علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره نوزدهم، ویژه نامه شماره ۵ ، تابستان۱۳۹۶

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 دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۵ **تاریخ پذیرش:۱۳۹۳/۰۳/۱۲**

چکیده

زمینه و هدف: برخی متابولیت های ثانویه مشتق شده از گیاهان پتانسیل قوی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه خواص ضداکسیدانی و ضد رادیکالی عصاره برگ درخت حرا (*Avicennia marina*) در مقایسه با عصاره دو گونه ازجلبک های قهوه ای*Cystoserriaceae 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 آزمون‌های DPPH وRP مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: 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 جلبک‌های قهوه ای داشت. بالاترین فعالیت ضداکسیدانی با آزمون RP مربوط به عصاره متانولی گونه *C. myrica* بود وکم‌ترین 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 عصاره‌های استخراجی در این مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود داشت($sig<0.05$).

نتیجه‌گیری: 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.

واژه‌های کلیدی: خلیج فارس، ضداکسیدانی، DPPH، حرا، جلبک.

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

۲ *-(مسوول 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.

J.Env. Sci. Tech., Vol 19, Special No.5, Summer 2017

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 Heidari [1]
Abdolali Movahedinia [2*]
amovahedinia@yahoo.com
Saba Hosseini [3]

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 (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

در سال‌های اخیر تعداد قابل توجهی از متابولیت های جدید با خواص دارویی از موجودات دریایی کشف شده اند (۱). محصولات طبیعی فعال زیستی به طور گسترده در سلسه گیاهی و عصاره حاصل از گیاهان مختلف همچون جلبک‌های ماکروسکوپی قرمز، سبز و قهوه ای 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 متابولیت-های شیمیایی در محیط بالقوه خود دارند که در برابر ارگانیسم-های خارجی از خود دفاع می‌کنند. این متابولیت‌های فعال به عنوان ترکیبات شیمیایی بیوژنیک شناخته می‌شوند (۴و۳). 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 درگروه ریسه‌داران فتوسنتز کننده (تالوفیت‌ها) قرار می‌گیرند. این گیاهان فاقد ساختارهایی مثل ریشه، ساقه و برگ حقیقی مانند سایر گیاهان عالی هستند، پیکره رویشی جلبک ها 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 قلوه 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 محیط های 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 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 اکوسیستم های 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 می-باشند 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 می-شوند (۱۳-۱۵). رادیکال‌های آزاد ملکول‌های ناپایدار و بسیار واکنش‌پذیر هستند که می توانند باعث صدمه به DNA سلول‌ها و در نهایت جهش‌زایی شوند (۱۶). آنتی اکسیدان‌ها زیان‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد واکنش‌پذیر و گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن‌دار را در سلول‌ها کاهش می‌دهند (۱۷). فعالیت‌های آنتی اکسیدانی در برخی از جلبک‌های قرمز، قهوه-ای وسبز مورد مطالعه قرار گرفته ونشان داده شده که خواص آنتی اکسیدانی عصاره جلبک‌های دریایی مختلف با هم تفاوت دارند و متناسب با محتوای ترکیبات آنتی اکسیدانی آن‌هاست (۱۸). گزارش داده شده که فراورده‌ها و محصولات گیاهی همچون فلانوئیدها، کومارین‌ها، فنولیک اسیدها و ترپن‌ها دارای قدرت پاک‌سازی رادیکال DPPH هستند (۱۹).

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

Sargassum crassifolia بـه ترتیـب بـا آزمـون DPPH بالاترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان دادند. Lohrman و همکاران در سال ۲۰۰۴ ثابت کردند که فعالیت سه آنزیم های آنتی‌اکسیدانی سـوپر اکسیددیسـموتاز (SOD)، اسکورباز پر اکسیداز وگلوتاتیون ردوکتـاز در زمسـتان بیشـتر از تابستان بود و پیشنهاد دادند که سطح مقدار ترکیبات اکسـیژن فعال (ROS) در اکثر ماکرو جلبک‌ها به عنـوان یـک نتیجـه از شرایط محیطی مانند استرس‌های خشک شدن، انجماد، درجـه حرارت‌های پایین، تـابش بـالا، اشـعه ی مـاوراء بـنفش، فلـزات سنگین و نوسانات شوری است. Jimenez و همکاران در سال ۲۰۱۱ کشف کردند که فعالیـت پاکسـازی رادیکـال ۲،۲ - دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) بطور مثبت به محتـوای کل پلی فنل‌ها در عصاره‌های حلال‌های آبی و آلـی در جلبـک-های قهوه‌ای و قرمز وابسته است.

در ایران حاجی محمودی و همکاران ظرفیـت آنتـی اکسـیدانی میکرو جلبک خاکزی کلرلا را بررسی نمـوده انـد(۲۴). نبـوی و همکاران نیز اثر آنتی اکسیدانی چند گونه از ماکرو جلبـک‌هـای قهوه‌ای خلیج فـارس را در درمـان سـلول‌هـای سـرطانی مـورد ارزیابی قرار داده‌اند (۲۵).

هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه خـواص ضداکسـیدانی دو گونـه جلبکـی قهـوه ای(*Cystoserriaceae myrica*) و قرمز(*Gracilaria corticata*) در مقایسه با درخت حـرای بومی سواحل خلیج فارس (*Avicennia marina*) بـود. ایـن پژوهش می‌تواند اولین مطالعـه‌ای باشـد کـه بـر روی دو گونـه مختلف گیاهان دریایی سواحل خلیج فارس انجام شده دانسـت. تحقیقات در مورد خواص دارویی جلبک‌های خلیج فارس بسیار اندک بوده و بجز در مواردی محدود(۲۵)، تحقیقی در خصـوص بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی جلبک‌های آب‌های خلیج فارس صورت نگرفته است. بطورکلی تحقیقات در خصوص فیتو شیمی جلبک‌های دریایی محدود بوده و عمده پژوهش‌هـا در خصـوص شناسایی جلبک‌ها بوده است. در مورد ظرفیت آنتی اکسـیدانی جلبک‌هـای دریـایی ایـران بـویژه جلبـک‌هـای قرمـز سـابقه‌ای مشاهده نشده است.

روش بررسی

عملیـات نمونـه بـرداری از جلبـک‌هـای قهـوه‌ای و قرمـز (*Gracilaria corticata* و *Cystoserriaceae myrica*) مورد مطالعه در اواخـر فصـل پـاییز (آذرمـاه) سـال ۱۳۹۱ و در زمان حداکثر جـزر از سـواحل صـخره‌ای و جـزر و مدی استان بوشهر (دو ایستگاه دانشگاه بوشـهر(۲۸ °, ۵۴′N و ۵۰ °, ۴۹′E) و ایستگاه نیروگاه اتمـی بوشـهر (۲۸ °, ۵۰′N و ۵۰°, ۵۲′E) که محل رویش این جلبک‌ها هسـتند در یـک‌بـار مراجعه صورت گرفت. برگ درخت حـرا گونـه (*Avicennia marina*) را نیز از سواحل جزیره قشم جمع‌آوری شد. جلبک-های جمع‌آوری شده را با آب دریا شسته شده و سپس در کنـار یخ به آزمایشگاه منتقـل شـدند. مقـداری را جهـت نگهـداری و شناسـایی در فرمـالین ۴٪ تـا قـرار داده شـدند. در آزمایشـگاه جلبک‌های مورد نظر را دوباره با آب معمـولی کـاملا و بـا دقـت شسته و سپس درون آب مقطر غوطه ورکرده. برگ درخت حـرا را نیز بعد از نمونه برداری و انتقال به آزمایشگاه در کنار جلبک-های مورد مطالعه در محیط تاریک آزمایشگاه و بـر روی پارچـه تمیزی خشک شدند. بعـد از خشـک کـردن، نمونـه‌هـا توسـط آسیاب برقی کاملا به صورت پودر در آمدند (۲۶).

عصاره‌گیری و بررسی خواص ضد اکسیدانی گیاهان آبزی مورد مطالعه

عصاره‌گیری از نمونه‌ها به روش خیساندن[1]با اتانول ۱۰۰ درجـه (از جلبک *G. corticata* و برگ درخت حرای *A. marina*) و متانول(از جلبـک *G. corticata*وجلبـک *C. myrica*) بـه مدت ۴۸ ساعت در دمـای آزمایشـگاه و درتـاریکی انجـام شـد. عصاره‌ی تهیه شـده از جلبـک‌هـا درون ویـال و در یخچـال تـا استفاده نگهداری شدند (۲۶).

بررسی فعالیت ضداکسیدانی

۱. ارزیابی فعالیت ضداکسیدان بوسیله رادیکـال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH): فعالیت ضداکسیدان تام نمونـه‌هـای عصـاره توسـط روشVon Gadow و همکـاران ارزیابی شـد(۲۷). بـر طبـق ایـن روش، ۲/۴ میلـی‌گـرم پـودر DPPH در۱۰۰ میلی لیتر اتانول خالص حـل، سـپس در لولـه آزمـایش بـه ۰/۰۲۵ میلـی لیتـر نمونـه یـا محلـول اسـتاندارد ترولکس[2]، ۱ میلی لیتر محلول الکلی DPPH اضافه و مخلوط شد. همچنـین از محلـول DPPH بـه عنـوان کنتـرل اسـتفاده گردید. بعد از ۱۰ دقیقه قرار دادن در تاریکی و دمـای محـیط،

1-maceration
2-Trolex

جذب نوری نمونه ها در ۵۱۷ نانومتر قرائت شدند. برای رسم منحنی استاندارد از محلول ترولکس با غلظت ۱۰۰۰-۱۰۰میکرومول استفاده شد.

درصد فعالیت خنثی‌سازی رادیکالی عصاره[1] (RSA) بر اساس فرمول زیر بدست آمد.

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

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

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

فعالیت ضداکسیدان نمونه های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولکس بر گرم وزن خشک عصاره(µmol/g) بیان شد.درصد فعالیت خنثی سازی رادیکالی عصاره (RSA) برای هر نمونه بدست آمد و سپس فعالیت ضداکسیدان نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولکس بر گرم عصاره محاسبه شد.

۲. اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدان به روش توان احیا-کنندگی[2] (RP): پتانسیل احیاکنندگی نمونه‌ها و استاندارد طبق روشSingh و Ragini اندازه‌گیری، به ۰/۱میلی‌لیتر عصاره (با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی‌لیتر) یا محلول استاندارد بوتیل هیدرواکسی آنیزول، یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=۶/۶ و ۱ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید ۰/۱٪ اضافه و مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس ۱ میلی‌لیترتری کلرو استیک اسید ۱۰٪ به مخلوط اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. ۱میلی‌لیتر از محلول بالایی حاصل از (سانتریفوژ یخچال دار یونیورسال هیتاچی کا دو اس دی ۷۲۰۰ آلمان) را با ۰/۲ میلی لیتر محلول ۰/۱ ٪ کلروفریک و یک میلی لیترآب مقطر مخلوط کرده و جذب نوری آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد(۲۸).

تجزیه وتحلیل 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 ۹۵درصد ($p<0.05$) معنی‌دار درنظر گرفته و از آنالیز داده‌ها با استفاده از روش‌های آنالیز آماری آنووای یک سویه با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه ۱۸ برای بررسی نتایج آزمون‌ها و مقایسه میانگین عصاره‌های مختلف استفاده و تمامی اندازه‌گیری ها برای هر نمونه جلبکی سه بار تکرار و مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد (۲۹).

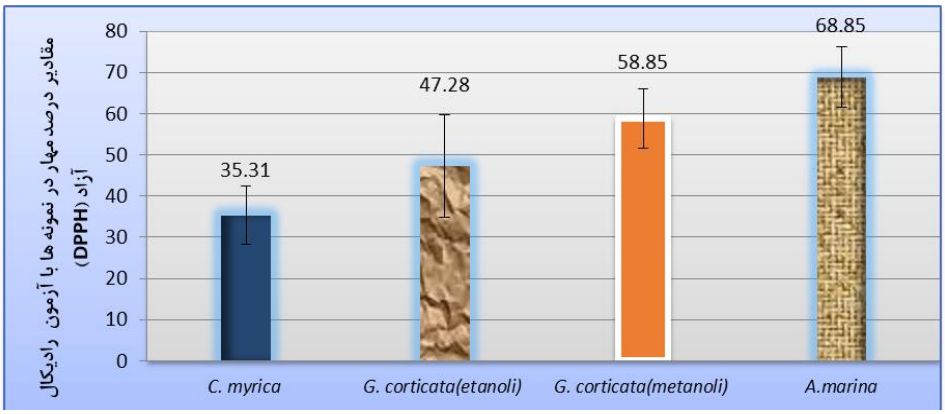
یافته ها

خواص ضداکسیدانی نمونه های 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) ۴۰mg/ml، برای عصاره اتانولی حاصل از برگ درخت حرا (*A. marina*) ۲۰mg/ml و برای عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *C.myrica*، ۳۰mg/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 وکم‌ترین مقدار مربوط به عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *C. myrica* بود. بین درصد مهار عصاره متانولی حاصل از جلبک قهوه‌ای *C. myrica* با عصاره متانولی حاصل از جلبک قرمز (*G. corticata*) اختلاف معنی‌دار وجود داشت. همچنین بین درصد مهار عصاره متانولی جلبک *C. myrica* با عصاره اتانولی برگ درخت حرا نیز اختلاف معنی‌دار بود.

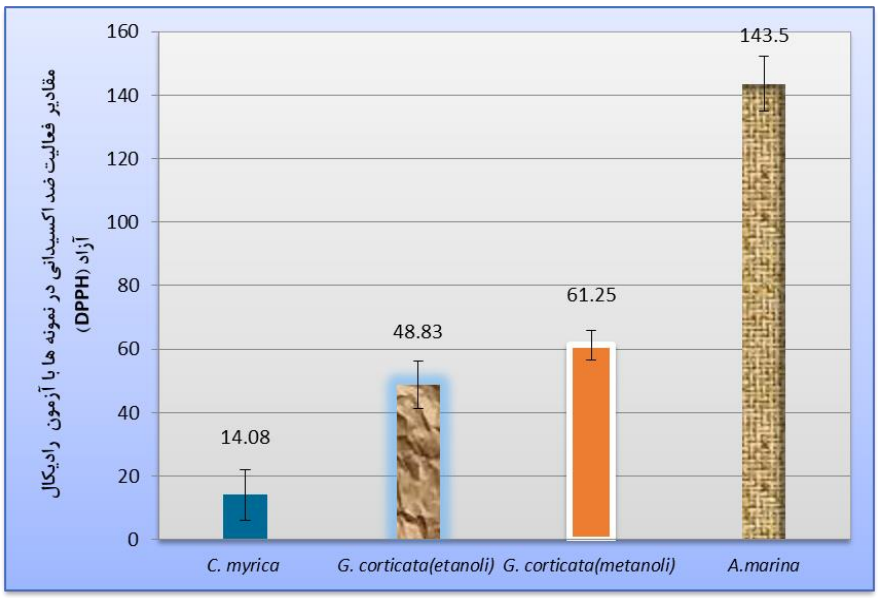
1-Radical Scavenging Activity
2-Reducing Power



شکل۱- مقادیر درصد مهار در نمونه ها با آزمون رادیکال آزاد DPPH (میانگین±انحراف معیار)

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

اختلاف معنی‌داری بین فعالیت ضداکسیدانی عصاره اتانولی برگ درخت حرا با عصاره حاصل از همه جلبک‌های نمونه‌برداری شده با استفاده از آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل وجود داشت. بیشترین فعالیت ضداکسیدانی با آزمون رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل مربوط به عصاره اتانولی حاصل از برگ درخت حرا (*A.marina*) وکم‌ترین مقدار مربوط به متانولی جلبک قهوه ای *C. myrica* بود.

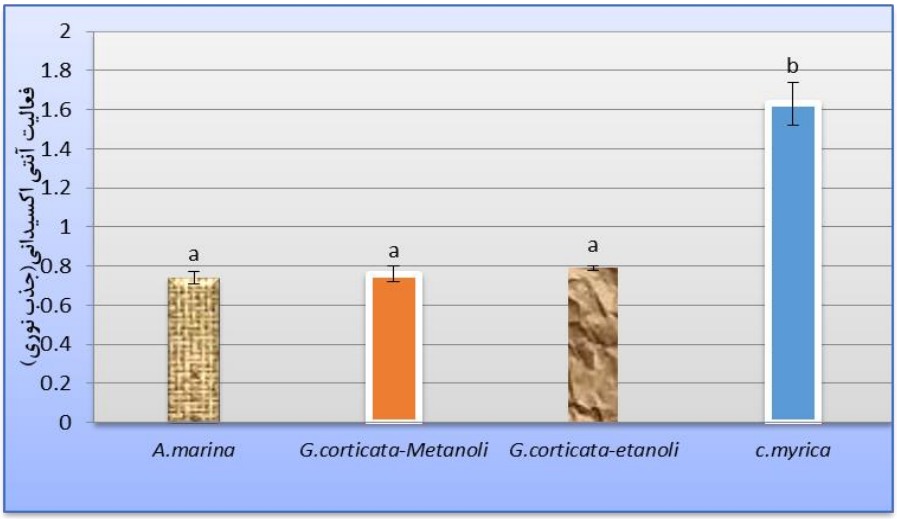


شکل۲- فعالیت ضداکسیدانی در نمونه ها با آزمون رادیکال آزاد DPPH (میانگین±خطای استاندارد)

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

۲. اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدانی به روش توان احیاکنندگی (RP):

باتوجه به شکل ۳ بیشترین جذب نوری (فعالیت ضداکسیدانی) به روش توان احیاکنندگی مربوط به جلبک قهوه‌ای *C. myrica* و کم‌ترین این مقدار مربوط به *A. marina* بود.



شکل۳- فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس روش توان احیاکنندگی (RP) (میانگین ±انحراف معیار)

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

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

بحث ونتیجه گیری

آنتی اکسیدان‌ها دارای خواص فیزیکوشیمیایی مختلفی هستند و ممکن است با مکانیسم‌های مختلف در یک سیستم و یا با یک مکانیسم در سیستم‌های مختلف عمل نماید. روش‌های مختلفی برای سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی توسعه یافته و مورد استفاده قرار می‌گیرند(۳۰). با توجه به این شرایط، اختلاف نظرهای عمیقی در تست‌های آنتی اکسیدانی وجود دارد، لذا هیچ تستی به تنهایی توانایی نشان دادن تمام خصوصیات آنتی اکسیدان‌ها و اکسیدان‌ها را نداشته و استفاده از چند تست معمولا توصیه می‌شود (۳۱). محصول شیمیایی عصاره‌ها وابسته به نوع حلالها با pH های مختلف، قطبیت، زمان و درجه حرارت عصاره‌گیری و همچنین ترکیبات شیمیایی نمونه است. تحت همین شرایط حلال و مشخصات شیمیایی نمونه فاکتورهای با اهمیت هستند (۳۲).

در این مطالعه کمترین فعالیت ضداکسیدانی 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 ضداکسیدانی عصاره اتانولی (۷۰ درصد) جلبک قهوه ای *C. myrica* کم‌تر از فعالیت ضداکسیدانی جلبک قرمز *G. corticata* (بهار) بود. Faten و همکاران نیز در سال ۲۰۰۹ در پی تحقیقی نشان دادند که عصاره‌های اتیل استاتی و اتری واجد ترکیباتی هستند که قدرت آنتی اکسیدانی بالایی را با آزمون DPPH نشان می‌داد. در مطالعه آن‌ها بالاترین درصد مهار با آزمون DPPH برای عصاره اتری و اتیل استات جلبک قرمز *Gracilaria Verrucosa* و کم‌ترین درصد مهار را برای عصاره آبی بدست آوردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان می-دهد که ترکیبات با خاصیت قدرت پاک‌سازی رادیکال های آزاد در جلبک *G. Verrucosa* قطبیت متوسطی دارند. کم‌ترین 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 عصاره‌های آبی و متانولی قرار داشت که با نتایج فعالیت پاک‌سازی رادیکالی DPPH مشابه بودند.

DPPH ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می‌باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می دهد. رادیکال‌های 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 عصاره‌ها از جمله ترکیبات قطبی است (۳۶).

در روش توان احیاکنندگی جذب نوری نمونه‌ها رابطه مستقیمی با توان احیاکنندگی دارد یعنی جذب نوری بیشتر بیان‌گر خاصیت احیاکنندگی بیشتر است. در این روش سنجش فعالیت‌های آنتی اکسیدانی بر اساس جذب نوری صورت می-گیرد. افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش بیان‌گر افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشد و بدون واحد اندازه‌گیری می-باشد. زیرا از جذب نوری برای شدت خاصیت احیاکنندگی استفاده می‌شود. بین خواص ضداکسیدانی عصاره متانولی جلبک *C. myrica* با عصاره حاصل از همه جلبک‌های مورد مطالعه و برگ درخت با استفاده از آزمون توان احیاکنندگی اختلاف معنی‌دار بود. در این مطالعه فعالیت ضداکسیدانی عصاره متانولی حاصل از جلبک *C. myrica* از بقیه جلبک‌های 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 جلبک‌های قهوه‌ای به خاطر وجود پلی ساکاریدهای پلی سولفاته بیشتر از جلبک‌های 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 می‌نمایند که در طول موج ۷۰۰ نانومتر قابل اندازه‌گیری است. افزایش در جذب نوری مخلوط واکنش بیان‌گر قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها می‌باشد(۳۸). همبستگی مثبت 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 ضداکسیدان‌ها باعث می‌شود که جداسازی و اندازه‌گیری آن‌ها در نمونه‌های مختلف جلبکی با یکنوع آزمایش امکان پذیر نباشد، بنابراین طراحی مجموعه ای از آزمایشات که بتوانند فعالیت ضداکسیدان را اندازه‌گیری نماید ضروری است(۴۰). این مطالعه نشان می‌دهد که با توجه به ترکیبات متنوع دارای خاصیت آنتی اکسیدانی در عصاره و اسانس‌های 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 کامل آنها توصیه می شود.

به طور کلی در این مطالعه بهترین فعالیت ضداکسیدانی باتست RP را عصاره متانولی حاصل از جلبک *C. myrica* و بهترین فعالیت ضداکسیدانی با آزمونDPPH را عصاره اتانولی (۱۰۰درصد) 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 معنی‌داری 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.,

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.phytotaxa14:22-42.

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 fluencing 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 .

12- Saenger P (1998). Mangrove vegetation: an evolutionary perspective. Mar. Freshwater Res. 49: 277-286.

13- Blomhoff, R. 2005.Dietary antioxidants and cardiovasular 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 obtuse(Rhodophyta) from seribu

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. Eftekhar, F. NejadEbrahimi, S and Yousefzadi, M. 2005.Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and variousextracts of Ziziphoraclinopodioides subs. rigida (BOISS.)RECH. F. from Iran. BioPharmBul 2005; 28: 1892-6.

27- Von Gadow, A. Joubert, E and Hansmann, C. F. 1997.Comparison of antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibosed tea (Aspalathonlinearis), a-tocopherol, BHT, and BHA.J.ofAgri.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. Pena-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 antiprolif¬erative activities of extracts from a variety of edible sea¬weeds. Food Chem. Toxicol. 44:1144-1150.

۳۳- 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، ۱۲۳صفحه.

34- Faten, M. Abou Elalla and Emad, A. Shalaby. 2009. Antioxidant Activity of

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 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.