

Research Article

Nutritional value, phytochemical and antioxidant properties of premix extract of brown macroalgae *Sargassum ilicifolium*, *Nizimuddiniana zanardini*, *Cystoseira indica* and *Padina australis* from Chabahar coasts

Ashkan Ajdari ^{1*}, Paria Akbary ², Salim Jadgal ¹, Elnaz Erfani Far ¹, Seyed Ahmad Reza Hashemi ¹

¹Chabahar Offshore Fisheries Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Educations and Extension Organization, Chabahar, Iran

²Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

Key Words

Macroalgae extract
Nutritional value
Sterol
Phenol
Antioxidant status

Abstract

Introduction: Seaweed is considered as a promising alternative food source for animals, with numerous benefits, such as high growth rates, exceptional tolerance for potential seawater breeding, and no occupation of arable land. The aim of this study was to evaluate the nutritional value (approximate composition, amino acid and fatty acid), phytochemical (sterol, phenol and flavonoid) and antioxidant activity (diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) of aqueous extract of brown algae macroalgae *Sargassum ilicifolium*, *Nizimuddiniana zanardini*, *Cystoseira indica* and *Padina australis* was performed.

Material & Methods: In this study, after collecting macroalgae from the tidal areas of Chabahar coasts, they were washed and after drying in a ratio of 1: 1: 1, they were combined and turned into a powder. Chemical composition was measured by AOAC method, fatty acids by chromatography, amino acids by HPLC, sterol by gas and phenol chromatography, flavonoids and antioxidant activity by spectrophotometer.

Results: The results showed that the amount of protein, fat, carbohydrate, ash and moisture were 6.38, 1.30, 0.86, 5.10, 2.20 and 85.46 g per 100 g of fresh weight of premix and the amount of crude energy, respectively. 4238.86 calories per gram was premix. The predominant saturated fatty acids in the premix of macroalgae tested were palmitic acid (15.11±0.89%), myristic acid (10.51±0.28%) and stearic acid (8.54±0.43%), respectively. Among monounsaturated fatty acids, oleic acid (7.49±0.97%) and among long chain unsaturated fatty acids (PUFA), respectively, arachidonic acid (20.48±4.23%), linoleic Acid (18.32±6.12%) and alpha linolenic acid (6.50±78 0.78%) were predominant. The total essential and non-essential amino acids were 7.88 and 11.41 amino acids per 100 g, respectively. Glutamic acid (4.12±0.02 amino acid per 100 g of sample), aspartic acid (1.71±0.05 g of amino acid per 100 g of sample) and serine (1.64±0.09 g of amino acid per 100 g of sample) was dominated by non-essential amino acids, respectively. The predominant sterol was cytostanol. The total sterol content was 234.54±12.18 mg/100 g dry matter. Cholesterol and cholesterol levels were 6.36±0.62 and 5.38±0.21 mg/100g dry matter, respectively. Phenol, flavonoids and antioxidant activity of premix aqueous extract were 83.46±7.7mg GAE/g extract, 10.01±0.98 mg QE/g dry extract and 1323.87±11.28 µmol TE/g, respectively.

Conclusion: It was an extract. Overall, the results of this study showed that due to the presence of long-chain unsaturated fatty acids, the balance between essential and essential amino acids, sterols and natural antioxidants, the use of macroalgae premix. *S. ilicifolium*, *N. zanardini*, *C. indica* and *P. australis* are recommended in food and pharmaceutical industries.

Article info

* Corresponding Author's email:
a.ajdari2020@gmail.com

Received: 2 March 2025

Reviewed: 5 April 2025

Revised: 8 June 2025

Accepted: 11 July 2025

مقاله علمی - پژوهشی

ارزش غذایی، فیتوشیمیایی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای *Padina australis* و *Cystoseira indica*، *Nizimuddinina zanardini*، *Sargassum ilicifolium*

اشکان اژدری^{۱*}، پریا اکبری^۲، سلیم جدگال^۱، الناز عرفانی‌فر^۱، سیداحمد رضا هاشمی^۱

^۱ مرکز تحقیقات شیلات آب‌های دور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چابهار، ایران

^۲ گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

کلمات کلیدی

چکیده

عصاره ماکرو جلبک

ارزش غذایی

استرول

فنل

وضعیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه: ماکرو جلبک دریایی به‌عنوان منابع غذایی امیدبخش جایگزین برای جانوران، با مزایای متعدد، مانند نرخ بالای رشد، تحمل استثنایی برای پرورش بالقوه در آب دریا و و عدم اشغال زمین‌های قابل کشت در نظر گرفته می‌شوند. تحقیق حاضر با هدف بررسی ارزش غذایی (ترکیب تقریبی، اسید آمینه و اسید چرب)، فیتوشیمیایی (استرول، فنل و فلاونوئید) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (دی فنیل پیکریل هیدرازیل) عصاره آبی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium*، *Nizimuddinina zanardini*، *Cystoseira indica* و *Padina australis* انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، پس از جمع‌آوری ماکرو جلبک‌ها از مناطق جزر ومدی سواحل چابهار، شستشو داده شدند و پس از خشک کردن به نسبت ۱:۱:۱ با هم ترکیب و به‌صورت پودر در آمد. ترکیب شیمیایی به‌روش AOAC، اسیدهای چرب با دستگاه کروماتوگرافی، اسیدهای آمینه با دستگاه HPLC، استرول با دستگاه کروماتوگرافی گازی و فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

نتایج: نتایج نشان داد که میزان پروتئین، چربی، کربوهیدرات، خاکستر و رطوبت به‌ترتیب ۶/۳۸، ۱/۳۰، ۸۶/۱۰، ۵/۰ و ۲/۲۰ و ۸۵/۴۶ گرم در ۱۰۰ گرم تر پرمیکس و میزان انرژی خام ۴۲۳۸/۸۶ کالری بر گرم پرمیکس بود. اسیدهای چرب اشباع شده غالب در پرمیکس ماکرو جلبک‌های مورد آزمایش به‌ترتیب اسید پالمیتیک (۸۹/۱۱±۱۵ درصد)، مرستیک اسید (۲۸/۵۱±۱۰ درصد) و اسید استئاریک (۴۳/۵۴±۸ درصد) بود. در بین اسیدهای چرب تک زنجیره غیر اشباع، اولئیک اسید (۹۷/۴۹±۷ درصد) و از بین اسیدهای چرب بلند زنجیره اشباع‌نشده (PUFA)، به‌ترتیب آراشیدونیک اسید (۲۳/۴۸±۲۰ درصد)، لینولئیک اسید (۱۲/۳۲±۱۸ درصد) و آلفالینولئیک اسید (۷۸/۵۰±۶ درصد) غالب بود. مجموع اسید آمینه ضروری و غیر ضروری به ترتیب ۷/۸۸ و ۱۱/۴۱ اسید آمینه بر ۱۰۰ گرم نمونه بود. گلوتامیک اسید (۲/۱۲±۴ اسید آمینه بر ۱۰۰ گرم نمونه)، اسید آسپارتیک (۵/۷۱±۱۰ اسید آمینه بر ۱۰۰ گرم نمونه) و سرین (۹/۶۴±۱ گرم اسید آمینه بر ۱۰۰ گرم نمونه) به‌ترتیب جز اسید آمینه غیر ضروری غالب بود. (۵/۱۸±۱ میلی گرم اسید آمینه بر گرم نمونه) و گلوتامیک اسید (۵/۹۸±۱ میلی گرم اسید آمینه بر گرم نمونه) جز اسید آمینه غیر ضروری غالب بود. استرول غالب سیتوستانول بود. میزان استرول کل ۱۲/۱۸±۲۳۴/۵۴ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. میزان کلسترول و کمپسترول به‌ترتیب ۶۲/۳۶±۶ و ۲۱/۳۸±۵ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی پرمیکس به‌ترتیب ۷/۴۶±۸۳ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره، ۹۸/۱۰±۱۰/۱ میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک و ۲۸/۱۱±۱۳۲۳/۸۷ میکرومول ترولکس بر گرم عصاره بود. **بحث و نتیجه‌گیری:** در کل، نتایج این تحقیق نشان داد که به‌دلیل وجود اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره غالب، تعادل بین اسیدهای آمینه غیر ضروری و ضروری، استرول و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، استفاده از پرمیکس ماکرو جلبک‌های *S. ilicifolium*، *P. australis* و *C. indica* در صنایع غذایی و دارویی توصیه می‌گردد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
a.ajdari2020@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۲ اسفند ۱۴۰۳

تاریخ داوری: ۱۶ فروردین ۱۴۰۴

تاریخ اصلاح: ۱۸ خرداد ۱۴۰۴

تاریخ پذیرش: ۲۰ تیر ۱۴۰۴

مقدمه

با توجه به رشد سریع جمعیت و روند رو به رشد استانداردهای زندگی، امنیت غذایی یک چالش بزرگ است. رقابت افزایشی بر روی زمین، آب و انرژی، و صید کاملاً بر نیاز اضطراری به مواد غذایی پایدار توسعه یافته از منابع طبیعی تجدید پذیر را تأکید می‌کند (۳۵، ۳۶). استفاده از ماکرو جلبک‌های دریایی مختلف به عنوان منبع غذای مکمل در محصولات جانوری تاریخچه طولانی دارد. این جلبک‌ها پایه زنجیره‌های غذایی آبی را تشکیل می‌دهند. از لحاظ تکامل نژادی متمایز و شامل نژادها و کلاس‌های مختلفی هستند. آن‌ها به دلیل کاربردهای بالقوه متعددی مانند غذاهای کاربردی، غذاهای حیوانی، زیست‌پزشکی، پربیوتیک‌ها، لوازم آرایشی، کودهای ارگانیک، تصفیه فاضلاب، تولیدات زیست‌سوخت‌ها و مواد با ارزش شناخته شده‌اند (۳۵). محبوبیت غذاهای ماکرو جلبکی به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا در حال افزایش است. بیومس جلبکی توسط پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، اسیدهای چرب غیراشباع چندظرفیتی، کاروتنوئیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی غنی شده است. اگرچه، امیدبخش‌ترین قسمت آن پلی‌ساکاریدها یا مشتقات آن‌ها (مانند فیبرهای رژیمی) هستند که توسط باکتری‌های کولونی به طور کامل تخمیر نمی‌شوند و در نتیجه به عنوان پربیوتیک‌های احتمالی عمل می‌کنند (۳۲). اخیراً استفاده از جلبک‌های دریایی در آبی‌پروری به علت داشتن مواد مغذی نظیر آنتی‌اکسیدان‌ها، اسیدهای چرب ضروری (امگا ۳ و ۶)، اسیدهای آمینه ضروری، ویتامین‌ها، مواد معدنی، کربوهیدرات‌ها و بتاکاروتن رو به گسترش است (۸، ۲۰). به دلیل دارا بودن ویژگی‌های زیست‌فعالی که موجب ایجاد پاسخ‌های تنظیم‌کننده سیستم ایمنی، آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی، ضدانعقادی، محافظت‌کننده کبد و ضد فشارخون می‌شوند، ترکیبات مشتق شده از جلبک‌ها علاوه بر منابع پربیوتیک و آمینو اسیدهای تعدیل‌شده، به عنوان دارو نیز در نظر گرفته می‌شوند (۳۲، ۳۵، ۳۶). ماکرو جلبک‌ها حاوی سطوح مختلفی از مواد مغذی می‌باشند که وابسته به گونه، فصل برداشت، منشأ جغرافیایی، و شرایط زیست محیطی می‌باشد. استفاده از آن‌ها در رژیم غذایی آبزیان نه تنها هزینه تغذیه را کاهش می‌دهد بلکه منجر به بهبود کارایی تغذیه آبزیان، هضم و تقویت سیستم ایمنی ماهیان می‌گردد (۴۴) و با بهبود کارایی هضم، کیفیت آب را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (۹). سطح پروتئین و اسیدآمینه‌های ضروری در ماکرو جلبک‌ها بسیار متفاوت می‌باشند و قابلیت گوارش پروتئین ممکن است توسط پلی‌ساکاریدهای خاص گونه‌ها و ترکیبات فنلی تحت تأثیر قرار بگیرند. بنابراین، تعمیم در مورد سودمندی کل ماکرو جلبک‌ها به عنوان منبع پروتئین امکان پذیر نیست، اما بسیاری از گونه‌ها پروتئین‌های قابلیت هضم

بسیار کمی دارند تا به عنوان منابع پروتئین جایگزین در خوراک حیوانات شوند (۳۵). ماکرو جلبک‌های دریایی، غنی از ترکیبات زیست فعال می‌باشند که می‌توانند به انواع گوناگونی از متابولیت‌های ثانویه همراه با طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی تبدیل شوند. در آینده، ترکیبات زیست فعال همراه با اثرات مفید ثبت شده، ممکن است افزایش استفاده تجاری از محصولات ماکرو جلبک را به عنوان مواد غذایی تسهیل کند. مطالعات متعددی در ارتباط با ارزیابی استرول ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای به عنوان مثال، ماکرو جلبک *Stoechospermum marginatum* و *P. boergesenii* (۵)، *P. australis* (۱) *Pelvetia siliquosa* (۲۸) محتوی فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماکرو جلبک‌های سواحل چابهار *Padina australis*، *Stoechospermum marginatum* و *Ahnfeltiopsis pygmaea* (۶) *Cystoseira trinodis* (۳)، *Hizikia fusiformis* (۱۳)، بررسی ترکیبات شیمیایی، اسیدآمینه و اسیدهای چرب برخی گونه‌های ماکرو جلبک‌ها به عنوان مثال *Macrocystis pyrifera* (۱۱)، *Sargassum sp.* (۱۲)، *Gracilaria salicornia* (۴۳) و *P. australis* و *Stoechospermum marginatum* (۵) صورت گرفته است. به عنوان مثال Supardy و همکاران نشان دادند که در بین عصاره‌های مختلف جلبک *Halimeda discoidea* فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کلروفرمی و محتوی فنل بالاتر بود (۴۳). هم چنین محتوای پروتئین خام، لیپید خام، خاکستر و فیبر در وعده‌های غذایی متشکل از جلبک دریایی *Macrocystis pyrifera* به ترتیب رنجی از ۵ تا ۱۴، از ۵ تا ۲، از ۳۱ تا ۴۵ و از ۵ تا ۹ درصد داشت (۱۲). اما تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با ارزیابی ارزش غذایی، فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پرمیکس ماکرو جلبک‌ها صورت نگرفته است. علی‌رغم پتانسیل‌های ذکر شده، برای این‌که ماکرو جلبک‌ها برای کاربردهای گسترده‌تر و خاص در تمام حیطه‌های سلامتی به یک کسب و کار واقعی تبدیل شوند، به تحقیقاتی بیش‌تری نیاز است. اگرچه، تا زمانی که با کشف پتانسیل پنهان آن‌ها و افزایش ارزش و چشم اندازهای کاربردی آن‌ها صرفه‌پذیری تجاری آن‌ها توجیه شود، افزایش ظرفیت پردازش زیستی جلبک‌ها به عنوان یک چالش اصلی مطرح است. این مطالعه با هدف بررسی ارزش غذایی (ترکیب تقریبی، اسید آمینه و اسید چرب)، فیتوشیمیایی (استرول، فنل و فلاونوئید) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (دی فنیل پیکریل هیدرازیل) عصاره آبی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium*، *Nizimuddin* و *Padina australis* منطقه چابهار برای ترویج این محصول غذایی منطقه‌ای در جیره غذایی انسان و حیوان می‌باشد که می‌تواند چشم‌انداز خوبی در توسعه سلامت عمومی مصرف‌کنندگان و سودآوری تجاری ماکرو جلبک‌های این منطقه داشته باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی عصاره آبی پرمیکس ماکروجلبک‌ها:

ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *Nizimuddinia Sargassum ilicifolium* و *Cystoseira indica zanardini* و *Padina australis* در آذرماه ۱۴۰۰ از سواحل چابهار (دریا بزرگ و تیس) هنگام جذر جمع‌آوری و پس از حمل به آزمایشگاه، با آب شیرین چندین بار شستشو شدند تا موجودات اپی‌فیت و گل و لای آن کاملاً از بین برود. سپس در سایه و در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) خشک شدند. پس از آسیاب نمودن هریک از ماکروجلبک‌ها توسط آسیاب برقی، پودر مخلوط از چهار گونه ماکروجلبک (۱:۱:۱:۱) آماده شد و تا زمان استفاده بعدی در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۷، ۲۰). جهت تهیه عصاره آبی از پرمیکس ماکروجلبک‌ها (سه تکرار)، مقدار ۵ گرم پودر حاصله از پرمیکس با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه به خوبی تکان داده شد و سپس در ظروف رابسته و به مدت ۷۲ ساعت در تاریکی نگهداری شدند. سپس محلول رویی با دقت جمع‌آوری و پس از عبور از کاغذ صافی (کاغذ واتمن شماره ۱)، با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان (IKA, Germany) در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت عصاره تغلیظ شد در نهایت عصاره به دست آمده، در پتری‌دیش تمیز زیر هود لامینار قرار گرفت تا بقیه حلال باقی‌مانده تبخیر شد. میزان عصاره به دست آمده از سه تکرار قبل از روتاری با هم مخلوط شدند و تا زمان استفاده بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۴).

سنجش ترکیب شیمیایی: تجزیه شیمیایی ترکیب شیمیایی

و انرژی خام پرمیکس ماکروجلبک مورد آزمایش، بر اساس روش استاندارد AOAC (۲، ۸) انجام گرفت. پروتئین کل لاشه با روش دستگاه کج‌للال، چربی با روش سوکسله و حلال اتر، رطوبت از طریق قرار دادن نمونه در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد، توزین نمونه بعد از خنک شدن و خاکستر از طریق سوزاندن نمونه در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت محاسبه شد. میزان کربوهیدرات پرمیکس ماکروجلبک نیز از کسر میزان پروتئین، رطوبت، چربی و خاکستر از ۱۰۰ گرم نمونه محاسبه شد (۳۹).

سنجش ترکیب اسیدهای چرب: مقدار ۲۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم

از نمونه پرمیکس ماکروجلبک‌ها درون ظرف شیشه‌ای درب‌دار ریخته شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول حاوی H_2SO_4 ۲/۵ درصد و متانول ۹۸ درصد (۱/۴۰ v/v) به هر ظرف نمونه اضافه گردید و سپس به مدت ۱ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از سرد شدن در دمای اتاق، ۵۰۰ میکرولیتر هگزان با ۱/۵ میلی‌لیتر NaCl ۹ درصد مخلوط گردید و به نمونه اضافه شده تا اسید چرب متیل

استر استخراج گردد (۲۹). پس از سانتریفیوژ نمونه (۱۰ دقیقه با ۴۰۰۰ دور در دقیقه)، بخش رویی محلول (شامل هگزان) جداسازی شده و برای تعیین پروفایل اسید چرب به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق گردید (۹، ۲۹). برای جداسازی و شناسایی انواع اسیدهای چرب، از دستگاه کروماتوگرافی مدل Unicam ۴۶۰۰ (مستقر در شرکت میزان سنجش پاسارگاد تهران) استفاده شد. ستون این دستگاه از نوع $Bp \times 10$ به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۱ میلی‌متر بود آشکارساز دستگاه از نوع FID و گاز حاصل از دستگاه هلیوم بود. فشار گاز هیدروژن ۳۰ میلی‌لیتر بر ثانیه، اکسیژن ۳۰۰ میلی‌لیتر بر ثانیه، دمای آشکارساز ۲۵۰ Detector درجه سانتی‌گراد، دمای Injector ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ستون ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. ۱ میکرولیتر از عصاره مورد نظر با سرنگ هاملتون به دستگاه تزریق گردید با عبور گازی هلیوم و حرارت تدریجی، استرهای متیله اسیدهای چرب که به صورت بخار درآمدند، یکی پس از دیگری از ستون خارج شدند و منحنی رسم شد و زمان بازداری مربوط به هر اسید چرب با منحنی مربوط به اسیدهای چرب استاندارد و زمان بازداری مقایسه شد و بدین ترتیب، نوع و میزان اسید چرب (برحسب درصد کل اسیدهای چرب) تعیین گردید (۳۲).

سنجش ترکیب اسید آمینه: جهت سنجش ترکیب اسیدهای

آمینو از روش Lindroth و Mopper با کمی تغییر استفاده گردید (۲۵). ابتدا ۰/۱ گرم آرتمیا خشک شده از هر تکرار تیمار در دستگاه فریز درایر (۷۰۱۲-Operon، کشور کره جنوبی) به لوله هضم اضافه و ۷/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۶ نرمال به آن اضافه شد و پس از خارج کردن هوای داخل لوله با گاز نیتروژن، در داخل آون با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت و سپس حجم اسید موجود در لوله تا حجم ۲۵ میلی‌لیتر با آب خالص رقیق گردید و با فیلترهای سر سرنگی ۰/۴۵ میکرونی محلول فیلتر شده و ۱۰ میکرولیتر از این محلول فیلتر شده در ظروف شیشه‌ای ریخته شد و تحت شرایط خلأ قرار گرفته و در نهایت در داخل یخچال قرار گرفت. پس از مرحله هضم، برای مرحله اشتقاق، ۱۰ میکرولیتر بافر استات به لوله هضم حاوی اسید آمینه خشک شده اضافه شده و بعد از مخلوط کردن مجدداً ۴۹۰ میکرولیتر بافر استات به مخلوط اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه انکوباسیون گردید و سپس بافر بورات و ۱۰۰ میکرو لیتر محلول OPA (o-phthalaldehyde) اضافه شده و پس از ۲ دقیقه انکوباسیون، ۵۰ میکرولیتر اسید کلریدریک ۰/۷۵ مولار به ترکیب اضافه شده تا واکنش متوقف شد و نهایتاً ۲۰ میکرولیتر از ترکیب نهایی با سرنگ مخصوص به دستگاه HPLC (۱۲۹۰ infinity کشور انگلیس) به مشخصات ستون (mm OPA specific RP۱۸) و 4×100 column و دمای ستون ۳۰ درجه سانتی‌گراد تزریق گردید.

سنجش ترکیبات فیتو شیمیایی

استخراج و سنجش استرول: برای استخراج استرول‌های آزاد به یک گرم از پودر پرمیکس ماکروجلبک‌ها، ۲۰ میلی‌لیتر دی‌کلرو متان افزوده شد و با کمک دستگاه فراصوت همگن گردید و مخلوط به مدت ۵/۰ ساعت در دمای اتاق به حالت سکون نگه داشته شد و با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱، صاف گردید و در نهایت با استفاده از دستگاه تبخیر در خلاء و گاز نیتروژن، حلال به طور کامل از هر نمونه خشک شد. پس از استخراج استرول‌های آزاد از چهار گونه نرم‌تن و خشک شدن کامل عصاره‌ها با گاز نیتروژن، ۵۰ میکرولیتر پیریدین خشک دوبار تقطیر به همراه ۵۰ میکرولیتر معرف BSTFA (N,O-Bis (trimethylsilyl)trifluoroacetamide >99%) حاوی ۱ درصد TMCS (trimethylchlorosilane) (شرکت سیگما آلدريج) به آن‌ها افزوده شد و به مدت یک شب در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس هر یک از عصاره‌ها با یک میلی‌لیتر دی‌کلرومتان رقیق شده و حجم یک میکرولیتر از هر یک از آن‌ها برای تجزیه به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. استخراج از هر نمونه سه بار انجام شد. برای جداسازی انواع استرول‌ها در عصاره‌ها از دستگاه کروماتوگرافی مدل Unicam 4600 (مستقر در شرکت میزان سنجش پاسارگاد تهران) استفاده شد. ستون این دستگاه از نوع $10 \times Bp$ به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۱ میلی‌متر بود آشکارساز دستگاه از نوع FID و گاز حاصل از دستگاه هلیوم بود که با فشار ۶ پاسکال در ستون به عنوان گاز حامل به کار رفت. برنامه حرارتی ستون با دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه آغاز شد و پس از آن با افزایش دمای ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد رسید و بعد به مدت ۱۵ دقیقه در همین دما باقی ماند. دمای اتاق تزریق و آشکارساز ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و حجم عصاره برای تزریق یک میکرولیتر بود. شناسایی اجزای موجود در کروماتوگرام به کمک زمان بازداری آن‌ها انجام شد زمان بازداری اجزای مختلف با استفاده از داده‌های تزریق فیتواسترول‌های استاندارد (کمپسترول Campesterol، استیگماسترول Stigmaterol و بتا-سیتوسترول) (شرکت سیگما- آلدريج) تحت شرایط یکسان با تزریق نمونه‌ها محاسبه گردید و از کلسترول به عنوان استاندارد داخلی برای سنجش کمی استفاده شد (۲۶).

اندازه‌گیری فنل: مقادیر فنل کل عصاره حاصل از هر تیمار مورد آزمایش، با اندکی تغییر توسط روش Ebrahimzadeh و همکاران اندازه‌گیری شد (۱۸). ۲۰۰ میکرولیتر عصاره با ۲۰ میکرولیتر معرف فولین-سیکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) مخلوط

شد و به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۲ میکرو لیتر از بی‌کربنات سدیم ۶ درصد اضافه و مخلوط شد و بعد از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu, uv-1800, Japan) در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. مقادیر فنل کل در هر یک از عصاره‌ها با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه و بر حسب میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره بیان گردید.

اندازه‌گیری فلاونوئید: محتوای فلاونوئیدی عصاره حاصل از پرمیکس ماکروجلبک‌ها با اندکی تغییر توسط روش Ebrahimzadeh و همکاران اندازه‌گیری شد (۱۸). ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره نمونه، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول و ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد در اتانول ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شدند. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu, uv-1800, Japan) در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه و بر حسب میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک بیان گردید.

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدان به وسیله دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH: Di Phenyl Picryl Hydrazyl): فعالیت خنثی سازی رادیکال آزاد (Radical Scavenging activity) دی فنیل پیکریل هیدرازیل عصاره پرمیکس ماکروجلبک‌ها توسط روش Shimada و همکاران با استفاده از کیت اندازه‌گیری ظرفیت خنثی سازی رادیکال آزاد بر اساس روش DPPH (کیت زیتوکس تهیه شده از شرکت کاوش آزما) در طول موج ۵۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. و مقدار DPPH بر حسب میکرومول ترولکس بر گرم وزن خشک عصاره بیان گردید (۴۱).

تجزیه و تحلیل آماری: مقادیر ترکیب شیمیایی، اسیدهای چرب، اسیدهای آمینه، استرول‌ها، فنل و فلاونوئید به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (از سه تکرار) گزارش شد.

نتایج

ترکیب شیمیایی: در جدول ۱ میزان ترکیب شیمیایی پرمیکس ماکروجلبک‌ها ارائه شده است. جزء اصلی پرمیکس ماکروجلبک‌های مورد آزمایش، رطوبت بود. میزان پروتئین، چربی، کربوهیدرات، خاکستر و رطوبت به ترتیب ۶/۳۸، ۱/۳۰، ۱۰/۸۶، ۵/۰ و ۲/۲۰ و ۸۵/۴۶ گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر پرمیکس و میزان انرژی خام ۴۲۳۸/۸۶ کالری بر گرم پرمیکس گزارش شد.

جدول ۱: ترکیب شیمیایی پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای *Padina australis* و *Cystoseira indica*، *Nizimuddinina zanardini*، *Sargassum ilicifolium*

ترکیب شیمیایی (گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر پرمیکس)	رطوبت	پروتئین	چربی	کربوهیدرات	انرژی خام (کالری بر گرم وزن پرمیکس)	خاکستر
۸۵/۴۶±۴/۲۸	۶/۳۸±۰/۷۸	۰/۸۶±۰/۱۵	۵/۱۰±۰/۸۹	۴۲۳۸/۸۶±۳۵۸	۲/۲۰±۰/۳۴	

ترکیب اسیدهای چرب: در جدول ۲ ترکیب اسیدهای چرب (کل درصد اسیدهای چرب) پرمیکس ماکرو جلبک‌های مورد آزمایش نشان داده شده است. اسیدهای چرب اشباع شده غالب در پرمیکس ماکرو جلبک‌های مورد آزمایش به ترتیب اسید پالمیتیک (۱۵/۱۱±۰/۸۹) درصد، مریستیک اسید (۱۰/۵۱±۰/۲۸) درصد و اسید استئاریک (۸/۰±۵۴/۴۳) درصد بود. در بین اسیدهای چرب تک زنجیره غیر اشباع، اولئیک اسید (۷/۴۹±۰/۹۷) درصد و از بین اسیدهای چرب بلند زنجیره اشباع نشده (PUFA)، به ترتیب آراشیدونیک اسید (۲۰/۴۸±۴/۲۳) درصد، لینولئیک اسید (۱۸/۳۲±۶/۱۲) درصد و آلفا لینولنیک اسید (۶/۵۰±۰/۷۸) درصد غالب بود.

جدول ۲: ترکیب اسیدهای چرب (درصد کل اسیدهای چرب) پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium*، *Padina australis* و *Cystoseira indica*، *Nizimuddinina zanardini*

اسید چرب (درصد کل اسید چرب)	
C۱۲:۰	۱/۵۳±۰/۰۸
C۱۴:۰	۱۰/۵۱±۰/۲۸
C۱۶:۰	۱۵/۱۱±۰/۸۹
C۱۸:۰	۸/۵۴±۰/۴۳
C۲۰:۰	۵/۲۱±۰/۱۴
SFA*	۴۰/۹۰±۱۵/۱۳
C۱۴:۱n-۵	۰/۹۳±۰/۳۸
C۱۶:۱n-۷	۱/۳۸±۰/۱۴
C۱۸:۱n-۷	۱/۰۰±۰/۵۲
C۱۸:۱n-۹	۷/۴۹±۰/۹۷
MUFA**	۱۱/۷۰±۰/۸۳
C۱۸:۲n-۶	۱۸/۳۲±۶/۱۲
C۱۸:۳n-۳	۶/۵۰±۰/۷۸
C۲۰:۴n-۶	۲۰/۴۸±۴/۲۳
C۲۰:۵n-۳	۲/۳۰±۰/۰۴
C۲۲:۶n-۳	۰/۸۰±۰/۰۵
PUFA***	۴۷/۴±۸/۱۲

مقادیر (میانگین±خطای معیار، ۳ تکرار از هر تیمار). SFA* اسید چرب اشباع MUFA** اسید چرب تک زنجیره غیر اشباع، PUFA*** اسید چرب چند زنجیره غیر اشباع

ترکیب اسید آمینه: در جدول ۳ ترکیب اسیدهای آمینه کل پرمیکس ماکرو جلبک‌های مورد مطالعه ارائه شده است. مجموع اسید

آمینو ضروری و غیر ضروری به ترتیب ۷/۸۸ و ۱۱/۴۱ اسید آمینه بر ۱۰۰ گرم نمونه بود. گلوتامیک اسید (۴/۱۲±۰/۰۲) اسید آمینه بر ۱۰۰ گرم نمونه، اسید آسپارتیک (۱/۷۱±۰/۰۵) گرم اسید آمینه بر ۱۰۰ گرم نمونه و سرین (۱/۶۴±۰/۰۹) گرم اسید آمینه بر ۱۰۰ گرم نمونه به ترتیب جز اسید آمینه غیر ضروری غالب بود.

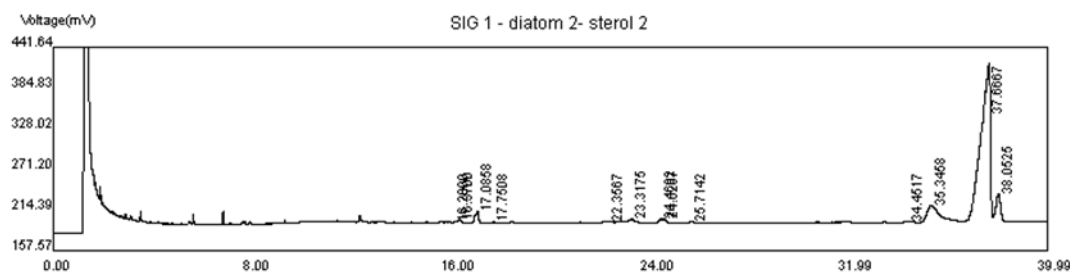
جدول ۳: ترکیب اسیدهای آمینه (گرم اسید آمینه/۱۰۰ گرم نمونه) کل پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium*، *Padina australis* و *Cystoseira indica*، *Nizimuddinina zanardini*

اسید آمینه ضروری (EAA)	گرم اسید آمینه / ۱۰۰ گرم نمونه
آرژنین	۰/۰۲±۲/۰۲
هیستیدین	۰/۰۷±۰/۵۴
ایزولوسین	۰/۰۳±۰/۷۱
لوسین	۰/۰۴±۰/۷۹
لیزین	۰/۰۲±۱/۶۳
متیونین	۰/۰۴±۰/۲۳
فنیل آلانین	۰/۰۳±۰/۹۳
والین	۰/۰۱±۱/۰۳
اسید آمینه غیر ضروری (NEAA)	
آلانین	۰/۲۳±۸ ۱/۰
گلوتامیک اسید	۰/۰۲±۴/۱۲
آسپارتیک اسید	۰/۰۵±۱/۷۱
گلیسین	۰/۰۶±۱/۵۵
سرین	۰/۰۹±۱/۶۴
تیروزین	۰/۱۲±۱/۳۱
مجموع اسیدهای آمینه	۵/۲۳±۱۹/۲۹
مجموع اسیدهای آمینه ضروری	۰/۶۷±۷/۸۸
مجموع اسیدهای آمینه غیر ضروری	۰/۵۱±۱۱/۴۱

مقادیر میانگین±خطای معیار، حاصل ۳ تکرار از هر تیمار است.

ترکیب‌های فیتوشیمیایی

استرول: در جدول ۴ مقایسه میزان استرول آزاد و کل استرول پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای ارائه شده است. استرول غالب سیتوستانول (Sitostanol) بود (شکل ۱). میزان استرول کل ۲۳۴/۵۴±۱۲/۱۸ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. میزان کلسترول و کمپسترول (Campesterol) به ترتیب ۶/۳۶±۰/۶۲ و ۵/۳۸±۰/۲۱ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک بود.



شکل ۱: کروماتوگرام ترکیب اصلی سیتوستانول در پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *Nizimuddinia*، *Sargassum ilicifolium*

Padina australis و *Cystoseira indica*، *zanardini*

۱۰۰ گرم وزن تر پرمیکس گزارش شد. جزء اصلی پرمیکس ماکرو جلبک‌های مورد آزمایش، رطوبت بود. Sarjana و همکاران، با بررسی ترکیب شیمیایی جلبک *P. australis* در فصل تابستان نشان دادند که محتوی رطوبت، خاکستر، پروتئین، چربی و کربوهیدرات ۹۰/۵۶، ۲/۱۱، ۱/۰۲، ۰/۴ و ۵/۹۰ گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر جلبک بود و در بین سه ترکیب مغذی، خاکستر بالاترین میزان را در مقایسه با چربی داشت (۳۹) که با تحقیق حاضر هم خوانی داشت. محتوای پروتئین خام، لیپید خام، خاکستر و رطوبت در وعده‌های غذایی متشکل از جلبک دریایی *Macrocystis pyrifera* به ترتیب ۶/۱، ۰/۷، ۳۱/۱ و ۶۰/۴ درصد بود (۱۲) که رطوبت جز اصلی این جلبک بود که با تحقیق حاضر هم خوانی داشت. هم چنین میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر به ترتیب در *Ulva clathrata* ۹۰، ۲/۲، ۰/۲ و ۴/۵ درصد بود. می‌توان گفت که ترکیب شیمیایی ماکروجلبک‌ها بسته به زیستگاه، پراکندگی جغرافیایی، گونه، وضعیت فیزیولوژیکی و شرایط محیطی متفاوت است. هم چنین محتوای پروتئین جلبک دریایی بسته به گونه و دوره فصلی متفاوت است (۲۴، ۳۹). Holdt و همکاران نشان دادند که میزان پروتئین، خاکستر، فیبر، کربوهیدرات و چربی در ماکروجلبک *S. fusiforme* به ترتیب ۱۱/۶، ۱۹/۷۷، ۱۷، ۳۰/۶ و ۱/۴ درصد گزارش شد (۲۲). می‌توان گفت که قندهای ساده و پلی ساکاریدها از ذخایر اصلی انرژی شیمیایی در جلبک‌های دریایی هستند و علاوه بر آن برای سلول‌ها پشتیبانی ساختاری فراهم می‌کنند. این ترکیبات اصلی یکی از بزرگ‌ترین نسبت‌های ترکیب جلبک‌ها را هم به خود اختصاص داده‌اند که غلظت‌های کربوهیدرات در آن‌ها رنجی از ۱/۸ درصد تا ۶۶ درصد دارد به‌طور ویژه ماکروجلبک‌های قهوه‌ای بیش‌ترین مقادیر کربوهیدراتی را در تمام گروه‌های ماکروجلبکی دارا هستند (۲۲). نتایج حاصل این تحقیق نشان داد که میزان انرژی خام در پرمیکس ماکروجلبک‌ها ۴۲۳۸/۸۶ کالری بر گرم بود. Kabiri و همکاران نشان دادند که میزان انرژی خام در جلبک *S. angustifolium* و *Cystoseria indica* به ترتیب ۲۳۱۶/۶ و ۳۲۶۷ کالری بر گرم بود (۴). می‌توان گفت که پرمیکس ماکروجلبک‌های مورد مطالعه به‌دلیل داشتن انرژی خام بیش‌تر، خاکستر کم‌تر و به‌تبع آن ماده‌آلی بیش‌تر برای تغذیه مناسب‌تر می‌باشند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد

فنل کل و فلاونوئید: میانگین میزان فنل و فلاونوئید در عصاره

آبی پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *N. zanardini*، *S. ilicifolium*، *C. indica* و *P. australis* به ترتیب $83/46 \pm 7/07$ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره و $10/01 \pm 0/98$ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک بود.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: مقدار DPPH در عصاره آبی پرمیکس

ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *N. zanardini*، *S. ilicifolium*، *C. indica* و *P. australis* $11/28 \pm 1322/87$ میکرومول ترولکس بر گرم عصاره بود.

جدول ۴: میانگین ($\pm$ خطای معیار) مقادیر استرول آزاد و استرول کل (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک) در پرمیکس ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *Nizimuddinia*، *zanardini*، *Sargassum ilicifolium* و *Cystoseira*

Padina australis و *indica*

مقدار استرول (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک)	
کلیسترول	$6/36 \pm 0/62$
ارگسترول	$1/85 \pm 0/21$
۲۴ متیل کلیسترول	$2/31 \pm 0/16$
کمپسترول	$5/38 \pm 0/21$
سیتوستانول	$37/67 \pm 0/07$
دلتا ۵ اواناسترول	$3/54 \pm 0/03$
دلتا ۷ کمپسترول	$1/75 \pm 0/07$
استیگماسترول	$1/63 \pm 0/04$
کمپستانول	$0/79 \pm 0/06$
مجموع استرول	$234/54 \pm 12/18$

بحث

این تحقیق با هدف بررسی ارزش غذایی، فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پرمیکس ۴ گونه ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *S. ilicifolium*، *N. zanardini*، *C. indica* و *P. australis* صورت گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان پروتئین، چربی، کربوهیدرات، خاکستر و رطوبت به ترتیب ۶/۳۸، ۱/۳۰، ۵/۰۱، ۱۰/۸۶ و ۲/۲۰ و ۸۵/۴۶ گرم در

اسیدهای چرب پلی غیراشباع (Polyunsaturated fatty acids :PUFA) به ویژه اسیدهای چرب شدیداً غیراشباع بلندزنجیره (HUFA: Highly unsaturated fatty acids) امگا سه، برای مصرف‌کننده عناصر «غذای عملکردی» تلقی می‌شوند. مشاهده شده است که اسیدهای چرب امگا-۳ (W3) پیش‌ماده مهمی در سنتز ایکوزانوئیدها هستند که در حقیقت واسطه‌های مهمی در واکنش‌های التهابی و تنظیم پاسخ ایمنی بدن می‌باشند. هنگامی که جیره غذایی کمبود اسید چرب امگا ۳ ضروری را داشته باشد فعالیت‌های ضد باکتریایی سلول‌های ماکروفاژ کاهش می‌یابد در صورتی که ماکروفاژهای ماهی که اسید لینولنیک دریافت می‌کنند قدرت باکتری‌کشی بالاتری دارند. هم‌چنین مشخص گردید که اسید آراشیدونیک به دلیل آن که به‌عنوان ماده پیش‌رو در تولید ایکوزانوئید مطرح است می‌تواند باعث رشد و رنگدانه بندی ماهیان دریایی شود (۳۵). اما در انسان‌ها مصرف غذاهای غنی از اسیدهای چرب شدیداً غیراشباع بلند زنجیره امگا سه می‌تواند اثرات بسیار خوبی به‌عنوان یک عامل ضدالتهابی داشته باشد که سلامت قلبی و توسعه و عملکرد مغزی را بهبود می‌دهد (۳۷). ترکیب اسید آمینه موجود در بسیاری از ماکروجلبک‌ها را می‌توان از نظر اسیدهای آمینه ضروری نسبتاً کامل در نظر گرفت. بسیاری از گونه‌های جلبکی، بیش‌تر اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری را دارا هستند (۳۰). نتایج این تحقیق نشان داد که پرمیکس حاصل از چهار گونه ماکرو جلبک قهوه‌ای حاوی اسیدآمینه‌های ضروری آرژنین، هیستیدین، ایزولوسین، لوسین، لیزین، متیونین، فیل‌آلانین و والین بود. هم‌چنین اسیدآسپارتیک و گلوتامیک اسید و سرین سه اسیدآمینه غیرضروری اصلی در پرمیکس بود. آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید فراوان‌ترین اسیدهای آمینه بوده و حدود ۲۲ تا ۴۴ درصد کل اسیدهای آمینه را تشکیل می‌دهند. Wong و Cheung، گزارش کردند که جلبک‌های دریایی قرمز (*Hypnea charoides* و *Hypnea japonica*) و جلبک‌های دریایی سبز (*Ulva lactuca*) همه اسیدهای آمینه ضروری به جز تریئوفان را در خود دارند که این ۴۲ تا ۴۸ درصد کل محتوای اسید آمینه را تشکیل می‌دهد. بنابراین همه جلبک‌های دریایی قرمز و سبز قادرند به‌میزان کافی در تأمین کل اسیدهای آمینه ضروری با توجه به نظر سازمان غذا و دارو مشارکت کنند (۴۶). Salosso و همکاران، نشان دادند که *P. australis* جمع‌آوری شده در آب‌های خلیج کوپانگ (Kupang) حاوی ۱۵ اسیدآمینه با بالاترین محتوای اسید آسپارتیک، ۱/۱۶ درصد و اسیدگلوتامیک، ۱/۳۲ درصد و کم‌ترین در هیستیدین ۰/۱۲ درصد و متیونین ۰/۲۰ درصد بود هم‌چنین در *P. gymnospora* در تامیلدانو (Tamil danu) هند نیز بالاترین اسید آسپارتیک، ۱۲/۷ درصد و اسیدگلوتامیک، ۱۳/۹ درصد و کم‌ترین در هیستیدین، ۲/۷ درصد و متیونین، ۱/۵ درصد مشاهده شد می‌توان گفت که تغییرات محتوای پروتئین در ماکروجلبک‌ها می‌تواند بر روی محتوای اسید آمینه آن تأثیر بگذارد (۳۸). اگرچه برخی از گونه‌های مهم تجاری، مثل ماکروجلبک قرمز *P. palmata*، اسیدآمینه ضروری سیستئین را

که بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب اشباع شده مربوط به اسید پالمیتیک بود که با نتایج حاصل از تحقیق Silva و همکاران بر روی ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *H. C. tamariscifolia*، *P. pavonica* و *S. poluschides filicina* (۴۲) هم‌خوانی دارد. هم‌چنین در این تحقیق، در بین اسیدهای چرب تک زنجیره غیر اشباع، اولئیک اسید غالب بود که با نتایج تحقیقات بر روی ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای هم‌خوانی دارد (۱۶، ۴۲)، از بین اسیدهای چرب بلندزنجیره اشباع نشده (PUFA)، به‌ترتیب آراشیدونیک اسید، لینولئیک اسید و آلفا لینولنیک اسید غالب بود. Silva و همکاران با بررسی پروفایل اسیدهای چرب در گونه‌های مختلف ماکروجلبک‌های قهوه‌ای نشان دادند که لینولئیک اسید در ماکروجلبک‌های *P. pavonica* و *C. nodicaulis* و آلفا لینولنیک اسید در ماکروجلبک *F. spiralis* غالب بود (۴۲) که با نتایج حاصل از این تحقیق هم‌خوانی داشت. می‌توان گفت بسیاری از گونه‌های ماکروجلبکی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره، به‌ویژه از نوع اسیدهای چرب امگا ۳، مثل ایکوساپنتانوییک اسید (EPA, 20:5n-3) (Eicosapentaenoic acid)، استئاریدونیک اسید (SDA, 18:4n-3) (Stearidonic acid)، آلفا-لینولنیک اسید (ALA, 18:3n-3) (A-linolenic acid) و آراشیدونیک اسید (ARA, 20:4n-6) (Andarachidonic acid) دارند (۳۰). Sánchez و Machado و همکاران، گزارش کردند که نسبت که نسبت ۳-n/۶-n باید کم‌تر از ۱۰ چربی باشد (۴۰). نتایج این تحقیق نشان داد که نسبت ۳-n/۶-n ۴/۴۰ بود. Akbary و همکاران نیز نشان دادند که نسبت ۳-n/۶-n برای سه گونه ماکروجلبک ۲/۸۳، ۱/۴۰ و ۱/۲۵ به ترتیب در *P. australis*، *S. marginatum* و *A. pygmaea* بود (۵) که کم‌تر از مقادیر تعریف شده بودند که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی داشت. می‌توان گفت که گونه‌های جنوب شرقی ایران به‌طور خاص، ۴ گونه جلبک قهوه‌ای مورد بررسی که به‌صورت پرمیکس استفاده شده است به‌عنوان منابع اسیدهای چرب مفید هستند که می‌توان از پرمیکس آن‌ها برای بهره‌برداری بیش‌تر از اسیدهای چرب و در تغذیه استفاده کرد. Akbary و همکاران، با مقایسه اسیدهای چرب سه ماکروجلبک در سواحل چابهار *Stoechospermum*، *Padina australis* و *marginatum* و *Ahnfeltiopsis pygmaea* نشان دادند که اسید ایکوزاپنتانوییک و آراشیدونیک اسید در سه گونه غالب بود و بیش‌ترین میزان دوکوزاهگزانوئیک اسید در جلبک *P. australis* مشاهده شد و بیان نمودند که ترکیب اسید چرب و رنگدانه جلبک‌های دریایی نیز بین گروه‌های مختلف فرق می‌کند (۵). نتایج حاصل این تحقیق از نظر غالب بودن آراشیدونیک اسید با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. هم‌چنین می‌توان گفت که اگرچه ماکروجلبک‌ها محتوای لیپید بالایی مثل میکروجلبک‌ها و گیاهان خشکی (مثل *Schizochytrium*، گل آفتاب‌گردان، تخم‌کتان و تخم‌شلغم روغنی) نداشته باشند اما کیفیت لیپید آن‌ها و در نتیجه افزایش ترکیب کلی اسیدهای چرب خوراک می‌تواند این ضعف را جبران کند. تحقیقات نشان داده است که

S. marginatum (۶۹/۲±۶۶/۰۸ میلی گرم اسیدگالیک بر گرم عصاره)، *Ahnfeltiopsis* (۷۲/۳۳±۲/۰۸ میلی گرم اسیدگالیک بر گرم عصاره) و *pygmaea marginatum* (۷۶±۲ میلی گرم اسیدگالیک بر گرم عصاره) نشان داد (۶) که در مقایسه با تحقیق حاضر، میزان فنل در عصاره آبی سه گونه ماکروجلبک کم تر از پرمیکس ماکروجلبکها است. می توان گفت گونه های مختلف ماکروجلبکها حاوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی متنوعی هستند (۲۳). مطالعات قبلی نیز نشان دهنده کارایی جلبک های قهوه ای برای فعالیت های آنتی اکسیدانی را تأیید می کند. مثلاً Tenorio-Rodriguez و همکاران، نشان دادند که در بین ۱۷ جلبک بزرگ حاوی سبز، قرمز و قهوه ای، مورد مطالعه، عصاره ماکروجلبک قهوه ای بیش ترین فعالیت آنتی اکسیدانی و منابع ترکیبات زیست فعال طبیعی را داشت (۴۵) که می توان فعالیت های آنتی اکسیدانی جلبک های دریایی را به وجود متابولیت های ثانویه متنوع مانند ترکیبات فنلی و هم چنین کاروتنوئیدها مربوط دانست (۲۳). ترکیبات فنلی ماکروجلبک ها به عنوان عوامل بالقوه در بهبود وضعیت سلامت و عملکرد آبریان ارائه می دهد (۲۷، ۲۸). ماکروجلبک ها به دلیل منبع غنی از ترکیبات زیست فعال توجه زیادی را به خود جلب کرده اند. این ماده دارای فعالیت های بیولوژیکی امیدبخش، از جمله ضد میکروبی، آنتی اکسیدان ضد میکروبی و محرک های ایمنی می باشد که گزارش شده اند (۳۴). علی رغم فعالیت های مفید ترکیبات فنلی ماکروجلبک ها، در حال حاضر شکافی در دانش پژوهشی وجود دارد که نیاز به تحقیق بیش تر بر دیگر تأثیرات دارویی برای طیف گسترده کاربردهای بالینی در درمان بیماری های آبریان می باشد. محدوده های تحقیق و بررسی که نیاز به توجه به خصوصی دارند شامل بررسی دوز مناسب برای بیماری های آبریان برای به حداکثر رساندن فواید بدون هیچ اثر مضری می باشد. نتایج حاصل از بررسی به روش DPPH در این تحقیق نشان داد که خاصیت آنتی اکسیدانی مستقیماً تحت تأثیر ترکیبات فنلی قرار گرفته است. مقدار DPPH در عصاره آبی پرمیکس ماکروجلبک های قهوه ای ۱۳۲۳/۸۷±۱۱/۲۸ میکرومول ترولکس بر گرم عصاره بود. Akbary و همکاران نشان دادند که میزان DPPH عصاره آبی سه گونه ماکروجلبک های *P. australis*، *Stoechospermum marginatum* و *Ahnfeltiopsis pygmaea* چابهار به ترتیب ۱۴۸۵/۶۶، ۱۵۲۰/۰۹ و ۱۴۱۳/۳۳ میکرومول ترولکس بر گرم عصاره بود (۶). می توان گفت که عصاره های مختلف ماکروجلبک ها دارای توان آنتی اکسیدانی متفاوتی می باشند و از این ترکیبات به عنوان ابزار درمانی می توان استفاده نمود (۶، ۱۰، ۱۴). در کل نتایج این تحقیق نشان داد که پرمیکس ماکروجلبک های قهوه ای *Sargassum ilicifolium*، *Nizimuddin*، *Padina australis* و *Cystoseira indica zanardini* سواحل چابهار حاوی ۶/۳۸ گرم پروتئین در ۱۰۰ گرم وزن تر پرمیکس بود. اسید گلوتامیک (۴/۱۲±۰/۰۲) اسید آمینه بر ۱۰۰ گرم نمونه، اسید آسپارتیک (۱/۷۱±۰/۰۵) گرم اسید آمینه بر ۱۰۰ گرم نمونه) و سرین (۱/۶۴±۰/۰۹) گرم اسید آمینه بر ۱۰۰ گرم نمونه) به ترتیب جز اسید آمینه غیر ضروری

ندارد اما مقادیر بالایی از اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید و گلايسین دارد که مقادیر کل اسیدهای آمینه ضروری آن با پروتئین سویا قابل مقایسه هستند (۲۰). به همین ترتیب *Himanthalia elongata*، *Undaria pinnatifida* و *Pyropia umbilicalis* هم می توانند مقادیر اندکی از متیونین، ایزولوسین و فنیل آلانین داشته باشند (۱۵). می توان گفت که پروتئین ها و پپتیدهای مشتق شده از جلبک های دریایی، طیف گسترده ای از ویژگی های زیست فعال دارند که می توان از آن ها در محصولات دارویی و غذا داروها استفاده کرد (۲۱) و با تجزیه پروتئین های جلبک دریایی به کمک روش هیدرولیز، بسیاری از این فعالیت ها را توسعه داد. مقدار استرول کل و هم چنین محتوای استرول های شاخصی مانند سیتوستانول، کلسترول و کمپسترول قابل توجه بود و می توانند به عنوان منابع مکمل این استرول ها در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرند که با نتایج Akbary و همکاران روی ماکروجلبک های سواحل چابهار *Stoechospermum*، *Padina australis*، *Ahnfeltiopsis pygmaea* و *marginatum* هم خوانی داشت. آن ها نشان دادند که میزان سیتوستانول به عنوان استرول غالب در جلبک *P. australis*، *Ahnfeltiopsis pygmaea* و *marginatum* به ترتیب ۸۱/۰۲، ۹۰/۳۴ و ۴۶/۸۳ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود (۵). Jamili و همکاران نشان دادند که در جلبک *P. boergesenii* کلسترول و ۲۲-دهیدروکلسترول دو استرول اصلی این گونه می باشد (۱) که با نتایج حاضر هم خوانی نداشت. در گزارشات ارائه شده توسط سایر محققین مشخص گردیده است که در جلبک های قرمز کلسترول اصلی ترین استروئید می باشد که مقدار آن به طور معنی داری بیش تر از جلبک های قهوه ای می باشد (۵، ۳۱). می توان گفت که نوع این ترکیبات تحت شرایط محیطی در گونه های متعدد متفاوت است. این ترکیبات جزو متابولیت های ثانویه محسوب می شوند و متابولیت های ثانویه هر موجود زنده ای تحت تأثیر شرایط محیطی، متغیر و یا به مشتقات مشابه تبدیل می شوند (۱۷). با توجه به ارزش بسیار زیاد دارویی استرول ها از جمله کمپسترول، استیگماسترول می توانند منابع مناسبی برای استفاده در صنایع دارویی باشند که این استرول ها، نقش مهمی در جلوگیری از رشد سلول های سرطانی و پیشگیری از بیماری های قلبی-عروقی دارند (۱۹). با افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی خاصیت آنتی اکسیدانی بیش تر می شود. فلاونوئید و تانین ها توانایی زیادی برای پاکسازی رادیکال های آزاد دارند و این توانایی بیش تر بستگی به تعداد حلقه های آروماتیک و ماهیت گروه های جابه جا شونده هیدروکسیل دارد (۶). نتایج این تحقیق نشان داد که میزان فنل و فلاونوئید در عصاره آبی پرمیکس ماکروجلبک های قهوه ای مورد مطالعه، به ترتیب ۸۳/۴۶±۷/۰۷ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره و ۱۰/۰۱±۰/۹۸ میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک بود. Akbary و همکاران، با بررسی میزان فنل کل و خواص آنتی اکسیدانی سه گونه ماکروجلبک سواحل چابهار، ایران نشان دادند که میزان فنل کل در عصاره آبی دو گونه جلبک قهوه ای *Padina australis*

- southeastern Iran. *Aquaculture International*. 29(1): 1-11. doi: 10.1007/s10499-020-00616-y
6. Akbary, P., Aminikhoie, Z., Hobbi, M., Samadi Kuchaksaraei, B. and Rezaei Tavabe, K., 2021. Antioxidant Properties and Total Phenolic Contents of Extracts from Three Macroalgae Collected from Chabahar Coasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India - Section B: Biological Sciences*. 91(5): 1-8. doi: 10.1007/s40011-020-01214-x
7. Akbary, P., Gholamhosseini, A., Ali, M.M., Aminikhoie, Z., Tavabe, K.R. and Kuchaksaraei, B.S., 2020. Growth Yield, Fatty Acid Profile and Antioxidant Status of *Litopenaeus vannamei* Fed *Iyengaria stellata* Supplemented Diet. *Iranian Journal of Science and Technology. Transaction A, Science*. 45(1): 111-119. doi: 10.1007/s40995-020-01004-0
8. AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th Edition, the Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA
9. Banerjee, K., Mitra, A. and Mondal, K., 2010. Cost-effective and eco-friendly shrimp feed from red seaweed *Catenella repens* (Gigartinales: Rhodophyta). *Current Biotica*. 8(1): 23-43.
10. Bakrin, F.S. and Zuraina, F., 2018. Antibacterial Activity of extract Brown Marine Algae, Species *Padina australis* Hauck from Coastal Area of Port dickson, Malaysia. *KPJ Medical*. 7: 49-52.
11. Casas-Valdez, M., Portillo-Clark, G., Aguila-Ramírez, N., Rodríguez-Astudillo S., Sánchez-Rodríguez I.Y. and CarrilloDomínguez, S., 2006. Efecto del alga marina *Sargassum* spp. sobre las variables productivas y la concentración de colesterol en el camarón café, *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes, 1900). *Revista de Biología Marina Y Oceanografía*. 41(1): 97-105.
12. Castro-González, M.I., Carrillo-Domínguez, S. and Pérez-Gil, F., 2000. Chemical composition of *Macrocystis pyrifera* (Giant Sargazo) collected in summer and winter and its possible use in animal feeding. *Cienciasrinas*. 20(1): 33-40.
13. Choi, Y.H., Kim, K.W., Han, H.S., Nam, T.J. and Lee, B.J., 2014. Dietary *Hizikia fusiformis* glycoprotein induced IGF I and IGF-BP3 associated somatic growth, polyunsaturated fatty acid metabolism and immunity in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A Molecular & Integrative Physiology*. 167: 1-6. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.09.011
14. Chouhury, S.; Sree, A.; Mukherjee, S. C.; Pattnik, P. and Bapuji M., 2005. In Vitro Antibacterial Activity of Extracts of Selected Marine Algae and Mangroves against Fish Pathogens. *Asian Fisheries Science*. 18(3): 85-294. doi: 10.33997/j.afs.2005.18.3.009
15. Cofrades, S., Lopez-Lopez, L., Bravo, L., Ruiz Capillas, C., Bastida, S. and Larrea, M.T., 2010. Nutritional and antioxidant properties of different brown and red Spanish edible seaweeds. *Food Science and Technology International*. 16(5): 361-370. doi: 10.1177/1082013210367049
16. Dawczynski, C., Schubert, R. and Jahreis, G., 2007. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry*. 103(3): 891-899. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.09.041
17. Desmond, E. and Gribaldo, S., 2009. Phylogenomics of Sterol Synthesis: Insights into the Origin, Evolution, and Diversity of a Key Eukaryotic Feature. *Genome Biology and Evolution*. 1(10): 364-381. doi: 10.1093/gbe/evp036
18. Ebrahimzadeh, M.A., Hosseini-mehr, S.J. and Hamidinia, A., 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sellowiana* fruits peel and leaves. *Pharmacologyonline*. 1: 7-14.
19. Fernandes, P. and Cabral, J., 2007. Phytosterols applications and recovery methods. *Bioresource Technology*. 98(12): 2335-2350. doi: 10.1016/j.biortech.2006.10.006
20. Galland-Irmouli, A.V., Fleurence, J., Lamghari, R., Lucon, M. and Rouxel, B.O., 1999. Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (dulse). *Journal of Nutritional Biochemistry*. 10(6): 353-359. doi: 10.1016/s0955-2863(99)00014-5

غالب بود. هم‌چنین در بین اسیدهای چرب تک زنجیره غیر اشباع، اسیدپالمیتیک ($15/1 \pm 0/89$) درصد، اسیدمریستیک ($10/5 \pm 0/28$) درصد و اسید استئاریک ($8/54 \pm 0/43$) درصد، در بین اسیدهای چرب تک زنجیره غیر اشباع، اولئیک اسید ($7/49 \pm 0/97$) درصد و از بین اسیدهای چرب بلندزنجیره اشباع نشده (PUFA)، به‌ترتیب اسید آراشیدونیک ($20/48 \pm 4/23$) درصد، لینولئیک اسید ($18/32 \pm 6/12$) درصد و اسیدآلفالینولئیک ($6/50 \pm 0/78$) درصد غالب بود. سیتوستاتول، استرول غالب پرمیکس ماکروجليک‌های مورد آزمایش بود و میزان فنل کل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب $83/46 \pm 7/07$ میلی گرم اسیدگالیک بر گرم عصاره، $10/01 \pm 0/98$ میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک و $1323/87 \pm 11/28$ میکرومول تروکس بر گرم عصاره بود. در کل، به‌دلیل وجود اسیدهای چرب غیراشباع بلندزنجیره غالب، تعادل بین اسیدهای آمینه غیرضروری و ضروری، استرول و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، استفاده از پرمیکس ماکروجليک‌های *P. australis* و *C. indica* *N. zanardini ilicifolium* در صنایع غذایی و دارویی توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارشناس محترم آزمایشگاه نمونه آزموی تهران تشکر و قدردانی می‌گردد. این پروژه با کدمصوب ۱۳۵۱-۰۸۴-۰۰۱۱۵ ۷۸-۳ با حمایت مالی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و همکاری مشترک دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار و مرکز تحقیقات شیلات آب‌های دور چابهار در راستای تفاهم‌نامه مشترک صورت گرفت.

منابع

1. Jamili, Sh., Gohari Kakhki, A., Saeidnia, S. and Permeh, P., 2015. Extraction and Identification Sterols in Brown alga, *Padina boergeresii* in Chabahar Coasts. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 24(3): 35-44. doi: 10.22092/ISFJ.2017.110192 (In Persian)
2. Soltanian, M., Faghani Langrodi, H. and Mohammad Nejad, M., 2020. The effect of *Zingiber officinale* extract on growth factors, survival and carcass composition in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal Environmental Research*. 12(24): 327-334. doi: 10.22034/AEJ.2020.129706 (In Persian)
3. Taheri, A., Ghaffari, M., Bagherpour, N.S. and Attaran Fariman, G., 2017. Study the Antioxiatie Properties of the Marine Algae *Cystoseira trinodis* extracts from Chabahar Coastal Water. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medicine Sciences*. 25(8): 658-669. (In Persian)
4. Kabirifard, A., Dashtizadeh, M., Kamali, A. and Khaj, H., 2019. Comparison of nutritional value of seaweed *Sargassum unguistifolium* in coasts of Bushehr province with seaweed *Cystoseira indica* in coasts of Sistan and Baluchestan province for ruminants feeding. *Journal of Animal Environmental Research*. 11(3): 35-44. (In Persian)
5. Akbary, P., Liao, L.M., Aminikhoie, Z., Hobbi, M. and Erfanifar, E., 2021. Sterol and fatty acid profiles of three macroalgal species collected from the Chabahar coasts,

35. Overland, M., Mydland, L.T. and Skrede, A., 2018. Marine macroalgae as sources of protein and bioactive compounds in feed for monogastric animals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 99(1): 13-24. doi: 10.1002/jsfa.9143
36. Rajapakse, N. and Kim, S.K., 2011. Nutritional and digestive health benefits of seaweed. *Advances in Food and Nutrition Research*. 64: 17-28. doi: 10.1016/B978-0-12-387669-0.00002-8
37. Ruxton, C.H.S., Reed, S.C., Simpson, M.J.A. and Millington, K.J., 2004. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: areview of the evidence. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 17(5): 449-459. doi: 10.1111/j.1365-277X.2004.00552.x
38. Salosso, Y., Aisiah, S., Lumban Toruan, L.N. and Pasaribu, W., 2020. Nutrient Content, Active Compound and Antibacterial Activity of *Padina australis* against *Aeromonas hydrophilla*. *Pharmacognosy Journal*. 12(4): 771-776. doi: 10.5530/pj.2020.12.110
39. Sarjana, I., Indonesia, O. and Departemen, D., 2014. Chemical composition and antioxidant activity of tropical brown algae *Padina australis* from Pramuka Island, district of Seribu island , Indonesia. *Journal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 5(2): 287-297. doi: 10.28930/jitkt.v5i2.7558
40. Sánchez-Machado, D.I., López-Cervantes, J., López Hernández, J. and Paseiro-Losada, P., 2004. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*. 85(3): 439-444. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.08.001
41. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Namkamura, T., 1992. Antioxidative properties of Xanthan on the autooxidation of soyabean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 945-948.
42. Silva, G., Pereira, R.B., Valentão, P., Andrade, P.B. and Sousa, C., 2013. Distinct fatty acid profile of ten brown macroalgae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 23(4): 608-613. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000048>
43. Supardy, N.A., Ibrahim, D., Sulaiman, S.F. and Zakaria, N.A., 2011. Free radical scavenging activity, total phenolic content and toxicity level of *Halimeda discoidea* (Decaisne) extracts (Malaysia's green macroalgae). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(5): 397-402.
44. Tabarsa, M., Rezaei, M., Ramezanpour, Z. and Waaland, J.R., 2012. Chemical compositions of the marine algae *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta) as a potential food source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92(12): 2500-2506. doi: 10.1002/jsfa.5659
45. Tenorio-Rodriguez, P.A., Murillo-A´lvarez, J.I., Campa-Cordova, A.I. and Angulo, C., 2017. Antioxidant screening and phenolic content of ethanol extracts of selected Baja California Peninsula macroalgae. *Journal of Food Science and Technology*. 54(2): 422-429. doi: 10.1007/s13197-016-2478-3
46. Wong, K.H. and Cheung, P.C.K., 2000. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds. Part I-proximate composition, amino acid profiles and some physic-chemical properties. *Food Chemistry*. 71: 475-482.
21. Harnedy, P.A. and FitzGerald, R.J., 2011. Bioactive proteins, peptides, and amino acids from macroalgae. *Journal of Phycolgy*. 47(2): 218-232. doi: 10.1111/j.1529-8817.2011.00969.x
22. Holdt, S.L. and Kraan, S., 2011. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*. 23(3): 543-597. doi: 10.1007/s10811-010-9632-5
23. Hongayo, M., Larino, R. and Malingin, D., 2012. Antibacterial and antioxidant effects of brown alga *Padina australis* Hauck crude extract. *IAMURE International Journal of Science and Clinical Laboratory*. 2(1): 1-13. doi: 10.7718/iamure.ijscl.v2i1.388
24. Khadijah, K., Soekamto, N.H., Firdaus, F., Chalid, S.M.T. and Syah, Y.M., 2021. Chemical Composition, Phytochemical Constituent, and Toxicity of Methanol Extract of Brown Algae (*Padina* sp.) from Puntondo Coast, Takalar (Indonesia). *Journal of Food Quality and Hazards Control*. 8(4): 178-185.
25. Lindorth, P. and Mopper, K., 1979. High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amounts of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with ophthalaldehyde. *Analytical Chemistry*. 51(11): 1667-1674. doi: 10.1021/ac50047a019
26. Liu, W.H., Ding, B., Ruan, X.M., Xu, H.T., Yang, J. and Liu, M., 2007. Analysis of free and conjugated phytosterols in tobacco by an improved method using gas chromatography–flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*. 1163(1): 304-311. doi: 10.1016/j.chroma.2007.06.043
27. Naiel, M.A.E., Alagawany, M., Patra, A.K., El-Kholy, A.I., Amer, M.S. and Abd El-Hack, M.E., 2021. Beneficial impacts and health benefits of macroalgae phenolic molecules on fish production. *Aquaculture*. 534 (2): 736186-7316892. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.736186
28. Naiel, M.A., Ismael, N.E., Abd El-hameed, S.A. and Amer, M.S., 2020. The antioxidative and immunity roles of chitosan nanoparticle and vitamin C-supplemented diets against imidacloprid toxicity on *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 523(3): 735219- 735249. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735219
29. Nazari, S., Nazarneshad, N.J. and Ebrahimzadeh, M.A., 2013. Evaluationof antioxidant properties andtotal phenolic and flavonoids content of *Eucalyptus camaldulensis* and *Pinus sylvestris* bark. *Iranian Journal of Wood and Paper Science Research*. 28(3): 522-533. doi:<http://dx.doi.org/10.22092/ijwpr.2013.3460> (In Persian)
30. Ortiz, J., Romero, N., Robert, P., Araya, J., Lopez Hernandez, J. and Bozzo, C., 2006. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chemistry*. 99(1): 98-104. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.07.027
31. Padmini, P. and Sreenivasa, R.A.O., 1998. Biological investigations of Indian Phaeophyceae: 17. Seasonal variation of antibacterial activity of total sterols obtained from frozen samples of *Sargassum johnstonii* Setehell et Gardner. *Seaweed Research*. 20: 91-95.
32. Pal, D., Khozin-Goldberg, I., Didi-Cohen, S., Solvehenko, A., Batushansky, A., Kaye, Y., Sikron, N., Samani, T., Fait, A. and Boussiba, S., 2013. Growth, lipid production and metabolic adjustments in the euryhaline eustigmatophyte *Nannochlorosis oceanica* CCALA804 in response to osmotic downshift. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 97(18): 1-16. doi: 10.1007/s00253-013-5092-6
33. Patel, A.K., Singhania, R.R. and Awasthi, M.K., 2021. Emerging prospects of macro and microalgae as prebiotic. *Microbial Cell Factories*. 20(1): 1-16. doi: 10.1186/s12934-021-01601-7.
34. Peixoto, M.J., Svendsen, J.C., Malte, H., Pereira, L.F., Carvalho, P., Pereira, R., Gonçalves, J.F. andOzório, R.O., 2016. Diets supplemented with seaweed affect metabolic rate, innate immune, and antioxidant responses, but not individual growth rate in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of applied phycology*. 28(3): 2061-2071. doi: 10.1007/s10811-015-0736-9