

A comprehensive review on the structure, properties and application of phycocyanin pigment

Safari, R.^{1*}, Reyhani Poul, S.², Yeganeh, S.³

1. Assistant professor, Caspian Sea Ecology Research Institute, Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Sari, Iran
2. Ph.D Graduate, Department of Processing of Fishery Products, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
3. Professor, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

*Corresponding author: safari1351@gmail.com

(Received: 2022/8/11 Accepted: 2022/10/19)

Abstract

This review aims to evaluate the intrinsic properties and different applications of phycocyanin pigment in the food and pharmaceutical industries. In addition, in each section, a detailed history of the research conducted in the field of phycocyanin is presented. Phycocyanin is a blue pigment, a light receiver with antioxidant and fluorescent properties in cyanobacteria, and two algae from the genus rhodophytes and cryptophytes. Phycocyanin pigment consists of two relatively similar subunits α and β . The alpha chain contains one phycocyanobilin attached to cysteine 89 and the beta chain contains two phycocyanobilins attached to cysteines 84 and 155. Phycocyanin is commercially produced from spirulina algae (*spirulina platensis*), in the form of photoautotrophic cultures, and open environments in large ponds or pools in tropical or subtropical areas at the edges of oceans. This pigment can be extracted from the mentioned algae by using different techniques such as enzymatic method, ultrasound, freezing-defrosting, mineral solvent, homogenization, stress and osmotic shock, high hydrostatic pressure, ultracentrifuge, and ultra homogenization. Depending on the extraction conditions, each method has its advantages and disadvantages, but the enzymatic and ultrasound methods are more efficient than other methods. Phycocyanin has many medicinal and therapeutic properties, including anti-cancer and anti-inflammatory; In addition, the positive effect of this pigment on nerve cells, kidneys, and the immune system has been confirmed. Phycocyanin, having three colorings, antioxidant and antimicrobial properties, has the potential to be used in various food formulations, such as yogurt, cheese, ice cream, etc., which have been proven in various research.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Phycocyanin, Chemical structure, Extraction methods, Antibacterial and antioxidant activity, Medicinal properties

DOI: 10.30495/JFH.2022.1965125.1370

«مقاله مروری»

مروری جامع بر ساختار، خواص و کاربرد رنگدانه فیکوسیانیین

رضا صفری^{۱*}، سهیل ریحانی پول^۲، سکینه یگانه^۳

۱. استادیار، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
 ۲. دانش‌آموخته دکتری تخصصی، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۳. استاد، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات (safari1351@gmail.com)

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۵/۲۰ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۷/۲۷)

چکیده

هدف از مطالعه مروری حاضر، ارزیابی خصوصیات ذاتی و کاربردهای مختلف رنگدانه فیکوسیانیین در صنایع غذایی و دارویی است. ضمن این‌که، در هر بخش سابقه کاملی از تحقیقات انجام یافته در زمینه فیکوسیانیین ارائه شده است. فیکوسیانیین، رنگدانه آبی، گیرنده نور با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فلورسنت در سیانوباکتری‌ها و دو جلبک از جنس رودوفیت‌ها و کریپتوفیت‌ها است. رنگدانه فیکوسیانیین از دو زیر واحد نسبتاً مشابه α و β تشکیل شده است. زنجیره آلفا شامل یک فیکوسیانیوبیلین متصل به سیستمین ۸۹ و زنجیره بتا شامل دو فیکوسیانیوبیلین متصل به سیستمین‌های ۸۴ و ۱۵۵ است. فیکوسیانیین به شکل تجاری از اسپیرولینا پلاتنسیس، در قالب کشت‌های فتواتروف و در محیط‌های باز در حوضچه‌های بزرگ یا استخرهای نقاط گرمسیری و نیمه‌گرمسیری در حواشی اقیانوس‌ها تولید می‌شود. این رنگدانه با استفاده از تکنیک‌های مختلف از جمله روش آنزیمی، اولتراسوند، انجماد-انجمادزدایی، حلال معدنی، هموژنیزاسیون، استرس و شوک اسمزی، فشار هیدرواستاتیک بالا، اولتراسانتریفوژ و اولتراهموژنیزاسیون از جلبک مذکور قابل استخراج است. بسته به شرایط استخراج، هر روش دارای مزایا و معایبی است؛ اما دو روش آنزیمی و اولتراسوند نسبت به سایر روش‌ها کارایی بیشتری دارند. فیکوسیانیین دارای خواص دارویی و درمانی متعددی از جمله ضدسرطان و ضدالتهاب است؛ ضمن این‌که تأثیر مثبت این رنگدانه بر سلول‌های عصبی، کلیه و دستگاه ایمنی تأیید شده است. فیکوسیانیین با دارا بودن سه خاصیت رنگ‌دهندگی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی پتانسل بالقوه‌ای جهت استفاده در فرمولاسیون مواد غذایی مختلف از جمله ماست، پنیر، بستنی و غیره دارد که این موارد در تحقیقات مختلف ثابت شده است.

واژه‌های کلیدی: فیکوسیانیین، ساختار شیمیایی، روش‌های استخراج، فعالیت ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی، خواص دارویی

مقدمه

از فاکتورهای اصلی جهت ارزیابی کیفیت ماده غذایی می‌توان به رنگ، بو و طعم اشاره کرد که از این بین، پارامتر رنگ جهت پذیرش محصول توسط مشتری از اهمیت خاصی برخوردار است. در برخی از مواد غذایی از جمله نوشیدنی‌ها، انواع بستنی‌ها، ژله‌ها، شکلات‌ها و محصولات لبنی، این اهمیت تشدید می‌شود. رنگ‌های مشتق‌شده از منابع معدنی مثل کرومات سرب و سولفات مس باعث بروز مشکلات جدی در سلامت افراد می‌شوند. به همین دلیل مصرف رنگ‌های مصنوعی به لحاظ وجود باقی‌مانده آن‌ها در غذا، آلودگی‌های زیست-محیطی، پایداری پائین حساسیت در برابر فاکتورهای محیطی و همچنین استفاده از مواد نه چندان مفید در فرمولاسیون آن‌ها، روز به روز در حال کاهش هستند و تولیدکنندگان مواد غذایی به استفاده از رنگ‌های طبیعی تمایل بیشتری نشان می‌دهند. رنگ‌های طبیعی به لحاظ اثرات مثبت بر سلامت و بهداشت مردم، اثرات تغذیه‌ای و دارویی، عدم مشکلات محیطی و بازار مناسب، پتانسیل جایگزینی با رنگ‌های مصنوعی را دارند. آمارها نشان می‌دهد که مبادلات تجاری انجام‌گرفته در خصوص رنگ‌های طبیعی و طعم‌دهنده‌ها توسط اتحادیه اروپا در سال ۲۰۰۸، ۴۷۵ هزار تن، معادل ۲۰۵۵ میلیون یورو بوده است. از مهم‌ترین رنگ‌های طبیعی می‌توان به کاروتنوئیدها، بتاکاروتن، لیکوپن، گزانتوفیل، لوتئین، فیکوبیلی پروتئین‌ها، آناتو، فلاوونوئیدها، آنتوسیانین و کلروفیل اشاره نمود (Rymbai et al., 2011; Moorhead et al., 2011; Nagpal et al., 2011; Hosseini et al., 2013; Nuhu, 2013). در ذیل به

مهم‌ترین دلایل استفاده از رنگ‌ها در مواد غذایی اشاره شده است: ۱- افزایش رنگ محصول خصوصاً در نوشیدنی‌ها که رنگ اولیه آن‌ها چندان مطلوب نیست. ۲- استاندارد نمودن رنگ و ظاهر محصول مانند مارگارین‌ها، شیرینی‌جات و دسرها ۳- حفظ رنگ اولیه از دست‌رفته به هنگام عمل‌آوری مواد غذایی نظیر آرد، دسرها و سس‌های استریل شده ۴- حفظ بو و ویتامین‌های حساس به نور ۵- افزایش پذیرش ماده غذایی به‌عنوان محرک اشتهاآور ۶- استفاده از رنگ به‌عنوان افزودنی مغذی.

رشد سالانه رنگ‌های طبیعی مواد غذایی در بازار و صنعت بین ۱۵-۱۰ درصد است که این امر به واسطه آگاهی مردم از عوارض و خطرات رنگ‌های مصنوعی می‌باشد. در کشورهایی نظیر آمریکا، بریتانیا، آلمان و ژاپن رشد فزاینده‌ای از کاربرد رنگ‌های طبیعی در مواد غذایی مشاهده می‌گردد. از آنجایی که قیمت تمام‌شده مواد غذایی دارای رنگ طبیعی، بیشتر از مواد غذایی دارای رنگ مصنوعی است، مصرف آن‌ها بیشتر در کشورهایی که درآمد بیشتری دارند دیده می‌شود. اتحادیه اروپا ۴۳ ماده را به‌عنوان افزودنی رنگی از منشاء طبیعی مورد تأیید قرار داده که از این تعداد، ۳۰ ماده در آمریکا مورد استفاده قرار می‌گیرد (Rymbai et al., 2011).

علاوه بر خاصیت رنگ‌دهندگی رنگ‌دانه‌های طبیعی، دلایل دیگری برای استفاده از آن‌ها در صنعت غذا و دارو وجود دارد. اکثر رنگ‌های طبیعی دارای فعالیت ضد میکروبی هستند و از طریق کاهش رشد باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها فرآیند فساد را در مواد غذایی به تأخیر می‌اندازند. بعضی از آن‌ها بر علیه

نظر مصرف (Generally Recognized As Safe)، به‌طور مستقیم و به‌عنوان ماده غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Kleinegris *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2016). بتاکاروتن به‌عنوان یک رنگ‌دانه طبیعی در انواع غذاها و نوشیدنی‌ها با هدف تغییر بهینه ظاهر محصولات مورد استفاده قرار می‌گیرد که از مهم‌ترین این مواد خوراکی می‌توان به مارگارین‌ها، آب‌میوه‌ها، فرآورده‌های لبنی، محصولات کنسروی، شیرینی‌جات و ادویه‌جات اشاره کرد (Jaswir *et al.*, 2011).

گونه هماتوکوکوس پلوویالیس (*Haematococcus pluvialis*) از گروه جلبک‌های سبز است که به‌هنگام قرارگرفتن در فاز رشد لگاریتمی، باعث تجمع رنگ‌دانه آستاگزانتین در توده سلولی خود می‌گردد. این رنگ‌دانه بین ۰/۲ تا ۲ درصد از وزن خشک جلبک را شامل می‌شود. آستاگزانتین کاربرد بسیار وسیعی در صنایع غذایی، دارویی، خوراک دام و آبزیان دارد و دارای تأییدیه از سازمان غذا و داروی آمریکا (Food and Drug Administration) به‌منظور استفاده در مواد غذایی است. از مزیت‌های آستاگزانتین نسبت به سایر رنگ‌دانه‌های کاروتنوئیدی، می‌توان به پایداری بیشتر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالا (تا ۵۰۰ برابر بیشتر از آلفاتوکوفرول) و شدت رنگ آن اشاره نمود. آستاگزانتین به‌عنوان ماده رنگی در جیره غذایی آزاد ماهیان مورد استفاده قرار گرفته و بر بافت ماهی تأثیرات مثبت داشته است. مقدار مورد استفاده این رنگ‌دانه نیز بین ۱۰۰-۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی گزارش شده است. بازار فروش آستاگزانتین در آبی‌پروری در سال ۲۰۱۰ حدوداً ۴۹ میلیون دلار بوده است (Higuera-Ciapara *et al.*, 2006).

تک‌یاخته‌ها و حشرات نیز اثر کشندگی دارند. کاروتنوئیدها از جمله رنگ‌دانه‌هایی هستند که باعث کاهش جمعیت قارچ‌های تولیدکننده افلاتوکسین می‌شوند (Norton *et al.*, 1997). برخی از رنگ‌های طبیعی به‌عنوان مواد شاخص، جهت ارزیابی کیفیت ماده غذایی بکار گرفته می‌شوند. از مهم‌ترین این رنگ‌ها می‌توان به آنتوسیانین و پلارگونیدین (Pelargonidin) اشاره نمود که به ترتیب جهت تشخیص مربای سالم و تقلبی گیلاس و توت‌فرنگی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Barberan, 1997; Chattopadhyay *et al.*, 2008).

رنگ‌های طبیعی به لحاظ داشتن مواد مؤثره، قابلیت استفاده در فرمولاسیون مواد غذایی، دارویی و بهداشتی را دارا می‌باشند. مثلاً کاروتنوئیدها به‌عنوان افزودنی ویتامینی و بتاکاروتن به‌عنوان پیش‌ساز ویتامین A در انواع مواد غذایی کاربرد دارند (Filimon, 2010). رنگ‌های طبیعی دارای مواد بیولوژیک هستند که به آن‌ها ویژگی آنتی‌اکسیدانی، ضدجوش‌زایی، ضدالتهابی، ضدآماس می‌دهد. اکثر رنگ‌دانه‌های طبیعی مانند کاروتنوئیدها، لیکوپین، لوتئین، زاگزانتین و گزانتوفیل دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Nagaraj *et al.*, 2000; Saleem *et al.*, 2004, Safari *et al.*, 2020). سه گروه از پیگمان‌های جلبکی شامل بتاکاروتن دوناویلا، آستاگزانتین هماتوکوکوس و فیکوسیانین اسپیرولینا از اهمیت بیشتری برخوردار هستند.

میکروجلبک *دونالیلا سالینا* (*Dunaliella salina*) از مهم‌ترین گونه‌های تجاری جهت تولید بتاکاروتن است. افزایش بیش از حد نور باعث تجمع رنگ‌دانه بتاکاروتن در این جلبک می‌شود. دونالیلا غنی از اسیدهای چرب ضروری است و به واسطه ایمن بودن از

آلوفیکوسیانین و فیکواریترین (Phycocerythrin) هستند که روی هم قرار می‌گیرند و ساختارهای میله‌ای تشکیل می‌دهند. نقش اصلی فیکوبیلی‌پروتئین‌ها جذب امواج نوری مخصوص فتوسنتز در طول موج‌های مختلف (طول موج‌های ۶۲۰، ۶۵۰ و ۵۴۰ نانومتر به ترتیب برای فیکوسیانین، آلوفیکوسیانین و فیکواریترین) می‌باشد (Eriksen, 2008; Yu *et al.*, 2017).

فیکوسیانین رنگدانه آبی، گیرنده نور با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فلورسنت در سیانوباکتری‌ها و دو جلبک از جنس رودوفیت‌ها و کریپتوفیت‌ها (Cryptophytes) می‌باشد. این رنگدانه به سیانوباکتری‌ها رنگ آبی می‌بخشد و به همین خاطر آن‌ها با نام جلبک‌های سبز-آبی شناخته می‌شوند. ساختار مولکولی فیکوسیانین شبیه بیلی‌روبین است (شکل ۱). بیلی‌روبین تغییرات اکسیداتیو پروتئین‌های پلاسما و اسیدهای آمینه آروماتیک را مهار می‌کند. این پروتئین رادیکال‌های آزاد اکسیژن را مهار و باعث حفظ آلبومین سرم می‌گردد. بنابراین با توجه به شباهت فیکوسیانین و بیلی‌روبین، به نظر می‌رسد که این پروتئین دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی باشد (Patel *et al.*, 2006; Saranraj and Sivasakthi, 2014; Yu *et al.*, 2017).

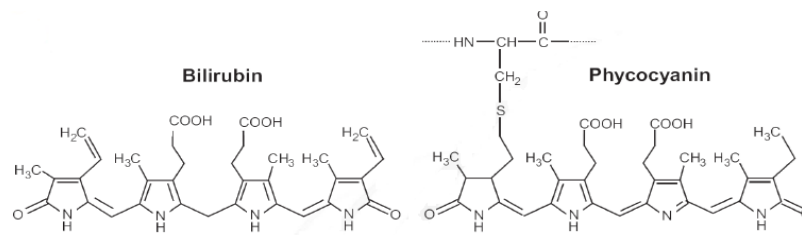
هدف مطالعه حاضر، مروری بر رنگدانه فیکوسیانین با تکیه بر ارزیابی ساختار شیمیایی، روش‌های استخراج، خواص و کاربرد آن در صنایع غذایی و دارویی است. علاوه بر این موارد، به تحقیقات داخلی و خارجی انجام گرفته پیرامون رنگدانه مذکور و همچنین نتایج آن‌ها به اختصار اشاره شده است.

یافته‌ها

- مروری بر فیکوسیانین

- مشخصات کلی و ساختار شیمیایی

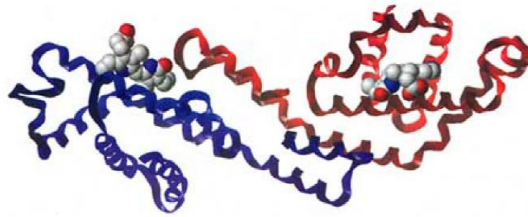
در غشای سلولی سیانوباکتری‌ها و رودوفیت‌ها (Rhodophytes)، پروتئین‌هایی موسوم به فیکوبیلی‌پروتئین (Phycobiliprotein) وجود دارند که در واقع پروتئین‌های چند زنجیره‌ای تشکیل شده از آپوپروتئین‌ها (Apoprotein) بوده و به‌طور کوالانسی به فیکوبیلین‌ها (Phycobilin) متصل هستند. این پروتئین‌ها کروموفورهای (Chromophore) تتراپیرولی (Tetrapyrrole) با زنجیره‌های باز هستند. فیکوبیلی‌زوم‌ها (Phycobilisomes) که شامل مجموعه‌ای از فیکوبیلی‌پروتئین می‌باشند به‌صورت توده‌های بزرگ مولکولی در غشای خارجی تیلاکوئیدها (Thylakoids) قرار گرفته است که با میکروسکوپ الکترونی به‌صورت لایه نازک قابل رؤیت است. فیکوبیلی‌زوم‌ها شامل یک هسته مرکزی از فیکوسیانین،



شکل (۱) - فرمول شیمیایی فیکوسیانیین و بیلی‌روبین (Minato et al., 2021)

می‌باشد. اختلاف جزئی در ترکیب اسیدهای آمینه فیکوسیانیین، بر پایداری و خواص ساختاری آن تأثیرگذار است. فیکوسیانیین استخراج شده از گونه‌های ترموفیل پایداری بیشتری نسبت به گونه‌های مزوفیل دارند. عوامل پایدارکننده مثل گلوکز و نمک سدیم باعث افزایش زمان ماندگاری این رنگ‌دانه می‌شوند (Apt et al., 1995; Wu et al., 2016). فیکوسیانیین به همراه سایر رنگ‌دانه‌های گروه فیکوبیلی پروتئین‌ها دارای کاربرد گسترده در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی، زیست‌فناوری، تشخیص بیماری و درمان می‌باشند. فیکوسیانیین اولین بار توسط یک شرکت ژاپنی تحت نام Blue Lina تجاری شد و در حال حاضر به‌عنوان رنگ‌دانه طبیعی در کشورهای چین و ژاپن در محصولات غذایی نظیر آدامس، شکلات، فرآورده‌های لبنی، ژله‌ها، بستنی، نوشیدنی‌ها و همچنین محصولات آرایشی نظیر کرم‌های ضدآفتاب و کرم دور چشم مورد استفاده قرار می‌گیرد (Kuddus et al., 2013).

رنگ‌دانه فیکوسیانیین از دو زیر واحد نسبتاً مشابه α و β تشکیل شده است. زنجیره آلفا شامل یک فیکوسیانیوبیلین (Phycocyanobilin) متصل به سیستئین ۸۹ و زنجیره بتا شامل دو فیکوسیانیوبیلین متصل به سیستئین‌های ۸۴ و ۱۵۵ است (شکل ۲). این دو واحد، مونومرهای $\alpha\beta$ ، تری‌مرهای $\alpha_3\beta_3$ و هگزامرهای $\alpha_6\beta_6$ را تشکیل می‌دهند. این رنگ‌دانه به اشکال مختلف تری، هگزا و دکامر وجود دارد که بر اساس pH، قدرت یونی محیط، غلظت پروتئین و منشاء جلبک مورد نظر، متفاوت می‌باشند. علاوه بر این، شکل اولیه فیکوسیانیین بر وزن مولکولی و شدت جذب نوری آن تأثیر دارد. محصول پودری به رنگ آبی، غیرسمی، بدون بو، کمی شیرین است و هنگامی که در آب حل می‌شود فلورسانس درخشان دارد. پایداری فیکوسیانیین به منشاء، pH، دما، نور و برخی از مواد خارجی بستگی دارد. این رنگ‌دانه در pH های ۸-۴/۵ و دمای ۴۵ درجه سلسیوس پایدار اما مقاومت آن در برابر نور ضعیف



شکل (۲) - ساختمان فضایی فیکوسیانین (Minato et al., 2021)

- روش‌های تولید فیکوسیانین

فیکوسیانین به شکل تجاری توسط اسپیرولینا پلاتنسیس (*Spirulina platensis*)، در قالب کشت‌های فتواتروف، و در محیط‌های باز در حوضچه‌های بزرگ و یا استخرهای نقاط گرمسیری و یا نیمه‌گرمسیر در حواشی اقیانوس‌ها تولید می‌شود. کارایی تولید توده زیستی با تامین نور تعیین می‌شود. اسپیرولینا پلاتنسیس در کشت‌های میکسوتروف نیز توانایی رشد دارد. نرخ رشد ویژه کشت‌های میکسوتروف با جمع کشت‌های اتوتروف و هتروتروف برابری می‌کند. اسپیرولینا پلاتنسیس قادر به رشد در شرایط هتروتروف نیز می‌باشد، اما از آنجا که نرخ رشد ویژه و محتوای فیکوسیانین در چنین کشت‌هایی پایین است، تولید آن با استفاده از چنین روشی امکان‌پذیر نمی‌باشد. در حال حاضر تولید فیکوسیانین به طور هتروتروف با استفاده گونه گالدیریا سولفوراریا (*Galdieria Sulphuraria*) انجام می‌گیرد. این میکروارگانیسم، تک سلولی و گزینه مناسبی جهت تولید فیکوسیانین به صورت هتروتروف می‌باشد. زیستگاه طبیعی آن آب‌های گرم و اسیدی و دمای رشد بهینه آن بالاتر از ۴۰ درجه سلسیوس است. اگرچه محتوای فیکوسیانین سلولی این میکروارگانیسم به مراتب کمتر از اسپیرولینا پلاتنسیس است اما با تولید توده زیستی ۵۰ گرم در لیتر در روز،

باعث تولید فیکوسیانین تقریباً ۱۰ برابر بیشتر از اسپیرولینا پلاتنسیس می‌گردد. فیکوسیانین نوترکیب گزینه مناسبی برای تولید هتروتروف فیکوسیانین است (Pulz and Gross, 2004; Graverholt and Erikse, 2007).

- روش‌های استخراج فیکوسیانین و مقایسه کارایی آن‌ها جهت استخراج ترکیبات مؤثره (ترکیبات پروتئینی و پلی ساکارییدی) از منابع گیاهی از روش‌های مختلف استفاده می‌شود. یکی از روش‌های استخراج پروتئین از ماکرو و میکرو جلبک‌ها، استخراج آنزیمی می‌باشد. در دیواره این موجودات، انواع ترکیبات پلی ساکارییدی مثل سلولز، آلزینات، کاراگینان، آگار، نشاسته، گلوکان و ... وجود دارد. آنزیم‌های دارای ماهیت پلی ساکاریدازی مثل لیزوزیم، سلولاز، گلوکاناز (Glucanases)، آگاراز (Agarase)، گالاکتاز (Galactase)، گزیلاناز (Xylanase) باعث هیدرولیز و یا تجزیه ترکیبات پلی ساکارییدی و در نتیجه تخریب دیواره سلولی و یا غشای سیتوپلاسمی می‌شوند و ترکیبات درون سلولی از جمله پروتئین‌ها را آزاد می‌کنند. علاوه بر این، با فعالیت این آنزیم‌ها، پلی ساکاریدهای متصل به پروتئین، تحت تأثیر هیدرولیز آنزیمی قرار گرفته و در نتیجه راندمان استخراج پروتئین افزایش می‌یابد (Joubert and Fleurence, 2008; Harnedy and Fitzgerald, 2013; Bleakley and Hayes, 2017).

بخشد. وقتی این حباب‌ها روی سطح مواد جامد متلاشی می‌شوند، فشار و دمای بالای آزاد شده به‌طور مستقیم میکروجت‌ها و امواج شوک را در سطح جامد تولید می‌کند. اصابت این میکروجت‌ها به سطح، باعث سایش، شکستگی و تخریب آن می‌گردد. امواج فراصوت، مراحل فرایند استخراج ترکیبات گیاهی، یعنی تورم بافت به منظور جذب حلال و نیز خروج ترکیبات از بافت به حلال را از طریق ایجاد تخلخل و منافذ در دیواره سلول‌ها بهبود می‌بخشد و انتقال جرم را تسهیل و تسریع می‌کنند. برخلاف شیوه‌های مرسوم، امواج صوتی باعث تخریب دیواره سلولی در یک مدت زمان کوتاه می‌شوند و عصاره گیاهی در طول دیواره سلولی انتشار می‌یابد. مشخصات گیاهی مثل میزان رطوبت، اندازه ذرات و نوع حلال مورد استفاده، به‌منظور به دست آوردن استخراج کارآمد و مؤثر مهم هستند. به علاوه فاکتورهای زیادی شامل فرکانس، فشار، دما و زمان، کارکرد امواج صوتی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (McClements *et al.*, 1995; Shotipruk and Kaufman, 2001). در تحقیقات مختلف روش فراصوت به همراه سایر روش‌ها نظیر غرقابی، مایکروویو و هموژنیزاسیون جهت استخراج رنگ‌دانه‌ها و مواد مؤثره گیاهی به صورت منفرد و ترکیبی مورد استفاده قرار گرفت و نتایج حاکی از راندمان بالاتر روش فراصوت در ترکیب با حلال نسبت به سایر روش‌ها بوده است (Rostango *et al.*, 2003; Ying *et al.*, 2011). طی تحقیقی گزارش شد که روش اولتراسوند باعث افزایش استخراج پروتئین از جلبک کلرلا ولگاریس (*Chlorella vulgaris*) و سندسموس (*Scenedesmus*) و موجب افزایش راندمان بازیافت

اولتراسوند یا فراصوت یکی دیگر از روش‌های نوین جهت استخراج مواد مؤثره و پروتئین‌ها است و دارای کاربردهای گسترده‌ای در زمینه استخراج، تجزیه، ریزپوشانی و ... می‌باشد. مکانیسم اصلی استخراج با امواج فراصوت به پدیده کاویتاسیون (Cavitation) مربوط می‌شود. وقتی که یک موج صوتی از میان یک محیط الاستیک عبور می‌کند، باعث جابه‌جایی طولی ذرات می‌شود و به‌عنوان یک پیستون در سطح محیط عمل می‌کند و در نتیجه یک توالی مراحل انقباض و انبساط صورت می‌گیرد. مولکول‌ها به‌طور موقت از جایگاه اصلی خود جدا می‌شوند و به‌عنوان موج صوتی عبور می‌کنند که می‌توانند با مولکول‌های اطراف برخورد کنند. سپس، در طی مرحله انبساط، اولین گروه از مولکول‌ها به عقب و سمت موقعیت اصلی خود کشیده می‌شوند و انرژی جنبشی، آن‌ها را بیش‌تر به عقب می‌کشاند. بنابراین، مناطق انبساطی در محیط ایجاد می‌شود و از آنجا که هر محیط فاصله مولکولی بحرانی دارد، هنگامی که این فاصله بیش از حد شود، فعل و انفعالات مولکولی شکسته و حفره‌ها در مایع ایجاد می‌شوند. حفره‌های ایجاد شده در محیط، حباب‌های کاویتاسیون ناشی از فراصوت هستند که قادر به رشد در طول مراحل انبساط و کاهش اندازه در سیکل‌های انقباض می‌باشند. هنگامی که اندازه این حباب‌ها به یک نقطه بحرانی می‌رسد، آن‌ها در طول چرخه انقباض متلاشی می‌گردند و مقدار زیادی انرژی آزاد می‌شود. دما و فشار در لحظه متلاشی شدن تا ۵۰۰۰ کلوین و ۵۰۰۰ اتمسفر در حمام اولتراسونیک در دمای اتاق تخمین زده می‌شود. ایجاد این نقاط داغ می‌تواند به‌طور چشمگیری واکنش‌های شیمیایی را در محیط تسریع

سوکسله، عدم تجدیدپذیری حلال در سیستم‌های ناپیوسته در طول فرایند است. بنابراین بازده آن تابعی از ضریب توزیع می‌باشد. از طرف دیگر شستشو و صاف کردن بعد از استخراج، نسبت به زمان کل فرایند طولانی است که این مورد مصرف حلال را افزایش می‌دهد و همچنین احتمال اتلاف و یا آلودگی عصاره در طول جابه‌جایی وجود دارد. استخراج سوکسله تکرارپذیرتر است. به‌طور معمول، استخراج به کمک امواج فراصوت نسبت به استخراج توسط امواج میکروویو ضعیف‌تر می‌باشد؛ به‌طوری که کهنگی سطح پروب فراصوت می‌تواند بازده استخراج را تغییر دهد. روش استخراج با سیال فوق بحرانی ساده‌تر و سریع‌تر نسبت به برخی روش‌های فراصوت حلال مایع است. برخلاف برخی از حلال‌های استفاده‌شده برای فراصوت مانند سیکلوهاگزان، تتراهیدروفوران و مخلوط‌های دوتایی مانند دی‌کلرومتان و دی‌اکسیدکربن مورد استفاده در فرآیند فوق بحرانی برای محیط خطرناک نیست (Vinatoru, 2001).

از مهم‌ترین روش‌های فیزیکی جهت استخراج مواد پروتئینی از ماکرو و میکرو جلبک‌ها می‌توان به هموژنیزاسیون، استرس و شوک اسمزی اشاره نمود. تحقیقات نشان داده که استفاده از روش‌های مذکور باعث افزایش استخراج و بازیافت پروتئین از جلبک‌هایی نظیر *اولاوا فاسیاتا* (*Ulva fasciata*)، *سارگاسوم ولگاره* (*Sargassum vulgare*) و *پورفیرا آکانتوفورا* (*Porphyra acanthophora*) می‌شود و نتایج حاکی از کارایی بالاتر شوک اسمزی نسبت به اولتراهموژنیزاسیون است (Barbarino and Lourenço, 2005; Harnedy and Fitzgerald, 2013).

پروتئینی تا ۶۸ درصد می‌شود (Janczyk et al., 2005). از مزایای استخراج به کمک امواج فراصوت، افزایش قطبیت سیستم (شامل استخراج‌کننده، آنالیت‌ها و ماتریس) و افزایش بازدهی استخراج با حفره‌زایی است که می‌تواند مشابه یا بزرگ‌تر نسبت به استخراج سوکسله باشد. با توجه به حساسیت رنگ‌دانه‌ها به دماهای بالا، روش فراصوت، استخراج در دمای پائین را امکان‌پذیر می‌سازد. استخراج با کمک امواج فراصوت امکان افزودن یک استخراج‌کننده کمکی را فراهم می‌کند و موجب افزایش قطبیت فاز مایع می‌شود. فراصوت می‌تواند دمای عملیاتی را کاهش دهد و امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت را فراهم سازد؛ ضمن اینکه زمان استخراج نسبت به استخراج سوکسله نیز کوتاه‌تر است. از مزایای استخراج با کمک امواج فراصوت نسبت به استخراج با کمک امواج میکروویو می‌توان به سریع‌تر و ساده‌تر بودن این روش اشاره کرد. به‌طوری که عملیات کم‌تری درگیر آن و در نتیجه آلودگی کم‌تر است. در جذب اسید، روش فراصوت نسبت به میکروویو ایمن‌تر است؛ به‌طوری که به دماها و فشارهای بالا نیاز ندارد. استخراج به کمک امواج فراصوت نسبت به استخراج سیال فوق بحرانی، تجهیزات بسیار ساده‌تری نیاز دارد. بنابراین هزینه کل فرایند استخراج بسیار پایین‌تر است. استخراج با کمک فراصوت می‌تواند با هر حلالی برای استخراج دامنه وسیعی از ترکیبات طبیعی استفاده شود. از طرف دیگر، استخراج با سیال فوق بحرانی به‌طور انحصاری از دی‌اکسیدکربن برای استخراج استفاده می‌کند. بنابراین دامنه آن به آنالیت‌های غیرقطبی محدود است. از معایب استخراج به کمک امواج فراصوت نسبت به روش

هر یک از آن‌ها و در نهایت راندمان فیکوسیانیین تولیدشده انجام گرفته است (Abalde *et al.*, 1998; Patil *et al.*, 2008). نتایج پژوهشی که طی آن کشت میکروجلبک/اسپیروولینا پلاتنسیس و استخراج فیکوسیانیین با استفاده از چهار روش اولتراسوند، آنزیمی، انجماد-انجمادزدایی و حلال معدنی بررسی شد، نشان داد که میزان توده تولیدشده جلبک پس از ۱۶ روز، ۱۱۲۰ میلی گرم بر لیتر است (شکل ۳). در ادامه مشخص شد که غلظت فیکوسیانیین استخراج شده در روش‌های آنزیمی و اولتراسوند (به ترتیب ۱/۸۱۵ و ۱/۷۸۶ میلی گرم در میلی لیتر) فاقد اختلاف معنی دار و در سطح بالاتری از دو روش دیگر قرار دارد؛ ضمن اینکه غلظت رنگدانه در تکنیک انجماد-انجمادزدایی (۱/۵۳۵ میلی گرم در میلی لیتر) بیشتر از روش حلال معدنی (۱/۱۲۱ میلی گرم در میلی لیتر) می باشد. همچنین پس از خالص سازی رنگدانه با استفاده از سولفات آمونیوم، غلظت و خلوص رنگدانه به صورت معنی داری در هر روش افزایش یافت. نتایج تحقیق مذکور نشان داد که با انتخاب روش بهینه و همچنین اعمال فرایند خالص سازی با سولفات آمونیوم، می توان راندمان استخراج فیکوسیانیین از جلبک/اسپیروولینا پلاتنسیس را افزایش داد (Safari *et al.*, 2018). در تحقیقی که استخراج فیکوسیانیین از جلبک/اسپیروولینا پلاتنسیس (به صورت بیوماس مرطوب) با استفاده از شش روش شیمیایی (اسیدهای آلی و معدنی)، فیزیکی (انجماد-انجمادزدایی، فراصوت و هموژنیزاسیون) و آنزیمی (لیزوزیم) مورد ارزیابی قرار گرفت، مشخص شد که روش فراصوت دارای کارایی بالاتری است (نسبت به سایر روش‌های مورد مطالعه) و بعد از آن

یکی دیگر از روش‌های استخراج مواد پروتئینی از جلبک‌ها، میدان پالس الکتریکی می باشد. در این روش، جریان الکتریکی باعث افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی می شود و الکتروپورشن (Electroporation) قابل و یا غیرقابل برگشت رخ می دهد. این روش جهت استخراج اجزای درون سلولی مثل پروتئین‌ها، چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها، کاروتنوئیدها و کلروفیل از جلبک‌هایی نظیر اسپیرولینا، کلرلا و لگاریس، نانوکلوپسیس سالینا (Nannochloropsis Goettel *et al.*, 2013; Zbinden *et al.*, 2013; Coustets *et al.*, 2013; Parniakov *et al.*, 2015) مورد استفاده قرار گرفته است.

به منظور استخراج فیکوسیانیین از روش‌های مختلفی نظیر انجماد-انجمادزدایی، روش آنزیمی، تکنیک اولتراسوند (Ultrasound Technique)، فشار هیدرواستاتیک بالا (High-Pressure Electrostatic)، اولتراسانتریفوژ (Ultracentrifuge)، اولتراهموژنیزاسیون (Ultra Homogenization)، استخراج با آب و حلال‌های مختلف استفاده شده است که هر یک دارای مزایا و معایب متفاوت می باشند (Prabakaran and Ravindran, 2013; Sivasankari *et al.*, 2014). شکستن دیواره سلول و انحلال فیکوبیلین محلول در آب، در یک محیط آبی همچون بافر فسفات منجر به استخراج آن می شود. در روش انجماد-انجمادزدایی از دماهای ۲۵- و ۱۵- درجه سلسیوس و یا نیتروژن مایع جهت منجمد کردن اولیه به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت و متعاقب آن قراردادن در دماهای ۴ و ۳۰ درجه سلسیوس جهت انجمادزدایی استفاده می شود. مطالعات مختلفی در خصوص مقایسه روش‌های مذکور، مزایا و معایب

روش انجماد-انجمادزدایی قرار دارد (Moras *et al.*, 2011).



شکل (۳) - توده خشک اسپیرولینا و فیکوسیانین غلیظ فریزدرای شده (Safari *et al.*, 2018)

al., 2012; Tantirapan and Suwanwong, 2014; Saini *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2015; Pan *et al.*, 2015; Bingula *et al.*, 2016).

- تأثیر بر سیستم ایمنی

فیکوسیانین از طریق مکانیسم‌های ۳ گانه باعث تقویت سیستم ایمنی می‌شود. این رنگدانه بر سلول‌های ریشه‌ای مغز استخوان تأثیر گذاشته و روند گلبول‌سازی (گلبول‌های قرمز و سفید) را افزایش می‌دهد. با افزایش گلبول‌های سفید، قدرت دفاعی بدن و با افزایش گلبول‌های قرمز، اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها بیشتر می‌شود. مکانیسم دیگر مربوط به اثر فیکوسیانین بر آنتی‌بادی‌هاست؛ به این صورت که این رنگدانه باعث افزایش آنتی‌بادی A و مهار تولید آنتی‌بادی E می‌گردد. در مکانیسم سوم، فیکوسیانین باعث افزایش لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک و سلول‌های کشنده طبیعی می‌گردد. تحقیقات نشان داده است، هنگام استفاده توأمان فیکوسیانین به همراه شیمی‌درمانی، با

- خواص درمانی فیکوسیانین و اثرات آن بر سلامتی

- خواص ضد سرطانی

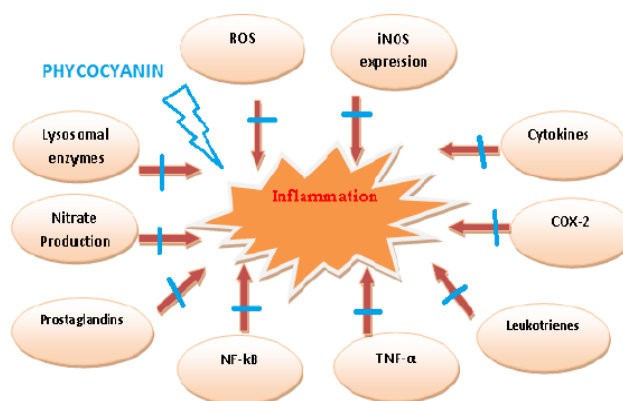
خواص ضد سرطانی فیکوسیانین از طریق مکانیسم‌های مختلف نظیر مهار تکثیر سلول‌های توموری، اثر تأخیری بر تمایز سلول‌های سرطانی، القاء مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و خواص ضد متاستازی انجام می‌شود و مکانیسم ضد سرطانی آن نیز در ارگانهای مختلف متفاوت است. به‌عنوان مثال خاصیت ضد سرطانی این رنگدانه در سرطان کولون از طریق اختلال در راه متابولیسمی PI3K/AKT و JAK3/STAT3، در سرطان سینه با کاهش Bcl-2، NF-KB و افزایش لیگاند های FAS-TRAIL، در کارسینومای کبدی با اختلال در راه متابولیسمی AKT و NF-KB، در سرطان لوله رحم با افزایش FAS، در سرطان پروستات با اختلال در فعالیت و همانندسازی DNA و در سرطان ریه با اختلال در سیکل سلولی GO/GI اعمال می‌شود (Li *et al.*, 2010; Gantar *et*)

(TNF- α)، لوکوترین‌ها (Leukotriene)، سیکلواکسیژناز (Cyclooxygenase)، سیتوکین‌ها (Cytokine)، بیان نیتریک‌اکسید سنتتاز (iNOS) و ROS (Reactive Oxygen Species) این عمل را انجام می‌دهد (Romay *et al.*, 2003; Deng and Chow, 2010; Joventino *et al.*, 2012).

افزایش سلول‌های مذکور، عملکرد سیستم ایمنی بهبود می‌یابد (Nemoto-Kawamura *et al.*, 2004).

- خواص ضدالتهابی فیکوسیانین

فیکوسیانین دارای اثر حفاظتی در برابر التهاب است. این رنگ‌دانه با مکانیسم‌هایی (شکل ۴) نظیر اختلال در آنزیم‌های لیزوزومی، تولید نیترات، پروستاگلاندین (Prostaglandin)، NF-KB، فاکتور نکروزدهنده تومور



شکل (۴) - مکانیسم‌های تأثیر فیکوسیانین بر التهاب (Joventino *et al.*, 2012)

GSH، کاتالاز و فعالیت G6PD انجام می‌دهد. رنگ‌دانه فیکوسیانین با مهار استرس اکسیداتیو، سلول‌های کلیه را در برابر نفروپانتی دیابتی محافظت می‌کند (Zheng *et al.*, 2013).

- فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین با مکانیسم‌های مختلفی انجام می‌گیرد. این رنگ‌دانه به‌عنوان عامل قوی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن مطرح است و با اکسیدان‌های دیگر که باعث بروز ضایعات پاتولوژیک می‌شوند (HOCl, ONOO⁻) نیز واکنش می‌دهد. غیرفعال کردن رادیکال‌های هیدروکسیل و آلکیل توسط فیکوسیانین، با استفاده از سنجش کیمولومینسانس

- تأثیر فیکوسیانین بر سلامت سلول‌های عصبی و کلیوی

فیکوسیانین با مکانیسم مهار تجمع پلاکت‌ها و جلوگیری از مرگ سلولی ناشی از غلظت کم پتاسیم در سرم سلول‌های گرانولی عصبی، اثرات حفاظتی خود بر سیستم عصبی را اعمال می‌کند (Hsiao *et al.*, 2005; Pentón-Rol *et al.*, 2011). این رنگ‌دانه با مهار رادیکال‌های آزاد که از طریق پراکسیداسیون چربی تولید می‌شوند، باعث محافظت سلول‌های کلیوی می‌شود و آن‌ها را در برابر کریستال‌های اگزالات کلسیم حفظ می‌کند. اگزالات بر پارامترهای استرس اکسیداتیو تأثیر دارد و این عمل را با واکنش رادیکال هیدروکسیل و عدم بالانس درصد

فیکوسیانین) دارای فعالیت غیرفعال‌کنندگی رادیکال‌های آزاد و قدرت احیاء‌کنندگی فلزات است (Ismaiel *et al.*, 2014). یافته‌های پژوهشی که طی آن از روش مهار رادیکال آزاد DPPH جهت ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین استفاده شد، نشان داد که توانایی فیکوسیانین در غیرفعال‌کردن رادیکال مذکور ۲۵/۲۱ درصد می‌باشد (Jerley and Prabu, 2015). یکی از تکنیک‌های افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حفظ ثبات این خاصیت در فیکوسیانین، نانو ریزپوشانی آن است. طی تحقیقی، رنگ‌دانه فیکوسیانین با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم نانو ریزپوشانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوکپسول‌های حامل رنگ‌دانه در کنار فرم خالص ارزیابی شد. نتایج نشان داد که با نانوریزپوشانی فیکوسیانین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن به صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد. همچنین قدرت آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین خالص و نانو ریزپوشانی‌شده در زمان صفر تقریباً مشابه بوده اما زمان نگهداری (دمای ۱۸- درجه سلسیوس به مدت ۶۰ روز)، بر کارایی آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین خالص تأثیر کاهنده داشته است. کاهش نسبی قدرت آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین خالص پس از ۶۰ روز نگهداری، در اکثر موارد معنی‌دار بود. اما تکنیک نانوریزپوشانی از کاهش معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین در غالب موارد جلوگیری کرد (Safari *et al.*, 2022b). یافته‌های پژوهشی که خواص نانوکپسول‌های حامل فیکوسیانین را بررسی کرد، حاکی از افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین نانو ریزپوشانی‌شده با کیتوزان ۳ درصد نسبت به فرم خالص بود. با انجام فرآیند نانو ریزپوشانی، میزان لودینگ فیکوسیانین افزایش یافته و به

Chemiluminescence) تأیید شده است و تورولوکس (Trolox: آنالوگ ویتامین E و محلول در آب) جهت غیرفعال‌کردن این رادیکال‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. ۰/۱ میلی‌مولار از تورولوکس، با ۲ میکرومول از فیکوسیانین برابری و تقریباً ۵۰ درصد از کیمولومینسانس تولیدشده را مهار می‌کند. توانایی غیرفعال‌کردن رادیکال هیدروکسیل توسط فیکوسیانین با استفاده از مهار تخریب دئوکسی‌ریبوز مشخص می‌گردد. IC_{50} (Concentration Inhibitory) گزارش شده در این سیستم، در دو پژوهش جداگانه، ۱۹ و ۲۸ میکرومولار بوده است. فیکوسیانین موجب غیرفعال‌کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن، هیدروکسیل، آلکسیل، پرواکسیل، کاهش پراکسیداسیون چربی، غیرفعال‌کردن پراکسی‌نیتريت و واکنش با هیپوکلریت می‌شود و اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را از طریق واکنش‌های فوق‌العمل می‌کند (Romay *et al.*, 2003; Sonani *et al.*, 2015).

در مطالعه‌ای که فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین مورد ارزیابی قرار گرفت، گزارش شد که با افزایش خلوص فیکوسیانین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نیز افزایش یافته و فیکوسیانین به‌عنوان جزء اصلی گروه فیکوبیلی‌پروتئین، مسئول خواص آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا است. در تحقیق مذکور، درصد مهار رادیکال آزاد DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) توسط این رنگ‌دانه، ۴۶/۴۰ درصد ثبت شد (Estrada *et al.*, 2001). در تحقیق دیگری با موضوع مشابه مشخص شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین ناشی از غیرفعال‌کردن رادیکال‌های آزاد و کلاته‌کردن فلزات می‌باشد (Bermejo *et al.*, 2008). محققین دیگری در این زمینه عنوان کردند که اسپیرولینا پلاتنسیس (حاوی رنگ‌دانه

تغییرات ثبت شده نیز معنی دار می باشد (Safari et al., 2022b). در ادامه تحقیق مذکور، نتایج تأثیر فیکوسیاینین خالص و نانو ریزپوشانی شده بر باکتری های گرم مثبت و منفی مورد مطالعه در روش رقیق سازی در لوله (Microdilution) نشان داد دامنه MIC (Minimal Inhibitory Concentration) بین ۵۰۰-۵۰ و MBC (Minimal Bactericidal Concentration) بین ۵۰۰-۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر می باشد. ضمن این که کمترین میزان MIC برای لیستریا مونوسیئوژنز و بیشترین مقدار MBC برای استرپتوکوکوس اینه ایی ثبت شد. فیکوسیاینین خالص در روز ۶۰ قادر به حذف استرپتوکوکوس اینه ایی نبود اما فرم نانو ریزپوشانی شده آن در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر قادر به حذف این باکتری بوده است. مقادیر MIC در باکتری های گرم منفی در دو فرم خالص و نانو ریزپوشانی شده مشابه هم و معادل ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود. همچنین غلظت های ۴۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به عنوان MBC برای باکتری های مذکور گزارش شدند (Safari et al., 2022b). یافته های تحقیقی که طی آن اثرات ضد باکتریایی فیکوسیاینین آنابنا بر کلبسیلا پنومونیه، اشریشیا کولای، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس مورد بررسی قرار گرفت. نشان داد که استافیلوکوکوس حساس تر از سایر باکتری ها بوده و با افزایش غلظت فیکوسیاینین از ۵ به ۳۰ میکروگرم بر میلی لیتر، اثرات ضد باکتریایی آن نیز افزایش می یابد (Sitohy et al., 2015). طی پژوهش دیگری با موضوع مشابه مشخص شد که درصد کاهش باکتری ها تحت تأثیر فیکوسیاینین، ۶۶/۳۴، ۶۰، ۵۸/۵، ۸۵ و ۲۰ درصد به ترتیب برای باکتری های اشریشیاکلی، باسیلوس سرئوس، باسیلوس

لحاظ رهایش تدریجی، فعالیت آنتی اکسیدانی آن نیز تداوم می یابد (Suzery et al., 2017). نتایج تحقیقی که در آن از مالتودکسترین و کارآگینان (به نسبت ۹ به ۱) جهت ریزپوشانی کردن فیکوسیاینین استفاده شد، نشان داد که ریزپوشانی کردن فیکوسیاینین باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی و محافظت آن در برابر فرآیند اکسیداسیون، مقاومت در برابر گرما و مواد زیست فعال می گردد (Dewi et al., 2016).

- خاصیت ضد میکروبی فیکوسیاینین

رنگ دانه فیکوسیاینین دارای خاصیت ضد باکتری علیه باکتری های شاخص گرم مثبت و منفی است (Safari et al., 2020). طی تحقیقی این فعالیت فیکوسیاینین در دو فرم خالص و نانو ریزپوشانی شده (با پوشش ترکیبی مالتودکسترین-کازئینات سدیم) علیه باکتری های گرم مثبت لیستریا مونوسیئوژنز (*Listeria monocytogenes*)، استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) و استرپتوکوکوس اینه ایی (*Streptococcus iniae*) و گرم منفی یرسینیا روکری (*Yersinia ruckeri*) و اشریشیاکلی (*Escherichia coli*) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج هاله عدم رشد باکتری ها در محیط آگاردار مویید آن بود که با نانو ریزپوشانی کردن فیکوسیاینین، اثر ضد باکتریایی آن در گذر زمان حفظ می شود و تفاوت معنی داری بین روز صفر و ۶۰ (نگهداری در دمای ۱۸- درجه سلسیوس) روز ثبت نشد. اما در فیکوسیاینین خالص، اثر ضد باکتریایی با نگهداری فیکوسیاینین کاهش نسبی داشته و در برخی از موارد، اختلاف موجود معنی دار بود. در ادامه مشخص شد که در تمامی موارد، با افزایش غلظت فیکوسیاینین، اثر ضد باکتریایی آن افزایش یافته و

اسپیرولینا قرار گرفته و رشدشان مهار گردید (El-Baz *et al.*, 2013). در تحقیق اثر عصاره متانولی و استونی اسپیرولینا (حاوی فیکوسیانین) بر مهار رشد استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تیفی گزارش شد که دامنه ۷۰۰-۲۵۰ میلی گرم بر لیتر باعث مهار رشد آنها می شود اما با این وجود مقاومت سالمونلا بیشتر از استافیلوکوکوس می باشد. همچنین نتایج GC-MS نشان داد که ترکیب اصلی عامل ضد میکروبی جلبک، اسید چرب می باشد (Kumar *et al.*, 2011). نتایج پژوهشی که خواص ضد میکروبی عصاره اسپیرولینا (حاوی فیکوسیانین) را علیه انواع باکتری های بیماری زای انسانی ارزیابی کرد، نشان داد که عصاره آبی اسپیرولینا پلاتنسیس نسبت به عصاره آلی دارای اثرات ضد میکروبی بیشتری است که این یافته ها مغایر با اکثر مطالعات عصاره گیری از جلبک ها و ارزیابی خواص ضد میکروبی آنها می باشد. در پژوهش مذکور مشخص شد که عصاره استونی جلبک نسبت به سایر عصاره ها از جمله عصاره های متانولی، اتانولی، پروپانولی و آبی دارای نتایج مطلوب تری است. کلبسیلا پنومونیه حساس ترین باکتری و سودوموناس آئروجینوزا مقاوم ترین باکتری بود (Mala *et al.*, 2009).

- کاربرد فیکوسیانین در صنایع غذایی

سازمان غذا و داروی آمریکا و موسسه امنیت غذایی اروپا (European Food Safety Authority) و برخی از سازمان های ملی، استفاده از رنگ های مصنوعی در نوشیدنی ها، انواع غذاها و شیرینی جات را محدود کرده اند. چرا که رنگ های مصنوعی دارای عوارض جانبی از جمله واکنش های آلرژیک و سرطان زایی می باشند. به همین دلیل توجه به رنگ های طبیعی جزء

سوتی لیس (*Bacillus subtilis*)، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تیفی (*Salmonella Typhi*) بوده است (Mohite *et al.*, 2015). در مطالعه ای که اثرات ضد میکروبی فیکوسیانین بر اشریشیا کولای، استرپتوکوکوس (*Streptococcus sp*)، سودوموناس (*Pseudomonas sp*)، باسیلوس (*Bacillus sp*) و استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفت، مشخص شد که با افزایش غلظت فیکوسیانین، اثرات ضد باکتریایی آن نیز افزایش می یابد (۴۰۰ میکرولیتر/دیسک آنتی بیوگرام). در تحقیق مذکور، در بین باکتری های مورد بررسی استرپتوکوکوس و استافیلوکوکوس به ترتیب حساس ترین و مقاوم ترین باکتری بودند (Muthulakshmi *et al.*, 2012). تأثیر ضد میکروبی میکرو جلبک اسپیرولینا، علاوه بر فیکوسیانین، به متابولیت های دیگر مثل ترکیبات فنلی و پلی ساکاریدی نیز مربوط می باشد. نتایج پژوهشی که طی آن اثرات ضد میکروبی عصاره اتانولی اسپیرولینا (حاوی فیکوسیانین) ارزیابی شد، نشان داد که عصاره اتانولی اسپیرولینا دارای اثرات ضد ویروسی علیه ویروس هایی نظیر آدنوویروس (*Adenoviruses*) تیپ ۷، کوکساکسی ویروس B₄ (*Coxsackievirus*)، آستروویروس (*Astrovirus*) نوع ۱، روتاویروس (*Rotavirus*) و آدنوویروس تیپ ۴ بوده و به ترتیب قادر به کاهش ۵۳/۳، ۶۶، ۷۶/۷، ۵۶/۷ و ۵۰ درصد از جمعیت آنها می باشد. همچنین در تحقیق مذکور، از گروه باکتری ها نیز اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تیفی، انتروکوکوس فکالیس (*Enterococcus faecalis*) و مخمر کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans*) تحت تأثیر عصاره الکلی

ژله‌ای، به‌عنوان پوشش شکلات‌های نرم و سفت و نوشیدنی‌های ساده نشان داد که فیکوسیانین هر چند در محیط محلول آزمایشگاهی از پایداری کمتری در برابر نور و دما نسبت به رنگ‌های آبی متداول نظیر ایندیگو (Indigo) و گاردنیا (Gardenia) برخوردار است اما به‌هنگام استفاده در مواد غذایی مذکور از پذیرش بیشتری خصوصاً در مورد آب‌نات ژله‌ای و پوشش شکلات نرم برخوردار می‌باشد. فیکوسیانین به‌هنگام قرارگرفتن در محلول آزمایشگاهی، پایداری بسیار پائینی در برابر نور و دما نشان می‌دهد. از طرف دیگر این رنگ‌دانه در $\text{pH}=3$ رسوب می‌کند و در دمای بالاتر از ۴۵ درجه سلسیوس و pH های ۵ و ۷، به سرعت دناتوره و دچار تغییر رنگ می‌شود (Jesperse et al., 2005). طی تحقیقی از فیکوسیانین (در دو فرم خالص و نانو ریزپوشانی‌شده با پوشش ترکیبی مالتودکسترین‌کازئینات سدیم) در فرمولاسیون بستنی استفاده و گزارش گردید که استفاده از این رنگ‌دانه در بستنی موجب بهینه‌نمودن سفیدی، درصد ذوب، بافت، شدت صمغیت، کریستالی و سردی می‌شود و این روند در فیکوسیانین نانو ریزپوشانی‌شده مطلوب‌تر از فیکوسیانین خالص است اما با این وجود، شاخص رنگ در تیمار اخیر با کیفیت بالاتری گزارش شد. این محققین از یافته‌های پژوهش مذکور نتیجه گرفتند که با توجه به ویژگی‌های فیکوسیانین به ویژه فرم نانو ریزپوشانی‌شده (فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا، پایداری در شرایط متفاوت، خاصیت ضد میکروبی)، می‌توان از آن به‌عنوان ماده آنتی‌اکسیدان و یا رنگ‌دهنده بیولوژیک در انواع فرآورده‌های لبنی، نوشیدنی‌ها و دسرها استفاده کرد (Safari et al., 2022a). طی پژوهشی در زمینه کاربرد میکروجلبک‌ها و

اولویت‌های اصلی محققین بوده است. در بین رنگ‌های طبیعی، رنگ آبی در صنعت نوشیدنی و شیرینی‌جات کاربرد گسترده‌ای دارد اما به‌دلیل پایداری پائین رنگ‌های مذکور، کماکان از رنگ‌های مصنوعی استفاده می‌گردد. سیانوباکتر *اسپیروولینا پلاتنسیس* علاوه بر کاربرد در صنایع غذایی، به‌عنوان تولیدکننده رنگ‌دانه آبی نیز حائز اهمیت است که رنگ آبی مذکور ناشی از وجود فیکوسیانین می‌باشد. علت علاقه به استفاده تجاری از فیکوسیانین، ماهیت پروتئینی و روش‌های آسان استخراج آن می‌باشد. به‌همین دلیل استفاده از فیکوسیانین جهت افزایش امنیت غذایی همیشه مد نظر می‌باشد. علاوه بر این، فیکوسیانین بدلیل ویژگی آنتی‌اکسیدانی بالا، قابلیت استفاده به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در انواع غذاهای چرب از جمله روغن و ماهی را دارد و فساد شیمیایی ناشی از افزایش عدد پراکسید، تیوباریتوریک‌اسید و اسیدهای چرب آزاد را به تاخیر انداخته و از این طریق زمان ماندگاری مواد غذایی را افزایش می‌دهد (Martelli et al., 2014). فیکوسیانین در مواد غذایی که نیاز به تیمار حرارتی دارند (پختن و استریل کردن) کاربرد چندانی نداشته و جهت افزایش پایداری حرارتی آن بایستی از پایدارکننده‌های مختلف مثل انواع قندها، عسل و اسیدسیتریک و همچنین ریزپوشانی‌کردن با پوشش‌های پروتئینی، پلی‌ساکاریدی و یا چربی به‌صورت منفرد و یا ترکیبی استفاده گردد (Jesperse et al., 2005; Spolaore et al., 2006; Mishra et al., 2008; Chaiklahan et al., 2012). مطالعه در خصوص مقایسه رنگ‌های آبی شیمیایی و فیکوسیانین از نظر حساسیت به نور و دما و همچنین استفاده از آن‌ها در انواع مواد غذایی نظیر آب‌نات

ماست استفاده گردید، گزارش شد که در غلظت ۱ درصد اسپیرولینا، تغییرات مشاهده شده در پارامترهایی نظیر پروتئین کل، ویسکوزیته، جمعیت باکتری‌های لاکتیک مطلوب‌تر از نمونه شاهد است اما میزان خاکستر، کربوهیدرات، رطوبت، چربی، اسیدلاکتیک و pH فاقد اختلاف معنی‌دار با نمونه شاهد می‌باشند (Agustini *et al.*, 2017).

بحث و نتیجه‌گیری

به منظور استخراج رنگدانه فیکوسیانین از میکرو جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* می‌توان از روش‌های مختلف شامل انجماد-انجمادزدایی، آنزیمی، اولتراسوند، فشار هیدرواستاتیک بالا، اولتراسانتریفوژ، اولتراموژنیزاسیون، استخراج با آب و یا حلال معدنی، استرس و شوک اسمزی، پالس الکتریکی و ... استفاده کرد. با انتخاب و تغییر روش‌های مذکور (بسته به شرایط) می‌توان راندمان فرایند استخراج را تغییر داد (بهینه کرد). رنگدانه فیکوسیانین به دلیل دارا بودن خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و رنگ‌دهندگی پتانسیل بالقوه‌ای جهت استفاده در فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی به عنوان نگهدارنده و رنگ‌زا را دارد. این ماده علاوه بر اینکه مضرات رنگ‌ها و نگهدارنده‌های سنتتیک را ندارد، بلکه اثرات آن بر سلامتی، درمان و پیشگیری از بیمارهای مختلف تأیید شده است. این رنگدانه از طریق مکانیسم‌های ویژه‌ای می‌تواند فعالیت‌های مختلفی از جمله فعالیت ضد سرطانی و ضد التهابی از خود بروز دهد؛ ضمن اینکه توانایی اعمال اثرات مثبت بر سیستم ایمنی و عصبی دارد. به همین دلیل می‌توان ادعا کرد که در صورت

رنگدانه‌های آن‌ها در مواد غذایی، از پودر جلبک اسپیرولینا (حاوی فیکوسیانین) در فرمولاسیون کلوچه استفاده گردید. غلظت‌های مورد استفاده شامل ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد بود و ویژگی‌های بافتی، رنگ و تغذیه‌ای کلوچه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان پروتئین، آهن و اسید چرب لینولنیک در کلوچه‌های غنی شده با جلبک به طور معنی‌داری افزایش داشته و برخی از پارامترهای فساد نظیر عدد پراکسید نیز کاهش یافتند. همچنین نتایج فاکتورهای حسی حاکی از رضایت‌بخش بودن تغییرات مذکور بوده است. در تحقیق مذکور تغییرات کمی و کیفی پروفایل اسیدهای چرب و همچنین پارامترهای حسی در کلوچه غنی شده با جلبک اسپیرولینا مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد که برخی از اسیدهای چرب ضروری در کلوچه غنی شده به طور معنی‌دار افزایش یافته و پارامترهای حسی آن نیز بهینه شد. در ادامه مشخص شد که تیمار حاوی ۱/۵ درصد پودر اسپیرولینا بیشترین تغییرات مثبت را در طول ۳ ماه نگهداری در مقایسه با نمونه شاهد داشته است (Salehifar *et al.*, 2013). در مطالعه دیگری از اسپیرولینا (حاوی فیکوسیانین) به عنوان ماده غنی‌کننده پنیر سفید فرآپالایش با هدف تأثیر آن بر بقاء باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (Lactobacillus acidophilus)* استفاده و همزمان با آن از پودر پونه کوهی به عنوان عامل طعم‌دهنده، ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدان نیز استفاده گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت ۰/۸ درصد اسپیرولینا در دو سطح ۰/۵ و ۱ درصد پونه کوهی باعث افزایش ماندگاری باکتری مذکور می‌گردد (Mazinani *et al.*, 2015). در تحقیقی که از اسپیرولینا جهت غنی‌سازی

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی برای اعلام

ندارند.

انجام آزمایشات دقیق و مطالعات پیشرفته، فیکوسیانین

پتانسیل بالقوه‌ای جهت استفاده در صنعت داروسازی

خواهد داشت.

منابع

- Apt, K. E., Collier, J. L. and Grossman, A. R. (1995). Evolution of the phycobiliproteins. *Journal of Molecular Biology*, 248(1): 79-96.
- Abalde, J., Betancourt, L., Torres, E., Cid, A. and Barwell, C. (1998). Purification and characterization of phycocyanin from the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. IO9201. *Plant Science*, 136(1): 109-120.
- Agustini, T. W., Ma'ruf, W. F. and Wibowo, B. A. (2017). Study on the effect of different concentration of *Spirulina platensis* paste added into dried noodle to its quality characteristics. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 55, No. 1, p. 012068). IOP Publishing.
- Barberan F. A. (1997). Determination of authenticity of fruit jams by HPLC analysis of anthocyanins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73(2): 207-213.
- Barbarino, E. and Lourenço, S. O. (2005). An evaluation of methods for extraction and quantification of protein from marine macro-and microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 17(5): 447-460.
- Bermejo, P., Piñero, E. and Villar, Á. M. (2008). Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protean extract of *Spirulina platensis*. *Food Chemistry*, 110(2): 436-445.
- Bingula, R., Dupuis, C., Pichon, C., Berthon, J. Y., Filaire, M., Pigeon, L. and Filaire, E. (2016). Study of the effects of betaine and/or C-phycocyanin on the growth of lung cancer A549 cells in vitro and in vivo. *Journal of Oncology*, 1-12.
- Bleakley, S. and Hayes, M. (2017). Algal proteins: extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 6(5): 1-34.
- Chattopadhyay, P., Chatterjee, S., and Sen, S. K. (2008). Biotechnological potential of natural food grade biocolorants. *African Journal of Biotechnology*, 7(17): 2972-2985.
- Chaiklahan, R., Chirasuwan, N. and Bunnag, B. (2012). Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: Influence of temperature, pH and preservatives. *Process Biochemistry*, 47(4): 659-664.
- Coustets, M., Al-Karablieh, N., Thomsen, C. and Teissié, J. (2013). Flow process for electroextraction of total proteins from microalgae. *Journal of Membrane Biology*, 246(10): 751-760.
- Deng, R. and Chow, T. J. (2010). Hypolipidemic, antioxidant, and antiinflammatory activities of microalgae *Spirulina*. *Cardiovascular Therapeutics*, 28(4): 33-45.
- Dewi, E. N., Purnamayati, L. and Kurniasih, R. A. (2016). Antioxidant activities of phycocyanin microcapsules using maltodextrin and carrageenan as coating materials. *Jurnal Teknologi*, 78(4-2): 45-50
- Estrada, J. P., Bescós, P. B. and Del Fresno, A. V. (2001). Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *II Farmaco*, 56(5-7): 497-500.

- Eriksen, N. T. (2008). Production of phycocyanin—a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(1): 1-14.
- El-Baz, F. K., El-Senousy, W. M., El-Sayed, A. B. and Kamel, M. M. (2013). In vitro antiviral and antimicrobial activities of *Spirulina platensis* extract. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(12): 52-56.
- Filimon, R. (2010). Plants pigments with therapeutic potential from horticultural products. *Seria Agro*, 52 (1): 668-673.
- Graverholt, O. S. and Eriksen, N. T. (2007). Heterotrophic high-cell-density fed-batch and continuous-flow cultures of *Galdieria sulphuraria* and production of phycocyanin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(1): 69-75.
- Gantar, M., Dhandayuthapani, S. and Rathinavelu, A. (2012). Phycocyanin induces apoptosis and enhances the effect of topotecan on prostate cell line LNCaP. *Journal of Medicinal Food*, 15(12): 1091-1095.
- Goettel, M., Eing, C., Gusbeth, C., Straessner, R. and Frey, W. (2013). Pulsed electric field assisted extraction of intracellular valuables from microalgae. *Algal Research*, 2(4): 401-408.
- Hsiao, G., Chou, P. H., Shen, M. Y., Chou, D. S., Lin, C. H. and Sheu, J. R. (2005). C-phycocyanin, a very potent and novel platelet aggregation inhibitor from *Spirulina platensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20): 7734-7740.
- Higuera-Ciapara, I., Felix-Valenzuela, L. and Goycoolea, F. M. (2006). Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(2): 185-196.
- Hosseini, S., Shahbazzadeh, S., Khosravi-Darani, K. and Reza Mozafari, M. (2013). *Spirulina paltensis*: Food and function. *Current Nutrition and Food Science*, 9(3): 189-193.
- Harnedy, P. A. and FitzGerald, R. J. (2013). Extraction of protein from the macroalga *Palmaria palmata*. *LWT-Food Science and Technology*, 51(1): 375-382.
- Ismaiel, M., El-Ayouty, Y. M. and Piercey-Normore, M. D. (2014). Antioxidants characterization in selected cyanobacteria. *Annals of Microbiology*, 64(3): 1223-1230.
- Jespersen, L., Strømdahl, L. D., Olsen, K. and Skibsted, L. H. (2005). Heat and light stability of three natural blue colorants for use in confectionery and beverages. *European Food Research and Technology*, 220(3): 261-266.
- Janczyk, P., Wolf, C. and Souffrant, W. B. (2005). Evaluation of nutritional value and safety of the green microalgae *Chlorella vulgaris* treated with novel processing methods. *Arch Zootech*, 8 (1): 132-147.
- Joubert, Y. and Fleurence, J. (2008). Simultaneous extraction of proteins and DNA by an enzymatic treatment of the cell wall of *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 20(1): 55-61.
- Jaswir, I., Noviendri, D., Hasrini, R. F. and Octavianti, F. (2011). Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(33): 7119-7131.
- Joventino, I. P., Alves, H. G., Neves, L. C., Pinheiro-Joventino, F., Leal, L. K. A., Neves, S. A. and Viana, G. B. (2012). The microalga *Spirulina platensis* presents anti-inflammatory action as well as hypoglycemic and hypolipidemic properties in diabetic rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*: 9(1): 1-24.
- Jerley, A. and Prabu, M. (2015) Purification, characterization and antioxidant properties of C-Phycocyanin from *Spirulina platensis*. *Scrutiny International Research Journal of Agriculture, Plant Biotechnology and Bio Products*, 2(1): 7-15.
- Kleinegris, D. M., Janssen, M., Brandenburg, W. A. and Wijffels, R. H. (2011). Continuous production of carotenoids from *Dunaliella salina*. *Enzyme and Microbial Technology*, 48(3): 253-259.

- Kumar. (2011). Antibacterial activity of crude extracts of *Spirulina platensis* and its structural elucidation of bioactive compound. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(32): 7043-7048.
- Kuddus, M., Singh, P., Thomas, G. and Al-Hazimi, A. (2013). Recent developments in production and biotechnological applications of C-phycoerythrin. *BioMed Research International*, 1-9.
- Li, B., Chu, X., Gao, M. and Li, W. (2010). Apoptotic mechanism of MCF-7 breast cells in vivo and in vitro induced by photodynamic therapy with C-phycoerythrin. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 42(1): 80-89.
- Li, B., Gao, M. H., Chu, X. M., Teng, L., Lv, C. Y., Yang, P. and Yin, Q. F. (2015). The synergistic antitumor effects of all-trans retinoic acid and C-phycoerythrin on the lung cancer A549 cells in vitro and in vivo. *European Journal of Pharmacology*, 749: 107-114.
- McClements, D. J. (1995). Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science and Technology*, 6(9): 293-299.
- Mishra, S. K., Shrivastav, A. and Mishra, S. (2008). Effect of preservatives for food grade C-PC from *Spirulina platensis*. *Process Biochemistry*, 43(4): 339-345.
- Mala, R., Sarojini, M., Saravanababu, S. and Umadevi, G. (2009). Screening for antimicrobial activity of crude extracts of *Spirulina platensis*. *Journal of Cell and Tissue Research*, 9(3): 1951-1955
- Moraes, C. C., Sala, L., Cerveira, G. P. and Kalil, S. J. (2011). C-phycoerythrin extraction from *Spirulina platensis* wet biomass. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28 (1): 45-49.
- Moorhead, K., Capelli, B. and Cysewski, G. R. (2011). *Spirulina: Nature's superfood*. Cyanotech Corporation.
- Muthulakshmi, M., Saranya, A., Sudha, M. and Selvakumar, G. (2012). Extraction, partial purification, and antibacterial activity of phycoerythrin from *Spirulina* isolated from fresh water body against various human pathogens. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3(3): 7-11.
- Martelli, G., Folli, C., Visai, L., Daglia, M. and Ferrari, D. (2014). Thermal stability improvement of blue colorant C-Phycoerythrin from *Spirulina platensis* for food industry applications. *Process Biochemistry*, 49(1): 154-159.
- Mohite, Y. S., Shrivastava, N. D. and Sahu, D. G. (2015). Antimicrobial activity of C-phycoerythrin from *Arthrospira platensis* isolated from extreme haloalkaline environment of Lonar Lake. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 1(4): 40-45.
- Mazinani, S., Fadaie, V. and Khosravi-Darani, K. (2015). Viability of *Lactobacillus acidophilus* in sinbiotic ultrafiltration white cheese containing powdered menthe longifolia L. and *Spirulina platensis*. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 9(4): 109-116 [In Persian].
- Minato, T., Teramoto, T., Adachi, N., Hung, N. K., Yamada, K., Kawasaki, M. and Yoon, K. S. (2021). Non-conventional octameric structure of C-phycoerythrin. *Communications Biology*, 4(1): 1-10.
- Norton, R. A. (1997). Effect of carotenoids on aflatoxin B₁ synthesis by *Aspergillus flavus*. *Phytopathology*, 87(8): 814-821.
- Nagaraj, M., Sunitha, S. and Varalakshmi, P. (2000). Effect of lupeol, a pentacyclic triterpene, on the lipid peroxidation and antioxidant status in rat kidney after chronic cadmium exposure. *Journal of Applied Toxicology: an international journal*, 20(5): 413-417.
- Nemoto-Kawamura, C., Hirahashi, T., Nagai, T., Yamada, H., Katoh, T. and HAYASHI, O. (2004). Phycoerythrin enhances secretory IgA antibody response and suppresses allergic IgE antibody response in mice immunized with antigen-entrapped biodegradable microparticles. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 50(2): 129-136.
- Nagpal, N., Munjal, N. and Chatterjee, S. (2011). Microbial pigments with health benefits-a mini review. *Trend in Biosciences*, 4 (1): 157-160.
- Nuhu, A. A. (2013). *Spirulina* (*Arthrospira*): An important source of nutritional and medicinal compounds. *Journal of Marine Biology*, 1-8.

- Pulz, O. and Gross, W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65(6): 635-648.
- Patel, A., Mishra, S. and Ghosh, P. K. (2006). Antioxidant potential of C-phycoyanin isolated from cyanobacterial species *Lyngbya*, *Phormidium* and *Spirulina* spp. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 43 (1): 25-31.
- Patil, G., Chethana, S., Madhusudhan, M. C. and Raghavarao, K. S. M. S. (2008). Fractionation and purification of the phycobiliproteins from *Spirulina platensis*. *Bioresource Technology*, 99(15): 7393-7396.
- Pentón-Rol, G., Marín-Prida, J., Pardo-Andreu, G., Martínez-Sánchez, G., Acosta-Medina, E. F., Valdivia-Acosta, A. and Pentón-Arias, E. (2011). C-Phycocyanin is neuroprotective against global cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils. *Brain Research Bulletin*, 86(1-2): 42-52.
- Prabakaran, P. and Ravindran, A. D. (2013). Efficacy of different extraction methods of phycocyanin from *Spirulina platensis*. *International Journal of Research in Pharmacy and Life Sciences*, 1(1): 15-20.
- Parniakov, O., Barba, F. J., Grimi, N., Marchal, L., Jubeau, S., Lebovka, N. and Vorobiev, E. (2015). Pulsed electric field assisted extraction of nutritionally valuable compounds from microalgae *Nannochloropsis* spp. using the binary mixture of organic solvents and water. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 27 (1): 79-85.
- Pan, R., Lu, R., Zhang, Y., Zhu, M., Zhu, W., Yang, R. and Bao, Q. (2015). *Spirulina* phycocyanin induces differential protein expression and apoptosis in SKOV-3 cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 81 (1): 951-959.
- Romay, C. H., Gonzalez, R., Ledon, N., Ramirez, D. and Rimbau, V. (2003). C-phycoyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Current Protein and Peptide Science*, 4(3): 207-216.
- Rostagno, M. A., Palma, M. and Barroso, C. G. (2003). Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*, 1012(2): 119-128.
- Rymbai, H., Sharma, R. R. and Srivastav, M. (2011). Bio-colorants and its implications in health and food industry—a review. *International Journal of Pharmacological Research*, 3(4): 2228-2244.
- Shotipruk, A., Kaufman, P. B., and Wang, H. Y. (2001). Feasibility study of repeated harvesting of menthol from biologically viable *menthaxpiperata* using ultrasonic extraction. *Biotechnology Progress*, 17(5): 924-928.
- Saleem, M., Afaq, F., Adhami, V. M. and Mukhtar, H. (2004). Lupeol modulates NF- κ B and PI3K/Akt pathways and inhibits skin cancer in CD-1 mice. *Oncogene*, 23(30): 5203-5214.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. and Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2): 87-96.
- Saini, M. K., Sanyal, S. N. and Vaiphei, K. (2012). Piroxicam and C-phycoyanin mediated apoptosis in 1, 2-dimethylhydrazine dihydrochloride induced colon carcinogenesis: exploring the mitochondrial pathway. *Nutrition and Cancer*, 64(3): 409-418.
- Salehifar, M., Shahbazizadeh, S., Khosravi- Darani., K., Behmadi, H. and Ferdowsi, R. (2013). Possibility of using microalgae *Spirulina platensis* powder in industrial production of Iranian traditional cookies. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 7(4): 63-72. [In Persian]
- Saranraj, P. and Sivasakthi, S. (2014). *Spirulina platensis*—food for future: a review. *Asian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(1): 26-33.
- Sivasankari, S. and Ravindran, D. (2014). Comparison of different extraction methods for phycocyanin extraction and yield from *Spirulina platensis*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(8): 904-909.

- Sonani, R. R., Singh, N. K., Kumar, J., Thakar, D. and Madamwar, D. (2014). Concurrent purification and antioxidant activity of phycobiliproteins from *Lyngbya* sp. A09DM: An antioxidant and anti-aging potential of phycoerythrin in *Caenorhabditis elegans*. *Process Biochemistry*, 49(10): 1757-1766.
- Sitohy, M., Osman, A., Ghany, A. G. A. and Salama, A. (2015). Antibacterial phycocyanin from *Anabaena oryzae* SOS13. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 8(4): 27-36.
- Suzery, M., Majid, D., Setyawan, D. and Sutanto, H. (2017). Improvement of stability and antioxidant activities by using phycocyanin-chitosan encapsulation technique. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 55, No. 1, p. 012052). IOP Publishing.
- Safari, R., Raftani Amiri, Z. and Esmailzadeh Kenari, R. (2018). Optimizing the extraction of phycocyanin pigment from *Spirulina platensis* algae and investigating the qualitative properties of the microcoated pigment. Ph.D. Thesis, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University [In Persian].
- Safari, R., Raftani Amiri, Z. and Esmaeilzadeh Kenari, R. (2020). Antioxidant and antibacterial activities of C-phycocyanin from common name *Spirulina platensis*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(4): 1911-1927.
- Safari, R., Raftani Amiri, Z., Reyhani Poul, S. and Ghaffari, H. (2022a). Nanoencapsulation of phycocyanin extracted from the alga *Spirulina* (*Spirulina platensis*) and use of resulting nanoparticles in ice cream formulation. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 127 (19): 145-159. [In Persian]
- Safari, R., Raftani Amiri, Z., Reyhani Poul, S. and Esmaeilzadeh Kenari, R. (2022b). Evaluation and comparison of antioxidant and antibacterial properties of phycocyanin extracted from spirulina microalgae (*Spirulina Platensis*) in both pure and nanoencapsulated forms with maltodextrin-sodium caseinate combination coating. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 127 (19): 1-15. [In Persian]
- Tantirapan, P. and Suwanwong, Y. (2014). Anti-proliferative effects of C-phycocyanin on a human leukemic cell line and induction of apoptosis via the PI3K/AKT pathway. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(5): 1295-1301.
- Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(3): 303-313.
- Wu, Z., Duangmanee, P., Zhao, P., Juntawong, N. and Ma, C. (2016). The effects of light, temperature, and nutrition on growth and pigment accumulation of three *Dunaliella salina* strains isolated from saline soil. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9(1): 1-9.
- Ying, Z., Han, X. and Li, J. (2011). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. *Food Chemistry*, 127(3): 1273-1279.
- Yu, P., Wu, Y., Wang, G., Jia, T. and Zhang, Y. (2017). Purification and bioactivities of phycocyanin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(18): 3840-3849.
- Zbinden, M. D. A., Sturm, B. S., Nord, R. D., Carey, W. J., Moore, D., Shinogle, H. and Stagg-Williams, S. M. (2013). Pulsed electric field (PEF) as an intensification pretreatment for greener solvent lipid extraction from microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 110(6): 1605-1615.
- Zheng, J., Inoguchi, T., Sasaki, S., Maeda, Y., McCarty, M. F., Fujii, M. and Takayanagi, R. (2013). Phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 304(2): 110-120.