بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دوم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۲
http://japu.gau.ac.ir

تأثیر نوع و نسبت حلال بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک سبز خلیج فارس (*Chaetomorpha sp*) در روش استخراج غوطه‌وری

پروا سفری[۱]، *مسعود رضایی[۲]، امیررضا شویکلو[۳] و آریا باباخانی‌لشکان[۴]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه تربیت مدرس، [۲]دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه تربیت مدرس، [۳]استادیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه تربیت مدرس، [۴]استادیار گروه شیلات، دانشگاه گیلان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۱۸

چکیده

در این مطالعه جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جلبک سبز *Chaetomorpha sp*، مقدار فنول کل، قدرت کاهندگی آهن، قدرت جذب رادیکال آزاد DPPH و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل سنجیده شد. حلال‌های استون، متانول و اتانول و نسبت‌های متفاوت (۱۰۰ درصد حلال آلی، ۷۰:۳۰ درصد، ۵۰:۵۰ درصد، ۳۰:۷۰ درصد حلال آلی: آب و ۱۰۰ درصد آب)، جهت استخراج مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد، میزان فنول کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره استونی (۷۰/۳۰) به ترتیب با مقادیر ۰/۸۲ میلی‌گرم اسید تانیک بر گرم پودر جلبکی خشک شده و ۰/۱۵ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم پودر جلبکی خشک شده دارای مقادیر بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها بود. در آزمایش قدرت کاهندگی آهن عصاره استون/ آب (۵۰/۵۰) با میزان ۰/۱۰ میلی‌گرم اسید تانیک بر گرم پودر جلبکی خشک شده و فعالیت جذب رادیکال آزاد DPPH عصاره استون/ آب (۳۰/۷۰) با میزان ۸۷/٤۷ (RSA درصد) شامل بیشترین مقادیر در مقایسه با سایر تیمارها بودند. نتایج آنالیز خوشه‌ای نشان داد که حلال استون دارای عملکرد بهتری در مقایسه با حلال‌های اتانول و متانول بود. بر اساس

*مسئول مکاتبه: rezai_ma@modares.ac.ir

داده‌های به‌دست آمده تغییر در قطبیت حلال‌های مورد استفاده می‌تواند بر استخراج ترکیبات فنولی و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مؤثر باشد. جلبک سبز (*Chaetomorpha sp*) به‌دلیل داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسب، امکان استفاده در صنایع غذایی و دارویی را دارد.

واژه‌های کلیدی: جلبک سبز (*Chaetomorpha sp*)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنولی، استخراج به روش غوطه‌وری

مقدمه

اکسایش چربی یکی از مهم‌ترین دلایل افت کیفیت در مواد خوراکی دارای چربی است که می‌تواند سبب تغییر رنگ، طعم، بافت و ارزش تغذیه‌ای شود (ساکاناکا و همکاران، ۲۰۰۵). مشتقات رادیکالی اکسیژن مانند رادیکال سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و اکسید نیتریک می‌توانند اتم‌های هیدروژن را از زنجیره اسیدهای چرب مولکول‌های چربی جذب و باعث آغاز اکسایش شوند. اکسیژن یگانه[1] (یک نوع اکسیژن برانگیخته)، پراکسید هیدروژن و دیگر انواع اکسیژن واکنش‌پذیر نیز منجربه اکسایش چربی‌ها می‌شوند (ویتاسینقی و شهیدی، ۱۹۹۹). این مشتقات رادیکال آزاد اکسیژن و نیتروژن در طول متابولیسم سلولی و تولید انرژی در میتوکندری نیز تولید می‌شوند که منجربه آسیب‌های اکسیداتیو به ترکیبات سلولی و تنظیم انتقال سیگنال‌ها و بیان ژن می‌شود. از طرفی مقادیر بیش از حد اکسیژن فعال‌شده ممکن است مضر باشد چون می‌تواند موجب آسیب‌های سلولی شده و اختلالات متعددی چون سرطان، انفاکتوس میوکاردیال، سکته، دیابت، شوک‌های عفونی و خونی و بیماری‌های عصبی مانند پارکینسون و آلزایمر را به دنبال داشته باشد (چو و همکاران، ۲۰۰۸). آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی چون BHA[2]، BHT[3]، TBHQ[4] و PG[5]، به‌طور تجاری در دسترس هستند و به‌طور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما نگرانی‌هایی در مورد سمیت آن‌ها وجود داشته که باعث محدودیت استفاده از آن‌ها در صنعت غذایی شده است (سوزا و همکاران، ۲۰۱۱). این مهم ضرورت استفاده از ترکیبات

1- Single oxygen
2- Butylated hydroxyanisole
3- Butylated hydroxytoluene
4- Tert-Butylhydroquinone
5- Propyl gallate

طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی را به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی آشکار می‌کند (میناکشی و همکاران، ۲۰۱۰).

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی تاکنون از انواع مختلف گیاهان، دانه‌های روغنی، حبوبات، سبزیجات، میوه‌ها، برگ، ساقه و ریشه آن‌ها جدا شده‌اند. در میان این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنولی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (ویتاسینقی و شهیدی، ۱۹۹۹؛ یوان و والش، ۲۰۰٦) زیرا نقش مهمی در حفاظت ارگانیسم‌ها علیه انواع رادیکال‌های آزاد ایفا می‌کنند (استراتیل و همکاران، ۲۰۰٦). این ترکیبات یکی از گروه‌های شیمیایی زیست‌فعال می‌باشند که به‌طور گسترده در گیاهان وجود دارند و دارای عملکردهای زیستی متنوعی می‌باشند و جزو عناصر مهم در رژیم غذایی انسان هستند. گزارش شده است که پلی‌فنول‌های طبیعی دارای خواصی عالی به‌عنوان نگه‌دارنده‌های مواد غذایی هستند (ایگنات و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه‌بر گیاهان خشکی، در سال‌های اخیر، بسیاری از منابع دریایی به‌عنوان گزینه‌ای عالی، برای کاوش ترکیبات زیست‌فعال مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند (کودا و همکاران، ۲۰۰۵). جلبک‌های دریایی برخلاف وجود مقادیر بالایی از فیبرهای رژیمی، اسیدهای چرب چندغیراشباع، پروتئین‌ها و مقادیر پایین چربی‌های اشباع، که آن‌ها را به منبعی منحصربه‌فرد برای ساخت فرآورده‌های غذایی و دارویی فرآسودمند تبدیل می‌کند، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشند. این ویژگی‌ها به‌دلیل وجود ترکیبات فنولی در آن‌هاست (رودریجس و همکاران، ۲۰۱۰) و این مهم، امکان استفاده از آن‌ها را به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی فراهم آورده است (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹) فنول‌های گیاهی تنوع زیادی از ترکیباتی چون فلاونوئیدها (مانند آنتوسیانین، فلاونول‌ها، فلاون‌ها) و ترکیبات غیرفلاونوئیدی مثل اسیدهای فنولیک، لیگنین‌ها و استیلن‌ها را شامل می‌شوند. ترکیبات فنولی از نظر ساختار و تعداد گروه‌های هیدروکسیل متفاوت هستند که منجربه تفاوت در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌شود (ماکسود و بنجاکول، ۲۰۱۰).

جلبک سبز (*Chaetomorpha sp*) با پراکنشی که در سواحل ایران و به‌ویژه خلیج فارس دارا می‌باشد می‌تواند به‌عنوان گونه‌ای بالقوه جهت بررسی وجود ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین هدف این مطالعه بررسی خاصیّت آنتی‌اکسیدانی جلبک سبز (*Chaetomorpha sp*) از خانواده Cladophoraceae با استفاده از تعیین فنول‌کل، آنتی‌اکسیدانی‌کل، میزان جذب رادیکال‌های‌آزاد DPPH و قدرت کاهندگی‌آهن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی: تری‌کلریدآهن[1]، پتاسیم فری‌سیانید، تری کلرواستیک‌اسید، پتاسیم هیدروژن فسفات، سدیم کربنات، اسید سولفوریک، آمونیوم هپتامولیبدات، اسید آسکوربیک، اسید تانیک، معرف فولین- سیوکالتو، رادیکال پایدار ۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل- هیدرازیل[2] از نمایندگی مرک و اپلیکم و شارلو تهیه شدند. حلال‌های مصرفی از نوع مرک و با خلوص بالا بودند.

آماده‌سازی نمونه‌ها و استخراج عصاره‌ها به روش غوطه‌وری: نمونه‌های جلبکی از ساحل جنوبی شهر بوشهر جمع‌آوری گردید و شن، ماسه و اپی‌فیت‌های باقی مانده بر نمونه‌های تازه، ابتدا با آب دریا و سپس با آب شیرین شستشو و زدوده شد. سپس نمونه‌ها در سایه خشکانده و قبل از انجام آزمایش در دستگاه فریزدرایر (OPR-FDU-7012. OPERON، کره) خشک و توسط آسیاب الکتریکی (Mulinex, La Molinette, 1000w، فرانسه) به پودر تبدیل شدند. ۵ گرم پودر خشک شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر از حلال‌های مختلف شامل متانول، استون، اتانول و با نسبت (۱۰۰ درصد الکل، ۷۰:۳۰ درصد، ۵۰:۵۰ درصد، ۳۰:۷۰ درصد الکل: آب و ۱۰۰ درصد آب) استخراج شدند. محلول‌های استخراج پس از ٢٤ ساعت قرار گرفتن در آنکوباتور شیکر، با کاغذ صافی (واتمن شماره ٤٢) فیلتر و سانتریفوژ (دمای ٤ درجه سلسیوس، دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه) (Z36HK-HERMLE، آلمان) شده و در نهایت عصاره‌های به‌دست‌آمده تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

اندازه‌گیری فنول کل (TPC)[3]: ترکیبات فنولی عصاره با استفاده از روش (تاگا و همکاران، ۱۹۸٤) اندازه‌گیری شد. میزان ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه با ٤ میلی‌لیتر Na_2Co_3 (۲ درصد) مخلوط و به‌مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق باقی‌ماند. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از معرف فولین- سیوکالتو ۵۰ درصد به آن اضافه و مخلوط شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۸-۲٦ درجه سانتی‌گراد) در تاریکی نگه‌داری شد و جذب نمونه در طول موج ۷۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Lambda-PerkinElmer precisely، آمریکا) اندازه‌گیری شد. جهت رسم منحنی استاندارد از محلول اسیدتانیک در غلظت‌های ۰، ۰/۰۰۲، ۰/۰۱ و ۰/۰۵

1- FeCl3-6H2O
2- DPPH
3- Total phenol content

میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد. نتایج براساس اسید تانیک بر گرم پودر جلبکی خشک‌شده بیان شد. معادله منحنی استاندارد برابر با رابطه زیر بود:

$(R^2=0.99 ،Y=0.0138x)$ (۱)

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC)[1]: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های جلبکی با روش (پریتو و همکاران، ۱۹۹۹) اندازه‌گیری شد. ۰/٦ میلی‌لیتر نمونه با ٦ میلی‌لیتر محلول معرف (۰/٦ مولار اسیدسولفوریک، ۲۸ میلی‌مولار فسفات‌سدیم و ٤ میلی‌مولار آمونیوم مولیبدات) مخلوط و محلول حاصل در حمام آبی (دما ۹۵ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۹۰ دقیقه قرار گرفت و جذب نمونه‌ها در طول موج ٦۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Lambda-PerkinElmer precisely، آمریکا) خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از محلول آسکوربیک اسید در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/٤ و ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد و نتایج براساس میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم پودر جلبکی خشک‌شده بیان شد. معادله منحنی استاندارد برابر با رابطه زیر می‌باشد:

$(R^2=0.99 ،Y=0.0032x)$ (۲)

قدرت خنثی کردن رادیکال‌های آزاد (DPPH)[2]: بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رادیکال‌های پایدار ۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل- هیدرازیل (DPPH)، طبق روش (برندویلیامز و همکاران، ۱۹۹۵) انجام شد. عصاره‌های مختلف به ۲ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۰/۰٦ میلی‌مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده شد و ۱ دقیقه توسط دستگاه ورتکس (IKA, MS 3b، آمریکا) به‌خوبی مخلوط و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دما محیط نگه‌داری شد تا تغییر رنگ در آن صورت گیرد. سپس جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (Lambda-PerkinElmer precisely، آمریکا) خوانده شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی رادیکالی عصاره مطابق فرمول زیر محاسبه شد.

$$RSA=[1-((A_{sample}-A_{sample\ blank})/A_{control})] \quad (۳)$$

$A_{sample\ blank}$ جذب نمونه بعد از زمان موردنظر

$A_{control}$ جذب کنترل بعد از زمان موردنظر

A_{sample} جذب نمونه و محلول DPPH بعد از زمان موردنظر

1- Total antioxidant capacity
2- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

قدرت کاهندگی آهن (FRAP)[1]: قدرت کاهندگی آهن در عصاره‌های جلبکی توسط روش (چو و همکاران، ۲۰۰۸) تعیین شد. ۰/۱ مولار بافر فسفات پتاسیم (pH= ٦/٦) (۲/۵ میلی‌لیتر) و ۱ درصد فری سیانات پتاسیم (۲/۵ میلی‌لیتر) با ۱ میلی‌لیتر از نمونه مخلوط و این محلول در یک حمام آبی با دما ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد. سپس به‌این محلول ۲/۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک اضافه و در ادامه، ۲/۵ میلی‌لیتر از آب و ۰/۵ میلی‌لیتر از کلرید آهن ($FeCl_3$) ۰/۱ درصد به ۲/۵ میلی‌لیتر از مخلوط اضافه شد. سپس این محلول در دمای اتاق (۲۸-۲٦ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۳۰ دقیقه نگه‌داری شد تا ایجاد رنگ در آن صورت پذیرد. جذب نمونه‌ها در ۷۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Lambda-PerkinElmer precisely، آمریکا) خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از محلول اسیدتانیک در غلظت‌های ۰، ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید تانیک بر گرم عصاره گزارش شد.

$(R^2=0.99 ،Y=0.0117x)$ (٤)

تجزیه و تحلیل آماری: بعد از سنجش نرمالیته داده‌ها، به‌منظور بررسی بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین نسبت‌های مختلف یک حلال از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها آزمون دانکن به‌کار برده شد و در نهایت جهت تعیین بهترین حلال از میان سه حلال مورد استفاده از آزمون خوشه‌ای و نرم‌افزار Mini tab (Minitab 14, state College, PA, USA) استفاده شد و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excell (Microsoft office, 2010) صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

ترکیبات فنولی به‌طور معمول در گیاهان دیده شده و دارای چندین فعالیت زیستی بوده که خاصیت آنتی‌اکسیدانی، از جمله آن‌هاست. خاصیت آنتی‌اکسیدانی جلبک‌ها با محتوای پلی‌فنولی آن‌ها و به‌ویژه ترکیبات فلوروتانین‌ها و فوکوگزانتین‌ها در ارتباط می‌باشند (گانیسان و همکاران، ۲۰۰۸). در این پژوهش افزایش میزان فنول کل تقریباً در هر سه حلال با افزایش بیشتر آب تبعیت نمود که این روند در رابطه با میزان قطبیت بالا ترکیبات فنولی بوده که قابلیت حلالیت این گروه از ترکیبات را در حلال مورد استفاده در آزمایش افزایش داده است. بالاترین میزان فنول‌کل در حلال استون ۳۰ درصد با

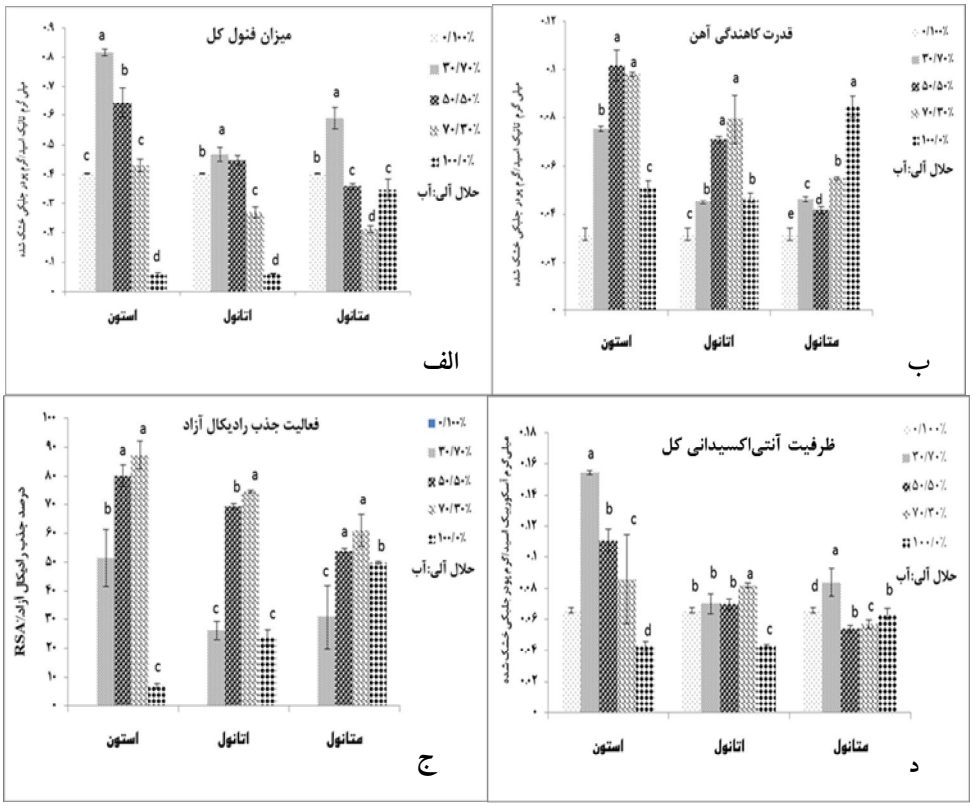
1- Ferric reducing power activity

میزان ۰/۸۱ میلی‌گرم تانیک‌اسید/ گرم پودر جلبکی خشک‌شده ($p<۰/۵$) بود (شکل ۱- الف). در پژوهشی که توسط (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹) بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱۰ گونه جلبک دریای ایسلند به روش استخراج توسط حلال استون ۷۰ درصد و آب، انجام شد بالاترین میزان فنول کل، در عصاره استونی گزارش شد. در استخراج ترکیبات فنولی از بیشتر گونه‌ها استون در ترکیب با آب بیشترین تأثیر را در استخراج داشته است. همچنین استون از تشکیل کمپلکس پروتئین- پلی‌فنول در طول استخراج جلوگیری می‌کند و حتی می‌تواند باندهای هیدروژنی تشکیل‌شده بین گروه‌های پلی فنول و گروه کربوکسیل پروتئین را بشکند و از این جهت می‌تواند مؤثرترین حلال برای استخراج این ترکیبات باشد (وانگ و همکاران، ۲۰۱۰). در مطالعه (ترکمن و همکاران، ۲۰۰۵) از حلال‌های آب، استون، اتانول و متانول برای تعیین TPC و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو گونه چای استفاده کردند که استون و اتانول ۵۰ درصد بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند. بین قطبیت حلال‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارتباط قوی وجود دارد. در پژوهش (وانگ و هلی‌ول، ۲۰۰۱) کمترین مقدار پلی‌فنول‌های چای در استون ۱۰۰ درصد و اتانول ۱۰۰ درصد دیده شد و بالاترین میزان پلی‌فنول‌ها در استون ۵۰ درصد و ۸۰ درصد بود و در دیگر حلال‌ها پایین‌تر گزارش شد. چاوان و همکاران (۲۰۰۱) نیز گزارش کردند که استون آبی ۷۰ درصد نسبت به استون خالص جهت بازیابی بیشترین میزان تانن‌ها مؤثرتر بوده است.

بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت کاهندگی آهن ارتباط مثبتی وجود دارد (کومار و همکاران، ۲۰۰۸). روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری قدرت و میزان کارآمدی یک آنتی‌اکسیدان توسعه پیدا کرده‌اند که مبتنی‌بر سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان‌ها است و بر اساس پاکسازی انواع اکسیژن فعال، رادیکال‌های هیدروکسیل، کاهش رادیکال پروکسیل چربی و یا فعالیت ژلاته‌کنندگی آهن می‌باشد. اثر آنتی‌اکسیدان‌ها در ارتباط با میزان کاهنده‌ها بوده است که به پایان رساننده واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد می‌باشند (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹) شاخص FRAP به‌میزان قابل توجهی برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌کار می‌رود. در این آزمایش حضور کاهنده‌ها در حلال باعث کاهش کمپلکس Fe^{3+}/ فری‌سیانید به شکل فروس Fe^{2+} می‌گردد و اندازه‌گیری Fe^{2+} از طریق جذب در ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود (کاداراگ و همکاران، ۲۰۰۹؛ کانیسان و همکاران، ۲۰۱۱) قدرت کاهندگی آهن در هر سه حلال با مقادیر الکل در حدود ۵۰ درصد دارای عملکرد بالاتری نسبت به درصدهای ۱۰۰ درصد آب و الکل بوده است. نتایج آنالیز آماری نشان داد که بیشترین میزان کاهندگی آهن در مقایسه بین سه حلال، در عصاره استونی ۵۰ درصد با مقدار ۰/۱ میلی‌گرم تانیک‌اسید/گرم

پودر جلبکی خشک‌شده (P<۰/۰۵) بود (شکل ۱- ب). حلال‌های استون ۷۰ درصد و متانول ۱۰۰ درصد با مقادیر ۰/۰۹ و ۰/۰۸ (میلی‌گرم تانیک‌اسید/ گرم پودر جلبکی خشک‌شده) در مراحل بعدی بودند.

رادیکال پایدار ۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل- هیدرازیل (DPPH) یک رادیکال آزاد پایدار است و اغلب تخمین مناسبی از فعالیت جذب رادیکال عصاره می‌دهد (گانیسان و همکاران، ۲۰۰۸) این رادیکال آزاد در ۵۱۷ نانومتر بالاترین جذب را داشت و به رنگ ارغوانی بود. این رادیکال در حضور یک دهنده هیدروژن که همان آنتی‌اکسیدان می‌باشد، کاهش یافت و رنگ زرد منتج شده، جذب عصاره را کاهش داد (گانیسان و همکاران، ۲۰۰۸) در این پژوهش نتایج نشان داد که حلال استون ۷۰ درصد بالاترین درصد جذب رادیکال‌های آزاد با میزان ۸۷/٤٦ درصد (p<۰/۰۵) را داراست (شکل ۱- ج). قدرت جذب رادیکال آزاد DPPH در نسبت‌های ۷۰ درصد حلال آلی، دارای بیشترین عملکرد از لحاظ جذب رادیکال آزاد بوده است. این داده‌ها مشابه نتایجی است که وانگ و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند استون ۷۰ درصد ترکیبات بیشتری با قابلیت جذب رادیکال‌های آزاد استخراج کرده است. عصاره‌هایی با مقادیر بیشتر فنول کل قابلیت جذب رادیکال بالاتری داشته‌اند که احتمالاً به‌این دلیل است که پلی‌فنول‌های جلبکی ترکیبات پایه‌ای برای ویژگی آنتی‌رادیکالی عصاره می‌باشند. دلایل مشابهی برای بیان ارتباط میان میزان ترکیبات فنولی با قدرت کاهندگی عصاره ارائه شد (کودا و همکاران، ۲۰۰۵؛ چو و همکاران، ۲۰۰۸). بالاترین فعالیت جذب رادیکال آزاد در مطالعه گانیسان و همکاران (۲۰۰۸) در عصاره آبی و کمترین فعالیت در حلال اتانول گزارش شد. در واقع اثر معنی‌دار قطبیت حلال، بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فعالیت جذب رادیکال آزاد مشاهده شد. ترکمن و همکاران (۲۰۰۵) نیز بیان کردند که حلال‌هایی با قطبیت بالا، فعالیت جذب رادیکال آزاد بالاتری نشان داده‌اند. در یک ارزیابی از سه جلبک قرمز هند، فعالیت جذب رادیکال آزاد DPPH با کاهش TPC همراه بود که می‌تواند به‌دلیل تغییرات ساختاری در ترکیبات فنولی و زیرواحدهای پلیمری آن‌ها باشد. اثر سینرژیسم آنتی‌اکسیدان‌ها در مطالعه میلدی و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده شده است زیرا قطبیت ترکیبات فنولی می‌تواند از طریق اتصال با قند یا پروتئین، گلیکوزیدها و اسیدهای آلی و نمک‌ها افزایش یابد، علاوه‌بر این حضور دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها نسبت به پلی‌فنول‌ها در فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH نشان داده شده است که ممکن است به‌دلیل فعالیت رنگدانه‌های جلبک‌ها باشد (آیرانتی و همکاران، ۲۰۱۱).



شکل ۱-٤- نمودار مقایسه‌ای پاسخ‌های میزان فنول کل (الف)، قدرت کاهندگی آهن (ب)، فعالیت جذب رادیکال آزاد DPPH (ج)، آنتی‌اکسیدانی کل (د) در نسبت‌های مختلف هر یک از حلال‌های اتانول، متانول و استون به صورت جداگانه

*حروف انگلیسی متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار نسبت‌های مختلف هر یک از حلال‌ها، به‌صورت جداگانه می‌باشد

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار باشد

در تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل روش فسفومولیبدنوم، مولیبدنوم VI (Mo^{6+}) به فرم ترکیب فسفات/ مولیبدنوم V(Mo^{5+}) سبزرنگ کاهش پیدا می‌کند گانیسان و همکاران (۲۰۰۸). بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک سبز (*Cheatomorpha sp*) در حلال استون ۳۰ درصد با میزان ۰/۱۵ میلی‌گرم آسکوربیک‌اسید بر گرم پودر جلبکی خشک شده ($P<۰/۰۵$) بود (شکل ۱- د). در مقایسه سه حلال مورد استفاده روندی مشابه با میزان فنول کل در مورد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی‌کل

مشاهده شد و نسبت‌های با میزان بالاتر آب دارای فعالیت بیشتری بوده‌اند. نتایج آزمایش‌ها ارتباط معنی‌داری را بین میزان محتوای فنول کل و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل نشان داد که این امر مطابق با مطالعه (آیرانتی و همکاران، ۲۰۱۱) است البته در فعالیت آنتی‌اکسیدانی تداخل دیگر ترکیباتی که در عصاره خام وجود دارند را نباید نادیده گرفت (گانیسان و همکاران، ۲۰۰۸). فعالیت آنتی‌اکسیدانی به شدت به فنول‌ها و رنگدانه‌های فوکوگزانتین ارتباط دارد. توکوفرول‌ها و کارتنوئیدها نیز می‌توانند دهنده هیدروژن به رادیکال آزاد باشند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جلبکی ناشی از ترکیب این آنتی‌اکسیدان‌ها باشد (آیرانتی و همکاران، ۲۰۱۱).

در واقع تغییر در قطبیت حلال، توانایی آن‌ها را جهت انحلال گروه‌های عاملی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تغییر می‌دهد و بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تأثیرگذار می‌باشد (ترکمن و همکاران، ۲۰۰۵). نتایج آنالیز خوشه‌ای و گروه‌بندی نشان دادند که تیمار استون ۷۰ درصد در میان چهار فاکتور دارای بهترین عملکرد بوده است.

نتیجه‌گیری

جلبک‌های دریایی می‌توانند به‌عنوان منبع مناسبی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی استفاده شوند. این مطالعه نشان داد که اختلاط حلال‌های آلی با آب، با تغییر قطبیتی که در محیط استخراج ایجاد کرد توانست بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها مؤثر باشد. همچنین حلال استون عملکرد مناسبی نسبت به دیگر حلال‌ها داشت. عصاره‌های حلالی جلبک سبز (*Cheatomorpha sp*) با ویژگی آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند پس از تمهیدات مربوط به جداسازی حلال از ترکیبات زیست‌فعال و در قالب غذاهای فراسودمند و مواد مغذی مورد استفاده قرار گیرد. با این وجود این پژوهش، مطالعه‌ای مقدماتی بود و می‌بایست پژوهش‌های بیشتری در زمینه نوع حلال استخراج، ساختار و تخلیص ترکیبات فنولی در جلبک‌های دریایی صورت گیرد تا بتواند کاربری مناسبی در مصارف آینده انسانی داشته باشد.

منابع

1.Airanthi, M.K.W.A., Hosokawa, M. and Miyashita, K. 2011. Comparative antioxidant activity of edible Japanese brown seaweeds. Journal of Food Science, 76: 1, C104-C111.
2.Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT*-Food Science and Technology, 28(1): 25-30.
3.Chavan, U.D., Shahidi, F. and Naczk, M. 2001. Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus)* as affected by different solvents. Food Chemistry, 75(4): 509-512.
4.Chew, Y.L., Lim, Y.Y., Omar, M. and 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.
5.Ganesan, P., Kumar, C.S. and Bhaskar, N. 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. Bioresource Technology, 99(8): 2717-2723.
6.Ignat, I., Volf, I. and Popa, V.I. 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food Chemistry, 126(4): 1821-1835.
7.Karadag, A., Ozcelik, B. and Saner, S. 2009. Review of methods to determine antioxidant capacities. Food Analytical Methods, 2(1): 41-60.
8.Kuda, T., Tsunekawa, M., Goto, H. and Araki, Y. 2005. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. Journal of Food Composition and Analysis, 18(7): 625-633.
9.Kumar, K.S., Ganesan, K. and Rao, P.V.S. 2008. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty-An edible seaweed. Food Chemistry, 107: 289-295.
10.Maqsood, S. and Benjakul, S. 2010. Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. Food Chemistry, 119:123-132.
11.Meenakshi, S., Umayaparvathi, S., Arumugam, M. and Balasubramanian, T. 2012. In vitro antioxidant properties and FTIR analysis of two seaweeds of Gulf of Mannar. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2: S66-S70.
12.Milde, J., Elstner, E.F. and Gramann, J. 2007. Synergistic effects of phenolics and carotenoids on human low-density lipoprotein oxidation. Molecular Nutrition and Food Research, 51: 956-961.
13.Prieto, P., Pineda, M. and Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry, 269(2): 337-341.

14. Rodriguez-Bernaldo de Quiros, A., Lage-Yusty, M.A. and Lopez-Hernandez, J. 2010. Determination of phenolic compounds in macroalgae for human consumption. Food Chemistry, 121: 634-638.
15. Sakanaka, S., Tachibana, Y. and Okada, Y. 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). Food Chemistry, 89(4): 569-575.
16. Souza, B.W.S., Cerqueira, M.A., Martins, J.T., Quintas, M.A.C., Ferreira, A.N.C.S., Teixeira, J.A. and Vicente, A.N.A. 2011. Antioxidant potential of two red seaweeds from the Brazilian coasts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(10): 5589-5594.
17. Stratil, P., Klejdus, B. and Kubáň, V. 2006. Determination of Total Content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(3): 607-616.
18. Taga. M.S. and Miller, E.E. 1984. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. Journal of Ameriacan Oil Chemist's Society, 61(5): 928-931.
19. Turkmen, N., Sari, F. and Velioglu, Y.S. 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. Food Chemistry, 99: 835-841.
20. Wang, B.G., Zhang, W.W., Duan, X.J. and Li, X.M. 2009. In vitro antioxidative activities of extract and semi-purified fractions of the marine red alga, (*Rhodomela confervoides*). Food Chemistry, 113: 1101-1105.
21. Wang, H. and Helliwell, K. 2001. Determination of flavonols in green and black tea leaves and green tea infusions by high-performance liquid chromatography. Food Research International, 34: 223-227.
22. Wang, T., Jonsdottir, R., Kristinsson, H.G., Hreggvidsson, G.O., Jonsson, J.O., Thorkelsson, G. and Olafsdottir, G. 2010. Enzyme-enhanced extraction of antioxidant ingredients from red algae *Palmaria palmata*. LWT-Food Science and Technology, 43: 1387-1393.
23. Wang, T., Jónsdóttir, R. and Ólafsdóttir, G. 2009. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. Food Chemistry, 116(1): 240-248.
24. Wettasinghe, M. and Shahidi, F. 1999. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis*) seeds. Food Chemistry, 67: 399-414.
25. Yuan, Y.V. and Walsh, N.A. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. Food and Chemical Toxicology, 44(7): 1144-1150.