

بررسی میزان کلروفیل a و b و توتال کاروتوئید و هم چنین فعالیت آنتی اکسیدانی چهار گونه جلبک سبز جداسده از سواحل گلستان دریای خزر

طیبه حسن سلطان^{۱*}، مصطفی نوروزی^۲، محمد علی آموزگار^۲

۱- گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران

۳- اکستریموفیل آزمایشگاهی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست شناسی و قطب علمی تکامل نژادی از موجودات زنده، دانشکده علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: جلبک ها به دلیل ارزش غذایی، خواص دارویی، پروتئین بالا، ویتامین ها، مواد معدنی و رنگدانه های طبیعی از جمله فیکو سیانین و کاروتوئیدها کاربرد فراوانی در صنایع غذایی، بهداشتی - آرایشی، مکمل های غذایی دام و طیور و آبیان دارند. کاروتوئید ها گروه مهمی از رنگدانه های طبیعی هستند که فقط توسط گیاهان و برخی میکرو ارگانیسم ها نظیر جلبک ها تولید شده که علاوه بر تولید رنگدانه های مفید دارای خاصیت آنتی اکسیدانی نیز می باشند.

مواد و روش ها: در این تحقیق نمونه برداری از سواحل گلستان دریای خزر انجام شد. کشت آن ها در محیط BBM و F/۲ در شرایط مناسب رشد انجام شد. در این مطالعه به منظور شناسایی گونه های ریز جلبک از روش های استاندارد مورفولوژیکی استفاده شد. هم چنین برای اندازه گیری کلروفیل a و b و توتال کاروتوئید از عصاره گیری متابولی و برای فعالیت آنتی اکسیدانی از مهار رادیکال پایدار DPPH استفاده شد.

یافته ها: سویه های جدا شده سلنستروم، کلرلا ولگاریس، کلامیدوموناس دیاریانا، کلرلا سورکینیا بودند که میزان کلروفیل a آن ها به ترتیب ۷/۷، ۵/۱، ۶/۷، ۷/۸، ۵/۱۲، ۲/۵ و میزان توتال کاروتوئید آن ها به ترتیب ۲/۲، ۱/۴، ۲/۴، ۱/۶ میلی گرم بر گرم به دست آمد و IC₅₀ فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها در عصاره متابولی به ترتیب ۲/۸۷، ۴/۰۳، ۲/۷۸، ۳/۷۵ میلی گرم و IC₅₀ در عصاره هگزانی به ترتیب ۴/۹۰، ۶/۴۹، ۳/۷۵، ۴/۹۰، ۸/۳۵ بود.

نتیجه گیری: با توجه به یافته های تحقیق می توان گفت ریز جلبک های سواحل استان گلستان دارای تنوع و توانایی های بالقوه متعددی می باشند. در این تحقیق بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به سویه کلامیدوموناس دیاریانا بود. هم چنین فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره متابولی جلبک ها بیشتر از فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها در عصاره هگزانی می باشد.

کلمات کلیدی: آنتی اکسیدانی، توتال کاروتوئید، جلبک سبز، دریای خزر

مقدمه

گروهی از گیاهان شامل جلبک ها و هپاتیک ها از رده نهانزادان به کار رفت. کلروفیتا یا جلبک سبز یکی از پر تعداد ترین، پراکنده ترین و از دید مورفولوژیکی متنوع ترین شاخه جلبک ها به شمار می روند. این جلبک ها علاوه بر کلروفیل a و b دارای کاروتوئیدهای مختلفی می باشند. این موجودات در زیستگاه های متنوعی حضور دارند اما در اکوسیستم های آبی دارای تنوع و فراوانی بیشتری هستند (۱۳).

جلبک ها از لحاظ اندازه گروه نامتجانسی هستند اندازه آن ها از حد میکروسکوپی مانند جلبک سبز کلرلا تا جلبک های

واژه جلبک در سال ۱۷۵۳ میلادی توسط لینه برای نام گذاری

نویسنده مسئول :

گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

پست الکترونیکی: thm.17741@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۹/۵

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۱/۰۵

و صنایع غذایی است. اکسیداسیون حاصل از گونه های فعال اکسیژن می تواند سبب از هم پاشیدگی غشاء سلول ها، آسیب به پروتئین های غشایی و موتاسیون DNA و گسترش بسیاری از بیماری ها همچون سرطان، آسیب کبدی و بیماری های قلبی عروقی گردد. اگرچه بدن دارای روندهای دفاعی هم چون آنزیم ها و مولکول های آنتی کسیدانی است که رادیکال های اکسیژن را دفع می کند ولی قرار گرفتن مداوم در معرض مواد شیمیایی و آلاینده ها می تواند منجر به افزایش تعداد رادیکال های آزاد خارج از توان بدن شود موجب آسیب اکسیداتیو غیر قابل بازگشت گردد؛ بنابراین آنتی اکسیدان ها با خاصیت جارو کنندگی رادیکال های آزاد نقشی مهم در پیش گیری یا درمان بیماری های مرتبط با اکسیداسیون یا رادیکال های آزاد ایفا می کنند(۱۲).

در ایران تحقیقات فراوانی در خصوص ترکیبات آنتی اکسیدانی گیاهان صورت گرفته ولی در مورد جلبک ها این تحقیقات اندک بوده است و لازم است در خصوص ارزش گونه های جلبکی آب های ایران تحقیقات وسیعی صورت گیرد. در این تحقیق با توجه به تنوع و پراکندگی و توان بالقوه جلبک های سواحل دریای خزر، اقدام به نمونه برداری و شناسایی ریز جلبک های سواحل استان گلستان و بررسی میزان تولید کلروفیل و کاروتونئید و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها شد.

روش کار

نمونه های جلبکی از مناطق مختلف در نوار ساحلی گلستان و دریای خزر در تاریخ اسفند ۹۳ بر اساس مشخصات جغرافیایی جمع آوری شدند(جدول ۱).

دما	pH	GPS	مناطق نمونه برداری
19	7.4	N:36-47-12.9 E:053-56-31.5	بندر گز
18	8.14	N:36-35-51.8 E:054-02-39	بندر ترکمن
17	8	N:37-08-59.5 E:54-00.14.2	گمیشان
19	7.4	N:37-13-37.0 E:054-01-13.3	پرورش میگو

جدول ۱- مشخصات فیزیکوشیمیایی و GPS مناطق نمونه برداری شده

نمونه های جمع آوری شده از آب دریا به آزمایشگاه منتقل شدند و بعد از ۲۴ ساعت رسوب کردند. از رسوب آن ها به روش سری رقت تا رقت ^{۱۰} استفاده شد و کشت رقت های مختلف در پلیت محیط کشت های BBM و F/۲ کشت خطی داده شد.

ماکروسکوپی تغییر می کنند. اندام زایشی آن ها تک سلولی بوده و پس از ترکیب گامت های جنسی به صورت مستقیم رشد کرده و تبدیل به گیاه جدید می شود.

پنج نوع کلروفیل e,d,c,b,a در جلبک ها وجود دارد کلروفیل a در همه جلبک ها وجود دارد و کلروفیل b تنها در کلروفیسسه و اوگلوفیسسه و کلروفیل c در جلبک های دریا زی مانند فوفیسسه، کریزوفیسسه، کریزو فیسسه و دیاتومه ها و کلروفیل d در برخی جلبک های قرمز و کلروفیل e در گونه های خاصی از جنس واشريا و تریپتونما از اگزانتوفیسسه ها وجود دارد(۹).

رنگیزه های جلبک ها شامل کلروفیل ها، کاروتونئید ها(کاروتون و گرانتوفیل ها، فیکو بیلی پروتین ها و فیکوسیانین و فیکواریترین) می باشد.

کلروفیل رنگدانه سبز موجود در گیاهان است که به جذب نور خورشید و تبدیل آن به انرژی کمک می کند. اعتقاد بر این است که این ماده برای بدن انسان بسیار مفید است. مصرف غذاهای حاوی کلروفیل باعث پاک شدن جریان خون، از بین رفتن بوی بد دهان و بدن، بی اثر شدن مواد سرطان زا و جلوگیری از فساد دندان ها می شود. به علاوه مصرف مکمل های حاوی جلبک اثرات مفیدی بر بیماری های التهابی مثل آرتربیت و زخم معده دارد. کلروفیل هم چنین به عنوان یک عامل آنتی اکسیدان قوی باعث کاهش تخریب سلول ها به وسیله عوامل سرطان زای محیطی می شود.

کاروتونئیدها گروهی از رنگدانه ها هستند که علاوه بر نقشی که در تشکیل رنگدانه ها بر عهده دارند، خاصیت آنتی اکسیدانی نیز برای آن ها گزارش شده است. حیوانات و انسان قابلیت سنتز آن ها را ندارند و باید از طریق رژیم غذایی دریافت شوند که پس از آن می توانند از شکل کاروتونئیدی به شکل دیگر تبدیل گردند، هم چنین نقش مهمی در تشکیل ویتامین A بر عهده دارند. در واقع بتا کاروتون، کاروتونئید پایه برای تشکیل ویتامین A می باشد.

جذب بتاکاروتون به جای جذب خود ویتامین A در رژیم غذایی، در کاهش وقوع سرطان موثر است و بتا کاروتون قادر به القاء عمل کردهای زیستی متفاوتی از قبیل حفاظت در برابر نور، فرو نشاندن و از بین بردن صدمات ناشی از اکسیژن singlet (از اسامی عمومی که به حالت مغناطیسی ملکول اکسیژن گفته می شود که نسبت به اکسیژن معمولی پایداری کم تری دارد)، تنظیم ایمنی بدن و فعالیت ضد سلطانی در بدن جوندگان و انسان می باشد.

تحقیقات آنتی اکسیدان موضوعی مهم در زمینه صنایع دارویی

PSR : Percent of scavenging radical

IC_{50} یا غلظت مورد نیاز عصاره برای مهار کردن ۵۰ درصد رادیکال DPPH با آنالیز رگرسیون خطی عصاره در برابر درصد مهار محاسبه گردید.

نتایج

پس از نمونه برداری، کشت در محیط های BBM و F/۲ انجام شد، سپس در نتیجه جدا سازی سویه ها و خالص سازی آن ها ۴ سویه جلبک سبز؛ کلرلا ولگاریس، کلرلا سورکینیا، کلامیدوموناس دباریانا، سلسنتروم، در نوار ساحلی شرق گلستان و دریای خزر شناسایی شد.

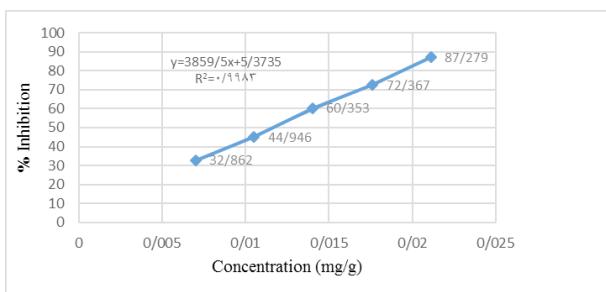
نمونه ای از عکس های مربوط به نمونه های جداسازی شده در شکل-۱ آمده است.



شکل-۱ سویه های جدا شده از شرق دریای خزر

نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی

از اسید آسکوربیک به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و میزان IC_{50} اسید آسکوربیک به عنوان کنترل مثبت، مقدار ۰/۰۱۱۵ میلی گرم ($115\text{mg}/100\text{ml}$) میلی گرم به دست آمد. درصد مهار در رقت ۲ میلی لیتر برای کلیه عصاره ها محاسبه گردید. (نمودار-۱)



نمودار-۱ نمودار و معادله خط اسید اسکوربیک

سنجدش میزان کلروفیل a و b و توتال کاروتینوئید

جدول-۲- میزان توتال کاروتینوئید و کلروفیل a و b و میزان IC_{50} مربوط به نمونه های جمع آوری شده از مناطق بندر گز و بندر ترکمن و گمیشان و پرورش میگو را نشان می دهد. هر چه میزان IC_{50} کم تر باشد به معنای ظرفیت آنتی اکسیدانی بیش تر است. همان طور که در جدول مشاهده می شود؛ بیش ترین ظرفیت آنتی اکسیدانی با کم ترین IC_{50} در عصاره متابولی

پلیت ها در چمبر ۱۸-۲۰ درجه و نور ۲۵۰۰-۲۲۰۰ لوکس قرار داده شد. بعد از رشد نمونه ها در پلیت و کشت های متعدد جهت جدا سازی با شناسایی میکروسکوپی - مورفولوژیکی با استفاده از کلید شناسایی جلبک ها اقدام به خالص سازی سویه ها شد. جهت بررسی میزان کلروفیل a و b و توتال کاروتینوئیدها و سنجدش فعالیت آنتی اکسیدانی سویه های جداسازی شده؛ نمونه های خالص سازی شده بعد از رشد و تولید توده زیستی مناسب، لیوفلیزه شدند. عصاره گیری با متابول و هگزان انجام شد و فعالیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH مورد بررسی قرار گرفت (۵،۱۰).

برای عصاره گیری به ازای هر گرم جلبک ۵۰ سی سی متابول ۸۰ درصد اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه حمام التراسونیک مدل Elma S40H قرار داده شد. سپس ۳ Model-Vs-۸۴۸۰ ساعت در شیکر انکوباتور یخچال دار مدل Vision scientific با ۱۵۰-۱۶۰ دور در دقیقه و دمای ۱۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس در دستگاه سانتریفوژ یخچال دار با دمای ۱۵ درجه سانتی گراد با ۳۶۱۵g به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد. مایع رویی با فیلتر سر سرنگی ۴۵/۰ میکرون فیلتر شد. جهت تغليظ نمونه ها از rotary evaporator مدل Hei-Vapadventure (Heidolph) استفاده شد و میزان جذب نمونه ها جهت بررسی میزان کلروفیل a و b و توتال کاروتینوئید در طول موج های ۴۷۰ و ۶۵۳ و ۶۶۶ نانومتر در برابر بلانک متابول قرائت شد.

پس از جای گذاری جذب های خوانده شده با اسپکتروفوتومتر، در فرمول های زیر میزان کلروفیل a و b و توتال کاروتینوئید محاسبه گردید(۵).

$$C_a = 15.65 A_{666} - 7.340 A_{653}$$

$$C_b = 27.05 A_{653} - 11.21 A_{666}$$

$$C_{x+c} = (1000 A_{470} - 2.860 C_a - 129.2 C_b) / 245$$

هم چنین عصاره گیری با متابول و هگزان جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی با DPPH ۱/۰ میلی مولار انجام شد و برای خواندن میزان جذب غلظت های مختلف عصاره هگزانی و متابولی یک بلانک DPPH در نظر گرفته شد. کلیه سنجدش ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد و از اسید اسکوربیک به عنوان شاهد مثبت استفاده شد و ظرفیت آنتی اکسیدانی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$PSR = (\text{Abs of blank} - \text{Abs of sample}) / \text{Abs of blank} * 100$$

همان طور که در جدول ۲ مشاهده می شود در بین سویه ها، بیش ترین فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره متانولی متعلق به سویه *Chlamydomona debaryana* می باشد که با توجه به بیش تر بودن میزان توتال کاروتونئید و کلروفیل a و b می توان نتیجه گرفت؛ هرچه میزان کلروفیل و کاروتونئید در عصاره متانولی بیش تر باشد میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیز بیش تر خواهد بود، از طرفی به دلیل وجود ترکیباتی نظیر فلاونوئیدها و ویتامین C (که ترکیبات آنتی اکسیدان قوی موجود در عصاره متانولی می باشند) و عدم وجود این ترکیبات در عصاره هگزانی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره متانولی سویه اکسیدانی این سویه در عصاره هگزانی آن می باشد زیرا با توجه به قطبی بودن متانول و جداسازی ترکیباتی نظیر فلاونوئیدها در این عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره متانولی از عصاره هگزانی بیش تر است. هم چنین ساراینا^۱ و همکاران در مطالعه ای ضمن بررسی و محاسبه میزان توتال کاروتونئید و توتال فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی در گونه ای از جلبک نشان داده اند که در بین انواع روش عصاره گیری، عصاره متانولی بهترین نتایج را ارائه می کند و هم چنین بیش ترین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره جلبکی مربوط به ترکیبات فولی آن می باشد.(۱۲).

در این مطالعه نیز فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره متانولی نسبت به عصاره هگزانی نتایج بهتری را ارائه داد و وابستگی میزان کاروتونئید و کلروفیل با فعالیت آنتی اکسیدانی در سویه های مختلف نشان می دهد که بین آن ها رابطه مستقیم وجود دارد. هم چنین در تمامی سویه ها؛ مجموع کلروفیل a و b و توتال کاروتونئید با فعالیت آنتی اکسیدانی رابطه خطی و مستقیمی را نشان می دهد.

نتایج این مطالعه نشان داد که تمامی نمونه های مورد بررسی دارای توان آنتی اکسیدانی با درجات متفاوت می باشند. با توجه به مقایسه نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی در دو عصاره متانولی و هگزانی می توان نتیجه گرفت؛ میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی جلبک های جدا سازی شده از سواحل گلستان بیش از فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هگزانی آن ها می باشد. دلیل این امر می تواند تفاوت ترکیبات استخراج شده در عصاره متانولی و هگزانی باشد.

به علاوه در مطالعه دیگری ثابت شد در حالیکه اوسیلاتوریا^۲ بیش ترین فعالیت آنتی اکسیدانی را دارا است سندسموس

مربوط به نمونه کلامیدوموناس دباریانا جمع آوری شده از منطقه پپورش میگو می باشد که میزان IC_{50} در عصاره متانولی ۲/۷۸ میلی گرم است و کم ترین ظرفیت آنتی اکسیدانی با بیش ترین IC_{50} در عصاره متانولی مربوط به کلولا ولگاریس جمع آوری شده از بندر گز می باشد و میزان IC_{50} ۴/۰۳ میلی گرم است و در عصاره هگزانی کم ترین IC_{50} و بیش ترین فعالیت آنتی اکسیدانی متعلق به جنس سلسنستروم بود و میزان IC_{50} ۳/۷۵ میلی گرم است. هم چنین بیش ترین IC_{50} و کم ترین فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره هگزانی متعلق به گونه کل لا سورکینیا بود که میزان IC_{50} ۸/۳۵ میلی گرم می باشد.

نام گونه های	منطقه	پندر گز	بندر کمن	گمشان	پپورش میگو	IC_{50} میلی گرم در عصاره هگزانی	IC_{50} میلی گرم در عصاره متانولی	نام گونه های	پندر گز	
<i>Chlamydomona debaryana</i>	پپورش میگو	۱				6.49	2.78	2.4	7.8	12.5
<i>Selenastrum sp</i>	گمشان	۲				3.75	2.87	2.2	5.3	6.7
<i>Chlorella sorkinia</i>	بندر کمن	۳				8.35	3.75	1.6	3.7	7.8
<i>Chlorella vulgaris</i>	پندر گز	۴				4.9	4.03	1.4	2.7	5.1

جدول-۲ میزان توتال کاروتونئید و کلروفیل a و b در گونه های جداسازی شده

بحث

جلبک های دریایی هم چون گیاهان زمینی در معرض ترکیبی از نور و اکسیژن هستند که منجر به تشکیل رادیکال های آزاد و عوامل اکسید کننده قوی می گردد. عدم وجود آسیب اکسیداتیو در اجزای ساختار این جلبک ها (مانند کاروتونوئیدها و آسید های چرب غیر اشباع با چند پیوند دو گانه) نشان پایداری آن ها نسبت به اکسیداسیون و داشتن سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی آن ها است(۱۱).

موجودات فتوسنترکننده مکانیسم های متفاوتی را برای سازگاری با نوسانات محیط های ساحلی و برای حفاظت خود در برابر عواملی چون پرتو فرابنفش و نور مرئی به کار می گیرند که شامل تنظیم فعالیت های آنزیمی و مولکول های آنتی اکسیدان مانند ویتامین E (آلفاتوکوفرول)، کاروتونوئیدها، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز است (۱۱).

های غذایی و....استفاده نمود.

سیاستگزاری

نگارندگان مراتب تشكیر و قدر دانی خود را از همکاری جناب دکتر شاهزاده فاضلی مدیر مرکز ذخایر زیستی -ژنتیکی ایران ابراز می دارند.

اوبلیگوس^۳ بیش ترین محتوای کاروتوئیدی و کلرلا دارای بیش ترین محتوای ترکیبات فلزی است (۷).

در مقایسه ای بین محتوای کلروفیلی و توتال کاروتوئیدی چند گونه جلبکی مشخص شد میزان کلروفیل در گونه کلادو فورا گلومراتا^۴ و توتال کاروتوئید در گونه کلادوستفوس ورتیکیلاتوس^۵ حد اکثر می باشد (۵).

هم چنین بررسی جلبک های ماکروسکوپیک خلیج فارس نشان داد بیش ترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به جلبک سبز انترومورفا اینتستینالیس^۶ و کم ترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به جلبک قهوه ای سیستوریاسه مایریکا^۷ می باشد (۲).

نوسانات فصلی و تغییر در عواملی چون دما، شوری، سطح مواد غذایی و نوع بستر و ترکیبی از آن ها بر رشد و بلوغ تال جلبک ها و (بیوشیمی آن ها اثر می گذارد به طور کلی تحقیقات نشان داده اند که در جلبک ها عواملی چون شوری، دما، منبع نیتروژن و اکسیژن محیط، pH، عناصر سنگین، پرتوهای UV و سایر عوامل تنش زای محیطی بر ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی اثر می گذارند؛ بنابر این شاید بتوان این تفاوت در افراد مختلف یک گونه که در زمان ها و مکان های متفاوت جمع آوری شده اند را به عوامل محیطی و تغییر در پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب نسبت داد (۱۱).

نتیجه گیری

در این مطالعه بیش ترین میزان توتال کاروتوئید و کلروفیل که هر دو جز آنتی اکسیدان ها می باشند متعلق به سویه *Chlamydomona debaryana* می باشد و فعالیت آنتی اکسیدانی این سویه در عصاره مтанولی نیز بیش ترین مقدار بوده و نسبت به عصاره هگزانی به دلیل داشتن ترکیباتی نظری فلاونوئید و ویتامین C بیش تر می باشد و کم ترین میزان کاروتوئید با کم ترین فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره مtanولی متعلق به سویه *Chlorella vulgaris* می باشد. با توجه به تنوع و پراکندگی جلبک ها در ایران و توان بالقوه آن ها جهت کاربردهای وسیع در صنایع مختلف غذایی، آرایشی - بهداشتی و دارویی می توان آن ها را جداسازی و خالص سازی کرد و از آن ها به دلیل داشتن فعالیت آنتی اکسیدانی در مواجهه با رادیکال های آزاد و قدرت ایمنی زایی و به دلیل وجود کاروتوئید ها و ترکیباتی نظیر بتاکاروتون و داشتن پروتئین بالا به عنوان مکمل

4- *Scenedesmus Obliguus*

5-*Cladophora glomerata*

6-*Cladostephus verticillatus*

7-*Entromorpha intestinalis*

8- *Cystocerriaceae myrica*

منابع

- ۱-افره نصرتی ، (۱۳۹۳)بررسی خواص آنتی اکسیدانی جلبکهای دریایی *Zanardini Nizimuddinia* و *Sargasum glauce CNS* در خلیج چابهار پایان نامه دانشجویی -کارشناسی ارشد-دانشگاه دریا نوری و علوم چابهار
- ۲-حیدری، محسن (۱۳۹۳)مطالعه تنوع زیستی جلبک های ماکروسکوپی سواحل استان بوشهر با تاکید بر خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی گونه های غالب،دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی ،پایان نامه دانشجویی
- ۳-عبدل زاده احمد،رمضان نژاد قادری رضا،صادقی پور حمید رضا(۱۳۸۸)، مقدمه ای بر جلبک ها، قارچ ها و گلسنگ ها، گرگان، دانشگاه گلستان
- ۴-فرامرزی محمد علی، فروتن فر حمید، شکیبایی مجتبی، (۱۳۸۹)، بیوتکنولوژی ریز جلبک ها تهران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی تهران
- 5-Deres,et al,(1998)spectrophotometric determination of chlorophyll a,b and total carotenoid content of some algae species using different solvent,trj of botany,22,pp:13-17
- 6-Easy identification of the most common FRESHWATER ALGAE- Sanet Janse van Vuuren Metting FB (1996) Biodiversity and application of microalgae. *Journal of Industrial Microbiology*
- 7-hamdyea et al,(2014),screening of micro algae of anti oxidant activities,carotenoids and phenolic contents,applied mechanics and materials,625,pp:156-159
- 8-henriquesM,et al(2007),Extracting and qualification of pigments from amarine micro alae,communicating current research and education topics in applied micro biology, pp:586-593
- 9-Lee,R.e.(2008).phycolgy,fourth edition.Cambridge university press 4th edition.561 P.
- 10-lewis, M (2012)protocol No...15.3b-natural product screening, anti oxdant screen for extracts
- 11-Rossa,M.M.,oliveira,M.C.,Okamoto,O.K.,lopes,P.F.and coleicolo,P.,2002Effect of visible light on super oxidase dismutase SOD activity in the red Alga *Gracilariaopsis tenuifrons*(Gracilarials,Rhodophyta).Jornal of applied phycology,14:151-157
- 12-Roleda,M.Y.,Lutz-Meindl,U.,Wiencke,C.and Lutz,C.,2010physiological,biological and ultrastructural responses of the green macroalga *Urospora pectiniformis* from Artic Spitsbergen to UV radiation.protoplasma,243;105-116
- 13-South GR, Whittick A (1987) Introduction to phycology. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- 14-sarayna C.(2014),Evaluathion of anti oxidant properties,total phenolic and carotenoid content of chaetoceroscalcitrans,Chlorella salina and isochrysis galbana,inter national journal of current microbioghy and Applied sciences3;8,PP:365-377
- 15-thaipong kriengsak et all (2006),comparison of abts, DPPH,FRAP, and ORAC assay for estimating anti oxidant activity from guava fruit extracts,jornalof food composition and analysis 19,PP:669-675
- 16-Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, N. and Phromkunthong, W., 2009. Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southern coast of Thailand. Plant Food for Human Nutrition, 64: 218-233.