Archive of SID

اقیانوس‌شناسی/ سال دهم/ شماره ۳۸/ تابستان ۱۳۹۸/۱۰/۱۰-۱

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:35 IRDT on Wednesday May 20th 2020

بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنولی کل دو نوع جلبک دریایی سارگاسوم (*Sargassum* sp.) و کاهو دریایی (*Ulva* sp.) در آب‌های ساحلی چابهار به روش اولتراسونیک

مرتضی ضیاءالدینی[1*]، غلامرسول بسکله[2]، میرمهدی زاهدی دیزجی[3]

۱- *استادیار گروه شیمی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، پست الکترونیکی: morteza_ziaadini@yahoo.com*

۲- *کارشناس پژوهشی مرکز اقیانوس‌شناسی چابهار، پژوهشگاه ملی اقیانوس‌شناسی و علوم جوی، تهران، پست الکترونیکی: baskaleh@yahoo.com*

۳- *استادیار گروه شیمی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، پست الکترونیکی: m.zahedi@cmu.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۰ ** نویسنده مسوول* *تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۱۹*

چکیده

ترکیبات فنولی خواص آنتی اکسیدانی دارند که می‌توانند در درمان برخی بیماری‌های مزمن و مخرب موثر باشند. هدف ازاین مطالعه تعیین شرایط بهینه برای استخراج ترکیبات فنولی کل ازجلبک‌های سارگاسوم (*Sargassum* sp.) و کاهوی دریایی (*Ulva* sp.) در آبهای ساحلی چابهار بود. عصاره‌های این دو نوع جلبک به روش اولتراسونیک استخراج شدند و پارامترهای مختلف شامل نوع حلال (متانول، اتانول، استون و آب)، اندازه ذرات نمونه (۶۳، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرون) و مقدار نمونه خشک (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ گرم) در ۱۰ میلی‌لیتر حلال و در زمان (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) و دمای اولتراسونیک (۲۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد) بهینه‌سازی شدند. تعیین ترکیبات فنولی کل با معرف فولین سیوکالتو با منحنی استاندارد گالیک اسید و به روش اسپکتروفتومتری انجام گرفت. بیشترین مقدار فنولی کل با حلال آب، اندازه ذرات ۱۲۵ میکرون برای نمونه سارگاسوم و ۲۵۰ میکرون برای نمونه کاهو دریایی، مقدار نمونه خشک ۰/۱ گرم سارگاسوم در ۱۰ میلی‌لیتر حلال و۰/۲ گرم کاهو دریایی در ۱۰ میلی‌لیتر حلال، زمان اولتراسونیک ۱۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای هر دو جلبک به‌دست آمد. تحت شرایط بهینه بیشترین مقدار ترکیبات فنولی کل برای جلبک سارگاسوم ۰/۲۷۱±۵/۵۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم نمونه خشک و برای جلبک کاهو دریایی به میزان ۰/۲۵۸±۲/۰۴۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم نمونه خشک به دست آمد. نتایج این تحقیق نشان داد که جلبک سارگاسوم می‌تواند به عنوان منبع ترکیبات با خواص آنتی اکسیدان طبیعی دریایی در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: *ترکیبات فنولی، آب‌های ساحلی چابهار، سارگاسوم، کاهو دریایی، اولتراسونیک، فولین سیو کالتو.*

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:35 IRDT on Wednesday May 20th 2020

۱. مقدمه

آنتی اکسیدان‌ها به دو صورت طبیعی و سنتزی وجود دارند آنتی اکسیدان‌های طبیعی تاکنون از انواع مختلف گیاهان، دانه‌های روغنی، حبوبات، سبزیجات، میوه، برگ، ساقه و ریشه آن‌ها جدا شده‌اند. در میان این آنتی اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنولی ازاهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Wettasinge et al., 1999 and Yuan et al., 2006). زیرا نقش مهمی در حفاظت ارگانیسم‌ها علیه انواع رادیکال‌های آزاد ایفا می‌کنند (Stratil et al., 2006). رادیکالهای آزاد، یک یا چند الکترون غیرجفت در اوربیتال خالی دارند و شامل سوپراکسیدآنیون(O^{2-})، هیدروکسیل(OH)، پراکسیل(ROO)، آلکوکسیل(RO)، و نیتریک اسید می‌باشند که اکسیژن مرکزی آنها، به عنوان ROS (Reactive oxygen Species) شناخته می‌شوند (Zou et al., 2004). و نقش یک همزاد در ارگانیسم‌ها را بازی می‌کند. آنها مستقیما به مولکول‌های بیولوژیک، همچون لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA، RNA و آنزیم‌ها حمله می‌کنند (Duan et al., 2006). گمان می‌رود که مهار آن‌ها، برای کاهش سطح استرس اکسیداتیو ارگانیسم، در جلوگیری و درمان برخی بیماری‌های مزمن و مخرب مانند، پیری، بیماری‌های قلبی و عروقی، التهاب، سکته، دیابت شیرین، سرطان و... موثر باشند (Fu et al., 2011and Wu et al., 2008).

علاوه بر گیاهان خشکی، در سال‌های اخیر، بسیاری از منابع دریایی به عنوان گزینه‌ای عالی، برای کاوش ترکیبات زیست فعال مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته‌اند (Kuda et al., 2005). جلبک‌ها علاوه بر نقش‌های بوم‌شناختی بسیار مهمی که در طبیعت دارند، به دلیل غنی‌بودن از مواد معدنی و ویتامین‌ها، قرن‌ها به عنوان غذایی سالم در رژیم غذایی انسان و یا برای مصارف دارویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Khan and Satam, 2003).

جلبک‌های دریایی برخلاف وجود مقادیر بالایی از فیبرهای رژیمی، اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه، پروتئین‌ها و مقادیر پایین چربی‌های اشباع، که آن‌ها را به منبعی منحصر به فرد برای ساخت فرآورده‌های غذایی و دارویی فرآسودمند تبدیل می‌کند، دارای خواص آنتی اکسیدانی نیز می‌باشند. این ویژگی‌ها به دلیل وجود ترکیبات فنولی در آن‌هاست (Rodriguez et al., 2010). و این مهم، امکان استفاده از آن‌ها را به عنوان آنتی اکسیدان‌های طبیعی فراهم آورده است (Wang et al., 2009). ترکیبات فنولی یک گروه از متابولیت‌های ثانویه هستند که میزان و تنوع آن‌ها در حین رشد گیاهان تحت تاثیر 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 آنتی اکسیدانی بیشتری تولید کنند (Lopez et al., 2011). جلبک‌های موجود در منابع دریایی جنوب کشور یکی از ظرفیت‌های زیستی ارزشمند کشور هستند که توجه چندانی به آنها نشده است و برنامه‌ریزی اصولی و مدونی برای بهره‌برداری از این ذخائر دریایی وجود ندارد. دریای عمان به دلیل قرار گرفتن در عرض‌های پایین دارای گونه‌های جلبکی متنوعی می‌باشد. یک دسته از این جلبک‌ها خانواده سارگاسوم است که از مهمترین رده جلبک‌های قهوه‌ای بوده که در سطح جهان پراکنده‌اند و شامل بیش از ۴۰۰ گونه می‌باشند. میزان بسیار زیادی از این نوع جلبک و همچنین جلبک کاهو دریایی در خلیج چابهار وجود دارد. لذا این جلبک‌ها با پراکنشی که در سواحل ایران و به ویژه خلیج چابهار و دریای عمان دارند می‌توانند به عنوان گونه‌ای بالقوه جهت بررسی وجود ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گیرند.

ترکیبات بیولوژیکی فعال موجود در جلبک‌ها دارای عملکردهای وسیعی از جمله به عنوان ضد تومور، ضد باکتری، ضد قارچ و فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشند (Volka et al., 2006). از طرفی آنتی اکسیدان‌های مصنوعی نظیر PG[1]، TBHQ[2]، BHT[3] و BHA[4] به طور تجاری در دسترس هستند و به طور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما نگرانی‌هایی در مورد سمیت آن‌ها وجود داشته که باعث محدودیت استفاده از آن‌ها در صنعت غذایی شده است (Souza et al., 2011) این مهم ضرورت استفاده از ترکیبات طبیعی با خواص آنتی اکسیدانی را به عنوان جایگزین آنتی اکسیدان‌های مصنوعی آشکار می‌کند (Meenakshi et al., 2012).

فعالیت‌های آنتی اکسیدانی در برخی از جلبک‌های قرمز، قهوه‌ای و سبز مورد مطالعه قرار گرفته و نشان داده شده است که خواص آنتی اکسیدانی عصاره جلبک‌های دریایی مختلف با هم تفاوت دارند و متناسب با محتوای ترکیبات آنتی اکسیدانی آنهاست (Zubia et al., 2007).

[1] Propyl gallate
[2] Tert-Butylhydroquinone
[3] Butylated hydroxy toluene
[4] Butylated hydroxyanisole

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:35 IRDT on Wednesday May 20th 2020

Banbang و همکاران (۲۰۱۳) محتوی پلی فنولی را در جلبک قهوه‌ای با حلال‌های مختلف را در شرق جاوا مورد بررسی قرار داده‌اند. از تحقیقات مهم دیگر روی تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های جلبکی می‌توان به مطالعات انجام شده بر روی جلبک‌های سبز (El-Baky et al., 2009)، جلبک‌های قرمز (Duan et al., 2006; Gansen et al., 2008; Kumar et al., 2008) جلبک‌های قهوه‌ای (Chandini et al., 2008; Chkhikvishvili and Ramazanov, 2000; Kuda et al., 2005) اشاره نمود.

در ایران تحقیقات فراوانی درخصوص ترکیبات آنتی اکسیدان گیاهان زمینی صورت گرفته ولی در مورد جلبک‌ها این تحقیقات اندک بوده و به جز در مواردی محدود (Khanavi et al., 2010; Farasat et al., 2013) که استخراج به روش اولتراسونیک انجام شده است. همچنین Safari و همکاران در سال ۲۰۱۴ به روش استخراج غوطه‌وری تحقیقی در خصوص بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی جلبک‌های آب‌های خلیج فارس با اندازه گیری پلی فنولی کل انجام داده‌اند، ولی در مورد جلبک‌های خلیج چابهار تاکنون چنین تحقیقی صورت نگرفته است.

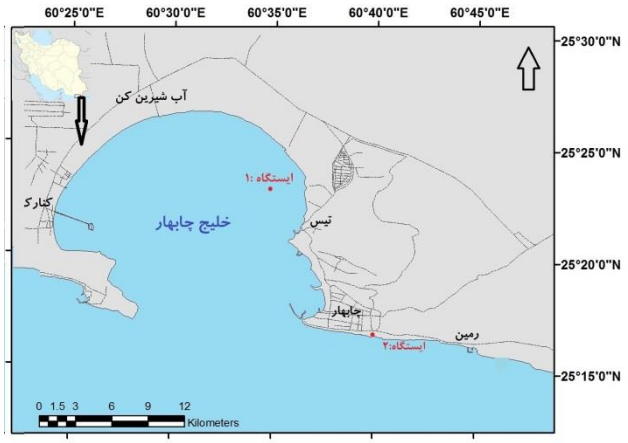
استخراج به کمک اولتراسونیک یک روش ساده بوده و جایگزین مناسبی برای روش های سنتی استخراج است در مقایسه با تکنیک‌های استخراج جدید دیگر همچون استخراج با مایکروویو، دستگاه اولتراسونیک ارزانتر و اجرای آن راحتر می‌باشد. استخراج به کمک اولتراسونیک مشابه استخراج با سوکسله می‌تواند با هر حلالی برای استخراج دامنه وسیعی از ترکیبات طبیعی استفاده شود (Wang et al., 2006).

هدف از این مطالعه ارایه روشی کاربردی و موثر در تعیین غلظت ترکیبات فنولی کل در دو نوع جلبک سارگاسوم (*Sargassum* sp.) و کاهو دریایی (*Ulva* sp.) واقع در آب‌های ساحلی خلیج چابهار با بررسی و بهینه‌سازی پارامترهای مختلف می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱ نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه‌های جلبک سارگاسوم از منطقه تیس (خلیج چابهار) (اسفندماه ۹۵) از روی سطح آب دریا با قایق موتوری و نمونه‌های کاهو دریایی (تیرماه ۹۶) از ساحل صخره‌ای دریا بزرگ (دریای عمان) در هنگام جذر کامل به روش دستی جمع آوری و جهت زدودن شن، ماسه و اپی فیت‌های باقیمانده بر روی نمونه‌ها، ابتدا با آب دریا شستشو شدند. سپس نمونه‌ها در کیسه‌های پلاستیکی نگهداری و به آزمایشگاه منتقل و جهت زدودن نمک آب دریا با آب مقطر شستشو شدند و در محیط آزمایشگاه به مدت ۵ روز خشک گردیدند. نمونه‌های جلبک خشک شده ابتدا با خرد کن خانگی آسیاب شدند و سپس با دستگاه الک شیکر از الک‌های با منفذ ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و۶۳ میکرون عبور داده شدند. نمونه‌های الک شده شماره‌گذاری و تا شروع کارآزمایشگاهی در کیسه‌های پلاستیکی در فریزر در دمای ۲۰- نگهداری شدند. موقعیت محل نمونه برداری‌ها نیز با دستگاه GPS ثبت شد (جدول و شکل ۱).



شکل ۱: نقشه موقعیت ایستگاه های نمونه‌برداری

جدول ۱: موقعیت محل نمونه برداری

شماره ایستگاه	محل نمونه‌برداری	طول جغرافیایی (شرقی) E	عرض جغرافیای (شمالی) N
۱	منطقه تیس(خلیج چابهار)	۶۰/۵۹۲۱۰۵۸۷	۲۵/۳۶۸۴۳۴۷۹
۲	دریا بزرگ (دریای عمان)	۶۰/۶۶۳۶۸۳۳	۲۵/۲۷۶۹۵۶۵۹

۲-۲ روش عصاره‌گیری

فرایند عصاره‌گیری با متغیرگرفتن یک پارامتر و ثابت گرفتن پارامترهای دیگر انجام شد. در ابتدا ۰/۱ گرم از هر نمونه خشک جلبک به اندازه ذرات ۲۵۰ میکرون به دقت وزن شده و به درون لوله آزمایش منتقل شد سپس ۱۰ میلی لیتر از حلال‌های (آب، متانول، اتانول و استون) به هر کدام از لوله‌های آزمایش اضافه و

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:35 IRDT on Wednesday May 20th 2020

به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به روش اولتراسونیک استخراج انجام شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه نمونه با همزن مغناطیسی هم زده شد و پس از ۱۲ ساعت نگهداری در انکوباتور با کاغذ صافی (واتمن شماره ۴۲) عصاره‌ی استخراجی، فیلتر و دوباره با حلال استخراجی به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. و در نهایت نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند .عصاره‌گیری با هر حلال با سه بار تکرار صورت گرفت.

۲-۳ *اندازه‌گیری غلظت ترکیبات فنولی کل*

میزان کل ترکیبات فنولی عصاره‌ها با روش فولین سیوکالتو[1] اندازه گیری شد. روش فولین سیوکالتو ازمتداولترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی می‌باشد (Fu et al., 2011). اساس کار در این روش، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است. جهت رسم منحنی کالیبراسیون ابتدا محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۱۰ ، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گالیک اسید با حلال انتخابی تهیه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از هر غلظت استاندارد (یا عصاره) با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو (۱۰:۱) مخلوط شده بعد از زمان ۵ دقیقه ۲ میلی لیتر کربنات سدیم ٪۷/۵ اضافه نموده و بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر UV-Vis مارک Ray Ligh مدل UV-9200 خوانده شد (در ابتدا جذب دستگاه در این طول موج با شاهد حلال مصرفی صفر شد) معادله خطی منحنی استاندارد برابر رابطه زیر می‌باشد.

$$(R^2=0.99 ،Y=0.0198X+0.0519) \quad (۱)$$

(غلظت برحسب میلی‌گرم بر لیتر گالیک اسید= X، جذب =Y)

برای نمونه بلانک از ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد و جذب کلی با رابطه زیر به دست آمد.

(۲)

(عصاره بدون افزودن واکنشگرها) A(blank) -A - (عصاره بعد از افزودن واکنشگرها) A= (کلی) A

با جایگزینی جذب کلی در معادله منحنی کالیبراسیون (۱)، غلظت هر عصاره برحسب میلی‌گرم بر لیتر گالیک اسید به دست آمد با توجه به اینکه عصاره‌گیری در مقدار مشخصی ازگرم نمونه خشک جلبک و در حجم مشخصی از حلال مصرفی انجام شد در نهایت میزان فنل کل عصاره‌ها با استفاده از معادله زیر معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم نمونه خشک محاسبه شد.

$$M=C.V/W \quad (۲)$$

که در این رابطه M غلظت نهایی موجود در نمونه جلبک برحسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم نمونه خشک و C غلظت اولیه نمونه برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گالیک اسید که با معادله کالیبراسیون و با دستگاه به دست می‌آید. V حجم حلال استخراجی بر حسب میلی‌لیتر (ml) و W وزن نمونه جلبک خشک بر حسب گرم (gr) است.

۲-۴ *پارامترهای بهینه‌سازی*

پارامترهای بهینه‌سازی به ترتیب شامل انتخاب بهترین حلال (آب ، متانول ، اتانول و استون)، اندازه ذرات نمونه (۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵و۶۳ میکرون)، مقدار نمونه خشک (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴و۰/۵ ۰ گرم) به نسبت حلال و زمان (۱۰ ،۲۰و ۳۰ دقیقه) در دمای (۲۰، ۴۰ ،۵۰ و۶۰ درجه سانتیگراد) استخراج با اولتراسونیک بودند. فرکانس اولتراسونیک در استخراج عصاره‌گیری با هر دو نوع جلبک بین ۳۴-۲۸ کیلو هرتز وحجم حلال مصرفی ۱۰ میلی‌لیتر بود.

در نهایت با استفاده از پارامترهای بهینه به‌دست آمده، استخراج با اولتراسونیک در هر دو نوع جلبک مجددا با حلال-های (آب، متانول، اتانول و استون) انجام شد و بیشترین ترکیبات فنولی اندازه‌گیری و به‌عنوان نتایج گزارش گردید.

۲-۵ *تجزیه و تحلیل آماری*

جهت انجام تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SPSS و جهت رسم نمودارها و ثبت جداول از نرم افزار Excel استفاده گردید. از آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه میانگین ها و پس آزمون Tukey جهت مقایسه‌های چند گانه و معنی‌دار بودن اختلاف‌ها

[1] Folin Ciocalteu

www.SID.ir

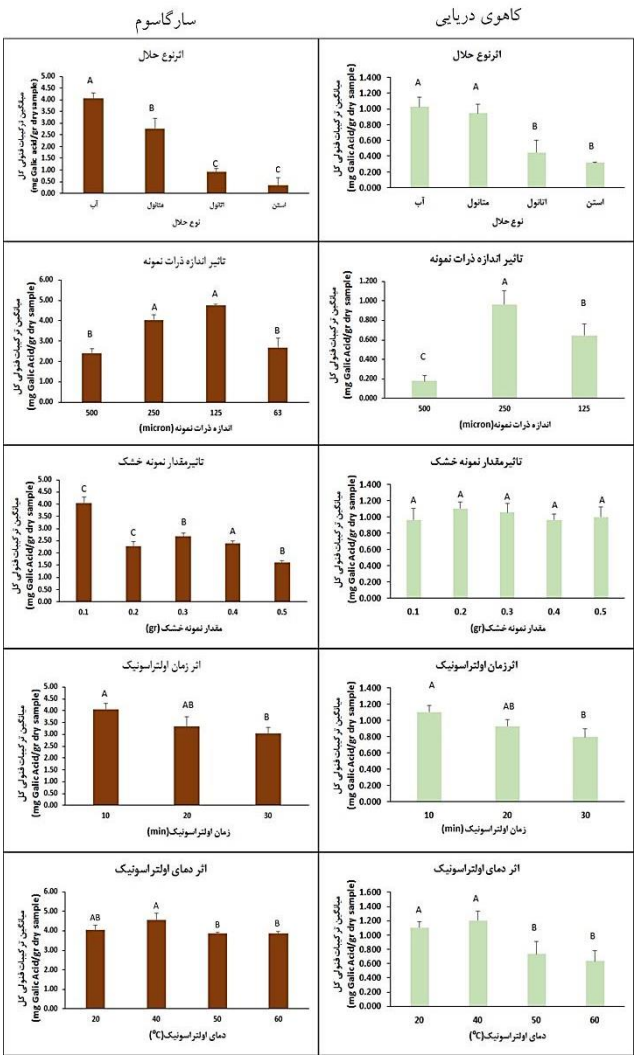
Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:35 IRDT on Wednesday May 20th 2020

در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده گردید. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد.

۳. نتایج و بحث

نتایج بررسی پارامترهای بهینه‌سازی در عصاره‌گیری جلبک‌های سارگاسوم و کاهو دریایی در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲: بررسی اثر پارامترهای بهینه‌سازی در استخراج ترکیبات فنولی کل در دو جلبک سارگاسوم و کاهو دریایی (آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار هستند ستون‌ها با حروف غیر مشابه، دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

در بررسی پارامترهای بهینه‌سازی در عصاره‌گیری جلبک‌های سارگاسوم و کاهو دریایی، بهترین حلال آب انتخاب شد و مقایسه آماری اثر کلی حلال بر غلظت ترکیبات فنولی کل بدست آمده معنی دار بود (P<۰/۰۵) و بیشترین ترکیبات فنولی با حلال آب حاصل شد. به دلیل قطبی بودن ترکیبات فنلی، انتظار می‌رود حلالیت این ترکیبات در حلال‌های قطبی بیشتر باشد (Salmanian et al., 2012).

در مطالعه‌ای که توسط Lopez و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد تاثیر 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. مانند دیگر تحقیقات انجام گرفته در این آزمایش، حلال نیز نقش موثری در میزان ترکیبات فنولی داشت. قطبی بودن بیشتر آب نسبت به سه حلال دیگر باعث تاثیر امواج اولتراسونیک بر حلال گشته و استخراج بهتری نسبت به حلال‌های متانول، اتانول و استن داشته است.

همچنین در این مطالعه مقدار نمونه خشک ۰/۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر حلال (نسبت۱ :۱۰۰) برای جلبک سارگاسوم و مقدار نمونه خشک ۰/۲ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر حلال (نسبت ۲:۱۰۰) برای جلبک کاهو دریایی دارای ترکیبات فنولی بالایی بود که با گزارش دیگر محققان مطابقت دارد. افزایش نسبت حلال به ماده خشک در استخراج ترکیبات فنولی تفاله انگور باعث افزایش ترکیبات فنولی شد (Pinelo et al., 2005). محققیق دیگر نسبت ماده خشک بر حلال را در میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی استخراج شده در میوه توت موثر دانسته‌اند (Cacace et al., 2003).

از نظر بررسی آنالیز واریانس و مقایسه آماری، اثر مقدار نمونه خشک جلبک سارگاسوم در ۰/۱ و ۰/۲ گرم نسبت به مقادیر ۰/۳، ۰/۴ و ۰/۵ در میزان استخراج ترکیبات فنولی معنی دار بود (P<۰/۰۵) اما در بررسی آماری اثر مقدار نمونه خشک در جلبک کاهو دریایی اختلاف معنی داری بدست نیامد (P>۰/۰۵).

همچنین در این پژوهش بیشترین غلظت ترکیبات فنولی در اندازه ذرات نمونه ۱۲۵ میکرون و ۲۵۰ میکرون به ترتیب برای جلبک‌های سارگاسم و کاهو دریایی به‌دست آمد و اثر اندازه ذرات ۱۲۵ و۲۵۰ میکرون جلبک سارگاسوم نسبت به سایز ذرات ۵۰۰ و ۶۳ میکرون در استخراج ترکیبات فنولی معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵) و این اختلاف معنی داری برای جلبک کاهو دریای در اندازه ذرات ۱۲۵ میکرون نسبت به ۵۰۰ و۲۵۰ میکرون بود. همچنین در سایز بندی جلبک کاهو دریایی اندازه ذرات ۶۳

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:35 IRDT on Wednesday May 20th 2020

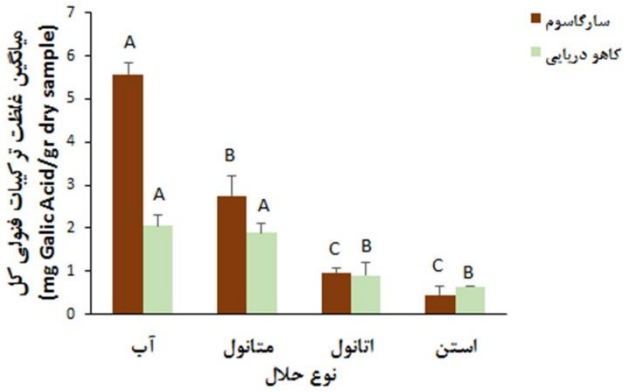
میکرون حاصل نشد. به نظر می‌رسد ذرات ریز باعث نفوذ بیشتر حلال داخل بافت نمونه شده و افزایش استخراج ترکیبات فنولی را در بر داشته است. اما در ذرات خیلی ریز روند غلظت ترکیبات فنولی کاهشی بود که می‌تواند دلیل آن فراریت یا اکسیداسیون ترکیبات فنولی باشد.

همچنین زمان بهینه استخراج با اولتراسونیک ۱۰ دقیقه برای هردو جلبک بدست آمد. در زمان‌های بیشتر میزان ترکیبات فنولی روند کاهشی در هر دو نوع جلبک نشان داد ($P<۰/۰۵$). علت افزایش میزان استخراج ترکیب‌های فنولی با افزایش زمان فراصوت را می‌توان به پدیده کاویتاسیون نسبت داد که در واقع در اثر انتشار امواج صوتی در فاز جامد–مایع، چرخه‌های انقباض و انبساطی در محیط ایجاد می‌شود که باعث تشکیل حباب‌هایی شده که این حباب‌ها در ادامه رشد و در نهایت متلاشی می‌شوند. این عمل باعث نوسان ذرات جامد و مایع شده و تحت عمل فراصوت سرعت پیدا می‌کنند. در نتیجه مواد حل شونده سریعا از فاز جامد به حلال انتشار پیدا می‌کنند. علاوه بر این اثرهایی مانند امولسیفیکاسیون، انتشار و صدمه به بافت نیز به افزایش استخراج اجزای مورد نظر از مواد خام منجر می‌گردد و در زمان‌های بالاتر ممکن است به دلیل وقوع اکسیداسیون (به علت قرار گرفتن در معرض امواج فراصوت) میزان استخراج کاهش یابد (Rostagno et al., 2003).

در بهینه‌سازی روش استخراج ترکیبات فنولی از سبوس گندم به کمک اولتراسونیک، Wang و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که این روش، زمان استخراج ترکیبات فنولی را به میزان زیادی تحت تاثیر قرار می‌دهد. میزان استخراج ترکیبات فنولی از ۱۰–۳۰ دقیقه به طور معنی‌داری افزایش یافت ولی از ۵۰ –۳۰ دقیقه به طور تقریبی ثابت بود.

در این بررسی نیز دمای بهینه استخراج با اولتراسونیک ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای هر دونوع جلبک بدست آمد. مقایسه آماری اختلاف معنی‌داری برای جلبک سارگاسوم ۴۰ درجه سانتی‌گراد و برای جلبک کاهو دریایی دماهای ۲۰ و۴۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به دماهای ۵۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد بود. دما ضریب نفوذپذیری ماده را افزایش می‌دهد. اثر دما به وسیله افزایش انرژی درونی و حرکت مولکولی درون فاز جامد است همچنین دمای بالا، گرانروی دینامیکی را کاهش می‌دهد که منجر به افزایش نفوذپذیری می‌شود (pan et al., 2000). دما یک متغیر خیلی مهم است که بیشتر فرآیندهای فیزیکوشیمیایی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. تعادل میان ماده در فاز جامد و حلال به وسیله دما تغییر می‌کند. دماهای بالاتر ثابت تعادل را افزایش می‌دهند که این منجر به استخراج مقدار زیادتری ماده توسط حلال می‌شود. هنگامی‌که دما نزدیک نقطه ذوب ماده‌ی مورد نظر باشد، حلالیت به حلالیت ایده‌ال نزدیک می‌شود که در مورد ترکیبات غیریونی حداکثر مقدار قابل حصول است. هر دو اثر دما یعنی افزایش انرژی مولکولی و کاهش ویسکوزیته به فرآیند انتقال جرم و استخراج ترکیبات کمک می‌کند. البته استفاده از دمای بالا می‌تواند مشکلاتی را در فرآیند استخراج از جمله، کاهش حجم حلال در اثر تبخیر و تغییر در غلظت ایجاد کند. مهمتر این که، امکان تخریب گرمایی ترکیبات حساس وجود دارد (Rommel et al., 1990 and Iversen, 1999).

تحت شرایط بهینه استخراج با اولتراسونیک، بیشترین ترکیبات فنولی به ترتیب با حلال آب، متانول، اتانول و استون حاصل شد. بیشترین ترکیبات فنولی مربوط به جلبک سارگاسوم با حلال آب به مقدار ۰/۲۷۱ ± ۵/۵۸ و برای جلبک کاهو دریایی با همین حلال به مقدار ۰/۲۵۸ ± ۲/۰۴۷میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم نمونه خشک حاصل شد (شکل۳).



شکل ۳: میانگین غلظت ترکیبات فنولی کل تحت شرایط بهینه استخراج با اولتراسونیک

از نظر مقایسه آماری، عصاره آبی جلبک سارگاسوم اختلاف معنی‌داری با عصاره‌های متانولی، اتانولی و استن در استخراج ترکیبات فنولی کل داشت ($P<۰/۰۵$) و در میزان استخراج ترکیبات فنولی کل از عصاره‌های متانولی، اتانولی و استن جلبک سارگاسوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$).

میانگین غلظت ترکیبات فنولی کل عصاره آبی جلبک کاهو دریایی نسبت به عصاره متانولی بیشتر بود اما از نظر آماری

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:35 IRDT on Wednesday May 20th 2020

اختلاف معنی‌داری به‌دست نیامد (P>۰/۰۵). همچنین در عصاره اتانولی و استن کاهو دریـایی نیز اختلاف معنی‌داری در غلظت به‌دست نیامد (P>۰/۰۵) و غلظت ترکیبات فنولی کل در عصاره استونی هر دو نوع جلبک کمترین مقدار بود. جلبک سارگاسوم در بستر دریا رشد کرده و در تماس بیشتری با آب دریا می‌باشد و در تمام فصول سال وجود دارد ولی جلبک کاهو دریایی در مناطق صخره‌ای بین جذر و مدی رشد می‌کند و کمتر تحت تاثیر آب دریا قرار دارد و بیشتر در شروع تابستان مشاهده می‌شود به نظر می‌رسد این عامل در کمتر بودن ترکیبات فنولی آن نقش داشته باشد. در مطالعه‌ای که بر خواص آنتی‌اکسیدانی سه گونه جلبک قهوه‌ای صورت گرفته بود، فراکسیون آبی گونه سارگاسوم (*Sargassum marignatum*) ترکیبات فنولی بالاتری نسبت به بقیه فـراکسیون‌هـای یک گـونه داشت (Chandini et al., 2008).

با مقایسه نتایج روش استخراج با اولتراسونیک در این تحقیق و نتایج سایر محققین (جدول ۲)، ترکیبات فنولی در جلبک سارگاسوم به مقدار ۵/۵۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم نمونه خشک یا به مقدار ۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره با حلال آب به‌دست آمد که نسبت به سایر روش‌های استخراجی که در آن‌ها از حلال‌های آلی که سمی بوده و باعث آلودگی محیط زیست می‌شوند، مقدار بیشتری می‌باشد.

کاربرد اولتراسونیک در استخراج مواد گیاهی مزیت‌هایی از جمله افزایش در انتقال جرم، نفوذ بهتر حلال، وابستگی کم‌تر به حلال، استخراج در دمای پایین‌تر استخراج سریع‌تر و بازدهی بیش‌تر محصول را نشان می‌دهد (Vinatoru, 2001).

جدول ۲: مقایسه نتایج تحقیق حاضر با نتایج دیگر محققین

محققین	محدوده	نوع جلبک	روش استخراج	بیشترین غلظت
(Heydari et al., 2014)	خلیج فارس	جلبک سبز E.intestinalis جلبک قرمز G.corticate جلبک قهوه‌ای C.myriea	غوطه‌وری با اتانول	عصاره اتانولی ۴/۹ میلی‌گرم برگرم عصاره
(Sadati et al., 2011)	خلیج فارس	Sargassum, Cystoseria, Colpmenia	غوطه‌وری (ان‌هگزان، کلروفرم، اتیل استات)	عصاره کلروفرم سارگاسوم ۳۲/۵۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه
(Safari et al., 2014)	خلیج فارس	جلبک سبز Chaetomorpha	غوطه‌وری با استون ۳۰٪	عصاره استونی ۰/۸ میلی‌گرم تانیک اسید در ۱ گرم نمونه خشک
(Babakhani et al., 2012)	خلیج فارس	جلبک قهوه‌ای Sargassum	مایکروویو (آب، متانول، اتانول)	عصاره آبی ۲/۶ میلی‌گرم تانیک اسید در ۱ گرم نمونه خشک
(Farassat et al., 2014)	خلیج فارس	Ulva clathrate	اولتراسونیک با متانول۸۰٪	عصاره متانولی ۵/۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱ گرم عصاره
(Bambang et al., 2013)	شرق جاوا اندونزی	Sargassum, Dublicatum, Crassifolium, Binderi, Padina	غوطه‌وری (اتانول، اتیل استات، هگزان)	عصاره اتانولی ۱۲/۸۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره
تحقیق حاضر	خلیج چابهار	Sargassum, Ulva	اولتراسونیک (آب، متانول، اتانول، استن)	عصاره آبی سارگاسوم ۵/۵۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم نمونه خشک

۴. نتیجه‌گیری

ترکیبات فنولی به طور قابل توجهی در جلبک‌ها یافت می‌شوند. دراین تحقیق پارامترهای بهینه شامل نوع حلال، اندازه و مقدار ذرات نمونه، زمان و دمای استخراج با اولتراسونیک روی نمونه خشک جلبک‌های سارگاسوم و کاهو دریایی برای اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی مطالعه گردید و آب به‌عنوان حلال استخراجی انتخاب شد که حلالی ارزان، در دسترس و سبز بوده و باعث کاهش آلودگی محیط زیست می‌شود. همچنین بیشترین مقدار ترکیبات فنولی در جلبک سارگاسوم یافت شد لذا می‌توان از این نوع جلبک که در خلیج چابهار فراوان می‌باشد به عنوان منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی دریایی در صنایع غذایی و دارویی استفاده کرد.

۵. سپاسگزاری

از جنـاب آقـای دکتر امیـر قـاضی‌لو ریـاست مـرکـز اقیانوس‌شناسی و علوم جوی چابهار که ما را در انجام این تحقیق یاری رساندند کمال تشکر و قدردانی بعمل می‌آید.

منابع

Babakhani Lashkan, A.; Rezae, M.; Rezaei, K.; Seifabadi, S.J., 2012. Optimization of Extraction of Antioxidant Compounds in Microwave-Assisted Extracts of Brown Algae Sargassum angustifolium. Iranian Natural

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:35 IRDT on Wednesday May 20th 2020

Pharmaceutical Products, 8(1): 47-52. https://doi.org/10.17795/jjnpp-7736

Fu, L.; Xu, B.T.; Xu, X.R.; Gan, R.Y.; Zhang, Y.; Xia, E.Q and et al. 2011. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. Food Chem., 129: 345-350. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.079

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. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.005

Heydari1, M.; Zolgharnein1, H.; Sakhaei1, N.; Mirzaei, A.; Movahedinia, A., 2013. Antibacterial and antioxidant activities of hydro-alcoholic extracts of some marine algal species from Persian Gulf coastal waters in Booshehr province. Aquatic Physiology and Biotechnology, 1(1): 49-62. (In Persian)

Iversen, C.K., 1999. Black currant nectar: Effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. Journal of Food Science, 64: 37-41. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb09856.x

Khan, SI.; Satam, S.B., 2003. Seaweeedmariculture: scope and potential in India. Aquaculture Asia, 4 (4): 26-28

Khanavi, M.; Nabavi, M.; Sdati, N.; Shams Ardakani, M.R.; Sohrabipour, J.; Nabavi, S.M.B.; Ghaeli, P.; Ostad, S.N., 2010. Cytotoxic activity of some marine brown algae against cancer cell lines. Biological research, 43: 31-37. https://doi.org/10.4067/S0716-97602010000100005

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. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.06.015

Kumar, K.S.; Ganesan, K.; Subba Rao, P.V., 2008. Antioxidant potential of solvent extracts of Resources Journal, 65(3): 243-255. (In Persian)

Bambang, B.S.; Kumalaningsih, S.; Susinggih, W.; and Hardoko, H., 2013. Polyphenol Content and antioxidant Activities of Crude Extract from Brown Algae by Various Solvents. J. Life Sci. Biomed, 3(6): 439-443.

Cacace, J.E.; Mazza, G., 2003. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. Journal of Food Engineering, 59: 379-389. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00497-1

Chandini, S.K.; Ganesan, P.; Bhaskar, N., 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. Food Chemistry, 107: 707-713. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.081

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. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00234-5

Chkhikvishvili, I.D.; Ramazanov, Z.M., 2000. Phenolic substances of brown algae and their antioxidant activity. Applied Biochemistry and Microbiology, 36: 289-291. https://doi.org/10.1007/BF02742582

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. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.015

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. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01926.x

Farasat, M.; Khavari-Nejad, R.A.; Nabavi, S.M.B.; and Namjooyan, F., 2013. Antioxidant Properties of two Edible Green Seaweeds from Northern Coasts of the Persian Gulf. JUNDI Shapour Jornal of Natural

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:35 IRDT on Wednesday May 20th 2020

Journal of Chromatography A, 1012: 119-128. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01184-1

Sadati, N.; Khanavi, M.; Mahrokh, A.; Nabavi, S.M.B.; Sohrabipour, J.; Hadjiakhoondi, A., 2011. Comparison of Antioxidant Activity and Total Phenolic Contents of some Persian Gulf Marine Algae. Journal of Medicinal Plants, 37: 73-79.

Safari, P.; Rezae, M.; Shoyaklou, A.R.; Babakhani Lashkan, A., 2014. Effects of organic solvents with different ratios on antioxidant activity of Persian Gulf green algae (Cheatomorpha sp.) using conventional solvent extraction. Aquaculture exploitation and production journal, 2(4): 159-170. (In Persian)

Salmanian, Sh.; Sadeghi Mahoonak A.R.; Maghsoudlou, Y.; Rabiee, H.; and Tabatabaei Amid, B., 2012. Extraction of bioactive compounds and determination of antioxidant activity of ethanolic and acetonic extracts of Mentha aquatique leaves. EJFPP, 2: 85-100.

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. https://doi.org/10.1021/jf200999n

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. https://doi.org/10.1021/jf052334j

Volka, R.B.; Furkert, F.H., 2006. Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth. Microbiological Research, 161: 180-186. https://doi.org/10.1016/j.micres.2005.08.005

Wang, J.; Sun, B.; Cao, Y.; Tian, Y.; and Li, X., 2008. Optimisation of ultrasoundassisted extraction of Kappaphycus alvarezii (Doty) Doty - An edible seaweed. Food Chemistry, 107, 289-295. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.016

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. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.101

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. https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60126-3

Pan, X.; Liu, H.; Jia, G.; and Shu, Y., 2000. Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root. Journal of Biochemical Engineering,5, 173-177. https://doi.org/10.1016/S1369-703X(00)00057-7

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. https://doi.org/10.1021/jf0488110

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. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.078

Rommel, A.; Heatherbell, D.A.; and Wrolstad, R.E., 1990. Red raspberry juice and wine: Effect of processing and storage on anthocyanin pigment composition, color and appearance. Journal of Food Science, 55: 1011-1017. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb01586.x

Rostagno, A.; Palma, M.; and Barrose, C., 2003. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones.

www.SID.ir

Archive of SID

Food Sci. Technol, 41: 323-330. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.003

Yuan, Y.V.; Walsh, N.A., 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. Food and Chemical Toxicology, 44(7): 1144-1150. https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.02.002

Zou, Y.; LU, Y.; WEI, D., 2004. Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of Hypericum perforatum L. in Vitro. J. Agric. Food Chem. 52: 5032-5039. https://doi.org/10.1021/jf049571r

Zubia, M.; Robledo, D.; Freile-Pelegrin Y., 2007. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the the Yucatan Peninsula. Mexico.Journal of Applied Phycology, 19: 449-458. https://doi.org/10.1007/s10811-006-9152-5

phenolic compounds from wheat bran. Food Chemistry, 106: 804-810. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.062

Wang, T.; Jónsdóttir, R.; Ólafsdóttir, G., 2009. Total phenolic compounds,radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. Food Chemistry, 116(1): 240-248. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.041

Wettasinghe, M.; Shahidi, F., 1999. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (Borago officinalis) seeds. Food Chemistry, 67: 399-414. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00137-5

Wu, Sh.J.; Ng, L.T., 2008. Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (Momordica charantia Linn. var. abbreviata Ser.) in Taiwan. LWT-

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:35 IRDT on Wednesday May 20th 2020

www.SID.ir