

(مقاله پژوهشی)

بهینه‌سازی تولید فایکوسیانین توسط ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در شرایط‌های مختلف دما، شدت نور، روش‌های کشت و نوع منبع کربنی

زهرا لطیفی^۱، حبیب‌الله شهریاری^۲، محمد حسین مرحمتی‌زاده^۳، عاطفه ارجمندیان^۴، مریم مدامیان فرشبافی^۵، لیلا روزه نصیری^{۶*}

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران.

۳- دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

۴- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۵- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

۶- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۷

DOI: [10.30495/jfst.2022.1944465.1765](https://doi.org/10.30495/jfst.2022.1944465.1765)

چکیده

در حال حاضر تولید تجاری بسیاری از رنگدانه‌ها از منابع غیرطبیعی است. به دلیل اثرات سمی گزارش شده از این رنگ‌های مصنوعی استفاده از رنگ‌های طبیعی در مصارف دارویی و غذایی ضروری است. فایکوسیانین به عنوان یک رنگدانه طبیعی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی از ریز جلبک اسپیرولینا استخراج می‌گردد. این ریزجلبک دارای محتوای مواد مغذی منحصر به فرد و اثرات تغذیه‌ای و درمانی متعددی می‌باشد که در غنی‌سازی فرآورده‌های غذایی مختلف به کار گرفته می‌شود. در این تحقیق شرایط بهینه تولید و استخراج رنگدانه فایکوسیانین از ریزجلبک اسپیرولینا مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش اثر منبع کربنی (گلوکز، اتانول، اسید استیک)، روش کشت (مداوم و غیر مداوم)، دما (۲۸ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد) و شدت نور (۲ و ۳/۵ کیلو لوکس) بر میزان تولید رنگدانه فایکوسیانین از ریز جلبک سبز آبی بررسی شد. تجزیه و تحلیل اطلاعات مطابق با طرح فاکتوریل با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS در سطح احتمال $P < 0/05$ انجام شد. نتایج آزمون‌های روش مداوم مشابه روش غیر مداوم بود. افزایش دما از ۲۸ به ۳۸ درجه سانتی‌گراد تأثیر جدی در کاهش تولید رنگدانه فایکوسیانین داشت و هر سه منبع کربنی در روش مداوم همانند روش غیر مداوم در شدت نور ۳/۵ کیلو لوکس و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد باعث تولید حداکثر مقدار فایکوسیانین شدند. منبع کربنی گلوکز در روش مداوم و با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۳/۵ کیلو لوکس باعث تولید ۳۳/۴۱ درصد رنگدانه فایکوسیانین شد که به عنوان روش مناسب‌تری مشخص شد. در هر دو روش مداوم و غیر مداوم به علت شدت نور بالا مقدار تولید فایکوسیانین زیاد بود و این مقادیر با افزودن منبع کربنی گلوکز افزایش پیدا می‌کرد.

واژه‌های کلیدی: رنگدانه پروتئینی، ریز جلبک سبز-آبی، روش‌های کشت، اسپیرولینا پلاتنسیس.

*مسئول مکاتبات: dr.rozbeh_l@yahoo.com

۱- مقدمه

امروزه تلاش‌های زیادی صورت می‌گیرد تا با راهکارهای درک بهتر این رابطه بتوانند با تغذیه‌ای مناسب علاوه بر تأمین نیازمندی‌های اولیه بدن، سلامت و افزایش طول عمر مصرف‌کننده را تضمین نمایند. ریزجلبک‌ها منابع مغذی جایگزین و جدید از مواد طبیعی هستند که می‌توانند در توسعه مواد غذایی جدید مورد استفاده قرار بگیرند. ترکیبات فعال بیولوژیکی به طور طبیعی درون سلول ریزجلبک‌ها محصور شده‌اند و قادر به مقاومت در برابر شرایط سخت تکنولوژیکی در فرآیندهای غذایی می‌باشند (۱۹). تأثیر زیست توده ریزجلبک‌ها در سیستم‌های غذایی وابسته به شرایط عملیاتی نوع و شدت فرآیند (حرارتی، مکانیکی) و برهم‌کنش با سایر ترکیبات مواد غذایی (پروتئین، پلی-ساکارید، لیپید، نمک و قند) است که مطالعه در این زمینه موجب بهبود روند طراحی و توسعه فرآورده‌های غنی شده با ریزجلبک‌ها می‌گردد (۲۵).



شکل ۱- ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس

رشته‌های اسپیرولینا متحرک بوده و در طول محور تریکوم به طریق سریدن حرکت می‌کند. رشته‌های اسپیرولینا قادرند در محیط‌هایی که برای اکثر موجودات نامناسب می‌باشد کلونیزه شوند و در آب‌های شیرین، دریاچه‌های شور، اکثر محیط‌های دریایی قلیایی جمعیت‌هایی تشکیل دهند (۲۶). دما و pH، فاکتورهای کلیدی در کشت اسپیرولینا در مقیاس وسیع می‌باشند. دمای بهینه برای اسپیرولینا در گستره ۳۵-۳۸ درجه سانتی‌گراد بوده و pH مناسب آن بین ۹/۵-۹/۸ می‌باشد (۱۶). ترکیب پودرهای زیست توده اسپیرولینا عمدتاً متشکل از ۶۰ تا ۷۰ درصد پروتئین، ۲۰ درصد کربوهیدرات، ۵ درصد چربی، ۷ درصد مواد معدنی و ۳ تا ۶ درصد رطوبت است

که باعث می‌گردد به‌عنوان ماده غذایی کم‌کالری با میزان چربی کم و منبع خوب پروتئین محسوب گردد. ریز جلبک‌هایی همچون اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرلا ولگاریس (*Chlorella vulgaris*) از سوی سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا به عنوان مواد غذایی شناخته شده‌اند (۲۲). پودر اسپیرولینا برای تولید انواع مختلف مواد غذایی مانند سوپها، سس‌ها، پاستاها، اسنک‌ها، نوشیدنی‌های فوری، شکلات‌ها و آبنبات‌ها، آدامس‌ها، ویفر، بیسکویت، نان، کیک، آرد غنی شده با پروتئین جلبک کاربرد دارد و هم‌چنین در محصولات تخمیری مانند دوغ، پنیر، ماست، توفو و هم‌چنین به شکل قرص‌ها و کپسول‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۱). هم‌چنین در محصولات لبنی، شربت یخی، ژل‌ها و مواد آرایشی در ژاپن، تایلند و چین استفاده می‌شود و علی‌رغم استقامت پایین آن به دما و نور سازگاری بیشتری نسبت به گاردینا و ایندیگو دارد و رنگ درخشانی به پاستیل و آب‌نبات‌های پوشش‌دار می‌دهد (۶). اسپیرولینا سه نوع رنگدانه دارد، کلروفیل که ۱/۷ درصد از ترکیبات آلی سلولی وزن دارد، کاروتنوئید و زانتوفیل‌ها که ۰/۵ درصد وزن مواد آلی را تشکیل می‌دهند و دو نوع فیکوبیلوپروتئین: C فیکوسیانین و آلفوفیکوسیانین که ۲۹ درصد پروتئین‌های سلولی و چربی‌های غالب در اسپیرولینا را شامل می‌شود که ۱/۲ و گالاکتوسیل - دی گلیسیریدو فسفاتیدیل - گلیسرول هستند (۸). اسپیرولینا دارای مقدار زیادی پروتئین با کیفیت بالا، شامل اسیدهای آمینه ضروری با ضریب هضم بالا، رنگدانه‌هایی از قبیل کاروتنوئیدها و فایکوسیانین، ویتامین‌ها و مواد معدنی از قبیل کلسیم و آهن می‌باشد. از خواص سلامت‌بخشی آن، خواص ضد سرطانی، ضد باکتریایی و موثر در آلرژی‌ها، زخم معده، آنمی، مسمومیت فلزات سنگین و مسمومیت ناشی از تشعشعات رادیواکتیو می‌توان نام برد (۱۴). تاکنون تأثیرات درمانی و سلامتی بخش اسپیرولینا نظیر کاهش میزان کلسترول خون، محافظت در برابر برخی از سرطان‌ها، تقویت سیستم ایمنی بدن، افزایش لاکتوباسیلوس‌های روده، محافظت در برابر تشعشعات و کاهش میزان چربی گزارش شده است (۲۳). در مطالعه‌ای تأثیر سطوح مختلف ریزجلبک اسپیرولینا

در این آزمون سامانه کشت مداوم در بیوراکتور به کار گرفته شد. کشت با مایه تلقیح اولیه ۰/۲ گرم بر لیتر در محیط کشت زاروک تحت منابع نوری مختلف انجام شد. حداکثر بهره‌وری بایومس روزانه برای نور سفید، نور آبی و نور سبز به ترتیب ۰/۸، ۰/۷۵ و ۰/۶۹ گرم بر لیتر به دست آمد. تحت نور سفید حداکثر مقدار کلروفیل ۵/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. در حالی که دیگر رنگدانه‌ها تغییر چشم‌گیری نشان ندادند (۲۰). همچنین گویا و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که قابلیت ترکیب‌توده زیستی ریزجلبک‌ها با سامانه‌های غذایی مشروط به نوع فرآیند به کار برده شده و شدت آن (مثل فرآیندهای حرارتی و مکانیکی) و طبیعت غذا (مثل امولسیون، ژل، سامانه‌های خمیری هوادهی شده) و همچنین واکنش‌های بین ترکیبات غذایی (پروتئین، پلی‌ساکارید، لیسیدها، قندها و نمک‌ها) می‌باشد. در کنار خواص رنگ-زایی و اهداف تغذیه‌ای، ترکیب ریزجلبک‌ها با غذاها ممکن است تغییرات معنی‌داری در خواص ریز ساختاری و رئولوژیکی غذاها ایجاد نماید (۱۳). هدف از این پژوهش، بهینه‌سازی عوامل مختلف (مقدار، منبع کربنی، روش کشت، دما و شدت نور) بر تولید فایکوسیانین با بازدهی بالا توسط ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه محیط کشت

برای جلبک‌سبز-آبی تهیه شده قبل از هر مرحله از آزمایش، تجهیزات استریل‌سازی شامل آون و دستگاه اتوکلاو برای جلوگیری از بروز آلودگی آماده شد. محیط کشت آماده شده بر اساس محیط کشت سچلوسر با کمی تغییرات تهیه شد (۳). محیط کشت مذکور شامل دو محلول ۱ و ۲ (محلول اول به دلیل وجود ترکیبات بی‌کربنات سدیم و کربنات سدیم به شدت قلبایی بوده که منجر به تخریب ترکیبات مغذی موجود در محلول دوم می‌گردند) بود. محلول ۱ که حاوی ۱۳/۶۱ گرم بی‌کربنات سدیم، ۴/۰۳ گرم کربنات سدیم، ۰/۵ گرم فسفات پتاسیم و محلول ۲ شامل ۱/۰۰ گرم سولفات پتاسیم، ۰/۲۰ گرم سولفات منیزیم هفت‌آبه، ۰/۰۴ گرم کلرید کلسیم دو آبه، ۰/۰۱ گرم EDTA بود که پس از ساخت در

پلاتنسیس (*Platensis Spirulina*) و هیدروکلونیدهای آگار و گوار روی فعالیت آب، بافت، پارامترهای رنگی و پذیرش کلی پاستیل میوه‌ای بر پایه پوره کیوی بررسی گردید و نتایج نشان داد آگار، گوار و اسپیرولینا روی پارامترهای رنگی کیوی اثر معنی‌دار و منفی دارند. با افزایش آگار و اسپیرولینا در فرمولاسیون، پارامتر صمغی بودن بافت نمونه‌ها به شکل معنی‌داری افزایش می‌یابد. در ارتباط با آنالیز رنگ نمونه‌ها، نتایج حاکی از آن بود که تنها اثر اسپیرولینا روی رنگ نمونه‌ها معنی‌دار بوده و افزایش اسپیرولینا در فرمولاسیون نمونه‌ها، منجر به کاهش پارامتر رنگی می‌گردد (۱۸). قنبرپور و همکاران (۱۳۹۲) استخراج فایکوسیانین از سیانوباکتری اسپیرولینا را مورد مطالعه قرار دادند، روش به کار گرفته شده بر پایه جذب ناخالصی‌ها با استفاده از زغال فعال شده و رزین تبادل‌گريونی بود. رنگدانه فایکوسیانین از پودر خشک (بیومس) ریز جلبک‌ها اسپیرولینا با استفاده از حلال سدیم فسفات بافر استخراج شد و خلوص و غلظت فایکوسیانین بررسی شد. فایکوسیانین استخراج شده بیشترین خلوص را دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد از خود نشان داد. با استفاده از نسبت بیومس - حلال ۲g ml: ۵۰ کیفیت و خلوص رنگدانه فایکوسیانین به خوبی نسبت بیومس - حلال ۲g ml: ۷۵ شد. همچنین تأثیر حلال‌های مختلف بر روی استخراج این ماده نشان داد که سدیم فسفات بافر بهترین حلال مورد استفاده است (۲). فرجی و همکاران (۱۳۹۳) در تحقیقی با عنوان بهینه‌سازی کشت فدیج منابع دو کربنی جدید (اتانول و اسید استیک) در تولید فایکوسیانین بوسیله ریزجلبک اسپیرولینا نشان دادند که بهینه شرایط رشد جهت تولید این رنگدانه شامل روش کشت فدیج، دما ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۵ کیلو لوکس و منبع کربنی گلوکز (میلی‌لیتر بر لیتر) است که به حداکثر تولید فایکوسیانین (۴۳/۹۴) منجر شد. همچنین نور به عنوان مهمترین فاکتور مؤثر بر تولید رنگدانه پروتئینی مد نظر قرار گرفت. دما، روش کشت و نوع منبع کربنی به ترتیب در درجه‌های بعدی اهمیت قرار داشتند (۱). مدهایستپها و همکاران (۲۰۰۷) بررسی در اسپیرولینا فوزی فورمیس بر منابع نوری مختلف و در رنگدانه‌های مهم آن انجام دادند.

۲-۴- بررسی تأثیر افزودن منبع کربنی

خوراک دهی منبع کربنی به دو روش بچ (Batch) و فیدبچ (Fed Batch) صورت گرفت. در روش بچ، منبع کربنی در روز صفر به طور کامل به محیط کشت اضافه گردید. ولی در روش فیدبچ، خوراک دهی به صورت لگاریتمی در روزهای صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ صورت گرفت. کل دوره کشت ۱۴ روز بوده که خوراک دهی در این روش با فاصله ۲ روز انجام گرفت (۲۴).

۲-۵- اندازه گیری فایکوسیائین

جلبک رشد یافته در محیط کشت پس از رسیدن به فاز سکون به روش پمپ خلاء از محیط کشت جداسازی و در انکوباتور دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شد. بعد از خشک شدن ۴۰ میلی گرم از اسپیرولینا با ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات (۱۰۰ میلی مولار و $\text{pH}=3$ مخلوط و کاملاً یکنواخت گردید (۲۶). نمونه ها در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۸۴ ساعت نگهداری گردید و سپس با دور ۴۰۰۰ RPM به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد سانتریفوژ شد. در آخر فاز رویی را جدا کرده و با دستگاه اسپکتروفتومتری میزان جذب در طول موج ۶۱۵ نانومتر اندازه گیری شد. درصد فایکوسیائین از رابطه (۱) محاسبه گردید (۱۲).
رابطه (۱)

$$\text{Phycocyanin (\%)} = \frac{4615 \cdot \text{na} \cdot 100}{3.36(\text{mg sample}) \cdot (\% \text{ dry wt})}$$

Na = تعداد رقت ها

۲-۶- تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل اطلاعات مطابق با طرح فاکتوریل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ بر اساس آنالیز خطی عمومی (GLM) در سطح احتمال $P < 0.05$ و مقایسه میانگین ها با کمک آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفته است. نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۶ رسم گردیدند.

حجم ۵۰۰ میلی لیتر دو محلول با هم مخلوط شده و محلول نهایی به دست آمد. به هر لیتر از محیط کشت ۱ میلی لیتر محلول از قیل آماده شده عناصر معدنی و محلول ویتامین B₁₂ اضافه شد. به منظور اعمال متغیرها در محیط کشت، سه نوع منبع کربنی حاوی ۱/۰۰ گرم بر میلی لیتر گلوکز، ۰/۷۹ گرم بر میلی لیتر اتانول و ۱/۰۵ گرم بر میلی لیتر اسید استیک به محلول اضافه شد. به میزان ۱۵۰ میلی گرم در لیتر جلبک به محیط کشت اضافه شد (۲۵).

۲-۲- بررسی تأثیر شدت نور

رشد جلبک ها تحت تأثیر عوامل فیزیکی و شیمیایی محیط مانند شدت و دوره نور است. بنابراین جهت کشت بهینه جلبک ها، تنظیم فاکتورهای محیطی ضروری است. کمیت و کیفیت نور بر روند رشد و متابولیسم جلبک ها تأثیر دارد. تغییر در کمیت نور به واسطه تغییر در ترکیب رنگدانه های سلولی می تواند در روند رشد مؤثر باشد (۱۱). نور به عنوان یک عامل محدود کننده رشد باید به طور مناسب تنظیم شود. برای رشد گونه های مختلف دامنه نوری خاصی مورد نیاز است. هرگاه میزان نور دریافتی توسط جلبک کمتر از دامنه تحمل آن باشد، جلبک قادر به کسب انرژی لازم و عمل فتوسنتز نخواهد بود و در شدت نور بالاتر از این آستانه ترکیبات سلولی به ویژه رنگدانه های جمع کننده نور دچار آسیب و فتوسنتز متوقف می شود (۵). در این پژوهش محیط کشت آماده شده تحت نور و هوادهی کنترل شده در شدت نور ۲ و ۳/۵ کیلو لوکس قرار گرفت و رشد جلبک آغاز شد. کنترل شدت نور توسط لوکس متر و هوادهی توسط پمپهای هوادهی انجام گردید. در طول مدت کشت دمای محیط توسط دماسنج کنترل و میزان آن بین ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی گراد تنظیم گردید (۲۴).

۲-۳- بررسی تأثیر دما

در این پژوهش شرایط نگهداری محیط کشت در دو دمای ۲۸ و ۳۸ درجه سانتی گراد انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی اثر منبع کربنی، روش کشت، دما و شدت نور بر میزان تولید رنگدانه فایکوسیاین از جلبک سبز جدول ۱، نتایج مربوط به میزان تولید فایکوتوکسین از جلبک

سبزآبی را در شرایط روش کشت (مداوم و غیرمداوم)، نوع منبع کربنی (گلوکز، اتانول، اسید استیک)، شدت نور (۲ و ۳/۵ کیلولوکس) و دما (۳۰ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد) را نشان می‌دهد.

جدول ۱- تیمارهای مورد استفاده در آزمایش بر حسب روش آزمون، نوع منبع کربنی، شدت نور و دما

آزمایش	روش افزودن	نوع منبع کربنی	شدت نور (کیلولوکس)	دما (درجه سانتی‌گراد)
۱	غیر مداوم	گلوکز	۲	۲۸
۲	غیر مداوم	اتانول	۲	۲۸
۳	غیر مداوم	اسید استیک	۲	۲۸
۴	غیر مداوم	گلوکز	۲	۳۸
۵	غیر مداوم	اتانول	۲	۳۸
۶	غیر مداوم	اسید استیک	۲	۳۸
۷	غیر مداوم	گلوکز	۳/۵	۲۸
۸	غیر مداوم	اتانول	۳/۵	۲۸
۹	غیر مداوم	اسید استیک	۳/۵	۲۸
۱۰	غیر مداوم	گلوکز	۳/۵	۳۸
۱۱	غیر مداوم	اتانول	۳/۵	۳۸
۱۲	غیر مداوم	اسید استیک	۳/۵	۳۸
۱۳	مداوم	گلوکز	۲	۲۸
۱۴	مداوم	اتانول	۲	۲۸
۱۵	مداوم	اسید استیک	۲	۲۸
۱۶	مداوم	گلوکز	۲	۳۸
۱۷	مداوم	اتانول	۲	۳۸
۱۸	مداوم	اسید استیک	۲	۳۸
۱۹	مداوم	گلوکز	۳/۵	۲۸
۲۰	مداوم	اتانول	۳/۵	۲۸
۲۱	مداوم	اسید استیک	۳/۵	۲۸
۲۲	مداوم	گلوکز	۳/۵	۳۸
۲۳	مداوم	اتانول	۳/۵	۳۸
۲۴	مداوم	اسید استیک	۳/۵	۳۸

۳-۲- بررسی اثر منبع کربنی (در شدت نور ۲ کیلولوکس، دمای ۲۸ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد و روش غیرمداوم) بر میزان تولید فایکوسیاین

میزان فایکوسیاین ۳۲/۱۴ درصد بود که در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد مقدار آن به ۹/۴۸ درصد رسید. با استفاده از منبع کربنی اتانول و اسید استیک نیز وضعیت مشابه رخ داد و با افزایش دما درصد تولید فایکوسیاین کاهش یافت. نتایج نشان داد که هر سه منبع در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد حداکثر تولید فایکوسیاین را دارا بود و افزایش دما اثر ممانعت کننده بر تولید فایکوسیاین داشت، زیرا که دما با تأثیر بر

در جدول (۲) اثر منبع کربنی بر میزان تولید فایکوسیاین در دو دمای ۲۸ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد و روش غیر مداوم نشان داده شده است. با استفاده از منبع کربنی گلوکز با افزایش دما از ۲۸ درجه سانتی‌گراد به ۳۸ درجه سانتی‌گراد میزان تولید فایکوسیاین کاهش پیدا کرد. در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد

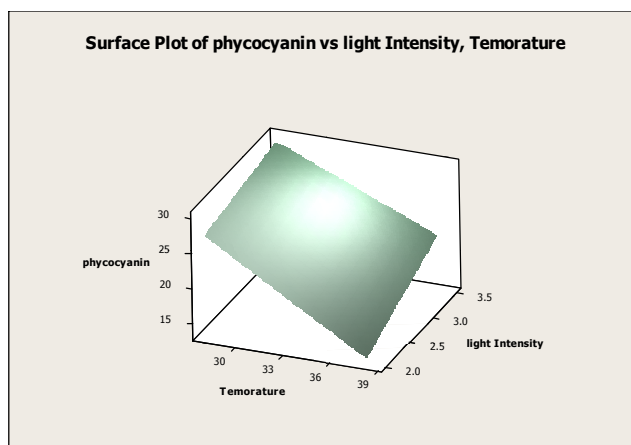
با افزایش غلظت نیتروژن مقدار ترکیبات فنولی نیز افزایش می‌یابد، بنابراین به‌طور خلاصه دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد تأثیر خوبی بر تولید پروتئین، لیپید و ترکیبات فنولی داشت. ولی اثر چندان مناسبی بر تولید توده سلولی نخواهد داشت (۹).

غلظت نیترات سدیم و کاهش آن در محیط کشت بر تولید فایکوسیانین تأثیرگذار بوده است. غلظت نیترات سدیم در محیط کشت تأثیر معنی‌داری بر تولید پروتئین، لیپید و ترکیبات فنولی دارد. زیرا که با کاهش غلظت نیترات سدیم پروتئین و لیپید سلول کاهش می‌یابد. در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد

جدول ۲- مقایسه فایکوسیانین در شدت نور ۲ کیلولوکس، دماهای ۲۸ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد و روش غیر مداوم

۲ کیلولوکس		منبع کربن
۳۸ درجه سانتی‌گراد	۲۸ درجه سانتی‌گراد	
۹/۴۸ ± ۱/۰۲ ^c	۳۲/۱۴ ± ۱/۰۴ ^a	گلوکز
۱۵/۷۹ ± ۰/۸۷ ^a	۲۹/۱۱ ± ۰/۷۸ ^b	اتانول
۱۳/۹۳ ± ۰/۳۴ ^b	۲۳/۷۲ ± ۰/۶۳ ^c	اسید استیک

* اعداد (انحراف معیار ± میانگین) دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (P < ۰/۰۵).



شکل ۲- بررسی متقابل اثرات درجه حرارت و شدت نور در روش غیر مداوم بر درصد فایکوسیانین

حداکثر تولید فایکوسیانین مشاهده گردید. بهرامی و همکاران (۲۰۲۰) با بهینه‌سازی تولید و استخراج فایکوسیانین از توده زیستی مرطوب آنابنا دولیولوم، نتیجه گرفتند که میزان رشد، میزان تولید رنگدانه و همچنین شرایط بهینه استخراج در هر گونه وابسته به عوامل مختلفی از جمله زمان، دما، حلال انتخابی و نسبت بیومس به حلال است (۴). بنابراین در روش غیر مداوم در شدت نور ۲ کیلولوکس با افزایش دما از ۲۸ به ۳۸ درجه سلسیوس تولید فایکوسیانین در گلوکز نسبت به دو منبع کربنی دیگر با سرعت بیشتری کاهش پیدا کرد.

مقایسه سه منبع کربنی در روش غیر مداوم و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نشان داد که گلوکز (۳۲/۱۴) بیشترین تولید فایکوسیانین را داشت و اتانول (۲۹/۱۱) رتبه دوم و اسید استیک (۲۳/۷۲) رتبه سوم را به خود اختصاص داد. مقایسه سه منبع کربنی در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد که اتانول (۱۵/۷۹) بیشترین تولید فایکوسیانین و اسید استیک (۱۳/۹۳) رتبه دوم و گلوکز (۹/۴۸) کمترین تولید را داشتند. مطابق با نتایج مندرج در شکل (۳) افزایش دما تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در شدت ۳/۵ کیلولوکس

در جدول (۳) اثر منبع کربنی بر میزان تولید فایکوسیانین در دو دمای ۲۸ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد و روش مداوم نشان داده شده‌است. با استفاده از منبع گلوکز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد میزان فایکوسیانین ۳۲/۹۱ درصد بود که در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد مقدار آن به ۱۰/۴۱ درصد کاهش یافت. در استفاده از منبع کربنی اتانول و اسید استیک، نیز وضعیت به همین منوال بود و با افزایش دما درصد تولید فایکوسیانین کاهش یافت. در روش مداوم در شدت نور ۲ کیلولوکس هر سه منبع در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد حداکثر تولید فایکوسیانین را داشتند. مقایسه سه منبع کربنی در روش مداوم و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نشان داد که گلوکز (۳۲/۹۱) بیشترین تولید فایکوسیانین و اتانول (۲۴/۸۲) و اسید استیک (۲۱/۲۱) رتبه دوم و سوم را به خود اختصاص دادند. لذا می‌توان گفت که منبع اسید استیک با کاهش pH سبب کاهش تولید فایکوسیانین خواهد شد (۱۷، ۱۵).

یعنی در گلوکز اثر بازدارندگی افزایش دما بسیار مشهود بود که این موضوع با نتایج تحقیقات قنبرپور و همکاران (۱۳۹۲) مطابقت دارد (۲). در همین راستا رنگل و همکاران (۲۰۰۴) به نتایج مشابهی دست یافتند. آن‌ها اثر نور ۲ و ۵ کیلولوکس در میزان رشد و تولید فایکوسیانین از جلبک اسپیرولینا را مورد بررسی قرار دادند. با توجه به نتایج به دست آمده نور به عنوان مهم‌ترین عامل تأثیرگذار بر رشد سلولی و میزان تولید فایکوسیانین مشخص شد (۱۰). چن و همکاران (۱۹۹۶) با مطالعه‌ای که بر روی جلبک اسپیرولینا داشتند به این نتیجه رسیدند که در کشت با روش فتوتروف با افزایش نور از ۲ به ۴ کیلولوکس مقدار تولید فایکوسیانین افزایش یافت. زمانی که شدت نور به ۲ کیلولوکس یا کمتر تقلیل پیدا کرد. بیشترین مقدار فایکوسیانین در شدت نور ۴ کیلولوکس به دست آمد (۷).

۳-۳- بررسی اثر منبع کربنی (در شدت نور ۲ کیلولوکس، دمای ۲۸ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد و روش مداوم) بر روی میزان تولید فایکوسیانین

جدول ۳- مقایسه فایکوسیانین در شدت نور ۲ کیلولوکس، دماهای ۲۸ و ۳۸ درجه سلسیوس و روش مداوم

۲ کیلولوکس		منبع کربن
۳۸ درجه سانتی‌گراد	۲۸ درجه سانتی‌گراد	
۱۰/۴۱ ± ۰/۸۲ ^c	۳۲/۹۱ ± ۱/۳۱ ^a	گلوکز
۱۴/۹۰ ± ۰/۷۱ ^a	۲۴/۸۲ ± ۰/۸۲ ^b	اتانول
۱۷/۳۱ ± ۰/۴۳ ^b	۲۱/۲۱ ± ۰/۶۱ ^c	اسید استیک

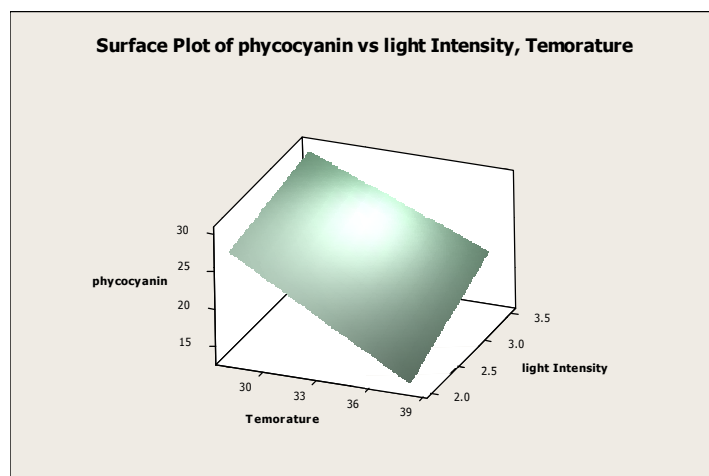
* اعداد (انحراف معیار ± میانگین) دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (P < ۰/۰۵).

خصوص رشد اسپیرولینا و تولید فایکوسیانین نشان می‌دهد که عوامل مؤثر بر رشد و تولید فایکوسیانین در اسپیرولینا پلاتنسیس عبارتند از نور، سوبسترای کربنی و نیتروژن. البته pH، هوادهی، نمک مهم‌ترین عوامل مؤثر بر رشد اسپیرولینا و تولید فایکوسیانین نور و سوبسترای کربنی و نیتروژنی است. گلوکز و ملاس از سوبسترای کربنی هستند که می‌توانند برای رشد اسپیرولینا مورد استفاده قرار گیرند. مطابق با نتایج مندرج در شکل (۳) با افزایش هم‌زمان دما تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شدت نور تا ۳/۵ کیلولوکس حداکثر

مقایسه سه منبع کربنی در روش مداوم و دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد نشان داد که اسید استیک (۱۷/۳۱) بیشترین تولید فایکوسیانین، اتانول (۱۴/۹۰) رتبه دوم و گلوکز (۳۲/۹۱) کمترین تولید را دارا بودند. در نهایت نتیجه گرفته شد که در روش مداوم با افزایش دما از ۲۸ درجه سانتی‌گراد به ۳۸ درجه سانتی‌گراد تولید فایکوسیانین با استفاده از گلوکز و اتانول نسبت به اسید استیک با سرعت بیشتری کاهش یافت و استفاده از گلوکز، افزایش دما اثر ممانعت‌کننده بیشتری نسبت به سایر منابع کربنی داشت. بررسی‌های مختلف در

حداکثر تولید فایکوتوکسین را داشتند و مقایسه سه منبع کربنی در روش غیرمداوم و مداوم نشان داد که حداکثر تولید فایکوتوکسین در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد بود و این دما به عنوان دمای مناسب جهت تولید مشخص گردید.

تولید فایکوسیانین مشاهده گردید. بررسی ها نشان داد که نتایج آزمون های روش مداوم مشابه روش غیرمداوم بود و با استفاده از هر سه منبع کربنی افزایش دما تأثیر جدی در کاهش رنگدانه فایکوسیانین داشت و هر سه منبع کربنی در روش مداوم همانند روش غیرمداوم در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد

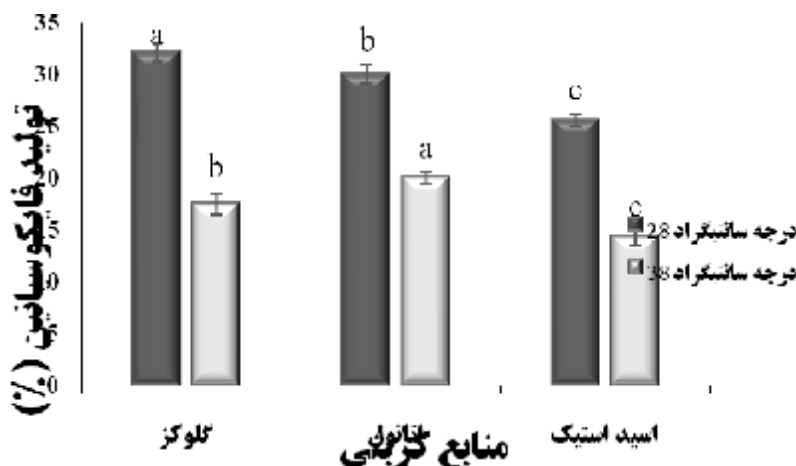


شکل ۳- بررسی متقابل اثرات درجه حرارت و شدت نور در روش مداوم بر درصد فایکوسیانین

در شکل (۴) اثر منبع کربنی بر میزان تولید فایکوسیانین در دو دمای ۲۸ و ۳۸ درجه سانتی گراد و روش غیر مداوم نشان داده شده است. با استفاده از منبع گلوکز در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد میزان فایکوسیانین ۳۳/۱۹ درصد بود که در دمای ۳۸ درجه سانتی گراد مقدار آن به ۱۷/۵۱ درصد رسید. استفاده از منبع کربنی اتانول و اسید استیک، نیز وضعیت به همین منوال بود و با افزایش دما درصد تولید فایکوسیانین کاهش یافت. در روش غیرمداوم در شدت نور ۳/۵ کیلو لوکس هر سه منبع در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد حداکثر تولید فایکوسیانین را داشتند.

مقایسه نتایج با استفاده از منبع کربنی گلوکز در دو روش کشت نشان داد که میزان تولید فایکوتوکسین در روش مداوم در مقایسه با غیرمداوم بالاتر بود و با توجه به این که تغذیه بافت سلولی به طور یکنواخت و مداوم صورت می گیرد (۲)، روش مداوم به عنوان روش مناسب تری جهت تولید مشخص شد. همچنین نتایج کلی شکل (۲) نشان داد که دمای ۲۸ درجه سانتی گراد و منبع کربنی گلوکز شرایط مناسب جهت تولید فایکوتوکسین از جلبک اسپیرولینا داشتند.

۳-۴- بررسی اثر منبع کربنی (در شدت نور ۳/۵ کیلو لوکس، دمای ۲۸ و ۳۸ درجه سانتی گراد و روش غیرمداوم) بر میزان تولید فایکوسیانین

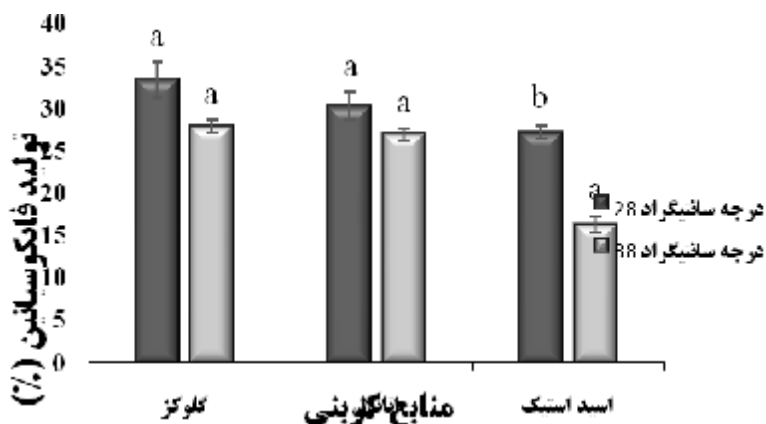


شکل ۴- مقادیر تولید فایکوسیانین (%) در حضور منابع کربنی مختلف و در محیط کشت غیرمداوم

در شکل (۵) اثر منبع کربنی بر میزان تولید فایکوسیانین در دو دمای ۲۸ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد و روش مداوم نشان داده شده است. با استفاده از منبع گلوکز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد میزان فایکوسیانین ۳۳/۴۱ درصد بود که در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد مقدار آن به ۲۷/۹۲ درصد کاهش یافت. استفاده از منبع کربنی اتانول و اسید استیک نیز وضعیت به همین منوال بود و با افزایش دما درصد تولید فایکوسیانین کاهش یافت. در روش مداوم در شدت نور ۳/۵ کیلو لوکس هر سه منبع در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد حداکثر تولید فایکوسیانین را داشتند. مقایسه سه منبع کربنی در روش مداوم و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نشان داد که گلوکز (۳۳/۴۱) بیشترین تولید فایکوسیانین و اتانول (۳۰/۸۳) و اسید استیک (۲۷/۱۹) رتبه دوم و سوم را به خود اختصاص دادند. مقایسه سه منبع کربنی در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد نشان داد که گلوکز (۲۷/۹۲) بیشترین تولید فایکوسیانین، اتانول (۲۷/۷۰) رتبه دوم و اسید استیک (۱۶/۳۴) کمترین تولید را دارا بودند. اختلاف معنی‌داری بین مقدار تولید فایکوسیانین از منبع کربنی گلوکز و اتانول وجود نداشت. در نهایت نتیجه گرفته شد که در روش مداوم با افزایش دما از ۲۸ درجه سانتی‌گراد به ۳۸ درجه سانتی‌گراد تولید فایکوسیانین با استفاده از اسید استیک نسبت به گلوکز و اتانول با سرعت بیشتری کاهش یافت و استفاده از اسید استیک نسبت به گلوکز و اتانول با سرعت بیشتری کاهش یافت.

فرجی و همکاران در سال ۱۳۹۳ گزارش کردند که دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در نور ۳/۵ کیلو لوکس مانند ۲ کیلو لوکس دمای خوبی جهت تولید رنگدانه فایکوسیانین می‌باشد (۱). در مطالعه‌ای که توسط کولا و رینهر (۲۰۰۷) انجام گرفت دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌عنوان دمای مناسب جهت تولید رنگدانه فایکوسیانین مشخص شد که به نتایج آزمایش انجام شده در پژوهش حاضر نزدیک است و همخوانی دارد (۹). مقایسه سه منبع کربنی در روش غیرمداوم و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نشان داد که گلوکز (۳۳/۱۹) بیشترین تولید فایکوسیانین و اتانول (۳۰/۱۵) و اسید استیک (۲۵/۶۴) رتبه دوم و سوم را به خود اختصاص دادند. مقایسه سه منبع کربنی در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد نشان داد که اتانول (۲۰/۰۹) بیشترین تولید فایکوسیانین، گلوکز (۱۷/۵۱) رتبه دوم و اسید استیک (۱۴/۳۲) کمترین تولید را دارا بودند. در نهایت نتیجه گرفته شد که در روش غیرمداوم با افزایش دما از ۲۸ درجه سانتی‌گراد به ۳۸ درجه سانتی‌گراد تولید فایکوسیانین با استفاده از گلوکز و اسید استیک نسبت به اتانول با سرعت بیشتری کاهش یافت و استفاده از گلوکز، افزایش دما اثر ممانعت‌کننده بیشتری نسبت به سایر منابع کربنی داشت.

۳-۵- بررسی اثر منبع کربنی (در شدت نور ۳/۵ کیلو لوکس، دمای ۲۸ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد و روش مداوم) بر میزان تولید فایکوسیانین



شکل ۵- مقادیر تولید فایکوسیانین (%) در حضور منابع کربنی مختلف و در محیط کشت مداوم

می‌توانند به عنوان بهبود دهنده 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. از میان بسیاری از ترکیبات مغذی حاصل از ریزجلبک‌ها، 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 مختلفی برای استفاده از رنگ‌های طبیعی در مصارف دارویی و غذایی وجود دارد. لذا افزایش قابل توجهی در تمایل به جایگزینی رنگدانه‌های سنتزی با رنگ‌های طبیعی وجود دارد. اسپیرولینا پلاتنسیس به دلیل محتوای پروتئین و رنگدانه‌های فایکوسیانین و فایکوارترین زیاد، برای غنی‌سازی مواد غذایی قابل استفاده است. مرور مقالات گزارش شده در خصوص رشد اسپیرولینا و تولید فایکوسیانین نشان می‌دهد که عوامل موثر بر رشد و تولید فایکوسیانین در اسپیرولینا پلاتنسیس عبارتند از نور و سوبسترای کربنی و نیتروژن. البته pH، هوادهی، نمک مهم‌ترین عوامل مؤثر بر رشد اسپیرولینا و تولید فایکوسیانین نور و سوبسترای کربنی و نیتروژنی است. گلوکز و ملاس از سوبسترای کربنی هستند که می‌توانند برای رشد اسپیرولینا مورد استفاده قرار گیرند. اگرچه سوبسترای نیتروژنی تأثیر بیشتری بر رشد اسپیرولینا دارد. اوره از سوبسترای نیتروژنی ارزان

چن وهمکاران در سال ۱۹۹۶ تأثیر سوبسترای کربنی و شدت نور را بر رشد و تولید فایکوسیانین 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 بی‌کربنات ۱۶/۸ گرم بر لیتر که به عنوان کنترل استفاده شد (۷). نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که گلوکز و استات رشد سلولی و تولید فایکوسیانین را تقویت می‌کند. اما گلوکز نسبت به استات برتری داشت. رشد ویژه جلبک با سوبسترای گلوکز ۲/۵ گرم بر لیتر و به طور ویژه‌ای با افزایش نور تا ۲ کیلو لوکس افزایش پیدا کرد. افزایش بیشتر نور تا ۴ کیلو لوکس تنها باعث افزایش اندکی در سرعت ویژه رشد شد. در شدت نور بیشتر از ۴ کیلو لوکس مهار نوری در رشد بوجود آمد. نتایج این تحقیق با تحقیقات چن مطابقت دارد از آنجایی که گلوکز تولید فایکوسیانین را تقویت می‌کند. در پژوهش چن، بیشترین مقدار فایکوسیانین در شدت نور ۴ کیلو لوکس به دست آمد. زمانی که شدت نور به ۲ کیلو لوکس یا کمتر تقلیل می‌یابد، غلظت گلوکز بهینه برای تولید بیومس از ۲/۵ گرم بر لیتر به ۵ گرم بر لیتر افزایش می‌یابد. شدت نور بالاتر برای تولید فایکوسیانین و فایکوارترین در اسپیرولینا بهتر است (۲۰).

۴- نتیجه گیری

ریزجلبک‌ها به دلیل تعادل ترکیبات شیمیایی، منابع زیستی مهمی برای تولید محصولات و کاربردهای جدید بوده و

- Modares Journal of Biotechnology. 2020;11(2):209-15.
5. Bercel TL, Kranz SA. Effects of spectral light quality on the growth, productivity, and elemental ratios in differently pigmented marine phytoplankton species. bioRxiv. 2020.
 6. Cerreti M, Liburdi K, Del Franco F, Esti M. Heat and light stability of natural yellow colourants in model beverage systems. Food Additives & Contaminants: Part A. 2020; 37(6): 905-15.
 7. Chen F, Zhang Y, Guo S. Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photoheterotrophic culture. Biotechnology letters. 1996;18(5):603-8.
 8. Choonawala BB. *Spirulina* production in brine effluent from cooling towers 2007.
 9. Colla LM, Reinehr CO, Reichert C, Costa JAV. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. Bioresource technology. 2007;98(7):1489-93.
 10. De Oliveira Rangel-Yagui C, Danesi EDG, de Carvalho JCM, Sato S. Chlorophyll production from *Spirulina platensis*: cultivation with urea addition by fed-batch process. Bioresource technology. 2004; 92(2): 133-41.
 11. Del Pilar Sánchez-Saavedra M, Maeda-Martínez AN, Acosta-Galindo S. Effect of different light spectra on the growth and biochemical composition of *Tisochrysis lutea*. Journal of applied phycology. 2016; 28(2): 839-847.
 12. Fayyad RJ, Ali A, Dwaish AS, Abboodi A. Anti cancer activity of *Spirulina platensis* methanolic extracts against L20B and MCF7 human cancer cell lines. Plant Arch. 2019; 19(1):1419-26.
 13. Gouveia L, Raymundo A, Batista AP, Sousa I, Empis J. Chlorella vulgaris and Haematococcus pluvialis biomass as colouring and antioxidant in food emulsions. European Food Research and Technology. 2006;222(3):362-7.
 14. Gupta M, Dwivedi UN, Khandelwal S. C- Phycocyanin: an effective

قیمتی است که غلظت مشخصی از آن باعث بهبود رشد و نیز تولید رنگدانه در اسپیرولینا پلاتنسیس می‌شود. در این پژوهش به بررسی اثر منبع کربنی (گلوکز، اتانول، اسید استیک)، روش کشت (مداوم و غیر مداوم)، دما (۲۸ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد) و شدت نور (۲ و ۳/۵ کیلولوکس) بر میزان تولید رنگدانه فایکوسیانین از جلبک سبز آبی پرداخته شد. بررسی‌ها نشان داد که نتایج آزمون‌های روش مداوم مشابه روش غیر مداوم بود و با استفاده از هر سه منبع کربنی، افزایش دما تأثیر جدی در کاهش رنگدانه فایکوسیانین داشت و هر سه منبع کربنی در روش مداوم همانند روش غیر مداوم در شدت نور ۳/۵ کیلولوکس و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد حداکثر تولید فایکوسیانین را داشتند. منبع کربنی گلوکز و روش مداوم به‌عنوان روش مناسب‌تری جهت تولید فایکوسیانین مشخص شد.

۵- منابع

۱. فرجی د، رضایی ک، کلانتری م، هاشمی روان م، گل مکانی م، فرجی ن. بهینه‌سازی شرایط مختلف (دما، تغییر شدت نور، روش‌های کشت (غیرمداوم و نیمه مداوم) و نوع منبع کربنی) برای تولید حداکثر فایکوسیانین توسط ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Arthrospira platensis*). علوم غذایی و تغذیه. ۱۳۹۳؛ ۱۲(۱): ۹۹-۹۱.
۲. قنبرپور ف. بهینه‌سازی شرایط کشت ریزجلبکها و روش استخراج انتخابی برای تولید رنگدانه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. ۱۳۹۲؛ وزارت علوم، تحقیقات و فناوری - دانشگاه خلیج فارس - دانشکده مهندسی.
3. Andrade MR, Costa JA. Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. *Aquaculture*. 2007; 264 (1-4):130-4.
4. Bahrami A, Zolghadri S, Deilami E. Optimization of the production and extraction of phycocyanin from the *Anabaena doliolum* wet biomass.

- Biomolecular engineering. 2007; 24(3):301-5.
21. Ohse S, Derner RB, Ozório RÁ, Corrêa RG, Furlong EB, Cunha PCR. Lipid content and fatty acid profiles in ten species of microalgae. *Idesia*. 2015; 33(1): 93-101.
 22. Rashmi B. A review on *spirulina* (*Arthrospira Platensis*) for its antioxidant and neuroprotective effect. *IP International Journal of Comprehensive and Advanced Pharmacology*. 2020; 4(4):116-9.
 23. Shizhong Liang XL, Chen F, Chen Z, editors. Current microalgal health food R & D activities in China. *Asian Pacific Phycology in the 21st Century: Prospects and Challenges: Proceeding of The Second Asian Pacific Phycological Forum, held in Hong Kong, China, 21–25 June 1999*; 2012: Springer Science & Business Media.
 24. Soletto D, Binaghi L, Lodi A, Carvalho J, Converti A. Batch and fed-batch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources. *Aquaculture*. 2005;243(1-4):217-24.
 25. Xie Y, Jin Y, Zeng X, Chen J, Lu Y, Jing K. Fed-batch strategy for enhancing cell growth and C-phycoyanin production of *Arthrospira (Spirulina) platensis* under phototrophic cultivation. *Bioresource technology*. 2015; 180: 281-7.
 26. Zhu L. Microalgal culture strategies for biofuel production: a review. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 2015; 9(6): 801-14.
 - protective agent against thymic atrophy by tributyltin. *Toxicology Letters*. 2011; 204(1):2-11.
 15. Han F, Huang J, Li Y, Wang W, Wan M, Shen G, et al. Enhanced lipid productivity of *Chlorella pyrenoidosa* through the culture strategy of semi-continuous cultivation with nitrogen limitation and pH control by CO₂. *Bioresource technology*. 2013;136:418-24.
 16. Helmi-Seresht M, Saadatmand S, Khavari-Nejad R. Effects of light intensity and pH on the growth rate, lipid and protein content in *Spirulina platensis*. *Applied Biology*. 2015; 28(1): 37-50.
 17. Juneja A, Ceballos RM, Murthy GS. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: a review. *Energies*. 2013;6(9):4607-38.
 18. Khazai Pool E, Shahidi F, Mortazavi SA, Mohebi M. The effect of different levels of *Spirulina Platensis* microalgae and agar and guar hydrocolloids on water activity, texture, color parameters and Overall acceptability of kiwi puree-based fruit pastille. *Food Science and Technology*. 2015; 12(48):47-59.
 19. Lewis M. Natural product screening: anti-oxidant screen for extracts. *Journal of agricultural and Food Chemistry*. 2012;15:3-11.
 20. Madhyastha H, Vatsala T. Pigment production in *Spirulina fussiformis* in different photophysical conditions.

(Original Research Paper)

Optimization of Phycocyanin Production by *Spirulina platensis* Microalgae in Different Conditions of Temperature, Light Intensity, Culture Methods and Type of Carbon Source

Zahra Latifi¹, Habibollah Shahryari², Mohammad Hosein Marhamati Zadeh³, Atefeh Arjmandian⁴, Maryam Modamiyan Farshbafi⁵, Leila Roozbeh Nasiraei^{6*}

1-Young Researchers and elite Club ,Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

2- MS.c. Graduated of Food Science and Technology, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour, Iran.

3- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

4- MS.c. Graduated of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

5- MS.c. Graduated of Food Science and Technology, varamin – Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

6- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour, Iran.

Received:08/11/2021

Accepted:04/03/2022

Abstract

Nowadays many pigments are commercially produced from unnatural sources. Due to the toxic effects of synthetic colors, there are various reasons for the use of natural colors in pharmaceutical and food applications. Phycocyanin is extracted from the algae of *Spirulina* as a natural pigment with strong antioxidant properties. This microalgae contains unique nutrients and nutritional and therapeutic effects that have been used to enrichment various food products. In this study, the optimal conditions for the production and extraction of phycocyanin pigment from spirulina microalgae were investigated. In this study, the effect of carbon source (glucose, ethanol, acetic acid), culture method (continuous and non-continuous), temperature (28 and 38°C) and light intensity (2 and 3.8 Klux) on the production of phycocyanin pigment from Blue-green algae were examined. Data analysis was performed according to the factorial design using SPSS statistical software at a probability level of 0.05. The results of the continuous method tests were similar to the non-continuous method. Increasing the temperature from 28 to 38°C had a serious effect on reducing the production of phycocyanin pigment and all three carbon sources in the continuous method as the non-continuous method in the light intensity of 3.5 Klux and the temperature of 28°C produced the maximum amount of phycocyanin. The carbon source of glucose in a continuous method with a temperature of 28°C and a light intensity of 3.5 Klux produced 33.41% of the phycocyanin pigment, which was identified as a more appropriate method. In both continuous and non-continuous methods, due to high light intensity, the amount of phycocyanin production was high and these values increased with the addition of glucose carbon source.

Keywords: Protein Pigment, Green-blue Microalgae, Culture Methods, *Spirulina platensis*.

*Corresponding Author: dr.rozbeh_l@yahoo.com