

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

چکیده

در این تحقیق ریز جلبک اسپیرولینا *Arthrospira 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 حداکثر رشد رسید از محیط کشت توسط فیلتر کردن با مش‌های 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 آستاگزانتین به‌عنوان دو رنگ‌دانه مهم و کاربردی آن با روش اسپکتروفتومتری و HPLC اندازه‌گیری شد. میزان پروتئین و چربی پودر اسپیرولینا به ترتیب ۵۰/۹۳ و ۰/۱ درصد بود. اسیدآمینه تریپتوفان 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 ۲/۰۹۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر و میزان آستاگزانتین آن ۰/۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد.

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

منصوره قائنی^{۱*}

لاله رومیانی^۲

نسرین چوب‌کار^۳

۱ و ۲. گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد

اسلامی، اهواز، ایران

۳. گروه شیلات، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد

اسلامی، کرمانشاه، ایران.

*مسئول مکاتبات

mansorehghaeni@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۵۰۲۰۳۶۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۰۵

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی

است.

مقدمه

اسپیرولینا سیانوباکتر رشته‌ای میکروسکوپی است و اسم این جلبک از شکل مارپیچی و رشته‌ای آن مشتق شده است (شکل ۱) (Belay, 2002). دو جنس *Arthrospira*, *Spirulina* اسپیرولینا‌های های مهم خوراکی هستند. این دو جنس از نظر ریخت‌شناسی متفاوت بوده و در نوع چرخش، توزیع منافذ در دیواره سلولی، قطر و نوع قطعات تریکوم نیز باهم اختلاف دارند (Sanchez et al., 2002). از اسپیرولینا به‌عنوان «غذایی برای آینده» یاد شده 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 درحالی‌که 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 B₁₂ نیز بوده و برخلاف دیواره سلولزی سایر جلبک‌های تغذیه‌ای، دیواره‌های سلولی موکو-پروتئینی اسپیرولینا به راحتی هضم می‌شوند. اسپیرولینا غیر سمی است و چربی‌های آن به‌صورت 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 (Ingthamjitr,

Rahman. (1989) و همکاران (۲۰۰۶) توانستند با بهره‌گیری از این جلبک درصد مرگومیر حاصل از ویروس سندروم لکه سفید (WSSV) را در میگوی جوان (*Litopeneus vannamei*) کاهش داده و ظهور علائم کلینیکی را به مدت ۱۲ ساعت به تأخیر انداخت (Rahman et al., 2005).

مکمل اسپیرولینا 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 *Arthrospira maxima* و *Cryptocodinium cohnii* در دو سیستم فرمنتور و فتوبیوراکتور تخت باهم مقایسه کردند. میزان چربی کل اسپیرولینا ۴ درصد توده زنده بود. Kachroo و همکاران (۲۰۰۶) میزان نوسان اسیدهای چرب غیر اشباع *Arthrospira platensis* و *Chlorella minutissima* را در حضور علف‌کش SAN 9785 بررسی کردند.

Manikandavelu و Murugan (۲۰۰۹) از اسپیرولینای کشت داده‌شده در محیط کشت کود خاکی ۰/۱۱۵ میلی‌گرم در لیتر رنگدانه فیکوسیانیین C و ۰/۰۶۴ میلی‌گرم در لیتر رنگدانه آلفیکوسانین را به دست آوردند.

Saleh و همکاران (۲۰۱۱) میزان رنگدانه‌های کاروتنوئید و فیکوسیانیین ۷ سویه مختلف اسپیرولینا را بررسی کردند که سویه SP7 دارای بیشترین میزان کاروتنوئیدها و سویه SP4 بیشترین میزان فیکوسیانیین را داشت.



شکل ۱: ریز جلبک اسپیرولینا (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). برای

آغاز کشت از گونه *Arthrospira platensis* به میزان ۱/۵ لیتر در هر وان به‌عنوان 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 مش‌های ۵۰، ۱۵، ۱۰ و ۵ میکرون عبور داده‌شده و اسپیرولینا روی الک ۱۵ و مقدار کمتری روی الک ۱۰ میکرون باقی ماند. اسپیرولینایی که روی توری مانده بود با آب شیرین شستشو، جمع و توزین شد. روش کشت پیوسته و به‌کارگیری مجدد از آب فیلتر شده در وان‌ها بود. در زمان تبخیر زیاد از آب‌شور برای جبران آب ازدست‌رفته استفاده گردید (Falquet, 1999). اسپیرولینای جمع شده روی توری پس از شستشو، در سینی‌هایی که با نایلون پوشیده شده بود، به‌منظور تسریع در خشک‌کردن، 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 بامش ۲۰ میکرون مورد آنالیزهای شیمیایی قرار گرفت (Jourdan, 2001).

برای اندازه‌گیری رطوبت، یک گرم از پودر اسپیرولینا را در آن 105°C گذاشته و اختلاف وزن در مدت ۳ ساعت محاسبه گردید (AOCS, 1998).

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

برای بررسی پروتئین ۰/۳ گرم پودر اسپیرولینا با سولفوریک اسید غلیظ و قرص کلدال داخل دستگاه هضم گذاشته شد و پس از قرار دادن در دستگاه تقطیر نیتروژن اوریک‌اسید با اسیدکلریدریک ۰/۵ نرمال تیترو شدند و درصد پروتئین تعیین شد (AOCS, 1998).

برای بررسی ترکیبی اسیدآمینه ۰/۱ گرم از پودر اسپیرولینا را در اسیدکلریدریک ۶ نرمال به مدت ۲۴ ساعت در آن ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد هضم کرده و سپس در آب رقیق کرده و ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول برداشته شد و به آن ۵/۵ میلی‌لیتر ۰ بافر و ۰/۴ میلی‌لیتر محلول OPA (مشتق ساز) 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 HPLC تزریق شد (Volkman et al., 2008).

میزان آب نمونه جلبک اسپیرولینا با دستگاه کارل فیشر (مدل Karl Fischer Moisture Titrator MKS-500) 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 استخراج‌شده مقدار ۲ میلی‌لیتر پتاسیم هیدروکسید متانولی ۰/۵ نرمال و ۱۰ میلی‌لیتر متانول افزوده شد و به‌منظور تولید متیل استر ۳۰ دقیقه رفلکس شد. پس از خنک شدن، محصول را با هگزان استخراج کرده و لایه هگزان به دستگاه GC (مدل HP Hewlett Packard 5890) تزریق شد (Otles and Pire, 2001).

برای اندازه‌گیری میزان رنگ‌دانه کلروفیل ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از جلبک اسپیرولینا زنده را از محیط کشت برداشته و تراکم سلولی در هر میلی‌لیتر به دست آورده شد. جلبک برداشته‌شده با سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه تغلیظ شد. (مدل دستگاه سانتریفیوژ Kokusan H-11N). سپس مایع اضافی خارج و ۱۰ میلی‌لیتر محلول استون ۹۰ درصد اشباع 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 اسپکتروفتومتر قرار داده شد و میزان جذب دستگاه برای نمونه شفاف صفر (تنظیم) گردید. (مدل اسپکتروفتومتر

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

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

نتایج

در این تحقیق ترکیبات شیمیایی اسپیرولینای 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 اسپیرولینا 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 اسپیرولینا (درصد).

رطوبت	خاکستر	پروتئین	چربی	کربوهیدرات
۹/۴۶ ± ۰/۰۲	۰/۷ ± ۰/۰۵	۵۰/۹۳ ± ۰/۱۲	۰/۱ ± ۰/۰۱	۳۸/۸۱ ± ۰/۰۲

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

اسیدآمینه	درصد	اسیدآمینه	درصد
اسید اسپارتیک	۵ ± ۰/۰۱	ایزولوسین	۲/۳ ± ۰/۰۱
اسید گلوتامیک	۵/۹۹ ± ۰/۰۴	لوسین	۳/۶۶ ± ۰/۰۱
آسپارژین	۰/۴۸ ± ۰/۰۳	لیزین	---
سرین	۱/۹ ± ۰/۰۰	سیستئین	---
ترئونین	۲/۴۷ ± ۰/۰۱	پرولین	---
تایر وزین + آلانین	۳ ± ۰/۰۳	متیونین	۶/۵ ± ۰/۰۲
والین	۲/۵۶ ± ۰/۰۲	تریپتوفان	۸/۸ ± ۰/۰۲
فنیل آلانین	۱/۹ ± ۰/۰۲	گلایسین	۲/۹۸ ± ۰/۰۴
آرژنین	۲/۹۵ ± ۰/۰۲	گلوتامین + هیستیدین	۰/۴۴ ± ۰/۰۳

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

اسیدهای چرب	<i>A. platensis</i>
اکتانوئیک اسید	۵۶/۷±۰/۰۰۲
پالمی تیک اسید	۱۶/۴±۰/۰۰۱
پالمیتوئیک اسید	۲/۷±۰/۰۰۲
استئاریک اسید	۲/۲۶±۰/۰۰۱
اولئیک اسید	۱/۳±۰/۰۰۲
لینوئیک اسید	۵/۶±۰/۰۰۵
لینولنیک اسید	۱۰/۳۶±۰/۰۰۳
مجموع SFA	۷۵/۳۶
مجموع MUFA	۴
مجموع HUFA	۱۵/۹۶

بحث و نتیجه‌گیری

میزان پروتئین پودر اسپیرولینا (۵۰-۷۰ درصد وزن خشک) در مقایسه با سایر منابع پروتئینی گیاهی ازجمله آرد سویا (۳۵ درصد پروتئین) و پروتئین کلرلا (۴۷/۷ درصد) (Morris et al., 2009) بسیار زیاد می‌باشد. میزان پروتئین اسپیرولینا بر اساس زمان برداشت و تغییرات نور روزانه حدود ۱۵-۱۰ درصد تغییر می‌کند (Falquet, 1999). Hernandez و Desmorieux (۲۰۰۴) میزان پروتئین پودر اسپیرولینا را که با روش‌های مختلف خشک‌شده بودند اندازه‌گیری کردند که در روش انجماد خشک بیشترین میزان پروتئین ۷۸ درصد، با روش اسپری خشک‌کن 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 گزارش‌شده توسط سایر محققین کمتر بوده است که احتمال به دلیل برداشت نمونه در اواخر روز بوده، درحالی‌که بیشترین پروتئین در اول صبح است زیرا در مدت زمان تاریکی بجای فتوسنتز عملیات تنفس صورت گرفته و پروتئین ساخته می‌شود.

میزان چربی پودر اسپیرولینا در دو گونه *S. platensis* و *S. maxima* حدود ۷-۵/۶ درصد وزن خشک بوده است، درحالی‌که برخی محققین ادعا می‌کنند در صورت استفاده از سیستم‌های استخراج بهتر، میزان چربی به ۱۱ درصد نیز می‌رسد (Falquet, 1999). در جدول ۵ میزان اسیدهای چرب گونه *S. platensis* با دو گونه دیگر اسپیرولینا آورده شده است. در تحقیق Falquet (۱۹۹۹) اسید لینولنیک و اسید لینوئیک 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 اسپیرولینا پلاتنسیس را در شرایط گلخانه و درون فتوبیوراکتورها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد را به دست آوردند که اسید لینولنیک و اسید لینوئیک را به ترتیب ۱۹/۳۵ و ۱۲/۵ درصد بود، درحالی‌که در این تحقیق این میزان به ترتیب ۱۰/۳۶ و ۵/۶ به دست آمد.

جدول ۴: ترکیب اسیدهای چرب *Arthrospira platensis* برحسب درصد در مقایسه با دو جنس دیگر از اسپیرولینا.

اسید چرب	درصد		
	<i>S. maxima</i>	<i>S. platensis</i>	<i>A. platensis</i>
اکتانوئیک اسید	۵۶/۷	۳/۶۵	۴
پالمیتیک اسید	۱۶/۴	۲۵/۸	۶۳
پالمیتوئیک اسید	۲/۷	۳/۸	۲
استئاریک اسید	۲/۲۶	۱/۷	۱
اولئیک اسید	۱/۳	۱۶/۶	۴
لینوئیک اسید	۵/۶	۱۲	۹
لینولنیک اسید	۱۰/۳۶	۴۰/۱	۱۳

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

**اسید اکتانوئیک طبق رفرنس (Otlés and Pire, 2001) آورده شده است.

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

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

*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 میلی‌لیتر و میزان آستاگزانتین در اسپیرولینا با استفاده از استاندارد آستاگزانتین طی روش HPLC، ۰/۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد. درحالی‌که 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. Kumar و همکاران (۲۰۱۱) میزان کلروفیل a را در *Spirulina platensis* ۱/۳۷ درصد به دست آوردند.

درمجموع این‌طور نتیجه‌گیری می‌شود که با تغییر نوع محیط کشت، دما، زمان برداشت و شرایط کشت اسپیرولینا میزان ترکیبات شیمیایی آن خصوصاً پروتئین، اسیدهای چرب و کاروتنوئیدها تغییر خواهد کرد. در صورت کشت اسپیرولینا به‌منظور تولید پروتئین بهترین زمان برداشت صبح می‌باشد زیرا در زمان تاریکی اسپیرولینا عمل تنفس انجام داده و در اثر متابولیسم پروتئین تولیدشده است.

منابع

هدف، ق. و اسئل، ت.، ۱۳۸۷. ترجمه تکثیر و پرورش غذای زنده. دستورالعمل تکثیر و پرورش پلانکتون‌ها، آذری تاکامی، ق.، امینی چرمپینی، 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.

Ingthamjit, 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 Llauro, 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., Roza, 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.