مقاله مروری آنتی‌اکسیدان

فیکوسیانین یک آنتی‌اکسیدان سیانوباکتریایی: ساختار، عملکرد و کاربردها

لیلا زرندی میاندوآب*، فرشاد پوریوسف، سیده فهیمه رضوی، نادر چاپارزاده

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز

(تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۰۵/۲۶، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۳/۰۳)

چکیده

در جلبک‌های قرمز و سیانوباکترها، فیکوبیلین‌ها به‌عنوان مولکول‌های دارای زنجیر باز تتراپیرولی، نقش رنگدانه‌های کمکی جمع‌کننده نور فتوسنتزی را بازی می‌کنند. رنگدانه‌های فیکوبیلینی از طریق پیوند کووالانسی به پروتئین‌ها متصل شده و فیکوبیلی‌پروتئین‌های حاصل در سطح غشاهای تیلاکوئیدی کمپلکس‌های ماکرومولکولی درشت به نام فیکوبیلیزوم‌ها را تشکیل می‌دهند. در آب‌های عمیق تنها نور سبز برای سیانوباکترها قابل دسترس است، لذا فیکوبیلیزوم‌ها قادر به جذب کارای این بخش از نور بوده و این مسئله به بقای سیانوباکترها کمک می‌کند. سیانوباکترها در پاسخ به تغییرات شرایط محیطی قادر به تغییرات کمی در ترکیب رنگدانه‌ای فیکوبیلیزوم‌ها هستند. فیکوسیانین با رنگ آبی تیره یکی از انواع فیکوبیلی‌پروتئین‌هاست که به شکل وسیعی به‌عنوان مهمترین رنگ و آنتی‌اکسیدان طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. خصوصیات جاروب‌گری از رادیکال‌های آزاد فیکوسیانین بخوبی شناخته شده است. فیکوسیانین با حذف گونه‌های اکسیژن و نیتروژن فعال از ایجاد تنش اکسیداتیو، که به ساختار بیومولکول‌های سلولی آسیب جدی وارد می‌کند، جلوگیری می‌کند. کاربردهای متنوع، از دخالت در پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با رادیکال‌های آزاد شامل سرطان و آلزایمر گرفته تا اثرات ضدمیکروبی، از استفاده در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی تا صنایع و گردش مالی قابل‌ملاحظه این محصول، اهمیت مرور مطالعات در زمینه فیکوسیانین را روشن می‌سازد. از این رو مقاله حاضر یافته‌های جدید در مورد منابع، ساختار، عملکرد، تولید، روش‌های استخراج و کاربردهای فیکوسیانین را مرور و توصیف خواهد کرد.

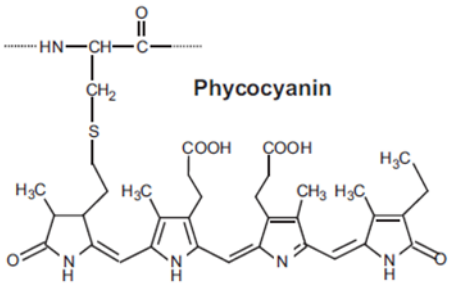
واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اسپیرولینا، سیانوباکتر، فیکوسیانین

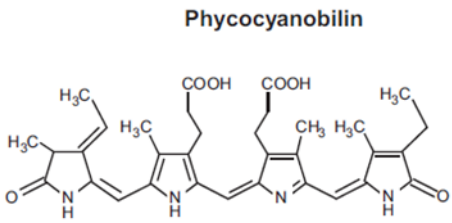
مقدمه

در حال حاضر، تولید مواد مفید مانند رنگدانه‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها و قندها از ریزجلبک‌ها به دلیل توانایی بالای آنها در استفاده از دی‌اکسید کربن و جلوگیری از گرم‌شدن کره زمین، افزایش یافته است. ارگانیسم‌های فتوسنتزی (گیاهان و جلبک‌ها) می‌توانند به‌طور مؤثر مواد آلی را از مواد غیرآلی تولید کنند.

فیکوسیانین یک مجموعه رنگدانه- پروتئین فتوسنتزی از خانواده فیکوبیلی‌پروتئین‌ها (Phycobiliproteins) موجود در جلبک‌های سبز-آبی (*Cyanobacteria*) یا سیانوباکترها، جلبک‌های قرمز (*Rhodophyta*) و جلبک‌های خاکستری (*Cryptophytes*) است. ساختار فیکوسیانین متشکل از یک بخش پروتئینی و یک بخش غیرپروتئینی آبی‌رنگ به نام فیکوسیانوبیلین (Phycocyanobilin) است (شکل ۱). دو نوع

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: zarandi@azaruniv.ac.ir





شکل ۱- ساختار فیکوسیانوبیلین و فیکوسیانین (Tabarzad *et al.*, 2020)

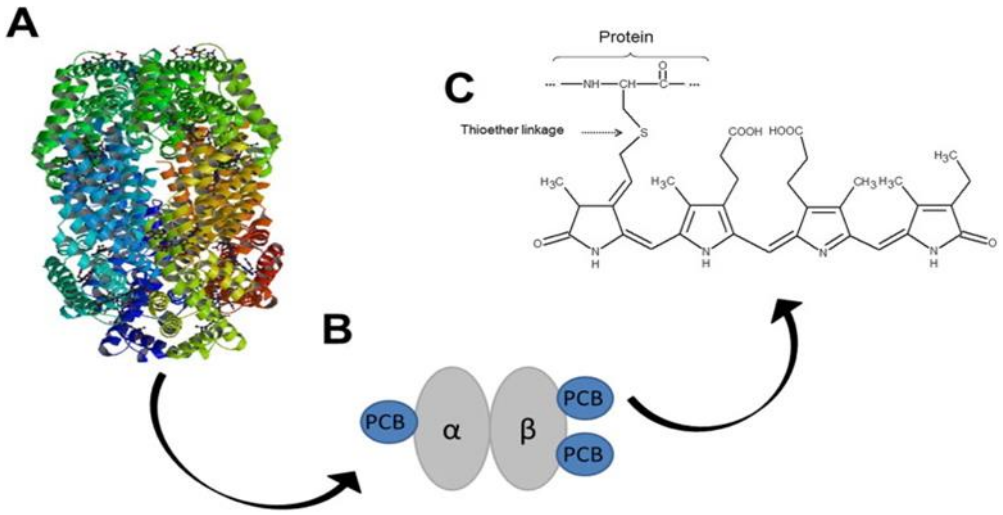
فایکوسیانین طبیعی وجود دارد که نوع C مربوط به جلبک‌های شاخه سیانوفیتا و نوع R مربوط به جلبک‌های شاخه ردوفیتا است. تفاوت این دو نوع این است که C- فیکوسیانین فقط به فیکوسیانوبیلین به‌عنوان تنها کروموفور متصل می‌شود، در حالی‌که R- فیکوسیانین به فیکوسیانوبیلین و فیکواریتروبیلین متصل می‌شود.

بخش پروتئین یک هترودایمر متشکل از دو زیر واحد آلفا (CpcA) و بتا (CpcB) است که این دایمرها از طریق پیوند تیواتری با مولکول فیکوسیانین به‌عنوان کروموفور ارتباط برقرار می‌کنند (شکل ۲).

بیشتر فیکوسیانین‌های تجاری از سیانوباکتری رشته‌ای، *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* استخراج می‌شوند. C - فایکوسیانین (C-PC)، رنگدانه طبیعی آبی رنگ و مهمترین پروتئین فتوسنتزی *Spirulina* است و با فعالیت زیستی این سیانوباکترها ارتباط دارد. این طلای آبی رنگ به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ضدسرطان و تنظیم‌کننده سیستم ایمنی، به‌علاوه ۵۱ اثر مفید دیگر بر سلامت انسان برجسته و شناخته شده است (Fratelli *et al.*, 2020). همچنین از فیکوسیانین به‌عنوان یک مکمل غذایی، رنگ طبیعی، نشانگر فلورسنت و ماده رنگ‌کننده مواد غذایی و محصولات آرایشی استفاده می‌شود (Aoki *et al.*, 2021).

در این زمینه، عصاره *Spirulina* به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان رژیم غذایی طبیعی گزارش شده است که می‌تواند به‌عنوان یک مکمل یا افزودنی غذایی برای جلوگیری از برخی بیماری‌های مزمن که با گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) درگیر هستند، استفاده شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین *Spirulina* با مهار تخریب دئوکسی ریبوز با واسطه رادیکال هیدروکسیل و تولید رادیکال پراکسیل، و مهار پراکسیداسیون لیپید در داخل بدن، در شرایط آزمایشگاهی تأیید شد (Fratelli *et al.*, 2020).

رادیکال‌های آزاد مولکول‌هایی با یک یا چند الکترون جفت‌نشده هستند که می‌توانند به مولکول‌های زیستی آسیب برسانند. تشکیل و حذف رادیکال‌های آزاد در بدن توسط سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی متعادل می‌شوند. رادیکال‌های آزاد در پاتوژنز تعدادی از فرایندها مثل سرطان‌زایی، بیماری‌های قلبی- عروقی، ایسکمی، آلزایمر، پیری‌زودرس، تصلب شرایین، آسیب کبدی و پوستی، التهاب، دیابت و آرتروز نقش دارند. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند رادیکال‌های‌آزاد را از بین ببرند و تجویز آن‌ها در رژیم غذایی انسان با کاهش استرس اکسیداتیو برای سلامت انسان تأثیر بسزایی دارد. چندین آنتی‌اکسیدان مصنوعی مانند هیدروکسی آنیسول بوتیله (Butylated Hydroxyanisole) (BHA)، هیدروکینون‌ترت بوتیله (Tert-Butylhydroquinone) (TBHQ) و هیدروکسی تولوئن بوتیله (Butylated Hydroxytoluene) (BHT) معمولاً به‌عنوان افزودنی‌های غذایی برای جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید استفاده می‌شوند. با این حال، این ترکیبات کاربردهای بسیار محدودی برای غذا دارند زیرا ممکن است برخی اجزای سمی و سرطان‌زا طی تخریب آنها ایجاد شوند. با توجه به این نگرانی‌های بهداشتی، یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ایمن، مؤثر و اقتصادی بسیار مطلوب است. کشف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از چندین منبع بیولوژیکی مانند گیاهان دارویی، سبزیجات، ادویه‌ها، میوه‌ها و میکروارگانیسم‌هایی نظیر ریزجلبک‌ها، یک



شکل ۲- ساختار فیکوسیانین (PC). (A) ساختار کریستالی فیکوسیانین از سیانوباکتر *Spirulina platensis* در شکل هگزامر. (B) تصویر شماتیک از آرایش فیکوسیانین که از دو زیرواحد پروتئینی زنجیره‌های آلفا α و بتا β تشکیل یافته است. یک فیکوسیانوبیلین (PCB) به زیرواحد α و دو فیکوسیانوبیلین (PCB) به زیرواحد β متصل است. (C) شکل شماتیک از ساختار فیکوسیانوبیلین، بخشی که مسئول رنگ آبی فیکوسیانین است (Fernandez *et al.*, 2014).

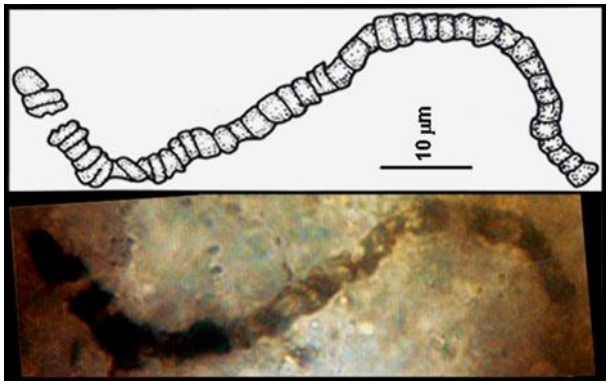
زمینه نوظهور است که می‌توان در بخش‌های پزشکی، کشاورزی و صنعتی مورد استفاده گسترده قرار گیرند. جلبک‌های سبز-آبی دارای C- فیکوسیانین هستند که یک آنتی‌اکسیدان بسیار قوی محلول در آب است و دارای گروه-های مختلف عملکردی واکنشی مانند N-H، COOH، C-O و O-H برای خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را دارا است (Chandra *et al.*, 2020).

این بررسی به‌طور خلاصه به پتانسیل میکروارگانیسم‌های پروکاریوتی دارای فتوسنتز اکسیژنی (سیانوباکترها) به‌عنوان منبع چنین ترکیبات فعال زیستی بویژه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌پردازد. در مقایسه با گیاهان، سیانوباکترها را می‌توان تحت شرایط کنترل‌شده با سرعت بیشتری پرورش داد، که آنها را به یک منبع بالقوه از مولکول‌های آنتی‌اکسیدان فعال طبیعی برای کاربردهای تغذیه‌ای، دارویی، تحقیقاتی و صنعتی تبدیل می‌کند.

مقالات مورد استفاده برای تهیه این مقاله با سه موضوع اصلی میکروارگانیسم‌های منبع تولید فیکوسیانین، روش‌های استخراج، ساختار مولکولی و عملکرد فیکوسیانین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و کاربردهای متنوع فیکوسیانین منتشرشده بین سال‌های ۱۹۰۰ الی ۲۰۲۱ انتخاب شدند.

سیانوباکترها مهمترین منابع تولید آنتی‌اکسیدان طبیعی فیکوسیانین: سیانوباکترها به‌عنوان مهمترین منابع طبیعی فیکوسیانین شناخته می‌شوند. اعتقاد بر این است که سیانوباکترها ۳/۵ میلیارد سال پیش تکامل یافته‌اند. فسیل‌های کشف‌شده در Apex Cherts با قدمت ۳/۵ میلیارد سال که در شمال غربی استرالیا یافت شده، دارای سیانوباکترهای رشته‌ای‌اند که به سیانوباکترهای رشته‌ای امروزی بسیار شبیه‌اند (شکل ۳).

سیانوباکترها از گذشته تا به الان به جلبک های سبز- آبی (سیانوفیتا) معروف بودند. در اصل واژه سیانوباکتر از کلمه یونانی Cyano به معنی آبی گرفته شده است. دیواره سلولی سیانوباکترها از نوع گرم منفی است. ضخامت این لایه حدود ۱-۱۰ nm است، اما در برخی گونه‌ها مانند *Proteobacteria* لایه پپتیدوگلیکان ساختاری، اغلب به‌طور قابل‌توجهی ضخیم‌تر است. منافذی به قطر ۵-۱۳ nm به‌صورت منظم یا پراکنده در دیواره‌های کلی سیانوباکترها وجود دارد و آرایش آن‌ها بسیار متفاوت است. این باکتری‌ها



شکل ۳- فسیل باکتری‌های رشته‌ای فوتوتروف که از نور خورشید انرژی تولید می‌کنند. نمونه‌ای از یکی از میکروفسیل‌های کشف‌شده در نمونه‌ای از سنگ بازیابی‌شده از Apex Chert. یک مطالعه جدید از تجزیه و تحلیل شیمیایی پیچیده مؤید بیولوژیکی بودن ساختارهای میکروسکوپی موجود در سنگ است (Schopf, 2000).

ممکن است به‌صورت تکی یا کلونی زندگی کنند. کلونی‌ها به نوبه خود می‌توانند ساختارهای مختلفی را از رشته‌ها، صفحه‌ها یا حتی شکل‌های کروی بسازند. این باکتری‌ها تولیدمثل جنسی ندارند و تنها به روش غیرجنسی و تقسیم دوتایی تکثیر می‌شوند و در برخی موارد با تشکیل هورموگونیوم (اسیلاتوریا) نیز تکثیر می‌شوند. بعضی از کلونی‌های رشته‌ای، نوعی از تمایز و تخصص‌یافتگی سلولی منجر به پیدایش سلول‌هایی با عملکرد خاص می‌شود، از جمله: ۱- سلول‌های رویشی، (Vegetative Cells) سلول‌های طبیعی فتوسنتزکننده که در شرایط مطلوب رشد می‌کنند. ۲- آکینت‌ها، (Akinetes) اسپورهای مقاوم به شرایط دشوار محیطی که با تغییر وضعیت آب‌وهوا تولید می‌شوند. ۳- هتروسیست‌ها، (Heterocysts) سلول‌هایی با دیواره ضخیم که حاوی آنزیم نیتروژناز هستند و در فرایند تثبیت نیتروژن نقش کلیدی دارد (Castenholz, 2015). این سلول‌ها، در شرایط مطلوب محیطی و در هنگام فراوانی نیتروژن در محیط ایجاد می‌شوند و می‌توانند گاز نیتروژن موجود در هوا را به آمونیاک (NH_3)، نیترات (NO_3) یا نیتریت (NO_2^-) تبدیل کنند (Latysheva *et al.*, 2012).

سیانوباکترها اولین گروه از باکتری‌ها هستند که با استفاده از آب به‌عنوان یک دهنده الکترونی و در نتیجه تصاعد O_2، می‌توانند CO_2 جوی را به ترکیبات آلی تبدیل کنند. این باکتری‌ها، پروکاریوت‌های فتوسنتزی هستند که در طیف وسیعی از محیط‌های آبی و خاکی در سراسر جهان زندگی می‌کنند. تاکنون بیش از ۲۶۰۰ گونه سیانوباکتری کشف‌شده که بسیاری از گونه‌های دیگر هنوز ناشناخته مانده‌اند (Tokodi *et al.*, 2018). همه سیانوباکترها کلروفیل *a* را سنتز می‌کنند. همانند سایر پروکاریوت‌ها غشای هسته‌ای، اندام‌های داخلی و پروتئین‌های هیستونی مرتبط با کروموزوم‌ها را ندارند. مشخصه اصلی سیانوباکترها که آن‌ها را از سایر پروکاریوت‌های غیرفتوسنتزی متمایز می‌سازد، سیستم نوری دوگانه آن‌ها، یعنی فتوسیستم I و II است (Vermaas, 2001).

بیشتر سیانوباکترها، رنگدانه‌های فیکوبیلین و فیکوسیانین را تولید می‌کنند که غلظت بالای این رنگدانه‌ها باعث به وجود آمدن رنگ سبز- آبی در آن‌ها می‌گردد. در بعضی گونه‌ها رنگدانه‌های جانبی قرمز (فیکواریترین) برای جذب نور سبز در سیانو باکتری‌هایی که در مناطق عمیق زندگی می‌کنند، به کار می‌رود (Patel *et al.*, 2005). درجه حرارت مطلوب برای رشد برخی از سیانوباکترها حداقل چندین درجه بالاتر از بیشتر جلبک‌های یوکاریوت است. این ویژگی ممکن است نقش مهمی در سیطره تابستانی سیانوباکترهای موجود در عرض‌های جغرافیایی معتدل داشته باشد. گونه‌هایی که در چشمه‌های آب گرم، خاک‌های بیابانی داغ، خاکسترهای آتشفشانی و سطوح سنگی زندگی می‌کنند، قادر به تحمل دمای ۷۴°C نیز هستند. سیانوباکترها می‌توانند در دماهای بسیار پایین حوضچه‌های آب

شیرین مناطق‌قطبی نیز زندگی کنند. ریف‌های صخره‌های ساحلی حاصلخیز (Reef) گسترده آب شیرین در قطب جنوب عمدتاً از سیانوباکترها تشکیل شده است. در برخی دیگر از گونه‌ها که توانایی مقاومت در برابر شوری زیاد را دارند، این اجازه را به سیانوباکترها می‌دهند تا به راحتی در تالاب‌ها و دریاچه‌های شور زندگی کنند. سیانوباکتری‌ها در محیط‌هایی با pH خنثی و قلیایی رشد می‌کنند و در محیط‌هایی با pH اسیدی رشد محدود دارند. بنابراین سیانوباکتری‌ها را کمتر می‌توان در اطراف چشمه‌های آب معدنی گوگرددار مشاهده کرد (Whitton and Potts, 2007).

سیانوباکترها به‌صورت سنتی، براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی به پنج گروه عمده تقسیم و با اعداد رومی I تا V مشخص می‌شوند. برای سه گروه اول، که عبارتند از کروکوکال‌ها (*Chroococcales*)، پلئوروکاپسال‌ها (*Pleurocapsales*) و اوسیلاتوریال‌ها (*Oscillatoriales*)، هیچ شاهد فیلوژنتیکی وجود ندارد. اما به‌نظر می‌رسد دو گروه آخر، یعنی نوستوکال‌ها (*Nostocales*) و استیگونماتال‌ها (*Stigonematales*) تک‌شاخه‌ای بوده و سیانوباکترهای هتروسیستی را ایجاد می‌کنند (Chorus and Welker, 2021). تجزیه و تحلیل‌های بدست آمده از بررسی مولکولی rRNA و همچنین شواهد ثبت‌شده از فسیل‌های بدست آمده نشان می‌دهد که اوسیلاتوریال‌ها (*Oscillatoriacea*) جز اولین گروه تکامل‌یافته سیانوباکترها هستند (Mulkidjanian *et al*., 2006).

در جدول ۱ همه منابع جلبکی که فیکوسیانین از آنها استخراج و خالص‌سازی شده است، ارائه گردیده است (Fernandez-Rojas *et al*., 2014; de Morais *et al*., 2018).

ولی امروزه تمرکز زیاد بر استفاده از *Spirulina* به‌عنوان منبع استخراج فیکوسیانین در مقیاس صنعتی است. اگرچه ارگانیسم‌های دیگر به‌عنوان منبع فیکوسیانین گزارش می‌شوند، مانند گیاهان دارای جلبک‌هایی از نژادها و خانواده‌های مختلف در *Cyanophyceae* و *Rhodophyceae* اما *Spirulina* به‌دلیل پتانسیل تجاری آن، در میان سایر جنس‌های سیانوباکتریوم، به‌ویژه به‌دلیل ارزش غذایی بالا و تنوع استفاده، که بیش از ۳۰٪ از تولید بیومس جهان را به عهده دارد، مهمترین تولیدکننده فیکوسیانین است. بالاترین تولید سالانه جلبک‌های صنعتی در سال ۲۰۱۷، متعلق به *Spirulina* به مقدار ۱۸۰۰۰ تن در سال و با گردش مالی ۲۳۴ میلیون دلار در هر سال است (Fratelli *et al*., 2020).

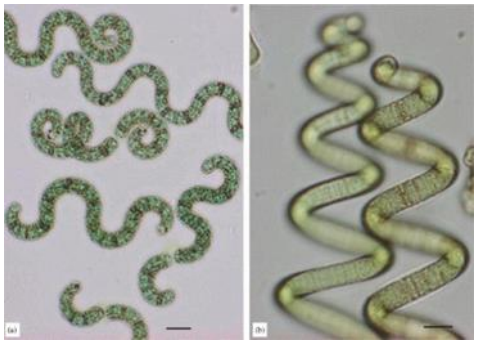
معرفی سیانوباکتر *Spirulina* و اهمیت آن: از دیدگاه تاکسونومی *Spirulina* نامی است که برای توصیف دو گونه سیانوباکتری *Arthrospira* platensis و *Arthrospira maxim* است که معمولاً به‌عنوان غذا و مکمل‌های غذایی- رژیمی استفاده می‌شوند. در بین گونه‌های مختلف *Arthrospira*، *A.platensis* به‌طور گسترده توزیع شده و بیشتر در آفریقا و در آسیا یافت می‌شود (Gershwin and Belay, 2007). جلبک‌ها، از دوران ما قبل تاریخ به‌عنوان غذا مورد استفاده قرار می‌گرفتند و هنوز هم در بسیاری از کشورها، به‌ویژه در آسیا، نقش برجسته‌ای دارند. اسناد بدست آمده نشان می‌دهد که اولین بار (*Spirulina*) *Arthrospira*، برای مصرف انسان به‌عنوان غذا در سال ۱۵۱۲ در دریاچه Texcoco واقع در مکزیکوسیتی، برداشت، خشک و فروخته شد. آزتک‌هایی (آزتک‌ها یک تمدن سرخ‌پوستی در آمریکای مرکزی و مکزیک کنونی بودند) که در کنار این دریاچه زندگی می‌کردند، ماده‌ای سبز- آبی را از دریاچه برداشت و با آن غذایی به نام (Tecuitlatl) به معنی عصاره سنگ تهیه می‌کردند که به‌صورت کیکی به رنگ سبز- آبی بود. بعدها اولین تولید تجاری *Spirulina* به‌طور رسمی در دهه ۱۹۷۰، در همین دریاچه آغاز گردید. در اواسط دهه ۱۹۶۰ گزارشی توسط ژان لئونارد گیاه‌شناس که با تیم فرانسوی- بلژیکی به آفریقا اعزام شده بود ارائه شد. بر مبنای این گزارش، مردم کشور چاد، از این جلبک به‌عنوان منبع غذایی جهت درست‌کردن کیک سنتی به نام Dihe یا Die استفاده می‌کردند. امروزه کشورهای چین، آمریکا و تایلند در مجموع سالانه ۱۰۰۰ تن در هر مترمربع *Spirulina* تولید می‌کنند. شرکت Cyanotech هاوایی با تولید ۳۰۰ تن در سال جز بزرگترین شرکت‌های تولیدکننده *Spirulina* محسوب می‌شود. کشورهای هند، استرالیا، برزیل، شیلی، اسپانیا، فرانسه،

جدول ۱- منابع جلبک که فیکوسیانین از آنها استخراج شده است.

Algae	Reference
Acaryochloris marina	Samsonoff and MacColl, (2001)
Anabaena	Gantar *et al*., (2012)
Anabaena flous aquae	Shanab *et al*., (2012)
Anabaena variabilis	Chapman *et al*., (1968)
Anacystis nidulans	Chapman *et al*., (1968)
Aphanotheca	Gantar *et al*., (2012)
Aphanizomenon flos-aquae	Rinalducci *et al*., (2009)
Arthronema africanum	Minkova *et al*., (2007)
Arthrospira (*Spirulina*) *maxima*	Manconia *et al*., (2009); Rodriguez-Sanchez *et al*., (2012); Ou *et al*., (2010)
Arthrospira fusiformis (*Voronich*)	Ivanova *et al*., (2010)
strain Hegewald 1976/83	Ivanova *et al*., (2010)
Calothrix membranacea	Chapman *et al*., (1968)
Cryptomonads	Samsonoff and MacColl, (2001)
Cyanidium caldarium	Samsonoff and MacColl, (2001)
Democarpa violacea	Chapman *et al*., (1968); Samsonoff and MacColl, (2001)
Galdieria sulphuraia	Sloth *et al*., (2006)
Limnothrix	Gantar *et al*., (2012)
Limnothrix sp. strain 37-2-1	Gantar *et al*., (2012)
LSD 0.05	Shanab *et al*., (2012)
Lyngbya sp.	Chapman *et al*., (1968); Gantar *et al*., (2012); Patel *et al*., (2005); Patel *et al*., (2006)
Mastigocladus laminosus	Chapman *et al*., (1968)
Microcystis aeruginosa	Chapman *et al*., (1968)
Nostoc	Shanab *et al*., (2012)
Nostoc muscorum	Gantar *et al*., (2012)
Oscillatoria tenuis	Chapman *et al*., (1968); Shanab *et al*., (2012); Shukia *et al*., (2008); Srivastava, (2010)
Phormidium bigranulatum	Thangam *et al*., (2013)
Phormidium fragile	Kumar and Gaur, (2014)
Phormidium sp.	Shanab *et al*., (2012); Soni *et al*., (2008)
Phormidium luridum	Patel *et al*., (2005); Patel *et al*., (2004); Patel *et al*., (2006); Shukia *et al*., (2008)
Plectonema boryanum	Chapman *et al*., (1968)
Porphyra tenera	Chapman *et al*., (1968)
Porphyra yezoensis Ueda	Chuner *et al*., (2011)
Porphyra yezoensis	Chuner *et al*., (2011)
Polysiphonia urceolata	Wang *et al*., (2014)
Smithora naiadum var. Naiadum	Chapman *et al*., (1968)
Spirulina sp.	Patel *et al*., (2004); Patel *et al*., (2005); Patel *et al*., (2006); Li, Chen *et al*., (2011)
Spirulina platensis	Bermejo *et al*., (2008); Chu *et al*., (2010); Li *et al*., (2010); Marin-Prida *et al*., (2013);Ou *et al*., (2012); Penton-Rol *et al*., (2011a); Pleonsil *et al*., (2013); Zhang *et al*., (2011); Zheng *et al*., (2013)
Spirulina (*Arthrospira*) *fusiformis*	Minkova *et al*., (2003); Madhyastha and Vatsala, (2010)
Synechococcus sp. 109201	Abalde, (1998)
Synechococcus a	Gantar *et al*., (2012)
Synechococcus p. (*strain 6301*)	Glazer *et al*., (1971)
Synechococcus lividus	Chapman *et al*., (1968)
Westiellopsis sps	Sabarinathan and Ganesan, (2008)
Wollea saccata	Shanab *et al*., (2012)

کانادا، بلژیک، مصر، ایرلند، آرژانتین و فیلیپین نیز در این زمینه پیشتاز هستند. این جلبک توسط سازمان فضایی آمریکا (ناسا) به‌عنوان سوپرفود نام‌گذاری شده و این سازمان در تلاش است تا به وسیله این جلبک برای فضانوردان جیره‌های غذایی مفید تهیه نماید (Liang *et al*., 2021).

مورفولوژی و خصوصیات ساختاری *Spirulina*: *Spirulina*، نوعی جلبک سبز- آبی رشته ای و چندسلولی است که از



شکل ۴- رشته‌های (*Spirulina*) *Arthrospira plantensis*

۳ شاخه سیانوباکترها و خانواده (*Oscillatoriacea*) بوده و دارای سه گونه *Arthrospira maxima* و *Arthrospira plantensis* و *Arthrospira fusiformis* است. در زیر میکروسکوپ این باکتری به‌صورت رشته‌های سبز-آبی و متشکل از سلول‌های استوانه‌ای شکل بوده که در حالت تریکوم‌های غیرمنشعب و مارپیچ پشت سر هم قرار گرفته‌اند (شکل ۴). رشته‌های *Spirulina* متحرک هستند و در امتداد محور خود سر می‌خورند و هتروسیت در آن‌ها وجود ندارد. طول آن در شرایط مساعد بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرومتر و قطر سلول‌های آن از ۱ تا ۳ میکرومتر در گونه‌های کوچکتر از تا ۱۲ و گاهی اوقات تا ۱۶ میکرومتر در گونه‌های بزرگتر متغیر است. شکل تریکوم مارپیچ تعیین‌کننده جنس باکتری است اما سایر پارامترهای مربوط به مارپیچ مانند: طول و ابعاد، در هرگونه باکتری متفاوت بوده یا ممکن است با تغییر شرایط محیطی، تغییر کند. حالت مارپیچی *Spirulina* تحت شرایط محیطی به‌خصوص دما و عوامل فیزیکی و شیمیایی تغییر می‌کند. حتی در مواردی که شوک وارد شود، باکتری به‌صورت خطی در می‌آید که معمولاً در این حالت مجدداً به شکل مارپیچ برنمی‌گردد. تریکوم‌ها در گونه‌های *Arthrospira* دیواره‌های عرضی متقاطع و مشخصی را در زیر میکروسکوپ نوری نشان می‌دهند (Usharani *et al*., 2012).

بررسی‌های انجام‌شده توسط علی و صالح بر روی دیواره سلولی *Spirulina* توسط میکروسکوپ الکترونی، نشان داد که دیواره *Spirulina* از چهار لایه تشکیل شده است (Ali and Saleh, 2012). لایه خارجی، متشکل از ماده‌ای است که به‌طور موازی با محور تریکوم‌ها قرار گرفته و مشابه آنچه در دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی وجود دارد، در نظر گرفته می‌شود. لایه سوم احتمالاً فیبریل‌های پروتئینی هستند که به صورت مارپیچ، در اطراف تریکوم‌ها پیچیده شده‌اند. لایه حاوی پپتیدوگلیکان (لایه دوم) به سمت داخل رشته تا می‌خورد و همراه با یک فیبریل داخلی (لایه اول)، باعث ایجاد تیغه جداکننده سلول‌ها می شود. لایه اول به‌علت وجود b-1,2 glucan برای انسان قابل‌هضم نیست، اما لایه سوم به‌دلیل دارابودن پپتیدوگلیکان به راحتی برای انسان قابل‌هضم است (Liang *et al*., 2021).

مانند سایر پروکاریوت‌ها دستگاه غشایی درونی در *Spirulina* وجود ندارد. برجسته‌ترین ساختار سیتوپلاسمی، سیستم تیلاکوئیدهای منشأ گرفته از پلاسمالما است. بنابراین دستگاه فتوسنتزی آن در کلروپلاست سازماندهی نشده و در سراسر سلول پراکنده است. بیشترین رنگدانه فتوسنتزی آن فیکوسیانین است (Wang and Zhao, 2005). مانند اکثر سیانوباکتری‌ها، *Spirulina* یک فوتوتوتروف اجباری است و نمی‌تواند در محیط تاریک حاوی منابع آلی کربن زندگی کند (Sanchez *et al*., 2003).

اکولوژی و زیستگاه *Spirulina*: *Spirulina* موجودی آبزی است که به‌طور معمول در دریاچه‌های قلیایی آب شیرین ساکن‌اند. با این حال، گونه‌های دریازی این جاندار نیز وجود دارد. این باکتری‌ها مزوفیل هستند و می‌توانند در طیف گسترده‌ای از دما زنده بمانند. برخی از گونه‌ها حتی در چشمه‌های آب گرم هم یافت می‌شوند. *Spirulina* در خاک،

مرداب‌ها و آب‌های شور هم یافت می‌شود. معمولاً اسیدیته بین ۸/۵ الی ۱۱ را می‌توانند تحمل کنند. رشد مطلوب این جلبک‌ها بین ۲۰ تا ۷۰ گرم نمک در لیتر اتفاق افتاده است. ممکن است pH سیتوپلاسمی نسبتاً بالای *Spirulina* ۴/۲ الی ۸/۵، به‌عنوان مزیتی در توانایی این میکروارگانیسم جهت استفاده از آمونیاک به‌عنوان منبع نیتروژن در اسیدیته قلیایی شمرده شود (Habib, 2008). این جلبک‌ها معمولاً در دریاچه‌هایی که میزان کربنات و بیکربنات در آن‌ها بالاست، بهتر رشد می‌کنند. *Spirulina* در شرایط آزمایشگاهی، رشد بهینه‌ای در دمای بین ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد افزایش دما در فضای باز تا ۳۹ درجه سانتی‌گراد برای چند ساعت به جلبک سبز- آبی آسیب نمی‌رساند. سویه‌های حرارتی *Spirulina* را که در چشمه‌های آب گرم زندگی می‌کنند، می‌توان در دمای بین ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد کشت داد. برخی از سویه‌های گونه *A. fusiformis* پیدا شده که قادر به رشد در دمای بالاتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد هستند. این شرایط، با کاهش قابل‌توجه سطح پروتئین و رنگدانه‌های فتوسنتزی، افزایش محتوای کربوهیدرات سلول‌ها و همچنین تغییر در درجه اشباعیت اسیدهای چرب همراه است. حداقل دمایی که رشد *Spirulina* در آن اتفاق می‌افتد، حدود ۱۵ درجه سانتی-گراد در طول روز است. سرعت رشد *Spirulina* وقتی که محیط‌کشت تحت تابش نور بین ۲۵ و ۳۰ کیلولوکس (۳۴۰ الی ۴۰۰ میکرومول فوتونبر متر مربع بر ثانیه) به حداکثر می‌رسد. براساس ارزیابی چگالی نوری و میزان کلروفیل *a*، دوره روشنایی مطلوب برای رشد *Spirulina* ۱۶ ساعت است (Sili *et al*., 2012).

ترکیبات شیمیایی و مواد مغذی *Spirulina*: ترکیب شیمیایی *Spirulina* نشان می‌دهد که این باکتری منبع با ارزشی از پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه ضروری، مواد معدنی، اسیدهای فنولیک و توکوفرول‌ها، اسیدهای چرب ضروری شامل γ لینولئیک‌ها، گلیکولیپیدها، سولفولیپیدها، β کاروتن‌ها، کلروفیل a و فیکوبیلی‌پروتئین‌هایی مانند فیکوسیانین را شامل می‌شود. بیشترین حجم خشک (حدود ۵۰ تا ۷۰ درصد) *Spirulina* را پروتئین تشکیل داده است و حدود ۱۵ تا ۲۵ درصد از حجم آن از کربوهیدرات تشکیل شده است (Costa *et al*., 2018).

به همین دلیل به‌عنوان یک منبع تغذیه‌ای جدید حیوانات مورد علاقه صنعت دام قرار گرفته است. به همین جهت، در مطالعات بی‌شماری از *Spirulina* به‌عنوان مکمل غذایی برای انواع ماهی‌ها و سخت‌پوستان نیز استفاده شده است. ۶۰ تا ۷۰ درصد وزن خشک این جلبک از پروتئین تشکیل شده است. حتی بهترین منابع پروتئین گیاهی مانند آرد سویا فقط ۳۵٪ پروتئین خام دارد که تنها نیمی از سطح پروتئین *Spirulina* را شامل می‌شود. محتوای پروتئین جلبک بسته به زمان برداشت، ۱۵ تا ۲۰ درصد متفاوت است. معمولاً پروتئین آن‌هایی که در اوایل روز برداشت می‌شوند، بیشتر است. از دیدگاه کیفی پروتئین‌های *Spirulina* کامل هستند، زیرا همه اسیدآمینه‌های ضروری در آن وجود دارد. بیشترین نسبت آمینواسیدهای ضروری شامل لوسین (۱۰/۹٪)، والین (۷/۵٪) و ایزولوسین است. سلول‌های *Spirulina* دیواره سلولزی ندارند، اما یک پوشش نسبتاً شکننده به نام مورئین دارند که پروتئین *Spirulina* را بسیار قابل هضم می‌کند. بر خلاف محتوای پروتئین، *Spirulina* حاوی چربی کمتری است و این مزیت را دارد که کمتر در معرض اکسیداسیون لیپیدی قرار بگیرد. نیمی از کل لیپیدها شامل اسیدهای چرب وکلسترول هستند (کمتر از ۰/۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم توده خشک *Spirulina*). تحقیقات نشان می‌دهد که اسید گاما- لینولنیک (GLA) دارای خواص دارویی است و برای سنتز آراشیدونیک اسید و پروستاگلاندین-ها مورد نیاز است. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در *Spirulina*، اسیدهای چرب اشباع نشده، کارتنوئیدها، فیکوسیانین و ترکیبات فنولی، آلفاتوکوفرول‌ها و یک نوع کمپلکس مشتق‌شده از *Spirulina* به نام Calcium-Spirulan (Ca-SP) هستند. (Ca-SP) یک مولکول کربوهیدرات پلیمریزه‌شده منحصر به فرد *Spirulina* است که حاوی گوگرد و کلسیم است و دارای وزن مولکولی ۲۵۰ تا ۳۰۰ کیلودالتون است و از دو واحد تکرارشونده دی‌ساکاریدی

به نام‌های O-rhamnosy l-acofriose و O-hexuronosy l-rhamnose (Aldobiuronic acid) ساخته شده است. تصور می‌شود که این ترکیبات اجزای مربوط به خواص درمانی *Spirulina* هستند. *Spirulina* شامل مواد معدنی ضروری مانند: کلسیم، آهن، منیزیم، منگنز، پتاسیم، روی، فسفر و سلنیوم است. این جلبک منبع بسیار مناسبی از آهن است و حدود ۲۰ برابر بیشتر از جوانه گندم آهن دارد. ویتامین‌های موجود در *Spirulina*: B_1، B_2، B_6، B_3، B_9، B_{12}، C، D و E هستند. محتوای بتاکاروتن در *Spirulina* به‌طور غیرمعمولی زیاد است و حدود ۳۰ برابر بیشتر از هویج است. *Spirulina* به‌طور استثنایی سرشار از ویتامین B_{12} است که به‌طور معمول در رژیم های گیاه‌خواری وجود ندارد، زیرا هیچ میوه، سبزی، دانه یا حبوباتی حاوی آن نیست. *Spirulina* چهار برابر بیشتر از جگر خام ویتامین B_{12} دارد که قبلاً بهترین منبع این ماده مغذی به حساب می‌آمد. *Spirulina* حاوی حدود ۱۳/۶٪ کربوهیدرات شامل گلوکز، رامنوز، مانوز، زایلوز و گالاکتوز است. ایمولینا (Immulina)، یک پلی‌ساکارید با وزن مولکولی بالا که منجر به تحریک سیستم ایمنی بدن از طریق افزایش بیان چموکین (chemokine) در سلول‌های THP-1 مونوسیت انسانی می‌شود، از *Spirulina* جدا شده است. این پلی‌ساکارید بسیار در آب محلول بوده و حلالیت ۰/۵تا ۲ درصد را نشان می‌دهد (Ragaza *et al*., 2020).

رنگدانه‌های *Spirulina*: *Spirulina* دارای سه گروه رنگدانه فتوسنتزی است: ۱-کلروفیل: ۱/۷ درصد از وزن مواد آلی را تشکیل می‌دهد. ۲-کارتنوئید و گزانتوفیل‌ها که ۰/۵ درصد مواد آلی را شامل است. ۳- دو نوع فیکوبیلی پروتئین فیکوسیانین و آلوفیکوسیانین که حدود ۲۹ درصد پروتئین سلولی و چربی‌های غالب در *Spirulina* را تشکیل می‌دهد که از ترکیبات گالاکتوسیل- دی‌گلیسیرید و فسفاتیدیل-گلیسرول هستند. فیکوسیانین از ارزشمندترین رنگدانه‌های *Spirulina* است که در بازار تجاری بیش از ۱۰ میلیون تومان ارزش دارد (Dasgupta, 2015).

سیانوباکترها انرژی نور را به‌وسیله مجموعه‌ای از مولکول‌های رنگدانه که به‌عنوان فیکوبی‌لیزوم (PBPs) نامیده می‌شود و نزدیک به مراکز واکنش قراردارند، به دام می‌اندازند. در این مراکز، کلروفیل مراحل انتقال انرژی را با بالاترین بازده کوانتومی انجام می‌دهد. فیکوبیلیزوم، گیرنده دریافت نور از فتوسیستم سیانوباکتری است که از مولکول‌های رنگدانه فتوسنتز اصلی (فیکوبیلی‌پروتئین‌ها) تشکیل شده است. این بیلی‌پروتئین‌ها نور مرئی را در محدوده ۴۵۰ تا ۶۷۰ نانومتر جذب می‌کنند (Six *et al*., 2007).

از دیدگاه تکاملی PBPs، گروهی از پروتئین‌های رنگی هستند که در سیانوباکترها و جلبک‌ها قرار وجود دارند. براساس رنگ، حداکثر جذب و انرژی بیلین‌ها، به سه گروه اصلی تقسیم می‌شوند:

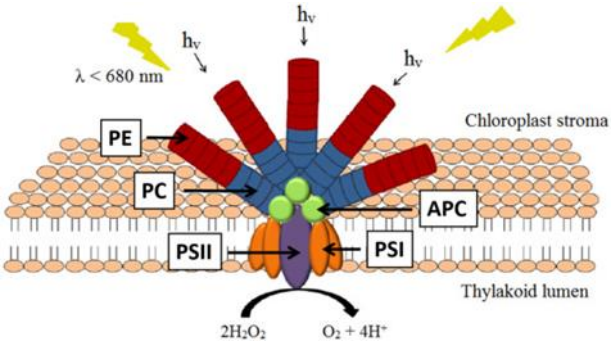
۱- فیکواریترین با انرژی بالا (PE)، نور صورتی (λ ۵۴۰-۵۷۰ max nm).

۲- فیکوسیانین با انرژی حد واسط (PC)، آبی کبالتی (۶۲۰- λ max nm۶۱۰).

۳- آلوفیکوسیانین با انرژی کم (APC)، آبی روشن تر (۶۵۵- λ max nm۶۵۰).

به‌صورت شماتیک یک فیکوبیلیزوم یک هسته مرکزی با سه استوانه (میله‌های آنتن مانند فیکوبیلیزوم) که شامل APC در مرکز، CPC در میانه و PE/PEC در رأس است، می‌باشد. انرژی نورانی از نوک به هسته و به‌طور خاص به مرکز واکنش منتقل می‌شود (شکل ۵).

بیوسنتز فیکوبیلین‌ها از طریق مسیر بیوسنتز هِم ادامه می‌یابد. محصول نهایی هِم، توسط اکسیژنازهای هِم شکسته می‌شود تا بیلی‌وردین IXα حاصل شود که متعاقباً توسط آنزیم‌های خانواده FDBRs احیاء می‌شود. فیکوسیانوبیلین فرودوکسین اکسیدوردوکتاز (PCYA, EC 1.3.7.5) عضو خانواده ردوکتازهای بیلین وابسته به فرودوکسین است (FDBRs) که شامل آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز گروه‌های پروستتیک تتراپیرول خطی در فیکوبیلی‌پروتئین‌ها، فیتوکروم‌های گیرنده نور و آنزیم‌های مسیر کاتابولیسم کلروفیل

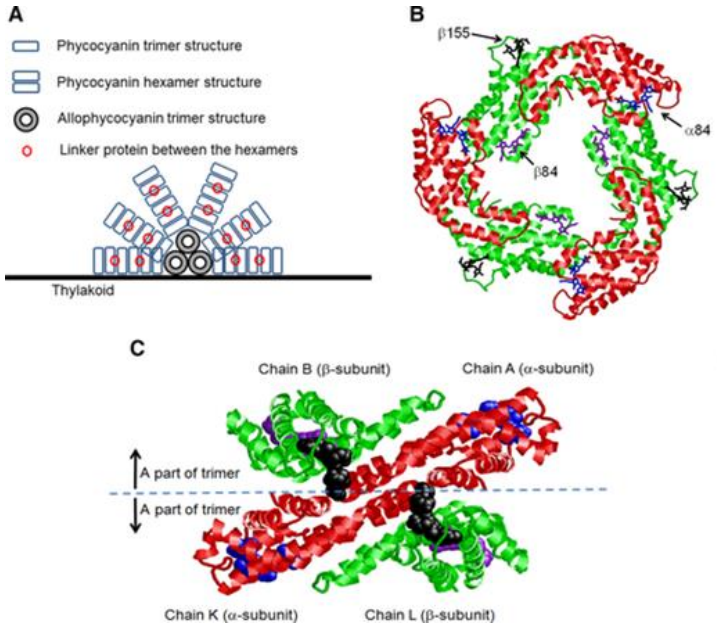


شکل ۵- ساختار phycobilisome (PBS)، مجموعه‌های جمع‌کننده نور در سیانوباکتری‌ها و جلبک‌های قرمز PBSها از صدها ترکیب ظاهراً مشابه شامل کروموفورها و پروتئین تشکیل شده‌اند. آنها طوری آرایش یافته‌اند که انتقال بسیار کارآمد انرژی را امکان‌پذیر می‌کند. در یک فیکوبیلی‌زوم آبشار انرژی از phycoerythrin (PE)، استوانه‌های قرمز به فیکوسیانین (PC، استوانه‌های آبی) و آلوفیکوسیانین (APC، کره سبز) و سرانجام به مرکز واکنش در سیستم‌های فتوسیستم II (بیضی بنفش) و I (بیضی نارنجی) جریان دارد (Guan *et al.*, 2007).

است. این خانواده آنزیمی را می‌توان به‌عنوان ردوکتازهای وابسته به NADPH و فرودوکسین و با خاصیت اختصاصی احیا پیوند دو گانه بیلی‌وردین شناسایی کرد. منحصراً در بین خانواده‌ای از آنزیم‌ها که واسطه احیا دو الکترون سوبسترای بیلین هستند، PcyA منجر به احیا چهار الکترون بیلی‌وردین می‌شود (Frankenberg and Lagarias, 2003).

در ابتدا با احیا دو الکترون واسطه پایدار $18^1,18^2$ دی هیدرو بیلی وردین ایجاد می‌شود. احیا بعدی در نزدیکی حلقه A همانند مسیر مشابه دو مرحله‌ای رخ می‌دهد که پروتون‌های سوم وچهارم نقش دارند و منجر به ایجاد 3Z/3E-PCB می‌گردد. احیاء حلقه D گروه اگزووینیل قبل‌تر از حلقه A گروه اندووینیل است (Tu *et al.*, 2004). بیان برخی ژن‌های دخیل در بیوسنتز توسط نور تنظیم می‌شود. شدت نور کم باعث تحریک سنتز C- فیکوسیانین و سایر رنگدانه‌ها می‌شود، درحالی‌که سنتز رنگدانه در شدت نور زیاد، سرکوب می‌گردد (Ohta *et al.*, 2003).

ساختار مولکولی فیکوسیانین: فیکوسیانین از زبان یونانی که در آن Phyco به معنی جلبک و Cyan از واژه انگلیسی به معنای سبز آبی که خود از واژه یونانی Kyanos به معنی آبی تیره، آمده است. فیکوسیانین از خانواده فیکوبیلی‌پروتئین‌ها است و در رودوفیت‌ها، سیانوباکترها و کریپتوفیت‌ها یافت می‌شود، در سطح غشا تیلاکوئید تجمع می‌یابد و رنگدانه کمکی برای کلروفیل *a* است (Singh *et al.*, 2015). عملکرد اصلی فیکوسیانین انتقال انرژی تحریک به واکنش مرکزی است که حداکثر طول‌موج جذب نزدیک به ۶۲۰ نانومتر است. فیکوسیانین خاصیت فلورسنتی (بیشینه طول‌موج تابشی در ۶۴۰ نانومتر) دارد (Fernandez-Rojas *et al.*, 2014). در جلبک‌های *Spirulina*، فیکوسیانین استخراج‌شده به رنگ زیبای سبز- آبی خود را نشان می‌دهد. این رنگدانه، هترودایمرهای متشکل از زیر واحد α و β هستند که وزن مولکولی آن‌ها به‌ترتیب ۱۷ و ۱۹ کیلودالتون است و کروموفورهای مربوطه آن‌ها از طریق پیوند تیواتری متصل شده است (شکل ۲). مونومر αβ متشکل از ۳۳۲ اسیدآمینه و ۳ تا پیوند تیواتری فیکوسیانوبیلین (PCB) به‌صورت تیواتری است. هر دو زیر واحد α و β دارای یک PCB در آمینواسید ۸۴ هستند، اما زیر واحد β دارای یک PCB اضافی در موقعیت ۱۵۵ نیز هست. این PCB اضافی روبه بیرون حلقه سه‌بعدی است و بنابراین در انتقال انرژی بین میله‌ای در مجموعه Phycobilisome نقش دارد. علاوه بر کوفاکتورها، بسیاری از فعل و انفعالات غیرکووالانسی قابل پیش‌بینی با حلال اطراف (آب) وجود دارد که فرضیه‌ای برای کمک به ثبات ساختاری است. طبق یافته‌های Scheer و Zhao (۲۰۰۸)، زنجیره آلفا از طریق سیستئین ۸۴ به یک PCB و زنجیره بتا بواسطه دو اتصال سیستئین ۸۴ و ۱۵۵ از طریق اتصالات تیواتر به دو PCB



شکل ۶- تصویر شماتیک فیکوبیلی‌زوم، ساختارهای سه بعدی C(αβ)۶ - فیکوسیانین جداشده از سیانوباکتریوم *Fremyella diplosiphon* و قسمتی هگزامر که در آن دو تریمر به یکدیگر متصل شده‌اند. در (A) ، فرم تریمر که مطابق با (B) است توسط مستطیل (آبی تیره) و پروتئین پیونددهنده‌ای که هگزامرها را متصل می‌کند با دایره قرمز نشان داده شده است. پروتئین‌های پیونددهنده دیگری بین آلوفیکوسیانین-ها که هسته فیکوبیلیزوم‌ها را تشکیل می‌دهند، بین میله و هسته و بین هسته و غشای تیلاکوئید وجود دارد. با این حال، آنها در (A) حذف شده‌اند. کمپلکس‌های مراکز واکنشی در داخل غشای زیرهسته‌ها قرار دارند. در (B) و (C)، زیر واحد α (قرمز) و β-زیرواحد (سبز) با استفاده از مدل روبان ترسیم شده‌اند. کروموفورها، α84 (آبی)، β84 (بنفش) و β155 (سیاه)، توسط مدل گوی و میله ترسیم شده‌اند. در (C)، نشان داده می‌شود که چگونه زیر واحدهای α و β متعلق به یک تریمر با زیر واحدهای α و β متعلق به یک تریمر دیگر متصل می-شوند (Kikuchi, 2021).

متصل می‌شود (Scheer and Zhao, 2008) درحالی‌که، تانگ (۲۰۱۲) توصیف کرد که به سیستئین ۱۹۵ متصل است (Tang *et al.*, 2012) و Shen (۲۰۰۶) اظهار داشت که PCBها به سیستئین ۸۲ و ۱۵۳ متصل هستند (Shen *et al.*, 2006). هر دو زنجیره دارای ساختار α هلیکس هستند و مشابه ساختارهای سه بعدی در بین همه موجودات هستند. با توجه به ساختار اولیه، زیر واحد α دارای دو سیستئین و دو باقی‌مانده متیونین است. زیر واحد β شامل سه سیستئین و پنج رزیدوی متیونین می‌باشد (Fernandez-Rojas *et al.*, 2014).

هر زیر واحد معمولاً از هشت مارپیچ α تشکیل شده است. مونومرها به‌طور خود به خود جمع می‌شوند و تریمرهای حلقه‌ای شکل (αβ)3 را تشکیل می‌دهند که دارای تقارن چرخشی و یک کانال مرکزی هستند. تریمرها به‌صورت جفت جمع می‌شوند و هگزامر (αβ)6 را تشکیل می‌دهند. هر میله فیکوبیلی‌زوم به‌طور کلی دارای دو یا چند هگزامر فیکوسیانین است. در بعضی مواقع فیکوسیانین به‌صورت دکامر هم دیده می‌شود. مونومر فیکوسیانین توسط زنجیره های α و β تشکیل می‌شود، این زنجیره‌ها به‌طور طبیعی به‌عنوان ترایمر (α3β3) یا هگزامر (α6β6) تجمع می‌یابند، در اصل هگزامر فرم کاربردی و عملکردی فیکوسیانین است و معمولاً بلوک‌های جذب نور را در مجموعه آنتن‌ها ایجاد می‌کند. α3β3 از نه (۹) واحد PCB تشکیل شده است که توسط سه قسمت مساوی در کنار هم تجمع یافته‌اند (Kikuchi, 2021). وزن مولکولی زیر واحدها بسته به منبع جلبک و روش‌های استخراج و تخلیص‌سازی متفاوت است. زیر واحد α بین ۱۳ تا ۲۰/۵کیلو دالتون و زیر واحد β بین ۱۱ تا ۲۴/۴ کیلو دالتون تا کنون

گزارش شده است (شکل ۶).

بانک داده پروتئین، وزن مولکولی فیکوسیانین بدست آمده از *Spirulina maxima* را ۱۲۱ کیلو دالتون گزارش داده است (البته تریمر α3β3). براساس پایگاه‌های داده، آپوپروتئین حاوی ۲۰ آمینواسید است و فعالیت فلورسنت فیکوسیانین را تأمین می‌کند. علاوه بر این، این ماده می‌تواند Fe^{2+} و Hg^{2+} را نیز شلاته کند. تریمرهای فیکوسیانین دارای دیسکی به قطر ۱۱ نانومتر، ضخامت ۳ نانومتر و یک حفره به قطر ۳/۵ نانومتر در مرکز هستند (Fernandez-Rojas *et al.*, 2014).

فیکوسیانین‌ها بسته به نوع کروموفور متصل‌شونده به سه نوع C – فیکوسیانین (بدست آمده از سیانوباکترها)، R-PC (بدست آمده از جلبک‌های قرمز) و R-PCII (بدست آمده از گونه‌های *Synechococcus*) طبقه‌بندی می‌شود.C – فیکوسیانین که شامل یک PCB می‌باشد (λ max۶۲۰nm) ، R-PC II که شامل ۲ تا PEB (فیکواریتروبیلین) در موقعیت α-84 و β-155 و PCB در موقعیت β-84 است (λ max۵۴۰nm) و R-PCIII یک فیکوسیانین نوری غیرمعمول است که شامل (PEB، فیکواریتروبیلین) و (PCB، فیکوسیانوبیلین) با نسبت مولاریته ۲:۱ است (Singh *et al.*, 2015). فیکوبیلی‌پروتئین‌ها جزء فراوان‌ترین پروتئین‌ها در بسیاری از سیانوباکترها و جلبک‌ها هستند. با این حال، فرض بر این است که فیکوبیلی پروتئین‌ها برای عملکرد سلول ضروری نیست زیرا در صورت کم‌شدن نیتروژن تخریب می‌شود. بنابراین فیکوبیلی‌پروتئین‌ها به‌عنوان منبع ذخیره نیتروژن نیز در نظر گرفته می‌شود. خلوص فیکوسیانین براساس نسبت جذب A620/A280 ارزیابی می‌شود. میزان جذب در ۶۲۰ و ۲۸۰ نانومتر به‌ترتیب با فیکوسیانین و پروتئین کل مطابقت دارد. اگر این نسبت کمتر از ۰/۷ باشد، خلوص فیکوسیانین مناسب برای مواد غذایی (Food Grade) است. و اگر این نسبت بین ۰/۷ تا ۳/۹ باشد، خلوص فیکوسیانین در حد معرف (Reagent Grade) است. در صورتیکه نسبت بالاتر از ۴ در حد کاربرد آنالیزی (Analytical Grade) خواهد بود (Fernandez-Rojas *et al.*, 2014).

عملکرد فیکوسیانین به‌عنوان مولکول آنتی‌اکسیدان: همه سلول‌های زنده که در تماس با اکسیژن هستند، علی‌رغم پروکاریوت یا یوکاریوت بودن، گیاهی یا جانوری بودن، تک سلولی یا پرسلولی بودن، در شرایط عادی و طی متابولیسم نرمال و همچنین طی بسیاری از تنش‌های زیستی و غیرزیستی رادیکال‌های آزاد تولید می‌شوند. الکترون‌ها اغلب در اوربیتال اتمی مولکول‌ها جفت هستند و گونه‌هایی که یک یا چند الکترون جفت‌نشده دارند رادیکال آزاد نام دارند. با این تعریف اکسیژن رادیکالی آزاد است، زیرا دو الکترون جفت‌نشده دارد که هر یک در اوربیتال غیرپیوندی با π^* متفاوتی با تعدادی کوانتوم یکسان که در یک جهت می‌چرخند، قرار دارد. یک رادیکال آزاد می‌تواند دارای بار مثبت، منفی یا خنثی باشد. هر چهار گونه اکسیژن فعال ($^1O_2$، $O_2^{\cdot-}$، $^{\cdot}OH$، H_2O_2) به‌طور طبیعی در بخش‌های مختلف سلولی تولید می‌شوند و می‌توانند خیلی خطرناک باشند این رادیکال‌ها به شدت واکنش‌پذیر بوده و به مواکول‌های زیستی آسیب می‌زنند از جمله این آسیب‌ها پراکسیداسیون چربی‌ها، دناتوره‌شدن (Denaturation) پروتئین‌ها و جهش در DNA است. اساساً رادیکال‌های آزاد، فراورده جانبی متابولیسم سلولی هستند. از اینرو همه سلول‌ها طی تکامل خود را مجهز به ابزاری برای سم‌زدایی، تعدیل و یا مقابله با رادیکال‌های آزاد نموده‌اند.

برای مثال گیاهان و جلبک‌ها موفق به بهره‌برداری از دو گروه سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی شده‌اند. آنتی‌اکسیدان‌ها با جلوگیری از عمل رادیکال‌های آزاد آسیب‌رسان به مولکول‌های زیستی نقش مهمی در کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ایفا می‌کنند. عدم تعادل بین سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی و تولید ROS را تنش اکسیداتیو می‌نامند.

الف) سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شامل آنزیم‌های جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد همچون پراکسیداز (POX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) است. این آنزیم‌های پاکسازی سبب سمیت‌زدایی اکسیدان‌های فعال می‌شوند. بدین صورت که

سوپراکسیدهای ایجادشده و یا رادیکال‌های آزاد با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) واکنش می‌دهد و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تشکیل می‌شود. ترکیب اخیر رادیکال‌های هیدروکسی را به وجود می‌آورد. رادیکال‌های هیدروکسی مهمترین اکسیدان‌های بیولوژیکی شناخته شده‌اند که به سرعت و با کارایی بالایی از طریق پراکسیداسیون چربی موجبات تخریب غشاهای سلولی را فراهم می‌آورند. به این صورت که رادیکال‌های آزاد به اسیدهای چرب اشباع‌نشده غشا حمله می‌کنند و با جدا کردن اتم هیدروژن فرو می‌نشینند. چون هر اتم هیدروژن فقط یک الکترون دارد، روی هر اتم کربن یک الکترون جفت‌نشده باقی می‌گذارد. این رادیکال کربن (چربی) به‌سرعت با اکسیژن واکنش نشان می‌دهد و رادیکال هیدروپروکسی تولید می‌کند که این ترکیب می‌تواند اتم‌های هیدروژن را از مولکول‌های چربی غیراشباع دیگر جدا کند، و به این طریق واکنشی زنجیره‌ای از پراکسیددار کردن چربی شروع می‌شود. درنهایت، همه اسیدهای چرب غیراشباع تیلاکوئید به مالون دی‌آلدهید و اتان تجزیه می‌شوند و ساختار تیلاکوئید مجاور به‌تدریج باز شده و متلاشی می‌شود. مکانیسم‌های سلولی سطوح پایین ملکول‌های تنش‌زای اکسیداتیو نظیر سوپراکسید و پراکسیدها را مهار می‌کنند و بدین ترتیب آسیب اندکی به غشاهای سلولی وارد می‌شود (Blokhina *et al*., 2003).

ب) سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی شامل ویتامین‌ها (ویتامین E یا توکوفرول، ویتامین C و ویتامینA) یوبی‌کینون (کوآنزیمQ۱۰) گلوتاتیون و آسکوربات، برخی رنگدانه‌ها مانند کاروتنوئیدها (بتاکاروتن، لیکوپن و لوتئین)، آنتوسیانین‌ها و فیکوسیانین‌ها، ترکیبات فنلی (از قبیل فلاوونوئیدها و لیگنان) هستند. بیش از ۷۰۰ رنگدانه پلی‌فنلی در خانواده فلاونوئیدها وجود دارد. برخی از آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی محلول در آب و برخی محلول در چربی هستند.

فیکوسیانین‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان (محلول در آب) قادر به جلوگیری از تولید ROS و یا نابودی آنها هم در سلول‌های تولیدکننده آن (سیانوباکترها) و هم در سلول‌های مصرف‌کننده و تیمارشده با آن (سلول‌های جانوری) هستند.

C- فیکوسیانین می‌تواند رادیکال‌های آلکیل، هیدروکسیل و پراکسیل را در محیط آزمایشگاه به‌صورت واکنش با پروکسی نیتریت $ONOO^-$ و اسید هیپوکلرروس (HOCL) از بین ببرد. اعتقاد بر این است که پراکسیداسیون لیپیدها به‌واسطه آنیون سوپراکسید دلیل مهمی در تخریب و آسیب به غشای سلول است، زیرا یک رویداد ساده می‌تواند منجر به تبدیل صدها زنجیره جانبی اسیدهای چرب به پراکسیدهای لیپید شود که باعث تغییر در ساختارهای بیوشیمیایی غشاها می‌گردد (Ohta *et al*., 2003). رادیکال‌های آزاد مضر مانند آنیون سوپراکسید، هیدروکسیل، آلکوکسیل و رادیکال‌های پراکسیل به‌دلیل احیاء جزئی برخی از مولکول‌های اکسیژن در میتوکندری‌ها، در بافت‌های مختلف تولید می‌شوند. در بافت‌های مختلف (کبد، ریه، مغز) یک زنجیره انتقال الکترون از NADPH به آب، (با قراردادن یک اتم اکسیژن در بسترهای زنوبیوتیک) رخ می‌دهد که از سیتوکروم P_{450} به‌عنوان گیرنده الکترون استفاده می‌کنند. الکترون‌های بدون استفاده در زنجیره در غیاب سوبسترا، سوپراکسید، آنیون سوپراکسید و سایر رادیکال‌های آزاد مخرب مختلف را تولید می‌کند. تجویز مواد شیمیایی هپاتوتوکسیک، نفروتوکسیک و نوروتوکسیک منجر به تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود (Safari *et al*., 2020).

در سال ۱۹۹۸محققان کوبایی برای اولین بار فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین را توصیف کردند (Romay *et al*., 1998). دانشمندان مشخص کردند که فیکوسیانین قادر به حذف رادیکال هیدروکسیل، رادیکال آلکوکسیل و آنیون سوپراکسید است. فیکوسیانین همچنین قادر به مهار واکنش پراکسیداسیون لیپیدها بود. علاوه بر این آنها برای اولین بار خصوصیات ضدالتهابی فیکوسیانین را توصیف کردند. کمی بیشتر طول کشید تا محققان دیگر در سراسر جهان نتایج قبلی را تأیید یا کشف کنند که فیکوسیانین اکسیژن منفرد، اسید هیپوکلروس، رادیکال پراکسیل، پراکسی نیتریت، اکسید نیتریک و پراکسید هیدروژن را احیاء می‌کند (شکل ۴). فیکوسیانین

همچنین می‌تواند رادیکال‌های غیرطبیعی ۲،۲-آزینوبیس (3-ehtylbenzothiazolin-6-sulphonic acid)، نمک دی‌آمونیوم ($ABTS^{\bullet+}$) و ۱و۱ دی فنیل-۲- پیکریل هیدرازیل (DPPH) را از بین ببرد (Fernandez-Rojas *et al*., 2014).

تاکنون، برخی مکانیسم‌ها برای توضیح چگونگی خنثی‌سازی ROS توسط فیکوسیانین پیشنهاد شده است. هر دو جزء پروتئینی و غیرپروتئینی فیکوسیانین درگیر خنثی‌سازی مولکول‌های اکسیدان هستند ۹ بخش آپوپروتئینی با استفاده از متانول و عوامل دناتوره‌کننده مانند سدیم دودسیل سولفات (SDS)، اوره و تریپسین برای آزمایش توان آنتی‌اکسیدانی قابل جداسازی است. از این عوامل برای اثبات اینکه آپوپروتئین به فعالیت مهار اکسیدان‌ها کمک می‌کند استفاده شده است. به نظر می‌رسد، تغییر pH از ۷ به ۱۱ باعث افزایش فعالیت آپوپروتئین برای مهار رادیکال هیدروکسیل شد زیرا تغییرات بار، کونفیگوراسیون پروتئین را اصلاح کرد (Fernandez-Rojas *et al*., 2014).

فیکوسیانوبیلین اکثر رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برد. رادیکال اکسیژن با اکسیداسیون پیوندهای دوتایی تتراپیرول فیکوسیانوبیلین خنثی می‌شود. برای تعیین فعالیت مهاراکسیدانی فیکوسیانین از روش‌های متنوعی استفاده می‌شود که می‌توان به روش‌هایی از جمله ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن (Oxygen Radical Absorbance Capacity) (ORAC)، اکسیداسیون یون آهن زایلنول نارنجی (Ferrous Xylenol Orange Ion Oxidation) (FOX)، توانایی احیاء آهن از روش پلاسما (Ferric Reducing Ability of Plasma) (FRAP)، سنجش قدرت احیاکنندگی و سطوح اکسیژن واکنش‌پذیر درون سلولی با استفاده از ′۲، ′۷ دی-کلروفلوئورسئین دی‌استات (Reducing Power Assay and Intracellular Reactive Oxygen Levels Using (DCFH-DA) (2′ ,7′ Dichlorofluorescein Diacetate اشاره کرد. در طی فعالیت مهار آنتی‌اکسیدانی فیکوسیانین، رنگ آن به‌تدریج محو می‌شود و میزان جذب آن در ۶۲۰ نانومتر کاهش می‌یابد، همچنین شدت فلورومتری آن از بین می‌رود و دو باند تقریباً ۶۴۰ نانومتری مشاهده می‌شود. در شرایط مختلف نور، فیکوسیانین دارای عملکرد دوگانه است، می‌تواند رادیکال هیدروکسیل ($^{\bullet}OH$) تولید کند، درحالی‌که در تاریکی آنها را به دام می‌اندازد. با افزایش غلظت فیکوسیانین، تولید ROS خنثی می‌شود. با این حال، نشان داده شد که نور آبی به‌دلیل القای تغییر ساختاری در زنجیره‌های α و β باعث تغییر سیستئین‌ها، فعالیت مهار آنتی‌اکسیدانی را در برابر رادیکال‌های هیدروکسیل، هیپوکلروس اسید، DPPH و همچنین در روش‌های ORAC و FRAP افزایش می‌دهد (Fernandez-Rojas *et al*., 2014).

گزارش شده که فیکوسیانین قادر به محافظت از گلبول‌های قرمز انسان در برابر لیز ناشی از رادیکال‌های پراکسیل است (Li *et al*., 2019). در آزمایشی ۱۲ الی ۷۵ میلی‌مول فیکوسیانین، به روش مشابه اسید آسکوربیک، رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند. براساس مقادیر IC_{50}، ثابت شد که فیکوسیانین تقریباً ۲۰ برابر بیشتر از اسید آسکوربیک کارآمدتر است. کبد عضو اصلی بدن است که در آن مواد شیمیایی برون‌زا متابولیزه شده و درنهایت دفع می‌شود. درنتیجه، کبد در معرض غلظت بالای این مواد شیمیایی است که ممکن است منجر به اختلال در عملکرد کبد، آسیب سلول و حتی نارسایی عضو شود. یکی از این عوامل سمی CCl_4 است که توسط سیتوکروم P_{450} به رادیکال تری‌کلرومتیل ($^{\bullet}CCl_3$) متابولیزه می‌شود تا پراکسیداسیون لیپید آغاز شود. افزایش دوز فیکوسیانین از آسیب کبدی ناشی از CCl_4 جلوگیری می‌کند که با تضعیف فعالیت‌های آنزیمی آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) مشهود بود. غلظت و فعالیت بالای این دو آنزیم نشان‌دهنده آسیب به کبد و ماهیچه‌هاست و اندازه‌گیری سطح این دو آنزیم برای بررسی وضعیت سلامت کبد انجام می‌شود.

فیکوسیانین همچنین می‌تواند گونه‌های اکسیژن فعال تشکیل‌شده در سلول‌های مغزی را که باعث بروز سکته می‌شوند را مهار کند. فیکوسیانین به‌طور مستقیم با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد مخرب، ترمیم زخم را

طی مکانیزم تحریک کراتینوسیت (Keratinocyte) افزایش می‌دهد (Lee *et al.*, 2013).

تولید و استخراج فیکوسیانین: یافتن روش‌های راهبردی و کم هزینه برای کشت و بیش تولید فیکوسیانین از منابع طبیعی آن مانند *Spirulina*، کمک بزرگی به تولید و فراوری‌کنندگان آن برای مصارف پزشکی، دارویی و صنعتی خواهد بود (Setyoningrum and Nur, 2015).

جهت کشت *Spirulina* به‌صورت انبوه، به مقدار زیادی نور، مواد مغذی و دمای نسبتاً بالا نیاز است. درنتیجه تأسیسات تولیدی در مناطق گرمسیری یا نیمه‌گرمسیری جهان واقع شده‌اند که هم شدت و هم مدت تابش نور خورشید زیاد است و دما نیز به اندازه کافی بالا است تا تولید را در طول سال امکان‌پذیر کند. یافتن چنین مکان‌هایی دشوار است، اما برای تولید اقتصادی *Spirulina* با کیفیت بالا الزامی است. عملاً هیچ تأسیساتی در جهان وجود ندارد که درجه حرارت مطلوب را در تمام طول سال فراهم کند. از شروط دیگر کشت *Spirulina* به‌صورت انبوه حداقل میزان بارش است که معمولاً مناطقی که امکان پرورش *Spirulina* در طول سال میسر است، باران‌های فصلی دارد و این امر تأثیر منفی در مراحل کشت ایجاد می‌کند. درنتیجه بالاترین بازده به‌طور میانگین ۷ ماه از سال است. برای پیشگیری از این امر می‌توان پارامترهای حوضچه‌ها و محیط‌کشت را دستکاری کرد تا اثرات آن بر عملکرد و کیفیت کشت به حداقل برسد یا خنثی شود. مسأله دیگری که با شرایط آب‌وهوایی گرم و خشک در ارتباط است، تبخیر از حوضچه‌هایی است که باید با آب شیرین دوباره پر شود، درنتیجه محدودیت بیشتری در راه‌اندازی تأسیسات وجود دارد. در اقلیم‌های بیابانی معمولاً شرایط آب‌وهوایی را ایجاد می‌کنند که منجر به عملکرد بالاتر و کیفیت ثابت محصول می‌شود. محیط‌کشت مناسب، محیطـــی است که بتواند تمام عناصر مورد نیاز را در مقادیر مناسب در اختیار ریزجلبک قرار دهد. عوامل شیمیایی مؤثر یا مواد لازم جهت ساخت محیط‌کشت به دو دسته عناصـر پرمصـرف، (ماکرونوترینـت) و عناصـر کـم مصـرف، (میکرونوترینت) تقسیم می‌شوند. عوامل با مقدار بالا غلظت‌هایی در حد میلـی‌مولار در محیط‌کشت باید وجود داشته باشند تا ریزجلبک بتواند برای رشد خود از آن استفاده کند. از جمله این عوامل می‌توان به منابع کربن آلی یا معدنی (گلوکز، اسـتات و...)، نیتـروژن، عوامل شلاتور، فسفر، سولفور، کلسیم، منیزیم و پتاسیم اشاره کرد. عناصر کم مقدار به‌عنوان کوفاکتور و تنظـیم‌کننـده فشـار اسمزی داخل سلول، به محیط‌کشت اضافه می‌شوند. این عوامـل شـامل سـیلیکون، کبالـت، آهـن، بـور، مـس، روی، منگنـز، هالوژن‌ها و ویتامین‌ها هستند (Soni *et al.*, 2017).

معادله شماره یک برای تعیین میزان فیکوسیانین از میزان رشد بیومس سیانوباکتری به‌کار می‌رود (Fernandez-Rojas *et al.*, 2014). جذب ۶۲۰ نانومتر مربوط به فیکوسیانین و جذب ۶۵۲ نانومتر مربوط به آلوفیکوسیانین است.

معادله ۱:

$$[PC] = \frac{O.D.620nm - 0.474\ (O.D.652nm)}{5.34}$$

Kuddus و همکاران (۲۰۱۳) روش‌های مختلف تولید فیکوسیانین از جمله تولید فتواتوتروف، میکسوتروف، هتروتروف و تولید نوترکیب را جمع‌آوری و معرفی کرد (Kuddus *et al.*, 2013).

در روش تولید فتواتوتروف تولید C – فیکوسیانین در فضای باز است که توسط محیط‌کشت‌های فوتواتروفیک جهت رشد سیانوباکترها در استخرهای باز مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری انجام می‌پذیرد. *Spirulina* معمولاً به‌عنوان میزبان تولید C – فیکوسیانین به‌دلیل در دسترس‌بودن بسیار زیاد آن و به‌دلیل کیفیت خاص C – فیکوسیانین، انتخاب شده است. تعداد کمی از میکرو ارگانیسم‌ها هستندکه می‌توانند در استخرهای آزاد پرورش یابد بدون اینکه توسط ارگانیسم‌های دیگر آلوده شوند.

در روش تولید میکسوتروف کشت میکسوتروفیک جلبک سبز- آبی *Spirulina* در یک راکتور محصور انجام می‌شود که دارای منبع کربن آلی مانند گلوکز است. نتایج کشت میکسوتروفیک، در مقایسه با کشت‌های فوتواتوتروفیک، رشد سریعتر و افزایش حداکثر غلظت زیست‌توده است. بهره‌وری

تولید C – فیکوسیانین در محیط‌کشت‌های درونی میکسوتروفیک نسبت به محیط‌کشت‌های بیرونی فوتواتوتروفیک *Spirulina*، بیشتر است.

در روش تولید هتروتروف فرآیندهای میکروبی هتروتروف توسط شدت نور موجود، محدود نمی‌شوند و این روش پتانسیل تولید بسیار بالاتری نسبت به فرآیندهای فقط وابسته به نور را دارد. چون مسئله نور مطرح نیست، بنابراین رعایت نسبت سطح به حجم اجباری نیست. جلبک قرمز تک‌سلولی، *Galdieria sulphuraria*، گزینه مناسب برای تولید هتروتروف C –فیکوسیانین است. *G. sulphuraria* حاوی مقدار زیادی C – فیکوسیانین و مقدار جزئی آلوفیکوسیانین است. زیستگاه طبیعی آن چشمه‌های آب گرم و اسیدی است، بنابراین شرایط رشد بهینه در دمای بالاتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد را دارد و قادر است از منابع مختلف کربن استفاده کند. سویه‌هایی از *Spirulina* هم می‌توانند در تاریکی روی گلوکز و فروکتوز به‌صورت هتروتروفی رشد کنند.

در روش تولید نوترکیب تولید پروتئین نوترکیب گزینه‌ای برای سنتز هتروتروف C – فیکوسیانین است. تولید هولوپروتئین چند زنجیره فیکوبیلی پروتئین، چالش برانگیزتر از تولید سایر پروتئین‌های نوترکیب است. سنتز کامل فیکوبیلی پروتئین به بیان همزمان زنجیره‌های α و β و همچنین سنتز موازی و درج صحیح فیکوبیلین‌ها بستگی دارد. به منظور بهره‌برداری از این رنگدانه طبیعی، C – فیکوسیانین باید از فیکوبیلیزوم استخراج و تصفیه شود. استخراج فیکوبیلی‌زوم‌ها از سیانوباکترها به‌دلیل دیواره سلول بسیار مقاوم و اندازه کوچک باکتری‌ها، عمل بسیارسختی است، اما روش‌های متعددی برای انجام آن وجود دارد که نسبت به هر رنگدانه متفاوت است (Kuddus *et al*., 2013).

پروتکل‌های مختلفی برای استخراج فیکوسیانین وجود دارد. C – فیکوسیانین در بافر ۰/۱ مولار فسفات خنثی و یا در بافر ۰/۵ مولار $(NH_4)_2SO_4$ استخراج می‌شود. استفاده از زیست‌توده خشک‌شده در دمای پایین، برای استخراج C – فیکوسیانین مناسب‌تر است (Kuddus *et al*., 2013). ولی متداول‌ترین روش‌های استفاده‌شده در مقالات اخیر استخراج با کمک امواج التراسونیک (Ultrasound-Assisted Extraction (UAE))، یخ‌بستن – ذوب‌شدن ((Freeze-Thawing (FT))، استخراج با کمک مایکروویو (Microwave-Assisted Extraction (MAE))، سیستم دو فاز آبی (-Aqueous Two Phase System (ATPS))، پالس‌های الکتریکی (Pulsed Electric Fields (PEF)) است و استخراج مایعات تحت فشار (Pressurized Fluid Extractions) است. این تکنیک‌ها اغلب روی استخراج فیزیکی متمرکز شده‌اند، که سازگار با محیط زیست هستند و نیازی به استفاده از حلال‌های سمی ندارند و زباله‌های سمی تولید نمی‌کنند.

هنگام استخراج باید به شرایط نوری، دما و زمان نیز توجه داشت، زیرا فیکوسیانین به نور حساس است و باید در تاریکی نگهداری شود. در حقیقت، فیکوسیانین در نور مولد گونه‌های اکسیژن واکنشی می‌شود. همچنین، این پروتئین باید بین ۴ تا ۵ درجه سانتی‌گراد تخلیص شود زیرا به گرما حساس است، علاوه بر این درصد خلوص آن با گذشت زمان کاهش می‌یابد (Fernandez-Rojas *et al*., 2014).

کاربردهای فیکوسیانین

کاربردهای آنتی‌اکسیدانی در پزشکی: فیکوسیانین یک رنگدانه طبیعی با منشاء سیانوباکتریایی است که بخوبی می‌تواند نقش یک آنتی‌اکسیدان مفید و مؤثر را برای سلول‌های بدن ایفا کند. از اینرو C– فیکوسیانین توجه جامعه علمی را به خود جلب کرده است و هدف مطالعات بسیاری از محققان است. دلیل علاقه به تحقیق در مورد C – فیکوسیانین ، ارزش غذایی آن به‌عنوان یک پروتئین و خواص درمانی آن است که شامل فعالیت ضدتوموری و ضدسرطانی، ضدویروسی، ضد-باکتریایی، ضدالتهابی و هیپوکلسترولمیک، هیپولیپیدمی، هیپوگلیسمی، محافظت از کبد، تقویت سیستم ایمنی بدن، درمان سرطان‌های کبد، سینه، رکتوم، خون، ملانوم و درمان پروستات است. همچنین اثرات مثبت آن در درمان آلزایمر و پارکینسون و همچنین پیشگیری از آب مروارید، ایسکمی

مغزی، ورم آلرژیک غشای مخاط بینی و تحریکات عروقی، سرطان‌های پوستی، مخاطی و لوکمی مزمن میلوئیدی اثبات شده است (Patel *et al*., 2005).

اثر آنتی‌اکسیدانی C – فیکوسیانین به‌دلیل توانایی آن در از بین‌بردن رادیکال‌های آزاد و واکنش با سایر اکسیدان‌های مرتبط با پاتولوژی است. گونه‌های فعال اکسیژن عوامل اصلی فرآیندهای مهم پاتولوژیک از جمله التهاب، بیماری‌های عصبی، تصلب شرایین، دیابت، سرطان و فرآیندهای پیری هستند. نشان داده شده است که زیرواحدهای α و β آپوپروتئین و فیکوسیانوبیلین در این فرایند دخیل هستند (de Morais *et al*., 2018). Li و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که، زیرواحدهای α و β فیکوسیانین به‌صورت جداگانه هر کدام خواص آنتی‌اکسیدانی دارند ولی وقتی این دو زیر واحد با هم ترکیب شوند میزان اثربخشی آنتی‌اکسیدانی عدد بالاتری را نشان می‌دهد حتی از مجموع میزان اثر آنتی‌اکسیدانی زیرواحدها به‌صورت جداگانه منفرد (Li *et al*., 2019).

C– فیکوسیانین به راحتی قابل دستیابی است. ایمن، قابل‌حل در آب و غیرسمی بوده، بنابراین به‌عنوان دارو یا یک ماده غذایی کاربردی پتانسیل بالایی برای تحقیق و پیشرفت دارد. استفاده از C فیکوسیانین در سلول تومور انسانی می‌تواند چرخه سلولی را در فاز G0/G1 بلاک کرده و سنتز DNA را مسدود کند که حاکی از مهار تکثیر سلول تومور و مؤید ضدسرطانی بودن آن است (Liu *et al*., 2016). فیکوسیانین همچنین دارای اثر محافظتی بر نورون‌های عصبی و فعالیت ضدمیکروبی است (Shanmugam *et al*., 2017).

C – فیکوسیانین همچنین بر روی ژن‌های P53 و BCL2 اثر مستقیم داشته و بیان CD59 را متوقف می‌کند (Basha *et al*., 2008). فیکوسیانین در درمان سرطان‌ها قادر به جایگزین شدن با داروهای شیمی درمانی که دارای عوارض جانبی شدید هستند، است. از این مولکول زیستی در درمان بیماری‌های کلیوی و بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی نیز استفاده می‌شود (Liu *et al*., 2016). فعالیت‌های ضدالتهابی C– فیکوسیانین با مهار بیان سیکلوکسیژناز القایی COX-2 و نیتریک اکسید سنتاز و با مهار تولید سیتوکین‌های التهابی، مرتبط است. C–فیکوسیانین تولید پروستاگلندین E، میلوپراکسیداز و نیتریت را کاهش می‌دهد، تجمع پلاکت‌ها را مهار می‌کند و از طریق جلوگیری از تخریب سیتوزولی IκB-α، باعث فعال‌شدن فاکتور هسته‌ای κ B (NF- κ B) می‌شود (Pardhasaradhi *et al*., 2003).

کاربرد فیکوسیانین در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی: C – فیکوسیانین همچنین به‌عنوان نشانگر فلورسنت به‌دلیل ویژگی‌های آن مانند جذب طول‌موج ۶۲۰ نانومتر و انتشار طول‌موج نانومتر ۶۴۰، عملکرد کوانتومی فلورسانس بالا و پایداری نوری، ضریب تجزیه‌پذیری و حلالیت زیاد در آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. قیمت هر میلی‌گرم نشانگر فلورسنت می‌تواند به ۱۵۲/۵۰ دلار آمریکا برسد، بنابراین فیکوسیانین می‌تواند جایگزین مقرون به صرفه و مؤثری باشد. استفاده مهم این پروتئین فلورسنت، در طبقه‌بندی سلول‌های منفرد از طریق فلورسانس (Fluorescence-Activated Cell Sorter (FACS)) است. C – فیکوسیانین نیز به دلیل ویژگی فلورسانس آن در بسیاری از تکنیک‌های دیگر مفید است، از جمله به‌عنوان نشانگرهای ژل الکتروفورز (Gel Electrophoresis)، کروماتوگرافی ایزوالکتریک فوکوس (Isoelectric Focusing Chromatography) و حذف ژل (Gel Chromatography Exclusion)، میکروسکوپ فلورسانس (Fluorescence Microscopy)، هیبریداسیون فلورسانس درجا (Fluorescence In Situ Hybridization (Fish)) و برچسب‌گذاری پروتئین‌ها، آنتی‌بادی‌ها و اسیدهای‌نوکلئیک (de Morais *et al*., 2018).

فعالیت ضدمیکروبی فیکوسیانین: C – فیکوسیانین با غلظت نسبتاً کم در برابر بسیاری از عفونت‌های باکتریایی و ویروسی کارآمد است. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که فیکوسیانین استخراج‌شده از سیانوباکتر *Westiellopsis sp* دارای فعالیت ضدمیکروبی علیه، *Seudomonas sp subtilis* و *Xanthomonas* sp است (Sarada *et al*., 2011).

فعالیت ضدمیکروبی فیکوسیانین جداشده از *Spirulina* با استفاده از روش انتشار آگار و سنجش کدورت مایع در باکتری‌های گرم‌مثبت (*Staphylococcus aureus*) و گرم‌منفی (*Aeromonas hydrophila*) و (*Salmonella enteritidis*) آزمایش و اثبات شد. عمل ضدمیکروبی پروتئین‌های فیکوسیانین ممکن است توسط یک فعل‌وانفعال الکترواستاتیک بین مناطق دارای بار مثبت و منفی دیواره سلول یا غشای سلول همراه با یک تعامل آبگریز بین مناطق مشابه دو واکنش‌دهنده آغاز شود. حرکت براونی ماکرومولکول‌های پروتئینی متصل به دیواره‌ها و غشای سلول، ممکن است باعث کشش آن‌ها شود و با تولید منافذ بزرگ منجر به از هم‌پاشیدگی غشا و سلولی، تخلیه محتویات درون سلولی و درنهایت، مرگ آن شود (Mohamed *et al*., 2018).

استفاده از فیکوسیانین در صنعت: فیکوسیانین به‌عنوان رنگ‌کننده مواد آرایشی و بهداشتی مانند خط چشم و رژ لب در ژاپن، تایلند و چین استفاده می‌شود. در سال ۲۰۱۳، C – فیکوسیانین اولین رنگ طبیعی مجاز در سازمان غذا و دارو در ایالات متحده بود که در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گرفت. از آن زمان، تقاضا برای این رنگدانه به‌ویژه در قاره آمریکا و اروپا افزایش یافته است، زیرا نه سمی است و نه سرطان‌زاست. قیمت رنگدانه C – فیکوسیانین می‌تواند تا ۱۶۰–۱۸۰ دلار آمریکا به ازای هر کیلوگرم برسد. در فرمولاسیون برخی از غذاها از جمله مشروبات الکلی، آدامس، محصولات لبنی، بستنی‌ها و دسرها از C-PC استفاده شده است (de Morais *et al*., 2018).

نتیجه‌گیری

این بررسی، مروری است بر پتانسیل سیانوباکترها برای تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان منابع جدید مولکول‌های زیست فعال طبیعی و کاربرد در بخش‌های مختلف، که چشم‌انداز امیدبخشی برای آینده تولید تجاری آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و ایمن‌تر فراهم می‌کند. سیانوباکترها منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات فعال زیستی طبیعی هستند که جایگزین مطمئنی برای ترکیبات و آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی هستند. فیکوسیانین مستخرج از *Spirulina* به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی قابلیت تولید و استفاده در صنایع مختلف را دارد. کیفیت و اثر فیکوسیانین مستخرج از سیانوباکتر *Spirulina*، در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی بسیار بهتر است زیرا ثابت شده است که جهش‌زا و سمی نیست. علاوه بر این، تحقیقات نشان داده که کاربرد گسترده فیکوسیانین به‌صورت غذا و دارو از نظر پزشکی برای بدن مفید بوده و از تأثیرات مضر رادیکال‌های آزاد (علت اغلب بیماری‌ها) ممانعت می‌کند. در حوزه داروسازی راهکارهایی برای بهینه‌سازی تولید، تصفیه، فراوری و اشکال مصرف توسعه پیدا کرده است.

منابع

Ali, S. K. and Saleh, A. M. (2012) *Spirulina*-An overview. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 4: 9-15.

Aoki, J., Sasaki, D. and Asayama, M. (2021) Development of a method for phycocyanin recovery from filamentous cyanobacteria and evaluation of its stability and antioxidant capacity. BMC Biotechnology 21: 1-10.

Basha, O. M. et al., (2008) C-Phycocyanin inhibits cell proliferation and may induce apoptosis in human HepG2 cells. Egyptian Journal of Immunology 15: 161-167.

Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K. V. (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany 91: 179-194.

Castenholz, R. W. (2015) General characteristics of the cyanobacteria. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria 1-23.

Chandra, P., Sharma, R. K. and Arora, D. S. (2020) Antioxidant compounds from microbial sources: A review. Food Research International 129: 108849.

Chorus, I. and Welker, M. (2021) Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. Taylor and Francis.

Costa, S. S. et al., (2018) Efficacy of *Spirulina* sp. polyhydroxyalkanoates extraction methods and influence on polymer properties and composition. Algal Research 33: 231-238.
Dasgupta, C. N. (2015) Algae as a source of phycocyanin and other industrially important pigments, Algal biorefinery: An integrated approach. Springer 253-276.
de Morais, M. G., da Fontoura Prates, D., Moreira, J. B., Duarte, J. H. and Costa, J. A. V. (2018) Phycocyanin from microalgae: properties, extraction and purification, with some recent applications. Industrial Biotechnology 14: 30-37.
Fernandez-Rojas, B., Hernandez-Juarez, J. and Pedraza-Chaverri, J. (2014) Nutraceutical properties of phycocyanin. Journal of functional foods 11: 375-392.
Frankenberg, N. and Lagarias, J. C. (2003) Phycocyanobilin: Ferredoxin Oxidoreductase of Anabaena sp. PCC 7120: Biochemical and Spectroscopic Characterization. Journal of Biological Chemistry 278: 9219-9226.
Fratelli ,C., Burck, M., de Amarante, M. C. A. and Braga, A. R. C. (2020) Antioxidant potential of nature's "something blue": Something new in the marriage of biological activity and extraction methods applied to C-phycocyanin. Trends in Food Science and Technology 107.
Gershwin, M. E. and Belay, A. (2007) *Spirulina* in Human Nutrition and Health. CRC Press.
Guan, X., Qin, S., Zhao, F., Zhang, X. and Tang, X. (2007) Phycobilisomes linker family in cyanobacterial genomes: divergence and evolution. International Journal of Biological Sciences 3: 434.
Habib, M. A. B. (2008) Review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
Kikuchi, H. (2021) Functional roles of the hexamer structure of C-phycocyanin revealed by calculation of absorption wavelength. FEBS Open Bio 11: 164-172.
Kuddus, M., Singh, P., Thomas, G. and Al-Hazimi, A. (2013) Recent developments in production and biotechnological applications of C-phycocyanin. BioMed Research International 2013.
Latysheva, N., Junker, V. L., Palmer, W. J., Codd, G. A. and Barker, D. (2012) The evolution of nitrogen fixation in cyanobacteria. Bioinformatics 28: 603-606.
Lee, J. C. et al., (2013) Marine algal natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties. Cancer Cell International 13: 1-7.
Li, W. et al., (2019) Phycobiliproteins: Molecular structure, production, applications, and prospects. Biotechnology Advances 37: 340-353.
Liang, S. X. T., Wong, L. S., Balu, P. and Djearamane, S. (2021) Therapeutic applications of *Spirulina* against human pathogenic viruses. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences 9: S38-S42.
Liu, Q., Huang, Y., Zhang, R., Cai, T. and Cai, Y. (2016) Medical application of *Spirulina platensis* derived C-phycocyanin. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine 2016.
Mohamed, S. A., Osman, A., Abo Eita, A. and Sitohy, M. (2018) Estimation of antibacterial and antioxidant activities of phycocyanin isolated from *Spirulina*. Zagazig Journal of Agricultural Research 45: 657-666.
Mulkidjanian, A. Y. et al., (2006) The cyanobacterial genome core and the origin of photosynthesis. Proceedings of the National Academy of Sciences 103: 13126-13131.
Ohta, N. et al., (2003) Complete sequence and analysis of the plastid genome of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. DNA Research 10: 67-77.
Pardhasaradhi, B. V., Ali, A. M., Kumari, A. L., Reddanna, P. and Khar, A. (2003) Phycocyanin-mediated apoptosis in AK-5 tumor cells involves down-regulation of Bcl-2 and generation of ROS. Molecular Cancer Therapeutics 2: 1165-1170.
Patel, A., Mishra, S., Pawar, R. and Ghosh, P. (2005) Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. Protein Expression and Purification 40: 248-255.
Ragaza, J. A., Hossain, M. S., Meiler, K. A., Velasquez, S. F. and Kumar, V. (2020) A review on *Spirulina*: alternative media for cultivation and nutritive value as an aquafeed. Reviews in Aquaculture 12: 2371-2395.
Romay, C. H., Armesto, J., Remirez, D., Gonzalez, R., Ledon, N. and Garcia, I. (1998) Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. Inflammation Research 47: 36-41.
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: 1911-1927.
Sanchez, M., Bernal-Castillo, J., Rozo, C. and Rodriguez, I. (2003) *Spirulina* (Arthrospira): An edible microorganism: A review. Universitas Scientiarum 8: 7-24.
Sarada, D. V., Kumar, C. S. and Rengasamy, R. (2011) Purified C-phycocyanin from *Spirulina platensis* (Nordstedt) Geitler: a novel and potent agent against drug resistant bacteria. World Journal of Microbiology and Biotechnology 27: 779-783.
Scheer, H. and Zhao, K. H. (2008) Biliprotein maturation: the chromophore attachment. Molecular Microbiology 68: 263-276.
Schopf, J. W. (2000) The ecology of Cyanobacteria. Springer, Dordrecht.

Setyoningrum, T. M. and Nur, M. A. (2015) Optimization of C-phycocyanin production from *S. platensis* cultivated on mixotrophic condition by using response surface methodology. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 4: 603-607.

Shanmugam, A., Sigamani, S., Venkatachalam, H., Jayaraman, J. D. and Ramamurthy, D. (2017) Antibacterial activity of extracted phycocyanin from *Oscillatoria* sp. Journal of Applied Pharmaceutical Science 7: 062-067.

Shen, G. et al., (2006) Identification and characterization of a new class of bilin lyase: the cpcT gene encodes a bilin lyase responsible for attachment of phycocyanobilin to Cys-153 on the β-subunit of phycocyanin in Synechococcus sp. PCC 7002. Journal of Biological Chemistry 281: 17768-17778.

Sili, C., Torzillo, G. and Vonshak, A. (2012) *Arthrospira* (*Spirulina*), Ecology of Cyanobacteria II .Springer.

Singh, N. K., Sonani, R. R., Rastogi, R. P. and Madamwar, D. (2015) The phycobilisomes: an early requisite for efficient photosynthesis in cyanobacteria. Excli Journal 14: 268.

Six, C. et al., (2007) Diversity and evolution of phycobilisomes in marine *Synechococcus* spp.: a comparative genomics study. Genome Biology 8: 1-22.

Soni, R. A., Sudhakar, K. and Rana, R. (2017) *Spirulina*–From growth to nutritional product: A review. Trends in Food Science and Technology 69: 157-171.

Tabarzad, M., Atabaki, V. and Hosseinabadi, T. (2020) Anti-inflammatory activity of bioactive compounds from microalgae and cyanobacteria by focusing on the mechanisms of action. Molecular Biology Reports 47: 6193-6205.

Tang, K. et al., (2012) A minimal phycobilisome: Fusion and chromophorylation of the truncated core-membrane linker and phycocyanin. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics 1817: 1030-1036.

Tokodi, N. et al., (2018) Screening of cyanobacterial cultures originating from different environments for cyanotoxicity and cyanotoxins. Toxicon 154: 1-6.

Tu, S. L., Gunn, A., Toney, M. D., Britt, R. D. and Lagarias, J. C. (2004) Biliverdin reduction by cyanobacterial phycocyanobilin: ferredoxin oxidoreductase (PcyA) proceeds via linear tetrapyrrole radical intermediates. Journal of the American Chemical Society 126: 8682-8693.

Usharani, G., Saranraj, P. and Kanchana, D. (2012) *Spirulina* cultivation: a review. International Journal of Pharmaceutical and Biological Archive 3: 1327-1341.

Vermaas, W. F. (2001) Photosynthesis and Respiration in Cyanobacteria. e LS.

Wang, Z. P. and Zhao, Y. (2005) Morphological reversion of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* (Cyanophyta): from linear to helical 1. Journal of Phycology 41: 622-628.

Whitton, B. A. and Potts, M. (2007) The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space. Springer Science and Business Media.

Phycocyanin, as a cyanobacterial antioxidant: structure, function and applications

Leila Zarandi-Miandoab*, Farshad Pouryosef, Seyede Fahime Razavi, Nader Chaparzade

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz
(Received: 17/08/2021, Accepted: 24/05/2022)

Abstract

Phycobilins, as open-chain tetrapyrrole pigment molecules, serve as accessory photosynthetic light-harvesting pigments in red algae and cyanobacteria. Phycobilin pigments are covalently linked with proteins which form phycobiliproteins organized into large macromolecular complexes called phycobilisomes on the top of the thylakoid membranes. In deep water, only green light is available, thus phycobilisomes are able to absorb this part of light very efficiently and allowing cyanobacteria to survive. Cyanobacteria are capable of adjusting the quantitative pigment composition of phycobilisomes in response to changes in environmental conditions. Phycocyanin is a kind of phycobiliproteins which is characterized by an intense blue color and has been widely used as most important natural dye and antioxidant. The free radical scavenging properties of cyanobacterial phycocyanin are well documented. Phycocyanin eliminates reactive oxygen and nitrogen species and therefore prevents oxidative stress that leads to major damage in the structure of biomolecules of the cell. The variety of applications, from its involvement in the prevention of free radical-related diseases including cancer and Alzheimer's, to its antimicrobial effects, from its use in research laboratories and industry to its significant financial turnover, highlights the importance of reviewing studies on phycocyanin. Hence, this review describes recent findings about the sources, structure, function, production, extraction techniques and different applications of phycocyanin.

Keywords: Antioxidant, Cyanobacter, *Spirulina*, Phycocyanin

Corresponding author, Email: zarandi@azaruniv.ac.ir