Original Article

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

Ali Taheri[1], Mostafa Ghaffari[1], Narges Sadat Bagherpour[1], Gilan Attaran Fariman[2]*

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

[2]*Department 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.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 18:35 IRST on Wednesday February 21st 2018

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره یازدهم، شماره پنجم، مرداد ۹۶
صفحه ۱۰۷ الی ۱۱۵

مقاله پژوهشی
(Original Article)

ارزیابی فعالیت ضداکسیدانی عصاره‌های حاصل از جلبک دریایی *هالیمدا تونا* جمع‌آوری‌شده از خلیج چابهار

علی طاهری[1*]، مصطفی غفاری[1]، نرگس سادات باقرپور[1]، گیلان عطاران فریمان[2]

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

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

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 موادغذایی جلوگیری می‌کنند. این ترکیبات از جلبک‌های دریایی نیز قابل‌استخراج هستند. در این مطالعه، خواص ضداکسیدان عصاره‌های جلبک دریایی *Halimeda tuna* جمع‌آوری‌شده از سواحل چابهار بررسی گردید.

روش بررسی: این مطالعه پژوهشی از نوع برون‌سلولی است. فعالیت ضداکسیدان عصاره‌های متانولی، کلروفرمی، اتیل‌استاتی 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 یک‌طرفه 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 ۱میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) 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 برمیلی‌لیتر) بود.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج حاصل از این تحقیق، عصاره‌های جلبک مذکور به‌صورت 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.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
علی طاهری، گروه مهندسی شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
taherienator@gmail.com

تاریخ دریافت:۹۵/۲/۲۵

تاریخ پذیرش:۹۵/۴/۶

لطفاً به این مقاله به‌صورت 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]

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 18:35 IRST on Wednesday February 21st 2018

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 18:35 IRST on Wednesday February 21st 2018

مقدمه

گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species, ROS) تولیدشده در بدن انسان می‌توانند باعث آسیب‌های اکسیداتیو شوند که مرتبط با بسیاری از بیماری‌ها ازجمله تصلب‌شرائین، 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 هیدروکوئینون (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 به‌خود 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 به‌خود 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 اکسیدشدن 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* جمع‌آوری‌شده از خلیج چابهار با استفاده از سه روش حذف رادیکال آزاد (DPPH)، کلاته‌کردن 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 N ″۶۱ ′۱۶ °۲۵ و E ″۹۰ ′۳۹ °۶۰ 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 به‌وسیله آسیاب برقی پودر شدند. نمونه‌های پودرشده تا زمان مصرف، درون فریزر و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۸). استخراج عصاره‌ها از طریق خیساندن پودر خشک‌شده جلبک (۲۵ گرم) در حلال‌های متانول، کلروفرم، اتیل استات و ان - هگزان (حجم ۱۰۰-۸۰ 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 ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۹).

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مورد نظر با استفاده از ۳ روش حذف رادیکال آزاد (DPPH)، فعالیت کلاته‌کردن یون فلزی و قدرت کاهشی (در غلظت‌های ۱- ۰/۰۰۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) صورت گرفت.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 18:35 IRST on Wednesday February 21st 2018

از رادیکال پایدار ۲ و ۲ دی‌فنیل 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 یک‌دقیقه 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:

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

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

$A_{control}$: جذب محلول DPPH بدون نمونه؛

$A_{sample\ blank}$: 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 برمیلی‌لیتر) 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 به‌مدت 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 ferrozine- Fe^{2+} تشکیل‌شده با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد مهار} = [\ 1- A_{1\ Sample} / A_{0\ Control}\ ] \times 100$$

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 (۱٪) ترکیب گردید. مخلوط واکنش به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد انکوبه شد.

پس از انکوباسیون، ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (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 ۹۵٪ 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 برمیلی‌لیتر مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل از آن به شرح زیر می‌باشد:

در مورد جلبک *H. tuna* مطابق جدول؛ عصاره کلروفرمی با ۷۲/۸۵٪ مهار رادیکال آزاد (DPPH) در غلظت ۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر 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 برمیلی‌لیتر، درصد مهار کاهش یافت. همچنین براساس نتایج مشخص گردید بین عصاره‌ها در غلظت ۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، اختلاف معنی‌داری وجود ندارد، اما در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر؛ بین متانول با حلال‌های کلروفرم، اتیل‌استات و ان‌هگزان، اختلاف معنی‌دار بود ($p<0/05$)، و بین اتیل‌استات و ان‌هگزان، اختلاف معنی‌داری دیده نشد. در این تست، اسید اسکوربیک به‌عنوان نمونه استاندارد درنظر گرفته شد و درصد مهار آن در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، ۹۴/۴۶٪ گزارش شد که نسبت به تمام عصاره‌های مورد مطالعه بیشتر بود.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 18:35 IRST on Wednesday February 21st 2018

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

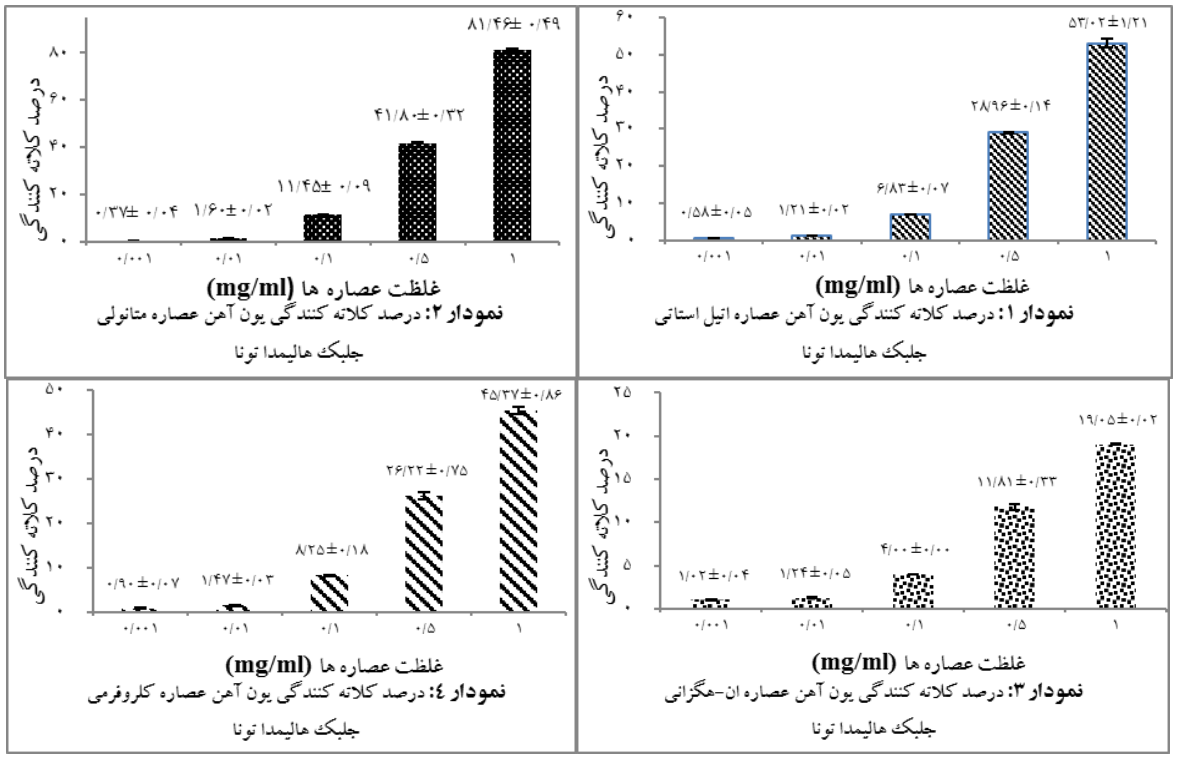
عصاره غلظت	متانول	کلروفرم	اتیل استات	ان- هگزان
۱	۴۲/۳۷±۲۳/۴۷^{abe}	۷۲/۸۵ ± ۱۰/۷۸^{ae}	۲۹/۸۲± ۲۵/۸^{ae}	۲۶/۹۸ ± ۱۷/۵۷^{ae}
۰/۵	۵۷/۱ ± ۸/۷^{ae}	۴۵ ± ۳/۲۷^{af}	۱۰/۴۲ ± ۲/۶^{ag}	۱۱/۲۴ ± ۳/۲۸^{ag}
۰/۱	۱۲/۳۳ ± ۱/۳۱^{b}	---	---	---

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

در نمودار شماره ۱، تا ۴٪ کلاته‌کنندگی یون آهن به‌وسیله 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، EDTA به‌عنوان نمونه استاندارد 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 ($p<۰/۰۵$) و در نمودار شماره ۱ غلظت تمامی عصاره‌ها، فعالیت کلاته‌کنندگی بالاتری را نسبت به سایر غلظت‌ها نشان داده است ($p<۰/۰۵$). 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 برمیلی‌لیتر، دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدان و عصاره اتیل‌استاتی با جذب ۰/۰۹۴۳، دارای ضعیف‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده است.

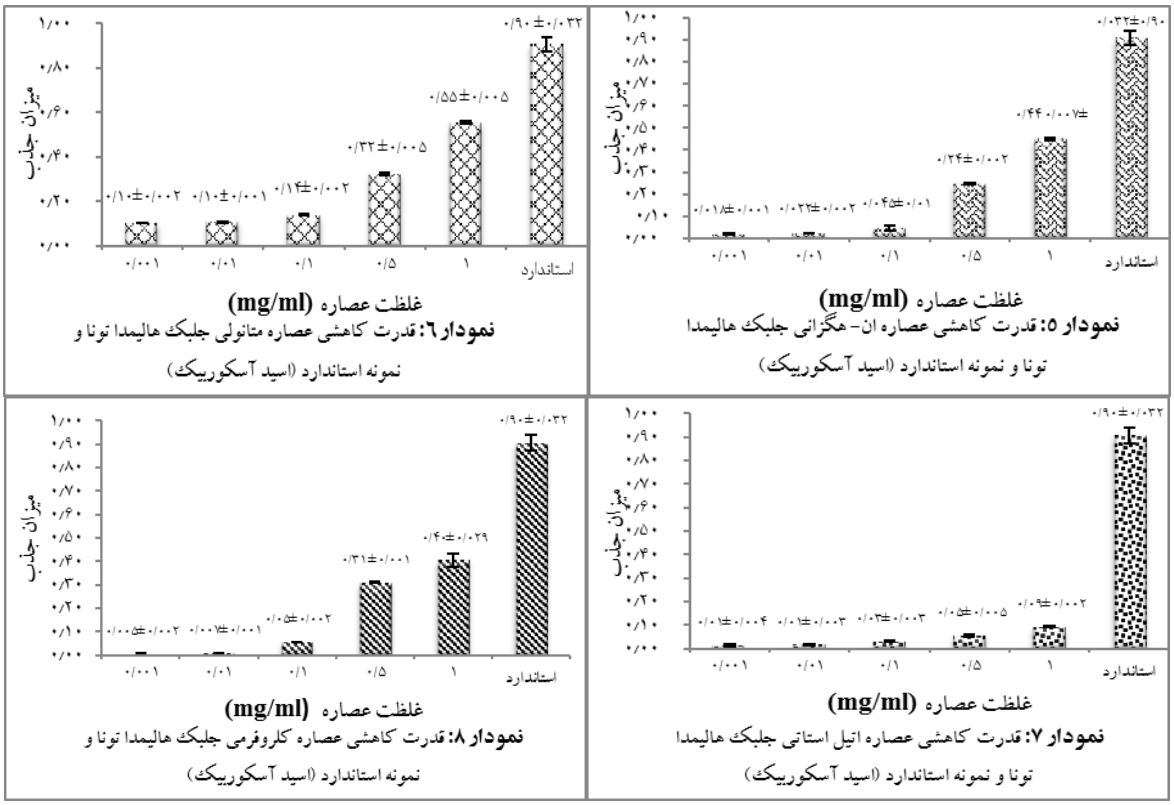
در تمامی عصاره‌های حاصل از جلبک مورد مطالعه، با افزایش غلظت عصاره‌ها، میزان جذب نمونه‌ها و در نتیجه قدرت احیاکنندگی آنها افزایش یافت.



نمودار شماره ٤-۱: درصد کلاته‌کنندگی یون آهن با چهار عصاره مختلف جلبک *هالیمدا تونا*.

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

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



نمودار ۵: قدرت کاهشی عصاره ان- هگزانی جلبک هالیمدا تونا و نمونه استاندارد (اسید آسکوربیک)

نمودار ٦: قدرت کاهشی عصاره متانولی جلبک هالیمدا تونا و نمونه استاندارد (اسید آسکوربیک)

نمودار ۷: قدرت کاهشی عصاره اتیل استاتی جلبک هالیمدا تونا و نمونه استاندارد (اسید آسکوربیک)

نمودار ۸: قدرت کاهشی عصاره کلروفرمی جلبک هالیمدا تونا و نمونه استاندارد (اسید آسکوربیک)

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

طبق آزمون واریانس یک‌طرفه، فعالیت احیاکنندگی عصاره‌های متانولی و ان - 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 ان- 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 اتیل‌استاتی این جلبک در تیمارهای مورد آزمون، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین در مورد عصاره کلروفرمی بین غلظت ۱ و ۰/۵، اختلاف معنی‌داری دیده نشد.

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 به‌شکل‌گیری 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).

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 18:35 IRST on Wednesday February 21st 2018

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 18:35 IRST on Wednesday February 21st 2018

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 به‌دست‌آمده مشخص گردید عصاره کلروفرمی 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 ازجمله ترکیبات فنولی بیشتر و در نتیجه افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال دهندگی هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و درپی آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (۱۴). در مورد عصاره متانولی این جلبک نیز با افزایش غلظت از ۰/۵ به ۱ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر، 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 موردآزمایش، 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 کلروفرمی 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 برمیلی‌لیتر) 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 یک آنتی‌اکسیدان ثانویه عمل می‌کنند؛ زیرا می‌توانند از پتانسیل اکسایش - کاهش بکاهند که در نتیجه باعث ایجاد ثبات شکل اکسیدشده 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). همان‌طورکه در بخش نتایج آورده شد، عصاره متانولی با جذب ۰/۵۵۳ (در ۱ غلظت میلی‌گرم برمیلی‌لیتر) به‌عنوان بهترین عصاره با بیشترین قدرت احیاکنندگی شناخته شد (نمودار شماره ۶) و پس از آن عصاره‌های ان - هگزانی با جذب ۰/۴۴۸ و کلروفرمی 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 برمیلی‌لیتر) 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، کلروفرم 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

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 18:35 IRST on Wednesday February 21st 2018

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 ازجمله 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 فلانوئید تام دانست. به‌علاوه، مطالعات نشان داده‌اند بالا بودن ترکیبات فنولی، دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی عصاره‌ها ازجمله 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 به‌وجود 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.

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, Gharaei 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, salycilate, and 5-aminosalycilate) 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.

Downloaded from journal.muq.ac.ir at 18:35 IRST on Wednesday February 21st 2018