Review Article

DOI: 10.22034/ijche.2022.321638.1166

DOR: 20.1001.1.17355400.1402.22.128.4.7

This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license(CC BY-NC-ND 4.0).

A Review on the Effects of Different Stresses on Antioxidants Production by *Dunaliella* Algae

L. Nedaei[1], H. Shokrkar[2*]

1- Ph. D. Student of Chemical Engineering, Sahand University of Technology

2- Associate Professor of Chemical Engineering, Sahand University of Technology

Email: h_shokrkar@sut.ac.ir

Abstract

Microalgae biomass is considered as a sustainable feed for the production of high value compounds such as enzymatic and non-enzymatic antioxidants that are widely used in food, pharmaceutical, textile, leather as well as in the chemical industry. Increasing the yield of microalgae, achieving optimal culture conditions, optimal storage of antioxidant molecules after processing and downstream processing with energy saving are among the main obstacles to the production of antioxidants. Today, antioxidant compounds produced by microalgae as a result of stressful conditions, as important products in the field of human health, have received commercial attention. Oxidative stress due to acidity, metals, UV and temperature can cause the production of antioxidants in many different species of microalgae such as Dunaliella algae. Dunaliella algae cultivation has several advantages, including high growth rate, low production cost, as well as the ability to grow in stressful conditions such as high salt concentrations, high light intensity, and nitrogen restriction. This article provides an overview of the production of antioxidants in the Dunaliella microalgae cellular metabolism, the activity of antioxidant enzymes (POD, SOD, CAT) and strategies to increase antioxidant accumulation in microalgae.

Received: 27 December 2021
Accepted: 3 March 2022
Page Number: 67-82

Keywords:
Microalgae,
Antioxidant,
Stress,
Dunaliella Algae,
Culture Medium

Please Cite this Article Using:

Nedaei, L., Shokrkar, H., "A Review on the Effects of Different Stresses on Antioxidants Production by *Dunaliella* Algae", Iranian Chemical Engineering Journal, Vol. 22, No. 128, pp. 67-82, In Persian, (2023).

مقـــالـــه مـــروری

DOI: 10.22034/ijche.2022.321638.1166
DOR: 20.1001.1.17355400.1402.22.128.4.7

This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license(CC BY-NC-ND 4.0).

مروری بر اثر تنش‌های مختلف بر تولید آنتی‌اکسیدان به‌وسیلهٔ جلبک *دونالیلا*

لیلا ندایی[۱]، هانیه شکرکار[۲*]

۱- دانشجوی دکتری مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند
۲- دانشیار مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند
پیام نگار: h_shokrkar@sut.ac.ir

چکیده

زیست‌تودهٔ ریزجلبک به‌عنوان یک خوراک پایدار برای تولید ترکیبات با ارزش بالا مانند آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در نظر گرفته می‌شود که به‌طور گسترده برای مواد غذایی، دارویی، نساجی، چرم و هم‌چنین در صنایع شیمیایی استفاده می‌شود. افزایش عملکرد ریزجلبک، دست‌یابی به شرایط بهینهٔ کشت، ذخیره‌سازی بهینهٔ مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی پس از پردازش و پردازش پایین‌دستی با صرفه‌جویی در انرژی از جمله موانع اصلی برای تولید آنتی‌اکسیدان‌هاست. امروزه، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تولیدشده با ریزجلبک‌ها درنتیجهٔ اعمال شرایط استرس، به‌عنوان محصولاتی پراهمیت برای سلامتی بشر، توجه تجاری پیدا کرده است. استرس اکسیداتیو ناشی از اسیدیته، فلزات، پرتو ماورای بنفش و دما می‌تواند باعث تولید آنتی‌اکسیدان در بسیاری از گونه‌های مختلف ریزجلبک‌ها مانند جلبک دونالیلا شود. کشت جلبک دونالیلا، دارای چندین برتری از جمله نرخ رشد بالا، هزینهٔ تولید پایین و هم‌چنین توانایی رشد در شرایط استرس‌زا مانند غلظت بالای نمک، شدت نور بالا و محدودیت نیتروژن است. این مقاله، یک بررسی کلی از تولید آنتی‌اکسیدان‌ها در متابولیسم سلولی ریزجلبک دونالیلا، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (POD، SOD، CAT) و استراتژی‌هایی برای افزایش تجمع آنتی‌اکسیدان در ریزجلبک‌ها ارائه می‌دهد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۲
شماره صفحات: ۶۷ تا ۸۲

کلیدواژه‌ها:
ریزجلبک،
آنتی‌اکسیدان،
استرس،
جلبک دونالیلا،
محیط کشت

* تبریز، دانشگاه صنعتی سهند، دانشکدهٔ مهندسی شیمی

استناد به مقاله:
ندایی، ل.، شکرکار،ه.، "مروری بر اثر تنش‌های مختلف بر تولید آنتی‌اکسیدان به‌وسیلهٔ جلبک دونالیلا"، نشریه مهندسی شیمی ایران، سال بیست‌ودوم، شماره ۱۲۸، صص. ۸۲-۶۷، (۱۴۰۲).

۱. مقدمه

ریزجلبک‌ها تولیدکنندگان اولیهٔ دریایی هستند که خوراک بسیاری از موجودات دریایی در سراسر زنجیرهٔ غذایی به‌شمار می‌روند. مطالعات اخیر نشان داده است که برخی از گونه‌های جلبک حاوی مقادیر زیادی آنتی‌اکسیدان (ویتامین E، رنگ‌دانه‌ها و ترکیبات فنلی) هستند[۲،۱]. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در جلبک‌ها ممکن است نقش مهمی در برابر بیماری‌های مختلف ایفا کنند[۳]. ریزجلبک‌ها ترکیبات مهارکنندهٔ رادیکال‌های آزاد فنل‌ها، ویتامین‌ها، رنگ‌دانه‌ها و آنزیم‌ها را تولید می‌کنند. این ترکیبات، هم‌چنین می‌توانند فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدتوموری، ضدسرطان‌زایی و ضدالتهابی را در سلول‌ها نشان دهند[۴]. آنتی‌اکسیدان‌های اصلی موجود در جلبک‌ها ویتامین‌های E و C هستند[۶،۵]. کاروتنوئیدها (کاروتن، زآگزانتین، و نئوگزانتین)، کلروفیل‌ها[۷،۸] و فنل‌ها[۹] فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهند و عملکرد مهمی در سیستم انتقال الکترون، که یک فرایند کلیدی در موجودات فتوسنتزی است، ارائه می‌کنند[۱۰،۱۱]. یکی از برتری‌های تولید آنتی‌اکسیدان‌ها از ریزجلبک‌ها، تطبیق‌پذیری کشت آن است و بسیاری از پیشرفت‌های فناورانه را می‌توان اعمال کرد[۱۲]. توانایی تولید کاتالاز (CAT[1])، سوپراکسید دیسموتاز(SOD[2])، پراکسیداز(POD[3]) باعث شده تا ریزجلبک‌ها، منبع طبیعی بالقوهٔ این آنزیم‌ها باشند[۱۳]. تولید آنزیم مشتق‌شده از ریزجلبک‌ها را می‌توان با بهینه‌سازی فرایندهای پایین‌دستی (اختلال سلولی، استخراج، برداشت و ذخیره‌سازی بهینه پس از برداشت) اقتصادی‌تر کرد[۱۴،۱۵]. عوامل محیطی زیادی از جمله فلزات، در دسترس بودن مواد مغذی، استرس UV، pH و دما بر رشد و ترکیب ریزجلبک‌ها تأثیر می‌گذارند. تغییر شرایط محیطی در طول کشت، می‌تواند بر تولید و تجمع محصولات زیستی ارزشمند مانند ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تأثیر بگذارد[۱۶]. استرس اعمال‌شده، می‌تواند استرس اکسیداتیو را القا کند، که به‌دلیل افزایش پرواکسیدان‌ها، عدم تناسب بین فعالیت پرواکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی در سلول است. مشاهده شده که استرس اکسیداتیو باعث می‌شود تا ریزجلبک‌ها، متابولیت‌های دفاعی ثانویهٔ ارزشمندی با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی تولید کنند تا این عدم تعادل را جبران کنند[۱۷]. این بررسی بر روی بهره‌برداری از استرس اکسیداتیو برای افزایش تولید آنتی‌اکسیدان تجاری با ریزجلبک *دونالیلا* تمرکز دارد. به‌طور خاص، غلظت فلزات بالا، تابش خورشیدی بالا و محدودیت‌های مواد مغذی به‌عنوان سازوکارهای استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در ریزجلبک *دونالیلا*مورد بحث می‌شوند.

۲. جلبک *دونالیلا*

مطالعات اخیر، پتانسیل ریزجلبک‌ها را برای تولید مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داده است. در حال حاضر ۲۸ گونه *دونالیلا* شناسایی شده است که از این تعداد ۲۳ گونه در محیط‌های شور و پنج گونهٔ نادر در آب‌های شیرین زندگی می‌کنند[۱۸]. از نظر تجاری، *دونالیلا* در چندین کشور مانند استرالیا، چین، اسرائیل و هند، با پروژه‌های آزمایشی در شیلی، اسپانیا، ایران و پرتغال کشت می‌شود و یکی از بهترین منابع کاروتن در نظر گرفته می‌شود. هم چنین به‌عنوان یک منبع پایدار برای پردازش زیستی صنعتی برای تولید پروتئین[۱۶]، بیودیزل[۱۲،۱۹]، عامل رنگ‌کننده[۱۵] و آنتی‌اکسیدان‌ها[۲۰] پیشنهاد شده است. در حال حاضر، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از منابع میکروبی و حیوانی تأمین می‌شوند[۲۱]. اگرچه هیچ تولید تجاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از *دونالیلا* وجود ندارد، چندین گزارش، نشان داده است که *دونالیلا* می‌تواند سطوح آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (عمدتاً کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) و غیر آنزیمی (کاروتنوئیدها، فنولیک، آسکوربات و گلوتاتیون) را برای کاهش استرس، افزایش دهد[۱۰،۱۳،۱۷،۲۲]. سازگاری بالای آن با عوامل استرس‌زای بیرونی (اکسیداتیو و اسمز) و فقدان دیوارهٔ سلولی سفت و سخت[۲۲] می‌تواند *دونالیلا* را به منبع طبیعی ایده‌آل، برای تولید آنتی‌اکسیدان تبدیل کند.

۳. طبقه‌بندی آنتی‌اکسیدان‌ها

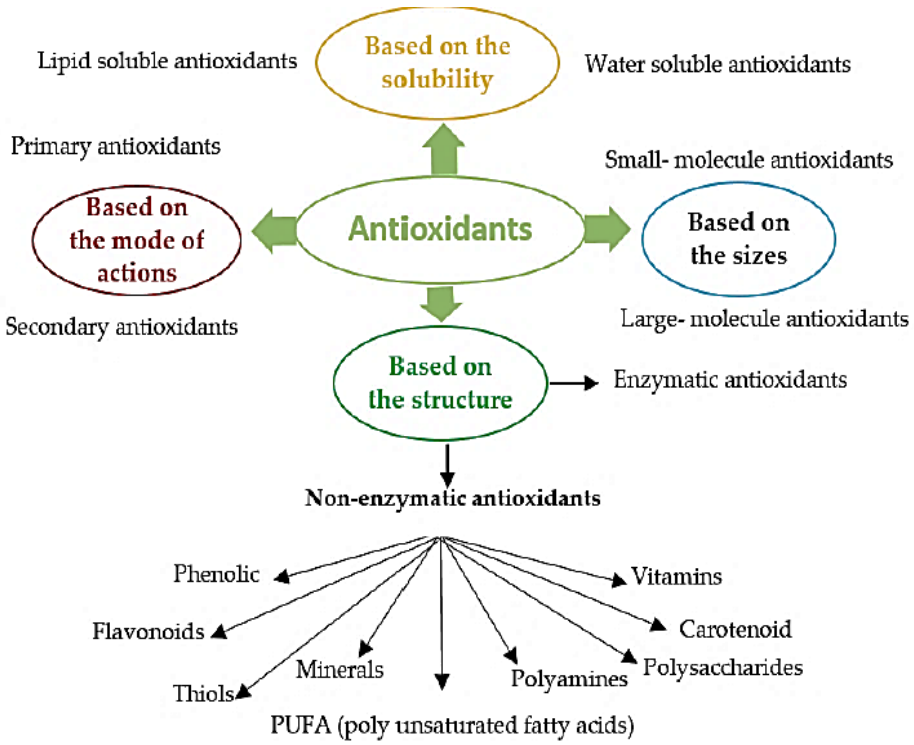
آنتی‌اکسیدان‌ها (آنزیمی یا غیر آنزیمی) بسته‌به نحوهٔ فعالیتشان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های اولیه (هیدروژن یا اهداکنندگان الکترون) یا آنتی‌اکسیدان‌های ثانویه (جذب‌کنندهٔ اکسیژن) طبقه‌بندی می‌شوند[۱۸]. آنتی‌اکسیدان‌ها را نیز می‌توان براساس اندازه، حلالیت، نحوهٔ عملکرد یا ساختار گروه‌بندی کرد [۱۹]، شکل (۱). آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی فراوان، در ریزجلبک‌ها عبارت‌اند از

1. Catalase
2. Superoxide Dismutase
3. Peroxidase

سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون ترانسفراز (GST) [۲۰]. آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از ترکیباتی مانند ویتامینC ، گلوتاتیون، کاروتنوئید، ترکیبات فنلی، پرولین، گلیسین، پلی‌آمین و برخی فلزات (مس، روی) تشکیل شده‌اند[۲۱]. آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (گلوتاتیون، آسکوربات) آب‌دوست هستند و عمدتاً در مایعات سلولی (سیتوزول یا ماتریکس سیتوپلاسمی) وجود دارند [۲۲]، در حالی‌که آنتی‌اکسیدان‌های آب‌گریز (کاروتنوئید، توکوفرول) در غشای سلولی قرار دارند[۲۳].

۳-۱ کاربردهای تجاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌صورت تجاری در طیف وسیعی از فرایندهای غذایی (برای حفظ رنگ، طعم و افزایش ماندگاری)، داروها (ضدعفونی‌کنندهٔ باکتری، عوامل درمانی)، نساجی (رنگ فیبر)، چرم و صنایع شیمیایی (تثبیت‌کننده و محافظ بافت پوست) استفاده می‌شوند [۲۵،۲۶]. هم‌چنین به‌عنوان عوامل تصفیه، سفیدکننده، خوشبوکننده در صنایع فراوری مواد غذایی، در افزایش عمر مفید، روغن روان‌کننده، کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای خودرو[۲۷]، در تثبیت الیاف مصنوعی، لاستیک، ترموپلاستیک و چسب‌ها با توقف واکنش‌های اتوکاتالیستی کاربرد دارند[۲۸]. از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، برای جلوگیری از پیری پوست و آسیب‌های پوستی ناشی از پرتو ماورای بنفش و درمان چین و چروک استفاده می‌شود[۲۹،۳۰]. کاربردهای صنعتی آنتی‌اکسیدان‌ها در جدول (۱) ذکر شده است. تقاضای جهانی برای آنتی‌اکسیدان‌ها در سال ۲۰۱۴ حدود ۲/۲۵ میلیارد دلار برآورد شد و بین سال‌های ۲۰۱۵ تا ۲۰۲۰ با CAGR[1] (نرخ رشد سالانه ترکیبات) حدود ۵/۵ درصد رشد کرد[۳۱]. این افزایش تقاضای جهانی، جستجو برای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی و مشتق شده طبیعی را به پیش می‌برد.



شکل ۱. طبقه‌بندی آنتی‌اکسیدان‌ها[۱۸،۲۴].

Figure 1. Classification of antioxidants [18,24].

1. Compounds Annual Growth Rate

جدول ۱. کاربردهای تجاری آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی.

Table 1. Commercial uses of enzymatic and non-enzymatic antioxidant.

Antioxidants		Applications	Ref
Natural antioxidants	SOD	Added to cosmetic products to protect against skin damage. Protect against lipid peroxidation, heat, and cold stress in poultry production. As a therapeutic agent for treatment of inflammatory disorders. Normal cells protector during radiotherapy for cancer patients.	[31,32,33]
	CAT	Eliminate excessive H2O2 in the textile industry, pulp, and paper industry used for bleaching fibres and pulp, and as a bactericidal disinfectant in food processing and in the pharmaceutical industry. In aesthetics (mask treatment) to increase cellular oxygenation in the upper layers of facial epidermis. Reducing the risk of diabetes mellitus.	[25.28]
	GPX[1]	Immune system booster .	[34.35]
	GST[2]	Protective role against neurogenerative diseases. Decreases the risk of tumours of the head and neck, oral, cavity and colon.	[35.36]
	Glutathione	Anti-wrinkle formation, and as a modifier of skin smoothness.	[37]
	Vitamins	As a food preservative and bread improver, protective activity against heart diseases, reduced the risk of colorectal adenomas and prostate cancer, reduction of thyroid hormone levels	[38]
	Carotenoid	Anticancer agents, additive to cosmetics and multivitamin preparation Food colouring agent, pro-vitamin A in food and animal feed.	[39]
	PUFA	Prevention of heart and inflammatory diseases.	[40]
	Flavonoids	As cancer preventive agents, protection against type 2 diabetes Functional food additive.	[41]
Synthetic Antioxidants	BHA[3]	Extending the shelf life of vegetable oil, frying oil, animal feed, cereals, chewing gum, potato flakes and cosmetic products.	[42]
	BHT[4]	Increasing the shelf life of animal fats, chewing gum, animal feed, vegetable oils.	[43]
	TBHQ[5]	Used as preservative for enhancing storage stability of vegetable oils, margarine, fish oil, fried foods, essential oils, nuts, edible animal fats, butterfat, and packed fried foods.	[44]
	Propyl gallate	As an antioxidant agent in foods and vegetable oil	[44]

1. Glutathione Peroxidase
2. Glutathione Transferase
3. Butylated Hydroxyl Anisole
4. Butylated Hydroxyl Toluene
5. Tert-Butylhydroquinone

۴. تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

ابتدا باید مراحل کشت جلبک را انجام داد، سپس به‌منظور بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز می‌توان از روش شرح داده شدهٔ آبئی و همکاران [۴۵] و ژانگ و همکاران[۴۶] استفاده کرد. طبق روش ژانگ و همکاران ۰/۰۵میلی‌لیتر عصارهٔ به یک کووت کوارتز (۰/۱ سانتی‌متر) حاوی بافر فسفات (۱ میلی‌لیتر، ۵۰ میلی‌مولار،pH برابر ۷) منتقل شد. مخلوط واکنش در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه متعادل و سپس ۰/۰۵ میلی‌لیترH_2O_2 اضافه شد. پس از اختلاط، چگالی نوری (هر ۱۰ ثانیه، ۵ دقیقه، طول موج ۲۴۰ نانومتر) ثبت و طبق روش ژانگ فعالیت ویژهٔ CAT به‌عنوان واحد در هر میلی‌گرم پروتئین حساب می‌شود. هم‌چنین برای بررسی فعالیت آنزیم سوپراکسیداز از روش چارلز و همکاران[۴۷]، برای آنزیم پراکسیداز دیسموتاز از روش روی و همکاران[۴۸] و یا گیانپولیتس و همکاران[۴۹] می‌توان، استفاده کرد.

۵. سازوکار استرس‌ها و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی

۵-۱ گونه‌های فعال اکسیژن (ROS[1])

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، پرواکسیدان‌هایی هستند که باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در ریزاندام ها می‌شوند. هم‌چنین در سلول‌ها، از راه منابع طبیعی و غیرطبیعی انباشته می‌شوند. فرایندهای سلولی، که می‌توانند ROS تولیدکنند، عبارتند از فتوسنتز، واکنش‌های آنزیمی و سایر واکنش‌های ناشی از ترکیبات درون‌سلولی[۴۵]. در موجودات هوازی، گونه های فعال اکسیژن شامل اکسیژن منفرد (O_2)، آنیون‌های سوپراکسید (O_2)، رادیکال‌های هیدروکسیل (HO)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال های آزاد هستند. اندام‌های فتوسنتزی به‌ویژه در برابر ROS آسیب‌پذیر هستند[۴۶،۴۷]. افزایش سطوح ROS در ریزجلبک‌ها، می‌تواند به اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، لیپیدها و به انتقال سیگنال آسیب برساند[۴۷]. این آسیب‌رساندن می‌تواند منجر به اختلال عملکرد متابولیک در سلول و حتی مرگ سلولی شود[۴۸]. لیپیدها و غشاها در برابر پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از ROS آسیب‌پذیر هستند. آنتی‌اکسیدان‌ها، مولکول‌هایی هستند که توانایی ممانعت از اکسیداسیون ناشی از ROS را دارند و درنتیجه آسیب‌های سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهند [۴۸،۴۷]. جلبک‌ها یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی متشکل از محافظت آنزیمی و غیرآنزیمی را برای کاهش آسیب اندامک‌های تحریک شده با ROS القا می‌کنند؛ اما آنتی‌اکسیدان‌های تولیدشده، در گونه‌های مختلف جلبک متفاوت است[۴۸].

۵-۲ شرایط کشت

ریزجلبک‌ها برای رشد علاوه بر کربن، انرژی نور و آب به مواد معدنی خاصی نیاز دارند. یک محیط مناسب را می‌توان از آب دریای طبیعی یا غیرطبیعی غنی‌شده با مواد مغذی (کربن، نیتروژن، فسفر، گوگرد، آهن و منیزیم) فلزات کمیاب و ویتامین‌ها تهیه کرد[۲۵]. دی‌اکسید کربن (CO_2)، کربن‌های غیرآلی ($NaHCO_3$, Na_2CO_3) و کربن‌های آلی (گلیکول، گلوکز، سدیم استات) می‌توانند به‌عنوان منابع کربن استفاده شوند. نیترات، آمونیاک و اوره معمولاً به‌عنوان منابع نیتروژن برای سنتز اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها، کلروفیل‌ها و فیکوبیلین‌ها استفاده می‌شوند[۵۰]. آهن به‌عنوان یک کوفاکتور برای بسیاری از آنزیم‌ها (فردوکسین‌ها، کاتالازها، نیتروژنازها، نیترات‌ها) عمل می‌کند و گوگرد برای بیوسنتز اسیدهای آمینهٔ خاص (سیستئین، متیونین) و منیزیم برای بیوسنتز کلروفیل مورد نیاز است و سایر مواد معدنی کمیاب به‌عنوان کوفاکتور، برای آنزیم‌های مختلف عمل می‌کنند. *دونالیلا* برای جذب کربن در طول فتوسنتز، افزایش بهره‌وری و رشد زیست‌توده به نور و دما نیاز دارد[۵۰]. کشت فوتواتوتروفیک رایج‌ترین استراتژی برای رشد جلبک *دونالیلا* است. تأثیرات محیطی زیادی مانند فلزات، استرس، pH، اشعه ماورای بنفش و در دسترس‌بودن مواد مغذی می‌تواند بر رشد و ترکیب ریزجلبک‌ها تأثیر بگذارد[۵۰]. تنوع شاخص‌های رشد، متابولیسم داخل سلولی را از راه فتوسنتز و تنفس نوری مختل می‌کنند که منجر به عدم تعادل بین تولید و سم‌زدایی ROS می‌شوند، در نهایت باعث تحریک پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی می‌شوند[۵۰]. بنابراین، اصلاح فاکتورهای کشت ممکن است باعث افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها شود.

۵-۲-۱ تابش نور

تابش خورشیدی که به سطح زمین می‌رسد شامل تابش ماورای

1. Reactive Oxygen Species

بنفش[1] UVR (۴۰۰-۲۸۰ نانومتر)، تابش فعال فتوسنتزی[2] PAR یا نور مرئی (۷۰۰-۴۰۰ نانومتر) و تابش مادون قرمز[3] IR (۱۰۰۰-۷۰۰ نانومتر) است[۵۱]. اندام‌های فتوسنتزی از جمله ریزجلبک‌های سبز، به تابش خورشیدی به‌ویژه تابش فعال فتوسنتزی برای تثبیت کربن و تولید بیومس متکی هستند[۵۲]، به‌خوبی شناخته شده است که تابش ماورای بنفش می‌تواند با کمک به توسعهٔ پدیدهٔ مه دود فتوشیمیایی، به سلول‌ها، گیاهان و حیوانات آسیب برساند[۵۳]. سلول‌ها می‌توانند با به‌کارگیری چندین سازوکار دفاعی، از جمله سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، با این آسیب سازگار شوند[۵۴]. قرارگرفتن در معرض سطوح بالای UVR، فتوسنتز را بیش از حد تحریک می‌کند و تولیدROS را آغاز می‌کند[۵۱]. کاروتنوئیدها به‌عنوان محافظ نور، عمل و از سلول‌ها در برابر مهار نور و از آسیب به واحدهای فتوسنتزی محافظت می‌کنند[۵۳]. مطالعات نشان می‌دهد که غلظت کاروتنوئیدهایی که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در خارج از غشای تیلاکوئید عمل می‌کنند، در برخی از ریزجلبک‌ها پس از قرارگرفتن در معرض UVR افزایش می‌یابد[۵۳]. برخی از رنگ‌دانه‌ها مانند ویولاکسانتین و زآگزانتین در نتیجهٔ چرخهٔ گزانتوفیل تجمع می‌یابند[۵۱]. بسیاری از گونه‌های ریزجلبک سبز که در معرض تابش زیاد قرار دارند، اسید آمینه‌های مایکوسپورین (MAA[4]) جذب‌کنندهٔ UVR را تولید می‌کنند[۵۲]. اسید آمینه‌های مایکوسپورین اساساً با جذب پرتو ماورای بنفش مضر در این محدوده، قبل از رسیدن به کلروپلاست با تبدیل آن به گرما، به‌عنوان یک ضدآفتاب برای سلول عمل می‌کنند[۵۶]. اسید آمینه‌های مایکوسپورین علاوه‌بر این‌که فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند،

تحمل بالایی نسبت به سایر شرایط استرس اکسیداتیو دارند، که آن‌ها را به یک دفاع آنتی‌اکسیدانی خط اول ایده‌آل برای سلول تبدیل می‌کند[۵۵]. در پژوهشی پاسخ آنتی‌اکسیدانی و تغییرات ساختاری، تحت افزایش تابش UV-B برای ریزجلبک سبز *دونالیلا سالینا*[5] جمع‌آوری‌شده از آب دریا، بررسی شده است[۵۶]. مشخص شد که استفاده از تشعشعات UV-B افزایش‌یافته به اندامک‌ها آسیب می‌زند، غشاهای تیلاکوئید و میتوکندری متورم، گلبولای لیپیدی انباشته می‌شوند و اندازهٔ واکوئل‌ها افزایش می‌یابد. مقادیر بیش از حد ROS در ریزجلبک‌هایی که در معرض دوز بالاتر UV-B قرار داشتند، تولید شد. در حالی که مقدار ROS در کشت شاهد یکسان بود. حضور اسیدآمینه‌های مایکوسپورین در ابتدا با UV-B بالا افزایش یافت؛ اما پس از سه‌روز کل اسید آمینه‌های مایکوسپورین به کمتر از سطوح یافت‌شده در نمونه‌های شاهد، کاهش یافت. این نشان می‌دهد که تولید اسیدآمینه‌های مایکوسپورین با استرس UV-B تحریک، اما تحت تابش بیش از حد محدود می‌شوند. هم‌چنین مشخص شد که مقدار کاروتنوئیدها تحت تأثیر تشعشع قرار نمی‌گیرند؛ اما غلظت کلروفیل a در ابتدا افزایش و در نهایت به سطوح پایین‌تر از زمان صفر کاهش می‌یابد. محققان بر این باورند که کاروتنوئیدها در فرایندهای آنتی‌اکسیدانی نسبت به سازوکارهای برداشت نور نقش بیشتری دارند [۵۱]. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی SOD، POD و CAT همگی نتایج متفاوتی برای استرس داشتند. مقادیر POD در طول تنش افزایش، SOD کاهش یافت، و CAT تقریباً یکسان باقی ماند. فعالیت کلی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی جلبک تحت استرس در ابتدا بیشتر از کشت شاهد بود؛ اما پس از ۴ تا ۵ روز به سطوح مشابهی رسید. این نشان می‌دهد که دفاع آنتی‌اکسیدانی این ریزجلبک‌ها در برابر افزایش تابش UV-B کوتاه‌مدت است[۴۸].

۵-۲-۲ مواد مغذی

با تغییر غلظت مواد مغذی، مشخصات بیوشیمیایی جلبک نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد. وزن خشک ریزجلبک سبز می‌تواند از ۱۴-۱ درصد نیتروژن، ۱/۶-۰/۱۵ درصد گوگرد، ۳/۳–۰/۰۵ درصد فسفر و بسته به در دسترس‌بودن مواد مغذی محیط رشد تشکیل شده باشد[۵۷]. ریزجلبک‌های تحت قحطی مواد مغذی، به‌ویژه درشت مغذی‌های S،N و P می‌توانند به چندین واکنش سلولی مختلف منجر شوند، که عبارت است از تجمع چربی و نشاسته، تولید آنتی‌اکسیدان، اختلال در پروتئوسنتز و رنگ‌دانه‌ها، تخریب اسیدهای آمینه، تجمع ROS و کاهش فتوسنتز. تغییر در محتویات مواد مغذی محیط‌های رشد، می‌توانند تولید ROS در سلول و پاسخ آنتی‌اکسیدانی مربوطه را برای کاهش عدم تعادل ایجاد کنند. کمبود نیتروژن باعث ایجاد سمیت سلولی ROS و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود و سلول‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی را به‌عنوان

1. Ultraviolet Radiation
2. Photosynthetically Active Radiation
3. Infrared Radiation
4. Mycosporine Amino Acids
5. *Dunaliella Salina*

یک سازوکار دفاعی تولید می‌کنند[۵۸]. محرومیت از نیتروژن، گوگرد یا فسفر در محیط کشت باعث افزایش فعالیت CAT، APX و SOD در مقایسه با کشت بدون تنش می‌شود[۵۸]. محرومیت از نیتروژن، محتوای کلروفیل و سنتز پروتئین‌های کلروپلاستی را کاهش می‌دهد، در حالی که محرومیت از گوگرد باعث کاهش تولید کاروتنوئید و افزایش سطح ROS، که باعث افزایش بیشتر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی می‌شود[۵۹]. هم‌چنین مشخص شده است که محرومیت از منگنز، روی، آهن باعث ایجاد پاسخ استرس اکسیداتیو می‌شود. کاهش (محدودیت) نیتروژن، هم‌چنین می‌تواند نقش اساسی به‌عنوان یک عامل استرس‌زا اکسیداتیو برای بهبود فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی ایفا کند[۶۰]. طبق مطالعات، محرومیت از هر مادهٔ مغذی در افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی، نسبت به شرایط محرومیت ترکیبی از مواد مغذی مؤثرتر است[۵۸].

۵-۲-۳ فلزات

فلزات سنگین می‌توانند با تولید ROS با خوداکسیداسیون، از راه مسدودکردن گروه‌های عاملی ضروری در زیست‌مولکول‌ها یا جایگزینی یون‌های فلزی ضروری، استرس اکسیداتیو را در ریزجلبک‌ها ایجاد کنند[۶۱]. هنگامی‌که جلبک *دونالیلا ترتیولکتا*[1] با نانوذرات نقره (AgNPs) کشت شد، فعالیت CAT، SOD و POD در ابتدا افزایش و سپس با گذشت زمان کاهش یافت[۶۲]، که نشان می‌دهد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان اولین خط دفاعی برای محافظت از سلول‌ها با کاهش فلزات القاشده عمل می‌کنند. با این وجود، فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی نمی‌تواند سمیت فلزی را در طول مواجهٔ طولانی مدت استرس اکسیداتیو با سلول‌ها از بین ببرد[۶۱]. در کشت جلبک *دونالیلا ترتیولکتا* قرار گرفتن کوتاه‌مدت جیوه (Hg^{2+}) باعث افزایش فعالیت APX نسبت به سلول‌های بدون تنش شد[۶۳]. Hg^{2+} به یک گروه سولفیدریل متصل می‌شود و عملکرد پروتئین را مختل می‌کند که منجر به شرایط استرس می‌شود[۶۳]. در مقابل، قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض Hg^{2+} باعث افزایش محتوای کاروتنوئید در سلول‌های *دونالیلا* می‌شود[۶۰]. کاروتنوئید به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان حمایتی عمل می‌کند. مشخص شده است که قبل از تیمار *دونالیلا* با فلز روی و سپس کشت در حضور عوامل تولیدکنندهٔ ROS (مانند H_2O_2، پاراکوات) باعث کاهش سطح کاروتنوئیدها، فعالیت‌های CAT و APX می‌شود [۶۴]، زیرا سلول‌ها قادر به افزایش سطح آنتی‌اکسیدان نیستند. فلزاتی مانند منگنز (Mn)، مولیبدن (Mo)، کبالت (Co)، مس (Cu)، سلنیوم (Se)، روی (Zn)، کروم (Cr)، آهن (Fe)، منیزیم (Mg) و نیکل (Ni)، ریز مغذی‌های ضروری، برای عملکردهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مختلف در طول رشد ریزجلبک‌ها هستند[۶۵]. با این حال، فلزات سنگین غیرضروری مانند کروم (Cr)، سرب (Pb)، آرسنیک (As)، کادمیوم (Cd) و جیوه (Hg) سموم سیستماتیک هستند[۶۶]. مطالعات اپیدمیولوژیک و تجربی نشان داده‌اند که این فلزات اثرات نامطلوبی بر سلامت انسان دارند، از جمله بیماری‌های قلبی- عروقی، ناهنجاری‌های رشدی، اختلالات عصبی، دیابت، کم‌شنوایی، اختلالات هماتولوژیک، ایمونولوژیک و انواع مختلف سرطان. استفاده از زیست‌تودهٔ غنی‌شده با فلزات سنگین در صنایع غذایی یا به‌عنوان خوراک در صنعت آبزی‌پروری، استراتژی مناسبی برای ایجاد استرس در کشت جلبک‌ها نیست[۶۷]. هرچند غلظت‌های بالای فلزات از جمله نیکل، معمولاً به‌عنوان یک مانع برای رشد جلبک عمل می‌کند و به‌وسیلهٔ تولید رادیکال‌های آزاد، باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در جلبک می‌شود[۶۸].

۵-۲-۴ دما

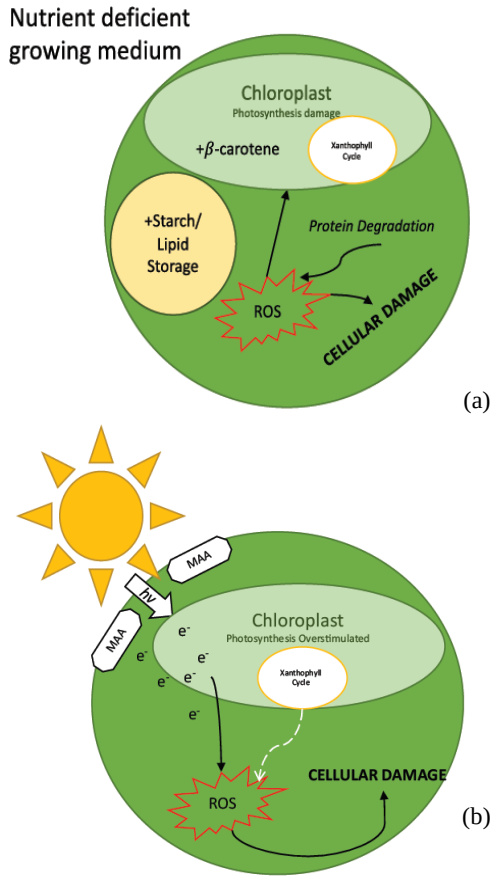
دما بر سرعت رشد ریزجلبک‌ها و ترکیبات بیوشیمیایی تأثیر می‌گذارد. اگر توانایی سلول‌ها برای جذب مواد مغذی کاهش یابد، می‌تواند باعث استرس درون سلولی شود[۶۷]. در پژوهشی، کشت جلبک *دونالیلا سالینا* در دمای پایین (۱۳ درجهٔ سلسیوس) همراه با تابش نور کم (۲۰ میکرومول برمترمربع ثانیه) باعث افزایش فعالیت SOD، APX، MDHAR، DHAR در مقایسه با کشت بدون تنش شد[۶۹]، در حالی‌که کشت در دمای بسیار پایین (۵ درجهٔ سلسیوس) باعث کاهش فعالیت CAT می‌شود[۶۹]. هنگامی‌که سلول‌ها در دمای بسیار پایین کشت شدند، محتویات کاروتنوئید و آسکوربات کمتری نیز مشاهده شد. جلبک *دونالیلا سالینا* که در معرض دمای پایین قرار گرفت و تحت شدت نور بالا (۱۲۰۰-۱۰۰ میکرومول برمترمربع ثانیه) کشت شد، مشخص شد که فعالیت SOD، MDHAR، GR، APX و POD را نسبت به سلول‌های بدون

1. D.Tertiolecta

تنش افزایش می‌دهد[۷۰]. شدت نور بالا CO_2 اشباع را فراهم می‌کند، جذب و دمای پایین باعث کاهش سرعت جذب CO_2 می‌شود، که باعث ایجاد استرس اکسیداتیو نوری و منجر به افزایش فعالیت آنزیمی می‌شود[۷۰]. فعالیت SOD، APX، DHAR، درکشت جلبک *دونالیلا سالینا* هنگامی‌که سلول‌ها به‌مدت ۲ روز تحت دمای بالا (۲۸ درجهٔ سلسیوس) و تحت تابش نور بین ۱۲۰۰-۱۰۰ میکرومول بر مترمربع ثانیه رشد کردند، در مقایسه با سویهٔ متفاوت، افزایش یافت[۷۰]. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به‌خوبی می‌توانند در مقابل اثرات ناشی از تنش شوری، تنش اکسایشی و دما عکس‌العمل نشان دهند و مقابله کنند[۷۱]. پاسخ‌های مختلف استرس اکسیداتیو بین دو سویه، می‌تواند ناشی از تغییرات مقاومت در برابر دمای پایین و نور زیاد باشد[۷۲]. تنها چند مطالعه اثر دما را بر پاسخ آنزیم آنتی‌اکسیدانی در جلبک *دونالیلا* توصیف می‌کنند و تحقیقات بیشتری برای تعیین اثر دما بر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی مورد نیاز است.

۵-۲-۵ ترکیبی از عوامل غیرزنده بر فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی

اکثر تحقیقات در مورد فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی در *دونالیلا* تنها بر یک عامل متمرکز است و چند مطالعه که اثر ترکیبی دو عامل را ارزیابی می‌کند. مطالعات نشان می‌دهد که ترکیبی از چند عوامل در تولید پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی در *دونالیلا* در مقایسه با قرارگرفتن در معرض یک عامل استرس‌زا مؤثرتر است. عواملی که می‌توانند برای تولید یک پاسخ آنتی‌اکسیدانی ترکیب شوند، عبارت‌اند از تابش UV-B + شوری بالا + کمبود نیتروژن[۵۰،۷۳،۷۴]. پرتوهای UV-B همراه با شوری بالا و کمبود نیتروژن باعث افزایش فعالیت CAT، SOD، POD نسبت به سلول‌های بدون تشعشع رشدشده، در شرایط رشد طبیعی می‌شوند. با این حال، اثر ترکیبی بر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی، به‌طور قابل توجهی نسبت به اثر پرتو UV-B یا کمبود نیتروژن کمتر است[۷۵،۱۵]. بنابراین، ترکیب تابش UV-B و کمبود نیتروژن، ممکن است در افزایش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی در *دونالیلا* مؤثر نباشند، اعمال استرس شوری می‌تواند فعالیت CAT و APX را افزایش دهد، در حالی‌که فعالیت SOD در *دونالیلا* در مقایسه با سلول‌های بدون تنش بدون تغییر می‌ماند[۷۵]. مطالعات نشان می‌دهد که شوری مرتبط با سایر استرس‌های ناشی از مواد شیمیایی، ممکن است باعث افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی در *دونالیلا* شود[۷۴]. برای ایجاد درک عمیق‌تر از شاخص‌های تنش، برای افزایش فعالیت آنزیمی، نیاز به تحقیقات بیشتر در این مورد وجود دارد. اثرات شرایط محیطی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در جدول (۲) آورده شده است.



شکل ۲. (a) کمبود مواد مغذی باعث افزایش ذخیره‌سازی لیپیدها و نشاسته‌ها، تخریب پروتئین‌ها، تولید گونه‌های اکسیژن فعال در ریزجلبک‌ها می‌شود. (b) تابش خورشید، فتوسنتز را بیش از حد تحریک می‌کند و باعث افزایش الکترون و تولید گونه‌های اکسیژن فعال اسید می‌شود[۷۱].

Figure 2. (a) Nutrient deficiencies promote increased storage of lipids and starches, degradation of proteins, a production of reactive oxygen species (ROS) in microalgae. (b) irradiance (hv) from the sun over stimulates photosynthesis, causing an excess of electrons and the production of reactive oxygen species (ROS). Mycosporine amino acids (MAA) are produced to shield the cell from irradiance [71].

جدول ۲. پاسخ آنزیمی آنتی‌اکسیدانی *دونالیلا* در معرض استرس‌های اگزوژن غیر زیستی مختلف.

Table 2. Antioxidant enzymatic response of *Dunaliella* exposed to different abiotic exogenous stress.

Stress Conditions		Strains	Optimum Light (mol Photon $m^{-2}s^{-1}$)	Salinity (M)	Temperature (˚C)	Antioxidant Enzymatic	Ref.
Salinity	0.05–3.00 M NaCl	D. tertiolecta (UTEX999)	150 Continuous light	0.1–0.5	26	No effect on SOD and CAT, GTR activities APX increased (2-fold) at high salinities (0.2–3 M)	[76]
	0.5–5.5 M NaCl	D. salina	150 Light: dark cycle (12:12 h)	1.5	(25 ± 2)	CAT activity decreases with salinity SOD increased (0.5–2 M) and then decrease APX decreases (0.5–2 M) and then constant	[77]
	1–4.0 M NaCl	D. salina	54 (Continuous)	2	22	APX increase (171%) at 4 M compared to 2M	[78]
Light	Outdoor with natural UVR	D. tertiolecta	250 Light: dark cycle (12:12 h)	-	20	SOD activity slightly changed in short and unaltered for long term exposure but no change in APX and GTX activity	[79]
	UV-B for 6 days	D. salina	60–80 Light: dark cycle (12:12 h)	-	20	CAT activity increased on 3rd day SOD activity increased on 4th day POD activity increased on 3rd day	[80]
	UV-B and UV-C for 24 h	D. bardawil	150 UV-A	-	26	APX increased by UV - A	[81]
	UV-B for 4 h	D. salina	920	-	25	CAT, SOD and POD activity increased	[82]
Nutrients	Depletion of N, P, S,NP, NS, NPS	D. salina	60 (Continuous)	-	30	SOD and CAT activity increased	[83]
	KNO3 (0.05, 0.5, 5 m M)	D. salina	150 Continuous ligh	-	25	CAT, SOD and APX activity decreased with increased nitrogen concentration	[84]
Light and temperature	Low temperature and low light for 24 h	D. salina (Gh-U)	100 Light: dark (16:8 h)	-	(28 ±0.5)	SOD activity increased APX activity increased at low light level GR, MDHAR increased at low temperature	[85]
	Low temperature and medium light for 24 h	D. salina (IR-1 and Gh-U)	100 Light: dark (16:8 h)	-	(28 ±0.5)	POD activity increased, GTX increased in strain Gh-U but not in IR-1 at low temperature GR, DHAR activity increased in Gh-U than IR-1	[68]

Stress Conditions		Strains	Optimum Light (mol Photon $m^{-2}s^{-1}$)	Salinity (M)	Temperature (˚C)	Antioxidant Enzymatic	Ref.
Chemical	SDBS and CTAC for 48 h	D. bardawil	144 (Light: dark) (14:10 h)	-	26	CAT and SOD activity increased	[84]
	Trichlorfon and dimehypo	D. salina	54 (Light: dark) (14:10 h)	-	26	CAT activity increased	[85]
	2 chlorophenol for 24, 48,and 96h	D. salina	100 (Continuous Daylight)	-	(25 ± 1)	SOD, CAT, GTX activity increased APX activity decreased	[86]
Chemical and temperature	10˚C and 5˚C,Methylene blue and norflurazon	D. salina (IPASS D-294)	73.6 White fluorescent light	-	27	CAT activity increased Chlorophyll and carotenoid content decreased with temperature	[87]
Chemical and salinity	(1, 2, 3 M NaCl) and PG (propyl gallate) for 48 h	D. salina (UTEX 200)	70 Light: dark (16:8 h)	-	25	Maximum CAT activity at 2 M NaCl and no change in SOD activity at 1 and 3 M NaCl Minor increase in APX activity at 3 M NaCl	[70]

۶. برداشت، نگهداری و ذخیره‌سازی سلول

برداشت سلول‌ها از محیط رشد در پایان فرایند کشت یکی از حیاتی‌ترین و چالش برانگیزترین مراحل است. انتخاب روش‌های برداشت مناسب به ویژگی‌های ریزجلبک بستگی دارد. چالش‌های قابل توجه در سلول‌ها عبارت است از فقدان دیوارهٔ سلولی سفت و سخت، اندازهٔ کوچک آن (۲۵-۵ میکرومتر)، تراکم سلولی کم (۱٪) در محیط کشت و شوری بالا (۳-۲ مولار) در محیط رشد. روش‌های برداشت برای تغلیظ سلول‌های ریزجلبک عبارت است از فیلتراسیون، ته‌نشینی، لخته‌سازی، فلوتاسیون، سانتریفیوژ[۸۸]. برای این‌که یک منبع آنزیم آنتی‌اکسیدانی، طبیعی، بادوام و پایدار باشد، باید خشک‌کردن و ذخیره‌سازی مناسب زیست‌توده انجام شود. شرایط ذخیره‌سازی بهینه پس از برداشت می‌تواند از دست‌دادن فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی را به حداقل برساند و عمر مفید این ترکیبات ارزشمند را افزایش دهد[۸۹]. انبار سرد معمولاً برای حفظ خواص شیمیایی، تغذیه‌ای و حسی سلول‌های زنده پردازش‌شده پس از برداشت استفاده می‌شود؛ زیرا تنفس و سایر واکنش‌های متابولیکی در دماهای پایین‌تر کاهش می‌یابند[۹۰]. زیست‌توده را می‌توان برای ذخیره‌سازی سرد از راه مسیر خشک یا مرطوب آماده کرد. در مسیر خشک، زیست‌توده در انجماد خشک یا در هوا خشک شده، سپس در دمای سرد نگهداری می‌شود. در مقابل، در یک مسیر مرطوب، زیست‌توده بلافاصله، در دمای سرد حفظ می‌شود [۷۱]. طبق مطالعات، پایداری آنتی‌اکسیدانی به نوع زیست‌توده، نوع اجزای شیمیایی، مدت زمان نگهداری، دمای نگهداری و روش خشک‌کردن بستگی دارد[۸۹]. روی و همکاران[۹۱] ذخیره‌سازی زیست‌تودهٔ جلبکی مرطوب و خشک‌شدهٔ یخ‌زده را مقایسه و پیشنهاد کردند که فعالیت زیست‌توده در انجماد خشک‌شدهٔ زیست‌توده را می‌توان به‌مدت هشت ماه در ۲۰- درجهٔ سلسیوس نگهداری کرد. در حالی‌که فعالیت‌ها در زیست‌تودهٔ مرطوب یا عصارهٔ خام به‌مدت چهار ماه در ۸۰- درجهٔ سلسیوس بدون تغییر باقی می‌ماند. بنابراین، استفاده از زیست‌تودهٔ مرطوب، اعم از تازه یا منجمد، به‌عنوان خوراک ممکن است روشی مقرون به‌صرفه برای ذخیره‌سازی آنزیم آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با ذخیره‌سازی سلول‌های خشک‌شده باشد.

۷. نتیجه‌گیری

جلبک *دونالیلا* می‌تواند طیف گسترده‌ای از مولکول‌ها را با ارزش بالایی در صنایع غذایی جهانی، آبزی‌پروری، خوراک حیوانات، داروسازی و صنایع غذایی جمع‌آوری کند. هزینه‌های بالای تولید زیست‌توده، عدم وجود شرایط بهینهٔ کشت و سیستم‌های کشت، مشکلات فنی در افزایش مقیاس و بی‌ثباتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دمای اتاق، محدودیت‌های اصلی برای تجاری‌سازی تولید آنزیم

آنتی‌اکسیدانی مبتنی بر *دونالیلا* است. قرار گرفتن در معرض فلزات، شرایط اسیدی، افزایش تابش پرتو ماورای بنفش و کمبود مواد مغذی همگی باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در ریزجلبک *دونالیلا* و شروع تجمع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌شود. با توجه به این‌که بسیاری از گونه‌های ریزجلبک هنوز کاوش نشده‌اند، تحقیقات بیشتری برای شناسایی گونه‌های جلبکی با بهره‌وری متابولیت بالا و مناسب برای کشت تجاری در مقیاس بزرگ مورد نیاز است.

مراجع

[1] Karawita, R., Senevirathne, M., Athukorala, Y., Affan, A., Lee, Y. J., Kim, S. K., Lee, J. B., Jeon, Y. J., "Protective Effect of Enzymatic Extracts from Microalgae Against DNA Damage Induced by H_2O_2", Biotechnology. Vol. 9, pp. 479–490, (2007).

[2] Singh, S., Kate, B.N., Banerjee, U.C., "Bioactive Compounds from Cyanobacteria and Microalgae: An Overview", Renewable and Sustainable Energy Reviews. Vol. 25, pp. 73–95, (2005).

[3] Shebis, Y., Iluz, D., Kinel-Tahan, Y., Dubinsky, Z., Yehoshua, Y., "Natural Antioxidants: Function and Sources", Food Natural, science. Vol. 4, pp. 643–649, (2013).

[4] Lordan, S., Ross, R. P., Stanton, C., "Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases", Makara Journal of Technology. Vol. 9, pp. 1056–1100, (2011).

[5] Li, K., Li, X. M., Ji, N. Y., Wang, B. G., "Natural bromophenols from the marine red alga Polysiphonia urceolata (Rhodomelaceae): Structural elucidation and DPPH radical-scavenging activity. Bioorg", Makara Journal of Technology. Vol. 15, pp. 6627–6631, (2007).

[6] MacArtain, P., Gill, C.I.R., Brooks, M., Campbell, R., Rowland, I.R., "Nutritional Value of Edible Seaweeds", Iranian Journal of Natural Resources. Vol. 65, pp. 535–543, (2007).

[7] Hu, C. C., Lin, J. T., Lu, F. -J., Chou, F. -P., Yang, D. J., " Determination of carotenoids in Dunaliella salina cultivated in Taiwan and antioxidant capacity of the algal carotenoid extract", Food chemistry. Vol. 109, pp. 439–446, (2008).

[8] Cha, K. H., Lee, H. J., Koo, S. Y., Song, D. G., Lee, D. U., Pan, C. -H., "Optimization of Pressurized Liquid Extraction of Carotenoids and Chlorophylls from Chlorella vulgaris", Journal of agricultural and food chemistry. Vol. 58, pp. 793–797, (2010).

[9] Bocanegra, A., Bastida, S., Benedí, J., Ródenas, S., Sánchez-Muniz, F. J., "Characteristics and Nutritional and Cardiovascular-Health Properties of Seaweeds", Makara Journal of Technology. Vol. 12, pp. 236–258, (2009).

[10] Brewer, M. S., "Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Application", Comprehensive reviews in food science and food safety. Vol. 10, pp. 221–247, (2011).

[11] Bong, S. C., Loh, S. P., " A study of fatty acid composition and tocopherol content of lipid extracted from marine microalgae, Nannochloropsis oculata and Tetraselmis suecica, using solvent extraction and supercritical fluid extraction", Institution Food Resources. J. Vol. 20, pp. 721–729, (2013).

[12] Sui, Y., Vlaeminck, S. E., "Dunaliella Microalgae for Nutritional Protein: An Undervalued Asset", Trends Biotechnol. Vol. 38, pp. 10–12, (2020).

[13] Mogharabi, M., Faramarzi, M. A., "Are algae the future source of enzymes? Trends Peptide Protein Sci", Institution of Chemical Engineers . Vol. 1, No. 1, pp. 1–6, (2021).

[14] Marrone, B. L. Lacey, R. E., Anderson, D. B., Bonner, J., Coons, J., Dale, T., Meghan Downes, C. M., Fernando, S., Fuller, Ch., Goodall, B., Holladay, J. E., Kadam, K., Kalb, D., Liu, W., Mott, J. B., Nikolov, Z., Ogden, K. L., Sayre, R. T., Trewyn, B. G., Olivares, J. A., "Review of the harvesting and extraction program within the national alliance for advanced biofuels and bioproducts", Elsevier Algal Research. Vol. 33, pp. 470–485, (2020).

[15] Khanra, S., "Downstream processing of microalgae for pigments, protein and carbohydrate in industrial application: a review. Food Bioprod. Process", Institution of Chemical Engineers. Vol. 110, pp. 60–84, (2021).

[16] Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., Kumar, P., "Microbial enzymes: Industrial progress in 21st century", 3 Biotech. Vol. 6, pp. 1–15, (2016).

[17] Villarruel-López, A., Ascencio, F., Nuño, K., "Microalgae, a Potential Natural Functional Food Source—A Review", Polish Iranian Journal of Natural Resources. Vol. 67, pp. 251–263, (2017).

[18] Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., Dhama, K.," Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: The interplay. Biomed", Iranian Research. Vol. 25, p. 761264, (2014).

[19] Panda, S. K., "Assay Guided Comparison for Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant Activities with Special Reference to Medicinal Plants", In Antioxidant Enzyme; Intech: Rijeka, Croatia. Vol. 14, pp. 381–400, (2021).

[20] Gill, S. S., Tuteja, N., "Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants", Plant Physiology Biocheistry. Vol. 48, pp. 909–930, (2010).

[21] Mtaki, K., Kyewalyanga, M. S., Mtolera, M. S. P., "Assessment of antioxidant contents and free radical-scavenging capacity of chlorella vulgaris cultivated in low cost media", Applied Sciences. Vol. 10, p. 8611, (2020).

[22] Rezayian, M., Niknam, V., Ebrahimzadeh, H., "Oxidative damage and antioxidative system in algae". Toxicology reports. Vol. 6, pp. 1309–1313, (2019).

[23] Nimse, S. B., Pal, D., "Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms", RSC advances. Vol. 5, pp. 27986–28006, (2015).

[24] Rahman, K., "Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors", Clinical interventions in aging. Vol. 2, pp. 219–236, (2007).

[25] Pandey, V. P., Awasthi, M., Singh, S., Tiwari, S., Dwivedi, U. N., "A Comprehensive Review on Function and Application of Plant Peroxidases", Biochem Anal Biochem. Vol. 6, pp. 1–16, (2017).

[26] Jegannathan, K. R., Nielsen, P. H,. "Environmental assessment of enzyme use in industrial production-a literature review", Journal of cleaner production. Vol. 42, pp. 228–240, (2020).

[27] Godic, A., Poljšak, B., Adamic, M., Dahmane, R., "The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment", Oxidative medicine and cellular longevity. Vol. 2, p. 860479, (2014).

[28] Allemann, I. B., Baumann, L., " Antioxidants used in skin care formulations" , Skin Therapy Lett. Vol. 13, pp. 5–9, (2008).

[29] Stephenie, S., Chang, Y. P., Gnanasekaran, A., Esa, N. M., Gnanaraj, C., " An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement", Journal of Functional Foods. Vol. 68, p. 103917, (2020).

[30] Raveendran, S., Kuruvilla, A., Rebello, S., "Applications of Microbial Enzymes in Food Industry", Food technology and biotechnology. Vol. 56, pp. 16–30, (2018).

[31] Schillaci, C., Nepravishta, R., Bellomaria, A., "Antioxidants in food and pharmaceutical research", Albanian Food technology and biotechnologyi. Vol. 1, pp. 15–25, (2019).

[32] Ito, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shirai, T., Tatematsu, M.," Studies on antioxidants: Their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis", Food and Chemical Toxicology. Vol. 24, pp. 1071–1082, (1986).

[33] Thompson, D. C., Trush, M. A., "Studies on the mechanism of enhancement of butylated hydroxytoluene-induced mouse lung toxicity by butylated hydroxyanisole", Toxicology and applied pharmacology. Vol. 96, pp. 122–131, (1988).

[34] Krishnamurthy, P., Wadhwani, A., "Antioxidant Enzymes and Human Health", Antioxidant enzyme. Vol. 1, pp. 3–18, (2012).

[35] Thorat, I. D., Jagtap, D. D., Mohapatra, D., Joshi, D. C., Sutar, R. F., Kapdi, S. S., "Antioxidants, their properties, uses in food products and their legal implications", International Journal of Food Studies. Vol. 2, pp. 81–104, (2021).

[36] El Shafey, H. M., Bahashwan, S. A., Alghaithy, A. A., Ghanem, S.," Microbial superoxide dismutase enzyme as therapeutic agent and future gene therapy", Curr. Res. Technol. Educ. Top. Appl. Microbiol. Microb. Biotechnol. Vol. 1, pp. 435–443, (2010).

[37] Surai, P., Surai, P. F., " Antioxidant Systems in Poultry Biology: Superoxide Dismutase", Journal of Animal Research and Nutrition. Vol. 1, pp. 1–17, (2015).

[38] Gridley, D. S., Green, L. M., Nelson, G. A., Pecaut, M.J., Slater, J. M., "Therapeutic Utilities of SOD Mimetics: Cancer, Radiotherapy and SOD Mimetics. In Madame Curie Bioscience Database", Landes Bioscience: Austin, TX, USA, Vol. 2, pp. 1132-1136, (2013).

[39] Barrita, J., Sánchez, M., "Antioxidant Role of Ascorbic Acid and His Protective Effects on Chronic Diseases. Oxidative Stress Chronic Degener", Oxidative Stress Chronic Degener. Dis. Role Antioxid . Vol. 2, pp. 450–484, (2021).

[40] Bhalamurugan, G. L., Valerie, O., Mark, L.," Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review",. Environmental Engineering Research. Vol. 23, pp. 229–241, (2020).

[41] Vinayagam, R., Xu, B. ,"Antidiabetic properties of dietary flavonoids: A cellular mechanism review", Nutrition & metabolism. Vol. 12, pp. 1–20, (2015).

[42] Jiang,W., Wei, H., He, B.,"Dietary flavonoids intake and the risk of coronary heart disease: A dose-response meta-analysis of 15 prospective studies", Thrombosis research. Vol. 135, pp. 459–463, (2015).

[43] Yaakob, Z., Ali, E., Zainal, A., Mohamad, M., Takriff, M. S., "An overview: Biomolecules from microalgae for animal feed and aquaculture", Journal of Biological Research-Thessaloniki. Vol. 21, pp. 5-6, (2014).

[44] Morón, Ú. M., Castilla-Cortázar, I., "Protection Against Oxidative Stress and “IGF-I Deficiency Conditions”", Antioxidant Enzyme. Vol. 3, pp.1135-1140, (2012).

[45] Aebi, H., "Catalase in vitro", Methods in enzymology. Vol. 105, pp. 121-126, (1984).

[46] Zhang, Y. K., Zhu, D. F., Zhang, Y. P., Chen, H. Z., Xiang, J., Lin, X. Q., "Low pH-induced changes of antioxidant enzyme and ATPase activities in the roots

of rice (Oryza sativa L.) seedlings", PloS one. Vol. 10, No. 2, p. 116971, (2015).

[47] Abeles, F. B., Charles L., "Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp ", Plant physiology. Vol. 95, No. 1, pp. 269-273, (1991).

[48] Roy, U K., Birthe V., John, J., "Effect of post-harvest conditions on antioxidant enzyme activity in Dunaliella tertiolecta biomass", Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. Vol. 27, p. 101661 (2020).

[49] Giannopolitis, C. N., Stanley K. R., "Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings ", Plant physiology . Vol. 59, No. 2, pp. 315-318, (1977).

[50] Juneja, A., Ceballos, R. M., Murthy, G. S., " Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A review", Energies. Vol. 6, pp. 4607–4638, (2013).

[51] Landsberg, J., Sands, P., "Weather and energy balance, in: Terr", Terrestrial Ecology. Vol. 4, pp. 13-48, (2011).

[52] Bonente, G., Pippa S., Castellano, S., Bassi, R., Ballottari, M., "Acclimation of Chlamydomonas reinhardtii to different growth irradiances", Journal of Biological Chemistry. Vol. 287, pp. 5833–5847, (2012).

[55] Singh, R., Upadhyay, A. K., Singh, D. V., Singh, J. S., Singh, D. P., " Photosynthetic performance, nutrient status and lipid yield of microalgae Chlorella vulgaris and Chlorococcum humicola under UV-B exposure, International Journal of Phytoremediation. Vol. 1, pp. 65–77, (2021).

[54] Rastogi, R. P., Madamwar, D., Nakamoto, H., "Incharoensakdi Resilienc and self-regulation processes of microalgae under UV radiation stress", Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews. Vol. 1, pp. 77-79, (2019).

[55] Stengel, D. B., Connan, S., Popper, Z. A., "Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application", Biotechnology advances. Rev. Vol. 29, pp. 483–501, (2011).

[56] Tian, J., Yu, J., "Changes in ultrastructure and responses of antioxidant systems of algae (Dunaliella salina) during acclimation to enhanced ultraviolet-B radiation", Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. Vol. 79, pp. 152–160 (2009).

[57] Proch´azkov´a, G., Br´anyikov´a, I., Zachleder, V., Br´anyik, T., "Effect of nutrient supply status on biomass composition of eukaryotic green microalgae" Journal of applied phycology. Vol. 26, pp. 1359–1377 (2019).

[58] Chokshi, K., Pancha, I., Ghosh, A., Mishra, S., "Nitrogen starvation-induced cellular crosstalk of ROS-scavenging antioxidants and phytohormone enhanced the biofuel potential of green microalga Acutodesmus dimorphus", Biotechnology for biofuels. Vol. 10, pp.60-61 (2017).

[59] Ruiz-Domínguez, M. C., Vaquero, I., Obreg´on, V., de la Morena, B., Vílchez, C., Vega, J. M., "Lipid accumulation and antioxidant activity in the eukaryotic acidophilic microalga Coccomyxa sp. (strain onubensis) under nutrient starvation", Journal of Applied Phycology. Vol. 27, pp. 1099–1108 (2020).

[60] Leal, J., Teixeira-Santos, L., Pinho, D., Afonso, J., Carvalho, J., de Lourdes Bastos, M., Albino-Teixeira, A., Fraga, S., Sousa, T., "L-proline supplementation improves nitric oxide bioavailability and counteracts the blood pressure rise induced by angiotensin II in rats", Nitric Oxide. Vol. 82, pp. 1–11, (2019).

[61] Kamali, M., Shariaty, M., Madadkar, M., "Effect of Iron on cell division and intracellular beta-carotene and chlorophyll synthesis in unicellular green alga Dunaliella" , Journal of Cell & Tissue . Vol. 5, No. 2, pp.207-215, In Persian , (2020).

[62] Michalak, F., "Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress", Plant Cell. Vol. 15, pp. 523–530, (2006).

[63] Hazani, A. A., Ibrahim, M. M., Shehata, A. I., El-Gaaly, G. A., Daoud, M., Fouad, D., Rizwana, H., Moubayed, N., "Ecotoxicity of Ag-nanoparticles on two microalgae, Chlorella vulgaris and Dunaliella tertiolecta", Archives of Biological Sciences. Vol. 65, pp. 1447–1457, (2013).

[64] Zamani, N., Rasekh, F., Moradshahi, A., Kholdebarin, B., "Physiological responses of Dunaliella tertiolecata to Hg^{2+}-induced oxidative stress" Iran. Archives of Biological Sciences. Vol. 33, pp. 65–74, (2021).

[65] Nikookar, K., Moradshahi, A., Hosseini, L., "Physiological responses of Dunaliella salina and Dunaliella tertiolecta to copper toxicity", Biomolecular Engineering. Vol. 22, pp. 141–146, (2005).

[66] Liang, Y., Sarkany, N., Cui, Y., "Biomass and lipid productivities of Chlorella vulgaris under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions", Biotechnology letters . Vol. 31, pp. 1043–1049, (2020).

[67] Sharma, S. S., Dietz, K. J.," The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance", Trends in plant science. Vol. 14, pp. 43–50, (2020).

[68] Rezaeeyan, M., Faramarzi, M. A., Niknam, V.,

Ebrahimzadeh, H. "Effect of salt stress on growth, lipid peroxidation, antioxidant enzymes and phycobiliproteins in two species of Nostoc" , Journal of Plant Research. (Iranian Journal of Biology). Vol. 27, No. 4, pp. 661-673, In Persian, (2015).

[69] Haghjou, M. M., Shariati, M., Pozveh, M. H., "The effect of low light intensities on oxidative stress induced by short-term chilling in Dunaliella salina teod", Archives of Biological Sciences. Vol. 9, pp. 2048–2054, (2006).

[70] Haghjou, M. M., Shariati, M., Smirnoff, N., "The effect of acute high light and low temperature stresses on the ascorbate-glutathione cycle and superoxide dismutase activity in two Dunaliella salina strains. Physiol", Physiologia Plantarum. Vol. 135, pp. 272–280, (2009).

[71] Sanobari, Z., Jafari, S., Ebrahimzadeh, M. A., "Effect of Nickel and Acidity on Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Content of Algae Cladofora Glomerrata", Journal of Environmental Science and Technology. Vol. 16, No. 2, pp. 129-138, In Persian (2014).

[72] Minhas, A. K., Hodgson, P., Barrow, C. J., Adholeya, A., "A review on the assessment of stress conditions for simultaneous production of microalgal lipids and carotenoids", Frontiers in microbiology. Vol. 7, pp. 1–19, (2016).

[73] Tammam, A. A., Fakhry, E. M., El-sheekh, M., "Effect of salt stress on antioxidant system and the metabolism of the reactive oxygen species in Dunaliella salina and Dunaliella tertiolecta", African Journal of Biotechnology. Vol. 10, pp. 3795–3808, (2011).

[74] Mishra, A., Mandoli, A., Jha, B., "Physiological characterization and stress-induced metabolic responses of Dunaliella salina isolated from salt pan", Journal of industrial microbiology and biotechnology. Vol. 35, pp. 1093–1101, (2008).

[75] Einali, A., Valizadeh, J., "Propyl gallate promotes salt stress tolerance in green microalga Dunaliella salina by reducing free radical oxidants and enhancing carotene production", Acta Physiologiae Plantarum. Vol. 37, pp. 1–11, (2021).

[76] Shick, J. M., Dunlap, W. C., "Mycosporine-like amino acids and related gadusols: Biosynthesis, acumulation, and UV-protective functions in aquatic organisms", Annual review of Physiology . Vol. 64, pp. 223–262, (2002).

[77] Asada, K., "The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons", Annual review of plant biology. Vol. 50, pp. 601–639, (1999).

[78] Janknegt, P. J., De Graaff, C. M., Van De Poll, W. H., Visser, R. J. W., Helbling, E. W., Buma, A. G. J., "Antioxidative responses of two marine microalgae during acclimation to static and fluctuating natural uv radiation", Plant physiology and biochemistry. Vol. 85, pp. 1336–1345, (2009).

[79] Hanaa, H., El Baz, F. K., El-Baroty, G. S., "Production of Antioxidant by the Green Alga Dunaliella salina", Annual review of Physiology. Vol. 6, pp. 49–57, (2004).

[80] Alizadeh, G. I., Aliev, I. I., "Magerramova, K. K.; Galandarli, I. Z., Dibirova, G. H., Jalilova, A. R., "The response reaction of Dunaliella cells against the influence of Methylene blue and Norflurazon under the low temperature stress conditions", Applied Sciences. Vol. 3, pp. 7–10, (2015).

[81] Lv, H., Cui, X., Wahid, F., Xia, F., Zhong, C., Jia, S., "Analysis of the physiological and molecular responses of Dunaliella salina to macronutrient deprivation", PLoS ONE. Vol. 11, pp. 152-160, (2016).

[82] Saha, S. K., Moane, S., Murray, P., "Effect of macro- and micro-nutrient limitation on superoxide dismutase activities and carotenoid levels in microalga Dunaliella salina CCAP 19/18", Bioresource technology. Vol. 147, pp. 23–28, (2021).

[83] Arun, N., Vidyalaxmi, V., Singh, D. P., "Chromium (VI) induced oxidative stress in halotolerant alga Dunaliella salina and D. tertiolecta isolated from sambhar salt lake of Rajasthan (India)", Cellular and Molecular Biology. Vol. 60, pp. 90–96, (2014).

[84] Yu, X., Chen, L., Zhang, W., "Chemicals to enhance microalgal growth and accumulation of high-value bioproducts", Frontiers in microbiology. Vol. 6, pp. 1–10, (2015).

[85] Tappel, A. L., "Glutathione peroxidase and hydroperoxides", in Methods Enzymol. Vol. 52, pp. 506–513, (1978).

[86] Al-Rashed, S. A., Ibrahim, M. M., El-Gaaly, G. A., Al-Shehri, S., Mostafa, A.,"Evaluation of radical scavenging system in two microalgae in response to interactive stresses of UV-B radiation and nitrogen starvation", Saudi journal of biological sciences. Vol. 23, No. 2, pp. 706-710, (2019).

[87] Jajic, I., Sarna, T., Strzalka, K., "Senescence, Stress, and Reactive Oxygen Species". Plants.Vol. 4, pp. 393-411, (2020).

[88] Kim, J., Yoo, G., Lee, H., Lim, J., Kim, K., Kim, C. W., Park, M. S., Yang, J. W., "Methods of downstream processing for the production of biodiesel from microalgae", Biotechnology advances. Vol. 31, pp. 862–876, (2013).

[89] Roy, M., Mohanty, K., "A comprehensive review on microalgal harvesting strategies: Current status and future prospects", Algal Research. Vol. 44, pp. 101-110, (2019).

[90] Najjar, Y. S., Abu-Shamleh, A., "Harvesting of microalgae by centrifugation for biodiesel production: A review", Algal Research. Vol. 51, pp. 102-109 (2020).

[91] Roy, U. K., Nielsen, B. V., Milledge, J. J., "Effect of post-harvest conditions on antioxidant enzyme activity in Dunaliella tertiolecta biomass. Biocatal", Algal Research. Vol. 27, pp. 101-115, (2020).

[92] Kumar, R. R., Rao, P. H., Subramanian, V. V., Sivasubramanian, V., "Enzymatic and non-enzymatic antioxidant potentials of Chlorella vulgaris grown in effluent of a confectionery industry", Journal of food science and technology. Vol. 51, pp. 322–328, (2014).

[93] Qv, X. Y., Jiang, J. G., "Toxicity evaluation of two typical surfactants to Dunaliella bardawil, an environmentally tolerant alga", Environmental toxicology and chemistry. Vol. 32, pp. 426–433, (2013).

[94] Chen, H., Jiang, J. G., "Toxic effects of chemical pesticides (trichlorfon and dimehypo) on Dunaliella salina", Chemosphere. Vol. 84, pp. 664–670, (2011).