

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

سولماز سلیمانی^۱، مرتضی یوسف زادی^{۲*}، سهیلا معین^۳، نوگس امروالله‌ی بیوکی^۴،
موسی کشاورز^۵، حامد اصلیان^۱

۱- دانشآموخته کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

۲- دانشیار، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس

۴- استادیار، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

۵- دانشجوی دکتری، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

* بندرعباس، صندوق پستی 3995

morteza110110@gmail.com

(دریافت مقاله: ۹۴/۲/۲۷ پذیرش مقاله: ۹۴/۶/۱۷)

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

کلیدواژگان: فعالیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات پلیفنلی، توتیای دریایی، *Echinometra matheai*

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، سکته، دیابت شیرین، سرطان و ... مؤثر باشند [10,9]. بنابراین، آنتی اکسیدان‌هایی که می‌توانند ROS را مهار کنند، انتظار می‌رود که این اختلالات را بهبود ببخشند [11].

بدن ما آنتی اکسیدان‌های متنوعی را تولید می‌کند. برخی از آنتی اکسیدان‌های مشتق شده از غذا، از تخریب رادیکال‌های آزاد که می‌تواند در بدنه 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. هم‌چنان، 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، اسکالاپ‌ها، خرچنگ‌ها و توتیاهای دریایی به ندرت به عنوان 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 به علت کمبود اطلاعات، درباره خواص آنتی اکسیدانی غذاهای

۱- مقدمه

توتیاهای دریایی به خانواده Echinoidea از بی‌مهرگان دریایی تعلق دارند. آن‌ها بدنه 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 به طور اختصاصی از جلبک‌های قهوه‌ای است. بنابراین، انتظار می‌رود که تعدادی از ترکیبات آنتی اکسیدانی مثل کاروتونوئیدها و پلی‌فنل‌ها در آن‌ها ذخیره شوند [4] که این ترکیبات دارای خواص داروئی، ضدبacterیایی و ضد اکسیدانی می‌باشند [5].

آنتی اکسیدان‌های طبیعی می‌توانند با خشی 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 $^\circ$)، پراکسیل (RO $^\circ$), آلكوكسیل (RO $^\circ$)، و نیتریک- اکسید می‌باشند که اکسیژن مرکزی آن‌ها، به عنوان ROS (Reactive oxygen Species) شناخته می‌شوند [7]. آن‌ها مستقیماً به مولکول‌های بیولوژیک، همچون لیپیدها، پروتئین‌ها، RNA و آنزیم‌ها حمله می‌کنند [8].

در DMSO، در دمای 20- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که تمام مراحل عصاره‌گیری در دمای آزمایشگاه (25 درجه سانتی گراد) 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 عصاره‌ایی 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 میلی لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (40- 20- 10- 5- 2/5- 1/25 میکروگرم بر میلی لیتر) با 1/25 میلی لیتر بافر فسفات (0/1 مولار، pH = 6/6) و 1/25 میلی لیتر فری-سیانیدپتاسیم (1%) مخلوط شد و برای 20 دقیقه در حمام آب با دمای 50 درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس 2/5 میلی لیتر از مخلوط را برداشته و به آن 1/25 میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (10%) و 1/25 میلی لیتر آب مقطر و در نهایت 0/25 میلی لیتر کلوروفریک (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 به عنوان بلانک، و آسکوربیک اسید نیز به عنوان استاندارد استفاده گردید [8].

2-3- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

DPPH یک رادیکال آزاد است که در حضور مواد دارای خواص آنتی اکسیدان و با گرفتن الکترون تغییر رنگ می-دهد. تغییر رنگ آن از بنفس به زرد مبنای بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشد.

دریایی باشد [4].

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

با توجه به اهمیت ذکر شده برای ضد اکسیدان‌ها و نیاز بدن به تأمین آن‌ها از منابع خارجی، می‌توان به دنبال ضد اکسیدان‌های جدیدی بود که بتوانند به صورت مکمل غذایی و یا به عنوان جزئی از رژیم غذایی مصرف شوند. هدف از مطالعه پیش رو، بررسی برخی خواص آنتی-اکسیدانی بخش‌های مختلف توپیای دریایی *Echinometra matheai* و همچنین تعیین میزان ترکیبات پلی‌فنلی به عنوان یک منبع آنتی اکسیدانی طبیعی می‌باشد.

2- مواد و روش‌ها

2-1- نمونه‌برداری و عصاره‌گیری

توپیاهای دریایی گونه *E. mathaei* در فروردین ماه 1392 از ناحیه بین‌جزر و مدبی ساحل پارک زیتون واقع در جزیره قشم واقع در خلیج فارس جمع‌آوری گردید. توپیاهای دریایی در آب دریا 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 موردنظر (گناد، پوسته، خار و فانوس ارسسطو) جدا گردید. تمام بافت‌ها جهت خشک شدن و گرفتن رطوبت در دستگاه فریزداری در دمای 40- درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

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

5-2- اندازه‌گیری محتوی کل ترکیبات فنلی عصاره‌ها
 میزان کل ترکیبات فنلی عصاره‌ها با روش فولین- سیوکالتو و طبق متده 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) به عنوان استاندارد تهیه شد. به طور 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 سدیم کربنات (%) 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 (mg/ml)، v (ml)، m' (m). میزان عصاره که با آن آزمایش صورت گرفت (ml) و به دست آمده از یک گرم بافت می‌باشد [9].

6-2- اندازه‌گیری محتوی کل ترکیبات فلاونوئید عصاره‌ها
 میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌ها با روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید و طبق متده 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) به عنوان استاندارد تهیه شد.

توانایی مهار رادیکال آزاد طبق روش Moein و همکاران (2008) انجام شد. به طور خلاصه، 0/1 میلی‌لیتر از محلول عصاره‌ها با غلظت‌های مختلف (800- 400- 200- 100- 50- 25- 12/5 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 الایزازیدر و در طول موج 490 نانومتر خوانده شد. لازم به ذکر است که در کترل، 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:

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

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

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

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل عصاره‌ها طبق روش Vijayabaskar و همکاران (2012) تعیین شد. برای تهیه محلول TAC (به عنوان 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 (50- 100- 250- 500- 1000 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 به عنوان بلانک، و آسکوربیک اسید نیز به عنوان استاندارد استفاده شد [14].

تحلیل بهدست آمده از نتایج آزمون‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ایی دانکن در سطح احتمال ($P < 0.05$) 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 توییای دریایی، در جدول 1 به نمایش گذاشته شده است. در این آزمون، توانایی احیای کلرید آهن سه ظرفیتی به کلرید آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود.

0/5 میلی‌لیتر از غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌ها با 2 میلی‌لیتر آب‌مقطّر مخلوط کرده، پس از گذشت 3 دقیقه، 0/15 میلی‌لیتر سدیم نیتریت 5% و 0/15 میلی‌لیتر الومینیوم کلراید 10% به آن‌ها اضافه می‌شود. بعد از 6 دقیقه، 2 میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید 4% به مخلوط واکنش اضافه و سپس حجم آن آب‌مقطّر به 5 میلی‌لیتر رسانده شد. آنگاه مخلوط را ورتكس 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 بهدست آمد [7].

7-2- آنالیز آماری

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

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

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

2-3- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

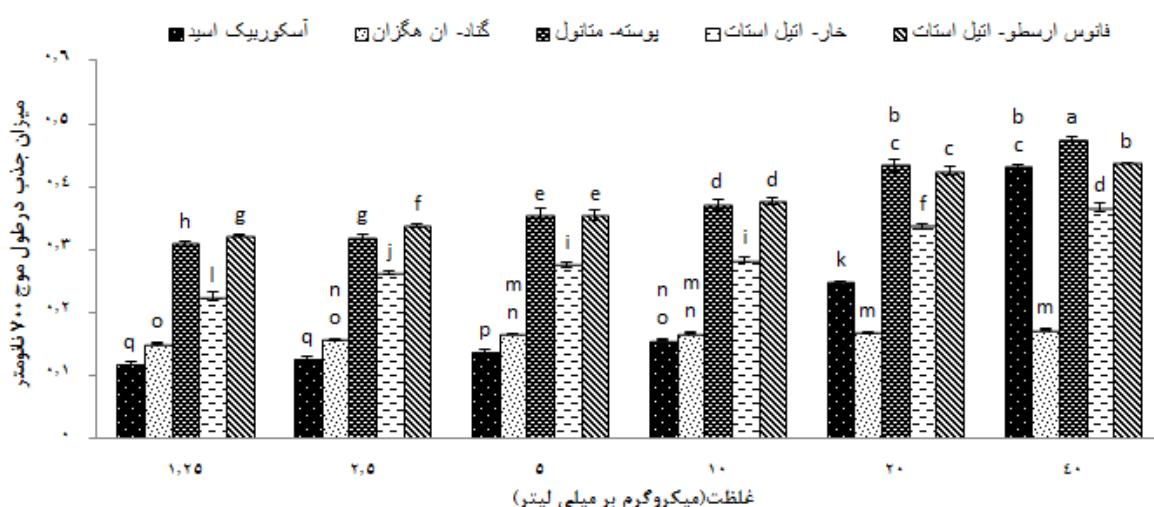
میزان کاهش جذب محلول DPPH عصاره‌های بخش‌های مختلف توپیای دریایی در حضور غلظت‌های مختلف، در جدول 2 مشاهده می‌شود.

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

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

مقایسه بین عصاره بخش‌های مختلف توپیای دریایی (جدول 1) نشان می‌دهد که گناد ان- هگزان، پوسته متابولی، خار و فانوس ارسسطو اتیل استات، قوی‌ترین قدرت احیاکنندگی را دارا می‌باشند که در شکل 1 نشان داده شده است.

از مقایسه بررسی‌های آماری بین قوی‌ترین عصاره‌های توپیای دریایی، مشاهده شد که پوسته متابولی (غلظت 40 میکروگرم بر میلی لیتر)، فعالیت احیاکنندگی بیشتری نسبت به آسکوربیک اسید به عنوان استاندار دارد. در حالی که، کمترین میزان قدرت احیاکنندگی در آسکوربیک اسید (غلظت 1/25 و 2/5 میکروگرم بر میلی لیتر) مشاهده گردید. همان‌گونه که از نمودار بر می‌آید، میزان قابل توجهی قدرت احیاکنندگی نیز در غلظت 40 میکروگرم بر میلی لیتر فانوس ارسسطو اتیل استاتی و آسکوربیک اسید و غلظت 20 میکروگرم بر میلی لیتر پوسته متابولی 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 توپیای دریایی با آسکوربیک اسید به عنوان استاندار در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی لیتر). حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال $P \leq 0.05$ است

جدول 2 میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره‌های مختلف تویای دریابی

غله	عصاره	800	400	200	100	50	25	12/5
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 ^{kl}	40/35±0/15 ^{klm}	41/36±0/55 ^{ijk}	39/46±0/29 ^{mn}	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-ان-هگزان		49/08±0/91 ^f	41/08±0/96 ^{kl}	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 ^{kl}	40/73±0/2 ^{lmn}	39/66±0/2 ^{no}	38/9±0/44 ^o	35/51±1/11 ^{pq}
پوسته-ان-هگزان		44/82±0/2 ^g	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}	42/15±0/24 ^{ijkl}
BHT		89/92±0/41 ^a	88/47±0/28 ^b	73/24±0/95 ^c	68/53±0/49 ^d	56±0/75 ^{fg}	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 ^{klm}	52/71±0/33 ^{lmn}	52/3±0/22 ^{mno}	51/85±0/25 ^{mnop}	51/33±0/11 ^{nop}
خار-ان-هگزان		54/93±0/41 ^{hi}	53/85±0/26 ^{ijkl}	52/47±0/3 ^{lmn}	50/91±0/53 ^{opq}	52/12±0/17 ^{mno}	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 ^{dc}	49/56±1/56 ^k	47/03±0/48 ^l
فانوس ارسسطو-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 ^{jk}	46/76±0/87 ^l	45/69±0/74 ^l
فانوس ارسسطو-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 ارسسطو-		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
ان هگزان								

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

همان‌طور که در شکل 3 مشاهده می‌شود، عصاره‌های فانوس ارسسطو اتیل استات، خار و گناد ان-هگزان ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد دارا می‌باشند. پوسته متانول دارای کمترین ظرفیت آنتی اکسیدانی می‌باشد. همچنین، فانوس ارسسطو اتیل استات در غله 1000 میکروگرم بر میلی لیتر دارای بیشترین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی است. در صورتی که کمترین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی در فانوس ارسسطو اتیل استات در غله 100 میکروگرم بر میلی لیتر دیده

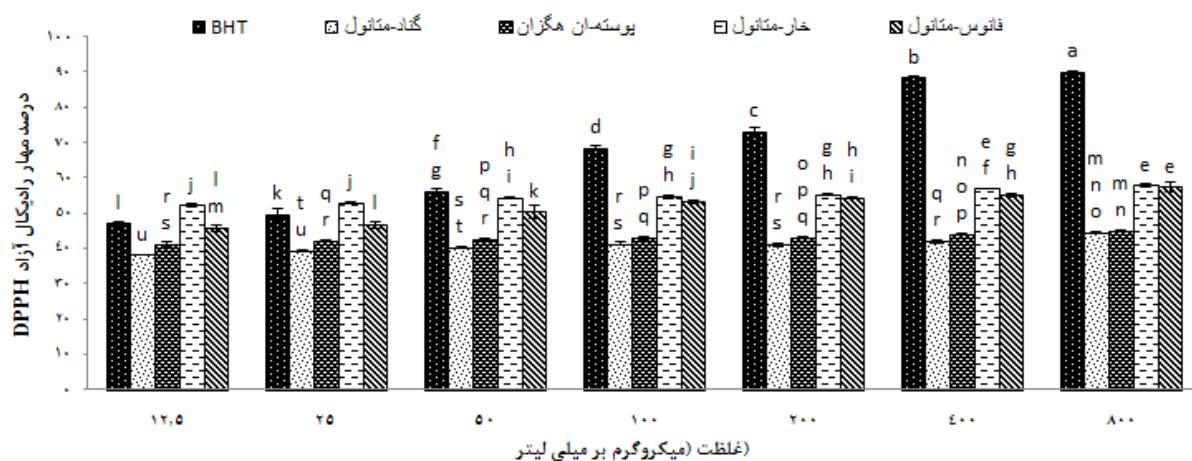
براساس نتایج، غله 12/5 میکروگرم بر میلی لیتر گناد متانولی نیز میزان قابل توجهی از ادیکال آزاد DPPH را مهار می‌کند که با غله 25 میکروگرم بر میلی لیتر همین عصاره تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. نتایج آنالیز واریانس، نشان داد که تمام عصاره‌های بخش‌های مختلف تویای دریابی و غله آنها، تاثیر معنی‌داری در سطح اطمینان $p \leq 0.05$ بر روی درصد مهار رادیکال آزاد DPPH دارند.

3-3- ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (TAC)

میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کل عصاره‌های بخش‌های مختلف تویای دریابی در جدول 3 نشان داده شده است. از مقایسه بین عصاره بخش‌های مختلف تویای دریابی،

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

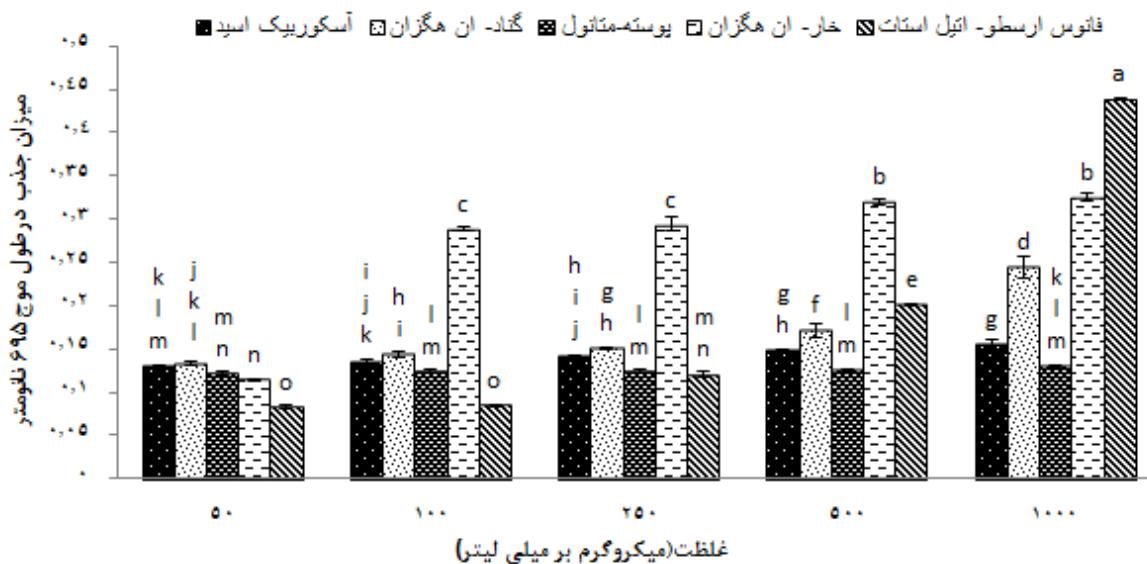
می شود. بر اساس نتایج به دست آمده، فانوس ارسسطو اتیل استات در غلظت 50 میکروگرم بر میلی لیتر نیز دارای میزان قابل توجهی ظرفیت آنتی اکسیدانی می باشد که در مقایسه با غلظت 100 میکروگرم بر میلی لیتر از همین



شکل 2 مقایسه درصد مهار رادیکال آزاد DPPH قوی ترین عصاره های توییای 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 توییای دریایی

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



شکل 3 میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی قوی‌ترین عصاره‌های توییای دریایی در مقایسه با آسکوربیک اسید به عنوان استاندار در غلظت‌های مختلف (میکروگرم بر میلی لیتر). حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال $P \leq 0.05$ است.

سیستم‌های زیستی و نقش مهمی که ضد اکسیدان‌ها در جلوگیری از بیماری‌های مختلف (مثل سرطان، مشکلات قلبی - عروقی، تصلب عروق، بیماری‌های خودایمنی، التهاب‌های مزمن و پیری زودرس) دارند اثبات شده است، یافتن ترکیبات ضد اکسیدان جدید از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد و باعث شده که آن‌ها هم در پزشکی و هم در صنایع غذایی و آرایشی مورد توجه قرار گیرند.

جدول 4 میزان کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره‌های حاصل از توییای دریایی *E.mathaei*

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

4-3 اندازه‌گیری محتوی کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره‌ها

میزان کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی استخراج شده از بخش‌های مختلف توییای دریایی، در جدول 4 نشان داده شده است. در این مطالعه محتوای فنلی و فلاونوئیدی نمونه‌های مورد بررسی به ترتیب، با استفاده از معادله خط حاصل از متحنی 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 می‌باشد. بیشترین محتوای فلاونوئیدی نیز در فانوس ارسسطو اتیل استاتی و کمترین آن در پوسته اتیل استات مشاهده گردید. وجود این ترکیبات در توییای دریایی را می‌توان به تغذیه آن‌ها از جلبک‌ها، به ویژه جلبک‌های قهوه‌ای که سرشار از ترکیبات پلی فنلی می‌باشند، ارتباط داد.

4- بحث

از آنجا که امروزه، اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد بر روی

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 ضدآکسیدانی می‌باشد که می‌تواند برای ارزیابی خاصیت پاکسازی رادیکال آزاد و خواص ضدآکسیدان غذایها به کار رود و در سال‌های اخیر برای بررسی ترکیبات ضدآکسیدان در سیستم‌های پیچیده زیستی نیز استفاده شده است. به کارگیری از این روش برای ارزیابی ظرفیت ضدآکسیدان کلی نمونه استفاده می‌شود که میزان ظرفیت ضدآکسیدانی کل، می‌تواند 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 *Salmacis virgulata* نشان پوسته توییای دریایی ارغوانی داد که پوسته مтанولی دارای توانایی نسبتاً بالایی برای مهار رادیکال آزاد DPPH می‌باشد. همان‌طور که در شکل 2 نشان داده شده است، در این مطالعه، خار مtanولی بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH را دارا می‌باشد. این ممکن است به دلیل اختلاف در میزان ترکیبات موجود در گونه‌های مختلف توییای دریایی باشد [1].

فلن‌ها ضدآکسیدان‌های مؤثری خصوصاً در برابر اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشند [19]. در موجودات دارای ترکیبات فلنی، 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 پلی فنلی 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

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

یکی از مکانسیم‌هایی که ترکیبات ضدآکسیدان از طریق آن اثر خود را اعمال می‌کند، خاصیت احیاکنندگی می‌باشد. این ترکیبات با احیاکردن رادیکال‌های آزاد، مانع ایجاد اثرات مخرب آن‌ها می‌شوند. در روشهی 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 رنگ‌سنجه قرار می‌گیرد. هر چه شدت رنگ بیشتر باشد، نشانگر فعالیت احیاکنندگی بیشتر ترکیب می‌باشد. نتایج مطالعات همکاران (2011) و Ferreira (2007) نشان داد که عصاره‌های مورد آزمایش به عنوان 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 آنتی اکسیدانی نسبت داد [16].

ضدآکسیدان‌هایی که پاکسازی رادیکال آزاد را انجام می‌دهند، بسته به نوع ترکیب ضدآکسیدان، 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

نتایج به دست آمده از این پژوهش، نشان داد که توپیای 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 بیوزیستنی گوناگونی از جمله اثرات آنتی-اکسیدانی می‌باشند که برای سلامت انسان مفید است. از این رو، بررسی میزان این ترکیبات به دلیل اثرات داروئی، تغذیه‌ای و خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار مهم بود. به علاوه، با توجه به اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سلامت انسان، مطالعات بیشتر در زمینه استخراج، خالص‌سازی و کاربرد عصاره‌های توپیای دریایی برای ساخت ترکیبات داروئی 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 *Strongylocentrotus droebachiensis* توپیای دریایی 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 متوكسی (OCH³) 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 تاثیر 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 اورتویی 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 اتیل‌استاتی 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][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., Hatake, H., Yuki, T., Murata, H., Tanaka, R., and Hama, Y. (2009) Antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from shells of purple sea urchin *Anthocidaris 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