

بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی خیار دریایی *Holothuria parva* در دو

حالت خشک (آبدهی شده) و تازه

گلریز دیبا^۱، شهلا جمیلی^{۱،*}، احسان رمضانی^۱

* shahlaJamili45@yahoo.com

۱-گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه علوم و تحقیقات، تهران، ایران، صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵
۲-موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج وزارت جهادکشاورزی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۱۶-۱۳۱۸۶

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: تیر 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 اندازه‌گیری گردید. سپس تجزیه تقریبی آن محاسبه گردید. میزان فنل به روش فولین سیوکالتو، میزان فلاونوئید به روش نورسنجی کلرید آلومینیوم و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان با استفاده از DPPH سنجیده شد. نتایج بدست آمده نشان داد که میزان رطوبت در نمونه تازه برابر با $81.20 \pm 1.2\%$ ، پروتئین $12.0 \pm 0.34\%$ چربی $3.4 \pm 0.36\%$ ، خاکستر $5.50 \pm 0.95\%$ بوده است. این مقادیر برای نمونه آبدهی به ترتیب برابر با: $92.50 \pm 0.76\%$ ، $3.37 \pm 0.36\%$ ، $0.36 \pm 0.36\%$ و $5.50 \pm 0.95\%$ بوده است. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه تازه برابر 0.63 ± 0.06 و در نمونه آبدهی 0.60 ± 0.06 میلی-گرم ویتامین C در گرم نمونه خشک و شاخص IC50 در نمونه تازه 5.26 ± 0.14 و در نمونه آبدهی 4.14 ± 0.14 بود. میزان فنل کل در نمونه تازه برابر 0.22 ± 0.19 و در نمونه آبدهی 0.19 ± 0.19 میلی گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک بود. میزان فلاونوئید در نمونه تازه 3.86 ± 0.02 و در نمونه آبدهی 5.02 ± 0.02 میلی گرم 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 ($p < 0.05$) و میزان رطوبت در حالت خشک (آبدهی شده) بیشتر از حالت تازه و دارای اختلاف معناداری بود ($p < 0.05$). میزان فنل و فلاونوئید در دو حالت یکسان بوده است. 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

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 می دهند 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، سکت، 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).

فنل ها گروه مهمی از ترکیبات طبیعی با خواص آنتی اکسیدانی هستند که دارای یک یا چند حلقه آروماتیک هستند و دارای قدرت تحمل یک یا چند هیدروکسیل می باشند (Onofrejoa 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 آنتی 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 روش ها

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 کاملاً 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 کاملاً آبدهی گردید. بقیه نمونه ها به صورت تازه به قطعه های کوچک تقسیم شده و به همراه نمونه های آبدهی شده به صورت انجمادی خشک (Christ، مدل 1-4LD plus) شد و تا

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 فریزداری شده به آن ۲۰ میلی لیتر متانول اضافه گردید و ورتکس (Heidolph، مدل Reax top) شد، آنگاه در دستگاه سانتریفیوژ (K=۳۰-۳۰ Sigma) 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 (Heidolph، 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).

ویتامین C 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 ۱/۹ میلی لیتر DPPH متانولی (۱۰ μM) اضافه کرده و مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی قرار گرفت. سپس نمونه ها، DPPH و تمامی غلظت های 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 عصاره های به دست آمده، درصد مهار رادیکال های آزاد DPPH توسط آنتی اکسیدان 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 می گردید.

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 آن ها 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 نام های کوئرستین و روتین هیدرات استفاده می گردد که هر دو

نتایج

از لحاظ تجزیه تقریبی میزان چربی و کربوهیدرات، در دو حالت تازه و آبدهی شده 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 می توان 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 (جدول ۱). همچنین در مورد فعالیت آنتی اکسیدان، تنها در مورد میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH دارای تفاوت معنادار بود و می توان 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 (جدول ۲). میزان جذب و میزان کل فنل (بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک) و کل فلاونوئید (بر حسب میلی گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک) برای هر دو نمونه تازه و خشک (آبدهی) تفاوت معنی داری بین دو نمونه تازه و آبدهی شده نشان نداد ($p > 0.05$) و در نتیجه روند خشک کردن و آبدهی خیار دریایی *H. parva* تغییری در میزان فنل کل و فلاونوئید آن ایجاد نکرد (جداول ۳ و ۴).

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

مقدار ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از روش نورسنجی کلرید آلومینیوم تعیین گردید. ۰/۵ میلی لیتر از هر یک از عصاره نمونه ها که ۱۰ برابر رقیق شده و غلظت های کوئرستین (۰ تا ۵۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) با ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم و ۲/۸ میلی لیتر 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 بر حسب میلی گرم کوئرستین بر هر گرم نمونه خشک بیان شد (سپهری فر و حسنلو، ۱۳۸۸).

تجزیه و تحلیل آماری

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

جدول ۱: 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 $\pm$ انحراف معیار)

Table1: proximate composition of fresh and dried (rehydrate) sea cucumber *Holothuria parva* per gram of sample in percentile ($\mu \pm \sigma$)

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

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

جدول ۲: میزان مهار رادیکال‌های آزاد بر حسب درصد و میلی‌گرم ویتامین C در گرم نمونه خشک (میانگین $\pm$ 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 ($\mu\pm\sigma$). IC50

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

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

جدول ۳: میزان جذب و کل فنل (بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم نمونه خشک) در نمونه خیار دریایی *Holothuria parva* تازه و خشک (آبدهی شده) (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

Table 3: Total phenol and absorption of fresh and dried (rehydrate) sea cucumber *Holothuria parva* mg gallic acid/gr dry sample ($\mu\pm\sigma$)

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

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

جدول ۴: میزان جذب و کل فلاونوئید (بر حسب میلی گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک) در نمونه خیار دریایی *Holothuria parva* تازه و خشک (آبدهی شده) (میانگین $\pm$ 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 $\pm$ ۰/۰۰ a	۳/۸۶ $\pm$ ۰/۰۰ a
نمونه خشک (آبدهی شده)	۱/۴۹ $\pm$ ۰/۰۰ a	۵/۰۲ $\pm$ ۰/۰۰ a

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

بحث

تقریباً 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

به صورت کلی تمامی موارد تجزیه تقریبی در این گونه خیار دریایی با دیگر گونه‌های خیار دریایی بررسی شده،

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 می باشد و همچنین در سال ۲۰۱۱ 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 گرفته است) بوده اند 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 معنی داری 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، می شود نتیجه گرفت که خیار دریایی گونه *H. parva* نسبت به دیگر گونه های 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 تغذیه ای بالاتری نسبت به نمونه آبدهی آن می باشد.

گونه خیار دریایی *H. parva* در ۲ حالت مورد بررسی شده، برای مهار ۵۰ درصد از رادیکال های آزاد (IC50) نیاز به غلظت غلیظی از عصاره های آن ها نیست این در صورتی است که بعضی از نمونه های دریایی دیگر غلظت بیشتری نیاز است. برای مثال مطالعه ای که توسط

Suguna و همکارانش (۲۰۱۴) بر روی ستاره دریایی *Luidia maculata* نشان داد مقدار IC50 آن برای فرکشنمورد بررسی برابر با ۲۷۳ میلی گرم در میلی لیتر محاسبه می گردد. این میزان در مورد پلی ساکراید خیار دریایی *Apostichopus japonicas* که توسط Liu و همکاران در سال ۲۰۱۲ مورد بررسی قرار گرفته برابر با ۳/۱۱ میلی گرم در میلی لیتر می باشد این در حالی است که IC50 در خیار دریایی *H. parva* بررسی شده در تمام قسمت های 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 Stichopus chloronotus* و *leucospilota* فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره آبی در این سه گونه بیشتر از عصاره های آلی آن است.

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

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

خارپوست وجود دارند که نقش آنتی اکسیدانی ایفا می کنند. در بی مهرگان دریایی جذب فنل موجود در جلبک ها و میکرو جلبک ها، یک منبع بسیار قوی از ترکیبات فنل را در اختیار آنها می گذارد (Zhong و همکاران، ۲۰۰۷).

بر اساس نتایج این تحقیق، فرآیند خشک کردن و آبدهی مجدد تاثیری بر میزان فنل عصاره ی نمونه های خیار دریایی در مقایسه با نمونه های 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 مطالعه ای بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی 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- بی مهرگان دریایی به خصوص در مناطق گرمسیری به مدت طولانی در معرض نور اشعه UV قرار دارند و در بدن آنها باکتری های UV دوستی وجود دارد که استرس های ناشی از اکسیژن های آزاد به وجود آمده ناشی از نور خورشید را از بین می برد (Zhong et al., 2007). ولی نمونه های این تحقیق در فصل زمستان جمع آوری شده بود و به دلیل این که شدت و زمان اشعه UV در این فصل بسیار کمتر است احتمال دارد میزان باکتری های UV دوست در بدن نمونه ها کمتر شده باشد و به همین علت میزان فنل تولید شده در این فصل کاهش یافته باشد.

۲- روش عصاره گیری بر میزان فنل بسیار تاثیر گذار 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 عصاره های تحقیق حاضر، از نوع متانولی بوده و همانطور که بیان شد عصاره آبی دارای میزان فنل بیشتری در مقایسه با عصاره متانولی می باشد.

۳- خیار دریایی *H. parva* یک گونه دتریت خوار است (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۳) و چون فنل از طریق غذا هم جذب می گردد، این احتمال وجود دارد که دتریت های یافت شده در فصل زمستان دارای میزان فنل کمتری بوده اند. 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 تقریباً 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 عصاره های 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 می توان احتمال داد که فلاونوئید آن در مقایسه با میزان فنل کل عامل مهمتری در مقابله با رادیکال های آزاد در این گونه خیار دریایی باشد. همچنین روش عصاره گیری هم می تواند تاثیر زیادی بر میزان فنل و فلاونوئید عصاره داشته باشد و در مطالعه دیگری خیار دریایی *Stichopus japonicus* توسط Husni و همکاران (۲۰۰۹) صورت گرفته، میزان فلاونوئید آن نیز در عصاره الکلی بیشتر از عصاره آبی آن گزارش شده است. همچنین میزان فلاونوئید آن نسبت به میزان فلاونوئید در گیاهانی مانند گیاه دارویی قره قاط یک نوع گیاه جنگلی است (سپهری فر و حسنلو، ۱۳۸۸) و در عصاره های اتانولی پوست درخت جنگلی کاج و اکالیپتوس (نظری و همکاران، ۱۳۹۲) بیشتر است.

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

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

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 قره‌قاپ (*Vaccinium arctostaphylos* L. جمع‌آوری شده از چهار منطقه مختلف ایران. فصلنامه گیاهان دارویی، دوره ۹، شماره ۳۳، صفحات ۶۶-۷۴.

گرمسیری، ا.، رضائی، م.، شویک‌لو، ا. ر. و باباخانی لشکان، آ.، ۱۳۹۳. بررسی کارآمدی امواج میکروویو 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، شماره ۲، صفحات ۱۴۸-۱۵۵.

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

نظری، ص.، نظرنژاد، ن. و ابراهیم‌زاده، م.، ۱۳۹۲. بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول و فلاونوئید کل پوست درختان اکالیپتوس کاملدولنسپس 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.

- 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 Huy, C.P., 2008.** Free radicals antioxidants in disease and health. International 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, A. and Ibáñez, E., 2008.** Antioxidants in plant foods and microalgae 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 analysis, 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

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.

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

Diba G.¹; Jamili Sh.^{1,2*}; Ramezani Fard E.⁴

* shahlajamili45@yahoo.com

1-Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, Islamic Azad University Science and Research 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 $\pm 0.95\%$, respectively, while they were ± 92.50 , ± 3.76 , ± 0.36 , ± 1.00 and $\pm 2.07\%$ 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, respectively. 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