



پروفايل اسيدهاى چرب و خواص ضد اكسيدان عصاره‌هاى آلى ريز جلبك *Dunaliella salina*

عابده حداد شستانى، على طاهرى*

گروه شيلات، دانشكده علوم دريائى، دانشگاه دريانوردی و علوم دريائى چابهار، چابهار، ايران

چکیده

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۷/۰۲/۱۹

اصلاح: ۹۷/۰۸/۲۷

پذیرش: ۹۷/۱۱/۰۵

کلمات کلیدی:

اسید چرب

آنتی‌اکسیدان

دونالیلا سالینا

ریز جلبک

در مطالعه حاضر، حذف رادیکال آزاد DPPH، کلاته کردن یون آهن، قدرت کاهندگی، محتوای کل فنول، رنگ‌دانه و پروفیل اسیده‌های چرب ریزجلبک *دونالیلا سالینا* مورد بررسی قرار گرفت. حلال‌های متانول، هگزان و کلروفرم در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۱ و ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. نتایج به دست آمده نشان داد که متانول بیشترین اثر را بر فعالیت حذف رادیکال آزاد داشت و کم‌ترین مقدار نیز در تیمار ۰/۱ هگزان دیده شد ($p < 0.05$). بیشترین فنول کل در غلظت یک میکروگرم متانول و کم‌ترین مقدار در تیمار ۰/۱ هگزان و بیشترین میزان قدرت کاهندگی در متانول و کلروفرم در غلظت یک میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمترین میزان در غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر هگزان مشاهده شد ($p < 0.05$). بالاترین میزان کلاته کردن نیز در غلظت یک میکروگرم بر میلی‌لیتر محلول هگزان و کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار ۰/۱ متانول بود ($p < 0.05$). کاروتنوئیدها بیشترین مقدار و کلروفیل b دارای کمترین مقدار بودند. بیشترین میزان اسیده‌های چرب اشباع پالمیتیک اسید، اسیده‌های چرب تک غیراشباع پالمیتولئیک اسید و اسیده‌های چرب چند غیراشباع آلفالینولئیک اسید بودند. نتایج به دست آمده از این تحقیق ثابت کرد فاکتور غلظت اثر معنی‌داری بر خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک *دونالیلا سالینا* دارد و محلول متانول بهترین راندمان جهت استخراج عصاره آلی میکروجلبک *دونالیلا سالینا* را دارا می‌باشد.

مقدمه

ریزجلبک‌ها، میکروارگانیزم‌های فتوسنتزکننده‌ای هستند که به هنگام مواجه شدن با شرایط اکسیژن زیاد و استرس‌های محیطی سیستم‌های محافظتی کارآمدی در برابر انواع واکنش‌های اکسایشی و رادیکال‌های آزاد در خود ایجاد می‌کنند (Hemalatha et al., 2013). ریزجلبک‌ها منبعی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند و به همین دلیل از اهمیت بیشتری نسبت به گیاهان خشکیزی برخوردارند (Hemalatha et al., 2013). یکی از دلایل اهمیت عصاره‌ها و روغن‌های ضروری، کمک به گیاهان و جلبک‌ها برای حفاظت از خود در برابر استرس‌های محیطی است (Errafiy et al., 2013). ریزجلبک‌ها پتانسیل فراوانی جهت استفاده در زیست‌فناوری، میدل‌های شیمیایی و تولید سوخت‌های زیستی دارند (Yazdi et al., 2012; Ghasemi et al., 2005). گونه *Dunaliella salina* نیز ریزجلبکی سبز و فتوسنتزکننده است (Borowitzka, 2013). در میان انواع گونه میکروارگانیزم‌ها *D. Salina* دارای بیشترین پتانسیل تولید بتاکاروتن است که تا میزان ۱۳/۸٪

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: taherientor@gmail.com

وزن خشک کل سلول‌های خود بتاکاروتن را ذخیره می‌کند. امروزه بازارهای جهانی درخواست زیادی جهت استفاده و بهره‌برداری از رنگ‌دانه‌های طبیعی به‌ویژه کاروتنوئیدها دارند، زیرا به‌عنوان عوامل رنگی و دارویی، در صنایع غذایی و بهداشتی کاربرد دارند (Zarei et al., 2016). ترکیبات فنولی یکی از گروه‌های فیتوشیمیایی هستند که طیف‌های مختلفی از فعالیت‌های زیستی مانند خواص آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب و عملکردهای ضد میکروبی را انجام می‌دهند (Zarei et al., 2016). ترکیبات فنولی قادرند روند برخی سرطان‌ها را کند کرده و خطر بیماری‌های قلب و عروق را کاهش دهند و در درمان بیماری‌هایی مثل اعصاب و دیابت اثر مثبت دارند (Kim et al., 2009). مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که ترکیبات فنولی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان هستند که مصرف آن‌ها همراه با کاهش ریسک خطر ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها از جمله اختلالات قلبی و عروقی، تصلب شرایین، فشارخون بالا، بسیاری از انواع سرطان، پیری و بیماری‌های عصبی مانند آلزایمر و پارکینسون است (Nakashima et al., 2009; Wu et al., 2005). به سبب این خصوصیات ترکیبات فنولی برای سلامتی انسان امروزه بسیار مورد توجه می‌باشند (Martinz et al., 2011) و علاقه زیادی به کاربرد ترکیبات فنولی حاصل از گیاهان و ریزجلبک‌ها در صنایع دارویی به وجود آمده است (Zarei et al., 2016). گزارش‌های فراوانی در مورد خواص آنتی‌اکسیدان ریزجلبک‌های *Botryococcus* (Rao et al., 2006)، *Chlorella* (Wu et al., 2005)، *Dunaliella* (Herrero et al., 2006)، *Nostoc* (Li et al., 2007)، *Phaeodactylum* (Guzman et al., 2001) و غیره وجود دارد. لیپیدها یکی دیگر از ساختارهای مهم موجود در جلبک‌ها هستند که ترکیب اسیدهای چرب آن‌ها تا حد زیادی به عوامل ژنتیکی و محیطی بستگی دارد (Nuzzo et al., 2013). ریزجلبک‌ها ترکیبی از اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع ۱۲ الی ۲۲ کربنه تولید می‌کنند که برخی از آن‌ها از خانواده چربی‌های امگا ۳ و امگا ۶ می‌باشند (Mata et al., 2010). ترکیب اسیدهای چرب ریزجلبک‌ها تأثیر بسیاری بر کیفیت زیست‌فناوری آن‌ها دارد و تا حد زیادی به نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیراشباع بستگی دارد که ریزجلبک *Dunaliella salina* هم از این قاعده مستثنی نیست (Mata et al., 2010; Radakovits et al., 2010; Nascimento et al., 2013). یکی دیگر از فعالیت‌هایی که ریزجلبک *D. Salina* با آن مواجه است، فعالیت اکسیداسیون چربی می‌باشد. هیدرولیز و اکسیداسیون چربی راه‌های اصلی لیپولیز هستند (Simpson et al., 2012). منظور از لیپولیز، هیدرولیزی است که پیوند اصلی بین اسیدهای چرب و بدن اصلی گلیسرول را شکسته و اسیدهای چرب آزاد تولید می‌شود (Rai et al., 2016). تحقیقات مختلفی توسط پژوهشگران در بررسی خصوصیات ریزجلبک *دونالیلا سالینا* انجام شده است. بررسی روی اثر محیط کشت و شدت نور بر رشد و کاروتنوئیدهای جلبک *Dunaliella salina* در دریاچه ارومیه توسط Salmaninezhad (۱۳۹۴) انجام شد و بیشترین مقدار کاروتنوئید سنتر شده در تیمار با شدت نور ۲۰۰ میکرومول و شوری ۲/۹۹ مولار به مقدار ۵/۰۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. Mokhberi و همکاران (۱۳۹۴) افزایش تولید بتاکاروتن و گلیسرول ریزجلبک *D. salina* توسط امواج فرا صوت را بررسی کردند. نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان تابش نور، رشد سلولی و مقدار رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی کاهش می‌یابد و در مقابل مقدار پروتئین کل، خواص آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنولی، فلاوونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، بتاکاروتن و گلیسرول افزایش می‌یابد. در پژوهشی دیگر، El-Baky و همکاران (۲۰۰۴) تولید چربی غنی با اسیدهای چرب امگا ۳ از جلبک *Dunaliella salina* را با کاهش نیتروژن و استرس‌های شوری مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که محتوای چربی و ترکیبات اسیدهای چرب بستگی به NaCl و نیتروژن موجود در کشت دارد. همچنین Tran و همکاران (۲۰۱۳) رشد، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاروتن کل *Dunaliella salina* در محیط کشت آب دریای طبیعی غنی‌شده را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش DPPH اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تولید کاروتن *دونالیلا سالینا* در محیط کشت طبیعی پائین‌تر بوده و در محیط کشت‌های مصنوعی به میزان دو برابر بالاتر بوده است. از دیگر پژوهش‌های انجام شده، پژوهش Belghith و همکاران (۲۰۱۶) بود که پروتئین، کربوهیدرات، لیپید و اسیدهای چرب و کاروتنوئیدها *Dunaliella salina* استخراج شده را مورد بررسی قرار دادند. Zonouzi و همکاران (۲۰۱۶) استخراج عصاره از ریزجلبک *Dunaliella salina* را توسط حلال‌های قطبی و غیرقطبی مورد پژوهش خود قرار دادند. با توجه به مطالب بیان شده، بررسی خصوصیات زیست‌فعال مثل خواص ضداکسیدانی و پروفایل اسیدهای چرب *دونالیلا سالینا* دارای اهمیت بالایی می‌باشد. در همین راستا اهداف پژوهش حاضر بررسی خصوصیات ضداکسیدانی عصاره‌های آلی مختلف ریزجلبک

دونالیلا سالیئا در غلظت‌های متفاوت و بررسی پروفیل اسیدهای چرب ریزجلبک *دونالیلا سالیئا* پرورش یافته در سواحل چابهار بود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی ریزجلبک *دونالیلا سالیئا*

ریزجلبک *دونالیلا سالیئا* از مزرعه تولیدی جلبک لیپار واقع در شهرک کارگاهی منطقه آزاد چابهار به آزمایشگاه منتقل شد و برای جداسازی نمک، شستشو و با خشک‌کن انجمادی (Jalreb, Iran) خشک گردید. سپس نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا میزان وزن خشک و چربی اندازه‌گیری گردد (Widjaja *et al.*, 2009). پس از اندازه‌گیری وزن خشک ریزجلبک *دونالیلا سالیئا* استخراج عصاره با استفاده از حلال‌های متانول، هگزان و کلروفرم انجام شد و در $6000 \times g$ سانتریفیوژ گردید (مدل ۵۷۰۲ شرکت Eppendorf آلمان). در این تحقیق از حلال‌های متانول، هگزان و کلروفرم در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۱ و ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده گردید. نسبت حلال به جلبک خشک ۱:۵ بود و عصاره‌گیری با روش غوطه‌وری ۲۴ ساعته انجام شد.

فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH

فعالیت حذف رادیکال آزاد در این تحقیق طبق روش تغییر یافته Shimada و همکاران (۱۹۹۲) انجام پذیرفت. ۰/۱ میلی‌لیتر محلول DPPH با متانول ۹۵ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول نمونه با متانول ۵۰ درصد در یک لوله اپندورف ترکیب گردید و پس از آن نمونه‌ها مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Pharmacia LKB.Nova SpaceII, England) مورد بررسی قرار گرفت. جهت کنترل، محلول متانول به جای نمونه استفاده گردید. برای شاهد مثبت میزان ۰/۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آسکوربیک اسید استفاده شد و میزان فعالیت حذف رادیکال آزاد طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Zhishen *et al.*, 2015):

(۱)

$$\text{DPPH radical scavenging capacity (\%)} = 1 - \frac{A_{517} \text{ sample}}{A_{517} \text{ control}} \times 100$$

فعالیت کلاته کردن یون آهن فرو

فعالیت کلاته کردن یون آهن (II) بر اساس روش تغییر یافته Dinis و همکاران (۱۹۹۴) سنجش شد. میزان ۳/۷ میلی‌لیتر محلول نمونه در غلظت‌های مختلف (۰/۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آهن به صورت مجزا مخلوط و محلول مورد نظر ۳ دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد. سپس ۰/۲ میلی‌لیتر فروزین به محلول اضافه و ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد. جذب در ۵۶۲ نانومتر سنجش شد و یک شاهد بدون نمونه به شیوه مشابه تهیه گردید. برای شاهد مثبت میزان ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر EDTA استفاده شد و فعالیت کلاته کردن با فرمول زیر مورد سنجش قرار گرفت:

(۲)

$$\text{Fe}^{2+} \text{ Chelating activity (\%)} = \frac{\text{Blank} - \text{Sample}}{\text{Blank}} \times 100$$

تعیین قدرت کاهندگی

میزان قدرت کاهندگی بر اساس روش تغییر یافته Oyaizu (۱۹۸۶) مورد بررسی قرار گرفت. یک میلی‌لیتر محلول نمونه در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۱ میلی‌لیتر فسفات بافر ۰/۲ مولار (pH ۶/۶) ترکیب و سپس ۱ میلی‌لیتر

پتاسیم فری سیانید ۱٪ به آن اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در انکوباتور در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و ۱ میلی‌لیتر TCA (تری‌کلرو استیک اسید) ۱۰ درصد به آن اضافه گردید. در مرحله بعد ۲ میلی‌لیتر از محلول نهایی را با ۲ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده و ۰/۴ میلی‌لیتر محلول کلرید آهن ۰/۱ درصد به آن اضافه و بعد از ۱۰ دقیقه جذب در ۷۰۰ نانومتر بررسی شد. افزایش میزان جذب نشان‌دهنده افزایش قدرت کاهندگی است و برای شاهد مثبت میزان ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسید آسکوربیک مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج اسیدهای چرب

استخراج اسیدهای چرب بر اساس روش Folch و همکاران (۱۹۵۷) انجام شد. یک گرم نمونه در لوله آزمایش قرار گرفت و ۱۵ میلی‌لیتر حلال کلروفرم و متانول (نسبت ۲ به ۱) به نمونه اضافه و به مدت ۳ دقیقه در قدرت ۵۰ درصد سونیکیت شد و پس از آن ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری گردید تا استخراج اسیدهای چرب کامل گردد. سپس ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به نمونه اضافه و تکان داده شد. نمونه به دکانتور ۵۰ میلی‌لیتری منتقل و به مدت ۳ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ثابت نگهداری شد. فاز متانولی زیرین که حاوی چربی بود جدا شد و در جو نیتروژن حلال پرانی انجام پذیرفت.

استریفیکاسیون

استریفیکاسیون توسط روش Metcalf و Schmitz (۱۹۶۱) انجام شد. روغن استخراجی توسط سود متانولی نیم مولار در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد برای ده دقیقه صابونه شدند. بعد از خنک شدن ۲/۲ میلی‌لیتر محلول متانولی BF_3 اضافه و محلول برای ۳ تا ۵ دقیقه جوشانده و خنک گردید. یک میلی‌لیتر هگزان و محلول اشباع نمک طعام و سولفات سدیم (۱ تا ۲ گرم) اضافه و سپس فاز هگزانی رویی که حاوی اسیدهای چرب متیل استر بود در مینی ویال‌های اپندروف تقسیم گردید و تا زمان تجزیه در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

کرمانوگرافی گازی

اسیدهای چرب متیل استر شده با یک دستگاه کرمانوگرافی گازی (Varian, Spain) مجهز به دکتور FID و ستون کاپیلاری (Hp 88) شناسایی شد. دمای داخلی ستون ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه بود که با نرخ ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به ۲۳ درجه سانتی‌گراد رسید و ۴۲/۵ دقیقه باقی ماند. گاز حامل نیتروژن بود که با سرعت ۰/۸۵ میلی‌لیتر بر دقیقه و هیدروژن و هوای سنتزی با سرعت ۳۰ و ۳۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه برای شناساگر مورد استفاده قرار گرفتند و میزان تزریق نیز یک میکرولیتر بود (Folch et al., 1957).

سنجش محتوای کل فنول

میزان فنول کل طبق روش Meenakshi و همکاران (۲۰۰۹) انجام گرفت و بر اساس استاندارد گالیک اسید و شناساگر فولین سیوکالتو محاسبه شد. ابتدا ۱ میلی‌لیتر از هر تیمار به ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر فولین سیوکالتو ۰/۱ مولار اضافه گردید و پس از مخلوط کردن به مدت ۱ دقیقه استراحت داده و بعد ۱ میلی‌لیتر از مخلوط سدیم کربنات ۲۰٪ به آن اضافه کرده و با هم مخلوط گردید. بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد جذب در ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری و ثبت شد.

سنجش رنگ‌دانه

رنگ‌دانه‌های سلولی پس از استخراج با استون ۸۰٪ توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شدند (Chen et al., 2011). به طور خلاصه ۲ میلی‌لیتر از محلول از محل کشت برداشته و بعد از ۲ بار شستن با آب مقطر سانتریفیوژ شد. پلت ها دوباره در ۰/۴ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=7) حل و با استفاده از هاون سلولی به مدت ۱۰ دقیقه همگن گردید. ۱/۶ میلی‌لیتر

استون خالص به محلول استون ۸۰٪ اضافه و به مدت ۲ دقیقه توسط ورتکس به خوبی مخلوط و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در محیطی تاریک انکوباسیون گردید. پس از مرحله سانتریفیوژ در $4000 \times g$ مواد معلق جدا شده و با اسپکتوفتومتر (در طول موج‌های ۶۶۶، ۶۵۳ و ۴۷۰ نانومتر) خوانده شد. در نهایت میزان رنگ‌دانه‌ها از طریق روابط زیر محاسبه گردیدند:

$$(۳) C_a = 15.65 A_{666} - 7.340 A_{653}$$

$$(۴) C_b = 27.05 A_{653} - 11.21 A_{666}$$

$$(۵) C_t = (1000 A_{470} - 2.860 C_a - 129.2 C_b) / 245$$

C_a شاخص کلروفیل a، C_b کلروفیل b و C_t میزان کاروتنوئید کل را نشان می‌دهد ($\mu\text{g/ml}$).

آنالیز آماری

جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون شاپیروویلیک استفاده شد. از آنالیز واریانس یک‌طرفه جهت بررسی وجود اختلاف معنی‌دار و از پس آزمون توکی برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. از نرم افزار Graphpad-Prism 7 برای بررسی آماری و از نرم افزار Excel جهت رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج

نتایج بررسی اثر حلال‌های مختلف (متانول، هگزان و کلروفورم) و غلظت‌های متفاوت عصاره جلبک *Dunaliella salina* روی حذف رادیکال آزاد DPPH در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که هر دو عامل متغیر به کار رفته در سنجش DPPH اثر کاملاً معنی‌داری داشتند ولی با توجه به درجه آزادی، اثر غلظت در سنجش این فاکتور از همه بیشتر بوده است. همچنین اثر متقابل حلال‌ها و غلظت‌های مختلف نیز تفاوت معنی‌داری را نشان داده است. از طرفی دیگر نتایج مربوط به اثر حلال‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت جلبک *Dunaliella salina* در مهار رادیکال آزاد DPPH در جدول ۲ گزارش شده است. بیشترین مهار رادیکال در عصاره متانولی در غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($p < 0.005$) و کمترین میزان فعالیت مهار رادیکال آزاد در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم عصاره هگزانی دیده شد. از طرفی دیگر نتایج مربوط به اثر حلال‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت جلبک *Dunaliella salina* در مهار رادیکال آزاد DPPH در جدول ۲ گزارش شده است. بیشترین مهار رادیکال آزاد در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم عصاره هگزانی دیده شد. از طرفی دیگر نتایج مربوط به اثر حلال‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت جلبک *Dunaliella salina* در مهار رادیکال آزاد DPPH در جدول ۲ گزارش شده است. بیشترین مهار

جدول ۱. نتایج آزمون واریانس دوطرفه عامل‌های مستقل در سنجش مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های جلبک *Dunaliella salina* ($P < 0.001$).

سطح معنی‌داری (P)	درجه آزادی (F)	مجموع مربعات	
۰/۰۰	۴۰۵۸/۸۶۹	۴۴/۹۱۷	حلال
۰/۰۰	۱۹۶۴۵۷/۹۷۸	۲۱۷۴/۰۶۱	غلظت
۰/۰۰	۳۰۲۴/۸۴۹	۶۶/۹۴۸	حلال × غلظت

جدول ۲. اثر حلال‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت جلبک *Dunaliella salina* در مهار رادیکال آزاد DPPH

غلظت عصاره‌های جلبکی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)			حلال
۰/۰۱	۰/۱	۱	
0.01 ± 17.00^{Aa}	0.1 ± 67.01^{Cd}	1 ± 27.19^{Cg}	متانول
0.01 ± 11.00^{Aa}	0.1 ± 10.00^{Ab}	$1 \pm 0.07 \pm 2.0^{Ae}$	هگزان
0.01 ± 14.00^{Aa}	0.1 ± 39.01^{Bc}	$1 \pm 0.07 \pm 0.7^{Bf}$	کلروفورم

رادیکال در عصاره متانولی در غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ($p < 0.005$) و کمترین میزان فعالیت مهار رادیکال آزاد در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم عصاره هگزانی دیده شد. اثر حلال‌های مختلف (متانول، هگزان و کلروفرم) و غلظت‌های متفاوت جلبک *Dunaliella salina* برای فاکتور فنول کل نشان می‌دهد که هر دو عامل متغیر به کار رفته در سنجش فنول کل اثر کاملاً معنی‌داری داشتند ولی با توجه به درجه آزادی اثر غلظت در سنجش این فاکتور از همه بیشتر بوده است. همچنین اثر متقابل حلال‌ها و غلظت‌های مختلف نیز تفاوت معنی‌دار را نشان داده است. بررسی ضریب همبستگی برای مجموع این عوامل پارامتر مهم دیگری است که در این پژوهش به آن پرداخته شده است و مقدار این ضریب ۰/۹۹۴ به دست آمد و نتایج مربوط به آن در جدول ۳ گزارش شده است.

جدول ۳. نتایج آزمون آنالیز واریانس دوطرفه عامل‌های متغیر وابسته (حلال‌های متانول، هگزان، کلروفرم و غلظت‌های مختلف جلبک) در سنجش فنول کل جلبک *Dunaliella salina* ($P < 0.001$).

سطح معنی‌داری (P)	درجه آزادی (F)	مجموع مربعات	
۰/۰۰	۲۹۵/۴۲۵	۰/۰۸۴	حلال
۰/۰۰	۳۰۳۹/۲۹۷	۰/۸۶۶	غلظت
۰/۰۰	۲۱۴/۰۱۹	۰/۱۲۲	حلال × غلظت

اثر حلال‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت جلبک *Dunaliella salina* در سنجش فاکتور فنول در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که اثر حلال‌های مختلف در غلظت‌های بالاتر عصاره مقادیر بیشتری از فنول کل را داراست که در غلظت‌های ۱ و ۰/۱ تفاوت معنی‌داری در بین تمامی تیمارها با یکدیگر و همچنین با تیمارهای غلظت ۰/۰۱ از جلبک *Dunaliella salina* مشاهده شده است.

پارامتر مورد بررسی دیگر، قدرت کاهندگی می‌باشد. اثر حلال‌های مختلف (متانول، هگزان و کلروفرم) و غلظت‌های متفاوت جلبک *Dunaliella salina* برای فاکتور قدرت کاهندگی نشان می‌دهد که هر دو عامل متغیر بکار رفته در سنجش فنول کل اثر کاملاً معنی‌داری داشتند ولی با توجه به درجه آزادی اثر غلظت در سنجش این فاکتور از همه بیشتر بوده است. همچنین اثر متقابل حلال‌ها و غلظت‌های مختلف نیز تفاوت معنادار را نشان داده است. این در حالی است که ضریب همبستگی برای مجموع این عوامل برابر با ۰/۹۹۹ می‌باشد. نتایج مربوط به آزمون آنالیز واریانس دوطرفه در سنجش قدرت کاهشی عصاره جلبک *Dunaliella salina* در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج اثر حلال‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت جلبک

جدول ۴. اثر حلال‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت عصاره جلبک *Dunaliella salina* در سنجش فنول کل

غلظت عصاره‌های جلبکی (میکروگرم بر میلی‌لیتر)			حلال
۰/۰۱	۰/۱	۱	
۰/۰±۰۰۴/۰۰ ^{Aa}	۰/۰±۰۴/۰۰ ^{Cc}	۰/۰±۴۱/۰۱ ^{Cf}	متانول
۰/۰±۰۰۱/۰۰ ^{Aa}	۰/۰±۰۱/۰۰ ^{ABab}	۰/۰±۱۵/۰۳ ^{Ad}	هگزان
۰/۰±۰۰۳/۰۰ ^{Aa}	۰/۰±۰۳/۰۱ ^{BCb}	۰/۰±۲۸/۱۱ ^{Be}	کلروفرم

جدول ۵. نتایج آزمون آنالیز واریانس دوطرفه عامل‌های متغیر وابسته (حلال‌های متانول، هگزان، کلروفرم و غلظت‌های مختلف جلبک) در سنجش قدرت کاهشی عصاره جلبک *Dunaliella salina* ($P < 0.001$).

سطح معنی‌داری (P)	درجه آزادی (F)	مجموع مربعات	
۰/۰۰	۸۴/۳۶۶	۰/۰۲۳	حلال
۰/۰۰	۱۸۰۸۸/۱۱۶	۴/۹۹۱	غلظت
۰/۰۰	۶۲/۱۱۲	۰/۰۳۴	حلال × غلظت

Dunaliella salina در سنجش قدرت کاهشی در جدول ۶ نشان داده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که اثر حلال‌های مختلف در غلظت‌های بالاتر عصاره جلبک *Dunaliella salina*، مقادیر بیشتری از قدرت کاهندگی را دارا می‌باشد که در غلظت ۱ تفاوت معنی‌داری در بین تمامی تیمارها با یکدیگر مشاهده شده است.

جدول ۶. اثر حلال‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت جلبک *Dunaliella salina* در سنجش قدرت کاهشی

حلال	۱	۰/۱	۰/۰۱
متانول	$0.0 \pm 0.07/0.0^{Bd}$	$0.0 \pm 0.07/0.0^{Ab}$	$0.0 \pm 0.07/0.0^{Aa}$
هگزان	$0.0 \pm 0.06/0.0^{Ac}$	$0.0 \pm 0.05/0.0^{Ab}$	$0.0 \pm 0.06/0.0^{Aa}$
کلروفورم	$0.0 \pm 0.07/0.0^{Bd}$	$0.0 \pm 0.07/0.0^{Ab}$	$0.0 \pm 0.07/0.0^{Aa}$

پارامتر مورد بررسی دیگر، میزان باند شدن عناصر فلزی با عصاره جلبک (چلاته‌کنندگی) می‌باشد. اثرات آزمون آنالیز واریانس دوطرفه عامل‌های متغیر وابسته (حلال‌های متانول، هگزان، کلروفورم و غلظت‌های مختلف جلبک) در سنجش چلاته‌کنندگی یون فلزی توسط عصاره‌های جلبک *Dunaliella salina* در جدول ۷ گزارش شده است.

جدول ۷. نتایج آزمون آنالیز واریانس دوطرفه عامل‌های متغیر وابسته (حلال‌های متانول، هگزان، کلروفورم و غلظت‌های مختلف جلبک) در سنجش چلاته‌کنندگی یون فلزی جلبک *Dunaliella salina*

مجموع مربعات	درجه آزادی (F)	سطح معنی‌داری (P)	حلال
۲۹۲/۰۸۱	۵۲/۶۷۴	۰/۰۰۰	حلال
۱۳۶۵۹/۰۴۰	۲۴۶۳/۲۵۷	۰/۰۰۰	غلظت
۴۲۹/۳۲۴	۳۸/۷۱۲	۰/۰۰۰	حلال × غلظت

نتایج این جدول نشان می‌دهد که هر دو عامل متغیر به کار رفته در سنجش فاکتور چلاته‌کنندگی اثر کاملاً معنی‌داری داشتند ولی با توجه به درجه آزادی اثر غلظت در سنجش این فاکتور از همه بیشتر بوده است. همچنین اثر متقابل حلال‌ها و غلظت‌های مختلف نیز تفاوت معنی‌داری نشان داد. این در حالی است که ضریب همبستگی برای مجموع این عوامل برابر با ۰/۹۹۱ می‌باشد.

اثر حلال‌های مختلف در غلظت‌های بالاتر عصاره جلبک *Dunaliella salina*، مقادیر بیشتری از میزان چلاته‌کنندگی را نشان دادند که در غلظت‌های ۱ و ۰/۱ تفاوت معنی‌داری در بین تمامی تیمارها با یکدیگر و همچنین تیمارهای غلظت ۰/۰۱ از جلبک *Dunaliella salina* داشتند که این نتایج در جدول ۸ نمایان شده است. نتایج در غلظت ۰/۱ متانول با غلظت‌های ۰/۰۱ هگزان و کلروفورم هم‌پوشانی داشتند که بیانگر قدرت بالاتر حلال‌های هگزان و کلروفورم در تعیین نمودن میزان چلاته‌کنندگی در جلبک *Dunaliella salina* می‌باشد.

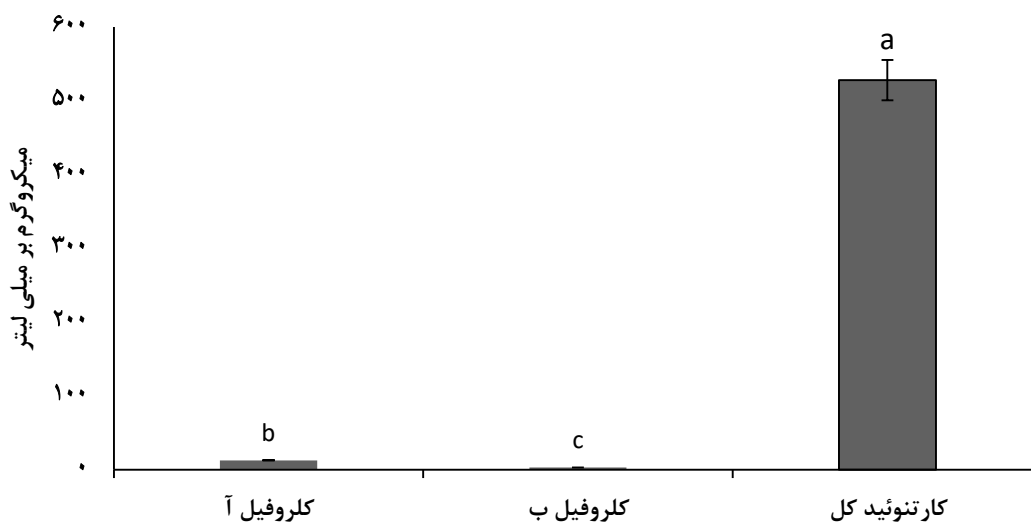
از سوی دیگر میزان کلروفیل a در جلبک *Dunaliella salina* در مقایسه با کلروفیل b حدود ۴ برابر بیشتر می‌باشد که نشان‌دهنده فراوانی کلروفیل a در این جلبک است. همچنین میزان کاروتنوئید کل در این جلبک در حدود ۵۲۸ میکروگرم بر

جدول ۸. اثر حلال‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت جلبک *Dunaliella salina* در سنجش چلاته‌کنندگی یون فلز

حلال	۱	۰/۱	۰/۰۱
متانول	$27/0 \pm 21/54^{Ad}$	$2/0 \pm 34/14^{ABbc}$	$0/0 \pm 21/01^{Aa}$
هگزان	$42/2 \pm 54/54^{Ce}$	$3/0 \pm 81/22^{Bc}$	$0/0 \pm 33/03^{ABab}$
کلروفورم	$36/4 \pm 50/22^{Bf}$	$3/0 \pm 55/39^{Bc}$	$0/0 \pm 38/04^{Bab}$

میلی لیتر به دست آمد که نشان دهنده پتانسیل بالای این جلبک در تولید رنگدانه‌های کاروتنوئیدی می‌باشد. میزان سه رنگدانه رایج در جلبک *D. salina* در شکل ۱ با یکدیگر مقایسه شده است و میزان کاروتنوئید این جلبک بسیار بیشتر از کلروفیل می‌باشد. کاروتنوئید کل با کلروفیل a و کلروفیل b اختلاف معنی دار داشت ($P < 0.05$).

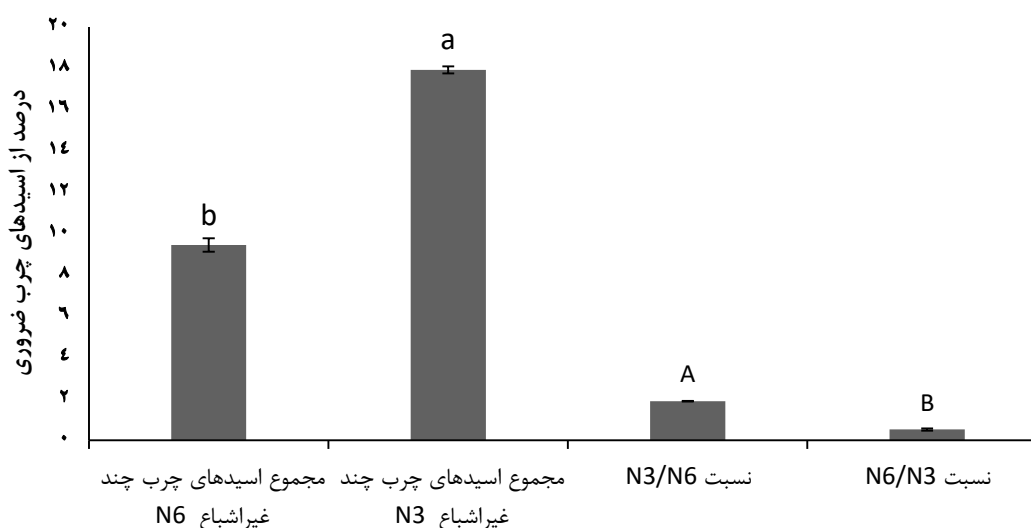
بر طبق نتایج به دست آمده که در شکل ۲ نشان داده شده است، در بین اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه امگا-۳ و امگا-۶، اسیدهای چرب امگا-۳ دارای بیشترین فراوانی در جلبک *Dunaliella salina* بودند.



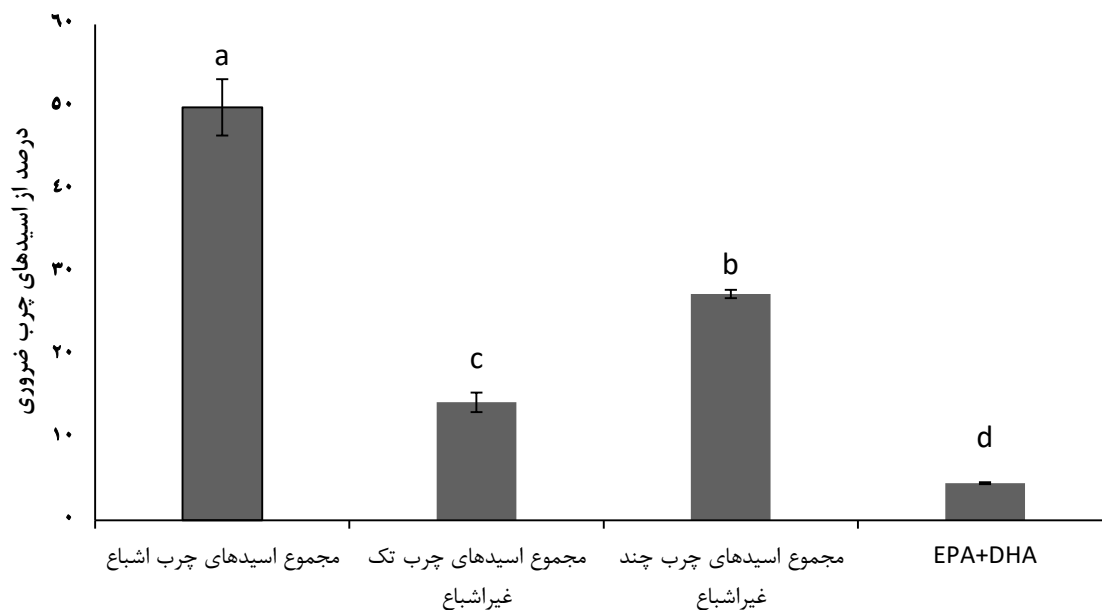
شکل ۱. بررسی میزان رنگدانه های موجود در جلبک *Dunaliella salina* استخراج شده با استون ۸۰ درصد

همچنین در بین اسیدهای چرب اشباع (SFA)، تک غیراشباع و غیراشباع چندگانه، مقدار SFA در بین اسیدهای چرب از همه بیشتر بود و در بین اسیدهای چرب غیراشباع میزان مجموع ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید (EPA+DHA) از همه کمتر بود که نتایج مربوط به این بررسی در شکل ۳ نشان داده شده است.

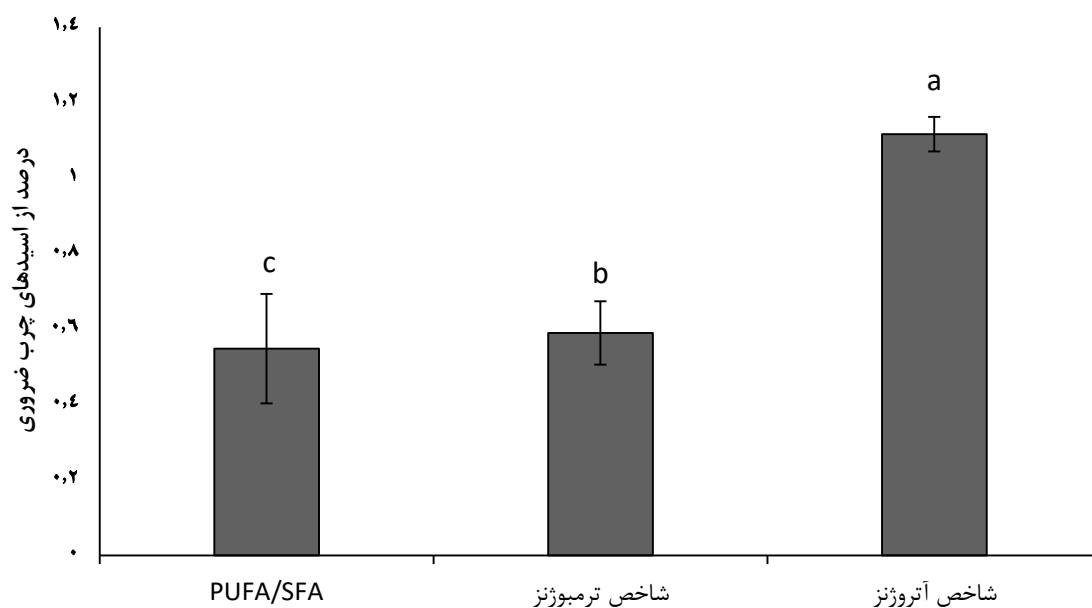
در شکل ۴ شاخص‌های آتروژنز و ترومبوژنز و همچنین نسبت اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه به اسیدهای چرب اشباع مقایسه شده‌اند که بر این اساس شاخص آتروژنز بیشترین مقدار را در بین این نسبت‌ها داشت.



شکل ۲. بررسی میزان و نسبت اسیدهای چرب چند غیراشباع امگا-۳ و امگا-۶ در جلبک *Dunaliella salina*



شکل ۳. بررسی مجموع اسیدهای چرب SFA، MUFA و HUFA در جلبک *Dunaliella salina*.



شکل ۴. بررسی شاخص‌های ترمبوژنز و آتروژنز در ریزجلبک *Dunaliella salina*.

بحث

یافته‌های پژوهش در مورد فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH در جدول ۱ آورده شده است که با توجه درجه آزادی (F) و مجموع مربعات، فاکتور غلظت و حلال در غلظت اثر معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0.05$). نتایج به دست آمده در مورد درصد حذف رادیکال آزاد DPPH نیز نشان داد که میزان ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر جلبک و محلول متانول بیشترین میزان (۱۷٪/۰±۲۷/۱۹) و محلول هگزان در همان غلظت کمترین مقدار (۰/۱۱/۲۰±۰/۰۷) را داشتند. نتایج به دست آمده در مورد ترکیب درصد اسیدهای چرب ریزجلبک *دونالیلا سالینا* نشان داد پالمیتیک اسید (۰/۲۸/۱۶±۰/۱۳) و استئاریک اسید (۱۴٪/۰±۵۴/۲۶) بیشترین مقدار SFA را داشتند و کمترین مقدار SFA مربوط به آراشیدونیک اسید (۰/۰/۲۷±۰/۰۵) و میریستیک اسید (۰/۰/۹۵±۰/۵۹) بود. میزان MUFA در این تحقیق اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P < 0.05$) و بیشترین

میزان آن‌ها با اندکی اختلاف در پالمیتولئیک اسید (0.44 ± 0.05) و کمترین میزان در (C17:1) (0.089 ± 0.009) و پائولینیک اسید (0.243 ± 0.015) مشاهده شد. ترکیب اسیدهای چرب PUFA در ریزجلبک *دونالیلا سالینا* بیشترین میزان را با اختلاف معنی‌دار در آلفا لینولئیک اسید (0.122 ± 0.015) نسبت به سایر تیمارها داشت. کمترین میزان در دوکوزاپنتانوئیک اسید (0.122 ± 0.003) و گاما لینولئیک اسید (0.123 ± 0.002) مشاهده شد. میزان دوکوزاهگزانوئیک اسید و ایکوزاپنتانوئیک اسید در این تحقیق به ترتیب $(2/18 \pm 0/08)$ و $(2/3 \pm 0/04)$ اندازه‌گیری شد. نتایج مربوط به مجموع اسیدهای چرب و انواع آن در ریزجلبک *D. Salina* نیز نشان داد میزان اسیدهای چرب اشباع ($0.49/97 \pm 3/41$) نسبت به اسیدهای چرب تک غیراشباع ($0.14/28 \pm 1/18$) و مجموع اسیدهای چرب چند غیراشباع ($0.27/37 \pm 0/50$) بالاتر بود و مجموع EPA+DHA نیز در این تحقیق ($0.4/48 \pm 0/12$) محاسبه شد. مجموع اسیدهای چرب چند غیراشباع امگا-۶ ($0.9/45 \pm 0/33$) نسبت به امگا-۳ ($0.17/0.0 \pm 92/17$) پایین‌تر بود و نسبت N3/N6 ($1/0 \pm 90/02$) از نسبت N6/N3 ($0/0 \pm 53/05$) بالاتر بود. نسبت اسیدهای چرب PUFA/SFA نیز ($0/55 \pm 0/14$) اندازه‌گیری شد. شاخص ترومبوژن نیز ($0/58 \pm 0/08$) از شاخص آتروژن ($1/12 \pm 0/05$) در این تحقیق پایین‌تر بود. Zonouzi و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیقی مشابه ترکیب اسیدهای چرب جلبک *D. salina* را توسط حلال‌های قطبی و غیر قطبی مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند میزان پالمیتیک اسید ($36/62$) با اختلاف معنی‌دار از دیگر اسیدهای چرب SFA بالاتر است که مشابه با نتایج این تحقیق بود. در تحقیقی دیگر Talebi و همکاران (۲۰۱۳)، ترکیب اسیدهای چرب *Dunaliella salina* را مورد بررسی قرار دادند که مشاهده آن‌ها نشان داد که میزان اولئیک اسید (MUFAs) ($3/0 \pm 38/14$) و آلفا لینولئیک اسید (PUFAs) ($38/0 \pm 60/9$) بیشترین میزان را داشتند و کمترین میزان مربوط به پالمیتولئیک اسید (MUFAs) ($1/0 \pm 06/3$) با نتایج این تحقیق هماهنگ بود.

El-Baky و همکاران (۲۰۰۴) ترکیب اسیدهای چرب ریزجلبک *D. salina* را مورد بررسی قرار دادند که در تمامی تیمارهای مورد بررسی آن‌ها میزان کل اسیدهای چرب اشباع (۸۵) نسبت به MUFA ($1/81$) و PUFA ($12/45$) بالاتر بود که مشابه با نتایج تحقیق حاضر، میزان کل SFA از PUFA بیشتر بود. بیشترین میزان SFA در این تحقیق استتاریک اسید ($49/68$) بود و در جایگاه بعدی پالمیتیک اسید ($24/85$) قرار داشت که می‌توان گفت نتایج در مورد استتاریک اسید با نتایج این تحقیق غیر همسو بود ولی در رابطه با پالمیتیک اسید همخوان بود. با توجه به بالا بودن غلظت اسیدهای چرب چند غیراشباع بلند زنجیره و بالا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی نوع II در تحقیق حاضر، شاید بتوان نتیجه‌گیری نمود که علی‌رغم خشک کردن ریزجلبک، خواص آنتی‌اکسیدانی خوب ریزجلبک باعث محافظت از ترکیب اسیدهای چرب غیراشباع در مقابل اکسیداسیون شده است. Cruces و همکاران (۲۰۱۶) فعالیت آنتی‌اکسیدان DPPH جلبک قهوه‌ای (*Lessonia spicata*) را مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد روش‌های استخراج به شکل توأم و فاکتورهای غلظت اثر بیشتری ($14/02$) داشتند. همچنین Hemalatha و همکاران (۲۰۱۳) فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH را در جلبک‌های *Dunaliella salina*، دیاتوم ها، *Chlorella marina* و *Navicula clavata* مورد بررسی قرار دادند که نتایج آن‌ها نشان داد تمام این ریزجلبک‌ها در هر غلظتی کاهندگی دارند و در محلول استخراجی متانول ریزجلبک *C. marina* ($0.23/08$) و *D. salina* ($0.17/66$) بیشترین فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH را داشتند و این میزان در رابطه با هگزان و استون مقادیر کمتری را نشان داد؛ بنابراین بهترین محلول جهت استخراج عصاره جلبک *دونالیلا سالینا* را می‌توان متانول در نظر گرفت. نتایج به دست آمده در مورد قدرت کاهندگی یون آهن در این تحقیق نشان داد فاکتور غلظت بیشترین اثر معنی‌دار را بر قدرت کاهندگی یون فرو داشت و نوع حلال و اثر هم‌زمان حلال در غلظت اثر کمتری بر قدرت کاهندگی داشت. نتایج در مورد اثر حلال‌های مختلف و غلظت آن‌ها نشان داد افزایش غلظت متانول، هگزان و کلروفرم میزان قدرت کاهندگی فرو را افزایش می‌دهند. بیشترین میزان قدرت کاهندگی فرو در محلول‌های متانول و کلروفرم ($0/72 \pm 0/01$) مشاهده شد و کمترین میزان در تیمار هگزان ($0/60 \pm 0/00$) ثبت گردید. نتایج Saranya و همکاران (۲۰۱۴) در مورد خواص آنتی‌اکسیدان ریزجلبک‌های *C. salina*، *C. calcitras* و *I. galbana* نشان داد بیشترین میزان کاهندگی یون آهن در محلول متانول و ریزجلبک *I. galbana* ($0/0 \pm 82/02$) و کمترین مقدار آن در تیمار هگزان و ریزجلبک *C. calcitras* ($0/0 \pm 27/03$) مشاهده شد. نتایج به دست آمده در مورد میزان کل فنول نشان داد مجموع مربعات ($0/866$) و درجه آزادی (۳۰۳۹/۲۹۷) در فاکتور غلظت، بیشترین میزان را داشت. افزایش میزان غلظت محلول جلبکی و

محلول استخراجی متانول اثر معنی‌داری بر میزان کل فنول استخراج شده داشتند، به طوری که بیشترین میزان فنول کل در تیمار ۱ درصد محلول جلبکی و متانول ($0/41 \pm 0/01$) و کمترین میزان در تیمار ۱ درصد محلول جلبکی و هگزان ($0/0 \pm 15/02$) مشاهده شد. همین روند در مورد خواص آنتی‌اکسیدان با غلظت نیز دیده شد. Moussa و همکاران (۲۰۱۸) ترکیبات بیوشیمیایی ریزجلبک *D. salina* را مورد بررسی قرار دادند که میزان پلی فنول‌ها در حضور سطوح بالاتر نیکل بیشترین میزان ($0/29 \pm 0/07$) را نسبت به غلظت پایین‌تر نیکل ($0/084 \pm 0/03$) نشان داد که اثر مستقیم غلظت بر ترکیب فنولیک ریزجلبک *دونالیلا سالینا* را ثابت کرد. هم‌چنین نتایج به دست آمده توسط Uma و همکاران (۲۰۱۱) نیز مشخص کرد روش استخراج توسط متانول مقدار فنول کل بیشتری در گونه *D. oliveous* به دست می‌آورد و با توجه به کار Manivannan و همکاران (۲۰۱۲) تفاوت در قطبیت مختلف محلول‌های استخراجی دلیل این تفاوت راندمان ترکیبات فنولیک در ریزجلبک‌ها می‌باشد. در بررسی سنجش رنگ‌دانه، مجموع رنگ‌دانه‌های موجود در جلبک *دونالیلا سالینا* در این تحقیق نشان داد که میزان کاروتنوئیدها با اختلاف معنی‌داری از دیگر تیمارها بالاتر بود و کمترین میزان را کلروفیل b ($3/0 \pm 0/10$) نشان داد ($P < 0.05$). میزان کلروفیل a اندازه‌گیری شده در این تحقیق ($12/73 \pm 0/29$) بود. در تحقیقی مشابه Yazdanpanah و Moradshahi (۲۰۱۶) میزان کاروتنوئید و رنگ‌دانه‌های جلبک *D. salina* را مورد بررسی قرار دادند و نتایج آن‌ها مشخص کرد میزان کاروتنوئیدها پس از ۳ روز ($6/30 \pm 0/41$) مقدار بیشتری نسبت به کلروفیل b ($6/0 \pm 0/08$) داشت که با نتایج تحقیق حاضر هماهنگ است. فعالیت کلاته کردن فلزات در فاکتور غلظت بیشترین مقدار را نشان داد. نتایج اثر محلول‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت ریزجلبک *D. salina* در سنجش فعالیت کلاته‌کنندگی فلزات نشان داد با افزایش غلظت میزان چلاته کردن یون فلز افزایش معنی‌داری پیدا کرد ($P < 0.05$). بیشترین میزان فعالیت کلاته کردن فلزات در تیمار ۱ میکروگرم بر لیتر جلبک و محلول استخراجی هگزان ($42/52 \pm 2/54$) مشاهده شد و کمترین میزان در غلظت $0/01$ جلبک و محلول استخراجی متانول ($0/21 \pm 0/01$) مشاهده گردید. Chiu و همکاران (۲۰۱۷) فعالیت کلاته کردن فلزات را در جلبک *Dunaliella salina* مورد بررسی قرار دادند و نتایج آن‌ها نشان داد که هر دو تیمارهای ریزجلبک با افزایش غلظت محلول استخراجی افزایش قدرت کلاته کردن را داشتند. بیشترین میزان قدرت کلاته‌کنندگی جلبک *D. salina* در سطح 60% فعالیت بهتری نسبت به سطح غلظت 46% داشت. Belghith و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیقی مشابه دیگر خواص فیزیکیوشیمیایی جلبک *D. salina* را مورد بررسی قرار دادند که نتایج آن‌ها نشان داد در حضور غلظت‌های بالاتر محلول استخراجی میزان کلاته‌کنندگی فلزات و خواص آنتی‌اکسیدان ریزجلبک *D. salina* بالاتر است.

نتایج به دست آمده در این تحقیق مشخص کرد بیشترین میزان درصد فعالیت DPPH توسط محلول متانول و سطح یک میکروگرم جلبک *دونالیلا سالینا* ($0/17/27 \pm 0/19$) مشاهده شد و میزان کل فنول‌ها با توجه به فاکتور غلظت بیشترین مقدار را با محلول استخراجی متانول ($0/41 \pm 0/01$) نشان داد. اثر حلال‌های مختلف و غلظت‌های مختلف ریزجلبک *D. salina* نشان داد قدرت کاهندگی یون فرو در متانول و کلروفرم ($0/72 \pm 0/01$) بهترین نتیجه را داشت و کمترین میزان در هگزان ($0/0 \pm 6/00$) مشاهده شد. شاخص کلاته‌کنندگی فلزات نیز در هگزان و بیشترین غلظت ریزجلبک ($0/42/52 \pm 2/54$) مشاهده شد و کمترین میزان کلاته‌کنندگی مربوط به محلول متانول بود. مجموع رنگ‌دانه‌های موجود در ریزجلبک *دونالیلا سالینا* نیز بیشترین مقدار را با اختلاف معنی‌دار در کاروتنوئید کل ($528/20 \pm 30/06$) داشت. ترکیب اسیدهای چرب نیز در رابطه با اسیدهای چرب SFA، MUFA و PUFA بهترین نتیجه را به ترتیب در پالمیتیک اسید ($28/16 \pm 2/13$)، پالمیتولنیک اسید ($4/44 \pm 0/55$) و آلفا لینولنیک اسید ($12/22 \pm 0/15$) داشتند. مجموع اسیدهای چرب اشباع نیز ($49/97 \pm 3/41$) نسبت به اسیدهای چرب MUFA و PUFA بالاتر بود. شاخص‌های EPA+DHA در ریزجلبک *دونالیلا سالینا* ($4/48 \pm 0/12$) اندازه‌گیری شد و نسبت اسیدهای چرب غیراشباع N3/N6 ($1/0 \pm 9/02$) از N6/N3 ($0/0 \pm 53/05$) بالاتر بود. در نهایت می‌توان نتیجه‌گیری کرد که فاکتورهای غلظت و حلال در غلظت به صورت توأم و البته محلول استخراجی متانول در بیشترین سطح غلظت *دونالیلا سالینا* اثر مثبتی بر استخراج عصاره‌های آلی و ترکیبات زیست فعال ریزجلبک *Dunaliella salina* دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به جهت حمایت مادی و معنوی از این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

- Belghith, T., Athmouni, K., Elloumi, J., Guermazi, W., Stoeck, T., Ayadi, H. 2016. Biochemical Biomarkers in the Halophilic Nanophytoplankton: *Dunaliella salina* Isolated from the Saline of Sfax (Tunisia). *Arabian Journal for Science & Engineering*. 41(1): 17-24.
- Borowitzka, M.A. 2013. High-value products from microalgae, their development and commercialization. *Journal of Applied Phycology*. 25(3): 743-756.
- Chen, M., Tang, H., Ma, H., Holland, T.C., Ng, K.S., Salley, S.O. 2011. Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*. *Bioresource Technology*. 102(2): 1649-1655.
- Chiu, H.F., Liao, J.Y., Lu, Y.Y., Han, Y.C., Shen, Y.C., Venkatakrishnan, K., Wang, C.K. 2017. Anti-proliferative, anti-inflammatory and pro-apoptotic effects of *Dunaliella salina* on human KB oral carcinoma cells. *Journal of Food Biochemistry*. 41(3): 1-8.
- Cruces, E., Rojas-Lillo, Y., Ramirez-Kushel, E., Atala, E., López-Alarcón, C., Lissi, E., Gómez, I. 2016. Comparison of different techniques for the preservation and extraction of phlorotannins in the kelp *Lessonia spicata* (Phaeophyceae): assays of DPPH, ORAC-PGR, and ORAC-FL as testing methods. *Journal of Applied Phycology*. 28(1): 573-580.
- Dinis, T.C., Madeira, V.M., Almeida, L.M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 315(1): 161-169.
- El-Baky, H.A., El-Baz, F.K., El-Baroty, G.S. 2004. Production of Lipids Rich in Omega 3 Fatty Acids from the Halotolerant Alga *Dunaliella salina*. *Biotechnology*. 3(1): 102-108.
- Errafiy, R., Aguado, C., Ghislat, G., Esteve, J.M., Gil, A., Loutfi, M., Knecht, E. 2013. PTEN increases autophagy and inhibits the ubiquitin-proteasome pathway in glioma cells independently of its lipid phosphatase activity. *PloS One*. 8(12): e83318.
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 226(1): 497-509.
- Ghasemi, Y., Rasoul-Amini, S., Naseri, A.T., Montazeri-Najafabady, N., Mobasher, M.A., Dabbagh, F. 2012. Microalgae biofuel potentials. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 48(2): 126-144.
- Guzman, S., Gato, A., Calleja, J.M. 2001. Anti-inflammatory, analgesic and free radical scavenging activities of the marine micro algae *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricorutum*. *Phyto Therapy Research*. 15(3): 224-230.
- Hemalatha, A., Girija, K., Parthiban, C., Saranya, C., Anantharaman, P. 2013. Antioxidant properties and total phenolic content of a marine diatom, *Navicula clavata* and green microalgae, *Chlorella marina* and *Dunaliella salina*. *Advance in Applied Science Research*. 4: 151-157.
- Herrero, M., Cifuentes, A., Ibañez, E. 2006. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae: A review. *Food Chemistry*. 98(1): 136-148.
- Kim, Y.K., Li, X., Xu, H., Park, N.I., Uddin, M.R., Pyon, J.Y., Park, S.U. 2009. Production of phenolic compounds in hairy root culture of tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum Gaertn*). *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 12(1): 53-57.
- Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y. 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*. 102(3): 771-776.
- Manivannan, K., Anantharaman, P., Balasubramanian, T. 2012. Evaluation of antioxidant properties of marine microalga *Chlorella marina* (Butcher, 1952). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(1): 342-346.
- Martin, M. 2011. Effect of aquaculture on essential nutrients and potential contaminants in benthic organisms and fish of pre-alpine streams. PhD Thesis. University of Vienna.
- Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14(1): 217-232.
- Meenakshi, S., Gnanambigai, D.M., Mozhi, S.T., Arumugam, M., Balasubramanian, T. 2009. Total flavonoid and in vitro antioxidant activity of two seaweeds of Rameshwaram coast. *Global Journal of Pharmacology*. 3(2): 59-62.
- Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A. 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*. 33(3): 363-364.

- Mokhberi, R., Rezaei, A., Kordenaeej, A. 2016. Increased production of beta-carotene and glycerol in *Dunaliella salina* cell culture by ultrasound. *Journal of Cell and Tissue*. 6(3): 397-408.
- Moradshahi, A., Yazdanpanah, E. 2016. Cadmium induced oxidative stress in *Dunaliella salina*. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 8(2): 764-777.
- Moussa, I.D.B., Athmouni, K., Chtourou, H., Ayadi, H., Sayadi, S., Dhouib, A. 2018. Phycoremediation potential, physiological, and biochemical response of *Amphorasub tropica* and *Dunaliella* sp. to nickel pollution. *Journal of Applied Phycology*: 30(2):9931-941.
- Nakashima, Y., Ohsawa, I., Konishi, F., Hasegawa, T., Kumamoto, S., Suzuki, Y., Ohta, S. 2009. Preventive effects of *Chlorella* on cognitive decline in age-dependent dementia model mice. *Neuroscience Letters*. 464(3): 193-198.
- Nascimento, I.A., Marques, S.S.I., Cabanelas, I.T.D., Pereira, S.A., Druzian, J.I., de Souza, C.O., Nascimento, M.A. 2013. Screening microalgae strains for biodiesel production: lipid productivity and estimation of fuel quality based on fatty acids profiles as selective criteria. *Bioenergy Research*. 6(1): 1-13.
- Nuzzo, G., Gallo, C., d'Ippolito, G., Cutignano, A., Sardo, A., Fontana, A. 2013. Composition and quantitation of microalgal lipids by ERETIC 1H NMR method. *Marine Drugs*. 11(10): 3742-3753.
- Radakovits, R., Jinkerson, R.E., Darzins, A., Posewitz, M.C. 2010. Genetic engineering of algae for enhanced biofuel production. *Eukaryotic cell*. 9(4): 486-501.
- Rai, V., Karthikaichamy, A., Das, D., Noronha, S., Wangikar, P.P., Srivastava, S. 2016. Multi-omics frontiers in algal research: techniques and progress to explore biofuels in the post genomics world. *Omics*. 20(7): 387-399.
- Rao, D., Webb, J.S., Kjelleberg, S. 2006. Microbial colonization and competition on the marine alga *Ulva australis*. *Applied and Environmental Microbiology*. 72(8): 5547-5555.
- Salmaninejad, M. 2016. Effect of culture mediums and light intensity on growth and carotenoides of *Dunaliella salina* in Urmia Lake. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*. 28(4): 771-783.
- Saranya, C., Hemalatha, A., Parthiban, C., Anantharaman, P. 2014. Evaluation of antioxidant properties, total phenolic and carotenoid content of *Chaetoceros calcitrans*, *Chlorella salina* and *Isochrysis galbana*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(8): 365-377.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40(6): 945-948.
- Simpson, B.K., Nollet, L.M., Toldrà, F., Benjakul, S., Paliyath, G. Hui, Y.H. 2012. *Food Biochemistry and Food Processing*. 2nd edition. Wiley-Blackwell. 912 p.
- Talebi, A.F., Mohtashami, S.K., Tabatabaei, M., Tohidfar, M., Bagheri, A., Zeinalabedini, M., Bakhtiari, S. 2013. Fatty acids profiling: a selective criterion for screening microalgae strains for biodiesel production. *Algal Research*. 2(3): 258-267.
- Tran, M., Van, C., Barrera, D.J., Pettersson, P.L., Peinado, C.D., Bui, J., Mayfield, S.P. 2013. Production of unique immunotoxin cancer therapeutics in algal chloroplasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 110(1): 15-22.
- Uma, R., Sivasubramanian, V., Niranjali Devaraj, S. 2011. Preliminary phycochemical analysis and in vitro antibacterial screening of green micro algae, *Desmococcus olivaceous*, *Chlorococcum humicola* and *Chlorella vulgaris*. *Journal of Algal Biomass Utilization*. 2(3): 74-81.
- Widjaja, A., Chien, C.C., Ju, Y.H. 2009. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 40(1): 13-20.
- Wu, L.C., Ho, J.A.A., Shieh, M.C., Lu, I.W. 2005. Antioxidant and antiproliferative activities of *Spirulina* and *Chlorella* water extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(10): 4207-4212.
- Yazdi, M.T., Ghasemi, Y., Ghasemian, A., Shokravi, S., Niknahad, H., Amini, M., Faramarzi, M.A. 2005. Bioconversion of hydrocortisone by cyanobacterium *Fischerella ambigua* PTCC 1635. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 21(6): 811-814.
- Zarei, M., Mobasher, M.A., Morowvat, M.H., Mousavi, P., Montazeri-Najafabady, N., Hajighahramani, N., Ghasemi, Y. 2016. Effects of menthone and piperitone on growth, chlorophyll a and β -carotene production in *Dunaliella salina*. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*. 6(9): 215-219.
- Zhishen, J. Mengcheng, T., Jianming, W. 2015. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 64: 555-559.
- Zonouzi, A., Auli, M., Dakheli, M.J., Hejazi, M.A. 2016. Oil Extraction from Microalgae *Dunaliella* sp. by Polar and Non-Polar Solvents. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*. 10(10): 629-632.