

Evaluation of Antioxidant Activity of Extracts of Marine Algae *Halimeda tuna* Collected from the Chabahar Bay

Ali Taheri^{1*}, Mostafa Ghaffari¹, Narges Sadat Bagherpour¹, Gilan Attaran Fariman²

¹Department of Fisheries Engineering, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

²Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

*Corresponding Author:
Ali Taheri, Department of Fisheries Engineering, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

Email:
taherienator@gmail.com

Received: 15 May, 2016

Accepted: 26 Aug, 2016

Abstract

Background and Objectives: Seaweeds are one of the richest sources of natural antioxidants. Antioxidants are main factors of free radical scavenging, which prevent from chronic diseases and food deterioration. These compounds can also be extracted from seaweeds. In this study, the antioxidant activity of the extracts from marine algae *Halimeda tuna* collected from the coast of Chabahar, was evaluated.

Methods: This is an *in vitro* study. The antioxidant activity of methanol, chloroform, ethyl acetate, and n-hexanic extracts of the algae, were evaluated using three methods of DPPH, ferrous ion chelating activity, and reduction power methods. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey test at the probability level of 95%.

Results: In this study, the highest antioxidant capacity according to DPPH, was related to the chloroform extract (72.85% inhibition at the concentration of 1mg/ml). In the ferrous ion chelating activity, the highest percentage of chelating was allocated to the methanol extract (81.46%). Based on the data from the reduction power test, the highest reduction activity was related to the methanol extract with absorption of 0.553 (concentration, 1mg/ml).

Conclusion: Based on the results of this research, the extracts of *Halimeda tuna* have the potential for application in medicine and pharmaceutical industry and must be confirmed by preclinical and clinical studies.

Keywords: Antioxidants; Free radicals; Marine algae; Chabahar; Iran.

ارزیابی فعالیت ضد اکسیدانی عصاره‌های حاصل از جلبک دریایی *هالیمدا تونا* جمع آوری شده از خلیج چابهار

علی طاهری^{۱*}، مصطفی غفاری^۱، نوگس سادات باقرپور^۱، گیلان عطاران فریمان^۲

چکیده

زمینه و هدف: جلبک‌های دریایی، یکی از غنی‌ترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌روند. آنتی‌اکسیدان‌ها از عوامل اصلی مهارکننده رادیکال‌های آزاد هستند که از شیوع بیماری‌های مزمن و تخریب بسیاری از مواد غذایی جلوگیری می‌کنند. این ترکیبات از جلبک‌های دریایی نیز قابل استخراج هستند. در این مطالعه، خواص ضد اکسیدان عصاره‌های جلبک دریایی *Halimeda tuna* جمع آوری شده از سواحل چابهار بررسی گردید.

روش بررسی: این مطالعه پژوهشی از نوع برون سلولی است. فعالیت ضد اکسیدان عصاره‌های متانولی، کلروفرمی، اتیل استاتی و ان‌هگزانی جلبک مورد نظر با استفاده از سه روش DPPH، فعالیت کلاته‌کنندگی یون آهن و قدرت احیاکنندگی مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه و توکی در سطح احتمال، ۹۵٪ تحلیل شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه، بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی براساس آزمون DPPH مربوط به عصاره کلروفرمی (۷۲/۸۵٪ مهار در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود. در آزمون فعالیت کلاته‌کنندگی یون آهن؛ بالاترین درصد کلاته‌کنندگی، به عصاره متانولی با ۸۱/۴۶٪ اختصاص داشت. براساس داده‌های حاصل از تست قدرت احیاکنندگی، بالاترین میزان احیاکنندگی مربوط به عصاره متانولی با جذب ۰/۵۵۳ (غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج حاصل از این تحقیق، عصاره‌های جلبک مذکور به صورت بالقوه، قابلیت استفاده در پزشکی و داروسازی را دارند و می‌بایست توسط مطالعات پیش‌کلینیکی و کلینیکی تأیید شوند.

کلید واژه‌ها: آنتی‌اکسیدان‌ها؛ رادیکال‌های آزاد؛ جلبک دریایی؛ چابهار، ایران.

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

گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

علی طاهری، گروه مهندسی شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

taherianator@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۶

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Taheri A, Ghaffari M, Bagherpour NS, Attaran Fariman G. Evaluation of antioxidant activity of extracts of marine algae halimeda tuna collected from the chabahar bay.

Qom Univ Med Sci J 2017;11(5):107-115.[Full Text in Persian]

مقدمه

گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species, ROS) تولید شده در بدن انسان می‌توانند باعث آسیب‌های اکسیداتیو شوند که مرتبط با بسیاری از بیماری‌ها از جمله تصلب شرایین، بیماری‌های عروق کرونر، پیری و سرطان است (۱). گونه‌های اکسیژن فعال مانند رادیکال سوپراکسید (O_2^-)، رادیکال هیدروکسیل (OH)، رادیکال پروکسیل (ROO) و رادیکال اکسید نیتریک (NO) به مولکول‌های زیستی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA و RNA حمله کرده و منجر به آسیب سلول یا بافت می‌شوند. این موارد نه تنها در کاهش کیفیت مواد غذایی؛ بلکه در ایجاد سرطان، جهش‌زایی، ورم مفاصل، دیابت و التهابات نیز نقش دارند (۲). جهت غلبه بر این مشکلات، گستره وسیعی از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مانند بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT)، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) و بوتیل هیدروکسینون (BHQ)، به‌عنوان نگهدارنده در صنایع غذایی استفاده می‌شوند. با این حال این آنتی‌اکسیدان‌ها دارای عوارض جانبی نظیر آسیب‌های کبدی و مشکوک به جهش‌زایی و مشکلات عصبی هستند (۳). این عامل در کنار علاقه مصرف‌کنندگان به استفاده از افزودنی‌های غذایی با منشأ طبیعی سبب شده که توجه به سمت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و شناسایی منابع آن معطوف گردد (۴). از سوی دیگر، در دهه گذشته جستجو برای ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی، توجه بسیاری را به خود معطوف کرده است (۵). جلبک‌های دریایی از منابع با ارزش بیولوژیک بوده، و دارای کاربردهای گوناگونی هستند که استفاده از آنها به‌عنوان غذا و دارو بیش از سایر جنبه‌ها، نظر انسان را به خود جلب کرده است (۶). جلبک‌های دریایی حاوی مواد معدنی، پلی‌ساکاریدها، مشتقات اسیدهای آمینه، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنولی هستند که می‌تواند در غلظت‌های بسیار پایین، خواص آنتی‌اکسیدانی ایجاد کرده و در صنایع غذایی جهت محافظت از غذاها در برابر اکسید شدن مورد استفاده قرار گیرد. ترکیبات مختلف مانند کاروتنوئیدها، آمینواسیدهای وابسته به مایکوسپورین و ترپنوئیدها همراه با ترکیبات فنولی به‌عنوان سینامیک اسیدها، فلوروتانین‌ها و بروموفنول‌ها شناخته شده و مسئول اصلی خواص آنتی‌اکسیدانی در جلبک‌های دریایی معرفی شده‌اند (۷).

مطالعه حاضر، به‌منظور بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلبک دریایی *H. tuna* جمع‌آوری شده از خلیج چابهار با استفاده از سه روش حذف رادیکال آزاد (DPPH)، کلاته کردن یون فلزی و قدرت کاهشی انجام شد. با توجه به نبود سابقه‌ای در مورد بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی جلبک دریایی *Halimeda tuna*، این مقاله اولین گزارش خاصیت آنتی‌اکسیدانی این جلبک در ایران می‌باشد.

روش بررسی

این مطالعه، یک پژوهش از نوع برون‌سلولی است. نمونه‌های جلبکی از سواحل بندر چابهار و ایستگاه دریا بزرگ با مختصات جغرافیایی $25^{\circ}16'61''N$ و $60^{\circ}39'90''E$ در فصل پاییز و اوایل زمستان سال ۱۳۹۳ در زمان بیشینه جذر، جمع‌آوری و با آب دریا شست‌وشو داده شدند و به آزمایشگاه دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار انتقال یافتند. سپس مجدداً برای جداسازی شن و ماسه، اپی‌فیت‌ها و سایر موجودات؛ با آب شیرین شست‌وشو داده شدند. مقداری از جلبک‌ها جهت شناسایی و تأیید گونه نگهداری شدند. در ادامه، جلبک‌ها در سایه و در معرض هوا سرد و خشک شده، تا زمانی که به وزن ثابتی برسند، سپس به وسیله آسیاب برقی پودر شدند. نمونه‌های پودر شده تا زمان مصرف، درون فریزر و در دمای $-20^{\circ}C$ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۸). استخراج عصاره‌ها از طریق خیساندن پودر خشک‌شده جلبک (۲۵ گرم) در حلال‌های متانول، کلروفرم، اتیل استات و آن - هگزان (حجم $100-80$ میلی‌لیتر) انجام شد. سپس نمونه‌ها درون شیکر انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و در دمای محیط قرار گرفتند. فرآیند استخراج، ۲ بار دیگر نیز تکرار شد و پس از آن عصاره‌ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شدند. عمل حلال‌پرانی در زیر هود انجام گرفت و عصاره‌ها تغلیظ شده و برای مصارف بعدی در دمای $4^{\circ}C$ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۹).

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مورد نظر با استفاده از ۳ روش حذف رادیکال آزاد (DPPH)، فعالیت کلاته کردن یون فلزی و قدرت کاهشی (در غلظت‌های $1-0.01$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) صورت گرفت.

پس از انکوباسیون، ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (۰/۱۰٪) به محلول، اضافه و عمل سانتریفوژ (به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۶۵۰g) انجام گرفت. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب و ۰/۵ میلی‌لیتر $FeCl_3$ (۰/۱٪) به آن اضافه شد. در نهایت، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر مشاهده گردید. اسید اسکوربیک به‌عنوان نمونه استاندارد در نظر گرفته شد و تمامی آزمایشها در ۳ مرحله انجام گرفت. در این مطالعه داده‌ها با استفاده از واریانس یک‌طرفه (جهت بررسی داده‌ها) و آزمون توکی (برای مقایسه میانگین) در سطح احتمال ۰/۰۵٪ با استفاده از نرم‌افزار Graphpad-Prism 6 تحلیل شدند.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر، فعالیت آنتی‌اکسیدان عصاره‌های مختلف جلبک سبز *H. tuna* با استفاده از روش‌های DPPH، فعالیت کلاته‌کنندگی یون آهن و قدرت احیاکنندگی در غلظت‌های ۱-۰/۰۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل از آن به شرح زیر می‌باشد:

در مورد جلبک *H. tuna* مطابق جدول؛ عصاره کلروفومی با ۷۲/۸۵٪ مهار رادیکال آزاد (DPPH) در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بود. عصاره‌های اتیل استاتی و ان-هگزانی به ترتیب با ۲۹/۸۲٪ و ۲۶/۹۸٪ مهار در رتبه بعدی قرار گرفتند. در مورد عصاره متانولی این جلبک نیز با افزایش غلظت عصاره از ۰/۵ به ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، درصد مهار کاهش یافت. همچنین براساس نتایج مشخص گردید بین عصاره‌ها در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، اختلاف معنی‌داری وجود ندارد، اما در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر؛ بین متانول با حلال‌های کلروفرم، اتیل استات و ان‌هگزان، اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0/05$)، و بین اتیل استات و ان‌هگزان، اختلاف معنی‌داری دیده نشد. در این تست، اسید اسکوربیک به‌عنوان نمونه استاندارد در نظر گرفته شد و درصد مهار آن در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۹۴/۴۶٪ گزارش شد که نسبت به تمام عصاره‌های مورد مطالعه بیشتر بود.

از رادیکال پایدار ۲ و ۲ دی‌فیل ۱ پیکریل - هیدرازیل (DPPH)، طبق روش Brand-Williams و همکاران در سال ۱۹۹۵ استفاده شد (۱۰).

ابتدا ۲ میلی‌لیتر از عصاره به ۲ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۰/۱۶ میلی‌مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده و به مدت یک دقیقه تکان داده شد. سپس ۳۰ دقیقه در دمای محیط و در تاریکی نگهداری شدند و جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر قرائت گردید. قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$RSA = [1 - ((A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}}) / A_{\text{control}})] \times 100$$

A_{sample} : جذب نمونه بعد از زمان موردنظر؛

A_{control} : جذب محلول DPPH بدون نمونه؛

$A_{\text{sample blank}}$: جذب نمونه بدون محلول DPPH بعد از زمان موردنظر.

کلاته‌کنندگی یون آهن به‌وسیله عصاره‌ها، براساس روش Dinis و همکاران (۱۱) مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا عصاره‌ها (غلظت ۱۰۰۰-۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به محلول حاوی $FeCl_2$ افزوده شدند، سپس واکنش با اضافه کردن Ferrozine شروع شد. پس از آن محلول به شدت تکان داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. در نهایت، میزان جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر و در طول موج ۵۶۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار کمپلکس Fe^{2+} -ferrozine تشکیل شده با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$= [1 - A_1 \text{ Sample} / A_0 \text{ Control}] \times 100 = \text{درصد مهار}$$

A_0 : جذب کنترل؛

A_1 : جذب نمونه عصاره‌ها و استاندارد را نشان می‌دهد.

گروه کنترل حاوی $FeCl_2$ ، ferrozine و مولکول‌های کمپلکس می‌باشد.

تعیین قدرت کاهشی عصاره‌ها براساس روش Oyaizu (۱۲) انجام شد؛ بدین صورت که یک میلی‌لیتر از عصاره موردنظر در غلظت‌های مختلف با ۲/۵ میلی‌لیتر فسفات بافر (۰/۲ مولار، pH=۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید (۰/۱٪) ترکیب گردید. مخلوط واکنش به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد انکوبه شد.

جدول: نتایج بررسی اثر مهار رادیکال آزاد عصاره‌های مختلف جلبک *Halimeda tuna* در غلظت‌های مختلف

عصاره غلظت	متانول	کلروفرم	اتیل استات	ان-هگزان
۱	۴۲/۳۷±۲۳/۴۷ ^{abe}	۷۲/۸۵±۱۰/۷۸ ^{ae}	۲۹/۸۲±۲۵/۸ ^{ae}	۲۶/۹۸±۱۷/۵۷ ^{ae}
۰/۵	۵۷/۱±۸/۷ ^{ae}	۴۵±۳/۲۷ ^{af}	۱۰/۴۲±۲/۶ ^{ag}	۱۱/۲۴±۳/۲۸ ^{ag}
۰/۱	۱۲/۳۳±۱/۳۱ ^b	---	---	---

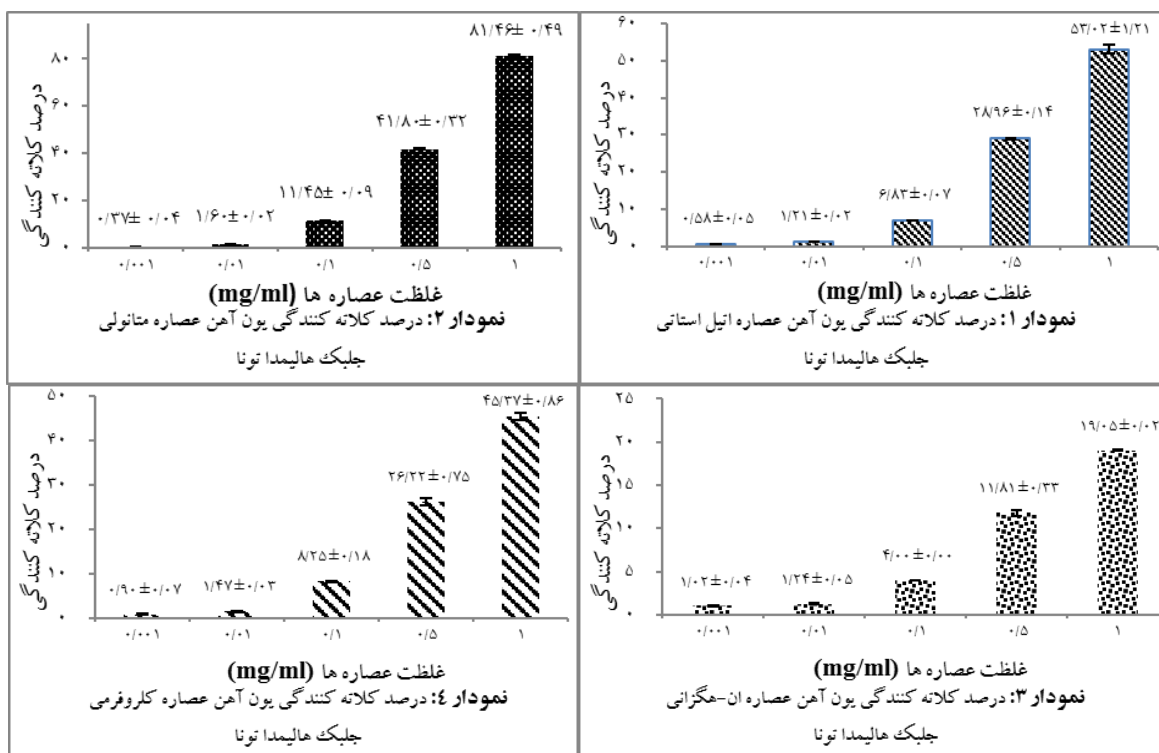
نتایج به صورت انحراف معیار ± میانگین می‌باشد. اختلاف آماری در هر ستون با حروف a, b, c و در هر ردیف با حروف f, e, g ارائه شده است. بررسی در سطح معنی‌داری ۹۵٪ می‌باشد.

فعالیت کلاته‌کنندگی بالاتری را نسبت به سایر غلظت‌ها نشان داده است ($p < 0/05$). در مورد عصاره‌های اتیل‌استاتی و کلروفرمی، غلظت‌های کمتر یا مساوی ۰/۰۱، فاقد اختلاف معنی‌داری بودند. نتایج حاصل از این تست نشان داد عصاره متانولی جلبک *H. tuna* با قدرت احیاکنندگی ۰/۵۵۳ در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدان و عصاره اتیل‌استاتی با جذب ۰/۰۹۴۳، دارای ضعیف‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده است.

در تمامی عصاره‌های حاصل از جلبک مورد مطالعه، با افزایش غلظت عصاره‌ها، میزان جذب نمونه‌ها و در نتیجه قدرت احیاکنندگی آنها افزایش یافت.

در نمودار شماره ۱، تا ۴٪ کلاته‌کنندگی یون آهن به وسیله عصاره‌های مختلف جلبک مورد نظر نشان داده شده است. عصاره متانولی با ۸۱/۴۶٪ دارای بیشترین فعالیت کلاته‌کنندگی و عصاره ان-هگزانی با ۱۹/۰۵٪ دارای کمترین فعالیت کلاته‌کنندگی بود. در این تست، به‌عنوان نمونه استاندارد EDTA در نظر گرفته شد و فعالیت کلاته‌کنندگی آن حداکثر ۸۲/۱۹٪ گزارش گردید.

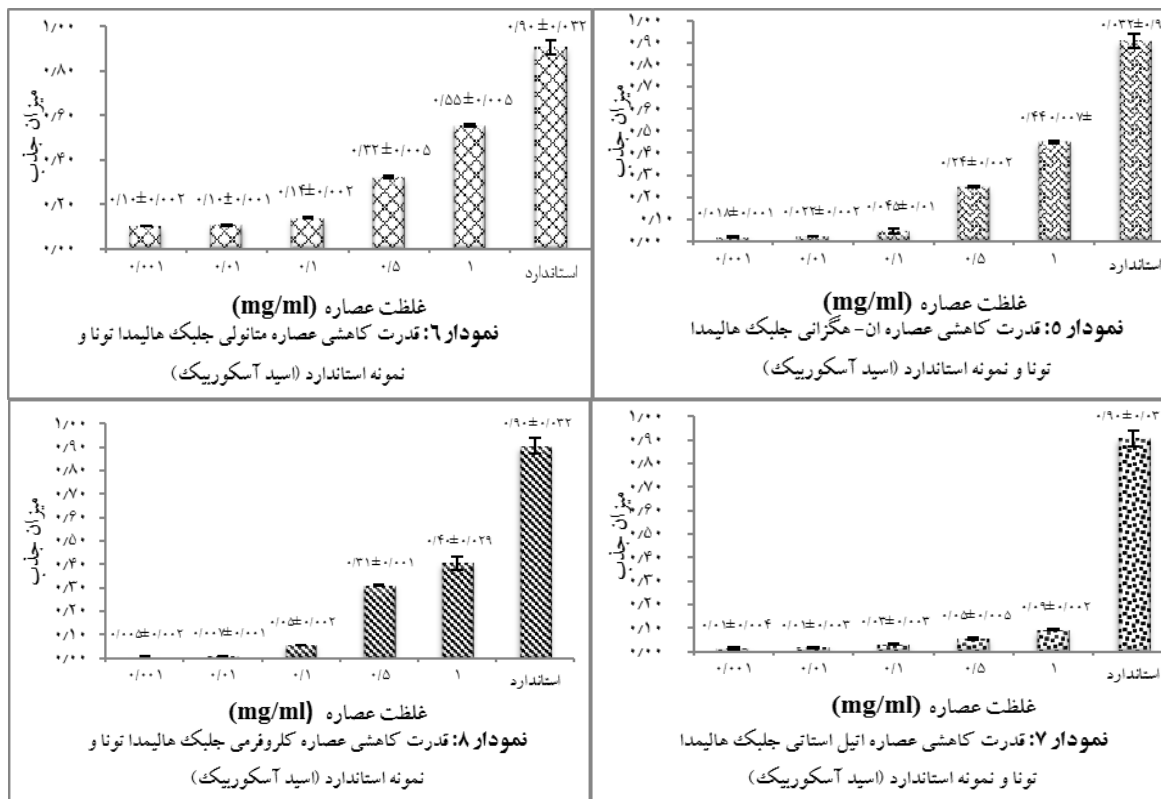
طبق آزمون واریانس یک‌طرفه، فعالیت کلاته‌کنندگی تمامی عصاره‌های جلبک *H. tuna* در تیمارهای مورد آزمون، اختلاف معنی‌داری را نشان داد و براساس آزمون توکی، تمامی عصاره‌ها بجز عصاره متانولی با استاندارد، اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0/05$) و در نمودار شماره ۱ غلظت تمامی عصاره‌ها،



نمودار شماره ۱-۴: درصد کلاته‌کنندگی یون آهن با چهار عصاره مختلف جلبک *Halimeda tuna*.

در این تست، اسید اسکوربیک به عنوان نمونه استاندارد در نظر گرفته شد و میزان جذب آن در غلظت ۰/۰۲ میلی گرم بر میلی لیتر، ۰/۹۰۶ گزارش شد که قدرت احیاکنندگی آن نسبت به تمام عصاره‌های مورد مطالعه بیشتر بود.

نمودار شماره ۸-۵ قدرت احیاکنندگی عصاره‌های حاصل از جلبک *H. tuna* و مقایسه آنها با نمونه استاندارد را نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۸-۵: قدرت کاهشی عصاره‌های مختلف جلبک *هالیمدا تونا*.

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد عصاره‌های مختلف جلبک *H. Tuna*، دارای توان آنتی‌اکسیدانی با درجه‌های متفاوت می‌باشند. جلبک‌های دریایی همانند دیگر گیاهان فتوسنتزکننده، در معرض ترکیبی از نور و اکسیژن قرار دارند که منجر به شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد و سایر عوامل اکسیدکننده قوی می‌شود. از طرفی، عدم تخریب‌های اکسیداتیو در اجزای ساختاری جلبک‌ها و ثبات آنها در برابر اکسیداسیون، در طول فرآیند ذخیره‌سازی بیانگر آن است که سلول‌های آنها دارای سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی هستند (۴).

طبق آزمون واریانس یک‌طرفه، فعالیت احیاکنندگی عصاره‌های متانولی و آن - هگزانی جلبک *H. tuna* تیمارهای مورد آزمون، دارای اختلاف معنی‌دار بود و براساس آزمون توکی، تمامی تیمارها با استاندارد، اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0.05$) و غلظت ۱ عصاره‌های متانولی و آن- هگزانی، قدرت کاهشی بالاتری را نسبت به سایر غلظت‌ها داشتند ($p < 0.05$). غلظت‌های کمتر یا مساوی ۰/۱، فاقد اختلاف معنی‌داری بودند. طبق آزمون واریانس یک‌طرفه، در مورد عصاره اتیل استاتی این جلبک در تیمارهای مورد آزمون، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین در مورد عصاره کلروفومی بین غلظت ۱ و ۰/۵، اختلاف معنی‌داری دیده نشد.

یک آنتی‌اکسیدان ثانویه عمل می‌کنند؛ زیرا می‌توانند از پتانسیل اکسایش - کاهش بکاهند که در نتیجه باعث ایجاد ثبات شکل اکسید شده یون فلزی می‌شود (۱۶). همچنین عصاره‌های مختلف این جلبک، ظرفیت مناسبی برای اتصال به یون آهن از خود نشان می‌دهند. بنابراین، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی پیشنهاد می‌شوند.

در آزمایش قدرت احیاکنندگی، احیای آهن III (فریک) به آهن II (فروس) به‌عنوان یک نمایه برای پتانسیل الکترون‌دهی به کار می‌رود. در این روش، سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس جذب نوری صورت گرفته و بدون واحد است؛ زیرا از جذب نوری برای شدت خاصیت احیاکنندگی استفاده می‌شود. افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش، بیانگر قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها می‌باشد (۱۷). همان‌طور که در بخش نتایج آورده شد، عصاره متانولی با جذب ۰/۵۵۳ (در ۱ غلظت میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌عنوان بهترین عصاره با بیشترین قدرت احیاکنندگی شناخته شد (نمودار شماره ۶) و پس از آن عصاره‌های ان - هگزانی با جذب ۰/۴۴۸ و کلروفومی با جذب ۰/۴۰۵ در مقام‌های بعدی قرار گرفتند (نمودار شماره ۵ و ۸). کمترین فعالیت احیاکنندگی نیز مربوط به عصاره اتیل‌استاتی این جلبک با میزان جذب ۰/۰۹۴۳٪ بود (نمودار شماره ۷). همچنین جذب اسید اسکوربیک به‌عنوان نمونه استاندارد (در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به میزان ۰/۹۰۶، نسبت به تمامی عصاره‌ها، بالاتر و دارای بیشترین قدرت احیاکنندگی یون آهن بود. حلال‌های مورد استفاده در این مطالعه در آزمایشهای مختلف، فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی را از خود نشان دادند. در این تحقیق، حلال‌های متانول، کلروفوم و اتیل‌استات به‌عنوان مؤثرترین حلال‌ها جهت استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدان از جلبک *H. tuna* شناخته شدند. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه مشخص گردید توان آنتی‌اکسیدان جلبک *H. tuna* در تست فعالیت کلاته‌کنندگی یون آهن نسبت به دو تست دیگر مطلوب‌تر بوده و دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدان متوسطی می‌باشد. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی همانند محتوای فنولی از چندین فاکتور بیرونی (فشار گیاهخواران، در معرض آفتاب بودن، عمق، شوری، مواد و ...) و عوامل داخلی و ذاتی (شامل گونه، سن و مراحل

در این پژوهش برای بررسی توان آنتی‌اکسیدانی، از روش مهار رادیکال پایدار (DPPH) استفاده شد. رادیکال DPPH، یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن است که با احیاشدن و تولید مولکول پایدار DPPH-H از ارغوانی به زرد تغییر رنگ می‌دهد (۱۳). با توجه به درصد مهار به‌دست آمده مشخص گردید عصاره کلروفومی جلبک *H. tuna* با ۷۲/۸۵٪ مهار دارای فعالیت آنتی‌اکسیدان بهتری نسبت به عصاره‌های اتیل‌استاتی و ان - هگزانی می‌باشد (جدول شماره ۱). در مورد این عصاره‌ها می‌توان گفت در غلظت‌های بالاتر به دلیل وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدان بیشتر از جمله ترکیبات فنولی بیشتر و در نتیجه افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال دهندگی هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و در پی آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (۱۴). در مورد عصاره متانولی این جلبک نیز با افزایش غلظت از ۰/۵ به ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، درصد مهار رادیکال آزاد کاهش یافت که نتایج سه تکرار می‌تواند نشان‌دهنده وجود یک نقطه بهینه باشد و بیانگر آن است که درصد مهار رادیکال DPPH در مورد این عصاره وابسته به غلظت نبوده و می‌توان روی بهینه‌سازی غلظت‌های مورد آزمایش، تحقیقات بیشتری انجام داد.

در روش فعالیت کلاته‌کنندگی، فروزین می‌تواند به مقدار کمی با Fe^{2+} کمپلکس تشکیل دهد. در حضور نمونه‌های دارای خاصیت کلاته‌کنندگی، تشکیل این کمپلکس کاهش می‌یابد. بنابراین، اندازه‌گیری میزان کاهش رنگ کمک می‌کند تا فعالیت کلاته‌کنندگی نمونه تخمین زده شود (۱۵). طبق نمودار شماره ۲، عصاره متانولی جلبک *H. tuna* با ۸۱/۴۶٪ فعالیت کلاته‌کنندگی، به‌عنوان بهترین عصاره شناخته شد و پس از آن عصاره‌های اتیل‌استاتی با ۵۳/۰۲٪ و کلروفومی با ۴۵/۳۷٪ کلاته‌کنندگی در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (نمودار شماره ۱ و ۴). کمترین فعالیت کلاته‌کنندگی نیز مربوط به عصاره ان - هگزانی این جلبک با ۱۹/۰۵٪ بود (نمودار شماره ۳). فعالیت کلاته‌کنندگی EDTA به‌عنوان نمونه استاندارد (در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بین ۵۲/۵۱٪ تا ۸۲/۱۹٪ متغیر بود و حداکثر فعالیت کلاته‌کنندگی آن نسبت به تمامی عصاره‌ها، بالاتر بود. گزارش شده است عوامل کلاته‌کننده به‌صورت "سیگما" به یک فلز متصل شده و به‌عنوان

رابطه معکوس بین مصرف روزانه رژیم غذایی غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها و بروز بیماری‌های انسانی مانند سرطان و بیماری‌های عروق کرونر، شناسایی جزئی ترکیبات آنتی‌اکسیدان از عصاره‌های حاصل از این جلبک می‌تواند جهت ارزیابی آنها در صنعت داروسازی، تولیدات غذایی، آرایشی و بهداشتی مفید واقع شود. در تحقیق حاضر، اثرات بسیار خوب آنتی‌اکسیدانی ترکیبات استخراجی جلبک *H. tuna* و قابلیت استفاده احتمالی آن در علوم پزشکی و داروسازی پس از مطالعات پیش‌کلینیکی و کلینیکی مقدماتی نشان داده شد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان این مقاله از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به جهت فراهم آوردن امکانات تحقیق در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد تشکر و قدردانی می‌کنند.

تولیدمثلی) پیروی می‌کنند (۱۸). جلبک *H. tuna* نیز در بالاترین سطح مناطق جزر و مدی که متحمل استرس‌های محیطی همچون تابش خورشید، درجه حرارت بالا و در معرض خشکی‌زدگی است، رویش پیدا می‌کند (۱۹). قرارگرفتن در معرض بیشترین استرس‌های محیطی شاید از جمله دلایلی است که سبب شده این جلبک دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان متوسطی باشد. همچنین می‌توان پایین بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به دلیل پایین بودن میزان فنول و فلانویید تام دانست. به‌علاوه، مطالعات نشان داده‌اند بالا بودن ترکیبات فنولی، دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی عصاره‌ها از جمله ترکیبات قطبی است (۲۰).

نتیجه‌گیری

فعالیت آنتی‌اکسیدان عصاره‌های مختلف جلبک *H. tuna*، اهمیت آنها را به‌عنوان یک منبع جدید بالقوه از افزودنی‌های طبیعی و مکمل‌های غذایی روشن می‌کند، به‌خصوص با توجه به وجود

References:

1. Delma C, Ramalingam K, Pandian V, Baskar A, Savarimuthu I, Thangavelu B. Inhibition of tumor cell migration and angiogenesis by sulphated polysaccharides from *Sargassum wightii* (Greville). *Cancer Prev Res* 2008;1(Suppl7):A5.
2. Ye H, Wang K, Zhou C, Liu J, Zeng X. Purification, antitumor and antioxidant activities in vitro of polysaccharides from the brown seaweed *Sargassum pallidum*. *Food Chem* 2008;111(2):422-32.
3. Lekameera R, Vijayabaskar P, Somasundaram ST. Evaluating antioxidant property of brown alga *Colpomenia sinuosa* (DERB. ET SOL). *Afr J Food Sci* 2008;2:126-30.
4. Zubia M, Robledo D, Freile- Pelegrin Y. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *J Appl Phycol* 2007;19(5):449-58.
5. Karawita R, Siriwardhana N, Lee KW, Heo MS, Yeo IK, Lee YD, et al. Reactive oxygen species scavenging, metal chelation, reducing power and lipid peroxidation inhibition properties of different solvent fractions from *Hizikia fusiformis*. *Eur Food Res Technol* 2005;220(3):363-71.
6. Peymani J, Gharraei A, Ghafari M, Taheri A. Evaluation of antibacterial and antifungal effects of marine algae (*Gracilaria arcuata*) of chabahar coasts, Iran. *Qom Univ Med Sci J* 2014;8(1):69-75. [Full Text in Persian]
7. Selim SA. Antimicrobial, antiplasmid and cytotoxicity potentials of marine algae *Halimeda opuntia* and *Sarconema filiforme* collected from red sea coast. *Int J Med Health Med Bioeng Pharm Eng* 2012;6(1):1154-9.
8. Mosaddegh M, Gharanjik BM, Naghibi F, Esmaeili S, Pirani A, Eslami B, et al. A survey of cytotoxic effects of some marine algae in the Chabahar coast of Oman sea. *Res J Pharm* 2014;1(1):27-31. [Full Text in Persian]
9. Lim SN, Cheung PC, Ooi VE, Ang PO. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *J Agric Food Chem* 2002;50(13):3862-6.

10. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol* 1995;28(1):25-30.
11. Dinis T, Madeira V, Almeida L. Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Arch Biochem Biophys* 1994;315(1):161-9.
12. Oyaizu M. Studies on products of browning reaction prepared from glucoseamine. *Jap J Nutr Diet* 1986;44:307-15.
13. Singh S, Singh RP. In vitro methods of assay of antioxidants: An overview. *Food Rev Int* 2008;24(4):392-415.
14. Sanchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Res Int* 1999;32(6):407-12.
15. Ganesan K, Suresh Kumar K, Subba Rao PV. Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2011;12(1):73-8.
16. Gordon MF. The mechanism of antioxidant action in vitro. In: Hudson BJ. *Food antioxidants*. New York: Springer Pub; 1990. p. 1-18.
17. Jayaprakash GK, Singh RP, Sakariah KK. Antioxidant activity of grape seed extracts on per oxidation models in vitro. *Food Chem* 2001;73(3):285-90.
18. Connan S, Delisle F, Deslandes E, Gall EA. Intra-thallus phlorotannin content and antioxidant activity in *Phaeophyceae* of temperate waters. *Bot Mar* 2006;49(1):39-46.
19. Choo KS, Snoeijs P, Pedersen M. Oxidative stress tolerance in the filamentous green algae *Cladophora glomerata* and *Enteromorpha ahlneriana*. *J Exp Mar Bio Ecol* 2004;298(1):111-23.
20. Küçük M, Kolaylı S, Karaoğlu Ş, Ulusoy E, Baltacı C, Candan F. Biological activities, chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem* 2007;100(2):526-34.