

تاثیر عناصر غذایی کم مصرف آهن، مس و روی بر چربی و ترکیب اسید چرب جلبک *Spirulina platensis*

مریم اکبرنژاد^{۱*}، مهدی شمسایی مهرجان^۲، ابوالقاسم کمالی^۳، مهران جواهری بابلی^۴

تاریخ دریافت: شهریور ۹۷

تاریخ پذیرش: بهمن ۹۷

چکیده

تاثیر آهن (Fe^{+2})، مس (Cu^{+2}) و روی (Zn^{+2}) بر چربی کل و ترکیب جلبک *Spirulina platensis* مورد بررسی قرار گرفت. جلبک اسپیرولینا در محیط کشت زاروک در چهار گروه آزمایشی شاهد و غلظت‌های آهن، مس و روی در حجم ۱۰ برابر شاهد، کشت داده شد. نتایج نشان داد بالاترین و پایین‌ترین مقدار چربی کل در تیمارهای آهن و روی به ترتیب با ۵/۲۸ و ۱/۴۷ درصد وزن خشک اندازه‌گیری شد. در تمام تیمارها، گروه‌های غالب اسیدهای چرب، $C_{16:0}$ ، $C_{18:0}$ ، $C_{18:1n7}$ ، $C_{18:1n9}$ ، $C_{18:2n6}$ و $C_{18:3n3}$ به دست آمد. بیشترین و کمترین اسیدهای چرب اشباع به ترتیب در تیمارهای آهن و روی با ۴۳/۵۰ و ۳۷/۵۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک اندازه‌گیری شد. در مقابل، بالاترین مقدار اسیدهای چرب غیراشباع با یک و چند پیوند دوگانه به ترتیب در تیمارهای روی و آهن (۵۳/۱۹ و ۳۹/۵۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) محاسبه شد. در مجموع، تیمار روی باعث افزایش اسیدهای چرب ایکوزاپنتانویک، دوکوزاهگزانویک، مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه و امگا ۶ نسبت به تیمارهای دیگر شد و بیشترین مقدار مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه در تیمار آهن به دست آمد.

واژگان کلیدی: *Spirulina platensis*، عناصر کم مصرف، چربی کل، اسید چرب.

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

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

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

۴- دانشیار گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول: maryam.a0707@yahoo.com

مقدمه

سرطان، سوء تغذیه و همچنین مکمل غذایی جانوران به کار می‌روند (Belay et al., 1996; Habib et al., 2008). اسپیرولینا همچنین به عنوان کود زیستی (Vaishampayan et al., 2001) رنگ طبیعی در غذا (Goh et al., 2009) محصولات تزئینی (Henrikson, 1994)، بیوتکنولوژی (Eriksen, 2008) و تولید سوخت زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Chisti, 2007; Huang et al., 2010). ارزش غذایی جلبک اسپیرولینا به دلیل داشتن ۷۰ درصد پروتئین، مقدار بالای اسیدهای چرب و آمینه ضروری، مواد معدنی، ویتامین‌ها، رنگدانه‌های آنتی‌اکسیدانی (فیکوبیلی پروتئین‌ها، کاروتنوئیدها)، کلروفیل و پلی‌ساکاریدها بالا است (Belay et al., 1993; Vonshak, 1997).

اسپیرولینا دارای ظرفیت بالایی در جذب فلزات سنگین مانند مس، کبالت، منگنز و روی است (Mosulishvili et al., 2002; Zhi-Yong et al., 2003). قابلیت جذب فلزات سنگین در اسپیرولینا به محیط رشد، درجه حرارت، اسیدیته، مواد غذایی در دسترس، تراکم سلولی جلبک و ظرفیت جذب بستگی دارد (Lovley, 2000). نتایج مطالعات مختلف نشان

ریزجلبک‌ها کاربردهای زیادی در تولید سوخت زیستی، تولیدات دارویی، مکمل غذایی و حذف فلزات سنگین در محیط ایفا می‌کنند (Becker, 1994; Chisti, 2007; Romera et al., 2007; Huang et al., 2010). ریزجلبک‌ها در مقایسه با اتوتروف‌های دیگر، دارای بازده فتوسنتز، تولید زی‌توده و رشد سریع‌تر هستند (Chisti, 2007; Huang et al., 2010). بازماندگی و توان تکثیر بالای ریزجلبک‌ها در دامنه وسیعی از شرایط محیطی، منجر به افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Anderson, 1996). چربی‌ها یکی از متابولیت‌های ثانویه ریزجلبک‌ها هستند که به حفظ رفتار ویژه غشا و پاسخ‌های سلولی به تغییرات محیطی کمک می‌کنند (Petkov and Garcia, 2007).

جلبک سبز- آبی اسپیرولینا (*Spirulina*) چند سلولی، مارپیچی و رشته‌ای است که در حضور نور، درجه حرارت بالای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شرایط قلیایی رشد بالایی دارد (Sanchez et al., 2003). گونه‌های *S. maxima* و *Spirulina platensis* جلبک اسپیرولینا کاربرد وسیعی در صنایع غذایی دارند و در درمان بیماری‌های ویروسی، کم‌خونی،

آزمایشگاه مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان همان واحد کشت شد.

محیط کشت زاروک (Zarrouk, 1966) با استفاده از آب مقطر، گرم کن و همزن مغناطیسی تهیه شد. ترکیبات محیط کشت اختصاصی جلبک اسپیرولینا (زاروک) شامل ۱ گرم NaCl ، ۲/۵ گرم NaNO_3 ، ۱ گرم K_2SO_4 ، ۰/۲ گرم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۱۶/۸ گرم NaHCO_3 ، ۰/۵ گرم K_2HPO_4 ، ۰/۰۴ گرم $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۰۱ گرم $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۰۸ گرم EDTA (Na) در هر لیتر و یک میلی لیتر محلول حاوی ۰/۲۲۲ گرم در لیتر $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۲/۸۶ گرم در لیتر H_3BO_3 ، ۱/۸۱ گرم در لیتر $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۰۷۹ گرم در لیتر $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۰۱۷۷ گرم در لیتر Na_2MoO_4 بود. ریزمغذی های آزمایشی شامل آهن، مس و روی بودند که تا ۱۰ برابر شاهد افزایش داده شدند. این محلول های فلزی از $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ و $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ تهیه شد (OECD, 2011). اصلاح مقدار فلزات محیط کشت به طور جداگانه برای هر ریزمغذی بر اساس دستورالعمل مشخص شده در جدول ۱ تهیه شد.

داد مقدار چربی برخی جلبک های تک سلولی تحت تاثیر مقادیر عناصر غذایی نیتروژن، فسفر، سیلیس، نور، درجه حرارت و آلاینده های آلی در محیط قرار دارد (Fisher and Schwarzenbach 1978; Shifrin and Chisholm, 1981; Mortensen et al., 1988; Renaud et al., 1991; Jonasdottir, 1994; Klein Breteler et al., 2005). Boyer و Brand (۱۹۹۸) یافتند که عناصر غذایی کم مصرف باعث تکثیر غیرعادی ریزجلبک ها شد و غلظت مناسب آهن، منگنز و روی منجر به رشد انبوه آن ها شد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عناصر غذایی آهن، مس و روی بر چربی کل و ترکیب اسید چرب ریزجلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) در شرایط آزمایشگاهی با رویکرد استفاده از آن ها در مکمل های غذایی است.

مواد و روش ها

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز در سال ۱۳۹۴ انجام گرفت. جلبک آزمایشی *Spirulina platensis* از دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز تهیه و در

جدول ۱: مقدار عناصر غذایی در محیط کشت جلبک *Spirulina platensis*

محیط کشت	Fe ⁺² (گرم در لیتر)	Cu ⁺² (میلی گرم در لیتر)	Zn ⁺² (میلی گرم در لیتر)
شاهد	۰/۰۰۲	۰/۰۲۰	۰/۰۵۰
محیط کشت آهن (۱۰ برابر شاهد)	۰/۰۲	۰/۰۲۰	۰/۰۵۰
محیط کشت مس (۱۰ برابر شاهد)	۰/۰۰۲	۰/۲۰	۰/۰۵۰
محیط کشت روی (۱۰ برابر شاهد)	۰/۰۰۲	۰/۰۲۰	۰/۵۰

هوادهی به طور شبانه روزی بود (Vonshak, 1997).

میزان شوری، pH و تنظیم زمان روشنایی به ترتیب با استفاده از شوری سنج (ATAGO, ژاپن)، pH سنج (ISTKE, سوئیس) و زمان سنج (Theben, آلمان) انجام گرفت. اندازه گیری نور در تیمارها با استفاده از نورسنج (LX-1108, Lutron, تایوان) انجام شد.

چربی کل نمونه ها با استفاده از حلال های متانول و کلروفرم استخراج شد (Folch and Lees Sloane-Stanley, 1957). برای تعیین اسیدهای چرب موجود در نمونه ها، ابتدا چربی با افزودن ۳ میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی (۲ مولار) صابونی و بعد با اضافه کردن ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک متانولی (۱۲ درصد حجمی/حجمی) به متیل استر تبدیل شد (Firestone et al., 1998). متیل استر اسیدهای چرب در یک میلی لیتر هپتان نرمال

۱۰۰ میلی لیتر سوسپانسیون جلبک اسپیرولینا با غلظت ۰/۰۰۲ گرم در لیتر وزن خشک، تراکم سلولی ۰/۰۱ و شمارش سلولی ۲۰،۰۰۰ عدد در هر میلی لیتر با ۲۰۰ میلی لیتر محیط کشت در ارلن مایر ۱۰۰۰ میلی لیتر آماده شد. برای جلوگیری از آلودگی نمونه ها، عمل تلقیح در کنار شعله و با استفاده از دستکش انجام گرفت. پس از باز کردن درب محیط کشت سر ظروف با استفاده از حرارت ضد عفونی شد. مقدار مورد نیاز نمونه با استفاده از پیپت و سرنگ های ضد عفونی شده، برداشت شد. سپس در ظرف بعد از ضد عفونی با حرارت بسته شد. نمونه های آزمایشی برای تجزیه های مختلف در دوره رشد جلبک اسپیرولینا (۹۰ روز) هر دو هفته یکبار انتخاب شدند. شرایط محیط کشت شامل درجه حرارت ۳۲ درجه سانتی گراد، شوری ۲۰ گرم در لیتر، pH ۸/۷، شدت نور ۲۵۰۰ لوکس، دوره نور: تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته و

نمونه‌ها با دور ۵۰۰۰ بر دقیقه انجام شد. برای تهیه آب دو بار تقطیر از دستگاه آب مقطر گیر (2104, GFL، آلمان) استفاده شد.

مواد لازم در این پژوهش شامل هوای فشرده، گازهای نیتروژن و هیدروژن برای تجزیه با دستگاه طیف‌سنج گازی با خلوص تجزیه‌ای ۹۹/۹۹۹ درصد تهیه شد. حلال‌های کلروفرم، هپتان نرمال و متانول با خلوص بالا تهیه و بدون تخلیص مجدد مورد استفاده قرار گرفتند. اسید سولفوریک و هیدروکسید پتاسیم مورد استفاده در این پژوهش از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

در این مطالعه از طرح پایه کاملاً تصادفی برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. نتایج بر اساس تحلیل واریانس یک طرفه، با استفاده از نرم‌افزار SAS (SAS Institute, Ver. 8, 2002) مورد تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

آنالیز چربی کل

نتایج این مطالعه نشان داد که بالاترین و پایین‌ترین مقدار چربی کل به ترتیب در تیمارهای آهن ($5/280 \pm 0/435$) درصد وزن

استخراج شد. برای تجزیه اسیدهای چرب یک میکرولیتر از فاز هپتان نرمال به دستگاه طیف‌سنج گازی (GC) (Agilent, 6890)، آمریکا) تزریق شد. برای شناسایی اسیدهای چرب از محلول استاندارد اسیدهای چرب (Sigma، آمریکا) با مقایسه زمان‌های بازداری استفاده شد.

برای تجزیه چربی از دستگاه طیف‌سنج گازی مجهز به دریچه تزریق کاپیلاری، ستون کاپیلاری ویژه تجزیه اسیدهای چرب از نوع ۳۰m×۰/۳۲mm DB-wax با فاز ساکن پلی‌اتیلن گلیکول به ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر، آشکارساز یونش شعله‌ای (FID) استفاده شد. دمای دریچه تزریق و دمای آشکارساز به ترتیب روی ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. دمای اولیه ستون در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و بعد از یک دقیقه با سرعت ۲۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد رسانده شد که ۳ دقیقه در این درجه باقی ماند. در این روش از گاز نیتروژن به عنوان گاز حامل و آرینده به ترتیب با سرعت جریان ۱ و ۴۵ میلی‌متر بر دقیقه استفاده شد. پردازش داده‌های دستگاه با استفاده از نرم‌افزار Chemstation در محیط ویندوز انجام شد. سانتریفوژ (Hettich, MICRO 22R، آلمان)

جلبک اسپیرولینا ایجاد کرد. مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه، در جلبک اسپیرولینا غنی شده با روی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر مشاهده شد ($P < 0/05$)؛ جدول ۲).

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که مجموع اسیدهای چرب امگا ۶، در جلبک اسپیرولینا غنی شده با تیمار روی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای دیگر بود ($P < 0/05$). از طرف دیگر مجموع اسید چرب امگا ۳ در جلبک غنی شده با تیمار آهن بدون اختلاف معنی‌دار با شاهد بود، در حالی که از دو تیمار دیگر مس و روی به طور معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۲).

نسبت DHA (اسید دکوزاهگزانوئیک) به EPA (اسید ایکوزاپنتانوئیک) به طور معنی‌داری در جلبک اسپیرولینا غنی شده با مس کمتر از تیمارهای دیگر بود ($P < 0/05$)، اگرچه در تیمار روی و آهن هیچ اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد (جدول ۲).

خشک) و روی ($1/470 \pm 0/317$) نسبت به تیمار شاهد به دست آمد ($P < 0/05$). مقادیر چربی کل (درصد وزن خشک) جلبک *S. platensis* در تیمارهای شاهد، آهن ۱۰ برابر، مس ۱۰ برابر و روی ۱۰ برابر به ترتیب $2/353 \pm 0/575$ ، $5/280 \pm 0/435$ و $2/370 \pm 0/471$ و $1/470 \pm 0/317$ درصد وزن خشک تعیین شد.

ترکیب اسیدهای چرب

نتایج به دست آمده از آزمایش‌های اندازه‌گیری میزان اسیدهای چرب در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

فراوان‌ترین اسیدهای چرب در جلبک اسپیرولینا اسید پالمیتیک ($C_{16:0}$)، اسید آلفالینولنیک ($C_{18:3n3}$)، اسید لینولنیک ($C_{18:2n6}$)، اسید پالمیتولنیک ($C_{16:1n7}$)، اسید استئاریک ($C_{18:0}$) و اسید اولئیک ($C_{18:1n9}$) اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

نتایج نشان داد که ریزمغذی روی بیشترین تاثیر را در ترکیب و مقدار اسیدهای چرب

جدول ۲: مقادیر اسیدهای چرب جلبک اسپیرولینا *Spirulina platensis* در تیمارهای مختلف (میانگین \pm انحراف معیار)

Zn	Cu	Fe	شاهد	اسید چرب (میلی گرم بر گرم وزن خشک)
۱/۱۵۲±۰/۰۳۵ ^b	۱/۰۴۶±۰/۰۶۴ ^a	۱/۱۴۲±۰/۰۲۰ ^b	۱/۳۹۲±۰/۰۵۱ ^c	C _{۱۲:۰۰} اسید میرستیک
۳۲/۵۳۶±۰/۱۴۱ ^a	۳۸/۲۴۶±۰/۳۴۵ ^b	۳۹/۵۹۰±۰/۱۶۴ ^c	۳۸/۰۳۶±۰/۴۷۶ ^b	C _{۱۶:۰۰} اسید پالمیتیک
۳/۳۰۳±۰/۰۳۷ ^d	۱/۳۶۰±۰/۰۱۰ ^a	۲/۱۸۳±۰/۰۴۵ ^b	۳/۰۳۶±۰/۰۲۰ ^c	C _{۱۸:۰۰} اسید استئاریک
۰/۲۶۳±۰/۰۱۵ ^c	۰/۰۵۶±۰/۰۲۰ ^a	۰/۳۵۶±۰/۰۳۰ ^d	۰/۱۰۳±۰/۰۱۵ ^b	C _{۲۰:۰۰} اسید آراشیدیک
۰/۲۸۳±۰/۰۲۰ ^b	۰/۲۲۶±۰/۰۲۵ ^a	۰/۲۲۳±۰/۰۳۲ ^a	۰/۲۲۳±۰/۰۲۰ ^a	C _{۲۲:۰۰} اسید بهنیک
۰/۳۰۳±۰/۰۱۵ ^d	۰/۱۳۳±۰/۰۱۵ ^c	۰/۱۰۳±۰/۰۱۵ ^b	۰/۰۷۰±۰/۰۱۰ ^a	C _{۱۴:۱n۵} اسید میریستولیک
۹/۰۵۰±۰/۰۱۰ ^d	۸/۸۶۳±۰/۱۸۵ ^c	۶/۶۰۳±۰/۰۳۷ ^a	۷/۴۰۳±۰/۰۴۵ ^b	C _{۱۶:۱n۷} اسید پالمیتولیک
۵/۱۳۶±۰/۰۴۰ ^d	۳/۴۳۰±۰/۱۴۱ ^c	۲/۷۶۰±۰/۱۶۵ ^b	۲/۵۳۰±۰/۱۰۰ ^a	C _{۱۸:۱n۹} اسید اولئیک
۱۵/۴۷۶±۰/۱۳۲ ^c	۱۴/۰۶۰±۰/۰۱۰ ^a	۱۴/۷۲۶±۰/۲۰۴ ^b	۱۴/۰۹۶±۰/۰۷۵ ^a	C _{۱۸:۲n۶} اسید لینولئیک
۱/۰۵۶±۰/۰۵۵ ^b	۰/۲۳۰±۰/۰۲۶ ^a	۰/۲۳۶±۰/۰۲۰ ^a	۰/۱۹۳±۰/۰۱۵ ^a	C _{۱۸:۳n۶} اسید گاما لینولئیک
۰/۱۶۳±۰/۰۱۵ ^b	۰/۲۳۶±۰/۰۱۵ ^c	۰/۲۰۶±۰/۰۲۰ ^c	۰/۱۱۶±۰/۰۱۵ ^a	C _{۲۰:۳n۶} اسید دی گاما لینولئیک
۰/۲۱۶±۰/۰۳۰ ^c	۰/۰۴۰±۰/۰۱۷ ^a	۰/۰۱۲±۰/۰۳۰ ^b	۰/۰۵۶±۰/۰۰۵ ^a	C _{۲۰:۴n۶} اسید آراشیدونیک
۰/۱۵۳±۰/۰۲۵ ^c	۰/۰۳۳±۰/۰۱۵ ^a	۰/۰۷۰±۰/۰۱۰ ^b	۰/۰۷۶±۰/۰۱۵ ^b	C _{۲۲:۵n۶} اسید دوساپنتاتئونیک
۲۰/۳۷۰±۰/۱۴۵ ^a	۲۲/۶۰۰±۰/۱۸۷ ^b	۲۳/۴۸۶±۰/۳۱۸ ^c	۲۳/۴۸۶±۰/۰۶۳ ^c	C _{۱۸:۲n۳} اسید آلفا لینولئیک
۰/۲۶۶±۰/۰۲۰ ^c	۰/۰۶۰±۰/۰۱۰ ^a	۰/۱۳۳±۰/۰۱۵ ^b	۰/۲۳۶±۰/۰۲۰ ^c	C _{۱۸:۴n۳} اسید استئاریدونیک
۰/۱۵۳±۰/۰۳۷ ^b	۰/۰۲۳±۰/۰۰۵ ^a	۰/۰۶۳±۰/۰۱۵ ^a	۰/۰۶۳±۰/۰۱۵ ^a	C _{۲۰:۳n۳} اسید ایکوساتریئونیک
۰/۲۶۶±۰/۰۲۰ ^b	۰/۱۴۶±۰/۰۱۵ ^a	۰/۱۶۰±۰/۰۱۰ ^a	۰/۱۶۰±۰/۰۲۶ ^a	C _{۲۰:۵n۳} اسید ایکوزاپانتونیک
۰/۱۱۰±۰/۰۱۰ ^c	۰/۰۲۳±۰/۰۰۵ ^a	۰/۰۶۳±۰/۰۱۵ ^b	۰/۰۶۶±۰/۰۲۰ ^b	C _{۲۲:۵n۳} اسید دوکوزاپنتاتونیک
۰/۴۵۳±۰/۰۳۳ ^c	۰/۱۱۰±۰/۰۱۰ ^a	۰/۲۲۳±۰/۰۲۰ ^b	۰/۲۵۶±۰/۰۲۵ ^b	C _{۲۲:۶n۳} اسید دوکوزاهگزانوئیک
۳۷/۵۴۶±۰/۲۴۴ ^a	۴۰/۹۴۳±۰/۳۰۸ ^b	۴۲/۵۰۳±۰/۱۷۶ ^d	۴۲/۸۰۰±۰/۳۸۶ ^c	Σ SFA
۱۴/۴۹۰±۰/۰۱۷ ^d	۱۲/۴۳۳±۰/۱۹۶ ^c	۹/۴۷۳±۰/۱۷۹ ^a	۱۰/۰۰۶±۰/۱۱۷ ^b	Σ MUFA
۱۷/۰۷۳±۰/۰۷۶ ^c	۱۴/۶۱۰±۰/۰۴۵ ^a	۱۵/۳۷۳±۰/۲۳۶ ^b	۱۴/۵۴۶±۰/۰۹۲ ^a	Σ n-6
۲۱/۶۲۶±۰/۱۵۱ ^a	۲۲/۹۶۶±۰/۱۹۱ ^b	۲۴/۱۳۳±۰/۳۲۳ ^c	۲۴/۲۷۳±۰/۰۷۳ ^c	Σ n-3
۳۸/۷۰۳±۰/۲۲۴ ^b	۳۷/۵۸۰±۰/۱۷۵ ^a	۳۹/۵۱۰±۰/۱۲۱ ^c	۳۸/۸۲۳±۰/۰۶۱ ^b	Σ PUFA
۱/۲۶۳±۰/۰۰۵ ^a	۱/۵۷۰±۰/۰۱۷ ^b	۱/۵۶۳±۰/۰۴۶ ^b	۱/۶۶۳±۰/۰۱۵ ^c	Σ n3/ Σ n6
۰/۷۸۳±۰/۰۰۵ ^c	۰/۶۳۰±۰/۰۱۰ ^b	۰/۶۳۰±۰/۰۱۷ ^b	۰/۵۹۶±۰/۰۰۵ ^a	Σ n6/ Σ n3
۱/۶۹۰±۰/۲۰۶ ^b	۰/۷۵۶±۰/۱۵۱ ^a	۱/۳۹۰±۰/۱۹۲ ^b	۱/۵۹۶±۰/۱۳۰ ^b	DHA/EPA
۱/۰۲۳±۰/۰۰۵ ^c	۰/۹۱۳±۰/۰۰۵ ^b	۰/۹۰۰±۰/۰۰۰ ^a	۰/۹۰۳±۰/۰۰۵ ^a	PUFA/SFA

Σ SFA: مجموع اسیدهای چرب اشباع؛ Σ MUFA: مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه؛ Σ n-6: مجموع اسیدهای چرب امگا ۶؛ Σ n-3: مجموع اسیدهای چرب امگا ۳؛ Σ PUFA: مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه؛ Σ n3/ Σ n6: نسبت اسیدهای چرب امگا ۳ به ۶؛ Σ n6/ Σ n3: نسبت اسیدهای چرب امگا ۶ به ۳؛

DHA/EPA: نسبت اسید دوکوزا هگزانوئیک به اسید ایکوزاپنتانوئیک؛ PUFA/SFA: نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه به اسیدهای چرب اشباع.
در هر ردیف حروف غیرمشابه نشان دهنده معنی دار بودن اختلاف بین تیمارها است ($P < 0.05$).

نسبت اسیدهای چرب امگا ۶ به ۳ و نسبت اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه به اسیدهای چرب اشباع در تیمار روی به طور معنی داری بیشتر از شاهد و دیگر تیمارها بود (جدول ۲). نسبت مجموع اسیدهای چرب امگا ۳ به امگا ۶ ($\Sigma n3/\Sigma n6$) در تمام تیمارها نسبت به تیمار شاهد به طور معنی داری کمتر بود (جدول ۲).

بحث

نتایج مطالعه حاضر و یافته‌های Cloez و همکاران (۱۹۸۷) نشان داد که غلظت‌های مختلف عناصر ریزمغذی باعث تغییر در مقدار چربی ریزجلبک‌ها شد. فقدان یا عدم دسترسی کافی به عناصر غذایی نیتروژن و فسفر باعث تغییر سوخت و ساز چربی که در شکل‌گیری غشا و به عنوان ماده ذخیره‌ای نقش دارد، می‌شود. زیرا در شرایط متابولیکی متفاوت عناصر کمیاب آهن، منگنز، کبالت، روی، مس و نیکل ضروری و مورد نیاز برای رشد جلبک است و موجب افزایش میزان چربی کل در جلبک سبز می‌شود (Yang et al., 2015).

مطالعات مختلف نشان دادند که مقدار مناسب عناصر غذایی آهن و روی به طور قابل ملاحظه‌ای موجب افزایش معنی دار مقدار چربی در برخی از جلبک‌ها شد (Liu et al., 2008; Das et al., 2009; Ferreira et al., 2011; Hamed El-Naggar and Sheikh, 2014). در مقابل، مطالعه Sun و Huang (۲۰۱۷) نشان داد که تنها عنصر آهن منجر به افزایش معنی دار تولید چربی در جلبک *Chlorella sorokiniana* شد و روی اثر کمتری بر میزان تولید چربی داشت. به عبارت دیگر مکانیسم اثر عناصر کمیاب بر افزایش چربی در جلبک فرایندی پیچیده است که به عوامل مختلفی مانند اسیدیته، نور، درجه حرارت، ترکیب عناصر کمیاب، نوع جلبک و زی‌توده آن‌ها بستگی دارد (Das et al., 2009).

نتایج این بررسی بر خلاف یافته‌های Szabolcs و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که تیمار با ریزمغذی آهن نسبت به تیمارهای دیگر تغذیه‌ای باعث افزایش معنی دار درصد چربی شد. با این وجود، در هر دو مطالعه افزایش غلظت آهن باعث بهبود سطح زی‌توده جلبک

رفتن میزان چربی کل نسبت به تیمار شاهد شد که مطابق با یافته‌های Madkour و همکاران (۲۰۱۲) و Wang و همکاران (۲۰۱۰) است. Chen و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که میزان کل اسیدهای چرب غیراشباع، اسید دکوزاپنتانوئیک و اسید ایکوزاپنتانوئیک در جلبک‌های غنی شده با عنصر آهن بیش از محیط‌های عاری از این عنصر بودند. نسبت اسیدهای چرب جلبک‌های تک سلولی در غلظت‌های مختلف ریزمغذی آهن بیانگر تاثیر بر اشباعیت و عدم توانایی در تغییر طول زنجیره کربن اسیدهای چرب است (Sun and Huang, 2017).

افزایش روی در محیط کشت جلبک اسپیرولینا در مقایسه با ریزمغذی‌های دیگر، علاوه بر بالا بردن سطح MUFA، n-6، n-6/n-3، DHA/EPA و نسبت PUFA/SFA و افزایش میزان چربی، ممکن است با ایجاد سمیت باعث کاهش رشد جلبک شود (Rion and Alloway, 2004; Das et al., 2009; Sun and Huang, 2017). عنصر مس در مطالعه حاضر بر خلاف عناصر دیگر کمترین میزان تاثیر را در مقدار و ترکیب انواع اسیدهای چرب در سلول‌های جلبک نشان داد که ناشی از

اسپیرولینا نسبت به شاهد شد. این یافته و نتایج Dou و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که با افزایش غلظت عناصر آهن، روی و EDTA (اتیلن دی آمین تترا استیک اسید) در محیط کشت جلبک وزن خشک در ابتدا روندی نزولی و سپس صعودی را طی کرد تا در غلظت ۶ برابری Fe^{3+} به حداکثر مقدار رسید. در مطالعه‌ای بر جلبک اسپیرولینا مشاهده شد که غلظت ۱۱ میلی‌گرم بر لیتر مس در محیط کشت، رشد جمعیت این جلبک را تا روز یازده به شدت افزایش داد که ناشی از نقش کوآنزیمی این فلز در فرایند فتوسنتز است (Goh et al., 2009; Soeprbowati and Hariyati, 2014; Kilulya et al., 2015). نتایج مطالعه حاضر و یافته‌های Delarocha و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد که ریزمغذی آهن منجر به افزایش اسید پالمیتیک و اسید آلفا لینولنیک و روی باعث افزایش اسیدهای چرب لینولنیک، پالمیتولنیک، اولئیک و استئاریک نسبت به تیمار با عنصر غذایی مس شد.

بیشترین میزان SFA (اسیدهای چرب اشباع) و PUFA (اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه) در ریزجلبک اسپیرولینا تیمار حاوی آهن نشان داد که افزایش غلظت این عنصر غذایی در محیط کشت باعث بالا

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عناصر غذایی کم مصرف آهن و روی نقش تعیین کننده‌ای در میزان کیفیت اسیدهای چرب ضروری داشت که امکان جایگزینی آن‌ها را با دیگر مکمل‌های غذایی فراهم می‌کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود واجب می‌دانند از همکاری دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز در فراهم نمودن امکانات و تجهیزات مورد نیاز نهایت قدردانی و تشکر را بنمایند.

نقش اصلی آن در فرایند تنفس است (Munoz and Guieysse, 2006).

با توجه به جذب بالای آهن در جلبک اسپیرولینا و مصرف آن توسط انسان، امکان تولید داروهای ارگانیک در درمان بیماری‌های کم‌خونی وجود دارد. از طرف دیگر، اگرچه مقدار اسیدهای چرب امگا ۳ در تیمار ریزمغذی آهن نسبت به تیمارهای دیگر بالاتر بود، اما این عنصر نقش مهمی در افزایش اسید چرب آلفالینولنیک ایفا می‌کند. همچنین فلز روی بیشترین تاثیر را بر EPA، DHA و اسید آراشیدونیک داشت.

منابع

- Anderson R.A. 1996.** Algae. P: 29–64. In: Hunter-Cevera J.C. and Belt A. (Eds.). *Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry*. Academic Press Inc., UK.
- Becker E.W. 1994.** *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press, UK. 293P.
- Belay A., Kato T. and Ota Y. 1996.** *Spirulina (Arthrospira)*: Potential application as an animal feed supplement. *Journal of Applied Phycology*, 8: 303–311.
- Belay A., Ota Y., Miyakawa K. and Shimamatsu H. 1993.** Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. *Journal of Applied Phycology*, 5: 235–241.
- Boyer G.L. and Brand L.E. 1998.** Trace elements and harmful algal blooms. P: 489–508. In: Anderson D.M., Cembella A.D. and Hallegraeff G.M. (Eds.). *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer, Germany.
- Chen X., Baines S.B. and Fisher N.S. 2011.** Can copepods be limited by the iron content of their food. *Limnology and Oceanography*, 56: 451–460.
- Chisti Y. 2007.** Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25: 294–306.
- Cloez I., Dumont O., Piciotti M. and Bourre J.M. 1987.** Alterations of lipid synthesis in the normal and dysmyelinating trembler mouse sciatic nerve by heavy metals (Hg, Pb, Mn, Cu, Ni). *Toxicology*, 46: 65–71.
- Das B.K., Roy A., Koschorreck M. and Mandal S.M. 2009.** Occurrence and role of algae and fungi in acid mine drainage environment with special reference to metals and sulfate immobilisation. *Water Research*, 43: 883–894.
- Delarocha C.A., Hutchins D.A., Berzezinski M. and Zhang Y. 2000.** Effects of iron and zinc deficiency on elemental composition and silica production by diatoms. *Marine Ecology Progress Series*, 195: 71–79.
- Dou X., Lu X., Lu M., Yu L., Xue R. and Ji J. 2013.** The effects of trace elements on the lipid productivity and fatty acid composition of *Nannochloropsis oculata*. *Journal of Renewable Energy Volume*, 2013: 1–6 (671545).
- Eriksen N.T. 2008.** Production of phycocyanin-a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80: 1–14.

- Ferreira L.S., Rodrigues M.S., De Carvalho J.C.M. and Lodi A. 2011.** Adsorption of Ni²⁺ Zn²⁺ and Pb²⁺ onto dry biomass of *Arthrospira (Spirulina) platensis* and *Chlorella vulgaris*. I. Single metal systems. Chemical Engineering Journal, 173: 326–333.
- Firestone D. 1998.** Official methods and recommended practices of the American oil chemists society. American Oil Chemists Society, USA. P: 3–38.
- Fisher N.S. and Schwarzenbach R.P. 1978.** Fatty acid dynamics in *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae): Implications for physiological ecology. Journal of Phycology, 14: 143–150.
- Folch J.M. and Lees Sloane-Stanley G.H. 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226: 497–509.
- Goh L.P., Loh S.P., Fatimah M.Y. and Perumal K. 2009.** Bioaccessibility of carotenoids and tocopherols in marine microalgae, *Nannochloropsis* sp. and *Chaetoceros* sp. Malaysian Journal of Nutrition, 15(1): 77–86.
- Habib M.A.B., Parvin M., Huntington T.C. and Hasan M.R. 2008.** A Review on Culture, Production and Use of *Spirulina* as Food for Humans and Feeds for Domestic Animals and Fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular. No. 1034. FAO, Rome. 33P.
- Hamed El-Naggar A. and Sheikh H.M. 2014.** Response of the green microalga *Chlorella vulgaris* to the oxidative stress caused by some heavy metals. Life Science Journal, 11(10): 1349–1357.
- Henrikson R. 1994.** *Spirulina* microalgae. Superfood of the future. Barcelona, Spain. 222P.
- Huang G.H., Chen F., Wei D., Zhang X.W. and Chen G. 2010.** Biodiesel production by microalgal biotechnology. Applied Energy, 87: 38–46.
- Jonasdottir S.H. 1994.** Effects of food quality on the reproductive success of *Acartia tonsa* and *Acartia hudsonica*: Laboratory observations. Marine Biology, 121: 67–81.
- Kilulya K.F., Mamba B.B. and Msagati T.A.M. 2015.** Extraction procedures and GCxGC-TOFMS determination of fatty acids (FAs) in cyanobacteria cultures and the effect of growth media iron concentration variation on cellular FAs composition. Journal of Environmental and Analytical Toxicology, S7: 1–6 (S7-009).
- Klein Breteler W.C.M., Schogt N. and Rampen S. 2005.** Effect of diatom nutrient limitation on copepod development: Role of

- essential lipids. *Marine Ecology Progress Series*, 291: 125–133.
- Liu Z.Y., Wang G.C. and Zhou B.C. 2008.** Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 99(11): 4717–4722.
- Lovley D.R. 2000.** *Environmental Microbe-Metal Interactions*. ASM Press, USA. 408P.
- Madkour F.F., Kamil A.E. and Nasr H.S. 2012.** Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38: 51–57.
- Mortensen S.H., Borsheim K.Y., Rainuzzo J.R. and Knutsen G. 1988.** Fatty acid and elemental composition of the marine diatom *Chaetoceros gracilis* Schutt. Effects of silicate deprivation, temperature and light intensity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 122: 173–185.
- Mosulishvili L.M., Kirkesali E.I., Belokobylsky A.I., Khizanashvili A.I., Frontasyeva M.V. and Pavlov S.S. 2002.** Experimental substantiation of the possibility of developing selenium and iodine-containing pharmaceuticals based on blue-green algae *Spirulina platensis*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30: 87–97.
- Munoz R. and Guieysse B. 2006.** Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research*, 40: 2700–2815.
- OECD 2011.** Guidelines for testing of chemicals proposal for updating guideline 201. *Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test*. OCED, France. 21P.
- Petkov G. and Garcia G. 2007.** Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*? *Biochemical Systematics and Ecology Journal*, 35: 281–285.
- Renaud S.M., Parry D.L., Luong-Van T., Kuo C., Padovan A. and 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.
- Rion B. and Alloway J. 2004.** Fundamental aspects of zinc in soils and plants. *International Zinc Association*, 23: 1–128.
- Romera E., Gonzales F., Ballester A., Blazquez M.L. and Munoz J.A. 2007.** Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae. *Bioresource Technology*, 98: 3344–3353.
- Sanchez M., Bernal-Castillo J., Roza C. and Rodriguez I. 2003.**

- Spirulina (Arthrospira)*: An edible microorganism: A review. University Scientiarum Revista de la Facultad de Ciencias Pontificia Universidad Javeriana, 8(1): 7–24.
- Shifrin N.S. and Chisholm S.W. 1981.** Phytoplankton lipids: Interspecific differences and effects of nitrate, silicate, and light-dark cycles. Journal of Phycology, 17: 374–384.
- Soeprbowati T.R. and Hariyati R. 2014.** Phycoremediation of Pb⁺², Cd⁺², Cu⁺², and Cr⁺³ by *Spirulina platensis* (Gomont) Geitler. American Journal of BioScience, 2(4): 165–170.
- Sun Y. and Huang Y. 2017.** Effect of trace elements on biomass, lipid productivity and fatty acid composition in *Chlorella sorokiniana*. Brazilian Journal of Botany. 40: 871–881.
- Szabolcs M., Kiss A., Virag D. and Forgo P. 2013.** Comparative studies on accumulation of selected microelements by *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* with the prospects of functional food development. Journal of Chemical Engineering and Process Technology, 4(7): 1–6.
- Vaishampayan A., Sinha R.P., Hader D.P., Dey T. and Gupta A.K. 2001.** Cyanobacterial biofertilizers in rice agriculture. The Botanical Review, 67: 453–516.
- Vonshak A. 1997.** *Spirulina platensis (Arthrospira)*, Physiology, Cell Biology and Biotechnology. Taylor and Francis Ltd, London. 233P.
- Wang Z., Chen S. and Cao X. 2010.** Micro-nutrients effects on algae colony: Growth rate and biomass response to various micro-nutrients and competitive inhibitions among multi-microelements. Symposium of 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, China. P: 1–8.
- Yang J., Cao J., Xing G. and Yuan H. 2015.** Lipid production combined with biosorption and bioaccumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by oleaginous microalgae *Chlorella minutissima* UTEX2341. Bioresource Technology, 175: 537–544.
- Zarrouk C. 1966.** Contribution to the study of a cyanobacterium: Influence of various physical and chemical factors on growth and photosynthesis of *Spirulina maxima* (Setchell and Gardner) Geitler. PhD Thesis, University of Paris, France. 523P.
- Zhi-Yong L., Si-Yuang G. and Lin L. 2003.** Bioeffects of selenite on growth of *Spirulina platensis* and its biotransformation. Bioresource Technology, 89: 171–176.



Determination of iron, copper and zinc microelement effects on the lipid and fatty acids of microalgae *Spirulina platensis*

Maryam Akbarnezhad^{1*}, Mehdi Shamsaie Mehrjan², Abolghasem Kamali³,
Mehran Javaheri Baboli⁴

Received: September 2018

Accepted: February 2019

Abstract

The effects of Iron (Fe^{+2}), copper (Cu^{+2}) and zinc (Zn^{+2}) trace elements on lipid and fatty acids of microalgae *Spirulina platensis* were investigated under laboratory conditions. The specimen cultured in Zarrouk media with 4 groups including control and 3 different concentrations of iron, zinc and copper trace elements with the volume of 10 times compare to control. Maximum and minimum of lipid contents were measured in iron and zinc treatments with 5.28 and 1.47% dry weight, respectively. The major group of fatty acids were $\text{C}_{16:00}$, $\text{C}_{18:00}$, $\text{C}_{16:1n7}$, $\text{C}_{18:1n9}$, $\text{C}_{18:2n6}$ and $\text{C}_{18:3n3}$. Maximum and minimum saturated fatty acids (SFA) were measured in iron and zinc treatments with 43.50 and 37.54 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{dw}^{-1}$, respectively. The highest value of mono and poly unsaturated fatty acids (MUFA and PUFA) were determined in zinc and iron treatments (53.19 and 39/51 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{dw}^{-1}$), respectively, compared with other treatments. In conclusion, zinc treatment increased the contents of EPA, DHA, MUFA and omega 6 as compared to other treatments and the highest amount of PUFA was obtained in iron treatment.

Key words: *Spirulina platensis*, Microelement, Total Lipid, Fatty Acids.

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

2- Associate Professor in Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran..

3- Professor in Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

4- Associate Professor in Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

*Corresponding Author: maryam.a0707@yahoo.com

