



میزان پروتئین و اسید چرب ریز جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*)

در شوری‌های مختلف (در شرایط آزمایشگاهی)

سمیه شریفی فرد^۱، منصوره قائنی^{۲*}، لاله رومیانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۳

چکیده

در این مطالعه ریز جلبک *Spirulina platensis* در محیط کشت TMRL و تحت شوری‌های مختلف (۳۰، ۱۵، ۰) و ۴۵ گرم بر لیتر) کشت داده شد. کلیه تیمارها در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با پمپ هوادهی شدند و اثر شوری‌های مختلف بر میزان تولید چربی و پروتئین زیست توده جلبکی مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین میزان چربی تولید شده در هر لیتر در شوری ۴۵ گرم در لیتر و به میزان ۹۸/۷۴ درصد بود، اما اختلاف معناداری با سایر تیمارها نداشت. اسید چرب میریستیک بالاترین میزان را در هر ۴ تیمار داشت. اما بالاترین میزان را در تیمار ۴ (شوری ۴۵ گرم/لیتر) نشان داد. مجموع اسیدهای چرب اشباع شده و همینطور اسیدهای چرب تک غیر اشباع (MUFA)، در بین تیمارها اختلاف معناداری را نشان ندادند ($P > 0.05$). مجموع اسیدهای چرب چند غیر اشباع (PUFA) و همینطور اسیدهای امگا ۶ بالاترین میزان را در تیمار ۴ داشتند، اما مجموع اسیدهای چرب امگا ۳ در تیمار ۳ (شوری ۳۰ گرم بر لیتر) دارای بالاترین میزان بودند. در مورد پروتئین، بالاترین میزان آن در تیمار ۲ با مقدار ۶۱/۲۱٪ مشاهده شد و پایین ترین میزان پروتئین در تیمار ۴ با ۴۷/۷۱٪ مشاهده شد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که ریز جلبک اسپیرولینا می‌تواند به طور موفقیت آمیزی در آبهای با شوری بالا بدون تاثیر عمده بر اسیدهای چرب خود، رشد کند.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب، *Spirulina platensis*، پروتئین، شوری، محیط کشت TMRL، اسید چرب

مقدمه

ریز جلبک‌ها منابع مغذی جایگزین و جدیدی هستند که می‌توانند در توسعه مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرند. ترکیبات فعال بیولوژیکی به طور طبیعی درون سلول ریز جلبک محصور شده اند و قادر به مقاومت در برابر شرایط سخت تکنولوژیکی در فرآیندهای غذایی می‌باشند (Mutawie., 2015). جلبک‌ها گروهی از ارگانیزم‌های فتوسنتز کننده اند که به دو دسته ی جلبک‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی تقسیم می‌شوند. جلبک‌های میکروسکوپی عموماً تک سلولی اند و جزء ابتدایی ترین منابع انرژی به شمار می‌روند. این گروه از میکروارگانیزم‌ها، منابع تولید ترکیبات بیوشیمیایی با ارزش محسوب می‌شوند (Sukenik et al., 1993). در حال حاضر تولید غذاهای سلامتی بخش با هدف بهبود وضعیت تغذیه‌ای آحاد جامعه رو به افزایش

۱. کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی اهواز، اهواز، ایران

۲. استادیار، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی اهواز، اهواز، ایران (نویسنده مسئول: mansoreh.ghaeni@gmail.com)

۳. استادیار، گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی اهواز، اهواز، ایران

است که عمده آن غذاهای غنی شده و کم کالری هستند. همچنین جلبک‌ها به صورت بالقوه منبع بزرگی از ترکیباتی هستند که می‌توانند جهت تولید مواد اولیه غذاهای عملگر استفاده شوند (Oftes and Pire, 2001).

در میان گونه‌های شناخته شده جلبک، کلرلا و لگاریس و اسپیرولینا پلاتنسیس ریز جلبک‌های خوراکی رایج و بدون عوارض جانبی می‌باشند. الگوی اسیدآمینه، کربوهیدرات و اسیدهای چرب موجود در ریز جلبک‌ها بسیار منطبق با پروتئین‌های مواد غذایی دیگر است (Vonshak, 1998). اسپیرولینا *S. platensis* سیانوباکتری فتوسنتزکننده، چند سلولی و رشته‌ای است که در محدوده ۸/۳ تا ۱۱ و دمای بیش از ۲۰ درجه سانتی‌گراد رشد بهینه دارد. طول آن در شرایط مساعد به ۱-۰/۵ میلی‌متر می‌رسد. قطر سلول در سلول‌های کوچکتر ۱ تا ۳ میکرون و در گونه‌های بزرگتر ۳ تا ۱۲ میکرون می‌باشد (قائمی و همکاران، ۱۳۸۹).

این جلبک مواد غیرآلی از قبیل کربن، نیتروژن، فسفر، گوگرد، آهن و عناصر کمیاب را به مواد آلی از قبیل بیومس‌های سبز، بیومس‌های سبز-آبی، قرمز، قهوه‌ای و سایر بیومس‌های رنگی تبدیل می‌کند. از این جلبک امروزه به وفور در غنی‌سازی غذاهای انسانی و حیوانی استفاده می‌شود (Mutawie., 2015). ارزش اسپیرولینا به علت هضم آسان ناشی از فقدان سلولز در دیواره سلولی است، که سایر ریز جلبک‌ها همچون کلرلا، انکیستروتودسموس، سلنستروم و سندسموس فاقد این مزیت هستند. از سال‌ها قبل فایده‌ی اسپیرولینا به دلیل پروتئین بالا، ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه‌ی ضروری و اسیدهای چرب ضروری آن شناخته شده است. ۶۰-۷۰ درصد ماده‌ی خشک اسپیرولینا پروتئین بوده و منبع غنی از ویتامین‌ها مخصوصاً B₁₂ (که معمولاً در بافت جانوری یافت می‌شود) و پیش‌ساز ویتامین A (بتاکاروتن) و مواد معدنی مخصوصاً آهن است. این جلبک حاوی مقدار کمی اسید گامالینونیک (GLA) است (Mutawie., 2015).

از خواص سلامتی بخش این جلبک، خواص ضد سرطانی، ضد باکتریایی و موثر در آلرژی‌ها، زخم معده، آنمی، مسمومیت فلزات سنگین و مسمومیت ناشی از تشعشعات رادیواکتیو را می‌توان نام برد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی جلبک اسپیرولینا عمدتاً به c-فیکوسیانین، بتاکاروتن و ترکیبات فنولی نسبت داده می‌شود (برزآبادی و فراهانی، ۱۳۷۷). همچنین اسپیرولینا شامل بتاکاروتن، بتاکریپتوزانتین و زیگزانتین به عنوان مهم‌ترین کاروتنوئیدها است، که طی فرآیند اکسیداسیون به آستاگزانتین تبدیل می‌شود (Todd., 1998). تا چند سال گذشته روغن ماهی تنها منبع اصلی اسیدهای چرب به شمار می‌رفت اما هم‌اکنون روغن اسپیرولینا که دارای مقادیر قابل توجهی اسیدهای چرب چند غیراشباع است نیز، به عنوان یکی از منابع اصلی این اسیدهای چرب مطرح می‌باشد، زیرا قادر به تولید اسیدهای چرب چند غیر اشباع مانند دکوزاهگزانوئیک اسید، ایکوزاپنتانوئیک اسید، آراکیدونیک اسید و اسید گامالینونیک می‌باشد (گرچی زاده و همکاران، ۱۳۹۵).

از اسپیرولینا در آبی‌پروری بسیار زیاد استفاده می‌شود و نوع خشک شده آن به عنوان غذای لارو میگو و ماهی بطور انبوه

استفاده می‌شود (Aslianti, 1988). در صنعت پرورش میگو مواد غذایی زیادی مورد آزمایش قرار گرفته اما اسپیرولینا تنها میکرو جلبکی است که فواید زیادی برای رشد آن داشته و هزینه ی تولید را کم کرده و نسبت هزینه به کارایی بطور قابل توجهی توسعه یافته است، این میکرو جلبک بدلیل داشتن میزان قابل توجه اسید لینولنیک نقش مهمی در رشد میگو از اواخر مرحله ی ناپلی تا پست لاروی دارد. مکمل آن باعث افزایش کیفیت مولدین میگو (هچ مولدین، تعداد ناپلی به مولد، قابلیت زیستی ناپلی) و شاخص‌های کیفی لارو میگو می‌شود (Todd, 2000; Ingthamjitr, 1989; Reguntan and Wesley, 2006). با توجه به این نقش جلبک اسپیرولینا در پرورش، به نظر می‌رسد اگر این گونه در آب شور قابلیت پرورش داشته باشد، می‌توان در هزینه‌های پرورش صرفه جویی کرد. از این رو در این تحقیق این جلبک در شوری‌های مختلف پرورش داده شده و میزان اسیدهای چرب و پروتئین این جلبک جهت تعیین بهترین میزان شوری جهت پرورش این جلبک مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

استوک اولیه ی نمونه‌های میکرو جلبکی بدون محیط کشت در ظروف پلاستیکی در جعبه‌های یونولیتی از پژوهشکده ی اکولوژی خزر در پاییز سال ۱۳۹۴ تهیه و به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز انتقال داده شدند. جهت تلقیح محیط کشت (جدول ۱)، از ۱۰ درصد حجم کشت استفاده شد. کشت در ظروف ۱/۵ لیتری با تهیه شوری‌های مختلف (قائنی و همکاران، ۱۳۸۹) انجام گرفت، به این صورت که در نزدیکی شعله مقدار ۱۰ میلی لیتر اسپیرولینا خالص به ۲۰ سی سی محیط کشت در ارلن‌های ۱/۵ لیتری با شوری‌های مختلف اضافه گردید. برای این مطالعه ضمن یکسان سازی کلیه فاکتورها، سه تیمار از شوری‌های مختلف در محیط کشت TMRL (جدول ۱) با شوری‌های صفر (نمونه ۱)، ۱۵ میلی گرم در لیتر (نمونه ۲)، ۳۰ میلی گرم در لیتر (نمونه ۳) و ۴۵ میلی گرم در لیتر (نمونه ۴) با ۳ تکرار در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است در این تحقیق از نمک دریا برای افزایش شوری استفاده شد (قائنی و همکاران، ۱۳۸۹). جهت تهیه محیط کشت از آب تصفیه شده، کلر زنی شده و خنثی شده استفاده گردید.

جدول ۱: اجزاء محیط کشت TMRL

| محلول | مواد | مقدار |
|-------|-----------------|---------------------------------|
| A | نیترات پتاسیم | ۱۰ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر |
| B | ارتو فسفات سدیم | ۱۰ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر |
| C | کلرید آهن | ۱۰ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر |

در طول این آزمایش محیط کشت TMRL تحت تیمار نوری ۳۰۰۰ LUX قرار گرفت. منبع تامین این نور لامپ‌های مهتابی فلئورسنت بود. کلیه تیمارها در ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی مورد آزمایش قرار گرفتند (Jespersion et al., 2005). هوادهی نیز ۲۴ ساعته و با استفاده از پمپ آکواریوم و به کمک رابط‌های تنظیمی هوا انجام شد (نقیبی، ۱۳۹۱). پارامترهای pH (با استفاده از دستگاه pH سنج Istke ساخت کشور سوئیس) و شوری (توسط دستگاه شوری سنج Atago ساخت کشور ژاپن) نیز در طول دوره پرورش اندازه گیری شد.

اندازه گیری میزان تراکم سلولی با شدت نور (OD)

جهت شمارش، از لام هماسیتومتر استفاده شد (Gopinathan., 1996).

بعد از انجام عمل شمارش توسط لام نئوبار، میزان تراکم سلولی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (UV-Visible Varian, Cary 50 scan) در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه گیری شد (Masih et al., 2011; Kumar et al., 2011). جهت انجام این کار ابتدا از محلول blank مخصوص هر نمونه که محتوی آب با درجه ی شوری و محیط کشت بوده استفاده گردید و میزان تراکم سلولی (OD) برای نمونه ی شفاف صفر تنظیم گردید و سپس شدت نور نمونه ی موردنظر با ۳ تکرار مجزا قرائت شد.

اندازه گیری میزان پروتئین

برای مقایسه میزان پروتئین در محیط کشت‌های مختلف در مرحله حداکثر، برداشت انجام شد. ریز جلبک‌ها با استفاده از سانتریفیوژ در ۷۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شدند و در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت خشک و سپس در فریزر تا زمان آزمایش پروتئین نگهداری شدند (Ualu et al., 2011). برای سنجش پروتئین از روش میکروکج‌لدال استفاده شد (Abu et al., 2007; Albert et al., 2012; Coca et al., 2014).

روش سنجش اسیدهای چرب

پس از صابونی کردن روغن‌ها با سیستم کاتالیستی قلیایی/متانولی و اسید لوییس/متانولی، اسیدهای چرب متیله شده در هگزان یا هپتان و یا ایزواکتان در حضور استاندارد داخلی استخراج شد و توسط دستگاه GC-FDI مدل HP Agilent 5890 اندازه گیری شدند.

آنالیز آماری

برای مقایسه نتایج بدست آمده از نرم افزار SPSS ۱۶٫۰ استفاده شد. از آزمون واریانس یک طرفه برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد و نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار اکسل ۲۰۱۰ رسم گردید.

نتایج

در جدول شماره ۲ لیستی از اسید چرب مورد اندازه گیری در ۴ تیمار مورد بررسی ذکر شده است. بر این اساس مقادیر اسیدهای چرب اشباع اندازه گیری شده در ۴ نمونه نشان می‌دهد که، اسید میریستیک، اسید پالمیتیک، اسید استئاریک و اسید آراشیدیک در چهار نمونه مورد بررسی دارای اختلاف معنی دار بودند ($p < 0.05$). در تمام این موارد تیمار ۴ بالاترین مقدار اسید چرب و تیمار ۱ کمترین مقدار اسیدهای چرب را نشان داد.

جدول ۲: مقایسه میانگین اسیدهای چرب اندازه گیری شده در نمونه‌های مورد بررسی (درصد)

| نمونه ۴ | نمونه ۳ | نمونه ۲ | نمونه ۱ | فرمول شیمیایی |
|--------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------|
| ۱/۹۶±۰/۰۱ ^d | ۱/۰۳±۰/۰۱ ^c | ۱/۸۰±۰/۰۲ ^b | ۱/۴۴±۰/۰۲ ^a | C14:0 |
| ۲۲/۲۵±۰/۰۰۵ ^d | ۲۴/۲۵±۰/۰۱ ^c | ۲۳/۵۶±۰/۰۱ ^b | ۲۹/۲۳±۰/۰۱ ^a | C16:0 |
| ۳/۰۷±۰/۰۱ ^d | ۳/۸۴±۰/۰۱ ^c | ۴/۲۱±۰/۰۱ ^b | ۴/۷۴±۰/۰۱ ^a | C18:0 |
| ۳/۵۹±۰/۱۶ ^b | ۳/۷۱±۰/۰۱ ^b | ۳/۹۶±۰/۰۱ ^c | ۲/۴۱±۰/۰۲ ^a | C20:0 |
| ۱/۳۵±۰/۰۲ ^a | ۲/۶۰±۰/۰۱ ^c | ۲/۴۶±۰/۰۱ ^b | ۲/۶۲±۰/۰۲ ^c | C14:1n5 |
| ۴/۳۶±۰/۰۱ ^d | ۴/۹۶±۰/۰۰۵ ^c | ۵/۰۶±۰/۰۱ ^b | ۷/۳۸±۰/۰۱ ^a | C16:1n7 |
| ۱۷/۳۳±۰/۰۱ ^d | ۱۴/۲۲±۰/۰۲ ^c | ۱۶/۶۰±۰/۰۱ ^b | ۱۲/۴۰±۰/۰۱ ^a | C18:1n9 |
| ۱۲/۷۴±۰/۰۱ ^d | ۱۲/۳۴±۰/۰۱ ^c | ۱۲/۴۰±۰/۰۲ ^b | ۱۱/۳۶±۰/۰۱ ^a | C18:2n6 |
| ۱۹/۱۶±۰/۰۱ ^d | ۱۶/۲۰±۰/۰۱ ^c | ۱۳/۹۹±۰/۰۱ ^b | ۱۴/۷۵±۰/۰۲ ^a | C18:3n6 |
| ۱۲/۹۱±۰/۰۱ ^d | ۱۳/۷۳±۰/۰۱ ^c | ۹/۹۳±۰/۰۱ ^b | ۸/۸۹±۰/۰۲ ^a | C22:6n3 |
| ۹۲/۶۳±۸/۷۸ ^a | ۹۸/۵۳±۹/۷۴ ^a | ۱۰۶/۶۳±۱۰/۱ ^a | ۱۱۳/۵۱±۱۱/۹۸ ^a | Σ SFA |
| ۶۹/۱۶±۷/۳۵ ^a | ۶۵/۳۹±۵/۳۱ ^a | ۷۲/۴۱±۶/۵۱ ^a | ۶۷/۲۴±۴/۲۳ ^a | MUFA Σ |
| ۱۳۴/۴۴±۳/۱۷ ^b | ۱۲۶/۸۲±۱/۹ ^b | ۱۰۸/۲±۱/۷۷ ^a | ۱۰۵/۰۴±۲/۵۴ ^a | Σ PUFA |
| ۹۵/۷۱±۳/۵۷ ^c | ۸۵/۶۳±۲/۱۱ ^b | ۷۹/۱۹±۰/۸۷ ^a | ۷۸/۳۷±۱/۸۵ ^a | Σ N-6 |
| ۱۲/۹۱±۰/۰۱ ^d | ۱۳/۷۳±۰/۰۱ ^c | ۹/۹۳±۰/۰۱ ^b | ۸/۸۹±۰/۰۲ ^a | Σ N-3 |
| ۳/۴۷±۰/۸۴ ^{ab} | ۳/۰۷±۰/۴۲ ^a | ۳/۶۵±۰/۶۱ ^{ab} | ۳/۹۴±۱/۰ ^b | Σ N-6/Σ N-3 |
| ۰/۲۹±۰/۰۶ ^a | ۰/۳۲±۰/۰۴ ^a | ۰/۲۷±۰/۰۴ ^a | ۰/۲۶±۰/۰۶ ^a | Σ N-3/Σ N-6 |
| ۴۳/۵۸±۳/۷۶ ^c | ۲۶/۸۹±۱/۶۴ ^b | ۲۵/۱۸±۱/۹۳ ^b | ۲۱/۱۲±۱/۵۸ ^a | PUFA/ MUFA |

حروف غیر مشابه به معنی اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵

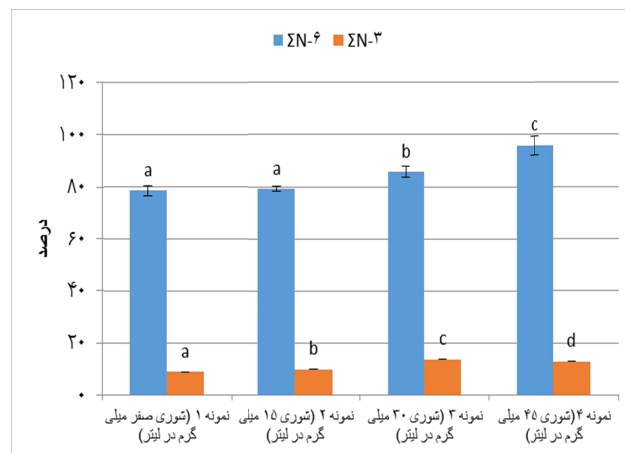
در مورد اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دو گانه اسید تترادسنویک و اسید پالمیتولئیک بالاترین مقدار را در تیمار ۱ داشته و تیمار ۴ کمترین مقدار این اسیدهای چرب را نشان دادند. اما اسید اولئیک در تیمار ۴ با مقدار (۱۷/۳۳ درصد)

بالاترین مقدار و در تیمار ۱ با (۱۲/۴ درصد) کمترین مقدار این اسید چرب را داشت.

در مورد اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دو گانه اسید لیئولئیک و اسید گامالینونیک در چهار نمونه مورد بررسی دارای اختلاف معنی دار بودند ($p < 0/05$). نتایج نشان دادند که تیمار ۴ در مورد هر دو اسید چرب بالاترین مقدار و تیمار ۱ کمترین مقدار این اسیدهای چرب را داشت. اسید دوکوزاهگزانوئیک در چهار نمونه مورد بررسی دارای اختلاف معنی دار بود ($p < 0/05$) و تیمار ۳ با مقدار (۱۳/۷۳ درصد) بالاترین مقدار و تیمار ۱ با (۸/۸۹ درصد) کمترین مقدار این اسید چرب را نشان دادند.

مجموع مقادیر اسیدهای چرب اشباع اندازه گیری شده در ۴ تیمار مورد بررسی نشان داد که، چهار تیمار از نظر مجموع اسیدهای چرب اشباع فاقد اختلاف معنی دار ($p > 0/05$) با یکدیگر بوده اند. اما در مورد مجموع مقادیر اسیدهای چرب غیر اشباع اندازه گیری شده در ۴ تیمار، دو تیمار ۱ و ۲ با یکدیگر و دو تیمار ۳ و ۴ با یکدیگر فاقد اختلاف معنی دار ($p > 0/05$) بودند اما، هر دو گروه با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند ($p < 0/05$). بالاترین مقدار مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع مربوط به نمونه ۴ با (۱۳۴/۴۴ درصد) و کمترین مقدار مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع مربوط به نمونه ۱ (۱۰۸/۲ درصد) بود.

در نمودار ۱ مقادیر اسیدهای چرب n-6 و n-3 نشان داده شده است، مجموع اسیدهای چرب n-6 در دو تیمار ۱ و ۲ فاقد اختلاف معنی دار بود ($p > 0/05$)، مقدار این اسید در دو تیمار ۳ و ۴ با یکدیگر و با دو تیمار ۱ و ۲ اختلاف معنی دار داشتند ($p < 0/05$). بر این اساس تیمار ۴ با مقدار (۹۵/۷۱ درصد) بالاترین مقدار و تیمار ۱ با (۷۸/۳۷ درصد) کمترین مقدار این اسید چرب را نشان دادند. در مورد مجموع اسیدهای چرب n-3 در چهار نمونه مورد بررسی دارای اختلاف معنی دار بود ($p < 0/05$). بر این اساس تیمار ۱ با مقدار (۱۲/۹۱ درصد) بالاترین مقدار و تیمار ۴ با (۸/۸۹ درصد) کمترین مقدار این اسید چرب را نشان دادند.



نمودار ۱: مقایسه مقادیر اسیدهای چرب n-6 و n-3 در ۴ نمودار مورد بررسی (تیمارهای شوری)

مقایسه میانگین پروتئین پروتئین اندازه گیری شده در نمونه‌های مورد بررسی نشان داد که مقدار پروتئین در ۴ تیمار دارای اختلاف معنی دار بود ($p < 0/05$). مقدار پروتئین در تیمار ۲ (۶۰/۲۱ درصد) بالاترین مقدار و در تیمار ۴ (۴۷/۷۱ درصد) کمترین مقدار را نشان داد (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه میانگین پروتئین اندازه گیری شده در نمونه‌های مورد بررسی (درصد)

| نمونه ۴ | نمونه ۳ | نمونه ۲ | نمونه ۱ | پروتئین |
|-------------|-------------|-------------|--------------|---------|
| ۴۷/۷۱±۰/۰۱d | ۴۹/۲۹±۰/۰۱c | ۶۰/۲۱±۰/۰۱b | ۵۱/۷۱±۰/۰۳ a | |

حروف غیر مشابه به معنی اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

بحث

با توجه به نقش ریز جلبک‌ها در آبرزی پروری، فراهم آوردن شرایط بهینه به منظور رشد آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Dubinsky et al., 1995). تاکنون مطالعات متعددی در این خصوص صورت گرفته است، لیکن فاکتورهایی از قبیل شدت تابش نور، طول دوره نوردهی، غلظت و نوع ترکیبات محیط کشت از عوامل تاثیرگذار بر روی رشد و تغییر در ترکیبات بیوشیمیایی ریز جلبک محسوب می‌شوند (Mercadi et al., 2004). در این میان شوری یکی از پارامترهای فیزیولوژیکی است که می‌تواند توانایی ارگانسیم را برای بقا در محیط زیست تحت تاثیر قرار دهد. پاسخ سیانوباکترها به شوری شامل یک سری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی همچون سنتز نوکلئیک اسیدها، کربوهیدرات‌ها و متابولیسم پروتئین است، (Priyadarshani et al., 2012). از این رو در این مطالعه سعی شده است تا تاثیر فاکتور شوری بر روی تولید پروتئین و اسیدهای چرب مورد بررسی قرار گیرد.

به طور کلی اسیدهای چرب به چهار گروه اسیدهای چرب اشباع (SFA)، اسیدهای چرب تک غیراشباع (MUFA) و اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA) و اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (HUFA) تقسیم شده‌اند. در این تحقیق ۱۰ اسید چرب در جلبک اسپرولینا *Spirulina platensis* شناسایی شدند. ۴ اسید چرب متعلق به گروه SFA شامل اسید میریستیک (C14:0)، اسید پالمیتیک (C16:0)، اسید استئاریک (C18:0)، اسید آراشیدیک (C20:0)، ۵ اسید چرب مربوط به گروه MUFA که شامل تترادسنویک (C14:1n5)، پالمیتولنیک (C16:1n7)، اولئیک (C18:1n9)، لینولئیک (C18:2n6) و گامالینولئیک (C18:3n6) و یک اسید چرب مربوط به PUFA (دوکوزاهگزانوئیک (C22:6n3)) بود. که در مطالعات قاننی و همکاران (۱۳۸۹)، علوی و همکاران (۱۳۹۴)، فراشبندی و همکاران (۱۳۹۳) و نیز مطالعات Toyub و همکاران (۲۰۱۱)، Coca و همکاران (۲۰۱۴)، Almahrouqi و همکاران (۲۰۱۵) اسیدهای چربی مشابه تحقیق حاضر بدست آمد.

جدول ۱ نشان می‌دهد که تمامی اسیدهای چرب اندازه گیری شده در جلبک اسپرولینا در چهار سطح شوری صفر، ۱۵

میلی گرم در لیتر، ۳۰ میلی گرم در لیتر و ۴۵ میلی گرم در لیتر با یکدیگر اختلاف معنی دار نشان دادند. اما در مجموع اسیدهای چرب اشباع (Σ SFA) بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی دار مشاهده نشد، ولی تیمار ۱ با شوری صفر بالاترین مجموع اسیدهای چرب و به دنبال آن نمونه ۲، نمونه ۳ و نمونه ۴ قرار داشت. که نشان می‌دهند تاثیر منفی شوری بر روی مجموع اسیدهای چرب اشباع در پرورش اسپیرولینا است البته این اختلاف معنی دار نبود. در مورد اسید میریستیک (C14:0) بالاترین مقدار خود را در شوری ۴۵ میلی گرم نشان داد. در مورد اسید پالمیتیک (C16:0)، اسید استئاریک (C18:0) برتری با تیمار ۱ یا شوری صفر بود. اسید آراشیدیک در نمونه ۲ یا شوری ۱۵ میلی گرم در لیتر بالاترین مقدار را نشان دادند. در این تحقیق مشابه یافته‌های Almahrouqi و همکاران (۲۰۱۵) بر روی جلبک *S. platensis* در شوری‌های مختلف، اسید پالمیتیک (C16:0) (در تحقیق حاضر بین ۲۹/۲۳-۲۲/۲۵ درصد و در تحقیق نامبرده شده ۵۷/۲۵-۵۴/۷۸ درصد) بالاترین مقدار اندازه گیری شده را در میان سایر اسیدهای چرب داشت. در حالی که در تحقیق Ayachi و همکاران (۲۰۰۷) با افزایش شوری این اسید چرب کاهش نشان داد.

در مورد مجموع اسیدهای چرب (Σ MUFA) هیچ اختلاف معنی داری مشاهده نشد (نمودار ۴-۱) و برتری با شوری ۱۵ میلی گرم در لیتر، و به دنبال آن تیمار ۴ با شوری ۴۵، تیمار ۱ با شوری صفر و در انتها تیمار ۳ با شوری ۳۰ قرار داشت بازم بدون اختلاف معنی دار بود. که نشان دهنده برتری تیمار با شوری کمتر در مقایسه با تیمار ۴۵ میلی گرم در لیتر دارد. در تحقیقات Almahrouqi و همکاران (۲۰۱۵) نیز شوری ۱۵ بالاترین سطح اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه (۶/۵۱) درصد وزن خشک در تحقیق نام برده شده و ۷۲/۴۱ درصد در تحقیق حاضر) را داشت. در مورد اسید اولئیک (C18:1n9) برتری اسیدهای چرب در نمونه ۴ یا شوری ۴۵ مشاهده شد. در مورد اسید تترادسنوئیک (C14:1n5) و پالمیتولئیک (C16:1n7) برتری با تیمار ۱ یا شوری صفر بود.

اما مجموع اسیدهای چرب (Σ PUFA) بالاترین میزان اسیدهای چرب در تیمار ۴ بدون اختلاف معنی دار با تیمار ۳ مشاهده شد و همچنین چنین حالتی در مجموع اسیدهای چرب امگا ۶ نیز مشاهده شد اما تیمار ۴ با تیمار ۳ اختلاف معنی دار داشت. در مورد مجموع اسیدهای چرب سری امگا ۳ برتری با اختلاف معنی دار متعلق به تیمار ۳ و به دنبال آن تیمار ۲ بود. در مورد اسید چرب لینولئیک (C18:2n6)، گامالینولئیک (C18:3n6) و دوکوزاهگزانوئیک (C22:6n3) مقادیر این اسیدهای چرب با افزایش شوری افزایش نشان داد. مطالعات Bhakar و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند زمانی که سلولها در معرض غلظت‌های بالایی از شوری قرار بگیرد، درجه حضور اسیدهای چرب غیر اشباع شدیداً افزایش می‌یابد.

در مورد مجموع اسیدهای چرب اشباع هیچ اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد، هر چند با افزایش شوری کاهش در میزان این نوع اسیدهای چرب مشاهده شد. در تحقیق عطاریان فریمان و همکاران (۱۳۹۳) بر روی جلبک سبز

Dunaliella bardawil با افزایش شوری میزان اسیدهای چرب اشباع افزایش نشان داد که خلاف یافته‌های تحقیق حاضر است. در نمودار ۴-۵ مجموع مقادیر اسیدهای چرب غیر اشباع با یکدیگر مقایسه شده است. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش شوری میزان اسیدهای چرب غیر اشباع بیشتر می‌شود. که با نتایج عطاریان فریمان و همکاران (۱۳۹۳) بر روی جلبک سبز *Dunaliella bardawil* تطابق دارد. مطابق نتایج این تحقیق جلبک اسپیرولینا در محیط‌های با غلظت شوری متفاوت، درصد اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع خود را تغییر می‌دهد که در نتایج تحقیق عطاریان فریمان و همکاران (۱۳۹۳) نیز چنین امری دیده شده است.

با توجه به افزایش میزان شوری، میزان اسیدهای چرب اشباع کاسته و بر میزان اسیدهای چرب غیر اشباع افزوده می‌شود. که نشان دهنده رابطه عکس اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع است و نشان می‌دهد که با افزایش شوری میزان اسیدهای چرب غیر اشباع افزایش می‌یابد.

در این مطالعه مجموع SFA در تیمارهای ۱ و ۲ در مقایسه با مجموع PUFA بالاتر بودند اما در تیمارهای شورتر (۳ و ۴) میزان PUFA هم از SAF و هم از MUFA بالاتر بود. چنین حالتی در جلبک‌های جنس *Dunaliella* در مطالعات عطاریان فریمان و همکاران (۱۳۹۳) و نیز مطالعات Takagi و همکاران (۲۰۰۶)، Lee و همکاران (۲۰۱۴) نیز مشاهده شد و همچنین آنها بیان کردند که با افزایش شوری قسمت عمده اسیدهای چرب شناسایی شده در اعضای این خانواده را اسیدهای چرب C18 غیر اشباع و C16 اشباع تشکیل می‌دهند، که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد. در مورد نسبت PUFA/ MUFA نیز برتری با تیمار شورتر یعنی ۴۵ میلی گرم در لیتر بود.

نسبت مجموع اسیدهای چرب امگا ۳ به امگا ۶ تحت اثر شوری هیچ اختلاف معنی داری را نشان نداد. اما در عین همین عدم اختلاف بالاترین میزان این اسید چرب در شوری ۳۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد. البته لازم به ذکر است میزان اسیدهای چرب امگا ۶ به امگا ۳ در جلبک اسپیرولینا بسیار بالاتر بود. این مطلب در نتایج تحقیقات **گرچی** زاده و همکاران (۱۳۹۵) نیز مشاهده شد و در این جلبک اسیدهای چرب امگا ۳ ۱۸/۸ درصد از اسیدهای چرب را به خود اختصاص داده بودند. به طور کلی نسبت امگا ۳ به امگا ۶ در غذاها برای پروستوگلان‌دین‌ها بسیار مهم است. متخصصان عنوان کرده اند این نسبت را بین ۱:۱/۵ تا ۲:۱ (۰/۶۶ تا ۰/۵) را بین امگا ۶ و امگا ۳ پیشنهاد دادند. که با توجه به نتایج این نسبت در تحقیق حاضر بسیار زیادتر است (Hamazaki and Okuyama., 2003).

نتایج مجموع اسیدهای چرب (اشباع+ غیر اشباع) ترتیبی به صورت زیر را نشان داد:

در شوری صفر (۹۵/۲۶)، شوری ۱۵ (۹۵/۷۴)، شوری ۳۰ (۹۶/۹۱)، شوری ۴۵ (۹۸/۷۴) که نشان دهنده برتری هر چند غیر معنی داری مجموع اسیدهای چرب در اسپیرولینا در شوری بالا دارد. که با نتایج Kirrolia و همکاران (۲۰۱۱) مغایرت

دارد. زیرا در تحقیق آنها افزایش غلظت NaCl سبب کاهش غلظت لیپید از ۶/۷۵ به ۶/۱۲ درصد شد، هر چند بسیار جزئی بود. مطالعات مختلف نشان داده است که استرس شوری پاسخ‌های متابولیکی مختلفی را در جلبک اسپرولینا سبب می‌شود از جمله ذخیره مواد تنظیم کننده فشار اسمزی (Mackay et al. 1984; Reed et al. 1986)، افزایش متابولیسم کربوهیدرات‌ها در سلولها (Warr et al. 1985; Vonshak et al. 1988; Martel et al. 1992) و ذخیره لیپید اشاره کرد (Rafiqul et al. 2005; Yilmaz et al., 2010). تحت شرایط بهینه، حجم زیادی از بیومس جلبکی تولید می‌شود اما این جلبک‌ها محتوی لیپیدی کمی دارند. تحت شرایط نامناسب محیطی یا استرس‌هایی نظیر شوری میکروجلبک‌ها برای مقابله با استرس حجم زیادی لیپیدها را ساخته و ذخیره می‌کنند (Sharma et al., 2014). در واقع با افزایش میزان شوری در خارج سلول محتوی لیپید و درصد تری گلیسریدها افزایش می‌یابد که در تحقیق حاضر نیز دیده شده است (Takagi et al., 2006).

در مورد پروتئین بالاترین میزان پروتئین در تیمار ۲ مشاهده شد، و به دنبال آن تیمار ۱، تیمار ۳ و تیمار ۴ قرار داشت. که نشان می‌دهد شوری‌های بالا تاثیر منفی بر روی میزان پروتئین دارد. مطالعات Richmond (۱۹۹۰) نشان می‌دهد که محدوده پروتئین در جلبک *Spirulina platensis* باید بین ۴۶ درصد تا ۵۰ درصد وزن خشک باشد، که نتایج نشان می‌دهد چنین محدوده‌ی در مطالعه حاضر برقرار است اما بالاترین مقدار پروتئین همانطور که ذکر شد در تیمار ۲ مشاهده شد، که مشابه یافته‌های Oliveria و همکاران (۱۹۹۹) در مورد جلبک *S. platensis* است زیرا آنها مقادیر بالاتری از پروتئین را در شرایط شوری پائین تر بدست آوردند. Zeng و Vonshak (۱۹۹۸) گزارش کردند که سلولها تحت شرایط استرس، از جمله استرس شوری ظرفیت کمی برای سنتز پروتئین دارند و در پی افزایش درجه شوری یون‌های سدیم و کلر که سبب بالا رفتن فشار اسمزی محیط اطراف خواهد شد (Norma et al., 2012)، استرس ناشی از افزایش درجه شوری سبب می‌شود میزان مصرف انرژی در سلولهای ریزجلبک به منظور برقرار تعادل اسمزی با محیط اطراف افزایش یافته و انرژی کمتری به ساخت پروتئین اختصاص یابد (Hart et al., 1991) و در واقع این انرژی صرف پمپ کردن یون‌های سدیم به عنوان تنظیم کننده سیستم ایمنی می‌شود (Vonshak et al., 1988) و این حقیقت می‌تواند محتوی پائین تر پروتئین را در شوری بالاتر توضیح دهد. این نتایج با یافته‌های Almahrouqi و همکاران (۲۰۱۵) مغایرت دارد، نتایج آنها نشان داد که *S. platensis* کمترین مقدار پروتئین را در کمترین شوری (Δ psu) نشان داده است، در حالی که در این تحقیق بالاترین پروتئین در کمترین شوری مشاهده شد که با نتایج Mutawie (۲۰۱۵) بر روی تاثیر شوری سدیم کلراید بر روی اسپرولینا تطابق دارد. زیرا در تحقیق آنها مقادیر پروتئین با افزایش شوری کاهش یافت که علت آن را بلوکه شدن سنتز پروتئین دانستند.

بیشترین هزینه تولید اسپرولینا در مقیاس کوچک، مربوط به محیط کشت می‌باشد و سعی می‌شود با انجام تحقیقاتی در این زمینه امکان تولید ارزان تر اسپرولینا فراهم گردد. پرورش در آب شور بخصوص در شرایطی که این جلبک بخواهد توسط

میگو مورد استفاده قرار بگیرد از آن جهت که در آب محیط پرورش نیز قادر به رشد است اهمیت دارد. این امر در یافته‌های Kebede (۱۹۹۷) نیز مشاهده می‌شود بیان کرده اند که، اسپیرولینا می‌تواند شوری سطوح بسیار بالایی را تحمل کند و حتی در شوری‌های بالاتر از ۸۸ گرم در لیتر نیز رشد می‌کند. همچنین Ayachi و همکاران (۲۰۰۷) نیز در آزمایشی بر روی تاثیر شوری بر روی اسپروولینا به این نتیجه رسیدند که این جلبک قادر به سازگاری با شوری تا حدود ۳۰ گرم در لیتر را دارد و نتایج این تحقیق نیز رشد اسپروولینا را در شوری بالا تایید می‌کند.

نتیجه گیری

همانطور که نتایج این تحقیق نشان داد جلبک اسپروولینا در محیط آب شور در بسیاری از موارد نظیر مجموع اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه، مجموع اسیدهای چرب امگا ۶ و ۳ و حتی در مورد اسیدهای چرب نظیر میریستیک، اولئیک، لینولئیک و گامالینولئیک برتری با محیط شور بود. و در سایر پارامترها عموماً اختلاف معنی داری مشاهده نشد (نظیر مجموع اسیدهای چرب اشباع، مجموع اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه). که نشان دهنده قابلیت و کارآمدی محیط شور برای پرورش این گونه است هر چند میزان پروتئین با افزایش شوری کاهش یافت، از این رو اگرچه اسپروولینا به صورت سنتی در آب شیرین پرورش داده می‌شود اما یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که اسپروولینا می‌تواند به طور موفقیت آمیزی در آب‌هایی با شوری بالاتر نیز بدون تاثیر منفی بر عمده اسیدهای چرب نیز رشد کند.

منابع

برزآبادی فراهانی، ف. (۱۳۷۷) تولید پروتئین تک یاخته از اسپروولینای دریای خزر. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیولوژی دریا. دانشگاه تربیت مدرس.

عطاریان فریمان، گ.، روزی طلب، م.، عباس شاه آبادی، ح. و شریفیان، س. (۱۳۹۳) اثر تنش شوری بر رشد و چربی کل و پروفیل اسیدهای چرب ریز جلبک *Dunaliella bardawil* به عنوان کاندید منبع تولید سوخت زیستی. مجله بوم شناسی آبیان (۴) : 50-61

علوی، ن.، گل‌مکانی، م.، امین لاری، م.، شکر فروش، ش. و نوروزی، م. (۱۳۹۴) بهبود پایداری اکسیداسیون روغن زیتون بکر با استفاده از ریز جلبک اسپروولینا به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران سال دهم (۴) : 63-74.

فراشبندی، م.، جواهری بابلی، م. و معصومی زاده، ز. (۱۳۹۳) تأثیر دوره‌های نوری مختلف بر روی رشد و ترکیب اسید چرب

جلبک (*Nannochloropsis oculata*). پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیلات. دانشگاه آزاد اهواز.

قائنی، م.، متین فر، م.، رومیانی، ل. و چوبکار، ن. (۱۳۸۹) ترکیب شیمیایی پودر ریز جلبک اسپیرولینا. فصلنامه زیست شناسی شیل آمایش، سال دوم، شماره اول.

گرچی زاده، ه.، سخایی، ن.، دوست شناس، ب.، غانمی، ک. و ارچنگی، ب. (۱۳۹۵) بررسی پروفایل اسیدهای چرب ریز جلبک *Spirulina sp.*، *Chlorella sp.* و *Chaetoceros sp.* و معرفی آن‌ها به عنوان منابع بالقوه جدید جهت استخراج امگا ۳ و

امگا ۶. دو ماهنامه طب جنوب. سال نوزدهم (۲): ۲۲۴-۲۲۱.

نقیبی، م. (۱۳۹۱) بررسی رشد کلرلا در شوری‌های متفاوت. پایان نامه ی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز.

Abu, G.O., Ogbonda, K.H. and Aminigo, R.E. (2007) Optimization studies of biomass production and protein biosynthesis in a *Spirulina* sp. isolated from an oilpolluted flame pit in the Niger Delta. African Journal of Biotechnology (6): 2550-2554.

Albert, N., Wague, R., Mbailao, M. and Fabienne, N. (2012) Journal Animal and Plant Scienc (13): 1811-1822.

Almahrouqi, H.A., Sukumaran, P., Naqqiuddin, M.A., Alsabahi, J.P. and Ismail, A. (2015) The effect of salinity on growth, biochemical composition and fatty acid profile of *Spirulina (Arthrospira platensis)* grown in sheltered outdoor conditions in Oman. Journal Algal Biomass (6): 61- 67.

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

Ayachi, A., El-Abed, A., Dhifi, W. and Marzouk, B. (2007) Chlorophylls, proteins and fatty acids amounts of *Arthrospira platensis* growing under saline conditions. Pakistan Journal Biology Science (10): 2286-2291.

Bhakar, R.N., Kumar, R. and Pabbi, S. (2013) Total Lipids and Fatty Acid Profile of Different *Spirulina* Strains as Affected By Salinity and Incubation Time Vegetos (26): 148-154.

Coca, M., Barrocal, V.M. Lucas, S., Gonzale-Benito, G. and Garcia-Cubero, M.T. (2014) Protein production in *Spirulina platensis* biomass using beet vinasse-supplemented culture media. Food and Bioproducts Processing.

Dubinsky, Z., Matzukawa, R. and Karube, I. (1995) Photobiological aspects of algal mass culture. Journal Marine Biotechnology (2): 61-65.

Gopinathan, C. P. (1996) Live Feed Culture-Micro-Algae. Bud. CMFRI.

Hamazaki, T. and Okuyama, H. (2003) The Japan Society for Lipid Nutrition recommends reducing the intake of linoleic acid. A review and critique of the scientific evidence World Review Nutrition Dietection (92): 109-32.

Hart, B.T., Bailey, P., Edwards, R., Hortle, K., James, K., Mc Mahon, A., Meredith, C. and Swadling, K. (1991) A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota. Hydrobiologia. (210): 105-144.

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

Jesperon, L., Strqmdahl, L., Olsen, K. and Skibsted, L. (2005) Heat and light stability of three natural blue

- colorants for use in confectionery and beverages, *European Food Research and Technology*(220): 261-266.
- Kebede, E.(1997) Response of *Spirulina platensis* (= *Arthrospira fusiformis*) from Lake Chitu, Ethiopia, to salinity stress from sodium salts. *Journal of Applied Phycology* (9): 551-558.
- Kirroliaa, A., Bishnoia, R.N.and Singh, N.(2011) Salinity as a factor affecting the physiological and biochemical traits of *Scenedesmus quadricauda*. *Journal of Algal Biomass Utilization* (2): 28-34.
- 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): 83-86.
- Lee, S.Y., Kim, S.H., Hyun, S.H., Suh, H.W., Hong, S.J., Cho, B.K., Choi, H.K. (2014) "Fatty acids and global metabolites profiling of *Dunaliella tertiolecta* by shifting culture conditions to nitrate deficiency and high light at different growth phases" *Process Biochemistry* 49(6): 996-1004
- Mackay, M.A., Norton, R.S., Borowitzka, L.J. (1984) "Organic osmoregulatory solutes in cyanobacteria" *Journal of General Microbiology* (130): 2177-2191
- Martel, A, Garcia-Reina, G., Yu, S., Lindblad, P., Pedersen, M. (1992) Osmotic adjustment in the cyanobacterium *Spirulina platensis* in presence of α -glucosidase. *Physiology Biochemistry* (30): 69-74
- Masih, S., Sofi, M.Y.and Singh, S.G.(2011) Growth Performance of *Spirulina platensis* under Mixotrophic Culture. *Research Journal of Agricultural Sciences*(2): 119-121
- Mercadi, J.M., Correa-Reyes, J.G., Lubián, L., Montero, O., Figueroa, F.L.(2004) Blue light effect on light absorption characteristics and photosynthesis of five benthic diatom species *Aquatic Botany* (78): 265-277
- Mutawie, H.H. (2015) Growth and metabolic response of the filamentous cyanobacterium *Spirulina platensis* to salinity stress of sodium chloride. *Life Science Journal* (12): 71-78.
- Norma, G., José Antonio, L.E., Anselmo, M., Marcel, M.P., Nolberta, H.and Antonio, G. (2012) Effect of salinity on growth and chemical composition of the diatom *Thalassiosira weissflogii* at three culture phases *Latin American Journal of Aquatic Research*(40):435 – 440
- Oliveira, M.A.C.L.D., Monteiro. M.P.C., Robbs, P.G.and Leite, S.G.F.(1999) Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures *Aquaculture International*. (7): 261-275.
- Otles, S.and Pire, R. (2001) Fatty acid composition of *Chlorella* and *Spirulina* microalgae species. *Journal of AOAC international* (84): 1708-1714
- Priyadarshani, I., Thajuddin, N.and Rath, B.(2012) Salinity induced changes in biochemical parameters of four species of Cyanobacteria collected from Odisha coastline, India. *International Journal of Advanced Life Sciences*(4): 28-35.
- Rafiqul, I.M., Jalal, K.C.A.and Alam, M.Z.(2005) Environmental factors for optimisation of *Spirulina* biomass in laboratory culture *Biotechnology* (4): 19-22
- Reed, R.H., Borowitzka, L.J., Mackay, M.A., Chudek, J.A., Foster, R., Warr, S.R.C., Moore, D.J. and Steward, W.D.P.(1986) Organic solute accumulation in osmotically stressed cyanobacteria. *FEBS Microbiology Review* (39): 51-56.
- Regunathan C.and Wesley, S.G.(2006) Pigment deficiency correction in shrimp broodstock using *Spirulina* as a carotenoid source. *Aquaculture Nutrition* (12): 425-432.

- Richmond, A. (1990) Handbook of microalgal mass culture (CRC Press. Inc. Boca Raton. FL. USA).
- Sharma, G., Kumar, M., Ali, M.I. and Jasuja, N.D. (2014) Effect of Carbon Content, Salinity and pH on *Spirulina platensis* for Phycocyanin, Allophycocyanin and Phycoerythrin Accumulation. *Microbial and Biochemical Technology*(6): 202-206.
- Sukenik, A., Zmora, O. and Carmeli, Y. (1993) Biochemical quality of arine unicellular algae with special emphasis on lipid composition: II. *Nunochloropsis* sp. Aquaculture.
- Takagi, M., Karseno, Y. and oshida, T. (2006) Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglycerides in marine microalgae *Dunaliella* cells. *Bioscience and Bioengineering* (3): 223-226.
- Todd, R. (1998) Quantitative Analysis of Chlorophyll-a from *Spirulina Pacifica* Technical Bulletin 006.
- Todd, L. (2000) A review of spirulina as a carotenoid and vitamin source for cultured shrimp. *Spirulina pacifica* Technical Bulletin.
- Toyub, M.A., Uddin, M.Z., Miah, M.I. and Habib, M.A.B. (2011) Growth Performance and Nutritional Analysis of *Spirulina platensis* in Different Concentrations of Papaya Skin Powder Media. *Bangladesh Journal Science Reserch*(46): 333-338.
- Ualu, L., Isik, O., Koc, O. and Goksan, T. (2011) The effects of nitrogen deficiencies on the lipid and protein contents of *Spirulina platensis*. *African Journal of Biotechnology*(10): 386-389.
- Vonshak, A., Abeliovich, A., Boussiba, S., Arad, S. and Richmond, A. (1988) Production of *Spirulina* biomass: effects of environmental factors and population density. *Biomass*(2): 175-185.
- Vonshak, A. (1998) *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, cell biology and biotechnology, Pp.117-130. Taylor and Francis, London,
- Warr, S.R.C., Reed, R.H., Chudek, J.A., Foster, R. and Stewart, W.D.P. (1985) Osmotic adjustment in *Spirulina platensis*. *Planta*(163): 424-429.
- Yilmaz, H.K., Ayas, D., Yilmaz, H. and Ozogul, Y. (2010) The effects of different salinity rates on fat and fatty acid composition of *Spirulina platensis*. *Journal of Fisheries Sciences*(4): 282-286.
- Zeng, M T. and Vonshak A. (1998) Adaptation of *Spirulina platensis* to salinity-stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Physiology*(120): 113-118.