

مطالعه برخی خاصیت‌های آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum tenerrimum*) جمع‌آوری شده از سواحل خلیج فارس

- **سمیرا شاه‌حسینی:** گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **معظمه کردجری*:** گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **سامان احمدنصرالهی:** مرکز آموزش و پژوهش بیماری‌های پوست و جذام، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- **سیدمهدی اجاق:** گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **عاطفه نعیمی‌فر:** مرکز آموزش و پژوهش بیماری‌های پوست و جذام، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- **سلیم شریفیان:** گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

چکیده

امروزه اهمیت جلبک‌ها به عنوان منابع مهم غذایی، دارویی و صنعت در حال پیشرفت می‌باشد. مطالعه حاضر جهت تعیین مقدار فعالیت‌های ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Sargassum tenerrimum* سواحل خلیج فارس انجام شد. آزمایش‌های انجام شده در این پژوهش شامل سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، فنل کل، توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH و سوپراکسید بوده که نشان داد عصاره استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *S. tenerrimum* توانایی بالایی در خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد ($p < 0.05$). همچنین مقاوم شدن بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا در برابر داروهای مصنوعی و عوارض جانبی و گرانی داروهای شیمیایی توجه دانشمندان را به سمت داروهای طبیعی و گیاهی معطوف کرده است از این رو خاصیت ضدباکتریایی در برابر هفت گونه باکتری مختلف بیماری‌زا و غیربیماری‌زا مورد ارزیابی قرار گرفت. باکتری *Yersinia ruckeri* تنها باکتری مقاوم به عصاره مشخص شد ($p > 0.05$). طبق نتایج این مطالعه، عصاره جلبک قهوه‌ای *S. tenerrimum* می‌تواند به عنوان ترکیب باکتری‌کش و آنتی‌اکسیدان به مصرف غذایی، دارویی و آرایشی و بهداشتی برسد.

کلمات کلیدی: جلبک قهوه‌ای، فعالیت ضدباکتریایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، DPPH



مقدمه

جلبک‌های قهوه‌ای می‌باشند. جنس‌های مختلف این جلبک به علف هرز دریا یا صخره‌ای معروف هستند و در انتهای پاییز به بیش‌ترین رشد رسیده و در نهایت امواج دریایی آن‌ها را به ساحل منتقل می‌کند. متابولیت‌های جدا شده از آن‌ها حاوی ترکیباتی مانند آمینواسیدها، آلکالوئیدها، اسیدگالیک، پلی‌ساکاریدها، کاروتنوئیدها، پلی‌فنل‌ها و ترکیب‌های آروماتیک هستند (Huang و همکاران، ۲۰۱۶؛ Payghami و همکاران، ۲۰۱۵) که خواص متعدد آن‌ها مانند خاصیت ضدسرطانی، ضدالتهاب، ضداکسایشی، ضدحساسیت، ضدباکتریایی و مواردی از این دست در مطالعات متعدد گزارش شده است (پیمانی و همکاران، ۱۳۹۳؛ Hussain و همکاران، ۲۰۰۸؛ Andersson و Hughes، ۲۰۱۰) که باعث شده از آن‌ها به‌عنوان یک ترکیب ایده‌آل و کاربردی در صنایع مختلف استفاده شود (Sanjeeva و همکاران، ۲۰۱۶). با توجه به تنوع بالای متابولیت‌های تولید شده توسط جلبک‌ها، هدف از این مطالعه بررسی اثر ضدباکتری عصاره جلبک *S. tenerrimum* روی رشد برخی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت و همچنین بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی این عصاره است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده‌سازی جلبک‌ها: جلبک‌ها از منطقه بین جزر و مدی سواحل دریای عمان و خلیج فارس در زمان حداکثر جزر در زمستان ۹۶ از سواحل خلیج فارس با مختصات ۲۶ درجه و ۳۰ دقیقه عرض شمالی و ۵۵ درجه و ۱۶ دقیقه تا ۵۶ درجه و ۱۷ دقیقه طول شرقی، جمع‌آوری و با آب دریا شستشوی اولیه داده شدند. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه و شناسایی گونه توسط کارشناسان مرکز بیوتکنولوژی خلیج فارس، برای حذف گل و لای و دیگر مواد زائد شستشو و همراه با یخ به آزمایشگاه فرآوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال داده شدند. نمونه‌ها بار دیگر در آزمایشگاه به‌منظور حذف مقادیر زیاد نمک، گل و لای و اپی‌فیت با آب شیرین مورد شستشو قرار گرفته و بعد از خشک کردن در آون توسط آسیاب برقی به حالت پودری تبدیل شدند. نمونه‌ها در نهایت به‌صورت جداگانه داخل ظروف استریل بسته‌بندی و تا شروع آزمایش‌ها در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Sanchez-Machado و همکاران، ۲۰۰۴).

استخراج عصاره از جلبک *S. tenerrimum*: ۵۰ گرم پودر جلبک با ۱ لیتر آب مقطر هموژنیزه گشت (به نسبت ۱ به ۲۰). این سوسپانسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با دور rpm ۲۰۰ به مدت ۲۴ ساعت‌انکوباته شد. سپس با دور rpm ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مایع رویی (عصاره)

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و در برخی موارد استفاده توام از واکسن‌ها از جمله روش‌های مرسوم حال حاضر در مقابله با انواعی از بیماری‌ها با عامل باکتریایی می‌باشد. از مهم‌ترین عوامل محدودکننده استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، ظهور پاتوژن‌های مقاوم در جانور میزبان است، هم‌چنین مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند باکتری‌های مفید در لوله گوارش میزبان را کشته و به‌خاطر تجمع زیستی در بافت‌های مختلف ممکن است اثرات ناخواسته‌ای بر سلامت مصرف‌کننده داشته باشد (Austin و Austin، ۲۰۰۷). لذا یافتن روش‌های جایگزین موثر جهت مقابله با پاتوژن‌های باکتریایی و در نتیجه تسریع در بهبود بیماری و به حداقل رساندن خسارات ناشی از عفونت‌های باکتریایی راهی مناسب جهت حل مشکلات ناشی از مصرف گسترده آنتی‌بیوتیک‌ها به‌نظر می‌رسد. به‌دلیل وجود مجموعه‌ای از ترکیبات طبیعی موثر در جلبک‌های دریایی اخیراً استفاده از این جلبک‌ها و مشتقات طبیعی آن‌ها رواج یافته است، زیرا این ترکیبات در حالت تعادل بیولوژیکی قرار داشته که تجمع بافتی کم‌تری داشته و اثرات جانبی ندارند. به همین دلیل از برتری قابل ملاحظه‌ای نسبت به داروهای شیمیایی برخوردارند (Bulfon و همکاران، ۲۰۱۴). جلبک‌ها در دنیای امروز کاربردهای متنوعی دارند. در بسیاری از کشورها بخش عمده‌ای از اقتصاد آن‌ها را تشکیل داده و ارقام بزرگی از صادرات به‌وسیله آن‌ها تامین می‌شود (FAO، ۲۰۱۴). در سال‌های اخیر، توجه زیادی به استفاده از ماکروجلبک‌های دریایی شده است که به‌دلیل مزایای فراوان این نوع از آبزیان با وجود ترکیباتی چون پلی‌ساکاریدها، اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و عناصر مغذی، کاربردهای زیادی در تولید انواع فرآورده‌های غذایی، آرایشی، داروسازی و سایر زمینه‌های تحقیقاتی دارند (Rodriguez-Jasso و همکاران، ۲۰۱۳). جلبک‌های موجود در منابع دریایی یکی از ظرفیت‌های زیستی ارزشمند بوده که بهره‌برداری اقتصادی از آن‌ها می‌تواند منجر به شکل‌گیری صنایع جدید گردد. ماکروجلبک‌های دریایی براساس نوع رنگدانه به ۳ گروه سبز (کلروفیتا)، قرمز (ردوفیتا) و قهوه‌ای (فئوفیتا) تقسیم می‌شوند. جلبک‌های قهوه‌ای معمولاً برای استخراج ترکیبات زیست فعال مورد استفاده قرار می‌گیرند. با توجه به فلور نسبتاً غنی آن‌ها در سواحل جنوبی کشور و نیز اذعان به پتانسیل بالای جلبک‌های قهوه‌ای در توسعه تولیدات غذایی و دارویی و هم‌چنین طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی مثل فعالیت ضد میکروبی، ضد قارچی، آنتی‌اکسیداسیونی، ضدتومور و ضدالتهابی که دارند و افزایش نسبی و روز افزون تحقیقات در این زمینه، ضرورت انجام این پژوهش هویدا می‌باشد. جلبک *Sargassum tenerrimum* از جمله

سنجش فعالیت‌های ضد اکسیدانی: فنل کل با استفاده از

روش Taga و همکاران (۱۹۸۴) انجام گرفت و به صورت میلی گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم عصاره گزارش گردید. در این روش ۱۰۰ میکرولیتر از محلول نمونه یا استاندارد به ۲ میلی لیتر Na_2CO_3 ۲٪ اضافه شد. ۲ دقیقه بعد ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو ۵۰٪ به مخلوط و ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد. در نهایت منحنی استاندارد براساس گالیک اسید در محدوده بین ۰/۰۱ تا ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر رسم شد. فعالیت آنتی اکسیدانی کل مطابق روش Sathya و همکاران (۲۰۱۷) سنجش شد و به صورت میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره بیان شد. به صورت خلاصه، ۰/۳ میلی لیتر نمونه در غلظت‌های مختلف با ۳ میلی لیتر از معرف متشکل از سولفوریک اسید ۰/۶ مولار، سدیم فسفات ۲۸ میلی مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی مولار مخلوط شد. مخلوط برای مدت ۹۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد انکوبه، و پس از سرد شدن جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد در این روش براساس اسید اسکوربیک رسم شد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH براساس روش Rodriguez-Meizoso و همکاران (۲۰۰۶) سنجش شد. مقدار ۲۳/۵ میلی گرم DPPH در ۱۰۰ میلی لیتر متانول مطلق حل شد. غلظت‌های مختلف از عصاره تهیه و ۰/۱ میلی لیتر از این محلول‌ها با ۳/۹ میلی لیتر از محلول DPPH در لوله‌های استریل ریخته شد. مخلوط برای یک دقیقه توسط ورتکس مخلوط و برای ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در تاریکی نگهداری شد. در آخر جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. از اسید گالیک و اسید اسکوربیک به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. درصد بازدارندگی رادیکال DPPH عصاره‌ها، طبق رابطه زیر محاسبه گردید (Rodriguez Meizoso و همکاران، ۲۰۰۶):

$$100 \times \frac{\text{کنترل} - \text{کنترل A}}{\text{کنترل A}} = \text{توانایی مهار رادیکال DPPH (\%)}$$

توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن و درصد مهار رادیکال آزاد سوپر اکسید با استفاده طبق روش Wang و همکاران (۲۰۰۸) انجام گرفت. برای اندازه‌گیری قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره در غلظت‌های مختلف تهیه و با ۱۳۵ میکرو لیتر آب مقطر و ۵ میکرو لیتر FeCl_2 ۲ میلی مولار مخلوط گردید. در مرحله بعد با اضافه کردن ۱۰ میکرو لیتر فروزین ۵ میلی مولار واکنش آغاز شد و نمونه‌ها توسط ورتکس به شدت مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در پایان جذب نمونه‌ها به روش اسپکتوفوتومتری در طول موج ۵۶۲ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد توسط اسید سیتریک و EDTA-Na_2 استفاده شد. در سنجش رادیکال آزاد سوپر اکسید مقدار ۳ میلی لیتر بافر Tris-HCl ۱۶ میلی

به وسیله کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر و توسط دستگاه فریزدرایر به پودر تبدیل شد. ماده ته‌نشین شده خشک و وزن شد و بار دیگر به نسبت ۱ به ۲۰ با آب مقطر مخلوط گردید. این مرحله یک بار دیگر تکرار شد. در پایان تمام عصاره‌های پودر شده به دست آمده از مراحل فوق با هم مخلوط و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند. لازم به تذکر است که در زمان انجام کلیه آزمایش‌ها، محلول استوکی از عصاره به غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر با آب مقطر آماده سازی شد (Fleurence و همکاران، ۱۹۹۵).

نمونه‌ها و تهیه غلظت عصاره: نمونه‌ها برای هر باکتری در ۳

تکرار انجام شد. عصاره فوکوپیدانی جلبک *S. tenerrimum* با غلظت‌های ۵۰ و ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد. ترتیب دیسک‌ها بر روی پلیت شامل دیسک‌های آنتی بیوتیکی اکسی تتراسایکلین، جنتامایسین و آموکسی سیلین به عنوان آنتی بیوتیک وسیع الطیف و شاهد مثبت و یک عدد دیسک بلانک خام به عنوان شاهد منفی قرار داده شد. هم چنین یک عدد دیسک حاوی سرم فیزیولوژی به عنوان شاهد و یک عدد دیسک مربوط به هر عصاره بر روی محیط کشت قرار داده شد (Zargari و همکاران، ۲۰۱۸).

فعالیت ضد باکتریایی عصاره: به منظور بررسی فعالیت

ضد باکتری عصاره جلبک قهوه‌ای *S. Tenerrimum*، هفت گونه باکتری *Streptococcus iniae* (GQ850377)، *Yersinia* (KC291153)، *Aeromonas hydrophila* (AH04)، *ruckeri* (CIPA270)، *Staphylococcus aureus* (ATCC29737)، *Micrococcus luteus* (ATCC10536) از دانشگاه تهران و انستیتو پاستور تهران خریداری شد و تست آنتی باکتریال به روش دیسک دیفیوژن انجام شد. در این روش از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط کشت نوترینت برات سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارند تهیه گردید. سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون میکروبی آماده شده برداشته و به محیط کشت مولر هیلتون آگار اضافه شد. سپس با استفاده از سوپ، کشت یکنواختی از باکتری بر سطح محیط کشت صورت گرفت. سپس دیسک بلانک آغشته به ۳۰ میکرو لیتر از عصاره جلبک بر روی محیط کشت حاوی باکتری قرار گرفت. هم چنین از دیسک‌های استاندارد اکسی تتراسایکلین، جنتامایسین و آموکسی سیلین شرکت پادتن تب استفاده شد. در آخر، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد، میزان فعالیت باکتری کشی عصاره در دوزهای مختلف توسط کولیس ورنیه به دقت ۰/۲ میلی متر مشخص شدند (Pinteus و همکاران، ۲۰۱۵).



نتایج

اثر ضدباکتری عصاره روی تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی شد (جدول ۱). در این بررسی آنتی‌بیوتیک اکسی تتراسایکلین بیش‌ترین تاثیر ($p < 0.05$) را در جلوگیری از رشد باکتری‌ها داشت. خاصیت ضدباکتریایی برای عصاره در مقابل *Y. rockeri* مشاهده نشد. مقدار دوز ۵۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر توانایی بالاتری در مقایسه با دوز ۲۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر برای باکتری *S. typhimurium* نشان داد. در سایر باکتری‌ها توانایی معنی‌داری بین دوزهای مختلف عصاره دیده نشد ($p > 0.05$).

مولار با $pH=8$ مقدار ۳۳۸ میکرومولار NADH، ۷۲ میکرومولار NBT و ۳۰ میکرومولار PMS در غلظت‌های مختلف عصاره با هم مخلوط شد. مخلوط حاصله در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. سپس جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد (Wang و همکاران، ۲۰۰۸).

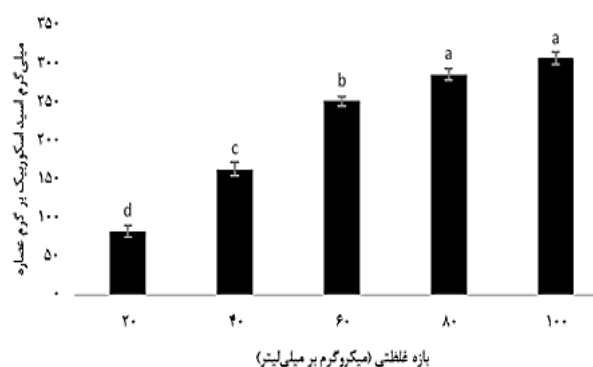
آنالیز آماری: داده‌های به‌دست آمده بعد از بررسی همگنی توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲، جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ و آزمون دانکن جهت بررسی معنی‌دار بودن میانگین‌ها استفاده شد و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel (۲۰۱۶، Microsoft office) ترسیم شدند. نتایج بررسی شاخص‌های مورد مطالعه به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان گردید.

جدول ۱: فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی جلبک *S. tenerrimum*

تیمارها	<i>M. luteus</i>	<i>S. iniae</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>Y. rockeri</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
شاهد	نرمال سالین	-	-	-	-	-	-
شاهد مثبت	اکسی تتراسایکلین	۳۱/۸۱	۳۵/۳۲	۲۲/۶۷	۱۹/۹۳	۲۸/۸۸	۲۱/۸۲
	میلی‌لیتر/میلی‌گرم ۳۰	$\pm 2/34^a$	$\pm 1/36^a$	$\pm 1/54^a$	$\pm 0/73^b$	$\pm 1/29^a$	$\pm 2/03^a$
	آموکسی‌سیلین	۲۴/۲۳	۳۰/۸۷	۲۱/۹۱	۲۸/۹۶	۲۸/۰۹	۱۴/۰۵
شاهد منفی	میلی‌لیتر/میلی‌گرم ۲۵	$\pm 1/66^b$	$\pm 0/54^b$	$\pm 0/44^a$	$\pm 7/15^a$	$\pm 0/56^a$	$\pm 0/87^b$
	جنتامایسین	۲۰/۴۰	۲۰/۳۷	۱۵/۲۴	۱۶/۹۸	۱۹/۶۸	۱۵/۲۳
	میلی‌لیتر/میلی‌گرم ۱۰	$\pm 1/06^c$	$\pm 0/27^c$	$\pm 0/22^b$	$\pm 1/11^b$	$\pm 0/45^b$	$\pm 0/46^b$
<i>S. tenerrimum</i>	دیسک بلانک	-	-	-	-	-	-
	عصاره کل	۸/۷۸	۱۲/۱۵	۸/۹۶	-	۱۰/۴۹	۸/۵۸
	میلی‌لیتر/میلی‌گرم ۵۰	$\pm 0/13^d$	$\pm 0/17^d$	$\pm 0/18^c$	-	$\pm 0/11^c$	$\pm 0/19^c$
<i>S. tenerrimum</i>	عصاره کل	۸/۷۶	۱۰/۶۹	۷/۲۷	-	۸/۵۱	۸/۶۵
	میلی‌لیتر/میلی‌گرم ۲۵	$\pm 0/22^d$	$\pm 0/17^d$	$\pm 0/17^c$	-	$\pm 0/14^d$	$\pm 0/17^c$

یکسان بودن حروف انگلیسی در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره



شکل ۱: نمودار فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره بر حسب میلی‌گرم

اسید آسکوربیک بر گرم عصاره جلبک *S. tenerrimum*

در هر غلظت حروف انگلیسی یکسان نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) در میانگین درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌ها است. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد.

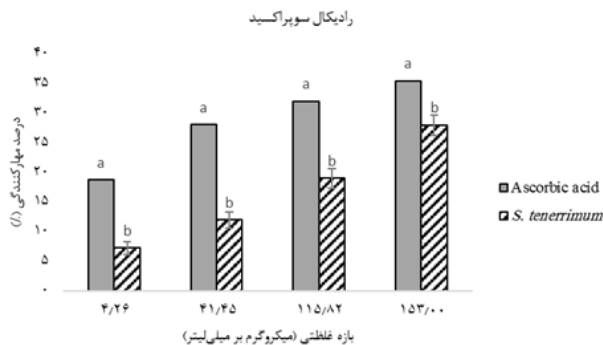
جدول ۲: فنل کل بر حسب میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر ۱۰۰ گرم عصاره

فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم عصاره) 0.14 ± 0.05

میزان پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کل در شکل ۱ و میزان فنل کل در جدول ۲ نشان داده شده است. تعیین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی با بازه غلظتی ۲۰ الی ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در جلبک *S. tenerrimum* متناسب با افزایش غلظت از حدود ۸۲/۷۳ به ۳۰۷/۳۵ میلی‌گرم اسید اسکوربیک بر گرم عصاره افزایش می‌یابد. مقدار فنل کل به مقدار ۰/۱۴ میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم عصاره محاسبه شد. سطح توانایی مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره جلبک قهوه‌ای *S. tenerrimum* در شکل ۲ نشان داده شده است. در این سنجش که با استانداردهای اسید اسکوربیک و گالیک اسید انجام گرفت عصاره این جلبک در غلظت‌های ۲۰ الی ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۸/۰۱، ۱۰/۸۲، ۱۳/۶۴، ۱۶/۵۹، ۱۸/۷ درصد محاسبه شد. در بالاترین غلظت عصاره که



مهار رادیکال آزاد سوپراکسید توسط عصاره جلبک *S. tenerrimum* در شکل ۴ نشان داده شد. درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد سوپراکسید به غلظت وابسته است و با افزایش در غلظت درصد مهارکنندگی نیز افزایش می‌یابد. اسیدآسکوربیک به عنوان شاهد مثبت دارای فعالیت معنی‌دار بیش‌تری ($p < 0.05$) در مقایسه با عصاره جلبک می‌باشد.



شکل ۴: نمودار درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد هیدروکسیل

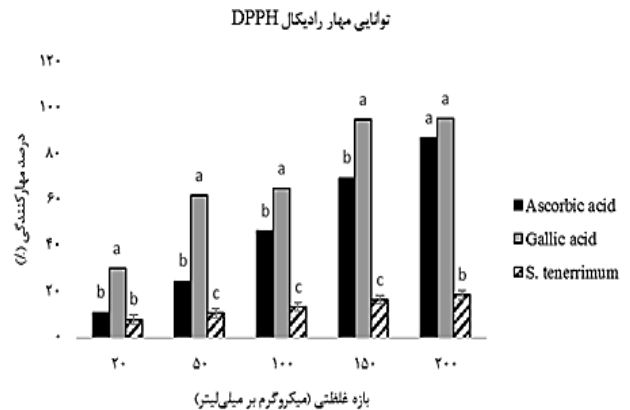
توسط عصاره جلبک *S. tenerrimum*

حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین گروه‌ها است ($p < 0.05$). نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد.

بحث

در سال‌های اخیر استفاده بی‌رویه و کنترل نشده از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ایجاد سویه‌های مقاوم به مواد ضدباکتریایی شده که به دنبال آن برای مقابله با باکتری‌ها باید از دوزهای بالاتری از آنتی‌بیوتیک استفاده می‌شود که خود می‌تواند اثرات ناخواسته‌ای به دنبال داشته باشد و باعث بروز مشکلات ثانویه برای مصرف‌کننده شود. به تازگی با پیشرفت تکنولوژی و تکنیک‌های آزمایشگاهی ترکیبات ضد میکروبی با منشأ طبیعی برای مقابله با باکتری‌های مختلف که منجر به بروز بیماری و فساد مواد غذایی می‌شوند، مورد توجه محققین قرار گرفته است. در این زمینه مطالعات زیادی بر روی منابع دریایی و خشکی صورت گرفته است و ترکیبات زیست فعال متعددی با اثرات گوناگون هم‌چون خاصیت باکتری‌کشی، ضدسرطانی، ضدویروسی از ماکرو جلیک‌ها شناسایی و تخلیص شده است. ترکیبات گیاهی که دارای خاصیت ضد باکتریایی به همراه خواص آنتی‌اکسیدانی باشند می‌توانند در صنایع متفاوت از جمله صنایع غذایی و صنایع آرایشی و بهداشتی کاربرد گسترده‌ای داشته باشند. بنابراین تحقیقات جهت دستیابی به منابع نوین دارویی با منشأ دریایی با توجه به تنوع بسیار بالای گونه‌های آبی با خواص ضدباکتریایی از اهمیت بالایی برخوردار هستند. در باکتری‌های گرم منفی به دلیل وجود لایه پپتیدوگلیکانی در اطراف

بیش‌ترین فعالیت مهارکنندگی را نشان داد، گروه‌های شاهد مثبت گالیک اسید و اسید آسکوربیک به ترتیب دارای ۹۵/۵۲ و ۸۷/۳۷ درصد اثر مهارکنندگی بودند که اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نشان ندادند ($p > 0.05$).

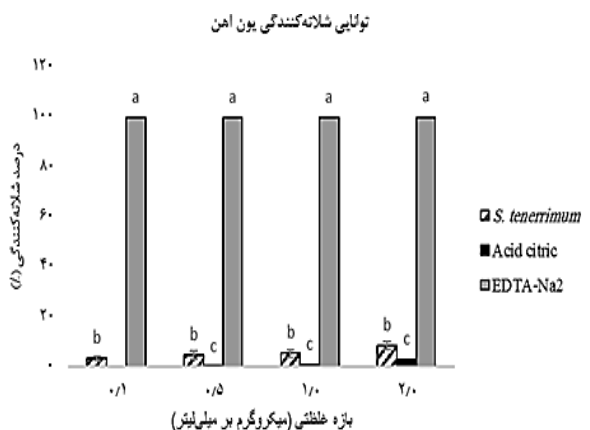


شکل ۲: نمودار توانایی مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط

عصاره جلبک *S. tenerrimum*

در هر غلظت حروف انگلیسی یکسان نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) در میانگین درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌ها است. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک *S. tenerrimum* بر اساس قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن مورد ارزیابی قرار گرفت. شکل ۳ نشان دهنده قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن متناسب با غلظت است. با افزایش غلظت از ۰/۱ به ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن نیز از ۳/۴۴ به ۸/۵۱ درصد افزایش یافت. هم‌چنین فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن به طور معنی‌داری در مقایسه با استاندارد اسید سیتریک بالاتر بود ($p < 0.05$).



شکل ۳: نمودار توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن توسط عصاره

جلبک *S. tenerrimum*

در هر گروه حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین نمونه‌ها است ($p < 0.05$). نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد.



دیواره سلولی باکتری امکان عبور مواد با وزن مولکولی پایین که باعث اختلال در رونویسی DNA، ترجمه آن به پروتئین یا تغییر در تعادل اسمزی می‌شوند، به سختی صورت گیرد اما در باکتری‌های فاقد این نوع دیواره، مواد با وزن مولکولی پایین می‌توانند ساده‌تر از دیوار عبور کرده و پس از ورود به داخل سلول اثر ضدباکتری خود را اعمال نمایند و در نتیجه باکتری از بین برود (Arunachalam و Kandhasamy، ۲۰۰۸). لذا به‌طور معمول باکتری‌های گرم منفی نسبت به برخی آنتی‌بیوتیک‌های ضعیف یا آنتی‌بیوتیک‌هایی با دوز پایین مقاوت می‌کنند. پتانسیل ضدباکتریایی عصاره جلبک *S. tenerrimum* در مقابل هفت گونه باکتری مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده از نتایج تست دیسک دیفیوژن نشان داد که این عصاره توانایی مقابله با بیش‌تر باکتری‌ها به‌غیر از *Y. rockeri* را دارا می‌باشد. فعالیت ضد میکروبی جلبک‌ها را می‌توان به آمینواسیدها، ترپنوئیدها، فلوروئانین‌ها، اسید اکریلیک‌ها، ترکیبات فنلی، استروئیدها، کتون‌ها، آلکان‌ها، پلی‌سولفیدها نسبت داد (Shanmughapriya و همکاران، ۲۰۰۸). علی‌رغم مطالعات متعددی که بر روی جلبک‌ها توسط سایر محققین انجام شد، مانند تحقیق Narayani و همکاران (۲۰۱۱) بر روی خاصیت باکتری‌کشی عصاره متانولی جلبک‌های *G. corticata* و *P. tetrastrumtica* در مقابل *E. coli* و هم‌چنین گزارش Karthikaidevi و همکاران (۲۰۰۹) بر روی خاصیت ضدباکتریایی عصاره پترولیوم‌اتری جلبک‌های *Codium adherens*، *Ulva reticulata*، *Halimeda tuna* و عصاره اتیل استات و استونی *Codium adherens*، *Ulva reticulata* و عصاره دی اتیل اتری *Halimeda tuna* که فاقد توانایی ضدباکتریایی علیه *E. coli* بودند، جلبک *S. tenerrimum* توانست در مقابل باکتری *E. coli* خاصیت باکتری‌کشی نشان از خود نشان دهد. مطابق با مطالعه حاضر عصاره کلروفورمی جلبک *G. edulis* در تحقیق Vallinayagam و همکاران (۲۰۰۹) و عصاره اتانولی جلبک *G. arcuata* در گزارش پیمانی و همکاران (۱۳۹۳) از رشد باکتری *S. aureus* ممانعت کرد. عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *S. glaucescens* فاقد اثر ضدباکتری علیه *E. coli* و *S. aureus* می‌باشد که برتری عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *S. tenerrimum* در برابر این باکتری‌ها را نشان می‌دهد (پیمانی، ۱۳۹۳).

آنتی‌اکسیدان‌های استخراج شده از جلبک‌های دریایی شامل: پلی‌فنل‌ها، کاروتنوئیدها، توکوفرول‌ها، ترپن‌ها، اسیداسکوربیک و آلکالوئیدها می‌باشند که به‌سرعت با انواع اکسیژن فعال مانند رادیکال هیدروکسید، سوپراکسید، پراکسید که به‌دلیل آسیب‌های اکسیداتیو در سلول‌های انسان به‌وسیله عوامل درون‌زا و برون‌زا ایجاد شده‌اند واکنش می‌دهند (Cox و همکاران، ۲۰۱۰). تاخیر یا کاهش اکسیداسیون می‌تواند از بروز برخی بیماری‌ها مانند انواع سرطان جلوگیری می‌کند

و نقش مهمی در جلوگیری از اکسیدشدن اسیدهای چرب در ترکیبات متنوع غذایی و دارویی ایفا می‌کند (سفری و همکاران، ۱۳۹۴). طبق گزارش Kokilam و همکاران (۲۰۱۳) مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلبک *P. tetrastrumtica*، *Chnoospora minima*، *S. wightii* و *triquetra* به‌ترتیب 3.4 ± 0.5 ، 2.9 ± 0.9 و 2.4 ± 0.3 و 2.0 ± 0.2 میلی‌گرم اسیدآسکوربیک بر گرم عصاره بود که در مقایسه با 8.2 ± 0.7 میلی‌گرم اسیدآسکوربیک بر گرم عصاره جلبک *S. tenerrimum* دارای مقادیر کم‌تری هستند. ترکیبات فنلی معمولاً در گیاهان دیده می‌شود، اما این ترکیبات ممکن است در برخی از عصاره‌های جلبک نیز وجود داشته باشد (Lim و همکاران، ۲۰۰۲). ترکیبات فنلی یکی از ترکیبات مهم در جلبک‌های قهوه‌ای به‌حساب می‌آید (Kuda و همکاران، ۲۰۰۵). پلی‌فنل‌ها در ترکیباتی از جمله فلاونوئید، لگنین‌ها، توکوفرول‌ها، تانن‌ها و اسیدهای فنولیک یافت می‌شوند و با شلاته کردن یون‌های فلزی، ممانعت از ایجاد رادیکال آزاد و افزایش توانایی سیستم آنتی‌اکسیدان می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کند (Cox و همکاران، ۲۰۱۰).

در مطالعه Sujatha و همکاران (۲۰۱۹) عصاره *S. swartzii* در حلال‌های مختلف مانند آب، اتانول، متانول و استون استخراج شد. خاصیت ضدباکتری این عصاره‌ها در برابر *E. coli*، *P. aeruginosa*، *S. aureus*، *A. hydrophila* و *V. vulnificus* به‌روش دیسک دیفیوژن نشان داد که عصاره اتانولی *S. swartzii* بیش‌ترین خاصیت ضدباکتری ($p < 0.05$) را علیه *P. aeruginosa* و *A. hydrophila* نشان داد. محتوای فنلی *S. swartzii* به‌مقدار 15.35 ± 2.61 محاسبه شد که این مقدار نزدیک به‌مقدار فنل کل عصاره *S. tenerrimum* 14 ± 0.5 است. درحالی‌که عصاره آبی *S. tenerrimum* توانایی معنی‌داری در جلوگیری از رشد باکتری‌های *S. iniae*، *A. hydrophila*، *M. luteus*، *S. aureus*، *S. typhimurium* و *E. coli* از خود نشان داد. El-Din و Alagawany (۲۰۱۹) نشان دادند که در *S. hornschurchii* مقدار فنل 2.97 ± 0.5 درحالی‌که عصاره آبی *S. tenerrimum* مقدار فنل بالاتر (14 ± 0.5) میلی‌گرم بر گرم عصاره دارا می‌باشد. طبق نتایج حاصل از این پژوهش، ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک *S. tenerrimum* نشان داد که این عصاره توانایی بالایی در فعالیت آنتی‌اکسیدان کل، فنل کل، قدرت شلاته‌کنندگی، مهار رادیکال آزاد DPPH و سوپراکسید دارا می‌باشد. هم‌چنین از پتانسیل ضدباکتریایی وسیع‌الطیفی برخوردار است که می‌تواند به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی و به‌عنوان ترکیب ضدباکتریایی در صنایع مختلف به‌خصوص صنایع آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار گیرد.



منابع

- southeast coast of India. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 7, No. 12, pp: 1958-1961.
۱۳. **Karthikaidevi, G.; Manivannan, K.; Thirumaran, G.; Anantharaman, P. and Balasubaramanian, T., 2009.** Antibacterial Properties of Selected Green Seaweeds from Vedalai Coastal Waters; Gulf of Mannar Marine Biosphere Reserve. *Global Journal of Pharmacology*. Vol. 3, pp: 107-112.
۱۴. **Kokilam, G.; Vasuki, S. and Sajitha, N., 2013.** Biochemical composition, alginic acid yield and antioxidant activity of brown seaweeds from Mandapam region, Gulf of Mannar. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol. 3, pp: 99-104.
۱۵. **Kuda, T.; Tsunekawa, M.; Goto, H. and Araki, Y., 2005.** Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *Journal of food composition and analysis*. Vol. 18, pp: 625-633.
۱۶. **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*. Vol. 50, pp: 3862-3866.
۱۷. **Narayani, C.G.S.; Arulpriya, M.; Ruban, P.; Anantharaj, K. and Srinivasan, R., 2011.** In vitro antimicrobial activities of seaweed extracts against human pathogens. *Journal of Pharmacy Research*. Vol. 4, pp: 2076-2077.
۱۸. **Payghami, N.; Jamili, S.; Rustaiyan, A.; Saeidnia, S.; Nikan, M. and Gohari, A.R., 2015.** Alpha-amylase inhibitory activity and sterol composition of the marine algae, *Sargassum glaucescens*. *Pharmacognosy research*. Vol. 7, 314 p.
۱۹. **Pinteus, S.; Alves, C.; Monteiro, H.; Araujo, E.; Horta, A. and Pedrosa, R., 2015.** *Asparagopsis armata* and *Sphaerococcus coronopifolius* as a natural source of antimicrobial compounds. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 31, pp: 445-451.
۲۰. **Rodriguez-Jasso, R.M.; Mussatto, S.I.; Pastrana, L.; Aguilar, C.A. and Teixeira, J.A., 2013.** Extraction of sulfated polysaccharides by autohydrolysis of brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *Journal of Applied Phycology*. Vol. 25, pp: 31-39.
۲۱. **Rodriguez-Meizoso, I.; Marin, F.R.; Herrero, M.; Senorans, F.J.; Reglero, G.; Cifuentes, A. and Ibanez, E., 2006.** Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. *Chemical and functional characterization*. Vol. 41, pp: 1560-1565.
۲۲. **Sanchez-Machado, D.I.; Lopez-Cervantes, J.; Lopez Hernandez, J. and Paseiro-Losada, K., 2004.** Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*. Vol. 85, pp: 439-444.
۲۳. **Sanjeeva, A.K.K.; Kim, E.; Son, K. and Jeon, Y., 2016.** Bioactive properties and potentials cosmeceutical applications of phlorotannins isolated from brown seaweeds.
۱. **سفری، پ؛ رضایی، م؛ شویکلو، ا.ر؛ گرمسیری، ا. و باباخانی لشکان، آ، ۱۳۹۴.** تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان فنل کل دو گونه جلبک دریایی خلیج فارس *Chaetomorpha* و *Colpomenia sinusa* در شرایط آزمایشگاهی. *مجله علوم و فنون دریایی*. دوره ۱۴، شماره ۱، صفحات ۶۴ تا ۷۷.
۲. **پیمانی، ج؛ قرایی، ا؛ غفاری، م. و طاهری، ع، ۱۳۹۳.** بررسی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی جلبک دریایی (*Gracilaria arcuata*) از سواحل چابهار. *مجله دانشگاه علوم پزشکی قم*. دوره ۸، شماره ۱، صفحات ۷۵ تا ۶۹.
۳. **Andersson, D.I. and Hughes, D., 2010.** Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nature Reviews Microbiology*. Vol. 8, 260 p.
۴. **Austin, B. and Austin, D.A., 2007.** Characteristics of the diseases. *Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish*. pp: 15-46.
۵. **Bulfon, C.; Volpatti, D. and Galeotti, M., 2014.** In vitro antibacterial activity of plant ethanolic extracts against fish pathogens. *Journal of the world aquaculture society*. Vol. 45, pp: 545-557.
۶. **Cox, S.; Abu-Ghannam, N. and Gupta, S., 2010.** An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *International Food Research Journal*. Vol. 17, pp: 205-220.
۷. **El-Din, S.M. and Alagawany, N.I., 2019.** Phytochemical Constituents and Anticoagulation Property of Marine Algae *Gelidium crinale*, *Sargassum hornschurchii* and *Ulva linza*. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*. Vol. 35, pp: 381-397.
۸. **FAO. 2014.** Fishery and Aquaculture Statistics Yearbook. FAO Publications. Rome. Italy. P: 103. Retrieved from FAO. <http://faostat3.fao.org>.
۹. **Fleurence, J.; Le Coeur, C.; Mabeau, S.; Maurice, M. and Landrein, A., 1995.** Comparison of different extractive procedures for proteins from the edible seaweeds *Ulva rigida* and *Ulva rotundata*. *Journal of Applied Phycology*. Vol. 7, pp: 577-582.
۱۰. **Huang, C.Y.; Wu, S.J.; Yang, W.N.; Kuan, A.W. and Chen, C.Y., 2016.** Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffing-hydrothermal extraction process. *Food chemistry*. Vol. 197, pp: 1121-1129.
۱۱. **Hussain, A.I.; Anwar, F.; Sherazi, S. T. H. and Przybylski, R., 2008.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food chemistry*. Vol. 108, pp: 986-995.
۱۲. **Kandhasamy, M. and Arunachalam, K.D., 2008.** Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of



- Journal of Photochemistry and Photobiology. Vol. 162, pp: 100-105.
۲۴. **Sathya, R.; Kanaga, N.; Sankar, P. and Jeeva, S., 2017.** Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsskål) C. Agardh. Arabian Journal of Chemistry. Vol. 10, pp: S2608-S2614.
۲۵. **Shanmughapriya, S.; Manilal, A.; Sujith, S.; Selvin, J.; Kiran, G.S. and Natarajaseenivasan, K., 2008.** Antimicrobial activity of seaweeds extracts against multiresistant pathogens. Annals of Microbiology. Vol. 58, pp: 535-541.
۲۶. **Sujatha, R.; Siva, D. and Nawas, P., 2019.** Screening of phytochemical profile and antibacterial activity of various solvent extracts of marine algae *Sargassum swartzii*. World Scientific News. Vol. 115, pp: 27-40.
۲۷. **Taga, M.S.; Miller, E.E. and Pratt, D.E., 1984.** Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. Journal of the American Oil Chemists' Society. Vol. 61, pp: 928-931.
۲۸. **Vallinayagam, K.; Arumugam, R.; Kannan, R.R.R.; Thirumaran, G. and Anantharaman, P., 2009.** Antibacterial activity of some selected seaweeds from Pudumadam coastal regions. Global Journal of Pharmacology. Vol. 3, pp: 50-52.
۲۹. **Wang, J.; Zhang, Q.; Zhang, Z. and Li, Z., 2008.** Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. International Journal of Biological Macromolecules. Vol. 42, pp: 127-132.
۳۰. **Zargari, A.; Mazandarani, M. and Hoseini, S.M., 2018.** Effects of safflower (*Carthamus tinctorius*) extract on serum antibacterial activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus iniae* and *Yersinia ruckeri*. International Journal of Aquatic Biology. Vol. 6, pp: 1-7.

