

# تغییر محتوی رنگدانه‌ها و رنگ ظاهری پودر اسپیرولینا پلاتنسیس تحت تابش

## امواج نور مرئی

حسین دلاوری امرئی<sup>۱\*</sup>، ندا نعمانی<sup>۲</sup>، بی بی فائزه آذرکار<sup>۳</sup>، مهدی یزدانی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>دانشیار مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران

<sup>۲</sup>فارغ التحصیل کارشناسی ارشد مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

<sup>۳</sup>استادیار شیمی آلی، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران

<sup>۴</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران

## Changes in the pigments content and apparent color of *Spirulina platensis* powder under radiation of visible light wavelengths

Hossein Delavari Amrei<sup>1,\*</sup>, Neda Nemani<sup>2</sup>, Bibi Faezeh Azarkar<sup>3</sup>, Mahdi Yazdani<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Associate Professor of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Bojnord

<sup>2</sup> Chemical Engineering Department, Amirkabir University of Technology

<sup>3</sup> Assistant Professor of Organic Chemistry, University of Bojnord

<sup>4</sup> M. Sc. Student of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Bojnord

Corresponding author's Email: [h.delavari@ub.ac.ir](mailto:h.delavari@ub.ac.ir)

### Abstract

*Spirulina* microalgae powder (*Spirulina* harvested from the culture medium that has been dried and powdered) can be affected by the type of light spectrum, just like *Spirulina*, during the pre-harvest period (growth period). In this study, the content of phycocyanin and chlorophyll in *Spirulina platensis* powder was evaluated under radiation of different light spectra. The results showed that the highest phycocyanin content was related to the sample under red LED light and the lowest was related to the sample under blue LED light. But the sample under blue light looked bluer in appearance and the purity of phycocyanin was the highest for this sample. The chlorophyll-*a* and total carotenoids content in all samples decreased during the test period

compared to the control sample, which indicates the destruction of chlorophyll under the radiation of different light spectra.

**Keywords:** Microalgae powder, Light spectra, Phycocyanin, Chlorophyll, Apparent color

## چکیده

پودر ریز جلبک / اسپیرولینا (اسپیرولینای برداشت شده از محیط کشت که خشک و پودر شده است) می تواند همانند اسپیرولینا در دوره قبل از برداشت (دوره رشد) از نوع طیف نور تاثیر پذیرد. در این مطالعه میزان فیکوسیائین، کلروفیل و کارتنوئیدها در پودر ریز جلبک / اسپیرولینا پلاتنسیس در مجاورت نور با طول موجهای مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین محتوی فیکوسیائین مربوط به نمونه تحت نور LED قرمز و کمترین آن مربوط به تحت نور LED آبی بوده است. نمونه تحت نور LED آبی از لحاظ ظاهری، آبی تر به نظر می رسید و میزان خلوص فیکوسیائین برای این نمونه بیشترین مقدار بوده است. محتوی کلروفیل  $a$  و کارتنوئیدها در تمامی نمونهها در طول دوره آزمایش نسبت به نمونه شاهد کاهش یافته است که این مطلب نشان دهنده تخریب کلروفیل و کارتنوئیدها تحت تابش طیفهای مختلف نوری بوده است.

واژگان کلیدی: پودر ریز جلبک، طیفهای نور، فیکوسیائین، کلروفیل، رنگ ظاهری

## ۱. مقدمه

ریز جلبکها و سیانوباکتریها مسوؤل ۳۲ درصد از فعالیت فتوسنتزی در کره زمین هستند، بنابراین نقش مهمی در اکوسیستمهای مختلف ایفا می کنند [۱و۲]. این میکروارگانیسمها دارای محتوی متابولیت ارزشمند بوده که می توان از آنها برای کاربردهای مختلف در زمینههایی مانند پزشکی، صنعت، انرژی، کشاورزی، غذا و ... استفاده کرد [۳-۵]. علاوه بر این ریز جلبکها نسبت به درختان گاز دی اکسید کربن را به طور موثرتری جذب می کنند و اثر گلخانه ای را کاهش می دهند [۶]. اسپیرولینا پلاتنسیس<sup>۱</sup> (آرترواسپیرا پلاتنسیس<sup>۲</sup>) یکی از ریز جلبکهای سبز-آبی است که به عنوان سیانوباکتری نیز طبقه بندی می شوند [۷]. به خاطر غلظت بالای

<sup>1</sup> *Spirulina platensis*

<sup>2</sup> *Arthrospira platensis*

پروتئین (۶۰-۷۰ درصد)، ترکیبات زیست فعال مانند کلروفیلها (۱/۷ درصد)، کاروتنوئیدها و زانتوفیلها (۵/۰ درصد)، فیکوبیلی پروتئینها شامل C فیکوسیانین و آلو فیکوسیانین (۲۹ درصد)، اسیدهای چرب غیر اشباع مانند آراشیدونیک اسید، ایکوساپنتئوئیک اسید، دو کوسوهگزانوئیک اسید و اسید چرب ضروری گاما لینولنیک منبع غنی از ویتامینها و مواد معدنی مخصوصاً آهن و کلسیم، این ریزجلبک بسیار مغذی است [۸-۱۰]. همچنین اسپیرولینا یک تولید کننده اگزوپلی ساکاریدهای<sup>۳</sup> ساختاری متنوع (EPS) است که فعالیت‌های دارویی متعددی مانند آنتی اکسیدان، ضد تومور، ضد چربی خون، ضد باکتری و فعالیت‌های ضد انعقادی نشان می‌دهد [۱۱ و ۱۲].

در مقالات مختلف نتایج بررسی‌ها در مورد تأثیر طول موج‌های مختلف نشان داد که رنگدانه‌های فتوسنتزی موجود در سیانوباکتری‌ها تحت تأثیر نور قرمز بیشترین فوتون‌ها را در طول موج ۶۲۰-۶۷۰ نانومتر جذب می‌کنند و بالاترین طیف جذبی را در این محدوده نشان می‌دهند. همچنین غلظت بالای از زیست توده اسپیرولینا تحت تابش این نور حاصل شده است. رنگدانه‌های فتوسنتزی موجود در سیانوباکتری‌ها بیشترین میزان جذب را در طول موج ۴۴۱ و ۶۶۹ نانومتر (کلروفیل *a*) و طول موج ۶۲۷ نانومتری (فیکوبیلی پروتئینها) را نشان می‌دهند [۱۳]. رنگدانه پروتئینی فیکوسیانین موجود در سلول‌های ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس نیز تحت تأثیر نور قرار می‌گیرد و نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که بیشترین غلظت فیکوسیانین زمانی حاصل می‌شود که تحت تأثیر نور قرمز قرار می‌گیرد [۱۴]. مقالات بسیار دیگری در مورد تأثیر نور بر محتوای درون سلولی ریزجلبک‌های در فاز پیش‌رشد، رشد یا سکون وجود دارد [۱۵-۱۹]. اما تا کنون هیچ کار پژوهشی در زمینه تأثیر طول موج‌های مختلف نور بر محتوای درون سلولی پودر ریزجلبک یعنی پس از آن که از محیط کشت جدا و خشک می‌شود<sup>۴</sup>، انجام نشده است. با این حال تحقیقات زیادی در مورد تأثیر امواج ساطع شده از انواع LED ها بر میوه‌ها و سبزیجات پس از برداشت وجود دارد. استفاده از امواج نور به عنوان یک روش غیر خطرناک به منظور بهبود فرآیند رسیدن محصول، پارامترهای تغذیه ای و متابولیت‌های ثانویه، به تاخیر

<sup>3</sup> Exopolysaccharides

<sup>4</sup> Postharvest period

انداختن پیری در تحقیقات مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است [۲۲-۲۰]. به عنوان نمونه می‌توان به پژوهش ما<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۱۴) اشاره کرد. نتیجه کار آنها نشان داد که تابش نور قرمز (۶۶۰ نانومتر) بر نوعی کلم بروکلی<sup>۶</sup> در دوره پس از برداشت محصول باعث شده تا کلم مورد نظر کمتر زرد شود و تولید اتیلن کمتری در مقایسه با نور آبی و سفید در آن مشاهده شد [۲۳]. همچنین تاثیر نور آبی (۴۷۰ نانومتر) بر بیبری چینی<sup>۷</sup> نشان داد نمونه‌ای که پس از برداشت تحت تابش پیوسته این نور قرار گرفته است نسبت به نمونه‌ای که در محل تاریک نگهداری شد، محتوی آنتوسیانین بسیار بیشتری داشته است [۲۴]. پانتراس و همکاران نوعی کدوی تلخ (۲۰۱۴) را در دوره پس از برداشت تحت تابش نورهای مختلف قرار دادند. نتایج کار آنها نشان داد که محتوی کلروفیل  $a$ ،  $b$  و کارتنوئیدها مربوط نمونه‌های تحت تابش نورهای سفید، آبی و قرمز، کاهش کمتری نسبت به نمونه‌ای که تحت هیچ تابشی نبوده، نشان داده است. به طور کلی نمونه‌های تحت نور سفید محتوی رنگدانه بیشتری نسبت به نمونه‌های تحت نور قرمز و آبی داشته‌اند [۲۲].

در پژوهش حاضر، به دلیل عدم وجود هیچ پژوهش دیگری در مورد تاثیر نور بر محتوی رنگدانه‌های موجود در ریزجلبک‌ها پس از برداشت، اثر طیف‌های نوری مختلف (قرمز، آبی، سبز و سفید) بر محتوی فیکوسیانین، کلروفیل  $a$  و رنگ ظاهری پودر ریزجلبک/اسپیرولینا پلاتنسیس (یعنی ریزجلبکی که از محیط کشت برداشت شده و سپس خشک و پودر شده) مورد بررسی قرار گرفته است.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۱,۲ پودر ریزجلبک

ریزجلبک/اسپیرولینا پلاتنسیس مورد استفاده در این پژوهش از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد و در محیط کشت رودیک با pH تقریبی ۸ تحت نور LED سفید با شدت نور ۶۰۰۰ لوکس کشت داده شد [۲۵]. میزان مواد موجود در محیط کشت در یک لیتر محیط کشت به قرار زیر بوده است:

<sup>5</sup> Ma

<sup>6</sup> *Brassica oleracea L. var. italica*

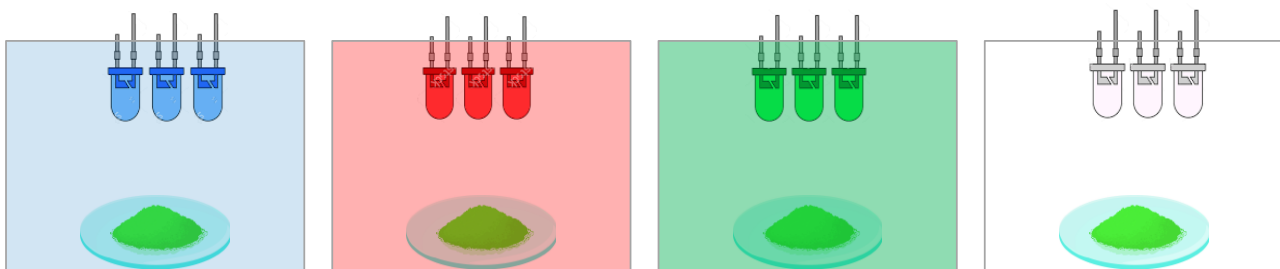
<sup>7</sup> *Chinese bayberries (Myrica rubra)*

300 mg NaNO<sub>3</sub>, 20 mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 80 mg K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 20 mg NaCl, 47 mg CaCl<sub>2</sub>, 10 mg MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.1 mg ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1.5 mg MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 0.08 mg CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0.3 mg H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.3 mg (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O, 17 mg FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.2 mg Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, and 7.5 mg EDTA.

پس از یک دوره ۱۴ روزه که غلظت ریزجلبک به حداکثر مقدار خود در فاز رشد لگارتیمی رسید، سلول‌ها توسط فیلتر ۲۰ میکرونی از محیط کشت جدا شدند. به منظور خشک کردن، نمونه سلول‌های جدا شده از محیط کشت به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۴۰ °C قرار داده شد و سپس توسط آسیاب تیغه‌ای پودر شدند.

## ۲,۲ سیستم آزمایشگاهی

از چهار LED ساطع کننده نور مختلف، قرمز (۶۲۵-۷۴۰ نانومتر)، آبی (۴۵۰-۴۸۵ نانومتر)، سفید (۳۸۰-۷۶۰ نانومتر) و نور سبز (۴۹۵-۵۷۰ نانومتر) استفاده شد. سپس چهار نمونه، به مقدار مساوی ۱/۳ گرم از پودر آسیاب شده اسپیرولینا بر روی شیشه ساعت پخش شد، در شرایط کاملا یکسان تحت تاثیر نورهای مختلف قرار گرفتند (شکل ۱). شدت تابش بر روی هر نمونه تقریبا معادل ۶۰۰۰ لوکس بوده است. نمونه‌ها به طور متوالی هر سه روز یک بار زیر رو شده تا تمامی قسمت‌های نمونه (پودر) تحت تاثیر نور قرار بگیرند پس از یک دوره ۱۴ روزه تغییر قابل توجهی در رنگ نمونه‌ها مشاهده شد و دیگر آنالیزها بر روی نمونه‌ها (اندازه گیری محتوی رنگدانه‌ها) انجام شد. همچنین یک نمونه در طول این مدت در فضای تاریک یخچال نگهداری شد که از آن به عنوان نمونه شاهد استفاده شد. لازم بذکر است که تمامی آنالیزهای انجام گرفته بر روی نمونه‌ها تکرار شده است. همچنین بعد از اتمام آزمایش (پس از ۱۴ روز) به منظور مشخص نمودن تفاوت ظاهری نمونه‌ها از آنها تحت نور لامپ LED سفید با دوربین ۱۴ مگاپیکسل عکسبرداری شد.



شکل ۱. شماتیک سیستم آزمایشی.

Figure 1. Schematic of the experimental system.

## ۳,۲ اندازه‌گیری غلظت فیکوسیانین

استخراج پروتئین فیکوسیانین به روش ترکیبی ذوب-انجماد و بافر انجام شد [۲۶]. ۰/۱ گرم زیست توده خشک شده در ۱۵ میلی لیتر بافر سدیم هیدروژن فسفات با غلظت ۰/۰۵ مولار حل شد. سپس در دمای منفی ۲۰ درجه سانتیگراد منجمد و در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد در حمام آب گرم ذوب شد. فرایند ذوب و انجماد ۵ مرتبه متوالی تکرار شد. به منظور جداسازی فیکوسیانین از زیست توده، محلول در ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت مایع بالایی برای تجزیه و تحلیل بیشتر جمع آوری شد. البته لازم بذکر است که دیگر فیکوبیلی پروتئین‌ها مانند آلفوفیکوسیانین و فیکواریترین در این حلال نیز وجود دارند. برای اندازه‌گیری غلظت فیکوسیانین میزان جذب مایع بالایی در طول موج‌های ۶۲۰ و ۶۵۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis Array Spectrophotometer) مدل (Photonix Ar2017) اندازه‌گیری شد، غلظت فیکوسیانین با استفاده از رابطه ۱ برآورد شد [۲۷].

$$C_{pc} = \frac{A_{620} - 0.474A_{652}}{5.34} \quad (1)$$

که در رابطه بالا  $A_{620}$  و  $A_{652}$  به ترتیب میزان جذب در طول موج‌های ۶۲۰ و ۶۵۲ نانومتر می باشد که غلظت فیکوسیانین بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر به دست می آید. برای محاسبه خلوص فیکوسیانین نسبت جذب نوری در طول موج ۶۲۰ (ماکزیمم جذب فیکوسیانین) به جذب نوری در طول موج ۲۸۰ (غلظت پروتئین در محلول) با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد [۲۷ و ۲۸].

$$P = \frac{A_{620}}{A_{280}} \quad (2)$$

## ۴,۲ اندازه‌گیری غلظت کلروفیل $a$ و کارتنوئیدها

۰/۵۰ گرم زیست توده خشک شده در ۱۰ میلی لیتر متانول حل شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد در تاریکی قرار داده شد سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد.

طیف جذبی مایع بالایی در طول موج‌های مختلف با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر ثبت شد و غلظت کلروفیل ( $C_a$ ) توسط رابطه ۳ و کارتنوئیدها توسط رابطه ۴ بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه شد [۲۹].

$$C_a = 15.65 \times OD_{666} - 7.34 \times OD_{653} \quad (۳)$$

$$\text{Total carotenoids} = \frac{1000 \times OD_{470} - 1.63 \times C_a}{5.34} \quad (۴)$$

که در رابطه ۳،  $OD_{666}$  و  $OD_{653}$  به ترتیب میزان جذب مایع بالاسری به منظور تعیین میزان رنگدانه توسط اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های ۶۶۶ و ۶۵۳ نانومتر اندازه گیری شد. به منظور محاسبه کارتنوئیدها میزان جذب مایع بالاسری در طول موج ۴۷۰ نانومتر ( $OD_{470}$ ) اندازه گیری شد.

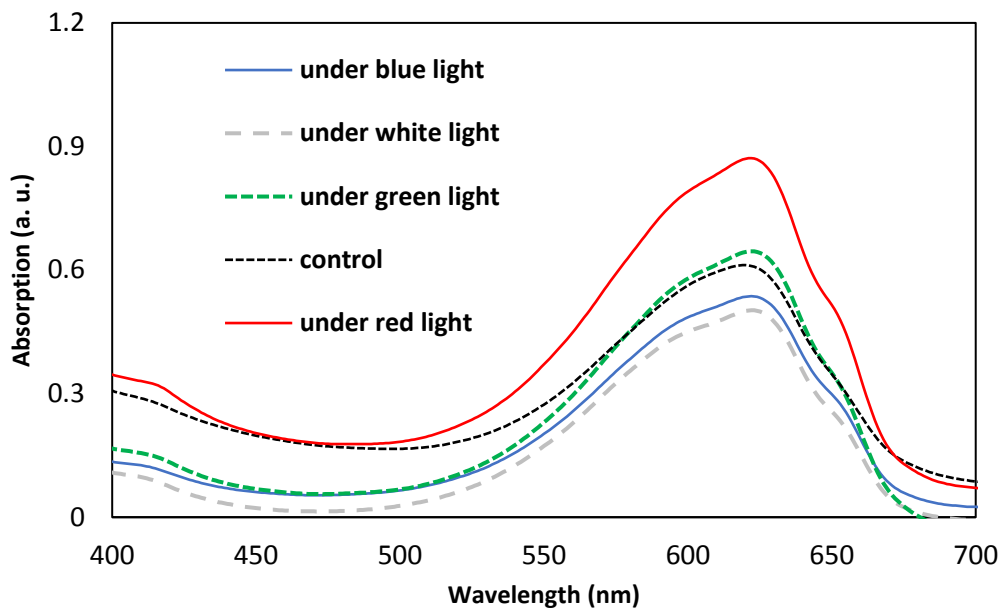
### ۳. نتایج و بحث

#### ۱،۳ اثر طیف نور بر محتوی رنگدانه‌ها

نتایج مربوط به طیف جذب رنگدانه‌های استخراج شده در بافر سدیم هیدروژن فسفات در شکل ۲ نشان داده شده است. ماکزیمم طول موج جذب این طیف در  $2 \pm 624$  نانومتر بوده است. در واقع می‌توان گفت رنگدانه‌های پروتئینی شامل آلفیکوسیانین، فیکوسیانین و فیکواریترین در بافر حل می‌شوند. بنابراین طیف ارائه شده در واقع نشان دهنده طیف جذب مخلوطی از این رنگدانه‌ها می‌باشد. اما به هر حال غلظت فیکوسیانین نسبت به دو رنگدانه پروتئینی دیگر در اسپیرولینا بیشتر است [۱۴ و ۱۰]. با افزایش غلظت فیکوسیانین (همانطور که در جدول ۱ برای نمونه‌های مختلف گزارش شده است)، طول موج جذب ماکزیمم طیف کاهش یافته است. در این کار با توجه به اینکه طول موج خروجی از منابع نور مورد استفاده (LED های قرمز، سبز، آبی و سفید) در محدوده نور فرابنفش نبوده‌اند که توسط رنگدانه‌های پروتئینی جذب شوند و همچنین با توجه به اینکه صرفاً محدوده ۷۰۰-۴۰۰ نانومتر امواج الکترومغناطیس به عنوان محدوده فعال فتوسنتز<sup>۸</sup> و نور مرئی به حساب می‌آید، بنابراین طیف موج جذب گزارش شده صرفاً در محدوده ۷۰۰-۴۰۰ نانومتر است.

<sup>8</sup> Photosynthetically Active Radiation (PAR)

با توجه به غلظت فیکوسیانیین موجود پودر ریز جلبک نمونه‌های مختلف (استخراج شده توسط بافر) در جدول ۱ می‌توان گفت که محتوی فیکوسیانیین برای پودر *اسپیروولینا* تحت نور قرمز بیشترین مقدار بوده است. در واقع برای نمونه‌های تحت نور قرمز و سبز محتوی فیکوسیانیین از نمونه شاهد به ترتیب به میزان ۰.۴٪ و ۰.۷٪ بیشتر بوده است. برای نمونه‌های تحت نور آبی و سفید میزان فیکوسیانیین از نمونه شاهد کمتر شده است. با بررسی طول موج جذب طیف ارائه شده در شکل ۲ (۵۷۰-۶۵۰ نانومتر) و طول موج نشر هر یک از منابع نوری، می‌توان گفت طول موج‌های نور قرمز (۷۴۰ - ۶۲۰ نانومتر) انطباق بیشتری با طول موج جذب رنگدانه‌های پروتئینی دارد. همچنین انطباق طول موج نور سبز (۴۹۵-۵۷۰ نانومتر) با طول موج جذب شکل ۲ نیز از نور آبی (۴۵۰-۴۹۵ نانومتر) بیشتر می‌باشد. همچنین اگرچه طیف خروجی از لامپ LED سفید دارای طول موج‌های قرمز و آبی می‌باشد اما به هر حال تعداد فوتون‌های موجود در محدوده نور قرمز لامپ LED سفید بسیار کمتر از تعداد فوتون‌های قرمز خروجی از لامپ LED قرمز می‌باشد [۳۰]. میزان خلوص فیکوسیانیین در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج نشان دهنده این است که میزان خلوص فیکوسیانیین در نمونه‌های تحت تاثیر نور آبی، قرمز و سبز به ترتیب دارای بیشترین مقدار بوده و از نمونه شاهد هم بیشتر شده است. این بدان معنی است که بخش قابل توجهی از کل پروتئین موجود شامل فیکوسیانیین می‌باشد. نمونه تحت تاثیر نور سفید میزان خلوص پایین تری نسبت به نمونه شاهد دارد که با توجه به غلظت پایین فیکوسیانیین انتظار می‌رفت که میزان خلوص آن هم پایین تر باشد.



شکل ۲. طیف جذب رنگدانه‌های استخراج شده در بافر سدیم هیدروژن فسفات.

Figure 2. Absorption spectra of pigments extracted in sodium hydrogen phosphate buffer.

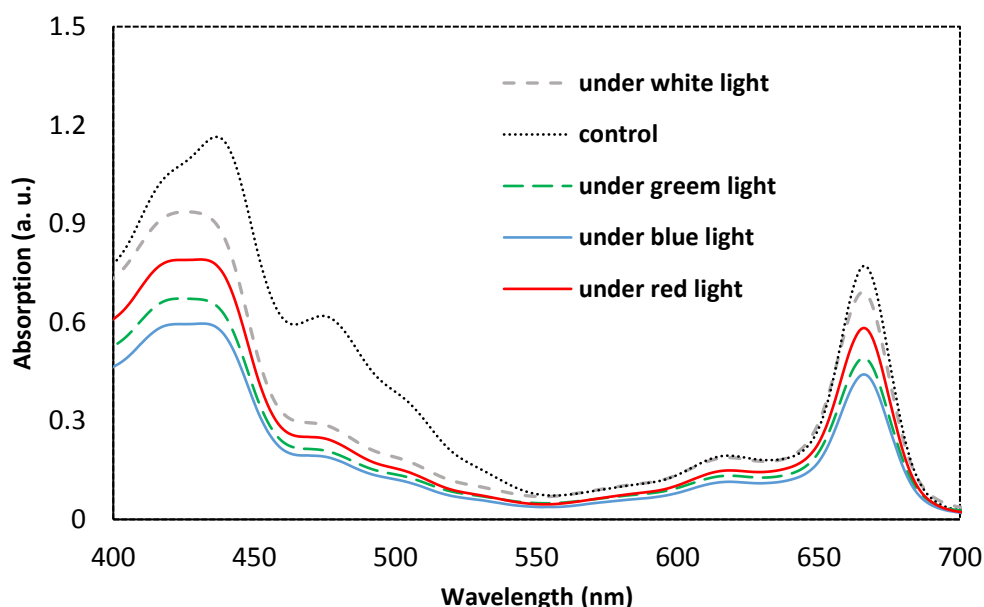
جدول ۲. غلظت انواع رنگدانه برای نمونه‌های مختلف.

Table 1. Pigments content and purity of phycocyanin for different samples.

Sample	Phycocyanin (mg/L)	Phycocyanin purity	Chlorophyll <i>a</i> (mg/L)	Total Carotenoids (mg/L)
Control	85±5	0.48±0.03	9.86±1.04	2.69±0.41
Under red light	19±9	0.53±0.03	7.2±0.85	1.1±0.35
Under green light	91±6	0.52±0.02	6.00±0.82	0.91±0.36
Under blue light	78±5	0.57±0.03	5.53±0.85	0.82±0.25
Under white light	74±6	0.46±0.02	8.43±0.90	1.25±0.32

نتایج طیف کلروفیل برای نمونه‌های مختلف در شکل ۳ نشان داد که ماکزیمم جذب کلروفیل در طول موج‌های ۴۳۵ و ۶۶۶ نانومتر بوده البته این میزان جذب در طول موج ۴۳۵ نانومتر نسبت به طول موج ۶۶۶ نانومتر

بیشتر می‌باشد و هر چه قدر غلظت کلروفیل افزایش یابد، مقادیر ماکزیمم در طول موج‌های کمتری رخ می‌دهند. همچنین با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۱، محتوی کلروفیل و کارتنوئیدها در نمونه شاهد، که تحت تاثیر هیچ نوری نبوده، بیشترین مقدار بوده است. در واقع می‌توان گفت که تحت تابش نورهای مختلف محتوی کلروفیل کاهش یافته است و قسمتی از کلروفیل تحت تابش تخریب شده است. البته برای ریزجلبک‌های در حال رشد، یعنی ریزجلبکی که از محیط کشت جدا و خشک نشده است، معمولا تحت تابش نور غلظت کلروفیل علی‌الخصوص در نور قرمز افزایش یافته است [۳۱]. همین پدیده برای کارتنوئیدها نیز رخ داده است و نتایج نشان می‌دهد در دوره پس از برداشت کارتنوئیدهای موجود در سلول نیز تحت تاثیر نور تخریب شده‌اند. تاثیر لامپ LED سفید گرم<sup>۹</sup> را بر روی نوعی کاهو<sup>۱۰</sup> پس از برداشت آن، مورد بررسی قرار دادند. میزان کلروفیل برای تمامی نمونه‌ها کاهش یافته است اما برای نمونه‌هایی که تحت تابش نور بوده‌اند نسبت به نمونه شاهد سرعت تخریب کلروفیل کمتر بوده است. همچنین برای نمونه‌های تحت تابش سطح فتوفیتین بالاتری گزارش شده است [۳۲].



شکل ۳. نمودار طیف جذب کلروفیل برای نمونه‌های مختلف.

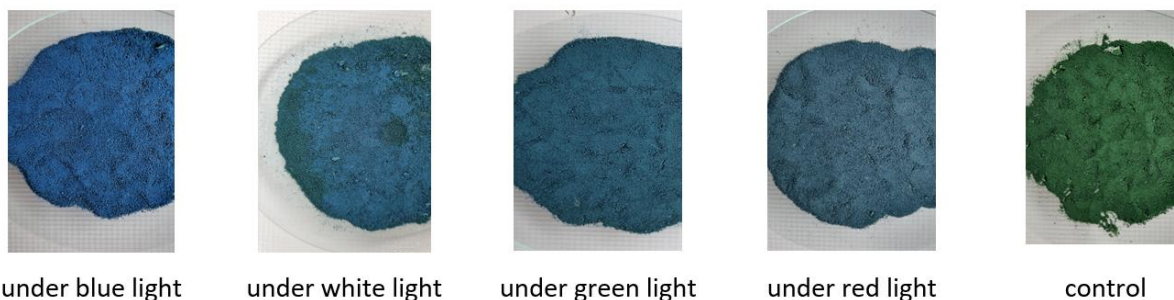
<sup>9</sup> Warm white

<sup>10</sup> *Valerianella olitoria* L. Pollich

Figure 3. Absorption spectra of chlorophyll for different samples.

### ۲,۳ اثر طیف نور بر رنگ ظاهری پودر اسپیرولینا

در شکل ۴ عکس نمونه‌ها پس از یک دوره ۱۴ روزه تحت تاثیر نور نمایش داده شده است. در این حالت تمام نمونه‌ها تحت نور لامپ LED سفید قرار داده شده‌اند و از آن‌ها عکس برداری شده است تا تغییر ظاهری در نمونه‌ها مشخص شود. همانطور که در این شکل دیده می‌شود رنگ نمونه تحت نور قرمز تمایل کمتر و نمونه تحت نور آبی تمایل بیشتری به رنگ آبی نشان می‌دهد. با توجه طیف جذبی و رنگ ظاهری فیکوسیانیین، که آبی فیروزه‌ای می‌باشد، به نظر می‌رسد که نمونه‌های تحت نور قرمز ظاهراً آبی‌تر باشند اما این مورد مشاهده نشد. در واقع در نمونه‌های تحت نور قرمز اگرچه غلظت فیکوسیانیین بیشتر است اما به هر حال غلظت کلروفیل  $a$ ، که دارای رنگ ظاهری سبز می‌باشد، نیز در آنها بیشتر است؛ به همین دلیل نمونه تحت نور قرمز، تمایل کمتری به رنگ آبی دارد. به هر حال مطالعات بیشتری نیاز است تا بتوان دقیقاً علت تغییر در رنگ ظاهری نمونه‌ها را بیان کرد؛ چراکه طیف جذب فیکوسیانیین با طیف جذب آلفوفیکوسیانیین و فیکواریترین متفاوت می‌باشد و بررسی همزمان غلظت هر سه رنگدانه پروتئینی می‌تواند نتایج بهتری را ارائه دهد. اما به طور کلی در نمونه‌هایی که تحت نور سفید و آبی قرار داشتند، رنگ ظاهری پودر ریزجلبک آبی‌تر بوده است و محتوی فیکوسیانیین در این نمونه‌ها از دیگر نمونه‌ها نیز کمتر بوده است. برای نمونه تحت نور آبی، میزان خلوص فیکوسیانیین بیشتر بوده و همچنین محتوی کلروفیل (به علت تخریب بیشتر آنها) کمتر بوده است، به همین دلیل رنگ ظاهری آن تقریباً آبی به نظر می‌رسد. با بررسی طیف جذب رنگدانه‌های استخراج شده برای نمونه‌های مختلف (شکل ۲) می‌توان گفت در محدوده طول موج‌های آبی (۴۵۰-۴۹۵ نانومتر)، نمونه‌های تحت نور LED آبی و سفید جذب کمتری نشان داده‌اند (یعنی انعکاس بیشتر طول موج‌های آبی و بالتبع ظاهری آبی‌تر) اما برای نمونه تحت نور قرمز، جذب طول موج‌های آبی بیشتر بوده است (یعنی انعکاس کمتر نور آبی و ظاهری که تمایل بیشتری به رنگ سبز نشان می‌دهد). به علاوه برای نمونه تحت نور آبی، میزان کلروفیل و کارتنوئید نسبت به نمونه تحت نور قرمز کمتر است.



شکل ۴. رنگ ظاهری نمونه پودر اسپیرولینا پس از یک دوره ۱۴ روزه تحت تاثیر طیف‌های نوری مختلف.

Figure 4. apparent color of *spirulina* powder samples after a period of 14 days under of different light spectra.

#### ۴. نتیجه گیری

تحت تابش نور، رنگ ظاهری پودر ریزجلبک/اسپیرولینا، ریزجلبکی که از محیط کشت برداشت و خشک شده است، تغییر می‌یابد و رنگ سبز اولیه آن به علت تخریب رنگدانه‌ها تغییر می‌کند. ظاهر آبی رنگ برای نمونه‌های تحت نور آبی و سفید مشهودتر بوده است. بررسی محتوی رنگدانه‌ها نشان داد که فیکوسیانین موجود در این پودر تحت تابش نور قرمز حتی بیشتر از نمونه شاهد (پودری که تحت تابش نوری نبوده است و در طول دوره آزمایش در یخچال نگهداری شده) بوده است. این پدیده تا حدی در مورد نمونه تحت نور سبز نیز مشاهده شده است. در واقع تحت نور قرمز و سبز محتوی فیکوسیانین پودر اسپیرولینا نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است اما محتوی کلروفیل و کارتنوئیدها در تمام نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد کمتر بوده است؛ که این تغییر در محتوی رنگدانه‌ها باعث تغییر رنگ ظاهری پودر اسپیرولینا شده است. به هر حال علی‌رغم مطالعات زیاد انجام شده بر روی تاثیر طیف‌های مختلف نوری در رشد ریزجلبک، بررسی تاثیر تابش نور بر روی پودر ریزجلبک/اسپیرولینا برای اولین بار در این کار انجام شده است و همچنان نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

#### ۵. سپاسگزاری

از همکاری و کمک کارشناسان "آزمایشگاه محیط زیست و انرژی" واقع در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه بجنورد و همچنین حمایت‌های مادی و معنوی شرکت "زیست فناوران گنجینه سلامت برنا" کمال تشکر را داریم.

- [1] Priyadarshani, I., Sahu, D., & Rath, B. (2012). Microalgal bioremediation : Current practices and perspectives. *Journal of Biochemical Technology*. 3(3): 299–304.
- [2] Nedaei, L., & Shokrkar, H. (2022). A Review on the Extraction of Chlorophyll and Carotenoids from Microalgae. *Iranian Chemical Engineering Journal*, 21(123): 45-58, [In Persian].
- [3] Vigani, M., Parisi, C., Rodríguez-Cerezo, E., Barbosa M., Sijtisma L., & Ploeg M., Enzing C. (2015). Food and feed products from micro-algae: Market opportunities and challenges for the EU. *Journal of Trends in Food Science & Technology*. 42(1): 81-92. doi: 10.1016/j.tifs.2014.12.004.
- [4] Lucas, B. F., de Morais, M. G., Santos, T. D., & Costa, J. A. V. (2017). Spirulina for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. *Journal of LWT - Food Science and Technology*. 90: 270–276. doi: 10.1016/j.lwt.2017.12.032.
- [5] Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., & Isambert, A. (2006). Open Archive Toulouse Archive Ouverte ( OATAO ) Commercial Applications of Microalgae. *Biosci. Bioengineering*, 101: 87–96.
- [6] Levasseur, W., Perré, P., & Pozzobon, V. (2020). A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. *Biotechnol. Adv.*, 41: 107545. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107545.
- [7] Martínez-Ruiz, M., *et al.* (2022). Microalgae Bioactive Compounds to Topical Applications Products—A Review. *Journal of Molecules*, 27(11): 3512. doi: 10.3390/molecules27113512.
- [8] Nicoletti, M. (2016). Microalgae nutraceuticals. *Journal of Foods*, 5(3): 54. doi: 10.3390/foods5030054.
- [9] Şahin, O. I. (2019). Effect of Spirulina Biomass Fortification for Biscuits and Chocolates. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*. 7(4): 583. doi: 10.24925/turjaf.v7i4.583-587.2204.
- [10] Selig, M. J., Malchione, N. M., Gamaleldin, S., Padilla-Zakour, O. I., & Abbaspourrad, A. (2018). Protection of blue color in a spirulina derived phycocyanin extract from proteolytic and thermal degradation via complexation with beet-pectin. *Journal of Food Hydrocoll.* 74: 46–52. doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.07.027.
- [11] Chentir, I., Hamdi, M., Li, S., Doumandji, A., Markou, G., & Nasri, M. (2018). Stability, bio-functionality and bio-activity of crude phycocyanin from a two-phase cultured Saharian *Arthrospira* sp. strain. *Journal of Algal Res.* 35: 395–406. doi: 10.1016/j.algal.2018.09.013.
- [12] Liu, J., Mao, X., Zhou, W., & Guarnieri, M. T. (2016). Simultaneous production of triacylglycerol and high-value carotenoids by the astaxanthin-producing oleaginous green microalga *Chlorella zofingiensis*. *Bioresour. Technol.*, 214: 319–327. doi: 10.1016/j.biortech.2016.04.112.
- [13] Markou, G. (2014). Effect of various colors of light-emitting diodes (LEDs) on the

- biomass composition of *Arthrospira platensis* cultivated in semi-continuous mode. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 172(5): 2758–2768. doi: 10.1007/s12010-014-0727-3.
- [14] Tayebati, H., Pajoum Shariati, F., Soltani, N., & Sepasi Tehrani, H. (2021). Effect of various light spectra on amino acids and pigment production of *Arthrospira platensis* using flat-plate photobioreactor. *Prep. Biochem. Biotechnol.*, 54(8): 1028–1039. doi: 10.1080/10826068.2021.1941102.
- [15] Prates, D. da F., Radmann, E. M., Duarte, J. H., de Morais, M. G., & Costa, J. A. V. (2018). Spirulina cultivated under different light emitting diodes: Enhanced cell growth and phycocyanin production. *Bioresour. Technol.* 256: 38–43. doi: 10.1016/j.biortech.2018.01.122.
- [16] Roldan-Prieto, P., Torres-Serra, O., Bilbao, J., Suárez-Álvarez, S., Blanco-Rayón, E., & Seoane, S. (2024). Combined effect of LED light color and nitrogen source on growth, pigments composition and oxidative stress in *Arthrospira platensis*. *Journal of Algal Res.*, 79: 103470. doi: 10.1016/j.algal.2024.
- [17] Lima, G. M., Teixeira, P. C. N., Teixeira, C. M. L. L., Filócomo, D., & Lage, C. L. S. (2018). Influence of spectral light quality on the pigment concentrations and biomass productivity of *Arthrospira platensis*. *Journal of Algal Res.* 31: 157–166. doi: 10.1016/j.algal.2018.02.012.
- [18] Zhang, Y., *et al.* (2024). Regulation of different light conditions for efficient biomass production and protein accumulation of *Spirulina platensis*. *J. Oceanol. Limnol.* 42(1): 174–186. doi: 10.1007/s00343-023-2360-x.
- [19] Niangoran, U., Tian, F., Canale, L., Haba, C. T., Buso, D. and Zissis, G. (2018). Study of the LEDs Spectrums Influence on the Spirulina Platensis Growth in Batch Culture. *Proc. - 2018 IEEE Int. Conf. Environ. Electr. Eng. 2018 IEEE Ind. Commer. Power Syst. Eur. IEEEIC/ CPS Eur. 2018*, Palermo, Italy. doi: 10.1109/IEEEIC.2018.8493759.
- [20] D'Souza, C., Yuk, H. G., Khoo, G. H., & Zhou, W. (2015). Application of Light-Emitting Diodes in Food Production, Postharvest Preservation, and Microbiological Food Safety. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14(6): 719–740. doi: 10.1111/1541-4337.12155.
- [21] Nassarawa, S. S., Abdelshafy, A. M., Xu, Y., Li, L., & Luo, Z. (2021). Effect of Light-Emitting Diodes (LEDs) on the Quality of Fruits and Vegetables During Postharvest Period: a Review. *Food Bioprocess Technol.* 14(3): 388–414. doi: 10.1007/s11947-020-02534-6.
- [22] Ponteras, J. G., & Salas, F. M. (2024). Pigment composition and physico-chemical parameters of Bittergourd. *Advances in Horticultural Science.* 38: 155–168. doi: 10.36253/ahsc.
- [23] Ma, G., *et al.* (2014). Effect of red and blue LED light irradiation on ascorbate content and expression of genes related to ascorbate metabolism in postharvest broccoli. *Postharvest Biol. Technol.* 94: 97–103. doi: 10.1016/j.postharvbio.2014.03.010.
- [24] Shi, L., Cao, S., Chen, W., & Yang, Z. (2014). Blue light induced anthocyanin accumulation and expression of associated genes in Chinese bayberry fruit. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 179: 98–102. doi: 10.1016/j.scienta.2014.09.022.
- [25] Delavari Amrei, H., Nasernejad, B., Ranjbar, R., & Rastegar, S. (2014). An integrated

- wavelength-shifting strategy for enhancement of microalgal growth rate in PMMA- and polycarbonate-based photobioreactors. *Eur. J. Phycol.* 49(3): 324–331. doi: 10.1080/09670262.2014.919030.
- [26] Bennett, A., & Bogobad, L. (1973). Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *J. Cell Biol.* 58(2): 419–435. doi: 10.1083/jcb.58.2.419.
- [27] Munawaroh, H. S. H., *et al.* (2020). Photostabilization of phycocyanin from *Spirulina platensis* modified by formaldehyde. *Journal of Process Biochem.* 94: 297–304. doi: 10.1016/j.procbio.2020.04.021.
- [28] Muthulakshmi, M., Saranya, A., Sudha, M., & Selvakumar, G. (2012). Extraction, partial purification and antibacterial activity of phycocyanin from *Spirulina* isolated from fresh water body against various human pathogens. *Journal of Algal biomass Utilization.* 3(3): 7-11.
- [29] Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Journal of Biochemical Society Transactions.* 11(5): 591–592. doi: 10.1042/bst0110591.
- [30] Khoobkar, Z., & Delavari Amrei, H. (2020). Effect of fluorescent dye positioning and concentration on the growth parameters and lipid content of *Chlorella* sp. in a flat panel photobioreactor. *Biotechnol. Lett.*, 42(8): 1397–1405. doi: 10.1007/s10529-020-02862-9.
- [31] Khoobkar, Z., Shariati, F. P., Safekordi, A. A., & Amrei, H. D. (2019). Performance assessment of a novel pyramid photobioreactor for cultivation of microalgae using external and internal light sources. *Journal of Food Technol. Biotechnol.*, 57(1): 68–76. doi: 10.17113/ftb.57.01.19.5702.
- [32] Braidot, E., *et al.* (2014). Low-intensity light cycles improve the quality of lamb's lettuce (*Valerianella olitoria* [L.] Pollich) during storage at low temperature. *Journal of Postharvest Biology and Technology.* 90: 15–23. doi: 10.1016/j.postharvbio.2013.12.003.