

سازمان غذا و دارو

اداره کل امور فرآورده های غذایی و آشامیدنی

حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای کشت و تولید زیست توده اسپیرولینا
و فرآورده های رنگی آن

اداره کل امور فرآورده های غذایی و آشامیدنی
حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای کشت و تولید زیست توده اسپیرولینا و فرآورده های رنگی آن

۱- هدف

هدف از تدوین این ضابطه، تعیین حداقل ضوابط فنی و بهداشتی برای تولید محصولات زیست توده (Biomass) اسپیرولینا، عصاره رنگی و رنگدانه فیکوسیانین جهت مصارف غذایی می باشد.

۲- دامنه عملکرد

این ضابطه در مورد واحدهای کشت ریز جلبک اسپیرولینا و تولید زیست توده اسپیرولینا و رنگ های خوراکی شامل عصاره رنگی و رنگدانه فیکوسیانین کاربرد دارد.

۳- مسئولیت

مسئولیت اجرای این ضابطه بر عهده کارشناسان معاونت غذا و دارو دانشگاه های علوم پزشکی و مناطق آزاد تجاری و نظارت بر حسن اجرای آن بر عهده معاونین غذا و دارو و مدیران نظارت بر مواد غذایی در مناطق آزاد تجاری می باشد .

۴- تعاریف

۴-۱- جلبک (Algae)

جلبک ها موجودات فتوسنتزکننده آبی دارای رنگدانه های فتوسنتزی از جمله کلروفیل می باشند. فقدان ریشه، ساقه و برگ آنها را از سایر گیاهان متمایز می نماید. برخی از آنها تک سلولی هستند در حالی که مابقی پرسلولی می باشند. جلبک ها از نظر شکل و زیستگاه تنوع گسترده ای دارند و تاریخچه استفاده از آنها به عنوان غذا بسیار طولانی است. امروزه علاوه بر زیست توده خام، انواع رنگدانه ها، هیدروکلوئیدها، اسیدهای چرب و سایر ترکیبات زیستی با ارزش اقتصادی نیز از انواع جلبک ها تولید می شود. انواع فرآورده های حاصل از زیست توده جلبک ها در صنایع مختلف از قبیل صنایع غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی، کشاورزی، خوراک دام، طیور و آبزیان، تصفیه پساب ها، تولید سوخت زیستی و ... کاربرد دارند. از این رو، کشت و تولید زیست توده جلبک و ترکیبات فعال زیستی حاصل از آنها بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

۴-۲- ریز جلبک (Microalgae)

ریز جلبک ها، میکروارگانیسم های فتوسنتزکننده تک سلولی هستند که نور خورشید، آب و دی اکسید کربن را به زیست توده جلبک تبدیل می کنند و در انواع آب های شور و شیرین و ... یافت می شوند. ریز جلبک ها به دو دسته میکروارگانیسم های یوکاریوت و

اداره کل امور فرآورده های غذایی و آشامیدنی
حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای کشت و تولید زیست توده اسپیرولینا و فرآورده های رنگی آن

سیانوباکتری های پروکاریوتی (جلبک های سبز-آبی) با بیش از ۲۵۰۰۰ گونه شناسایی شده دسته بندی می شوند. امروزه تولید و فرآوری ریز جلبک ها به علت دارا بودن مواد مغذی متنوع و ترکیبات فراسودمند با کاربری های متعدد، مورد توجه ویژه قرار گرفته است.

۳-۴- جلبک اسپیرولینا

اسپیرولینا، نوعی جلبک سبز-آبی از گروه سیانوباکترهاست که شامل سه گونه *Arthrospira plantensis* و *Arthrospira maxima* و *Arthrospira fusiformis* است و به دلیل تاریخچه طولانی استفاده غذایی و محتوای بالای پروتئینی شناخته شده است. از دیگر ویژگی های مهم اسپیرولینا می توان به غنی بودن از ترکیباتی مانند کلروفیل ها، کارتنوئیدها و فیکوبیلی پروتئین ها اشاره کرد. فیکوسیانین، رنگدانه غالب اسپیرولینا، نوعی رنگ طبیعی است که در صنایع غذایی (محصولات قنادی، بستنی و دسرهای منجمد، آدامس، ژله ها، نوشیدنی ها و ...) صنایع آرایشی، بهداشتی و دارویی کاربرد دارد. همچنین از نظر پروفایل اسیدهای چرب نیز اسپیرولینا عمدتاً سرشار از اسیدهای چرب لینولئیک و ۷-لینولنیک می باشد.

۴-۴- زیست توده اسپیرولینا (Spirulina Biomass)

به مجموعه سلول های حاصل از رشد و تکثیر ریزجلبک اسپیرولینا، زیست توده اسپیرولینا گفته می شود. زیست توده می تواند به صورت تر یا خشک ارائه شود.

۵-۴- عصاره اسپیرولینا (Extract Spirulina)

محصول حاصل از استخراج آبی اسپیرولینا طی فرایندهای چندگانه مانند تخریب سلولی، فیلتراسیون و سانتریفوژ می باشد. عصاره اسپیرولینا حاوی مقدار قابل توجهی رنگدانه فیکوسیانین (آبی) می باشد. عصاره اسپیرولینا متشکل از پروتئین ها، کربوهیدرات ها، چربی، فیبر، مواد معدنی و فیکوبیلی پروتئین ها (عمدتاً فیکوسیانین و بخش کوچکی آلفوفیکوسیانین) است که با روش های مختلف استخراج، تخلیص، تغلیظ و فرموله می شود.

۶-۴- فیکوسیانین (Phycocyanin)

فیکوسیانین رنگدانه عمده اسپیرولینا است که جزء رنگدانه های محلول در آب و از گروه فیکوبیلی پروتئین ها می باشد.

۷-۴- فتوبیوراکتور (photobioreactore)

محفظه بسته یا نسبتاً بسته ای است که محیط قابل کنترلی برای کشت و تکثیر توده زیستی ریزجلبک ها را فراهم می کند و از نور به عنوان منبع اصلی انرژی برای تولید توده زیستی استفاده می کند.

اداره کل امور فرآورده های غذایی و آشامیدنی
حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای کشت و تولید زیست توده اسپیرولینا و فرآورده های رنگی آن

۴-۸- فلوکولاسیون (Flocculation)

فرایند یا مرحله ای است که طی آن زیست توده با استفاده از یک عامل منعقدکننده (فیزیکی یا شیمیایی) از حالت معلق خارج شده و ته نشین یا شناور می شود.

۴-۹- الکتروفلوکولاسیون یا انعقاد الکتریکی (Electroflocculation)

فرایندی است که تولید یون های فلزی منعقد کننده در محل با استفاده از تجزیه الکتریکی الکترودهای آلومینیوم یا آهن به عنوان آند و گاز هیدروژن در کاتد صورت می گیرد.

۵-شرح اجرا

۵-۱- شرایط فنی و بهداشتی عمومی

پیاده سازی برنامه های پیش نیازی (PRPs) به منظور حصول اطمینان از رعایت الزامات کلی بهداشتی در کارخانه باید مطابق آخرین تجدید نظر ضوابط و الزامات برنامه های پیش نیازی (PRPs) برای تاسیس و بهره برداری واحدهای تولید و بسته بندی مواد غذایی و آشامیدنی اجرا شود. قابل دسترسی از طریق سایت سازمان غذا و دارو (www.fda.gov.ir)

۵-۲- شرایط فنی و بهداشتی اختصاصی

۵-۲-۱- حداقل الزامات برای مواد مصرفی در تولید

➤ گونه ریز جلبک: دامنه کاری این ضابطه برای محصولات حاصل از گونه *Arthrospira plantensis* می باشد.

➤ آب مورد استفاده در سیستم های کشت اسپیرولینا: باید حائز شرایط لازم برای پرورش ریز جلبک بوده و از نظر محتوای فلزات سنگین و بار میکروبی شرایط آب کشاورزی را داشته باشد. برای این منظور استفاده از فیلتراسیون جهت حذف آلودگی های فیزیکی، ذرات معلق و سایر جلبک های موجود در آب الزامی است.

➤ آب مورد استفاده در خط تولید عصاره رنگی و رنگدانه فیکوسیانین: باید آب مقطر یا آب آشامیدنی با ویژگیهای مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۱۱ (آب آشامیدنی-ویژگیهای میکروبیولوژی) و ۱۰۵۳ (آب آشامیدنی-ویژگیهای فیزیکوشیمیایی) باشد.

➤ کودها و سایر مواد شیمیایی: مورد استفاده برای ساخت محیط کشت اسپیرولینا باید دارای کیفیت مشابه در تولیدات کشاورزی را داشته باشد.

اداره کل امور فرآورده های غذایی و آشامیدنی
حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای کشت و تولید زیست توده اسپیرولینا و فرآورده های رنگی آن

- تنظیم کننده های pH: برای تنظیم pH محیط کشت از تنظیم کننده های pH مجاز (مانند بی کربنات سدیم) استفاده می شود.

۵-۲-۲- حداقل الزامات زیرساخت و فرایند تولید

۵-۲-۲-۱- تولید زیست توده

الف) فرایند و شرایط کشت ریز جلبک اسپیرولینا

این فرایند شامل کشت استوک ریز جلبک هدف در محیط های کشت اختصاصی و فراهم کردن شرایط مناسب رشد و فتوسنتز نظیر هوادهی و هم زدن، نور، دی اکسید کربن، دما، pH و ... می باشد. رعایت اصول و شرایط بهداشتی برای به حداقل رساندن آلودگی ثانویه الزامی است. قابلیت کنترل شرایط محیطی در ضمن تولید یکی از مراحل عمده تضمین کیفیت محصول نهایی می باشد.

الف-۱) تهیه سویه ریز جلبک

در ابتدا باید کشت خالص ریز جلبک مورد استفاده (با شناسنامه تعریف شده در سطح جنس، گونه و سویه) از منابع معتبر داخلی و یا خارجی تهیه و با اتخاذ روش مناسب نسبت به کشت و نگهداری طولانی مدت آن اقدام شود. گونه مورد تایید اسپیرولینا *Arthrospira (spirulina) platensis* می باشد.

الف-۲) سیستم های کشت ریز جلبکها (Cultivation System)

بطور کلی کشت ریز جلبکها در دو سیستم باز و یا بسته انجام می شود. هر دو سیستم بر اساس شاخص های تولید انواع مختلفی دارند. فرایند کلی در هر دو سیستم، فراهم آوری شرایط کشت اختصاصی و قابل کنترل متناسب با ریز جلبک مورد نظر است.

الف-۲-۱) کشت های حوضچه ای (حوضچه های سر باز و سر پوشیده)

مزرعه یا حوضچه پرورش جلبک به صورت سر باز و یا سر پوشیده، محیطی با عرض و طول و عمق مناسب، متناسب با فضای در اختیار و امکانات کنترل شرایط آب و هوایی عمدتاً از جنس سیمان با پوشش صیقلی یا پوشش با پلیمرهای استاندارد غذایی (Food Contant) می باشد. (عموماً از ورق های پلیمری ژئوممبران (Geomembrane) جهت پوشش بسترهای سیمانی استفاده می شود)
یادآوری ۱- در مکان هایی که احتمال وجود آلودگی های محیطی نظیر ریزگردها و ... وجود دارد باید تمهیدات لازم نظیر مسقف کردن محیط و تشدید کنترل محصول صورت گیرد.

الف-۲-۲) کشت بسته (فوتوبیوراکتورها)

➤ انواع مختلف سامانه های بسته یا همان فوتوبیوراکتورها برای کشت ریز جلبکها طراحی شده اند. قابلیت کنترل شرایط عملیاتی مانند شدت دی اکسید کربن، نور، دما، pH و ... و امکان فراهم نمودن شرایط نسبتاً استریل از مهمترین شاخص های تولید ریز جلبکها در

اداره کل امور فرآورده های غذایی و آشامیدنی حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای کشت و تولید زیست توده اسپیرولینا و فرآورده های رنگی آن

فتوبیوراکتور می باشد. قابلیت کنترل شرایط محیطی و تأمین شرایط بهینه در کشت بسته امکان دستیابی به بهره وری بیشتر را فراهم می کند.

➤ به منظور پیشگیری از بروز آلودگی ثانویه استفاده از فیلتر در سامانه های کشت ریز جلبک که از پمپ هوا برای هوادهی و همزدن استفاده میشود الزامیست.

➤ اقدامات لازم برای کنترل آلودگی در سامانه های کشت باز و بسته باید به گونه ای باشد که محصول نهایی تولید شده حداقل الزامات بهداشتی و ویژگی های کمی و کیفی را طبق مقررات ملی و بین المللی رعایت نماید.

یادآوری ۲- در طول فرایند کشت، کنترل محیط کشت از نظر آلودگی ها و ناخالصی های میکروبی و محیطی الزامیست. جهت اطمینان از خالص بودن کشت ریز جلبک و عاری بودن از هر گونه آلودگی باکتریایی، قارچی و یا سایر ریز جلبک ها مشاهده میکروسکوپی، روش های کشت میکروبی و ریز جلبکی و یا بکارگیری روش های مولکولی جایگزین (PCR) الزامی است.

ب) فرایند و شرایط بهینه برداشت زیست توده (Harvesting) ریز جلبک

بعد از سپری شدن دوره رشد جلبک، فرایند برداشت انجام می شود. در مرحله برداشت، زیست توده ریز جلبک از سایر اجزاء محیط کشت جدا می شود. امروزه برداشت ریز جلبک با استفاده از سانتریفیوژ، انواع فیلتراسیون، فلوکولاسیون و... انجام می شود. از ساده ترین روش های برداشت، استفاده از فیلترهای پارچه های و پلی استری می باشد. روش های تکمیلی مناسب مانند شستشو با آب برای حذف بیشتر باقیمانده ترکیبات محیط کشت و تنظیم pH خمیر زیست توده حاصل نیز قابل استفاده می باشد.

تبصره ۱- با توجه به ابعاد ۸۰ تا ۳۰۰ میکرونی ریز جلبک اسپیرولینا می توان برای برداشت از صافی های ۲۵ میکرون استفاده کرد. استفاده از صافی استیل بیش از ۳۰۰ میکرون برای حذف آلودگی های درشت (از قبیل حشرات، ذرات ته نشین شده و ...) پیش از ورود محیط کشت حاوی زیست توده ریز جلبک به درون صافی برداشت توصیه می شود.

تبصره ۲- برداشت در کشت های حوضچه ای و فتوبیوراکتور شرایط یکسانی دارد.

ج) شرایط و روش های خشک کردن

در این مرحله زیست توده جلبک حاصل از فرایند برداشت، خشک می شود. برای این منظور، از روش های مختلف خشک کردن استفاده می شود.

➤ شرایط عملیاتی خشک کردن به نوع خشک کن مورد استفاده بستگی دارد. مثلاً در یک نوع خشک کن کابینتی (Cabinet Dryer) حدود ۲۴ ساعت زمان، با دمای حداکثر ۵۰ درجه سانتیگراد و در صورت استفاده از IR درایر (Infrared Dryer) (۱ ساعت، با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد) و در خشک کن پاششی با دمای بالای ۱۰۰ درجه سانتیگراد تنها در چند ثانیه برای آبیگری زیست توده ریز جلبک لازم است.

اداره کل امور فرآورده های غذایی و آشامیدنی
حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای کشت و تولید زیست توده اسپیرولینا و فرآورده های رنگی آن

- در صورتی که زیست توده به صورت چیپس (Flake) خشک شده و سپس با استفاده از آسیاب از جنس استیل ضد زنگ به پودر تبدیل می شود. بهینه سازی دما و زمان آسیاب کردن برای حفظ حداکثر ارزش تغذیه ای ضرورت دارد.
- برای کاهش زمان خشک کردن می توان از تجهیزاتی مانند اکسترودر یا رشته ساز استفاده نمود.

۵-۲-۲- تولید عصاره رنگی اسپیرولینا

این مرحله شامل تخریب سلول و عصاره گیری محتوای داخل سلولی (زیست توده تر و یا خشک) با استفاده از حلال ها بر پایه آبی می باشد. به منظور تهیه پودر عصاره رنگی، عصاره آبی تهیه شده ابتدا تغلیظ و سپس با روش مناسب به نحوی که کمترین آسیب به محتوای رنگی وارد شود خشک می شود.

۵-۲-۳- تولید رنگدانه فیکوسیانین

در این مرحله رنگدانه فیکوسیانین از عصاره آبی رنگی به کمک روش های مختلف از جمله استفاده از مواد شیمیایی و یا فناوری های غشائی (مانند اولترافیلتراسیون و میکروفیلتراسیون) جدا می شود. معمولاً ترکیبی از حداقل دو روش برای دستیابی به نتیجه بهتر استفاده می شود. در ادامه، محلول فیکوسیانین خالص سازی شده تغلیظ و خشک می شود. میزان خلوص فیکوسیانین بسته به نوع کاربرد می تواند متفاوت باشد. در نهایت پودر حاصل ممکن است به صورت خالص بسته بندی شود و یا بر حسب نوع کاربری به ویژه از نظر شدت رنگ مورد انتظار با ترکیبات مجاز خوراکی فرمولاسیون و سپس بسته بندی می شود.

- ممکن است عصاره رنگی و رنگدانه فیکوسیانین به صورت کنسانتره مایع نیز عرضه شود.
- به منظور حفظ کیفیت عصاره رنگی و رنگدانه فیکوسیانین به عنوان محصول نهایی انجام عملیات استخراج، خالص سازی، تغلیظ، خشک کردن و بسته بندی در سیستم بسته آسپتیک توصیه می شود.

۵-۲-۳- حداقل الزامات تجهیزات خط تولید

۵-۳-۱- تجهیزات خط تولید زیست توده (پودر اسپیرولینا)

- هر دو سامانه حوضچه ای و فتوبیوراکتور برای تولید زیست توده قابل استفاده می باشد.
- حوضچه های پرورش جلبک می تواند از جنس سیمان و یا خاک فشرده با روکش ژئو ممبران (Geomembrane) یا سیمان با روکش پلیمری مناسب (مانند اپوکسی) باشد.

تذکر- استفاده از خاک فشرده یا آسفالت و سایر ترکیبات نفتی در پوشش حوضچه های پرورش جلبک حتی با درجه خوراکی و آرایشی مجاز نمی باشد.

- سامانه کشت باید مجهز به تجهیزات کنترل شرایط محیطی مانند دما، شدت نور، pH باشد.

اداره کل امور فرآورده های غذایی و آشامیدنی
حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای کشت و تولید زیست توده اسپیرولینا و فرآورده های رنگی آن

- سیستم هوادهی و همزن
- برداشت زیست توده با استفاده از فیلترهای پارچه ای نایلونی (با مش سایز ۲۵ - ۸۰ میکرون)، سانتریفیوژ و الکتروفلوکولاسیون و یا تکنولوژی های جایگزین صورت می گیرد.
- ظروف نگهداری زیست توده تر با قابلیت نظافت و شستشو باید از جنس فلزی ضد زنگ یا پلیمری باشد.
- یخچال یا اتاق سرد برای نگهداری زیست توده تر
- اکسترودر (الزامی نیست)
- خشک کن
- آسیاب (الزامی نیست)
- پرکن و دستگاه بسته بندی مناسب
- برچسب زن، تاریخ زن یا جت پرینتر
- شریנק

۵-۲-۳-۲- حداقل تجهیزات مورد نیاز برای تولید عصاره رنگی و رنگدانه فیکوسیانیین

- آسیاب استیل ضد زنگ
- ترازو
- سانتریفیوژ
- تجهیزات مناسب جهت تغلیظ و خالص سازی
- خشک کن
- دستگاه پرکن و بسته بندی
- برچسب زنی، جت پرینتر و شریנק

اداره کل امور فرآورده های غذایی و آشامیدنی
حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای کشت و تولید زیست توده اسپیرولینا و فرآورده های رنگی آن

➤ به منظور حفظ کیفیت محصول نهایی و پیشگیری از انواع آلودگی بهتر است استخراج، خالص سازی و تغلیظ و فرمولاسیون محصول نهایی در سیستم بسته انجام شود.

۵-۲-۴- ضد عفونی و نکات مهم در مورد مراحل تولید

ضد عفونی تمام سطوح با مواد ضد عفونی کننده مجاز با روش مناسب حرارتی و یا غیر حرارتی در هر دو سامانه کشت حوضچه ای و فتوبیوراکتوری ضرورت دارد.

۵-۲-۵- بسته بندی

با توجه به حساسیت محصول نهایی شرایط محیطی مانند نور و دما انتخاب جنس بسته بندی مناسب برای حفظ و کیفیت رنگدانه اهمیت دارد.

۵-۲-۶- حداقل الزامات کنترل کیفیت آزمایشگاهی

تجهیزات آزمایشگاهی باید بر اساس مستندات اداره کل آزمایشگاه های مرجع کنترل غذا، دارو و تجهیزات پزشکی و یا تجهیزات مورد نیاز جهت انجام آزمون های مندرج در استاندارد ملی مربوطه باشد.

یادآوری- تأسیس آزمایشگاه به منظور کنترل رشد زیست توده در طی فرایند تکثیر در مراحل مختلف تهیه مایه تلقیح و کشت و تکثیر ریز جلبک و همچنین کنترل مراحل استخراج و فرآوری فیکوسیانین ضرورت دارد.

بدیهی است انجام آزمون های تضمین کیفیت محصول نهایی از طریق انعقاد قرارداد با آزمایشگاه های همکار و تایید صلاحیت شده توسط وزارت بهداشت، امکان پذیر می باشد.

مراجع

CFR - Code of Federal Regulations, Title 21- Food and Drugs (2019). Chapter 1: Food and Drug administration - department of health and human services. Part 73: Listing of Color Additives Exempt from Certification, Sec. 73.530: Spirulina extract. Volume 1.

Indian Standard; Alga Spirulina, Food Grade: IS 12895:1990

Jiang, Liangqian, Yujuan Wang, Qifeng Yin, Guoxiang Liu, Huihui Liu, Yajing Huang, and Bing Li. "Phycocyanin: a potential drug for cancer treatment." *Journal of Cancer* ۱۷ (۲۰۱۷): ۳۴۱۶.

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (2019). *Evaluation of certain food additives: eighty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. WHO technical report series; no.1014.

Krug, L., Erlacher, A., Berg, G., & Cernava, T. (2019). A novel, nature-based alternative for photobioreactor decontaminations. *Scientific reports* ۹(۱), ۱۰۰۱.

کد مدرک: F-D-009-0
تاریخ صدور: ۱۴۰۱/۰۹/۰۷
تاریخ بازنگری:
صفحه ۹ از ۹



اداره کل امور فرآورده های غذایی و آشامیدنی
حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای کشت و تولید زیست توده اسپیرولینا و فرآورده های رنگی آن

nde, F. G. (2020). Spirulina for the food ález-López, C., & Acién-Fernández-Sevilla, J. M., GonzáLafarga, T., Fern
and functional food industries. *Food Research International* ۱۰۹۳۵۶.

Spirulina Extract (Tentative)-Food and Agriculture Organization. Residue Monograph prepared by the meeting of the
Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 86th Meeting 2018.