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 کردجزی***: 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 به‌عنوان 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 شلاته کنندگی 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 معطوف‌کرده است از این‌رو 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 به‌عنوان ترکیب باکتری‌کش و آنتی‌اکسیدان به مصرف غذایی، دارویی و آرایشی و بهداشتی برسد.

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

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: kordjazi.m@gmail.com

مقدمه

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و در برخی موارد استفاده توام از واکسن‌ها ازجمله 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 مصرف کننده داشته باشد (Austin و Austin، ۲۰۰۷). لذا یافتن روش‌های جایگزین موثر جهت مقابله با پاتوژن‌های باکتریایی و درنتیجه 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 شکل گیری 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 ضدمیکروبی، ضدقارچی، 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* ازجمله 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 گذارش شده است (پیمانی و همکاران، ۱۳۹۳؛ Hussain و همکاران، ۲۰۰۸؛ Andersson و Hughes، ۲۰۱۰) که باعث‌شده از آن‌ها به‌عنوان یک ترکیب ایده‌آل و کاربردی در صنایع مختلف استفاده شود (Sanjeewa 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 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 به‌مدت ۲۴ ساعت انکوباته شد. سپس با دور rpm ۳۵۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژشد. مایع رویی (عصاره)

به‌وسیله 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 یک‌بار دیگر تکرار شد. در پایان تمام عصاره‌های پودر شده به‌دست آمده از مراحل فوق با هم مخلوط و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگه‌داری شدند. لازم به تذکر است که در زمان انجام کلیه آزمایش‌ها، محلول استوکی از عصاره به غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر 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 فوکوییدانی جلبک *S. tenerrimum* با غلظت‌های ۵۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. ترتیب دیسک‌ها بر روی پلیت شامل دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی اکسی‌تتراسایکلین، جنتامایسین و آموکسی‌سلین به‌عنوان آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف و شاهد مثبت و یک عدد دیسک بلانک خام به‌عنوان شاهد منفی قرار داده شد. هم‌چنین یک عدد دیسک حاوی سرم فیزیولوژی به‌عنوان شاهد و یک عدد دیسک مربوط به هر عصاره بر روی محیط کشت قرار داده شد (Zargari و همکاران، ۲۰۱۸).

فعالیت ضدباکتریایی عصاره: به‌منظور بررسی فعالیت ضدباکتری عصاره جلبک قهوه‌ای *S. Tenerrimum*، هفت گونه باکتری *Streptococcus iniae* (GQ850377)، *Yersinia ruckeri* (KC291153)، *Aeromonas hydrophila* (AH04)، *Micrococcus luteus* (CIPA270)، *Staphylococcus aureus* (ATCC29737)، *Salmonella typhimurium* (ATCC13076) و *Escherichia coli* (ATCC10536) از دانشگاه تهران و انستیتو پاستور تهران خریداری شد و تست آنتی‌باکتریال به‌روش دیسک دیفیوژن انجام شد. در این روش از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط کشت نوترینت براث سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارند تهیه گردید. سپس ۱۰۰ مایکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی آماده شده برداشته و به محیط کشت مولر هیلتون آگار اضافه شد. سپس با استفاده از سواپ، کشت یکنواختی از باکتری بر سطح محیط کشت صورت گرفت. سپس دیسک بلانک آغشته به ۳۰ مایکرولیتر از عصاره جلبک بر روی محیط کشت حاوی باکتری قرار گرفت. هم‌چنین از دیسک‌های استاندارد اکسی‌تتراسایکلین، جنتامایسین و آموکسی‌سیلین شرکت پادتن تب استفاده شد. در آخر، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد، میزان فعالیت باکتری کشی عصاره در دوزهای مختلف توسط کولیس ورنیه به‌دقت ۰/۲ میلی‌متر مشخص شدند (Pinteus و همکاران، ۲۰۱۵).

سنجش فعالیت‌های ضداکسیدانی: فنل کل با استفاده از روش Taga و همکاران (۱۹۸۴) انجام گرفت و به‌صورت میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم عصاره گزارش گردید. در این روش ۱۰۰ مایکرولیتر از محلول نمونه یا استاندارد به ۲ میلی‌لیتر ۲٪ Na_2CO_3 اضافه شد. ۲ دقیقه بعد ۱۰۰ مایکرولیتر معرف فولین سیوکالتو ۵۰٪ به مخلوط و ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. درنهایت منحنی استاندارد براساس گالیک اسید در محدود بین ۰/۰۰۱ تا ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رسم شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل مطابق روش Sathya و همکاران (۲۰۱۷) سنجش شد و به‌صورت میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره بیان شد. به‌صورت خلاصه، ۰/۳ میلی‌لیتر نمونه در غلظت‌های مختلف با ۳ میلی‌لیتر از معرف متشکل از سولفوریک اسید ۰/۶ مولار، سدیم فسفات ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی‌مولار مخلوط شد. مخلوط برای مدت ۹۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد 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 میلی‌گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول مطلق حل شد. غلظت‌های مختلف از عصاره تهیه و ۰/۱ میلی‌لیتر از این محلول‌ها با ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول DPPH در لوله‌های استریل ریخته شد. مخلوط برای یک دقیقه توسط ورتکس مخلوط و برای ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی نگه‌داری شد. در آخر جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. از اسیدگالیک و اسیداسکوربیک به‌عنوان شاهد مثبت استفاده شد. درصد بازدارندگی رادیکال DPPH عصاره‌ها، طبق رابطه زیر محاسبه گردید (Rodriguez Meizoso و همکاران، ۲۰۰۶):

$$\text{توانایی مهار رادیکال DPPH (٪)} = \frac{\text{کنترل A} - \text{کنترل B}}{\text{کنترل A}} \times ۱۰۰$$

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 مایکرو لیتر از عصاره در غلظت‌های مختلف تهیه و با ۱۳۵ مایکرولیتر آب مقطر و ۵ مایکرولیتر $FeCl_2$ ۲ میلی‌مولار مخلوط گردید. در مرحله بعد با اضافه کردن ۱۰ مایکرولیتر فروزین ۵ میلی‌مولار واکنش آغاز شد و نمونه‌ها توسط ورتکس به‌شدت مخلوط شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در پایان جذب نمونه‌ها به‌روش اسپکتوفوتومتری در طول‌موج ۵۶۲ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد توسط اسیدسیتریک و $EDTA\text{-}Na_2$ استفاده شد. در سنجش رادیکال آزاد سوپراکسید مقدار ۳ میلی‌لیتر بافر Tris-HCl ۱۶ میلی

مولار با pH=۸ 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 به‌مدت 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 ANONA) در سطح اطمینان ۹۵٪ و آزمون دانکن جهت بررسی معنی‌دار بودن میانگین‌ها استفاده شد و نمودارهابا استفاده ازنرم‌افزار Excel(Microsoft office, ۲۰۱۶) ترسیم شدند.نتایج بررسی شاخص‌های مورد مطالعه به‌صورت میانگین± انحراف معیار بیان گردید.

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($p<۰/۰۵$)را درجلوگیری از رشد باکتری‌ها داشت.خاصیت ضدباکتریایی برای عصاره در مقابل *Y. rockeri* مشاهده نشد. مقدار دوز ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توانایی بالاتری در مقایسه با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای باکتری *S. typhimurium* نشان داد. در سایر باکتری‌ها توانایی معنی‌داری بین دوزهای مختلف عصاره دیده نشد ($p>۰/۰۵$).

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

	تیمارها	*M. luteus*	*S. iniae*	*A. hydrophila*	*Y. rockeri*	*S. typhimurium*	*S. aureus*	*E. coli*
شاهد	نرمال سالین	–	–	–	–	––	–	–
شاهد مثبت	اکسی‌تتراسایکلین میلی‌لیتر/میلی‌گرم۳۰	۳۱/۸۱ ±۲/۳۴^{a}	۳۵/۳۲ ±۱/۳۶^{a}	۲۲/۶۷ ±۱/۵۴^{a}	۱۹/۹۳ ±۰/۷۳^{b}	۲۸/۸۸ ±۱/۲۹^{a}	۳۱/۰۸ ±۱/۱۶^{a}	۲۱/۸۲ ±۲/۰۳^{a}
	آموکسی‌سیلین میلی‌لیتر/میلی‌گرم۲۵	۲۴/۲۳ ±۱/۶۶^{b}	۳۰/۸۷ ±۰/۵۴^{b}	۲۱/۹۱ ±۰/۴۴^{a}	۲۸/۹۶ ±۷/۱۵^{a}	۲۸/۰۹ ±۰/۵۶^{a}	۲۶/۳ ±۰/۸۱^{b}	۱۴/۰۵ ±۰/۸۷^{b}
	جنتامایسین میلی‌لیتر/میلی‌گرم۱۰	۲۰/۴۰ ±۱/۰۶^{c}	۲۰/۳۷ ±۰/۲۷^{c}	۱۵/۲۴ ±۰/۲۲^{b}	۱۶/۹۸ ±۱/۱۱^{b}	۱۹/۶۸ ±۰/۴۵^{b}	۱۹/۳۹ ±۰/۴۶^{c}	۱۵/۲۳ ±۰/۴۶^{b}
شاهد منفی	دیسک بلانک	–	–	–	–	–	–	–
S. tenerrimum	عصاره کل میلی‌لیتر/میلی‌گرم۵۰	۸/۷۸ ±۰/۱۳^{d}	۱۲/۱۵ ±۰/۱۷^{d}	۸/۹۶ ±۰/۱۸^{c}	–	۱۰/۴۹ ±۰/۱۱^{c}	۸/۶ ±۰/۱۹^{d}	۸/۵۸ ±۰/۱۹^{c}
	عصاره کل میلی‌لیتر/میلی‌گرم۲۵	۸/۷۶ ±۰/۲۲^{d}	۱۰/۶۹ ±۰/۱۷^{d}	۷/۲۷ ±۰/۱۷^{c}	–	۸/۵۱ ±۰/۱۴^{d}	۱۰/۲۵ ±۰/۳۹^{d}	۸/۶۵ ±۰/۱۷^{c}

یکسان بودن حروف انگلیسی در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲: فنل کل برحسب میلی‌گرم اسیدآسکوربیک بر ۱۰۰ گرم عصاره

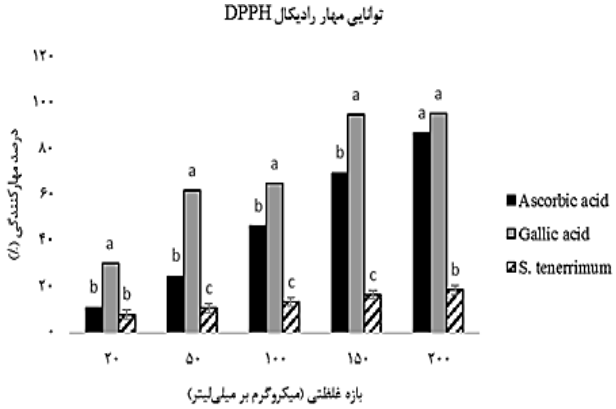
فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم عصاره)	۰/۱۴ ± ۰/۰۵

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 به‌مقدار 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 آسکوربیک و گالیک اسید انجام گرفت عصاره این جلبک در غلظت‌های ۲۰ الی ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌ترتیب ۸/۰۱، ۱۰/۸۲، ۱۳/۶۴، ۱۶/۵۹، ۱۸/۷ درصد محاسبه شد. در بالاترین غلظت عصاره که

شکل ۱: نمودار فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره برحسب میلی‌گرم اسیدآسکوربیک بر گرم عصاره جلبک *S. tenerrimum*

در هر غلظت حروف انگلیسی یکسان نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در میانگین درصد مهارکنندکی رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌ها است. نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار گزارش شد.

بیش‌ترین فعالیت مهارکنندگی را نشان داد، گروه‌های شاهد مثبت گالیک اسید و اسید آسکوربیک به‌ترتیب دارای ۹۵/۵۲ و ۸۷/۳۷ درصد اثر مهار کنندگی بودند که اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نشان ندادند (p>۰/۰۵).



شکل ۲: نمودار توانایی مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره جلبک *S. tenerrimum*

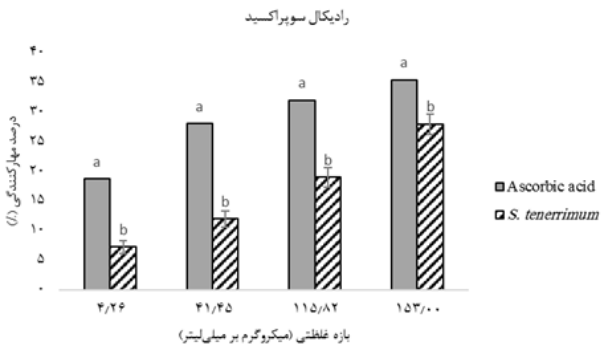
در هر غلظت حروف انگلیسی یکسان نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) در میانگین درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌ها است. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک *S. tenerrimum* براساس قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن مورد ارزیابی قرار گرفت. شکل ۳ نشان دهنده قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن متناسب با غلظ 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 شلاته کنندگی یون آهن به‌طور معنی‌داری در مقایسه با استاندار اسید سیتریک بالاتر بود (p<۰/۰۵).

شکل ۳: نمودار توانایی شلاته کنندگی یون آهن توسط عصاره جلبک *S. tenerrimum*

در هر گروه حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین نمونه‌ها است (p<۰/۰۵). نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد.

مهار رادیکال آزاد سوپراکسید توسط عصاره جلبک *S. tenerrimum* در شکل ۴ نشان داده شد. درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد سوپر اکسید به غلظت وابسته است و با افزایش در غلظت درصد مهار کنندگی نیز افزایش می‌یابد. اسیدآسکوربیک به‌عنوان شاهد مثبت دارای فعالیت معنی‌دار بیش‌تری (p<۰/۰۵) در مقایسه با عصاره جلبک می‌باشد.



شکل ۴: نمودار درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد هیدروکسیل توسط عصاره جلبک *S. tenerrimum*

حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین گروه‌ها است (p<۰/۰۵). نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد.

بحث

در سال‌های اخیر استفاده بی‌رویه و کنترل نشده از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ایجاد سویه‌ای مقاوم به مواد ضدباکتریایی شده که به‌دنبال آن برای مقابله با باکتری‌ها باید از دوزهای بالاتری از آنتی‌بیوتیک استفاده می‌شود که خود می‌تواند اثرات ناخواسته‌ای به‌دنبال داشته باشد و باعث بروز مشکلات ثانویه برای مصرف کننده شود. به تازگی با پیشرفت تکنولوژی و تکنیک‌های آزمایشگاهی ترکیبات ضدمیکروبی با منشاء 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 ماکروجلبک‌ها شناسایی و تخلیص شده است. ترکیبات گیاهی که دارای خاصیت ضد باکتریایی به‌همراه خواص آنتی‌اکسیدانی باشند می‌توانند در صنایع متفاوت ازجمله صنایع غذایی و صنایع آرایشی و بهداشتی کاربرد گسترده‌ای داشته باشند. بنابراین تحقیقات جهت دستیابی به منابع نوین دارویی با منشاء دریایی با توجه به تنوع بسیار بالای گونه‌های آبزی با خواص ضدباکتریای از اهمیت بالایی برخوردار هستند. در باکتری‌های گرم منفی به‌دلیل وجود لایه پپتیدوگلیکانی در اطراف

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 (Kandhasamy و Arunachalam، 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 ضدمیکروبی جلبک‌ها را می‌توان به آمینواسیدها، ترپنوییدها، فلوروتانین‌ها، 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. tetrastromatica* 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 reticulate* 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. tetrastromatica*، *Chnoospora minima*، *Hormophysa triquetra* و *S. wightii* به‌ترتیب ۵±۳۴، ۹±۲۹، ۳±۲۴ و ۲±۲۰ میلی‌گرم اسیدآسکوربیک بر گرم عصاره بود که در مقایسه با ۷±۸۲ 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 ازجمله فلاونوئید، لگنین‌ها، توکوفرول‌ها، تانن‌ها و اسیدهای فنولیک یافت می‌شوند و با شلاته کردن یون‌های فلزی، ممانعت از ایجاد رادیکاه 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 ۲/۶۱±۱۵/۳۵ محاسبه شد که این مقدار نزدیک به‌مقدار فنل کل عصاره *S. tenerrimum* ۵±۱۴ است. درحالی‌که‌عصاره 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. hornschuchii* مفدار فنل ۰/۵±۲/۹۷ درحالی‌که عصاره آبی *S. tenerrimum* مقدار فنل بالاتر (۵±۱۴) 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

۱. **سفری، پ.؛ رضایی، م.؛ شویک‌لو، ا.ر.؛ گرمسیری، ا. و باباخانی لشکان، آ.، ۱۳۹۴.** تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل دو گونه جلبک دریایی خلیج فارس *Chaetomorpha* و *Colpumenia 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 hornschuchii* 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 fromthe 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 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. **Sanjeewa, A.K.K.; Kim, E.; Son, K. and Jeon, Y., 2016.** Bioactive properties and potentials cosmeceutical applications of phlorotannins isolated from brown seaweeds.

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.