مقاله تحقیقی

مطالعه تاثیر نوع منبع کربنی، روش افزودن منبع کربنی، دما و شدت نور در میزان تولید رنگدانه فایکوسیانین

دلنیا فرجی [۱،*]، کرامت اله رضایی [۲]، مهناز هاشمی روان [۱]، محمدتقی گلمکانی [۳]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، گروه صنایع غذایی، ورامین، ایران
۲- دانشگاه تهران، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، تهران، ایران
۳- دانشگاه شیراز، بخش علوم و صنایع غذایی، شیراز، ایران

* **مسؤول مکاتبات:** دلنیا فرجی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، شماره تماس: ۰۹۱۲۵۱۷۴۴۶۵، پست الکترونیکی: faraji_d911@yahoo.com

محل انجام تحقیق: گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۲۱

چکیده

امروزه، استفاده از رنگ‌های طبیعی در مواد غذایی و دارویی اهمیت به‌سزایی دارد. فایکوسیانین به عنوان یک رنگدانه طبیعی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی، از جلبک اسپیرولینا استخراج می‌گردد. در این مطالعه، اثر منابع کربنی (گلوکز، اتانول و اسید استیک) شدت نور (۲/۰، ۳/۵ و ۵/۰ کیلولوکس)، روش افزودن منبع کربنی (غیرمداوم (Batch) و نیمه مداوم (Fed Batch) و دما (۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس) در میزان تولید رنگدانه فایکوسیانین از اسپیرولینا بررسی شد. آزمایش‌ها مطابق با روش فاکتوریل کامل و آزمون LSD در سیستم نرم‌افزاری SAS و در دو شرایط ثابت و متغیر روی ۳۶ نمونه انجام گردید. نتایج نشان داد که افزایش نور، باعث افزایش رنگدانه و افزایش دما، موجب کاهش رنگدانه می گردد. همچنین روش نیمه مداوم و منبع کربنی گلوکز نیز تأثیر بیشتری بر تولید رنگدانه داشتند. نتایج بدست آمده نشان داد که شرایط بهینه رشد جهت تولید این رنگدانه شامل روش کشت نیمه مداوم، دما ۳۰°C و شدت نور ۵ کیلولوکس و منبع کربنی گلوکز (میلی‌لیتر بر لیتر) است که به حداکثر تولید فایکوسیانین (۴۴/۳۲) منجر می شود.

واژه‌های کلیدی: اسپیرولینا پلاتنسیس، فایکوسیانین، غیرمداوم، نیمه مداوم

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌ها در پیش‌گیری از بیماری‌های مختلف نقش مؤثری دارند. مطالعات نشان می‌دهند که آنتی‌اکسیدان‌های تهیه شده از منابع طبیعی، از نظر زیستی، قابل دسترس‌تر بوده و فعالیت حفاظتی مؤثرتری را نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نشان می‌دهند (۱). اسپیرولینا حاوی فایکوسیانین است که یک پیگمان آبی رنگ ضروری برای فتوسنتز و از خانواده فایکو بیلی‌پروتئین‌ها است. فایکو بیلی-پروتئین‌ها گروهی از پروتئین‌های رنگی آب‌دوست، دارای تشعشع، مقاوم و به شدت رنگی و درخشان هستند (۲). فایکوسیانین به تصفیه خون، غلبه بر کم‌خونی، یبوست، ترمیم زخم‌ها، تنظیم سوخت و ساز بدن و سم‌زدایی کمک می‌کند. این ماده، حاوی

گلیکوژن است که قادر به تولید سریع انرژی می‌باشد، بدون این که موجب کاهش قند خون شود (۳). همچنین، اثر مفید آن بر سیستم ایمنی بدن و فعالیت ضد سرطانی آن ثابت شده است (۴).

این رنگدانه به گروهی از پروتئین‌های گیرنده نور با عنوان فایکوبیلی‌پروتئین‌ها تعلق دارد. تمامی فایکوبیلی‌پروتئین‌ها، پروتئین‌های چند زنجیره تشکیل شده از آپوپروتئین‌ها هستند که به طور کووالانسی به فایکوبیلین‌ها اتصال دارند. فایکوبیلی-پروتئین‌ها، کروموفورهای تتراپیرولی با زنجیره‌های باز هستند. فایکواریترین (PE)، فایکوسیانین (PC) و آلوفایکوسیانین (APC) سه فایکوبیلی‌پروتئین معمول به شمار می‌آیند (۵).

در سال ۱۹۴۰، یک فیزیولوژیست فرانسوی به نام Dangeard گزارشی را در خصوص ماده‌ای به نام Dihe (لایه جلبک سبز آبی خشک شده در سواحل دریاچه چاد) در نشریه‌ای، منتشر کرد که توسط مردم کونمبو جهت تغذیه مورد استفاده قرار می‌گرفت. بیست و پنج سال بعد، یک گیاه‌شناس بلژیکی به نام لئوناردو، مطالعاتی را در خصوص کیک‌های سبز آبی که در بازار محلی فورد لامبی (در نزدیکی چاد) وجود داشت، انجام داد. لئوناردو به ارتباط بین توده جلبک و کیک خشک شده در بازارهای محلی پی برد. در همان زمان، مدیر یک کمپانی در مکزیکو مطالعاتی را در باره اسپیرولینا به عنوان عصاره نوشیدنی انجام داد. یک مطالعه آثار تاریخی نشان داد که ۴۰۰ سال پیش در زمان فتح اسپانیا، اسپیرولینا برای مصرف انسان خشک می‌شد که امروزه دریاچه تکسکوکو، محل تغذیه و کشت این جلبک است (۶).

Sharad و همکاران در سال ۱۹۹۷ با مطالعه روی انواع روش‌های خشک کردن (پاششی، هوای آزاد و اون) به این نتیجه رسیدند که میزان فایکوسیانین با خشک کردن، ۵۰ درصد کاهش می‌یابد (۷). Chen و همکاران در سال ۱۹۹۶ نشان دادند که گلوکز و استات، باعث افزایش رشد سلولی و تولید فایکوسیانین در اسپیرولینا پلاتنسیس می‌شود (۸). Chen و همکاران در سال ۱۹۹۷، امکان استفاده از کشت میکسوتروف جهت به دست آوردن غلظت سلولی بالا و میزان بیشتر تولید فایکوسیانین با استفاده از سیستم نیمه مداوم را مورد بررسی قرار دادند. در سیستم نیمه مداوم، بالاترین غلظت سلولی، ۱/۰۲۴ گرم بر لیتر (وزن خشک) و بیشترین مقدار فایکوسیانین، ۷۹۵ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد (۹).

Narayan و همکاران در سال ۲۰۰۵، در مطالعه‌ای که روی توانایی اسپیرولینا پلاتنسیس در مصرف گلیسرول به عنوان منبع کربنی داشتند، نشان دادند که کاهش قابل‌توجهی در مقدار رنگدانه کلروفیل و فایکوسیانین تولید شده در محیط گلیسرول در مقایسه با شاهد وجود دارد (۱۰). Minkova و همکاران در سال ۲۰۰۳، C - فایکوسیانین را از اسپیرولینا پلاتنسیس توسط چند تیمار با ریوانول (Rivanol) به نسبت ۱۰ به ۱ (حجمی- حجمی) پس از اشباع کردن با سولفات آمونیوم، جداسازی کردند (۱۱). C- فایکوسیانین اسپیرولینا، پودری غیرسمی، بدون بو و به لحاظ مزه، کمی شیرین است که در محدوده pH ۴/۵ الی ۸/۰ و تا دمای ۶۰ درجه سلسیوس پایدار است، ولی در برابر نور، پایداری چندانی ندارد (۱۲).

با توجه به اهمیت فایکوسیانین، در این مطالعه، اثر متغیرهای مختلف نور (۲/۰، ۳/۵ و ۵/۰ کیلولوکس)، منبع کربنی (گلوکز، اتانول و اسید استیک)، دما (۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس) و روش افزودن منبع کربنی (غیرمداوم و نیمه‌مداوم) که می-توانند در تولید آن نقش داشته باشند، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، از جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (از کلکسیون میکروبی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران)، محیط کشت سچلوسر، بافر فسفات، گلوکز، اتانول، اسید استیک، اسپکتروفتومتر، سانتریفوژ، اتوکلاو، ترازوی دیجیتال، pH سنج، سمپلر، شیکر، پمپ خلا، دسیکاتور و قیف بوخنر استفاده شد.

تهیه محیط کشت

در این پژوهش، محیط کشت آماده شده، بر اساس محیط کشت سچلوسر با کمی تغییرات تهیه شد (۱۳). محیط کشت مذکور شامل دو محلول ۱ و ۲ بود. محلول ۱، حاوی ۱۳/۶۱ گرم بیکربنات سدیم، ۴/۰۳ گرم کربنات سدیم، ۰/۵۰ گرم فسفات پتاسیم و محلول ۲، شامل ۱/۰۰ گرم سولفات پتاسیم، ۰/۲۰ گرم سولفات منیزیم هفت آبه، ۰/۰۴ کلرید کلسیم دو آبه، ۰/۰۱ گرم EDTA بود که پس از ساخت در حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر، دو محلول با هم مخلوط شد و محلول نهایی به دست آمد. به هر لیتر از محیط کشت، ۱ میلی‌لیتر محلول از قبل آماده شده عناصر معدنی و محلول ویتامین B_{12} اضافه شد. به منظور اعمال متغیرها در محیط کشت، سه نوع منبع کربنی حاوی ۱/۰۰ گرم بر میلی‌لیتر گلوکز، ۰/۷۹ گرم بر میلی‌لیتر اتانول و ۱/۰۵ گرم بر میلی‌لیتر اسید استیک به محلول اضافه شد.

میزان ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، جلبک به محیط کشت اضافه شد (۱۴). سپس محیط کشت تحت نور و هوادهی کنترل شده، قرار گرفت و رشد جلبک آغاز شد. کنترل شدت نور توسط لوکس متر و هوادهی توسط پمپ‌های هوادهی انجام گردید. در طول مدت کشت، دمای محیط توسط دماسنج کنترل و میزان آن بین ۳۰ تا ۳۵ درجه سلسیوس تنظیم گردید (۱۵).

اندازه‌گیری فایکوسیانین

جلبک رشد یافته در محیط کشت پس از رسیدن به فاز سکون، به روش پمپ خلاء، از محیط کشت جداسازی و در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شد. بعد از خشک شدن، ۴۰ میلی‌گرم از اسپیرولینا با ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات (۱۰۰ میلی‌مولار و pH=۷/۵) مخلوط و کاملاً یکنواخت گردید. نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سیلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، نگهداری و سپس با دور rpm ۴۰۰۰، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سیلسیوس سانتریفوژ شد.

در آخر، فاز رویی (*Crude extract*)، جداسازی و با دستگاه اسپکتروفتومتری، میزان جذب در طول موج ۶۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد فایکوسیانین طبق رابطه زیر محاسبه گردید (۱۶).

$$\%Phycocyanin = \frac{A_{615} \cdot n_a \cdot 100}{3.36\ (mg\ sample)\ (\%dry\ wt)}$$

n_a: تعداد رقت‌ها

آنالیز داده‌ها

آزمایش‌ها روی ۳۶ نمونه در شرایط ثابت روش کشت میکسوتروف، حجم هوادهی *vvm* ۲ (حجمی-حجمی در دقیقه)، غلظت مایه تلقیح ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و دور همزن rpm ۱۰۰ و همچنین شرایط متغیر شامل نوع منبع کربنی (گلوکز، اتانول و اسید استیک)، نور در سه سطح (۲/۰، ۳/۵ و ۵/۰ کیلولوکس)، دما در دو سطح (۳۰ و ۳۵ درجه سیلسیوس) و روش افزودن منبع کربنی در دو سطح (غیرمداوم و نیمه مداوم) انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم-افزار SAS نسخه ۹/۱ و بر اساس دستورالعمل مدل خطی عمومی (GLM) و با آزمون مقایسه میانگین-های حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۹۵ درصد اطمینان انجام گرفت. نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم‌افزارExcel 2007 نسخه ۱۴ ترسیم گردیدند (جدول ۱).

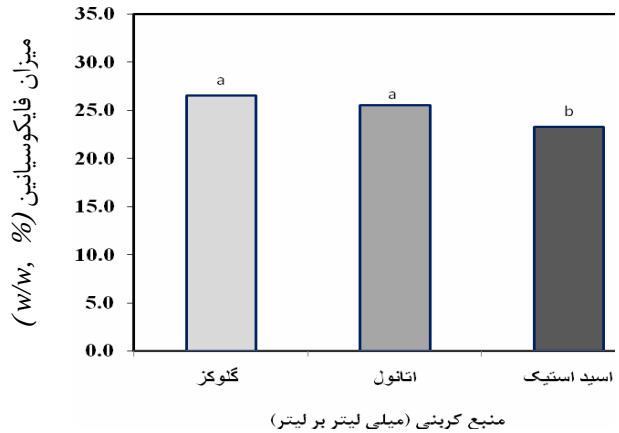
جدول ۱- نتایج آنالیز آماری مدل خطی– پاسخ تولید فایکوسیانین

متغیرها	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درجه آزادی	f-value	p-value
نوع منبع کربنی (گلوکز، اتانول و اسید استیک)	۱۳۰/۶۵	۶۵/۳۳	۲	۳/۷۶	۰/۰۲۸۴
روش افزودن منبع کربنی (غیرمداوم و نیمه مداوم)	۲۵۶/۲۸	۲۵۶/۲۸	۱	۱۴/۷۷	۰/۰۰۰۳
دما ۳۰ و ۳۵ (درجه سلسیوس)	۵۱۱۲۴۱	۱۲۴۱/۵۱	۱	۷۱/۵۳	۰ /۰۰۰۱
نور ۲، ۳/۵ و ۵ (کیلولوکس)	۲۲۱۸/۲۴	۱۱۰۹/۱۲	۲	۶۳/۹۰	۰/۰۰۰۱

نتایج و بحث

اثر منبع کربنی روی میزان تولید فایکوسیانین

در نمودار ۱، تأثیر منبع کربنی (گلوکز، اتانول و اسید استیک) بر میزان تولید فایکوسیانین نمایش داده شده است. هر سه نوع منبع کربنی بر افزایش میزان تولید فایکوسیانین از جلبک اسپیرولینا تاثیر دارند. بین اتانول و گلوکز، اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و بنابراین، اتانول به عنوان منبع کربنی مناسب می‌تواند جایگزین گلوکز شود. اسید استیک در مقایسه با دو منبع دیگر باعث تولید مقدار کمتری رنگدانه می‌شود که البته این میزان، قابل چشم‌پوشی است.



نمودار ۱- اثر متغیر منبع کربنی بر میزان تولید فایکوسیانین *(% ,w/w)*. (شرایط ثابت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر غلظت مایه تلقیح، ۱/۰۰ گرم بر لیتر گلوکز، ۰/۷۹گرم بر لیتر اتانول و ۱/۰۵ گرم بر لیتر اسید استیک). در میانگین‌های مشخص شده با حروف یکسان، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Chen و همکاران در سال ۱۹۹۶، تأثیر منبع کربنی و شدت نور را بر رشد اسپیرولینا پلاتنسیس و تولید فایکوسیانین در کشت فتوهتروتروف بررسی کردند. میزان غلظت گلوکز و استات در محیط، به ترتیب از ۰ تا ۱۰ و تا ۵ گرم بر لیتر متغیر بود. در این بررسی مشخص شد که گلوکز و استات، رشد سلولی و تولید فایکوسیانین را تقویت می‌کنند. با سوبسترای گلوکز، بیشترین غلظت سلولی (۲/۶۶ گرم بر لیتر) و بیشترین تولید فایکوسیانین (۳۲۲ میلی‌گرم بر لیتر) و همچنین با جایگزین کردن سوبسترای استات، بیشترین غلظت سلولی (۱/۸۱ گرم بر لیتر) و بیشترین تولید فایکوسیانین (۲۴۶ میلی‌گرم بر لیتر) به دست آمد. نتایج نشان داد که اسپیرولینا پلاتنسیس می تواند از گلوکز و استات به عنوان منبع کربنی استفاده کند، اما گلوکز نسبت به استات برتری دارد (۸).

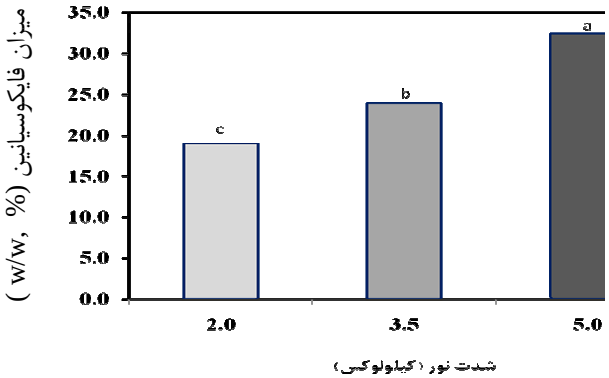
در مطالعه دیگری که توسط Lu و Zhang در سال ۲۰۰۰ انجام گرفت، در روش نیمه مداوم، گلوکز باعث افزایش رشد سلولی و تولید فایکوسیانین در اسپیرولینا پلاتنسیس شد و استفاده از این منبع کربنی در مقایسه با استات و پروپیونات، افزایش قابل‌توجهی را در مقدار رنگدانه فایکوسیانین نشان داد (۱۷).

در مطالعات قبلی، گلوکز به عنوان بهترین منبع کربنی شناخته شد. اما در این مطالعه، اتانول مشابه گلوکز عمل می‌کند و اسید استیک هم با اختلاف بسیار ناچیز، میزان رنگدانه قابل قبولی تولید می‌کند و این دو ماده می‌توانند به عنوان جایگزین مناسب گلوکز جهت تولید رنگدانه مدنظر قرار گیرند.

اثر شدت نور روی میزان تولید فایکوسیانین

در نمودار ۲، تأثیر مستقیم نور بر میزان تولید رنگدانه فایکوسیانین کاملاً مشهود است. با توجه به این که در مکانیسم سنتز این رنگدانه پروتئینی، نور

به عنوان عامل اصلی سنتز عمل می‌کند، با افزایش شدت نور از ۲/۰ به ۳/۵ و ۵/۰ کیلولوکس، مقدار تولید افزایش یافت و نور ۵/۰ کیلو لوکس به عنوان نور مناسب‌تر جهت حداکثر تولید رنگدانه مشخص گردید.



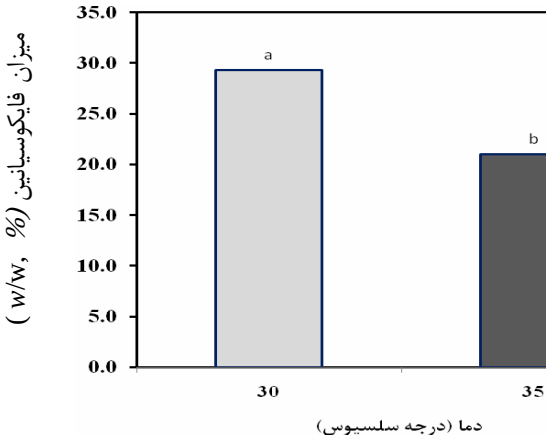
نمودار ۲- اثر متغیر شدت نور بر میزان تولید فایکوسیانین *(w/w, ٪)*. (شرایط ثابت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر غلظت مایه تلقیح، ۱/۰۰ گرم بر لیتر گلوکز، ۰/۷۹گرم بر لیتر اتانول و ۱/۰۵ گرم بر لیتر اسید استیک). در میانگین‌های مشخص شده با حروف یکسان، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Chonjacka و Noworyata در سال ۲۰۰۴، تأثیر شدت نور و غلظت گلوکز بر سرعت رشد اسپیرولینا در شرایط فتو اتوتروف، هتروتروف و میکسوتروف را بررسی کردند. سرعت رشد ویژه جلبک در ۲/۵ گرم بر لیتر گلوکز، به‌طور مشخصی با افزایش شدت نور تا ۳۰ وات بر متر مربع افزایش یافت. در کشت‌های فتواتوتروف در نور بالاتر از ۵۰ وات بر متر مربع، رشد جلبک کاهش یافت (۱۸).

مطالعات نشان داد که شدت نور مورد نیاز برای کشت اتوتروف، ۵۰-۳۰ وات بر متر مربع و برای میکسوتروف، بیشتر از ۳۰ وات بر متر مربع و همچنین غلظت گلوکز برای کشت هتروتروف و میکسوتروف، بیش از ۰/۵ گرم بر لیتر بوده است.

اثر دما روی میزان تولید فایکوسیانین

در نمودار ۳، تأثیر دما بر میزان تولید فایکوسیانین نشان داده شده است. در شرایط ثابت کشت، با افزایش دما از ۳۰ به ۳۵ درجه سیلسیوس، تولید رنگدانه کاهش می‌یابد. بنابراین، دمای ۳۰ درجه سیلسیوس به عنوان فاکتور مناسب جهت تولید رنگدانه معرفی شد.



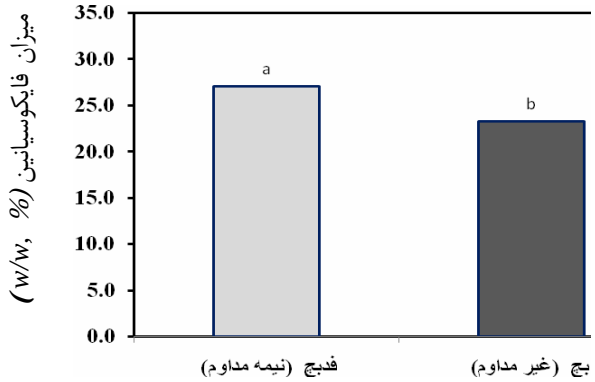
نمودار ۳ - اثر متغیر دما بر میزان تولید فایکوسیانین *(w/w, ٪)*. (شرایط ثابت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر غلظت مایه تلقیح، ۱/۰۰ گرم بر لیتر گلوکز، ۰/۷۹گرم بر لیتر اتانول و ۱/۰۵ گرم بر لیتر اسید استیک). در میانگین‌های مشخص شده با حروف یکسان، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Danesi در سال ۲۰۰۲ با بررسی‌هایی که روی تولید کلروفیل از جلبک اسپیرولینا (در روش مداوم، شدت نور ۳/۵ کیلولوکس و دماهای ۲۷، ۳۰ و ۳۵ درجه سیلسیوس) انجام داد به این نتیجه رسید که بیشترین مقدار تولید در روش مداوم و دمای ۳۰ درجه سیلسیوس بوده است (۱۹).

آزمایش دیگری نیز در سال ۲۰۰۷ توسط Colla و Reinhr در زمینه تأثیر دماهای ۳۰ و ۳۵ درجه سیلسیوس و غلظت نیتروژن بر تولید توده سلولی در اسپیرولینا پلاتنسیس انجام گرفت. آنان به این نتیجه رسیدند که در دمای ۳۰ درجه، مقدار توده سلولی، ۰/۹۲ـ۰/۸۲ گرم بر لیتر و در دمای ۳۵ درجه، ۰/۶۵ـ۰/۵۹گرم بر لیتر به دست آمد(۲۰). بر اساس این آزمایش مشخص شد که بیشترین توده سلولی و بالاترین میزان بهره‌دهی، در دمای ۳۰ درجه بوده و دمای ۳۵ درجه، اثر چندان مناسبی بر توده سلولی نداشته است.

اثر روش افزودن منبع کربنی روی میزان تولید فایکوسیانین

در نمودار ۴، با تغییر روش افزودن منبع کربنی در شرایط ثابت، درصد تولید این رنگدانه تغییر می‌یابد. در روش نیمه مداوم، میزان تولید، بالاتر از روش غیرمداوم بوده و این روش کشت به عنوان روش مناسب در این آزمون تأیید شد.



نمودار ۴- اثر متغیر روش افزودن منبع کربنی بر میزان تولید فایکوسیانین *(w/w, ٪)*. (شرایط ثابت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر غلظت مایه تلقیح، ۱/۰۰ گرم بر لیتر گلوکز، ۰/۷۹گرم بر لیتر اتانول و ۱/۰۵ گرم بر لیتر اسید استیک). میانگین‌های مشخص شده با حروف یکسان، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

در سال ۱۹۹۷، Chen و Zhang امکان استفاده از کشت میکسوتروف با استفاده از سیستم نیمه مداوم جهت به دست آوردن غلظت سلولی بالا و میزان تولید بیشتر فایکوسیانین را مورد بررسی قرار دادند. در روش میکسوتروف و سیستم نیمه مداوم، بالاترین غلظت سلولی، ۱/۰۲۴ گرم بر لیتر (وزن خشک) و بیشترین مقدار فایکوسیانین، ۷۹۵ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد. در روش هتروتروف غیرمداوم، تولید فایکوسیانین، ۱۳۵ میلی‌گرم بر لیتر با نرخ رشد ثابت بوده است. در مقایسه با این روش، در روش میکسوتروف غیرمداوم، محتوای تولید فایکوسیانین ثابت نبوده و از ۵۴ به ۱۲۵ میلی‌گرم بر لیتر افزایش یافت (۹). این نتایج نشان داد که در روش میکسوتروف غیرمداوم بیشترین مقدار فایکوسیانین در حضور بیشترین غلظت سلولی تولید می‌شود.

در این مطالعه، اثر نوع منبع کربنی، نور، دما و روش افزودن منبع کربنی بر تولید فایکوسیانین، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در ۳۶ نمونه، تغییر شدت نور، بیشترین تاثیر را بر میزان تولید رنگدانه فایکوسیانین داشته و سایر موارد را تحت شعاع قرار می‌دهد. نور به عنوان مهم‌ترین

فاکتور تولید رنگدانه پروتئینی محسوب می‌شود و نوع منبع کربنی، روش افزودن منبع کربنی و دما، به ترتیب در درجه‌های بعدی قرار می‌گیرند. در این آزمون، متغیرها تأثیر معنی‌داری بر تولید فایکوسیانین داشتند. بیشترین تولید فایکوسیانین در روش کشت نیمه مداوم، دمای ۳۰ درجه سیلسیوس، شدت نور ۵ کیلولوکس و منبع کربنی گلوکز به میزان ۴۴/۳۲ درصد بوده است. با استفاده از اتانول، میزان تولید رنگدانه به ۳۸/۴۱ درصد رسید که به عنوان جایگزین مناسب، مدنظر قرار گرفت و همچنین با استفاده از اسید استیک نیز تولید این رنگدانه به ۳۴/۳۶ درصد کاهش یافت که با توجه به ارزان بودن این منبع، استفاده از آن جهت تولید رنگدانه قابل قبول به نظر می‌رسد.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا، معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و مدیریت محترم عامل شرکت داروسازی اکسیر در انجام مطالعه حاضر تشکر به عمل می‌آید.

منابع مورد استفاده

1. Khan, M., Shobha, C. J., Rao, V. M., Sundaram, C. M., Singh, S., Mohan, J. I., Kuppusamy, P., Kutala, K. V., 2005. Protective effect of *Spirulina* against doxorubicin-induced cardio toxicity. Phytotherapy Research 19: 1030-1037.
2. Gershwin, M. E., Bely, A., 2008. *Spirulina* in human nutrition and health .Taylor and Francis Group, New York, P. 312.
3. Herreo, A., Fores, E., 2008. The cyanobacteria, moleccular. Biology Genomics and Evolution (Instead). Caister Academic Press. ISBN 978-1.
4. Iijima, N., Shimamatsu, H., 1982. (Inventors; Dainippon ink and chemicals assignee). Antitumor agent and method of treatment there with us patent pending. Ref P1150-726-A82679, APP. 15.
5. MacColl, R., 1998. Cyanobacterial phycobilisomes. Journal of Structural Biology 124: 311–334.
6. Kim, S. G., Choi, A., Ahn, C. Y., Park, C. S., Park, Y. H., Oh, H. M., 2005. Arvesting of *Spirulina platensis* by cellular floatation and growth stage determination. Letters in Applied Microbiology 40: 190-194.
7. Sharad, R., Manoj, G., Pillai, G., Ravishankar, A., 1997. Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extradion method and stability studies on phycocyanin. Process Biochemistry 34: 795-801.
8. Chen, F., Zhang, Y., Guo, S., 1996. Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photo heterotrophic culture. Biotechnology Letters 18: 603-608.
9. Chen, F., Zhang, Y., 1997. High cell density mixotorphic culture of *Spirulina platensis* on glucose for phycocyanin production using a Fed-batch system. Enzyme and Microbial Technology 20 : 221-224.
10. Narayan, M., Manoj, S., Vatchravel, G. P., Bhagyalakshmi, K., Mahadevaswamy, N., 2005. Utilization of glycerol as carbon source on the growth, pigment and lipid production in *spirulina platensis*. International Journal of food Sciences and Nutrition 56: 527-528.
11. Minkova, K. M., Tchernov, A. A., Ichorbadyieva, M. L., Fournadjieva, S., Antova, R. E., Busheva M. C. H., 2003. Purification of C-phycocyanin from *Spirulina (Arthrospira) fusi formis*. Journal of Biotechnology 102: 55-59.
12. Vonshak, A., 1977. *Spriulina platensis* (Arthrospira): physiology, cell biology, and biology and biotechnology. Taylor and Francis, London, P 117-130.
13. Andersen, R. A., 2005. Algal Culturing Techniques. Elsevier Academic Press, Burlington, VT (USA).
14. Rangel-Yagui, C. O., Danesi, E. D. G., Carvalho, J. C. M., Sato, S., 2004. Chlorophyll production from *Spirulina platensis*: cultivation with urea addition by fed-batch process. Bioresource Technology 92: 133-141.
15. Soletto, D., Binaghi, L., Lodi, A., Carvalho, J. C. M., Converti, A., 2005. Batch and fed-batch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium

sulphate and urea as nitrogen sources. Aquaculture 243: 217-224.
16. Boussiba, S., Richmond, A., 1979. Isolation and purification of phycocyanin from the blue–green alga *Spirulina platensis*. Archive of Microbiology 120: 155-159.
17. Lu, C., Zhang, J., 2000. Role of light in the response of PSII photochemistry to salt stress in the cyanobacterium *Spirulina platensis*. Journal of Experimental Botany 51: 911.
18. Chojnacka, K., Noworyta, A., 2004. Evaluation of *Spirulina sp*. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. Enzyme and Microbial Technology 34: 461-465.
19. Danesi, E. D. G., 2002. An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis.* Biomass and Bioenergy 23: 261-269.
20. Colla, M., Reinehr, C. H. O., 2007. Production of biomass and nutractiocal compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. Journal of Bioresource Technology 98: 1489-1493.