بررسی و استفاده از اسفنج (رده Demospongiae) به منظور جذب ترکیبات شیمیایی از نمونه‌های آبی

شقایق دهداری[1*]، محمد ربانی[2] و نوشین سجادی[3]

۱ و ۲- گروه شیمی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
۳- گروه محیط زیست، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۲۵

چکیده

در تحقیق حاضر به منظور بررسی و کاربرد ویژگی‌های طبیعی جذب ترکیبات شیمیایی توسط آبزیان، از اسفنج *Amphimedon vividas*، رده Demospongiae صید شده از جزیره کیش در خلیج فارس به عنوان جاذب طبیعی استفاده شد و درصد جذب آلاینده‌های شیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه حاضر جداسازی و شناسایی ترکیبات طبیعی غیر قطبی و نیمه قطبی در ساختار اسفنج و عصاره حاصل از آن انجام شد. با توجه به ترکیبات به دست آمده مشاهده شد که ساختار اسفنج، بیشتر متشکل از ترکیبات نیمه قطبی و غیرقطبی می‌باشد. بنابراین حلال‌های مورد استفاده نظیر کلروفرم، دی کلرومتان و دی اتیل اتر بر اساس قطبیت خود و نیز ترکیب شیمیایی نرمال هگزان، در نظر گرفته شد و میزان جذب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، اسفنج در حلال دی اتیل اتر و نرمال هگزان به میزان ۸۱/۸ درصد جذب داشته است. ترکیب استخراج شده از عصاره این حلال، ۷،۶،۱-تری متیل نفتالن بود و می‌توان نتیجه گرفت این اسفنج با توجه به ساختار اصلی خود، درصد بالاتری از ترکیبات غیرقطبی را جذب می‌نماید.

واژگان کلیدی: **Demospongiae**، دی اتیل اتر، نرمال هگزان، ۷،۶،۱-تری متیل-نفتالن، خلیج فارس

* **نگارنده پاسخگو:** sh.9225@yahoo.com

مقدمه

محیط دریا منبعی غنی از تنوع زیستی و ترکیبات شیمیایی است و بر اساس دانش تنوع زیستی زمین اعتقاد بر این است که بیشترین تنوع زیستی مربوط به موجودات زنده آب‌های مناطق استوایی و نیمه استوایی می‌باشد. تاکنون از میان بی مهرگان دریایی رده‌های مختلف اسفنج‌ها به عنوان یکی از منابع مهم ترکیبات طبیعی با قابلیت جذب ترکیبات شیمیایی گوناگون شناخته شده‌اند (Pallela *et al*., 2011).

حذف آلاینده‌ها و عوامل بیماری‌زا از آب‌های روان و آشامیدنی از مشکلات مطرح و دارای اهمیت در تحقیقات بوده و حذف آنها امروزه مورد توجه قرار دارد. مواد شیمیایی به طور کلی می‌توانند به عنوان آلاینده‌های شیمیایی محیط‌های آبی محسوب شده و مورد توجه قرار گیرند. اسفنج‌های دریایی، ساختارهای شیمیایی متفاوتی دارند و می‌توانند مواد شیمیایی را به خود جذب نمایند.

اولین قدم در زمینه مطالعه فرآورده‌های دریایی بیش از ۵۰ سال پیش توسط برگمن برداشته شد (Bergmann, 1951). کشف عملکرد مواد فعال بیولوژیکی و دارویی مهم و جدید ازدسته ی نوکلئوزیدهای آرابینو که از اسفنج کریپتوتلا کریپتا به دست می‌آمد، اهمیت خواص زیست پزشکی این ترکیبات را مشخص نمود. در اواخر دهه ۶۰ میلادی کوشش‌های جدی‌تری برای بهره برداری از جانوران دریایی به عنوان متابولیت های فعال زیستی به منظور استفاده‌های درمانی و یا به عنوان الگویی برای سنتز داروهای جدید آغاز شد. کشف مقادیر قابل ملاحظه پروستاگلاندین در گورگونین *Plexaura homomalla* (که به عنوان مدیاتورهای دخیل در التهاب، تب و درد عمل می‌کنند) به عنوان نقطه آغاز تحقیقات مهمی برای داروهای دریایی به شمار می‌رود (Weinheimer & Spraggins, 1969). Swatschek و همکاران در سال ۲۰۰۲ مقاله‌ای تحت عنوان تأثیر کلاژن گرفته شده از نوعی اسفنج به نام *Chondrosia reniformis* از رده دمواسپونژیا بر روی پوست انسان ارائه دادند. Stabili و همکاران وی در سال ۲۰۰۶ به بررسی فعالیت تصفیه آلودگی دریا توسط نوعی اسفنج از رده Demospongiae به نام اسفنج *Officinalis adriatica* بر روی پلانکتون باکتریایی در ساحل آپولین در دریای ایونی پرداختند.

مطالعه ترکیبات طبیعی در دریاها به عنوان جذب کننده مواد آلی از موضوعات تحقیقاتی جالب توجه محسوب می‌شود. با توجه به گسترش و تنوع و پراکندگی مواد شیمیایی در آب‌های دریایی و مطالعه میزان جذب این مواد توسط موجودات زنده از جمله اسفنج‌ها اهمیت این تحقیقات مشخص می‌گردد. بیشترین ترکیبات طبیعی استخراج شده از جانداران دریایی متعلق به اسفنج‌ها بوده که استخراج ترکیبات طبیعی موجود در آن‌ها توسط حلال‌های آلی صورت می‌گیرد (Pallela *et al*., 2011). سپس خواص بیولوژیکی ترکیبات طبیعی استخراج شده در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته و ترکیباتی که در این مرحله اثرات مطلوبی داشته‌اند وارد فاز کلینیکی شده و در نهایت وارد مرحله تجاری و عرضه به بازار می‌گردند.

منابع آب از جمله محیط دریا در بردارنده ترکیبات شیمیایی است که این ترکیبات ناشی از حضور انواع آلاینده‌ها می‌باشد. عوامل آلوده کننده محیط دریاها بسیار متنوع با منشأ گوناگون مانند آلودگی هوا، پساب‌های ناشی از کارخانه‌ها دارای اسیدهای آلی و معدنی، فلزات سنگین، پساب‌های با منشأ انسانی، شوینده‌ها، مواد سفید کننده و ازت دار می‌باشد.

در سال ۱۳۸۷ خواص ضد باکتریایی و سیتوتوکسیک عصاره غیر قطبی در گونه‌ای از اسفنج رده دمواسپونژیا بررسی گردید (ناظمی، ۱۳۸۷). همچنین در سال ۱۳۹۰ جداسازی و شناسایی ترکیبات نیمه قطبی و غیرقطبی موجود در دو نمونه از اسفنج‌های متعلق به رده دمواسپونژیا انجام گردید (برخوردار، ۱۳۹۰). در مجموع، با توجه به صنعتی

شدن جوامع و گسترش و پراکندگی مواد شیمیایی در آب‌های دریایی، مطالعه میزان جذب مواد شیمیایی به وسیله ترکیبات با منشأ موجودات زنده از جمله اسفنج امروزه مورد توجه ویژه قرار گرفته و لذا در تحقیق حاضر، اسفنج متعلق به رده Demospongiae که از جزیره کیش صید شده است، به عنوان جاذب طبیعی به منظور جذب ترکیبات و حلال‌های شیمیایی، مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

اسفنج‌های مورد بررسی، توسط غواصی از عمق ۵ و ۶ متری، با مختصات جغرافیایی ۵۴ درجه و ۱ دقیقه، ۱۰۸ ثانیه طول شرقی، ۲۶ درجه و ۳۲ دقیقه و ۸۷۵ ثانیه عرض شمالی در نزدیکی اسکله جزیره کیش در خلیج فارس جمع‌آوری گردیده و مورد شناسایی قرار گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمایش منجمد شدند. به منظور عصاره گیری، اسفنج‌ها چندین بار با آب ولرم و سپس چندین بار با آب مقطر فراوان شسته شده، سپس به منظور خشک شدن، در دمای اتاق به مدت یک هفته قرار گرفتند.

مقداری از جاذب به طور کامل خرد و آسیاب شده و از الک‌های صنعتی با اندازه ۷۰ و ۱۲۰ گذرانده شد. ترکیبات موجود در اسفنج به صورت جداگانه با استفاده از روش Bligh و Dyer (1959) که برای استخراج ترکیبات مختلف جاذب و شناسایی آن مورد استفاده قرار می‌گیرد، استخراج گردید.

استخراج مواد طبیعی

مواد طبیعی موجود در اسفنج، توسط سه حلال آلی دی کلرو متان، دی اتیل اتر و کلروفرم استخراج شد. دو حلال دی اتیل اتر و دی کلرو متان برای ترکیبات غیرقطبی و حلال کلروفرم برای ترکیبات نیمه قطبی در اسفنج انتخاب گردید. سپس با استفاده از روش Bligh و Dyer (1959) نمونه‌های شفاف و رقیق شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به دستگاه طیف سنج جرمی Varian CP-3800 تزریق و با استفاده از نرم‌افزار Chem draw، ترکیبات موجود و نیز حلال‌های استفاده شده، شناسایی گردید. سپس به هر یک از حلال‌های دی کلرو متان، دی اتیل اتر و کلروفرم، یک ترکیب شیمیایی اضافه شد که در این پژوهش از نرمال هگزان استفاده شده است.

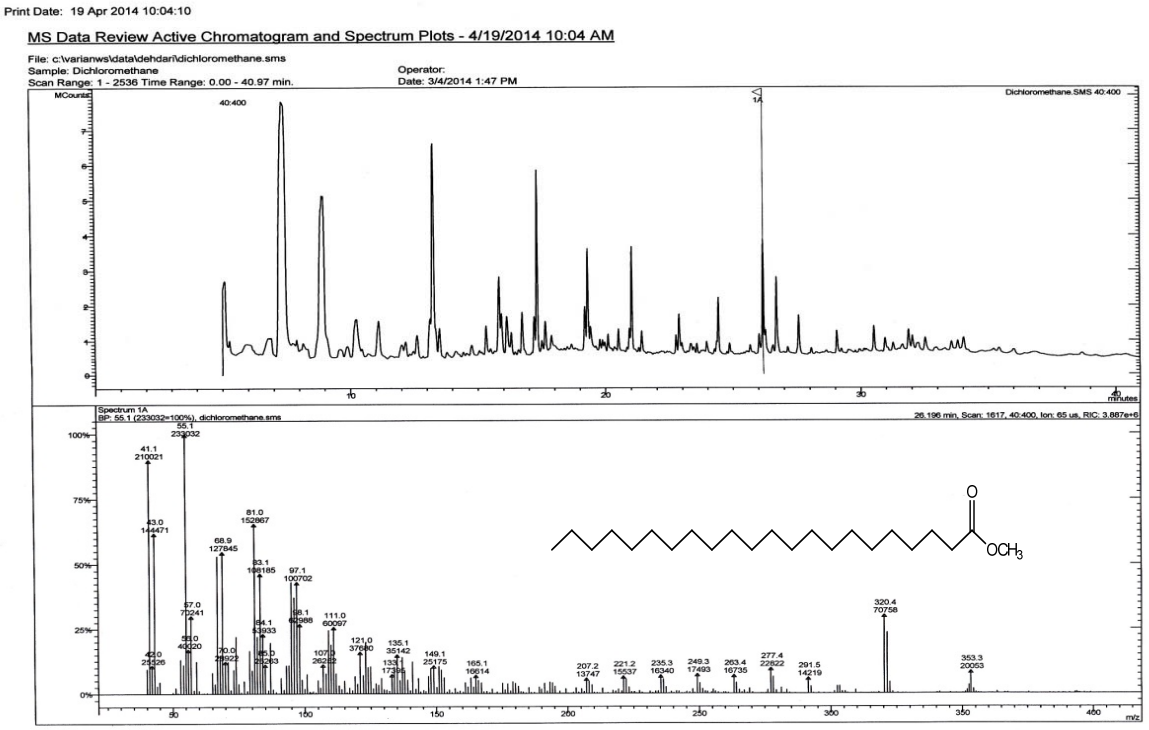
میزان هر یک از حلال‌ها ۵۰ میلی لیتر و میزان ترکیب شیمیایی مورد نظر ۱ میلی لیتر می‌باشد. پس از افزودن ترکیب شیمیایی به حلال‌ها به طور جداگانه، طیف‌های مربوط توسط طیف سنج جرمی اندازه‌گیری شد.

نتایج

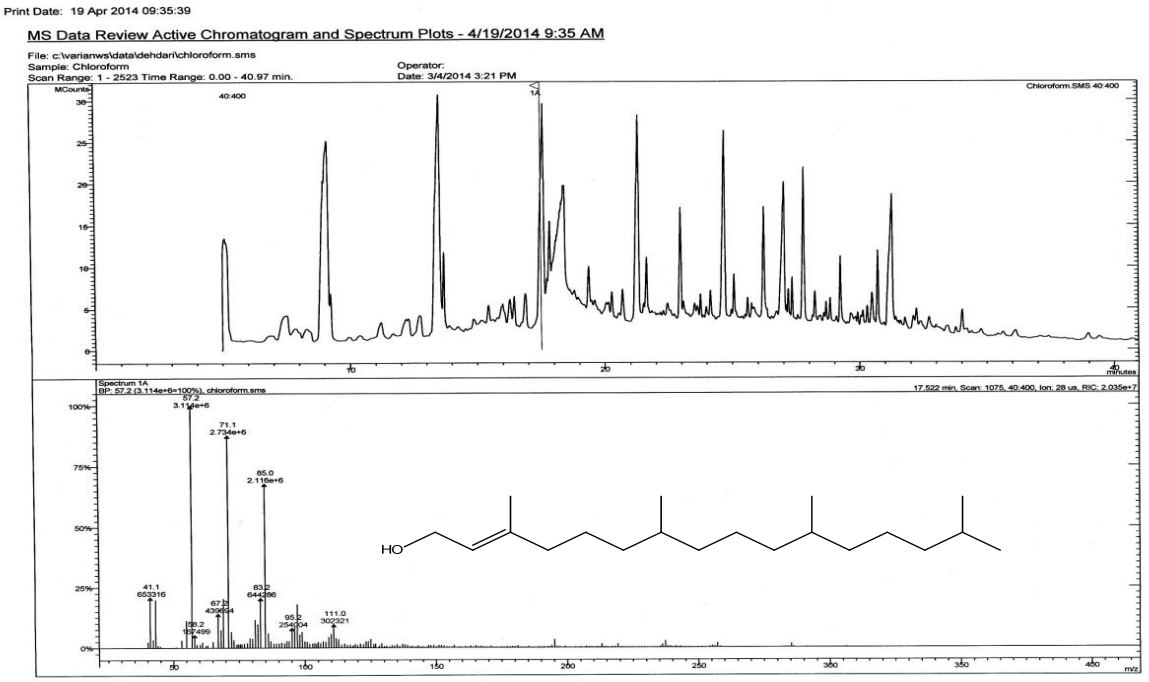
با توجه به بررسی‌های به عمل آمده، اسفنج مورد نظر، متعلق به رده Demospongia، راسته Haplosclerida، خانواده Niphatidae، جنس و گونه *Amphimedon vividas* (Huang, 2008; Reveillaud *et al.*, 2010; World Porifera Database, 2014) می‌باشد. با توجه به نتایج، از عصاره جاذب در حلال‌ها سه ترکیب مختلف استخراج گردید.

ترکیب استخراج شده از جاذب و حلال دی کلرومتان، دوکوزانوییک اسید متیل استر می باشدکه در شکل (۱) آمده است.

ترکیب استخراج شده از جاذب و حلال کلروفرم، (*E*)-۱۵،۱۱،۷،۳- تترا متیل هگزادک -۲ – ان – ۱ - آل می‌باشد و در شکل (۲) مشاهده می‌شود.

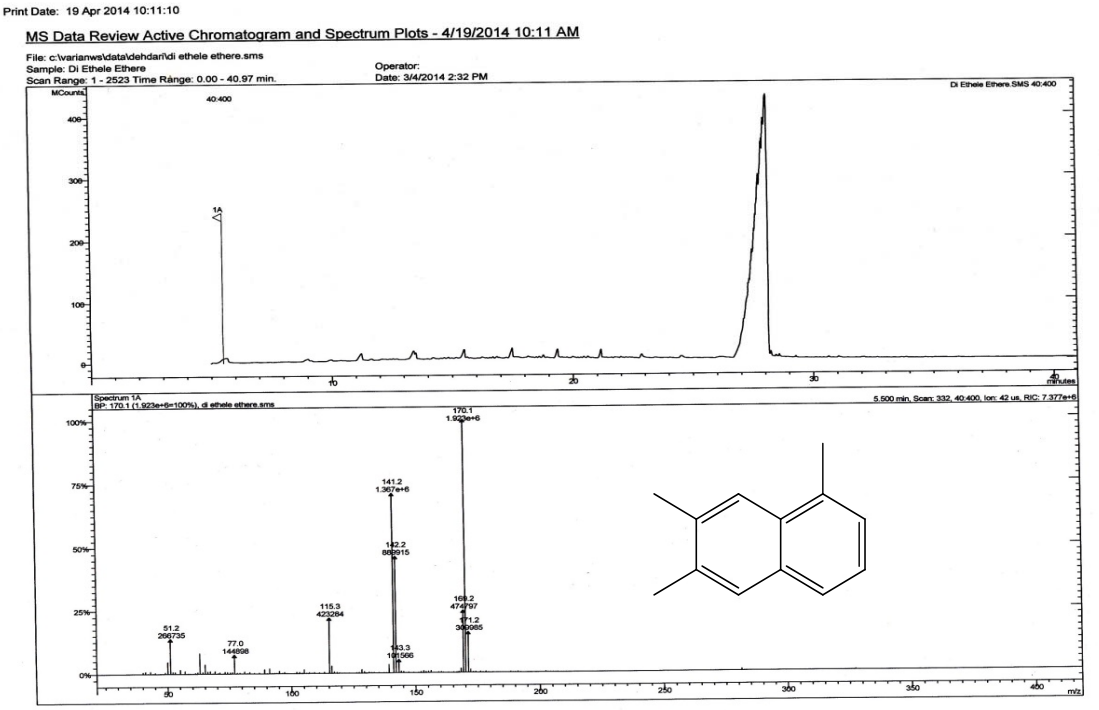


شکل۱- طیف ترکیب استخراج شده از حلال دی کلرومتان



شکل۲- طیف ترکیب استخراج شده از حلال کلروفرم

ترکیب استخراج شده از جاذب و حلال دی اتیل ارائه شده است.
اتر، ۷،۶،۱-تری متیل-نفتالن می‌باشد و در شکل (۳)



شکل۳- طیف ترکیب استخراج شده از حلال دی اتیل اتر

با توجه به ساختار اصلی اسفنج که بیشتر متشکل از ترکیبات نیمه قطبی و غیر قطبی می‌باشد، درصد جذب ترکیب شیمیایی در حلال دی کلرومتان توسط جاذب ۷۴/۴ درصد و در حلال کلروفرم به میزان ۷۲/۷ درصد و در حلال دی اتیل اتر به میزان ۸۱/۸ درصد و مقایسه درصد جذب و میزان قطبیت بدست آمد (جدول ۱).

جدول۱- درصد جذب و میزان قطبیت

Solvent	A %	Polarity
دی اتیل اتر	۸۱/۸	۲/۸
دی کلرومتان	۷۴/۴	۳/۱
کلروفرم	۷۲/۷	۴/۱

بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، با توجه به ساختار اسفنج و بیشترین درصد ترکیب شیمیایی و حلال به کاررفته، میزان قطبیت حلال‌های دی اتیل اتر، دی کلرومتان و کلروفرم در جاذب بررسی شد و درصد جذب به ترتیب ۲/۸، ۳/۱ و ۴/۱ به دست آمد. نتایج نشان می‌دهد که حلال دی اتیل اتر با قطبیت ۲/۸ بیشترین جذب را توسط اسفنج داشته است. ساختار تشکیل دهنده‌ی اسفنج بیشتر از ترکیبات غیرقطبی می‌باشد، که با نتایج به دست آمده توسط ناظمی (۱۳۷۸) قابل مقایسه می‌باشد. در تحقیق اشاره شده، خواص ضد باکتریایی و سیتوتوکسیک عصاره غیرقطبی در گونه‌ای اسفنج به نام *Iophon* sp. بررسی و از حلال دی اتیل اتر استفاده شده بود و نتایج آن نشان داد که ترکیبات

دی اتیل اتری شناسایی شده به گروه ترپن‌ها و اسیدهای چرب تعلق داشته و ترکیبات استخراج شده دارای خواص بیولوژیک ضد باکتریایی و سیتوتوکسیک بوده‌اند. در همین راستا، برخوردار (۱۳۹۰) ترکیبات نیمه قطبی و غیرقطبی موجود در دو نمونه از اسفنج‌های متعلق به رده Demospongiae را جداسازی و شناسایی نمود، و در آن تحقیق نیز از دو حلال دی اتیل اتر و دی کلرومتان استفاده شده و با نتایج تحقیق حاضر قابل مقایسه می‌باشد. Fromont (۱۹۹۴)، با بررسی اسفنج‌های دموسپونژیا و هاپلواسکلریده ترکیبات استرول و غیرقطبی موجود در آنها را شناسایی نمود که با نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابقت دارد. اسفنج‌ها از معمول‌ترین گروه‌هایی می‌باشند که پژوهش‌های متعددی بر روی خواص مختلف آنها در آب‌های ایران و سایر نقاط جهان انجام شده است (رحیم زاده عبدی، ۱۳۹۲؛ Pallela *et al.*, 2011). با توجه به ترکیبات استخراج شده در تحقیق حاضر از اسفنج، به ویژه دوکوزانوییک اسید متیل استر، (*E*) -۱۵،۱۱،۷،۳-تترا متیل هگزادک-۲-ان-۱-آل و ۷،۶،۱-تری متیل-نفتالن و مقایسه با سایر تحقیقات درزمینه ی آبزیان، نشان دهنده قابل توجه بودن ترکیبات و متابولیت های موجود در آنها است. علاوه بر استفاده از متابولولیت های اسفنج‌ها، در سال‌های اخیر، فیلترهای اسفنجی برای زدودن آلاینده‌های ناشی از فلزات سنگین و سایر آلاینده‌ها ساخته شده و مورد بهره برداری قرار گرفته‌اند (خداداد حسینی،۱۳۹۲; رحیم زاده عبدی، ۱۳۹۲)، نتایج تحقیقات اشاره شده نشان می‌دهند که اسفنج صید شده از جزیره کیش در خلیج فارس قابلیت زیادی در جذب سرب داشته و به میزان ۹۵ و ۳۶ صدم درصد از سرب محلول مورد مطالعه را جذب نموده، که نتیجه‌ی حاصل بیش از مقادیری است که برای جاذب‌های دیگر از جمله نانوذرات کیتوسان، قارچ، جلبک و نیز جاذب‌هایی مانند زئولیت گزارش شده است. با توجه به پژوهش‌های انجام شده می‌توان نتیجه گرفت اسفنج‌ها به عنوان یکی از بهترین جاذب‌های طبیعی در محیط‌های آبی محسوب می‌گردند که با هزینه‌ی نسبتاً پایین و بدون اثر آلایندگی در محیط زیست در دسترس می‌باشند. استفاده از اسفنج‌های طبیعی به منظور جذب ترکیبات شیمیایی مختلف درزمینه هایی مانند تصفیه‌ی آب و فاضلاب، می‌تواند زمینه‌ی مناسبی برای تحقیقات بعدی باشد.

منابع

برخوردار، م. ۱۳۹۰. جداسازی و شناسایی ترکیبات نیمه قطبی و غیرقطبی موجود در دو نمونه از اسفنج‌های متعلق به رده دموسپونژیا در جزیره کیش. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیمی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

خدادادحسینی، ا. ۱۳۹۲. بررسی خواص جذبندگی اسفنج‌های متعلق به Demospongiae در جزیره کیش به عنوان نانو جاذب در حذف یون‌های کلسیم، منیزیم، کبالت، کادمیوم و سرب در آب‌های سطحی. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیمی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

رحیم زاده عبدی، ک. ۱۳۹۲. بررسی حذف فلزات سنگین سرب و نیکل به وسیله جاذب طبیعی کیتوسان استخراج شده از ضایعات میگو از محلول آبی. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته شیمی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

ناظمی، م. ۱۳۸۷. بررسی خواص ضدباکتریایی و سیتوتوکسیک عصاره غیرقطبی در گونه‌ای از اسفنج رده دموسپونژیا. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیولوژی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

Bergmann, W. & Feeney, R. J. 1951. Conrributions to the study of marine products. XXXI. The nucleosides of sponges. I.1. *Journal of Organic Chemistry*, 16(6): 981-987.

Bligh, E. G. & Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37: 911- 917.

Fromont, J., Kerr, S., Kerr, R. Riddle, M. & Murphy, P. 1994. Chemotaxonomic relationships within, and comparisons

Evolution, 56(1): 104-114.

Stabili, L., Licciano, M., Giangrande, A., Longo, C., Mercurio, M., Nonnis Marzano, C. & Corriero, G. 2006. Filtering activity of Spongia Officinalis var. adriatica (Schmidt) (Porifera, Demospongiae*)* on bacterioplankton: Implications for bioremediation of polluted seawater. *Water Research*, 2006. 40(16): 3083-3090.

Swatschek, D., Schatton, W., Kellermann, J., Muller, W. E. G., Kreuter, J. 2002. Marine sponge collagen: isolation, characterization and effects on the skin parameters surface-pH, moisture and sebum. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 53(1): 107-113.

Weinheimer, A.J. & Spraggins, R.L. 1969. The occurrence of two new prostaglandin derivatives (15-epi-PGA2 and its acetate, methyl ester) in the Gorgonian Plexaura Homomalla Chemistry of Coelenterates. XV. *Tetrahedron Letters*, 10(59): 5185-5188.

World Porifera Database. 2014. Demospongiae. Available at: www.marinespecies.org.

between, the orders Haplosclerida and Petrosida (Porifera: Demospongiae) using sterol complements. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(7): p. 735-752.

Huang, J. P., McClintok, J. B., Amaeler, C. D. & Huang, Y. M. 2008. Mesofauna associated with the marine sponge *Amphimedon viridis*. Do its physical or chemical attributes provide a prospective refuge from fish predation? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 36 :(2): p. 95-100.

Pallela, R., Bojja, S. & Janapala, V.R. 2011. Biochemical and biophysical characterization of collagens of marine sponge, *Ircinia fusca* (Porifera: Demospongiae: Irciniidae*). International Journal of Biological Macromolecules*, 49(1): 85-92.

Reveillaud, J., Remerie, T., van Soest, R., Erpenbeck, D., Cardenas, P. & Derycke, S. 2010. Species boundaries and phylogenetic relationships between Atlanto-Mediterranean shallow-water and deep-sea coral associated Hexadella species (Porifera, Ianthellidae). *Molecular Phylogenetics and*