

## کشت ریز جلبک اسپیرولینا، فرآیند تولید و استخراج فیکوسیانین: مروری

ندا میرحسینی\*<sup>۱</sup>، احمدحاجی‌ثانی<sup>۲</sup>، رضا داورنژاد<sup>۳</sup>، Edgar Cano Europa<sup>۳</sup>، هاله باقرنوه سی<sup>۲</sup>

۱- دانشگاه اراک، دانشکده شیمی و مهندسی شیمی، اراک، میدان بسیج، بلوار کربلا، ۷۷۵۸۴-  
P.O. Box ۳۸۴۸۱

۲- دانشگاه تهران، رضوانشهر گیلان، دانشکده فنی کاسپین، پردیس دانشکده‌های فنی

۳- Metabolism Laboratory I, Department of Physiology, Institute of National Polytechnic (IPN), Mexico City, Mexico

\* [n.mir89@yahoo.com](mailto:n.mir89@yahoo.com)

### چکیده

امروزه همه مردم جهان برای داشتن زندگی سالم به داروها، فرآورده‌های گیاهی و فرآورده‌های مشتق شده از گیاهان وابسته‌اند که استفاده از آن‌ها بجای منابع مصنوعی مضر مقبولیت عمومی یافته است. لازمه دانستن دانش فنی روش کشت اسپیرولینا به منظور استخراج فیکوسیانین و انتخاب شرایط رشد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بدین منظور این پژوهش مروری بر نحوه کشت ریز جلبک تا استخراج رنگدانه داشته است. در این مطالعه مروری مقالات معتبر علمی نمایه شده در پایگاه‌های اطلاعاتی مختلف مانند Scopus, Springer, Science Direct و دیگر بانک‌ها دارای یکی از کلیدواژه‌های اسپیرولینا، پلاتنسیس، رنگدانه فیکوسیانین، کشت و روش استخراج بررسی شدند. اسپیرولینا پلاتنسیس ریزجلبک میکروسکوپی رشته‌ای غنی از پروتئین، ویتامین‌های گروه B، اسیدهای آمینه ضروری و مواد معدنی مهم است. این جلبک اساساً سیانو باکتری غیرهتروسیست اتوتروف و فتوسنتز کننده است. مطابق با نتایج مطالعات، فیکوسیانین به‌عنوان یکی از رنگدانه‌های این جلبک، کاربردهای متنوعی از جمله در تهیه قرص دارویی به‌منظور درمان سرطان، ضدالتهاب، درمان ایدز و افزودنی غذایی به‌عنوان مکمل و یا رنگدانه طبیعی چهار مزیت اصلی است که بر ضرورت استخراج این ریز جلبک تأکید می‌کند. تولید جلبک با مقادیر بالا فیکوسیانین به عوامل متعددی از جمله شرایط رشد جلبک، قابلیت تجمع رنگیزه‌ای، فناوری تولید و کارایی فرآیند پایین‌دستی بستگی دارد. برای کشت این ریز جلبک از محیط کشت‌های متعددی از جمله زاروک، زاروک اصلاح شده، کانوی، جردن، اف ۲ و شوسلر به کار گرفته می‌شود اما بهترین محیط کشت برای رشد این ریز جلبک زاروک در شرایط آزمایشگاهی  $28-35^{\circ}\text{C}$ ، شدت نوردهی  $1500-4500$  لوکس،  $\text{pH}=9-9.5$  و هوادهی کافی معرفی شده است.

واژه کلیدی: کشت، فیکوسیانین، اسپیرولینا، غیرهتروسیست، اتوتروف

### مقدمه

جلبک‌ها ساده‌ترین موجودات زنده، فتوسنتز کننده، یک یا چند سلولی، دارای کلروفیل و بدون ریشه، ساقه، برگ و آوند هستند که همگی آن‌ها از یک‌سو توانایی رشد و تکثیر و از سوی دیگر توانایی ساختن مواد آلی را دارند. جلبک‌ها برای اولین بار ۲۰۰۰ سال پیش توسط چینی‌ها برای زنده ماندن از قحطی‌زدگی بعنوان غذا استفاده شدند (Tseng, ۲۰۱۱). در تقسیم‌بندی سنتی در رده گیاهان دسته‌بندی شده‌اند (داورنژاد و همکاران، ۱۳۸۵). به‌طور کلی کلیه موجودات زنده عموماً به روش اتوتروف، گاهی به روش هتروتروف و تدریجاً به روش میکسوتروف انرژی دریافت می‌کنند (Pourkarimi et al., ۲۰۱۹). مقایسه این سه روش برخی از جلبک‌ها با منبع تغذیه کربنی آن‌ها در جدول ۱ لیست شده است.

جدول ۱. مقایسه روش‌های تکثیر انواع ریز جلبک (Patra et al, ۲۰۱۸).

تنوع جانوری	تولید / مصرف (اکسیژن)	منبع کربنی	فتوسنتز	روش
گستره وسیعی از گیاهان، جلبک‌ها و باکتری‌ها	>۱	CO <sub>2</sub>	دارد	اتوتروف
محدود به برخی از جانداران	<۱	آلی	با و بدون فتوسنتز	هتروتروف
باکتری تجزیه‌کننده		آلی	دارد	میکسوتروف

یکی از مزیت‌های روش هتروتروفیک نسبت به روش اتوتروفیک قابل کنترل‌تر بودن کشت است (Patra et al, ۲۰۱۸). از دهه ۱۹۵۰ میلادی مطالعات گسترده‌ای راجع به جلبک‌های تجاری *دونالیلا*، *اسپیروولینا*، *سندسموس* و *کلرلا* انجام شد (Noori et al, ۲۰۱۶; Sathasivam et al, ۲۰۱۷). هر سه جلبک حاوی بیش از ۳۰٪ پروتئین می‌باشند ولی *اسپیروولینا* نسبت به سایر گونه‌ها به دلیل نرخ بالای رشد سلولی، کنترل فرایند آسان، توانایی رشد در محیط قلیایی و محیط با غلظت نمک بالا اولویت دارد؛ البته محیط قلیایی و شور میزان رشد آلاینده در زیستگاه جلبک را کاهش می‌دهد که سبب کاهش اثرات زیان‌آور آلودگی محیطی می‌شود (Spolaore et al, ۲۰۰۶). ارزش غذایی هر کیلوگرم *اسپیروولینا* با ۱۰۰۰ کیلوگرم از سبزی و میوه برابری می‌کند و در مقایسه با کشت سویا رشد سریعی دارد و ۲۰ برابر مساحت زمین کمتری نیاز است و همچنین تولید آن یک سوم میزان تولید دانه سویا به آب نیاز دارد و این پروتئین به حذف گرمای جهانی کمک می‌کند. فیکوسیانین نیز یک رنگ‌دانه مناسب در فتاوری مواد غذایی هست و نه تنها در مقایسه با سایر رنگ‌دانه‌های سنتزی مصنوعی مضر نیست، بلکه بر سلامتی عمومی فردی هم تأثیرگذار است. هدف از این مطالعه، بررسی آخرین یافته‌های تحقیقاتی از مرحله کاشت تا تولید محصول از ریز جلبک *اسپیروولینا* و تأثیر مثبت هر یک از شرایط رشد بر میزان تولید رنگ‌دانه است.

### پیشینه تحقیق

*اسپیروولینا* جلبک سبز-آبی رشته‌ای چندسلولی است که رنگ سبز آن برگرفته از رنگ‌دانه کلروفیل a و رنگ آبی آن مشتق شده از فیکوسیانین است (Munawaroh et al, ۲۰۱۸). از زیر سوبه‌های غالب *اسپیروولینا* می‌توان به پلاتنسیس (*platensis*) و *ماکسیما* (*Maxima*) اشاره نمود (Tomaselli, ۱۹۹۷). جلبک پلاتنسیس منبع غنی از اسید لینولئیک، ویتامین‌ها (Ghaeni and Roomiani, ۲۰۱۶)، اسیدهای چرب ضروری و کمیاب مانند گاما لینولنیک اسید، پروتئین‌های گیاهی (Tietze, ۲۰۰۴) و امگا-۶ و طیف متنوعی از دیگر مواد معدنی است (Falquet, ۲۰۰۳; Belay, ۲۰۰۲) که کیفیت آن به وسیله سازمان غذا و کشاورزی آمریکا (FDA) تأیید شده است. این جلبک به خوبی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری با منابع آبی سرشار از کربنات و بی‌کربنات رشد می‌کند (Gitelson et al, ۱۹۹۶). بعد از آنکه سازمان فضایی آمریکا *اسپیروولینا* را به عنوان مکمل غذایی سودمند برای فضانوردان خود در مسافرت‌های فضایی به کار برد از آن به عنوان غذایی برای آینده یاد شد (Abert, ۱۹۹۷).

اولین و بزرگ‌ترین کارخانه تولید *اسپیروولینا* در دهه ۱۹۷۰ توسط شرکت Sosa Texcoco در مکزیک احداث شد و از سال ۱۹۷۹ صادرات خود را به کشورهای ژاپن و آمریکا آغاز کرد که بیشترین میزان تولید را در دهه ۱۹۸۰ داشته است (Henrikson, ۲۰۱۱; Ciferri, ۱۹۸۳). کارخانه شکلات Nestlé تولید اسمارتیز آبی را به دلیل سمیت بالا رنگ سنتزی طی سالهای ۲۰۰۶ تا ۲۰۰۸ منع کرد تا اینکه از رنگ‌دانه استخراج‌شده از جلبک *اسپیروولینا* را بجای رنگ آبی

مصنوعی اسمارتیز جایگزین نماید (https://theuijunkie.com). اخیر شرکت‌های متعددی در این راستا از کشورهای آسیایی خصوصاً چین و هند وارد عرصه تولید محصولات جانبی از این ریز جلبک شده‌اند (Henrikson, ۲۰۱۱). اسپیرولینا از کلمه لاتین اسپیرال<sup>۱</sup> به معنای چرخش یا پیچش مشتق شده است که برگرفته از شکل مارپیچی جلبک است (Pometto et al, ۲۰۰۸). شکل ۱ تصویر اسپیرولینا ماکسیما رشد یافته در محیط کشت زاروک در روز ۴ کشت در دانشگاه پلی تکنیک مکزیک با بزرگنمایی ۴۰ با کمک میکروسکوپ نوری (Carl Zeiss ساخت کشور مکزیک) را نشان می‌دهد. نام معمول اسپیرولینا در کاربردهای تجاری به توده سلولی خشک آرتروسپیرا/پلاتنسیس اطلاق می‌گردد (Gershwin and Belay, ۲۰۰۷). اسپیرولینا جزء غذاهای قلیائی محسوب می‌شود که در درمان سرطان و بیماری‌های سیستم ایمنی استفاده می‌شود (Abu Zaid, ۲۰۱۵) که برخی دیگر از این کاربردها عبارت‌اند از: کمک به درمان ایدز (Koničková, ۲۰۱۴)، جلوگیری از پیشرفت بیماری‌های مزمن همچون بیماری های کلیوی و قلبی (Cano-Europa et al, ۲۰۱۰)، تهیه ادویه، آنتی‌اکسیدانت (Gitelson et al, ۱۹۹۶)، مکمل‌های غذایی در محصولات دارویی (Cohen, ۱۹۹۷)، کاهش‌دهنده چربی خون (Iwata et al, ۱۹۹۰)، افزایش عملکرد سیستم ایمنی (Hwang, ۱۹۸۹)، کاهش آسیب‌های سلولی (Cano-Europa et al, ۲۰۱۲)، کود بیوشیمیایی (Nandar, ۲۰۱۱)، محصولات لبنی (Patro et al, ۲۰۱۱)، غنی‌سازی غذای زنده لارو ماهیان دریایی (Ghaeni et al, ۲۰۱۱) و حذف آلاینده‌های معدنی و آلی از پساب‌ها (Bagheri and Masoumi, ۲۰۱۶).



شکل ۱: تصویر میکروسکوپی اسپیرولینا ماکسیما رشد یافته در محیط کشت زاروک

جلبک اسپیرولینا قادر به رشد در هر سه روش اتوتروف، هتروتروف و میکسوتروف هست ولی از آنجا که محتوای فیکوسیانین در کشت‌های هتروتروف و میکسوتروف بسیار پایین است تولید تجاری آن به‌طور اتوتروف انتخاب مناسبی است (Chen et al, ۱۹۹۶; Chojnacka and Noworyta, ۲۰۰۴; Andrade and Costa, ۲۰۰۷). از طرفی بهره‌وری پایین کشت (معمولاً کمتر از  $1 \text{ gL}^{-1}$ ) در روش اتوتروف نسبت به روش میکسوتروف یک مانع بزرگ برای موفقیت تجاری این ریزجلبک است (Marquez et al., ۱۹۹۵; Marquez et al., ۱۹۹۳). علاوه بر این کشت اسپیرولینا به عوامل محیطی و تغذیه‌ای بستگی دارند. رشد سلول‌ها با کاهش شدت نوردهی کاهش و یا حتی متوقف خواهد شد (Kula and Schütte, ۱۹۸۷). درصد خلوص فیکوسیانین استخراج‌شده با استفاده از نور قرمز در مقابل نورهای زرد، آبی و سبز بیشترین مقدار گزارش شده است هرچند که محتوای فیکوسیانین کاهش یافته است (Walter, ۲۰۱۱). pH مناسب محیط کشت در محدوده قلیایی ۸-۱۰/۵ است. pH برابر ۹ و بالاتر از آن آلودگی محیط کشت با سایر آلاینده‌ها را کاهش داده است پس محدوده pH بین ۱۰-۹/۲ انتخاب مناسبی برای کشت در سامانه محیط باز است. در این راستا محققین pH اولیه محیط کشت به‌منظور حذف آلودگی ۹-۹/۵ گزارش کردند و pH‌های بالاتر از ۱۰ مانع رشد جلبک اسپیرولینا می‌شود (Kim et al, ۲۰۰۷). فیکوسیانین در دماهای پایین‌تر از  $4^\circ\text{C}$  پایدار است ولی دماهای بالاتر از  $22^\circ\text{C}$  را فقط برای

<sup>۱</sup>. Spiral

مدت کوتاهی تحمل می‌کند و تخریب نمی‌شود. محققین بیان کردند که افزایش دما به بالاتر از  $35^{\circ}\text{C}$  در محیط کشت جردن سبب کلنی شدن رشته‌های اسپیرولینا و ته‌نشینی آن در کف وان می‌شود (Ghaeni *et al*, ۲۰۰۹).

جلبک علاوه بر نور به‌عنوان منبع انرژی برای ساخت سلول از یون‌های معدنی (غیر آلی) به‌عنوان منبع غذایی برای پروتوپلاسم سلولی خود استفاده می‌کند که استفاده از این مواد می‌تواند هزینه تولید را تغییر دهد و بر نرخ رشد و یا ترکیب درصد توده مؤثر باشد (Grobbelaar, ۲۰۰۷). آب‌های زیرزمینی به دلیل گستره مواد معدنی اثر مطلوبی بر نرخ رشد دارد که سبب کاهش هزینه‌های تولید و میزان آلاینده می‌شود (Kim *et al*, ۲۰۰۷). جهت هدایت سنتز مواد ارگانیک موجود در ریزجلبک از عناصر مختلفی نظیر کربن، نیتروژن، فسفر و ... استفاده می‌شود. کربن و نیتروژن به ترتیب اولین و دومین عناصر ضروری رشد جلبک‌ها هستند. مولیبدن، آهن، مس، روی، کبالت، منگنز و کلرید عناصر میکرو هستند که اسپیرولینا در مقادیر کم به آن‌ها نیاز دارد (Dalirynezhad *et al*, ۲۰۱۷). در انتخاب غلظت مطلوب بی‌کربنات سدیم باید دقت شود که غلظت‌های پایین‌تر از ۰/۱ مولار، نرخ رشد زیست‌توده را کاهش می‌دهد (Richmond *et al*, ۱۹۸۲). اوره و نمک آمونیوم را منبع نیتروژنی ارزان‌قیمت می‌باشند که در روش سنتی از منبع نیترات به‌فوق استفاده می‌کردند (Danesi *et al*, ۲۰۰۲). فرجی و همکارانش بیشترین تولید فیکوسیائین را به ترتیب در منبع کربنی گلوکز، اسید استیک و اتانول از محیط کشت تغییر یافته سچلوسر و روش نیمه مداوم در دمای  $30^{\circ}\text{C}$  طی دوره ۱۴ روزه کشت به دست آوردند (فرجی و همکاران، ۱۳۹۳).

محیط کشت زاروک اولین محیط کشت صنعتی و استاندارد اسپیرولینا است (Murugan and radhamadhavan, ۲۰۱۰) که پس از آن محیط‌های زاروک اصلاح شده (Dineshkumar *et al*, ۲۰۱۶)، جردن (Jourdan, ۲۰۰۱)، کانوی، محیط گیلارد کشت اف ۲ (Dineshkumar *et al*, ۲۰۱۶)، محیط کشت BG-۱۱ (Rippka *et al*, ۱۹۷۹)، شوسلر (Çelekli *et al*, ۲۰۰۹)، MKV، SKM (Sukumaran *et al*, ۲۰۱۸) برای کشت استفاده شد. جداول ۲ و ۳ برخی از محیط‌های کشت رایج بر اساس محلول اصلی و ریزمغذی برای رشد ریزجلبک اسپیرولینا را لیست کرده است. اسپیرولینا به طور متداول در محیط زاروک یا اصلاح شده زاروک برای مصرف تجاری کشت داده می‌شود (Zarrouk, ۱۹۶۶). محیط کشت ادرار انسانی در چین و پساب حاصل از تصفیه خانه‌های فاضلاب پرورش خوک در کره به عنوان یک محیط پیشنهادی برای تولید اسپیرولینا پلاتنسیس گزارش شده است (Lun and Cheng, ۲۰۰۶; Hong and Lee, ۱۹۹۳). اگرچه محیط کشت زاروک به‌عنوان بهترین محیط کشت برای تولید زیست‌توده اسپیرولینا انتخاب شده است اما مارز و همکارانش بالاترین میزان محتوای رنگ‌دانه فیکوسیائین و آلفوفیکوسیائین را از محیط کشت اصلاح شده BG-۱۱ و فیکواریترین از محیط کشت SHU گزارش شده است (Marrez *et al*, ۲۰۱۳).

همزن و سیستم هوادهی سبب نشر اکسیژن آزاد شده به محیط بیرون شده و غلظت پایداری در محیط کشت به وجود می‌آورد. شیخی نژاد و همکارانش همزدن به روش‌های مختلف (همزدن با هوا، شیکر و همزدن چرخش ظرف کشت) به‌منظور افزایش تولید ریز جلبک اسپیرولینا در چهار محیط کشت سنتزی (جردن، اف ۲، شوسلر و زاروک) و محیط کشت نمک دریا مطالعه و بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که در همزدن با چرخش ظرف در همه محیط‌های کشت سنتزی در مدت‌زمان کمتری به بالاترین میزان رشد خود می‌رسد درحالی‌که همزدن با هوا در محیط کشت نمک دریا بهتر بوده است (Sheykhi *et al*, ۲۰۱۵).

جدول ۲. ترکیب درصد عناصر اصلی محیط‌های کشت رایج رشد ریز جلبک اسپیرولینا بر حسب گرم بر لیتر

نوع ماده	ZM-mZm	نوع ماده	Con	نوع ماده	Gf۲	نوع ماده	BG-۱۱	نوع ماده	SHU
NaHCO <sub>۳</sub>	۱۶/۸	Na <sub>۲</sub> .EDTA	۴۵	NaNO <sub>۳</sub>	۷۵	Na <sub>۲</sub> HPO <sub>۴</sub> .H <sub>۲</sub> O	۵	NaHCO <sub>۳</sub>	۱۳/۶۱
NaNO <sub>۳</sub>	۲/۵	NaNO <sub>۳</sub>	۱۰۰	Na <sub>۲</sub> SiO <sub>۳</sub> .۹H <sub>۲</sub> O	۳۰	K <sub>۲</sub> HPO <sub>۴</sub>	۰/۰۴	Na <sub>۲</sub> CO <sub>۳</sub>	۴/۰۳
NaCl	۱	H <sub>۳</sub> BO <sub>۳</sub>	۳۳/۶	FeCl <sub>۳</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۳/۱۵	NaNO <sub>۳</sub>	۱/۵	K <sub>۲</sub> HPO <sub>۴</sub>	۰/۵
K <sub>۲</sub> SO <sub>۴</sub>	۱	NaH <sub>۲</sub> PO <sub>۴</sub> .H <sub>۲</sub> O	۲۰	Na <sub>۲</sub> EDTA.۲H <sub>۲</sub> O	۴/۳۵	MgSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۰۷۵	NaNO <sub>۳</sub>	۲/۵
K <sub>۲</sub> HPO <sub>۴</sub> .۳H <sub>۲</sub> O	۰/۵	MnCl <sub>۲</sub> .۴H <sub>۲</sub> O	۰/۳۶	CuSO <sub>۴</sub> .۵H <sub>۲</sub> O	۹/۸	CaCl <sub>۲</sub> .H <sub>۲</sub> O	۰/۰۳۶	K <sub>۲</sub> SO <sub>۴</sub>	۱
MgSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۲	FeCl <sub>۳</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۱/۳	Na <sub>۲</sub> MoO <sub>۴</sub> .۲H <sub>۲</sub> O	۶/۳	Citric Acide	۰/۰۰۶	NaCl	۱
FeSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۰۱	CaCl <sub>۲</sub>	۲	ZnSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۲۲	FeSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۰۰۶	MgSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۲
CaCl <sub>۲</sub> .۲H <sub>۲</sub> O	۰/۰۸-۰/۰۴			COCl <sub>۲</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۱۰	Na <sub>۲</sub> CO <sub>۳</sub>	۰/۰۰۱	CaCl <sub>۲</sub> .۲H <sub>۲</sub> O	۰/۰۴
EDTA	۰/۰۱-۰/۰۸			MnCl <sub>۲</sub> .۴H <sub>۲</sub> O	۱۸	EDTA	۰/۰۲		
				Na <sub>۲</sub> HPO <sub>۴</sub> .H <sub>۲</sub> O	۵				
نوع ماده	SKM	نوع ماده	MKM	نوع ماده	JM	نوع ماده	mHM	نوع ماده	mJM
NaHCO <sub>۳</sub>	۴/۵	Baking Soda	۴/۵	NaHCO <sub>۳</sub>	۱۶	NaHCO <sub>۳</sub>	۱۶	NaHCO <sub>۳</sub>	۸
NaCl	۰/۲۵	Sea Salt	۰/۲۵	K <sub>۲</sub> SO <sub>۴</sub>	۰/۵	(NH <sub>۴</sub> ) <sub>۲</sub> PO <sub>۴</sub>	۰/۱	NaCl	۱
CaCl <sub>۲</sub>	۰/۰۱	CaCl <sub>۲</sub>	۰/۰۱	NaCl	۱	MgSO <sub>۴</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۰/۱	(NH <sub>۴</sub> ) <sub>۲</sub> PO <sub>۴</sub>	۰/۲
MgSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۰۵	Epsom Salt	۰/۰۵	MgSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۱	FeSO <sub>۴</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۰/۰۱	MgSO <sub>۴</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۰/۲
NaNO <sub>۳</sub>	۰/۶۲۵	Urea	۰/۲۲۱	CaCl <sub>۲</sub> .۲H <sub>۲</sub> O	۰/۱	K <sub>۲</sub> SO <sub>۴</sub>	۰/۵	FeSO <sub>۴</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۰/۰۰۱
K <sub>۲</sub> HPO <sub>۴</sub>	۰/۱۲۵	H <sub>۳</sub> BO <sub>۳</sub>	۰/۰۷	FeSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۰۱	CaCl <sub>۲</sub> .۲H <sub>۲</sub> O	۰/۱	K <sub>۲</sub> SO <sub>۴</sub>	۱
K <sub>۲</sub> SO <sub>۴</sub>	۰/۲۵	KOH	۰/۲۴۲	KNO <sub>۳</sub>	۲	CH <sub>۴</sub> N <sub>۲</sub> O	۰/۱	CH <sub>۴</sub> N <sub>۲</sub> O	۰/۰۰۹
FeSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۰۲۵	FeSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۰۲۵	(NH <sub>۴</sub> ) <sub>۲</sub> HPO <sub>۴</sub>	۰/۱			KNO <sub>۳</sub>	۱

ZM: زاروک

Jm: جردن

mHM: هیبری اصلاح شده

mZM: زاروک اصلاح شده

mJM: جردن اصلاح شده

SHU: شوسلر

SKM: standard Kosaric medium

MKM: modified Kosaric medium

GF۲: ۲ گیلارد اف

Con: کانوی

جدول ۳. ترکیب درصد عناصر ریزمغذی محیط‌های کشت رایج رشد ریزجلبک اسپروولینا

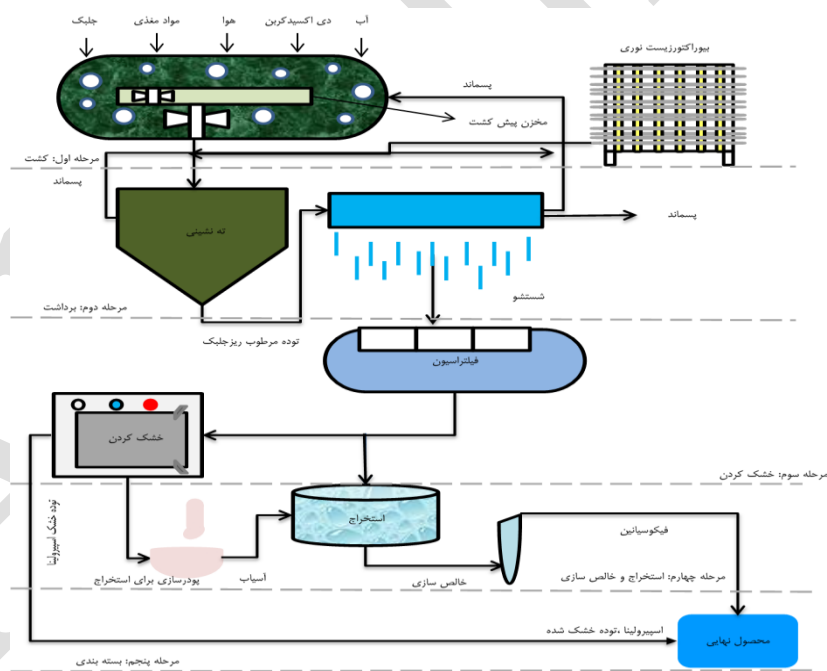
نوع ماده	زاروک (µg/L)	نوع ماده	Con (g/L)	نوع ماده	GF۲ (g/L)	نوع ماده	SHU (g/L)
H <sub>۲</sub> BO <sub>۳</sub>	۲/۸۶	Vitamin B <sup>۱۲</sup>	۰/۱	Biotin	۲۰	H <sub>۲</sub> BO <sub>۳</sub>	۰/۶۲
MnCl <sub>۲</sub> .۴H <sub>۲</sub> O	۱/۸۱	Vitamin B <sup>۱</sup>	۲	Vitamin B <sup>۱۲</sup>	۰/۱	MnCl <sub>۲</sub> .۴H <sub>۲</sub> O	۰/۰۱۲
ZnSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۲۲	Thiamine	۱	Thiamine HCL	۰/۱	ZnSO <sub>۴</sub> .۴H <sub>۲</sub> O	۰/۰۴۴
CuSO <sub>۴</sub> .۵H <sub>۲</sub> O	۰/۰۸	ZnCl <sub>۲</sub>	۰/۲۱			CuSO <sub>۴</sub> .۵H <sub>۲</sub> O	۰/۰۲
MoO <sub>۳</sub>	۰/۰۱	CoCl <sub>۲</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۰/۲			CoCl <sub>۲</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۰/۰۲
		(NH <sub>۴</sub> ) <sub>۲</sub> Mo <sub>۷</sub> O <sub>۲۴</sub> .۴H <sub>۲</sub> O	۰/۰۹			Na <sub>۲</sub> MoO <sub>۴</sub> .۲H <sub>۲</sub> O	۰/۰۱۲
		CuSO <sub>۴</sub> .۵H <sub>۲</sub> O	۰/۲			Na <sub>۲</sub> EDTA.۲H <sub>۲</sub> O	۰/۰۵
						FeCl <sub>۳</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۰/۰۹۷
						MnCl <sub>۲</sub> .۴H <sub>۲</sub> O	۰/۰۴۱
						ZnCl <sub>۲</sub>	۰/۰۰۵
						FeSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۰۱۲
نوع ماده	SKM (g/L)	نوع ماده	MKM (g/L)	نوع ماده	mHM (mg/L)	نوع ماده	BG-۱۱ (g/L)
H <sub>۲</sub> BO <sub>۳</sub>	۲/۸۶	H <sub>۲</sub> BO <sub>۳</sub>	۲/۸۶	EDTA	۵۰	H <sub>۲</sub> BO <sub>۳</sub>	۲/۸۶
MnCl <sub>۲</sub> .۴H <sub>۲</sub> O	۱/۸۱	MnCl <sub>۲</sub> .۴H <sub>۲</sub> O	۱/۸۱	H <sub>۲</sub> BO <sub>۳</sub>	۱۱/۴	MnCl <sub>۲</sub> .۲H <sub>۲</sub> O	۱/۸۱
ZnSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۲۲	ZnSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۰/۲۲	ZnSO <sub>۴</sub> .۷H <sub>۲</sub> O	۲۲	ZnSO <sub>۴</sub>	۰/۲۲۲
CuSO <sub>۴</sub> .۵H <sub>۲</sub> O	۰/۰۸	CuSO <sub>۴</sub> .۵H <sub>۲</sub> O	۰/۰۸	MnCl <sub>۲</sub> .۴H <sub>۲</sub> O	۵/۰۶	Na <sub>۲</sub> MoO <sub>۴</sub> .۲H <sub>۲</sub> O	۰/۳۹
MoO <sub>۳</sub>	۰/۰۱	MoO <sub>۳</sub>	۰/۰۱	COCl <sub>۲</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۱/۶۱	CuSO <sub>۴</sub> .۵H <sub>۲</sub> O	۰/۰۷۹
COCl <sub>۲</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۰/۰۱	COCl <sub>۲</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۰/۰۱	CuSO <sub>۴</sub> .۵H <sub>۲</sub> O	۱/۵۷	Co(NO <sub>۳</sub> ) <sub>۲</sub> .۶H <sub>۲</sub> O	۰/۰۴۹
				Mo <sub>۷</sub> O <sub>۲۴</sub> (NH <sub>۴</sub> ) <sub>۲</sub> .۴H <sub>۲</sub> O	۱/۱		

- برای محیط کشت BG-۱۱ به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از ۱ لیتر محلول ریزمغذی نیاز دارد.

جدول ۴. تفاوت سامانه محیط باز و بسته

مرجع	سامانه محیط بسته	سامانه محیط باز	فاکتورها
(Patra <i>et al.</i> , ۲۰۱۸)	طولانی	کم	زمان کشت
(Chisti, ۲۰۰۷)	کم	زیاد	تبخیر آب
(Patra <i>et al.</i> , ۲۰۱۸)	زیاد	کم	استرلیزاسیون
(Patra <i>et al.</i> , ۲۰۱۸)	ثابت	متغیر	دما
(Pourkarimi <i>et al.</i> , ۲۰۱۹)	مناسب	ضعیف	نفوذ نور
(Patra <i>et al.</i> , ۲۰۱۸)	بدون آلودگی	غیرممکن	ممانعت از آلودگی
(Patra <i>et al.</i> , ۲۰۱۸)	وابستگی کم به تغییرات	بسیار وابسته	وابستگی به آب و هوا
(Naji, ۲۰۱۴)	بسیار خوب	مناسب نیست	شدت انتقال CO <sub>2</sub>
(Pourkarimi <i>et al.</i> , ۲۰۱۹)	بالا	کم	هزینه عملیاتی
(Pourkarimi <i>et al.</i> , ۲۰۱۹)	کم	بالا	هزینه‌های برداشت
(Pourkarimi <i>et al.</i> , ۲۰۱۹)	مناسب	ضعیف	تولید مواد دارویی

ریزجلبک‌ها در سامانه محیط باز و بسته کشت داده می‌شوند. سامانه محیط باز قدیمی‌ترین، ارزان‌ترین و ساده‌ترین سیستم کشت جلبک است (Gouveia, ۲۰۰۹) که می‌تواند تا مقیاس ۱۰۰۰۰ - ۵۰۰۰ مترمربع و یا حتی بالاتر از این روش استفاده نمود (Tredici *et al.*, ۱۹۹۳). این دو سامانه تفاوت‌های عمده‌ای دارند که در جدول ۴ ملاحظه می‌شود. شماتیکی از مراحل کشت، رشد و برداشت محصول از ریزجلبک/اسپیرولینا در شکل ۲ آورده شده است.

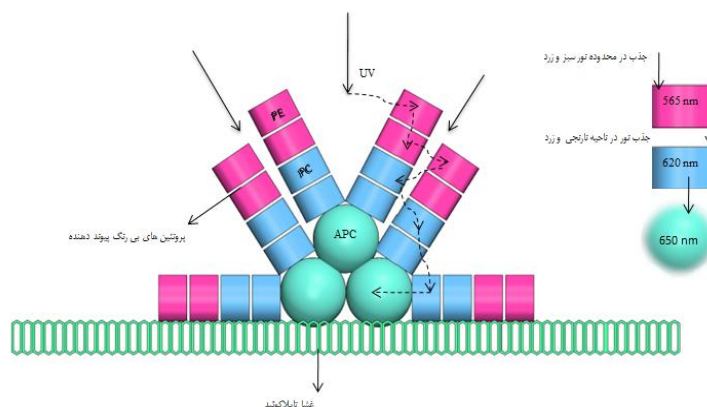


شکل ۲. شماتیک سیکل کاشت تا برداشت محصول از اسپرولینا

## بحث

فیکوسیانیین از سویه‌های مختلف سیانوباکتری از جمله نوستک (Nostoc)، اسپیرولینا فوزیفرم (Spirulina Fusiformis)، اسپیرولینا ماکسیما (Spirulina Maxima) و پلاتنسیس (Platensis)، آنابنا مارینا (Anabaena marina) و میکروسیستین (Microcystis) استخراج می‌شود (Kuddus *et al.*, ۲۰۱۳). پلی پپتید آبی‌رنگ فیکوسیانیین

اصلی ترین رنگدانه فتوسنتزکننده و محلول در آب ریز جلبک / اسپیرولینا است که در سال های اخیر به دلیل کاربردهای گسترده آن مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است و در حال حاضر در بسیاری از صنایع جایگزین رنگ های مصنوعی شده است (Kaur et al, ۲۰۰۹). فیکوسیاینین در دو گونه ردوفیت و کریپتوفیت به وفور یافت می شود که دارای خواص فلورسنت و آنتی اکسیدانی قابل توجهی است (Eriksen, ۲۰۰۸). این رنگدانه شامل (دربگیرنده) انواع مختلف R-PC, C-PC, B-PC هستند که C-PC معمول ترین نوع فیکوسیاینین است در واقع R, C و B هر یک برگرفته از کلمات ردوفیت<sup>۲</sup>، کریپتوفیت و بنگیفیس<sup>۳</sup> است (Gan, ۲۰۰۵). فایکوبیلی پروتئین های رنگی و آنتنی این ریزجلبک از سه گروه اصلی فیکواریترین (رنگدانه صورتی مایل به قرمز با نماد علمی PE)، فیکوسیاینین (رنگدانه آبی با نماد علمی PC) و آلفوفیکوسیاینین (رنگدانه سبز با نماد علمی APC) تشکیل شده است (MacColl, ۱۹۹۸). شکل ۳ ساختار پروتئین های رنگی فایکوبیلی زوم را نشان داده است. آلفوفیکوسیاینین موجود در هسته مرکزی از یک سر به غشا تایلاکوئیدی و از سر دیگر به فیکوسیاینین و فیکواریترین با ساختار میله ای متصل شده است. فایکوبیلی پروتئین ها توسط پروتئین های پیونددهنده غیر رنگی های<sup>۴</sup> به یکدیگر متصل شده اند که در مجموع ساختار فایکوبیلی زوم را تشکیل داده است. حداکثر جذب فیکواریترین، فیکوسیاینین و آلفوفیکوسیاینین به ترتیب در طول موج های ۵۶۵، ۶۲۰ و ۶۵۰ نانومتر قرار دارد که هر یک از این ساختارها وظیفه جذب نور را در محدوده ای که توان جذب نور کلروفیل محدود است را بر عهده دارند (Grossman et al, ۱۹۹۴). (جذب نور در بخش های استوانه ای از فیکواریترین به فیکوسیاینین و سپس به آلفوفیکوسیاینین انتقال یافته و بعد از آن کلروفیل انرژی نور در محدوده طیف خورشیدی را جذب می کند.)



شکل ۳. ساختار فایکوبیلی زوم ریز جلبک اسپیرولینا

میزان فایکوبیلی پروتئین ها در اسپیرولینا ۴۰ تا ۶۰ درصد از کل پروتئین محلول تخمین زده شده است که درصد رنگدانه های فیکوسیاینین، کلروفیل و کارتنوئیدها به ترتیب ۲۰-۱۵، ۱/۷-۱/۳ و ۰/۴-۰/۳ درصد کل رنگدانه هست (Leema et al, ۲۰۱۰). به طور کلی فایکوبیلی پروتئین ها از واحد پلی پپتید آلفا و بتا تشکیل شده است (Raja et al, ۲۰۰۸). فیکوسیاینین با وزن جرمی ظاهری ۲۱۰-۱۴۰ KDa از دو زیر واحد پروتئینی نسبتاً مشابه آلفا ( $\alpha$ ) و بتا ( $\beta$ ) جهت اتصال فیکوسیانیوبیلین به آپوپروتئین تشکیل شده است (Stec et al, ۱۹۹۹). زیر واحدها می تواند در ابتدا در ساده ترین حالت مونومر ( $\alpha\beta$ ) ظاهر شود و سپس به ترتیب به فرم های تراپلمر<sup>۵</sup> ( $(\alpha\beta)_3$ ) و هگزامر<sup>۶</sup> ( $(\alpha\beta)_6$ ) تبدیل شوند (Marx and Adir, ۲۰۱۳).

<sup>۲</sup> . Rhodophyta

<sup>۳</sup> . Cyanophyta and Bangiophyceae

<sup>۴</sup> . Linker

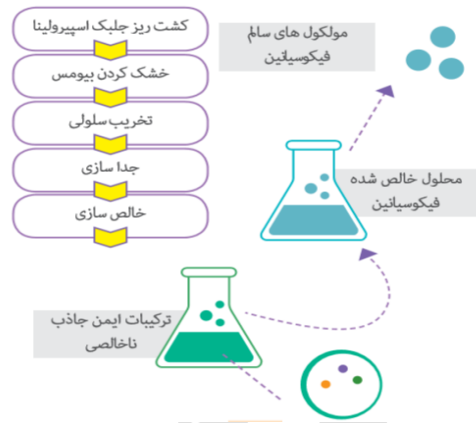
<sup>۵</sup> . Trimer

<sup>۶</sup> . Hexamers



## نتیجه‌گیری

بعد از انتخاب نوع سیانوباکتری، کشت ریز جلبک، روش استخراج یکی از فاکتورهای مهم برای بازیابی ماکزیمم فایکوبیلی پروتئین‌ها از ریز جلبک‌ها است و عواملی مانند روش تخریب سلولی، نوع حلال، نسبت حلال به توده تعیین‌کننده می‌باشند (Silveira et al, ۲۰۰۷). روش‌های جداسازی فیکوسیانیین توسط نویسندگان مختلف گزارش شده است. شهبازی و همکاران مراحل استخراج و خالص‌سازی فیکوسیانیین را مطابق شکل ۴ به تصویر کشیده است (شهبازی و همکاران، ۱۳۹۸).



شکل ۴. مراحل استخراج و خالص‌سازی فیکوسیانیین

کمبل و دیگران استخراج فیکوسیانیین را طی مراحل زیر خلاصه کرده است:

- تخریب سلولی: حل شدن فیکوسیانیین در حلال به‌منظور تخریب و شکست دیواره سلولی
- آزادسازی: آزادسازی اولیه پروتئین فیکوسیانیین از درون سلول
- جداسازی: سانتریفیوژ کردن در سرعت بالا و یا ته‌نشینی با محلول سولفات آمونیوم و کروماتوگرافی تبادل یونی (Kamble et al, ۲۰۱۳)

خالص‌سازی (Kamble et al, ۲۰۱۳; Kuddus et al, ۲۰۱۳)

روش‌های فیزیکی و شیمیایی استخراج، مزایا و معایب آن در جداول ۵ و ۶ لیست شده است (در صفحات ده و یازده این مقاله). روش‌های قدیمی استخراج فیکوسیانیین همانند جداسازی در هاون، ذوب و انجماد هزینه‌بر و کم بازده بوده‌اند (Dey and Rathod, ۲۰۱۲).

## جدول ۵. خلاصه‌ای از روش‌های فیزیکی تخریب سلولی

انجماد و ذوب (Duangsee et al, ۲۰۰۹)	سوکسله کردن (Morales et al, ۲۰۱۱)	همگن‌سازی با هاون (Morales et al, ۲۰۱۱)
انجماد سبب تشکیل سلول‌های یخ و تخریب دیواره سلولی می‌شود. روش ساده‌ای است که بازده بالایی دارد و سبب افت پروتئینی نمی‌شود.	مصرف حلال زیاد، بازده پایین و زمان استخراج طولانی از معایب این روش است. با افزایش سطح تماس بازده افزایش و با کاهش زمان استخراج مصرف حلال کاهش می‌یابد.	پودر اسپیرولینا در هاون با حضور ماسه و یا بافر فسفات کوبیده می‌شود تا سلول شکسته شود.
امواج صوتی (Duangsee et al, ۲۰۰۹)	همگن‌سازی در فشار بالا (Vernès et al, ۲۰۱۵)	شوک اسمزی (Vernès et al, ۲۰۱۵)

سبب تشکیل حباب‌های ریز در تکنیک قدیمی است که اولین بار در سال سلول‌ها هنگامی که محلول نمکی در محیط کشت می‌شود. دیواره سلولی ۱۸۹۰ توسط Gaulin به ثبت رسید. غلظت متفاوت با محیط کشت قرار طی انفجار از داخل سلول تخریب و جداسازی فشار بالا سبب بهبود فرایند می‌گردد شکسته می‌شود. آب به ترکیب موردنظر جدا می‌شود. استخراج و کیفیت رنگ‌دانه می‌شود. داخل سلول راه‌یافته و سبب ورم کاهش سایز ذره نتیجه شوک مکانیکی سلولی شده که سیتوپلاسم بیش از افزایش فشار است. این تحمل نمی‌کند و حل می‌شود.

بچه‌ها و همکاران روش ماسیراسیون را بعد از بررسی روش استخراج سنتی ماسیراسیون سرمایه‌ی<sup>۷</sup> (مدت ۲۴ ساعت خیساندن در دمای ۴ °C) و امواج صوتی یا ریزموج با آب مقطر (تحت تابش ۴۰ kHz طی مدت‌زمان ۴۰ دقیقه) آن را تکنیکی ساده با بازده مناسب معرفی کردند. اما برای دسترسی به بالاترین بازده با حداقل انرژی و زمان برای استخراج فیکوسیائین در ابتدا نمونه‌های هر دو روش به مدت ۱۵ دقیقه برای حذف بقایای سلولی سانتریفیوژ شده است و به این نتیجه رسیدند که استخراج به روش ریزموج به‌منظور جلوگیری از خطر آلودگی باید در کمترین زمان و دما ممکن صورت گیرد. علاوه بر این بیان کردند که تغییرات بازده با زمان استخراج به‌صورت نمایی افزایش می‌یابد. همچنین آنان به منظور افزایش بازده استخراج، فیکوسیائین را ابتدا به روش ریزموج و پس‌از آن با کمک محلول شکر جداسازی فازی نمودند که حداکثر استخراج فیکوسیائین در مدت‌زمان ۴ دقیقه گزارش شده است. نویسندگان این روش را به دلیل کاهش زمان استخراج موثرترین روش برای مقیاس‌های بزرگ بیان کردند (Bachchhav et al, ۲۰۱۷). هادیانو و سوتریسنورهادی، فیکوسیائین را از پودر اسپیرولینا نیمه‌خشک حاوی ۱۱ درصد رطوبت با قرارگیری در دستگاه فراصوت حمامی تحت شدت جریان ۲۸ تا ۴۲ کیلوهرتز جداسازی نمودند و در مقایسه با روش سنتی سونیکاسیون بر پایه حلال اتانولی این روش بالاترین بازده استخراج و کیفیت رنگ‌دانه را داشت که بازده از ۱۱/۱۳ تا ۱۳/۶۱ درصد افزایش یافت (Hadiyanto and Suttrisorhadi, ۲۰۱۶). به‌کارگیری پودر مرطوب در روش امواج فراصوت از کاهش قدرت امواج جلوگیری می‌کند و کاهش اندازه ذرات سبب افزایش بازده محصول می‌گردد (Romdhane et al, ۱۹۹۵). سیلوریا نسبت بهینه توده به حلال را در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۰/۰۸ اعلام کردند که تحت این شرایط غلظت فیکوسیائین ۳/۸۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و درصد خلوص آن ۰/۴۶ گزارش شد (Silveira et al, ۲۰۰۷). روش ریزموج ترکیبی از روشهای فیزیکی و شیمیایی است. ریزموج روش مناسبی برای استخراج مواد حساس به درجه حرارت بالا است. تخریب دیواره سلولی سبب کاهش سایز و افزایش بازده می‌شود و با تشکیل حباب درون سلول سبب تخریب سلولی می‌شود (Salisova et al, ۱۹۹۷).

#### جدول ۶. خلاصه‌ای از روش‌های شیمیایی تخریب سلولی (Moraes, ۲۰۱۱)

استفاده از حلال	بهبود آنزیمی
قطبیت و تشابه ساختاری مولکول عامل تعیین‌کننده در انتخاب حلال هست. فیکوسیائین قطبی از حلال‌های قطبی استفاده می‌شود. متانول، استون و تتراهیدروفوران حلال‌های آلی استخراج فیکوسیائین از توده خشک و هگزان حلال استخراج فیکوسیائین از توده تازه است.	روش سازگار با محیط‌زیست است که با استفاده از آنزیم‌هایی برای شکستن دیواره سلولی کاربرد دارد که سبب از بین رفتن پروتئین‌های پیونددهنده دیواره می‌شود. به‌طور مثال با استفاده از آنزیم لیزوزیم که از منابعی همانند سفیده تخم‌مرغ تهیه می‌شود استخراج انجام می‌شود.

<sup>۷</sup> Cold Maceratio

بهبود با اسید	ماسیراسیون
اسیدها به منظور حل کردن فسفولپید و تخریب دیواره سلولی اسپیرولینا بکار می‌رود. اسید استیک اسید آلی و اسید کلریک یک اسید معدنی رایج مورد استفاده برای استخراج از توده تازه است.	روش سنتی استخراج است. از مزایای این روش سادگی تجهیزات است. تخریب دیواره سلولی و پذیرش حلال بر اثر خیساندن صورت می‌گیرد.

انتخاب حلال در این روش حائز اهمیت است که اتانول نسبت به حلال‌های آب، هگزان و اتر بهترین انتخاب است. از مزایای این روش، استخراج در دما و فشار پایین است. افزایش نرخ جداسازی در دمای پایین، کاهش در زمان استخراج و میزان حلال سبب کاهش هزینه عملیاتی می‌شود. ساران و همکارانش بهترین شرایط انجماد و ذوب را طی ۳ دوره انجماد نمونه در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - به مدت ۳ ساعت و ذوب در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه اعلام کردند و محلول بافر فسفات سدیم در میان بافرهای استات، سترات، فسفات سدیم و آب مقطر به عنوان بهترین بافر برای دستیابی بالاترین بازده استخراج انتخاب شد (Saran, 2016). به طور کلی روش‌های فیزیکی، شیمیایی و یا ترکیبی از روش‌های شیمیایی و فیزیکی می‌تواند برای شکستگی سلول‌ها مورد استفاده قرار گیرد و پس از شکستگی مایع شفاف و یا آبی رنگ توسط سانتریفیوژ از مایع رویی<sup>۸</sup> جدا می‌شود. خلوص فیکوسیانیین که از رابطه ۲ بدست می‌آید، بسته به خلوص آن دارای درجه بندی متعدد برای مصارف غذایی، بهداشتی و دارویی است. درجه بندی‌های کمتر از ۰/۷ برای مصارف غذایی، درجه بندی ۲/۱ برای مصارف لوازم آرایشی، ۳/۹ درجه واکنش پذیر، درجه بندی بزرگتر از ۴ برای مصارف دارویی و درجه تحلیلی کاربرد دارد (Figueira et al., 2018).

به طور کلی هنگامی که محیط کشت، مواد مغذی، شرایط محیطی مناسب باشد تراکم و تقسیم سلول‌ها با گذشت زمان افزایش می‌یابد که نتیجه آن افزایش زیست توده خواهد بود. همچنین در صورت بهبود تولید ریزجلبک و پس از آن انتخاب مناسب روش استخراج به بالاترین میزان خلوص رنگدانه فیکوسیانیین خواهیم رسید که می‌تواند دامنه کاربرد آن را افزایش می‌دهد. بدین منظور برای محاسبه محتوای رنگدانه، خلوص و بازده استخراج فیکوسیانیین از روابط ۱ تا ۳ استفاده می‌شود (Silveira et al, 2007; Bennett and Bogorad, 1973; Abalde et al., 1998). ماکزیمم جذب فیکوسیانیین در دو طول موج ۶۱۵ و ۶۲۰ نانومتر متغیر است (Bennett and Bogorad, 1973).

$$PC \text{ (g/L)} = A_{620} - 0.474 A_{652}/5.34 \quad (1)$$

$$PE = A_{620} / A_{280} \quad (2)$$

$$Y = PC \text{ (g/L)} \times V_f \text{ (L)} / PC_i \text{ (g/L)} \times V_i \text{ (L)} \quad (3)$$

میزان پایداری رنگدانه فیکوسیانیین به حرارت، نور و pH بستگی دارد. شهبازی و همکاران اثبات کردند که فیکوسیانیین در دمای بالاتر از  $45^{\circ}\text{C}$  تخریب می‌شود و حتی رنگ آبی فیکوسیانیین با افزایش دما ناپدید می‌شود. علاوه بر این نشان دادند که فیکوسیانیین در محلول‌های اسیدی و قلیایی شدید ناپایدار می‌باشد (شهبازی و همکاران، ۱۳۹۸).

#### علائم اختصاری:

$A_{280}$	جذب کل پروتئین‌ها در طول موج ۲۸۰ نانومتر
$A_{620}$	ماکزیمم جذب فیکوسیانیین در طول موج ۶۲۰ نانومتر
$A_{652}$	جذب در طول موج ۶۵۲ نانومتر
PC	غلظت فیکوسیانیین

<sup>۸</sup> . Supernatant

PC <sub>i</sub>	غلظت اولیه فیکوسیائین
PE	خلوص فیکوسیائین
V <sub>i</sub>	حجم اولیه
V <sub>f</sub>	حجم جمع‌آوری شده
Y	بازده استخراج فیکوسیائین

## مراجع:

داورنژاد، ر. نجف‌پور، ق.د. پیرهادی، م. مثمیری، ه. ۱۳۸۵. مهندسی بیوشیمی و بوتکنولوژی، انتشارات دانشگاه اراک. ص ۴۸۷-۴۸۹.  
 فرجی، د. رضایی، ک.ا. کلاتتری، م. هاشمی روان، م. گل مکانی، م.ت، فرجی، ن. زمستان ۱۳۹۳. بهینه سازی شرایط مختلف (دما، تغییر شدت نور، روش های کشت (غیرمداوم و نیمه مداوم) و نوع منبع کربنی) برای تولید حداکثر فایکوسیائین توسط ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (*Arthrospira platensis*). دوره ۱۲، شماره ۱، ص ۹۹-۹۱.  
 شهبازی، م. فکرت، ف. نامی، ب. غفاری، ا. ۱۳۹۸. استخراج و خالص سازی رنگدانه فیکوسیائین از ریزجلبک اسپیرولینا. پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، ص ۱۶-۱.

- Abu Zaid, AA., Hammad, D.M. and Sharaf E.M., ۲۰۱۵. Antioxidant and Anticancer Activity of Spirulina platensis Water Extracts. International Journal of Pharmacology, ۱۱(۷): ۸۴۶-۵۱.  
 Andrade, M.R. and Costa, J.A.V., ۲۰۰۷. Mixotrophic cultivation of microalga Spirulina platensis using molasses as organic substrate. Aquaculture, ۲۶۴(۱-۴): ۱۳۰-۱۳۴.  
 Abalde, J., Betancourt, L., Torres, E., Cid, A., and Barwell, C., ۱۹۹۸. Purification and characterization of phycocyanin from the marine cyanobacterium Synechococcus sp. Plant Science, ۱۳۶(۱): ۱۰۹-۱۲۰.  
 Abert, S., ۱۹۹۷. Microalgal Biotechnologies: Recent Developments and Prospects for Developing Countries. Paris. food and agriculture organization of the united nation France: Scientific and Cultural Organization (UNESCO): ۱۱-۳۱.  
 Bachchhav, M.B, Kulkarni, M.V, Ingale, A.G., ۲۰۱۷. An efficient extraction of phycocyanin by ultrasonication and separation using 'sugaring out'. Phycological Society, ۴۷(۲): ۱۹-۲۴.  
 Bagheri, Sh. and Masoumi, S.Z., ۲۰۱۶. Investigation the growth of Chlorella Sp microalgae in TMRL and Conway medium in different waters. JWE Islamic Azad University, Ahvaz Branch, ۸(۳۰): ۹۵-۱۰۴.  
 Chisti, Y., Biodiesel from microalgae., ۲۰۰۷. Biotechnology Advance. ۲۵(۳): ۲۹۴-۳۰۶.  
 Belay, A., ۲۰۰۲. The potential application of spirulina (*Arthrospira*) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. The Journal of the American Nutraceutical Association, ۵(۲): ۲۷-۴۸.  
 Bennett, A. and Bogorad, L., ۱۹۷۳. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. Journal of Cell Biology. ۵۸(۲): ۴۱۹-۴۳۵.  
 Cano-Europa, E., Memije-Lazaro, I.N., Blas-Valdivia, V. and Franco-Colín, M., ۲۰۱۸. *Arthrospira maxima* (*Spirulina*) and C-phycocyanin prevent the progression of chronic kidney disease and its cardiovascular complications. Journal of Functional Foods. ۴۳: ۳۷-۴۳.  
 Cano-Europa, E., Blas-Valdivia, V., Franco-Colin, M. and Ortiz-Butron, R., ۲۰۱۲. The Relationship Between Thyroid States, Oxidative Stress and Cellular Damage, Dr. Volodymyr Lushchak (Ed.) INTECH open science. ۴۱۳-۴۳۶.  
 Cano-Europa, E., Ortiz-Butron, R., Gallardo-Casas, C.A., Franco-Colin, M. and Blas-Valdivia, V. ۲۰۱۰. Phycobiliproteins from *Pseudanabaena tenuis* rich in c-phycoerythrin protect against HgCl<sub>2</sub>-caused oxidative stress and cellular damage in the kidney. Journal of Applied Phycology ۲۲(۴): ۴۹۵-۵۰۱.  
 Çelekli, A., Yavuzatmaca, M., Bozkurt H., ۲۰۰۹. Modeling of biomass production by *Spirulina platensis* as function of phosphate concentrations and pH regimes. Bioresource Technology, ۱۰۰(۱۴): ۳۶۲۵- ۲۹.  
 Chojnacka, K. and Noworyta, A., ۲۰۰۴. Evaluation of *Spirulina* sp. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. Enzyme and Microbial Technology, ۳۴(۵): ۴۶۱-۶۵.  
 Cohen, Z., ۱۹۹۷. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): physiology, Cell-Biology and Biotechnology. chapter ۱۰: The chemical of Spirulina. Avigad Vonshak (Eds). Taylor & Francis. CRC Press ۱۹۶.  
 Chen, F., Zhang Y. and Guo S., ۱۹۹۶. Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photoheterotrophic culture. Biotechnology Letters, ۱۸(۵): ۶۰۳-۰۸.  
 Ciferri, O., ۱۹۸۳. *Spirulina*, the Edible Microorganism. Microbiology Reviews. ۴۷(۴): ۵۵۱-۷۸.  
 Dalirynezhad, S., Hallajisani, A., Nouri, H. and Golzary, A., ۲۰۱۷. Effects of Environmental Factors on *Chlorella* Sp . Microalgae for Bio- Diesel Production Purpose : Enhanced Lipid and Biomass Productivity. Recent Innovations in Chemical Engineering, ۱۰(۲): ۱-۸.

- Dineshkumar, R., Narendran, R. and Sampathkumar, P., ۲۰۱۶. Cultivation of *Spirulina platensis* in different selective media. *Indian journal of Geo Marine. Science*, ۴۵(۱۲): ۱۷۴۹-۵۴.
- Dey S., Rathod V. K., ۲۰۱۲. Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, ۲۰: ۲۷۱-۲۷۶.
- Duangsee, R., Phoopat, N. and Ningsanond, S., ۲۰۰۹. Phycocyanin Extraction from *Spirulina platensis* and Extract Stability under Various pH and Temperature. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, ۲(۴): ۸۱۹-۸۲۶.
- Danesi, E.D.G., Yagui C.O.R., Carvalho J.C.M., Sato S., ۲۰۰۲. An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. *Biomass and Bioenergy*, ۲۲(۴): ۲۶۱-۲۶۹.
- Eriksen, NT., ۲۰۰۸. Production of phycocyanin as a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied Microbiology Biotechnology*, ۸۰(۱): ۱-۱۴.
- C-PHYCOCYANIN PURIFICATION: MULTIPLE PROCESSES FOR DIFFERENT APPLICATIONS  
Figueira, F.D.S., Moraes, C.C., and Kalil, S.J., ۲۰۱۸. C-PHYCOCYANIN PURIFICATION: MULTIPLE PROCESSES FOR DIFFERENT APPLICATIONS. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, ۳۵(۳): ۱۱۱۷-۱۱۲۸.
- Falquet, J., ۲۰۰۳. report: the nutritional aspects of spirulina. *Antenna Technol: Hippocrates*.
- FDA, Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN ۰۰۰۱۲۷.
- Ghaeni, M. and Roomiani L., ۲۰۱۶. Review for Application and Medicine Effects of *Spirulina*, *Spirulina platensis* Microalgae. *Journal of advanced Agricultural technologies*, ۳(۲): ۱۱۴-۱۱۷.
- Ghaeni, M., Matinfar, A., Soltani, M., Rabbani, M. and Vosoughi, A., ۲۰۱۱. Comparative effects of pure spirulina powder and other diets on larval growth and survival of green tiger shrimp, *Peneaus semisulcatus*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, ۱۰(۲).
- Ghaeni, M., Matinfar, A., Soltani, M. and Rabbani, M., ۲۰۰۹. Experimental culture of *Arthrospira platensis* in Iran. *Journal of Marine Biology*, ۱(۲): ۳۸-۵۱.
- Gouveia, L., ۲۰۰۹. Microalgae as a Feedstock for Biofuel Production; *Vigrina Tech*. ۱-۷.
- Grobbelaar, J.U., ۲۰۰۷. Photosynthetic characteristics of *Spirulina platensis* grown in commercial-scale open outdoor raceway ponds: what do the organisms tell us?. *Journal of Applied Phycology*, ۱۹: ۵۹۱-۹۸.
- Gershwin, M.E. and Belay, A., ۲۰۰۷. *Spirulina in Human Nutrition and Health: Introduction*. ۱<sup>st</sup> Edition. CRC Press Book: ۲.
- Gan, C.H., ۲۰۰۵. The relations between structure and function of the phycobiliprotein which can autoassembly with phycobilin. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology.
- Gitelson, A., Qiuang, H. and Richmond, A., ۱۹۹۶. Photic volume in photobioreactors Supporting Ultrahigh Population Densities of the Photoautotroph *Spirulina platensis*. *Applied Environmental Microbiology*, ۶۲(۵): ۱۵۷۰-۱۵۷۳.
- Grossman, R., Schaefer, MR., Chiang, GG. and Collier J.L., ۱۹۹۴. The responses of cyanobacteria to environmental conditions: light and nutrients. *The molecular biology of cyanobacteria*. ۶۴۱-۷۵.
- Hadiyanto, H. and Sutrisnorhadi, S., ۲۰۱۶. Response surface optimization of ultrasound assisted extraction (UAE) of phycocyanin from microalgae *Spirulina platensis*. *Emirates Journal of food and Agricultural*, ۲۸(۴): ۲۲۷-۳۴.
- Henrikson, R., ۲۰۱۱. *Algae Industry Magazine*. <http://www.algaeindustrymagazine.com/the-future-of-algae-pt-۱/>.
- Hong, SS., and Lee, NH., ۱۹۹۳. Growth of *Spirulina platensis* in effluents from wastewater treatment plant of pig farm. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, ۳: ۱۹-۲۳.
- Hwang, D., ۱۹۸۹. Essential fatty acids and immune response. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, ۳(۹): ۲۰۵۲-۶۱.
- Iwata, K., Inayama, T. and Kato T., ۱۹۹۰. Effects of *Spirulina platensis* on plasma lipoprotein lipase activity in fructose-induced hyperlipidemic rats. *Journal of nutritional science and vitaminology*, ۳۶(۲): ۱۶۵-۷۱.
- Jourdan, J.P., ۲۰۰۱. grow your own spirulina, condensed vaersion of Manual of small scale *Spirulina* culture. *Antenna Technology*; ۱۵.
- Koničková, R., Vaňková, K., Vaníková, J., Váňová, K., Muchová, L., Subhanová, Zadinová, M., Zelenka, J., Dvořák, A., Kolář, M., Strnad, H., Rimpelová, S., Ruml, T. J., Wong, R. and Vítek, L., ۲۰۱۴. Anti-cancer effects of blue-green alga *Spirulina platensis*, a natural source of bilirubin-like tetrapyrrolic compounds. *Annals of Hopatology*, ۱۳(۲): ۲۷۳-۸۳.
- Kuddus, M., Singh, P., Thomas, G. and Al-Hazimi A., ۲۰۱۳. Recent Developments in Production and Biotechnological Applications of C-Phycocyanin. *BioMed Research International*, ۱-۹.

- Kamble, S.P., Gaikar, R.B., Padalia, R.B and Shinde K.D., ۲۰۱۳. Extraction and purification of C-phycoyanin from dry Spirulina powder and evaluating its antioxidant, anticoagulation and prevention of DNA damage activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, ۳(۰۸): ۱۴۹-۵۳.
- Kaur, G., Khattar, J.I.S, Singh, D.P, Singh, Y. and Nadda J., ۲۰۰۹. Chapter ۱۰: Microalgae: a Source of Natural Colours. ۱۴۰. I. K. International Publishing House Pvt. Ltd. New Delhi.
- Kim, Cj., Jung, Yh., Ko, Sr., Kim, Hi., Park, Yh. and Oh, Hm., ۲۰۰۷. Raceway Cultivation of Spirulina platensis Using Underground Water. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, ۱۷(۵): ۸۵۳-۵۷.
- Kula, M.R. and Schütte, H., Purification of Proteins and the Disruption of Microbial Cell. *Biotechnology Progress* ۱۹۸۷; ۳(۱): ۳۱-۴۲.
- Leema, J.T., Kirubakaran R, Vinithkumar N.V, Dheenan P.S and Karthikayulu S., ۲۰۱۰. High value pigment production from Spirulina platensis cultured in seawater. *Bioresource Technology*, ۱۰۱(۲۳): ۹۲۲۱-۹۲۲۷.
- Lun, FD., and Cheng, WZ., ۲۰۰۶. Culture of Spirulina platensis in human urine for biomass production and O<sub>2</sub> evolution. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*. ۷: ۳۴-۳۷.
- Marrez, D.A, Naguib, M.M., Sultan, Y.Y., Daw, Z.Y. and Higazy A.M., ۲۰۱۳. Impact of culturing media on biomass production and pigment content of spirulina platensis. *International Journal of Advanced Research*, ۱(۱۰): ۹۵۱-۶۱.
- Munawaroh, H.S.H., Darajatun, K., Gumilar, G.G., Aisyah, S. and Wulandari A.P., ۲۰۱۸. Characterization of phycocyanin from Spirulina fusiformis and its thermal stability. *Journal of Physics: Conference Series*, ۱۰۱۳: ۱-۷.
- Marx, A. and Adir N., ۲۰۱۳. Allophycocyanin and phycocyanin crystal structures reveal facets of phycobilisome assembly. *Biochimica et Biophysica Acta*, ۱۸۲۷(۳): ۳۱۱-۱۸.
- Moraes, C.C, Sala, L., Cerveira, G.P. and Kalil S.J., ۲۰۱۱. C-phycoyanin extraction from spirulina platensis wet biomass. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, ۲۸(۰۱): ۴۵-۴۹.
- Murugan, T. and radhamadhavan., ۲۰۱۰. Media Optimization for the Enhanced Growth and Yield of Spirulina platensis Biomass and Determination of Generation Time. *International Journal of Medical Sciences (India)*, ۲۰۱۰; ۳(۱-۲): ۳۴-۳۹.
- MacColl, R., ۱۹۹۸. Cyanobacterial phycobilisomes. *Journal of Structural Biology*, ۱۲۴(۲-۳): ۳۱۱-۳۴.
- Marquez, F.J., Nishio, N., Nagai, S., ۱۹۹۵. Enhancement of biomass and pigment production during growth of Spirulina platensis in mixotrophic culture. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. ۶۲: ۱۵۹-۱۶۴.
- Marquez, F.J., Sasaki, K., Kakizono, T., Nishio, N., Nagai, S., ۱۹۹۳. Growth characteristics of Spirulina platensis in mixotrophic and heterotrophic conditions. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. ۷۶: ۴۰۸-۴۱۰.
- Noori, H., Dalirynejad, S., Halaji Sani, A., ۲۰۱۶. Evaluation of the Effect of Glucose, Nitrate and Weber PH on the Production of Biosphere Biomass of Native Gulf Algae in order to produce biodiesel by surface response method. ۳<sup>rd</sup> International Conference on New Advances in Chemistry and Chemical Engineering.
- Naji, M., ۲۰۱۴. Micro-algae instruction or method. Iran Fisheries Organization. Shrimp and Shrimp Aquatic Resources Office. ۴-۴۱.
- Nandar Aung, K.L., ۲۰۱۱. Effect of Spirulina Biofertilizer Suspension on Growth and Yield of Vigna radiata (L.) Wilczek. *Universities Research Journal*, ۴(۱): ۳۵۱-۶۳.
- Pourkarimi, S., Hallajisani, A., Alizadehdakhel, A. and Nouralishahi, A., ۲۰۱۹. Biofuel Production through Micro- and Macroalgae Pyrolysis-A Review of Pyrolysis Methods and Process Parameters. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, ۱-۱۹.
- Patra, J.K., Das, G., Shin, H.S (Eds), ۲۰۱۸. *Microbial Biotechnology: Volume ۲: Application in Food and Pharmacology*. Springer, ۲; ۱۲۷-۳۱.
- Patro, N., Sharma, A., Kariaya, K. and Patro, I., ۲۰۱۱. Spirulina platensis protects neurons via suppression of glial activation and peripheral sensitization leading to restoration of motor function in collagen induced arthritic rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. ۴۹(۱۰): ۷۳۹-۴۸.
- Pometto, A., Shetty, K., Paliyath, G., Levin, R.E., ۲۰۰۸. *Food Biotechnology*. ۲nd edition. Taylor and Francis Group. Food Science and Technology series. CRC Press Book ۲۰۰۸, New York.
- Raja, R., Hemaiswarya, S., Ashok Kumar, N., Sridhar S. and Rengasamy, RA., ۲۰۰۸. A Perspective on the Biotechnological Potential of Microalga. *Critical Reviews in Microbiology*. ۳۴(۲): ۷۷-۸۸.
- Romdhane, M., Gourdon, C. and Casamatta G., ۱۹۹۵. Local investigation of some ultrasonic devices by means of a thermal sensor. *Ultrasonics*. ۳۳(۳): ۲۲۱-۲۷.
- Richmond, A., Karg, S., Boussiba, S., ۱۹۸۲. Effects of Bicarbonate and Carbon Dioxide on the Competition between Chlorella vulgaris and Spirulina platensis. *Plant and Cell Physiology*. ۲۳(۸): ۱۴۱۱-۱۷.

- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, B., Herdman, M. and Stanier, Y., ۱۹۷۹. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *J. Gen. Microb.* ۱۱۱: ۱-۶۱.
- Sukumaran, P., Nulit, R., Halimoon, N., Simoh, S., Omar, H., and Ismail, A., ۲۰۱۸. Formulation of Cost-effective Medium Using Urea as a Nitrogen Source for *Arthrospira platensis* Cultivation under Real Environment. *Annual Research & Review in Biology*, ۲۲(۲): ۱-۱۲.
- Sathasivam, R., Ramalingam, R.R., Hashem, A., AbdAllah, E.F., ۲۰۱۷. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*. ۱-۱۴.
- Saran, S., Puri, N., Jasuja, N.D., kumar, M. and Sharma G., ۲۰۱۶. Optimization, Purification and characterization of Phycocyanin from *Spirulina platensis*. *International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture*. ۲(۳): ۱۵-۲۰.
- Sheykhi Nejad, A., Lababpour, A.M. and Moazami N., ۲۰۱۵. Increasing Cyanobacteria *Spirulina* Production with Mixing and Chemical Composition of Culture Medium. *Journal of Plant Research*. ۲۸(۲): ۳۴۴-۵۳.
- Silveira, S.T., Burkert, J.F.M., Costa, J.A.V., Burkert, C.A.V., Kalil, S.J., ۲۰۰۷. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. *Bioresource Technology*. ۹۸(۸): ۱۶۲۹-۳۴.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., ۲۰۰۶. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. ۱۰۱(۲): ۸۷-۹۶.
- Stec, B., Troxler, RF. and Teeter, MM., ۱۹۹۹. Crystal structure of C-phycocyanin from *Cyanidium caldarium* provides a new perspective on phycophycobilisome assembly. *Biophysical Journal*. ۷۶ (۶): ۲۹۱۲-۲۹۲۱.
- Salisova, M., Toma, S. and Mason T.J., ۱۹۹۷. Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from *Salvia officinalis*. *Ultrasonics Sonochemistry*. ۴(۲): ۱۳۱-۱۳۴.
- Tietze, HW., ۲۰۰۴ *Spirulina* micro food macro blessing ۴th edition. Australia: Harald W. ۲۴-۴۵.
- Tseng, C.K., ۲۰۰۴. Asian Pacific Phycology in the ۲۱st Century: Prospects and Challenges: The past, present and future of phycology in china. *Ang Jr., Put O (Ed). Hydrobiology*; ۵۱۲: ۱۱-۲۰.
- Tomaselli, L., ۱۹۹۷. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): physiology, cell-biology and biotechnolog. Chapter ۱: Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* and *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. Avigod Vonshak (Eds). London, Taylor and Francis: ۱-۱۶.
- Tredici, M.R., Zittelli, G.C., Biagiolini, S., Materassi, R., ۱۹۹۳. Novel photobioreactors for the mass cultivation of *Spirulina* spp. *Bulletin de l'Institut océanographique*. ۱۲: ۸۹-۹۶.
- Vernès, L., Granvillain, P., Chemat, F. and Vian M., ۲۰۱۵. Phycocyanin from *Arthrospira Platensis*. Production, Extraction and Analysis. *Current Biotechnology*. ۴(۴): ۱-۱۱.
- Walter, A., Carvalho, J.C.D., Soccol, V.T., de Faria, A.B.B., Ghiggi, V. and Soccol C.R., ۲۰۱۱. Study of Phycocyanin Production from *Spirulina platensis* Under Different Light Spectra. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. ۵۴(۴): ۶۷۵-۸۲.
- Zarrouk, C., ۱۹۶۶. Contribution to the study of cyanobacteria, influence of various physical and chemical factors on growth and photosynthesis is *Spirulina maxima*. PhD thesis, University of Paris.

## Spirulina Cultivation, Process and Extraction of Phycocyanin: A review

Neda Mirhosseini<sup>۱</sup>, Ahmad Halajisani<sup>۲</sup>, Reza davarnejad<sup>۱</sup>, Edgar Cano Europa<sup>۳</sup>, Haleh Baghernouh C<sup>۳</sup>

۱. Department of Chemical Engineering, Faculty of Chemical Engineering, Arak University, P.O.Box. ۳۸۱۵۶-۸-۸۳۴۹, Arak, Iran

۲. Caspian faculty of Engineering, Tehran University, Rezvanshahr, Gilan, Iran.

۳. Metabolism Laboratory I, Department of Physiology, Institute of National Polytechnic (IPN), Mexico City, Mexico  
[n.mir89@yahoo.com](mailto:n.mir89@yahoo.com)

### Abstract

Today, life of all people in the world depends on drugs, herbal products and herbal-derived products to live healthy. Therefore, the use of herbal products instead of harmful artificial products is generally accepted. In this regard, it is important to have the technical knowledge of cultivating and choicing the conditions of growth. For this purpose, this research has reviewed the micro-algae cultivation method for the extraction of phycocyanin. In this review article, valid scientific articles are indexed in various databases such as Science Direct, Springer, Scopus and others, which have one of the key words of Spirulina platensis, phycocyanin pigment, cultivation and extraction methods were investigated. According to the results of the studies, Spirulina Platensis is a filamentous microalga with a variety of applications in the fields of food, pharmacy, fertilizer, which is a rich source of protein, B-group vitamins, essential amino acids and minerals. Spirulina Platensis is a non-heterocysts and autotrophic photosynthetic algae. Phycocyanin one of the Spirulina pigment uses as a drug pill for cancer treatment, anti-inflammation, AIDS treatment, or an additive as a supplement to the diet are the four main advantages of this substance, which emphasizes the need to extract this microalgae. The production of algae with high levels of Phycocyanin is due to several factors, including growth conditions of algae, the ability to accumulate pigmentation, production technology and the efficiency of the downstream process. Numerous mediums like Zarrouk, Modified Zarrouk, Conway, Jordan, F<sup>۲</sup>, and Schussler have been used for cultivation of this microalga, but the best medium for cultivation of this microalgae is Zarrouk medium at ۲۸-۳۵°C, ۱۵۰۰-۴۵۰۰ lux, pH = ۹-۹,۵.

**Keywords:** Culture, Phycocyanin, Spirulina, non-heterocysts, autotrophic