

## بررسی کلروفیل a و کاروتنوئیدها در ریز جلبک اسپیرولینا

### چکیده

ریز جلبک اسپیرولینا، جلبک سبز- آبی ارزشمندی است که به دلیل ارزش غذایی، خواص دارویی، پروتئین بالا، ویتامین‌ها، مواد معدنی و رنگدانه‌های طبیعی از جمله فیکوسیانین و کاروتنوئیدها کاربرد فراوانی در صنایع مختلف غذایی، بهداشتی- آرایشی، مکمل‌های غذایی دام، طیور و آبزیان دارد. کلروفیل a تنها کلروفیلی است که در اسپیرولینا وجود دارد. کاروتنوئیدها گروه مهمی از رنگدانه‌های طبیعی هستند که فقط توسط گیاهان و جلبک‌ها تولید شده که علاوه بر تولید رنگدانه‌های طبیعی مفید دارای خواص آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشند. در این تحقیق پس از تهیه استاندارد رنگدانه‌ها از شرکت سیگما آلدریج و انجام روش‌های آزمون و خطا برای برخی حلال‌ها، میزان برخی رنگدانه‌ها از جمله، کلروفیل a، کاروتنوئیدهایی مانند بتاکاروتن، لیکوپن، زیگزانتین، لوتئین و آستاگزانتین توسط روش‌های کلاسیک حلال-حلال و اسپکتروفتومتری و آنالیز HPLC مورد سنجش قرار گرفت که میزان هر کدام از آن‌ها به ترتیب ۴/۳ میکروگرم در میلی‌لیتر، ۷۳۹۳، ۷۴۱، ۶۶۵۲ و ۴۲۴ و ۰/۲۱ میکروگرم بر گرم بدست آمد.

**واژگان کلیدی:** اسپیرولینا، کلروفیل a، بتاکاروتن، لیکوپن، زیگزانتین، لوتئین، آستاگزانتین.

منصوره قائمی<sup>۱\*</sup>

مهری سید هشترودی<sup>۲</sup>

فاطمه قادری<sup>۳</sup>

لاله رومیانی<sup>۴</sup>

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهواز، استادیار گروه شیلات، اهواز، ایران
۲. مرکز ملی اقیانوس شناسی، استادیار گروه علوم زیستی، تهران، ایران
۳. پارک زیست فناوری خلیج فارس، کارشناس ارشد میکروبیولوژی، قشم، ایران
۴. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آبادان، مربی گروه شیلات، آبادان، ایران

\* مسئول مکاتبات:

mansoreh.ghaeni@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۶/۲۰

### مقدمه

امروزه ریز جلبک‌ها به عنوان مکمل‌های غذایی و جهت استفاده از رنگدانه‌های طبیعی در مواد غذایی مختلف از جمله شکلات آدامس، نوشیدنی‌ها، پاستا و .... کاربرد فراوانی دارد (Goh et al., 2009).

اسپیرولینا سیانوباکتری است که در کشورهای متعددی به عنوان ماده ارزشمند تجاری به دلیل ارزش غذایی، خواص درمانی، پروتئین و ویتامین فراوان شناخته شده است. کاروتنوئیدها از رنگدانه‌های بسیار مهم طبیعی هستند که توسط گیاهان و جلبک‌ها تولید شده (Mohammed and Mohd, 2011) و محلول در چربی و نقش مهمی در فتوسنتز ایفا می‌کنند

(Del Campo et al., 2007). همچنین در صنایع پزشکی، دارویی و بیوتکنولوژی کاربرد داشته و از رنگ زرد تا قرمز متغیر هستند (Saleh et al., 2011). علاوه بر فواید غذایی به عنوان مکمل برای میگوی پرورشی استفاده فراوانی دارد و مهم‌ترین اثر آن رنگدانه‌سازی است. میگوهای دریایی به دلیل استفاده از منابع غذایی طبیعی حاوی کاروتنوئید، رنگ بهتری نسبت به میگوهای پرورشی دارند. کاروتنوئیدها و کاروتنوئیدها مهم‌ترین مسائل ایجاد رنگ‌های متنوع در سخت‌پوستان می‌باشند. آستاگزانتین، کاروتنوئید غالب در میگوی ببری سبز و علت اصلی رنگ قرمز بدنش است. اسپیرولینا شامل بتاکاروتن، بتاکریپتوزانتین و زیگزانتین به عنوان مهم‌ترین کاروتنوئیدهاست که طی

فرایندهای اکسیداسیون به آستاگزانتین تبدیل می‌شود (Todd, 1998). رنگدانه آبی، فیکوسیانین، در ژاین برای رنگ مواد غذایی استفاده می‌شود. ریز جلبکها بزرگترین منبع کلروفیل هستند. در حال حاضر رنگ‌های مصنوعی با رنگ‌های طبیعی جایگزین شده و کلروفیل اسپیرولینا برای این کار بسیار مناسب است.

اسپیرولینا سه نوع رنگدانه دارد: کلروفیل که ۱/۷ درصد از ترکیبات آلی سلولی وزن دارد، کاروتنوئید و زانتوفیل‌ها که ۰/۵ درصد وزن مواد آلی را تشکیل می‌دهند و دو نوع فیکوبیلوپروتئین: C فیکوسیانین و آلفوفیکوسیانین که حدود ۲۹ درصد پروتئین سلولی و چربی‌های غالب در اسپیرولینا را شامل می‌شود که ۱،۲ و گالاکتوسیل-دی گلیسیرید و فسفاتیدیل-گلیسرول هستند (Choonawala, 2007).

کاروتنوئیدها گروهی از رنگدانه‌ها هستند که علاوه بر نقشی که در تشکیل رنگدانه‌ها بر عهده دارند، خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز برای آن‌ها گزارش شده است. حیوانات و انسان قابلیت سنتز آن‌ها را ندارند و باید از طریق رژیم غذایی دریافت شوند که پس از آن می‌توانند از شکل کاروتنوئیدی به شکل دیگر تبدیل گردند. همچنین نقش مهمی در تشکیل ویتامین A برعهده دارند. در واقع بتا کاروتن، کاروتنوئید پایه برای تشکیل ویتامین A می‌باشد. جذب بتا کاروتن به جای جذب خود ویتامین A در رژیم غذایی، در کاهش وقوع سرطان موثر است و بتا کاروتن قادر به القاء عملکردهای زیستی متفاوتی از قبیل حفاظت در برابر نور، فرو نشاندن و از بین بردن صدمات ناشی از اکسیژن singlet (از اسامی عمومی که به حالت مغناطیسی مولکول اکسیژن گفته می‌شود که نسبت به اکسیژن معمولی پایداری کمتری دارد)، تنظیم ایمنی بدن و فعالیت ضد سرطانی در بدن جوندگان و انسان می‌باشند. به طور تقریبی در طبیعت ۶۰۰ نوع کاروتنوئید وجود دارد که بیش‌تر در ساختمان میوه‌ها، سبزی‌ها، ماهی و سخت‌پوستانی نظیر میگو، لابستر و جلبک‌های دریایی یافت می‌شوند که از این میان ۱۰ درصد آن‌ها به عنوان پیش‌ساز ویتامین A لازم هستند. البته کاروتنوئیدهایی که در فعالیت و سنتز ویتامین A نقشی ندارند، دارای فعالیت ضد سرطانی می‌باشند.

لیکوپن، لوتئین، آستاگزانتین، کانتاگزانتین و فوکوگزانتین در سنتز ویتامین A دخالت ندارند. بنابراین اثر حفاظتی کاروتنوئیدها مستقل از ویتامین A و فعالیت‌های پیش‌زمینه‌ای آن می‌باشد و به اثر آنتی‌اکسیدانی و مبارزه آن‌ها با رادیکال‌های آزاد مرتبط است (حیاتی، ۱۳۸۷).

جانوران نمی‌توانند کاروتنوئید را سنتز کنند، بجز بعضی از سخت‌پوستان و ماهی koi که توانایی تبدیل مستقیم بتا کاروتن و زیگزانتین به آستاگزانتین را دارند. اسپیرولینا پلاتنسیس سویه pacifica بیش‌ترین میزان بتا کاروتن و زیگزانتین را در منابع طبیعی دارد که هر دو به آستاگزانتین تبدیل شده و رنگ قرمز مطلوبی را به وجود می‌آورند.

محققان مشاهده نمودند که آستاگزانتین در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد بهتر از کاروتنوئیدهای دیگر نظیر بتا کاروتن عمل نموده و در جلوگیری از پراکسیده شدن استرهای متیلی اسیدهای چرب اشباع نشده بهتر از کانتاگزانتین، بتا کاروتن و زاکسانتین می‌باشد. دوز یکسان از بتا کاروتن مانند آستاگزانتین قادر به ممانعت از پراکسید شدن لیپید در واکنش‌های اکسیداتیو نمی‌باشد و در این مورد آستاگزانتین صد بار موثرتر از بتا کاروتن گزارش گردید. در شکل ۲ مسیر بیوستز آستاگزانتین از بتا کاروتن نشان داده شده است. البته ایجاد غلظت مناسب آستاگزانتین در پلاسما و دسترسی زیستی به آن راحت‌تر از دسترسی به بتا کاروتن می‌باشد و یکی از دلایل اثر کم‌تر بتا کاروتن نسبت به آستاگزانتین همین امر است (حیاتی، ۱۳۸۷).

با توجه به خواص و کاربرد فراوان اسپیرولینا و وجود رنگدانه‌های طبیعی و غنی از کاروتنوئید هدف این تحقیق مطالعه میزان رنگدانه‌های مفید اسپیرولینای تولید شده در ایران مخصوصاً کاروتنوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان بوده است.

#### مواد و روش‌ها

برای انجام آزمایشات، پودر اسپیرولینا از پارک زیست فناوری خلیج فارس قشم تهیه و سایر کارهای آزمایشگاهی، استخراج‌ها و اندازه‌گیری میزان رنگدانه‌ها در دانشگاه شهید بهشتی انجام گردید.

حلال به مدت چند ساعت در داخل فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس در دمای ۱۵-۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک مورد استخراج قرار داده شد. نمونه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد توسط سانتریفیوژ در ۵۰۰۰ دور در دقیقه از حلال جدا گردید و محلول رویی توسط فیلتر سر سرنگی ۰/۴۵ میکرون صاف شد. فرآیند استخراج چند بار تکرار شد تا زمانی که دیگر رنگ قابل ملاحظه‌ای در داخل محلول حاوی اسپیرولینا باقی نماند. محلول استخراج شده توسط دستگاه تبخیر در خلاء تغلیظ و حجم محلول نهایی تحت جریان ازت خالص به دقت در ۱۰۰۰ میکرولیتر تنظیم گردید. تمام مراحل استخراج در نور کم صورت گرفت. با توجه به این که بهترین نتایج استخراج توسط حلال متانول بدست آمد، متانول به عنوان حلال مناسب استخراج انتخاب گردید.

جداسازی کروماتوگرافی توسط دستگاه HPLC مربوط به شرکت Agilent سری 1200 صورت گرفت که مجهز به دکتور G1315D Diode Array بود. برای کنترل سیستم و بدست آوردن داده‌ها از نرم‌افزار Chemstation که بر روی دستگاه نصب بود، استفاده شد. از ستون‌ها و شرایط HPLC متفاوتی استفاده شد که بهترین نتایج توسط ستون Eurosphere (100-5 C18 column, 300×4.6 mm Knauer, Germany) بدست آمد. آنالیز HPLC توسط شویس ایزوکراتیک با سرعت حلال ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه انجام شد. فاز متحرک شامل استونیتریل- دی کلرومتان- متانول با نسبت (۷/۷:۲۰:۷۰) حاوی آمونیوم استات و تری اتیل آمین بود. دما در ۲۰ درجه سانتی‌گراد ثابت نگه داشته و آشکارسازی UV در ۴۵۰ نانومتر صورت گرفت. استاندارد و نمونه استخراج شده با حجم تزریق ۵۰ میکرولیتر به ستون فاز معکوس تزریق و شناسایی‌ها با کمک مقایسه زمان‌های بازداری استانداردها و اجزای نمونه و همچنین طبق فرابنفش استانداردها و نمونه صورت گرفتند.

هر آزمایش سه بار تکرار و راندمان استخراج با افزودن مقدار مشخصی از استانداردها به وزن مشخصی از جلبک اسپیرولینا و استخراج کارتنوئیدها تحت شرایطی که قبلاً توضیح داده شد، صورت گرفت.

ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از جلبک برداشته و تراکم سلولی در هر میلی‌لیتر بدست آورده شد. جلبک برداشته شده با سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه تغلیظ گردید، سپس مایع اضافی خارج و ۱۰ میلی‌لیتر محلول استون ۹۰ درصد اشباع به مواد باقیمانده افزوده شد. برای آسیاب کردن سلول‌ها، لوله آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه و با استفاده از دستگاه اولتراسوند سونیکه شد تا سلول‌ها کاملاً هضم شوند. مجدداً با سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه تغلیظ گردید. سپس یک نمونه دارای استون خالص در اسپکتروفتومتر (UV-Visible Varian, Cary 50 scan) قرار داده شد و میزان جذب دستگاه برای نمونه شفاف صفر (تنظیم) گردید. نمونه خالی برداشته و نمونه حاوی کلروفیل در اسپکتروفتومتر قرار گرفت و میزان جذب (A) آن در سه طول موج ۶۳۰، ۶۴۷ و ۶۶۴ قرائت شد. سپس اعداد قرائت شده در فرمول زیر قرار گرفتند. برای محاسبه مقدار کلروفیل بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر از فرمول زیر استفاده شد (Mohammed and Mohd, 2011):

$$\text{chl a } \mu\text{g/ml} = (11.85 \text{ XA}_{664}) - (1.54 \text{ XA}_{647}) - (0.08 \text{ XA}_{630})$$

تمامی استانداردهای کارتنوئید از شرکت Sigma-Aldrich خریداری شدند. ترکیب بتاکاروتن و زئاگزانتین در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و ترکیب لیکوپن و لوتتین در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ترکیب آمونیوم استات، تری اتیل آمین و آسکوربیک اسید دارای خلوص ۹۵ درصد بوده و از شرکت Merck خریداری گردید. تمام حلال‌ها دارای خلوص HPLC gradient grade و از شرکت Caledon تهیه شدند. محلول‌های استاندارد اولیه با حل نمودن ۰/۳۰-۰/۲۰ میلی‌گرم از هر یک از چهار استاندارد در ۱۰ میلی‌لیتر استن ۹۰ درصد به همراه ۰/۱ درصد آسکوربیک اسید به عنوان آنتی‌اکسیدان تهیه و استانداردها در داخل فریزر نگهداری شدند.

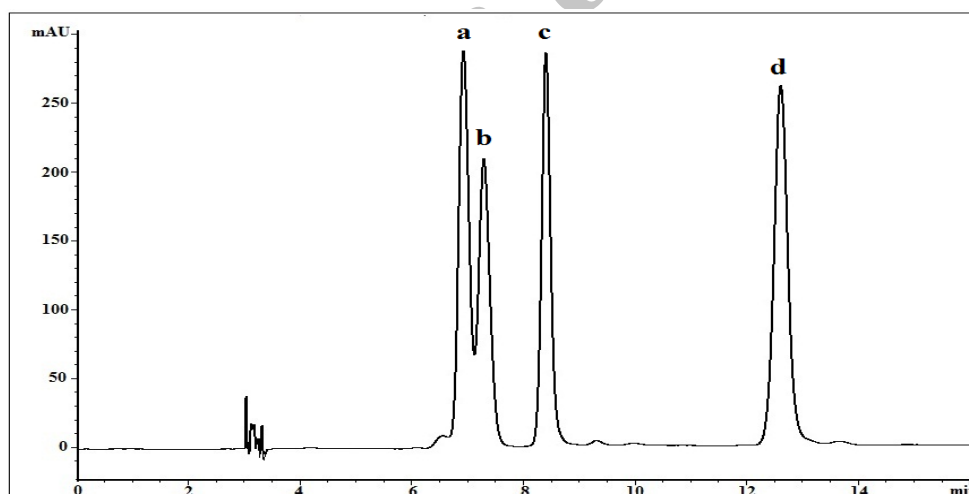
اسپیرولینا توسط سانتریفیوژ در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه از محیط کشت جدا و با آب مقطر کاملاً شست و شو داده شد. سپس توسط دستگاه فریز درایر خشک گردید. برای انتخاب حلال مناسب، سه حلال متانول، استن ۹۰ درصد و هگزان مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا ۱ میلی‌لیتر از حلال سرد به ۲۵ میلی‌گرم از نمونه خشک شده اضافه نموده و نمونه در داخل

### نتایج

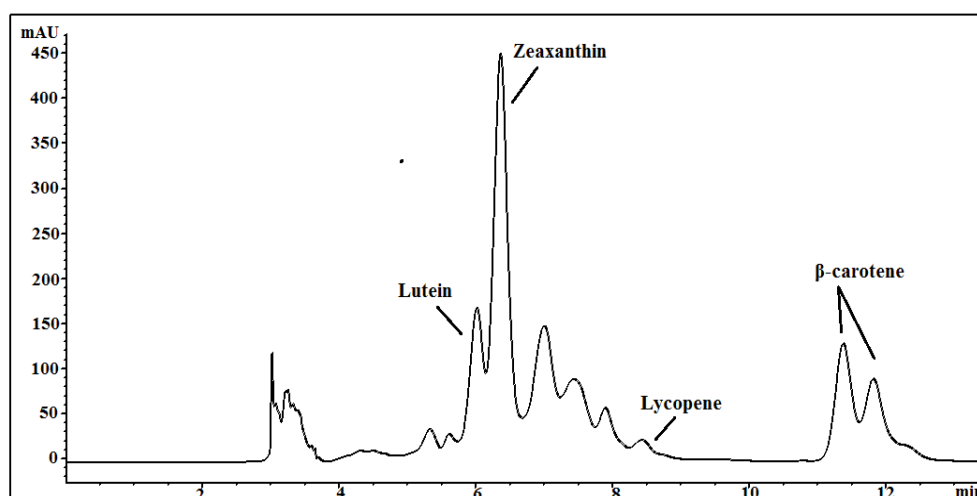
برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل a در اسپیرولینا پس از قرائت جذب در طول موج‌های مورد نظر اعداد در فرمول گذاشته و میزان کلروفیل a  $4/3$  میکروگرم در میلی لیتر محاسبه شد. میزان آستاگزانتین پودر اسپیرولینا،  $0/21$  میکروگرم بر گرم بدست آمد. همچنین میزان بتاکاروتن، لیکوپن، زیگزانتین و لوتتین به ترتیب  $7393$ ،  $741$ ،  $6652$  و  $424$  میکروگرم در گرم (وزن خشک) محاسبه گردید. در شکل ۱ کروماتوگرام مربوط به جداسازی ۴ استاندارد کاروتنوئید را در شرایط کروماتوگرافی ذکر شده و شکل ۲ کروماتوگرام جداسازی محلول استخراج شده اسپیرولینا توسط حلال متانول می‌باشد.

جدول ۱ ماکزیمم‌های جذب UV-Vis در چهار کاروتنوئید مورد مطالعه در داخل محلول فاز متحرک را نمایش می‌دهد.

یک گرم از پودر اسپیرولینا با ۱۰ میلی لیتر BHT و ۳۰ میلی لیتر متیلن کلراید به مدت ۱۵ دقیقه سونیکه شدند. سپس با محلول رقیق کننده به حجم رسانده شد. محلول رقیق کننده شامل ۶۰۰ میلی لیتر استونیتریل، ۱۵۰ میلی لیتر دی کلرومتان و ۱۰۰ میلی لیتر هگزان می‌باشد. محلول BHT با افزودن  $2/5$  گرم در ۵۰۰ میلی لیتر دی کلرومتان تهیه شد. سپس  $0/5$  میلی لیتر BHT به محلول رقیق کننده اضافه و به آن‌ها  $0/05$  درصد تری اتیل آمین اضافه شد. محلول استخراج شده به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به دستگاه HPLC تزریق شد (مدل دستگاه HP 1046A (Hewlett Packard) (Todd Lorenz, 2000). شرایط دستگاه HPLC شامل: ستون C8، فلوریت  $0/7$  میلی لیتر در دقیقه، طول موج  $472$  نانومتر، فاز متحرک شامل ترکیبات استونیتریل ۸۰۰ میلی لیتر، متانول ۱۰۰ میلی لیتر، هگزان ۲۵ میلی لیتر و دی کلرومتان ۲۵ میلی لیتر به اضافه  $0/05$  درصد تری اتیل آمین بود.



شکل ۱: کروماتوگرام (a) لوتتین (b) زانگزانتین (c) لیکوپن (d) بتاکاروتن



شکل ۲: کروماتوگرام مربوط به نمونه استخراج شده توسط متانول در سال ۱۳۹۰

جدول ۱: ماکزیمم‌های جذب UV-Vis در چهار کاروتنوئید مورد مطالعه در داخل محلول فاز متحرک (بر حسب نانومتر)

کاروتنوئید	$\lambda_{max2}$	$\lambda_{max3}$
بتا کاروتن	۴۲۵	۴۵۵
لیکوپن	۴۴۸	۴۷۴
لوتئین	۴۲۲	۴۴۸
زیگزانتین	۴۲۵	۴۵۴

جدول ۲: معادلات کالیبراسیون، انحراف معیار استاندارد، مقادیر  $R^2$ ، راندمان استخراج و غلظت کاروتنوئیدها در سال ۱۳۹۰

کاروتنوئید	Recovery (درصد)	RSD (درصد)	$R^2$	معادله تنظیم منحنی	میزان رنگدانه وزن خشک (میکروگرم بر گرم)
بتا کاروتن	۹۰	۰.۴۵	۰.۹۹۷	$y = 21.3/2X + 68/4$	۷۳۹۳
لیکوپن	۹۲	۰.۵۸	۰.۹۹۸	$y = 1.077x - 78/0.9$	۷۴۱
لوتئین	۹۳	۱.۵	۰.۹۹۹	$y = 1311.0x - 255/1$	۴۲۴
زیگزانتین	۹۳	۰.۷۲	۰.۹۹۴	$y = 4945/9x - 151$	۶۶۵۲

## بحث و نتیجه گیری

میزان کاروتنوئیدهای اسپیرولینای خشک شده توسط اسپری خشک کن با روش Miki و همکاران (۱۹۸۶) تجزیه شد که نسبت کاروتنوئیدهای اسپیرولینا ۳۴۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود که ۵۲ درصد بتاکاروتن، ۲۱ درصد زیگزانتین، ۱۰ درصد اکیننون، ۶ درصد بتا کریپتوزانتین، ۳ درصد هیدروکسی امینون و ۷ درصد کاروتنوئیدهای شناسایی نشده بود (Todd Lorenz, 1998).

در این تحقیق میزان رنگدانه کلروفیل a اسپیرولینا ۲/۰۹۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر و میزان آستاگزانتین در اسپیرولینا با استفاده از استاندارد آستاگزانتین طی روش HPLC، ۰/۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بدست آمد. در حالی که Jimenez و همکاران (۲۰۰۳) میزان کاروتنوئید پودر اسپیرولینا *Spirulina platensis* را ۵/۹-۶ گرم در کیلوگرم و میزان کلروفیل آن را ۶/۶-۹/۲ گرم در کیلوگرم اندازه گرفتند. همچنین Kumar و همکاران (۲۰۱۱) میزان کلروفیل a را در *Spirulina platensis* ۱/۳۷ درصد بدست آوردند. Godoy Danesi و همکاران (۲۰۱۱) میزان کلروفیل را با تغییر شدت نور، دما و نیترا تپتاسیم بررسی نمودند که بهترین نتیجه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۲۴ میکرومول فوتون بدست آمد. Zheng (۲۰۰۹) با افزودن لاکتوز به محیط کشت میزان کلروفیل a و کاروتنوئید را در اسپیرولینا ماکسیما را ارزیابی نمود. Sethu (۱۹۹۶) میزان کاروتنوئید کل را در اسپیرولینا پلاتنسیس ۳/۵۱ میلی‌گرم وزن خشک بدست آوردند و ۱۱ ترکیب از رنگدانه‌ها شامل نئوزانتین، ویولازانتین، کانتازانتین، اکیننون، میکسوزانتوفیل، زیگزانتین، زیگزانتین، فیتوفلوئن، فیتوئن، بتاکریپتوزانتین و بتا کاروتن را شناسایی کردند.

Abd El-Baky و همکاران (۲۰۰۷) برای سنجش میزان کاروتنوئیدها از روش HPLC استفاده نمودند و میزان بتاکاروتن، آستاگزانتین، زیگزانتین و لوتئین اسپیرولینا پلاتنسیس را به ترتیب ۳۹/۱۲، ۵/۶۱، ۱/۵۶ و ۰/۳۰۱ میکروگرم بر گرم محاسبه نمودند. در حالی که از هیدروژن پروکساید به عنوان عامل استرس در محیط کشت تیمارها استفاده شد، میزان کاروتنوئیدها به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کردند. در تحقیق حاضر میزان این رنگدانه‌ها به مقدار زیادی بیش‌تر از مقدار ذکر شده، بدست آمده

که نشان دهنده استرس در محیط پرورش بوده است، زیرا در شرایط استرس میزان تولید رنگدانه‌ها افزایش می‌یابد.

در صورت مقایسه اسپیرولینا با سایر ریز جلبک‌ها Abd El-Baky و همکاران (۲۰۰۴) درصد رنگدانه‌های بتاکاروتن، زیگزانتین و لوتئین ریزجلبک دونالیلا را در شرایط استرس شوری به ترتیب ۶۰/۴، ۱۳/۴ و ۴/۶ درصد از کل کاروتنوئیدها بدست آوردند. همچنین Goh و همکاران (۲۰۰۹) در مورد جلبک نانکروپسیس و کیتوسروس میزان بتاکاروتن را به ترتیب ۲۸ و ۱۵/۶ گرم در کیلوگرم اندازه گرفتند، در حالی که این رنگدانه‌ها در تحقیق حاضر برای اسپیرولینا به ترتیب ۴۸/۶، ۴۳/۷۳ و ۲/۷۸ درصد از کل کاروتنوئیدها بدست آمد.

Arunakumara و همکاران (۲۰۰۷) میزان کلروفیل a و بتاکاروتن را به ترتیب ۶ و ۱/۷ میلی‌گرم در لیتر تخمین زدند که در صورت افزودن سرب به تیمارها این مقادیر کاهش پیدا کرد. در تحقیق حاضر میزان کلروفیل a ۴/۳ میکروگرم در میلی‌لیتر بدست آمد که نسبت به سایر بررسی‌ها، بیشتر بود. همچنین Madhyasthaand و Vatsala (۲۰۰۷) میزان کلروفیل اسپیرولینا ماکسیما را ۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آوردند که در مقایسه با تحقیق حاضر اسپیرولینا پلاتنسیس کلروفیل کم‌تری داشته است.

Saleh و همکاران (۲۰۱۱) میزان بتا کاروتن را در سویه‌های مختلف اسپیرولینا ارزیابی کردند که میزان بتا کاروتن بدست آمده آن‌ها از ۱۷۱/۶ تا ۲۳۱/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود که در تحقیق حاضر ۷۳۹۳ میکروگرم بر گرم وزن خشک بدست آمد.

به‌طور کلی نتیجه حاصل از ارزیابی این تحقیق با کار دیگر محققین نشان داد که میزان رنگدانه‌های اسپیرولینای تولید شده در ایران بیش‌تر از سایر مطالعات بوده که این امر احتمالاً به دلیل شرایط پرورش اسپیرولینا در منطقه گرمسیری قشم بوده است. همچنین در صورت تمایل به تولید رنگدانه خاص در اسپیرولینا می‌توان با تغییر شرایط محیطی و استرس‌های فیزیکی و شیمیایی می‌توان به این امر دست یافت.

## منابع

- حیاتی، ف.، ۱۳۸۷. بررسی اثر ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی لایستر با استفاده از آزمون ایمز توسط باکتری سالمونلا تیفی موربوم. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال.
- Abd El-Baky, H. H., El Baz, F. K. and El-Baroty, G. S., 2007.** Enhancement of Antioxidant Production in *Spirulina plantensis* Under Oxidative Stress. American-Eurasian Journal of Scientific Research, 2 (2): 170-179.
- Abd El-Baky, H. H., El Baz F. K. and El-Baroty, G. S., 2004.** Production of carotenoids from marine microalgae and its evaluation as safe food colorant and lowering cholesterol agents. Department of Plant Biochemistry, Egypt.
- Arunakumara, K. K. I. U., Xuecheng, Z. and Yijing, Z., 2007.** Growth and Pigment biosynthesis of *Spirulina platensis* affected by Pb<sup>2+</sup> concentrations. Bangladesh J, Bot, 36(2): 177-179.
- Choonawala, B., 2007.** Spirulina production in Brine Effluent from Cooling Towers. Durban University of Technology.
- Del Campo, J. A., García-González, M. and Guerrero M. G., 2007.** Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. Appl Microbiol Biotechnol, 74:1163-1174.
- Godoy Danesi, E. D., Rangel-Yagui, C. O., Sato, S. and Monteiro de Carvalho, J. C., 2011.** Growth and content of *Spirulina platensis* biomass chlorophyll cultivated at different values of light intensity and temperature using different nitrogen sources. Brazilian Journal of Microbiology, 42: 362-373.
- 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.* Mal. J, Nutr, 15(1): 77-86.
- Jimenez, C., Cossio, B. R., Labella, D. and Xavier Niell, F., 2003.** The feasibility of industrial production of spirulina in southern Spain. Aquaculture, 217:179-190.
- Kumar, M., Kulshreshtha, J. and Singh, G. P., 2011.** Growth and Pigment Profile of *Spirulina platensis* Isolated from Rajasthan. India Research Journal of Agricultural Sciences, 2(1): 83-86.
- Madhyastha, H. K. and Vatsala, T. M., 2007.** Pigment production in *Spirulina fusciformis* in different photophysical conditions. Biomolecular Engineering, 24: 301-305.
- Miki, W., Yamaguchi, K. and Konosu S., 1986,** Carotenoid composition of *Spirulina maxima*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 52(7): 1225-1227.
- Mohammed, M. and Mohd, M., 2011.** Production of carotenoids (antioxidants/ colournt) in *Spirulina* in response to indole acetic acid (IAA). International Journal of Engineering Science and Technology, Vol. 3 No. 6 June 2011.
- Saleh, A. M., Dhar, D. W. and P. Singh, K., 2011.** Comparative pigment profiles of different *Spirulina* strains. Research in Biotechnology, 2(2): 67-74.
- Sethu, P., 1996.** Studies on important phytochemicals and genetic transformation of the cyanobacterium spirulina. Thesis of Mysore University, India.
- Todd, L., 2000.** A review of spirulina as a carotenoid and vitamin source for cultured shrimp. *Spirulina pacifica* Technical Bulletin.
- Zheng, J., 2009.** Biomass Production, Chlorophyll A and Carotenoid Contents of *Spirulina maxima* in Mixed Culture of Lactose.