

# اثر ضایعات خرما در محیط کشت جلبک اسپیرولینا بر تولید فایکوسیانین و ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی

محمود توکلی<sup>۱\*</sup>، ربابه ولی افتری<sup>۲</sup>

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

## چکیده

در مقاله پیش رو به بررسی امکان استفاده از ضایعات خرما در تولید محیط کشت مناسب برای افزایش تولید رنگدانه ارزشمند فایکوسیانین از جلبک اسپیرولینا می پردازیم. در این مقاله از روش آماری فاکتوریل کامل با ۳ تکرار و آنالیز آماری داده ها با نرم افزار SPSS استفاده شد. به منظور کشت جلبک ها از محیط کشت استاندارد زاروک و برای غنی سازی محیط از محلول عصاره ی ضایعات خرما ی پادرختی تهیه شده از نخلستان های استان کرمان به روش بیج و در یک دوره ۱۰ روزه تحت ۴ کیلو لوکس نور کول وایت استفاده شد. اندازه گیری میزان تولید فایکوسیانین با استفاده از روش اسپکتروفتومتری انجام گرفت. اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره استخراجی با استفاده از رادیکال DPPH صورت گرفت. افزایش غلظت عصاره خرما از ۰ تا ۲ گرم در لیتر به محیط کشت استاندارد زاروک سبب افزایش تولید فایکوسیانین توسط جلبک اسپیرولینا کشت داده شده طی مدت ۱۰ روزه در این محیط می گردد. علاوه بر آن انجام این تیمار سبب افزایش خطی خاصیت آنتی اکسیدانی (IC<sub>50</sub>) در عصاره آبی حاصل از این جلبک می گردد. عصاره خرما با دارا بودن مقادیر بالایی از قندهای ساده و ریزمغذی ها می تواند منبع مناسبی برای غنی سازی محیط کشت جلبک اسپیرولینا به منظور افزایش هر چه بیشتر تولید رنگدانه ارزشمند فایکوسیانین و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره حاصل از جلبک اسپیرولینا باشد.

کلید واژگان: ضایعات خرما، اسپیرولینا، فایکوسیانین، دی پی پی اچ

## ۱- مقدمه

خرما با سطح زیر کشت حدود ۲۱۸ هزار هکتار و تنوع فراوان (حدود ۴۰۰ رقم) جایگاه ویژه‌ای را در کشاورزی کشور ما دارد. عملکرد خرما کشور حدود ۵۱۲۴ کیلوگرم در هکتار است. آمار نشان می‌دهد ۳۰ درصد تولید خرما به علت نبود صنایع تبدیلی خرما به صورت ضایعات به هدر رفته و یا، حداکثر به مصرف خوراک دام می‌رسد و این در حالی که قابل تبدیل به فرآورده‌های مختلف با ارزش افزوده بالا از قبیل متابولیت های میکروبی فراوان و فرایندهای تخمیری بسیاری می‌باشد [۱]. خرما حاوی ترکیبات ارزشمند از قبیل قند، پروتئین، فیبر، ویتامین و مواد معدنی است [۱].

جلبک اسپیرولینا به دلیل محتوای و کیفیت پروتئینی بالا (بیش از ۶۰٪)، قابلیت هضم و جذب بالا نسبت به سایر پروتئینهای مواد غذایی منبعی مطلوب برای تامین غذای مردم گرسنه دنیا که از فقر پروتئینی شدید رنج می‌برند محسوب می‌شود. بعلاوه اسپیرولینا دارای طیف وسیعی از ترکیبات ریز مغذی مختلف شامل انواع ویتامین مهم و مواد معدنی، ترکیبات ارزشمندی مانند فایکوسیانین و بسیاری رنگدانه های دیگر، اسیدهای چرب با ارزشی مانند گامالینولئیک اسید، گلیکولیپیدها و سولفولیپیدها می‌باشد [۲].

پودر اسپیرولینا در تولید مواد غذایی مانند سوپ ها، سس ها، پاستا، اسنک ها، نوشیدنی های فوری، شکلات ها و آبنبات ها، آدامس ها، ویفر، بیسکوئیت، نان، کیک، آرد غنی شده با پروتئین جلبک و محصولات تخمیری مانند دوغ، پنیر، ماست، توفو و همچنین به شکل قرص و کپسول کاربرد دارد [۳].

اسپیرولینا با دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی قوی خاصیت درمانی بسیاری همچون کاهش کلسترول خون، جلوگیری از افزایش فشار خون، جلوگیری از افزایش گلوکز خون، ممانعت از پوسیدگی دندان ها، افزایش رشد لاکتوباسیلوس ها در روده، ضد پارکینسون، خواص ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد التهابی و غیره را دارا می‌باشد. [۴]. خواص درمانی اسپیرولینا ناشی از ترکیبات آنتی اکسیدانی همچون کاروتنوئیدها، زئاگزانتین، سوپراکسید دیسموتاز، پلی ساکاریدهایی مانند کلسیم اسپیرولان، گامالینولئیک اسید و فایکوسیانین است. این جلبک منبع بسیار مهمی از فایکوسیانین است، بطوری که پروتئین استخراج شده از آن حاوی ۲۰٪ از این ترکیب می‌باشد [۵].

فایکوسیانین از گروه پروتئین های جذب کننده نور به نام فایکوبیلی پروتئین ها است، کلیه فایکوبیلی پروتئین ها شامل پروتئین های میان تهی شامل آپوپروتئینهای هستند که توسط پیوند های کووالانسی به گروه کروموفوری با ساختار تتراپیرولی باز به نام فایکوبیلین ها متصل شده اند [۶]. مهمترین کاربرد فایکوسیانین مصرف آن به عنوان رنگدانه در صنایع غذایی می‌باشد به عنوان مثال در تولید ژله ها، بستنی ها، آدامس ها، آبنبات ها، شربت های یخی، نوشیدنی های کربناته و محصولات لبنی کاربرد دارند [۷]. بعلاوه خاصیت فلورسنت قوی این رنگدانه سبب کاربرد آن در شیمی بافتی سلولی، میکروسکوپ فلورسنت، فلوسیتومتری، فلورسنت ایمونواسی و بسیاری کاربردهای دیگر که از به عنوان نشانگر استفاده می‌شود، شده است [۸].

آب های قلیایی و شور مزه با pH و تابش نور بالا شرایط مطلوبی برای پرورش اسپیرولینا می‌باشد. بهترین شرایط رشد این جلبک در غلظت نمک ۷۰-۲۰ گرم نمک در لیتر رخ می‌دهد. pH بالای محیط کشت این جلبک نشانگر توانایی این میکروارگانیسم در استفاده از آمونیم به عنوان منبع نیتروژن در pH های قلیایی بالا می‌باشد. این جلبک ها دی اکسیدکربن را در حضور نور کاهش می‌دهند و نترات را جذب می‌نمایند. [۲].

محققان بسیاری به منظور افزایش راندمان تولید و کاهش هزینه های تولید این رنگدانه به بهینه سازی محیط کشت جلبک اسپیرولینا پرداخته اند. به طور مثال فنگ چن و همکاران (۱۹۹۷) تاثیر سوسترای کربنی و شدت نور را بر رشد و تولید فایکوسیانین توسط اسپیرولینا در کشت فتوهتروتروف بررسی کردند. نتایج نشان داد افزایش غلظت گلوکز و استات و شدت نور تا ۴۰۰۰ لوکیس اثر افزایشی بر میزان فایکوسیانین تولیدی دارد علاوه بر آن تاثیر گلوکز دوبرابر اثر استات گزارش شده است [۹].

آندراد و همکاران (۲۰۰۸) کشت میکسوتروف جلبک اسپیرولینا پلاتنسینس با استفاده از ملاس (محصول فرعی صنعت قند حاوی بیش از ۵۰٪ قند) به عنوان سوسترای آلی بررسی کردند. در این بررسی تاثیر شدت نور و غلظت ملاس بر رشد میکسوتروف اسپیرولینا در طی یک دوره ۲۵ روزه تعیین گردید. نتایج کاربرد ملاس را به عنوان سوسترای آلی برای کشت میکسوتروف اسپیرولینا تایید و استفاده از

روش توکلی و همکاران ۲۰۱۲ با کمی تغییرات به منظور تهیه محلول خرما استفاده شد. به طور خلاصه ۱۰۰ گرم از ضایعات خرما در آب مقطر میکس گردید و حجم آن با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانیده شد. مخلوط حاصله ۱۰ دقیقه جوشانیده شد و در دمای محیط تا شفاف شدن محلول نگه داشته شد. سپس توسط فیلتر واتمن شماره ۱ صاف گردید (Tavakkoli et al., 2012). رقیق سازی محلول برای تهیه غلظت های تحقیق توسط آب مقطر انجام شد. در نمونه های تیمار به محیط کشت مایع زاروک، محلول خرما با غلظت های ۰، ۰/۵، ۱/۰، ۱/۵، ۲/۰ گرم بر لیتر اضافه شد. کشت این جلبک تحت هوادهی و تابش ۴ کیلولوکس نور انجام گرفت. توده جلبکی پس از ۱۰ روز کشت توسط کاغذ صافی صاف شده و نمونه جلبک از محیط کشت جدا شد. جلبک صاف شده در آون ۵۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید [۱۵].

## ۲-۲- استخراج فایکوسیانین از جلبک

### اسپیرولینا

جلبک پودر شده به نسبت ۰/۰۸ گرم در میلی لیتر [۱۵] با آب مخلوط شده و به مدت ۴ ساعت به منظور استخراج فایکوسیانین بر روی شیکر در دمای ۴ درجه قرار داده شد. سپس نمونه ها در ۱۰۰۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. محلول آبی رنگ بالایی حاوی فایکوسیانین جداسازی شده و جذب آن توسط روش اسپکتروفوتومتری به منظور اندازه گیری غلظت فایکوسیانین در سه طول موج ۶۱۵، ۶۵۲ نانومتر خوانده شدند. غلظت فایکوسیانین به روش بنت و بوگوراد (۱۹۷۳) محاسبه گردید (رابطه ۱) [۱۶].

(رابطه ۱)

$$c - pc = \frac{(A_{615} - (0.474 \cdot A_{652}))}{5.34}$$

در این رابطه  $A_{615}$  طول موج جذب ماکزیم فایکوسیانین و  $A_{652}$  مقدار جذب در طول موج ۶۵۲ نانومتر می باشد. غلظت فایکوسیانین بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه گردید.

محصولات فرعی کشاورزی ارزان قیمت برای کشت چنین ریزسازواره ایی را پیشنهاد کردند [۱۰].

رومی و همکارانش (۱۹۹۸) با بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی فایکوسیانین دریافتند فایکوسیانین توان مهار رادیکال های OH. را با  $IC_{50} = 0.91 \text{ mg/mL}$  و RO. را با  $IC_{50} = 76 \mu\text{g/mL}$  را دارد [۱۱].

بهات و همکاران در سال (۲۰۰۰) بیان داشتند که فایکوسیانین توان مهار رادیکال های پراکسیل را با  $IC_{50} = 5.0 \mu\text{M}$  دارد [۱۲]. در این تحقیق امکان تولید اسپروولینا در محیط کشت حاوی ضایعات خرما مورد مطالعه قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش ها

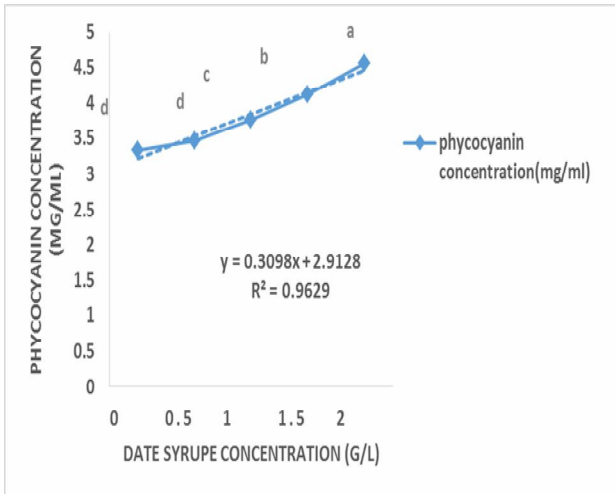
### ۲-۱- کشت و تخلیص جلبک اسپروولینا

نمونه ی شاهد جلبک اسپروولینای تهیه شده از دریای خزر به روش برز آبادی فراهانی تخلیص و در محیط کشت زاروک (۱۹۶۶) با نسبت ۲۰٪ کشت داده شد [۱۳، ۱۴]. ترکیب محیط کشت در جدول ۱ آورده شد.

**Table 1** Composition of Zarrouk media was used for growing *Spirulina platensis*

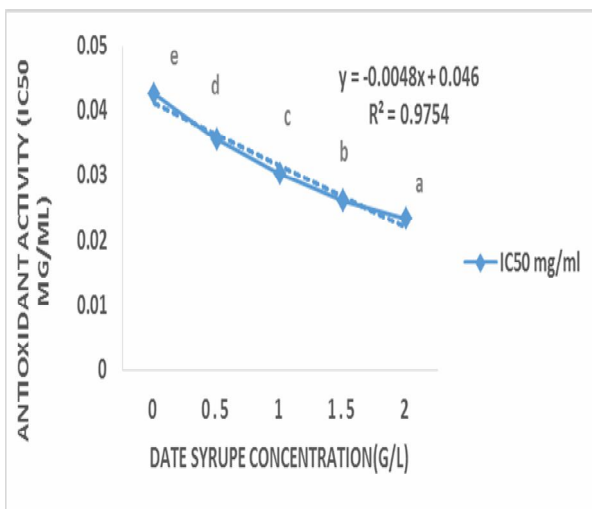
Chemical Name	(g L <sup>-1</sup> )
NaHCO <sub>3</sub>	16.8
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5
NaNO <sub>3</sub>	2.5
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1
NaCl	1
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.04
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.01
EDTA	0.08
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.86
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1.81
ZnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.222
Na <sub>2</sub> MO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.0177
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.079
pH	9.3

طریق معادله رگرسیونی خطی ساده  
 $y = 0.3098x + 2.9128$  بدست آورد.



**Fig 1** The effect of adding different concentrations of date juice on phycocyanin production by *Spirulina*

عصاره های استخراج شده در محیط آبی در آزمون اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج این ارزیابی در نمودار ۲ نشان داده شده است. بر طبق این نمودار خاصیت آنتی اکسیدانی بطور کاملاً معنی داری با افزایش غلظت محلول خرما در محیط از ۰ تا ۲ گرم در لیتر رو به افزایش می گذارد. به طوری که کمترین میزان  $IC_{50}$  را می توان در نمونه رشد یافته در غلظت ۲ گرم در لیتر مشاهده کرد (۰,۰۲۳ میلی گرم/میلی لیتر).



**Fig 2** The effect of adding different concentrations of date juice on antioxidant activity of *Spirulina* aqueous extracted

## ۲-۳- اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی

### عصاره آبی جلبک اسپیرولینا

اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی با استفاده از رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بر اساس  $IC_{50}$  به روش برنندویلیامز و همکاران (۱۹۹۵) محاسبه شد [۱۷]. محلول DPPH در متانول با غلظت ۰/۲۵ میلی گرم در میلی لیتر در تاریکی تهیه شد. ۰/۱ میلی لیتر از هر یک از نمونه ها با ۳/۹ میلی لیتر از محلول DPPH تهیه شده مخلوط گردید. کلیه نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و سپس جذب نمونه ها و کنترل در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد. غلظت DPPH از رابطه ای که توسط رگرسیون خطی غلظت های مختلف DPPH بدست آمده است محاسبه شد. درصد DPPH باقیمانده بر اساس رابطه ۲ محاسبه شد [۱۸].

(رابطه ۲)

$$\%DPPH_{rem} = \frac{[DPPH_t - DPPH_c]}{[DPPH_c]} \times 100$$

[DPPH<sub>t</sub>]: غلظت DPPH حاوی نمونه بعد ۳۰ دقیقه

[DPPH<sub>c</sub>]: غلظت DPPH کنترل

مقدار نمونه ای که لازم است تا مقدار DPPH را به مقدار ۵۰٪ اولیه آن کاهش دهد محاسبه و به صورت  $IC_{50}$  بیان شد.

## ۳- نتایج و بحث

همان طور که گفته شد در این مطالعه اثر افزودن محلول حاصل از ضایعات خرما در ۵ غلظت ۰، ۰/۵، ۱/۰، ۱/۵، ۲/۰ بر روی میزان فایکوسیانین تولیدی و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی استخراجی بررسی شد. نتایج حاصل از اندازه گیری غلظت فایکوسیانین که در نمودار ۱ آورده شده، نشان می دهد با افزایش غلظت محلول خرما در محیط غلظت فایکوسیانین افزایش می یابد هرچند در ابتدا این تغییر زیاد معنا دار نمی باشد ولی با افزایش غلظت به بیش از ۰,۵ گرم در لیتر مقدار فایکوسیانین تولیدی رو به افزایش می گذارد تا اینکه در غلظت ۲ گرم در لیتر به حداکثر مقدار خود می رسد (۴,۵۵ میلی گرم/میلی لیتر).

همان طور که در نمودار مشاهده می کنید غلظت فایکوسیانین را می توان با ضریب اطمینان بسیار مطلوبی ( $R^2 = 0.96$ ) از

در طول ۲۷۰ ساعت کشت به طور یکنواختی افزایش یافته و به حداکثر میزان تولید می رسد [۹].

در مطالعه ای که مارکز و همکارانش نیز در سال ۱۹۹۵ انجام دادند بیان داشتند که میزان تولید انواع رنگدانه بالاخص فایکوسیانین در کشت میکسوتروف حاوی گلوکز در مقایسه با کشت استاندارد اسپیرولینا به میزان ۱,۵ تا دو برابر افزایش نشان می دهد. یافته ها نشان داد که جلبک اسپیرولینا به طور هم زمان از کربن عالی طی هتروتروف و معدنی طی فتوستنتز استفاده می کند [۲۱].

در این مطالعه نیز با افزایش میزان عصاره ی خرما به محیط کشت استاندارد زاروک میزان تولید رنگدانه فایکوسیانین نیز افزایش چشمگیری را نشان داده است. با توجه به مطالعات بیان شده در بالا می توان نتیجه گرفت که این افزایش تا حدود زیادی می تواند به دلیل افزایش غلظت قندهای حاصل از عصاره خرما در محیط کشت باشد از سوی دیگر غنی بودن عصاره خرما از مواد معدنی خود می تواند عامل دیگری در رشد و تولید این رنگدانه ی پروتینی محسوب شود.

خاصیت آنتی اکسیدانی قوی عصاره ی استخراج آبی این جلبک را می توان به وجود رنگدانه های پروتینی همچون فایکواریتترین ، فایکوسیانین ، آلفوفایکوسیانین نسبت داد. افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی استخراجی از جلبک اسپیرولینا کشت داده شده در محیط حاوی عصاره خرما را می توان به دلیل افزایش تولید و غلظت این رنگدانه های پروتینی در عصاره ی آبی استخراجی دانست.

#### ۴- نتیجه گیری

استفاده از ضایعات خرما در تولید رنگدانه ی ارزشمند فایکوسیانین و افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی جلبک اسپیرولینا می تواند با کاهش نیاز به مصرف محیط کشت های گران قیمت صنعتی هزینه های تولید آن را کاهش داده و سبب جلوگیری از هدر رفت ضایعات خرما، این محصول مهم در کشورمان شود. امید است مطالعات بیشتری در زمینه بررسی جنبه های مختلف امکان و بهینه سازی استفاده از ضایعات خرما در تولید این جلبک ارزشمند صورت گیرد.

به منظور یافتن مدل مناسبی برای پیش بینی روند افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی مدل رگرسیون خطی با  $R^2=0,97$  بر نمودار  $IC_{50}$  برازش گردید. همان طور که می بینید در مدل  $y = -0.0048x + 0.046$  مقدار  $IC_{50}$  با ضربی منفی رو به کاهش می گذارد.

همان طور که مطالعات مختلف نشان می دهد درمیان ترکیبات مختلف خرما کربوهیدرات ها غالب ترین ترکیب آن می باشند که در حدود ۷۰ تا ۹۰ درصد آن را تشکیل می دهد. غالب این کربوهیدرات ها از نوع گلوکز، فروکتوز، مانوز، مالتوز، ساکاروز می باشند که حداقل ۵۰ درصد آن را گلوکز تشکیل مد دهد. از سوی دیگر خرما منبع بسیار غنی از انواع میکرونوترینت ها مانند پتاسیم، فسفر، آهن، برم، کادمیوم، کلر، سرب، سولفور، فلئور، کلسیم، کبالت، مس، منیزیم، منگنز، پتاسیم، سدیم، روی می باشد [۱۹].

یافته های دانشمندان مختلف نشان می دهد که استفاده از محیط میکسوتروف حاوی ترکیبات ارگانیک غنی از کربوهیدرات ها می تواند تاثیر بسیار مطلوبی بر رشد جلبک اسپیرولینا داشته باشد. به طور مثال در مطالعه ای که توسط آندراده و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد از ملاس چغندر به همراه محیط کشت زاروک به منظور تولید جلبک اسپیرولینا استفاده شد. نتایج بسیار مثبت این مطالعه نشان داد که استفاده از این منبع ارگانیک می تواند با کاهش هزینه های تولید امکان افزایش بسیار چشمگیری را در تولید این جلبک در مقایسه با محیط استاندارد زاروک ایفا کند [۱۰]. استفاده از ترکیبات ارگانیک می تواند امکان حذف منبع نور و کاهش نیاز به مصرف انرژی در پمپ کردن مداوم محیط کشت را به همراه داشته باشد [۱۰]

در مطالعه دیگری که توسط چونا و همکارانش (۲۰۰۴) انجام گرفت نشان داده شد که افزودن غلظت بالاتر از ۰,۵ گرم در لیتر گلوکز به محیط کشت میکسوتروف سبب افزایش میزان رشد در جلبک اسپیرولینا می گردد [۲۰].

فایکوسیانین رنگدانه ایست که در فرآیند فتوستنتز نقش دارد. از سوی دیگر فعالیت فتوستنتزی برای تولید فایکوسیانین بسیار ضروری است. در کشت های میکسوتروف، متابولیسم فتوستنتز و متابولیسم اکسیداتیو گلوکز به طور همزمان انجام می گیرد. در مطالعه ای که توسط چن و همکاران (۱۹۹۷) انجام شد بیان شد که در کشت میکسوتروف حاوی گلوکز میزان فایکوسیانین

## ۵- منابع

- [12] Bhat V.B, Madyastha K.M. (2000). C-phycoyanin: a potent peroxy radical scavenger in vivo and in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 275:20–25.
- [13] Zarrouk C. (1966). Contribution a l'étude d'une cyanophycee: Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina maxima*. PhD Thesis, Paris (in French).
- [14] Barzabadi Farahani F, Mazaheri Asadi M., Kiani M. (1998). Production of single cell proteins from the *spirulina* of the Caspian Sea. Master's Thesis. 99 p
- [15] Silveira S.T, Burkert J.F.M, Costa J.A.V, Burkert C.A.V, Kalil S.J. (2007). Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. *Bioresource Technology*. 98: 1629–1634.
- [16] Bennett A, Bogorad L. (1973). Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *Journal of Cell Biology*. 58: 419–435.
- [17] Brand-Williams W, Cuvelier M.E, Berset C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Food Science and Technology*. 28: 25-30.
- [18] Cama M, Hisila Y, Durmaz G. (2009). Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*. 112: 721–726.
- [19] Farsi M.A, Alasalvar C, Abid M.A, Shoaily K.A, Amry M.A, Rawahy F.A. (2007). Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food Chemistry*. 104: 943–947.
- [20] Chojnacka K, Noworyta K. (2004). Evaluation of *Spirulina* sp. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. *Enzyme and Microbial Technology*. 34: 461–465.
- [21] Marquez F.H, Nishio N, Nagai S, Sasaki K. (1995). Enhancement of biomass and pigment production during growth of *Spirulina platensis* in mixotrophic culture. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 62(2): 159–164.
- [1] Tavakkoli M, Hamidi-Esfahani Z, Azizi M. H. (2012) Optimization of *Corynebacterium glutamicum* Glutamic Acid Production by Response Surface Methodology. *Food and Bioprocess Technology*, 5: 92-99.
- [2] Belay H, Gershwini M. E. (2007). *Spirulina* In Human Nutrition And Health. 1nd ed. 213-215
- [3] Liang S, Xueming L, Chen F, Chen, Z. (2004). Current microalgal health food R&D activation in china. *Hydrobiologia*. 512: 45-48.
- [4] Belay H. (2002). The Potential Application of *Spirulina (Arthrospira)* as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. *The Journal of the American Nutraceutical Association*. 67-71.
- [5] Vonshak A. (2002). *Spirulina (Arthrospira)* Physiology, cell-biology and Biochemistry. Therapeutic Supplement in Health Management. *The Journal of the American Nutraceutical Association*. 5(2), 25-34.
- [6] MacColl R. (1998). Cyanobacterial phycobilisomes. *Journal of Structural Biology*. 124:311–334.
- [7] Becker W. (2004). Microalgae in human and animal nutrition. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology, Amos Richmond, Ed., Blackwell Science, Oxford. 312.
- [8] Glazer A.N. (1994). Phycobiliproteins—a family of valuable, widely used fluorophores. *Journal of Applied Phycology*. 6:105–112.
- [9] Chen F, Zhang Y. (1997). High cell density mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose for phycocyanin production using a fed-batch system. *Enzyme and Microbial Technology*. 20(3) 221-224.
- [10] Andrade M. D. R. Vieira Costa J.A. (2008). Culture of microalga *Spirulina platensis* in alternative sources of nutrients. *Science and Agrotechnology*. 23(5), 323-331.
- [11] Romay C, Armesto J, Ramirez D, González R, Ledon N, and García I. (1998). Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. *Inflammation Research*. 47:36–41.

## **In vitro effects of dates waste on phycocyanin production by *Spirulina* algae and evaluation of antioxidant activity**

**Tavakoli, M. <sup>1\*</sup>, Vali Aftari, R. <sup>2</sup>**

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol , Iran
2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

In this study we are looking to introduce a way to optimize the use of date fruit waste. This paper investigates the possibility of using date fruit waste in the production of medium, suitable for increasing the production of phycocyanin pigment from *Spirulina* algae and increasing the antioxidant activity. In this paper, the statistical method of full factorial with 3 replications and data analysis with SPSS software was used. Measuring the amount of phycocyanin was conducted using spectrophotometry. Measuring the antioxidant activity of the extract was determined using DPPH radical. Increasing glucose concentration from 0 to 2 grams per liter in standard medium were increased phycocyanin production by *Spirulina* algae in Zarrouk medium during the 10 days. This treatment caused a linear increase in antioxidant activity ( $IC_{50}$ ) in the aqueous extracts of the algae. Date with high amounts of simple sugars and mineral content can be a good source for enrichment of *spirulina platensis* culture medium in order to further increase in the production of phycocyanin valuable pigment and antioxidant activity of algae *Spirulina* extract.

**Keywords:** Date waste .*Spirulina* algae .Phycocyanin .DPPH

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: mtavakkoli.z@gmail.com