

## ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΜΙΚΡΟΦΥΚΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΥΨΗΛΗΣ ΑΞΙΑΣ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΗ ΘΕΡΜΙΚΩΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ

**Α. Κατσιμίχας, Α. Λημναίος, Κ. Δημητρακόπουλος, Γ. Δημόπουλος, Π. Ταούκης**

Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο  
Πολυτεχνείο, Αθήνα, Ελλάδα

(\*[alkats@chemeng.ntua.gr](mailto:alkats@chemeng.ntua.gr))

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Λόγω της αυξημένης ζήτησης από τη βιομηχανία τροφίμων για φυσικά συστατικά μη ζωικής προέλευσης, η έρευνα έχει στραφεί στην αναζήτηση εναλλακτικών πρώτων υλών και καινοτόμων τεχνολογιών αποδοτικής ανάκτησης. Το φωτοσυνθετικό κυανοβακτήριο *Arthrospira platensis*, γνωστό με το εμπορικό όνομα *Spirulina*, αποτελεί μια πλούσια πηγή πρωτεϊνών (60-70 % w/w) και ξεχωρίζει για την παραγωγή φυκοκυανίνης (14-20 % w/w), μιας μπλε πρωτεΐνης. Οι πρωτεΐνες της *Spirulina* περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα, ενώ ταυτόχρονα παρουσιάζουν χρήσιμες λειτουργικές ιδιότητες για τον σχεδιασμό καινοτόμων τροφίμων. Η αξιοποίηση αυτών απαιτεί την εκχύλισή τους από τα κύτταρα, μια διεργασία που συμβατικά είναι χρονοβόρα με χαμηλές αποδοσίες λόγω του συμπαγούς κυτταρικού τοιχώματος. Μία πολλά υποσχόμενη μη θερμική τεχνολογία για την άρση των κυτταρικών εμποδίων εκχύλισης είναι τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (ΠΗΠ), με την οποία τα κύτταρα εκτίθενται σε ηλεκτρικά πεδία υψηλής έντασης, αυξάνοντας τη διαπερατότητά τους και ενισχύοντας τη μεταφορά μάζας.

Ανεπεξέργαστο και επεξεργασμένο με ΠΗΠ (7.8 kV/cm, 0-137.6 kJ/kg) υδατικό αιώρημα *Spirulina* επώαστηκε υπό σταθερή ανάδευση (30-50 °C, 0-24 h). Τα προκύπτοντα εκχυλίσματα μελετήθηκαν ως προς το στερεό υπόλειμμα σταθμικά, το πρωτεϊνικό περιεχόμενο με τη μέθοδο Lowry και την περιεκτικότητα και καθαρότητά τους σε φυκοκυανίνη φασματοφωτομετρικά. Η κινητική της εκχύλισης περιεγράφηκε μαθηματικά με τη χρήση ενός μη γραμμικού, λογιστικού μοντέλου τεσσάρων παραμέτρων.

Η κινητική ανάκτησης πρωτεϊνών και φυκοκυανίνης παρουσίασε σιγμοειδή συμπεριφορά. Η αύξηση της ειδικής ενέργειας επεξεργασίας και της θερμοκρασίας εκχύλισης έως τους 40 °C οδήγησε σε σημαντική επιτάχυνση της εκχύλισης. Η επεξεργασία των 137.6 kJ/kg προ της εκχύλισης στους 40 °C οδήγησε σε ελαχιστοποίηση του χαρακτηριστικού χρόνου εκχύλισης των πρωτεϊνών (2.3 h έναντι 14.4 και 10.4 h των ανεπεξέργαστων δειγμάτων στους 30 και 40 °C, αντίστοιχα). Στους 50°C παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της απόδοσης εκχύλισης, λόγω μετουσίωσης των πρωτεϊνών. Υψηλότερη ειδική ενέργεια επεξεργασίας οδήγησε σε αυξημένη καθαρότητα φυκοκυανίνης των εκχυλισμάτων στους 40 °C, η οποία μεγιστοποιήθηκε με την επεξεργασία των 137.6 kJ/kg και 3 h εκχύλισης στους 40 °C.

Τα ΠΗΠ είναι μια τεχνολογία που έχει κλιμακωθεί επιτυχώς σε βιομηχανικό επίπεδο. Ο προσδιορισμός της κινητικής της εκχύλισης με προεπεξεργασία της βιομάζας *Spirulina* με ΠΗΠ αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο για τη βελτιστοποίηση της συνολικής διεργασίας, αποσκοπώντας σε μελλοντική βιομηχανική εφαρμογή.

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** μικροφύκη, μη θερμικές τεχνολογίες, εκχύλιση, κινητική μελέτη, μαθηματική μοντελοποίηση

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το μικροφύκος *Arthrospira platensis*, εμπορικά γνωστό ως *Spirulina*, ξεχωρίζει για τη υψηλή περιεκτικότητά του σε πρωτεΐνη (60-70 % w/w), και σε C-φυκοκυανίνη (C-PC) (14-20 % w/w). Επιπλέον, περιέχει υδατάνθρακες (13.6 % w/w), λιπίδια (4-7 % w/w), νουκλεϊκά οξέα (3.1-4.5 % w/w), χλωροφύλλες (1 % w/w), καροτενοειδή (0.37 % w/w), βιταμίνες και μέταλλα<sup>[1]</sup>. Η C-φυκοκυανίνη είναι μια μπλε υδατοδιαλυτή πρωτεΐνη που βρίσκεται στην εξωτερική επιφάνεια των θυλακοειδών μεμβρανών των χλωροπλαστών. Χρησιμοποιείται εμπορικά από τη βιομηχανία τροφίμων ως φυσική χρωστική ουσία και παρουσιάζει αντιοξειδωτική δράση<sup>[2]</sup>. Οι πρωτεΐνες από *Spirulina* περιέχουν όλα τα απαραίτητα αμινοξέα (47% του συνολικού πρωτεϊνικού βάρους) και χαρακτηρίζονται ως υποσχόμενη πηγή βιοδραστικών πεπτιδίων<sup>[3]</sup>. Επιπλέον, τα πρωτεϊνικά συμπυκνώματα από *Spirulina* παρουσιάζουν χρήσιμες λειτουργικές ιδιότητες για τη βιομηχανία τροφίμων, όπως καλή ικανότητα συγκράτησης νερού και ελαίου (2.25 g νερού και 5.80 g ελαίου ανά g πρωτεΐνης, αντίστοιχα)<sup>[4]</sup>.

Η χρήση αυτών των πρωτεϊνών απαιτεί την αποτελεσματική ανάκτησή τους από τα κύτταρα. Το κυτταρικό τοίχωμα του *A. platensis* αποτελείται από τέσσερα διαφορετικά στρώματα. Το πρώτο στρώμα (L-I) περικλείει την πλασματική μεμβράνη και σχηματίζεται από β-1,2-γλυκάνες. Το δεύτερο στρώμα (L-II) είναι ένα στρώμα πεπτιδογλυκάνης, το τρίτο στρώμα (L-III) αποτελείται επίσης από β-1,2-γλυκάνες και το τέταρτο στρώμα (το εξωτερικό στρώμα L-IV) καλύπτεται με ένα περίβλημα πολυσακχαριτών<sup>[5]</sup>. Παρά το γεγονός ότι το κυτταρικό τοίχωμα του *A. platensis* δεν αποτελείται από κυτταρίνη, παρουσιάζει υψηλή αντοχή που οδηγεί σε αυξημένη δυσκολία στην ανάκτηση των ενδοκυτταρικών ενώσεων<sup>[6]</sup>.

Οι συμβατικές τεχνικές εκχύλισης από *Spirulina* μέσω επαναλαμβανόμενων κύκλων κατάψυξης-απόψυξης χαρακτηρίζονται από μεγάλους χρόνους επεξεργασίας (μεγαλύτεροι από 12 h), χαμηλή καθαρότητα εκχυλίσματος σε C-φυκοκυανίνη και υψηλή κατανάλωση ενέργειας. Για επιταχυνόμενη εκχύλιση με αυξημένες αποδόσεις και σχετικά χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και διαλυτών, οι μη θερμικές τεχνολογίες, όπως τα Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (ΠΗΠ), μπορούν να εφαρμοστούν για τη διάρρηξη των κυττάρων, αποφεύγοντας τη θερμική αποδόμηση των ενώσεων-στόχων<sup>[7],[8]</sup>.

Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας με ΠΗΠ, ένα βιολογικό υλικό (φυτικός ιστός ή κυτταρικό ελαιώρημα) τοποθετείται ανάμεσα σε δύο ηλεκτρόδια όπου εφαρμόζονται παλμοί υψηλής τάσης συνεχούς ρεύματος για χρονικά διαστήματα της τάξης των ms, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ομοιογενούς ηλεκτρικού πεδίου μεταξύ των ηλεκτροδίων. Το αποτέλεσμα της επεξεργασίας είναι ο αναστρέψιμος ή μη αναστρέψιμος σχηματισμός πόρων στις κυτταρικές μεμβράνες (ηλεκτροδιάτρηση). Κατά συνέπεια, η επεξεργασία ΠΗΠ οδηγεί σε ενίσχυση της εκχυλισιμότητας των ενδοκυτταρικών συστατικών, όπως πρωτεΐνες, χλωροφύλλες και καροτενοειδή<sup>[7]</sup>. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της επεξεργασίας ΠΗΠ σε σύγκριση με άλλες μη θερμικές τεχνολογίες, όπως η ομογενοποίηση υψηλής πίεσης, είναι η διατήρηση της κυτταρικής δομής που παρέχει τη δυνατότητα για επιλεκτική εκχύλιση<sup>[8]</sup>.

Σκοπός αυτής της έρευνας ήταν η κινητική μελέτη της επίδρασης των ΠΗΠ και της θερμοκρασίας εκχύλισης στην ανάκτηση πρωτεϊνών και C-φυκοκυανίνης από *Spirulina*. Η κινητική εκχύλισης από μη επεξεργασμένη και επεξεργασμένη με ΠΗΠ βιομάζα περιγράφηκε μαθηματικά με ένα λογιστικό μοντέλο τεσσάρων παραμέτρων. Διερευνήθηκε επίσης η επιλεκτικότητα της εκχύλισης στη C-φυκοκυανίνη, με στόχο την ανάκτηση εκχυλισμάτων με υψηλή καθαρότητα C-PC, αποφεύγοντας έτσι τη διαδικασία απομόνωσης C-PC που καταναλώνει χρόνο, ενέργεια και κόστος, για την εφαρμογή τους σε συστήματα τροφίμων.

## ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

**Επεξεργασία με ΠΗΠ:** Για την επεξεργασία με ΠΗΠ, χρησιμοποιήθηκε ένας θάλαμος επεξεργασίας με απόσταση ηλεκτροδίων 2 cm. Δεκαπέντε mL εναιωρήματος *Spirulina* 2.5 % w/w μεταφέρθηκαν στον θάλαμο και υποβλήθηκαν σε επεξεργασία στα 7.8 kV/cm με εφαρμογή 10, 50, 200 και 350 παλμών χρησιμοποιώντας το σύστημα ELCRACK® HVP-5 PEF (DIL, Quackenbrück, Γερμανία). Η ειδική ενέργεια κάθε παλμού υπολογίστηκε ίση με 0,393 kJ/kg<sup>[9]</sup>. Η αρχική θερμοκρασία του δείγματος ήταν σταθερή στους 25 °C ενώ η θερμοκρασία του δείγματος μετά την επεξεργασία δεν υπερέβαινε τους 40 °C.

**Εκχύλιση πρωτεϊνών:** Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε με 200 mL ανεπεξέργαστου και επεξεργασμένου με ΠΗΠ αιωρήματος βιομάζας μέσα σε κυλινδρικά γυάλινα δοχεία με βιδωτό πώμα (∅ 5 cm × 8,5 cm) υπό συνεχή ανακίνηση (170 rpm) σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες εκχύλισης (30, 40 και 50 °C) για έως και 24 h. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα, δείγματα των 10 mL αφαιρέθηκαν από τα μίγματα εκχύλισης και φυγοκεντρήθηκαν στα 10,000 g για 10 λεπτά στους 20 °C. Το υπερκείμενο υγρό (εκχύλισμα) διατηρήθηκε στους -20 °C μέχρι περαιτέρω ανάλυση.

**Συγκέντρωση πρωτεϊνών στα εκχυλίσματα:** Η συγκέντρωση πρωτεΐνης ( $C_p$ ) των εκχυλισμάτων κατά την εκχύλιση ποσοτικοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Lowry<sup>[10]</sup>. Η συγκέντρωση πρωτεΐνης του εκχυλίσματος υπολογίστηκε σε mg πρωτεΐνες/g ξηρής βιομάζας χρησιμοποιώντας μια καμπύλη βαθμονόμησης που παρασκευάστηκε με αλβουμίνη βοείου ορού ως πρότυπο.

**Συγκέντρωση C-φυκοκυανίνης στα εκχυλίσματα:** Η συγκέντρωση των εκχυλισμάτων σε C-φυκοκυανίνης ( $C_{C-PC}$ ) προσδιορίστηκε με μέτρηση της απορρόφησης των εκχυλισμάτων στα 620 και 652 nm<sup>[11]</sup>.

**Καθαρότητα εκχυλισμάτων σε C-φυκοκυανίνη:** Η καθαρότητα των εκχυλισμάτων σε C-PC ( $EP$ ) προσδιορίστηκε με τη μέτρηση της απορρόφησης των εκχυλισμάτων στα 620 και 280 nm<sup>[12]</sup>.

**Μαθηματική μοντελοποίηση:** Η συγκέντρωση των πρωτεϊνών ( $C_p$ ) και της C-φυκοκυανίνης ( $C_{C-PC}$ ) των εκχυλισμάτων μοντελοποιήθηκαν μαθηματικά χρησιμοποιώντας ένα λογιστικό μοντέλο τεσσάρων παραμέτρων<sup>[13]</sup>:

$$Y = Y_f + \frac{Y_i - Y_f}{1 + \left(\frac{t}{\tau}\right)^k} \quad (1)$$

όπου  $Y = C_p$  ή  $C_{C-PC}$  σε mg/g ξηρής βιομάζας,  $Y_i$  η αρχική και  $Y_f$  η τελική τιμή του  $Y$  σε mg/g ξηρής βιομάζας,  $t$  ο χρόνος εκχύλισης σε h,  $k$  ο συντελεστής σιγμοειδότητας του Hill, και  $\tau$  ο χαρακτηριστικός χρόνος εκχύλισης σε h που δηλώνουν τον χρόνο εκχύλισης όταν  $Y = Y_i + \frac{Y_f - Y_i}{2}$ .

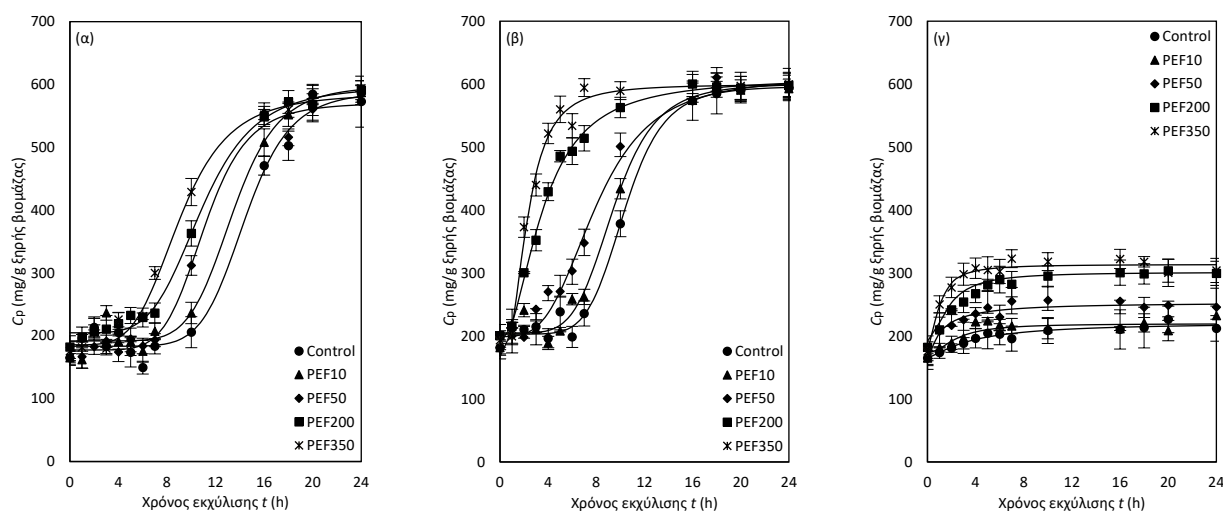
## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η βιομάζα που χρησιμοποιήθηκε βρέθηκε ότι περιέχει  $621.0 \pm 23.7$  mg πρωτεϊνών/g ξηρής βιομάζας. Η κινητική της ανάκτησης πρωτεϊνών από ανεπεξέργαστη και επεξεργασμένη με ΠΗΠ βιομάζα στους 30, 40 και 50 °C παρουσιάζονται στο Σχήμα 1.

Η απότομη αύξηση (σιγμοειδής συμπεριφορά) της συγκέντρωσης των εκχυλισμάτων σε πρωτεΐνη από μη επεξεργασμένη βιομάζα παρατηρείται μετά από 7 h εκχύλισης στους 30 °C. Η αύξηση της ειδικής ενέργειας επεξεργασίας ΠΗΠ από 0 (Control) σε 137.6 kJ/kg (PEF350) οδήγησε σε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των εκχυλισμάτων σε πρωτεΐνη έως και 63.6 % στους 30 °C και 152.1 % στους 40 °C, μετά από 7 h εκχύλισης. Η αύξηση της θερμοκρασίας εκχύλισης από 30 σε 40 °C οδήγησε σε σημαντική επιτάχυνση της ανάκτησης πρωτεϊνών, όπως παρατηρήθηκε από τις αυξημένες τιμές της  $C_p$  για τον ίδιο χρόνο εκχύλισης. Για παράδειγμα, η αύξηση της θερμοκρασίας

εκχύλισης από 30 σε 40 °C οδήγησε σε αύξηση της  $C_p$  κατά 83.8% από μη επεξεργασμένη βιομάζα, μετά από 10 h εκχύλισης. Η επεξεργασία ΠΗΠ με ειδική ενέργεια μεγαλύτερη από 19.7 kJ/kg (PEF50) συνοδευόμενη από εκχύλιση στους 40 °C οδήγησε σε σημαντική επιτάχυνση της εκχύλισης, λόγω της συνεργιστικής επίδρασης μεταξύ ηλεκτροδιάτρησης και δράσης πρωτεολυτικών ενζύμων στη διαπερατότητα της μεμβράνης. Θερμοκρασίες εκχύλισης υψηλότερες από 40 °C οδήγησαν σε μετουσίωση των ενζύμων (Σχήμα.1.γ) που μείωσε σημαντικά τη ανάκτηση των πρωτεϊνών, σε σύγκριση με θερμοκρασίες εκχύλισης χαμηλότερες από 40 °C.

Ο χαρακτηριστικός χρόνος εκχύλισης της ανάκτησης πρωτεϊνών  $t_p$  παρουσιάζει σημαντική μείωση με την αύξηση της ειδικής ενέργειας ΠΗΠ και της θερμοκρασίας εκχύλισης. Συγκεκριμένα, η αύξηση της ειδικής ενέργειας από 0 (Control) σε 137.6 kJ/kg (PEF350) μείωσε το  $t_p$  από 14.4 σε 9.0 h στους 30 °C και από 10.4 σε 2.3 h στους 40 °C. Η μείωση της φάσης υστέρησης της ανάκτησης πρωτεϊνών, η οποία παρατηρήθηκε κατά την αύξηση της ειδικής ενέργειας και της θερμοκρασίας εκχύλισης έως τους 40 °C, αντικατοπτρίζεται στη σημαντική μείωση του συντελεστή Hill ( $k_p$ ) από 7.55 (μη επεξεργασμένα δείγματα και εκχύλιση στους 30 °C) σε 2.50 (επεξεργασμένο με ΠΗΠ, 137.6 kJ/kg και εκχύλιση στους 40 °C). Στους 50 °C, οι τιμές  $t_p$  και  $k_p$  ελαχιστοποιήθηκαν, δείχνοντας την μεταβολή της κινητικής ανάκτησης των πρωτεϊνών. Η κινητική ανάκτησης της C-PC, όντας και αυτή μόριο πρωτεϊνικής φύσης παρουσίασε αντίστοιχη εξάρτηση από τις μελετώμενες παραμέτρους.



**Σχήμα 1.** Εξέλιξη της συγκέντρωσης πρωτεϊνών του εκχυλίσματος ( $C_p$ ) με χρόνο εκχύλισης για (α) 30 °C, (β) 40 °C και (γ) 50 °C. Οι συμπαγείς γραμμές αντιπροσωπεύουν την παλινδρόμηση της Εξ. (3) στα πειραματικά δεδομένα. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση μεταξύ των πειραματικών επαναλήψεων.

Η καθαρότητα των εκχυλισμάτων σε C-PC συνήθως αξιολογείται χρησιμοποιώντας τον δείκτη  $EP$ . Ο δείκτης  $EP$  από μη επεξεργασμένη και επεξεργασμένη με ΠΗΠ *Spirulina* παρουσιάζεται στο Σχήμα 2. Όπως παρατηρείται κατά τη διάρκεια της εκχύλισης στους 30 °C το  $EP$  σταδιακά αυξήθηκε από την αρχική τιμή 0.70 σε 1.08 μετά από 24 h εκχύλισης. Η επεξεργασία ΠΗΠ δεν επηρέασε το  $EP$  στους 30 °C. Αυτή η συμπεριφορά δείχνει ότι κατά τη διάρκεια της εκχύλισης στους 30 °C, ο ρυθμός εκχύλισης της C-φυκοκυανίνης ήταν υψηλότερος από τον ρυθμό εκχύλισης των άλλων πρωτεϊνών και ενδοκυτταρικών ενώσεων. Ωστόσο, στους 40 °C το  $EP$  από μη επεξεργασμένη βιομάζα παρουσίασε μείωση κατά τη διάρκεια των πρώτων 7 h εκχύλισης από 0.7 σε 0.58, ακολουθούμενη από αύξηση έως και 1.01 μετά από 16 h. Η αύξηση της ειδικής ενέργειας ΠΗΠ υψηλότερη από 19.7 kJ/kg (PEF 50) οδήγησε σε αύξηση του  $EP$ . Συγκεκριμένα, η επεξεργασία ΠΗΠ με 35.8 και 137.6 kJ/kg (PEF200 και PEF350, αντίστοιχα) οδήγησε σε σημαντικότερη αύξηση του  $EP$  έως και δύο φορές σε σύγκριση με τα μη επεξεργασμένα δείγματα. Εικάζεται ότι η αποικοδόμηση των μεμβρανών των κυττάρων στους 40 °C ευνόησε πιο έντονα την εκχύλιση άλλων ενδοκυτταρικών ενώσεων από τη C-PC, οδηγώντας σε μείωση του  $EP$ . Ωστόσο, η συνεργιστική επίδραση της

ηλεκτροδιάτρησης και της δράσης των πρωτεολυτικών ενζύμων των κυττάρων στη διαπερατότητα της μεμβράνης ενίσχυσαν πιο έντονα την ανάκτηση της C-PC. Η C-PC είναι τυπικά μία από τις μεγαλύτερες πρωτεΐνες που βρίσκονται στο *A. platensis* (112 kDa) και εντοπίζεται σε μακρομοριακά σύμπλοκα στην εξωτερική επιφάνεια των θυλακοειδών μεμβρανών. Είναι σαφές ότι η ανάκτηση της C-PC απαιτεί, εκτός από την αποικοδόμηση των κυτταρικών μεμβρανών, και την ταυτόχρονη αποικοδόμηση των θυλακοειδών μεμβρανών. Η αύξηση της θερμοκρασίας εκχύλισης από 30 σε 40 °C επηρεάζει κυρίως την αποικοδόμηση της κυτταρικής μεμβράνης και ανακτώνται περισσότερες ενδοκυτταρικές κυτταροπλασματικές ενώσεις. Η συνεργιστική δράση των ΠΗΠ και των πρωτεολυτικών ενζύμων επηρεάζει τόσο τις κυτταρικές όσο και τις θυλακοειδείς μεμβράνες οδηγώντας σε υψηλότερη κυτταρική διαπερατότητα και σημαντικότερη απελευθέρωση της C-PC από την εξωτερική επιφάνεια των θυλακοειδών μεμβρανών, αυξάνοντας σημαντικά τον ρυθμό εκχύλισης της C-PC και κατά συνέπεια τον δείκτη *EP*. Στους 50 °C παρατηρήθηκε σταδιακή μείωση του *EP* σε τιμές χαμηλότερες από 0.40 για όλα τα δείγματα, λόγω μετουσίωσης της C-PC.

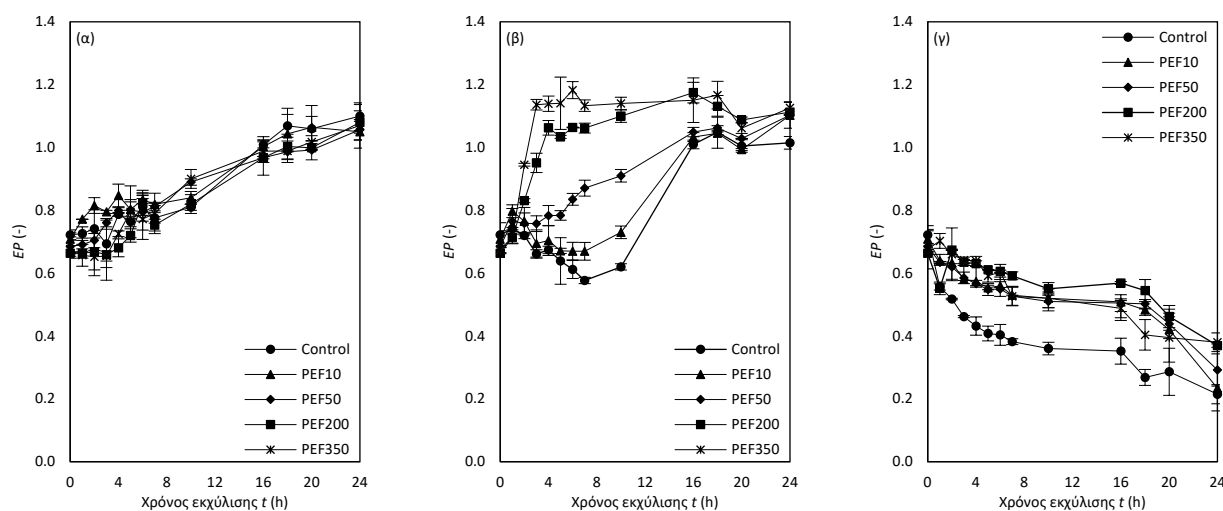
**Πίνακας 1:** Αρχική συγκέντρωση πρωτεϊνών των εκχυλισμάτων ( $C_{p,i}$ ), τελική συγκέντρωση πρωτεΐνης των εκχυλισμάτων ( $C_{p,f}$ ), συντελεστής Hill ( $k_p$ ) και χαρακτηριστικός χρόνος εκχύλισης ( $\tau_p$ ) για τις διάφορες επεξεργασίες βιομάζας *A. platensis* και θερμοκρασίες εκχύλισης.

$C_{p,i}$ (mg/g ξηρής βιομάζας)					
	Control	PEF10	PEF50	PEF200	PEF350
	183.5±8.5 <sup>a</sup>	191.9±9.2 <sup>a</sup>	177.5±7.9 <sup>a</sup>	189.5±9.2 <sup>a</sup>	185.8±9.1 <sup>a</sup>
$C_{p,f}$ (mg/g ξηρής βιομάζας)					
<i>T</i> (°C)	Control	PEF10	PEF50	PEF200	PEF350
30	588.8±37.9 <sup>a</sup>	598.0±33.6 <sup>a</sup>	583.5±17.9 <sup>a</sup>	596.8±15.6 <sup>a</sup>	585.3±20.9 <sup>a</sup>
40	596.7±17.9 <sup>a</sup>	601.0±22.9 <sup>a</sup>	610.6±20.7 <sup>a</sup>	610.5±7.7 <sup>a</sup>	599.8±9.4 <sup>a</sup>
50	221.7±8.9 <sup>d</sup>	219.7±4.0 <sup>d</sup>	253.5±7.3 <sup>c</sup>	301.5±3.2 <sup>b</sup>	313.7±4.8 <sup>b</sup>
$k_p$ (-)					
<i>T</i> (°C)	Control	PEF10	PEF50	PEF200	PEF350
30	7.75±1.05 <sup>a</sup>	7.16±0.97 <sup>ab</sup>	6.26±0.85 <sup>bc</sup>	4.87±0.68 <sup>d</sup>	4.37±0.59 <sup>d</sup>
40	6.35±0.86 <sup>bc</sup>	5.40±0.73 <sup>cd</sup>	3.36±0.45 <sup>ef</sup>	1.99±0.16 <sup>fg</sup>	2.50±0.32 <sup>ef</sup>
50	1.27±0.17 <sup>g</sup>	1.89±0.26 <sup>fg</sup>	1.13±0.15 <sup>g</sup>	1.76±0.18 <sup>fg</sup>	1.73±0.16 <sup>fg</sup>
$\tau_p$ (h)					
<i>T</i> (°C)	Control	PEF10	PEF50	PEF200	PEF350
30	14.4±1.0 <sup>a</sup>	13.4±1.8 <sup>a</sup>	11.1±1.1 <sup>b</sup>	10.8±0.7 <sup>bc</sup>	9.0±4.4 <sup>de</sup>
40	10.4±1.2 <sup>bcd</sup>	9.4±1.3 <sup>cde</sup>	7.9±0.5 <sup>e</sup>	3.5±0.1 <sup>f</sup>	2.3±0.1 <sup>fg</sup>
50	3.7±1.2 <sup>f</sup>	2.4±0.5 <sup>fg</sup>	1.2±0.3 <sup>g</sup>	1.8±0.2 <sup>g</sup>	1.0±0.2 <sup>g</sup>

Διαφορετικοί εκθέτες υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων των μέσων  $C_{p,i}$ ,  $C_{p,f}$ ,  $k_p$  και  $\tau_p$  ± τυπική απόκλιση όπως υπολογίζεται από τη δοκιμή του Duncan για ένα επίπεδο σημαντικότητας  $p = 0,05$ .

Τα εκχυλίσματα C-φυκοκυανίνης με *EP* υψηλότερο από 0.7 αναγνωρίζονται ως κατάλληλα για εφαρμογή σε τρόφιμα. Σύμφωνα με αυτή την τιμή, όλα τα εκχυλίσματα που λαμβάνονται στους 30 °C σε αυτή τη μελέτη θεωρούνται κατάλληλα για τρόφιμα. Ωστόσο, στους 40 °C, τα εκχυλίσματα από μη επεξεργασμένη *Spirulina* απαιτούν χρόνους εκχύλισης μεγαλύτερους από 10 h προκειμένου να χαρακτηριστούν κατάλληλα για τρόφιμα.

**Συμπερασματικά**, η εφαρμογή ΠΗΠ οδήγησε σε σημαντική επιτάχυνση της ανάκτησης πρωτεϊνών και C-PC και συντέλεσε στην αύξηση του βαθμού καθαρότητας C-PC των εκχυλισμάτων σε σύντομους χρόνους εκχύλισης.



**Σχήμα 2.** Εξέλιξη καθαρότητας εκχυλίσματος σε C-PC ( $EP$ ) με χρόνο εκχύλισης για (α) 30 °C, (β) 40 °C και (γ) 50 °C. Οι γραμμές σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση μεταξύ των πειραματικών επαναλήψεων.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Ragaza, J. A., & Hossain, S. (2020). A review on Spirulina : alternative media for cultivation and nutritive value as an aquafeed. *Reviews in Aquaculture*, 1–25.
- [2] Ebrahimi, A., Pazuki, G., Mozaffarian, M., Ahsaie, F. G., & Abedini, H. (2023). Separation and Purification of C-Phycocyanin from *Spirulina platensis* Using Aqueous Two-Phase Systems Based on Triblock Thermosensitive Copolymers. *Food and Bioprocess Technology*, 16(11), 2582–2597.
- [3] Guo, Y., Wu, L., Zhu, Z., Hou, H., & Wang, Y. (2023). Investigation of Peptides Containing Branched-Chain Amino Acids from *Arthrospira platensis* Through A Peptidomics Workflow. *Food and Bioprocess Technology*, 17, 516–527.
- [4] Bleakley, S., & Hayes, M. (2021). Functional and bioactive properties of protein extracts generated from *Spirulina platensis* and *Isochrysis galbana* T-Iso. *Applied Sciences*, 11, 3964.
- [5] Chen, W., Xu, J., Yu, Q., Yuan, Z., Kong, X., Sun, Y., Wang, Z., Zhuang, X., Zhang, Y., & Guo, Y. (2020). Structural insights reveal the effective *Spirulina platensis* cell wall dissociation methods for multi-output recovery. *Bioresource Technology*, 300, 122628.
- [6] Larrosa, A. P. Q., Camara, Á. S., Moura, J. M., & Pinto, L. A. A. (2018). *Spirulina* sp. biomass dried/disrupted by different methods and their application in biofilms production. *Food Science and Biotechnology*, 27(6), 1659–1665.
- [7] Katsimichas, A., Stathi, S., Dimopoulos, G., Giannakourou, M., & Taoukis, P. (2024). Kinetics of pulsed electric fields assisted pigment extraction from *Chlorella pyrenoidosa*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 91, 103547.
- [8] Poojary, M. M., Barba, F. J., Aliakbarian, B., Donsi, F., Pataro, G., Dias, D. A., & Juliano, P. (2016). Innovative alternative technologies to extract carotenoids from microalgae and seaweeds. *Marine Drugs*, 214(14), 1–34.
- [9] Raso, J., Frey, W., Ferrari, G., Pataro, G., Knorr, D., Teissie, J., & Miklavčič, D. (2016). Recommendations guidelines on the key information to be reported in studies of application of PEF technology in food and biotechnological processes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 37, 312–321.
- [10] Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275.
- [11] Bennett, A., & Bogorad, L. (1973). COMPLEMENTARY CHROMATIC ADAPTATION IN A FILAMENTOUS BLUE-GREEN ALGA. *THE JOURNAL OF CELL BIOLOGY*, 58, 419–435.
- [12] Abalde, J., Betancourt, L., Torres, E., Cid, Á., & Barwell, C. (1998). Purification and characterization of phycocyanin from the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. IO9201. *Plant Science*, 136, 109–120.
- [13] Gadagkar, S. R., & Call, G. B. (2015). Computational tools for fitting the Hill equation to dose-response curves. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 71, 68–76.