



Journal of University Studies for inclusive Research (USRIJ)  
مجلة الدراسات الجامعية للبحوث الشاملة

**Journal of University Studies for inclusive Research**

**Vol.1 , Issue 14 (2021 ), 2443 - 2482**

**USRIJ Pvt. Ltd.,**

## الأصباغ الميكروبية, الأغذية

العنود عبد العزيز الفالح

**Alanood Abdullaziz Alfaleh**

باحثة دكتوراه- قسم العلوم البيئية -كلية الأرصاد و البيئة وزراعة

المناطق الجافة

جامعة الملك عبد العزيز

aaalfaleh@kau.edu.sa



## المحتويات

2	Abstract
3	الملخص
4	المقدمة:
7	مشكلة الدراسة وأسئلتها:
9	تصنيف الاصباغ الميكروبية:
9	الصبغات الميكروبية المستعملة في المنتجات الغذائية:
14	الفوائد من استعمال الصبغات الميكروبية كمواد ملونة للأغذية:
15	أبرز التحديات التي تواجه الصبغات الميكروبية المصدر:
17	التقنيات والحلول المقترحة لمواجهة العقبات لإنتاج الصبغات الميكروبية:
21	الخلاصة:
24	المراجع

## الجدول:

جدول (1): الصبغات الميكروبية تحت الدراسة.....9



## **Abstract**

Colors are added to foodstuffs to make them more attractive and attractive. Therefore, food colorings have an impressive market due to the requirements of the food industries. A variety of artificial coloring agents are available those are approved as food additives and are used in various types of prepared or processed foods around the world. However, there is a growing concern that the use of artificial colors may have a negative impact on human health and the environment in the long term. Natural pigments obtained from animals, plants and microorganisms are a promising alternative to artificial food colourings. Compared to animal and plant sources, microorganisms offer many advantages such as no seasonal effect on dye quality and quantity, ease of handling and genetic manipulation, ability to produce on a large scale with little or no effect on biodiversity etc. Fungi and bacteria are used to produce pigments as food colouring. This review highlights the importance of color in the food industry, why there is a need to switch to natural food colors compared to artificial colors and how the use of microbial pigments as food colorings, rather than colors from other natural sources, is the preferred option. It describes the types of microbial food pigments used, their benefits, production strategies, and associated challenges.

**Key words:** colours, natural pigments, industrial pigments, .microbial pigments, food

### الملخص

تضاف الألوان إلى المواد الغذائية لجعلها أكثر جاذبية وجاذبية. لذلك ، تتمتع ملونات الطعام بسوق مثير للإعجاب بسبب متطلبات الصناعات الغذائية. تتوفر مجموعة متنوعة من عوامل التلوين الاصطناعية المعتمدة كمضافات غذائية وتستخدم في أنواع مختلفة من الأطعمة المعدة أو المصنعة في جميع أنحاء العالم. ومع ذلك ، هناك قلق متزايد من أن استخدام الألوان الاصطناعية قد يكون له تأثير سلبي على صحة الإنسان والبيئة على المدى الطويل. تعد الأصباغ الطبيعية التي يتم الحصول عليها من الحيوانات والنباتات والكائنات الحية الدقيقة بديلاً واعداً للملونات الغذائية الاصطناعية. بالمقارنة مع المصادر الحيوانية والنباتية ، تقدم الكائنات الحية الدقيقة العديد من المزايا مثل عدم وجود تأثير موسمي على جودة وكمية الصبغة ، وسهولة التعامل والتلاعب الجيني ، والقدرة على الإنتاج على نطاق واسع مع تأثير ضئيل أو معدوم على التنوع البيولوجي وما إلى ذلك. ، يتم استخدام الفطريات والبكتيريا لإنتاج أصباغ كملونات غذائية. تسلط هذه المراجعة الضوء على أهمية اللون في صناعة الأغذية ، ولماذا هناك حاجة للتحول إلى ألوان الطعام الطبيعية مقارنة بالألوان الاصطناعية وكيف أن استخدام الأصباغ الميكروبية كملونات طعام ، بدلاً من الألوان من مصادر طبيعية أخرى ، هو الخيار المفضل. وتصف أنواع أصباغ الطعام الميكروبية المستخدمة ، وفوائدها ، واستراتيجيات الإنتاج ، والتحديات المرتبطة بها.

**الكلمات المفتاحية:** الألوان, الصبغات الطبيعية, الصبغات الصناعية الأصباغ

الميكروبية, الأغذية

## الأصبغ الميكروبية وتطبيقاتها في الأغذية

### المقدمة:

تعد الألوان ذات دورًا مهمًا في قطاع صناعة و إنتاج الأغذية، حيث يساهم في زيادة جودة السمة الحسية للطعام، فمن خلاله يعكس مدى النضارة والقيمة الغذائية والسلامة بالإضافة الى القيمة الجمالية للأغذية وبالتالي يؤثر بشكل مباشر على القيمة السوقية للمنتجات الغذائية الملونة [1-3].

ذكر (Burrows 2009), ان ممارسات تلوين الطعام بدأت منذ 1500 سنة قبل الميلاد [4] و تاريخيا, تظهر كتابات قدماء المصريين و الرومان دلائل على استعمال الصبغات الطبيعية في الأغذية و العلاجات و المشروبات و من ابرز المصادر المستخدمة قديما كانت معظم صبغات الطعام المشتقة من مصادر طبيعية مثل البابريكا والتوت والكرم والزعفران ومختلف أنواع الزهور و النباتات [5, 6].

في القرن التاسع عشر تحديدا عام 1856 كان هناك توجهات نحو تطوير الصبغات الاصطناعية كون هذه الألوان مستقرة من الناحية الكيميائية ، ذات تكلفة إنتاج منخفضة ، و تعطي مجموعة واسعة من الألوان [4] .

على الرغم من ذلك، مع تطور الأبحاث العلمية اشارت بعض الدراسات الى الآثار الصحية الجانبية المحتملة للصبغات الاصطناعية مثل فرط النشاط الحركي عند الاطفال، مشاكل مرتبطة بالحساسية والسمية والسرطنة مما أدى إلى حظر العديد من الملونات الصناعية و بالتالي

زاد وعي المستهلكين بضرورة الانتقال من استخدام صبغات الطعام الاصطناعية إلى الصبغات الطبيعية [7-9]. فأصبح البحث عن الصبغات الطبيعية المصدر مجالاً رئيسياً في صناعة المواد الغذائية و يتم تنظيم استخدام المركبات كملونات غذائية بدرجة عالية ، سواء كانت الصبغات مشتقة بشكل طبيعي أو منتجة بطريقة صناعية حيث تم تنظيم استعمال الصبغات الطبيعية و الصناعية تحت اشراف منظمات و هيئات مشرعة مثل إدارة الغذاء و الدواء الامريكية United States Food and Drug Administration (FDA) ، هيئة معايير الغذاء الأوروبية the European Food Standards Authority (EFSA) وبالإضافة الى منظمة الصحة العالمية (World Health Organization (WHO) و التي بدورها حددت المحظور و المسموح منها و قننت الجرعات الآمنة للاستخدام من الصبغات في الطعام ، الأدوية ومستحضرات التجميل سواء من مصادر طبيعية او صناعية [9-11].

و وفق الاشتراطات و التشريعات تعتبر الصبغات الطبيعية آمنة إذا كانت غير سامة و غير مسببة للحساسية و غير مسرطنة وقابلة للتحلل، مما يجعلها لا تشكل خطر على الصحة والبيئة [5, 10]. وبسبب قلة المخاطر الصحية من استهلاك الصبغات الطبيعية وتغيير نظرة المستهلكين لاستهلاك المنتجات الطبيعية، هناك زيادة اهتمام من قبل الباحثين والمصنعين لاكتشاف صبغات طبيعية تتميز بالثبات مقارنة للصبغات الصناعية. حيث من المتوقع أن يزيد الطلب على الألوان الطبيعية بنسبة 7٪ سنوياً [12-14].

على الرغم من الفوائد التي تأتي مع استخدام الاصباغ الطبيعية، فمن الجدير بالذكر ان الصبغات المستخلصة من مصادر طبيعية قد تواجهها معوقات مقارنة بمثيلتها الاصطناعية. ففي

كثير من الحالات، الأصباغ المستخلصة من مصادر طبيعية تعد أكثر تكلفة و أقل استقرار من الناحية الكيميائية [15] lower stability.

ومن اهم مصادر الصبغات الطبيعية النباتات، والحشرات، والمصادر معدنية (الصخور) أو من المصادر الميكروبية. وتعد الصبغات المستخلصة من المصادر الميكروبية أكثر تفضيلاً بسبب انخفاض تكلفة الإنتاج والمواد الخام والقدرة على إنتاج كميات كبيرة مما يترتب عليه عائد أكبر بالإضافة الى سهولة الاستخلاص، ولا تتأثر بالاختلافات الموسمية كالنباتات مثل [4, 11, 16]. وأشارت بعض الدراسات الى انه من الممكن أن يكون لها أيضاً فوائد صحية مثل النشاط المضاد للسرطان، نشاط مضاد للميكروبات ونشاط مضاد للأكسدة [12, 17].

تنتج الميكروبات مجموعة متنوعة من الأصباغ التي يمكن استخدامها صبغات للطعام مثل carotenoids, flavins, melanins, quinines, monascins, violacein ، ويمكن استخدامها أيضاً كمضافات ومضادات أكسدة ومكثفات اللون وتدخل ضمن نطاق الأغذية الوظيفية [3, 18].

ذكر (He 2017), ان التطورات في الكيمياء العضوية وهندسة التمثيل الغذائي مكنت من الإنتاج الضخم للميكروبات ذات الأهمية حيث يمكن أن تساعد دراسة مسار التخليق الحيوي لإنتاج الملونات في فهم العقبات في الإنتاج من الأصباغ ولمواجهة ذلك، يمكن استنساخ الجينات (cloned genes) ، ويمكن استخدام تقنية الحمض النووي المؤتلف (recombinant DNA technology) في من اجل زيادة إنتاج الصبغات [19, 20].

من أجل إنتاج أصباغ ميكروبية المصدر فعالة تعد استراتيجيات تعديل و تحسين طرق التخمير هامة لتطوير عمليات انتاج صبغات منخفضة التكلفة سهلة الاستخلاص, و تعتبر الطرق الناشئة حديثاً مثل تقنية النانو فعالة في صناعة المواد الغذائية ، بما في ذلك الملونات الطبيعية [21]. و أشار (Jixian 2017), ان الصبغات الغذائية الطبيعية النانوية (Nanotized natural food colorants) من المصادر الميكروبية يمكن أن تزيد من الاستقرار الكيميائي للمركب المستخلص ، و مدة الصلاحية ، و تحسن خاصية الذوبان ، مما يؤدي إلى قبول اكبر في قطاع التصنيع الغذائي و التطبيقات الغذائية [22].

يركز هذا الاستعراض على تصنيف الصبغات المستخلصة من مصادر ميكروبية وبعض الأنواع المستعملة في المنتجات الغذائية والأنواع التي لا تزال تحت الدراسة وفوائد الصبغات الميكروبية المستخدمة كملونات غذائية، وأيضاً أبرز التحديات في استعمالها، وكذلك طرق تحسين ثبات الصبغات الميكروبية المصدر.

### مشكلة الدراسة وأسئلتها:

الالوان من أهم العوامل الجمالية في حياة الانسان، وذلك بإعطائها للتنوع اللوني الذي يضيف رونق وجمال في نفس الانسان. لذلك إهتم بها الانسان في حياة بطرق ومجالات مختلفة. ومن أهم هذه المجالات غذاء الانسان، حيث أهتمت البشرية بالاغذية من حيث القيمة الغذائية وإهتمت منذ زمن بعيد بالالوان لتكسب اللون الجذاب والمبهج للنفس وتجميل أغذيتهم وليكون الطعام أكثر قابلية وجذاب. حيث كانت الخلاصات الطبيعية للمواد الملونة من أصل نباتي أو



حيواني شائعة الاستعمال، ولكن الاستعمال الحديث للمواد الملونة الاصطناعية في الأغذية بدأ مؤخراً.

لجأ الانسان الى إستخلاص الالوان من القطران النباتي عبر عدد من التفاعلات الكيميائية لقيمتها النسبية من جوانب عديدة. وبسيره في السعي وراء الربح والبضاعة ذات الالوان الجميلة والقيمة السعرية القليلة فأكثر الانسان من هذه المواد الصناعية في الصناعات الغذائية المختلفة؛ من تلوين للاغذية المختلفة حيث نجد الاستهلاك الكبير للمواد الملونة في المنتجات الغذائية المتنوعة والصيدلانية. إلا ان الآثار الجانبية المحتملة للألوان الاصطناعية مثل النشاط المفرط لدى الأطفال ، والحساسية ، والسموم ، والسرطان ، ادت إلى حظر العديد من ملونات الطعام الاصطناعية مما أدى إلى الانتقال من استخدام الألوان الغذائية الاصطناعية إلى الألوان الطبيعية. كما ساهمت زيادة الرغبة في تصنيف الأطعمة على أنها طبيعية في انخفاض استخدام الملونات الغذائية الاصطناعية. على الرغم من الفوائد التي تأتي مع استخدام الألوان الطبيعية ، فإن هذه الأصباغ غالباً ما يكون لها عيوب مقارنة بالألوان الاصطناعية. في كثير من الحالات ، تمثل الأصباغ الطبيعية المحتملة التي يمكن استخدامها كمكونات غذائية العديد من التحديات مثل ارتفاع التكلفة وانخفاض الاستقرار. تُشتق الألوان الطبيعية بشكل أساسي من النباتات أو الحشرات أو الخامات المعدنية أو المصادر الميكروبية. تُفضل الملونات الميكروبية نظراً لسهولة قابليتها للتوسع فضلاً عن احتمال انخفاض تكلفة الإنتاج. أدى القلق المتزايد في الآونة الأخيرة بشأن استخدام عوامل التلوين الصالحة للأكل إلى حظر العديد من عوامل التلوين الاصطناعية ، والتي من المحتمل أن تكون مسببة للسرطان والتسبب في حدوث طفرات. أدى

هذا الظرف حتماً إلى زيادة الطلب على عوامل التلوين الطبيعية (الصالحة للأكل) الآمنة والتي تحدث بشكل طبيعي. نظراً للتكلفة العالية للتكنولوجيا المستخدمة حالياً لإنتاج الأصباغ الميكروبية على نطاق صناعي ، هناك حاجة لتطوير عملية منخفضة التكلفة لإنتاج الأصباغ التي يمكن أن تحل محل الأصباغ الاصطناعية. يمكن أن يؤدي استخدام المخلفات الزراعية الصناعية المتوفرة بأسعار زهيدة كركيزة من خلال تخمير الحالة الصلبة إلى تحقيق الهدف. لذلك تكمن مشكلة الدراسة في التعرف على الأصباغ الميكروبية وتطبيقاتها في الأغذية، إذ تلخص هذه المشكلة في الإجابة على الأسئلة التالية:

1. ما هي أنواع الأصباغ الميكروبية كملونات غذائية؟
2. لماذا هناك حاجة للتحويل إلى ألوان الطعام الطبيعية مقارنة بالألوان الاصطناعية؟
3. ما هي أهم التحديات التي تواجه الأصباغ الميكروبية في صناعة الأغذية؟
4. وكيف أن استخدام الأصباغ الميكروبية كملونات طعام ، بدلاً من الألوان من مصادر طبيعية أخرى ، هو الخيار المفضل؟
5. كيف التعامل مع هذه التحديات ، باستخدام تقنيات متقدمة بما في ذلك هندسة التمثيل الغذائي وتكنولوجيا النانو؟
6. ما هي استراتيجيات تعديل و تحسين طرق التخمير لتطوير عمليات إنتاج الأصباغ الميكروبية في صناعة الأغذية؟

### تصنيف الاصباغ الميكروبية:

يمكن تصنيف الاصباغ الميكروبية المصدر على أساس المصدر، اللون والذوبان [23].

- على أساس المصدر: (الطحالب، الفطريات، البكتيريا)

- على أساس اللون:

● صبغة صفراء (Riboflavin, Carotenoids)

● صبغة حمراء (Prodigiosin, Carotenoids, Porphyrins)

● صبغة زرقاء (Indigoidine, Violacein)

- على أساس الذوبان: (قابل للذوبان في الماء، قابل للذوبان في الدهون)

### الصبغات الميكروبية المستعملة في المنتجات الغذائية:

تستخدم الألوان الميكروبية في الصناعة الغذائية بشكل فعلي مثل الأسماك ، على سبيل المثال لتعزيز اللون الوردي في سمك السلمون [24, 25]. علاوة على ذلك، بعض الملونات الطبيعية لها إمكانات تجارية لاستخدامها كمضادات للأكسدة [15]. وأصبحت الصناعة الآن قادرة على إنتاج بعض الأصباغ الميكروبية للتطبيقات في الغذاء، ومستحضرات التجميل أو المنسوجات. ومن ابرز الصبغات المنتجة من الكائنات الحية الدقيقة سواء الفطريات ، الخمائر او البكتيريا: lycopene, melanin, prodigiosin, beta-carotene, violacein, riboflavin, phycoyanin, astaxanthin, canthaxanthin, و الجدول (1) يستعرض مجموعة واسعة من الصبغات المستخلصة من مصادر ميكروبية من حيث المركب المستخلص, درجة اللون, الميكروب المنتج للصبغات, النشاط الحيوي (Bioactivity) و ما زال استعمالها كصبغات غذائية تحت الدراسات و الأبحاث [15]. و من الجدير بالذكر ان الصبغات الميكروبي وفيما يلي الأشهر استخداما في التطبيقات الغذائية:

## -1 Lycopene:

صبغة حمراء تحتوي على مركبات الكاروتينويد carotenoid و يعد الطماطم اهم مصادر لها النباتية، بينما ابرز مصادرهما الميكروبية الفطريات و منها *Fusarium Sporotrichioides* و *Blakeslea trispora* ، ولدى صبغة Lycopene دورًا كبيرًا في تثبيط الإجهاد التأكسدي و له دور كمضاد للسرطانات امراض القلب التاجية كونها مضادة للتأكسد [26, 27]. في بلدان مثل نيوزيلندا، وأستراليا و الولايات المتحدة الأمريكية يتم استخدامه في تلوين و صبغ اللحوم [15].

## -2 Prodigiosin:

صبغة حمراء تنتج من خلال العديد من سلالات بكتيريا *Serratia marcescens* ، والتي تظهر خصائص مضادة للبكتيريا antimalarial، مضادات حيوية antibiotic ومضادات الأورام antineoplastic activity بناء على مجموعة من الدراسات [28-30]. وقد تم تطبيقها كصبغات تلوين في الزبادي والحليب والمشروبات الغازية [31].

### : $\beta$ -carotene -3

يمكن العثور على Carotenoids على نطاق واسع في الطبيعة وهي بشكل عام مركبات قابلة للذوبان في الدهون ويمكن العثور عليها بسهولة في الطماطم والقرع والجزر وما إلى ذلك. وتعتبر مضافات تلوين مهمة جدًا تستخدم في صناعة الأغذية [32].

وهي صبغة عضوية تتراوح من اللون الأحمر إلى الأصفر ، يتم استخراجها في الغالب من الطحالب الغنية بالبيتا كاروتين  $\beta$ -carotene مثل [33] *salina Dunaliella* او عن طريق التخمير لبعض أنواع الفطريات مثل *Blakeslea trispora* , و يتم استخدامها في مجموعة متنوعة من المواد الغذائية [32].

### :Violacein -4

صبغة بنفسجية اللون احدى أبرز منتجاتها بكتيريا *Chromobacterium violaceum* تتميز بخصائص كمضادة للفطريات، مضاد حيوي، خصائص مضادة للورم والبكتيريا. تستعمل بشكل شائع في صناعات الأغذية في بعض الدول وبعض الدول تحضرها، وفي الغالب يتم استعمالها في مستحضرات التجميل والمنسوجات [34-36].

### **:Phycocyanin -5**

هي صبغة زرقاء تنتجها البكتيريا الزرقاء (cyanobacteria) مثل *Corynebacterium glutamicum* وطحالب *Aphanizomenon flos-aquae* وطحالب *Spirulina* و مسماها التجاري (Lina blue) تستخدم في صناعة الأغذية والمشروبات كعامل تلوين ويوجد أيضا تطبيقات لها في الحلويات والآيس كريم [15, 37-40].

### **:Astaxanthin -6**

هي صبغة حمراء برتقالية توجد بشكل طبيعي في الطحالب الدقيقة (microalgae) و بعض أنواع الخمائر (basidiomycetous yeast) و متواجدة في المصادر الحيوانية بشكل طبيعي مثل السلمون والقشريات ، الجمبري الأحمر ، وسمك الكراي crayfish ، وريش بعض الطيور ، و يتصف بقابلية للذوبان في الدهون [41-44] ويعتبر من الصبغات المعتمدة الاستخدام في الأسماك والأغذية الحيوانية [45].

### **:Canthaxanthin -7**

هي صبغة ذات لون برتقالي إلى وردي غامق، كيميائيا تعد احدى مركبات الكاروتينويد carotenoids وبالتالي قابلة للذوبان في الدهون و تعتبر ذات خاصية مضادة للأكسدة قوية.

مصدرها بكتيريا *Bradyrhizobium* , تمت الموافقة عليه كملون غذائي ويستخدم في مجموعة من الأطعمة مثل السلمون والدواجن و الاعلاف [48-46].

### **:Riboflavin -8**

فيتامين B2 القابل للذوبان في الماء ، هو لون أصفر الصباغ والتي تنتجها الكائنات الحية الدقيقة المختلفة. يتم استخدامها في اليوميات وحبوب الإفطار وأغذية الأطفال والصلصات والفواكه المشروبات ومشروبات الطاقة (34 ، 88-90).

### **:Indigoidine -9**

صبغة Indigoidine هو مركب عضوي من مجموعة Azaquinones. وهي عبارة عن صبغة زرقاء اللون تتكون من بعض البقع البكتيرية. يمكن ان تكون بديلة لبعض الصبغات الاصطناعية مثل: (FD&C Blue NO 1 and 2), يمكن استخلاصها من *Streptomyces* و *Corynebacterium, insidiosum, Escherichia coli* [chromofuscus [23, 49].

## Anthocyanins :-10

احدى مركبات مجموعة flavonoid من polyphenols ، صبغة Anthocyanins هي مواد كيميائية مهمة في المملكة النباتية كأصباغ ومضادات أكسدة ومضادات الميكروبات ، ابرز مصادرها النباتات الغذائية مثل عنبية، توت ، أرز أسود و غيرها [50].

إنتاج هذا الصباغ ليست مستقرة ولا مستدامة بسبب الإنتاجية المتنوعة النباتات. لكن الصبغة من مصادر الكائنات الحية الدقيقة توفر طرق مستدامة لتلبية طلب الصناعة. قد كان أظهرت أن سلالة E. coli المعدلة استقلابياً هي قادرة على إنتاج Anthocyanins. البحث لا يزال جارياً ل إنتاج هذا الصباغ من البكتيريا المعدلة الأخرى [50].

المراجع	النشاط الحيوي Bioactivity	اللون الناتج	الصبغة المستخلصة	الميكروب
البكتيريا				
[52, 51]	مضاد اكسدة – إزالة السموم	برتقالي - احمر	Granadaene	<i>Streptococcus agalactiae</i>
[53]	Antiplasmodial	الاحمر	Heptyl prodigiosin	<i>Proteobacteria α -</i>
[55, 54]	مضاد اكسدة – إزالة السموم	ذهبي	Staphyloxanthin	<i>Staphylococcus aureus</i>
[56]	مضاد اكسدة – مضاد سرطان	اصفر فاتح-غامق	Tryptanthrin	<i>Cytophaga/Flexibacteria</i> AM13,1



[56]	مضاد اكسدة-مضاد بكتيري-مضاد سرطان- يحمي من الاشعة فوق البنفسجية	احمر	Undecylprodigiosin	<i>Streptomyces sp</i>
[36,34]	مضاد اكسدة – إزالة السموم	بنفسجي	Violacein	<i>Janthinobacterium ,lividum Pseudoalteromonas ,tunicate .Pseudoalteromonas spp</i>
فطريات				
[57]	مضاد اكسدة – مضاد سرطان	احمر	Azaphilones	<i>Talaromyces atroseus Penicillium purpurogenum</i>
[58]	مضاد اكسدة	اصفر	Xanthomonadin	<i>Xanthomonas oryzae</i>
الخمائر				
[60,59]	مضاد اكسدة- مضاد ميكروبي	الاسود	Melanin	<i>Saccharomyces, Neoformans</i>
[61]	مضاد اكسدة- مضاد ميكروبي	برتقالي- احمر	Torularhodin	<i>.Rhodotorula spp</i>

الجدول 1. أصباغ ميكروبية تحت الدراسة ومن المحتمل استخدامها كملونات طعام طبيعية.

### الفوائد من استعمال الصبغات الميكروبية كمواد ملونة للأغذية:

توجد الكائنات الدقيقة في كل مكان في البيئة تقريباً ولها أدوار مختلفة في الطبيعة. فتعتبر أيضاً منتمة إلى الغذاء وتكون مسؤولة عن تخمير المنتجات الغذائية و تعد الأصباغ الميكروبية بديلاً أفضل للأغذية من الملونات الاصطناعية من ناحية قلة الاضرار الصحية و أيضاً افضل من الألوان المستخلصة من النبات لقلة التكلفة و احتمالية الثبات [15].

تم إجراء الكثير من الأبحاث حول تكاليف الإنتاج والمعالجة للألوان الطبيعية، لزيادة الاستقرار ومدة الصلاحية، بحيث يمكنها التنافس مع استخدام الألوان الاصطناعية. العديد من هذه الأصباغ لا تعمل فقط كعوامل تلوين، ولكنها أيضاً تمنح فوائد صحية. وتعد الكائنات الدقيقة منتجة للمركبات الفعالة النشطة بيولوجيا والتي تستعمل في المستحضرات الصيدلانية والطبية والغذائية و من ابرز خصائصها البيولوجية ما يلي:

#### - مضادة للتأكسد:

إشارات العديد من الدراسات ان غالبية الصبغات المستخلصة من مصادر ميكروبية تتمتع بخصائص مضادة للتأكسد كما اشرنا الى ذلك سابقا, فعلى سبيل المثال الصبغة الصفراء staphyloxanthin المستخلص من *Staphylococcus aureus* لها دور في منع تولد الجهد التاكسدي من خلال تثبط carbon tetrachloride في تجارب أجريت على swiss albino mice [62].

#### - مضاد للسرطان:

تم الإبلاغ عن خصائص مضادة للسرطان في الأصباغ الميكروبية في عدد من الدراسات هذه الأصباغ يمكن أن تحفز apoptosis ، والتي يؤدي إلى تدمير الخلايا السرطانية [63]. وإشارات نتائج دراسة أجريت على سلالة قادر على إنتاج كمية كبيرة من صبغة الميلانين melanin السوداء خارج الخلية على أجار الحديد iron agar المستخرج من peptone-yeast والمعروفة باسم NEAE-H *Streptomyces glaucescens* الى وجود نشاط لصبغة الميلانين كمضاد للسرطان في المختبر ضد خط خلايا سرطان الجلد [64].

## - مضاد ميكروبي:

تنتج العديد من الكائنات الدقيقة مركبات مضادة للميكروبات، بعضها تستخدم حالياً كمضادات حيوية و يعتبر العثور على أصباغ ميكروبية جديدة تنتج الصباغ ذات خصائص مضادة للميكروبات مفيدة للغاية في أكثر من مجال [65]. وأشار (Elbetanon 2019) الى دور الصبغة المستخلصة من *Punica granatum L* وهو أحد الأنواع الشهيرة والقديمة التي تنتمي إلى عائلة *Punicaceae* كمضاد للميكروبات ضد تسعة مسببات أمراض ميكروبية مختلفة [66].

## أبرز التحديات التي تواجه الصبغات الميكروبية المصدر:

على الرغم من وجود أنواع عديدة من الأصباغ الطبيعية من مختلف المصادر الميكروبية، إلا أن التطور التجاري نحو الأصباغ الطبيعية كملونات الطعام يعد تحدي [15]. أولاً، تواجه الموافقة على استعمال الأصباغ عقبات تنظيمية كبيرة أمام تطوير أي مركبات جديدة لاستخدامها في الطعام ، بما في ذلك الملونات، بالإضافة إلى أن استخدام الصبغات الطبيعية أكثر تكلفة بخمس مرات من استخدام الألوان الاصطناعية على وجه الخصوص عند استخدامها في صناعة الحلويات ، حيث يمكن أن تكون 20 مرة أعلى من الصبغات الصناعية [67].

ومن الجدير بالذكر أن يمكن أن تكون الأصباغ المستخرجة من الكائنات الدقيقة مفيدة جداً كمصدر للصبغات الحيوية حيث يمكن العثور على المواد الخام (الكائنات الحية الدقيقة) بأعداد لا تحصى، و حتى هذه الميكروبات يمكن زراعتها بسهولة ووقت نموها أقل بكثير ولكن

التحدي الحقيقي يكمن في استخراج أصباغ من هذه الميكروبات وتقنيات الاستخراج المختلفة المستخدمة لها ذات تكلفة عالية [23].

أضف الى ذلك، أشار (Sen(2019), ان صبغات الطعام الصناعية التي اعتمدت عليها صناعة المواد الغذائية في الماضي من 50-60 سنة ثابتة، اقتصادية و تقدم طيف لوني واسع [15]. ويمثل استبدال الألوان الاصطناعية بألوان طبيعية في صناعة الأغذية تحديًا يتطلب انتاج كميات متساوية من الألوان الطبيعية مقارنة بالصبغات الاصطناعية الى استهلاك كميات كبيرة من المواد الخام و تقنيات الاستخلاص، مما يترتب عليه زيادة التكلفة [68].

وتحتوي الأصباغ الطبيعية من مصادر ميكروبية على العديد من التحديات أبرزها ان الصبغات المستخلصة عند تطبيقها مع مكونات الغذاء قد تتفاعل مع مصفوفات أطعمة مختلفة وبالتالي قد ينتج عنها التسبب بنكهات وروائح غير مرغوب فيها لا سيما فيما يتعلق ب النطاق المنخفض نسبيًا للألوان الطبيعية المعتمدة للاستخدام الغذائي وتعتبر إزالة الروائح الكريهة هي مشكلة أخرى تنشأ في منتجات الاصباغ الطبيعية لأن العديد من الأصباغ الطبيعية المتاحة لها رائحة غير مرغوب فيها في المنتجات الغذائية [15, 51].

علاوة على ذلك، الصبغات الطبيعية بشكل عام أكثر حساسية للضوء، ودرجة الحموضة، والأشعة فوق البنفسجية، ودرجة الحرارة، الأكسجين والحرارة، مما يؤدي إلى فقدان اللون الناجم عن تلاشي و انخفاض العمر الافتراضي لها فبعض الأصباغ الطبيعية حساسة للظروف المحيطة الأخرى مثل أيونات المعادن أو البروتينات أو المركبات العضوية [10, 69, 70]. ومن المعروف أن المواد الحافظة الطبيعية كفيتامين سي (vitamin C) تلعب دور في

تعزير استقرار منتجات المشروبات التي تحتوي على صبغات طبيعية كالكاروتينات carotenoids مثل beta-carotene و paprika أو oleoresin، ولكن في نفس الوقت الفيتامين سوف يسبب تحلل صبغة [71] anthocyanins. والأصباغ من المصادر الميكروبية مثل الكاروتينات (carotenoids) والكلوروفيل (chlorophyll) والانتوسيانين anthocyanins، وغيرها من الصبغات يواجهون أيضاً مثل هذه العقبات. فالكاروتينات، وهي مركبات نباتية أو ميكروبية المصدر شديدة التلون و شديد الاقتران، غير مستقر عند تعرضها للأكسجين أو الضوء [72-74]. أما الكلوروفيل يخضع لتدهور سريع بسبب للتفاعلات الأنزيمية أو عوامل مثل الضوء والأكسجين والحرارة أو الأحماض، مما يؤدي إلى تكوين مشتقات الكلوروفيل [74, 75].

الصياغة الكيميائية لهذه الصبغات الطبيعية تشكل تحدي يتطلب إيجاد حلول و يمكن تطبيق طرق مثل micro-encapsulation لتحسين خصائص الاستقرار و الذوبان [76]. العديد من الأصباغ المستخلصة من الفطريات يحظر استخدامها كملونات طبيعية لوجودها السموم الفطرية (77) [mycotoxins]. ولذلك من المهم استخدام مواد غير سامة وسلالات غير ممرضة لاستخراج الأصباغ الطبيعية وخصوصا عند اكتشاف ميكروب واعد منتج للصبغة، أيضا يمكن استخدام الهندسة في التخليق الحيوي الخاضع للرقابة ل إنتاج الصباغ والسموم [15].

**التقنيات والحلول المقترحة لمواجهة العقبات لإنتاج الصبغات الميكروبية:**

من المهم ان نستوعب ان الفكرة هي إخراج الأصباغ الميكروبية من نتائج الدراسات و المختبرات الى السوق و الإنتاج الصناعي [28, 78]. هناك حاجة لإيجاد أصباغ بديلة عن الاصباغ الصناعية فعالة من حيث التكلفة وطبيعية تمامًا وغير سامة وأيضاً ثابتة في مختلف الظروف ولا تنتج مركبات وسطية غير مرغوبة [23]. وتجارياً نجاح الصبغات الطبيعية من مصادر ميكروبي يعتمد على الاستثمار الذي تم إجراؤه للحصول على المنتج النهائي وموافقته الجهات المشرعة والتنظيمية وتأثيرها في السوق. و هنالك ثلاث اهداف رئيسية مهمة في الإنتاج الصناعي للأصباغ الطبيعية: (1) اكتشاف مصادر بديلة جديدة ومبتكرة تضاهي جودة الأنواع الصناعية منها، (2) إنتاج فعال من حيث التكلفة بجودة موحدة (3) وقابلية التطبيق المحسنة [79]. فيما يلي بعض الحلول المقترحة:

#### - تحسين عمليات التخمير Fermentation:

هناك العديد من التحديات المرتبطة بزيادة إنتاج الأصباغ الميكروبية، لكن التطورات الحديثة في التكنولوجيا ساعدت إلى حد ما في التغلب على هذه التحديات منها تحسين عمليات التخمير حيث ساعد استخدام fermentation tanks لإنتاج الأصباغ على نطاق واسع [15].

في عمليات التخمير يعد تحسين الوسط مرحلة مهمة لتحقيق أقصى قدر عائد للمنتج المخمر و الذي يتمثل في التحكم في الظروف المؤثرة في عملية التخمير (controlling operating conditions) مثل درجة الحرارة، درجة الحموضة pH، التهوية , aeration agitation ومكونات البيئة [80, 81] media components]. بالإضافة الى منهجية سطح الاستجابة (RSM) Response surface methodology هي طريقة فعالة لتحسين عملية

إنتاج الصباغ وهي طريقة إحصائية تعمل على إيجاد حلول للبيانات متعددة المتغيرات التي تم الحصول عليها لحل المعادلات متعددة المتغيرات، وبالتالي تقليل عدد الاختبارات التجريبية اللازمة [80, 81].

طور Su و اخرون (2011)، الوسط الأمثل التي يمكن استخدامها في استزراع (culturing) بكتيريا *Serratia marcescens* في إنتاج صبغة prodigiosin حيث تمت إضافة السكرز والجليسين كمصدر للكربوهيدرات والطاقة و المكملات غير العضوية مع KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> بهدف تسريع نمو الخلايا ، مما أدى إلى زيادة إنتاج صبغة prodigiosin بمقدار 2.12 - 2.15 مرة [82].

#### - تحسين السلالات الميكروبية Strain Development:

يمكن استخدام تقنيات تحسين وتطوير السلالة من خلال mutagenesis و multiple selection rounds في تطوير عملية إنتاج فعالة من حيث التكلفة وقابلة للتطبيق صناعياً للأصباغ والمركبات الطبيعية الأخرى [15].

أشارت مجموعة من الدراسات ان تطوير السلالة هام لأن الأصباغ التي تنتجها سلالات النوع البري (wild-type) غالباً ما تكون منخفضة جداً من حيث الكمية وتستغرق أوقات تخمير أطول، مما يجعل العملية غير اقتصادية. يتم تحسين الإجهاد بواسطة المطفرات (mutagens) الشائعة مثل (methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (NTG-1), او Ethyl methyl sulfonate (EMS), او Ultraviolet (UV), و التي بدورها يمكن أن تؤدي إلى زيادة في الاصباغ عدة أضعاف الإنتاج من السلالات الغير محسنة [80, 83, 84].

## - الهندسة الايضية **Metabolic Engineering**:

فهم مسارات التخليق الحيوي للصبغات الميكروبية تعتبر نقطة انطلاق مهمة للغاية، يتم اتباعها من خلال تحديد الجينات وتسلسلات الجينات المسؤولة لإنتاج الأصباغ، ثم هندسة هذه الجينات من أجل رفع الإنتاج، واستنساخ الجينات المسؤولة عن الصبغ التخليق الحيوي في ناقلات ميكروبية *microbial vectors*، مثل الخلايا البكتيرية أو الخميرة، أصبحت صناعة فعالة و اقتصادية من حيث التكلفة عملية الإنتاج [85].

التطورات الحديثة في البيولوجيا الجزيئية *molecular biology* و الهندسة الايضية *metabolic engineering* أدت إلى استنساخ الجينات المسؤولة عن التخليق الحيوي للصبغة وتمكينها من زيادة الإنتاج و تغيير التركيب الجزيئي للأصباغ و تحويل اللون للصبغات كل ذلك عن طريق التلاعب الجيني، فمثلا التلاعب الجيني *genetically manipulated* حول صبغة *Actinorhodin* المستخلصة من بكتيريا *Streptomyces coelicolor* من اللون الأزرق الى اللون الأصفر المسمى بصبغة [86-89] *kalafungin*.

## - معالجة خصائص الثبات بواسطة تقنيات النانو **Microencapsulation**:

يمكن تطبيق *Micro-encapsulation* و *nano-formulations* على استقرار وتحسين القابلية للذوبان وتقديم أصباغ طبيعية إلى مصفوفات الطعام مثل الألوان الطبيعية *anthocyanins* و *carotenoids* بدون صعوبات في الثبات [76].

*Microencapsulation* يمكن تعريفها على أنها تعبئة أي مادة صلبة أو غازية أو سائلة فيها كبسولات مختومة بأحجام تتراوح من ملليمترات إلى نانومتر [90]. يصبح اللب أو



المركب النشط هو المادة داخل عبوة التغليف، في هذه الحالة الصبغة الميكروبية هي مادة التعبئة وعبوة التغليف للمادة تسمى الجدار أو مادة الصدف [90].

### الخلاصة:

بالنظر إلى الإدراك العام المتزايد والقلق بشأن استخدام المكونات الغذائية الآمنة ، من المتوقع أن يزداد الطلب الصناعي على الأصباغ الطبيعية في المستقبل بعدة أضعاف. تعد الأصباغ الميكروبية بديلاً جذاباً للملونات الاصطناعية ليس فقط بسبب أصلها الطبيعي ولكن أيضاً بسبب فوائدها الصحية العديدة المثبتة.

تعتبر الأطعمة الطبيعية فئة غذائية مهمة ومتنامية تتطلب مكونات وإضافات طبيعية. وبالتالي ، هناك طلب كبير لاستبدال الأصباغ الاصطناعية بأصباغ طبيعية في الأطعمة والمشروبات. تعتبر المصادر الميكروبية مفيدة بشكل خاص حيث يمكن توسيع نطاقها ويمكن التلاعب بها بسهولة أكبر من النباتات أو الحشرات. يمكن أن يؤدي تطوير وتكامل التطورات مثل تطور السلالة في التخمير ، وبيولوجيا الأنظمة ، والتمثيل الغذائي ، وهندسة البروتين ، إلى إحداث فرق كبير في كل من جودة وكمية ألوان الطعام الطبيعية. تشمل عمليات التخمير الفعالة عوائد يمكن التنبؤ بها وعدم وجود تأثير خارجي للمناخ أو البيئة. ومع ذلك ، هناك حاجة إلى مزيد من البحث لتحسين خصائص الصبغة ، مثل التركيب والإنتاجية ، من خلال إيجاد أكثر المعلمات الأمثل للنمو ، واستخدام الكائنات المعدلة وراثياً لتعزيز الإنتاج ، وكذلك وجود عوامل استخلاص مختلفة لإنتاج الصباغ .

تعتبر الأطعمة الطبيعية فئة غذائية مهمة ومتنامية وتتطلب مكونات ومضافات طبيعية. وبناء على ذلك هناك طلب كبير لاستبدال الأصباغ الاصطناعية بـ أصباغ طبيعية في الأطعمة والمشروبات. الأصباغ الميكروبية مصدر مفيدة بشكل خاص حيث يمكن توسيع نطاقها وتنطوي على ميزات أكبر من المصادر من النباتية أو الحشرية.

يمكن استخدام الألوان في الصناعات الغذائية مع مراعاة الضوابط المختلفة للتعامل معها وإلا منع استخدامها إذا لم تتوفر المواصفات المطلوبة والاحتياطات اللازمة للتعامل. مع ضرورة مراعاة تجنب إدخال هذه الألوان في أغذية الأطفال، لسببين، الأول عامل السن حيث أن الأطفال في سن صغيره قد لا تستحمل أجسامهم هذه المركبات الصناعية، فضلا عن خطورة وجود مواد مسرطنة إذا لم يتم فحص وتحليل المنتج جيدا لأي سبب من الأسباب، حيث ان معدل الاستهلاك بالنسبة للوزن للصغار مقارنة بالكبار قد يؤدي الى زيادة نسبة الاستهلاك اليومي لصغار السن، وثانيا قد تكون هنالك بعض المخاطر أو الحساسيات أو غيرها من الأعراض التي لم تثبت بنتيجة قاطعة.

النطاق الحالي للألوان الطبيعية التي يمكن إضافتها إلى الأطعمة صغير نسبياً مقارنة بمجموعة كبيرة من الألوان الاصطناعية. ومع ذلك ، فإن الطلب على الأطعمة الطبيعية والألوان الطبيعية أخذ في الازدياد. لذلك من المهم اكتشاف ألوان طبيعية جديدة وجديدة ، وكذلك تطوير تقنيات لتحسين فعالية تكلفة الإنتاج وصياغة الأصباغ الطبيعية. هناك حاجة إلى مصادر طبيعية جديدة للحصول على الكائنات الحية الدقيقة المنتجة للأصباغ ، بالإضافة إلى تحسينات العملية لجعل هذه السلالات أكثر تنافسية من حيث التكلفة مع الأصباغ الاصطناعية. تشمل التكنولوجيا

المطلوبة تطوير ركائز عضوية منخفضة التكلفة لنمو الميكروبات المنتجة للصبغة ، وطرق جديدة لزيادة إنتاج الأصباغ ، وطرق تثبيت لتحسين تطبيق الصباغ. يجب أن تركز الأبحاث حول الأصباغ الطبيعية على الحصول على مجموعة متنوعة من الأشكال ، واستخدام الأصباغ ذات الفوائد الصحية ، وزيادة مدة صلاحية الصبغة ، وخفض تكاليف الإنتاج.

يمكن معالجة ضعف الاستقرار أو قابلية الذوبان المنخفضة للملونات الغذائية الطبيعية من خلال تقنيات مثل التغليف الدقيق والتركيبات النانوية ، مما يتيح تطبيقاً أوسع للأصباغ الميكروبية على مصفوفات الطعام المختلفة. الألوان المغلفة أسهل في التعامل معها ، ولديها قابلية أفضل للذوبان وتظهر ثباتاً محسناً في الظروف المحيطة ، مما يؤدي إلى زيادة العمر الافتراضي. يمكن استخدام مستحلبات النانو لتحسين قابلية الذوبان وتوفير جزيئات غير مرئية مفيدة في تلوين المشروبات الصافية وشبه الشفافة.

تطوير ودمج الطرق المتطورة مثل تطوير عمليات التخمير وتحسين السلالة، الهندسة الايضية وتقنيات النانو، يمكن أن تصنع اختلاف جوهري في كل من الجودة والكمية في صبغات الميكروبات الطبيعية.

يعد تطوير ألوان جديدة لصناعة المواد الغذائية أمراً صعباً ، حيث يجب أن تكون الملونات متوافقة مع نكهات الطعام وسلامته وقيمه الغذائية ، والتي يكون لها في النهاية تأثير ضئيل على سعر المنتج. بالإضافة إلى ذلك ، يفضل أن تكون ملونات الطعام طبيعية بدلاً من المركبات الاصطناعية. تنتج الكائنات الحية الدقيقة بالفعل ملونات طبيعية مفيدة صناعياً مثل الكاروتينات والأنثوسيانين. يمكن إنتاج الملونات الغذائية الميكروبية على نطاق واسع بتكاليف

منخفضة نسبيًا. نلخص أيضًا الملونات الغذائية المشتقة من الميكروبات المستخدمة حاليًا ونناقش تصنيفها بناءً على تركيبها الكيميائي.

على الرغم من الإبلاغ عن عدد كبير من الكائنات الحية الدقيقة لإنتاج أصباغ من الدرجة الغذائية على مستوى المختبر ، إلا أن الإنتاج على نطاق واسع وتنقية المنتجات من العديد منها لا يزال يمثل تحديًا. هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات فيما يتعلق بتحسين حالة الوسائط والتخمير لإنتاج كافٍ واستعادة سهلة للأصباغ الميكروبية. بالإضافة إلى ذلك ، يمكن استخدام طرق تحسين الإجهاد التقليدية بالإضافة إلى التقنيات المتقدمة للهندسة الوراثية أو الأيضية للإنتاج المستدام للأصباغ الميكروبية ذات الاستخدام العالي. يمكن أيضًا أن تسبق أساليب تحسين الإجهاد برامج التنقيب البيولوجي لفحص وتحديد الصبغات الجديدة التي تنتج سلالات جرثومية من بيئات مختلفة في الالتزام ببروتوكول ناغويا وقواعد الدولة الأخرى المعمول بها. يمكن أن يؤدي استكشاف الأطعمة المخمرة التقليدية في المنطقة المعزولة أو القبلية أيضًا إلى تحديد صباغ واعد ينتج عزلات. على الرغم من أن الميكروبات غير المسببة للأمراض هي الوحيدة المقبولة بالنسبة للأصباغ الغذائية ، فإن الإنتاج المشترك لمركب سام أو غير مرغوب فيه ممكن أيضًا ، وبالتالي ، يجب وضع استراتيجيات تنقية مناسبة وفعالة من حيث التكلفة.

## المراجع

1. Downham, A. and P. Collins, *Colouring our foods in the last and next millennium*. International journal of food science & technology, 2000. **35**(1): p. 5-22.
2. Atalla, M.M., et al., *Characterization and kinetic properties of the purified Trematosphaeria mangrovei laccase enzyme*. Saudi journal of biological sciences, 2013. **20**(4): p. 373-381.
3. Ahmad, W.A., et al., *Application of bacterial pigments as colorant*, in *Application of bacterial pigments as colorant*. 2012, Springer. p. 57-74.
4. Burrows, J., Adam, *Palette of our palates: a brief history of food coloring and its regulation*. Comprehensive Reviews in food science and food safety, 2009. **8**(4): p. 394-408.
5. Aberoumand, A., *A review article on edible pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry*. World Journal of Dairy & Food Sciences, 2011. **6**(1): p. 71-78.
6. Gulrajani, M., *Present status of natural dyes*. 2001.
7. McCann, D., et al., *Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial*. The lancet, 2007. **370**(9598): p. 1560-1567.
8. Potera, C., *Diet and nutrition: the artificial food dye blues*. 2010, National Institute of Environmental Health Sciences.

9. Oplatowska-Stachowiak, M. and C.T. Elliott, *Food colors: Existing and emerging food safety concerns*. Critical reviews in food science and nutrition, 2017. **57**(3): p. 524-548.
10. Wrolstad, R.E. and C.A. Culver, *Alternatives to those artificial FD&C food colorants*. Annual review of food science and technology, 2012. **3**: p. 59-77.
11. Galaffu, N., K. Bortlik, and M. Michel, *An industry perspective on natural food colour stability*, in *Colour additives for foods and beverages*. 2015, Elsevier. p. 91-130.
12. Damant, A., *Food colourants*, in *Handbook of Textile and Industrial Dyeing*. 2011, Elsevier. p. 252-305.
13. Scotter, M.J., *Methods for the determination of European Union-permitted added natural colours in foods: a review*. Food Additives and Contaminants, 2011. **28**(5): p. 527-596.
14. Scotter, M., *Overview of EU regulations and safety assessment for food colours*, in *Colour additives for foods and beverages*. 2015, Elsevier. p. 61-74.
15. Sen, T., C.J. Barrow, and S.K. Deshmukh, *Microbial pigments in the food industry—challenges and the way forward*. Frontiers in nutrition, 2019. **6**: p. 7.
16. Panesar, R., S. Kaur, and P.S. Panesar, *Production of microbial pigments utilizing agro-industrial waste: a review*. Current Opinion in Food Science, 2015. **1**: p. 70-76.
17. Rajguru, S.A., et al., *Isolation and identification of pigment producing bacterial isolates from different terrestrial habitats in*

- Thane district, MS, India. *World J Pharm Pharm Sci.*, 2016. **5**: p. 618-628.
18. Heer, K. and S. Sharma, *Microbial pigments as a natural color: a review.* *Int J Pharm Sci Res*, 2017. **8**(5): p. 1913-1922.
  19. Lin, C.-H., T.-H. Lin, and T.-M. Pan, *Alleviation of metabolic syndrome by monascin and ankaflavin: the perspective of Monascus functional foods.* *Food & function*, 2017. **8**(6): p. 2102-2109.
  20. Barnawal, D., et al., *Plant growth-promoting rhizobacteria enhance wheat salt and drought stress tolerance by altering endogenous phytohormone levels and TaCTR1/TaDREB2 expression.* *Physiologia plantarum*, 2017. **161**(4): p. 502-514.
  21. Venil, C.K., Z.A. Zakaria, and W.A. Ahmad, *Bacterial pigments and their applications.* *Process Biochemistry*, 2013. **48**(7): p. 1065-1079.
  22. Jixian, G., et al., *Microbial synthesis preparation and application of red nano-pigment dye liquor for cotton.* *Faming Zhuanli Shenqing*, CN106434757 A, 2017. **20170222**.
  23. Ganguly, S., et al., *A review on microbial-pigment: A good source of biocolour.* 2019.
  24. De Carvalho, J.C., et al., *Microbial pigments*, in *Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals.* 2014, Springer. p. 73-97.
  25. Kumar, A., et al., *MICROBIAL PIGMENTS: PRODUCTION AND THEIR APPLICATIONS IN VARIOUS INDUSTRIES.* *International*

- Journal of Pharmaceutical, Chemical & Biological Sciences, 2015. 5(1).
26. Di Mascio, P., S. Kaiser, and H. Sies, *Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher*. Archives of biochemistry and biophysics, 1989. **274**(2): p. 532-538.
  27. Giovannucci, E., et al., *A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk*. Journal of the National Cancer Institute, 2002. **94**(5): p. 391-398.
  28. Dufossé, L., *Microbial pigments from bacteria, yeasts, fungi, and microalgae for the food and feed industries, in Natural and artificial flavoring agents and food dyes*. 2018, Elsevier. p. 113-132.
  29. Bennett, J. and R. Bentley, *Seeing red: the story of prodigiosin*. 2000.
  30. Namazkar, S. and W.A. Ahmad, *Spray-dried prodigiosin from Serratia marcescens as a colorant*. Biosciences Biotechnology Research Asia, 2013. **10**(1).
  31. Darshan, N. and H. Manonmani, *Prodigiosin and its potential applications*. Journal of food science and technology, 2015. **52**(9): p. 5393-5407.
  32. Kirti, K., et al., *Colorful world of microbes: carotenoids and their applications*. Advances in Biology, 2014. **2014**.
  33. Ruegg, R., *Extraction process for beta-carotene*. 1984, Google Patents.



34. Konzen, M., et al., *Antioxidant properties of violacein: possible relation on its biological function*. Bioorganic & medicinal chemistry, 2006. **14**(24): p. 8307-8313.
35. Matz, C., et al., *Impact of violacein-producing bacteria on survival and feeding of bacterivorous nanoflagellates*. Applied and Environmental Microbiology, 2004. **70**(3): p. 1593-1599.
36. Durán, M., et al., *Potential applications of violacein: a microbial pigment*. Medicinal Chemistry Research, 2012. **21**(7): p. 1524-1532.
37. Benedetti, S., et al., *Antioxidant properties of a novel phycocyanin extract from the blue-green alga Aphanizomenon flos-aquae*. Life sciences, 2004. **75**(19): p. 2353-2362.
38. Erikson, N., *Production of phycocyanin-a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008. **80**: p. 1-14.
39. Barsanti, L., et al., *Oddities and curiosities in the algal world*, in *Algal toxins: nature, occurrence, effect and detection*. 2008, Springer. p. 353-391.
40. Barka, A., et al., *Physicochemical characterization of colored soluble protein fractions extracted from Spirulina (Spirulina platensis)*. Food Science and Technology International, 2018. **24**(8): p. 651-663.
41. Dufossé, L., *Encyclopedia of Microbiology*. 2009, Academic Press: New York, NY, USA.

42. Higuera-Ciapara, I., L. Felix-Valenzuela, and F. Goycoolea, *Astaxanthin: a review of its chemistry and applications*. Critical reviews in food science and nutrition, 2006. **46**(2): p. 185-196.
43. Zuluaga, M., et al., *PVA/Dextran hydrogel patches as delivery system of antioxidant astaxanthin: A cardiovascular approach*. Biomedical Materials, 2017. **13**(1): p. 015020.
44. Pogorzelska, E., et al., *Antioxidant potential of Haematococcus pluvialis extract rich in astaxanthin on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigerated storage*. Meat science, 2018. **135**: p. 54-61.
45. Brody, T., *Food and Dietary Supplement Package Labeling—Guidance from FDA's Warning Letters and Title 21 of the Code of Federal Regulations*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2016. **15**(1): p. 92-129.
46. Chuyen, H.V. and J.-B. Eun, *Marine carotenoids: Bioactivities and potential benefits to human health*. Critical reviews in food science and nutrition, 2017. **57**(12): p. 2600-2610.
47. Surai, P., *The antioxidant properties of canthaxanthin and its potential effects in the poultry eggs and on embryonic development of the chick. Part I*. World's Poultry Science Journal, 2012. **68**(3): p. 465-476.
48. Jaswir, I., et al., *Carotenoids: Sources, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry*. J. Med. Plants Res, 2011. **5**(33): p. 7119-7131.

49. Reverchon, S., et al., *Characterization of indigoidine biosynthetic genes in Erwinia chrysanthemi and role of this blue pigment in pathogenicity*. Journal of bacteriology, 2002. **184**(3): p. 654-665.
50. Zha, J. and M.A. Koffas, *Production of anthocyanins in metabolically engineered microorganisms: current status and perspectives*. Synthetic and systems biotechnology, 2017. **2**(4): p. 259-266.
51. Liu, G.Y. and V. Nizet, *Color me bad: microbial pigments as virulence factors*. Trends in microbiology, 2009. **17**(9): p. 406-413.
52. Rosa-Fraile, M., et al., *Granadaene: proposed structure of the group B Streptococcus polyenic pigment*. Applied and environmental microbiology, 2006. **72**(9): p. 6367-6370.
53. Lazaro, J., et al., *Heptyl prodigiosin, a bacterial metabolite, is antimalarial in vivo and non-mutagenic in vitro*. Journal of natural toxins, 2002. **11**(4): p. 367-377.
54. Liu, G.Y., et al., *Staphylococcus aureus golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity*. The Journal of experimental medicine, 2005. **202**(2): p. 209-215.
55. Clauditz, A., et al., *Staphyloxanthin plays a role in the fitness of Staphylococcus aureus and its ability to cope with oxidative stress*. Infection and immunity, 2006. **74**(8): p. 4950-4953.
56. Tucker, A.M. and P. Grundt, *The chemistry of tryptanthrin and its derivatives*. Arkivoc, 2012. **1**: p. 546-569.

57. Chen, W., et al., *Orange, red, yellow: biosynthesis of azaphilone pigments in Monascus fungi*. Chemical science, 2017. **8**(7): p. 4917-4925.
58. He, Y.-W., X.-Q. Cao, and A.R. Poplawsky, *Chemical Structure, Biological Roles, Biosynthesis and Regulation of the Yellow Xanthomonadin Pigments in the Phytopathogenic Genus Xanthomonas*. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2020. **33**(5): p. 705-714.
59. Perez-Dulzaides, R., et al., *Cell-wall dyes interfere with Cryptococcus neoformans melanin deposition*. Microbiology, 2018. **164**(8): p. 1012.
60. Pombeiro-Sponchiado, S.R., et al., *Production of melanin pigment by fungi and its biotechnological applications*. Melanin, 2017: p. 47-75.
61. Sharma, R. and G. Ghoshal, *Characterization and cytotoxic activity of pigment extracted from Rhodotorula mucilaginosa to assess its potential as bio-functional additive in confectionary products*. Journal of Food Science and Technology, 2020: p. 1-11.
62. Kurjogi, M., R.D. Sanakal, and B.B. Kaliwal, *Antibiotic susceptibility and antioxidant activity of Staphylococcus aureus pigment staphyloxanthin on carbon tetrachloride (ccl 4 ) induced stress in swiss albino mice*. International Journal of Biotechnology Applications, 2010. **2**: p. 0975-2943.

63. Singh, T. and K. Heer, *A review: Microbial anticancer pigments*. PLANT CELL BIOTECHNOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY, 2020: p. 1-7.
64. El-Naggar, N.E.-A. and S.M. El-Ewasy, *Bioproduction, characterization, anticancer and antioxidant activities of extracellular melanin pigment produced by newly isolated microbial cell factories Streptomyces glaucescens NEAE-H*. Scientific Reports, 2017. 7(1): p. 42129.
65. Delgado-Vargas, F. and O. Paredes-Lopez, *Natural colorants for food and nutraceutical uses*. 2002: CRC press.
66. Elbatanony, M.M., et al., *Assessment of the antimicrobial activity of the lipoidal and pigment extracts of Punica granatum L. leaves*. Acta Ecologica Sinica, 2019. 39(1): p. 89-94.
67. Sigurdson, G.T., P. Tang, and M.M. Giusti, *Natural colorants: Food colorants from natural sources*. Annual review of food science and technology, 2017. 8: p. 261-280.
68. Malik, K., J. Tokkas, and S. Goyal, *Microbial pigments: a review*. Int J Microbial Res Technol, 2012. 1(4): p. 361-365.
69. Waring, D.R. and G. Hallas, *The chemistry and application of dyes*. 2013: Springer Science & Business Media.
70. Chaitanya Lakshmi, G., *Food coloring: the natural way*. Res J Chem Sci, 2014. 2231(8): p. 606X.
71. Kushwaha, K., et al., *Colorful world of microbes: carotenoids and their applications*. Adv Biol, 2014. 2014: p. 837891.

72. Mayne, S.T., *Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans*. The FASEB Journal, 1996. **10**(7): p. 690-701.
73. Ziegler, R., *Mayne ST, and Swanson CA*. Nutrition and lung cancer. *Cancer Causes Control*, 1996. **7**: p. 157-177.
74. Laos, K., et al., *Encapsulation of  $\beta$ -carotene from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides L.*) juice in furcellaran beads*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2007. **8**(3): p. 395-398.
75. Humphrey, A., *Chlorophyll*. *Food Chemistry*, 1980. **5**(1): p. 57-67.
76. Shahidi, F. and X.Q. Han, *Encapsulation of food ingredients*. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 1993. **33**(6): p. 501-547.
77. Frisvad, J.C. and R.A. Samson, *Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins*. *Studies in mycology*, 2004. **49**(1): p. 1-174.
78. Narsing Rao, M.P., M. Xiao, and W.-J. Li, *Fungal and bacterial pigments: secondary metabolites with wide applications*. *Frontiers in microbiology*, 2017. **8**: p. 1113.
79. Mapari, S.A., U. Thrane, and A.S. Meyer, *Fungal polyketide azaphilone pigments as future natural food colorants?* *Trends in biotechnology*, 2010. **28**(6): p. 300-307.
80. Singh, J.S., et al., *Book review: microbial inoculants in sustainable agricultural productivity-Vol. II: functional application*. *Frontiers in Microbiology*, 2016. **7**: p. 2105.

81. Vickers, N.J., *Animal communication: when i'm calling you, will you answer too?* Current biology, 2017. **27**(14): p. R713-R715.
82. Su, W.-T., T.-Y. Tsou, and H.-L. Liu, *Response surface optimization of microbial prodigiosin production from Serratia marcescens.* Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2011. **42**(2): p. 217-222.
83. Tripathi, U., et al., *Studies on Haematococcus pluvialis for improved production of astaxanthin by mutagenesis.* World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2001. **17**(2): p. 143-148.
84. Chen, Y., et al., *Screening and characterization of astaxanthin-hyperproducing mutants of Haematococcus pluvialis.* Biotechnology letters, 2003. **25**(7): p. 527-529.
85. Chemler, J.A. and M.A. Koffas, *Metabolic engineering for plant natural product biosynthesis in microbes.* Current opinion in biotechnology, 2008. **19**(6): p. 597-605.
86. McDaniel, R., et al., *Engineered biosynthesis of novel polyketides.* Science, 1993. **262**(5139): p. 1546-1550.
87. Bartel, P., et al., *Biosynthesis of anthraquinones by interspecies cloning of actinorhodin biosynthesis genes in streptomycetes: clarification of actinorhodin gene functions.* Journal of bacteriology, 1990. **172**(9): p. 4816-4826.
88. Heider, S.A. and V.F. Wendisch, *Engineering microbial cell factories: Metabolic engineering of Corynebacterium glutamicum with a focus on non-natural products.* Biotechnology journal, 2015. **10**(8): p. 1170-1184.





89. Das, A., et al., *An update on microbial carotenoid production: application of recent metabolic engineering tools*. Applied microbiology and biotechnology, 2007. 77(3): p. 505-512.
90. Green, B.K., *Pressure sensitive record material*. 1955, Google Patents.