

تقدير بعض العناصر المعدنية والتركيبة الكيماوي في سرطان البحر المتواجد في محافظة البصرة ودراسته كمضاد اكسدة ومضاد ميكروبي

مريم عبدالباري عريبي
قسم علوم الاغذية / جامعة البصرة / كلية الزراعة / العراق.

maryamabd2018@gmail.com

استلام البحث : 13 / 11 / 2023 وقبول النشر : 09 / 12 / 2023 و نشر البحث : 30 / 12 / 2023

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة الى تقدير بعض العناصر المعدنية مثل الرصاص pb ، الكاديوم Cd ، الزنك Zn في القشور والاحشاء الداخلية لسرطان البحر التي جمعت من شواطى الفاو في محافظة البصرة وكان هناك تباينا واضح في تراكيز العناصر حيث كان اعلى تركيز لعنصر Pb 8.82 ppm و اقل تركيز لعنصر Cd بحدود 0.35 ppm ام Zn كان بحدود 1.60ppm واجريت الكشوفات النوعية على المستخلص المائي حيث اعطت جميعها كشفا موجبا دلالة على احتوائها على المجاميع الفعالة (الكاربوهيدرات، صابونين ، تانينات ، فلافونيدات ، قلويدات ، فينولات ، كلايكوسيدات) اما الفعالية المضاد للأكسدة تم تقديرها بطريقة (2,2 ثنائي فينيل -1- بيكريل هيدرازيل) حيث زادت قابلية المستخلص لاقتناص الجذور الحرة بزيادة التركيز حيث بلغت اقل قيمه عند تركيز 20 ملغم/مل اذ بلغت 40.55 % و اعلى قيمة عند تركيز 100ملغرام/مل حيث كانت 85.56 % مقارنة مع المادة القياسية(بيوتيل هيدروكسي تولوين) كانت فعاليته 90.22 % و القوة الاختزالية كذلك ازدادت مع زياده التركيز حيث اعطت عند تركيز 100ملغرام /مل فعالية 80.22% مقارنة مع ascorbic acid التي كانت الفعالية 89.44% اما الدراسة الميكروبية للعينة على الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغه كرام وهي *psenel*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureous* اذ كان قطر التثبيط في بكتريا (*E.coli*) بحدود 14 mm وكان لها تاثير قليل على بكتريا (*S.aurous*) اما تاثيرها على الفطريات فقد كان لها تاثير على فطر (*Aspergillus niger*) حيث اعطت تثبيط بحدود 21 mm و اقل تثبيط على فطر (*Candida albicans*) بحدود 16 mm

الكلمات المفتاحية : سرطان البحر ، التحليل الكيماوي ، DPPH ، 2,2 ثنائي فينيل -1- بيكريل هيدرازيل.

Estimation of same mineral elements and chemical composition in crab in Basra Governorate and studying it an antioxidant and antimicrobial

Mariam Abdul-bary

Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basrah, Iraq

maryamabd2018@gmail.com

Received: 13 / 11 / 2023; Accepted: 09 / 12 / 2023; Published: 30 / 12 / 2023

Abstract

This study aimed to estimate some metallic elements such as lead pb, cadmium Cd, zinc Zn in the crusts and internal guts of crabs (*Pachygrapsus marmoratus*) collected from the shores of Faw in Basra Governorate, and there was a clear variation in the concentrations of the elements, where the highest concentration of Pb was 8.82 ppm and the lowest concentration of Cd was about 0.35 ppm, or Zn was about 1.60 ppm. RET on the aqueous extract, all of which gave a positive detection indicating that they contain active groups (carbohydrates, saponins, tannins, flavonoids, alkaloids, phenols, glycosides). As for the antioxidant activity, it was estimated by the DPPH method. The value at a concentration of 20 mg/ml was 40.55% compared to the standard antioxidant BHT. Its effectiveness was 90.22% at the same concentration. The reducing power also increased with the increase in concentration, as it was the lowest value at a concentration of 20 mg/ml, reaching 20.99%. % also gave the

biological results of the sample on Gram-positive and negative bacteria, namely *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and against *Aspergillus* fungus and *Candida albicans*, as the diameter of inhibition in *Escherichia coli* was about (14) mm and had little effect on *Staphylococcus aureus*. It gave an inhibition of about (21) mm, but on *Candida albicans* fungus, it gave an inhibition of about (16) mm.

Keywords: Crab, Chemical composition, DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl .

المقدمة

سرطان البحر يصنف ضمن القشريات التي تمتلك عشرة أقدام قصيرات الذيل جسمه مغطى بهيكل خارجي صلب ولديه زوج من الأقدام التي تتخذ شكل الكماشة (FAO, 2006) وتعد من الحيوانات القاعية (القشريات والرخويات) من أكثر الأحياء البحرية التي تنطبق عليها معظم المواصفات الواجب توافرها في الأدلة الحيوية إذ ان المدى الواسع لتراكم العناصر الثقيلة ومعدل امتصاص هذه الأحياء للعناصر تتغير تبعاً لاختلاف الأنواع (Varadharajan and Soundarapandian, 2014) وتلعب العناصر الغذائية دوراً حيوياً في النمو الجسدي والتطور للحفاظ على وظائف الجسم الطبيعية والنشاط البدني. والتغذية الصحية هي شرط أساسي لاستدامة الحياة وتشكل المعادن غذاء ضرورية للحياة التي يكتسب من خلالها الجسم البشري ويستخدمه للحفاظ على الصحة والنشاط (Mohapatra et al., 2009) هذا ليس فقط لتعزيز النمو الجسدي السليم والتنمية ولكن أيضاً في ضمان الكفاءة المناعية المناسبة حيث ان المستوى القليل من المعادن يسبب بعض المشاكل الصحية (Dinakaran et al., 2009) ولقد أظهرت العديد من الدراسات على سرطان البحر ان معظم العناصر الثقيلة تتراكم في الأنسجة الرخوة أكثر من الأصداف والدرع ولكن بعض الدراسات أوضحت ان تراكم العناصر الثقيلة في الأصداف يمكن ان يكون أكثر دقة حيث يمكن ان يوفر محتوى تاريخي للكائن الحي من العناصر على طول حياته يبقى محفوظاً بعد موته لان الأصداف والدرع هي موقع للعناصر الثقيلة المخزونة (Pourang.N.et.al (2018) وتعد القشريات البحرية بجميع أنواعها مهما اقتصادياً حيث تعتبر مصدراً غذائياً هاماً لكثير من الشعوب لغناها بالبروتينات. ويعتبر استكشاف المعادن من الكائنات البحرية امر مهما خاصة في السرطانات. وقد أصبح طعاماً شهياً في جميع انحاء العالم بين عشاق المأكولات البحرية ويحتوي على نسبة عالية من العناصر الغذائية وهو مفيد للصحة وبالتالي تعتبر اللحوم مصادر بارزة للمعادن خاصة الحديد والكالسيوم والفسفور والبوتاسيوم مما يعمل كمضاد للأكسدة عن طريق الغاء التأثيرات المسببة للسرطان (Soundarapandian et.al 2010) ولوحظ في السنوات الأخيرة ان المنتجات الطبيعية المأخوذة من العينات البحرية تتمتع بانشطة بايولوجية واسعة وتشمل العديد من التطبيقات العلاجية كمضادات أكسدة ومضادات ميكروبي ومضادات للأورام (Aneiros and Garatiax, 2004) وقد دفعت هذه الخلفيات المرضية والسريرية الى دراسة المركبات المضادة للأكسدة الجديدة في سرطان البحر التي لها في النهاية استخدام علاجي (Aruprakash et al 2011)

المواد وطرق العمل

المواد: تم الحصول على سرطان البحر من سوق البصرة غسلت العينة بالماء المقطر عدة مرات وجففت ووضعت بزجاجة ساعة ثم وضعت في فرن درجة حرارته 105م° الى ان أصبح لونه ذهبياً ثم برد وطحن وحفظ في قنينة لحين استخدامه .

كاشف مولش , كاشف ماركوس , كلوريد الزئبق المائي (5%) , خلاص الرصاص المائية 1% , هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي 5% عياري , كلوريد الحديد 1% كاشف واكنر ماير , كاشف 5N KOH و H₂SO₄ (DPPH) , ايثانول, ثنائي مثل سلفوكسايد, حامض الاسكوريك , ايثانول , محلول منظم الفوسفات , potassium ferricyanide (1%) , ثلاثي كلورو حامض الخليك , ماء مقطر , كلوريد الحديد

طرق العمل :

- 1- تقدير العناصر في عينة سرطان البحر
هضمت العين اعتماداً على الطريقة المتبعة من قبل (Aiyelaagbo and Samudiamon (2008) حيث اخذ وزن 1 غم من العينة في ورق مخروطي سعة 100 مل و اضيف له محلول الهضم (1 مل من حامض النتريك HNO₃ و 3 مل من حامض البركلوريك HClO₄) ثم هضمت ورشحت العينة لغرض الفحص بجهاز Spectrophotometer AA986
- 2- طريقة تحضير المستخلص المائي حضر المستخلص المائي وفق طريقة (Afandi. et al (2013) نقع 20 غم من سرطان البحر المطحون في 100 مل من الماء لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة المختبر ثم ركز المستخلص باستخدام جهاز المبخر الدوار.

3-التحاليل النوعية للمستخلص:

اجريت الكشوفات الاولية على المستخلص المائي للتعرف على العوائل الكيميائية او المجاميع الرئيسية

1-3 - كشف الكربوهيدرات Carbohydrates test

كشفت عن الكربوهيدرات باستعمال كاشف مولش Molish test اذ اضيفت 1 مل من الكاشف الى 1 مل من المستخلص ثم اضيف قطرات من حامض الكبريتيك المركز تكون حلقة بنفسجية دلالة على وجود الكربوهيدرات شهاب (1978)

2-3- كشف الصابونين Saponins Test

اضافة 1 مل من المستخلص الى 1 مل من كلوريد الزئبق 5% ظهور الراسب الابيض يدل على وجود الصابونين Hossain et.al (2017)

3-3- كشف التانينات Tannins test

اضيف 1 مل من خلات الرصاص المائية (1%) الى 1 مل من المستخلص تكون راسب ابيض هلامي دلالة على وجود التانينات Sawant and Godghat (2013)

4-3- كشف الفلافونيدات flavonids test

اضيف 1 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم (5N) كحولي الى 1 مل من المستخلص حيث ظهور اللون الاصفر دلالة على وجود الفلافونيدات Krishnaiah et .al (2009)

5-3- كشف القلويدات Alkaloids test

تم الكشف باستخدام كاشف ماركوس Margus reagent حضر بمزج 1 مل من الفورمالديهايد مع 10 مل من حامض الكبريتيك المركز واضيف الى 1 مل من المستخلص تكوين راسب اصفر او ارجواني دلالة على وجود القلويدات Harborn .J.B (1984)

6-3- كشف الكلايكوسيدات Glycosides Test

تم الكشف عن الكلايكوسيدات باستخدام كاشف بندكت Al-Khazaraji .S.M (1991)

7-3- كشف الفينولات phenolice test

رطب ورقة ترشيح بالمستخلص ثم اضيفت اليها قطرات من كلوريد الحديدك وعرضت الورقة الى بخار الامونيا ظهور اللون الازرق دليل وجود الفينولات Harborn ,J.B (1984)

4 - قياس الفعالية المضادة للاكسدة Measurment of Antioxidant

قيست الفعالية المضادة للمستخلص الايثانولي لاقتناص الجذر الحر DPPH حسب طريقة Shen et .al (2010) وتضمنت ما يأتي حضرت المحاليل بتركيزات 20، 40 ، 60 ، 80 ، 100 ملغم / مل في الايثانول واضيف لها 1 مل من محلول DPPH رج الخليط بشدة وترك لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة وقيست الامتصاصية على الطول الموجي 517 نانومتر اما نموذج العينة الضابطة فحضرت من 1 مل الميثانول مع واحد مل من DPPH وقيست الامتصاصية وحسبت الفعالية حسب المعادلة التالية

الفعالية المضادة للاكسدة = امتصاصية العينة الضابطة - امتصاصية العينة / امتصاصية العينة الضابطة $\times 100$

5- القوة الاختزالية : اتبعت طريقة Zhang, Y.; H. et.al(2014) في تقدير القوة الاختزالية بخلط 2.5 مل

من المحاليل المحضرة بتركيزات 20، 40 ، 60 ، 80 ، 100 ملغم / مل في الايثانول مع 2.5 مل من محلول داري الفوسفات 0.2 مولاري برقم هيدروجيني 6.6 و 2.5 مل من 1% سيانيد البوتاسيوم الحديدكي وحضن الخليط عند درجة حرارة 50 م° لمدة 20 دقيقة بعدها اضيف 2.5 مل من 10% TCA (ثلاثي كلوريد حامض الخليك) نبذت الانابيب مركزيا بسرعة 2000 دوره بالدقيقة لمدة 10 دقائق ثم اخذت الطبقة العلوية واضيف لها 5 مل من الماء المقطر و 1 مل من كلوريد الحديدك 0.1% ثم قراءت الامتصاصية على طول الموجي 700 نانومتر اما العينة الضابطة فحضرت من جميع المواد اعلاه ما عدا العينة وقورنت مع حامض الاسكوريك

القوة الاختزالية = $100 - (\text{امتصاصية العينة} / \text{امتصاصية العينة الضابطة}) \times 100$

6- الفحوصات الميكروبية :-

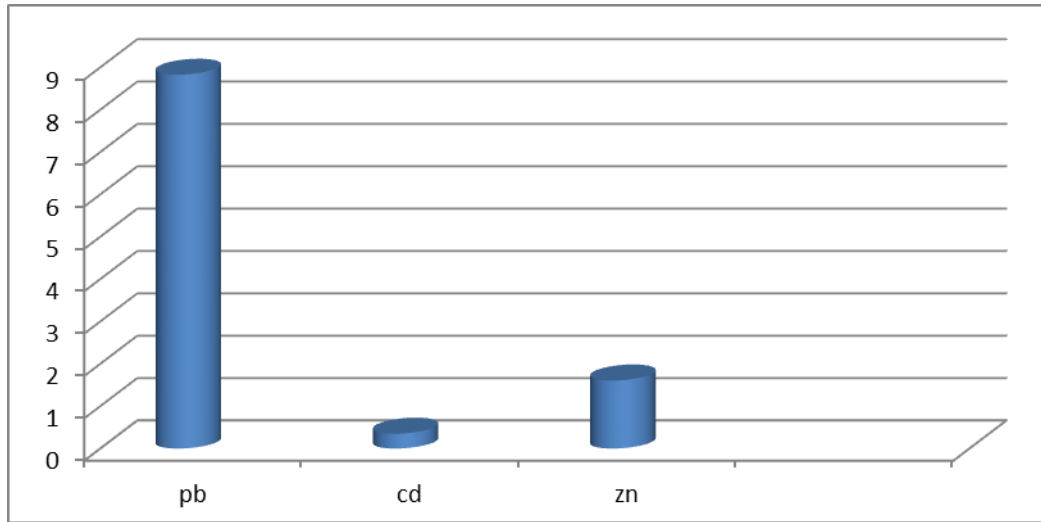
تم تقييم النشاط المضاد للبكتريا للعينة بإذابة (0.1 غم من العينة في 1 مل من مذيب DMSO ضد ثلاث انواع من البكتريا *Staphylococcus aureus* و *psenel Escherichia coli* و ثم اضيف 50 ميكروليتر من العينة الى ثقب قطرها 7 ملم ثم حضنت الاطباق في حاضنة لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 36 م° تحت ظروف هوائية وتم قياس تثبيط نمو البكتريا بوحدات mm (Smania et.al., 1999) اما بالنسبة الى دراسة تأثيرها ضد الفطريات تم تقييم النشاط المضاد للفطريات لعينة من خلال فحص فطريات *Aspergillus niger* و *Candida albicansi* بواسطة تقنية الانتشار على سطح نمو (PDA) (Thangavelu et.al., 2013) (Talibi etal., 2012) . تم تحضير الفطر ثم ثقب ثقب قطرها 6 mm وملئت ب 50 ميكروليتر من العينة ثم حضنت الاطباق عند (2±28) م° واجري التقييم بعد 72 ساعة عن طريق قياس قطر التثبيط لنمر الفطريات

النتائج والمناقشة

العناصر المعدنية في سرطان البحر : اظهرت النتائج المبينة في جدول وشكل رقم (1) ان هناك تراكم لعنصر الرصاص في درع واحشاء السرطان فقد سجل اعلى تركيز بحدود ppm 8.828 وهذا يتفق مع ماتوصل اليه الحداد (2013) واقل تركيز لعنصر الكاديوم بحدود ppm 0.352 وهو اعلى مما توصل اليه العماري (2022) حيث لوحظ ان هذا الاختلاف في تراكيز العناصر يعود الى اختلاف المواقع والفصول قد يعود السبب الى ارتفاع درجة الحرارة التي تسبب التبخير وزيادة ذوبان الغازات والعناصر في الماء كما هو معروف في مياه الفاو .

الجدول (1): بعض العناصر المعدنية

التركيز ppm	العنصر
8.828	Pb
0.352	Cd
1.608	Zn



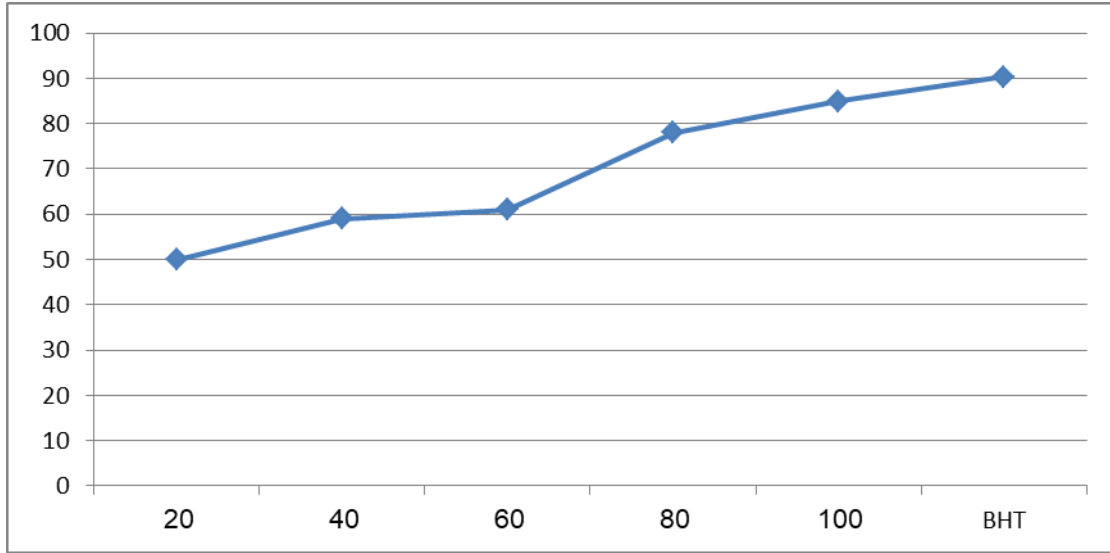
الشكل (1): تراكيز العناصر المعدنية

التحليلات النوعية للمستخلص المائي لسرطان البحر: يبين الجدول رقم (2) نتائج الكشوفات النوعية لمستخلص المائي فقد اعطت المستخلصات نتيجة موجبة مع الكواشف المستخدمة للكشف عن الكربوهيدرات كالكاشف مولش مما يدل على وجود الكربوهيدرات واحتوت على الصابونين لاعطائها نتائج موجبة مع Hg_2Cl_2 واعطت كشف موجب ايضا مع خلات الرصاص المائية ومع كاشف ماركوس دلالة على وجود التانينات والقلويدات على التوالي

الجدول (2): التحليل النوعي للمستخلص المائي

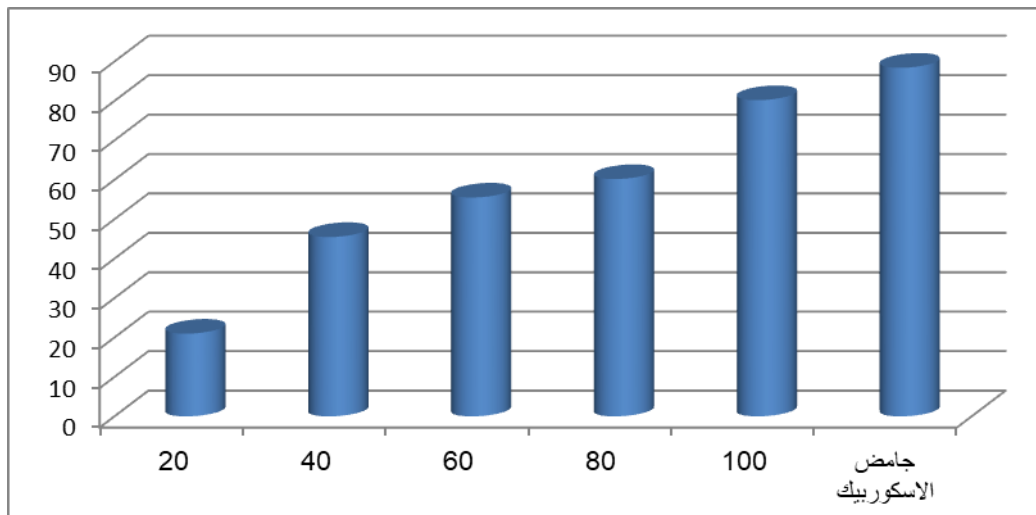
الملاحظات	المستخلص المائي	الكاشف
وجود الكربوهيدرات	+	كاشف موليش
وجود الصابونيين	+	Hg_2Cl_2
وجود التانينات	+	خلات الرصاص المائية 1%
وجود الفلافونيدات	+	هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي
وجود القلويدات	+	كاشف ماركوس
وجود الكلايكوسيدات	+	كاشف بندكت
وجود الفينولات	+	محلول كلوريد الحديدك 1%

الفعالية المضادة للأوكسدة: تُوضح النتائج في الشكل (2) الفعالية المضادة للأوكسدة للمستخلص الايثانولي قد ازدادت قابلية المستخلص لاقتناص الجذر الحر الثابت (DPPH) بالمقارنة مع مضاد الأوكسدة BHT بزيادة التراكيز المستخدمة وبلغت أقصى فعالية اقتناص عند التركيز 100 ملغم/مل اذ بلغت 85.56% وهي مقارنة لما توصل اليها Wan Roslina .et.al (2020) حيث كانت بحدود 88.7 بينما كانت الفعالية المضادة للأوكسدة للمركب BHT بنفس التركيز 90.34% اذا ان تغير اللون الارجواني الى اللون الأصفر يعطي دليل على قابلية الاقتناص الجذر الحر(DPPH).



الشكل (2): الفعالية المضادة للأوكسدة للمستخلص الايثانولي

القوة الاختزالية: يوضح الشكل (3) القوة الإختزالية للمستخلص الايثانولي مقارنة مع حامض الأسكوربيك القياسي. اذ اخذت بالتزايد مع ازدياد التراكيز حيث كان اقل قوة اختزالية عند التركيز 20 ملغرام/مل اذ بلغت 20.99% واعلى قوة اختزالية عند تركيز 100 ملغم/مل وهي 80.22% مقارنة مع المادة القياسية حامض الاسكوربيك 88.44%



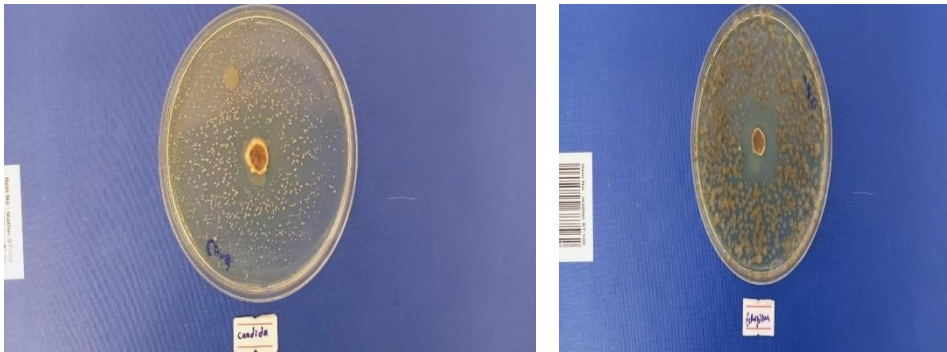
الشكل (3): القوة الاختزالية للمستخلص الايثانولي

فعالية الميكروبية: اظهرت النتائج البيولوجية للعينة (سرطان البحر) المحضرة بطريقة الغريلة الاولى في تثبيط نمو معين من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغه كرام وهي *staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* وضد فطر *Aspergillus nige* و *Candida albicans* كما موضح في الجدول

(3) والشكل (4) اذ كان قطر التثبيط في بكتريا (*E. coli*) بحدود (14) mm وهي مقاربة لما توصل لها (Wan Roslina et.al (2020) حيث كانت بحدود 15 وكان لها تاثير قليل على بكتريا (*S. aureus*) وكانت اقل لما توصل لها (Wan Roslina et.al (2020) حيث كانت بحدود 7 وكذلك اعطت تاثير على بكتريا *psenel* بحدود (10) mm اما تاثيرها على الفطريات فقد كان لها تاثير على فطر *Aspergillus niger* حيث اعطت تثبيط بحدود (21) mm اما على فطر *Candida albicans* اعطى تثبيط بحدود (16) mm .

الجدول (3): الفعالية التثبيطية

Inhibition zone (mm)			Inhibition zone (mm)	
<i>S. aureus</i>	<i>Psenel</i>	<i>E. coli</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus</i>
1	10	14	16	21



الاستنتاجات

توفير العلاج البديل عن العلاج الكيميائي وهو استخدام سرطان البحر لما له من أهمية كمضاد أكسدة ومضاد ميكروبي.

المصادر

المصادر العربية:

الحداد , يوسف عبد الله , السعدي , محمد علي (2013) مستوى الملوثات في المياه الساحلية الغربية الليبية الاكاديمية العربية للعلوم والتكنولوجيا والنقل البحري , مصر الاسكندرية
العماري , سالمى عبد الله الابيض , زينب نوري فرحان (2022) تقدير الرصاص والكاديوم والزنك في سرطان البحر (Pachygrapsus marmoratus) المتواجد في شواطئ مدينة الخمس المؤتمر السنوي الرابع لنظريات وتطبيقات العلوم الاساسية والحيوية
شهاب , سعد خليل وحسن , علي محمد (1978). الكيمياء الحيوية الزراعية العملي " الطبعة الأولى.

المصادر الانكليزية

- Afandi, A.; Sarijan, S. and Shaha, R. K. (2013). Optimization of rebaudioside a extraction from Stevia Rebaudiana (Bertoni) and quantification by high performance liquid chromatography analysis. Journal of Tropical Resources and Sustainable Science, 1(1): 62-70.
- Aiyelaagbe, O. O. and Osamudiamen, P. M. (2009). Phytochemical screening for active compounds in Mangifera indica leaves from Ibadan, Oyo State. Plant Sciences Research. 2(1): 11-13
- AL-Khazaraji ,S.M.(1991). Bio pharmacological Study of Artemisia herb. MSC Thesis, College of pharmacy, Baghdad university .Iraq.
- Aneiros A. and Garateix A., (2004) Bioactive peptides from marine sources: pharmacological properties and isolation procedures. J Chromatography B, 803, 41–53
- Arulprakash A., Balasubramaniam S., Gunasekaran G., Prakash K. and Senthilraja P., (2011) Control of clinical pathogens by the haemolymph of Paratelphusa hydrodromous, a Freshwater Crab. ISRN pharmacology., doi:10.5402,642768.
- Dinakaran GK, Soundarapandian P (2009) Biochemical Status of Edible Palaemonid Prawn Macrobrachium idella idella (Hilgendorf, 1898). Adv J Food Sci Tech 1: 19-26
- Dinakaran GK, Soundarapandian P, Tiwary AK (2010) Nutritional status of edible palaemonid prawn Macrobrachium scabriculum (Heller, 1862). European. J Appli Sci 2: 30-36
- Fao Fisheries Department, (2006). State of world aquaculture
- Harborne, J. B. (1984). Phytochemical method second Edition, Chapman, Hall New York USA
- Hossain, M. F.; Islam, M. T.; Islam, M. A. and Akhtar, S. (2017). Cultivation and uses of stevia (Stevia rebaudiana Bertoni): A review. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development, 17(4): 12745-12757
- I. Talibi, L. Askarne, H. Boubaker, E.H.Boudyach, F. Msanda, B. Saadi, et al. Antifungal activity of some Moroccan plants against Geotrichum candidum, causal agent of postharvest citrus sour rot. Crop Prot, 35 (1) (2012), pp. 41-46
- Krishnaiah, D.; Devi, T.; Bono, A. and Sarbatly, R. (2009). Studies on phytochemical constituents of six Malaysian medicinal plants. Journal of medicinal plants research, 3(2): 067-072.
- Mohapatra A, Rautray TR, Patra AK, Vijaayan V, Mohanty RK (2009) Elemental composition in mud crab Scylla serrata from Mahanadi estuary, India: in situ irradiation analysis by external PIXE. Food chem Toxicol 47: 119-123.



- Ng pkl (1988) The Freshwater Crabs of Peninsular Malaysia and Singapore; Singapore (Shinglee)
- Pourang, N.; Bahrami, A and NasrolahzadehSaravi, H. (2018) Shells of *Bufo* as biomonitoring materials of heavy metals (Cd, Ni and Pb) pollution in the Persian Gulf: with emphasis on the annual growth sections. Iranian Journal of Fisheries Sciences DOI., 10:22092-11573
- Sawant, R. S. and Godghate, A. G. (2013). Comparative studies of phytochemical screening of *Carissa carandus* Linn. Asian J Plant Sci Res, 3 :21-25
- Shen Q., Zhang B., Xu R., Wang Y., Ding X. and Li P(2010)., Antioxidant activity in vitro of the selenium-contained protein from the Se-enriched *Bifidobacterium animalis* 01, Anaerobe, 16(4), 380–386)
- Smânia, A.; Monache, F.D.; Smânia, E.F.A. and Cuneo, R.S. (1999). Antibacterial activity of steroidal compounds isolated from
- Soundarapandian P, Dinakaran GK, Mrinmoy G, et al. 2010.Effect of diets on the biochemical changes offattened commercially important crab *Portuns sanguinolentus* (Herbst). Current Research Journal of Biological Sciences, 2(2): 107-113.
- R. Thangavelu, P.G. Devi, M. Gopi, M.M. Mustaffa. Management of Eumusae leaf spot disease of banana caused by *Mycosphaerella eumusa* with Zimmu(*Allium sativum* × *Allium cepa*) leaf extract. Crop Prot, 46 (1) (2013), pp. 100-105
- Varadharajan D and Soundarapandian P (2014) Proximate Composition and Mineral Contents of Freshwater Crab *Spiralothelphusa hydrodroma* (Herbst, 1794) from Parangipettai, South East Coast of India . J Aquac Res Development, 5(2).
- Wan Roslina Wan Yusof¹, Noorasmin Mokhtar Ahmad² , Mohd Alhafiizh Zailani¹ Nutritional Composition, Antioxidants and Antimicrobial Activities in Muscle Tissues of Mud Crab, *Scylla paramamosain*. (2020). Research Journal of Biotechnology Vol. 15 (4).
- Zhang, Y.; H. Fang; Q. Xie; J. Sun; R. Liu; Z. Hong; R. Yi and Wu, H.2014 . Comparative evaluation of the radical scavenging activities of fucoxanthin and its stereoisomers Molecules, 19(2):2100-13.