

## بررسی ترکیب شیمیایی، اسید چرب، اسید آمینه و رنگدانه‌ها در پودر *Arthospira platensis*

### چکیده

در این تحقیق ریز جلبک اسپیرولینا *Arthospira platensis* در محیط گلخانه بهطور انبوه در تانک‌های یک مترمکعب در شوری PPT ۱۵ میانگین دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در محیط کشت جردن و با نور غیرمستقیم خورشید کشت داده شد زمانی که اسپیرولینا به حداقل رشد رسید از محیط کشت توسط فیلتر کردن با مشاهده مشخص برداشت شد و در شرایط آزمایشگاه با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و توزیع در سطح ورقه‌های پلاستیکی، محصول خشک اسپیرولینا حاصل گردید. میزان ترکیب شیمیایی محصول خشک از جمله پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد و پروفیل اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب آن با روش HPLC و GC به دست آمد. همچنین میزان رنگدانه کلروفیل و آستاگرانتین به عنوان دو رنگدانه مهم و کاربردی آن با روش اسپکتروفوتومتری و HPLC اندازه‌گیری شد. میزان پروتئین و چربی پودر اسپیرولینا به ترتیب ۵۰/۹۳ و ۰/۰۴ درصد بود. اسیدآمینه ترتیب توفان با ۸/۸ درصد و اسید چرب لینولنیک با ۱۰/۳۷ درصد به ترتیب غالب‌ترین اسیدآمینه و اسید چرب مشخص شد. در آنالیز رنگدانه‌ها، میزان کلروفیل a ۰/۰۷ میکروگرم بر میلی لیتر و میزان آستاگرانتین آن ۰/۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد.

**واژگان کلیدی:** اسپیرولینا، کشت نیمه انبوه، ترکیبات شیمیایی.

### مقدمه

اسپیرولینا سیانوباتکر رشته‌ای میکروسکوپی است و اسم این جلبک از شکل مارپیچی و رشته‌ای آن مشتق شده است (شکل ۱) (Belay, 2002). دو جنس *Arthospira*, *Spirulina* اسپیرولیناها های مهم خوارکی هستند. این دو جنس از نظر ریخت‌شناسی متفاوت بوده و در نوع چرش، توزیع منافذ در دیواره سلولی، قطر و نوع قطعات تریکوم نیز باهم اختلاف دارند (Sanchez et al., 2002). از اسپیرولینا به عنوان «غذایی برای آینده» یادشده است زیرا قابلیت تولید مواد غذایی متراکم باکیفیت بالا را داشته و در مقایسه با سایر جلبک ناکارایی بیشتری دارد (Choonawala, 2007). مسئله قابل توجه در اسپیرولینا وجود ۶۵ تا ۷۱ درصد وزن خشک پروتئین است درحالی که گوشت گوساله ۲۲ درصد پروتئین دارد (Sanchez et al., 2002). جلبک اسپیرولینا حاوی مواد مغذی، مواد معدنی، رنگدانه‌ها، قند رام نوز (ترکیبات قندی طبیعی از گیاهان)، عناصر کمیاب و آنزیمهای قابل جذب، می‌باشد (Belay, 2002). ارزش غذایی اسپیرولینا در مقایسه با برخی از انواع باکتری‌ها به دلیل درصد نسبتاً کم نوکلئیک اسیدهای موجود در آن است (۴ درصد). اسپیرولینا حاوی ویتامین  $B_{12}$  نیز بوده و برخلاف دیواره سلولی سایر جلبک‌های تغذیه‌ای، دیواره‌های سلولی موکو-پروتئینی اسپیرولینا به راحتی هضم می‌شوند. اسپیرولینا غیر سمی است و چربی‌های آن به صورت اسید چرب غیراشباع است که کلسترول ندارد به همین سبب در درمان بیماری‌های تصلب شرائین و چاقی است (Choonawala, 2007). پودر اسپیرولینا به دلیل میزان قابل توجه اسید لینولنیک نقش مهمی در رشد لارو ماهی (Aslianti, 1988) و لارو میگو دارد (Inghamjitr,

بررسی ترکیب شیمیایی، اسید چرب، اسید امینه و رنگدانه‌ها در پودر *Arthrospira platensis* / قائنی و همکاران

(WSSV). Rahman (۲۰۰۶) توانستند با بهره‌گیری از این جلبک درصد مرگ‌ومیر حاصل از ویروس سندروم لکه سفید (WSSV) را در میگوی جوان (*Litopenaeus vannamei*) کاهش داده و ظهور علائم کلینیکی را به مدت ۱۲ ساعت به تأخیر انداخت (Rahman et al., 2005).

مکمل اسپیروولینا باعث افزایش کیفیت مولدین میگو (هچ مولدین، تعداد ناپلی به مولد، قابلیت زیستی ناپلی) و شاخص‌های کیفی لارو میگو می‌شود (Regunathan and Wesley, 2006). همچنین از این جلبک در درمان PDS (سندروم کمبود رنگدانه) به میزان ۳۰ گرم در کیلوگرم در رژیم غذایی بعد از ظهور علائم PDS استفاده شد و بعد از یک دوره ۴ هفته، درمان صورت گرفت (Regunathan and Wesley, 2006).

Reis و همکاران (۲۰۰۵) میزان اسیدهای چرب غیراشباع را در دو گونه *Cryptecodinium cohnii* و *Arthrospira maxima* در دو سیستم فرمنتور و فتوبیوراکتور تخت باهم مقایسه کردند. میزان چربی کل اسپیروولینا ۴ درصد توده زنده بود.

Kachroo و همکاران (۲۰۰۶) میزان نوسان اسیدهای چرب غیر اشباع *Arthrospira platensis* و *Chlorella minutissima* را در حضور علف کش SAN 9785 بررسی کردند.

Murugan و Manikandavelu (۲۰۰۹) از اسپیروولینای کشت داده شده در محیط کشت کود خوکی ۱۱۵ میلی‌گرم در لیتر رنگدانه فیکوسیانین ۵ و ۰/۰۶۴ میلی‌گرم در لیتر رنگدانه آلوفیکوسانین را به دست آوردند.

Saleh و همکاران (۲۰۱۱) میزان رنگدانه‌های کاروتونئید و فیکوسیانین ۷ سویه مختلف اسپیروولینا را بررسی کردند که سویه SP7 دارای بیشترین میزان کاروتونئیدها و سویه SP4 بیشترین میزان فیکوسیانین را داشت.



شکل ۱: ریز جلبک اسپیروولینا (۱۰۰ میکرون) (Kumar et al., 2011)

## مواد و روش‌ها

کشت انبوه گونه *Arthrospira platensis* در وان‌های ۱۰۰ لیتری و بهمنظور کنترل دما در محیط گلخانه‌ای انجام شد. برای تأمین آب‌شور از نمک دریا به میزان ۱۵ گرم در لیتر و برای غنی‌سازی از محیط کشت جردن به میزان ۱۰ لیتر در تانک استفاده گردید (Jourdan, 2001).

آغاز کشت از گونه *Arthrospira platensis* به میزان ۱/۵ لیتر در هر وان به عنوان بذر اولیه با تراکم اولیه ۱۷۵۰۰ سلول در میلی‌لیتر استفاده شد. از نور غیرمستقیم خورشید برای تأمین نور استفاده گردید. زمانی که رنگ آب در وان‌ها کاملاً سبز و اندازه سلول‌ها به مقدار کافی بزرگ شد و قبل از رسیدن به حداکثر تراکم سلولی و تقسیم سلول‌ها، محیط کشت از الکهایی با مشاهای ۱۵، ۱۰ و ۵ میکرون عبور داده شده و اسپیروولینا روی الک ۱۵ و مقدار کمتری روی الک ۱۰ میکرون باقی ماند. اسپیروولینایی که روی توری مانده بود با آب شیرین شستشو، جمع و توزین شد. روش کشت پیوسته و به کارگیری مجدد از آب فیلتر شده در وان‌ها بود. در زمان تبخیر زیاد از آب شور برای جبران آب از دسترفته استفاده گردید (Falquet, 1999). اسپیروولینایی جمع شده روی پس از شستشو، در سینی‌هایی که با نایلون پوشیده شده بود، به منظور تسريع در خشک کردن، پخش شد که به این طریق سطح را گسترش داده تا سریع‌تر خشک شود و در دمای ۳۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت در سایه‌خشک گردید. محصول ورقه‌ای خشک پس از جمع‌آوری، توزین و آسیاب شده و پس از الک کردن با مش ۲۰ میکرون مورد آنالیزهای شیمیایی قرار گرفت (Jourdan, 2001).

برای اندازه‌گیری رطوبت، یک گرم از پودر اسپیروولینا را در آون  $105^{\circ}\text{C}$  گذاشته و اختلاف وزن در مدت ۳ ساعت محاسبه گردید (AOCS, 1998).

برای اندازه‌گیری خاکستر یک گرم از پودر اسپیروولینا را در کوره کروزه ۶۲۵ درجه سانتی‌گراد گذاشته وقتی رنگ آن سفید شد اختلاف وزن محاسبه گردید (AOCS, 1998).

برای بررسی پروتئین ۳٪ ۰ گرم از پودر اسپیروولینا با سولفوریک اسید غلیظ و قرص کلدال داخل دستگاه هضم گذاشته شد و پس از قرار دادن در دستگاه تقطیر نیتروژن اوریک‌اسید با اسید‌کلریدریک ۵٪ نرمال تیتر شدند و درصد پروتئین تعیین شد (AOCS, 1998). برای بررسی ترکسی اسید‌آمینه ۱٪ ۰ گرم از پودر اسپیروولینا را در اسید‌کلریدریک ۶ نرمال به مدت ۲۴ ساعت در آون ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد هضم کرده و سپس در آب رقيق کرده و ۵٪ میلی‌لیتر از محلول برداشته شد و به آن ۵٪ میلی‌لیتر ۰ بافر و ۴٪ میلی‌لیتر محلول OPA (مشتق HPLC) افزوده شد به دلیل اینکه با روش فلورسانس کار شد از مشتق ساز استفاده شد. سپس ۱۰ میکرو لیتر از نمونه نهایی را به دستگاه تزریق شد (Volkmann et al., 2008).

میزان آب نمونه جلبک اسپیروولینا با دستگاه کارل فیشر (MKS-500 Karl Fischer Moisture Titrator) اندازه‌گیری و برحسب درصد وزنی گزارش شد (AOCS, 1998).

برای استخراج چربی با روش سوکسله انجام شد. در این روش یک گرم نمونه داخل تیم بل گذاشته شد و پس از قرار دادن در داخل دستگاه سوکسله چندین بار شستشو با هگزان چربی موجود در نمونه استخراج گردید. سپس هگزان در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد توسط رفتاری خارج شد (AOCS, 1998).

برای بررسی ترکیب اسید چرب به ۰/۲ گرم از نمونه چربی استخراج شده مقدار ۲ میلی‌لیتر پتابسیم هیدروکسید متانولی ۵٪ نرمال و ۱۰ میلی‌لیتر متانول افزوده شد و به منظور تولید متیل استر ۳۰ دقیقه رفلکس شد. پس از خنک شدن، محصول را با هگزان استخراج کرده و لایه هگزان به دستگاه GC (Hewlett Packard 5890 مدل) تزریق شد (Otles and Pire, 2001).

برای اندازه‌گیری میزان رنگدانه کلروفیل ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از جلبک اسپیروولینا زنده را از محیط کشت برداشته و تراکم سلولی در هر میلی‌لیتر به دست آورده شد. جلبک برداشته شده با سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه تغییظ شد. (مدل دستگاه سانتریفیوژ Kokusan Ensinski, H-11N). سپس مایع اضافی خارج و ۱۰ میلی‌لیتر محلول استون ۹۰ درصد اشیاع به مواد باقیمانده افزوده شد. جهت آسیاب کردن سلول‌ها، لوله‌آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه داخل دستگاه اولتراسوند گذاشته شد که بافت کاملاً هموژن شود. مجدداً مرحله سانتریفیوژ تکرار شد. نمونه دارای استون خالص در اسپکتروفوتومتر قرار داده شد و میزان جذب دستگاه برای نمونه شفاف صفر (تنظیم) گردید. (مدل اسپکتروفوتومتر

(UV-Visible Varian, Cary 50 scan) درنهایت نمونه خالی برداشته شد و نمونه حاوی کلروفیل را در اسپکتروفوتومتر گذاشته و میزان جذب (A) آن در سه طول موج ۵۴۷، ۶۳۰ و ۶۶۴ قرائت و توسط فرمول زیر میزان کلروفیل محاسبه گردید (هوف و اسنل، ۱۳۸۷).

$$\mu\text{g chl a/mL} = 11.85 \times A_{664} - 1.54 \times A_{647} - 0.08 \times A_{630}$$

برای اندازه‌گیری رنگدانه آستاگراتین یک گرم از نمونه اسپیروولینا با ۱۰ میلی‌لیتر BHT و ۳۰ میلی‌لیتر متیلن کلراید به مدت ۱۵ دقیقه سوپریکه شدن و سپس با محلول رقیق کننده به حجم رسانده شد. محلول رقیق کننده شامل ۶۰۰ میلی‌لیتر استونی تریل، ۱۵۰ میلی‌لیتر دی کل رومتان و ۱۰۰ میلی‌لیتر هگزان می‌باشد. محلول BHT با افزودن ۲/۵ گرم در ۵۰۰ میلی‌لیتر دی کل رومتان تهیه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر BHT به محلول رقیق کننده اضافه کرده و به آن‌ها ۰/۰۵ درصدتری اتیل آمین اضافه شد. محلول استخراج شده به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر به دستگاه HPLC تزریق شد (مدل دستگاه HPLC 1046A (HP Hewlett Packard 2000) (Todd Lorenz, 2000). شرایط دستگاه HPLC شامل: ستون C8، فوریت ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه، طول موج ۴۷۲ نانومتر، فاز متحرک شامل ترکیبات استونی تریل ۸۰۰ میلی‌لیتر، متانول ۱۰۰ میلی‌لیتر، هگزان ۲۵ میلی‌لیتر و دی کل رومتان ۲۵ میلی‌لیتر به اضافه ۰/۰۵ درصدتری اتیل آمین بود.

## نتایج

در این تحقیق ترکیبات شیمیایی اسپیروولینای رشد یافته در محیط کشت جردن در جدول ۱ نشان داده شده است و ترکیب اسیدآمینه‌های آن با استفاده از HPLC در جدول ۲ و ترکیب اسیدهای چرب پودر اسپیروولینا در جدول ۳ ارائه شده است. طبق ترکیبات اسید چرب، میزان اسیدهای چرب اشباع ۷۵/۳۶ درصد، اسیدهای چرب تک غیراشباع ۴ درصد و میزان اسیدهای چرب چند غیراشباع ۱۰/۳۶ درصد به دست آمد.

جدول ۱: ترکیبات شیمیایی پودر ریز جلبک اسپیروولینا (درصد).

رطوبت	خاکستر	پروتئین	چربی	کربوهیدرات
۳۸/۸۱ ± ۰/۰۲	۰/۱۱ ± ۰/۰۱	۵۰/۹۳ ± ۰/۱۲	۰/۷۷ ± ۰/۰۵	۹/۴۶ ± ۰/۰۲

جدول ۲: ترکیب اسیدهای آمینه پودر ریز جلبک اسپیروولینا (درصد).

اسیدآمینه	درصد	اسیدآمینه	درصد	اسیدآمینه	درصد
ایزوکلوروسین	۲/۳۴ ± ۰/۰۱	ایزوکلوروسین	۵ ± ۰/۰۱	اسید اسپاراتیک	۵ ± ۰/۰۱
لوسین	۳/۶۶ ± ۰/۰۱	لوسین	۵/۹۹ ± ۰/۰۴	اسید گلوتامیک	۰/۴۸ ± ۰/۰۳
لیزین	---	لیزین	۰/۹۴ ± ۰/۰۰	اسپارژین	۱/۹۴ ± ۰/۰۰
سیستئین	---	سیستئین	۱/۹۴ ± ۰/۰۰	سرین	۰/۹۴ ± ۰/۰۰
پروولین	---	پروولین	۲/۴۷ ± ۰/۰۱	ترؤنین	۲/۴۷ ± ۰/۰۱
متیونین	۶/۵۵ ± ۰/۰۲	متیونین	۳ ± ۰/۰۳	تایر وزین + آلانین	۳ ± ۰/۰۳
توفان	۸/۸۱ ± ۰/۰۲	تایر توفان	۲/۵۶ ± ۰/۰۲	والین	۰/۹۹ ± ۰/۰۲
گلاسین	۲/۹۸ ± ۰/۰۴	گلاسین	۱/۹۹ ± ۰/۰۲	فنیل آلانین	۰/۹۹ ± ۰/۰۲
هیستیدین	۰/۴۴ ± ۰/۰۳	گلوتامین + هیستیدین	۲/۹۵ ± ۰/۰۲	آرژین	۰/۹۴ ± ۰/۰۳

### جدول ۳: اسیدهای چرب پودر ریز جلبک اسپیروولینا (درصد).

<i>A. platensis</i>	اسیدهای چرب
۵۶/۷±۰/۰۰۲	اکтанوئیک اسید
۱۶/۴±۰/۰۰۱	پالمی تیک اسید
۲/۷±۰/۰۲	پالبیتوئیک اسید
۲/۲۶±۰/۰۱	استقاریک اسید
۱/۳±۰/۰۲	اولنیک اسید
۵/۶±۰/۰۰۵	لینولنیک اسید
۱۰/۳۶±۰/۰۳	لینولنیک اسید
۷۵/۳۶	SFA مجموع
۴	MUFA مجموع
۱۵/۹۶	HUFA مجموع

### بحث و نتیجه‌گیری

میزان پروتئین پودر اسپیروولینا (۵۰-۷۰ درصد وزن خشک) در مقایسه با سایر منابع پروتئینی گیاهی ازجمله آرد سویا (۳۵ درصد پروتئین) و پروتئین کلرا (۴۷/۷ درصد) (Morris *et al.*, 2009) بسیار زیاد می‌باشد. میزان پروتئین اسپیروولینا بر اساس زمان برداشت و تغییرات نور روزانه حدود ۱۰-۱۵ درصد تغییر می‌کند (Falquet, Hernandez Desmorieux ۱۹۹۹). میزان پروتئین پودر اسپیروولینا را که با روش‌های مختلف خشک شده بودند اندازه‌گیری کردند که در روش انجماد خشک بیشترین میزان پروتئین ۷۸ درصد، با روش اسپری خشک کن ۷۵ درصد و با روش مادون قرمز ۶۳/۸ درصد به دست آمد. در این تحقیق میزان پروتئین ۵۰/۹۳ درصد وزن خشک به دست آمد که نسبت به میزان گزارش شده توسط سایر محققین کمتر بوده است که احتمال به دلیل برداشت نمونه در اواخر روز بوده، در حالی که بیشترین پروتئین در اول صبح است زیرا در مدت زمان تاریکی بجای فتوسترنز عملیات تنفس صورت گرفته و پروتئین ساخته می‌شود.

میزان چربی پودر اسپیروولینا در دو گونه *S. platensis* و *S. maxima* حدود ۵/۶-۷ درصد وزن خشک بوده است، در حالی که برخی محققین ادعا می‌کنند در صورت استفاده از سیستم‌های استخراج بهتر، میزان چربی به ۱۱ درصد نیز می‌رسد (Falquet, ۱۹۹۹). در جدول ۵ میزان اسیدهای چرب گونه *S. platensis* با دو گونه دیگر اسپیروولینا آورده شده است. در تحقیق Falquet (۱۹۹۹) اسید لینولنیک و اسید لینولنیک گونه *S. platensis* به ترتیب ۴۰/۱ و ۱۲ درصد بوده است که بیش از *S. maxima* و تحقیق حاضر است (جدول ۵). در تحقیق حاضر میزان اسیدهای چرب اشباع در مقایسه با دیگران بیشتر بوده است (۷۵/۳۶ درصد).

Colla و همکاران (۲۰۰۴) میزان اسیدهای چرب اسپیروولینا پلاتنسیس را در شرایط گلخانه و درون فتوبیوراکتورها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد را به دست آورده‌اند که اسید لینولنیک و اسید لینولنیک را به ترتیب ۱۹/۳۵ و ۱۲/۵ درصد بود، در حالی که در این تحقیق این میزان به ترتیب ۱۰/۳۶ و ۵/۶ به دست آمد.

جدول ۴: ترکیب اسیدهای چرب *Arthospira platensis* بر حسب درصد در مقایسه با دو جنس دیگر از اسپیرولینا.

درصد			اسید چرب
*S. maxima	* S. platensis	A. platensis	
***⁴	*** ۳/۶۵	۵۶/۷	اکتانوئیک اسید
۶۳	۲۵/۸	۱۶/۴	پالمیتیک اسید
۲	۳/۸	۲/۷	پالمیتولیثیک اسید
۱	۱/۷	۲/۲۶	استشاریک اسید
۴	۱۶/۶	۱/۳	اولئیک اسید
۹	۱۲	۵/۶	لینوئیک اسید
۱۳	۴۰/۱	۱۰/۳۶	لینولیک اسید

\* درصدهای دو گونه اسپیرولینا براساس رفنس (Falquet, 1999) آورده شده است.

\*\* اسید اکتانوئیک طبق رفنس (Otles and Pire, 2001) آورده شده است.

جدول ۵: آنالیز اسیدهای آمینه در اسپیرولینا (Volkmann et al., 2008)

Volkmann 2008	Volkmann 2008	Richmond 2004	گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین			آمینواسید
			Volkmann** 2008	Volkmann* 2008	Richmond 2004	
۰/۵۷	۰/۵۹	۰/۹۰	۶/۴۹	۵/۷۱	۶/۷۰	ایزوولوسین
۵/۳۱	۴/۶۵	۶/۲۰	۱۰/۱۷	۹/۲۶	۹/۸۰	لوسین
۱۰/۴۱	۹/۱۷	۲/۲۰	۴/۹۹	۴/۴۲	۴/۸۰	لیزین
۹/۲۷	۸/۵۱	۹/۵۰	۲/۱۶	۲/۰۵	۲/۵۰	متیونین
۸	۷/۰۹	۷/۳۰	۵/۱۶	۴/۴۵	۵/۳۰	فنل الائین
۳/۹۰	۹/۸۶	۱۱/۸۰	۵/۶۹	۵/۲۶	۵/۳۰	تیروزین
۲/۹۸	۱/۱۰	۵/۷۰	۰/۰۸	۰/۰۶	۰/۳۰	تریپتوفان
۳/۷۵	۳/۳۳	۴/۲۰	۶/۵۴	۶/۴۵	۷/۱۰	والین
۵	۴/۵۹	۵/۱۰	۹/۴۷	۱۳/۴۰	۱۰/۳۰	گلوتامیک اسید

\* اسپیرولینا در محیط کشت Paoletti در آب شور

\*\* اسپیرولینا در محیط کشت Paoletti در آب خروجی از دستگاه‌های نمکزدایی

در این تحقیق میزان رنگدانه کلروفیل a اسپیرولینا ۲/۰۹۷ میکروگرم بر میلی لیتر و میزان آستاگزانتین در اسپیرولینا با استفاده از استاندارد آستاگزانتین طی روش HPLC ۰/۲۱ میلی گرم بر کیلو گرم به دست آمد. در حالی که Jimenez و همکاران (۲۰۰۳) میزان کاروتونوئید پودر اسپیرولینا *Spirulina platensis* را ۵/۹-۶ گرم در کیلو گرم و میزان کلروفیل آن را ۶/۶-۹/۲ گرم در کیلو گرم اندازه گرفتند. Kumar و همکاران (۲۰۱۱) میزان کلروفیل a در *Spirulina platensis* ۱/۳۷ درصد به دست آوردند.

در مجموع این طور نتیجه‌گیری می‌شود که با تغییر نوع محیط کشت، دما، زمان برداشت و شرایط کشت اسپیرولینا میزان ترکیبات شیمیایی آن خصوصاً پروتئین، اسیدهای چرب و کاروتونوئیدها تغییر خواهد کرد. در صورت کشت اسپیرولینا به منظور تولید پروتئین بهترین زمان برداشت صحی می‌باشد زیرا در زمان تاریکی اسپیرولینا عمل تنفس انجام داده و در اثر متابولیسم پروتئین تولید شده است.

## منابع

هدف، ق. و استل، ت.. ۱۳۸۷. ترجمه تکثیر و پرورش غذای زنده. دستورالعمل تکثیر و پرورش پلانکتون‌ها، آذری تاکامی، ق، امینی چرمبینی، م، موسسه انتشارات دانشگاه تهران، ۳۴۲ ص.

**AOCS Ce 1b-89, 1998.** www.aocs.org.

**Aslianti, Y., 1988.** Experiment on the mass production of dried of spirulina for fish and shrimp larvae food, Journal Penelitian Budidaya Pantai Maros, Indonesia, FAO.

**Belay, A., 2002.** The Potential Application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a nutritional and therapeutic supplement in health management, JANA, vol 5, no. 2.

**Choonawala, B., 2007.** Spirulina production in Brine Effluent from Cooling Towers, Durban University of Technology.

**Colla, L. M., Bertolin, T. E. and Viera Costa, J. A., 2004.** Fatty Acid Profile of *Spirulina platensis* Grown under Different Temperatures and Nitrogen Concentration.

**Desmorieux, H. and Hernandez, F., 2004.** Biochemical and Physical Criteria of *Spirulina* after Different Drying Processes, Proceedings of the 14th International Drying Symposium (IDS 2004) São Paulo, Brazil, 22-25 August 2004, vol. B, pp. 900-907

**Falquet, J., 1999.** A teaching module for the production of *Spirulina*, Antenna Technology, Geneve.

**Ingthamjitr, S., 1989.** Use of *Spirulina* in the culture of *Penaeus monodon* larvae. Asian Institute of Technology, Thailand.

**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.

Jourdan, P., 2001, Manual of small scale Spirulina culture, Antenna Technologies.

**Kachroo, D., Singh Jolly S. M. and Ramamurthy V., 2006.** Modulation of unsaturated fatty acids content in algae *Spirulina platensis* and *Chlorella minutissima* in response to herbicide SAN 9785 Electronic Journal of Biotechnology ISSN: 0717-3458 Vol.9 No.4, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso – Chile.

**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

**Manikandavelu, D. and Murugan T., 2009.** Utilization of Swine Dung in Spirulina Production and Isolation of Phycocyanin, Tamilnadu J. Veterinary & Animal Sciences 5 (4) 171-173.

**Morris, H. J, Carrillo, O. V., Almarales, Á., Bermúdez, R. C., Alonso, M. E., Borges, L., Quintana, M. M., Fontaine, R. and Llauroadó, G., 2009.** Martha Hernández Biotecnología Aplicada 2009; Vol.26, No.2

**Otles, S. and Prire, R., 2001.** Fatty acid composition of chlorella and spirulina microalgae species, Journal of AOAC International, Vol. 84, No. 6.

**Rahman, M. M., Escobedo-Bonilla, Wille, M., Alday Sanz, V., Audoorn, L., Neyts, J., Pensaert, M.B., Sorgeloos, P. and Nauwynck, H. J., 2006.** Clinical effect of cidofovir and a diet supplemented with *Spirulina platensis* in white spot syndrome virus (WSSV) infected specific pathogen-free *Litopenaeus vannamei* juveniles, Aquaculture 255:600-605.

**Regunathan, C. and Wesley, S. G., 2006.** Pigment deficiency correction in shrimp broodstock using Spirulina as a carotenoid source. Aquaculture Nutrition 2006.12; 425-432.

**Reis, A; Lopes da Silva, T., Mendes, R., Calado, V., Silva, N., Mendes, A., Alves, S. and Vasconcelos, J., 2005.** Preliminary Study of PUFA Production by Microalgae and Cyanobacteria Using Two-Phase System, 2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering, 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering.

- Richmond, A., 2004.** Handbook of microalgal culture biotechnology and applied phycology. Blackwell Science, Oxford.
- Saleh, A. M., Dhar, D. W. and Singh, P. K., 2011.** Comparative pigment profiles of different *Spirulina* strains, Research in Biotechnology, 2(2): 67-74.
- Sanchez, M., Bernal-Castillo, J., Rozo, C. and Rodriguez, I., 2002.** Spirulina: An edible microorganism: a review, Colombia.
- Todd Lorenz, B., 2000.** A review of spirulina as a carotenoid and vitamin source for cultured shrimp. *Spirulina pacifica* Technical Bulletin #050
- Volkman, H., Imianovsky, U., Oliveira, J. L. B., Sant Anna, E. S., 2008.** Cultivation of *Arthrospira platensis* in desalinator wastewater and salinated synthetic medium: protein content and amino acid profile, Brazilian Journal of Microbiology 39:1-4.