

光照、变性剂和 pH 对钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*) 藻蓝蛋白(APC) 抗氧化活性的影响*

周站平 刘鲁宁 陈秀兰 张熙颖 张玉忠¹⁾ 周百成^{*}

(山东大学微生物技术国家重点实验室 济南 250100)

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 采用不同光照条件、不同浓度的十二烷基硫酸钠(SDS)和脲,以及不同 pH 等条件处理钝顶螺旋藻藻蓝蛋白(APC),检测其光谱变化、生成及清除自由基能力的变化,对纯化的钝顶螺旋藻藻蓝蛋白(APC)在不同条件下的抗氧化活性进行了研究。结果表明,光照下,APC 具有生成自由基的能力;黑暗中,APC 却表现为清除自由基。SDS 是一种很强的变性剂,1mmol/L 的 SDS 即可以使 APC 完全变性,能量传递功能丧失,光照下,APC 生成自由基的能力丧失,自由基清除能力明显增强。1.6mol/L 的脲作用后,只使 APC 部分变性,导致 APC 能量传递效率降低,光照下,表现为生成自由基的能力下降。随着脲浓度的升高(3.2mol/L、6.4mol/L),APC 的结构逐渐变化,能量传递功能逐渐丧失,表现为生成自由基的能力逐渐下降,清除自由基的功能逐渐增强。APC 具有较宽的 pH 稳定性,在 pH 为 7—10 的范围内非常稳定;当 pH 为 11 时,APC 的结构已经发生变化。在日光灯下,pH 为 7 时,APC 具有生成自由基的能力;pH 为 8 时,APC 的荧光光谱虽然没有发生变化,但它们表现为清除自由基的能力。随着 pH 的增加,自由基清除能力也增强。因此,APC 具有产生和清除自由基的双重功能,光照是调控自由基清除与产生的关键因素,并且只有 APC 具有能量吸收和传递功能时,才具有产生自由基的能力。脱辅基蛋白变性后,清除自由基的能力加强。

关键词 钝顶螺旋藻,藻蓝蛋白,脱辅基蛋白,抗氧化剂

中图分类号 Q51

螺旋藻(*Spirulina* sp.)是近年来已经进行规模化培养的单细胞螺旋丝状蓝藻,含有 62% 的氨基酸,富含多糖和维生素。由于螺旋藻营养丰富,并且富含多种药物特性,引起了人们的广泛关注。许多研究证明,螺旋藻及其抽提物可以抑制人类和其他哺乳动物中肿瘤的生长;体外研究还发现,螺旋藻的多糖可以增强细胞核内合成酶的活性,加强 DNA 合成中的修复功能(Pang *et al.*, 1998)。

螺旋藻富含藻胆蛋白,藻胆蛋白是红藻和蓝藻中光合作用的主要捕光色素蛋白,由脱辅基蛋白和藻胆素组成。藻胆素是一种开环的四吡咯化

合物,通过共价键连接在脱辅基蛋白上。藻胆素可以作为自然色素和食品添加剂被广泛地应用于食品生产中,其结构与胆红素非常相似。胆红素是一种高效的自由基清除剂(Stocker *et al.*, 1987),因此人们推测藻胆素也具有清除自由基的功能。实验证明,藻胆蛋白在不同体系中都表现出清除自由基和抑制单线态氧的能力(Tapia *et al.*, 1999),在体内和体外都可以防止脂质体过氧化,保护 DNA 不受破坏(Hirata *et al.*, 1999, 2000),同时还具有消除炎症的功能,并且 Pinero 等(2001)发现藻胆蛋白的抗氧化活性随其纯度的增加而增

* 国家高技术发展计划“863 计划”资助项目,2002AA302213 号;山东省自然科学基金资助项目,031070113 号;山东省科技发展计划资助项目,031070113 号。周站平,硕士, E-mail: zhouzhp@hotmail.com

1) 通讯作者,张玉忠,博士,教授,博士生导师, E-mail: zhangyz@sdu.edu.cn

收稿日期:2003-11-17,收修改稿日期:2004-05-26

加。另外,藻胆蛋白在各种体内体外实验模型中都发现有抗炎的作用(Romay *et al.*, 1998a, b; Gonzales *et al.*, 1999),这也可能与其抗氧化活性有关。实验表明,藻胆蛋白清除自由基的能力主要与藻胆蛋白中的藻胆素有关,而藻胆蛋白中的脱辅基蛋白的构象对藻胆素清除自由基的能力有何影响,至今尚未见报道。作者从藻胆蛋白的结构入手,深入研究了藻胆蛋白的构象与自由基产生和清除能力之间的关系。

1 材料与方法

1.1 藻种

钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)由中国科学院海洋研究所提供,采用 Zarrouk 氏培养基,在 5000ml 玻璃瓶中,置于光照培养箱中,通气 12h,间歇 12h。用白炽灯照光,光强 $50\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,温度 $(28\pm 2)^\circ\text{C}$,培养 7—8 天,在对数生长期内进行收集。

1.2 APC 的分离纯化

钝顶螺旋藻培养液用 400 目纱布过滤收集藻体,将藻体浸在蒸馏水中反复冻融,13000g、 4°C 离心 20min,去除破碎的藻体,收集蓝色上清液。在上清液中加入 60% 硫酸铵沉淀,13000g、 4°C 离心 20min,收集蓝色蛋白沉淀,溶解于少量 10mmol/L 的磷酸缓冲液中,置于透析袋。在 5mmol/L 磷酸缓冲液中透析,截留液以 13000g、 4°C 离心 20min,获得藻胆蛋白的粗提液,然后用羟基磷灰石柱层析纯化。用 100mmol/L 的磷酸缓冲液(pH 为 7.0,含 0.1mol/L NaCl)洗脱 APC。收集到 APC,再经过 Bio-Gel P300 柱层析,得到纯化的 APC。

1.3 APC 的吸收光谱与荧光光谱

用 UV-3100 紫外-可见分光光度计检测 APC 的紫外-可见光吸收光谱;用日立-850 型荧光分光光度计检测 APC 的室温荧光激发光谱和发射光谱;扫描速度为 $240\text{nm}/\text{min}$,狭缝宽度为 5nm,走纸速度为 $20\text{cm}/\text{min}$ 。

1.4 羟基自由基清除率的测定(α 脱氧核糖法)

取 0.2ml 的 FeSO_4 -EDTA 混合液(10mmol/L)于具塞试管中,加入 0.2ml 的 α -脱氧核糖溶液(20mmol/L),然后再加入 0.2ml 测试样品,并用磷酸缓冲液(pH 为 7.4)定容至 1.8ml,最后加入 0.2ml 的 H_2O_2 (10mmol/L), 37°C 水浴 1h,然后加入 1ml 2.8% 的三氯乙酸终止反应,再加入 1ml 1% 的硫代巴比妥,混匀后沸水浴中加热 10min,冷却后于 532nm 处测光吸收 A_s (Absorbance)。

不加样品,同上操作处理,测定其对比吸光值 A_c (Absorbance comparison)。

样品的自由基清除能力 SA% (Scavenging Activity) 可表示为: $\text{SA}\% = (A_s - A_c)/A_s$ 。

1.5 APC 的变性

用 1mmol/L、30mmol/L、60mmol/L、100mmol/L SDS, 1.6mol/L、3.2mol/L、4.8mol/L、6.4mol/L 脲和 pH 为 7、8、9、10、11 的缓冲液处理 APC,然后测定吸收光谱、荧光光谱和自由基清除能力。

2 结果

2.1 APC 的分离纯化

图 1 是经过硫酸铵沉淀、羟基磷灰石和 P300 柱层析后分离得到的 APC 的吸收光谱,APC 的最大吸收峰在 653nm,此峰值与 280nm 处蛋白质本身的紫外吸收值的比值为 3.91。图 2 为 APC 室温下的荧光光谱,其荧光激发峰位于 653nm,发射峰位于 665nm。以上结果与文献报道相符(向文洲等, 1991),说明 APC 已经纯化。

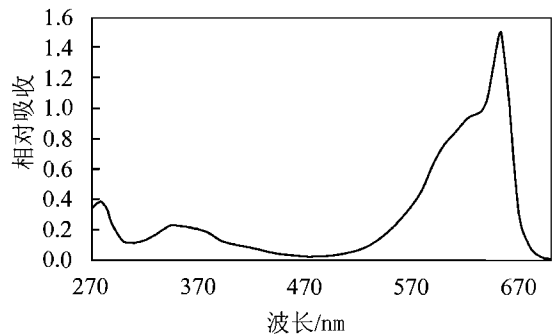


图 1 APC 的吸收光谱

Fig. 1 The absorption spectra of allophycocyanin
吸收光谱在室温条件下测定, APC 溶液为含有 0.1mol/L NaCl 的 0.01mol/L 磷酸缓冲液(pH 为 7.0)

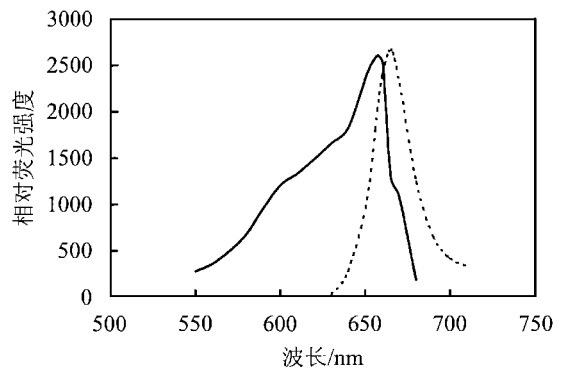


图 2 APC 的荧光激发和发射光谱

Fig. 2 The fluorescence excitation and emission spectrum of allophycocyanin

实线为荧光激发光谱,虚线为荧光发射光谱

2.2 天然状态下藻胆蛋白自由基生成和清除能力

有光情况下,APC的SA%为-66.48%,表现出生成自由基的能力,而在避光情况下,APC的SA%为16.89%,表现出了清除自由基的能力。天然状态下的APC不但不能清除自由基,反而具有生成自由基的能力,这与分离纯化的G-藻蓝蛋白(G-phycoerythrin, G-PE)的结果类似(研究结果将另文发表),但与Pinero等(2001)报道的结果不完全一致。Pinero等(2001)认为,藻胆蛋白具有清除自由基的功能,而本文研究结果表明,藻胆蛋白对自由基的清除是有条件的,藻胆蛋白具有生成和清除自由基的双重功能,光照是调控自由基清除与产生的关键因素。

2.3 变性剂对APC自由基清除能力的影响

2.3.1 SDS SDS是一种去垢剂,具有很强的变性能力。作者采用不同浓度的SDS对APC进

行变性,同时检测变性后的APC的荧光光谱和自由基清除能力。

(1) SDS变性后藻胆蛋白的光谱 从上述结果可以看出,SDS对藻胆蛋白的变性能力非常强,在SDS的浓度达到1mmol/L时,APC就已经完全变性,其荧光发射峰和激发峰峰值大幅下降。因此SDS变性后的APC几乎完全丧失了吸收光能和传递能量的功能。这表明APC对光能的吸收和传递完全依赖其高级结构,并经过SDS变性后,APC的发射峰和激发峰都发生明显的蓝移(发射峰从665nm蓝移到640nm,激发峰从653nm蓝移到610nm),都类似于藻蓝胆素的光谱特征;同时也表明,经过SDS变性后,APC中的多肽链松散,色素基团外露,多肽链与色素基团之间的相互作用减弱甚至消失,从而表现出色素基团的光谱特性。

表1 APC经SDS处理后的荧光光谱
Tab.1 Fluorescence spectra of allophycocyanin after SDS treatment

SDS 浓度(mmol/L)		0	1	30	60	100
荧光发射光谱	激发波长(nm)	650	605	610	607	610
	发射波长(nm)	665	651	651	640	640
	最大相对荧光值	2669.308	35.624	32.270	31.568	30.977
荧光激发光谱	发射波长(nm)	670	640	642	642	640
	激发波长(nm)	653	610	610	610	610
	最大相对荧光值	2607.231	37.439	32.767	31.568	31.370

(2) SDS变性后APC的自由基清除能力 天然状态下的APC在光照下具有生成自由基的能力。从SDS变性后APC的荧光光谱中(表1)可以看出,光照下APC生成自由基的能力降低,清除自由基的能力明显增强(表2)。这表明,经过SDS变性后,APC的脱辅基蛋白已经完全变性,多肽链解开,藻蓝胆素外露,因此APC的自由基清除能力受到了其结构变化的影响。

剂。低浓度的脲对蛋白的变性能力很小,当去除脲后,蛋白可以复性,随着脲浓度的增加,它对蛋白的变性能力也会增强,因此不同浓度的脲对APC的变性程度不同。

(1) 脲变性后APC的光谱 从表3可以看出,经过1.6mol/L的脲变性后,APC的荧光强度(F_{662})只下降了6%左右,而其最佳激发波长和最大发射波长都没有发生明显的变化,这说明APC的多肽链只发生了部分变性,这种变性只是减弱了APC的光能传递效率,而没有使之丧失这种功能。当脲浓度达到3.2mol/L时,APC的多肽链进一步变性,其光能传递效率仍在下降,这时 F_{662} 荧光强度降至天然状态下藻胆蛋白的三分之一;当脲浓度升至4.8mol/L时,APC的荧光强度已经非常微弱,其光谱特性更接近于色素基团的光谱特征;当脲浓度为6.4mol/L时,APC的荧光已经检

表2 SDS对APC自由基清除能力的影响

Tab.2 Effect of SDS on hydroxyl scavenging ability of allophycocyanin

SDS 浓度(mmol/L)	0	1	30	60	100
SA%	-66.48	70.35	75.48	76.29	80.45

2.3.2 脲 相对于SDS,脲是一种较弱的变性

测不到,说明此时 APC 的多肽链已经完全变性,其相应的吸收光能和传递能量的功能丧失。

表 3 APC 经脲变性后的荧光光谱
Tab. 3 Fluorescence spectra of allophycocyanin after urea treatment

脲浓度(mmol/L)		0	1.6	3.2	4.8	6.4
荧光发射光谱	激发波长(nm)	640	653	653	621	610
	发射波长(nm)	665	665	665	651	651
	最大相对荧光值	2839	2627	851.705	12.323	2.025
荧光激发光谱	发射波长(nm)	670	662	662	642	642
	激发波长(nm)	653	653	653	620	620
	最大相对荧光值	2839	2627	1002.193	12.71	2.25

(2) 脲变性后藻胆蛋白的自由基清除能力

由于不同浓度的脲对 APC 的变性程度不同,因此不同浓度的脲对 APC 清除自由基能力的影响也有很大的差异。1.6mol/L 的脲对 APC 的变性作用非常微弱,其多肽链只是部分变性,仍具有很高的光能传递效率,因此在光照条件下,APC 仍具有产生自由基的能力;当脲的浓度为 3.2mol/L 时,APC 都表现出了清除自由基的能力,随着脲的浓度的增加,APC 的清除自由基的能力也逐渐增强;当脲的浓度达到 6.4mol/L 时,APC 的自由基清除能力明显增加(表 4)。

2.3.3 pH 在酸性条件下,测定自由基清除能力的反应体系不稳定,因此作者测定了碱性条件下不同 pH 对 APC 的光谱特性及产生和清除自由

表 4 脲对 APC 自由基清除能力的影响
Tab. 4 Effect of urea on hydroxyl scavenging ability of allophycocyanin

脲浓度(mol/L)	0	1.6	3.2	4.8	6.4
SA %	-66.48	-11.03	7.06	17.94	40.45

基的能力的影响。

(1) 不同 pH 下 APC 的荧光光谱 APC 有较宽的 pH 稳定性,从表 5 可以看出,从 pH 为 7—10 范围内,APC 的荧光光谱基本上没有什么变化;当 pH 升至 11 时,APC 的荧光强度(F_{662})明显降低至最大相对荧光值的 40% 左右,说明此时 APC 的结构已经变化,同时也影响了 APC 吸收光能和传递能量的功能。

表 5 APC 在不同 pH 7—11 的荧光光谱
Tab. 5 Fluorescence spectra of allophycocyanin in pH 7—11

pH		7	8	9	10	11
荧光发射光谱	激发波长(nm)	653	653	653	653	653
	发射波长(nm)	665	665	665	665	665
	最大相对荧光值	2839	2890	2860	2851	1209
荧光激发光谱	发射波长(nm)	662	662	662	662	662
	激发波长(nm)	653	653	653	653	653
	最大相对荧光值	2602.15	2645.832	2640	2624.118	1003.65

(2) 碱性条件下 APC 的自由基清除能力

在光照下,pH 为 7 时,APC 具有生成自由基的能力,这与藻胆蛋白在生物体内的生理功能相一致。

但随着 pH 的升高,APC 清除自由基的能力逐渐增强。APC 在 pH 为 8 和 9 时的荧光光谱相似,自由基清除能力也基本相同;当 pH 升为 10 时,虽然

APC 的荧光光谱仍没有明显变化, 但清除自由基的能力已经明显增强, 说明溶液环境为 pH 10 时已经明显影响到处于多肽链内部的藻胆胆素的微环境; 当 pH 为 11 时, 虽然荧光光谱与 pH 为 10 时相差很多, 但清除自由基的能力却与 pH 为 10 时相差不大(表 6)。

表 6 pH 7—11 对 APC 自由基清除能力的影响

Tab. 6 Hydroxyl scavenging ability of allophycocyanin in pH 7—11

pH	7	8	9	10	11
SA %	13.21	28.9	29.28	43.44	40.14

3 讨论

藻胆蛋白是螺旋藻中主要的捕光色素蛋白, 其光能传递效率可达 90% 以上。天然状态下的藻胆蛋白在光照时可获得一定的光生电势, 当存在合适的电子供体或电子受体时, 藻胆蛋白就能够给出电子, 从而可以产生自由基, 应用 ESR 技术可以将其捕捉(Zhang *et al.*, 1999)。

由于藻胆蛋白在光照条件下才能获得一定的光生电势, 因此光是天然状态下的藻胆蛋白能否产生自由基的关键。藻胆素的结构与胆红素的结 构非常相似, 胆红素是一种高效的自由基清除剂, 因此藻胆素也是一种高效的自由基清除剂, 其本身所含有的部分氨基酸也具有自由基清除能力。作者还发现, 在黑暗条件下, 藻胆蛋白表现为清除自由基, 这也说明光是藻胆蛋白生成自由基的关键因素。

藻胆蛋白经过变性剂处理, 将会表现为亚基的解离, 继而是脱辅基蛋白链变性。蛋白链变性后, 色素基团由于失去脱辅基蛋白的调控作用而呈现出构象发生卷曲, 这种结构使之表现为光吸收下降, 荧光减弱, 甚至完全消失。SDS 和脲是两种不同的变性剂。SDS 是一种很强的变性剂, 1mmol/L SDS 即可使藻胆蛋白完全变性, 藻胆蛋白的特征吸收峰明显下降, 并且其荧光强度降至天然状态的 1%。而 340nm 处的吸收峰明显升高, 说明脱辅基蛋白变性后, 色素基团由于失去了蛋白的作用, 构象已经发生变化, 这种构象不利于藻胆蛋白吸收和传递能量。经过 SDS 作用后, 藻胆蛋白 280nm 处的吸收峰也上升, 由于 280nm 为芳香族氨基酸的特征吸收, SDS 作用后, 脱辅基蛋白链变性, 处于蛋白内部的芳香族氨基酸外露, 从

而使 280nm 处的吸收峰升高。在藻胆蛋白变性的过程中, 蛋白质链的解构, 使处于包被中的色素基团暴露, 丧失了原有吸收和传递能量的功能, 从而失去了生成自由基的能力, 表现为自由基清除的能力。相对于 SDS, 脲是一种较弱的变性剂, 低浓度的脲只能使藻胆蛋白部分变性, 降低藻胆蛋白吸收和传递能量的效率, 减少自由基生成的量。藻胆蛋白的变性程度随着脲浓度的增加而增强, 同时藻胆蛋白也会由生成自由基转变为清除自由基, 并且清除自由基的能力也逐渐增强。当脲浓度为 6.4mol/L 时, 藻胆蛋白完全变性, 其清除自由基的能力与经过 SDS 完全变性后的藻胆蛋白基本相同。不同的 pH 对光谱特性的影响完全不同于 pH 对 APC 清除自由基能力的影响。在一定 pH 范围内, 虽然 APC 的脱辅基蛋白并没有变性, 高级结构没有发生很大的变化, 但是其色素基团周围的氨基酸残基的解离特性却发生了一定的变化, 从而影响了 APC 生成和清除自由基的能力。

本文中的实验结果说明, 天然状态下的藻胆蛋白更有利于光能的吸收与传递, 而不是自由基清除的理想状态, 这与藻胆蛋白在体内的生理功能相一致。APC 的高级结构决定着光谱特性。天然状态下藻胆蛋白的色素基团是与脱辅基蛋白紧密结合在一起, 只有藻胆蛋白维持一定的三维构象, 藻胆蛋白才具有吸收和传递光能的功能(MacColl, 1998)。而色素基团是藻胆蛋白生成和清除自由基起主要作用的组分, 因此藻胆蛋白的构象变化会对其生成和清除自由基的能力产生影响。只有当藻胆蛋白变性、脱辅基蛋白松散、藻胆素外露时, 才有利于自由基的清除。

参 考 文 献

向文洲, 吴伯堂, 曾呈奎, 1991. 海水钝顶螺旋藻藻胆蛋白的初步研究. 热带海洋, 10(4): 62—66[Xiang W Z, Wu B T, C C K Tseng, 1991. Preliminary study on the phycoobiliproteins from marine *Spirulina platensis*, Tropic Oceanology, 10(4): 62—66]

Gonzales R, Rodriguez S, Romay C *et al.*, 1999. Anti-inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid-induced colitis in rats. Pharmacol Res, 39: 55—59

Hirata T, Tanaka M, Ooike M *et al.*, 1999. Radical scavenging activities of phycocyanobilin prepared from a cyanobacterium, *Spirulina platensis*. Fisheries Sci, 65: 971—972

Hirata T, Tanaka M, Ooike M *et al.*, 2000. Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis*. J

- Appl Phycol, 12: 435—439
- MacColl R, 1998. Cyanobacterial phycobilisomes. Journal of Structural Biology, 124: 311—334
- Pang Q S, Guo P A, Ruan J H, 1998. Enhancement of endonuclease activity and repair DNA synthesis by polysaccharide of *Spirulina platensis*. I Chuan Hsuch Pao, 15: 374—381
- Pinero Estrada J E, Bemejo Bescos P, Villar del Fmsno A M, 2001. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. II Farmaco, 56: 497—500
- Romay C, Armesto J, Ramirez D *et al*, 1998a. Antioxidant and anti-inflammatory properties of G-phycocyanin from blue-green algae. Inflamm Res, 47: 36—41
- Romay C, Ledon N, Gonzales R, 1998b. Further studies on anti-inflammatory activity of phycocyanin in some animal models of inflammation. Inflamm Res, 47: 334—338
- Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh A F *et al*, 1987. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. Science, 235(4792): 1043—1046
- Tapia G, Galetovic A, Lemp E *et al*, 1999. Singlet oxygen-mediated photobleaching of the prosthetic group in hemoglobin and G-phycocyanin. Photochem Photobiol, 70: 499—504
- Zhang S P, Xie J, Zhang J P *et al*, 1999. Electron spin resonance studied on photosensitized formation of hydroxyl radical by G-phycocyanin from *Spirulina platensis*. Biochimica et Biophysica Acta, 1426: 205—211

EFFECTS OF LIGHT, DENATURANTS AND pH ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF APC IN BLUE GREEN ALGA *SPIRULINA PLATENSIS*

ZHOU Zhan-Ping, LIU Li-Ning, CHEN Xiu-Lan, ZHANG Xi-Ying,

ZHANG Yi-Zhong, ZHOU Bai-Cheng

(State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan, 250100)

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

Abstract Phycobilisomes are protein complexes that function in light harvesting and energy migration, usually to photosystem II. Biliproteins consist of apoproteins as well as chromophores, which are observed to be singly or doubly attached by thioether bonds to cysteine residues of the apoproteins. Previous articles thought that the chromophore plays an important role in the ability of scavenging hydroxyl radicals of the phycobiliprotein.

In this study, allophycocyanin (APC) purified from blue green alga *Spirulina platensis* was treated in different light conditions, SDS and urea with different concentrations, and by buffer of different pHs. Then their fluorescence spectra, and ability of generating and scavenging hydroxyl radicals were detected. Results showed that: (1) the natural APC could generate hydroxyl radicals in light and scavenge them in darkness; (2) SDS was strong denaturant. G-phycocyanin (CPC) and APC denatured completely in 1mmol/L SDS. They were not be able to absorb and transfer the light energy. The ability of generating hydroxyl radicals disappeared in light and the ability of scavenging hydroxyl radicals increased remarkably; (3) after denatured partly in 1.6mol/L urea, APCs were still able to absorb and transfer energy, but the efficiency and their ability of generating hydroxyl radicals decreased. APCs denatured more with rising (3.2mol/L, 6.4mol/L) concentration of urea. It scavenged hydroxyl radicals instead of generating them; (4) APCs could stabilize in a wide range of pH between 7—10. In pH 11 the structure of APC changed. APCs had an ability to generate hydroxyl radicals in pH 7 in light. Their fluorescence spectrum did not change in pH 8 but scavenged hydroxyl radicals. This ability increased with pH increasing.

The spectroscopic properties of phycobiliprotein depend on the chemical structure of the bilins they contain and on the conformation and environment imposed on these bilins by the native protein structure. The spectral characterization of APC was determined by its advanced structure. The chromophore of APC plays a key role in the spectral characterization. At the same time, the microenvironment of apoprotein affects the natural ability of the chromophore and change the spectral identity of the whole protein. This article studied the antioxidant activities of APC in different conditions. The phycobiliprotein was processed in different conditions in which various spectral characterization and antioxidant ability were shown. In all, it is indicated in this paper that natural state of the phycobiliprotein benefit for the absorbance and transfer of the light, rather than the ability of scavenging hydroxyl radicals. APCs have dual abilities of generating and scavenging hydroxyl radical during these process the light condition is the key. When APC absorb and transfer energy, it generates hydroxyl radicals. When apoprotein denatures, APC's ability of scavenging hydroxyl radicals increases.

Key words *Spirulina platensis*, APC, Apoprotein, Antioxidant