بهینه‌سازی استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی جلبک قهوه‌ای *Sargassum angustifolium* خلیج فارس به روش استخراج به کمک مایکروویو

آریا باباخانی لشکان[۱]، مسعود رضائی[۱]*، کرامت ا... رضایی[۲] و سید جعفر سیف آبادی[۳]

[۱] گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس

[۲] گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده بیوسیستم، دانشگاه تهران

[۳] گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۳/۳۰)

چکیده

عصاره‌های جلبک قهوه‌ای سارگاسوم *Sargassum angustifolium* با استفاده از روش استخراج به کمک مایکروویو استخراج شدند. تیمارها شامل ۳ حلال (آب، متانول و اتانول) ۳ قدرت و مدت زمان استخراج (۹۰ w،۱۰× ۱۸۰×۲۰ w و ۲۷۰×۳۰ w دقیقه) و ۳ نسبت جلبک به حلال (۱:۵، ۱:۱۰ و ۱:۲۰) بود. برای طراحی آزمایش‌ها از طرح بهینه‌سازی تاگوچی استفاده شد. میزان ترکیبات فنولی کل، شناسایی ترکیبات فنولی، قدرت کاهندگی آهن، درصد خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها مورد سنجش قرار گرفت. با توجه به نتایج، استخراج با حلال آبی، زمان ۳۰ دقیقه و نسبت جلبک به حلال ۱ به ۲۰ تیمار بهینه برای استخراج عصاره از این جلبک می‌باشد. میزان فنول کل، قدرت کاهندگی آهن، خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل این تیمار به ترتیب؛ ۲/۶۰ برحسب میلی‌گرم اسیدتانیک بر گرم ماده خشک جلبک، ۱/۱۸ بر حسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک در گرم ماده خشک، ۶۰/۰۴ ٪ و ۳۶/۴۵ بر حسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک در گرم ماده خشک بود. ترکیبات فنولی شناسایی شده جلبک سارگاسوم شامل اسید گالیک (۷/۳۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، اسید پروتئوکاتچوئیک (۲۹/۹۳)، اسید جنتیستیک (۱۵/۱۵) و اسید هیدروکسی بنزوئیک (۱۴/۶۱) بود. نتایج نشان داد این جلبک گونه مناسبی برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: عصاره جلبکی، ترکیبات زیست فعال، آنتی‌اکسیدان، سارگاسوم.

* نویسنده مسئول تلفن: ۰۱۲۲۶۲۵۳۱۰۱ فاکس: ۰۱۲۲۶۲۵۳۴۹۹ E-mail: rezai_ma@modares.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

گیاهان منبع اصلی آنتی‌اکسیدان‌ها در طبیعت هستند. مواد اصلی دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی شامل ترکیبات فنولی، کارتنوئیدها و توکوفرول می‌باشند (Mendiola *et al*., 2008). مطالعات زیادی بر روی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که از گیاهان خشکی زی استخراج شده‌اند صورت گرفته و کاربردهای آن‌ها نیز در سیستم‌های غذایی نیز مورد آزمایش قرار گرفته است و گزارش‌هایی مبنی بر اینکه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند رزماری، مریم‌گلی و عصاره چای سبز قوی‌تر از آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک هستند، وجود دارد (Tang *et al*., 2001; Wansudara and Shahidi, 1998). علاوه بر آن جلبک‌های دریایی نیز به عنوان منبع آنتی‌اکسیدان‌ها اکسیدان‌های پلی‌فنولی مورد توجه قرار گرفته‌اند. فنول‌ها گروه مهمی از ترکیبات طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی و دیگر خواص بیولوژیکی هستند (Onofrejova *et al*., 2010). از تحقیقات مهم انجام شده روی تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جلبکی در شرایط *In vitro* می‌توان به طور مختصر به مطالعات انجام شده بر جلبک‌های سبز (El-Baky *et al*., 2009)، جلبک‌های قرمز (Duan *et al*., 2006; Ganesan *et al*., 2008; Kumar *et al*., 2008)، جلبک‌های قهوه‌ای (Chandini *et al*., 2008; Chkhikvishvili and Ramazanov, 2000; Kuda *et al*., 2005) اشاره کرد. گروهی از پلی‌فنول‌ها مثل کاتچین (گالوکاتچین، اپی کاتچین و کاتچین گالات) فلاونول و فلاونول گلیسرول در عصاره متانولی جلبک‌های قهوه‌ای و قرمز نیز شناسایی شده‌اند. همچنین جلبک‌ها حاوی چندین ماده شیمیایی با ارزش اقتصادی مثل ویتامین‌ها، کارتنوئیدها، پیکوبیلی پروتئین‌ها، پلیول‌ها، پلی‌ساکاریدها و اسیدهای چرب می‌باشند که دارای خواص ضد التهابی، ضد سرطانی، ضد قارچی، آنتی اکسیدانی و مواد محرک ایمنی می‌باشد (Hanna *et al*., 2008). با توجه به خواص متعدد گزارش شده از عصاره جلبک‌های دریایی، بهره‌برداری از آن‌ها به عنوان یک منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی در سیستم‌های غذایی کمپلکس مثل گوشت ماهی بسیار مورد توجه می‌باشد (Wang *et al*., 2009).

ترکیبات فنولی یک گروه از متابولیت‌های ثانویه هستند که میزان و تنوع آن‌ها در حین رشد گیاهان تحت تأثیر ژنتیک، شرایط رشد، پرورش و فاکتورهای آب و هوایی می‌باشد. دمای بالا و اشعه‌های خورشیدی زیاد در عرض‌های پایین جغرافیایی سبب می‌شود که گیاهان این مناطق برای مقابله با اشعه‌های ماورای بنفش و رادیکال‌های آزاد، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بیشتری تولید کنند (Lopez *et al*., 2011). خلیج فارس نیز در عرض‌های پایین قرار گرفته و دارای گونه‌های جلبکی متنوعی می‌باشد. یک گروه از این جلبک‌ها خانواده سارگاسوم‌ها (Sargassae) می‌باشند که از مهم‌ترین خانواده‌های رده جلبک‌های قهوه‌ای بوده که در سطح جهان پراکنده‌اند و شامل بیش از ۴۰۰ گونه می‌باشند. میزان بسیار زیادی از این جلبک‌ها در خلیج فارس وجود دارد که هیچ گونه استفاده‌ای از آن نمی‌شود. اولین مرحله در شناسایی و بهره‌برداری از این مواد استخراج آن‌ها می‌باشد. امروزه تکنیک‌های استخراج متفاوتی برای بدست آوردن ترکیبات زیست فعال از منابع گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش‌های متداول معمولاً در دمای رفلاکس[1] و به مدت چندین ساعت انجام می‌پذیرند که وقت‌گیر می‌باشند و نیاز به مقدار زیادی حلال دارند (Protestos and Komaitis, 2008). در دهه‌های اخیر میل به پیدا کردن روش‌های جدید باعث توسعه تکنیک‌های استخراج دیگر شده است. استخراج رفلاکس و سوکسله[2] برای استخراج از مواد گیاهی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در حالی که انجام این روش‌ها، زمان‌بر می‌باشند و دمای زیادی نیز نیاز دارند (Kamran Khan, 2010). استخراج به کمک مایکروویو[3] می‌تواند زمان

۱. Reflux: یک روش تقطیر محسوب می شود که در آن مایع به شکل بخار در آمده و در اثر برخورد با کندانسور مجددا میعان کرده و به ظرف اصلی باز می‌گردد.

2. Soxhlet extraction

3. Microwave assisted extraction (MAE)

Archive of SID

www.SID.ir

استخراج و مصرف حلال را با انتقال مؤثر و سریع بعضی ترکیبات از ماتریکس جامد کاهش دهد (Pan *et al.*, 2011; Kamrankhan, 2010). به همین منظور توسعه روش‌های جدید برای بهبود محدودیت‌های اصلی روش‌های قبلی بسیار جالب و مورد توجه می‌باشد. در تحقیقات اخیر برای استخراج ترکیبات بیولوژیکی فعال مانند فلاونوئیدها، ترکیبات فنولی گیاهی، ترکیبات فعال زیستی و ترکیبات زیست دارویی فعال از روش استخراج به کمک مایکروویو (Beejmohun *et al*., 2007; Spingo and Faveri, 2009; Pan *et al*., 2011) استفاده شده است. مکانیسم عمل امواج مایکروویو در استخراج به این صورت است که؛ بر اثر امواج مایکروویو آب داخل سلولی گرما را جذب کرده و به حالت بخار در می‌آید، این حالت سبب ایجاد فشار زیادی بر دیواره سلولی می‌شود و باعث تخریب آن شده، در اثر شکستن دیواره سلولی ترکیبات مؤثر در گیاهان به داخل حلال حرکت کرده و سبب افزایش بازده استخراج می‌شود (Mandal *et al.*, 2007). در مقایسه با روش‌های مرسوم، روش MAE دارای مزیت‌هایی از جمله زمان کوتاه‌تر، حلال کمتر، نرخ استخراج بالاتر و محصولات با کیفیت عالی و هزینه پایین می‌باشد (Pan *et al*., 2011).

مطالب فراوانی در مورد مؤثرترین روش و حلال برای استخراج ترکیبات فنولی وجود دارد، ولی یافته‌های این منابع بسیار متفاوت و گاهاً متناقض هم می‌باشند. با توجه به ساختار این ترکیبات و خاصیت‌های فیزیکی و شیمیایی آن‌ها ارایه یک روش واحد غیرممکن می‌باشد (Rebey *et al*., 2011)). از طرفی آنالیز و بررسی همه فاکتورهای تأثیرگذار، هزینه بر و وقت گیر می‌باشد. بهینه سازی با استفاده از تاگوچی یک روش منحصر به فرد و قدرتمند است که می‌توان با کم‌ترین تعداد آزمایش بهینه سازی را انجام داد (Adewuyi and Oyenekan, 2007). تاگوچی یک شکل از طرح فاکتوریل شکسته شده است که به وسیله آن تأثیرها متغیرها در سطوح مختلف و در ترکیبات مختلف مورد سنجش قرار می‌گیرد (Cheah *et al*., 2010)، بنابراین استفاده از این روش باعث صرفه‌جویی در وقت و هزینه انجام تحقیقات و بهبود عملکرد آن‌ها می‌شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرات فاکتورهای حلال، نسبت حلال به ماده خشک و زمان و قدرت مایکروویو بر ترکیبات فنولی استخراج شده از جلبک قهوه‌ای سارگاسوم (*Sargassum angustifolium*) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

نمونه‌های جلبک از منطقه ساحلی شهرستان بوشهر در آذر ماه سال ١٣٨٩ 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 در سایه و در دمای ١٤-١٦ درجه سانتی‌گراد به مدت ١٠ روز خشک شده و به آزمایشگاه گروه صنایع غذایی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل شدند.

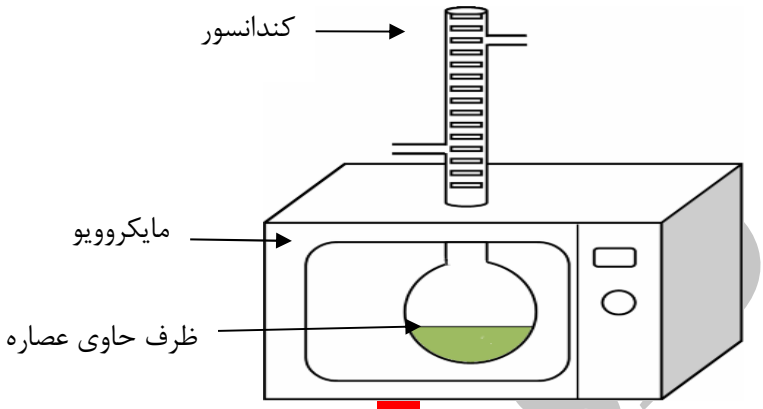
عصاره‌گیری

ابتدا نمونه‌های جلبکی خشک شده با قهوه خردکن (مولینکس، AR 10، ساخت کشور فرانسه) به صورت پودر در آورده شدند. سپس با توجه به طراحی صورت گرفته آزمایش‌ها (جدول ١) برای هر تیمار، جلبک‌ها توزین شده و در ظرف شیشه‌ای (بالن شیشه‌ای) استخراج ریخته شدند. با توجه به نسبت جلبک به حلال (١:٥، ١:١٠ و ١:٢٠)، به نمونه‌ها حلال افزوده شد. از مایکروویو خانگی (مدل TURBO، ساخت شرکت AEG آلمان) برای استخراج استفاده شد. استخراج با ٣ حلال (اتانول، متانول و آب)، در ٣ مدت زمان استخراج (١٠ دقیقه×٩٠ وات، ٢٠ دقیقه×١٨٠ وات و ٣٠ دقیقه×٢٧٠ وات)، انجام شد. برای طراحی آزمایش‌ها از طرح تاگوچی L9 استفاده شد (Roy, 1990). ظرف حاوی نمونه‌ها از بالا به یک مبرد آبی متصل شد تا بخار متصاعد شده از عصاره پس از میعان در اثر برخورد با دیواره خنک مبرد، مجدداً به داخل ظرف اصلی بازگردد (شکل ١). پس از اتمام زمان استخراج عصاره‌ها با کاغذ صافی (Watman 4) فیلتر شده

Archive of SID

www.SID.ir

و تا هنگام انجام آزمایش‌های بیشتر (حداکثر تا یک هفته) در ظروف شیشه‌ای تیره و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. برای آماده‌سازی نمونه‌ها به منظور شناسایی ترکیبات فنولی توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع (HPLC)، نمونه‌ها با دستگاه (Operon، ساخت کره جنوبی) فریز درای شدند.



شکل ۱) شکل شماتیک نحوه استخراج عصاره به کمک مایکروویو

جدول ۱) طراحی آزمایش‌ها برای استخراج ترکیبات فنولی در روش استخراج به کمک مایکروویو

آزمایش	حلال	زمان (دقیقه) × قدرت (وات)	نسبت جلبک به حلال (W/V)
۱	آب	۱۰ × ۹۰W	۱:۱۰
۲	اتانول	۱۰ × ۹۰W	۱:۲۰
۳	متانول	۱۰ × ۹۰W	۱:۵
۴	آب	۲۰ × ۱۸۰ W	۱:۵
۵	اتانول	۲۰ × ۱۸۰ W	۱:۱۰
۶	متانول	۲۰ × ۱۸۰ W	۱:۲۰
۷	آب	۳۰ × ۲۷۰ W	۱:۲۰
۸	اتانول	۳۰ × ۲۷۰ W	۱:۵
۹	متانول	۳۰ × ۲۷۰ W	۱:۱۰

تعیین میزان ترکیبات فنولی

میزان فنول‌های کل جلبک بر اساس روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد (Singleton and Rossi, 1965). ابتدا هر یک از نمونه‌های عصاره استخراجی با حجم معینی از همان حلال مورد استفاده برای استخراج، به حجم معینی رسانده شدند. مقدار یک دهم میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده در بالن حجمی ۱۰ میلی‌لیتر ریخته شد و مقدار نیم میلی‌لیتر معرف فولین‌سیوکالتو به آن افزوده و مخلوط شد. سپس یک میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم اشباع افزوده و با آب مقطر به حجم رسانده شد و پس از مدت زمان ۳۰ دقیقه میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر در مقابل شاهد خوانده شد. از اسید تانیک به عنوان استاندارد استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد تانیک اسید، در ابتدا یک محلول با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر از تانیک اسید ساخته شد. مقادیر صفر، دو، شش و هشت دهم میلی‌لیتر از این محلول به بالن‌های حجمی ۱۰ میلی‌لیتر اضافه کرده، سپس نیم میلی‌لیتر معرف فولین‌سیوکالتو به هر کدام از بالن‌ها افزوده همگن شد. بعد از آن یک میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم اشباع به همه بالن‌ها اضافه گردید و با آب مقطر به حجم رسانده شدند و بعد از ۳۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج

Archive of SID
www.SID.ir

٧٦٠ نانومتر در مقابل شاهد خوانده شد. برای تهیه محلول شاهد نیز، بدون افزودن تانیک اسید تمامی مراحل بالا تکرار گردید. داده‌ها بر اساس میلی‌گرم اسید تانیک بر صد گرم ماده خشک گزارش شد.

شناسایی ترکیبات فنولی منفرد

شناسایی ترکیبات فنولی منفرد با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع Agilent 1100 series، (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)، مجهز به دتکتور قطبی (Agilent G13158) انجام شد. ستون Analytical (150mm-4.6mm) XDB C8 ZORBAX Eclipse مورد استفاده قرار گرفت. شستشو با محلول متانول و بافر استات آمونیوم ١٠ میلی مولار، pH=٥/٤ و با جریان ١ میلی‌لیتر بر دقیقه انجام شد. شناسایی با دتکتور قطبی و در طول موج ٢٨٠ نانومتر انجام شد. زمان بازداری و سطوح زیر پیک‌ها با استفاده از نرم افزار Chem32 integrator به صورت خودکار مورد ارزیابی و سنجش قرار گرفت. اسیدهای فنولی منفرد با استفاده از مقایسه زمان بازداری هر پیک در نمونه و در پیک استاندارد ترکیبات فنولی (Sigma) که با شرایط یکسان با نمونه‌ها مورد آنالیز قرار گرفته بود، شناسایی شدند.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

برای اندازه گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های جلبکی؛ دو میلی‌لیتر از عصاره با دو لیتر محلول معرف مخلوط شد و در لوله‌های درب‌دار قرار داده شد. محلول معرف شامل ٠/٦ مولار اسید سولفوریک، ٢٨ میلی‌مولار سولفات سدیم و ٤ میلی‌مولار آمونیوم مولیبدات بود. لوله‌های شیشه‌ای درب‌دار به مدت ٩٠ دقیقه در حمام آبی (دمای ٩٥ درجه سلسیوس) قرار داده شد. پس از سرد شدن نمونه‌ها در دمای اتاق، میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٦٩٥ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول اسید اسکوربیک در غلظت‌های ٠، ٥، ١٠، ٢٠، ٥٠ و ١٠٠ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل بر حسب میزان اکی والان اسید اسکوربیک (میلی‌گرم در گرم ماده خشک) بیان شد (Pieto *et al.*, 1999).

خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد

تعیین قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH Scavenging طبق روش Yan and Chen (١٩٩٥) انجام گرفت. دو میلی‌لیتر عصاره از غلظت‌های مختلف به دو میلی‌لیتر از محلول متانولی ٠/١٦ میلی مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده و ٣٠ دقیقه در دمای محیط و در فضای تاریک، نگهداری شده سپس جذب محلول در طول موج ٥١٧ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

$$RSA\ \% = ١ - (\frac{A_{sample}}{A_{control}})$$

که در آن:

RSA: درصد خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد

A_{sample}: جذب نمونه بعد از زمان مورد نظر

$A_{control}$: جذب کنترل بعد از زمان مورد نظر

قدرت کاهندگی آهن

قدرت کاهندگی آهن در عصاره‌های جلبکی (Chu *et al.*, 2000)، به شرح ذیل انجام پذیرفت. ابتدا ٠/١ مولار بافر فسفات پتاسیم (pH= ٦/٦) (٢/٥ میلی‌لیتر) و ١٪ فریسیانات پتاسیم (٢/٥ میلی‌لیتر) با ١ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف نمونه مخلوط شد. این محلول در دمای ٥٠ درجه سانتی‌گراد و به مدت ٢٠ دقیقه نگهداری شده، سپس به آن ٢/٥ میلی‌لیتر اسیدتری کلرو استیک اضافه شد. در ادامه، ٢/٥ میلی‌لیتر از آب و ٠/٥ میلی‌لیتر از کلرید آهن (III) به ٢/٥ میلی‌لیتر از مخلوط اضافه شده، سپس این محلول در دمای ثابتی به مدت ٣٠ دقیقه نگهداری شد تا در آن تغییر رنگ ایجاد شود. جذب نمونه‌ها در طول موج ٧٠٠ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول اسیداسکوربیک در غلظت‌های ٠، ٥، ١٠، ٢٠، ٥٠ و ١٠٠ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد و قدرت کاهندگی آهن بر حسب میزان اکی‌والان اسید اسکوربیک (میلی‌گرم در گرم ماده خشک) بیان شد.

Archive of SID

www.SID.ir

تجزیه و تحلیل آماری

برای طراحی آزمایشات از نرم‌افزار Minitab (V.14) استفاده شد. طرح مورد استفاده برای انجام آزمایشات تاگوچی L9 بود. پس از انجام آزمایشات داده‌های حاصل برای هر عامل، با آزمون آنالیز واریانس و با استفاده از نرم‌افزار SASS مورد آنالیز قرار گرفت. از نرم‌افزار Excel2007 برای رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج

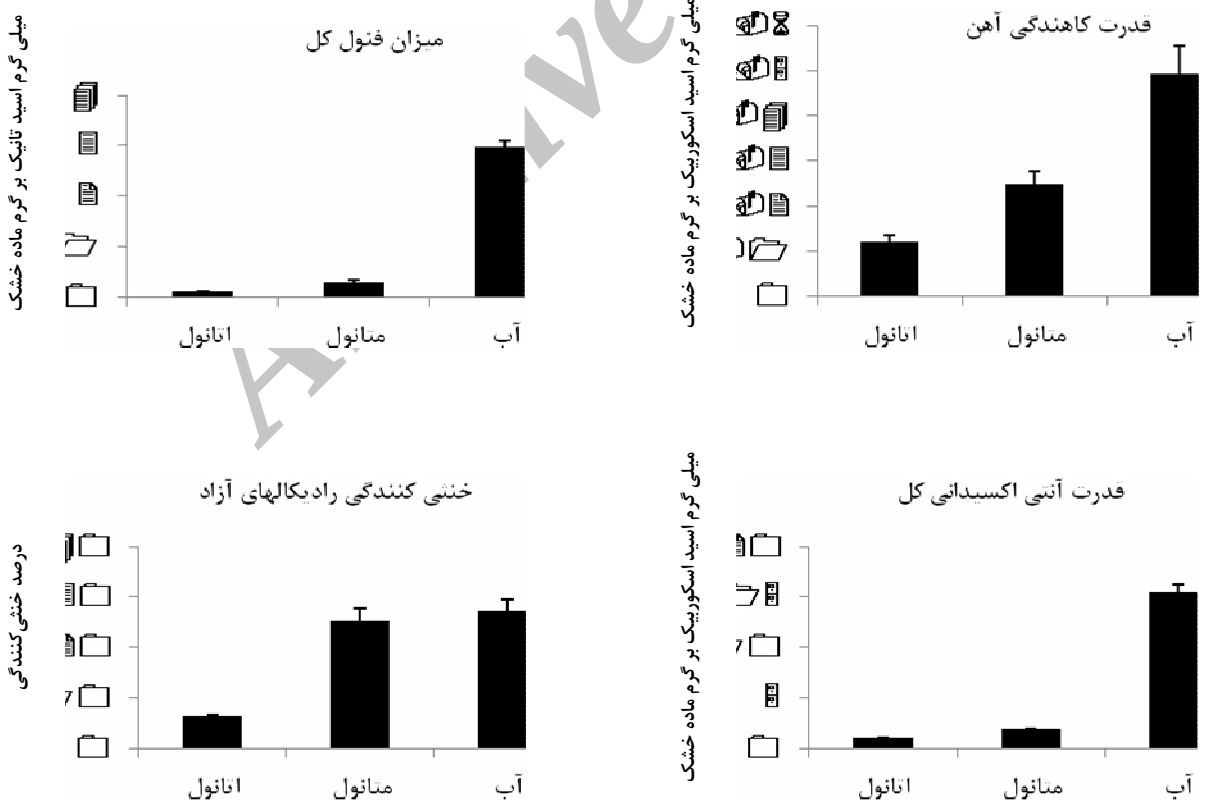
حلال

میزان ترکیبات فنولی، قدرت کاهندگی آهن، درصد خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل در استخراج با ۳ حلال آب، متانول و اتانول در شکل ۱ آورده شده است.

میزان فنول کل در عصاره آبی (۰/۱۲±۲/۹۷)، به طور معنی داری از عصاره‌های متانولی (۰/۰۵±۰/۲۷) و اتانولی (۰/۰۱±۰/۱۰) بیشتر بود (p<۰/۰۵). قدرت کاهندگی آهن (۰/۰۶±۰/۴۹) و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل (۰/۷۷±۱۵/۵) نیز در عصاره‌های آبی بالاتر از عصاره‌های دیگر بود (p<۰/۰۵). قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد در عصاره آبی (۲/۳۳±۲۷/۳) بیشتر از عصاره متانولی (۲/۳۸±۲۵/۲) بود ولی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

قدرت مایکروویو

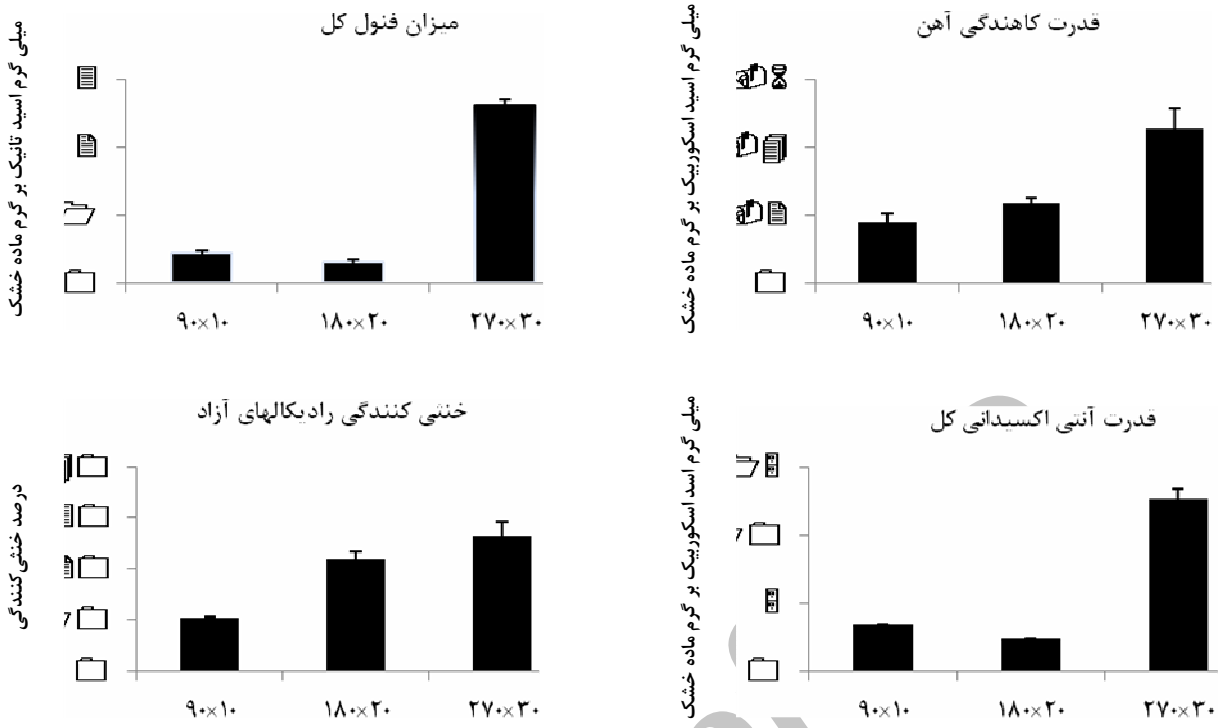
میزان ترکیبات فنولی قدرت کاهندگی آهن، خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH و آنتی‌اکسیدانی کل در عصاره‌های جلبکی در سه قدرت مایکروویو مورد سنجش قرار گرفت (شکل ۲).



نمودار (۱) میزان فنول کل (بر حسب میلی‌گرم اسید تانیک بر گرم ماده خشک)، قدرت کاهندگی آهن (بر حسب میلی‌گرم اسیداسکوربیک بر حسب گرم ماده خشک)، درصد خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل (بر حسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک بر حسب گرم ماده خشک) در استخراج با ۳ حلال (آب، متانول و اتانول)

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار (۲) میزان فنول کل (بر حسب میلی‌گرم اسید تانیک بر گرم ماده خشک)، قدرت کاهندگی آهن (بر حسب میلی‌گرم اسیداسکوربیک بر حسب گرم ماده خشک)، درصد خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل (بر حسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک بر حسب گرم ماده خشک) در استخراج با ۳ قدرت و زمان مایکروویو (۹۰ وات در۱۰ دقیقه، ۱۸۰ وات در ۲۰ دقیقه و ۲۷۰ وات در ۳۰ دقیقه)

مقادیر فنول کل (۰/۱۰±۲/۵۹)، قدرت کاهندگی آهن (۰/۰۶±۰/۴۵)، قدرت آنتی‌اکسیدانی کل (۰/۷۵±۱۲/۶) و قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد (۲۶/۶٪) در تیمار استخراج با قدرت مایکروویو ۲۷۰ و زمان ۳۰ دقیقه به طور معنی داری از سایر تیمارها بالاتر بود (p<۰/۰۵).

نسبت ماده خشک به حلال

میزان ترکیبات فنولی قدرت کاهندگی آهن، خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل در سه نسبت جلبک به حلال در شکل ۲ آورده شده است.

نسبت جلبک به حلال ۱ به ۲۰ دارای میزان فنول کل (۰/۱۳±۲/۷۵)، قدرت کاهندگی آهن (۰/۰۸±۰/۶۵)، قدرت آنتی‌اکسیدانی کل (۰/۸۱±۱۴/۱) و قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد (۴۱/۸٪) بود که از سایر تیمارها به طور معنی‌داری بیشتر بود (p<۰/۰۵).

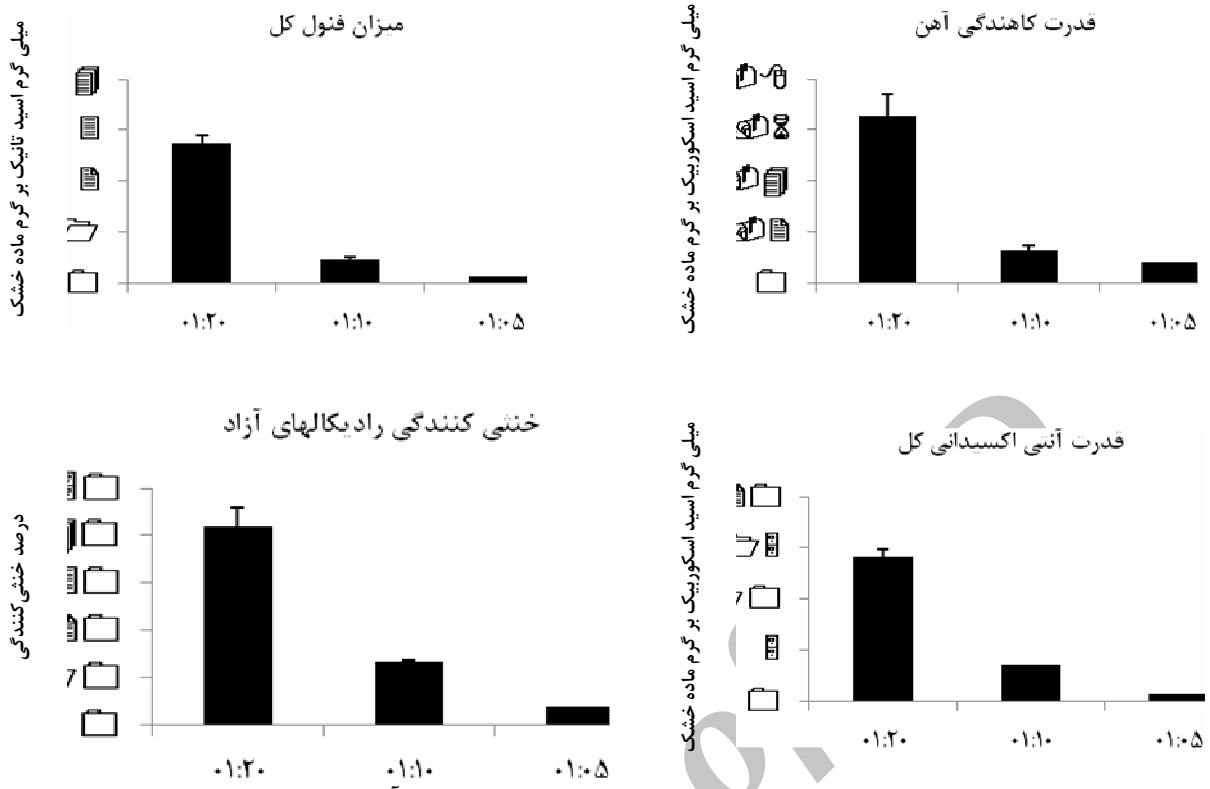
بحث و نتیجه گیری

در بین ترکیبات عملگر مختلف بیشترین تحقیقات صورت گرفته بر روی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی انجام شده است. این ترکیبات کاربرد وسیعی در صنایع غذایی دارند (Mendiola *et al*., 2008). اولین مرحله برای جستجوی یک سیستم آنتی‌اکسیدانی، شناخت فعالیت و مکانیسم آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد. فاکتورهایی از قبیل حلال (Lopez *et al*., 2011)، نسبت ماده خشک به حلال (Pinelo *et al*., 2005) و زمان استخراج (Rusak *et al*., 2008) بر میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مؤثر است.

حلال

معمولاً انتخاب حلال‌ها برای استخراج با توجه به هدفی که وجود دارد، ماهیت ترکیبات، خصوصیات فیزیکوشیمیایی ماده، قابل دسترس بودن مواد و تجهیزات انجام می‌شود (Rebey *et al*., 2011). در استخراج ترکیبات فنولی، قطبیت حلال‌ها در افزایش حلالیت فنول‌ها نقش بسیار مهمی دارد (Nazdk and shahidi, 2006). تاکنون متانول، اتانول، آب، بوتانول، استن و کلروفرم برای استخراج ترکیبات فنولی مورد استفاده قرار

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۳) میزان فنول کل (بر حسب میلی‌گرم اسید تانیک بر گرم ماده خشک)، قدرت کاهندگی آهن (بر حسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک بر حسب گرم ماده خشک)، خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل (بر حسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک بر حسب گرم ماده خشک) در سه نسبت جلبک به حلال (۱:۲۰، ۱:۱۰، ۱:۵).

گرفته‌اند (Chandini *et al.*, 2008; Duan *et al.*, 2006; Ganesan *et al.*, 2008; Lim *et al.*, 2002). بنابراین تعیین یک روش و حلال مناسب برای استخراج فنول‌های طبیعی بسیار مشکل می‌باشد. با توجه به شکل ۱، استخراج با آب دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی بود ($p<۰/۰۵$). میزان ترکیبات فنولی عصاره‌های متانولی نیز بیشتر از عصاره‌های اتانولی بود. در مطالعه‌ای که بر خواص آنتی‌اکسیدانی سه گونه جلبک قهوه‌ای صورت گرفته بود، فراکسیون[1] آبی گونه سارگاسوم (*Sargassum marignatum*) و توربیناریا (*Turbinaria conides*) ترکیبات فنولی بالاتری نسبت به بقیه فراکسیون‌های یک گونه داشت (Chandini *et al.*, 2008).

در مطالعه‌ای که تأثیر حلال‌های مختلف (آب، اتانول، متانول، آب/متانول) بر ترکیبات فنولی یک گونه جلبک مورد آزمایش قرار گرفت، آب بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل را داشت و حلال آب/متانول نیز پس از آب دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی بود (Lopez *et al.*, 2011). در چای مخلوط اتانول و آب برای استخراج فلاونوئیدها بسیار مؤثرتر از متانول و استن بود (Wang and Helliwell, 2001)، ولی آب برای استخراج کاتچین ها بسیار مؤثرتر از متانول ۸۰٪ و اتانول ۷۰٪ بود (Khokhar and Magnusdotti, 2002). متانول استفاده شده برای پلی فنول‌های چای (Yao *et al.*, 2006) و استن ۵۰٪ برای استخراج پلی‌فنول‌های گندم از آب کارآمدتر بود (Zhou and Yu, 2004). مانند دیگر تحقیقات انجام گرفته در این آزمایش نیز حلال نقش مؤثری در میزان ترکیبات فنولی داشت. این اثر در تحقیق حاضر تشدید شده است و قدرت استخراج ترکیبات فنولی در عصاره‌های آبی چندین برابر عصاره‌های متانولی و اتانولی است. قطبی بودن بیشتر آب نسبت به دو حلال دیگر باعث تأثیر بیشتر امواج مایکروویو بر حلال گشته و

1. Fraction

Archive of SID
www.SID.ir

استخراج بهتری نسبت به حلال‌های اتانولی و متانولی انجام گرفته است. از دلایل دیگر مناسب‌تر بودن حلال آبی در استخراج ترکیبات فنولی، ویژگی‌های ساختاری گونه مورد مطالعه می‌باشد. همان‌گونه که اشاره شد، شاخص‌های زیادی بر استخراج تأثیر می‌گذارد و قبل از انجام آزمایش نمی‌توان تصویری روشن از تفاوت‌های بین حلال‌ها و دیگر عوامل پیش‌بینی کرد.

همان‌گونه که در شکل ١ مشاهده می‌شود، هر چند قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در عصاره‌های آبی بیشتر از دو عصاره دیگر است ولی تفاوت آن به اندازه تفاوت ترکیبات فنولی نیست. محققین دیگر نیز ذکر کرده‌اند که نسبت بین ترکیبات فنولی و قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد لزوماً رابطه مستقیم و همسانی نیست (Chandini *et al*., 2008). برخی از ترکیبات فنولی قدرت آنتی رادیکالی داشته و در برخی موارد سایر مواد نیز مسبب خاصیت آنتی‌رادیکالی می‌باشند (Kahkonen *et al*., 1999). قدرت کاهندگی آهن و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل نمونه‌های آبی به طور معنی‌داری از دو حلال دیگر بیشتر بود ($p <$ ٠/٠٥).

قدرت و زمان مایکروویو

ترکیبات فنولی موجود در عصاره به شدت تحت تأثیر زمان استخراج می‌باشد (Rusak *et al*., 2008). زمانی که قصد کاهش هزینه‌های فرایند استخراج را داشته باشیم، دما و زمان دو فاکتور مهم برای بهینه‌سازی محسوب می‌شوند. در استخراج با روش‌های مختلف داده‌های مختلفی وجود دارد که بعضی از آن‌ها زمان‌های کوتاه‌تر استخراج را و تعدادی زمان‌های بلندتر را مناسب‌تر دانسته‌اند (Spingo and De Faveri, 2007; Pinelo *et al*., 2005). عصاره‌های استخراج شده در قدرت ٢٧٠W و ٣٠ دقیقه، دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی قدرت کاهندگی آهن و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل بودند، ولی بین W ٩٠ در ١٠ دقیقه و ١٨٠W در ٢٠ دقیقه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p<٠/٠٥). این نتایج حاکی از آن است که قدرت‌های ٩٠ و ١٨٠ در زمان‌های ١٠ و ٢٠ توانایی ناچیزی در استخراج ترکیبات فنولی دارند و با افزایش قدرت و زمان توانایی استخراج بالاتر می‌رود. اما با توجه به اینکه در قدرت‌های بالاتر سوختن و کف کردن نمونه‌ها رخ می‌دهد بهترین تیمار ٢٧٠ وات می‌باشد.

نسبت ماده خشک به حلال

نسبت ماده خشک به حلال یک نسبت مهم در بهینه‌سازی استخراج محسوب می‌شود. افزایش نسبت حلال به ماده خشک در استخراج ترکیبات فنولی تفاله انگور باعث افزایش میزان عصاره استخراج شده گشت (Pinelo *et al*., 2005). در استخراج عصاره‌های اتانولی برگ گیاه بالم (*Melissa officinalis* L.) نیز با افزایش میزان حلال ترکیبات فنولی بیشتری استخراج شد (Herodez *et al*., 2003). محققین دیگر نیز نسبت ماده خشک بر حلال را در میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی استخراج شده در توت مؤثر دانستند (Cacace and Mazza, 2003). با توجه به حلال مورد استفاده و با توجه به شیوه انتقال ماده توسط آن، بالاترین نسبت ماده خشک به حلال دارای بیشترین میزان ماده جامد بدست آمده بود (Spingo *et al*., 2007). عصاره استخراج شده با نسبت ١ به ٢٠ جلبک به حلال دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی بود. میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی کل، خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد، و قدرت کاهندگی آهن نیز در نسبت استخراج ١ به ٢٠ به طور معنی‌داری از دو نسبت دیگر بالاتر بود. این تفاوت در نسبت ١ به ١٠ و ١ به ٥ نیز دیده شد. در مطالعه‌ای که روی بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنولی دانه انگور با استفاده از مایکروویو انجام شد، نسبت ماده خشک به حلال و میزان اتانول موجود در حلال از مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار در میزان ترکیبات فنولی بودند (Li *et al*., 2011). در واقع شانس حضور ترکیبات زیست فعال در حلال با افزوده شدن حلال به سبب افزایش نرخ تراوش بالاتر می‌رود. با توجه به اینکه توانایی نسبت‌های ماده خشک به حلال ١ به ١٠ و ١ به ٥ استخراج به اندازه نسبت ١ به ٢٠ را ندارند، تیمار ١به ٢٠ تیمار بهینه استخراج محسوب می‌شود. در واقع این دو نسبت حاوی میزان ماده خشک

Archive of SID

www.SID.ir

بالاتر از توان حلال‌ها بوده و بالاتر بودن میزان ماده خشک در حلال تا اندازه‌ای اثر منفی بر عملکرد استخراج گذاشته و لذا میزان کمتری از ترکیبات فنولی از ماده خشک (جلبک) به سمت حلال حرکت می‌کنند.

تیمار بهینه

یکی از روش‌های بهینه‌سازی در طرح تاگوچی، مقایسه میانگین هر عامل پس از طراحی آزمایش‌ها و انجام آن می‌باشد که در این آزمایش نحوه محاسبه روش بهینه بر همین اساس انجام شد. با توجه به نتایج، عصاره آبی استخراج شده در قدرت و زمان ۲۷۰ وات ×۳۰ دقیقه و با نسبت جلبک به حلال ۱ به ۲۰، به عنوان تیمار بهینه استخراج انتخاب شد. مناسب‌تر بودن حلال آبی در برابر اتانول و متانول در این مطالعه نکات مثبت استفاده از مایکروویو برای استخراج ترکیبات فنولی در این گونه باشد. زیرا مناسب‌تر بودن آب برای استخراج علاوه بر ارزان‌تر شدن فرآیند استخراج این ترکیبات، باعث کاهش آلودگی محیط زیست در اثر استفاده از حلال‌های شیمیایی می‌شود. پس از اتمام مرحله اول آزمایشات ترکیبات فنولی تیمار بهینه مورد سنجش قرار گرفت این عصاره حاوی ترکیبات فنولی اسید گالیک (۷/۳۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، اسید پروتئوکاتچوئیک (۲۹/۹۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، اسید جنتیستیک (۱۵/۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و اسید هیدروکسی بنزوئیک (۱۴/۶۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود. میزان ترکیبات فنولی کل، ۷/۵۳ TAE بود. ترکیبات فنولی در یک گونه سارگاسوم (*Sargassum* sp.)، در تایلند ۱۳/۴۲ TAE بود (Yongthong *et al.*, 2009). قدرت آنتی‌اکسیدانی کل در تیمار بهینه ۳۶/۴۵ بر حسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک در گرم ماده خشک بود. بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی کل در مطالعه‌ای بر جلبک‌های هند ۰/۳۱ بر گرم ماده خشک بود (Chandini *et al.*, 2008). این اختلاف می‌تواند به دلیل تفاوت نحوه استخراج و نوع گونه باشد. اطلاعات اندکی در مورد قدرت آنتی‌اکسیدانی کل وجود دارد و نمی‌توان مقایسه جامعی در این فاکتور انجام داد. در مطالعه‌ای بر گیاهان خشکی‌زی، دامنه ۲۴۵ تا ۳۷۶ میلی‌گرم بر گرم عصاره گزارش گردیده است (Kumaran and Karunakaran, 2007). قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد در تیمار بهینه ۶۰/۰۴٪ بود. با توجه به نتایج این تحقیق، می‌توان اظهار داشت که جلبک قهوه‌ای سارگاسوم منبع مناسبی برای استخراج ترکیبات زیست فعال بوده و با توجه به وفور این گونه در آب‌های خلیج فارس و عدم استفاده از این منبع، بهره برداری از این جلبک و دیگر جلبک‌های خلیج فارس امری مناسب و ضروری به نظر می‌رسد.

References

- Adewuyi, Y.G., Oyenekan, B.A., 2007. Optimization of a Sonochemical Process Using a Novel Reactor and Taguchi Statistical Experimental Design Methodology. Industrial & Engineering Chemistry Research, 46, 411-420.
- Beejmohun, V., Fliniaux, O., Grand, É., Lamblin, F., Bensaddek, L., Christen, P., Kovvensky, J., Fliniaux, M., Mensnard, F., 2007. Microwave-assisted Extraction of the Main Phenolic Compounds in Flaxseed. Phytochemical Analysis, 18, 275–282.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology (LWT), 28, 25-30.
- Cacace, J.E., Mazza, G., 2003. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. Journal of Food Engineering, 59, 379-389.
- Cheah, E.L.C., Heng, P.W.S., Chan, L.W., 2010. Optimization of supercritical fluid extraction and pressurized liquid extraction of active principles from *Magnolia officinalis* using the Taguchi design. Separation and Purification Technology, 71, 293–301.
- Chandini, S.K., Ganesan, P., Bhaskar, N., 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. Food Chemistry, 107, 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. Food Science and Technology (LWT), 41, 1067–1072.

Archive of SID

www.SID.ir

- Chen, Y., Cai, L., Zhao, C., Xu, H.C., Cao, C.Y., Liu, Y., 2008. Spectroscopic, stability and radical-scavenging properties of a novel pigment from gardenia. Food Chemistry, 109, 269–277.
- Chkhikvishvili, I.D., Ramazanov, Z.M., 2000. Phenolic substances of brown algae and their antioxidant activity. Applied Biochemistry and Microbiology, 36, 289-291.
- Chu, Y.H., Chang, C.L., Hsu, H.F., 2000. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80, 561- 566.
- Duan, X.J., Zhang, W.W., Li, X.M., Wang, B.G., 2006. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga (*Polysiphonia urceolata*). Food Chemistry, 95, 37–43.
- El-Baky, A., El-Baz, H.H., El-Baroty, F.K. 2009. Natural preservative ingredient from marine alga Ulva lactuca L. International Journal of Food Science and Technology, 44, 1688-1695.
- Hanna, H., El-Baky, A., Hussein, M.M., El-Baroty, G., 2008. Algal extracts improve antioxidant defence abilities and salt tolerance of wheat plant irrigated with sea water. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 7, 2812-2832.
- Herodez, S.S., Hadolinb, M., Skergeta, M., Kneza, Z., 2003. Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis L.*) leaves. Food Chemistry, 80, 275-282.
- Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J., Pihlaja, K., Kujala, T.S., Heinonen, M., 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 3954-3962.
- Kamran khan, M., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A., Dangles, O., Chemat, F., 2010. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (*Flavanone glycosides*) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. Food Chemistry, 119, 851-858.
- Khokhar, S., Magnusdottir, S.G.M., 2002. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 565-570.
- Kuda, T., Tsunekawaa, M., Goto, H., Araki, Y., 2005. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. Journal of Food Composition Analaysis, 18, 625-633.
- Kumar, K.S., Ganesan, K., Subba Rao, P.V., 2008. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty – An edible seaweed. Food Chemistry, 107, 289–295.
- Kumaran, A., Karunakaran, J.R., 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. LWT - Food Science and Technology, 40, 344-352.
- Lopez, A., Rico, M., Rivero, A., Tangil, D.M.S., 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. Food Chemistry, 125, 1104-1109.
- Lim, S.N., Cheung, P.C.K., Ooi, V.E.C., Ang, P.O., 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 3862–3866.
- Mahamuni, N.N., Adewuyi, Y.G., 2010. Application of Taguchi method to investigate the effects of process parameters on the transesterification of soybean oil using high frequency ultrasound. Energy and Fuels, 24, 2120–2126.
- Mandal, V., Mohan, Y., Hemalatha, S., 2007. Microwave assisted extraction-An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. Pharmacological Reviews, 1, 7–18.
- Mendiola, J.A., Rodríguez-Meizoso, I., Señoráns, F.J., Reglero, G., Cifuentes, A., Ibáñez, E., 2008. Antioxidants in plant foods and microalagae extracted using compressed fluids. Electronic Journal of Environment, Agricultural and Food Chemistry, 7, 3301-3309.
- Medina, I., González, M.J., Lois, S., Iglesias, J., Maestre, R., Pazos, M., 2008. Antioxidant mechanisms involved in the activity of natural procyanidins in seafood products. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 7, 3315-3319.
- Naczk, M., Shahidi, F., 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analaysis, 41, 1523–1542.
- Onofrejova, L., vasickova, J.V., Klejdus, B., Stratil, P., Misurcova, L., Kracmar, S., Kopecky, J., Vacek, J., 2010 . Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analaysis, 51, 464-470.
- Parys, S., Kehrausa, S., Kricka, A., Glombitzaa, K., Carmelib, S., Klimoc, K., Gerhäuserc C., König., M., 2010. In vitro chemopreventive potential of fucophlorethols from the brown alga Fucus vesiculosus L. by

Archive of SID

www.SID.ir

anti-oxidant activity and inhibition of selected cytochrome P450 enzymes. Phytochemical Analysis, 71, 221-229.
- Pan, Y., He, Ch., Wang, H., Ji, X., Wang, K., Liu, P., 2011. Antioxidant activity of microwave-assisted extract of Buddleia officinalis and its major active component . Food Chemistry, 121, 497- 502.
- Pazos, M., Gallardo, J.M., Torres, J.L., Medina, I., 2005. Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. Food Chemistry, 92, 547-557.
- Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sinerio, J., Josea, N.M., 2005. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 2111-2117.
- Prieto, P., Pineda, M., 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, 337–341.
- Pokkorny, J., 2008. Application of phenolic antioxidants in food products. Electronic Journal of Environmental. Agricultural and Food Chemistry, 7, 3320-3324.
- Proestos, C., Komaitis, M., 2008. Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. Food Science and Technology (LWT), 41, 652–659.
- Rebey, I.B., Bourgou, S., Debez, I.B.S., Karoui, I.J. , Sellami, I.H., Msaada, K., Limam, F ., Marzouk, B., 2011. Effects of extraction solvents and provenances on phenolic contents and antioxidant activities of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. Food and Bioprocess Technology, 5, 2827-2836
- Roy, R.K., 1990. A primer on the taguchi method.Van nostrand reinhold, New York (USA), 255pp.
- Rusak, G., Komes, D., Likic, S., Horzicb, D., Kovac, M., 2008. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. Food Chemistry, 110, 852-858.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A.J, 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144-158.
- Spigno, G., Tramelli, L., De Faveri, D.M., 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. Journal of Food Engineering, 81, 200–208.
- Spigno, G., Faveri, D.M., 2009. Microwave-assisted extraction of tea phenols: A phenomenological study. Journal of Food Engineering, 93, 210-217.
- Tang, S., Kerry, J.P., Sheehan, D., Buckley, D.J., Morrissey, P.A., 2001. Antioxidative effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. Food Research International, 34, 651-657.
- Wanasundara, N.U., Shahidi, F., 1998. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. Food Chemistry, 63, 335-342.
- Wang, B., Zhang, W., Duan, X., Li, X., 2009. In vitro antioxidative activities of extract and semi-purified fractions of the marine red alga, *Rhodomela confervoides* (Rhodomelaceae). Food Chemistry, 113, 1101-1105.
- Wang, H., 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.
- Yao, L.H., Jiang, Y.M., Caffin, N., D'Arcy, B., Datta, N., Liu, X., Singanusong, R., Xu, Y., 2006. Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. Food Chemistry, 96, 614-620.
- Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, N., Phromkunthong, W., 2009. Antioxidant activities of four edible seweeds from the southern coast of thiland. Plant foods for Human Nutrition, 64, 218-223.
- Zhou, K., Yu, L., 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. Food Science and Technology (LWT), 37, 717-721.

Archive of SID

www.SID.ir

Optimization of Extraction of Antioxidant Compounds in Microwave-Assisted Extracts of Brown Algae *Sargassum angustifolium*

A. Babakhani Lashkan[1], M. Rezaei[1]*, K. Rezaei[2] and Seyed Jafar Seifabadi[3]

[1] Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Mazandaran, Iran

[2] Department of Food Science, Engineering and Technology, Faculty of Biosystems Engineering, University of Tehran, Karaj, Iran

[3] Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Mazandaran, Iran

(Received: 27-01-2012 - Accepted: 19-06-2012)

Abstract

Microwave-assisted extraction was applied for extraction of algal extracts from brown algal species (*Sargassum angustifolium*). Extraction condition consists of three solvents (ethanol, methanol and water), three extraction times and powers of microwave (10min×90W, 20min×180W and 30 min×270W) and three ratios of algae to solvent (1:5, 1:10 and 1:20). All the experimental parameters were applied at three levels according to Taguchi's statistical design. Total phenol contents, individual phenolic compounds, DPPH scavenging activity, ferrous reducing power and total antioxidant activity of the extracts were determined. According to results, the best condition for extraction of antioxidant compounds from *S.angustifolium* was aqueous extract, ratio of sample to solvent 1 to 20 and 30 minute extraction time and microwave power of 270 W. The TPC, DPPH scavenging activity, FRAP and TAA in optimized treatment are respectively; 2.60 TAE, 1.80 ASAE, %60.04 and 36.45 ASAE. The water extract of Sargassum have phenolic compund such as, gallic Acid (7.33 µg/ml), Protocatechuic acid (29.93 µg/ml) gentistic acid (15.15 µg/ml) and hydroxy benzoic acid (14.61 µg/ml). Results show that this algae was suitable for the extraction of antioxidant compounds.

Keywords: Algal extract, Bioactive compounds, Antioxidant, Sargassum

E-mail: rezai_ma@modares.ac.ir Fax: +981226253499 Tel: +981226253101 *Corresponding author:

Archive of SID

www.SID.ir