

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 قدرت احیاکنندگی 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 بی مهرگان 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 آمینه آزاد 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 آنتی اکسیدانی مثل کاروتنوئیدها و پلی فنل‌ها در آن‌ها ذخیره شوند [4] که این ترکیبات دارای خواص دارویی، ضدباکتریایی و ضداکسیدانی می‌باشند [5].

آنتی اکسیدان‌های 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 سوپراکسید آنیون ($O_2^{\cdot-}$)، هیدروکسیل ($HO^{\cdot}$)، پراکسیل ($ROO^{\cdot}$)، آلکوکسیل ($RO^{\cdot}$)، 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 ارگانیسم‌ها را بازی می‌کند [7] و گمان می‌شود که مهار آن‌ها، برای کاهش سطح استرس اکسیداتیو ارگانیسم، در جلوگیری و درمان برخی بیماری‌های مزمن و مخرب مانند، پیری، بیماری‌های قلبی و عروقی، التهاب، سکت، دیابت شیرین، سرطان و ... مؤثر باشند [10,9]. بنابراین، آنتی اکسیدان‌هایی که می‌توانند ROS را مهار کنند، انتظار می‌رود که این اختلالات را بهبود بخشند [11].

بدن ما آنتی اکسیدان‌های متنوعی را تولید می‌کند. برخی از آنتی اکسیدان‌های 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 آنتی اکسیدان‌های 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 آنتی اکسیدانی فقیر می‌باشند. هم‌چنین، به‌نظر می‌رسد که افزایش بیش از حد ترکیبات اکسیدان، بیش از آنتی اکسیدان‌ها، 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 آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدان در نظر گرفته می‌شوند [4]. یک اختلاف بین رژیم غذایی و نیاز فیزیولوژیکی، ممکن است در آنتی اکسیدان‌های 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 آنتی اکسیدانی غذاهای

دریایی باشد [4].

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 به-عنوان 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 فریزدایر 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 خلأ تبخیر و پس از حل شدن

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.

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 (5- 10- 20- 40- 1/25- 2/5- 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- اندازه گیری محتوی کل ترکیبات فنلی عصاره ها

میزان کل ترکیبات فنلی عصاره ها با روش فولین-سیوکالتو و طبق متد Fu و همکاران (2011) با اندکی تغییر، اندازه گیری شد. روش فولین-سیوکالتو از متداول ترین روش های اندازه گیری ترکیبات فنلی می باشد. 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 می دهد. در این آزمایش، ابتدا غلظت های مختلفی از اسیدگالیک (0/0003-0/024 میلی گرم بر میلی لیتر) به عنوان استاندارد تهیه شد. به طور خلاصه، 0/15 میلی لیتر از غلظت 10 میلی گرم بر میلی لیتر عصاره ها را با 0/75 میلی لیتر فولین-سیوکالتو (1 به 10 رقیق شده با آب مقطر) مخلوط شد. بعد از گذشت 3 دقیقه، 0/6 میلی لیتر محلول سدیم کربنات (7/5%) به آن ها اضافه شد. سپس نمونه ها را ورتکس کرده و 60 دقیقه (برای استاندارد به دلیل قوی بودن 30 دقیقه) در دمای آزمایشگاه (25 درجه سانتی گراد) و در تاریکی قرار داده می شود. میزان جذب نمونه ها را در طول موج 765 نانومتر اندازه گیری 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 می دهد (mg/g)، c، غلظت معادل اسیدگالیک که از منحنی استاندارد به دست می آید (mg/ml)، v، حجمی از عصاره که با آن آزمایش صورت گرفت (ml) و m'، میزان عصاره به دست آمده از یک گرم بافت می باشد [9].

2-6- اندازه گیری محتوی کل ترکیبات فلاونوئید عصاره ها

میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی عصاره ها با روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید و طبق متد Zou و همکاران (2004) با اندکی تغییر، اندازه گیری شد. در این آزمایش، ابتدا غلظت های مختلفی از کوئرستین (100-50-25-12/5 میکروگرم بر میلی لیتر) به عنوان استاندارد تهیه شد.

توانایی مهار رادیکال آزاد طبق روش Moein و همکاران (2008) انجام شد. به طور خلاصه، 0/1 میلی لیتر از محلول عصاره ها با غلظت های مختلف (100-200-400-800-12/5-25-50 میکروگرم بر میلی لیتر) با 0/1 میلی لیتر محلول 0/5 میلی مولار DPPH حل شده در متانول، مخلوط شد. بعد از ورتکس، مخلوط نمونه ها 30 دقیقه در دمای آزمایشگاه (25 درجه سانتی گراد) و در تاریکی نگه داری شد. جذب نمونه در دستگاه الیزاریدر و در طول موج 490 نانومتر خوانده شد. لازم به ذکر است که در کنترل، متانول به جای محلول عصاره و در بلانک، متانول به جای DPPH استفاده شد. در نهایت، درصد مهار رادیکال آزاد DPPH طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$100 \times \frac{A_0 - A}{A_0} = \text{درصد مهار رادیکال آزاد}$$

که در آن، A_s جذب مخلوط واکنش، A_0 جذب بلانک و A جذب کنترل می باشد. BHT نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید [13].

2-4- ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (TAC)

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل عصاره ها طبق روش Vijayabaskar و همکاران (2012) تعیین شد. برای تهیه محلول TAC (به عنوان معرف) 7/45 میلی لیتر 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 میلی لیتر رسانده می شود. 0/1 میلی لیتر از غلظت های مختلف عصاره (50-100-250-500-1000 میکروگرم بر میلی لیتر) با 1 میلی لیتر از محلول TAC مخلوط شد. پس از ورتکس، آن ها را 15 دقیقه در دمای آزمایشگاه (25 درجه سانتی گراد) قرار می دهیم. جذب نمونه ها در طول موج 695 نانومتر خوانده شد. افزایش جذب نمونه ها به معنی افزایش قدرت احیا کنندگی نمونه ها می باشد. آب مقطر به عنوان بلانک، و آسکوربیک اسید نیز به عنوان 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

1-3- 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، تمپارها در سه تکرار انجام شد و تجزیه و

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

غلظت	40	20	10	5	2/5	1/25	عصاره
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 ^g	
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

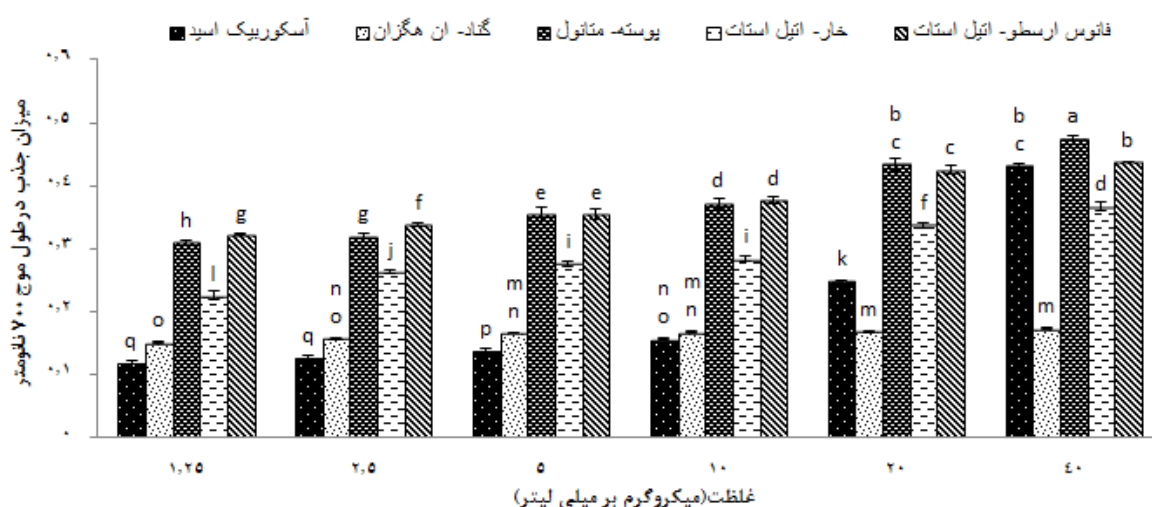
میزان کاهش جذب محلول DPPH عصاره‌های بخش‌های مختلف توتیای دریایی در حضور غلظت‌های مختلف، در جدول 2 مشاهده می‌شود.

از مشاهده جدول 2، می‌توان نتیجه گرفت که از بین عصاره بخش‌های مختلف توتیای دریایی، پوسته ان-هگزانی و گناد، خار و فانوس ارسطو 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، فانوس ارسطو متانولی (غلظت 800 میکروگرم بر میلی‌لیتر) نیز میزان قابل توجهی رادیکال آزاد را مهار می‌کند، که براساس شاخص‌های آماری نیز تفاوت معنی داری 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 فانوس ارسطو اتیل استات، 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 آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد دارد. در حالی که، کمترین میزان قدرت احیاکنندگی در آسکوربیک اسید (غلظت 1/25 و 2/5 میکروگرم بر میلی‌لیتر) مشاهده گردید. همان‌گونه که از نمودار برمی‌آید، میزان قابل توجهی قدرت احیاکنندگی نیز در غلظت 40 میکروگرم بر میلی‌لیتر فانوس ارسطو اتیل استاتی و آسکوربیک اسید و غلظت 20 میکروگرم بر میلی‌لیتر پوسته متانولی مشاهده شد که براساس شاخص‌های آماری نیز تفاوت معنی داری بین این غلظت‌ها وجود ندارد. براساس نتایج این مطالعه، اختلاف معنی داری 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 آسکوربیک اسید به‌عنوان استاندارد در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی‌لیتر). حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال $P \leq 0/05$ است

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

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

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)

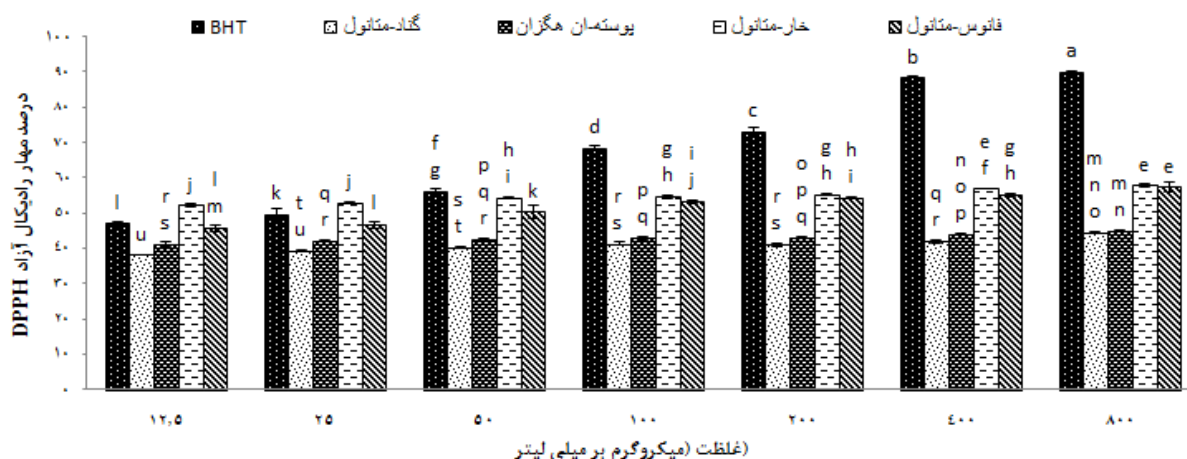
میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های بخش‌های مختلف توتیای دریایی در جدول 3 نشان داده شده است. از مقایسه بین عصاره بخش‌های مختلف توتیای دریایی،

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

عصاره تفاوت معنی داری وجود ندارد. براساس نتایج کلی، میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره ها در غلظت های مختلف، دارای تفاوت معنی داری هستند ($P \leq 0/05$).

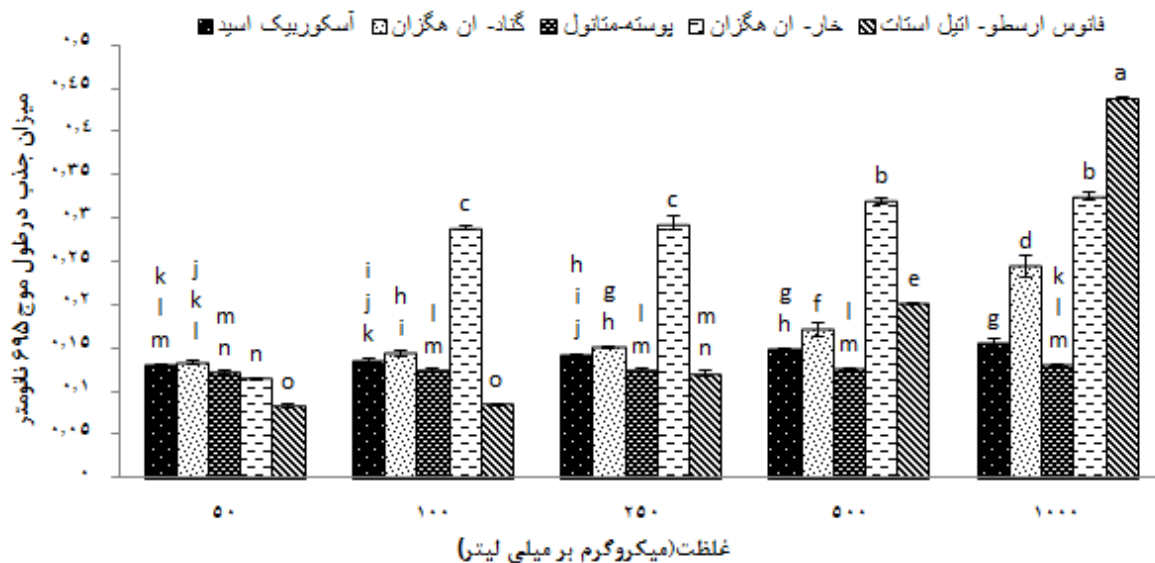
می شود. بر اساس نتایج به دست آمده، فانوس ارسطو اتیل - استات در غلظت 50 میکروگرم بر میلی لیتر نیز دارای میزان قابل توجهی ظرفیت آنتی اکسیدانی می باشد که در مقایسه با غلظت 100 میکروگرم بر میلی لیتر از همین



شکل 2 مقایسه درصد مهار رادیکال آزاد DPPH قوی ترین عصاره های توتیای دریایی در برابر BHT 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.

جدول 3 میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کل عصاره های بخش های 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	آسکوربیک اسید
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 - اتیل استات
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 - ان هگزان
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	آسکوربیک اسید
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 - اتیل استات
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 - ان هگزان
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}	آسکوربیک اسید
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 - اتیل استات
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 - ان هگزان
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	آسکوربیک اسید
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 - اتیل استات
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 - ان هگزان



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 استفاده کنندگان از ترکیبات و یا محصولات ضد اکسیدان، ترجیح می دهند که از ترکیبات ضد اکسیدانی با منشأ طبیعی استفاده کنند، چرا که در مورد اثرات سمی ضد اکسیدان های سنتزی نگران هستند. به همین دلیل طی چند دهه اخیر، تحقیقات برای یافتن ترکیبات ضد اکسیدان طبیعی مورد توجه قرار گرفته است [15].

یکی از مکانسیم هایی که ترکیبات ضد اکسیدان از طریق آن اثر خود را اعمال می کند، خاصیت احیا کنندگی می باشد. این ترکیبات با احیا کردن رادیکال های آزاد، مانع ایجاد اثرات مخرب آن ها می شوند. در روشی که در این مطالعه استفاده شد، از توانایی احیا کنندگی 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 احیا کننده، باعث ایجاد رنگ سبز - آبی می شود که این تغییر رنگ مبنای آزمایش های رنگ سنجی قرار می گیرد. هر چه شدت رنگ بیشتر باشد، نشانگر فعالیت احیا کنندگی بیشتر ترکیب می باشد. نتایج مطالعات Fu و همکاران (2011) و Ferreira و همکاران (2007) نشان داد که عصاره های مورد آزمایش به عنوان عاملی احیا کننده، می توانند Fe^{3+} را به Fe^{2+} تبدیل کنند. همچنین، آن ها بیان کردند که میزان قدرت احیا کنندگی با افزایش غلظت، رابطه مستقیم دارد. نتایج حاصل از این مطالعه نیز، تمام نتایج گزارش های پیشین را تایید کرد و همچنین، نشان داد که با افزایش غلظت، میزان قدرت احیا کنندگی نیز افزایش می یابد. بنابراین، می توان قدرت احیا کنندگی را به ترکیبات زیستی شرکت کننده با خاصیت آنتی اکسیدانی نسبت داد [16].

ضد اکسیدان هایی که پاکسازی رادیکال آزاد را انجام می دهند، بسته به نوع ترکیب ضد اکسیدان، رادیکال پایدار انتخاب شده و شرایط واکنش، رادیکال های آزاد را پیش از حمله به مولکول های بیولوژیک مهم بدن، از طریق انتقال هیدروژن و یا انتقال الکترون و به دنبال آن انتقال

پروتون پاکسازی می کنند [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 اندازه گیری خواص ضد اکسیدانی می باشد که می تواند برای ارزیابی خاصیت پاکسازی رادیکال آزاد و خواص ضد اکسیدان غذاها به کار رود و در سال های اخیر برای بررسی ترکیبات ضد اکسیدان در سیستم های پیچیده زیستی نیز استفاده شده است. به کارگیری از این روش برای ارزیابی ظرفیت ضد اکسیدان کلی نمونه استفاده می شود که میزان ظرفیت ضد اکسیدانی کل، می تواند به فهمیدن خصوصیات عملکردی ترکیبات کمک کند [18]. نتایج حاصل از فعالیت آنتی اکسیدانی 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 می باشد. همان طور که در شکل 2 نشان داده شده است، در این مطالعه، خار متانولی بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH را دارا می باشد. این ممکن است به دلیل اختلاف در میزان ترکیبات موجود در گونه های مختلف توتیای دریایی باشد [1].

فنل ها ضد اکسیدان های مؤثری خصوصاً در برابر اسیدهای چرب غیر اشباع می باشند [19]. در موجودات دارای ترکیبات فنلی، به نظر می رسد که این ترکیبات هستند که آن ها را از آسیب در مقابل اشعه UV محافظت می کنند و خواص پاکسازی رادیکال آزاد را ایجاد می کنند [15]. ترکیبات پلی فنلی به راحتی یک هیدروژن را به سیکل لیپید پروکسیل منتقل می کنند و یک هیدروکسیل ایجاد می نمایند که این هیدروکسیل به یک رادیکال دیگر می پیوندد و زنجیره ایجاد رادیکال های آزاد متوقف می شود [20].

به دلیل قطبی بودن ترکیبات فنلی، انتظار می رود، 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، خالص سازی 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 *Anthocardis 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