



## استخراج اتانولی و جداسازی حلالی ترکیبات ضداکسیدانی از جلبک قهوه‌ای *Sargassum angustifolium*

نیلوفر جوکار برازجانی<sup>۱</sup>، مهدی طبرسا<sup>۲\*</sup>، مسعود رضایی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فرآوری آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

۲- استادیار، گروه فرآوری آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

۳- استاد، گروه فرآوری آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

دریافت: ۹۵/۰۷/۰۳ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۶

\*نویسنده مسئول مقاله: m.tabarsa@modares.ac.ir

### چکیده:

در این مطالعه ترکیبات ثانویه جلبک قهوه‌ای *S. angustifolium* و خواص ضداکسیدانی آنها ارزیابی شد. عصاره خام جلبک با اتانول ۸۰ درصد به مدت ۴ ساعت استخراج و سپس به ترتیب به وسیله حلال‌های هگزان، کلروفرم، اتیل استات و آب جزءگیری گردید. بازده استخراج برای عصاره خام ۴ درصد و فراکسیون‌های به دست آمده بین ۲/۸۱ تا ۴۳ درصد متغیر بود. ارزیابی فعالیت ضداکسیدانی نشان داد که جزءگیری حلال- حلال به خوبی توانست ترکیبات ضداکسیدانی را جداسازی کند. در میان فراکسیون‌های مختلف، فراکسیون اتیل استات بیشترین قابلیت را در مهار رادیکال DPPH (۷۵/۷۸ درصد)، ABTS (۸۸/۹۲ درصد)، کاهندگی آهن (۶۷/۵۴ درصد) و ضداکسیدانی کل (۰/۳۴) نشان داد. بیشترین میزان ترکیبات فنولی در فراکسیون اتیل استات (۲۷۷/۸۶ میلی گرم تانیک اسید در عصاره) و کمترین در فراکسیون آبی (۲۱/۳۶ میلی گرم تانیک اسید در عصاره) مشاهده گردید. فعالیت ضداکسیدانی کل با میزان ترکیبات فنولی همبستگی بالایی ( $R^2=0/88$ ) را نشان داد. به طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره اتانولی جلبک *S. angustifolium* دارای ترکیبات زیست فعال عمده بوده و می‌تواند به عنوان ضداکسیدان در صنایع غذایی مطرح باشد.

کلید واژگان: ترکیبات فنولی، ضداکسیدان، استخراج، جلبک قهوه‌ای، *Sargassum angustifolium*

### مقدمه

از پیش به خود جلب کرده است. جلبک‌ها از غنی‌ترین گونه‌های دریایی هستند که بسیاری از مواد لازم در صنایع غذایی را می‌توان از آنها استخراج کرد. یکی از عمده‌ترین مواد استخراج شده از جلبک‌های دریایی هیدروکلونیدها هستند که اهمیت روزافزونی در صنایع غذایی یافته‌اند.

امروزه بشر می‌داند که برای رشد و توسعه پایدار، توجه بیشتر به منابع طبیعی تجدیدپذیر در تولید منابع غذایی ضروری است. در این میان دریاها به عنوان منبع بزرگ موجودات دریایی، نگاه متخصصان و مدیران صنایع را بیش

پلی فنولی می‌باشد که ویژگی‌های ضد اکسیدانی آنها ثابت شده است (Gupta and Abu-Ghannam, 2011). نتایج تحقیقی در سال ۲۰۱۱ بر روی جلبک قهوه‌ای *Stypocaulon scoparium* نشان داد که ارتباط معناداری بین فعالیت ضد اکسیدانی و مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌های استخراجی جلبک وجود دارد (Lopez et al., 2011). استفاده از ضد اکسیدان‌ها راه مؤثری برای کاهش یا جلوگیری از اکسیداسیون چربی در محصولات غذایی با به تأخیر انداختن تشکیل محصولات سمی ناشی از اکسیداسیون و حفظ کیفیت و افزایش مدت ماندگاری مواد غذایی است (Gupta and Abu-Ghannam, 2011). ضد اکسیدان‌های مصنوعی شامل <sup>۱</sup>BHT و <sup>۲</sup>BHA کاربرد وسیعی در حفظ ایمنی و کیفیت مواد غذایی دارند. هرچند گزارش شده که ضد اکسیدان‌های مصنوعی سمی‌اند و اثر سرطان‌زا دارند (Chen et al., 1992). با توجه به خواسته مصرف‌کنندگان برای غذاهای حاوی مواد نگه‌دارنده طبیعی، شناسایی و استخراج ترکیبات ضد اکسیدان طبیعی که جایگزین مواد مصنوعی شوند و یا به‌عنوان ضد اکسیدان ثانویه در سیستم‌های غذایی به‌کار گرفته شوند، ضروری است (Gupta and Abu-Ghannam, 2011). برخی از جلبک‌ها در شرایط سختی زندگی می‌کنند و پیوسته در معرض رادیکال‌های آزاد و عوامل اکسیدکننده قرار می‌گیرند. باین‌حال نبود آسیب ساختاری ناشی از فوتودینامیک القا شده بیانگر آن است که سلول‌های آنها دارای مکانیسم سریعی برای تولید متابولیت ثانویه هستند که آنها را در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند (Balboa et al., 2013). گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۳</sup> (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن<sup>۴</sup> (RNS) به ترتیب شامل رادیکال اکسیژن، نیتروژن و مشتقات

از جمله این هیدروکلوئیدها می‌توان به آگار، آلژینات و کاراژینان اشاره کرد که برای تولید ژل و همچنین به‌عنوان قوام‌دهنده در صنایع غذایی، دارویی و زیست‌فناوری استفاده می‌شوند. به‌طوری‌که، تولید سالانه این هیدروکلوئیدها به‌تازگی به ۱۰۰ هزار تن با ارزش بالای ۱/۱ میلیارد دلار امریکا رسیده است (Rhein-Knudsen et al., 2015). امروزه، این هیدروکلوئیدها از منظر فناوری و اقتصادی اهمیت فراوانی دارند (Rhein-Knudsen et al., 2015). اگرچه در سالیان اخیر به پلی‌ساکاریدای سولفات‌ها به‌دلیل فعالیت زیستی و خواص منحصر به‌فردشان توجه بیشتری شده است. در این میان فیکوئیدان از جلبک قهوه‌ای، اولون از جلبک سبز و کاراژینان از جلبک قرمز بیشترین توجهات را به خود معطوف داشته‌اند (Winberg et al., 2014).

جلبک‌های قهوه‌ای (Phaeophyceae) مقادیر زیادی از پلی‌ساکاریدهای آبیونی در ماتریکس و سلول‌های خود دارند که بیشتر آنها آلژینات و یا هتروگلیکان‌های غنی از سولفات فوکان یا فیکوئیدان و ترکیبات ذخیره‌ای مانیتول، رنگدانه فوکوزانتین، پلی‌فنول‌های زیست‌فعال و تریپنوئیدها می‌باشند (Fenoradosa et al., 2010 ; Lorbeer et al., 2013). در فرایند استخراج آلژینات، پیش‌تیمار حذف ناخالصی‌ها (پلی‌فنول‌ها، فوکوئیدان و لامینارین) به‌وسیله حلال‌های گوناگون صورت می‌گیرد، از این‌رو دور ریز ترکیبات پلی‌فنولی که پیش‌تیمار استخراج آلژینات‌ها می‌باشد، فراوان است (Hahn et al., 2011). در نتیجه، با توجه به افزایش سالانه مصرف آلژینات‌ها در چند دهه اخیر و تولید ترکیبات ثانویه به‌عنوان محصول فرعی، استفاده بهینه از ترکیبات ثانویه به‌دلیل دارا بودن ظرفیت بالا در ایجاد فعالیت‌های زیستی مختلف، بسیار حائز اهمیت است (Bixler and Porse, 2011). عصاره جلبک دریایی غنی از ترکیبات

1. Butylated hydroxytoluene  
2. Butylated hydroxyanisole  
3. Reactive oxygen species  
4. Reactive nitrogen species

خشک شده با آسیاب تا حد امکان پودر شد. پس از آن نمونه‌ها تا زمان استفاده در دمای ۲۰- نگهداری گردید. تمامی مواد شیمیایی استفاده شده در این مطالعه دارای درجه آزمایشگاهی بود و تمامی واکنشگرهای استفاده شده از شرکت سیگما خریداری شد.

### استخراج عصاره خام

برای انجام این آزمایش ابتدا میزان ۵ درصد از پودر خشک شده با اتانول ۸۰ درصد به مدت ۴ ساعت غوطه‌ور شد. این عمل برای جداسازی کامل رنگدانه‌ها و ناخالصی از پودر جلبک ۳ بار متوالی انجام شد. هر بار نیز مایع رویی با کاغذ صافی واتمن ۴۱، صاف گردید. مایع رویی با استفاده از دستگاه روتاری تغلیظ و سپس به وسیله آون خلأ خشک شد. عصاره به دست آمده در این مرحله عصاره خام (Cr) نام‌گذاری گردید (Cho et al., 2011).

### جزء‌گیری با روش حلال-حلال

برای جداسازی ترکیبات به وسیله حلال‌های مختلف، ابتدا عصاره خام خشک شده (۵۰۰ میلی‌گرم) را که از مرحله قبل تهیه شده بود، به دکانتوری به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر منتقل شد. سپس ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به پودر خشک شده اضافه شد. در ادامه، حلال هگزان اضافه شد و پس از همگن کردن دو حلال به مدت ۵ دقیقه، دکانتور در محیط خنک و بدون نور قرار گرفت تا دو حلال از یکدیگر جدا شوند. در این مرحله، حلال هگزان از دکانتور جمع‌آوری شد و سپس به ترتیب حلال‌های کلروفرم (Ch) و اتیل استات (Et) به دکانتور موردنظر اضافه شد و جداسازی تکرار گردید. در انتها نیز از آب مقطر (D.W) برای جداسازی ترکیبات قطبی استفاده شد. حلال‌های گرفته شده با دستگاه روتاری تا حد امکان تغلیظ شد و با آون خلأ خشک گردید. عصاره آبی نیز پس از تغلیظ به وسیله دستگاه خشک‌کننده انجمادی، خشک شد (Cho et al., 2011).

غیررادیکال هستند. مشتقات غیررادیکال نیز می‌توانند به رادیکال تبدیل شوند یا به‌عنوان عوامل اکسیدکننده عمل کنند (Halliwell, 2001). گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) با تغییر اکسیداتیو در مولکول‌های DNA، پروتئین‌ها، چربی‌ها و سلول‌های کوچک طیف گسترده‌ای از بیماری‌های بحرانی را ایجاد می‌کنند که شامل بیماری‌های قلبی عروقی، التهابی، عصبی، جهش در ژن و سرطان می‌باشد (Kuda et al., 2006). ضداکسیدان‌ها متابولیت‌های ثانویه هستند که با تبدیل رادیکال‌های آزاد و یا رادیکال پراکسی به غیررادیکال با اهدای الکترون و هیدروژن و یا با حل کردن ترکیبات پراکسیداسیون تولید شده از اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند (Enrique and Lester, 2002). از این‌رو به‌کارگیری انواع ضداکسیدان‌ها برای مقابله با رادیکال‌های آزاد به‌منظور جلوگیری از فرایند اکسیداسیون ضروری است. بنابراین با توجه به وجود قابل توجه جلبک قهوه‌ای *S. angustifolium* در سواحل خلیج فارس و استان بوشهر (Manavi et al., 2010) و نظر به گزارش ابتدایی از فعالیت ضداکسیدانی این جلبک (Babakhani Lashkan et al., 2012) و اهمیت نوع حلال‌های متفاوت در جداسازی ترکیبات فنولی مختلف و تعیین فعالیت ضداکسیدانی آنها انجام این تحقیق ضروری به‌نظر می‌رسد.

### مواد و روش‌ها

#### جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه‌های جلبک قهوه‌ای *S. angustifolium* برای انجام این تحقیق از سواحل روستای هلیله از توابع شهر بوشهر و در امتداد دریای خلیج فارس در ابتدای بهار جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده ابتدا برای حذف ناخالصی‌ها با آب دریا و سپس با آب شیر شسته شدند. نمونه‌های جلبک برای خشک شدن به مدت ۴ روز در دمای ۶۰ درجه در آون گذاشته شد (Cho et al., 2011). سپس نمونه‌های

## ارزیابی فعالیت ضد اکسیدانی

قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)<sup>۱</sup>

برای انجام این آزمایش از رادیکال‌های پایدار ۱، ۱- دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، براساس روش Brand-Williams استفاده شد (1995). ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر محلول اتانولی ۰/۱ میلی‌مولار رادیکال آزاد DPPH با ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه با غلظت‌های مختلف ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با هم به‌خوبی مخلوط شدند. برای کنترل واکنش نیز به‌جای نمونه ۱۰۰ میکرولیتر اتانول اضافه شد و مخلوط حاصل تکان داده شد. اسیدآسکوربیک نیز به‌عنوان نمونه تجاری استفاده گردید. در ادامه، تمامی نمونه‌ها در میکروپلیت‌های ۹۶ تایی ریخته شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در شرایط تاریکی نگهداری شد. جذب محلول با استفاده از دستگاه (Epock) ELISA Reader (آمریکا) در طول موج ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH به‌وسیله عصاره‌ها، مطابق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$RSA = \frac{A - \text{کنترل}}{A} \times 100$$

در فرمول فوق RSA عبارت است از: درصد خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد.

A کنترل: جذب کنترل واکنش پس از زمان ۳۰ دقیقه.

A نمونه: جذب نمونه و محلول DPPH پس از زمان ۳۰ دقیقه.

قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (ABTS)<sup>۲</sup>

به‌منظور بررسی فعالیت ضد اکسیدانی عصاره‌ها، از آزمون ارزیابی بی‌رنگ شدن رادیکال کاتیون ABTS طبق روش Re و همکاران استفاده شد (1999). برای تهیه رادیکال

پایدار ABTS، ابتدا یک محلول ۷ مولار ABTS در آب مقطر تهیه شد. سپس این محلول با پتاسیم پرسولفات ۲/۴۵ میلی‌مولار، اکسید شد و محلول تهیه شده در مکان تاریکی به‌مدت ۱۶ ساعت، برای تشکیل کاتیون رادیکال سبز-آبی قرار گرفت. سپس محلول نهایی با اتانول تا حدی رقیق شد که جذب آن به میزان ۰/۷ در ۷۳۴ نانومتر برسد. در ادامه ۰/۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول تازه تهیه شده ABTS افزوده شد. از اسیدآسکوربیک نیز به‌عنوان نمونه تجاری استفاده گردید. محلول حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. در انتها جذب محلول در طول موج ۷۳۴ نانومتر خوانده شد. از مخلوط ABTS و اتانول نیز به‌عنوان کنترل واکنش استفاده شد. درصد مهارندگی رادیکال‌های آزاد ABTS به‌وسیله عصاره‌ها، مطابق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$RSA = \frac{A - \text{کنترل}}{A} \times 100$$

در فرمول RSA: درصد خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد.

A کنترل: جذب کنترل پس از زمان ۲۰ دقیقه.

A نمونه: جذب نمونه پس از زمان ۲۰ دقیقه

## قدرت کاهش‌دهندگی آهن

برای اندازه‌گیری قدرت کاهش‌دهندگی آهن در عصاره‌های جلبکی، از روش Chew و همکاران استفاده شد (2008). برای انجام این آزمایش ابتدا ۰/۲ میلی‌لیتر از نمونه‌های تهیه شده با غلظت‌های مختلف ۳-۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول بافر فسفات پتاسیم ۰/۲ مولار با pH برابر با ۶/۶ اضافه شد و پس از افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر فری‌سیانات پتاسیم ۱ درصد، انکوباسیون نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه با دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور (Comecta-100D-Spania) انجام شد. پس از این مدت، به این محلول ۰/۵ میلی‌لیتر TCA<sup>۴</sup> ۱۰ درصد اضافه شد. سپس نمونه‌ها

1. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

2. radical scavenging activities

3. 2,2'-azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]

4. Trichloroacetic Acid

### تعیین میزان فنول کل (TPC)<sup>۲</sup>

سنجش ترکیبات فنولی عصاره‌ها، به روش فولین-سیوکالتو که از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی است، اندازه‌گیری شد (Kahkonen et al., 1999). مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر عصاره را با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۴۰۰ میکرولیتر آب مقطر به‌همراه ۲۵۰ میکرولیتر محلول معرف فولین سیوکالتو ۱ نرمال، به‌خوبی مخلوط گردید. پس از گذشت ۱ دقیقه ۵ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات<sup>۳</sup> (۱۲/۵ درصد وزنی/حجمی) به محلول آماده شده، اضافه گردید. و به‌مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق باقی ماند و جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این سنجش از تانیک‌اسید به‌عنوان استاندارد، استفاده گردید. برای رسم منحنی استاندارد تانیک‌اسید، محلول پایه‌ای از این ماده با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آماده شد. سپس از این محلول اصلی غلظت‌های مختلف ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و مانند نمونه، پس از ۴۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، در طول موج ۷۵۰ نانومتر جذب آن اندازه‌گیری شد. در آخر، نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید تانیک بر گرم عصاره بیان شد.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش تمامی اندازه‌گیری‌ها برای هر یک از نمونه‌ها سه بار تکرار شد و نتایج به‌دست آمده به‌صورت میانگین و همراه با انحراف معیار بیان شدند. تمام تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار ۱۷,۰ SPSS انجام شد. برای مقایسه میانگین تیمارها، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. به‌منظور تشخیص وجود یا نبود تفاوت معناداری بین نمونه‌ها، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و برای بررسی همبستگی بین ترکیبات فنولی و فعالیت ضدآکسیدانی داده‌ها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. در ادامه، ۰/۵ میلی‌لیتر از فاز روئی برداشته و به آن ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آهن (FeCl<sub>3</sub>) ۰/۱ درصد اضافه گردید. سپس این محلول را در دمای اتاق به‌مدت ۱۰ دقیقه نگهداری کرده تا در آن تغییر رنگ صورت گیرد. به‌دنبال آن، درون هر چاهک میکروپلیت، ۲۰۰ میکرولیتر ریخته و جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. در انتها، قدرت کاهندگی آهن بر حسب فعالیت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسیدآسکوربیک بیان شد.

اسید آسکوربیک در A/نمونه = قدرت کاهندگی آهن

100 × غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر

### ظرفیت ضدآکسیدانی کل (TAC)<sup>۱</sup>

برای اندازه‌گیری ظرفیت ضدآکسیدانی کل عصاره‌های جلبکی از روش Prieto و همکاران استفاده شد (Prieto et al., 1999). در این روش به میزان ۳۰ میکرولیتر از عصاره‌های نمونه آماده شده با غلظت‌های ۱-۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌همراه ۳۰۰ میکرولیتر محلول معرف واکنش (۴ میلی‌مولار آمونیوم مولیبدات، ۲۸ میلی‌مولار فسفات سدیم و ۶/۱ مولار اسید سولفوریک با نسبت ۱:۱:۱) در میکروتیوب‌ها مخلوط شدند. سپس در حمام آبی (Memmert-WNB14، آلمان) با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۹۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از این مدت میکروتیوب‌ها براب هم‌دمای شدن با دمای اتاق، در مکان تاریکی قرار گرفتند. سپس در هر چاهک میکروپلیت ۱۰۰ میکرولیتر نمونه ریخته شد و در نهایت جذب نمونه‌ها با دستگاه ELISA Reader در طول موج ۶۹۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول آسکوربیک اسید در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد و نتایج براساس میلی‌گرم اسیدآسکوربیک بر گرم پودر جلبک خشک بیان شد.

2. Total phenolic content  
3. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

1. Total Antioxidant Capacity

## نتایج

بازده عصاره و فراکسیون‌های جلبک قهوه‌ای *S. angustifolium*

در این مطالعه از اتانول ۸۰ درصد برای استخراج عصاره جلبک *S. angustifolium* استفاده شد و بازده عصاره خام به دست آمده در این فرایند ۴ درصد شد. با توجه به اهمیت و تأثیر حلال‌های مختلف بر میزان بازده فراکسیون‌های

مختلف برای جداسازی ترکیباتی با خواص ضداکسیدانی متفاوت از ۴ حلال کلروفرم، اتیل استات، هگزان و آب با قطبیت‌های مختلف استفاده شد. جدول ۱ نشان می‌دهد که فراکسیون اتیل استات (۲/۸۱ درصد) و آبی (۴۳/۰۰ درصد) به ترتیب کمترین و بیشترین بازده را دارا بودند ( $p < 0.05$ ).

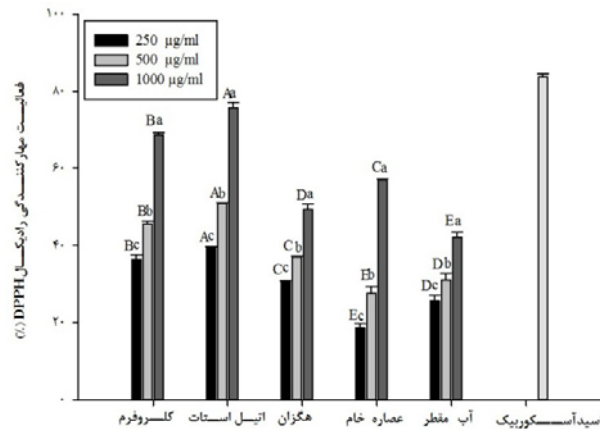
جدول ۱ بازده عصاره خام و فراکسیون‌های مختلف

نمونه	عصاره خام	هگزان	کلروفرم	اتیل استات	آب مقطر
درصد بازده	۴/۰۰	۱۱/۰۰	۸/۵۲	۲/۸۱	۴۳/۰۰

## فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

توانایی مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH به وسیله عصاره خام و فراکسیون‌های جلبک *S. angustifolium* در شکل ۱ نشان داده شده است. عصاره‌های به دست آمده هر کدام فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی را نشان دادند. همان‌طور که مشاهده می‌شود، قدرت مهارکنندگی عصاره خام در محدوده ۵۶/۹۴-۱۸/۶۱ درصد سنجش شد که این میزان در فراکسیون‌های به دست آمده بین ۷۵/۷۸ و ۲۵/۶۹ درصد بود. بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH در

فراکسیون‌های مختلف نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در حلال اتیل استات نسبت به حلال‌های دیگر، دارای بالاترین اثر ضداکسیدانی بوده است ( $p < 0.05$ ). همچنین میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد در فراکسیون اتیل استات وابسته به غلظت بود و با رشد غلظت افزایش معنادار پیدا کرد ( $p < 0.05$ ). اتیل استات با مهار ۷۵/۷۸ درصد رادیکال آزاد بیشترین فعالیت ضداکسیدانی را نسبت به فراکسیون‌های مختلف به نمایش گذاشت، که این خود قابل مقایسه با آسکوربیک اسید بود.

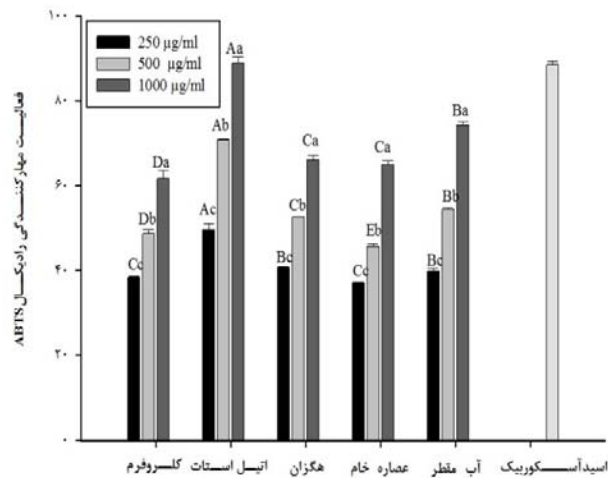


شکل ۱ فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره خام و فراکسیون‌های مختلف جلبک *S. angustifolium* (A, B, C, D) نشان‌گر وجود اختلاف معنادار بین غلظت‌های عصاره خام و فراکسیون‌ها می‌باشد ( $p < 0.05$ ). (a, b, c) نشانگر اختلاف معنادار بین عصاره خام و فراکسیون‌ها در هر غلظت است ( $p < 0.05$ ).

## فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS

همان‌طورکه در شکل ۲ مشاهده می‌شود، در تمامی فراکسیون‌های به‌دست آمده فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS با افزایش غلظت افزایش یافته است ( $p < 0/05$ ). قدرت مهارکنندگی عصاره خام در محدوده ۳۷/۰۷ تا ۶۴/۹۱ درصد سنجش شد و درصد بازدارندگی رادیکال ABTS در غلظت‌های مختلف عصاره‌ها ۳۸/۳۵ تا ۸۸/۹۲

درصد اندازه‌گیری شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده بالاترین و کمترین توانایی مهارکنندگی به‌ترتیب در حلال اتیل‌استات و کلروفرم مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). بررسی مشاهدات صورت گرفته در تمامی فراکسیون‌ها بیانگر آن بود که حلال اتیل‌استات در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر توانایی مهارکنندگی مشابهی در مقایسه با آسکوربیک اسید دارا می‌باشد.

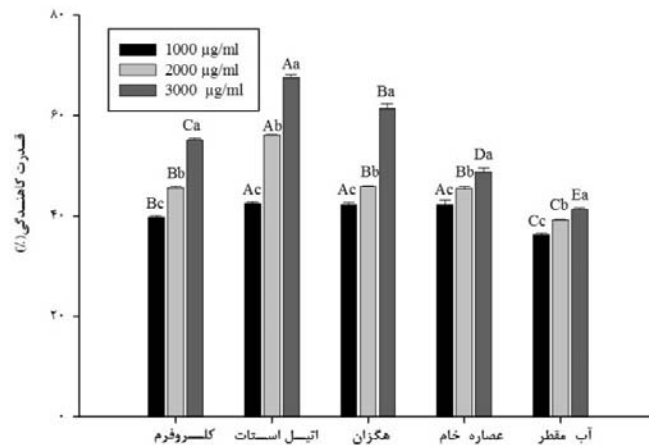


شکل ۲ فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد ABTS با استفاده از عصاره خام و فراکسیون‌های مختلف جلبک *S. angustifolium*. (A, B, C, D) نشانگر وجود اختلاف معنادار بین غلظت‌های عصاره خام و فراکسیون‌ها می‌باشد ( $p < 0/05$ ). (a, b, c) نشانگر اختلاف معنادار بین عصاره خام و فراکسیون‌ها در هر غلظت است ( $p < 0/05$ ).

## قابلیت کاهندگی آهن

همان‌طورکه در شکل ۳ مشاهده می‌شود، در تمامی فراکسیون‌ها با افزایش غلظت، ظرفیت کاهندگی آهن به‌طور معناداری افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). قدرت کاهندگی آهن در تمامی فراکسیون‌ها در غلظت‌های ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ بررسی شد و محدوده کاهندگی عصاره خام و دیگر

فراکسیون‌ها بین ۳۶/۲۹ تا ۶۷/۵۴ درصد به‌دست آمد. در میان نمونه‌های سنجش شده، فراکسیون اتیل‌استات در غلظت ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر قدرت کاهندگی قوی‌تری با مقدار ۶۷/۵۴ درصد را به نمایش گذاشت ( $p < 0/05$ ).

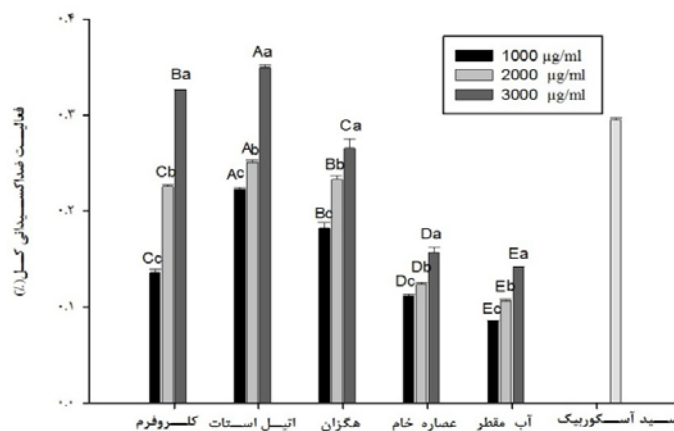


شکل ۳ قدرت کاهندگی آهن عصاره خام و فراکسیون‌ها مختلف جلبک *S. angustifolium*. نشانگر وجود اختلاف معنادار بین غلظت‌های عصاره خام و فراکسیون‌ها می‌باشد ( $p < 0/05$ ). نشانگر اختلاف معنادار بین عصاره خام و فراکسیون‌ها در هر غلظت است ( $p < 0/05$ ).

که این میزان در فراکسیون‌های به‌دست آمده بین جذب ۰/۰۸۵ تا ۰/۳۴۹ بود. فراکسیون اتیل استات بالاترین اثر مهارکنندگی (جذب ۰/۳۴۹) را در غلظت ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر داشت. این درحالی است که غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی، کمترین فعالیت ضداکسیدانی (جذب ۰/۰۸۵) را در میان نمونه‌ها از خود نشان داد.

#### فعالیت ضداکسیدانی کل

برای تعیین اثر مهارکنندگی در این مطالعه غلظت‌های ۱۰۰۰ تا ۳۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نمونه در نظر گرفته شد. همان‌طور که در شکل ۴ نیز مشاهده می‌شود، در تمامی فراکسیون‌های به‌دست آمده فعالیت ضداکسیدانی با افزایش غلظت افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). با توجه به نتایج قدرت ضداکسیدانی در محدوده جذب ۰/۱۱۲ تا ۰/۱۵۷ سنجش شد



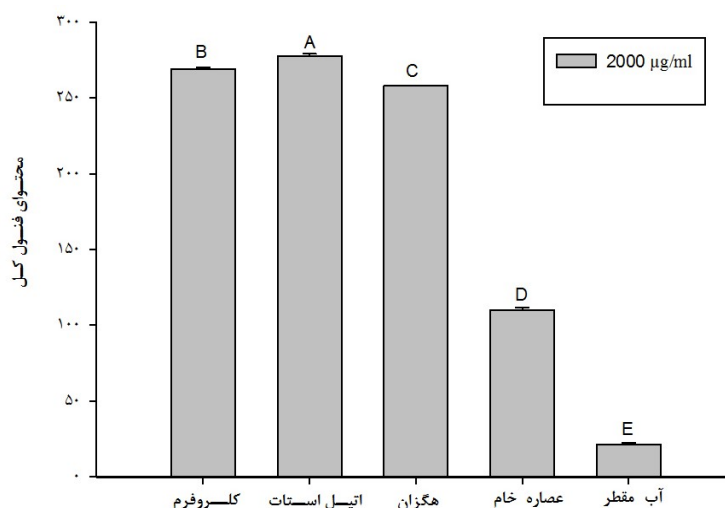
شکل ۴ فعالیت ضداکسیدانی کل عصاره خام و فراکسیون‌ها مختلف جلبک *S. angustifolium*. نشانگر وجود اختلاف معنادار بین غلظت‌های عصاره خام و فراکسیون‌ها می‌باشد ( $p < 0/05$ ). نشانگر اختلاف معنادار بین عصاره خام و فراکسیون‌ها در هر غلظت است ( $p < 0/05$ ).



### تعیین میزان فنول کل

برای تعیین میزان ترکیبات فنولی فراکسیون‌های مختلف استخراج شده از عصاره اتانولی جلبک *S. angustifolium* از محلول معرف فولین - سیوکالتو براساس مقایسه آن با محلول استاندارد تانیک اسید

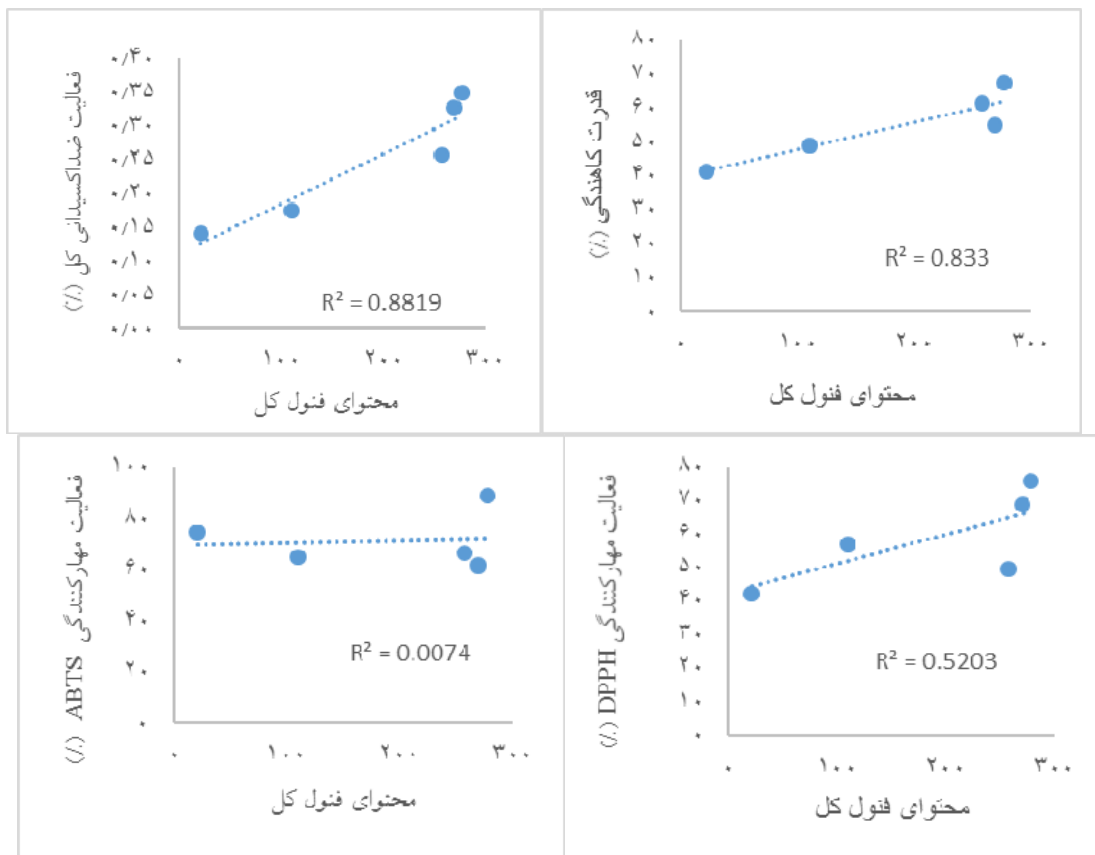
اندازه‌گیری شد. همان‌طورکه در شکل ۵ مشاهده می‌شود، بیشترین و کمترین میزان ترکیبات فنولی را به ترتیب فراکسیون اتیل استات و آبی با ۲۷۷/۸۶ و ۲۱/۳۶ میلی‌گرم تانیک اسید در عصاره مشاهده گردید.



شکل ۵ محتوای فنولی کل عصاره خام و فراکسیون‌های مختلف جلبک *S. angustifolium*. حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنادار بین نمونه‌ها است ( $p < 0.05$ ).

همبستگی بین محتوای فنولی کل و فعالیت ضداکسیدانی با توجه به امکان وجود همبستگی بین ترکیبات فنولی و فعالیت ضداکسیدانی عصاره‌ها، آنالیز داده‌ها بین میزان کل ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها انجام شد. همان‌طورکه در شکل نشان داده شده است، بین فعالیت ضداکسیدانی و میزان کل ترکیبات فنولی

بیشترین همبستگی ( $R^2=0.8819$ ) مشاهده می‌شود. این درحالی است که همبستگی فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS با میزان کل ترکیبات فنولی ( $R^2=0.0074$ ) به میزان خیلی پایینی دیده می‌شود. همچنین در این مطالعه همبستگی بالایی بین ترکیبات فنولی و میزان کاهندگی آهن ( $R^2=0.833$ ) مشاهده شد.



شکل ۶ همبستگی بین محتوای فنولی کل و فعالیت ضداکسیدانی عصاره خام و فراکسیون‌ها.

#### بحث

از روش‌های معمول و محبوب برای سنجش فعالیت ضداکسیدانی عصاره گیاهان ارزیابی قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH است (Kumar et al., 2009). این سنجش برای بررسی توانایی عملکرد ترکیبات ضداکسیدانی اهداکننده هیدروژن استفاده می‌شود (Vijayabaskar et al., 2012). به‌عنوان یک رادیکال آزاد پایدار است و زمانی که رادیکال DPPH با یک ترکیب ضداکسیدان مواجه می‌شود، یک اتم هیدروژن دریافت می‌کند و رنگ بنفش خود را از دست می‌دهد (Molyneux, 2004). ترکیبات استخراجی بسیاری از گونه‌های جلبکی توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را دارا می‌باشند (Vijayabaskar et al., 2012; Osuna-Ruiz et al., 2016; Babakhani Lashkan

به‌خوبی شناخته شده است که بازده استخراج به نوع حلال، pH، زمان استخراج و ترکیب شیمیایی گونه بستگی دارد (López et al., 2011). مطابق با نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر، در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۹ از حلال‌های اتیل استات، n-بوتانول، کلروفرم و آب برای به‌دست آوردن فراکسیون‌های مختلف استفاده شد، تفاوت معناداری در میان بازده فراکسیون‌های مختلف مشاهده شد (Ye et al., 2009).

به‌منظور مقایسه نتایج حاصل از آزمایش‌های ضداکسیدانی مختلف و سنجش اعتبار آنها، نیاز به یک آزمایش استاندارد است (Sharma and Bhat, 2009). یکی

بررسی شد و فراکسیون اتیل استات بیشترین فعالیت مهارکنندگی را دارا بود. در مطالعه‌ای که بر روی جلبک قهوه‌ای *Eisenia bicyclisand* انجام شد، قدرت کاهندگی رادیکال ABTS در حلال‌های اتیل استات، بوتانول، هگزان، آب و کلروفرم بررسی گردید. بیشترین و کمترین فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS به ترتیب در فراکسیون اتیل استات، بوتانول و کلروفرم در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (Kwon et al., 2013).

اعتقاد بر این است که بین فعالیت ضد اکسیدانی و قدرت کاهندگی آهن ارتباط نزدیکی وجود دارد (Chandini et al., 2008). تعیین قابلیت کاهندگی آهن، آزمایش دیگری است که به طور گسترده برای اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسیدانی به کار می‌رود. در این آزمایش حضور کاهنده‌ها در حلال باعث کاهش کمپلکس  $Fe^{3+}$  / فری سیانید به شکل  $Fe^{2+}$  / فروس می‌گردد و میزان طریق جذب در ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود (Luo et al., 2010). این واکنش وابسته به pH است و همچنین جذب متناسب با محتوای ضد اکسیدانی افزایش می‌یابد (Ye et al., 2009; Shanmuganathan and Pandima, 2016). در این آزمایش رنگ زرد محلول به رنگ‌های مختلف سبز و آبی تغییر می‌کند که به قدرت کاهندگی هر یک از ترکیبات بستگی دارد (Luo et al., 2010). در مطالعه حاضر نیز قدرت کاهندگی آهن برای فراکسیون‌های مختلف اندازه‌گیری شد که در این میان بیشترین میزان مربوط به فراکسیون اتیل استات و کمترین در فراکسیون آبی مشاهده شد. مطابق با نتیجه به دست آمده در تحقیق حاضر، در مطالعه‌ای که از سوی Ye و همکاران (۲۰۰۹) برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خام و فراکسیون‌های جلبک *Sargassum pallidum* انجام شد، فراکسیون اتیل استات بالاترین قدرت کاهندگی آهن را نشان داد.

(et al., 2012). در مطالعه حاضر نیز تمام فراکسیون‌های به دست آمده از جلبک *S. angustifolium* نشان دادند که به خوبی توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH را دارا می‌باشند و در این میان فراکسیون اتیل استات بیشترین فعالیت را از خود نشان داد.

در گذشته نیز سه گونه جلبک قهوه‌ای *Sargassum Turbinaria* و *Padina tetrastomatica marginatum conoides* که ترکیبات مؤثر آنها با روش جزءگیری حلال - حلال جداسازی شده بود، توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH به وسیله عصاره متانولی خام و پنج فراکسیون مختلف ارزیابی شد (Molyneux, 2004; Osuna-Ruiz et al., 2016). عصاره متانولی *T. conoides* فعالیت بیشتری را (درصد ۱۷/۳۵) نسبت به *P. tetrastomatica* (درصد ۷۸) و *S. marginatum* (درصد ۱۱/۰۰) نشان داد. بیشترین فعالیت مهارکنندگی (۲۳/۱۶ درصد) در فراکسیون اتیل استات *S. marginatum* و سپس در فراکسیون پترلیوم اتر *T. conoides* (۱۹/۵۵ درصد) و *P. tetrastomatica* (۱۷/۷۹ درصد) مشاهده شد. این در حالی است که هیچ‌گونه فعالیت مهارکنندگی در فراکسیون دی‌کلرومتان و بوتانول *S. marginatum* و فراکسیون بوتانول *P. tetrastomatica* دیده نشد (Molyneux, 2004).

استفاده از رادیکال آزاد ABTS دیگر روشی است که به طور گسترده برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود. مولکول بی‌رنگ ABTS به واسطه اکسیدان‌های مختلف نظیر پتاسیم پرسولفات به رادیکال  $ABTS^{+}$  تبدیل شده و رنگ سبز-آبی به خود می‌گیرد (Erel, 2004). در این آزمایش شدت بی‌رنگ شدن محلول که ناشی از حضور آنتی‌اکسیدان است، میزان مهار رادیکال ABTS را نشان می‌دهد (Re et al., 1999). در مطالعه کنونی نیز قابلیت فراکسیون‌های مختلف در مهار رادیکال آزاد ABTS

و بوتانول (۲/۰۲ میکروگرم در میلی‌لیتر) بوده است (Chandini et al., 2008).

روش فولین - سیوکالتو با تولید رنگ آبی از طریق کاهش آنیون‌های هترو پلی فسفو مولیبدات زرد رنگ، میزان فنول کل را تعیین می‌کند (Athukorala., 2006). در تحقیق حاضر میزان فنول کل در نمونه خام و تمام فراکسیون‌ها اندازه‌گیری شد و مشخص گردید که به ترتیب فراکسیون‌های اتیل‌استات، کلروفورم و هگزان بیشترین میزان را دارا بودند. این در حالی است که فراکسیون آبی کمترین میزان ترکیبات فنولی را به خود اختصاص داد.

به‌طور کلی، در مطالعه حاضر بیشترین میزان همبستگی بین محتوای ترکیبات فنولی فراکسیون‌های مختلف به ترتیب با قابلیت ضداکسیدانی کل، قدرت کاهندگی آهن و پتانسیل مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH مشاهده شد. این خود حاکی از اهمیت ترکیبات فنولی جلبک *S. angustifolium* در بروز ویژگی‌های ضداکسیدانی این جلبک دارد. در مطالعه‌ای که بر روی جلبک قهوه‌ای جنس *Turbinaria* انجام شد، همبستگی پایینی بین ترکیبات فنولی و مهار رادیکال‌های DPPH ( $R^2=0/089$ ) و ABTS ( $R^2=0/054$ ) در فراکسیون حلال‌های مختلف مشاهده شد (Ganesan et al., 2008). همبستگی پایینی بین ترکیبات فنولی و فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد ABTS در عصاره‌های جلبکی نیز به حضور ترکیباتی نظیر پلی‌ساکاریدهایی با وزن مولکولی پایین، رنگدانه‌ها، پروتئین یا پپتیدها و همچنین ماهیت آبدوستی این رادیکال نسبت داده شده است (Kuda., 2009).

#### نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد که عصاره اتانولی که در استخراج پلی‌ساکارید *S.angustifolium*

همچنین، n- بوتانول، عصاره خام، کلروفورم و حلال آب به‌ترتیب کاهندگی کمتری را نسبت به اتیل‌استات نشان دادند (Rajauria.(Ye et al, 2009) و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از نسبت‌های متفاوت آب و متانول فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلبک قهوه‌ای *Himanhalia elongata* را بررسی کردند که با توجه به نتایج به‌دست آمده، ترکیب ۶۰ درصد متانول بالاترین (۱۱/۷) و ۱۰۰ درصد متانول پایین‌ترین (۴/۷) پتانسیل کاهندگی آهن را نشان دادند. به‌نظر می‌رسد قدرت کاهندگی به درجه هیدروکسیلاسیون و میزان پیوستگی پلی‌فنول‌ها مربوط می‌شود (Rajauria et al., 2013).

با توجه به اهمیت تعیین ظرفیت ضداکسیدانی کل جلبک مطالعه شده، اثر مهارکنندگی براساس روش فسفومولیدین بر پایه کاهش مولیدین ۶ ظرفیتی به مولیدین ۵ ظرفیتی در طول موج ۶۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Kumaran and Karunakaran, 2007). همان‌طور که مشاهده شد، جداسازی حلال-حلال به‌خوبی توانست ترکیبات موجود در *S. angustifolium* را تفکیک کند و فراکسیون‌های به‌دست آمده، به‌ویژه اتیل‌استات، کلروفورم و هگزان فعالیت ضداکسیدانی قوی‌تری را نسبت به عصاره خام از خود نشان دادند. Chandini و همکاران (۲۰۰۸) از حلال‌های پترولیوم اتر، اتیل‌استات، دی‌کلرومتان، بوتانول و آب برای جزءبندی عصاره متانولی سه گونه جلبک قهوه‌ای *Padina*، *Sargassum marginatum*، *Turbinaria conoides tetrastromatica* استفاده کردند.

نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در هر سه نمونه به‌ترتیب اتیل‌استات (۶۲/۳۹ میکروگرم در میلی‌لیتر) و بوتانول (۱/۰۱ میکروگرم در میلی‌لیتر)، دی‌کلرومتان (۹/۷۹ میکروگرم در میلی‌لیتر) و آب (۱/۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر)، آب (۹/۶۵ میکروگرم در میلی‌لیتر)

*Technologie/Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.

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

**Chen, C., Pearson, A. M., and Gray, J. I. 1992.** Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food Chemistry*, 43(3), 177-183.

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

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

**Erel, O. 2004.** A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*, 37(4), 277-285.

**Enrique, C., and Lester, P. 2002.** Handbook of antioxidants.

**Fenoradosa, T. A., Ali, G., Delattre, C., Laroche, C., Petit, E., Wadouachi, A., and Michaud, P. 2010.** Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed *Sargassum turbinarioides* Grunow. *Journal of applied phycology*, 22(2), 131-137.

**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.

**Gupta, S., and Abu-Ghannam, N. 2011.** Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(4), 600-609.

**Hahn, T., Kelly, S., Muffier, K., Tippkötter, N., and Ulber, R. 2011.** Extraction of lignocellulose and algae for the production of bulk and fine chemicals. *Industrial Scale Natural Products Extraction*, 221-245.

برای رنگبری استفاده می‌شود، دارای فعالیت ضداکسیدانی قابل توجهی می‌باشد و می‌تواند پس از انجام مطالعات تکمیلی در سیستم‌های غذایی به‌عنوان یک ضداکسیدان طبیعی و ترکیب عملکردی استفاده شود. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که فراکسیون اتیل‌استات فعالیت ضداکسیدانی قابل توجهی را نسبت به سایر فراکسیون‌ها در تمامی آزمایش‌ها مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ABTS، کاهندگی آهن و ضداکسیدانی کل را دارا بود. با توجه به بررسی‌های انجام شده، همبستگی بالایی بین ترکیبات فنولی و فعالیت ضداکسیدانی کل نشان داده شد. بنابراین این مطالعه تخلیص بیشتر عصاره اتیل‌استات با استفاده از سیستم‌های کروماتوگرافی به‌منظور دستیابی به زیرفراکسیون‌هایی خالص‌تر و جداسازی بیشتر ترکیبات عصاره‌های به‌دست آمده را پیشنهاد می‌کند.

#### منابع

**Athukorala, Y., Kim, K. N., and Jeon, Y. J. 2006.** Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. *Food and Chemical Toxicology*, 44(7), 1065-1074.

**Babakhani Lashkan, A., Rezaei, M., Rezaei, M. and Seifabadi, J. (2012).** Optimization of extraction of antioxidant compounds in microwave-assisted extracts of brown algae *Sargassum angustifolium*. *Journal of Fisheries*, 65, 243-255.

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

**Bixler, H.J. and Porse, H. 2011.** A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*, 23(3): 321-335.

**Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und*

- Manavi, N., Rafiee, P., Shariatzadeh, S. and Seifi, S.H. (2010).** Identification and biomass of macroalgae in intertidal zone of Bushehr province. *Journal of Marine Science and Technology Research*, 81-88.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219.
- Osuna-Ruiz, I., López-Saiz, C. M., Burgos-Hernández, A., Velázquez, C., Nieves-Soto, M., and Hurtado-Oliva, M. A. (2016).** Antioxidant, antimutagenic and antiproliferative activities in selected seaweed species from Sinaloa, Mexico. *Pharmaceutical biology*, 1-15.
- Prieto, P., Pineda, M. and Aguilar, M. 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2): 337-341.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 26 (98): 1231-1237.
- Rhein-Knudsen, N., Ale, M. T., and Meyer, A. S. 2015.** Seaweed hydrocolloid production: an update on enzyme assisted extraction and modification technologies. *Marine drugs*, 13(6), 3340-3359.
- Rajauria, G., Jaiswal, A. K., ABU-GANNAM, N. I. S. S. R. E. E. N., and Gupta, S. 2013.** Antimicrobial, antioxidant and free radical-scavenging capacity of brown seaweed himanthalia. *Journal of Food Biochemistry*, 37: 322-335.
- Shanmuganathan, B., and Pandima Devi, K. (2016).** Evaluation of the nutritional profile and antioxidant and anti-cholinesterase activities of *Padina gymnospora* (Phaeophyceae). *European Journal of Phycology*, 1-9.
- Sharma, O. P., and Bhat, T. K. 2009.** DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-120
- Vijayabaskar, P., Vaseela, N., and Thirumaran, G. 2012.** Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the
- Halliwell, B. 2001.** Food-derived antioxidants: how to evaluate their importance in food and in vivo. *Handbook of antioxidants*, 8, 1.
- Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. and Heinonen, M. 1999.** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10): 3954-3962.
- Kuda, T., Hishi, T., and Maekawa, S. 2006.** Antioxidant properties of dried product of 'habanori', an edible brown alga, *Petalonia binghamiae* (J. Agardh) Vinogradova. *Food chemistry*, 98(3), 545-550.
- Kuda T, Ikemori T. Minerals. 2009.** polysaccharides and antioxidant properties of aqueous solutions obtained from macroalgal beachcasts in the Noto Peninsula, Ishikawa, Japan. *Food Chemistry*, 112: 575-581.
- Kumaran, A., and Karunakaran, R. J. 2007.** In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2), 344-352.
- Kumar, S. P., Kekuda, T. P., Vinayaka, K. S., and Sudharshan, S. J. 2009.** Anthelmintic and antioxidant efficacy of two macrolichens of Ramalinaceae. *Pharmacognosy Journal*, 1(4), 238-242.
- Kwon, T. H., Kim, T. W., Kim, C. G., and Park, N. H. 2013.** Antioxidant activity of various solvent fractions from edible brown alga, *Eisenia bicyclis* and its active compounds. *Journal of food science*, 78(5), C679-C684.
- Luo, H.Y., Wang, B., Yu, C.G., Qu, Y.L. and Su, C.L. 2010.** Evaluation of antioxidant activities of five selected brown seaweeds from China. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4: 18. 2557-2565.
- Lorbeer, A. J., Tham, R., and Zhang, W. 2013.** Potential products from the highly diverse and endemic macroalgae of Southern Australia and pathways for their sustainable production. *Journal of applied phycology*, 25(3), 717-732.
- López, A., Rico, M., Rivero, A. and Tangil, M.S. 2011.** The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry*, 125: 1104-1109.

relevant bio-actives in glycobiology. *Advances in Botanical Research*, 71, 221-252.

**Ye, H., Zhou, C., Sun, Y., Zhang, X., Liu, J., Hu, Q., and Zeng, X. 2009.** Antioxidant activities in vitro of ethanol extract from brown seaweed *Sargassum pallidum*. *European Food Research and Technology*, 230 (1), 101-109.

brown marine algae *Sargassum swartzii*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10(6), 421-428.

**Winberg, P. C., Fitton, J. H., Stringer, D., Karpiniec, S. S., and Gardiner, V. 2014.** Controlling seaweed biology, physiology and metabolic traits in production for commercially



---

## Ethanol extraction and solvent partitioning of antioxidant compounds from brown seaweed *Sargassum angustifolium*

Niloofer Jokar Borazjani<sup>1</sup>, Mehdi Tabarsa<sup>2\*</sup>, Masoud Rezaei<sup>3</sup>

1- M.Sc . Student, Department of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

3- Professor, Department of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

Received: 24.09.2016 Accepted: 15.01.2017

\*Corresponding author: m.tabarsa@modares.ac.ir

---

### Abstract:

The extraction of hydrocolloids from seaweeds is associated with production of secondary metabolites during pretreatment step. In this study, the antioxidant properties were evaluated for secondary metabolites from brown seaweed *S. angustifolium*. The crude extract obtained by 80% ethanol for four hours and then partitioned using hexane, chloroform, ethyl acetate and water. The extraction yield was found to be 4% for crude extract and varied between 2.8-43% for fractions. The evaluation of antioxidant properties revealed a successful solvent fractionation in portioning antioxidant compounds. Among various fractions, ethyl acetate exhibited the highest activity in DPPH radical scavenging (75.78%), ABTS radical scavenging (88.92%), reducing power (67.54%) and total antioxidant (0.34 Abs) capacities. The highest amount of phenolic contents was found in ethyl acetate fraction (277.86 mg/ TA in extract) while the lowest amount was in aqueous fraction (21.36 mg/ TA in extract). The highest correlation ( $R^2 = 0.88$ ) was observed between total phenolic content and total antioxidant activity. Overall, the results of current study show that ethanol extract of *S. angustifolium* contains major bioactive compounds suggesting its potential application in food industry as a natural antioxidant.

**Keywords:** Phenolic compounds, Antioxidants, Extraction, Brown seaweed, *S. angustifolium*