کارگاه‌های آموزشی مرکز اطلاعات علمی

آموزش نرم‌افزار Word برای پژوهشگران

روش تحقیق کمی

آموزش مهارت‌های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI

Archive of SID

International conference ON MODERN RESEARCH IN AGRICULTURAL SCIENCE AND ENVIRONMENT December 15, 2015 MALAYSIA – KUALA LUMPUR

کنفرانس بین المللی پژوهش های نوین در علوم کشاورزی و محیط زیست ۲۴ آذر ماه ۱۳۹۴ کوالالامپور - مالزی

بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی جلبک سبز کارا جمع آوری شده از تالاب های شهرستان ساری

علی النقی اکبری لالایی
دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد قائمشهر
hossein.akbari1372@yahoo.com
عباسعلی دهپور جویباری
گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد قائمشهر
dehpour@gmail.com
ساره رضایی
دانشجوی کارشناسی ارشد تکوین گیاهی دانشگاه پیام نور ساری
sarhrezaee@yahoo.com
سیده فاطمه هاشمیان
کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد قائمشهر
Sf_hashemiyan1394@yahoo.com
مهدیه طاهری
کارشناسی ارشد مدیریت خدمات بهداشت و درمانی دانشگاه آزاد ساری
mahdie.taheri67@gmail.com
محمدکیایی
کارشناسی ارشد تکوین گیاهی دانشگاه آزاد دامغان
km577332@gmail.com
زهرا عشقی
کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری دانشگاه آزاد قائمشهر
z4hra.eshghi@yahoo.com

چکیده

جلبک هابه عنوان اولین تولید کننده در اکوسیستم آبی ، منبع غذایی عمده برای انواع موجودات محیط زنده می باشند ، جلبکها داری مواد با ارزشی چون آنتی اکسیدانی شامل محتوی ویتامین ها ، پلی فنول ها ، روی ، آهن وغیره می باشد ، کارا با ظاهری شبیه گیاه دم اسب که امروزه عنوان اجداد گیاهان خشکی زی مد نظرقرار می گیرد از منطقه تالاب های اطراف شهرستان ساری واقع در شمال استان مازندران جمع آوری گردید پس از شناسایی خشک گردیده سپس با روشهای متداول عصاره گیری شد و فعالیت آنتی اکسیدانتی ان با روش DPPH و محتوی فنول و فلاونوئید آن مورد ارزیابی قرار گرفت در بررسی اثرات انتی اکسیدانتی با روش DPPHمیزان IC50 =780 mg.ml تعیین گردید و میزان فنل و فلاونوئید آن به ترتیب 44.6 و32.12mg/ml تعیین شد در نتیجه عصاره جلبکی مورد نظر دارای منبع آنتی اکسیدانی با ارزشی می باشد، همچنین عصاره اتانولی جلبک مورد نظر دارای مقدار بالای فنل می باشد که باعث مهار رادیکالهای آزاد می شود.

واژه های کلیدی :آنتی اکسیدان ، عصاره ، کارا

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در بسیاری از کشورها جلبک تازه دریایی به عنوان غذا مورد استفاده قرار می گیرد ، چرا که جلبکها به دلیل ارزش غذایی دارای پروتئین ها ، پلی ساکاریدها وفیبر و همچنین غنی از آنتی اکسیدانها وریز مغذی ها مانند ویتامینها می باشند(Govindan et al. ,2012). ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها معمولا در گیاهان وجلبکهای دریایی یافت می شود این شامل مواد مختلف آلی وغیر آلی که می تواند در سلامت انسان بهره مند شوند ، این ترکیبات می توانند رادیکالهای آزاد که نقش مهمی را بر سلامت انسان دارد که موجب بیماریهایی مثل : بیماری قلبی ، سرطان ، فشار خون بالا ، دیابت وآترواسکلروز می باشد را مهار کند (Farasat et al. ,2014) ، جلبک کارا به عنوان یک منبع غذایی مهم در بسیاری از نقاط جهان است وبا وجود مواد مغذی ، ویتامینهای فراوان ، عناصر و رژیم غذایی حاوی فیبر به عنوان دارو در طب سنتی وبرای چربی خون ، گرمازدگی و بیماریهای اداری وغیره مورد استفاده قرار می گیرد (Qi et al., 2005) .جلبک سبز کارا از جمله ماکرو جلبک های سبز محسوب می شود که دارای پراکنش وسیع در آبهای شور وشیرین گزارش شده است .ظاهر این جلبک به گیاه دم اسب شبیه بوده وحتی امروزه این جلبک به عنوان اجداد گیاهان خشکی زی مد نظرقرار می گیرد(Chang et al. ,2002). هدف از این بررسی خواص آنتی اکسیدانتی و میزان فنل و فلاونوئیدی عصاره اتانولی جلبک کارا جمع آوری شده از منطقه تالابهای اطراف شهرستان ساری واقع در شمال استان مازندران می باشد.

روش تحقیق

استخراج عصاره اتانولی

برای تهیه عصاره ابتدا ۶۰ گرم از جلبک خشک شده را وزن و در دکانتور ریخته ودو برابر حجم ماده خشک اتانول می ریزیم اینکار را سه بار با اتانول تکرار می کنیم سپس عصاره بدست آمده رابوسیله روتاری یا روش تقطیر عصاره خالص را بدست می آوریم .

بررسی فعالیت به دام اندازی رادیکالDPPH

برای انجام این آزمایش از رادیکال‌های پایدار DPPH استفاده شد. به ۱ میلی‌لیتر از عصاره ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در اتاق تاریک قرار داده شد. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV در ۵۱۷ نانومتر با بلانک متانول قرائت شد .آسکوربیک اسید،BHA و کوئرستین به عنوان استاندارد استفاده شدند و میزان IC50 به معنی غلظتی از هر عصاره که لازم است تا ۵۰ درصد رادیکال-ها پاکسازی شوند، برای عصاره‌ها تعیین شد.در نهایت درصد به دام اندازی رادیکال DPPH طبق فرمول زیر محاسبه شد(Yen and chen,1995).

$$\left(\frac{A_B - A_S}{A_B}\right)\times 100$$

AB =جذب بلانک،AS=جذب نمونه یا استاندارد

اندازه گیری محتوی فنلی :

محتوای ترکیبات فنولی از طریق متد فولین سیوکالتیو انجام شد(Ordone et al., 2006). غلظت ۱ میلیگرم / میلی لیتر از هر عصاره تهیه شد. ۰/۵میلی لیتر از هر عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر واکنشگر ۰/۲ نرمال فولین سیو کالتیو مخلوط شد و به مدت

www.SID.ir

Archive of SID

۵ دقیقه هم زده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم با غلظت ۷۵گرم درلیتر اضافه شد. جذب نمونه‌ها پس از ۲ ساعت در دمای اتاق توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر ماوراءبنفش در ۷۶۰ نانومتراندازه‌گیری شد. نتایج بصورت مقادیر هم ارز با استاندارد اسید گالیک بیان شد. به این صورت که میانگین جذب حاصل در معادله خط به دست آمده از ترسیم منحنی استاندارد گالیک اسید قرار داده شد و نتیجه به عنوان محتوای تام فنولی عصاره بر اساس میزان معادل «میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره» گزارش شد.آزمایشات برای هر عصاره و استاندارد ۲ بار تکرار شد(Ghasemi et al., 2009).

اندازه گیری محتوی فلاونوئید :

میزان محتوای فلاونوئید هر عصاره از طریق روش‌های رنگ سنجی ارزیابی شد(Chang, 2002). غلظت ۱ میلیگرم / میلی لیتر از هر عصاره تهیه شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه در ۱/۵ میلی‌لیتر متانول حل شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ٪۱۰ به آن اضافه شد، سپس ۰/۱ میلی لیتر از محلول پتاسیم استات ۱ مولار ودر نهایت ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر هم به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و سپس جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی- ماوراءبنفش اندازه گیری شد. کوئرستین به عنوان استاندارد برای رسم منحنیکالیبراسیون استفاده شد.میزان فلاونوئید بر اساس میزان معادل «میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره» گزارش گردید. آزمایشات ۲ بار تکرار شد و میانگین آنها گزارش شد(Ghasemi et al., 2009).

تعیین قدرت احیاء کنندگی

میزان قدرت احیاء کنندگی عصاره‌ها از طریق متد ین و چن (۱۹۹۵) ارزیابی شد.غلظتهای مختلف از هر عصاره تهیه شد و با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفاته ۰/۲ مولار با pH= ۶/۵ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد پتاسیم فری سیانید[K3Fe(CN6)] مخلوط شد. در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد، سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول تری‌کلرواستیک اسید به نمونه‌ها اضافه شد تا واکنش متوقف شود. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. پس از اتمام این مرحله ۲/۵ میلی‌لیتر از قسمت بالای محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد فریک کلراید (FeCl3) به آن اضافه شد. سپس جذب محلول در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. دراین آزمایش آسکوربیک اسیدبه عنوان استاندارد استفاده شد.آزمایش برای هر نمونه سه بار تکرار شد.

یافته ها

نتایج حاصل از داده ها نشان می دهد که محتوی فنولی عصاره اتانولی جلبک کارا ۴۴,۶ mg/ml ،همچنین محتوی فلاونوئیدی عصاره اتانولی جلبک کارا ۳۲,۱۲ mg/ml می باشد . دربررسی فعالیت به روش DPPHمشخص گردید که IC_{50} عصاره متانولی ۷۸۰ mg.ml می باشد ، درمطالعه فعالیت آنتی اکسیدان جلبک کارا که مورد بررسی قرار گرفته است به علت محتوی فنل وفلاونوئید فعالیت آنتی اکسیدانتی بالاست ، همبستگی مثبت ومعنی دار قوی بین DPPH ومهار رادیکال وفنولیک ومطالعه فلاونوئید نشان داد که ترکیبات فنلی از جمله فلاونوئید ها علل اصلی از فعالیت آنتی اکسیدانی وفنل کل گونه جلبک کارا است . همچنین لازم به کار بیشتر در آزمایشگاه جهت بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی جلبک دریایی سواحل شمال به علت شرایط محیطی واثرات آن بر روی پارامترهای فیزیکوشیمیایی به طور طبیعی می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ : میزان به دام‌اندازی DPPH توسط استاندارد آسکوربیک اسید

غلظت (میکروگرم در میلی لیتر)	درصد به دام اندازی
۲۵	۹۶/۴
۱۲/۵	۷۱/۲
۶/۲۵	۵۵/۱
۳/۱۲۵	۴۴/۸
۱/۵۶۳	۳۸/۷

هریک ازمقادیر جدول میانگین به دست آمده ازسه آزمایش مختلف ± انحراف استاندارد می‌باشد .

جدول ۲: بررسی اثرات آنتی اکسیدانتی عصاره اتانولی جلبک کارا اثرگذاری را دیکال آزاد DPPH

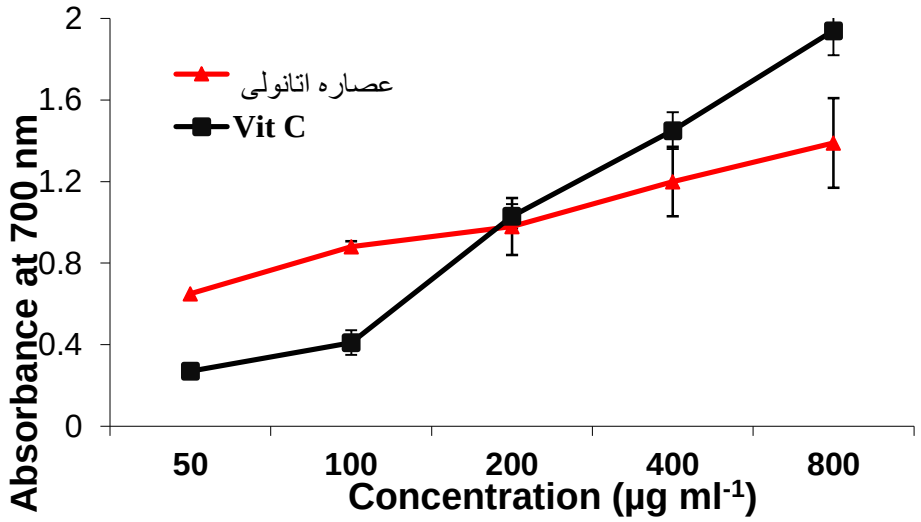
غلظت (میکروگرم در میلی لیتر)	درصد مهار(٪)
۸۰۰	۵۳/۳۷±0/2
۴۰۰	۴۲/۹۶±0/2
۲۰۰	۴۰/۷۶±0/1
۱۰۰	۲۱/۲۶ ±0/2
۵۰	۱۳/۴۸ ±0/2

در عصاره اتانولی جلبک با افزایش غلظت از ۵۰ تا ۸۰۰ درصد مهار از ۱۳/۴۸ تا ۵۳/۳۷ افزایش یافته است. اجزای جلبک به آرامی روند صعودی را طی کردند

عصاره اتانولی درصد احیاء کمتری را نسبت به Vitamin C (کنترل مثبت) نشان داد. بیشترین فعالیت مربوط به: Vitamin C

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱: مقایسه میزان قدرت احیاکنندگی عصاره جلبک با استاندارد آسکوربیک‌اسید

بحث و نتیجه‌گیری

فنول ها و پلی فنول ها به طور گسترده در بسیاری از مواد غذایی با منشأ گیاهی یافت می شوند و می توانند اثرات آنتی اکسیدانی بسیار بالایی داشته باشند (Sasaki et al., 1996). مکانیسم عمل فلاونوئیدها برای بروز اثر آنتی اکسیدانی به صورت جمع آوری رادیکال های آزادی مثل سوپر اکسید، آنیون ها، رادیکال های پراکسید چربی و رادیکال های هیدروکسیل می باشد. علاوه بر این توانایی به دام اندازی اکسیژن منفرد و شلات کردن فلزات را نیز دارند (Pokorny et al., 2001). مدل به دام اندازی رادیکال پایدارDPPH برای ارزیابی توانایی نمونه های مختلف در به دام اندازی رادیکال آزاد مورد استفاده قرار می گیرد. رادیکال DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن است که با احیا شدن و تولید مولکول پایدار DPPH-H از ارغوانی به زرد تغییر رنگ می دهد. رادیکال DPPH در ۵۱۷ نانومتر جذب دارد اما به محض احیا توسط یک آنتی اکسیدان، جذب کاهش می یابد. فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها به صورت ناپدید شدن رنگ ارغوانی بیان می شود(Junior et al., 2009). با توجه به داده های جداول، نتایج آزمون (درصد احیاء) یا مهار رادیکال‌های آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با ویتامین C مقایسه شد. همانگونه که دیده شد عصاره جلبک مورد درصد احیاء کمتری دارند، در مقایسه با ویتامین C . اجزای جلبک روند صعودی را طی کردند و با افزایش غلظت افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی دیده شد. درصد احیاء در ویتامین C بالاترین می‌باشد.با توجه به بررسی درصد احیاء، جلبک مورد بررسی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی برخوردار بوده و می‌تواند جایگزین خوبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی باشد.روش DPPH یک روش ساده وسریع و ارزان قیمت برای اندازه گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانت غذاها است. DPPH یک رادیکال پایدار و به عنوان پذیرنده هیدروژن غیر فعال بوده و به طور وسیعی برای مطالعه خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فعال زیستی (بیواکتیو) جداشده ازعصاره گیاهی به کار می‌رود. قدرت احیا کنندگی، توانایی الکترون دهندگی آنتی اکسیدان را نشان می دهد. چنانچه

www.SID.ir

Archive of SID

ترکیبی دارای این ویژگی باشد می تواند باعث کاهش میزان ترکیبات حد واسط اکسیده ساخته شده طی مراحل لیپیدپراکسیداسیون شود. به این ترتیب باعث شکستن زنجیره واکنش می شود و می تواند به عنوان آنتی اکسیدان اولیه و ثانویه عمل کند(yen and chen, 1995). سنجش قدرت احیا کنندگی نمونه، با استفاده از احیا آهنIII (فریک) به آهنII (فروس) انجام شد. با توجه به داده‌های جدول قدرت احیا کنندگی میزان جذب در ویتامین C بالاتراز عصاره اتانولی بود . با توجه به بررسی درصد مهار، جلبک مورد بررسی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی برخورداراست. جلبک های دریایی به علت داشتن دیواره سلولی پلی ساکاریدی سولفاته از گیاهان دریایی متمایز هستند. یکی از نکاتی که در خصوص خواص بیولوژیکی جلبک ها از گیاهان تمایز می شوند، وجود فعالیت آنتی اکسیدانتی دیواره پلی ساکاریدی جلبک ها می باشد(Govindan, 2012).

منابع

1. Govindan,s.,Thomas,j.andkurup , 2012 . invitro antioxidant and antitumor activity of plysacarir isolated from ulvafusciata . p-238
2. Farasat,m., khavari-nejad , A. Bagher-nabavi,M and forooghnamjooyan. 2014 . Antioxidant activity ,totalphenolics and flavonoid contents of som edible green seaweeds from northern coastsof the Persian gulf . 13(1):163-170
3. Qi H, Zhao T, Zhang Q, Li Z, Zhao Z , Xing R (2005). Antioxidant activity of different molecular weight sulfated polysaccharides from Ulva pertusa Kjellm (Chlorophyta). Appl. Phycol., 17: 527-534.
4. Ordone, AAL. et al. (2006).Antioxidant activities of Sechiumeduleswartz extracts, Food Chemistry,97,452-458.
5. Ghasemi,K., Ghasemi, Y., Ebrahimzadeh, M.A.(2009). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus specis peels and tissues. Pak. J. Pharm. Sci.,22 (3): 277-281.
6. Chang, C. et al.(2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods,J Food Drug Analysis, 10,178-182.
7. Yen, G C., Duh, P D. (1995). Antioxidant activity of methanolic extracts of peanut halsfromvariouscaltivars. Journal of the American oil chemist society. Vol. 62. pp. 1065-1067.

- Sasaki, A.B.E. et al.: Structural aspects of anti oxidants activity of flavonoids,Free radic.Biol.Med,1996,20:331-342
- Junior, M.R.M. et al.: Anti oxidant potential of aroma compounds obtained by limonene biotransformation of orange essential oil,Food chemistry,2009,116:8-12
- Pokorny, J. et al.: Anti oxidant in food ;practical application,America,Wood head publishing Ltd,2001:46-48

www.SID.ir

کارگاه‌های آموزشی مرکز اطلاعات علمی

آموزش نرم‌افزار Word برای پژوهشگران

روش تحقیق کمی

آموزش مهارت‌های کاربردی در تدوین و چاپ مقالات ISI