

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماکرو جلبک قرمز *Gracilaria corticata* به وسیله عصاره غیر قطبی (ان-هگزانی) در سواحل بندرلنگه و جزیره قشم

چکیده

در این مطالعه شناسایی خواص آنتی‌اکسیدان گونه ماکرو جلبک قرمز *Gracilaria corticata* انجام شد. نمونه‌برداری از سواحل بندرلنگه و جزیره قشم در بهار سال ۱۳۹۸ انجام و شناسایی نمونه‌ها در سطح گونه با استفاده از خصوصیات ریخت‌سنجی انجام شد. عصاره غیر قطبی گونه *Gracilaria corticata* با استفاده از حلال غیر قطبی ان-هگزان انجام و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل از نمونه‌های هر دو منطقه قشم و بندرلنگه به روش آزمون DPPH و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه‌ی میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و احیاکنندگی نمونه‌ها در غلظت‌های مختلف، بیانگر اختلاف معنادار فعالیت آنتی‌اکسیدانی و احیاکنندگی در بین نمونه‌های بندرلنگه و قشم بودند. عصاره‌ی جمع‌آوری‌شده از بندرلنگه و جزیره قشم، به ترتیب در غلظت‌های ۵۶۶/۵ و ۸۹۵/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، معادل ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH را مهار نمودند. هم‌چنین عصاره‌ی ان-هگزانی نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از بندرلنگه و قشم به ترتیب در غلظت‌های ۱۰۲۰ و ۱۱۶۸ میکروگرم در میلی‌لیتر معادل ۵۰ درصد یون‌های فریک را احیا نمودند. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که عصاره‌ی ان-هگزانی استخراج‌شده از گونه مورد مطالعه متعلق به سواحل بندرلنگه در مقایسه با سواحل قشم از جنبه‌ی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی یون فریک فعالیت بیشتری دارند که این امر می‌تواند به دلیل افزایش فشار اکسیداتیو ناشی از افزایش حضور استرس‌های محیطی به‌ویژه آلاینده‌ها در منطقه بندرلنگه نسبت به جزیره قشم باشد.

واژگان کلیدی: خلیج فارس، جلبک قرمز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، *Gracilaria corticata*.

مقدمه

منابع دریایی ازجمله فعال‌ترین مکان‌هایی است که در سال‌های اخیر به‌منظور یافتن ترکیبات زیست فعال در جهت کشف داروهای جدید مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Qi et al., 2005). امروزه جلبک‌ها به‌عنوان یکی از منابع پایدار برای استخراج ترکیبات طبیعی دریایی محسوب می‌شوند و به دلیل کاربردهای مختلف در صنایع داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی، تولید سوخت‌های زیستی و به جهت داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی توجه پژوهشگران بسیاری را به خود جلب نموده‌اند. اگرچه در بعضی مواقع بعضی از گونه‌های ماکرو و میکرو جلبکی مهاجم با انتقال سایر گونه‌های بومی باعث ایجاد مشکلات زیست‌محیطی می‌شوند و گاه باعث از بین رفتن تنوع زیستی، آسیب در ساختار و عملکرد اکوسیستم‌های بومی نیز می‌شوند (Gomez-Zavaglia et al., 2019). ماکرو جلبک‌ها با توجه به دارا بودن تنوع گونه‌ای زیاد و پراکندگی گسترده به‌عنوان گزینه‌ای مناسب و غنی از متابولیت‌های زیست فعال بیشتر مورد توجه قرار گرفته و هم‌چنین به‌عنوان منابع تجدید پذیر به‌صورت پرورشی در رژیم غذایی مردمان نواحی مختلف کره زمین به‌ویژه در کشورهای آسیایی استفاده می‌شوند (Nahas et al., 2007, Wang et al., 2009). این

مریم طلا^{۱*}

سعید تمدنی جهرمی^۲

منصور آزاد^۳

۱ و ۳. گروه شیلات، واحد قشم، دانشگاه آزاد اسلامی، قشم، ایران

۲. پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، بندرعباس، ایران

*مسئول مکاتبات:

m_tala2002@yahoo.com

کد مقاله: ۱۳۹۹۰۲۰۸۱۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۳۰

این مقاله پژوهشی و برگرفته از طرح

پژوهشی است.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماکرو جلبک قرمز *Gracilaria corticata* به وسیله عصاره غیر قطبی (ان-هگزانی) در سواحل بندرلنگه ... / طلا و همکاران

موجودات به دلیل ظرفیت آن‌ها برای ایجاد مکانیسم دفاعی از طریق انتشار برخی متابولیت‌های ثانویه در شرایط مختلف محیطی زیستگاه خود رشد می‌کنند و گونه‌های ماکرو جلبک قرمز امروزه به‌عنوان ضد انعقاد دهنده، ضد احتقان و در درمان معده و اسهال (Barzkar et al., 2019) و درمان بیماری‌هایی نظیر آلزایمر (Olasehinde et al., 2019) مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین اولین تولیدکنندگان زیست‌بوم‌های آب‌های آزاد و دریایی محسوب می‌شوند که بیش از ۴۴ درصد از فتوسنتز در بیوسفر به‌وسیله‌ی اتوتروف‌های آبی انجام می‌شود (Dawes, 1997). جلبک‌های دریایی همانند دیگر گیاهان فتوسنتز کننده، در معرض نور شدید و غلظت بالای اکسیژن قرار می‌گیرند که این عوامل باعث تحریک تشکیل رادیکال‌های آزاد و دیگر عوامل اکسیدکننده می‌شوند، اما عدم وجود خسارات اکسیداتیو در ترکیبات ساختاری آن‌ها (به‌ویژه اسیدهای چرب غیراشباع) و ثبات آن‌ها در طول نگهداری نشان‌دهنده این است که سلول‌های جلبک‌های دریایی دارای سیستم‌های محافظت‌کننده در برابر اکسیداسیون هستند (Nahas et al., 2007). ماکرو جلبک‌ها از جمله ماکرو جلبک‌های قرمز با داشتن برخی ترکیبات خاص از جمله فیکوبیلی پروتئین‌ها و میزان بالای ترکیبات پلی‌فنلی و پروتئینی عموماً خواص بیولوژیک مؤثری از قبیل آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌باکتریال و ضد سرطانی به‌عنوان یک منبع باارزش داروی غذایی قابل قبول و بالقوه برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها و انواع سرطان‌های رایج کاربرد دارند (Wang et al., 2012). مطالعه‌ای که توسط Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۸) انجام شده و در آن ماهی‌ها با پودر جلبک قرمز *Gracilaria gracilis* تغذیه می‌شدند نشان داد که این ترکیب غذایی باعث بهبود بیان ژنتیکی برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بهبوددهنده وضعیت سیستم ایمنی بدن مانند سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شود (Gomez-Zavaglia et al., 2019). آگار پلی‌ساکاریدی به‌دست‌آمده از برخی اعضای خانواده‌ی جلبک‌های قرمز از جمله خانواده‌های *Gracilariaceae* و *Gelidiaceae* عنوان محیط کشت باکتری‌ها، مواد دندانپزشکی، داروهای ملین، تهیه قرص و کپسول، تهیه چسب، مواد آرایشی و ژل‌های الکتروفوریتیک به کار می‌رود (Dawes et al., 1999; Marinho-Soriano, 2001). به‌طور کلی، آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با تبدیل رادیکال‌های آزاد یا رادیکال‌های پراکسی به ترکیبات غیر رادیکالی از طریق دادن الکترون، هیدروژن، کلاته کردن فلزات واسطه و حل کردن ترکیبات تولیدکننده پر اکسیداسیون از اکسایش جلوگیری می‌کنند (Ruberto et al., 2001). با توجه به ساختار شیمیایی مختلف ترکیبات در گونه‌ها و مناطق مختلف، تأثیرات بیولوژیک ترکیبات بستگی بسیار به گونه و منطقه‌ای دارد که از آن جدا می‌شوند. بنابراین هرگونه در هر منطقه‌ی خاص دارای ترکیباتی با ساختار مختص به خود است که این مهم، اهمیت شناسایی و بررسی ترکیبات در گونه‌های مختلف را برجسته می‌نماید. برای مثال ساختار فوکوئیدان (Focuidine) (آنتی‌اکسیدان) در تمام گونه‌ها یکسان نیست و به‌شدت تحت تأثیر گونه و منطقه‌ی جداسازی شده از آن قرار دارد. جنس گراسیلاریا، از میان جنس‌های خانواده‌ی *Gracilariaceae*، بزرگ‌ترین جنس از شاخه‌ی ردوفیتا *Rhodophyta* می‌باشد (Gan, 1999) و به دلیل رشد سریع، تحمل وسیع بسیاری از گونه‌های این جنس در برابر شرایط محیطی و نیز تنوع گونه‌ای موردتوجه بیشتری قرار دارد (Dawes et al., 1999). در بررسی انجام‌شده بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی جلبک *Gracilaria salicornia* جمع‌آوری‌شده از سواحل هاوایی، عصاره‌ی این جلبک دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قابل توجه گزارش شد (Vijayavel and Martinez, 2010). همچنین Abdullah و همکاران (۲۰۱۳) با تعیین اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی جلبک قرمز *Gracilaria manilaensis* در سلول‌های سرطانی مختلف نتیجه گرفتند که عصاره‌ی جلبک مذکور می‌تواند به‌عنوان یک عامل ضد سرطان مورد استفاده قرار بگیرد. Harada و همکاران (۲۰۰۲) متوجه فعالیت ضد توموری پالمتیک اسید استخراج‌شده از جلبک قرمز به‌عنوان ماده‌ی سیتوتوکسیک (سلول‌های T کشنده یا سیتوتوکسیک که توانایی شناسایی و حمله‌ی مستقیم به سلول آلوده یا سرطانی را دارند. این سلول‌ها با ترشح پروتئینی به نام پرفورین، منافذی را در سلول‌های سرطانی ایجاد می‌کنند که به مرگ آن‌ها می‌انجامد) به‌عنوان انتخابی مناسب در درمان سلول‌های لوسمی انسان موردتوجه قرار داده و غلظت ۱۲/۵ تا ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر پالمتیک اسید استخراج‌شده از جلبک قرمز را دارای خواص سیتوتوکسیک روی سلول‌های انسانی گزارش کردند. با توجه به گستردگی گونه‌های مختلف ماکرو جلبکی در آب‌های جنوبی کشور و اثر آنتی‌اکسیدانی آن‌ها، تحقیق و بررسی‌های علمی و کاربردی جهت شناسایی ترکیبات قوی

آنتی‌اکسیدانی از ماکرو جلبک‌های منابع آبی خلیج فارس و دریای عمان از جمله گونه‌های گراسیلاریا که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا می‌باشند بسیار حائز اهمیت بوده و لازم و ضروری می‌باشد. لذا، مطالعه حاضر در پی انجام تحقیقی در ارتباط با ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ماکرو جلبک قرمز *Gracilaria corticata* با استفاده از حلال‌های غیر قطبی (ان هگزانی) در مناطق بندر لنگه و جزیره قشم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

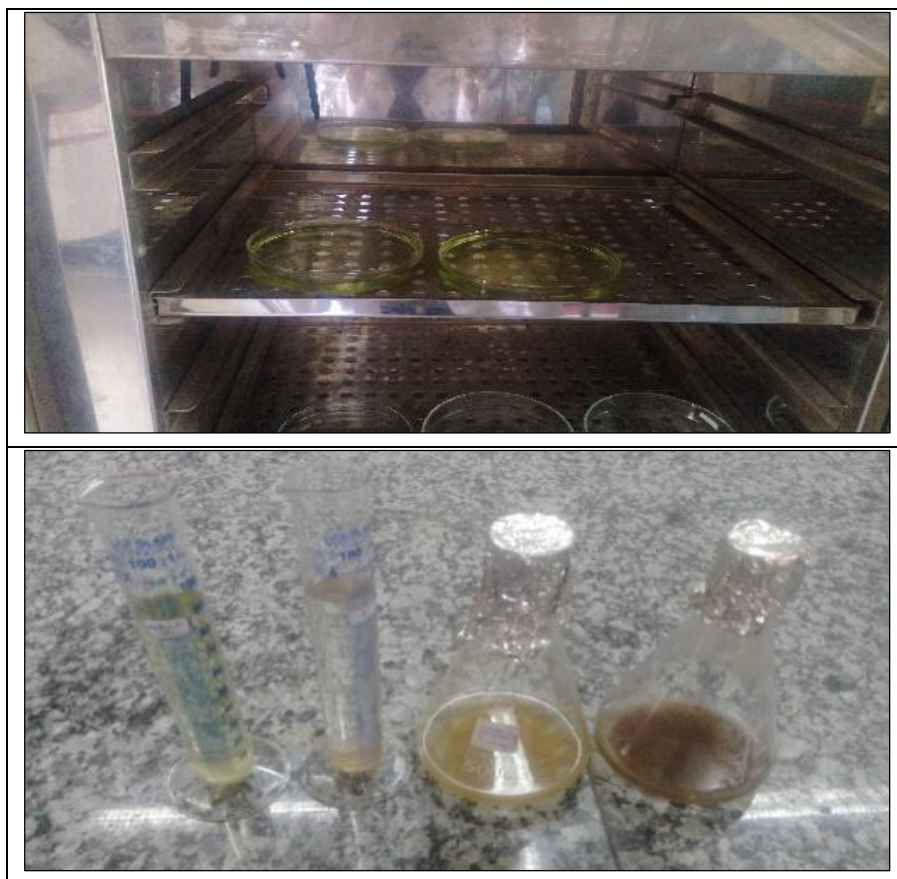
نمونه‌های ماکرو جلبکی قرمز شامل گونه‌ی *Gracilaria corticata* از مناطق جزر و مدی سواحل بندرلنگه و جزیره قشم در بهار سال ۱۳۹۸ جمع‌آوری شدند. جلبک‌های جمع‌آوری شده جهت حذف ذرات شن و ماسه، با آب دریا شستشو شده و جهت جلوگیری از تغییر فرم و خشک شدن درون کیسه‌های پلاستیکی قرار داده و نام‌گذاری شدند. نمونه‌ها در آزمایشگاه، با آب دریا شسته شده و جهت رطوبت‌گیری، درون زیپ کیپ حاوی ماده‌ی خشک‌کن سیلیکا ژل قرار گرفته و در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۵ روز خشک شدند. سپس در یک دستگاه آسیاب تا حد امکان به‌صورت پودر درآمدند. پودرهای آسیاب شده از الک عبور داده شده و تا زمان انجام آزمایش‌ها در کیسه‌های پلاستیکی در دمای ۲۶ - درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری گردیدند (شکل ۱).



شکل ۱: شستشو و نگهداری نمونه‌های جلبک قرمز (*Gracilaria corticata*) (بندرلنگه، ۱۳۹۸).

شناسایی نمونه‌ها بر اساس خصوصیات مورفولوژی و سلولی و با استفاده از کلید شناسایی معتبر انجام گردید (Lawson et al., 1982). به‌منظور تهیه‌ی عصاره‌های آلی، ۱۰ گرم از هر نمونه‌ی خشک و پودر شده به‌طور جداگانه با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال غیر قطبی ان-هگزان (N-Hexane) مخلوط گردیده و به مدت ۵ ساعت روی شیکر با دور زیاد قرار گرفتند. آنگاه محلول فوقانی ارلن حاوی عصاره درون یک استوانه‌ی مدرج ریخته شد و به هرکدام از ارلن‌ها، مجدداً ۱۰۰ میلی‌لیتر از حلال مربوطه اضافه گردید و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس عصاره جلبکی به‌دست آمده، درون چند پلیت ریخته شد و پلیت‌ها جهت تبخیر حلال، داخل انکوباتور با دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک تا دو روز قرار گرفتند (Rostagno and Prado, 2013) (شکل ۲).

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی ماکرو جلبک قرمز *Gracilaria corticata* به وسیله عصاره غیر قطبی (ان-هگزان) در سواحل بندرلنگه ... / طلا و همکاران



شکل ۲: عصاره‌گیری از ماکرو جلبک‌های پودر شده‌ی جلبک قرمز (*Gracilaria corticata*) (بندرلنگه، ۱۳۹۸).

پس از تبخیر حلال‌ها، برای شستشوی عصاره‌های جلبکی حاصل از حلال غیر قطبی ان-هگزان از خود این محلول استفاده گردید و عصاره‌ی حاصل در تیوب ریخته و در انکوباتور قرار داده شد. وزن عصاره قبل از ریختن آن‌ها درون تیوب، اندازه‌گیری شد و بعد از خشک شدن کامل حلال نیز تیوب موردنظر توزین شد تا وزن خالص عصاره به‌دست‌آمده، مشخص گردد (شکل ۳).



شکل ۳: جداسازی عصاره‌های جلبک قرمز (*Gracilaria corticata*) از درون پلیت‌ها (بندرلنگه، ۱۳۹۸).

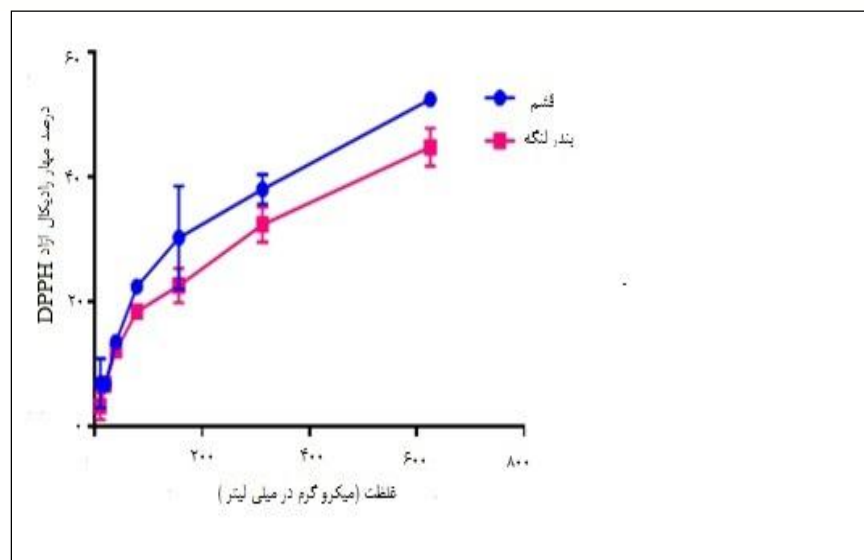
فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های ماکرو جلبک *Gracilaria corticata* به روش آزمون DPPH و سپس استفاده از اسپکتروفوتومتر تعیین شد (Kuda et al., 2005). به این منظور، ابتدا غلظت عصاره به‌صورت سریال دایلوژن (غلظت‌های ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲۵، ۳۱۲/۵، ۱۵۶/۲۵، ۷۸/۱۲ و ۳۹ میکروگرم در میلی‌لیتر) مشخص گردید و محلول DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate) با افزودن آن-هگزان آماده شد (با غلظت ۱۰۰ میکرومولار). حجم نهایی این محلول با توجه به تعداد چاهک‌های موردنیاز بر روی میکروپلیت آماده گردید. ابتدا سه ردیف چاهک بر روی میکروپلیت در نظر گرفته شد و سپس در هر چاهک، ۱۹۵ میکرو لیتر از محلول DPPH و ۵ میکرو لیتر از غلظت مربوطه ریخته شد. به این ترتیب که یک ردیف چاهک جهت ریختن نمونه‌های مورد آزمایش (۱۹۵ میکرو لیتر محلول DPPH و ۵ میکرو لیتر عصاره)، یک ردیف چاهک برای کنترل مثبت (۱۹۵ میکرو لیتر محلول DPPH و ۵ میکرو لیتر ویتامین C) و یک ردیف چاهک برای کنترل منفی منظور گردید. آنگاه میکروپلیت به مدت نیم ساعت در تاریکی قرار داده شد و سپس میزان جذب چاهک‌ها توسط دستگاه میکروپلیت ریدر اندازه‌گیری گردید و نهایتاً درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره محاسبه شد. پس از نیم ساعت انکوبه شدن در دمای اتاق، مقدار جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Shimadzu UV-2550) در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. آزمایش در سه تکرار انجام گردید و از حلال به‌عنوان کنترل و نیز از اسید اسکوربیک یا ویتامین C به‌عنوان نمونه‌ی استاندارد استفاده شد. فعالیت حذف رادیکال آزاد یا RSA (Radical Scavenging Activity) برحسب درصد و بر اساس بی‌رنگ شدن محلول DPPH محاسبه گردید. در مطالعه‌ی حاضر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آن-هگزانی ماکرو جلبک *Gracilaria corticata* با استفاده از تکنیک سنجش قدرت احیاکنندگی و به روش Oyaizu (۱۹۸۶) سنجیده شد. بدین منظور، غلظت‌های ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲۵، ۳۱۲/۵، ۱۵۶/۲۵، ۷۸/۱۲ و ۳۹ میکروگرم در میلی‌لیتر از عصاره ماکرو جلبکی تهیه شد و میزان فعالیت احیاکنندگی هر عصاره برحسب درصد ثبت گردید.

در این پژوهش آزمون‌های زیست‌سنجی با سه تکرار انجام شد و نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد بیان گردید. محاسبات آماری نیز با استفاده از نرم‌افزار Microsoft TM Excell 2013 انجام گردید (Microsoft, Seattle, WA, USA). آنالیز نتایج اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از نرم‌افزار Graphpad prism 6 انجام شد و نتایج اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌صورت میانگین $\pm$ IC₅₀ خطای استاندارد (SE) ارائه گردید.

نتایج

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH عصارگان هگزانی استخراج‌شده از جلبک *Gracilaria corticata* از منحنی دوز- پاسخ پیروی نمود و دارای عملکرد مهارکنندگی وابسته به غلظت بود (شکل ۴). غلظت بازدارنده‌ی ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH (IC₅₀) برای عصاره‌ی غیر قطبی تعیین شد و بازه‌ی آن در سطح اطمینان ۹۵ درصد محاسبه گردید (جدول ۱). عصاره‌ی آن-هگزانی نمونه‌های جلبک *Gracilaria corticata* جمع‌آوری‌شده از بندرلنگه و عصاره‌ی آن- هگزانی نمونه‌های جلبک مذکور جمع‌آوری‌شده از قشم، به ترتیب در غلظت‌های ۵۶۶/۵ و ۸۹۵/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر معادل ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH را مهار نمودند (جدول ۱). مقایسه‌ی میانگین‌های غلظت‌های مختلف نمونه‌های عصاره‌های جلبک مورد آزمایش با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه One way ANOVA و آزمون Bartlett، بیانگر اختلاف معنادار فعالیت مهارکنندگی نمونه‌های جلبک *Gracilaria corticata* جمع‌آوری‌شده از بندرلنگه و قشم در تمامی غلظت‌ها به‌استثنای غلظت‌های ۹/۷۵ و ۱۹/۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در سطح $P < ۰/۰۵$ بود.

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی ماکرو جلبک قرمز *Gracilaria corticata* به وسیله عصاره غیر قطبی (ان-هگزانی) در سواحل بندرلنگه ... / طلا و همکاران



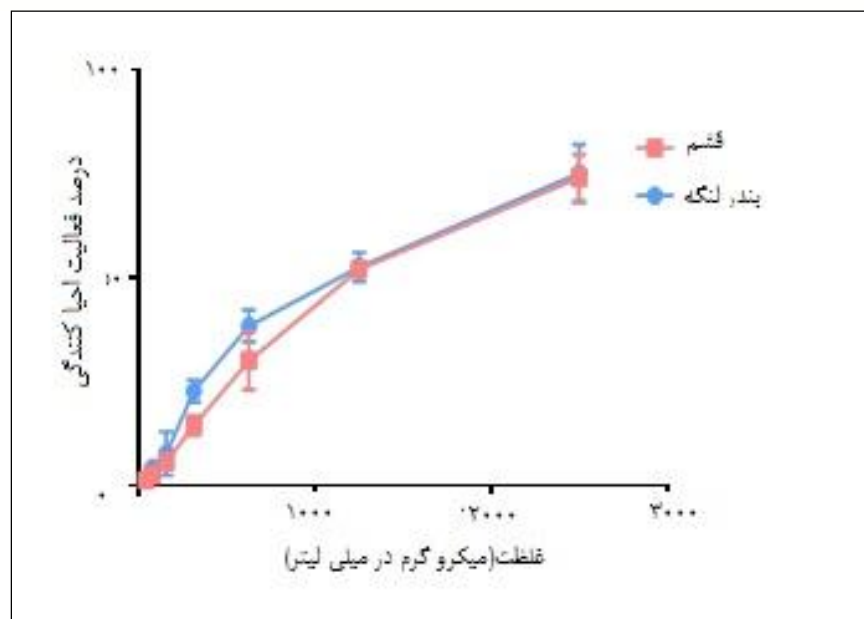
شکل ۴: نمودار دوز-پاسخ فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره غیر قطبی (ان-هگزانی) (بندرلنگه، ۱۳۹۸).

جدول ۱: سنجش میزان IC_{50} فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره ان-هگزانی (سال ۱۳۹۸).

عصاره	$IC_{50} \pm SE$ ($\mu g/ml$)	سطح اطمینان ۹۵٪
ان-هگزانی بندرلنگه	$566/5 \pm 50/36$	۴۶۱/۱ تا ۶۷۱/۹
ان-هگزانی قشم	$895/5 \pm 69/57$	۷۴۹/۹ تا ۱۰۴۱

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که قدرت احیاکنندگی عصاره غیر قطبی استخراج شده از نمونه‌های جلبک مورد بررسی، وابسته به غلظت بوده و از منحنی دوز-پاسخ پیروی نمودند (شکل ۵). غلظت احیاء کننده‌ی ۵۰ درصد یون‌های فریک (IC_{50}) برای عصاره‌ی غیر قطبی جلبک *Gracilaria corticata* تعیین شد و بازه‌ی آن در سطح اطمینان ۹۵ درصد محاسبه گردید (جدول ۲).

عصاره‌ی ان-هگزانی نمونه‌های جلبک *Gracilaria corticata* جمع‌آوری شده از بندرلنگه و عصاره‌ی ان-هگزانی نمونه‌های جلبک مذکور جمع‌آوری شده از قشم، به ترتیب در غلظت‌های ۱۰۲۰ و ۱۱۶۸ میکروگرم در میلی‌لیتر، معادل ۵۰ درصد یون‌های فریک را احیاء نمودند (جدول ۲). مقایسه‌ی میانگین‌های غلظت‌های مختلف نمونه‌های عصاره‌های جلبک مورد آزمایش، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه One way ANOVA و آزمون Bartlett بیانگر اختلاف معنادار فعالیت مهارکنندگی نمونه‌های جلبک *Gracilaria corticata* جمع‌آوری شده از بندرلنگه و قشم در غلظت‌های ۶۲۵ و ۳۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر در سطح $P < 0.05$ بود.



شکل ۵: نمودار دوز-پاسخ قدرت احیا کنندگی عصاره‌های غیر قطبی (ان - هگزانی) (بندرلنگه، ۱۳۹۸).

جدول ۲: سنجش میزان IC_{50} قدرت احیا کنندگی عصاره‌های جلبکی غیر قطبی (ان - هگزانی) (سال ۱۳۹۸).

عصاره	$IC_{50} \pm SE$ ($\mu g/mL$)	سطح اطمینان ۹۵٪
ان هگزانی - بندرلنگه	$1020 \pm 56/25$	۱۱۴۳ تا ۸۹۷/۵
ان هگزانی - قشم	$1168 \pm 42/37$	۱۲۶۱ تا ۱۰۷۶

بحث و نتیجه‌گیری

جلبک‌ها منبع مهمی از این متابولیت‌های ثانویه هستند که جلبک‌های قرمز مسئول تولید تقریباً ۹۰ درصد این ترکیبات تاکنون شناخته شده‌اند (Jesus et al., 2019). در سال‌های اخیر جهت نشان دادن و اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسیدانی نمونه‌های مختلف زیستی، روش‌های آزمایشی متفاوتی به کار می‌روند که از جمله آن‌ها می‌توان به فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد ABTS, DPPH، پتانسیل کاهندگی آهن و فعالیت ضد اکسیدانی کل اشاره نمود (Zubia et al., 2019; Vega et al., 2020). در این تحقیق برای بررسی میزان ظرفیت و همچنین توان فعالیت آنتی‌اکسیدان عصاره ان-هگزانی به دست آمده از نمونه‌های مورد بررسی از روش مهار رادیکال پایدار آزاد DPPH استفاده شد. بر اساس تحقیقات انجام شده DPPH ترکیبی است که دارای رادیکال آزاد نیتروژن بوده و در شرایط مناسب آماده است که با گرفتن یک الکترون و با یک رادیکال آزاد پایدار شود، البته در این حالت به سختی اکسیده شده و غیر قابل بازگشت می‌باشد؛ بنابراین از آن می‌توان برای بررسی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی استفاده کرد. این روش سریع، ساده، ارزان و بسیار پرکاربرد برای اندازه‌گیری توانایی ترکیبات به عنوان اسکنترها یا ردیاب‌های رادیکال آزاد (اهد اکنده هیدروژن) و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد غذایی می‌باشد و می‌توان جهت تعیین کمیت آنتی‌اکسیدان‌ها در سیستم‌های پیچیده بیولوژیکی استفاده کرد (Kedare and Singh, 2011). جلبک‌های دریایی همانند دیگر گیاهان فتوسنتز کننده، در معرض ترکیبی از نور و اکسیژن قرار دارند که منجر به شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد و سایر عوامل اکسید کننده قوی می‌شود. از طرفی، عدم تخریب‌های اکسیداتیو در اجزای ساختاری

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی ماکرو جلبک قرمز *Gracilaria corticata* به وسیله عصاره غیر قطبی (ان-هگزانی) در سواحل بندرلنگه ... / طلا و همکاران

جلبک‌ها و ثبات آن‌ها در برابر اکسیداسیون در طول فرآیند ذخیره‌سازی بیانگر آن است که سلول‌های آن‌ها دارای سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی هستند (Zubia et al., 2007). در این مطالعه عصاره‌ی ان-هگزانی نمونه‌های جلبک *Gracilaria corticata* جمع‌آوری شده از بندرلنگه و عصاره‌ی ان-هگزانی نمونه‌های جلبک مذکور جمع‌آوری شده از قشم، به ترتیب در غلظت‌های ۵۶۶/۵ و ۸۹۵/۵ میکروگرم/لیتر معادل ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH را مهار نمودند (جدول ۱). مقایسه‌ی میانگین‌های غلظت‌های مختلف نمونه‌های عصاره‌های جلبک مورد آزمایش، با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه One way ANOVA و آزمون Bartlett، بیانگر اختلاف معنادار فعالیت مهارکنندگی نمونه‌های جلبک *Gracilaria corticata* جمع‌آوری شده از بندرلنگه و قشم در بیشتر غلظت‌ها در سطح $P < 0.05$ بود. نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که عصاره نمونه‌های جلبک جمع‌آوری شده از بندرلنگه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به نمونه‌های جلبک جمع‌آوری شده از قشم بودند. احتمالاً این پدیده می‌تواند به دلیل افزایش فشار اکسیداتیو (افزایش فشار ناشی از تجمع مواد اکسیدکننده که جاندار به دلیل افزایش حضور استرس‌های محیطی به‌ویژه آلاینده‌ها متحمل می‌شود)، در جوامع جلبکی *Gracilaria corticata* موجود در ساحل بندرلنگه نسبت به جوامع جلبک مذکور در سواحل قشم باشد. فشار اکسیداتیو می‌تواند به دلیل افزایش حضور استرس‌های محیطی به‌ویژه آلاینده‌ها به وجود آید. در اثر افزایش فشار اکسیداتیو، جمعیت‌های ارگانیسم‌های مختلف از جمله جلبک‌ها با تولید ترکیبات آنتی اکسیدانی، فشار اکسیداتیو موجود را مهار و کاهش می‌دهند. بر اساس این تئوری می‌توان نتیجه‌ی حاصل از پژوهش حاضر را توجیه نمود. Connan و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که عوامل مختلفی در میزان خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH وجود دارد که از این موارد می‌توان به مقدار نور، عمق، شوری و عوامل داخلی از قبیل سن اشاره کرد. در همین ارتباط ثابت شده است که ماکرو جلبک‌ها به‌وسیله ترشح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی با وزن مولکولی بالا مانند سوپر اکسید دیسمتاز با فشار اکسیداتیو ناشی از شوری، دما و دیگر عوامل محیطی مقابله می‌کنند (Pikula et al., 2019). هم‌چنین با ترشح آنزیم‌های ترمیم‌کننده موجب ترمیم ماکرو مولکول‌های آسیب‌دیده می‌شوند (Rezayian et al., 2019) ولی رابطه مستقیم و یکسانی بین میزان ترکیبات فنولی و قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد وجود ندارد و بالا بودن مقدار ترکیبات فنولی لزوماً قدرت بالاتر در خواص آنتی رادیکالی DPPH را ایجاد نمی‌کند (Chandini et al., 2008). آزمایش قدرت احیاکنندگی، احیای آهن (III فریک) به آهن (II فروس) به عنوان یک نمایه برای پتانسیل الکترون دهی به کار می‌رود. در این روش، سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس 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 (Jayaprakash et al., 2001). فعالیت احیاکنندگی یک ترکیب می‌تواند شاخص خوبی از فعالیت آنتی اکسیدانی آن محسوب شود. در این روش کاهشی حضور عوامل احیاء کننده در محلول سبب کاهش کمپلکس ferricyanide/ Fe^{+2} و تبدیل آن به فرم ferrous می‌شود؛ بنابراین Fe^{+2} می‌تواند با اندازه‌گیری میزان جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر مورد پایش قرار گیرد (Meir et al., 1995). در این بررسی، عصاره‌ی ان-هگزانی نمونه‌های جلبک *Gracilaria corticata* جمع‌آوری شده از بندرلنگه و عصاره‌ی ان-هگزانی نمونه‌های جلبک مذکور جمع‌آوری شده از قشم، به ترتیب در غلظت‌های ۱۰۲۰ و ۱۱۶۸ میکروگرم/لیتر، معادل ۵۰ درصد یون‌های فریک را احیاء نمودند (جدول ۲). مقایسه‌ی میانگین‌های غلظت‌های مختلف نمونه‌های عصاره‌های جلبک مورد آزمایش، با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه One way ANOVA و آزمون Bartlett، بیانگر اختلاف معنادار فعالیت مهارکنندگی جلبک *Gracilaria corticata* جمع‌آوری شده از بندرلنگه و قشم در غلظت‌های ۶۲۵ و ۳۱۲ میکروگرم/لیتر در سطح $P < 0.05$ بود. غفاری و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی قدرت احیاکنندگی چهار عصاره متانولی، اتیل استاتی، کلروفرمی و ان-هگزانی به‌دست‌آمده از جلبک قرمز *Gelidiella acerosa* گزارش کردند که فعالیت هر چهار عصاره قابل ملاحظه بوده و بیشترین درصد کلاته‌کنندگی مربوط به عصاره متانولی و کم‌ترین درصد مربوط به عصاره‌های اتیل استاتی و کلروفرم بوده است و فعالیت کلاته‌کنندگی عصاره ان-هگزانی متوسط ارزیابی شده است. در همین ارتباط و مطابق با یافته Yang و همکاران (۲۰۰۷) بازده عصاره به نوع حلال، زمان و دمای عصاره‌گیری و ماهیت شیمیایی نمونه وابسته است و حلال مورد استفاده و هم‌چنین ویژگی شیمیایی نمونه‌ها دو فاکتور مهم هستند. هم‌چنین

تأکید شده است که متد عصاره‌گیری به‌کاربرده شده در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و احیاکنندگی مؤثر است (Sun and Ho, 2005). با توجه به 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 می‌تواند در استفاده بهینه از این منابع ارزشمند مؤثر باشد.

منابع

غفاری، م.، طاهر، ع.، باوی، ز. و سهیلی، ف.، ۱۳۹۵. سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک قرمز *Gelidiella acerosa* سواحل چابهار. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، جلد یازدهم، صفحات ۴۱ - ۳۴.

Abdullah, N. S., Muhamad, S., Omar, I. C. and Abdullah, H., 2013. Determination of Antioxidant and Cytotoxic Activities of Red Seaweed, (*Gracilaria manilaensis*) against Different Cancer Cell Lines. Journal of Food Science and Engineering, 3: 616-624.

Barzkar, N., Jahromi, S. T., Poorsaheli, H. B. and Vianello, F., 2019. Metabolites from Marine Microorganisms, Micro, and Macroalgae: Immense Scope for Pharmacology. Marine Drugs, 17, 464.

Chandini, S. K., Ganesan, P. and Bhaskar, N., 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. Food Chemistry, 107(2): 707-713.

Connan, S., Goulard, F., Stiger, V., Deslandes, E. and Gall, E. A., 2004. Interspecific and temporal variation in phlorotannin levels in an assemblage of brown algae. Botanica Marina, 47(5): 410-416.

Dawes, C. J., 1997. Marine Botany. John Wiley & Sons. New York, 480 pp.

Dawes, C. J., Orduña-Rojas, J. and Robledo, D., 1999. Response of the tropical red seaweed *Gracilaria cornea* to temperature, salinity and irradiance. Journal of Applied Phycology, 10:419-425.

Gan, S. Y., 1999. Molecular taxonomic studies of *Gracilaria changii* from various locations using the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. (Doctoral dissertation, University of Malaya). 185 P.

Gomez-Zavaglia, A., Prieto Lage, M. A., Jimenez-Lopez, C., Mejuto, J. C. and Simal-Gandara, J., 2019. The Potential of Seaweeds as a Source of Functional Ingredients of Prebiotic and Antioxidant Value. Antioxidants, 8: 406.

Harada, H., Yamashita, U., Kurilara, H., Fukushi, F., Kawabata, J. and Kama, Y., 2002. Antitumor activity of palmitic acid found as a selective cytotoxic substance in marine red algae. Anticancer Research, 22: 2587-2590.

Hoseinifar, S. H., Yousefi, S., Capillo, G., Paknejad, H., Khalili, M., Tabarraei, A., Van Doan, H., Spanò, N. and Faggio, C., 2018. Mucosal immune parameters, immune and antioxidant defence related genes expression and growth performance of zebrafish (*Danio rerio*) fed on *Gracilaria gracilis* powder. Fish and Shellfish Immunology, (83): 232-237.

Jayaprakash, G. K., Singh, R. P. and Sakariah, K. K., 2001. Antioxidant activity of grape seed extracts on per oxidation models in vitro. Food Chemistry, 73(3): 285-90.

Jesus, A., Correia-Da-Silva, M., Afonso, C., Pinto, M. and Cidade, H., 2019. Isolation and Potential Biological Applications of Haloaryl Secondary Metabolites from Macroalgae. Marine Drugs, 17: 73.

Lawson, G. W., Gw, L. and Dm, J., 1982. The marine Algae and coastal environment of tropical West Africa. Nova Hedwigia Beihefte 70: p. 455

Kedare, S. B. and Singh, R., 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. Journal of food science and technology, 48: 412-422.

Kuda, T., Tsunekawa, M., Goto, H. and Araki, Y., 2005. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. Journal of Food Composition, 18: 625-633.

- Marinho-Soriano, B., 2001.** Agar polysaccharides from *Gracilaria* species (Rhodophyta), Gracilariaceae). Journal of Biotechnology, 89 (1): 81-84.
- Meir, S., Kanner, J., Akiri, B. and Philosoph-Hadas, S., 1995.** Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 43(7): 1813-19.
- Nahas, R., Abatis, D., Anagnostopoulou, M. A., Kefalas, P., Vagias, C. and Roussis, V., 2007.** Radical-scavenging activity of a green sea marine algae. Food Chemistry, 102: 577-581.
- Olasehinde, T. A., Olaniran, A. O. and Okoh, A. I., 2019.** Macroalgae as a Valuable Source of Naturally Occurring Bioactive Compounds for the Treatment of Alzheimer's disease. Marine Drugs, 17: 609.
- Oyaizu, M., 1986.** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Society of Nutrition and Dietetics, 44: 307-315.
- Pikula, K., Zakharenko, A., Aruoja, V., Golokhvast, K. and Tsatsakis, A., 2019.** Oxidative Stress and Its Biomarkers in Microalgal Ecotoxicology. Current Opinion in Toxicology, 13: 8-15.
- Qi, H., Zhang, Q., Zhao, T., Chen, R., Zhang, H., Niu, X. and Li, Z., 2005.**Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro. International Journal of Biological Macromolecules, 37(4):195-199.
- Rostagno, M. A. and Prado, J. M., 2013.** Natural product extraction: principles and applications. Royal Society of Chemistry. Thomas Graham House, Science Park, Milton Road, Cambridge, CB4 0WF, UK.
- Rezayian, M., Niknam, V. and Ebrahimzadeh, H., 2019.** Oxidative Damage and Antioxidative System in Algae. Toxicology Reports, 6: 1309-1313.
- Ruberto, G., Baratta, M. T., Biondi, D. M. and Amico, V., 2001.** Antioxidant activity of extracts of the marine algal genus *Cystoseira* in a micellar model system. Journal of Applied Phycology, 13:403-407.
- Sun, T. and Ho, C. T., 2005.** Antioxidant Activities of Buckwheat Extracts. Food Chemistry, 90: 743-749
- Vega, J., Álvarez-Gómez, F., Guenaga, L., Figueroa, F. L. and Gómez-Pinchetti, J. L., 2020.** Antioxidant activity of extracts from marine macroalgae, wild-collected and cultivated, in an integrated multi-trophic aquaculture system. Aquaculture, 522:735088.
- Vijayavel, K. and Martinez, J. A., 2010.** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of two Hawaiian marine Limu: *Ulva fasciata* (Chlorophyta) and *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta). Journal of Medicinal Food, 13(6):1494-9.
- Wang, B. G., Zhang, W. W., Duan, X. J. and Li, X. M., 2009.** In vitro antioxidative activities of extract and semi-purified fractions of the marine red alga, *Rhodomela confervoides* (Rhodomelaceae). Food Chemistry, 113:1101-1105.
- Wang, T., Jónsdóttir, R., Liu, H., Gu, L., Kristinsson, H.G., Raghavan, S. and Olafsdotir, G., 2012.** Antioxidant capacities of phlorotannins extracted from the brown algae *Fucus vesiculosus*. Journal of Agricultural Food Chemistry, 60:5874-5883.
- Yang, D., Wang, Q., Ke, L., Jiang, J. and Ayaing, T., 2007.** Antioxidant Activities of Various Extracts of Lotus (*Nelumbo nuficera Gaertn*) Rhizome. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 16 (1):158-163.
- Zubia, M., Thomas, O. P., Soulet, S., Demoy-Schneider, M., Saulnier, D., Connan, S., Murphy, E. C., Tintillier, F., Stiger-Pouvreau, V. and Petek, S., 2019.** Potential of Tropical Macroalgae from French Polynesia for Biotechnological Applications. Journal of Applied Phycology, pp.1-20.
- Zubia, M., Robledo, D. and Freile- Pelegrin, Y., 2007.** Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. Journal of Applied Phycology, 19(5): 449-58.