مقاله علمی – پژوهشی:

میزان رشد و محتویات رنگدانه ریزجلبک *Dunaliella viridis* پرورش یافته در سطوح مختلف پساب کارخانه آرد ماهی

زهرا هادی‌زاده[۱]، مهدی شمسایی مهرجان*[۱]، سیدپژمان حسینی شکرابی[۱]

*m.shamsaie@srbiau.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۹

چکیده

تحقیق حاضر به بررسی پرورش ریزجلبک *Dunaliella viridis* در پساب کارخانجات آرد ماهی (stickwater) پرداخته است. بدین منظور، محیط کشت گیلارد (F/2) به عنوان تیمار شاهد مورد استفاده قرار گرفت و با پنج سطح متفاوت از استیک‌واتر (SW) به نسبت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد جایگزین گردید. سپس این ریزجلبک‌ها در ظروف پلاستیکی ۸ لیتری به مدت ۱۴ روز به منظور اندازه‌گیری تراکم جلبکی و محتوای رنگدانه (کلروفیل *a* و کاروتنوئید کل) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش غلظت SW تا ۷۵ درصد میزان تراکم سلولی در ریزجلبک افزایش داشت. به‌علاوه، SW به صورت معنی‌داری محتوای رنگدانه‌ها را تحت تأثیر قرار داد به‌طوری‌که بیشترین میزان کلروفیل *a* در غلظت ۷۵ درصد SW در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). همچنین بالاترین مقدار کاروتنوئید به طور همزمان در تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد SW نسبت به سایر تیمارها ثبت شد ($p<۰/۰۵$). با توجه به نتایج به‌دست آمده استفاده از SW در سطح ۷۵ درصد برای کشت ریزجلبک‌های *D. viridis* امکان پذیر است.

لغات کلیدی: *Dunaliella viridis*، استیک‌واتر، رشد، کاروتنوئید

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.15.3]

مقدمه

استیک‌واتر (SW)[1] به پساب کارخانجات آرد ماهی گفته می‌شود که در برخی از کارخانجات تغلیظ می شود و دوباره مورد استفاده قرار می‌گیرد و از این طریق کیفیت آرد ماهی افزایش می‌یابد (Lunar *et al*., 2006). متأسفانه به دلیل هزینه بر بودن و فقدان تجهیزات در اکثر کارخانجات این فرآیند انجام نمی‌شود و استیک‌واتر مستقیم وارد محیط زیست می‌شود (Mahdabi and Shekarabi, 2018). استیک‌واتر شامل مولکول‌ها و ذرات محلول در آب از جمله ترکیبات نیتروژنه، پپتیدها، مواد معدنی مانند فسفر و کلسیم، ویتامین‌های محلول در آب و ترکیبات با وزن مولکولی کم مانند تورین، کراتینین و کارنوزین می‌باشد (Kousoulaki *et al*., 2009; Kam *et al*., 2012). به دلیل غنی بودن این فرآورده جنبی کارخانجات آردماهی از پروتئین، می‌توان از آن برای تولید پروتئین تک یاخته استفاده نمود (Kam *et al*., 2012). اگرچه این ماده به لحاظ داشتن پروتئین بالا و متعاقب آن فعال شدن میکروب‌های پروتئولیتیک، سبب ایجاد بوی بد و زننده در اطراف کارخانجات آردماهی و ایجاد آلودگی مضاعف در محیط زیست می‌گردد (پردلی و همکاران، ۱۳۹۰).

ریزجلبک‌ها با تصفیه پساب، ابزاری زیستی ارزان و کارآمد برای حذف مواد مغذی در اکوسیستم‌های آبی محسوب می‌شوند (Tam and Wong, 2000). بسیاری از مطالعات در خصوص کاربرد ریز جلبک‌ها در پاکسازی و تصفیه پساب‌ها انجام شده است (Koening and Demacedo, 2004; Park and Craggs, 2010). جلبک‌ها دارای مزایای متعددی هستند که از مهمترین آنها می‌توان به عدم ایجاد خطرات زیست محیطی با تکیه بر اصول اکوسیستم‌های طبیعی و عدم ایجاد آلودگی ثانویه اشاره کرد (جریان و همکاران، ۱۳۹۸). در خصوص استفاده میکروارگانیزم‌ها از SW، مقالات متعددی به‌چاپ رسیده است. برای مثال، پردلی و همکاران (۱۳۸۵) از دو گونه باکتری به منظور تولید پروتئین تک یاخته استفاده نمودند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادند که با افزودن گلوکز به میزان ۲۵ -۲۱ گرم در لیتر به پساب کارخانجات آرد ماهی کیلکا می‌توان باکتری‌های *Lactobacillus bulgaricu* و *L. plantarum* تولید نمود. در تحقیق دیگری، بی‌بی کم و همکاران (۱۳۸۹) SW را به عنوان محیط کشت برای تولید پروتئین تک سلولی با استفاده از جلبک *Chlorella* sp.، باکتری *Pseudomonas aeruginosa* و مخمر *Saccharomyces cerovisiae* مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند جایگزینی ۶۰ و ۱۰۰ درصد از محیط کشت استاندارد این باکتری و مخمر با SW امکان‌پذیر است. همچنین، نتایج حاصل از تحقیق Kam و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که جایگزینی ۱۰۰ درصد استیک‌واتر با محیط کشت برای تولید باکتری *L. acidophilus* و قارچ *Aspergilus niger* اثر مثبتی بر میزان تولید زیتوده و اسیدهای آمینه این میکروارگانیزم‌ها دارد.

تاکنون ۷۸ گونه ریزجلبک از جنس *Dunaliella* گزارش شده است (Guiry and Guiry, 2019). اکثر گونه‌های *Dunaliella* مقادیر زیادی کاروتنوئید (گاهی بیش از ۱۰ درصد وزن خشک) را در شرایط استرس‌زا و محدودیت مواد غذایی در خود انباشته می کنند (García-González *et al*., 2005). به طور کلی، تولید کاروتنوئیدها در ریزجلبک‌ها در کلروپلاست می‌باشد و تحت شرایط استرس به اوج خود می‌رسد (Zhu *et al*., 1997). کاروتنوئید نقش بسیار مهمی در حفاظت کلروفیل از اثرات مخرب اکسیداسیون و ممانعت نوری در ریزجلبک ها به‌خصوص گونه‌های جنس *دونالیلا* ایفاء می‌نماید (Ben-Amotz and Avron, 1981). در این میان ریزجلبک *Dunaliella viridis* یکی از گونه‌های یوکاریوتی مقاوم به شرایط نامناسب محیطی به‌خصوص شوری به‌شمار می‌رود. برای مثال، در بسیاری از محیط‌های حاوی نمک مانند دریاچه‌ها و مرداب‌های آب شور به طور طبیعی یافت می‌شود (Lee *et al*., 2010). از سویی، ذخایر طبیعی از این ریزجلبک در آبهای ایران نظیر تالاب گاو خونی (Hadi *et al*., 2008)، سلطان حوض (صدقی و همکاران، ۱۳۹۵) و منطقه جزر و مدی قشم

[1] Stickwater

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.15.3]

(حسینی و همکاران، ۱۳۹۲) گزارش شده است. بنابراین، با توجه به تولید مقادیر بالای استیک‌واتر در کارخانجات تولید آرد ماهی در ایران و پایین بودن هزینه تولید، در این مطالعه، استفاده از سطوح مختلف استیک‌واتر حاصل از کارخانه آرد ماهی کیلکا به عنوان جایگزین محیط کشت استاندارد (F/2) و اثرات آن بر رشد و مقدار رنگدانه‌های ریزجلبک *D. viridi* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

تهیه ذخیره جلبکی و شرایط پرورش

استوک اولیه ریزجلبک *D. viridi* به صوت خالص از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (IBRC-M 5059) که از دریاچه حوض سلطان شهرستان قم جدا شده بود، تهیه گردید. برای کشت اولیه این ریزجلبک از محیط کشت استاندارد F/2 استفاده گردید (Giullard, 1975). کشت این ریزجلبک در فلاسک‌های پلاستیکی با حجم ۸ لیتر با هوادهی مداوم ، شوری ppt ۳۵، ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد، شدت نوری ۱۵۰ µmol photons m^{-2} s^{-1} (۱۴:۱۰ تاریکی:روشنایی) و pH=۷ صورت پذیرفت (Jiménez and Niell, 1991). تمام مواد شیمیایی از شرکت مرک (Merc, Germany) تهیه گردیدند.

تهیه SW

استیک‌واتر حاصل از پساب کارخانه آرد ماهی کیلکا (شرکت پودرماهی ۵۸۱ بابلسر، استان مازندران) به صورت تازه جمع آوری و در ظروف استریل به مجتمع آزمایشگاهی رازی (دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران) در کنار یخ منتقل گردید. قبل از شروع آزمایش، SW در دستگاه اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه در فشار ۱/۶ اتمسفر در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد استریل و سپس با کمک دستگاه پمپ خلاء، کاغذ صافی (ضخامت ۱۲۵ میلی‌متر و فیلتراسیون ذرات ۱۵-۱۲ میکرومتر)، قیف بوخنر و ارلن خلاء صاف گردید. SW تا قبل از آزمایش در یخچال در ظروف سربسته و تاریک نگهداری گردید.

طراحی آزمایش

تیمارهای آزمایشی در این تحقیق شامل سطوح مختلف جایگزینی محیط کشت استاندارد یا F/2 (Guillard, 1975) ریزجلبک *D. viridi* با SW بود. بدین منظور، SW در درصدهای ۰ (شاهد)، ۱۰ (10%SW)، ۲۵ (۲۵%SW)، ۵۰ (50%SW)، ۷۵ (75%SW) و ۱۰۰ (100%SW) جایگزین محیط کشت استاندارد گردید. ریز جلبک *D. viridi* در تمام تیمارها به مقدار ۲×۱۰^{۴} سلول در میلی‌لیتر ذخیره سازی گردید (Ghezelbash *et al.*, 2008).

شمارش سلولی

تعداد سلول‌های ریز جلبک *D. viridi* در روزهای ۱، ۷، ۱۲ و ۱۴ با استفاده لام هموسیتومتر و میکروسکوپ نوری (ECLIPSE 9 TE2000-U, Nikon Corporation, Japan) با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ برابر شمارش گردید (Das *et al.*, 2016).

تعیین میزان رنگدانه کلروفیل

اندازه‌گیری کلروفیل *a* با استفاده از روش Sabzi و همکاران (۲۰۲۱) انجام پذیرفت. بدین منظور مقدار ۵۰ میلی‌لیتر از ریزجلبک پرورش یافته در تیمارهای مختلف با کاغذ صافی (شماره ALBET-AC- 020-47-BL) فیلتر گردید. نمونه‌ها به همراه استون ۹۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند و جذب نوری محلول بالایی در دستگاه اسپکتوفوتومتر مورد خوانش قرار گرفت. طیف جذب نوری (A) توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر برای کلروفیل a برابر ۶۶۳/۶ و ۶۴۶/۶ نانومتر بود و از رابطه ذیل برحسب میکروگرم در لیتر محاسبه گردید:

$$\text{Chlorophyll } a \text{ (µg/mL)} = 12.25\ A_{663.6} - 2.25\ A_{646.6}$$

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.15.3]

تعیین میزان کاروتنوئید کل

تعیین غلظت کاروتنوئید کل با استفاده از روش Eijckelhoff و Dekker (۱۹۹۷) انجام گرفت. بدین ترتیب، ابتدا سلول‌های جلبکی در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۸-۶ دقیقه و دور ۳۵۰۰ در دستگاه سانتریفیوژ (3-30K Sigma, Germany) سانتریفیوژ گردیدند. از استون ۸۰ درصد برای استخراج رنگدانه‌ها در رسوب حاصله استفاده گردید و دوباره محتویات با مشخصات مشابه سانتریفیوژ شدند. میزان جذب محلول رویی در طول موج‌های ۴۱۲، ۴۳۱، ۴۶۰ و ۴۸۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. سپس با قرار دادن جذب‌های خوانده شده (A) در فرمول‌های ذیل میزان کاروتنوئید به صورت میلی‌گرم بر لیتر محاسبه گردید:

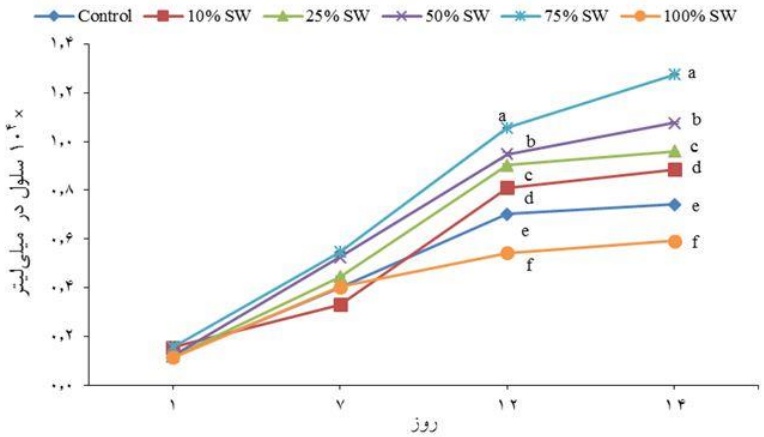
$$\text{Carotenoids (mg/mL)} = 0.430\ A_{412} + 0.251\ A_{431} - 4.376\ A_{460} + 13.216\ A_{480}$$

روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها

تمام آزمایش‌ها با سه تکرار انجام گردید. اطلاعات بدست آمده ابتدا در نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ مرتب شدند و با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. ابتدا نرمال بودن داده‌های به‌دست آمده با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف تعیین گردید. سپس از طریق آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و با کمک آزمون Tukeys HSD وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها در سطح اطمینان کمتر از ۵ درصد در تعیین گردید.

نتایج

با توجه به شکل ۱، تراکم جلبک *D. viridis* در غلظت‌های متفاوت جایگزینی استیک‌واتر نشان داد که تفاوت معنی‌داری روزهای ۱، ۷، ۱۲ و ۱۴ در تیمارهای مختلف وجود دارد به‌طوری‌که تعداد سلول‌های ریز جلبک با افزایش طول دوره افزایش یافت و در روزهای پایانی آزمایش نسبتاً ثابت باقی ماند. همچنین افزایش سطوح جایگزینی محیط کشت F/2 با استیک واتر تا سطح ۷۵ درصد، سبب افزایش معنی‌دار در تعداد سلول‌های ریزجلبک نسبت به سایر تیمارها گردید ($p<۰/۰۵$) در حالی‌که در مقایسه با سایر تیمارها کمترین تعداد سلولی در تیمار ۱۰۰ درصد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).



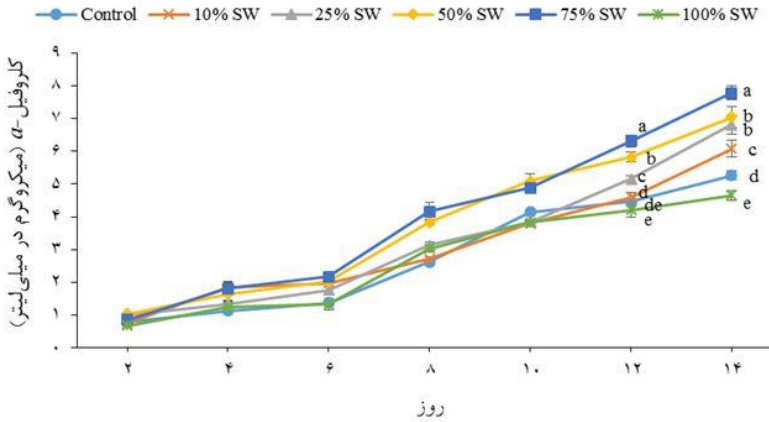
شکل ۱: مقایسه میانگین تراکم ریز جلبک *Dunaliella viridis* پرورش یافته در غلظت‌های مختلف جایگزینی SW
حروف غیر یکسان در روزهای مختلف نشانگر معناداری بین تیمارهاست ($p<۰/۰۵$ ، $n=3$)

Figure 3: Comparison of the means of optical density in *Dunaliella viridis* grown at different concentrations of stickwater (SW) during the cultivation period
Different letters indicate significant differences between the treatments ($p<0.05$, $n = 3$).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-23]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.15.3]

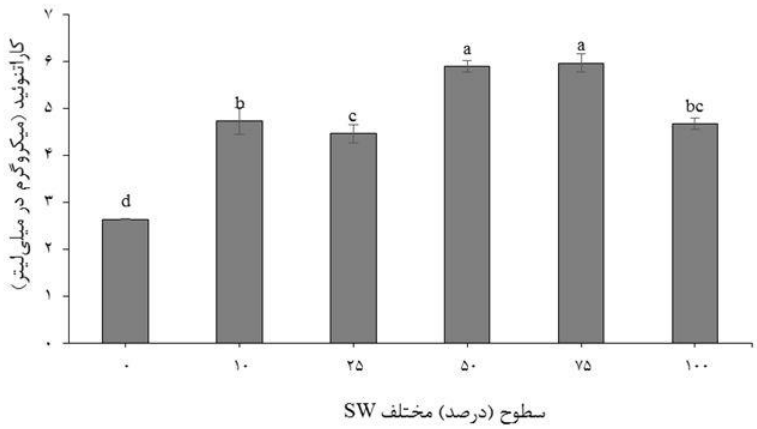
محتوای کلروفیل

بررسی نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که غلظت‌های مختلف استیک‌واتر در تمامی روزهای آزمایش بر مقدار کلروفیل *a* ریز جلبک *D. viridis* تأثیر معنی‌دار داشت (شکل‌های ۲ و ۳). روند افزایشی در کلروفیل *a* در تمام تیمارها مشاهده گردید به‌طوریکه در روز دوازدهم و چهاردهم آزمایش، میزان کلروفیل a در تیمار ۷۵ درصد استیک واتر به‌ترتیب با میانگین ۰/۰۶±۵/۷۴۱ و ۰/۰۲±۶/۵۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین میزان را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p<0/05$) در حالی‌که در مقایسه با سایر تیمارها کمترین مقدار کلروفیل *a* در گروه کشت داده شده در محیط کشت واجد ۱۰۰ درصد SW مشاهده گردید.



شکل ۲: مقایسه میانگین کلروفیل *a* ریز جلبک *Dunaliella viridis* پرورش یافته در غلظت‌های مختلف جایگزینی SW
حروف غیر یکسان در روزهای مختلف نشانگر معناداری بین تیمارهاست ($p<0/05$ ، $n=3$)

Figure 3: Comparison of the means of chlorophyll *a* in *Dunaliella viridis* grown at different concentrations of stickwater (SW) during the cultivation period
Different letters indicate significant differences between the treatments ($p<0.05$, $n = 3$)



شکل ۳: مقایسه میانگین کاروتنوئید کل در ریز جلبک *Dunaliella viridis* پرورش یافته در غلظت‌های مختلف جایگزینی SW در روز ۱۴
حروف غیر یکسان در روزهای مختلف نشانگر معناداری بین تیمارهاست ($p<0/05$ ، $n=3$)

Figure 3: Comparison of the means of total carotenoids in *Dunaliella viridis* grown at different concentrations of stickwater (SW) on day 14
Different letters indicate significant differences between the treatments ($p<0.05$, $n = 3$)

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.15.3]

بررسی مقدار کاروتنوئید در ریز جلبک *D. viridis* کشت شده در استیک واتر نشان داد که غلظت‌های مختلف استیک واتر بر مقدار کاروتنوئید اثرگذار بود و در روز پایانی آزمایش بیشترین مقدار کاروتنوئید به طور همزمان در غلظت ۷۵ و ۵۰ درصد استیک واتر نسبت به سایر تیمارها مشاهده گردید و کمترین مقدار کاروتنوئید نیز در گروه شاهد به‌دست آمد (شکل ۳).

بحث

بیشترین هزینه تولید ریزجلبک‌ها مربوط به محیط کشت آنها می‌باشد. از این‌رو، همواره سعی شده است تا جایگزین‌های مناسب برای آنها پیدا شود (Ashraf *et al*., 2011). رشد ریزجلبک *D. viridis* در تمامی تیمارهای آزمایشی نشان دهنده تطبیق‌پذیری و قابلیت رشد و پرورش این ریزجلبک در استیک‌واتر حاصل از کارخانه آردماهی کیلکا بوده است (شکل ۱).در حالی‌که کاهش عملکرد رشد ریزجلبک در تیمار تماماً جایگزین شده با استیک‌واتر می‌تواند به علت عدم کارایی آن در تأمین نیازهای جلبک در حد مناسب باشد که به همین منظور استفاده از استیک واتر با ۷۵ درصد سطح جایگزینی، بهترین نتیجه را نشان داد. عوامل مختلفی در کاهش میزان رشد جلبک‌ها مطرح شده‌اند که شامل تغییرات شوری، محدودیت نوری، محدود شدن دی اکسید کربن یا کربن معدنی، کاهش مواد مغذی و نامطلوب شدن نسبت نیتروژن به فسفر می‌باشند. البته مهم‌ترین عناصر محدود کننده رشد میکروجلبک‌ها عناصر نیتروژن (عمدتاً در فرم نیترات و آمونیوم) و فسفر (در فرم فسفات) است. باتوجه به کاهش رشد ریزجلبک *D. viridis* در تیمار ۱۰۰ درصد SW، این احتمال وجود دارد که استیک واتر به تنهایی فاقد قابلیت تأمین تمام مواد مغذی مورد نیاز ریزجلبک می‌باشد. البته انجام تحقیقات تکمیلی در آینده جهت یافتن عامل محدود کننده رشد ضروری است. استفاده از پساب پرورش ماهی به عنوان محیط کشت ریز جلبک *Spirulina platensis* منجر به افزایش معنادار زیست توده ریزجلبک نسبت به ریزجلبک‌هایی که صرفاً در محیط کشت استاندارد رشد یافته بودند، گردید (Markou and Georgakakis, 2011). در تحقیق Lv و همکاران (۲۰۱۰) بر جلبک *Chlorella vulgaris* برای بهبود تولید چربی از طریق اصلاح محیط کشت، نشان دادند که غلظت بالای نیتروژن (۵/۰ میلی‌مول) رشد جلبک *C. vulgaris* را بهبود می‌بخشد. Safafar و همکاران (۲۰۱۶) اثر پساب صنعتی را جهت بهبود میزان رنگدانه و پروتئین جلبک *C. vulgaris* بررسی نمودند و عنوان کردند زیتوده جلبک کشت داده شده در ۶۷ درصد پساب (حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم/لیتر NH^{+}_{4}-N و ۶/۸ میلی‌گرم/لیتر فسفر) در مقایسه با سایر تیمارها و همچنین جایگزینی ۱۰۰ درصد (حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم/لیتر NH^{+}_{4}-N و ۱۱ میلی‌گرم/لیتر فسفر) بالاتر بود. گزارش شده که استیک واتر حاوی سطوح بالایی از نیتروژن (۲۱۹/۲۳ میلی‌گرم در لیتر نیترات) و فسفر (۱۲/۵۹ میلی‌گرم فسفات) است (Mahdabi and Shekarabi, 2018) و احتمالاً تراکم حداکثری ریزجلبک *D. viridis* در تیمار ۷۵ درصد استیک واتر به دلیل مقدار فراوان و مناسب مواد مغذی مناسب در این پساب است. اگرچه در مطالعات مختلف اجزا و خصوصیات استیک واتر ماهیان مختلف بیانگر مقادیر بالای ترکیبات نیتروژنی و فسفردار است (Kam *et al*., 2012; Mahdabi and Shekarabi, 2018). اما جهت روشن شدن دقیق ترکیبات و عناصر موجود در SW حاصل از کارخانجات آردماهی کلیکا، انجام تحقیقات تکمیلی پیشنهاد می‌گردد.

نتایج این مطالعه نشان داد که روند کلروفیل *a* در تمام تیمارهای آزمایش افزایشی بود به‌طوری‌که بیشترین میزان کلروفیل *a* در تیمار ۷۵ درصد استیک واتر مشاهده گردید. استیک‌واتر به عنوان یک ماده مغذی مایع می تواند غلظت بالایی از مواد مغذی را برای زیست توده ریزجلبکی فراهم کند و منجر به افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی گردد (Kam *et al*., 2012).

در این مطالعه با افزایش میزان جایگزینی محیط کشت جلبک *D. viridis* با استیک‌واتر در تیمارهای آزمایشی میزان کاروتنوئید افزایش یافت. هرچند که این افزایش در تیمار ۱۰۰ درصد استیک‌واتر کمتر از سایر تیمارهای

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.15.3]

حاوی استیک‌واتر بود. با این وجود، مقدار آن از تیمار شاهد بالاتر بود که علت آن می‌تواند کاهش زیتوده جلبکی باشد (Hadizadeh *et al*., 2020).

تحقیق حاضر نشان داد که تغییر محیط کشت استاندارد جلبک *D. viridis* با غلظت‌های مختلف استیک واتر تا سطح ۷۵ درصد منجر به افزایش تعداد سلول‌ها، کلروفیل *a* و کاروتنوئید کل در محیط کشت حاوی ۷۵ درصد استیک واتر گردید. بنابراین، جهت دستیابی به بیشترین بازده تولید در ریزجبک *D. viridis*، استفاده از SW در سطح ۷۵ درصد به جای محیط کشت گیلارد پیشنهاد می‌گردد. در نتیجه، استفاده از استیک واتر علاوه بر ایجاد ارزش افزوده و کاهش آلودگی و یوتروف شدن منابع آبی، سبب کاهش هزینه‌های تولید غذای زنده در صنعت آبزی‌پروری می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری‌های آقای مهندس حمید فتحعلیان، مسئول آزمایشگاه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات در زمینه پرورش ریزجلبک سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

بی‌بی کم، ص.، عابدیان، ع. و یونسی، ح.، ۱۳۸۹. تولید پروتئین تک یاخته با استفاده از کشت باکتری و قارچ از پساب کارخانه آرد ماهی کیلکا (استیک واتر). مجله علمی شیلات ایران، ۱۹(۴): ۳۲-۲۱. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.109957

پردلی، ح. م.، صفری، ر. و حسینی، س.ح.، ۱۳۹۰. استفاده از دو گونه باکتری لاکتیک به منظور تولید پروتئین تک یاخته از آب ماهی تغلیظ شده کارخانجات پودر ماهی کیلکا. مجله علوم غذایی و تغذیه، ۸(۳): ۸۸- ۷۸.

جریان، ر.، فاطمی، م. و ماشینچیان مرادی، ع.، ۱۳۹۸. بررسی تاثیر دما و عناصر منیزیم و آهن بر میزان رشد و توده زنده جلبک اسپیرولینا (*Arthrospira plantensis*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۶): ۶۹-۷۸. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.120111

حسینی، ب.م.، هادی، م.، افشارزاده، س. و قادر ف.، ۱۳۹۲. شناسایی چهارگونه جلبک سبز *Dunaliella* جداشده از آب های منطقه جزر و مدی جزیره قشم. مجله آبزیان و شیلات، ۱۳(۴): ۱-۱۱.

صدقی، م.، صبا، ف.، نوروزی، م.، آموزگار، م. و شاهزاده فاضلی، س.ا.، ۱۳۹۵. جداسازی و شناسایی ریخت شناسی و مولکولی گونه های جلبک *Dunaliella* از دریاچه های شور حوض سلطان و آران و بیدگل. مجله علمی رستنی‌ها، ۱۷(۱): ۷۰-۷۷.

Ashraf, M., Javaid, M., Rashid, T., Ayub, M., Zafar, A., Ali, S. and Naeem, M., 2011. Replacement of expensive pure nutritive media with low cost commercial fertilizers for mass culture of freshwater algae, *Chlorella vulgaris*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13(4): 484–490.

Ben-Amotz, A., 1981. Effect of irradiance and nutrient deficiency on the chemical composition of *Dunaliella bardawil*. Ben-Amotz and Avron, (Volvocales, Chlorophyta). *Journal Plant Physiology*, 131: 479-487. DOI: 10.1016/S0176-1617(87)80290-0

Das, P., Thaher, M., Abdul Hakim, M., Al-Jabri, M. and Alghasal, Gh., 2016. Comparative study of the growth of *Tetraselmis* sp. in large scale fixed depth and decreasing depth raceway ponds. *Bioresource Technology*, 216: 114–120. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.05.058.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.15.3]

Eijckelhoff, C. and Dekker, J.P., 1997. A routine method to determine the chlorophyll *a*, pheophytin a and β-carotene contents of isolated Photosystem II reaction center complexes. *Photosynthesis Research*, 52: 69–73. DOI: 10.1023/A:1005834006985

García-González, M., Moreno, J., Manzano, J.C., Florencio, F.J. and Guerrero, M.G., 2005. Production of *Dunaliella salina* biomass rich in 9-cis-β-carotene and lutein in a closed tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 115: 81-90. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2004.07.010

Ghezelbash, F., Farboodnia, T., Heidari, R. and Agh, N., 2008. Biochemical effects of different salinities and luminance on green microalgae *Tetraselmis chuii*. *Research Journal of Biological Sciences*, 3: 217-221.

Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith W.L. and Chanley M.H (Eds.) Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum Press, New York, USA. pp 26-60.

Guiry, M.D. and Guiry, M.D., 2019. AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland. Available on: http://www.algaebase.org.

Hadi, M., Shariati, M. and Afsharzadeh, S., 2008. Microalgal biotechnology: Carotenoid and glycerol production by the green algae *Dunaliella* isolated from the Gave-khooni salt marsh, Iran. *Journal of Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13: 540-544. DOI: 10.1007/s12257-007-0185-7

Hadizadeh, Z., Mehrgan, M.S. and Shekarabi, S.P.H., 2020. The potential use of stickwater from a kilka fishmeal plant in *Dunaliella salina* cultivation. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(2): 2144-2154. DOI: 10.1007/s11356-019-06926-w

Jiménez, C. and Niell, F.X., 1991. Growth of *Dunaliella viridis* Teodoresco: Effect of salinity, temperature and nitrogen concentration. *Journal of Applied Phycology*, 3: 319-327. DOI: 10.1007/BF02392885

Kam, S., Abedian Kenari, A. and Younesi, H., 2012. Production of Single Cell Protein in Stickwater by Lactobacillus acidophilus and *Aspergillus niger*. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 21: 403–417. DOI: 10.1080/10498850.2011.605539

Koening, L.M. Demacedo, J.S., 2004. Urban secondary sewage: an alternatve medium for the culture of *Tetraselmis chuii* (Prasinophyceae) and *Dunaliella viridis* (Chlorophyceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology, an International Journal*, 3: 451-459. DOI: 10.1590/S1516-89132004000300016

Kousoulaki, K., Albrektsen, S., Langmyhr, E., Olsen, H.J., Campbell, P. and Aksnes, A., 2009. The water soluble fraction in fish meal (stickwater) stimulates growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) given high plant protein diets. *Aquaculture*, 289: 74–83. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.12.034

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.15.3]

Lee, J.Y., Yoo, C., Jun, S.Y., Ahn C.Y. and Oh, H.M., 2010. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource Technology*, 101: 75-77. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.03.058

Lunar, A.N. and Craig, S.R., 2006. Replacement of fish meal in cobia (*Rachycentron canadum*) diets using an organically certified protein. *Aquaculture*, 257: 393-399. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.11.010

Lv, J.M., Cheng, L.H. and Xu, X.H., 2010. Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. *Bioresource Technology*, 101: 6797–6804. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.03.120

Mahdabi, M. and Hosseini Shekarabi, S.P., 2018. A comparative study on some functional and antioxidant properties of kilka meat, fishmeal, and stickwater protein hydrolysates. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27: 844-858. DOI: 10.1080/10498850.2018.1500503

Markou, G. and Georgakakis, D., 2011. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro industrial wastes and wastewaters: a review. *Applied Energy*, 88: 3389-3401. DOI: 10.1016/j.apenergy.2010.12.042

Park, J.B.K. and Craggs, R.J., 2010. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. *Water Science and Technology*, 61: 633-639. DOI: 10.2166/wst.2010.951

Sabzi, S., Mehrgan, M.S., Islami, H.R. and Shekarabi, S.P.H., 2018. Changes in biochemical composition and fatty acid accumulation of *Nannochloropsis oculata* in response to different iron concentrations. *Biofuels*, 12(1): 1-7. DOI: 10.1080/17597269.2018.1489672

Safafar, H., Nørregaard, P.U., Ljubic, A., Møller, P., Holdt, S.L. and Jacobsen, C., 2016. Enhancement of protein and pigment content in two *Chlorella* species cultivated on Industrial process water. *Journal of Marine Science and Engineering*, 4: 1-15. DOI: 10.3390/jmse4040084

Tam, N.F.Y. and Wang, Y.S., 2000. Effect of immobilized microalgal bead concentration on wastewater nutrient removal. Environmental Pollution, 107(1): 145–151. DOI: 10.1016/S0269-7491(99)00118-9

Zhu, C.J., Lee, K.L. and Chao, T.M., 1997. Effect of temperature and growth phase on lipid and biochemical composition of *Isochrysis galbana* TK1. *Journal of Applied Phycology*, 9: 451-457. DOI: 10.1023/A:1007973319348.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.15.3]

Growth rate and pigment contents of grown *Dunaliella viridis* microalgae in different levels of a fishmeal factory wastewater

Hadizadeh, Z.[1]; Shamsaei Mehrgan, M.[1 *]; Hosseini Shekarabi, S.P.[1]

[*]m.shamsaie@srbiau.ac.ir

1- Department of Fisheries, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

Abstract

The present study investigated the cultivation of *Dunaliella viridis* microalgae in the stickwater (SW) from the wastewater of fishmeal factories. For this purpose, Gillard culture medium (F/2) was used as a control treatment and five different levels of SW including 10, 25, 50, 75, and 100% were used. Then, these microalgae were cultured in 8-liter plastic containers for 14 days to evaluate the algal density and pigment contents (chlorophyll *a* and total carotenoids). The results of the present study showed that by increasing in the concentration of SW up to 75% the cell density was increased. In addition, the pigment contents were significantly affected by SW concentrations and the highest amount of chlorophyll *a* was observed at a concentration of 75% SW compared to other treatments ($p<0.05$). Also, the highest amount of carotenoids was recorded simultaneously in 75% and 50% SW treatments compared to other treatments ($p<0.05$). According to the obtained results, using SW at 75% is feasible to grow *D. viridis* microalgae.

Keywords: *Dunaliella viridis*, Stickwater, Growth, Carotenoids

Corresponding' author

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.6.15.3]