# استخراج پروتئین از جلبک قهوه‌ای و بررسی خصوصیات عملکردی آن

مهسا پارسازاده[۱]، مژگان خدادای[۲*]، مهرنوش تدینی[۱]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲-گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاهآزاداسلامی،اهواز،ایران

**(تاریخ دریافت: ۹۶ /۰۸/۰۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۵/۰۵)**

## چکیده

تغییر در اهمیت تغذیه سبب افزایش تقاضای جهانی برای استفاده از غذاهای عملکردی و ترکیبات غذا و دارو شد. در حقیقت این محصولات غذایی حاوی ترکیباتی هستند، که علاوه بر داشتن ویژگی‌های تغذیه‌ای می‌توانند در هر دو سطح پیشگیری و درمان بیماری‌ها نیز سودمند واقع شوند. لذا هدف از این مطالعه بررسی استخراج پروتئین از جلبک قهوه‌ای (*Sargassum illicifolium*) و بررسی خصوصیات عملکردی آن بود. جلبک قهوه‌ای در اوایل بهار ۱۳۹۶، در زمان حداکثر جزر از سواحل بوشهر جمع‌آوری شد. استخراج پروتئین به روش هیدرولیز آنزیمی انجام شد. فعالیت ضد میکروبی پروتئین استخراج شده از جلبک قهوه‌ای (AP) به روش رقیق سازی در لوله علیه *Ecoli O157.H7*بررسی شد. فعالیت آنتی اکسیدانی AP به روش DPPH بررسی گردید. خصوصیات عملکردی AP شامل درجه هیدرولیز، ظرفیت جذب آب و روغن، ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون، ظرفیت کف کنندگی و پایداری کف اندازه‌گیری شد. درصد پروتئین کل ۶۸/۱۵ درصد و درصد استخراج پروتئین ۱۲/۳۹ درصد بود. بالاترین درصد هیدرولیز AP در ۶۰ دقیقه و معادل ٤١/٦٦ درصد بود. میزان MIC علیه پاتوژن *Ecoli O157.H7* ، ۳/۱۲ میلی‌گرم در لیتر و میزان MBC علیه همان پاتوژن، ۱۲/۵ میلی گرم در لیتر بود. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی یا قدرت خنثی کردن رادیکال‌های آزاد (DPPH) AP ٤٨/٠٨±٠/١٧ درصد تعیین شد. ظرفیت جذب آب عصاره جلبک قهوه‌ای ٤/٢١±٠/٠٤ گرم/گرم و ظرفیت جذب روغن AP ٣/٠٨±٠/١٠ گرم/گرم تعیین شد. بنابراین با توجه به داشتن خصوصیات تکنولوژیکی مطلوب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی علیه پاتوژن *E.coliO157* استفاده از AP در صنعت غذا به عنوان افزودنی زیست فعال پیشنهاد می‌شود.

**کلید واژگان:** استخراج پروتئین، جلبک قهوه‌ای، خصوصیات عملکردی

* مسئول مکاتبات: mjkhodadadi@gmail.com

## ۱- مقدمه

شیوه‌ی زندگی مردم جهان در قرن بیستم میلادی با تغییرات اساسی‌ای مواجه بوده است، شاید اولین نقطه‌ای که این دگرگونی‌ها در زندگی بشر به وضوح دیده شد، تغییر در الگوی غذایی جوامع انسانی باشد. به تدریج مصرف غذاهای با کالری بالا که حاوی مقادیر فراوان شکر و چربی های اشباع هستند افزایش یافت و اثرهای مخرب آن ها بر سلامتی انسان با افزایش سریع آمارهای جهانی در خصوص بیماری های مزمن آشکار شد [۱]. تغییر در اهمیت تغذیه سبب افزایش تقاضای جهانی برای استفاده از غذاهای عملکردی وترکیبات غذا و دارو شد. در حقیقت این محصولات غذایی حاوی ترکیباتی هستند، که علاوه بر داشتن ویژگی‌های تغذیه‌ای می‌توانند در هر دو سطح پیشگیری و درمان بیماری‌ها نیز سودمند واقع شوند. ماکروجلبک‌ها بخشی از یک رژیم غذایی سالم هستند [۲]. حدود ۱۵۰گونه جلبک دریایی از سواحل ایران جمع آوری شده که تنها تعداد کمی از آنها مورد تحقیقات بیولوژیکی و شیمیایی قرار گرفته است[۳]. تا کنون ترکیبات زیستی متعدد و با گستره کاربردی متنوعی همچون اثرات آنتی بیوتیکی، ضدویروسی، ضدقارچی وضد سرطانی از جلبک های پرسلولی شناسایی و مشتق شده اند، که بسیاری از متابولیت‌های اولیه و ثانویه این جانداران می‌توانند به مواد فعال مورد علاقه صنایع دارویی تبدیل شوند [٤]. پروتئین جلبک تمام اسیدآمینه‌های ضروری مورد نیاز بدن را داراست و کیفیت پروتئین جلبک در مقایسه با تخم مرغ عالی است وبه همین علت در حال حاضر در سازمان هوافضای آمریکا در سفرهای فضایی به عنوان یک غذای کامل برای فضانوردان مورد استفاده قرار می‌گیرد.جلبک‌ها علاوه بر غذا می‌توانند کاربرد صنعتی، آرایشی و پزشکی نیز داشته باشند. رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در ایجاد بیماری‌هایی مثل سرطان، التهاب، گرفتگی عروق و.... دارند وترکیبات ضداکسیدانی می‌توانند در پیشگیری و درمان این بیماری‌ها مفید باشند.امروزه تلاش زیادی برای یافتن ترکیبات ضداکسیدان موثر و با عوارض جانبی کمتر انجام می‌پذیرد.جلبک‌های دریایی می‌توانند منبع جدیدی برای این ترکیبات باشند [۵]. از جمله مطالعات انجام شده بر روی جلبک می‌توان به مطالعات Heydariو همکاران (۲۰۱۵)، ظرفیت آنتی اکسیدانی و محتوی فنلی و ترکیبات فلانوئیدی سه ماکروجلبک سبز (*Entromorpha intestinalis*)، قهوه‌ای (*Cystoseira trinodis*) و قرمز (*Laurencia snyderia*) سواحل شمالی خلیج فارس در استان بوشهر[٦] و Mohammadiو همکاران (۲۰۱٦)، بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی جلبک قهوه‌ای *Iyengaria stellate* جمع آوری شده از سواحل خلیج فارس[۷] در ایران اشاره کرد. در سایر نقاط جهان می‌توان به مطالعات Masoumifard و همکاران (۲۰۱۷)، بر روی تاثیرات ضد باکتریایی عصاره جلبک *Sargassum Oligocystum* بر روی باکتریای *Leishmania major* [۸]، Ganapathiو همکاران (۲۰۱۳)، بر روی پتانسیل ضد باکتریایی جلبک‌های *Sargassum myriocystum*، *S.plagiophyllum* و *S.ilicifolium* [۹] و Sadati و همکاران (۲۰۱۱)، فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوی فنولی جلبک های *Sargassum swartzii*، *Cystoseiramyrica, Colpomenia sinuosa* خلیج فارس[۱۰] اشاره کرد.سارگاسوم جلبک قهوه ای پرسلولی دریایی (*Sargassum illicifolium*) است که در سواحل جنوبی ایران رشد می‌نماید. این ماکروجلبک دارای رنگدانه‌های بتاکاروتین و فوکوگزانتین، اسیدهای حلال مواد محرک ایمنی مانند فیکوسیانین، پلی ساکارید، آهن، روی و اسید های امینه ضروری می‌باشد که سبب ارتقا ایمنی می‌گردد. مصرف روزافزون داروهای شیمیایی باعث ایجاد خود ایمنی و عوارض جانبی دیگری می شود که از خود بیماری خطرناکتر است [۱۱]. بنابراین امروزه بدلیل تغییر فرم مقاومتی باکتری ها و مقاوم شدن آن ها به آنتی بیوتیک‌ها معمول، گرایش به جایگزینی آن‌ها با آنتی بیوتیک‌های نوینی وجود دارد [۱۲]. گونه‌های متنوعی از جلبک‌ها در کشور ما وجود دارد اما با این حال، مطالعات بسیار کمی در مورد خصوصیات عملکردی آن‌ها صورت گرفته است. لذا هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی خصوصیات عملکردی پروتئین استخراج شده از جلبک قهوه‌ای و بهره گیری از خواص مثبت ایمنی و فیزیولوژیک آن در مصارف مختلف غذایی، دارویی و صنعتی می‌باشد.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- نمونه برداری

عملیات نمونه برداری در اوایل فصل بهار سال ۱۳۹٦و در زمان حداکثر جزر از سواحل بوشهر که محل رویشی این

جلبک‌هاست، صورت گرفت.برای مشخص شدن زمان حداکثر جزر در ایستگاه‌ها، از وبگاه ایران هیدروگرافی که وضعیت جزر ومدی سواحل ایران را نشان می دهد، استفاده شد. جلبک‌های جمع آوری شده با آب دریا شسته شده و از شن و ماسه و جانداران اپیفیت پاکسازی شدند و درون جعبه یونولیتی حاوی یخ نگهداری و سپس به آزمایشگاه منتقل شدند. مقداری از جلبک‌ها جهت نگهداری و شناسایی در فرمالین ٤٪ تا ٥٪ قرار داده شدند. در آزمایشگاه جلبک های موردنظر را با آب معمولی شسته شده، سپس برای خارج شده املاح درون آب مقطر غوطه‌ور (برای خارج شدن أملاح) و هر یک ساعت آب آنها تعویض شد، این کار تا سه مرحله تکرار و بعد از آن روی پارچه تمیزی در سایه گسترانیده و خشک شدند. نمونه‌ها بعد از خشک شدن توسط آسیاب برقی کاملا پودر شدند[۱۳].

## ۲-۲- استخراج پروتئین

به منظور استخراج پروتئین از روش Torruci-Uco و Martinez-Ayala(۲۰۰۹) [١٤] استفاده شد. بعد از پاکسازی، جلبک‌ها از یک الک با مش ۲۰ (۰/۸۵ میلی‌متر) عبور داده شدند و سپس به اندازه‌ای پودر شدند تا از یک الک با مش ٦٠ (۰/۲٤ میلی‌متر) عبور کنند. آرد بدست آمده به نسبت ۱ به ٦ با آب مخلوط شد و pH آن با استفاده از NaOH ۱ مول اکی والان بر لیتر به ۱۱ رسید و سپس برای ۱ ساعت در سانتریفیوژ میکانیکی در ٤۰۰ rpm قرار گرفت. سپس سوسپانسون بدست آمده از الک با مش ۸۰ (۰/۱۹ میلی‌متر) و با مش ۱۰۰ (۰/۱٤ میلی‌متر) عبور داده شد تا بخش‌های فیبری از بخش مایع که شامل نشاسته و پروتئین بود، جدا شود. رسوب جامد ۳ مرتبه با نسبت ۱ به ۳ (آب/بخش جامد) با آب مقطر شسته شد. بخش خارج نشده در یک گیرنده پلاستیکی جمع آوری و برای ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. تفاله در دمای ٦٠ درجه سانتی گراد در آون خشک شد. بخش محلول نیز در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد. بخش محلول (پروتئین محلول) به استفاده از HCl ۱ مول اکی والان بر لیتر به ٤/٥ رسید و سوسپانسون حاصله در ۱۳۱۷g برای ۱۲ دقیقه و با استفاده از سانتریفیوژ به حالت محلول در آمد. بخش شناور دور ریخته شد و بخش سخت در فریز در دمای ٤۷- درجه سانتی گراد و در فشار ۱/۳ پاسکال تعلیق شد.

## ۲-۳- هیدرولیز آنزیمی

غلظت پروتئین هیدرولیز شده با استفاده از روش Torruci-Uco و Martinez-Ayala (۲۰۰۹) [١٤] انجام شد. واکنش هیدرولیزی در زمان‌های ۰، ۱۵، ۳۰، ٤٥، ٦٠، ۷۵ و ۹۰ دقیقه انجام شد. یک طرح کاملاً تصادفی برای سیستم آنزیمی در نظر گرفته شد که فاکتور زمان واکنش، پاسخ‌های متنوع به درجه هیدرولیز و فعالیت منع کنندگی آنزیمی را شامل می‌شد. هیدرولیز کینتیکی با استفاده از غلظت پارامترهای g/۱۰۰ml ۱۰، آنزیم به ۰/۳ AU/g Alcalase (pH ۸) در حمام ۵۰ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. هیدرولیز در ظرف ۱۰۰۰ میلی‌لیتری دارای مگنت، حرارت سنج و pH متر انجام شد. هیدرولیز در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ دقیقه متوقف شد. پروتئین هیدرولیز شده به وسیله فیلتر۰/٤٥ نامتری فیلتر شد و بخش فیلتر شده در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان سنجش نگهداری شد.

## ۲-٤- درجه هیدرولیز

درجه هیدرولیز یا DH% بر اساس روش Torruci-Uco و Martinez-Ayala (۲۰۰۹) [١٤] انجام شد. این پارامتر به وسیله اندازه‌گیری ۱۰ گرم تری‌کلرواستات اسید بر ۱۰۰ میلی لیتر نیتروژن محلول بر کل نیتروژنو به صورت درصد بدست آمد.

$$DH\% = \frac{\frac{10gTCA}{100} ml\ solubel\ N}{Total\ N} \times 100$$

## ۲-۵- فعالیت ضد میکروبی

برای بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره استخراج شده از روش رقیق سازی در لوله MIC وMBCبرای پاتوژن *E. coli O157H7*انجام شد[۱۵].

## ۲-٦- کشت باکتری

از سویه باکتری با روش خطی پلیت تهیه شد. سپس در شرایط کاملاً استریل و در کنار شعله از پلیت کشت باکتری، تک کلنی برداشته و در لوله های حاوی ٤ میلی لیتر محیط کشت مایع لاکتوز براث کشت داده شد. لوله های حاوی باکتری به مدت ٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گرادقرار داده شدند. کدورت با روش استاندارد نیم مک فارلند مقایسه شد.

## ۲-۷- حداقل غلظت مهارکنندگی رشد یا MIC

این آزمایش بر اساس روش Jorgensen و Turnidge (۲۰۱۵) [۱] انجام شد. در این روش از میکروپلیت‌های ۹۶ چاهکی استفاده شد. به چاهک اول هر ردیف ۱۲ تایی، ۱۰۰ میکرولیتر و در بقیه چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر محیط کشت مایع استریل ریخته شد. در مرحله بعد به چاهک‌های ردیف اول ۱۰۰ میکرولیتر عصاره ۱۰ درصد اضافه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از چاهک اول به چاهک دوم انتقال داده شد و به همین روش، عصاره به صورت ۲ برابر تا چاهک آخر رقیق شد. در نهایت ۵۰ میکرولیتر از چاهک آخر به خارج از آن ریخته شد تا رقت های سریال با حجم یکسان تهیه شد. در انتها به تمام ۹۶ چاهک ۵۰ میکرولیتر از هر میکروب اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت، میکروپلیت در انکوباتور وارد شد. در انتهای آزمایش نتایج با بررسی شفافیت محیط که عدم رشد میکروارگانیسم را تایید می کند، کمترین غلظت بازدارنده رشد گزارش می شود.

## ۲-۸- حداقل غلظت کشندگی ماده ضدمیکروبی یا MBC

از همه لوله‌هایی که در آن‌ها عدم رشد باکتری مشاهده شده بود، نمونه برداری و جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره ها، به روش کشت سطحی و در زیر هود انجام شد.. ۱۰۰ میکرولیتر از لوله هایی که عدم رشد باکتری را نشان می دادند بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار ریخته شد و با پخش کننده بر روی محیط کشت پخش شد. محیط کشت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند و پلت‌ها از نظر وجود رشد باکتری چک شدند. لوله‌ای که حاوی کم‌ترین غلظت عصاره بود و در پلیت مربوطه عدم رشد باکتری مشاهد شد به عنوان MBC آن عصاره در نظر گرفته شد [۱۶].

## ۲-۹- فعالیت آنتی اکسیدانی یا قدرت خنثی کردن رادیکال‌های آزاد (DPPH)

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از رادیکال های پایدار ۲و۲دی فنیل ۱پیکریل-هیدرازیل (DPPH) طبق روش [۱۷] انجام گرفت. دو میلی لیتر از عصاره به دو میلی لیتر از محلول اتانولی ۱۶٪ میلی مولار رادیکال آزادDPPH افزوده وبه مدت یک دقیقه با دستگاه ورتکس (rpm, IKA, MS3b آمریکا) به خوبی مخلوط و ۳۰ دقیقه در دمای محیط و در تاریکی نگهداری گردید. جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر وبا استفاده از اسپکتروفتومترخوانده شد. فعالیت مهار کنندگی رادیکال های آزاد DPPH عصاره مطابق فرمول زیر محاسبه و به صورت درصد RSA محاسبه شد.

RSA%=[1-(Asample-Asample blank)/Acontrol]*100

DPPHبعد از زمان موردنظر

Asample=جذب نمونه و محلول

Acontrol=جذب محلول DPPHبدون نمونه

Asmple blank=جذب نمونه DPPHبدون محلول

## ۲-۱۰- جذب آب و روغن

ظرفیت جذب آب از روشی مرکب از دو روش AACC (۲۰۰۰) تعیین شد. برای این منظور ۳ گرم پروتئین استخراج شده از جلبک قهوه ای با ۱۸ میلی لیتر آب مقطر در فالکون ۳۰ سی سی ریخته شده و تا ۳۰ ثانیه مخلوط گردید. سپس فالکون به مدت نیم ساعت در درجه حرارت اتاق نگهداری شد. در ادامه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ (۷۵۰g) گردید. سوپرناتانت جدا شده از رسوب، از فالکون خارج شد و فالکون ها توسط دستمال کاغذی کاملاً خشک شدند و در نهایت توسط ترازو وزن آنها اندازه گیری شد. ظرفیت جذب آب به صورت مقدار آب جذب شده توسط یک گرم نمونه بیان شد [۱۸].

رابطه (۱) : جذب آب(گرم/گرم) برابر است با : مقدار گرم آب جذب شده ÷ مقدار گرم نمونه

جذب روغن نیز بر اساس روش ایگ و همکاران (۱۹۸۴) انجام شد. ابتدا ۳ گرم نمونه به ۱۸ میلی لیتر روغن تصفیه شده سویا در داخل فالکون ریخته شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و پس از آن در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه عمل سانتریفیوژ انجام شد. نمونه ها به آهستگی از داخل سانتریفیوژ خارج و میزان روغن قسمت بالای رسوب جداسازی شد. وزن نمونه و فالکون دوباره ثبت شد. اختلاف وزن نهایی و وزن اولیه محاسبه شده و میزان گرم روغن جذب شده توسط یک گرم نمونه به عنوان جذب روغن گزارش شد [۱۸].

رابطه (۲) : جذب روغن(گرم/گرم) برابر است با : مقدار گرم روغن جذب شده ÷ مقدار گرم نمونه

## ۲-۱۱- ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون

به منظور تعیین ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون پروتئین استخراج شده از جلبک قهوه ای از روش Guptaو همکاران (۲۰۰۸) [۱۹] استفاده شد. جهت تعیین ظرفیت امولسیون کنندگی،نیم گرم پروتئین استخراج شده از جلبک قهوه ای و ۵۰ میلی لیتر بافر سیترات (۰/۵ مولار –تنظیم شده در۷،۹،۵=pH) و ۱۰ میلی لیتر روغن ذرت تصفیه شده در یک مخلوط کن ریخته شد.سوسپانسیون حاصل به مدت ۲ دقیقه مخلوط و بلافاصله به استوانه مدرج ۱۰۰ میلی لیتری انتقال داده شد. جهت تعیین پایداری امولسیون،حجم کل سوسپانسیون و ارتفاع امولسیون در یک دوره یک هفته ای اندازه گیری شد. ظرفیت امولسیون کنندگی از رابطه زیر تعیین شد:

رابطه (۳) : ظرفیت امولسیون کنندگی(درصد) برابر است با:

(حجم لایه امولسیون ÷ حجم کل مخلوط) × ۱۰۰

## ۲-۱۲- ظرفیت کف کنندگی و پایداری کف

به منظور تعیین ظرفیت کف کنندگی و پایداری کف پروتئین استخراج شده از جلبک قهوه ای از روش Gupta و همکاران (۲۰۰۸) [۱۹] استفاده شد. نیم گرم پروتئین استخراج شده از جلبک قهوه ای درون یک مخلوط کن ریخته و ۵۰ میلی لیتر بافرسیترات (۰/۵ مولار – تنظیم شده در۵،۷،۹ =pH)به آن افزوده شده .سوسپانسیون حاصل به مدت ۲ دقیقه مخلوط و سریعا به یک استوانه مدرج ۱۰۰ میلی لیتری انتقال داده شد. حجم کف تا مدت زمانی که نیمی از کف ها متلاشی شدند یاد داشت شد.ظرفیت کف کنندگی از رابطه زیر محاسبه شد:

رابطه (٤) : ظرفیت کف کنندگی(درصد) برابر است با : حجم کف تولید شده÷ حجم کل محلول) × ۱۰۰

پایداری کف نیز مدت زمانی است که حجم کف به نیمی از مقدار اولیه کاهش یابد.

## ۲-۱۳- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش با سه با تکرار انجام و با استفاده از نرم افزار Spss18 و به کمک آزمون های واریانس یک طرفه مورد بررسی قرار گرفت. پیش از انجام آزمون ها، نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولوموگراف اسمیرنف مورد بررسی قرار گرفت.

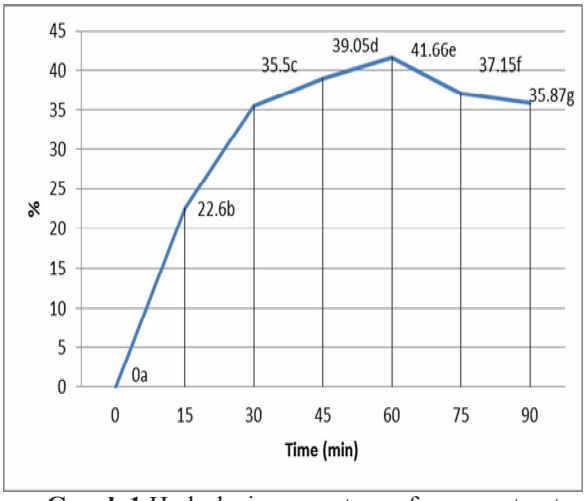
# ۳- نتایج

## ۳-۱- درصد پروتئین کل و درصد پروتئین کنستانتره

میزان بازده استخراج پروتئین از جلبک قهوه‌ای ( *Sargassum illicifolium*) ۱۲/۳۹ درصد و درصد خلوص پروتئین ( پروتئین کنسانتره) ٦٨/١٥ درصد بود.

## ۳-۲- درصد هیدرولیز پروتئین

بر اساس نمودار۱، بالاترین درصد هیدرولیز پروتئین، در ٦٠ دقیقه و با مقدار ٤١/٦٦ درصد بدست آمد.




**Graph 1** Hydrolysis percentage of sugar extract (*Sargassum illicifolium*)

## ۳-۳- اثر ضد میکروبی عصاره پروتئینی

حداقل غلظتی از عصاره جلبک قهوه‌ای که موجب جلوگیری از رشد ۹۰ درصد از باکتری‌های *Ecoli O157.H7* شد(MIC) ۳/۱۲میلی گرم در لیتر وحداقل غلظت کشندگی عصاره که باعث جلوگیری از رشد ۹۹/۹ درصد از باکتری‌های *Ecoli O157.H7* شد (MBC)، ۱۲/۵ میلی گرم در لیتر بدست آمد.کنترل مثبت عصاره و محیط کشت و کنترل منفی سوسپانسیون میکروبی و محیط کشت است.

## ۳-٤- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پروتئینی

میزان فعالیت آنتی اکسیدانی یاقدرت خنثی کردن رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره جلبک قهوه‌ای۰/۱۷±٤٨/٠٨ درصد تعیین شد.

## ۳-۵- بررسی جذب آب و روغن عصاره پروتئینی

براساس اندازه‌گیری‌های انجام شده، ظرفیت جذب آب عصاره جلبک قهوه‌ای (*Sargassum illicifolium*) ٤/٢١±٠/٠٤ گرم/گرم و ظرفیت جذب روغن عصاره جلبک قهوه‌ای ٣/٠٨±٠/١٠ گرم/گرم تعیین شد.

## ٣-٦- ظرفیت آمولسیون کنندگی و پایداری امولسیون عصاره پروتئینی

ظرفیت آمولسیون کنندگی عصاره پروتئینی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum illicifolium*) در جدول ١ نشان داده شده است. بر اساس نتایج این جدول تا روز ٦، ظرفیت امولسیون کنندگی بین pH= ٥ و pH= ٧ اختلاف معنی داری نداشت ($P>0/05$) ولی هر دو pH با pH= ٩ اختلاف معنی داری داشتند ($p<0/05$). در روز ٧ بین هر سه گروه pH اختلاف معنی دار وجود داشت ($p<0/05$). در تمامی روزهای مورد بررسی pH= ٩ بالاترین ظرفیت امولسیون کنندگی را داشت.

**Table 1** Emulsification Capacity of Protein Extract of *Sorgassum Illicifolium* (milliliter)

| pH=9 | pH=7 | pH=5 | Day pH |
|---|---|---|---|
| $28.34\pm0/64^{Bc}$ | $26.86\pm^{Ad}0.57$ | $26.45\pm0.62^{Ad}$ | 0 |
| $28.27\pm0/56^{Bc}$ | $26.77\pm0.54^{Ad}$ | $26.39\pm^{Ad}0.55$ | 1 |
| $27.55\pm0/31^{Bbc}$ | $25.99\pm^{Ac}0.13$ | $25.67\pm0.21^{Acd}$ | 2 |
| $27.03\pm0/12^{Ba}$ | $25.72\pm^{Ab}0.07$ | $25.31\pm^{Abc}0.15$ | 3 |
| $27.03\pm0/10^{Ba}$ | $25.50\pm^{Ab}0.22$ | $25.12\pm^{Ab}0.12$ | 4 |
| $26.96\pm 0.07^{Ba}$ | $25.18\pm^{Aa}0.09$ | $24.96\pm^{Ab}0.18$ | 5 |
| $26.88\pm 0.04^{Ba}$ | $25.05\pm^{Aa}0.08$ | $24.96\pm^{Aab}0.29$ | 6 |
| $26.83\pm0.07^{Ca}$ | $24.87\pm0.13^{Ba}$ | $24.36\pm0.29^{Aa}$ | 7 |

Non-similar alphabets mean a significant difference of 0.05 ($p<0.05$).
The upper case means a significant difference between different pH and lower case, meaning a significant difference between treatments between days

در هر سه pH (نمودار ٢) مورد بررسی کاهش رفتار امولسیون کنندگی با گذشت زمان قابل مشاهده بود. بالاترین پایداری عصاره جلبک قهوه‌ای در روز ٧، در pH=٩ (٢٦/٨٣±٠/٠٧ میلی‌لیتر) و بالاترین پایداری امولسیون‌کنندگی در روز صفر، در pH= ٩ اندازه گیری شد.

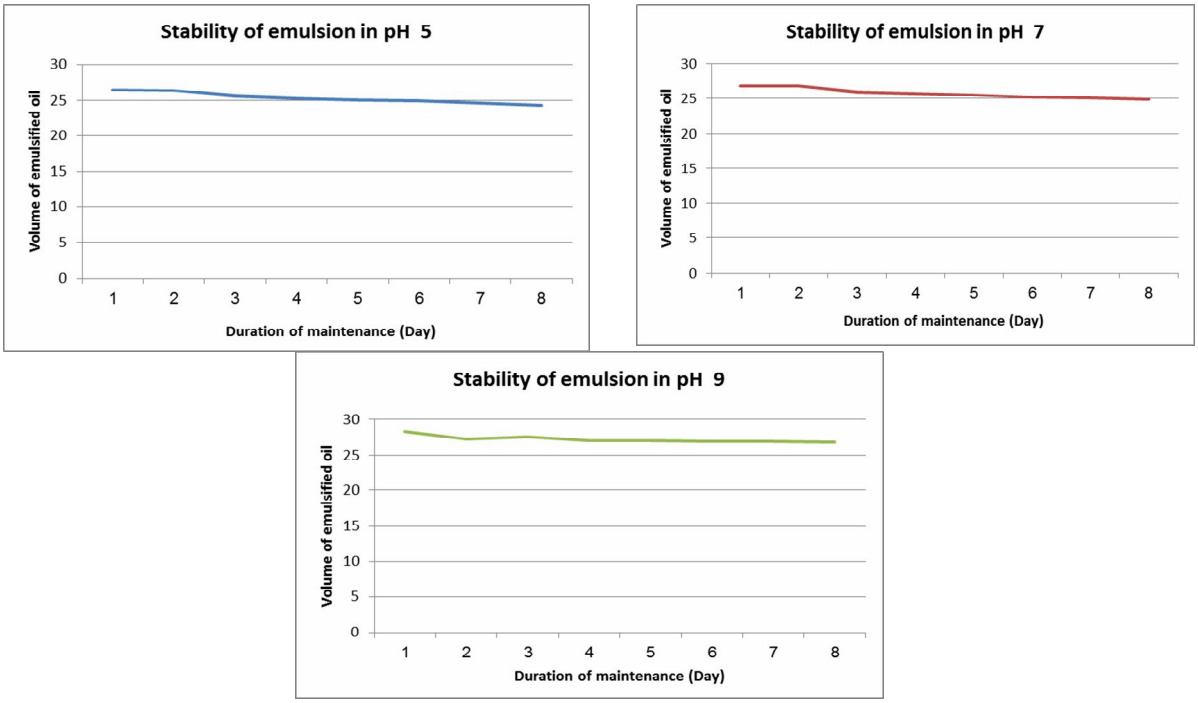



**Chart 2**Stability of emulsion of Sargassum illicifolium protein extract at different pH

### ۳-۷- ظرفیت کف کنندگی و پایداری کف عصاره پروتئینی

مطابق جدول ۲، ظرفیت کف‌کنندگی با افزایش pH به شکل معنی داری افزایش یافت ($p<۰/۰۵$) و بالاترین ظرفیت کف‌کنندگی در pH= ۹ مشاهده شد.همچنین مطابق همین جدول، پایداری کف یا نیمه عمر کف بین هر ۳، pH اختلاف معنی داری ($p<۰/۰۵$) داشت و بالاترین پایداری کف‌کنندگی با اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در pH= ۷ مشاهده شد.

**Table 2** Capacity and stability of the salt extract of algae (*Sargassum illicifolium*)

| pH=9 | pH=75 | pH=5 | |
|---|---|---|---|
| $0.58^{c}$±32.81 | $0.20^{b}$±29.13 | $0.19^{a}$±25.98 | Filling capacity (%) |
| $^{c}$0.35±70.12 | $^{b}$1.28±79.74 | $^{a}$0.23±73.99 | Stability of the floor or half life (min) |

Non-similar alphabets mean a significant difference of 0.05 ($p<0.05$).

## ٤- بحث و نتیجه‌گیری

### ٤-١- درصد پروتئین کل و درصد پروتئین عصاره پروتئینی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum illicifolium*)

مطابق جدول ۱، میزان بازده استخراج پروتئین از جلبک قهوه‌ای (*Sargassum illicifolium*) ۱۲/۳۹ درصد و درصد خلوص پروتئین (پروتئین کنسانتره) ٦٨/١٥ درصد بود. میزان پروتئین این جلبک در مقایسه با مطالعات Bakhshe Moghaddamو همکاران(۲۰۱۳) [۲۱] در مورد نخود با ۹۱/۱۹ درصد مقدار کمتری را نشان داد. در پژوهش Vilgو Undeland (۲۰۱۷)[ ۲۰]، میزان پروتئین کل استخراجی از جلبک *Saccharina latissima* را ٣٤-٢٩ درصد عنوان کردند که در مقایسه با جلبک قهوه‌ای در تحقیق حاضر مقدار کمتری را نشان می دهد. همچنین در مطالعه Safaiyanو همکاران (۲۰۱۱)(۲۲)، میزان پروتئین استخراج شده جلبک *Padina boergesenii*، ١٢/٢٦ درصد عنوان شده است که به یافته‌ی تحقیق حاضر نزدیک است. در مطالعه Oliyaeiو همکاران (۲۰۱۵) میزان پروتئین ایزوله شده ۲۹/۰۹ درصد و ٤٨/٦٣ درصد را در pH های ۱۰ و ۱۲، گزارش کرد که در مقایسه با تحقیق حاضر راندمان استخراجی بالاتری را در ماهی نشان داد. در مطالعه Amiri Andyو همکاران (۲۰۱٦) [۲۱]، بر روی پروتئین دانه گوجه فرنگی، راندمان استخراج پروتئین ۷۸/۸ درصد بود که درصد بسیار بالایی را نشان می‌دهد.

**درصد هیدرولیز پروتئین**: به کارایی آنزیم Alcalase و زمان واکنش وابسته است. الکالاز یک پروتئاز آلکالینی است که برای تولید پروتئین هیدرولیز شده در مقایسه با پروتئین‌های طبیعی هم کارایی و هم ارزش غذایی بهتری دارد. از طرف دیگر، همچنین در تولید پپتیدهای زیست فعال با فعالیت مهار کنندگی ACE-I نقش دارد و برای حذف این پپتیدها از ژلاتین پوست گاو [۲۵]، پلاسما [۲٦] و ماهیچه ساردین [۲۷] کاربرد دارد.

بالاترین میزان درصد هیدرولیز پروتئینی یا DH در ٦٠ دقیقه و با ٤١/٦٦ درصد مشاهده شد. Torruco-Uco و همکاران (۲۰۰۹)[١٤]، بالاترین درصد هیدرولیز دو نوع لوبیا (*Phaseolus lunatus* و *Phaseolus vulgaris*) را با این آنزیم به ترتیب ۳۷/۹٤ درصد در ٤٥ دقیقه و ٤٩/٤٨ درصد در ۳۰ دقیقه عنوان کردند. در تحقیق حاضر بعد از ٦٠ دقیقه کاهش درصد هیدرولیز مشاهده شد. در مطالعه Amiri Andyو همکاران (۲۰۱٦)[۲۱]، بر روی پروتئین دانه گوجه فرنگی، بالاترین درجه هیدرولیز توسط آلکالاز ۲ درصد پس از ۲ساعت هیدورلیز ۲۲/۹۳ درصد بود که در مقایسه با تحقیق حاضر درصد هیدرولیز پایین‌تری را نشان می دهد.

### ٤-٢- بررسی اثر ضد میکروبی عصاره پروتئینی عصاره پروتئینی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum illicifolium*) علیه باکتری *Ecoli O157.H7*

جلبک‌های دریایی تولیدکننده متابولیت‌های مختلف ثانویه و با ارزش تجاری بالقوه هستند. در چند دهه اخیر، خواص ضد میکروبی این ارگانیسم مورد علاقه پژوهشگرانی در نقاط مختلف دنیا قرار گرفته است و با توجه به نیاز جهانی به ترکیبات زیست فعال جدید، به دلیل مقاوم شدن باکتری‌ها و دیگر میکروارگانیسم‌های پاتوژن به آنتی بیوتیک‌های رایج، بررسی چنین ترکیباتی با منشا دریایی، ضروری به نظر می‌رسد [۲۸].

در تحقیق حاضر MIC برای باکتری‌های *Ecoli O157.H7*، ۳/۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر وMBC ۱۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بدست آمد. Caccames و همکاران در سالهای ۱۹۸۰ و ۱۹۸۵، نشان دادند که عصاره جلبک‌های قهوه‌ای دارای تاثیر ضد باکتریایی بیشتری نسبت به جلبک قرمز است [۳۰و ۲۹]. Masoumi Fard و همکاران (۲۰۱۷)، اثر عصاره جلبک قهوه‌ای خلیج فارس (*SargassumOligocystum*) را بر روی انگل لیشمانیاماژور را مورد بررسی قرار دادند [۳۱]. نتایج آنها نشان داد که میزان IC50 عصاره بعد از ۷۲ ساعت انکوباسیون، برای لیشمانیا ماژور ۲۰ میکروگرم/میلی‌لیتر بود. گونه‌های متفاوت از جنس جلبک سارگاسوم حاوی پلی‌ساکاریدهایی با فعالیت بیولوژیکی هستند که پایه آن‌ها قند فوکوز و ترکیبات سولفاتی است [۳۲و ۳۳] و پیش از این خواص مهم ضد باکتریایی نظیر تاثیر روی باسیلوس سوبتیلس، ضد ویروسی علیه هرپس سیمپلکس و ضد سرطانی از نوع روده‌ای را نشان داده اند[۳٤]. تحقیق Sridharan و همکاران (۲۰۱۲) [۳۵] بر روی خواص ضدباکتریایی جلبک قهوه‌ای *Turbinaria conoides* و تحقیق Pandithurai و همکاران در سال ۲۰۱۵ [۳۵] بر روی خواص ضد میکروبی جلبک قهوه‌ای *Spatoglossum asperum* بر روی پاتوژن های انسانی نتایجی مشابه با تحقیق حاضر داشت. نتایج بدست آمده از این تحقیق با نتایج Mohammadiو همکاران (۲۰۱٦) بر روی جلبک قهوه‌ای (*Iyengaria stellata*) [۷] مغایرت دارد. نتایج حاصل از آزمایش‌های ضدباکتریایی در پژوهش Mohammadi و همکاران (۲۰۱٦) [۷] نشان داد که عصاره آبی *I. stellate* در هیچ غلظتی فعالیت ضدباکتریایی از خود نشان نداد.

## ٤-۳- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پروتئینی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum illicifolium*)

DPPH به طور گسترده برای ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد استفاده می‌شود [۳٦] .DPPH یک رادیکال ناپایدار بوده که الکترون یا رادیکال هیدروژن می‌پذیرد تا به یک ترکیب پایدار تبدیل شود [۳۷]. در تحقیق حاضر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی یا قدرت خنثی کردنی رادیکال‌های آزاد جلبک‌های قهوه‌ای ٤۸/۰۸ درصد تعیین شد.Zahra وهمکاران (۲۰۰۷)، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره جلبک قهوه‌ای (*Sargassum boveanum*) را مورد بررسی قرار دادند [۳۸] و میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال را ۹٤ درصد گزارش کردند. فعالیت آنتی اکسیدانی پپتیدها به پروتئازهای خاص مورد استفاده در تولید آنها، درجه هیدرولیز، طبیعت پپتیدهای آزاد شده (به عنوان مثال وزن مولکولی، ترکیب و توالی آمینواسیدها) و همچنین اثرات ترکیبی خواص آنها (به عنوان مثال توانایی تشخیص رادیکال‌های آزاد، فعالیت آنها در به دام انداختن یون‌های فلزی یا فعالیت به عنوان اهدا کننده الکترون) بستگی دارد [۳۹].

Heidaryو همکاران (۲۰۱۵) در بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی و محتوی فنلی و ترکیبات فلانوئیدی ماکروجلبک‌های سبز (*Entromorpha intestinalis*)، قهوه‌ای (*Cystoseira trinodis*) و قرمز (*L. snyderia*) را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد، هر سه گروه جلبکی سبز، قرمز (۷۷/۲ درصد مهار رادیکال‌های آزاد) و قهوه‌ای (۳۲/۱٦ درصد مهار رادیکال‌های آزاد) (سارگاسوم نوعی جلبک قهوه‌ای است) دارای محتوی فنلی بالایی بوده و این امر آنها را به عنوان یک ماده دارای آنتی اکسیدان معرف می‌کند[٤۰].

Gharmsereو همکاران (۲۰۱۳)، میزان فنول کل و فعالیت آنتی اکسیدانی جلبک قرمز (*Hypneahamulosa*) خلیج فارس را مورد بررسی قرار دادند. فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد (DPPH) با حلال استون و اتانول به ترتیب ٦۹/۹۸ و ۵۷/۱۸ درصد بود که در مقایسه با مقدار آنتی‌اکسیدان به دست آمده در این تحقیق در مورد جلبک قهوه‌ای (٤۸/۰۸ درصد) مقدار بالاتری را نشان داد [۹]. ترکیبات فنلی با وزن ملکولی زیاد مانند فلاونوئیدها و تانین‌ها توانایی زیادی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد را دارند [٤۰و ٤۱]. ترکیبات فنلی به عنوان دهنده الکترون، واکنش‌های رادیکال‌های آزاد را در بدن خنثی می‌کنند [٤۲]. که با نتیجه بدست آمده در تحقیق حاضر هم خوانی دارد.

## ٤-٤- جذب آب و روغن توسط عصاره پروتئینی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum illicifolium*)

بسیاری از پژوهشگران میزان جذب روغن را به عنوان محبوس کردن فیزیکی روغن عنوان نموده‌اند. میزان جذب روغن توسط عصاره پروتئین جلبک قهوه‌ای معادل ۳/۰۸ گرم بر گرم بود. در

واقع قدرت اتصال پروتئین به میل زنجیره پروتئین‌های غیر قطبی برای اتصال فیزیکی به چربی بستگی دارد، که این زنجیره‌های غیر قطبی ممکن است با زنجیره‌های جانبی هیدرو-کربنی روغن پیوند برقرار کنند و اتصال چربی در واقع توانایی پروتئین‌ها برای جذب و حفظ آب و چربی می‌باشد که در کیفیت بافت و ساختار ماده غذایی و مزه و طعم غذاها بخصوص مواد گوشتی اهمیت بالایی دارد [٤٣و ٤٤]. ظرفیت جذب پروتئین در مواد مختلف مقادیر متفاوتی را نشان دادند که جهت مقایسه با جلبک به عنوان یک ماده غذایی جدید در این پژوهش ذکر شده است. Boye و همکاران (۲۰۱۰) ظرفیت جذب چربی ایزوله نخود کابلی را ۱/۲ گرم/گرم عنوان کرد [٤٥]. در مطالعه Oliyaei و همکاران (۲۰۱۵)، بر روی ویژگی‌های پروتئین ایزوله شده فانوس دریایی ظرفیت جذب آب در pH ۱۰ برابر با۳/۸۳ میلی گرم /گرم بود که در مقایسه با تحقیق حاضر ظرفیت حفظ آب پایین تری را نشان داد [۲۳]. جذب آب را باید به عنوان یکی از عوامل موثر بر ساختمان فیزیکی وخصوصیات ماده غذایی حاوی پروتئین، فساد ماده غذایی موثر بوده و به دلیل تاثیر گذاری بر میزان فعالیت آب، اهمیت بالایی دارد [۲۱]. داشتن هر دو خصوصیت آبدوستی و آبگریزی پروتئین را قادر ساخته تا به آب و روغن در سیستم غذایی متصل شوند [٤٦]. نتایج نشان داد میزان جذب آب توسط جلبک قهوه‌ای برابر با ٤/۲۱ گرم/ گرم بود. ظرفیت جذب آب در محدوده ۱/٤۹ تا ٤/۷۲ گرم بر گرم محدوده مناسبی برای استفاده در غذاهای ویسکوز مانند سوپ‌ها تلقی می شود [٤۷]. این نتایج نشان می دهد که کنسانتره پروتئینی جلبک قهوه‌ای ظرفیت جذب آب مناسبی دارد و می تواند در فرآورده‌های غذایی نیازمند به حفظ آب زیاد استفاده شود.

## ٤-۵- ظرفیت آمولسیون کنندگی و پایداری امولسیونتوسط عصاره پروتئینی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum illicifolium*)

پروتئین‌ها از آمینواسیدهای باردار، آمینواسیدهای قطبی بدون بار و آمینواسیدهای غیر قطبی تشکیل شده‌اند، که آنها را به عنوان عوامل امولسیفایر معرفی می کند [٤٦]. حضور سورفاکتانت‌ها و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آنها، تعیین کننده تشکیل و ثبات امولسیون است. ظرفیت امولسیون کنندگی با افزودن پیوسته روغن به سوسپانسیون رقیق پروتئینی و پایداری امولسیون به مقاومت آن در برابر تغییرات ساختاری و تغییراتی که با گذشت زمان روی می‌دهد، گفته می‌شود [٤۸].

اثر pH بر روی خواص امولسیون کنندگی از قانون اثر pH بر حلالیت پروتئین تبعیت می کند. بنابراین حلالیت پروتئین در خواص امولسیون کنندگی آن موثر است [٤۹]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که کنسانتره پروتئینی جلبک قهوه‌ای ظرفیت آمولسیون کنندگی بالاتری (جدول ۱) در pH قلیایی (=۹) (۲٦/۸۳ درصد) در مقایسه با pH اسیدی (=۵)(۲٤/۳٦ درصد) داشت و روند افزایشی معنی‌داری مشاهده شد. در مطالعه Oliyaei و همکاران (۲۰۱۵) [۲۳]، بر روی ترکیبات شیمیایی و ویژگی های عملکردی پروتئین ایزوله شده از فانوس ماهی نشان دادند که ویژگی‌های عملکردی از قبیل ظرفیت حفظ آب، حفظ روغن، خاصیت امولسیون کنندی، کف کنندگی و حلالیت ایزوله‌های پروتئینی با افزایش pH بهبود یافته و پروتئین ایزوله شده در pH ۱۲ نسبت به pH ۱۰ برتری داشت که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد.

Theerakulkart و همکاران (۲۰۰٦) [۲۳] و Ragab و همکاران (۲۰۰٤)[۲۳] افزایشی در ظرفیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون با افزیش pH را مشاهده کردند، که این حالت را به افزایش حلالیت پروتئین‌ها و تشکیل لایه‌های پایدار و ایجاد توازن بین میزان جذب واندروالسی و دافعه نیروهای الکترواستاتیکی در pH های بالاتر نسبت دادند، که با یافته‌های تحقیق حاضر هم خوانی دارد. طبق نظر Keshavarz Hedayati و همکاران (۲۰۱٤) [۲۳و۵۰] قدرت امولسیون‌کنندگی تنها تحت تاثیر افزایش حلالیت پروتئین نیست و عواملی نظیر بار خالص، pH، کشش سطحی، شکل فضایی پروتئین، غلظت نمک و غلظت پروتئین نیز قدرت امولسیون‌کنندگی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. کمترین مقدار ظرفیت امولسیون کنندگی جلبک قهوه‌ای در pH = ۵ مشاهده شد (جدول ۱). کاهش مقدار ظرفیت امولسیون کنندگی در این نقطه به احتمال زیاد ناشی از کاهش حلالیت پروتئین در این نقطه است [۱۸]. ز دیگر دلایل این امر را می‌توان به به افزایش بار خالص پروتئین نسبت داد که واکنش‌های آبگریز را ضعیف کرده و پراکندگی پروتئین را در فضای بین هوا – آب از طریق افزایش حلالیت و انعطاف‌پذیری پروتئین تسریع کرده و با به دام انداختن ذرات هوا، میزان کف کنندگی را افزایش می‌دهد.

لازم به ذکر است که بین ویژگی جذب روغن به عنوان یک فعالیت فیزیکی و خاصیت امولسیون کنندگی به عنوان یک پدیده‌ی فیزیکی تفاوت‌های وجود دارد. در جذب روغن ترکیبات و بیوپلیمرهای موجود در نمونه باعث محبوس شدن و به دام افتادن قطرات روغن در داخل خود می‌شود. در حالی که امولسیون‌کنندگی با ایجاد پیوندهای واندروالسی، یونی، قطبی – قطبی و غیره فاز روغن در فاز آب توسط بیوپلمیرهای چربی دوست – آبدوست درگیری می شود [۵۰].

در تمامی امولسیون‌ها، امولسیون حاصله در دو روز بعد از تشکیل امولسیون روند کاهشی داشته و به صورت خطی مستقیم در آمد. که نشان‌دهنده پایداری تمام امولسیون‌ها بود و شکستگی و از هم پاشیدگی در نمودارها مشاهده نشد. از جمله دلایل این کاهش پایداری می توان به تماس بیشتر بین مولکول‌ها و در نتیجه لخته شدن و به هم پیوستن قطرات روغن به عنوان فاز پراکنده باشد [۵۰]. فاکتورهای متفاوتی نظیر pH، اندازه ذرات، بار خالص، کشش بین سطحی، ویسکوزیته و شکل فضایی پروتئین در پایداری امولسیون موثر هستند [۳۸].

## ٤-٦- ظرفیت کف کنندگی و پایداری کف توسط عصاره پروتئینی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum illicifolium*)

پروتئین‌ها برای ثبات فاز گازی پخش شده به عنوان عامل فعال سطحی اهمیت زیادی دارند. در فرآیند تشکیل کف، مولکول‌های آب اطراف ذرات هوا را که فاز غیر قطبی هستند را احاطه کرده، پروتئین‌ها نیز در سطح مشترک آب – هوا با ایجاد فیلمی چسبنده و مقاوم به تنش‌های داخل مولکولی و خارج مولکولی موجب پایداری کف تولید شده می‌شوند [٤٦]. توانایی تولید کف به انعطاف پذیری پروتئینی که باعث کاهش کشش سطحی می‌شود، وابسته است. کف پروتئین‌ها در اثر ویژگی‌های فعال سطحی حین هم زدن تولید می‌شود [۵۰]. در این پژوهش ظرفیت کف کنندگی در سه pH مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که pH عاملی موثر بر روی ظرفیت کف کنندگی بوده و با افزایش این عامل به ۹، درصد ظرفیت کف کنندگی افزایش یافته است. ظرفیت کف کنندگی بین ۲۵/۹۸ تا ۳۲/۸۱ درصد بود، نسبتاً پایین است. این نتایج بر خلاف یافته Bakhshe Moghaddamو همکاران (۲۰۱۳) بود [۲۱]. در بررسی آنها ایزوله پروتئین نخود تهیه شده به روش اسیدی (pH = ۲/۵) نسبت به روش قلیایی (pH = ۹/۵) قدرت کف کنندگی بالایی داشت همچنین آنها عنوان کردند که پایداری کف یا نیمه عمر در شرایط اسیدی بالاتر بود. ایزوله کردن به روش اسیدی با افزایش حلالیت پروتئین، نفوذ آب را به فواصل بین هوا و آب افزایش داده و تولید و پایداری کف را بهبود می بخشند [۵۲]، که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت دارد. ظرفیت کف کنندگی بیشتر در pH های قلیایی نظیر تحقیق حاضر را می توان به افزایش بار خالص پروتئین نسبت داد که واکنش‌های آب گریزی را تضعیف کرده و با افزایش حلالیت و انعطاف پذیری پروتئین، پراکندگی آن را در فضای بین هوا–آب تسریع کرده و باعث به دام افتادن ذرات هوا شده و در نتیجه میزان کف کنندگی بیشتر می شود. ظرفیت کف کنندگی اندازه گیری بیشترین کف تولید شده توسط یک محلول است در حالی که پایداری کف مقاومت کف نسبت به از بین رفتن را نشان می دهد[٤٩].

با توجه به اینکه در تحقیق حاضر (جدول ۲) بالاترین نیمه عمر کف در pH=۷ با ۷۹/۷٤ دقیقه مشاهده شد،این نتایج با یافته‌های Bakhshe Moghaddam و همکاران (۲۰۱۳) [۲۱] که عنوان کردند، روش قلیایی به دلیل دناتوره شدن پروتئین‌ها و کاهش حلالیت، ظرفیت تولید کف و پایداری آن را نسبت به روش اسیدی را کاهش می‌دهند، مغایرت دارد. Keshavarz Hedayatiو همکاران (۲۰۱٤) [۵۱]، بالاترین نیمه عمر کنسانتره پروتئینی سبوس برنج را ٤۷ و ٤۳/۱۳ دقیقه برای برنج ندا و طارم اعلام کردندو در پژوهش آنها نیز بالاترین نیمه عمر کف در pH= ۷ اندازه‌گیری شد که با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد.

## ۵- نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر نشان داد که پروتئین جلبک قهوه‌ای (*Sargassum illicifolium*) ظرفیت جذب آب و روغن بالایی دارد که امکان استفاده از آن را در فرآورده‌هایی که نیازمند به حفظ رطوبت هستند نظیر انواع فرآورده‌های نانوایی و انواع سس‌ها را که نیاز به حفظ روغن دارند، را ممکن می سازد. همچنین پروتئین جلبک قهوه‌ای دارای ظرفیت کف کنندگی کم ولی با پایداری کف یا نیمه عمر کف بالا بود، که استفاده از پروتئین جلبک قهوه‌ای را به عنوان یک کنسانتره و

یا امکان وارد کردن پروتئین جلبک قهوه‌ای را در فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی را ممکن می‌سازد. نتایج مربوط به بررسی فعالیت ضد میکروبی نشان داد، پروتئین جدا شده دارای اثر مهارکنندگی و ضدمیکروبی علیه پاتوژن شاخص *Ecoli O157.H7* است که این موضوع اهمیت کاربرد این ترکیب را در فرآورده‌های گوشتی و تولید فرآورده‌های بدون نگهدارنده شیمیایی می‌رساند. با توجه به داشتن درصد پروتئین قابل توجه و داشتن خصوصیات عملکردی مناسب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی مناسب و خصوصیت ضدمیکروبی این ترکیب می‌تواند در فرمولاسیون موادغذایی فراسودمند در محصولات پروتئینی بدون گوشت قرمز یا به عنوان جایگزین پروتئین‌های حیوانی استفاده شود.این امر لزوم انجام مطالعات مختلف را در زمینه کاربرد این ترکیب در فرمولاسیون‌های غذایی را پیش از پیش می‌طلبد.

منابع


[1] Jorgensen J, Turnidge J. (2015). Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods, Manual of Clinical Microbiology. 9th edition. 1253-1273.

[2] Tabarsa M, Rezaei M, Ramezanpour Z, Robert Waaland J, Rabiei R. (2012á. Fatty acids, Amino acids, Mineral contents and proximate compositions of some Brown seaweeds.*Journal of Phycology*. 48(2): 285–292.

[3] Jassbi A.M, Mohabati M, Eslami S, Sohrabipour J, Miri R. (2013). Biological Activity and Chemical Constituents of Red and Brown Algae from the Persian Gulf. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(3): 339-348.

[4] Al-Haj N.A, Mashan N.I, Shamsudin M.N, Mohamad H, Varippan C.S, Sekawi Z. (2009). Antibacterial activity in marine algae Eucheumadenitculatum against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *Research Journal of Biological Sciences*. 4(4):519-524.

[5] Ebrahimi N, Moein S, Moein M.R. (2010). Effects of antioxidants, extraction and determination of protein content of ten species of algae in Persian Gulf and Oman Sea. Thesis of Shiraz University of Medical Sciences, Faculty of Pharmacy (In persian).

[6] Heydari M.Z, Zholgharneen H, Sakhaei N, Mirzaie A, Movahedinja AS. (2015). Antioxidant capacity and phenolic content and flavoid compounds of macroalgae in the northern coasts of Persian Gulf in Bushehr province. *Journal of Marine Science and Technology*. 14: 1-10 (In persian).

[7] Mohammadi A, Sha'banpour B, Kordjezi M. (2016). Evaluation of antioxidant and antibacterial activity of Iyengaria stellata brown algae collected from the Gulf coast. Physiology and Aquatic Biotechnology. 50: 43-57 (In persian.)

[8] Masoumi Fard S, Khezri P, Mohammadzadeh Haji Pirlo H, Heshmatian B, Khadem Vatan S, Manafoor N. (2017). The Effect of *Sargassum Oligocystum* Algae Extract on Leishmania Major Parasite in Experimental Environment. *Iranian Journal of Microbiology*. 11 : 82-76 (In persian).

[9] Gharmsere A, Rezaei M, Shveklo A.R, Babakhani Lashkhan A. (2013). Total phenolic and antioxidant activity of Algae (*Hypnea hamulosa*) in Persian Gulf. *Journal of Aquaculture and Aquaculture*. 2: 48-37(In persian).

[10] Sadati N, Khanavi M, Mahrokh A, Nabavi S.M.B, Sohrabipour J, Hadjiakhoondi A. (2011). Comparison of Antioxidant Activity and Total Phenolic Contents of some Persian Gulf Marine Algae. Journal of Medicinal Plants. 37: 73-79.

[11] Mimica-Dukie N, Bugarin D, Grbovie S, Mitic-Culafic D, Vukovic-Gacic B, Orcic D. (2010). Essential oil of Myrtus communisl L. As a potential antioxidant and ant mutagenic. Molecules. 15: (4): 2759-5770.

[12] Gonzalez del Val A, Plants G, Basillio A, Cabello A, Grrochategui J, Suay l. (2010). Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain. *International Journal of Medical Microbiology*. 4(1):35-40 .

[13] Salehi P, Sonboli A, Eftekhar F, Nejad Ebrahimi S, Yosefzadi M. (2005). Essential oil composition ,antibacterial and antioxidant activity of the oil and variousextracts of Ziziphora clinopodioides subs. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 28: 1892-1986.

[14] Torruco-Uco J, Chel-Guerrero L, Martı´nez-Ayala A, Davila-Ortı Z, Betancur-Ancona D. (2009). Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities of protein hydrolysates from Phaseolus lunatus and Phaseolus vulgaris seeds. *LWT - Food Science and Technology*. 42: 1597-1604.

Food Industry Research. 26: 333-343 (In persian.)
[25] Kim S.K., Byun, H.G, Park, P.J, Shahidi F. (2001). Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides purified from bovine skin gelatin hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(6):2992–2997.
[26] Hyun C.K, Shin H.K. (2000). Utilization of bovine blood plasma proteins for theproduction of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides. *Process Biochemistry*. 36(1–2): 65–71.
[27] Matsui T, Matsufuji H, Seki E, Osajima K, Nakashima M, Osajima Y. (1993). Inhibition of angiotensin I-converting enzyme by *Bacillus licheniformis* alkaline protease hydrolyzate derived from sardine muscle. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 57(6): 922–925.
[28] Cabrita M.T, Vale C, Rauter A.P. (2010). Halogenated compounds from marine algae. *Marine Drugs*. 8(8): 2301-2317
[29] Caccamese S, Azzolina R, Furnari G, Cormaci M, Grasso S. (1980). Antimicrobial and antiviral activities of extracts from Mediterranean algae. *Botanica Marina*. 23:285-8.
[30] Caccamese S, Toscana RM, Funari G, Cormaci M. (1985). Antimicrobial and antiviral activities of some marine algae from southern Italy coast. *Botanica Marina*.28(11):505-7.
[31] Masoumi Fard S, Khezri P, Mohammadzadeh Haji Pirlo H, Heshmatian B, Khadem Vatan S, Manafoor N. (2017). The Effect of *Sargassum Oligocystum* Algae Extract on Leishmania Major Parasite in Experimental Environment. *Iranian Journal of Microbiology*. 11 : 82-76 (In persian).
[32] Arman M. (2016). Evaluation of Extract of Some Macro-Algae Species on the Prevention of Growth of Human Pathogenic Bacteria. *Aquatic Ecology Journal*, 6 (2): 100-91 (In persian).
[33] Al-Amoudi O.A, Mutawie H.H, Patel A.V. (2009). Chemical composition and antioxidant activities of *Jeddah corniche* algae, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 16: 23-9.
[34] Zhuang C, Itoh H, Mizuno T. Ito H. (1995). Antitumor active fucoidan from the brown seaweed Umitoranoo (*Sargassum thunbergii*). Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 59: 563– 567.
[35] Sridharan M.C, Dhamotharan R. (2012). Antibacterial activity of marine brown alga *Turbinaria conoides*. *Journal of Chemical*
[15] Mortazavi H, Azammard Damirchi P, Souti M, Mahmoudi R, Safaeian F, Moradi S. (2014). Antimicrobial effects of ethanolic extract of pistachio nuts and pistachio nuts (*Pistacia khinjuk*). *Quarterly journal of food science and technology*. 4: 81-88(In persian).
[16] Sindambiwe J.B, Calomme M, Cos P, Totte J, Pieters L, Vlietinck A. (1999). Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activites. Journal Ethnopharmacol. 65(1),71-77.
[17] Brand-Williams W, Cuvelier M.E, Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 28(1): 25-30.
[18] Asadpour A, Jafari M, Sadeghi Mahounk A, Ghorbani M. (2010). Determination of soluble protein content and water absorption capacity of flour from different beans. Iranian Journal of Science and Technology. 6:186-(In persian.)
[19] Gupta S, Chandi G.K., Sogi D.S. (2008). Effect of extraction temperature on functional properties of rice bran protein concentrates. International Journal of Food Engineering. 66: 103-116.
[20] Vilg J.V, Undeland I. (2017). pH-driven solubilization and isoelectric precipitation of proteins from the brown seaweed *Saccharina latissima* effects of osmotic shock, water volume and temperature. *Journal of Applied Phycology*. 29:585–593
[21] Bakhshe Moghaddam F, Milani A, Mortazavi A, Meshkani M. (2013). Effect of Extraction Methods on Chickpea Protein Isolated Function Properties. *Journal of Food Science and Technology*. 38: 11-20(In persian).
[22] Safaiyan S.H, Guvian Rad M.A, Farzad Manesh S.H. (2011). Changes in chemical elements and minerals of *Padina boergesenii* algae on Qeshm Beach. *Journal of Marine Science and Technology*. 3:93-82 (In persian).
[23] Oliyaei N, Mousavinasab M, Ghorbani M, Sadeghi mahonk A, Maghsodlou C. (2015). Investigation of Chemical Composition and Characteristics of Protein Function Isolated from Lentil Fish (*Benthosema pterotum*) using pH change method. *Iranian Journal of Fisheries Science*. 24: 25-36(In persian).
[24] Amiri Andy M, Motamedzadegan A, Hosseini Parvar H. (2016). Comparison of alkaline and enzymatic methods of extraction in the characteristics and efficiency of hydrolysis of tomato seed protein. Journal of

[45] Boye J.I, Aksay S, Roufik S, Ribéreau S, Mondor M, Farnworth E, Rajamohamed S.H. (2010) . Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International*. 43: 537–546

[46] Yu J, Ahmedna M, Goktepe I. (2007). Peanut proteins concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Journal of Food Chemistry*. 103: 121–129.

[47] Aletor O, Oshodi A.A, Ipinmorotim K. (2002). Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. *Food Chemistry*. 78:63–68.

[48] Liu C, Wang X, Ma H, Zhang Z, Gao W, Xiao L. (2008). Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions. *Food Chemistry*. 111: 29–37

[49] Oladele A.K. J, Aina O. (2007). Chemical composition and functional properties of flour produced from two varieties of tiger nut (*Cyprus esculents*). *African Journal of Biotechnology*. 6(21): 2473-2476.

[50] Asadpour A, Jafari M, Sadeghi Mahounk A, Ghorbani M. (2011). Investigating the capacity of emulsifiers and foliar application and the effect of acidity and ionic strength on these characteristics in flour from different beans. *Iranian Journal of Food Science and Technology*. 7: 80-91 (In persian)..

[51] Keshavarz Hedayati A.S, Alaami, M.T, Zadegan A, Magdalen J, Ghorbani M. (2014). Functional Characteristics of Protein Concentrate of Iranian Rice Bran. *Food Processing and Maintenance Journal*. 60: 17-34(In persian).

[52] Ganapathi K, Subramanian V, Mathan S. (2013). Bioactive Potentials Of Brown Seaweeds, Sargassum Myriocystum J. Agardh S.Plagiophyllum C.Agardh And S.Ilicifolium (Turner). International Research Journal of Pharmaceutical and Applied. 3: 105-111.

*and Pharmaceutical Research*. 4(4): 2292-2294.

[36] Chia-Ling J, Wen-ching K.O. (2002). 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging by protein hydrolyzates from tuna cooking juice. *Fisheries Science*. 68(2):430–5.

[37] Magalhaes L.M, Segundo, M.A, Reis, S, Lima, J.L. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica* Acta.613(1):1-19.

[38] Zahra R, Mehrnaz M, Farzaneh V, kohzad S. (2007). Antioxidant activity of extract from a brown alga, *Sargassum boveanum*. *African Journal of Biotechnology*. 6(24): 2740-2745.

[39] Tang C.H, Peng J, Zhen D.W, Chen Z. (2009). Physicochemical and antioxidant properties of buckwheat (*Fagopyrum esculentum Moench*) protein hydrolysates. *Food Chemistry*. 115(2): 672–687.

[40] Heidary M, Zolgharneen H, Sakhaei N, Mirzaee A, Movahedinia A.S. (2015). Comparison of antiadhetic and anti-bacterial strength of macroalgae on the northern coast. *Iranian Journal of Fisheries Science*. 24: 53-64(In persian).

[41] Lagouri V, Boskou D. (1996). Nutrient antioxidants in origano. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 47:493-497.

[42] Rajesh M, Nagarajan A, Perumal S, Sellamuthu M. (2008). The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of Camellia sinensis, *Ficus bengalensis* and *Ficus racemosa*. *Food Chemistery*.107:1000–1007.

[43] Okezie B.O, Bello A.B. (1988). Physicochemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy Isolate. *Journal of Food Science*. 53: 450-454

[44] Siddiq M, Nasir M, Ravi R, Dolan K.D, Butt M.S. (2009). Effect of defatted maize germ addition on the functional and textural properties of wheat flour. *International Journal of Food Properties*. 12:1–11.

# Protein Extraction from Brown Algae and Evaluation of Functional Properties

**Parsazadeh, M. [1], Khodadadi, M. [2*], Tadayoni, M. [1]**

1. Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahwaz, Iran
2. Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahwaz, Iran

**(Received: 2017/10/27 Accepted:2018/07/27)**

Changing the importance of nutrition has led to an increase in global demand for functional foods and food and drug compounds. In fact, these food products contain compounds that, in addition to nutritional properties, can also benefit from both the prevention and treatment of diseases. Many of the primary and secondary metabolites of these organisms can be converted into active substances of interest to the pharmaceutical industry. Therefore, the aim of this study was to investigate protein extraction from Sargassum illicifolium and its functional Properties. The brown algae was collected in early spring of 1396 at the time of maximum tide from the coasts of Bushehr. Protein extraction was performed by enzymatic hydrolysis. The antimicrobial activity of protein extracted from coffee algae (AP) was investigated by dilution method inEcoli O157.H7 pathogen tube. The antioxidant activity of APPH was evaluated by DPPH. AP functional properties including hydrolysis, water and oil absorption capacity, emulsifier capacity and emulsion stability, foaming capacity and floor stability were measured. Total protein content was 68.15% and protein extraction was 12.31%. The highest percentage of AP hydrolysis was in 60 minutes and was 41.66%. The MIC rate against Ecoli O157 was 3.23 mg / L and MBC was 12.5 mg / L against the same pathogen. The level of antioxidant activity or the ability to neutralize free radicals (DPPH) of AP was 48.08 ± 0.17%. The water absorption capacity of the extract of algae was 4.21 ± 0.44 g / g and the oil absorption capacity was 3.18 ± 1.03 g / g.The emulsion capacity was between 24.36 and 28.37%. The lowest emulsivity capacity was measured on day 7 at 9 pH = (26.83 ± 0.07) and the highest emulsivity capacity was zero at day 9 at pH = 9 (28.34 ± 0.64).The highest foaming capacity and stability of the foam or half-life were at pH = 7 and 29.93 ± 0.20 and 79.74 ± 1.8, respectively. Therefore, due to its favorable technological Properties, antioxidant activity and antimicrobial activity against E.coliO157, the use of AP in the food industry is proposed as a bioactive supplement.

**Keywords:**Protein Extraction, Algae, Functional Properties.

*Corresponding Author E-Mail Address: mjkhodadadi@gmail.com