

استخراج فوکوزانتین از جلبک قهوه‌ای *Colpomenia sinuosa* و بررسی اثر آنتی اکسیدانی آن

چکیده

هدف از انجام این تحقیق، استخراج رنگدانه فوکوزانتین از جلبک قهوه‌ای *Colpomenia sinuosa* در جزیره قشم و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی آن (زمستان ۱۳۹۷) بود. به منظور استخراج رنگدانه فوکوزانتین از این جلبک در محیط حاوی حلال متانول (فاز متحرک) استفاده شد و به وسیله کروماتوگرافی ((HPLC) ستون ۱۸ با فاز ثابت Silica) پیک حضور فوکوزانتین (RetTime) در دقیقه ۳/۸۹۳ و با غلظت ۱۸/۲۵۵ (با محاسبه ناحیه زیر سطح پیک) به دست آمد. جهت بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی از میزان مهار رادیکال آزاد DPPH، نتیجه آزمون بر پایه IC₅₀ عدد ۰/۲۹ میلی مول به دست آمد و با دو نمونه شاهد (کنترل مثبت) تطبیق داده شد و در سه غلظت ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر از فوکوزانتین آزمایش شد. میزان حذف رادیکال آزاد در غلظت‌های مختلف (۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱) به ترتیب ۵۶/۰۳، ۴۷/۱۲ و ۴۶/۹۹ بر حسب درصد به صورت میانگین ناشی از سه بار تکرار به دست آمد که نشانگر اثر حذف رادیکال آزاد وابسته به غلظت بود.

واژگان کلیدی: جلبک قهوه‌ای، *Colpomenia sinuosa*، فوکوزانتین، آنتی‌اکسیدان، جزیره قشم، خلیج فارس.

سلمان بهره مندی^۱

آریا اشجع اردلان^{۲*}

مژگان امتیازجو^۳

فرناز رفیعی^۴

۱، ۲، ۳، ۴. گروه زیست‌شناسی دریا، واحد تهران

شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات:

a_ashjaardalan@yahoo.com

کد مقاله: ۱۳۹۹۰۳۰۸۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۵

این مقاله پژوهشی و برگرفته از پایان نامه

کارشناسی ارشد است.

مقدمه

جلبک‌های دریایی یکی از بزرگ‌ترین تولیدکنندگان در محیط‌های دریایی هستند (Badury and Wright, 2004). تاکنون بیش از ۲۴۰۰ ترکیب طبیعی در ماکروجلبک‌ها شناسایی شده‌اند که در زمینه‌های پزشکی، داروسازی، غذایی و صنعتی تجاری‌سازی شده‌اند. ماکروجلبک‌ها بر اساس ترکیبات شیمیایی موجود در آن‌ها به سه دسته ماکروجلبک‌های سبز، قرمز و قهوه‌ای تقسیم می‌شوند. جلبک‌های دریایی علاوه بر نقش‌های بوم‌شناختی بسیار مهمی که در طبیعت دارند، به علت غنی بودن از ترکیبات ضروری و مورد نیاز مانند مواد معدنی، ویتامین‌ها، پروتئین، کاروتنوئید، فیبر و اسیدهای چرب ضروری، در بسیاری از کشورهای جهان از گذشته‌های دور تا کنون به عنوان غذایی سالم در رژیم غذایی انسان و یا برای مصارف دارویی، صنعتی و آرایشی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Khan and Satam, 2003; Kotnala et al., 2009)، به‌طوری‌که در ژاپن در ترکیباتی نظیر مربا، پنیر، نوشیدنی‌ها، چای، سوپ و غیره از آن‌ها استفاده می‌شود در برخی دیگر از کشورها به عنوان منابع پلی ساکاریدهای متنوع در صنایع غذایی و داروسازی مورد استفاده گسترده قرار می‌گیرند. همچنین به علت دارا بودن ترکیبات مفید و فعال زیستی، تاکنون ترکیبات زیستی متعدد و با گستره کاربردی متنوعی همچون اثرات آنتی‌بیوتیک، ضد ویروس، ضد قارچ و ضد سرطان‌زا جلبک‌های پرسلولی شناسایی و مشتق شده‌اند که بسیاری از متابولیت‌های اولیه و ثانویه این جانداران می‌توانند به مواد فعال مورد نیاز صنایع دارویی تبدیل شوند (Al-Haj et al., 2009).

با وجود تمرکز مطالعات بر آنتی اکسیدان‌های موجود در گیاهان خشکی، بسیاری از منابع دریایی نیز برای کاوش ترکیبات زیست فعال جهت ساخت دارو و غذاهای سلامتی بخش مورد توجه قرار گرفته‌اند. در طول دهه گذشته، جلبک‌های دریایی یا عصاره آن‌ها به عنوان منبعی جدید از ترکیبات زیست فعال مورد توجه قرار گرفته‌اند زیرا قادر به تولید طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه بوده که بازه گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیک را سبب می‌گردد (Gupta and Abu-Ghannam, 2011). اخیراً بیشتر توجهات بر فعالیت ضدتوموری و آنتی اکسیدانی ترکیبات جلبکی معطوف شده است (Heo et al., 2005).

نتایج تحقیقات مختلف نشان داده که ماکرو جلبک‌های دریایی دارای آنتی اکسیدان‌های مختلف طبیعی شامل پلی فنول‌ها هستند (Kuda et al., 2005). ترکیبات فنولی شامل فلاونوئیدها، فلوروتانن‌ها، اسیدهای فنولی و تانن‌ها بوده که عوامل مهمی در فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان و جلبک‌ها هستند (Blanc et al., 2011). ترکیبات فنولی به دلیل عملکردهای ضد اکسایشی و ضد توموری مورد توجه هستند و معمولاً در جلبک‌های دریایی قهوه‌ای، قرمز و سبز دیده می‌شوند. ترکیبات به‌القوه آنتی اکسیدانی در جلبک‌ها شامل برخی رنگدانه‌ها (فوکوزانتین، آستازانتین، کاروتنوئیدها و...) و پلی فنول می‌باشد (Souza et al., 2011). فوکوزانتین اثرات محافظتی در برابر بیماری‌های التهابی دارد که این امر احتمالاً مربوط به ظرفیت بالای آنتی اکسیدانی آن می‌باشد (Liu et al., 2020; Wang et al., 2020).

Raji و همکاران در سال ۲۰۲۰ خالص‌سازی فوکوزانتین از گونه *Sargassum wightii* در آب‌های ساحلی منطقه Mandapam در هند را انجام دادند (Raji et al., 2020). جلبک مورد بررسی در این تحقیق *Colpomenia sinuosa* بود. این گونه از نظر سیستماتیک متعلق به رده Phaeophyceae، راسته Ectocarpales و خانواده Scytosiphonaceae می‌باشد. رنگ جلبک قهوه‌ای متمایل به زرد، شکل ظاهری نیم‌کروی تا کروی، به طور نامنظم پیچ خورده و توخالی صاف در اوایل رویش و توسعه یافته با افزایش سن می‌باشد. شکل نامنظم، کم و بیش گرد یا چندوجهی، قطر تال حدود ۱۰-۵ سانتی‌متر یا بیشتر است.

جلبک‌های قهوه‌ای - آب شورزی - در قسمت‌های کم عمق جزرومدی در بسترهای صخره‌ای مسطح یا به صورت اپیفیت روی جلبک‌های بزرگ یافت می‌شوند. پراکنش کم و بیش در استان‌های هرمزگان و سیستان و بلوچستان در فصل زمستان و اوایل بهار است (قرنجیک و روحانی قادیکلایی، ۱۳۸۸).

در دسترس بودن منابع این جلبک‌ها در آب‌های جنوبی کشور که معادله هزینه-فایده (cast-benefit) را به سمت مثبت سوق می‌دهد خواص بسیار فراوان ترکیبات زیست فعال آن‌ها، از جمله رنگدانه فوکوزانتین و اثر بخشی آن به عنوان مکمل رژیمی - لاغری باعث شد تا تحقیق حاضر با هدف استخراج رنگدانه فوکوزانتین از جلبک *Colpomenia sinuosa* و بررسی اثر آنتی اکسیدانی آن انجام شود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه عملیات نمونه‌برداری جلبک قهوه‌ای *Colpomenia sinuosa* از سواحل جزیره قشم در زمستان ۱۳۹۷ در زمان بیشینه جزر و در موقعیت جغرافیایی ۲۶°۴۹'۰۸"N ۵۶°۰۶'۲۷.۳"E صورت گرفت.

برای مشخص شدن زمان حداکثر جزر در ایستگاه‌ها، از وب‌گاه ایران آب‌نگاری که وضعیت جزرومدی سواحل ایران را نشان می‌دهد، استفاده شد. جلبک‌ها از ناحیه اتصال به بستر با دست جدا شده و جهت تشخیص با اطلس جلبک‌های دریایی سواحل خلیج فارس و دریای عمان (قرنجیک و روحانی قادیکلایی، ۱۳۸۸) تطبیق داده شد. جلبک‌های جمع‌آوری شده از شن و ماسه و جانداران اپیفیت پاکسازی شده و مواد زائد از روی آن‌ها برداشته شد. سپس با آب دریا شستشو داده شدند و در داخل کیسه‌های نایلونی حاوی آب دریا درون جعبه یونولیتی حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند.

کارهای آزمایشگاهی در آزمایشگاه شیمی آلی و پلیمر دانشکده شیمی دانشگاه تهران انجام گردید. پس از انتقال نمونه‌ها، در آزمایشگاه جلبک‌ها دوباره با آب معمولی شسته و روی پارچه تمیزی در سایه در معرض هوا خشک شدند. نمونه‌ها پس از خشک شدن به طور کامل، توسط آسیاب برقی پودر شدند و فوکوزانتین از آن‌ها استخراج شد. در این تحقیق از حلال‌های هگزان، متانول، کلروفرم، آب مقطر و متانول (Merk آلمان) جهت عصاره‌گیری استفاده شد (Haugen et al., 1992).

استخراج فوکوزانتین بر اساس روش هوگن (Haugen et al., 1992) انجام شد. بدین ترتیب که ۲ گرم از ماده خشک با ۲۰ میلی‌لیتر متانول مخلوط و ۲۴ ساعت در آزمایشگاه توسط نوار مغناطیسی به حرکت درآمده و همزده شد. پس از ته نشست قسمت‌های نامحلول، لایه رویی سانتریفوژ شده (۵ دقیقه در ۶۰۰۰ دور) (مدل Chirst) و بعد مایع رویی جمع‌آوری گردید. این فرآیند ۳ بار تکرار شد. ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۶۰ میلی‌لیتر هگزان به مایع رویی اضافه شد، محلول حاصل به آرامی به وسیله قیف جداکننده از فاز آبی جدا و جمع‌آوری و فاز ارگانیک دور ریخته شد. سپس ۴۰ میلی‌لیتر کلروفرم به فاز آبی افزوده و مجدداً دو فاز حاصل به وسیله قیف جدا گردید. آن‌گاه فاز ارگانیک جمع‌آوری و به وسیله دستگاه اواپراتور چرخان (مدل Heidolph VV2000) تبخیر شد (در دمای ۳۰ سانتی گراد)، باقیمانده برای آنالیز بعدی نگهداری شد. وجود فوکوزانتین توسط سیستم HPLC (Agilent Technologies 1200 infinity series) در طول موج ۴۵۰ نانومتر قابل تشخیص و جداسازی شد.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با اندازه‌گیری اثر مهار رادیکالی آزاد عصاره بر فعالیت جذب رادیکال‌های سنتزی DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ارزیابی شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر طبق روش استفاده شده توسط بوریس و بوکر (Burits and Bucar, 2000) اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که ابتدا ۲ میلی‌لیتر از عصاره متانولی (با سه غلظت ۰,۱، ۱ و ۰,۰۱) با ۲ میلی‌لیتر محلول متانول حاوی رادیکال DPPH ترکیب گردید که منجر به تهیه غلظت نهایی ۰/۱۵ میلی مولار از DPPH گردید (بر اساس روش بهبود یافته Blois). ترکیب حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق انکوبه شد و سپس به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل v-530 شرکت Jasco کشور ژاپن) با استفاده از blank به عنوان شاهد در طول موج ۵۱۷ نانومتر مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار گرفت و با استفاده از فرمول زیر فعالیت بازدارندگی رادیکال DPPH تحت عنوان غلظت بازدارندگی DPPH محاسبه گردید و پس از سه بار تکرار به عنوان کنترل مثبت از دو آنتی‌اکسیدان شناخته شده یعنی ترکیب Ascorbic acid-BHA و دیگری α -tocopherol، به کار گرفته شد و میزان فوکوزانتین در جلبک *C. sinuosa* به دست آمد:

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100$$

که در این فرمول، A_0 : جذب شاهد و A_1 : جذب نمونه می‌باشد.

IC_{50} بیانگر غلظت مؤثر از نمونه‌ها است که ظرفیت مهار ۵۰٪ DPPH را دارد و از طریق رگرسیون خطی منحنی درصد ممانعت کنندگی و غلظت به دست می‌آید.

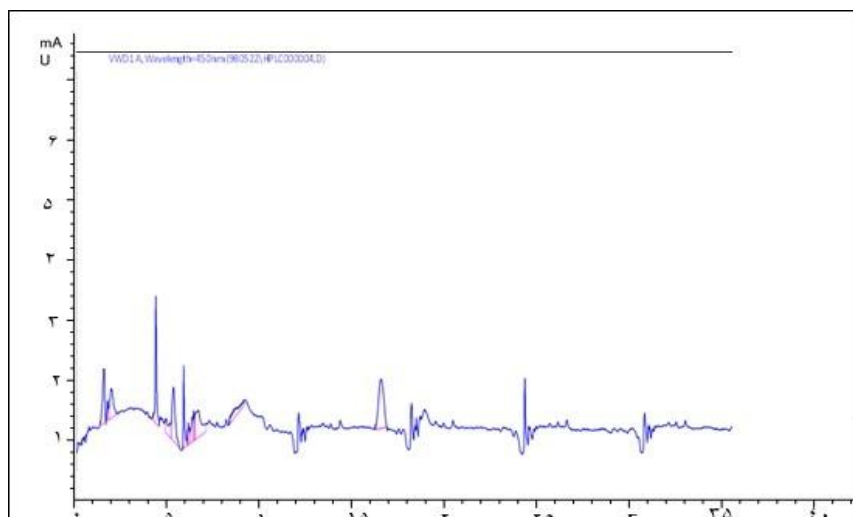
$$\text{Inhibition \%} = \frac{(\text{Absorbance of Control} - \text{Absorbance of Sample})}{(\text{Absorbance of Control})} \times 100$$

در این پژوهش به منظور دستیابی به نتایج دقیق‌تر، استخراج از نمونه جلبک مورد نظر سه بار انجام شد.

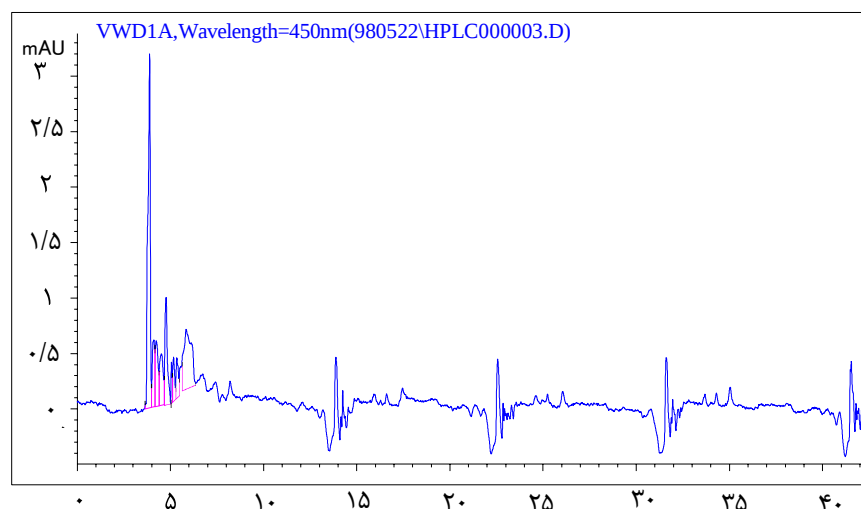
داده‌های ناشی از طیف سنجی کراماتوگرافی فاز مایع (Manufacturer Company: Agilent Technologies 1200 infinity series) (HPLC) {ستون ۱۸ با فاز ثابت Silica} و طیف‌سنجی نوری (اسپکتروفوتومتر) {Perkin Elmer, model Lambda 850} و تحلیل و بررسی آماری داده‌ها و نتایج در نرم افزار Excel (نسخه 2010 Office) مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج

در این مطالعه، میزان وجود فوکوزانتین توسط سیستم HPLC (High Performance Liquid Chromatography -HPLC) (Manufacturer Company: Agilent Technologies 1200 infinity series) در طول موج ۴۵۰ نانومتر قابل تشخیص و جداسازی شد. شکل ۱ کروماتوگرام HPLC فوکوزانتین استاندارد و شکل ۲ کروماتوگرام HPLC فوکوزانتین نمونه مورد بررسی را نشان می‌دهد. استاندارد فوکوزانتین (از آرشیو دانشگاه تهران) برند Sigma-Aldrich (CAS Number: 3351-86-8) استفاده شد.



شکل ۱: کروماتوگرام HPLC فوکوزانتین استاندارد (پیک حضور فوکوزانتین {RetTime} در دقیقه ۴٫۶۰ برای استاندارد) (سواحل جزیره قشم، ۱۳۹۷).



شکل ۲: کروماتوگرام HPLC فوکوزانتین (پیک حضور فوکوزانتین {RetTime} در دقیقه ۳٫۹۸ برای نمونه استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *Colpomenia sinuosa* (سواحل جزیره قشم، ۱۳۹۷).

محاسبه غلظت نمونه جهت راستی آزمایی حضور فوکوزانتین با استفاده از سطوح زیر پیک (area) به‌دست‌آمده از کروماتوگرام‌های فوق با جاگذاری در رابطه ذیل غلظت نمونه (فوکوزانتین) معادل ۱۸/۵۵۲ به‌دست‌آمد.

سطح زیر پیک نمونه ۲۶/۸۰۴

سطح زیر پیک استاندارد (نمونه معادل): ۱۹/۵۵۷

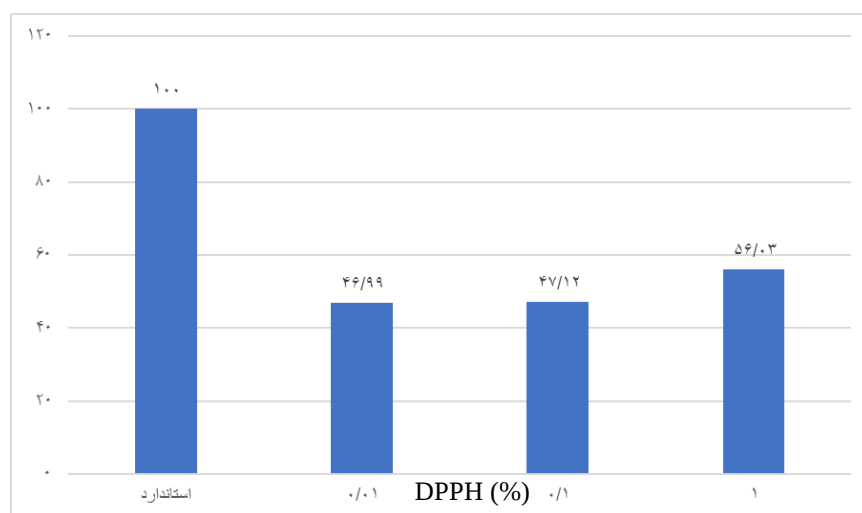
غلظت استاندارد (میکرولیتر): ۲۵ میکرولیتر

غلظت نمونه (میکرولیتر): ۱۸/۲۵۵ میکرولیتر

$$\text{غلظت نمونه} = \text{غلظت استاندارد} \times \frac{\text{سطح زیر پیک نمونه}}{\text{سطح زیر پیک استاندارد}}$$

DPPH یک رادیکال پایدار است که محلول متانولی آن دارای رنگ بنفش می‌باشد که بیشترین جذب نوری را در ۵۱۵ تا ۵۲۰ نانومتر نشان می‌دهد. پایه و اساس این روش این است که رادیکال DPPH به عنوان پذیرنده الکترون از یک مولکول اهدا کننده مانند آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند، در نتیجه آن DPPH به DPPH₂ تبدیل می‌شود در این حالت رنگ بنفش محیط به رنگ زرد تبدیل می‌شود، بنابراین شدت جذب در ۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد. از روی اندازه‌گیری کاهش شدت جذب به وسیله طیف سنجی، می‌توان به خصوصیات آنتی‌اکسیدانی آن پی‌برد. معمولاً نتایج آزمون DPPH بر پایه IC₅₀ (Half Maximal Inhibitory Concentration) بیان می‌شود.

در این مطالعه نیز به منظور بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی از روش DPPH استفاده شد. در این روش به عنوان کنترل مثبت از دو آنتی‌اکسیدان شناخته شده یعنی ترکیب Ascorbic acid-BHA و دیگری α-tocopherol به ترتیب با نتایج جذب ۰/۴۶-۰/۲۶ میلی‌مول و ۰/۱۱ میلی‌مول به کار گرفته شد که در نهایت عدد ۰/۲۹ میلی‌مول برای فوکوزانتین در جلبک *Colpomenia sinuosa* به‌دست‌آمد. با گنجاندن نتایج حاصله در فرمول یاد شده میزان حذف رادیکال آزاد در غلظت‌های ۱، ۰/۱ و ۰/۰۱ به ترتیب ۵۶/۰۳، ۴۷/۱۲ و ۴۶/۹۹ بر حسب درصد به صورت میانگین ناشی از سه بار تکرار به دست آمد (شکل ۳).



شکل ۳: فعالیت جذب رادیکال آزاد DPPH (%) (درصد مهار رادیکال DPPH) توسط عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *Colpomenia sinuosa* در سه غلظت متفاوت (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) (سواحل جزیره قشم، ۱۳۹۷).

بحث و نتیجه‌گیری

جلبک‌های دریایی و ترکیبات فعال زیستی آن‌ها به ویژه پلی‌ساکاریدها و ترکیبات فنلی را می‌توان به عنوان مکمل‌های غذایی مفید و سودمند برای سیستم گوارش محسوب نمود (Charoensiddhi et al., 2020) مطالعات Neumann و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که فوکوزانتین دارای فعالیت ضد تکثیر و آنتی‌اکسیدانی در شرایط آزمایشگاهی استو نیز نه تنها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی است بلکه در درمان برخی بیماری‌ها مانند دیابت موثر است و خواص ضد سرطانی دارد (Ling Kong et al., 2019; Lourenço-Lopes et al., 2020).

فوکوزانتین یک کاروتنوئید زانتوفیل است که به وفور در ماکرو جلبک‌هایی مانند جلبک‌های قهوه‌ای یافت می‌گردد. در صورت مصرف، فوکوزانتین در سیستم گوارش هیدرولیز شده و تبدیل به فوکوزانتیول می‌گردد؛ و نهایتاً در کبد تبدیل به amarouciaxanthin A می‌شود. این ترکیب اثرات بیولوژیک منحصر به فردی دارد. فوکوزانتین با مهار کردن اکسیژن مولکولی و رادیکال‌های آزاد از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی برخوردار است (Bae et al., 2020). رنگدانه فوکوزانتین و ترکیبات فنولی به‌طور قابل ملاحظه‌ای در فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلبک‌ها نقش دارند و در این مطالعه وجود فوکوزانتین در جلبک *Colpomenia sinuosa* از طریق کروماتوگرافی (HPLC) و مشاهده پیک حضور فوکوزانتین {RetTime} در دقیقه ۳/۸۹۳ و با غلظت ۱۸/۲۵۵ میکرولیتر (با محاسبه ناحیه زیر سطح پیک) به اثبات رسید.

تفاوت در میزان استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به نوع حلال، ترکیب هدف و نوع جلبک بستگی داشته باشد که در این مطالعه از گروه ترکیبات فنولی است که از جمله آنتی‌اکسیدان‌های بسیار مهم بوده که این به سبب قابلیت است که در اهدای یک اتم هیدروژن یا الکترون برای تشکیل محصولات پایدار از رادیکال‌ها دارند.

مقدار فوکوزانتین و سایر کاروتنوئیدها و محتوای فنول کل، حتی در گونه‌های مشابه، بستگی به آب‌وهوا، میزان نور خورشید و جایگاه در ساحل دارد، لذا نتایج به‌دست‌آمده در سایر مناطق جهان و حتی سایر سواحل خلیج فارس تا حدودی متفاوت هستند. به‌طور مثال سطوح فنول کل با افزایش دمای محیط در برخی گونه‌ها افزایش می‌یابد که برای جلوگیری از استرس وارد شده توسط محیط می‌باشد (O'Sullivan et al., 2010).

روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی یک ماده وجود دارد (Blanc et al., 2011). در این تحقیق با توجه به عدم دسترسی به برخی از این روش‌ها از روش آزمایش فعالیت جذب رادیکال آزاد DPPH (۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل هیدرازیل) که منجر به تأیید اثر آنتی‌اکسیدانی رنگدانه فوکوزانتین استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *Colpomenia sinuosa* گردید.

میزان حذف رادیکال آزاد نتیجه آزمون بر پایه IC₅₀ عدد ۰/۲۹ میلی‌مول به‌دست‌آمد و با دو نمونه شاهد (کنترل مثبت) تطبیق داده شد و در غلظت‌های مختلف از فوکوزانتین (۰/۱ و ۰/۰۱) به ترتیب ۵۶/۰۳، ۴۷/۱۲ و ۴۶/۹۹ بر حسب درصد به صورت میانگین ناشی از سه بار تکرار به‌دست‌آمد که نشانگر اثر حذف رادیکال آزاد وابسته به غلظت می‌باشد، بدین معنی که غلظت ۱ بیشترین اثر را دارا است که بر اساس تطبیق با سایر تحقیقات انجام گرفته از جمله سفری و همکاران (۱۳۹۴) و طاهری و مرادی (۱۳۹۷)، نتایج نزدیک و مشابهی به‌دست‌آمد. نتایج اثر حذف رادیکال آزاد بر مبنای DPPH در تحقیق سفری و همکاران (۱۳۹۴) با به کارگیری حلال متانول (مشابه تحقیق حاضر) نیز نتایج مشابهی را در پی داشته است.

در مطالعه (Vishnu Kiran and Murugesan, 2014) نیز در غلظت ۹۰۰ میکروگرم/میکرولیتر عدد 65 ± 0.01 اعلام گردیده بود که با توجه به نزدیکی به غلظت مطلوب در تحقیق حاضر یعنی ۱ نتیجه قابل قبول و مشابهی را بیان می‌نماید. نتایج بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه و مطلوب فوکوزانتین به عنوان آنتی‌اکسیدان وابسته به غلظت می‌باشد که از طریق مداخله در انتشار، از طریق به دام‌اندازی رادیکال ($ROO^{\cdot}$) در فاز چرب، اثر آنتی‌اکسیدانی خود را بروز می‌دهد و در تشدید و تقویت این اثر، عامل غلظت نقش مؤثری دارد.

منابع

- سفری، پ.، رضائی، م.، شویک لو، ا. ر.، گرمسیری، ا. و باباخانی، آ.، ۱۳۹۴. تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول کل دوگونه جلبک دریایی خلیج فارس *Chaetomorpha sp.* و *Colpomeniasinuosa* در شرایط آزمایشگاهی (in vitro). مجله علوم و فنون دریایی، دانشگاه خرمشهر. دوره ۱۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۴. صفحات ۶۴-۷۷.
- قرنجیک، ب. م. و روحانی قادیکلایی، ک.، ۱۳۸۸. اطلس جلبک های دریایی سواحل خلیج فارس و دریای عمان. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، مدیریت اطلاعات علمی. ۲۰۲ ص.
- طاهری، ع. و مرادی، س.، ۱۳۹۷. بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره آلی جلبک دریایی *Colpomenia sinousa*. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. دوره ۲۸، شماره ۱۶۰، اردیبهشت ماه. صفحات ۱۵۱-۱۵۵.
- Al-Haj, N. A., Mashan, N. I., Shamsudin, M. N., Mohamad, H., Vairappan, C. S. and Sekawi, Z., 2009.** Antibacterial activity in marine algae *Eucheumadenticulatum* against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. Research Journal of Biological Sciences. 4: 519-524.
- Badury, P. and Wright, P. C., 2004.** Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. Planta. 219: 561-578.
- Bae, M., Kima, M., Parka, Y. and Lee, J., 2020.** Health benefits of fucoxanthin in the prevention of chronic diseases. BBA - Molecular and Cell Biology of Lipids 1865 (2020) 158618.
- Blanc, N., Hauchard, D., Audibert, L. and Gall, E. A., 2011.** Radical scavenging capacity of phenol fractions in the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* : An electrochemical approach. Talanta, 84 , 513-518.
- Burits, M. and Bucar, F., 2000.** Antioxidant Activity of *Nigella sativa* Essential Oil. PHYTOTHERAPY RESEARCH. 14, 323-328.
- Charoensiddhi, S., Abraham, R., Su, P. and Zhang, W., 2020. Chapter Four - Seaweed and seaweed-derived metabolites as prebiotics. Advances in Food and Nutrition Research Volume 91, 2020, Pages 97-156.
- Gupta, S. and Abu-Ghannam, N., 2011.** Recent developments in the application of seaweeds or seaweeds extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. Innovative Food Science and Emerging Technologies., 12 , 600-609.
- Haugen, J. A., Akermann, T., Liaaen-Jensen, S., 1992.** Isolation of fucoxanthin and peridinin. Methods Enzymology, 213: 231-245(14pages).
- Heo, S., Park, E. J., Lee, K. W. and Jeon, Y. J., 2005.** Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. Bioresource Technology, 96: 1613-1623.
- Khan, S. I. and Satam, S. B., 2003.** Seaweed mariculture: scope and potential in India. Aquaculture Asia. 4: 26-28.
- Kotnala, S., Garg, A. and Chatterji, A., 2009.** Screening for the presence of antimicrobial activity in Few Indian seaweeds. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science. 32: 69-75.
- Kuda, T., Tsunekawa, M., Goto, H. and Araki, Y., 2005.** Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. Journal of Food Composition and Analysis, 18: 625-633.
- Ling Kong, Z., Sudirman, S., Hsu, Y-Sh., Su, Ch-Y. and Kuo, H. P., 2019.** Fucoxanthin-Rich Brown Algae Extract Improves Male Reproductive Function on Streptozotocin-Nicotinamide-Induced Diabetic Rat Model. Int. Journal of Molecular Sciences, 20, 4485.
- Liua, M., Lia, W., Chenb, Y., Wana, X. and Wanga, J., 2020.** Fucoxanthin: A promising compound for human inflammation-related diseases. Journal of Life Sciences. 255, 117850.
- Lourenço-Lopes, C., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., Fraga-Corral, M., Jimenez-Lopez, C., Pereira, A. G., Prieto, M. A. and Simal-Gandara, J., 2020.** Scientific Approaches on Extraction, Purification and Stability for the Commercialization of Fucoxanthin Recovered from Brown Algae. Foods, 9, 1113.

- Neumann, U., Felix Derwenskus, Y., Flaiz Flister, Y., Schmid-Staiger, U., Hirth, T. and Bischo, S. C., 2019. Fucoxanthin, A Carotenoid Derived from *Phaeodactylum tricornutum* Exerts Antiproliferative and Antioxidant Activities In Vitro. *Journal of Antioxidants*, 8, 183.
- O'Sullivan, A. M., O'Callaghan, Y. C., O'Grady, M. N. Queguineur, B. Hanniffy, D., Troy, D. J., Kerry, J. P. and O'Brien, N. M., 2011. In vitro and cellular antioxidant activities of seaweed extracts prepared from five brown seaweeds harvested in spring from the west coast of Ireland. *Food Chemistry*, 126: 1064-1070.
- Raji, V., Loganathan, Ch., Sadhasivam, G., Kandasamy, S., Poomani, K. and Thayumanavan, P., 2020. Purification of fucoxanthin from *Sargassum wightii* Greville and understanding the inhibition of angiotensin 1-converting enzyme: An in vitro and in silico studies. *International Journal of Biological Macromolecules* 148, pp. 696–703.
- Souza, H. K. S., Hilliou, L., Bastos, M. and GON Ç ALVES, M. P., 2011. 'Effect of molecular weight and chemical structure on thermal and rheological properties of gelling κ / ι -hybrid carrageenan solutions', *Journal of Carbohydrate Polymers*, 85, 429–438.
- Vishnu Kiran, M. and Murugesan, S., 2014. Invitro Antioxidant activity of silver nano-particles from *Colpomenia sinuosa* and *Halymenia poryphyroides*. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2(8):817-820. ISSN (Print): 2321-3310; ISSN (Online): 2321-3086.
- Wang, P., Sudirman, S., Hsieh, M., Hu, J. and Kong, Z., 2020. Oral supplementation of fucoxanthin-rich brown algae extract ameliorates cisplatin-induced testicular damage in hamsters. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 125 (2020) 109992.