การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อผลิตซี-ไฟโคไซยานิน

มิวลิกา อินทอง[1] และ วนิดา ปานอุทัย[2*]

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
[2]ฝ่ายจุลชีววิทยาประยุกต์ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
[*]ผู้นิพนธ์หลัก อีเมล : ifrwdp@ku.ac.th
รับเมื่อ 4 มีนาคม 2567 **แก้ไขเมื่อ** 17 มิถุนายน 2567 **ตอบรับเมื่อ** 8 กรกฎาคม 2567

จุดเด่น

- การเพิ่มปริมาณซี-ไฟโคไซยานินด้วยกระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า
- การสังเคราะห์ซี-ไฟโคไซยานินภายใต้สภาวะเครียด
- คุณสมบัติสำคัญของซี-ไฟโคไซยานินและการประยุกต์ใช้

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันสาหร่ายสไปรูลิน่าได้รับความนิยมทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และทางการแพทย์ โดยสาหร่ายสไปรูลิน่าสามารถผลิตสารสำคัญซี-ไฟโคไซยานินได้ การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่ามีปัจจัยภายนอกที่มีความสำคัญต่อการเพิ่มปริมาณสารซี-ไฟโคไซยานินและการผลิตชีวมวลเซลล์ เช่น ความเข้มแสง ความเข้มข้นของไนเตรต พีเอช และอุณหภูมิ เป็นต้น นอกจากนี้การเลือกสภาวะและชนิดของสารอาหารที่ส่งผลต่อสภาวะเครียดของเซลล์ ย่อมส่งผลต่อการสะสมซี-ไฟโคไซยานินผ่านวิถีการสังเคราะห์ซี-ไฟโคไซยานินภายใต้สภาวะเครียด โดยที่สารสำคัญซี-ไฟโคไซยานินมีคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และลดคอเลสเตอรอล ด้วยคุณสมบัติที่น่าสนใจเหล่านี้จึงมีการประยุกต์ใช้ซี-ไฟโคไซยานินเพิ่มมากขึ้นในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ดังนั้นสาหร่ายสไปรูลิน่าถือว่าเป็นแหล่งของซี-ไฟโคไซยานินที่มีศักยภาพ

คำสำคัญ : ซี-ไฟโคไซยานิน สาหร่ายสไปรูลิน่า กระบวนการเพาะเลี้ยง

C-phycocyanin production from *Spirulina* cultivation

Millika Intong[1], and Wanida Pan-utai[2*]

[1]Department of Microbiology, Faculty of Science, Prince of Songkla University

[2]Department of Applied Microbiology, Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University

*Corresponding author, e-mail : ifrwdp@ku.ac.th

Received 4 March 2024; **Revised** 17 June 2024; **Accepted** 8 July 2024

Highlights

- Enhancement of C-phycocyanin from *Spirulina* cultivation
- Accumulation of C-phycocyanin through metabolic stress
- Biological properties of C-phycocyanin and application

Abstract

Spirulina is currently popular in the food, cosmetic and medical industries. *Spirulina* can produce the important bio-substance C-phycocyanin. *Spirulina* cultivation has extrinsic factors for improving C-phycocyanin and biomass production, such as light intensity, nitrate concentration, pH, and temperature. In addition, the optimum conditions and nutrients had affected cell stress conditions. High-content C-phycocyanin accumulated through the C-phycocyanin synthesis pathway under stress conditions. C-phycocyanin has important biological properties, including antioxidant, anti-inflammatory, and cholesterol reduction properties. Due to these attractive properties, the application of C-phycocyanin is increasing in various industries. Therefore, *Spirulina* is considered a potential source of C-phycocyanin.

Keywords : C-phycocyanin, *Spirulina*, cultivation

บทนำ

สาหร่ายขนาดเล็กเป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับการผลิตสารประกอบที่มีคุณค่าหลากหลายชนิด เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน รงควัตถุ และแคโรทีนอยด์ เป็นต้น สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นสาหร่ายขนาดเล็กที่ใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์และมีการเพาะเลี้ยงในระบบเปิดขนาดใหญ่มาเป็นระยะเวลานาน เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารทั้งของมนุษย์และสัตว์ เนื่องจากมีสารอาหารสูงและสามารถย่อยได้ง่าย[1] ตลาดมีความต้องการสารสำคัญมูลค่าสูงจากธรรมชาติ โดยเฉพาะสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่ เม็ดสีและสารโภชนเภสัช มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์และคาดการณ์ว่า ความต้องการของตลาดจะยังคงเติบโตอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งตลาดทั่วโลกของโปรตีนจากสาหร่ายขนาดเล็กคาดว่าจะมีมูลค่าถึง 840 ล้านเหรียญดอลลาร์สหรัฐภายในปี ค.ศ. 2023 ในขณะที่รงควัตถุสีฟ้าซี-ไฟโคไซยานิน (C-phycocyanin) คาดว่า จะมีมูลค่าตลาดถึง 409.8 ล้านเหรียญดอลลาร์สหรัฐภายในปี ค.ศ. 2030 สาหร่ายสไปรูลิน่าอุดมไปด้วยโปรตีนสูงถึงร้อยละ 60-70 และเป็นแหล่งของซี-ไฟโคไซยานินประมาณร้อยละ 47 ของโปรตีนทั้งหมด ดังนั้นสาหร่ายสไปรูลิน่าจึงได้รับความสนใจและมีแนวโน้มสำหรับการผลิตโปรตีนและซี-ไฟโคไซยานินที่มีมูลค่าสูง[2] การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นหนึ่งกระบวนการที่มีความสำคัญต่อการสะสมสารสำคัญซี-ไฟโคไซยานินภายในเซลล์ เพื่อให้ได้สาหร่ายสไปรูลิน่าที่มีปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และมีศักยภาพต่อการใช้ประโยชน์ตามคุณสมบัติทางชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สาหร่ายสไปรูลิน่า

สาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina* หรือ *Arthrospira platensis*) จัดเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ในกลุ่มไซยาโนแบคทีเรียที่มีความสมบูรณ์ทางด้านโภชนาการ มีองค์ประกอบทางเคมีที่โดดเด่นทั้ง กรดอะมิโน วิตามิน เบต้าแคโรทีน กรดไขมันจำเป็น พอลิแซ็กคาไรด์ และโปรตีนที่มีมากถึงร้อยละ 70 ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังมีคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลิโปรตีน จึงทำให้สาหร่ายสไปรูลิน่าได้รับการประกาศให้เป็น “the best food for the future” จากองค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ในปี ค.ศ. 1993[3] การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อผลิตโปรตีนยังเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าในสภาวะควบคุมจะมีการปล่อยก๊าซเรือนกระจกต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตโปรตีนจากสัตว์หรือพืช[4] นอกจากนี้สาหร่ายสไปรูลิน่ายังถือว่าเป็นแหล่งของแร่ธาตุที่ดี เช่น เหล็ก โพแทสเซียม แคลเซียม สังกะสี กรดฟีนอลิก และกรดซาลิไซลิก เป็นต้น อีกทั้งสาหร่ายสไปรูลิน่าไม่มีรายงานความเป็นพิษสำหรับมนุษย์[5]

ซี-ไฟโคไซยานิน

ซี-ไฟโคไซยานิน (C-phycocyanin, C-PC) เป็นเม็ดสีธรรมชาติที่เรียกว่า bright-blue ซึ่งมีความเข้มข้นสูงในไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งประกอบด้วยโครโมฟอร์ (chromophores) และอะพอโปรตีน (apoproteins) ที่เชื่อมกันด้วยพันธะโควาเลนต์ ซึ่งซี-ไฟโคไซยานินเป็นองค์ประกอบหลักของไฟโคบิลิโซม (phycobilisome) มีความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงของไซยาโนแบคทีเรีย[6] ถึงแม้ว่าซี-ไฟโคไซยานินจะมีคุณสมบัติที่น่าสนใจ แต่ซี-ไฟโคไซยานินยังมีความไวต่อสภาวะแวดล้อมสูง ทั้งค่าความเป็นกรดด่าง แสง อุณหภูมิ และสภาวะที่ใช้ในการเก็บรักษา ส่งผลให้คุณสมบัติของซี-ไฟโคไซยานินลดลงได้ เมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่พึงประสงค์เหล่านี้[7]

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อผลิตซี-ไฟโคไซยานิน

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่ามีสภาวะที่สำคัญหลายประการที่ส่งผลต่อการผลิตซี-ไฟโคไซยานิน โดยสภาวะที่มีผลต่อการผลิตซี-ไฟโคไซยานินนั้น ย่อมส่งผลต่อการผลิตโปรตีนและชีวมวลสาหร่ายด้วย สภาวะที่มีความสำคัญและส่งผลต่อการผลิตซี-ไฟโคไซยานินเพิ่มสูงขึ้น ได้แก่ การควบคุมพีเอช ความเข้มแสง ความเข้มข้นของไนเตรต ความเข้มข้นของเกลือ อุณหภูมิ และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่า นอกจากนี้ยังมีชนิดของสารอาหารที่ส่งผลต่อความเครียดของเซลล์ และทำให้ซี-ไฟโคไซยานินมีการสะสมเพิ่มขึ้นได้เช่นกัน ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Condition of *Spirulina* cultivation for C-phycocyanin production

Microalgae	Conditions	C-phycocyanin	Protein	Biomass	References
S. platensis	pH 7.5 and CO_2	10%	18.75%	49 mg/l/d	(8)
S. platensis	pH 8.5 and CO_2	14%	64%	72 mg/l/d	(9)
S. platensis	pH 9.5 CO_2	13%	-	62 mg/l/d	(9)
S. platensis	Nitrate: 2.0 g g/l	-	-	1.44 g/l	(9)
S. platensis	Nitrate: 2.5 g/l Salinity: 1.5 g/l	-	-	3.50 g/l	(10)
S. platensis	Nitrate: 3.0 g/l	-	-	2.33 g/l	(10)
Spirulina strains LAMB171	CO_2 10%	-	-	272.12 mg/l/d	(10)
Spirulina strains LAMB172	CO_2 10%	-	-	265.45 mg/l/d	(11)

Table 1 (continued)

Microalgae	Conditions	C-phycocyanin	Protein	Biomass	References
Spirulina strains LAMB220	CO_2 10%	-	-	260.91 mg/l/d	(11)
S. platensis FACHB-314	Sodium glutamate 5 mM	0.34 mg/ml	-	13.37 g/l	(11)
S. platensis FACHB-314	Succinic acid 7.5 mM	0.311 mg/ml	-	13.37 g/l	(11)
C. caldarium	Biliverdin 30 mg/l	C-PC increased 12.7%	-	-	(12)
C. caldarium	Biliverdin 6 mg/l	C-PC increased 9.4%	-	-	(12)

วิถีการสังเคราะห์ซี-ไฟโคไซยานิน

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นขั้นตอนสำคัญที่ส่งผลต่อการสะสมสารสำคัญมูลค่าสูงภายในเซลล์สไปรูลิน่า ดังเช่น ไฟโคบิลิโปรตีน เบต้า-แคโรทีน คลอโรฟิลล์เอ เป็นต้น ซึ่งมีปัจจัยหลายประการที่ส่งผลให้สารสำคัญ หรือสารเมตาบอไลต์ที่สะสมภายในเซลล์สไปรูลิน่ามีการเปลี่ยนแปลงไป เช่น การแปรปรวนของสภาพแวดล้อม สายพันธุ์ของสาหร่าย อาหารเลี้ยงสาหร่าย และการสะสมความเครียด เป็นต้น (Figure 1a) ในสภาวะที่สาหร่ายมีอาหารสมบูรณ์หรือขาดสารอาหารนั้นก่อให้เกิดความเครียดในการสะสมของสารเมตาบอไลต์ที่แตกต่างกัน แต่ทั้งนี้ความเครียดจากการขาดสารอาหารถือว่าเป็นอีกวิธีการหนึ่งในการเพิ่มการสะสมของสารเมตาบอไลต์ในเซลล์สาหร่าย การเลือกสภาวะของสารอาหารจึงมีความสำคัญต่อการสะสมของสารเมตาบอไลต์ ดังนั้นการควบคุมการสะสมสารสำคัญไฟโคบิลิโปรตีน และซี-ไฟโคไซยานินในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงผ่านสารตัวกลางต่าง ๆ ที่เรียกว่า ไฟโคบิลิโซม จึงต้องมีการเลือกสภาวะเครียดจากสารอาหารที่เหมาะสม สารตั้งต้น aminolevulinic acid (ALA) เป็นสารตั้งต้นหลักของกระบวนการสะสมไฟโคบิลิน และยังเป็นสารเริ่มต้นในกระบวนการสังเคราะห์ฮีมของสิ่งมีชีวิต ซึ่งฮีมจัดเป็นสารตัวกลางที่สำคัญในการสังเคราะห์ไฟโคบิลิน และเป็นเม็ดสีช่วยส่งเสริมกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของเซลล์ไฟโตแพลงก์ตอน (phytoplankton cells) เมื่อเกิดกระบวนการย่อยสลายของฮีมจะส่งผลทำให้บิลิเวอร์ดินลดลง เกิดเป็นไฟโคบิลิน ซึ่งไฟโคบิลินที่เหมาะสมในการสังเคราะห์ไฟโคไซยานิน คือ ไฟโคไซยาโนบิลิน โดยไฟโคไซยาโนบิลินซินเทส (phycocyanobilin synthase, PcyA) ทำให้บิลิ-เวอร์ดินเปลี่ยนเป็นไฟโคไซยาโนบิลิน นอกจากนี้ไฟโคไซยาโนบิลินสามารถเกิดการสังเคราะห์ได้โดยตรง โดยใช้ฮีมเป็นตัวกลางในการเผาผลาญ ทั้งนี้การสะสมของซี-ไฟโคไซยานินปริมาณสูงสามารถทำได้เมื่อพิจารณาความเครียดจากการเผาผลาญ (metabolic stress) ของตัวกลางการเผาผลาญของไฟโคไซยาโนบิลินและสภาพแวดล้อมอื่น ๆ (Figure 1b)[11]

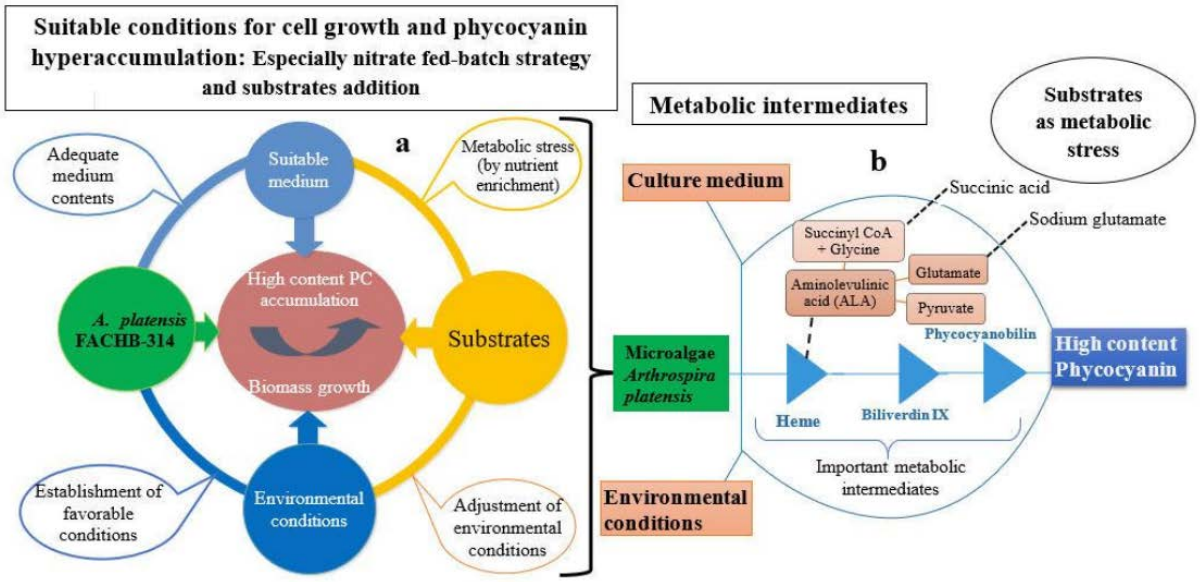

Figure 1 Factors of *Spirulina* for biomass and C-phycocyanin accumulation which a is significant factors affected on high biomass and C-phycocyanin production, and b is metabolic intermediates of high content of C-phycocyanin from *Spirulina*[11]

การสังเคราะห์ฮีมสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งในพืชและสัตว์ ซึ่งมีความแตกต่างกันในบางประการ โดยการสังเคราะห์จะเริ่มต้นที่ 5-aminolevulinic acid (ALA) ที่สามารถเกิดขึ้นได้จากสองเส้นทางในการสังเคราะห์ทางชีวภาพ คือ การเปลี่ยนกลูตาเมตหรือการควบแน่นของไกลซีน (glycine) กับซัคซินิล-โคเอ (succinyl-coA) โดยในพืชที่สามารถสังเคราะห์แสงและสาหร่ายขนาดเล็ก รวมถึงไซยาโนแบคทีเรียจะเกิด ALA ได้จากกลูตาเมตผ่านวิถี five-carbon (C5) ในสามขั้นตอนที่ควบคุมด้วยเอนไซม์ glutamyl-tRNA synthetase, glutamyl-tRNA reductase และ glutamate-1-semialdehyde aminotransferase ซึ่งจะเกิดขึ้นเฉพาะใน plastids และสิ้นสุดด้วยการสร้างฮีมหรือคลอโรฟิลล์ ส่วนในสัตว์ เชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ จะเกิด ALA ผ่านการควบแน่นของไกลซีน (glycine) กับซัคซินิล-โคเอ (succinyl-coA) ผ่านวิถี four-carbon (C4) โดยจะเกิดขึ้นเฉพาะในไมโทรคอนเดรียและนำไปสู่การสร้างฮีมเท่านั้น (Figure 2)[13]

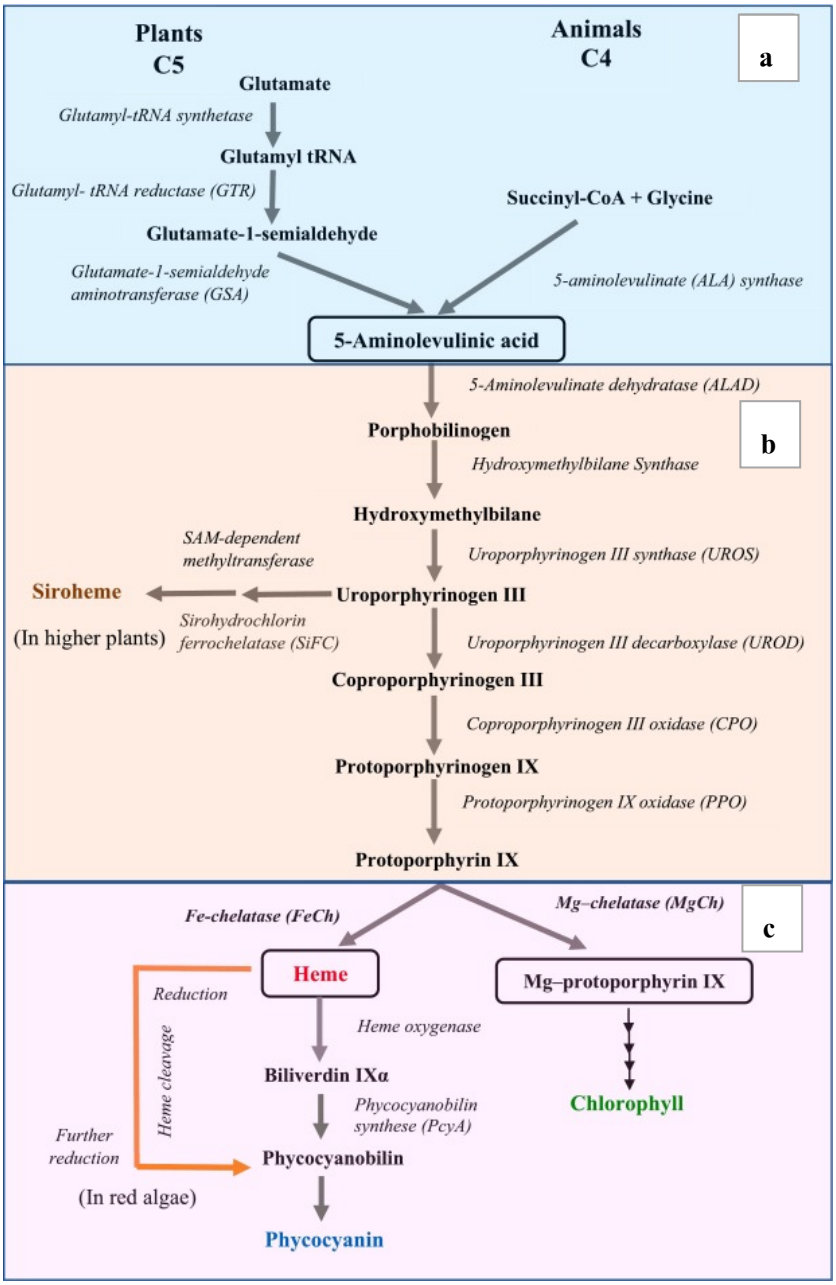

Figure 2 Pathway of heme in microalgae which a is biosynthesis of ALA precursor, b is biosynthesis of all organisms, and c is protoporphyrin IX in plants and algae[13]

คุณสมบัติของซี-ไฟโคไซยานิน

ซี-ไฟโคไซยานิน เป็นเม็ดสีที่มีคุณสมบัติที่น่าสนใจและมีความโดดเด่น ได้แก่ คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสิ่งมีชีวิตผลิตสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อทำหน้าที่ต่อต้านผลกระทบที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยซี-ไฟโคไซยานินสามารถออกฤทธิ์ด้วยกลไกต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช้เอนไซม์ คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระต่อความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจะทำให้เกิดโมเลกุลที่เป็นกลาง

และระดับของการเกิดออกซิเดชันลดลง ซึ่งซี-ไฟโคไซยานินและไฟโคไซยาโนบิลินถือว่ามีประสิทธิภาพในการลดการสร้างเปอร์ออกซีไนไตรท์ (peroxynitrite) และยับยั้งความเสียหายที่เกิดกับดีเอ็นเอ[14] นอกจากนี้ซี-ไฟโคไซยานินยังมีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพ ป้องกันโลหิตจาง[15] ต้านการอักเสบและลดคอเลสเตอรอล[16] ซี-ไฟโคไซยานินจึงมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นยาเนื่องจากคุณสมบัติเหล่านี้ อีกทั้งซี-ไฟโคไซยานินมีฤทธิ์ในการต้านเนื้องอกและแสดงให้เห็นถึงการตายของเซลล์ นอกจากนี้การต้านอนุมูลอิสระของซี-ไฟโคไซยานินยังสามารถป้องกันโรคต่าง ๆ ได้[17] (Table 2)

Table 2 Biological properties of C-phycocyanin

Microalgae	Biological properties	References
S. platensis	Anti- inflammatory properties	(18)
S. maxima	Antioxidant and anti-inflammatory properties	(19)
Spirulina sp.	Reduction in the blood cholesterol levels, protection against some cancers, prevention of cardiovascular diseases, and improvement in the resistance of the body's immune system	(20)
Spirulina sp.	Inhibition the spread of the virus HIV-1, HIV-2, HSV and influenza	(21)
S. platensis	Reduction the lipid accumulation in the steatosis L02 cells and the liver	(22)
Spirulina sp.	Antioxidant and anti-inflammatory properties	(23)

การประยุกต์ใช้ซี-ไฟโคไซยานิน

ในปัจจุบันมีความตระหนักเกี่ยวกับสีสังเคราะห์ที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพเพิ่มขึ้น ในทางอุตสาหกรรมต่าง ๆ จึงมีความต้องการสีจากธรรมชาติเพิ่มขึ้น โดยซี-ไฟโคไซยานินที่สกัดออกมาจากสาหร่ายสไปรูลิน่ามักใช้เป็นสารให้สีตามธรรมชาติทั้งในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องสำอางแทนการใช้สีสังเคราะห์[24] โดยการประยุกต์ใช้ซี-ไฟโคไซยานินในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ ไอศกรีม โยเกิร์ต และลูกอม อีกทั้งการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ได้แก่ ลิปบาล์ม มาส์กหน้า มาส์กผม และผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า[15] ทั้งนี้สารสีตามธรรมชาติสามารถใช้ทดแทนสีผสมอาหารชนิดสังเคราะห์ ที่มีผลกระทบต่อผู้บริโภคก่อให้เกิดโรคและความผิดปกติของร่างกาย นอกจากนี้สารให้สีตามธรรมชาติจากซี-ไฟโคไซยานินยังช่วยเพิ่มคุณค่าให้กับอาหาร และช่วยในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพอีกด้วย (Table 3)

Table 3 C-phycocyanin application

Microalgae	Application	Results	References
S. platensis	Food industries	Ice cream, gum, fruit drinks, noodles, wasabi, jelly, candy, yogurt, margarine, butter and baked goods	(18)
S. platensis	Fluorescent probes	Labels for cell-sorting, Fluorescence microscopy, fluorescence activated cell sorting (FACS), fluorescence correlation spectroscopy (FCS) and labeling of proteins, antibodies and nucleic acids	(18)
S. platensis	Food industries	C-PC for food coloring	(25)
S. platensis	Nutraceuticals and pharmaceuticals	Antioxidant, inhibits the number of cancers cells and has anti-carcinogenic effects	(25)
Spirulina sp.	Environment	Phycocyanin can be used as an indicator for several environmental problems such as algal bloom	(15)
Spirulina sp.	Cosmetic	Phycocyanin is incorporated in various cosmetic products such as lipstick, sunscreen, eye shadow and hair dye	(15)
Spirulina sp.	Food industries	Prepare edible films and coatings that extend the shelf life of products by reducing deterioration by microorganism action and prevent the oxidative process that occurs in foods	(26)

บทสรุป

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อผลิตซี-ไฟโคไซยานินมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการ ได้แก่ ความเข้มแสง ความเข้มข้นของไนเตรต พีเอช อุณหภูมิ ความเข้มข้นของเกลือ และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้การผลิตซี-ไฟโคไซยานินยังมีปัจจัยเกี่ยวกับการเลือกสภาวะและชนิดของสารอาหารที่จะส่งผลต่อสภาวะเครียดของเซลล์ ทำให้เกิดการสะสมของสารสำคัญซี-ไฟโคไซยานิน ดังเช่น อาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นไนเตรต 2 -3 g/l ความเข้มข้นของเกลือ 1.5 g/l ค่าพีเอชระหว่าง 7.5-8.5 และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ไม่เกินร้อยละ 10 โดยที่ซี-ไฟโคไซยานินมีคุณสมบัติทางชีวภาพที่ดีและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร การแพทย์

และเครื่องสำอาง ดังนั้นการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อเพิ่มการผลิตซี-ไฟโคไซยานิน จึงเป็นขั้นตอนสำคัญต่อการสะสมสารสำคัญจากสาหร่ายสไปรูลิน่า เพื่อพัฒนาและประยุกต์ใช้ต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. de Jesus CS, da Silva Uebel L, Costa SS, Miranda AL, de Morais EG, de Morais MG, et al. Outdoor pilot-scale cultivation of *Spirulina* sp. LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition. Bioresour Technol. 2018;256:86-94.
2. Thevarajah B, Nishshanka GKSH, Premaratne M, Nimarshana PHV, Nagarajan D, Chang J-S, et al. Large-scale production of *Spirulina*-based proteins and C-phycocyanin: a biorefinery approach. Biochem Eng J. 2022;185:108541.
3. Pina-Pérez MC, Ricós-Muñoz N, López-Suárez EK, Esteve C, Maicas S, Beyrer M. Impact of cold atmospheric pressure plasma (CAPP) treatments on the prebiotic potential of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*). Algal Res. 2024;78:103432.
4. Fantechi T, Contini C, Casini L. Pasta goes green: Consumer preferences for *Spirulina*-enriched pasta in Italy. Algal Res. 2023;75:103275.
5. Mostafa Mohammed D, El-Messery TM, Baranenko DA, Hashim MA, Tyutkov N, Marrez DA, et al. Effect of *Spirulina maxima* microcapsules to mitigate testicular toxicity induced by cadmium in rats: Optimization of in vitro release behavior in the milk beverage. J Funct Foods. 2024;112:105938.
6. Yu Y, Hou X, Yu Q, Huo Y, Wang K, Wen X, et al. A novel two-stage culture strategy to enhance the C-phycocyanin productivity and purity of *Arthrospira platensis*. LWT. 2023;184:115010.
7. Nami B, Tayebi-Moghaddam S, Molaveisi M, Dehnad D. Development of soy protein isolate films incorporated with phycocyanin-loaded nanoliposomes to maintain shrimp freshness. LWT. 2024;196:115803.
8. Mehar J, Shekh A, M. U N, Sarada R, Chauhan VS, Mudliar S. Automation of pilot-scale open raceway pond: A case study of CO_2-fed pH control on *Spirulina* biomass, protein and phycocyanin production. J CO2 UTIL. 2019;33:384-93.
9. Çelekli A, Yavuzatmaca M. Predictive modeling of biomass production by *Spirulina platensis* as function of nitrate and NaCl concentrations. Bioresour Technol. 2009;100(5):1847-51.
10. Zhu B, Xiao T, Shen H, Li Y, Ma X, Zhao Y, et al. Effects of CO_2 concentration on carbon fixation capability and production of valuable substances by *Spirulina* in a columnar photobioreactor. Algal Res. 2021;56:102310.
11. Manirafasha E, Murwanashyaka T, Ndikubwimana T, Rashid Ahmed N, Liu J, Lu Y, et al. Enhancement of cell growth and phycocyanin production in *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* by metabolic stress and nitrate fed-batch. Bioresour Technol. 2018;255:293-301.
12. Brown SB, Holroyd JA, Vernon DI. Biosynthesis of phycobiliproteins. Incorporation of biliverdin into phycocyanin of the red alga *Cyanidium caldarium*. Biochem J. 1984;219(3):905-9.
13. Lithi UJ, Laird DW, Ghassemifar R, Wilton SD, Moheimani NR. Microalgae as a source of bioavailable heme. Algal Res. 2024;77:103363.
14. Pagels F, Guedes AC, Amaro HM, Kijjoa A, Vasconcelos V. Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications. Biotechnol Adv. 2019;37(3):422-43.
15. Athiyappan KD, Routray W, Paramasivan B. Phycocyanin from *Spirulina*: a comprehensive review on cultivation, extraction, purification, and its application in food and allied industries. Food and Humanity. 2024;2:100235.
16. Grover P, Bhatnagar A, Kumari N, Narayan Bhatt A, Kumar Nishad D, Purkayastha J. C-Phycocyanin-a novel protein from *Spirulina platensis*- In vivo toxicity, antioxidant and immunomodulatory studies. Saudi J Biol Sci. 2021;28(3):1853-9.

17. Adjali A, Clarot I, Chen Z, Marchioni E, Boudier A. Physicochemical degradation of phycocyanin and means to improve its stability: a short review. J Pharm Anal. 2022;12(3):406-14.
18. Morya S, Kumar Chattu V, Khalid W, Zubair Khalid M, Siddeeg A. Potential protein phycocyanin: an overview on its properties, extraction, and utilization. Int J Food Prop. 2023;26(2):3160-76.
19. Romay C, Armesto J, Remirez D, González R, Ledon N, García I. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae. Inflamm Res. 1998;47(1):36-41.
20. Hamidi M, Mohammadi A, Mashhadi H, Mahmoudnia F. Evaluation of effective environmental parameters on lipid, protein and beta-carotene production in *Spirulina platensis* microalga. RINENG. 2023;18:101102.
21. Prasetiya FS, Destiarani W, Nuwarda RF, Rohmatulloh FG, Natalia W, Novianti MT, et al. The nanomolar affinity of C-phycocyanin from virtual screening of microalgal bioactive as potential ACE2 inhibitor for COVID-19 therapy. J King Saud Univ Sci. 2023;35(3):102533.
22. Ma P, Huang R, Jiang J, Ding Y, Li T, Ou Y. Potential use of C-phycocyanin in non-alcoholic fatty liver disease. Biochem Biophys Res Commun. 2020;526(4):906-12.
23. Liu R, Qin S, Li W. Phycocyanin: Anti-inflammatory effect and mechanism. Biomed Pharmacother. 2022;153:113362.
24. Jiang L, Wang Y, Yin Q, Liu G, Liu H, Huang Y, et al. Phycocyanin: A Potential Drug for Cancer Treatment. J Cancer. 2017;8(17):3416-29.
25. Eriksen NT. Production of phycocyanin—a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. Appl Microbiol Biotechnol. 2008;80(1):1-14.
26. Nakamoto MM, Assis M, de Oliveira Filho JG, Braga ARC. *Spirulina* application in food packaging: Gaps of knowledge and future trends. Trends Food Sci Technol. 2023;133:138-47.

.