



Original Research Paper

Phytochemical compounds and antioxidant status of enriched *Artemia urmiana* with brown macroalgae *Padina australis*, *Sargassum ilicifolium*, and *Stoechospermum marginatum* from Chabahar coasts

Paria Akbary ^{1*}, Ali Chakerzahi ¹, Raha Fadaei Raeni ², Mohammad Saeid Fereidouni ³, Salim Sharifian ¹

¹ Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Chabahar University of Maritime and Marine Sciences, Chabahar, Iran

² Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Natural Resources, Jiroft University, Jiroft, Iran

³ Department of Aquatic Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

Key Words

Macroalgae extract
Sterol
Phenol
Antioxidant status
Flavonoid

Abstract

Introduction: The aim of this study was to investigate the phytochemical compounds (sterol, phenol and flavonoids) and antioxidant activity (diphenyl picryl hydrazyl (DPPH)) of premix extracts of brown macroalgae *Padina australis*, *Sargassum ilicifolium* and *Stoechospermum marginatum*.

Materials & Methods: In this study, after collecting macroalgae from the tidal areas of Chabahar coast, they were washed and after drying in a ratio of 1:1:1, they were combined and turned into powder. Sterol was measured by gas chromatography and phenol; flavonoids and antioxidant activity were measured by spectrophotometer.

Results: The results showed that sterol was the predominant sitostanol. The amount of total sterol, cholesterol and delta 5 avenasterol were 368.78 ± 24.12 , 10.02 ± 2.12 and 3.54 ± 0.06 mg/100 g of dry matter, respectively. The highest phenolic content (132.46 ± 11.07 mg GAE g⁻¹ extract), flavonoids (25.51 ± 0.67 mg QE g⁻¹ extract) and anti-radical activity of DPPH (1967.32 ± 31.07 μmol TE g⁻¹ extract) was observed in ethanolic extract of premix macroalgae. The levels of phenol, flavonoids and antioxidant activity were higher in ethanol, ethanol-aqueous and aqueous extracts, respectively, and showed a significant difference ($P < 0.05$).

Conclusion: Overall, sitostanol was the predominant sterol of the macroalgae premix tested, and the ethanolic extract of the macroalgae premix showed the best flavonoid content, phenol, and antioxidant activity that can be recommended as rich sources of sterols and natural antioxidants for the food industry.

* Corresponding Author's email: paria.akbary@gmail.com

Received: 10 January 2022; Reviewed: 10 February 2022; Revised: 9 April 2022; Accepted: 11 May 2022

(DOI): [10.22034/AEJ.2022.334834.2780](https://doi.org/10.22034/AEJ.2022.334834.2780)

مقاله پژوهشی

فیتوشیمیایی و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره پرمیکس ماکرو جلبک های قهوه ای *Stoechospermum marginatum* و *Sargassum licifolium*، *Padina australis* سواحل چابهار

پریا اکبری*^۱، علی چاکر زهی^۱، فدایی راینی^۲، محمد سعید فریدونی^۳، سلیم شریفیان^۱

^۱ گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

^۲ گروه شیلات، دانشکده شیلات و منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

^۳ گروه بهداشت آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: تحقیق حاضر با هدف بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی (استرول، فنل و فلاونوئید) و فعالیت آنتی اکسیدانی (دی فنیل پیکریل هیدرازیل) عصاره پرمیکس ماکرو جلبک های قهوه ای *Stoechospermum marginatum* و *Sargassum ilicifolium*، *Padina australis* انجام گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه، پس از جمع آوری ماکرو جلبک ها از مناطق جزر ومدی سواحل چابهار، شستشو داده شدند و پس از خشک کردن به نسبت ۱:۱:۱ با هم ترکیب و به صورت پودر در آمد. استرول با دستگاه کروماتوگرافی گازی و فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد.

نتایج: نتایج نشان داد که استرول غالب سیتوستانول بود. میزان استرول کل، کلسترول و دلتا ۵ اواناسترول به ترتیب $368/78 \pm 24/12$ ، $10/2 \pm 0/2/12$ و $3/54 \pm 0/06$ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. بیش ترین مقدار محتوای فنلی ($132/11 \pm 46/07$) میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره، فلاونوئید ($25/51 \pm 0/67$) میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک و فعالیت ضد رادیکالی دی فنیل پیکریل هیدرازیل ($1967/31 \pm 32/07$) میکرومول ترولکس بر گرم عصاره در عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک ها مشاهده شد. میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب در اتانولی، اتانولی-آبی و عصاره های آبی بیش تر بود و اختلاف معنی داری را با یکدیگر نشان دادند ($P < 0/05$).

بحث و نتیجه گیری: در کل، سیتوستانول، استرول غالب پرمیکس ماکرو جلبک های مورد آزمایش بود و عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک ها بهترین محتوی فلاونوئیدی، فنل و فعالیت آنتی اکسیدانی را نشان داد که می تواند به عنوان منابع غنی از استرول و آنتی اکسیدان های طبیعی برای صنایع غذایی و دارویی توصیه شود.

مقدمه

ماکرو جلبک‌ها یکی از مهم‌ترین منابع خوراک ارزان جایگزین برای آبزیان می‌باشد که غنی از خواص مغذی و دارویی نیز است. مهم‌تر از همه، آن‌ها حاوی طیف وسیعی از عوامل زیست فعال مانند فنل‌ها، استرول‌ها و فلاونوئیدها می‌باشد که بسیاری از آن‌ها معمولاً در گیاهان خشکی یافت نمی‌شود (۵، ۷). این زیست فعال‌ها از جمله فنل‌ها و عصاره‌های ماکرو جلبکی حاوی این ترکیبات به عنوان افزودنی‌های خوراک در تغذیه آبزیان مورد بررسی قرار گرفته‌اند. مانند سایر موجودات، پلی‌فنل‌ها خواص مفیدی مانند ضد میکروبی (۸، ۱۵، ۱۹) و آنتی اکسیدانی (۸، ۱۹) دارند که عملکرد رشد، استفاده از مواد مغذی، ایمنی و مقاومت به بیماری‌ها را بهبود می‌بخشد (۱۸، ۱۹). ترکیبات فنلی متابولیت‌های تولیدی ثانویه هستند که از طریق مسیرهای اسید شیکیمیک (Shikimic) و فنیل پروپانویید سنتز می‌شوند (۲۴). مولکول‌های فنلی به طور گسترده از طریق جلبک‌های دریایی عمدتاً برای اهداف محافظتی، ساختاری و اکولوژیکی منتشر می‌شوند. این ترکیبات فنلی شامل دسته‌های گسترده‌ای از ترکیبات ساده مثل اسیدهای فنولیک آزاد و استر-باند گرفته تا پلیمرهای بسیار پیچیده مثل لیگنین‌ها و تانن‌های متراکم می‌باشد (۲۱، ۲۸)، که شامل گروه‌های پلی‌فنلی (مثل فلوروگلوکوسینول‌ها و فلوروتانین‌ها) و گروه‌های مولکولی غیرقطبی (مثل توکوفرول‌ها، استرول‌ها، پیگمنت‌ها و تریترین‌ها) می‌باشند. ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای دارای فنول‌های بیش‌تری نسبت به ماکرو جلبک‌های قرمز و سبز هستند (کم‌تر از ۱۴۰-۱۰ گرم در هر کیلوگرم از ماده خشک) (۱۵). این ترکیبات، معمولاً به منظور جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش زمان ماندگاری استفاده می‌شوند (۲۵). فلاونوئیدها از ترکیبات پلی‌فنلی با وزن مولکولی کم و دارای اسکلت دی فنیل پروپان (C₆C₃C₆) گروه بزرگی از این متابولیت‌های ثانوی هستند که تقریباً در همه گیاهان وجود دارند و معمولاً در ۶ زیر گروه اصلی فلاونول‌ها، فلاون‌ها، ایزوفلاون‌ها، فلاونون‌ها، فلاوانول‌ها و آنتوسیانیدین‌ها طبقه‌بندی می‌شوند (۲۶). تعداد و موقعیت فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات گروه‌های OH- را تحت تأثیر قرار می‌دهد رادیکال‌های آزاد در تداوم حیات موجودات زنده دارای نقش‌های مثبت و منفی زیادی هستند، به عنوان مثال، ROS رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن باعث اکسیداسیون مولکول‌هایی نظیر پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند که این مسئله باعث آسیب‌های گسترده به سلول و مرگ آن می‌شود (۲۶، ۲۷). هم چنین، از نقش‌های مثبت رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌توان به نقش آن‌ها در راه‌اندازی مسیرهای علامت‌دهی سلول، بیان ژن و تنظیم فعالیت

گوانیلات سیکلاز در سلول‌ها اشاره کرد. از طرف دیگر گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن به صورت کاملاً مشخص خواص فیزیکی-شیمیایی و ایمونولوژیکی سوپراکسید دیسموتاز را تحت تأثیر قرار داده و باعث افزایش صدمات اکسیداتیو در سلول‌ها می‌شوند (۲۲). هیدروپراکسیدها، از جمله مهم‌ترین فرآورده‌های اکسیداسیون خود به خودی لیپیدها بوده که فاقد طعم و بو هستند ولی فرآورده‌های حاصل از تجزیه آن‌ها نظیر آلدئیدها و کتون‌ها می‌توانند تأثیر زیادی روی طعم و بوی مواد غذایی داشته باشند، از این رو به منظور تأخیر و یا مهار اکسیداسیون مواد غذایی معمولاً از آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده می‌گردد. با اضافه کردن آن‌ها کیفیت ماده غذایی حفظ شده و طول عمر نگهداری آن‌ها نیز افزایش می‌یابد. کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در بعضی از کشورها به دلیل اثرات نامطلوبی که روی سلامتی افراد می‌گذارند، محدود شده است. امروزه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که از گیاهان و بدست می‌آیند به خاطر خواص آنتی‌اکسیدانی و اثرات مفید آن‌ها روی سلامتی انسان به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۲۲). گونه‌های مختلف ماکرو جلبک‌ها حاوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی متنوعی هستند و اغلب بین محتوای این ترکیبات و خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گونه‌ها رابطه‌ای مستقیم وجود دارد. بنابراین سنجش کمی ترکیبات ذکر شده، راه خوبی برای برآورد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها است (۲۶). هم چنین در بسیاری از روش‌های عصاره‌گیری از حلال‌هایی استفاده می‌شود که از نظر میزان قطبیت متفاوت هستند. بنابراین انتخاب حلال مناسب باید بر حسب قطبیت و تنوع ترکیبات شیمیایی مورد مطالعه و نیز غلظت ماده استخراج شده، صورت گیرد (۶). مطالعات متعددی در ارتباط با ارزیابی استرول ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای به عنوان مثال، ماکرو جلبک *P. boergesenii* (۶)، *P. australis* و *Stoechospermum marginatum* (۱) *Pelvetia siliquosa* (۲۳) محتوی فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماکرو جلبک‌های سواحل چابهار *Padina australis*، *Stoechospermum marginatum* و *Ahnfeltiopsis pygmaea* (۶) *Cystoseira trinodis* (۴)، *Hizikia fusiformis* (۱۷) صورت گرفت به عنوان مثال Supardy و همکاران، نشان دادند که در بین عصاره‌های مختلف جلبک *Halimeda discoidea* فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کلروفرمی و محتوی فنل بالاتر بود (۲۹). هدف از این تحقیق، ارزیابی استرول، فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium*، *Padina australis* و *Stoechospermum marginatum* سواحل چابهار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی عصاره پرمیکس ماکرو جلبک‌ها: جمع‌آوری

دستی ماکرو جلبک‌های *S. marginatum*, *S. ilicifolium*, *P. australis* در آذرماه ۱۴۰۰ از سواحل چابهار (دریا بزرگ و تیس) هنگام جذر صورت گرفت و پس از حمل به آزمایشگاه، با آب شیرین چندین بار شستشو شدند تا کاملاً گل و لای و موجودات اپی فیت آن‌ها از بین رفت. سپس در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به دور از نور مستقیم خورشید خشک شدند. به منظور عصاره‌گیری، ابتدا ماکرو جلبک‌های خشک شده، توسط آسیاب برقی به قطعات ریز تبدیل شدند. سپس مقدار ۲۰۰ گرم پودر مخلوط حاصل از سه گونه ماکرو جلبک (۱:۱:۱) تهیه شد و تا زمان استفاده بعدی در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۴). جهت تهیه عصاره آبی، اتانول ۹۰ درصد و اتانولی:آبی (۵۰:۵۰) از پرمیکس ماکرو جلبک‌ها، ۵ گرم از پودر حاصله از پرمیکس با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب، ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۰ درصد و ۵۰ میلی‌لیتر اتانول: آبی (۵۰:۵۰) مخلوط و در دستگاه سوسکله (Quickfit, UK) قرار گرفت. این عمل چندین بار تکرار شد تا مقدار مناسب عصاره پرمیکس تهیه شد. نهایتاً با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان (IKA, Germany) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد عصاره‌ها تغلیظ شدند و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند (۳، ۵، ۶).

سنجش ترکیبات فیتو شیمیایی

استخراج و سنجش استرول: برای استخراج استرول‌های آزاد

به یک گرم از پودر پرمیکس ماکرو جلبک‌ها، ۲۰ میلی‌لیتر دی‌کلرو متان افزوده شد و با کمک دستگاه فراصوت همگن گردید و مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق به حالت سکون نگه داشته شد و با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱، صاف گردید، و در نهایت با استفاده از دستگاه تبخیر در خلاء و گاز نیتروژن، حلال به‌طور کامل از هر نمونه خشک شد. پس از استخراج استرول‌های آزاد از چهار گونه نرم‌تن و خشک شدن کامل عصاره‌ها با گاز نیتروژن، ۵۰ میکرولیتر پیریدین خشک دوبار تقطیر به همراه ۵۰ میکرولیتر معرف BSTFA (N,O-Bis (trimethylsilyl)trifluoroacetamide >99%) حاوی ۱ درصد TMCS (trimethylchlorosilane) (شرکت سیگما آلد ریچ) به آن‌ها افزوده شد و به مدت یک شب در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس هر یک از عصاره‌ها با یک میلی‌لیتر دی‌کلرومتان رقیق شده و حجم یک میکرولیتر از هریک از آن‌ها برای تجزیه به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. استخراج از هر نمونه ۳ بار انجام شد. برای جداسازی انواع استرول‌ها در عصاره‌ها از دستگاه کروماتوگرافی مدل Unicam 4600 (مستقر در شرکت

میزان سنجش پاسارگاد تهران) استفاده شد. ستون این دستگاه از نوع $10 \times Bp$ به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۱ میلی‌متر بود آشکارساز دستگاه از نوع FID و گاز حاصل از دستگاه هلیوم بود که با فشار ۶ پاسکال در ستون به عنوان گاز حامل به کار رفت. برنامه حرارتی ستون با دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه آغاز شد و پس از آن با افزایش دمای ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد رسید و بعد به مدت ۱۵ دقیقه در همین دما باقی ماند. دمای اتاق تزریق و آشکارساز ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و حجم عصاره برای تزریق یک میکرولیتر بود. شناسایی اجزای موجود در کروماتوگرام به کمک زمان بازداری آن‌ها انجام شد زمان بازداری اجزای مختلف با استفاده از داده‌های تزریق فیتواسترول‌های استاندارد (کمپسترول: Campesterol، استیگماسترول: Stigmasterol و بتا-سیتوسترول: β sisterol) (شرکت سیگما-آلد ریچ) تحت شرایط یکسان با تزریق نمونه‌ها محاسبه گردید و از کلاسترول به عنوان استاندارد داخلی برای سنجش کمی استفاده شد (۱۸).

اندازه‌گیری فنل: مقادیر فنل کل عصاره حاصل از هر تیمار

مورد آزمایش، با اندکی تغییر توسط روش Ebrahimzadeh و همکاران اندازه‌گیری شد (۱۲). ۲۰۰ میکرولیتر عصاره با ۲۰ میکرولیتر معرف فولین-سیکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) مخلوط شد و به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۲ میکرو لیتر از بی‌کربنات سدیم ۶ درصد اضافه و مخلوط شد و بعد از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu, uv-1800, Japan) در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. مقادیر فنل کل در هریک از عصاره‌ها با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه و برحسب میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره بیان گردید. **اندازه‌گیری فلاونوئید:** محتوای فلاونوئیدی عصاره حاصل از پرمیکس ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای با اندکی تغییر توسط روش Ebrahimzadeh و همکاران، اندازه‌گیری شد (۱۲). ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره نمونه، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول و ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد در اتانول ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شدند. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu, uv-1800, Japan) در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه و برحسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک بیان گردید.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدان به وسیله دی فنیل پیکریل

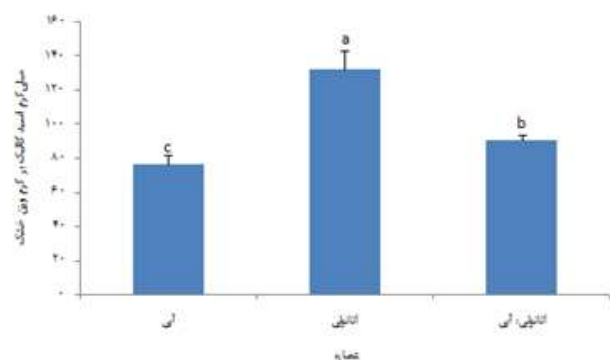
هیدرازیل (DPPH: Di Phenyl Picryl Hydrazyl): فعالیت خنثی‌سازی رادیکال آزاد (Radical Scavenging activity) دی فنیل

در عصاره آبی- اتانولی (۱۸/۲۷±۰/۵۲ میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره) بیش تر از عصاره آبی بود و اختلاف معنی داری را نشان داد ($P<0/05$).

فعالیت آنتی اکسیدانی: در شکل ۳ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پرمیکس ماکروجلبک های قهوه ای آورده شده است. همچنین بیش ترین و کم ترین مقدار دی فنیل پیکریل هیدرازیل به ترتیب در عصاره اتانولی (۱۹۶۷/۳۲±۳۱/۰۷ میکرومول ترولکس بر گرم عصاره) و آبی (۱۴۹۵/۷۲±۲۱/۷۸ میکرومول ترولکس بر گرم عصاره) مشاهده شد. میزان دی فنیل پیکریل هیدرازیل در عصاره آبی- اتانولی (۱۷۸۹/۱±۴۲/۷۸ میکرومول ترولکس بر گرم عصاره) بیش تر از عصاره آبی بود و اختلاف معنی داری را نشان داد ($P<0/05$).

جدول ۱: میانگین (± خطای معیار) مقادیر استرول آزاد و استرول کل (میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک) در پرمیکس ماکروجلبک های قهوه ای *Stoechospermum marginatum* و *Sargassum ilicifolium*, *Padina australis*

مقدار استرول (میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک)	
کلسترول	۱۰/۰۲±۲/۱۲
ارگسترول	۰/۱۸±۰/۰۵
۲۴ متیل کلسترول	۰/۲۱±۰/۰۴
کمپسترول	۱/۷۸±۰/۰۲
سیتوستانول	۸۸/۰۷±۰/۰۵
دلتا ۵ اوناسترول	۳/۵۴±۰/۰۶
دلتا ۷ کمپسترول	۰/۲۰±۰/۰۱
استیگماسترول	۰/۲۱±۰/۰۱
کمپستانول	۰/۰۵±۰/۰۲
مجموع استرول	۳۶۸/۷۸ ± ۲۴/۱۲



شکل ۱: نمودار تغییرات میانگین (± خطای معیار) فنل کل در عصاره پرمیکس ماکروجلبک های قهوه ای *Sargassum ilicifolium*, *Padina australis* و *Stoechospermum marginatum* است.
اختلاف معنی دار بین عصاره ها با حروف نامشابه نشان داده شده است ($P<0/05$).

پیکریل هیدرازیل عصاره پرمیکس ماکروجلبک توسط روش Shimada و همکاران (۲۸) با استفاده از کیت اندازه گیری ظرفیت خنثی سازی رادیکال آزاد براساس روش DPPH (کیت زیتوکس تهیه شده از شرکت کاوش آزما) در طول موج ۵۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و مقدار DPPH بر حسب میکرومول ترولکس بر گرم وزن خشک عصاره بیان گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و پیرایش ۱۹ و براساس آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (one way ANOVA) انجام شد. نرمال بودن داده ها با استفاده از تست کالموگراف اسمیرنوف و برابری واریانس ها با تست لون بررسی شد. بعد از مشخص شدن معنی دار بودن اختلاف بین میانگین ها، برای رتبه بندی آن ها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال $p<0/05$ استفاده شد. برای تمامی اندازه گیری ها هر عصاره پرمیکس سه بار تکرار صورت گرفت و مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.

نتایج

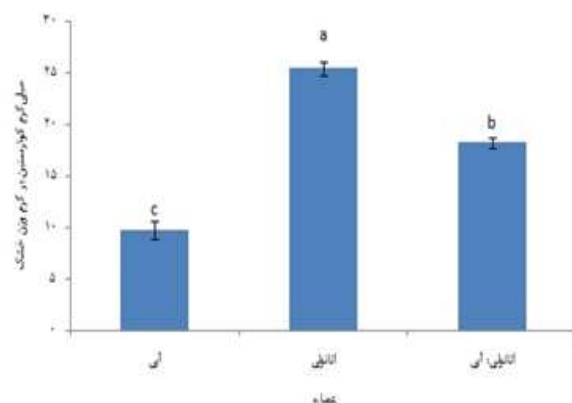
ترکیب های فیتوشیمیایی

استرول: در جدول ۱ مقایسه میزان استرول آزاد و کل استرول پرمیکس ماکروجلبک های قهوه ای ارائه شده است. استرول غالب سیتوستانول (Sitostanol) بود. میزان استرول کل ۳۶۸/۷۸ ± ۲۴/۱۲ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. میزان کلسترول و دلتا ۵ اوناسترول (Delta 5-avenasterol) به ترتیب ۱۰/۰۲ ± ۲/۱۲ و ۳/۵۴ ± ۰/۰۶ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک بود.

فنل کل: تغییرات میانگین میزان فنل در عصاره های مختلف پرمیکس ماکروجلبک های قهوه ای در شکل ۱ نشان داده شده است. بیش ترین میزان فنل در عصاره اتانولی (۱۳۲/۴۶ ± ۱۱/۰۷ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) مشاهده شد که اختلاف معنی داری را در مقایسه با عصاره آبی (۷۶/۵۲ ± ۵/۰۹ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) و آبی- اتانولی (۹۰/۵ ± ۳/۲۳ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) نشان داد ($P<0/05$). کم ترین میزان فنل در عصاره آبی مشاهده شد.

فلاونوئید: محتوی فلاونوئید استخراج شده از عصاره پرمیکس جلبک های قهوه ای در شکل ۲ آورده شده است. بیش ترین (۲۵/۵۱ ± ۰/۶۷ میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک) و کم ترین (۹/۸۱ ± ۰/۸۷ میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک) محتوی فلاونوئید به ترتیب عصاره اتانولی و آبی پرمیکس مشاهده شد ($P<0/05$). محتوی فلاونوئید

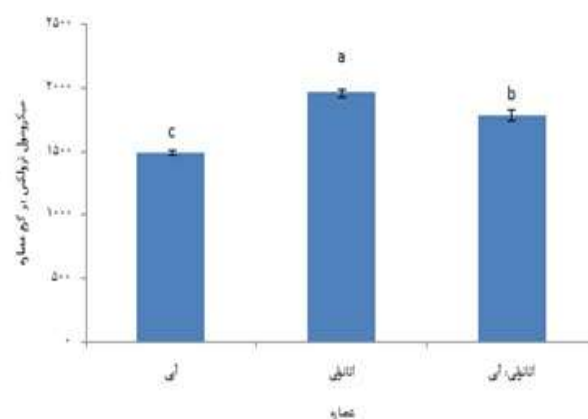
و *Ahnfeltiopsis pygmaea* (۶) هم خوانی داشت. آن‌ها نشان دادند که میزان سیتوستانول به عنوان استرول غالب در جلبک *P. australis*، ترتیب ۸۱/۰۲، ۹۰/۳۴ و ۴۶/۸۳ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود. Jamili و همکاران، نشان دادند که در جلبک *P. boergesenii* کلسترول و ۲۲-دهیدروکلسترول دو استرول اصلی این گونه می باشد (۱) که با نتایج حاضر هم خوانی نداشت. می توان گفت که نوع این ترکیبات تحت شرایط محیطی در گونه های متعدد متفاوت است. این ترکیبات جزو متابولیت های ثانویه محسوب می شوند و متابولیت های ثانویه هر موجود زنده ای تحت تاثیر شرایط محیطی، متغیر و یا به مشتقات مشابه تبدیل می شوند (۱۱). با توجه به ارزش بسیار زیاد دارویی استرول ها از جمله کمپسترول، استیگماسترول می توانند منابع مناسبی برای استفاده در صنایع دارویی باشند که این استرول ها، نقش مهمی در جلوگیری از رشد سلول های سرطانی و پیشگیری از بیماری های قلبی- عروقی دارند (۱۳، ۱۴، ۱۹). با افزایش ترکیبات فنلی خاصیت آنتی اکسیدانی بیش تر می شود. ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد مانند فلاونوئید و تانین ها توانایی زیادی برای پاکسازی رادیکالای آزاد دارند و این توانایی بیش تر بستگی به تعداد حلقه های آروماتیک و ماهیت گروه های جابه جا شونده هیدروکسیل دارد (۲). نتایج این تحقیق نشان داد که بیش ترین میزان فنل در عصاره اتانولی پرمیکس مشاهده شد. Akbary و همکاران، با بررسی میزان فنل کل و خواص آنتی اکسیدانی ۳ گونه ماکروجلبک سواحل چابهار، ایران نشان دادند که میزان فنل کل در عصاره اتانولی دو گونه جلبک قهوه ای *Padina australis* (۱۰۳/۶±۰۷/۰۸ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) و *S. marginatum* (۱۲۶/۶۶±۶/۱۱ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) بیش تر از عصاره آبی و آبی- اتانولی بود و عصاره اتانولی جلبک *S. marginatum* بیش ترین میزان فنل را در مقایسه با عصاره اتانولی ماکروجلبک های *P. australis* و *Ahnfeltiopsis pygmaea* نشان داد (۶) که با نتایج این تحقیق هم خوانی داشت. Supardy و همکاران، نشان دادند که در بین عصاره های مختلف جلبک *Halimeda discoidea* فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره کلروفرمی و محتوی فنل بالاتر بود (۲۸) که با نتایج این تحقیق هم خوانی نداشت می توان گفت گونه های مختلف ماکروجلبک ها حاوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی متنوعی هستند و انتخاب حلال مناسب باید بر حسب قطبیت و تنوع ترکیبات شیمیایی مورد مطالعه و نیز غلظت ماده استخراج شده، صورت گیرد (۱۶). محتوی فلاونوئید در این تحقیق، به ترتیب از بیش ترین به کم ترین عبارتند از عصاره اتانولی < آبی- اتانولی < آبی بود. Davarinejad و همکاران، با بررسی اثر تیمار حلال های متانول، اتانول، استون (۵۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد) و آب مقطر بر روی میزان



شکل ۲: نمودار تغییرات میانگین (± خطای معیار) محتوی فلاونوئید

در عصاره پرمیکس ماکروجلبک های قهوه ای *Padina australis*، *Sargassum ilicifolium* و *Stoechospermum marginatum* است.

اختلاف معنی دار بین عصاره ها با حروف نامشابه نشان داده شده است (P<۰/۰۵).



شکل ۳: نمودار مقایسه میانگین (میانگین ± خطای معیار) فعالیت

آنتی اکسیدانی عصاره پرمیکس ماکروجلبک های قهوه ای *Padina australis*، *Sargassum ilicifolium* و *Stoechospermum marginatum* است.

اختلاف معنی دار بین عصاره ها با حروف نامشابه نشان داده شده است (P<۰/۰۵).

بحث

این تحقیق با هدف ارزیابی ترکیب های فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پرمیکس سه گونه ماکروجلبک های قهوه ای *P. australis*، *S. ilicifolium* و *S. marginatum* صورت گرفت. مقدار استرول کل و هم چنین محتوای استرول های شاخصی مانند سیتوستانول، کلسترول، دلتا ۵ اوناسترول قابل توجه بود و می توانند به عنوان منابع مکمل این استرول ها در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرند که با نتایج Akbary و همکاران، روی ماکروجلبک های سواحل چابهار *Padina australis*، *Stoechospermum marginatum*

تهران تشکر و قدردانی می‌گردد. حمایت مالی این طرح (۴۰۰۰۰۰۷) از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور صورت گرفت.

منابع

1. Jamili, S., Gohari Kakhki, A., Saeidnia, S. and Perme, P., 2015. Extraction and Identification Sterols in Brown alga, *Padina boergeresii* in Chabahar Coasts. Iranian Scientific Fisheries Journal. 24 (3): 35-44. (In Persian)
2. Davarynejad, Gh., Taghizadeh, S.F. and Asili, J., 2017. effect of different solvents on total phenolic contents and antioxidant activity of *Zizyphus jujube miller* fruits. Journal of Horticultural Science. 31(1): 158-166. (In Persian)
3. Soltanian, M., Faghani Langrodi, H. and Mohammad Nejad, 2020. The effect of *Zingiber officinale* extract on growth factors, survival and carcass composition in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Animal Environment. 12(4): 327-334. (In Persian)
4. Taheri, A., Ghaffari, M., Bagherpour, N.S. and Attaran Fariman, G., 2017. Study the Antioxiative Properties of the Marine Algae *Cystoseira trinodeis* extracts from Chabahar Coastal Water. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 25(8): 658-669. (In Persian)
5. Mohseni, M., Soltanian, S., Gholamhosseini, A., Akhlaghi, M., Sharifi Yazdi, H. and Hosseinzadeh, S., 2020. Effects of methanol extract of *Satureja hortensis* on growth, serum hematological and biochemical factors on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Animal Environment. 12(4): 371-380. (In Persian)
6. Akbari, P., Liao, L.M., Aminikhoie, Z., Hobbi, M. and Erfanifar, E., 2021. Sterol and fatty acid profiles of three macroalgal species collected from the Chabahar coasts, southeastern Iran. Aquacult Int. 9: 155-165.
7. Akbari, P. and Aminikhoie, Z., 2018. Effect of water soluble polysaccharide extract from the green alga *Ulva rigida* on growth performance, antioxidant enzyme activity, and immune stimulation of grey mullet *Mugil cephalus*. J Appl Phycol. 30: 1345-1353.

ترکیبات آنتی اکسیدانی (فنل کل، تانن ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین ها) میوه عناب (*Ziziphus jujube* Miller) نشان دادند که استون ۵۰ درصد در استخراج ترکیبات فنل و فلاونوئید کل به ترتیب با مقادیر ۷۹۸.۲۰ میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک و ۱۸۷۱.۷۳ میلی گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم ماده خشک، بهترین عملکرد را در میان سایر حلال ها داشته است (۲). Salmanian و همکاران، نشان دادند که نوع حلال مورد استفاده جهت استخراج تاثیر معنی داری بر مقدار ترکیبات فلاونوئید عصاره های اتانولی و متانولی *Eucalyptus camaldulensis* داشته است (۲۴). Nazari و همکاران، در بررسی خواص آنتی اکسیدانی، میزان فنل و فلاونوئید کل پوست درختان اوکالیپتوس (*Pinus sylvestris*) و کاج جنگلی (*Eryngium caucasicum*) دریافتند که عصاره اتانولی اوکالیپتوس دارای مقادیر بیش تری فنل و فلاونوئید بود (۲۲). می توان گفت که تفاوت در نوع، خلوص و قطبیت حلال ها بر میزان استخراج متابولیت های ثانویه تاثیر می گذارند (۶). نتایج حاصل از بررسی به روش DPPH در این تحقیق نشان داد که خاصیت آنتی اکسیدانی مستقیماً تحت تاثیر ترکیبات فنلی قرار گرفته است در میان حلال های مورد استفاده، اتانول بهترین بازده را در روش DPPH نشان داد. Akbari و همکاران، نشان دادند که عصاره اتانولی *Stoechospermum P. australis*، *Ahnfeltiopsis pygmaea* و *marginatum* چابهار بیش ترین میزان DPPH را در مقایسه با عصاره آبی و اتانولی-آبی نشان دادند (۶) که با نتایج حاضر هم خوانی داشت. هم چنین Taheri و همکاران، نشان دادند که بیش ترین ظرفیت آنتی اکسیدانی در روش DPPH برای جلبک *C. trinodeis* مربوط به عصاره اتیل استات بود (۹۶/۹۲± درصد) (۴). می توان گفت که عصاره های مختلف پرمیکس ماکرو جلبک ها دارای توان آنتی اکسیدانی متفاوتی می باشند و از این ترکیبات به عنوان ابزار درمانی می توان استفاده نمود (۴، ۶، ۱۰). در مطالعه حاضر، سیتوستانول، استرول غالب پرمیکس ماکرو جلبک های مورد آزمایش بود و میزان فنل کل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب از بیش ترین به کم ترین عبارتند از عصاره اتانولی < آبی-اتانولی < آبی بود. از آن جایی که عصاره اتانولی پرمیکس ماکرو جلبک ها بهترین محتوی فلاونوئیدی، فنل و فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد، می تواند به عنوان منابع غنی از استرول و آنتی اکسیدان های طبیعی برای صنایع غذایی و دارویی توصیه شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری ریاست و پرسنل محترم مرکز تحقیقات شیلات آب های دور چابهار و کارشناس محترم آزمایشگاه نمونه آزموی

- chromatography–flame ionization detection. J Chromatogr. A. 1163(1): 304-311.
19. **Mirza, M., Najafpoor Navaii, M. and Dini, M., 2004.** Identification and Investigation chemical composition of essential oil *Scutellaria pinnatifida* Arth.et Hamilt. Medicinal and Aromatic Plants of Iran. 4: 417-723.
 20. **Naïel, M.A., Ismael, N.E., Abd El-hameed, S.A. and Amer, M.S., 2020.** The antioxidative and immunity roles of chitosan nanoparticle and vitamin C-supplemented diets against imidacloprid toxicity on *Oreochromis niloticus*. Aquaculture. 523(3): 735219-735249.
 21. **Natrah, F., Harah, Z.M., Sidik, B.J., Izzatul, N. and Syahidah, A., 2015.** Antibacterial activities of selected seaweed and seagrass from port Dickson coastal water against different aquaculture pathogens. Sains Malays. 44: 1269-1273.
 22. **Nazari, S., Nazarneshad, N.J. and Ebrahimzadeh, M.A., 2013.** Evaluation of antioxidant properties and total phenolic and flavonoids content of *Eucalyptus camaldulensis* and *Pinus sylvestris* Bark. Iran J Wood and Paper Sci Res. 28(3): 522-533.
 23. **Rotini, A., Belmonte, A., Barrote, I., Micheli, C., Peirano, A., Santos, R.O., Silva, J. and Migliore, L., 2013.** Effectiveness and consistency of a suite of descriptors for assessing the ecological status of seagrass meadows (*Posidonia oceanica* L. Delile). Estuarine, Coastal Shelf Sci. 130: 252-259.
 24. **Salmanian, Sh., Sadeghi Mahoonak, A.R., Jamson, M. and Tabatabaee Amid, B., 2013.** Identification and quantification of phenolic acids, radical scavenging activity and ferric reducing power of *Eryngium caucasicum* Trautv. ethanolic and methanolic extracts. J Res Innov Food Sci Technol. 2(2): 193-204.
 25. **Sanghyun, L., Yeon Sil, L., Sang Hoon, J., Sam Sik, K. and Kuk Hyun, S.h., 2003.** Anti-oxidant activities of fucosterol from the marine algae *Pelvetia siliquosa* Archives of Pharmacol Research. 26(9): 719-722.
 26. **Santos-Sánchez, N.F., Salas-Coronado, R., Hernández Carlos, B. and Villanueva-Cañongo, C., 2019.** Shikimic acid pathway in biosynthesis of phenolic compounds, Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds. IntechOpen. 1-15.
 8. **Andrade, P.B., Barbosa, M., Matos, R.P., Lopes, G., Vinholes, J., Mouga, T. and Valentão, P., 2013.** Valuable compounds in macroalgae extracts. Food chem. 138: 1819-1828.
 9. **Bakrin, F.S. and Zuraina, F., 2018.** Antibacterial Activity of extract Brown Marine Algae, Species *Padina australis* Hauck from Coastal Area of Port dickson, Malaysia. KPJ Medical. 7: 49-52.
 10. **Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S. and Moschos, P., 2005.** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extract of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food Chem. 90: 333-340.
 11. **Desmond, E. and Gribaldo, S., 2009.** Phylogenomics of Sterol Synthesis: Insights into the Origin, Evolution, and Diversity of a Key Eukaryotic Feature. Genome Biol Evol. 1: 364-381.
 12. **Ebrahimzadeh, M.A., Hosseini Mehr, S.J. and Hamidinia, A., 2008.** Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sellowiana* fruits peel and leaves. Pharmacol. 1: 7-14.
 13. **Fernandes, P. and Cabral, J., 2007.** Phytosterols applications and recovery methods. Bioresour Technol. 98(12): 2335-2350.
 14. **Ghannadi, A. and Mehregan, I., 2003.** Essential oil of one of the Iranian Skullcaps. Z. Naturforsch A Biosciences. 58: 316-318.
 15. **Holdt, S.L. and Kraan, S., 2011.** Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. J Appl Phycol. 23: 543-597.
 16. **Karaman, S., Tutem, E. and Bas-Kan, K.S., 2010.** Apak R. comparison of total antioxidant capacity and phenolic composition of some apple juices with combined HPLC-CUPRAC assay. Food Chem. 120: 1201-1209.
 17. **Kolanjinathan, K., Ganesh, P. and Govindarajan, M., 2009.** Antibacterial activity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 13: 173-177.
 18. **Liu, W.H., Ding, B., Ruan, X.M., Xu, H.T., Yang, J. and Liu, M., 2007.** Analysis of free and conjugated phytosterols in tobacco by an improved method using gas

27. Shi, J., Nawaz, H. and Pohorly, J., 2005. Extraction of polyphenolics from Plant material for functional foods engineering and technology. Food Rev Int. 21: 1-12.
28. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Namkamura, T., 1992. Antioxidative properties of Xanthan on the autooxidation of soyabean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 40: 945-948.
29. Supardy, N.A., Ibrahim, D., Sulaiman, S.F. and Zakaria, N.A., 2011. Free radical scavenging activity, total phenolic content and toxicity level of *Halimeda discoidea* (Decaisne) extracts (Malaysia's green macroalgae). Int J Pharmacy Pharmaceutic Sci. 3(5): 397-402.
30. Wells, M.L., Potin, P., Craigie, J.S., Raven, J.A., Merchant, S.S., Helliwell, K.E., Smith, A.G., Camire, M.E. and Brawley, S.H., 2017. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. J Appl Phycol. 29: 949-982.