DOI: 10.22092/vj.2019.116154.1378
شماره ۱۲۷ تابستان ۱۳۹۹
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

سنجش خواص آنتی اکسیدانی اسیدین دریای عمان *(Phallusia nigra)*

• **علی طاهری (نویسنده مسئول)**
دانشیار فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار
• **زینب باوی**
دانشجوی دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶-۰۹-۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸-۰۲-۱۷
Email: taherienator@gmail.com

چکیده

امروزه بررسی ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی مستخرج از موجودات دریایی مورد توجه می‌باشد. لذا در این مطالعه خواص آنتی اکسیدانی اسیدین *Phallusia nigra* سواحل چابهار بررسی شد. خواص آنتی اکسیدانی با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد *Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH)*، قدرت کاهشی و فعالیت کلاته‌کنندگی با استفاده از حلال‌های متانول، اتانول و کلروفرم بررسی شد. از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی دانکن جهت آنالیز آماری استفاده شد. بیشترین درصد مهار رادیکال *DPPH* مربوط به غلظت *mg/ml* ۱ عصاره متانولی با مهار ۱/۵± ۹۳/۰۹ درصد بود. در روش سنجش قدرت کاهشی، غلظت *mg/ml* ۱ عصاره متانولی بیش از سایر عصاره‌ها بود (۰/۰۱±۰/۳۵). فعالیت کلاته‌کنندگی عصاره کلروفرمی در همه غلظت‌ها بالاترین درصد را داشت. در هر سه روش رابطه مستقیمی بین غلظت، توانایی مهار و جذب عصاره‌ها برقرار بود. نتایج نشان داد خواص آنتی اکسیدانی *Phallusia nigra* بسیار قابل توجه و می‌تواند مبنایی برای انجام مطالعات بعدی به منظور دستیابی به مواد دارویی جدید برای درمان بسیاری بیماری‌ها از جمله سرطان باشد. همچنین پس از انجام مطالعات درون تنی، پیش کلینیکی و کلینیکی می‌توان از عصاره آن در صنایع آرایشی و بهداشتی و دامپزشکی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: رادیکال آزاد، آنتی اکسیدان، آسیدین، عصاره، چابهار

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Researches & Biological Products No 127 pp: 93-99

Evaluation the antioxidative properties of the sea squirt Ascidian (*Phallusia nigra*) from Oman Sea

By: Taheri A. (Corresponding Author), Fisheries Department, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran. Z. Bavi, Fisheries Department, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

Received: 2017-11-28 **Accepted: 2019-05-07**

Email: taherienator@gmail.com

Antioxidants are free radical scavengers, which protect the body against oxidative damages. Marine organism have also attracted attention in research on natural antioxidants. Therefore antioxidative properties of ascidian (*Phallusia nigra*) extracts from Oman Sea were investigated. DPPH free radical scavenging, reduction power and metal chelating activity were employed to identify the antioxidant properties by using methanol, ethanol and chloroform solvents. Experimental results of this study were presented as mean ± standard deviation of three replications and for analyzing data were analyzed by one-way ANOVA and Duncan multiple range test. The concentration of (1 mg/ml) methanol gained the highest percentage of DPPH radical scavenging (i.e. 93.09 ± 1.5 %). In reduction power assay, concentration of (1 mg/ml) methanol (0.35 ± 0.01) was higher in comparison with other extracts. In all the concentrations, Metal chelating activity of chloroform extract was reported to have the highest percentage. In all three assays, there was a direct relationship between concentration, control and absorption power of extract. In this study, the antioxidant properties of *Phallusia nigra* showed to be significant and could be used for further studies in order to find new pharmaceutical compounds for treating many diseases like cancer. Moreover After preclinical and clinical studies, the extract can be used in cosmetic and veterinary medicine industries.

Key words: *free radical, antioxidant, Phallusia nigra, DPPH, extract*

مقدمه

رادیکال‌های آزاد منجر به جهش در DNA، پروتئین‌ها، چربی‌ها و ریز مولکول‌های سلولی مرتبط با تعدادی از فرآیندهای پاتولوژیک، از جمله ورم مفاصل، دیابت، تشکیل آب مروارید، دیستروفی عضلانی، اختلالات ریوی، سرطان و اختلالات عصبی مانند بیماری آلزایمر می‌شوند (۲۲). آنتی‌اکسیدان‌ها مهارکننده رادیکال‌های آزاداند، که اکسیداسیون را به تعویق می‌اندازند و زنجیره آغاز شده توسط مولکول‌هایی با انرژی زیاد را متوقف می‌کنند. در نتیجه محافظ بدن در برابر آسیب‌های اکسیداتیو هستند (۳). تمام موجودات زنده دارای سیستم‌های پیچیده‌ای از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۱۴). تحت شرایط پاتولوژیک، تعادل بین تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژن به هم می‌خورد. به این دلیل نیاز به آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی یا طبیعی که می‌توانند فشار اکسیدانی و اثرات بد را خنثی کنند دیده می‌شود (۱۲). چندین آنتی اکسیدان مصنوعی مانند بوتیل هیدروکوئینون، بوتیل هیدروکسی تولوئن، تروت بوتیل هیدروکوئینون به صورت تجاری در دسترس بوده و استفاده می‌شوند (۲۲). اگر چه بسیاری از آنتی اکسیدان‌های مصنوعی برای درمان بیماری‌های مختلف امیدوارکننده هستند، اما ماهیت سیتوتوکسیک یا پراکسیدانی آنها درغلظت بالاتر، مانع از استفاده طولانی مدت آنها می‌شود (۲۳). برخی از مطالعات سم‌شناسی نیز نقش کاربرد این آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی در توسعه و گسترش سلول‌های سرطانی در موش را نشان داده است (۲۲). از این رو، کشف محصولات طبیعی و متابولیت‌های جدید جدا شده از میکروارگانیسم‌ها، حیوانات و گیاهان با اثر بخشی بالا در برابر سلول‌های توموری بدون هر گونه سمیت روی سلول‌های طبیعی، یک جهش بزرگ در پژوهش‌های علمی به شمار می‌آید (۲۵).

امروزه محیط زیست دریایی به عنوان یک منبع غنی از فرآورده‌های طبیعی با کاربردهای درمانی گسترده مورد توجه قرار گرفته است (۹). موجودات دریایی نیز منابع مهم و امیدوارکننده در تحقیقات سرطان هستند و تعدادی از ترکیبات این موجودات در آزمایشات بالینی به عنوان عوامل ضد تومور مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۹). موجودات دریایی دارای تنوع تاکسونومیک، سنتز متابولیتی و ساختارهای متنوع همراه با فعالیت‌های بیولوژیکی جالب توجه برای مواد غذایی، محصولات آرایشی، زیست فناوری و داروسازی است (۵). اسیدین ها یا آب فشان‌های دریایی، بزرگترین و متنوع‌ترین رده از زیرشاخه نیام داران (Tunicata) می‌باشند (۲۰). گزارش شده است که جانوارن نیام دار منابع غنی از ترکیبات فعال بیولوژیکی‌اند و در این خصوص در رتبه‌بندی، پس از اسفنج‌های

www.SID.ir

Archive of SID

دریایی مقام سوم را به خود اختصاص داده‌اند (۷). در مطالعات خارج از کشور مواد استخراج شده از تونیک‌های دریایی خشک شده فعالیت سیتوتوکسیک، ضد باکتری، ضد تب، ضد درد را نشان داده است (۱۳).
گونه *Phallusia nigra* فراوان‌ترین موجود آبفشان (ascidian) در سواحل خلیج فارس است (۱) و در دریاهای نواحی گرمسیری سرتاسر جهان یافت می‌شود و معمولاً در آب‌های کم عمق و چسبیده به بسترهای سخت زندگی می‌کنند (۲۰). در مطالعات خواص ضد باکتریایی عصاره بدن و خون آبفشان مشخص شد که ترکیباتی چون دیدمین، هالوسیامین، پیکلاوین، لیزوکلینوتوکسین دارای فعالیت ضد باکتریایی قوی هستند (۸). مطالعه روی خواص آنتی اکسیدان عصاره بدن این موجود بسیار اندک است و متاسفانه در ایران مطالعات کمی روی خواص زیست فعال این منابع ارزشمند انجام گرفته است و مطالعات زیست‌فنآوری در این زمینه ضروری می‌باشد (۱۰). چابهار یکی از شهرستان‌های ساحلی استان سیستان و بلوچستان است که در جنوب شرقی ایران واقع شده (۱۹) و گونه *Phallusia nigra* در آن یافت می‌شود. لذا، در این مطالعه به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف *Phallusia nigra* جمع‌آوری شده از سواحل چابهار پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

مواد و جمع‌آوری نمونه

متانول، کلروفرم و اتانول (Duksan, korea) و Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH)، اسید اسکوربیک، بافر فسفات سدیم، پتاسیم فری سیانید، تری کلرواستیک اسید (TCA)، کلرید آهن (Fe+۳) و (Fe+۲)، ferrozine، استاندارد Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA)، از شرکت سیگما آلدریچ خریداری شدند. نمونه‌ی *Phallusia nigra* از ایستگاه ساحل تیس (با طول جغرافیایی ۶۰ درجه و ۳۶ دقیقه و عرض جغرافیایی ۲۵ درجه و ۲۱ دقیقه) شهرستان چابهار جمع‌آوری و پاک سازی شد. در مرحله بعد نمونه‌ها در هوای آزاد خشک و از آنها پودر تهیه گردید.

استخراج عصاره

عصاره‌گیری با استفاده از سه حلال متانول، اتانول و کلروفرم انجام شد. جهت تهیه هر یک از عصاره‌ها مقدار ۱۵ گرم از پودر آماده شده با mL ۷۰ از حلال مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در شیکر انکوباتور (فن آزما گستر، ایران) قرار داده شد. عصاره حاصل بعد از عبور از کاغذ صافی واتمن ۴۲ (واتمن، آلمان) و فیلتر شدن در دمای ۲۵ درجه در زیر هود، به طور کامل حلال پرانی شد. عصاره خالص پس از جمع‌آوری و توزین، تا انجام تست‌های سنجشی در دمای۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه داری شد (۱۵).

روش مهار رادیکال آزاد DPPH

فعالیت حذف رادیکال آزاد Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) یکی از روش‌های رایج برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی متابولیت‌ها است و می‌تواند نمونه‌های زیادی را به سرعت سنجش نماید و به میزان کافی برای سنجش در غلظت‌های کم حساسیت دارد. کاهش در جذب رادیکال DPPH که به علت فعالیت آنتی‌اکسیدان ایجاد می‌شود به علت حذف فعالیت رادیکالی با هیدروژن دهندگی آنتی‌اکسیدان است. بر این اساس رنگ محلول از بنفش به زرد تغییر می‌کند و توسط اسپکتروفتومتر قابل سنجش می‌باشد. برای این منظور میزان ۱ mL از محلول DPPH (mol/ml) ۰/۱ متانول ۹۵٪ (حجمی/حجمی) با غلظت های مختلف از عصاره‌های متانولی، اتانولی و کلروفرمی انکوبه شد. مخلوط حاصل اندکی تکان داده شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی قرار گرفت و جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر در برابر بلنک قرائت شد. فعالیت بدام انداختن رادیکال DPPH به عنوان یک کاهش در جذب اندازه‌گیری شد (۱۱). محاسبه مربوط به آن با استفاده از فرمول (۱) صورت گرفت:

فرمول (۱)

$$\text{٪ مهار رادیکال آزاد} = [(A_c - A_s)/A_c] \times ۱۰۰$$

A_C: میزان جذب کنترل، A_S : میزان جذب نمونه / استاندارد از اسید اسکوربیک نیز به عنوان استاندارد استفاده شد.

قدرت کاهشی (Reduction power)

قدرت کاهشی یک ترکیب یا متابولیت نشان از فعالیت آنتی‌اکسیدان آن ترکیب می‌باشد. بر این اساس اگر عامل کاهش‌دهنده موجود باشد، ترکیب آهن فریک/ فری سیانید که ۳ ظرفیتی است به آهن فروس که ۲ ظرفیتی می‌باشد کاهیده می‌شود و میزان یون فروس توسط جذب در ۷۰۰ نانومتر قابل سنجش است. بر این اساس میزان ۱ ml از نمونه با ۱ ml بافر فسفات سدیم (۰/۲ مولار با pH ۶/۶) و ۱ ml فری سیانید ۱۰٪ مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۵۰°C انکوبه شد. پس از این مدت نمونه ها به سرعت سرد گردید و در ادامه ۱ ml محلول TCA ۱۰٪ به مخلوط اضافه شد. میزان ۱ ml از این مخلوط با ۱ ml آب مقطر و ml ۰/۴ کلرید آهن (۰/۱ درصد) ترکیب و بعد از ۱۰ دقیقه میزان جذب آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید. نتایج به صورت درصد فعالیت جذب اسید اسکوربیک (۰/۰۲ mg/ml) گزارش شد (۲۳).

فعالیت کلاته کنندگی فلزات (Metal Chelating Activity)

ترکیب فروزین می‌تواند با یون آهن فروس ترکیب شود. در حضور عوامل کلاته‌کننده یون فلز از دسترس خارج می‌شود و میزان این ترکیب کاهش می‌یابد. بنابراین میزان تغییر رنگ می‌تواند تخمینی صحیح از فعالیت کلاته‌کنندگی ایجاد نماید و در طول موج ۵۶۲ نانومتر قابل سنجش است. برای این منظور میزان ۰/۰۱ میلی‌لیتر $FeCl_2$ به ml ۳/۷ از نمونه حاوی عصاره افزوده شد و بعد از سه دقیقه، واکنش با اضافه کردن ml ۰/۲ ferrozine شروع شد. پس از آن محلول به شدت تکان داده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در نهایت میزان جذب محلول در طول موج ۵۶۲ نانومتر قرائت شد (۱۱). درصد مهار کمپلکس ferrozine-Fe2+ تشکیل شده با استفاده از فرمول (۲) محاسبه شد:

فرمول۲

$$\text{درصد مهار} = [A۰/(A۱ - A۰)] \times ۱۰۰$$

در این فرمول A۰ جذب کنترل و A۱ جذب عصاره ها /استاندارد را نشان می دهد.

گروه کنترل حاوی $FeCl_2$ و ferrozine و آب مقطر می‌باشد. از EDTA به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

آنالیزهای آماری

نتایج آزمایشگاهی مربوط به این مطالعه به صورت انحراف معیار ± میانگین در سه تکرار گزارش شد. از آنالیز واریانس یک طرفه در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ جهت بررسی‌ها استفاده شد و مقایسه میانگین با آزمون دانکن انجام شد. از نرم‌افزار Graphpad Prism نسخه پنج استفاده شد.

نتایج

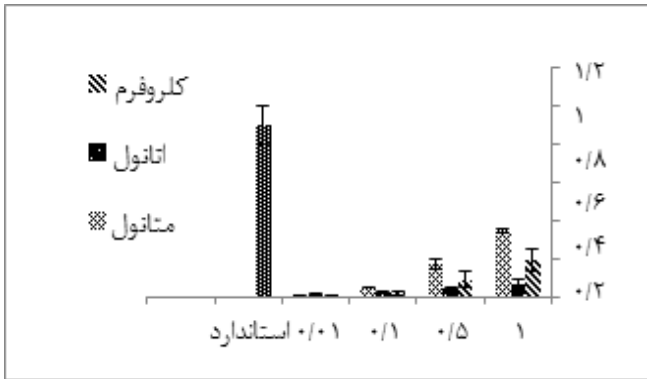
فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

جدول یک کاهش در غلظت رادیکال DPPH را با توجه به توانایی مهار عصاره حلال‌های متانول، اتانول و کلروفرم *Phallusia nigra* و استاندارد نشان می‌دهد. نتایج نشان داد حلال‌های مختلف اثر مهار کنندگی متفاوتی دارند و با افزایش غلظت عصاره‌ها درصد مهار رادیکال آزاد افزایش می‌یابد. غلظت mg/ml ۱ عصاره متانولی نسبت به سایر غلظت‌ها درصد مهار رادیکال بالاتری داشت ($p<0/05$). غلظت mg/ml ۱ عصاره متانولی با ۱/۵± ۹۳/۰۹ ٪ و عصاره اتانولی با ۰/۰± ۰/۰۲ ٪ به ترتیب بالاترین و کمترین درصد مهارکنندگی را از خود نشان دادند. درصد مهار استاندارد برابر با ۰/۸± ۹۱/۴۵٪ بود.

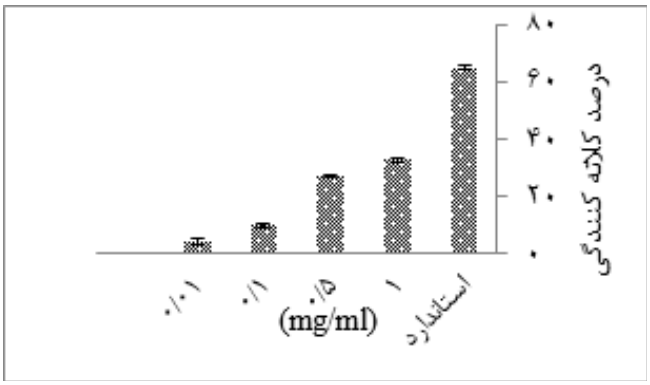
مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD) گزارش شد. حروف غیر هم نام در هر ستون نشان از اختلاف معنی‌دار دارد

قدرت کاهشی

شکل یک، قدرت کاهشی عصاره حلال‌های مختلف *Phallusia nigra* را در مقایسه با استاندارد اسید اسکوربیک نشان می‌دهد. غلظت mg/ ml ۱ عصاره متانولی بیشترین (۰/۰۱± ۰/۳۵) و عصاره اتانولی کمترین (۰/۰۲±۰/۰۷) مقادیر جذب را به خود اختصاص دادند. قدرت کاهشی استاندارد اسید اسکوربیک ۰/۱±۰/۹ بود. قدرت کاهشی همه عصاره‌ها



شکل۱- قدرت کاهندگی عصاره حلال های مختلف در مقایسه با استاندارد اسید اسکوربیک



شکل۲- فعالیت کلاته کنندگی عصاره متانولی در مقایسه با استاندارد EDTA

جدول ۱- فعالیت مهار رادیکال آزاد عصاره حلال های مختلف *Phallusia nigra*

عصاره غلظت(mg/mL)	متانولی	کلروفرمی	اتانولی
۱	۹۳/۰۹ ±۱/۵^{a}	۵۴/۶۶ ±۴/۹^{b}	۰/۰۲ ±۰/۰^{b}
۰/۵	۷۷/۹۲ ±۳/۱^{b}	۲۹/۴۷ ±۱/۳^{c}	۰/۰۱ ±۰/۰^{b}
۰/۱	۶/۰۹ ±۳/۳^{c}	۱۰/۴۳ ±۰/۶^{d}	۰/۰۱ ±۰/۰^{b}
استاندارد	۹۱/۴۵ ±۰/۸^{a}	۹۱/۴۵ ±۰/۸^{a}	۹۱/۴۵ ±۰/۸^{a}

www.SID.ir

Archive of SID

نیز وابسته به غلظت بود و با کاهش غلظت عصاره‌ها در هر سه حلال به طور معنی‌داری کاهش یافت.

فعالیت کلاته‌کنندگی فلزات

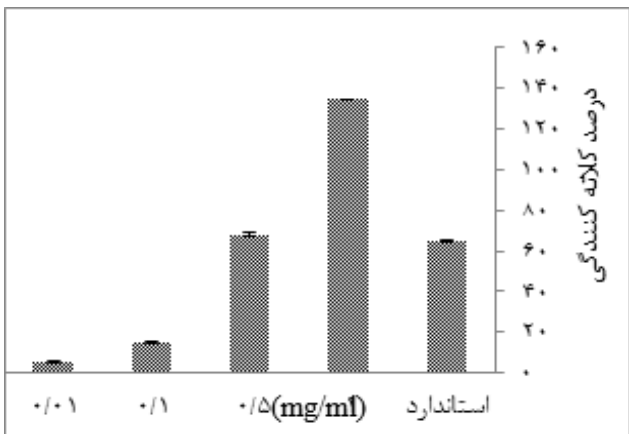
فعالیت کلاته‌کنندگی یون آهن عصاره‌ها و EDTA در شکل‌های ۲ تا ۴ نشان داده شده است. فعالیت کلاته‌کنندگی فلزات نیز با کاهش غلظت عصاره‌ها کاهش یافت. غلظت ۱ mg/ml نسبت به سایر غلظت‌ها فعالیت کلاته‌کنندگی بالاتری داشت ($p<0/05$). بیشترین درصد کلاته‌کنندگی در غلظت ۱ mg/ml مربوط به عصاره کلروفرمی ۰/۶۹±۱۳۴/۵۹٪ و کمترین درصد مربوط به عصاره ی اتانولی ۰/۱۹±۱۶/۰۹٪ بود.

بحث

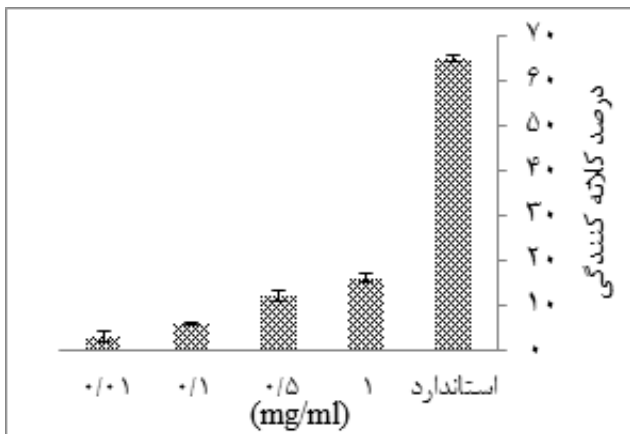
روش‌های متعددی برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. پیچیدگی شیمیایی عصاره‌ها اغلب از ترکیبات مختلف با گروه‌های عملکردی، قطبیت و رفتار شیمیایی متفاوت است و می‌تواند منجر به پراکندگی نتایج، بسته به نوع آزمون به کار رفته شود. در نتیجه، رویکرد بکارگیری روش‌های متعدد برای ارزیابی توانایی آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، مفید و ضروری است (۵). بنابراین، در این مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آسیدین دریای عمان با استفاده از روش‌های سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال آزاد DPPH، قدرت کاهشی و فعالیت کلاته کنندگی فلزات مورد بررسی قرار گرفت.

DPPH به طور گسترده برای ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد استفاده می‌شود (۲). در این روش، رادیکال بنفش بوسیله آنتی‌اکسیدان و یا ترکیبات کاهنده، تبدیل به محلول زرد کم رنگ هیدرازین می‌شود. این کاهش رادیکال بنفش با دادن هیدروژن توسط آنتی‌اکسیدان‌ها صورت می‌گیرد که از طریق کاهش میزان جذب در طول موج‌های بلند (۵۲۰- ۵۱۵ نانومتر) مشخص می‌شود (۱۶). روش قدرت کاهشی یک ترکیب نیز به حضور کاهنده‌ها (آنتی‌اکسیدان)، که فعالیت آنتی‌اکسیدانی را با شکستن زنجیره رادیکال‌های آزاد و دادن اتم هیدروژن اعمال می‌کنند، وابسته است (۱۷). بیشترین جذب نشان‌دهنده قدرت کاهشی بیشتر می‌باشد. فعالیت کلاته‌کنندگی فلزات یکی دیگر از روش‌های آنتی اکسیدانی است زیرا می‌تواند غلظت فلزات را که واسطه تسریع‌کننده پراکسیداسیون لیپید می‌باشند، کاهش دهد. در میان فلزات واسطه، آهن به دلیل فعالیت بالای خود به عنوان یکی از مهم‌ترین پراکسیدان‌های اکسید کننده چربی شناخته شده است. فعالیت کلاته‌کنندگی فلزات ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجب مهار تشکیل رادیکال‌های آزاد و صدمات ناشی از آن‌ها می‌شود. عوامل کلاته‌کننده با فلزات پیوند می‌دهند و به عنوان آنتی اکسیدان‌های ثانویه موثر می‌باشند (۱۵).

در این مطالعه فعالیت مهار رادیکال آزاد در غلظت ۰/۱ تا ۱ mg/ml از سه حلال متانول، اتانول و کلروفرم در مقایسه با استاندارد اسید اسکوربیک مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به جدول یک، رابطه مستقیمی بین غلظت عصاره‌ها و درصد مهار وجود دارد، به این ترتیب که با کاهش غلظت عصاره‌ها درصد مهار رادیکال نیز کاهش می‌یابد به طوری که درصد مهار رادیکال درغلظت ۱ mg/ml حلال ها بیشتر از سایر غلظت ها بود. اثر مهار کنندگی غلظت ۱ mg/ml عصاره متانولی با برابر با اثر مهار استاندارد بود و بالاترین درصد را در بین عصاره‌ها داشت. عصاره کلروفرمی در مقام بعدی بود و عصاره اتانولی کمترین درصد مهار را از خود نشان دادند. پریا و همکاران خواص آنتی اکسیدانی آسیدین را با استفاده از حلال‌های مختلف مورد بررسی قرار دادند، که وجود رابطه مستقیم بین افزایش غلظت و افزایش درصد مهار را گزارش دادند اما در



شکل۳- فعالیت کلاته کنندگی عصاره کلروفرمی در مقایسه با استاندارد EDTA



شکل۴- فعالیت کلاته کنندگی عصاره اتانولی در مقایسه با استاندارد EDTA

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه آن‌ها بیشترین درصد مهار رادیکال به ترتیب مربوط به عصاره کلروفرمی، اتانولی و متانولی بود که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی نداشت. این محققین علت بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به وجود موادی از جمله آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، فلاونوییدها، گلیکوزیدها و به ویژه ترکیبات فنولیک و تانین‌ها ارتباط دادند (۲۱).

نتایج قدرت کاهشی همه عصاره‌ها نیز وابسته به غلظت بود و با کاهش غلظت عصاره‌ها در هر سه حلال به طور معنی‌داری کاهش یافت که باز هم روند آزمایش قبلی مشاهده شد و درغلظت ۱ mg/ml، عصاره متانولی، عصاره کلروفرمی و عصاره اتانولی به ترتیب بیشترین و کمترین مقادیر جذب را به خود اختصاص دادند و از میزان جذب استاندارد اسید اسکوربیک کمتر بودند. عوامل آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌ها موجب احیای ترکیب Fe^{3+}/ فری سیانید به شکل آهن فروس می‌شود و موجب بهبود قدرت کاهشی می‌شود (۲۳).

اما در روش کلاته‌کنندگی، فعالیت کلاته‌کنندگی عصاره کلروفرمی قابل ملاحظه بود و تفاوت معنی‌داری با درصد کلاته‌کنندگی نمونه استاندارد داشت و غلظت ۰/۵ mg/ml این عصاره فعالیتی برابر با استاندارد داشت، بیشترین درصد کلاته‌کنندگی در غلظت یک به ترتیب مربوط به عصاره کلروفرمی و کمترین درصد مربوط به عصاره اتانولی بود. به طور کلی عصاره کلروفرمی در همه غلظت‌ها بالاترین درصد را به خود اختصاص داد. آسیدین‌ها و تونیکیت‌ها دارای اولیگوپپتیدی در خون خود هستند که تونی کروم نام دارد و اثبات شده است که دارای فعالیت کلاته‌کنندگی یون فلزی بالایی به خصوص برای یون آهن و کروم می‌باشد (۲۴). شاید بتوان فعالیت بالای فعالیت کلاته‌کنندگی عصاره در مطالعه حاضر را به وجود این نوع اولیگو پپتیدها مربوط دانست. هر چند اثرات ضدسرطانی و ضد توموری عصاره‌های آبفشان تایید شده است (۶)، اما متاسفانه مطالعه‌ای که بتوان با استفاده از آن نتایج مربوط به دو روش قدرت کاهشی و فعالیت کلاته‌کنندگی مطالعه حاضر را با آن مقایسه کرد، یافت نشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که گونه *Phallusia nigra* دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی می‌باشد. از یافته‌های این کار می‌توان برای پژوهش‌های بیشتر جهت شناسایی، جداسازی و مشخص کردن ترکیبات خاص، که مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی اند، استفاده کرد. هم‌چنین می توان از آن در مطالعات درون تنی، کلینیکی و پیش کلینیکی برای استفاده در دامپزشکی و صنایع آرایشی و بهداشتی بهره گرفت.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به جهت حمایت از پژوهش حاضر تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع مورد استفاده

1. Afkhami, M., M. Ehsanpour, F. Forouzan, K. Darvish Bastami, A.H. Bahri and A. Daryaei. 2012. Distribution of ascidians *Phallusia nigra* (Tunicata: Ascidiacea) on the north coast of the Persian Gulf, Iran. *Marine Biodiversity Records* 5:91-95.

2. Chang, L.W., W.J. Yen, S.C. Huang and P.D. Duh. 2002. Antioxidant activity of sesame coat. *Food Chemistry* 78: 347–354.

3. Cespecles, C.L., M. EI-Hafidi, N. Pavon and J. Alarcon. 2008. Antixoidant and cardioprotective activities of phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpaceae) Maqui. *Food Chemistry* 107: 820-829.

4. Chia Ling, J. and K.O. Wen-ching. 2002. 1, 1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging by protein hydrolyzates from tuna cooking juice. *Fisheries Science* 68: 430–435.

5. Cho, M., H.S. Lee, I.J. Kang and S.G. You. 2011. Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. *Food Chemistry* 127: 999-1006.

6. Cooper E. L. and D. Yao. 2012. Diving for drugs: tunicate anticancer compounds. *Drug Discovery Today* 7(11-12): 636- 648.

7. Davis A.R. and J.B. Bremner. 1999. Potential antifouling natural products from ascidian: A review. Bioactive compounds from marine organisms. Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd, New Delhi: 259-310.

8. Findlay C. and V. J. Smith. 1995. Antimicrobial factors in solitary ascidians. *Fish & Shellfish Immunology* 5: 645-658.

9. Guedes, É.A., T.G. da Silva, J.S. Aguiar, L.D. de Barros, L.M. Pinotti and A.E. Sant'Ana. 2013. Cytotoxic activity of marine algae against cancerous cells. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 23: 668-673.

10. Gharanjik, B.M., M. Wynne, X. Bangmei, S. Khajeh, H. Keyanmehr and M.R. Hosseini. 2011. The biomass of the medicinal red algae (Rhodophyta) in the intertidal zone of the Chabahar coasts. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 20: 103-114. [in Farsi].

11. Ganesan, K., S.K. Kumar and R.P. Subba. 2011. Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, Enteromorpha from Okha, Northwest coast of India. *Innovative Food Sci.* Emerging Technol 12: 73-78.

12. Halliwell B. 2007. Dietary polyphenols: Good, bad, or indifferent for your health?. *Cardiovascular Research* 73: 341–347.

13. Jaffarali, H.A., M. Tamilselvi and V. Sivakumar. 2008. Antibacterial activity of the marine ascidians *Phallusia nigra* and *Herdmania pallida* from the Tuticorin coast, India and Herdmania pallida from the Tuticorin coast. *Journal of Biological Research-Thessaloniki* 10: 171 – 179.

14. Kim, S.K. and R. Pallela. 2012. Medicinal Foods from Marine Anim als: Current Status and Prospects. *Advances in Food and Nutrition Research* 65: 1-9.

15. Lim, S.N., P.C. Cheung, V.E. Ooi and P.O. Ang. 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed

www.SID.ir

Archive of SID

Sargassum siliquastrum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (50): 3862–6.

16. Magalhaes, L.M., M.A. Segundo, S. Reis and JL. Lima. 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta* 613: 1–19.

17. Meir, S., J. Kanner, B. Akiri and P. Hadas. 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 1813–1819.

18. Nazarian, M., S.J. Hosseini, I. Nabipour and G.H. Mohebbi. 2015. Marine bioactive peptides with anti-cancer potential. *ISMJ* 18: 607- 29. [in Farsi]

19. Peymani, J., A. Gharaei, M. Ghaffari and A. Taheri. 2013. Antibacterial activity of the brown algae (*Sargassum glaucescens*) ethanolic and aqueous extracts from Chabahar coasts, Oman Sea, Iran. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 4: 13-21. [in Farsi]

20. Rocha, R.M.D., T.M.D.C. Lotufo and S.D.A. Rodrigues. 1999. The biology of *Phallusia nigra* Savigny, 1816 (Tunicata: Ascidiacea) in southern Brazil: Spatial distribution and reproductive cycle. *Bulletin of Marine Science* 64: 77-87.

21. Priya, S.D., H.K.S. Christy, S. Sankaravadivu and C.S. Packiam. 2015. Antioxidant activity of the simple ascidian *Phallusia nigra* of Thoothukudi Coast. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry* 12: 410-412.

22. Suresh Kumar, K., K. Ganesan and P. Subba Rao. 2007. Antioxidant potential of solvent extracts of Kappaphycus alvarezii (Doty) Doty – An edible seaweed. *Food Chemistry* 107: 289–295.

23. Suganthy, N., S. Arif Nisha and S. Karutha. 2013. Evaluation of *Gelidiella acerosa*, the red algae inhabiting South Indian coastal area for antioxidant and metal chelating potential. Biomedicine & *Preventive Nutrition* 3: 399-406.

24. Sugumaran, M. and W.E. Robinson. 2012. Structure, biosynthesis and possible function of tunichromes and related compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part B: Biochemistry & Molecular Biology* 163: 1–25.

25. Zorofchian Moghadamtousi, S., H. Karimian, R. Khanabdali, M. Razavi, M. Firoozinia and K. Zandi. 2014. Anticancer and Antitumor Potential of Fucoidan and Fucoxanthin, Two Main Metabolites Isolated from Brown Algae. *The Scientific World Journal* 3:1-10.

www.SID.ir