

بررسی توان ضدرادیکالی و ضداکسیدانی دو گونه جلبکی قرمز و قهوه‌ای سواحل خلیج فارس در استان بوشهر در مقایسه با برگ درخت حرا (*Avicennia marina*)

محسن حیدری^۱

عبدالعلی موحدی نیا^{۲*}

amovahedinia@yahoo.com

صبا حسینی^۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: برخی متابولیت های ثانویه مشتق شده از گیاهان پتانسیل قوی برای پاکسازی رادیکال های آزاد می باشند. هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه خواص ضداکسیدانی و ضد رادیکالی عصاره برگ درخت حرا (*Avicennia marina*) در مقایسه با عصاره دو گونه از جلبک های قهوه ای *Cystoseriaceae myrica* و قرمز *Gracilaria corticata* سواحل خلیج فارس در استان بوشهر بود. **روش بررسی:** عصاره گیری به روش خیساندن از دو گونه جلبکی قرمز و قهوه ای و گیاه حرا در سواحل خلیج فارس تهیه گردید. همچنین اثرات ضداکسیدانی عصاره های سه گونه مورد مطالعه با استفاده از آزمون های DPPH و RP مورد بررسی قرار گرفتند. **یافته ها:** در این مطالعه بالاترین فعالیت ضداکسیدانی با آزمون DPPH را عصاره اتانولی برگ درخت حرا (*A. marina*) داشت و کم ترین این مقادیر را عصاره متانولی گونه *C. myrica* از جلبک های قهوه ای داشت. بالاترین فعالیت ضداکسیدانی با آزمون RP مربوط به عصاره متانولی گونه *C. myrica* بود و کمترین فعالیت ضداکسیدانی با این آزمون را عصاره اتانولی برگ درخت حرا داشت. بین فعالیت ضداکسیدانی عصاره متانولی گونه *C. myrica* با آزمون RP با بقیه عصاره های استخراجی در این مطالعه اختلاف معنی داری وجود داشت ($sig < 0.05$).

نتیجه گیری: به طور کلی بهترین فعالیت ضداکسیدانی با آزمون RP را عصاره متانولی حاصل از جلبک قهوه ای *C. myrica* و بهترین فعالیت ضداکسیدانی با آزمون DPPH را عصاره اتانولی حاصل از برگ حرا (*A. marina*) نشان دادند. **واژه های کلیدی:** خلیج فارس، ضداکسیدانی، DPPH، حرا، جلبک.

۱- دکترای تخصصی گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲- (مسئول مکاتبات): دانشیار گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

۳- دکترای تخصصی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهراء (س)، تهران، ایران.

Assessment of antiradical and antioxidant potentials in two red and brown algae from Persian Gulf in Booshehr province in comparison with leaf of mangrove (*Avicennia marina*)

Mohsen Heidari¹

Abdolali Movahedinia^{2*}

amovahedinia@yahoo.com

Saba Hosseini³

Abstract

Background and Objective: Some metabolites derived from plants have strong potential for free radical cleaning. The aim of this study was to determine and compare the antioxidant and antiradical properties of leaf extract of mangrove, *Avicennia marina*, and two red and brown algae (*Gracilaria corticata* and *Cystoserriaceae myrica*), from coastal areas of Persian Gulf in Booshehr province.

Method: Extraction of two species of brown and red algae and mangrove was done by soaking method from coast of the Persian Gulf, and also antioxidant activities of extracts of added species were recorded using DPPH and RP tests.

Findings: According to the DPPH test, the highest antioxidant activity was observed in ethanol extract of mangrove leave and the lowest was observed in brown algae *C. myrica*. The highest antioxidant activity by RP test was observed in methanol extract of brown algae *C. myrica* and the lowest was observed in ethanol extract of mangrove leave. There were also significant differences ($\text{sig} < 0.05$) between methanol extract of *C. myrica* and other prepared extracts according to the RP test.

Conclusion: In this study, the highest anti-oxidant activity was found in methanolic extract of algae *C. myrica* (by RP test) and in leaf extract (etanolic) of mangrove *A. marina* (by DPPH test).

Keywords: Persian Gulf, Antioxidant, DPPH, Mangrove, Algae.

1- PhD in Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran, Tehran, Iran.

2- Associate professor, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. * (Corresponding Author)

3- PhD in Department of Biology, Faculty of Science, University of Alzahra, Tehran, Iran.

مقدمه

ظرفیت‌های زیستی ارزشمند کشور هستند که توجه چندانی به آن‌ها نشده و برنامه‌ریزی اصولی و مدونی برای بهره‌برداری از این ذخائر دریایی وجود ندارد (۹).

جنگل‌های حرا یکی از اکوسیستم‌های پرتولید سراسر دنیا هستند (۱۰). که در ۱۱۲ کشور و مناطق استوایی پراکنش دارند (۱۱). جنگل‌های حرا به طور برجسته از مناطق جزر و مدی گرمسیری و نیمه گرمسیری هستند (۱۲). مناطق زیست گاهی این جنگل‌ها در ایران از شرقی‌ترین قسمت دریای عمان در خلیج گواتر تا غرب خلیج فارس (در استان بوشهر) ادامه دارند. این جنگل‌ها به عنوان آخرین مجموعه انبوه و وسیع از این درختان در جنوب غربی آسیا شناخته می‌شوند.

به هر اتم یا ملکولی که در اوربیتال اتمی یا ملکولی خود یک یا چند الکترون پیوندی داشته باشد رادیکال آزاد گویند. این ترکیبات معمولاً ناپایدار، کاملاً واکنش پذیر و با انرژی بالا می‌باشند که به علت ایجاد آسیب اکسیداتیو در لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک منجر به بیماری‌های التهابی، دیابت ملیتوس، آترواسکلروز، سکته قلبی و مغزی، سرطان، نقص ایمنی، پیری و چندین بیماری فرساینده دیگر در انسان می‌شوند (۱۳-۱۵). رادیکال‌های آزاد ملکول‌های ناپایدار و بسیار واکنش‌پذیر هستند که می‌توانند باعث صدمه به DNA سلول‌ها و در نهایت جهش‌زایی شوند (۱۶). آنتی‌اکسیدان‌ها زیان‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد واکنش‌پذیر و گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن‌دار را در سلول‌ها کاهش می‌دهند (۱۷). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در برخی از جلبک‌های قرمز، قهوه‌ای و سبز مورد مطالعه قرار گرفته و نشان داده شده که خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک‌های دریایی مختلف با هم تفاوت دارند و متناسب با محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آن‌هاست (۱۸). گزارش داده شده که فراورده‌ها و محصولات گیاهی همچون فلاونوئیدها، کومارین‌ها، فنولیک اسیدها و ترپن‌ها دارای قدرت پاک‌سازی رادیکال DPPH هستند (۱۹).

Anggadiredja و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان دادند که عصاره *Laurencia obtusa* فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی داشت سپس عصاره *Sargassum polycystum* دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بود. Ruperez در سال ۲۰۰۱ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی جلبک: *Ulva lactuca*.

در سال‌های اخیر تعداد قابل توجهی از متابولیت‌های جدید با خواص دارویی از موجودات دریایی کشف شده‌اند (۱). محصولات طبیعی فعال زیستی به طور گسترده در سلسه گیاهی و عصاره حاصل از گیاهان مختلف همچون جلبک‌های ماکروسکوپی قرمز، سبز و قهوه‌ای به طور گسترده در آن‌ها وجود دارد و به عنوان محصولات طبیعی گسترده شده است (۲). جلبک‌های دریایی یکی از بزرگ‌ترین تولیدکنندگان در محیط‌های دریایی هستند (۳). آن‌ها تنوع وسیعی از متابولیت‌های شیمیایی در محیط بالقوه خود دارند که در برابر ارگانسیم‌های خارجی از خود دفاع می‌کنند. این متابولیت‌های فعال به عنوان ترکیبات شیمیایی بیوژنیک شناخته می‌شوند (۴ و ۳). جلبک‌ها به عنوان بخش مهمی از فلور سواحل جزر و مدی و تولیدکنندگان اولیه اکوسیستم‌های دریایی محسوب می‌شوند که تنوع گونه‌ای آن‌ها در نواحی جزر و مدی اقیانوس‌ها و دریاها تابع عوامل جغرافیایی و اقلیمی حاکم بر آن مناطق می‌باشد (۵). جلبک‌های ماکروسکوپی در گروه ریشه‌داران فتوسنتز کننده (تالوفیت‌ها) قرار می‌گیرند. این گیاهان فاقد ساختارهایی مثل ریشه، ساقه و برگ حقیقی مانند سایر گیاهان عالی هستند، پیکره رویشی جلبک‌ها از سلول‌های کوچک منفرد تا ساختمان‌های پر سلولی پیچیده تغییر می‌کند. بیش‌ترین تغییر در ظاهر تحت تاثیر زیستگاه، سن و شرایط محیط زیستی است (۶).

جلبک‌های ماکروسکوپی به طور اختصاصی در سواحل صخره‌ای یا قله سنگی یا در مکان‌هایی از ساحل که بستر مناسبی برای چسپیدن وجود داشته باشد رشد می‌کنند. سواحل خلیج فارس که دارای بستر صخره‌ای مناسبی باشند دارای گونه‌های مختلفی در فصول مختلف هستند. جلبک‌های دریایی یکی از بزرگ‌ترین تولیدکنندگان در محیط‌های دریایی هستند (۷). خوشبختانه در کشور ایران نیز بر اثر شرایط جغرافیایی خاص، گسترش جلبک‌ها آن چنان است که بسیاری از گیاهان تولید کننده مواد اولیه دارویی را داریم و می‌تواند با بهره‌گیری از آن‌ها از ورود این مواد از خارج جلوگیری کنیم. جلبک‌های دریایی در سواحل صخره‌ای جنوب کشور بخصوص سواحل استان سیستان و بلوچستان، هرمزگان و بوشهر به وفور یافت می‌شوند (۸). جلبک‌های موجود در منابع دریایی جنوب کشور یکی از

myrica) مورد مطالعه در اواخر فصل پاییز (آذرماه) سال ۱۳۹۱ و در زمان حداکثر جزر از سواحل صخره‌ای و جزر و مدی استان بوشهر (دو ایستگاه دانشگاه بوشهر (۵۴'N, ۲۸° و ۴۹'E, ۵۰°) و ایستگاه نیروگاه اتمی بوشهر (۵۰'N, ۲۸° و ۵۲'E, ۵۰°) که محل رویش این جلبک‌ها هستند در یک‌بار مراجعه صورت گرفت. برگ درخت حرا گونه (*Avicennia marina*) را نیز از سواحل جزیره قشم جمع‌آوری شد. جلبک‌های جمع‌آوری شده را با آب دریا شسته شده و سپس در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. مقداری را جهت نگهداری و شناسایی در فرمالین ۴٪ تا قرار داده شدند. در آزمایشگاه جلبک‌های مورد نظر را دوباره با آب معمولی کاملاً و با دقت شسته و سپس درون آب مقطر غوطه ور کرده. برگ درخت حرا را نیز بعد از نمونه برداری و انتقال به آزمایشگاه در کنار جلبک‌های مورد مطالعه در محیط تاریک آزمایشگاه و بر روی پارچه تمیزی خشک شدند. بعد از خشک کردن، نمونه‌ها توسط آسیاب برقی کاملاً به صورت پودر در آمدند (۲۶).

عصاره‌گیری و بررسی خواص ضد اکسیدانی گیاهان آبی مورد مطالعه

عصاره‌گیری از نمونه‌ها به روش خیساندن^۱ با اتانول ۱۰۰ درجه (از جلبک *G. corticata* و برگ درخت حرای *A. marina*) و متانول (از جلبک *G. corticata* و جلبک *C. myrica*) به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه و در تاریکی انجام شد. عصاره‌ی تهیه شده از جلبک‌ها درون ویال و در یخچال تا استفاده نگهداری شدند (۲۶).

بررسی فعالیت ضد اکسیدانی

۱. ارزیابی فعالیت ضد اکسیدان بوسیله رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH): فعالیت ضد اکسیدان تام نمونه‌های عصاره توسط روش Von Gadow و همکاران ارزیابی شد (۲۷). بر طبق این روش، ۲/۴ میلی گرم پودر DPPH در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول خالص حل، سپس در لوله آزمایش به ۰/۲۵ میلی لیتر نمونه یا محلول استاندارد ترولکس^۲، ۱ میلی لیتر محلول الکی DPPH اضافه و مخلوط شد. همچنین از محلول DPPH به عنوان کنترل استفاده گردید. بعد از ۱۰ دقیقه قرار دادن در تاریکی و دمای محیط،

Sargassum crassifolia به ترتیب با آزمون DPPH بالاترین و کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی را از خود نشان دادند. Lohrman و همکاران در سال ۲۰۰۴ ثابت کردند که فعالیت سه آنزیم های آنتی اکسیدانی سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، اسکورباز پر اکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز در زمستان بیشتر از تابستان بود و پیشنهاد دادند که سطح مقدار ترکیبات اکسیژن فعال (ROS) در اکثر ماکرو جلبک‌ها به عنوان یک نتیجه از شرایط محیطی مانند استرس‌های خشک شدن، انجماد، درجه حرارت‌های پایین، تابش بالا، اشعه ی ماوراء بنفش، فلزات سنگین و نوسانات شوری است. Jimenez و همکاران در سال ۲۰۱۱ کشف کردند که فعالیت پاکسازی رادیکال ۲،۲ - دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) بطور مثبت به محتوای کل پلی فنل‌ها در عصاره‌های حلال‌های آبی و آلی در جلبک‌های قهوه‌ای و قرمز وابسته است.

در ایران حاجی محمودی و همکاران ظرفیت آنتی اکسیدانی میکرو جلبک خاکزی کلرلا را بررسی نموده اند (۲۴). نبوی و همکاران نیز اثر آنتی اکسیدانی چند گونه از ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای خلیج فارس را در درمان سلول‌های سرطانی مورد ارزیابی قرار داده‌اند (۲۵).

هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه خواص ضد اکسیدانی دو گونه جلبکی قهوه‌ای (*Cystoserriaceae myrica*) و قرمز (*Gracilaria corticata*) در مقایسه با درخت حرای بومی سواحل خلیج فارس (*Avicennia marina*) بود. این پژوهش می‌تواند اولین مطالعه‌ای باشد که بر روی دو گونه مختلف گیاهان دریایی سواحل خلیج فارس انجام شده دانست. تحقیقات در مورد خواص دارویی جلبک‌های خلیج فارس بسیار اندک بوده و بجز در مواردی محدود (۲۵)، تحقیقی در خصوص بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی جلبک‌های آب‌های خلیج فارس صورت نگرفته است. بطور کلی تحقیقات در خصوص فیتوشیمی جلبک‌های دریایی محدود بوده و عمده پژوهش‌ها در خصوص شناسایی جلبک‌ها بوده است. در مورد ظرفیت آنتی اکسیدانی جلبک‌های دریایی ایران بویژه جلبک‌های قرمز سابقه‌ای مشاهده نشده است.

روش بررسی

عملیات نمونه برداری از جلبک‌های قهوه‌ای و قرمز (*Cystoserriaceae* و *Gracilaria corticata*)

1-maceration
2-Trolex

آنالیز داده‌ها با استفاده از روش‌های آنالیز آماری آنوای یک سویه با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه ۱۸ برای بررسی نتایج آزمون‌ها و مقایسه میانگین عصاره‌های مختلف استفاده و تمامی اندازه‌گیری‌ها برای هر نمونه جلبکی سه بار تکرار و مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد (۲۹).

یافته‌ها

خواص ضداکسیدانی نمونه‌های مورد مطالعه:

۱. ارزیابی فعالیت ضداکسیدان بوسیله رادیکال آزاد دی

فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH):

مقدار عصاره بکار رفته برای بررسی فعالیت ضداکسیدانی عصاره متانولی حاصل از جلبک قرمز *G. Corticata* (متانولی و اتانولی) 40 mg/ml ، برای عصاره اتانولی حاصل از برگ درخت حرا (*A. marina*) 20 mg/ml و برای عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *C. myrica* 30 mg/ml بود. با توجه به شکل‌های ۱ و ۲ بیشترین فعالیت ضداکسیدانی و درصد مهار با آزمون رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل مربوط به عصاره اتانولی حاصل از برگ درخت حرا (*A. marina*) بود و کم‌ترین مقدار مربوط به عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *C. myrica* بود. بین درصد مهار عصاره متانولی حاصل از جلبک قرمز *G. corticata* با عصاره متانولی وجود داشت. همچنین بین درصد مهار عصاره متانولی جلبک *C. myrica* با عصاره اتانولی برگ درخت حرا نیز اختلاف معنی‌دار بود.

جذب نوری نمونه‌ها در 517 nm نانومتر قرائت شدند. برای رسم منحنی استاندارد از محلول ترولوکس با غلظت 1000 - 100 میکرومول استفاده شد.

درصد فعالیت خنثی‌سازی رادیکالی عصاره^۱ (RSA) بر اساس فرمول زیر بدست آمد.

$$\% \text{RSA} = \frac{(A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}})}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

A_{Control} = میزان جذب کنترل در زمان صفر.

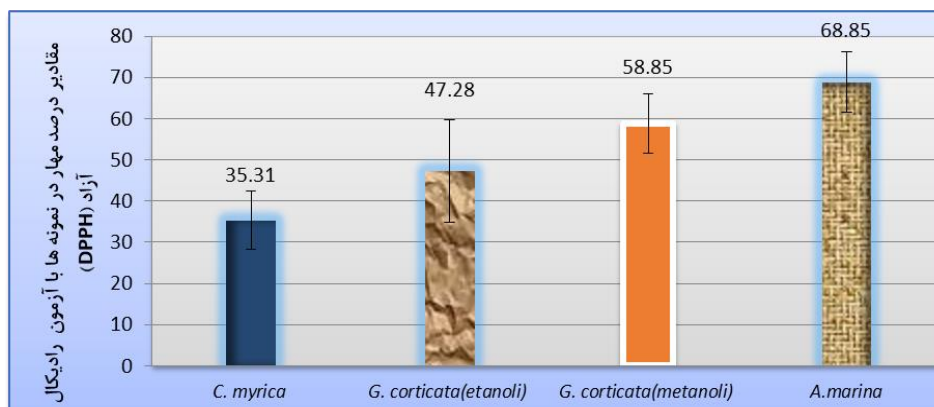
A_{Sample} = میزان جذب نمونه در زمان ۶ دقیقه

فعالیت ضداکسیدان نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولوکس بر گرم وزن خشک عصاره ($\mu\text{mol/g}$) بیان شد. درصد فعالیت خنثی‌سازی رادیکالی عصاره (RSA) برای هر نمونه بدست آمد و سپس فعالیت ضداکسیدان نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولوکس بر گرم عصاره محاسبه شد.

۲. اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدان به روش توان احیا-

کنندگی^۲ (RP): پتانسیل احیاکنندگی نمونه‌ها و استاندارد طبق روش Singh و Ragini اندازه‌گیری، به 0.1 میلی‌لیتر عصاره (با غلظت 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) یا محلول استاندارد بوتیل هیدرواکسی آنیزول، یک میلی‌لیتر بافر فسفات 0.2 مولار با $\text{pH}=6.6$ و 1 میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید 0.1% اضافه و مخلوط و به مدت 20 دقیقه در دمای 50 درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس 1 میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید 10% به مخلوط اضافه و به مدت 10 دقیقه 3000 دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. 1 میلی‌لیتر از محلول بالای حاصل از (سانتریفوژ یخچال دار یونیورسال هیتاچی کا دو اس دی 7200 آلمان) را با 0.2 میلی‌لیتر محلول 0.1% کلروفوریک و یک میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده و جذب نوری آن در طول موج 700 نانومتر قرائت شد (۲۸).

تجزیه و تحلیل آماری: از آزمون T-test جهت مقایسه خواص ضداکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره جلبک‌های مورد مطالعه استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت. اختلاف بین گروه‌ها در سطح اطمینان 95% ($p < 0.05$) معنی‌دار در نظر گرفته و از

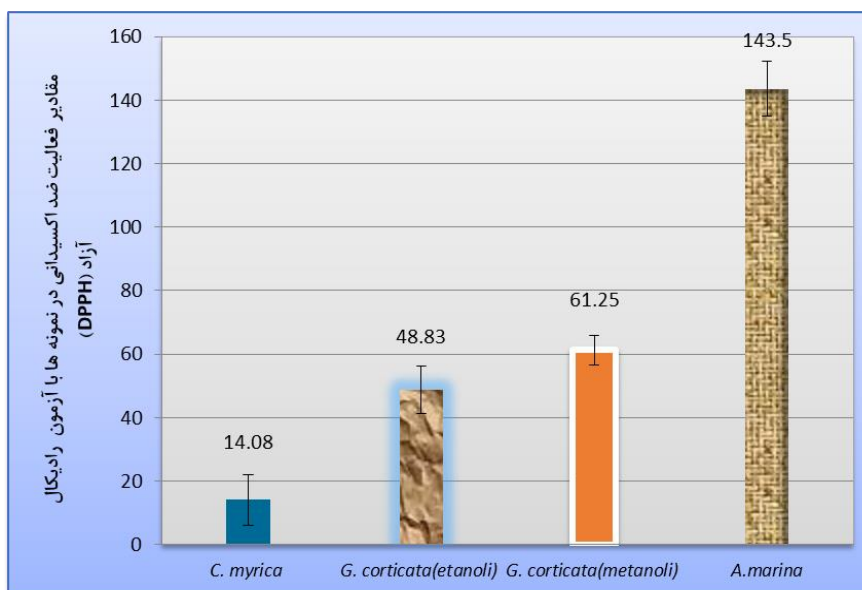


شکل ۱- مقادیر درصد مهار در نمونه ها با آزمون رادیکال آزاد DPPH (میانگین \pm انحراف معیار)

Figure 1- Inhibitory percents in different species calculated according DPPH free radicals test (mean \pm standard deviation)

آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل مربوط به عصاره اتانولی حاصل از برگ درخت حرا (*A.marina*) و کمترین مقدار مربوط به متانولی جلبک قهوه ای *C. myrica* بود.

اختلاف معنی داری بین فعالیت ضد اکسیدانی عصاره اتانولی برگ درخت حرا با عصاره حاصل از همه جلبک های نمونه- برداری شده با استفاده از آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل وجود داشت. بیشترین فعالیت ضد اکسیدانی با آزمون رادیکال

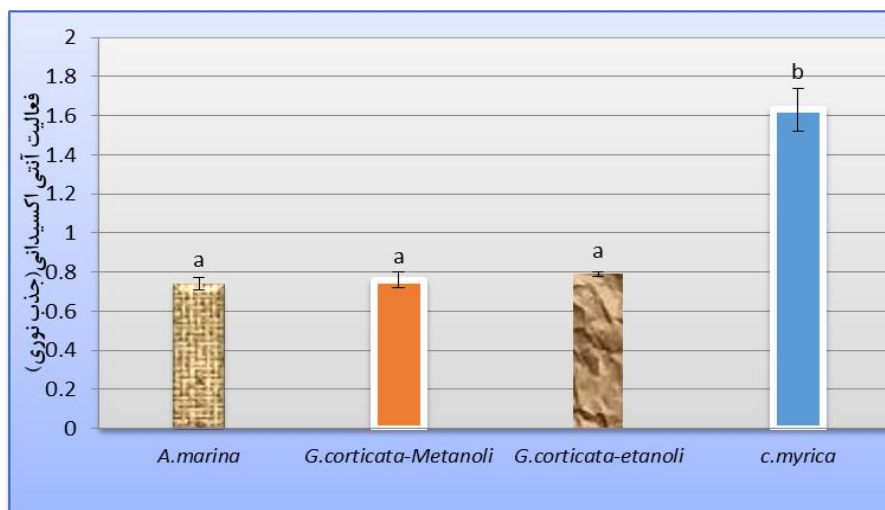


شکل ۲- فعالیت ضد اکسیدانی در نمونه ها با آزمون رادیکال آزاد DPPH (میانگین \pm خطای استاندارد)

Figure 2- Antioxidant activity in different species calculated according DPPH free radicals test (mean \pm standard deviation)

ضد اکسیدانی) به روش توان احیا کنندگی مربوط به جلبک قهوه ای *C. myrica* و کمترین این مقدار مربوط به *A. marina* بود.

۲. اندازه گیری فعالیت ضد اکسیدانی به روش توان احیا کنندگی (RP):
باتوجه به شکل ۳ بیشترین جذب نوری (فعالیت



شکل ۳- فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس روش توان احیاکنندگی (RP) (میانگین \pm انحراف معیار)

Figure 3- Antioxidant activity in different species calculated according Reducing Power (RP) test (mean \pm standard deviation)

نمونه است. تحت همین شرایط حلال و مشخصات شیمیایی نمونه فاکتورهای با اهمیت هستند (۳۲).

در این مطالعه کمترین فعالیت ضد اکسیدانی با آزمون DPPH مربوط به عصاره متانولی جلبک قهوه ای *C. myrica* بود. که با مطالعه حیدری و همکاران که در سال ۱۳۹۲ انجام دادند مطابقت دارد وی در مطالعه خود نشان داد که فعالیت ضد اکسیدانی عصاره اتانولی (۷۰ درصد) جلبک قهوه ای *C. myrica* کم تر از فعالیت ضد اکسیدانی جلبک قرمز *G. corticata* (بهار) بود. Faten و همکاران نیز در سال ۲۰۰۹ در پی تحقیقی نشان دادند که عصاره های اتیل استاتی و اتری واجد ترکیباتی هستند که قدرت آنتی اکسیدانی بالایی را با آزمون DPPH نشان می داد. در مطالعه آن ها بالاترین درصد مهار با آزمون DPPH برای عصاره اتری و اتیل استات جلبک قرمز *Gracilaria Verrucosa* و کم ترین درصد مهار را برای عصاره آبی بدست آوردند. نتایج مطالعه آن ها نشان می دهد که ترکیبات با خاصیت قدرت پاک سازی رادیکال های آزاد در جلبک *G. Verrucosa* قطبیت متوسطی دارند. کم ترین مقدار فنل را نیز عصاره آبی داشت. در مطالعه Nguyen و Kim همکاران عصاره دی اتیل اتری دارای بالاترین فعالیت قدرت احیاکنندگی بودند که بعد از آن عصاره های آبی و متانولی قرار داشت که با نتایج فعالیت پاک سازی رادیکالی DPPH مشابه بودند.

به طور کلی فعالیت ضد اکسیدانی عصاره متانولی حاصل از جلبک *C. myrica* از بقیه جلبک های مورد مطالعه دیگر (باتست RP) و فعالیت ضد اکسیدانی عصاره اتانولی (۱۰۰ درجه) حاصل از برگ حرا (*A. marina*) از بقیه عصاره های حاصل از جلبک های مورد مطالعه دیگر (با آزمون DPPH) فعالیت بالایی را نشان دادند. بین خواص ضد اکسیدانی عصاره متانولی جلبک *C. myrica* با عصاره حاصل از همه جلبک های مورد مطالعه با استفاده از آزمون توان احیاکنندگی اختلاف معنی دار بود.

بحث و نتیجه گیری

آنتی اکسیدان ها دارای خواص فیزیوشیمیایی مختلفی هستند و ممکن است با مکانیسم های مختلف در یک سیستم و یا با یک مکانیسم در سیستم های مختلف عمل نماید. روش های مختلفی برای سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی توسعه یافته و مورد استفاده قرار می گیرند (۳۰). با توجه به این شرایط، اختلاف نظرهای عمیقی در تست های آنتی اکسیدانی وجود دارد، لذا هیچ تستی به تنهایی توانایی نشان دادن تمام خصوصیات آنتی اکسیدان ها و اکسیدان ها را نداشته و استفاده از چند تست معمولاً توصیه می شود (۳۱). محصول شیمیایی عصاره ها وابسته به نوع حلالها با pH های مختلف، قطبیت، زمان و درجه حرارت عصاره گیری و همچنین ترکیبات شیمیایی

متوسطی میان فعالیت آنتی اکسیدانی آزمون RP با آزمون DPPH وجود داشت. ($R^2=0/45$) پیشنهاد کردند که ارتباطی بین قدرت احیاء کنندگی و فعالیت آنتی اکسیدانی وجود دارد. جالب است که بین قدرت آنتی اکسیدانی، توان احیاء کنندگی و محتوای فنلی عصاره جلبک *Rhodomela confervoides* در مطالعات اخیر نیز اثبات شده است (۳۹).

تنوع و ماهیت شیمیایی ضد اکسیدانها باعث می شود که جداسازی و اندازه گیری آنها در نمونه های مختلف جلبکی با یک نوع آزمایش امکان پذیر نباشد، بنابراین طراحی مجموعه ای از آزمایشات که بتوانند فعالیت ضد اکسیدان را اندازه گیری نماید ضروری است (۴۰). این مطالعه نشان می دهد که با توجه به ترکیبات متنوع دارای خاصیت آنتی اکسیدانی در عصاره اسانس های جلبک ها و گیاهان دریایی هیچ نوع آزمون آنتی اکسیدانی نمی تواند به تنهایی نشان دهنده فعالیت ضد اکسیدانی در آن عصاره یا اسانس گیاهی مورد مطالعه را در مقایسه با گیاهان و یا جلبک های دیگر نشان دهد. و استفاده از چند تست و آزمون مختلف برای ارزیابی و سنجش کامل آنها توصیه می شود.

به طور کلی در این مطالعه بهترین فعالیت ضد اکسیدانی با تست RP را عصاره متانولی حاصل از جلبک *C. myrica* و بهترین فعالیت ضد اکسیدانی با آزمون DPPH را عصاره اتانولی (۱۰۰ درصد) حاصل از برگ حرا (*A. marina*) نشان دادند. فعالیت ضد اکسیدانی عصاره متانولی و اتانولی حاصل از جلبک قرمز *G. corticata* با دو آزمون فوق اختلاف معنی داری با هم نداشتند.

تشکر و قدردانی

مولفین از کلیه کارکنان و اساتید آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، پژوهشکده اقیانوس شناسی خلیج فارس در بوشهر و همچنین آزمایشگاه بیولوژی دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به ویژه آقای مهندس محسن گراوند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

- 1- Kijjoa, A and Sawangwong, P. 2004. Drugs and Cosmetics from the Sea. Mar Drugs; 2:73-82.
- 2- Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O.I.,

DPPH ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه های فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می دهد. رادیکال های آزاد موجود در DPPH، در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند که از قانون بیر لامبرت پیروی میکنند و کاهش جذب آن با میزان ماده آنتی اکسیدان رابطه خطی دارد. هر چه بر مقدار ماده آنتی اکسیدان افزوده شود، DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش بیشتر به سمت زرد میل میکند.

مطالعات نشان داده که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی بعضی عصاره ها از جمله ترکیبات قطبی است (۳۶).

در روش توان احیاء کنندگی جذب نوری نمونه ها رابطه مستقیمی با توان احیاء کنندگی دارد یعنی جذب نوری بیشتر بیان گر خاصیت احیاء کنندگی بیشتر است. در این روش سنجش فعالیت های آنتی اکسیدانی بر اساس جذب نوری صورت می گیرد. افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش بیان گر افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد و بدون واحد اندازه گیری می باشد. زیرا از جذب نوری برای شدت خاصیت احیاء کنندگی استفاده می شود. بین خواص ضد اکسیدانی عصاره متانولی جلبک *C. myrica* با عصاره حاصل از همه جلبک های مورد مطالعه و برگ درخت با استفاده از آزمون توان احیاء کنندگی اختلاف معنی دار بود. در این مطالعه فعالیت ضد اکسیدانی عصاره متانولی حاصل از جلبک *C. myrica* از بقیه جلبک های مورد مطالعه و عصاره اتانولی برگ درخت حرا (باتست RP) فعالیت بالایی را نشان داد که نیز با مطالعه حیدری و همکاران در (فصل پاییز) سال ۱۳۹۲ مطابقت دارد. پتانسیل آنتی اکسیدانی جلبک های قهوه ای به خاطر وجود پلی ساکاریدهای پلی سولفات بیشتر از جلبک های قرمز با سولفات های آگار مانند، مانند گالاکتان است (۳۷).

در این روش ترکیبات آنتی اکسیدان با فری سیانور پتاسیم، تری کلرور استیک اسید و کلرور فریک ترکیب شده و کمپلکس سبز رنگی را ایجاد می نمایند که در طول موج ۷۰۰ نانومتر قابل اندازه گیری است. افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش بیان گر قدرت احیاء کنندگی نمونه ها می باشد (۳۸). همبستگی مثبت

- 12- Saenger P (1998). Mangrove vegetation: an evolutionary perspective. *Mar. Freshwater Res.* 49: 277-286.
- 13- Blomhoff, R. 2005. Dietary antioxidants and cardiovascular disease. *Curr. Opin. Lipidol*; 16: 47-54.
- 14- Lee, J. Koo, N. and Min, D.B. 2004. Reactive Oxygen, Species, Aging, and Antioxidative, Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2004; 3: 21-33.
- 15- Bourgeois, C.F. 2003. Antioxidant vitamins and health: cardiovascular disease, cancer, cataracts, and aging; HNB Publishing: New York, USA.
- 16- Bergamini, C.M., Gambetti, S., Dondi, A. and Cervellati, C. 2004. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr Pharm Des* 2004; 10(14): 1611-1626.
- 17- Anchana, C., Aphiwat, T. and Nuansri, R. 2005. Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chem.* 92: 491-497.
- 18- Zubia, M., Robledo, D., Freile-Pelegrin, Y. 2007. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the the Yucatan Peninsula, Mexico. *J. Appl. Phycol.*, 19: 449-458.
- 19- Puertas-mejia, M., Hillebrand, S., Stashenko, E. and Winterhalter, P. 2002. In vitro radical scavenging activity of essential oils from Columbian plants and fractions from oregano *Origanum vulgare* L. essential oil. *Flavour Fragr. J.* 17: 380-384.
- 20- Anggadiredja, J., Andyani, R., Hayati and Muawanah. 1997. Anti oxidant activity of *Sargassum polycystum* (Phaeophyta) and *Laurencia obtusa* (Rhodophyta) from seribu Bahorun, T. 2005. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutat. Res.*, 579: 200-213.
- 3- Bhadury, P., Wright, P.C. 2004. Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. *Planta*, 219: 561-578.
- 4- Smit, A.J. 2004. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: a review. *J. Appl. Phycol.* 16: 245-262.
- 5- Webber, H.H. and Thurman, H.V. 1991. *Marine Biology* (2 edition). Harper Collins Pub. INC. 424PP.
- 6- Gestinari, L.M.B., Pereira, S., Yoneshingue-Valentin, Y. 2010. Distribution of *Cladophora* species (Cladophorales, Chlorophyta) along the Brazilian Coast. *phytotaxa* 14: 22-42.
- 7- Badury, P., Wright, P.C. 2004. Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. *Planta*, 219: 561-578.
- ۸- سهرابی پور، ج.، نژادستاری، ط.، اسدی، م.، قهرمان، ا. و ربیعی، ر. تحقیقی پیرامون تولید جلبک قهوه‌ای و تاثیر عوامل اکولوژیک بر روی این گونه‌ها در سواحل بندر لنگه. پژوهش و سازندگی، ۱۳۸۲، شماره ۵۹.
- ۹- سهرابی پور، ج.، ربیعی، ر. ریخت شناسی و آناتومی گونه *Gracilariopsis longissima* در آب‌های خلیج فارس در جنوب ایران، پژوهش و سازندگی، ۱۳۸۵، شماره ۷۷ ص ۸-۱.
- 10- Lee, S.Y., 1999. Tropical mangrove ecology: physical and biotic factors in influencing ecosystem structure and function. *Australian J. Ecol.*, 24: 355-366.
- 11- Kathiresan, K and B.L. Binghamnd, 2001. *Biology of mangroves and mangrove ecosystem.* *Advances in marine biology*, 40: 81-251 .

- 27- Von Gadov, A. Joubert, E and Hansmann, C. F. 1997. Comparison of antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos tea (*Aspalathon linearis*), α -tocopherol, BHT, and BHA. *J. of Agri. and Food Chemist*; 45: 632-638.
- 28- Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap. J. Nutr*; 44: 307-315.
- 29- Jimenez, E. Dorta, F. Medina, C. Ramirez, A. Ramirez, I. Peña-Corté, H. 2011. Anti-Phytopathogenic Activities of Macro-Algae Extracts. *Mar. drug*; 9:739-756.
- 30- Cakir, A. Mavi, A. Yldrm, A. Duru, M.E. Harmandar, M. Kazaz, C. 2003. Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fraction. *J Ethnopharmacol* 87:73-83.
- 31- Prior, R. L. Wu, X. Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of Antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agri Food Chem*; 53:4290-302.
- 32- Yuan, Y.V and Walsh, N.A. 2006. Antioxidative and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible sea-weeds. *Food Chem. Toxicol.* 44:1144-1150.
- 33- حیدری، م. مطالعه تنوع زیستی جلبک‌های ماکروسکوپی سواحل استان بوشهر با تاکید بر بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی گونه‌های غالب، پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۱۳۹۲، ۱۲۳ صفحه.
- 34- Faten, M. Abou Elalla and Emad, A. Shalaby. 2009. Antioxidant Activity of Islands Jour of Appli Phyco 9: 477-479.
- 21- Ruperez, P. 2001. Antioxidant activity of sulphated polysaccharides from the Spanish marine seaweed Nori. In: Proceedings of the COST 916 European Conference on Bioactive Compounds in Plant Foods. Health Effects and Perspectives for the Food Industry, Tenerife, Canary Islands, Spain, April, p.
- 22- Lohrmann, N.L. Logan, B.A. and Johnson, A.S. 2004. Seasonal acclimatization of antioxidants and photosynthesis in *Chondrus crispus* and *Mastocarpus stellatus*, two co-occurring red algae with differing stress tolerances. *Biol. Bull.* 207:225-232.
- 23- Jimenez, E. Dorta, F. Medina, C. Ramirez, A. Ramirez, I. Peña-Corté, H. 2011. Anti-Phytopathogenic Activities of Macro-Algae Extracts. *Mar. drug*; 9:739-756.
- 24- Hajimahmoodi, M. Faramarzi, M.A. Mohammadi, N. Soltani, N. Oveisi, M.R. Nafissi-Varcheh, N. 2010. Evaluation of antioxidant properties and total phenolic contents of some strains of microalgae, *J. Appl. Phycol.*, 22:43-50.
- 25- Khanavi M, Nabavi, M. Sdati, N. Shams Ardakani M.R. Sohrabipour. J. Nabavi, S.M.B. Ghaeli, P. Ostad S.N. 2010. Cytotoxic activity of some marine brown algae against cancer cell lines, *Biol. Res.* 43:31-37.
- 26- Salehi, P. Sonboli, A. Eftekhari, F. NejadEbrahimi, S and Yousefzadi, M. 2005. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subs. *rigida* (BOISS.) RECH. F. from Iran. *BioPharmBul* 2005; 28: 1892-6.

- Effects and Perspectives for the Food Industry, Tenerife, Canary Islands, Spain, April, p.
- 38- Jayaprakash, G.K., Singh, R.P., Sakariah, K.k. 2001. Antioxidant activity of grape seed extracts on per oxidation models in vitro. *JAgric Food Chem*; 55:1018-1022.
- 39- Wang, B., W. Zhang, Z. Duan and X. Li, 2009. In vitro antioxidative activities of extract and semi-purified fractions of the marine red alga, *Rhodomela confervoides* (Rhodomelaceae). *Food Chemistry*, 113: 1101-1105.
- 40- Bocanegra, A. Bastida, S. Benedí, J. Ródenas, S. and Sánchez-Muniz, F. J. 2009. Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. *J. Med. Food* 12:236-258.
- Extract and Semi- Purified Fractions of Marine Red Macroalga, *Gracilaria Verrucosa*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4): 3179-3185.
- 35- Nguyen, H and Kim, S. M. 2012. Antioxidative, anticholinesterase and antityrosinase activities of the red alga *Grateloupia lancifolia* extracts. *African Journal of Biotechnology*. 11(39), 9457-9467.
- 36- Muret, K., Sevgi, K., Sengul, K., Esra, U., Cemalettin, B., Fedra, V. 2007. Biological activities, chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem*; 100(2):526-534.
- 37- Ruperez, P. 2001. Antioxidant activity of sulphated polysaccharides from the Spanish marine seaweed *Nori*. In: *Proceedings of the COST 916 European Conference on Bioactive Compounds in Plant Foods*. Health