

مقایسه کلیفرمها در اسپیرولینا *Arthrospira platensis* تازه و پودری

منصوره قائنی*، لاله رومیانی و سیده زهرا معصومی زاده

اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۴ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۱۹

چکیده

اسپیرولینا پلاتنسیس ریز جلبک میکروسکوپی رشته ای است که کاربردهای زیادی به عنوان غذا و داروی انسان و حیوانات دارد. این ریزجلبک غنی از پروتئین، ویتامین، اسیدهای چرب ضروری است و در دنیا به صورت تجاری تولید و در فروشگاههای مختلف به عنوان مکمل غذایی و دارویی به فروش می رسد. در این مقاله پس از کشت انبوه اسپیرولینا *Arthrospira platensis* در محیط گلخانه و رسیدن اسپیرولینا به حداکثر رشد، برداشت از محیط کشت انجام شد و نمونه های برداشت شده در دمای محیط خشک شدند. سپس پودر اسپیرولینا و نمونه تازه اسپیرولینا برای شمارش کلیفرمها در محیط کشت ژلوز خوندار مطابق روشهای استاندارد کشت داده شد. میزان کلیفرمهای شمارش شده در پودر اسپیرولینا کمتر از نمونه تازه بود. مطابق با استانداردهای غذایی میزان کلیفرمها در پودر اسپیرولینا مناسب برای تغذیه انسانی نبوده ولی برای غذای دام، طیور و آبزیان بلا مانع بود.

واژه های کلیدی: اسپیرولینا، کشت انبوه، کلیفرم

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۳۳۹۷۲۹۶، پست الکترونیکی: mansorehghaeni@gmail.com

مقدمه

است این ریزجلبک توانسته است در مورد سرطان پوست مؤثر عمل کند و تومورها را از بین ببرد. اسپیرولینا خواص آنتی اکسیدانی دارد که با رادیکالهای آزاد مقابله و سلولهای مقابله کننده با سرطان را تقویت می کند. این جلبک با انواع سرطان پوست، تیروئید، پانکراس و ریه مقابله می کند (۹).

امروزه تولید تجاری اسپیرولینا در مکزیک، تایوان، تایلند، کالیفرنیا، هند، ایتالیا، ژاپن به خوبی انجام می شود و محصول خشک شده آن مورد استفاده های فراوانی دارند. تولید اسپیرولینا در مقیاس بزرگ در سیستمهای باز، سیستمهای لوله ای بسته و فتوبیوراکتورهای استوانه ای انجام می شود (۵).

از اسپیرولینا به عنوان "غذایی برای آینده" یاد شده است زیرا قابلیت سنتز به صورت مواد غذایی متراکم با کیفیت بالا را داشته و نسبت به سایر جلبکها کارایی بیشتری دارد

امروزه در جهان کمبود مواد غذایی مسئله مهمی است و اکثر جوامع به نوعی در پی یافتن راهی برای حل این مشکل هستند. یکی از منابع، پروتئینهای تک یاخته می باشد. برای تولید این پروتئینها از میکروارگانیسم های مختلفی نظیر باکتریها، جلبکها و قارچها استفاده می گردد (۱). اسپیرولینا *Arthrospira platensis* سیانوباکتر فتوسنتز کننده ای است که در بسیاری از کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری و مناطق معتدله به منظور تغذیه انسان و حیوانات به صورت تجاری کشت داده شده است (۱۳). این محصول تجاری به دلیل مواد مغذی با ارزش، به عنوان منبعی غنی از پروتئین و ویتامینهاست که در صنعت داروسازی، مواد غذایی و شیمیایی مورد استفاده قرار می گیرد (۲۲). اسپیرولینا تعداد تومورهای سرطانی را کاهش می دهد و با برخی از سرطانها مقابله و سیستم ایمنی بدن را تحریک می کند. نتایج برخی از پژوهشها نشان داده

(۹). اسپیرولینا در تغذیه ماهیان به منظور رشد بهتر، افزایش کیفیت رنگ و بقای ماهی به کار برده شده است. در صنعت پرورش میگو به عنوان منبع ویتامین و کاروتنوئید استفاده گردیده که سبب افزایش رشد، بقاء و ارزش غذایی میگو شده است (۲۰). کاربرد رنگدانه‌های اسپیرولینا در صنایع دارویی و غذایی، سبب جایگزینی رنگ طبیعی به جای رنگ مصنوعی گردیده است (۵). با استفاده از پودر اسپیرولینا می‌توان نقص رنگدانه‌ها در میگو را اصلاح کرد (۱۸) و برای درمان بعضی بیماری‌های ویروسی میگو مثل سندروم لکه سفید به کار برده شده است (۱۷).

بسیاری از کشورهای آسیایی مثل هند و چین اسپیرولینا را در فاضلاب خانگی تولید می‌کنند در این صورت اسپیرولینای تولید شده دارای کلیفرم‌های پاتوژن، پروتوزوا، ویروس و انگل‌های روده‌ای می‌باشند (۷). طبق استاندارد ها میزان کلیفرم‌ها در پودر اسپیرولینا باید کمتر از 10^4 cfu/g باشد (۴). Lemes و همکاران (۲۰۱۲) میزان کلیفرم‌های پاستاهای غنی شده با اسپیرولینا را کمتر از 3 NMP/g به دست آوردند (۱۴).

تعیین نسبت‌های کلیفرم‌های مدفوعی با توجه به اینکه این ریز جلبک از نظر خوراکی و دارویی خیلی مورد استفاده قرار می‌گیرد به همین دلیل شرایط بهداشتی تولید آن بسیار اهمیت دارد هدف از این تحقیق بررسی میزان کلیفرم‌های اسپیرولینا در دو شکل تازه و خشک بوده است تا پس از تولید شرایط میکروبی آن مورد توجه قرار گیرد و شرایط کشت بیشتر کنترل گردد.

مواد و روشها

کشت انبوه اسپیرولینا: کشت انبوه اسپیرولینا *Arthrospira platensis* با بذره‌های تهیه شده از پارک زیست فناوری خلیج فارس در وانهای ۱۰۰ لیتری با ۵ تکرار به منظور کنترل دما در محیط گلخانه‌ای در تهران انجام شد برای تأمین آب شور از نمک دریا به میزان ۱۵ گرم در لیتر و

برای غنی‌سازی از محیط کشت جردن استفاده شد (۱۲) دوره کشت حدود ۵۰ روز به طور نیمه پیوسته ادامه داشت.

نور خورشید به عنوان منبع نور به طور غیر مستقیم وارد گلخانه می‌شد. هوادهی به طور مداوم انجام گرفت و اسپیرولینای اولیه با تراکم 17500 cell/ml به وانها افزوده گردید (۱۲). کشت زمانی آغاز شد که دمای محیط بیرون ۱۰ درجه سانتی‌گراد بود که با تعبیه بخاری دما به ۳۴ درجه سانتی‌گراد و دمای آب به ۲۹ درجه سانتی‌گراد رسید. در بدو کار $\text{pH} = 8$ و به تدریج در روزهای بعد و با رشد اسپیرولینا pH افزایش یافت به طوری که در زمان برداشت به ۹/۵ رسید. زمانی که رنگ آب در وانها کاملاً سبز شد و اندازه سلولها بیش از ۶۰۰ میکرون رسید و قبل از رسیدن به حداکثر تراکم سلولی و تکثیر آنها، محیط کشت از الک‌هایی با مش‌های ۵۰، ۱۵، ۱۰ و ۵ میکرون عبور داده شده و اسپیرولینا روی الک ۱۵ و مقدار کمتری روی الک ۱۰ میکرون باقی ماند. اسپیرولینایی که روی توری مانده بود جمع و توزین شد. اسپیرولینای جمع شده روی توری را درون سینی‌هایی که با نایلون پوشیده شده بود، پخش گردید که به این طریق سطح را گسترش داده تا سریع تر خشک شود و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در سایه خشک شد سپس محصول ورقه‌ای را جمع و با آسیاب کردن پودر اسپیرولینا به دست آمد (۵).

نرخ رشد: تراکم سلول پس از دوره مشخصی از کشت با استفاده از لام نئوبار به دست آمد. هنگامی که محیط کشت مناسب باشد و مواد مغذی مورد نیاز برای رشد سلول در میزانی که رشد را محدود نکند وجود داشته باشند (به عنوان مثال در غلظت بالا و مناسب)، بنابراین تغییرات کوچک تأثیرات مهمی را روی میزان واکنش ندارد و بیشتر جلبک‌های سلولی به طور غیر جنسی تولید مثل می‌کنند. اندازه و تعداد سلولها با زمان افزایش می‌یابد که نتیجه آن

تهیه کشت میکروبی از نمونه اسپیروئینای تازه: پس از رقیق سازی نمونه ها با سرم فیزیولوژی یک میلی لیتر از نمونه اسپیروئینا را در لوله های ونورت ریخته و سپس درب آن را گذاشته و به مدت ۴۸ ساعت در داخل انکوباتور (۳۷ درجه سانتی گراد) قرار گرفت تا کلنیهای میکروبی پدیدار شدند و سپس کلیفرمها شمارش گردیدند (۲).

تهیه کشت میکروبی از نمونه اسپیروئینا خشک: اسپیروئینا خشک را به میزان ۵۰mg وزن کرده و داخل یک هاون استریل کاملاً له کرده و در ۱۰cc سرم فیزیولوژی استریل حل شد. سپس ۵۰ لاندال(یک بیستم میلی لیتر) از آن برداشته و روی پلیت حاوی ژلوز خوندار به صورت روش قبلی پخش گردید. پس از آن درب را گذاشته و به مدت ۴۸ ساعت در داخل انکوباتور (۳۷ درجه سانتی گراد) قرار گرفت تا کلنیهای میکروبی پدیدار شدند و سپس کلیفرمها شمارش گردیدند.

نتایج

رشد اسپیروئینا در کشت نیمه انبوه به روش نیمه پیوسته در نمودار ۱ ارائه شده است. این نمودار مربوط به ۵ تکرار است. زمان رسیدن به اولین حداکثر رشد در کلیه تکرارها بین روز نهم تا دوازدهم بود و نقاط شکست منحنی زمانی است که اسپیروئینا برداشت شده است و ادامه رشد در آنها به دلیل تقویت مجدد محیط کشت و ادامه رشد اسپیروئینا بوده است. میانگین تراکم سلولی در کلیه تکرارها در نمودار ۲ نمایش داده شده است در این نمودار روز سیزدهم برداشت انجام شده بود و با تقویت محیط کشت منحنی روند صعودی خود را طی کرده است. در کل دوره ۵۰ روزه کشت حداکثر رشد برای تکرارهای ۱ تا ۵ به ترتیب در روزهای ۱۷، ۱۵، ۲۸، ۲۹، ۴۱ مشاهده شد (جدول ۱).

افزایش زی توده می باشد. در حقیقت میزان DNA از لحاظ کمیت دو برابر شده و تقسیم سلولی به دنبال تقسیم کامل سلول به دو سلول جدید که ژنوم مساوی داشته و اندازه آنها بیشتر و یا کمتر از حد شناخته شده است انجام می شود و جمعیت افزایش یافته و بنابراین رشد جمعیت که به عنوان افزایش تعداد سلولها در محیط است، افزایش می یابد. میزان رشد و تکثیر اسپیروئینا با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید.

$$K = \frac{\ln N_1 - \ln N_0}{t}$$

$$K = \frac{K}{\ln 2} \text{ تکثیر روزانه}$$

$$\frac{1}{\text{تکثیر روزانه}} = \text{زمان تکثیر}$$

$N_1 = t$ تعداد سلولها در زمان

$N_0 = 0$ تعداد سلولها در زمان

$K =$ میزان رشد

$t =$ (روزها) زمان

آماده سازی محیط کشت میکروبی: برای عملیات کشت ۵۰ml محیط کشت ژلوز خوندار (blood agar) را در ۹۵۰ml پایه ژلوز خوندار TSA که به طریق زیر تهیه شد، حل کرده سپس در شرایط استریل در کنار شعله آن را در پلیتهای استریل ریخته درب آنها را بسته و در شرایط آزمایشگاه قرار داد تا ژله آن ببندد سپس بسته بندی شده و در یخچال نگهداری شدند.

برای آماده سازی پایه ژلوز خوندار (TSA)، ۴۰gr/l آن را به صورت محلول درآورده و حرارت داده تا محیط یکنواخت شده و آگار آن حل شود. در ارلن را بسته و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد داخل اتوکلاو استریل شد. سپس آن را به آرامی در دمای اتاق سرد کرده تا دمای آن به ۴۵-۴۰ درجه سانتی گراد برسد. آنگاه ۵۰ml ژلوز خوندار به آن اضافه شد (۱۱).

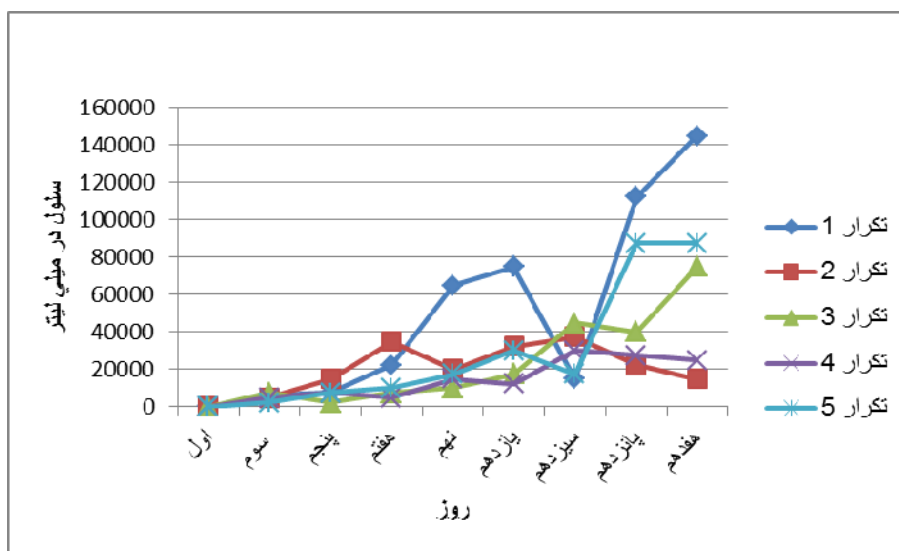
نتایج شمارش کلیفرمی نمونه‌های خشک و تازه در جدول است. ۲ ارائه شده است. اعداد ارائه شده میانگین تکرارها بوده

جدول ۱- میزان رشد و تکثیر اسپیرولینا در وان ۱۰۰ لیتری

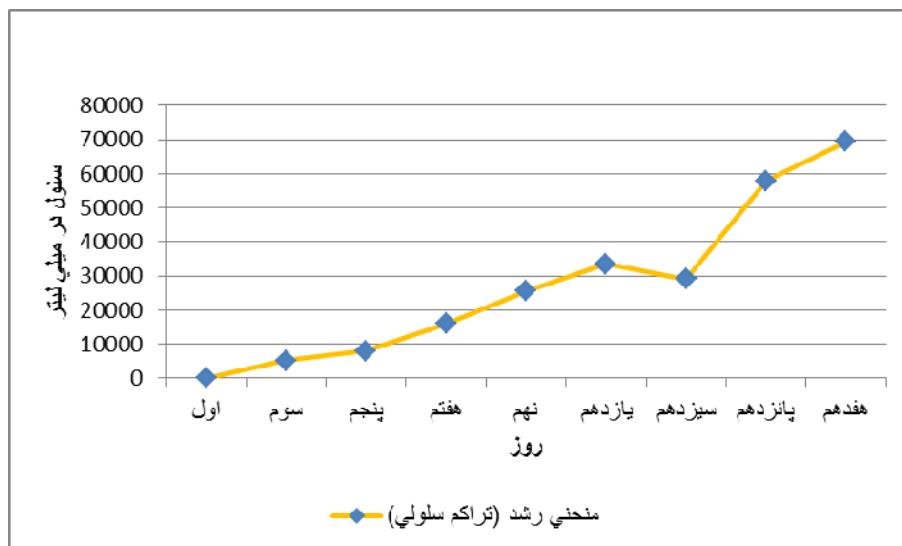
| تکرار | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ |
|------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| t ₀ (ساعت) | ۹۶ | ۷۲ | ۱۶۸ | ۱۹۲ | ۴۸ |
| t ₁ (ساعت) | ۴۰۸ | ۳۶۰ | ۶۷۲ | ۶۹۶ | ۶۹۶ |
| تراکم در زمان t ₀ | ۶۲۵۰ | ۵۰۰۰ | ۲۵۰۰ | ۵۰۰۰ | ۲۵۰۰ |
| تراکم در زمان t ₁ | ۷۵۰۰۰ | ۳۵۰۰۰ | ۷۵۰۰۰ | ۳۲۵۰۰ | ۸۷۵۰۰ |
| میزان رشد (k) | ۰/۰۳ | ۰/۰۳ | ۰/۰۲ | ۰/۰۲ | ۰/۰۱ |
| تکثیر روزانه | ۰/۰۵ | ۰/۰۵ | ۰/۰۳ | ۰/۰۲ | ۰/۰۲ |
| زمان تکثیر | ۲۰ | ۲۰ | ۳۳/۳ | ۵۰ | ۵۰ |
| زمان حداکثر رشد (روز) | ۱۷ | ۱۵ | ۲۸ | ۲۹ | ۴۱ |

جدول ۲- شمارش کلیفرمها در کشت میکروبی از نمونه تازه و خشک اسپیرولینا در یک میلی لیتر

| تیمار | تعداد کلیفرمها در یک میلی لیتر |
|--------------------------|--------------------------------|
| نمونه تازه اسپیرولینا | $1/83 \times 10^6$ |
| نمونه خشک شده اسپیرولینا | $3/62 \times 10^5$ |



نمودار ۱ - منحنی رشد اسپیرولینا در ۵ تکرار



نمودار ۲ - منحنی رشد اسپیرولینا با میانگین تراکم سلولی

جدول ۳- استانداردهای کیفیت و میکروبیولوژیکی در رابطه با کیفیت اسپیرولینای مزارع Earthrise

| EF ^e | آمریکا d | ژاپن c | سوئد b | فرانسه a | |
|-----------------|----------|--------|--------|----------|-----------------------------|
| v< | | v < | | | رطوبت (%) |
| <1.0 | | <0.05 | <10.0 | <0.1 | SPC (*10 ⁶) / g |
| <40 | | <100 | <1000 | | کپک (# / g) |
| <40 | | | | | مخمر (# / g) |
| منفی | | منفی | < 100 | < 10 | کلیفرمها (MPN / g) |
| منفی | منفی | منفی | منفی | منفی | سالمونلا |
| منفی | | | <100 | <100 | استافیلوکوک (# / g) |
| < 500 | < 30 | | | | بخشهای از حشرات (# / 10 g) |
| < 1.5 | <1.5 | | | | موی جوندگان (# / 150 g) |

a: مرکز بهداشت عمومی فرانسه b: وزارت سلامت c: انجمن غذا و سلامت ژاپن d: سازمان غذا و داروی

ایالت متحده e: استاندارد مزرعه Earthrise

بحث

اندازه آنها باعث اختلاف در زمان رشد و تکثیر آنها شد و سبب نوسان منحنی رشد گردید. در هر زمان از بررسی زیر میکروسکوپ کلیه مراحل چرخه سلولی اسپیرولینا مشاهده شد. در کشت میکروبی اسپیرولینا با TSA، میانگین کلیفرمهای نمونه تازه اسپیرولینا ($1/83 \times 10^6$) بیشتر از نمونه های خشک ($3/62 \times 10^5$) بود. زیرا به دلیل از دست دادن آب و کاهش فعالیت آبی (Wa) فعالیت بسیاری از باکتریها، مخمرها و قارچها کاهش می یابند. منبع آلودگی در این

منحنیهای رشد اسپیرولینا در وانهای ۱۰۰ لیتری به دلیل کشت نیمه پیوسته دارای نوسانات زیادی بود ولی هر ۵ تکرار در آغاز هفته دوم حداکثر رشد را داشتند. طی دوره های مختلف که جلبک زیر میکروسکوپ بررسی شد، حالت پلی مورفیک به وضوح در آن قابل مشاهده بود که دلیل آن تغییرات فیزیکی در محیط کشت می باشد. تغییر

میکروبیولوژیکی کشورهای مختلف را با استاندارد کیفیت داخلی *Earthrise* نشان می‌دهد.

براساس استاندارد تعداد شمارش کلی پللیت در اسپیرولینای مورد تغذیه انسان (50000 CFU/g) بلامانع بود (استاندارد مواد غذایی ژاپن) در حالی که *Tiboricu* و همکاران (۲۰۰۷) تعداد شمارش کلی را در اسپیرولینای خشک $2,2 \times 10^4 \text{ CFU/g}$ و تست کلیفرمها منفی به دست آوردند. در صورتی که این محصولات برای استفاده انسانی کشت داده شوند طی فرآیندهای حرارتی، عمل آوری و استریل کردن میزان میکروارگانیزم‌ها بسیار کاهش و یا حذف خواهد شد (۱۹).

در صورتی که *Jimenez* و همکاران (۲۰۰۳) میکروارگانیزم‌های هوازی مزوفیل را در دمای حدود ۳۱ درجه سانتی‌گراد در نوترینت آگار بررسی کردند و بعد از انکوباسیون در محیط کشت مایع گلوکز سبز درخشان (BGBL) کلیفرمها را شمارش کردند لوله‌هایی که کشت مثبت بود در آگار *Levine* برای تخمین اشرشیاکلی انکوباسیون شدند (۱۱). حضور استافیلوکوکوس ارئوس توسط محیط کشت مایع *Gioltti-Cantoni* بررسی شد. برای شناسایی کلسترییدیوم *C. perfringens* آگار سولفیت پلی‌یدکسین سولفادایزین (SPS) استفاده شد. برای تخمین سالمونلا از محیط کشت مایع *RVS* استفاده شد و با محیط کشت مایع سلنیت سیستمین مثبت بودن آن تایید شد در نهایت کپکها و مخمرها توسط سابارود دکستروز آگار بررسی شدند. در شمارش کلیفرمها 3 MPN/gr به دست آمد که استاندارد آن ۱۰ بود و میزان مخمر و سایر باکتریها هم کمتر از 3 MPN/gr به دست آمد در حالی که در استاندارد نباید آلودگی وجود داشته باشد. میزان کلیفرمهای اسپیرولینا پلاتنسیس تولید شده توسط شرکت سیانوتک کمتر از 10 cfu/g بوده است که برای مصرف کاملاً ایده‌آل است (۱۱).

آزمایش مشخص نبود ولی با توجه به اینکه کشت در وانهای رو باز انجام شده بود وجود حشرات در حوضچه‌های باز غیر قابل اجتناب بود. گروههایی از حشرات که بیشترین اهمیت را دارند عبارتند از: پشه‌های آب شور، کوریکسیدها و پشه‌های ریز در مورد نقش هر کدام، اجزاء و ضمائم بدن حشرات، مخصوصاً پشه‌های آب شور (دریایی) در محصول مزارع ارترایز و سایرکشورها گزارش شده است. طبق نظر سازمان غذا و داروی آمریکا سطح کنش نقص برای موی جونده‌ها، $0/5$ به ازای 50 g از پودر خشک است. در غذاهای متعارف وجود بخشهایی از حشرات به معنی شرایط تولید و یا ذخیره نامناسب است. این مسئله را به سختی می‌توان در محصولات میکروجلبکی تغییر داد، زیرا حشرات آبی، بومی حوضچه‌های میکروجلبکی هوای آزاد هستند. همان طوری که در بالا عنوان شد پشه‌های دریایی، کاریکسیدها و ریزپشه‌ها در حوضچه‌های اسپیرولینا فراوانند. وجود بخشهایی از حشرات بومی در پودر خشک، هیچ خطری برای سلامت جسمی ندارد. هزینه کنترل حشرات آبی برای بسیاری از تولیدکنندگان اسپیرولینا در مقیاس کوچک عامل محدودیت است. وجود موی جونده‌ها در محصولات میکروجلبکی، به عنوان شاخصی از آلودگی احتمالی در نظر گرفته می‌شود (۲۳).

در مزارع ارترایز تقریباً هیچ کلیفرم مثبت ثابت شده‌ای وجود ندارد که دلیل آن شرایط بهداشتی خوب رشد، برداشت، خشک کردن و بسته‌بندی است. مطالعاتی روی محصولات از چاد، الجزایر و مکزیک حاکی از وجود کلیفرم بالاست. با این حال، آنالیز صدها نمونه اسپیرولینا از مزارع مدرن تجاری در تایلند، ژاپن، تایوان و مکزیک نشان می‌دهد که به ندرت کلیفرمی وجود دارد بار میکروبیولوژیکی نهایی باید مطابق با استانداردهای تنظیم شده کشورهای مختلفی باشد که محصول به آنجا صادر می‌شود. جدول ۳ مقایسه‌ای از استانداردهای

مشخص میکروبیولوژیکی اداره غذا و دارو را به کار می‌بردند (۳).

سازمان بهداشت جهانی ریز جلیبک اسپیرولینا را به عنوان یک گونه بسیار با ارزش خوراکی و مفید می‌داند ولی بهتر است زمانی که برای مصارف انسانی قرار است مورد استفاده قرار بگیرد طی فرآیندهای حرارتی استریل گردد (۱۵). در آفریقا از این گونه برای مبارزه با بیماری ایدز و کودکان مبتلا به نقص سیستم ایمنی و کمبود مواد مغذی استفاده می‌شود. همچنین مصرف آن برای سایر انسانها توصیه شده است به همین دلیل تولید محصولات عاری از هر گونه آلودگی و خطر ضرورت دارد. برای اطمینان از کیفیت دقیق تولید و محصولات نهایی از اسپیرولینا، تجزیه و تحلیل خطر، کنترل بحرانی و سایر شیوه‌های تولید محصول خوب باید اجرا شود (۱۰). بنابراین به طور کلی پیشنهاد می‌شود که از روشهای تولید خوب پیروی شود. تا از آلودگی در تمام مراحل سیستم تولید جلوگیری شود. با توجه به اینکه این مطالعه در خصوص بررسی میکروبی محیط کشت جلیبکها برای اولین بار در ایران انجام شده توصیه می‌گردد در صورت کشت انبوه جلیبکهای خوراکی و دارویی قابل مصرف انسانی حتما شرایط میکروبیهای مزوفیل و بیماری زا با جزئیات بیشتر انجام شود. باکتریهای استافیلوکوکوس ارئوس، ای کولای، سالمونلا، مخمر و کپکها حتماً در آزمایشات میکروبی انجام شود.

Falquet (۱۹۹۹) میزان ارگانیزمهای پودر اسپیرولینا را بعد از یک ماه خشک کردن آنها بررسی کرد که میزان آنها کمتر از 10^3 تا 10^6 در هر گرم بود و باکتریهای کلیفرمی و استریپتوکوکوی در آن دیده نشد که با تحقیق حاضر همخوانی نداشت (۸).

Szigt و Vaega (۲۰۱۲) در زمانی که مواد غذایی لبنی را با اسپیرولینا غنی سازی کردند و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری کردند آلودگیهای کلیفرمی در آنها دیده نشد ولی وقتی در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد میزان کلیفرمها از 10^5 تا 10^6 طی ۱۵ روز تغییر کرد (۲۱). همچنین Navacchi و همکاران (۲۰۱۲) میزان کلیفرمها را در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد کمتر از 10^3 MPN، به دست آوردند (۱۶).

Hoekstra و همکاران (۲۰۱۱) اسپیرولینایی که برای مصارف انسانی مورد استفاده قرار می‌گیرد را از نظر باکتری کلاستریدیوم و آلاینده های کلیفرمی مورد ارزیابی قرار دادند و شاهد برخی باکتریهای بی‌هوازی و چند جنس از کلاستریدیوم بودند ولی هیچگونه کلیفرم و ای کولایی در آزمایشات دیده نشد (۱۰).

Costa و همکاران (۲۰۰۳) تستهای کنترل کیفیت را برای کلیفرم، ایکولای، سالمونلا، استافیلوکوک، مخمر و کپک در قرصهای اسپیرولینا انجام دادند (۶). استانداردهای میکروبیولوژیکی گیاهی برای ایالات متحده و کانادا در دسترس هستند و برخی تولیدکنندگان محدودیتهای

منابع

- ۱- بی بی کم ص، عابدیان کناری ع. و یونسی ح. ۱۳۹۱. تولید پروتئین تک یاخته از پساب کارخانجات تولید پودر ماهی با استفاده از کشت جلیبک *Chlorella sp.*، باکتری *Pseudomonas aeruginosa* و مخمر *Saccharomyces cerevisiae*، مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۵ شماره ۲، صفحه ۱۵۹.
- ۲- محمودی م، جوانمردی ف. ۱۳۸۸. تعیین میزان و منشاء باکترهای مدفوعی در آب دریاچه پریشان، مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۲ شماره ۴، صفحه ۷۱۲.

- ۱- بی بی کم ص، عابدیان کناری ع. و یونسی ح. ۱۳۹۱. تولید پروتئین تک یاخته از پساب کارخانجات تولید پودر ماهی با استفاده از کشت جلیبک *Chlorella sp.*، باکتری *Pseudomonas aeruginosa* و مخمر *Saccharomyces cerevisiae*، مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۵ شماره ۲، صفحه ۱۵۹.

3- Belay A, 2007, Spirulina (Arthrospira): production and quality assurance. In: Gershwin ME, Belay A (eds) Spirulina in Human

Nutrition and Health. CRC, Boca Raton, pp 1-27.

- 4- Carlson S. ,2011, GRAS exemption claim for *Spirulina platensis* as an ingredient in foods, Division of Biotechnology and GRAS Notice Review, Office of Food Additive Safety-CFSAN ,U.S. Food and Drug Administration 43P.
- 5- Choonawala B., 2007, Spirulina production in Brine Effluent from Cooling Towers, Durban University of Technology,421p.
- 6- Costa JA, Colla LM, Filho PD ,2003, Spirulina platensis growth in open raceway ponds using fresh water supplemented with carbon, nitrogen and metal ions. Z Naturforsch 58:76-80.
- 7- Dekker L., 2002, What is Spirulina?, spirudelta, Bidelta (Pty) Ltd.
- 8- Falquet J. 1999. A teaching module for the production of *Spirulina*, Antenna Technology, Geneve, 25p.
- 9- Henrikson R., 2000. Earth food spirulina, Ronore Enterprises,USA, 180p.
- 10- Hoekstra D. T. , Volschenk H., Collins M. , McMaster L. D., 2011, An investigation of Clostridium species present in nutraceutical preparations of *Arthrospira platensis* (Spirulina) for human consumption ,Journal of Apply Phycology (2011) 23:777-787
- 11- Jimenez C., Cossio B.R., Labella D., Xavier Niell F., 2003, The feasibility of industrial production of spirulina in southern Spain, Aquaculture 217(2003)179-190.
- 12- Jourdan P.,2001, Manual of small scale Spirulina culture, Antenna Technologies, 16p.
- 13- Kim C.K., Jung Y.H and H.M. Oh. 2007. Factors indicating culture status during cultivation of *Spirulina platensis*, The Journal of Microbiology, vol. 45, No. 2, PP: 122-127.
- 14- Lemes A. C., Takeuchi K. P., Monteiro de Carvalho J.and Eliane Dalva Godoy Danesi,2012, Fresh Pasta Production Enriched with *Spirulina platensis* Biomass, Vol.55, n. 5: pp.741-750.
- 15- Maradonna HEM (2009) IMSAMS expansion report. Available at: <http://www.imsam.org>.
- 16- Polonio Navacchi M.F., Monteiro de Carvalho J. C., Pereira K.,Takeuchi3 and E. D. Godoy Danesi,2012, Development of cassava cake enriched with its own bran and *Spirulina platensis*, Maringá, v. 34, n. 4, p. 465-472.
- 17- Rahman M.M., Escobedo-Bonilla, Wille M., Alday Sanz V., Audoorn L., Neyts J., Pensaert M.B., Sorgeloos P. & 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(2006)600-605.
- 18- 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.
- 19- Tiburcio P. C. , Galvez F. C. F. , Cruz L. J. & V. C. Gavino,2007, Optimization of low-cost drying methods to minimize lipid peroxidation in *Spirulina platensis* grown in the Philippines, Journal of Apply Phycology (2007) 19:719-726
- 20- Todd Lorenz R., 1998, Quantitative Analysis of Chlorophyll-a from Spirulina Pacifica Technical Bulletin #006.
- 21- Vaega L., Szigeti J., 2012, Research and development in the field of food science and technology, International Scientific Conference, on Sustainable Development & Ecological Footprint, March 26-27 2012, Sopron, hungary.
- 22- Volkmann 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.
- 23- Vonshak A., 2002, spirulina platensis, Physiology, cell-biology and biotechnology, Taylor & Francis Ltd, 233p.

Comparison of Coliform in Powder and Fresh Spirulina, *Arthrospira platensis*

Ghaeni M., Roomiani L. and Masomizadeh Z.

Fisheries Dept., Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

Abstract

Arthrospira platensis microalgae have many applications for human and animal as food and drug because it has more essential nutrition than other microalgae. It is a microscopic filamentous alga that is rich in proteins, vitamins, essential amino acids, minerals and essential fatty acids like γ -linolenic acid (GLA). It is produced commercially and sold as a food supplement in health food stores around the world. In this research mass culture of spirulina has been done in 30 °C by Jourdan medium in green house, when spirulina arrived to maximum growth; it has been harvested by Micronics net and dried in room temperature. Dried spirulina have been kept in refrigerated until microbial analysis. In next phase, fresh spirulina and spirulina powder have been cultured on blood agar media according to the standard method. Then total coliform has been counted in both samples. According to standard documents these spirulina is not good for human but we could use them for poultry and fish food.

Key words: spirulina , culture, powder, coliforms