

Evaluation of Antioxidant Properties of Brown Algae (*Sargassum Glaucescens*) Extract and Optimization of Extraction of Its Antioxidant Compounds with Artificial Neural Network

Afreh Nosrati¹, Ali Taheri²*, Chekavak Khajeh-Amiri³

¹ MSc. Student of Fish Processing Technology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

² Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

³ Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

Received: 15 May 2021 Accepted: 2 July 2021

Abstract

Background and Aim: Marine algae is one of the best sources of bioactive substances. In the present study, optimization of effective factors (time, temperature and solvent concentration) on the extraction of antioxidant compounds of extract of brown algae *Sargassum glaucescens* in Chabahar beaches with the artificial neural network was conducted.

Methods: *Sargassum* algae was extracted with methanol at three times (1, 3 and 5 hours), three temperatures (24, 47 and 70 °C) and three concentrations (60, 80 and 100%). DPPH free radical scavenging activity method was used to evaluate its antioxidant properties. Total phenolic compounds were measured according to the standard method. Artificial neural networks (multilayer perceptron with hyperbolic tangent function) with 1 latent layer and 5 neurons were used to optimize the extraction of antioxidant compounds from *sargassum* algae extract.

Results: The amount of total phenolic compounds in the extract of *Sargassum* algae was 3.2±0.56 mg GAE/g extract. The artificial neural network predicted the antioxidant properties of *sargassum* algae with a coefficient of determination of $R^2=0.9439$ and Root mean square error (RMSE) of 1.465654. A positive and significant correlation was observed between observed and predicted antioxidant properties. The optimal extraction conditions of antioxidant compounds based on the artificial neural network method were 100% concentration, temperature 70 °C and time 5 hours.

Conclusion: According to the present findings, the artificial neural network has good potential to predict the optimal extraction conditions of *sargassum* algae to determine the antioxidant properties using a multilayer perceptron with hyperbolic tangent. High concentration of total phenolic compounds in *sargassum* algae extract may be the reason for its antioxidant properties.

Keywords: Marine algae, *Sargassum glaucescens*, Antioxidant, Artificial Neural Networks, Chabahar.

*Corresponding author: Ali Taheri, Email: taherienator@gmail.com

Address: Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

سنجش خواص آنتی اکسیدانی عصاره جلبک *Sargassum glaucescens* و بهینه سازی استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی آن با شبکه عصبی مصنوعی

افره نصرتی^۱، علی طاهری^{۲*}، چکاوک خواجه امیری^۳

^۱ دانشجوی ارشد، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

^۲ دانشیار گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

^۳ مربی گروه اقیانوس شناسی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۲/۲۵ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۰۴/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: جلبک‌های دریایی منابع مناسبی از مواد فعال زیستی هستند. در مطالعه حاضر بهینه‌سازی عوامل موثر (زمان، دما و غلظت حلال) بر استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره جلبک قهوه‌ای سارگاسوم گلاسسنس سواحل چابهار با شبکه عصبی مصنوعی انجام شد.

روش‌ها: عصاره جلبک سارگاسوم با متانول در سه زمان (۱، ۳ و ۵ ساعت)، سه دما (۲۴، ۴۷ و ۷۰ درجه سانتی گراد) و سه غلظت (۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد) استخراج شد. روش مهار رادیکال آزاد برای سنجش خواص آنتی اکسیدانی آن استفاده گردید. میزان ترکیبات فنلی کل طبق روش استاندارد سنجش شد. از شبکه‌های عصبی مصنوعی (پرسپترون چند لایه با تابع فعالیت تانژانت هایپربولیک) با ۱ لایه پنهان و ۵ نورون برای بهینه‌سازی استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره جلبک سارگاسوم استفاده گردید.

یافته‌ها: میزان ترکیبات فنلی کل در عصاره جلبک سارگاسوم $3/2 \pm 0/56$ بر حسب میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره بود. شبکه عصبی مصنوعی خواص آنتی اکسیدانی جلبک سارگاسوم را با ضریب تعیین $R^2 = 0/9439$ و خطای جذر میانگین مربعات را $1/465654$ پیش‌بینی کرد. همبستگی مثبت و معنی‌داری میان خواص آنتی اکسیدانی مشاهده‌ای و پیش‌بینی شده ثبت گردید. شرایط بهینه استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی بر اساس روش شبکه عصبی مصنوعی در غلظت ۱۰۰ درصد، دمای ۷۰ درجه سانتی گراد و زمان ۵ ساعت بود.

نتیجه‌گیری: طبق یافته‌های مطالعه حاضر شبکه عصبی مصنوعی توانایی پیش‌بینی شرایط بهینه استخراج عصاره جلبک سارگاسوم برای تعیین خواص آنتی اکسیدانی را با استفاده از پرسپترون چند لایه با تانژانت هایپربولیک دارا می‌باشد. میزان زیاد ترکیبات فنلی کل در عصاره جلبک سارگاسوم ممکن است دلیل خواص آنتی اکسیدانی آن باشد.

کلیدواژه‌ها: جلبک دریایی، سارگاسوم گلاسسنس، آنتی اکسیدان، شبکه عصبی مصنوعی، چابهار.

*نویسنده مسئول: علی طاهری. پست الکترونیک: taherienator@gmail.com

آدرس: گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

مقدمه

گونه‌های اکسیژن فعال از جمله رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و رادیکال‌های پروکسیل نقش مهمی در سیگنالینگ سلولی دارند. با این حال تشکیل بیش از حد آنها ممکن است منجر به اکسیداسیون بیومولکولی و آسیب سلولی شده و در نهایت به بیماری‌های مختلف از جمله سرطان، سکنه مغزی و دیابت و بیماری‌های مرتبط با افزایش سن منجر شود (۱). متابولیت‌های اکسیژن مانند آنیون سوپراکسید، هیدروژن پراکسید، هیپوکلریک اسید و یون فلزات آزاد در طی واکنش‌هایی که به تشکیل پراکسید هیدروژن می‌انجامد به از بین رفتن کیفیت مواد غذایی، ترشیدگی، سمیت و تخریب بیوشیمیایی ترکیبات مهم در متابولیسم فیزیولوژیک منتج می‌شود (۲).

آنتی‌اکسیدان‌ها در حفاظت موجودات زنده در برابر صدمات اکسیداسیون ناشی از رادیکال‌های آزاد موثر هستند (۳). آنتی‌اکسیدان‌ها معمولاً به طور طبیعی در غذاها وجود دارند، ولی طی فرآیند تولید، فرآوری و نگهداری مواد غذایی بخش زیادی از آنها کاهش می‌یابد که این مسئله باعث کاهش توانایی ماده غذایی در برابر اکسیداسیون می‌شود (۴). آنتی‌اکسیدان‌های مورد استفاده در صنایع غذایی می‌بایست ارزان قیمت، غیرسمی و موثر در غلظت‌های پایین باشند. همچنین لازم است در طی فرآوری کم‌ترین تغییر رنگ، بو و طعم در محصولات ایجاد کنند (۵).

اخیراً توجه زیادی به استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان مواد آنتی‌اکسیدان شده است که می‌تواند به شکل کارآمد جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های صناعی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول، بوتیل هیدروکسی تولوئن و پروپیل گالات شود (۶،۷). موجودات دریایی با سنتز ترکیبات زیستی برای استفاده در مواد غذایی، آرایشی و بهداشتی، زیست فناوری و داروسازی مورد توجه هستند (۸). جلبک‌های دریایی منبع بسیار خوبی از مواد زیست فعال مانند کاروتنوئیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره، ویتامین‌ها و مواد معدنی تلقی می‌شوند (۹). فعالیت ضد انعقادی، ضدویروسی، ضد توموری، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی از جمله خواص کاربردی ترکیبات زیست فعال جلبک‌های دریایی است (۱۰). بر این اساس بهره برداری از جلبک‌های دریایی به عنوان یک منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی در سیستم‌های غذایی مورد توجه است (۱۱). در مطالعات پیشین به خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک‌های دریایی همچون جلبک دریایی *Halimeda tuna* (۱۲)، *Rhizocolonium riparium* (۱۳)، جلبک سبز *Ulva rigida* (۱۴)، *Callophyllis japonica* و جلبک سبز *Ulva lactuca* (۱۵)، جلبک‌های *Caulerpa peltata* *Gelidiella acerosa*، *Padina gymnospora*، *Sargassum wightii* (۱۶) و جلبک *Turbinaria conoides* (۱۷) اشاره شده است.

میزان خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک‌های دریایی تحت تاثیر شرایط استخراج قرار می‌گیرد (۱۸). لذا توجه به شرایط

استخراج مانند دما، زمان و غلظت حلال بسیار مهم است. طی سال‌های اخیر در پردازش داده‌ها برای مسائلی که برای آن‌ها راه حل مشخصی موجود نیست، سیستم‌های هوشمند به طور فزاینده‌ای مورد توجه واقع شده است، شبکه‌های عصبی مصنوعی از این موارد هستند. شبکه‌های عصبی مصنوعی ابزاری مؤثر برای مدل کردن سیستم‌های غیرخطی بوده و نیازی به رابطه ریاضی برای پدیده پیچیده مورد بررسی ندارند (۱۹). این شبکه‌ها با پردازش داده‌های تجربی، قانون نهفته در ورای این داده‌ها را استخراج می‌کنند. آنها مدل‌های محاسباتی هستند که قادرند رابطه میان ورودی‌ها و خروجی‌های یک سیستم را توسط شبکه‌ای از گره‌ها که همگی به هم متصل هستند، تعیین نمایند که در آن میزان فعالیت هر یک از اتصالات توسط داده‌های قبلی تنظیم می‌شود (فرآیند یادگیری) و در نهایت، مدل قادر خواهد بود قوانین مرتبط میان ورودی‌ها و خروجی‌ها را کشف نماید، هر چند این قوانین غیرخطی و پیچیده باشند (۲۰).

از سویی دیگر شبکه‌های عصبی مصنوعی، ابزاری مؤثر برای مدل کردن سیستم‌های غیرخطی هستند. زیرا این شبکه‌ها نیاز به رابطه ریاضی برای پدیده پیچیده مورد بررسی ندارند. شبکه عصبی مصنوعی شامل یک لایه ورودی، یک لایه خروجی است و در بین این دو لایه، یک یا چند لایه مخفی قرار می‌گیرد که مجموعاً شبیه یک شبکه عصبی بیولوژیک عمل می‌کند. در این خصوص مطالعاتی در خصوص استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی روی بهینه سازی ترکیبات پلی فنله عصاره آب پوست بنه (*Pistacia atlantica*)، خواص آنتی‌اکسیدانی دانه میوه لونگان (*Dimocarpus longan*)، استخراج پلی‌فنل‌ها از گیلان (*Prunus nepalensis*) و خصوصیات ترموفیزیک جلبک قهوه ای *Saccharina latissimi* گزارش شده است (۲۱-۲۴).

در سواحل چابهار جلبک‌های دریایی در ۶۰ جنس و ۱۵۰ گونه یافت می‌شود (۲۵). سارگاسوم یکی از جنس‌های اصلی جلبک قهوه‌ای است (۲۶). سارگاسوم گلاسسنس یکی از گونه‌های اصلی جلبک قهوه‌ای دریای عمان و چابهار است که بیشترین رشد را در اواخر پاییز و اوایل زمستان دارد (۲۷،۲۸). از این گونه خواص ضدباکتریایی (۲۹) و سیتوتوکسیک (۳۰،۳۱) گزارش شده اما خواص آنتی‌اکسیدانی از این گونه گزارش نشده است.

در مطالعه حاضر استخراج عصاره جلبک دریایی سارگاسوم گلاسسنس سواحل چابهار برای دستیابی به بالاترین میزان خواص آنتی‌اکسیدانی و بهینه‌سازی شرایط استخراج با استفاده شبکه عصبی مصنوعی انجام شد.

روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: میزان ۵ کیلوگرم جلبک از مناطق ساحلی و بین جزر و مدی خلیج چابهار در ۳ منطقه ساحل دانشگاه، تبس و دریا بزرگ در زمان رشد حداکثر جمع‌آوری شدند. سپس

نمونه‌ها با آب شیرین شستشو شدند تا گل و لای و نمک زدوده شود. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت زیر آفتاب خشک شده و رطوبت از ۷۹ درصد به زیر ۴ درصد رسید و پس از بسته‌بندی در کیسه فریزر تا زمان آنالیز به مدت یک هفته در فریزر در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

عصاره‌گیری از جلبک قهوه‌ای سارگاسوم: از طرح

مرکب مرکزی (Central Composite Design) با سه متغیر مستقل (غلظت، دما و زمان استخراج در ۳ سطح) بر اساس طراحی روش سطح پاسخ برای مطالعه شبکه‌های عصبی مصنوعی استفاده شد. تعداد کل آزمایشات برابر ۲۰ بود و متغیر وابسته (پاسخ)، درصد مهار رادیکال آزاد DPPH بود. طراحی آزمایش با نرم‌افزار Design expert 7 انجام شد (جدول-۱). جلبک‌های فریز شده با آسیاب برقی (Molinox, 1500) پودر شدند. پودر آسیاب شده توزین و به ارلن مایر ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد و به نسبت ۱:۱۰ (حجمی/وزنی) به آن متانول ۷۰ درصد اضافه گردید. رقیق‌سازی حلال با آب دوبار تقطیر صورت پذیرفت. سپس در دماها، غلظت‌ها و زمان‌های موردنظر (جدول-۱) استخراج در شیکر انکوباتور (جال تجهیز، تهران، ایران) انجام شد و پس از آن عصاره با کاغذ صافی واتمن ۱ فیلتر و به صورت انجمادی خشک گردید (فریزدرایر FD2L، تهران، ایران).

جدول-۱. طراحی آزمایش‌ها جهت استخراج عصاره جلبک

تیمار	حلال غلظت (درصد)	زمان (ساعت)	دما (درجه سانتی‌گراد)
۱	۱۰۰	۱	۷۰
۲	۱۰۰	۳	۴۷
۳	۸۰	۳	۴۷
۴	۸۰	۳	۲۴
۵	۸۰	۳	۴۷
۶	۸۰	۳	۴۷
۷	۸۰	۱	۴۷
۸	۶۰	۵	۷۰
۹	۱۰۰	۵	۲۴
۱۰	۸۰	۳	۴۷
۱۱	۸۰	۵	۴۷
۱۲	۱۰۰	۵	۷۰
۱۳	۶۰	۱	۲۴
۱۴	۱۰۰	۱	۲۴
۱۵	۸۰	۳	۴۷
۱۶	۸۰	۳	۴۷
۱۷	۸۰	۳	۷۰
۱۸	۶۰	۳	۴۷
۱۹	۶۰	۱	۷۰
۲۰	۶۰	۵	۲۴

فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH: مهار رادیکال آزاد با دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) سنجش شد. در این روش پودر DPPH (Merk, Germany) (۰/۱ میلی‌مولار) در حلال اتانول حل شد و ۱ میلی‌لیتر از نمونه مورد آزمایش با ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در کابینت قرار داده شد (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد). سپس جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید. از محلول متانول ۷۰ درصد به عنوان جذب نمونه و نمونه آزمایش فاقد DPPH به عنوان کنترل استفاده شد (۳۲).

درصد فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH توسط معادله زیر محاسبه شد:

$$[1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100$$

DPPH

A_1 (جذب عصاره با DPPH)، A_2 (جذب عصاره بدون DPPH) و A_0 (جذب محلول DPPH بدون عصاره) بود.

سنجش محتوای کل فنل: میزان فنل کل عصاره بدست

آمده از بهینه سازی با بالاترین خواص آنتی‌اکسیدانی با استفاده از شناساگر فولین سیوکالتو ۰/۱ مولار بر اساس استاندارد گالیک اسید اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۱ میلی‌لیتر از نمونه به ۰/۵ میلی‌لیتر فولین سیوکالتو و ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و ۱ دقیقه مخلوط شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه و مخلوط شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، جذب در ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (۴).

شبکه‌های عصبی مصنوعی (ANN): برای بهینه سازی

شرایط استخراج و خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک سارگاسوم از شبکه عصبی پرسپترون چند لایه با الگوریتم پس انتشار خطا (BPE: Back propagation Error) استفاده شد. این شبکه در نرم‌افزار MATLAB ۲۰۱۶ اجرا گردید. برای اجرای مرحله‌های آموزش و آزمون شبکه، غلظت، دما و زمان استخراج عصاره جلبک به عنوان ورودی شبکه و خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک به عنوان خروجی شبکه برگزیده شد. بر این اساس شبکه‌هایی با تعداد لایه‌های پنهان و تعداد نوروں متفاوت در هر لایه، طراحی و نتایج آن‌ها بررسی و مقایسه گردید.

روش آموزش شبکه: معمولاً از قانون یادگیری پس انتشار

خطا (BPE) برای آموزش این شبکه استفاده می‌شود. به عبارتی، توپولوژی شبکه‌های پرسپترون چند لایه با قانون پس انتشار خطا تکمیل می‌شوند (۳۳). توابع فعال‌سازی مختلفی مانند توابع خطی مثبت، تانژانت هیپربولیک، سیگموئید، می‌توان استفاده کرد که در این تحقیق از تابع تانژانت هیپربولیک استفاده شد.

نتایج

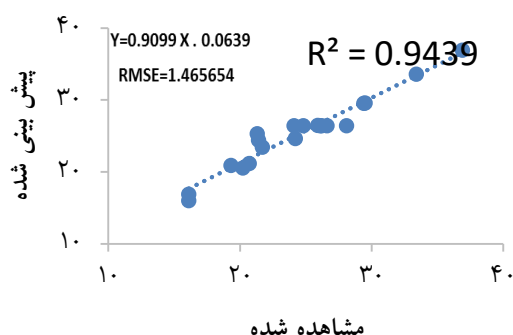
نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلبک قهوه‌ای سارگاسوم (جمع‌آوری شده از سواحل چابهار) با روش فعالیت مهار

رادیکال آزاد DPPH نشان داد که به طور کلی جلبک دریایی سارگاسوم فعالیت مهار رادیکال آزاد خوبی از خود نشان داده است (جدول-۲). بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلبک سارگاسوم مربوط به تیمار ۱۲ و کمترین آن مربوط به تیمارهای ۴ و ۱۴ بود.

جدول-۲. خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک دریایی سارگاسوم در شرایط آزمایشگاهی

تیمار	غلظت حلال (درصد)	زمان (ساعت)	دما (درجه سانتی گراد)	درصد حذف رادیکال آزاد
۱	۱۰۰	۱	۷۰	۲۹/۴
۲	۱۰۰	۳	۴۷	۳۳/۴
۳	۸۰	۳	۴۷	۲۶/۲
۴	۸۰	۳	۲۴	۱۶/۱
۵	۸۰	۳	۴۷	۲۸/۱
۶	۸۰	۳	۴۷	۲۴/۸
۷	۸۰	۱	۴۷	۲۰/۷
۸	۶۰	۵	۷۰	۲۴/۲
۹	۱۰۰	۵	۲۴	۲۱/۴
۱۰	۸۰	۳	۴۷	۲۴/۱
۱۱	۸۰	۵	۴۷	۲۵/۹
۱۲	۱۰۰	۵	۷۰	۳۶/۹
۱۳	۶۰	۱	۲۴	۱۹/۳
۱۴	۱۰۰	۱	۲۴	۱۶/۱
۱۵	۸۰	۳	۴۷	۲۶/۱
۱۶	۸۰	۳	۴۷	۲۶/۶
۱۷	۸۰	۳	۷۰	۲۱/۷
۱۸	۶۰	۳	۴۷	۲۹/۵
۱۹	۶۰	۱	۷۰	۲۱/۳
۲۰	۶۰	۵	۲۴	۲۰/۲

در شکل-۱ میزان خواص آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری و محاسبه شده توسط شبکه عصبی مصنوعی با یک لایه پنهان حاوی ۵ نورون نشان داده شده است.



شکل-۱. مقایسه میزان خواص آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده در شرایط آزمایشگاهی و محاسبه شده توسط شبکه عصبی مصنوعی

با استفاده از جعبه ابزار شبکه‌های عصبی در نرم‌افزار MATLAB و ۳ ورودی، شبکه‌هایی برای تخمین خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک سارگاسوم تعریف شد. تعداد نورون‌های لایه پنهان و نرخ آموزش در شبکه‌های MLP با استفاده از آزمون و خطا تعیین گردید (جدول-۳) که در نهایت شبکه عصبی با ۱ لایه پنهان و ۵ نورون انتخاب شد.

جدول-۳. شبکه‌های تست شده به همراه میزان خطا و ضریب همبستگی

تعداد نورون‌های لایه پنهان	R ²	MSE	RMSE	MAE
۲	۰/۳	۲۱/۱۱	۴/۵۹	۳/۳۳
۳	۰/۷۹	۵/۹	۲/۴۳	۱/۶۱
۴	۰/۷۳	۷/۳	۲/۷	۱/۴۵
۵	۰/۹۴	۲۱/۴۷	۱/۴۶	۰/۸۳
۶	۰/۷۸	۷/۰۵	۲/۶۵	۱/۸۳
۷	۰/۷۶	۶/۶۳	۲/۵۷	۲/۰۲
۸	۰/۳۳	۱۸/۹۹	۴/۳۵	۲/۹۸

همبستگی مثبت و معنی‌داری میان خواص آنتی‌اکسیدانی مشاهده‌ای و پیش‌بینی شده (شکل ۱-۱) ثبت گردید ($R^2 = 0.9439$). همچنین میزان خطای جذر میانگین مربعات برابر با $1/465654$ بود. میزان فنل کل برای *Sargassum glaucescens* در تیمار با بالاترین خواص آنتی‌اکسیدانی برابر $3/2 \pm 0/56$ بر حسب میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره ثبت شد.

بحث

در مطالعه حاضر عصاره متانولی جلبک *سارگاسوم گلاسسنس*، خواص آنتی‌اکسیدانی مناسبی نشان داد. میزان حذف رادیکال آزاد بین $16/1$ تا $36/9\%$ در تیمارهای مختلف دیده شد. با افزایش دما خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت و این افزایش به غلظت حلال وابسته بود و با افزایش غلظت حلال حتی با کاهش زمان خاصیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به تیمار مشابه با غلظت حلال پایین‌تر بیشتر بود. با حداکثر شدن دما، زمان و غلظت حلال خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلبک *سارگاسوم* مربوط به عصاره‌ای بود که در غلظت حلال 100 درصد، دمای 70 درجه سانتی‌گراد و مدت زمان 5 ساعت استخراج شد و میزان حذف رادیکال آزاد برابر با $36/9\%$ مشاهده شد. تحقیقات مشخص کرده که فاکتورهایی از قبیل حلال، نسبت ماده خشک به حلال و زمان استخراج بر میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موثر است ($204,233$).

در تحقیقی در سال 2000 ، ترکیب فنولی 14 گونه جلبک قهوه‌ای در جزایر قناری بررسی شد که جلبک‌های *سیستوسیرا کمپرسیا* و *سارگاسوم فورکاتوم* دارای بیش‌ترین میزان ترکیب فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بودند (34). میزان فنل کل عصاره متانولی جلبک در تحقیق حاضر در تیمار با بالاترین خاصیت مهار رادیکال آزاد برابر $3/2 \pm 0/56$ میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره بود. عصاره جلبک در مطالعه حاضر نیز ممکن است به دلیل محتوای فنل کل زیاد دارای خواص آنتی‌اکسیدانی باشد.

بر اساس گزارش‌ها استخراج عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum angustifolium* با استفاده از 3 حلال آب، متانول و اتانول که میزان فنل کل در عصاره آبی ($2/97 \pm 0/12$)، به طور معنی‌داری از عصاره‌های متانولی ($0/27 \pm 0/05$) و اتانولی ($0/10 \pm 0/01$) بیش‌تر بود اندازه‌گیری شد. قدرت کاهندگی آهن ($0/49 \pm 0/06$) و قدرت آنتی‌اکسیدانی کل ($15/5 \pm 0/77$) نیز در عصاره‌های آبی بالاتر از عصاره‌های دیگر بود. قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد در عصاره آبی ($27/3 \pm 2/33$) بیش‌تر از عصاره متانولی ($25/2 \pm 2/28$) بود ولی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (18). عصاره آبی داغ از گونه *Sargassum hemiphyllum* خواص آنتی‌اکسیدانی خوبی از خود نشان داد که حاوی بسیاری از ترکیبات فنلی بود، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن با استفاده از 4 روش مختلف، شامل فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH، فعالیت کلاته کردن Fe^{2+} ، فعالیت مهار رادیکال سوپر اکسید آنیون و قدرت

کاهندگی، مورد بررسی قرار گرفت (35). در یک مطالعه عصاره 48 گونه جلبک دریایی (17 گونه جلبک سبز، 8 گونه جلبک قهوه‌ای و 23 گونه جلبک قرمز) جمع‌آوری شده از سواحل مکزیک از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی و همچنین محتوای فنولی مورد بررسی قرار گرفت. تمام گونه‌های مورد بررسی دارای فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH خوبی بودند و 3 گونه *Avrainvillea longicaulis*، *Chondria baileyana* و *Lobophora variegata* فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار خوبی با شاخص EC_{50} بسیار پایین ($0/1 \pm 0/44$ ، $0/7 \pm 2/84$ و $0/1 \pm 0/32$ میلی گرم بر میلی‌لیتر) نشان دادند (36). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی و دی اتیل اتر 3 گونه جلبک *Halimeda tuna*، *Turbinaria conoides* و *Gracilaria foliifera* از سواحل جنوبی هند نیز مورد بررسی قرار گرفت و محتوای فنول کل آنها سنجیده شد. نتایج نشان داد که محتوای فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در جلبک *T. conoides* ($1/73 \pm 0/231$ و $1/675 \pm 0/361$ mg GAE/g) بیشتر از سایر جلبک‌ها بود و در مورد تست قدرت احیاء کنندگی، با افزایش غلظت عصاره‌ها فعالیت احیاء‌کنندگی آنها نیز افزایش یافت. بر اساس یافته‌ها مشخص شد که جلبک‌های مذکور دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی متوسط در مقایسه با نمونه استاندارد گالیک اسید هستند (37). فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی عصاره‌های هگزانی، اتیل استاتی و آبی 3 گونه جلبک *Caulerpa sertularoides*، *Laurencia tranoi* و *Padina australis* مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بر اساس روش DPPH، قدرت احیاء کنندگی و کلاته‌کنندگی یون آهن و تعیین محتوای فنولی آنها بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره اتیل استاتی جلبک *C. sertularoides* دارای بالاترین میزان فنول کل ($123/87 \pm 2/67$ mg GAE/g) و بالاترین قدرت احیاء کنندگی ($36/45 \pm 0/27$ mg GAE/g) در میان عصاره‌ها بود. بیشترین فعالیت مهار رادیکال آزاد متعلق به عصاره هگزانی جلبک *L. tranoi* ($82/62 \pm 1/54$) بود. رابطه مستقیمی بین فعالیت کلاته‌کنندگی نمونه‌ها و غلظت عصاره مشاهده شد (38).

در یک مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی فوکوئیدان جدا شده از جلبک قهوه‌ای *Sargassum polycystum* را با استفاده از آزمون DPPH، قدرت کاهشی و آنتی‌اکسیدانی کل مورد بررسی قرار دادند و نتایج DPPH $61/2 \pm 0/33\%$ و قدرت کاهشی $67/56 \pm 0/26\%$ و آنتی‌اکسیدانی کل $65/3 \pm 0/66\%$ در $1000 \mu\text{g/ml}$ به دست آمد. میزان فعالیت حذف رادیکال آزاد بیش از مطالعه حاضر بود که به نوع گونه و شرایط استخراج مربوط می‌شود (39). در مطالعه‌ای دیگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک *Chaetomorpha sp.* با استفاده از روش سطح پاسخ (Response Surface Methodology) مورد بهینه‌سازی قرار

سارگاسوم گلاسسنس دارای عملکرد خوبی است. باتوجه به دانش ما، تحقیق مشابه برای مقایسه با یافته‌های حاضر یافت نشد. در مطالعه حاضر همبستگی بالا و معنی‌داری میان خواص آنتی‌اکسیدانی مشاهده‌ای و پیش‌بینی شده گزارش گردید ($R^2 = 0.9439$)، که گویای آن است که شبکه با دقت خوبی خواص آنتی‌اکسیدانی را شبیه‌سازی می‌کند و اختلاف معنی‌داری نیز بین خواص آنتی‌اکسیدانی پیش‌بینی شده با شبکه عصبی و مشاهده شده ثبت نگردید. این مسئله دلالت بر دقت بالای مدل دارد و میزان خطای جذر میانگین مربعات که یکی دیگر از معیارهای قضاوت برای مناسب بودن مدل است برابر با ۱/۴۶۵۶۵۴ بود.

نتیجه‌گیری

شبکه MLP با تانژانت هیپربولیک با ۱ لایه پنهان و ۵ نورون بهترین پیش‌گویی منطبق با واقعیت را در خصوص خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک سارگاسوم گلاسسنس داشت. با توجه به نتایج، غلظت حلال ۱۰۰ درصد، دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۵ ساعت به عنوان تیمار بهینه استخراج انتخاب شد که به سبب آن فعالیت مهار رادیکال آزاد برابر با ۳۶/۹ درصد بود. با توجه به نتایج این تحقیق، می‌توان گفت که جلبک قهوه‌ای سارگاسوم منبع مناسبی برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است. پیشنهاد می‌گردد در آینده به بررسی و خالص‌سازی ترکیب یا ترکیبات موجود در عصاره جلبک‌هایی که خواص آنتی‌اکسیدانی مطلوبی نشان داده‌اند پرداخته شود تا میزان مهار رادیکال آزاد بالاتری حاصل گردد و سپس مطالعات تکمیلی پیش‌کلینیکی درون تنی انجام شود.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به خاطر حمایت مالی و معنوی از این تحقیق در قالب پایان‌نامه تحصیلات تکمیلی تشکر می‌نمایند.

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ گونه تضاد منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Cavas L, Yurdakoc K. An investigation on the antioxidant status of the invasive alga *Caulerpa racemosa* var *Cylindracea* (sonder) verlaque, huisman, et boudouresque (Caulerpaceae, Chlorophyta). *Journal of Experiment Marine Biology*

گرفت. شرایط بهینه زمان ۸ دقیقه، غلظت حلال ۲۵٪ و قدرت مایکروویو ۳۰۰ وات با خاصیت حذف رادیکال آزاد ۹۹/۸٪ گزارش شد (۴۰). در گزارشی اثر نسبت حلال‌های مختلف در استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جلبک‌های *Gracilaria* sp.، *Fucus vesiculosus* و *Ulva rigida* بررسی شد. هر چند درصد حلال تاثیر معنی‌داری بر خواص آنتی‌اکسیدانی نداشت که خلاف یافته تحقیق حاضر بود اما عصاره متانولی بهترین نتیجه را در حذف رادیکال آزاد DPPH نشان داد و ارتباط مستقیمی بین محتوای فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دیده شد (۴۱).

در مطالعه حاضر از شبکه‌های عصبی مصنوعی برای تخمین و پیش‌بینی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک بر اساس پارامترهای دما، زمان و غلظت حلال استفاده شد. شبکه‌های عصبی مصنوعی، آموزش لازم را با تنظیم وزن و بایاس در ارتباط‌ها آموختند و وزن و بایاسی که ارتباط بین ورودی و نتیجه آزمایشگاهی را به خوبی بیان می‌نمود برای پیش‌بینی خروجی شبکه استفاده شد. بعد از تلاش تکرار شونده شبکه، ارزیابی و تایید مدل با حداقل میانگین خطای مطلق MAE و بالاترین R^2 به عنوان بهینه انتخاب شد. لایه‌های پنهان چندگانه در این مطالعه کاربردی نداشت و شبکه عصبی مصنوعی ساده یک پیش‌گویی مناسب برای داده‌های ورودی با توجه به متغیرهای اصلی بود. بهترین شبکه تخمینی با بالاترین کارایی شامل یک لایه پنهان با ۵ نورون بود. شکل ۱- نیز ارتباط عالی و برازش خوب بین داده‌های تخمینی مدل و داده‌های آزمایشی نشان داد.

شبکه‌های عصبی مصنوعی ابزار مناسبی برای حل معادلات و یافتن مدل مناسب می‌باشد. شبکه‌های عصبی مصنوعی یکی از روش‌هایی است که با الگوبرداری از شبکه عصبی مغز انسان، می‌تواند پدیده‌های پیچیده و ناشناخته را به خوبی بررسی کند. معمولاً ساختار پیشخور در شبکه عصبی مصنوعی استفاده می‌شود، که به عنوان پرسپترون چند لایه (Multi-layer Perceptron MLP:neural network) شناخته شده است. شبکه‌های چند لایه پیش‌خور یکی از مهم‌ترین ساختارهای شبکه‌های عصبی مصنوعی است. این شبکه‌ها شامل مجموعه‌ای از نورون‌ها هستند که تشکیل دهنده لایه ورودی، یک یا چند لایه پنهان و یک لایه خروجی هستند. سیگنال ورودی در خلال شبکه و در مسیری رو به جلو به صورت لایه به لایه منتشر می‌شود. این نوع شبکه معمولاً با عنوان پرسپترون چند لایه (MLP) نامیده می‌شود (۴۲).

در مجموع با توجه به نتایج حاصل مشخص شد شبکه‌های MLP در مدل‌سازی و پیش‌بینی خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک

and Ecology. 2005; 325(2):189-200. doi:10.1016/j.jembe.2005.05.002
2. Kumar KS, Ganesan K, Subba-Rao PV. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty - An edible

- seaweed. Food Chemistry. 2008; 107(1):289- 295. doi:10.1016/j.foodchem.2007.08.016
3. Ito N, Hirose M, Fukushima S, Tsuda H, Tatematsu M, Asamoto M. Modifying effects of antioxidants on chemical carcinogenesis. Toxicologic Pathology. 1986; 14(3):315-323. doi:10.1177/019262338601400305
4. Meenakshi S, Meenakshi DM. Total Flavanoid and in vitro Antioxidant activity of two seaweeds of Rameshwaram coast global. Journal of Pharmacology. 2009; 3(2):59-62.
5. Gordon MH. Dietary antioxidants in disease prevention. Natural Product Reports. 1996; 13:265-273. doi:10.1039/np9961300265
6. Pinelo M, Rubilar M, Jerez M, Sineiro J, Núñez MJ. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. Journal of Agricultural Food Chemistry. 2005; 53(6):2111-7. doi:10.1021/jf0488110
7. Esam HM, Ali HK. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. Food Chemistry. 2000; 69: 135-141. doi:10.1016/S0308-8146(99)00234-4
8. Blunt JW, Copp BR, Keyzers RA, Munro MHG, Prinsep MR. Marine natural products. Natural Product Reports. 2012; 29:14-144. doi:10.1039/C2NP00090C
9. Narayan B, Miyashita K. Lipid composition of Padina tetratomatica (Dictyotales, Pheophyta), a brown sea weed of the west coast of India. Indian Journal of Fisheries. 2005; 52(3):263-268.
10. Becker CF, Guimarães JA, Mourão PAS, Verli H. Conformation of sulfated galactan and sulfated fucan in aqueous solutions: implications to their anticoagulant activities. Journal of Molecular Graphics and Modelling. 2007; 26:391-399. doi:10.1016/j.jmgm.2007.01.008
11. Wang BG, Zhang WW, Duan XJ, Li XM. In vitro antioxidative activities of extract and semi-purified fractions of the marine red alga, Rhodomela confervoides (Rhodomelaceae). Food Chemistry. 2009; 113(4):1101-1105. doi:10.1016/j.foodchem.2008.08.078
12. Taheri A, Ghaffari M, Bagherpour N, Attaran Fariman G. Evaluation of Antioxidant Activity of Extracts of Marine Algae Halimeda tuna Collected from the Chabahar Bay. Qom University of Medical Science Journal. 2017; 11(5): 107-115.
13. Gahramzai M, Taheri A. Antioxidant Properties of Organic Extracts of Seaweed Rhizoclonium Riparium from Oman Sea. Journal of Marine Medicine. 2021; 3(2): 107-115. doi:10.30491/3.2.107
14. Yildiz G, Celikler S, Vatan O, Dere S. Determination of the anti-oxidative capacity and bioactive compounds in green seaweed Ulva rigida C. Agardh. International Journal of Food Properties; 2011; 11: 44-52. doi.org/10.1080/10942912.2010.517341
15. Lee JC, Hou MF, Huang HW, Chang FR, Yeh CC, Tang JY, et al. Marine algal natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties. Cancer Cell International. 2013; 13 (1): 55. doi:10.1186/1475-2867-13-55
16. Murugan K, Iyer VV. Differential growth inhibition of cancer cell lines and antioxidant activity of extracts of red, brown, and green marine algae. In Vitro Cellular and Developmental Biology Animal. 2013; 49: 324-334. doi:10.1007/s11626-013-9603-7
17. Ponnann A, Ramu K, Marudhamuthu M, Marimuthu R, Siva k, Kadarkarai M. Antibacterial, antioxidant and anticancer properties of Turbinaria conoides (J. Agardh) Kuetz. Clinical Phytoscience. 2017; 3: 5. doi:10.1186/s40816-017-0042-y
18. Babakhani-Lashkan A. Optimization of antioxidant compounds extracted from brown algae Sargassum angustifolium Persian Gulf with microwave extraction method. Iranian Journal of Natural Research. 2012; 255-243.
19. Kumar M, Raghuwanshi NS, Singh R, Wallender WW, Pruitt WO. Estimating evapotranspiration using artificial neural network. Journal of Irrigation and Drainage Engineering. 2002; 128(4):224-223. doi:10.1061/(ASCE)07339437(2002)128:4(224)
20. Fattahi E, Sedaghatkarder A, Delavar M. Long-range precipitation prediction using artificial neural networks. Pajouhesh va Sazandegi. 2009; 80:44-50.
21. Shaddel R, Hadad-Khodaparast MH, Maskuki AM, Gol-Mazraji R. Optimization of supercritical fluid extraction of Baneh skin polyphenolic compounds by Artificial Neural Networks. Innovation in Food Sciences and Technology. 2014; 6 (2): 15-22.
22. Wen L, Yang B, Cui C, You L, Zhao M. Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolics from Longan (Dimocarpus longan Lour.) Fruit Seed with Artificial Neural Network and Their Antioxidant Activity. Food Analytical Methods. 2012; 5: 1244-1251. doi:10.1007/s12161-012-9370-1
23. Kashyap P, Singh Riar C, Jindal N. Optimization of ultrasound assisted extraction of polyphenols from Meghalayan cherry fruit (Prunus nepalensis) using response surface methodology (RSM) and artificial neural network (ANN) approach. Journal of Food Measurement and Characterization. 2021; 15: 119-133. doi:10.1007/s11694-020-00611-0
24. Sappati PK, Nayak B, VanWalsumGP. Thermophysical properties prediction of brown seaweed (Saccharina latissima) using artificial neural networks (ANNs) and empirical models. International Journal of Food Properties. 2019; 22(1): 1966-1984. doi:10.1080/10942912.2019.1691588
25. Gharanjik BM. The marine algae of the Sistan & Baluchistan Province, Iran. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 2000; 2(2):57-70.
26. Teas J. The dietary intake of Laminaria, a brown seaweed, and breast cancer prevention. Nutrition and Cancer. 1982; 4(3): 217-222. doi:10.1080/01635588209513760
27. Esmaeili A, Saremnia B, Kalantari M. Removal of mercury (II) from aqueous solutions by biosorption on the biomass of Sargassum glaucescens and Gracilaria corticata. Arabian Journal of

- Chemistry. 2015. 8(4), 506-511. doi:10.1016/j.arabjc.2012.01.008
28. May-Lin BY, Ching-Lee W. Seasonal growth rate of *Sargassum* species at Teluk Kemang, Port Dickson, Malaysia. *Journal of Applied Phycology*. 2013; 25(3): 805-814. doi:10.1007/s10811-012-9963-5
29. Peymani J, Gharaei A, Ghaffari M, Taheri A. Antibacterial activity of the brown algae (*Sargassum glaucescens*) ethanolic and aqueous extracts from Chabahar coasts, Oman Sea, Iran. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 2014; 22(4): 13-20.
30. Taheri A, Ghaffari M, Bavi Z, Sohili F. Cytotoxic effect of the extract of seaweed *Sargassum glaucescens* against breast (MCF-7) and colorectal (HT-29) cancer cell lines. *Feyz*. 2018; 22(3): 292-301.
31. Taheri A, Nosrati A, Khajehamiri Ch. In vitro optimization of the brown algae (*Sargassum glaucescens*) extract Antioxidant properties using Response Surface Methodology. *Journal of Food Science and Technology*. 2018; 76(15): 231-242.
32. Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 1992; 40(6): 945-948. doi:10.1021/jf00018a005
33. Menhaj DB. Principles of Neural Networks (Computational Intelligence). Amirkabir University Publication Center, 2003; 715 p.
34. Chkhikvishvili ID, Ramazanov ZM. Phenolic substances of brown algae and their antioxidant activity. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2000; 38(3):289-291. doi:10.1007/BF02742582
35. Hwang PA, Wu CH, Gau SY, Chien HY. Antioxidant and immune-stimulating activities of hot-water extract from *Sargassum hemiphyllum*. *Journal of Marine Science Technology*. 2010; 18(1):41-46.
36. Zubia M, Fabre MS, Kerjean V, Le Lann K, Stiger-Pouvreau V, Fauchon M, et al. Antioxidant and antitumoural activities of some phaeophyta from Brittany coasts. *Food Chemistry*. 2009; 116: 693-701. doi:10.1016/j.foodchem.2009.03.025
37. Devi GK, Manivannan K, Thirumaran G, Rajathi FAA, Anantharaman P. In vitro antioxidant activities of selected seaweeds from Southeast coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2011; 4(3): 205-211. doi:10.1016/S1995-7645(11)60070-9
38. Dotulong V, Widjanarko SB, Yunianta, Mamahit LP. The Content of Total Phenols and Antioxidant Activity Three Types Sea Algae Taken at the North Sulawesi Waters. *Food Science and Quality Management*. 2013; 17: 40-46.
39. Palanisamy S, Vinosha M, Marudhupandi T, Rajasekar P, Prabhu NM. Isolation of fucoidan from *Sargassum polycystum* brown algae: Structural characterization, in vitro antioxidant and anticancer activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017; 102: 405-412. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.03.182
40. Safari P, Rezaei M, Shaviklo AR. The optimum conditions for the extraction of antioxidant compounds from the Persian Gulf green algae (*Chaetomorpha* sp.) using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*. 2015; 52: 2974-298. doi:10.1007/s13197-014-1355-1
41. Monteiro M, Santos RA, Iglesias P, Couto A, Serra CR, Gouveinhas I, et al. Effect of extraction method and solvent system on the phenolic content and antioxidant activity of selected macro and microalgae extracts. *Journal of Applied Phycology*. doi:10.1007/s10811-019-01927-1
42. Haykin S. Neural networks: A comprehensive foundation. NJ. Prentice-Hall Inc. 1998.