بهینه‌سازی استخراج آگار از جلبک *Gracilaria corticata* در خلیج فارس

مهدیه کارخانه یوسفی[۱*]، یوسف فیلی زاده [۲]، هومن رجبی اسلامی [۳]، علی ماشینچیان [۴]، پرویز آبرومند [۵]

۱ـ دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، استان تهران، تهران. پست الکترونیکی: Mahdiekarkhane85@yahoo.com

۲ـ عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، استان تهران، تهران، پست الکترونیکی: filizadeh@shahed.ac.ir

۳ـ دکترای شیلات، دانشکده منابع طبیعی- شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، استان تهران، تهران، پست الکترونیکی: houman.rajabi@yahoo.com

۴ـ عضو هیات علمی دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، استان تهران، تهران، پست الکترونیکی: Ali2m@yahoo.com

۵ـ عضو هیات علمی دانشکده شیمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، استان تهران، تهران، پست الکترونیکی: paberoomand@yahoo.com

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۸۸ *نویسنده مسوول تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۹

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۸۹، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

استخراج آگار از جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا *Gracilaria corticata* (برای بیشتر کردن بازده آگار و قدرت ژل بهتر) از طریق بررسی تاثیر برخی متغیرهای استخراج مانند زمان خیساندن، دمای خیساندن، نسبت آب-جلبک و دما و زمان استخراج و همچنین روش استفاده از سود انجام شده است. نتایج نشان داد که عملکرد آگار تحت تاثیر همه پارامترهای استخراج است. روش بهینه استخراج آگار شامل این موارد است: دمای خیساندن ۴۰ درجه، زمان خیساندن ۱ ساعت، نسبت جلبک ـ آب ۱:۱۰۰، دمای استخراج ۹۰ درجه، زمان استخراج ۱/۵ ساعت. در روشهای بازی، سود ۵٪ در دمای استخراج ۸۰ درجه بیشترین بازده را داشت. همچنین برخی خواص فیزیکی و شیمیایی آگار از قبیل قدرت ژل آگار ومیزان سولفات آن بررسی گردید. نتایج نشان داد که قدرت ژل در تمامی تیمارها دارای همبستگی منفی با میزان سولفات بود.

کلمات کلیدی: *Gracilaria coeticata*، *استخراج آگار*، *قدرت ژل*، *خلیج فارس*

۱. مقدمه

آگار نوعی ترکیب پلی‌ساکاریدی است که از دیواره‌ی سلولی جلبکهای قرمز دریایی به‌خصوص گونه‌های *Gracilaria* و *Gelidium* استخراج می‌گردد (Marinho-Soriano *et al*., 2001). این پلیمر نقش گسترده‌ای در صنایع غذایی، دارویی، صنعتی و بهداشتی ایفا می‌کند. همچنین آگار در ایجاد خاصیت ژلاتینی و تثبیت غذا نقش مهمی دارد (Freile-Pelegrin and Murano, 2005). استخراج آگار از جلبک‌های قرمز در گذشته و حال با کمک آب داغ برای شکاندن دیواره سلولی و در چندین مرحله انجام شده است، در حالی‌که این روشها در حال حاضر پیشرفت شایانی نموده است (Pereira-Pacheco *et al*., 2007). کیفیت آگار استخراج شده به عملکرد و قدرت ژل آن بستگی دارد. آگار استخراجی از جلبک ژلیدیوم دارای کیفیت بهتری بوده، اما جمعیت وسیع و رشد انبوه گونه‌های گراسیلاریا باعث شده است که این جلبک منبع اصلی استخراج آگار در دنیا باشد (McHugh, 2003). خواص آگار استخراجی از گراسیلاریا به عواملی همچون نوع گونه،

خصوصیات فیزیولوژیکی، چرخه‌ی زندگی، محیط زندگی (نظیر عرض جغرافیایی و فصل رویشی)، چگونگی جمع‌آوری و نگهداری، و روش استخراج آنها بستگی دارد (Marinho-Soriano and Bourret,2003; Marinho-Soriano *et al.*,2006, Romero *et al*., 2008).

روش عمومی استخراج آگار شامل شستشوی جلبک خشک شده در آب جوش، فیلتر کردن آن وجداسازی آگار از طریق منجمد کردن و آب کردن مجدد آن برای حذف آب است (Armisen and Galatas, 1987). اگرچه مراحل عمومی برای استخراج آگار از جلبک گراسیلاریا شناخته شده است (Andriamananatonio et al., 2007; Arvizu- Higuera et al.,2008; Li et al., 2009)، اما برای بهبود عملکرد و کیفیت آگار، استانداردسازی فرآیند استخراج ضروری است. اندازه‌گیری دمای استخراج و طولانی کردن زمان آن عملیاتی ساده است که روی بازده آگار و قدرت ژل تاثیر می‌گذارد (Arvizu-Higuera *et al.,* 2008; Hurtado-Ponce and Umezaki 1988; Pereira-Pacheco *et al*., 2007).

اگرچه گزارش‌های متنوعی از تاثیر دما و زمانهای مختلف استخراج آگار از گونه‌های گراسیلاریا گزارش شده است (Arvizu-Higuera et al., 2008; Kumar and Fotedar., 2009)، اما تاکنون گزارش مشخصی در این مورد از گونه گراسیلاریا کورتیکاتا *(Gracilaria corticata)* منتشر نشده است. هدف از این تحقیق، مطالعه مقایسه روشهای مختلف استخراج آگار نظیر زمان خیساندن، دمای خیساندن، نسبت آب – جلبک، دما و زمان استخراج، استخراج بازی از دیواره سلولی جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا (*G.corticata*) و تعیین بالاترین عملکرد است.

۲ـ مواد و روش‌ها

۲ـ۱ جمع‌آوری نمونه

جلبک گراسیلاریا از سواحل شهرستان بوشهر (۵۰ درجه و ۲۸ دقیقه شمال ۵۰ درجه و ۵۸ درجه شرقی) بین ماه‌های دی تا بهمن ۱۳۸۸ بر اساس جدول زمانی جزر و مد منطقه جمع آوری گردید. توده‌های جمع آوری‌شده با آب دریا شستشو شد و بعد از جداسازی گونه‌های دیگر جهت خشک کردن به آزمایشگاه بیولوژی دریای دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات منتقل گردید. عملیات خشک کردن شامل قرار دادن توده‌های جلبکی در محیط سایه با رطوبت ۱۵درصد و درجه حرارت ۲۷ درجه سانتیگراد بود (Marinho-Soriano *et al*., 2001).

۲ـ۲ فرایند استخراج آگار

نمونه‌های ۵ گرمی از جلبک‌های خشک شده را هر کدام با سه تکرار تحت تاثیر آزمون‌های مختلف شامل زمان خیساندن، دمای خیساندن، نسبت‌های مختلف جلبک به آب، دمای استخراج و زمان استخراج قرار داده و میزان عملکرد آگار بررسی گردید. نمونه‌ها به‌منظور بررسی تاثیر زمان استخراج در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتیگراد) هرکدام با ۳ بار تکرار برای۱ ، ۲ و ۳ ساعت در آب مقطر خیسانده شدند. سه نمونه نیز به‌عنوان شاهد خیسانده نشد. نمونه‌ها در آزمون تاثیر دمای خیساندن در درجه حرارت‌های ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۲ ساعت خیسانده شد. سه نمونه نیز تنها در درجه حرارت اتاق (۲۵ درجه سانتیگراد) به عنوان شاهد خیسانده شد. تاثیر نسبت‌های مختلف جلبک به آب با قرار دادن نمونه‌های ۵ گرمی با سه تکرار در حجم‌های مختلف آب (۱:۵۰ ،۱:۱۰۰، ۱:۱۵۰ و۱:۲۰۰ جلبک: آب) و دمای ۳۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۲ ساعت بررسی گردید. استخراج تمام نمونه‌های ذکرشده در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون حمام آب ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲/۵ ساعت انجام شد.

برای مطالعه تاثیر دمای استخراج، نمونه‌های جلبکی با نسبت ۱:۱۵۰ جلبک به آب هر یک با ۳ تکرار در درجه حرارت ۳۰ درجه سانتیگراد برای ۲ ساعت خیسانده شدند. استخراج آگار با قرار دادن نمونه‌ها در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و حمام آنها در درجه حرارت‌های مختلف (۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰ درجه سانتیگراد) برای مدت ۲/۵ ساعت انجام شد. نمونه‌های دیگری نیز با سه تکرار مطابق روش قبل آماده شده و سپس تاثیر زمان استخراج با قرار دادن نمونه‌ها در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتیگراد برای مدت زمان‌های ۱، ۱،۲/۵، ۲/۵ و ۳ ساعت بررسی گردید.

آزمایش دیگری برای مطالعه روش استخراج بر عملکرد آگار انجام شد. به این منظور غلظت‌های ۱، ۲، ۳ و ۵ درصد سود (وزنی/حجمی) تهیه و نمونه‌های ۵ گرمی جلبکی در ارلن‌های حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر از هر یک از غلظت‌ها برای ۳ ساعت در درجه حرارت اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) خیسانده شده، در ادامه

به مدت ۱ ساعت در دماهای مختلف حمام آب (۶۰، ۷۰ و ۸۰ درجه سانتیگراد) قرار گرفت. نمونه‌ها برای حذف سود توسط آب جاری برای ۱ ساعت شستشه شده و عمل استخراج با قرار دادن نمونه‌ها در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و حمام آب در دماهای فوق برای مدت ۲/۵ ساعت ادامه یافت (Kumar and Fotedar., 2009).

۳ـ۲ عملکرد آگار

تمام نمونه‌ها با کمک پارچه صافی سه لایه فیلتر شد و در ادامه مایع استخراجی به بشرهای پلاستیکی انتقال یافت. آگار استخراجی در دمای اتاق به ژل تبدیل و برای یک شب فریز گردیدند. نمونه‌ها درون آون ۶۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و خشک شد. آگار به‌دست آمده در انتها وزن و درصد عملکرد بر اساس رابطه‌ی زیر محاسبه شد:

$$\text{عملکرد آگار}(\%) = \frac{\text{(گرم) آگار خشک وزن}}{\text{(گرم) وزن جلبک خشک}} \times ۱۰۰$$

۳ـ۴ تعیین خواص فیزیکوشیمیایی آگار

قدرت ژل بر اساس روش گزارش شده مارینهو–ساریانو و بورت (۲۰۰۳) با کمی تغییر انجام شد. محلول ۱/۵ درصد آگار و آب مقطر بر اساس این روش تهیه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت تا به ژل تبدیل شود. در ادامه نیز میزان قدرت ژل با استفاده از دستگاه Testometric مدل M350-10CT تعیین گردید. این دستگاه دارای یک میله ۱۰ میلی‌متری است، که این میله در این روش با سرعت ۱ میلی متر بر ثانیه به عمق ۵ میلی‌متری هر یک از نمونه‌ها نفوذ می‌کرد. سولفات موجود در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه طیف‌سنج مادون قرمز اندازه‌گیری شد (Rochas al., 1986). محاسبات پیک‌های جذبی سولفات نیز در محدوده ۱۲۵۰ و ۲۹۲۰ انجام گرفت (Lahaye and Yaphe, 1988).

۳ـ۵ تجزیه و تحلیل آماری

تمام نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS–14 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میزان اختلاف عملکرد آگار در روش‌های مختلف با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) مقایسه شده و تفاوت معنی‌دار میان نمونه‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن (multiple range test Duncan) تعیین شد. ارتباط معنی‌دار بین نتایج نیز با کمک آزمون همبستگی پیرسون (Pearson Correlation) تعیین گردید. میزان p کمتر از ۵ درصد به‌عنوان اختلاف و ارتباط معنی‌دار بین نمونه‌ها در نظر گرفته شد.

۳ـ نتایج

۳ـ۱ متغیرهای استخراج آگار

نتایج حاصل از زمان و دمای خیساندن به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۳ ارائه شده است. بررسی‌ها نشان می‌دهد که زمان خیساندن و دمای خیساندن به‌طور موثری بر روی عملکرد آگار تاثیر گذار است.

جدول ۱ـ عملکرد آگار و خصوصیات آن (میانگین±انحراف استاندارد) در زمان‌های مختلف خیساندن

زمان خیساندن (ساعت)	۰	۱	۲	۳
عملکرد آگار(٪)	۶۶/۲۴۰^{a}±۰/۰۲	۲۷/۷۶۰^{b}±۰/۰۲	۲۰/۳۶۰^{c}±۰/۰۲	۱۶/۷۲۰^{d}±۰/۰۲
قدرت ژل (نیوتون)	۰/۱۴۴^{a} ±۰/۰۴	۰/۴۲۵^{c}±۰/۱۳	۰/۲۷۵^{b}±۰/۰۴	۰/۲۶۷^{b}±۰/۰۵
میزان سولفات (٪)	۳/۰^{a}±۰/۲۰	۴/۵^{b}±۰/۲۰	۴/۸^{b}±۰/۲۰	۳/۵^{a}±۰/۲۰

حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

عملکرد آگار در مدت زمانهای ۱ ساعت و ۲ ساعت بیشتر از زمان ۳ ساعت بود. حداکثر و حداقل قدرت ژل به‌ترتیب در ۱ ساعت خیساندن و نخیساندن (شاهد) مشاهده گردید. نتایج همبستگی در تیمار زمان خیساندن نشان داد که بین قدرت ژل و میزان سولفات همبستگی منفی و معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) وجود دارد. همچنین بین عملکرد اگار و میزان سولفات نیز همبستگی منفی و معنی دار ($p<۰/۰۵$) مشاهده شد (جدول۲).

جدول ۲ـ همبستگی پیرسون تاثیر تیمارهای مختلف زمان خیساندن آزمایشی بر عملکرد آگار،قدرت ژل، و میزان سولفات در جلبک *G.corticata*

	عملکرد آگار	قدرت ژل	میزان سولفات
عملکرد آگار	۱	-۰/۵۳۳	*-۰/۶۴۲
قدرت ژل		۱	*-۰/۶۲۴
میزان سولفات			۱

* ضریب احتمال در سطح ۵ درصد معنی‌دار و **در سطح ۱ درصد معنی‌دار است.

عملکرد آگار در دمای خیساندن ۴۰ درجه به‌طور محسوسی بیشتر از دیگر دماهای خیساندن بود (جدول۳). بیشترین میزان عملکرد آگار زمانی بود که به مدت ۱ ساعت در ۴۰ درجه سانتیگراد خیسانده شد. نتایج تاثیر دمای خیساندن بر قدرت ژل آگار استخراج شده نشان داد که حداکثر و حداقل قدرت ژل

به‌ترتیب در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد خیساندن و ۲۵ درجه سانتیگراد قابل مشاهده است. نتایج همبستگی در تیمار دمای خیساندن بین قدرت ژل ومیزان سولفات همبستگی منفی و معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) است (جدول۴).

جدول ۳ـعملکرد آگار و خصوصیات آن(میانگین±انحراف استاندارد)در دماهای مختلف خیساندن

دمای خیساندن (سانتیگراد)	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰
عملکرد آگار(٪)	۲۵/۲۰^{c}±۰/۰۲	۲۸/۲۶^{b}±۰/۰۲	۲۳/۴۸^{d}±۰/۰۲	۳۲/۹۴^{a}±۰/۰۲
قدرت ژل (نیوتون)	۰/۱۴۴^{a}±۰/۰۲	۰/۴۲۵^{c}±۰/۰۲	۰/۲۷۵^{b}±۰/۰۲	۰/۲۶۷^{b}±۰/۰۲
میزان سولفات (٪)	۳/۰^{a}±۰/۰۲	۴/۵۰^{b}±۰/۰۲	۴/۸۰^{b}±۰/۰۲	۳/۵۰^{a}±۰/۰۲

حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

جدول ۴ـ همبستگی پیرسون تاثیر تیمارهای مختلف دمای خیساندن آزمایشی بر عملکرد آگار،قدرت ژل، و میزان سولفات در جلبک *G.corticata*

	عملکرد آگار	قدرت ژل	میزان سولفات
عملکرد آگار	۱	۰/۲۱۶	-۰/۳۰۴
قدرت ژل		۱	*-۰/۶۲۴
میزان سولفات			۱

* ضریب احتمال در سطح ۵ درصد معنی‌دار و **در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد.

عملکرد آگار تحت تاثیر نسبت آب به جلبک بود (جدول۵). عملکرد آگار وقتی نسبت جلبک به آب به‌میزان ۱:۵۰ بود از مقادیر دیگر کمتر بود و بیشترین مقدار عملکرد آگار زمانی که این نسبت به‌مقدار ۱:۱۰۰ بود، مشاهده گردید. حداکثر و حداقل قدرت ژل به‌ترتیب در نسبت ۱:۲۰۰ و ۱:۱۰۰ مشاهده گردید. نتایج همبستگی در این روش بین قدرت ژل و میزان سولفات آگار منفی ولی معنی دار نبود ($p>۰/۰۵$) (جدول۶).

جدول ۵ـ عملکرد آگار و خصوصیات آن (میانگین±انحراف استاندارد) در نسبت‌های مختلف جلبک-آب

نسبت جلبک-آب	۱-۵۰	۱-۱۰۰	۱-۱۵۰	۱-۲۰۰
عملکرد آگار(٪)	۱۶/۱۰^{c}±۰/۰۲	۲۱/۲۰^{a}±۰/۰۲	۱۸/۲۶^{b}±۰/۰۲	۱۹/۲۶^{a}±۰/۰۲
قدرت ژل (نیوتون)	۰/۳۶۴^{a}±۰/۰۷	۰/۳۳۴^{a}±۰/۰۵	۰/۳۹۸^{a}±۰/۰۲	۰/۴۳۵^{b}±۰/۰۶
میزان سولفات (٪)	۳/۴^{b}±۰/۲	۳/۰^{a}±۰/۲	۳/۴^{b}±۰/۲	۳/۰^{a}±۰/۲

حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

جدول ۶ـ همبستگی پیرسون تاثیر تیمارهای مختلف نسبت جلبک:آب آزمایشی بر عملکرد آگار،قدرت ژل، و میزان سولفات در جلبک *G.corticata*

	عملکرد آگار	قدرت ژل	میزان سولفات
عملکرد آگار	۱	-۰/۱۰۲	-۰/۳۹۱
قدرت ژل		۱	-۰/۳۵۶
میزان سولفات			۱

* ضریب احتمال در سطح ۵ درصد معنی‌دار و **در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد.

تاثیر زمان استخراج (جدول۷) و دمای استخراج (جدول۹) بر عملکرد آگار در جدول نشان داده شده است.

جدول ۷ـ عملکرد آگار و خصوصیات آن(میانگین±انحراف استاندارد)در زمان‌های مختلف استخراج

	زمان (ساعت) ۱	۱/۵	۲	۲/۵	۳
عملکرد آگار(٪)	۲۳/۴۰^{c}±۰/۰۲	۲۷/۲۶^{a}±۰/۰۲	۲۷/۱۶^{a}±۰/۰۲	۲۴/۸۴^{b}±۰/۰۲	۲۵/۹۶^{b}±۰/۰۲
قدرت ژل (نیوتون)	۰/۳۹۷^{a}±۰/۰۱	۰/۴۶۶^{b}±۰/۰۳	۰/۴۵۹^{b}±۰/۰۵	۰/۴۶۶^{b}±۰/۰۱	۰/۴۰۰^{a}±۰/۰۲
میزان سولفات (٪)	۴/۰^{a}±۰/۲۰	۳/۰^{b}±۰/۲۰	۳/۶۶^{c}±۰/۳۰	۱/۵۰^{d}±۰/۲۰	۱/۷۳^{d}±۰/۲۵

حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

بیشترین عملکرد آگار در دمای ۷۰ درجه استخراج بود و کمترین مقدار در ۸۰ درجه سانتیگراد مشاهده شد. بیشترین عملکرد آگار در زمان‌های استخراج ۱/۵ تا ۲ ساعت مشاهده شد. نتایج همبستگی در تیمار زمان استخراج بین قدرت ژل ومیزان سولفات همبستگی منفی مشاهده شد، ولی معنی دار نبود ($P>۰/۰۵$). در مقابل بین عملکرد آگار و قدرت ژل همبستگی مثبت و معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$) (جدول۸).

جدول ۸ـ همبستگی پیرسون تاثیر تیمارهای مختلف زمان استخراج آزمایشی بر عملکرد آگار،قدرت ژل، و میزان سولفات در جلبک *G.corticata*

	عملکرد آگار	قدرت ژل	میزان سولفات
عملکرد آگار	۱	*۰/۵۲۸	-۰/۰۴۶
قدرت ژل		۱	-۰/۰۵۵
میزان سولفات			۱

*ضریب احتمال در سطح ۵ درصد معنی‌دار و **در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۹ـ عملکرد آگار و خصوصیات آن(میانگین± انحراف استاندارد) در دماهای مختلف استخراج

	دما (درجه سانتگراد) ۶۰	۷۰	۸۰	۹۰
عملکرد آگار(٪)	۳۷/۷۴^{a}±۰/۰۲	۲۲/۲۴^{d}±۰/۰۲	۳۱/۴۸^{b}±۰/۰۲	۲۷/۶۷^{c}±۰/۰۲
قدرت ژل (نیوتون)	۰/۳۶۰^{a}±۰/۰۳	۰/۳۵۸^{a}±۰/۰۴	۰/۳۶۴^{a}±۰/۰۳	۰/۳۳۰^{b}±۰/۰۳
میزان سولفات (٪)	۳/۶^{b}±۰/۲	۴/۱^{a}±۰/۲	۲/۸^{c}±۰/۲	۴/۵^{a}±۰/۲

حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

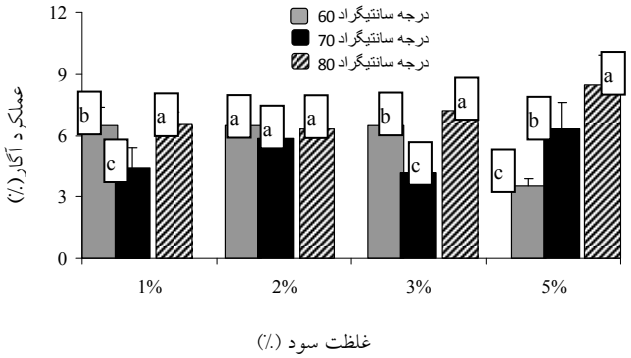
نتایج همبستگی در تیمار دمای استخراج بین قدرت ژل ومیزان سولفات همبستگی منفی و معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) است (جدول ۱۰).

جدول ۱۰ـ همبستگی پیرسون تاثیر تیمارهای مختلف دمای استخراج آزمایشی بر عملکرد آگار،قدرت ژل، و میزان سولفات در جلبک *G.corticata*

	عملکرد آگار	قدرت ژل	میزان سولفات
عملکرد آگار	۱	۰/۱۲۰	-۰/۴۷۶
قدرت ژل		۱	*-۰/۳۳۲
میزان سولفات			۱

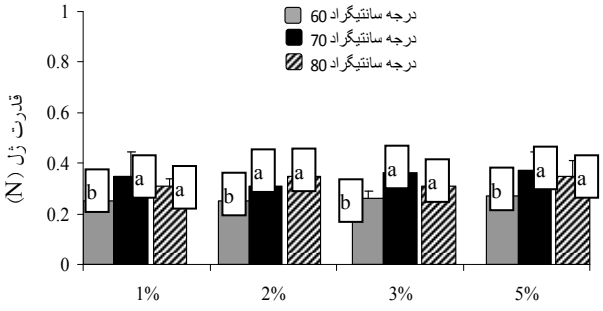
* ضریب احتمال در سطح ۵ درصد معنی‌دار و **در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد

نتایج استفاده از سود به این ترتیب بود که اگرچه به‌طور کلی در غلظتهای ۱، ۲، ۳٪ سود، عملکرد آگار در کلیه دماها نزدیک به‌هم بود، اما تاثیر سود ۵٪ به مراتب بیشتر بود. در مقایسه‌ی دماها، استخراج در ۸۰ درجه سانتیگراد با سود ۵٪ بیشترین عملکرد آگار را نتیجه داد (نمودار ۱).



نمودار ۱ـ درصد عملکرد آگار (میانگین±انحراف استاندارد) نسبت به مقادیر مختلف سود در دماهای مختلف. حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

بیشترین قدرت ژل در تیمار سود ۵٪ در دمای استخراج ۷۰ درجه، و کمترین آن در تیمار سود ۱٪ و ۲٪ در دمای ۶۰ درجه مشاهده شد (نمودار۲).

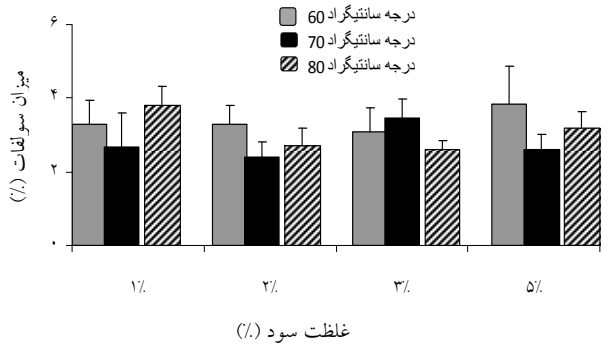


نمودار ۲ـ میزان قدرت ژل (میانگین±انحراف استاندارد) نسبت به مقادیر مختلف سود در دماهای مختلف. حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

حداکثر و حداقل میزان سولفات به‌ترتیب در تیمار۱٪ سود و دمای استخراج ۸۰ درجه و تیمار سود ۵٪ و دمای استخراج ۷۰ درجه سانتیگراد مشاهده شد (نمودار۳).

۴ـ بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه سعی شد تا متغیرهای مختلف در فرایند استخراج آگار از جلبک گراسیلاریا کورتیکاتا(*G.corticata*) مورد بررسی قرار گیرد تا روشی استاندارد برای استخراج آگار از این گونه خاص ارائه گردد.



نمودار ۳ـ میزان سولفات (میانگین±انحراف استاندارد) نسبت به مقادیر مختلف سود در دماهای مختلف. حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

اصلی‌ترین جزء سازنده جلبک‌ها، پلی‌ساکاریدها هستند که پلیمرهایی آبدوستند و با آب به‌طور داخلی و خارجی پیوند هیدروژنی برقرار می‌کنند. ظرفیت نگهداری آب توسط جلبک‌های دریایی با توجه به هر گونه متفاوت است (Jimenez-Escrig and Snches-Muniz, 2000). بیشترین زمان خیساندن (۳ ساعت) که کمترین عملکرد آگار را به‌وجود آورد، می‌تواند به دلیل خیساندن بیش از حد جلبک، مقداری از آگار در آب حل شده باشد. نتایج نشان داد که نمونه‌ی شاهد و زمان ۱ ساعت خیساندن بیشترین عملکرد آگار را نتیجه می‌دهد. همچنین همبستگی منفی بین عملکرد آگار و میزان سولفات موجود در آن با افزایش در دمای خیساندن به ساختار متناوب آگار مربوط می‌شود که فرم‌های سولفاتی نقش مهمی را در زنجیره مولکولی آگار بازی می‌کند. نقش سولفات در عملکرد آگار به این ترتیب است که ساختار آگار را تغییر می‌دهد و در بسیاری ازمطالعات به این موضوع اشاره شده است (Armisen and Galatas, 1987; Falshaw et al., 1999; Ordua-Rojas *et al*., 2008). دمای خیساندن بر روی عملکرد آگار و دیگر خواص آن تاثیرگذار است و می‌تواند معرف گوناگونی جغرافیایی محیط رشد گراسیلاریا و همچنین زمان برداشت آن باشد (Kumar and Fotedar, 2009). تاثیرات نسبت جلبک-آب بر روی خواص آگار استخراجی تنها بر روی گونه *Gracilaria cliftonii* توسط کومار و فوتدر درسال ۲۰۰۹ بررسی شده است. البته محققین بسیاری در

طی سالیان متمادی در فرایند استخراج آگار از نسبتهای متفاوتی جلبک–آب استفاده کرده‌اند (Arvizu-Higuera *et al*., 2008; Ordua-Rojas *et al*., Freile-Pelegrin and Murano, 2005 2008). حجم بیشتر آب باعث می‌شود که جلبک آب بیشتری جذب کند و در نتیجه عملیات استخراج آگار آسانتر شود. عملکرد آگار در نسبت ۱:۲۰۰ از نسبت ۱:۱۰۰ کمتر بود، اما ولی قدرت ژل بیشتری داشت و این میزان کم عملکرد آگار می‌تواند به‌دلیل پخش شدن آگار در آب باشد. میزان قدرت ژل بیشتر آن می‌تواند به‌دلیل میزان سولفات و همچنین تغییر در ساختار آگار توجیه شود (Arvizu-Higuera et al., 2008; Meena *et al*., 2006). دماهای مختلف استخراج بر روی عملکرد آگار استخراجی از *G.Corticata* تاثیرگذار است. بر خلاف تحقیقات گذشته، مقدار قابل توجهی از میزان آگار در کمترین دما (۶۰ درجه سانتیگراد) مشاهده می‌شود. دمای استخراج آگار از گونه‌های گراسیلاریا بین ۸۵ تا ۱۰۰ درجه سانتیگراد گزارش شده بود (Armisen and Galatas, 1987; Falshaw *et al*., 1999; Marinho-Soriano *et al*., 2001). در تحقیق حاضر، زمان استخراج پارامتر مهمی در استخراج بود و عملکرد آگار با تغییر زمان استخراج تغییر کرد. عملکرد آگار در مدت زمان ۱ ساعت از دیگر زمان‌ها کمتر بود که به‌دلیل ناکامل بودن زمان برای استخراج آگار است و بهترین زمان استخراج ۱/۵–۲ ساعت مشاهده شد. در تحقیقات گذشته نیز معمولا بهترین مدت زمان برای استخراج آگار بین ۲ تا ۳ ساعت گزارش شده است تا زمان برای استخراج کامل آگار فراهم شود. در تحقیقی که بر روی *G. vermiculophylla* انجام شد بیشترین عملکرد آگار در مدت زمان استخراج ۲/۵ ساعت گزارش شده بود (Arvizu-Higuera *et al*., 2008). کاهش عملکرد آگار در روش استفاده از سود در مقایسه با روش‌های دیگر می‌تواند به‌دلیل انحلال آگار در آب یا به‌دلیل تفاوت در دمای استخراج باشد. همچنین این کاهش می‌تواند به‌دلیل غلظت‌های مختلف سود در هنگام خیساندن جلبک باشد، به‌طوری‌که می‌تواند باعث تجزیه پلی‌ساکاریدها شود (Freile-Pelegrin and Murano, 2005). محققین مختلفی در مورد دماهای استخراج به روش استفاده از سود گزارشاتی را بر این مبنا ارائه کرده‌اند که این دماها بین ۸۰ تا ۱۰۰ درجه سانتیگراد است و به‌علاوه عملکرد آگار به شدت کاهش می‌یابد (Freile-Pelegrín and Murano, 2005; Jiménez-Escrig and nchez-Muniz, 2000). کم و زیاد بودن عملکرد آگار می‌تواند به‌دلیل ماهیت بیولو زیست‌شناختی و ذاتی هر گونه باشد (Lahaye and Yaphe, 1988) همانطوری که می‌تواند تابعی از عوامل زیست محیطی و فیزیولوژیکی و همچنین فرایند استخراج باشد (Murano, 1995). روش استفاده از سود در واقع روشی است که برای بهبود قدرت ژل پایین گونه‌های گراسیلاریا به‌کار برده می‌شود. اگرچه عملکرد آگار در روش‌های استفاده از سود به شدت کاهش می‌یابد، اما این عمل باعث افزایش قدرت ژل می‌گردد. نتایج تجربی نشان داده‌اند که قدرت ژل یک الگوی فصلی دارد و گوناگونی قدرت آن به‌گونه‌ی آن وابسته است (Whyte *et al*., 1984). قدرت ژل تا حد زیادی به میزان ۳ و۶ انهیدروگالاکتوز و سولفات موجود ارتباط دارد (Craigie and Jurgens, 1989; Armisen, 1995). مقدار ژل ضعیف به میزان سولفات مربوط است (Armisen, 1995). در تحقیق حاضر نیز در همه روش‌ها بین قدرت ژل و میزان سولفات آگار استخراجی، یک همبستگی منفی مشاهده گردید. هرچند در برخی روش‌ها این همبستگی معنی‌دار نبود، ولی به هر حال منفی بود. در این مطالعه پیشرفت قابل توجهی در مراحل استفاده از سود در قدرت ژل مشاهده نشد و افزایش به‌میزان جزئی بود، که می‌توان آن را به‌دلیل تفاوت در روش استخراج یا گونه مورد آزمایش دانست. به هر حال افزایش قدرت ژل در روش استفاده از سود در بسیاری از تحقیقات وجود داشته است (Freile-Pelegrin and Murano, 2005). ارزیابی مقادیر سولفات در این تحقیق نتایج هماهنگی را با تحقیقات گذشته حاصل کرد. روش بهینه استخراج آگار از گراسیلاریا کورتیکاتا (*G.corticata*) شامل موارد بعدی است: دمای خیساندن ۴۰ درجه، زمان خیساندن ۱ ساعت، نسبت جلبک–آب ۱:۱۰۰، دمای استخراج ۹۰ درجه، زمان استخراج ۱/۵ ساعت. در روشهای بازی، سود ۵٪ در دمای استخراج ۸۰ درجه بیشترین بازده را داشت.

منابع

Andriamananatonio, H.; Chambat, G. and Rinaudo, M. 2007. Fractionation of extracted Madagascan *Gracilaria corticata* polysaccharides: Structure and properties. Carbohydrate Polymers. 68(1): 77–88.

Armisen, R. and Galatas, F. 1987. Production, properties and uses of agar. In D. J. McHugh (Ed.). Production and utilisation of products from commercial seaweeds. FAO.1–57.

species (Gracilariaceae, Rhodophyta). Bioresoucer Technology. 90: 329–333.

Marinho-Soriano, E.; Fonseca, P.C.; Carneiro, M.A.A. and Moreira, W.S.C. 2006. Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds, Bioresource Technology. 97: 2402–2406.

Marinho- Soriano, E.; Silva, T. S. F. and Moreira, W. S. C. 2001. Seasonal variation in the biomass and agar yield from *Gracilaria cerviconis* and *Hydropuntea cornea* from Brazil. Bioresource Technology. 77:. 115–120.

McHugh, D. J. 2003. A guide to seaweed industry. In FAO (Eds.). FAO fisheries technical paper. Rome. 1-118

Meena, R.; Prasad, K. and Siddhanta, A. K. 2006. Studies on ‘‘sugar-reactivity” of agars extracted from some Indian agarophytes. Food Hydrocolloids. 20(8): 1206–1215.

Murano, E. 1995. Chemical structure and quality of agars from *Gracilaria*. Journal of Applied Phycology. 7(3): 245–254.

Ordua-Rojas, J.; Garca-Camacho, K.; Orozco- Meyer, P.; Riosmena-Rodriguez, R.; Pacheco-Ruiz, I. and Zertuche-Gonzlez, J. 2008. Agar properties of two species of Gracilariaceae from the Gulf of California, Mexico. Journal of Applied Phycology. 20(2): 169–175.

Pereira-Pacheco, F.; Robledo, D.; Rodríguez- Carvajal, L. and Freile- Pelegrín, Y. 2007. Optimization of native agar extraction from *Hydropuntia cornea* from Yucatán Mexico. Bioresource Technology. 98: 1278–1284.

Pondevida, H. B. and Hurtado- Ponce, A. Q. 1996. Assessment of some agarophytes from the coastal areas of Iloilo, Philippines II. Seasonal variations in the agar quality of *Gracilaria changii*, *Gracilaria manilaensis* and *Gracilariopsis bailinae* (Gracilariales, Rhodophyta). Botanica Marina. 39: 123–127.

Rochas, C.; Lahaye, M. and Yaphe, W. 1986. Sulfate content of carageenan and agar determined by infrared spectroscopy. Botanica Marina. 29: 335–340.

Armisen, R. 1995. World-wide use and importance of *Gracilaria*. J. Applied Phycology. 7: 231–243.

Arvizu- Higuera, D.; Rodrguez- Montesinos, Y.; Murillo-lvarez, J.; Muoz- Ochoa, M. and Hernndez-Carmona, G. 2008. Effect of alkali treatment time and extraction time on agar from *Gracilaria vermiculophylla*. Journal of Applied Phycology. 20(5): 515–519.

Craigie, J. S. and Jurgens, A. 1989. Structure of agars from *Gracilaria tikvahiae* Rhodophyta: Location of and sulphate. Carbohydrate Polymers. 11(4): 265–278.

Falshaw, R.; Furneaux, R. H.; Pickering, T. D. and Stevenson, D. E. 1999. Agar from three Fijian *Gracilaria* species. Botanica Marina. 42: 51–59.

Freile-Pelegrín, Y. and Murano, E. 2005. Agars from three species of *Gracilaria* (Rhodophyta) from Yucatán Peninsula. Bioresource Technology. 96**:** 295–302.

Hurtado-Ponce, A. Q. and Umezaki, I. 1988. Physical properties of agar gel from *Gracilaria* (Rhodophyta) of the Philippines. Botanica Marina. 31: 171–174.

Jiménez-Escrig, A. and Snchez-Muniz, F. J. 2000. Dietary fibre from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. Nutrition Research. 20(4): 585–598.

Kumar,V. and Fotedar, R. 2009. Agar extraction process for *Gracilaria cliftonii*. Carbohydrate Polymers. 78: 813–819.

Lahaye, M. and Yaphe, W. 1988. Effects of seasons on the chemical structure and gel strength of *Gracilaria pseudo_errucosa* agar (Gracilariaceae, Rhodophyta). Carbohydrate. Polymers. 8: 285–301.

Li, H.; Huang, J.; Xin, Y.; Zhang, B.; Jin, Y. and Zhang, W. 2009. Optimization and scaleup of a new photobleaching agar extraction process *from Gracilaria lemaneiformis*. Journal of Applied Phycology. 21(2): 247–254.

Marinho-Soriano, E. and Bourret, E . 2003. Effects of season on the yield and quality of agar from *Gracilaria*

Romero, J.B.; Villanueva, R.D. and Montaño, M.N.E. 2008, Stability of agar in the seaweed *Gracilaria eucheumatoides* (Gracilariales, Rhodophyta) during postharvest storage, Bioresource Technology. 1435-1441:

Whyte, J. N. C.; Englar, J. R. and Hosford, S. P. C., 1984. Factors affecting texture profile evaluation of agar gel. Botanica Marina. 27: 63–69.