



مطالعه اثرات ضدباکتریایی و ضدآکسیدانی عصاره سه گونه جلبک سبز، قرمز و قهوه‌ای سواحل شمالی خلیج فارس

محسن حیدری^{۱*}، حسین ذوالقرنین^۱، نسرین سخایی^۱، علی میرزایی^۲، عبدالعلی موحدی‌نیا^۱

^۱ گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

^۲ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

(دریافت مقاله: ۹۲/۸/۷ - پذیرش مقاله: ۹۲/۱۱/۱۲)

چکیده

زمینه: جلبک‌های دریایی نشان‌دهندهٔ مخزن پایان‌نایپذیر مواد اولیه مورد استفاده در داروسازی، پزشکی، صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی هستند. فعالیت‌های بیولوژیکی در ترکیبات زیستی طبیعی فعال در جلبک‌ها دارای اثرات گستردهٔ ضدباکتریایی، ضد‌توموری و فعالیت‌های آنتی‌آکسیدانی هستند. هدف از این مطالعه بررسی خواص ضدآکسیدانی و ضدباکتریایی جلبک‌های مورد مطالعه بود.

مواد و روش‌ها: عصاره‌های اتانولی به روش خیساندن از سه گونه جلبکی سبز، قرمز و قهوه‌ای در سواحل شمالی خلیج فارس و استان بوشهر تهیه گردید و فعالیت ضد باکتریایی (باکتری‌های *Escherichia coli* و *Listeria monocytogenes*) عصاره‌ها به روش دیسک FRAP، DPPH و چاهک انجام شد. همچنین اثرات ضدآکسیدانی عصاره هیدروالکلی سه گونه جلبکی با استفاده از آزمون‌های FRAP، DPPH و PMB مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: در این مطالعه، بالاترین فعالیت ضدآکسیدانی را جلبک قهوه‌ای *Cystoseira trinodis* داشت. عصاره هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه قادر فعالیت ضدباکتریایی بر روی باکتری *E. coli* و دارای فعالیت ضدباکتریایی بر روی باکتری *L. monocytogenes* بودند.

نتیجه‌گیری: گونه‌های جلبکی مورد بررسی در این مطالعه اثر ضدآکسیدانی بسیار خوبی نسبت به فعالیت ضدباکتریایی از خود نشان دادند. به‌طوری که بالاترین فعالیت ضدآکسیدانی را جلبک قهوه‌ای *C. Trinodis* نشان داد.

واژگان کلیدی: جلبک دریایی، ضدآکسیدانی، ضد باکتری، خلیج فارس، لیستریا مونوستیوژن، اشریشیاکلی، عصاره اتانولی

* خرمشهر، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

ضد میکروبی جدید که به طور طبیعی تولید می‌شوند برای دستیابی به منابع نوین دارویی از اهمیت فراوانی برخوردار است (۱۲ و ۱۳).

مواد و روش‌ها

عملیات نمونه‌برداری در آذرماه سال ۱۳۹۱ در سواحل استان بوشهر و در زمان حداقل جزء صورت گرفت. جلبک‌های جمع‌آوری شده درون جعبه یونولیتی حاوی یخ نگهداری و سپس به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه جلبک‌های مورد نظر را با آب معمولی کاملاً و با دقت شسته، سپس درون آب مقطر غوطه‌ور کرده (برای خارج شدن املاح) و هر چند ساعت آب آن‌ها تعویض شد. این کار تا سه مرتبه تکرار شد و بعد از آن جلبک‌ها روی پارچه‌ی تمیزی در سایه گسترانیده و طی سه روز خشک شدند. نمونه‌ها بعد از خشک شدن توسط آسیاب برقی کاملاً به صورت پودر در آمدند (۱۴).

عصاره‌گیری و بررسی ضدباکتریایی خواص ضد اکسیدانی از جلبک‌های مورد مطالعه

عصاره‌گیری از جلبک‌ها به روش خیساندن^۲ با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه و در تاریکی انجام شد. عصاره‌ها بعد از فیلتر شدن در انکوباتور و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. عصاره‌ی تهیه شده از جلبک‌ها درون ویال و در یخچال تا هنگام استفاده نگهداری گردید (۱۴).

بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره جلبک‌های مورد مطالعه

برای بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها، باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنر و اشريشیاکلی (*L. monosytogenes* 13932, *E. coli* 25922)

مقدمه

محیط زیست دریایی منبع استثنایی از فرآورده‌های طبیعی زیستی و فعال است که خصوصیات ساختاری-شیمیایی آن‌ها در دیگر محصولات طبیعی گیاهی و جانوران خشکی‌زی دیده نمی‌شود (۱).

جلبک‌های دریایی نشان دهنده مخزن پایان‌نایزیر مواد اولیه مورد استفاده در دارو‌سازی، پزشکی، صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی هستند (۲). فعالیت‌های بیولوژیکی در ترکیبات زیستی طبیعی فعال در جلبک‌ها دارای اثرات گسترده‌ای همچون اثرات ضد باکتریایی (۳)، ضد توموری (۴) و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی هستند (۵). رادیکال‌های آزاد، ترکیباتی معمولاً ناپایدار، کاملاً واکنش‌پذیر و با انرژی بالا می‌باشند که به علت ایجاد آسیب اکسیداتیو در لبپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک منجر به بیماری‌های التهابی، دیابت ملیتوس، آتروواسکلروز، سکته قلبی و مغزی، سرطان، نقص سیستم ایمنی، پیری و چندین بیماری فرساینده دیگر در انسان می‌شوند (۶-۸). بدنه انسان دارای چندین مکانیسم دفاعی به‌ویژه سیستم ضد اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی برای حفاظت مولکول‌های سلولی علیه رادیکال‌های آزاد مانند گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)^۱ می‌باشد (۹ و ۱۰). تنوع و ماهیت شیمیایی ضد اکسیدان‌ها باعث می‌شود که جداسازی و اندازه‌گیری آن‌ها در نمونه‌های مختلف جلبکی با یک نوع آزمایش امکان‌پذیر نباشد، بنابراین طراحی مجموعه‌ای از آزمایشات که بتوانند فعالیت ضد اکسیدان‌ها را اندازه‌گیری نماید ضروری است (۱۱). در سال‌های اخیر استفاده گسترده از آنتی بیوتیک‌ها باعث به وجود آمدن سویه‌های مقاوم میکروارگانیسم‌ها و افزایش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیک‌ها در سراسر جهان شده است. از این رو تحقیقات در رابطه با عوامل

² maceration

¹ Reactive Oxygen Species

میکروچاهک^۸ با استفاده از چاهک‌های ۹۶ تابی انجام گرفت.

بررسی فعالیت ضداکسیدانی

ارزیابی فعالیت ضداکسیدان بهوسیله رادیکال آزاد دی

فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)

فعالیت ضد اکسیدان تام نمونه‌های عصاره توسط روش ون گادو (Von Gadow) و همکاران ارزیابی شد (۱۶).

اثر آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی (RSA)^۹ به کمک ۲، ۲ - دی

فنیل - ۱ - پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. طبق این روش، ۲/۴ میلی‌گرم پودر DPPH در

۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول خالص حل شد. در لوله آزمایش به ۱۰۰/۰۲۵ میلی‌لیتر نمونه یا محلول استاندارد ترولکس، ۱

میلی‌لیتر محلول الكلی DPPH اضافه و مخلوط شد. همچنین از محلول DPPH به عنوان کنترل استفاده گردید. بعد از ۱۰ دقیقه قرار دادن نمونه‌ها در تاریکی و

دمای محیط، جذب نوری قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول ترولکس با غلظت ۱۰۰۰-۱۰۰ میکرومول استفاده شد. بر اساس فرمول زیر درصد

فعالیت خشی‌سازی رادیکالی عصاره RSA به دست آمد.

$A_{Control} = A$ میزان جذب کنترل در زمان صفر ($t=0$)

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

($t=6\text{ min}$)

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

فعالیت ضد اکسیدان نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولکس بر گرم وزن خشک عصاره بیان شد.

انستیتو پاستور تهران خریداری و در فریزر نگهداری شدند. مقدار نیم سی سی از محیط کشت BHI^۳ مایع داخل ویال‌ها تزریق کرده و سپس در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۰/۵ تا ۱ ساعت قرار داده سپس با سرنگ محتویات را کشیده و روی محیط‌های کشت مولر هیتون آگار و یا نوترینت آگار کشت داده شد. تست‌های آنتی باکتریال به روش‌های دیسک دیفیوژن^۴ و چاهک^۵ انجام گردید. سوسپانسیون‌های باکتریایی مورد استفاده در آزمون‌ها مطابق با استاندارد ۰/۵ مک فارلن از کشت‌های یک روزه باکتریایی تهیه گردیدند.

در روش انتشار دیسک پس از تلقیح باکتریایی روی محیط آگار، دیسک‌های آمده (به قطر ۶/۴ میلی‌متر، محصول شرکت پادتن طب ایران) و آخشه به ۲۰ میکرولیتر عصاره جلبکی با فاصله مناسب و استاندارد با پنس استریل روی سطح آگار قرار داده شد و سپس با فشار پنس در محیط آگار ثابت گردید. در روش چاهک نیز بعد از ایجاد چاهک‌هایی به قطر ۰/۶ میلی‌متر بر روی محیط آگار، عصاره جلبکی با سمپلر در آن‌ها تزریق شد. پلیت‌ها قبل از گرم‌گذاری به مدت ۳۰ دقیقه برای پیش انتشار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از گرم‌گذاری پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور، قطر هاله‌های عدم رشد با کولیس و با دقت اندازه‌گیری شدند. همه آزمون‌ها در سه مرتبه انجام شد (۱۵). از آنتی‌بیوتیک‌های تجاری به عنوان کنترل مثبت در این پژوهش استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)^۶ و حداقل غلظت کشنندگی (MBC)^۷ عصاره‌ها به روش رقت

³ Brain Heart Infusion

⁴ disk diffusion

⁵ Well method

⁶ Minimum inhibitory concentration

⁷ Minimum bactericidal concentration

(غلظت ۰/۴-۱/۶ میکرومول)، ۱ میلی لیتر از محلول معرف (اسید سولفوریک ۰/۶ مول، فسفات سدیم ۲۸ میلی مول و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی مول) اضافه و مخلوط شد. نمونه ها به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس جذب نوری نمونه ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر در مقابل محلول شاهد قرائت شد. فعالیت ضد اکسیدان نمونه های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولکس / گرم عصاره محاسبه شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

از آزمون T-test جهت مقایسه خواص ضد اکسیدانی و ضد باکتریابی عصاره جلبک های مورد مطالعه استفاده شد. نرمال بودن داده ها توسط آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت. گروه ها در سطح $P < 0/05$ معنی دار می باشند. در صورت معنی دار بودن آنالیز داده ها با استفاده از روش های آنالیز آماری ANOVA یک سویه SPSS با استفاده از بسته نرم افزاری SPSS Inc (USA, II, Chicago) ویرایش ۱۸ برای بررسی نتایج آزمون ها و مقایسه میانگین عصاره های مختلف استفاده شد. تمامی اندازه گیری ها برای هر نمونه جلبکی سه بار تکرار و مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد (۱۹).

یافته ها

خواص ضد اکسیدانی

ارزیابی فعالیت ضد اکسیدان به وسیله رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) با توجه به نمودار ۱ و ۲ بالاترین درصد مهار $22/87 \pm 5/4$ و بیشترین فعالیت ضد اکسیدانی *C. Trinodis* و *C. C. Trinodis* مربوط به جلبک قهوه ای و

درصد فعالیت خشی سازی رادیکالی عصاره (RSA) برای هر نمونه به دست آمد و سپس فعالیت ضد اکسیدان نمونه های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولکس بر گرم عصاره محاسبه شد.

اندازه گیری خواص آنتی اکسیدانی از طریق آزمون توان آنتی اکسیدانی احیاء یون فریک (FRAP)^{۱۰}

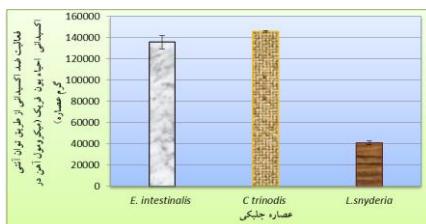
برای اندازه گیری توانایی احیاء کنندگی نمونه های عصاره Benzie and FRAP از روش بتزی و استرین (Strain) با اندکی تغییر استفاده شد (۱۷). محلول کاری FRAP به وسیله مخلوط کردن ۱۰ میلی لیتر با فراتات ۳۰۰ میلی مول (pH=۳/۶)، ۱ میلی لیتر ۲، ۴ و ۶ تری-۲- پیریدیل-S- تریازین (TPTZ) ۱۰ میلی مول (حل شده در اسید کلریدریک ۴۰ میلی مول) و ۱ میلی لیتر کلرید آهن ۲۰ میلی مول روزانه تهیه می شد. در لوله آزمایش به ۰/۰۲ میلی لیتر عصاره (با غلظت ۱ میلی گرم / میلی لیتر) یا محلول استاندارد آبی سولفات آهن (غلظت ۰/۳۷-۰/۱۸۵ میکرومول)، ۱ میلی لیتر از محلول کاری FRAP اضافه و مخلوط شد. مخلوط فوق ۵ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد و سپس جذب نوری نمونه ها قرائت گردید. فعالیت احیا کنندگی نمونه های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول آهن در گرم عصاره محاسبه شد.

اندازه گیری فعالیت ضد اکسیدان به طریق فسفومولیبدنم (PMB)

برای اندازه گیری فعالیت ضد اکسیدانی عصاره ها به طریق کمپلکس فسفومولیبدنم از روش پریتو، پیندا و اگولار (Prieto Pineda Aguilar) استفاده شد (۱۸).

به ۰/۱ میلی لیتر از نمونه های عصاره مورد مطالعه (غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) یا محلول استاندارد ترولکس

^{۱۰} Ferric reducing ability of plasma



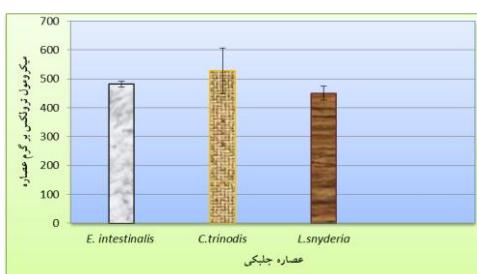
نمودار ۳) فعالیت ضد اکسیدانی نمونه‌های عصاره از طریق آزمون توان آنتی اکسیدانی احیاء یون فریک ($\mu\text{mol/g}$)

بین خواص ضد اکسیدانی عصاره هیدروالکلی (با غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر) جلبک‌های نمونه‌برداری شده با استفاده از آزمون توان آنتی اکسیدانی احیاء یون فریک اختلاف معنی دار بود.

اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسیدان به طریق فسفومولیبدن (PMB)

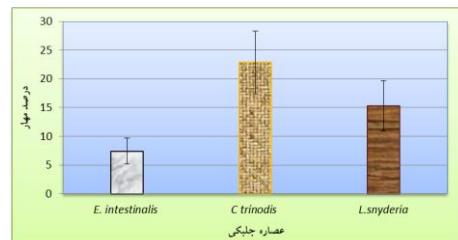
با توجه به نمودار ۴ بیشترین فعالیت ضد اکسیدانی ۵۲۸/۶۶ \pm ۷۹/۲۵ (میکرومول آهن در گرم عصاره) با آزمون فوق در فصل پاییز مربوط به جلبک C. trinodis بود و کمترین فعالیت ضد اکسیدانی آزمون مربوط به جلبک قرمز L. snyderia (۴۵۰/۶۶ \pm ۲۴/۶۸) با این

آنچه توجه به نمودار ۴ بیشترین فعالیت ضد اکسیدانی عصاره هیدروالکلی (با غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر) حاصل از جلبک‌های غالب نمونه‌برداری شده با استفاده از آزمون فسفومولیبدن اختلاف معنی داری وجود نداشت.

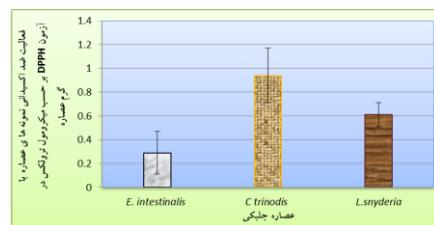


نمودار ۴) فعالیت ضد اکسیدانی نمونه‌های عصاره به طریق فسفومولیبدن

کمترین درصد مهار (۷/۴۱ \pm ۴/۳۸) و کمترین فعالیت ضد اکسیدانی (۰/۲۹ \pm ۰/۱۸) مربوط به جلبک‌های سبز Entromorpha intestinalis بود.



نمودار ۱) مقادیر درصد مهار ایجاد شده بهوسیله آزمون رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل



نمودار ۲) فعالیت ضد اکسیدان نمونه‌های عصاره بهوسیله آزمون رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل ($\mu\text{mol/g}$)

با استفاده از آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل اختلاف معنی داری بین جلبک E. Intestinalis و C. Trinodis وجود داشت.

اندازه‌گیری خواص آنتی اکسیدانی از طریق آزمون توان آنتی اکسیدانی احیاء یون فریک (FRAP)

با توجه به نمودار ۳ بیشترین فعالیت ضد اکسیدانی ۱۴۵۹/۷۳ \pm ۷۴۴/۱۳ (میکرومول آهن در گرم عصاره) با آزمون فوق مربوط به جلبک قهوه‌ای C. Trinodis و کمترین مقدار ۴۰۷۶۶/۶۷ \pm ۱۷۹۴/۴۷ (میکرومول آهن در Laurencia snyderia) مربوط به جلبک قرمز L. snyderia بود.

باکتری *L. monocytogenes* و بدون تأثیر بر روی باکتری *E. coli* هیچ یک از عصاره هیدروالکلی جلبک های مورد مطالعه در روش دیسک دیفیوژن و چاهک فعالیت ضد باکتریایی از خود نشان ندادند.

فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی جلبک های مورد مطالعه با توجه به جدول ۱ و ۲ به غیر از عصاره هیدروالکلی جلبک سبز *E. intestinalis* (با اثرگذاری بر روی

جدول ۱) فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی جلبک های مورد مطالعه با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (غاظت عصاره های مورد استفاده بر حسب میلی گرم در میلی لیتر آب مقطر است)

قطر هال عدم رشد (میلی متر)		<i>L.snyderia</i>			<i>C. trinodis</i>			<i>E. intestinalis</i>			عصاره جلبکی		
قطر هال عدم رشد	تراسایکلین	آمپی سیلین	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰		
۲۳/۶±۱	۱۳/۹۲±۱۵/۳	-	-	-	-	-	-	-	۸/۵±۰/۵	۹±۱	۸±۱	<i>L.monocytogenes</i>	
۲۸/۷۶±۷/۷۶	۱۷/۹۳±۷/۰۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>E.coli</i>	

جدول ۲) فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی جلبک های مورد مطالعه با استفاده از روش چاهک (غاظت عصاره های میلی گرم بر میلی لیتر است)

قطر هال عدم رشد (میلی متر)		<i>L.snyderia</i>			<i>C. trinodis</i>			<i>E. intestinalis</i>			عصاره جلبکی		
قطر هال عدم رشد	تراسایکلین	آمپی سیلین	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰		
۲۸/۹۳±۵/۵	۱۹/۲۶±۱۳/۰۵	-	-	-	-	-	-	۱۰/۵±۰/۵	۸/۱۶±۰/۷۶	۵/۵±۰/۵	<i>L.monocytogenes</i>		
۲۴/۲۶±۸/۳۸	۱۶/۱±۸/۰۷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>E.coli</i>	

ترکیبات فنلی دلیل عمدۀ بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی بعضی عصاره ها از جمله ترکیبات قطبی است (۲۱). دی فنیل پیکریل هیدرازیل ترکیبی است بنفسن رنگ که به دلیل حضور گروه های فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی اکسیدان، از رنگ بنفسن به زرد تغییر رنگ می دهد. رادیکال های آزاد موجود در DPPH در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند که از قانون بیرون لامبرت پیروی می کنند و کاهش جذب آن ها با میزان ماده آنتی اکسیدان رابطه خطی دارد. هر چه بر مقدار ماده آنتی اکسیدان افزوده شود، DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفسن بیشتر به سمت زرد می کند. آزمون آنتی اکسیدانی معادل ترولکس و دی فنیل پیکریل هیدرازیل هر دو رادیکال آزاد سنتزی می باشند که کاربرد آن ها مشابه بوده هر چند

بین نتایج حاصل از عصاره هیدروالکلی جلبک به روش دیسک دیفیوژن و چاهک علیه *E. intestinalis* باکتری *L. monocytogenes* و نتایج کترل مثبت (آن تی بیوتیک های به کار رفته) اختلاف معنی دار بود.

بحث

اختلاف معنی داری بین درصد مهار حاصل از عصاره های هیدروالکلی (با غاظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر) جلبک سبز *C. trinodis* و جلبک قهوه ای *E. intestinalis* با استفاده از آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل گزارش گردید.

در مطالعه حاضر فعالیت آنتی اکسیدانی جلبک *E. intestinalis* پایین بود. می توان پایین بودن فعالت آنتی اکسیدانی را به دلیل پایین بودن میزان فنل و فلاتونئید تام دانست. به علاوه مطالعات نشان داده که بالا بودن

مناطق جزر و مدی که متحمل استرس‌های محیطی همچون تابش خورشید، درجه حرارت بالا و در معرض خشکی زدگی است رویش پیدا می‌کند (۳۰). قرار گرفتن در معرض بالاترین استرس‌های محیطی شاید از جمله دلایلی باشد که دارای کمترین خاصیت آنتی‌اسیدانی را از خود نشان داده است. بالاترین خاصیت آنتی‌اسیدانی را در این تحقیق جلبک قهوه‌ای *C. trinodis* که در عمق بیشتر مناطق جزر و مدی و در معرض استرس‌های کمتر قرار دارد از خود نشان داد.

اگر چه اثبات شده جنس *Laurencia* غنی از متabolیت‌های ثانویه است (۳۱) اما فعالیت آنتی‌اسیدانی آن‌ها قابل قیاس با جلبک‌های دیگر نبود و مطالعات قبلی فعالیت ضداسیدانی بالایی را از این جنس نشان نداده‌اند (۳۲). در مطالعه اخیر نیز جلبک قرمز *L. Snyderia* در مقایسه با جلبک قهوه‌ای *C. trinodis* فعالیت ضداسیدانی کمتری را از خود نشان داد.

حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت به عصاره جلبکی ناشی از اختلاف و تفاوت در ساختار دیواره سلولی و ترکیب آن است (۳۳). در باکتری‌های گرم منفی اعضاء خارجی به عنوان یک سد در مقابل تعداد زیادی اجسام خارجی مانند آنتی‌بیوتیک عمل می‌کنند (۳۴). باکتری‌های گرم منفی بهدلیل داشتن لایه لیپولی ساکاریدی غشاء خارجی و همچنین داشتن کانال‌های درگیر در حمل و نقل مواد، ذاتاً نسبت به مواد سمی و رنگ‌های آبدوست و آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت بیشتری دارند (۳۵). حاللهایی با قطیبت کمتر نتایج بهتری نسبت به حاللهایی با قطیبت بیشتر دارند که می‌توان احتمال داد که بهعلت قطیبت بیشتر، اکثر ترکیبات و اجزاء جلبکی دیگر (از جمله مقدار فراوانی کلروفیل) را همراه ماده فعل استخراج می‌کند. در این نوع عصاره هیدرولالکلی با توجه به وجود آب و الکل، ترکیبات قطبی

که پتانسیل آنتی‌اسیدانی معادل ترولکس را می‌توان در اندازه‌گیری فعالیت‌های آنتی‌اسیدانی ترکیبات قطبی و غیرقطبی استفاده کرد (۲۰).

فعالیت آنتی‌اسیدانی آهن احیا شده بر اساس توان احیاء یون فریک (III) به یون فروس (II) سنجیده می‌شود که نتایج برحسب میکرومول یون فروس در گرم عصاره گزارش می‌شود. علت این اختلاف می‌تواند ناشی از بکار بردن روش‌های مختلف اندازه‌گیری، استخراج، استانداردهای مختلف برای بیان نتایج، نوع خاک و آب و هوای دانست (۲۲ و ۲۳).

آزمون فعالیت آنتی‌اسیدانی احیاء آهن روشنی است که به طور مستقیم آنتی‌اسیدانها و یا احیاء کننده‌ها را در نمونه‌ها اندازه‌گیری می‌کند و رابطه خطی با غلظت آنتی‌اسیدانی آن‌ها دارد (۲۴).

زوپیا (Zubia) و همکاران در سال ۲۰۰۷ در پی تحقیق خود بر روی ۴۸ گونه جلبک دریایی کمترین فعالیت ضداسیدانی را برای جلبک سبز *E. Intestinalis* ثبت کردند که در تطابق با کارهای کیم (Kim) (۲۰۰۵) و یان (Yan) (۱۹۹۸) می‌باشد (۲۵-۲۷).

همچنین وی بیشترین فعالیت ضداسیدانی را برای جلبک‌های قهوه‌ای ثبت کرد. این نتایج با نتایج مطالعه اخیر کاملاً همپوشانی دارند. پیشنهاد شده که محصول شیمیایی عصاره‌ها بستگی به نوع حلال‌ها با H₊های مختلف، قطیبت، زمان و درجه حرارت عصاره‌گیری و همچنین ترکیبات شیمیایی نمونه دارد (۲۸). در حقیقت ترکیبات آنتی‌اسیدانی همانند محتواهای فنلی از چندین فاکتور بیرونی (فسار گیاه خواران، در معرض آفتاب بودن، عمق، شوری، مواد وغیره) و عوامل داخلی و ذاتی (شامل گونه، سن و مراحل تولید مثلی) پیروی می‌کنند (۲۹). جلبک سبز *E. intestinalis* در بالاترین سطح

حساس‌تر هستند (۳۶). اصلی‌ترین و بیشترین ترکیبات جلبک‌های دریایی را ترکیبات سولفاتی و مواد قندی تشکیل می‌دهند (۳۷). با توجه به این نتایج اجزای فعال زیستی مورد نظر بایستی ترکیباتی با قطبیت کم و چربی دوست باشند (۳۸).

گونه‌های جلبکی مورد بررسی در این تحقیق اثر ضداکسیدانی متoste از خود نشان دادند. به طوری که بالاترین فعالیت ضداکسیدانی را جلبک قهقهه‌ای *C. Trinodis* نشان داد. هر چند که تمام عصاره‌های جلبکی مورد مطالعه به استثنای جلبک سبز (*E. intestinalis*) که فعالیت ضد باکتریایی ضعیفی داشت) فقد فعالیت‌های ضد باکتریایی بودند.

بیشتری استخراج گردید که می‌توان حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت را به عمل قطبی بودن عصاره‌ها دانست؛ زیرا که ترکیبات قطبی موجود در عصاره‌ها به راحتی از غشاء سلولی باکتری‌های گرم مثبت نفوذ کرده و باعث از بین رفتن باکتری گرم مثبت *L. monocytogenes* (شده است. نسبت مواد فعال زیستی با خاصیت ضدباکتریایی در قیاس با عصاره با قطبیت کمتر کاهش می‌یابد. مطالعات نشان داده‌اند که باکتری گرم منفی *E. coli* در مقابل اکثر عصاره‌های جلبکی از خود مقاومت نشان داده که با مطالعه اخیر همپوشانی دارد. از طرفی مطالعات نشان دادند که باکتری‌های گرم مثبت در مقابل عصاره‌های خام جلبکی

References:

- Nabipour I. marine medicine .1st ed.Bushehr: Bushehr univ med sci 2008;157(persian).
- Badea V, Balaban DP, Rapeanu G, et al. The antibacterial activity evaluation of *Cystoseira barbata* biomass and some alginates upon bacteria from oropharyngeal cavity. Rom Biotechnol Lett 2009; 14: 4851-7.
- Stirk WA, Reinecke DL, van Staden J. Seasonal variation in antifungal, antibacterial and acetylcholinesterase activity in seven South African seaweeds. J Appl Phycol 2007; 19: 271-6.
- Jiao L, Li X, Li T, et al. Characterization and anti-tumor activity of alkali-extracted polysaccharide from Enteromorpha intestinalis. Int Immunopharmacol 2009; 9: 324-9.
- Vijayabaskar P, ShiyamalaV. Antibacterial activities of brown marine algae (*Sargassum wightii* and *Turbinaria ornata*) from the Gulf of Mannar Biosphere Reserve. Adv Biol Res 2011; 5: 99-102.
- Bourgeois CF. Antioxidant vitamins and health: cardiovascular disease, cancer, cataracts, and aging. New York: Hnb Pub, 2003.
- Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. Compr Rev Food Sci Food Saf 2004; 3: 21-33.
- Blomhoff R. Dietary antioxidants and cardiovasular disease. Curr Opin Lipidol 2005; 16: 47-54.
- Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. J Clin Pathol 2001; 54: 176-86.
- Aviram M, Kaplan M, Rosernblat M, et al. Dietary antioxidants and paraoxonases against LDL oxidation and atherosclerosis development. Handb Exp Pharmacol 2005; 170: 263-300.
- Bocanegra A, Bastida S, Benedí J, et al. Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. J Med Food 2009; 12: 236-58.
- Okeke IN, Laxmaninarayan R, Bhutta ZA, et al. Antimicrobial resistance in developing countries, Part 1: recent trends and current status. Lan Infe dis 2005; 5: 481-93.
- Val A, Platas A, Cabello A, et al. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gram Canaria (Canary Islands, Spain). Int Microbiol 2001; 4: 35-40.
- Salehi P, Sonboli A, Eftekhar F, et al. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (BOISS.) RECH. f. from Iran. Biol Pharm Bul 2005; 28: 1892-6.

- 15.Androw JM, BSAC Working Party on Susceptibility Testing. BSAC Standardized disc susceptibility testing method. *J Antimicrob. Chemother* 2001; 48: 43-57.
- 16.Von Gadow A, Joubert E, Hansmann CF. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*), α-tocopherol, BHT, and BHA. *J Agric Food Chem* 1997; 45: 632-8.
- 17.Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP Assay. *Anal Biochem* 1996; 239: 70-6.
- 18.Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem* 1999; 269: 337-41.
- 19.Jimenez E, Dorta F, Medina C, et al. Antiphytopathogenic activities of macro-algae extracts. *Mar Drugs* 2011; 9: 739-56.
- 20.Arnao MB. some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends Food Sci Technol* 2000; 11:419-21.
- 21.Küçük M, Kolaylı S, Karaoğlu Ş, et al. Biological activities, chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem* 2007; 100: 526-34.
- 22.Yoo KM, Lee CH, Lee H, et al. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chem* 2008; 106: 929-36.
- 23.Alexandru V, Balan M, Gaspar A, et al. Studies on the antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Romanian medicinal plants used for wound healing. *Rom Biotechnol Lett* 2007; 12: 3467-72.
- 24.Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 4290-302.
- 25.Zubia M, Robledo D, Freile-Pelegrin Y. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *J Appl Phycol* 2007; 19: 449-58.
- 26.Jo JH, Kim D, Lee S, et al. Total phenolic contents and biological activities of Korean seaweed extracts. *Food Sci Biotechnol* 2005; 14: 000.
- 27.Yan X, Nagata T, Fan X. Antioxidative activities in some common seaweeds. *Plant Foods Hum Nutr* 1998; 52: 253-62.
- 28.Yuan YV and Walsh NA. Antioxidative and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 1144-50.
- 29.Connan S, Delisle F, Deslandes E, et al. Intra-thallus phlorotannin content and antioxidant activity in *Phaeophyceae* of temperate waters. *Bot Mar* 2006; 49: 34-46.
- 30.Choo KS, Snoeijs P, Pedersen M. Oxidative stress tolerance in the filamentous green algae *Cladophora glomerata* and *Enteromorpha ahneriana*. *J Exp Mar Biol Ecol* 2004; 298:111-23.
- 31.Blunt JW, Copp BR, Munro MH, et al. Review: Marine natural products. *Nat Prod Rep* 2005; 22: 15-61.
- 32.Takamatsu S, Hodges TW, Rajbhandari I, et al. Marine natural products as novel antioxidant prototypes. *J Nat Prod* 2003; 66: 605-8.
- 33.Taskin E, Ozturk M, Kurt O. Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *Afr.J. Biotechnol* 2007; 6: 2746-51.
- 34.Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiology: An Introduction*. San Francisco: Benjamin Cummings, 2001, 88-9.
- 35.Ebrahimi A, Khayami M, Nejati V. Evaluation of antibacterial activity of *Quercus persica* Jaub & spach fruit's hidroalcoholic extract in disc diffusion method. *J Med Plants* 2010; 1: 26-34.(persian)
- 36.Kandhasamy M, Arunachalam KD. Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *Afr J. of Biotechnol* 2008; 7: 1958-61.
- 37.Al-Amoudi OA, Mutawie HH, Patel AV, et al. Chemical composition and antioxidant activities of Jeddah corniche algae, Saudi Arabia. *Saudi. J Biol. Sci* 2009; 16: 23-9.
- 38.Derakhshesh B, Yosefzadi M, Afsharnasab M, et al. In vitro antibacterial activities of the marine macroalgae "Laurencia Snyderiae" and "Sargassum Angustifolium" against human pathogens. *Iran South Med J* 2011; 14: 17-22.(Persian)

Original Article

Antibacterial and Anti-oxidant activity of three species of green, brown and red algae from Northern coast of Persian Gulf

**M. Heidari^{1*}, H. Zolgharnine¹, N. Sakhaei¹, A. Mirzaei²,
AA. movahedinia¹**

¹ Department of Marine Biology, School of Marine Science and Ocean, Khorramshahr Marine Science and Technology University

² Medicinal Plant research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

(Received 29 Oct, 2013 Accepted 1 Feb, 2014)

Abstract

Background: Marine algae are shown to contain a wide range of bioactive compounds, which have commercial application in pharmaceutical, medical, cosmetic, nutraceutical, food and agricultural industries. The biological activity of the natural bio-active compounds in algae has wide effects on bacteria, tumors and antioxidant activities. The purpose of this study was to determine antioxidant and antibacterial activity of the marine algae.

Materials and Methods: The ethanol extracts of three species of green, brown and red algae were done by soaking method from northern coast of the Persian Gulf in Busheher province. Antibacterial activity of L. monocytogenes and E. Coli were performed using disk diffusion and well method, and also antioxidant activities of ethanol extracts of added three species accomplished using DPPH, FRAP and PMB tests.

Results: The highest antioxidant activity was belonged to brown algae C. trinodis. Meanwhile Algae extraction was not revealed antibacterial activity against E. coli, but showed antibacterial activity against L. monocytogenes.

Conclusion: In this study algae species was exhibited excellent antioxidant activity when compared with their antibacterial effects. The highest anti-oxidant activitie was found in brown algae C. trinodis.

Key words: Marine algae, Anti oxidant, Anti Bacterial, Persian Gulf, Listeria monocytogenes, E. coli, ethanol extracts

*Address for correspondence: Department of Marine Biology, School of Marine Science and Ocean, Khorramshahr Marine Science and Technology University, , E.mail: heydari_mohsen84@yahoo.com