Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Print ISSN: 2345-427X
Online ISSN: 2345-4288

Antioxidant characteristics of aqueous and ethanolic extracts from freshwater mussle (*Anodonta cygnea*)

Sakineh Heydari[1], Parastoo Pourashouri[*2], Bahareh Shabanpour[3], Fateme Shamsabadi[4], Mehdi Sheikh Arabi[5]

1. Ph.D. Student of Seafood Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: s.heydari27@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Seafood Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: pourashouri.p@gmail.com
3. Professor, Dept. of Seafood Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: b_shabanpour@yahoo.com
4. Assistant Prof., Dept. of Medical Biotechnology, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Gorgan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. E-mail: fatima.shamsabadi@gmail.com
5. Assistant Prof., Dept. of Medical Biotechnology, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Gorgan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. E-mail: msheykharabi@yahoo.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 06.25.2023
Revised: 07.31.2023
Accepted: 08.06.2023

Keywords:
ABTs,
Anodonta cygnea,
Antioxidant properties,
DPPH,
Power Reducing

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can prevent the production of prooxidants and radicals and thus prevent diseases. Synthetic antioxidants have long-term safety issues and negative consumer sentiment. For these reasons, the demand for natural antioxidants has increased recently. Freshwater mussel *Anodonta cygnea* is available in the lagoon, river, and recharge basin in the north of the country, known as Swan Mussel. Over several decades, marine natural products have been vastly explored due to their excellent antioxidant activity in nutrients, pharmaceuticals, and cosmeceutical industries. Although marine invertebrates particularly Mussel, have been explored for numerous biological and physiological functions, they are seldom studied for their antioxidant property. Mussels with a length of 105.65±2.41, a width of 58.85±2.83, a height of 48.83±2.10 mm, and a weight of 113.23±9.68 g were collected from a Agricultural reservoir after catching of fish. The water and ethanol extracts (1:2 w/v) of mussel were prepared. The amount of moisture, protein, fat and ash in this Mussel is 79.36%, 62%, 5.54% and 0.11%, respectively. Antioxidant properties of lyophilized water and ethanolic extracts including DPPH, ABTs, and Power Reducing were measured at different concentrations (0.1, 0.5, 1, 3, and 5 mg/ml). The results showed that the ethanol treatment showed a higher inhibitory power than the aqueous treatment ($P<0.05$). By increasing the concentration of 0.1 to 5 mg/ml, the scavenging of DPPH radical decreased and the highest DPPH radical scavenging was observed at the concentration of 0.1 mg/ml. The most radical inhibition of ABTs and power reduction was at a concentration of 5 mg/ml. According to the results, the ethanolic extract of mussels seems to have good antioxidant properties. This mussel is found in the Agricultural reservoir; after the catching of fish, the mussels face a lack of water and death due to their unique properties, further studies can prevent the burying of these mussels.

Cite this article: Heydari, Sakineh, Pourashouri, Parastoo, Shabanpour, Bahareh, Shamsabadi, Fateme, Sheikh Arabi, Mehdi. 2025. Antioxidant characteristics of aqueous and ethanolic extracts from freshwater mussle (*Anodonta cygnea*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13 (4), 107-117.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2023.21493.1792
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و اتانولی استخراج شده از صدف آب شیرین *Anodonta cygnea*

سکینه حیدری[۱]، پرستو پورعاشوری*[۲]، بهاره شعبانپور[۳]، فاطمه شمس‌آبادی[٤]، مهدی شیخ عربی[٥]

۱. دانشجوی دکتری عمل‌آوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: s.heydari27@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه عمل‌آوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: pourashouri.p@gmail.com
۳. استاد گروه عمل‌آوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: b_shabanpour@yahoo.com
٤. استادیار گروه زیست‌فناوری پزشکی، دانشکده فن‌آوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. رایانامه: fatima.shamsabadi@gmail.com
٥. استادیار گروه زیست‌فناوری پزشکی، دانشکده فن‌آوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران. رایانامه: msheykharabi@yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۲/۰٤/۰٤
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۲/۰٥/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۰٥/۱٥

واژه‌های کلیدی:
خواص آنتی‌اکسیدانی،
ABTs،
Anodonta cygnea،
DPPH،
Power Reducing

چکیده

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که می‌توانند از تولید پرواکسیدانت‌ها و رادیکال‌ها جلوگیری کرده و در نتیجه از ایجاد بیماری‌ها جلوگیری کنند. آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی دارای مشکلات ایمنی طولانی‌مدت و احساس منفی مصرف‌کننده هستند. به همین دلایل اخیراً تقاضا برای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی افزایش یافته است. طی چندین دهه، محصولات طبیعی دریایی به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی عالی در مواد مغذی، داروسازی و صنایع آرایشی و بهداشتی به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته‌اند. اگرچه بی‌مهرگان دریایی به ویژه نرم‌تنان برای عملکردهای بیولوژیکی و فیزیولوژیکی متعددی مورد بررسی قرار گرفته‌اند، اما به ندرت به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه قرار می‌گیرند. صدف آب شیرین *Anodonta cygnea* در تالاب، رودخانه و آب‌بندان‌های شمال کشور وجود دارند که با نام *Swan Mussel* شناخته می‌شود. در این مطالعه، صدف‌ها از آب‌بندان (پس از صید ماهیان) جمع‌آوری شد و بیومتری و ترکیب تقریبی آن‌ها اندازه گیری شد، سپس عصاره آبی و اتانولی (نسبت ۱:۲ صدف به حلال) صدف تهیه گردید. میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر در این صدف به ترتیب ۷۹/۳٦ درصد، ٦۲ درصد، ٥/٥٤ درصد و ۰/۱۱ درصد می‌باشد. خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و اتانولی لیوفلیزه شده شامل ABTs، DPPH و Power Reducing در غلظت‌های ۰/۱، ۰/٥، ۱، ۳ و ٥

میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد تیمار اتانولی نسبت به تیمار آبی دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری است (P<۰/۰۵). با افزایش غلظت از ۰/۱ به ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مهار رادیکال DPPH کاهش یافت و بیش‌ترین مهار رادیکال DPPH در غلظت ۰/۱ مشاهده شد. بیش‌ترین مهار رادیکال ABTs و Power Reducing در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. طبق نتایج عصاره اتانولی صدف دارای خواص آنتی‌اکسیدانی مناسبی به نظر می‌رسد. از آن‌جایی‌که این صدف در آب‌بندان‌های پرورش ماهی یافت می‌شود و پس از تخلیه ماهیان، صدف‌ها با نبود آب و در نهایت مرگ روبرو می‌شوند و با توجه به خواص منحصربه‌فرد آن‌ها، مطالعات بیش‌تر در این زمینه می‌تواند از دفن کردن این صدف‌ها پس از صید ماهیان جلوگیری نمایند.

استناد: حیدری، سکینه، پورعاشوری، پرستو، شعبانپور، بهاره، شمس‌آبادی، فاطمه، شیخ عربی، مهدی (۱۴۰۳). خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و اتانولی استخراج شده از صدف آب شیرین *Anodonta cygnea*. *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۳ (۴)، ۱۱۷-۱۰۷.

DOI: 10.22069/japu.2023.21493.1792

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

آنتی‌اکسیدان هر ترکیبی است که فرآیند اکسیداسیون را با مهار واکنش رادیکال آزاد متوقف می‌کند. در سیستم‌های بیولوژیکی، آنتی‌اکسیدان‌ها از اثرات مخرب تولیدشده در متابولیسم، مانند رادیکال‌های آزاد بسیار واکنش‌پذیر، جلوگیری می‌کنند و مازاد آن‌ها را در بدن خنثی می‌کنند (۱). آنتی‌اکسیدان‌ها یا در بدن تولید و یا از طریق رژیم غذایی وارد بدن می‌شوند که برای مقابله با گونه‌های اکسیژن و نیتروژن فعال در موجود زنده که باعث آسیب به DNA، لیپیدها، پروتئین‌ها و سایر ملکول‌های زیستی دیگر شده، استفاده می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، به‌عنوان مکمل آنتی‌اکسیدان طبیعی پیشنهاد شده‌اند. با این‌حال، گزارش‌های اخیر نشان داد که این آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی می‌توانند با اثرات سمی و سرطان‌زا مرتبط باشند (۲). با افزایش تقاضا برای سبک زندگی سالم‌تر و طول عمر بیش‌تر، مصرف‌کنندگان به مواد مغذی و غذاهای کاربردی غنی از ترکیبات زیست‌فعال طبیعی علاقه بیش‌تری پیدا کرده‌اند (۳). این بدان معناست که جامعه بیش‌تر به سلامتی توجه می‌کند، بنابراین به دنبال منابع طبیعی و ارگانیک بیش‌تری برای مصرف آن‌ها است. منابع طبیعی دریایی نیز از این قاعده مستثنی نیستند. از جمله پرمصرف‌ترین و لذت‌بخش‌ترین گزینه‌های غذاهای دریایی، دوکفه‌ای‌ها مانند صدف، اسکالوپ و اویستر هستند (۲).

صدف *Anodonta cygnea*، یکی از شناخته‌شده‌ترین گونه‌های خانواده *Unionidae* است. این گونه بیش‌ترین پراکندگی را در آب‌های داخلی مناطق مختلف جهان دارد. صدف‌های *Anodonta cygnea* معمولاً در رودخانه‌های کم‌جریان، کانال‌های کشاورزی و زه‌کشی‌ها، دریاچه‌های آب شیرین، مخازن و اکوسیستم‌های آبی انتقالی یافت می‌شوند (٤). این صدف یکی از بزرگ‌ترین صدف‌های آب شیرین است که سیستم ایمنی آن بر اساس ایمنی ذاتی از جمله موانع خارجی مانند پوسته و مخاط روی سطح بافت‌ها و موانع داخلی مانند مایعات موجود در گردش خون مرتبط می‌باشد (۵). صدف موجودی بنتیک و فیلترفیدر است که می‌تواند روی سطوح سخت رشد کند، عملکردهای دارویی صدف شامل فعالیت ضدباکتری و ضدویروسی، ضدسیکلواکسیژناز، آنتی‌اکسیدان، آگلوتیناسیون و فعالیت ضدالتهابی است (٦). در طول دو دهه گذشته، حدود ۳۰۰۰ ترکیب جدید از منابع مختلف دریایی کشف شده است و برخی از این ترکیبات در درمان‌های بالینی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (٦). عصاره آبی صدف *Mytilus coruscus* و صدف آبالون (*Haliotis discus*) به منظور بررسی فعالیت ضدالتهابی قوی و خواص آنتی‌اکسیدانی استخراج گردید. عصاره آبی صدف با مهار تولید اکسیژن واکنشی (ROS) و اکسید نیتریک (NO) درون‌سلولی جنین‌های ماهی ناشی از لیپوپلی‌ساکارید، سبب جلوگیری از التهاب گردید که نشان‌دهنده فعالیت ضدالتهابی عصاره آبی صدف حاوی تائورین می‌باشد (۷ و ۸). گرچه چندین مطالعه شرایط کشت و فعالیت بیولوژیکی ترکیبات زیست فعال مانند پپتیدها، پلی‌ساکاریدها و لیپیدهای استخراج شده از صدف را بررسی کرده‌اند اما هیچ مطالعه‌ای در ارتباط با عصاره آبی و اتانولی و خواص آنتی‌اکسیدانی این صدف انجام نشده است. با توجه به این‌که صدف *Anodonta cygnea* در آبندان‌های مختص پرورش ماهی در شمال کشور نیز یافت می‌شود و پس از انجام صید ماهیان، تعداد زیادی از این صدف‌ها دفن می‌شوند به‌نظر بررسی خواص ترکیبات مؤثره در این صدف دارای اهمیت است. بنابراین در مطالعه حاضر تهیه عصاره‌های آبی و اتانولی صدف *Anodonta cygnea* تهیه و به منظور بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: صدف دوکفه‌ای از آب‌بندان در شهر فریدون‌کنار استان مازندران پس از تخلیه آب‌بندان و صید ماهیان جمع‌آوری و به آزمایشگاه فرآوری دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. به منظور از بین بردن محتویات چسبیده به صدف با آب شستشو گردید و برای انجام آزمایش‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای شناسایی صدف از اطلس بافت‌شناسی صدف‌های آب شیرین (*Bivalvia Unionidae*) استفاده گردید (۹).

ترکیب تقریبی و بیومتری صدف: میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر صدف بر اساس روش (۱۰) اندازه‌گیری گردید.

تهیه عصاره آبی و اتانولی: به‌منظور استخراج عصاره‌های آبی و اتانولی از صدف، ابتدا بافت نرم صدف از پوسته سخت جدا و شستشو شد. سپس بافت نرم توسط دستگاه خردکن (Moulinex 320, Spain) یکدست و هموژن گردید. نمونه‌های هموژن شده بافت صدف جهت استخراج عصاره‌ها استفاده گردید. استخراج عصاره اتانولی با حلال اتانول ۹۶ درصد و استخراج عصاره آبی با حلال آب انجام شد. برای تهیه عصاره آبی و اتانولی، هر کدام از حلال‌ها به‌صورت مجزا با بافت هموژن‌شده صدف به نسبت ۱:۲ (صدف به حلال) مخلوط گردید. مخلوط به دست آمده در دمای ٤ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت قرار گرفت. سپس به منظور جداسازی مایع رویی، مخلوط حاصل فیلتر شد. عصاره آبی بعد از فیلتر در ظرف‌های مخصوص ریخته شد و توسط دستگاه فریزدرایر (CHRIST, Alpho 1-2 LD plus, Germany) لیوفلیزه گردید. عصاره اتانولی پس از مرحله فیلتر در خلا (توسط دستگاه روتاری مدل (IKA, Germany) در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد تا خشک شدن عصاره خام تبخیر گردید و این نمونه‌ها نیز لیوفیلیزه شدند (٦).

آزمایشات آنتی‌اکسیدانی

فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH[1]: ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های (۰/۱، ۰/۵، ۱، ۳ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه شده از عصاره‌های آبی و اتانولی با ۱۰۰ میکرولیتر از ۱۵۰ میکرومول محلول DPPH مخلوط گردید، مخلوط به‌دست آمده به مدت یک دقیقه تکان داده شد و مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری گردید. جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت گردید (۱۱).

قدرت احیاکنندگی (Power Reducing): ۲۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های (۰/۱، ۰/۵، ۱، ۳ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه شده از عصاره‌های آبی و اتانولی با ۳۰۰ میکرولیتر بافرسدیم فسفات (۰/۱ مول، pH=٦/٦) و ۵۰۰ میکرولیتر از پتاسیم‌فری‌سیانید (۱ درصد وزنی/حجمی) مخلوط گردید و مخلوط در ۵۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از تری کلریک اسید ۱۰ درصد به مخلوط اضافه گردید و مخلوط در ۱۳۳٦×g به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت به ۱۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت با ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۲۰ میکرولیتر کلریدآهن III (۰/۱ درصد وزنی/ حجمی) مخلوط و جذب در ۷۰۰ نانومتر تعیین گردید (۱۱) جذب بالاتر مخلوط واکنش نشان‌دهنده قدرت کاهشی بالاتر است.

فعالیت رادیکال ABTS[2]: برای اندازه‌گیری رادیکال ABTS، ۷ میلی‌مول ABTS با ۲/٤ میلی‌مول پتاسیم پرسولفات مخلوط گردید و به‌مدت ١٦ ساعت

1- 2,2,- Diphenyl- 1- picryl- hydrazyl- hydrate radical y

2- 2,2'- Azino-bis (3- ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid)

در دمای اتاق در شرایط تاریکی انکوبه شد، سپس محلول تا رسیدن به میزان جذب ۰/۰۵±۱/۵۰ در ٤۱٤ نانومتر رقیق‌سازی گردید. سپس ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های (۰/۱، ۰/۵، ۱، ۳ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه شده از عصاره‌های آبی و اتانولی و ۱۵۰ میکرولیتر از محلول، مخلوط می‌گردند. اجازه می‌دهیم به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق بمانند و جذب در ٤۱٤ نانومتر خوانده می‌شود. منحنی کالیبراسیون با غلظت‌های متفاوت اسیدآسکوربیک تهیه می‌گردد (۱-۰ میلی‌مول) (۱۱).

روش تجزیه و تحلیل: داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی، به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) آنالیز گردید. داده‌ها به کمک نرم‌افزار آماری SPSS ۲٦ مورد آزمون قرار گرفت. همه آنالیزها در سه تکرار انجام گرفت.

نتایج و بحث

ترکیب تقریبی: مشخصات علمی و بیومتری صدف به‌ترتیب در جدول ۱ آمده است. ترکیب تقریبی صدف *Anodonta cygn* مورد آزمایش قرار گرفت. میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر در این صدف به‌ترتیب ۷۹/۳٦ درصد، ٦۲ درصد، ۵/۵٤ درصد و ۰/۱۱ درصد می‌باشد.

جدول ۱- مقادیر بیومتری صدف.

Table 1. Biometric values of the bivalve.

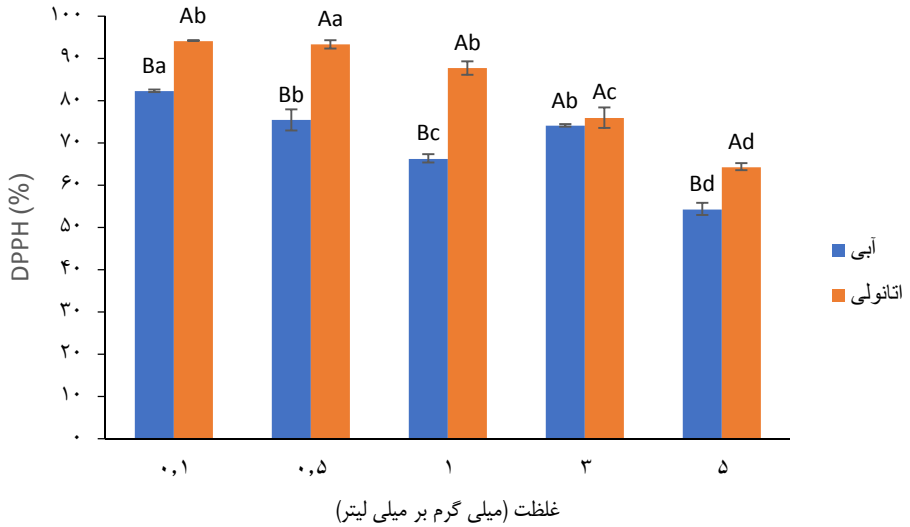
صدف	میانگین مقادیر (میلی‌متر)
طول	۱۰۵/٦۵±۲/٤۱
عرض	۵۸/۸۵±۲/۸۳
ارتفاع	٤۸/۸۳±۲/۱۰
وزن	۱۱۳/۲۳±۹/٦۸

نتایج بر حسب انحراف معیار ± میانگین بیان شده است

مقادیر رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر صدف *Mytilus coruscus* را در وزن خشک به ترتیب ۹۷/۱۲، ۵۵/۷۱، ۹/٦۳ و ۷/۲۱ درصد گزارش کردند (۸). ترکیب تقریبی صدف *Mytilus galloprovincialis* مربوط به تالاب Bizerte در طی یک دوره یک‌ساله بررسی گردید. در این مطالعه مقادیر رطوبت بین ۷۹/٤٤ و ۸۷/٦۳ (گرم در ۱۰۰ گرم) در نوسان بود. مقادیر کل پروتئین و خاکستر به ترتیب ٦/٦۰ تا ۱۰/۰۷ و ۱/۷ تا ۲/۷۳ متغیر بود. مقدار چربی ۱/٦ تا ۰/۱٦گرم در ۱۰۰ گرم اندازه‌گیری شد. به‌طورکلی، افزایش محتوای چربی به چرخه تولیدمثل و کاهش محتوای چربی به تخم‌ریزی مرتبط است (۱۲). در مطالعه‌ای خواص فیزیکوشیمیایی عصاره آبی عضله آبالون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی محصولات گوارشی آن مورد بررسی قرار گرفت. این عصاره حاوی پروتئین ٤۹/۵۸ درصد و کربوهیدرات ٤۱/۹۵ درصد بود (۱۳).

فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH: DPPH اغلب به‌عنوان سوبسترایی برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود. پایداری نسبی رادیکال DPPH موجب شده تا به‌طور گسترده برای آزمایش‌هایی که ترکیبات آن‌ها توانایی حذف رادیکال آزاد را داشته و یا دهنده هیدروژن می باشند، استفاده شود (۱٤). از این‌رو DPPH، با پذیرفتن یک الکترون یا هیدروژن به 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine

که یک مولکول پایدار بوده تبدیل می‌شود و جذب به‌تدریج کاهش یافته و در حضور پروتون ماده اهداکننده رنگ محلول از بنفش به زرد تغییر می‌یابد. اهدای هیدروژن از ضداکسیدان‌ها به رادیکال‌های آزاد منجر به غیر سمی شدن رادیکال‌ها شده و از شکل‌گیری فاز انتشار در اکسیداسیون لیپیدها و واکنش زنجیره‌ای رادیکال‌ها ممانعت می‌کند (۱٤). در تیمارهای آبی و اتانولی با افزایش مقدار آنزیم و غلظت نمونه، میزان مهار و حذف‌کنندگی رادیکال DPPH کاهش یافت (شکل ۱). با توجه به نتایج، بین تیمارهای آبی و اتانولی تفاوت معنی‌دار وجود دارد (P<۰/۰۵). عصاره اتانولی صدف نسبت به عصاره آبی، اثر مهارکنندگی بالاتری داشت. در کم‌ترین غلظت یعنی ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیش‌ترین مهار رادیکال DPPH در تیمار الکی و سپس در تیمار آبی نشان داده شد. کم‌ترین مهار این رادیکال در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب در تیمار آبی و تیمار اتانولی مشاهده شد. عصاره آبی صدف (blue mussel) با استفاده از روش حرارت‌دهی در دمای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب به‌مدت ۱۰، ۳۰ و ٦۰ دقیقه تهیه گردید و مشاهده شد که مهار رادیکال آزاد DPPH به‌طور قابل‌توجهی با افزایش دما و زمان استخراج افزایش می‌یابد (۱۵).



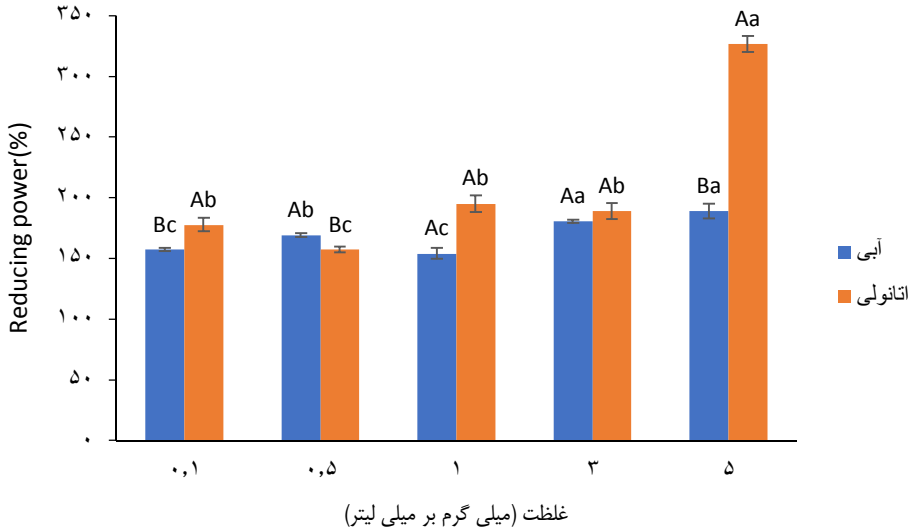
شکل ۱- فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره‌های آبی و اتانولی صدف.
تفاوت در حروف هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P≤۰/۰۵).
حروف بزرگ تفاوت بین تیمارها و حروف کوچک تفاوت بین غلظت‌ها.

Figure 1. DPPH radical scavenging activity of aqueous and ethanolic extracts of the bivalve.
Differences in letters within each column indicate significant differences (P≤0.05).
Uppercase letters denote differences between treatments, and lowercase letters denote differences between concentrations.

عصاره *P. viridis* به دو روش استخراج به کمک مایکروویو و استخراج توسط همگن‌سازی بافت حیوانی با سه حلال آبی، متانولی و اتانولی انجام گرفت. توانایی مهار رادیکال DPPH در عصاره متانولی *P. viridis* در مقایسه با عصاره‌های اتانولی و آبی بیش‌تر بود (۱٦). عصاره آبی صدف آبالون تا ۵۰ درصد تولید رادیکال آزاد DPPH را مهار می‌کند. عصاره آبی صدف آبالون به دلیل داشتن مقادیر زیاد آنزیم تورین اثر بالقوه‌ای بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی در مدل زنده آزمایشگاهی *Zebrafish*

داشت (۷). فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH، هیدروکسیل و سوپراکسید را در تیمار هیدرولیز شده صدف Blue را گزارش کردند که افزایش فعالیت آن‌ها وابسته به غلظت بود (١٤). خاصیت مهار DPPH سه عصاره (اتیل‌استات، متانولی و آبی/اتانولی) صدف *P. viridis* در محدوده غلظت (۰/۱۵ تا ٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) نشان داد که این سه عصاره یک الگوی وابسته به غلظت را در مهار رادیکال DPPH دارند. فعالیت مهاری بالاتر به ترتیب برای عصاره اتیل استات در غلظت ۰/٦١٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، عصاره آبی/اتانولی در غلظت ۰/۷۸٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره متانولی بود. عصاره این صدف در دوزهای بالاتر، عصاره اتیل استات، متانولی و آبی/اتانولی (٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، به ترتیب ۸۸/۲، ۷٦/۵ و ۸۲/۲ درصد مهار را نشان دادند (۱۷).

قدرت کاهندگی (Power Reducing): آزمون قدرت کاهندگی اغلب برای ارزیابی توانایی مواد ضداکسیدان در اهدای الکترون مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این آزمایش بسته به قدرت هر غلظت، رنگ زرد محلول آزمایش به سبز و آبی تغییر می‌یابد؛ حضور کاهنده‌ها یا مواد ضداکسیدانی در نمونه‌ها منجر به کاهش شکل‌گیری کمپلکس Fe^{3+}/ferricyanide و تبدیل به فرم فرو[1] می‌شود (۱۱). مواد با قدرت احیا بالاتر عموماً توانایی بالایی در تأمین الکترون دارند و بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی رابطه مستقیمی با قدرت کاهشی آن‌ها دارد. بنابراین، قدرت کاهشی می‌تواند به‌عنوان معیاری برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی یک نمونه استفاده شود (۱۸). قدرت کاهندگی در تیمارهای آبی و اتانولی، با افزایش غلظت افزایش یافت. تیمار اتانولی نسبت به تیمار آبی دارای قدرت کاهندگی بیش‌تری بود (شکل ۲).



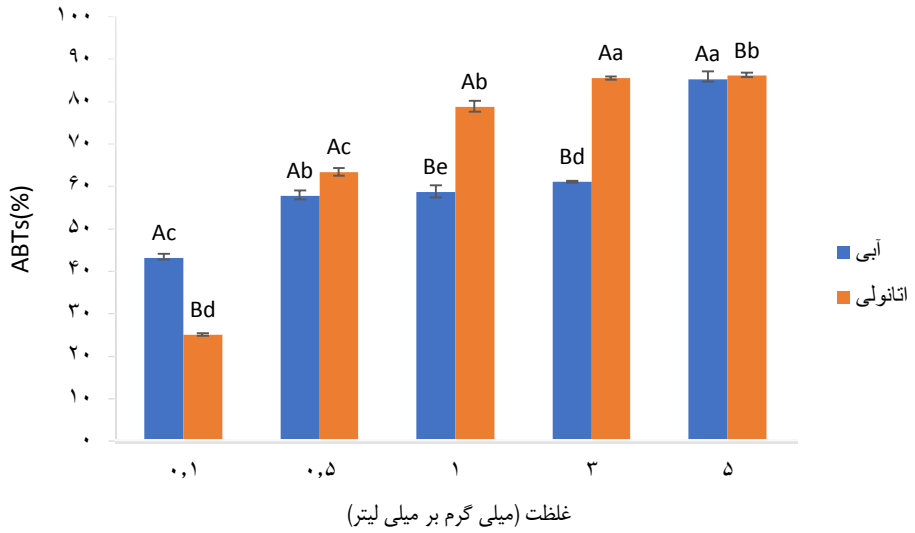
شکل ۲- فعالیت قدرت کاهندگی (Power Reducing) عصاره‌های آبی و اتانولی صدف *Anodonta cygnea*.
تفاوت در حروف هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P≤۰/۰۵).
حروف بزرگ تفاوت بین تیمارها و حروف کوچک تفاوت بین غلظت‌ها.

Figure 2. Reducing power activity of aqueous and ethanolic extracts of *Anodonta cygnea*.
Differences in letters within each column indicate significant differences (P ≤ 0.05).
Uppercase letters denote differences between treatments, and lowercase letters denote differences between concentrations.

1- Ferrous form

در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیش‌ترین قدرت کاهندگی در تیمار اتانولی مشاهده شد. در مطالعه‌ای قدرت کاهندگی در هر سه عصاره اتیل‌استات، متانولی و آبی/اتانولی صدف *P. viridis* افزایش وابسته به دوز را نشان داد. عصاره‌های این صدف افزایش متوسطی در عدد جذب نشان دادند. قدرت کاهندگی در عصاره متانولی از عصاره آبی/اتانولی و عصاره اتیل‌استات بیش‌تر بود (۱۷).

فعالیت رادیکال ABTs: ABTS یک رادیکال کاتیونی رنگی است که جذب قوی در ۷۳٤ نانومتر نشان می‌دهد. وقتی یک ترکیب ضداکسیدانی یا نمونه به این محلول اضافه می‌شود اکسیداسیون ABTS به تعویق می‌افتد و واکنش، مقدار بیش‌تری از جریان الکتریکی که مربوط به میزان فعالیت ضداکسیدانی نمونه اضافه شده می‌باشد مصرف می‌کند (۱۹). مقایسه تیمارهای آبی و اتانولی نشان داد که تیمار اتانولی در مقایسه با تیمار آبی دارای قدرت مهار رادیکال آزاد بیش‌تری بود. در کم‌ترین غلظت (۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره آبی دارای قدرت مهار بالاتر بود اما با افزایش غلظت تا ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی دارای قدرت مهار بالاتری بود (شکل ۳). توانایی کاهش رادیکال ABTS عصاره‌ها را می‌توان با توانایی اهدای الکترون گروه‌های فنواکسید، پپتیدهای زیست‌فعال، آلکالوئیدها و ساپونین‌ها به رادیکال‌های آزاد ABTS و در نتیجه مهار آن مرتبط دانست (۱٦).



شکل ۳- فعالیت رادیکال ABTs عصاره‌های آبی و اتانولی صدف *Anodonta cygnea*.
تفاوت در حروف هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P≤۰/۰۵).
حروف بزرگ تفاوت بین تیمارها و حروف کوچک تفاوت بین غلظت‌ها.

Figure 3. ABTS radical scavenging activity of aqueous and ethanolic extracts of *Anodonta cygnea*.
Differences in letters within each column indicate significant differences (P≤0.05).
Uppercase letters denote differences between treatments, and lowercase letters denote differences between concentrations.

صدف سبز (*Perna viridis*) با استفاده از حلال‌هایی مانند آب، متانول و اتانول عصاره‌گیری شدند. عصاره‌ها رادیکال ABTS را به روشی وابسته به غلظت (۵۰-۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) مهار کردند و فعالیت مهاری عصاره‌های متانولی بالاتر از عصاره‌های اتانولی و آبی بود. عصاره آبی، متانولی و اتانولی صدف‌های سبز مالزیایی (*Perna viridis*) استخراج گردید. عصاره‌ها رادیکال ABTs را به

روشی وابسته به غلظت (۵۰-۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) مهار کردند و فعالیت مهاری عصاره‌های متانولی بالاتر از عصاره‌های اتانولی و آبی بود (۱٦). عصاره آبی صدف آبالون تهیه و با اتانول ٤۰ و ۸۰ درصد هیدرولیز گردید و نتایج نشان داد که هیدرولیز با اتانول ۸۰ درصد دارای بیش‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ABTs بود (۱۳).

نتیجه‌گیری

صدف *Anodonta cygnea* به‌عنوان شاخص‌های زیستی مناسب برای حضور آلاینده‌ها در محیط زیست پیشنهاد شده‌اند و مطالعه‌ای بر روی عصاره‌گیری و خواص آنتی‌اکسیدانی آن انجام نشده است. در مطالعه حاضر، عصاره آبی و اتانولی صدف *Anodonta cygnea* استخراج شد. خواص آنتی‌اکسیدانی نشان دادند که با افزایش غلظت ماده، فعالیت مهار رادیکال DPPH کاهش یافت بیش‌ترین مهار رادیکال DPPH در تیمار آبی و اتانولی در غلظت پایین (۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشاهده گردید. تیمارهای آبی و اتانولی نشان داد که با افزایش غلظت تیمار اتانولی در مقایسه با تیمار آبی دارای قدرت مهار رادیکال ABTs و Power Reducing بیش‌تری بود و بیش‌ترین مهار در غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. نتایج نشان داد عصاره‌های تهیه شده از صدف دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است و تیمار اتانولی در مقایسه با تیمار آبی عملکرد بهتری داشت. از آن‌جایی‌که این صدف دارای خواص دارویی و غذایی و... می‌باشد. پیشنهاد می‌شود مطالعات بیش‌تری بر روی این صدف از لحاظ ترکیبات مؤثره در بافت آن انجام گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از صندوق حمایت از پژوهش‌گران و فناوران کشور که با حمایت مالی در انجام این پژوهش ما را یاری نمودند، قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Vladkova, T., Georgieva, N., Staneva, A., & Gospodinova, D. (2022). Recent progress in antioxidant active substances from marine biota. *Antioxidants*, 11 (3), 439.
2. Neri, T. A., Nguyen, T. T., Nguyen, T. H. P., Rohmah, Z., Jeong, S. B., Hwang, D. J., & Choi, B. D. (2021). Effect of season and processing steps in nutritional components and bioactivities of blue mussels (Mytilus edulis). *International Food Research Journal*, 28 (4), 752-762.
3. Fung, A., Hamid, N., & Lu, J. (2013). Fucoxanthin content and antioxidant properties of Undaria pinnatifida. *Food chemistry*, 136 (2), 1055-1062.
4. Shiry, N., Derakhshesh, N., Alavinia, S. J., Pouladi, M., Falco, F., & Faggio, C. (2023). Anodonta cygnea, a freshwater swan mussel, exposed to diazinon: toxicity thresholds in behavior and physiology. *Veterinary Research Communications*, 1-17.
5. Hinzmann, M., Bessa, L. J., Teixeira, A., Da Costa, P. M., & Machado, J. (2018). Antimicrobial and antibiofilm activity of unionid mussels from the North of Portugal. *Journal of Shellfish Research*, 37 (1), 121-129.
6. Wikarta, J. M., & Kim, S. M. (2016). Nitric oxide synthesis inhibition and cytotoxicity of Korean horse mussel Modiolus modiolus extracts on cancer cells in culture. *Cytotechnology*, 68, 879-890.
7. Cheong, S. H., Hwang, J. W., Lee, S. H., Kim, Y. S., Sim, E. J., You, B. I., ... & Park, P. J. (2015). In vitro and in vivo antioxidant and anti-inflammatory activities of abalone (Haliotis discus) water extract. In *Taurine 9* (pp. 833-849). Springer International Publishing.

8.Cheong, S. H., Lee, S. H., Jeon, Y. J., & Lee, D. S. (2017). Mussel (Mytilus coruscus) water extract containing taurine prevents LPS-induced inflammatory responses in zebrafish model. In *Taurine 10* (pp. 931-942). Springer Netherlands.
9.McElwain, A., & Bullard, S. A. (2014). Histological atlas of freshwater mussels (Bivalvia, Unionidae): Villosa nebulosa (Ambleminae: Lampsilini), Fusconaia cerina (Ambleminae: Pleurobemini) and Strophitus connasaugaensis (Unioninae: Anodontini). *Malacologia*, 57 (1), 99-239.
10.Horwitz, W. (1975). *Official methods of analysis* (Vol. 222). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
11.Park, S. Y., Ahn, C. B., & Je, J. Y. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory activities of protein hydrolysates from Mytilus edulis and ultrafiltration membrane fractions. *Journal of Food Biochemistry*, 38 (5), 460-468.
12.Cherifi, H., Ajjabi, L. C., & Sadok, S. (2018). Nutritional value of the Tunisian mussel Mytilus galloprovincialis with a special emphasis on lipid quality. *Food chemistry*, 268, 307-314.
13.Wei, P., & Weng, W. (2020). Characteristics of pressurized hot water extract from abalone muscle and the antioxidant ability during simulated digestion in vitro. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 4076-4083.
14.Wang, B., Li, L., Chi, C. F., Ma, J. H., Luo, H. Y., & Xu, Y. F. (2013). Purification and characterisation of a novel antioxidant peptide derived from blue mussel (Mytilus edulis) protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 138 (2-3), 1713-1719.
15.Han, J. K., Sung, S. C., Jo, M. J., & Lee, S. C. (2018). Antioxidant, ACE inhibitory, and acetylcholinesterase inhibitory activities of subcritical water extract of blue mussel. *Food science and biotechnology*, 27, 847-851.
16.Krishnamoorthy, V., Chuen, L. Y., Sivayogi, V., Kathiresan, S., Bahari, M. B., Raju, G., & Parasuraman, S. (2019). Exploration of antioxidant capacity of extracts of Perna viridis, a marine bivalve. *Pharmacognosy Magazine*, 15 (Suppl 3), S402-S409.
17.Sreejamole, K. J., & Radhakrishnan, C. K. (2016). In vitro antioxidant activity of tissue extracts of green mussel Perna viridis. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 58 (2), 94.
18.Dong, Z., Tian, G., Xu, Z., Li, M., Xu, M., Zhou, Y., & Ren, H. (2017). Antioxidant activities of peptide fractions derived from freshwater mussel protein using ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis. *Czech Journal of Food Sciences*, 35 (4), 328-338.
19.Wang, B., Li, Z. R., Chi, C. F., Zhang, Q. H., & Luo, H. Y. (2012). Preparation and evaluation of antioxidant peptides from ethanol-soluble proteins hydrolysate of Sphyrna lewini muscle. *Peptides*, 36 (2), 240-250.