Nova Biologica Reperta 5 (1): 13-25 (2018)
یافته‌های نوین در علوم زیستی، جلد ۵، شمارهٔ ۱: ۲۵-۱۳

طراحی فتوبیوراکتور جدید مهندسی جهت بهینه‌سازی مقدار بیومس تولیدی در ریزجلبک اسپیرولینا

ساسان قبادیان[۱]، حسین گنجی دوست[۱*]، بیتا آیتی[۱] و ندا سلطانی[۲]

دریافت: ۱۳۹۵/۶/۱۶/ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۲۲/ چاپ: ۱۳۹۷/۳/۲۰

[۱]گروه مهندسی محیط‌زیست، دانشکدهٔ مهندسی عمران و محیط زیست، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
[۲]گروه میکروبیولوژی نفت، پژوهشکدهٔ علوم پایهٔ کاربردی جهاددانشگاهی، تهران، ایران
*مسئول مکاتبات: h-ganji@modares.ac.ir

چکیده. خواص ویژه و کاربری‌های گوناگون گونهٔ ریزجلبکی اسپیرولینا به تمرکز روزافزون حوزه‌های مختلف بیوتکنولوژی به کشت تجاری این گونه و روش‌های کاهش هزینهٔ آن منجر شده است، اما کشت باز، که در اغلب کشت‌های تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرد، مشکلات و نواقصی نظیر خطر آلودگی، نفوذنکردن نور به عمق، اختلاط ناکارآمد و پایین بودن بهره‌وری دارد. در این پژوهش با طراحی و ساخت یک فتوبیوراکتور جدید و بهره‌گیری از ناحیهٔ کنترلی، سیستم آسانسوری جایگزین پمپاژ (برای کاهش آسیب به سلول‌های شکننده) و ملاحظات ساختاری بافل‌ها و هوادهی (برای اختلاط بهتر)، اقداماتی در جهت رفع مشکلات مذبور انجام شد و تأثیر سه فاکتور حجم ناحیهٔ کنترلی (٪)، سیکل اختلاط (hr) و شدت تابش (Lux) بر خواص کمی وزن خشک (g/l) و میزان رشد مخصوص (day^{-1}) ریزجلبک اسپیرولینا با روش پاسخ سطح-طراحی مرکزی بررسی شد. بیشترین میزان وزن خشک بیومس (۰/۹۱۵ g/l) در بیشترین سیکل اختلاط (۱۲ ساعت)، حجم کنترلی ۳۰درصد و شدت تابش ۷۰۰۰ لوکس ایجاد شد. و میزان بهینه تابش برای دست‌یابی به بیشترین بیومس برابر ۸۷۰۰ لوکس بود. براساس این نتایج و به سبب تاثیر زیاد فاکتورهای سیکل اختلاط و حجم ناحیه کنترلی، می‌توان با کنترل حجم محدودی (فقط ۲۰درصد) از برکه‌های باز، ضمن رعایت ملاحظات اقتصادی، به افزایش بهره‌وری و ارتقای کشت دست یافت و جهت افزایش بهره‌وری کل، از یک ناحیه کنترلی برای تعدادی از برکه‌های باز بهره‌برد.

واژه‌های کلیدی. بیوتکنولوژی، بیوراکتور، روش سطح پاسخ، کشت اسپیرولینا، نرخ رشد ویژه

The innovative engineered photobioreactor to optimize the amount of microalgae *Spirulina* biomass

Sasan Ghobadian[1], Hossein Ganjidoust[1*], Bita Ayati[1] & Neda Soltani[2]

Received 06.09.2016/ Accepted 13.09.2017/ Published 10.06.2018

[1]Department of Environmental Engineering, Civil and Environmental Engineering Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[2]Department of Petroleum Microbiology, Research Institute of Applied Science, ACECR, Tehran, Iran
*Correspondent author: h-ganji@modares.ac.ir

Abstract. Special properties and various applications of *Spirulina* species have led to the growing focus of biotechnology to cost-effective cultivation. Open ponds used in the most commercial purposes have many disadvantages such as risk of contamination, lack of light penetration, inefficient mixing and low productivity. In this study, an innovative reactor was designed and manufactured. In order to control some environmental conditions for a limited amount of an open pond volume, a controllable area was utilized. The conventional pumping system was replaced by a new elevator system to reduce the possible damages to the fragile cells. The considerations in the structure of baffles and aeration contributed to a better mixing system. The effect of factors including Circulation Cycle (Cir. Cyc.), Control Volume (Con.Vol.) and Irradiance Intensity (Irr. Int.) in units of hours, percentage and lux, respectively, on the quantity of biomass (Specific Growth Rate (SGR, day^{-1}) and fifth and seventh day dry weight (g/L)) were evaluated using RSM-CCD. The maximum biomass dry weight (0.915 g/L) was achieved in longest circulation cycle (12 hours). The optimal irradiance intensity to achieve the highest biomass was 8700 Lux. According to the results, it is possible to increase the productivity and enhance the culture dry weight by controlling a limited amount of ponds volume (i.e. 20%), considering the economic demands. The results obtained can provide the context for the improvement of the overall efficiency.

Keywords. biotechnology, bioreactor, RSM-CCD, specific growth rate, *Spirulina* cultivation

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]

مقدمه

کاربری‌های گوناگون انواع ریزجلبک‌ها در بسیاری از صنایع غذایی، دارویی، آرایشی، بهداشتی، نظامی و غیره در کنار قابلیت‌ها و خواص ذاتی آنها، دلیل توجه روزافزون به کشت این جانداران است. این خواص ذاتی شامل تکثیر سریع، انباشت فراوان چربی، مصرف کم آب، امکان رشد در زمین‌های غیرزراعی، تحمل محیط‌های زیستی متغیر، مشارکت در تصفیهٔ فاضلاب و قابلیت تثبیت CO_2 از طریق فتوسنتز است (Chisti, 2007; Chisti, 2008; Hu *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2012a; Zhou *et al.*, 2012b). تولید جلبک‌ها دارای پیامدهای مختلف زیست‌محیطی است که مطالعات متعدد چرخهٔ عمر فرایند نشان می‌دهند که این پیامدها به‌شدت با آب، انرژی و مواد مغذی مصرفی ارتباط دارند (Clarens *et al.*, 2010; Brentner *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2011).

گسترهٔ وسیع ویژگی‌های محیطی تحمل‌پذیر سبب تنوع گونه‌ها و یکنواخت‌نبودن ترکیب شیمیایی (Raquel, 2016) و امکان تنظیم این ترکیب با تغییر شرایط رشد (Giordano, 2015) می‌شود. اما در بین انواع گونه‌ها که بسیاری از پژوهش‌ها بر آن تمرکز کرده‌اند، گونهٔ اسپیرولینا جایگاه ویژه‌ای دارد. قدمت کاربری غذایی آن از قرن‌ها پیش (Ciferri, 1983) به‌سبب سطوح بالای پروتئین، ویتامین، مواد معدنی و اسیدهای چرب چندگانهٔ غیراشباع (Li *et al.*, 2003) تا کاربردهای جدیدی نظیر استفاده در پیل سوختی میکروبی فتوسنتزی (Lin *et al.*, 2013) و تولید بیومتان (Parimi *et al.*, 2015) در کنار کاربری‌های موفق در تصفیهٔ پساب (Wuang *et al.*, 2016; 2015; Rose & Dunn, 2013; Jiang *et al.*,) و تثبیت CO_2 (Moraes *et al.*, 2016; de Morais *et al.*, 2007)، دلیل این جایگاه است و آن‌را به گزینهٔ مناسبی برای فیکورمیداسیون بدل کرده است. روش‌های مختلفی برای کشت انواع گونه‌های ریزجلبکی مرسوم است که در سه گروه کلی اتوتروف، هتروتروف و میکسوتروف جای می‌گیرند. کشت اتوتروف که به نور و مادهٔ معدنی متکی است، به دو صورت برکه‌های باز و فتوبیوراکتورها انجام می‌شود. در حال حاضر، اغلب، برکه‌های باز در مقیاس تجاری استفاده می‌شوند، اما نفوذ نکردن نور و بازدهی کم (Chisti, 2007) در کنار برخی مشکلات نظیر احتمال آلودگی با گونه‌های نامطلوب جلبکی و پروتوزوآ (Pulz & Scheibenbogen, 1998) از چالش‌های اساسی و مسبب اقتصادی‌نبودن این روش است. درمجموع، ارزانی، نظافت آسان، سهولت تعمیرات و نگهداری، انرژی ورودی اندک و استفاده از زمین‌های غیرکشاورزی از مزایا و بهره‌وری کم بیومس، نیاز به زمین‌های وسیع، محدودیت به گونه‌های خاص، اختلاط ناکارآمد و کاهش دسترسی CO_2، آلودگی محیط کشت و هدررفت تبخیر از معایب این برکه‌ها است (Brennan & Owende, 2004).

با توجه به تأثیر زیاد اندرکنش فاکتورها نظیر فاکتورهای سیکل هوادهی و رقت محیط کشت (Ghobadian *et al.*, 2015 & 2016) و نیز ایدهٔ کشت‌های چندمرحله‌ای برگرفته از اهمیت این اندرکنش‌ها (Imai *et al.*, 1994; Ben-Amotz, 1995; Lynch & Bushell, 1995) در این پژوهش امکان بهره‌برداری از اندرکنش فاکتورها در کشت‌های مرحله‌ای اسپیرولینا هدف قرار گرفت و با توجه به کاربری‌های اشاره‌شده و تلاش برای افزایش بهره‌وری و کاهش هزینه‌ها، با طراحی یک فتوبیوراکتور نوآورانه جهت غلبه بر برخی مشکلات مرسوم در کشت‌های باز ریزجلبکی، به کشت تلفیقی گونهٔ ریزجلبکی اسپیرولینا پرداخته شد. تأثیر این فاکتورها بر خواص کیفی و به‌ویژه رنگ‌دانه‌ها در پژوهشی دیگر ارزیابی شده است (Ghobadian *et al.*, 2017). با بهره‌گیری از روش پاسخ سطح- طراحی نقاط مرکزی (RSM-CCD: Response Surface Methodology-Central Composite Design)، اثر سه فاکتور مرتبط با ساختار راکتور شامل سیکل اختلاط، حجم ناحیهٔ کنترلی و شدت تابش بر رشد کمی این گونه بررسی شد.

مواد و روش‌ها

گونهٔ ریزجلبکی و محیط کشت ذخیرهٔ جلبکی

پس‌از خالص‌سازی کلنی‌های ریزجلبک اسپیرولینا بر پلیت‌های محیط کشت BG جامد، انتقال آنها به فاز مایع در محیط زاروک انجام شد. جهت تامین ذخیرهٔ جلبکی با ویژگی‌های ثابت، از یک فتوبیوراکتور استوانه‌ای با قطر ۳۵ سانتیمترو ارتفاع ۷۰ سانتیمتر و مجهز به سیستم همزن از بالا، ترموستات و المنت تنظیم دما، هوادهی از کف (HAILEA-۹۶۲۰ با توان ۱۴ L/min) و سه پنل LED قابل تنظیم استفاده شد. تابش ۲۰۰۰ لوکس و هوادهی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]

به‌صورت ۱۲ ساعت از ۲۴ ساعت انجام می‌شد. در هر بار تلقیح، دو لیتر جلبک (با تنظیم وزن خشک بیومس از طریق قرائت چگالی نوری) از این فتوبیوراکتور برداشت و به‌جای آن دو لیتر محیط کشت زاروک اضافه می‌شد تا ویژگی‌های سنی پایداری برای مایع تلقیحی همهٔ تیمارها ایجاد شود. برکه باز تحت تابش ۴۵۰۰ لوکس و با سیکل روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ قرار داشت و محیط کشت زاروک با رقت ۸۰ درصد جهت انجام کشت مورد استفاده قرار گرفت. کل سیستم در تمام مدت کشت در دمای اتاق (۲۶±۲ ^{o}C) قرار داشت.

ساختار و طراحی پایلوت

پایلوت در این پژوهش از یک مخزن مکعب‌مستطیل روباز با ابعاد داخلی ۲۰*۲۵*۱۰۰ سانتیمتر (به ترتیب طول، ارتفاع و عرض) از جنس شیشه به ضخامت ۸ میلیمتر (که از این پس برکه باز نامیده می‌شود) و یک مخزن مکعب مستطیل با ابعاد داخلی ۳۵*۷۰*۳۵ سانتیمتر (به ترتیب طول، ارتفاع و عرض) از جنس شیشه در داخل محفظهٔ نگهدارندهٔ متناظر (که از این پس ناحیهٔ کنترلی نامیده می‌شود) تشکیل شده است. شدت تابش لامپ‌های LED جانبی ناحیهٔ کنترلی متصل به منبع تغذیه توسط تنظیم شدت جریان عبوری از آنها قابل کنترل بود. دریچهٔ انتهایی برکه به شیربرقی مجهز بود. شکل ۱، نمایی از پایلوت به‌کاررفته را نشان می‌دهد. در طراحی این راکتور جدید سه جنبه برای غلبه بر سه مشکل مرسوم در سیستم‌های کشت ریزجلبکی مد نظر قرار گرفت که در ادامه به آنها اشاره می‌شود.

ارتقای بهره‌وری به‌واسطهٔ ایجاد ناحیهٔ کنترلی

بهره‌وری کم کشت‌های باز در مقابل فتوبیوراکتورها (Chisti, 2007) به‌واسطهٔ ممکن‌نبودن کنترل بر وضعیت رشد یکی از مشکلات مرسوم برکه‌های باز است. مشکلاتی نظیر حمله گونه‌های مهاجم و احتمال آلودگی (Pulz & Scheibenbogen, 1998)، تغییر دمایی، تابش و نظایر آن مثال‌هایی از این مشکلات است. اما کنترل تمام ویژگی‌های محیطی در حجم وسیعی از برکه غیراقتصادی و در عمل ناممکن است و در صورت وقوع نیز درواقع آن را به کشت بسته و فتوبیوراکتوری بزرگ مقیاس بدل خواهد کرد که از مزایای کشت باز بهره‌ای ندارد. در این پایلوت سعی شد تا امکان کنترل عواملی نظیر دما، شدت تابش و هوادهی، سیکل تابش و هوادهی در درصد کمی از حجم کلی برکه فراهم شود.

در پژوهش جاری، میزان این حجم کنترلی بررسی شد و از بین عوامل قابل‌کنترل نیز، فاکتور شدت تابش در حجم کنترلی ارزیابی شد تا ضمن توجه به صرفهٔ اقتصادی فرآیند، با تنظیم میزان سیکل اختلاط بین برکه و ناحیهٔ کنترلی، تأثیر این ناحیهٔ در ارتقای بهره‌وری کمی و کیفی کشت‌باز بررسی شود. نتایج موفق پژوهش می‌تواند زمینهٔ بهره‌گیری از یک ناحیهٔ کنترلی برای چند برکه باز را فراهم کند تا با ارتقای بهره‌وری و کاهش هزینه‌ها، قابلیت رقابت اقتصادی کشت با هر کاربری فراهم شود.

ارتقای بهره‌وری به‌واسطهٔ سیستم جدید آسانسوری

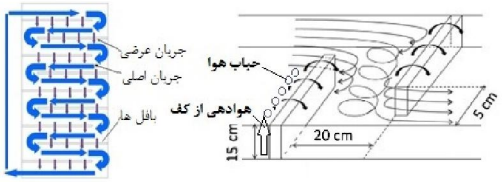
شکنندگی سلول‌ها و آسیب ناشی از انواع سیستم‌های پمپاژ یکی دیگر از مشکلات مرسوم فرآیندهای کشت است. در آزمایش‌های که در آنها برای ایجاد ارتباط بین برکه باز و ناحیهٔ کنترلی، از سیستم‌های پمپاژ توسط پمپ‌های مستغرق و پریستالتیک استفاده شد، آسیب شدید به سلول‌ها و کاهش شدید بهره‌وری بیومس مشاهده شد. در مورد پمپ مستغرق برخورد مستقیم سلول‌ها به پروانهٔ در حال چرخش دلیل این آسیب است. اما در پمپ پریستالتیک همین آسیب به‌سبب برخورد غیرمستقیم سلول‌ها از داخل شلنگ به پروانهٔ در حال گردش رخ می‌دهد (Ravelonandro *et al.*, 2011). همین مطلب در مطالعات انجام‌شده بر روی سلول‌های اسپیرولینا اشاره شده که با بررسی شرایط هم‌زدن، به سبب همین آسیب پیشنهاد استفاده نکردن از هم‌زدن و پمپاژ را برای ارتقای بهره‌وری داده‌اند.

اما در محیط کشت باز اتوتروف، نمی‌توان از تأثیر اختلاط و گردش بر دریافت پربهره‌تر نور به‌وسیلهٔ سلول‌ها صرف‌نظر کرد. یک اختلاط مناسب برای دست‌یابی به سیکل بهینهٔ روشنایی-تاریکی (Chisti, 2007) کاهش اشباع و بازدارندگی نوری (Tredici, 2010; Grima *et al.*, 1996) و جلوگیری از ته‌نشینی جلبک‌ها (Flickinger & Drew, 1999) ضروری است. ازاین‌رو، در این پایلوت با بهره‌گیری از موتور بالابر، از سیستم اتومات آسانسوری منحصربه‌فرد برای تغییر هد جهت ایجاد اختلاط برکه و ناحیهٔ کنترلی استفاده شد که با اتصال به تایمر دیجیتال، در زمان‌های مشخص با بالا و پایین‌آوردن ناحیهٔ کنترلی، به‌ترتیب سبب افزایش یا کاهش هد آن نسبت به هد برکه می‌شود و امکان ورود جریان از ناحیهٔ کنترلی به برکه و برعکس را بدون



شکل ۱- شمایی از پایلوت طراحی شده.

Fig. 1. Pictures of designed pilot.



شکل ۲- جریان‌های عرضی و اختلاط بهتر ناشی از نصب مورب بافل‌ها و سیستم هوادهی از کف.

Fig. 2. Cross flows and better mixing due to diagonal baffles and aeration system from bottom.

آسیب به سلول‌ها فراهم می‌کند.

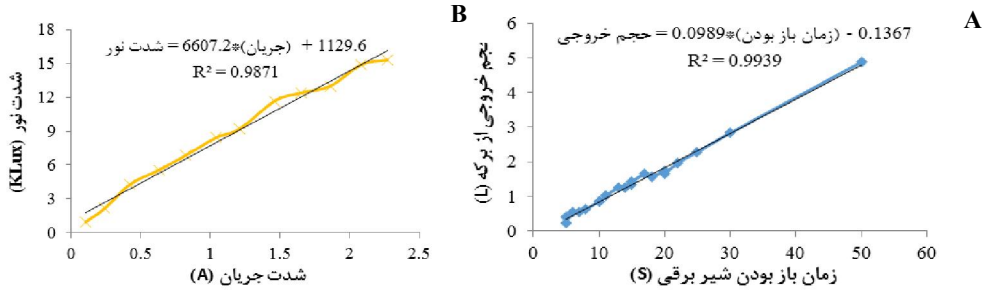
ارتقای بهره‌وری به‌واسطهٔ بافل‌ها و اختلاط

بهره‌وری کم فتوسنتزی به‌سبب نرسیدن نور به عمق‌های پایین‌تر به‌ویژه در زمان ایجاد بیومس‌های بزرگ و ممانعت آنها از ورود نور، که به کاهش بهره‌وری تولید بیومس منجر می‌شود، سومین مشکل مرسوم در کشت‌های باز ریزجلبکی است. عدم اختلاط عمودی مناسب و تمایل جلبک‌ها به ته‌نشینی به‌ویژه در قسمت‌های مستقیم (غیرخمیده) برکه‌های باز در مطالعات مدل-سازی (Prussi *et al.*, 2014) بررسی شده است. برای کاهش این مشکل با استفاده از بافل‌های متحرک (تغییر مکان طولی روی دیواره و چرخش تغییر زاویهٔ قرارگیری در کف برکه) با ایجاد بازشوهای ۵ سانتی‌متر، امکان اختلاط بیشتر به سبب گردش مارپیچی جریان و نیز سرریز شدن از روی بافل‌ها و جریان‌های عرضی ناشی از آن فراهم شد. قرارگیری منافذ هوادهی در زیر این بافل‌ها نیز به ایجاد این جریان‌های عرضی، سرریز عمودی و اختلاط منتج از آن کمک می‌کند. در شکل ۲ شماتیک سازوکار اثرگذاری این جزئیات ارائه شده است. این بافل‌ها قابلیت تغییر زاویه، شیب و محل قرارگیری طولی روی دیوار برکه باز را داشتند که در این پژوهش حالت عمودی و محل ثابت آنها به کار گرفته شد تا شرایط رژیم جریان و میزان اختلاط ناشی از آن در کل تیمارها ثابت باشد.

فاکتورها، چگونگی کنترل و بازهٔ تغییرات

با توجه به ساختار پایلوت، در این پژوهش تأثیر سه فاکتور تحت بررسی قرار گرفت. فاکتور اول حجم ناحیهٔ کنترلی (Cont. Vol.) با دامنهٔ تغییرات ۱۰ تا ۵۰ درصد از حجم کل برکه بود. زمان و مدت بازشدن شیربرقی انتهای برکه باز از طریق تایمر دیجیتال قابل برنامه‌ریزی شرکت فانوس (مدل PTS-DWM) تنظیم و در نتیجه میزان دبی خروجی آن کنترل می‌شد (**شکل ۳**A) که برابر درصدی از حجم برکه بود که در هر تیمار مشخص می شد. فاکتور دوم سیکل اختلاط (Circ. Cyc.) در محدودهٔ ۲ تا ۱۲ ساعت بود؛ فرمان اتصال برق به موتور بالابر نیز از طریق همان تایمر قابل تنظیم بود و بنابراین، تغییر هد و ایجاد جریان از ناحیهٔ کنترلی به برکه و برعکس منطبق سیکل اختلاط طراحی شده برای هر تیمار صورت می‌گرفت. فاکتور سوم شدت تابش (Irr. Int.) در بازه ۰ تا ۱۴۰۰۰ لوکس بود که به‌وسیلهٔ تنظیم شدت جریان منبع تغذیه متصل به لامپ‌های LED اطراف مخزن

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]



شکل ۳- نمودارهای کالیبراسیون **A:** حجم عبوری- زمان بازشدن شیر برقی و **B:** شدت تابش - شدت جریان.

Fig. 3. Calibration graphs **A:** volume-opening time of solenoid valve; **B:** light intensity-electrical current.

جدول ۱- مقادیر فاکتورها و مقادیر واقعی و پیش‌بینی پاسخ‌ها در هر آزمایش (طراحی آزمایش با RSM-CCD).

Table 1. Actual and predicted values of responses in tests (Design of experiment by RSM-CCD).

شمارهٔ آزمایش	Circ. Cycl. (hr)		Cont. Vol. (درصد)		Illumination (Lux)		BMs5 (g/L)		BMs7 (g/L)		SGR (day^{-1})	
	کد	واقعی	کد	واقعی	کد	واقعی	پیش بینی	واقعی	پیش بینی	واقعی	پیش بینی	واقعی
۱	۱	۹/۵	۱	۴۰	۱	۱۰۵۰۰	۰/۳۸۹	۰/۴۱۹	۰/۷۰۱	۰/۷۲۳	۰/۲۹۱	۰/۲۷۲
۲	-۱	۴/۵	۱	۴۰	-۱	۳۵۰۰	۰/۴۷۶	۰/۴۱۹	۰/۶۲۲	۰/۶۴۶	۰/۱۷۷	۰/۲۱۶
۳	۱	۹/۵	۱	۴۰	-۱	۳۵۰۰	۰/۳۲۱	۰/۳۶۲	۰/۵۴۸	۰/۵۴۲	۰/۲۲۰	۰/۲۰۲
٤	۰	۷	۰	۳۰	۰	۷۰۰۰	۰/۵۱۵	۰/۵۲۱	۰/۶۸۸	۰/۶۱۴	۰/۱۲۲	۰/۰۸۲
۵	۰	۷	۲	۵۰	۰	۷۰۰۰	۰/۴۴۱	۰/۳۸۴	۰/۷۹۲	۰/۶۹۴	۰/۲۸۴	۰/۲۹۶
٦	۰	۷	۰	۳۰	۰	۷۰۰۰	۰/۵۱۵	۰/۵۵۰	۰/۶۸۸	۰/۷۷۴	۰/۱۲۲	۰/۱۷۱
۷	-۲	۲	۰	۳۰	۰	۷۰۰۰	۰/۴۷۸	۰/۴۳۸	۰/۵۵۵	۰/۵۷۳	۰/۱۶۲	۰/۱۳۴
۸	۰	۷	۰	۳۰	۰	۷۰۰۰	۰/۵۱۵	۰/۵۸۰	۰/۶۸۸	۰/۷۸۲	۰/۱۲۲	۰/۱۴۹
۹	۲	۱۲	۰	۳۰	۰	۷۰۰۰	۰/۵۵۲	۰/۴۹۰	۰/۸۲۱	۰/۹۱۵	۰/۲۴۸	۰/۳۱۲
۱۰	۰	۷	۰	۳۰	۲	۱۴۰۰۰	۰/۲۶۹	۰/۲۲۱	۰/۵۲۸	۰/۴۸۵	۰/۳۷۰	۰/۳۹۲
۱۱	۱	۹/۵	-۱	۲۰	-۱	۳۵۰۰	۰/۴۵۶	۰/۴۲۱	۰/۶۵۲	۰/۵۴۶	۰/۱۹۵	۰/۱۳۰
۱۲	۰	۷	۰	۳۰	۰	۷۰۰۰	۰/۵۱۵	۰/۴۹۴	۰/۶۸۸	۰/۶۰۲	۰/۱۲۲	۰/۰۹۸
۱۳	۰	۷	۰	۳۰	۰	۷۰۰۰	۰/۵۱۵	۰/۵۲۴	۰/۶۸۸	۰/۶۸۲	۰/۱۲۲	۰/۱۳۱
۱٤	۰	۷	۰	۳۰	-۲	۰	۰/۱۳۳	۰/۱۷۳	۰/۲۲۲	۰/۲۸۲	۰/۲۲۹	۰/۲۴۴
۱۵	۱	۹/۵	-۱	۲۰	۱	۱۰۵۰۰	۰/۵۲۴	۰/۵۲۴	۰/۸۰۴	۰/۷۸۴	۰/۲۶۵	۰/۲۰۲
۱٦	۰	۷	-۲	۱۰	۰	۷۰۰۰	۰/۳۲۶	۰/۳۷۵	۰/۵۸۵	۰/۶۲۹	۰/۲۳۳	۰/۲۵۸
۱۷	-۱	۴/۵	-۱	۲۰	۱	۱۰۵۰۰	۰/۲۹۵	۰/۲۶۲	۰/۴۶۵	۰/۴۶۳	۰/۲۲۲	۰/۲۸۵
۱۸	-۱	۴/۵	۱	۴۰	۱	۱۰۵۰۰	۰/۵۴۴	۰/۶۵۰	۰/۷۷۵	۰/۸۴۴	۰/۲۴۸	۰/۱۳۱
۱۹	-۱	۴/۵	-۱	۲۰	-۱	۳۵۰۰	۰/۲۲۷	۰/۲۳۰	۰/۳۱۲	۰/۲۶۳	۰/۱۵۲	۰/۱۳۰
۲۰	۰	۷	۰	۳۰	۰	۷۰۰۰	۰/۵۱۵	۰/۵۱۰	۰/۶۸۸	۰/۶۶۸	۰/۱۲۲	۰/۱۳۵

(شکل 3B) به طور پیوسته قابل تنظیم بود. در جدول ۱ طراحی آزمایش انجام شده با روش پاسخ سطح (منظور کردن α=۲ در نرم‌افزار Design Expert 7.0.0) برای سه فاکتور پیش‌گفته ارائه شده است. به‌طور مثال در آزمایش شماره ۱، مقادیر فاکتورهای حجم کنترلی، سیکل اختلاط و شدت تابش به‌ترتیب معادل ۴۰ درصد، ۹/۵ ساعت و ۱۰۵۰۰ لوکس است که الگوریتم تیمار مربوطه بدین صورت بود: با شروع آزمایش، ۴۰ درصد از حجم برکه باز وارد ناحیهٔ کنترلی می‌شد و تحت تابش ۱۰۵۰۰ لوکس قرار می‌گرفت و الباقی در برکه تحت تابش ۴۵۰۰ لوکس و سیکل روشنایی به تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت قرار داشت. پس از گذشت ۹/۵ ساعت، با بالارفتن آسانسور، ناحیهٔ کنترلی به‌طور کامل در برکه تخلیه می‌شد و پس از گذشت ۱۵ دقیقه برای اختلاط، مجدداً آسانسور پایین آمده و ۴۰ درصد از حجم برکه وارد ناحیهٔ کنترلی می‌شد. همین روند تا پایان روز هفتم کشت هر ۹/۵ ساعت مجدداً تکرار می شد.

روش‌های سنجش، تحلیل و آنالیز آماری

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]

کلیه سنجش‌ها با سه بار تکرار انجام و مقادیر میانگین گزارش شده است. اندازه‌گیری شدت تابش به‌وسیلهٔ لوکس‌متر (TES-1336A) صورت گرفت. وزن خشک در روزهای صفر (تلقیح)، پنجم و هفتم و با قرائت چگالی نوری در طول موج ۷۵۰nm دستگاه اسپکتروفتومتر (WPA-S2000) و به‌کمک کالیبراسیون وزن خشک–جذب انجام شد. میزان رشد مخصوص، در فاز لگاریتمی و از روی اختلاف وزن خشک روزهای پنجم (که براساس پیش‌آزمایش‌های روز آغاز فاز لگاریتمی رشد بود) و هفتم مطابق رابطهٔ ۱ اندازه‌گیری شد. مقادیر سنجش‌ها به‌صورت میانگین سه‌بار تکرار با منظورکردن انحراف معیار گزارش شده‌اند.

(۱)

$$\mu = \frac{\mathbf{Ln}\,(\mathbf{DW_7} - \mathbf{DW_5})}{t_7 - t_5} = \frac{\mathbf{Ln}\left(\mathbf{DW_7}/\mathbf{DW_5}\right)}{2}$$

پردازش داده‌ها و رسم گراف‌ها بوسیله نرم‌افزارهای Excel، SPSS و SigmaPlot انجام شد و ضمن تلاش جهت کاهش مرتبهٔ مدل از فرم کلی رابطهٔ ۲ برای رگرسیون خطی مقادیر بیومس روزهای پنجم و هفتم و میزان رشد مخصوص استفاده شد. مقادیر $p<0.05$ برای معناداری با ضریب اطمینان ۹۵درصد لحاظ شد.

$$y_i = b_0 + \sum_{i=1}^{n} b_i X_i + \sum_{i=1}^{n} b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} b_{ij} X_i X_j$$

(۲)

در رابطهٔ ذکرشده، Y نمایندهٔ پاسخ تحت بررسی (میزان رشد مخصوص یا وزن خشک روزهای پنجم و هفتم)، b0 جملهٔ مستقل مبین میانگین نتایج آزمایشات، bi نماینده ضرایب خطی و مبین تأثیرگذاری هریک از پارامترها، bij ضرایب رگرسیون و مبین اندرکنش مرتبهٔ اول بین متغیرها و bii ضرایب رگرسیون درجهٔ دوم و xi ها نمایندهٔ فاکتورهای کدشده هستند (X1، X2 و X3 به‌ترتیب مبین فاکتورهای سیکل اختلاط {C}، حجم ناحیهٔ کنترل {V} و شدت تابش {I}) که براساس روابط زیر از روی مقادیر واقعی حاصل می‌شوند:

(۳)

$$X_1 = \frac{C_{Actual} - \bar{C}}{(C_{Hi} - C_{Low})/2}$$

(۴)

$$X_2 = \frac{V_{Actual} - \bar{V}}{(V_{Hi} - V_{Low})/2}$$

(۵)

$$X_3 = \frac{I_{Actual} - \bar{I}}{(I_{Hi} - I_{Low})/2}$$

که در آن اندیس‌های Low و Hi به ترتیب کمترین و بیشترین مقدار فاکتور و اندیس Actual مقدار واقعی فاکتور را نشان می دهد (Lenth, 2009). امروزه برای کاهش هزینه‌ها و افزایش دقت آزمایش‌ها، از انواع روش‌های طراحی آزمایش استفاده می‌شود. یکی از روش‌های نوین طراحی آزمایش، روش سطح پاسخ (RSM) می‌باشد. در سال‌های اخیر روش سطح پاسخ به منظور مدل کردن، تحلیل کردن، شناخت ارتباط بین عوامل مؤثر و بهینه‌سازی فرایندهای مختلف استفاده شده است. نرم افزار طراحی آزمایش (Design Expert) به عنوان یک نرم‌افزار آماری بسته از شرکت Stat-Ease، ابزار قدرتمندی جهت تسریع در بهره‌گیری از انواع روش‌های طراحی آزمایش، تحلیل داده‌ها و آنالیز نتایج و بهینه‌سازی پاسخ هاست.

نتایج و بحث

رگرسیون چندگانه و مدل‌های پیش‌بینی پاسخ‌های وزن خشک و مقدار رشد مخصوص

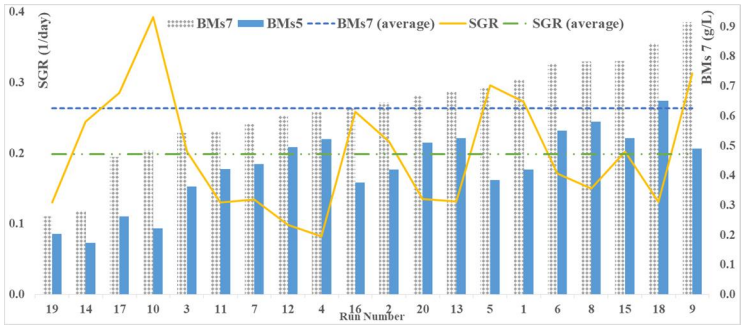
براساس رابطهٔ ۲ و مقادیر کدشدهٔ روابط ۳ تا ۵، ضرایب رگرسیون متغیرهای سیکل اختلاط، حجم کنترلی و شدت تابش در جدول ۲ به تفکیک سه پاسخ وزن خشک روزهای پنجم و هفتم و میزان رشد مخصوص آمده است. مقادیر R^2 و P-Value) P (با سطح اطمینان ۹۵درصد) برای مدل نیز در جدول درج و مقدار پیش‌بینی شده در هر آزمایش براساس همین رگرسیون‌ها در جدول ۱ و در کنار مقدار واقعی نشان داده شده است. با توجه به ضرایب مندرج در جدول ۲، مشخص است که با توجه به علامت مثبت کلیهٔ ضرایب، اثرگذاری هر سه متغیر مستقل بر میزان SGR مثبت است. در باب بیومس‌های روزهای ۵ و ۷ علامت ضرایب یکسان است اما مقادیر متفاوت است. علامت مثبت ضریب b_1 مبین تأثیر مثبت فاکتور سیکل اختلاط بر میزان بیومس است. مقدار آن در بیومس روز هفتم تقریباً ۳/۵ برابر مقدار آن در بیومس روز پنجم است و نشان می‌دهد که با گذشت زمان، میزان تأثیر فاکتور سیکل اختلاط زیاد می‌شود. ضرایب b_2 و b_{22} تأثیر مستقل متغیر حجم ناحیهٔ کنترلی را نشان می‌دهد. در بیومس روز پنجم برآیند این دو ضریب به افزایش بیومس در اثر افزایش مقدار حجم کنترلی تا حدود ۳۴ درصد منجر می

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]

جدول ۲- ضرایب رگرسیون متغیرهای مستقل کد شده برای هریک از پاسخ‌ها برگرفته از رابطه (۲).

Table 2. Regression coefficients of coded independent variables for each responds according to Eq. 2.

	b_0	b_1	b_2	b_3	b_{11}	b_{22}	b_{33}	b_{12}	R^2	P
SGR	۰/۱۲۲	۰/۰۲۲	۰/۰۱۳	۰/۰۳۵	۰/۰۲۱	۰/۰۳۴	۰/۰۴۵	؟؟؟؟	۷۶/۱	۰/۰۱۸
BMs_5	۰/۵۱۵	۰/۰۱۹	۰/۰۲۹	۰/۰۳۴	؟؟؟؟	-۰/۰۳۳	-۰/۰۷۹	-۰/۰۹۶	۸۷/۴	<۰/۰۰۰۱
BMs_7	۰/۶۸۸	۰/۰۶۶	۰/۰۵۲	۰/۰۷۶	؟؟؟؟	؟؟؟؟	-۰/۰۷۸	-۰/۱۰۳	۸۵/۹	<۰/۰۰۰۱



شکل ٤- مقایسه مقادیر بیومس روزهای پنجم و هفتم و میزان رشد مخصوص در هر یک از آزمایش‌ها همراه با میانگین مقادیر.

Fig. 4. Comparisons of the fifth and seventh days biomass values and SGR in each test with the average values.

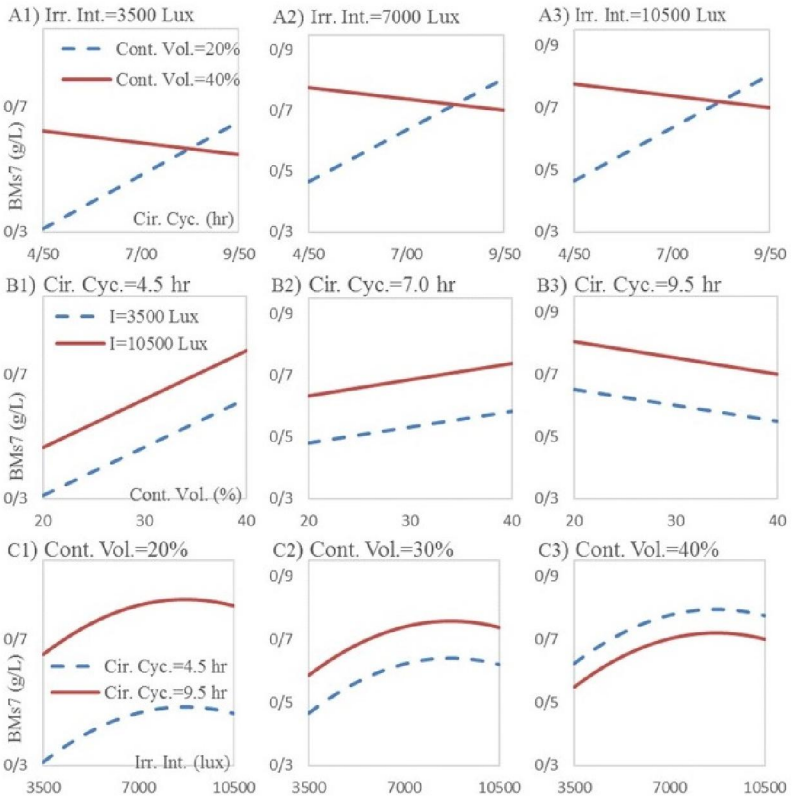
شود و پس از آن میزان بیومس با افزایش حجم کنترلی کاهش می‌یابد. اما در بیومس روز هفتم، هر مقدار افزایش در حجم کنترلی سبب افزایش بیومس می‌شود. از این مطلب می‌توان نتیجه گرفت که جهت دست‌یابی به بیشترین بیومس می‌توان تا روز پنجم از حجم کنترلی کوچک‌تری استفاده کرد و پس از این روز حجم کنترلی را بزرگ‌تر نمود. در بیومس روز پنجم و به‌واسطهٔ اندرکنش ضرایب b_3 و b_{33}، با افزایش شدت تابش تا حدود ۷۸۰۰ لوکس میزان بیومس زیاد می‌شود و پس از آن کاهش می‌یابد. در بیومس روز هفتم نیز روندی کاملاً مشابه دیده می شود و فقط حد بهینهٔ تابش برابر ۸۷۰۰ لوکس است. این دو عدد می‌تواند مبنایی برای تعیین حد بازدارندگی نوری باشد. ضرایب b_{12} که مبین اندرکنش فاکتورهای سیکل اختلاط و حجم ناحیهٔ کنترلی است، در هر دو بیومس روز پنجم و هفتم دارای علامت منفی و مقادیر مشابه است. علامت منفی این ضریب نشان می‌دهد هنگامی که یکی از این دو فاکتور کمتر از میزان میانهٔ خود و دیگری بیش از میانهٔ خود باشد، اثرگذاری اندرکنش آنها بر بیومس مثبت خواهد بود. هرچه فاصلهٔ مقدار دو فاکتور بیشتر باشد، اثرگذاری نیز بیشتر است. به بیان دیگر، بیشترین تأثیر مثبت ناشی از اندرکنش زمانی است که یک فاکتور در بیشترین میزان و فاکتور دیگر در کمترین مقدار خود باشد. مثلاً با انتخاب سیکل اختلاط کوچک، متناوباً حجم زیادی وارد ناحیهٔ کنترلی می شود و تخلیه شود و یا برعکس حجم کمی در مدت طولانی در داخل ناحیهٔ کنترلی قرار داده شود. به‌طور متناظر، درصورتی که هردو فاکتور هم‌زمان بیشتر یا کمتر از مقادیر میانهٔ خود باشند، تأثیر اندرکنش آنها بر بیومس منفی خواهد بود. با توجه به بزرگ‌تربودن ضریب b_1 نسبت به b_2 در رگرسیون بیومس روز هفتم، به‌نظر می‌رسد برای دست‌یابی به بیشترین بیومس، لازم است مقدار فاکتور سیکل اختلاط تا حد ممکن زیاد و فاکتور حجم کنترلی در کمترین حد خود باشد.

مقایسهٔ بیومس و مقدار رشد مخصوص

در شکل ۴ مقادیر بیومس روزهای پنجم و هفتم و میزان رشد مخصوص هریک از آزمایش‌ها نشان داده شده است که خطوط افقی میزان میانگین بیومس روز هفتم و میزان رشد مخصوص را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است در بیشتر آزمایش‌ها دو متغیر وزن خشک و میزان رشد مخصوص روندی مختلف دارند و هنگامی که یکی از این متغیرها بیشتر از مقدار میانگین خود است، متغیر دیگر در زیر مقدار میانگین خویش قرار دارد (آزمایش‌های ۳، ۶، ۸، ۱۰، ۱۴، ۱۷، ۱۸ و ۲۰) که این مسئله به تأثیر پدیده سایه و ممانعت بیومس‌های بزرگ از نفوذ نور به اعماق مرتبط و در بسیاری از پژوهش‌ها به آن اشاره شده است (Vonshak *et al.*, 1982; Gitelson *et al.*, 1996; Qiang *et al.*, 1996; Radmann *et al.*, 2007).

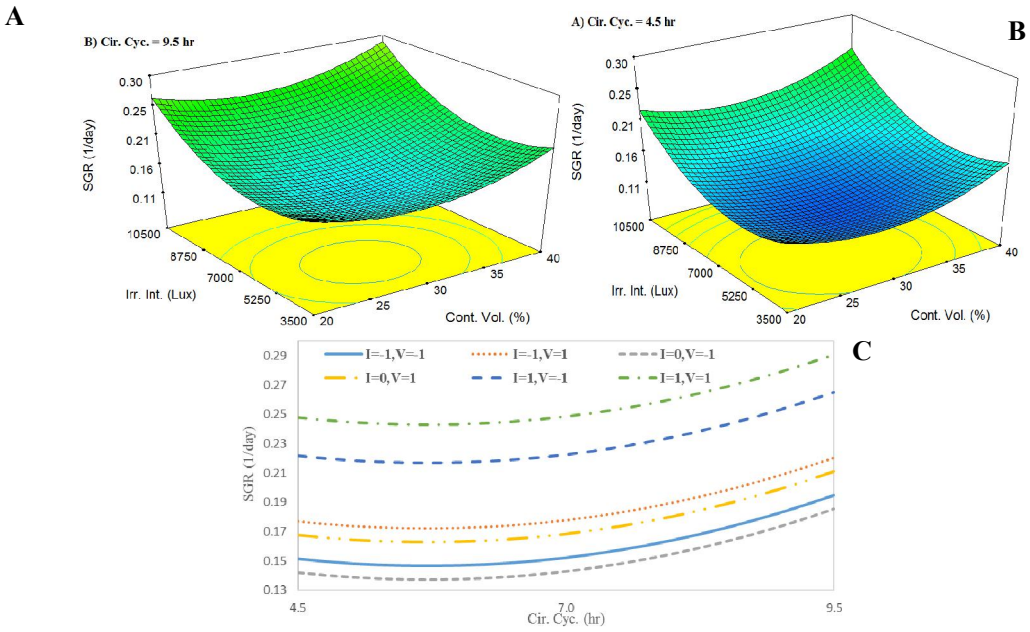
[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]



شکل ۵- اندرکنش تأثیر سه متغیر مستقل بر میزان وزن خشک بیومس روز هفتم.

Fig. 5. Interactions effects of tree independent variables on seventh day biomass dry weight.



شکل ٦- تأثیر فاکتورهای حجم کنترلی و شدت تابش بر میزان رشد مخصوص در سیکل اختلاط **A:** ۴/۵ hr و **B:** ۹/۵ hr و **C:** اندرکنش سیکل اختلاط در شرایط مختلف سایر فاکتورها.

Fig. 6. The effects of control volume and irradiance intensity on SGR in Cir. Cyc. A: 4.5 hr, B: 9.5 hr C: Cir. Cyc. Interactions in varied values of other factors.

اما در آزمایش‌های ۱، ۲، ۵، ۹، ۱۵ و ۱۶ هر دو در بالاتر از میانگین خود قرار دارند و درواقع با این آزمایش‌ها تا حدی مشکل پیش‌گفته مرتفع شده است. بیشترین میزان بیومس روز هفتم (g/L ۰/۹۱۵) در آزمایش شمارهٔ ۹ مشاهده شد که در آن سیکل اختلاط در بیشترین مقدار خود (hr ۱۲) و دو فاکتور دیگر در مقادیر میانی هستند که درواقع به معنی بالاترین زمان نگهداری حجم متوسطی در ناحیهٔ کنترلی تحت تابشی متوسط است. بیومس روز پنجم در این آزمایش (g/L ۰/۴۹۰) نزدیک به میانگین و مقدار رشد مخصوص (day^{-1} ۰/۳۱۲) در رتبهٔ دوم آزمایش‌ها قرار دارد. آزمایش شمارهٔ ۱۹ با مقادیر hr ۴/۵، ۲۰ درصد و ۳۵۰۰ لوکس به‌ترتیب برای فاکتورهای سیکل اختلاط، حجم کنترلی و شدت تابش (با کمترین حجم کنترلی و تابش کم)، دارای کمترین میزان بیومس روز هفتم (g/L ۰/۲۶۳) است که تأکیدی بر اهمیت فاکتور حجم کنترلی دارد و درواقع تأثیر افزودن ناحیهٔ کنترلی را روشن می‌کند. بیشترین میزان رشد مخصوص در آزمایش شمارهٔ ۱۰ با شدت تابش لوکس ۱۴۰۰۰، حجم کنترلی ۳۰ درصد و سیکل اختلاط hr ۷ دیده شد که مقدار بیومس کمی دارد (g/L BMs7 = ۰/۴۸۵).

ذکر این نکته ضروری است که انجام مقایسهٔ عددی نتایج با پژوهش‌های دیگر بسیار دشوار است؛ زیرا ازیک‌سو تفاوت زیادی در وضعیت کشت شامل دما، نوع و غلظت محیط‌کشت و مواد افزودنی، نوع و حجم راکتور و نحوهٔ تغذیه، مدت کشت، شدت و سیکل هوادهی و تابش، فرکانس تابش و غلظت مایع تلقیحی اولیه وجود دارد و از سوی دیگر، به‌سبب بیان نتایج با واحدهای مختلف نظیر درصد جذب، وزن خشک g/L، بهره‌وری بر واحد سطح (g/m^2 d)، بهره‌وری حجمی (g/L d) و کمبود اطلاعات برای یکسان‌سازی دقیق واحدها، قابلیت مقایسه وجود ندارد. بنابراین، با توجه به ماهیت بدیع پایلوت و نبود ویژگی‌های مشابه در منابع علمی، صرفاً روند ا ثرگذاری فاکتورها در زمان فعلی این پژوهش هدف قرار گرفته است. اما برای مقایسهٔ کلی، می‌توان به کشت اسپیرولینا با منبع کربن گلوکز و دست‌یابی به چگالی سلولی g/L ۰/۸۲۷ برای کشت هتروتروفیک و ۲/۵۲۱ برای کشت میکسوتروفیک (Marquez *et al.*, 1993) یا مقدار ۱/۸۱ برای همان کشت با منبع استات (Chen *et al.*, 1996) اشاره کرد. همچنین، بیشینهٔ غلظت g/L ۲/۹۱۱ برای کشت چهارده روزه (Rodrigues *et al.*, 2011) یا غلظت g/L ۱/۲۴ در آب لاگون طبیعی همراه با ۲۰ درصد محیط کشت زاروک (Morais *et al.*, 2009) نیز گزارش شده است.

اندرکنش تأثیر فاکتورها بر بیومس روز هفتم

در شکل ۵، چگونگی اندرکنش دوگانهٔ تأثیر هریک از سه متغیر مستقل بر میزان بیومس روز هفتم ارائه شده است. این اندرکنش دوفاکتور در شکل‌های الف بهتر نشان داده شده است. در این اشکال، در همهٔ شدت‌های تابش، در احجام کنترلی کوچک (خط‌چین‌های شکل‌های ۱A، ۲A و ۳A که حجم کنترلی در آنها معادل ۲۰ درصد است) افزایش سیکل اختلاط به افزایش بیومس منجر می‌شود، اما در احجام کنترلی بزرگ (خط-های پر شکل‌های ۱A، ۲A و ۳A که حجم کنترلی در آنها معادل ۴۰ درصد است) با افزایش سیکل اختلاط، کمی کاهش بیومس دیده شده است. این نتیجه به‌معنای آن است که برای ارتقای کمی بیومس، وقتی حجم کوچکی وارد ناحیهٔ کنترلی شود، لازم است زمان کافی برای اثرگذاری وضعیت کنترلی داشته باشد و درمقابل، احجام کنترلی بزرگ باید متناوباً وارد و خارج شوند. به نظر می‌رسد مشکل ممانعت نفوذ نور ناشی از ازدیاد بیومس (Radmann *et al.*, 2007) دلیل این نتیجه باشد که در احجام کوچکتر چندان دردسر ساز نیست، ولی در احجام بزرگ بارز شده و لزوم تخلیه و اختلاط سریع‌تر با فواصل زمانی کوتاه را ایجاب می‌کند. محل تلاقی دو خط در کلیهٔ اشکال در سیکل اختلاط hr ۸/۲۵ روی داده که در آن میزان بیومس با حجم کنترلی ۲۰درصد با میزان بیومس با حجم کنترلی ۴۰درصد برابر شده است. این نقطه برای طراحی و تصمیم‌گیری دربارهٔ حجم بهینهٔ ناحیهٔ کنترلی حائز اهمیت است. نکته مهم دیگر در این اشکال آنکه میزان کلی بیومس در شدت تابش ۷۰۰۰ لوکس (شکل ۲A) نسبت به شدت تابش ۳۵۰۰ لوکس افزایش یافته اما نسبت به شدت تابش ۱۰۵۰۰ لوکس (شکل ۳A) تغییر مهمی مشاهده نمی‌شود. اثر شدت تابش بر رشد بیومس تا پیش از حد اشباع نوری هم‌سو پژوهش‌های مرتبط است (Yagui *et al.*, 2004; Danesi *et al.*, 2004).

همین روند افزایش بیومس اسپیرولینا در اثر افزایش شدت تابش از ۴۰ تا ۱۰۰ $\mu mol/m^2$ s در مطالعات دیگر هم گزارش شده است (da Silva *et al.*, 2016) و مطالعات Wang

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]

و همکاران (2007) و Xue و همکاران (2011) دربارهٔ ریزجلبک اسپیرولینا، بررسی Wahidin و همکاران (2013) دربارهٔ نانوکلروپسیس و پژوهش Seyfabadi و همکاران (2011) دربارهٔ کلرولا نیز مؤید همین روند است.

در اشکال ردیف B، اندرکنش دوفاکتور حجم کنترلی و شدت تابش در سه سیکل اختلاط ۴/۵، ۷ و ۹/۵ ساعته (به‌ترتیب در شکل‌های 1B، 2B و 3B) نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است، میزان بیومس در شدت تابش بزرگ‌تر بیشتر است. با افزایش حجم کنترلی در سیکل‌های اختلاط کوچک (شکل 1B) مقدار بیومس افزایش می‌یابد، اما با افزایش سیکل اختلاط، این روند تأثیر کمتر شده و در سیکل‌های اختلاط بزرگ (شکل 3B) کاملاً معکوس می شود، به‌نحوی‌که در سیکل اختلاط ۹/۵ ساعته با افزایش حجم کنترلی مقدار بیومس کم می‌شود. با توجه به گراف منحنی اثر سیکل بر میزان بیومس مشخص است که در هر سیکل، افزایش شدت تا حدود شدت تابش ۸۷۰۰ لوکس سبب افزایش بیومس می‌شود و پس‌از آن اندکی کاهش بیومس را نشان می‌دهد. مطالعات Ferreira و همکاران (2010) در کشت ناپیوسته-تغذیه شونده (Fed-Batch) اسپیرولینا مقادیر $\mu mol/m^2 s$ ۶۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ را به ترتیب برای محدودیت نوری، حد اشباع و حد بازدارندگی نوری ارائه کرده که حد بازدارندگی آن به تأیید Bezerra و همکاران (2012) نیز تأیید شده است. در آن مطالعات، با توجه به منبع نوری، شدت بازدارندگی بین ۸۰۰۰ تا ۱۸۰۰۰ لوکس است که با نتایج این پژوهش سازگار است. بازدارندگی نوری مهار فعالیت فتوسیستم است که در سازوکار کلاسیک آن نور قوی باعث تولید اکسیژن فعال (ROS) می‌شود (Ezzati & Sabouri, 2013). همچنین، مشخص است که با افزایش حجم کنترلی از ۲۰درصد (شکل 1C) به ۴۰درصد (شکل 3C) میزان بیومس در سیکل‌های اختلاط بزرگ (خط‌های توپر) کم می‌شود و در سیکل‌های کوچک (خط‌چین‌ها) زیاد می‌شود، به نحوی که در شکل 3C (حجم کنترلی ۴۰درصد) و برخلاف دو شکل قبلی، بیومس در سیکل اختلاط hr ۴/۵ بیش از میزان آن در سیکل اختلاط hr ۹ شده است.

تأثیر فاکتورها بر میزان رشد مخصوص

همانطور که در شکل ۶ (A و B) ارائه شده است، میزان رشد مخصوص در هر چهارگوشه، که متناظر با مقدار زیاد یک یا هر دو فاکتور شدت تابش و حجم کنترلی است، زیاد شده است و بیشترین مقدار نیز ناشی از افزایش هم‌زمان هر دو فاکتور بوده است.

با وجود تضاد بین میزان رشد مخصوص و میزان بیومس که پیش از این ذکر شد (Gitelson *et al.*, 1996; Qiang *et al.*, 1996; Radmann *et al.*, 2007) در سیکل ۴/۵ ساعته، در حجم ۴۰درصد و شدت تابش ۱۰۵۰۰ لوکس ، میزان بیومس و میزان رشد مخصوص به‌طور هم‌زمان زیاد شده و همین افزایش هم‌زمان با مقدار بیشتر در سیکل اختلاط ۹/۵ ساعت و در حجم کنترلی ۲۰درصد و شدت تابش ۱۰۵۰۰ لوکس دیده می‌شود. این امر مؤید تأثیر ملاحظات ساختاری و ناحیهٔ کنترلی در افزایش بهره‌وری و رفع نقیصهٔ نفوذ نور در برکه‌های باز است.

با مقایسهٔ اشکال A و B مشخص است که با افزایش سیکل اختلاط میزان رشد مخصوص زیاد شده است. این مطلب در شکل 6C نیز قابل مشاهده است که با افزایش سیکل در مقادیر بیش از ۷ ساعت، افزایش رشد مخصوص در همهٔ عوامل دیده می‌شود. همچنین، مشخص است که در تمام حالت‌ها، با ثابت‌بودن بقیهٔ فاکتورها، میزان رشد مربوط به حجم کنترلی ۴۰درصد (V=۱) بیش از میزان مربوط به حجم کنترلی ۲۰درصد (V=-۱) است. هرچند بیشترین میزان رشدها به شدت تابش ۱۰۵۰۰ لوکس (I=۱) مربوط بوده است اما مشاهده می‌شود که با کاهش شدت تابش در هر حجم کنترلی، میزان رشد مربوط به شدت تابش ۳۵۰۰ لوکس (I=-۱) بیش از مقدار متناظر با شدت تابش ۷۰۰۰ لوکس (I=۰) است. با توجه به ردیف C شکل ۵ به‌نظر می رسد دلیل این امر بهینه بودن نور برای بیومس در مقادیر میانی تابش و اثر منفی ازدیاد بیومس بر میزان رشد مخصوص باشد (Qiang *et al.*, 1996).

جمع‌بندی

با توجه به کاربری‌های روزافزون انواع گونه‌های ریزجلبکی در حوزه‌های مختلف بیوتکنولوژی، کشت اقتصادی آنها از دشواری‌های اساسی این حوزه است. در این بین، گونهٔ اسپیرولینا به‌واسطهٔ قدمت و تنوع کاربری، جایگاه ویژه‌ای دارد. کشت‌های تجاری مرسوم این حیطه اغلب با روش برکه باز انجام شده و باوجود مزایای بسیار، به‌سبب مشکلات نفوذنکردن نور و احتمال آلودگی و کاهش بهره‌وری با اقتصادی نیست. در این پژوهش، با

طراحی و ساخت یک بیوراکتور جدید و افزودن یک ناحیهٔ کنترلی، کشت تلفیقی گونهٔ اسپیرولینا بررسی شد. علاوه‌بر ناحیهٔ کنترلی، تأثیر جوانب ساختاری نظیر بافل‌ها، سیستم هوادهی از کف و سیستم جدید آسانسوری جایگزین پمپاژ نیز ارزیابی شد. نتایج پژوهش حاکی از آن است که به‌واسطهٔ این ملاحظات برخی از مشکلات مرسوم در کشت‌های باز نظیر عدم اختلاط مناسب، نفوذنکردن نور در عمق، ته‌نشینی ریزجلبک‌ها، بهره‌وری کم تا حد مناسبی مرتفع شده و ارتقای کمی بیومس تولیدی قابل تشخیص است.

هرچند بهینه‌سازی فاکتورها با توجه هم‌زمان به شاخص‌های کمی و کیفی بیومس و اهداف تعریف شده برای کاربری در پژوهش‌های آتی مورد نظر قرار می‌گیرند، نتایج همین پژوهش حاکی از برتری شدت تابش ۸۷۰۰ لوکس در ناحیهٔ کنترلی و نیز حجم کنترلی ۳۴درصد به‌ویژه تا روز پنجم کشت است. با منظورکردن ملاحظات اقتصادی، به‌نظر می‌رسد در ساختار این پایلوت، درنظرگرفتن شدت تابش بهینه و استفاده از احجام کنترلی کوچک و سیکل‌های اختلاط بزرگ برای ارتقای بهره‌وری کمی بیومس اسپیرولینا توصیه باشد. این به‌معنای آن است که برای حجم محدودی از برکه باز، می‌توان با انتخاب مناسب سیکل اختلاط، بهره‌وری را افزایش داد و بیومس را در کشت‌های باز ارتقا داد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور وابسته به معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری طی طرح شمارهٔ ۹۳۰۴۱۴۷۶ انجام شده که بدین‌وسیله سپاسگزاری می‌شود.

REFERENCES

Ben-Amotz, A. 1995. New mode of Dunaliella biotechnology: two-phase growth for β-carotene production. – J. Appl. Phycol. 7: 65-68.

Bezerra, R.P., Matsudo, M.C., Sato, S., Perego, P., Converti, A. and de Carvalho, J.C.M. 2012. Effects of photobioreactor configuration, nitrogen source and light intensity on the fed-batch cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. Bioenergetic aspects. – Biomass Bioenergy 37: 309-317.

Brennan, L. and Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae-a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. – Renew. Sust. Energ. Rev. 14: 557-577.

Brentner, L.B., Eckelman, M.J. and Zimmerman, J.B. 2011. Combinatorial life cycle assessment to inform process design of industrial production of algal biodiesel. – Environ. Sci. Technol. 45: 7060-7067.

Chen, F., Zhang, Y. and Guo, S. 1996. Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photoheterotrophic culture. – Biotechnol Lett. 18: 603-608.

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. – Biotechnol. Adv. 25: 294-306.

Chisti, Y. 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. – Trends Biotechnol. 26: 126-131.

Ciferri, O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. – Microbiol. Rev. 47: 551-578.

Clarens, A.F., Resurreccion, E.P., White, M.A., and Colosi, L. M. 2010. Environmental life cycle comparison of algae to other bioenergy feedstocks. – Environ. Sci. Technol. Lett. 44: 1813-1819.

da Silva Vaz, B., Costa, J.A.V., and de Morais, M.G. 2016. CO_2 Biofixation by the cyanobacterium *Spirulina* sp. LEB 18 and the green alga Chlorella fusca LEB 111 grown using gas effluents and solid residues of thermoelectric origin. – Int. J. Appl. Biotechnol. Biochem. 178: 418-429.

Danesi, E., Rangel-Yagui, C., Carvalho, J., and Sato, S. 2004. Effect of reducing the light intensity on the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. – Biomass Bioen. 26: 329-335.

De Morais, M.G. and Costa, J.A.V. 2007. Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C.vulgaris Scenedesmus obliquus* and *Spirulina* sp. cultivatedin flasks and vertical tubular photobioreactors. – Biotechnol. Lett. 29: 1349-1352.

Ezzati, R. and Sabourirad, V. 2013. Photoinhibition effect on PSII under rnvironmental stresses and their accelerating manner. – The second national confe-rence on planning and environmental protection.

Ferreira, L.S., Rodrigues, M.S., Converti, A., Sato, S., and Carvalho, J.C.M. 2010. A new approach to ammonium sulphate feeding for fed-batch *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* cultivation in tubular photobioreactor. – Biotechnol. Prog. 26: 1271-1277.

Flickinger, M.C. and Drew, S.W. 1999. Encyclopedia of bioprocess technology. – John Wiley. 2756 pp.

Ghobadian, S., Ganjidoust, H., Ayati, B., Soltani, N. 2015. Evaluation of the affects of aeration cycle and

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]

culture medium concentration on biomass qualitative and quantitative indices in microalga *spirulina* as candidate for wastewater treatment. – J. Aqua. Ecol. 2: 87-99.

Ghobadian, S., Ganjidoust, H., Ayati, B., Soltani, N. 2016. The growth and quality optimization of *spirulina* biomass by reducing the dilution medium and using the aeration cycle. – TMJ Biot. In press.

Ghobadian, S., Ganjidoust, H., Ayati, B., Soltani, N. 2017. Chlorophyll and carotenoid optimization of *spirulina* biomass in an innovative reactor. – TMJ Biot. In press.

Giordano, M., Palmucci, M. and Norici, A. 2015. Taxonomy and growth conditions concur to determine the energetic suitability of algal fatty acid complements. – J. Appl. Phycol. 27: 1401-1413.

Gitelson, A., Qiuang, H. and Richmond, A. 1996. Photic volume in photobioreactors supporting ultrahigh population densities of the photoautotroph *Spirulina platensis*. – J. Appl. Environ. Microbiol. 62: 1570-1573.

Grima, E.M., Sevilla, J.F., Perez, J.S. and Camacho, F.G. 1996. A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances. – J. Biotechnol. 45: 59-69.

Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M. and Darzins, A. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. – Plant J. 54: 621-639.

Imai, Y., Suzuki, M., Masamoto, M., Nagayasu, K. and Kishimoto, M. 1994. Glucoamylase production of *Aspergillus oryzae* in fed-batch culture using a statistical regression model. – J. Biosci. Bioeng. 78: 310-314.

Jiang, L., Pei, H., Hu, W., Ji, Y., Han, L. and Ma, G. 2015. The feasibility of using complex wastewater from a monosodium glutamate factory to cultivate *Spirulina subsalsa* and accumulate biochemical composition. – Bioresource Technol. 180: 304-310.

Lenth, R.V. 2009. "Response-surface methods in R, using rsm. – J. Stat. Soft. 32: 1-17.

Li, Y., Chen, Y.F., Chen, P., Min, M., Zhou, W., Martinez, B., Zhu, J. and Ruan, R. 2011. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. – Bioresour Bioproc. 102: 5138-5144.

Li, Z.Y., Guo, S.Y. and Li, L. 2003. Bioeffects of selenite on the growth of *Spirulina platensis* and its biotransformation. – Bioresour Technol. 89: 171-176.

Lin, C.C., Wei, C.H., Chen, C.I., Shieh, C.J. and Liu, Y.C. 2013. Characteristics of the photosynthesis microbial fuel cell with a *Spirulina platensis* biofilm. – Bioresour Technol. 135: 640-643.

Lynch, H.C. and Bushell, M.E. 1995. The physiology of erythromycin biosynthesis in cyclic fed batch culture. –Microbiol. 141: 3105-3111.

Marquez, F.J., Sasaki, K., Kakizono, T., Nishio, N. and Nagai, S. 1993. Growth characteristics of *Spirulina platensis* in mixotrophic and heterotrophic conditions. – J. Ferment. Bioeng. 76: 408-410.

Moraes, L., da Rosa, G.M., Cardias, B.B., dosSantos, L.O. and Costa, J.A.V. 2016. Microalgal biotechnology for greenhouse gas control: carbon dioxide fixation by *Spirulina* sp. at different diffusers. – Ecol. Eng. 91: 426-431.

Morais, M.G.D., Radmann, E.M., Andrade, M., Teixeira, G.G., Brusch, L.R.D.F. and Costa, J.A.V. 2009. Pilot scale semicontinuous production of *Spirulina* biomass in southern Brazil. – Aquacul. 294: 60-64.

Parimi, N.S., Singh, M., Kastner, J.R. and Das, K.C. 2015. Biomethane and biocrude oil production from protein extracted residual *Spirulina platensis*. – Energy 93: 697-704.

Prussi, M., Buffi, M., Casini, D., Chiaramonti, D., Martelli, F., Carnevale, M., Tredici, M.R. and Rodolfi, L. 2014. Experimental and numerical investigations of mixing in raceway ponds for algae cultivation. – Biomass Bioenergy 67: 390-400.

Pulz, O. and Scheibenbogen, K. 1998. Photobioreactors: design and performance with respect to light energy input. Bioprocess and algae reactor technology, apoptosis. – Springer 123-152 pp.

Qiang, H., Guterman, H. and Richmond, A. 1996. Physiological characteristics of *Spirulina platensis* (Cyanobacteria) cultured at ultrahigh cell densities. – J. Phycol. 32: 1066-1073.

Radmann, E.M., Reinehr C.O. and Costa, J.A.V. 2007. Optimization of the repeated batch cultivation of microalga *Spirulina platensis* in open raceway ponds. – Aquacul. 265: 118-126.

Raquel, R.S., Ofélia, Q.F., José, L.M. and Ricardo, M.Ch. 2016. Cultivation of *Spirulina maxima* in medium supplemented with sugarcane vinasse. – Bioresour. Technol. 204: 38-48.

Ravelonandro, P.H., Ratianarivo, D.H., Joannis-Cassan, C., Isambert, A. and Raherimandimby, M. 2011. Improvement of the growth of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* from *Toliara* (Madagascar): effect of agitation, salinity and CO_2 addition. – Food and Bioproducts Processing 89: 209-216.

Rodrigues, M.S., Ferreira, L.S., Converti, A., Sato, S. and De Carvalho, J.C.M. 2011. Influence of ammonium sulphate feeding time on fed-batch *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* cultivation and biomass composition with and without pH control. – Bioresour. Technol. 102: 6587-6592.

Rose, P. and Dunn, K. 2013. A high rate ponding unit operation linking treatment of tannery effluent and *Arthrospira* (*Spirulina*) biomass production. 1: process development. – Biomass Bioenergy 51: 183-188.

Seyfabadi, J., Ramezanpour, Z. and Khoeyi, Z.A. 2011. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. – J. Appl. Phycol. 23: 721-726.

Tredici, M.R. 2010. Photobiology of microalgae mass cultures: understanding the tools for the next green revolution. – Biofuels 1: 143-162.

Vonshak, A., Abeliovich, A., Boussiba, S., Arad, S. and

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]
[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]

Richmond, A. 1982. Production of *Spirulina* biomass: effects of environmental factors and population density. – Biomass 2: 175-185.

Wahidin, S., Idris, A. and Shaleh, S.R.M. 2013. The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. – Bioresour. Technol. 129: 7-11.

Wang, C.Y., Fu, C.C. and Liu, Y.C. 2007. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. – Biochem. Eng. J. 37: 21-25.

Wuang, S.C., Khin, M.C., Chua, P.Q.D. and Luo, Y.D. 2016. Use of *Spirulina* biomass produced from treatment of aquaculture wastewater as agricultural fertilizers. – Algal Res. 15: 59-64.

Xue, S., Su, Z. and Cong, W. 2011. Growth of *Spirulina platensis* enhanced under intermittent illumination. – J. Biotechnol. 151: 271-277.

Yagui, C.O.R., Danesi, E.D.G., Carvalho, J.C.M. and Sato, S. 2004. Chlorophyll production from *Spirulina platensis*: cultivation with urea addition by fed-batch process. – Bioresour Technol. 92: 133-141.

Yang, J., Xu, M., Zhang, X., Hu, Q., Sommerfeld, M. and Chen, Y. 2011. Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: water footprint and nutrients balance. – Bioresour Technol. 102: 159-165.

Zhou, W., Li, Y., Min, M., Hu, B., Zhang, H., Ma, X., Li, L. Cheng, Y., Chen, P. and Ruan, R. 2012a. Growing wastewater-born microalga *Auxenochlorella protothecoides* UMN280 on concentrated municipal wastewater for simultaneous nutrient removal and energy feedstock production. – Appl. Energy. 98: 433-440.

Zhou, W., Min, M., Li, Y., Hu, B., Ma, X., Cheng, Y., Liu, Y., Chen, P. and Ruan, R. 2012b. A hetero-photoautotrophic two-stage cultivation process to improve wastewater nutrient removal and enhance algal lipid accumulation. – Bioresour Technol. 110: 448-455.

*****

How to cite this article:

Ghobadian, S., Ganjidoust, H., Ayati, B. and Soltani, N. 2018. The innovative engineered photobioreactor to optimize the amount of microalgae *Spirulina* biomass. – Nova Biologica Rep. 5:13-25.

قبادیان، س.، گنجی‌دوست، ح.، آیتی، ب. و سلطانی، ن. ۱۳۹۷. طراحی فتوبیوراکتور جدید مهندسی جهت بهینه‌سازی مقدار بیومس تولیدی در ریزجلبک اسپیرولینا. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۵: ۲۵-۱۳.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1397.5.1.1.9]

[DOI: 10.29252/nbr.5.1.13]