استخراج به کمک التراسوند ترکیبات آنتی‌اکسیدانی چهار گونه جلبک دریایی خلیج فارس

شهاب نقدی[1]، آریا باباخانی[2*]

[1]گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.
[2]گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران.

*نویسنده مسئول: arialashkan@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۴/۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۹

چکیده

برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جلبک‌های *Sargassum angustifolium*، *Padina astraulis*، *Cystoseria merica* و *Colopomenia sinuosa* از روش اولتراسونیک تحت شرایط ۲۵ kHz و ۴۰۰ W به‌مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. متغیر وابسته در این مطالعه چهار گونه جلبک و نوع حلال بود که از حلال‌های آب، آب/ اتانول (۵۰/۵۰) و اتانول استفاده شد. در بررسی استخراج ترکیبات فنولی عصاره‌ی آبی جلبک‌ها، جلبک ساراگوسوم بیشترین مقدار فنول کل را داشت ($P<0/05$). مقدار ترکیبات فنولی استخراجی از عصاره آبی/ اتانولی جلبک ساراگوسوم به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر جلبک‌ها بود. در عصاره اتانولی هیچ کدام از جلبک‌ها از نظر ترکیبات فنولی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. عصاره آبی جلبک سیستوریا بالاترین مقدار خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH را نسبت به عصاره آبی سایر جلبک‌ها داشت. عصاره آبی / اتانولی جلبک ساراگوسوم به‌طور معنی‌داری خنثی کنندگی رادیکال آزاد بیشتری نسبت به عصاره آبی/اتانولی سایر جلبک ها داشت همچنین خواص آنتی رادیکالی عصاره اتانولی جلبک سیستوریا بیشتر از عصاره اتانولی سایر جلبک ها بود. عصاره‌های آبی در همه گونه‌ها دارای بالاترین ترکیبات فنولی بودند ولی در آزمایش خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد عصاره‌های آبی/ اتانولی در جلبک سارگاسوم بالاترین قدرت را داشت. نتایج نشان داد جلبک‌های *S. angustifolium* و *C. merica* برای استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی مناسب می‌باشند.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، جلبک، DPPH، ترکیبات فنولی.

مقدمه

آنتی اکسیدان‌های طبیعی ترکیباتی هستند که به دلیل افزایش طول عمر مواد غذایی و غنی ساختن آن‌ها در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. آنتی اکسیدان‌ها در موجودات زنده تاثیرات محافظتی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو دارند، بنابراین تقاضای زیادی به آنتی اکسیدان‌های سنتزی از قبیل (BHT)، (BHA) و (PG) وجود دارد. با وجود این، گزارش‌هایی مبنی بر سمیت آنتی-اکسیدان‌های سنتزی در جانوران مدل نیز شده است (Cho *et al.*, 2011). آسیب‌های اکسیداتیو در صورت عدم وجود آنتی‌اکسیدان‌ها با آسیب رساندن به لیپید، پروتئین و DNA باعث آسیب به سلول‌ها و در نتیجه تخریب‌شان می‌شوند (Petrović *et al.*, 2017). ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در بافت گیاهی به‌دلیل تاثیر مهمی که بر رشد و نمو دارند و همچنین یک مکانیزم دفاعی مناسب علیه عفونت و آسیب‌دیدگی هستند، از ترکیبات مهم در گیاهان می‌باشند (Ballard *et al.*, 2010). گیاهان حاوی گروه‌های مختلفی از ترکیبات فنولی هستند، ترکیباتی که شامل فنولیک، اسید فنولیک، آنتوسیانین، هیدروکسی سینامیک اسید و فلاونویید هستند. کلروفیل‌ها، کارتنوئیدها و مشتقات توکوفرول از قبیل ویتامین E از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مهم بافت گیاه می‌باشند که ساختار آن‌ها وابسته به این است که از کدام قسمت گیاه مشتق شده‌اند. از میان آنتی اکسیدان‌های طبیعی انواع فنولی آن‌ها به‌عنوان گسترده‌ترین آن‌ها در گیاهان شناخته شده است (Benslimane *et al.*, 1998).

آنتی اکسیدان‌های طبیعی محدود به منابع خشکی نیستند، گزارش‌های متنوعی از تعداد زیادی محققین حاکی از آن است که گیاهان دریایی از منابع

مناسب آنتی‌اکسیدانی بوده و از میان گیاهان دریایی جلبک‌ها به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی مناسب و گسترش زیاد مورد توجه محققین قرار گرفته‌اند. جلبک‌های دریایی بر اساس رنگدانه‌هایشان به سه گروه طبقه‌بندی می‌شوند: قهوه‌ای (Phaeophyceae)، قرمز (Rhodophyceae) و سبز (Chlorophyceae) (Balboa *et al*., 2011).

مطالعات کمی و کیفی که بر روی استخراج ترکیبات زیست فعال جلبک‌ها انجام شده است، بیشتر مربوط به روش‌های استخراج این ترکیبات است. فرآیندی که استخراج ترکیبات زیست فعال توسط آن‌ها انجام گرفته نقش بسیار مهم و کلیدی در نتایج کمی و کیفی دارند. امروزه روش‌های متنوعی برای استخراج این ترکیبات مورد استفاده قرار می‌گیرند. اکثر روش‌های امروزی نسبت به روش‌های قدیمی‌تر سازگار با محیط زیست بوده و ضایعات باقی مانده از فرایند استخراج بسیار کمتری دارند. این روش‌ها در اکثر موارد باعث بهبود کمی و کیفی محصولات حاصل از استخراج شده‌اند، همچنین زمان فرایند استخراج را بسیار کاهش داده‌اند. این تکنیک‌ها در طی پنجاه سال اخیر توسعه پیدا کرده‌اند. این تحقیقات نشان دهنده بهبود کل محتوای ترکیبات زیست فعال استخراجی از مواد گیاهی می‌باشد، روش‌هایی مانند التراسوند (Toma *et al*., 1997)، میدان الکتریکی پالسی (Toepfl *et al*., 2006)، هضم آنزیمی (Gaur *et al*., 2007)، مایکرویو (Kaufmann *et al*., 2002) ، از روش‌های جدید در استخراج ترکیبات زیست فعال است (Azmir *et al*., 2013).

التراسوند نوعی از امواج صوتی‌ست که فراتر از محدوده شنوایی انسان است. محدوده این امواج ۲۰kHz تا ۱۰۰MHz است. این امواج باعث ایجاد انقباض و انبساط در حد مولکولی می‌شوند. این فرآیند باعث تولید پدیده‌ای به اسم کاویتاسیون (حباب‌سازی) می‌شود که به‌معنی تولید، رشد و تخریب حباب‌ها است. مقدار زیادی انرژی از طریق تبدیل انرژی جنبشی سنتزی به گرما تولید شده و به حباب‌ها وارد می‌شود. مکانیزم پدیده فیزیکی استخراج از طریق التراسوند شامل دو مرحله اصلی که عبارتند از انتشار از طریق دیواره سلولی و سپس خروج محتوای سلولی به داخل حلال است (Mason *et al*., 1996). از مزایای التراسوند می‌توان کاهش زمان استخراج، کاهش انرژی و حلال را نام برد. انرژی التراسوند برای فرآیند استخراج باعث تاثیر بیشتر اختلاط، تسریع انتقال انرژی، کاهش افت حرارتی و درجه حرارت استخراج، استخراج انتخابی، کاهش سایز ذرات، پاسخ سریع به کنترل فرآیند استخراج می‌شود (Dey *et al*., 2013).

خلیج فارس و سواحل آن دارای شرایط آب و هوایی است که میزبان گونه‌های زیادی از جلبک‌ها است. در این تحقیق مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی بوسیله التراسوند از چهار گونه جلبک *Sargassum angustifolium*، *Padina astraulis*، *Cystoseria merica* و *Colopomenia sinuosa* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های جلبک از منطقه ساحلی شهرستان بندرعباس در زمستان سال ۹۳ جمع‌آوری شدند. شستشو نمونه‌ها ابتدا با آب دریا و سپس با آب شیرین صورت پذیرفت و گل و لای و همچنین اپی‌فیت‌های متصل به آن‌ها نیز زدوده شدند. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان منتقل شده و در آون در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ روز خشک شدند. نمونه‌های جلبکی خشک شده با قهوه خردکن (مولینکس، AR10، ساخت کشور فرانسه) به‌صورت پودر در آورده شدند. ۳/۷۵ گرم از هر نمونه توزین شده و به ۷۵ سی‌سی حلال (آب، آب:اتانول با نسب۵۰ به ۵۰ و اتانول) در ظروف شیشه‌ای (بشر شیشه‌ای) افزوده شد. در ادامه مراحل آزمایش‌ها ظروف شیشه‌ای حاصل را تحت تیمار التراسوند با

شرایط ۲۵ kHz و ۴۰۰ W به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. پس از اتمام زمان استخراج عصاره‌ها با کاغذ صافی (Watman 42) فیلتر شده و تا هنگام انجام آزمایش‌های بیشتر (حداکثر تا یک هفته) در ظروف شیشه‌ای تیره و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

تعیین میزان فنول کل: میزان فنول کل (TPC) عصاره با استفاده از روش Taga و همکاران (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد (Taga *et al*., 1984). ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه با ۴ میلی‌لیتر Na_2Co_3، مخلوط شد و به‌مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق (۲۸-۲۶ درجه سانتی‌گراد) باقی ماند. سپس ۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین‌سیوکالتو ۵۰ درصد به آن اضافه شد و پس از مخلوط شدن به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی باقی ماند. جذب نمونه‌ها با اسپکتوفتومتر (Lambda PerkinElmer precisely، آمریکا) در طول موج ۷۲۰ نانومتر در مقابل شاهد خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول اسیدتانیک از غلظت‌های ۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شد. نتایج بر اساس میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم پودر جلبکی خشک گزارش شد ($Y=0.0138x$, $R^2=0.9946$).

فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH): بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رادیکال‌های پایدار ۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل – هیدرازیل (DPPH). طبق روش Brand William و همکاران (۱۹۹۵) انجام گرفت. دو میلی‌لیتر از عصاره به دو میلی‌لیتر از محلول متانولی ۰/۱۶ میلی مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده و به‌مدت یک دقیقه با دستگاه ورتکس با دور ۲۵۰۰rpm (IKA, MS 3b امریکا) به خوبی مخلوط و ۳۰ دقیقه در دمای محیط در تاریکی نگهداری گردید. جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر خوانده شد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره مطابق فرمول زیر محاسبه و به‌صورت درصد RSA بیان شد.

$$RSA\% = [1-(Asample-Asample\ blank)/Acontrol]*100$$

Asample = جذب DPPH بعد از زمان موردنظر نمونه و محلول

Acontrol = جذب محلول DPPH بدون نمونه

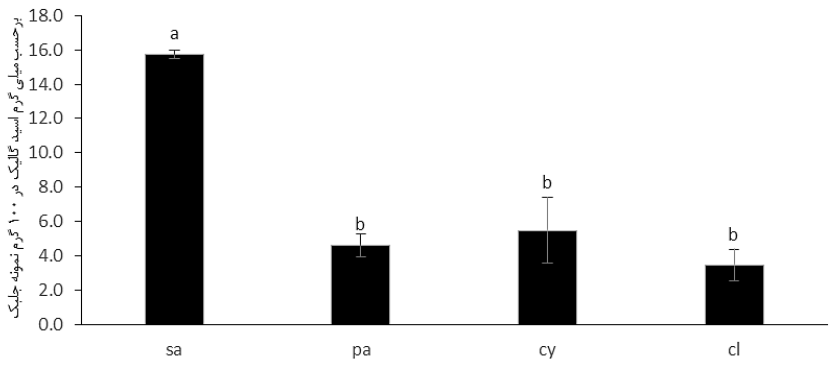
DPPH Asample blank = جذب نمونه بدون محلول

تجزیه تحلیل آماری: برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و قدرت آنتی‌رادیکالی از آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی آزمایش‌ها کنترل طبیعی بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف از تجزیه واریانس یک-طرفه آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی استفاده گردید. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم-افزارهای SPSS 17 استفاده شد. از نرم افزار Excel 2010 برای رسم نمودارها استفاده گردید.

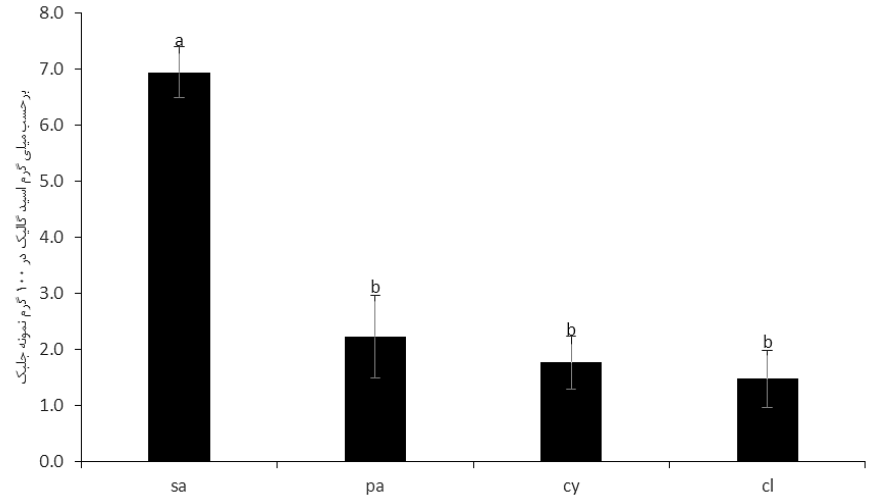
نتایج

نتایج ترکیبات فنول کل (TPC): میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از عصاره آبی چهار گونه *S. angustifolium*، *P. astraulis*، *C. merica* و *C. sinuosas* در شکل ۱ نشان داده شده است. عصاره‌ی آبی جلبک ساراگوسوم حاوی ۱۵/۷۳ میلی‌گرم گالیک اسید بود که بیشترین مقدار استخراجی را داشت و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P<۰/۰۵$). مقدار ترکیبات فنولی در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($P>۰/۰۵$).

در شکل ۲ ترکیبات فنولی استخراج شده از عصاره آبی/تانولی چهار گونه جلبک *S. angustifolium*، *P. astraulis*، *C. merica* و *C. sinuosas* نشان داده شده است که عصاره آبی/اتانولی استخراج شده از جلبک ساراگوسوم با مقدار ۶/۹۴ بیشترین مقدار را داشت که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P<۰/۰۵$) و در



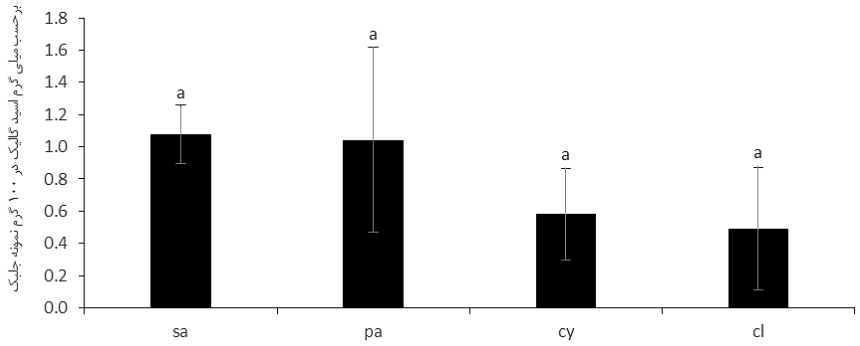
شکل ۱ - استخراج ترکیبات فنولی از عصاره‌ی آبی جلبک‌های *Sargassum angustifolium* (sa)، *Padina astraulis* (pa)، *Cystoseria merica* (cy) و *Colopomenia sinuosas* (cl).



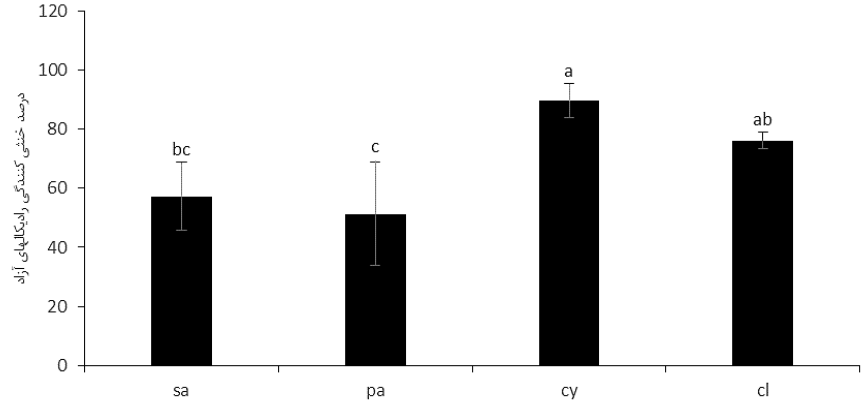
شکل ۲ - استخراج ترکیبات فنولی از عصاره‌ی آبی/اتانولی جلبک‌های *Sargassum angustifolium* (sa)، *Padina astraulis* (pa)، *Cystoseria merica* (cy) و *Colopomenia sinuosas* (cl).

سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). در شکل ۳ ترکیبات فنولی استخراج شده از عصاره اتانولی چهار گونه جلبک *S. angustifolium*، *P. astraulis*، *C. merica* و *C. sinuosas* نشان داده شده است که هیچ کدام از تیمارها اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($P>۰/۰۵$).

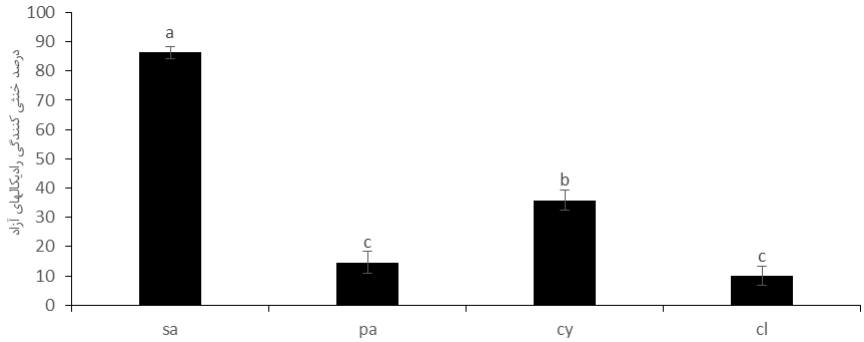
فعالیت خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH: در شکل ۴، نشان داده شده که در مقایسه قدرت خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های اتانولی چهار گونه جلبک نامبرده شده، جلبک *C. merica* با مقدار ۲۰/۰۷ درصد بیشترین مقدار بوده و اختلاف معنی‌داری با عصاره‌ی اتانولی جلبک *S. angustifolium* نداشت ($P>۰/۰۵$) ولی با دوگونه‌ی دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$) و عصاره‌های جلبک‌های *C. sinuosas* و *P. astraulis* نیز با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P>۰/۰۵$). مقایسه درصد خنثی کنندگی رادیکال-های آزاد DPPH عصاره‌های آبی، آبی/ اتانولی و اتانولی جلبک *S. angustifolium* نشان داد که عصاره‌ی آبی / اتانولی با مقدار ۸۶/۳۷ درصد بیشترین مقدار بوده و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P<۰/۰۵$) (شکل ۵). سایر تیمارها نیز اختلاف معنی‌داری با هم داشتند ($P<۰/۰۵$). مقایسه درصد خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره‌های آبی، آبی/اتانولی و اتانولی جلبک *P. astraulis* نشان داد که عصاره‌ی آبی با مقدار ۵۱/۲۷ درصد بیشترین مقدار بوده و اختلاف



شکل ۳ - استخراج ترکیبات فنولی از عصاره‌ی اتانولی جلبک‌های (sa) *Sargassum angustifolium*، (pa) *Padina astraulis*، (cy) *Cystoseria merica* و (cl) *Colopomenia sinuosas*.



شکل ۴ - درصد خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌ی آبی جلبک‌های (sa) *Sargassum angustifolium*، (pa) *Padina astraulis*، (cy) *Cystoseria merica* و (cl) *Colopomenia sinuosas*.

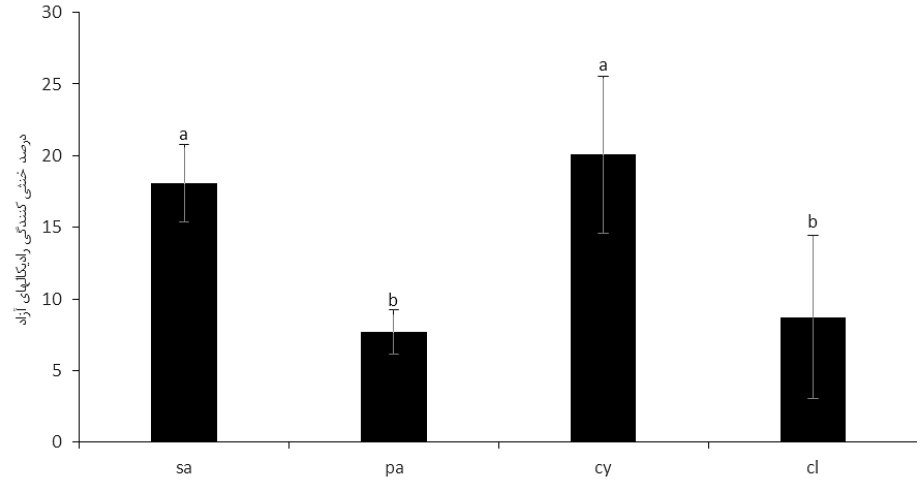


شکل ۵ - درصد خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌ی آبی/اتانولی جلبک‌های (sa) *Sargassum angustifolium*، (pa) *Padina astraulis*، (cy) *Cystoseria merica* و (cl) *Colopomenia sinuosas*.

معنی داری با سایر تیمارها داشت ($P< ۰/۰۵$) و دو عصاره‌ی آبی/اتانولی و اتانولی با هم اختلاف معنی-داری نداشتند ($P>۰/۰۵$) (شکل ۶).

بحث

در بین ترکیبات کارکردی در صنایع غذایی بیشترین تحقیقات روی ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی انجام شده است. این ترکیبات کاربرد وسیعی در صنایع غذایی و پزشکی دارند (Mendiola *et al.*, 2008). در مطالعه Jovanović و همکاران (۲۰۱۷) از دو روش التراسوند و مایکروویو برای استخراج ترکیبات پلی فنول از گیاه *Thymus serpyllum* استفاده شدد که نتایج نشان داد میزان ترکیبات فنولی که در روش التراسوند استخراج شده‌اند بیشتر از روش مایکروویو بود. معمولاً انتخاب حلال با توجه به ماهیت ترکیبات و در دسترس بودن حلال و درجه



شکل ۶ - درصد خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره‌ی اتانولی جلبک‌های (sa) *Sargassum angustifolium*، *Padina astraulis* (pa)، *Cystoseria merica* (cy) و (cl) *Colopomenia sinuosas*.

غذایی بسیار متفاوت است. فاکتور حلال بر میزان استخراج این ترکیبات موثر است. تاکنون از حلال‌های محتلفی برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی استفاده شده است حلال‌هایی مانند اتانول، متانول، ان هگزان، کلروفرم و آب استفاده می‌کنند (Jovanović *et al*., 2017 : Lopez *et al*., 2011). با توجه به نتایج عصاره‌های آبی حاصل از هرکدام جلبک‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر عصاره ترکیبات فنولی بود که ممکن است به‌دلیل قطبیت مربوط به حلال باشد. همچنین قطبیت حلال که می‌تواند ترکیب ترکیبات فنولی استخراج شده را تحت تاثیر قرار می‌دهد، در استخراج ترکیبات فلاونوئیدی از چای حلال اتانول آبی بسیار موثر از متانول و اتانول بود (Chandini *et al*., 2008 : Tabaraki *et al*., 2011). در مطالعه Matanjun و همکاران (۲۰۰۸) که از حلال‌های مختلف برای استخراج ترکیبات فنولی از ۸ گونه جلبک استفاده گردید، رابطه مثبتی بین مقدار استخراج ترکیبات فنولی با قطبیت حلال‌ها یافتند. همچنین بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنولی گیاه Mung Bean اتانول با غلظت ۳۰ درصد بیشترین مقدار ترکیبات فنولی را به‌خود اختصاص داده بود که دلیل این امر تاثیر قطبیت حلال بر میزان استخراج بود (Zhou *et al*., 2017). در استخراج ترکیبات فنولی از جلبک‌های *Eisenia bicyclis*، *Kjellmaniella crassifolia*، *Alaria crassifolia*، *Sargassum horneri* و *Cystoseira hakodatensis* حلال اتانول بیشترین مقدار استخراج را از این جلبک‌ها داشت که به دلیل قطبیت بیشتر اتانول نسبت به سایر حلال‌ها بود (Airanthi *et al*., 2011). برای استخراج ترکیبات فنولی از جلبک *S. angustifolium* از روش مایکروویو و سه حلال آب، اتانول و متانول استفاده شد که حلال آب بیشترین مقدار استراج ترکیبات فنولی را نشان داد (Babakhani *et al*., 2012) که مشابه نتایج این تحقیق بود.

در مطالعه Sanger و همکاران (۲۰۱۳) برای استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی از سه غلظت ۳۰ و ۵۰ و ۷۰ درصد متانول استفاده کردند که در تمامی جلبک‌ها با افزایش غلظت متانول مقدار TPC افزایش یافته بود (Sanger *et al*., 2013). مطالعه‌ای که بررسی حلال‌های مختلف بر استخراج ترکیبات فنولی از جلبک *Stypocaulon scoparium* بود حلال آب بیشترین مقدار فنول کل را نسبت به متانول، اتانول، آب/اتانول و آب/متانول داشت (Lopez *et al*., 2011). در استخراج ترکیبات فنولی از جلبک *Polysiphonia fucoides* عصاره آبی بیشترین مقدار این ترکیبات را نسبت به عصاره اتانولی داشت که همسو با نتایج این مطالعه بود (Farvin *et al*.,

2013). در استخراج ترکیبات فنولی از جلبک *S. siliquastrum* عصاره اتانولی بیشترین مقدار ترکیب فنولی را نسبت به حلال‌های متانول و ان هگزان داشت که دلیل این عمر نیز تاثیر قطبیت حلال‌ها در میزان استخراج بود که مشابه نتایج این مطالعه بود (Cho *et al*., 2011). ترکیبات فنولی در حلال‌های آلی قطبی نسبت به آب محلول‌تر هستند. در مطالعه‌ای مشخص شد که فعالیت آنتی اکسیدان عصاره جلبک دریایی قهوه ای *S. pallidum* به بخش فنولیک (فلوئورتانینها) وابسته است (Qiao *et al*., 2009).

در این مطالعه حلال نقش موثری در استخراج ترکیبات فنولی داشت و آب به دلیل قطبیت بالا نسبت با دو حلال دیگر توانسته مقدار بیشتری ترکیبات فنولی حاصل نماید. علاوه بر آن قطبی بودن آب باعث تاثیر بیشتر امواج التراسوند شده و باعث استخراج بیشتر ترکیبات فنولی گشت. از دلایل دیگر مناسب بودن حلال آبی در استخراج ترکیبات فنولی، ویزگی ساختاری گونه مورد مطالعه می‌باشد. قدرت آنتی ردایکالی DPPH عصاره آبی جلبک سیستوریا بیشتر از سایر جلبک‌ها بود ولی تفاوت معنی‌داری با عصاره آبی/اتانولی جلبک ساراگوسوم نداشت. در مطالعه Chew و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده شد که جلبک *P. antillarum* مربوط به خانواده جلبک‌های قهوه‌ای نسبت به جلبک سبز *Caulerpa racemosa* و جلبک قرمز *Kappaphycus alvarezii* توانایی حذف رادیکال آزاد DPPH را دارد که این نتیجه ممکن است به دلیل حضور ماده فلورتانین (Phlorotannin) در این جلبک باشد. Connan و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که عوامل مختلفی در میزان خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH وجود دارد که از این موارد می توان به مقدار نور، عمق شوری و عوامل داخلی از قبیل سن و شوری اشاره کرد. توانایی اهدای هیدروژن به رادیکال آزاد DPPH را ولی رابطه مستقیم و یکسانی بین میزان ترکیبات فنولی و قدرت خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH وجود ندارد (Chandini *et al*., 2008) و بالا بودن مقدار ترکیبات فنولی لزوما قدرت بالاتر در خواص آنتی ادیکالیDPPH را ایجاب نمی-کند. Martins و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که عصاره جلبک *Cryptonemia seminervis* خواص حذف رادیکال آزاد DPPH بسیار خوبی دارد، اما ارتباط معنی‌داری با ترکیبات فنولی یافت نشد. این نتیجه نشان داد که ترکیبات آنتی اکسیدانی دیگری علاوه بر ترکیبات فنولی در جلبک‌ها وجود دارند که باعث بروز قدرت آنتی رادیکالی بیشتری در برخی گونه‌ها شده‌اند.

نتیجه‌گیری

هر چهار گونه مورد مطالعه، دارای قدرت آنتی اکسیداتی مناسبی بودند و حلال‌های مختلف برای هر گونه خصوصیات متفاوتی را بوجود آوردند. گونه *S. angustifolium* با مقدار ۱۵/۷۳ میلی‌گرم گالیک اسید دارای بالاترین ترکیبات فنولی بود ولی قدرت خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد آن از گونه *C. merica* با مقدار ۲۰/۰۷ درصد، کمتر بود. این نتیجه نشان داد که علاوه بر ترکیبات فنولی سایر ترکیبات آنتی اکسیدانی نیز در خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد نقش دارند.

منابع

Airanthi M.W.A., Hosokawa M., Miyashita K. 2011. Comparative antioxidant activity of edible Japanese brown seaweeds. *Journal of Food Science* 76(1), C104-C111.

Azmir J., Zaidul I.S.M., Rahman M.M., Sharif, K.M., Mohamed A., Sahena F., Jahurul M.H.A., Ghafoor K., Norulaini N.A.N., Omar A.K.M. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering* 117(4), 426-436.

Babakhani L.A., Rezaei M., Rezaei K., Seyfabadi S.J. 2012. Optimization of extraction of antioxidant compounds in microwave-assisted extracts of brown algae *Sargassum Angustifolium. Journal of Seafood*, 66(1), 1-13

Technology 179, 369-380.

Kaufmann B., Christen P. 2002. Recent extraction techniques for natural products: microwave- assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques* 13(2), 105-113.

Lapornik B., Prošek M., Wondra A.G. 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering* 71(2), 214-222.

López A., Rico M., Rivero A., de Tangil M.S. 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of Stypocaulon scoparium algae extracts. *Food Chemistry* 125(3), 1104-1109.

Mason T.J., Paniwnyk L., Lorimer J.P. 1996. The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry* 3(3), S253-S260.

Mendiola J.A., Rodríguez-Meizoso I., Señoráns F.J., Reglero G., Cifuentes A., Ibáñez E. 2008. Antioxidants in plant foods and microalgae extracted using compressed fluids. *JEAF* 7(10), 3279-87.

Petrović S., Ušjak L., Milenković M., Arsenijević J., Drobac M., Drndarević A., Niketić M. 2017. *Thymus dacicus* as a new source of antioxidant and antimicrobial metabolites. *Journal of Functional Foods* 28,114-121.

Qiao D., Ke C., Hu B., Luo J., Ye H., Sun Y., Yan X., Zeng X. 2009. Antioxidant activities of polysaccharides from *Hyriopsis cumingii*. *Carbohydrate Polymers* 78(2), 199-204.

Robles-Sánchez R.M., Rojas-Graü M.A., Odriozola-Serrano I., González-Aguilar G., Martin-Belloso O. 2013. Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. *LWT-Food Science and Technology* 50(1), 240-246.

Sanger G., Widjanark S.B., Kusnadi J., Berhimpon S. 2013. Antioxidant activity of methanol extract sea weeds obtained from North Sulawesi. *Food Science and Quality Management* 19 p.

Tabaraki R., Nateghi A. 2011. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response

Balboa E.M., Conde E., Moure A., Falqué E., Domínguez H. 2013. In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry* 138(2-3), 1764-1785.

Ballard T.S., Mallikarjunan P., Zhou K., O'Keefe S. 2010. Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chemistry* 120(4), 1185-1192.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.L.W.T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28(1), 25-30.

Chandini S.K., Ganesan P., Bhaskar N. 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry* 107(2), 707-713.

Chew Y.L., Lim Y.Y., Omar M., Khoo K.S. 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT-Food Science and Technology* 41(6), 1067-1072.

Cho M., Lee H.S., Kang I.J., Won M.H., You S. 2011. Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. *Food Chemistry* 127(3), 999-1006.

Connan S., Goulard F., Stiger V., Deslandes E., Gall E.A. 2004. Interspecific and temporal variation in phlorotannin levels in an assemblage of brown algae. *Botanica Marina* 47(5), 410-416.

Dey S., Rathod V.K., 2013. Ultrasound assisted extraction of β-carotene from *Spirulina platensis*. *Ultrasonics Sonochemistry* 20(1), 271-276.

Farvin K.S., Jacobsen C. 2013. Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry* 138(2-3), 1670-1681.

Gaur R., Sharma A., Khare S.K., Gupta M.N. 2007. A novel process for extraction of edible oils: enzyme assisted three phase partitioning (EATPP). *Bioresource Technology* 98(3), 696-699.

Jovanović A.A., Đorđević V.B., Zdunić G.M., Pljevljakušić D.S., Šavikin K.P., Gođevac D.M., Bugarski B.M. 2017. Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat-and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification*

surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry* 18(6), 1279-1286.

Taga M.S., Miller E.E., Pratt D.E. 1984. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 61(5), 928-931.

Toepfl S., Mathys A., Heinz V., Knorr D. 2006. Potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. *Food Reviews International* 22(4), 405-423.

Le Tutour B., Benslimane F., Gouleau M.P., Gouygou J.P., Saadan B., Quemeneur F. 1998. Antioxidant and pro-oxidant activities of the brown algae, *Laminaria digitata, Himanthalia elongata, Fucus vesiculosus, Fucus serratus* and *Ascophyllum nodosum*. *Journal of Applied Phycology* 10(2), p.121.

Vinatoru M., Toma M., Radu O., Filip P.I., Lazurca D., Mason T.J. 1997. The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics Sonochemistry* 4(2), 135-139.

Xu D.P., Zheng J., Zhou Y., Li Y., Li S., Li H.B. 2017. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. *Food Chemistry* 217, 552-559.

Zhang G., Hu M., He L., Fu P., Wang L., Zhou J. 2013. Optimization of microwave-assisted enzymatic extraction of polyphenols from waste peanut shells and evaluation of its antioxidant and antibacterial activities in vitro. *Food and Bioproducts Processing* 91(2), 158-168.

Zhou Y., Zheng J., Gan R.Y., Zhou T., Xu D.P., Li H.B. 2017. Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidants from the mung bean coat. *Molecules* 22(4), 638 p.

Ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from four Persian Gulf seaweed

Shahab Naghdi[1], Aria Babakhani[*2]

[1]Fisheries Department, Faculty of Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
[2]Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran.
*Corresponding author: arialashkan@gmail.com

Received: 2018/6/22 Accepted: 2018/10/31

Abstract

The antioxidant extract of four seaweeds *Sargassum angustifolium*, *Padina astraulis*, *Cystoseria merica*, *Colopomenia sinuosa* was prepared by ultrasonic methods with three solvents (water, water/ethanol and ethanol) under 25 kHz, 400W conditions. In this study, aquatic extract *of S. angustifolium* had the highest phenolic content ($P<0.05$). The amount of phenolic compounds in water/ethanol extracts of *S. angustifolium* were significantly higher than other seaweed extracts. ($P<0.05$). The aqueous extract of *C. merica* had the highest amount of DPPH radical scavenging relative to the aqueous extracts of other seaweeds ($P<0.05$). The aqueous/ethanolic extracts of *S. angustifolium* had significantly higher radical scavenging than other algae/ethanol extracts ($P<0.05$). Also, the anti-radical properties of Ethanol extract of C. *merica* was higher than ethanloic extract of other algae ($P<0.05$). The water extracts in all species had more phenolic contents, but in DPPH test, water/ethanol extracts of *S. angustifolium* had highest radical scavenging activity. The result show that *S. angustifolium* and *C. merica* were suitable for antioxidants extraction.

Keywords: Antioxidant, Algae, DPPH, Phenolic compounds.