فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۵، شماره ۳، پیاپی ۶۹، پاییز ۱۴۰۰، ص ۹۸-۱۱۴
نوع مقاله: مقاله پژوهشی

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.35, No.3, Ser.69, Autumn 2021, p. 98-114
Article type: Research paper

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۴/۲۸

وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir
10.22051/JAB.2021.35533.1412

تعیین برخی خواص پاداکسایشی عصاره ماکروجلبک سبز *Chaetomorpha antennina* دریای عمان در شرایط آزمایشگاهی (*In-vitro*)

زهره فتحی کاریزک[۱]، علی طاهری[۲*]

چکیده

امروزه باتوجه به پیشرفت تکنولوژی، شناخت کاربردهای دارویی از فرآورده‌های جلبک‌های دریایی یک امر مهم تلقی می‌شود. بدین منظور، فعالیت پاداکسایشی عصاره‌های آلی مختلف از جلبک سبز Chaetomorpha antennina دریای عمان بررسی شد. برای استخراج عصاره از حلال‌های متانول، کلروفرم، هگزان و دی کلرومتان استفاده گردید و به منظور بررسی خواص پاداکسایشی از مهار رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)، قدرت کاهشی و فعالیت کلاته کنندگی یون آهن استفاده شد. نتایج نشان داد که بیشترین ظرفیت پاداکسایشی بر اساس آزمون DPPH، مربوط به عصاره هگزانی و متانولی (۸۵/۷۲±۱/۶۹ و ۸۵/۴۲±۵/۵۹ درصد)، در آزمون کلاته کنندگی عصاره متانولی (۳۲/۵۴±۲/۸۹ درصد) و در آزمون قدرت کاهشی یون آهن بیشترین مقدار مربوط به عصاره متانولی (۰/۲۵۴±۰/۰۱ ٪) بود. بنابراین تحقیق حاضر نشان از اثرات بسیار خوب پاداکسایشی ترکیبات متانولی و دی‌کلرومتانی استخراجی از جلبک سبز Chaetomorpha antennina در غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر داد.

واژه‌های کلیدی: احیاکنندگی، پاداکساینده طبیعی، جلبک سبز، رادیکال آزاد، Chaetomorpha antennina

۱-دانشجوی دکتری، گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ایران.
۲- دانشیار، گروه شیلات،دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ایران.
*(نویسنده مسئول: taherienator@gmail.com)

مقدمه

رادیکال‌های آزاد موجود درمحیط یا شکل گرفته در حین متابولیسم مانند رادیکال‌های سوپراکسید ($O_2^{\bullet}$) و هیدروکسیل ($HO^{\bullet}$) و رادیکال‌های پراکسیل ($HOO^{\bullet}$)، قادر به اکسیداسیون نامحدود اجزای متنوع سلولی و آسیب به ساختارهای زیستی هستند. این آسیب‌های سلولی و بافتی منجر به بروز بسیاری از بیماری‌ها مانند تصلب شرائین، سرطان، پارکینسون و آلزایمر می‌گردند (Ozen, 2010). یک راه مؤثر برای حذف رادیکال‌های آزاد استفاده از ترکیبات پاداکساینده برای حفظ سلول‌ها از آسیب رادیکال‌های آزاد است (Nickavar *et al*, 2008).

در طی سال‌های اخیر، بررسی خواصی مانند اثرات پاداکسایندگی جلبک‌ها در پژوهش‌های گوناگون مورد توجه قرار گرفته است و هر ساله مطالعات جدیدتری در این راستا انجام و نتایج ارزنده‌ای حاصل می‌شود (Osuna *et al.*, 2016). جلبک دریایی منبع غنی از مواد مغذی هستند. آنها همچنین منبع مهمی از انواع مختلفی از مواد فعال زیستی، از جمله پلی ساکاریدهای سولفاته، رنگیزه‌های کاروتنوئیدی و فلروتانین‌ها، با مزایای بالقوه سلامتی هستند (Corsetto *et al.*, 2020). استفاده از ماکرو جلبک های دریایی در تغذیه انسان به دلیل جلوگیری از فعالیت های اکسیداسیون و کاهش بیماری هی مرتبط با تنش اکسیداتیو مانند فشار خون، بیماری های قلبی و عروقی، پیری و تحلیل رفتن سیستم عصبی مورد توجه است (Peñalver *et al.*, 2020). در نتیجه در قالب پتانسیل تجاری می‌تواند نقش قابل توجهی در صنعت پزشکی، تولید مواد غذایی و صنعت آرایشی به عنوان ترکیبات پاداکساینده داشته باشد (Ramdani *et al*, 2017; Gullón *et al*., 2020).

گونه‌های جلبکی زیادی در کشور ایران و به خصوص سواحل جنوب کشور ازجمله چابهار وجود دارد. این جلبک‌ها که به سه دسته سبز، قهوه‌ای و قرمز تقسیم می‌شوند دارای ظرفیت‌های زیستی ارزشمندی هستند و نیاز به برنامه ریزی مدون برای بهره برداری دارد. جلبک سبز *Chaetomorpha antennina* با رنگ سبز تیره، عمدتاً در قسمت‌های بالایی و تا حدودی میانی محدوده‌ی بین جزر و مدی روی بسترهای صخره‌ای زندگی می‌کنند. این جلبک‌ها در استان‌های هرمزگان (جزایر لارک، قشم و هرمز) و سیستان و بلوچستان (کچو، رمین، چابهار و تنگ) در فصل تابستان پراکنش دارند (قرنجیک و روحانی قادیکلایی، ۱۳۸۹).

مطالعات متعددی روی جلبک های دریایی انجام شده است. بررسی فعالیت پاداکسایشی دو گونه جلبک سبز *Chaetomorpha sp* و جلبک قهوه ای *Colpomenia sinuosa* توسط سفری و همکاران در سال ۱۳۹۴ انجام شد و تاثیر حلال های مختلف در استخراج ترکیبات پاداکسایشی به روش غوطه وری و توسط حلال‌های استون، اتانول، متانول در ترکیب با آب (۷۰/۳ ٪) بررسی شد که نشان دادند عصاره‌های استونی قابلیت بیشتری برای استخراج ترکیبات پاداکساینده و پلی فنول در مقایسه با سایر تیمارها داشتند. در مطالعه Harb و همکاران (۲۰۲۱) ۱۳ جلبک سواحل برزیل بررسی شد و عصاره متانولی جلبک های *Osmundaria obtusiloba* و *Dictyopteris jolyana* بیشترین فعالیت حذف رادیکال آزاد و کلاته کنندگی یون فلزی را نشان داد.

با توجه به اهمیت جلبک‌های دریایی، در مطالعه حاضر به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی برون سلولی عصاره‌های آلی جلبک *Chaetomorpha antennina* با روش حذف رادیکال آزاد DPPH، فعالیت کلاته کردن یون آهن فرو و قدرت کاهندگی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر، یک مطالعه میدانی-آزمایشگاهی است و عملیات نمونه‌برداری از جلبک سبز *Chaetomorpha antennina* (Bory) Kützing 1847 در منطقه بین جزر و مدی خلیج چابهار، سواحل تنگ با مختصات جغرافیایی"۵۴ ′۵۹ (طول) و "۲۱ ′۲۵ (عرض) در فصل پاییز سال ۹۶ در هنگام حداکثر جزر، به صورت دستی انجام شد. نمونه‌ها پس از جمع آوری، با آب دریا شستشو داده شدند تا اضافات آن‌ها حذف شود. جلبک سریعاً به آزمایشگاه زیست فناوری آبزیان دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل و با آب شیرین شستشو گردید. مقداری از جلبک جهت شناسایی و تأیید گونه با رفرنس اطلس جلبک های دریای عمان نگه‌داری شد و بقیه جلبک‌ها در سایه تا زمان رسیدن به وزن ثابت (۵ الی ۷ روز) بدون تغییر رنگ محسوس خشک شدند. در آخر پس از خشک شدن و پودر کردن توسط آسیاب برقی (Eurostar, AR110O , China)، نمونه‌ها تا زمان استفاده در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگه‌داری شدند (Hwang *et al*, 2010).

عصاره‌گیری و استخراج

عصاره گیری با روش خیساندن پودر خشک شده جلبک در حلال‌های مورد نظر انجام شد. بدین منظور جلبک‌ها توزین و به ظرف مورد نظر منتقل شده و به نسبت ۱:۱۰ وزنی/حجمی به آن حلال اضافه شد. استخراج عصاره‌ها با استفاده از حلال‌های متانول، هگزان، دی‌کلرومتان و کلروفرم به صورت مجزا انجام شد. سپس نمونه‌ها، درون شیکر انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و در دمای محیط مورد استخراج قرار گرفتند. استخراج دو بار دیگر با خالی کردن حلال و افزودن حلال جدید تکرار شد. سپس هر سه عصاره مخلوط و با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شدند. عمل تبخیر حلال در زیر هود انجام شد. سپس عصاره‌ها برای مصارف بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگه‌داری شدند (Lim *et al*, 2002).

اندازه‌گیری خواص آنتی اکسیدانی

حذف رادیکال آزاد DPPH

به میزان ۰/۱ میلی لیتر محلول دی فنیل پیکریل هیدرازیل DPPH تهیه شده با متانول ۹۵ درصد و ۰/۱ میلی لیتر از محلول نمونه تهیه شده با متانول ۵۰ درصد در یک لوله اپندورف ترکیب گردید و پس از تکان دادن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و درون محفظه تاریک نگه‌داری شد و سپس جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

جهت کنترل، محلول متانول به جای نمونه اضافه شد. برای شاهد مثبت نیز از محلول اسید آسکوربیک به میزان ۰/۰۲ میلی گرم بر میلی لیتر استفاده شد و میزان فعالیت حذف رادیکال‌های آزاد عصاره جلبکی طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Shimada *et al*., 1999):

فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH(٪) = { $A_{Control}$ - A_{Sample} / $A_{Control}$} × 100

A_{sample} جذب نمونه بعد از زمان مورد نظر و $A_{control}$ جذب محلول DPPH و فاقد نمونه است.

فعالیت کلاته کردن یون آهن

فعالیت کلاته کردن مطابق روش ارائه شده توسط Dinisو همکاران (۱۹۹۴) صورت گرفت. طبق این روش غلظت‌های مختلف عصاره (۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) با ۰/۱ میلی لیتر کلرید آهن مخلوط و محلول مورد نظر ۳ دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد و بعد ۰/۲ میلی لیتر فروزین به محلول اضافه و به شدت تکان داده شد و ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. جذب در ۵۶۲ نانومتر سنجش شد. یک کنترل بدون نمونه به شیوه مشابه تهیه شد. برای شاهد مثبت میزان ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر EDTA استفاده شد. فعالیت کلاته کردن با فرمول زیر سنجش گردید (Dinis *et al*., 1994):

درصد مهار یون آهن فرو = (A_0-A_1)/A_0× 100

A_0 جذب کنترل و A_1 جذب عصاره‌ها یا استاندارد را نشان می‌دهد. گروه کنترل حاوی $FeCl_2$ و فروزین و آب مقطر بود.

تعیین قدرت کاهندگی

یک میلی لیتر فسفات بافر ۰/۲ مولار (پی اچ ۶/۶) با یک میلی لیتر محلول عصاره در غلظت‌های مختلف (۰/۰،۱/۰۱ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) ترکیب شد و سپس یک میلی لیتر پتاسیم فری سیانید ۱ درصد به آن اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس یک میلی لیتر محلول‌تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به آن اضافه شد. در مرحله بعد یک میلی لیتر از محلول نهایی را با یک میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده و ۰/۲ میلی لیتر محلول کلرید آهن ۰/۱ درصد به آن اضافه و بعد از ۱۰ دقیقه جذب در ۷۰۰ نانومتر بررسی شد. افزایش میزان جذب نشان دهنده افزایش قدرت کاهندگی است (Oyaizu, 1986). برای شاهد مثبت از اسید آسکوربیک به میزان ۰/۰۲ میلی گرم بر میلی لیتر استفاده شد.

تحلیل آماری

در این مطالعه، اثرات هریک از غلظت‌های حلال‌ها و اثرات کلی تیمارها پس از بررسی نرمال بودن تمامی داده ها با آزمون شاپیروویلک، با آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<0.05$) بررسی شدند.

مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون Tukey انجام شد. محاسبه و ترسیم نمودارها بوسیله بسته نرم افزار Graphpad-Prism (نسخه ۷) انجام گردید.

نتایج

ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های آلی جلبک سبز *Chaetomorpha antennina* با استفاده از سه روش مهار رادیکال آزاد (DPPH)، قدرت کاهشی و فعالیت کلاته کنندگی یون فلزی در غلظت‌های (۱-۰/۰۰۱ میلی گرم برمیلی لیتر) برای تست کلاته کنندگی و قدرت کاهشی و غلظت (۰/۱، ۰/۳، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) برای تست DPPH مورد سنجش قرار گرفت و نتایج زیر حاصل گردید.

قدرت حذف کردن رادیکال آزاد DPPH

با توجه به نتایج، در غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر از جلبک *C.antennina*، حلال‌های مختلف اثر معناداری را در میزان مهار DPPH از خود نشان دادند ($P<0.05$). به طوری که متانول و هگزان بیشترین و کلروفرم کمترین مقدار مهار رادیکال آزاد را داشتند. در غلظت‌های ۰/۳ میلی گرم بر میلی لیتر از جلبک *C.antennina*، بین نمونه استاندارد، متانول و هگزان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0.05$). ولی میزان مهار DPPH در حلال‌های نامبرده به طور معنی‌داری بالاتر از حلال‌های دی-کلرومتان و کلروفرم بود ($P<0.05$). در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی لیتر، حلال هگزان، بیشترین مقدار مهار DPPH را داشته و اختلاف معنی‌داری را با حلال دی‌کلرومتان و کلروفرم داشته است. در غلظت یک میلی‌گرم بر میلی لیتر از جلبک *C.ntennina*، اختلاف معنی‌داری بین نمونه استاندارد و حلال‌های متانول، هگزان و دی‌کلرومتان مشاهده نشد ($P>0.05$). ولی حلال‌های نامبرده بطور معنی‌داری بالاتر از حلال کلروفرم بودند ($P<0.05$). در این آزمایش، اسیدآسکوربیک به عنوان نمونه استاندارد در نظر گرفته شد و میزان مهار DPPH در تمامی غلظت‌ها، نسبت به سایر عصاره‌های مورد مطالعه بیشتر بوده است جدول (۱).

جدول ۱: اثر حلال‌های مختلف و غلظت‌های متفاوت عصاره‌های جلبک *C. antennina* در درصد مهار رادیکال آزاد DPPH

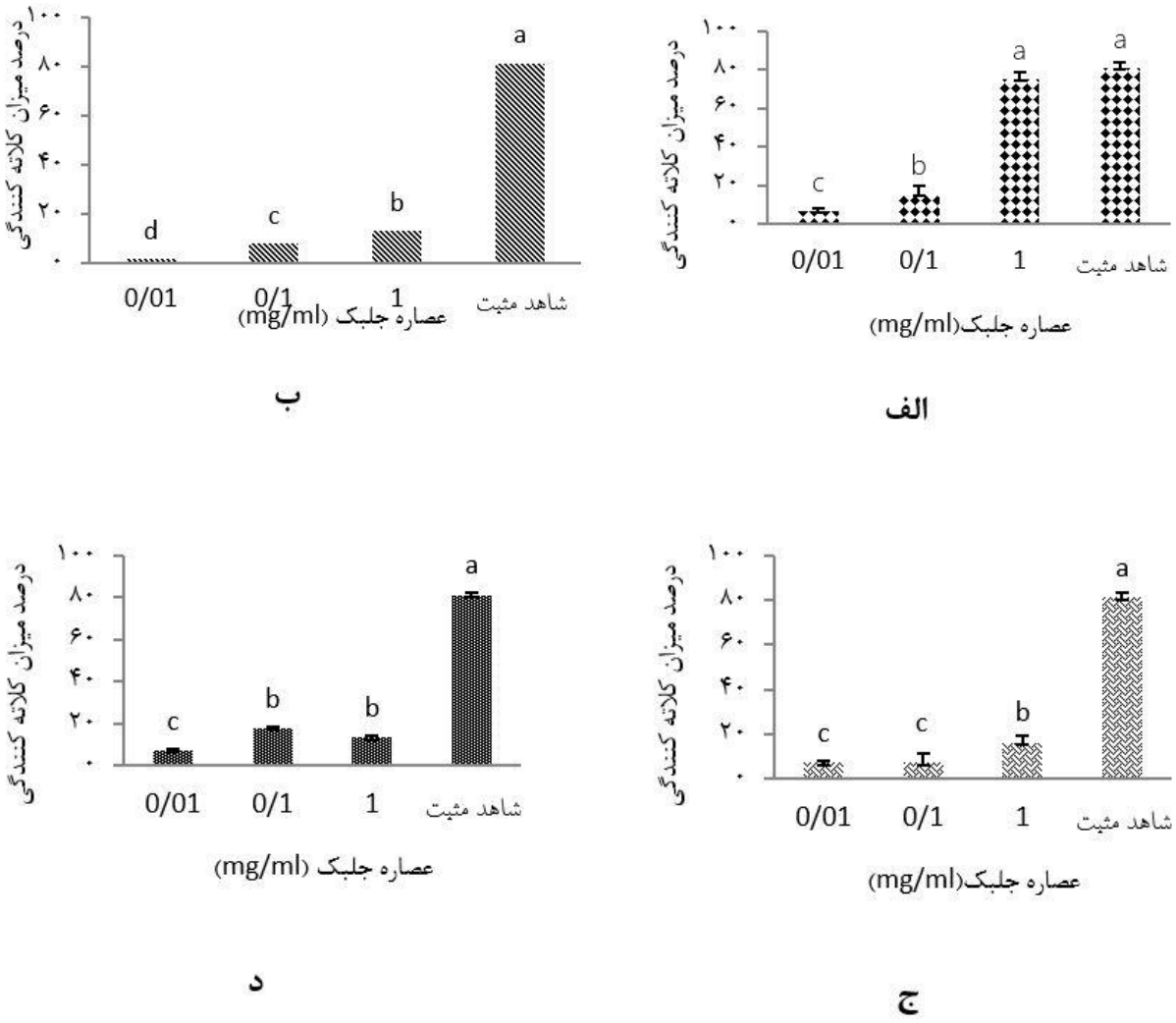
غلظت	نوع عصاره				
(**Mg/ml**)	متانول	هگزان	دی‌کلرومتان	کلروفرم	اسیدآسکوبیک
۰/۱	۸۰±۰/۵۷^{Ba}	۷۸/۳±۱/۵۲^{Bd}	۶۲±۰/۰۰۰^{Cc}	۵۱±۲/۶۴^{Dc}	۹۶±۲^{Aa}
۰/۳	۸۴/۶۶±۰/۵۳^{Aa}	۸۶/۶±۱/۱۵^{Ac}	۷۰/۶±۵/۱۹^{Bb}	۶۸/۳±۰/۵۷^{Bb}	۸۹/۳۴±۷/۵^{Ab}
۰/۵	۸۴/۳۳±۲/۸۸^{ABa}	۹۳±۱^{Ab}	۸۰±۰/۵۷^{Bb}	۶۲/۳۰±۰/۵۷^{Cb}	۸۹±۶/۹۳^{ABb}
۱	۹۳±۲^{Aa}	۹۸±۵/۱۹^{Aa}	۹۴/۳±۲/۶۴^{Aa}	۷۹±۳^{Ba}	۹۴±۶/۹۳^{Aa}

حروف یکسان بزرگ نشان دهنده عدم تفاوت معناداری در هر ردیف است. حروف یکسان کوچک نشان دهنده عدم معناداری در بین تیمارهای مختلف در هر ستون است ($P<0.05$).

با توجه به جدول ۱، اثر محلول‌های مختلف در غلظت‌های بالاتر از جلبک *C.antennina*، مقادیر بالاتری از فاکتور حذف DPPH را نشان دادند. اختلاف معنی‌داری در غلظت ۱ و ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر با یکدیگر و با سایر غلظت‌های تیمارهای مختلف مشاهده شد ($p<0.05$). همچنین، اگرچه با افزایش غلظت در حلال متانول، مقادیر DPPH، نیز افزایش پیدا کرده ولی تفاوت آماری در بین غلظت‌های مختلف این حلال مشاهده نشد ($p>0.05$).

فعالیت کلاته کردن یون آهن

بر اساس داده‌های حاصل از سنجش ظرفیت پاداکسایندگی با استفاده از تست فعالیت کلاته کنندگی یون آهن در مورد عصاره‌های مختلف جلبک *C. antennina*، بالاترین مقدار کلاته کنندگی مربوط به عصاره متانولی با ۷۵/۳۷٪ (در غلظت ۱mg/ml) و پایین‌ترین مقدار کلاته کنندگی مربوط به عصاره هگزان با ۱۲/۸mg/ml درصد گزارش شد. فعالیت کلاته کنندگی تمامی عصاره‌های جلبک *C. antennina* اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مورد آزمون نشان داد و بجز در عصاره متانول، تمامی عصاره‌ها اختلاف معنی‌داری را با استاندارد نشان دادند ($p<0.05$). غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی لیتر تمامی عصاره‌ها نسبت به سایر غلظت‌ها، فعالیت کلاته کنندگی بالاتری را نشان داد ($p<0.05$). از سوی دیگر، در حلال کلروفرم اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی لیتر، مشاهده نشد ($p>0.05$). در این آزمایش، EDTA به عنوان نمونه استاندارد در نظر گرفته شد و میزان کلاته کردن فلزات در تمامی غلظت‌ها ۸۱/۲ درصد گزارش شده که نسبت به تمام عصاره‌های مورد مطالعه بیشتر بوده است. نمودارهای (۱ الف) تا (۱ د)، میزان کلاته‌کنندگی یون آهن توسط عصاره‌های حاصل از جلبک *C. antennina* و مقایسه آن با نمونه استاندارد را نشان می‌دهد.

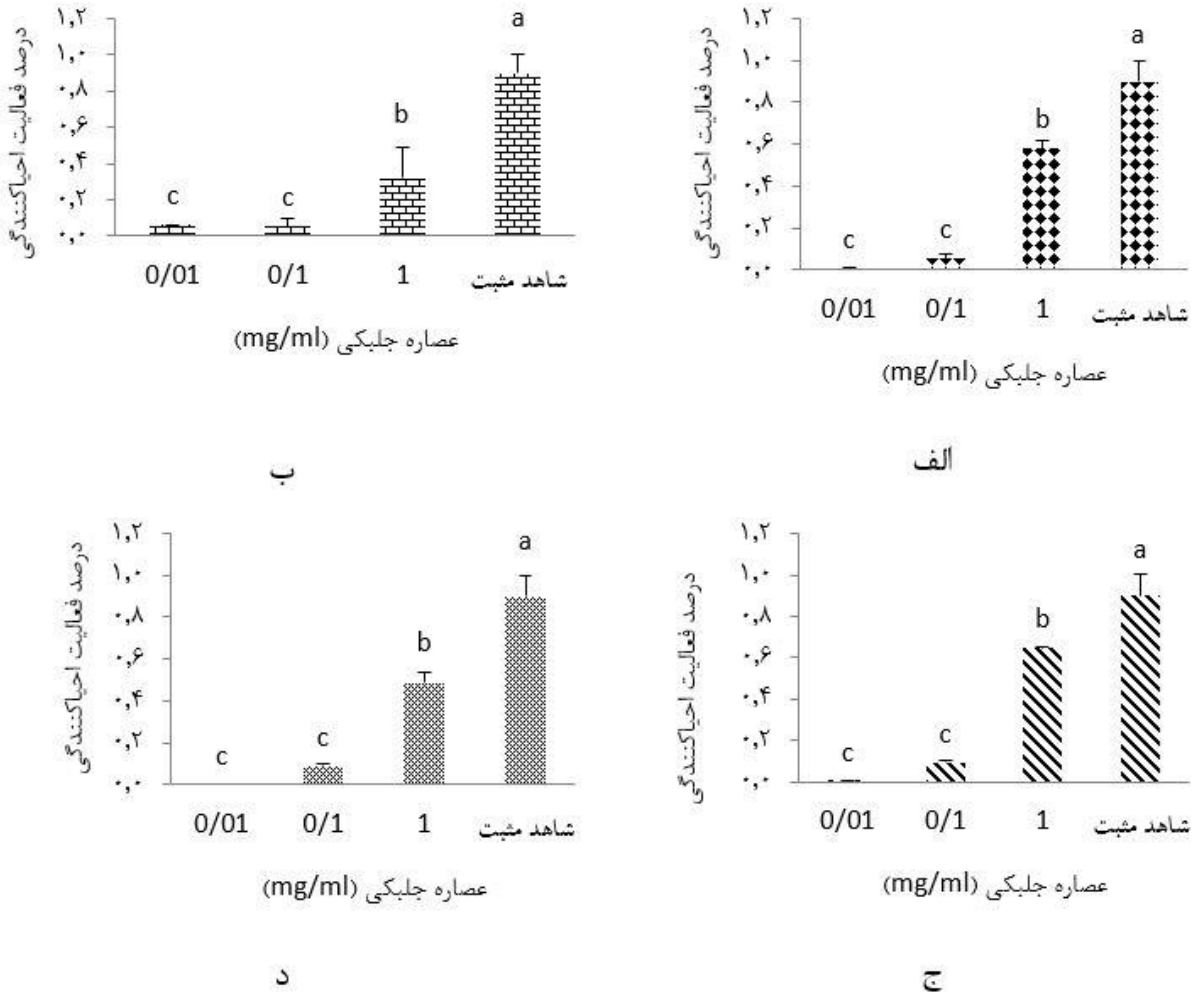


نمودار ۱: درصد کلاته کنندگی یون آهن عصاره‌های جلبک *C. antennin* متانولی (الف)، هگزانی (ب)، دی کلرومتان (ج)، کلروفرم (د)

فعالیت احیاکنندگی

بر اساس داده‌های حاصل از سنجش ظرفیت پاداکسایشی با استفاده از تست فعالیت احیاکنندگی در مورد عصاره‌های مختلف جلبک *C. antennina*، بالاترین مقدار کلاته کنندگی مربوط به عصاره متانولی با ۰/۵۸ (در غلظت ۱mg/ml) و پایین‌ترین فعالیت احیاکنندگی مربوط به عصاره هگزان با ۰/۳۲ گزارش شد. فعالیت احیاکنندگی تمامی عصاره‌های جلبک *C. antennina* اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مورد آزمون نشان داد و تمامی عصاره‌ها اختلاف معنی‌داری را با استاندارد نشان دادند ($p<0.05$). غلظت یک میلی گرم بر میلی لیترتمامی عصاره‌ها نسبت به سایر غلظت‌ها، فعالیت احیاکنندگی بالاتری را نشان داد ($p<0.05$). از سوی دیگر، در تمامی عصاره‌ها اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر، مشاهده نشد ($p>0.05$). بنابراین، با افزایش غلظت عصاره‌ها از ۰/۰۱ به ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، میزان جذب نمونه‌ها و فعالیت احیاکنندگی آن‌ها نیز

افزایش یافت. در این آزمایش، اسیدآسکوربیک به عنوان نمونه استاندارد در نظر گرفته شد و میزان فعالیت احیاکنندگی در تمامی غلظت‌ها ۰/۹ گزارش شده که نسبت به تمام عصاره‌های مورد مطالعه بیشتر بوده است. نمودارهای (۲ الف) تا (۲ د)، میزان فعالیت احیاکنندگی توسط عصاره‌های حاصل از جلبک *C. antennina*، و مقایسه آن با نمونه استاندارد نشان می‌دهد.



نمودار ۲: مقدار فعالیت احیاکنندگی عصاره‌های آلی جلبک *C. antennina*: عصاره متانولی (الف)، هگزانی (ب)، دی کلرومتان (ج) وکلروفرمی (د)

بحث

در تحقیق حاضر خواص آنتی اکسیدانی جلبک سبز *Chaetomorpha antennina* به صورت برون سلولی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که تمامی عصاره‌های آلی مورد بررسی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی با درجات متفاوت بودند. در مطالعه حذف رادیکال ازاد DPPH، عصاره های متانولی و هگزانی بهترین فعالیت را نشان دادند. بهترین فعالیت

کلاته کنندگی یون فلزی در عصاره متانولی و بهترین فعالیت احیا کنندگی در عصاره های متانولی و دی کلرومتانی دیده شد. مطالعات نشان داده است که ترکیب شیمیایی عصاره‌ها و خواص زیست فعال آن وابسته به نوع حلال‌ها، قطبیت، زمان و درجه حرارت عصاره‌گیری است (Yuan & Walsh, 2006). رادیکال DPPH، یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن است که با احیا شدن و تولید مولکول پایدار DPPH از ارغوانی به زرد تغییر رنگ می‌دهد (Singh *et al*, 2008). با توجه به نتایج، در جلبک *C. antennina*، متانول و هگزان بالاترین فعالیت حذف رادیکال DPPH را داشته است. این مسئله با نتایج برخی محققین دیگر مطابقت داشت از جمله، در مطالعه Al-Amoudi (۲۰۰۹)، روی سه نوع جلبک *Ulva lactuca*، *Sargassum crassifolia* و *Digenea simplex*، در مطالعه‌ی Shanmuga Rajan و Bhat (۲۰۱۵)، Hassan Sultan و همکاران (۲۰۱۶)، Ramdani و همکاران (۲۰۱۷)، روی جلبک *Gracilaria*، Raja و همکاران (۲۰۲۰) روی جلبک *Halimeda opuntia* و Hmani و همکاران (۲۰۲۱) روی جلبک *Hypnea musciformis*، فعالیت پاداکسایشی عصاره‌های متانولی دارای بیشترین قدرت در مهار رادیکال آزاد DPPH بودند. مطالعه Harb و همکاران (۲۰۲۱)، بهترین فعالیت حذف رادیکال آزاد DPPH در عصاره متانولی و آبی جلبک *Osmundaria obtusiloba* به ترتیب به میزان ۴/۱ و ۴/۰۹ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره دیده شد. حلال های قطبی مانند متانول باعث استخراج کارآمد ترکیبات فعال زیستی مثل ترکیبات فنلی، پلی ساکاریدهای سولفاته، ساپونین، گلیکوزیدها و اسیدهای ارگانیک می شوند و روشی کارآمد برای استخراج ترکیبات فعال زیستی قطبی است که خواص گوناگونی از جمله خواص آنتی اکسیدانی دارند (Araújo *et al*., 2020). البته گزارش های دیگری نیز از خواص بالای حذف رادیکال آزاد DPPH توسط سایر عصاره های کمتر قطبی وجود دارد. برای مثال در مطالعه Chakraborty و همکاران (۲۰۱۷) عصاره اتیل استاتی *Anthophycus longifolius* با IC_{50} ۱/۲۳ بیشترین فعالیت را نشان داد و وجود مقادیر بالای ترکیبات فنلی در این عصاره را عامل فعالیت آنتی اکسیدانی بالا دانستند.

در مطالعه حاضر، اثر عصاره‌های مختلف در غلظت‌های بیشتر جلبک *C.antennina*، مقادیر بالاتری از فاکتور حذف DPPH را نشان دادند که با مطالعه Taheri و همکاران (۲۰۱۷a)، روی جلبک *Cystoseira trinodis*، Agregan و همکاران(۲۰۱۷، Bhuyar و همکاران (۲۰۲۰)، روی جلبک قرمز *Kappaphycus alvarezii* مطابقت داشت. به طور کل با افزایش غلظت به دلیل وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بیشتر و در نتیجه افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال آزاد و به دنبال آن قدرت مهار کنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Sanchez-Moreno, 2002). در این مطالعه حلال متانول و هگزان بیشترین درصد حذف رادیکال آزاد را دارا بوده و این یافته می‌تواند در مطالعات تکمیلی مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

فعالیت کلاته کنندگی فلزات یکی از مکانسیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که باعث کاهش فعل و انفعالات انتقال فلز در پراکسیداسیون چربی می‌شود. در میان عناصر واسطه، آهن به دلیل واکنش پذیری بالای خود، مهم‌ترین عنصر در اکسیداسیون چربی شناخته می‌شود (Mohsin *et al*, 2016). در این مطالعه، بالاترین مقدار کلاته کنندگی مربوط به عصاره متانولی با ۷۵/۳۷٪ (در غلظت ۱mg/ml) و کمترین مقدار کلاته کنندگی مربوط به عصاره هگزان با ۱۲/۸ mg/ml درصد گزارش شد. یافته‌های تحقیق حاضر با مطالعه Sathya و همکاران (۲۰۱۳)، در سنجش میزان کلاته کنندگی مستخرج از جلبک *Cystoseria trinodis* که نشان داد عصاره متانولی این جلبک و تمامی ترکیبات زیر مجموعه آن دارای بیشترین میزان کلاته کنندگی بودند، مطابقت داشت. همچنین در مطالعه Harb و همکاران (۲۰۲۱) بیشترین فعالیت کلاته کنندگی عصاره متانولی جلبک *Dictyopteris jolyana* به میزان ۱۰/۸۰ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره گزارش شد. اما در جلبک *Osmundaria obtusiloba* عصاره آبی بیشترین فعالیت کلاته کنندگی به میزان ۱۶/۷۹ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره داشت. این محققین عنوان کردند متابولیت های با خاصیت قطبی در عصاره های متانولی و آبی اصلی ترین عوامل پاداکسایندگی این جلبک ها هستند. در تحقیق Chakraborty و همکاران (۲۰۱۷) نتایج متفاوت بود و عصاره اتیل استاتی *Sargassum plagiophyllum* با IC_{50} برابر ۰/۲۲ بیشترین فعالیت کلاته کنندگی را نشان داد که از نظر قطبیت حلال ضعیفی است.

کلاته کردن یون فلزی می‌تواند مانع از تشکیل اکسیدان‌ها شود و سطوح اکسیداسیون لیپیدها را کاهش دهد. کلاته‌کنندگی یون آهن به تعداد هیدروکسیل وابسته است که با جایگزینی هیدروکسیل در جایگاه ارتو عمل کلاته کنندگی یون آهن صورت می‌پذیرد. عوامل کلاته کننده به عنوان پاداکساینده های ثانویه هستند، زیرا می‌توانند پتانسیل احیا را کاهش داده و باعث پایداری فرم اکسید شده یون فلزی شوند (Gordon, 1990). یون‌های فلزی واسطه دو ظرفیتی، نقش مهمی به عنوان کاتالیزور فرآیندهای اکسیداتیو بازی می‌کنند و همین طور منجر به تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل و واکنش تجزیه هیدروژن پراکسید از طریق واکنش فنتون می‌شوند. شناساگر این واکنش فروزین نام دارد که با آهن II موجود در محیط، کمپلکس قرمز رنگی تشکیل می‌دهد. غلظت آهن محیط در حضور عوامل کلاته کننده کاهش می‌یابد و رنگ قرمز کمپلکس آهن-فروزین کم می‌شود (Halliwell, 1996). از سوی دیگر، نتایج نشان داد که اثر محلول‌های مختلف در غلظت‌های بیشتر عصاره جلبک *C.antennina*، مقادیر بالاتری از عوامل کلاته گنندگی فلزات را نشان دادند. در مطالعه Al Harthi (۲۰۱۵) نیز گزارش شده که نتایج کلاته‌کنندگی و پاداکسایشی عصاره‌ها وابسته به غلظت بوده است. با توجه به نتایج با افزایش میزان غلظت عصاره جلبک‌ها، فعالیت کلاته‌کنندگی یون فلزی افزایش نشان داد. این نتایج با نتایج بسیاری از محققین از جمله سفری و همکاران (۱۳۹۴) که بر روی تاثیر حلال های مختلف در استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی دو گونه جلبک سبز *Chaetomorpha sp* و جلبک قهوه ای

Colpomenia sinuosa و طاهری و همکاران (۱۳۹۷) که به بررسی خواص پاداکسایشی عصاره جلبک *Colpomenia sinousa* پرداخته اند، مطابقت داشت.

آزمون فعالیت پاداکسایندگی احیاء آهن، روشی است که به طور مستقیم پاداکسایندە ها و یا احیاء کنندەها را در نمونەها اندازەگیری می‌کند و رابطه خطی با غلظت پاداکسایندگی آن‌ها دارد (Prior *et al*, 2005). حضور عوامل احیاکننده در محلول واکنش سبب کاهش کمپلکس فری سیانید/ یون ۳ ظرفیتی آهن و تبدیل آن به فرم فروس می‌شود. در این روش سنجش فعالیت‌های پاداکسایشی بر اساس جذب صورت می‌گیرد افزایش در جذب مخلوط واکنش بیانگر افزایش فعالیت پاداکسایندگی است و بدون واحد اندازەگیری (Ruperez, 2001). بر اساس دادەهای حاصل از سنجش با استفاده از تست فعالیت احیاکنندگی در مورد عصارەهای مختلف جلبک *C. antennina*، بالاترین مقدار احیا کنندگی مربوط به عصاره متانولی با جذب ۰/۵۸ (در غلظت ۱mg/ml) و کمترین فعالیت احیاکنندگی مربوط به عصاره هگزان با جذب ۰/۳۲ گزارش شد. در تحقیق Taheri و همکاران (b۲۰۱۷)، بر روی جلبک *Halimeda tuna* نیز بالاترین میزان احیاکنندگی مربوط به عصاره متانولی (غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بود. نتایج به دست آمده در هماهنگی با تحقیق حاضر بوده که نشان می‌دهد میزان غلظت و محلول استخراجی بر تعیین قدرت احیاکنندگی اثر مستقیم دارد. در مطالعه Vlaisavljević و همکاران نیز (۲۰۲۰) عصاره اتانولی جلبک *Ecklonia bicyclis* بیشترین فعالیت کاهشی را نشان داد. در مطالعه Harb و همکاران (۲۰۲۱) عصاره متانولی *D. jolyana* و عصاره آبی *O. obtusiloba* بیشترین فعالیت کاهشی را نشان دادند. لذا در هر گونه جلبک نوع ترکیبات فعال با خاصیت کاهندگی می تواند در حلال های با درجات متفاوت قطبیت استخراج شود و در مطالعه حاضر عصاره متانولی با بالاترین قطبیت بهترین خاصیت کاهندگی را نشان داد.

در نتیجه گیری می‌توان گفت که بیشترین فعالیت پاداکسایندگی جلبک سبز *C. antennina* در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مربوط به حلال متانول و دی‌کلرومتان بود و کمترین میزان آن مربوط به تیمار هگزان ثبت گردید. فعالیت پاداکسایندگی بر پایه شکستن زنجیره رادیکال آزاد به وسیله اهداء اتم هیدروژن است و عصارەهای جلبکی با پیش‌سازهای خاصی از رادیکال پراکسید جلوگیری می‌کنند. بر اساس یافته‌ها عصاره جلبک مورد مطالعه می‌تواند آنتی اکسیدان نوع یک باشد و به طور مستقیم و با کیفیت بسیار خوب فعالیت حذف رادیکال آزاد را داشته باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری به جهت حمایت در قالب طرح شماره ۱۱/۹۰۷۴۷ و دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به جهت حمایت از انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

سفری،پ.، رضایی، م.، شویک لو، ا.ر. و باباخانی لشکان، آ. (۱۳۹۴). بهینه سازی استخراج عصارهٔ آنتی اکسیدانی از جلبک دریایی (Chaetomorpha sp) خلیج فارس با کمک مایکروویو و اولتراسوند و با استفاده از روش پاسخ سطح. شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۶۸(۴): ۵۷۵-۵۵۵.

طاهری، ع. و مرادی، س. (۱۳۹۷). بررسی خواص پاداکسایشی عصاره آلی جلبک دریایی *Colpomenia sinousa*. مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ۲۸ (۱۶۰):۱۵۵-۱۵۱.

قرنجیک، ب، م. و روحانی قادیکلائی، ک. (۱۳۸۹). اطلس جلبک های سواحل خلیج فارس و دریای عمان. موسسه تحقیقات شیلات ایران، چاپ اول. ۱۷۸ صفحه.

Agregan, R., Munekata, E.P., Dumingouez, R., Carbello, J., Franco, D. and Lorenzo, M.J. (2017). Proximate composition, phenolic contents and in vitro antioxidant activity of aqueous extracts of seaweeds *Ascophyllum nodosum*, *Bifurcaria bifurcate* and *Fucus vesiculosus*. Effect of addition of the extracts on the oxidative of canola oil under accelerated storage conditions. Food Research International, 99(3): 986-994.

Al Harthi, S.S., Mavazhe, A., Al Mahroqi, H. and Khan, S.A. (2015). Quantification of phenolic compounds, evaluation of physicochemical properties and antioxidant activity of four date (*Phoenix dactylifera L.*) varieties of Oman. Journal of Taibah University Sciences, 10(3): 346-352.

Al-Amoudi, O.A., Mutawie, H.H., Patel, A.V. and Blunden, G., (2009). Chemical composition and antioxidant activities of Jeddah corniche algae. Saudi Journal of Biological Sciences, 16: 23-29.

Araújo, P.G., Nardelli, A.E., Fujii, M.T. and Chow, F. (2020). Antioxidant properties of different strains of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta) farmed on the Brazilian coast. Phycologia, 59(3): 272-279.

Bhuyar, p., Rahim, M.H., Sundararaju, S., Maniam, G.P. and Govindan, N. (2020). Antioxidant and antibacterial activity of red seaweed; *Kappaphycus alvarezii* against pathogenic bacteria. Global Journal of Environmental Science and Management, 6(1): 47-58.

Chakraborty, K., Maneesh, A. and Makkar, F. (2017). Antioxidant activity of brown seaweeds. Journal of Aquatic Food Product Technology, 26(4): 406-419.

Corsetto, P.A., Montorfano, G., Zava, S., Colombo, I., Ingadottir, B., Jonsdottir, R., Sveinsdottir, K. and Rizzo, A. (2020).Characterization of Antioxidant Potential of Seaweed Extracts for Enrichment of Convenience Food. Antioxidants, 9(249):1-15.

Costa, J.A.V. and De Morais, M.G. (2011). The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. Bioresource technology, 102(1): 2-9.

Costa, L.S., Fidelis, G.P., Cordeiro, S.L., Oliveira, R.M., Sabry, D.A. and Câmara, R.B.G. (2010). Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. Biomedical Pharmacotherapy, 64(1): 21-28.

Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C. and Almeidam, L.M. (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics, 315:161-169.

Gordon M.H. (1990). The mechanism of antioxidant action in vitro. In: Hudson, B.J.F., Ed., Food Antioxidants, Elsevier Applied Science; 1-18.

Gullón, B., Gagaoua, M., Barba, F.J., Gullón, P., Zhang, W. and Lorenzo, J.M. (2020). Seaweeds as promising resource of bioactive compounds: overview of novel extraction strategies and design of tailored meat products. Trends in Food Science and Technology, 100:1–18.

Halliwell B. (1996). Antioxidants: the basics- what they are and how to evaluate them**.** Advance pharmacology, 38: 3-20.

Harb, T.B., Pereira, M.S., Cavalcanti, M.I.L.G., Fujii, M.T. and Chow, F. (2021). Antioxidant activity and related chemical composition of extracts from Brazilian beach-cast marine algae: opportunities of turning a waste into a resource. Journal of Applied Phycology, 1-9.

Hassan Sultan, T., Noroozi, M. and Amoozegar, M.A. (2016). A survey on total carotenoids, chlorophyll a and b and also antioxidant activity of derived from four strain of green alga isolated from the Golestan coasts, (Caspian Sea). New Cellular and Molecular Biotechnology Journal, 6(24): 31-36.

Hmani, I., Ktari, L., Ismail, A., M'dallel, C. and El Bour, M. (2021). Assessment of the antioxidant and antibacterial properties of red algae (Rhodophyta) from the north coast of Tunisia. Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration, 6(13): 1-9.

Lim, S.N., Cheung, P.C.K., Ooi, V.E.C. and Ang, P.O. (2002). Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 3862-3866.

Mohsin, S., Mahadevan, R., Sumayya, A.S. and Kurup, G.M. (2016). Bifunctional effect of fucoidan from *Padina tetrastromatica* against human pathogenic microbes and free radicals. Journal of Medicinal Herb, 2:1-10 .

Nickavar, B., Alinaghi, A., Kamalinejad, M. (2010). Evaluation of the Antioxidant Properties of Five Mentha Species. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 7(3): 203-209 .

Osuna-Ruiz, I., López-Saiz, C.M., Burgos-Hernández, A., Velázquez, C., Nieves-Soto, M. and Hurtado-Oliva, M.A. (2016). Antioxidant, antimutagenic and antiproliferative activities in selected seaweed species from Sinaloa, Mexico. Pharmaceutical Biology, 54(10): 2196-2210.

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics, 44(6): 307-315.

Ozen, T. (2010). Antioxidant activity of wild edible plants in the black sea region of Turkey. Grasas Y Aceites, 61(1): 86-94.

Hwang, P.A., Wu, C.H., Gau, S.U. and Chien. H.Y. (2010). Antioxidant and immune-stimulating activites of hot-water extract from *Sargassum hemiphyllum*. Journal of Marine Science and Technology, 18: 41-46.

Peñalver, R., Lorenzo, J.M., Ros, G., Amarowicz, R., Pateiro, M. and Nieto, G. (2020). Seaweeds as a functional ingredient for a healthy diet. Marine Drugs, 18:301.

Prasad, B., Vadakedath, N., Jeong, H.J., General, T., Cho, M.G., Lein, W. (2014). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of haptophytes (Isochrysis species). Applied Microbiology Biotechnology, 98: 8629-8639.

Prior, R.L. Wu, X. and Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of Antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural Food Chemistry, 53:4290-302.

Raja, R., Hemaiswarya, S., Sridhar, S., Alagarsamy, A., Ganesan, V., Elumalai, S. and Carvalho, I.S. (2020) Evaluation of proximate composition, antioxidant properties, and phylogenetic analysis of two edible seaweeds. Smart Science, 8(3): 95-100.

Ramdani, M., Elasri, Q., Saidi, N., Elkhiati, N., aybi, F., Mostareh, M., Zaraali O. and Haloui, B. (2017). Evaluation of antioxidant activity and total phenol content of *Gracilaria bursa-pastoris* harvested in Nador lagoon for an enhanced economic valorization. Chemical and Biological Technology of Agriculture, 4:28.

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.

Sanchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Science and Technology International, 8: 121-37.

Sathya, R., Kanaga, N., Sankar, P. and Jeeva, S. (2013). Antioxidant properties of phlorotannins from brown scaweed *Cystoscira trinodis* (Forsska" I) C. Agardh Arabian Journal of Chemistry, 1-7.

Shanmuga Rajan, N. and Bhat, R. (2015). Antioxidant compounds and antioxidant activities in unripe and ripe kundang fruits (Bouea macrophylla Griffith). Fruits, 71(1): 41-47.

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T., 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 40(6): 945-948.

Singh, A., Nigam, P.S. and Murphy, J.D. (2008). Renewable fuels from algae: an answer to debatable land based fuels. Bioresource technology, 102(1): 10-16.

Sumathi, S. and Krishnavenim, M. (2012). Preliminary Screening, antioxidant and antimicrobial potential of *Chaetomorpha antennina* and *Caulerpa scalpelliformis in vitro* study. International Journal of environmental sciences, 2(3): 2312-2320.

Taheri, A., Ghaffari, M., Bagherpour, N.S. and Attaran Fariman, G. (2017a). Evaluation of Antioxidant Activity of Extracts of Marine Algae *Halimeda tuna* Collected from the Chabahar Bay. Qom University Medical Science Journal, 11(5): 107-115.

Taheri, A., Ghaffari, M., Bagherpour, N.S. and Attaran Fariman, G. (2017b). Study the Antioxiative Properties of the Marine Algae *Cystoseira trinodis* extracts from Chabahar Coastal Water. Journal of Shahid Sadoughi University, 25(8): 658-669.

Utkina, N.K. and Krasokhin, V.B. (2010). Terahydroisoquinoline alkaloid N-ethylnorsalsolinol from the Australian marine sponge Xestospongia SP. Chemistry of Natural Compounds, 48(4): 715-716.

Vlaisavljević, S., Rašeta, M., Berežni, S., Passamonti, S. and Tramer, F. (2021): Four selected commercial seaweeds: biologically active compounds, antioxidant and cytotoxic properties. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 1-11.

Yuan, Y.V. and Walsh, N.A. (2006). Antioxidative and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. Food Chemical Toxicology, 44: 1144-1150.

Determination of some In-vitro antioxidant properties of *Chaetomorpha antennina* green macro-algae extract of Oman Sea

Z. Fathi Karizak[1], A. Taheri[2*]

Received:2021.3.23
Accepted:2021.7.19

Abstract

Nowadays, due to the advancement of technology, understanding the medicinal applications of seaweed products is an important issue. For this purpose, the antioxidant activity of different organic extracts from *Chaetomorpha antennina* green algae of the Oman Sea was investigated. Methanol, chloroform, hexane, and dichloromethane used for extraction and diphenyl phicerylhydrazyl free radical (DPPH) scavenging, iron ion chelation, and reduction power were used to investigate antioxidant properties. The results showed that the highest antioxidant capacity based on the DPPH test was related to hexane and methanolic extract (85.72±1.69 and 85.42±5.59%), in chelating activity test, methanolic extract (32.54±2.89%) and reduction power test methanolic extract (0.254 ±0.01ʌ) had the maximum amount. Therefore, the present study showed the very good antioxidant effects of methanolic and dichloromethane compounds extracted from *Chaetomorpha antennina* green algae at a concentration of 1 mg/ml.

Keywords: *Chaetomorpha antennina, Free Radical, Green algae, Natural antioxidant, Reduction power*

1- Ph.D. student, Fisheries Department, Marine Sciences Faculty, Chabahar Maritime University, Iran
2- Associate Prof., Fisheries Department, Marine Sciences Faculty, Chabahar Maritime University, Iran
*(Corresponding author: taherienator@gmail.com)