰ درصد از پساب کارخانه مواد غذایی بود که رقیق‌سازی با استفاده از آب دریا با شوری ۲۵ گرم در لیتر انجام گرفت. تمامی تیمارها قبل از افزودن استوک ریزجلبک در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه در فشار ۱/۲ بار اتوکلاو (مدل A 121، شرکت ایران تولید، ساخت ایران) گردید. ریزجلبک‌ها تحت شرایط محیطی شامل: pH ۷/۵ تا ۸/۵، دمای ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد با دوره نوری ۲۴ ساعت نور و شدت نور ۳۵ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه در فاصله ۳۵ سانتی‌متری از منبع نوری لامپ‌های فلوروسنت و به‌مدت ۹ روز مورد پرورش قرار گرفتند. میزان نیتروژن و فسفر پساب به‌عنوان مهم‌ترین ملاک در تعیین درصد اضافه نمودن محیط‌کشت‌ها (۵ و ۱۰ درصد) در نظر گرفته شد.

تعیین میزان رشد ریزجلبک: شمارش تعداد سلول‌های ریزجلبک هر روز و با استفاده از لام هموسیتومتر و با روش پیشنهادشده Martinez و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. میزان رشد ویژه (SGR) با استفاده از رابطه $SGR=(\ln N_2-\ln N_1)/t$ محاسبه شد که در آن N_2 تعداد سلول‌های جلبک در انتهای آزمایش، N_1 تعداد سلول‌های جلبک در ابتدای آزمایش و t مدت زمان انجام آزمایش است. زمان دو برابرشدن جمعیت جلبک‌ها نیز با استفاده از رابطه $DT=Ln_2/SGR$ محاسبه شد (Omori and Ikeda, 1984).

تعیین مقدار کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئید کل: سنجش میزان کلروفیل *a*، *b* و کل کاروتنوئید در روز ۹ پرورش انجام شد. بر این اساس ۱۰ میلی‌لیتر از هر نمونه برداشته و سانتریفیوژ (۱۵ دقیقه با دور rpm ۴۵۰۰) شدند. پس از دور-ریختن مایع رویی ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۹۰ درصد به سلول‌ها اضافه گردید. ترکیب موردنظر به‌مدت ۱۰ دقیقه در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. درنهایت پس از مراحل عصاره-گیری با استفاده از سانتریفیوژ مایع رویی برداشته و با دستگاه اسپکتروفتومتر UV- (spectrophotometer (UV-2401PC)) عدد جذب در سه طول‌موج ۶۶۵ نانومتر برای کلروفیل *a*، ۶۵۲ نانومتر برای کلروفیل *b* و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئید کل خوانده گردیده و عددهای جذب بدست آمده در فرمول‌های زیر قرار داده شد (Xiong *et al.*, 2017).

$$\text{Chl } a \text{ (mg/L)} = 16.82\ A665 - 9.28\ A652 \quad (3)$$
$$\text{Chl } b \text{ (mg/L)} = 36.92\ A652 - 16.54\ A665 \quad (4)$$

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

$$Car\ (mg/L) = (1000\ A470 - 1.91\ Ca - 95.15\ Cb) / 225$$

ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیومس ریزجلبک *T. tetrathele*: جهت انجام عصاره‌گیری ۲۰۰ میلی‌گرم از بیومس *T. tetrathele* فریز درای شده توزین و با ۲ میلی‌لیتر از حلال متانول در داخل لوله فالکون اضافه گردید و به‌مدت دو ساعت روی شیکر صاف، محلول‌ها با یکدیگر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در ۴۵۰۰ دور به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی آنها برداشته شد. این عمل برای سه بار تکرار شد و درنهایت تمامی محلول‌های رویی بدست آمده با یکدیگر ترکیب و جمع‌آوری شدند (Manivannan *et al*., 2012). در این مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به دو روش به شرح زیر انجام شد.

روش اول: ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش DPPH: اساس این روش بر مبنای احیاء رادیکال آزاد DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) به‌وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها در غیاب سایر رادیکال‌های آزاد در محیط است که نتیجه این عمل باعث ایجاد رنگی در محیط می‌شود که شدت آن با دستگاه طیف‌سنجی قابل اندازه‌گیری است. در این روش درصد مهار رادیکال آزاد از طریق سنجش میزان تغییر رنگ DPPH از بنفش به زرد در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر خوانش و با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود.

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = (A_0\text{-}A_1/A_0) \times 100$$

A0 جذب کنترل (DPPH و اتانول) و A1 جذب نمونه است.

به‌منظور انجام این سنجش؛ در میکروپلیت‌های ۶۹ خانه، ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌های آماده‌شده در غلظت‌های مختلف (۲۰۰۰–۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با مقدار مناسبی از محلول DPPH (Sigma-Aldrich) ۰/۵ میلی‌مولار (DPPH محلول در اتانول خالص) ترکیب و به حجم ۲۰۰ میکرولیتر با اتانول رسانده شد سپس ترکیب موردنظر به‌مدت نیم ساعت در تاریکی و در دمای اتاق انکوبه گردید و درنهایت جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه لایزا ریدر (Gen5, Epoch, BioTek) در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. نتایج براساس درصد مهار رادیکال آزاد DPPH خواننده شد (Olasehinde *et al*., 2019).

روش دوم: ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش ABTS: در این بررسی قابلیت حذف رادیکال ABTS {22'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid} به‌عنوان رادیکال کاتیون پایدار پذیرنده کاتیون از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است. برای این منظور محلول کاتیونی ABTS از مخلوط پتاسیم پرسولفات ۲/۴۵ میلی‌مولار و معرف ABTS (Sigma-Aldrich) ۷ میلی‌مولار، تهیه و به‌مدت ۱۶–۱۲ ساعت در تاریکی قرار داده شد تا واکنش کامل و جذب پایدار شود. در مرحله بعد محلول ABTS به کمک PBS (pH= ۷/۴) رقیق شد تا درنهایت میزان جذب در طول‌موج ۷۳۴ نانومتر به ۰/۷ ± ۰/۰۵ برسد. سپس مخلوط ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف (۲۰۰۰–۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و ۱۹۰ میکرولیتر از محلول ABTS در میکروپلیت‌های ۹۶ خانه تهیه و پس از ۶ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول‌موج مورد نظر خوانده شد و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (Re *et al*., 1999).

$$\text{ABTS scavenging activity (\%)} = (A_0\text{-}A_1/A_0) \times 100$$

A_0 جذب کنترل (محلول ABTS) و A1 جذب نمونه است. آزمایش‌ها با رعایت سه تکرار انجام شد.

درصد حذف نیترات و فسفات: به‌منظور محاسبه درصد حذف نیترات و فسفات، پس از اتمام دوره پرورش، میزان نیترات و فسفات در پایان دوره آزمایش مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. درنهایت حذف مؤثر آنها براساس رابطه زیر بدست آمد (Daneshvar *et al*., 2019).

$$\text{راندمان حذف} = \frac{C_1 - C_f}{C_1} \times 100$$

C_1 غلظت اولیه و C_f غلظت نهایی نیترات و فسفات برحسب میلی‌گرم در لیتر است.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار (۱=کانوی، ۲–پساب ۵ درصد و ۳– پساب ۱۰درصد) و سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (One -Way ANOVA) در نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ انجام گرفت.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

جدول ۱- آنالیز واریانس یک طرفه مشخصه‌های اندازه‌گیری‌شده در شاخص‌های رشد و محتوی رنگ‌دانه زی‌توده طی دوره ۹ روزه پرورش جلبک *Tetraselmis tetrathele*

شاخص	منابع تنوع	درجه آزادی	میزان F	سطح معنی‌داری
تعداد سلول	تیمارها	۲	۶/۴۶۱	*
	خطاها	6		
	کل	۸		
نرخ رشد ویژه	تیمارها	۲	۱/۱۷۲	**
	خطاها	۶		
	کل	۸		
میزان زی توده	تیمارها	۲	۱/۳۷۲	**
	خطاها	۶		
	کل	۸		
کلروفیل *a*	تیمارها	۲	۶۵/۹۲۱	**
	خطاها	۶		
	کل	۸		
کلروفیل *b*	تیمارها	۲	۱۸/۳۵۳	*
	خطاها	۶		
	کل	۸		
کل کاروتنوئید	تیمارها	۲	۷۴/۱۳۶	**
	خطاها	۶		
	کل	۸		
زمان دو برابر شدن	تیمارها	۲	۰/۰۰۵	-
	خطاها	۶		
	کل	۸		

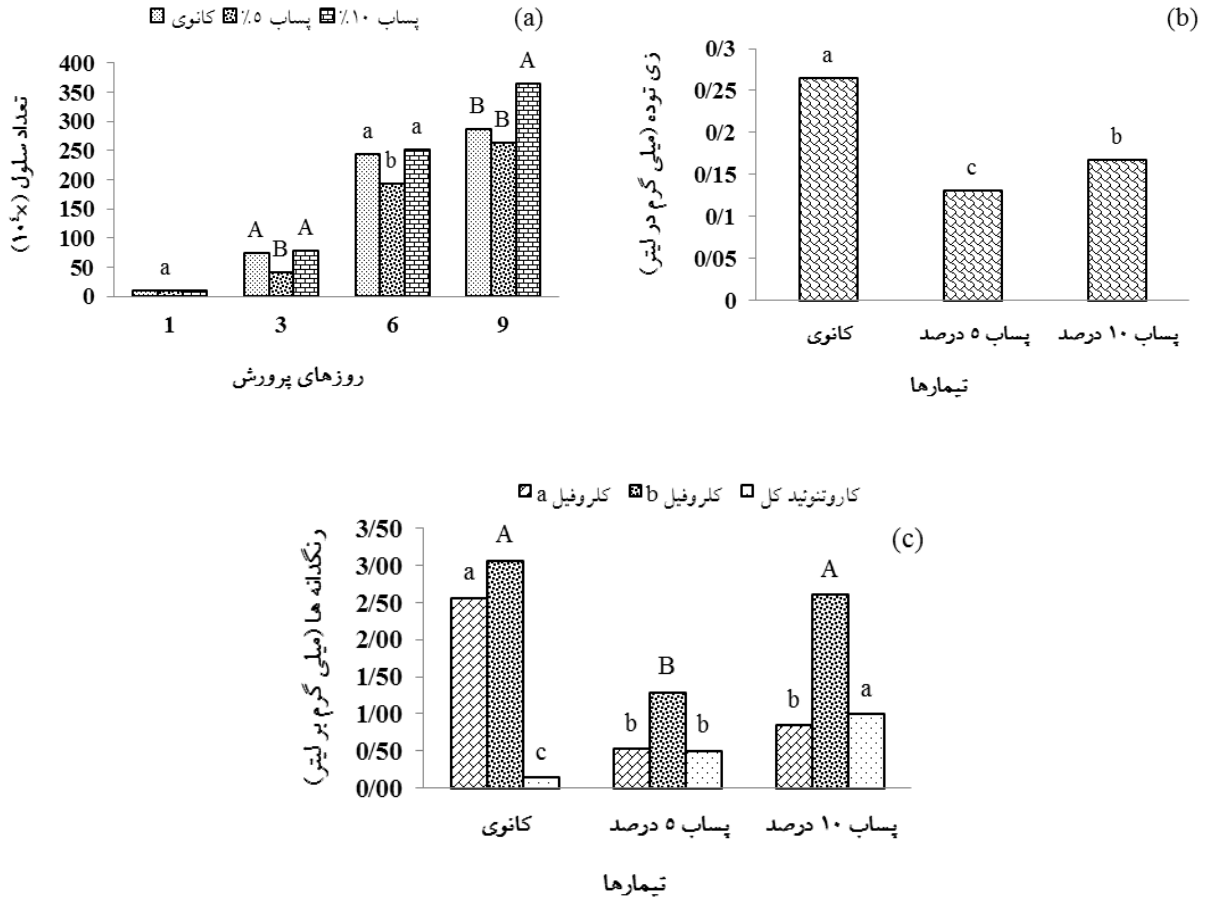
**** معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ ، * معنی‌داری در سطح ۰/۰۵**

برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد. مقایسه میزان اولیه و ثانویه نیترات، فسفات، BOD و COD براساس مقایسات در آزمون t بررسی گردید.

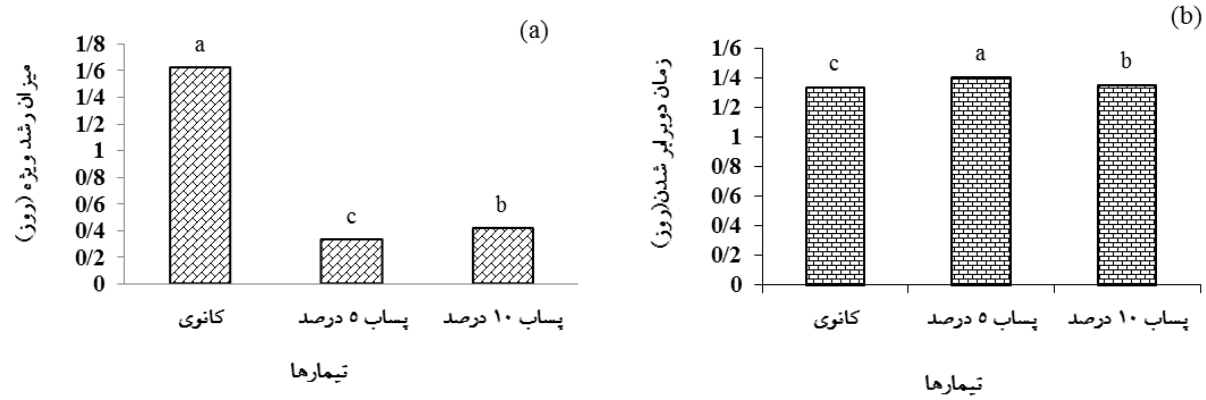
نتایج

میزان رشد و زی‌توده جلبک *T. tetrathele*: نتایج تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه، در طول آزمایش نشان داد که تیمارهای مختلف آزمایشی بر مشخصه‌های مختلف اندازه‌گیری شده تأثیر معنی‌داری دارد (جدول ۱، P<۰/۰۵). میانگین زیست‌توده، تعداد سلول، میزان کلروفیل *a*، میزان رشد ویژه و زمان دو برابرشدن کشت‌های *T. tetrathele* در تیمارهای مختلف پساب در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. بیشترین میانگین زی‌توده *T. tetrathele* در تیمار کانوی (۰/۲۷ گرم در لیتر) مشاهده شد. شمارش سلول‌ها نشان داد که بیشترین میانگین تعداد سلول جلبکی بدست آمده در تیمار با ۱۰ درصد پساب ($۳/۸\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر) است و تعداد سلول‌ها در تیمار کانوی و تیمار با ۵ درصد پساب در آخرین روز پرورش اختلاف معنی‌داری با هم (P>۰/۰۵) ندارند. بیشترین میزان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]



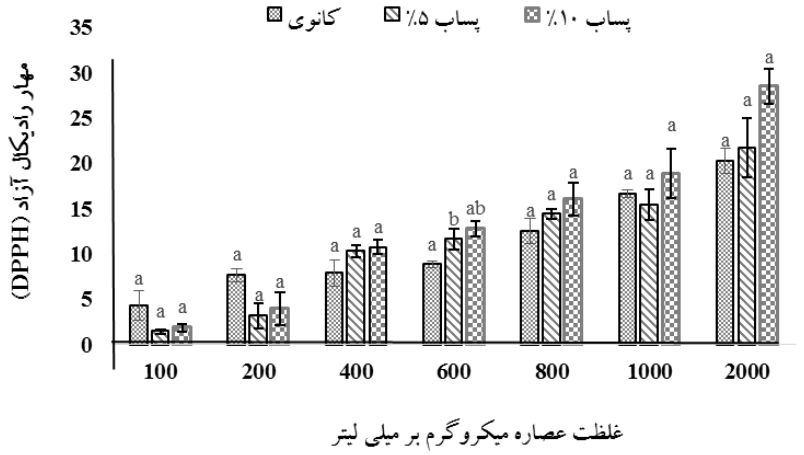
شکل ۱- مقایسه تأثیر تیمارهای مختلف پساب و محیط‌کشت کانوی بر میانگین شاخص‌های زیستی (تعداد سلول (a)، زی‌توده (b) و رنگدانه‌ها (c)) جلبک *Tetraselmis tetrathele*. ستون دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.



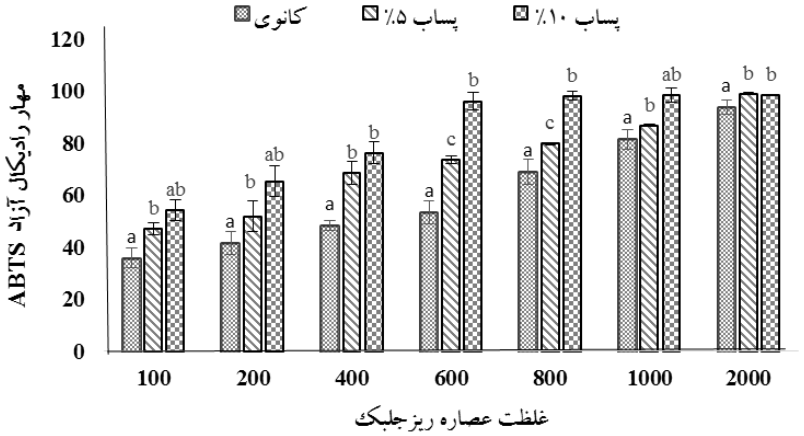
شکل ۲- مقایسه تأثیر تیمارهای مختلف پساب و محیط‌کشت کانوی بر میانگین شاخص‌های رشد (نرخ رشد ویژه (a) و زمان دو برابرشدن (b)) جلبک *Tetraselmis tetrathele*در انتهای دوره آزمایش (روز ۹). ستون دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]



شکل ۳- مقایسه داده‌های (میانگین ± خطای استاندارد) عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی به روش DPPH در سه تیمار کانوی، پساب ۵ درصد و پساب ۱۰درصد. ستون دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.



شکل ۴- مقایسه داده‌های (میانگین ± خطای استاندارد) عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی به روش ABTS در سه تیمار کانوی، پساب ۵ درصد و پساب ۱۰ درصد، ستون دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

رشد ویژه، زی‌توده و کمترین زمان دو برابرشدن جمعیت *T. tetrathele* در طول دوره نیز در تیمار کانوی (به‌ترتیب ۱/۶ در روز، ۱/۳۴ روز) مشاهده شد (شکل ۲).

رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئیدها: میزان کلروفیل *a* و *b* بدست آمده بین تیمارهای پساب و تیمار کانوی تفاوت معنی‌داری را نشان داد، به‌طوری‌که بیشترین میزان آن در تیمار کانوی (۲/۵۷ میلی‌گرم در لیتر) دیده شد. اما میزان رنگدانه‌های کاروتنوئید افزایش معنی‌داری را در محیط‌کشت پساب (۱۰٪) نشان داد.

عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره ریزجلبک: براساس شکل ۳ و ۴ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زی‌توده ریز جلبک *T. tetrathele* به‌ترتیب در هر دو سنجش DPPH و ABTS وابسته به غلظت عصاره بود (جدول ۲ و ۳). نتایج سنجشDPPH حاکی از آن بود که عملکرد آنتی‌اکسیدانی در هر سه تیمار و در تمامی غلظت‌های عصاره (بجز ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مشابه بود و با افزایش غلظت عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره نیز افزایش یافت. زی‌توده حاصل از تیمار پساب ۱۰ درصد در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

جدول ۲- آنالیز واریانس یک طرفه مشخصه‌های اندازه‌گیری شده در شاخص آنتی‌اکسیدانی DPPH زی‌توده بدست آمده طی دوره ۹ روزه پرورش جلبک *Tetraselmis tetrathele*

شاخصDPPH	منابع تنوع	درجه آزادی	میزان F	سطح معنی داری
غلظت ۱۰۰	تیمارها	۲	۲/۴۹	-
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۲۰۰	تیمارها	۲	۲/۹۹	-
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۴۰۰	تیمارها	۲	۲/۱	-
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۶۰۰	تیمارها	۲	۴/۶	-
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۸۰۰	تیمارها	۲	۱/۷	-
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۱۰۰۰	تیمارها	۲	۰/۸۷۷	-
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۲۰۰۰	تیمارها	۲	۷/۳	*
	خطاها	۶		
	کل	۸		

معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ **، معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ *

عصاره با ۳/۲ ± ۲۸/۴۸ درصد مهار رادیکال آزاد DPPH دارای بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بود ($P <$ ۰/۰۵) و دو تیمار کانوی و پساب ۵ درصد اختلاف معنی‌داری در عملکرد آنتی‌اکسیدانی آنها در هیچ یک از غلظت‌های عصاره مشاهده نشد ($P >$ ۰/۰۵) (شکل ۳).

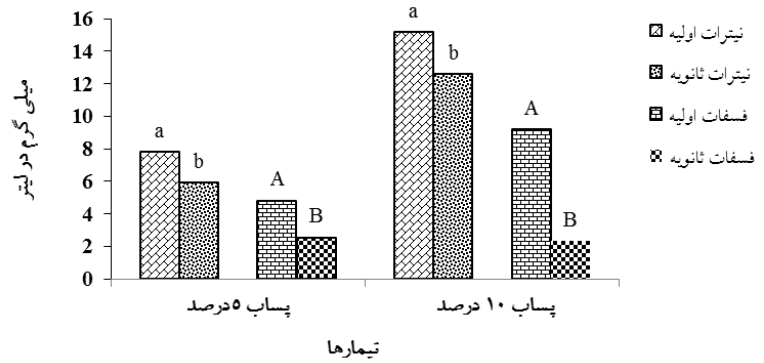
نتایج سنجش ABTS نشان داد که عملکرد آنتی‌اکسیدانی زی‌توده حاصل از تیمار ۱۰ درصد و ۵ درصد در تمامی غلظت‌های عصاره (بجز ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بالاتر از بیومس حاصل از تیمار کانوی بود. و در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هر سه تیمار با بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (بیش از ۹۰ درصد مهار رادیکال آزاد ABTS) اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P >$ ۰/۰۵) (شکل ۴). نتایج عملکرد آنتی‌اکسیدانی زی‌توده بدست آمده با استفاده از سنجش ABTS حاکی از آن است که عصاره زی‌توده حاصل از هر سه تیمار عملکرد آنتی‌اکسیدانی مناسبی را در غلظت‌های پایین نیز از خود نشان می‌دهند به گونه‌ای که در غلظت ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان مهار رادیکال آزاد ABTS در تیمار کانوی، پساب ۵ درصد و پساب ۱۰ درصد به‌ترتیب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

جدول ۳- آنالیز واریانس یک طرفه مشخصه‌های اندازه‌گیری شده در شاخص آنتی‌اکسیدانی ABTS زی‌توده بدست آمده طی دوره ۹ روزه پرورش جلبک *Tetraselmis tetrathele*

شاخص ABTS	منابع تنوع	درجه آزادی	میزان F	سطح معنی داری
غلظت ۱۰۰	تیمارها	۲	۷/۲	*
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۲۰۰	تیمارها	۲	۴/۸	*
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۴۰۰	تیمارها	۲	۱۵	**
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۶۰۰	تیمارها	۲	۴۳/۴	**
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۸۰۰	تیمارها	۲	۲۳/۶	**
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۱۰۰۰	تیمارها	۲	۱۰/۲	-
	خطاها	۶		
	کل	۸		
غلظت ۲۰۰۰	تیمارها	۲	۳/۵	*
	خطاها	۶		
	کل	۸		

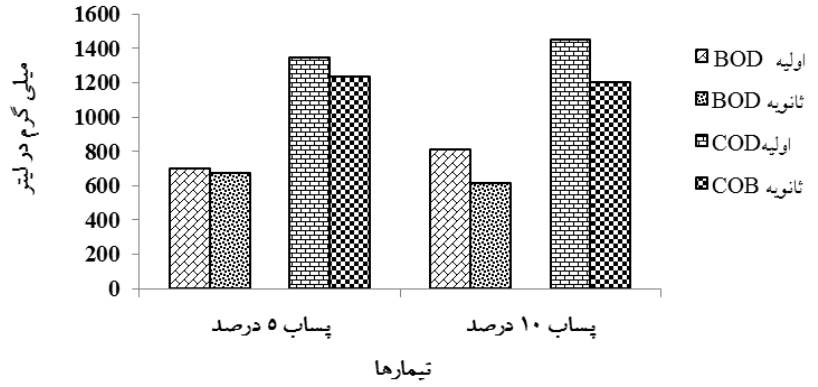
**** معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ ، * معنی‌داری در سطح ۰/۰۵**



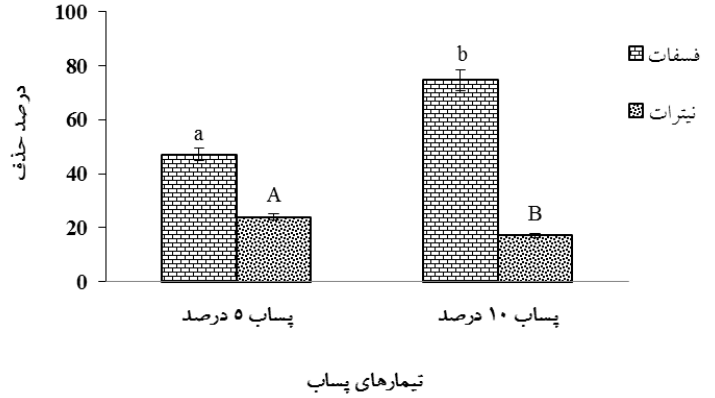
شکل ۵- مقایسه مقادیر اولیه (قبل از شروع دوره) و ثانویه (در انتهای دوره پرورش) نیترات و فسفات در تیمارهای حاوی پساب مواد غذایی. مقایسات مقادیر اولیه و ثانویه براساس آزمون t در سطح ۵ درصد انجام شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]



شکل ۶- مقایسه مقادیر اولیه (قبل از شروع دوره) و ثانویه (در انتهای دوره پرورش) BOD و COD برحسب میلی‌گرم در لیتر در تیمارهای حاوی پساب مواد غذایی



شکل ۷- درصد حذف نیتروژن و فسفات طی دوره کوتاه مدت ۹ روز پرورش جلبک *Tetraselmis tetrathele* در دو رقت پساب مواد غذایی. ستون دارای یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون t فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

۴/۳ ±۵۳/۳ درصد، ۱/۴ ± ۹۶/۲ درصد و ۳/۲ ± ۷۹/۸ درصد بود.

نیترات، فسفات، BOD و COD: براساس شکل ۷ در انتهای دوره بیشترین میزان درصد حذف فسفات در تیمار۳ (پساب ۱۰درصد) به میزان ۷۴/۷۰ درصد و بیشترین درصد حذف نیترات در تیمار۲ (پساب ۵ درصد) به میزان ۲۴ درصد دیده شد. مقادیر BOD و COD نیز در پایان دوره پرورش کاهش یافتند به‌طوری‌که میزان BOD در پایان کشت برای تیمار ۲ به میزان ۶۷۳ و برای تیمار ۳ به میزان ۶۱۲ میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. میزان COD نیز به‌ترتیب برای تیمار ۲ و ۳ به میزان ۱۲۳۶ و ۱۲۰۲ میلی‌گرم در لیتر برآورد شد. به‌طورکلی با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان بیان کرد که جلبک *T. tetrathele* بر روی تیمارهای پساب نیز به‌خوبی رشد کرده و میزان نیترات، فسفات، BOD و COD پساب را کاهش می‌دهد (شکل‌های ۵ و ۶).

بحث

رشد چشم‌گیر جلبک‌ها در آب‌های غنی از مواد غذایی یک پدیده عمومی است که نقش مهمی در حذف انواع مواد معدنی و مواد حاصل از فعالیت‌های متابولیکی موجودات زنده دارد (Geetha *et al.*, 1994). مواد بازچرخش‌شده به زی‌توده جلبکی تبدیل می‌شود که به همراه میزان فعالیت‌های بیولوژیکی و اثر آن بر کیفیت آب بطور معمول مورد ارزیابی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

قرار می‌گیرد. از طرف دیگر پرورش ریزجلبک‌ها در پساب و جمع‌آوری زیست‌توده آنها می‌تواند به‌عنوان یک محصول جانبی تصفیه پساب باشد که یک روش مقرون به صرفه جهت تولید زی‌توده جلبک است (Daneshvar *et al*., 2019). مقایسه ساده غلظت‌های ابتدایی و نهایی مواد مغذی می‌تواند منجر به ارزیابی جلبک‌ها به‌عنوان بازیافت‌کنندگان مواد مغذی شود (Voltolina *et al*., 2004). سیستم تصفیه پساب توسط جلبک به این صورت است که پساب غنی از نیتروژن و فسفر به همراه دی‌اکسید کربن و انرژی خورشید، شرایط مناسب برای رشد و تکثیر جلبک‌ها را فراهم می‌کند که سرانجام منتج به تولید زی‌توده مفید جلبکی و کاهش نیترات و فسفات پساب خواهد شد. بنابراین به‌کارگیری ریزجلبک‌ها در تصفیه پساب می‌تواند باعث کاهش و یا جایگزینی استفاده از مواد شیمیایی شود (Razzak *et al*., 2017).

رشد و تولید زی‌توده: یافته‌های این تحقیق نشان داد که جلبک *T. tetrathele* در تیمارهای پساب حاوی مواد مغذی نیتروژن دار و فسفر دار به‌خوبی رشد کرده و با توجه به میزان بقاء بالا و رشد مناسب، این گونه در طول دوره طولانی‌تر و غلظت‌های بالاتر پساب، قابلیت خوبی برای تصفیه زیستی پساب دارد. در مطالعه Ji و همکاران (۲۰۱۵) نیز مشخص شده است که استفاده از پساب مواد غذایی به‌منظور کشت ریزجلبک *Senedesmus obliquus* می‌تواند در افزایش رشد، تولید چربی و حذف مواد آلی از پساب مؤثر واقع گردد به گونه‌ای که وقتی *S. obliquus* تحت شرایط میگزوتروف با نسبت‌های مختلف (۲–۰/۵ درصد) از پساب شهری با پساب مواد غذایی ترکیب شده و از گاز CO_2 به میزان ۱۰–۱۴ درصد در این کشت استفاده می‌شود، می‌تواند بیش‌ترین رشد (۰/۴۴ –۰/۴۲ گرم در لیتر)، حذف مواد مغذی (۲۱–۲۲ میلی‌گرم نیتروژن کل در لیتر) و تولید چربی (۱۰–۱۱ میلی‌گرم در لیتر در روز) را پس از گذشت شش روز از دوره پرورش داشته باشد. بنابراین در این بررسی محققان بیان کردند که کشت ریزجلبک‌ها در پساب مواد غذایی تحت شرایط میگزوتروف می‌تواند به‌عنوان یک روش مناسب و مقرون به صرفه جهت تولید زی‌توده‌ای با تراکم زیاد از ریزجلبک‌ها بکار گرفته شود. همچنین در مطالعه Ubeda و همکاران (۲۰۱۷)، ریزجلبک *Coelastrum pseudomicroporum* روی پساب شهری کشت داده شد و مشخص گردید که فاضلاب شهری دارای مواد مغذی کارآمدی است و این گونه رشد بسیار خوبی را پیدا می‌کند و به حداکثر تراکم سلولی ($۳/۶۵\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر) می‌رسد. در مطالعه حاضر بیشترین زی‌توده و میزان رشد ویژه در تیمار کانوی مشاهد شد. Daneshvar و همکاران (۲۰۱۹) در یک مطالعه مشابه به بررسی دو دوره پرورش میگزوتروف و یک دوره پرورش هتروتروف گونه *Scenedesmus quadricauda* آب شیرین و گونه *Tetraselmis suecica* آب شور در پساب کارخانه‌های فراورده‌های لبنی پرداختند. نتایج آنها نشان داد که پس از دوره اول در کشت میگزوتروف (۱۲ روز) وزن خشک *S. quadricauda*، ۰/۴۳ گرم در لیتر و در گونه *T. suecica* ۰/۵۸گرم در لیتر، و پس از دوره دوم (۲۴ روز) وزن خشک به‌ترتیب به ۰/۳۶ گرم در لیتر و ۰/۶۵ گرم در لیتر رسید. براساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان گفت با اینکه بین تیمارهای کانوی و پساب از نظر فاکتورهای رشد اختلاف معنی داری وجود دارد ($P<0.05$) اما میزان رشد در پساب با غلظت ۱۰ درصد درصد نیز قابل‌توجه و تا حد زیادی به تیمار کانوی نزدیک است و به احتمال زیاد در غلظت‌های بالاتر پساب و دوره طولانی‌تر کشت، این اختلاف معنی‌دار بین تیمار کانوی و تیمارهای پساب تا حد زیادی جبران خواهد شد و از طرفی حذف ترکیبات آلی نیز می‌تواند قابل‌توجه‌تر باشد. به‌طورکلی جلبک *T. tetrathele* در تیمارهایی که غلظت مواد مغذی در آنها بیشتر باشد توانایی رشد بیشتری دارد و میزان زی‌توده با ارزشی را تولید کرده و در جذب مواد مغذی موجود در پساب با موفقیت عمل می‌کند. سایر مطالعات نیز کارایی بسیار مناسب جلبک‌ها در جذب مواد مغذی و رشد زیاد در پساب را به‌خوبی نشان می‌دهند.

رنگدانه‌ها: نتایج این بررسی هم‌چنین نشان داد که میزان تولید رنگدانه‌های کلروفیل *b* و کاروتنوئید کل در محیط‌کشت حاوی ۱۰ درصد پساب نه تنها مشابه گروه کانوی نیست بلکه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

افزایش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار ۱ (محیط‌کشت کانوی) و تیمار ۲ (پساب ۵ درصد) ایجاد می‌کند. Francisci و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند زمانی که ریزجلبک *Chlorella sorokiniana* در ترکیبی از پساب صنعتی و شهری در فتوبایوراکتورهای صفحه‌ای پرورش می‌یابد، میانگین رنگدانه‌های بدست آمده مانند لوتئین، کلروفیل‌ها و بتاکاروتن به‌ترتیب ۱/۳ میلی‌گرم، ۱۱/۸۲ میلی‌گرم و ۰/۴۴ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک زی‌توده بدست آمده است. در مطالعه Areshiro و همکاران (۲۰۲۰) مشخص شده است که پساب کارخانه مواد غذایی می‌تواند به‌عنوان محیط‌کشت مناسب نه تنها برای رشد زی‌توده و تصفیه آب، بلکه برای کاهش هزینه‌های معمولی جهت تولید ترکیبات ارزشمند از ریزجلبک‌ها، مانند رنگدانه‌ها، به‌کار رود. آنها بیان کردند که سه گونه *Arthrospira platensis* و *Porphyridium purpureum* و *Nostoc* sp. به‌ترتیب در محیط‌کشت با غلظت ۵۰ و ۷۵ و ۵۰ درصد از پساب می‌توانند برای به حداکثر رساندن تولید رنگدانه‌ها کشت یابند. همچنین میزان تولید زی‌توده در محیط‌کشت پساب و محیط‌کشت تجاری نیز قابل‌مقایسه بوده است. در این مطالعه محققان بیان کردند که میزان تولید رنگدانه‌ها در *P. purpureum* در محیط‌کشت پساب ۷۵ درصد، ۳۱ درصد بیشتر از محیط‌کشت پساب با غلظت ۵۰ درصد است اما مقایسه دو غلظت ۵۰ درصد و ۷۵ درصد از پساب برای کشت *A. platensis* مشخص کرد که بیومس تولیدی در پساب ۷۵ درصد، ۹ درصد بیشتر از پساب ۵۰ درصد است اما راندمان تولید رنگدانه‌ها در زی‌توده تولیدی از هر دو غلظت پساب با یکدیگر تفاوتی ندارد. بنابراین غلظت ۵۰ درصد از پساب به‌عنوان غلظت مناسب برای محیط‌کشت انتخاب شد.

نتایج این مطالعه نشان داد که بکارگیری غلظت‌های مختلف پساب برای استفاده از مواد مغذی جهت تولید زی‌توده و تولید رنگدانه براساس نوع گونه می‌تواند متفاوت باشد و زیادبودن مواد مغذی و افزایش مصرف آنها در کنار آنکه می‌تواند دلیلی بر افزایش رشد و تولید زی‌توده باشد اما گاهی نیز می‌تواند بر افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه تأثیرگذار باشد. ارزیابی حذف مواد مغذی نشان از استفاده سلول از مواد مغذی برای رشد و فتوسنتز است اما با توجه به آنکه میزان ترکیبات مغذی پساب‌ها بسته به منبع استحصال آن متفاوت است، ثابت نبودن میزان مواد مغذی (از جمله فسفر و نیتروژن) در مقایسه با محیط‌کشت تجاری (conway) می‌تواند به‌عنوان استرس ماده مغذی محیط‌کشت عمل کند و ممکن است که باعث تغییر متابولیسم سلول و افزایش سطح رنگدانه‌ها شود. در مطالعه حاضر نیز مشخص شد که میزان تولید کاروتنوئید کل در پساب ۱۰ درصد افزایش معنی‌داری ($P\leq0.05$) را در مقایسه با دوتیمار دیگر دارد که این می‌تواند به‌علت تفاوت غلظت ترکیبات موجود در محیط‌کشت و به‌دنبال آن تغییر در متابولیسم سلول باشد.

خواص آنتی‌اکسیدانی: DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) و ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) به‌ترتیب به‌عنوان رادیکال نیتروژنی یا کاتیونی پایدار پذیرنده هیدروژن یا کاتیون از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند. از این‌رو دو سنجش DPPH و ABTS جهت ارزیابی میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی یک محصول استفاده می‌شود و ظرفیت یک محصول را در غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS نشان می‌دهد (Monteiro *et al*., 2019). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های بیومس ریزجلبک *T. tetrathele* با استفاده از سنجش DPPH در تمامی غلظت‌های عصاره (بجز غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) هر سه تیمار با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند ($P >$ ۰/۰۵). بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره مشاهده شد و زی‌توده رشد یافته در محیط کشت حاوی ۱۰درصد پساب (تیمار پساب ۱۰درصد) بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را در مقایسه با دو تیمار دیگر نشان داد ($P <$ ۰/۰۵). بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره ریزجلبک با استفاده از سنجش ABTS قابل‌توجه بود و نتایج نشان داد که بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی متعلق به زی‌توده رشدیافته در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

پساب ۱۰ درصد، سپس در تیمار پساب ۵ درصد و تیمار کانوی بود.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر زی‌توده رشدیافته در پساب ۱۰ درصد در غلظت‌های پایین عصاره زی‌توده بدست آمده حاکی از ظرفیت بالاتر این تیمار در مهار رادیکال‌های ABTS است. همانطور که در نتایج گزارش شد بیشترین میزان کاروتنوئید کل در زی‌توده رشدیافته در محیط‌کشت حاوی ۱۰ درصد پساب (تیمار پساب ۱۰ درصد) و سپس در زی‌توده رشدیافته در محیط‌کشت حاوی ۵ درصد پساب (تیمار پساب ۵ درصد) بدست آمد. کاروتنوئیدها به واسطه داشتن کونژوگه قادر به جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از اثر مخرب آنها هستند، به همین دلیل نه تنها به‌عنوان یک ماده رنگی بلکه به‌صورت یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی در صنایع مختلف از آن یاد می‌شود. از این‌رو فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر به‌ترتیب در تیمار پساب ۱۰ درصد و سپس در تیمار پساب ۵ درصد ممکن است به‌علت محتوی کاروتنوئید بیشتر آنها در مقایسه با تیمار کانوی باشد. در موجودات فتوسنتزکننده مانند ریزجلبک‌ها، کاروتنوئیدها دو نقش کلیدی و مهم را بر عهده دارند. اولین نقش آنها به‌عنوان رنگ‌دانه‌های فرعی برداشت نور است که با بدام انداختن انرژی نوری و انتقال آن به کلروفیل عمل می‌کنند. دومین نقش آنها که به‌عنوان مهم‌ترین عملکردشان شناخته می‌شود، خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها می‌باشد که از صدمات اکسیداتیو دستگاه فتوسنتزی به واسطه نور حفاظت می‌کنند (Young, 1991). ثابت شده است که کاروتنوئیدها گونه‌های اکسیژن فعال و رادیکال‌های هیدروکسیل را مهار می‌کنند (Lawlor and O'Brien, 1995). با توجه به اهمیت استفاده از ریزجلبک‌ها به‌عنوان منابع آنتی‌اکسیدان طبیعی، مطالعات مختلفی به بررسی میزان ترکیبات مؤثر در فعالیت آنتی‌اکسیدانی همچون کاروتنوئید پرداخته شده است. Foo و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی رابطه بین زیست‌فعال‌هایی چون کاروتنوئیدها و فنولیک اسیدها با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از طریق شاخص (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) TEAC (ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولوکس) و (Ferric FRAP (ion Reducing Antioxidant Power در جلبک‌های تولیدکننده فکوزانتین پرداختند. طبق این بررسی دو ریزجلبک *Chaetoceros calcitrans* و *Isochrysis galbana* بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی، *Odontella sinensis* و *Skeletonema costatum* دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی متوسط و *Phaeodactylum tricornutum* و *Saccharina japonica* کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند. رابطه همبستگی و رگرسیون خطی چندگانه نیز نشان داد که ترکیبات فنولیک و کاروتنوئیدهای جلبک‌های مورد مطالعه دارای رابطه معنی‌داری با شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی هستند.

Goiris و همکاران (۲۰۱۲) و همچنین Safafar و همکاران (۲۰۱۵) نیز نقش کلیدی کاروتنوئیدها را در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های ریزجلبک تأیید کردند. Choochote و همکاران (۲۰۱۴) ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی و آبی سه گونه ریزجلبک سبز *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp. E53 و *Chlorella* sp. ED53 را با استفاده از اندازه‌گیری سه شاخص ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH)، توانایی کلاته‌کنندگی یون آهن و مهار پراکسیداسیون چربی مورد بررسی قرار دادند. این نتایج نشان داد که عصاره اتانولی هر سه گونه ریزجلبک فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را در مقایسه عصاره آبی دارند که می‌تواند به‌علت حضور بیشتر مواد آنتی‌اکسیدانی همچون کاروتنوئیدها، کلروفیل *a* و کلروفیل *b* در این عصاره باشد.

Cha و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کرده‌اند که در عصاره اتانولی *C. vulgaris* یک رابطه مثبت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حضور کاروتنوئیدهای ارزشمندی چون لوتئین و رنگ‌دانه‌های کلروفیل *a* و *b* و فئوفایتین وجود دارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار با بیشترین کاروتنوئید کل وجود دارد و از این‌رو مطابقت این نتایج را با نتایج سایر مطالعات، تأیید می‌کند. همانطور که گزارش شد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ریزجلبک *T. tetrathele* با استفاده از سنجش DPPH و ABTS وابسته به غلظت عصاره بود. در سنجش DPPH حداکثر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بیشترین غلظت عصاره (۲۰۰۰ میکروگرم بر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

میلی‌لیتر) متعلق به بیومس حاصل از تیمار پساب ۱۰ درصد، با ۳ ± ۲۸/۴۸ درصد مهار رادیکال آزاد و در سنجش ABTS در غلظت ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی بیومس حاصل از پساب ۱۰ درصد با ۹۶/۲۱ درصد مهار رادیکال آزاد ABTS بود که با دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری داشتند. براساس نتایج سایر مطالعات فعالیت آنتی‌اکسیدانی در هر گونه از ریزجلبک‌ها می‌تواند متفاوت باشد. Banskota (۲۰۱۸) گزارش کرد عصاره‌های متانولی ریزجلبک *T.chui* با ۴۵ درصد مهار رادیکال آزاد DPPH دارای بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با سایر ریزجلبک‌های سبز مورد مطالعه است. Trentin و همکاران (۲۰۲۲) نیز نشان دادند فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی در دو غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با استفاده از سنجش DPPH، به‌ترتیب ۱۷/۲۹ درصد و ۲۴/۹۴ درصد بود با این وجود فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد ABTS در هیچ یک از غلظت‌های عصاره متانولی مشاهده نشد. در مطالعه Cardoso و همکاران (۲۰۱۹) نیز مشخص شد که در بین ریزجلبک‌های مورد مطالعه (*Tetraselmis* sp. IMP3، *Tetraselmis* sp. CTP4 و *Skeletonema* sp.) بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ریزجلبک *Skeletonema* sp. با بیش از ۸۰ درصد مهار رادیکال آزاد ABTS در عصاره‌های آبی و همچنین اتانولی مشخص شد. همچنین بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق سنجش ABTS برای جنس *Tetraselmis* متعلق به عصاره آبی *Tetraselmis* sp. CTP4 با ۴۷ درصد مهار رادیکال آزاد و عصاره اتانولی *Tetraselmis* sp. IMP3 با بیش از ۲۰ درصد مهار رادیکال آزاد گزارش شد. همچنین بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق سنجش DPPH در عصاره اتانولی *Tetraselmis* sp. IMP3 با بیش از ۸۰ درصد مهار رادیکال آزاد بدست آمد. این نتایج نشان می‌دهد که عملکرد آنتی‌اکسیدانی هر گونه ریزجلبک می‌تواند مختص به همان گونه باشد و در هر گونه متفاوت از دیگری است. درنهایت می‌توان نتیجه گرفت که عصاره‌های متانولی ریزجلبک *T. tetrathele* فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی را به‌ویژه در مهار رادیکال ABTS از خود نشان داد و بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی متعلق به تیماری بود که بیشترین محتوی کاروتنوئید کل (تیمار پساب ۱۰ درصد) را به خود اختصاص داده بود این نتیجه می‌تواند تأیید کننده نقش کاروتنوئیدها در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریزجلبک *T. tetrathele* باشد.

حذف نیترات و فسفات: در بررسی حاضر مشخص گردید که بالاترین کارایی جذب فسفات مربوط به تیمار ۳ یعنی غلظت ۱۰ درصد پساب با درصد حذف ۷۴/۷۰ درصد و بیشترین کارایی جذب نیترات نیز مربوط به تیمار ۲ یعنی غلظت ۵ درصد پساب با ۲۴ درصد حذف تنها در یک دوره ۹ روزه پرورش ایجاد می‌شود. در مطالعه‌ای مشابه پیربیگی و همکاران (۱۳۹۷) جداسازی مواد مغذی در پساب شهری با استفاده از جلبک *Chlorella vulgaris* مورد مطالعه قرار دادند. نتایج مطالعه آنها نیز نشان داد که تیمار با رقت ۵۰ درصد بیشترین کارایی را در حذف فسفات (۹۴/۴ درصد) و تیمار با رقت ۷۵ درصد بهترین کارایی را در حذف نیترات (۸۴ درصد) داشته است. در بررسی دیگر توسط Daneshvar و همکاران (۲۰۱۹) مشخص شد که گونه *S. quadricauda* توانایی حذف بار مواد آلی پساب مورد آزمایش را دارا است به گونه‌ای که پس از دو دوره پرورش،۹۲ درصداز نیتروژن کل، ۱۰۰ درصد از فسفات، ۱۰۰ درصد از سولفات و ۷۷/۷۶ درصد از کربن آلی حذف گردید. در مطالعه Chokshi و همکاران (۲۰۱۶) ریزجلبک *Acutodesmus dimorphus* در پساب خالص صنایع لبنی بدون هیچ‌گونه رقیق‌سازی، تحت شرایط بهینه این گونه همچون دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با شدت ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه کشت داده شد. نتایج نشان داد که پس از گذشت چهار روز از کشت، سطح COD تا بیش از ۹۰ درصد کاهش یافته با این وجود پس از ۶ روز از کشت، نیتروژن آمونیاکی کاملاً حذف شد. وزن زی‌توده خشک در روزهای ۴ و ۸ پرورش به‌ترتیب به ۸۴۰ میلی‌گرم در لیتر و ۷۹۰ میلی‌گرم در لیتر رسید که این میزان ۶-۵ برابر بیشتر از زمانی بود که این

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

ریزجلبک‌ها در محیط‌کشت تجاری BG-11 پرورش داده شده بودند.

نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استفاده از پساب کارخانه مواد غذایی به‌عنوان یک محیط‌کشت فاقد ارزش اقتصادی برای پرورش ریزجلبک *T. tetrathele* نه تنها می‌تواند در کاهش بار مواد آلی و تصفیه پساب کمک‌کننده باشد و باعث کاهش هزینه‌های مربوط به تصفیه فاضلاب شود بلکه در کنار ایجاد یک زی‌توده مناسب می‌تواند با القاء افزایش رنگدانه‌ها، تولید این متابولیت‌های ارزشمند را از لحاظ اقتصادی بیش از پیش توجیه کند و از طرف دیگر منجر به تولید زی‌توده‌ای با فعالیت بیولوژیکی ارزشمند همچون عملکرد آنتی‌اکسیدانی بالا شود که این یک ویژگی بالقوه برای گسترش صنایع دارویی، آرایشی و غذایی است. بنابراین پیشنهاد می‌شود که محققان با بررسی غلظت‌های مختلف پساب در کنار رسیدن به یک غلظت بهینه از پساب، به یک تولید مناسب از بیومس و رنگ‌دانه‌ها برسند و با شناسایی پروفیل رنگ‌دانه‌ها و ارزشمندی را در زمینه تولید اقتصادی و مقرون به صرفه رنگ‌دانه‌ها بدست آورند و از طرف دیگر بتوان به عملکرد هر یک از رنگ‌دانه‌ها در فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریزجلبک‌ها بیش از پیش پی برد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان و کارشناسان گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی برای فراهم‌نمودن شرایط و امکانات لازم برای این تحقیق تشکر می‌شود.

منابع

پیربیگی، ع.، حسینی، ع.، قربانی، ر.، رضایی، ح. و وینسه، ا. (۱۳۹۷) جداسازی مواد مغذی از پساب شهری از طریق کشت جلبک *Chlorella vulgaris* در سیستم متوالی. بوم‌شناسی آبزیان ۸: ۱۴۶-۱۳۶.

Areshiro, L. T., Boto-ordo, M., Hulle, S. W. H., Van Ferrer, I., Garfi, M. and Rousseau, D. P. L. (2020) Natural pigments from microalgae grown in industrial wastewater. Bioresource Technology 303.

Baldev, E., Mubarak, D., Pugazhendhi, A. and Thajuddin, N. (2021) Wastewater as an economical and ecofriendly green medium for microalgal biofuel production. Fuel 294.

Banskota, A. H. (2018) Antioxidant properties and lipid composition of selected microalgae. Journal of Applied Phycology 31: 309-318.

Borowitzka, M. A. (2013) High-value products from microalgae—their development and commercialisation. Journal of Applied Phycology 25: 743-756.

Cardoso, C., Pereira, H., Franca, J., Matos, J. and Monteiro, I. (2019) Lipid composition and some bioactivities of 3 newly isolated microalgae (*Tetraselmis* sp . IMP3, *Tetraselmis* sp . CTP4, and *Skeletonema* sp.). Aquaculture International 28: 711-727.

Cha, K. H., Kang, S. W., Kim, C. Y., Um, B. H., Na, Y. R. and Pan, C. H. (2010) Effect of pressurized liquids on extraction of antioxidants from *Chlorella vulgaris*. Jurnal of Agriculture Food Chemistery 58: 4756-4761.

Chokshi, K., Pancha, I., Ghosh, A. and Mishra, S. (2016) Microalgal biomass generation by phycoremediation of dairy industry wastewater: An integrated approach towards sustainable biofuel production. Bioresource Technology 221: 455-460.

Choochote, W., Suklampoo, L. and Ochaikul, D. (2014) Evaluation of antioxidant capacities of green microalgae. Journal of Applied Phycology 26: 43-48.

Daneshvar, E., Zarrinmehr, M. J., Koutra, E., Kornaros, M., Farhadian, O. and Bhatnagar, A. (2019) Sequential cultivation of microalgae in raw and recycled dairy wastewater: Microalgal growth, wastewater treatment and biochemical composition. Bioresource Technology 273: 556-564.

De Francisci, D., Su, Y., Lital, A. and Angelidaki, I. (2017) Evaluation of microalgae production coupled with wastewater treatment. Environmental Technology 39: 581-592.

Foo, S. C., Yusoff, F. M., Ismail, M., Basri, M., Yau, S. K., Khong, N. M. H., Chan, K. W. and Ebrahimi, M. (2017) Antioxidant capacities of fucoxanthin-producing algae as influenced by their carotenoid and phenolic contents. Journal of Biotechnology 241: 175-183.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

Geetha, P. K., Martinez, M. E. and Proulx, D. (1994) Rubber effluent treatment in a high-rate algal pond system. In: Proceeding of the 1st Asia-Pacific Conference on algal Biotechnology. (eds. Phang, S. M., Lee, Y. K., Borowitzka, M. and Whitton, B.) Pp. 306-312. University of Malaya, Kuala Lumpur.

Goiris, K., Muylaert, K., Fraeye, I., Foubert, I., De Brabanter, J. and De Cooman, L. (2012) Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. Journal of Applied Phycology 24: 1477-1486.

Jacob-Lopes, E. and Franco, T. T. (2013) From oil refinery to microalgal biorefinery. Journal of CO_2 Utilization 2: 1-7.

Helena, K., Haris, H., Abdu, R. N. and Mimi, Z. (2018) Growth, proximate composition and pigment production of *Tetraselmis chuii* cultured with aquaculture Wastewater. Journal of Ocean University of China17: 641-646.

Ji, M., Yun, H., Park, S., Lee, H., Park, Y., Bae, S., Ham, J. and Choi, J. (2014) Effect of food wastewater on biomass production by a green microalga *Scenedesmus obliquus* for bioenergy generation. Bioresource Technology 179: 624-628.

Ji, M. K., Yun, H. S., Park, Y. T., Kabra, A. N., Oh, I. H. and Choi, J. (2015) Mixotrophic cultivation of a microalga *Scenedesmus obliquus* in municipal wastewater supplemented with food wastewater and flue gas CO_2 for biomass production. Journal of Environmental Management 159: 115-120.

Lawlor, S. M. and O'Brien, N. M. (1995) Astaxanthin: antioxidant effects in chicken embryo fibroblasts. Nutrition Research 15: 1695-1704.

Manivannan, K., Anantharaman, P. and Balasubramanian, T. (2012) Evaluation of antioxidant properties of marine microalga *Chlorella marina* (Butcher, 1952). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2: S342-S346.

Martinez, M. E., Yang, J. and Correa, G. (2000) Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalgae *Scenedesmusobliqus*. Bioresoure Technology 73: 263-272.

Monteiro, M., Santos, R. A., Iglesias, P., Couto, A., Serra, C. R., Gouvinhas, I. and Barros, A. (2019) Effect of extraction method and solvent system on the phenolic content and antioxidant activity of selected macro- and microalgae extracts. Journal of Applied Phycology 32: 349-362.

Olasehinde, T. A., Odjadjare, E. C., Mabinya, L. V., Olaniran, A. O. and Okoh, A. I. (2019) *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella minutissima* exhibit antioxidant potentials, inhibit. Electron Electronic Journal of Biotechnology 40: 1-9.

Omori, M. and Ikeda, T. (1984) Methods in Marine Zooplankton Ecology. John Wiley, New York.

Razzak, S. A., Ali, S. A. M. and Hossain, M. M. (2017) Biological CO_2 fixation with production of microalgae in wastewater–a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 76: 379-390.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine 26: 1231-1237.

Safafar, H., Wagenen, J., Van, Moller, P. and Jacobsen, C. (2015) Carotenoids, phenolic compounds and tocopherols contribute to the antioxidative properties of some microalgae species grown on industrial wastewater. Marine Drugs 13: 7339–7356.

Schuler, L. M., Santos, T., Pereira, H., Duarte, P. and Gangadhar, K. N. (2020) Improved production of lutein and β -carotene by thermal and light intensity upshifts in the marine microalga *Tetraselmis* sp. CTP4 45. Algal Research 45: 101732.

Shin, D. Y., Cho, H. U., Utomo, J. C., Choi, Y. N., Xu, X. and Park, J. M. (2015) Biodiesel production from *Scenedesmus bijuga* grown in anaerobically digested food wastewater effluent. Bioresource Technology 184: 215-221.

Trentin, R., Custodio, L., Rodrigues, M., Moschin, E., Sciuto, K., Silva, P. and Moro, I. (2022) Total phenolic levels, in vitro antioxidant properties, and fatty IMA043 and naviculoid diatom strain IMA053, isolated from the North Adriatic Sea. Marine Drugs 20: 207.

Ubeda, B., Galvez, J. A., Michel, M. and Bartual, A. (2017) Microalgae cultivation in urban wastewater: *Coelastrum cf. pseudomicroporum* as a novel carotenoid source and a potential microalgae harvesting tool. Bioresource Technology 228: 210-217.

Voltolina, D., Gmez-Villa, H. and Correa, G. (2004) Biomass production and nutrient removal in semicontinuous cultures of *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) in artificial wastewater, under a simulated day-night cycle. Vie et Milieu/ Life and Environment 54: 21-25.

Xiong, J., Kurade, M. B., Kim, J. R., Roh, H. and Jeon, B. (2017) Ciprofloxacin toxicity and its co-metabolic removal by a freshwater microalga *Chlamydomonasmexicana*. Journal of Hazardous Materials 323: 212-219.

Young, A. J. (1991) The photoprotective role of carotenoids in higher plants. Physiologia Plantarum 83: 702-708.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]

Biomass production, antioxidant capacity and removal of nitrate and phosphate by marine microalgae *Tetraselmis tetrathele* cultivated in food wastewater

Elham Nezafatian, Omidvar Farhadian*, Fatemeh Rostami

Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
(Received: 14/11/2021, Accepted: 07/05/2022)

Abstract

This study was conducted to investigate the cultivation of *Tetraselmis tetrathele* in food effluent and the effect of different concentrations of effluent on specific growth rate, biomass, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total carotenoids and comparing them with Conway medium. Meanwhile, in this experiment, the percentage of phosphate and nitrate removal from food effluent by *T. tetrathele*was evaluated. For this purpose, *T. tetrathele* was cultured in two concentrations of 5% and 10% of the effluent of Namino food factory for 9 days. The experiment was performed with full light period and a temperature of 24±2 °C and a light intensity of 35 µmol.m^{-2}.s^{-1}. The highest biomass production (0.27 g/l), chlorophyll *a* (2.57 mg/l) and specific growth rate (1.62 days) were observed in Conway treatment. The highest amount of total carotenoids was obtained in the treatment with 10% effluent concentration. The antioxidant capacity of microalgae extract showed that in both DPPH and ABTS assays, antioxidant activity were dependent on the concentration of the extract and at a concentration of 2000 µg / ml in the treatment with 10% effluent concentration with 28.4% showed maximum percentage of free radical inhibition of DPPH. ABTS assay showed that at a concentration of 2000 µg / ml extracts of all three treatments had the highest antioxidant capacity (more than 90% of free radical scavenging ABTS) and there weren't significant differences between the three treatments ($p > 0.05$). However, at the lower concentrations of the extract, there was a significant difference between varius treatments, so that at a concentration of 600 µg/ml, the antioxidant capacity in Conway and 10% effluent and 5% effluent, were 53.3%, 73.3% and 96.2%, respectively. The results also showed that, *T. tetrathele* could grow well in these low effluents and remove 74% of phosphate (Treatment 3) and 24% nitrate (Treatment 2) in a short period of 9 days. Therefore, due to the fact that *T. tetrathele* can significantly remove nitrate and phosphate and produce algal biomass, this species can be well cultivated in food effluents. The results of this study showed that cultivation of *T. tetrathele* microalgae, in addition to removing contaminants in the effluent, it was possible to produce biomass with suitable growth and valuable composition with high antioxidant capacity, which can be promising. The production sector is a valuable and cost-effective product for use in various industries such as cosmetics and food industries.

Keywords: Food effluent, Nitrate and phosphate removal, Growth, Antioxidant capacity, *Tetraselmis tetthele*

Corresponding author, Email: omfarhad@iut.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.51.11.8]