استخلاص وتشخيص الدهون الكلية وبعض الحوامض الدهنية من الطحلب الاخضر *Chlorella vulgari* (Chlorophyta)

ISSN 1817 - 2695

[1]انفال نوري [1]مكارم عبدالرزاق [2]داود سلمان علي

[1] قسم علوم الحياة/ كلية التربية

[2]قسم الكيمياء /كلية العلوم /جامعة البصرة

((الاستلام 2010/3/15 ، القبول 2010/9/28))

الخلاصة

تناولت الدراسة تحديد محتوى طحلب *Chlorella vulgaris* من الدهون الكلية واستخلاص وتشخيص بعض المركبات الدهنية المكونة للدهون الموجودة في الطحلب فضلاً عن الحوامض الدهنية . جمعت العينات المائية الحاوية على الطحلب من قناة شط العشار في البصرة إذ تم عزل وتنقية العزلة الطحلبية واكثارها في الوسط الزرعي (Chu -10) . سجل ثابت النمو وكان أعلى قيمة له (K=1.1) واقل زمن لتكاثر الجيل (G=0.28).

بينت النتائج إن محتوى الطحلب من الدهون الكلية بلغت (6.7) % وان المستخلص الدهني للطحلب احتوى على عدد من المركبات الدهنية تمثلت (استرات الكولسترول Cholesterol esters والحوامض الدهنية Free fatty acids والدهون الفوسفاتية Phospholipids) . أوضحت نتائج اختبار طيف الأشعة فوق البنفسجية امتلاك المستخلص الدهني للطحلب حزمة امتصاص واحدة عند الطول الموجي (300) نانوميتر وبامتصاصية مقدارها (1.5) . تم استخلاص وتشخيص الحوامض الدهنية في الطحلب بتقنية كروموتوغرافيا الغاز Gas chromatography (G.C.) ، إذ لوحظ وجود الحامض الدهني غير المشبع الاوليك Oleic بتركيز قدره (18.1) % والحامض الدهني المشبع البالمتيك Palmatic بتركيز (20.3)% .

الكلمات المفتاحية : الطحالب الخضراء ، الدهون ، الحوامض الدهنية .

المقدمة

الطحالب كائنات بسيطة ذاتية التغذية وحيدة الخلية أو متعددة الخلايا وتتراوح أحجامها بين دقيقة جداً لاترى بالعين المجردة (حوالي 1 مايكروميتر) الى كبيرة تصل في أطوالها الى أكثر من (200) م كما في طحلب *Macrocystis* . تتواجد الطحالب في بيئات مختلفة في الهواء والتربة والماء ، وان قسماً منها تعيش ملتصقة على النباتات Epiphtic وعلى الصخور Epilithic وعلى الرمال Epipsamic وعلى الطين Epipelic كما يكثر تواجدها في البيئات المائية بأنواعها العذبة والمويلحة والمالحة وتتحمل الطحالب مدى واسعاً من الظروف البيئية فقسم منها يعيش في البيئات المتجمدة Kryophilic في درجات الحرارة المرتفعة جداً Thermophilic . وفي البراكين والينابيع الحارة [1].

تصنف الطحالب اعتماداً على عدة أسس منها الصفات المظهرية والتركيب الكيميائي لجدار الخلية ونوعية الصبغات المتواجدة التي تتمثل بالكلوروفيلات (A و B و C و D و E) والكاروتينات (α و ß و E) والزانثوفيلات ومنها Myxoxanthin و Taraxanthin و Anthraxanthin والبليبروتينات ومنها Phycocyanine و Phycoerythrin وتعتمد على نوعية المواد الغذائية المخزونة وطبيعتها الكيميائية فهي أما True starch أو Floridean starch أو

Mexophycean starch أو Paramylon أو Manitol ، وتعد الأسواط صفة تصنيفية مهمة من حيث عددها ومظهرها الخارجي ولا سيما في الوحدات التكاثرية (السبورات والامشاج) .

تعد الطحالب المجهرية Microalgae مصدراً غذائياً مهماً جداً في الزراعة المائية Aquaculture بوصفها غذاء للمراحل اليرقية Larval stage لبعض القشريات والاسماك [2] و [3] .

استخدمت الطحالب بوصفها غذاء لزيادة الوزن [4] لذا يتم تصنيعها وطرحها الى الاسواق كغـذاء صحـي على سبيـل المثـال فهـي استعملـت في اليابان لهـذا الغرض منذ ثلاثين عاماً [5] كما استخدمت الطحالب أو مستخلصاتها بوصفها إضافات غذائية سواء لغذاء الانسان أو لعلائق الحيوانات المختبرية أو الاقتصادية [6].

تحتوي الطحالب باختلاف مجاميعها على الدهون [7] والتي تقسم بشكل عام في الطحالب الى جزء مصوبن Saponifiable (83) % وجزء غير مصوبن Non-saponifiable (17)% وان المكون الرئيس للدهـون فـي الطحالـب هـو Phosphatdyl glycerol و Insitol وGlycerol و Triglyceride phosphotidyl و Sulphoquinovosyl diglycerid [8]. ومن مكونات الدهون الاخرى في الطحالب هي استرات الكليسرول Glycerol - esters والاحماض الدهنية Fatty acids ذات اعداد ذرات كاربون تتراوح بين (12-20) وكل من هذه الحوامض عبارة عن سلسلة مستقيمة غير متفرعة [9].

تعد الحوامض الدهنية غير المشبعة الاساسية Essential poly unsaturated fatty acids (EPUFA) من المكونات الدهنية التي تحتويها الطحالب الدقيقة التي تتمثل بـ (Fatty acids و Gamalinolenic و Dihomogama-linolenic acid (acid [9].

وتحتوي الطحالب الخضر التي تنمو في بيئة المياه العذبة أحماض دهنية أكثرها بثلاث آواصر مزدوجة و (18) ذرة كاربون [8] وكما تحتوي كمية كبيرة من الحامض الدهني ألفا ـــ لينولينك α-Linolenic acid وكميات قليلة من الحامض الدهني كاما لينولينك Linolenic acid فقد أكد [10] إن محتوى الطحلب الاخضر *Cladophora sp.* من الدهون تتمثل بنسبة عالية من الدهون المفسفرة Phospholipids والتي تتراوح بين (8-10) % من نسبة الدهون الكلية وكانت السائدة هي (C:16:1 و C:18:2 و C:18:3 و C:18:1) وبالمقارنة مع الطحلبين *Scenedesmuse* و *Cosmorium* فـقـد تمثلت بـــ (C:16:1 و C:18:2). وأكد [11] إن طحلب *Caulerpa prolifera* يحتوي على البالمتيك (32)% واللينوليك (14)% والاوليك (23)% والسيترك (22)% والبالميتوليك (9)% .

أما الطحلب الاخضر *Cladophora sericoides* فقد أحتوى على الحوامض الدهنية الآتية C:14:0 (5.8)% و C:16:1 (3.5) % و C:16:0 (19.7)% و C:17:1 (1.4)% و C:22:6 (12.5)% و C:20:1 (0.2) و C:18:3 (1)% و C:24:0 (18.1) % و C:20:1 (0.2) % [12].

ولأهمية الطحالب من الناحية الغذائية لما تحويه من مركبات مهمة متعددةومنها المحتوى الدهني والحوامض الدهنية إرتئينا أن نقوم بأستخلاص وتشخيص هذه المركبات في الطحلب الأخضر *Chlorella vulgaris* لما فيها من أهمية من الناحيتين التطبيقية والبحثية .

طرق العمل

- **جمع العينات المائية :**

جمعت عينات المياه من قناة العشار التي تمر وسط مدينة البصرة وبصورة عشوائية ، استعملت قناني بلاستيكية نظيفة محكمة الغلق سعة (500) سم3 أعدت لهذا الغرض و جلبت بعد ذلك الى المختبر مباشرة لغرض التحري عن النوع الطحلبي المراد عزله وتشخيصه وهو الطحلب الاخضر *Chlorella vulgaris* .

- **عزل الطحلب وتشخيصه :**

لغرض الحصول على عزلة طحلبية تم ترشيح حجم معين من المياه المجلوبة من القناة باستعمال أوراق الترشيح (millipores) ذات فتحات قطرها (0.45) مايكروميتر ، ثم وضعت هذه الاوراق في حجم قليل من الماء المقطر (5-10) سم3 وفحصت تحت المجهر الضوئي المركب نوع (Bausch and Lomb) وذلك من خلال تحضير الشرائح المجهرية ولغرض الحصول على عزلة وحيدة الطحلب (Unialgal cultures) اعتمدت طريقة التخطيط Streaking method للوسط الزرعي الصلب ، وطريقة التخفيف Dilution method والموضحتان من قبل [13] بعدهما صنف الطحلب اعتماداً على المصادر التصنيفية التالية :- [14] و [15] .

Division : Chlorophyta
Class : Chlorophyceae
Order : Chlorococcales
Family : Chlorococcaceae
Genus : Chlorella
Species : *Chlorella vulgaris* Beinjerink

- **أستزراع الطحلب :**

بعد عملية التشخيص للطحلب تم نقله الى الوسط السائل بواسطة ماصة معقمة أو من الوسط الصلب بواسطة اللاقح (Loop) المعقم أو من كلا الوسطين الى عدد من الدوارق الزجاجية المعقمة حجم (100) سم3 يحتوي كل دورق على (70) سم3 من الوسط الزرعي المعقم (Chu-10)[16] ، وأغلقت فوهات الدوارق بالقطن المعقم ونقلت الى كابينة النمو تحت درجة حرارة (25 ± 2) درجة مئوية وإضاءة تراوحت (130-150) مايكروانشتاين م^{2}/ثا ولمدة (8:16) ساعة إضاءة : ظلام بعدها رجت المزارع وغيرت على الاقل مرتين يومياً لمنع تسرب أو تجمع الطحلب على الجدران والتقليل من فرق الاضاءة واستمرت عملية الزرع لحين الحصول على نمو جديد .

- **تنقية العزلة :**

تم تنقية الطحلب المعزول من الجراثيم اعتماداً على الطريقة الموصوفة من قبل [17] إذ غسلت الطحالب بالماء المقطر المعقم ثم نبذت مركزياً بسرعة (3000 دورة / دقيقة) ولمدة (50-90) ثانية ، أهمل الراشح وأعيد مزج الراسب بالماء المقطر المعقم مرة أخرى ، كررت العملية (12) مرة على الاقل وزرع جزء من الراسب في الوسط الزرعي المعقم لغرض تنشيط النمو ، وللتأكد من نقاوة العزلة فقد أتبعت الطريقة الموضحة من قبل [13] والمتضمنة الفحص المجهري للعزلة بعد زرعها على وسط الآكار المغذي Nutrient agar وحضنت بدرجة حرارة (37) °م ولمدة (18) ساعة للتأكد من نقاوتها ولاختبار خلو المزرعة من الجراثيم ، كررت العملية عدة مرات الى أن ثبت عدم وجود نمو للجراثيم على سطح الوسط المغذي مما أعطى الدليل على نقاوة العزلة الطحلبية ، وبهذا تم الحصول على عزلة نقية Axenic culture .

- **تقدير معدل النمو :**

أتبعت الطرق القياسية الموضحة في [13] لتقدير النمو إذ قيست كثافة الخلايا من خلال الكثافة الضوئية (Optica density) باستعمال جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer) نوع (Uviko810) عند طول موجي 650 نانومتر . وعبر عن معدل النمو (Growth rate) بثابت النمو (K) والذي قدر حسب معادلة [18] التالية :

$$K = \frac{\text{Log Nt} - \text{Log No}}{T}$$

- **إكثار العزلة وحصادها :**

استعملت دوارق زجاجية جافة ونظيفة سعة (2) لتر ، أضيف لكل دورق (1.4) لتر من الوسط الزرعي المعقم ولقح كل دورق بـ (140) سم3 من المزرعة وفي الطور اللوغاريتمي للحصول على كميات كافية من الكتلة الحية biomass وتحت ظروف الزرع المذكورة . حصد الطحلب على مرحلتين الاولى عند نهاية الطور اللوغاريتمي والثانية عند منتصف الطور المستقر وباستعمال جهاز الطرد المركزي (Auto Bench Centrifuge) نوع IV صنع شركة Baird and Tatlock بسرعة (3000) دورة / دقيقة ولمدة (15) دقيقة بعدها جفدت العينات بعد ذلك بجهاز التجفيد Freezing dried نوع (18) LABConCO وحفظت في درجة حرارة (-18)°م لحين إجراء الاختبارات الخاصة بمحتوى الطحلب من الدهون والحوامض الدهنية .

- **استخلاص الدهون الكلية :**

أتبعت طريقة [19] في استخلاص الدهون الكلية معبراً عنها بالنسبة المئوية الكلية وكما يلي :ـ

1. أخذ وزن (1) غم من العينات الطحلبية المجففة .
2. استخلصت الدهون بجهاز Soxholet وباستعمال (200) مل من الهكسان Hexan لمدة (24) ساعة
3. تم التخلص من المذيب (الهكسان) بجهاز Rotary evaporator نوع (Puchi Rotara – RE) للحصول على الوزن الجاف للدهون المستخلصة الذي كان وزنها في الطحلب *C. vulgaris* (0.06 gm) ومن ثم حساب النسبة المئوية للدهون الكلية .

إذ K = معدل النمو (ثابت النمو). Nt = المحصول بعد (t) يوم . No = المادة الطحلبية عند بداية التجربة .

t = الوقت (بالايام) .

أما بالنسبة لوقت التضاعف Generation time (G) فقد حسب وفق المعادلة التالية :ـ

$$G = \frac{0.301}{K}$$

- **فصل الدهون بتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC :**

اتبعت طريقة [20] والمحورة من قبل [21] في فصل الدهون بتقنية (TLC) . أستعمل الهكسان Hexan والداي أثيل أيثر Diethylether بنسبة 2:8 على التوالي بوصفه طوراً متحركاً يقوم بفصل الدهون اعتماداً على قيم الـ (Rf) أما الكاشف المستعمل فكان مصباح الاشعة فوق البنفسجية Ultara violet lamp الذي أستعمل بوصفه مظهراً للدهون .

- **تقدير الأحماض الدهنية بتقنية كروماتوغرافيا الغاز (GC) :**

تم تقدير الاحماض الدهنية حسب طريقة [22] وكما يأتي :ـ

1. أخذ ما مقداره (30-40) ملغم من الدهون المستخلصة وتحويله الى استرات المثيل .
2. تم إضافة (1) مل من الكاشف المتكون من (25) مل من ميثانول يضاف له (0.1) مل من كلوريد الاستيل Acetylchloride .
3. يحكم غلق الانبوبة الحاوية على النموذج والكاشف ، ويسخن المزيج في حمام مائي درجة حرارته 100 °م ولمدة (25) دقيقة وبعدها يبرد النموذج. وتم الحقن في جهاز الـ (GC) لغرض الحصول على الاحماض الدهنية التي تشخص بالمقارنة مع الاحماض الدهنية القياسية المتمثلة بحامض

البالمتيك والاوليك المحقونة في ظروف الفصل نفسها .

- **مطياف الأشعة تحت الحمراء (IR) Infra red Spectrum:**

وضعت كمية من المادة المستخلصة (الدهون) على أقراص من NaCl و سجلت مطيافية الاشعة تحت الحمراء وأن نوع الجهاز المستعمل كان FT-IR-84005, SHIMADZ-Japan .

- **مطياف الأشعة فوق البنفسجية Ultra Violet Spectrum (UV) :**

قيس طيف الاشعة فوق البنفسجية للدهون المستخلصة باستعمال جهاز الاشعة فوق البنفسجية نوع SPCTROSCAN 80D U.V VIS SPECTRO PHOTO METER (U.K) ENGLAND وللمدى بين (800-200) نانوميتر باستعمال الهكسان كمذيب .

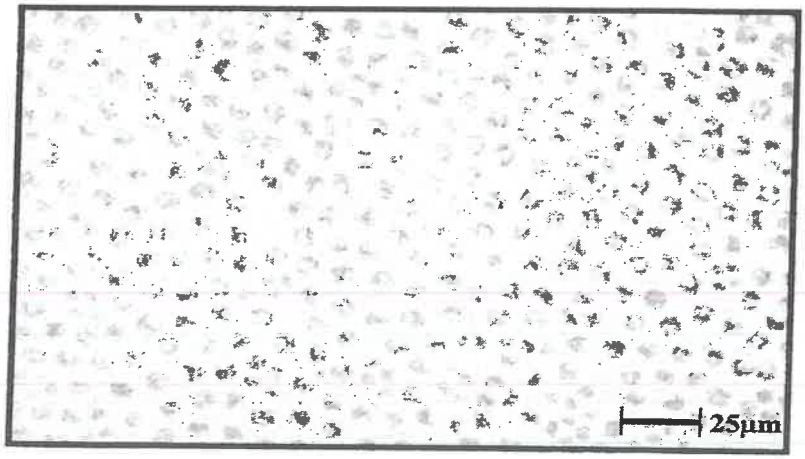
النتائـــــج

- **وصف الطحلب :**

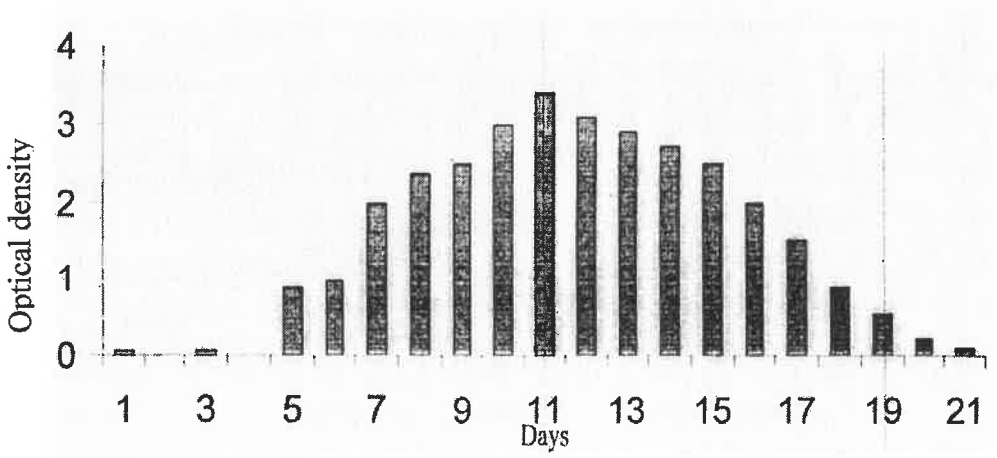
طحلب أخضر وحيد الخلية ، خلاياه صغيرة الحجم بيضوية الشكل وذات بلاستيدة كأسية تملأ معظم الخلية ، حجم الخلية يتراوح بين (5-8.5) مايكروميتر ويقطن المياه العذبة فهو يتواجد في الانهار والجداول ، وفي المياه الغنية بالمواد الملوثة الحاوية على تراكيز عالية من المغذيات كما في (الشكل – 1 –).

- **معدل النمو :**

تم قياس معدل النمو للطحلب إذ يبدأ بالطور الأسي بعد اليوم الرابع من زراعته حيث تحصل زيادة مطردة في عدد خلاياه ، ويستمر تقريباً لما بعد اليوم التاسع ومن ثم يبدأ طور الاستقرار بعد اليوم العاشر الذي استمر الى اليوم الخامس عشر وبعدها بدأ طور التناقص في اليوم السادس عشر لذلك حصد هذا الطحلب في اليوم الثالث عشر في نفس طور الاستقرار أي في اليوم الثاني والثالث من طور الاستقرار ولقد أظهر الطحلب ثابتاً للنمو مقداره (K=1.1) بينما قيمة زمن تكاثر الجيل هو (G=0.28) كما في (الشكل –2–) و (الجدول – 1 –).



(شكل – 1–) الطحلب *C. vulgaris*



(شكل – 2–) منحني نمو الطحلب *C. vulgaris*

(جدول – 1 –) يبين قيمة ثابت النمو (K) ، وزمن تكاثر الجيل (G) ، والفترة الزمنية للنمو والحصاد لطحلب *C. vulgaris*

العزلات الطحلبية	فترة الطور التمهيدي	فترة الطور الأسي	فترة طور المستقر	فترة الحصاد	ثابت النمو (K)	زمن تكاثر الجيل (G)
C. vulgaris	0 – 4	4 – 10	10 – 15	12 – 13	1.1	0.28

- **الدهون الكلية :**

قدرت الدهون الكلية لطحلب *C. vulgaris* متمثلة بالنسبة المئوية وكانت (6.7)%

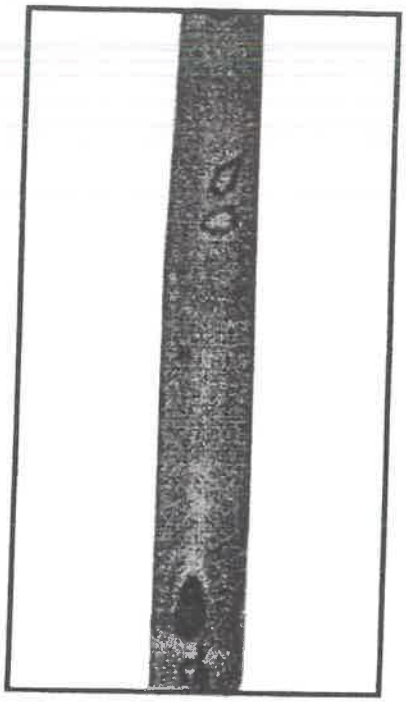
- **فصل الدهون بتقنية (TLC) :**

فصلت الدهون المستخلصة في الطحالب المعزولة بتقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) (اتجاه واحد) باستخدام مسترد محضر من (diethylether و Hexan) وبنسبة (8:2) .

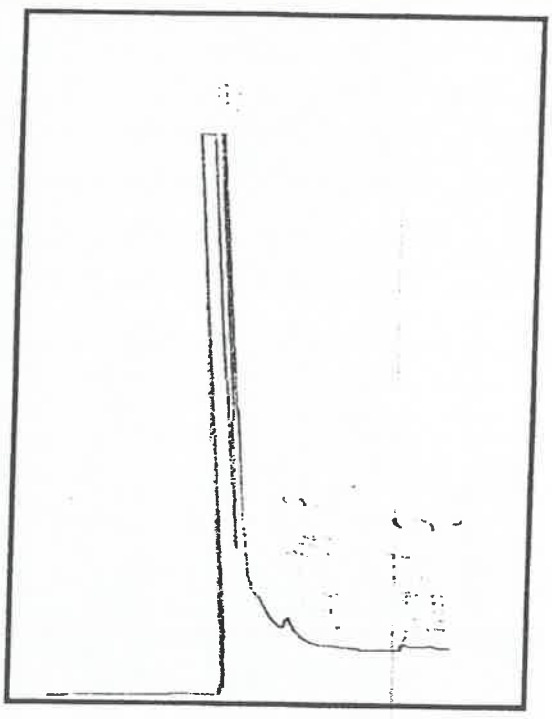
أظهرت النتائج أن المستخلص الدهني للطحلب *C. vulgaris* متكون من ثلاثة مركبات دهنية إذ ظهرت ثلاث بقع خلال فصل المستخلص الدهني التي كانت تمثل استرات الكولسترول Chlestrol-ester والدهون الفوسفاتية Phospholipids والاحماض الدهنية الحرة Free fatty acid وحسبت قيمة الـ (Rf) لكل منها وكما هو موضح في (الشكل –3–).

(جدول – 2 –) يوضح المكونات الدهنية للمستخلص الدهني في طحلب *C. vulgaris* .

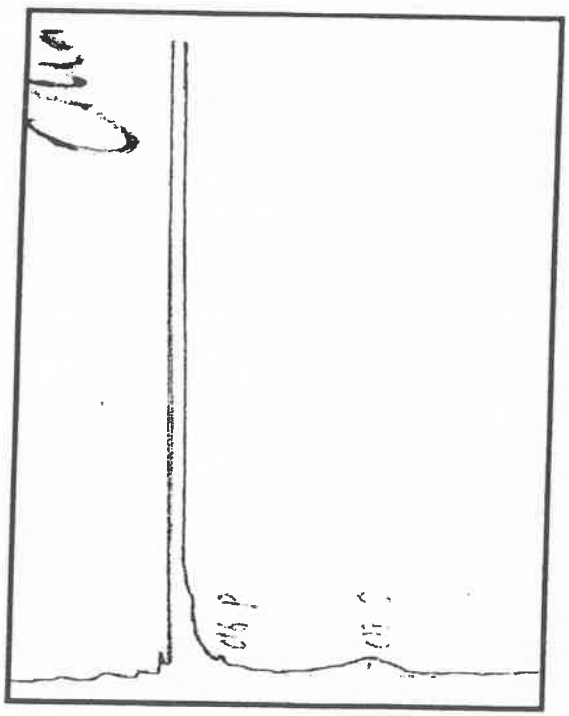
الدهن المتوقع	قيمة الـــ Rf	*C. vulgaris*
Chlestrol-ester (CE)	8 – 7.5	+
Free fatty acid (FA)	2	+
Phosphor lipid	0.0	+



(شكل -3-) فصل الدهون بتقنية (TLC) للطحلب *C. vulgaris*



(شكل -4-) فصل الحوامض الدهنية القياسية باستخدام جهاز كروماتوغرافيا الغاز (GC)



(شكل -5-) فصل الحوامض الدهنية للطحلب *C. vulgaris* بتقنية كروماتوغرافيا الغاز(GC)

- **الأحماض الدهنية :**

تم خلال الدراسة الحالية عزل وتشخيص بعض الاحماض الدهنية من الدهون الكلية المعزولة من الطحلب بتقنية الـ (GC) والمتمثلة بالحامض الدهني البالمتيك Palmatic والأوليك Oleic واللذين يعدان من المواد المؤثرة في القيمة الغذائية إذ بلغ تركيز حامض البالمتيك (20.3)% بينما كان محتوى الطحلب من الحامض الدهني الأوليك هو (18.1) % كما في (الشكل-5-) .

- **طيف الأشعة فوق البنفسجية للمستخلص الدهني :**

سجل طيف الأشعة فوق البنفسجية للمستخلص الدهني للطحلب وأعطى حزمة امتصاص واحدة عند الطول الموجي (300) نانوميتر ، وبامتصاصية مقدارها (1.5) كما في (الشكل -7-) .

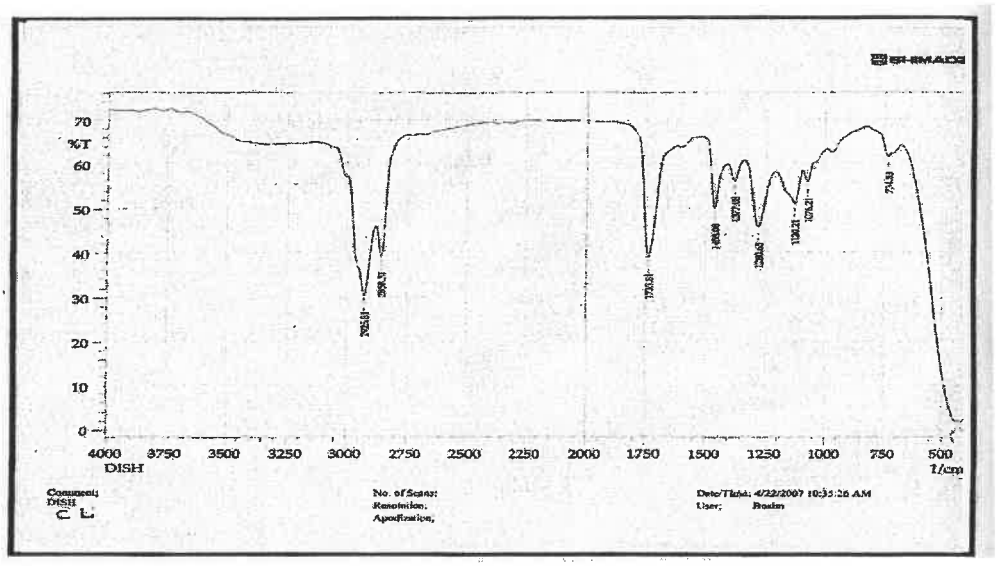
- **طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الدهني في الطحالب المدروسة :**

سجل طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الدهني للطحلب *C. vulgaris* ويبين(الجدول -3-) و(الشكل - 6-) أهم حزم الامتصاص والمجاميع التركيبية العائدة له .

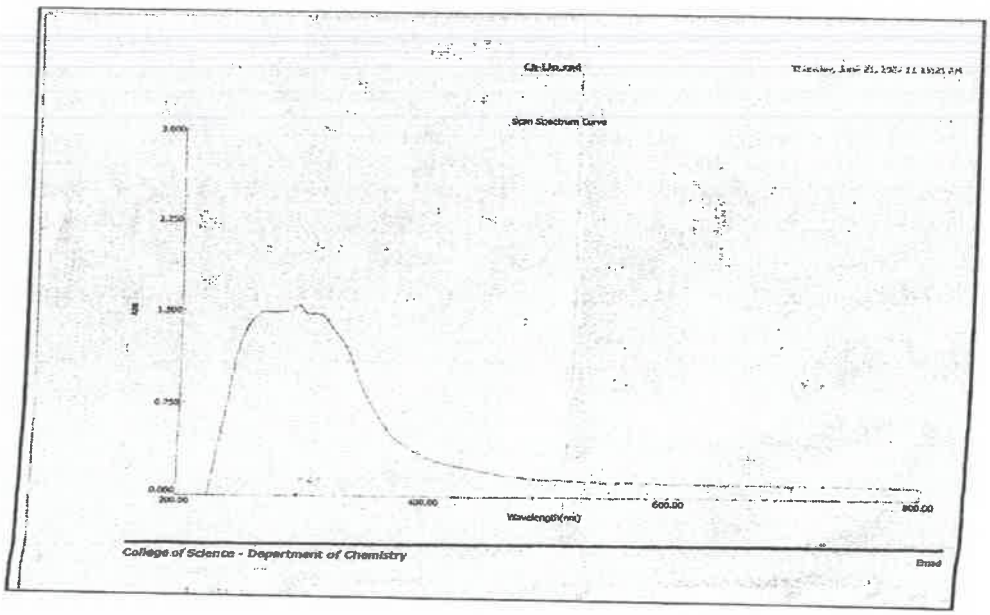
(الجدول - 3 -) يوضح أهم الحزم الامتصاصية والمجاميع الفعالة العائدة للمستخلص الدهني في طحلب *C. vulgaris*

الطحلب	OH-Strech	CH2 & CH3 - Strech in aliph	C=O strech	COO – carboxylic acid	OH – carboxylic acid	C-0-C strech
C. vulgaris	3350 cm $^{-1}$ (s)	2990 cm $^{-1}$ (s)	1750 cm $^{-1}$ (m)	1750 cm $^{-1}$ (m)	1458 cm $^{-1}$ (m)	1275 cm $^{-1}$ (w)

S = strong , m = medium , w = weak ,



(شكل -6-) طيف الاشعة تحت الحمراء للمستخلص الدهني في الطحلب *C. vulgaris*



(شكل -7-) طيف الأشعة فوق البنفسجية للمستخلص الدهني في الطحلب *C. vulgaris*

المناقشة

أوضحت النتائج أن المستخلص الدهني في الطحلب يتكون من (استرات الكولسترول والحوامض الدهنية والدهون الفوسفاتية) وان هذه النتائج تتفق مع [9] و [8] ، إذ أوضحوا أن الدهون في الطحالب تتألف من المركبات نفسها التي تم التوصل اليها في الدراسة الحالية ، وهي (استرات الكولسترول والحوامض الدهنية والدهون الفوسفاتية والكليسريدات الثلاثية والكولسترول). كما بينت النتائج أن الطحلب احتوى على(6.7) % من الدهون وهذه النتائج تتفق مع نتائج دراسة [23] و [24] إذ كانت نسبة الدهون الكلية في الطحلب الى (6.5 و 6.46)% على التوالي من الوزن الجاف للطحلب واختلفت مع دراسة [25] إذ أشارت أن الطحلب يحتوي على دهون نسبتها (14 – 22) % من الوزن الجاف للطحلب . وربما يعود السبب في اختلاف النسب لتركيز الدهون في الطحلب الى اختلاف الوسط الزرعي المستخدم وشدة الإضاءة ودرجة الحرارة والاس الهيدروجيني كما اشار في ذلك [5]، وكذلك الى طريقة الاستخلاص المستخدة في الدراسة [1].

كما أظهرت النتائج أن الطحلب احتوى على الحامض الدهني البالمتيك وبتركيز قدره (20.3)% وعلى الأوليك بتركيز قدره (18.1)% وتتفق هذه النتائج مع دراسة (الركابي ،2003) في احتواء الطحلب *C. vulgaris* على الحامض الدهني البالمتيك والأوليك على الرغم من أن النسبة المئوية للحامض الدهني الأوليك في الطحلب لم تكن متماثلة نوعاً ما وتتفق مع دراسة [5] في احتواء الطحلب على الحوامض الدهنية البالمتيك والأوليك وبالنسب (15.23 و 20.4) على التوالي . وأشارت الدراسات أن هنالك العديد من العوامل التي تؤثر على بناء الحوامض الدهنية في الطحالب وان شدة الاضاء تؤدي الى تكوين الحوامض الدهنية غير المشبعة ذات ذرات كاربون C: 18 ، C:16 [26].

ويلاحظ من طيف الاشعة تحت الحمراء للمستخلص الدهني في (الشكل – 6–) و (الجدول$^{-1}$– 3–) ، ظهور حزم الامتصاص والمجاميع$^{-1}$ التركيبية الفعالة العائدة لها تتمثل بمجموعة (C-H) عند الطول الموجي 2990-2923 cm التي تعود إلى مجاميع (-CH2 & -CH3) ، ومن الحزم المميزة أيضاً حزمة 2990-2923 cm والتي تعود الى مجموعة الكارونيل (C=O) التابعة الى مجاميع الكاربوكسيل الخاصة بالحوامض الكاربوكسيلية

[24]. كما أظهر المستخلص الدهني للطحلب *C.*

vulgaris وجود حزمة امتصاص واحدة عند الطول الموجي (300) نانوميتر التي تعود إلى الانتقالات من نوع ($\pi - \pi^*$) .

المصادر

[1]- Round, F.E. (1975). The biology of algae. (2nd Ed) Edward Arnold (publisher). Ltd.

[2] - Brown , M. R., Jeffry , S. W. and Garland, C.D. (1989). Nutritional aspects of microalgae used in Mari culture: Alitreature Review, CSIRO, Mar. Lab. Red, NO. 205: p44 .

[3]- Watanabe, T., Kitajima, C. and Fujita, S. (1993). Nutitional value of live organism used in Japan for mass propagation of fish . Aervieew, Aquacult . 34:115-143.

[4]- Jurkovic, N., Kolb, N., and Coli'c, I.(1995). Nutritive value of marine algae *Laminaria japonica* and *Undaria pinnatifida* . Die Nahrung., 39(1):63-66.

[5]- Venkatarman, L.V. and Becker , E.W. (1985). Biotechnology and utilization of algae. The Indian experiment . New Delhi and central food technology institute, Mysore, India.

[6]- Dillon, J., Phuc, A., and Dubaca, J.,(1995). Nutritional value of the algae *Spirulina*. World Rev., Nutr. Diet, Karger, 77:32-46 .

[7] - Campanella, L. , Crescentin, G. and Avion, P. (1999). Composition and nutritional evaluation of some natural and commercial food products based on *Spirulina*. Analusis., 27:533- 540 .

[8] - Borowitzka, M. (1986). Microalgae as source of fine chemical . Microbiol. Sci.3:372-375.

[9] - Ben-Amotz, A. and Averon, M. (1980). Glycerol, β-carotene and dry algal meal production by commercial cultivation of *Dunaliella* . In : Algae Biomass . Eds. : *G. Shelef* and *C. soeder*. Elsevier / North-Hollanda Biomedieal press . pp 603 .

[10]- Moore .J. W.(1975). Seasonal changes in proximate and fatty acid composition of some naturally grown fresh water chlorophytes Journal of phycology 11(2):205-211.

[11] - De Napoli, L., Magno, S., Mayol, L., and Novellino, E., (1983). Further caullepenyne – link esters from the green algae *Caulerpa prolifera*, experiential, 39:141-143.

[12]- Heiba, H. I., Al-Easa, H.S. and Rizk, A.M. (1997) . Fatty acid composition of eleven algae from the costal zones of Qater, plant foods for Human Nutrition, 51:27-34.

[13]- Stein, J. R. (1973). Hand book of phycological methods . Cambridge Univ. press. Cambridge , U.K.

[14] - Bourrly , P. (1980) . Les Algues deuu douce, initiation a la systematigue . soc. Nouv. Edit. Boubee, Paris, 517 p. Cited by Venkartman and Becker, 1985.

[15]- Prescott, G.W.(1975). Algae of the westeren great lake area 6th ed. Willam C.Brown Co. publisher Dubugue. Towa, pp. 977.

[16] – Chu,-S . (1942). The influence of the mineral composition of the growth of phytoplanktonic algae. J. Eco., 30:284-325.

[17]- Weideman , V.E., Walne, P.R. and Tainor, F.R.(1984). Anew technique for obtaining axenic culture of algae. Can. J. Bot., 42: 958-959.

[18]- Fogg, G. E. (1975). Algal cultures and phytoplankton Ecology. 175 pp. 2nd . ed. University of Wisconisn press, Wisconisn, U.S.A.

[19]- Harborne , J.B.(1984). Phytochemical method, 2nd ed., Chapman and Hall, London.

[20]- Ivor , S. and Feinberg, J.G.(1965). Paper and thin layer chromatography and electrophoresis. 2nd edition , pp. 186-189.

[21] – السعدون ، وطبان جابر (1997). كيمياء المواد المطروحة من بعض الطحالب الخضر المزرقة (السيانوبكتريا) المثبتة النتروجين . رسالة ماجستير . كلية التربية – جامعة البصرة .

[22] - Al-Kaisey, M.T., (1992). Some chemical and nutritional proprieties of soy been seeds J. Agric. Sci., 5(1):21-28 .

[23] ــ الركابي ، حسين يوسف خلف (2003). استخدام المزارع الكتلوية لبعض الطحالب الدقيقة في تغذية الدواجن . أطروحة دكتوراه . كلية العلوم ــ جامعة البصرة .

[24]ــ السلطان ، عماد يوسف عواد (2007) . الاختبارات الحيوية لبعض انواع الطحالب المجهرية السامة . أطروحة دكتوراه . كلية التربية ــ جامعة البصرة .

[25] – Chowdhury,S.; Uaque, R. and Khatum, M. (1994). Algae in animal production. Bangladesh live Research Insrtitute, Saver , Dhaka 1341, Bangladesh, pp.13.

[26]- Pohl, P. and Zurheid, F. (1979). Fatty acid and lipid of marine algae and the control of their biosynthesis in : marine algae in pharmaceutical science (eds. H.A. Hopp, T. Levring and Y. Tanka) wattar de Gruyter. Berlin, pp. 473-523.

[27]- Silverstein, R.M., Bassler C. and Morrill, T. (1981). Spectrometric Identification of organic compounds. By John Wiley & Sons, 4th New York.

Isolation and Identification of Total lipids and Some Fatty Acids in Green Algae *Chlorella vulgaris* Beinjerink (Chlorophyta)

Abstract

The present study involves the content of total lipid in green algae *Chlorella vulgaris* , Isolation and Identification of lipid compounds and fatty acids in algal species which is isolated from Al-Ashar canal and growing on the agricultural (Ch-10). The highest constant of growth (K=1.1) , and the lower time of reproducing a generation (G=0.28).

The total lipids content in *C. vulgaris* (6.7)% . The results of study indicat that the lipid extract for algae by (TLC) contain number of lipid compounds (Cholesterol-esters, free fatty acids and phospholipids). The Ultra violet spectrum test show that the lipid extract have one absorption peak at wave length (300) nm by absorption (1.5) .

The fatty acids identification and extraction using Gas chromatography (G.C.) , where two types of fatty acid has been isolated and identification the unsaturated fatty acid the Oleic and saturated fatty acid Palmatic. The content of the *C. vulgaris* of these fatty acids (20.3)% from Palmatic acid and (18.1)% from Oleic acid.