

## اثر عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Nizimuddinia zanardini* سواحل قشم بر عوامل بیماری‌زای انسان و تعیین خواص ضداکسیدانی آن

### چکیده

به دلیل اثرات جانبی ناشی از مصرف ضداکسیدان‌های مصنوعی و همچنین افزایش روزافزون مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، شناسایی ترکیبات ضداکسیدانی و ضد میکروبی با منشأ طبیعی مورد توجه فراوان قرار گرفته است. لذا مطالعه حاضر به منظور ارزیابی فعالیت ضداکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Nizimuddinia zanardini* انجام شد. عملیات نمونه‌برداری در زمستان ۱۳۹۳ از منطقه کانی قشم صورت گرفت. بررسی فعالیت ضداکسیدانی با آزمون‌های اثر مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل، توانایی کلاته‌کنندگی یون آهن و فعالیت ضداکسیدان کل انجام شد. فعالیت ضدباکتریایی عصاره روی ۴ سویه باکتری بیماری‌زا از قبیل: *Bacillus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus cereus* به روش انتشار از دیسک مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد مقایسه گردید. نتایج نشان داد، فعالیت ضداکسیدان کل ( $70/42 \pm 3/71$ ) میلی‌گرم/گرم (میلی‌گرم/گرم)، توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل ( $81/66 \pm 7/63$  درصد) و توانایی کلاته‌کنندگی یون آهن ( $76/24 \pm 0/39$  درصد) در جلبک مورد مطالعه، بالا بود. باکتری *Staphylococcus aureus* از بیشترین حساسیت با قطر هاله عدم رشد  $12/62 \pm 0/74$  میلی‌متر نسبت به عصاره آبی *N. zanardini* برخوردار بود، به طوری که نسبت به آنتی‌بیوتیک تجاری آموکسی‌سیلین اختلاف آماری معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ). باکتری *Escherichia coli* نیز بیشترین مقاومت را از خود نشان داد. طبق نتایج این مطالعه، جلبک قهوه‌ای *N. zanardini* می‌تواند به عنوان یک منبع بالقوه از ترکیبات ضداکسیدانی و ضدباکتریایی در صنایع غذایی و پزشکی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: *Nizimuddinia zanardini*، ضداکسیدان، ضدباکتریال.

عصمت محمدی<sup>۱\*</sup>

بهاره شعبان‌پور<sup>۲</sup>

معظمه کردجزی<sup>۳</sup>

۱. کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲. استاد، گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳. استادیار، گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

\*مسئول مکاتبات:

esmat.mohammadi69@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۰

کد مقاله: ۱۳۹۷۰۴۰۵۲۰

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

### مقدمه

ماکرو جلبک‌ها سطوح وسیع از زیست‌توده مناطق ساحلی را در محیط‌های دریایی تشکیل می‌دهند و به سه گروه عمده‌ی جلبک‌های قرمز (Rhodophytes)، قهوه‌ای (Pheophytes) و سبز (Chlorophytes) طبقه‌بندی می‌شوند (Polat and Ozogul, 2008). جلبک‌ها یک منبع بالقوه از ترکیبات فعال زیستی مانند پلی‌ساکاریدها، ویتامین‌ها، ضداکسیدان‌ها، فیبرهای خوراکی، اسیدهای چرب و مواد معدنی می‌باشند (Sinéad Lordan et al., 2011). تاکنون ترکیبات زیستی متعدد با کاربردهای متنوع همچون اثرات ضداکسیدانی، ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد سرطانی از جلبک‌های پرسلولی شناسایی و جداسازی شده است (Peymani et al., 2014). آمینواسیدها، ترپنوئیدها، فلوروتانین‌ها، اکریلیک اسیدها، ترکیبات فنلی، استروئیدها، کتون‌های هالوژنه، آلکان‌ها، پلی‌سولفیدها و اسیدهای چرب از جمله ترکیبات با پتانسیل

اثر عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Nizimuddinina zanardini* سواحل قشم بر عوامل بیماری‌زای انسان و تعیین خواص ضداکسیدانی آن / محمدی و همکاران

ضدمیکروبی (Shanmughapriya *et al.*, 2008) و پلی‌فنل‌ها، کاروتنوئیدها، توکوفرول‌ها، ترپن‌ها، اسید اسکوربیک و آلکالوئیدها ترکیباتی با پتانسیل ضداکسیدانی در جلبک‌ها به شمار می‌روند (Kokilam *et al.*, 2013). ترکیبات ضداکسیدانی به‌سرعت با انواع اکسیژن فعال مانند آنیون‌های سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید که از جمله واکنشگرهای مهم برای شروع پراکسیداسیون لیپیدی به شمار می‌روند، واکنش می‌دهند. این واکنش منجر به تأخیر یا کاهش اکسیداسیون لیپیدی، که خود از علل عمده بسیاری از اثرات بیماری‌زا و پدیده ترشیدگی در مواد غذایی هستند، می‌شود. علاقه به استفاده از منابع جدید با ظرفیت‌های ضداکسیدانی و ضدمیکروبی مانند ترکیبات طبیعی موجود در جلبک‌های دریایی، در سال‌های اخیر به دلیل عوارض جانبی حاصل از ضداکسیدان‌های مصنوعی مانند بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) (Butylated hydroxytoluene)، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) (Butylated hydroxyanisole) و ترت بوتیل هیدروکینون (tert-) TBHQ (Butylhydroquinone) (Lim *et al.*, 2002) و همچنین مقاوم شدن باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های معمول، افزایش یافته است (Peymani *et al.*, 2014). جلبک‌های موجود در منابع دریایی جنوب ایران یکی از ظرفیت‌های زیستی ارزشمند کشور هستند که توجه کمتری به آن‌ها شده، و برنامه‌ریزی اصولی و مدونی برای بهره‌برداری از این ذخایر دریایی وجود ندارد (Heydari *et al.*, 2013). اگرچه خلیج فارس از نظر بیومس و تنوع جلبک‌ها غنی می‌باشد اما متأسفانه مطالعات کمی روی خواص زیست فعال این منابع ارزشمند انجام گرفته و گزارش در خصوص خواص ضداکسیدانی و ضدمیکروبی از جلبک‌های دریایی موجود در ایران بسیار محدود می‌باشد. از این رو، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی خواص ضداکسیدانی و ضدباکتریایی جلبک قهوه‌ای *Nizimuddinina zanardini* صورت گرفته است. *Nizimuddinina zanardini*، یک گونه از جلبک‌های قهوه‌ای متعلق به رده phaeophyceae راسته *Laminariales* و خانواده *Alariaceae* می‌باشد. محل رویش این جلبک معمولاً در قسمت‌های پایینی محدوده بین جزرومدی روی سطح بسترهای صخره‌ای و محدوده پراکنش آن‌ها در خلیج فارس و دریای عمان در فصل پاییز و زمستان می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

عملیات نمونه‌برداری طی فصل زمستان سال ۱۳۹۳ از منطقه کانی قشم (26°34344N, 55°23765E) صورت گرفت. جلبک جمع‌آوری شده، بلافاصله با آب دریا شستشو داده شد و گل‌ولای و سایر مواد چسبیده به آن‌ها زدوده شد. نمونه به مدت دو تا پنج روز در سایه‌خشک گردید. سپس نمونه در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار قرار گرفت و توسط ورق‌های نازک آلومینیومی پوشانیده شد و در ظروف نگه‌دارنده مخصوص قرار گرفت. شناسایی گونه توسط موسسه تحقیقات شیلات خلیج فارس انجام گرفت. سپس نمونه به بخش آزمایشگاه فرآورده‌های شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی گرگان منتقل گردید و تا شروع آزمایش‌ها لازم جهت عصاره‌گیری و استخراج در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. عصاره‌گیری در سه مرحله با استفاده از آب مقطر صورت گرفت. به‌طور خلاصه، ۵۰ گرم از پودر نمونه جلبکی با یک لیتر آب مقطر هم‌وزن گردید (به نسبت ۱ به ۲۰) و در دمای اتاق با ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار، گرمخانه‌گذاری شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید و سپس با کاغذ صافی واتمن شماره ۴ صاف شد. کنسانتره و عصاره به‌دست‌آمده، در خشک‌کن انجمادی قرار گرفته و سپس توزین گردیدند. به کنسانتره به‌دست‌آمده از مرحله اول مجدداً به نسبت ۱ به ۲۰ آب مقطر اضافه شد و روند بالا دوباره تکرار شد. به این ترتیب کنسانتره و عصاره دوم به دست آمد. کنسانتره و عصاره به‌دست‌آمده از مرحله دوم نیز در خشک‌کن انجمادی قرار داده شده و وزن شدند. به کنسانتره به‌دست‌آمده از مرحله دوم نیز مجدداً به نسبت ۱ به ۲۰ آب مقطر اضافه، و روند بالا تکرار شد تا تمام عصاره‌های باقی‌مانده استخراج شود. سپس کنسانتره و عصاره فریزدرای شدند. تمام عصاره‌های به‌دست‌آمده از سه مرحله با هم مخلوط گردید و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند. در زمان آزمایش محلول ذخیره از عصاره با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

تهیه و به‌منظور انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. سپس آزمایش‌های ضدباکتریایی و ضداکسیدانی به شرح زیر روی عصاره جلبک مورد مطالعه صورت گرفت. به‌منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *N. zanardini*، باکتری‌های *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028)، *Escherichia coli* (ATCC 25922)، *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) (ATCC 6633) از انستیتو پاستور تهران تهیه شدند. تست ضدباکتریایی به روش انتشار در دیسک انجام شد. در این روش، از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط کشت نوترینت براث سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند تهیه شد. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی آماده (۰/۵ مک فارلند) برداشته و به محیط کشت مولر هیتون آگار تزریق گردید و با استفاده از سوآب، کشت یکنواختی از باکتری بر سطح محیط کشت صورت گرفت. سپس دیسک بلانک آغشته به ۳۰ میکرولیتر از عصاره جلبکی روی محیط کشت حاوی باکتری قرار گرفت. همچنین از دیسک‌های استاندارد آموکسی‌سیلین (به‌عنوان شاهد برای باکتری‌های گرم مثبت) و جنتامایسین (به‌عنوان شاهد برای باکتری‌های گرم منفی) استفاده شد. در ادامه، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از این مدت، با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد میزان حساسیت یا مقاومت باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف عصاره مشخص گردید (Pinteus et al., 2015). اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدانی کل در عصاره جلبک مورد مطالعه به روش Prieto و همکاران (۱۹۹۹) با اندکی اصلاح، انجام شد. به‌طور خلاصه، ۰/۳ میلی‌لیتر از نمونه با ۳ میلی‌لیتر از محلول معرف (۰/۶ مولار اسیدسولفوریک، ۲۸ میلی‌مولار فسفات سدیم و ۴ میلی‌مولار مولیبدات آمونیوم)، مخلوط گردید. سپس مخلوط حاصل، به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پس از سرد شدن نمونه‌ها در دمای اتاق، میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۹۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از اسکوریبک اسید استفاده گردید. فعالیت ضداکسیدان کل برحسب میلی‌گرم اسیداسکوریبک بر گرم عصاره بیان شد. قدرت کلاته‌کنندگی یون آهن در عصاره جلبکی بر اساس روش Wang و همکاران (۲۰۰۸)، انجام شد. ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره در غلظت‌های مختلف (۰/۱-۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) با ۱۳۵ میکرو لیتر آب مقطر و ۵ میکرو لیتر  $FeCl_2$  (۲ میلی‌مولار)، مخلوط شد. سپس با اضافه نمودن ۱۰ میکرو لیتر از فروزین (۵ میلی‌مولار) واکنش آغاز شد. مخلوط به‌شدت ورتکس شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۲ نانومتر خوانده شد. در کنترل به‌جای نمونه از ۱۰۰ میکرو لیتر آب مقطر استفاده شد و در بلانک از ۱۰ میکرو لیتر آب مقطر به‌جای محلول فروزین استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد از اسیدسیتریک و  $EDTA-Na_2$  استفاده شد. توانایی کلاته‌کنندگی آهن بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{رابطه ۱:} \quad \text{نمونه } A - \text{کنترل } A \times 100 = \frac{\text{اثر کلاته‌کنندگی آهن}}{\text{کنترل } A} \quad (\%)$$

توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل بر طبق روش Wang و همکاران (۲۰۰۸)، انجام شد. غلظت‌های مختلف نمونه (۰/۱۱-۱/۸۳ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) با ۰/۵ میلی‌لیتر  $EDTA-Fe$  (۲ میلی‌مولار)، ۱ میلی‌لیتر  $H_2O_2$  (۳ درصد)، ۱ میلی‌لیتر زعفران (۳۶۰ میکروگرم/میلی‌لیتر) به همراه ۴/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم (۱۵۰ میلی‌مولار، pH ۴) مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس با خواندن جذب در ۵۲۰ نانومتر، اثر مهار رادیکال هیدروکسیل مشخص گردید. در کنترل از آب مقطر به‌جای نمونه و به‌جای  $H_2O_2$  از بافر فسفات سدیم استفاده گردید. اثر مهار رادیکال هیدروکسیل با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{رابطه ۲:} \quad \text{نمونه } A - \text{کنترل } A \times 100 = \frac{\text{توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل}}{\text{کنترل } A} \quad (\%)$$

اثر عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Nizimuddinia zanardini* سواحل قشم بر عوامل بیماری‌زای انسان و تعیین خواص ضداکسیدانی آن / محمدی و همکاران

تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام شد و مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شد. برای آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۰) استفاده شد. جهت تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آماری تی مستقل و آنالیز واریانس یک‌طرفه و برای بررسی اختلاف میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد ( $P < 0.05$ ). برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel (Microsoft Office, 2010) استفاده شد.

## نتایج

نتایج حاصل از آزمایشات میکروبی نشان داد که باکتری *Staphylococcus aureus* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره آبی *N. zanardini* با قطر هاله عدم رشد  $12/62 \pm 0/74$  میلی‌متر، دارا می‌باشد که اختلاف آماری معنی‌داری با گروه شاهد خود (آنتی‌بیوتیک آموکسی سیلین) نشان داد ( $P < 0.05$ ). همچنین تأثیر مثبت عصاره روی دیگر باکتری‌های مورد پژوهش به خوبی مشخص گردید. عصاره آبی جلبک مورد مطالعه در مقابل تمام باکتری‌های استفاده شده به غیر از *Escherichia coli* اثر ضد باکتریایی خوبی از خود نشان دادند. برای تعیین حداقل دوز کشندگی عصاره از سه بازده غلظتی (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) استفاده گردید که نتایج نشان داد در غلظت ۱۲/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر عصاره هیچ‌گونه اثر ضدباکتریایی در مقابل باکتری‌ها از خود نشان نداد. طبق نتایج این مطالعه غلظت ۲۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر را می‌توان به عنوان حداقل دوز کشنده معرفی کرد.

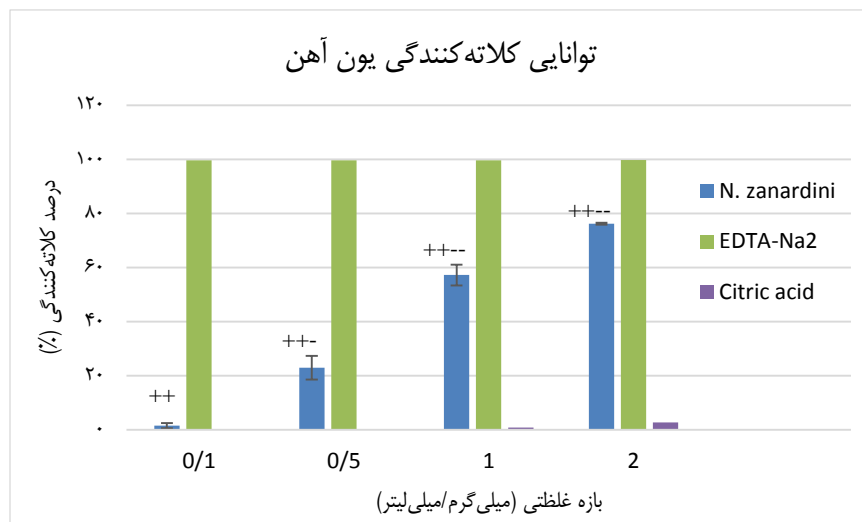
جدول ۱: فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی جلبک *Nizimuddinia zanardini*

باکتری	غلظت عصاره جلبکی (mg/ml)			آنتی‌بیوتیک		قطر هاله عدم رشد (mm)
	۱۲/۵	۲۵	۵۰	جنتامایسین (کنترل مثبت)	آموکسی سیلین (کنترل منفی)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	*-	۹/۱۹ $\pm$ ۱/۳۷ <sup>b</sup>	۱۲/۶۲ $\pm$ ۰/۷۴ <sup>a</sup>	۸/۲۰ $\pm$ ۰/۳۹ <sup>b</sup>		
<i>Bacillus cereus</i>	-	۱۰/۳۹ $\pm$ ۱/۰۱ <sup>b</sup>	۱۳/۱۲ $\pm$ ۰/۶۲ <sup>b</sup>	۲۶/۰۴ $\pm$ ۲/۳۳ <sup>a</sup>		قطر هاله عدم رشد
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	۲۰/۶۵ $\pm$ ۰/۵۶		(mm)
<i>Salmonella typhimurium</i>		۱۰/۲۶ $\pm$ ۱/۲۶ <sup>b</sup>	۱۰/۰۴ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۱۶/۷۰ $\pm$ ۱/۰۶ <sup>a</sup>		

\*هاله عدم رشد مشاهده نشد. یکسان بودن حروف در هر ردیف نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ( $P > 0.05$ ).

در مطالعه حاضر پتانسیل ضداکسیدانی ماکرو جلبک *N. zanardini* اندازه‌گیری شد. جلبک *N. zanardini* فعالیت ضداکسیدانی معادل ۳/۷۱  $\pm$  ۷۰/۴۲ میلی‌گرم اسید اسکوربیک/گرم عصاره را نشان داد.

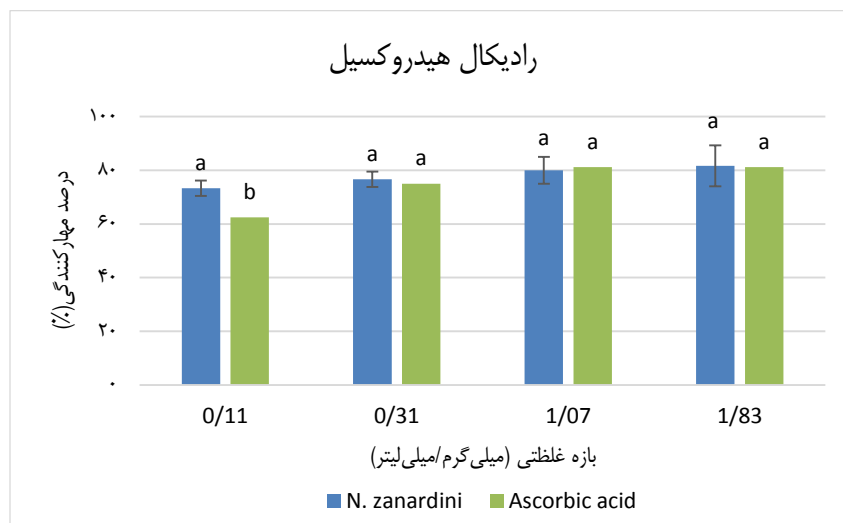
فعالیت ضداکسیدانی عصاره جلبکی بر اساس قدرت کلاته‌کنندگی آهن مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به شکل ۱، قدرت کلاته‌کنندگی یون آهن وابسته به غلظت می‌باشد که با افزایش غلظت درصد کلیت‌کنندگی آهن نیز افزایش می‌یابد. در غلظت‌های (۲-۱) میلی‌گرم/میلی‌لیتر) درصد کلاته‌کنندگی آهن به ترتیب (۷۶/۳۴ $\pm$ ۰/۳۹ و ۱/۵۲ $\pm$ ۰/۹۴) می‌باشد. برای مقایسه قدرت کلیت‌کنندگی عصاره آبی جلبک *N. zanardini* با سایر ضداکسیدان‌ها، از دو نوع ضداکسیدان مرجع از جمله اسیدسیتریک و EDTA-Na<sub>2</sub> استفاده شد. توانایی کلاته‌کنندگی عصاره جلبکی در بازده غلظتی ۲۰-۰/۵ به ترتیب با مقادیر (۲۲/۹۸-۷۶/۳۴)، به صورت معنی‌داری از اسیدسیتریک در همان بازده غلظتی به ترتیب با مقادیر (۲/۶۷-۰/۰۹۵) بالاتر بود؛ اما در مقایسه با EDTA-Na<sub>2</sub> در بازده غلظتی ۲-۰/۱ به ترتیب با مقادیر (۹۹/۷۱-۹۹/۸۰)، قدرت کلیت‌کنندگی آن در همان بازده به ترتیب با مقادیر (۱/۵۲-۷۶/۳۴) به صورت معنی‌داری پایین‌تر بود.



شکل ۱: توانایی کلیت‌کنندگی یون آهن توسط عصاره آبی جلبک *Nizimuddinia zanardini*

علامت‌های (+, -) در غلظت‌های مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار به ترتیب با EDTA-Na<sub>2</sub> و اسیدسیتریک می‌باشد.

فعالیت ضد اکسیدانی عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *N. zanardini* با استفاده از روش مهار رادیکال هیدروکسیل نیز مشخص گردید. همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده، فعالیت مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل به غلظت وابسته می‌باشد و با افزایش در غلظت عصاره درصد مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل نیز افزایش می‌یابد. عصاره جلبک مورد مطالعه کمترین درصد مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل را در غلظت  $0/11 \pm 2/88$  و بیشترین درصد را در غلظت  $1/83 \pm 7/63$  از خود نشان داد. از اسیداسکوربیک برای مقایسه توانایی مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل با عصاره آبی جلبک مورد مطالعه استفاده شد. در غلظت  $0/11$  میلی گرم/میلی لیتر، درصد مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل در عصاره جلبکی به صورت معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) بالاتر بود. اما در سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری بین نمونه جلبکی و اسید اسکوربیک وجود ندارد.



شکل ۲: درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد هیدروکسیل توسط عصاره آبی جلبک *Nizimuddinia zanardini*

حروف متفاوت در غلظت‌های مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

## بحث و نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر، تلاش برای دستیابی به افزودنی‌های غذایی طبیعی به یک نگرانی بزرگ تبدیل شده است. تقاضای مصرف‌کنندگان برای غذاهای سالم باعث شد که بسیاری از محققان به دنبال جایگزین‌های طبیعی مناسب باشند. ترکیبات ضداکسیدانی به‌طور گسترده‌ای باعث حفاظت از مواد غذایی در برابر تخریب اکسایشی و جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند. همچنین استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث به وجود آمدن سوبه‌های مقاوم میکروارگانیسم‌ها و افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سراسر جهان شده است. امروزه شناسایی ترکیبات ضد میکروبی با منشأ طبیعی برای مقابله با باکتری‌های بیماری‌زا و باکتری‌های عامل فساد مواد غذایی مورد توجه فراوان قرار گرفته است. عصاره آبی *N. zanardini* در هیچ غلظتی فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری *Escherichia coli* از خود نشان نداد که می‌تواند ناشی از مقاوم بودن این باکتری نسبت به سایر سوبه‌های باکتریایی باشد و با پژوهش Heydari و همکاران (۲۰۱۵-۲۰۱۳) مطابقت داشت. همچنین، Govindasamy و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که عصاره متانولی حاصل از جلبک‌های (*Padina tetrastomatica*, *Gracilaria corticata*) فاقد اثر ضد باکتریایی علیه *E. coli* می‌باشند که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. Karthikaidevi و همکاران (۲۰۰۹)، نشان دادند که عصاره پترولیوم اتری حاصل از جلبک‌های (*Halimeda tuna*, *Ulva reticulata*, *Codium adherens*) اتیل استات و استونی (*Codium adherens*), *Ulva reticulata* و دی اتیل اتری (*Halimeda tuna*)، فاقد اثر ضد باکتریایی علیه *E. coli* می‌باشند. عصاره اتانولی جلبک *Gracilaria arcuata* (Peymani et al., 2014) و عصاره کلروفرمی جلبک *Gracilaria edulis* (Vallinayagam et al., 2009) از رشد باکتری *Staphylococcus aureus* و همچنین عصاره متانولی حاصل از (*Ulva reticulata*, *Codium adherens*)، اتانولی (*Codium*) *adherens*، استونی، پترولیوم اتری و اتیل استاتی (*Codium adherens*)، کلروفرمی، اتیل اتری و استون استاتی (*Ulva reticulata*) و عصاره دی اتیل اتری (*Halimeda tuna*) از رشد باکتری *Salmonella* جلوگیری کردند اما عصاره آبی جلبک مورد مطالعه روی باکتری‌های مذکور تأثیر بیشتری داشت که می‌توان در این رابطه گونه جلبک و روش عصاره‌گیری را مؤثر دانست. فعالیت ضداکسیدان کل، روشی برای تعیین پتانسیل ضداکسیدان ترکیبات طبیعی می‌باشد. امروزه ضداکسیدان‌های طبیعی نسبت به سنتزی سالم‌تر و ایمن‌تر بوده و محدود به منابع خشکی نمی‌باشند. بر اساس منابع علمی جلبک‌های دریایی منبع غنی از ترکیبات ضداکسیدان طبیعی به شمار می‌روند (Cox et al., 2010). عمده‌ترین ترکیبات فعال با خواص ضداکسیدانی در جلبک‌های قهوه‌ای فلوروتانین‌ها و فوکوزانتین‌ها هستند (Kumar Chandini et al., 2008). در مطالعه حاضر، *N. zanardini* فعالیت ضداکسیدانی معادل  $12/38 \pm 70/42$  میلی‌گرم/گرم، را نشان داد. فعالیت ضداکسیدان کل در *N. zanardini* نسبت به نتایج گزارش شده توسط Kokilam et al (2013) برای جلبک‌های *Padina tetrastomatica* ( $34/66 \pm 5/77$  میلی‌گرم اسید اسکوربیک/گرم عصاره)، *Chnoospora minima* ( $29/3 \pm 9/86$  میلی‌گرم/گرم)، *Hormophysa triquetra* ( $24 \pm 3/05$  میلی‌گرم/گرم) و *Sargassum wightii* ( $20 \pm 2$  میلی‌گرم/گرم) بالاتر بود. در مطالعه Kumar Chandini و همکاران (۲۰۰۸) عصاره‌های متانولی، پترولیوم اتری، اتیل استاتی، دی کلرومتانی، بوتانولی و عصاره آبی حاصل از جلبک‌های (*Turbinaria conoides*, *Padina tetrastomatica*, *Sargassum marginatum*) فعالیت ضداکسیدانی کمتری نسبت به عصاره آبی جلبک *N. zanardini* از خود نشان دادند. Seedevia و همکاران (۲۰۱۵) فعالیت ضداکسیدانی سولفات پلی‌ساکاریدی جلبک *Monostroma oxyspermum* را مورد مطالعه قرار دادند، نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که سولفات پلی‌ساکاریدی از پتانسیل ضداکسیدانی کمتری نسبت به عصاره جلبک *N. zanardini* برخوردار می‌باشد. فعالیت کلیت‌کنندگی فلز یکی از مکانسیم‌های ضداکسیدانی است که باعث کاهش فعل‌وانفعالات انتقال فلز در پراکسیداسیون چربی می‌شود. در میان عناصر واسطه، آهن به دلیل واکنش‌پذیری بالای خود، مهم‌ترین عنصر در اکسیداسیون چربی شناخته می‌شود (Mohsin et al., 2016). قدرت کلاته‌کنندگی یون آهن ( $Fe^{2+}$ ) به تعداد هیدروکسیل وابسته است که با جایگزینی هیدروکسیل در جایگاه ارتو عمل کلیت کردن آهن صورت می‌پذیرد (Wang et al., 2008). توانایی کلاته‌کنندگی یون آهن در

عصاره آبی (۷۶/۲۴ درصد) جلبک مورد مطالعه نسبت به محلول‌های فوکوئیدانی حاصل از جلبک *Padina tetrastromatica* (۴۰ درصد) بالاتر بود (Mohsin et al., 2016). رادیکال هیدروکسیل به‌عنوان یک اکسیدان بسیار قوی در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند با اکثر مولکول‌های فعال در سلول‌های زنده واکنش دهد و سبب تخریب سلول‌های زیستی مجاور شود. بنابراین مهار رادیکال هیدروکسیل برای جلوگیری از آسیب اکسیداسیونی در سلول‌ها و یا سیستم‌های غذایی امری مهم به‌شمار می‌رود (Mohsin et al., 2016). در اکسیداسیون‌های شدید، در نتیجه واکنش هیدروژن پراکسید با یون‌های فلزی از قبیل آهن و مس، رادیکال هیدروکسیل تشکیل می‌شود (Wang et al., 2008). ترکیبات ضد اکسیدانی از طریق کلاته کردن یون‌های  $Fe^{2+}$  و  $Cu^{+}$  باعث مهار رادیکال هیدروکسیل می‌شوند (Mohsin et al., 2016). درصد مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل در عصاره آبی (۸۱/۶۶ درصد) جلبک مورد مطالعه نسبت به محلول‌های فوکوئیدانی حاصل از جلبک - *Laminaria japonica* (۸۰ درصد)، بالاتر بود (Wang et al., 2008). توانایی مهارکنندگی رادیکال آزاد هیدروکسیل در فوکوئیدان را می‌توان به فوکوز و سولفات موجود در آن‌ها نسبت داد. محلول‌های فوکوئیدانی حاوی درصد‌های بالاتر از فوکوز و سولفات از توانایی بالاتری در مهار رادیکال هیدروکسیل برخوردار می‌باشند. عصاره آبی *N. zanardini* در مقایسه با محلول‌های فوکوئیدانی حاوی درصد بالا از فوکوز و سولفات قدرتی مشابه اما نسبت به محلول‌های حاوی درصد پایین‌تر از این ترکیبات، توانایی بالاتری را در مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل از خود نشان داد (Mohsin et al., 2016). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد فعالیت ضد اکسیدان کل، توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل و توانایی کلاته‌کنندگی یون آهن در عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *N. zanardini* بالا می‌باشد. همچنین مطالعه بر روی پاتوژن‌های بیماری‌زا نشان داد که عصاره جلبک مورد مطالعه توانایی جلوگیری از رشد باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Bacillus cereus*، *Salmonella typhimurium* را دارا می‌باشد اما در مقابل *Escherichia coli* هیچ‌گونه اثر ضدباکتریایی از خود نشان نداد (جدول ۱). طبق نتایج حاصل از این پژوهش جلبک قهوه‌ای *N. zanardini* را می‌توان به‌عنوان یک منبع بالقوه از ترکیبات ضد اکسیدانی و ضدباکتریایی به‌شمار آورد که می‌توان این ترکیبات زیست فعال طبیعی را یک جایگزین مناسب برای ضد اکسیدان‌های مصنوعی و آنتی‌بیوتیک‌ها دانست و در زمینه‌های گوناگونی هم چون پزشکی و داروسازی و صنایع غذایی استفاده نمود.

## منابع

- 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*, 17: 205-220.
- Govindasamy, C., Narayani, 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*, 4(7): 2076-2077.
- Heydari, M., Zolgharnein, H., Sakhaei, N., Mirzaei, A. and Movahedinia, A., 2013. Antibacterial and antioxidant activities of hydro-alcoholic extracts of some marine algal species from Persian Gulf coastal waters in Booshehr province. *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 1(1): 50-62.
- Heydari, M., Zolgharnein, H., Sakhaei, N., Mirzaei, A. and Movahedinia, A., 2015. Comparisons of anti-radical and antibacterial potential among macro algae from northern coasts of the Persian Gulf. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 24(2): 53-64.
- Kumar Chandini, S., Ganesan, P. and Bhaskar, N., 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry*, 107: 707-713.
- Karthikaidevi, G., Manivannan, K., Thirumaran, G., Anantharaman, P. T. and Balasubramanian, T., 2009. Antibacterial Properties of Selected Green Seaweeds from Vedalai Coastal Waters; Gulf of Mannar Marine Biosphere Reserve. *Global Journal of Pharmacology*, 3(2): 107-112.

- 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*, 3(11): 99-104.
- Lim, S. N., Cheung, P. C. K., Ooi, V. E. C. and Ang, P. O., 2002.** Evaluation of antioxidative activity of extracts from brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3862-3866.
- Mohsin, S., Mahadevan, R., Sumayya, A. S. and Muraleedhara Kurup, G., 2016.** Bifunctional effect of fucoidan from *Padina tetrastratica* against human pathogenic microbes and free radicals. *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine*, 2(2): 1-10.
- Prieto, P., Pineda, M. and Aguilar, M., 1999.** Spectorophometric quantification of antioxidant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269: 337-341.
- Polat, S. and Ozogul, Y., 2008.** Biochemical composition of some red and brown macro algae from the Northeastern Mediterranean Sea. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(7-8): 566-572.
- Peymani, J., Gharaei, A., Ghafari, M. and Taheri, A., 2014.** Evaluation of antibacterial and antifungal effects of marine algae (*Gracilaria arcuata*) of chabahar coasts. *Qom Journal Medical of University*, 8(1): 69-75.
- Pinteus, S., Alves, C., Monteiro, H., Araújo, 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*, 31: 445-451.
- Shanmughapriya, S., Manilal, A., Sujith, S., Selvin, J., Seghal kiran, G. and Natarajaseenivasan, K., 2008.** Antimicrobial activity of seaweeds extracts against multiresistant pathogens. *Annals of Microbiology*, 58(3): 535-541.
- Sinéad Lordan, R., Ross, P. and Stanton, C., 2011.** Marine Bioactives as Functional Food Ingredients: Potential to Reduce the Incidence of Chronic Diseases. *Marine Drugs*, 9: 1056-1100.
- Seedevia, P., Moovendhana, M., Sudharsana, S., Vasanthkumarb, S., Srinivasanc, A., Vairamania, S. and Shanmugamaa, A., 2015.** Structural characterization and bioactivities of sulfated polysaccharide from *Monostroma oxyspermum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72: 1459-1465.
- Vallinayagam, K., Arumugam, R., Ragupathi, R., Kannan, R., Thirumaran, G. and Anantharaman, P., 2009.** Antibacterial activity of some selected seaweeds from Pudumadam Coastal Regions. *Global Journal of Pharmacology*, 3: 50-52.
- 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*, 42: 127-132.