

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و تعیین محتوای پلی فنلی توتیای دریایی *Echinometra mathaei* خلیج فارس

سولماز سلیمانی¹، مرتضی یوسف زادی^{2*}، سهیلا معین³، نرگس امراللهی بیوکی⁴،
موسی کشاورز⁵، حامد اصلیان¹

- 1- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس
- 2- دانشیار، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس
- 3- دانشیار، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس
- 4- استادیار، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس
- 5- دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

* بندرعباس، صندوق پستی 3995

morteza110110@gmail.com

(دریافت مقاله: 94/2/27 پذیرش مقاله: 94/6/17)

چکیده - رادیکال‌های آزاد، یک یا چند الکترون غیرجفت در اوربیتال خالی دارند که اکسیژن مرکزی آن‌ها، به‌عنوان ROS شناخته می‌شوند. مهار آن‌ها، برای کاهش سطح استرس اکسیداتیو ارگانسیم، در جلوگیری و درمان برخی بیماری‌های مزمن و مخرب مؤثر می‌باشند. هدف از این مطالعه، بررسی برخی خواص آنتی‌اکسیدانی بخش‌های مختلف توتیای دریایی *Echinometra matheai* و هم‌چنین، تعیین میزان ترکیبات پلی‌فنلی به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی طبیعی می‌باشد. در مطالعه آزمایشگاهی، عصاره‌های بافت‌های مختلف (خار، پوسته، گناد و فانوس‌ارسطو) توتیای دریایی با استفاده از سه حلال ان-هگزان، اتیل‌استات و متانول، براساس افزایش قطبیت جدا گردید. سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی هر یک از عصاره‌ها، با استفاده از روش‌های قدرت‌احیاکنندگی، مهار رادیکال آزاد DPPH و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی سنجیده شد. هم‌چنین، میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئید نیز به روش اسپکتروفتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. طبق نتایج به‌دست آمده، پوسته متانولی و خار متانولی به‌ترتیب، دارای بیشترین میزان قدرت‌احیاکنندگی و مهار رادیکال آزاد DPPH می‌باشند. فانوس‌ارسطو اتیل‌استاتی، خار و گناد ان-هگزانی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تری نسبت به آسکوربیک‌اسید به‌عنوان استاندارد را دارا می‌باشند. بیشترین میزان فنل و فلاونوئید به‌ترتیب، در خار متانول $0/0044 \pm 0/0003$ میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم عصاره و فانوس‌ارسطو اتیل‌استات $24/616 \pm 0/7167$ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره به‌دست آمد. نتایج اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال $p < 0/05$ را نشان می‌دهد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که می‌توان توتیای دریایی را به‌عنوان یک منبع بالقوه از ترکیبات فعال زیستی طبیعی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا معرفی کرد.

کلیدواژگان: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات پلی‌فنلی، توتیای دریایی، *Echinometra matheai*.

1- مقدمه

توتیاهای دریایی به خانواده Echinoidea از بی‌مهرگان دریایی تعلق دارند. آن‌ها بدنی کروی شکل دارند که ارگان‌های آن در یک پوسته سخت قرار گرفته و کاملاً به وسیله تعداد زیادی خارهای تیز پوشیده شده است [1]. بخش خوراکی توتیای دریایی، گنادها می‌باشد که ارگانی زرد تا قهوه‌ای رنگ، و شامل پنج بخش است، که هر کدام به شکل نیمه ماه بوده و تقریباً 10% وزن کل جانور را تشکیل می‌دهد [2]. گنادها محتوی تعداد زیادی اسیدهای آمینه‌آزاد تا حد 10g/100g پروتئین خام می‌باشند [3]. گناد توتیای دریایی از نظر طعم و مزه بالاتر از خاویار و اویستر مطرح شده است و هر دو به صورت خام مصرف می‌شوند. به همین دلیل، در تعداد زیادی از کشورها به طور عمده در ژاپن، فرانسه، آمریکای جنوبی و تا حد کمی آمریکای شمالی و به طور عمده در نیویورک، بوستون، کالیفرنیا و کلمبیا محبوب است [1]. تغذیه توتیای دریایی از جلبک‌های دریایی و به‌طور اختصاصی از جلبک‌های قهوه‌ای است. بنابراین، انتظار می‌رود که تعدادی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مثل کاروتنوئیدها و پلی‌فنل‌ها در آن‌ها ذخیره شوند [4] که این ترکیبات دارای خواص داروئی، ضدباکتریایی و ضداکسیدانی می‌باشند [5].

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توانند با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی و برخی اشکال سرطان اهمیت داشته باشند [6]. رادیکال‌های آزاد، یک یا چند الکترون غیرجفت در اوربیتال خالی دارند و شامل سوپراکسیدآنیون (O_2^-)، هیدروکسیل (HO^\bullet)، پراکسیل (ROO^\bullet)، آلکوکسیل (RO^\bullet)، و نیتریک-اکسید می‌باشند که اکسیژن مرکزی آن‌ها، به‌عنوان ROS (Reactive oxygen Species) شناخته می‌شوند [7]. آن‌ها مستقیماً به مولکول‌های بیولوژیک، همچون لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA، RNA و آنزیم‌ها حمله می‌کنند [8].

ROS، نقش یک همزاد در ارگانسیم‌ها را بازی می‌کند [7] و گمان می‌شود که مهار آن‌ها، برای کاهش سطح استرس اکسیداتیو ارگانسیم، در جلوگیری و درمان برخی بیماری‌های مزمن و مخرب مانند، پیری، بیماری‌های قلبی و عروقی، التهاب، سکت، دیابت شیرین، سرطان و ... مؤثر باشند [10,9]. بنابراین، آنتی‌اکسیدان‌هایی که می‌توانند ROS را مهار کنند، انتظار می‌رود که این اختلالات را بهبود ببخشند [11].

بدن ما آنتی‌اکسیدان‌های متنوعی را تولید می‌کند. برخی از آنتی‌اکسیدان‌های مشتق شده از غذا، از تخریب رادیکال‌های آزاد که می‌تواند در بدن ما اتفاق بیفتد، جلوگیری می‌کند. روند تکاملی غذای انسان نشان می‌دهد که در گذشته، انسان‌ها آنتی‌اکسیدان‌های مشتق شده از گیاه را مصرف می‌کردند [12]. تغذیه انسان در کشورهای توسعه یافته در چند دهه گذشته به غذاهای فست فود تغییر یافته است و وعده‌های غذایی آماده، سرشار از چربی‌ها و از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فقیر می‌باشند. هم‌چنین، به‌نظر می‌رسد که افزایش بیش از حد ترکیبات اکسیدان، بیش از آنتی‌اکسیدان‌ها، منجر به افزایش خطر اختلالات فیزیولوژیکی شود. براساس توصیه‌های متخصصان تغذیه و پزشکان، تعداد زیادی از مردم باید مصرف روزانه میوه و سبزیجات خود را برای برطرف کردن نیازهای آنتی‌اکسیدانی افزایش دهند. اگرچه غذاهای دریایی بخشی از رژیم غذایی سالم در نظر گرفته شده است. گونه‌هایی از غذاهای دریایی همچون ماسل‌ها، اسکالوپ‌ها، خرچنگ‌ها و توتیاهای دریایی به ندرت به‌عنوان منبع آنتی‌اکسیدان در نظر گرفته می‌شوند [4]. یک اختلاف بین رژیم غذایی و نیاز فیزیولوژیکی، ممکن است در آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی وجود داشته باشد. علاوه بر این، در حال حاضر، مردم در معرض سم‌های گوناگون قرار گرفته‌اند که ممکن است اکسیدان‌های قوی باشند [12] و این می‌تواند به‌علت کمبود اطلاعات، درباره خواص آنتی‌اکسیدانی غذاهای

دریایی باشد [4].

در DMSO، در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که تمام مراحل عصاره‌گیری در دمای آزمایشگاه (25 درجه سانتی‌گراد) انجام شد. بدین ترتیب، طیفی از ترکیبات با درجه قطبیت متفاوت خواهیم داشت.

تاکنون هیچ‌گونه تحقیق و مطالعه‌ای بر روی خواص زیستی گونه‌های توتیای دریایی در کشور ما انجام نشده است، هم‌چنین مطالعه‌ای در خصوص خواص آنتی-اکسیدانی توتیای دریایی *Echinometra mathaei* در جهان صورت نگرفته است.

با توجه به اهمیت ذکر شده برای ضداکسیدان‌ها و نیاز بدن به تأمین آن‌ها از منابع خارجی، می‌توان به‌دنبال ضداکسیدان‌های جدیدی بود که بتوانند به‌صورت مکمل غذایی و یا به‌عنوان جزئی از رژیم غذایی مصرف شوند. هدف از مطالعه پیش رو، بررسی برخی خواص آنتی-اکسیدانی بخش‌های مختلف توتیای دریایی *Echinometra mathaei* و هم‌چنین تعیین میزان ترکیبات پلی‌فنلی به‌عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدانی طبیعی می‌باشد.

2- مواد و روش‌ها

2-1- نمونه‌برداری و عصاره‌گیری

توتیاهای دریایی گونه *E. mathaei* در فروردین ماه 1392 از ناحیه بین‌جزر و مدی ساحل پارک زیتون واقع در جزیره قشم واقع در خلیج فارس جمع‌آوری گردید. توتیاهای دریایی در آب‌دریا با حفظ شرایط بیولوژیک و به صورت زنده به آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه هرمزگان منتقل شدند. ابتدا نمونه‌ها را با آب مقطر شستشو داده و سپس به صورت زنده تشریح و بافتهای مورد نظر (گناد، پوسته، خار و فانوس ارسطو) جدا گردید. تمام بافت‌ها جهت خشک شدن و گرفتن رطوبت در دستگاه فریزداری در دمای 40- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

عصاره بافتهای مختلف (گناد، پوسته، خار و فانوس- ارسطو) با استفاده از سه حلال ان- هگزان، اتیل‌استات و متانول به‌ترتیب افزایش قطبیت جدا گردید. عصاره‌ها در دستگاه روتاری در شرایط خلاء تبخیر و پس از حل شدن

2-2- ارزیابی قدرت احیاکنندگی

این آزمایش بر مبنای احیا کردن کلرید آهن III (سه ظرفیتی) به کلرید آهن II (دو ظرفیتی) توسط عصاره‌ای که دارای قدرت احیاکنندگی است، مورد ارزیابی قرار گرفت. تبدیل رنگ زرد به آبی مبنای سنجش می‌باشد. توانایی عصاره‌ها برای احیا آهن سه ظرفیتی طبق روش Duan و همکاران (2006) تعیین شد. در این روش، 0/5 میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (40- 20- 10- 5- 2/5- 1/25 میکروگرم بر میلی‌لیتر) با 1/25 میلی‌لیتر بافر فسفات (0/1 مولار، pH=6/6) و 1/25 میلی‌لیتر فری-سیانیدپتاسیم (1%) مخلوط شد و برای 20 دقیقه در حمام آب با دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس 2/5 میلی‌لیتر از مخلوط را برداشته و به آن 1/25 میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (10%) و 1/25 میلی‌لیتر آب مقطر و در نهایت 0/25 میلی‌لیتر کلروفریک (0/1%) اضافه گردید. بلافاصله جذب نمونه‌ها در طول موج 700 نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. افزایش جذب نمونه‌ها به معنی افزایش قدرت احیاکنندگی نمونه-ها می‌باشد. آب مقطر به‌عنوان بلانک، و آسکوربیک اسید نیز به‌عنوان استاندارد استفاده گردید [8].

2-3- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

DPPH یک رادیکال آزاد است که در حضور مواد دارای خواص آنتی‌اکسیدان و با گرفتن الکترون تغییر رنگ می‌دهد. تغییر رنگ آن از بنفش به زرد مبنای بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

2-5- اندازه‌گیری محتوی کل ترکیبات فنلی عصاره‌ها

میزان کل ترکیبات فنلی عصاره‌ها با روش فولین-سیوکالتو و طبق متد Fu و همکاران (2011) با اندکی تغییر، اندازه‌گیری شد. روش فولین-سیوکالتو از متداول-ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنلی می‌باشد. اساس کار در این روش، احیا معرف فولین توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که بیشترین جذب را در طول موج 765 نانومتر نشان می‌دهد. در این آزمایش، ابتدا غلظت‌های مختلفی از اسیدگالیک (0/0003-0/024 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌عنوان استاندارد تهیه شد. به‌طور خلاصه، 0/15 میلی‌لیتر از غلظت 10 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ها را با 0/75 میلی‌لیتر فولین-سیوکالتو (1 به 10 رقیق شده با آب مقطر) مخلوط شد. بعد از گذشت 3 دقیقه، 0/6 میلی‌لیتر محلول سدیم‌کربنات (7/5%) به آن‌ها اضافه شد. سپس نمونه‌ها را ورتکس کرده و 60 دقیقه (برای استاندارد به دلیل قوی بودن 30 دقیقه) در دمای آزمایشگاه (25 درجه سانتی‌گراد) و در تاریکی قرار داده می‌شود. میزان جذب نمونه‌ها را در طول موج 765 نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$C = c \cdot v/m'$$

C، میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره را نشان می‌دهد (mg/g)، c، غلظت معادل اسیدگالیک که از منحنی استاندارد به‌دست می‌آید (mg/ml)، v، حجمی از عصاره که با آن آزمایش صورت گرفت (ml) و m'، میزان عصاره به‌دست آمده از یک گرم بافت می‌باشد [9].

2-6- اندازه‌گیری محتوی کل ترکیبات فلاونوئید عصاره‌ها

میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌ها با روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید و طبق متد Zou و همکاران (2004) با اندکی تغییر، اندازه‌گیری شد. در این آزمایش، ابتدا غلظت‌های مختلفی از کوئرستین (100-50-25-12/5 میکروگرم بر میلی‌لیتر) به‌عنوان استاندارد تهیه شد.

توانایی مهار رادیکال آزاد طبق روش Moein و همکاران (2008) انجام شد. به‌طور خلاصه، 0/1 میلی‌لیتر از محلول عصاره‌ها با غلظت‌های مختلف (100-200-400-800-12/5-25-50 میکروگرم بر میلی‌لیتر) با 0/1 میلی‌لیتر محلول 0/5 میلی‌مولار DPPH حل شده در متانول، مخلوط شد. بعد از ورتکس، مخلوط نمونه‌ها 30 دقیقه در دمای آزمایشگاه (25 درجه سانتی‌گراد) و در تاریکی نگه‌داری شد. جذب نمونه در دستگاه الیزاریدر و در طول موج 490 نانومتر خوانده شد. لازم به ذکر است که در کنترل، متانول به‌جای محلول عصاره و در بلانک، متانول به‌جای DPPH استفاده شد. در نهایت، درصد مهار رادیکال آزاد DPPH طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$100 \times (A_0 - A_s) / A_0 = \text{درصد مهار رادیکال آزاد}$$

که در آن، A_s جذب مخلوط واکنش، A_0 جذب بلانک و A جذب کنترل می‌باشد. BHT نیز به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید [13].

2-4- ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC)

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها طبق روش Vijayabaskar و همکاران (2012) تعیین شد. برای تهیه محلول TAC (به‌عنوان معرف) 7/45 میلی‌لیتر سولفوریک اسید 0/6 مولار، 0/99 گرم سولفات سدیم و 1/23 گرم آمونیوم مولیبدات را مخلوط و با آب مقطر به حجم 250 میلی‌لیتر رسانده می‌شود. 0/1 میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (1000-500-250-100-50 میکروگرم بر میلی‌لیتر) با 1 میلی‌لیتر از محلول TAC مخلوط شد. پس از ورتکس، آن‌ها را 15 دقیقه در دمای آزمایشگاه (25 درجه سانتی‌گراد) قرار می‌دهیم. جذب نمونه‌ها در طول موج 695 نانومتر خوانده شد. افزایش جذب نمونه‌ها به معنی افزایش قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها می‌باشد. آب مقطر به‌عنوان بلانک، و آسکوربیک اسید نیز به‌عنوان استاندارد استفاده شد [14].

تحلیل به دست آمده از نتایج آزمون‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال (0/05) < P صورت گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 19 و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel 2010 انجام شد.

3- یافته‌ها

3-1- ارزیابی قدرت احیاکنندگی

توانایی قدرت احیاکنندگی عصاره‌های بخش‌های مختلف توتیای دریایی، در جدول 1 به نمایش گذاشته شده است. در این آزمون، توانایی احیای کلرید آهن سه ظرفیتی به کلرید آهن دوظرفیتی سنجیده می‌شود.

0/5 میلی‌لیتر از غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ها با 2 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده، پس از گذشت 3 دقیقه، 0/15 میلی‌لیتر سدیم نیتريت 5% و 0/15 میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید 10% به آن‌ها اضافه می‌شود. بعد از 6 دقیقه، 2 میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید 4% به مخلوط واکنش اضافه و سپس حجم آن آب مقطر به 5 میلی‌لیتر رسانده شد. آنگاه مخلوط را ورتکس کرده و 15 دقیقه در دمای آزمایشگاه (25 درجه سانتی‌گراد) قرار داده می‌شود. میزان جذب نمونه‌ها را در طول موج 510 نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین به دست آمد [7].

2-7- آنالیز آماری

در این مطالعه، تمیازها در سه تکرار انجام شد و تجزیه و

جدول 1 توانایی احیای یون آهن کلرید توسط بخش‌های مختلف توتیای دریایی

عصاره	غلظت	40	20	10	5	2/5	1/25
آسکوربیک اسید	0/432 ± 0/002 ^a	0/249 ± 0/0004 ^b	0/156 ± 0/001 ^{fg}	0/138 ± 0/002 ^{jk}	0/127 ± 0/002 ^m	0/118 ± 0/003 ⁿ	
گناد - متانول	0/157 ± 0/0020 ^{ef}	0/142 ± 0/0023 ^j	0/141 ± 0/0009 ^j	0/134 ± 0/0016 ^{kl}	0/130 ± 0/0017 ^{lm}	0/122 ± 0/0021 ⁿ	
گناد - اتیل استات	0/161 ± 0/0017 ^e	0/157 ± 0/0021 ^{efg}	0/155 ± 0/0012 ^{fgh}	0/152 ± 0/0030 ^{gh}	0/147 ± 0/0016 ⁱ	0/135 ± 0/0028 ^k	
گناد - ان‌هگزان	0/173 ± 0/0012 ^c	0/168 ± 0/0024 ^d	0/167 ± 0/0020 ^d	0/166 ± 0/0014 ^d	0/157 ± 0/0026 ^{efg}	0/151 ± 0/0018 ^h	
آسکوربیک اسید	0/432 ± 0/002 ^b	0/249 ± 0/0004 ^g	0/156 ± 0/001 ^o	0/138 ± 0/002 ^p	0/127 ± 0/002 ^q	0/118 ± 0/003 ^q	
پوسته - متانول	0/475 ± 0/0049 ^a	0/434 ± 0/0095 ^b	0/372 ± 0/0085 ^c	0/355 ± 0/0114 ^d	0/320 ± 0/0049 ^e	0/31 ± 0/0045 ^f	
پوسته - اتیل استات	0/172 ± 0/0012 ^{klm}	0/169 ± 0/0004 ^{lmn}	0/167 ± 0/0017 ^{mn}	0/162 ± 0/0024 ^{no}	0/1616 ± 0/0020 ^{no}	0/155 ± 0/0009 ^o	
پوسته - ان‌هگزان	0/224 ± 0/0086 ^h	0/196 ± 0/0040 ⁱ	0/185 ± 0/0033 ^j	0/180 ± 0/0021 ^{jk}	0/179 ± 0/0016 ^{kl}	0/164 ± 0/0012 ^{mno}	
آسکوربیک اسید	0/432 ± 0/002 ^a	0/249 ± 0/0004 ^f	0/156 ± 0/001 ^l	0/138 ± 0/002 ^m	0/127 ± 0/002 ⁿ	0/118 ± 0/003 ⁿ	
خار - متانول	0/279 ± 0/0073 ^d	0/246 ± 0/0096 ^f	0/227 ± 0/0125 ^g	0/206 ± 0/0079 ^h	0/201 ± 0/0032 ^h	0/199 ± 0/0037 ^h	
خار - اتیل استات	0/367 ± 0/0062 ^b	0/337 ± 0/0040 ^c	0/284 ± 0/0037 ^d	0/276 ± 0/0044 ^d	0/263 ± 0/0035 ^e	0/225 ± 0/0078 ^e	
خار - ان‌هگزان	0/222 ± 0/0049 ^g	0/183 ± 0/0017 ⁱ	0/180 ± 0/0024 ^{ij}	0/176 ± 0/0017 ^{ijk}	0/170 ± 0/0033 ^{jk}	0/167 ± 0/0020 ^k	
آسکوربیک اسید	0/432 ± 0/002 ^{ab}	0/249 ± 0/0004 ^j	0/156 ± 0/001 ^m	0/138 ± 0/002 ⁿ	0/127 ± 0/002 ^{no}	0/118 ± 0/003 ^o	
فانوس ارسطو - متانول	0/400 ± 0/0095 ^c	0/382 ± 0/0023 ^d	0/374 ± 0/0061 ^d	0/316 ± 0/0157 ^h	0/277 ± 0/0102 ⁱ	0/218 ± 0/0033 ^{kl}	
فانوس ارسطو - اتیل استات	0/438 ± 0/0018 ^a	0/425 ± 0/0066 ^b	0/377 ± 0/0063 ^d	0/354 ± 0/0083 ^e	0/338 ± 0/0041 ^f	0/322 ± 0/0020 ^h	
فانوس ارسطو - ان‌هگزان	0/335 ± 0/0052 ^{fg}	0/325 ± 0/0044 ^{gh}	0/271 ± 0/0049 ⁱ	0/228 ± 0/0050 ^k	0/219 ± 0/0040 ^{kl}	0/213 ± 0/0012 ^l	

2-3- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

میزان کاهش جذب محلول DPPH عصاره‌های بخش‌های مختلف توتیای دریایی در حضور غلظت‌های مختلف، در جدول 2 مشاهده می‌شود.

از مشاهده جدول 2، می‌توان نتیجه گرفت که از بین عصاره بخش‌های مختلف توتیای دریایی، پوسته ان-هگزانی و گناد، خار و فانوس‌ارسطو متانولی دارای بیشترین توانایی برای مهار رادیکال آزاد DPPH می‌باشند که در شکل 2 نشان داده شده است.

از مقایسه بین عصاره‌های شکل 2، خار متانولی (غلظت 800 میکروگرم بر میلی‌لیتر) بالاترین میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH را نشان داد. همان‌گونه که در نمودار مشاهده می‌شود، فانوس‌ارسطو متانولی (غلظت 800 میکروگرم بر میلی‌لیتر) نیز میزان قابل توجهی رادیکال آزاد را مهار می‌کند، که براساس شاخص‌های آماری نیز تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد. همچنین، گناد متانولی در غلظت 25 میکروگرم بر میلی‌لیتر پایین‌ترین میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH را نشان داد.

مقایسه بین عصاره بخش‌های مختلف توتیای دریایی (جدول 1) نشان می‌دهد که گناد ان-هگزانی، پوسته متانولی، خار و فانوس‌ارسطو اتیل‌استات، قوی‌ترین قدرت احیاکنندگی را دارا می‌باشند که در شکل 1 نشان داده شده است.

از مقایسه بررسی‌های آماری بین قوی‌ترین عصاره‌های توتیای دریایی، مشاهده شد که پوسته متانولی (غلظت 40 میکروگرم بر میلی‌لیتر)، فعالیت احیاکنندگی بیشتری نسبت به آسکوربیک‌اسید به‌عنوان استاندارد دارد. در حالی‌که، کمترین میزان قدرت احیاکنندگی در آسکوربیک‌اسید (غلظت 1/25 و 2/5 میکروگرم بر میلی‌لیتر) مشاهده گردید. همان‌گونه که از نمودار برمی‌آید، میزان قابل‌توجهی قدرت احیاکنندگی نیز در غلظت 40 میکروگرم بر میلی‌لیتر فانوس‌ارسطو اتیل‌استاتی و آسکوربیک‌اسید و غلظت 20 میکروگرم بر میلی‌لیتر پوسته متانولی مشاهده شد که براساس شاخص‌های آماری نیز تفاوت معنی‌داری بین این غلظت‌ها وجود ندارد. براساس نتایج این مطالعه، اختلاف معنی‌داری بین عصاره‌های موجود در شکل 1 و غلظت‌های مختلف مورد آزمایش مشاهده گردید ($P \leq 0/05$).



شکل 1 قدرت احیایی قوی‌ترین عصاره‌های توتیای دریایی در مقایسه با آسکوربیک‌اسید به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر). حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $P \leq 0/05$ است

جدول 2 میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره‌های مختلف توتیای دریایی

غلظت	12/5	25	50	100	200	400	800	عصاره
	47/03±0/48 ^g	49/56±1/56 ^f	56±0/75 ^e	68/53±0/49 ^d	73/24±0/95 ^c	88/47±0/28 ^b	89/92±0/41 ^a	BHT
گناد-متانول	38/28±0/08 ^{no}	39/46±0/29 ^{mmn}	40/35±0/15 ^{klm}	41/36±0/55 ^{ijk}	41/15±0/41 ^{ijkl}	42/05±0/44 ^{ij}	44/4±0/33 ^h	
گناد-اتیل استات	32/92±1/31 ^r	35/27±0/18 ^q	35/58±0/31 ^q	36/48±0/3 ^{pq}	38/04±0/5 ^{no}	39/87±0/81 ^{lm}	42/67±0/41 ⁱ	
گناد-ان‌هگزان	38/011/34 ^{no}	40/74±1/97 ^{op}	37/31±0/58 ^{op}	37/03±0/34 ^{op}	38/35±0/68 ^{no}	41/08±0/96 ^{ijkl}	49/08±0/91 ^f	
	47/03±0/48 ^f	49/56±1/56 ^e	56±0/75 ^d	68/53±0/49 ^c	73/24±0/95 ^b	88/47±0/28 ^a	89/92±0/41 ^a	BHT
پوسته-متانول	30/21±0/89 ^r	34/29±0/92 ^q	36/13±1/29 ^p	40/32±0/84 ^{mmno}	42/08±0/87 ^{ijklm}	43/74±0/95 ^{ghi}	47/45±1/07 ^f	
پوسته-اتیل استات	35/51±1/11 ^{pq}	38/9±0/44 ^o	39/66±0/2 ^{no}	40/73±0/2 ^{lmn}	41/74±0/15 ^{ijkl}	42/78±0/29 ^{hijk}	44/12±1/37 ^{gh}	
پوسته-ان‌هگزان	41/29±0/63 ^{klmn}	42/15±0/24 ^{ijkl}	42/57±0/41 ^{hijk}	42/95±0/42 ^{hijk}	43/19±0/37 ^{ghij}	43/96±0/23 ^{gh}	44/82±0/2 ^g	
	47/03±0/48 ^r	49/56±1/56 ^q	56±0/75 ^{fgh}	68/53±0/49 ^d	73/24±0/95 ^c	88/47±0/28 ^b	89/92±0/41 ^a	BHT
خار-متانول	52/26±0/66 ^{mmno}	52/99±0/2 ^{klm}	54/37±0/2 ^{ijk}	54/72±0/45 ^{hij}	24/55±0/23 ^{ghi}	56/9±0/12 ^{ef}	57/87±0/48 ^e	
خار-اتیل استات	51/33±0/11 ^{nop}	51/85±0/25 ^{mnop}	52/3±0/22 ^{mmno}	52/71±0/33 ^{lmn}	53/3±0/34 ^{ijklm}	53/79±0/11 ^{ijkl}	56/51±1/17 ^{efg}	
خار-ان‌هگزان	50/43±0/44 ^{pq}	51/29±0/03 ^{nop}	50/91±0/53 ^{opq}	52/12±0/17 ^{mmno}	52/47±0/3 ^{lmn}	53/85±0/26 ^{ijkl}	54/93±0/41 ^{hi}	
	47/03±0/48 ^l	49/56±1/56 ^k	56±0/75 ^{de}	68/53±0/49 ^c	73/24±0/95 ^b	88/47±0/28 ^a	89/92±0/41 ^a	BHT
فانوس ارسطو-متانول	45/69±0/74 ^l	46/76±0/87 ^l	50/35±1/72 ^{jk}	53/23±0/46 ^{gh}	54/44±0/33 ^{efg}	55/27±0/47 ^{ef}	57/42±1/61 ^d	
فانوس ارسطو-اتیل استات	8/48±0/09 ^r	9/75±0/25 ^{qr}	10/65±0/37 ^{pq}	11/59±0/61 ^p	14/08±0/93 ^o	16/44±0/63 ⁿ	26/41±0/03 ^m	
فانوس ارسطو-ان‌هگزان	46/34±0/97 ^l	49/32±0/71 ^k	51/36±0/28 ^{ij}	52/4±0/26 ^{hi}	53/44±0/44 ^{gh}	54/13±0/17 ^{fg}	55/65±1/04 ^{ef}	

مشاهده شد که گناد و خار ان-هگزان، پوسته متانول و فانوس ارسطو اتیل استات، دارای بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که در شکل 3 نشان داده شده است.

همان‌طور که در شکل 3 مشاهده می‌شود، عصاره‌های فانوس ارسطو اتیل استات، خار و گناد ان‌هگزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد دارا می‌باشند. پوسته متانول دارای کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. همچنین، فانوس ارسطو اتیل استات در غلظت 1000 میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است. در صورتی که کمترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در فانوس ارسطو اتیل استات در غلظت 100 میکروگرم بر میلی‌لیتر دیده

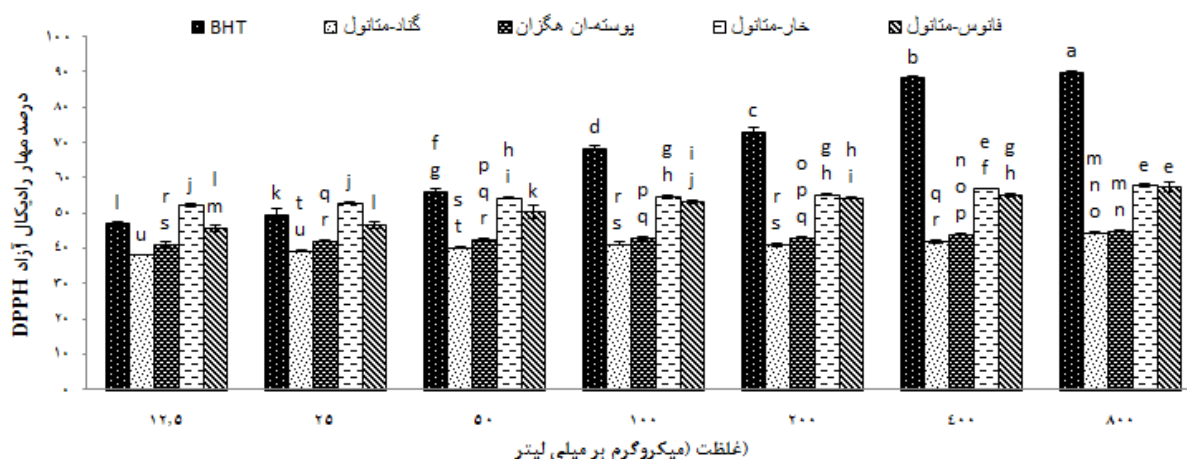
براساس نتایج، غلظت 12/5 میکروگرم بر میلی‌لیتر گناد متانولی نیز میزان قابل توجهی از ادیکال آزاد DPPH را مهار می‌کند که با غلظت 25 میکروگرم بر میلی‌لیتر همین عصاره تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. نتایج آنالیز واریانس، نشان داد که تمام عصاره‌های بخش‌های مختلف توتیای دریایی و غلظت آن‌ها، تاثیر معنی‌داری در سطح اطمینان $p \leq 0/05$ بر روی درصد مهار رادیکال آزاد DPPH دارند.

3-3- ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC)

میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های بخش‌های مختلف توتیای دریایی در جدول 3 نشان داده شده است. از مقایسه بین عصاره بخش‌های مختلف توتیای دریایی،

عصاره تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. براساس نتایج کلی، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف، دارای تفاوت معنی‌داری هستند ($P \leq 0/05$).

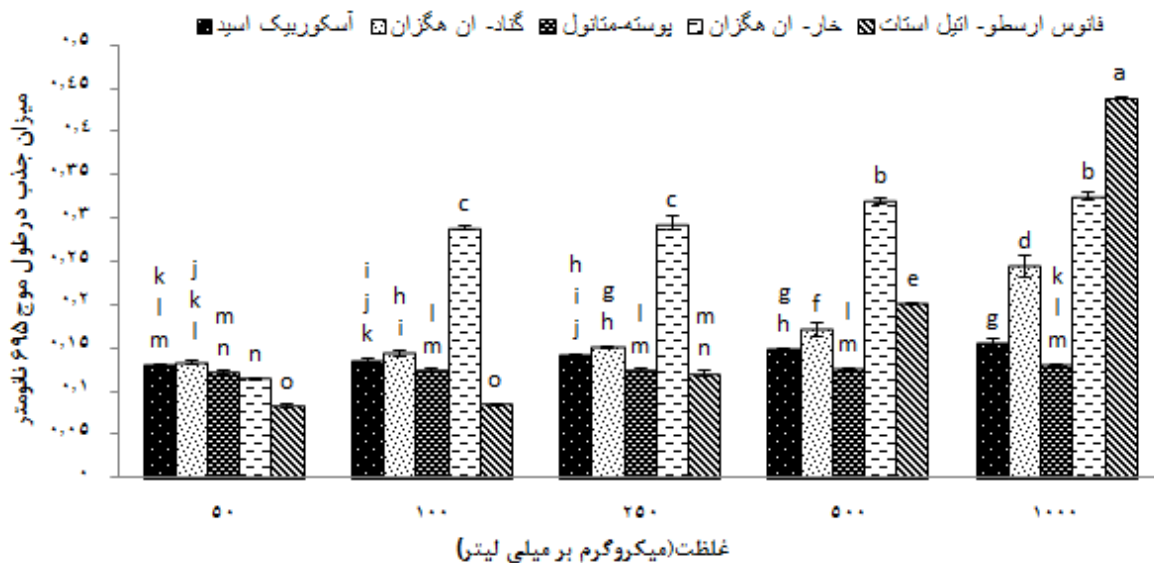
می‌شود. بر اساس نتایج به‌دست آمده، فانوس‌ارسطو اتیل- استات در غلظت 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز دارای میزان قابل توجهی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که در مقایسه با غلظت 100 میکروگرم بر میلی‌لیتر از همین



شکل 2 مقایسه درصد مهار رادیکال آزاد DPPH قوی‌ترین عصاره‌های توتیای دریایی در برابر BHT به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر). حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $P \leq 0/05$ است.

جدول 3 میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های بخش‌های مختلف توتیای دریایی

غلظت					عصاره
50	100	250	500	1000	
0/130 ±0/0008 ^h	0/135 ±0/0029 ^{fgh}	0/142 ±0/0018 ^{efg}	0/148 ±0/0023 ^{ed}	0/155 ±0/0059 ^d	آسکوربیک‌اسید
0/120 ±0/0020 ^{ij}	0/120 ±0/0008 ^{ij}	0/128 ±0/0008 ^{hi}	0/130 ±0/0017 ^h	0/133 ±0/0040 ^h	گناد- متانول
0/118 ±0/0016 ^j	0/119 ±0/0016 ^{ij}	0/136 ±0/0012 ^{fgh}	0/177 ±0/0009 ^c	0/265 ±0/0020 ^a	گناد- اتیل‌استات
0/003 ±0/0012 ^{gh}	0/006 ±0/0016 ^{ef}	0/021 ±0/0021 ^{de}	0/054 ±0/0043 ^c	0/134 ±0/0037 ^b	گناد- ان‌هگزان
0/130 ±0/0008 ^{de}	0/135 ±0/0029 ^d	0/142 ±0/0018 ^c	0/148 ±0/0023 ^b	0/155 ±0/0059 ^a	آسکوربیک‌اسید
0/121 ±0/0020 ^f	0/124 ±0/0020 ^{ef}	0/124 ±0/0024 ^{ef}	0/125 ±0/0008 ^{ef}	0/130 ±0/0029 ^{de}	پوسته - متانول
0/002 ±0/0037 ^j	0/007 ±0/0021 ^j	0/024 ±0/0040 ⁱ	0/061 ±0/0024 ^g	0/150 ±0/0012 ^{ab}	پوسته- اتیل‌استات
0/003 ±0/0012 ^j	0/006 ±0/0016 ^j	0/021 ±0/0021 ⁱ	0/054 ±0/0043 ^h	0/134 ±0/0037 ^d	پوسته - ان‌هگزان
0/130 ±0/0008 ^h	0/135 ±0/0029 ^h	0/142 ±0/0018 ^{fg}	0/148 ±0/0023 ^{ef}	0/155 ±0/0059 ^{cd}	آسکوربیک‌اسید
0/131 ±0/0024 ^h	0/134 ±0/0008 ^h	0/136 ±0/0016 ^{gh}	0/144 ±0/0008 ^f	0/151 ±0/0017 ^{de}	خار- متانول
0/011 ±0/0016 ^l	0/011 ±0/0009 ^l	0/032 ±0/0026 ^k	0/073 ±0/0033 ^j	0/161 ±0/0023 ^c	خار- اتیل‌استات
0/114 ±0/0024 ⁱ	0/289 ±0/0026 ^b	0/294 ±0/0083 ^b	0/320 ±0/0044 ^a	0/325 ±0/0043 ^a	خار- ان‌هگزان
0/130 ±0/0008 ^{gh}	0/135 ±0/0029 ^g	0/142 ±0/0018 ^f	0/148 ±0/0023 ^e	0/155 ±0/0059 ^d	آسکوربیک‌اسید
0/128 ±0/0021 ^h	0/130 ±0/0017 ^{gh}	0/131 ±0/0009 ^{gh}	0/132 ±0/0016 ^{gh}	0/135 ±0/0012 ^g	فانوس ارسطو - متانول
0/083 ±0/0037 ^{jk}	0/085 ±0/0018 ^j	0/120 ±0/0035 ⁱ	0/201 ±0/0021 ^b	0/439 ±0/0018 ^a	فانوس ارسطو- اتیل‌استات
0/076 ±0/0009 ^l	0/078 ±0/0016 ^{kl}	0/085 ±0/0004 ^j	0/116 ±0/0029 ⁱ	0/178 ±0/0030 ^c	فانوس ارسطو- ان‌هگزان



شکل 3 میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی قوی ترین عصاره های توتیای دریایی در مقایسه با آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد در غلظت های مختلف (میکروگرم بر میلی لیتر). حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال $P \leq 0/05$ است.

سیستم های زیستی و نقش مهمی که ضد اکسیدان ها در جلوگیری از بیماری های مختلف (مثل سرطان، مشکلات قلبی - عروقی، تصلب عروق، بیماری های خود ایمنی، التهاب های مزمن و پیری زودرس) دارند اثبات شده است، یافتن ترکیبات ضد اکسیدان جدید از اهمیت زیادی برخوردار می باشد و باعث شده که آن ها هم در پزشکی و هم در صنایع غذایی و آرایشی مورد توجه قرار گیرند.

جدول 4 میزان کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره های

حاصل از توتیای دریایی *E. mathaei*

نمونه	فنل کل (میلی گرم)	فلاونوئید کل (میلی گرم)
گناد - متانول	0/0044±0/0003	-
پوسته - متانول	0/1781±0/0171	-
خار - متانول	0/3256±0/0171	-
فانوس ارسطو - متانول	0/0227±0/0015	-
گناد - اتیل استات	-	3/918±0/4138
پوسته - اتیل استات	-	0/468±0/274
خار - اتیل استات	-	4/81±0/3051
فانوس ارسطو - اتیل استات	-	24/616±0/7167

3-4- اندازه گیری محتوی کل ترکیبات فنلی و

فلاونوئیدی عصاره ها

میزان کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی استخراج شده از بخش های مختلف توتیای دریایی، در جدول 4 نشان داده شده است. در این مطالعه محتوای فنلی و فلاونوئیدی نمونه های مورد بررسی به ترتیب، با استفاده از معادله خط حاصل از منحنی استاندارد اسید گالیک و کوئرستین مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین میزان ترکیبات فنلی در خار متانولی و کمترین میزان آن در گناد متانولی می باشد. بیشترین محتوای فلاونوئیدی نیز در فانوس ارسطو اتیل استاتی و کمترین آن در پوسته اتیل استات مشاهده گردید. وجود این ترکیبات در توتیای دریایی را می توان به تغذیه آن ها از جلبک ها، به ویژه جلبک های قهوه ای که سرشار از ترکیبات پلی فنلی می باشند، ارتباط داد.

4- بحث

از آنجا که امروزه، اثرات مخرب رادیکال های آزاد بر روی

از طرفی استفاده‌کنندگان از ترکیبات و یا محصولات ضداکسیدان، ترجیح می‌دهند که از ترکیبات ضداکسیدانی با منشا طبیعی استفاده کنند، چرا که در مورد اثرات سمی ضداکسیدان‌های سنتزی نگران هستند. به همین دلیل طی چند دهه اخیر، تحقیقات برای یافتن ترکیبات ضداکسیدان طبیعی مورد توجه قرار گرفته است [15].

یکی از مکانسیم‌هایی که ترکیبات ضداکسیدان از طریق آن اثر خود را اعمال می‌کند، خاصیت احیاکنندگی می‌باشد. این ترکیبات با احیاء کردن رادیکال‌های آزاد، مانع ایجاد اثرات مخرب آن‌ها می‌شوند. در روشی که در این مطالعه استفاده شد، از توانایی احیاکنندگی این ترکیبات برای تبدیل آهن سه ظرفیتی (Fe III) به آهن دو ظرفیتی (Fe II) استفاده گردید. تبدیل Fe^{3+} به Fe^{2+} توسط ترکیبات احیاکننده، باعث ایجاد رنگ سبز-آبی می‌شود که این تغییر رنگ مبنای آزمایش‌های رنگ‌سنجی قرار می‌گیرد. هر چه شدت رنگ بیشتر باشد، نشانگر فعالیت احیاکنندگی بیشتر ترکیب می‌باشد. نتایج مطالعات Fu و همکاران (2011) و Ferreira و همکاران (2007) نشان داد که عصاره‌های مورد آزمایش به‌عنوان عاملی احیاکننده، می‌توانند Fe^{3+} را به Fe^{2+} تبدیل کنند. همچنین، آن‌ها بیان کردند که میزان قدرت احیاکنندگی با افزایش غلظت، رابطه مستقیم دارد. نتایج حاصل از این مطالعه نیز، تمام نتایج گزارش‌های پیشین را تایید کرد و همچنین، نشان داد که با افزایش غلظت، میزان قدرت احیاکنندگی نیز افزایش می‌یابد. بنابراین، می‌توان قدرت احیاکنندگی را به ترکیبات زیستی شرکت کننده با خاصیت آنتی‌اکسیدانی نسبت داد [16].

ضداکسیدان‌هایی که پاکسازی رادیکال آزاد را انجام می‌دهند، بسته به نوع ترکیب ضداکسیدان، رادیکال پایدار انتخاب شده و شرایط واکنش، رادیکال‌های آزاد را پیش از حمله به مولکول‌های بیولوژیک مهم بدن، از طریق انتقال هیدروژن و یا انتقال الکترون و به دنبال آن انتقال

پروتون پاکسازی می‌کنند [17].

در این مطالعه از روش اهدای اتم هیدروژن استفاده گردید و رادیکال پایدار DPPH نیز به عنوان رادیکال مرجع در نظر گرفته شد. این روش، یک روش سریع و ساده و ارزان برای اندازه‌گیری خواص ضداکسیدانی می‌باشد که می‌تواند برای ارزیابی خاصیت پاکسازی رادیکال آزاد و خواص ضداکسیدان غذاها به کار رود و در سال‌های اخیر برای بررسی ترکیبات ضداکسیدان در سیستم‌های پیچیده زیستی نیز استفاده شده است. به‌کارگیری از این روش برای ارزیابی ظرفیت ضداکسیدان کلی نمونه استفاده می‌شود که میزان ظرفیت ضداکسیدانی کل، می‌تواند به فهمیدن خصوصیات عملکردی ترکیبات کمک کند [18]. نتایج حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال آزاد DPPH مطالعات Shankarlal و همکاران (2011) بر روی پوسته توتیای دریایی ارغوانی *Salmacis virgulata* نشان داد که پوسته متانولی دارای توانایی نسبتاً بالایی برای مهار رادیکال آزاد DPPH می‌باشد. همان‌طور که در شکل 2 نشان داده شده است، در این مطالعه، خار متانولی بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH را دارا می‌باشد. این ممکن است به دلیل اختلاف در میزان ترکیبات موجود در گونه‌های مختلف توتیای دریایی باشد [1].

فنل‌ها ضداکسیدان‌های مؤثری خصوصاً در برابر اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشند [19]. در موجودات دارای ترکیبات فنلی، به نظر می‌رسد که این ترکیبات هستند که آن‌ها را از آسیب در مقابل اشعه UV محافظت می‌کنند و خواص پاکسازی رادیکال آزاد را ایجاد می‌کنند [15]. ترکیبات پلی‌فنلی به راحتی یک هیدروژن را به سیکل لیپید پروکسیل منتقل می‌کنند و یک هیدروکسیل ایجاد می‌نمایند که این هیدروکسیل به یک رادیکال دیگر می‌پیوندد و زنجیره ایجاد رادیکال‌های آزاد متوقف می‌شود [20].

به دلیل قطبی بودن ترکیبات فنلی، انتظار می‌رود، حلالیت

نتایج به دست آمده از این پژوهش، نشان داد که توتیای - دریایی *E.mathaei* به دلیل دارا بودن مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ترکیبات فنل و فلاونوئید قدرت آنتی-اکسیدانی بالایی دارد. همچنین، این ترکیبات، دارای فعالیت‌های بیوزیستی گوناگونی از جمله اثرات آنتی-اکسیدانی می‌باشند که برای سلامت انسان مفید است. از این رو، بررسی میزان این ترکیبات به دلیل اثرات دارویی، تغذیه‌ای و خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار مهم بود. به علاوه، با توجه به اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت انسان، مطالعات بیشتر در زمینه استخراج، خالص‌سازی و کاربرد عصاره‌های توتیای دریایی برای ساخت ترکیبات دارویی و پزشکی پیشنهاد می‌شود.

5- منابع

- [1] Amarowicz, R., Synowiecki, J., and Shahidi, F. (2012) Chemical composition of shells from red (*Strongylocentrotus franciscanus*) and green (*Strongylocentrotus droebachiensis*) sea urchin. *Food Chem.* 133, 822–826.
- [2] Zhou, D. Y., Qin, L., Zhu, B. W., Wang, X. D., Tan, H., Yang, J. F., and et al. (2011) Extraction and antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from spines of purple sea urchin *Strongylocentrotus nudus*. *Food Chem.* 129, 1591–1597.
- [3] Amarowicz, R., Synowiecki, J., and Shahidi, F. (1994) Sephadex LH-20 separation of pigments from shell of red sea urchin (*Strongylocentrotus franciscanus*). *Food chem.* 51, 227-229.
- [4] Mamelona, J., Pelletier, E., Girard-Lalancette, K., Legault, J., Karboune, S., and Kermasha, S. (2011) Antioxidants in digestive tracts and gonads of green urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *J FOOD BIOCHEM.* 24, 179–183.
- [5] Salmanian, Sh., Sadeghi Mahoonak, A. R., Alami, M., and Ghorbani, M. (2013) Determination of antiradical and antioxidant activities and flavonoid content in hawthorn fruit (*Crataegus elbursensis*). *NSFT.* 8, 177-185 [in Persian].
- [6] Ferreira, I., Baptista, P., Vilas-Boas, M., and Barros, L. (2007) Free-radical scavenging

این ترکیبات در حلال‌های قطبی نیز بیشتر باشد [21]. نتایج حاصل از این تحقیق، نشان داد که میزان ترکیبات در حلال‌های متانولی بیش از سایر حلال‌ها است. Mamelona و همکاران (2011) گزارش کردند که میزان قابل توجهی از فنل نیز در گناد و دستگاه گوارشی توتیای دریایی *Strongylocentrotus droebachiensis* وجود دارد. همچنین، مطالعات متعددی بیان کردند که افزایش ترکیبات فنلی میزان توانایی عصاره را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد. توانایی مهارکنندگی فنل‌ها به دلیل گروه‌های هیدروکسیل (OH) و گروه‌های قابل تعویض متوکسی (OCH_3) در مولکول‌هاست [22]. نتایج این مطالعه نیز، ارتباط بین ترکیبات فنلی و پاکسازی رادیکال آزاد را تأیید می‌کند.

در بین ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری محسوب می‌شوند. فلاونوئیدها بازدارنده‌های قوی رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هستند و تأثیر آن‌ها بر رادیکال‌های سوپراکسید هنوز مشخص نشده است. این ترکیبات می‌توانند حتی زمانی که با یون‌های فلزی کمپلکس تشکیل می‌دهند، بر رادیکال‌های آزاد اثر بگذارند. وجود گروه‌های هیدروکسیل در موقعیت‌های 3 و 5 و گروه‌های اورتودی فنل در ساختار فلاونوئیدها، به آن‌ها امکان مهار رادیکال‌های آزاد را می‌دهد. کوئرستین یک فلاونول است و یکی از قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آید. افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل، با قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد [23]. نتایج به دست آمده در آنالیز ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌ها، نتایج حاصل از آزمون‌های ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی را تأیید می‌کند. همچنین، فلاونوئیدها ترکیباتی نیمه‌قطبی هستند، بنابراین، انتظار می‌رود که این ترکیبات در حلال‌های نیمه‌قطبی حضور داشته باشند. نتایج نیز نشان داد که ترکیبات فلاونوئیدی در حلال اتیل استاتی حضور دارند.

- antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii*. *CJNM*. 10, 0421-0428.
- [15] Zubia, M., Robledo, D., and Fereile-Pelegrin, Y. (2007) Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *J Appl Phycol*. 19, 449-58.
- [16] Ghorbel-bellaaj, O., Younes, I., Maalej, H., Hajji, S., and Nasri, M. (2012) Chitin extraction from shrimp shell waste using *Bacillus* bacteria. *INT J BIOL MACROMOL*. 51, 1196-1201.
- [17] Etsuo, N. (2010) Assesment of antioxidant capacity in vitro and in vivo, Review article. *SFRBM*. 49, 503-15.
- [18] Prakash, A., Rigelhof, F., and Miller, E. (2007) Antioxidant activity. Medallion Laboratories, Analytical Progress; *Food-Tech*. 7, 23-28.
- [19] Neil, H. M. (2008) Determining antioxidant activity. *Food Technol*. 5, 63-66.
- [20] Athukorala, Y., Kim, K. N., and Jeon, Y. J. (2006) Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysed from brown alga, *Ecklonia cava*. *FCT*. 44, 1065-74.
- [21] 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.
- [22] Kuwahara, R., Hatate, H., Yuki, T., Murata, H., Tanaka, R., and Hama, Y. (2009) Antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from shells of purple sea urchin *Anthodiaris crassispina*. *LWT- Food Sci. Technol*. 42, 1296-1300.
- [23] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., and Jimenez, L. (2004) Polyphenol: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 79, 727- 47.
- capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chem*. 100, 1511-1516.
- [7] ZOU, Y., LU, Y., and WEI, D. (2004) Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L. in Vitro. *J. Agric. Food Chem*. 52, 5032-5039.
- [8] Duan, X. J., Zhang, W. W., Li, X. M., and Wang, B. G. (2006) Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chem*. 95, 37-43.
- [9] 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.
- [10] Wu, Sh. J., and Ng, L. T. (2008) Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. abbreviata Ser.) in Taiwan. *LWT- Food Sci. Technol*. 41, 323-330.
- [11] Shankarlal, S., Prabu, K., and Natarajan, E. (2011) Antimicrobial and Antioxidant Activity of Purple Sea Urchin Shell (*Salmacis virgulata* L. Agassiz and Desor 1846). *AEJSR*. 6, 178-181.
- [12] Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., and Kumar, M. N. V. R. (2006) Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *CRS*. 113, 189-207.
- [13] Moein, M. R., Moein, S., and Ahmadizadeh, S. (2008) Radical scavenging and reducing Power of *Salvia mirzayanii* Subfractions. *Molecules*. 13, 2804-2013.
- [14] Vijayabaskar, P., Vaseela, N., and Thirumaran, G. (2012) Potential antibacterial and