فصلنامه پرستار و پزشک در رزم/ زمستان ۹۹ / سال هشتم
ISSN: 2645-3940 DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54

Evaluation of culture conditions of Donalilla salina on its antioxidant content

Abstract

Introduction: Donalilla algae, especially Donalila salina, is one of the most studied algae cultivars for mass cultivation of Donalila as a food source.

Methods: Culture medium conditions with salinity (1, 3 and 5 M), light intensity (35, 127.5 and 220 µmol) and nitrogen source (200, 500 and 800 mmol / l) on the level of antioxidant activity of (DPPH) Donalilla salina was optimized. Therefore, 15 treatments were designed according to the Bonken box response level method in 16 minitabs.

Results: The results showed that different culture conditions (salinity, light intensity and nitrogen content) had a significant effect on the amount of antioxidants in Donalilla salina so that the amount of antioxidants decreased significantly with increasing nitrogen in algae culture medium and increased significantly with increasing salinity and light and varied in the range of DPPH 18.02 to DPPH 20.95.

Conclusion: The highest level of antioxidants (20.79% of DPPH) can be achieved by creating optimal conditions of light irradiation of 165 micromol photons, salinity of 3.34 M and nitrate concentration of 375.75 macromol per liter.

Keywords: Algae, Donalila salina, Antioxidant, Free radical scavenging of DPPH.

Article Info

Authors:

Alireza Dolatyari [1]
Orang Eyvazzadeh* [2]
Leila Nateghi [3]

Affiliations

1 . PhD Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
2 .* Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
3 .Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
*Correspondence email: orang_eyvazzadeh@yahoo.com

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]

[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]

فصلنامه پرستار و پزشک در رزم/ زمستان ۹۹ / سال هشتم

سخن آغازین 10.29252/npwjm.8.29.54 ISSN: 2645-3940

بررسی شرایط کشت جلبک دونالیلا سالینا بر میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی در سنجش میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آن

چکیده

مقدمه: جلبک دونالیلا، بخصوص دونالیلا سالینا، یکی از ریز جلبک‌هایی است که به عنوان یک منبع غذایی بیشترین میزان مطالعه جهت کشت انبوه دونالیلا بر روی آن صورت گرفته است.

روش‌کار: شرایط محیط کشت با شوری (۱، ۳ و ۵ مولار)، شدت نور (۳۵، ۱۲۷/۵ و ۲۲۰ میکرومول) و منبع نیتروژن (۲۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی مول بر لیتر) بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) جلبک دونالیلا سالینا بهینه سازی شد. بنابراین ۱۵ تیمار مطابق با روش سطح پاسخ باکس بنکن در مینی‌تب ۱۶ طراحی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد شرایط متفاوت کشت (میزان شوری، شدت نور و میزان نیتروژن) تأثیر قابل‌توجهی بر میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا دارد؛ بطوریکه میزان آنتی اکسیدانی با افزایش میزان نیتروژن در محیط کشت جلبک بطور معنی داری کاهش و با افزایش میزان شوری و میزان نور بطور معنی داری افزایش یافته و در محدوده DPPH ۱۸/۰۲ تا DPPH ۲۰/۹۵ متغیر بود.

نتیجه‌گیری: می توان با ایجاد شرایط بهینه تابش نور ۱۶۵ میکرومول فوتون، شوری ۳/۳۴ مولار و غلظت نیترات ۳۷۵/۷۵ ماکرومول بر لیتر به بالاترین میزان آنتی‌اکسیدان (۲۰/۷۹ درصد DPPH) دست یافت.

کلیدواژگان: جلبک، دونالیلا سالینا، آنتی‌اکسیدانی، مهار رادیکال آزاد DPPH .

اطلاعات مقاله

علیرضا دولت یاری[۱]
اورنگ عیوض زاده[۲]
لیلا ناطقی[۳]

وابستگی سازمانی نویسندگان

۱ دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۲*استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۳دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]

[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]

مقدمه

دونالیلا سالینا[1] جلبک سبز تک سلولی و شورپسندی با پراکندگی جغرافیایی وسیع است. این‌گونه از جنس دونالیلا تولیدکننده اولیه در محیطهای شور بوده و تحت شرایط القایی قادر به تولید مقدار فراوانی کاروتنوئید است. جلبک دونالیلا سالینا نخستین بار در سال ۱۸۳۸در حوضچه‌های نمکی در جنوب فرانسه توسط میشل فلیکس دونال تحت عنوان هماتوکوکوس معرفی گردید. با این وجود، تئودورسکو در سال ۱۹۰۵ نام دونالیلا را بر روی آن نهاد. اتل در سال ۱۹۸۳، جنس دونالیلا و ۱۶ جنس دیگر را در رده ی کلروپلیسه آ و راسته‌ی دونالیلس قرار داد این راسته شامل ۴ خانواده‌ی دونالیلا سالینا ، آسترموناداسه آ، دانجردیلاسه آ، راسی برسکیلاسه آ می‌باشد. با استفاده از منابع مختلف بهترین رده‌بندی ارائه‌شده برای جلبک دونالیلا سالینا به صورت زیر است: شاخه *Chlorophyta*، رده *Chlorophyceae*، راسته *Volvocales*، زیر راسته *Chlamydomonadinea*، خانواده *Polybepharidaceae*، جنس *Dunaliella* (۱).

چینیها و رومیها اولین مردمانی بودند که به ارزش جلبکها پی برده و از آن‌ها در زمینههای مختلف استفاده می‌کردند. بزرگ‌ترین نقش جلبکها را میتوان در اکوسیستمهای آبی جستجو کرد. در چنین محیطهایی جلبکها به عنوان تولیدکنندگان اولیه محسوب میشوند. در کشور ما به دلیل برخورداری از شرایط اقلیمی خاص، گسترش جلبکها چنان است که میتوان با بهرهگیری از آن‌ها در زمینه تولید ترکیبات و متابولیت‌های دارویی و مکملهای غذایی، از واردات این مواد از خارج از کشور جلوگیری نمود (۲). منبع طبیعی آن دریاچه‌های نمکی فوق اشباع میباشد و به همین دلیل اکوسیستم ایران به دلیل وجود دریاچههای آب شور متعدد مانند دریاچه ارومیه، قم و مارلو پرورش این جلبک را ممکن میسازد (۳).

جلبک دونالیلا سالینا دارای فعالیتهای زیستی مختلف نظیر فعالیت ضد سرطانی، ضد تصلب شرائین، ضد دیابت، بهبود دهنده نور چشم، ممانعت از آلرژی، سم زدایی و غیره است (۴). اندازه سلولی این میکروارگانیسم ۱۴-۶ میلی متر بوده و قادر به تجمع بتاکاروتن در دیواره سلولی خود میباشد. علاوه بر این، به آسانی قابل کشت است، سرعت کشت نسبتا بالایی داشته و محتوای چربی آن نیز بالاست (۵).

به علت کمبود تنوع زیستی در آبهای شور، گونههایی از جنس دونالیلا در این اکوسیستم، کمتر مورد تغذیه قرار می‌گیرند و به طور کلی عامل اصلی محدودکننده رشد و تکثیر آن‌ها در غلظت بالای نمک، میزان مواد غذایی و غلظت CO_2 محلول میباشد، درحالی که گونه‌های ساکن آب‌های شیرین غذای جانوران دیگر بوده و به این ترتیب جمعیت آن‌ها کاهش می‌یابد.

گونه‌های دونالیلا در محدوده دمایی از زیر صفر تا بالای ۳۸ درجه سانتی‌گراد زندگی می‌کنند. برای مثال *D.antarctica* در دمای زیر صفر درجه و بعضی از سویه‌های دونالیلا سالینا در شدت نور زیاد قادر به ادامه حیات هستند. این جلبک پراکنش وسیعی در عمق‌های مختلف آب‌ها داشته به‌طوری که برخی از گونه‌ها نظیر *D.viridis* در اعماق آب و دونالیلا سالینا در سطوح بالای آب زندگی می‌کنند و گونه *D.perva* با توجه به شرایط اکوسیستم ازجمله میزان شوری و شدت نور در عمق‌های مختلف زیست می‌نماید (۱).

بهترین منبع نیتروژن برای دونالیلا سالینا نیترات است و جذب نیترات وابسته به نور است برای مثال گزارش شده است که نیترات آمونیوم از تشکیل بتاکاروتن جلوگیری می‌کند (۶).

رادیکالهای آزادی که در داخل بدن تولید میشوند یا از محیط وارد بدن میگردند، سبب آسیب به ساختارهای سلولی نظیر DNA، پروتئین‌ها، لیپیدها و غشاهای سلولی شده و در بروز بیماریهای سرطان و آترواسکلروز نقش مهمی ایفا می‌کنند. همچنین این ترکیبات از عوامل اصلی فساد مواد غذایی و تولید ترکیبات سمی در غذا میباشند (۷ و ۸).

جلبکها محصولاتی ارزان قیمت برای مصرف انسانها میباشند. این محصولات غنی از پروتئین، رنگدانه، امگا ۳ و اسید چرب، که از لحاظ ارزش تغذیهای بسیار حائز اهمیت میباشند، هستند. از محاسن اصلی جلبکها، میتوان به انبارداری آسان و امکان استفاده از آن‌ها در فرآوری موادغذایی اشاره کرد. جلبکها دارای اثرات مفیدی بر سلامت انسان هستند؛ به طوریکه سازمان جهانی بهداشت توصیه به مصرف آن‌ها نموده است. جلبکها به عنوان طیفی از مواد غذایی مفید میباشند که میتوانند در صنعت غذاهای تجاری مورد استفاده قرار گیرند. دونالیلا سالینا به عنوان یک ماده آنتیاکسیدان و ضدسرطان دارای متقاضیان بسیار زیادی در سراسر دنیا است. با توجه به افزایش شیوع سرطان در ایران، استفاده از محصولات طبیعی حاوی آنتیاکسیدان میتواند نقش مهمی در فراهم آوردن تغذیه سالم و سلامتی افراد جامعه ایفا نماید. همچنین، ازآنجاییکه در سالیان اخیر کشور ما با خشکسالی شدیدی مواجه شده است کشت این جلبک، که نیاز به مصرف آب زیادی برای رشد ندارد، سبب خواهد گردید پرورش گسترده این جلبک به راحتی مهیا گردد (۹).

روش سطح پاسخ (RSM) Response surface method-ology در برگیرنده گروهی از تکنیکهای ریاضی و آماری است که امکان رسیدن به شرایط بهینه در یک سیستم پیچیده را فراهم میکند. پایه تئوریکی RSM ابزاری قوی برای بهینه سازی تجربی است که رابطهای را بین متغیرهای مستقل و متغیرهای وابسته جستجو میکند. طرح BOX-Behnken یک

1. *Dunaliella salina*

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]

[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]

طرح مستقل درجه دوم است که در برگیرنده طرحهای فاکتوریل کامل یا ناقص نمیباشد. در این طرح، ترکیبهای تیمارها در لبههای فضای فرآیند قرار ندارند بلکه در میانهها و مرکز واقع شدهاند. این طرحها قابل چرخش بوده و هر فاکتور باید دارای سه سطح باشد (۱۰).

اگرچه در ایران و جهان تحقیقات فراوانی در خصوص ترکیبات آنتیاکسیدان موجود در گیاهان صورت گرفته است، در مورد جلبکها این تحقیقات اندک بوده است. درنتیجه لازم است در خصوص ارزش گونههای جلبکی آبهای ایران تحقیقات وسیعی صورت گیرد. بطور مثال نخستین و همکاران (۱۳۹۵) بهینهسازی روش اندازه گیری ظرفیت آنتیاکسیدانی ریز جلبکها با استفاده از روش متداول Ferric Reducing Antioxidant Power(FRAP) (۱۱)، نبی زاده و همکاران (۱۳۹۷) کاربرد آبپنیر بعنوان محیط کشت جهت کشت ریزجلبک دونالیلا سالینا (۱۲)، Herrero و همکاران (۲۰۰۶) بهینهسازی استخراج آنتیاکسیدانها از ریزجلبک دونالیلا سالینا توسط مایعات تحت فشار (۱۳)، Belghith و همکاران (۲۰۱۶) رشد را تحت تأثیر آلودگی کادمیوم (Cd) و ارزیابی میزان ترکیبات فنولی، کاروتنوئیدی (۱۴) و Molina & Iovine (۲۰۱۸) ویژگیها و کاربرد جلبکها در مواد غذایی برای انسان و حیوانات را مورد بررسی قرار دادند (۱۵).

در این تحقیق با توجه به تنوع، پراکندگی و توان بالقوه جلبک دریاچه ارومیه، اقدام به نمونهبرداری و شناسایی ریز جلبک و بررسی میزان فعالیت آنتیاکسیدانی آن به روش مهار رادیکال آزاد (DPPH [2]) شد. هدف از این تحقیق بررسی تاثیر بهینهسازی شرایط کشت جلبک دونالیلا سالینا بر میزان فعالیت آنتیاکسیدانی آن بود.

روش کار

۱-۲- مواد

نمونههای آب حاوی جلبک از دریاچه ارومیه تهیه شد و نمونهبرداری با استفاده از ظروف شیشهای یک لیتری از مکانهای مختلف دریاچه انجام پذیرفت. مواد شیمیایی مورد مصرف در جهت انجام آزمون شامل اتانول، متانول و ۱ و ۱ دی فنیل -۲ پیکویل هیدرازیل (DPPH) (Merck-آلمان) بود.

۲-۲- کشت جلبک دونالیلا سالینا در غلظتهای مختلف شوری، نیتروژن و شدت نور

نمونههای آب حاوی جلبک تهیه شده از دریاچه ارومیه، به آزمایشگاه مواد غذایی اداره بهداشت، امداد و درمان نیروی زمینی ارتش جمهوری اسلامی ایران منتقل گردیدند. پس از خالص سازی با استفاده از روش پلیت آگار، کشت سریالی صورت گرفت. شرایط مختلف محیط کشت با شوری ۱، ۳ و ۵ مولار و غلظتهای نیترات ۲۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ ماکرومول بر لیتر برای انجام تحقیق در نظر گرفته شد. نمونههای آماده شده در ژرمیناتور تحت تابش نورهای ۳۵، ۱۲۷/۵ و۲۲۰ میکرومول فوتون قرار داده شدند و برای جلوگیری از خطا در آزمایش مورد نظر از هر نمونه سه تکرار تهیه گردید. جهت اندازهگیری میزان رشد جلبک دونالیلا سالینا، شمارش سلولها با نمونهبرداری از ۳ تکرار هر تیمار، به صورت روزانه انجام گرفت. شرایط مختلف محیط کشت جلبک دونالیلا سالینا فراهم شد و میزان فعالیت آنتیاکسیدانی جلبکهای تولید شده در شرایط مختلف، مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۶).

۳-۲- اندازه گیری فعالیت آنتیاکسیدانی (DPPH)

۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل یک ترکیب رادیکالی پایدار با رنگ بنفش میباشد که با احیا شدن توسط عناصر دهنده الکترون یا هیدروژن (ترکیبات آنتیاکسیدانی) به دی فنیل پیکریل هیدرازین زرد رنگ تبدیل میشود. در این روش به طور اختصار، ۰/۴ میلیلیتر از عصاره گیاه که توسط اسید گالیک و ترولوکس (۴۰۰-۵۰ میکروگرم بر لیتر) جدا شده بود با ۳/۶ میلیلیتر محلول متانولیک DPPH به عنوان نمونه کنترل استفاده گردیده، تمامی نمونهها به مدت یک دقیقه ورتکس شده و بعد از ۳۰ دقیقه گرمخانهگذاری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد جذب نوری نمونهها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (ساخت کشور آمریکا- UV-Visible) در طول موج ۵۱۷ نانومتر در برابر شاهد قرائت شد و با استفاده از معادله ۱ محاسبه گردید (۹).

معادله ۱:

$$\text{ABTS inhibition (\%)} = \frac{A_{Control} - A_{Sample}}{A_{Control}} \times 100$$

در نهایت نتایج بصورت IC ۵۰ (غلظتی از عصاره که لازم است تا ۵۰ درصد از فعالیت آنتیاکسیدانیش را انجام دهد) بیان گردید (۷و۱۷).

۴-۲- روش تجزیه و تحلیل دادهها

تجزیه و تحلیل دادههای حاصل از بررسی شرایط بهینه محیط کشت (شوری، شدت نور و منبع نیتروژن) بر میزان فعالیت آنتیاکسیدانی (DPPH) جلبک دونالیلا سالینا، توسط نرم افزار سطح پاسخ به روش باکس بنکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]

[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]

یافته‌ها

۳-۱- نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ برای میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا در شرایط مختلف کشت

جدول شماره ۱ و معادله ۲ به ترتیب نتایج آنالیز واریانس میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا و مدل رگرسیونی میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا در شرایط مختلف کشت (میزان نیتروژن- نور و شوری) را نشان می‌دهند. بر اساس جدول ۱ مدل رگرسیونی پیش‌بینی شده معنی‌دار (p≤۰/۰۵) بود. مقدار ضریب تبیین این مدل (R-Sq) مقدار ۹۶/۸۶ و ضریب تبیین اصلاح شده آن (R-Sq(adj)) مقدار ۱۹/۲۰ به دست آمد که نشان‌دهنده برازش خوب مدل به داده‌های آزمایشی بود. اثرات خطی و مربعی هر سه متغیر میزان شوری، شدت نور و میزان نیتروژن بر میزان آنتیاکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا معنی‌دار بود (p≤۰/۰۵). همچنین اثر متقابل «شدت نور و شوری» بر میزان آنتیاکسیدان معنی‌دار (p≤۰/۰۵) بود. با این وجود، اثرات متقابل «میزان نیتروژن و شدت نور» و «شوری و میزان نیتروژن» بر میزان آنتیاکسیدان معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). با توجه به میزان فاکتور F، اثر خطی شدت نور و پس از آن اثر مربعی شدت نور بیشترین تأثیر را در میزان آنتیاکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا داشتند (معادله ۲).

شکل شماره ۱(a) نتایج اثرات متقابل و سطحی (شوری × شدت نور) بر میزان آنتی□اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا در شرایطی که نیتروژن در ۰۰۵ ماکرومول بر لیتر ثابت نگه داشته شد را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است میزان آنتی‌اکسیدان ۱۲/۰ درصد HPPD و بالاتر از آن، تحت تابش نور ۲۵۱ تا ۹۹۱ میکرومول فوتون، شوری ۲/۸ تا ۴/۲ مولار و غلظت نیترات ثابت۰۰۵ ماکرومول بر لیتر مشاهده گردید.

۳-۲- نتایج اثرات متقابل و سطحی «شوری × شدت نور»، «شوری × میزان نیتروژن» و «نیتروژن × شدت نور» بر میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا

شکل شماره ۱(a) نتایج اثرات متقابل و سطحی (شوری × شدت نور) بر میزان آنتیاکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا در شرایطی که نیتروژن در ۵۰۰ ماکرومول بر لیتر ثابت نگه داشته شد را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است میزان آنتی‌اکسیدان ۰/۲۱ درصد DPPH و بالاتر از آن، تحت تابش نور ۱۵۲ تا ۱۹۹ میکرومول فوتون، شوری ۲/۸ تا ۴/۲ مولار و غلظت نیترات ثابت۵۰۰ ماکرومول بر لیتر مشاهده گردید.

شکل شماره ۱ (b) نتایج اثرات متقابل و سطحی (شوری × میزان نیتروژن) بر میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا، در شرایطی که تحت شدت نور ۱۲۷/۵ میکرومول فوتون ثابت نگه داشته شد را نشان می‌دهد. میزان آنتی‌اکسیدان ۸/۲۰ درصد DPPH و بالاتر از آن، با شوری ۲/۲ تا ۵ مولار و غلظت نیتروژن ۲۰۰ تا ۵۸۰ ماکرومول بر لیتر تحت تابش نور ثابت ۱۲۷/۵ میکرومول فوتون مشاهده گردید.

شکل شماره ۱ (C) نتایج اثرات متقابل و سطحی (میزان نیتروژن × شدت نور) بر میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا، در شرایطی که میزان شوری ۳ مولار ثابت نگه داشته شد، را نشان می‌دهد. میزان آنتی‌اکسیدان ۲۱ درصد DPPH و بالاتر از آن، در نیتروژن ۲۲۰ تا ۵۵۰ ماکرومول بر لیتر و شدت تابش نور ۱۳۰ تا ۲۰۵ میکرومول فوتون با میزان شوری ثابت ۳ مولار مشاهده گردید.

۳-۳- نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH جلبک دونالیلا سالینا در شرایط مختلف کشت به روش آزمون شده و پیش بینی شده

جدول شماره ۲، میزان آنتیاکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا را در شرایط مختلف کشت به روش آزمون شده و پیش بینی شده نشان می‌دهد. با توجه به نتایج به دست آمده اختلاف معنی‌داری بین نتایج میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا کشت شده در شرایط مختلف به روش آزمون شده و پیش بینی شده مشاهده نگردید.

با توجه به نتایج جدول شماره ۲، مشاهده می‌شود که شرایط متفاوت کشت (میزان شوری، شدت نور و میزان نیتروژن) تأثیر قابل‌توجهی بر میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا دارد؛ بطوریکه میزان آنتیاکسیدان در محدودهDPPH ۰۲/۱۸ تا DPPH ۹۵/۲۰ متغیر بود. بالاترین میزان آنتیاکسیدان ۲۰/۹۵ درصد DPPH تحت تابش نور ۲۲۰ میکرومول فوتون، شوری ۳ مولار و غلظت نیترات ۲۰۰ ماکرومول بر لیتر به دست آمد و کمترین میزان آنتی‌اکسیدان ۰۲/۱۸ درصد DPPH تحت تابش نور ۳۵ میکرومول فوتون، شوری ۳ مولار و غلظت نیترات ۸۰۰ ماکرومول بر لیتر به دست آمد.

۳-٤- شرایط بهینه میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا در شرایط مختلف کشت

مطابق با شکل ۲، شرایط بهینه پیش‌بینی شده جهت تولید حداکثر میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا ۱۲/۲۱ درصد DPPH با ۱۰۰ درصد مطلوبیت، تحت تابش

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]

[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]

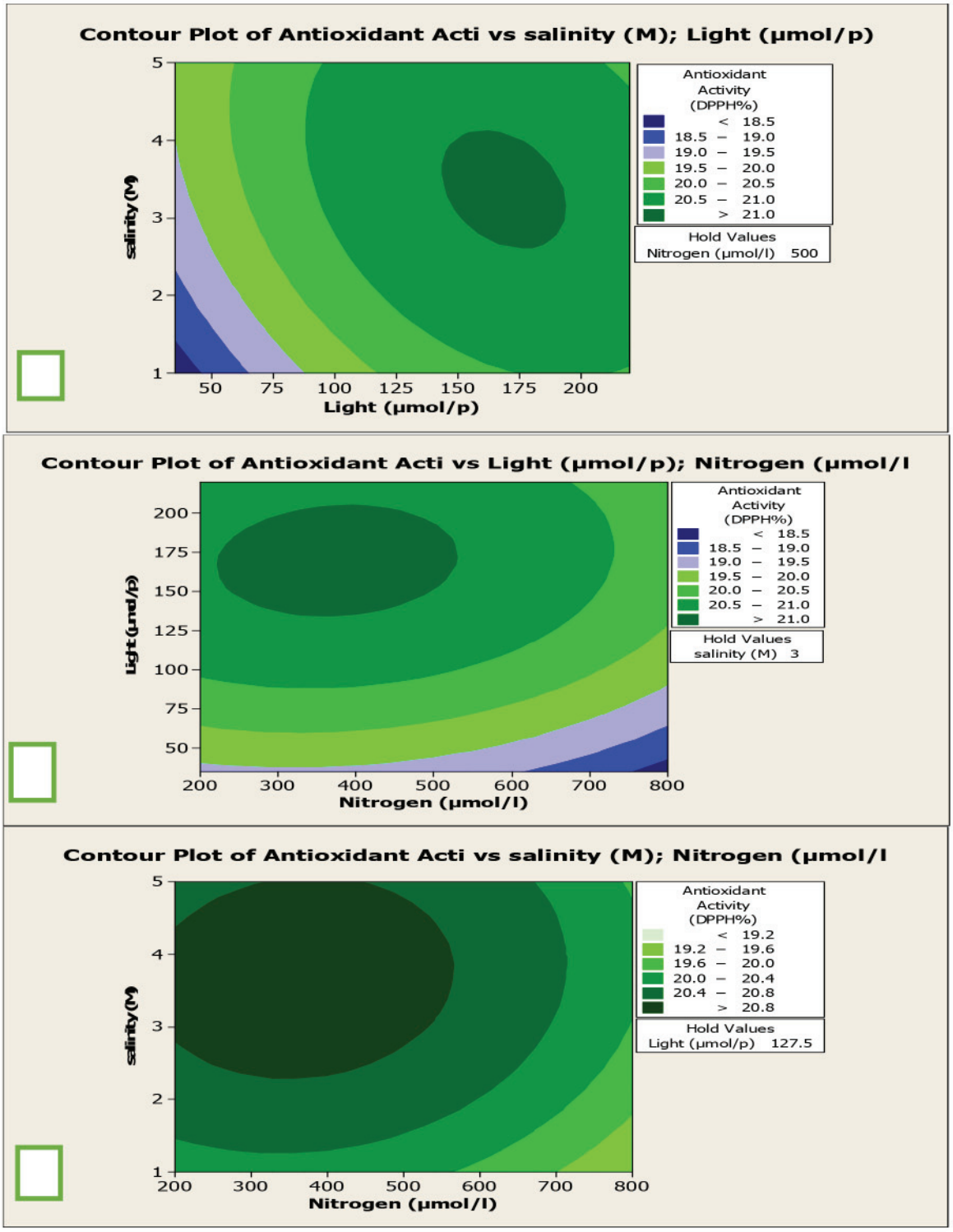
جدول شماره ۱- نتایج آنالیز واریانس میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک *دونالیلا سالینا* در شرایط مختلف کشت (میزان نیتروژن- نور و شوری).

منبع تغییرات Source	درجه آزادی degrees of freedom	کارایی رگرسیون Regression Coefficients	مجموع مربعات sum of squares	میانگین مربعات *Mean square*	مقدار F F-value	مقدار P P-value
ثابت رگرسیون Constant	۹	۲۰/۸۵۰۰	۱۰/۹۹۵۹	۱/۲۲۱۷۷	۱۷/۱۳	۰/۰۰۳*
اثرات خطی Linear	۳	–	۷/۱۰۲۵	۲/۳۶۷۵۱	۳۳/۱۹	۰/۰۰۱*
نیتروژن (A) Nitrogen	۱	−۰/۴۲۱۳	۱/۴۱۹۶	۱/۴۱۹۶۱	۱۹/۹۰	۰/۰۰۷*
نور (B) Light	۱	۰/۷۸۳۸	۴/۹۱۴۱	۴/۹۱۴۱۱	۶۸/۹۰	۰/۰۰۰*
شوری (C) Salinity	۱	۰/۳۱۰۰	۰/۷۶۸۸	۰/۷۶۸۸۰	۱۰/۷۸	۰/۰۲۲*
اثرات درجه دوم Square	۳	–	۳/۳۱۴۵	۱/۱۰۴۸۳	۱۵/۴۹	۰/۰۰۶*
نیتروژن× نیتروژن (A^2) Nitrogen × Nitrogen	۱	−۰/۴۴۳۷	۰/۴۷۵۷	۰/۷۲۷۰۷	۱۰/۱۹	۰/۰۲۴*
نور × نور (B^2) Light * Light	۱	−۰/۸۰۳۸	۲/۲۱۴۳	۲/۳۸۵۲۸	۳۳/۴۴	۰/۰۰۲*
شوری × شوری (C^2) Salinity * Salinity	۱	−۰/۴۱۱۲	۰/۶۲۴۵	۰/۶۲۴۴۷	۸/۷۶	۰/۰۳۲*
اثر متقابل Interaction	۳	–	۰/۵۷۸۹	۰/۱۹۲۹۸	۲/۷۱	۰/۱۵۶
نیتروژن × نور (A×B) Nitrogen × Light	۱	۰/۱۱۷۵	۰/۰۵۵۲	۰/۰۵۵۲۳	۰/۷۷	۰/۴۱۹
نیتروژن × شوری (A×C) Nitrogen × Salinity	۱	۰/۰۷۰۰	۰/۰۱۹۶	۰/۰۱۹۶۰	۰/۲۷	۰/۶۲۳
نور × شوری (B×C) Light × Salinity	۱	−۰/۳۵۵۰	۰/۵۰۴۱	۰/۵۰۴۱۰	۷/۰۷	۰/۰۴۵*
باقی مانده خطا (Residual Error)	۵	–	۰/۳۵۶۶	۰/۰۷۱۳۲	–	–
عدم برازش مدل Lack-of- Fit	۳	–	۰/۳۵۵۸	۰/۱۱۸۶۱	۲۹۶/۵۲	۰/۰۰۳*
خطای خالص Pure Error	۲	–	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۴۰	–	–
کل (Total)	۱۴	–	۱۱/۳۵۲۶	–	–	–
R^2	۹۶/۸۶٪					
R-Sq(adj)	۹۱/۲۰٪					

*اختلاف معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۵)

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]

[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]



شکل شماره ۱- اثرات متقابل: (a) شوری × شدت نور بر میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک *دونالیلا سالینا* درمیزان نیتروژن ثابت ۵۰۰ ماکرومول بر لیتر، (b) شوری × میزان نیتروژن بر میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک *دونالیلا سالینا* درمیزان شدت نور ثابت ۱۲۷/۵ میکرومول فوتون و (c) شدت نور × میزان نیتروژن بر میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک *دونالیلا سالینا* با میزان شوری ثابت ۳ مولار.

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]

[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]

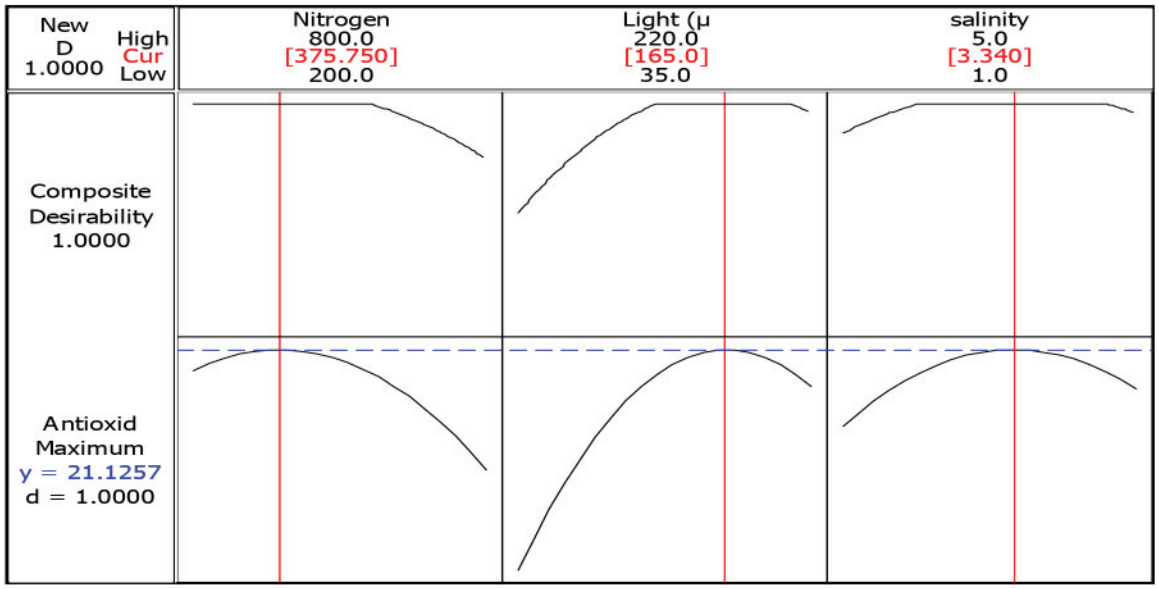
جدول شماره ۲- مقایسه بین میزان آنتی‌اکسیدان آزمون شده با پیش بینی شده موجود در جلبک دونالیلا سالینا در شرایط مختلف

تیمار Treatment	نیتروژن (µmol/l)	نور (µmol/p)	شوری (M)	آنتی‌اکسیدانی آزمون شده (DPPH)%	آنتی‌اکسیدانی پیش بینی شده DPPH %	باقی‌مانده Residual
۱	۲۰۰	۱۲۷/۵	۱	۲۰/۱۷۰	۲۰/۱۷٦	-۰/۰۰٦
۲	۵۰۰	۲۲۰/۰	۱	۲۰/۲۱۰	۲۰/٤٦٤	-۰/۲۵٤
۳	۲۰۰	۲۲۰/۰	۳	۲۰/۹۵۰	۲۰/٦۹۰	۰/۲٦۰
٤	۵۰۰	۱۲۷/۵	۳	۲۰/۸۷۰	۲۰/۸۵۰	۰/۰۲۰
۵	۵۰۰	۳۵/۰	۱	۱۸/۲۵۰	۱۸/۱۸٦	۰/۰٦٤
٦	۲۰۰	۱۲۷/۵	۵	۲۰/٤٦۰	۲۰/٦۵٦	-۰/۱۹٦
۷	۵۰۰	۱۲۷/۵	۳	۲۰/۸۳۰	۲۰/۸۵۰	-۰/۰۲۰
۸	۸۰۰	۱۲۷/۵	۱	۱۹/۳۹۰	۱۹/۱۹٤	۰/۱۹٦
۹	۸۰۰	۱۲۷/۵	۵	۱۹/۹٦۰	۱۹/۹۵٤	۰/۰۰٦
۱۰	۵۰۰	۳۵/۰	۵	۱۹/۷۷۰	۱۹/۵۱٦	۰/۲۵٤
۱۱	۵۰۰	۱۲۷/۵	۳	۲۰/۸۵۰	۲۰/۸۵۰	۰/۰۰۰
۱۲	۸۰۰	۳۵/۰	۳	۱۸/۰۲۰	۱۸/۲۸۰	-۰/۲٦۰
۱۳	۵۰۰	۲۲۰/۰	۵	۲۰/۳۱۰	۲۰/۳۷٤	-۰/۰٦٤
۱٤	۸۰۰	۲۲۰/۰	۳	۲۰/۱٤۰	۲۰/۰۸۳	۰/۰۵۸
۱۵	۲۰۰	۳۵/۰	۳	۱۹/۳۰۰	۱۹/۳۵۷	-۰/۰۵۷

۴-۳- شرایط بهینه میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک *دونالیلا سالینا* در شرایط مختلف کشت

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]

[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]



شکل شماره ۲- شرایط بهینه میزان آنتی‌اکسیدان موجود در جلبک *دونالیلا سالینا* درشرایط مختلف کشت

نـور ۱۶۵ میکرومـول فوتـون، شـوری ۳۴/۳ مـولار و غلظـت نیتـرات ۷۵/۳۷۵ ماکرومـول بـر لیتـر بـود. شـرایط بهینـه بـرای اسـتخراج حداکثـر میـزان آنتی‌اکسـیدان پیـش بینـی شـده بـه صـورت عملـی در آزمایشـگاه اعمـال شـد و میـزان آنتی‌اکسـیدان آن ۲۰/۷۹ درصـد DPPH بدسـت آمـد کـه اختـلاف معنـی‌داری بـا میـزان آنتی‌اکسـیدان پیش‌بینـی شـده توسـط روش سـطح پاسـخ نداشـت (p/۰۵>۰).

بحث و نتیجه گیری

تحقیقـات در مـورد پتانسـیل آنتی‌اکسـیدانی، موضوعـی مهـم در زمینـه صنایـع دارویـی و غذایـی اسـت. اکسیداسـیون حاصـل از گونههـای فعـال اکسـیژن میتوانـد سـبب از هـم پاشـیدگی غشـاء سـلولها، آسـیب بـه پروتئینهـای غشـایی و موتاسـیون DNA و گسـترش بسـیاری از بیماریهـا همچـون سـرطان، آسـیب کبـدی و بیماریهـای قلبـی و عروقـی گـردد. اگرچـه بـدن دارای روندهـای دفاعـی همچـون آنزیمها و مولکولهـای آنتیاکسـیدانی اسـت کـه رادیکالهـای اکسـیژن را دفـع میکننـد، ولـی قـرار گرفتـن مـداوم در معـرض مـواد شـیمیایی و آلایندهها میتوانـد منجـر بـه افزایـش تعـداد رادیکالهـای آزاد خـارج از تـوان بـدن شـود و موجـب آسـیب اکسـیداتیو غیـر قابـل بازگشـت گـردد. بنابرایـن، آنتیاکسـیدانها بـا خاصیـت جاروکننـدگی رادیکالهـای آزاد نقشـی مهـم در پیشـگیری یـا درمـان بیماریهـای مرتبـط بـا اکسیداسـیون یـا رادیکالهـای آزاد ایفـا میکننـد (۱۸).

نتایـج بدسـت آمـده نشـان داد کـه میـزان فعالیـت آنتی‌اکسـیدانی بـا افزایـش میـزان نیتـروژن در محیـط کشـت جلبـک، بطـور معنـی‌داری کاهـش یافتـه و بـا افزایـش میـزان شـوری و میـزان نـور بطـور معنـی‌داری افزایـش می‌یابـد. جلبـک دونالیـلا سـالینا مقاوم‌تریـن موجـود یوکاریوتـی در مقابـل شـوری اسـت کـه در بسـیاری از محیطهـای حـاوی نمـک نظیـر دریاچههـا و مردابهـای آب شـور یافـت میشـود. میـزان شـوری مطلـوب جهـت رشـد مناسـب دونالیـلا سـالینا غلظـت ۳ مـولار (۱۷۴ مـولار) اسـت ولـی نقـاط بحرانـی شـوری را ۵/۰ مـولار (۲۹ مـولار) و ۵ مـولار (۲۹۰ مـولار) ذکـر نمودهانـد (۱۹). بـا توجـه بـه مطالعـات پیشـین، علـت افزایـش ترکیبـات آنتی‌اکسـیدانی در ایـن مطالعـه، کـه حاصـل افزایـش نـور و میـزان نمـک اسـت، می‌توانـد ایجـاد تنشـهای شـیمیایی نظیـر فقـر مـواد غذایـی و شـوری زیـاد باشـد؛ زیـرا جلبـک دونالیـلا سـالینا در تنشـهای حاصـل از افزایـش نـور، قـادر بـه افزایـش سـنتز و تجمـع کاروتنوئیدهـا تـا ۴۲ پیکوگـرم در سـلول میباشـد. ایـن ترکیبـات دارای فعالیت‌هـای آنتی‌اکسـیدانی بـوده و ایفـا کننـده نقشـهایی حیاتـی از جملـه حفاظـت سـلول در برابـر تشعشـاعات بـالا و از بیـن بـردن رادیکالهـای آزاد میباشـند (۲۰). در نتیجـه، بـا توجـه بـه بـالا بـودن میـزان منابـع نیتروژنـی در مطالعـه حاضـر، علـت کاهـش فعالیـت آنتی‌اکسـیدانی، بـالا بـودن مقـدار منابـع نیتروژنـی اسـت.

بـه طـور کلـی تغییـرات در محتـوای آنتی‌اکسـیدانی در سـلولهای دونالیـلا بسـتگی بـه غلظـت منبـع نیتـروژن و نمـک محیـط دارد. همچنیـن سـطح آنتیاکسـیدانی سـلولی در دونالیـلا سـالینا بـا سـطح پاییـن نیتـروژن، غلظـت نمـک بـالا و شـدت نـور زیـاد افزایـش

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]
[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]

میبابد (۲۱).

در پژوهشی دیگر، سپهوند و همکاران (۱۳۹۷) پس از بررسی امکان استخراج انواع رنگدانه و تولید میزان بالای مواد آنتیاکسیدان توسط ریزجلبک دونالیلا سالینا تحت شرایط مختلف کشت (سه محیط کشت تحت شرایط فاقد منبع نیتروژن، استرس نمک و شدت نور بالا با دوره نوری ۱۲ ساعته روشن، تاریک)، بیان نمودند که ریزجلبک دونالیلا سالینا تحت شرایط شدت نور بالا به خوبی رشد کرده، راندمان بهتری نسبت به سایر کشتها داشته و میزان محتوای ترکیبات آنتیاکسیدانی آن نیز در این کشت بیشتر از سایر کشتها بوده است (۲۲)، که با نتایج تحقیق حاضر که بیانگر افزایش میزان آنتیاکسیدان با افزایش میزان شدت نور بود، مشابهت داشت.

Hemalatha و همکاران (۲۰۱۳) خواص آنتی‌اکسیدانی یک دیاتوم دریایی به نام *Navicula clavata* و ریز جلبکهای سبز *Chlorella marina* و دونالیلا سالینا را بررسی کرده و بیان نمودند در جلبک دونالیلا سالینا، بیشترین میزان خواص آنتی‌اکسیدانی به ترتیب در عصاره متانولی، استونی و هگزانی مشاهده شد. درحالیکه عصاره متانولی ریز جلبک‌های سبز و دیاتوم از پتانسیل آنتی‌اکسیدانی خوبی برخوردار بودند. این مطالعه نشان میدهد که عصارههای مختلف حلال، حاوی ترکیبات آنتیاکسیدانی مختلفی بوده و قادر به از بین بردن انواع مختلف رادیکالهای آزاد هستند (۲۳) که با نتایج تحقیق حاضر که بیان کننده بالا بودن میزان آنتیاکسیدانی در عصاره متانولی است، همخوانی دارد.

Belghith و همکاران (۲۰۱۶)، رشد دونالیلا سالینا را تحت تاثیر آلودگی کادمیوم (Cd) بررسی نمودند و نشان دادند که وجود این فلز در محیط باعث تحریک سنتز برخی از متابولیتهای ثانویه مانند پلیفنولها، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها میشود. این ترکیبات دارای نقش مهمی در محافظت از دونالیلا سالینا در برابر گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر[3] (ROS) تولید شده در حضور Cd در محیط هستند که این امر با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دونالیلا سالینا در معرض Cd نشان داده شده است (۱۴). در تحقیق حاضر، نور و میزان شوری بالا سبب افزایش میزان پتانسیل آنتیاکسیدانی شدند که این عوامل نشان دهنده تحریک سنتز مواد آنتیاکسیدانی میباشد.

به طور کلی تحقیقات نشان دادهاند که در جلبکها عواملی چون شوری، دما، منبع نیتروژن و اکسیژن محیط، pH، عناصر سنگین، پرتوهای UV و سایر عوامل تنشزای محیطی بر ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتیاکسیدانی اثر میگذارند؛ بنابراین می‌توان این تفاوت را در اعضای مختلف یک گونه، که در زمانها و مکانهای متفاوت جمعآوری شدهاند، به عوامل محیطی و تغییر در پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب نسبت داد (۲۴).

این پژوهش با هدف بررسی شرایط بهینه جهت رشد و تولید مواد آنتیاکسیدانی تحت شرایط مختلف ایجاد شده در محیط کشت جلبک دونالیلا سالینا انجام گردید. شرایط محیط کشت با شوری (۱، ۳ و ۵ مولار)، شدت نور (۳۵، ۱۲۷/۵ و ۲۲۰ میکرومول) و منبع نیتروژن (۲۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میلی مول بر لیتر) بر میزان فعالیت آنتیاکسیدانی(DPPH)) جلبک دونالیلا سالینا بهینهسازی شد. نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنتیاکسیدانی با افزایش میزان نیتروژن در محیط کشت جلبک بطور معنیداری کاهش و با افزایش میزان شوری و میزان نور بطور معنیداری افزایش میابد. شرایط بهینه پیش‌بینی شده جهت تولید حداکثر میزان آنتیاکسیدان موجود در جلبک دونالیلا سالینا ۱۲/۲۱ درصد DPPH با ۱۰۰ درصد مطلوبیت، تحت تابش نور ۱۶۵ میکرومول فوتون، شوری ۳۴/۳ مولار و غلظت نیترات ۷۵/۳۷۵ ماکرومول بر لیتر بدست آمد که با بهینهسازی شرایط تولید میتوان میزان ترکیبات آنتیاکسیدانی را از ۲۰/۹۵ به ۲۱/۱۲۵ افزایش داد.

3.Reactive oxygen species

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]

[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]

منابع

1. Ben- Amotz A, Avron M. The role of glycerol in the osmotic regulation in the halophilic algae, *Dunaliella parva*. Plant physiol. 1973: 51; 875-878.
2. Shahsavani L, Mostaghim T. The Effects of seaweed Powder on Physicochemical Properties of Yellow Alkaline Noodles. Journal of Food Biosciences and Technology. 2017: 7(2); 27-34.
3. Bernardo MP, Coelho LF, Sass DC, Contiero J. L-(+)-Lactic acid production by Lactobacillus rhamnosus B103 From dairy industry easte. Brazilian journal of Microbiology. 2016:47(3); 640-646.
4. Boscaiu M, Sanchez M, Bautista I, Donar P, Lidon A, Linares J, Vicente O. Phenolic copounds as stress markers in plants from gypsum habitas. Bulletin of university of agricultural sciemce and veterinary medicine cluj-nopoca. Horticultur. 2010: 67(1); 44-49.
5. Cho K, Kim KN, Lim N L, Kim MS, Ha JC, Shin H H, Oda T. Enhances biomass and lipid production by supplement of myo-inositol with oceanic microalga Dunaliella salina. Biomass and bioenergy. 2015: 72; 1-7.
6. Milko ED. Study of requirement of two Dunaliella sp in mineral and organic components of the mediua. Muscow univercity vest Biologhy. 2008: 6; 21-23.
7. Beyzaei H, Hashmi SH, Jamshidjan A, Ghasemi B, Moghaddam-Manesh MR. Evaluation of Antibacterial, Antifungal and Antioxidant Effects of the Hydroalcoholic Extract of Frankincense. Quarterly Journal of Nurse and Physician in War. 2018: 21(6); 60- 66. [Persian]
8. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.22-7915 ;90(17) :1993 .
9. Rathinam R, Wyrwisz J, Kurek MA, Wierzbicka A. Applications of microalgae paste and powder as food and feed: An update using text mining tool. Beni-suef university- Journal of Basic and Applied sciences. 2016: 14(4); 523-528.
10. Montgomery DC. Design and analysis of experiments. John Wiley & Sons.2017: 490-506.
11. Nakhostin Agah M, Aghaei, A, Rashidnejad Z. Measurement of antioxidant activity of methanolic extract of Donalilla salinaba using antioxidant power reduction method, 19th National Congress and 7th International Congress of Biology of Iran, Tabriz, 2016, https: / /civilica.com/doc/688169.[Persian]
12. Nabizadeh Gholenji A, Rezazade Bari M, Atashbar B, Amiri S, Lotfi Goshayesh M. Use of cheese whey as an alternative culture medium for the production of *Donalia Salina* algae. JFST. 2018: 78(15); 43-54. [Persian]
13. Herrero M, Jaime L, Martín-Álvarez PJ, Cifuentes A, Ibáñez E. Optimization of the Extraction of Antioxidants from *Dunaliella salina* Microalga by Pressurized Liquids. J. Agric. Food Chem. 2006: 54(15); 5597–5603.
14. Belghith T, Athmouni Kh, Bellassoued Kh, El Feki A, Ayadi H. Physiological and biochemical response of Dunaliella salina to cadmium pollutio. Journal of Applied Phycology. 2016: 28; 991–999.
15. Molina A, Iovine A. Microalgae characterization for consolidated and new application in human food, animal feed and nutraceuticals. International journal of research and publc health. 2018: 54(4); 243-265.
16. Tavalaei S, Mazaheri Asadi M, Rostami Kh. Cultivation of Donalina salina and production of carotenoids from it, a step towards sustainable development, Second National Conference on Agriculture and Sustainable Development (Opportunities and Challenges Ahead), Shiraz, Islamic Azad University, Shiraz Branch. 2011. pp 1-7. [Persian]

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]

[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]

the red Alga Gracilariopsis tenuifrons(Gracilarials,Rhodophyta).Jornal of applied phycology. 2002: 14; 151-157.

17. Shah N, Shah M, Patel M, Patel R. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some new biquinoline derivatives containing a thiazole moiety. Chinese Chemical Letters. 2012: 23; 445-454.

18. Hassan Sultan T, Nowruzi M, Amozegar MA. Investigation of chlorophyll a and b and total carotenoids as well as antioxidant activity of four species of green algae isolated from the shores of Golestan Caspian Sea, New Journal of Biotechnology-Cellular-Molecular. 2016: P 31-36. [Persian]

19. Trenkenshu RP, Gevorgiz RG, Borovkov AB. The experience of industrial cultivation Dunaliella salina. Sevastopol. 2005: 90-97.

20. Trenkenshu RP. Simplest models of microalgae growth, 2 queasy continuous culture. Ecologia moray. 2005: 67; 98-110.

21. Helena S, Zainuri M, Suprijanto J. Microalgae Dunaliella salina (Teodoresco, 1905) Growth Using the LED Light (Light Limiting Dioda) and Different Media. Aquatic Procedia. 2016: 7; 226-230.

22. Sepahvand M, Rashidi H. Possibility of extracting various pigments by Donalilla salina microalgae under different culture conditions. Fourth National Conference on New Sciences and Technologies of Iran, Tehran, Association for the Development and Promotion of Basic Sciences and Technologies. 2018. p. 94. [Persian]

23. Hemalatha A, Girija K, Parthiban C, Saranya C, Anantharaman P. Antioxidant properties and total phenolic content of a marine diatom, Navicula clavata and green microalgae, Chlorella marina and Dunaliella salina. Advances in Applied Science Research (Pelagia Research Library). 2013: 4(5); 151-157.

24. Rossa MM, Oliveira MC, Okamoto OK, Lopes PF, Ande coleicolo P. Effect of visible light on super oxidase dismutase SOD activity in

[Downloaded from npwjm.ajaums.ac.ir on 2025-07-03]

[DOI: 10.29252/npwjm.8.29.54]