13 (2) 379-386, Summer 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Extraction, isolation and identification of flavonoids in *Holothuria leucospilota*

Fatemeh Bagherzadeh, Abbas Ali Motalebi *, Seyed Amir Ali Anvar

Food and Environmental Hygiene Department, Faculty of Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Key Words
Sea Cucumber
Flavonoid
Flavylium
Persian Gulf

Abstract

Introduction: Sea cucumber is one of the most important marine invertebrates with many properties, including antimicrobial, antifungal, antiviral, antioxidant, anticancer. These properties are attributed to important compounds such as flavonoids, glycoltropenoids, chondroitin sulfate, amino-glycolic glucose, and fatty acids. The present study was conducted to extract, isolate, and identify flavonoids from *Holothuria leucospilota* species of sea cucumber.

Materials & Methods: Samples of the *H. leucospilota* species of sea cucumber were collected from Hengam Island in Persian Gulf, and once dried, the extract was obtained from their powder. The extraction process involved soaking in 70% methanol solution, filtering with Whatman paper filter, and isolation of the extract in a rotary device. The flavonoids were isolated from the pure extract using silica gel column. The presence of flavonoids in isolated fractions was examined using Thin-Layer Chromatography (TLC) and Gas Chromatography (GC-Mass) techniques.

Result: The color change to dark purple in TLC indicated the presence of flavonoids in the *H. leucospilota* species of sea cucumber. Then, the presence of flavonoids in samples was identified and confirmed through GC-Mass technique. The dry fraction contained 37.47 mg of flavonoids.

Conclusion: The present study results showed that *H. leucospilota* species of sea cucumber is a rich source of Flavylium type of flavonoids, and its antioxidant and anti-radical properties can be examined as a source of medication and food.

* Corresponding Author's email: abbasalimotallebi@gmail.com
Received: 8 May 2020; Reviewed: 21 June 2020; Revised: 16 August 2020; Accepted: 17 September 2020
(DOI): 10.22034/aej.2021.138978

مقاله پژوهشی

استخراج، جداسازی و شناسایی فلاونوئید از خیاردریایی گونه *Holothuria leucospilota*

فاطمه باقرزاده، عباسعلی مطلبی*، سیدامیرعلی انوار

گروه علوم پایه و بهداشت، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

کلمات کلیدی

خیار دریایی
فلانوئید
فلاویلیوم
خلیج فارس

چکیده

مقدمه: خیاردریایی یکی از مهم‌ترین بی‌مهرگان دریایی می‌باشد که دارای خاصیت‌های فراوانی نظیر ضدمیکروبی، ضدقارچی، ضد ویروسی، آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی می‌باشند که این ویژگی‌ها در خیار دریایی به‌دلیل حضور ترکیبات مهمی نظیر فلاونوئیدها، گلیکو ترپنوئید، کندروئیتین سولفات، گلیکوز آمینوگلیکان و اسیدهای چرب ضروری می‌باشد. هدف از این مطالعه، استخراج، جداسازی و شناسایی فلاونوئید از خیاردریایی گونه *Holothuria leucospilota* بود.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های خیار دریایی گونه *H. leucospilota* از جزیره هنگام در خلیج فارس جمع‌آوری شدند. پس از خشک کردن نمونه‌ها، ازپودر نمونه‌ها عصاره‌گیری صورت گرفت. عصاره‌گیری شامل خیساندن در حلال متانول۷۰٪، صاف نمودن با کاغذ صافی واتمن و جداسازی عصاره به‌دست آمده با دستگاه روتاری بود. انتقال عصاره خالص به‌دست آمده برای جداسازی فلاونوئیدها با استفاده ازستون سیلیکاژل انجام گرفت. فرکشن‌های جداشده به‌منظور بررسی حضور فلاونوئیدها با کروماتوگرافی لایه‌نازک(TLC)و کروماتوگرافی گازی (GC-Mass) انجام گرفت.

نتایج: درنتایج کروماتوگرافی لایه‌نازک تغییر رنگ لکه‌ها به‌رنگ بنفش‌تیره نشان‌دهنده وجود فلاونوئید در خیاردریایی گونه *H. leucospilota* بود. سپس شناسایی فلاونوئیدها در نمونه‌ها با کروماتوگرافی گازی(GC-Mass)بررسی و مورد تایید قرار گرفت. فرکشن خشک حاوی فلاونوئید به‌مقدار ۳۷/۴۷ میلی‌گرم بود.

نتیجه‌گیری و بحث: یافته‌های این مطالعه نشان داد که خیاردریایی گونه *Holothuria leucospilota* یک منبع غنی از فلاونوئید از نوع Flavylium است و می‌توان خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی آن را به‌عنوان یک منبع دارویی و غذایی مورد بررسی قرارداد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: abbasalimotallebi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۹ اردیبهشت ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۱ تیر ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۲۶ مرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۲۷ شهریور ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.138978

مقدمه

در سال‌های اخیر مطالعات در ارتباط با جانوران دریایی به‌خصوص بی‌مهرگان به‌طور قابل توجهی افزایش یافته که منجر به شناسایی و استخراج ترکیبات زیست فعال شده است (بشارتی و همکاران، ۱۳۹۵؛ Soltani و همکاران، ۲۰۱۵). این مواد زیست فعال از گروه وسیعی از موجودات دریایی جداسازی شده‌اند که شامل مرجان‌ها، خرچنگ‌ها، زره‌داران یا نیام داران دریایی، خزه‌های دریایی، خارپوستان، ماهی‌ها و اسفنج‌ها است. در این میان خیار دریایی (Sea cucumbers) ازجمله بی‌مهرگان دریایی و متعلق به گروه خارپوستان (Echinodermata) و رده هولوتورین (Holothurian) است که با بدن کشیده، پوست چرب، نرم و بدون اسکلت مشخص دارای دیواره بدن عضلانی می‌باشد (بحرودی و همکاران، ۱۳۹۴؛ قبادیان و همکاران، ۱۳۹۸؛ Foroutan Rad و همکاران، ۲۰۱۶). این جانور به‌طور عمده بین آب‌سنگ‌های مرجانی زندگی کرده اما در بسترهای شنی و گلی هم یافت می‌شوند عمق زندگی آن‌ها متفاوت است، اکثر گونه‌ها در مناطق کم‌عمق زندگی می‌کنند اما تعداد کمی در اعماق اقیانوس‌ها به‌سر می‌برند (مروتی و همکاران، ۱۳۹۰). ۱۵۰۰ گونه خیار دریایی شناخته شده است که ازجمله گونه‌های شناسایی شده در پهنه‌های جزایر خلیج فارس از جنس‌های *Holothuria* و *Stichopus* شامل گونه‌های *Holothuria scabra* *Strichopus hermanni*, *Holothuria leucospilota* می‌باشند. تاکنون فقط بیست گونه هولوتوریده (Holothuroidea) در آب‌های ایران گزارش شده است (رضوانی و همکاران، ۱۳۹۴؛ عطاران و همکاران، ۱۳۹۵؛ Mohammadizadeh و همکاران، ۲۰۱۳). خیار دریایی *Holothuria leucospilota* به‌طور گسترده در مناطق صخره‌ای کم‌عمق زندگی می‌کند (Pangestuti و همکاران، ۲۰۱۸). خیار دریایی از لحاظ ارزش غذایی دارای ترکیبات باارزش و بااثرات مفید مانند پپتیدهای بیولوژیکی، کلاژن‌ها، ژلاتین‌ها ، اسیدهای چرب، اسیدهای آمینه، انواع ویتامین‌ها مانند ویتامین A، ویتامین B1، ریبوفلاوین (B2)، نیاسین (B3) و مواد معدنی به‌خصوص کلسیم، منیزیم، آهن و روی هستند (شکوری و همکاران، ۱۳۹۲؛ جداوی و همکاران، ۱۳۹۴؛ ناظمی و همکاران، ۱۳۹۵؛ Pangestuti و همکاران، ۲۰۱۸). فعالیت‌های زیستی خیارهای دریایی شامل خاصیت ضدسرطانی (Anticancer)، ضدویروس (Antiviral)، ضدانعقاد، ضدفشارخون، ضدالتهاب، ضدمیکروبی، آنتی-اکسیدانی، ضد تصلب شرائین، ضدتومور (Antitumoral) و تسریع در بهبود زخم می‌باشد (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۴؛ سالاری و همکاران، ۱۳۹۶؛ Pringgenies و همکاران، ۲۰۱۳) که در درمان بیماری‌هایی نظیر فشارخون بالا، آسم، روماتیسم، بریدگی و سوختگی، ناتوانی جنسی و یبوست استفاده می‌گردند (ناظمی و همکاران، ۱۳۹۶). به‌طوری‌که مکمل‌های غذایی حاوی عصاره خیار دریایی در حال حاضر در درمان بیماران مبتلا به سرطان در چین، ژاپن، کره و دیگر کشورها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bahrami، ۲۰۱۶). هم‌چنین این جانور حاوی ترکیبات فعال زیستی با خواص درمانی نظیر گلیکوزآمینوگلیکان (Glycosaminoglycans)، کندروئیتین سولفات (Chondroitin Sulfates)، گلیکوزهای تری‌ترپنه (TriterpeneGlycosides)(ساپونین)، فنل (Phenolic) و اسیدهای چرب می‌باشد که آن‌را به یک منبع جذاب زیستی تبدیل کرده است (بهارآرا و همکاران، ۱۳۹۳؛ Soltani وهمکاران، ۲۰۱۴).فلاونوئیدها(Flavonoids)دربرخی‌ازانواع خیارهای دریایی به‌مقدار قابل توجهی‌وجود دارند(Bordbar و همکاران، ۲۰۱۱). فلاونوئیدها متعلق به خانواده پلی‌فنل‌ها هستند که خواص پزشکی آن‌ها به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد و دارای آثار فیزیولوژیک و سودمند متعدد ازجمله کاهش دادن آسیب‌پذیری دیواره مویرگی، آثار آنتی‌اکسیدانی و کاهش دادن استرس اکسیداتیو و آسیب بافتی، کاهش دهندگی فشارخون شریانی، پایین آوردن کلسترول خون و بهبود دادن متابولیسم چربی‌ها است (روغنی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Bakoyiannis و همکاران، ۲۰۱۹). هم‌چنین فلاونوئیدها در فتوسنتز، انتقال انرژی، فعالیت هورمون رشد گیاه و تنظیم‌کننده‌های رشد، کنترل تنفس و فتوسنتز، مورفوژنز و تعیین جنسیت نقش دارند (Mamelona وهمکاران، ۲۰۰۷). تاکنون مطالعات اندکی به‌منظور شناسایی و استخراج فلاونوئیدها از خیار دریایی صورت گرفته است. باتوجه به‌نقش و اهمیت فلاونوئیدها به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مهم وفعالیت‌های ضدمیکروبی، ضدقارچی، ضدحساسیت و ضدالتهاب، محافظت‌کننده کبد، ضدلخته و ضدویروس و از آن‌جایی‌که خیار دریایی دارای خواص مهم غذایی و دارویی زیادی می‌باشد. این مطالعه با هدف شناسایی، جداسازی و استخراج فلاونوئیدها از خیار دریایی گونه *H. leucospilota* صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی خیار دریایی: ۱۲۵ نمونه خیار دریایی گونه *H. leucospilota* (شکل ۱) به وزن تقریبی کل، ۱۳ کیلوگرم در مرداد و شهریورماه ۱۳۹۶ از عمق ۱۵ تا ۲۰ متری شمال جزیره هنگام، واقع در خلیج فارس با موقعیت جغرافیایی ″۵۵′۵۴°۵۵-″۴۰′۵۴°۵۵ شرقی و ″۱۵′۴۱°۲۶-″۴۳′۳۶°۲۶ شمالی که در شمال آن جزایر قشم قرار دارد جمع‌آوری شد (شکل ۱)، سپس در یخ خشک به آزمایشگاه بهداشت و بیماری‌های پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان منتقل شد. برای مشخص نمودن رده‌بندی خیار دریایی در حد جنس و گونه، ویژگی‌های ظاهری خیارهای جمع‌آوری شده بررسی و با استفاده از کلید شناسایی موجود ازجمله کلید شناسایی خیارهای دریایی سازمان خواربار و کشاورزی جهانی FAO (FAO، ۲۰۱۲) Commercially important sea cucumbers of the world مطابقت

داده شد تا جنس و گونه نمونه مورد نظر مشخص شود (رضوانی و همکاران، ۱۳۹۴؛ قبادیان و همکاران، ۱۳۹۸).

جداسازی، تهیه پودر و عصاره گیری: ابتدا نمونه‌ها با آب مقطر شستشو داده شدند تا آب دریا و نمک اضافی آن جدا شد. سپس از مخرج به‌سمت دهان به‌صورت طولی برش داده شدندو پس از تخلیه حفره‌شکمی، نمونه‌ها شسته شدند. سپس عضلات دیواره بدن با قیچی در اندازه‌های یک سانتی‌متری بریده شدند (شکل ۲). نمونه‌های برش داده شده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. نمونه‌ها پس از خروج از فریزر و انجمادزدایی به‌مدت ۴۸ ساعت در دستگاه فریزدرایر جهت خشک کردن و گرفتن رطوبت اضافی آن‌ها در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

شکل ۱: محل نمونه‌برداری که با علامت قرمز مشخص شده است (الف)، نمونه خیار دریایی گونه *H.leucospilota* (ب)

شکل ۲: برش‌های خیار دریایی *H. leucospilota*

بعد از آن‌که نمونه‌ها خشک شدند، جهت افزایش سطح تماس ماده خشک با حلال‌های آلی، برای به‌دست آوردن بیش‌ترین میزان عصاره جهت انجام آزمایش‌ها، نمونه‌های خشک شده با استفاده از آسیاب به‌صورت پودر درآورده شدند. از دیواره بدن ۱۳ کیلوگرم خیار دریایی حدود ۱۴۰۰ گرم پودر به‌دست آمد. عصاره‌گیری با استفاده از حلال متانول ۷۰٪ انجام گرفت و با روش خیساندن انجام شد. ابتدا ۶۰۰ گرم نمونه‌های پودر شده به ارلن حاوی ۲۰۰۰ سی‌سی حلال متانول ۷۰٪ مرک منتقل گردید و با استفاده از پنبه و پارافیلم سر آن را به‌خوبی محکم کرده و به‌مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه به دور از تابش نور خورشید در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌منظور جداسازی ترکیبات طبیعی قرار گرفتند. پس از ۷۲ ساعت محلول به‌دست آمده را با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ (۱۴۴۲ ۱۲۵) صاف کرده تا ذرات

معلق‌خیار دریایی از آن جداشده و آن‌چه باقی‌ماند، حلال متانول-آب و ترکیبات آلی موجود در نمونه بود. عصاره به‌دست آمده به دستگاه روتاری (Heidolph, Laborot۴۰۰۰) منتقل گردید تا تحت فشارکم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گرادو دور ۱۴۵، حلال آن تبخیر و جدا گردد و تنها عصاره خالص باقی ماند (ناظمی و همکاران، ۱۳۹۵؛ ناظمی و همکاران، ۱۳۹۶؛ Bordbar و همکاران، ۲۰۱۱؛ Ceesay و همکاران، ۲۰۱۷؛ Esmat و همکاران، ۲۰۱۳).

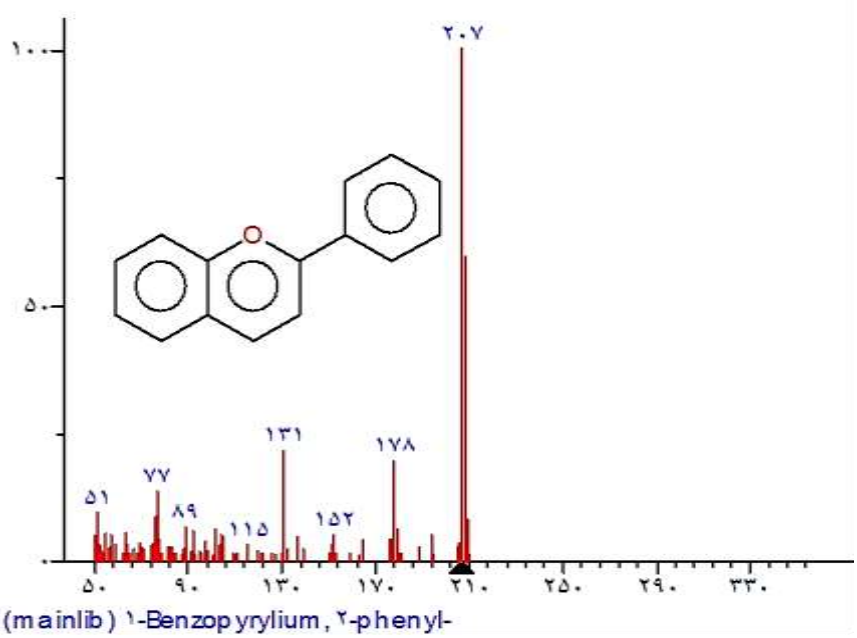
جداسازی فلاونوئیدها: عصاره‌خشک متانولی تهیه شده به وزن ۱۲۰/۵۱گرم از دیواره‌عضلانی خیار دریایی به‌شرح زیر برای جداسازی ترکیبات طبیعی با استفاده از ستون سیلیکاژل منتقل شدند. یک ستون شیشه‌ای به ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر با قطر داخلی ۴ سانتی‌متر را با جسم جامد فعالی(فازساکن) پودرسیلیکاژل مخصوص کروماتوگرافی ۶۰ (۱۰۷۷۳۴۱۰۰۰) با اندازه (۰/۲ -۰/۰۶ میلی‌متر) و یک حلال بی اثر مانند ان هگزان به‌عنوان فاز متحرک پر شد. این کار به آرامی صورت می‌گیرد تا تمام فضای آن با سیلیکاژل پر شود و فضای خالی نداشته باشد تا زمانی‌که ۲/۳ ستون پر شود (Ceesay و همکاران، ۲۰۱۷؛ Esmat و همکاران، ۲۰۱۳). ابتدا ۱۰ گرم ازعصاره متانول-آب تغلیظ شده روی‌ستون‌سیلیکاژل قرارگرفت وسپس به‌منظور جداسازی اجزای تشکیل‌دهنده، آن ستون با حلال کاملا غیرقطبی ان هگزان خالص شستشو داده شد. بعد قطبیت حلال شوینده با اتیل استات افزایش یافت و از سیستم حلالی ان هگزان- اتیل استات (۴۵:۵)، (۴۰:۱۰)،(۳۵:۱۵)،(۳۰:۲۰)، (۲۵:۲۵)،(۲۰:۳۰)،(۱۵:۳۵)، (۱۰:۴۰)، (۵:۴۵)، (۰:۵۰) استفاده شد و در نهایت به‌منظور جداسازی کامل ترکیبات، ستون با سیستم حلالی اتیل استات: ان بوتانول با نسبت (۴۵:۵)، (۴۰:۱۰)، (۳۵:۱۵)، (۳۰:۲۰)، (۲۵:۲۵)، (۲۰:۳۰)، (۱۵:۳۵)، (۱۰:۴۰)، (۵:۴۵) و (۰:۵۰) شستشو داده شد. حجم حلال‌هایی که در هر نوبت اضافه می‌گردید ۵۰ میلی‌لیتر و حجم اجزای جمع‌آوری شده ۱۰ میلی‌لیتر بود. در نهایت ۱۱۰ فرکشن ده میلی‌لیتری به‌دست آمد. فرکشن‌های جدا شده به‌منظور بررسی حضور فلاونوئیدها با کروماتوگرافی لایه نازک استفاده شد (Ceesay و همکاران، ۲۰۱۷؛ Esmat و همکاران، ۲۰۱۳). در این مطالعه مقدار فلاونوئید موجود در خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* از طریق دو روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و کروماتوگرافی گازی (GC-Mass) استخراج شد(Ceesay و همکاران، ۲۰۱۷؛ Esmat و همکاران، ۲۰۱۳).

شناسایی فلاونوئید با کروماتوگرافی لایه نازک (TLC): به منظور تشخیص حضور فلاونوئید در فرکشن‌های استخراج شده حاصل از ستون‌گذاری، نمونه‌ها روی‌صفحات آلومینیومی(۲۰×۲۰ سانتی‌متر) پوشیده شده از یک لایه سیلیکاژل ۶۰ F_{254} (۱۰۵۵۵۴۰۰۰۱) به‌عنوان فاز ثابت با استفاده از پیپت قرار داده شد و به‌منظور خشک شدن، چند دقیقه در معرض هوا قرار گرفت. سپس صفحات درون تانک کروماتوگرافی که با کلروفرم: متانول: آب (۷:۱۳:۸) (به‌عنوان فاز متحرک) اشباع شده بود، قرار داده شد. مقدار حلال باید آن‌قدر باشد که فقط به سطح زیر لکه برسد. هنگامی‌که سیستم حلال به خط بالایی کاغذ رسید، کاغذ TLC را از درون تانک خارج نموده و در دمای اتاق خشک نموده. برای ظهور لکه‌های فلاونوئید، صفحات TLC پس از خشک شدن با معرف سولفوریک اسید و وانیلین به شکل محلول ۵ درصد سولفوریک اسید در اتانول و محلول ۱ درصد وانیلین در اتانول اسپری شدند. در نهایت صفحات به‌مدت ۱۵ دقیقه در آون با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا رنگ لکه‌ها در نور مرئی آشکار گردد. با مشاهده رنگ بنفش تیره به وجود احتمالی فلاونوئید در فرکشن پی برده شد (Bordbar و همکاران، ۲۰۱۱؛ Mamelona و همکاران،۲۰۰۷؛Ceesayوهمکاران،۲۰۱۷؛Esmat وهمکاران، ۲۰۱۳)

شناسایی فلاونوئید با کروماتوگرافی گازی (GC-Mass): نمونه‌ای از ترکیب جداشده (فرکشن شماره ۳۰ (ان هگزان ۲۰: اتیل استات ۳۰) و فرکشن شماره ۴۵ (ان هگزان ۱۰: اتیل استات ۴۰)) به آزمایشگاه معاونت‌غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی بندرعباس ارسال شد تا با دستگاه‌کروماتوگرافی گازی (GC-Mass)، با غلظت ۰/۰۰۰۰۱ مورد شناسایی قرار گیرد و مشخصات دستگاه در زیر آورده شده است: دستگاه گاز کروماتوگرافی (مدل Agilent7000 Series Triple Quad GC/MS MainFrame، گاز کریر هلیوم ۹۹/۹۹ درصد، دکتور5975C، ستون: Part number 19091s-436، طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر).

نتایج

طبق نتایج TLC و کروماتوگرافی گازی (GC-Mass) فلاونوئید نوع Flavylium با کیفیت ۸۹/۶۲۸ درصد با مشخصات زیرشناسایی شد و در نهایت فرکشن خشک حاوی فلاونوئید به‌مقدار ۳۷/۴۷ میلی‌گرم استخراج شد.



Name: 1-Benzopyrylium, 2-phenyl-
Formula: $C_{15}H_{11}O$
Synonyms:
1. Flavylium
2. Flavonidin
3. 2-Phenyl-1-benzopyrylium

شکل ۳: مشخصات فلاونوئید شناسایی شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC-Mass)

بحث

ترکیبات فنولی یک گروه متابولیت‌های ثانویه آروماتیک هستند و تاثیرات بیولوژیکی متعددی چون فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک عمدتاً به علت ویژگی‌های اکسایش- کاهش و ساختار شیمیایی آن‌هاست که نقش مهمی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، احاطه کردن فلزات انتقالی و فرونشاندن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه گانه از طریق تغییر مکان یا تجزیه پراکسیدها دارند. این ویژگی‌ها با تاثیرات مفید آنتی‌اکسیدان‌های فنولیک بر روی سلامت در ارتباط است (Ceesay و همکاران، ۲۰۱۷). فلاونوئید یکی از مشتقات فنل است که در ارتباط با کاهش ریسک بسیاری از بیماری‌های مزمن از قبیل سرطان موثرند زیرا آن‌ها فعالیت بسیار قوی آنتی‌اکسیدانی دارند (دیبا و همکاران، ۱۳۹۶؛ Pangestuti و همکاران، ۲۰۱۸). بیش‌تر اثرات حفاظتی پلی فنل‌ها و فلاونوئیدها در سیستم‌های بیولوژیکی به توانایی‌های آنتی اکسیدانی آن‌ها، ظرفیت انتقال الکترون‌ها، کاهش پراکسیداسیون هیدروژن، فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش رادیکال‌های آلفا- توکوفرول و جلوگیری از اکسیداز نسبت داده می‌شوند (Esmat و همکاران، ۲۰۱۳). فلاونوئیدها هر چند که ترکیبات مغذی نیستند اما تاثیر مثبتی بر حفظ سلامتی بدن دارند (فضلی و همکاران، ۱۳۹۲) این ترکیبات به‌طور مستقیم باعث مهار مولکول‌های فعال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسل و پراکسیل می‌گردند (فرجامی و همکاران، ۱۳۹۳). این دسته از ترکیبات با داشتن خواص بیولوژیک می‌توانند نقش مهمی در نگه‌داری محصولات غذایی و حفظ سلامتی ایفا نمایند (سالاری و همکاران، ۱۳۹۷). اجزای بیواکتیو خیار دریایی گونه شامل تری‌ترپن‌ها(ساپونین)،فنل‌ها،فلانوییدها و ترکیبات کاروتنوئیدها مانند β-carotene, β-echinenone Canthaxanthin, Phoenicoxanthin, Astaxanthin, Lutein, zeaxanthin, Diatoxanthin و غیره می‌باشد (Pangestuti و همکاران، ۲۰۱۸). فنل‌ها و فلانوئید در خیارهای دریایی گونه‌های (*Holothuria leucospilota*، *Holothuria scabra*، *Stichopus chloronotus*, *Cucumaria frondosa*) شناسایی شده‌اند (Esmat و همکاران، ۲۰۱۳). هدف از این مطالعه استخراج، جداسازی و شناسایی فلاونوئیدها از خیار دریایی گونه *H. leucospilota* بود. در مطالعه حاضر پس از بررسی عصاره‌های به‌دست آمده از نمونه‌ها با کروماتوگرافی لایه نازک و کروماتوگرافی گازی (GC-Mass) وجود فلاونوئید Flavylium (1-Benzopyrylium, 2-phenyl) با کیفیت ۸۹/۶۲۸ درصد نشان داده شد. هم‌چنین در مطالعه حاضر فرکشن خشک حاوی فلاونوئید به‌مقدار ۳۷/۴۷ میلی‌گرم استخراج شد. که در مطالعه دیبا و همکاران (۱۳۹۵) که به‌منظور بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی خیار دریایی در دو حالت خشک (آبدهی شده) و تازه انجام گرفت میزان فنل به‌روش فولین سیو کالتو و میزان فلاونوئید به‌روش نورسنجی کلرید آلومینیوم و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان با استفاده از DPPH سنجیده شد نتایج نشان داد که میزان فلاونوئید در نمونه تازه برابر با ۳/۸۶± و در نمونه آبدهی ۵/۰۲± میلی‌گرم کوئرستین در گرم نمونه خشک بود اما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج یک مطالعه که به‌منظور شناسایی ترکیبات فنلی عصاره خیار دریایی گونه با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و ارزیابی حفاظتی آن

در برابر فیبروز کبدی در موش‌های صحرایی صورت گرفت یافته‌های مطالعه حضور برخی از اجزای فنولی مانند اسیدکلروژنیک، پیروگالول، روتین، اسیدکوماریک، کاتچین و اسیدآسکوربیک را نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فعال فنولی که از فعالیت پتانسیل محافظتی در برابر آسیب‌های کبدی را ثابت کرد (Esmat و همکاران، ۲۰۱۳). در مطالعه شادی و همکاران (۱۳۹۷) ترکیبات فنولی خیار دریایی گونه *H. leucospilota* مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن‌ها نشان داد که این گونه خیار دریایی دارای ترکیبات زیست فعال ضد اکسیدانی می‌باشد. Mamelona و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیقی به منظور تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر روی خیار دریایی گونه *Cucumaria frondosa* نشان داد که فلاونوئیدها استخراج شده از این خیار دریایی می‌توانند به‌عنوان منبع مفید آنتی‌اکسیدان‌ها باشند که یافته‌های مطالعه اخیر را در آنتی‌اکسیدان بودن فلاونوئیدها تایید می‌کند. نتایج مطالعه Ceesay و همکاران (۲۰۱۹) حاکی از آن بود که درخیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* فنل‌ها، فراوان‌ترین ترکیبات‌فعال زیستی را تشکیل می‌دهند که‌دارای خواص ضدمیکروبی، ضدسرطان و آنتی‌اکسیدان می‌باشند که یافته‌های مطالعه اخیر را در خاصیت ضدمیکروبی بودن خیار دریایی تایید می‌کند هرچند که گونه مطالعه اخیر با مطالعه مذکور یکی نمی‌باشد.مطالعات متعددی خواص خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* را بررسی کرده‌اند. نتایج مطالعه ناظمی و همکاران (۱۳۹۶) نشان داد که ترکیب لانوسترول استخراج شده از عضله خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* دارای اثرات سیتوتوکسیک بسیار قوی است. در دیگر مطالعه ناظمی و همکاران (۱۳۹۵) خواص ضدباکتری عصاره متانولی استخراج شده از خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* نشان داده شد. در مطالعه جمالی و همکاران (۱۳۸۸) مقدار فنل، فلاونوئید، فعالیت آنتی اکسیدان و تجزیه تقریبی خیار دریایی گونه *Holothuria parva* مورد اندازه‌گیری قرار گرفت که وجود فنل و فلاونوئید را در خیار دریایی گونه *Holothuria parva* را نشان داد که یافته‌های مطالعه اخیر را تایید می‌کند. هم‌چنین مطالعات مختلفی که بروی گونه‌های مختلف خیار دریایی در ایران صورت گرفته است فعالیت‌های ضدباکتریایی (جمالی و همکاران، ۱۳۸۸؛ پیشه‌وردزاد و همکاران، ۱۳۹۳؛ ناظمی و همکاران، ۱۳۹۶)،آنتی‌اکسیدانی (صالحی و همکاران، ۱۳۹۶؛ جمالی و همکاران، ۱۳۸۸؛ عزیزیان و همکاران، ۱۳۹۶) و سیتوتوکسیک (ناظمی و همکاران، ۱۳۹۶؛ جمالی و همکاران، ۱۳۸۸؛ عزیزیان و همکاران، ۱۳۹۷؛صالحی و همکاران، ۱۳۹۶) آن را نشان‌داده است. در مطالعه پیشه‌ورزاد و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد برخی از فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های زیستی گونه‌های خیار دریایی *H. leucospilota* و *Holothuria parva* وجود دارد به‌طوری‌که خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های (ان- هگزانی، اتیل استاتی و متانولی) در خیار دریایی *H. leucospilota* نشان داده شد. نتایج یک پژوهش که به‌منظور بررسی اثرات آنتی‌اکسیدان و پروآپوپتوتیک ساپونین‌های خیار دریایی جدا شده از گونه *H. leucospilota* نشان داد که این گونه خیار دریایی می‌تواند به‌عنوان عامل آنتی‌اکسیدانی و ضدتومور عمل کند (Soltani و همکاران، ۲۰۱۵). نتایج مطالعه نشان داد که نوع فلاونوئیدی که ازخیاردریایی گونه *H. leucospilota* استخراج وبه‌دست آمد فلاونوئید 1-Benzopyrylium, 2-phenyl- با فرمول شیمیایی $C_{15}H_{11}O$ می‌باشد. با این‌حال به جرات می‌توان گفت که مطالعات بسیار کمی به‌منظور شناسایی نوع فلاونوئید موجود در خیارهای دریایی صورت گرفته و از آن‌جایی‌که خواص‌آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها به اثبات رسیده است به‌طوری‌که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که باعث افزایش‌قدرت‌آنتی‌اکسیدان‌های‌پلاسماو کاهش‌ابتلا به‌بعضی بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و سکته مغزی می‌شود. لذا مطالعات و تحقیقات به‌منظور شناسایی نوع فلاونوئیدهای موجود در خیارهای دریایی و اثرات آنتی‌اکسیدانی آن‌ها مورد نیاز می‌باشد.

منابع

۱. **ابراهیمی، ه.؛ محبی، غ.؛ وزیری‌زاده، ا.؛ نبی‌پور، ا. و نفیسی بهابادی، م.، ۱۳۹۴.** خیار دریایی، اقیانوس ترکیبات فعال زیستی. طب جنوب. دوره ۳، شماره ۱۸، صفحات ۶۶۴ تا ۶۷۹.

۲. **بشارتی، س. و خدابنده، ص.، ۱۳۹۵.** خاصیت‌ضدانعقادی‌پروتئین هیدرولیز شده عضله خیار دریایی *Holothuria parva*. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران. دوره ۱۴۵، شماره ۲۶، صفحات ۳۷۱ تا ۳۷۶.

۳. **بحرودی، س.؛ نعمت‌الهی، م.ع.؛ آقاصادقی، م.ر.؛ ناظمی، م.؛ بحرودی، م. و بهروز، ب.، ۱۳۹۴.** اثر عصاره متانولی دیواره بدن خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* روی ویروس HIV-1 در محیط آزمایشگاهی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان. دوره ۴، شماره ۱۷، صفحات ۱۲۵ تا ۱۳۱.

۴. **بهارآرا، ج.؛ امینی، ا.؛ نامور، ف. و سلطانی، م.، ۱۳۹۳.** اثر عصاره الکلی خیار دریایی گونه خلیج‌فارس بر تمایز اوستئوژنیک و آدیپوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان موش صحرایی. مجله سلول و بافت. دوره ۵، شماره ۳، صفحات ۲۷۳ تا ۲۸۰.

۵. **پیشه‌ورزاد، ف.؛ یوسف‌زادی، م.؛ کامرانی، ا.؛ معینی‌زنجانی، ت.؛ علی‌احمدی، آ. و کشاورز، م.، ۱۳۹۳.** خواص آنتی اکسیدانی عصاره‌های دو گونه خیار دریایی خلیج فارس *Holothuria parva* و *Holothuria leucospilota*. مجله بوم شناسی آبزیان. دوره ۱، شماره ۴، صفحات ۲۹ تا ۳۴.

۶. **جداوی، ن.؛ وزیری، س.ع.؛ نبی‌پور، ا.؛ جعفری‌نصر، م.ر. و محبی، غ.، ۱۳۹۴.** ویژگی‌های چربی و پروفایل اسیدهای چرب

موجود در خیار دریایی *Holothuria Scabra* به‌دست آمده از سواحل استان بوشهر- ایران. طب جنوب. دوره ۵، شماره ۱۸، صفحات ۹۹۲ تا ۱۰۰۶.

۷. **جمالی، س.؛ امتیازجو، م.؛ تیموری‌طولابی، ل.؛ زینلی، س.؛ کی‌پور، س.؛ سرداری، س.؛ رمضانی، ع. و آزرنگ، پ.، ۱۳۸۸.** اثر ضدباکتریایی عصاره‌های طبیعی خیار دریایی خلیج فارس *Holoturia*. sp بر سه سویه از باکتری اشرشیاکلی. نشریه پژوهش‌های آسیب‌شناسی زیستی. دوره ۲، شماره ۱۲، صفحات ۳۷ تا ۴۹.

۸. **دیبا، گ.؛ جمیلی، ش. و رمضانی‌فرد، ا.، ۱۳۹۵.** بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی خیار دریایی *Holothuria parva* در دو حالت خشک (آبدهی شده) و تازه. مجله علمی شیلات ایران. دوره ۴، شماره ۲۵، صفحات ۷۷ تا ۸۶.

۹. **رضوانی، ف.؛ سالارزاده، ع. و محمدی‌زاده، ف.، ۱۳۹۴.** زیست شناسی چرخه تولیدمثل خیار دریایی *Holothuria scabra* در سواحل شمالی جزیره قشم، خلیج فارس. مجله بوم شناسی آبزیان. دوره ۲، شماره ۵، صفحات ۴۹ تا ۵۶.

۱۰. **روغنی، م.؛ بلوچ‌نژادمجرد، ت. و امیری، خ.، ۱۳۸۹.** بررسی اثر ضد دردی تجویز دراز مدت فلاونوئید هسپرتین در موش صحرایی دیابتی: شواهد رفتاری. نشریه پژوهش‌های آسیب‌شناسی زیستی. دوره ۲، شماره ۱۳، صفحات ۱۱ تا ۲۱.

۱۱. **سالاری، ز.؛ سوری‌نژاد، ا.؛ ناظمی، م. و یوسف‌زادی، م.، ۱۳۹۶.** بررسی کیفی ساپونین استخراج شده از خیار دریایی خلیج فارس گونه *Stichopus hermanni*. نشریه علمی فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. دوره ۵، شماره ۱، صفحات ۲۱ تا ۳۶.

۱۲. **سالاری، ز.؛ سوری‌نژاد، ا.؛ ناظمی، م. و یوسف‌زادی، م.، ۱۳۹۷.** بررسی فعالیت ضدباکتریایی ساپونین استخراج‌شده از خیار دریایی گونه *Stichopus hermanni* جمع‌آوری شده از خلیج فارس. مجله علمی شیلات ایران. دوره ۱، شماره ۲۷، صفحات ۵۹ تا ۶۹.

۱۳. **شادی، ا. و عبادی، خ.، ۱۳۹۷.** مقایسه ویژگی ضداکسیدانی بافت تر و خشک خیار دریایی *Holothuria leucospilota*، فصلنامه محیط زیست جانوری. دوره ۱۰، شماره ۳، صفحات ۴۷۱ تا ۴۷۶.

۱۴. **شکوری، آ. و نعمت‌پورکوجل، ف.، ۱۳۹۲.** بررسی توجیه اقتصادی پرورش خیار دریایی در منطقه خلیج چابهار. مجله علمی شیلات ایران. دوره ۶۶، شماره ۳، صفحات ۳۰۷ تا ۳۱۶.

۱۵. **صالحی، ز.؛ اقاکوچک‌افشاری، س.؛ رضایی، س.؛ محمدپور، س. و خداویسی، ص.، ۱۳۹۶.** مروری بر فعالیت‌های ضدمیکروبی مشتقات فلاونوئیدها. نشریه تعالی بالینی. دوره ۲، شماره ۶، صفحات ۱۲ تا ۲۱.

۱۶. **عزیزیان‌شرمه، ا.؛ طاهری‌زاده، م.؛ ولی‌زاده، م. و قاسمی، ع.، ۱۳۹۶.** بررسی فعالیت‌های ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و تعیین محتوای فنلی و فلاونوئیدی کل عصاره‌های پنج گونه از تیره‌های مختلف گیاهان دارویی رشد یافته در استان سیستان و بلوچستان. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا. دوره ۴، شماره ۷، صفحات ۴۶۵ تا ۴۷۹.

۱۷. **عطاران‌فریمان، گ.؛ طاهری، ع. و برزکار، ن.، ۱۳۹۵.** ارزیابی کلاژن دیواره بدن خیار دریایی گونه *Stichopus horrens* خلیج چابهار و ژلاتین حاصل از آن. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران. دوره ۵۲، شماره ۱۳، صفحات ۷۹ تا ۸۹.

۱۸. **فرجامی، ب.؛ نعمت‌اللهی، م.ع.؛ مرادی، ی.؛ ایراجیان، غ. و ناظمی، م.، ۱۳۹۳.** بررسی اثر ضد باکتری عصاره‌های استخراج شده از خیار دریایی خلیج فارس (*Holothuria leucospilota*) بر *Escherichia coli*. مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران. دوره ۱، شماره ۸، صفحات ۲۷ تا ۳۳.

۱۹. **فضلی، ر.؛ نظرنژاد، ن.؛ ابراهیم‌زاده، م.ع. و ذبیح‌زاده، س.م.، ۱۳۹۲.** ارزیابی میزان فنل و فلاونوئید تام و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست درختان راش و بلوط. نشریه ارمغان دانش. دوره ۲، شماره ۱۸، صفحات ۱۳۷ تا ۱۴۵.

۲۰. **قبادیان، ف.؛ ذوالقرنین، ح.؛ سالاری، م.ع.؛ نبی‌پور، ا. و وزیری زاده، ا.، ۱۳۹۸.** شناسایی مورفولوژیک و مولکولی گونه غالب خیار دریایی در منطقه اولی (خلیج فارس-استان بوشهر) و آنالیز برخی ترکیبات دیواره بدن آن. فصلنامه محیط زیست جانوری. دوره ۱۱، شماره ۳، صفحات ۳۶۳ تا ۳۷۸.

۲۱. **مروتی، ح.؛ قبادیان، ف.؛ سواری، ا.؛ نبوی، س.م.ب. و ذوالقرنین،ح.، ۱۳۹۰.** مطالعه ساختار ماکروسکوپی و میکروسکوپی غده جنسی خیار دریایی *Holothuria leucospilota*. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۶، شماره ۳، صفحات ۲۳۹ تا ۲۴۵.

۲۲. **ناظمی، م.؛ مرادی، ی.؛ گذری، م.؛ لکزایی، ف. و کریم‌پور، م.، ۱۳۹۵.** بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های متانولی و آبی دیواره بدن خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* روی برخی باکتری‌های بیماری‌زای انسانی. مجله پزشکی بالینی ابن سینا. دوره ۱، شماره ۲۳، صفحات ۷۵ تا ۸۲.

۲۳. **ناظمی، م.؛ تمدنی‌جهرمی، س.؛ سالاری، ز. و گذری، م.، ۱۳۹۵.** بررسی و مقایسه فعالیت ضدباکتریایی عصاره متانولی خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* و اسفنج گونه *Furcata niphates* جزیره هنگام خلیج‌فارس. زیست‌شناسی دریا. دوره ۴، شماره ۸، صفحات ۶۵ تا ۷۲.

۲۴. **ناظمی، م.؛ غفاری، ه.؛ مرتضوی، م.ص.؛ احمدی‌طبا، م.ع. و آقاصادقی، م.ر.، ۱۳۹۶.** اثرات سیتوتوکسیک ترکیب لانوسترول استخراج شده از خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* از جزیره هنگام، خلیج فارس، نشریه علمی فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. دوره ۵، شماره ۴، صفحات ۴۱ تا ۵۵.

25. **Bahrami, Y. and Franco, C., 2016.** Acetylated triterpene glycosides and their biological activity from holothuroidea reported in the past six decades. Marine drugs. Vol. 14, No. 8, pp: 147.

26. **Bakoyiannis, I.; Daskalopoulou, A.; Pergialiotis, V. and Perrea, D., 2019.** Phytochemicals and cognitive health: Are flavonoids doing the trick? Biomedicine & Pharmacotherapy. Vol. 109, pp: 1488-1494.

27. **Bordbar, S.; Anwar, F. and Saari, N., 2011.** High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods, a review. Marine drugs. Vol. 9, No. 10, pp: 1761-1805.

28. **Ceesay, A.; Nor Shamsudin, M.; Aliyu-Paiko, M.; Ismail, IS.; Nazarudin, MF. and Mohamed Alipiah, N., 2019.** Extraction and Characterization of Organ Components of the Malaysian Sea Cucumber *Holothuria leucospilota* Yielded Bioactives Exhibiting Diverse Properties. BioMed research international.

29. **Esmat, A.Y.; Said, M.M.; Soliman, A.A.; El-Masry, K.S. and Badiea, E.A., 2013.** Bioactive compounds, antioxidant potential, and hepatoprotective activity of sea cucumber (*Holothuria atra*) against thioacetamide intoxication in rats. Nutrition. Vol. 29, No. 1, pp: 258-267.

30. **Foroutan-Rad, M.; Khademvatan, S.; Jasem; S. and Hashemitabar, M., 2016.** *Holothuria leucospilota* extract induces apoptosis in Leishmania major promastigotes. Iranian journal of parasitology. Vol. 11, No. 3, pp: 339-349.

31. **Mamelona, J.; Pelletier, E.; Girard-Lalancette, K.; Legault, J.; Karboune, S. and Kermasha, S., 2007.** Quantification of phenolic contents and antioxidant capacity of Atlantic sea cucumber, Cucumaria frondosa. Food Chemistry. Vol. 104, No. 3, pp: 1040-1047.

32. **Mohammadizadeh, F.; Ehsanpor, M.; Afkhami, M.; Mokhlesi, A.; Khazaali, A. and Montazeri, S., 2015.** Evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic effects of *Holothuria scabra* from the North Coast of the Persian Gulf. Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology. Vol. 23, No. 4, pp: 225-229.

33. **Pangestuti, R. and Arifin, Z., 2018.** Medicinal and health benefit effects of functional sea cucumbers. Journal of traditional and complementary medicine. Vol. 8, No. 3, pp: 341-351.

34. **Pringgenies, D., 2013.** Antibacterial activity of sea cucumbers harvested from Karimunjawa. Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology. Vol. 8, No. 2, pp: 87-94.

35. **Soltani, M.; Parivar, K.; Baharara, J.; Kerachian, M.A. and Asili, J., 2015.** Putative mechanism for apoptosis-inducing properties of crude saponin isolated from sea cucumber (*Holothuria leucospilota*) as an antioxidant compound. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. Vol. 18, No. 2, pp: 180-187.

36. **Soltani, M.; Parivar, K.; Baharara, J.; Kerachian, M.A. and Asili, J., 2014.** Hemolytic and cytotoxic properties of saponin purified from *Holothuria leucospilota* sea cucumber. Reports of biochemistry & molecular biology. Vol. 3, No. 1, pp: 43-50.