

مقایسه رشد، تولید رنگدانه و ظرفیت نمک‌زدایی ریز جلبک *دونالیلا سالینا* در پساب لب‌شور نیروگاهی و محیط کشت استاندارد با شوری‌های متفاوت

سیده سحر موسوی فرج‌زاده^۱، سید مرتضی ضمیر^{۲*}

۱- کارشناسی ارشد مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- دانشیار مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی، دانشگاه تربیت مدرس

پیام نگار: zamir@modares.ac.ir

Comparative evaluations of growth, pigment production, and desalination capabilities of *Dunaliella salina* in real-case brackish wastewater from a power plant and standard medium with different salinity

S. S. Mousavi Farajzadeh¹, S. M. Zamir^{2*}

1- M.Sc. of Biochemical Engineering, Tarbiat Modares University

2- Associate Professor of Biochemical Engineering, Tarbiat Modares University

Email: zamir@modares.ac.ir

* Tehran, Tarbiat Modares University, Faculty of Chemical Engineering, Department of Biochemical Engineering

چکیده

با افزایش تولید پساب‌های صنعتی شور و کاهش منابع آب شیرین، توسعه روش‌های پایدار و کم‌هزینه برای تصفیه آن‌ها ضروری است. در این مطالعه، رشد، تولید رنگدانه‌ها و ظرفیت نمک‌زدایی ریزجلبک نمک‌دوست *دونالیلا سالینا* در پساب لب شور نیروگاهی (BWW) و محیط‌کشت سنتزی جانسون اصلاح‌شده (MJM) با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (۰/۵-۲/۵ مولار) بررسی شد. محیط‌های سنتزی با شوری‌های مشخص برای ارزیابی تأثیر شوری بر رشد و تولید متابولیت‌ها انتخاب شدند. بیشترین زیست‌توده در MJM#0.5 و BWW به ترتیب $2/14 \pm 0/28$ و $1/82 \pm 0/23$ گرم بر لیتر حاصل شد و با افزایش شوری، کاهش یافت. به طوری که در MJM#2.5 زیست‌توده به $1/68 \pm 0/14$ گرم بر لیتر رسید که بیانگر اثر منفی فشار اسمزی بالا بر تقسیم سلولی و جذب مواد مغذی است. تولید کلروفیل با الگوی رشد همسو بود و بیشترین مقدار آن ($1/7 \pm 16/9$ میلی‌گرم بر لیتر) در MJM#0.5 ثبت شد. با افزایش شوری تا سطح متوسط (MJM#2)، تنش یونی ایجاد شده منجر به افزایش تولید کاروتنوئید و بتاکاروتن شد (به ترتیب $41/4 \pm 3/4$ و $37/9 \pm 2/1$ میلی‌گرم بر لیتر). در BWW نیز به دلیل محدودیت نیتروژن و فسفات و تنش یونی متوسط، تولید کاروتنوئیدها و بتاکاروتن قابل توجه بود (به ترتیب $30/2 \pm 1/8$ و $27/9 \pm 1/6$ میلی‌گرم بر لیتر). علاوه بر این، کاهش شوری پساب با کاهش EC و TDS به ترتیب $23/2 \pm 2/5$ ٪ و $52/5 \pm 5/7$ ٪ همراه بود. همچنین حذف مؤثر یون‌های اصلی شامل فسفات ($90/4 \pm 18/8$ ٪)، نیتروژن کل ($69/5 \pm 8/5$ ٪) و سولفات ($71/7 \pm 8/7$ ٪) مشاهده شد. نتایج نشان می‌دهد *دونالیلا سالینا* ضمن تصفیه پایدار پساب‌های شور قادر به تولید متابولیت‌های ارزشمند است.

کلیدواژه‌ها

ریزجلبک، *دونالیلا سالینا*، زیست‌توده، کاروتنوئید، نمک‌زدایی، پساب لب شور

Abstract

As saline industrial wastewater production increases and freshwater resources decline, it is crucial to develop sustainable and cost-effective treatment methods. This study investigated the growth, pigment production, and desalination capacity of the halophilic microalgae *Dunaliella salina* in brackish wastewater from a power plant (BWW) and modified Johnson medium (MJM) with varying NaCl concentrations (0.5–2.5 M). Synthetic media with controlled salinities were selected for accurate comparison with real wastewater and to evaluate the effect of salinity on growth and metabolite production. The maximum biomass recorded in MJM#0.5 and BWW was 2.14 ± 0.28 g/L and 1.82 ± 0.23 g/L, respectively, and decreased with increasing salinity, reaching 1.68 ± 0.14 g/L in MJM#2.5, indicating the negative impact of high osmotic pressure on cell division and nutrient uptake. Chlorophyll production followed a similar trend, with the highest total chlorophyll (16.9 ± 1.7 mg/L) observed in MJM#0.5. With increasing salinity to moderate levels (MJM#2), ionic stress was induced, leading to enhanced carotenoid and β -carotene production (41.4 ± 4.3 and 37.2 ± 1.2 mg/L, respectively). In BWW, due to nitrogen and phosphate limitation as well as moderate ionic stress, significant accumulation of carotenoids and β -carotene was observed, with values of 30.2 ± 1.8 and 27.9 ± 6.1 mg/L, respectively. Salinity reduction in BWW was substantial, with EC and TDS decreasing by $23.2 \pm 2.5\%$ and $52.5 \pm 7.5\%$, respectively. Major ions were effectively removed, including phosphate ($90.4 \pm 18.8\%$), total nitrogen ($69.5 \pm 5.8\%$), and sulfate ($71.7 \pm 7.8\%$). These results demonstrate that *D. salina* can simultaneously produce valuable metabolites and sustainably treat saline wastewater.

Keywords

Microalgae, *Dunaliella salina*, Biomass, Carotenoids, Desalination, Brackish wastewater

۱. مقدمه

با گسترش روزافزون فعالیت‌های صنعتی و توسعه شهرنشینی، مشکلات زیست‌محیطی و کمبود آب سالم به چالش‌هایی جدی و فراگیر در سطح جهانی تبدیل شده‌اند [۱]. حدود ۲/۵ درصد از منابع آبی زمین به‌عنوان آب شیرین طبقه‌بندی می‌شوند؛ با این حال، تنها حدود ۰/۰۱ درصد از این آب شیرین به‌طور مستقیم برای مصارف انسانی در دسترس است [۲]. در بسیاری از مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان، بارندگی هم از نظر مقدار و هم از نظر زمان‌بندی مناسب نیست و منابع آب زیرزمینی که نقش حیاتی در توسعه کشاورزی و مصارف شهری و صنعتی دارند، به دلیل بهره‌برداری بی‌رویه، تغییرات اقلیمی، افزایش تبخیر و تعرق و حفاری گسترده چاه‌ها، کیفیت خود را از دست داده و شوری آن افزایش یافته است [۳]. در شرایطی که جمعیت جهان رو به افزایش است و منابع آبی در حال کاهش‌اند، نمک‌زدایی آب‌های شور به‌عنوان یکی از راهکارهای مؤثر برای رفع بحران آب و تأمین آب سالم مورد توجه قرار گرفته است [۴].

از سوی دیگر، بسیاری از صنایع مانند نفت و گاز، نیروگاه‌ها، کشاورزی، نساجی، تولید کاغذ و صنایع غذایی، حجم زیادی پساب شور تولید می‌کنند که مدیریت و تصفیه آن‌ها نیز به یک ضرورت زیست‌محیطی بدل شده است [۵]. تخلیه پساب شور به منابع آب سطحی می‌تواند با افزایش یون‌هایی مانند سدیم و سولفات، باعث کاهش نفوذپذیری آب، افت حاصل‌خیزی خاک و آسیب به گیاهان شود. همچنین، شوری با ایجاد تغییر در ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک، تأثیرات منفی بر رشد محصولات کشاورزی دارد [۶].

فرآیندهای نمک‌زدایی که معمولاً ماهیتی فیزیکوشیمیایی دارند، مانند اسمز معکوس و مستقیم، الکترودیالیز و تقطیر چندمرحله‌ای، هزینه‌بر بوده و منابع زیادی را مصرف می‌کنند. به همین دلیل، در سال‌های اخیر فرآیندهای نمک‌زدایی زیستی با بهره‌گیری از ریزاندامگان‌های زنده، به‌عنوان راهکاری پایدار، اقتصادی و با مصرف انرژی پایین، در پاسخ به چالش‌های ناشی از پساب‌های شور و بازیابی منابع آبی، مورد توجه گسترده‌ای قرار گرفته‌اند [۷]. در بین این ریزاندامگان‌ها، ریزجلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها، به‌دلیل رشد اتوتروف و توانایی آن‌ها در تثبیت دی‌اکسید کربن، گزینه‌هایی امیدوارکننده برای نمک‌زدایی زیستی به‌شمار می‌روند. تاکنون، قابلیت نمک‌زدایی چندین گونه ریزجلبک، از جمله *کلرلا ولگاریس*^۱، *دونالیلا سالینا*^۲، *سندسموس*^۳ و *کلروکوکوم*^۴ از طریق فرایندهای جذب زیستی^۵ و زیست‌انباشتگی^۶ گزارش شده است [۳].

در این میان، *دونالیلا سالینا*، به دلیل سازگاری قابل توجه با غلظت‌های نمک بین ۹ تا ۲۰۰ گرم در لیتر و همچنین رشد سریع، بیشتر از سایر گونه‌ها مورد توجه قرار گرفته است [۸]. این ریزجلبک تک‌سلولی

¹ *Chlorella vulgaris*

² *Dunaliella salina*

³ *Scenedesmus*

⁴ *Chlorococum*

⁵ Biosorption

⁶ Bioaccumulation

نمک‌دوست از شاخه کلروفیتا، توانمندی چشمگیری در تولید ترکیبات صنعتی باارزشی همچون لیپیدها، گلیسرول، پروتئین و رنگدانه‌هایی مانند کلروفیل و کاروتنوئیدها دارد [۹]. بتاکاروتن، یک ترکیب بیوشیمیایی ارزشمند است که به‌عنوان پیش‌ساز ویتامین آ، آنتی‌اکسیدان قوی و رنگدانه غذایی شناخته می‌شود و مهم‌ترین محصول ریزجلبک *دونالیا سالیئا* محسوب می‌شود. این ریزجلبک قادر است تحت شرایط تنش مانند شوری بالا، نور شدید و محدودیت مواد مغذی، تا ۱۴ درصد وزن خشک خود بتاکاروتن ذخیره کند [۱۰].

میرزایی و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند *دونالیا سالیئا* قادر است در پساب شور آبی‌پروری رشد کرده و شوری آن را تا حدود ۳۵ در صد کاهش دهد؛ به‌طوری‌که هدایت الکتریکی آب از ۳۱/۵ به ۲۰/۵ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر کاهش یافت [۳]. در مطالعه دیگری، بالاجی و همکاران (۲۰۲۴) توانایی *دونالیا سالیئا* را در تصفیه پساب شور صنایع غذایی حاوی نیترات و فسفات بررسی کردند [۸]. نتایج نشان دادند که این ریزجلبک قادر است غلظت نیترات را از ۱۴۶ به ۲۲/۱۶ میلی‌گرم بر لیتر (با بازده حذف ۸۴/۸۲ درصد) و غلظت فسفات را از ۵۵/۳ به ۱۰/۷۹ میلی‌گرم بر لیتر (با بازده ۸۰/۴۹ درصد) کاهش دهد. در پژوهش حاضر، محیط کشت جانسون اصلاح‌شده با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ مولار) به‌عنوان سامانه‌های کنترل‌شده به‌کار گرفته شدند تا اثر مستقیم شوری بر رشد و تولید رنگدانه‌ها *دونالیا سالیئا* به‌صورت مستقل و بدون دخالت سایر عوامل بررسی شود. در مقابل، پساب لب‌شور نیروگاهی واقعی به‌منظور شبیه‌سازی شرایط محیطی واقعی با محدودیت مواد مغذی، به‌ویژه نیتروژن و فسفر، و ترکیب یونی پیچیده مورد استفاده قرار گرفت. این رویکرد امکان مقایسه اثر تنش شوری خالص با اثر همزمان محدودیت نیترات و فسفات، تنش یونی و شرایط واقعی صنعتی را فراهم می‌کند. علاوه بر این، توانایی ریزجلبک در نمک‌زدایی از پساب نیروگاهی و محیط کشت استاندارد با استفاده از پارامترهای هدایت الکتریکی^۱ (EC) و کل مواد جامد محلول^۲ (TDS) مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین ترتیب، این پژوهش با ارائه یک رویکرد مقایسه‌ای بین شرایط کنترل‌شده و پساب واقعی، درک دقیق‌تری از پاسخ‌های فیزیولوژیک *دونالیا سالیئا* فراهم کرده و زمینه را برای به‌کارگیری مؤثرتر آن در سامانه‌های تصفیه پایدار و زیست‌فناورانه فراهم می‌سازد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ کشت ریزجلبک

ریزجلبک *دونالیا سالیئا* CCAP 19/18 از پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی (تبریز، ایران) تهیه شد و در محیط کشت جانسون اصلاح شده^۳ (MJM) کشت داده شد. ترکیب اجزای این محیط کشت در جدول ۱ ارائه شده است [۱۰]. برای جلوگیری از ایجاد رسوب، تمام نمک‌ها به‌صورت محلول‌های جداگانه تهیه شده در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ بار به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد و سپس در شرایط استریل با هم مخلوط شدند.

¹ Electrical Conductivity

² Total Dissolved Solids

³ Modified Johnson Medium

غلظت‌های مختلفی از کلرید سدیم (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ مولار) به محیط کشت اضافه شد. pH محیط با استفاده از محلول‌های ۱ مولار هیدروکلریک اسید (HCl) و سدیم هیدروکسید (NaOH) روی مقدار ۷/۵ تنظیم شد و در طول انجام آزمایش‌ها با کمک دستگاه pH سنج (Istek، کره)، pH در بازه ۷ تا ۸ حفظ شد.

جدول ۱. اجزای تشکیل‌دهنده محیط کشت جانسون اصلاح‌شده (MJM)

Table 1. Components of the Modified Johnson's Medium (MJM)	
Chemical components	Amounts (per L)
MgCl ₂ .6H ₂ O	1.5 g
KNO ₃	1 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
KCl	0.2 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.2 g
NaHCO ₃	0.043 g
KH ₂ PO ₄	0.035 g
Fe-solution	10 mL
Trace-element solution	10 mL
NaCl	As needed to adjust the desired salinity
Fe-Solution (1 L)	
FeCl ₃ .6H ₂ O	244 mg
Na ₂ EDTA	189 mg
Trace-element Solution (1 L)	
H ₃ BO ₃	61 mg
(NH ₄) ₆ Mo ₇ (O ₂).4H ₂ O	38 mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	6 mg
CoCl ₂ .6H ₂ O	5.1 mg
ZnCl ₂	4.1 mg
MnCl ₂ .4H ₂ O	4.1 mg

کشت ریز جلبک در ارلن‌های استریل‌شده (۲۵۰ میلی‌لیتر) حاوی ۱۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون جلبکی و ۱۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت MJM (نسبت حجمی ۱۰:۱) انجام شد. ارلن‌ها به مدت ۱۰ روز در انکوباتور با دمای ± 2 درجه سانتی‌گراد و تحت چرخه نور:تاریکی ۸:۱۶ ساعته نگهداری شدند. شدت نور ۸۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه بود که با دستگاه لوکس‌متر (مدل UT383، شرکت UNI-T، چین) اندازه‌گیری شد. به منظور تأمین منبع کربن غیرآلی برای فتوسنتز، حفظ توزیع یکنواخت سلول‌های جلبکی و جلوگیری از ته‌نشینی آن‌ها، ارلن‌ها به‌طور پیوسته با هوای عبوری از پمپ آکواریومی (مدل ACO-5505، شرکت HAILEA، چین) با دبی ۵ میلی‌لیتر بر دقیقه هوادهی شدند. هوا پیش از ورود به ارلن‌ها از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شد تا استریل شود. شرایط بهینه کشت شامل pH، دما، شدت نور، چرخه نور:تاریکی و نرخ هوادهی، پیش از شروع آزمایش‌ها تعیین گردید. پس از کشت ریز جلبک در محیط کشت MJM، کشت سلول‌های *دونالیا سالینا* در پساب لب‌شور تحت همان شرایط انجام شد. این پساب لب‌شور از نیروگاه سیکل ترکیبی شیرکوه (یزد، ایران) تهیه شد و ترکیب اجزا و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن در جدول ۲ ارائه شده است. پیش از تلقیح ریز جلبک‌ها، پساب با استفاده از

فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرومتر تصفیه و سپس به منظور حذف آلودگی‌های احتمالی، اتوکلاو شد. در طول انجام آزمایش‌ها، pH پساب لب‌شور با استفاده از NaOH ۱ مولار روی مقدار ۷/۵ تنظیم شد.

جدول ۲: ترکیب اجزا و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پساب لب‌شور نیروگاهی

Table 2. Composition and physicochemical properties of the brackish wastewater from the power plant

Chemical components	Amounts (per L)
Sulfate (SO ₄ ²⁻)	4600 mg
Nitrate (NO ₃ ⁻)	71.5 mg
Nitrite (NO ₂ ⁻)	3.9 mg
Ammonium Nitrogen (NH ₄ ⁺ -N)	8.5 mg
Phosphate (PO ₄ ³⁻)	5 mg
Carbonate (CO ₃ ²⁻)	0
Bicarbonate (HCO ₃ ⁻)	564.2 mg
Chloride (Cl ⁻)	826.8 mg
Calcium (Ca ²⁺)	578 mg
Magnesium (Mg ²⁺)	138 mg
Sodium (Na ⁺)	1800 mg
Potassium (K ⁺)	4.65 mg
Iron (Fe ³⁺)	3.6 mg
Other characteristics	Amounts
Electrical conductivity (EC)	11.08 mS/cm
Salinity	6.2%
pH	2.95

۲-۲ اندازه‌گیری رشد ریزجلبک

برای تعیین وزن خشک سلولی، ۵۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون ریزجلبکی در سه مرحله، هر بار به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه توسط سانتریفیوژ (UNIVERSAL 320 R, Hettich، آلمان) سانتریفیوژ شد. در پایان هر مرحله، روماندر دور ریخته شد و با آب مقطر جایگزین شد تا نمک‌های باقی‌مانده حذف شوند. سپس نمونه نهایی بر روی یک پلیت شیشه‌ای از پیش وزن‌شده منتقل شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس در آون (Shimaz، ایران) خشک شد. وزن خشک به صورت اختلاف بین وزن اولیه و نهایی پلیت

شیشه‌ای محاسبه شد. همچنین، چگالی نوری^۱ (OD) به صورت روزانه در طول موج ۶۸۰ نانومتر با استفاده از طیفسنج اندازه‌گیری شد و مقادیر OD با وزن خشک سلولی (گرم بر لیتر) همبستگی داده شدند [۱۱].

۲-۳ استخراج و اندازه‌گیری رنگدانه‌ها

برای اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل آ (Chl_a)، کلروفیل ب (Chl_b)، کل کلروفیل (Chl_{a+b})، و کاروتنوئیدها (Car)، در پایان فاز ایستایی، ۴ میلی‌لیتر از هر نمونه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و روماندر دور ریخته شد. رسوب به دست آمده با ۴ میلی‌لیتر محلول استون:آب (۸۰:۲۰ حجمی) ترکیب شد، به مدت ۲ دقیقه ورتکس شد و سپس بسه مدت ۵ دقیقه در مکان تاریک قرار داده شد. پس از سانتریفیوژ مجدد به مدت ۵ دقیقه، OD روماندر در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۷ و ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری شد و محتوای رنگدانه‌های استخراج‌شده با استفاده از معادلات زیر (بر حسب میلی‌گرم بر لیتر) محاسبه شد [۱۲].

$$Chl_a \text{ (mg / L)} = 12.25 \times OD_{663} - 2.79 \times OD_{647} \quad (1)$$

$$Chl_b \text{ (mg / L)} = 21.5 \times OD_{647} - 5.10 \times OD_{663} \quad (2)$$

$$Chl_{a+b} \text{ (mg / L)} = 7.15 \times OD_{663} + 18.71 \times OD_{647} \quad (3)$$

$$Car \text{ (mg / L)} = \frac{1000 \times OD_{470} - 1.82 \times Chl_a - 82.05 \times Chl_b}{198} \quad (4)$$

برای اندازه‌گیری مقدار بتاکاروتن به روش اسپکتروفتومتری، ۱ میلی‌لیتر از نمونه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب به دست آمده با ۳ میلی‌لیتر از محلول نرمال هگزان:اتانول (نسبت حجمی ۲:۱) مخلوط شد، به مدت ۱ دقیقه ورتکس شد و سپس مجدداً سانتریفیوژ شد. در نهایت OD روماندر در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و مقدار بتاکاروتن (بر حسب میلی‌گرم بر لیتر) با استفاده از معادله (۵) محاسبه شد [۱۳].

$$\beta\text{-carotene (mg / L)} = 25.2 \times OD_{450} \quad (5)$$

۲-۴ اندازه‌گیری پارامترهای نمک‌زدایی

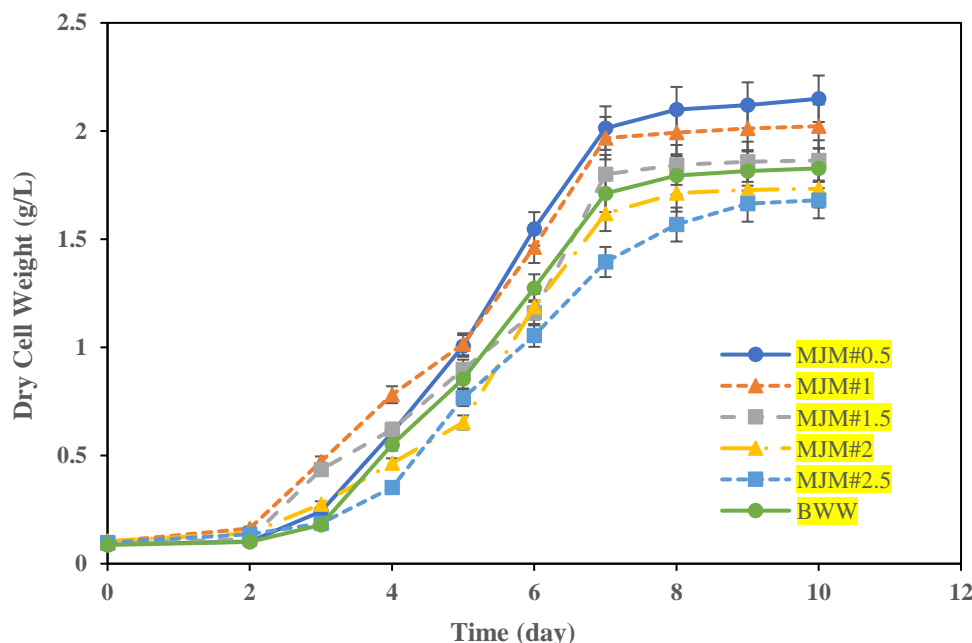
بازده نمک‌زدایی از طریق اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (EC) با استفاده از دستگاه EC سنچ (sTesto 252)، آلمان) محاسبه شد. مقادیر اولیه و نهایی کل جامدات محلول (TDS) نیز به منظور ارزیابی عملکرد فرآیند اندازه‌گیری شدند. همچنین، غلظت نهایی یون‌های نیتروژن کل، فسفات، سولفات، کلرید، سدیم، منیزیم و کلسیم موجود در پساب لب شور با بهره‌گیری از روش‌های استاندارد آزمون آب و فاضلاب مورد سنجش قرار گرفتند [۶]. همه نتایج ارائه شده در این پژوهش بر اساس میانگین \pm خطای استاندارد، از سه تکرار مستقل گزارش شده‌اند.

¹ Optical Density

۳. نتایج و بحث

۳-۱ نمودار رشد و تولید زیست توده

در این مطالعه، تأثیر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ مولار) در محیط‌کشت MJM (به ترتیب MJM#0.5، MJM#1، MJM#1.5، MJM#2، MJM#2.5) همچنین پساب لب شور نیروگاهی (BWW) بر رشد این گونه تحت شرایط هوادهی بررسی شد. نتایج حاصل از این ارزیابی که بیانگر نمودار رشد ریزجلبک در تیمارهای مختلف است، در شکل ۱ ارائه شده‌اند. با توجه به شکل ۱، در تمامی تیمارها، فاز تأخیری کوتاهی (۲ تا ۳ روز) مشاهده شد که نشان‌دهنده سازگاری سریع سلول‌ها با محیط‌کشت و بهره‌مندی از اختلاط یکنواخت و تأمین پیوسته دی‌اکسید کربن بود، به طوری که بلافاصله پس از این مرحله، فاز لگاریتمی با نرخ رشد متفاوت بین تیمارها آغاز شد. MJM#0.5 دارای بیشترین مقدار وزن خشک سلولی (0.28 ± 0.14 گرم بر لیتر) در پایان فاز رشد لگاریتمی بود و پس از آن به ترتیب MJM#1، MJM#1.5، BWW، MJM#2، MJM#2.5 و به وزن خشک سلولی 0.25 ± 0.02 ، 0.19 ± 0.186 ، 0.23 ± 0.182 ، 0.21 ± 0.173 و 0.22 ± 0.168 گرم بر لیتر رسیدند که بیانگر کاهش تدریجی رشد با افزایش شوری است. شوری نقش بسیار مهمی در سوخت‌وساز و رشد *دونالیا سالیئا* دارد و سطوح بالای شوری موجب کاهش جذب مواد مغذی، برهم خوردن تعادل یونی، اختلال در تقسیم سلولی و در نهایت رشد ریزجلبک می‌شود [۱۴]. این روند با یافته‌های مطالعه اخیر بر روی سویه جدید *دونالیا سالیئا* OH214 نیز هم‌راستا است؛ به طوری که بیشترین نرخ رشد در محدوده شوری ۰/۶ تا ۱/۵ مولار کلرید سدیم گزارش شد و در شوری بالاتر (۳ مولار) رشد ریزجلبک کاهش یافت [۱۵]. پژوهش‌های دیگری نیز محدوده ۰/۵ تا ۱ مولار کلرید سدیم را به عنوان شوری بهینه برای رشد *دونالیا سالیئا* گزارش کرده‌اند [۱۶]، ۱۴. هو و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که رشد زیست‌توده *دونالیا سالیئا* در غلظت ۳۰ گرم بر لیتر کلرید سدیم بیشترین مقدار خود را داشت و به $2/88$ گرم بر لیتر در روز ۱۴ رسید. شوری‌های بالاتر باعث تأخیر در رشد شدند، به طوری که تیمارهای ۱۱۰ و ۱۳۰ گرم بر لیتر کلرید سدیم به ترتیب در روز ۶ و ۸ شروع به رشد کردند، که این امر ناشی از نیاز به دوره سازگاری طولانی‌تر برای مقابله با فشار اسمزی بالاتر بود [۱۷]. کین و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که غلظت ۳۲۰-۲۴۰ گرم بر لیتر کلرید سدیم موجب آسیب به گیرنده فتوسیستم II و مهار انتقال الکترون فتوسنتزی در *دونالیا سالیئا* می‌شود. در شوری‌های پایین تا متوسط، فشار اسمزی خارجی در حدی است که سلول‌های *دونالیا سالیئا* می‌توانند با مصرف انرژی نسبتاً کم تعادل یونی و آبی خود را حفظ کنند و انرژی بیشتری را به رشد و سنتز زیست‌توده اختصاص دهند. اما در شوری‌های بالاتر، سلول‌ها مجبور به تولید گلیسرول و فعال‌سازی پمپ‌های یونی برای حفظ گرادیان اسمزی می‌شوند، که بخش زیادی از انرژی را مصرف کرده و رشد را محدود می‌کند [۱۸].



شکل ۱. منحنی رشد ریز جلبک *دونالیلا سالینا* در محیط کشت MJM با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم و پساب لب شور

Figure 1. Growth curve of *Dunaliella salina* microalgae in MJM with different concentrations of NaCl and brackish wastewater

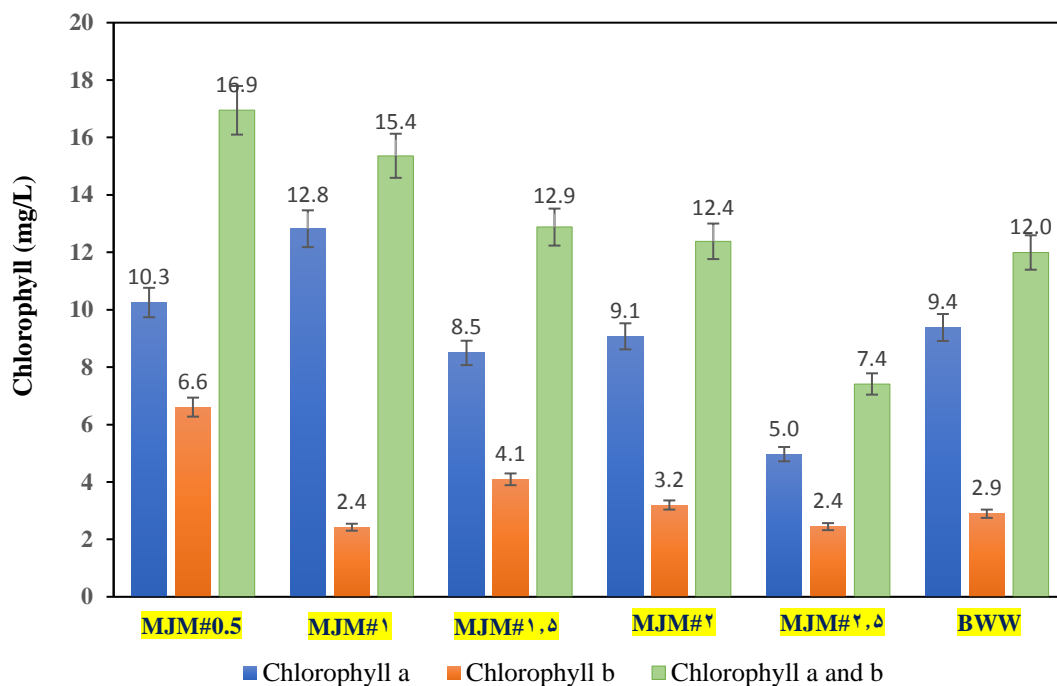
از طرفی، پساب لب شور دارای شوری به مراتب کمتر (TDS حدوداً ۸/۲ گرم در لیتر) نسبت به محیط کشت MJM بود؛ به طوری که مقدار TDS در MJM#0.5 و MJM#2.5 به ترتیب حدود ۳۳ و ۱۵۰ گرم بر لیتر اندازه گیری شد. از آنجا که *دونالیلا سالینا* یک گونه نمک دوست است، وجود سطح بهینه‌ای از شوری برای رشد مطلوب آن ضروری است. علاوه بر این، محتوای نیتروژن پایین‌تر در پساب لب شور (حدود ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر نیتروژن کل) در مقایسه با محیط کشت MJM (۱ گرم بر لیتر پتاسیم نیترات) باعث کاهش بیوسنتز ترکیبات ضروری حاوی نیتروژن مانند کلروفیل و پروتئین‌ها شده و رشد ریز جلبک را تحت تأثیر منفی قرار می‌دهد. همچنین، غلظت بالای سدیم و کلرید در پساب لب شور می‌تواند نسبت یون‌های پتاسیم به سدیم را در سلول‌های ریز جلبک مختل کند، زیرا افزایش سدیم باعث کاهش جذب پتاسیم به دلیل رقابت می‌شود [۷]. در مجموع، این عوامل باعث شده‌اند که رشد *دونالیلا سالینا* در BWW کمتر از محیط‌های MJM#0.5، MJM#1 و MJM#1.5 باشد، ولی همچنان بالاتر از رشد مشاهده شده در محیط‌های با شوری بیشتر مانند MJM#2 و MJM#2.5 است.

۲-۳ تولید کلروفیل

کلروفیل‌های آ و ب رنگدانه‌های اصلی فتوسنتزی در جلبک‌های سبز هستند که در کلروپلاست یافت می‌شوند. کلروفیل نقش رنگدانه اصلی در فتوسنتز را دارد، در حالی که کلروفیل ب به عنوان رنگدانه کمکی انرژی نور را جذب کرده و به کلروفیل آ منتقل می‌کند و امکان سازگاری با شرایط تنش‌زا را فراهم می‌سازد

[۱۹]. میزان کلروفیل آ و ب با رشد سلول‌های ریزجلبک افزایش می‌یابد و بنابراین می‌تواند معیاری برای سنجش زیست‌توده باشد. نتایج اندازه‌گیری این رنگدانه‌ها در تیمارهای مختلف در شکل ۲ ارائه شده است. کلی تغییرات کلروفیل کل با افزایش غلظت کلرید سدیم در محیط کشت به گونه‌ای است که افزایش شوری با کاهش میزان کلروفیل کل همراه است. بیشترین مقدار کلروفیل کل، برابر با $1/7 \pm 16/9$ میلی‌گرم بر لیتر، در MJM#0.5 ثبت شده است، در حالی که در MJM#1، MJM#1.5، MJM#2 و BWW مقادیر کلروفیل کل به ترتیب $1/3 \pm 15/4$ ، $1/5 \pm 12/9$ ، $1/8 \pm 12/4$ و $1/5 \pm 12$ میلی‌گرم بر لیتر بوده است. کمترین میزان کلروفیل کل ($1/1 \pm 7/4$ میلی‌گرم بر لیتر) در محیط با بالاترین شوری (MJM#2.5) مشاهده شد. اگرچه اندازه‌گیری رنگدانه‌ها در این مطالعه در انتهای فاز سکون انجام شد، الگوی تغییرات مشاهده شده نشان داد که کلروفیل همزمان با افزایش زیست‌توده تغییر کرده و بیشترین مقدار آن در شرایط بیشینه رشد سلولی حاصل شده است؛ موضوعی که بیانگر ماهیت کلروفیل به‌عنوان یک متابولیت اولیه و وابسته به فعالیت فتوسنتزی سلول است. روند مشاهده شده با مطالعات قبلی که رابطه مستقیم بین غلظت کلروفیل و تولید زیست‌توده را گزارش کرده‌اند، همخوانی دارد [۱۷]. کاهش تولید کلروفیل در شرایط شوری می‌تواند ناشی از سازگاری سلول‌ها به تنش یونی باشد؛ زیرا کاهش کلروفیل باعث تعدیل جذب نور و محافظت از دستگاه فتوسنتزی در برابر آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو می‌شود. همچنین، شوری بالا می‌تواند عملکرد آنزیم‌های مسئول سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی را مختل کرده و به کاهش تولید کلروفیل منجر شود. علاوه بر اثر مستقیم شوری، ترکیب عناصر مغذی محیط نیز نقش مهمی در تولید کلروفیل دارد. کاهش تولید کلروفیل در BWW می‌تواند به کمبود نیتрат در پساب لب‌شور نسبت داده شود، در حالی که محیط کشت MJM از نظر نیترات غنی‌تر است. مطالعات نشان داده‌اند که کمبود نیترات باعث کاهش تولید کلروفیل، تولید پروتئین و ظرفیت فتوسنتزی در *Dunaliella tertiolecta*¹ می‌شود [۲۰].

¹ *Dunaliella tertiolecta*

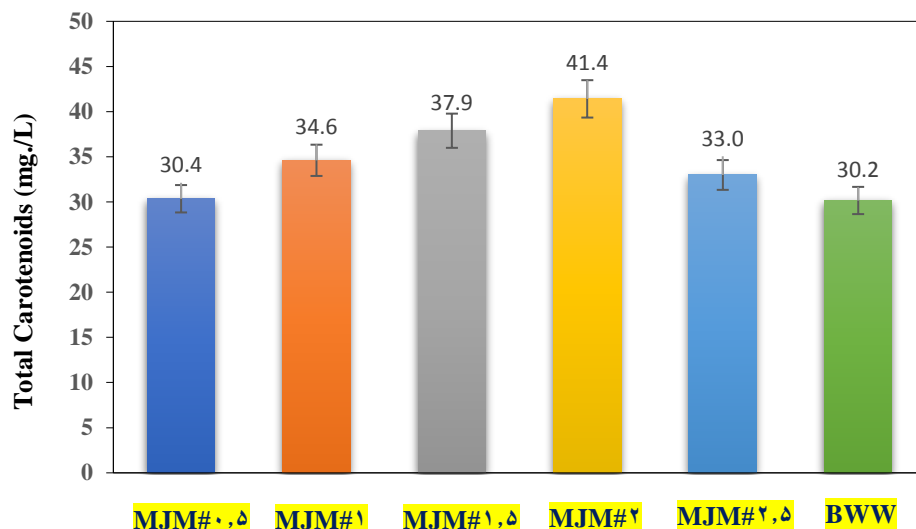


شکل ۲. میزان تولید کلروفیل ریزجلبک *Dunaliella salina* در محیط کشت MJM با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم و پساب لب‌شور

Figure 2. Chlorophyll production of *Dunaliella salina* microalgae in MJM with different concentrations of NaCl and brackish wastewater

۳-۳ تولید کاروتنوئید کل

در سال‌های اخیر، کاروتنوئیدها به دلیل برخورداری از خواص آنتی‌اکسیدانی و نقش حفاظتی در برابر نور، و همچنین به‌واسطه کاربردهای گسترده در صنایع مختلف از جمله مکمل‌های غذایی و دارویی، محصولات آرایشی و بهداشتی، داروسازی، صنایع غذایی و خوراک دام، به‌طور فزاینده‌ای مورد توجه پژوهشگران و صنایع قرار گرفته‌اند. این رنگدانه‌ها نقش کلیدی در دریافت نور، انتقال انرژی به کلروفیل‌ها در طول فتوسنتز و همچنین محافظت از دستگاه فتوسنتزی در برابر آسیب نوری دارند [۲۱]. گزارش‌ها نشان داده‌اند که شوری بهینه برای رشد *Dunaliella salina* حدود ۲۲ درصد وزنی-حجمی کلرید سدیم است، در حالی که بیشترین تجمع کاروتنوئیدها (تا ۱۶ درصد وزن خشک سلولی) در شوری بیش از ۳۰ درصد وزنی-حجمی به دست می‌آید [۲۲]. نتایج مربوط به تولید کاروتنوئیدها در تیمارهای مختلف در شکل ۳ ارائه شده است.



شکل ۳. میزان تولید کاروتنوئید کل ریزجلبک *دونالیلا سالینا* در محیط کشت MJM با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم و پساب لب‌شور

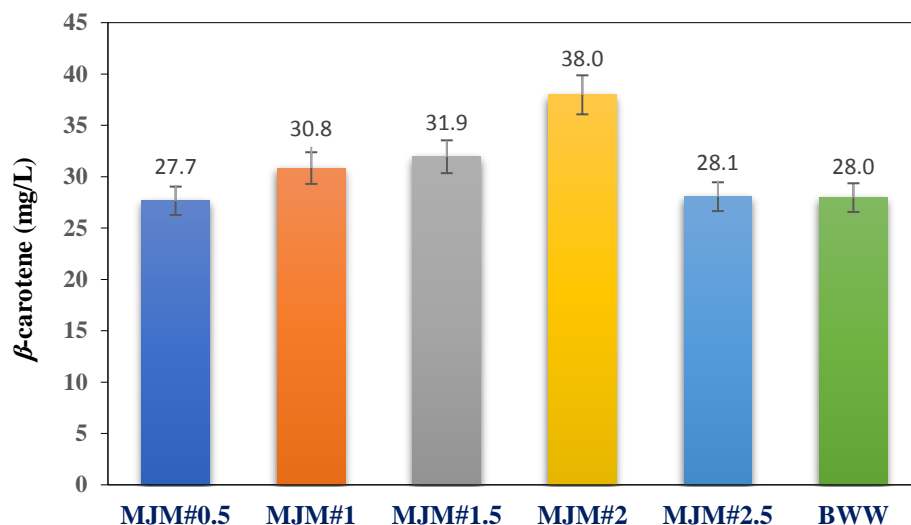
Figure 3. Total carotenoid production of *Dunaliella salina* microalgae in MJM with different concentrations of NaCl and brackish wastewater

همان‌طور که در شکل ۳ قابل مشاهده است، افزایش غلظت کلرید سدیم در محیط کشت از ۰/۵ تا ۲ مولار منجر به افزایش تدریجی تولید کاروتنوئیدها از به ترتیب $۲/۷ \pm ۳۰/۴$ تا $۳/۴ \pm ۴۱/۴$ میلی‌گرم بر لیتر شد. با این حال، افزایش بیشتر شوری تا ۲/۵ مولار باعث کاهش تولید کاروتنوئیدها به $۲/۳ \pm ۳۳$ میلی‌گرم بر لیتر شد که بیانگر اثر منفی شوری بیش از حد بر سنتز این رنگدانه‌ها است. افزایش کاروتنوئیدها عمدتاً در شرایط شوری بالاتر و تنش یونی مشاهده شد و الزاماً با بیشینه رشد همزمان نبود که با نقش حفاظتی این ترکیبات و ماهیت آن‌ها به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه سازگار است. احمد و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که افزایش غلظت کلرید سدیم در بازه ۰/۵ تا ۲ مولار موجب افزایش تولید کاروتنوئیدها در *دونالیلا سالینا* می‌شود، به طوری که بیشترین مقدار کل کاروتنوئیدها در شوری حدود ۲ مولار به $۵/۱۶$ میلی‌گرم بر لیتر رسید، اما افزایش شوری فراتر از این مقدار باعث محدود شدن رشد سلول و کاهش بازده تولید رنگدانه‌ها شد [۲۳]. راد و همکاران (۲۰۱۱) نیز گزارش کردند که افزایش شوری از ۱ تا ۳ مولار موجب کاهش رشد سلول در *دونالیلا سالینا* شد، در حالی که بیشترین تولید کاروتنوئید ($۹/۱۳$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در شوری ۲ مولار مشاهده شد [۲۴]. در واقع، بیشترین تولید کاروتنوئید معمولاً زمانی رخ می‌دهد که سلول‌ها در حال رشد فعال باشند. شوری بیش از حد باعث کاهش نرخ رشد سلول می‌شود و به دنبال آن تجمع کاروتنوئیدها کاهش می‌یابد. علاوه بر این، در BWW که شوری کمتری نسبت به محیط کشت MJM داشت، میزان تولید کاروتنوئیدها قابل توجه بود و به $۱/۸ \pm ۳۰/۲$ میلی‌گرم بر لیتر رسید. این امر می‌تواند ناشی از تنش یونی متوسط و کمبود نیتروژن و فسفر در پساب باشد. کمبود نیتروژن باعث کاهش رشد سلولی می‌شود، اما سلول‌ها برای مقابله با این تنش و محافظت از دستگاه فتوسنتزی،

تولید کاروتنوئید بیشتری را تحریک می‌کنند [۲۲]. بنابراین حتی در شرایطی که رشد زیست‌توده کامل نیست، سلول‌ها قادر به تولید مقادیر قابل توجهی کاروتنوئید هستند.

۳-۴ تولید بتاکاروتن

بتاکاروتن اولین محصول با ارزش استخراج شده از ریزجلبک‌ها است که برای مصرف انسانی توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) تأیید شده و به‌عنوان پیش‌ساز ویتامین آ شناخته می‌شود. در میان گونه‌های مختلف ریزجلبکی، *دونالیلا سالینا* قادر است در پاسخ به عوامل تنش‌زا مانند افزایش شوری، شدت بالای نور و محدودیت مواد مغذی به ویژه نیتروژن، سولفات و فسفر، مقدار قابل توجهی بتاکاروتن تولید و در گلبول‌های لیپیدی در غشای کلروپلاست‌ها ذخیره کند [۲۱، ۲۲]. نتایج مربوط به تولید بتاکاروتن برای تیمارهای مختلف در شکل ۴ نشان داده شده است. مطابق این شکل، با افزایش غلظت کلرید سدیم از ۰/۵ تا ۲ مولار، تولید بتاکاروتن از ۲/۴ \pm ۲۷/۷ تا ۲/۱ \pm ۳۷/۹ میلی‌گرم بر لیتر افزایش داشته است. در مطالعه انجام شده توسط راد و همکاران (۲۰۱۱)، تأثیر سطوح مختلف شوری (۱، ۲ و ۳ مولار) روی میزان رشد و تولید بتاکاروتن *دونالیلا سالینا* بررسی شد و بیشترین میزان رشد در شوری ۱ مولار و بیشترین میزان بتاکاروتن در شوری ۳ مولار گزارش شد [۲۴]. به طور کلی، تولید بتاکاروتن در *دونالیلا سالینا*، با افزایش شوری تا یک سطح مشخص رابطه مستقیم دارد [۱۳]. اگرچه مقادیر متفاوتی از شوری به‌عنوان شرایط بهینه برای تولید بتاکاروتن در *دونالیلا سالینا* گزارش شده است، اما به نظر می‌رسد شوری معادل ۲ مولار کلرید سدیم بیشترین کارایی را در دستیابی به حداکثر بازده بتاکاروتن نشان داده است [۱۰]. سلول‌ها در مواجهه با شوری بالاتر، مسیرهای سوخت‌وساز خود را به سمت سنتز رنگدانه‌های حفاظتی، از جمله بتاکاروتن، هدایت می‌کنند تا در شرایط تنش، بقای خود را حفظ کنند [۲۵]. مقدار بتاکاروتن در BWW ($1/6 \pm 27/9$ میلی‌گرم بر لیتر) با وجود شوری پایین‌تر، اندکی نسبت به MJM#0.5 بالاتر بود ($2/4 \pm 27/7$ میلی‌گرم بر لیتر). این پدیده می‌تواند ناشی از محدودیت مواد مغذی به‌ویژه نیتروژن، فسفات و سولفات در پساب لب شور باشد؛ چراکه کمبود این عناصر با تغییر مسیرهای سوخت‌وساز از سنتز زیست‌توده به سمت سنتز ترکیبات لیپیدی، تجمع کاروتنوئیدها و به‌ویژه بتاکاروتن را تحریک می‌کند [۲۲]. این ترکیبات به‌عنوان منبع انرژی برای ریزجلبک عمل کرده و تنفس سلولی را پشتیبانی می‌کنند؛ فرآیندی که در شرایط تنش و افت فعالیت سوخت‌سازی، نقشی حیاتی در بقای سلول دارد. سوسا و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند تولید بتاکاروتن و کاروتنوئیدها تحت تأثیر میزان نیترات و فسفات محیط قرار دارد. در بازه پایین تا متوسط نیترات (۱ تا ۶ میلی‌مول بر لیتر)، کاهش نیترات باعث تحریک مسیرهای دفاعی سلول و افزایش تولید بتاکاروتن می‌شود. با این حال، کمبود شدید نیترات (کمتر از ۱ میلی‌مول بر لیتر)، موجب کاهش سنتز رنگدانه‌ها می‌شود، زیرا سلول قادر به تولید آنزیم‌ها و پروتئین‌های لازم برای ساخت کاروتنوئیدها نیست. فسفات نیز نقش کلیدی در تأمین انرژی و ساخت ATP و فسفولیپیدها دارد و کمبود فسفات (کمتر از ۰/۱ میلی‌مول بر لیتر) باعث محدودیت تولید بتاکاروتن و کاروتنوئیدها می‌شود [۲۵].



شکل ۴. میزان تولید بتاکاروتن ریز جلبک *دونالیلا سالینا* در MJM با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم و پساب لب‌شور

Figure 4. β -carotene production of *Dunaliella salina* microalgae in MJM with different concentrations of NaCl and brackish wastewater

۳-۵ نمک‌زدایی

عملکرد نمک‌زدایی *دونالیلا سالینا* از طریق پایش تغییرات EC و TDS در تیمارهای مختلف (جدول ۳) مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به جدول ۳، در همه موارد EC و TDS با کاهش همراه بوده‌اند که بیانگر قابلیت این ریزجلبک در فرایند نمک‌زدایی است. در پژوهشی مشابه، میرزایی و همکاران (۲۰۲۴) گزارش کردند که *دونالیلا سالینا* توانایی رشد در پساب شور آبی‌پروری را داشته و قادر به کاهش شوری آن بوده است؛ به طوری که EC تا حدود ۳۵ درصد (از ۳۱/۵ به ۲۰/۵ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر) کاهش یافت [۳]. همان‌طور که در جدول ۳ قابل مشاهده است، با افزایش غلظت کلرید سدیم از ۰/۵ به ۱ مولار، تغییرات EC و TDS به ترتیب از $3/1 \pm$ و $28/0$ و $56/7 \pm 2/5$ درصد در MJM#0.5 به $33/4 \pm 3/7$ و $1/7 \pm 60$ درصد در MJM#1 افزایش یافت که بیشترین میزان کاهش در بین تمام تیمارها بود. با افزایش بیشتر غلظت کلرید سدیم بازده نمک‌زدایی کاهش یافت؛ به طوری که کمترین درصد تغییرات EC و TDS (به ترتیب $3/5 \pm 16/9$ و $2/6 \pm 27/1$ درصد) در MJM#2.5 مشاهده شد. مویدی و همکاران (۲۰۲۱) عملکرد نمک‌زدایی ریزجلبک *دونالیلا سالینا* را در پنج سطح مختلف EC (۵۰، ۷۰، ۱۰۰، ۱۳۰ و ۱۴۰ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که با افزایش شوری از ۷۰ به ۱۳۰ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر، میزان جذب نمک توسط جلبک به‌طور معنی‌داری از $1/33$ به $22/5$ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر افزایش یافت. با این حال، افزایش بیشتر شوری از ۱۳۰ به ۱۴۰ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر موجب کاهش جذب نمک به میزان $9/11$ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر شد [۲۶]. این روند نشان می‌دهد که در شوری‌های متوسط، جلبک با افزایش تولید گلیسرول و فعال‌سازی

سازوکارهای یونی، تعادل اسمزی خود را حفظ کرده و ظرفیت نمک‌زدایی بهینه است، اما در شوری‌های بالا فشار اسمزی شدید باعث کاهش رشد سلولی و کاهش بازده نمک‌زدایی می‌شود.

جدول ۳. تغییرات هدایت الکتریکی (EC) و کل مواد جامد محلول (TDS) در تیمارهای مختلف

Table 3. Variations in EC and TDS in different treatments

Treatment	Initial EC (mS/cm)	Final EC (mS/cm)	EC reduction (%)	Initial TDS (g/L)	Final TDS (g/L)	TDS reduction (%)
MJM#0.5	51.3	36.9 ± 1.2	28 ± 3.1	32.8	14.2 ± 0.9	56.7 ± 2.5
MJM#1	100	66.6 ± 2.5	33.4 ± 3.7	62	24.8 ± 1.8	60 ± 1.7
MJM#1.5	148.8	106.2 ± 3.5	28.6 ± 4.5	91.3	40.2 ± 1.5	55.9 ± 2.7
MJM#2	197.5	154.4 ± 3.4	21.8 ± 2.9	120.5	70.2 ± 1.2	41.7 ± 3.2
MJM#2.5	246.2	204.59 ± 5.7	16.9 ± 3.5	149.7	109 ± 2.7	27.1 ± 2.6
BWW	11	8.4 ± 0.9	23.3 ± 2.5	8.2	3.8 ± 0.4	52.5 ± 5.7

همچنین، در پساب لب شور، میزان کاهش EC و TDS قابل توجه بوده و به ترتیب $2/5 \pm$ و $23/3 \pm$ و $5/7 \pm$ درصد محاسبه شد. البته به دلیل مقدار اولیه پایین TDS و EC در پساب لب‌شور و محدودیت منابع مغذی (نیترژن و فسفر کمتر) و ترکیب یونی متفاوت، میزان حذف املاح نسبت به تیمارهای سنتزی کمتر بود. در این شرایط، رشد زیست‌توده محدودتر شده و ظرفیت کلی سلول‌ها برای جذب یون کاهش می‌یابد. با این وجود، فعال شدن سازوکارهای زیستی ریزجلبک، همچنان امکان حذف یون‌ها را فراهم می‌کند. ریزجلبک *دونالیلا سالیئا* با بهره‌گیری از سازوکارهای زیستی و بیوشیمیایی در فرآیند نمک‌زدایی نقش دارد و به‌طور فعال یون‌های نمکی را از محیط اطراف خود حذف می‌کند. در این فرآیند، دو سازوکار اصلی یعنی جذب سطحی و زیست‌انباشتگی دخیل هستند [۳]. جذب سطحی فرآیندی غیرفعال و سریع برای حذف یون‌ها است که در آن گروه‌های عاملی غشای سلولی *دونالیلا سالیئا* با یون‌های نمکی مانند سدیم، کلرید و سولفات پیوند برقرار می‌کنند. ظرفیت بالای پیوندگیری و سطح بزرگ سلول این ریزجلبک، توانایی این جذب را افزایش می‌دهد. بازدهی این فرآیند تحت تأثیر عوامل محیطی مانند دما، pH و قدرت یونی محیط قرار دارد [۳، ۲۷]. در مقابل، انباشت زیستی فرآیندی فعال و با مصرف انرژی بالا است که در آن *دونالیلا سالیئا* یون‌های نمکی را به داخل سلول منتقل کرده و با ذخیره یا دفع آن‌ها تعادل اسمزی خود را حفظ می‌کند. اگرچه این فرآیند کندتر از جذب سطحی است، اما امکان حذف بلندمدت یون‌ها را فراهم می‌کند [۲۸، ۲۹]. علاوه بر این، *دونالیلا سالیئا* مواد پلیمری برون سلولی تولید می‌کند که از پلی ساکاریدها، پروتئین‌ها، لیپیدها و نوکلئیک اسیدها تشکیل شده‌اند. این مواد پلیمری برون سلولی می‌توانند یون‌های نمکی مانند سدیم، کلسیم و منیزیم را جذب و ذخیره کنند و در عین حال با تنظیم اسمزی، سلول‌ها را از تنش ناشی از شوری محافظت نمایند [۹]. خلاصه‌ای از مطالعات مربوط

به کشت ریزجلبک *دونالیلا سالینا* در پساب‌های صنعتی، به ویژه پساب‌های شور در جدول ۴ ارائه شده است و عملکرد آن‌ها با یکدیگر مقایسه شده است.

جدول ۴. مرور مقایسه‌ای مطالعات کشت ریزجلبک *دونالیلا سالینا* در پساب‌های شور صنعتی

Table 4. Comparative overview of studies on *Dunaliella salina* cultivation in saline industrial wastewaters

Wastewater type	Research focus	Biomass concentration	Pigment concentration	Key findings	Reference
Aquaculture saline wastewater	Biodesalination and nutrient removal	-	-	EC reduced 35% via biosorption and bioaccumulation mechanisms.	[3]
Food industry saline wastewater	Growth and nitrate/phosphate removal in lab and pilot scale	Maximum cell density $\sim 6.2 \times 10^5$ cells/mL	-	Nitrate removal (84.8%), phosphate removal (80.5%) in real wastewater	[8]
High-salinity pickle wastewater	Effect of salinity on growth, pigment production and pollutant removal	2.88 g/L	-	Optimal salinity (30 g/L) achieved the best combination of growth, pollutant removal, and high-value compound accumulation.	[17]
Shrimp aquaculture wastewater	Pollutant removal, biomass and pigments production	Maximum cell density $\sim 13.06 \times 10^5$ cells/mL	Chlorophyll 5.3-7 $\mu\text{g/mL}$, total carotenoids 4.1-5.7 $\mu\text{g/mL}$	Significant removal of nitrogen and COD, production of lipid-rich biomass	[30]
Anaerobically digested poultry litter wastewater (PLW)	Biomass and β -carotene production	678 mg/L	β -carotene 4.02 mg/L	<i>Dunaliella</i> can grow and produce β -carotene in digested PLW	[31]
Brackish wastewater from powerplant	Growth, pigment production and biodesalination compared with synthetic saline media	1.82 ± 0.23 g/L	Chlorophyll 12 ± 1.5 mg/L, total carotenoids 30.2 ± 1.8 mg/L, β -carotene 27.9 ± 1.6 mg/L	Real wastewater caused moderate stress, reducing EC by $23.2 \pm 2.5\%$ and TDS by $52.5 \pm 7.5\%$, and enhancing pigment accumulation and ion removal.	This study

در پساب لب شور، علاوه بر EC و TDS، غلظت ابتدایی و انتهایی یون‌های موجود در پساب نیز اندازه‌گیری شد (جدول ۵). در همه موارد کاهش غلظت یون‌ها مشاهده شد که تاییدکننده کاهش EC و TDS است. در این میان، به طور قابل توجهی $18/8 \pm 90/4$ درصد از فسفات موجود در پساب لب شور حذف شد. فسفر یکی از یون‌های ضروری برای رشد ریزجلبک‌ها، سنتز اسیدهای نوکلئیک، انتقال انرژی و تشکیل غشای سلولی است و در حالی که تنها حدود ۱ درصد از زیست‌توده ریزجلبک را تشکیل می‌دهد، می‌تواند محدودکننده رشد باشد. حذف فسفات هم به صورت جذب برای رشد ریزجلبک و هم به صورت ذخیره‌سازی در قالب پلی‌فسفات انجام

می‌شود [۱۰]. در مطالعه گنجعلی، ریزجلبک *دونالیلا* در آب دریای عمان و یک پساب سنتزی با غلظت اولیه فسفات به ترتیب ۴/۴۳ و ۴/۴۴ میلی گرم بر لیتر کشت داده شده و پس از کشت ریزجلبک در پساب سنتزی، فسفات به صورت کامل حذف و در دریای عمان غلظت آن حدود ۰.۹۵٪ کاهش یافت [۲۸]. میزان حذف نیتروژن کل (TN) $8/5 \pm 69/5$ درصد محاسبه شد. در پژوهش‌های پیشین نشان داده شده است که *دونالیلا سالیئا* قادر به حذف مؤثر نیتروژن و فسفر از فاضلاب است [۱۴]. نیتروژن برای سنتز پروتئین، اسیدهای نوکلئیک، کلروفیل و تقسیم سلولی ریزجلبک ضروری است. در شرایط محدودیت نیتروژن، بسیاری از ریزجلبک‌ها با تغییر مسیر بیوشیمیایی به تجمع چربی داخل خود اقدام می‌کنند [۳۲]. امینی و همکاران (۲۰۱۹) سازوکار حذف نترات و فسفات با استفاده از ریزجلبک *دونالیلا سالیئا* از محلول‌های آبی را مورد بررسی قرار دادند و بیشترین بازده حذف نترات و فسفات به ترتیب ۵۴ و ۸۲ درصد گزارش داده شد [۳۳]. میزان حذف سولفات نیز $8/7 \pm 71/7$ درصد بود. *دونالیلا سالیئا* برای رشد بهینه به غلظت بالای سولفات (حدود ۲ میلی مول بر لیتر) نیاز دارد، اما آب‌های طبیعی مانند آب دریا حاوی غلظت بسیار بالاتری از سولفات (حدود ۳۰ میلی مول بر لیتر) هستند [۱۰]. غلظت اولیه سولفات در پساب لب شور مورد استفاده در این پژوهش حدود ۴۷ میلی مول بر لیتر بود. همچنین میزان حذف کلرید $5/4 \pm 32/8$ درصد بود. در پژوهش‌های پیشین نشان داده شده است که *دونالیلا سالیئا* قادر به حذف ۵۳ درصد کلرید در غلظت اولیه 41 ± 9926 میلی گرم بر لیتر است [۳]. در مطالعه گنجعلی، ریزجلبک *دونالیلا* در ۴ محیط مختلف پساب سنتزی، آب چاه، آب دریای عمان و دریای خزر، با غلظت کلرید به ترتیب ۱۲۹۸/۳۱، ۱۴۰۳/۸۰، ۸۴۲۲/۲۵ و ۲۲۴۵۹/۳۴ میلی گرم بر لیتر کشت داده شد. پس از کشت ریزجلبک، میزان حذف کلرید به ترتیب ۱۳، ۴۲، ۵۱ و ۵۹ درصد به دست آمد [۲۸]. این ریزجلبک همچنین به مقادیر اندکی از ریزمغذی‌ها مانند منیزیم، کلسیم، سدیم، پتاسیم و آهن برای رشد نیاز دارد که این عناصر در پساب لب شور به میزان اضافی وجود دارند.

جدول ۵. مقادیر اولیه و نهایی یون‌های موجود در پساب لب شور و درصد کاهش آن‌ها

Table 4. Initial and final ion concentrations in brackish wastewater and their corresponding percentage reductions

Ion (mg/L)	Initial concentration (mg/L)	Final concentration (mg/L)	Reduction (%)
PO ₄ ³⁻	5	0.48 ± 0.1	90.4 ± 18.8
Total nitrogen	80	24.37 ± 3	69.5 ± 8.5
SO ₄ ²⁻	4600	1300 ± 159	71.7 ± 8.7
Cl ⁻	826.8	555.5 ± 93	32.8 ± 5.4
Na ⁺	1800	738 ± 74	59 ± 5.9
Ca ²⁺	578	397 ± 58	31.3 ± 4.5
Mg ²⁺	138	57 ± 7	57.7 ± 7.2

۴. نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد رشد بهینه ریزجلبک *دونالیا سالینا* در محیط‌های کم‌نمک (۰/۵ مولار کلرید سدیم) حاصل شده و همسو با میزان تولید کلروفیل است. در حالی که با افزایش شوری، رشد کاهش یافت، تولید کاروتنوئید و بتاکاروتن در شوری متوسط (۲ مولار کلرید سدیم) بیشینه شد، چرا که تنش یونی باعث فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی و تولید متابولیت‌های ثانویه شد. در پساب لب‌شور نیروگاهی، با وجود شوری کمتر از محیط‌های سنتزی، محدودیت مواد مغذی و تنش یونی متوسط موجب شد تولید کاروتنوئید و بتاکاروتن همچنان قابل توجه باشد. از نظر نمک‌زدایی، کاهش EC و TDS همراه با حذف مؤثر یون‌های اصلی مانند فسفات، نیترژن کل و سولفات کارایی بالای این گونه را برای بهبود کیفیت پساب‌های صنعتی تأیید کرد. به طور کلی، مقایسه محیط‌های سنتزی با سطوح مختلف شوری و پساب لب‌شور نشان داد که عوامل محیطی همزمان بر رشد، تولید رنگدانه و ظرفیت نمک‌زدایی تأثیر دارند و می‌توان با تنظیم شوری، تأمین مواد مغذی و طراحی راهبردهای کشت دو مرحله‌ای، بازده تولید زیست‌توده و متابولیت‌ها را در پساب واقعی افزایش داد. مطالعات آینده می‌تواند با تمرکز بر فازهای مختلف رشد *دونالیا سالینا* و تعیین فاز بهینه برای نمک‌زدایی و تولید متابولیت‌های ارزشمند، همراه با بررسی برهم‌کنش عوامل محیطی از طریق طراحی آزمایش و ارزیابی کشت در مقیاس نیمه‌صنعتی، به بهینه‌سازی عملکرد این ریزجلبک در تصفیه پایدار پساب صنعتی کمک کند.

۵. مراجع

- [1] Rabiee, R., Zamir, S. M., & Sedighi, M. (2022). Degradation of phenol in the bio-cathode of a microbial desalination cell with power generation and salt removal. *Bioelectrochemistry*, 148, 108258. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2022.108258>
- [2] Prakash, S., Ponnusamy, K., & Naina Mohamed, S. (2022). An insight on biocathode microbial desalination cell: current challenges and prospects. *International Journal of Energy Research*, 46, 8546–8559. <https://doi.org/10.1002/er.7748>
- [3] Mirzaei, M., Jazini, M., Aminiershad, G., & Refardt, D. (2024). Biodesalination of saline aquaculture wastewater with simultaneous nutrient removal and biomass production using the microalgae *Arthrospira* and *Dunaliella* in a circular economy approach. *Desalination*, 581, 117564. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2024.117564>
- [4] Barahoei, M., Hatamipour, M. S., Khosravi, M., Afsharzadeh, S., & Feghipour, S. E. (2021). Salinity reduction of brackish water using a chemical photosynthesis desalination cell. *Science of the Total Environment*, 779, 146473. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146473>
- [5] Mishra, A., & Chhabra, M. (2022). Performance of photo-microbial fuel cell with *Dunaliella salina* at the saline cathode. *Bioresource Technology Reports*, 19, 101199. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101199>

- [6] Rabiee, R., Sedighi, M., & Zamir, S. M. (2024). Desalination of the power plant salty wastewater by use of an algae-based photosynthetic microbial desalination cell. *Journal of Environmental Management*, 370, 123019. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.123019>
- [7] Barahoei, M., Hatamipour, M. S., & Afsharzadeh, S. (2021). Direct brackish water desalination using *Chlorella vulgaris* microalgae. *Process Safety and Environmental Protection*, 148, 237-248. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.10.006>
- [8] Balaji, E., Swaminathan, D., & Deepa, V. S. (2024). Assessment of nutrient removal efficiency of marine microalgae *Dunaliella salina* in saline food industry wastewater. *Journal of Environmental Nanotechnology*, 13, 46-51. <https://doi.org/10.13074/jent.2024.06.242598>
- [9] de Souza Celente, G., de Souza Schneider, R. D. C., Rizzetti, T. M., Lobo, E. A., & Sui, Y. (2024). Using wastewater as a cultivation alternative for microalga *Dunaliella salina*: Potentials and challenges. *Science of the Total Environment*, 911, 168812. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168812>
- [10] Pourkarimi, S., Hallajisani, A., Alizadehdakhel, A., Nouralishahi, A., & Golzary, A. (2020). Factors affecting production of beta-carotene from *Dunaliella salina* microalgae. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 101771. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101771>
- [10] Xi, Y., Wang, J., Xue, S., & Chi, Z. (2020). β -Carotene production from *Dunaliella salina* cultivated with bicarbonate as carbon source. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 868. <https://doi.org/10.4014/jmb.1910.10035>
- [12] Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, 1, 1-6. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>
- [13] Reshma, R., Devi, K.C., Kumar, S.D., Santhanam, P., Perumal, P., Krishnaveni, N., Begum, A., Pragnya, M., Arthikha, R., Dhanalakshmi, B. & Kim, M.K. (2021). Enhancement of pigments production in the green microalga *Dunaliella salina* (PSBDU05) under optimized culture condition. *Bioresource Technology Reports*, 14, 100672. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100672>
- [14] Tanoeiro, J. R., Fehrenbach, G. W., Murray, P., Pedrosa, R., & Chen, Y. (2024). Evaluation of *Dunaliella salina* growth in different salinities for potential application in saline water treatment and biomass production. *Aquaculture Journal*, 4, 92-103. <https://doi.org/10.3390/aquacj4030007>
- [15] Kim, M., Oh, H. J., Nguyen, K., & Jin, E. (2022). Identification and characterization of *Dunaliella salina* OH214 strain newly isolated from a saltpan in Korea. *Algae*, 37, 317-329. <http://dx.doi.org/10.4490/algae.2022.37.9.13>
- [16] Khatoon, H., Yuan, G. T. G., Mahmud, A. I., & Rahman, M. R. (2020). Growth and carotenoid production of *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco, 1905 cultured at different salinities. *Asian Fisheries Science*, 33, 207-212. <https://doi.org/10.33997/j.afs.2020.33.3.001>
- [17] Hu, H., Wu, B.-L., Wei, D., Yu, L., Li, W.-H., & Zhu, S.-G. (2024). Evaluation of *Dunaliella salina* for soluble pollutant removal and high value-added product production from high salinity pickle wastewater under salinity gradients. *Journal of Cleaner Production*, 448, 141732. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.141732>

[18] Qin, R., Li, Y., Zhang, L., & Liu, J. (2021). The effect of salinity shock on the growth and rapid light curve of *dunaliella salina*. *Aquaculture Research*, 52, 2569-2579. <https://doi.org/10.1111/are.15105>

[19] Singh, A., Sevda, S., Abu Reesh, I. M., Vanbroekhoven, K., Rathore, D., & Pant, D. (2015). Biohydrogen production from lignocellulosic biomass: technology and sustainability. *Energies*, 8, 13062-13080. <https://doi.org/10.3390/en8112357>

[20] Moura, Y. A. S., Viana-Marques, D. D. A., Porto, A. L. F., Bezerra, R. P., & Converti, A. (2020). Pigments production, growth kinetics, and bioenergetic patterns in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta) in response to different culture media. *Energies*, 13, 5347. <https://doi.org/10.3390/en13205347>

[21] Hassani, M., Yaghmaei, S. (2015). Evaluation of *Dunaliella salina* cultivation in Urmia lake for β -carotene production and lake preservation. *Iranian Journal of Chemical Engineering*, 14, 112442. In Persian

[22] Borowitzka, M. A. (2013). "*Dunaliella*: Biology, biology, production, and markets", Second edition, Wiley, Chichester, 359–368. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch18>

[23] Ahmed, R., Aftab, R., He, M., Aftab, A. A., Zheng, S., Nagi, M., Bakri, R., & Wang, C. (2017). Bioenergy application of *Dunaliella salina* SA 134 grown at various salinity levels for lipid production. *Scientific Reports*, 7, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07540-x>

[24] Rad, F. A., Aksoz, N., & Hejazi, M. A. (2011). Effect of salinity on cell growth and β -carotene production in *Dunaliella* sp. isolates from Urmia Lake in northwest of Iran. *African Journal of Biotechnology*, 10, 2282-2289. <https://doi.org/10.4314/AJB.V10I12>

[25] Sousa, V., Maciel, F., Vicente, A. A., Dias, Ó., & Geda, P. (2024). Development of highly effective growth strategies aiming at improving the content of carotenoids in *Dunaliella salina* IFDSAL-JY215. *Sustainable Food Technology*, 2, 1735-1746. <https://doi.org/10.1039/D4FB00229F>

[26] Moayedi, A., Yargholi, B., Pazira, E., & Babazadeh, H. (2021). Investigation of bio-desalination potential algae and their effect on water quality. *Desalination and Water Treatment*, 212, 78-86. <https://doi.org/10.5004/dwt.2021.26638>

[27] Gao, M., Ling, N., Tian, H., Guo, C., & Wang, Q. (2024). Toxicity, physiological response, and biosorption mechanism of *Dunaliella salina* to copper, lead, and cadmium. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1374275. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1374275>

[28] Ganjali S. (2017). Biochemical and molecular analysis of desalination of saline waters by microalgae, PhD Thesis, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran.

[29] Zhang, B., Deng, C., Wang, S., Deng, Q., Chu, Y., Bai, Z., Huang, A., Zhang, Q. and He, Q. (2023). The RNA landscape of *Dunaliella salina* in response to short-term salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1278954. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1278954>

[30] Barreto, A., Luna-Pabello, V. M., Sacristán de Alva, M., Palomino Albarrán, I. G., Arenas, M., & Gaxiola, G. (2025). Valorization of low-nitrogen, high-organic-load shrimp aquaculture

wastewater by *Dunaliella salina*: pollutant removal and high-value-biomass production. *Microorganisms*, 13, 1484. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13071484>

[31] Han, T., Lu, H., Zhao, Y., Xu, H., Zhang, Y., & Li, B. (2019). Two-step strategy for obtaining *Dunaliella* sp. biomass and β -carotene from anaerobically digested poultry litter wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 143, 104714. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.06.002>

[32] Arshadi, M., Yaghmaei, S., & Zamir, S.M. (2017). Microalgae and the influencing factors on their growth. *Iranian Journal of Chemical Engineering*, 16, 56-65. In Persian.

[33] Amini, M., Khoei, Z. A., & Erfanifar, E. (2019). Nitrate (NO_3^-) and phosphate (PO_4^{3-}) removal from aqueous solutions by microalgae *Dunaliella salina*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19, 101097. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101097>