



Experimental Study of the Effect of Red and Blue Illumination on Growth Rate and Lipid Accumulation in Continuous Culture of Microalgae and Cyanobacteria

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Mohammadi A.¹ BSc,
Abedini H.*¹ PhD

How to cite this article

Mohammadi A, Abedini H. Experimental Study of the Effect of Red and Blue Illumination on Growth Rate and Lipid Accumulation in Continuous Culture of Microalgae and Cyanobacteria. Modares Journal of Biotechnology. 2020;11(2):193-199.

¹Process Design Department, School of Chemical, Gas & Petroleum Engineering, Iran University of Science & Technology, Tehran, Iran

*Correspondence

Address: Iran University of Science & Technology, Daneshgah Avenue, Hengam Street, Resalat Square, Tehran, Iran, Postal code: 1684613114
Phone: +98 (21) 77240540
Fax: +98 (21) 77240495
abedini@iust.ac.ir

Article History

Received: May 21, 2019
Accepted: March 27, 2020
ePublished: June 10, 2020

ABSTRACT

In the present study, the effect of red and blue illumination on the continuous culture of *Synechocystis* sp. and *Chlorella sorokiniana* was studied. Comparison of blue and red lights in the cyanobacteria, *Synechocystis* sp. PCC6803, showed that this species has grown properly under red light illumination, but it has grown very slow under blue light exposure. In spite of a significant difference in growth rate, the lipid content and the fatty acid composition of *Synechocystis* sp. were approximately the same for red and blue light illumination. For microalgae, *Chlorella sorokiniana*, the blue light resulted to slightly higher growth rate than the red light. The C18:3 unsaturated fatty acid content was significantly higher for red light illumination compared to blue light illumination. Overall, considering the lower energy requirement for illumination of red, this light is more efficient than blue light for cultivation of *Chlorella sorokiniana*.

Keywords Microalgae; Red and Blue Light; Growth Rate; Unsaturated Fatty Acids

CITATION LINKS

[1] Spirulina, a new way to remove greenhouse gases in the arid and semiarid climate of Iran [2] Effect of various carbon sources on biomass and lipid production of *Chlorella vulgaris* during nutrient sufficient and nitrogen starvation conditions [3] Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production [4] Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation [5] Effects of various LED light wavelengths and light intensity supply strategies on synthetic high-strength wastewater purification by *Chlorella vulgaris* [6] Effect of various colors of light-emitting diodes (LEDs) on the biomass composition of *Arthrospira platensis* cultivated in semi-continuous mode [7] A cost analysis of microalgal biomass and biodiesel production in open raceways treating municipal wastewater and under optimum light wavelength [8] Light-activated heterotrophic growth of the cyanobacterium *Synechocystis* sp [9] Characterization of a model cyanobacterium *Synechocystis* sp [10] The renaissance of continuous culture in the post-genomics age [11] Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths [12] Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light [13] Effect of monochromatic illumination on lipid accumulation of *Nannochloropsis gaditana* under continuous cultivation [14] Wavelength specificity of growth, photosynthesis, and hydrocarbon production in the oil-producing green alga *Botryococcus braunii* [15] Involvement of cyanobacterial phytochromes in growth under different light qualities and quantities [16] Increasing the photoautotrophic growth rate of *Synechocystis* sp. PCC 6803 by identifying the limitations of its cultivation [17] Growth, stoichiometry and cell size; Temperature and nutrient responses in haptophytes [18] A rapid method of total lipid extraction and purification [19] Effect of photoinhibition on algal photosynthesis: A dynamic model [20] The effect of growth phase on the surface properties of three oleaginous microalgae (*Botryococcus* sp. FACGB-762, *Chlorella* sp. XJ-445 and *Desmodesmus bijugatus* XJ-231) [21] The effect of nitrogen depletion on the cell size, shape, density and gravitational settling of *Nannochloropsis salina*, *Chlorella* sp

بررسی تجربی تاثیر نوردهی قرمز و آبی روی سرعت رشد و میزان لیپید در کشت پیوسته میکروجلبک و سیانوباکتری

امیرحسین محمدی BSc

گروه طراحی فرآیند، دانشکده مهندسی شیمی، نفت و گاز، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران، ایران

حامد عابدینی PhD

گروه طراحی فرآیند، دانشکده مهندسی شیمی، نفت و گاز، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران، ایران

چکیده

در مطالعه حاضر تاثیر نوردهی قرمز و آبی در کشت پیوسته سیانوباکتری سینکوسیستیس و میکروجلبک کلرلا سوروکینیا مورد مطالعه قرار گرفت. مقایسه نورهای آبی و قرمز در گونه سینکوسیستیس نشان داد که این گونه با استفاده از نور قرمز رشد مناسبی داشته است ولی با استفاده از نور آبی رشد بسیار کندی از خود نشان می‌دهد. با وجود تفاوت چشمگیر در سرعت رشد، میزان لیپید و ترکیب درصد اسید چرب با استفاده از نور قرمز و آبی در گونه سینکوسیستیس تقریباً یکسان بود. در مقابل سرعت رشد گونه کلرلا سوروکینیا با استفاده از نور آبی کمی بیشتر از نور قرمز بود. میزان اسید چرب غیراشباع C18:3 به‌طور چشمگیری در نوردهی قرمز بیشتر از آبی بود. در مجموع با در نظر گرفتن کمترین میزان مصرف انرژی برای تامین نور قرمز، این نور کارآمدی بیشتری نسبت به نور آبی در کشت میکروجلبک کلرلا سوروکینیا دارد.

کلیدواژه‌ها: میکروجلبک، نور قرمز و آبی، سرعت رشد، اسید چرب غیراشباع

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۰۸

*نویسنده مسئول: abedini@iust.ac.ir

مقدمه

میکروجلبک می‌تواند به‌عنوان یک منبع انرژی تجدیدپذیر و یک فناوری زیست‌محیطی برای کاهش گازهای گلخانه‌ای و تصفیه پساب و غیره مورد استفاده قرار گیرد[1]. نور به‌عنوان نیروی محرکه اصلی مهم‌ترین پارامتری است که روی متابولیسم میکروجلبک تاثیر می‌گذارد. در کنار دما، دی‌اکسیدکربن، pH و مواد مغذی، نور از پارامترهایی است که باید برای رسیدن به بیشینه محصول مورد نظر، بهینه‌سازی شود[2]. از آنجایی که میکروجلبک میکروارگانیسمی است که فتوسنتز انجام می‌دهد، مقدار و کیفیت نور تاثیر زیادی روی سرعت رشد آن دارد. به‌طور کلی میکروجلبک به نور با طول موج بین ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر برای رشد نیاز دارد[3]. با این حال، میکروجلبک برای عمل فتوسنتز از تمامی نور در این بازه استفاده نمی‌کند و طول موج بهینه برای بیشترین بازده فتوسنتز به‌شدت به طبیعت شیمیایی ذرات تشکیل‌دهنده میکروجلبک وابسته برای هر گونه متفاوت است[4]. از طرف دیگر مصرف انرژی برای تابش نور مصنوعی در طول موج‌های کوتاه‌تر، بیشتر است[5]. در نتیجه

باید نور با طول موج بهینه برای کشت مورد استفاده قرار گیرد تا فرآیند کشت از نظر مصرف انرژی بازده قابل قبولی داشته باشد[6]. تاکنون مطالعات مختلفی در مورد کشت میکروجلبک و سیانوباکتری با استفاده از نور در طول موج مشخص انجام شده است[7-13].

یان و همکاران[5] از LEDهای مختلف شامل نور سفید، آبی، قرمز، زرد، سبز و ارغوانی برای کشت ریزجلبک کلرلا و لگاریس استفاده کردند و نشان دادند نور قرمز بیشترین بازدهی در حذف نیترات را از خود نشان می‌دهد. بابا و همکاران[14] نشان دادند که نور قرمز، کارآمدترین طیف برای رشد بیشینه و تولید هیدروکربن در ریزجلبک بوتریکوکاس براونی است. همچنین فلدر و همکاران[15] تاثیر طیف نوری قرمز و آبی را روی رشد گونه سینکوسیستیس مطالعه کردند و نشان دادند طیف نور قرمز عملکردی بسیار بهتر از نور آبی بر رشد این گونه از خود نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که در برخی از این مطالعات رفتاری متناقض گزارش شده است. به‌طور مثال کیم و همکاران[13] نشان دادند که نور قرمز عملکرد بهتری در رشد گونه نانوکروپسیس نسبت به نور آبی از خود نشان می‌دهد، در حالی که در تحقیقی مشابه توسط تئو و همکاران[11]، نور آبی به‌عنوان بهترین طیف برای رشد این گونه معرفی شده است. دلیل این پدیده می‌تواند مربوط به استفاده از کشت ناپیوسته برای بررسی تاثیر رژیم‌های مختلف نوری باشد. کشت ناپیوسته به‌دلیل افزایش چگالی زیست‌توده حین فرآیند کشت و محدود شدن نور جذب‌شده توسط سلول‌ها، الزاماً نتایج صحیحی در مورد تاثیر گذاری هر طول موج بر سرعت رشد را نمی‌دهد. روش دقیق‌تر برای بررسی تاثیر طیف نور استفاده از سیستم کشت پیوسته است که در آن چگالی زیست‌توده در فوتوبیوراکتور حین فرآیند کشت روی مقدار مشخصی قابل تنظیم است و مشکل محدود شدن نور جذب‌شده به مرور زمان وجود ندارد[10].

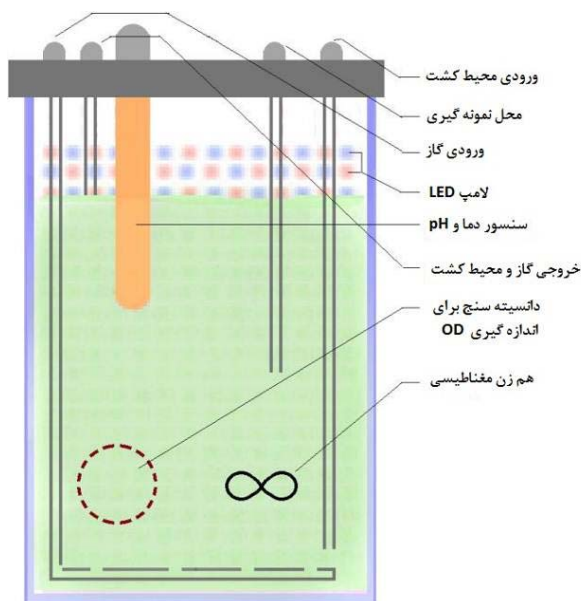
هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر نور قرمز و آبی در سرعت رشد و میزان چربی سیانوباکتری سینکوسیستیس و میکروجلبک سبز کلرلا سوروکینیا است. به‌منظور جلوگیری از اثر محدود شدن نور روی سرعت رشد، از یک سیستم پیوسته توربیدوستات برای کشت استفاده شد. تاثیر شدت نورهای مختلف از نور قرمز و آبی روی سرعت رشد، قطر سلول و میزان لیپید و اسید چرب با یکدیگر مقایسه و مناسب‌ترین طول موج و شدت نور معرفی شد.

مواد و روش‌ها

نوع گونه و محیط کشت

گونه سینکوسیستیس (*Synechocystis* sp. PCC6803) و کلرلا سوروکینیا (*Chlorella sorokiniana* CCAP 211/8K) از بانک سلولی گروه فیزیولوژی میکروبی دانشگاه آمستردام هلند تهیه شدند. علی‌رغم اینکه هر دو گونه فتوسنتزکننده هستند، گونه سینکوسیستیس یک سیانوباکتری از نوع سلول‌های پروکاریوتی

در رابطه بالا OD، جذب نوری و t_1 و t_2 به ترتیب زمان شروع و زمان خاتمه فاز رشد هستند. سرعت رشد متوسط از میانگین سرعت رشد در کلیه سیکل‌ها محاسبه شد.



شکل ۱) شماتیک فتوبیوراکتور به کاررفته برای کشت توربیدوستات

اندازه‌گیری قطر سلول

برای اندازه‌گیری قطر ذرات از دستگاه شمارنده سلول مدل TCC (NanoEnTek؛ کره جنوبی) استفاده شد [17]. برای اندازه‌گیری، ۲۰ میکرولیتر از نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر مایع مخصوص دستگاه مخلوط شد و سپس توسط دستگاه مورد آنالیز قرار گرفت.

اندازه‌گیری شدت نور

شدت نور توسط دستگاه فتومتر مدل LI-250 (Biosciences؛ ایالات متحده) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری پروب دستگاه روی سطح بیرونی فتوبیوراکتور قرار داده و شدت نور بر حسب میکرومول بر مترمربع بر ثانیه از روی مانیتور دستگاه قرائت شد.

اندازه‌گیری غلظت زیست‌توده

برای اندازه‌گیری غلظت زیست‌توده، ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت از فتوبیوراکتور خارج و توسط دستگاه فیلتراسیون تحت خلا و با استفاده از کاغذ صافی با اندازه ۲۲/۰ میکرومتر فیلتر شد. سپس کاغذ صافی در دمای ۹۰°C به‌طور کامل خشک و با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد. غلظت زیست‌توده با تقسیم جرم زیست‌توده بر حجم کشت محاسبه شده است.

اندازه‌گیری لیپید خام و اسید چرب

برای اندازه‌گیری میزان لیپید خام از روش بلاگ و دیر استفاده شد [18]. در این روش یک نمونه ۵۰ میلی‌لیتری از کشت جدا و سپس با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد تا زیست‌توده به‌طور کامل از محیط کشت جدا شود. سپس بعد از تخلیه کامل محیط کشت، ۶ میلی‌لیتر مخلوط کلروفرم/متانول

فاقد هسته و گونه کلرلا سوروکینیا یک میکروجلبک از نوع سلول‌های یوکاریوتی دارای هسته است. علاوه بر این، رنگدانه قالب در سینکوسیتیس از نوع فایکوبیلیزوم و در گونه کلرلا سوروکینیا کلروفیل نوع b است. این گونه‌ها در محیط کشت BG-11 اصلاح‌شده که مشخصات آن در مرجع آمده است، کشت داده شدند [16]. گونه‌های مورد بررسی در ابتدا در ارلن‌مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری در یک انکوباتور شیکردار، با سرعت ۱۲۰ دور بر دقیقه، دمای ۳۰°C و تحت تابش نور سفید با شدت ۶۰-۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه کشت و بعد از رسیدن به فاز رشد ثابت به فوتوبیوراکتور منتقل شدند.

سیستم کشت پیوسته

یک فتوبیوراکتور صفحه‌ای با حجم کاری ۹۶۰ میلی‌لیتر برای کشت میکروجلبک استفاده شد. شماتیک این فتوبیوراکتور در شکل ۱ نمایش داده شده است. دمای محیط کشت با استفاده از یک گرم‌کن الکتریکی روی ۳۰°C ثابت نگه داشته شد. فتوبیوراکتور از یک سمت به وسیله پنل LED با قابلیت ایجاد نورهای قرمز با طول موج بیشینه ۶۳۵ نانومتر و آبی با طول موج بیشینه ۴۴۵ نانومتر نوردهی شد. از یک چگالی‌سنج در داخل فتوبیوراکتور به‌منظور اندازه‌گیری پیوسته جذب نوری در طول موج ۷۲۰ نانومتر استفاده شد. دما و pH محیط کشت به‌صورت پیوسته به وسیله سنسور دما/pH اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری توسط تمامی سنسورها در یک فاصله زمانی یکسان انجام شد. جریان گاز نیتروژن با دبی ۱۵۰ میلی‌لیتر بر دقیقه حاوی ۵٪ دی‌اکسیدکربن وارد فتوبیوراکتور شد. از یک همزن مغناطیسی برای مخلوط کردن محتویات فتوبیوراکتور استفاده شد. با توجه به اختلاط مناسب توسط همزن مغناطیسی و هوادهی، محیط کشت داخل فتوبیوراکتور به‌صورت کاملاً همگن در نظر گرفته شد. از یک پمپ پرستالتیک مجهز به کنترلر روشن/خاموش برای انتقال محیط کشت به فتوبیوراکتور استفاده شد. با توجه به تحت‌فشاربودن فتوبیوراکتور توسط گاز نیتروژن، محتویات کشت با شدت جریان برابر معادل شدت جریان ورودی محیط کشت، از پورت خروجی مشخص‌شده در شکل ۱ خارج می‌شود. در فاز رشد پمپ غیرفعال بود تا غلظت زیست‌توده به حد بالایی برسد. بعد از این مرحله سیستم وارد فاز رقیق‌سازی و پمپ فعال می‌شود تا غلظت زیست‌توده به حد پایینی کاهش یابد. بعد از آن مجدد پمپ غیرفعال و سیستم وارد فاز رشد می‌شود و این فرآیند به همین ترتیب تکرار می‌شود تا غلظت زیست‌توده همواره بین حد بالایی و پایینی قرار گیرد. در تمامی تست‌ها، حد بالایی و حد پایینی به ترتیب ۳۹۰٪ و ۴۰٪ در نظر گرفته شد. سرعت رشد در هر سیکل با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد:

رابطه ۱

$$\mu = \frac{\ln(OD_{t_2}) - \ln(OD_{t_1})}{t_2 - t_1}$$

اعمال شده به ستون به این ترتیب بود: دمای اولیه 50°C به مدت یک ساعت، سپس افزایش دما تا 180°C با نرخ 15°C بر دقیقه، 230°C با نرخ 7°C بر دقیقه و در نهایت تا 340°C با نرخ 30°C بر دقیقه که در کل زمان اجرای آنالیز ۲۰ دقیقه بوده است. ترکیب درصد اسید چرب طبق رابطه ۳ محاسبه شد:

رابطه ۳

$$\text{ترکیب درصد اسید چرب} = \frac{A}{\Sigma A - A_{IS}} \times 100$$

در رابطه بالا، A سطح پیک اسید چرب مورد نظر، ΣA مجموع سطح زیر پیک‌های مربوط به کلیه اسیدهای چرب، A_{IS} سطح زیر پیک نمونه استاندارد است.

همچنین رابطه ۴ برای محاسبه میزان اسید چرب کل در زیست‌توده استفاده شد:

رابطه ۴

$$\text{درصد اسید چرب کل (بر مبنای زیست‌توده خشک)} = \frac{\Sigma A - A_{IS} \times C_{IS} \times V_{IS}}{A_{IS} \times m} \times 100$$

در رابطه بالا C_{IS} غلظت نمونه استاندارد، V_{IS} حجم نمونه استاندارد و m وزن خشک نمونه زیست‌توده مورد اندازه‌گیری است.

یافته‌ها و بحث

تاثیر نور بر سرعت رشد

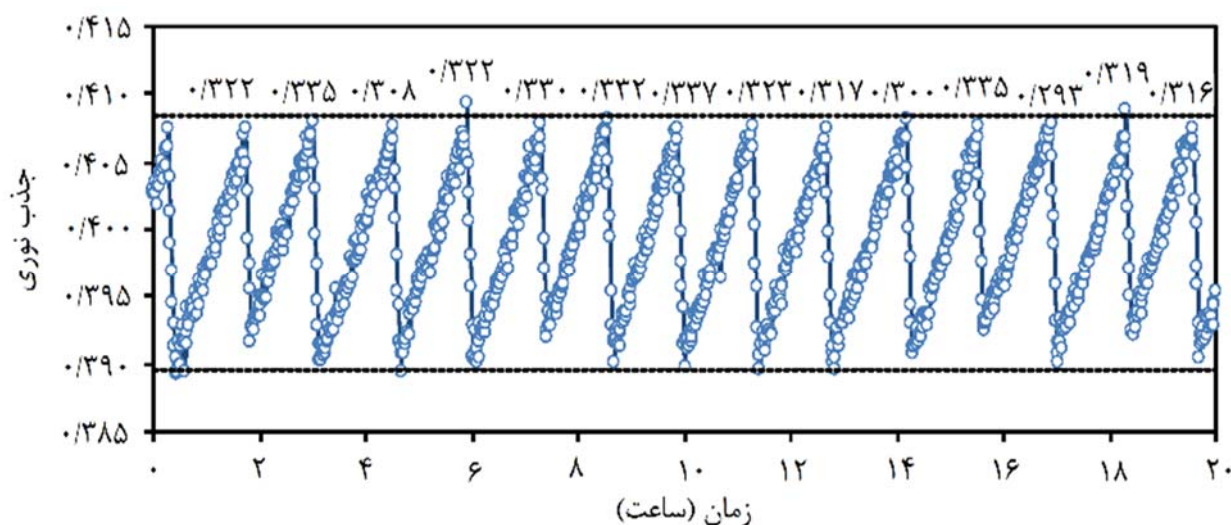
نمودار OD بر حسب زمان برای حالت تابش با نور قرمز با شدت 30 میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و سرعت رشد در هر سیکل در نمودار ۱ نمایش داده شده است. سرعت رشد در هر سیکل تقریباً با یکدیگر برابر است که نشان‌دهنده دقت تجهیز مورد استفاده برای کشت است. متوسط سرعت رشد در این حالت 0.024 ± 0.0037 یک بر ساعت بود.

(۲:۱ حجمی) به زیست‌توده اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه با توان ۸۰ وات و شدت 20 کیلوهرتز تحت تابش امواج فراصوت قرار گرفت. به‌منظور اختلاط کامل زیست‌توده با حلال، نمونه به مدت ۱۰ دقیقه توسط دستگاه همزن گردابی به‌طور کامل مخلوط و سپس با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ و حلال از بقایای زیست‌توده جدا و در ظرف دیگری نگهداری شد. به‌منظور اطمینان از استخراج کامل لیپید مراحل فوق دو مرتبه دیگر روی بقایای زیست‌توده تکرار شد و در نهایت حلال‌ها با یکدیگر مخلوط شدند. سپس مخلوط حلال توسط تبخیرکننده تحت خلاء در دمای 50°C به‌طور کامل خشک‌شده تا لیپید خام به دست آید. میزان لیپید خام از طریق وزن‌سنجی و از طریق رابطه زیر محاسبه شد:

رابطه ۲

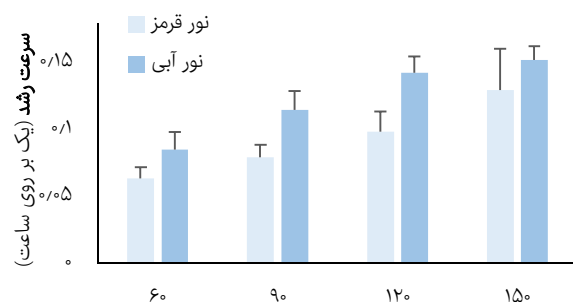
$$100 \times \frac{\text{وزن لیپید خام (گرم)}}{\text{غلظت زیست‌توده (گرم بر لیتر)}} = \text{میزان لیپید خام (بر مبنای زیست‌توده خشک)}$$

اسید چرب موجود در لیپید بعد از تبدیل کامل به متیل استر اسید چرب از طریق آنالیز توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) تعیین شد. به همین منظور ابتدا 100 میکرولیتر از استاندارد هپتادکانوئیک اسید با غلظت 2 گرم بر لیتر به لیپید خام اضافه و سپس نمونه با 2 میلی‌لیتر متانول حاوی 2% پتاسیم‌هیدروکسید مخلوط و در دمای $65-70^{\circ}\text{C}$ به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده شد. سپس 2 میلی‌لیتر متانول حاوی 5% اسید سولفوریک به این مخلوط اضافه و مجدداً در دمای $65-70^{\circ}\text{C}$ به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده شد. متیل استر اسید چرب با اضافه کردن 3 میلی‌لیتر هگزان استخراج و 1 میکرولیتر از آن به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. این دستگاه مجهز به یک طیف‌سنج جرمی (MS) بود و نسبت جداسازی در آن $100:1$ در نظر گرفته شد. برنامه دمایی



نمودار ۱) نمودار جذب نوری بر حسب زمان در سیستم توربیدوستات برای نور قرمز با شدت 30 میکرومول بر مترمربع بر ثانیه؛ اعداد روی نمودار، نشان‌دهنده سرعت رشد در هر سیکل در واحد یک بر ساعت هستند.

افتاده باشد که منجر به کاهش بازدهی فتوسنتزی سلول‌های میکروجلبک به دلیل قرارگرفتن در برابر شدت نور بالا است [19]. سرعت رشد کلرلا سوروکینیانا تحت تابش شدت نورهای متفاوت قرمز و آبی در نمودار ۳ نشان داده شده است. بر خلاف سینکوسیتیس سرعت رشد کلرلا سوروکینیانا تحت تابش نور آبی بیشتر از نور قرمز بود. دلیل این رفتار می‌تواند وجود کلروفیل نوع b در گونه کلرلا سوروکینیانا باشد که در طول موج ۴۳۵ نانومتر جذب بیشتری نسبت به طول موج ۶۴۲ نانومتر دارد. در شدت‌های نور پایین نظیر ۶۰ و ۹۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه اختلاف سرعت رشد با استفاده از نور قرمز و آبی بیشتر است، ولی در شدت نور ۱۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه این اختلاف کمتر بود.



نمودار ۳) سرعت رشد کلرلا سوروکینیانا با استفاده از شدت نورهای مختلف نور قرمز و آبی

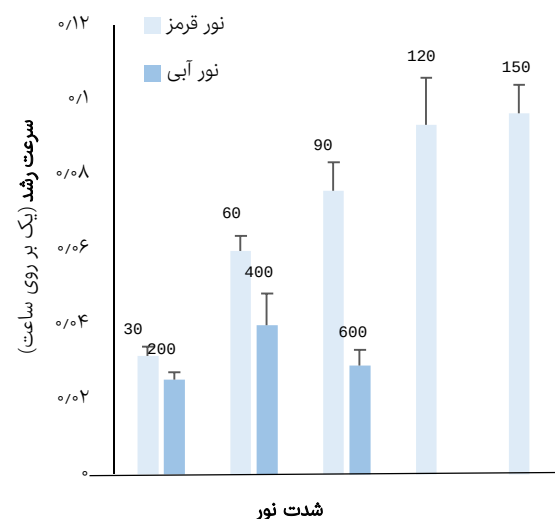
تأثیر نور بر قطر سلول

تغییرات اندازه قطر سلول گونه سینکوسیتیس در شدت‌های مختلف نور قرمز و آبی در نمودار ۴ نمایش داده شده است. نتایج نشان می‌دهند که با افزایش سرعت رشد اندازه سلول افزایش پیدا می‌کند. این پدیده که در مطالعات دیگر هم مشاهده شده است می‌تواند به دلیل وقفه تقسیم سلولی سلول‌های مادر در سرعت رشد بالا باشد [20, 21]. نکته قابل توجه این است که اندازه سلول برای شدت نور ۳۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه از نور قرمز و ۴۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه از نور آبی که حدوداً سرعت رشد یکسانی داشتند برابر یکدیگر است. این نشان‌دهنده این نکته است که در گونه سینکوسیتیس نوع نور تابیده شده تأثیری در اندازه سلول ندارد و فقط سرعت رشد اندازه سلول را تعیین می‌کند. تأثیر شدت نورهای متفاوت آبی و قرمز روی اندازه سلول‌های کلرلا سوروکینیانا در نمودار ۵ نمایش داده شده است. همانند گونه سینکوسیتیس، قطر سلول فارغ از تأثیر نور آبی و قرمز با افزایش شدت تابش افزایش یافته است.

تأثیر نور بر میزان لیپید و اسید چرب

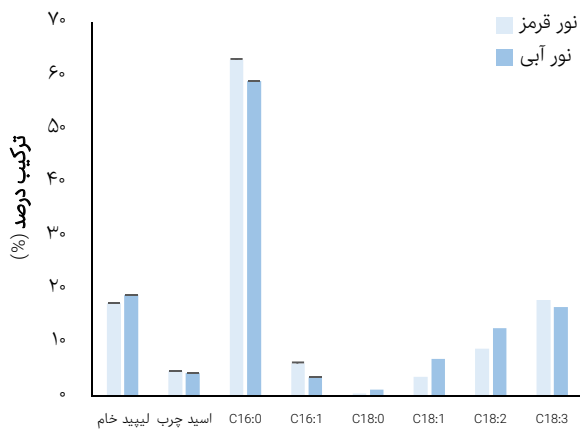
مقدار لیپید خام و اسید چرب و پروفایل اسید چرب موجود در سینکوسیتیس با نور آبی و قرمز در نمودار ۶ نشان داده شده است. به‌منظور یکسان‌بودن سرعت رشد، اندازه‌گیری میزان لیپید برای نور قرمز در شدت تابش ۳۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و برای نور آبی در شدت تابش ۴۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه

سرعت رشد سینکوسیتیس با استفاده از نور قرمز با شدت نورهای ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه در نمودار ۲ نمایش داده شده است. نتایج نشان می‌دهند که با افزایش شدت نور سرعت رشد افزایش پیدا می‌کند، اما با افزایش شدت نور از ۱۲۰ به ۱۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه، سرعت رشد به‌صورت چشمگیری افزایش پیدا نمی‌کند. بنابراین شدت نور قرمز بهینه برای کشت سینکوسیتیس، ۱۲۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه است. با استفاده از نور آبی با شدت ۳۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه مشاهده شد که سینکوسیتیس سرعت رشد بسیار کندی دارد. این پدیده که پیش‌تر نیز توسط فلدر و همکاران [15] گزارش شده بود، به دلیل مقاومت گیرنده نوری Cph2 در برابر نور آبی است. فلدر و همکاران نشان دادند که با حذف ژن مربوط به گیرنده نوری Cph2 از گونه سینکوسیتیس، سرعت رشد با تابش نور آبی به‌شدت افزایش می‌یابد. با توجه به سرعت رشد پایین با استفاده از نور آبی، از سه شدت نور ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه استفاده شد که نتایج مربوطه در نمودار ۲ نمایش داده شده است.

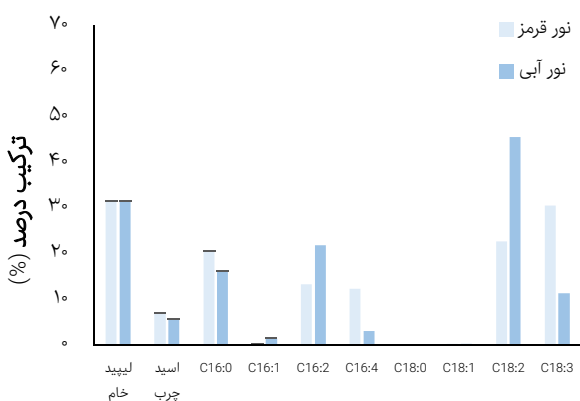


نمودار ۲) سرعت رشد سینکوسیتیس با استفاده از شدت نورهای مختلف از نور قرمز و آبی؛ اعداد روی نمودار شدت نور بر واحد میکرومول بر مترمربع بر ثانیه را نشان می‌دهند.

براساس نتایج حاصل سرعت رشد در حالت تابش توسط نور آبی با شدت نور ۲۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه برابر 0.254 ± 0.019 یک بر ساعت بوده، در صورتی که سرعت رشد با استفاده از ۳۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه نور قرمز برابر 0.317 ± 0.024 یک بر ساعت بوده است که ناکارآمد بودن نور آبی برای رشد سینکوسیتیس را نشان می‌دهد. برای شدت نور آبی ۴۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه سرعت رشد به 0.399 ± 0.084 یک بر ساعت افزایش یافت، ولی با افزایش بیشتر شدت نور به ۶۰۰ سرعت رشد به 0.42 ± 0.029 یک بر ساعت کاهش پیدا کرد. این پدیده می‌تواند به دلیل مهار نوری اتفاق



نمودار ۶) میزان لیپید خام، اسید چرب و همچنین ترکیب درصد اسید چرب در اثر تابش با نور قرمز و آبی در گونه سینکوسیستیس

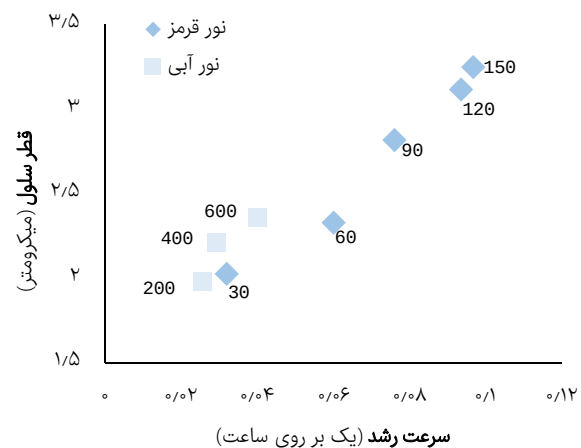


نمودار ۷) مقدار چربی خام، اسید چرب و پروفایل اسید چرب کلرلا سوروکینیا که با نور آبی و قرمز روشن شده است

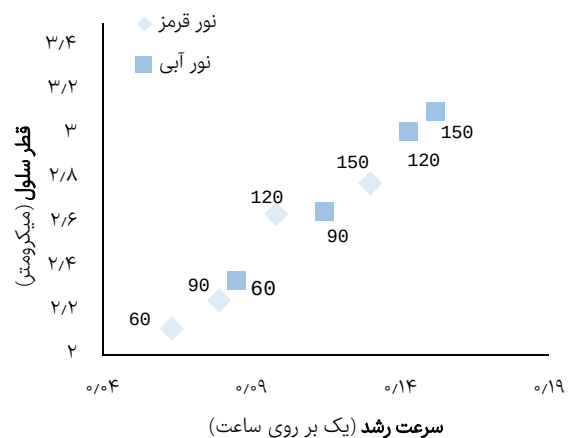
نتیجه گیری

میکروجلبک منبع بالقوه‌ای برای تولید محصولات متنوع زیستی نظیر آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد ضد میکروبی، انواع پروتئین‌ها و لیپیدها است. تعیین شرایط بهینه برای کشت میکروجلبک، علاوه بر کاهش هزینه‌های فرآیند، می‌تواند منجر به تولید بیشینه محصول مورد نظر شود. در این مطالعه تاثیر نور قرمز و آبی روی سرعت رشد، قطر سلول و میزان لیپید تولیدشده روی دو گونه سینکوسیستیس و کلرلا سوروکینیا بررسی شد. به منظور دستیابی به چگالی سلولی یکسان و جلوگیری از تاثیر ممانعت نوری بر نتایج، از کشت پیوسته توریدواستات استفاده شد. نتایج نشان داد که سرعت رشد گونه سینکوسیستیس تحت تابش نور قرمز بسیار بیشتر از نور آبی است. با این وجود قطر سلول سینکوسیستیس، مقدار چربی و پروفایل اسید چرب تحت تابش نور قرمز و آبی تقریباً یکسان بود. در کلرلا سوروکینیا سرعت رشد تحت تابش نور آبی کمی بیشتر از نور قرمز بود. همچنین محتوای لیپید خام در هر دو حالت تقریباً یکسان، اما محتوای اسید چرب و پروفایل اسید چرب تحت تابش نور قرمز و آبی کاملاً متفاوت بود. با توجه به نتایج مربوط به قطر سلول، تنها عامل موثر بر

انجام شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود تغییر رنگ تاثیر چندانی روی مقدار چربی و اسید چرب و پروفایل اسید چرب موجود در کلرلا سوروکینیا با نور آبی و قرمز در نمودار ۷ نشان داده شده است. شدت تابش برای اندازه‌گیری میزان لیپید برای هر دو نور قرمز و آبی ۱۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه بوده است. همانند گونه سینکوسیستیس، میزان لیپید خام با استفاده از نور قرمز و آبی تغییر چندانی نداشته است، ولی میزان و ترکیب درصد اسید چرب بسیار متأثر از این نورها بوده است. نتایج نشان می‌دهند که میزان اسید چرب با استفاده از نورهای قرمز و آبی به ترتیب ۶/۸۹٪ و ۵/۶٪ بوده است. همچنین میزان اسید چرب C18:3 که یکی از مهم‌ترین انواع اسیدهای چرب است، با تغییر نور آبی به قرمز به‌طور چشمگیری افزایش یافته است. با توجه به نزدیک‌بودن سرعت رشد نور آبی و قرمز در شدت‌های بالای تابش، و همچنین با در نظر گرفتن میزان مصرف انرژی کمتر برای تامین نور قرمز می‌توان نتیجه گرفت که نور قرمز کارآمدی بیشتری در تولید کشت ریزجلبک کلرلا سوروکینیا دارد.



نمودار ۴) قطر سلول سینکوسیستیس بر حسب سرعت رشد؛ اعداد روی نمودار، شدت نور بر واحد میکرومول بر مترمربع بر ثانیه را نشان می‌دهند.



نمودار ۵) قطر سلول کلرلا سوروکینیا بر حسب سرعت رشد؛ اعداد روی نمودار، شدت نور بر واحد میکرومول بر مترمربع بر ثانیه را نشان می‌دهند.

heterotrophic growth of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803: A blue-light-requiring process. *J Bacteriol.* 1991;173(9):2761-7.

9- Zavřel T, Sinetova MA, Bůzová D, Literáková P, Červený J. Characterization of a model cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 autotrophic growth in a flat-panel photobioreactor. *Eng Life Sci.* 2015;15(1):122-32.

10- Bull AT. The renaissance of continuous culture in the post-genomics age. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2010;37(10):993-1021.

11- Teo CL, Atta M, Bukhari A, Taisir M, Yusuf AM, Idris A. Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths. *Bioresour Technol.* 2014;162:38-44.

12- Das P, Lei W, Aziz SS, Obbard JP. Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light. *Bioresour Technol.* 2011;102(4):3883-7.

13- Kim CW, Sung MG, Nam K, Moon M, Kwon JH, Yang JW. Effect of monochromatic illumination on lipid accumulation of *Nannochloropsis gaditana* under continuous cultivation. *Bioresour Technol.* 2014;159:30-5.

14- Baba M, Kikuta F, Suzuki I, Watanabe MM, Shiraiwa Y. Wavelength specificity of growth, photosynthesis, and hydrocarbon production in the oil-producing green alga *Botryococcus braunii*. *Bioresour Technol.* 2012;109:266-70.

15- Fledler B, Broc D, Schubert H, Rediger A, Börner T, Wilde A. Involvement of cyanobacterial phytochromes in growth under different light qualities and quantities. *Photochem Photobiol.* 2004;79(6):551-5.

16- Van Alphen P, Abedini Najafabadi H, Branco Dos Santos F, Hellingwerf KJ. Increasing the photoautotrophic growth rate of *Synechocystis* sp. PCC 6803 by identifying the limitations of its cultivation. *Biotechnol J.* 2018;13(8):1700764.

17- Skau LF, Andersen T, Thrane JE, Hessen DO. Growth, stoichiometry and cell size; Temperature and nutrient responses in haptophytes. *PeerJ.* 2017;5:e3743.

18- Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959;37(8):911-7.

19- Han BP, Virtanen M, Koponen J, Straškraba M. Effect of photoinhibition on algal photosynthesis: A dynamic model. *J Plankton Res.* 2000;22(5):865-85.

20- Xia L, Huang R, Li Y, Song Sh. The effect of growth phase on the surface properties of three oleaginous microalgae (*Botryococcus* sp. FACGB-762, *Chlorella* sp. XJ-445 and *Desmodesmus bijugatus* XJ-231). *PLoS One.* 2017;12(10):e0186434.

21- Baroni ÉG, Yap KY, Webley PA, Scales PJ, Martin GJ. The effect of nitrogen depletion on the cell size, shape, density and gravitational settling of *Nannochloropsis salina*, *Chlorella* sp. (marine) and *Haematococcus pluvialis*. *Algal Res.* 2019;39:101454.

اندازه سلول در هر دو گونه تنها سرعت رشد است و رنگ نور تاثیر چندانی روی قطر سلول ندارد.

تشکر و قدردانی: از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران ایران (INSF) به دلیل حمایت مالی از مطالعه حاضر قدردانی و تشکر می‌شود. **تأییدیه اخلاقی:** مطالعه حاضر توسط همه نویسندگان تأیید شده است. همچنین این مطالعه در نشریه دیگری به زبان فارسی، انگلیسی یا زبان دیگری چاپ نشده یا به طور همزمان برای نشریه دیگری ارسال نشده است.

تعارض منافع: هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: امیرحسین محمدی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۶۰٪)، حامد عابدینی (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری (۴۰٪)

منابع مالی: صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران ایران حامی مالی این مطالعه بوده است.

منابع

- 1- Shabani M, Sayadi MH, Rezaei MR. *Spirulina*, a new way to remove greenhouse gases in the arid and semiarid climate of Iran. *Modares J Biotechnol.* 2016;7(1):20-30. [Persian]
- 2- Najafabadi HA, Malekzadeh M, Jalilian F, Vossoughi M, Pazuki G. Effect of various carbon sources on biomass and lipid production of *Chlorella vulgaris* during nutrient sufficient and nitrogen starvation conditions. *Bioresour Technol.* 2015;180:311-7.
- 3- Schulze PS, Barreira LA, Pereira HG, Perales JA, Varela JC. Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production. *Trends Biotechnol.* 2014;32(8):422-30.
- 4- Cheirsilp B, Torpee S. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Bioresour Technol.* 2012;110:510-6.
- 5- Yan Ch, Zhao Y, Zheng Z, Luo X. Effects of various LED light wavelengths and light intensity supply strategies on synthetic high-strength wastewater purification by *Chlorella vulgaris*. *Biodegradation.* 2013;24(5):721-32.
- 6- Markou G. Effect of various colors of light-emitting diodes (LEDs) on the biomass composition of *Arthrospira platensis* cultivated in semi-continuous mode. *Appl Biochem Biotechnol.* 2014;172(5):2758-68.
- 7- Kang Z, Kim BH, Ramanan R, Choi JE, Yang JW, Oh HM, et al. A cost analysis of microalgal biomass and biodiesel production in open raceways treating municipal wastewater and under optimum light wavelength. *J Microbiol Biotechnol.* 2015;25(1):109-18.
- 8- Anderson SL, McIntosh L. Light-activated