

بررسی کلروفیل a و کاروتوئیدها در ریز جلبک اسپیرولینا

چکیده

منصوره قائeni^{*}
مهری سید هشتتروودی^۲
فاطمه قادری^۳
لاله رومیانی^۴

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، مریبی گروه شیلات،
آبادان، ایران

* مسئول مکاتبات:
mansoreh.ghaeni@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۶/۲۰

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 کاروتوئیدها 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. کاروتوئیدها گروه مهمی از رنگدانه‌های طبیعی هستند که فقط توسط گیاهان و جلبک‌ها تولید شده که علاوه بر تولید رنگدانه‌های طبیعی مفید دارای خواص آنتی اکسیدانی نیز می‌باشند. در این تحقیق پس از تهیه استاندارد رنگدانه‌ها از شرکت سیگما الدریج و انجام روش‌های آزمون و خطا برای بتاکاروتن، لیکوپن، زیگراتین، لوئین و آستاگراتین توسط روش‌های کلاسیک حلal-حلال و اسپکتروفوتومتری و آنالیز HPLC مورد سنجش قرار گرفت که میزان هر کدام از آن‌ها به ترتیب ۴/۳ میکروگرم در میلی لیتر، ۷۳۹۳، ۷۴۱، ۶۶۵۲ و ۴۲۴ و ۰/۲۱ میکروگرم بر گرم بدست آمد.

واژگان کلیدی: اسپیرولینا، کلروفیل a، بتاکاروتن، لیکوپن، زیگراتین، لوئین، آستاگراتین.

(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 میگویی پرورشی استفاده فراوانی دارد و مهم‌ترین اثر آن رنگدانه‌سازی است. میگوهای دریابی به دلیل استفاده از منابع غذایی طبیعی حاوی کاروتوئید، رنگ بهتری نسبت به میگوهای پرورشی دارند. کاروتوئیدها و کاروتوپروتئین‌ها مسئول ایجاد رنگ‌های متنوع در سخت‌پوستان می‌باشند. آستاگراتین، کاروتوئید غالب در میگویی ببری سبز و علت اصلی رنگ قرمز بدنش است. اسپیرولینا شامل بتاکاروتن، بتاکریپتوzanین و زیگراتین به عنوان مهم‌ترین کاروتوئیدهای است که طی

مقدمه

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

اسپیرولینا سیانوبکتری است که در کشورهای متعددی به عنوان ماده ارزشمند تجاری به دلیل ارزش غذایی، خواص درمانی، پروتئین و ویتامین فراوان شناخته شده است. کاروتوئیدها 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 فتوستتر ایفا می‌کنند

لیکوپن، لوتین، آستاگرانتین، کانتاگرانتین و فوکوگرانتین در سنتر ویتامین A دخالت ندارند. بنایارین اثر حفاظتی کاروتونوئیدها مستقل از ویتامین A و فعالیتهای پیشزمینهای آن می‌باشد و به اثر آنتی اکسیدانی و مبارزه آن‌ها با رادیکال‌های آزاد مرتبط است (جیاتی، ۱۳۸۷).

جانوران نمی‌توانند کاروتونوئید را سنتر کنند، بجز بعضی از سختپوستان و ماهی koi که توانایی تبدیل مستقیم بتاکاروتون و زیگرانتین به آستاگرانتین را دارند. اسپیروولینا پلاتنسیس سویه pacifica پیشترین میزان بتاکاروتون و زیگرانتین را در منابع طبیعی دارد که هر دو به آستاگرانتین تبدیل شده و رنگ قرمز مطلوبی را بوجود می‌آورند.

محققان مشاهده نمودند که آستاگرانتین در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد بهتر از کاروتونوئیدهای دیگر نظیر بتا کاروتون عمل نموده و در جلوگیری از پراکسیده شدن استرهای متیلی اسیدهای چرب اشباع نشده بهتر از کانتاگرانتین، بتا کاروتون و زاگرانتین می‌باشد. دوز یکسان از بتاکاروتون مانند آستاگرانتین قادر به ممانعت از پر اکسید شدن لیپید در واکنش‌های اکسیداتیو نمی‌باشد و در این مورد آستاگرانتین صد بار موثرتر از بتاکاروتون گزارش گردید. در شکل ۲ مسیر بیوستزر آستاگرانتین از بتاکاروتون نشان داده شده است. البته ایجاد غلظت مناسب آستاگرانتین در پلاسمما و دسترسی زیستی به آن راحت‌تر از دسترسی به بتاکاروتون می‌باشد و یکی از دلایل اثر کمتر بتا کاروتون نسبت به آستاگرانتین همین امر است (جیاتی، ۱۳۸۷).

با توجه به خواص و کاربرد فراوان اسپیروولینا و وجود رنگدانه‌های طبیعی و غنی از کاروتونوئید هدف این تحقیق مطالعه میزان رنگدانه‌های مفید اسپیروولینای تولید شده در ایران مخصوصاً کاروتونوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان بوده است.

مواد و روش‌ها

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

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

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

کاروتونوئیدها گروهی از رنگدانه‌ها هستند که علاوه بر نقشی که در تشکیل رنگدانه‌ها بر عهده دارند، خاصیت آنتی اکسیدانی 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 کاروتونوئیدی به شکل دیگر تبدیل گردند. همچنین نقش مهمی در تشکیل ویتامین A بر عهده دارند. در واقع بتا کاروتون، کاروتونوئید پایه برای تشکیل ویتامین A می‌باشد. جذب بتاکاروتون به جای جذب خود ویتامین A در رژیم غذایی، در کاهش وقوع سرطان موثر است و بتا کاروتون 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 اینمنی بدن و فعالیت ضد سلطانی در بدن جوندگان و انسان می‌باشند. به طور تقریبی در طبیعت ۶۰۰ نوع کاروتونوئید 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 کاروتونوئیدهایی که در فعالیت و سنتر ویتامین A نقشی ندارند، دارای فعالیت ضد سلطانی می‌باشند.

حالل 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 ۵۰۰ دور در دقیقه از حالل جدا گردید و محلول رویی توسط فیلتر سر سرنگی 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 تغليظ 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 حالل متابول بدست آمد، متابول به عنوان حالل مناسب استخراج انتخاب گردید.

جداسازی کروماتوگرافی توسط دستگاه HPLC مربوط به شرکت Agilent سری 1200 صورت گرفت که مجهز به دتکتور 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 توس ستون Eurosphere 100-5 C18 column, 300×4.6 mm Knauer,) (Germany) بدست آمد. آنالیز HPLC توسط شویش ایزوکراتیک با سرعت حالل ۸/۰ میلی‌لیتر در دقیقه انجام شد. فاز متحرک شامل استونیتریل- دی کلرومتان- متابول با نسبت (۷۰:۲۰:۱۰ v/v) 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 زمان های 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 کارتونوییدها 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 تغليظ گردید، سپس مایع اضافی خارج و ۱۰ میلی‌لیتر محلول استون ۹۰ درصد اشاعبه 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 تغليظ گردید. سپس یک UV-Visible نمونه دارای استون خالص در اسپکتروفوتومتر (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 اسپکتروفوتومتر قرار گرفت و میزان جذب (A) آن در سه طول موج ۶۳۰، ۶۴۷ و ۶۶۴ nm 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):

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

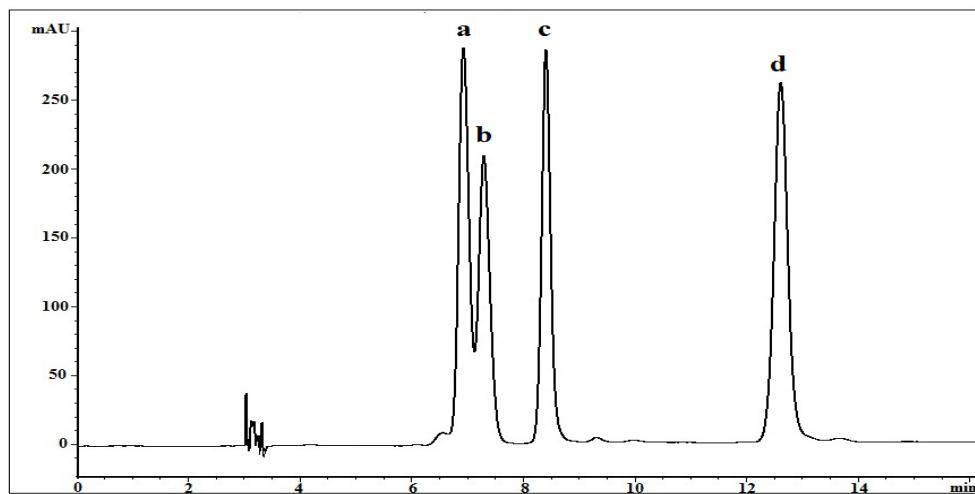
Sigma-Aldrich تمامی استانداردهای کارتونویید از شرکت خریداری شدند. ترکیب بتاکاروتون و زئاگزانتین در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و ترکیب لیکوبین و لوئین در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ترکیب آمونیوم استات، تری اتیل آمین و آسکوربیک اسید دارای خلوص ۹۵ درصد بوده و از شرکت Merck خریداری گردید. تمام حالل‌ها دارای خلوص HPLC gradient grade Caledon از شرکت HPLC 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 ۱/۰ 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 قطره کاملاً شست و شو داده شد. سپس توسط دستگاه فریز درایر خشک گردید. برای انتخاب حالل مناسب، سه حالل متابول، استن ۹۰ درصد و هگزان مورد بررسی قرار گرفتند. ابتدا ۱ میلی‌لیتر از حالل سرد به ۲۵ میلی‌گرم از نمونه خشک شده اضافه نموده و نمونه در داخل

نتایج

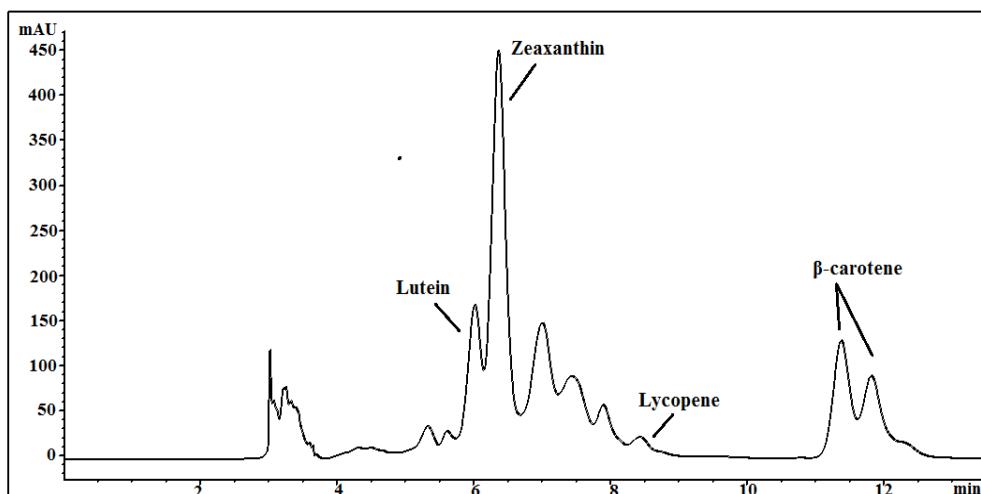
برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل **a** در اسپیروولینا پس از قراتت جذب در طول موج‌های مورد نظر اعداد در فرمول گذاشته و میزان کلروفیل **a** $\frac{4}{3}$ میکروگرم در میلی لیتر محاسبه شد. میزان آستاگزانتین پودر اسپیروولینا، $\frac{1}{21}$ میکروگرم بر گرم بدست آمد. همچنین میزان بتاکاروتون، لیکوپین، زیگزانتین و لوئین به ترتیب $6652, 741, 7393$ و 424 میکروگرم در گرم (وزن خشک) محاسبه گردید. در شکل ۱ کروماتوگرام مربوط به جداسازی **۴** استاندارد کاروتونوئید را در شرایط کروماتوگرافی ذکر شده و شکل **۲** کروماتوگرام جداسازی محلول استخراج شده اسپیروولینا توسط حلal مтанول می‌باشد.

جدول **۱** مراکزیم‌های جذب UV-Vis در چهار کاروتینوئید مورد مطالعه در داخل محلول فاز متحرک را نمایش می‌دهد.

یک گرم از پودر اسپیروولینا با 10 میلی لیتر BHT و 30 میلی لیتر متیلن کلراید به مدت 15 دقیقه سونیکه شدند. سپس با محلول رقیق کننده به حجم رسانده شد. محلول رقیق کننده شامل 600 میلی لیتر استونیتریل، 150 میلی لیتر دی کلرومتان و 100 میلی لیتر هگزان می‌باشد. محلول BHT با افزودن $2/5$ گرم در 500 میلی لیتر دی کلرومتان تهیه شد. سپس $5/5$ میلی لیتر BHT به محلول رقیق کننده اضافه و به آن‌ها $10/5$ درصد تری اتیل آمین اضافه شد. محلول استخراج شده به میزان 100 میکرولیتر به دستگاه HPLC تزریق شد (مدل دستگاه HP .(Todd Lorenz, 2000) (Hewlett Packard 1046A شرایط دستگاه HPLC شامل: ستون C8، فلوریت $0/7$ میلی لیتر در دقیقه، طول موج 472 نانومتر، فاز متحرک شامل ترکیبات استونیتریل 800 میلی لیتر، مtanول 100 میلی لیتر، هگزان 25 میلی لیتر و دی کلرومتان 25 میلی لیتر به اضافه $10/5$ درصد تری اتیل آمین بود.



شکل **۱**: کروماتوگرام (a) کلروفیل **a** (b) زیگزانتین (c) لیکوپین (d) بتاکاروتون



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

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

	$\lambda_{\text{max}2}$	$\lambda_{\text{max}3}$	کاروتینوئید
بتا کاروتین	۴۲۵	۴۵۵	۴۸۲
لیکوپن	۴۴۸	۴۷۴	۵۰۵
لوتئین	۴۲۲	۴۴۸	۴۷۵
زیگزانتین	۴۲۵	۴۵۴	۴۸۰

جدول ۲: معادلات کالیبراسیون، انحراف معيار استاندارد، مقادیر R^2 ، راندمان استخراج و غلظت کاروتینوئیدها در سال ۱۳۹۰

وزن خشک (میکروگرم بر گرم)	میزان رنگدانه	معادله تنظیم منحنی	R^2	RSD (درصد)	Recovery (درصد)	کاروتینوئید
۷۳۹۳	y = ۲۱۰.۳/۲X + ۶۸/۴	=	۰.۹۹۷	۰.۴۵	۹۰	بتا کاروتین
۷۴۱	y = ۱۰۷۷X - ۷۸/۰۹	=	۰.۹۹۸	۰.۵۸	۹۲	لیکوپن
۴۲۴	y = ۱۳۱۱۰.X - ۲۵۵/۱	=	۰.۹۹۹	۱.۵	۹۳	لوتئین
۶۶۵۲	y = ۴۹۴۵/۹X - ۱۵۱	=	۰.۹۹۴	۰.۷۲	۹۳	زیگزانتین

بحث و نتیجه گیری

که نشان دهنده استرس در محیط پرورش بوده است، زیرا در شرایط استرس میزان تولید رنگدانه‌ها افزایش می‌یابد. در صورت مقایسه اسپیروولینا با سایر ریز جلبک‌ها در Abd El-Baky و همکاران (۲۰۰۴) درصد رنگدانه‌های بتاکاروتون، زیگراتین و لوئین ریزجلبک دونالیلا را در شرایط استرس شوری به ترتیب $40/4$ و $4/6$ درصد از کل کاروتوئیدها بدست آوردند. همچنین Goh و همکاران (۲۰۰۹) در مورد جلبک نانکروپسیس و کیتوسوروس میزان بتاکاروتون را به ترتیب 28 و $15/6$ گرم در کیلوگرم اندازه گرفتند، در حالی که این رنگدانه‌ها در تحقیق حاضر برای اسپیروولینا به ترتیب $48/6$ و $2/78$ درصد از کل کاروتوئیدها بدست آمد.

Arunakumara و همکاران (۲۰۰۷) میزان کلروفیل a و بتاکاروتون را به ترتیب 6 و $1/7$ میلی گرم در لیتر تخمین زدند که در صورت افروختن سرب به تیمارها این مقادیر کاهش پیدا کرد. در تحقیق حاضر میزان کلروفیل a $4/3$ میکروگرم در میلی لیتر بدست آمد که نسبت به سایر بررسی‌ها، بیشتر بود. همچنین Vatsala و Madhyasthaand اسپیروولینا ماسکسیما را 6 میکروگرم بر میلی لیتر بدست آوردند که در مقایسه با تحقیق حاضر اسپیروولینا پلاتنسیس کلروفیل کمتری داشته است.

Saleh و همکاران (۲۰۱۱) میزان بتا کاروتون را در سویه‌های مختلف اسپیروولینا ارزیابی کردند که میزان بتا کاروتون بدست آمده آن‌ها از $171/6$ تا $231/7$ میکروگرم بر میلی لیتر متغیر بود که در تحقیق حاضر $739/3$ میکروگرم بر گرم وزن خشک بدست آمد. به طور کلی نتیجه حاصل از ارزیابی این تحقیق با کار دیگر محققین نشان داد که میزان رنگدانه‌های اسپیروولینای تولید شده در ایران بیشتر از سایر مطالعات بوده که این امر احتمالاً به دلیل شرایط پرورش اسپیروولینا در منطقه گرمسیری قسم بوده است. همچنین در صورت تمایل به تولید رنگدانه خاص در اسپیروولینا می‌توان با تغییر شرایط محیطی و استرس‌های فیزیکی و شیمیایی می‌توان به این امر دست یافت.

میزان کاروتوئیدهای اسپیروولینای خشک شده توسط اسپری خشک کن با روش Miki و همکاران (۱۹۸۶) تجزیه شد که نسبت کاروتوئیدهای اسپیروولینا 346 میلی گرم در 100 گرم بود که 52 درصد بتاکاروتون، 21 درصد زیگراتین، 10 درصد اکینون، 6 درصد بتا کریپتوزانثین، 3 درصد هیدروکسی امینون و 7 درصد کاروتوئیدهای شناسایی نشده بود (Todd Lorenz, 1998).

در این تحقیق میزان رنگدانه کلروفیل a اسپیروولینا $2/097$ میکروگرم بر میلی لیتر و میزان آستاگراتین در اسپیروولینا با استفاده از استاندارد آستاگراتین طی روش C₀/HPLC میلی گرم بر کیلوگرم بدست آمد. در حالی که Jimenez و همکاران (۲۰۰۳) میزان کاروتوئید پودر اسپیروولینا *platensis* را $5/9-6$ گرم در کیلوگرم و میزان کلروفیل آن را $6/6-9/2$ گرم در کیلوگرم اندازه گرفتند. Kumar و Spirulina همکاران (۲۰۱۱) میزان کلروفیل a را در Godoy Danesi و همکاران (۲۰۱۱) $1/37$ گرم درصد بدست آوردند. همچنین همکاران (۲۰۱۱) میزان کلروفیل را با تغییر شدت نور، دما و نیترات پتابیم بررسی نمودند که بهترین نتیجه در دمای 30 درجه‌سانتی‌گراد و شدت نور 24 میکرومول فوتون بدست آمد. Zheng (۲۰۰۹) با افزودن لاکتوز به محیط کشت میزان کلروفیل a و کاروتوئید را در اسپیروولینا ماسکسیما را ارزیابی نمود. Sethu (۱۹۹۶) میزان کاروتوئید کل را در اسپیروولینا پلاتنسیس $3/51$ میلی گرم وزن خشک بدست آوردند و 11 ترکیب از رنگدانه‌ها شامل نئوزانثین، ویولازانثین، کانتازانثین، اکینون، میکسوزاتوفیل، زیگراتین، زیگراتین، فیتوفلوئن، فیتوئن، بتاکریپتوzanthین و بتا کاروتون را شناسایی کردند.

Abd El-Baky و همکاران (۲۰۰۷) برای سنجش میزان کاروتوئیدها از روش HPLC استفاده نمودند و میزان بتاکاروتون، آستاگراتین، زیگراتین و لوئین اسپیروولینا پلاتنسیس را به ترتیب $1/56$ ، $5/61$ ، $3/9$ و $1/301$ میکروگرم بر گرم محاسبه نمودند. در حالتی که از هیدروژن پروکساید به عنوان عامل استرس در محیط کشت تیمارها استفاده شد، میزان کاروتوئیدها به طور معنی‌داری افزایش پیدا کردند. در تحقیق حاضر میزان این رنگدانه‌ها به مقدار زیادی بیشتر از مقدار ذکر شده، بدست آمده

منابع

- 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* indifferent 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, Chlorophll A and Carotenoid Contents of *Spirulina maxima* in Mixed Culture of Lactose.
- حياتي، ف.، ۱۳۸۷. بررسی اثر ضد سلطانی و آنتی اکسیدانی لاستر با استفاده از آزمون ایمز توسط باکتری سالمونلا تیفی موریوم. 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 Pb²⁺ 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.