

مقایسه اثر نوع حلال بر میزان ترکیبات زیست فعال با خاصیت آنتی‌اکسیدانی استخراج شده به روش اولتراسوند از ریز جلبک سبز دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*)

چکیده

نگرانی‌ها در مورد بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو و علاقه فزاینده مصرف‌کنندگان به فرمولاسیون غذاهای فراسودمند، باعث ایجاد رویکردهایی در جهت شناسایی غذاهای غنی از آنتی‌اکسیدان‌های تغذیه‌ای و امکان جایگزینی این ترکیبات با نگه‌دارنده‌های طبیعی شده است، در این زمینه منابع زیستی دریایی به‌ویژه جلبک‌ها به‌عنوان منابع مهم آنتی‌اکسیدانی موردتوجه قرار گرفته‌اند. دانلیلا سالینا، جلبک سبز تک‌سلولی، شوری پسند با پراکندگی وسیع جغرافیایی است. این گونه تولیدکننده اولیه در محیط‌های شور بوده و قادر به تولید فراوان کارتنوئید می‌باشد و به عنوان یک منبع غذایی و دارویی موردتوجه قرار گرفته است. این تحقیق در سال ۱۳۹۹ در آزمایشگاه مرکز تحقیقات صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال انجام شد. دانلیلا سالینا در محیط کشت اختصاصی اصلاح‌شده جانسون، کشت داده شد، سپس عصاره‌ها بر اساس نوع حلال (آب، اتانول، آبی/اتانولی ۵۰:۵۰) تحت تیمار اولتراسوند با دمای (۱۰-۳۰)°C به مدت (۳۰-۱۵) قرار گرفتند. هیدرولیزات به‌دست‌آمده از تیمارهای مشخص، توسط GC-MS آنالیز شد و میزان ترکیبات زیست فعال با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در هر تیمار به دست آمد. سنجش آنالیز GC-MS نشان داد، هیدرولیزات اتانولی (۱۵-۳۰)°C، بالاترین میزان ترکیب زیست فعال استخراج‌شده را با ۲۵ نوع ترکیب که ۵۴/۹۲ درصد از کل ترکیبات استخراج‌شده را به خود اختصاص داد. تترادکان (۷/۵۳ درصد)، پنتا دکان (۶/۷۸ درصد)، اسیدهای چرب پالمیتولیک اسید MUFA (۴/۶۱ درصد) و اولئیک اسید UFA (۱/۱۶ درصد)، اتیل اولئات (۲/۲۳ درصد) مهم‌ترین ترکیبات شناسایی شده بودند. آلکان‌ها، استرول، اسیدهای چرب غیراشباع زنجیره بلند، اسید چرب اشباع، اتیل استر و فنل شامل اصلی‌ترین ترکیبات استخراج‌شده بودند. هیدرولیزات آبی (۳۰-۱۰)°C کمترین میزان ترکیبات زیست فعال استخراج‌شده را با ۳/۹۷ درصد که شامل تری دکان (۱/۶۶ درصد) و تترادکان (۳/۹۷ درصد) را نشان داد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق، تغییر نوع حلال و دما بر میزان استخراج ترکیبات زیست فعال استخراج‌شده، تأثیر مستقیم دارد. حلال‌های با قطبیت کمتر، نتایج بهتری نسبت به حلال‌ها با قطبیت بیش‌تر دارند؛ زیرا به علت قطبیت بیشتر اکثر ترکیبات زیست فعال (مقادیر فراوان کلروفیل) را استخراج می‌کنند. حضور لیپیدها و اسیدهای چرب زنجیره بلند در ترکیبات استخراج‌شده، فعالیت ضد باکتریایی ریز جلبک دانلیلا سالینا را موردتوجه قرار می‌دهد. ریز جلبک هالوفیت دانلیلا سالینا، می‌تواند یک منبع بالقوه از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی در صنایع غذایی و در تولید غذاهای فراسودمند شود.

واژگان کلیدی: دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*)، ترکیب زیست فعال، آنتی‌اکسیدان، غذای فراسودمند، اولتراسوند.

مقدمه

با توجه به آگاهی مصرف‌کننده‌ها، نسبت به ایمنی مواد غذایی، نیاز به شناسایی آنتی‌اکسیدان‌هایی با منشأ طبیعی روزبه‌روز در حال افزایش است (Dolganyuk et al., 2020). ریز جلبک‌ها و ماکرو جلبک‌ها به دلیل وجود ترکیبات زیست فعالی که در این میکروارگانیسم‌ها یافت می‌شود به‌عنوان منبعی با پتانسیل مناسب به‌منظور استفاده از مواد مغذی و مولکول‌های فراسودمند مطرح‌شده‌اند (Rashed and El-Chaghaby, 2020; Karkhoneh Yousefi et al., 2020؛ غلامیان و سرطاوی، ۱۳۹۹). میکرو جلبک‌ها غنی از ترکیبات فیتوشیمیایی، فیتونوترینت، کارتنوئید، پلی ساکاریدها، بتاگلوکان، آنتی‌اکسیدان‌ها، فنول‌ها، استرول‌ها و اسیدهای چرب غیراشباع زنجیره بلند هستند (Aussant et al.,

مهری پولادوند^۱

مژگان امتیازجو^۲

سحر جلیلی^{۳*}

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، مهندسی صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲. دانشیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳. استادیار، گروه شیلات و فرآوری محصولات شیلاتی، واحد آبادان، دانشگاه آزاد اسلامی، آبادان، ایران.

*مسئول مکاتبات:

sahar.jalili2005@gmail.com

کد مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۸

این مقاله پژوهشی و برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

Colombier et al., 2020, 2018). بهره‌وری از ترکیبات مغذی ریز جلبک‌ها به گونه، نحوه کشت و ترکیب محیط کشت بستگی دارد (Long 2021). ریز جلبک‌ها به دلیل داشتن پتانسیل مناسب به‌عنوان منبع جدیدی از اسیدهای چرب زنجیره بلند غیراشباع (LC-PUFA) (Long 2021) (chain, Poly Unsaturated Fatty Acid) امروزه بسیار موردتوجه قرار گرفتند. با توجه به حضور آلاینده‌های صنعتی در محیط‌های زیست آبیان، باعث شده است مصرف‌کنندگان به منابع جایگزین برای تأمین اسیدهای چرب مناسب، علاقه‌مند شوند. ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) (C20:5 n-3) و دوکوزاهگزا نوئیک (DHA) (C22:6 n-3) مشتقاتی از n-3 هستند که محتوای بالایی از آن در میکرو جلبک *Phaeodactylum tricornutum* (۸۲۹ درصد) یافت می‌شوند (Handayani et al., 2021). آلفا لینولنیک اسید (n-3) (ALA) (Linolenic Acid) می‌تواند در بدن به ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزا نوئیک تبدیل شود اما این تبدیل برای مصرف‌کنندگان از نظر مقدار، کافی نیست، بنابراین اسیدهای چرب امگا-۳ بایستی به‌صورت مکمل غذایی در اختیار مصرف‌کنندگان قرار گیرند. ایکوزاپنتانوئیک به‌صورت وسیعی در *Mondous subterraneus* و *Porphyridium cruentum* و دوکوزاهگزا نوئیک در میکرو جلبک *Schyzochtrium sp.* به‌دست‌آمده است، اثرات مثبت آن‌ها بر سلامت مصرف‌کنندگان ثابت شده است. اسید لینولنیک (C18:2, n-6) و اسید آراشیدونیک (C20:4, n-6) از اسیدهای چرب امگا ۶ (PUFA, n-6) می‌باشند، جلبک‌های قرمز تک‌سلولی *Rhodophytes*، تنها ریز جلبکی هستند که به مقدار قابل‌توجهی اسید آراشیدونیک تولید می‌کند، اسید آراشیدونیک یک پیش‌ساز پروستاگلاندین فعال بیولوژیکی و لوکوترین‌ها می‌باشد که نقش مهمی در سیستم گردش خون و سیستم عصبی مرکزی ایفا می‌کند. ریز جلبک دانلیلا سالینا، به دلیل محتوای بالای کاروتنوئیدها و گلیسرول شناخته‌شده‌اند. بالین‌وجود همچنین دارای محتوای بالایی در لیپیدها از جمله لیپیدهای قطبی هستند که کاربرد غذایی و آرایشی دارد (Monta et al., 2020). گونه *Dunaliella salina* متعلق به رده *Chlorophyceae*، از تولیدکنندگان مهم مسیر فتوسنتزی دریا و دریاچه‌های نمکی فوق‌اشباع است (Hosseini Tafreshi et al., 2009). این ریز جلبک سبز قادر به زنده‌بودن در شوری (۴۵۰۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) می‌باشد (Cakmak et al., 2014; Kilic et al., 2018). گونه‌های دانلیلا در اکوسیستم‌های آبی ایران نیز با توجه به خصوصیات فیزیکوشیمیایی مختلف آن‌ها به‌طور گسترده پراکنده‌اند (Hosseini Tafreshi et al., 2009). دانلیلا که اغلب در زیستگاه‌های شور با تابش بالا یافت می‌شود، جهت مقابله با استرس‌های محیطی مانند: شوری زیاد، شدت نوربالا، دمای بالا و محدودیت مواد غذایی قادر به تولید متابولیت‌های ثانویه مانند کاروتنوئیدها می‌باشد (Kilik et al., 2018).

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از طریق زنجیره تنفسی در اندامک میتوکندری یا در طول عملکرد سیستم ایمنی سلول‌های بدن تولید می‌شوند. عواملی مانند آلودگی هوا، غذای ناسالم، کمبود خواب، در معرض اشعه ماورای بنفش قرار گرفتن نیز می‌تواند باعث تولید این ترکیبات مضر در بدن شود (Colombier et al., 2020). اگر گونه‌های فعال اکسیژن توسط اجزای سلولی خنثی نشود، واکنش زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد را تحریک کرده و باعث آسیب سلولی، بافتی و ژنی می‌شوند. اثرات استرس اکسیداتیو شامل: پراکسیداسیون غشای لیپیدی، تورم میتوکندری و تغییرات پروتئین پس از ترجمه است. این نوع آسیب اکسیداتیو به چندین بیماری دژنراتیو مانند: آلزایمر، پارکینسون، آترواسکلروز، روماتیسم مفصلی، سرطان و پیری زودرس مرتبط می‌باشد (Colombier et al., 2021). افزودنی‌های مجاز که منشأ طبیعی دارند مانند: ویتامین ث (E300-E304)، ویتامین E (E306)، برخی از کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگ مجاز هستند و می‌توانند نقش آنتی اکسیدانی داشته باشند، بتاکاروتن (E160a)، لیکوپن (E160d)، آستاگزانتین از این گروه می‌باشند. بتا کاروتن یک رنگ‌دانه ترپنوئیدی است که از آن به‌عنوان پیش‌ساز ویتامین آ و به دلیل داشتن خصوصیات ضد اکسیدانی و ضد سرطانی و همچنین توانایی دافع رادیکال‌های آزاد در درمان بیماری‌ها باارزش می‌باشد (Barika et al., 2019). بیوسنتز بتاکاروتن در غشای کلروپلاست طی سلسله‌ای از واکنش‌های پیایی از تخریب فرآورده‌های فتوسنتزی (نشاسته) و تبدیل به دی‌هیدروکسی استون فسفات و ۲- فسفوگلیسرآلدئید صورت می‌گیرد (Dolganyuk et al., 2020). میکرو جلبک‌ها منابع بسیار خوبی از ویتامین‌های آنتی اکسیدان هستند (Gauthier et al., 2020). در این زمینه باید توجه داشت که دانلیلا علاوه بر دارا بودن انواعی از مواد معدنی

قابل استخراج دارای مقادیر بالایی از دو نوع ایزومر سیس و ترانس بتا کاروتن و آستاگزانتین و همچنین آلفاکاروتن می‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد که مصرف دو ماده بتا کاروتن و آستاگزانتین و همچنین مصرف ترکیبی از بتاکاروتن و آلفاکاروتن همراه باهم می‌تواند خطر ابتلا به انواع سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی را کاهش دهد (Chen et al., 2017). مطالعات زیادی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی جالب و قابل توجه ریز جلبک‌ها را گزارش کرده‌اند (Safafar et al., 2015; Assuncao et al., 2016). تلاش‌های دائمی برای بهره‌برداری از منابع ریز جلبکی جدید و توسعه تجاری آن‌ها وجود دارد، گونه‌های *Dunaliella*, *Isochrysis*, *Chlorella*, *Nannochloropsis*, *Nanochloris*, *Chlamydomonas*, *Spirulina* و *Hematococcus* برای رشد در تولید انبوه در دسترس هستند. امروزه ۱۰ گونه از ریز جلبک‌ها برای مصرف انسان در اتحادیه اروپا به عنوان ماده غذایی مجاز هستند، ریز جلبک نیایستی بر رنگ، بو و طعم غذا تأثیر بگذارد و بایستی در غلظت‌های پایین (۰/۰۱ تا ۰/۰۰۱ درصد) مؤثر باشد و به راحتی قابل استفاده باشد (Carocho et al., 2018; Lourenco et al., 2019). در ایران نیز مطالعات بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های، آبی و آلی جلبک دریایی *Cystoseria trinodis* (طاهری و همکاران، ۱۳۹۶)، جلبک *Nizimuddina zanardini* (محمدی و همکاران ۱۳۹۷) و گونه‌های متنوع دیگر انجام شده است که در اکثر مطالعات، خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها تأیید شده است، اما نوع گونه و نوع حلال بر میزان این مقدار مؤثر بوده است. روش التراسوند برای استخراج ترکیبات زیست فعال، استفاده از امواج صوت است که فراتر از محدوده شنوایی ما است. این امواج باعث انقباض و انبساط در سطح مولکول می‌شود. این فرآیند باعث فرایند حباب سازی (کاویتاسیون) می‌گردد که به معنی تولید، رشد و تخریب حباب‌ها می‌باشد. مقدار زیادی از انرژی از طریق تبدیل انرژی جنبشی سنتزی به گرما تولید شده و به حباب‌ها وارد می‌شود. مکانیزم پدیده فیزیکی استخراج توسط روش التراسوند شامل دو مرحله اصلی که عبارت‌اند از انتشار از طریق دیواره سلولی و سپس خروج محتوای سلول به داخل حلال است. از مزایای التراسوند می‌توان کاهش زمان استخراج، کاهش انرژی و حلال را نام برد. انرژی التراسوند برای فرایند استخراج باعث تأثیر بیشتر، اختلاط، تسریع انتقال انرژی، کاهش افت حرارتی و درجه حرارت استخراج، استخراج انتخابی، کاهش سائز ذرات، پاسخ سریع به کنترل فرآیند استخراج می‌شود (Dey et al., 2013).

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر نوع حلال، دما و زمان فرآیند استخراج به روش التراسوند بر میزان ترکیبات زیست فعال با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های آبی، اتانولی و آبی اتانولی از ریز جلبک سبز دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جلبک دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*) از پژوهشکده آرتیمیا و آبزی‌پروری ارومیه، (ایران) تهیه شد. این تحقیق در سال ۱۳۹۹ در آزمایشگاه مرکز تحقیقات صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال انجام شد. جهت کشت دانلیلا، از محیط کشت اختصاصی آن یعنی محیط اصلاح شده جانسون که ترکیبی از سه محلول مختلف شامل: مواد معدنی اصلی، آهن و املاح تریس استفاده شد. تنظیم pH با افزودن سود و اسید کلریدریک صورت گرفت. برای تهیه این محیط، نمک‌های محلول آهن و تریس در دو ظرف جداگانه توزین و با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد. محلول مواد معدنی اصلی، محیط کشت حاوی ترکیبات اصلی و پایه است که نمک‌های آن به میزان تعیین شده توزین و با آب مقطر به حجم ۹۸۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سه محیط را مجزا از یکدیگر در اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل کرده و پس از خنک شدن به وسیله پمپ استریل، ۱۰ میلی‌لیتر از محیط‌های کشت آهن و تریس به محیط پایه اضافه گردید تا حجم آن به یک لیتر برسد سپس از این محیط کشت جهت جلبک استفاده شد (Borowitzka et al., 1990).

۳/۷۵ گرم از جلبک دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*) تهیه شده از پژوهشکده آرتیمیا و آبزی‌پروری ارومیه در آزمایشگاه توزین شد و به ۷۵ سی‌سی حلال (آب، آب: اتانول به نسبت ۵۰ به ۵۰ و اتانول) در بشر شیشه‌ای افزوده شد. سپس ظروف شیشه‌ای تحت تیمار اولتراسوند با شرایط

مقایسه اثر نوع حلال بر میزان ترکیبات زیست فعال با خاصیت آنتی اکسیدانی استخراج شده به روش اولتراسوند از ریز جلبک ... / پولادوند و همکاران

۴۰۰W، ۴۰KHZ دمای (۳۰ و ۱۰ درجه سلسیوس) به مدت (۳۰ و ۱۵ دقیقه) قرار داده شد، پس از اتمام فرایند استخراج، عصاره ها با کاغذ صافی (Watman 42) فیلتر شدند و سپس ۶ تیمار طبق جدول شماره ۱ آماده سازی گردید و به ظروف شیشه ای تیره منتقل گردیدند و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شدند (Browitzka, 2010).

جدول ۱: مشخصات تیمارهای آماده سازی شده.

شماره نمونه	نام نمونه	زمان (دقیقه)	حرارت (سلسیوس)
۱	هیدرولیزات آبی- اتانولی	۱۵	۳۰
۲	هیدرولیزات اتانولی	۱۵	۳۰
۳	هیدرولیزات آبی- اتانولی	۳۰	۳۰
۴	هیدرولیزات آبی- اتانولی	۱۵	۱۰
۵	هیدرولیزات آبی	۱۵	۱۰
۶	هیدرولیزات آبی	۳۰	۱۰

جهت آنالیز کیفی نمونه ها از دستگاه GC-MS با مشخصات زیر استفاده شد: (MS, Gc: 7890A, Agilent Technology, U.S.A) ستون تجزیه ای موئینه ای: Column (30m Length*./25 mm, Detector: 5975C Agilent Technology, U.S.A). ابتدا نمونه های هیدرولیزات تهیه شده از تیمارهای حرارتی و فراصوت با ۲۵ میلی لیتر حلال دی کلرومتان در قیف جداکننده استخراج شدند. بعد از استخراج و دو فاز شدن حلال ها فاز حلال دی کلرومتان جدا شد و با استفاده از سدیم سولفات خشک شده در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس، هیدرولیزات ها آبگیری شدند. سپس حلال دی کلرومتان استخراج شده که همراه با مواد استخراجی هیدرولیزات ها می باشد در دمای ۳۰ درجه سلسیوس خشک شد و در نهایت به هر نمونه ۱ میلی لیتر حلال هگزان اضافه شد و به جهت تزریق به دستگاه GC-MS آماده شد. برنامه دمایی آون برای جداسازی پیک ها شامل دمای اولیه ستون ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه، سپس افزایش دما با میزان ۵ درجه سلسیوس به ازای هر دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۵۰ درجه سلسیوس و در نهایت دمای آون به مدت ۱۰ دقیقه در همین دما نگه داشته می شود. دمای مکان تزریق ۲۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شد و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده گردید. گاز حامل به کاررفته گاز بی اثر هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ در صد بود. حجم نمونه تزریق شده به دستگاه برای تعیین کیفی هیدرولیزات های استخراج شده به مقدار ۱ میکرو لیتر بود و نوع تزریق به دستگاه در حالت اسپلیت لس (split less) بود (Kumar et al., 2013; Plaza et al., 2010). جهت انجام آنالیزهای آماری به ترتیب از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و EXCEL نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد. در ابتدا تمام داده از لحاظ نرمالیت و همگنی واریانس ها با آزمون های Shapiro-Wilk و آزمون لون موردبررسی قرار گرفتند که نتایج نشان داد تمام داده ها از توزیع نرمال پیروی می کنند و واریانس گروه ها همگن می باشد. سپس جهت مقایسه بین تیمارهای مختلف از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسه میانگین های دانکن استفاده شد. سطح معنی داری در تمام آزمون ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد (پیمانی و همکاران، ۱۳۹۳).

نتایج

میزان ترکیبات شیمیایی در نمونه های هیدرولیزات های استخراج شده که دارای بالاترین خواص آنتی اکسیدانی بودند در نتایج آورده شده است. در این مرحله ۶ تیمار از هیدرولیزات موردسنجش آنالیز GC-MS قرار گرفتند ولی فقط در ۴ نمونه ترکیبات شیمیایی مؤثر شناسایی شد. نتایج میزان ترکیبات شیمیایی و کرماتوگراف GC-MS در نمونه اتانولی (۳۰/۱۵) در جدول شماره ۲ آورده شده است. همان طور که نتایج نشان می دهد

۲۵ ترکیب در تیمار اتانولی ($\text{C}_{30}/15$) شناسایی شده است. بیشترین درصد در این ترکیبات مربوط به تترادکان با میزان ۵۳/۷ درصد و کمترین میزان به ترکیب Tetratriacontane با ۰/۴۷ درصد به‌دست آمده است.

جدول ۲: ترکیبات شناسایی شده در هیدرولیزات اتانولی دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*) استخراج شده در ۱۵ دقیقه و ۳۰ درجه سلسیوس.

شماره	ترکیب شیمیایی	درصد ترکیبات شناسایی شده	ضریب بازداری نسبی
۱	Tridecane	۳/۹۹	۱۲/۹۳۸
۲	2-methyltridecane	۰/۷۷	۱۴/۳۱۱
۳	Trimethyldodecane-۲۶،۱۰	۰/۶	۱۴/۵۹۷
۴	Tetradecane	۷/۵۳	۱۵/۱۱۲
۵	3-Methyltetradecane	۰/۶۳	۱۶/۵۷۷
۶	Nonacosane	۰/۵	۱۶/۹۴۳
۷	Tricosane	۱/۹۰	۱۷/۱۲۱
۸	Pentadecane	۶/۷۸	۱۷/۱۹۵
۹	2,4-di-tert-butylphenol	۲/۱۷	۱۷/۴۶۴
۱۰	Cetane	۶/۴۳	۱۹/۱۸۰
۱۱	Octadecane	۰/۷۵	۱۹/۸۶۱
۱۲	Trimethylpentadecane-۲۶،۱۰	۱/۰۵	۲۰/۱۰۲
۱۳	Triacontane	۰/۶۴	۲۰/۳۶۵
۱۴	Heptadecane	۳/۳۷	۲۱/۰۵۷
۱۵	Tetratriacontane	۰/۴۷	۲۴/۴۳۳
۱۶	9-Hexadecenoic acid	۴/۶۰	۲۵/۳۷۷
۱۷	Ethyl 9-hexadecenoate	۲/۲۶	۲۵/۷۶۶
۱۸	Ethyl tridecanoate	۰/۸۳	۲۶/۰۹۳
۱۹	Eicosane	۱/۳۳	۲۶/۱۷۳
۲۰	Heneicosane	۰/۵۲	۲۷/۷۲۳
۲۱	۹-Octylheptadecane-	۰/۹۱	۲۸/۳۱۸
۲۲	Octadecenoic acid-۹	۱/۱۶	۲۸/۷۷۰
۲۳	Ethyl Oleate	۲/۲۳	۲۸/۸۶۲
۲۴	Tritetracontane	۰/۷۴	۲۹/۲۰۵
۲۵	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	۲/۷۶	۳۴/۲۰۶
	مجموع	۵۴/۹۲	

نتایج میزان ترکیبات شیمیایی و کرماتوگراف GC-MS در نمونه آبی/اتانولی ($\text{C}_{30}/30$) در جدول شماره ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد ۴ ترکیب در تیمار آبی/ اتانولی شناسایی شد؛ که بیشترین ترکیب Cholest-5-en-3-ol (استرول) با ۲۶/۸۸ درصد و کمترین Tridecane با ۳۲/۱ درصد ثبت گردید.

مقایسه اثر نوع حلال بر میزان ترکیبات زیست فعال با خاصیت آنتی اکسیدانی استخراج شده به روش اولتراسوند از ریز جلبک ... / پولادوند و همکاران

جدول ۳: ترکیبات شناسایی شده در هیدرولیزات آبی / اتانولی دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*) (جدول

استخراج شده در ۳۰ دقیقه و ۳۰ درجه سلسیوس.

شماره	ترکیبات شیمیایی	درصد ترکیبات شناسایی شده	ضریب بازداري نسبی
۱	Tridecane	۱/۳۲	۱۲/۹۳۲
۲	Tetradecane	۲/۳۵	۱۵/۰۹۵
۳	Pentadecane	۱/۸۹	۱۷/۱۳۸
۴	Cholest-5-en-3-ol	۸۸/۲۶	۳۲/۸۲۱
	مجموع ترکیبات	۹۳/۸۲	

نتایج میزان ترکیبات شیمیایی و کرماتوگراف GC-MS در نمونه آبی/اتانولی ($\dot{C}^{30}/15$) در جدول شماره ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد، ۴ ترکیب در تیمار آبی/اتانولی ($\dot{C}^{30}/15$) شناسایی گردید. Bis (2-ethylhexyl) phthalate با ۵۱/۳۷ درصد بیشترین و Nonadecanoic acid, ethyl ester با ۴۰/۱ درصد کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند.

جدول ۴: ترکیبات شناسایی شده در هیدرولیزات آبی / اتانولی دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*) استخراج شده در

۱۵ دقیقه و ۳۰ درجه سلسیوس.

شماره	ترکیبات شیمیایی	درصد ترکیبات شناسایی شده	ضریب بازداري نسبی
۱	2,4-di-tert-butylphenol	۶/۰۰	۱۷/۴۵۸
۲	Cetane	۴/۱۵	۲۱/۲۵۷
۳	Nonadecanoic acid, ethyl ester	۱/۴۰	۲۶/۰۸۱
۴	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	۳۷/۵۱	۳۴/۰۰
	مجموع ترکیبات	۴۹/۰۶	

نتایج میزان ترکیبات شیمیایی و کرماتوگراف GC-MS در نمونه آبی ($\dot{C}^{10}/30$) در جدول شماره ۵ ارائه شده است. نتایج نشان داد، ۲ ترکیب در تیمار آبی ($\dot{C}^{10}/30$) شناسایی شد ترکیبات Tridecane با ۶۶/۱ درصد و Tetradecane با ۲/۳۱ درصد ثبت شدند.

جدول ۵: ترکیبات شناسایی شده در هیدرولیزات آبی دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*) استخراج شده در ۳۰ دقیقه

و ۱۰ درجه سلسیوس.

ردیف	ترکیب شیمیایی	درصد ترکیبات شناسایی شده	ضریب بازداري نسبی
۱	Tridecane	۱/۶۶	۱۲/۹۳۲
۲	Tetradecane	۲/۳۱	۱۵/۰۹۵
	Total	۳/۹۷	

بحث و نتیجه‌گیری

حداقل یکی از عوامل تأثیرگذار در بسیاری از اختلالات متابولیک فاکتورهای استرس اکسیداتیو هستند؛ بنابراین جلوگیری از تولید یا حذف عوامل استرس‌زا می‌تواند در جلوگیری یا بهبود بیماری‌های مرتبط مؤثر باشد. علی‌رغم وجود آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به‌تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجادشده در بدن نیست، به همین جهت نیاز به تأمین آنتی‌اکسیدانت‌هایی دارد که از طریق منابع غذایی تأمین شوند (شیشوان و همکاران، ۱۴۰۰)؛ بنابراین نیاز به آنتی‌اکسیدان‌های قوی با سمیت کمتر و اثربخشی بیشتر یک ضرورت اجتناب‌ناپذیر است (Barbayalla et al., 2015). تاکنون ۲۵۰ گونه از جلبک‌های دریایی در ناحیه جزر و مدی در سواحل خلیج فارس و دریای عمان از نظر مورفولوژیکی شناسایی شده‌اند (Arman et al., 2020). جلبک‌های موجود در منابع دریایی ایران یکی از بزرگ‌ترین ظرفیت‌های زیستی ارزشمندی‌اند، که برنامه‌ریزی اصولی و مدونی برای بهره‌برداری از این ذخایر دریایی وجود ندارد (طاهری و همکاران، ۱۳۹۷). دمای بالا و اشعه زیاد خورشید، در عرض‌های پایین جغرافیایی سبب می‌شود که این گیاهان در این مناطق برای مقابله با اشعه‌های ماورا بنفش و رادیکال‌های آزاد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بیشتری تولیدکننده زیرا اشعه UV موجب ارتقا دفاع آنتی‌اکسیدانی جلبک‌ها می‌شود (Havas et al., 2022). مطالعات کمی بر روی اثر بتاکاروتن در کاهش اثرات نامطلوب شوری در گیاهان وجود دارد اما نتایج نشان می‌دهد گیاهان تیمار شده با بتاکاروتن و اسید گالیک تحمل بیشتری به نمک دارند (Babaei et al., 2022; Farghali et al., 2021). نتایج شناسایی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از هیدرولیزات آبی، اتانولی و آبی/اتانولی از ریز جلبک دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*) در سه تیمار ($30^{\circ}\text{C}/15''$)، ($30^{\circ}\text{C}/30''$) و ($10^{\circ}\text{C}/15''$) شامل ۲۶ ترکیب شامل: Tridecane، 2-methyltridecane، ۲۶،۱۰-Trimethyldodecane، Tetradeceane، 3-Methyltetradeceane، Nonacosane، Tricosane، Pentadecane، 2,4-di-tert-butylphenol، Octadecane، cetane، ۲۶،۱۰-Ethyl 9-9-Hexadecenoic acid، Tetratriacontane، Heptadecane، Triaccontane، Trimethylpentadecane، hexadecenoate، Ethyl tridecanoate، Eicosane، Heneicosane، ۹-Octylheptadecane-۹، Octadecenoic acid، Cholest-5-en-3-ol و Bis (2-ethylhexyl) phthalate. بررسی دقیق ترکیبات استخراج‌شده از حلال‌های مختلف نشان می‌دهد، به ترتیب آلکان‌ها، استرول، اسید چرب غیراشباع زنجیره بلند، اسید چرب اشباع، اتیل استر، EDTA و فنل ترکیبات اصلی را شامل می‌شوند پالمیتوئیک اسید (MUFA: Mono Saturated Fatty Acid) و اولئیک اسید (UFA: Un Saturated Fatty Acid) و آسکوربیک اسید با ۴/۶۰ درصد و ۱/۱۶ درصد و ۶/۴۳ درصد از عصاره اتانولی به دست آمدند. مطالعات نشان می‌دهد که فعالیت ضد باکتریایی ریز جلبک‌ها به حضور اسیدهای چرب، گلیکولیپیدها، فنولیک‌ها، ترپن‌ها، آلکالوئیدهای ایندول وابسته است، بااین‌حال بیشتر فعالیت‌های ضد باکتریایی معمولاً به اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند نسبت داده می‌شود (El.Bahar et al., 2020). عصاره‌های استخراج‌شده از دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*) در حلال‌های هگزان و پترلیوم اتر در دمای ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، حداقل غلظت کشندگی باکتری (Bacteriacide Concentration Minimum) ($\text{MBC}=6$) را بر روی باکتری *Escheriachai coli* ثبت نمود، عصاره اتانولی در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، حداقل غلظت کشندگی باکتری ($\text{MBC}=1$) و کمترین تأثیر ضد باکتریایی در عصاره آبی استخراج‌شده ثبت گردید (Herreo et al., 2006) که با نتایج اسیدهای چرب استخراج‌شده در عصاره اتانولی این تحقیق همخوانی دارد. با نگاهی به فعالیت‌های ضد باکتریایی اسیدهای چرب غیراشباع و اشباع مشخص شد که Y لینولنیک اسید، بالاترین فعالیت را در برابر استافیلوکوکوس اورئوس (۱۰ میکروگرم در هر دیسک) از خود نشان داده است، آلدئیدهای اسیدهای چرب غیراشباع گونه‌های ریز جلبک: *Coeiastrum sp*، *Scenedesmus sp*، *Quadricauda sp*، *Selenastrum sp* به‌دست‌آمده از یک تصفیه‌خانه فاضلاب، باکتری گرم منفی *Serratia marcescens* را در روش انتشار دیسک مهار کردند (Corona et al., 2017).

در یک مطالعه خاص که استخراج آلدئیدهای اسید چرب غیراشباع را هدف قرارداد، محصولی که از تخریب اسیدهای چرب غیراشباع آزاد پس از به خطر افتادگی یکپارچگی سلولی به دست آمد، نشان داد که نه تنها دارای فعالیت ضد باکتریایی هستند، بلکه تکثیر سلول‌های سرطانی و رشد قارچ‌ها را کاهش می‌دهند (Riblet *et al.*, 2007). در اکثر مطالعات انجام‌شده عصاره‌های به‌دست‌آمده از جلبک‌های قرمز خواص ضد باکتریایی بیشتری نسبت به سایر جلبک‌ها (قهوه‌ای و سبز) دارند، وجود ترکیبات هالوژن دار متعدد؛ فنول‌ها، سسکوترپنوئیدها، اترها و آلکین‌ها در گونه‌های جلبکی متعلق به جنس *Laureneia* اثرات ضد میکروبی تعدادی از این ترکیبات را به اثبات رسانده است. ۲ ترکیب سمی بیس (۲ اتیل هگزیل) فتالات (BEHP) به میزان ۲/۷۶ درصد و با ۷/۵۳ درصد در عصاره اتانولی تترادکان نیز شناسایی شد. بیشترین میزان (۲ اتیل هگزیل) فتالات از هیدرولیزات آبی/اتانولی (۳۰/۱۵) با ۳۷/۱۵ درصد از کل ترکیبات استخراج‌شده به دست آمد. همچنین مطالعات بر روی جلبک قهوه‌ای نشان داد که فوکوگزانتین یک داروی مغذی ضد دیابت در اکثر عصاره‌های جلبکی است که همواره شناسایی‌شده است، مطالعه بر روی ۶ گونه جلبک قهوه‌ای در مناطق ساحلی خلیج فارس نشان داد که پتانسیل مهاری آن‌ها در برابر آلفا گلوکوزیداز و آلفا آمیلاز، آن‌ها را به‌عنوان کاندید مناسب برای تولید داروی دیابت توصیه می‌کند (Moheimanian *et al.*, 2021). مطالعات متعددی روی این ترکیب BEHP تغییراتی را روی عملکرد و رشد جنین در موش نشان داده است. قرار گرفتن در معرض BEHP در طول بارداری باعث اختلال در رشد و نمو جفت در موش‌ها می‌شود. در یک مطالعه جداگانه قرار گرفتن موش‌های نوزاد در معرض BEHP از طریق شیردهی باعث هیپرتروپی غدد فوق کلیوی و سطوح بالاتری از اضطراب در دوران بلوغ شد. همچنین در مطالعه دیگر، تجویز BEHP با دوز بالاتر بلوغ را در موش‌ها به تأخیر انداخت و تولید تستوسترون را کاهش داد و رشد وابسته به آندروژن را مهار کرد. دوزهای پایین هیچ اثری را نشان ندادند. BEHP همچنین یک عامل سرطان‌زای احتمالی در انسان است، اگرچه مطالعات انسانی به دلیل قرار گرفتن ر معرض عناصر متعدد و تحقیقات محدود بی‌نتیجه است، اما مطالعات آزمایشگاهی نشان می‌دهد که BEHP در بسیاری از رویکردهای مولکولی از جمله افزایش تکثیر سلولی، کاهش آپوپتوز، آسیب اکسیداتیو اتفاق می‌افتد. تترادکان هم یک سمیت سیستماتیک ندارد، اما اجزای آلیفاتیک در پوست ممکن است باعث تحریک پوست می‌شود (Lin *et al.*, 2013; Rusyn *et al.*, 2012; Zong *et al.*, 2015). ترکیب شناخته‌شده به نام اتیل اولئات (Ethyl Oleate) که تیمورسا (Thiomersa) نامیده می‌شود از عصاره اتانولی با ۲/۲۳ درصد استخراج شد، این ترکیب یک عامل ضد عفونی‌کننده و ضد قارچی مؤثر است. Atasever-Arslan و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ در استخراج متانولی میکروجلبک دانلیلا سالینا (*Dunaliella salina*) و آنالیز GC-MS آن‌ها ۵۰ ترکیب را شناسایی کردند که در بین آن‌ها ترکیبات اکتادکانوئیک اسید، هگزادکانوئیک اسید، متیل پالمیتات، ۹-۱۲-۱۵-اکتادکانوئیک اسید، اتیل استر دارای بیشترین مقدار بودند در بین ترکیبات شناسایی‌شده در استخراج متانولی آن‌ها از این جلبک ترکیبات مشابه شامل ۹-هگزادکانوئیک اسید، هگزادکانوئیک اسید، تترادکان، نوناکوزان با مطالعه حاضر همخوانی دارد (Atasever Arslan *et al.*, 2015). اکتادکانوئیک اسید که به‌عنوان یکی از ترکیبات مهم موجود در عصاره جلبک‌ها شناخته‌شده است، یک اسید چرب اشباع‌شده با ۱۸ زنجیره کربن است و همچنین به اسید استتاریک معروف است. از طرف دیگر، هاگن و همکاران دریافتند که اسید استتاریک دارای اثرات ضد سرطانی بر روی سلول‌های سرطانی پروستات است (Hagen *et al.*, 2013). بیش از ۲۰۰ گونه ریز جلبک تاکنون مورد ارزیابی قرار گرفته شامل: جنس‌های مورد مطالعه بیشتر *Chlorella* (۲۹ سوبه)، *Tetraselmis* و *Scendesmus* (۱۴ سوبه) ولی چندین مطالعه در مورد پتانسیل ریز جلبک به‌عنوان منبع آنتی‌اکسیدان برجسته است. Widowati و همکاران در ۲۰۱۷ بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی سه گونه *Dunaliella salina* و *Tetraselmis chuii* و *Isochrysis galbanaas* به‌عنوان یک منبع جدید آنتی‌اکسیدان مطالعه‌ای را انجام دادند.

نتایج نشان داد که غلظت ۲۵۰ قسمت در میلیون بهترین خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل-هیدرازیل توسط گونه *Isochrysis galbanaas* و غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون به ترتیب *Dunaliella salina* و *Tetraselmis chuii* ثبت گردید (Widowati *et al.*, 2017; Such *et al.*, 2017). تحقیق بر روی عصاره‌های اتانولی دو گونه *Chloromonas sp* و

Botrydiopsidacea sp نشان داد که دارای توانایی قوی برای خنثی کردن رادیکال‌های آزاد (DPPH) را با ۰/۹۷ میکروگرم در میلی‌لیتر دارند (Such et al., 2017; Gurlek et al., 2020; Such et al., 2017). بیشترین میزان استرول استخراج‌شده (3-cholest-5-en) ol از هیدرولیزات آبی/اتانولی (۳۰/۳۰٪) با ۲۶/۸۸ درصد از کل ترکیبات زیست فعال استخراج‌شده به دست آمد. استرول برای تولید ترکیبات زیستی مانند هورمون‌های استروئیدی، اسیدهای صفراوی و ویتامین D کمک‌کننده می‌باشد. جلبک‌های قهوه‌ای به علت دارا بودن ترکیبات پلی ساکاریدی متنوع مانند فوکوئیدان، لامینارین و آلژینیک اسید دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه هستند، فوکوئیدان‌ها در درمان‌های ضد چروک، جلوگیری از پیری پوست، فعالیت آنتی‌اکسیدانی شدید و اثر محافظتی بر استرس اکسیداتیو ناشی از اشعه ماوراء بنفش بر سلول فیبروبلاست پوستی انسان، فعالیت ضد باکتریایی، بهبود دیابت، تقویت سیستم ایمنی نقش بسزایی دارند. نتایج مطالعه طاهری و همکاران بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک دریایی *Cystoseria trinodis* نشان داد که عصاره اتیل استات دارای بهترین قدرت مهارکنندگی است اما سایر عصاره‌های استخراج‌شده نیز دارای توان آنتی‌اکسیدانی با درجه‌های متفاوت می‌باشد که می‌توان از این ترکیبات به‌عنوان یک ابزار درمانی مؤثر استفاده کرد (طاهری و همکاران، ۱۳۹۷). عصاره فوکان مقدار قابل‌توجهی گروه‌های سولفات و استیل دارد. این پلی ساکارید سولفات‌دار دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار خوبی است. Sellimi و همکاران در سال ۲۰۱۴ ترکیبات جلبک قهوه‌ای *Cystoseria barbata* را شناسایی کردند و موفق به استخراج فوکان از این جلبک شدند. عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *Clopomenia sinuosa* دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی نوع II می‌باشد (طاهری و همکاران، ۱۳۹۷). امروزه تمرکز بر روی غذاها و میان وعده‌های غنی از مواد مغذی همراه با ویژگی‌های عملکردی خاص، باهدف دریافت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، فیبرهای رژیمی، رنگ‌های طبیعی، مواد معدنی، ویتامین‌ها بسیار موردتوجه می‌باشد (بهره‌مندی و همکاران، ۱۳۹۹) اثر افزودن جلبک دانلیلا سالیئا، به بستنی و ماکارونی ضمن بهبود ویژگی‌های کیفی محصول، خصوصیات حسی آن را بهبود بخشید و قابلیت پذیرش را افزایش داد (سلیم پور و همکاران، ۱۳۹۸؛ مصدق و همکاران، ۱۳۹۸). همچنین در مطالعه‌ای دیگر پودر جلبک سبز *Ulva intestinalis* برای غنی‌سازی و بهبود خواص ضد اکسیدانی و پتانسیل دارویی پاستا مورد استفاده قرار گرفت، نتایج نشان داد پاستای دارای ۱۵ درصد جلبک حاوی بالاترین میزان فنول، فعالیت ضد اکسیدانی و خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد است (پور قاسم و همکاران، ۱۳۹۶). رابطه معکوس بین مصرف روزانه رژیم غذایی غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها و بروز بیماری‌های انسانی مانند سرطان و بیماری‌های عروق کرونر به حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدان حاصل از عصاره‌های تهیه‌شده از جلبک‌ها وابسته می‌باشد (طلا و همکاران، ۱۳۹۹). مصرف ۸ هفته مکمل دانلیلا سالیئا به رژیم غذایی موش‌ها باعث کاهش معنی‌دار فاکتورهای چربی خون شد همچنین افزودن آن به مواد غذایی ممکن است به کاهش خطر آترواسکلروز کمک کند (Hysrlova et al., 2022). در حال حاضر هزینه‌های بالای تولید، عدم وجود شرایط بهینه کشت، از مشکلات اصلی برای تجاری‌سازی تولید آنزیم آنتی‌اکسیدانی از دانلیلا می‌باشد (Roy et al., 2021).

نتایج نشان داد که هیدرولیزات اتانولی در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه بیشترین تنوع را در استخراج ترکیبات زیست فعال یا ۲۵ ترکیب ثبت نمود، آلکان‌ها، فنل، با خواص آنتی‌اکسیدانی و پالمیتولئیک اسید، اولئیک اسید و اتیل اولئات با خواص آنتی باکتریایی از مهم‌ترین ترکیباتی هستند که شناسایی شدند. بالاترین میزان استرول با ۸۸/۲۶ درصد از هیدرولیزات آبی/ اتانولی در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه به دست آمد، بدن انسان به ترکیبات زیستی استروئیدی نیازمند است. ترکیب سمی بیس (۲ اتیل هگزیل) فتالات (BEHP) در هیدرولیزات آبی/ اتانولی در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه بیشترین میزان استخراج با ۳۷/۵۱ درصد را کسب نمود. بنابراین انتخاب حلال مناسب همراه با درجه حرارت و زمان تعیین‌شده می‌تواند، بهترین ترکیبات زیست فعال موردنیاز را به مصرف‌کننده بدهد. مطالعات در مورد خواص آنتی‌اکسیدانی ریز جلبک‌ها و ماکرو جلبک‌ها در حال افزایش است، اما توجه به ترکیبات زیست فعال موجود در این عصاره‌ها، به دلیل ترکیبات سمی با غلظت کم، یکی از چالش‌های موجود در استفاده گسترده از این ترکیبات در صنایع غذایی و صنایع دارویی می‌باشد. شناسایی ترکیبات

مقایسه اثر نوع حلال بر میزان ترکیبات زیست فعال با خاصیت آنتی اکسیدانی استخراج شده به روش اولتراسوند از ریز جلبک ... / پولادوند و همکاران

زیست فعال جلبک های سواحل خلیج فارس و دریای عمان به عنوان منابع بالقوه در توسعه صنایع تبدیلی به ترکیبات و محصولات فراسودمند غذایی و دارویی نوین پیشنهاد می شود.

منابع

- بهره‌مندی، س.، اشجع اردلان، آ.، امتیاز جو، م. و رفیعی، ف.، ۱۳۹۹. استخراج فوکوزانتین از جلبک قهوه‌ای *Colpomenia sinuosa* و بررسی اثر آنتی اکسیدانی آن. نشریه علمی زیست‌شناسی دریا، ۱۲ (۴۷): صفحات ۲۲-۱۵.
- پور قاسم، ه.، باباخانی، آ. و رستم زاد، ه.، ۱۳۹۶. تأثیر استفاده از جلبک سبز *Ulva intestinalis* بر ویژگی‌های ضد اکسیدانی پاستا. شلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۰ (۳): صفحات ۳۱۸-۳۰۹.
- پیمانی، ج.، قرایی، ا.، غفاری، م. و طاهری، ع.، ۱۳۹۳. بررسی اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی جلبک دریایی (*Gracilaria arcuata*) از سواحل چابهار. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم. ۸ (۱): صفحات ۷۵-۶۹.
- سلیم پوراردی، م.، خوشخو، ژ. و امتیاز جو، م.، ۱۳۹۸. بررسی امکان تولید بستنی فراسودمند حاوی پودر جلبک دونالیلا سالیئا. مجله علوم و صنایع غذایی، ۱۶ (۹۰): صفحات ۲۸۲-۲۷۱.
- شیشوان، م.، افقی، ح. و میردامادی، س.، ۱۴۰۰. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و مهار آنزیم مبدل آنزیم‌ها پروتئین‌های هیدرولیز شده جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس با آنزیم‌های گوارشی. نشریه علمی زیست‌شناسی دریا دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، ۱۳ (۹۱): صفحات ۱۰۶-۹۱.
- طاهری، ع.، غفاری، م.، باقرپور، ن. و عطاران فریمان، گ.، ۱۳۹۶. بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره‌های جلبک دریایی *Cystoseria trinodis* از سواحل چابهار. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۲۵ (۸): صفحات ۶۶۹-۶۵۸. URL: <http://jssu.ssu.ac.ir/article-1-4051-en.html>
- طلا، م.، تمدنی چهارمی، س. و آزاد، م.، ۱۳۹۹. تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی ماکرو جلبک قرمز به وسیله عصاره غیر قطبی (ان-هگزانی) در سواحل بندرلنگه و جزیره قشم. نشریه علمی زیست‌شناسی دریا، ۱۲ (۴۶): صفحات ۲۴-۱۵.
- طاهری، ع. و مرادی، س.، ۱۳۹۷. بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره آلی جلبک دریایی *Colpomenia sinuosa*. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ۲۸ (۱۶۰): صفحات ۱۵۵-۱۵۲.
- غلامیان، ف. و سرطاوی، ک.، ۱۳۹۹. فلور ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای در سواحل شهرستان‌های استان بوشهر. نشریه علمی زیست‌شناسی دریا، ۱۳ (۴۰): صفحات ۶۷-۵۳.
- محمدی، ع.، شعبان پور، ب. و کردجری، م.، ۱۳۹۷. اثر جلبک قهوه‌ای سواحل قشم بر عوامل بیماری‌زای انسان و تعیین خواص ضد اکسیدانی آن. مجله علمی-پژوهشی زیست‌شناسی دریا، ۱۰ (۴۰): صفحات ۸۲-۷۵.
- مصدق، ی.، توکلی، م.، کمالی روستا، ل.، خوشخو، ژ. و سلطانی، م.، ۱۳۹۸. ماکارونی غنی‌شده با فیبر سیب‌زمینی و پودر جلبک دانلیلا سالیئا و ارزیابی خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و حسی آن. مجله علوم و صنایع غذایی، ۱۶ (۹۰): صفحات ۹۹-۸۷.

Arman, M., Pirian, K., Khosh-Eghbal, F. and Ali-Naghizadeh, M., 2020. Evaluation of the content and bioactivity of four macroalgae from the Persian Gulf. Journal of Kashan Uni of Med Scince, 24(5): 525-535.

Atasever-Arslan, B., Yilancioglu, K., Bekaroglu, M. G., Taskin, E., Altinoz, E. and Cetiner, S., 2015. Cytotoxic effect of extract from Dunaliella salina against SH-SY5Y neuroblastoma cells. Gen Physiol Biophys. Apr 1, 34(2): 201-7.

Assuncao, M. F. G., Amaral, R., Martins, C. B., Ferreira, J. D., Ressurreicao, S., Santos, S. D., Varejao, J. M. T. B. and Santos, L. M. A., 2016. Screening microalgae as potential sources of antioxidant. Journal of Applied Phycology, 2016; 29: 865-877.

Aussant, J., Chiheneuf, F. and Stengel, D., 2018. Impact of temperature on fatty acid composition and nutritional value in eight species of microalgae. Applied Microbial and Cell Physiology, 1-19. DOI: 10.1007/s00253-018-9001-x

- Borowitzka, M. A., 1990.** Technical resource papers regional workshop on the culture and utilization of seaweed Volume II: <https://www.fao.org/3/ab728e/AB728E06.htm>, Mass culture of *Dunalella salina*. Algal Biotechnology Laboratory School of Biological and Environmental Sciences, Australia. Murdoch University Murdoch, W. A G 150, Australia. <https://www.fao.org/3/ab728e/AB728E06.htm#ch6>
- Browitzka, M. A., 2010.** 11-Cartenoid production using micro organism, Singel Cell Oils (Second edition), 225-240. <https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-73-8.50015-3>
- Barbagallo, M., Marotta, F. and Dominguez, L. J., 2015.** Oxidative stress in patients with Alzheimer's disease: effect of extracts of fermented papaya powder. Mediators of Inflammation, DOI: 10.1155/2015/624801
- Barika, I. and Saari, N., 2019.** Manning, S.R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. Marine Drugs, 17(304): 1-14. <https://doi.org/10.3390%2Fmd17050304>
- Babaei, M., Shabani, L. and Hashemi-Shahraki, S., 2022.** Improving the effects of salt stress by β -carotene and garlic acid using increasing antioxidant activity and regulating Ion uptake in *Lepidium sativum* L. Botanical Studies, 2022, 63: 22.
- Cakmak, Y. S., Kaya, M. and Asam, Ozusaglam, M., 2014.** Biochemical composition and bioactivity screening of various extracts from *Dunaliella salina*, as a green microalgae. Excli Journal, 13(3): 679-90. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc4464408/>
- Chen, B., Wan, C., Mehmood, M. A., Chang, J. S., Bai, F. and Zhao, X., 2017.** Manipulating environmental stresses and stress tolerance of microalgae for enhanced production of lipids and value-added products-A Review. Bioresource Technology, 244: 1198-1206.
- Corona, E., Fernandez-Acero, J., Bartual, A., 2017.** Screening study of antibacterial activity from marine and fresh water microalgae. International Journal Pharma. and Bio Science, 8(1): 189-194. DOI:10.22376/ijpbs.2017.8.1p189-194
- Carocho, M., Morales, P. and Ferreira, I. C. F. R., 2018.** Antioxidants, Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. Trends in Food Science and Technology, 71: 107-120.
- Coulombier, N., Jauffrais, T. and Lebouvier, N., 2020.** Antioxidant compounds from microalgae A review. Marine Drugs, 19: 459. <https://doi.org/10.3390/md19100549>
- Coulombier, N., Blanchier, P., Le Dean, L., Barthelemy, V., Lebouvier, N. and Jauffrais, T., 2021.** The effects of CO₂-induced acidification on Tetraselmis biomass production, photophysiology and antioxidant activity. A comparison using batch and continuous culture. Journal of Biotechnology, 325: 312-324. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.10.005> <https://archimer.ifremer.fr/doc/00653/76555/>
- Dey, S. and Rathod, V. K., 2013.** Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis*. Ultrasonics Sonochemistry, 20(1): 271-276.
- Dolganyuk, V., Belova, D., Babich, O., Prosekov, A., Ivanova, S., Katserov, D., Patyukov, N. and Sunkhikh, S., 2020.** Microalgae: A promising source of valuable. Biomolecules, 10:1153. <https://doi.org/10.3390/biom10081153>
- El-Bahar, S., Shousha, S., Shehab, A., Khattab, W., Ahmed-Farid, O., Sabike, I., El-Garhy, O., Albokhadaim, I. and Albosadah, K., 2020.** Effect of dietary microalgae on growth performance, profiles of amino acid and fatty acids, antioxidant status and meat quality of broiler chickens. Animals, 10: 761
- Farghali, F. A., Salam, H. M., Hamada, A. M. and Radi, A. A., 2021.** The role of benzoic acid; gallic acid and salicylic acid in protecting tomato callus cells from excessive boron stress. Scientia Horticulture, 2021. 278: 109867.
- Gauthier, M., Senhorinho, G. N. A. and Scott, J. A., 2020.** Microalgae under environmental stress as a source of antioxidants. Algal Research, 52: 102104.
- Gurlek, C., Yarkent, C., Kose, A., Tugcu, B., Gebeloglu, I. K., Oncel, S. S. and Elibol, M., 2020.** Screening of antioxidant and cytotoxic activities of several microalgae extracts with pharmaceutical potential. Health Technology, 10, 111-117. <https://doi.org/10.3390%2Fmd19100549>

- Herrero, M. M., Jaime, L., Martin-Alvarez, P. J., Cifuentes, A. I. and Banez, Es. 2006.** Optimization of the extraction of antioxidants from *Dunaliella salina* microalga by pressurized liquid. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 5597-5603. <https://doi.org/10.1021/jf060546q>
- Hoseini Tafreshi, A. and Shariati, M., 2009.** *Dunaliella* biotechnology: methods and applications. Journal of Applied Microbiology, 107: 14-35. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04153.x>
- Handayani, N. A., Dessy, A. and Hadiyanto, H., 2011.** Potential production of polyunsaturated fatty acids from microalgae. Internationational Journal of Science and Engineering, 2(1):13-16.
- Hagen, R. M., Rhodes, A. and Ladomery M. R., 2013.** Conjugated linoleate reduces prostate cancer viability whereas the effects of oleate and stearate are cell line-dependent. Anticancer Research, 33: 4395-4400.
- Havas, F., Krispin, S., Cohen, M., Loing, E., Farge, M., Suere, T. and Attia Vigneuv, J., 2022.** A *Dunaliella salina* extract counteract skin aging under intense solar irradiation thanks to its antiglycation and anti-inflammatory properties. Marine Drugs, 10: 104. <https://doi.org/10.3390/md20020104>
- Hyrsova, I., Krausova, G., Mrvikova, I., Stankova, B., Branyik, T., Malinska, H., Huttl, M., Kana, A. and Dorskocil, I., 2022.** Fuctional properties of *Dunaliella salina* and its positive effect of probiotics. Marine Drugs, 2022, 20: 781.
- Kumar, P., Senthamilselvi, S. and Govindaraju, M., 2013.** GC-MS profiling and antibacterial activity of *Sargassum tenerrimum*. Journal of Pharmacy Research, 6: 88-92.
- Kilic, N., Erdem, K. and Donmez, G., 2018.** Bioactive compound produced by *Dunaliella* species, antimicrobial effects and optimization of the efficiency. Turkish of Journal Fisheries and Aquatic Science, 19: 923-933. http://doi.org/10.4194/1303-2712-v19_11_04
- Kakhaneh Yousefi, M., Seyed Hashtroudi, M., Mashinchian Moradi, A. and Ghssempour, A. R., 2020.** Seasonal variation of fucoxanthin content in four species of brown seaweeds from Qeshm Island Persian Gulf and evaluation of their antibacterial and antioxidant activities. Iranian Journal of Fisheries Sciences: 19(5): 2394-2408.
- Lin, M. L., Wang, D. Ch. and Chen, Sh. Ch., 2013.** Lactational exposure to DEHP induced adrenocortical hypertrophy and anxiety-like behavior in rats. The FASEB Journal, 27(1Supplement): 936.15.
- Lourenco, S. C., Moldao-Martins, M. and Alves, V. D., 2019.** Antioxidants of natural plant origins: from sources of food industry applications. Molecules, 24:4132.
- Monta, J., Ribeiro, C., Parreira, C., Coastal, L., Brive, L. and Carla, S. C., 2020.** Biorefinery of *Dunaliella salina* sustainable recovery of cartenkoides polar lipids and glycerol. Bio Resource Technology, 297: 112509. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.112509>
- Moheimanian, N., Mirkhani, H., Sohrabipour, J. and Jassbi, A. R., 2021.** Inhibitory potential of six Brown Algae from the Persian Gulf on a Glucosidase and in vivo anti diabetic effects *Sirophysalis trinodis*. Iranian Journal of Medical Sciences, 2021. 91258-2245.
- Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, L., Reina, G. G., Herrero, M., Señoráns, F. J., Ibáñez, E., 2010.** Screening for bioactive compounds from algae. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Jan 20, 51(2): 450-5.
- Riblet, F., Intertaglia, L., Lebaron, P. and Casotti, R., 2007.** Differential effect of three polyunsaturated aldehydes on marine bacterial isolates. Aquatic Toxicology, 86:249-255. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.11.005>
- Rusyn, I. and Corton, J., 2012.** Mechanistic consideration for human relevance of cancer hazard of di(2-ethylhexyl) phthalate. Mutation Research, 750(2): 141-58.
- Rashed, S. and El-Chaghaby, G. A., 2020.** Marine Algae in Egypt: distribution phytochemical composition and biological uses and bioactive resources (a review). Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, 24(5): 147-160.
- Roy, U. K., Nieson, B. V. and Milledge, J. J., 2021.** Antioxidant production in *Dunaliella*. Applied Sciences, 2021(11): 39-59

- Safafar, H., Van Wagenen, J., Moller, P. and Jacobsen, C., 2015.** Carotenoids, phenolic compounds and tocopherols contribute to the antioxidant properties of some microalgae species grown on industrial wastewater. *Marine Drugs*, 13: 7339-7356.
- Such, S. S., Yang, E. J., Lee, S. G., Youn, U. J., Han, S. J., Kim, I. C., and Kim, S., 2017.** Bioactivities of ethanol extract from the Antarctic freshwater microalgae, *Chloromonas* sp. *International Journal of Medical Science*, 14: 560-569.
- Such, S. S., Kim, S. M., Kim, J. E., Hong, J. M., Lee, S. G., Youn, U. J., Han, S. J., Kim, I. C. and Kim, S., 2017.** Anticancer activities of ethanol extract from the ataractic freshwater microalgae, *Botrydiopsisidaceae* sp. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17: 509.
- Suh, S. S., Yang, E. J., Lee, S. G., Youn, U. J., Han, S. J. and Kim, S., 2017.** Bioactivities of Ethanol extract from the Antarctic freshwater microalgae, *Chloromonas* sp. *International Journal of Medical Science*, 14: 560-569. doi:10.7150/ijms.18702 <https://www.medsci.org/v14p0560.htm>
- Sellimi, S., Kadri, N., Barragan-Montero, V., Laouer, H. and Hajji, M., 2014.** Fucans from a Tunisian brown seaweed *Cystoserira barbata*: structural characteristics and antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 66: 281-88.
- Widowati, I., Zainuri, M., Kusumaningrum, H. P., Susilowati, R., Hardivillier, Y., Leignel, V., Bourgougnon, N. and Mouget, J. L., 2017.** Antioxidant activity of three microalgae *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* and *Isochrysis galbana* clone Tahiti. *IOP Conf. Ser. Earth and Environmental Science*, 55: 012067. https://ui.adsabs.harvard.edu/link_gateway/2017E&ES...55a2067W/doi:10.1088/1755-1315/55/1/012067
- Zong, T., Lai, L., Hu, J., Guo, M., Li, M., Zhang, L., Zhong, Ch., Yang, B., Wu, L., Zhang, D., Tang, M. and Kuang, H., 2015.** Maternal exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate disrupts placental growth and development in pregnant mice. *Journal of Hazardous Materials*, 297: 25-33.