



بررسی استخراج ترکیبات بیواکتیو از جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس به روش خیساندن در حلال اتانلی به کمک اولتراسوند

بهنام باقی زاده کوهستانی<sup>۱</sup>، محمد گلی<sup>۱،۲\*</sup>، شریفه شاهی<sup>۲،۳</sup>

۱ گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۲ مرکز تحقیقات لیزر و بیوفوتونیک در فناوریهای زیستی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۳ گروه مهندسی پزشکی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.

چکیده	اطلاعات مقاله
<p>اسپیرولینا پلاتنسیس به دلیل دارا بودن مواد مغذی و ویژگی های مربوط به بهبود سلامتی، کاربردهای زیادی در کشاورزی، صنایع غذایی، دارویی و لوازم آرایشی دارد. بنابراین، استخراج ترکیبات زیست فعال آن هنوز یک چالش است. هدف از مطالعه حاضر، استخراج ترکیبات فنولیا استفاده از دو روش اولتراسوند و خیساندن و بررسی تاثیر روش های استخراج و غلظت عصاره بدست آمده از ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر محتوی فنول کل و فعالیت آنتی اکسیدانی بود. عصاره جلبک اسپیرولینا به دو روش خیساندن و اولتراسونیک در ۳ حلال الکل (اتانول ۹۶ درصد) آب-الکل (اتانول ۵۰ درصد) و آب (اتانول صفر درصد) اندازه گیری شد. سپس میزان فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین ها، میزان مهار رادیکال آزاد DPPH، میزان کلروفیل a و کاروتنوئید آن محاسبه شد. بالاترین مقادیر فنول کل در تیمار (اتانول ۹۶ درصد-خیساندن)، فلاونوئید و آنتوسیانین در تیمار (اتانول ۹۶ درصد-اولتراسوند) مشاهده شد. در نتیجه استخراج حلال با استفاده از اولتراسوند استخراج ترکیبات فراسودمند را افزایش داده و منجر به فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر می شود.</p>	<p>تاریخ های مقاله :</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۴</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۱</p> <p>کلمات کلیدی:</p> <p>اولتراسوند، خیساندن، اسپیرولینا پلاتنسیس، فنول کل، فعالیت آنتی اکسیدانی.</p> <p>DOI: 10.22034/FSCT.19.135.45 DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.135.5.1</p> <p>* مسئول مکاتبات: mgolifood@yahoo.com</p>

## ۱- مقدمه

اسپیرولینا یک ریز جلبک سبز- آبی متعلق به خانواده سیانوباکترها (سیانوفیتا) است که پروکاریوت‌هایی فتوسنتزکننده با ساختار دیواره سلولی از نوع گرم منفی هستند که در طبیعت به فرم‌های تک سلولی و رشته‌ای دارای فیلامنت‌های فنر مانند یافت می‌شوند. اسپیرولینا نام تجاری آرتروسپیرا است که اسپیرولینا پلاتنسیس و اسپیرولینا ماکسیما مهم‌ترین گونه‌های آن هستند. اسپیرولینا غیر سمی است و به علت هضم آسان ناشی از فقدان سلولز در دیواره سلولی آن (سایر ریزجلبک‌ها هم‌چون کلرلا، آنکیسترودموسوس، سلناستروم و سندسموس فاقد این مزیت هستند) جایگاه ویژه‌ای دارد. ریز جلبک اسپیرولینا بعد از این که به صورت موفقیت آمیز توسط سازمان هوافضا به عنوان مکمل غذایی برای فضانوردان در سفرهای فضایی استفاده شد، معروف و شناخته شد و محبوبیت زیادی را در صنعت غذا به عنوان مکمل ویتامین و پروتئین به دست آورد. سازمان ملی هوانوردی و فضایی آمریکا از اسپیرولینا به عنوان غذای فشرده در سفرهای فضایی استفاده می‌کند. به علاوه، آرتروسپیرا پلاتنسیس از سوی سازمان جهانی بهداشت به عنوان «غذای برتر» شناخته شده است. هم‌چنین اسپیرولینا به عنوان ایمن به رسمیت شناخته شده و در سطوح ۰/۵ تا ۳ گرم در هر وعده غذایی توصیه شده است. سازمان غذا و دارو آمریکا در سال ۱۹۹۷ براساس مطالعات انجام شده روی جوندگان و استفاده طولانی مدت انسان از ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس، ایمنی آن را تأیید و حداکثر جذب روزانه این ریز جلبک را برای هر فرد ۱/۳۵ گرم اعلام کرد. سالانه حدود ۱۰۰۰ تن اسپیرولینا توسط سه شرکت تولید کننده اصلی اسپیرولینا در آمریکا، چین و تایلند تولید می‌شود. علاوه بر این سه شرکت مذکور این ریز جلبک در سایر کشورها از جمله تایوان، شیلی، هند، ژاپن، کوبا، اسپانیا، آرژانتین و مکزیک نیز کشت داده می‌شود و به شکل محصول تجاری و یا به عنوان غذای فراسودمند با اهداف درمانی به فروش می‌رسد [۱].

اسپیرولینا حاوی ۷-۴ درصد وزن خشک چربی است. اسیدهای چرب لینولئیک اسید، گاما لینولئیک اسید، ایکوزا پنتانویئیک اسید و آراشیدونیک اسید مهم‌ترین اسیدهای چرب موجود در این ریز جلبک هستند. این سیانوباکتری حاوی مقادیر قابل توجهی چربی با ترکیب شبیه به روغن‌های نباتی است. با توجه به پروفایل اسیدهای چرب اسپیرولینا، چربی‌های

خشی بیشترین مقدار (۴۵ درصد) و سپس گلیکولیپیدها (۳۹ درصد) و فسفولیپیدها (۱۶ درصد) را به خود اختصاص دادند. یکی از ویژگی‌های قابل توجه چربی‌های اسپیرولینا وجود سطوح نسبتاً بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع در مقایسه با اسیدهای چرب اشباع است که به ویژه سطوح بالایی از گامالینولئیک اسید در آن به وضوح به چشم می‌خورد. این ریزجلبک دارای غلظت بسیار بالایی از پیش ساز ویتامین A و غنی‌ترین منبع ویتامین سیانوکوبالامین بوده و در درمان کم خونی بسیار مؤثر است. ریز جلبک اسپیرولینا شامل ویتامین‌های محلول در آب گروه B، و همچنین ویتامین‌های محلول در چربی A، E، D و K می‌باشد. اسپیرولینا منبع مناسبی از مواد معدنی از جمله سدیم، کلسیم، فسفر، آهن، منیزیم، منگنز، روی، مس، کروم و سلنیوم است. آهن موجود در اسپیرولینا به میزان ۶۰ درصد بهتر از فرسولفات و سایر ترکیبات قابل جذب بوده و در نتیجه این ریز جلبک می‌تواند به عنوان منبع کافی از آهن در رژیم غذایی زنان باردار مبتلا به کم خونی استفاده گردد. این ریزجلبک حاوی حدود ۱۶-۱۳ درصد وزن خشک کربوهیدرات است که این کربوهیدرات‌ها شامل گلوکز، رامنوز، زایلوز، مانوز و گالاکتوز می‌باشد. سوپراکسید دیسموتازها و گلوکاتایون پراکسیداز از مهم‌ترین آنزیم‌های موجود در اسپیرولینا هستند. این آنزیم‌ها اثرات آنتی‌اکسیدانی دارند و تأثیر به‌سزایی بر به تعویق انداختن روند پیری سلول دارند. کلروفیل رنگدانه اصلی شرکت کننده در فرایند فتوسنتز این ریز جلبک است. اما اسپیرولینا دارای رنگدانه‌های بسیار زیادی از جمله کلروفیل، لوتئین، بتاکاروتن، کاروتنوئیدها، گزانتوفیل، زی‌زانئین، استازانئین، کریپتوزانتین، دیاتوزانتینو فایکوبیلی پروتئین‌هایی مانند فایکوسیانین و آلفافایکوسیانین است [۲]. خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا پلاتنسیس به‌طور عمده به فایکوسیانین موجود در آن نسبت داده می‌شود. فایکوسیانین اسپیرولینا موجب مهار رادیکال‌های آزاد و فعالیت آنزیم نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات اکسیداز و تولید سوپراکسید دیسموتاز ناشی از فعالیت این آنزیم می‌شود. عصاره الکلی اسپیرولینا نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به میزان زیادی از پراکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کند. ترکیبات فنولی اصلی ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس شامل سالیسیلیک اسید، ترانس سینامیک، کلروژنیک، کافئیک اسید و کوئیمیک اسید هستند که ارتباط

مستقیمی میان میزان ترکیبات فنولی و پتانسیل آنتی اکسیدانی آن وجود دارد [۱].

متداولترین روش‌های عصاره‌گیری بر پایه قرار گرفتن ماده در حلال مناسب می‌باشد که به‌منظور افزایش سرعت فرایند استخراج معمولاً از هم‌زدن و حرارت نیز استفاده می‌شود. از روش‌های معمول و مرسوم برای استخراج عصاره و یا ترکیبات فعال می‌توان به سوکسله، تقطیر، خیساندن و پرکولاسیون اشاره نمود. روش‌های سنتی برای استخراج ترکیبات فعال مانند تقطیر آبی یا بخار آب و استخراج با حلال آلی (خیساندن و یا غوطه‌وری) دارای معایبی همچون اتلاف ترکیبات فرار، بازده کم، زمان استخراج طولانی، تخریب ترکیبات غیر اشباع و باقی ماندن حلال سمی هستند. لذا امروزه استفاده از روش‌های استخراج با مایکروویو، سیال فوق بحرانی، استخراج با حلال پرشتاب و به ویژه امواج اولتراسوند بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳]. لذا هدف از انجام این تحقیق بررسی درصد اتانل مصرفی در روش خیساندن و خیساندن توام با اولتراسوند بر محتوی فنول کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره حاصل از ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس است.

## ۲- مواد و روشها

### ۱-۲- مواد اولیه

مواد اولیه مورد استفاده در این تحقیق ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس از شرکت گوهر سبز آیریک سپاهان تهیه شدند.

### ۲-۲- روشها

#### ۱-۲-۲- استخراج عصاره ریزجلبک اسپیرولینا

##### پلاتنسیس

#### ۱-۲-۲-۱- استخراج به روش خیساندن (غوطه‌وری)

۲۰ گرم از پودر ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس با ۲۰۰ میلی‌لیتر مخلوط حلال آب، اتانول ۹۶ درصد و اتانول ۵۰ درصد مخلوط گردید و به مدت ۲۴ ساعت بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت تا مواد مؤثره آن جدا گردد. عصاره به‌دست آمده پس از صاف شدن با کاغذ صافی واتمن شماره ۱، با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد و در نهایت با قرار دادن در خشک‌کن انجمادی خشک و تا زمان انجام آزمون‌های بعدی در یخچال نگهداری گردید [۴].

#### ۲-۱-۲-۲- استخراج با کمک اولتراسوند

۱۰ گرم پودر ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس با ۱۰۰ میلی‌لیتر مخلوط حلال آب، اتانول ۹۶ درصد و اتانول ۵۰ درصد مخلوط شد و به مدت ۴۵ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک با توان ۳۰۰ وات و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. دما طی فرایند استخراج توسط حمام آب کنترل گردید. پس از انجام عصاره‌گیری، عصاره استخراج شده ابتدا توسط کاغذ صافی واتمن (شماره ۱) صاف شد و سپس با سرعت ۷۸۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. حلال زدایی به کمک دستگاه تبخیر کننده چرخان تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۲۵ میلی‌متر جیوه انجام گرفت. در نهایت پس از خشک شدن عصاره در خشک‌کن انجمادی، عصاره‌ها تا زمان انجام آزمایشات در ظروف شیشه‌ای تیره رنگ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۵].

#### ۲-۲-۲- بررسی برخی ویژگی‌های کیفی عصاره

##### ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس

#### ۱-۲-۲-۲- اندازه‌گیری محتوی فنول کل عصاره

مقدار کل ترکیبات فنولی در عصاره‌ها بر اساس روش فولین سیوکالتو مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، ۲۰۰ میکرولیتر از هر عصاره به‌دست آمده با ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو که به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق شده بود، مخلوط گردید. پس از مدت ۱ تا ۸ دقیقه، ۸۰۰ میکرولیتر محلول سدیم بی کربنات (۷/۵ درصد وزنی- حجمی) به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در مکانی تاریک قرار داده شد. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فنولی با استفاده از معادله خط رسم شده بر مبنای گالیک اسید به‌صورت میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک بیان گردید [۶].

#### ۲-۲-۲-۲- اندازه‌گیری محتوی فلاونوئید کل عصاره

مقدار فلاونوئید کل عصاره با استفاده از روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید انجام گرفت. بدین منظور، مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره با ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر (آب مقطر دو بار تقطیر شده) مخلوط شد. در مرحله بعد، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره که با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول مخلوط گردیده بود و به مخلوط کلرید آلومینیوم، استات پتاسیم و آب

رابطه (۳)

$$= \text{درصد بازدارندگی} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

### ۲-۲-۵- بررسی میزان کلروفیل a و میزان کارتنوئیدها

کلروفیل رنگدانه سبز موجود در گیاهان است که به جذب نور خورشید و تبدیل آن به انرژی کمک می کند. اعتقاد بر این است که این ماده برای بدن انسان بسیار مفید است. کارتنوئیدها گروهی از رنگدانه‌ها هستند که علاوه بر نقشی که در تشکیل رنگدانه‌ها بر عهده دارند خاصیت آنتی اکسیدانی نیز برای آن‌ها گزارش شده است [۱۰]. برای سنجش میزان کلروفیل a و کارتنوئید کل از روش بنایان و همکاران [۱۱] استفاده گردید در شرح این روش: از عصاره به دست آمده به دلیل آسیب پذیری رنگدانه‌ها جذب آن به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر را در محیط تاریک در طول موج های (OD) ۶۶۵/۲ و ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر اندازه گیری شد. طول موج های مذکور و معادلات مربوطه به دلیل عدم وجود کلروفیل b در اسپیرولینا پلاتنسیس ساده شده و مطابق معادلات زیر محاسبه شد:

$$\text{Chlorophyll a } (\mu\text{g/ml}) = 16.72 \times \text{OD}_{665.2} - 9.16 \times \text{OD}_{652.4}$$

$$\text{Carotenoids } (\mu\text{g/ml}) = (1000 \times \text{OD}_{470} - 1.63 \times \text{Chlorophyll a}) / 221$$

### ۲-۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

متغیرهای مورد بررسی در این پژوهش شامل روش استخراج عصاره از ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس (خیساندن و اولتراسوند) و نوع حلال (آب، اتانول ۹۶ درصد و اتانول ۵۰ درصد) در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در طرح کاملا تصادفی و در قالب آزمون فاکتوریل و با سه تکرار انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون چند جمله‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد و توسط نرم افزار اس پی اس اس نسخه ۹٫۱ انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۶ رسم گردید.

## ۳- نتایج

### ۳-۱- بررسی میزان فنول کل

با توجه به جدول تجزیه واریانس ۱، اثر مستقل میزان اتانول حلال و همچنین اثر متقابل میزان اتانول و روش عصاره گیری بر مقادیر میزان فنول کل تاثیرگذار می باشد. با توجه به نمودار ۱، میزان فنول کل عصاره جلبک اسپیرولینا در روش خیساندن

اضافه گردید. مخلوط نهایی حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق ثابت نگه داشته شد. پس از اتمام این زمان، جذب نمونه در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار فلاونوئید کل بر حسب میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک بیان گردید [۷].

### ۲-۲-۳- اندازه گیری محتوی آنتوسیانین کل عصاره

محتوی آنتوسیانین کل عصاره‌ها با استفاده از دو سیستم بافر، بافر پتاسیم کلرید (۰/۲۵ مولار) با pH=۱ و بافر سدیم اسنات (۰/۴ مولار) با pH=۴، و بر اساس اختلاف pH اندازه گیری شد. برای این منظور، ۴۰۰ میکرولیتر از محلول هر عصاره با ۳/۶ میلی لیتر از هر یک از بافرها به طور جداگانه مخلوط گردید و جذب هر محلول در دو طول موج ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. مقدار آنتوسیانین کل بر حسب میلی گرم در لیتر معادل سیانیدین-۳-گلیکوزید در عصاره با استفاده از روابط (۱) و (۲) محاسبه گردید.

رابطه (۱) آنتوسیانین کل (میلی گرم سیانیدین-۳-گلیکوزید)

رابطه (۲)

$$A = (A_{510} - A_{700}) \text{ pH}1 - (A_{510} - A_{700}) \text{ pH}4.5$$

در رابطه فوق، A، MW، DF، او به ترتیب، مقدار جذب، وزن مولکولی سیانیدین (۴۴۹/۲) گرم بر مول سیانیدین-۳-گلیکوزید، فاکتور رقت، طول مسیر و ضریب مولی سیانیدین (۲۶۹۰۰) است [۸].

### ۲-۲-۴- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی یا مهار

#### رادیکال‌های آزاد DPPH

توانایی اهداء اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات و عصاره‌های مختلف در این آزمایش با میزان بی رنگ شدن محلول بنفش رنگ ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل در متانول مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، ۱۰۰ میکرولیتر از هر عصاره با غلظت‌های مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) با ۱ میلی لیتر محلول متانولی DPPH (۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل) مخلوط و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق در مکان تاریک نگهداری شد و سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. از ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) به عنوان کنترل مثبت جهت مقایسه استفاده گردید. میزان مهار رادیکال‌های آزاد از طریق رابطه (۳) به دست آمد [۹].

مقایسه با سایر نمونه‌ها بصورت معنی‌داری بالاتر بود و نمودار ۲ نشان می‌دهد مقادیر استخراج فنول کل در ۹۶ درصد اتانول حلال بصورت معنی‌داری از ۵۰ درصد اتانول حلال بالاتر می‌باشد. همچنین میزان استخراج در صفر درصد حلال اتانول تفاوت معنی‌داری با ۹۶ و ۵۰ درصد نشان نداد.

در حلال‌های اتانول ۹۶-۵۰-۰ درصد به ترتیب برابر با ۷/۴۳-۴/۶۰-۱۱/۴۳ و در روش اولتراسونیک در حلال‌های مشابه به ترتیب برابر با ۷/۶۳-۶/۵۰-۶/۹۹ بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک جلبک اسپیرولینا بود. در بین نتیجه نمونه‌های خیساندن در مقادیر حلال اتانول ۹۶ درصد در

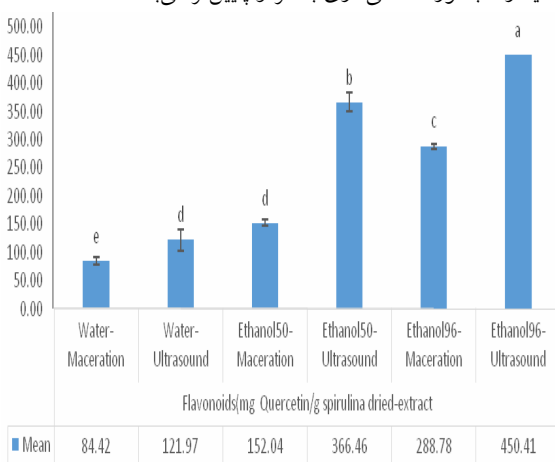
**Table 1** ANOVA table of total phenol content (mg of gallic acid per gram of *Spirulina platensis* dry extract)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	75.124	5	15.025	10.335	.001
Intercept	990.161	1	990.161	681.074	.000
Ethanol purity	40.158	2	20.079	13.811	.001
Extraction type	3.956	1	3.956	2.721	.125
Ethanol purity * Extraction	31.010	2	15.505	10.665	.002
Error	17.446	12	1.454		
Total	1082.731	18			
Corrected Total	92.570	17			

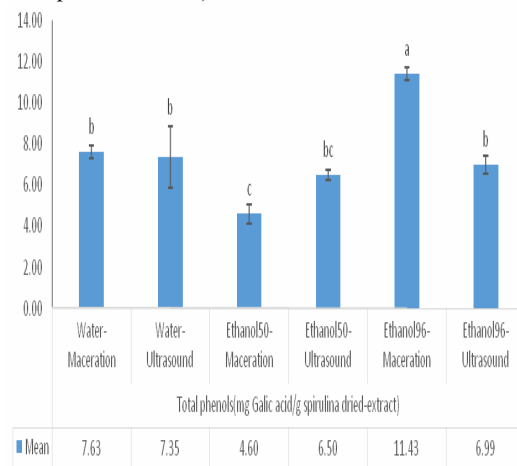
R Squared = 0.812 (Adjusted R Squared = 0.733)

### ۲-۳- بررسی میزان فلاونوئید کل

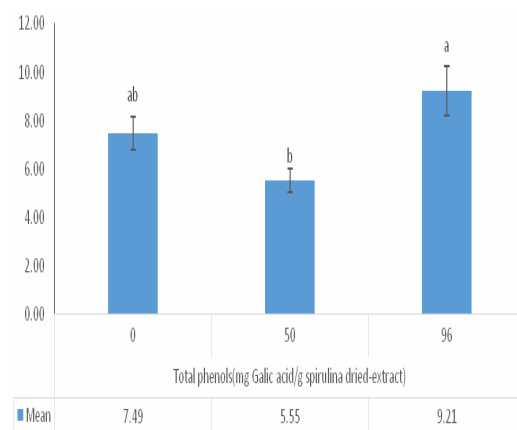
با توجه به جدول ۲ اثر مستقل میزان اتانول حلال و اثر متقابل میزان اتانول حلال و روش عصاره‌گیری بر مقادیر فلاونوئید کل عصاره جلبک اسپیرولینا بصورت معنی‌داری تاثیرگذار می‌باشد. نمودار ۳ نشان می‌دهد که مقادیر فلاونوئید در اتانول ۹۶ درصد-اولتراسوند و آب-خیساندن به ترتیب از سایر تیمارها بصورت معنی‌داری بالاتر و پایین‌تر می‌باشد.



**Fig 3** Investigating the effect of the amount of solvent ethanol and the extraction method of spirulina algae on the amount of total flavonoids هم‌چنین در مقادیر ۵۰ درصد اتانول حلال، در روش اولتراسوند مقادیر شاخص فوق بصورت معنی‌داری از روش خیساندن بالاتر می‌باشد. با توجه به نمودار ۴ بالاترین مقادیر فلاونوئید در میزان ۹۶ درصد اتانول حلال و پس از آن در ۵۰ درصد اتانول حلال مشاهده شد. هم‌چنین مقادیر استخراج در



**Fig 1** Investigating the amount of solvent ethanol and the extraction method of spirulina algae on the amount of total phenolic content



**Fig 2** Investigating the effect of the ethanol content of the spirulina algae extraction solvent on the amount of total phenolic content

• درصد اتانول حلال بصورت معنی‌داری از سایرین پایین‌تر بود.

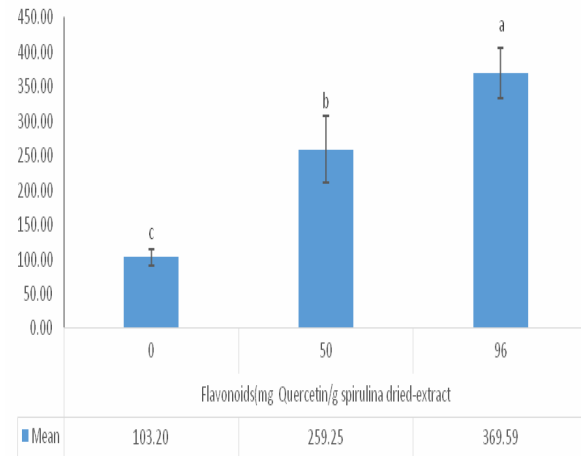
**Table 2** ANOVA table of flavonoid content (mg of Quercetin per gram of *Spirulina platensis* dry extract)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	325256.489	5	65051.298	181.080	.000
Intercept	1071767.846	1	1071767.846	2983.430	.000
Ethanolpurity	214988.431	2	107494.215	299.227	.000
Extractiontype	85534.909	1	85534.909	238.100	.000
Ethanolpurity * Extractiontype	24733.150	2	12366.575	34.424	.000
Error	4310.882	12	359.240		
Total	1401335.218	18			
Corrected Total	329567.372	17			

R Squared = 0.987 (Adjusted R Squared = 0.981)

### ۳-۳- بررسی میزان آنتوسیانین

با توجه به جدول ۳ اثر مستقل درصد اتانول حلال و اثر متقابل میزان اتانول حلال و روش عصاره‌گیری بر مقادیر آنتوسیانین عصاره جلبک اسپیرولینا بصورت معنی‌داری تاثیرگذار می‌باشد. نمودار ۵ نشان می‌دهد که مقادیر آنتوسیانین در میزان ۹۶ درصد اتانول حلال-اولتراسوند و ۵۰ درصد اتانول حلال-خیساندن در بالاترین حد می‌باشد. همچنین مقادیر این شاخص در تیمارهای ۹۶ درصد اتانول حلال-خیساندن و ۵۰ درصد اتانول حلال-اولتراسوند و هم‌چنین آب-خیساندن و آب-اولتراسوند با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارد. با توجه به نمودار ۶ مقادیر آنتوسیانین در میزان ۹۶ و ۵۰ درصد اتانول حلال با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارد. هم‌چنین پایین‌ترین مقادیر استخراج در صفر درصد اتانول مشاهده شد.



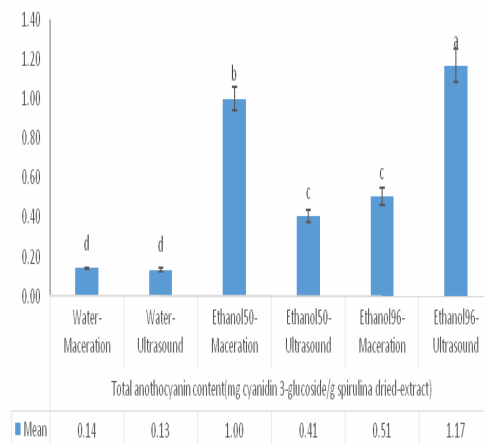
**Fig 4** Investigating the effect of the solvent ethanol content of the spirulina algae extraction method on the amount of total flavonoids

**Table 3** ANOVA table of total anthocyanin content (mg cyaniding 3-glucoside per gram of *Spirulina platensis* dry extract)

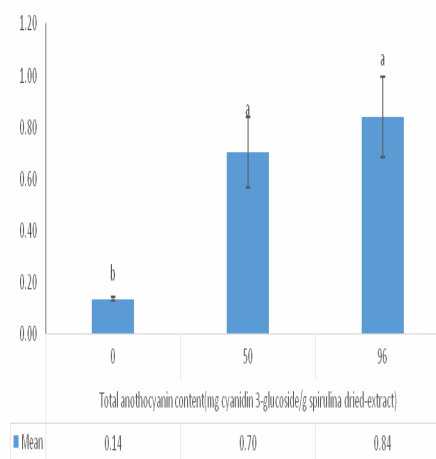
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.854	5	.571	83.540	.000
Intercept	5.645	1	5.645	826.096	.000
Ethanolpurity	1.660	2	.830	121.452	.000
Extractiontype	.002	1	.002	.265	.616
Ethanolpurity * Extractiontype	1.193	2	.596	87.265	.000
Error	.082	12	.007		
Total	8.581	18			
Corrected Total	2.936	17			

R Squared = 0.972 (Adjusted R Squared = 0.960)

TBHQ را نشان می‌دهد. بالاترین مقادیر مربوط به تیمار TBHQ و سپس ۵۰ درصد اتانول حلال-خیساندن می‌باشد. هم‌چنین میزان مهار در تیمارهای آب-خیساندن و ۹۶ درصد خیساندن و هم‌چنین آب-اولتراسوند، ۵۰ درصد اولتراسوند و ۹۶ درصد-اولتراسوند با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند. نمودار ۸ بررسی تاثیر میزان اتانول حلال عصاره جلبک اسپیرولینا بر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH و مقایسه آن با آنتی اکسیدان TBHQ را نشان می‌دهد. بالاترین مقدار در تیمار TBHQ و سپس اتانول ۵۰ درصد مشاهده شد. هم‌چنین مقادیر مهار رادیکال آزاد در ۹۶ درصد اتانول حلال و آب با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت. نمودار ۹ بررسی تاثیر روش عصاره‌گیری جلبک اسپیرولینا بر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان TBHQ را نشان می‌دهد. با توجه به نمودار به ترتیب تیمار TBHQ، خیساندن و اولتراسوند، دارای بالاترین مقادیر می‌باشند. نمودار ۱۰ بررسی تاثیر میزان اتانول حلال عصاره جلبک اسپیرولینا در غلظت‌های مختلف بر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH و مقایسه آن با آنتی اکسیدان TBHQ را نشان می‌دهد. بالاترین مقادیر مربوط به غلظت ۸۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ و پایین‌ترین مربوط به غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام -۹۶ درصد اتانول حلال می‌باشد. میزان مهار در تیمارهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند. نمودار ۱۱ بررسی تاثیر روش عصاره‌گیری و غلظت عصاره بر میزان مهار رادیکال DPPH و مقایسه آن با آنتی اکسیدان TBHQ را نشان می‌دهد. بالاترین مقادیر مربوط به تیمار ۸۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ و پایین‌ترین مربوط به غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام -اولتراسوند می‌باشد. مقایسه بین غلظت‌ها را می‌توان این‌گونه توضیح داد که بالاترین مقادیر مربوط به غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام TBHQ، ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ، ۲۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ و هم‌چنین پایین‌ترین مقادیر مربوط به غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام -اولتراسوند، ۱۰۰ پی‌پی‌ام -اولتراسوند، ۲۰۰ پی‌پی‌ام -اولتراسوند و ۴۰۰ پی‌پی‌ام -اولتراسوند و ۸۰۰ پی‌پی‌ام -اولتراسوند می‌باشد.



**Fig 5** Investigating the effect of solvent ethanol content and spirulina algae extraction method on total anthocyanin content



**Fig 6** Investigating the effect of the ethanol content of the spirulina algae extraction solvent on the amount of total anthocyanin

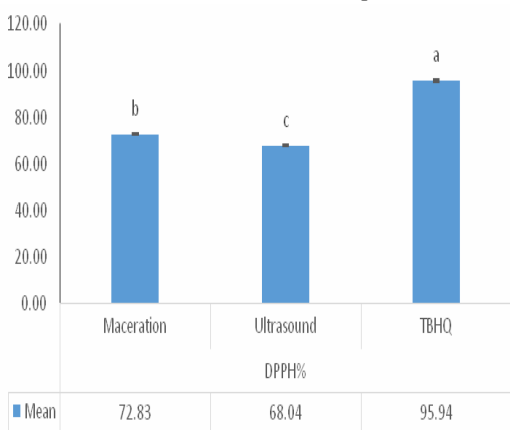
### ۳-۴- بررسی میزان مهار رادیکال DPPH

با توجه به جدول ۴ اثر مستقل اتانول حلال و روش عصاره‌گیری و هم‌چنین اثر متقابل اتانول حلال و روش عصاره‌گیری، غلظت حلال و غلظت‌های مختلف عصاره و هم‌چنین روش عصاره‌گیری و غلظت عصاره و مقایسه با آب و آنتی اکسیدان TBHQ بر میزان مهار رادیکال DPPH صورت معنی‌داری اثرگذار می‌باشد. نمودار ۷ بررسی تاثیر میزان اتانول حلال و روش عصاره‌گیری جلبک اسپیرولینا بر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH و مقایسه آن با آنتی اکسیدان

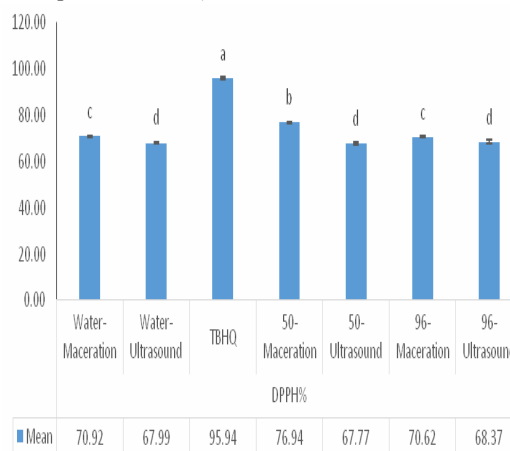
**Table 4** ANOVA table of antioxidant activity of *Spirulina platensis* dry extract (based on DPPH free radical inhibition)

Source	Type III Sum	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9552.527 <sup>a</sup>	34	280.957	1203.148	.000
Intercept	566411.934	1	566411.934	2425561.048	.000
Ethanolpurity	165.720	2	82.860	354.834	.000
Extractiontype	514.443	1	514.443	2203.012	.000
Concentration	228.156	4	57.039	244.260	.000
Ethanolpurity * Extractiontype	217.862	2	108.931	466.478	.000
Ethanolpurity * Concentration	21.765	8	2.721	11.651	.000
Extractiontype * Concentration	8.399	4	2.100	8.991	.000
Ethanolpurity * Extractiontype *	19.277	8	2.410	10.319	.000
Error	16.346	70	.234		
Total	585781.485	105			
Corrected Total	9568.873	104			

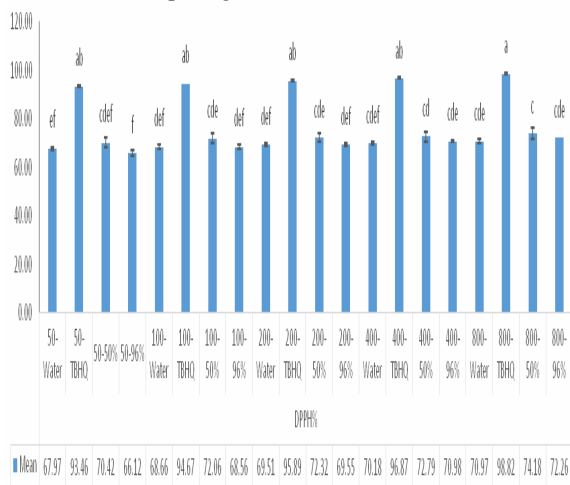
R Squared = 0.998 (Adjusted R Squared = 0.997)



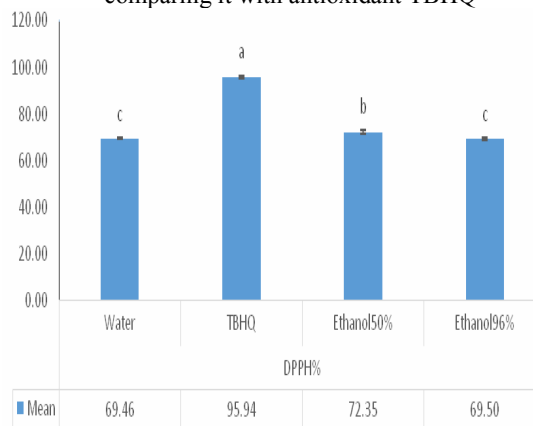
**Fig 9** Investigating the effect of spirulina algae extraction type on DPPH free radical inhibition and comparing it with antioxidant TBHQ



**Fig 7** Investigating the effect of solvent ethanol content and the extraction method of spirulina algae on the DPPH free radical inhibition rate and comparing it with antioxidant TBHQ



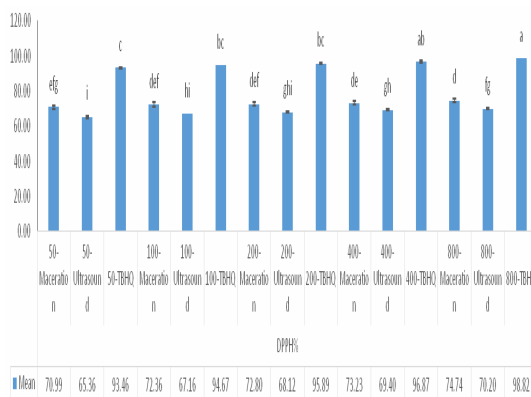
**Fig 10** Investigating the effect of different concentrations of aqueous-ethanol extracts of spirulina algae on DPPH free radical inhibition and comparing it with antioxidant TBHQ



**Fig 8** Investigating the effect of the ethanol content of the spirulina algae extraction solvent on DPPH free radical inhibition and comparing it with antioxidant TBHQ



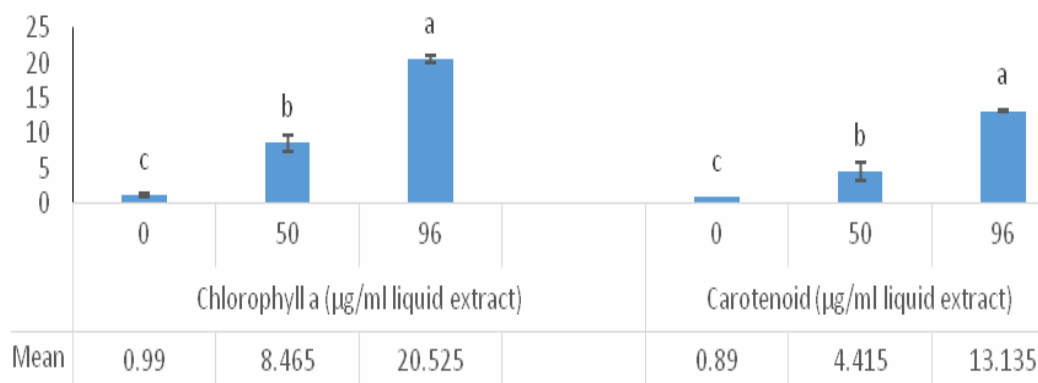
پایین‌ترین مقادیر مربوط به صفر درصد می‌باشد. با توجه به نمودار ۱۳ اثر متقابل روش عصاره‌گیری و میزان اتانول حلال بر شاخص کلروفیل در مقادیر ۹۶ درصد اتانول-خیساندن بصورت معنی‌داری از سایر تیمارهای بالاتر می‌باشد. همچنین استفاده از تیمار آب-خیساندن بصورت معنی‌داری سبب کاهش این شاخص می‌گردد. در مقادیر ۹۶ درصد اتانول حلال روش خیساندن کلروفیل بالاتری در مقایسه با اولتراسوند استخراج می‌کند. در حالی‌که در مقادیر ۵۰ درصد اتانول و استفاده از آب، استخراج توسط اولتراسوند در مقایسه با خیساندن روش موفق‌تری گزارش شده است. با توجه به نمودار ۱۴ شاخص کاروتنوئید در غلظت‌های ۹۶ درصد، ۵۰ درصد و آب توسط اولتراسوند مقادیر بالاتری در مقایسه با حلال‌های مشابه و روش خیساندن از خود نشان می‌دهد.



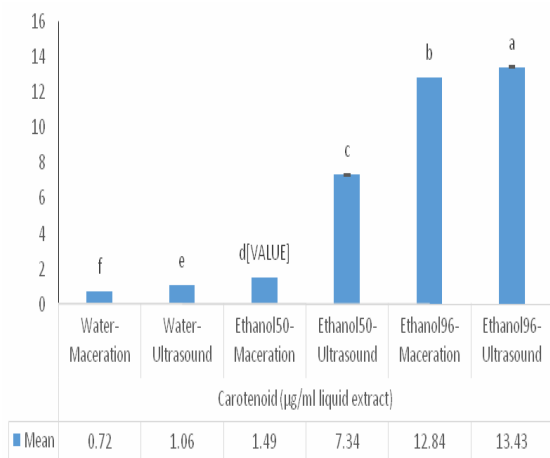
**Fig 11** Investigating the effect of extraction method in different concentrations of spirulina algae extract on DPPH free radical inhibition and comparing it with antioxidant TBHQ

### ۳-۵- بررسی میزان کلروفیل a و کاروتنوئیدها

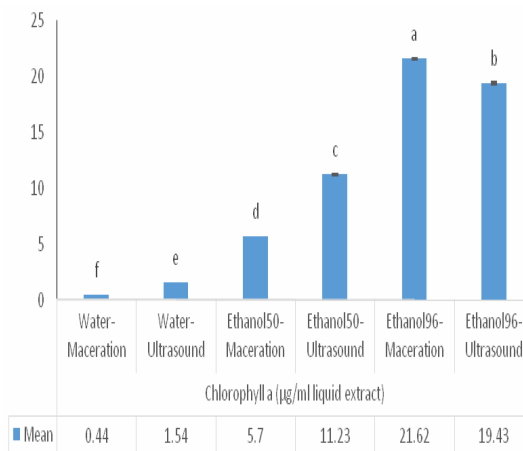
نمودار ۱۲ بررسی تاثیر میزان اتانول حلال بر شاخص‌های کلروفیل و کاروتنوئید نشان می‌دهد. بالاترین مقادیر شاخص‌ها به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۹۶ درصد، ۵۰ درصد و



**Fig 12** Investigating the influence of the solvent ethanol percentage on chlorophyll and carotenoid content



**Fig 14** Investigating the effect of solvent ethanol percentage and extraction methods on carotenoid content



**Fig 13** Investigating the effect of solvent ethanol percentage and extraction methods on chlorophyll content

## ۴- بحث و نتیجه گیری

### ۴-۱- بررسی میزان فنول کل

با توجه به جدول و نمودار ۱ اثر متقابل میزان اتانول حلال و روش عصاره گیری بر مقادیر فنول کل اسپیرولینا، بصورت معنی داری ( $P < 0/01$ ) تاثیرگذار است. بالاترین و پایین ترین مقادیر فنول کل به ترتیب در تیمارهای خیساندن-اتانول ۹۶ درصد و خیساندن اتانول ۵۰ درصد، مشاهده می شود. بررسی اثر مستقل روش عصاره گیری بر مقادیر فنول کل نشان داد اگر چه مقادیر این شاخص در روش خیساندن بالاتر می باشد. اما میان این روش و روش اولتراسوند از لحاظ شاخص فنول کل، از نظر آماری اختلاف معنی داری مشاهده نشد. هم چنین با توجه به نمودار ۲، استفاده از اتانول ۹۶ درصد در مقایسه با اتانول ۵۰ درصد بصورت معنی داری دارای مقادیر فنول کلی بالاتری می باشد. هم چنین مقادیر فنول کل در تیمار صفر درصد اتانول در مقایسه با دوتیمار ۹۶ و ۵۰ درصد از لحاظ محتوای فنول کل تفاوت معنی داری نشان نمی دهد. فرهمند و همکاران [۱۲] روش استخراج با کمک اولتراسوند و روش های سنتی استخراج توسط حلال را مورد مقایسه قرار دادند. نتایج نشان داد روش های خیساندن-اتانول، خیساندن-آب و اولتراسوند-آب از نظر مقادیر ترکیبات فنولی تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. در خیساندن آب، استخراج ترکیبات فنولی به دلیل قطبیت بالای آب به عنوان حلال، کاهش یافت. با این حال استخراج ترکیبات فنولی در حضور ۵۰ درصد آب به دلیل افزایش نسبی قطبیت و هم چنین تورم بهتر ذرات فلفل افزایش یافت. علاوه بر این حضور آب به عنوان حلال منجر به کاهش ویسکوزیته مخلوط می شود که منجر به انتقال جرم بسیار بیشتر می گردد. دوی و همکاران [۱۳] میزان ترکیبات فنولی را در عصاره اتانولی ۵۰ درصد (روش خیساندن، نسبت حلال به پودر خشک جلبک اسپیرولینا ۱ به ۱۰ و مدت زمان خیساندن ۲۴ ساعته) به میزان ۶۵/۳۳ میلی گرم گالیک اسید بر گرم نمونه بدست آوردند. عصاره گیری از فلفل با حلال ها و نسبت های یکسان توسط اولتراسوند انجام شد. در این روش مخلوط بمدت ۲۰ دقیقه در درمای ۴۵ درجه در حمام اولتراسوند قرار گرفت. جداسازی عصاره ها از ذرات فلفل مشابه روش خیساندن بود [۱۴]. علوی و همکاران میزان فنول کل عصاره متانول ۹۶ درصد جلبک اسپیرولینا (روش خیساندن، نسبت

حلال به پودر جلبک ۱ به ۱۰ و مدت زمان خیساندن ۴ دقیقه) ۶۷/۷۲ میلی گرم گالیک اسید بر گرم اسپیرولینا گزارش کردند [۱۵]. شلی و همکاران میزان فنول کل عصاره جلبک اسپیرولینا در دو نوع حلال متانول ۱۰۰ درصد و آب مقطر (روش خیساندن، نسبت حلال به پودر جلبک ۱ به ۱۰) به ترتیب به میزان ۲۸۲/۷۶ میلی گرم و ۱۶۹/۱۵ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم بر حسب گالیک اسید در گرم نمونه بدست آوردند [۱۶]. قنبری و همکاران میزان فنول کل عصاره متانول اسیدی ۸۰/۸۰ جلبک اسپیرولینا (روش خیساندن، نسبت حلال به پودر جلبک ۱ به ۱۰ مدت زمان خیساندن ۲۴ ساعت) آن ها میزان فنول کل را ۲/۷۸ میلی گرم اسید گالیک بر گرم پودر جلبک اسپیرولینا محاسبه کردند [۱۷]. گلی و همکاران میزان فنول کل عصاره آبی جلبک اسپیرولینا را ۶/۸۶ بر حسب میلی گرم تانیک اسید در گرم پودر جلبک اسپیرولینا محاسبه کردند [۱۴].

### ۴-۲- میزان فلاونوئید کل

با توجه به جدول (۴-۳) اثر متقابل میزان اتانول حلال و روش عصاره گیری بر مقادیر فنول کل اسپیرولینا، بصورت معنی داری ( $P < 0/01$ ) تاثیرگذار است. مقادیر فلاونوئید کل در تیمارهای ۹۶ درصد-اولتراسوند و آب-خیساندن به ترتیب در مقایسه با سایر تیمارها بصورت معنی داری افزایش و کاهش می یابند. هم چنین تیمارهای اتانول ۹۶ و ۵۰ درصد-اولتراسوند در مقایسه با تیمارهای ۹۶ و ۵۰ درصد-خیساندن، از مقادیر فلاونوئید بالاتری برخوردار می باشند. روش اولتراسونیک در دو حلال آب مقطر و اتانول ۹۶ درصد ترکیبات فلاونوئید کل را به مراتب بهتر نسبت به روش خیساندن استخراج کرد. اگرچه میان اثر مستقل روش خیساندن و روش اولتراسوند از لحاظ شاخص فنول کل، از نظر آماری اختلاف معنی داری مشاهده نشد. علوی و همکاران میزان فلاونوئید کل را ۹/۱۶ میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم جلبک اسپیرولینا گزارش کردند [۱۵]. قنبری و همکاران میزان فلاونوئید کل را در ۳ طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۲۰ نانومتر بررسی کرده و نتایج کل را به ترتیب ۱۹/۹۵، ۲۷/۸۶ و ۲۱/۶۶ میلی گرم کوئرستین بر حسب گرم وزن خشک جلبک اسپیرولینا گزارش شد [۱۷].

### ۴-۳- بررسی میزان آنتوسیانین کل

با توجه به نمودار ۵ اثر متقابل میزان اتانول حلال و روش عصاره‌گیری بر مقادیر آنتوسیانین اسپیرولینا، بصورت معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) تاثیرگذار است. بالاترین مقادیر آنتوسیانین مربوط به تیمار اولتراسوند-اتانول ۹۶ درصد می‌باشد. همچنین مقادیر آنتوسیانین در تیمار خیساندن-اتانول ۵۰ درصد بصورت معنی‌داری در مقایسه با اولتراسوند-اتانول ۵۰ درصد بالاتر می‌باشد. میان اثر مستقل روش خیساندن و روش اولتراسوند از لحاظ شاخص آنتوسیانین کل از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. فرهمند و همکاران گزارش کردند مقادیر استخراج آنتوسیانین کل ۵۰ درصد آب-۵۰ درصد اتانول به روش اولتراسوند در مقایسه با سایر روش‌های استخراج مانند ۵۰ درصد آب-۵۰ درصد اتانول به روش خیساندن، اتانول یا آب-اولتراسوند و اتانول یا آب-خیساندن، اثربخش‌تر می‌باشد [۱۲].

### ۴-۴- بررسی میزان مهار رادیکال آزاد

#### DPPH

نمودار ۷ نشان می‌دهد اثر مستقل روش عصاره‌گیری و میزان اتانول حلال و اثر متقابل آن‌ها و همچنین بررسی اثر متقابل و مقایسه با آنتی‌اکسیدان TBHQ، بصورت معنی‌داری بر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH اثر گذار می‌باشد. در بررسی و مقایسه نمونه‌های عصاره جلبک اسپیرولینا با نمونه آنتی‌اکسیدان TBHQ در غلظت‌های مشابه همواره نتایج آنتی‌اکسیدان صنعتی بهتر بود. بالاترین میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت ۸۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان TBHQ به میزان ۹۸/۸۲ درصد و کمترین میزان در غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام روش اولتراسونیک برابر با ۶۵/۳۶ درصد مشاهده شد. در بررسی دو روش عصاره‌گیری روش خیساندن در غلظت مشابه نتایج بالاتری نسبت به اولتراسونیک داشت. همچنین در بررسی نوع حلال اتانول ۹۶ درصد همواره نتایج بالاتری نسبت به دو نوع حلال دیگر نشان داد. پس با توجه به نتایج بدست آمده بالاترین میزان مهار رادیکال آزاد را می‌توان در حلال اتانول ۹۶ درصد روش خیساندن بدست آورد. قنبری و همکاران درصد فعالیت رادیکال آزاد را در غلظت ۲۰۰ میکروگرم به میزان ۳۶/۴۶ درصد بدست آوردند [۱۷]. علوی و همکاران میزان  $IC_{50}$  عصاره اسپیرولینا و  $IC_{50}$  نسبی اسپیرولینا (در مقایسه با آنتی‌اکسیدان ترت‌بوتیل

هیدروکوئینون) به ترتیب برابر با ۰/۳۶۴ و ۰/۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آوردند [۱۵]. لی و همکاران میزان  $IC_{50}$  را در مهار DPPH ۷۲/۴۶ بر حسب میکرومول ترولکس در گرم عصاره آبی جلبک اسپیرولینا محاسبه کردند.

### ۴-۵- میزان کلروفیل a و کاروتنوئیدها

نمودار ۱۲ نشان می‌دهد بالاترین و پایین‌ترین مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید به ترتیب در تیمارهای ۹۶ درصد اتانول و ۹ درصد اتانول مشاهده شد. در نتیجه افزایش غلظت اتانول حلال سبب افزایش درصد استخراج ترکیبات فوق می‌شود. با توجه به نمودار ۱۳ در غلظت ۹۶ درصد اتانول حلال مقادیر کلروفیل در روش خیساندن در مقایسه با اولتراسوند بصورت معنی‌داری بالاتر می‌باشد. اگر چه در غلظت ۵۰ درصد اتانول و آب مقادیر کلروفیل در استفاده از روش اولتراسوند بصورت معنی‌داری افزایش یافته است. نمودار ۱۴ نشان می‌دهد مقادیر کاروتنوئید در همه غلظت‌های حلال با روش اولتراسوند در مقایسه با روش خیساندن بصورت معنی‌داری بالاتر می‌باشد. در نتیجه هم‌چنین روش اولتراسونیک برای استخراج ترکیبات کاروتنوئید و روش خیساندن برای کلروفیل a مناسب‌تر بود. بنایان و همکاران میزان کاروتنوئید و کلروفیل جلبک اسپیرولینا را بر حسب متغیرهای کشت جلبک اسپیرولینا: حجم تلقیح (کلورت)، منبع نیتروژنی (اوره)، منبع کربنی (شیره خرما)، مدت زمان کشت، ترکیب نوری، دوره نوردی و کلرید سدیم بررسی کردند. آن‌ها بیشترین میزان کاروتنوئید کل را ۸/۲۱۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و کمترین میزان کاروتنوئید کل ۶/۹۵ میکروگرم در میلی‌لیتر مشاهده کردند [۱۱].

### ۵- نتیجه گیری کلی

استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های صنعتی در صنایع غذایی همواره نشان دهنده خطرات بی‌شماری برای سلامتی انسان می‌باشد. این آنتی‌اکسیدان‌ها با میزان کم بهترین نتایج را در حفظ مواد غذایی داشته لذا تولیدکنندگان را مجاب می‌کند از این‌گونه مواد استفاده کنند. در صورتی که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با داشتن خواص بی‌شمار در دسترس بودن و عدم به خطر انداختن سلامت انسان به دلیل اثرگذاری پایین‌تر در مواد غذایی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های صنعتی بسیار کمتر مورد توجه قرار می‌گیرند. جلبک اسپیرولینا سیانو باکتری دارای

containing Aloe vera. *Environmental Science and Pollution Research*, 27: 20876-20888.

- [9] Pathaka, J., Ahmeda, H., Rajneesha, Singh, S.P., Häderc, D.P., & Sinha, R.P. (2019). Genetic regulation of scytonemin and mycosporine-like amino acids (MAAs) biosynthesis in cyanobacteria. *Plant Gene*, 17: 100172.
- [10] Hasan Sultan, T., Nowrozi, M., and Amoozgar, M.A. (2015). Investigating the amount of chlorophyll a, b and total carotenoids as well as the antioxidant activity of four species of green algae isolated from the shores of Golestan, Caspian Sea. *New Journal of Cell-Molecular Biotechnology*, 6(24): 36-31.
- [11] Banayan, S., Jahadi, M., & Fazel, M. (2019). Investigating the influencing factors on the production of chlorophyll and carotenoid pigments from *Spirulina platensis* using the Berman platelet design. *Journal of Food Microbiology*, 7(2): 70-81.
- [12] Farahmand, M., Golmakani, M.T., Mesbahi, G., Farahnaky, A. (2017). Investigating the Effects of Large-Scale Processing on Phytochemicals and Antioxidant Activity of Pomegranate Juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(2): e12792.
- [13] Dewi, N., Kurniasih, A., & Purnamayanti, L. (2018). Physical Properties of *Spirulina Phycocyanin* Microencapsulated with Maltodextrin and Carrageenan. *Philippine Journal of Science*, 147(2): 201-207.
- [14] Goli, A.H., Barzegar, M., & Sahari, M.A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia Vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92(3): 521-525.
- [15] Alavi, N., Karamet, M., Golmakani, M., Lari, A., Shekarforosh, S., & Nowrozi, M. (2014). Improving the oxidation stability of virgin olive oil using spirulina microalgae as a natural antioxidant. *Journal of Nutrition Sciences and Food Industries of Iran*, 10(4): 63-74.
- [16] Shalaby E.A., Shanab, S.M.M., Singh, V. (2010). Salt stress enhancement of antioxidant and antiviral efficiency of *Spirulina platensis*. *J. Med. Plants Res.* 4(24):2622-2632.
- [17] Ghanbari, H., Sarmad, J., Ghafouri, Kh., and Zamani, H. (2014). Investigating the antioxidant activity of spirulina microalgae and measuring the antimicrobial properties of this microalgae and the phycocyanin pigment extracted from it. Gilan University, Faculty of Basic Sciences, Department of Biology (Plant Physiology Major). Scientific Information Database of Iran (Ganj), Research Thesis, Ministry of Science, Research and Technology.

خواص بی‌شمار بوده که کشت و برداشت آن بسیار راحت می‌باشد.

## ۶- سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات لیزر و بیوفوتونیک در فناوریهای زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) به دلیل همکاری‌های اجرایی در راستای محققشدن این تحقیق کمال تشکر را داریم.

## ۷- منابع

- [1] Ramirez-Rodrigues, M. M., Estrada-Beristain, C., Metri-Ojeda, J., Perez-Alva, A., Baigts-Allende, D.K. (2021). *Spirulina platensis* Protein as sustainable Ingredient for nutritional food products development. *Sustainability*, 13(12): 6849.
- [2] Jung, F.a., Kruger-Genge, A.b., Waldeck, P.c., Kupper, J. H. (2019). *Spirulina platensis*, a super food? *Journal of Cellular Biotechnology*, vol. 5, no. 1, pp. 43-54.
- [3] Al Juhaimi, F., Ozcan, M.M., Ghafoor, K., Babiker, E.E., Hussain, S. (2018). Comparison of cold-pressing and soxhlet extraction systems for bioactive compounds, antioxidant properties, polyphenols, fatty acids and tocopherols in eight nut oils. *J. Food Sci. Technol.*, 55: 3163-3173.
- [4] Zhang, N., Li, F., Zhang, T. Li, Chun-Yang, Zhu, L. Yan, S. (2022). Isolation, identification, and molecular docking analysis of novel ACE inhibitory peptides from *Spirulina platensis*. *Eur Food Res Technol* 248, 1107-1115.
- [5] Aiguo, L., Feng, J., Hu, B., Lv, J., Qi, L., Nan, F.C.Y. Chen, O., Xie, S. (2017). *Arthrospira (spirulina) platensis* extract improves oxidative stability and product quality of Chinese style pork sausage. *Journal of Applied phycology*, 30: 1667-1677.
- [6] Ciulca, S., Roma, G., Alexa, E., Radulov, I., Cocan, I., Madosa, E., & Ciulca, A. (2021). Variation of Polyphenol Content and Antioxidant Activity in Some Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) Populations from Romania. *Agronomy*, 11: 2557.
- [7] Li, S., Wei, Y., Fang, Y., Zhang, W., Zhang, B. (2014). DSC study on the thermal properties of soybean protein isolates/corn starch mixture. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 115, 1633-1638.
- [8] Rodrigues, L.R., & Jose, J. (2020). Exploring the photo protective potential of solid lipid nanoparticle-based sunscreen cream



## The survey of bioactive compounds extraction from *Spirulina platensis* algae by ultrasound-assisted ethanolic maceration

Baghizadeh Kohestani, B.<sup>1</sup>, Goli, M.<sup>1,2\*</sup>, Shahi, Sh.<sup>2,3</sup>

1. Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
2. Laser and Biophotonic in Biotechnologies Research Center, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
3. Department of Medical Engineering, Faculty of Engineering, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

### ABSTRACT

*Spirulina platensis* has a wide range of uses in the food industry, pharmaceuticals, cosmetics, and healthcare, largely due of its high nutritional value and wellness-promoting attributes. Consequently, it is still difficult to extract bioactive components from it. This study aimed to compare the extraction of phenolic compounds from the microalga *Spirulina platensis* using ultrasonic and maceration methods. For the extraction processes, separate food-grade solvents (water (0% ethanol), ethanol (96% ethanol), and their mixture (50% water + 50% ethanol) were utilized. Additionally, sonication was found to produce the maximum yield of carotenoids and flavonoids when 96% ethanol was utilized as the solvent. Higher antioxidant activity were produced as a result of using ultrasound-assisted food-grade solvent extraction to extract more of the high-value added components.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2022/ 09/ 15  
Accepted 2022/ 11/ 12

#### Keywords:

Ultrasound, maceration,  
*Spirulina platensis*,  
Total phenol,  
Antioxidant activity

**DOI:** 10.22034/FSCT.19.135.45  
**DOR:** 20.1001.1.20088787.1402.20.135.5.1

\*Corresponding Author E-Mail:  
mgolifood@yahoo.com