بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی خیار دریایی *Holothuria parva* در دو حالت خشک (آبدهی شده) و تازه

گلریز دیبا[۱]، شهلا جمیلی[۱،۲*]، احسان رمضانی[۱]

* shahlajamili45@yahoo.com

۱-گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه علوم و تحقیقات، تهران، ایران، صندوق پستی:۷۷۵-۱٤٥١٥
۲-موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور،سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج وزارت جهادکشاورزی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۳۱۸٦-۱۱٦

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۵

چکیده

خیار دریایی یک منبع مهم از مواد با ارزش دارویی و تغذیه‌ای است. در این پژوهش مقدار فنل، فلاونوئید ، فعالیت آنتی-اکسیدان و تجزیه تقریبی خیار دریایی گونه *Holothuria parva* در دو حالت تازه و خشک(آبدهی شده) مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور نمونه‌ها از بندر لنگه در خلیج فارس جمع‌آوری شده‌است. نمونه‌ها در آزمایشگاه به صورت انجمادی خشک شده و میزان رطوبت آنها اندازه‌گیری‌گردید سپس تجزیه تقریبی آن محاسبه گردید. میزان فنل به روش فولین سیوکالتو، میزان فلاونوئید به روش نورسنجی کلریدآلومینیوم و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان با استفاده از DPPH سنجیده شد. نتایج بدست آمده نشان داد که میزان رطوبت در نمونه تازه برابر با ۸۱/۲۰٪±، پروتئین ۱۲٪/۰±، چربی ۰٪/۳۴± ، خاکستر ۵٪/۵۰ ±و کربوهیدرات ۰٪/۹۵ ± بوده است. این مقادیر برای نمونه آبدهی به ترتیب برابر با: ۹۲٪/۵۰±، ۳٪/۷۶±، ۰٪/۳۶±، ۱٪± و ۲٪/۰۷± محاسبه شده‌است. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه تازه برابر ۰/۰۶۳ ± و در نمونه آبدهی ۰/۰۶۰± میلی-گرم ویتامین C در گرم نمونه خشک و شاخصIC50 در نمونه تازه ۵/۲۶± و در نمونه آبدهی ۴/۱۴ ±بود. میزان فنل کل در نمونه تازه برابر ۰/۲۲ ± و در نمونه آبدهی ۰/۱۹ ± میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک بود. میزان فلاونوئید در نمونه تازه ۳/۸۶ ± و در نمونه آبدهی ۵/۰۲ ± میلی‌گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک بود. در مورد تجزیه تقریبی فقط میزان پروتئین و خاکستر در حالت تازه نسبت به حالت آبدهی بیشتر و دارای اختلاف معناداری بود ($p<0/05$) ومیزان رطوبت در حالت خشک (آبدهی‌شده) بیشتر از حالت تازه و دارای اختلاف معناداری بود($p<0/05$). میزان فنل و فلاونوئید در دو حالت یکسان بوده‌است. میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در حالت تازه بیشتر از حالت آبدهی و دارای اختلاف معناداری بود ($p<0/05$) و در نتیجه حالت تازه این گونه خیار دریایی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به حالت خشک(آبدهی شده) است و برای استفاده در صنایع دارویی و غذایی سودمندتر است.

کلمات کلیدی: خیار دریایی گونه *Holothuria parva*، تجزیه تقریبی، رادیکال آزاد DPPH، فنل، فلاونوئید

* نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2024-03-20]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.4.16.2]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110300]

مقدمه

بی مهرگان دریایی به خصوص بی مهرگان مناطق حاره به دلیل وجود آنتی اکسیدان های داخل بدن آنها و همچنین باکتری های UV دوست که در درون بافت های آنها زندگی می کنند (Dunlap *et al*., 1999)، قادر هستند خود را در برابر استرس های اکسیداسیونی ناشی از قرار گرفتن طولانی مدت در معرض اشعه UV خورشید محافظت کنند (Zhong *et al*,. 2007). در نتیجه این بی مهرگان (مانند خیار دریایی) می توانند به عنوان یک منبع بالقوه از آنتی اکسیدان ها در نظر گرفته شوند. همچنین خلیج فارس به علت قرار گرفتن در منطقه گرمسیری و دارا بودن انواع خیار دریایی می تواند منبعی غنی از آنتی اکسیدان ها در صنایع غذایی و دارویی کشور محسوب شود. خیار دریایی از نظر تغذیه ای، یک غذای ایده آل و مقوی با ارزش غذایی بالا است که دارای سطح بالای پروتئین و سطح پایینی از چربی است (Wen *et al*., 2010).در کشورهای شرق و جنوب شرق آسیا، انواع خیارهای دریایی خوراکی را خشک می کنند ولی قبل از مصرف آنها را در آب قرار می‌دهند تا دوباره آب جذب کنند.

امروزه موضوع رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن و اثرات آن بر سیستم های بیولوژیکی یکی از مباحث مهم و مطرح دانش پزشکی می باشد. آنتی اکسیدان، از عوامل اصلی خنثی کننده رادیکال های آزاد می باشد که باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری های قلبی و عروقی، سکته، جلوگیری از پیشرفت سرطان و حفاظت از غشای سلولی می شود (Lien *et al*., 2008). آنتی اکسیدان های شیمیایی دارای برخی معایب از قبیل آسیب های کبدی و حتی سرطان هستند (Ito *et al*., 1983) در نتیجه نگرانی هایی در مورد ایمنی و سلامت آن ها وجود دارد و افزایش آگاهی مصرف کنندگان نسبت به کیفیت مواد غذایی و مسائل مربوط به ایمنی غذا، تحقیقات را به سمت جایگزینی آنتی اکسیدان های مصنوعی با آنتی اکسیدان های طبیعی کشانده است (گرمسیری و همکاران، ۱۳۹۳). مواد اصلی که دارای خصوصیات آنتی اکسیدانی هستند شامل ترکیبات فنولی، کاروتنوئید و توکوفرول می باشند (Mendiola *et al*., 2008).

فنل‌ها گروه مهمی از ترکیبات طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی هستند که دارای یک یا چند حلقه آروماتیک هستند و دارای قدرت تحمل یک یا چند هیدروکسیل می‌باشند (Onofrejova *et al*., 2010).

همچنین فلاونوئید یکی از مشتقات فنل است که در ارتباط با کاهش ریسک بسیاری از بیماری های مزمن از قبیل سرطان موثرند زیرا آنها فعالیت بسیار قوی آتنی اکسیدانی دارند.

روند آب زدایی و سپس آب دهی ممکن است تجزیه تقریبی و خاصیت آنتی اکسیدانی خیار دریایی را به علت تغییر در ساختار شیمیایی آنها تحت تاثیر قرار دهد (Zhong *et al*., 2007). هدف از این پژوهش، بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی خیار دریایی *Holothuria parva* در حالت تازه و خشک (آبدهی شده) بود و همچنین میزان فنل و فلاونوئید آن مورد ارزیابی گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه های خیار دریایی گونه *Holothuria parva* در زمستان سال ۹۳ از سواحل گلی بندر لنگه در هنگام جزر جمع آوری گردیده و به حالت فریز شده به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات انتقال داده شد.

آماده سازی نمونه ها

برای تهیه نمونه های آبدهی شده، نیمی از نمونه های خیار دریایی در محیط آزمایشگاه یخ زدایی گردیده و وزن آن به عنوان وزن اولیه محسوب می گردید. سپس نمونه در فر با دمای ۶۵ سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شده تا کاملا خشک گردید. پس از آن برای آبدهی شدن، نمونه در آب مقطر به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفته تا نمونه خشک کاملا آبدهی گردید. بقیه نمونه ها به صورت تازه به قطعه های کوچک تقسیم شده و به همراه نمونه های آبدهی شدهبه صورت انجمادی خشک(Christ، مدل 1-4LD plus) شد و تا

[Downloaded from isfj.ir on 2024-03-20]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.4.16.2]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110300]

انجام آزمایش های بیوشیمیایی داخل فریزر ۲۰- درجه قرار گرفت است (Zhong *et al*., 2007).

تجزیه تقریبی (Proximate composition)

نمونه ها را در دستگاه فریزداری به مدت ۴۸ ساعت قرار داده و سپس نمونه های خشک شده را وزن کرده و به عنوان وزن ثانویه قرار داده شد و میزان رطوبت از دست رفته بر حسب درصد بیان گردید. برای تعیین میزان پروتئین از روش کلدال و اندازه گیری چربی از دستگاه سوکسله (Bakhshi) بر طبق متد AOAC با تغییرات جزئی (Ramezani Fard *et al*., 2012) استفاده گردید. برای تعیین میزان خاکستر ،نمونه ها را در کوره با دمای ۵۶۰ سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده و با محاسبه موارد دیگر در تجزیه تقریبی، میزان کربوهیدرات محاسبه گردید (Zhong *et al*,. 2007).

عصاره گیری متانولی

۱ گرم از نمونه های فریزدرای شده به آن ۲۰ میلی لیتر متانول اضافه گردید و ورتکس (Heidolph، مدل Reax top) شد، آنگاه در دستگاه سانتریفیوژ (Sigma، K ۳۰-۳ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ قرار داده شد. سپس فاز شناور جدا گردیده و دوباره تمام مراحل عصاره گیری برای فاز ته نشین شده تکرار شد. سپس با کمک دستگاه روتاری (Heidoph، مدل ۴۰۰۲) تمام متانول تبخیر گردید و عصاره آماده گردیده است. در انتها حدود ۴ میلی لیتر متانول به عصاره اضافه گردید و تا استفاده از آن در یخچال نگه داری شد(Zhong *et al*,. 2007).

بررسی فعالیت آنتی اکسیدان

بررسی میزان آنتی اکسیدان عصاره ها از روش اندازه گیری کاهش ظرفیت رادیکالی (Radical Scavenging Capacity) و با استفاده از ماده ۲-۲ دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) صورت پذیرفت (Bozin *et al*., 2007).

ویتامینC که به عنوان استاندارد استفاده گردید، ۱ میلی لیتر عصاره متانولی نمونه ها را ۱۰ برابر رقیق کرده. ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام از نمونه عصاره های رقیق شده و غلظت های مختلف ویتامین C (غلظت های ۰ تا ۹ میکروگرم بر میلی لیتر) به ۱/۹میلی لیتر DPPH متانولی (۱۰μM) اضافه کرده و مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی قرار گرفت .سپس نمونه ها، DPPH و تمامی غلظت‌های ویتامین C، با دستگاه اسپکتوفتومتر (PG instruments Ltd، مدل T-80) با جذب ۵۲۵ نانومتر خوانده شد (Zhong *et al*., 2007). با توجه به جذب عصاره‌های به دست آمده، درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط آنتی‌اکسیدان با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\left[\left(\frac{A_0-A_1}{A_0}\right)\right] \times 100\%$$

A_0 = طول موج DPPH

A_1 = طول موج عصاره نمونه و DPPH

IC50 نیز محاسبه گردید که نشان دهنده غلظتی از ترکیب است که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکال آزاد می‌گردید.

بررسی میزان کل فنل

سنجش میزان فنل کل با اسپکتوفتومتر توسط شناساگر فولین سیوکالتو انجام شد (Zhong *et al*., 2007). ابتدا ۲۰ میکرولیتر عصاره ۱۰ برابر رقیق شده را به ۱/۶ میلی لیتر آب مقطر اضافه کرده، سپس ۲۰ میکرولیتر از آن‌ها و هر یک از غلظت های اسید گالیک (۰ تا ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) را به ۱۰۰ میکرولیتر معرف سیوکالتو اضافه کرده .بعد از حدود ۳ تا ۸ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات (٪۷) اضافه کرده و خوب تکان داده شد و برای حدود ۲ ساعت در محیط اتاق قرار گرفت و در انتها با دستگاه اسپکتوفتومتر با جذب ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. با توجه به منحنی کالیبراسیون گالیک اسید، مقدار کل ترکیبات فنل محاسبه گردید و برحسب میلی گرم گالیک اسید بر هر گرم نمونه خشک بیان شد.

سنجش میزان کل فلاونوئید

در ابتدا لازم به توضیح است که به صورت کلی برای سنجش میزان فلاونوئید از دو ماده استاندارد به نام‌های کوئرستین و روتین هیدرات استفاده می‌گردد که هر دو

[Downloaded from isfj.ir on 2024-03-20]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.4.16.2]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110300]

ماده، فلاونوئیدهای غالب هستند (Yang Huang *et al.*, 2009).

مقدار ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از روش نورسنجی کلریدآلومینیوم تعیین گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر یک از عصاره نمونه‌ها که ۱۰ برابر رقیق شده و غلظت‌های کوئرستین(۰ تا ۵۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلریدآلومینیوم، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر در بالن ریخته و ۳۰ دقیقه در محیط آزمایشگاه قرار داده شد و سپس جذب آنها با دستگاه اسپکتوفتومتر در ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فلاونوئید محاسبه گردید و برحسب میلی گرم کوئرستین بر هر گرم نمونه خشک بیان شد (سپهری‌فر و حسنلو، ۱۳۸۸).

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS و در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد انجام گردید ، مقایسه داده-های با توزیع نرمال از آزمون تی (t-test) و داده‌های با توزیع غیرنرمال از آزمون ناپارامتری من-ویتنی استفاده شد.

نتایج

از لحاظ تجزیه تقریبی میزان چربی و کربوهیدرات، در دو حالت تازه و آبدهی‌شده در خیار دریایی گونه *H. parva* دارای تفاوتی معناداری نبود. این در حالی است که میزان پروتئین، خاکستر و رطوبت دارای تفاوت معناداری بود و می‌توان نتیجه گرفت که به علت تفاوت بسیار زیاد بین درصد میانگین در پروتئین در این ۲ حالت، خیار دریایی گونه مورد مطالعه در حالت تازه دارای ارزش بیشتری بود (جدول۱). همچنین در مورد فعالیت آنتی اکسیدان، تنها در مورد میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH دارای تفاوت معنادار بود و می‌توان نتیجه گرفت که مهار رادیکال آزاد DPPH در نمونه تازه بیشتر از نمونه آبدهی شده بود و فرآیند خشک شدن و آبدهی خیار دریایی گونه *H. parva* در میزان توان مهار رادیکال آزاد اثر منفی داشت (جدول۲). میزان جذب و میزان کل فنل (بر حسب میلی-گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک) و کل فلاونوئید (بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک) برای هر دو نمونه تازه و خشک (آبدهی) تفاوت معنی‌داری بین دو نمونه تازه و آبدهی شده نشان نداد ($p>0.05$) و در نتیجه روند خشک‌کردن و آبدهی خیار دریایی *H. parva* تغییری در میزان فنل کل و فلاونوئید آن ایجاد نکرد (جداول ۳ و ۴).

جدول۱: میزان تجزیه تقریبی خیار دریایی *Holothuria parva* در حالت تازه و خشک(آبدهی بدهی) در هر گرم نمونه تازه و خشک (آبدهی شده) بر حسب درصد (میانگین ± انحراف معیار)

Table1: proximate composition of fresh and dried (rehydrate) sea cucumber *Holothuria parva* per gram of sample in percentile (μ±σ)

نوع نمونه	رطوبت	پروتئین	چربی	خاکستر	کربوهیدرات
نمونه تازه	۸۱/۲۰±۰/۸۱a	۱۲/۰۰±۰/۰۰a	۰/۳۴±۰/۰۰a	۵/۵۰±۰/۰۰a	۰/۹۵±۰/۰۱ a
نمونه خشک (آبدهی شده)	۹۲/۵۰±۰/۶۰b	۳/۷۶±۰/۰۰b	۰/۳۶±۰/۰۰ a	۱/۰۰±۰/۰۰b	۲/۰۷±۰/۰۰ a

توضیحات: در هر ستون اعداد با حروف انگلیسی متفاوت دارای اختلاف معنی دار ($p<0.05$) می‌باشد.

[Downloaded from isfj.ir on 2024-03-20]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.4.16.2]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110300]

جدول۲: میزان مهار رادیکال‌های آزاد بر حسب درصد و میلی‌گرم ویتامین C در گرم نمونه خشک (میانگین ± انحراف معیار) و IC50 نمونه خیار دریایی *Holothuria parva* تازه و خشک (آبدهی شده) و استاندارد

Table 2: Antioxidant activity of fresh and dried (rehydrate) sea cucumber *Holothuria parva* in perecentile and mg vitamin C/g dry sample (μ±σ). IC50

نوع نمونه	IC50 میلی گرم در میلی لیتر	میزان مهار رادیکال آزاد DPPHمیلی گرم ویتامین C در گرم نمونه خشک	میزان مهار رادیکال آزاد برحسب درصد	میزان جذب (۵۲۵ نانومتر)
استاندارد (ویتامین C)	۰/۰۰۵۵۲	-	-	-
نمونه تازه	۵/۲۶±۰/۰۰ a	۰/۰۶±۰/۰۰ a	۵۶/۳۲±۰/۱۱ a	۰/۵۹±۰/۰۰ a
نمونه خشک (آبدهی شده)	۴/۱۴±۰/ ۰۰ a	۰/۰۶±۰/۰۰ a	۵۴/۲۲±۰/۳۱ b	۰/۶۲±۰/۰۰ a

در هر ستون اعداد با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار است ($p<0.05$).

جدول۳: میزان جذب و کل فنل (بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک)در نمونه خیار دریایی *Holothuria parva* تازه و خشک (آبدهی شده) (میانگین ± انحراف معیار)

Table 3:Total phenol and absorption of fresh and dried (rehydrate) sea cucumber *Holothuria parva* mg gallic acid/gr dry sample (μ±σ)

نوع نمونه	میزان جذب (۷۶۵ نانومتر)	میزان کل فنل بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک
نمونه تازه	۰/۲۲±۰/۰۲ a	۰/۲۲±۰/۰۳ a
نمونه خشک (آبدهی شده)	۰/۱۹±۰/۰۲ a	۰/۱۹±۰/۰۲ a

در هر ستون اعداد با حروف مشابه در هر ستون نشانه عدم اختلاف معنی دار است ($p>0.05$).

جدول۴: میزان جذب و کل فلاونوئید (بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک) در نمونه خیار دریایی *Holothuria parva* تازه و خشک (آبدهی شده) (میانگین ± انحراف معیار)

Table 4: Total flavonoid and absorption fresh and dried (rehydrate) sea cucumber *Holothuria parva* mg quercetin/gr dry sample

نوع نمونه	میزان جذب (۴۱۵ نانومتر)	میزان کل فلاونوئید بر حسب میلی گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک
نمونه تازه	۱/۱۴±۰/۰۰ a	۳/۸۶±۰/۰۰ a
نمونه خشک (آبدهی شده)	۱/۴۹±۰/۰۰ a	۵/۰۲±۰/۰۰ a

در هر ستون اعداد با حروف مشابه در هر ستون نشانه عدم اختلاف معنی دار است ($p>0.05$).

بحث

به صورت کلی تمامی موارد تجزیه تقریبی در این گونه خیار دریایی با دیگر گونه‌های خیار دریایی بررسی شده، تقریبا در یک دامنه است. مانند دو گونه خیار دریایی (*P. parvimensis* و*P. californicus*) در سه حالت تازه، خشک و کنسروی بررسی شده توسط Maria (۱۹۸۹)، ۸

[Downloaded from isfj.ir on 2024-03-20]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.4.16.2]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110300]

گونه خیار دریایی *S.herrmanni, T. ananas, T. anax, H. fuscogilva, H.fuscopunctata, A.mauritiana, A.caerulea* و *B. argus* در حالت خشک بررسی شده توسط(Wen *et al*., 2010) که مانند خیار دریایی *H. parva* دارای پروتئین زیاد و چربی کم می‌باشد و همچنین در سال۲۰۱۱ در ترکیه در بررسی که بر روی سه گونه تجاری خیار دریایی (*H. tubulose, H. polii* و *H.mammata*) توسط Aydın صورت گرفته است در قسمت تجزیه تقریبی، هر ۳ گونه دارای درصدهای مشابهی با درصدهای مشاهده شده در نمونه خیار دریایی گونه *H. parva* (که در این تحقیق مورد آزمایش قرار گرفته‌است) بوده‌اند با این تفاوت که میزان پروتئین آنها کمی کمتر از گونه *H. parva* است. در سال ۲۰۰۷ تحقیقی در مورد خیار دریایی گونه *Cucumaria frondosa* توسط Zhong صورت گرفته که در آن میزان ارزش غذایی در دو نمونه تازه و آبدهی شده بررسی شده-است. در آن تحقیق میزان رطوبت و خاکستر در نمونه تازه بیشتر بوده در حالی که میزان پروتئین و چربی و کربوهیدرات در نمونه آبدهی بیشتر است. این درحالی است که در گونه *H.* parva هیچ تفاوت معنی‌داری در مورد کربوهیدرات و چربی وجود نداشت ولی بر عکس این گونه، خیار دریایی گونه مورد مطالعه درحالت تازه دارای بالاترین میزان پروتئین است و رطوبت در حالت آبدهی بیشتر است. تنها شباهت در این دو گونه در مورد خاکستر است. به علت میزان بسیار بالای پروتئین در این گونه و همچنین میزان پایین چربی، می‌شود نتیجه گرفت که خیار دریایی گونه *H. parva* نسبت به دیگر گونه‌های بررسی شده، گونه مفیدتری برای استفاده در صنایع داروسازی و تجاری است. همچنین به علت این که میزان پروتئین در حالت تازه این گونه بسیار بالاتر از حالت آبدهی است دارای خواص تغذیه‌ای بالاتری نسبت به نمونه آبدهی آن می‌باشد.

گونه خیار دریایی *H. parva* در ۲ حالت مورد بررسی شده، برای مهار ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد (IC50) نیاز به غلظت غلیظی از عصاره های آن‌ها نیست این در صورتی است که بعضی از نمونه‌های دریایی دیگر غلظت بیشتری نیاز است. برای مثال مطالعه‌ای که توسط Suguna و همکارانش (۲۰۱۴) برروی ستاره دریایی *Luidia maculata* نشان داد مقدار IC50 آن برای فرکشنمورد بررسی برابر با ۲۷۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محاسبه می‌گردد. این میزان در مورد پلی ساکارید خیار دریایی *Apostichopus japonicas* که توسط Liu و همکاران در سال۲۰۱۲مورد بررسی قرار گرفته برابر با ۳/۱۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد این در حالی است که IC50 در خیار دریای *H. parva* بررسی شده در تمام قسمت‌های بدن و ترکیبات آن بود که میزان آن فقط مقدار کمی با یک ترکیب خاص از خیار دریایی *A. japonicas* کمتر است که این احتمال وجود دارد که این میزان یک ترکیب خاص و بدون ناخالصی در خیار دریایی گونه مورد مطالعه بیشتر باشد. اگرچه با بررسی که Althunibat و همکاران (۲۰۰۹) بر روی سه گونه خیار دریایی شامل *Holothuria scabra*, *Holothuria leucospilota* و *Stichopus chloronotus* میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره آبی در این سه گونه بیشتر از عصاره‌های آلی آن است .

بر اساس مطالب ذکر شده می‌توان نتیجه گرفت که برای مهار نیمی از رادیکال‌های آزاد (IC50) به غلظت کمتری از عصاره‌ی گونه‌های مختلف خیار دریایی از جمله گونه *H. parva* در مقایسه با دیگر عصاره‌های دریایی نیاز است. همچنین با توجه به تفاوت معنی‌داری که بین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در دو حالت خشک و آبدهی-شده گونه مورد مطالعه وجود داشته، می‌توان بیان کرد که توان مهار رادیکال آزاد در حالت تازه این گونه خیار دریایی بیشتر از حالت خشک (آبدهی‌شده) آن است. و همچنین اگر از یک ترکیب یا یه قسمت خاص خیار دریایی گونه مورد مطالعه استفاده گردد و عصاره‌گیری آن از نوع آبی باشد می‌توان به عنوان یک منبع طبیعی آنتی اکسیدان استفاده گردد.

در سال ۲۰۱۴، Chen و همکاران تحقیقی بر روی توتیای دریایی *Tripneustes gratilla* انجام دادند و به نکته قابل توجه ای در تحقیق خود رسیده‌اند آنها نتیجه گرفتند که قسمتی از بدن که بیشترین میزان فعالیت مهار DPPH را دارد، کمترین میزان فنل و فلاونوئید را داراست. بنابراین احتمالا ترکیبات دیگری در این

[Downloaded from isfj.ir on 2024-03-20]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.4.16.2]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110300]

خارپوست وجود دارند که نقش آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کنند. در بی‌مهرگان دریایی جذب فنل موجود در جلبک‌ها و میکروجلبک‌ها، یک منبع بسیار قوی از ترکیبات فنل را در اختیار آنها می‌گذارد (Zhong و همکاران، ۲۰۰۷).

بر اساس نتایج این تحقیق، فرآیند خشک‌کردن و آبدهی مجدد تاثیری بر میزان فنل عصاره‌ی نمونه‌های خیار دریایی در مقایسه با نمونه‌های تازه نداشت. Mamelona و همکاران (۲۰۰۷) میزان فنل تام خیار دریایی گونه *Curcumaria frondosa* بستگی به نوع بافت و نوع عصاره دارد. برای مثال قسمت گوارشی بیشترین میزان فنل و قسمت گنادی کمترین میزان فنل را داراست.در تمامی قسمت های بررسی شده دارای فنل بیشتر نسبت به خیار دریایی *H. parva* است. همچنین در سال ۲۰۰۹، Husni و همکاران مطالعه‌ای بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی و اتانولی یک گونه خیار دریایی (*Stichopus japonicas*) انجام داده اند و Zhong و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه دیگری میزان فنل در حالت تازه و آبدهی شده (پس از خشک کردن) در خیار دریایی *Cucumaria frondosa* که میزان فنل در تمامی آن ها از میزان فنل خیار دریایی *H. parva* بیشتر بود که این مورد ممکن است به ۳ علت باشد:

۱- بی‌مهرگان دریایی به خصوص در مناطق گرمسیری به مدت طولانی در معرض نور اشعه UV قرار دارند و در بدن آنها باکتری‌های UV دوستی وجود دارد که استرس‌های ناشی از اکسیژن‌های آزاد به وجود آمده ناشی از نور خورشید را از بین می‌برد (Zhong *et al*., 2007). ولی نمونه‌های این تحقیق در فصل زمستان جمع‌آوری شده بود و به دلیل این که شدت و زمان اشعه UV در این فصل بسیار کم‌تر است احتمال دارد میزان باکتری‌های UV دوست در بدن نمونه‌ها کم‌تر شده‌باشد و به همین علت میزان فنل تولید شده در این فصل کاهش یافته باشد.

۲- روش عصاره‌گیری بر میزان فنل بسیار تاثیرگذار است. برای مثال بر اساس مطالعات Althunibat در سال ۲۰۰۹ میزان فنل در عصاره آبی ۳ گونه خیار دریایی بیشتر از عصاره آلی آنها گزارش شده است، به طوریکه در عصاره آبی میزان فنل بیشتری در مقایسه با عصاره آلی داراست و همچنین در تحقیق Husni و همکاران (۲۰۰۹) هم میزان فنل در عصاره آبی بیشتر از عصاره اتانولی بوده است. تمام عصاره‌های تحقیق حاضر، از نوع متانولی بوده و همانطور که بیان شد عصاره آبی دارای میزان فنل بیشتری در مقایسه با عصاره متانولی می‌باشد.

۳-خیار دریایی *H. parva* یک گونه دتریت‌خوار است (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۳) و چون فنل از طریق غذا هم جذب می‌گردد، این احتمال وجود دارد که دتریت‌های یافت شده در فصل زمستان دارای میزان فنل کمتری بوده‌اند. به طور کلی میزان فنل در خیار دریایی کمتر از میزان آن در بسیاری از گیاهان است.

در نمونه خیار دریایی مورد بررسی در این تحقیق، میزان فلاونوئید همانند فنل، پروسه خشک کردن و آبدهی مجدد تاثیری روی آن نداشت و میزان فلاونوئید آن تقریبا در دامنه نتایج بدست آمده از تحقیقاتی که بر روی عصاره بخشهای مختلف بدن خیار دریایی *Curcumaria frondosa* (Mamelona *et al*., 2007)، عصاره خیار دریایی *Stichopus japonicus* (Husni *et al*., 2009) و عصاره‌های گناد و دیواره بدن یک نوع توتیای دریایی (Chen *et al*., 2014) بوده است. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان فلاونوئید بیشتر از میزان فنل کل است و می‌توان احتمال داد که فلاونوئید آن در مقایسه با میزان فنل کل عامل مهمتری در مقابله با رادیکال‌های آزاد در این گونه خیار دریایی باشد. همچنین روش عصاره‌گیری هم می‌تواند تاثیر زیادی بر میزان فنل و فلاونویید عصاره داشته باشد و در مطالعه دیگری خیار دریایی *Stichopus japonicas* توسط Husni و همکاران (۲۰۰۹) صورت گرفته، میزان فلاونویید آن نیز در عصاره الکلی بیشتر از عصاره آبی آن گزارش شده است. همچنین میزان فلاونوئید آن نسبت به میزان فلاونوئید در گیاهانی مانندگیاه دارویی قره قاط یک نوع گیاه جنگلی است (سپهری فر و حسنلو، ۱۳۸۸) و در عصاره‌های اتانولی پوست درخت جنگلی کاج و اکالیپتوس (نظری و همکاران، ۱۳۹۲) بیشتر است.

در مجموع نتایج بدست آمده، می‌توان گفت خیار دریایی *H. Parva* یک منبع مناسب از فلاونوئید است به

[Downloaded from isfj.ir on 2024-03-20]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.4.16.2]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110300]

خصوص در حالت تازه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان پروتئین بیشتری نسبت به حالت خشک (آبدهی شده) است و می‌توان از حالت تازه آن به عنوان یک منبع طبیعی در صنایع دارویی و غذایی استفاده کرد.

منابع

سپهری‌فر، ر. و حسنلو، ط.، ۱۳۸۸. بررسی ترکیبات پلی‌فنلی، آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدهای تام و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی قره‌قاط (*Vaccinium arctostaphyylos L.*)جمع‌آوری شده از چهار منطقه مختلف ایران. فصلنامه گیاهان دارویی، دوره ۹، شماره ۳۳، صفحات ۷۴-۶۶.

گرمسیری، ا.، رضائی، م.، شویک لو، ا. ر. و باباخانی لشکان، آ.، ۱۳۹۳. بررسی کارآمدی امواج مایکروویو در استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جلبک قرمز *Hypnea hamulosa* و بهینه‌سازی شرایط استخراج با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM). نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، دوره ۱۰، شماره۲، صفحات ۱۵۵-۱۴۸.

محمدیان، آ.، کامرانی، ا.، دباغ، ع. و رامشی، ح.، ۱۳۹۳. تأثیر شوری برروی فعالیت‌های تغذیه‌ای و سیکل نقب‌زدن روزنه‌های خیار دریایی (*Holothuria parva*). علوم و فنون شیلات، دوره ۳، شماره ۴، صفحات ۷۹-۶۹.

نظری، ص.، نظرنژاد. ن. و ابراهیم‌زاده، م.، ۱۳۹۲. بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول و فلاونوئید کل پوست درختان اکالیپتوس کاملدولنسیس و کاج جنگلی. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات علوم چوب و کاغذ ایران، دوره ۲۸، شماره ۳، صفحات ۵۳۲ - ۵۲۳.

Althunibat, O.S., Hashim, R.B., Taher, M., Daud, J.M., Ikeda, M. and Zali, I., 2009. In vitro sea antioxidant and antiproliferative activities of three sea cucumber species. European Journal of Scientific Research, 37(3): 376–387.

AOAC, 1997. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16th edn, AOAC International, Gaithersbung, MD, USA.

Aydın, M., Sevgili, H., Tufan, B., Emre, Y. and Köse, S., 2011. Proximate composition and fatty acid profile of three different fresh and dried commercial sea cucumbers from Turkey. International journal of food science and technology, 46(3): 500- 508. . DOI: 10.1111/j.1365-2621.2010.02512.x

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I. and Jovin, E., 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., lamiaceae) essential oils. Journal of Agricultural and food chemistry, 55(19):7879- 7885. DOI: 10.1021/jf0715323

Chen, Y.C. and Hwang, D., 2014. Evaluation of antioxidant properties and biofunctions of polar, nonpolar, and water-soluble fractions extracted from gonad and body wall of the sea urchin *Tripneustes gratilla.* Chemistry and biochemistry Journal, 80(6):1311- 1321. DOI: 10.1007/s12562-014-0808-9

Dunlap, W., Malcolm Shick, J. and Yamamoto, Y., 1999. Sunscreens, oxidative stress and antioxidant functions in marine organisms of the great barrier reef. Journal of Redox report, 4(6): 301-306. DOI: 10.1179/135100099101535142

Husni, A., Shin, I.S., You, S. and Chung, D., 2009. Antioxidant properties of water and aqueous ethanol extracts and their crude

[Downloaded from isfj.ir on 2024-03-20]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.4.16.2]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110300]

A. and Ibáñez, E., 2008. Antioxidants in plant foods and microalagae extracted using compressed fluids. Electronic Journal of Environment Agricultural and Food chemistry, 7(8): 3301-3309..

Onofrejova, L., Vasickova, J.V., Klejdus, B., Stratil, P., Misurcova, L., Kracmar, S., Kopecky, J. and Vacek, J., 2010. Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. Journal of pharmaceutical and biomedical analaysis, 51(2): 464- 470. DOI: 10.1016/j.jpba.2009.03.027.

Ramezani Fard, E., Kamarudin, M., Harmin, S.A. and Saad, Ch.R., 2012. Dietary saturated and omega-3 fatty acids affect growth and fatty acid profiles of malaysian mahser. European journal of lipid science and technology, 114(2): 185-193. DOI: 10.1002/ejlt.201100254.

Suguna, A., Bragadeeswaran, S., Natarajan, E. and Mohanraj, M., 2014. Studies on antioxidant properties of starfish *Luidia maculata* (Muller &Troschel, 1842) off parangipettai, southeast coast of India. Journal of coastal life medicine, 2(9): 694-698. DOI: 10.12980/JCLM.2.2014JCLM-2014-0014.

Wen, J., Hua, C. and Fana, S., 2010. Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers. Journal of the science of food and agriculture, 90(4): 2469- 2474. DOI: 10.1002/jsfa.4108.

Yang Huang, W., Zhong Cai, Y. and Zhang, Y., 2009. Natural phenolic compounds saponin fractions from a far-eastern sea cucumber, *Stichopus japonicus*. Journal of Food science and biotechnology,18(2): 419- 424.

Ito, N., Fukushima, S., Hagiwara, A., Shibata, M. and Ogiso, T., 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. Journal of the national cancer institute, 70(2): 343-347. DOI: 10.1093/jnci/70.2.343

Huy, L.A.P., He, H. and Huyc, C.P., 2008. Free radicals antioxidants in disease and health. Intemational journal biological science, 4(2): 89- 96.

Liu, X., Sun, Z., Zhang. M., Meng. X., Xia. X., Yuan. W., Xue, F. and Liu. C., 2012. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of polysaccharides from sea cucumber *apostichopus japonicas*. Elsevier journal, 90(4): 1664- 1670. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.07.047

Mamelona, J., Pelletier, E., Girard-Lalancette, K., Legault, J., Karboune, S. and Kermasha, S., 2007. Quantification of phenolic contents and antioxidant capacity of atlantic sea cucumber, *cucumaria frondosa*. Journal of Food chemistry, 104(3): 1040-1047. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.01.016.

Maria, V.C., Rober, J.P. and Lucina, E.L., 1989. Effect of processing on proximate composition and mineral content of sea cucumbers, *parastichopus spp*. Journal of food science, 3(54): 567-572. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1989.tb04653.x.

Mendiola, J. A., Rodríguez-Meizoso, I., Señoráns, F. J., Reglero, G., Cifuentes,

[Downloaded from isfj.ir on 2024-03-20]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.4.16.2]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110300]

from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. Nutrition and cancer, 62(1):1-20. DOI: 1080/01635580903191585.

Zhong, Y., Ahmad Kan, M. and Shahidi, F., 2007. Compositional characteristics and antioxidant properties of fresh and processed sea, cucumber, *cucumaria frondosa*. Agricultural and food chemistry, 55(4): 1188- 1192. DOI: 10.1021/jf063085h.

[Downloaded from isfj.ir on 2024-03-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.4.16.2]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110300]

Evaluation of the antioxidant activity of dried (rehydrate) and fresh sea cucumber, *Holothuria parava*

Diba G.[1]; Jamili Sh.[1,2*]; Ramezani Fard E.[4]

* shahlajamili45@yahoo.com

1-Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciense and Technology, Islamic Azad University Science and Reserch Branch.

2-Iranian Fisheries Research Organization, Tehran, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, POBox 14965/149

Abstract

Sea cucumber is a valuable resource containing several materials that can be used as natural products and pharmaceutical industries. In this study, proximate composition and the amount of total phenols, flavonoids and antioxidant activity of fresh and rehydrated (after drying) sea cucumber, *Holothuria parva*, were examined. The samples were collected from Bandar Lengeh in the Persian Gulf during low tide and kept frozen. The samples were freeze-dried and the moisture content was calculated. The protein, lipid, ash and carbohydrate contents were then measured. The amounts of antioxidant activity (DPPH), phenol and flavonoid contents were also measured. All results have possibility ($p<0.05$). In fresh sample, the moisture, protein, lipid, ash and carbohydrate contents were ±81.20, ± 12.00, ± 0.34, ±5.50 and ±0.95%, respectively, while they were ±92.50, ± 3.76, ±0.36, ±1.00 and ±2.07% in rehydrated sample. The antioxidant activity in fresh and rehydrated samples were equal to ±0.063 and ±0.060 mg vitamin C/g dry sample, respectively. The IC50 in fresh sample was ±5.26 while in the rehydrated sample was ±4.14. Total phenol content of fresh and rehydrated samples were equal to ±0.22 and ±0.19 mg gallic acid/g dry sample, repectively. The flavonoid contents in fresh and rehydrated samples were equal to ±3.86 and ±5.02 mg Quercetin/g dry sample, respectively. The amounts of protein and ash in fresh sample were significantly higher than rehydrated sample with significant difference ($p<0.05$). Moisture in rehydrated sample was significantly higher than fresh sample with significant difference ($p<0.05$). There were no significant difference between fresh and rehydrated samples in terms of their phenon and flavonoid contents. The DPPH radical scavenging capacity was significantly higher in the fresh sample compared to the rehydrated sample with significant difference($p<0.05$). It can be concluded that this species of fresh sea cucumber has more antioxidant activity than rehydrated (after drying) sea cucumber and more beneficial to be used in pharmaceutical and food industries.

Keywords: Sea cucumber, *Holothuria parva*, Proximate composition, Free radicals, DPPH, Phenols, Flavonoids

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2024-03-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1395.25.4.16.2]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110300]