



Alglerden Elde Edilen ve Gıdalarda Doğal Renklendirici Olarak Kullanılan Pigmentler ve Fonksiyonel Özellikleri

İşıl İlter¹, Saniye Akyl¹, Mehmet Koç², Figen Kaymak-Ertekin^{1*}

¹Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 35100 Bornova/İzmir, Türkiye

²Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 09010 Aydın, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Derleme Makale

Geliş 19 Nisan 2017

Kabul 13 Kasım 2017

Anahtar Kelimeler:

Alg
Doğal renk maddeleri
Fonksiyonel özellikler
Karotenoid
Fikobiliprotein

*Sorumlu Yazar:

E-mail: figen.ertekin@ege.edu.tr

ÖZET

Gıdalarda renk tüketicinin dikkatini çeken, albeniyi arttıran özelliklerin başında gelmektedir. Tüketicilerin taleplerindeki değişiklikler ve ülkelerin mevzuatları doğrultusunda, gıdaları renklendirmekte kullanılan sentetik renklendiricilerin kullanımı her geçen gün azalmakta ve gıda endüstrisi doğal renklendiricilere yönelmektedir. Algler son zamanlarda sürdürülebilir doğal renklendirici kaynağı olma özelliklerinden dolayı önem kazanmışlardır. Algler, bitkilere kıyasla biyokütlelerini hızlıca artırabilmekte ve böylelikle daha fazla pigment üretebilmektedir. Bu derleme çalışmasında alglerden elde edilen doğal renklendiricilerden; fikosiyanın, fikoeritrin, astaksantin, kantaksantin, β -karoten, lutein ve fukoksantin fonksiyonel özellikleri ve kullanım alanları hakkında bilgi verilmiştir.

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 5(12): 1508-1515, 2017

Natural Food Colorants Obtained from Algae and Their Functional Properties

ARTICLE INFO

Review Article

Received 19 April 2017

Accepted 13 November 2017

Keywords:

Algae
Natural food colourant
Functional properties
Carotenoid
Phycobiliprotein

*Corresponding Author:

E-mail: figen.ertekin@ege.edu.tr

ABSTRACT

Colour is one of the major features that fascinate the customers and makes the foods more allurements. Due to changes of customer demands and countries' legislations, usage of synthetic colorants is being decreased every day and food industry tends to use natural colorant. Algae have recently gained importance owing to a sustainable natural source of colorant. Algae can rapidly increase their biomass compared to plants thus they produce more pigments. This review covers the subjects about the functional properties and usage areas of natural colorants obtained from algae; phycocyanin, phycoerythrin, astaxanthin, canthaxanthin, β -carotene, lutein, fucoxanthin.

DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i12.1508-1515.1281>

Giriş

Renk gıdalarda tüketicinin dikkatini çeken birincil özelliklerin başında gelmektedir. Gıda endüstrisinde kullanılan sentetik renklendiriciler ile ilgili tüm ülkeler sıkı düzenlemelere gitmekte ve kullanımına izin verilen renklendirici sayısı giderek azalmaktadır (Yusuf ve ark., 2011; Mirjalili ve ark., 2011). Sentetik renklendiricilerin özellikle çocuklarda bazı alerjik reaksiyonlara neden olması, sağlık üzerine yan etkilerinin bulunması ve çevreye verdiği zararlar nedeniyle kullanımı giderek yasaklanmakta, buna bağlı olarak doğal renklendiricilerin pazardaki payı da artmaktadır (Grifoni ve ark., 2009). Bu nedenle doğal gıda renklendiricilerinin üretimi giderek önemli hale gelmektedir. Doğal renk maddeleri gıdalarda istenilen rengin oluşması ve gıdanın görünüşünün iyileştirilmesi için kullanılmakla birlikte, sağlık açısından da antioksidan ve antitümoral aktivite göstererek katıldıkları ürüne avantaj sağlamaktadır (Beutner ve ark., 2001). Doğal renk maddelerinin en önemli dezavantajı ise stabilitelerinin düşük olmasıdır (Fabre ve ark., 1993). Gıda renklendiricileri yapay olarak sentezleme veya bitkisel, hayvansal ve mineral kaynaklardan ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilmektedirler. Tüm bu kaynakların yansira son zamanlarda makroalgler, mikroalgler ve siyanobakteriler doğal renk maddeleri üretiminde kullanılan sürdürülebilir bir kaynak olarak değerlendirilmektedir (Dufossé ve ark., 2005). Her geçen gün yetiştiriciliği yaygınlaşan algler ve siyanobakteri türlerinin besin bileşenleri incelenmekte, yetiştiriciliği yapılacak yeni türlerin arayışı giderek daha da artmaktadır. Mikroskobik algler akuatik ekosistemde biyolojik ve ekolojik rollerinin yanı sıra gerek insan sağlığı gerekse akuakültürde yetiştiriciliği yapılan canlıların beslenmesi açısından önemli maddeler içerirler (Duru, 2013). Kontrollü koşullar altında alglerin yoğun üretimi yapılarak, içerdikleri pigmentler, proteinler, vitaminler ve minerallerden ötürü karasal ve sucul canlıların beslenmesinde, toz yem ve canlı yem üretiminde, suların arıtılmasında, gıda endüstrisinde ve gübre kaynağı olarak da faydalanılır. Algler ve siyanobakteriler tarımsal üretime kıyasla iklimsel koşullardan bağımsız biyoteknolojik yöntemler ile üretilebilmektedir. Bölünerek çoğalmaları sayesinde çok hızlı biyokütle artışı gösterebildiklerinden dolayı bitkilere göre çok daha yüksek miktarda pigment elde edilebilmektedir (Koray, 2002; Vonshak ve Richmond, 1988). Alglerden elde edilen başlıca pigmentler fikosiyanın, fikoeritrin, astaksantin, kantaksantin, β -karoten, lutein, fukoksantindir (Borowitzka ve Borowitzka, 1988; Ben-Amotz ve Avron, 1980). Bu pigmentler çok çeşitli alg türlerinde mevcut olup, farklı ekstraksiyon yöntemleriyle ve yapılarına uygun çözgen çeşitleri ile elde edilmektedir. Çizelge 1'de çeşitli alg türlerinden elde edilen başlıca pigmentler ve ekstraksiyon yöntemleri gösterilmektedir.

Fikosiyanın ve Fikoeritrin

Fikosiyanın ve fikoeritrin suda çözünür, koyu renkli ve floresan etkili olan protein yapıları fikobiliproteinler (fikobilinler) olarak bilinen pigmentlerdir. Fikobiliproteinler çoğunlukla siyanobakteriler ve bazı kırmızı alglerde bulunmaktadır (Glazer, 1994).

Fikosiyanın üretiminde kullanılan başlıca türler *Arthrospira platensis* ve *Spirulina platensis*; fikoeritrin üretiminde ise *Porphyridium* türleridir (Román ve ark., 2002). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda fikosiyanın üretiminde *Spirulina platensis*, *Spirulina maxima*, *Spirulina fusiformis*, *Anabaena sp.*, *Synechococcus sp.*, *Aphanothece halophytica*, *Nostoc sp.*, *Oscillatoria quadripunctulata* ve *Phormidium ceylanicum* gibi çeşitli türler kullanılmaktadır (Akaoglu, 2012). Elde edilen fikobiliprotein içeriği siyanobakteri ve mikroalg türünün kullandığı azot ve karbon kaynakları ve gelişme koşullarından etkilenmektedir (Sekar ve Chandramohan, 2008).

Fikobiliprotein yapısında temel olarak fikosiyanın, fikoeritrin ve allofikosiyanın yapıları bulunmaktadır (Hari ve ark., 1994). Fikosiyanın, mavi renkli, 610-665 nm dalga boyunda en yüksek absorpsiyonu veren pigmenttir. Antioksidan özellikte olduğu için gıda renklendirilmesinde sağlıklı bileşik olarak nitelendirilir ve floresan ışık altında kırmızı renk vermektedir. Fikosiyanın protoplazma içinde hücre kuru ağırlığının yaklaşık %20'sine varabilen oranlarda bulunabilir (Santiago-Santos, ve ark., 2004; Eriksen, 2008).

Fikoeritrin, kırmızı renkli, 490-570 nm arasında en yüksek absorpsiyonu veren ve floresan ışık altında parlak kırmızı renk gösteren bir pigmenttir. Fikoeritrin pigmenti suda çözünür yapıdadır. Kırmızı mikroalg türü olan *Porphyridium*, fikoeritrinin elde edildiği en önemli kaynaktır (Duru, 2013). Fikosiyanın fikobilizomlardan uygun şekilde ekstraksiyonu hücre duvarının aşırı dayanıklı olması nedeniyle oldukça zordur. Fikosiyanın ekstraksiyonunda hem kuru hem de ıslak biyokütle kullanılmaktadır. Farklı sıcaklıklarda ve farklı kurutma yöntemleri ile kurutulan biyokütle ve çeşitli tampon çözeltiler kullanılarak fikosiyanın elde edilmektedir (Oliveira ve ark., 2008). Biyokütlenin kurutulması aşamasında fikosiyanın kaybını aza indirmek için düşük sıcaklık uygulamaları tercih edilmektedir (Eriksen, 2008). Sarada ve ark. (1999) kuru ve yaş biyokütlenin kullanımı ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında kurutulmuş *Spirulina sp.*'den %50 oranında fikosiyanın kaybı olduğunu, yaş biyokütle kullanımının daha uygun olduğunu belirlemişlerdir.

Fikosiyanın ve fikoeritrin ekstraksiyonu için fiziksel ve kimyasal birçok yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemlerden bazıları; dondurma-çözme (-25°C, -18°C veya sıvı azotta dondurma, 4°C veya 30°C'de çözme) (Abalde ve ark., 1998; Soni ve ark., 2006), homojenizasyon (Boussiba ve Richmond, 1979; Abalde ve ark., 1998; Schmidt ve ark., 2005), yüksek basınç uygulaması (Patil ve ark., 2006; Patil ve Raghavarao, 2007), sonikasyon (Abalde ve ark., 1998), asit uygulaması (Sarada ve ark., 1999), lizozim uygulaması (Boussiba ve Richmond, 1979) ve mikroorganizma ile ekstraksiyondur (Zhu ve ark., 2007). Tüm bu yöntemlerin dışında süper kritik karbondioksit tekniği üzerinde yapılan çalışmalarla siyanobakterilerden fikosiyanın ve fikoeritrin renk maddelerinin ekstraksiyonunda gelişmeler sağlandığı ifade edilmiştir (Macías-Sánchez ve ark., 2007). Viskari ve Colyer (2003), ise azot kaviteasyon yöntemi ile etkili bir şekilde fikobiliprotein ekstraksiyonu yapılabileceğini bildirmişlerdir.

Çizelge 1 Alglerden elde edilen pigmentler maddeleri, bulunduğu canlılar ve ekstraksiyon yöntemleri

Pigment	Elde edildiği alg	Ekstraksiyon yöntemi
Fikosiyanın Fikoeritrin	<i>Spirulina platensis</i> <i>Spirulina maxima</i> , <i>Spirulina fusiformis</i> , <i>Anabaena sp.</i> , <i>Synechococcus sp.</i> , <i>Aphanothece halophytica</i> , <i>Nostoc sp.</i> , <i>Oscillatoria quadripunctulata</i> ve <i>Phormidium ceylanicum</i> <i>Porphyridium</i> türleri	Dondurma-çözme (Abalde ve ark., 1998; Soni ve ark., 2006), Homojenizasyon (Boussiba ve Richmond, 1979; Abalde ve ark., 1998; Schmidt ve ark., 2005), Yüksek basınç uygulaması (Patil ve ark., 2006; Patil ve Raghavarao, 2007), Sonikasyon (Abalde ve ark., 1998), Asit uygulaması (Sarada ve ark., 1999), Lizozim uygulaması (Boussiba ve Richmond, 1979), Mikroorganizma ile ekstraksiyonu (Zhu ve ark., 2007), Azot kavıtasyon yöntemi (Viskari ve Colyer, 2003).
Astaksantin	<i>Haematococcus pluvialis</i> türleri	Çözgen ekstraksiyonu (Sarada ve ark., 2006), Ultrasonik destekli mikrodalga ekstraksiyon (Ruen-ngam ve ark., 2011), Enzim destekli çözgen ekstraksiyonu (Kobayashi ve ark., 1997), Soxhlet ekstraksiyonu (Wang ve ark., 2012).
Kantaksantin	<i>Haematococcus lacustris</i> <i>Bradyrhizobium</i> <i>Halobacterium</i>	Çözgen ekstraksiyonu (Papaioannou ve ark., 2008), Ultrasonik destekli ekstraksiyon (Macias-Sanchez ve ark., 2009), Asitle muamele (Ni ve ark., 2008), Süperkritik CO ₂ ekstraksiyonu (Macias-Sanchez ve ark., 2009)
β-karoten	<i>Dunaliella salina</i> , <i>Dunaliella bardawil</i>	Süper kritik ekstraksiyon (Mendes ve ark., 2003) Basınçlı sıvı ekstraksiyonu Ultrasonik destekli ekstraksiyon Vurgulu elektrik alan ekstraksiyonu
Lutein	<i>Chlorella pyrenoidosa</i> , <i>Scenedesmus obliquus</i> , <i>Chlorella ellipsoidea</i>	Mikrodalga destekli ekstraksiyon, Ultrasonik destekli ekstraksiyon, Klasik ekstraksiyon (Pasquet ve ark., 2011; Abrahamsson ve ark., 2012)
Fukoksantin	<i>Undaria pinnatifida</i> , <i>Hijikia fusiformis</i> , <i>Sargassum fulvellum</i> , <i>Chaetoseros sp.</i> , <i>Eisenia bicyclis</i> , <i>Kjellmaniella crassifolia</i> , <i>Alaria crassifolia</i> , <i>Sargassum horneri</i> , <i>Cystoseira hakodatensis</i> , <i>Laminaria japonica</i> , <i>Undaria pinnatifida</i> ve <i>Sargassum fusiforme</i>	Mikrodalga destekli ekstraksiyon, Klasik ekstraksiyon (Xiao ve ark., 2012), Basınçlı sıvı ekstraksiyonu

Fikobiliproteinler ilaç sektöründe floresan maddeler (doğal renklendiriciler) olarak kullanılır. Farmakolojik potansiyele sahip fikobiliproteinler antioksidan, antiinflamatuvar, sinir hücreleri ve karaciğeri koruyucu maddeler içerir (Eriksen, 2008; Sekar ve Chandramohan, 2008; Erdal ve Ökmen, 2013). Fikosiyanın renklendirme uygulamalarında kullanılırken, fikoeritrin daha çok floresan ajanı olarak kullanılmaktadır (Sekar ve Chandramohan, 2008). Fikosiyanın kararlılığından dolayı kozmetik formülasyonlarında ve gıda renklendiricisi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kırmızı alglerin pigmentleri gıda ve kozmetik bileşenleri için önerilmektedir (Yaron ve Arad, 1993).

Günümüzde gıda sanayisinde, özellikle içecek ve şekerleme sanayisinde, yapay mavi renkli boyaların kullanımı kısıtlanmakta ve doğal mavi renkli boyaların kullanımına olan ilgi giderek artmaktadır (Jespersen ve ark., 2005). Fikosiyanın, gıda, ilaç ve kozmetik sanayilerinde, kansorejen olduğundan şüphe edilen sentetik pigmentlerin yerini alabileceği bildirilmiştir (Sarada ve ark., 1999). Bu bağlamda siyanobakteriden

elde edilen, doğal ve mavi renkli bir pigment olan fikosiyanın üretimi dikkat çekmektedir. Fikoeritrin ise pembemsi-kırmızı rengi ile jelatin içeren tatlılarda ve süt ürünlerinde renklendirici olarak kullanılmakta, gıdalara katılma oranları ise gıda çeşidine göre farklılık göstermekle birlikte ortalama 50-100 mg/kg olmaktadır. Bu amaçla camsı sert şekerler, alkollü ve alkolsüz içeceklerde kullanılmaktadır (Yaron ve Arad, 1993).

Astaksantin

Karotenoid familyasından olan astaksantin, *Haematococcus pluvialis* alginde kuru temelde yaklaşık 2-20 g/kg bulunan bir pigmenttir (Duffose ve ark., 2005). Yapısında yüksek miktarda antioksidan aktivite gösteren; C ve E vitamininden ve diğer karotenoidlerden daha etkin bileşenler bulunmaktadır (Spolaore ve ark., 2006). Yapılan çalışmalar astaksantin antioksidan özelliklerinin β-karoten, lutein, zeaksantin ve kantaksantinden 10 kat, α-tokoferolden ise 500 kat daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu sebeple astaksantin

süper E vitamini olarak da isimlendirilmektedir (Koushik ve ark., 2006).

Astaksantin ekstraksiyonunun gerçekleştirilmesinde çözgen ekstraksiyonu (Sarada ve ark., 2006), ultrasonik destekli mikrodalga ekstraksiyon (Ruen-ngam ve ark., 2011), enzim destekli çözgen ekstraksiyonu (Kobayashi ve ark., 1997) ve soxhlet ekstraksiyonu (Wang ve ark., 2012) gibi birçok yöntem kullanılmıştır. Uygulanan ekstraksiyon işleminin astaksantin antioksidan aktivitesine etkisi daha sonra uygulanacak olan işlemler, paketleme ve depolama açısından önemli bir etkiye sahiptir. Yapısındaki yüksek elektron içeren konjuge çift bağları sebebiyle ısıya, ışığa ve oksijene yüksek duyarlılık gösteren astaksantin pigmenti; çeşitli fiziksel ve kimyasal bozulmalara yol açmaktadır. Astaksantin ekstraksiyonu için gerçekleştirilen yöntemlerin yanısıra çözgenin uzaklaştırılma aşaması da astaksantin yapısının korunmasında ve antioksidan aktivitesinin korunmasında önemli rol oynamaktadır (Raposo ve ark., 2012). Astaksantin fonksiyonel materyal olarak gıda endüstrisinde hem renklendirici özelliği hem de antioksidan etkisi sebebiyle sıklıkla kullanılmaktadır (Kang ve Sim, 2008).

Kültür ortamında yetiştirilen somon balıklarında astaksantin tüketiminin doğurganlığı ve larvaların büyümelerini geliştirdiği belirlenmiştir (Torrissen ve ark., 1995). Astaksantin, tropikal süs balıklarının renklerinin korunmasında, kümes hayvanlarının yumurta sarılarının renklendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Astaksantin sağlık üzerine etkilerini incelemek için yapılan *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalarda çeşitli rahatsızlıklara karşı koruyucu organizmaların yapı taşı olan düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu önleyici etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Damar tıkanıklığı, koroner arter hastalığı, iskelet beyin gelişimi, iltihabik hastalıklar, metabolik sendrom, diyabet, mide-bağırsak ve karaciğer hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıkların (Alzheimer ve Parkinson) tedavisinde ve engellenmesinde astaksantin etkisi belirlenmiş olup (Duffose ve ark., 2005) bunun yanında zihinsel fonksiyonları geliştirmek gibi özellikleri de yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (Kidd, 2011). Ikeuchi ve ark., (2007) yaptıkları çalışmada astaksantin plazma trigiliseridini ve toplam kolesterolü düşürücü, vücut ağırlığını ve yağ dokusunun artışını sınırlayarak yüksek yağlı diyetlerle obezitenin önlenmesine yardımcı olduğunu bulgulamışlardır. Son zamanlarda insan metabolizmasındaki yararlı etkilerinden dolayı besin takviyesi ve antioksidan olarak da kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (Tanaka ve ark., 1995).

Kantaksantin

Kantaksantin kırmızı-turuncu renk veren, karotenoidlerin bir alt grubu olan ksantofil çeşididir. Eldesinde *Haematococcus lacustris* ve *Bradyrhizobium* türleri kullanılmaktadır. Bu karotenoid aynı zamanda tuz üretim alanlarında dağılım gösteren, *Halobacterium* gibi halofilik bakterilerde de bulunmaktadır. Kimyasal yapısında β -karoten gibi serbest radikal süpürme etkisi ve antioksidan etki sağlayan bileşenler bulunmaktadır (Tanaka ve ark., 2012). Diğer polien bileşenler gibi kantaksantin yapısı yağda çözünen özellik

göstermektedir, fakat yapıdaki düşük polarite kısmen suda çözünürlük de sağlamaktadır (Seyedrazi ve ark., 2011).

Etkili bir karotenoid ekstraksiyonu biyokütlelerin içeriğine bağlıdır, bunun yanında çözgen tipi, çözgen biyokütle oranı, ekstraksiyon sıcaklığı ve partikül boyutu gibi ekstraksiyon koşullarının saptanmış olması da önemlidir (Krupa ve ark., 2010). Kantaksantin çözgen ekstraksiyonu aseton, hegzan, etanol, tetrahidrofur, etilasetat kombinasyonları veya tek başına kullanımları ile gerçekleştirilmektedir (Papaioannou ve ark., 2008). Ultrasonik destekli ekstraksiyon (Macias-Sanchez ve ark., 2009), asitle muamele (Ni ve ark., 2008), süperkritik CO₂ ekstraksiyonu (Macias-Sanchez ve ark., 2009) yöntemleri ile kantaksantin ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği çalışmalar literatürde yer almaktadır. Kullanılan çeşitli yöntemlerin yanısıra biyokütleye ön işlem uygulama (Papaioannou ve ark., 2008), asit/alkali ve enzim uygulaması, sıcaklık ve mekanik kuvvet uygulamaları da kantaksantin ekstraksiyonu açısından incelenmiştir (Ni ve ark., 2008).

Kantaksantin pigmenti hem hayvan yemi hem de insan tüketim ürünlerinde kullanılmaktadır. Eczacılık, kozmetik, balık yetiştiriciliği, kümes hayvanları ve gıda endüstrisinde geniş kullanım uygulamalarına sahiptir (Hojjati ve ark., 2014). Sarımsı renk tonunu vermek için kümes hayvanları, kozmetik, balık ve et ürünleri, meyve ürünleri, içecekler, çerez, bira ve şarap gibi gıda ürünlerinde kullanılmaktadır. Bunlar arasında *B. linens*, yumuşak peynir yapımında peynirlerin dış yüzeyini kaplayan kırmızı tabaka halinde bulunmaktadır (Galaup ve ark., 2005). Kantaksantin gıdalarda kullanımına izin verilen en yüksek miktarı jel ve marmelat gibi ürünlerde 200 mg/kg iken en düşük kullanım miktarı alkol, karbonatlanmış ve karbonatlanmış su temelli içeceklerde 5 mg/kg'dır (Codex, 2006).

Beta Karoten

β -karoten yağda çözünen fakat sulu çözeltilerde emülsiyeye olan, sarı-turuncu renkli bir pigmenttir. Yapının sarı-turuncu rengi yüksek oranda doymamış zincirini oluşturan (C₄₀H₅₆) kromoforlar tarafından sağlanmaktadır. β -karoten, doğada birçok canlı yapısında bulunmasının yanı sıra algal karotenoidlerin kloroplastlarında da mevcuttur. En iyi karotenoid kaynağı olarak bilinen *Dunaliella* cinsinden *Dunaliella salina* ile *Dunaliella bardawil* pigment oluşturmak için kullanılan türlerdir. *Dunaliella*, *Chlorophyceae* familyasında bulunan yeşil alglerdendir. Bu türler yüksek oranda β -karoteni yapılarında toplayabilme özelliğine sahiptir. Yapılan incelemelerde *Dunaliella salina*'nın ideal koşullarda kültür ortamında 400 mg β -karoten üretebildiği tespit edilmiştir. *Dunaliella* kuru ağırlığının %14'ünden fazla β -karoten üretmektedir (Gomez ve ark., 2003). β -karoten, *Dunaliella salina* tarafından ticari olarak üretilen ilk üründür (Borowitzka, 2013). Mendes ve ark., (2003), süper kritik ekstraksiyon yöntemiyle *Dunaliella salina*'dan β -karoteni %14 (kuru temelde) verimle elde ettiklerini belirtmişlerdir. Ekstrakt içinde bulunan β -karotenin sıvı kromatografi ile ayrılması ve tayini için C30 kolon (karotenoid kolon, 250 × 4.6 mm) tercih edilmektedir.

β -karotenin fotosentez sırasında zararlı ışığa karşı fotokoruma etkisi mevcuttur (Kahyaoğlu ve Kıvanç 2007). Sağlık açısından antioksidan, kansere karşı koruma, bağışıklık sistemini arttırma, tümör gelişimini inhibe etme gibi özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir. A vitaminin öncül maddesi ve yüksek antioksidan özellikleri ile farklı ürünlerde kullanılmaktadır (Yaakob ve ark., 2014). Sağladığı birçok fayda ile yaygın olarak çalışılan ve beslenmede bulunması gereken bir karotenoid çeşididir. β -karoten bazı peynir ürünleri ve margarınlerin yapısına eklenerek rengin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır. Kanatlı hayvanların yemlerinde ve bazen et ve yumurta sarısı renginin iyileştirilmesinde kullanılmaktadır (Lee ve ark., 2010). β -karotenin gıdalarda kullanımına izin verilen en yüksek miktarı günlük içeceklerde, süt ve süt tozlarında, yoğurtta, jel ve marmelatlarda 1000 mg/kg'dır. En düşük kullanım miktarı ise taze et ile krema türevlerinde 20 mg/kg'dır (Codex, 2006).

Lutein

Doğal olarak bulunan karotenoidlerden biri olan lutein, bir ksantofildir. İnsan sağlığına faydalı ve fonksiyonel gıda olarak kullanılan sarı bir pigmenttir (Granado ve ark., 2003). *Chlorella pyrenoidosa* ve *Scenedesmus obliquus* türleri yüksek miktarda lutein üreten mikroalglerdir (Del Campo ve ark., 2000). Luteinin bir stereoizomeri olan zeaksantin, genellikle luteinle birlikte bulunmaktadır. Zeaksantin yeşil mikroalgler tarafından sentezlenir. *Chlorella ellipsoidea* türü tarafından zeaksantin üretildiği belirtilmiştir (Goodrow ve ark., 2006).

Lutein geleneksel ve çevre dostu ekstraksiyon yöntemleriyle (mikrodalga, ultrasonik destekli ekstraksiyon) elde edilmektedir (Pasquet ve ark., 2011; Abrahamsson ve ark., 2012). Macias-Sanchez ve ark., (2010) gerçekleştirdiği çalışmada süper kritik akışkan ekstraksiyonuyla veriminin %86'ya kadar çıktığını belirlemişlerdir. Ekstrakt içinde bulunan luteinin sıvı kromatografi ile ayrılması ve tayini için C18 kolon tercih edilmiştir.

Lutein yaşa bağlı katarakt ve retinitis pigmentosa gibi göz hastalıkları ve kanser riskini azaltır. İçerdiği yüksek antioksidan aktivitesi sayesinde yaşa bağlı göz hastalıklarını azaltmaktadır (Olmedilla ve ark., 2003). Lutein hazır çorba, alkollü ve alkolsüz içecek, bisküvi, sos, kek ve şekerleme endüstrisinde oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Lutein ve zeaksantin tavuk derisi rengi, evcil hayvan besinleri, hayvan ve balık yemleri ve farmasötik amaçlar için kullanılmaktadır (Spolaore ve ark., 2006).

Fukoksantin

Fukoksantin doğada en fazla bulunan karotenoidlerden biridir ve karotenoid üretiminin %10'undan fazlasını oluşturmaktadır (Dembitsky ve Maoka, 2007). Fukoksantin, kahverengi deniz yosunları (*Phaeophyceae*), diatomlar (*Bacillariophyta*) ve *Chromophyta*'da (Heterokontophyta veya Ochrophyta) bulunan, klorofil-a, klorofil-c ve β -karoten ile birlikte kahverengi-turuncu renkli bir pigmenttir (Nomura ve ark.,

1997; Beppu ve ark., 2009). Fukoksantin içeren başlıca yenilebilir deniz yosunları *Undaria pinnatifida*, *Hijikia Fusiformis*, *Sargassum fulvellum*, *Chaetoseris sp.*, *Eisenia bicyclis*, *Kjellmaniella crassifolia*, *Alaria crassifolia*, *Sargassum horneri*, *Cystoseira hakodatensis*, *Laminaria japonica*, *Undaria pinnatifida* ve *Sargassum fusiforme* 'dir (Airanthi ve ark., 2011; Xiao ve ark., 2012). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde fukoksantin elde edilmesinde genellikle makroalgler (*Laminaria japonica*, *Eisenia bicyclis* ve *Undaria pinnatifida* vb.) kullanılmıştır (Kim ve ark., 2011). Bunlardan çok az bir kısmında mikroalglerden (*Phaeophyta*, *Phaeodactylum tricorutum*) fukoksantin ekstraksiyonu, tayini ve izolasyonu yapılmıştır. Kahverengi makroalgler Güneydoğu Asya ve bazı Avrupa ülkelerinde geleneksel olarak tüketilen gıda grupları arasındadır. Kahverengi makroalglerden düşük konsantrasyonlarda fukoksantin (0,02-0,58 mg/g taze ağırlık) elde edilmektedir ve bu durum fukoksantin ticari olarak üretimi için kabul edilmemektedir (Kim ve ark., 2012).

Fukoksantin diğer karotenoidlere oranla daha polar yapıda olduğundan genellikle etanol, metanol, etil asetat, aseton ve bunların farklı oranlarda sulu karışımları gibi daha polar çözümler ile ekstrakte edilmektedir. Fukoksantin ekstraksiyonu sırasında bazı durumlarda hegzan polariteyi düşürmek amacıyla yardımcı çözümler olarak kullanılmaktadır (Shang ve ark., 2011; Xiao ve ark., 2012; Kim ve ark., 2012). Fukoksantin tayini için ise genellikle HPLC-DAD ve/veya LC-MS kullanılmaktadır. Ekstrakt içinde bulunan fukoksantin sıvı kromatografi ile ayrılması ve tayini için C30 kolon tercih edilmiştir. Ekstraktın bileşimine göre araştırmacılar tarafından yürütücü faz olarak asetonitril, metanol, su, metil tert-butil-eter vb. çözümler ve bunların bileşimleri kullanılmıştır (Crupi ve ark., 2013; Liu ve ark., 2014).

Gerçekleştirilen çalışmalar ile fukoksantin antikanser, antihipertansif, ateş düşürücü, antioksidan ve antiobezite etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Hosokawa ve ark., 2004; Maeda ve ark., 2005; Heo ve ark., 2010). Fukoksantin pigmenti ayrıca yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir ve fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, fukoksantin herhangi bir toksik etkisinin bulunmadığı da rapor edilmiştir (Pangestuti ve Kim, 2011; Mise ve ark., 2011). Gıda katkı maddesi olarak kullanımı ülkemizde pek yaygın olmayan fukoksantin, zayıflatıcı ilaç olarak kullanılmaktadır. Ayrıca fukoksantin karaciğer, beyin, kemik, deri ve gözlerin kan damarlarını korumaktadır (Kelman ve ark., 2012).

Sonuç

Sağlıklı beslenme kavramının gelişmesiyle birlikte doğal ürünlere olan talep her geçen gün artmaktadır. Ayrıca tüketiciler işlenmiş ürünlerin bileşiminde katkı maddeleri de dâhil olmak üzere daha fazla doğal bileşenin yer almasını istemekte ve bu özelliği sağlayan ürünlere yönelmektedirler. Sentetik renklendiricilerin sağlık üzerine yan etkilerinin bulunması ve çevreye verdiği zararlar nedeniyle kullanımları giderek azalmaktadır. Bu nedenle doğal renklendiricilere talep her geçen gün artmaktadır. Algler doğal renklendiricilerin üretiminde sürdürülebilir bir kaynak olarak kullanılabilir niteliktedirler.

Günümüzde denetim ve yasal düzenlemeler ülkeden ülkeye değişmekle birlikte yapılan hızlı test etme yöntemlerinin kullanımı, klinik denemeler, markalama, gıda güvenliği ve kalite konularındaki araştırmalarla algler gibi denizel kaynaklar fonksiyonel gıda ve gıda bileşenleri olarak güvenli ve etkili bir şekilde kullanıma sunulmaktadır.

Alglerden elde edilen pigmentlerin, birçok hastalığın oluşumu öncesinde koruyucu olarak, bir kısım hastalıkların da tedavisinde insan sağlığı açısından büyük ölçüde önem taşıdığı, ayrıca normal yaşam fonksiyonlarımızın devamı için de gerekliliği bilinmektedir.

Alglerden elde edilen fikosiyanın, fikoeritrin, astaksantin, kantaksantin, β -karoten, lutein ve fukoksantin gibi pigment bileşenlerini içeren ürünlerin besin desteği olarak veya gıdada başarıyla renklendirici olarak kullanımı oldukça önemli bir konudur. Bu çalışmada, alglerden elde edilen başlıca pigmentler, özellikleri, elde edildiği türler, ekstraksiyon yöntemleri, fonksiyonel özellikleri ve başlıca kullanım alanları son yıllardaki literatür verileri ışığında detaylı olarak ele alınmıştır.

Kaynaklar

- Abalde J, Betancourt L, Torres E, Cid A, Barwell C. 1998. Purification and characterization of phycocyanin from the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. IO9201. *Plant Sci.*, 136: 109-120. DOI:10.1016/S0168-9452(98)00113-7.
- Abrahamsson V, Rodriguez-Meizoso I, Turner C. 2012. Determination of carotenoids in microalgae using supercritical fluid extraction and chromatography, *J Chromatogr*, 1250: 63–68. DOI:10.1126/science.1078002.
- Airanthi MW, Hosokawa M, Miyashita K. 2011. Comparative antioxidant activity of edible Japanese brown seaweeds. *J. Food Sci.* 76 (1): 104-111.
- Akaoğlu A, 2012. Aylın Akoğlu Doktora Tezi 109. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2.
- Ben-Amotz A, Avron M. 1980. Glycerol, β -carotene and dry algal meal production by commercial cultivation of *Dunaliella*. In *Algae Biomass* (ed. G. Shelef and C.J. Soeder), Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical Press, 603-610.
- Beppu F, Niwano Y, Tsukui T, Hosokawa M, Miyashita K. 2009. Single and repeated oral dose toxicity study of fucoxanthin (FX), a marine carotenoid, in mice. *J. Toxicol. Sci.* 34: 501–510.
- Beutner S, Bloedorn B, Frixel S, Blanco IH, Hoffmann T, Martin HD, Mayer B, Noack P, Ruck C, Schmidt M, Schülke I, Sell S, Ernst H, Haremza S, Seybold G, Sies H, Stahl W, Walsh R. 2001. Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of β -carotene in antioxidant functions. *J. Sci. Food Agric.* 81: 559-568.
- Borowitzka MA, Borowitzka LJ. 1988. *Dunaliella*. In: *Microalgal Biotechnology*, (ed. M.A. Borowitzka and L.J. Borowitzka), Cambridge University Press, Cambridge. 27–58.
- Borowitzka MA. 2013. High-value products from microalgae their development ve commercialisation. *J. Appl. Phycol.* 25(3): 743-756. DOI: 10.1007/s10811-013-9983-9.
- Boussiba S, Richmand AE. 1979. Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Arch. Microbiol.* 120: 155-159. DOI: 10.1007/BF00409102
- Chandini SK, Ganesan P, Bhaskar N. 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India, *Food Chem*, 107(2): 707-713. DOI: 10.1007/s11655-013-1548-x.
- Codex Stan-262-2006. Codex Standard for mozerella.
- Crupi P, Toci AT, Mangini S, Wrubl F, Rodolfo L, Tredici MR, Coletta A, Antonacci D. 2013. Determination of fucoxanthin isomers in microalgae (*Isochrysis* sp.) by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector multistage mass spectrometry coupled with positive electrospray ionization. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 27(9): 1027-1035. DOI: 10.1002/rcm.6531.
- Del Campo JA, Moreno J, Rodríguez H, Vargas MA, Rivas J, Guerrero MG. 2000. Carotenoid content of chlorophycean microalgae: factors determining lutein accumulation in *Muriellopsis* sp.(Chlorophyta). *J Biotechnol.* 76(1): 51-59. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00178-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00178-9).
- Dembitsky VM, Maoka T. 2007. Allenic and cumulenenic lipids. *Prog Lipid Res*, 46:328–375.
- Dufossé L, Galaup P, Yaron A, Arad SM, Blanc P, Murthy KNC, Ravishankar G. 2005. Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: A scientific oddity or an industrial reality? *Trends Food Sci. Technol.* 16, 389–406. doi:10.1016/j.tifs.2005.02.006.
- Duru MD. 2013. Mikroalgelerin Pigment Kaynağı Olarak Balık Yemlerinde Kullanımı - Utilization of Microalgae as a Source of Pigment in Fish Feed. *Türk Bilim. Derlemeler Derg.* 6: 112–118.
- Erdal P, Ökmen G. 2013. Gıdalarda Kullanılan Mikrobiyal Kaynaklı Pigmentler, *TJSR*, 6 (2): 58-72. DOI: 10.12691/tjant-4-6-2.
- Eriksen NT. 2008. Production of phycocyanin – a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Appl Microbiol Biotechnol.* 80:1-14. DOI: 10.1007/s00253-008-1542-y.
- Fabre CE, Santerre AL, Loret MO, Baberian R, Pareilleux A, Goma G. 1993. Production and food applications of the red pigments of *Monascus ruber*. *Journal of Food Science*, 58: 1099–1102 (C1110).
- Galaup P, Flamin C, Carlet E, Dufossé L. 2005. HPLC analysis of the pigments produced by the microflora isolated from the 'Protected Designation of Origin' French red-smear soft cheeses Munster, Epoisses, Reblochon and Livarot. *Food Res Int.* 38: 855–860. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2005.01.011>.
- Glazer AN. 1994. Phycobiliproteins—a family of valuable, widely used fluorophores. *Journal of Applied Phycology*, 6:105–112. doi:10.1007/BF02186064.
- Gomez P, Barriga A, Cifuentes AS Gonzalez M. 2003. Effect of salinity on the quantity ve quality of carotenoids accumulated by *Dunaliella salina* (strain CONC-007) ve *Dunaliella bardawil* (strain ATCC 30861) Chlorophyta. *Biol Res.* 36: 185–192. doi: 10.4067/S0716 97602003000200008.
- Goodrow EF, Wilson, T, Houde SC, Vishwanathan R, Scollin P, Handelman G, Nicolosi RJ. 2006. Consumption of one egg per day increases serum lutein and zeaxanthin concentrations in older adults without altering serum lipid and lipoprotein cholesterol concentrations. *J Nutr.* 136(10): 2519–24. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16988120>.
- Granado F, Olmedilla B, Blanco I. 2003. Nutritional ve clinical relevance of lutein in human health. *Br J Nutr.* 90: 487–502. doi: 10.1079/BJN2003927.
- Grifoni D, Bacci L, Zipoli G, Carreras G, Baronti S, Sabatini F. 2009. Laboratory and outdoor assessment of UV protection offered by flax and hemp fabrics dyed with natural dyes. *Photochem. Photobiol.* 85: 313-320.
- Hari RK, Patel TR, Martin AM. 1994. An overview of pigment production in biological systems: functions, biosynthesis, and applications in food industry. *Food Rev Int.* 10: 49–70. ISSN : 8755-9129.

- Heo SJ, Yoon WJ, Kim KN, Ahn GN, Kang SM, Kang DH, Affan A, Oh C, Jung WK, Jeon YJ. 2010. Evaluation of anti-inflammatory effect of fucoxanthin isolated from brown algae in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Food Chem Toxicol.* 48(8-9): 2045-2051. doi: 10.1016/j.fct.2010.05.003.
- Hojjati M, Razavi SH, Rezaei K, Gilani K. 2014. Stabilization of canthaxanthin produced by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 with spray drying microencapsulation. *J Food Sci Technol.* 51(9): 2134-2140. doi: 10.1007/s13197-012-0713-0.
- Hosokawa M, Kudo M, Maeda H, Kohno H, Tanaka T, Miyashita K. 2004. Fucoxanthin induces apoptosis and enhances the antiproliferative effect of the PPAR γ ligand, troglitazone, on colon cancer cells. *Biochim Biophys Acta.* 1675: 113-119. doi: 10.1016/j.bbagen.2004.08.012.
- Hosokawa M, Okada T, Mikami N, Konishi I, Miyashita K. 2009. Biofunctions of marine carotenoids. *Food Sci Biotechnol.* 18(1): 1-1. doi:10.1159/000212746
- Ikeuchi M, Koyama T, Takahashi J, Yazawa K. 2007. Effects of astaxanthin in obese mice fed a high-fat diets. *Biosci Biotechnol Biochem.* 71:839–899. <http://dx.doi.org/10.1271/bbb.60521>
- Jespersen L, Strømdahl LD, Olsen K, Skibsted LH. 2005. Heat and light stability of three natural blue colorants for use in confectionery and beverages. *Eur Food Res Technol.* 220:261–266. doi:10.1007/s00217-004-1062-7.
- Kahyaoglu M, Kıvanç M. 2007. Endüstriyel Atık Maddelerden Mikrobiyal Yolla Beta Karoten Üretimi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.)*, 17(2): 61-66. ISSN : 1308-7576.
- Kang CD, Sim SJ. 2008. Direct extraction of astaxanthin from *Haematococcus* culture using vegetable oils. *Biotechnol Lett.* 441–444. doi:10.1007/s10529-007-9578-0.
- Kelman D, Posner EK, McDermid KJ, Tabandera NK, Wright PR, Wright AD. 2012. Antioxidant activity of Hawaiian marine algae. *Mar Drugs.* 10:403–426. doi:10.3390/md10020403.
- Kidd P. 2011. Astaxanthin, cell membrane nutrient with diverse clinical benefits and anti-aging potential. *ALTERN MED REV.* 16(4): 355–364. DOI: PMID: 22214255.
- Kim SM, Jung YJ, Kwon ON, Cha KH, Um BH, Chung D, Pan CH. 2012. A potential commercial source of fucoxanthin extracted from the microalga *Phaeodactylum tricorutum*. *Appl Biochem Biotechnol.* 166(7): 1843-1855. doi: 10.1007/s12010-012-9602.
- Kim SM, Shang YF, Um BH. 2011. A preparative method for isolation of fucoxanthin from *Eisenia bicyclis* by centrifugal partition chromatography. *Phytochem Anal.* 22: 322-329. doi: 10.1002/pca.1283.
- Kobayashi M, Kurimura Y, Sakamoto Y, Tsuji Y. 1997. Selective extraction of astaxanthin and chlorophyll from the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnol. Tech.* 11:657–660. DOI:10.1023/A:1018455209445.
- Koray T. 2002. *Denizel fitoplankton (Ders kitabı)*. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları. Vol 32: 147-14.
- Koushik A, Hunter DJ, Spiegelman D, Anderson KE, Buring JE, Freudenheim JL. 2006. Intake of the major carotenoids and the risk of epithelial ovarian cancer in a pooled analysis of 10 cohort studies. *Int J Cancer.* 119:2148–2154. doi: 10.1002/ijc.22076.
- Krupa D, Nakkeeran E, Kumaresan N, Vijayalakshmi G, Subramanian R. 2010. Extraction, purification and concentration of partially saturated canthaxanthin from *Aspergillus carbonarius*. *Bioresour Technol.* 101 (19): 7598–7604. doi:10.1016/j.biortech.2010.04.093.
- Lee DS, Pitari G, Grewe V, Gierens K, Penner JE, Petzold A. 2010. Transport impacts on atmosphere ve climate: aviation. *Atmos Environ.* 44:4678–734. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.06.005>
- Liu HL, Chen BH, Kao TH, Shiau CY. 2014. Carotenoids composition in *Scutellaria barbata* D. Don as detected by high performance liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry-atmospheric pressure chemical ionization. *J Funct Foods* 8: 100-110. doi:10.1016/j.jff.2014.03.008.
- Macias-Sanchez MD, Fernandez-Sevilla JM, Acien Fernandez FG, Ceron Garcia MC, Molina Grima E. 2010. Supercritical fluid extraction of carotenoids from *Scenedesmus almeriensis*. *Food Chem.* 123: 928–935. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.076>.
- Macias-Sanchez MD, Mantell C, Rodriguez M, de la Ossa ME, Lubian LM, Montero O. 2009. Comparison of supercritical fluid and ultrasound-assisted extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Dunaliella salina*. *Talanta.* 77 (3): 948–952. doi: 10.1016/j.talanta.2008.07.032.
- Macias-Sánchez MD, Mantell C, Rodriguez M, Ossa EM, Lubián LM, Montero O. 2007. Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Synechococcus* sp.. *J Supercrit Fluids.* 39(3): 323-329. <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2006.03.008>.
- Maeda H, Hosokawa M, Sashima T, Funayama K, Miyashita K. 2005. Fucoxanthin from edible seaweed, *Undaria pinnatifida*, shows antiobesity effect through UCP1 expression in white adipose tissues. *Biochem Biophys Res Commun.* 332(2): 392-397. doi:10.1016/j.bbrc.2005.05.002.
- Mendes RL, Nobre BP, Cardoso MT, Pereira AP, Palavra AF. 2003. Supercritical carbondioxide extraction of compounds with pharmaceutical importance from microalgae. *Inorganica Chim Acta.* 356:328–34. doi:10.1016/S0020-1693(03)00363-3.
- Mirjalili M, Nazarpour K, Karimi L. 2011. Eco-friendly dyeing of wool using natural dye from weld as co-partner with synthetic dye. *J. Clean. Prod.* 19: 1045-1051.
- Mise T, Ueda M, Yasumoto T. 2011. Production of fucoxanthin-rich powder from *Cladosiphon okamuranus*. *Adv J Food Sci Technol.* 3(1): 73-76. ISSN: 2042-4876.
- Ni H, Chen QH, He GQ, Wu GB, Yang YF. 2008. Optimization of acidic extraction of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*. *J Zhejiang Univ Sci B.* 9 (1): 51–59. DOI: 10.2478/s11696-014-0558-2.
- Nomura T, Kikuchi M, Kubodera A, Kawakami Y. 1997. Proton-Donative Antioxidant Activity of Fucoxanthin with 1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH). *IUBMB Life.* 42 (2):361-370.
- Oliveira EG, Rosa GS, Moraes MA, Pinto LAA. 2008. Phycocyanin content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer. *J Food Process Eng.* 31:34-50. DOI: 10.1111/j.1745-4530.2007.00143.x.
- Olmedilla B, Granado F, Blanco I, Vaquero M, Cajigal C. 2001. Lutein in patients with cataracts and age-related macular degeneration: A long term supplementation study. *J Sci Food Agric.* 81:904–909. DOI: 10.1002/jsfa.905.
- Pangestuti R, Kim SK. 2011. Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. *J Funct Foods.* 3: 255-266. DOI: 10.1016/j.jff.2011.07.001.
- Papaiannou E, Roukas T, Liakopoulou-Kyriakides M. 2008. Effect of biomass pre-treatment and solvent extraction on β -carotene and lycopene recovery from *Blakeslea trispora* cells. *Prep Biochem Biotechnol.* 38: 246–256. DOI: 10.1080/10826060802164942.

- Pasquet V, Chérouvrier JR, Farhat F, Thiéry V, Piot JM, Bérard JB, Kaas R, Serive B, Patrice T, Cadoret JP, Picot L. 2011. Study on the microalgal pigments extraction process: Performance of microwave assisted extraction. *Process Biochem.* 46: 59-67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2010.07.009>.
- Patil G, Chethana S, Sridevi AS, Raghavarao, KSMS. 2006. Method to obtain C-phycoyanin of high purity. *J Chromatogr A.* 1127: 76-81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2006.05.073>.
- Patil G, Raghavarao KSMS. 2007. Aqueous two phase extraction for purification of C-phycoyanin. *Biochem Eng J.* 34:156-164. DOI:10.1016/j.chroma.2006.05.073.
- Raposo MFJ, Morais AMMB, Rui MSC, Morais RMSC. 2012. Effects of spray-drying and storage on astaxanthin content of *Haematococcus pluvialis* biomass. *World J Microbiol Biotechnol.* 28: 1253–1257. DOI: 10.1007/s11274-011-0929-6.
- Román RB, Álvarez-Pez JM, Fernández FGA, Grima EM. 2002. Recovery of pure B-phycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum*. *J Biotechnol.* 93: 73-85. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00385-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00385-6).
- Ruen-ngam D, Shotipruk A, Pavasant P. 2011. Comparison of extraction methods for recovery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Sep Sci Technol.* 46: 64–70. doi:10.1016/j.fbp.2016.05.007.
- Santiago-Santos, MaC, Ponce-Noyola T, Olivera-Ramirez R, Ortega-Lopez J, Canizares-Villanueva R.O. 2004. Extraction and purification of phycocyanin from *Calothrix* sp. *Proc. Biochem.* 39: 2047–2052.
- Sarada R, Pillai MG, Ravishankar A. 1999. Phycocyanin from *Spirulina* sp.: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. *Process Biochem.* 24: 795-801. DOI: S0032-9592(98)00153-8.
- Sarada R, Vidhyathi R, Usha D, Ravishanka AG. 2006. An efficient method for extraction of astaxanthin from green alga *Haematococcus pluvialis*. *J Agric Food Chem.* 54: 585–7588. doi:10.1021/jf060737t.
- Schmidt RA, Wiebe MG, Eriksen NT. 2005. Heterotrophic high cell density fed-batch cultures of the phycocyanin producing red alga *Galdieria sulphuraria*. *Biotechnol Bioeng.* 90: 77-84. DOI:10.1002/bit.20417.
- Sekar S, Chandramohan M. 2008. Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization. *J Appl Phycol.* 20:113–136. doi: 10.1007/s10811-007-9188-1.
- Seyedrazi N, Razavi SH, Emam Djomeh Z. 2011. Effect of different pH on canthaxanthin degradation. *World Acad Sci Eng Technol.* 59: 532-536. scholar.waset.org/1999.1/11897.
- Shang YF, Kim SM, Lee WJ, Um BH. 2011. Pressurized liquid method for fucoxanthin extraction from *Eisenia bicyclis* (Kjellman) Setchell. *J Biosci Bioeng.* 111(2): 237-241. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2010.10.008.
- Soni B, Kalavadia B, Trivedi U, Madamwar D. 2006. Extraction, purification and characterization of phycocyanin from *Oscillatoria quadripunctulata*- Isolated from the rocky shores of Bet-Dwarka, Gujarat, India. *Process Biochem.* 41: 2017-2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2006.04.018>.
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. 2006. Commercial applications of microalgae. *J Biosci Bioeng.* 101: 87–96. doi:10.1263/jbb.101.87.
- Tanaka T, Kawamori T, Ohnishi M, Makita H, Mori H, Satoh K, Hara A. 1995. Suppression of azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis by dietary administration of naturally occurring xanthophylls astaxanthin and canthaxanthin during the postinitiation phase. *Carcinogenesis.* 16: 2957–2963. DOI: 10.1093/carcin/16.12.2957.
- Tanaka T, Shnimizu M, Moriwaki H. 2012. Cancer chemoprevention by carotenoids. *Molecules,* 17: 3202-3242. doi:10.3390/molecules17033202.
- Torrissen OJ, Christiansen R. 1995. Requirements for carotenoids in fish diets. *J APPL ICHTHYOL.* 11:225–230. DOI: 10.1111/j.1439-0426.1995.tb00022.x.
- Viskari PJV, Colyer CL. 2003. Rapid extraction of phycobiliproteins from cultured cyanobacteria samples. *Anal Biochem.* 319(2): 263-271. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2697\(03\)00294-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2697(03)00294-X).
- Vonshak A, Richmond A. 1988. Mass production of the blue-green alga *Spirulina*. An overview, *Biomass, Vol: 15: 233-248.*
- Wang LZ, Yang B, Yan BL, Yao XC. 2012. Supercritical fluid extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* and its antioxidant potential in sunflower oil. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 13: 120–127, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2011.09.004>.
- Xiao X, Si X, Yuan Z, Xu X, Li G 2012. Isolation of fucoxanthin from edible brown algae by microwave-assisted extraction coupled with high-speed countercurrent chromatography, *J Sep Sci.* 35(17): 2313-2317. doi: 10.1002/jssc.201200231.
- Yaakob Z, Ali E, Zainal A, Mohamad M, Takriff MS. 2014. An overview: biomolecules from microalgae for animal feed ve aquaculture. *J Biol Res-Thessalon.* 21(6): 1-10. doi: 10.1186/2241-5793-21-6.
- Yaron AS, Arad (Malis) S. 1993. Phycobiliproteins-blue and red natural pigments for use in food and cosmetics, *Food flavors, ingredients and composition, developments in food science* (ed. G. Charalambous), Elsevier, London, : 835–838. doi: 10.1093/ecam/neq024.
- Yusuf M, Shahid M, Khan MI, Khan SA, Khan MA, Mohammad F. 2011. Dyeing studies with henna and madder: a research on effect of tin (II) chloride mordant. *J. Saudi Chem. Soc.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2011.12.020>.
- Zhu Y, Chen XB, Wang KB, Li YX, Bai KZ, Kuang TY, Ji HB. 2007. A simple method for extracting C-phycoyanin from *Spirulina platensis* using *Klebsiella pneumoniae*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 74: 244-248. doi:10.1007/s00253-006-0636-7.