

اثرات کمبود نیتروژن و شدت نور بر روی ترکیب اسید چرب جلبک *Chaetoceros calcitrans*

مهسا اکبرنژاد^۱، هومن رجبی اسلامی^{۱*}، مهران جواهری بابلی^۲، مهدی شمسایی مهرجان^۱، یوسف فیلی زاده^۳

۱- گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵/۷۷۵، تهران، ایران

۲- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۳- گروه کشاورزی، دانشکده زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۱۶

چکیده

دیاتومه‌های دریایی منابع مهمی از چربی و اسیدهای چرب هستند که برای آبی‌پروری و جایگزینی منابع انرژی مورد توجه قرار گرفته‌اند. پژوهش حاضر به بررسی تاثیر محدودیت نیتروژن و شدت نور محیط کشت بر ترکیب اسید چرب *Chaetoceros calcitrans* پرداخت. جلبک‌ها برای این منظور در ۴ تیمار نیتروژنی (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد نیتروژن) و شدت نور (۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه) در ارلن‌های یک لیتری پرورش داده شدند. نمونه‌برداری جهت تعیین ترکیب اسیدهای چرب از طریق برداشت در ابتدای فاز سکون و با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی صورت گرفت. نتایج نشان داد که مجموع اسیدهای چرب اشباع، C۱۴:۰ (اسید میریستیک)، C۱۶:۰ (اسید پالمیتییک) و اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه، C۱۶:۱n-۷ (اسید پالمیتولئیک)، C۱۶:۱n-۹ (اسید هگزادکنوئیک) و C۱۸:۱n-۹ (اسید اولئیک) با افزایش غلظت نیتروژن محیط کشت کاهش معنی‌دار پیدا نمودند ($P \leq 0/05$). اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه و همینطور اسیدهای چرب EPA و DHA با افزایش غلظت نیتروژن افزایش یافتند. اسیدهای چرب اشباع، C۱۶:۰ (اسید پالمیتییک)، C۱۸:۰ (اسید استئاریک) و اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه و C۱۶:۱n-۷ با افزایش شدت نور، افزایش معنی‌داری پیدا نمودند ($P \leq 0/05$). میزان اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه با افزایش شدت نور تغییر معنی‌داری را نشان ندادند. همچنین میزان اسیدهای چرب DHA با افزایش شدت نور تغییرات معنی‌داری را نشان نداد اما میزان EPA افزایش معنی‌داری را در تیمار ۲۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه نسبت به ۲ شدت نور دیگر (۸۰ و ۱۶۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه) نشان داد. نتایج کلی نشان داد که اسیدهای چرب غیراشباع با افزایش میزان نیتروژن محیط کشت افزایش پیدا نمود ولی با افزایش شدت نور این گروه از اسیدهای چرب افزایش پیدا نکردند. همچنین با افزایش غلظت نیتروژن اسیدهای چرب اشباع کاهش و با افزایش شدت نور اسیدهای چرب اشباع افزایش پیدا نمودند.

کلمات کلیدی: نیتروژن، شدت نور، اسید چرب، جلبک *Chaetoceros calcitrans*.

مقدمه

ریزجلبک‌های تک سلولی به عنوان مهم‌ترین منبع تامین کننده انرژی به ویژه در مراحل اولیه لاروی آبرزیان از جایگاه ویژه‌ای در تغذیه برخوردار هستند (خلیل پذیر و همکاران، ۱۳۹۶). ریزجلبک‌ها بدلیل داشتن رنگدانه، ویتامین، اسیدهای چرب و پروتئین از اهمیت غذایی بالایی برخوردار بوده از این رو نقش کلیدی در امر آبرزی پروری را ایفا می‌کنند (غریب نیا و همکاران، ۱۳۹۷). جلبک‌های تک سلولی دریایی از جمله دیاتومه‌ها منبع غنی از پروتئین، چربی، کربوهیدرات و ویتامین‌هایی نظیر A، B، C، E، اسیدفولیک و اسید پانتوتیک می‌باشند (Becker, 2007). این جلبک‌ها می‌توانند غذای با کیفیتی را به عنوان منبع غذایی برای انواع زئوپلانکتون‌ها و لارو آبرزیان تامین نمایند (Banerjee et al., 2011; Khatoun et al., 2009, 2012). به علاوه دیاتومه‌ها، به عنوان منابع تولید سوخت زیستی هم مورد توجه قرار گرفتند (Yodsuwan et al., 2017).

اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا ۳ از جمله EPA و DHA از مهمترین مواد مغذی هستند که از ریزجلبک‌ها و گونه‌های آبرزی انتقال داده می‌شود (Miller et al., 2012). مهره‌داران ظرفیت محدودی برای تولید اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه امگا ۳ دارند، بنابراین نیازمند تامین آنها از منابع غذایی دارند تا بتوانند عملکرد اندام‌هایی مثل مغز، چشم را بهبود بخشند (Stillwell et al., 2003). بنابراین دانستن چگونگی ذخیره ریزجلبک‌ها و بیوسنتز اسیدهای چرب به خصوص اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه بسیار مهم است بوده و از نکات مهم در استفاده از آنها می‌باشند (Alonso et al., 2000).

جلبک *C. calcitrans* به عنوان مهمترین دیاتومه مورد استفاده در کارگاه‌های تکثیر میگو مورد توجه قرار گرفته تا انرژی و مواد مغذی لازم برای رشد لاروها و ناپلی‌ها را فراهم کند (Raghavan et al., 2008). این گونه دارای میزان بالایی اسید چرب (EPA)، آنتی اکسیدان (ویتامین E) و محرک سیستم ایمنی (ویتامین C و B2) بوده و به دلیل اندازه کوچک (قطر ۲/۵ تا ۶ میکرومتر) برای تغذیه نرم‌تنان، خارپوستان، سخت‌پوستان و برخی زئوپلانکتون‌ها نظیر آرتیمیا مناسب است (Brown et al., 1997, 1999; Khoi et al., 2004; Krichnavarruk et al., 2005). علاوه بر این جلبک مذکور میزان به نسبت بالایی از چربی (۱۴/۶۰ تا ۱۶/۴۰ درصد) در زی توده خشک داشته و حتی قادر به تولید چربی تا ۳۹/۸۰ درصد وزن خشک در شرایط استرسی است که می‌تواند به عنوان ماده خام برای تولید سوخت زیستی استفاده شود (Mata et al., 2010).

جهت افزایش نرخ رشد و ترکیبات مختلف بیوشیمیایی از جمله اسیدهای چرب از علوم مهندسی ژنتیک و متابولیک استفاده می‌شود (پورافراسیایی و همکاران، ۱۳۹۲). بهترین شرایط مورد نیاز کشت در هر گونه جلبک در مهندسی متابولیک از طریق تغییرات فیزیکی مانند دوره نور، شدت نور و شیمیایی مانند نیتروژن، شوری و فسفات محیط کشت به صنعت معرفی می‌شود.

نیتروژن نقش کلیدی در مسیر سنتز ماکرومولکولی ریز موجودات زنده بازی می‌کند که شامل سنتز پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و همینطور اسیدهای چرب می‌باشد (Yodsuwan et al., 2017). کیفیت نور و کمیت نور، مقادیر انرژی قابل دسترس برای فتوسنتز

جلبک‌ها را برای فعالیت‌های متابولیک فراهم می‌کند (Latasa, 1995).

مطالعات نشان دادند که کمبود نیتروژن و تغییرات شدت نور در محیط‌های کشت می‌تواند بر ترکیبات اسیدهای چرب ریز جلبک‌ها تأثیرات معنی داری را ایفا کند. افزایش اسیدهای چرب اشباع و کاهش اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دو گانه با افزایش شدت نور از ۳۷/۵ میکرومول بر مترمربع در ثانیه تا ۱۰۰ میکرومول در مترمربع در ثانیه توسط Amini Khoeyi و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شد. همچنین Yodsuwan و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که جلبک‌های کشت داده شده با افزایش سطح نیتروژن در محیط کشت، افزایش اسیدهای چرب اشباع و کاهش اسیدهای چرب غیر اشباع را نشان دادند. تغییرات ترکیب اسید چرب به وسیله عامل شدت نور در پژوهش‌های انجام شده توسط Ying و همکاران (۲۰۰۱) و پورافراسیابی و همکاران (۱۳۹۲) و اثرات محدودیت نیتروژن در محیط کشت در پژوهش Zhu و همکاران (۲۰۱۵) و Flynn و همکاران (۱۹۹۲) گزارش شده‌اند.

علیرغم پژوهش‌های انجام شده در زمینه اثرات محدودیت محیط کشت در انواع جلبک‌ها، هیچ تحقیق مدونی در مورد محدودیت نیتروژنی و نوری در محیط کشت *C. calcitrans* انجام نشده است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات کمبود نیتروژن و شدت نور در محیط کشت روی ترکیب اسید چرب جلبک *C. calcitrans* بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با هدف بررسی اثر محدودیت نیتروژن و شدت نور بر ترکیب اسید چرب در جلبک

بعضی از عوامل نظیر درجه حرارت در ۳۰ درجه سانتی‌گراد، اسیدیته بین ۷ تا ۹ براساس و شوری بین ۲۰ تا ۳۵ بخش در هزار ثابت نگه داشته شدند (Anonymous, 1991). شدت نور در مرکز ظروف آزمایشگاهی با استفاده از دستگاه پرتابل Watch-Dog (model 200) light meter اندازه‌گیری گردید. طول

دوره این آزمایش ۳۰ روز و نمونه برداری در ابتدای فاز ثابت رشد با بالاترین میزان تراکم جلبک جهت تعیین ترکیب اسید چرب از تیمارهای جلبکی انجام گرفت.

نمونه‌ها بعد از همگن‌سازی در هاون به دقت توزین (۰/۵ گرم) و به لوله آزمایش درب‌پیچ‌دار منتقل شدند تا حلال استخراج کننده (متانول: کلرفرم) به نسبت حجمی ۲:۱ به آنها اضافه گردد (Folch *et al.*, 1957). نمونه پس از اختلاط با حلال سانتریفیوژ انجام گردید و حلال حاوی چربی را به داخل لوله آزمایشی منتقل گردید که وزن آن قبلاً اندازه‌گیری شده بود. این فرآیند یک بار دیگر تکرار گردید و سپس حلال توسط گاز نیتروژن تبخیر کرده و وزن لوله حاوی چربی مجدداً اندازه‌گیری شد تا درصد چربی از اختلاف وزن نهایی و اولیه لوله‌ها محاسبه شود. چربی استخراج شده از نمونه‌ها با افزودن ۳ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی (۲ مولار) صابونی شد و بعد با افزودن ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک متانولی (۲ مولار) به متیل استر تبدیل گردید (Carvalho and Malcata, 2005). متیل استر اسیدهای چربی در یک میلی‌لیتر هپتان نرمال استخراج و یک میکرولیتر از فاز هپتان نرمال جهت آنالیز پروفیل اسیدهای چرب به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. جهت شناسایی تک تک اسیدهای چرب از مخلوط استاندارد اسیدهای چرب ساخت شرکت سیگما با مقایسه زمان‌های بازداری استفاده گردید.

دستگاه کروماتوگراف گازی مدل Agilent-6890 ساخت کمپانی Agilent آمریکا، مجهز به دریچه تزریق کاپیلاری، ستون کاپیلاری ویژه تجزیه اسیدهای چرب (DB-225 MS) به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر با فاز ساکن پلی‌اتیلن‌گلیکول به ضخامت ۰/۲۵

میکرومتر، شناساگر یونش شعله‌ای (FID) بود. دمای اولیه آن در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه نگه داشته شد و بعد با سرعت ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه تا ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و ۱۲ دقیقه در همان دما باقی ماند. گاز نیتروژن به عنوان گاز حامل به ترتیب با سرعت جریان ۱ و ۴۵ میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده گردید. دمای دریچه تزریق در ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای آشکارساز در ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. پردازش داده‌های دستگاه با استفاده از نرم افزار Chemstation در محیط ویندوز انجام شد.

برای تهیه آب دو بار تقطر از دستگاه GFL-2104 ساخت کمپانی GFL آلمان استفاده گردید. سانتریفیوژ نمونه‌ها با دستگاه سانتریفیوژ با دور بالا (۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه) ساخت کمپانی Hettich آلمان انجام شد.

مواد آزمایشگاهی: گازهای نیتروژن و هیدروژن مورد استفاده برای آنالیز با دستگاه کروماتوگراف گازی با خلوص تجزیه ای ۹۹/۹۹٪ از شرکت اکسیژن سبلان نمایندگی شرکت Air Product انگلستان تهیه شدند. هوای فشرده از شرکت اکسیژن ارومیه گاز فراهم گردید. حلال‌های هپتان نرمال، کلرفرم و متانول با خلوص بالا از شرکت کالدون کانادا تهیه شده و بدون تخلیص مجدد مورد استفاده قرار گرفته‌اند. هیدروکسید پتاسیم و سایر نمک‌ها از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

این آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمون فاکتوریل با دو فاکتور شامل غلظت نیتروژن در ۴ سطح (۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰) و شدت نور در ۳ سطح (۸۰، ۱۶۰، ۲۴۰) با سه تکرار انجام گرفت. نتایج به دست آمده با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه

(One way ANOVA) تجزیه و تحلیل شدند. برای تعیین همگنی واریانس‌ها از آزمون Leven استفاده شد. مقایسه میانگین تیمارها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت و وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد تعیین شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش ۲۳) صورت گرفت.

نتایج

نتایج تاثیر شدت نور و کمبود نیتروژن در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان اسیدهای چرب اشباع در جلبک *calcitrans* C. با افزایش سطح نیتروژن محیط کشت در کلیه تیمارها کاهش معنی‌داری پیدا نمود ($P \leq 0/05$)، به طوری که از میزان $1/34 \pm 18/34$ درصد در تیمار ۲۵ درصد نیتروژن به $1/89 \pm 14/22$ درصد در تیمار ۱۰۰ درصد نیتروژن در شدت نور ۸۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه رسید. همچنین این کاهش در کلیه شدت نورها با افزایش نیتروژن محیط کشت گزارش شد. میزان اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه با افزایش نیتروژن محیط کشت کاهش معنی‌داری نشان داد ($P \leq 0/05$). روند کاهشی با افزایش نیتروژن محیط کشت در اسیدهای چرب ۷-۱۶:۱n، ۹-۱۸:۱n و ۷-۱۶:۱n مشاهده شد. اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه با افزایش نیتروژن محیط کشت روند صعودی را به خود اختصاص داد. این روند افزایشی در اسیدهای چرب EPA و DHA هم در کلیه تیمارها با افزایش نیتروژن محیط کشت مشاهده گردید. نتایج جدول ۱ نشان داد که میزان اسیدهای چرب اشباع جلبک *calcitrans* C.

در کلیه تیمارها با افزایش شدت نور افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P \leq 0/05$). اسیدهای چرب ۰:۱۴C (اسید میریستیک)، ۰:۱۶C (اسید پالمیتیک) هم در جلبک C. *calcitrans* با افزایش شدت نور از میزان ۸۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه به ۱۶۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه به شکل معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0/05$). یک روند افزایشی معنی‌داری در اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه و اسید چرب ۷-۱۶:۱n با افزایش شدت نور محیط کشت به دست آمد ($P \leq 0/05$). نتایج تحقیق حاصل نشان داد که میزان اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه (PUFA) افزایش شدت نور تغییرات معنی‌داری را در کلیه تیمارها نشان نداد ($P \leq 0/05$)؛ اما اسیدهای چرب امگا ۳ با افزایش شدت نور افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P \leq 0/05$).

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که اسیدهای چرب اشباع غالب جلبک *calcitrans* C. شامل اسیدهای چرب ۰:۱۴C (اسید میریستیک)، ۰:۱۶C (اسید پالمیتیک) و ۰:۱۸C (اسید استئاریک) است. همچنین اسیدهای چرب ۷-۱۶:۱n C (اسید پالمیتوئیک)، ۹-۱۶:۱n C (اسید هگزادکنوئیک)، ۹-۱۸:۱n C (اسید اولئیک) و ۵-۱۶:۱n C جزء اسیدهای چرب غالب غیراشباع با یک پیوند دوگانه در تمام تیمارها بودند. اسیدهای چرب ۳-۲۲:۵n C (اسید کوزاپنتانوئیک) (DPA) و ۳-۲۲:۶n C (اسید دکوزا هگزانوئیک) (DHA) جزء اسیدهای چرب غالب با چند پیوند دوگانه در سری اسیدهای چرب امگا ۳ به دست آمد.

جدول ۱: میزان ترکیب اسیدهای چرب مختلف جلبک *C. calcitrans* در ۴ تیمار نیتروژنی (۷۵، ۵۰، ۲۵ و ۱۰۰ درصد نیتروژن) و شدت نور (۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه)

N=100 I=240	N=100 I=160	N=100 I=80	N=75 I=240	N=75 I=160	N=75 I=80	N=50 I=240	N=50 I=160	N=50 I=80	N=25 I=240	N=25 I=160	N=25 I=80	اسید چرب
۰/۳۷±۰/۰۷ ^d	۰/۳۲±۰/۰۳ ^{cd}	۰/۳±۰/۰۲ ^{bcd}	۰/۳۱±۰/۰۴ ^{cd}	۰/۲۹±۰/۰۴ ^{bcd}	۰/۲۵±۰/۰۳ ^{abc}	۰/۲۹±۰/۰۵ ^{bc}	۰/۲۴±۰/۰۱ ^{ab}	۰/۲۴±۰/۰۴ ^{ab}	۰/۲۵±۰/۰۳ ^{abc}	۰/۲۲±۰/۰۳ ^{ab}	۰/۲۰±۰/۰۱ ^a	C12:0
۱۷/۸۰±۰/۵۳ ^c	۱۷/۴۰±۰/۴۴ ^{bc}	۱۶/۰۵±۰/۸۱ ^a	۱۸/۱±۰/۵ ^c	۱۷/۷۰±۰/۷۸ ^c	۱۶/۵۰±۰/۴۲ ^{ab}	۱۹/۵۷±۰/۶۷ ^{de}	۱۸/۲۰±۰/۷۰ ^c	۱۷/۷۰±۰/۷۳ ^c	۲۰/۳۶±۰/۶۰ ^e	۱۹/۵۳±۰/۵۳ ^{de}	۱۸/۴۶±۰/۷۱ ^{cd}	C14:0
۰/۱۵±۰/۰۳ ^a	۰/۲۱±۰/۰۲ ^{ab}	۰/۲۵±۰/۰۴ ^{abc}	۰/۲۱±۰/۰۷ ^{ab}	۰/۳۴±۰/۰۴ ^{abcd}	۰/۳۷±۰/۰۱ ^{abcd}	۰/۲۶±۰/۰۵ ^{abc}	۰/۴۲±۰/۰۳ ^{cd}	۰/۵۰±۰/۰۲ ^d	۰/۴۳±۰/۰۵ ^{cd}	۰/۵۳±۰/۱۵ ^d	۰/۷۳±۰/۱۵ ^e	C15:0
۸/۵۸±۰/۳۶ ^{de}	۸/۴۰±۰/۲۰ ^{de}	۶/۱۳±۰/۷۰ ^a	۹/۲۳±۰/۸۷ ^e	۸/۲۶±۰/۳۰ ^d	۶/۵۴±۰/۳۷ ^{ab}	۱۰/۲۸±۰/۳۳ ^f	۸/۶۰±۰/۳۶ ^{de}	۷/۲۱±۰/۳۹ ^{bc}	۱۱/۳۶±۰/۴۳ ^g	۸/۶۱±۰/۳۶ ^{de}	۷/۹±۰/۶ ^{cd}	C16:0
۰/۷۳±۰/۱۵ ^a	۰/۷۱±۰/۲۱ ^a	۰/۸۴±۰/۱۸ ^{ab}	۰/۷۶±۰/۰۱۵ ^{ab}	۰/۶۶±۰/۰۹ ^a	۰/۹۲±۰/۲۶ ^{ab}	۰/۷۶±۰/۱۵ ^{ab}	۰/۷۰±۰/۲۰ ^a	۰/۹۸±۰/۱۸ ^{ab}	۰/۹±۰/۰۱ ^{ab}	۰/۹۳±۰/۲۷ ^{ab}	۱/۱۰±۰/۲ ^b	C18:0
۰/۴۴±۰/۱۱ ^a	۰/۴۵±۰/۱۱ ^a	۰/۴۱±۰/۲۱ ^a	۰/۴۷±۰/۰۷ ^a	۰/۴۶±۰/۱۶ ^a	۰/۳۸±۰/۱۵ ^a	۰/۳۷±۰/۰۴ ^a	۰/۳۱±۰/۰۶ ^a	۰/۳۳±۰/۰۶ ^a	۰/۴۱±۰/۰۲ ^a	۰/۳۲±۰/۰۲ ^a	۰/۳۲±۰/۰۲ ^a	C20:0
۰/۲۹±۰/۰۴ ^b	۰/۱۹±۰/۰۵ ^a	۰/۱۴±۰/۰۳ ^a	۰/۲۲±۰/۰۶ ^{ab}	۰/۲۰±۰/۰۴ ^a	۰/۲۴±۰/۱ ^{ab}	۰/۱۷±۰/۰۱ ^a	۰/۱۶±۰/۰۱ ^a	۰/۱۸±۰/۰۵ ^a	۰/۱۹±۰/۰۲ ^a	۰/۱۷±۰/۰۲ ^a	۰/۱۷±۰/۰۲ ^a	C22:0
۱/۸۳±۰/۲۳ ^b	۱/۳۳±۰/۴۵ ^{ab}	۱/۰۱±۰/۱۹ ^a	۱/۴۱±۰/۴۱ ^{ab}	۱/۲۹±۰/۳۳ ^{ab}	۱/۲۷±۰/۵۹ ^{ab}	۱/۵۹±۰/۳۶ ^{ab}	۱/۵۱±۰/۳۰ ^{ab}	۱/۳۵±۰/۴۴ ^{ab}	۱/۷۱±۰/۲۰ ^b	۱/۵۴±۰/۲۱ ^{ab}	۱/۵۰±۰/۲۲ ^{ab}	C 16:1n-5
۲/۷۸±۰/۱۵ ^{abc}	۲/۳۵±۰/۴۳ ^a	۲/۳۹±۰/۴۵ ^a	۳/۰۵±۰/۴۳ ^{abc}	۲/۶۰±۰/۲۷ ^{ab}	۲/۴۸±۰/۴۷ ^a	۳/۳۲±۰/۲۰ ^{bc}	۲/۸۶±۰/۳۶ ^{abc}	۲/۷۸±۰/۹۰ ^{abc}	۳/۵۳±۰/۳۵ ^c	۳/۵۶±۰/۳۰ ^c	۳/۵۳±۰/۳۲ ^c	C 16:1n-9
۲۱/۵۳±۰/۶۸ ^{cd}	۲۰/۷۵±۰/۹۹ ^{bc}	۱۸/۴۲±۰/۴۸ ^a	۲۲/۲۹±۰/۵۹ ^{de}	۲۲/۲۶±۰/۵۴ ^{de}	۱۹/۷۰±۱ ^b	۲۳/۵۳±۰/۵۵ ^f	۲۱/۶۵±۰/۵۶ ^{cd}	۲۰/۲۷±۰/۶۱ ^b	۲۳/۴۰±۰/۵۳ ^{ef}	۲۲/۴۴±۰/۵۰ ^{def}	۲۰/۳۳±۰/۷۰ ^b	C 16:1n-7
۰/۴۴±۰/۰۱ ^a	۰/۷۰±۰/۰۳ ^a	۰/۳۶±۰/۴۶ ^{abc}	۰/۲۲±۰/۰۵ ^{ab}	۰/۲۷±۰/۰۷ ^{ab}	۰/۵۰±۰/۰۲ ^{bcd}	۰/۷۰±۰/۰۲ ^{cde}	۰/۸۰±۰/۰۱ ^{de}	۰/۶۶±۰/۰۲ ^{cde}	۰/۹۰±۰/۰۱ ^e	۰/۸۱±۰/۱۷ ^{de}	۰/۸۰±۰/۰۲ ^{de}	C 18:1n-7
۱/۱۶±۰/۳۱ ^{abcd}	۰/۹۷±۰/۰۶ ^{abc}	۰/۶۹±۰/۱۷ ^a	۱/۳۶±۰/۴۳ ^{cde}	۱/۳۶±۰/۱۶ ^{cde}	۰/۸۵±۰/۱۶ ^{ab}	۱/۵۷±۰/۲۶ ^{de}	۱/۵۴±۰/۳۶ ^{de}	۱/۱۷±۰/۳۳ ^{abcd}	۱/۸۱±۰/۱۵ ^e	۱/۶۰±۰/۳۱ ^{de}	۱/۲۸±۰/۱۵ ^{bcd}	C 18:1n-9
۱/۸۵±۰/۲۰ ^a	۲/۴۵±۰/۴۰ ^{ab}	۳/۲۹±۰/۵۲ ^c	۲/۳۳±۰/۴۶ ^{ab}	۲/۶۱±۰/۲۷ ^b	۳/۳۰±۰/۵۱ ^c	۲/۳۶±۰/۰۵ ^{ab}	۲/۸۱±۰/۱۵ ^{bc}	۳/۲۸±۰/۳۲ ^c	۲/۵۳±۰/۳۱ ^b	۲/۷۶±۰/۲۳ ^{ab}	۳/۴۰±۰/۲۱ ^c	C 16:2n-7
۱/۲۶±۰/۳۰ ^{def}	۱/۳۰±۰/۲۹ ^{ef}	۱/۵۸±۰/۲۷ ^f	۰/۷۸±۰/۱۲ ^{bc}	۰/۹۰±۰/۱۱ ^{cd}	۱/۲۱±۰/۳۰ ^{def}	۰/۷۰±۰/۱۰ ^{bc}	۰/۸۳±۰/۱۵ ^{bc}	۰/۹۷±۰/۲۱ ^{cde}	۰/۲۰±۰/۰۶ ^a	۰/۵۰±۰/۱۵ ^{ab}	۰/۶۶±۰/۲۰ ^{bc}	C 16:2n-4
۱/۳۸±۰/۰۷ ^{ab}	۱/۴۶±۰/۳۰ ^{ab}	۱/۵۴±۰/۳۱ ^{ab}	۱/۹۵±۰/۳۶ ^{abc}	۱/۹۵±۰/۰۸ ^{abc}	۲/۱۵±۰/۶۷ ^{bcd}	۲/۱۳±۰/۲۷ ^{bcd}	۲/۴۰±۰/۴۹ ^{cd}	۲/۴۵±۰/۴۲ ^{cd}	۲/۳۱±۰/۳۲ ^{cd}	۲/۷۶±۰/۱۵ ^d	۳/۵±۰/۶۰ ^e	C 16:3n-4
۰/۸۲±۰/۱۷ ^a	۰/۹۵±۰/۰۷ ^{ab}	۱/۰۷±۰/۱۵ ^{ab}	۱/۰۵±۰/۴۶ ^{ab}	۱/۱۱±۰/۲۰ ^{ab}	۱/۲۶±۰/۲۹ ^{ab}	۱/۲۸±۰/۴۸ ^{ab}	۱/۲۷±۰/۲۷ ^{ab}	۱/۴۲±۰/۴۴ ^{ab}	۱/۲۸±۰/۳۳ ^{ab}	۱/۵۵±۰/۳۶ ^b	۱/۵۴±۰/۳۱ ^b	C 18:2n-4
۲/۸۳±۰/۴۳ ^e	۲/۴۶±۰/۳۰ ^{de}	۱/۹۷±۰/۳۵ ^{abcd}	۲/۵۶±۰/۴۸ ^{de}	۲/۱۷±۰/۴۱ ^{bcd}	۱/۷۹±۰/۲۳ ^{abc}	۲/۳۵±۰/۴۷ ^{cde}	۱/۹۳±۰/۰۸ ^{abcd}	۱/۶۱±۰/۲۲ ^{ab}	۲/۱۰±۰/۴۰ ^{bcd}	۱/۷۳±۰/۲۲ ^{abc}	۱/۴۱±۰/۲۲ ^a	C 18:2n-6
۱/۳۹±۰/۴۹ ^a	۲/۳۰±۰/۳۰ ^{bc}	۲/۴۴±۰/۴۷ ^{bcd}	۲/۱۸±۰/۶۳ ^b	۲/۳۷±۰/۴۶ ^{bc}	۲/۸۹±۰/۳۳ ^{bcd}	۲/۵۲±۰/۳۴ ^{bcd}	۳/۰۵±۰/۱۸ ^{cde}	۳/۳۶±۰/۴۶ ^e	۳/۱۷±۰/۴۱ ^{de}	۴/۲۴±۰/۳۳ ^f	۵/۲۰±۰/۴۰ ^g	C 18:3n-6
۳/۸۳±۰/۱۸ ^b	۵/۳۲±۰/۴۶ ^{de}	۶/۹۴±۰/۳۱ ^g	۴/۵۸±۰/۳۸ ^c	۵±۰/۳۵ ^{cd}	۶/۳۶±۰/۴۶ ^{fg}	۳/۲۷±۰/۳۳ ^{ab}	۳/۶۵±۰/۲۹ ^b	۵/۷۸±۰/۵۵ ^{ef}	۲/۸۸±۰/۲۸ ^a	۳/۲۷±۰/۲۷ ^{ab}	۵/۴۲±۰/۰۲ ^{de}	C 20:4n-6
۰/۰۵±۰/۰۱ ^a	۰/۰۶±۰/۰۱ ^{abcd}	۰/۰۸±۰/۰۱ ^{cd}	۰/۰۶±۰/۰۱ ^{abc}	۰/۰۵±۰/۰۱ ^{ab}	۰/۰۷±۰/۰۲ ^{abcd}	۰/۰۵±۰/۰۱ ^a	۰/۰۶±۰/۰۱ ^{abcd}	۰/۰۸±۰/۰۲ ^{bcd}	۰/۰۶±۰/۰۱ ^{abcd}	۰/۰۷±۰/۰۲ ^{abcd}	۰/۹±۰/۰۱ ^d	C 22:5n-6
۳/۲۹±۰/۳۲ ⁱ	۲/۸۵±۰/۲۲ ^h	۱/۹۷±۰/۲۲ ^{ef}	۲/۵۷±۰/۳۳ ^{gh}	۱/۶۱±۰/۲۷ ^{cde}	۱/۴۷±۰/۳۶ ^{cd}	۲/۱۷±۰/۲۴ ^{fg}	۱/۲۰±۰/۲۲ ^{bc}	۰/۹±۰/۰۱ ^b	۱/۷۰±۰/۲۶ ^{de}	۰/۱۶±۰/۰۱ ^a	۰/۱۰±۰/۰۲ ^a	C 18:3n-3
۰/۷۰±۰/۰۲ ^{ab}	۰/۶۶±۰/۰۲ ^{ab}	۰/۹۶±۰/۰۲ ^b	۰/۵۸±۰/۱۸ ^a	۰/۷۰±۰/۱۰ ^{ab}	۰/۸۰±۰/۰۲ ^{ab}	۰/۶۳±۰/۱۵ ^a	۰/۷۰±۰/۰۲ ^{ab}	۰/۸۰±۰/۰۱ ^{ab}	۰/۵۰±۰/۰۱ ^a	۰/۷۳±۰/۱۴ ^{ab}	۰/۷۳±۰/۱۵ ^{ab}	C 18:4n-3
۱۶/۸۹±۰/۶۵ ^g	۱۴/۳۵±۰/۴۴ ^e	۱۴/۳۲±۰/۸۳ ^e	۱۵/۴۲±۰/۵۰ ^f	۱۳/۲۷±۰/۲۷ ^{cd}	۱۲/۴۸±۰/۴۷ ^{bc}	۱۳/۸۱±۱/۰ ^{de}	۱۱/۷۰±۰/۴۱ ^{ab}	۱۱/۴۰±۰/۴۲ ^a	۱۲/۵۰±۰/۴۴ ^{bc}	۷/۵۹±۰/۳۱ ^{ab}	۱۰/۸۰±۰/۷۵ ^a	C 20:5n-3
۰/۴۱±۰/۰۲ ^{abc}	۰/۳۵±۰/۱۸ ^{abc}	۰/۲۲±۰/۰۴ ^{ab}	۰/۴۹±۰/۱۴ ^{bc}	۰/۲۹±۰/۰۳ ^{abc}	۰/۲۹±۰/۰۹ ^{abc}	۰/۳۱±۰/۰۸ ^{abc}	۰/۲۰±۰/۰۱ ^a	۰/۳۳±۰/۱۵ ^{abc}	۰/۵۵±۰/۱۸ ^c	۰/۴۶±۰/۰۲ ^{abc}	۰/۴۰±۰/۰۱ ^{abc}	C 22:5n-3

N= nitrogen I= Light intensity

ادامه جدول ۱: میزان ترکیب اسیدهای چرب مختلف جلبک *C. calcitrans* در ۴ تیمار نیتروژنی (۷۵، ۵۰، ۲۵ و ۱۰۰ درصد نیتروژن) و شدت نور (۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه)

N=100 I=240	N=100 I=160	N=100 I=80	N=75 I=240	N=75 I=160	N=75 I=80	N=50 I=240	N=50 I=160	N=50 I=80	N=25 I=240	N=25 I=160	N=25 I=80	اسید چرب
۳/۵۹±۰/۳۷ ^f	۲/۸۲±۰/۶۹ ^{de}	۲/۳۶±۰/۴۳ ^{cde}	۳±۰/۵۱ ^{ef}	۲/۱۷±۰/۳۳ ^{bcd}	۱/۴۴±۰/۴۴ ^{ab}	۲/۴۴±۰/۴۶ ^{cde}	۱/۷۱±۰/۲۷ ^{abc}	۱/۴۷±۰/۳۳ ^{ab}	۱/۸۰±۰/۳۰ ^{abc}	۱/۴۱±۰/۲۱ ^{ab}	۱/۲۰±۰/۲۰ ^a	C 22:6n-3
۱۹/۱۵±۰/۶۱ ^d	۱۸/۶۹±۰/۳۸ ^{cd}	۱۴/۲۲±۱/۸۹ ^a	۲۰/۴۷±۲/۱۳ ^{de}	۱۸/۵۰±۰/۴۷ ^{cd}	۱۵/۲۷±۱/۴۴ ^{ab}	۲۲/۴۳±۰/۵۶ ^e	۱۹/۰۴±۰/۹۳ ^d	۱۶/۶۶±۱/۱۳ ^{bc}	۲۴/۴۹±۰/۴۵ ^f	۱۹/۴۱±۰/۸۶ ^d	۱۸/۳۴±۱/۴۳ ^{cd}	SFA
۲۷/۳۵±۱/۳۵ ^{bcd}	۲۵/۴۹±۱/۹۵ ^{abc}	۲۲/۹۰±۱ ^a	۲۸/۳۴±۱/۸۲ ^{cde}	۲۷/۷۹±۱/۳۶ ^{cd}	۲۴/۸۱±۲/۰۷ ^{ab}	۳۰/۷۲±۰/۷۹ ^e	۲۸/۳۷±۱/۵۶ ^{cde}	۲۶/۲۵±۲/۰۵ ^{bc}	۳۰/۷۶±۰/۶۶ ^e	۲۹/۹۷±۱/۵۰ ^{de}	۲۷/۳۵±۰/۲۰ ^{bcd}	MUFA
۸/۱۱±۰/۲۴ ^a	۱۰/۱۵±۰/۵۰ ^{bcde}	۱۱/۴۴±۱/۱۴ ^{ef}	۹/۳۹±۱/۴۷ ^{abc}	۹/۶۱±۱/۲۱ ^{abcd}	۱۱/۱۲±۱ ^{def}	۸/۱۹±۱/۱۴ ^a	۸/۷۰±۰/۵۳ ^{ab}	۱۰/۸۴±۱/۲۰ ^{cdef}	۷/۹۲±۰/۳۹ ^a	۹/۳۲±۰/۲۰ ^{abc}	۱۲/۱۰±۰/۱۰ ^f	N-6
۲۴/۸۹±۱/۷۳ ^j	۲۱/۰۵±۱/۲۹ ^{hi}	۱۹/۸۵±۱/۳۵ ^{gh}	۲۲/۰۷±۱/۶۵ ⁱ	۱۸/۰۴±۰/۹۳ ^{efg}	۱۶/۴۹±۰/۹۶ ^{cde}	۱۹/۳۸±۱/۱۷ ^{fgh}	۱۵/۵۱±۱/۱۴ ^{bcd}	۱۴/۹۱±۰/۶۱ ^{abc}	۱۷/۴۸±۰/۵۰ ^{def}	۱۴/۳۷±۰/۰۵ ^{ab}	۱۳/۲۴±۰/۴۸ ^a	N-3
۳۸/۳۲±۱/۹۷ ^b	۳۷/۳۸±۲/۲۲ ^b	۳۸/۷۹±۳/۷۴ ^b	۳۷/۵۹±۴/۴۴ ^b	۳۴/۲۴±۲/۵۷ ^{ab}	۳۵/۵۵±۳/۷۳ ^{ab}	۳۴/۰۶±۳ ^{ab}	۳۱/۵۵±۲/۷۲ ^a	۳۳/۹۰±۳/۲۰ ^{ab}	۳۱/۶۱±۲/۰۴ ^a	۳۱/۲۷±۰/۴۳ ^a	۳۴/۴۵±۰/۸۴ ^{ab}	PUFA
۹۴/۰۵±۳/۰۵ ^{ab}	۹۰/۵۷±۳/۹۰ ^{ab}	۸۵/۸۳±۶/۷۰ ^a	۹۵/۲۶±۸/۰۴ ^{ab}	۹۰/۰۱±۳/۱۳ ^{ab}	۸۵/۶۰±۷/۲۷ ^a	۹۶/۵۲±۴/۶۸ ^b	۸۸/۵۷±۵/۵۴ ^{ab}	۸۷/۳۱±۶/۷۰ ^{ab}	۹۶/۹۰±۴/۵۰ ^b	۹۱/۵۸±۲/۹۲ ^{ab}	۹۰/۷۲±۳/۴۷ ^{ab}	FAME

N= nitrogen I= Light intensity

(PUFA) ایفا می کند (Hamilton, 2014). نتایج تحقیق حاصل نشان داد که میزان اسیدهای چرب اشباع با یک پیوند دوگانه با افزایش غلظت نیتروژن در محیط کشت کاهش معنی داری نمود و اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه افزایش معنی داری را پیدا نمودند. همچنین میزان اسیدهای چرب اشباع با چند پیوند دوگانه (PUFA) در کلیه تیمارها نسبت به اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه میزان بالاتری را نشان داد که این نسبت با افزایش غلظت نیتروژن افزایش پیدا نمود. همچنین ۷-۱n: C۱۶:۱n-۹ و ۹-۱n: C۱۶:۱n-۹ با افزایش غلظت نیتروژن کاهش یافتند. اسیدهای چرب EPA و DHA با افزایش غلظت نیتروژن افزایش یافتند.

با توجه به تاثیر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب بر کیفیت سوخت های زیستی، غلظت های پایین تر نیتروژن با اسیدهای چرب اشباع بالا و اسیدهای چرب غیراشباع کم مورد توجه هستند. Zhu و همکاران (۲۰۱۵) نمودند که درصد اسیدهای چرب خنثی بعد از کمبود نیتروژن افزایش می یابد در حالی که میزان اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه یا چند پیوند دوگانه کاهش یافتند. اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره در حقیقت مهمترین جزء در ترکیب ساختارهای غشایی هستند و نقش مهمی در یکپارچگی ساختارهایی غشایی جلبک ها بازی می کنند. بنابراین کاهش در سطح PUFA ممکن است با اثر قوی کمبود نیتروژن در سیستم فتوسنتزی جلبک ها پیوسته باشد. بنابراین مقادیر بالاتر PUFA در فاز تصاعدی در همه محیط های کشت پیدا شده است.

Yodswan و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که جلبک *Phaeodactylum tricornutum* کشت داده

غالب بودن اسیدهای چرب C۱۴:۰، C۱۶:۰ و C۱۸:۰ در جلبک *C. calcitrans* توسط Miller و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش شد. همچنین غلظت اسید چرب ۷-۱n: C۱۶ در بین اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه را گزارش نمودند. آن ها همچنین غلظت اسیدهای چرب EPA و DHA را در اسیدهای چرب امگا ۳ بیان کردند.

Ackman و همکاران (۱۹۹۰) غالب بودن C۱۴:۰ و C۱۶:۰ را در بین اسیدهای چرب اشباع و همین طور غالب بودن ۷-۱n: C۱۶ را در بین اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه در جلبک *C. calcitrans* گزارش نمودند. آن ها همچنین غلظت EPA و DHA را در بین اسیدهای چرب امگا ۳ در جلبک *C. calcitrans* گزارش نمودند.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سطوح بالاتر اسیدهای چرب اشباع در غلظت های پایین تر نیتروژن (۵۰ و N=۲۵) بدست می آید. همینطور اسیدهای چرب C۱۶:۰ و C۱۴:۰ با افزایش غلظت نیتروژن کاهش می یابند. Yodsuwan و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که غلظت های پایین تر نیتروژن در محیط های کشت موجب سطوح های بالاتر اسیدهای چرب اشباع نسبت به محیط های کشت با سطوح نیتروژن بالاتر می شوند. آن ها همچنین کاهش اسیدهای چرب C۱۶:۰ را در تیمارهای ۰ و ۱۶/۴۵ میلی گرم در لیتر نترات سدیم نسبت به تیمارهای ۳۲/۹ میلی گرم نترات سدیم گزارش دادند.

پژوهشگران دریافتند که ۹-۱n: C۱۸ (اولئیک اسید) نقش کلیدی در سوخت و ساز جلبک *Phaeodactylum tricornutum* به عنوان یک پیش ماده اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند

Renaud و همکاران (۱۹۹۱) کاهش غلظت در اسیدهای چرب غیراشباع ۴-۲n:۱۶C، ۳-۳n:۱۸C و ۳-۵n:۲۰C را در *Nannochloropsis oculata* رشد یافته در شدت‌های نور بالا گزارش دادند.

غلظت اسیدهای چرب ۳-۵n:۲۰C حدوداً نزدیک ۵/۵ درصد کاهش یافت، در حالی که غلظت اسیدهای چرب غالب ۱۶:۰C (اسید پالمیتیک) نزدیک ۴ درصد در شدت‌های نورهای بالاتر افزایش پیدا کرد. Sukenik و همکاران (۱۹۹۳) نتایج مشابهی را با کاهش غلظت ۳-۵n:۲۰C از ۱۰ درصد تا ۵ درصد کل اسید چرب در شرایط آزمایشگاهی به ترتیب در شدت نور ۲۹۰ و ۵۵۰ میکرومول زیمنس در مترمربع در ثانیه گزارش دادند. Amini Khoeyi و همکاران (۲۰۱۲) افزایش اسیدهای چرب اشباع و کاهش اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه و چند پیوند دوگانه را در راستای افزایش شدت نور گزارش دادند.

نقش اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه در عملکرد غشاء فتوسنتزی و نقش سازشی آن در شرایط کمبود نور بیان شده است (Klyachko-Gurricet *al.*, 1999). نتایج کلی این پژوهش نشان داد که اسیدهای چرب غیراشباع با افزایش میزان نیتروژن محیط کشت افزایش پیدا می‌کنند در حالی که این گروه از اسیدهای چرب با افزایش شدت نور افزایش پیدا نکرده و بالعکس با افزایش غلظت نیتروژن اسیدهای چرب اشباع کاهش و با افزایش شدت نور اسیدهای چرب اشباع افزایش پیدا نمودند.

شده با افزایش سطح نیتروژن در محیط کشت سطوح بالاتر اسیدهای چرب اشباع و سطوح پایین‌تر اسیدهای چرب غیراشباع را در خود ذخیره می‌کنند.

اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA) در این پژوهش به طور قابل توجهی در سطوح بالاتر نیتروژن محیط کشت به دست آمد و لذا محیط کشت جلبک با غلظت‌های بالاتر نیتروژن برای تجمع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه به خصوص EPA توصیه می‌شود. همچنین افزایش اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع با چند پیوند دوگانه با افزایش شدت نور گزارش شد. افزایش شدت نور علاوه بر این توانست میزان اسید چرب EPA را افزایش دهد که این افزایش در مورد اسیدهای چرب دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) اندک بود.

Renaud و همکاران (۱۹۹۱) نشان دادند که در جهت افزایش اسیدهای چرب اشباع در *Isocrysis Nannochloropsis oculata* رشد یافته در محیط‌های بیرون با افزایش شدت نور، افزایش اسیدهای چرب اشباع را نشان دادند. آن‌ها همچنین نشان دادند که غلظت اسیدهای چرب اشباع ۱۶:۰C (اسید پالمیتیک) و ۱۸:۰C (اسید استئاریک) با افزایش شدت نور به ترتیب ۷/۵ درصد و ۲/۰ درصد افزایش پیدا کرد. افزایش اندکی نیز در غلظت‌های اسیدهای چرب DHA و ۳-۵n:۱۸C همراه با افزایش شدت گزارش شده است.

Harrison و همکاران (۱۹۹۰) نتیجه مشابهی را برای ۳-۵n:۲۰C یافته و گزارش نمودند که میزان این اسید چرب در جلبک *Isocrysis galbana* با افزایش شدت نور حدود ۴ درصد در شرایط آزمایشگاهی افزایش می‌یابد.

- 6- Amini Khoeyi, Z., Seyfabadi, J., Ramezanpour, Z., 2012. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Aquaculture International*, 20 (1), 41-49.
- 7- Anonymous., 1991. The design and operation of live feeds production systems. In: Rotifer and micro-algae culture systems, Fulks, W. and Main K.L. (Eds.). *Proceedings of a US-Asia Workshop, Honolulu, Hawaii, January 28-31, 1991* The Oceanic Institute, Hawaii, USA, pp 3-52.
- 8- Banerjee, S., Hew, W.E., Khatoon, H., Shariff, M., Yusoff, F.M., 2011. Growth and Proximate composition of tropical marine *Chaetoceros calcitrans* and *Nannochloropsis oculata* cultured outdoors and under laboratory conditions. *African Journal of Biotechnol*, 10(8), 1375-1383.
- 9- Becker, E. W., 2004. Microalgae in human and animal nutrition. In: Richmond, A., editor. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*: 566. Blackwell Science, London, UK.
- 10- Becker, E.W., 2007. Microalgae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25(2), 207-210.
- 11- Brown, M.R., Jeffrey, S. W., Volkmann, J. K., Dunstan, G. A., 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151(1), 315-331.
- 12- Brown, M., Mular M., Miller, I., Farmer, C., Trenerry, C., 1999. The vitamin content of microalgae used in aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 11(3), 247-255.
- 13- Carvalho, A.P., Malcata, F.X., 2005. Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas-Chromatographic Analysis of Marine Lipids: Insight Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(13), 5049-5059.
- 14- Flynn, K.J., Garrido, J.L., Zapata, M., Opikl, H., Hipkin, C.R., 1992. Changes in fatty acids, amino acids and carbon/nitrogen biomass during nitrogen

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

- ۱- پورافراسیابی، م.، ایمان پور نمین، ج.، رمضان پور، ز.، صادقی راد، م.، ۱۳۹۲. تأثیر شدت و دوره نوری بر نرخ رشد و سنتز چربی در جلبک سبز *Dunaliella salina*. *مجله بهره برداری و پرورش آبزیان*، ۲(۳)، ۶۳-۷۵.
- ۲- خلیل پذیر، م.، اکبر پور، ا.، وهاب نژاد، ا.، ۱۳۹۶. میزان رشد و تراکم ریز جلبک *Tetraselmis chuii* در شدت های نوری مختلف. *نشریه توسعه آبی پروری*، ۱۱(۲)، ۳۹-۴۸.
- ۳- غریب نیا، پ.، یحیوی، م.، روحانی قادیکلایی، ک.، ۱۳۹۷. تأثیر عصاره ۶ گونه جلبک ماکروسکوپی به عنوان محیط کشت جایگزین بر روی رشد، میزان کلروفیل a و کارتنوئید جلبک میکروسکوپی *Nannochloropsis oculata*. *نشریه توسعه آبی پروری*، ۱۲(۴)، ۹۵-۱۰۶.
- 4- Ackman, R. G., Ratnayake, W. M. N., 1990. Fatty Acid Composition of Three Cultured Algal Species (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* and *Chaetoceros calcitrans*) used as Food for Bivalve Larvae. *Journal of the world Aquaculture Society*, 21(2), 122-130.
- 5- Alonso, D.L., Belarbi E.H., Fernandez-Sevilla, J.M., Rodriguez-Ruiz, J., Grima E.M., 2000. Acyl lipid composition variation related to culture age and nitrogen concentration in continuous culture of the microalga *Phaeodactylum tricorutum*. *Phytochemistry*, 54 (5), 461-471.

- airlift photobioreactors. *Chemical Engineering Journal*, 105(3), 91-98.
- 23- Latasa, M., 1995. Pigment composition of *Heterocapsa* sp. and *Thalassiosira weissflogii* growing in batch cultures under different irradiances, *Journal of Phytochemistry*, 59(1), 25-37.
- 24- Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217-232.
- 25- Miller, M.R., Quek, S. Y., Staehler, K., Nalder, T., P, M.A., 2012. Changes in oil content, lipid class and fatty acid composition of the microalga *Chaetoceros calcitrans* over different phases of batch culture *Aquaculture Research*, 23(5), 1-14.
- 26- Probert, I., Klaas, C., 1999. Microalgal culturing. Practical notes from the culturing Short course. Held in Caen, 10-12 February 1999.
- 27- Raghavan, G., Haridevi, C.K., Gopinathan, C.P., 2008. Growth and proximate composition of the *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels, *Aquaculture Research*, 39(1), 1053-1058.
- 28- Renaud, S.M., Parry, D.L., Luong-Van, T., Kuo, C., Padovan, A., Sammy, N., 1991. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *Journal of Applied phycology*, 3(1), 43-53.
- 29- Stillwell, W., Wassall, S.R., 2003. Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. *Chemistry and Physics of Lipids*, 126(1), 1-27.
- 30- Sukenik, A., Zmora, O., Carmeli, Y., 1993. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition: II. *Nannochloropsis* sp. *Journal of Aquaculture*. 117(3-4), 313-326.
- starvation of ammonium- and nitrate-grown *Isochrysis galbana*. *Journal of Applied Phycology*, 28(1), 48-52.
- 15- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal Biology Chemistry*, 226(1), 497-509.
- 16- Hamilton, M.L., Haslam, R.P., Napier, J.A., Sayanova, O., 2014. Metabolic engineering of *Phaeodactylum tricorutum* for the enhanced accumulation of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids. *Metabolic Engineering*, 22(1), 3-9.
- 17- Harrison, P.J., Thompson, P.A., Calderwood, G.S., 1990. Effects of nutrient and light limitation on the biochemical composition of phytoplankton. *Journal of Applied Phycology*, 2(1), 45-56.
- 18- Khatoon, H., Banerjee, S., Yusoff, F.M., Shariff, M., 2009. Evaluation of indigenous marine periphytic Amphora, Navicula and Cymbella grown substrate as feed supplement *Penaeus monodon* postlarval hatchery system. *Aquaculture Nutrition*, 15(2), 186-193.
- 19- Khatoon, H., Banerjee, S., Yusoff, F.M., Shariff, M., 2012. Use of microalgal-enriched *Diaphanosoma celebensis* Stingelin, 1900 for rearing *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) postlarvae. *Aquaculture Nutrition*, 19(2), 163-171.
- 20- Klyachko-Gurvich, G., Tsoglin, L.N., Doucha, J., Kopetskii, J., Shebalina, B.I., Semenenko, V.E., 1999. Desaturation of fatty acids as an adaptive response to shifts in light intensity. *Physiologic Plant*, 107(2), 240-249.
- 21- Khoi, C., Guong, V., Merckx, R., 2006. Growth of the diatom *Chaetoceros calcitrans* in sediment extracts from *Artemia franciscana* ponds at different concentrations of nitrogen and phosphorus. *Aquaculture*, 259(1), 354-364.
- 22- Krichnavaruk, S., Loataweesup, W., Powtongsook, S., Pavasant, P., 2005. Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in

- production and fatty acid profiles of the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*. Agriculture and Natural Resources, 51(1), 190-197.
- 34- Zhu, Sh., Wang, Y., Shang, Ch., Wang, Z., Xu, J., Yuan, Z., 2015. Characterization of lipid and fatty acids composition of *Chlorella zofingiensis* in response to nitrogen starvation. Journal of Bioscience and Bioengineering, 120(2), 205-209.
- 31- Thornton, D.C.O., 2009. Effect of low pH on carbohydrate production by a marine planktonic diatom (*Chaetoceros muelleri*). Research Letters in Ecology, 2009(1), 1-4.
- 32- Ying, L., Kang-sen, M., Shi-chun, S., Dao-zhan, Y., 2001. Effect of light intensity on the total lipid and fatty acid composition of six strains of marine diatoms. China Journal of Oceanology Limnology, 19(1), 249-254.
- 33- Yodsuwan, N., Sawayama, sh., Sirisansaneeyakul, S., 2017. Effect of nitrogen concentration on growth, lipid