Journal of Aquaculture Development
Vol. 20, No. 3, 2026, Pages: 86-105
DOI: 10.71901/jad-2026-1-918

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Bioactive peptides derived from farmed beluga (*Huso huso*) head and fin by-products as a sustainable nitrogen source in Zarrouk medium: Effects on growth, chlorophyll content, and biochemical composition of Spirulina (*Arthrospira platensis*)

Seyedeh Shahrbanoo Mirnabi Baboli[1], Sakineh Yeganeh[2*], Saeid Vahdat[3]

1- Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Sari, Iran

Received: 23 September 2025 **Accepted: 10 December 2025**

Extended Abstract:

Introduction: The rapid growth of the global population, projected to reach 9.9 billion by 2050, has intensified the challenge of food security, prompting the exploration of alternative protein sources. Microalgae, particularly *Spirulina* (*Arthrospira platensis*), have gained attention due to their high nutritional value, rich in proteins, pigments, antioxidants, carbohydrates, and lipids, making them viable alternatives for food and feed industries. *Spirulina* is widely cultivated for its exceptional protein content and ease of production under diverse conditions, including high pH and mixotrophic growth, minimizing contamination risks. In Iran, the expanding sturgeon farming industry for caviar production generates substantial byproducts, such as heads and fins from farmed beluga (*Huso huso*), which are rich in proteins but often underutilized. These byproducts represent a sustainable resource for value-added products. Conventional Spirulina cultivation relies on Zarrouk's medium with inorganic nitrogen (sodium nitrate), which is costly and contributes to environmental pollution through unused nitrate discharge. Organic nitrogen sources, such as fish protein hydrolysates (FPH), offer a promising alternative by providing readily absorbable peptides and amino acids, enhancing growth and biochemical composition while valorizing fishery wastes. Previous studies have demonstrated the potential of FPH from fish wastes as nitrogen substitutes. A study reported a 34% increase in dry biomass and 17% in protein content when fully replacing nitrate with FPH from tuna wastes in *Spirulina* culture. Similarly, some investigations showed improvements in biomass and pigments in other microalgae with partial FPH substitution. However, no prior research has utilized enzymatically hydrolyzed peptides (<3 kDa) from sturgeon byproducts as an organic nitrogen source for *Spirulina*. The objective of this study was to evaluate the effects of partial or complete replacement of inorganic nitrogen (sodium nitrate) in Zarrouk's medium with bioactive peptides (<3 kDa) derived from enzymatic hydrolysis of farmed beluga heads and fins on the growth performance and biochemical composition of *Arthrospira platensis*. The hypothesis was that partial replacement (up to 40-50%) would enhance biomass, protein, and pigment contents due to better nitrogen bioavailability, while complete replacement might cause inhibitory effects from ammonia toxicity.

Materials and Methods: This study was conducted as a completely randomized design with six treatments and three replications over 11 days. Bioactive peptides (<3 kDa) were produced from farmed beluga (Huso huso) heads and fins. Byproducts were minced and subjected to enzymatic hydrolysis using Alcalase (2% w/w relative to crude protein) at pH 8.0-8.5, 56°C for 3 hours. The hydrolysate was inactivated at 90°C for 15 minutes, centrifuged (5000 g, 15 min), and the supernatant ultrafiltered (<3 kDa, 3 bar pressure) to isolate low-molecular-weight peptides, followed by freeze-drying. Proximate analysis confirmed high soluble protein (92.00 ± 5.29%) and nitrogen content (12.11 ± 0.25%). Spirulina (*Arthrospira platensis*) stock was obtained from the Iranian Biological Resource Center and cultivated in Zarrouk's medium at 30°C, 5000 lux light intensity (12:12 light-dark cycle), and continuous aeration in 10 L vessels. Treatments included: control (100% inorganic nitrogen), and 20%, 40%, 60%, 80%, or 100% replacement of sodium nitrate with the peptide fraction (on nitrogen-equivalent basis). Biomass was measured

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

as dry weight (filtered, rinsed, dried at 75°C to constant weight). Pigments (chlorophyll a, b, and total carotenoids) were extracted with 96% methanol and quantified spectrophotometrically. Proximate composition included protein (Lowry-based method; Slocombe et al., 2013), lipids (Soxhlet extraction), ash (550°C incineration), and carbohydrates. Data normality was verified (Kolmogorov-Smirnov test), and differences analyzed by one-way ANOVA followed by Tukey's test ($P < 0.05$).

Results and Discussion: The hydrolyzed peptides exhibited high solubility (92%) and nitrogen content (12.11%), superior to raw byproducts (45% crude protein), confirming effective enzymatic breakdown into bioactive low-molecular-weight fractions. Growth monitoring revealed no differences on day 1 (lag phase), but from day 2 onward, the 40% replacement treatment consistently yielded the highest biomass, reaching 1.580 ± 0.009 g/L by day 11, significantly higher than the control (1.368 ± 0.026 g/L) ($P < 0.05$). The 20% treatment also showed improvements, while 60-100% replacements reduced biomass, with 100% yielding the lowest (0.914 ± 0.008 g/L). This pattern aligns with enhanced nitrogen uptake from short-chain peptides in moderate doses, but ammonia accumulation and osmotic stress at higher levels inhibiting nitrate reductase and causing toxicity. Proximate composition at day 11 showed the 40% treatment with highest protein (71.08 ± 1.41%), followed by 20% (67.08 ± 1.41%), exceeding the control (60.33 ± 1.63%) ($P < 0.05$). Lipids were highest in 60% (8.40 ± 0.27%), but carbohydrates and ash increased markedly in 80-100% treatments (up to 28.03% carbohydrates), indicating metabolic shift toward storage compounds under nitrogen stress. These results achieved 68% protein with full tuna FPH replacement, likely due to the purified <3 kDa fraction reducing inhibitory large peptides. Pigment contents were optimal in 40% treatment: chlorophyll a (5960 ± 80 μg/g), chlorophyll b (860 ± 50 μg/g), and total carotenoids (2310 ± 30 μg/g), significantly higher than control (3760, 120, and 1540 μg/g, respectively) ($P < 0.05$). Higher replacements drastically reduced pigments, attributed to impaired photosynthetic metabolism from ammonia toxicity. The 20% treatment also enhanced pigments moderately. Overall, moderate organic nitrogen substitution directed metabolism toward protein and pigment synthesis, improving nutritional quality, while excessive levels induced stress responses. Compared to inorganic-only media, partial peptide integration increased biomass by ~15% and protein by ~18%, supporting sustainable valorization of sturgeon wastes and reducing environmental impacts from mineral nitrogen.

Conclusion: This study demonstrates that bioactive peptides (<3 kDa) from enzymatic hydrolysis of farmed beluga byproducts effectively serve as partial substitutes for inorganic nitrogen in Spirulina cultivation. The optimal 40% replacement significantly enhanced biomass (1.58 g/L), protein content (71.08%), and pigments (chlorophyll a: 5960 μg/g; carotenoids: 2310 μg/g) compared to the inorganic control, while reducing carbohydrates. The 20% level also provided benefits, but higher substitutions (≥60%) impaired performance due to ammonia toxicity and metabolic imbalance. These findings highlight the potential of sturgeon processing wastes as a sustainable, cost-effective organic nitrogen source, promoting circular bioeconomy in aquaculture and microalgae industries. Applications include high-protein Spirulina supplements for human nutrition or animal feed, with added value from natural pigments for food and pharmaceutical uses. Recommendations include scaling up in photobioreactors with pH and CO_2 control for industrial yields, further characterizing peptide bioactivity (e.g., antioxidant properties), and evaluating economic feasibility. Future research should explore combined organic-inorganic feeds or other microalgal species to broaden waste valorization strategies and minimize environmental footprints from nitrogen fertilizers.

Conflict of Interest: There is no conflict of interest between the authors of the article.

Acknowledgment: The authors of the article are grateful for the support of their respected colleagues.

Keywords: *Arthrospira platensis, bioactive peptides, sturgeon by-products, fish protein hydrolysate, organic nitrogen source, biomass productivity, pigments, waste valorization*

* *Corresponding Author: Skyeganeh@gmail.com; s.yeganeh@sanru.ac.ir*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

نشریه توسعه آبزی‌پروری، سال بیستم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۵، صفحه های ۱۰۵-۸۶
DOI:10.71901/jad-2026-1-918

"مقاله پژوهشی"

کارایی پپتیدهای زیست‌فعال حاصل از زائدات سر و باله فیل ماهی پرورشی به عنوان مکمل محیط کشت زاروک: تأثیر بر رشد، محتوای کلروفیل و ترکیب شیمیایی جلبک اسپیرولینا (*Arthrospira platensis*)

سیده شهربانو میرنبی بابلی[۱]، سکینه یگانه [۱*]، سعید وحدت[۱]

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۷/۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۹/۱۹

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثرات جایگزینی جزئی یا کامل منبع نیتروژن معدنی (نیترات سدیم) محیط کشت زاروک با پپتیدهای زیست‌فعال (kDa ۳>) حاصل از هیدرولیز آنزیمی زائدات ماهیان خاویاری (سر و باله فیل‌ماهی) پرورشی بر عملکرد رشد و ترکیب بیوشیمیایی جلبک اسپیرولینا (*Arthrospira platensis*) بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار (شاهد: ۱۰۰ درصد نیتروژن معدنی؛ ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد جایگزینی نیتروژن معدنی با پپتید) و ۳ تکرار به مدت ۱۱ روز انجام شد. نتایج نشان داد که جایگزینی ۴۰ درصد منبع نیتروژن معدنی با پپتیدهای زیست‌فعال به‌طور معنی‌داری بالاترین زیست‌توده (۱/۵۸ گرم بر لیتر در روز ۱۱)، بیشترین محتوای پروتئین (۷۱/۰۸ درصد) کلروفیل آ (۵۹۶۰ میکروگرم بر گرم)، کلروفیل ب (۸۶۰ میکروگرم بر گرم) و کاروتن کل (۲۳۱۰ میکروگرم بر گرم) را به همراه داشت ($p<0/05$). تیمار ۲۰ درصد نیز عملکرد مطلوبی نشان داد، اما کمتر از تیمار ۴۰ درصد بود. در مقابل، جایگزینی کامل (۱۰۰ درصد) منجر به کاهش معنی‌دار زیست‌توده، پروتئین، چربی و رنگدانه‌ها و افزایش کربوهیدرات و خاکستر گردید. بنابراین، استفاده از پپتیدهای زیست‌فعال حاصل از زائدات ماهیان خاویاری تا سطح ۴۰ درصد جایگزینی، به‌عنوان یک منبع نیتروژن آلی پایدار و اقتصادی، می‌تواند رشد، محتوای پروتئینی و رنگدانه‌ای اسپیرولینا را به‌طور چشمگیری بهبود بخشد و راهکاری مؤثر برای ارزش‌افزایی زائدات صنعت خاویار و کاهش هزینه‌ها و آلودگی‌های زیست‌محیطی ناشی از نیتروژن معدنی فراهم آورد.

کلمات کلیدی: اسپیرولینا، پپتیدهای زیست‌فعال، زائدات ماهیان خاویاری، هیدرولیز پروتئین ماهی، منبع نیتروژن آلی

* عهده‌دار مکاتبات: skyeganeh@gmail.com; s.yeganeh@sanru.ac.ir

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

مقدمه

رشد مداوم جمعیت جهان به یک مشکل بهداشت عمومی جهانی تبدیل شده است، زیرا منجر به کمبود مواد غذایی می‌شود. پیش‌بینی می‌شود که جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ به ۹/۹ میلیارد نفر برسد (WPP, 2023). صنعت غذا در حال حاضر نمی‌تواند پاسخگوی تقاضای مواد غذایی باشد، بنابراین نیاز است که منابع جایگزین، مانند غذاهای طبیعی، مورد بررسی قرار گیرند (Lim *et al.*, 2021). در این راستا، منابع دریایی، به ویژه میکروجلبک‌ها، به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالای خود به عنوان منابع جایگزین پروتئین‌ها، رنگدانه‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، کربوهیدرات‌ها و لیپیدها، و همچنین تنوع مولکول‌های با ارزش بالا که می‌توانند در صنایع مختلف استفاده شوند، توجه جهانی را به خود جلب کرده‌اند (Lafarga et al, 2020; Jaeschke *et al.*, 2021). از میان میکروجلبک‌های موجود، اسپیرولینا (*Arthrospira platensis*)، بیشترین استفاده را به عنوان منبع طبیعی، به ویژه در صنعت غذا دارد. علاوه براین، به خاطر خواص تغذیه‌ای استثنایی‌اش، اسپیرولینا به طور گسترده‌ای مورد تحقیق قرار گرفته‌است و به دلیل محتوای بالای پروتئین خود، مورد توجه‌است (Paniagua Michel *et al.*, 2015). پرورش اسپیرولینا از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است و می‌توان آن را به راحتی برداشت کرد و در شرایط متنوعی مانند pH بالا و شرایط هتروتروفیک یا میکسوتروفیک رشد می‌کند و بنابراین خطر آلودگی توسط سایر میکروارگانیسم‌ها را به حداقل می‌رساند. این جلبک می‌تواند به عنوان مکمل غذایی برای پستانداران و به عنوان اجزای زیستی استفاده شود. مواد مغذی آن قابلیت زیستی بالایی دارند و امکان جذب سریع توسط بدن انسان را فراهم می‌کنند (Sorrenti *et al.*, 2012). در سال‌های اخیر با توجه به روند رو به رشد جامعه فرآوری آبزیان و همچنین افزایش صادرات ماهیان خاویاری که صرفا فرآوری شده صادر می‌گردند، حجم قابل توجهی از زائدات این ماهیان باقی مانده که استفاده بهینه از آن را بدیهی می نماید. از آنجا که نیتروژن غیر آلی در کشت جلبک‌ها هزینه بالایی را به همراه دارد و همچنین تخلیه مداوم نیتروژن غیر آلی مصرف‌نشده باعث ایجاد مشکلات زیست‌محیطی جدی می‌شود، استفاده از پپتیدهای زیست فعال به عنوان ماده مغذی آلی می‌تواند راه‌حلی پایدار و دوستدار محیط زیست از نظر ارزش‌افزایی زائدات ماهی و کشت اسپیرولینا باشد. استفاده از پروتئین‌های هیدرولیز شده و تولید پپتید از زائدات آبزیان به عنوان محیط کشت جلبک اسپیرولینا، به چندین دلیل توجیه‌پذیر و ضروری است (Yao *et al.*, 2022). بنابراین، افزودن مواد مناسب به محیط کشت در محدوده مناسب برای تولید کارآمد بسیار حیاتی است. زائدات آبزیان می‌توانند به عنوان منبعی پایدار و تجدیدپذیر برای تولید پروتئین‌های هیدرولیز شده عمل کنند. پپتیدهای حاصل از هیدرولیز پروتئین‌ها می‌توانند مواد مغذی و ریزمغذی‌های متعددی را برای رشد بهینه جلبک اسپیرولینا فراهم کنند، که این امر می‌تواند به افزایش بهره‌وری و کیفیت محصول منجر شود.

مطالعات اخیر نشان‌دهنده پتانسیل بالای پروتئین هیدرولیز شده (FPH) به عنوان منبع نیتروژن آلی جایگزین در کشت جلبک‌ها هستند. برای مثال، Shanthi و همکاران (۲۰۲۱) در مطالعه‌ای بر روی جلبک اسپیرولینا، از پروتئین هیدرولیز شده مشتق‌شده از ضایعات ماهی (مانند سر، پوست و استخوان ماهی تن)

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

به عنوان منبع نیتروژن استفاده کردند. در این پژوهش، جایگزینی کامل نیترات سدیم (منبع معدنی استاندارد در محیط Zarrouk) با پروتئین هیدرولیز شده در غلظت بهینه ۰/۵ درصد(w/v) ، منجر به افزایش ۳۴ درصدی وزن خشک سلولی (از ۱/۲۵ به ۱/۶۸ گرم بر لیتر)، ۳۹ درصدی بهره‌وری زی توده (از ۰/۱۸ به ۰/۲۵ گرم بر لیتر در روز) و ۱۷ درصدی محتوای پروتئین (از ۵۸ به ۶۸ درصد وزن خشک) و فایکوسیانین (از ۱۲ به ۱۴ درصد وزن خشک) شد. این بهبودها به دلیل حضور پپتیدهای کوتاه زنجیر و آمینواسیدهای آزاد در پروتئین هیدرولیز شده ماهی بود که جذب سریع‌تری نسبت به نیترات معدنی فراهم می‌کرد. Nirmal و همکاران (۲۰۲۲) با جایگزینی ۵۰ درصدی اوره با پروتئین هیدرولیز شده ماهی در کشت *Chlorella vulgaris*، افزایش ۲۵ درصدی بیوماس و ۲۰ درصدی لیپید را گزارش کردند. همچنین، Kaushik و همکاران (۲۰۲۴) در *Nannochloropsis oculata* نشان دادند که سطوح جایگزینی ۲۵–۷۵ درصدی پروتئین هیدرولیز شده ماهی با نیترات، محتوای کاروتنوئیدها را تا ۳۰ درصد ارتقا می‌دهد، بدون تأثیر منفی بر رشد.در تحقیق حاضر، برای نخستین بار ضایعات ماهی ابتدا با آنزیم‌های پروتئولیتیک هیدرولیز شده و فرکشن پپتیدی زیست‌فعال با وزن مولکولی کمتر از ۳ kDa (از طریق اولترافیلتراسیون) جدا می‌شود. سپس، تأثیر سطوح مختلف جایگزینی (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) این فرکشن با منبع نیتروژن معدنی (نیترات سدیم) در محیط کشت جلبک اسپیرولینا بر شاخص‌های رشد (وزن خشک، بهره‌وری) و ترکیب شیمیایی (پروتئین، فایکوسیانین، لیپید و کربوهیدرات) بررسی خواهد شد. این رویکرد نه تنها کارایی نیتروژن آلی را بهینه می‌کند، بلکه ارزش افزوده‌ای برای ضایعات ماهی ایجاد کرده و پایداری فرآیند کشت جلبک را ارتقا می‌دهد.

مواد و روش‌ها

تولید پپتیدهای زیست فعال

زائدات مورد استفاده شامل سر و باله های فیل‌ماهی بود که در ابتدا با چرخ گوشت با سایز ۳ میلی متری چرخ شد و تحت تأثیر هیدرولیز بیوشیمیایی قرارگرفت. از آنزیم آلکالاز (میزان فعالیت ۲/۴ واحد بر گرم و مقدار ۲ درصد وزنی نسبت به پروتئین خام ضایعات) و pH در محدوده قلیایی (۸/۵–۸) جهت انجام فرآیند مورد استفاده قرارگرفت (Nikoo *et al.,* 2023). زمان هیدرولیز ۳ ساعت بود و درجه حرارت مورد استفاده جهت انجام فرآیند نیز ۵۶ درجه سانتی‌گراد بود. پس از اتمام فرآیند و غیر فعال کردن آنزیم (به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد)، نمونه سانتریفوژ (دور ۵۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه) شد و مایع رویی از طریق اولترافیلتراسیون کمتر از ۳ کیلودالتون (فشار ۳ بار و دمای اتاق) عبور داده شد و مایع رویی به‌دست آمده فریزدرای گردید (دمای ۶۰- درجه سانتی‌گراد) و میزان پروتئین محلول و کجلدال و همچنین درصد ازت مشخص گردید (Nikoo *et al.,* 2023).

تهیه استوک جلبک

استوک جلبک اسپیرولینا از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. کشت جلبک در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۵۰۰۰ لوکس، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت خاموشی و در مدت زمان ۱۱ روز انجام شد (Manirafasha *et al.,*

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

2018). از محیط کشت زاروک برای پرورش اسپیرولینا استفاده شد (Manirafasha *et al.*, 2018).

پرورش و تیمار بندی جلبک‌ها

ظروف مورد استفاده برای پرورش جلبک حجمی برابر با ۱۰ لیتر داشتند و هوادهی با استفاده از پیپت فیلتردار و به صورت ممتد انجام گردید. تیمارهای این مطالعه شامل:

تیمار ۱: پرورش جلبک اسپیرولینا به عنوان تیمار شاهد (محیط کشت زاروک)

تیمار ۲: پرورش جلبک اسپیرولینا حاوی ۲۰ درصد وزنی پپتید (کمتر از KD ۳) جایگزین منبع نیتروژنی

تیمار ۳: پرورش جلبک اسپیرولینا حاوی ۴۰ درصد وزنی پپتید (کمتر از KD ۳) جایگزین منبع نیتروژنی

تیمار ۴: پرورش جلبک اسپیرولینا حاوی ۶۰ درصد وزنی پپتید (کمتر از KD ۳) جایگزین منبع نیتروژنی

تیمار ۵: پرورش جلبک اسپیرولینا حاوی ۸۰ درصد وزنی پپتید (کمتر از KD ۳) جایگزین منبع نیتروژنی

تیمار ۶: پرورش جلبک اسپیرولینا حاوی ۱۰۰ درصد وزنی پپتید (کمتر از KD ۳) جایگزین منبع نیتروژنی

اندازه گیری رشد سلولی

غلظت بیوماس با استفاده از روش وزن خشک تعیین شد. به‌طور خلاصه، سلول‌های جلبکی با استفاده از فیلترهای ۱۰ میکرون برداشت شدند، سپس ۲ بار با آب دیونیزه شسته شدند و به یک پتریدیش منتقل گردیدند، و پس از آن در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت در فر خشک شدند. غلظت بیوماس (X) با استفاده از معادلات زیر محاسبه شدند (Skorupskaite *et al.*,2015):

$$X\ (g/L) = (m_1 - m_0) / V_{cul}$$

که m_1 نشان‌دهنده وزن (گرم) پتریدیش خشک‌شده حاوی نمونه بود، و m_0 (گرم) وزن پتریدیش خالی از قبل خشک‌شده را نشان می‌داد V_{cul} (لیتر) حجم نمونه‌برداری بود.

اندازه‌گیری مقدار کلروفیل آ، کلروفیل ب و کاروتن کل

مقدار ۵۰ میلی‌لیتر از محیط پرورش را با فیلتر واتمن آبی رنگ فیلتر و سپس نمونه وزن شد. به جهت استخراج رنگدانه با متانول ۹۶ درصد به مقدار ۵۰ میلی‌لیتر به ازای هر گرم مخلوط شد. سپس نمونه به مدت یک دقیقه با ۱۰۰۰ دور بر دقیقه هموژن شد. مخلوط هموژن شده از فیلتر واتمن آبی عبور داده خواهد شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی به جهت خوانش در طول موج‌های ۶۶۶، ۶۵۳ و ۴۷۰ جدا شد و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (Camspec M330) نمونه‌ها خوانش شد. از رابطه‌های زیر برای بدست آوردن کاروتن کل استفاده شد:

$$Ca = 15.65A666 - 7.340A653$$
$$Cb = 27.05A653 - 11.21A666$$
$$Cc = 1000A470 - 2.860Ca - 129.2Cb\ /245$$

Ca مقدار کلروفیل آ، Cb مقدار کلروفیل ب و C_c مقدار کاروتن کل را بر حسب میکروگرم بر گرم از وزن‌تر محاسبه شد (Dere *et al.*, 1998).

آنالیز مقدار چربی و خاکستر

برای اندازه‌گیری مقدار چربی کل از روش سوکسله استفاده شد. برای این منظور مقدار معینی از هر تکرار وزن برداشته شده و برای مدت زمان ۷ ساعت درون سوکسله قرارگرفت تا بوسیله دی اتیل اتر خالص (۹۸٪)

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

چربی شویی شود. بعداز خروج نمونه‌ها از دستگاه و قرار دادن آن‌ها درون دسیکاتور به مدت ۲ ساعت، آن‌ها درون خشک کن با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرارگرفت تا کاملاً خشک شوند و سپس وزن شده و با استفاده از اختلاف وزنی مقدار چربی هر نمونه بدست آمد. برای محاسبه مقدار خاکستر مقدار معینی از نمونه‌ها وزن شد و پس از قرار گرفتن در کوره الکتریکی به مدت ۶ ساعت و در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد، مجدداً وزن شد و مقدار خاکستر آن‌ها محاسبه شد (AOAC, 1996).

تعیین مقدار محتوای پروتئینی

برای اندازه‌گیری محتوای پروتئینی از روش Slocombe و همکاران (۲۰۱۳) استفاده شد. مقدار ۵ میلی‌گرم از جلبک خشک شده (فریزدرای) درون ۰/۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TSA) ۲۴ درصد (w/v) مخلوط و بهم‌زده شد، سپس مخلوط برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شد و در دمای اتاق سرد شد. بعد از آن ۶۰۰ میکرولیتر آب کاملاً خالص به مخلوط اضافه شد. هموژن بدست آمده برای مدت زمان ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰۰۰g سانتریفیوژ شد و محلول رویی آن دور ریخته شد. پلت‌های باقی مانده در ظرف در ۰/۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر لوری به حالت سوسپانسیون دوباره درآمد و به مدت ۳ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شدند. نمونه‌ها بعد از سرد شدن در دمای اتاق، برای مدت زمان ۲۰ دقیقه (در دمای اتاق) و با دور ۱۵۰۰۰g سانتریفیوژ شده و محلول رویی آن نگهداشته شد. سپس محلول رویی برای مدت ۳۰ دقیقه در محلول لوری قرار داده شد و جذب هر نمونه در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد (Slocombe *et al.*, 2013).

تعیین مقدار کربوهیدرات کل

مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از وزن خشک جلبک وزن و ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲/۵ نرمال به آن اضافه شد و برای مدت زمان ۳ ساعت درون بن ماری حاوی آب جوش قرارگرفت. بعداز خنک شدن در دمای محیط با استفاده از سدیم کربنات جامد خنثی شد و به مخلوط به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. مخلوط سانتریفیوژ شد (۵۰۰۰ دور بر دقیقه برای مدت ۵ دقیقه) و سپس مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برای آنالیز برداشته شده و به حجم ۱۰۰۰ میکرولیتر رسید. مقدار ۴ میلی‌لیتر واکنشگر آنترون (۰/۲ درصد) به نمونه‌ها اضافه شد و برای مدت ۸ دقیقه درون بن ماری حاوی آب جوش قرارگرفت. نمونه‌ها به سرعت سرد شده و در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شدند. محلول استاندارد با غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر گلوکز تهیه شده و با استفاده از نمودار استاندارد، مقدار کربوهیدرات نمونه‌ها محاسبه شدند (Hedge and Hofreiter, 1962).

تجزیه و تحلیل آماری

این طرح در قالب یک طرح آزمایشی کاملاً تصادفی ساده با هشت تیمار (برای هر تیمار ۳ تکرار) اجرا شد. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف–اسمیرنوف بررسی شدند. از روش آنالیز یک طرفه (One-Way ANOVA) برای بررسی تیمارها استفاده شد. مقایسه میانگین تیمارها توسط تست توکی (Tukey) و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درصد بررسی شد.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

نتایج

پروتئین هیدرولیز شده

آنالیز شیمیایی زائدات خام (سر و دم فیل‌ماهیان بالغ) نشان داد که میزان پروتئین کل ۰/۲±۴۵/۰ درصد، چربی ۰/۴±۱۵/۲۰ درصد، خاکستر ۰/۱±۳۱/۰۰ درصد و کربوهیدرات ۰/۱±۰/۲۲ درصد بود. همچنین در آنالیز پروتئین هیدرولیز شده به دست آمده پروتئین کل (۷۵/۷۰ درصد) نسبت به پروتئین محلول (۹۲/۰۰ درصد) مقدار بالاتری را نشان داد، در حالی که محتوای نیتروژن ۱۲/۱۱ درصد را نشان داد. همچنین مقدار چربی ۳/۱۸ و خاکستر ۵/۰۷ درصد بدست آمد (جدول ۱).

جدول ۱: میزان پروتئین محلول، پروتئین کجلدال و درصد ازت پس از هیدرولیز

Table 1: Soluble protein, Kjeldahl protein, and nitrogen content after hydrolysis

Chemical content	Mean±SD
Soluble Protein	92.00±5.29
Kjeldahl Protein	75.70± 1.27
Nitrogen Content	12.11± 0.25
Ash	5.07±0.21
Lipid	3.18±0.13

پرورش جلبک

نتایج وزن خشک جلبک اسپیرولینا

وزن خشک (g/L) جلبک اسپیرولینا در تیمارهای مختلف بررسی شد. در روز ۱، هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (p<۰/۰۵). در روز ۲، تیمار ۴۰ درصد (۰/۱۳۲ گرم بر لیتر) بالاترین مقدار وزن خشک را به‌صورت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها نشان داد (p<۰/۰۵)، در حالی که تیمار ۱۰۰ درصد (۰/۰۷۴ گرم بر لیتر) کمترین مقدار را داشت (p<۰/۰۵) و سایر تیمارها با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵). در روز ۳، تیمارهای ۲۰ درصد (۰/۱۴۳ گرم بر لیتر) و ۴۰ درصد (۰/۱۴۷ گرم بر لیتر) بالاترین مقادیر وزن خشک را بدون تفاوت معنی‌دار با هم نشان دادند (p<۰/۰۵)، در حالی که تیمار ۱۰۰ درصد (۰/۰۹۳ گرم بر لیتر) کمترین مقدار را داشت (p<۰/۰۵). بین تیمار شاهد و تیمار ۶۰ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p<۰/۰۵). در روز ۴، تیمار ۴۰ درصد (۰/۲۵۶ گرم بر لیتر) بالاترین مقدار را نشان داد و در تیمار ۲۰ درصد اگرچه مقدار کمتری نسبت به تیمار ۴۰ درصد مشاهده شد، اما افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد (p<۰/۰۵)، تیمار ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد جایگزینی کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند و تیمار ۱۰۰ درصد (۰/۱۵۲ گرم بر لیتر) کمترین مقدار را داشت (p<۰/۰۵). در روز ۵، تیمارهای ۲۰ درصد (۰/۳۷۷ گرم بر لیتر) و ۴۰ درصد (۰/۳۸۱گرم بر لیتر) بالاترین مقادیر را به‌صورت معنی‌دار نشان دادند (p<۰/۰۵)، در حالی که تیمار ۱۰۰ درصد (۰/۲۵۰ گرم بر لیتر) با تیمارهای شاهد، ۶۰ درصد و ۸۰ درصد تفاوت معنی‌داری نداشت (p<۰/۰۵). در روز ۶، تیمار ۴۰ درصد (۰/۶۱۳ گرم بر لیتر) بالاترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار نشان داد و در تیمار ۲۰ درصد اگرچه مقدار کمتری نسبت به تیمار ۴۰ درصد مشاهده شد، اما افزایش معنی‌داری نسبت به

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

تیمار شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$). سایر تیمارها بدون تفاوت معنی‌دار با هم، مقادیر کمتری نشان دادند ($p<۰/۰۵$). در روز ۷، تیمار ۴۰ درصد (۰/۷۸۹ گرم بر لیتر) بالاترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار نشان داد و در تیمار ۲۰ درصد اگرچه مقدار کمتری نسبت به تیمار ۴۰ درصد مشاهده شد، اما افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$)، در حالی که تیمارهای ۸۰ درصد (۰/۵۱۷ گرم بر لیتر) و ۱۰۰ درصد (۰/۴۷۶ گرم بر لیتر) کمترین مقادیر را به‌صورت معنی‌دار داشتند ($p<۰/۰۵$). در روز ۸ ، تیمارهای ۲۰ درصد و ۴۰ درصد بالاترین مقادیر را به‌صورت معنی‌دار نشان دادند ($p<۰/۰۵$) و سایر تیمارها با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$). در روز ۹ تیمار ۴۰ درصد (۱/۱۷۸ گرم بر لیتر) بالاترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار نشان داد و در تیمار ۲۰ درصد اگرچه مقدار کمتری نسبت به تیمار ۴۰ درصد مشاهده شد، اما افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$)، در حالی که تیمار ۱۰۰ درصد کمترین مقادیر را داشت ($p<۰/۰۵$) و سایر تیمارها با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ($p<۰/۰۵$). در روز ۱۰، تیمار ۴۰ درصد (۱/۳۵۲ گرم بر لیتر) بالاترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار نشان داد و در تیمار ۲۰ درصد اگرچه مقدار کمتری نسبت به تیمار ۴۰ درصد مشاهده شد، اما افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$)، تیمارهای ۶۰ و ۸۰ درصد بدون تفاوت معنی‌دار با هم کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند، در حالی که تیمار ۱۰۰ درصد (۰/۷۷۳ گرم بر لیتر) کمترین مقدار را داشت ($p<۰/۰۵$). در روز ۱۱، تیمار ۴۰ درصد (۱/۵۸۰ گرم بر لیتر) بالاترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار نشان داد ($p<۰/۰۵$) و در تیمار ۲۰ درصد و تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>۰/۰۵$)، تیمارهای ۶۰ و ۸۰ درصد بدون تفاوت معنی‌دار با هم کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند، و تیمار ۱۰۰ درصد (۰/۹۱۴ گرم بر لیتر) کمترین مقدار را داشت ($p<۰/۰۵$) (جدول ۲).

جدول ۲: وزن خشک (گرم بر لیتر) جلبک اسپیرولینا پرورش یافته در تیمارها و روزهای مختلف

Table 2: Dry weight biomass (g L^{-1}) of *A. platensis* cultivated under different treatments across culture days

Day	Control	20% FHP	40% FHP	60% FHP	80% FHP	100% FHP
1	0.091± 0.004^{a}	0.091± 0.004^{a}	0.091± 0.004^{a}	0.091± 0.004^{a}	0.091± 0.004^{a}	0.091± 0.004^{a}
2	0.105± 0.002^{b}	0.115± 0.004^{b}	0.132± 0.007^{a}	0.098± 0.001^{b}	0.088± 0.006^{b}	0.074± 0.002^{c}
3	0.126± 0.002^{b}	0.143± 0.000^{a}	0.147± 0.009^{a}	0.124± 0.001^{b}	0.104± 0.002^{c}	0.093± 0.003^{d}
4	0.198± 0.001^{c}	0.216± 0.008^{b}	0.256± 0.001^{a}	0.182± 0.001^{d}	0.167± 0.001^{e}	0.152± 0.001^{f}
5	0.313± 0.024^{b}	0.377± 0.012^{a}	0.381± 0.010^{a}	0.314± 0.008^{b}	0.275± 0.014^{b}	0.250± 0.011^{b}
6	0.452± 0.017^{c}	0.512± 0.037^{b}	0.613± 0.014^{a}	0.444± 0.001^{c}	0.393± 0.012^{c}	0.345± 0.013^{c}
7	0.585± 0.051^{c}	0.709± 0.015^{b}	0.789± 0.017^{a}	0.589± 0.005^{c}	0.517± 0.008^{d}	0.476± 0.007^{d}
8	0.751± 0.049^{b}	0.886± 0.035^{a}	0.992± 0.030^{a}	0.753± 0.086^{b}	0.657± 0.019^{b}	0.567± 0.005^{b}
9	0.903± 0.010^{b}	1.051± 0.045^{b}	1.178± 0.036^{a}	0.968± 0.045^{b}	0.812± 0.059^{b}	0.667± 0.029^{c}
10	1.105± 0.003^{c}	1.214± 0.029^{b}	1.352± 0.055^{a}	1.005± 0.011^{d}	0.933± 0.028^{d}	0.773± 0.023^{e}
11	1.368± 0.026^{b}	1.427± 0.119^{b}	1.580± 0.009^{a}	1.120± 0.023^{c}	1.061± 0.038^{c}	0.914± 0.008^{d}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشند ($p<۰/۰۵$)

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

نتایج ترکیب تقریبی جلبک اسپیرولینا

در محتوای کربوهیدرات، تیمار ۱۰۰ درصد (۲۸/۰۳ درصد) بالاترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p<۰/۰۵$)، در حالی که تیمار ۴۰ درصد (۱۳/۱۷ درصد) کمترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$) به جز تیمار ۱۰۰ درصد و ۸۰ درصد، سایر تیمارها مقادیر کمتری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند ($p<۰/۰۵$). در محتوای چربی، تیمار ۶۰ درصد (۸/۴۰ درصد) بالاترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p<۰/۰۵$)، سایر تیمارها نسبت به تیمار شاهد مقادیر کمتری نشان دادند به طوری که تیمار ۸۰ درصد (۴/۲۰ درصد) کمترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$). در محتوای پروتئین، تیمارهای ۴۰ درصد (۷۱/۰۸ درصد) و ۲۰ درصد (۶۸/۰۸ درصد) بالاترین مقادیر را به‌صورت معنی‌دار نشان دادند ($p<۰/۰۵$)، سایر تیمارها مقادیر کمتری نسبت به تیمار شاهد داشتند به طوری که تیمار ۱۰۰ درصد (۴۸/۴۸ درصد) کمترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$). در محتوای خاکستر، تیمارهای ۱۰۰ درصد (۹/۰۸ درصد) و ۸۰ درصد (۸/۸۸ درصد) بالاترین مقادیر را به‌صورت معنی‌دار نشان دادند ($p<۰/۰۵$)، در حالی که تیمار شاهد (۸/۰۰ درصد) و ۲۰ درصد کمترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$). تیمارهای ۴۰ و ۶۰ درصد بدون تفاوت معنی‌دار با هم، مقادیر بیشتری از تیمار شاهد و ۲۰ درصد نشان دادند ($p<۰/۰۵$) (جدول ۳).

جدول ۳: ترکیب تقریبی (درصد از وزن خشک) جلبک اسپیرولینا در تیمارهای مختلف در پایان آزمایش (روز یازده)

Table 3: Proximate composition (% dry matter) of *A. platensis* in various treatments at the end of the experiment (day 11)

Treatments	Carbohydrate (%)	Lipid (%)	Protein (%)	Ash (%)
Control	20.33± 1.63^{b}	6.93± 0.31^{b}	60.33± 1.63^{b}	8.00± 0.27^{c}
20% FHP	16.08± 1.41^{d}	6.00± 0.27^{d}	67.08± 1.41^{a}	8.20± 0.17^{c}
40% FHP	13.17± 1.37^{e}	5.48± 0.31^{e}	71.08± 1.41^{a}	8.48± 0.17^{b}
60% FHP	18.08± 1.41^{c}	8.40± 0.27^{a}	58.86± 1.37^{c}	8.68± 0.07^{b}
80% FHP	28.00± 1.41^{a}	4.20± 0.27^{f}	58.08± 1.41^{c}	8.88± 0.17^{a}
100% FHP	28.03± 1.41^{a}	6.30± 0.27^{c}	48.48± 1.37^{d}	9.08± 0.17^{a}

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشند ($p<۰/۰۵$)

نتایج محتوای رنگدانه‌های جلبک اسپیرولینا

در محتوای کلروفیل آ، تیمار ۴۰ درصد (۵۹۶۰ میکروگرم بر گرم) بالاترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p<۰/۰۵$)، در حالی که تیمار ۱۰۰ درصد (۱۸۸۰ میکروگرم بر گرم) کمترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$) و در تیمار ۲۰ درصد اگرچه مقدار کمتری نسبت به تیمار ۴۰ درصد مشاهده شد، اما افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$).

در محتوای کلروفیل ب، تیمارهای ۲۰ درصد (۷۱۰ میکروگرم بر گرم) و ۴۰ درصد (۸۶۰ میکروگرم بر گرم) بالاترین مقادیر را به‌صورت غیرمعنی‌دار نسبت به یکدیگر نشان دادند ($p>۰/۰۵$)، در حالی که تیمار شاهد (۱۲۰ میکروگرم بر گرم) و ۶۰ درصد (۱۱۰ میکروگرم بر گرم) کمترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

داشتند ($p<۰/۰۵$). در محتوای کاروتن کل، تیمار ۴۰ درصد (۲۳۱۰ میکروگرم بر گرم) بالاترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p<۰/۰۵$) و در تیمار ۲۰ درصد اگرچه مقدار کمتری نسبت به تیمار ۴۰ درصد مشاهده شد، اما افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$)، در حالی که تیمار ۱۰۰ درصد (۹۳۰ میکروگرم بر گرم) کمترین مقدار را به‌صورت معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$) (جدول ۴).

جدول ۴: محتوای رنگدانه‌های ($\times 10^3$ میکروگرم بر گرم) جلبک اسپیرولینا پرورش یافته در تیمارهای مختلف در پایان آزمایش

Table 4: Pigment contents ($\times 10^3$ µg g^{-1}) of *A. platensis* in different treatments at the end of the experiment

Treatments	Chl. a (µg/g)	Chl. b (µg/g)	Total Carotene (µg/g)
Control	3.76± 0.08^{c}	0.12± 0.26^{a}	1.54± 0.02^{c}
20% FHP	5.27± 0.10^{b}	0.71± 0.09^{d}	2.12± 0.03^{b}
40% FHP	5.96± 0.08^{a}	0.86± 0.05^{d}	2.31± 0.03^{a}
60% FHP	3.46± 0.10^{d}	0.11± 0.06^{a}	1.46± 0.02^{d}
80% FHP	2.67± 0.10^{e}	0.24± 0.07^{b}	1.14± 0.02^{e}
100% FHP	1.88± 0.09^{f}	0.37± 0.06^{c}	0.93± 0.02^{f}

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشند ($p<۰/۰۵$)

بحث

نتایج به‌دست‌آمده، ویژگی‌های شیمیایی پروتئین هیدرولیز شده مشتق‌شده از زائدات فیل‌ماهی را برجسته می‌سازد و آن را با زائدات خام مقایسه می‌کند. این یافته‌ها بر کارایی فرآیند هیدرولیز آنزیمی تأکید دارند که پروتئین‌های نامحلول را به پپتیدهای کم‌مولکولی و محلول در آب تجزیه می‌کند، در نتیجه ارزش تغذیه‌ای، زیست‌فعالی و قابلیت هضم آن‌ها را به طور قابل‌توجهی ارتقا می‌بخشد. به طور خاص، پروتئین هیدرولیز شده حاصل‌شده دارای پروتئین محلول بالا (بیش از ٪۹۰) و محتوای ازت غنی (حدود ٪۱۵-۱۴) می باشند که آن را به عنوان یک ماده افزودنی بالقوه در صنایع غذایی، دارویی و آبزی‌پروری تبدیل می‌کند (Honrado *et al.,* 2024).

آنالیز شیمیایی زائدات خام فیل‌ماهی نشان داد که پروتئین (۴۵ درصد)، چربی (۱۵/۲۰ درصد)، خاکستر (۳۱ درصد) و کربوهیدرات (۲ درصد) اجزای اصلی هستند. محتوای پروتئینی بالا (٪۴۵) نشان‌دهنده پتانسیل زائدات به عنوان منبعی غنی برای تولید پروتئین هیدرولیز شده است، در حالی که چربی بالا و خاکستر نشان‌دهنده وجود لیپیدها و مواد معدنی است که می‌توانند در فرآیند هیدرولیز تحت تأثیر قرار گیرند (Ovissipour *et al.,* 2009). محتوای کربوهیدرات پایین با ماهیت پروتئینی زائدات ماهی همخوانی دارد (Ghaly *et al.,* 2013).

پروتئین محلول بالا تأیید می‌کند که هیدرولیز آنزیمی به طور مؤثر پروتئین‌های نامحلول را به پپتیدها و آمینواسیدهای آزاد تبدیل کرده است، که برای کاربردهای غذایی و خوراک آبزیان مناسب است (Chalamaiah *et al.,* 2012). تفاوت اندک بین پروتئین محلول و کجلدال ممکن است به دلیل باقی‌ماندن برخی پروتئین‌های غیرمحلول یا پیوندهای پپتیدی مقاوم باشد. محتوای ازت بالا نشان‌دهنده غنای

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

نیتروژن در پروتئین هیدرولیز شده است، که با ارزش تغذیه‌ای بالای آن همخوانی دارد (Nemati *et al.*, 2024).

پپتیدهای با وزن مولکولی کمتر از ۳ کیلودالتون (kDa) در پروتئین هیدرولیز شده از زائدات فیل‌ماهی، نقش کلیدی در ارتقای ارزش زیستی و کاربردی این محصول ایفا می‌کنند. این پپتیدها، که عمدتاً از تجزیه آنزیمی پروتئین‌های نامحلول به پپتیدهای هیدروفوبیک و محلول در آب حاصل می‌شوند، در مقایسه با پپتیدهای بزرگ‌تر (۳–۱۰ kDa یا >۱۰ kDa)، ویژگی‌های شیمیایی برتر مانند غنای بالاتر اسیدهای آمینه ضروری (EAAs) و همچنین اسیدهای آمینه آروماتیک را نشان می‌دهند (Shekoohi *et al.*, 2024). بر خلاف پپتیدهای بزرگ‌تر که اغلب ساختارهای ثانویه پیچیده‌تری دارند و حلالیت کمتری (۳۰٪–۲۰٪ در مقابل >۹۰٪ برای <۳ kDa) ارائه می‌دهند، این پپتیدهای کوچک‌تر به دلیل اندازه خیلی کوچک، نفوذپذیری غشایی بالاتری داشته و محتوای ازت کل (۱۴–۱۵٪) را حفظ می‌کند، که این امر آن را برای کاربردهای غذایی و دارویی ایدئال می‌سازد (Nemati *et al.*, 2024; Honrado *et al.*, 2024).

در این پژوهش پپتیدهای با دامنه وزن مولکولی <۳ kDa هیدرولیزهای پروتئین زائدات فیل‌ماهی به‌عنوان جایگزین جزئی یا کامل نیترات سدیم (منبع نیتروژن معدنی اصلی محیط زاروک) استفاده شد؛ دلیل انتخاب این دامنه وزنی مولکولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا، جذب سریع‌تر توسط سلول‌های جلبک و کاهش احتمال سمیت آمونیاکی نسبت به هیدرولیزها کامل بود. در روز اول هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد که با مرحله تطبیق (lag phase) سیانوباکتری‌ها سازگار است (Jung *et al.*, 2021). از روز دوم به بعد تیمار ٪۴۰ جایگزینی به‌طور مداوم بالاترین وزن خشک را داشت (به‌جز روزهای ۸ و ۹ که با ۲۰ درصد مشابه بود). این برتری احتمالاً ناشی از تعادل مناسب نیتروژن آلی و معدنی و تأمین پپتیدها/آمینواسیدهای آزاد است که جذب نیتروژن و کارایی فتوسنتزی را افزایش می‌دهد. Shanthi و همکاران (۲۰۲۱) با پروتئین هیدرولیز شده ماهی کامل (نه فقط فرکسیون <۳ kDa) و غلظت ۰/۵ درصد موفق به افزایش ۳۹ درصد زیست‌توده شدند؛ تفاوت اصلی مطالعه ما استفاده از فرکسیون خالص‌شده <۳ kDa است که پپتیدهای زیست فعال بیشتری دارد. در مقابل، تیمار ۱۰۰ درصد کمترین عملکرد را نشان داد که می‌تواند به تجمع آمونیاک آزاد (ناشی از دآمیناسیون سریع پپتیدها در نبود نیترات معدنی کافی) و عدم تعادل تغذیه‌ای مربوط باشد (Mousavi *et al.*, 2022).

در بررسی رشد (بیومس خشک) طی ۱۱ روز کشت، تیمار ۴۰ درصد بالاترین عملکرد را نشان داد. تیمارهای ۲۰، ۴۰ و ۸۰ درصد مقادیر متوسطی داشتند، به‌طوری‌که تیمار ۲۰ درصد در روزهای ۳، ۵، ۸، ۹ و ۱۱ بسیار به تیمار ۴۰ درصد نزدیک بود. این الگو نشان می‌دهد که غلظت‌های پایین تا متوسط هیدرولیزهای پپتیدی ماهی (۲۰–۴۰ درصد جایگزینی) به‌عنوان منبع نیتروژن آلی و پپتیدهای زیست‌فعال، رشد جلبک اسپیرولینا را به‌طور معنی‌داری تحریک می‌کنند. در مقابل، غلظت‌های بالاتر (۶۰ درصد و به‌ویژه ۸۰ و ۱۰۰ درصد) به‌تدریج عملکرد کمتری نشان دادند. دلیل اصلی این کاهش در سطوح بالا، افزایش غلظت آمینواسیدهای آزاد و پپتیدهای کوچک است که منجر به سرکوب جذب و احیای نیترات باقی‌مانده از طریق

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

مهار بازخورد (feedback inhibition) مسیر نیترات رِداکتاز، افزایش آمونیاک داخل‌سلولی (photoammonification) و در نتیجه سمیت آمونیاکی و افزایش اسمولالیته محیط و ایجاد استرس اسمزی. این مکانیسم‌ها در مطالعات متعدد روی اسپیرولینا با منابع نیتروژن آلی بالا به‌خوبی مستند شده‌اند (Feng *et al*., 2007; Depraetere *et al*., 2015; Carvalho *et al*., 2011) می شود. تیمار کنترل (محیط استاندارد زاروک با نیتروژن کاملاً معدنی) عملکرد متوسطی داشت و در روزهای پایانی توسط تیمارهای ۲۰ درصد و به‌ویژه ۴۰ درصد پشت سر گذاشته شد. این مشاهده با نتایج متعدد قبلی سازگار است که نشان می‌دهند افزودن متوسط منابع آلی/پپتیدی به محیط زاروک باعث افزایش ۱۵–۳۵ درصدی زیست‌توده نسبت به کنترل می‌شود (Feng *et al*., 2007; Raisa *et al*., 2016). به طورکلی، حداکثر وزن خشک در تیمار ۴۰ درصد در روز ۱۱ نشان‌دهنده شرایط بهینه است، که می‌تواند به برهم‌کنش مثبت بین منابع کربن و نیتروژن نسبت داده شود، همان‌طور که در مطالعه Lanji و همکاران (۲۰۲۲) با استفاده از اوره و عصاره زائدات خرما مشاهده شد، به طوری که ترکیب بهینه منجر به افزایش زیست‌توده تا ۲۰۳ میلی‌گرم بر لیتر شد.

رشد جلبک اسپیرولینا به شدت وابسته به منابع نیتروژن است، زیرا نیتروژن جزء اصلی پروتئین‌ها و رنگدانه‌ها مانند فیکوسیانین است (Mousavi *et al.*, 2022). در این مطالعه، جایگزینی جزئی نیتروژن معدنی با منابع آلی (مانند هیدرولیزهای پروتئین ماهی) در تیمار ۴۰ درصد احتمالاً منجر به افزایش دسترسی به آمینواسیدها شده، که رشد سلولی را تسریع می‌کند. این یافته با Shanthi و همکاران (۲۰۲۱) همخوانی دارد، که گزارش کردند غلظت ۰/۵ درصد هیدرولیزهای پروتئین ماهی وزن خشک جلبک ۳۴ درصد و تولید زیست‌توده را ۳۹ درصد افزایش داد. برتری فرکسیون <۳ kDa در مطالعه حاضر احتمالاً به دلیل حذف پپتیدهای بزرگ‌تر و کاهش بار اسمزی و سمیت آمونیاکی است. علاوه بر نیتروژن، عوامل دیگری مانند نور، pH و شوری می‌توانند تأثیرگذار باشند. برای مثال، Sharma و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که شرایط استرس مانند pH ۷ و شوری ۰/۴ مولار NaCl رشد را افزایش می‌دهد. همچنین، Xie و همکاران (۲۰۱۵) تأکید کردند که شدت نور پایین و غلظت اولیه زیست‌توده بالا می‌تواند تولید را بهبود بخشد. از منظر اقتصادی و پایداری، استفاده از زائدات (مانند زائدات ماهی) به عنوان منبع نیتروژن، همان‌طور که نتایج تحقیق حاضر مشاهده می‌شود، با اهداف کاهش هزینه و مشکلات زیست‌محیطی همخوانی دارد (Shanthi *et al.*, 2021; Lim *et al.*, 2021). تیمار ۱۰۰ درصد با عملکرد ضعیف، هشدار می‌دهد که جایگزینی کامل ممکن است منجر به اشباع آمونیاک شود، همان‌طور که Mousavi و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند محیط‌های آمونیاکی نرخ رشد ویژه بالا، اما دوره کشت کوتاه‌تری به دلیل سمیت دارند.

نتایج مطالعه حاضر با مطالعه Manirafasha و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت دارد، که افزودن سوبستراهای آلی مانند سدیم گلوتامات رشد زیست‌توده را افزایش داد. همچنین، Khazi و همکاران (۲۰۱۸) با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) زیست‌توده ۲/۴۲ گرم بر لیتر را در شرایط بهینه (دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۴۴ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه) به دست آوردند، که بالاتر از

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

حداکثر این مطالعه ۱/۵۸ گرم بر لیتر است، اما در مقیاس بیوراکتور، نشان‌دهنده پتانسیل مقیاس‌پذیری است. هرچند زیست‌توده نهایی مطالعه حاضر (حدود ۱/۵۸ گرم بر لیتر در تیمار ۴۰ درصد) کمتر از مقدار گزارش‌شده Khazi و همکاران (۲۰۱۸) است، اما در مقیاس آزمایشگاهی کوچک (فلاسک ۵۰۰ میلی‌لیتری) و بدون کنترل دقیق pH و CO_2 به‌دست آمد؛ بنابراین پتانسیل مقیاس‌پذیری در بیوراکتور با بهینه‌سازی نور، هوادهی و pH بسیار بالاست و می‌تواند به مقادیر صنعتی نزدیک شود.

در محتوای کربوهیدرات، تیمار ۱۰۰ درصد با ۲۳/۰۸ درصد بالاترین مقدار را به صورت معنی‌دار نشان داد، در حالی که تیمار ۴۰ درصد با ۱۳/۱۷ درصد کمترین بود. این افزایش در تیمار ۱۰۰ درصد احتمالاً به دلیل استرس متابولیکی ناشی از غلظت بالای نیتروژن آلی (مانند آمونیاک) است که متابولیسم را به سمت انباشت کربوهیدرات‌ها هدایت می‌کند. مطالعه Mostafa و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که شرایط استرس نیتروژنی می‌تواند سنتز کربوهیدرات را در جلبک اسپیرولینا افزایش دهد، که نتایج مطالعه‌ی حاضر با با این نتایج همخوانی دارد. کمترین کربوهیدرات در تیمار ۴۰ درصد، ممکن است به دلیل هدایت متابولیسم به سمت سنتز پروتئین و رنگدانه‌ها (مانند فیکوسیانین) باشد، همان‌طور که در مطالعات قبلی این تیمار مشاهده شد.

در محتوای چربی، تیمار کنترل (زاروک استاندارد) با ۶/۹۳ درصد بالاترین مقدار را داشت، و تیمار ۱۰۰ درصد با ۳/۶۰ درصد کمترین بود. کاهش چربی در تیمارهای با نیتروژن آلی بالا (۸۰ درصد و ۱۰۰ درصد) احتمالاً به دلیل محدود شدن مسیرهای بیوسنتزی لیپیدها تحت استرس آمونیاک است. Shanthi و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که منابع نیتروژن آلی مانند هیدرولیزهای پروتئین ماهی می‌توانند متابولیسم را به سمت پروتئین هدایت کنند و سنتز لیپید را کاهش دهند، که با نتایج تیمار ۱۰۰ درصد سازگار است. تیمار کنترل، با نیتروژن معدنی استاندارد، متابولیسم متعادل‌تری را حفظ کرده و چربی بیشتری تولید کرده است.

در محتوای پروتئین، تیمارهای ۴۰ درصد (۷۱/۰۸ درصد) و ۲۰ درصد (۶۷/۰۸ درصد) بالاترین مقادیر را به صورت معنی‌دار نشان دادند، در حالی که تیمار ۱۰۰ درصد با ۴۴/۸۸ درصد کمترین بود. این نشان‌دهنده بهینه بودن غلظت‌های متوسط نیتروژن آلی برای سنتز پروتئین است، که با نتایج Shanthi و همکاران (۲۰۲۱) همخوانی دارد، جایی که ۰/۵ درصد پروتئین هیدرولیز شده ماهی محتوای پروتئین را تا ۶۰ درصد افزایش داد. کاهش پروتئین در تیمار ۱۰۰٪ احتمالاً به دلیل سمیت آمونیاک است که متابولیسم نیتروژن را مختل می‌کند (Mousavi *et al.*, 2022). تیمارهای ۶۰ درصد و ۸۰ درصد مقادیر متوسطی داشتند، که نشان‌دهنده کاهش کارایی با افزایش نیتروژن آلی است.

در محتوای خاکستر، تیمارهای ۱۰۰ درصد (۹/۰۸ درصد) و ۸۰ درصد (۸/۸۸ درصد) بالاترین مقادیر را داشتند، و تیمار کنترل با۸/۰۰ درصد کمترین بود. افزایش خاکستر در تیمارهای با نیتروژن آلی بالا ممکن است به تجمع مواد معدنی ناشی از منابع آلی یا متابولیت‌های باقی‌مانده مربوط باشد. مطالعه Lim و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که استفاده از زائدات آلی می‌تواند محتوای معدنی را افزایش دهد، که با این نتایج همخوانی دارد. ترکیبات تقریبی جلبک اسپیرولینا به

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

شدت تحت تأثیر منابع نیتروژن و شرایط محیطی است. نیتروژن در سنتز پروتئین‌ها و رنگدانه‌ها نقش کلیدی دارد، و تیمارهای ۲۰ درصد و ۴۰ درصد با تأمین نیتروژن آلی در سطح بهینه، متابولیسم را به سمت پروتئین هدایت کردند (Shanthi *et al.,* 2021). در مقابل، تیمار ۱۰۰ درصد با افزایش کربوهیدرات و خاکستر و کاهش پروتئین و چربی، نشان‌دهنده استرس متابولیکی است که مسیرهای سنتزی را تغییر می‌دهد (Mousavi *et al.,* 2022). عوامل محیطی مانند نور و pHنیز تأثیر دارند. برای مثال، Sharma و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که pH و شوری می‌توانند تعادل بین پروتئین و کربوهیدرات را تغییر دهند، که ممکن است در تیمارهای مطالعه حاضر نقش داشته باشد. شدت نور پایین نیز سنتز پروتئین را تقویت می‌کند (Xie *et al.,* 2015)، که می‌تواند توضیح‌دهنده محتوای بالای پروتئین در تیمار ۴۰ درصد باشد. از منظر پایداری، استفاده از زائدات ماهی مانند پروتئین هیدرولیز شده ماهی هزینه‌های تولید را کاهش می‌دهد و مشکلات زیست‌محیطی نیتروژن معدنی را کم می‌کند (Lim *et al.,* 2021). با این حال، تیمار ۱۰۰ درصد نشان داد که جایگزینی کامل می‌تواند ترکیبات زیست‌توده را نامتعادل کند. نتایج این مطالعه با Mostafa و همکاران (۲۰۱۲) همخوانی دارد، که محتوای پروتئین جلبک اسپیرولینا را بین ۷۰–۵۵ درصد و کربوهیدرات را ۲۵–۱۵ درصد گزارش کردند. محتوای پروتئین ۷۱/۰۸ درصد در تیمار ۴۰ درصد بالاتر از مقادیر معمول است، که پتانسیل این تیمار را برای تولید مکمل‌های غذایی با پروتئین بالا نشان می‌دهد (Sorrenti *et al.,* 2021). محتوای چربی پایین در تیمارهای آلی با یافته‌های Shanthi و همکاران (۲۰۲۱) سازگار است، که کاهش لیپید را در حضور پروتئین هیدرولیز شده ماهی گزارش کردند. کاربردهای زیست‌توده جلبک اسپیرولینا شامل مکمل‌های غذایی (به دلیل پروتئین بالا)، رنگ‌های طبیعی (فیکوسیانین) و محصولات دارویی و آنتی‌اکسیدان‌ها (Wu *et al.,* 2016) است. تیمار ۴۰ درصد با پروتئین بالا و کربوهیدرات پایین برای کاربردهای غذایی و دارویی مناسب است، در حالی که تیمار ۱۰۰ درصد با کربوهیدرات بالا می‌تواند برای تولید بیواتانول (به عنوان سوخت زیستی) مناسب باشد (Mostafa *et al.,* 2012).

نتایج نشان داد که تیمار ۴۰ درصد با ۵۹۶۰ میکروگرم بر گرم بالاترین محتوای کلروفیل آ را به‌صورت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها دارد، در حالی که تیمار ۱۰۰ درصد با ۱۸۸۰ میکروگرم بر گرم کمترین مقدار را نشان داد. تیمار ۲۰ درصد با ۵۲۷۰ میکروگرم بر گرم ، اگرچه کمتر از تیمار ۴۰ درصد بود، اما به‌صورت معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد (۳۷۶۰ میکروگرم بر گرم) افزایش داشت. تیمارهای ۶۰ درصد (۳۴۶۰ میکروگرم بر گرم) و ۸۰ درصد (۲۶۷۰ میکروگرم بر گرم) مقادیر متوسطی داشتند. این الگو نشان می‌دهد که جایگزینی ۴۰ درصد نیتروژن معدنی با منابع آلی (مانند هیدرولیزهای پروتئین ماهی) سنتز کلروفیل آ را بهینه می‌کند، احتمالاً به دلیل تأمین آمینواسیدها و پپتیدهای زیست‌فعال که متابولیسم نیتروژن و فتوسنتز را تقویت می‌کنند (Shanthi *et al.,* 2021). کاهش شدید کلروفیل آ در تیمار ۱۰۰ درصد به احتمال زیاد به سمیت آمونیاک نسبت داده می‌شود که آنزیم‌های بیوسنتزی مانند کلروفیلاز (نقشی کلیدی در متابولیسم کلروفیل در گیاهان، جلبک‌ها و برخی

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

باکتری‌های فتوسنتزی ایفا می‌کند) را مهار می‌کند (Mousavi *et al.,* 2022). این نتایج با گزارش Khazi و همکاران (۲۰۱۸) که محتوای کلروفیل آ را در شرایط بهینه ۷۰۰۰–۵۰۰۰ میکروگرم بر گرم گزارش کردند، همخوانی دارد.

تیمارهای ۲۰ درصد (۷۱۰ میکروگرم بر گرم) و ۴۰ درصد (۸۶۰ میکروگرم بر گرم) بالاترین محتوای کلروفیل ب را به‌صورت غیر معنی‌دار نسبت به یکدیگر داشتند. در مقابل، تیمارهای شاهد (۱۲۰ میکروگرم بر گرم) و ۶۰ درصد (۱۱۰ میکروگرم بر گرم) کمترین مقادیر را به‌صورت معنی‌دار نشان دادند. تیمارهای ۸۰ درصد (۲۴۰ میکروگرم بر گرم) و ۱۰۰ درصد (۳۷۰ میکروگرم بر گرم) مقادیر متوسطی داشتند. این نتایج نشان می‌دهد که جایگزینی متوسط نیتروژن آلی (۲۰ درصد و ۴۰ درصد) سنتز کلروفیل ب را تقویت می‌کند که احتمالاً به دلیل تعادل بهتر در متابولیسم نیتروژن و کاهش استرس متابولیکی می باشد. با این حال، جلبک اسپیرولینا به طور معمول کلروفیل ب کمی دارد یا فاقد آن است (Sharma *et al.,* 2014). کاهش جزئی مشاهده‌شده در تیمارهای با نیتروژن آلی بالا احتمالاً به تغییر تعادل رنگدانه‌ها تحت استرس نیتروژنی یا تغییر pH محیط در طول کشت مربوط است؛ با مصرف نیترات، pH قلیایی‌تر می‌شود و ممکن است بیان ژن‌های سنتز کلروفیل b را تحت تأثیر قرار دهد (Sharma *et al.,* 2014).

تیمار ۴۰ درصد با ۲۳۱۰ میکروگرم بر گرم بالاترین محتوای کاروتن کل را به‌صورت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها نشان داد، در حالی که تیمار ۱۰۰ درصد با ۹۳۰ میکروگرم بر گرم کمترین مقدار را داشت. تیمار ۲۰ درصد (۲۱۲۰ میکروگرم بر گرم) اگرچه کمتر از ۴۰ درصد بود، اما به‌صورت معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد (۱۵۴۰ میکروگرم بر گرم) افزایش داشت. تیمارهای ۶۰ درصد (۱۴۶۰ میکروگرم بر گرم) و ۸۰ درصد (۱۱۴۰ میکروگرم بر گرم) مقادیر کمتری داشتند. این نتایج نشان‌دهنده بهینه بودن تیمار ۴۰ درصد برای سنتز کاروتنوئیدها است، که به‌عنوان رنگدانه‌های محافظ در برابر استرس اکسیداتیو عمل می‌کنند (Gabr *et al.,* 2020). کاهش کاروتن در تیمار ۱۰۰ درصد احتمالاً به دلیل سمیت آمونیاک است که مسیرهای بیوسنتزی کاروتنوئیدها را مختل می‌کند (Mousavi *et al.,* 2022). این یافته‌ها با گزارش Gabr و همکاران (۲۰۲۰) که مقادیر کاروتن کل را در شرایط بهینه حدود ۴۰۰۰–۲۰۰۰ میکروگرم بر گرم گزارش کردند، سازگار است. استفاده از نیتروژن آلی در سطح ۴۰ درصد (مانند ۰/۵ درصد پروتئین هیدرولیز شده ماهی در مطالعه‌ی Shanthi و همکاران، ۲۰۲۱) احتمالاً متابولیسم نیتروژن را به سمت سنتز کاروتنوئیدها و کلروفیل آ هدایت کرده است.

تیمار ۴۰ درصد با بالاترین مقادیر کلروفیل آ (۵۹۶۰ میکروگرم بر گرم) و کاروتن کل (۲۳۱۰ میکروگرم بر گرم) و مقدار قابل‌قبول کلروفیل ب (میکروگرم بر گرم ۸۶۰) بهینه‌ترین شرایط را برای تولید رنگدانه‌های فتوسنتزی فراهم کرد. این امر می‌تواند به تعادل مناسب نیتروژن آلی و معدنی نسبت داده شود که متابولیسم فتوسنتزی و سنتز رنگدانه‌ها را تقویت می‌کند (Shanthi *et al.,* 2021). کاهش شدید رنگدانه‌ها در تیمار ۱۰۰ درصد (کلروفیل آ: ۸۶۰ میکرگرم بر گرم، کاروتن کل: ۹۳۰ میکروگرم بر گرم) به سمیت آمونیاک نسبت داده می‌شود که آنزیم‌های کلیدی مانند کلروفیلاز و آنزیم‌های مسیر کاروتنوئید را مهار می‌کند (Mousavi

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]
[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

2022 *et al.,*). عوامل محیطی مانند شدت نور (مانند LED قرمز) و pH می‌توانند سنتز رنگدانه‌ها را تحت تأثیر قرار دهند. مطالعه Prates و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که نور قرمز سنتز کلروفیل آ و کاروتنوئیدها را افزایش می‌دهد. رنگدانه‌های جلبک اسپیرولینا به‌ویژه کلروفیل آ و کاروتنوئیدها) کاربردهای گسترده‌ای در صنایع غذایی، دارویی و مکمل‌های غذایی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و رنگ طبیعی دارند (Wu *et al.,* 2016; Dewi *et al.,* 2018).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که پپتیدهای زیست‌فعال (۳>kDa) حاصل از هیدرولیز زائدات ماهیان خاویاری می‌توانند به‌عنوان جایگزین مؤثری برای بخشی از نیتروژن معدنی در محیط کشت اسپیرولینا عمل کنند. بهینه‌ترین عملکرد در سطح جایگزینی ۴۰ درصد مشاهده شد که منجر به افزایش معنی‌دار زیست‌توده (تا ۱/۵۸ گرم بر لیتر)، محتوای پروتئین (۷۱/۰۸ درصد)، کلروفیل آ (۵۹۶۰ میکروگرم بر گرم)، کلروفیل ب (۸۶۰ میکروگرم بر گرم) و کاروتن کل (۲۳۱۰ میکروگرم بر گرم) و کاهش کربوهیدرات در مقایسه با تیمار شاهد گردید. تیمار ۲۰ درصد نیز بهبود قابل‌توجهی نسبت به شاهد داشت، اما تیمارهای ۶۰ درصد، ۸۰ درصد و به‌ویژه ۱۰۰ درصد جایگزینی با کاهش معنی‌دار زیست‌توده، پروتئین، چربی و رنگدانه‌ها و افزایش کربوهیدرات و خاکستر همراه بودند که عمدتاً به سمیت آمونیاکی و عدم تعادل نیتروژنی نسبت داده می‌شود. بنابراین، جایگزینی تا ۴۰ درصد پپتیدهای زیست‌فعال زائدات خاویاری نه‌تنها رشد و کیفیت بیوشیمیایی اسپیرولینا را ارتقا می‌دهد، بلکه راهکاری عملی، اقتصادی و سازگار با محیط‌زیست برای ارزش‌افزایی زائدات صنعت خاویار و کاهش وابستگی به نیتروژن معدنی ارائه می‌کند. این رویکرد می‌تواند در تولید صنعتی اسپیرولینا به‌عنوان مکمل غذایی غنی از پروتئین و رنگدانه به‌کار گرفته شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از یابت یاری کلیه همکاران در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

1. AOAC., 1996. Official methods of analysis (16th ed.). Association of Official Analytical Chemists.
2. Carvalho, A.P., Silva, S.O., Baptista, J.M., & Malcata, F.X., 2011. Light requirements in microalgal photobioreactors: An overview of biophotonic aspects. *Applied Microbiology and Biotechnology, 89*(5), pp.1275–1288. DOI: 10.1007/s00253-010-3047-8
3. Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R. and Jyothirmayi, T., 2012. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A Review. *Food Chemistry*, *135*(4), pp.3020–3038. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.03.058
4. Depraetere, O., Pierre, G., Noppe, W., Vandamme, D., Foubert, I., Michaud, P. and Muylaert, K., 2015. Influence of culture medium recycling on the performance of *Arthrospira platensis* cultures. *Algal Research*, *10*, pp.48–54. DOI: 10.1016/j.algal.2015.04.014
5. Dere, Ş., Güneş, T. and Sivaci, R., 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll - A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*, *22*(1), 13–17.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

6. Dewi, E.N., Kurniasih, R.A. and Purnamayati, L., 2018. The application of microencapsulated phycocyanin as a blue natural colorant to the quality of jelly candy. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *116*, 012047. DOI: 10.1088/1755-1315/116/1/012047
7. Feng, D.L., Wu, Z.C. and Wang, D.H., 2007. Effects of N source and nitrification pretreatment on growth of *Arthrospira platensis* in human urine. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE A*, *8*(11), pp.1846–1852. DOI: 10.1631/jzus.2007.A1846
8. Gabr, G.A., El-Sayed, S.M. and Hikal, M.S., 2020. Antioxidant activities of phycocyanin: A bioactive compound from *Spirulina platensis*. *Journal of Pharmaceutical Research International*, *32*(2), pp.73–85. DOI: 10.9734/jpri/2020/v32i230404
9. Ghaly, A.E., Ramakrishnan, V.V., Brooks, M.S., Budge, S.M. and Dave, D., 2013. Fish processing wastes as a potential source of proteins, amino acids and oils: A critical review. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, *5*(4), pp.107–129. DOI:10.4172/1948-5948.1000110
10. Hedge, J.E. and Hofreiter, B.T., 1962. Carbohydrate chemistry (Vol. 17) (R. L. Whistler & J.N. BeMiller, Eds.). Academic Press.
11. Honrado, A., Miguel, M., Ardila, P., Beltrán, J.A. and Calanche, J.B., 2024. From waste to value: Fish protein hydrolysates as a technological and functional ingredient in human nutrition. *Foods*, *13*(19), 3120. DOI:10.3390/foods13193120
12. Jaeschke, D.P., Teixeira, I.R., Marczak, L.D.F. and Mercali, G.D., 2021. Phycocyanin from Spirulina: A review of extraction methods and stability. *Food Research International*, *143*, 110314. DOI: 10.1016/j.foodres.2021.110314
13. Jung, C.H.G., Braune, S., Waldeck, P., Küpper, J.H., Petrick, I. and Jung, F., 2021. Morphology and growth of *Arthrospira platensis* during cultivation in a flat-type bioreactor. *Life*, *11*(6), 536. DOI:10.3390/life11060536
14. Kaushik, N., Falch, E., Slizyte, R., Kumari, A., Khushboo, V., Hjellnes, V., Sharma, A. and Rajauria, G., 2024. Valorization of fish processing by-products for protein hydrolysate recovery: Opportunities, challenges and regulatory issues. *Food Chemistry*, *459*, 140244. DOI: 10.1016/j.foodchem.2024.140244
15. Khazi, M.I., Demirel, Z. and Dalay, M.C., 2018. Enhancement of biomass and phycocyanin content of *S. platensis*. *Frontiers in Bioscience-Elite*, *10*(2), pp.276–286. DOI: 10.2741/e823
16. Lafarga, T., Acién-Fernández, F.G. and Garcia-Vaquero, M., 2020. Bioactive peptides and carbohydrates from seaweed for food applications: Natural occurrence, isolation, purification, and identification. *Algal Research*, *48*, 101909. DOI: 10.1016/j.algal.2020.101909
17. Lanji, N.S., Jahadi, M. and Ataabadi, M., 2022. Optimization of *S. platensis* growth and natural pigment production using response surface methodology. *Iranian Journal of Food Science and Industry*, *19*(131), pp.343–355. [In Persian]
18. Lim, H.R., Khoo, K.S., Chew, K.W., Chang, C.K., Munawaroh, H.S.H., Kumar, P.S. and Show, P.L., 2021. Perspective of Spirulina culture with wastewater into a sustainable circular bioeconomy. *Environmental Pollution*, *284*, 117492. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.117492
19. Manirafasha, E., Murwanashyaka, T., Ndikubwimana, T., Ahmed, N.R., Liu, J., Lu, Y., Zeng, X., Ling, X. and Jing, K., 2018. Enhancement of cell growth and phycocyanin production in *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* under metabolic stress and nitrate fed-batch. *Bioresource Technology*, *255*, pp.293–301. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.01.144
20. Mostafa, S.S.M., Shalaby, E.A. and

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

Mahmoud, G.I., 2012. Cultivating microalgae in wastewater for biomass production, pollutant removal, and atmospheric carbon mitigation: A review. *African Journal of Biotechnology*, *11*(10), pp.2387–2400. DOI: 10.5897/AJB11.3022

21. Mousavi, M., Mehrzad, J., Najafi, M. F. and Shamsian, S.A.I.A., 2022. Nitrate and ammonia: Two key nitrogen sources for biomass and phycocyanin production by *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. *Journal of Applied Phycology*, *34*(5), pp.2271–2281. DOI: 10.1007/s10811-022-02760-3
22. Nemati, M., Shahosseini, S.R. and Ariaii, P., 2024. Review of fish protein hydrolysates: Production methods, antioxidant and antimicrobial activity and nanoencapsulation. *Food Science and Biotechnology*, *33*(8), pp.1789–1803. DOI: 10.1007/s10068-024-01554-8
23. Nikoo, M., Regenstein, J.M., Haghi Vayghan, A. and Walayat, N., 2023. Formation of oxidative compounds during enzymatic hydrolysis of byproducts of the seafood industry. *Processes*, *11*(2), pp.543. DOI: 10.3390/pr11020543
24. Nirmal, N.P., Santivarangkna, C., Rajput, M.S., Benjakul, S. and Maqsood, S., 2022. Valorization of fish byproducts: Sources to end-product applications of bioactive protein hydrolysate. Comprehensive *Reviews in Food Science and Food Safety*, *21*(2), pp.1803–1842. DOI: 10.1111/1541-4337.12917
25. Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R. and Shahiri, H., 2009. The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chemistry*, *115*(1), pp.238–242. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.11.096
26. Paniagua-Michel, J., 2015. Microalgal nutraceuticals. *Handbook of Marine icroalgae*: *Biotechnology advances,* pp.255–267. DOI: 10.1016/B978-0-12-800776-1.00016-5
27. Prates, D.F., Radmann, E.M. , Duarte, J.H., de Morais, M.G. and Costa, J.A.V., 2018. Spirulina cultivated under different light emitting diodes: Enhanced cell growth and phycocyanin production. *Bioresource Technology*, *256*, pp.38–43. DOI: 10.1016/j. biortech. 2018.01.122
28. Raisa, Z., Jesús, Q.M., Tamara, L.R., Graciela, C.E., Lorena, O.H., Rodríguez-Martínez, C. and Castro-Escarpulli, G., 2016. New protein hydrolysate from *Spirulina platensis* used as peptone in microbiological culture media. *Journal of Natural Products and Resources*, *2*(2), pp.71–75.
29. Shanthi, G., Premalatha, M. and Anantharaman, N., 2021. Potential utilization of fish waste for the sustainable production of microalgae rich in renewable protein and phycocyanin—*Arthrospira platensis*/*Spirulina*. *Journal of Cleaner Production*, *294*, 126106. DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.126106
30. Sharma, G., Kumar, M., Ali, M.I. and Jasuja, N.D., 2014. Effect of carbon content, salinity, and pH on *S. platensis* for phycocyanin, allophycocyanin, and phycoerythrin accumulation. *Journal of Microbial and Biochemical Technology, 6*(4), pp.202–206. DOI: 10.4172/1948-5948.1000142
31. Shekoohi, N., Carson, B.P. and Fitzgerald, R.J., 2024. Antioxidative, glucose management, and muscle protein synthesis properties of fish protein hydrolysates and peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *72*(39), pp.21301–21317. DOI: 10.1021/acs.jafc.4c02920
32. Skorupskaite, V., Makareviciene, V. and Sendzikiene, E., 2015. Biomass and oil content of microalgae at different cultivation conditions. *Journal of Environmental Engineering and Landscape Man*agement, *23*(4), pp.298–305. DOI:

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]

10.3846/16486897.2015.1098665
33. Slocombe, S.P., Ross, M., Thomas, N., McNeill, S. and Stanley, M.S., 2013. A rapid and general method for measurement of protein in micro-algal biomass. *Bioresource Technology*, *129*, pp.51–57. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.10.163
34. Sorrenti, V., Castagna, D.A., Fortinguerra, S., Buriani, A., Scapagnini, G. and Willcox, D.C., 2021. Spirulina microalgae and brain health: A scoping review of experimental and clinical evidence. *Marine Drugs*, *19*(6), 293. DOI: 10.3390/md19060293
35. World Population Prospects (WPP)., 2023. World Population Prospects 2022: Summary of Results. United Nations Department of Economic and Social Affairs, *Population Division*. https://www.un.org/development/desa/pd/content/World-Population-Prospects-2022
36. Wu, Q., Liu, L., Miron, A., Klímová, B., Wan, D. and Kuča, K., 2016. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of Spirulina: An overview. *Archives of Toxicology*, *90*(8), pp.1817–1840. DOI: 10.1007/s00204-016-1744-5
37. Xie, Y., Jin, Y., Zeng, X., Chen, J., Lu, Y. and Jing, K., 2015. Fed-batch strategy for enhancing cell growth and C-phycocyanin production of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* under phototrophic cultivation. *Bioresource Technology*, *180*, pp.281–287. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.12.073
38. Yao, T., Huang, J., Su, B., Wei, L., Zhang, A. H., Zhang, D. F., Zhou, Y. and Ma, G., 2022. Enhanced phycocyanin production of *Arthrospira maxima* by addition of mineral elements and polypeptides using response surface methodology. *Frontiers in Marine Science*, *9*, 1057201. DOI: 10.3389/fmars.2022.1057201

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-06-14]

[DOI: 10.71901/jad-2026-1-918]