Journal of Marine Medicine
Summer 2021, Volume 3, Issue 2
Pages: 107-115
10.30491/3.2.107

Antioxidant Properties of Organic Extracts of Seaweed *Rhizoclonium riparium* from Oman Sea

Masumeh Gahramzai [1], Ali Taheri [2] *

[1] *Graduate Student, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran*
[2] *Associate Professor, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran*

Received: 22 April 2021 **Accepted:** 19 May 2021

Abstract

Background and Aim: Marine algae are one of the richest sources of natural antioxidants. In this study, the antioxidant properties of the extract of seaweed *Rhizoclonium riparium* investigated.

Methods: The algae were collected from the coasts of the Oman Sea, and washed with sea water and tap water. The algae were then dried and powdered with an electric mill. Methanol, chloroform, hexane and dichloromethane used as solvents (1:4). The antioxidant properties of the extracts were evaluated using three methods of free radical scavenging (DPPH), metal ion chelating and reduction power.

Results: the chloroform extract of algae *Rhizoclonium riparium* at the concentration of 1 mg/ml showed the most antioxidant properties with free radical scavenging activity DPPH, 94.8±4.63%; chelating activity, 30.8±0.01%; and reduction power, 0.7. The lowest IC_{50} recorded in Choloroform extract.

Conclusion: the chloroform extracts of algae *Rhizoclonium riparium* at the concentration of 1 mg/ml had the highest antioxidant activity and this extract is recommended for in vivo studies and identification of its active antioxidant compounds.

Keywords: Algae *Rhizoclonium riparium*, Antioxidant, Reduction Power, Chelating Activity, DPPH free Radical Scavenging.

***Corresponding author:** Ali Taheri, **Email**: taherienator@gmail.com
Address: Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

[Downloaded from jmarmed.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.30491/3.2.107]

مجله طب دریا
دوره ۳، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰
صفحات: ۱۱۵-۱۰۷
10.30491/3.2.107

خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آلی جلبک *Rhizoclonium riparium* دریای عمان

معصومه گهرام زئی[۱]، علی طاهری[۲]*

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
[۲] دانشیار فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۰۲/۰۲ **پذیرش مقاله:** ۱۴۰۰/۰۲/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: جلبک‌های دریایی یکی از غنی‌ترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌روند. در این مطالعه خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آلی گونه جلبک *Rhizoclonium riparium* دریای عمان بررسی شد.

روش‌ها: بعد از جمع‌آوری جلبک *Rhizoclonium riparium* از دریای عمان اقدام به شستشو با آب دریا و سپس آب شیرین گردید. برای تهیه عصاره با حلال‌های متانول، کلروفرم، هگزان و دی کلرومتان به نسبت ۱:۴ نمونه‌ها خشکانیده و سپس آسیاب شد. بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از سه روش حذف رادیکال آزاد DPPH (۲،۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل)، فعالیت کلاته کردن یون فلزی و قدرت کاهندگی انجام شد.

یافته‌ها: عصاره کلروفرمی جلبک *R. riparium* با مهار رادیکال آزاد (۸/۶۳±۹۴/۴٪)، فعالیت کلاته‌کنندگی (۸/۰۱±۳۰/۰ ٪) و قدرت کاهندگی (۰/۷) در غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بود. کمترین میزان IC_{50} در عصاره کلروفرمی گزارش شد.

نتیجه‌گیری: از میان عصاره‌ها و غلظت‌های مورداستفاده، عصاره کلروفرمی جلبک *R. riparium* در غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بود و این عصاره برای مطالعات درون تنی (*in vivo*) و شناسایی ترکیبات فعال آنتی‌اکسیدانی پیشنهاد می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: جلبک، آنتی‌اکسیدان، قدرت کاهندگی، فعالیت کلاته‌کنندگی، حذف رادیکال آزاد DPPH.

*نویسنده مسئول: **علی طاهری**. پست الکترونیک: taherienator@gmail.com
آدرس: دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

[Downloaded from jmarmed.ir on 2024-04-20]
[DOI: 10.30491/3.2.107]

مقدمه

مشتقات رادیکال آزاد اکسیژن و نیتروژن در طول متابولیسم سلولی و تولید انرژی در میتوکندری ایجاد می‌شوند که موجب آسیب‌های اکسیداتیو به ترکیبات سلولی و اختلال در انتقال سیگنال‌ها و بیان ژن می‌گردند. مقادیر بیش از حد اکسیژن فعال، مضر است چون موجب آسیب‌های سلولی شده و اختلالات متعددی مانند سرطان، انفارکتوس میوکارد، سکته، دیابت، شوک‌های عفونی و خونی و بیماری‌های عصبی مانند پارکینسون و آلزایمر را به دنبال دارد (۱). گونه‌های اکسیژن فعال مانند رادیکال سوپر اکسید ($O^{\bullet-}_2$)، رادیکال هیدروکسیل (OH)، رادیکال پروکسیل ($ROO^{\bullet}$) و رادیکال اکسید نیتریک ($NO^{\bullet}$) به مولکول‌های زیستی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA و RNA حمله کرده و منجر به آسیب سلول یا بافت می‌شوند (۲).

در دهه‌های اخیر بر اهمیت منابع دریایی به دلیل تنوع محصولات ثانویه ازجمله آنتی‌اکسیدان‌های موجود در آنها توجه ویژه‌ای شده است، که ترکیباتی مؤثر علیه استرس‌های اکسیداتیو در بدن انسان هستند (۳). هر ماده‌ای که به طور مستقیم گروه‌های اکسیژن فعال را حذف کند یا به‌صورت غیرمستقیم باعث دفاع آنتی‌اکسیدانی و مهار اکسیداسیون شود، آنتی‌اکسیدان نامیده می‌شود (۴). مطالعات اپیدمیولوژی نشان می‌دهد که مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی همراه با کاهش خطر ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها از جمله اختلالات قلبی و عروقی، تصلب شرایین، فشارخون بالا، بسیاری از انواع سرطان، پیری و بیماری‌های عصبی مانند آلزایمر و پارکینسون است (۵،۶).

از سویی اکسایش چربی یکی از مهم‌ترین دلایل افت کیفیت در مواد خوراکی دارای چربی است که می‌تواند سبب تغییر رنگ، طعم، بافت و ارزش تغذیه‌ای گردد (۷)؛ لذا جهت جلوگیری از این تغییرات از آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مانند بوتیل‌هیدروکسی‌آنیزول و بوتیل‌هیدروکسی تولوئن که معمولاً در صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرند به دلیل سمیّت برای انسان، در صنعت غذایی کمتر توصیه می‌شوند و لذا تحقیقات در مورد آنتی‌اکسیدان‌های جایگزین از منابع طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۸).

جلبک‌ها منبعی از ترکیبات مفید و فعال زیستی هستند و تاکنون ترکیبات زیستی متعدد و با گستره کاربردی متنوعی با اثرات آنتی‌بیوتیکی، ضدویروسی، ضدقارچی و ضد سرطانی از جلبک‌های پرسلولی شناسایی و تخلیص شده‌اند و بسیاری از متابولیت‌های اولیه و ثانویه این جانداران می‌توانند به مواد فعال مورد استفاده در صنایع دارویی تبدیل شوند (۹). جلبک‌های دریایی یکی از غنی‌ترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌روند (۱۰). عمده فعالیت آنتی‌اکسیدانی در جلبک‌ها به خاطر وجود توکوفرول‌ها، کارتنوئیدها و پلی‌فنول‌ها است (۱۳-۱۱). خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک‌ها کارآمد بوده و می‌تواند مبنایی برای مطالعات دیگر، به‌منظور دستیابی به مواد دارویی جدید برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان باشد (۱۴). مطالعات متعددی روی خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک‌ها گزارش شده است که می‌توان به مطالعات فراست و همکاران (*Caulerpa sertularioides*) (۱۵)، کوکبی و همکاران (*Ulva lactuca*) (۱۶)، نامور و همکاران (*Ulva fasciata*) (۱۷)، Yildiz و همکاران (*Ulva rigida*) (۱۸)، Lee و همکاران (*Ulva lactuca*) (۱۹) و Chia و همکاران (*Caulerpa racemose*) (۲۰) اشاره کرد.

جلبک سبز *Rhizoclonium riparium* (Roth) از جلبک‌های شاخص در آب‌های خلیج‌فارس و دریای عمان است. این جلبک به رنگ سبز روشن تا زرد، رشته‌ای، توده‌ای درهم پیچیده است و محل رویش آن در بالای محدوده بین جزرومدی روی سطح بسترهای صخره‌ای با پراکنش در استان‌های هرمزگان و سیستان و بلوچستان است (۲۱). با توجه به اهمیت ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی در جلبک‌های دریایی، ضرورت دارد تحقیقات جامعی روی عصاره جلبک‌های دریایی سواحل ایران انجام پذیرد. بر اساس تحقیقات، تاکنون مطالعه‌ای روی خواص آنتی‌اکسیدان عصاره‌های جلبک *R. riparium* سواحل چابهار انجام نشده است؛ لذا در این مطالعه خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آلی جلبک *R. riparium* ارزیابی شده است.

روش‌ها

تهیه نمونه

نمونه‌های جلبک سبز *Rhizoclonium riparium* (Roth) از سواحل بندر چابهار و ایستگاه دریای بزرگ و در اوایل فصل زمستان سال ۱۳۹۶ در زمان بیشینه جزر، جمع‌آوری و با آب دریا شست‌وشو شدند. سپس مجدداً برای جداسازی شن و ماسه و سایر موجودات، با آب شیرین شست‌وشو گردیدند. در ادامه، جلبک‌ها در سایه و در معرض هوا خشک شدند تا زمانی که به وزن ثابتی برسند، سپس با آسیاب برقی پودر شدند. نمونه‌های پودر شده تا زمان مصرف، درون فریزر نگه‌داری شدند (۲۲).

شکل- ۱. جلبک سبز *Rhizoclonium riparium* جمع‌آوری‌شده از سواحل دریای عمان

[Downloaded from jmarmed.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.30491/3.2.107]

عصاره‌گیری و استخراج

استخراج عصاره‌ها از طریق خیساندن پودر خشک شده به نسبت ۱:۴ در حلال‌های متانول، کلروفرم، هگزان و دی‌کلرومتان انجام شد. سپس ارلن حاوی نمونه‌ها توسط فویل آلومینیوم پوشانده شد و درون شیکر انکوباتور (مدل ZM، شرکت فن آزماگستر) به مدت ۲ ساعت با سرعت چرخش ۱۲۰ دور در دقیقه و در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. فرایند استخراج، ۲ بار دیگر نیز تکرار شد و پس از آن عصاره‌ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ فیلتر شدند. عمل حلال‌پرانی در زیر هود (کیمیا سکو داران) انجام گرفت و عصاره‌های تغلیظ شده برای مصارف بعدی درون فریزر نگه‌داری شدند (۲۳).

بررسی برون تنی خواص آنتی‌اکسیدانی

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های موردنظر با استفاده از سه روش حذف رادیکال آزاد (DPPH)، فعالیت کلاته کردن یون فلزی و قدرت کاهندگی در غلظت‌های مختلف انجام شد.

حذف رادیکال‌های آزاد (DPPH)

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رادیکال‌های پایدار ۲ و ۲ دی فنیل ۱ – پیکریل هیدرازیل (DPPH) انجام شد (۲۴). به یک میلی‌لیتر از هرکدام از عصاره‌های مختلف یک میلی‌لیتر محلول (DPPH) ۰/۶ میلی‌مولار افزوده شد. همچنین از هرکدام از عصاره‌ها یک محلول به‌صورت جدا حاوی یک میلی‌لیتر متانول و یک میلی‌لیتر عصاره تهیه شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای محیط نگه‌داری شد. جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل S2100s، شرکت نیکون) قرائت شد. برای کنترل، محلول متانول به‌جای محلول نمونه تهیه گردید. برای شاهد مثبت میزان ۰/۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسید آسکوربیک استفاده شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها طبق فرمول زیر محاسبه شد (۲۴).

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

A_{sample}: جذب نمونه با متانول بعد از زمان موردنظر

$A_{sample\ control}$: جذب نمونه با DPPH بعد از زمان موردنظر

$A_{control}$: جذب متانول با DPPH بعد از زمان موردنظر

فعالیت کلاته‌کنندگی یون آهن

فعالیت کلاته کردن یون آهن (II) بر اساس روش تغییر یافته Dinis و همکاران سنجیده شد (۲۵). بر این اساس ۳/۷ میلی‌لیتر محلول نمونه در غلظت‌های (۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آهن مخلوط گردید. محلول موردنظر ۳ دقیقه نگه‌داشته شد و بعد ۰/۲ میلی‌لیتر فروزین به محلول اضافه و به شدت تکان داده شد و ۱۰ دقیقه در دمای اتاق بود و بعد از آن جذب در طول موج ۵۶۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. یک شاهد بدون نمونه به شیوه مشابه تهیه شد. برای شاهد مثبت میزان ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر EDTA استفاده گردید.

درصد مهار کمپلکس ferrozine-Fe_2 تشکیل شده با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۲۵):

$$\text{درصد مهار} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

در این فرمول A_0 جذب کنترل و A_1 جذب عصاره‌ها را نشان می‌دهد.

قدرت کاهندگی

قدرت کاهندگی بر اساس روش تغییریافته Oyaizu سنجیده شد (۲۶). بر این اساس یک میلی‌لیتر محلول نمونه در غلظت‌های (۰/۰۱ ، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با یک میلی‌لیتر فسفات بافر ۰/۲ مولار (پی اچ ۶/۶) مخلوط شده و بعد از آن یک میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید یک درصد اضافه گردید و به مدت ۲۰ دقیقه در انکوباتور در دمای ۵۰ درجه قرار گرفت و سپس یک میلی‌لیتر TCA ۱۰ درصد به آن اضافه شد. به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردید و ۲ میلی‌لیتر از محلول نهایی با ۲ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و ۰/۴ میلی‌لیتر محلول کلرید آهن ۰/۱ درصد به آن اضافه و بعد از ۱۰ دقیقه جذب آنها در طول موج ۷۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. برای شاهد مثبت میزان ۰/۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسید آسکوربیک استفاده شد.

محاسبه IC_{50}

IC_{50} مربوط به روش‌های DPPH، کلاته‌کنندگی فلزات و قدرت کاهندگی با استفاده از رگرسیون خطی غلظت‌های مختلف در مقابل پاسخ و به دست آوردن فرمول خطی محاسبه و گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو–ویلک (Shapiro-Wilk test) بررسی شد. از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) با نرم‌افزار Graph-Pad Prism نسخه ۵ استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون تعقیبی توکی در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

مهار رادیکال آزاد (DPPH)

طبق جدول–۱، در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره کلروفرمی و دی‌کلرومتانی در غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بود و با عصاره‌های هگزانی و دی‌کلرومتانی اختلاف معنی‌داری نداشت ($p>0.05$). عصاره‌های کلروفرمی و دی‌کلرومتانی در مقایسه با اسید آسکوربیک

[Downloaded from jmarmed.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.30491/3.2.107]

(۹۳/۰±۳/۰۱ ٪) خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نشان داد (p>0.05). با کاهش غلظت عصاره‌ها درصد حذف رادیکال آزاد کاهش یافت اما در غلظت‌های پایین کلروفرم و دی‌کلرومتان نیز میزان فعالیت حذف رادیکال آزاد بیش از ۵۰ درصد بود.

جدول -۱. نتایج اثر مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های مختلف جلبک R. riparium در غلظت‌های مختلف

غلظت (mg/ml)	نوع عصاره آلی			
	دی کلرومتان	هگزان	کلروفرم	متانول
۱	۹۴/۴ ۰±/۲ a	۹۲/۵±۰/۵۵ a	۹۴/۸±۴/۶۳ a	۸۱/۲±۰/۵۵ b
۰/۵	۶۹/۷۶±۲/۸۳ a	۶۳/۱±۱/۲۸ a	۷۰/۸±۷/۰۷ a	۵۰/۴±۱/۵۶ b
۰/۳	۵۷/۱±۲/۶۶ a	۴۱/۶۳±۶/۰۳ b	۶۲/۰۶±۱/۰۲ a	۴۳/۹±۰/۷۸ b
۰/۱	۵۰/۵۳±۵/۸ a	۳۵/۹۰±۰/۴۶ b	۵۶/۴±۰/۶۲ a	۳۱/۷۴±۰/۴۶ b

نتایج به‌صورت انحراف معیار±میانگین از ۳ تکرار بدست آمده است. حروف ناهمسان در هر ردیف اختلافات معنی‌دار را نشان می‌دهد (P<0.05).

فعالیت کلاته‌کنندگی یون آهن

درصد فعالیت کلاته‌کنندگی عصاره‌های آلی جلبک *R. riparium* در جدول-۲ آمده است. بیشترین درصد فعالیت کلاته‌کنندگی این جلبک در غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره کلروفرمی گزارش شد که به طور معنی‌داری بیشتر از مقدار آن در غلظت‌های ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است (P<0.05). درصد فعالیت کلاته‌کنندگی در غلظت ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، به ترتیب در عصارهٔ کلروفرمی > عصاره دی‌کلرومتانی > عصاره متانولی > عصاره هگزانی است و اختلاف معنی‌داری دارند (P<0.05). تمامی عصاره‌ها در تمامی غلظت‌ها با EDTA اختلاف معنی‌داری دارند (P<0.05).

جدول-۲. درصد فعالیت کلاته‌کنندگی جلبک *R. riparium* در مقایسه با EDTA

غلظت (mg/ml)	نوع عصاره آلی			
	دی کلرومتان	هگزان	کلروفرم	متانول
۱	۲۵/۰±۱۰/۰۰ b	۱۸/۱±۰/۰۰ d	۳۰/۸ ۰±/۰۱ a	۲۴/۰±۱/۰۰ c
۰/۱	۱۱/۰±۴۶/۰۰ b	۸/۰±۴۳/۰۸ d	۱۳/۳ ±۰/۰۱ a	۱۰/۰±۱/۰۰ c
۰/۰۱	۱/۰±۹۶/۰۰ a	۲/۰±۵۶/۰۰ a	۲/۰±۷۳/۰۱ a	۱/۰±۹۳/۰۰ a
EDTA	۸۰/۱±۲/۱	۸۰/۱±۲/۱	۸۰/۱±۲/۱	۸۰/۱±۲/۱ a

نتایج به‌صورت انحراف معیار± میانگین از سه تکرار است. حروف ناهمسان در هر ردیف اختلافات معنی‌دار را نشان می‌دهد (P<0.05).

قدرت کاهندگی

بر اساس جدول-۳، غلظت یک عصاره کلروفرمی (۰/۰۷) بالاترین قدرت کاهندگی را نسبت به عصاره‌های دیگر داشته است. قدرت کاهندگی در جلبک *R. riparium* در غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر، عصاره متانولی و عصاره هگزانی با عصاره کلروفرمی و دی‌کلرومتانی اختلاف معنی‌داری دارند (P<0.05). بهترین حلال جهت استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی این جلبک، حلال کلروفرم و بهترین غلظت، یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. در این آزمون اسید آسکوربیک به‌عنوان نمونه شاهد مثبت در نظر گرفته شد و فعالیت آن ۰/۹۳۳±۰/۰۰ گزارش شد که در تمامی عصاره‌ها اثر قدرت کاهندگی کمتر از آن بوده است.

جدول-۳. نتایج آنالیز واریانس میزان جذب قدرت کاهندگی عصاره جلبک *R. riparium* (۰/۰۱-۱/۰۱) میلی‌گرم در میلی‌لیتر

غلظت (mg/ml)	نوع عصاره آلی			
	دی کلرومتان	هگزان	کلروفرم	متانول
۱	۰/۴۵±۰/۰۷ b	۰/۰۵۵±۰/۰۲ c	۰/۷±۰/۰۰ a	۰/۰±۱۷۵/۰۲ c
۰/۱	۰/۰۵۸±۰/۰۰ a	۰/۰۱۶±۰/۰۰ a	۰/۰۷۶±۰/۰۰ a	۰/۰±۰۸۴/۰۱ a
۰/۰۱	۰/۰۱۵±۰/۰۰ a	۰/۰۰۷±۰/۰۰ a	۰/۰۰۳±۰/۰۰ a	۰/۰±۰۱۳/۰۰ a

نتایج به‌صورت انحراف معیار± میانگین از سه تکرار است. حروف ناهمسان در هر ردیف اختلافات معنی‌دار را نشان می‌دهد (P<0.05).

[Downloaded from jmarmed.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.30491/3.2.107]

میزان IC_{50} برای عصاره‌های آلی جلبک

در تحقیق حاضر، نتایج حاصل از بررسی IC_{50} آزمون حذف رادیکال آزاد، فعالیت کلاته‌کنندگی و قدرت کاهندگی جلبک *R. riparium* با ۴ عصاره مختلف در جدول-۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد بیشترین مقدار IC_{50} محاسبه شده برای فعالیت حذف رادیکال آزاد در عصاره متانولی (۰/۴۴۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کمترین مقدار آن در عصاره کلروفرمی است.

همچنین بیشترین مقدار IC_{50} برای فعالیت کلاته‌کنندگی در عصاره هگزانی (۳/۳۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کمترین مقدار آن در عصاره کلروفرمی (۱/۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشاهده شد. بیشترین مقدار IC_{50} فعالیت کاهشی در عصاره دی کلرومتانی (۱۲/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کمترین مقدار آن در عصاره کلروفرمی (۰/۷۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) محاسبه گردید.

جدول -۴. نتایج کلی میزان IC_{50} (mg/ml) عصاره‌های جلبک *R. riparium*

عصاره	مهار رادیکال آزادDPPH	فعالیت کلاته‌کنندگی	قدرت کاهندگی
متانول	۰/۴۴۲	۲/۳۰	۳/۳
کلروفرم	۰/۰۱۶	۱/۷۵	۰/۷۱
هگزان	۰/۳۴۸	۳/۳۱	۱۰/۶
دی کلرومتان	۰/۱۱۶	۲/۲۲	۱۲/۱

بحث

در مطالعه حاضر عصاره کلروفرمی جلبک سبز *R. riparium* بالاترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH (۹۴/۸±۴/۶۳)، درصد فعالیت کلاته‌کنندگی یون آهن (۳۰/۸±۰/۰۱) و قدرت کاهندگی (۰/۷) را نشان داد.

در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جلبکی فاکتورهایی از قبیل حلال (۲۷)، نوع و نسبت ماده خشک به حلال (۲۸) بر میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مؤثر است. معمولاً انتخاب حلال‌ها برای استخراج با توجه به هدفی که وجود دارد، ماهیت ترکیبات، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ماده، قابلیت در دسترس بودن مواد و تجهیزات انجام می‌شود (۲۹). در مطالعه حاضر برای بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از روش مهار رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است که به طور گسترده‌ای به‌عنوان ابزاری جهت تخمین مهار رادیکال آزاد توسط آنتی‌اکسیدان‌ها به کار برده می‌شود و اغلب تخمین مناسبی از فعالیت جذب رادیکال آزاد عصاره می‌دهد. اثر آنتی‌اکسیدان بر مهار رادیکال DPPH مربوط به توانایی اهدای هیدروژن آن است (۳۰). در مطالعه Supardy و همکاران، فعالیت آنتی‌اکسیدان عصاره‌های مختلف جلبک *Halimeda discoidea* با استفاده از روش DPPH مورد بررسی قرار گرفت و مشابه تحقیق حاضر نتایج نشان داد که عصاره کلروفرمی این جلبک دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی است (۳۱). در مطالعه حیدری و همکاران با استفاده از آزمون DPPH خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های هیدروالکلی چندگونه جلبک را بررسی نمودند و مشاهده کردند که بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون حذف دی فنیل پیکریل هیدرازیل مربوط به جلبک سبز *Enteromorpha intestinalis* و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به جلبک قهوه‌ای *Cystoseria myrica* است (۳۲). در مطالعه طاهری و همکاران نیز بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی جلبک دریایی *Halimeda tuna* بر اساس آزمون DPPH مربوط به عصاره کلروفرمی در غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (۳۳). در مطالعه حاضر فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH شاخص‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبکی بود. این فعالیت در غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر در تمامی عصاره‌ها بسیار بالا بود و حتی در عصاره کلروفرمی از شاهد مثبت نیز بیشتر بود. این نتیجه نشان می‌دهد که عصاره جلبک سبز مورد مطالعه حاوی ترکیبات دهنده الکترون است و این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان نوع I مورد بررسی و مطالعه بیشتر قرار گیرند و به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی معرفی شوند. آنتی‌اکسیدان‌های نوع I خود مستقیماً رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کنند. در مورد این عصاره‌ها افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال دهندگی هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و در پی آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. در واقع خواص کاهندگی عصاره عموماً در ارتباط با حضور کاهنده‌ها در عصاره بوده که عمل آنتی‌اکسیدانی این کاهنده‌ها بر اساس شکست زنجیره رادیکال آزاد توسط اهدای یک اتم هیدروژن و تشکیل محصولات پایدار است (۳۴).

در مطالعه حاضر فعالیت کلاته‌کنندگی شاخص نبود و حداکثر میزان کلاته‌کنندگی ۳۰/۸ در حلال کلروفرم گزارش شد که با شاهد مثبت اختلاف معنی‌داری داشت. اما در مورد قدرت کاهندگی عصاره کلروفرمی نتایج بسیار خوبی را در غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر نشان داد که می‌تواند ترکیبات موجود در این عصاره را کاندیدای خوبی برای ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی معرفی کند. قدرت کاهندگی یک ترکیب می‌تواند به‌عنوان شاخص قابل‌توجهی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی باشد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی شامل مکانیسم‌های متنوعی مانند جلوگیری از شروع زنجیره اکسیداسیون، اتصال به یون فلز، تجزیه آب‌اکسیژنه، جلوگیری از

[Downloaded from jmarmed.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.30491/3.2.107]

جداکردن هیدروژن، قدرت کاهش و مهار رادیکال آزاد است (۳۵). کاهنده‌ها با پیش‌سازهای خاصی از پراکسید، وارد واکنش می‌شوند و در نتیجه از تشکیل پراکسید جلوگیری می‌کنند (۳۶).

در این مطالعه خواص آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت عصاره میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافت. در مطالعه طاهری و مرادی نیز خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک *Colpomenia sinaousa*، بیشترین فعالیت حذف رادیکال آزاد، فعالیت کلاته‌کنندگی و قدرت کاهندگی در غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد (۳۷). نتایج ملکوت‌طبری و همکاران نیز نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت عصاره است. بالاترین میزان حذف رادیکال آزاد در غلظت ۷۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (۱۹/۶۱ ٪) و کم‌ترین فعالیت در غلظت ۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر (۱۸/۴ ٪) مشاهده شد. بالاترین ظرفیت قدرت احیاکنندگی در غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر و کمترین قدرت احیا در غلظت ۱۲۹۰ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش شد. در این مطالعه اختلاف معنی‌داری بین حلال‌های مختلف دیده شد و حلال کلروفرمی بهترین نتایج را نشان داد اما در مطالعه Cox و همکاران تفاوت معناداری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی، متانولی و استونی جلبک *Palmaria palmat* وجود نداشت (۳۸،۳۹). علت این اختلافات می‌تواند نوع عصاره جلبکی، نوع گونه و اجزاء موجود، زمان و مکان نمونه‌های جمع‌آوری‌شده و ماده مؤثر در جلبک باشد. کلروفرم؛ حلالی با قطبیت کمتر از متانول است و نشان می‌دهد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک سبز موردمطالعه، قطبیت کمتری داشته که در حلال با قطبیت کمتر حل شده است. درخشش و همکاران نیز نشان دادند که حلال‌هایی با قطبیت کمتر نتایج بهتری نسبت به حلال‌هایی با قطبیت بیشتر دارند. با توجه به این نتایج اجزای فعال زیستی موردنظر بایستی ترکیباتی با قطبیت کم و چربی‌دوست باشند (۴۰).

میزان IC_{50} عصاره کلروفرمی برای فعالیت مهار رادیکال آزاد، قدرت کاهندگی و فعالیت کلاته‌کنندگی به ترتیب ۰/۰۱۶، ۰/۷۱ و ۱/۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود که به‌جز فعالیت مهار رادیکال آزاد برای دو سنجش دیگر مقدار بالایی است و اگر خالص‌سازی انجام شود می‌تواند در مقادیر کمتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان دهد. در مطالعه فراست و همکاران (۱۵)، میزان IC_{50} عصاره متانولی جلبک *Caulerpa sertularioides* نشان داد که بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (با کمترین IC_{50}) از سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رادیکال آزاد DPPH با میزان IC_{50} برابر ۰/۷۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر است که نتایج بسیار خوب مطالعه حاضر را تایید می‌کند.

نتیجه‌گیری

بر طبق یافته‌های مطالعه حاضر می‌توان نتیجه‌گیری نمود که نوع حلال مورداستفاده بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک سبز *R. riparium* تأثیر معنی‌داری دارد. از عصاره کلروفرمی جلبک موردمطالعه می‌توان برای مطالعات بیشتر جهت شناسایی، جداسازی و مشخص‌کردن ترکیبات فعال با فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده کرد. همچنین می‌توان این عصاره را در مطالعات کلینیکی و پیش‌کلینیکی برای استفاده در صنایع دارویی و غذایی استفاده نمود. این امر نیاز به تحقیقات بیشتر و خالص‌سازی و استخراج ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره، جهت شناسایی مؤثرترین ترکیب این جلبک‌ها دارد که توصیه می‌شود در مطالعات تکمیلی به آن پرداخته شود.

تشکر و قدردانی: نویسندگان از معاونت علمی و فناوری ریاست‌جمهوری (ستاد توسعه علوم و فناوری گیاهان دارویی و طب سنتی) در قالب طرح ملی ۱۱/۹۰۷۴۷ و دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به جهت حمایت مادی و معنوی از مطالعه حاضر تشکر و قدردانی می‌نمایند.

نقش نویسندگان: طاهری: ارائه ایده، طراح اولیه، تحلیل و تفسیر داده‌ها و ویرایش نهایی مقاله؛ گهرامزئی: مطالعات آزمایشگاهی، جمع‌آوری داده و نوشتن مقاله. همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می‌پذیرند.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Chew YL, Lim YY, Omar M, Khoo KS. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. LWT-Food Science and Technology. 2008; 41(6):1067-1072. doi:10.1016/j.lwt.2007.06.013
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 Chemistry. 2008; 111(2):422-32. doi:10.1016/j.foodchem.2008.04.012
3. Li Y, Qian Z, Ryu B, Lee SH, Kim SK. Chemical components and its antioxidant properties in vitro: An edible marine brown alga, Ecklonia cava. Bioorganic & medicinal chemistry. 2009; 17: 1963-1973. doi:10.1016/j.bmc.2009.01.031
4. Halliwell B. Free radicals and antioxidants - quo vadis. Trends in Pharmacological Sciences. 2010; 32(3): 125-130. doi:10.1016/j.tips.2010.12.002
5. Wu Z, Wu S, Shi X. Supercritical fluid extraction and determination of lutein in heterotrophically

[Downloaded from jmarmed.ir on 2024-04-20]
[DOI: 10.30491/3.2.107]

cultivated Chlorella pyrenoidosa. Journal of Food Process Engineering. 2007; 30: 174-185. doi:10.1111/j.1745-4530.2007.00102.x
6. Nakashima Y, Ohsawa I, Konishi F, Hasegawa T, Kumamoto S, Suzuki Y, et al. Preventive effects of Chlorella on cognitive decline in age-dependent dementia model mice. Neuroscience Letters. 2009; 464: 193-198. doi:10.1016/j.neulet.2009.08.044
7. Sakanaka S, Tachibana Y, Okada Y. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). Food Chemistry. 2005; 89(4): 569-575. doi:10.1016/j.foodchem.2004.03.013
8. Meenakshi S, Umayaparvathi S, Arumugam M, Balasubramanian T. In vitro antioxidant properties and FTIR analysis of two seaweeds of Gulf of Mannar. Asian Paciffic Journal of Tropical Biomedicine; 2012; 2: 66-70. doi:10.1016/S2221-1691(11)60126-3
9. Al-Haj NA, Mashan NI, Shamsudin MN, Mohamad H, Vairappan CS, Sekawi Z. Antibacterial activity in marine algae Eucheum adenticulatum against Staphylococcus aureus and Streptococcus pyogenes. Research Journal of Biological Science. 2009; 4(4): 519-524.
10. Wijesekara I, Pangestuti R Kim SK. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. Carbohydrate Polymer. 2011; 84: 14-21. doi:10.1016/j.carbpol.2010.10.062
11. Miyashita K, Takagi T. Tocopherol content of Japanese algae and its seasonal variation. Agricultural and Biological Chemistry. 1987; 51: 3115-3118. doi:10.1271/bbb1961.51.3115doi:10.1080/00021369.1987.10868522
12. Hosokawa M, Okada T, Mikami N, Konishi I, Miyashita K. Bio-functions of marine carotenoids. Food Science and Biotechnology. 2009; 18(1): 1-11.
13. Parys S, Rosenbaum A, Kehraus S, Reher G, Glombitza KW, Konig GM. Evaluation of quantitative methods for the determination of polyphenols in algal extracts. Journal of Natural Products. 2007; 70(12): 1865-1870. doi:10.1021/np070302f
14. Ghaffari M, Taheri A, Bavi Z, Soheili F. Assessment of antioxidant properties of red sea weed Gelidiella acerosa of Chabahar coast water. Qom university of Medical Sciences Journal. 2017; 10(11):34-41.
15. Farasat M, Khavari-Nejad R, Nabavi SMB, Namjooyan F. Antioxidant activity of methanolic extract of green sea weed Caulerpa sertularioides. Journal of Marine Biology. 2014; 5(4): 13-20.
16. Kokabi M, Yousefzadi M, Ali Aahmadi A, Feghhi MA, Keshavarz M. Antioxidant Activity of Extracts of Selected Algae from the Persian Gulf, Iran. Journal of the Persian Gulf. 2013; 4(12): 45-50.
17. Namvar F, Baharara J, Mahdi AA. Antioxidant and Anticancer Activities of Selected Persian Gulf Algae. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2014; 29(1): 13-20. doi:10.1007/s12291-013-0313-4
18. Yildiz G, Celikler S, Vatan O, Dere S. Determination of the antioxidative capacity and bioactive compounds in green seaweed Ulva rigida C. Agardh. International Journal of Food Properties. 2012; 15(6): 1182-1189. doi:10.1080/10942912.2010.517341
19. Lee JC, Hou MF, Huang HW, Chang FR, Yeh CC, Tang JY, et al. Marine algal natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties. Cancer Cell International. 2013; 13(1): 55. doi:10.1186/1475-2867-13-55
20. Chia YY, Kanthimathi MS, Khoo KS, Rajarajeswaran J, Cheng HM, Yap WS. Antioxidant and cytotoxic activities of three species of tropical seaweeds. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2015; 15, 339. doi:10.1186/s12906-015-0867-1
21. Gharangik BM, Rouhani Qadiklani K, Kianmehr H, Hosseini MR. Atlas of seaweed Gulf Coast and Oman Sea. Iranian Fisheries Research Institute. Science Inform Management. 2011; Page 32,137.
22. Mosaddegh M, Gharanjik BM, Naghibi F, Esmaeili S, Pirani A, Eslami Tehrani B, et al. A survey of cytotoxic effects of some marine algae in the Chabahar Coast of Oman Sea. Research Journal of Pharmacognosy. 2014; 1(1): 27-31.
23. Lim SN, Cheung PC, Ooi VE, Ang PO. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, Sargassum siliquastrum. Journal of Agricultural Food Chemistry. 2002; 50 (13): 3862-3866. doi:10.1021/jf020096b
24. Brand Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activitiy. LWT- Food Science and Technology. 1995; 28(1): 25-30. doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5
25. 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. Achieves of Biochemistry and Biophysics. 1994; 315 (1): 161-169. doi:10.1006/abbi.1994.1485
26. Oyaizu M. Studies on Produts of browning reaction Prepared from glucoseamine. Japan Journal of Nutrition. 1986; 44(6): 307-314. doi:10.5264/eiyogakuzashi.44.307
27. Lopez A, Rico M, Rivero A, Tangil DMS. The phenolic contents and antioxidant activity of stypocarium algae extracts. Food Chemistry. 2011; 125:1104-1109. doi:10.1016/j.foodchem.2010.09.101
28. Pinelo M, Rubilar M, Jerez M, Sinerio J, Josea NM. Effect of solvent, temperature, and solvent to solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. Journal of Agricultural Food Chemistry. 2005; 53: 2111-2117. doi:10.1021/jf0488110
29. Rebey IB, Bourgou S, Debez IBS, Karoui IJ, Sellami IH, Msaada K, et al. Effects of extraction solvents and provenances on phenolic contents and antioxidant activities of Cumin (Cuminum cyminum L) seeds. Food and Bioprocess Technology. 2011; 5: 2827-2836. doi:10.1007/s11947-011-0625-4

[Downloaded from jmarmed.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.30491/3.2.107]

30. Hossain Z, Kurihara H, Takahashi K. Biochemical Composition and lipid compositional properties of the brown alga Sargassum horneri. Pakistan Journal of Biological Science. 2003; 6: 1497-1500. doi:10.3923/pjbs.2003.1497.1500
31. Supardy NA, Ibrahim D, Sulaiman SF, Zakaria NA. Free radical scavenging activity, total phenolic content and toxicity level of Halimeda discoidea (Decaisne) extracts (Malaysia's green macroalgae). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2011; 3(5): 397-402.
32. Heidari M, Zolgharnine H, Sakhaei N, Mirzaei A, movahedinia A. Antioxidant capacity and phenolic and flavonoid content of macro algae in the northern coasts of the Persian Gulf in Bushehr province. Journal of Marine Science and Technology. 2015; 14 (2): 45-54.
33. 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 University of Medical Sciences Journal. 2017; 11(5):107-115.
34. 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. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2011; 12(1): 73-78. doi:10.1016/j.ifset.2010.11.005
35. Siriwardhana N, Lee KW, Kim SH, Ha JW, Jeon YJ. Antioxidant activity of Hizikia fusiformis on reactive oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibition. Food Science and Technology International. 2003; 9(5): 339-347. doi:10.1177/1082013203039014
36. Srivastava A, Harish SR, Shivanandappa T. Antioxidant activity of the roots of Decalepis hamiltonii (Wight & Arn). LWT-Food Science and Technology. 2006; 39(10): 1059-1065. doi:10.1016/j.lwt.2005.07.005
37. Taheri A, Moradi S. Antioxidative Properties of Colpomenia sinuosa Organic Extract. Journal of Mazandaran University Medical Sciences. 2018; 28 (160): 151-155.
38. Malakottabary S, Ghorbanli M, Safaian S, Mosazade SA. Comparison of antioxidant properties and of phytochemical compounds from Trametes gibbosa. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2013; 3(10): 73-78.
39. Cox S, Abu-Ghannam N, Gupta S. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. International Food Research Journal. 2010; 17: 205- 220.
40. Derakhshesh B, Yousefzadi M, Afshar Nasab M, Yeganeh V, Dashtian Nasab A. In vitro Antibacterial Activities of the Marine Macroalgae" Laurencia snyderiae" and "Sargassum angustifolium" Against Human Pathogens. Iranian South Medical Journal. 2011; 14(1): 17-22.

[Downloaded from jmarmed.ir on 2024-04-20]

[DOI: 10.30491/3.2.107]