مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

تنمية عزلة نقية من طحلب السبيرولينا *Arthrospira platensis (Spirullina)* مختبريا على أوساط زرعية منخفضة الكلفة

نوال خالد زبين الفضلي* و نوفل عبدالامير حسين الحلفي
قسم علوم الاغذية / كلية الزراعة / جامعة البصرة / العراق.
***Corresponding author: nawal.zben@gmail.com, nawal.zben@uobasrah.edu.iq**
استلام البحث : 14 / 11 / 2023 وقبول النشر : 09 / 12 / 2023 و نشر البحث : 30 / 12 / 2023

الخلاصة
هدفت الدراسة الى تنمية طحلب السبيرولينا مختبريا على أوساط زرعية قياسية وأوساط محلية منخفضة الكلفة في فترتين مدة الزراعة الأولى من (1/10 كانون الثاني ولغاية 2/10 شباط/2021) ومدة الزراعة الثانية من (3/31 أذار ولغاية أيار 2021/5/1) ولوحظ من النتائج المتحصل عليها وجود فروق معنوية بين الأوساط الزرعية في تركيز الكتلة الحيوية على أساس الكثافة الضوئية والوزن الجاف لطحلب السبيرولينا في الفترتين ماعدا الوزن الجاف للوسطين Media3 وSSD في مدة الزراعة الاولى ، و أن أعلى كمية للحاصل كانت للوسط Media3 منخفض الكلفة مقارنة بالاوساط المحلية الاخرى أذ حقق أنتاجية بلغت 0.85 غم/لتر و1.05 غم/لتر على التوالي في مدة الزراعة الأولى والثانية وبكلفة بلغت 149 دينار عراقي في حين بلغت أنتاجية الوسط القياسي Zarrouks Media 2.55 غم/لتر و2.70 غم/لتر على التوالي في مدة الزراعة الأولى والثانية وبكلفة 25 الف دينار عراقي ، وأظهرت نتائج دراسة المحتوى الكيميائي للطحالب أن أعلى نسبة للبروتين كانت في الوسط M2 أذ بلغ 58.33 % وهو مقارب للوسط Zarrouks Media أذ كان 58.8 %.
الكلمات المفتاحية: طحلب السبيرولينا ، التركيب الكيميائي، الوزن الجاف، الكثافة الضوئية، الأوساط منخفضة الكلفة.
**** جزء من أطروحة دكتوراه للباحث الأول**

Laboratory development of a pure isolate of the alga *(Spirullina) Arthrospira platensis* on low-cost culture media

Nawal K. Z. AlFadhly* and Nawfal Alhelf
Department of Food Sciences, College of Agriculture, University of Basra, Iraq.
***Corresponding author: nawal.zben@gmail.com, nawal.zben@uobasrah.edu.iq**
Received: 14 / 11 / 2023; Accepted: 09 / 12 / 2023; Published: 30 / 12 / 2023

Abstract
The objective of the study was to growing the spirulina algae in a laboratory environment On standard culture media and low-cost local media in tow period during the first growing period from January 10th to February 10th 2021, and during the second growing period from March 31st to May 1st 2021. The results obtained as following: there were significant differences among the growth media in biomass concentration based on the optical density and dry weight of Spirulina algae in both periods, except for the dry weight of media Media3 and SSD in the first growing period. The highest yield was obtained for the low-cost medium Media3, compared to the other local media, achieving a productivity of 0.85 g/L and 1.05 g/L in the first and second growing periods, respectively, at a cost of 149 Iraqi dinars. Meanwhile, the productivity of the standard medium Zarrouks medium was 2.55 g/L and 2.70 g/L in the first and second growing periods, respectively, at a cost of 25,000 Iraqi dinars. studying its chemical composition alge resultes showed that the highest protein content was in the M2 medium reaching to 58.33%, which is similar to the Zarrouks medium which was 58.8%.

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

Keywords: spirulina algae ; chemical composition ; dry weight ; optical density ; low cost media.
**** Part of the doctoral Dissertation of the first researcher**

المقدمة

طحلب السبيرولينا *Arthrospira platensis* نوع من الطحالب تعود الى شعبة الطحالب الخضراء المزرقة متعددة الخلايا على شكل خيوط حلزونية غير متفرعة وهي طحالب مجهرية من النباتات المائية العائمة (free-floating) قادرة على التمثيل الضوئي وتنمو السبيرولينا بشكل طبيعي في خزانات المياه القلوية عالية الملح في المناطق شبه الاستوائية والمدارية بما في ذلك هاواي والمكسيك وآسيا وأفريقيا الوسطى، وهي ذات تاريخ طويل من الاستهلاك البشري والمعروف أنها آمنة ومغذية ولم توثق مئات الدراسات العلمية المنشورة على مدار الثلاثين سنة الماضية أي سمية للسبيرولينا التي لها تاريخ طويل من الاستعمال كغذاء (Junga *et al.*, 2019) ، إذ أن السبيرولينا قادرة على إستهلاك (CO_2) بكفاءة 10–50 مرة أسرع من النباتات بسبب معدل النمو السريع وتحوله إلى كتلة حيوية أثناء التمثيل الضوئي وهذا يبين دورها في تحقيق التنمية الزراعية المستدامة Sustainable Development (Mogale,2016) ، وفي السنوات الأخيرة تطور إنتاج السبيرولينا كونه مصدر غني بالبروتين في الوقت الذي يزداد الطلب على البروتين الذي حفز شركات الأغذية على تنويع مصادره وتسويقها ومنها البروتينات الحيوانية والنباتية ووحيدة الخلية وبروتينات السبيرولينا وطورت العديد من المنتجات الغذائية الجديدة القائمة على طحلب السبيرولينا من اجل تحقيق الامن الغذائي والتغذية المستدامة ; Grahl *et al.*, 2018) (Mei and Zao, 1997 ; Anonymous,2018)

هناك العديد من العوامل المؤثرة على إنتاجية السبيرولينا وهي الاضاءة ودرجة الحرارة وحجم اللقاح وسرعة التحريك والمواد الصلبة الذائبة والدالة الحامضية ونوعية المياه والتواجد الكلي للمغذيات الدقيقة (C، N، P، K، S، Mg، Na، Cl، Ca، Fe، Zn، Cu، Ni، Co، Se) (Ahsan *et al.*,2008) ، يعد ارتفاع كلفة الاوساط الزرعية وتوفر المواد غير العضوية من أهم العوائق التي تحول دون أنتشار استزراع السبيرولينا لذلك اتجهت الأنظار الى استعمال أوساط عديدة منخفضة الكلفة كبديل للمغذيات في زراعة السبيرولينا ومنها النفايات الزراعية والصناعية مثل مخلفات مطاحن السكر ومزارع الدواجن ومصانع الأسمدة ورماد أوراق الموز، كما تعد النفايات السائلة مصدر للمغذيات منخفضة الكلفة وهي C:N:P بنسبة 24 :0.14: 1 التي تدعم نمو السبيرولينا ما يرفع نسبة البروتين والكربوهيدرات والدهون في الكتلة الحيوية الى (68 و23 و11)% على التوالي (Usharani *et al.*,2012).

يشكل نقص التغذية مشكلة صحية عامة خاصة في البلدان النامية لذلك أتجه نحو الاستفادة من السبيرولينا وأستعمالها غذاء كما أن أستهلاكها يعالج نقص البروتين الذي يُعد مرضاً منتشراً في أكثر من 300مليون شخص حول العالم (Gutiérrez-Salmeán *et al.*,2015)، وأدخلت السبيرولينا في صناعة الأغذية الصحية والمكملات الغذائية كمكمل بروتيني ووصفت بأنها غذاء متكامل في العديد من البلدان خارج أوروبا وشمال أمريكا (Layam *et al.*, 2006 ; Usharani *et al.*, 2012; Mishra *et al.*, 2014 ; Wells *et al.*, 2017) ، وتحتوي السبيرولينا على نسبة عالية جداً من البروتينات إذ تتراوح بين 60-70% من الوزن الجاف ويعتبر من أفضل وأغنى مصادر البروتين في المملكة النباتية إذ أن نسبته مرتفعة مقارنة مع لحوم الحيوانات والأسماك التي تبلغ 15-25% وفول الصويا 35% والحليب المجفف 35% والفول السوداني 25% والبيض 12% والحبوب 8-14% والحليب الكامل الدسم 3% Falquet and Henrikson,2009) (Hurni,1997; ، وتعد بروتينات السبيرولينا سهلة الهضم لكبار السن الذين يعانون من صعوبة في الامتصاص المعوي للبروتينات المعقدة ويتبعون أنظمة غذائية محددة كما ان قابلية هضم بروتيناتها عالية تتراوح من 85-95% أي سهولة تحلل بروتيناتها من قبل الإنزيمات المحللة للبروتين وهي بهذا مناسبة لمرضى سوء التغذية مثل كواشيوركور الذي تضعف قدرة الأمعاء فيه على الامتصاص، كما أن لهذه الطحالب تأثيراً في الأطفال الذين يعانون من سوء التغذية وهي أكثر فعالية من مساحيق الحليب التي تحتوي على حامض اللاكتيك الذي يكون صعب الهضم والامتصاص (Henrikson .,2009 ; Seyidoglu *et al.* , 2017 ; Vakarelova , 2017) ، كما أكدت منظمة الصحة العالمية التابعة للأمم المتحدة World Health Organization (WHO) أن السبيرولينا غذاء ممتاز لأنه غني بالحديد والبروتين ويمكن إعطاؤه بأمان للأطفال دون أي مخاطر(Sharoba,2014)، وتهدف الدراسة الى تنشيط سلالة نقية من طحلب السبيرولينا وتنميتها مختبريا على أوساط زرعية بديلة بأقل كلفة اقتصادية لإنتاج كتلة حيوية.

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

المواد وطرائق العمل

المواد الاولية المستعملة:

1: طحلب السبيرولينا : تم الحصول على عزلة نقية حية من طحلب السبيرولينا *Arthrospira (Spirullina) platensis* وكان الغرض من الطحالب الحية هو (زراعتها في المختبر على أوساط زرعية منخفضة الكلفة وأخرى قياسية) وتم الحصول عليها من المركز القومي للبحوث الزراعية - وحدة بيوتكنلوجيا الطحالب في جمهورية مصر العربية – القاهرة – الدقي .

2: أغشية البتري فلم (Petrifilm): أستعملت أغشية البتري فلم لعد البكتريا الكلي وعد بكتريا القولون الكلية وعد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وعد الخمائروالأعفان والمجهزة من شركة (3M Food Safety) الامريكية (U.S.A.).

3: الأوساط الزرعية: حضرت الأوساط الزراعية Zarrouk's media وDMSD media و SSD1+2 media المستخدمة في تنمية طحلب السبيرولينا من المكونات المذكورة في (Dineshkumar *et al*., 2016) و (Salunke *et al*.,2016) وعلى التوالي ، أما الوسط Dry nutrient media Spirulina SSD 1+2 فتم الحصول عليه جاهزاً من مركز بيع وإنتاج طحالب السبيرولينا في مملكة السويد Health Algae Sweden AB في مدينة Lastbilsgatan 9,75454 Uppsala، وحضر بوزن 21.1غم من الوسط الزرعي في لتر من الماء المقطر وكانت الدالة الحامضية للوسط 8.25، وحضرت الأوساط منخفضة الكلفة الاقتصادية وهيM1 وM2 وM3 من المكونات المذكورة في الجدول (1)

الجدول (1) مكونات الأوساط منخفضة الكلفة الاقتصادية المحضرة في المختبر.

التسلسل	المكونات	الكمية (غم/لتر)		
		media (M1)	media (M2)	media (M3)
1	$NaHCO_3$	10	10	10
2	NaCl	1	1	1
3	Urea $CH_4N_2O_2$	0.2	-	0.2
4	NPK (20:20:20)	-	0.8	0.8
5	Water (RO)	1000 مل	1000 مل	1000 مل
	pH	9.1	9.1	9

طرائق العمل:

1: تعقيم الأوساط الزرعية: حضرت الأوساط الزراعية SSD1+2 media، DMSD media، Zarrouk's media وM1 وM2 وM3 لتنمية الطحلب أثناء مدة الزراعة الأولى من 1/10 كانون الثاني ولغاية 2/10 شباط 2021/ ومدة الزراعة الثانية من اذار (3/31 ولغاية أيار2021/5/1) ، وعقمت جميع الأوساط الزرعية بوساطة المؤصدة الكهربائية Autoclave ، بعدها قيست الدالة الحامضية بجهاز pH-meter (Moreira, 2009 ;Madkour *et al*., 2012).

2: حجم اللقاح: تمت الزراعة باستعمال قناني حجمية سعة 250 و 500 و 1000 مل معقمة مسبقاً بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم المخفف بتركيز 10% لمدة دقيقتين بعدها غسلت عدة مرات بالماء المقطر المعقم ، وحضرت الأوساط الزرعية وعقمت بأستعمال جهاز المؤصدة الكهربائية ولقحت بطحلب السبيرولينا النقي بنسبة 10%(v/v)، وقرأت الأمتصاصية للطحلب عند طول موجي 750 نانومتر (Abd El-Monem *et al*., 2018) .

3: ظروف تنمية طحلب السبيرولينا: نميت السبيرولينا في ظروف شملت شدة الإضاءة ودرجة الحرارة والتهوية، إذ كانت شدة الإضاءة المستخدمة Luminous flux (2250lm) بأستخدام اضاءة مصباح الفلورسينت الأبيض Philips TL-D,36W (Extreme Cool Daylight) والمقاسة ببرنامج Lux meter، إذ بلغت 3294 لوكس ومدة الضوء والظلام 12:12 وكانت درجة الحرارة عند بداية الزراعة (18-20) م وأستعملت مدفئة هوائية كهربائية في فصل الشتاء، واستخدمت للتهوية مضخه هوائية Air pump نوع HAILEA بسرعة دفع 82 L/min وبضغط (>0.035 Mpa)، ونميت الطحالب في الوسط الزرعي بحجم 750مل في دورق مخروطي سعة 1000مل معقم ومغلق بسداد قطني وأضيف له لقاح أبتدائي بحجم مقداره 75مل من المزرعة الأم في ظروف معقمة وبعدها حضنت المزارع في كابينة النمو وقيست الكثافة الضوئية للخلايا على طول موجي 750 نانومتر فضلا عن قياس درجة الحرارة والدالة الحامضية كل 24 ساعة ولمدة 30 يوم (Sandeep *et al*., 2015)

4: تقدير كثافة النمو قدرت كثافة النمو للسبيرولينا بأستعمال طريقتين:

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

4-1: قياس الكثافة الضوئية: أستعمل جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer لقياس الكثافة الضوئية يومياً عند طول موجي 750 نانومتر وحسب طريقة Ranjith *et al.*, (2013).

4-2: تقدير الوزن الجاف للكتلة الحيوية: حسب الوزن الجاف بعد 30 يوماً من التنمية ، إذ أخذ 5 مل من المزرعة كل 5 أيام ورشح بوساطة ورق ترشيح ملي بور حجم فتحاته 0.45 ملي مايكرون موزونة مسبقاً من خلال جهاز (milli pour filter unit) بعدها غسل بماء مقطر بدالة حامضية 4 لأطلاق الاملاح والعناصر الغذائية ثم غسل بالماء المقطر وجفف على ورقة الترشيح لمدة 2 ساعة بفرن التجفيف عند درجة حرارة 105مْ وأعيد الوزن وحسب الوزن الجاف (غم) من الفرق بين وزن ورقة الترشيح قبل الترشيح وهي فارغة وبعد الترشيح والتجفيف، فالكتلة الحيوية للطحالب المجففة على ورقة الترشيح تعطي قيمة الوزن الجاف (Marrez *et al.*, 2013).

4-3 : الحصاد: حصدت الخيوط الطحلبية الطازجة بعد 30 يوم من التنمية بطريقتين الأولى وذلك بأجراء الطرد المركزي المبرد (Cooled centrifuge) 10000دورة / دقيقة لمدة 30 دقيقة على درجة حرارة 4 مº (Patel *et al.*,2005) ، والثانية بالطفو floating (Soni *et al.*,2017) وذلك بأستعمال قمع فصل بحجم 1 لتر وتركت الطحالب فيه لكي تطفو وغسلت كتلة الخلايا المحصودة مرتين بالماء المقطر، ووضعت في طبق زجاجي وجففت بفرن التجفيف على 40مْ لمدة ليلة كاملة واخذ وزن الطحالب الجافة بعد القشط ووضعت في عبوات بلاستيكية وحفظت بالتجميد لحين الاستعمال.

4-4: حساب الكلفة الاقتصادية ونسبة الحاصل: حسبت الكلفة الاقتصادية للأوساط الزرعية منخفضة الكلفة وقورنت بكلفة الأوساط القياسية ، وحسب نسبة الحاصل للسبيرولينا في الأوساط (غرام/لتر) وذلك بوزن السبيرولينا بعد التجفيف (Michael *et al.*,2019)، وحسب المعادلة التالية:

الحاصل = وزن السبيرولينا بعد التجفيف/حجم الوسط الزرعي

4-5: الفحوصات الميكروبية: قدرت الأعداد الميكروبية في الطحالب والتي شملت العدد الكلي للبكتريا Bacteria Total Count وعد بكتريا القولون الكلية Total Coliform وعد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وعد الخمائر والاعفان Yeast and molds وذلك بتحضير سلسلة من التخافيف العشرية يأخذ 1 غم او 1 مل من النموذج وأضيف الى 9 مل من محلول التخفيف ثم نقل 1 مل من التخافيف اللازمة وزرعت على أغشية البتري فلم (3M Petrifilm^{TM}) والمجهزة من شركة (3 M Food Safety) الامريكية USA ، وحضنت حسب درجة الحرارة الملائمة لنوع الكائن الحي المجهري بعدها عدت المستعمرات الملونة النامية وحسب تعليمات الشركة المجهزة وأجريت جميع الفحوصات الميكروبية بمعدل مكررين لكل تخفيف وعبر عن أعداد الميكروبات النامية بوحدة (وحدة تكوين مستعمرة/غم) (Sousa *et al.*, 2005; Nero *et al.*, 2006).

4-6: تقدير التركيب الكيميائي: قدرت نسب الرطوبة والبروتين والدهن والرماد حسب الطرائق المذكورة في (AOAC,2005) .

4-7: التصوير بالمجهر الضوئي: صورت عزلة نقية من طحلب السبيرولينا *Arthrospira platensis* في مركز علوم البحار /قسم الاحياء البحرية بوساطة مجهر ضوئي مركب نوع Zeiss مربوط بحاسوب ألماني الصنع مزود بكاميرا.

4-8: تحليل المجهر الإلكتروني الماسح(SEM) Scanning Electron Microscopic analysis : صورت السبيرولينا بتقنية النانوتكنولوجي بأستخدام جهاز المجهر الإلكتروني الماسح في المختبر المركزي كلية الزراعة جامعة البصرة وحسب الطريقة المذكورة من قبل (2010)Ensikat *et al.*.

-التحليل الأحصائي: تم أجراء التحليل الأحصائي للبيانات أستنادا للتصميم العشوائي الكامل CRD (Complete Randomized Design) وعلى أساس تجربة عاملية ذات عاملين وحللت النتائج ضمن البرنامج الأحصائي الجاهز (Genstat,2009) وأختبرت العوامل المدروسة بأستعمال أقل فرق معنوي بين المتوسطات L.S.D. عند مستوى أحتمالية ($P< 0.05$) وأستعمل النموذج الرياضي في تحليل البيانات كالأتي :

$$Yijk= \mu+Di+ Ej+(DE)ij+eijk$$

النتائج والمناقشة

- الفحص المجهري لطحلب السبيرولينا *Arthrospira platensis*: أظهر الشكل (1) أن طحلب السبيرولينا *Spirulina* تحت المجهر الضوئي كان متعدد الخلايا خيطي غير متجانس وغير متفرع باللون الاخضر المزرق ويشكل ترايخومات حلزونية ذات أحجام مختلفة ومتفاوتة بدرجة مختلفة من الانطواء او الالتفات ويتراوح من الشكل الملفوف بإحكام إلى الشكل المستقيم غير ملفوف والشعيرات منفردة وتوافق هذا الوصف مع ما ذكره (منور، 2018 ;Vonshak, 1997).

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

الشكل (1): طحلب *Arthrospira platensis* تحت المجهر الضوئي (10X)

- **الصفات المظهرية للسبيرولينا:** يظهر الشكل رقم (2) صورة طحلب السبيرولينا مظهريا بتقنية المجهر الألكتروني الماسح والذي ظهر بشكل خيوط حلزونية غير متجانسة تتميز بالألتفاف والانطواء وتكون بصورة مفردة ويوجد تضيقات في الجدران المتقاطعة ويمتلك جدار خلوي رقيق وله قمم وكانت الخلايا القمية أما مستديرة أو مدببة ويختلف عرض الشعيرات من (6-12) مايكرومتر و (4-6) مايكرومتر وهذاما أشارت اليه العديد من الدراسات (Heinsoo, 2014; Silva *et al*., 2015; Seyidoglu *et al*., 2017; Vonshak, 1997).

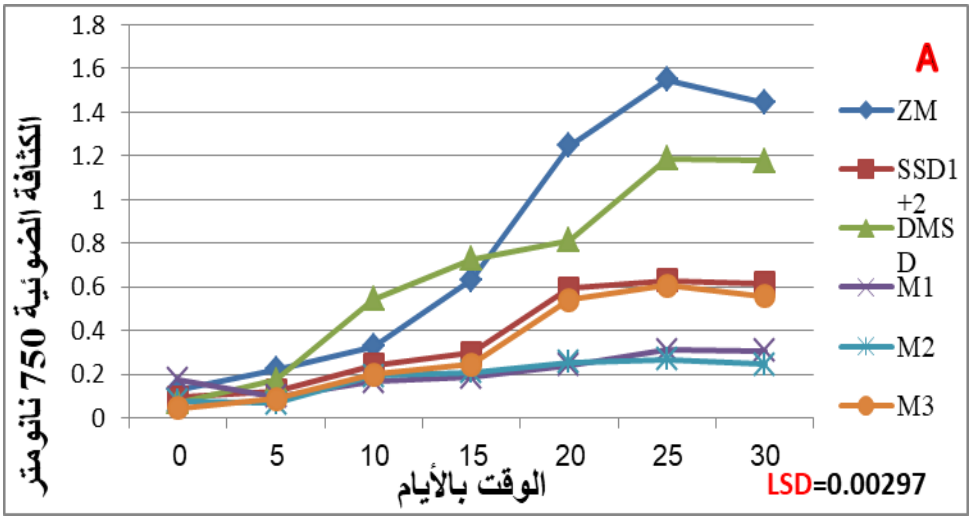
الشكل (2): صورة مورفولوجية لطحلب السبيرولينا بتقنية المجهر الالكتروني الماسح (SEM) (5000X).

- **تنمية طحلب السبيرولينا:** يوضح الشكل (3) منحنى نمو طحلب السبيرولينا بقياس الكثافة الضوئية في مدة الزراعة الأولى (من 1/10 كانون الثاني ولغاية 2/10 شباط/2021) ، إذ وضحت النتائج وجود فروق معنوية في وقت الصفر ومدة 25 يوم بين كل الأوساط إذ لوحظ ارتفاع الكثافة الضوئية للسبيرولينا في الأوساط ZM وDMSD و SSD1+2 وM1 و M2 وM3 وبفروق معنوية ، إذ أرتفعت من 0.13 و 0.072 و0.096 و0.176 و0.077 و0.044 على التوالي في وقت الصفر الى 1.548 و 1.189 و0.631 و0.311 و0.269 و0.608 على التوالي بعد 25 يوم من التنمية ، أذ لوحظ وجود فروق معنوية في الكثافة الضوئية بين جميع الأوساط الزرعية قيد الدراسة في مدة الزراعة الأولى فضلا عن وجود فروق معنوية أثناء التقدم بمدة الزراعة البالغة 30 يوما ، إذ أظهر الوسط ZM تفوق معنوي في الكثافة الضوئية وكانت أعلى قيمة له بعد 25 يوم من التنمية في حين أن أعلى تركيز للأوساط منخفضة الكلفة كان في الوسط M3 في اليوم 25 من التنمية، لوحظ من النتائج أن كثافة النمو أرتفعت بصورة بطيئة خلال الأيام الخمسة الأولى من الزراعة وذلك لتأقلم الطحلب مع الوسط الزرعي ويسمى طور التأقلم (Lag phase) ثم أزداد النمو وكان أعلى نمو في اليوم 25 وتسمى هذه المرحلة الطور الأسي او اللوغارتيمي (Exponential or Log phase) وهو طور أنقسام الخلايا وتكاثرها ويحتاج الى طاقة مصروفة مما يؤدي الى هدم الكربوهيدرات والدهون والبروتينات وبعدها أستقر النمو واستمر لغاية 29 يوم وتسمى هذه المرحلة طور الأستقرار (Stationary phase) وهو الطور المناسب للحصاد كونه طور أنتاج المركبات الأيضية الثانوية أكثر من هدمها ثم حصل انخفاض في اليوم 30 من التنمية ويسمى طور التناقص او الموت (Decline or Death phase) والذي قد يعود الى أستنفاذ المواد المغذية بالوسط والتنافس

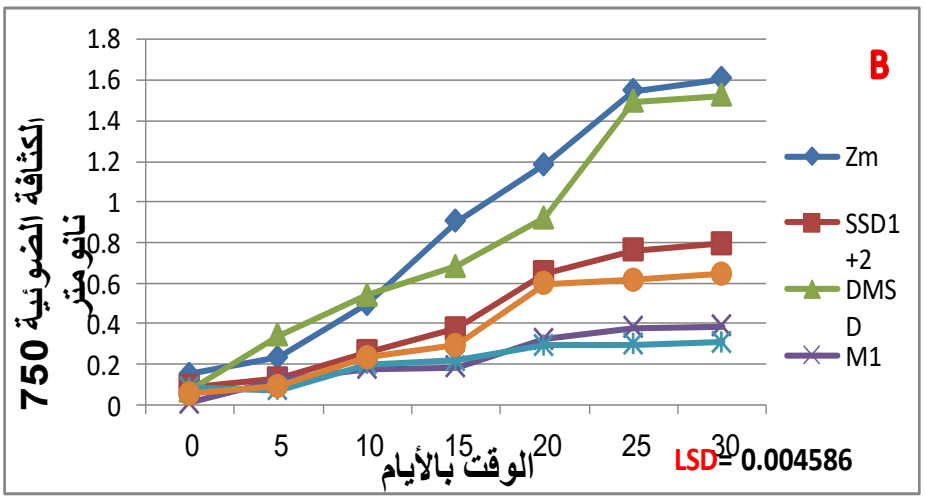
مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

على متطلبات النمو وطرح بعض المركبات غير المرغوبة من قبل الطحالب نتيجة للفعاليات الأيضية . ويوضح الشكل (3) صورة حاضنة زراعة السبيرولينا في المختبر.

ويوضح الشكل (4) منحنى نمو طحلب السبيرولينا بقياس الكثافة الضوئية في مدة الزراعة الثانية (من اذار 3/31 ولغاية أيار 2021/5/1) ، كما بينت النتائج ارتفاع الكثافة الضوئية للسبيرولينا في الأوساط ZM وDMSD و SSD1+2 وM1 و M2 و M3 وبفروق معنوية إذ أرتفعت من 0.15 و 0.068 و 0.089 و0.0075 و 0.083 و 0.055 على التوالي في وقت الصفر الى 1.606 و 1.525 و 0.795 و0.385 و 0.310 و 0.645 على التوالي في اليوم 30 من التنمية ، ولوحظ وجود فروق معنوية مع ارتفاع قيمة الكثافة الضوئية أثناء التقدم بمدة الزراعة والبالغة 30 يوم ، كما لوحظ وجود فروق معنوية في الكثافة الضوئية بين جميع الأوساط الزرعية قيد الدراسة في مدة الزراعة الثانية ، إذ أظهر الوسط ZM تفوق معنوي في الكثافة الضوئية للنمو وكانت أعلى قيمة له بعد 30 يوم من التنمية كما أظهرت النتائج وجود فروق معنوية في وقت الصفر ومدة 30 يوم بين كل الأوساط في حين أن أعلى تركيز للأوساط منخفضة الكلفة كان في الوسط M3 في اليوم 30 من التنمية.



الشكل (A4): منحنى النمو لطحلب السبيرولينا في أوساط زرعية مختلفة في مدة الزراعة الأولى من 1/10 كانون الثاني ولغاية 2/10 شباط/2021



الشكل (B4): منحنى النمو لطحلب السبيرولينا في أوساط زرعية مختلفة في مدة الزراعة الثانية من اذار 3/31 ولغاية أيار 2021/5/1

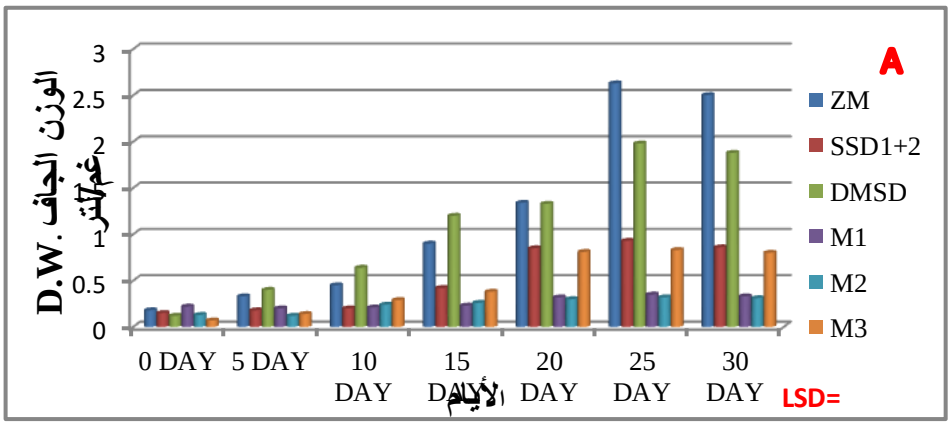
مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

الشكل (3): صورة حاضنة زراعة السبيرولينا في المختبر.

وقد يعود تفوق وسط Zarrouk's القياسي الى محتواه العالي من العناصرالمعدنية والمغذيات فضلاً عن قيمة الدالة الحامضية للوسط 8.2 ومحتواه العالي من بيكاربونات الصوديوم والذي يتحلل في الوسط ويعطي ثاني أكسيد الكربون (CO_2) إذ أن السبيرولينا قادرة على إستهلاك (CO_2) (Mogale,2016). وتوافقت هذه النتائج مع ما ذكره Ranjith *et al.*(2013) إذ بينوا أن كثافة نمو طحلب السبيرولينا بالعكارة بعد 5 أيام أن نسبة العكارة 250% للمزرعة النامية في وسط Zarrouk's القياسي، في حين كانت 190% للوسط NRC المحور. وتوافقت النتائج مع ما توصل اليه Madkour *et al.*(2012) الى أن الأوساط المنخفضة الكلفة والمدعمة باليوريا أعطت معدلات نمو للسبيرولينا أبطأ مقارنة مع الوسط القياسي ZM إذ كان الطور اللوغارتيمي لها بين 27 و33 يوم وتراوحت كمية الكتلة الحيوية من 0.64 ملغم/لتر، في حين أعطى الوسط ZM أقصى قيمة للكتلة الحيوية، إذ بلغت 0.840 ملغم/لتر في اليوم 15. في حين وجد Michael *et al.*(2019) ارتفاع قراءة الكثافة الضوئية للوسط منخفض الكلفة LCMA الى 2.06 عند اليوم 15 مقارنة مع وسط Zarrouk's القياسي إذ بلغت 1.74 عند اليوم 21. ولوحظ من النتائج أختلاف تركيز الكتلة الحيوية للطحلب في الاوساط الزرعية المختلفة وقد يعود هذا الى أختلاف تركيز بيكاربونات الصوديوم فيها، إذ يحتوي وسط ZM على 16.8 غم/لتر، في حين بقية الاوساط المحضرة احتوت على 10غم/لتر. وتوافقت هذه النتائج مع Delrue *et al.*(2017) ، إذ وجد أن منحنى النمو لطحلب السبيرولينا والمزروع لمدة 10 أيام كان متماثلاً للوسطين ZM و HM المعدل و كان أعلى مقارنة مع الوسط JM المعدل ويعود هذا الاختلاف نتيجة لأرتفاع تركيز بيكربونات الصوديوم فيها مقارنة مع الوسط الأخير. وقد يعود التفاوت في كثافة النمو في الأوساط بين مدة الزراعة الأولى والثانية الى اختلاف الظروف البيئية وتأثيرها على معدل النمو إذ كانت الظروف في مدة الزراعة الثانية أكثر ملائمة لنمو الطحلب مقارنة بمدة الزراعة الأولى.

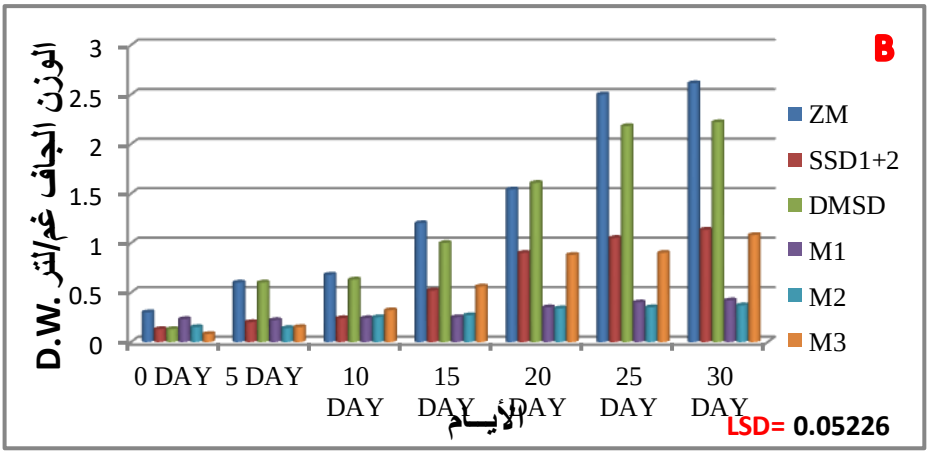
الوزن الجاف للطحلب: يبين الشكل (A 5) الوزن الجاف لطحلب السبيرولينا النامية في الأوساط الزرعية ولمدة 30 يوم في مدة الزراعة الأولى فقد لوحظ ارتفاع الوزن الجاف للسبيرولينا في الأوساط الأوساط ZM وDMSD و SSD1+2 وM1 و M2 و M3 من (0.18 و 0.12 و 0.15 و 0.22 و 0.13 و 0.07) غم/لتر على التوالي في وقت الصفر الى (2.63، 1.98، 0.93، 0.35 ، 0.32،0.83) غم/لتر على التوالي، بعد 25 يوم من التنمية. وأظهرت الدراسة وجود فروق معنوية في الوزن الجاف بين الأوساط الزرعية في حين لا توجد فروق معنوية بين الوسطين SSD وM3، كما لوحظ ارتفاع الوزن الجاف أثناء التقدم بمدة الزراعة والبالغة 30 يوم ، إذ أظهر الوسط ZM تفوق معنوي في الوزن الجاف وكانت أعلى قيمة له بعد 25 يوم من التنمية في حين أن أعلى تركيز للأوساط منخفضة الكلفة كان في الوسط M3 في اليوم 30 من التنمية.

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X



الشكل (5 A): الوزن الجاف لطحلب السبيرولينا النامية في أوساط زرعية مختلفة في مدة الزراعة الأولى ولمدة 30 يوم من 1/10 كانون الثاني ولغاية 2/10 شباط/2021.

ويوضح الشكل (B5) الوزن الجاف لطحلب السبيرولينا النامية في الأوساط الزرعية ولمدة 30 يوم في مدة الزراعة الثانية (من اذار3/31 ولغاية أيار2021/5/1)، إذ لوحظ ارتفاع الوزن الجاف للسبيرولينا في الأوساط الأوساط ZM وDMSD و SSD1+2 وM1 و M2 و M3 من (0.3 و 0.13 و 0.13 و 0.23 و 0.15 و 0.08) غم/لتر على التوالي في وقت الصفر الى (2.613 و 2.22 و1.133 و 0.42 و 0.37 و 1.08) غم/لتر على التوالي بعد 30 يوم من التنمية، كما تبين وجود فروق معنوية في الوزن الجاف للسبيرولينا بين الأوساط الزرعية قيد الدراسة في مدة الزراعة الثانية ، كما لوحظ ارتفاع قيمة الوزن الجاف أثناء التقدم بمدة الزراعة والبالغة 30 يوم في مدة الزراعة الثانية ، فقد أظهر الوسط ZM تفوق معنوي في الوزن الجاف على بقية الاوساط في حين حصل الوسط M3 أعلى قيمة في الاوساط الزرعية منخفضة الكلفة بعد 30 يوم من التنمية.



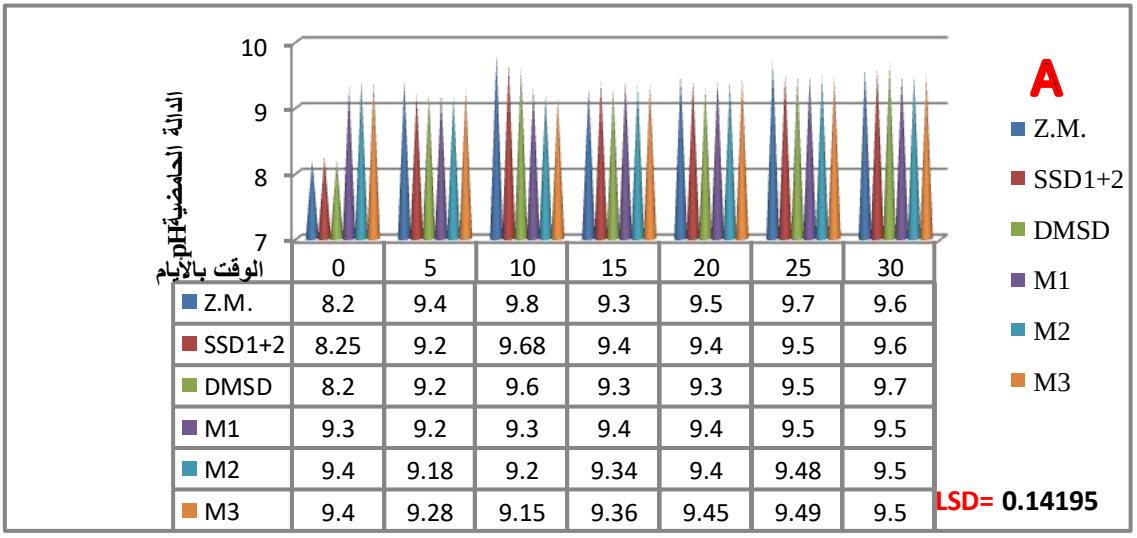
الشكل (5 B): الوزن الجاف للسبيرولينا النامية في أوساط زرعية مختلفة في مدة الزراعة الثانية ولمدة 30 يوم من اذار3/31 ولغاية أيار 2021/5/1

وأظهرت النتائج أعلاه أن أعلى قيمة للوزن الجاف للطحلب المزروع في مدة الزراعة الثانية في الوسط القياسي ZM كان مقارب لما حصل عليه Mogale (2016) والذي حصل على أعلى وزن جاف لطحلب السبيرولينا في وسط Zarrouk's كان 2.54غم/لتر بعد 14 يوم من التنمية عند 30 م، في حين أقل وزن كان 1.29 غم/ لتر بعد 11 يوم من النمو. وأشار الى أن الكتلة الحيوية تنخفض أثناء الليل معزيا ذلك الى انخفاض درجة الحرارة و كثافة الخلايا وقلة الإشعاع الضوئي الذي تحتاجه للنمو ، وكانت النتائج المتحصل عليها أعلى مما وجده *et* Delrue *al.*(2017) ، إذ وجد أن الوسط ZM أعطى إنتاجية أعلى للكتلة الحيوية بلغت 0.0915غم/لتر/يوم مقارنة مع HM 0.0805 غم/لتر/يوم وJM 0.0779غم/لتر/يوم لمدة 13 يوم وأعزى هذا الاختلاف نتيجة لأختلاف تركيز بيكربونات الصوديوم بين الأوساط. كما أظهرت النتائج أن الوزن الجاف للطحلب في الأوساط

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

منخفضة الكلفة كان أقل من الأوساط القياسية الجاهزة كما وجد أنه يزداد في بداية مدة الزراعة ثم ينخفض في نهايتها والذي قد يعود الى أستنفاذ المواد المغذية في الوسط والتنافس على متطلبات النمو وطرح بعض المركبات غير المرغوبة من قبل الطحالب نتيجة للفعاليات الأيضية (منور،2018) . وكانت النتائج أعلى مما لاحظه *et* Madkour *al.*(2012) أن مزرعة السبيرولينا المدعمة بنترات الأمونيوم كمصدر نتروجيني منخفض الكلفة أعطت أقصى قيمة للكتلة الحيوية، إذ بلغت 0.000813غم/لتر وكانت مقاربة للوسط القياسي ZM وكانت 0.000840غم/لتر وبين أن الغرض من ذلك هو إنتاج كثافة عاليــة مــن الكتلة الحيوية للطحلب بخصائص غذائية جيدة. في حين كانت النتائج أقل، مما توصل اليه Michael *et al.*(2019) الى أن الوزن الجاف للطحلب في الوسط منخفض الكلفة LCMA، إذ بلغت 7.5 غم/لتر وهي أعلى مقارنة مع الوسط القياسي Zarrouk's إذ كانت 6.9 غم/لتر.

التغير في الدالة الحامضية : يبين الشكل (A 6) التغير في الدالة الحامضية أثناء تنمية الطحلب في الاوساط الزرعية المختلفة ولمدة 30 يوم في مدة الزراعة الاولى من 1/10 كانون الثاني/2021 ولغاية 2/10 شباط/2021، إذ لوحظ ارتفاع الدالة الحامضية للسبيرولينا أثناء مدة التنمية في الأوساط الأوساط ZM وDMSD و SSD1+2 وM1 و M2 و M3 مع عدم وجود فروق معنوية بين الأوساط القياسية وكذلك بين الأوساط منخفضة الكلفة في وقت الصفر من 8.2 و 8.2 و 8.25 و 9.3 و9.4 و 9.4 على التوالي، الى 9.6 و 9.6 و 9.7 و9.5 و 9.5 و 9.5 على التوالي بعد 30 يوم من التنمية إذ لوحظ عدم وجود فروق معنوية بين جميع الاوساط بعد نهاية مدة التنمية. وأوضحت النتائج عدم وجود فروق معنوية في الدالة الحامضية في مدة الزراعة الأولى بين الوسطين DMSD و SSD 1+2 وكذلك بين الوسط القياسي ZM والاوساط منخفضة الكلفةM1 وM2 وM3 ،كما لوحظ عدم وجود فروق معنوية للدالة الحامضية بين مدة الزراعة 10 و20 يوم فضلا عن المدة 25 و30 يوم لجميع الأوساط .

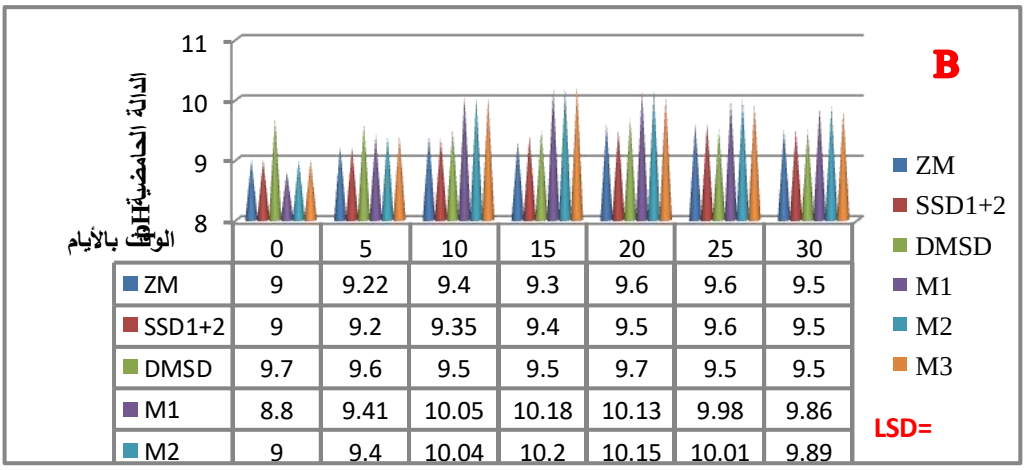


الوقت بالأيام	0	5	10	15	20	25	30
Z.M.	8.2	9.4	9.8	9.3	9.5	9.7	9.6
SSD1+2	8.25	9.2	9.68	9.4	9.4	9.5	9.6
DMSD	8.2	9.2	9.6	9.3	9.3	9.5	9.7
M1	9.3	9.2	9.3	9.4	9.4	9.5	9.5
M2	9.4	9.18	9.2	9.34	9.4	9.48	9.5
M3	9.4	9.28	9.15	9.36	9.45	9.49	9.5

الشكل (A 6): التغير في الدالة الحامضية (pH) أثناء تنمية السبيرولينا على أوساط زرعية مختلفة في مدة الزراعة الأولى من 1/10 كانون الثاني ولغاية 2/10 شباط /2021.

ويوضح الشكل (B6) التغير في الدالة الحامضية أثناء تنمية الطحلب في الاوساط الزرعية المختلفة ولمدة 30 يوم في مدة الزراعة الثانية من اذار 3/31 ولغاية أيار2021/5/1، إذ لوحظ ارتفاع الدالة الحامضية للسبيرولينا في الأوساط الأوساط ZM وDMSD و SSD1+2 وM1 و M2 و M3 مع عدم وجود فروق معنوية بين الأوساط ماعدا الوسط DMSD في وقت الصفر من 9 و 9 و 9.7 و 8.8 و 9 و 9 على التوالي، الى 9.5 و 9.5 و 9.5 و 9.86 و 9.89 و 9.82 على التوالي بعد 30 يوم من التنمية إذ لوحظ عدم وجود فروق معنوية بين جميع الاوساط بعد نهاية مدة التنمية ، كما لوحظ عدم وجود فروق معنوية في الدالة الحامضية بين المدد الزرعية (10 ، 15 ، 20 ، 25 ، 30) يوم في حين أختلفت معنويا مع المدة (0 ، 5) يوم.

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X



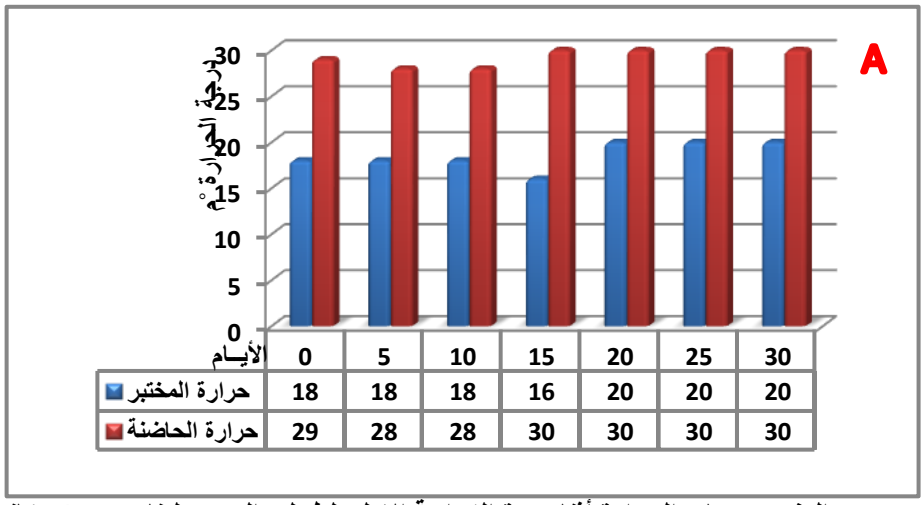
	0	5	10	15	20	25	30
ZM	9	9.22	9.4	9.3	9.6	9.6	9.5
SSD1+2	9	9.2	9.35	9.4	9.5	9.6	9.5
DMSD	9.7	9.6	9.5	9.5	9.7	9.5	9.5
M1	8.8	9.41	10.05	10.18	10.13	9.98	9.86
M2	9	9.4	10.04	10.2	10.15	10.01	9.89

الشكل (B6): التغير في الدالة الحامضية (pH) أثناء تنمية السبيرولينا على أوساط زرعية مختلفة في مدة الزراعة الثانية من اذار 3/31 ولغاية أيار 2021/5/1.

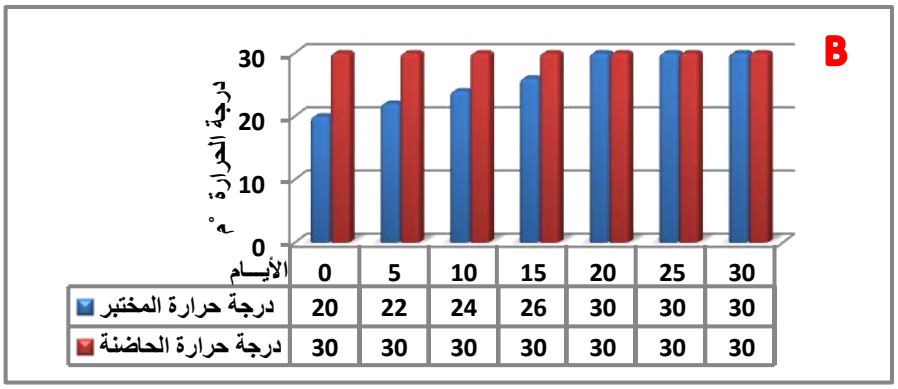
وتبين النتائج أن الدالة الحامضية لجميع الأوساط المستعملة في الدراسة كانت ملائمة لنمو طحلب السبيرولينا وان سبب زيادة الدالة الحامضية أثناء التنمية يعود الى أمتصاص ثاني أوكسيد الكربون وتحرير أيون (OH^-) في الوسط الزرعي. وتوافقت النتائج مع ما حصل عليه Usharani *et al.*(2012) إذ وجدوا ان الدالة الحامضية للأوساط الزرعية المستخدمة في تنمية السبيرولينا ترتفع من 8.4 الى 9.5 معزيا ذلك لأستهلاك بيكربونات وأيونات الصوديوم. كما توافقت النتائج مع Mogale (2016) الذي بين أن طحلب السبيرولينا ينمو في الدالة الحامضية المثلى للوسط بين 9-10.5والتي تزداد أثناء النمو إذ تتفكك بيكربونات الصوديوم في الوسط إلى أيون Na^+ والبيكربونات ($HCO3^-$) إذ يستعمل الطحلب أيونات الصوديوم كمغذيات دقيقة في حين تتحول البيكربونات إلى CO_2 وأيونات الهيدروكسيل (OH^-) بمساعدة أنزيم carbonic anhydrase. وتوافقت النتائج مع Madkour *et al.*(2012) الذي درس تأثير تغير الدالة الحامضية من 7.5- 11 على إنتاجية السبيرولينا ولاحظوا تحسن الوزن الجاف للطحلب (DW) بشكل كبير عند قيمة الدالة الحامضية 9. كما لاحظ Michael *et al.*(2019) ان الوسط Zarrouk's القياسي يحتوي بيكاربونات الصوديوم والتي تتحلل لتعطي ايون الهيدروكسيل الذي يرفع قاعدية الوسط مما يزيد النمو ثم يبدء بالانخفاض بعد 21 يوم من النمو.

- **التغير بدرجات الحرارة:** يظهر الشكلين (A7) و (B7) التغير في درجات حرارة المختبر والحاضنة في مدة الزراعة الاولى والثانية على التوالي، إذ لوحظ أن درجة حرارة المختبر ودرجة حرارة الحاضنة في اليوم الأول (وقت الصفر) من بداية الزراعة كانت 18م و29 م على التوالي، وأرتفعت الى 20م و30م على التوالي، بعد نهاية مدة الزراعة البالغة 30 يوم مما يوفر الدرجة الحرارية المناسبة لنمو السبيرولينا . أن لدرجة الحرارة تأثير على نمو طحلب السبيرولينا خاصة مع حلول فصل الشتاء في مدة الزراعة الأولى إذ أصبحت درجة الحرارة اليومية القصوى تقل بشكل متزايد من حوالي 16-20 درجة مئوية في منتصف الشتاء وأن تغطية حاضنة التنمية بأكياس من البولي إيثيلين وتشغيل المدفئة الهوائية أدى إلى رفع درجة الحرارة بمقدار 10-14مْ من الصباح حتى المساء وكان لهذه الزيادة في درجة الحرارة تأثير ملحوظ على نمو طحلب السبيرولينا بسبب توفير درجة الحرارة الملائمة للنمو وهي 30م وتم ملاحظة ذلك من خلال منحنى النمو، إذ أرتفعت الكثافة الضوئية بعد 15 يوم من التنمية وهو متناسب مع ارتفاع درجة الحرارة في الحاضنة الى 30م ، في حين يشير الشكل (B 5-4) الى أن درجة حرارة المختبر في اليوم الأول من بداية مدة الزراعة الثانية إذ كانت 20 م وهي أقل من درجة الحرارة المثالية لنمو السبيرولينا وأرتفعت الى 30 م في المدة الأخيرة من الزراعة في حين كانت درجة حرارة الحاضنة 30 م خلال مدة الزراعة، مما يوفر الدرجة الحرارية المناسبة لنمو طحلب السبيرولينا. وتوافقت هذه النتائج مع جاء به Saeid and Chojnacka (2016) ، تتفق مع ما أشار اليه Serra and Costa (2015) الى أن انخفاض درجات الحرارة أثناء فصل الشتاء في مدة الزراعة الأولى إلى حوالي 20-25مْ أقل من المستوى الأمثل لنمو السبيرولينا في حين أدى تغطية الحوض بأكياس البولي إثيلين الشفاف الى رفع درجة الحرارة الى الدرجة المثلى للنمو. كما توافقت النتائج مع Mogale, (2016) عند دراسته تأثير درجات الحرارة (25، 30، 35)م على نمو طحالب السبيرولينا ووجد أن 35 م كان لها تأثير سلبي على إنتاجية الكتلة الحيوية سبيرولينا في حين نمت بشكل أفضل عند 30 م.

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X



الشكل (A 7): التغير بدرجات الحرارة أثناء مدة الزراعة الاولى لطحلب السبيرولينا من 1/10 كانون الثاني ولغاية 2/10 شباط/2021.



الشكل (B 7) : التغير بدرجات حرارة المختبر أثناء مدة الزراعة الثانية لطحلب السبيرولينا من اذار 3/31 ولغاية أيار 2021/5/1.

المحتوى المايكروبي : توضح النتائج في الجدول (2) لوغاريتم العدد الكلي للبكتريا وعدد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وعدد بكتريا القولون وعدد الخمائر والاعفان المتواجدة في الطحالب النامية في الأوساط الزرعية المنخفضة الكلفة M1 وM2 وM3 ومقارنتها مع الوسط القياسي ZM بعد 30 يوم من الزراعة، ولوحظ أن أعلى لوغاريتم للعدد الكلي للبكتريا كان في الوسط ZM إذ بلغ 4.66 وحدة تكوين مستعمرة/مل يليه الوسطين M2 و M3 إذ كانا متقاربين إذ بلغا 3.95 لوغاريتم وحدة تكوين مستعمرة/مل و3.94 لوغاريتم وحدة تكوين مستعمرة/مل وعلى التوالي ثم الوسط M1 إذ بلغ 3.47 لوغاريتم وحدة تكوين مستعمرة/مل. وأظهرت النتائج عدم وجود بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وبكتريا القولون *E.coli* وعدم وجود الخمائر والأعفان في جميع الأوساط الزرعية المذكورة أعلاه والذي قد يعود الى الظروف التي تعمل على منع تلوث مزارع السبيرولينا من الاحياء المجهرية ومنها مكونات الوسط ودرجة الحرارة وشدة الضوء والدالة الحامضية. ويوضح الجدول نفسه لوغاريتم أعداد الأحياء المجهرية في طحلب السبيرولينا المجففة القياسية إذ لوحظ أن لوغاريتم عدد البكتريا الكلي كان منخفض في حين لم تتواجد بكتريا القولون والمكورات العنقودية الذهبية والخمائر والاعفان. وتوافقت هذه النتائج مع ما ذكره Heinsoo (2014) أن ارتفاع الدالة الحامضية في وسط تنمية السبيرولينا مع غياب الكاربون العضوي يمنع نمو البكتريا والملوثات في المزرعة وأشار الاتحاد الأوربي لسلامة الأغذية أن المواصفة المايكروبية للطحالب تنص على ان تكون 25 غم من الطحالب خالي من بكتريا *Salmonella* و *Listeria* و *Staphylococcus* أما بكتريا القولون *E.coli* (100وحدة تكوين مستعمرة/غم) وأقصى قيمة للعدد الكلي للبكتريا هي 200000 وحدة تكوين مستعمرة/غم. كما توافقت مع Mogale (2016) الذي بين أن ارتفاع الدالة الحامضية وقلوية الأوساط الزرعية المستخدمة في تنمية طحلب السبيرولينا وأرتفاع الملوحة يمنع نمو معظم الكائنات الحية الملوثة المحتملة مما يجعل بيئتها غير ملائمة لنمو البكتريا في حين تنمو

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

البكتريا المحبة للملوحة Halomonas وغير المحبة للملوحة مثل *Pseudomonas* و *Micrococcus*، إذ تعمل السبيرولينا على تثبيت ثاني أكسيد الكربون في الكتلة الحيوية وتحرير الأوكسجين كمنتج ثانوي مما يشجع نمو البكتريا وقد يؤدي انخفاض معدل التمثيل الضوئي إلى تقليل الأوكسجين مما يحد من التلوث البكتري كما تنتج طحالب السبيرولينا السكريات المتعددة الخارجية (EPS) أثناء نموها والتي تتغذى عليها البكتريا.

الجدول (2): لوغاريتم أعداد الأحياء المجهرية في السبيرولينا المنماة في أوساط زرعية مختلفة بعد 30 يوم من التنمية

الوسط الزرعي	لوغاريتم أعداد البكتريا			
	Total count	*Staphylococcus aureus*	*E.coli*	Y & M
ZM	4.66	NIL	NIL	NIL
M1	3.47	NIL	NIL	NIL
M2	3.95	NIL	NIL	NIL
M3	3.94	NIL	NIL	NIL
الطحالب المجففة القياسية	1.69	NIL	NIL	NIL

NIL : لا يوجد نمو للأحياء المجهرية

الكلفة الأقتصادية للأوساط الزرعية: تشير النتائج في الجداول (3) و (4) و(5) الى الكلفة الأقتصادية (بالدينار العراقي) للتر من الأوساط الزرعية المستخدمة في تنمية طحلب السبيرولينا مختبريا وهي DMSD و SSD1+2 و ZM و M1 و M2 و M3، فقد كان سعر الكلفة الاقتصادية للتر واحد من الوسط القياسي ZM أعلى مقارنة ببقية الأوساط إذ بلغ 25 الف دينار عراقي يليه الوسط SSD1+2، إذ بلغ 12.500 دينار عراقي، أما بقية الأوساط فكانت قليلة الكلفة جدا وهي DMSD وM3 وM1 و M2 إذ بلـغت (1090، 149 ، 141، 49) دينـار عراقـي علـى التوالـي. وتـوافقت النتائج مع Ahsan *et al.*(2008) والذي ذكر أن أستعمال وسط بديل لتنمية السبيرولينا بكلفة منخفضة كانت 16 دولارأمريكي/لتر مقارنة بكلفة الوسط Zarrouk's القياسي إذ كانت 79.5 دولار أمريكي/ لتر، كما توافقت النتائج مع Madkour *et al.*(2012) فقد حضر اوساط زرعية منخفضة الكلفة بأستبدال جميع العناصر الغذائية الموجودة في الوسط القياسي بأسمدة وكيماويات تجارية أرخص ومتوفرة محليًا ووجد أن كلفة 1000 لتر من الوسط القياسي كانت (80 دولارًا أمريكيًا) مقابل (13 دولاراً أمريكيًا) لوسط نترات الأمونيوم.

الجدول (3): حساب الكلفة الأقتصادية للتر من الوسط الزرعي DMSD المحضر مختبرياً

ت	المادة	الوزن (غم)	السعر (دينار/1 غم)	الكلفة (الدينار العراقي)
1	Na_2CO	10	100	1000
2	$MgSO_4$	0.1	500	50
3	NPK (20:20:20)	4	10	40
سعر الكلفة/ لتر وسط زرعي محضر				**1090 دينار عراقي**

الحصاد وإنتاج الكتلة الحيوية وحساب نسبة الحاصل (Yield): تبين النتائج في الجدول (6) وزن الحاصل Yield (غم/لتر) للسبيرولينا المزروعة في الأوساط SSD1+2 وDMSD والأوساط المنخفضة الكلفة (M1، M2، M3) ومقارنتها مع الوسط القياسي ZM وذلك بعد انتهاء مدة الزراعة الأولى في فصل الشتاء والثانية في مدة الزراعة الثانية ، إذ لوحظ من النتائج أن أعلى قيمة للحاصل كانت في مدة الزراعة الثانية للوسط القياسي ZM، إذ بلغ 2.70 غم /لتر ويليه الوسطين DMSD و SSD1+2 ، إذ حصلا على 2.50 و1.20غم/لتر على التوالي، يليه الوسط M3 إذ بلغ 1.05 غم/لتر ثم الوسط M1 إذ بلغ 0.47 في حين كان الوسط M2 0.40غم/لتر، في حين كانت أعلى قيمة للحاصل في مدة الزراعة الأولى للوسط ZM، إذ بلغ 2.55غم/لتر يليه الوسطين DMSD و SSD1+2، إذ بلغا 2.03 و0.88 غم/لتر على التوالي، ثم الوسط M3، إذ حصل على 0.85غم/لتر وأقل حاصل كان للوسطين M1 وM2 إذ بلغا 0.36 و 0.34غم/لتر على التوالي.

الجدول (4): حساب الكلفة الاقتصادية للتر من الوسط الزرعيZM المحضر مختبريا

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

ت	المادة	الوزن (غم)	السعر (دينار/1 غم)	الكلفة (الدينار العراقي)
1	$NaHCO_3$	16.8	1.250	21000
2	$NaNO_3$	2.5	1000	2500
3	NaCl	1	1000	1000
4	K_2SO_4	1	125	125
5	K_2HPO_4	0.5	200	100
6	$MgSO_4.7H_2O$	0.2	500	100
7	$FeSO_4.7H_2O$	0.01	100	10
8	$CaCl_2.2H_2O$	0.04	125	50
9	EDTA	0.08	100	80
سعر الكلفة/ لتر وسط زرعي محضر مختبريا			25000 دينار عراقي	
سعر الكلفة/ لتر وسط زرعي في الأسواق			620500 دينار عراقي	

الجدول (5): حساب الكلفة الأقتصادية للتر من الأوساط الزرعية المنخفضة الكلفة المحضرة مختبريا (M1 ، M2 ، M3)

ت	المادة	M1 الوزن (غم)	M2 الوزن (غم)	M3 الوزن (غم)	السعر (دينار/1غم)	الكلفة (الدينار العراقي)
1	$NaHCO_3$ التجاري	10	10	10	4	40
2	NaCl التجاري	1	1	1	1.25	1.25
3	Urea	0.2	_	0.2	500	100
4	NPK (20:20:20)	_	0.8	0.8	1	8
سعر الكلفة (دينار عراقي) / لتر وسط زرعي محضر		141 دينار	49 دينار	149 دينار		

يعود ارتفاع الحاصل في الوسط منخفض الكلفة M3 نسبيا مقارنة بالأوساط منخفضة الكلفة في مدة الزراعة الثانية الى استعمال نوعين من مصادر النتروجين وهما اليوريا وسماد NPK مما يرفع من معدل النمو ومن ثم زيادة الكتلة الحيوية للسبيرولينا، في حين قد يرجع سبب انخفاض الحاصل في مدة الزراعة الأولى الى فقدان الكتلة الحيوية أثناء الليل بسبب انخفاض درجة الحرارة في فصل الشتاء وكثافة الخلايا وقلة الإشعاع الضوئي الذي يحتاجه الطحلب للنمو (Mogale,2016).

توافقت النتائج مع Usharani *et al.*(2012) الذي أشار الى أن استعمال اليوريا كمصدر للنيتروجين في زراعة السبيرولينا أدى إلى زيادة الكتلة الحيوية، إذ تمتص اليوريا بسهولة بسبب سهولة تحللها المائي عند الظروف القلوية للزراعة وتحرير الأمونيا وهي مصدر النتروجين المفضل للطحلب والتي أعطت أفضل نمو عند 30مْ (Danesi *et al.*,2011)، وقد كانت النتائج أقل مما توصل اليه Gheda *et al.*(2021) الذين بينوا أن كمية السبيرولينا المتحصل عليها بعد21 يوم من الزراعة بحجم لقاح 10% بلغ 3.05غم وزن جاف/لتر. كما كانت النتائج أقل مما ذكره Marrez *et al.*(2013) أن الفترة المثلى لإنتاج الحد الأقصى من الكتلة الحيوية للسبيرولينا هو لمدة 30 يوماً، إذ بلغ 4.30 غم/لتر في وسط SHU و4.87 غم/لتر في وسط Zarrouk's القياسي ويرجع ارتفاع إنتاج الكتلة الحيوية فيه إلى ارتفاع القلوية. وأعلى مما توصل اليه Delrue *et al.*(2017) إذ وجدوا أن تخفيف وسط Zarrouk's المعدل لم يؤثر على معدل النمو لمدة 28 يوم وحصل على أعلى أوزان جافة بعد 21 يوماً بلغت 1.21 غم/لتر من وسط Zarrouk's المعدل بنسبة 20% مقارنة مع 0.84غم/لتر من وسط Zarrouk's القياسي، وأن نسبة الانتاجية للوسط منخفض الكلفة LCMA كانت أعلى مقارنة مع Zarrouk's القياسي بنسبة 59% و54% وعلى التوالي (Michael *et al.*,2019) ، في حين توصل Palanisamy *et al.*(2021) الى أن أقصى كتلة حيوية لطحلب السبيرولينا النامي في أوساط مضاف لها زيت النخيل كانت 0.8546 غم/لتر يوم 14 وأنخفض الى 0.7328 غم/لتر يوم 15 من الزراعة. فضلا عن ذلك ذكر Mikryukov *et al.*(2021) أن الكتلة الحيوية للسبيرولينا المزروعة في نظام الدفعات كان 1.5 غم/لتر على أساس الوزن الجاف.

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

الجدول (6): وزن الحاصل Yield (غم/ لتر) للطحلب المزروع في الأوساط المنخفضة الكلفة على أساس الوزن الجاف (M1 ، M2 ، M3) والأوساط SSD1+2 وDMSD مقارنة مع الوسط القياسي ZM في أثناء مدة الزراعة الأولى والثانية

الوسط الزرعي	الحاصل (غم/ لتر) مدة الزراعة الأولى (2/10 – 1/10)	الحاصل (غم/ لتر) مدة الزراعة الثانية (5/1 – 3/31)	سعر الكلفة دينار عراقي/لتر
ZM	2.55	2.70	25000
SSD1+2	0.88	1.20	12.500
DMSD	2.03	2.50	1090
M1	0.36	0.47	141
M2	0.34	0.40	49
M3	0.85	1.05	149

التركيب الكيميائي لطحلب السبيرولينا المنماة في أوساط زرعية مختلفة: يوضح الجدول (7) التركيب الكيميائي لطحلب السبيرولينا المزروع في الأوساط الزرعية منخفضة الكلفة ومقارنتها مع الوسط القياسي، إذ لوحظ عدم وجود فروق معنوية عند مستوى أحتمال ($P<0.05$) في نسبة الرطوبة للطحلب بين الوسطين M1 وM2 في حين أظهرت فروقا معنوية في نسبة الرطوبة مع الوسطين M3 وZM، إذ كانت أعلى نسبة رطوبة للطحلب في وسط ZM إذ بلغت 9.75% أما أقل نسبة فكانت للوسط M3 إذ بلغت 6.5%، وقد يرجع سبب ارتفاع نسبة الرطوبة في الطحالب النامية في وسط ZM الى انخفاض قيم الدهن والرماد والكاربوهيدرات فيه مقارنة ببقية الأوساط ولوجود تناسب عكسي بين الرطوبة وبقية المكونات. وتبين من الجدول نفسه وجود فروق معنوية عند مستوى أحتمال ($P<0.05$) في نسبة البروتين والدهن والرماد والكربوهيدرات في الطحلب المزروع في أوساط مختلفة، إذ كان أعلى نسبة للبروتين في الوسط القياسي ZM إذ بلغ 58.8 % وهو مقارب للوسط M2 أذ كان 58.33 % في حين كان أقل نسبة للوسطM1 إذ بلغ 52.125% . في حين كان أعلى متوسط لنسبة الدهن للطحلب النامي في الوسط M1 إذ بلغ 11.05% في حين أقل نسبة كانت للوسط ZM إذ بلغ 7.03%. كما أن أعلى قيمة لمتوسط نسبة الرماد للوسط M3 إذ بلغ 7.86% أما أقل نسبة فكانت للوسط ZM إذ كانت 6.22%. في حين كان متوسط نسبة الكاربوهيدرات أعلى في الوسط M3 إذ بلغ 25.94% أما أقل قيمة فهي للوسط ZM إذ كانت 18.20%. وتوافقت النتائج مع Lemes *et al.*(2012) الذين بينوا أن استبدال نترات البوتاسيوم KNO_3 باليوريا مصدرا للنتروجين قلل من كلفة زراعة طحالب السبيرولينا كما رفع نسبة البروتينات والدهون من 40.60% و 10% الى 49.07% و10.77% على التوالي، في حين أنخفض نسبة الرطوبة والرماد من 5.72% و 5.40% الى 5.49% و 4.96% على التوالي. وتبين من النتائج أن وجود اختلافات في نسبة البروتين والكربوهيدرات والدهون قد يكون ناتج عن نوع مصدر النتروجين المضاف وتركيزه وأن أوساط الكلفة المنخفضة المحضرة والمضاف إليها اليوريا وسماد NPK كمصدر للنيتروجين مقاربة للوسط القياسي ZM في معدل نمو السبيرولينا من حيث الكتلة الحيوية الجافة والتركيب الكيميائي إذ كان نسبة الدهن والرماد والكاربوهيدرات أعلى في الأوساط منخفضة الكلفة مقارنة مع الوسط القياسي كما تشير هذه النتائج إلى أهمية اختيار مصدر وتركيز النيتروجين في مزارع طحالب السبيرولينا لأنه قد يؤدي إلى تعديل النشاط الأيضي ومن ثم تكوينه وقيمته الغذائية.

لوحظ من النتائج ارتفاع نسبة الدهون والكربوهيدرات في السبيرولينا النامية في وسط M1 وM3 وقد يعود ذلك الى أحتواءها على اليوريا مصدرا للنتروجين في حين أرتفع نسبة البروتين في الطحالب النامية في وسط M2 مع انخفاض نسبة الدهون والكربوهيدرات مقارنة مع الوسطين الأوليين أعلاه ، وتوافقت النتائج مع Madkour *et al.*(2012) إذ درسوا أستبدال المصدر النتروجيني (نترات الصوديوم) باليوريا في الوسط القياسي ZM لأنتاج وسط منخفض الكلفة وتأثيره على التركيب الكيميائي لطحلب السبيرولينا ووجد أن نسبة البروتين والكربوهيدرات والدهون في الطحالب المزروعة في وسط ZM القياسي كانت 52.95% و 13.20% و 7.16% على التوالي وعند الأستبدال أنخفض نسبة البروتين وتراوح بين (37.79-47.10)%، في حين ارتفعت نسبة الكاربوهيدرات بين (16.01 – 24.50) % كما ارتفع نسبة الدهون بين (5.64 – 15.39)%. كما قد تؤثر درجة الحرارة على التركيب الكيميائي للطحلب وهذا ما بينه Mogale, (2016) أن درجة الحرارة فوق الحد الأمثل تقلل معدلات النمو وتخليق البروتين إذ تؤثر درجة الحرارة 35مº سلباً على إنتاج الكتلة الحيوية في حين ترفع نسبة الدهون والكربوهيدرات.

مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2023 ، 11 (3) : 193 – 210 .
Journal of Modern and Heritage Science
http://www.mshj.eu
Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

الجدول (7): التركيب الكيميائي للطحالب المزروعة في الأوساط الزرعية المحضرة في المختبر (المعدل ± الأنحراف القياسي).

الوسط الزرعي	التركيب الكيميائي للطحالب (%)				
	الرطوبة %	البروتين %	الدهن %	الرماد%	الكاربوهيدرات %
ZM	9.75±0.01 A	58.8±0.1 A	7.03±0.01 D	6.22±0.0 D	18.20±0.01 D
M1	8.95±0.01 B	52.125±0.001 d	11.05±0.01 a	7.34±0.01 b	20.535±0.001 B
M2	8.97±0.01 B	58.33±0.01 B	7.16±0.01 C	7.05±0.01 c	18.49±0.01 C
M3	6.5±0.1 C	52.5±0.1 C	7.20±0.01 B	7.86±0.0 A	25.94±0.01 A
L.S.D.	0.0955	0.1335	0.01883	0.01883	0.01633

الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية بين الاوساط عند مستوى معنوية ($p<0.05$)

وبين Delrue *et al.*, (2017) أنه يمكن للأوسائط منخفضة الكلفة أن تكون فعالة مثل ZM من حيث تركيز الكتلة الحيوية النهائية و نسبة البروتين. كما لوحظ ارتفاع نسبة الكاربوهيدرات وأنخفاض البروتين في وسط M1 وM3 مقارنة مع الوسط ZM القياسي، وتوافقت هذه النتائج مع Michael *et al.*(2019)، إذ لاحظ ارتفاع الكاربوهيدرات الى 15.29% وانخفاض البروتين الى 52.85% للوسط منخفض الكلفةLCMA مقارنة مع وسط Zarrouk's إذ كانت 13.62% و 65% على التوالي ويعود أختلاف نسبة البروتين بين الوسطين بسبب أختلاف محتوى الوسطين من النتروجين إذ يحتوي وسط Zarrouk's على 2.5 غم/لتر من نترات الصوديوم في حين وسط LCMA يحتوي 0.5 غم/لتر من سماد NPK10-20-20.

الاستنتاجات

نستنتج من النتائج أمكانية زراعة طحلب السبيرولينا مختبريا بأستعمال أوساط زرعية منخفضة الكلفة والحصول على إنتاجية جيدة وبكلفة واطئة ، كان الوسط منخفض الكلفة M3 أفضل الأوساط الزرعية المحلية إنتاجية للسبيرولينا مقارنة ببقية الأوساط المحلية الأخرى ، ونوصي أستعمال أوساط زرعية محلية أخرى في تنمية السبيرولينا وتدعيم وسط M3 المستعمل في هذه الدراسة للحصول على إنتاجية أعلى ، وتشجيع زراعة طحلب السبيرولينا داخل العراق في أحواض مفتوحة للحصول على كتلة حيوية كبيرة ، وإدخال طحلب السبيرولينا في العديد من المنتجات الغذائية لما لها من فوائد صحية وتغذوية كبيرة واستعمال تراكيز مختلفة منها.

المصادر

1: المصادر العربية

منور، أنتصار قاسم (2018). دراسة تأثير المستخلص الايثانولي لطحلب*Spirulina platensis* على تراكيز الدهون وبعض المعايير الفسيولوجية في ذكور الارانب المختبرية المستحثة بفرط الكوليسترول. ***رسالة ماجستير***، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة البصرة، 138 ص.

2: المصادر الأجنبية

Abd El-Monem, A. M.; Gharieb, M. M.; Hussian, A. E. M. and Doman, K. M. (2018). Effect of pH on phytochemical and antibacterial activities of *Spirulina platensis*. International Journal of Applied Environmental Sciences, 13(4): 339-351.

Abdel-Moneim, A. M. E.; El-Saadony, M. T.; Shehata, A. M.; Saad, A. M.; Aldhumri, S. A.; Ouda, S. M. and Mesalam, N. M. (2022). Antioxidant and antimicrobial activities of Spirulina platensis extracts and biogenic selenium nanoparticles against selected pathogenic bacteria and fungi. Saudi Journal of Biological Sciences. 29(2):1197-1209.

Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

Ahsan, M.; Habib, B.; Parvin, M.; Huntington, T. C. and Hasan, M. R. (2008). A review on culture, production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals. : FAO , Rome ,Italy.

AlFadhly, N. K., Alhelfi, N., Altemimi, A. B., Verma, D. K., Cacciola, F., & Narayanankutty, A. (2022). Trends and technological advancements in the possible food applications of Spirulina and their health benefits: A Review. Molecules, 27(17), 5584.

Anonymous (2018). Report U.S. dairy export council, A new era for protein: why U.S. dairy delivers in the crowded protein market place,16 p.

AOAC: Association of Official Analytical Chemists (2002). Official methods of analysis. 15th ed., Washington, DC, USA.

AOAC: Association of Official Analytical Chemists (2005). Official methods of analysis of AOAC international. Horwitz, W. and Latimer, G. W. (eds.), Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, 18th ed.,USA.

Danesi, E. D. G.; Rangel-Yagui, C. O.; Sato, S. and Carvalho, J. C. M. D. (2011).Growth and content of *Spirulina platensis* biomass chlorophyll cultivated at different values of light intensity and temperature using different nitrogen sources. Brazilian Journal of Microbiology, 42(1):362-373.

Danesi, E.; Navacchi, M.; Takeuchi, K.; Frata, M.; Carlos, J. and Carvalho, M. (2010). Application of *Spirulina platensis* in protein enrichment of manico based bakery products. Journal of Biotechnology, 150: 311.

Delrue, F.; Alaux, E.; Moudjaoui, L; Gaignard, C.; Fleury, G.; Perilhou, A.; Richaud, P.; Petitjean, M. and Sassi, J. F. (2017). Optimization of *Arthrospira platensis* (Spirulina) growth: From laboratory scale to pilot scale. Fermentation, 3(4): 59.

Dianursanti, Prakasa, M. B. and Nugroho, P. (2020). The effect of adding microalgae extract *Spirulina platensis* containing flavonoid in the formation of Sunscreen towards cream stability and SPF values. AIP Conference Proceedings, AIP Publishing LLC, 2255(1):040022 p.

Ensikat, H.J.; Ditsche- Kuru,P. and Barthlott, W.(2010).Scanning electron microscopy of plant surfaces: Simple but sophisticated method for preparation and examination. In: Microscopy: Science, Technology, Applications and Education, Mendez-Vliess,A. and Diaz, J.(Eds.), Formatex Research Center, Badajoz, Spain, pp:248-255.

Falquet, J. and Hurni, J. P. (1997). The nutritional aspects of Spirulina. Antenna Foundation. https://www. antenna. ch/wp-content/uploads /2017/03/ AspectNut UK.

GenStat (2009). GenStat Release 12.1 Genstat Twelfth Edition. GenStat Library Release PL20.1 , VSN International Ltd. UK.

Gheda, S. F.; Abo-Shady, A. M.; Abdel-Karim, O. H. and Ismail, G. A. (2021). Antioxidant and antihyperglycemic activity of *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) methanolic extract: In vitro and in vivo study. Egyptian Journal of Botany, 61(1): 71-93.

Grahl, S.; Strack, M. ; Weinrich, R. and Mörlein, D. (2018). Consumer-Oriented product development: The conceptualization of novel food products based on spirulina (*Arthrospira platensis*) and resulting consumer expectations. Journal of Food Quality, 1-11.

Gutiérrez-Salmeán, G.; Fabila-Castillo, L. and Chamorro-Cevallos, G. (2015). Nutritional and toxicological aspects of Spirulina (Arthrospira), Revisión. Nutricion Hospitalaria , 32(1):34-40.

Heinsoo, D. (2014). Cultivation of Spirulina on conventional and urine based medium in a household scale system., MSc. Thesis, KTH School of Biotechnology, 46p.

Henrikson, R. (2009). A nutrient rich super food for super health, chapter :2. In: Earth Food Spirulina; Enterprises, R.(ed.) , Ronore Enterprises, Inc., Hana, Maui, Hawaii; 175 pp.

Jung, F.; Krüger-Genge, A.; Waldeck, P. and Küpper, J. H. (2019). *Spirulina platensis*, a super food. Journal of Cellular Biotechnology, 5(1):43-54.

Layam, A.; Lekha, C. and Reddy, K. (2006). Antidiabetic property of Spirulina. Diabetologia Croatica, 35: 29-33.

Madkour, F. F.; Kamil, A. E. and Nasr, H. S. (2012). Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. The Egyptian Journal of Aquatic Research, 38(1): 51–57.

Mei, L. D. and Zao, Q. Y. (1997). Spirulina industry in china: Present status and future prospects. Journal of the International Society for Applied Phycology, 9: 25-8.

Michael, A.; Kyewalyanga, M. S. and Lugomela, C. V. (2019). Biomass and nutritive value of Spirulina (*Arthrospira fusiformis*) cultivated in a cost-effective medium. Annals of Microbiology, 69(13): 1387-1395.

Michael, A.; Kyewalyanga, M.S.; Mtolera, M. S. and Lugomela, C.V. (2018). Antioxidants activity of the cyanobacterium, Arthrospira (Spirulina) fusiformis cultivated in a low-cost medium. African Journal of Food Science. 12(8): 188-195.

Mikryukov, A.; Sablin, V.; Martseva, D.; Tarasova, N.; Travkin, V. and Solyanikova, I. (2021). Spirulina: Growth in continuous and batch bioreactors and response to stress conditions. In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 705(1):012001p. IOP Publishing.

Mishra, S. K.; Shrivastav, A. and Mishra, S. (2008). Effect of preservatives for food grade C-PC from *Spirulina platensis*. Process Biochemistry, 43(4): 339-345.

Mogale, M. (2016). Identification and quantification of bacteria associated with cultivated Spirulina and impact of physiological factors. MSc. Thesis, University of Cape Town ,164 p.

Moreira, S. L. (2009). Reactor design for a family production of Spirulina spp. and parameters determination for a Spirulina spp. culture. MSc. Thesis , Department of Chemical Engineering . 65 p.

Nero, L. A.; Beloti, V.; Barros, M. D. A. F.; Ortolani, M. B. T.; Tamanini, R. and Franco, B.D.G.D.M. (2006). Comparison of petrifilm aerobic count plates and de man–rogosa–sharpe agar for enumeration of lactic acid bacteria. Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology, 14: 249-257.

Pagnussatt, F. A.; Spier, F.; Bertolin, T. E.; Costa, J. A.V. and Gutkosk, L. C. (2014). Technological and nutritional assessment of dry pasta with oatmeal and the microalga *Spirulina platensis*. Brazilian Journal of Food Technology (BJFT).17 (4) : 296-304.

Palanisamy, K. M.; Paramasivam, P.; Jayakumar, S.; Maniam, G. P.; Rahim, M. H. A. and Govindan, N. (2021). Economical cultivation system of microalgae *Spirulina platensis* for lipid production. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science , IOP Publishing 641(1): 012022 p.

Patel, A.; Mishra, S.; Pawar, R. and Ghosh, P. K. (2005). Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. Protein Expression and Purification, 40(2): 248-255.

Online ISSN: 2001-6611
Print ISSN: 2001-662X

Ranjith, L.; Shukla, S. P.; Vennila, A. and Purushothaman, C. S. (2013). Growth performance of Spirulina (Arthrospira) platensis in a low cost medium: An assessment. Acta Biologica Indica. 2(1): 335-342.

Saddozai, A. A.; Raza, S. and Saleem, S. A. (2012). Microbial count and shelf life of strawberry juice. Pakistan Journal of Agricultural Research. 25(3):218-223.

Saeid, A. and Chojnacka, K. (2016). Evaluation of growth yield of Spirulina maxima in photo bioreactors. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly. 30(1): 127-136.

Salunke, K. J.; Magar, S. A.; Joshi, R. R. and Wadikar, M. S. (2016). Comparative study on the growth of *Spirulina platensis* on different culture media. Bioscience Discovery. 7(1): 90-92.

Seyidoglu, N.; Inan, S. and Aydin, C. (2017). A prominent super food: *Spirulina platensis*. Superfood and functional food the development of super foods and their roles as medicine. (Chapter1), 22:1-27.

Serra, A. and Costa, L. (2015). Process and product control in an industrial scale microalgae production plant. Conference Proceedings, Tecnico Lisboa, 11p.

Seyidoglu, N.; Inan, S. and Aydin, C. (2017). A prominent super food: Spirulina platensis. Superfood and functional food the development of super foods and their roles as medicine. (Chapter1), 22:1-27.

Silva, M.D.L.C.; Speridião, P.D.G.L.; Marciano, R.; Amâncio, O.M.S.; Morais, T.B.D. and Morais, M.B.D. (2015). Effects of soy beverage and soy-based formula on growth, weight, and fecal moisture: Experimental study in rats. Journal de Pediatria. 91: 306-312.

Sharoba, A. M. (2014). Nutritional value of Spirulina and its use in the preparation of some complementary baby food formulas. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies. 20(4): 330-350.

Soni, R.A.; Sudhakar, K. and Rana, R.S. (2017). Spirulina-From growth to nutritional product: A review. Trends in Food Science and Technology. 69 :157-171.

Sousa, G. B.; Tamagnini, L. M.; González, R. D. and Budde, C.E. (2005). Evaluation of petrifilm™ method for enumerating aerobic bacteria in Crottin goat's cheese. Revista Argentina de Microbiología.37:214-216.

Usharani,G.; Saranraj, P. and Kanchana, D. (2012). Spirulina Cultivation: A review. International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives. 3(6): 1327-1341.

Vakarelova, M. (2017). Microencapsulation of bioactive molecules from *Spirulina platensis* and *Haematococcus pluvialis*. Ph.D. Dissertation, University of Verona. 119 p.

Vonshak, A. (1997). Spirulina: Growth, physiology and biochemistry. In: *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell biology and Biotechnology. London: Taylor and Francis Ltd, pp:43-65.

Wells, M. L.; Potin, P.; Craigie, J. S.; Raven, J. A.; Merchant, S. S.; Helliwell, K. E.; Smith, A. G.; Camire, M. E. and Brawley, S. H. (2017). Algae as nutritional and functional food sources: Revisiting our understanding. Journal of Applied Phycology. 29(2): 949-982.