

تولید فایکوسیانین توسط جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس

مریم سهیلی^۱، کرامت الله رضایی^۲، علی مرتضوی^۳، کیانوش خسروی دارانی^۴، مریم هاشمی^۵، رزینا کمیلی^۶، نگین احمدی^۷

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
- ۲- نویسنده مسئول: استاد گروه صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری، پردیس کشاورزی دانشگاه تهران، کرج، ایران. پست الکترونیکی: krezaee@ut.ac.ir
- ۳- استاد گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
- ۴- دانشیار گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۵- استادیار بخش تحقیقاتی بیوتکنولوژی میکروبی و ایمنی زیستی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج، ایران
- ۶- کارشناس آزمایشگاه گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۷- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

امروزه استفاده از رنگ‌های طبیعی به جای رنگ‌های سنتتیک مورد توجه زیادی قرار گرفته است. اسپیرولینا پلاتنسیس از معروف‌ترین ریزجلبک‌های خوراکی حاوی پروتئین و رنگدانه فایکوسیانین است. هدف از این تحقیق معرفی اسپیرولینا پلاتنسیس، فایکوسیانین، ارزش تغذیه‌ای، کاربرد آن‌ها و همچنین مروری بر پژوهش‌های پیشین انجام یافته در زمینه رشد اسپیرولینا پلاتنسیس و تولید فایکوسیانین، شیوه‌ی تولید و روش‌های بهینه‌سازی آن است.

ریزجلبک‌ها منابع غنی ترکیبات مغذی و رنگ‌های طبیعی هستند که در پی افزودن به فرآورده‌هایی مانند نان، بیسکوئیت، کیک و ژله، علاوه بر بهبود ارزش تغذیه‌ای باعث بهبود خواص فیزیکی آن‌ها می‌شود. اسپیرولینا پلاتنسیس به دلیل محتوای پروتئین و رنگدانه‌های فایکوسیانین و فایکواریتین زیاد برای غنی‌سازی مواد غذایی استفاده دارد. مرور بر مقالات گزارش شده نشان می‌دهند که عوامل موثر بر رشد و تولید فایکوسیانین در اسپیرولینا پلاتنسیس عبارتند از نور، هوادهی، نمک، pH و سوبسترای کربنی و نیتروژن.

مهم‌ترین عوامل موثر بر رشد اسپیرولینا و تولید فایکوسیانین نور و سوبسترای کربن و نیتروژن است. گلوکز و ملاس از سوبسترای کربنی هستند که می‌توانند برای رشد اسپیرولینا مورد استفاده قرار گیرند. گرچه سوبسترای نیتروژن تاثیر بیش‌تری بر رشد اسپیرولینا دارد. اوره از سوبسترای نیتروژنی ارزان قیمتی است که غلظت مشخصی از آن باعث بهبود رشد و نیز تولید رنگدانه در اسپیرولینا پلاتنسیس می‌شود.

واژگان کلیدی: فایکوسیانین، اسپیرولینا پلاتنسیس، تولید، بهینه‌سازی

مقدمه

مختلفی برای استفاده از رنگ‌های طبیعی در مصارف دارویی و غذایی وجود دارد. لذا افزایش قابل توجهی در تمایل به جایگزینی رنگدانه‌های سیانوباکتری‌ها به خصوص اسپیرولینا وجود دارد (۲) و استفاده از رنگ‌های طبیعی در مصارف غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی روند رو به افزایشی یافته است. اگرچه استفاده از آن‌ها در برخی زمینه‌های یاد شده به خاطر قدرت پایین رنگ‌دهی و عدم ماندگاری محدود شده است. فایکوبیلی پروتئین‌ها به عنوان رنگ‌های پروتئینی طبیعی در صنایع غذایی و دارویی به کار می‌روند (۱). در چین و ژاپن فایکوسیانین استخراج شده از اسپیرولینا پلاتنسیس به عنوان رنگدانه طبیعی در انواع مواد غذایی مثل

ریزجلبک‌ها به دلیل تعادل ترکیبات شیمیایی، منابع زیستی مهمی برای تولید محصولات و کاربردهای جدید بوده و می‌توانند به عنوان بهبوددهنده‌ی ارزش تغذیه‌ای غذاها و خوراک دام مورد استفاده قرار گیرند. آن‌ها حاوی مواد ارزشمند مانند اسیدهای چرب غیراشباع، رنگدانه‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، ترکیبات دارویی و دیگر ترکیبات فعال زیستی هستند (۱). از میان بسیاری از ترکیبات مغذی حاصل از ریز جلبک‌ها، رنگدانه‌ها به دلیل کاربرد زیاد و استخراج آسان، اهمیت تجاری رو به رشدی یافته‌اند. در حال حاضر تولید تجاری بسیاری از رنگدانه‌ها از منابع غیرطبیعی است. به دلیل اثرات سمی گزارش شده از رنگ‌های سنتتیک، دلایل

روش جالبی برای تولید محصولات غذایی جدید است. افزودن برخی ریزجلبک‌ها به بیسکوئیت و محصولات مشابه باعث بهبود بافت و افزایش ماندگاری آن می‌شود (۱).

همچنین در حال حاضر بررسی‌های زیادی بر استفاده از توده‌ی زیستی ریزجلبکی در محصولات ژله غذایی بر پایه پروتئین و پلی‌ساکاریدهای مخلوط شده با سامانه‌های پلی‌مری در حال انجام است. افزودن برخی ریزجلبک‌ها و رنگ‌های طبیعی باعث بهبود خواص ژلی و رئولوژیکی ژل‌ها و دسر‌ها می‌شود (۴-۶).

اسپیروولینا پلاتنسیس

در استفاده تجاری، نام معمول اسپیرولینا به توده سلولی خشک سیانوباکتری *آرتروسپیرا پلاتنسیس* اطلاق می‌شود و یک محصول کامل با نام زیستی می‌باشد. در کاربردهای علمی اسپیرولینا عنوانی است که جهت توضیح دو گونه سیانوباکتری، *اسپیروولینا پلاتنسیس* و *اسپیروولینا ماکسیما* استفاده می‌شود. این ریزجلبک پتانسیل بالایی در تولید غذا و ترکیبات تغذیه‌ای مرتبط هم‌چون ترکیبات رنگ‌زا، ویتامین‌ها، اسید گاما لینولئیک و آنزیم‌ها دارد (۷).

فایکوسیانین، فایکوبیلی زوم‌ها و گیرندگی نور

در سیانوباکتری‌ها و رودوفیت‌ها فایکوبیلی پروتئین‌ها فایکوبیلی زوم‌ها را تشکیل می‌دهند. این توده‌های بزرگ مولکولی در غشا خارجی تیلاکوئیدها قرار گرفته و با میکروسکوپ الکترونی لایه نازک قابل رویت می‌باشند. فایکوبیلی زوم‌ها شامل یک هسته مرکزی از APC و C-PC و PE هستند که روی هم قرار گرفته و ساختارهای میله‌ای را مطابق شکل ۱ تشکیل می‌دهند. نقش اصلی فایکوبیلی پروتئین‌ها گرفتن امواج نوری مخصوص فتوسنتز است و در طول موج بیشینه nm (PE) ۵۴۰، (C-PC) ۶۲۰ nm و (APC) ۶۵۰ nm ضریب خاموشی پایینی دارد (۷).

محصولات لبنی، ژل‌ها، آدامس و پاستیل استفاده دارد. علی‌رغم استقامت کم در برابر دما و نور، سازگاری بیش‌تری نسبت به گاردینا و ایندیگو دارد و رنگ درخشانی به پاستیل و آب‌نبات‌های پوشش‌دار می‌دهد (۳).

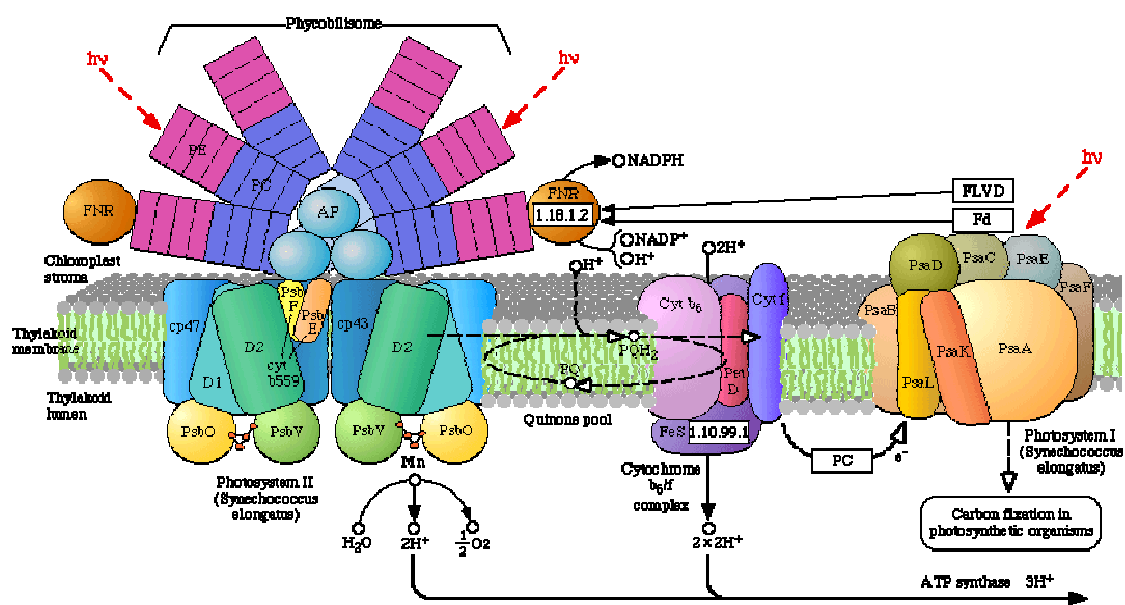
ریزجلبک‌ها در غذا

مخلوط بی‌شماری از ریزجلبک‌ها را در فروشگاه‌ها به شکل‌های قرص، پودر، کپسول، پاستیل‌ها و مایعات به عنوان مکمل‌های غذایی می‌توان یافت. آن‌ها هم‌چنین می‌توانند با محصولات غذایی (مثل پاستا، بیسکوئیت‌ها، نان، اسنک‌ها، آب‌نبات، ماست و نوشیدنی‌های غیرالکلی) ترکیب شوند و اثرات سلامتی‌بخش نشان دهند. در کشورهای آلمان، فرانسه، ژاپن، آمریکا، چین و تایلند شرکت‌های تولید و توزیع‌کننده غذا فعالیت‌های جدی در زمینه فروش غذاهای عمل‌گر با ریزجلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها انجام داده‌اند.

قابلیت ترکیب توده‌ی زیستی ریزجلبک‌ها با سامانه‌های غذایی مشروط به نوع فرایند به‌کار برده شده و شدت آن (مثل فرایندهای حرارتی و مکانیکی) و طبیعت غذا (مثل امولسیون، ژل، سامانه‌های خمیری هوادهی شده) و هم‌چنین واکنش‌های بین ترکیبات غذایی (پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، قند و نمک‌ها) می‌باشد. علاوه بر خواص رنگی و تغذیه‌ای، ترکیب ریزجلبک‌ها با غذاها ممکن است تغییرات معنی‌داری در خواص ریزساختاری و رئولوژیکی غذاها ایجاد کند (۱).

به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی بسیاری از رنگ‌دانه‌های طبیعی ریزجلبک‌ها، استفاده از آن‌ها در افزایش مقاومت به اکسیداسیون لیپید در امولسیون‌های روغن در آب امکان‌پذیر است. افزودن فایکوسیانین باعث بهبود خواص رئولوژیکی امولسیون‌ها و افزایش مقاومت رنگی و اکسیداسیونی این‌گونه امولسیون‌ها می‌شود (۴، ۵).

بیسکوئیت‌ها و کلوچه‌ها یکی از پرمصرف‌ترین محصولات غذایی هستند. استفاده از ریزجلبک‌ها در ترکیبات آن‌ها



شکل ۱. ساختار یک فایکوبیلی‌زوم (۹)

ساختار فایکوسیانیین

فایکوسیانیین (PC) و آلفافایکوسیانیین (APC) می‌باشند. مک کول (1998) فایکوبیلی پروتئین‌ها را با پسوند مرتبط به میزان فایکوسیانیین تغییر نام داد. تمامی فایکوسیانیین‌هایی که کروموفورهای فایکوسیانیوبیلین دارند، C-PC که معمول‌ترین نوع فایکوسیانیین است، نام‌گذاری شدند. C-PC از دو زیرواحد نسبتاً شبیه هم تشکیل شده، زنجیره α با یک فایکوسیانیوبیلین متصل به سیستئین‌های ۸۹ و زنجیره β با دو فایکوسیانیوبیلین متصل به سیستئین‌های ۸۴ و ۱۵۵. این دو زیرواحد مونومر $\alpha\beta$ را تشکیل داده که تریمرهای $\alpha_2\beta_2$ را شکل می‌دهند و در نهایت هگزامرهای $\alpha_6\beta_6$ تولید می‌شوند (۷).

فایکوبیلی پروتئین‌ها به عنوان ترکیبات ذخیره‌ای

نیتروژن: فایکوبیلی پروتئین‌ها پروتئین‌هایی هستند که در جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها به وفور یافت می‌شوند اما نقش ضروری ندارند. فایکوبیلی پروتئین‌ها در حالتی که سلول در شرایط کمبود نیتروژن قرار می‌گیرد به‌طور انتخابی تخریب و مورد استفاده سلول واقع می‌شوند. بنابراین فایکوبیلی پروتئین‌ها نقش ثانویه‌ای به عنوان ذخیره‌کننده‌ی نیتروژن در شرایط کمبود نیتروژن پیدا می‌کنند (۱۰).

فایکوسیانیین (C-PC) رنگ‌دانه آبی رنگ، گیرنده نور با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فلورسنت در سیانوباکتری‌ها و دو جنس رودوفیت‌ها و کریپتوفیت‌ها است. C-PC به بسیاری از سیانوباکتری‌ها رنگ آبی می‌بخشد و به‌همین خاطر با نام جلبک‌های سبز-آبی شناخته می‌شوند. C-PC ترکیبی قابل حل در آب، به شدت فلورسنت و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است. PC و دیگر فایکوبیلی پروتئین‌ها خواص زیادی در صنعت غذا، صنایع آرایشی-بهداشتی، زیست فناوری، تشخیص بیماری و درمان دارند. در حال حاضر ۱۱ کمپانی در حال تولید و فروش فایکوبیلی پروتئین‌ها و مشتقات آن‌ها هستند (۸). فایکوسیانیین توسط یک شرکت ژاپنی تحت نام Blue Lina تجاری شده است. محصول پودر آبی رنگ غیر سمی، بدون بو، کمی شیرین است و هنگامی که در آب حل می‌شود فلورسنت درخشان مایل به قرمز خفیفی دارد. از pH ۸-۴/۵ و تا دمای ۶۰°C پایدار ولی مقاومت آن در مقابل نور ضعیف است (۷).

PC به گروهی از پروتئین‌های گیرنده نور با عنوان فایکوبیلی پروتئین‌ها تعلق دارند. تمامی فایکوبیلی پروتئین‌ها، پروتئین‌های چند زنجیره تشکیل شده از آپوپروتئین‌ها هستند، که به‌طور کووالانسی به فایکوبیلین‌ها متصل‌اند. فایکوبیلی پروتئین‌ها کروموفورهای تتراپیرولی با زنجیره‌های باز هستند. سه فایکوبیلی پروتئین معمول فایکواریترین (PE)،

روش‌های تولید فایکوسیانین

فایکوسیانین به‌طور تجاری توسط اسپیرولینا پلاتنسیس به‌صورت فتواتوتروف و در محیط‌های باز در حوضچه‌های بزرگ و یا استخرهای نقاط گرمسیری و یا نیمه‌گرمسیر در حواشی اقیانوس‌ها تولید می‌شود. کارایی تولید توده‌ی زیستی با تامین نور تعیین می‌شود (۱۱). اسپیرولینا پلاتنسیس در کشت‌های میکسوتروف نیز توانایی رشد دارد. نرخ رشد ویژه‌ی کشت‌های میکسوتروف با جمع کشت‌های اتوتروف و هتروتروف برابری می‌کند. از آن‌جا که گلوکز بر تولید فایکوسیانین بدون تاثیر است و یا تاثیر ناچیزی بر تولید فایکوسیانین دارد، تولید توده‌ی زیستی بیش‌تر باعث تولید بیش‌تر فایکوسیانین می‌شود. هم‌چنین بسیاری از گونه‌های اسپیرولینا پلاتنسیس قادر به رشد در شرایط هتروتروف می‌باشند، ولی از آن‌جا که نرخ رشد ویژه و محتوای فایکوسیانین در چنین کشت‌هایی پایین است تولید آن با استفاده از چنین روشی امکان‌پذیر نمی‌باشد. در حال حاضر تولید فایکوسیانین به‌طور هتروتروف با استفاده گونه گالدیریا سولفوراریا^۱ امکان‌پذیر است. این میکروارگانیسم، تک سلولی و گزینه‌ی مناسبی برای تولید فایکوسیانین به‌طور هتروتروف است. زیستگاه طبیعی آن گرم و اسیدی است و رشد بهینه در دمای بالای ۴۰ درجه سانتی‌گراد اتفاق می‌افتد. اگرچه محتوای فایکوسیانین سلولی این میکروارگانیسم به مراتب کم‌تر از اسپیرولینا پلاتنسیس است اما تولید توده‌ی زیستی 50 g/L / day باعث تولید فایکوسیانین تقریباً ۱۰ برابر بیش‌تر از اسپیرولینا پلاتنسیس می‌شود. هم‌چنین اخیراً تولید فایکوسیانین نوترکیب هم گزینه‌ای برای تولید هتروتروف فایکوسیانین است (۱۲).

روش‌های استخراج

فایکوسیانین به روش‌های مختلفی استخراج می‌شود. شکستن دیواره سلول و انحلال فایکوبیلین محلول در آب، در یک محیط آبی هم‌چون بافر فسفات منجر به استخراج آن می‌شود. از جمله روش‌های فیزیکی شکستن دیواره توده زیستی خشک نشده با استفاده از روش سیکل انجماد در دماهای ۲۵- و ۱۵- درجه سانتی‌گراد و یا در نیتروژن مایع و سپس از انجماد در آوردن آن در دمای ۴ تا 30°C می‌باشد (۱۳). فایکوسیانین با استفاده از روش‌های مکانیکی مانند فشار بالا و یا استفاده از امواج فراصوت و روش‌های آنزیمی مثل لیزوزیم قابل استخراج است (۱۴، ۱۳). هم‌چنین از

کلبسیلا پنومونیه برای استخراج فایکوسیانین استفاده کرده‌اند (۱۵).

از فایکوسیانین به عنوان شناساگر فلورسنت استفاده می‌شود. زمانی که فایکوبیلی‌زوم‌ها توسط بافرهای آبی استخراج می‌شوند، تجزیه شده و فایکوبیلی‌پروتئین‌ها گیرنده‌های طبیعی خود که انرژی تهییج شده را دریافت می‌کردند، از دست می‌دهند و به شدت فلورسنت می‌شوند (۱۶). فایکوسیانین در چین و ژاپن به عنوان رنگ‌های طبیعی قابل استفاده در صنایع غذایی و آرایشی-بهداشتی به فروش می‌رسد. پژوهش‌های اندکی نیز بر روی پایداری رنگ فایکوسیانین در غذا (۳) و نیز خواص رئولوژیکی آن به عنوان ترکیبی پایدارکننده انجام شده است (۵، ۴).

بیش‌ترین توجهات بر روی استفاده از فایکوسیانین به عنوان ترکیبی مغذی مخصوصاً در غذاهای سلامت‌زا که از اسپیرولینا پلاتنسیس به عنوان ترکیبی عمل‌گر استفاده شده، معطوف گشته است. هم‌چنین از فایکوسیانین به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار بالا در مقاصد دارویی نیز استفاده می‌شود (۱۷).

خواص درمانی فایکوسیانین

فایکوسیانین فایکوبیلی‌پروتئینی است که به تازگی گزارش‌های متعددی مبنی بر داشتن خواص فارماکولوژیک گوناگون از آن ارائه شده است. در این رابطه، اثرات آنتی‌اکسیدان، ضد التهاب، خواص محافظتی کبد و اعصاب فایکوسیانین طی مطالعات تجربی ذکر شده‌اند. این پروتئین توانایی پاکسازی رادیکال‌های آلوکسیل، پروکسیل و هیدروکسیل را در محیط آزمایشگاه به صورت واکنش با پروکسی نیتريت (ONOO^-) و اسید هیپوکلرید (HOCl) دارد (۹).

این ماده می‌تواند در درمان آلزایمر و پارکینسون موثر واقع شود (۱۹، ۱۸). هم‌چنین نقش بسیار مهمی در پیشگیری از سرطان‌های پوستی-مخاطی و لوکمی مزمن میلوئیدی در انسان دارد (۱۸). این پروتئین از طریق سرکوب فعالیت میتوز سلول می‌تواند بیان CD 59 را متوقف کرده و بنابراین باعث آپوپتوزیس شود که این خود توجیه کننده‌ی فعالیت ضدسرطان این رنگ‌دانه می‌باشد (۲۰). فایکوسیانین در درمان سرطان‌ها قادر به جایگزین شدن با داروهای شیمی‌درمانی دارای عوارض جانبی شدید است (۱۹). از این پروتئین در درمان بیماری‌های کلیه، فشار خون، بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی و ترکیبات

داروهای مراقبت‌های پوستی استفاده می‌شود و اثرات درمانی آن به خوبی اثبات شده است (۲۵-۲۰).

در رابطه با سمیت فایکوسیانیین تاکنون تحقیقات زیادی انجام گرفته است. در یکی از این مطالعات اثر غلظت‌های بالا و مختلف فایکوسیانیین بر مرگ و میر موش‌های نژاد آلبینو بررسی شد. نتایج نشان داد که فایکوسیانیین در غلظت ۵-۰/۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن هیچ نشانه‌ای از مسمومیت یا مرگ و میر را در حیوانات نشان نداده است (۲۵).

رشد اسپیرولینا پلاتنسیس و تولید فایکوسیانیین

فنگ چن و همکاران در سال ۱۹۹۶ تاثیر سوبسترای کربنی و شدت نور را بر رشد و تولید فایکوسیانیین توسط اسپیرولینا پلاتنسیس در کشت فتوهتروتروف بررسی کردند. غلظت گلوکز و استات در محیط به ترتیب از ۰ تا ۱۰ گرم بر لیتر و ۰ تا ۵ گرم بر لیتر متغیر بود. در حالی که غلظت بیکرینات $16/8 \text{ g/L}$ که به عنوان کنترل استفاده شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که گلوکز و استات رشد سلولی و تولید فایکوسیانیین را تقویت می‌کند. بیش‌ترین مقدار سرعت ویژه رشد، غلظت سلولی و تولید فایکوسیانیین به ترتیب $0/62/\text{day}$ ، $2/66 \text{ g/L}$ و 322 mg/L با سوبسترای گلوکز و $0/52/\text{day}$ ، $1/81 \text{ g/L}$ و 246 mg/L با سوبسترای استات به دست آمد. همان‌طور که از نتایج مشخص است اسپیرولینا پلاتنسیس می‌تواند از گلوکز و استات به عنوان منبع کربنی استفاده کند اما گلوکز نسبت به استات برتری دارد. رشد ویژه جلبک با سوبسترای گلوکز $2/5 \text{ g/L}$ و به‌طور ویژه‌ای با افزایش نور تا 2 Klux افزایش پیدا کرد. افزایش بیش‌تر نور تا 4 Klux تنها باعث افزایش اندکی در سرعت رشد ویژه می‌شود.

در شدت نور بیش‌تر از 4 Klux مهار نوری در رشد به وجود آمد. تاثیر بدتر مهار نور ممکن است با کاهش دمای کشت که معمولاً در سامانه‌های فتوسنتزی پیشنهاد می‌شود اتفاق افتد. نور برای تولید فایکوسیانیین بسیار لازم است. بیش‌ترین مقدار فایکوسیانیین در شدت نور 4 Klux به دست آمد. زمانی که شدت نور به 2 Klux یا کم‌تر تقلیل می‌یابد غلظت گلوکز بهینه برای تولید بیومس از $2/5 \text{ g/L}$ به 5 g/L افزایش می‌یابد (۲۶).

فنگ چن و همکاران در سال ۱۹۹۷ امکان استفاده از کشت میکسوتروف جهت به دست آوردن غلظت سلولی و فایکوسیانیین بیش‌تر با استفاده از کشت خوراک‌دهی در یک فرمنتور $3/\text{L}$ بررسی کردند (۲۷). از آن‌جا که اسپیرولینا

پلاتنسیس قادر به مصرف سوبسترای کربنی آلی (مانند گلوکز و استات و غیره) قادر به رشد در شرایط هتروتروف و میکسوتروف می‌باشد. اگرچه به دلیلی اینکه این رنگ‌دانه یک رنگ‌دانه فتوسنتزی است رشد هتروتروف برای تولید فایکوسیانیین مناسب نمی‌باشد. به‌علاوه رشد هتروتروف اسپیرولینا پلاتنسیس فاز تاخیر طولانی (حدوداً ۲۰۰ ساعت) و سرعت رشد ویژه پایین ($0/083 \text{ h}^{-1}$) دارد. در مقایسه با کشت میکسوتروف، در این نوع کشت فاز تاخیر خاصی مشاهده نشد. در مقدار نور 4 Klux رشد ویژه $0/26 \text{ h}^{-1}$ و مقدار فایکوسیانیین 120 mg/L در وزن خشک به دست آمد. در مطالعه‌ی دیگر شدت نور بهینه برای رشد میکسوتروف اسپیرولینا پلاتنسیس در کشت بیج 4 Klux به دست آمد. در شدت‌های بالاتر نور باعث بروز پدیده مهار نوری^۱ رشد در حالی که در شدت پایین‌تر نور رشد سلولی را محدود می‌کند. هم‌چنین از آن‌جا که فاصله نفوذ نور با غلظت سلولی رابطه معکوس دارد، در این پژوهش فرض بر آن شد که افزایش مرحله‌ای در شدت نور از $80 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ باعث افزایش توده سلولی در کشت خوراک‌دهی می‌شود. غلظت اولیه گلوکز 2 g/L و شدت نور اولیه $80 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ تا ساعت ۱۵۶ افزایش پیدا کرد. $2/85 \text{ g/L}$ و پس از آن کاهش اندکی در رشد دیده شد. سپس شدت نور به $100 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ افزایش و غلظت سلولی (از آن‌جا که گلوکز محدود نشد) افزایش پیدا کرد. شدت نور نهایی $120 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ افزایش پیدا کرده و بیش‌ترین میزان غلظت سلولی $4/1 \text{ g/L}$ به دست آمد. هم‌چنین علی‌رغم ابقا میزان کافی گلوکز افزایش در میزان غلظت سلولی دیده نشد که این ممکن است به دلیل محدود شدن نفوذ نور به خاطر افزایش غلظت سلولی باشد. در آزمون بعدی $160-80 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ بررسی در طی ۳۰۰ ساعت کشت $10/2 \text{ g/L}$ به دست آمد که این مقدار کشت‌های دیگر (در حوضچه‌های باز 1 g/L ، بیوراکتورهای لوله‌ای که $6/3$ ، با افزودن پروتئین‌های هیدرولیز شده $5/4 \text{ g/L}$ و در کشت‌های میکسوتروف $2/1 \text{ g/L}$) بیش‌تر بود. هم‌چنین در این بررسی امکان استفاده از کشت میکسوتروف برای تولید فایکوسیانیین و میزان تغییر غلظت آن با رشد سلول با گذشت زمان بررسی شد. نتایج نشان داد تا ۳۵۰ ساعت اول، غلظت فایکوسیانیین هم‌زمان با رشد سلولی و تا رسیدن به حداکثر 107 g/L سلول به‌طور مداوم افزایش و سپس سریعاً کاهش پیدا کرد، در حالی که غلظت سلولی همچنان رو به

^۱ photoinhibition

سامانه کشت مداوم در این آزمون به کار گرفته شد. کشت با مقدار تلقیح اولیه 0.2 g/L در محیط کشت زاروک تحت منابع نوری مختلف انجام شد. حداکثر بهره‌وری بیومس روزانه به ترتیب برای نور سفید، نور آبی و نور سبز به ترتیب 0.18 g/L ، 0.175 g/L و 0.169 g/L به دست آمد. میزان رنگ‌دانه تحت نور سفید بالاترین مقدار کلروفیل ($5/5 \mu\text{g}/\text{mL}$) و در حالی که دیگر رنگ‌دانه‌ها تغییر چشم‌گیری نشان ندادند؛ که این نشان دهنده این است که برای تولید کلروفیل نور سفید بهتر است. از طرفی دیگر در نور آبی میزان کلروفیل و فایکوسیانیین به تدریج و به ترتیب تا میزان $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ و $2 \text{ mg}/\text{L}$ افزایش می‌یابد. پاسخ میکروارگانسیم به نور سبز برای تمام رنگ‌دانه‌ها منفی بود به جز فایکوسیانیین در این مورد بیش‌ترین میزان تولید ($2/5 \text{ mg}/\text{mL}$) در طی ۱۸ روز دوره‌ی آزمون به دست آمد. به علاوه در نور زرد تمامی رنگ‌دانه‌ها به تدریج از ششمین روز کشت شروع به کاهش نموده که این خاصیت رنگبری نور زرد را نشان می‌دهد. هم‌چنین نور قرمز در تولید رنگ‌دانه اثر معنی داری نداشت، به جز فایکواریترین که که روند افزایشی در تولید آن دیده شد. این محققین گزارش کردند که شدت نور بالاتر برای تولید فایکوسیانیین و فایکواریترین در اسپیرولینا بهتر است (۲۸).

نارایان و همکاران در سال ۲۰۰۵ استفاده از گلیسرول به عنوان منبع کربنی بر رشد، تولید پیگمان و لیپید در *اسپیرولینا پلاتنسیس* را بررسی کردند. توانایی سلول‌های جلبک در ساخت ترکیبات ارزشمند به پارامترهای مختلف محیطی هم‌چون شوری، نور و دما بستگی دارد. در این بررسی تاثیر گلیسرول بر میزان فایکوسیانیین و کلروفیل در سه سطح مشتمل بر سه گروه بررسی شد. گروه اول کنترل، شامل $16/8 \text{ g/L}$ بیکربنات سدیم بدون گلیسرول، گروه دوم شامل 2 g بیکربنات همراه با $2/5 \text{ mM}$ گلیسرول و گروه سوم $2/5 \text{ mM}$ به تنهایی. میزان توده سلولی (mg DW) از 100 mL کشت در گروه‌ها به ترتیب $2/3$ ، $1/68$ ، $1/51$ و مقدار فایکوسیانیین (در صد وزن خشک) $24/03$ ، $16/89$ ، $19/72$ و میزان لیپید کل به ترتیب $8/1$ ، $7/6$ و $8/2$ گزارش شد. کاهش در میزان کلروفیل a و فایکوسیانیین و عدم تغییر در میزان لیپید نشان می‌دهد گلیسرول در کشت اسپیرولینا بیش‌تر برای تولید اسیدهای چرب به کار می‌رود. هم‌چنین اختلاف در پروفایل اسیدهای چرب لیپید کل به ویژه در میزان مونوان و پلی‌ان دیده شد (۲۹).

افزایش بود. فایکوسیانیین یک رنگ‌دانه فرعی فتوسنتز است و فعالیت فتوسنتزی تابع میزان تولید آن است. در کشت میکسوتروف فتوسنتز و متابولیسم اکسیداتیو گلوکز به‌طور هم‌زمان عمل می‌کند. متابولیسم فتوسنتز و متابولیسم اکسیداتیو گلوکز ممکن است بر حسب شرایط کشت به تبدیل شوند. در کشت فتواتوتروف میزان فایکوسیانیین در تمام طول کشت در تعداد $135 \text{ mg}/\text{L}$ ثابت است و در مقایسه در کشت میکسوتروف در غلظت اولیه گلوکز $1 \text{ g}/\text{L}$ میزان فایکوسیانیین ثابت نبود و مقدار آن از 54 تا 125 میلی‌گرم بر لیتر وزن خشک افزایش پیدا کرد. این موضوع ممکن است به خاطر تغییرات مداوم در تسلط در پدیده فتوسنتز و تنفس و شرایط کشت باشد. در مراحل نخستین کشت میکسوتروف، بخش هتروتروف چیره می‌شود و غلظت گلوکز سریعاً کاهش می‌یابد. غلظت سلولی به‌طور خطی پس از 96 ساعت تا $1/4 \text{ g}/\text{L}$ افزایش می‌یابد و سپس با کاهش گلوکز کاهش می‌یابد. سلول‌ها بعد از 48 ساعت از دوره‌ی تاخیر به منظور سازگاری با شرایط فتوسنتز افزایش می‌یابند. الگوی مشابهی از دیگر کشت‌های میکسوتروف با غلظت گلوکز g/L به دست آمد. نتایج پیشنهاد می‌کنند که در مراحل اولیه کشت خوراک‌دهی بخش هتروتروف تسلط می‌یابد و همین که گلوکز مصرف می‌شود بخش هتروتروف کاهش می‌یابد و سپس فتوهتروتروف غالب می‌شود. زمانی که به دلیل افزایش غلظت سلولی نفوذ نور به داخل سلول کاهش می‌یابد نقش فتوسنتز کم‌رنگ شده و بخش هتروتروف دوباره غالب می‌شود و میزان فایکوسیانیین کاهش می‌یابد. از طرف دیگر کاهش سریع در میزان فایکوسیانیین سلول‌ها ممکن است به خاطر کمبود نیتروژن باشد که فایکوسیانیین توسط *اسپیرولینا پلاتنسیس* به عنوان منبع نیتروژنی مصرف شود. نتایج این تحقیق نشان داد که برای تولید فایکوسیانیین کشت خوراک‌دهی به دیگر کشت‌ها برتری دارد. بیش‌ترین مقدار فایکوسیانیین از با مقدار تقریبی $795 \text{ mg}/\text{L}$ در غلظت سلولی $7/8 \text{ g}/\text{L}$ به دست آمد که این مقدار تقریباً سه برابر کشت فتوتروف و میکسوتروف است. این تحقیق پیشنهاد می‌کند که در کشت میکسوتروف و خوراک‌دهی ریزجلبک حداکثر میزان فایکوسیانیین می‌تواند در بهترین ترکیب غلظت سلولی و فعالیت فتوسنتزی به دست آید (۲۷).

مادهیستا و همکاران در سال ۲۰۰۷ بررسی مقایسه‌ای بر منابع نوری مختلف بر رنگ‌دانه‌های مهم تجاری مختلف در *اسپیرولینا فوزی فورمیس* در بیوراکتور انجام دادند.

خوبی با داده‌های آزمایشات منطبق بود و آن‌ها را می‌توان به عنوان مواردی کارآمد برای توصیف تولید توده سلولی اسپیرولینا در نظر گرفت. فاکتورهای بیولوژیکی مثل سرعت تولید (رشد) (μ)، و فاز تاخیر (λ) برای اسپیرولینا پلاتنسیس به ترتیب بین $0.12-0.34 \text{ h}^{-1}$ و $2/43-5/85 \text{ h}^{-1}$ از تولید توده سلولی به‌طور موفقیت آمیزی توسط مدل‌های منطقی پایین پیش‌بینی شد (۳۱).

رودریگز و همکاران در سال ۲۰۱۰ اسپیرولینا پلاتنسیس را در محیط کشتی که شامل مخلوطی از KNO_3 و NH_4Cl به عنوان محیط کشت بود تحت نور 13 Klux در یک تانک کوچک کشت دادند. افزودن NH_4Cl به روش خوراک‌دهی و افزایش لگاریتمی در مقدار آن از سمیت ناشی از آمونیاک و کمبود نیتروژن جلوگیری کرد و باعث غلظت سلولی بسیار بالا (χ_m) و بالاترین کیفیت توده سلولی ($21/85 \text{ mg}$) کلروفیل در هر گرم سلول، $20/5\%$ لیپید و $49/8\%$ پروتئین) شد. از طرح مرکب مرکزی ترکیب شده با روش پاسخ سطحی برای تعیین ارتباط بین پاسخ (بیش‌ترین سرعت تولید χ_m ، بهره‌دهی سلولی و فاکتور تبدیل نیتروژن به سلول) و متغیرهای مستقل (غلظت‌های KNO_3 و NH_4Cl) استفاده شد. در واقع این پژوهش برای بررسی تاثیر همزمان KNO_3 و NH_4Cl بر رشد اسپیرولینا پلاتنسیس انجام شد. نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان غلظت سلولی به دست آمده از کشت فقط با NH_4Cl برابر با 20.13 mg/L و $55/8\%$ کم‌تر از مقداری بود که از آزمون‌هایی به دست آمد که هر دو منابع نیتروژنی استفاده شده بود. هم‌چنین میانگین بیش‌ترین غلظت سلولی به دست آمده از آزمون‌های مربوط به نقاط مرکزی که از 15 mM KNO_3 و $15 \text{ mM NH}_4\text{Cl}$ استفاده شده بود کمی بیش‌تر از آن‌هایی بود از کشت فقط از KNO_3 در محیط استفاده شده بود. تحت شرایط بهینه ($15/5 \text{ mM KNO}_3$ و $14/1 \text{ mM NH}_4\text{Cl}$) χ_m 4327 mg/L بود و مقداری منطبق با آن چه که با $25/4 \text{ mM KNO}_3$ کشت داده شده بود به دست آمد ولی بیش از ۲ برابر آنچه که با $21/5 \text{ mM NH}_4\text{Cl}$ به دست آمد. در مقایسه با آزمون‌های انجام شده با KNO_3 به شکل ناپیوسته، 30% کاهش در هزینه تمام شده برای محیط کشت تخمین زده می‌شود و بنابراین جایگزین مناسب و ارزانی‌قیمت برای تولید تجاری این سیانوباکتری می‌باشد (۳۲).

کولا و همکاران در سال ۲۰۰۷ تاثیر دماهای مختلف (30 و 35 درجه سانتی‌گراد) و غلظت نیتروژن (0.625 g/L ، 1.125 ، 1.875 و 2.5) محیط کشت را بر تولید توده سلولی و برخی ترکیبات مغذی مثل پروتئین، لیپید و ترکیبات فنولی اسپیرولینا پلاتنسیس بررسی کردند. مقدار توده سلولی به دست آمده در دمای 30°C ($0.192-0.182 \text{ g/L}$) و بیش‌تر از دمای 35°C ($0.165-0.159 \text{ g/L}$) بود. به‌طور کلی توده سلولی و μ_{max} در دمای 30°C ($0.074-0.073 \text{ day}^{-1}$) بیش‌تر بود نسبت به دمای 35°C ($0.054-0.073 \text{ day}^{-1}$). در اسپیرولینا هرچه غلظت سلولی کم‌تر سرعت رشد ویژه بیش‌تر می‌شود. این برای سامانه‌ای که اصولاً محدود به نور است انتظار می‌رود به این خاطر که کاهش غلظت سلولی نفوذ نور را افزایش می‌دهد. بالاترین میزان بهره دهی (mgL^{-1} $P_{450} = 34 \text{ day}^{-1}$) در دمای 30°C و مشخص است که غلظت نیترات سدیم در محیط کشت می‌تواند کاهش یابد بدون آن‌که تاثیری بر میزان بهره دهی داشته باشد. نتایج نشان داد که غلظت نیترات سدیم در محیط کشت تاثیر معنی‌داری بر تولید پروتئین، لیپید و ترکیبات فنولی دارد. با کاهش غلظت نیترات سدیم پروتئین و لیپید سلول کاهش می‌یابد. هم‌چنین در دمای بالا (35°C) با افزایش غلظت نیتروژن مقدار ترکیبات فنولی نیز افزایش می‌یابد. بنابراین به‌طور خلاصه دمای 35°C اثر منفی بر تولید توده سلولی ولی تاثیر مثبت بر تولید پروتئین، لیپید و ترکیبات فنولی دارد، بالاترین مقدار این ترکیبات در محیط کشت زاروک حاوی $1/87$ یا $2/5$ گرم بر لیتر نیترات سدیم به دست می‌آید (۳۰).

سلکلی و همکاران در سال ۲۰۰۹ تاثیر غلظت‌های مختلف نیترات (3 g/L ، $2/5$ ، 2) و کلرید سدیم (2 g/L ، $1/5$ ، 1 و $0/5$) بر تولید توده سلولی توسط اسپیرولینا پلاتنسیس در محیط شولسر^۱ بررسی کردند. بیش‌ترین میزان بازدهی توده سلولی و میزان کلروفیل a در $2/5 \text{ g/L}$ نیترات و $1/5 \text{ g/L}$ کلرید کلسیم به دست آمد. سرعت بالای تولید بین ساعات ۷۲ و ۲۱۶ رشد دیده شد. مدل‌های اصلاح شده ریچارد، شونت، لجستیک و گومپرتز^۲ ($RSS \geq 0.003$) و $t^2 > 0.96$) تولید توده سلولی توسط اسپیرولینا پلاتنسیس به عنوان تابعی از غلظت نیترات و کلرید سدیم به‌طور موفقیت آمیزی پیش‌بینی کردند. مجموع مربعات باقی مانده و ضریب رگرسیون بالا نشان داد که استفاده از مدل‌ها به

بهترین میزان رشد با 500 mg/L اوره در شدت 5600 lux به دست آمد در حالی که بیشترین میزان کلروفیل در توده زیستی در 500 mg/L و نور 1400 lux به دست آمد. در نهایت بهترین بهره دهی کلروفیل با 500 mg/L اوره در شدت نور 3500 lux است، که تعادل بهینه بین رشد سلولی و میزان کلروفیل توده زیستی را فراهم می‌آورد (۳۴).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی ریزجلبک‌ها منابع بسیار غنی ترکیبات مغذی و رنگ‌های طبیعی هستند که قابل افزودن به خوراک انسان می‌باشد. در پی افزودن به فرآورده‌هایی مانند نان، بیسکوئیت، کیک و ژله، علاوه بر بهبود ارزش تغذیه‌ای باعث بهبود خواص فیزیکی آن‌ها می‌شود. *اسپیروولینا پلاتنسیس* به دلیل محتوای پروتئین و رنگ‌دانه‌های فایکوسیانین و فایکواریتین زیاد برای غنی‌سازی مواد غذایی استفاده دارد. مرور مقالات گزارش شده در خصوص رشد *اسپیروولینا* و تولید فایکوسیانین نشان می‌دهد که عوامل موثر بر رشد و تولید فایکوسیانین در *اسپیروولینا پلاتنسیس* عبارتند از نور، هوادهی، نمک، pH و سوبسترای کربنی و نیتروژن. البته مهم‌ترین عوامل موثر بر رشد *اسپیروولینا* و تولید فایکوسیانین نور و سوبستراهای کربنی و نیتروژنی است. گلوکز و ملاس از سوبستراهای کربنی هستند که می‌توانند برای رشد *اسپیروولینا* مورد استفاده قرار گیرند. گرچه سوبسترای نیتروژنی تاثیر بیش‌تری بر رشد *اسپیروولینا* دارد. اوره از سوبستراهای نیتروژنی ارزان قیمتی است که غلظت مشخصی از آن باعث بهبود رشد و نیز تولید رنگ‌دانه در *اسپیروولینا پلاتنسیس* می‌شود.

جایگزینی انواع سوبستراهای گران قیمت و کم بازده با انواع ارزان قیمت و پربازده از جمله موضوعات مورد توجه محققین بوده است. به نظر می‌رسد اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی فایکوسیانین تحت شرایط استرس‌زا، یافتن روش‌های کاربردی به منظور استفاده از این رنگ‌دانه در صنعت غذا، یافتن ترکیبات فراسودمند ناشی از رشد جلبک در محیط کشت جدا شده از آن آینده پژوهش‌ها را در این زمینه رقم می‌زند.

در پژوهشی دیگر سولتو و همکاران در سال ۲۰۰۵ با در نظر گرفتن توانایی بسیاری از ریزجلبک‌ها در تجزیه اوره به آمونیوم خصوصاً در شرایط قلیایی، جایگزینی نترات پتاسیم با سولفات آمونیوم و اوره به عنوان منبع نیتروژنی ارزان قیمت بررسی کردند. تحقیقات قبل ثابت کرد که اوره هیچ تاثیری بر محتوای نهایی کلروفیل کشت‌ها ندارد. در این پژوهش برای اولین بار چنین پروتوکل ناپیوسته و خوراک‌دهی مورد بررسی قرار گرفت و مدل سازی و مقایسه شد. در این بررسی در ابتدا کشت ناپیوسته به منظور تعیین نیاز سلول به مقدار واقعی به نیتروژن و هم‌چنین آستانه‌ی غلظت مهاری آمونیاک انجام شد. بهترین مقدار اولیه (N_0) با استفاده از آمونیوم سولفات در محدوده‌ی $0.056-1/1 \text{ mM}$ بود و پس از ۲ روز $140-130 \text{ mg/L}$ توده سلولی تولید کرد. در حالی‌که با $1/1 \text{ mM}$ مهار رشد دیده شد و توده سلولی برابر با 70 mg/L تولید کرد. آستانه مهار 2 mMol و آستانه سمیت 10 mMol گزارش شد. هم‌چنین در رابطه با اوره آستانه مهار همان مقدار بود اما سرعت رشد با اوره بالاتر بود و توده سلولی بیش‌تری در غلظت $1/1 \text{ mMol}$ تولید کرد. فعالیت اوره‌آزی و شرایط قلیایی هیدرولیز اوره به آمونیاک در سرعتی برابر با جذب آن به سلول از مهار رشد توسط آمونیاک جلوگیری می‌کند. بر اساس آزمون‌های اولیه ناپیوسته، پروتوکل‌های خوراک‌دهی مختلفی انجام شد. نتایج نشان داد که استفاده از اوره در کشت‌های خوراک‌دهی کینتیک رشد بهتری دارد. اگرچه بیشترین میزان بهره دهی در زمان شروع فرایند با خوراک‌دهی خطی دیده شد، استفاده از الگوی افزایشی آهسته‌تر باعث تجمع کم‌تر آمونیاک در محیط شده و برای کشت‌های طولانی مدت مناسب‌تر است. هم‌چنین استفاده از اوره به جای آمونیوم سولفات پیشنهاد می‌شود (۳۳).

رنگل و همکاران در سال ۲۰۰۴ تاثیر شدت نور و اوره را به عنوان منبع نیتروژنی با استفاده از کشت خوراک‌دهی جهت رشد *اسپیروولینا پلاتنسیس* و میزان کلروفیل بررسی کردند. کشت در یک تانک روباز ۵ لیتری در دمای 30°C انجام شد. روش پاسخ سطحی برای تجزیه‌ی نتایج به کار گرفته شد و مدل‌هایی برای تولید توده زیستی، فاکتور تبدیل نیتروژن به سلول و بهره وری کلروفیل به دست آمد

References

- Gouveia L, Sousa I, Batista AP, Raymundo A, Bandarra NM. Microalgae in novel food products. Food Chemistry Research Developments. 2008 Nova Science Publishers, Inc.
- Borowitzka MA. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. J Appl Phyc 1995;7: 3-15.
- Jespersen L, Stromdahl LD, Olsen K, Skibsted LH. Heat and light stable Ly of three natural blue colorants for use in confectionery and beverages. Eur Food Res Technol 2005; 220: 261-266.
- Batista AP, Raymundo A, Sousa I, Empis J. Rheological characterization of coloured oil-in-water food emulsions with lutein and phycocyanin added to the oil and aqueous phases. Food Hydrocol 2006a ;20: 44-52.
- Batista AP, Raymundo A, Sousa I, Empis J, Franco JM. Colored food emulsions – implications of pigment addition on the rheological behaviour and microstructure. Food Biophys 2006b;1: 216-227.
- Nunes MC, Raymundo A, Sousa I. Rheological behaviour and microstructure of pea protein / k-carrageenan / starch gels with different setting conditions. Food Hydrocol 2006; 20: 106-113.
- Vonshak A. *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology. 2002; Taylor and Francis group.
- Sekar S, Chandramohan M. Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization. J Appl Phyc 2008; 20: 113-136.
- Romay C, Gonzalez R, Ledon N, Ramirez D, Rimbau V. C-phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. Curr Prot Pept Sci 2003;4: 207-216.
- Boussiba S, Richmond AE. C-phycocyanin as a storage protein in the blue-green alga *Spirulina platensis*. Arch Microbiol 1980; 125:143-147
- Pulz O, Gross W. Valuable products from biotechnology of microalgae. Appl Microbiol Biotechnol 2004;65: 635-648.
- Graverholt OS, Eriksen NT. Heterotrophic high-cell-density fed-batch and continuous-flow cultures of *Galdieria sulphuraria* and production of phycocyanin. Appl Microbiol Biotechnol 2007;77: 69-75.
- Abalde J, Betancourt L, Torres E, Cid A, Barwell C. Purification and characterization of phycocyanin from marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. IO9201. Plant Sci 1998;136:109-120
- Patil G, Chethana S, Madhusudhan MC, Raghavarao K. Fractionation and purification of the phycobiliproteins from *Spirulina platensis*. Biores Technol 2008; 99: 7393-7396.
- Zhu Y, Chen XB, Wang KB, Li YX, Bai KZ, Kuang TY, Ji HB. A simple method for extracting C-phycocyanin from *Spirulina platensis* using *Klebsiella pneumonia*. Appl Microbiol Biotechnol 2007; 1154:41-49.
- Glazer AN. Phycobiliproteins—a family of valuable, widely used fluorophores. Appl Phycol 1994; 6:105-112
- Jensen GS, Ginsberg DI, Drapeau C. Blue-green algae as an immuno-enhancer and biomodulator. J Amer Nutr Assoc 2001; 3:24- 30
- Chen T, Wong YS, Zheng W. Induction of G₁ cell cycle arrest and mitochondria-mediated apoptosis in MCF-7 human breast carcinoma cells by selenium-enriched *Spirulina* extract. Biomed Pharmacy 2010
- Subhashini J, Reddanna P, Mahipal SVK, Reddy MC, Reddy MM, Rachamalla A. Molecular mechanisms in C-Phycocyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. Biochem Pharm 2004; 68: 453-62.
- Li B, Zhang X, Gao M, Chu X. Effects of CD59 on antitumoral activities of phycocyanin from *Spirulina platensis*. Biomed Pharmacol 2005; 59: 551-560.
- Selvam R. Calcium oxalate stone disease: role of lipid peroxidation and antioxidants. Urol Res 2002; 30: 35- 47.
- Muthukumar A, Selvam R. Role of glutathione on renal mitochondrial status in hyperoxaluria. Molecular Cell. Biochem 1998; 185: 77-84.
- Farooq SM, Varalakshmi P, Asokan D, Kalaiselvi P, Sakthivel R. Prophylactic role of phycocyanin: a study of oxalate mediated renal cell injury. Chem Biol Interact 2004; 149: 1-7.
- Vyssoulis GP, Karpanou EA, Papavassiliou MV, Belegriinos DA, Giannakopoulou A. Side effects of antihypertensive treatment with ACE inhibitors. Amer J Hypertens 2001; 14(4): 114-125.
- Naidu A, Sarada K, Manoj R, Khan G, Swamy MM, Viswanatha S, Narasimha Murthy K, Ravishankar GA, Srinivas . Toxicity assessment of phycocyanin - a blue colorant from blue green alga *Spirulina platensis*. Food Biotechnol 1999;13:51-56.
- Chen F, Zhang Y, Guo S. Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photoheterotrophic culture. Biotechnol Lett 1996; 18: 603-608.
- Chen F, Zhang Y. High cell density mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose for

- phycoyanin production using a fed-batch system. *Enz Microb Technol* 1997; 20: 221-224.
28. Madhyastha HK, Vatsala TM. Pigment production in *Spirulina fusciformis* in different photophysical conditions. *Biomol Eng* 2007; 24: 301-305.
29. Narayan MS, Manoj GP, Vatchravelu K, Bhagyalakshmi N, Mahadevaswamy A. Utilization of glycerol as carbon source on the growth, pigment and lipid production in *Spirulina platensis*. *Int J Food Sci Nutr* 2005; 56(7): 521-528.
30. Colla LM, Oliveira Reinehr C, Reichert C, Costa JAV. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresour Technol* 2007; 98: 1489-1493.
31. Celekli A, Yavuzatmaca M. Predictive modeling of biomass production by *Spirulina platensis* as function of nitrate and NaCl concentrations. *Bioresour Technol* 2009; 100: 1847-1851.
32. Rodrigues MS, Ferreira LS, Converti A, Sato S, Carvalho JCM. Fed-batch cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis*: potassium nitrate and ammonium chloride as simultaneous nitrogen sources. *Bioresour Technol* 2010; 101: 4491-4498.
33. Soletto D, Binaghi L, Lodi A, Carvalho JCM, Converti A. Batch and fed-batch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources. *Aquacul* 2005; 243: 217-224.
34. Rangel-Yagui CO, Danesi EDG, Carvalho JCM, Sato S. Chlorophyll production from *Spirulina platensis*: cultivation with urea addition by fed-batch process. *Bioresour Technol* 2005; 92: 133-141.

Phycocyanin Production by *Spirulina platensis*

Soheili M¹, Rezaei K^{*2}, Mortazavi A³, Khosravi-Darani K⁴, Hashemi M⁵, Komeili R⁶, Ahmadi N⁷

- 1- M.Sc. of Food Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- 2- *Corresponding author: Prof, Dept. of Food Science, Faculty of Agricultural Engineering, Tehran University, Karaj, Iran, Email: krezaee@ut.ac.ir
- 3- Prof, Dept. of Food Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- 4- Associate Prof. (in Research), Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 5- Assistant Prof. Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, University of Tehran, Iran
- 6- Research Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
- 7- Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

The use of natural colors instead of synthetic colors is of great interests. Many natural colorants are extracted from microalgae. *Spirulina platensis* is one of the most famous and popular microalgae that has high protein content and contains much pigments. The main pigment of *Spirulina platensis* is Phycocyanin, a bright blue color pigment which has many applications in the food industry, medicine and cosmetics. The purpose of the present study is to introduce *Spirulina platensis*, Phycocyanin, their nutritional values and their applications and is to review the previous researches done in the field of *Spirulina platensis* growth and Phycocyanin production and methods to optimize it.

Microalgae are very useful resources to product many nutritious ingredients and natural colors. They can be used in the food industry for various purposes such as adding them to a variety of foods like bread, Biscuit, cakes and gels. They can improve their nutritional values and physical properties. Due to high protein content of *Spirulina platensis*, it is considered an important food resource. It is also used for foods enrichment. Two major pigments in *Spirulina platensis* are Phycocyanin and Phycoerythrin. They can be good alternatives for synthetic colors. Results also show that several factors are effective on the growth of *Spirulina platensis* and production of Phycocyanin. These factors include light, aeration, salt, pH and carbon and nitrogen substrate. Replacement of expensive and low-yielding substrates with a variety of cheap and efficient is interesting subject for the researchers.

The results showed that the most important factors influence the growth of *Spirulina* and Phycocyanin production are light and carbon and nitrogen substrates. Sugar and molasses are carbon substrates that can be used for *Spirulina* growth. Nitrogenous substrate has a greater impact on the growth of *Spirulina*. Urea is a cheap nitrogenous substrate which its specific concentration can improve *Spirulina* growth and Phycocyanin production.

Keywords: Phycocyanin , *Spirulina platensis*, Production, Optimization