Archive of SID

دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هجدهم، شماره ۲، صفحه ۳۹۲ - ۳۸۳ (خرداد و تیر ۱۳۹۴)

ISMJ 2015; 18(2): 383-392

مطالعه اثرات ضدباکتریایی و ضداکسیدانی عصاره سه گونه جلبک سبز، قرمز و قهوه‌ای سواحل شمالی خلیج‌فارس

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 نشان‌دهنده‌ی مخزن پایان‌ناپذیر مواد اولیه مورد استفاده در داروسازی، پزشکی، صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی هستند. فعالیت‌های بیولوژیکی در ترکیبات زیستی طبیعی فعال در جلبک‌ها دارای اثرات گسترده ضدباکتریایی، ضد توموری و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی هستند. هدف از این مطالعه بررسی خواص ضد اکسیدانی و ضد باکتریایی جلبک‌های مورد مطالعه بود.

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

یافته‌ها: در این مطالعه، بالاترین فعالیت ضداکسیدانی را جلبک قهوه‌ای ***Cystoseira trinodis*** داشت. عصاره هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه فاقد 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 ضداکسیدانی بسیار خوبی نسبت به فعالیت ضدباکتریایی از خود نشان دادند. به‌طوری که بالاترین فعالیت ضد اکسیدانی را جلبک قهوه‌ای ***C. Trinodis*** نشان داد.

واژگان کلیدی: جلبک دریایی، ضداکسیدانی، ضد باکتری، خلیج‌فارس، لیستریا مونوسیتوژنز، اشریشیاکلی، عصاره اتانولی

*خرمشهر، گروه بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
E-mail: Heydari_mohsen84@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

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 پایان‌ناپذیر 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 ضدباکتریایی (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 لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک منجر به بیماری‌های التهابی، دیابت ملیتوس، آترواسکلروز، سکته قلبی و مغزی، سرطان، نقص سیستم ایمنی، پیری و چندین بیماری فرساینده دیگر در انسان می‌شوند (۸-۶). بدن انسان دارای چندین مکانیسم دفاعی به‌ویژه سیستم ضداکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی برای حفاظت مولکول‌های سلولی علیه رادیکال‌های آزاد مانند گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] 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 ضداکسیدان‌ها را اندازه‌گیری نماید ضروری است (۱۱).

در سال‌های اخیر استفاده گسترده از آنتی بیوتیک‌ها باعث به‌وجود آمدن سویه‌های مقاوم میکروارگانیسم‌ها و افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیک‌ها در سراسر جهان شده است. از این رو تحقیقات در رابطه با عوامل ضدمیکروبی جدید که به‌طور 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 حداکثر جزر 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 به‌صورت پودر در آمدند (۱۴).

عصاره‌گیری و بررسی ضدباکتریایی خواص ضداکسیدانی از جلبک‌های مورد مطالعه

عصاره‌گیری از جلبک‌ها به‌روش خیساندن[2] با اتانول ۷۰ درصد به‌مدت 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 مونوسیتوژنز و اشریشیاکلی (*L. monosytogenes* 13932, *E. coli* 25922) از

[1] Reactive Oxygen Species

[2] maceration

www.SID.ir

Archive of SID

انستیتو پاستور تهران خریداری و در فریزر نگهداری شدند. مقدار نیم سی‌سی از محیط کشت BHI[3] مایع داخل ویال‌ها تزریق کرده و سپس در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۰/۵ تا ۱ ساعت قرار داده سپس با سرنگ محتویات را کشیده و روی محیط‌های کشت مولر هینتون آگار و یا نوترینت آگار کشت داده شد. تست‌های آنتی باکتریال به روش‌های دیسک دیفیوژن[4] و چاهک[5] انجام گردید. سوسپانسیون‌های باکتریایی مورد استفاده در آزمون‌ها مطابق با استاندارد ۰/۵ مک فارلند از کشت‌های یک روزه باکتریایی تهیه گردیدند.

در روش انتشار دیسک پس از تلقیح باکتریایی روی محیط آگار، دیسک‌های آماده (به قطر ۶/۴ میلی‌متر، محصول شرکت پادتن طب ایران) و آغشته 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 گرماگذاری به‌مدت ۳۰ دقیقه برای پیش انتشار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرارگرفتند. بعد از گرماگذاری پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت 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 به‌عنوان کنترل مثبت در این پژوهش استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)[6] و حداقل غلظت کشندگی(MBC)[7] عصاره‌ها به‌روش رقت میکروچاهک[8] با استفاده از چاهک‌های ۹۶ تایی 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 آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی (RSA)[9] به‌کمک 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 ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر نمونه یا محلول استاندارد ترولکس، ۱ میلی‌لیتر محلول الکلی DPPH اضافه و مخلوط شد. همچنین از محلول DPPH به‌عنوان 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 خنثی‌سازی رادیکالی عصاره RSA به‌دست آمد.

A Control= میزان جذب کنترل در زمان صفر (t=۰) A sample= میزان جذب نمونه در زمان ۶ دقیقه (t=۶min)

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

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

[3] Brain Heart Infusion
[4] disk diffusion
[5] Well method
[6] Minimum inhibitory concentration
[7] Minimum bacteriacide concentration
[8] Micro well dilution
[9] Radical Scavenging Activity

www.SID.ir

Archive of SID

درصد فعالیت خنثی‌سازی رادیکالی عصاره (RSA) برای هر نمونه به‌دست آمد و سپس فعالیت ضداکسیدان نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولکس بر گرم عصاره محاسبه شد.

اندازه‌گیری خواص آنتی‌اکسیدانی از طریق آزمون توان آنتی‌اکسیدانی احیاء یون فریک (FRAP)[10]

برای اندازه‌گیری توانایی احیاء کنندگی نمونه‌های عصاره به‌طریق FRAP از روش بنزی و استرین (Benzie and Strain) با اندکی تغییر استفاده شد (۱۷). محلول کاری FRAP به‌وسیله مخلوط کردن ۱۰ میلی‌لیتر با فراستات ۳۰۰ میلی‌مول (pH=۳/۶)، ۱ میلی‌لیتر ۲، ۴ و ۶ تری-۲- پیریدیل-S- تریازین (TPTZ) ۱۰ میلی‌مول (حل شده در اسید کلریدریک ۴۰ میلی‌مول) و ۱ میلی‌لیتر کلرید آهن ۲۰ میلی‌مول روزانه تهیه می‌شد. در لوله آزمایش به ۰/۰۲ میلی‌لیتر عصاره (با غلظت ۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) یا محلول استاندارد آبی سولفات آهن (غلظت ۰/۳۷-۰/۱۸۵ میکرومول)، ۱ میلی‌لیتر از محلول کاری FRAP اضافه و مخلوط شد. مخلوط فوق ۵ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد و سپس جذب نوری نمونه‌ها قرائت گردید. فعالیت احیا کنندگی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول آهن در گرم عصاره محاسبه شد.

اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسیدان به طریق فسفومولیبدنم (PMB)

برای اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدانی عصاره‌ها به‌طریق کمپلکس فسفومولیبدنم از روش پریتو، پنیدا و اگولار (Aguilar، Pineda، Prieto) استفاده شد (۱۸).

به ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های عصاره مورد مطالعه (غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) یا محلول استاندارد ترولکس (غلظت ۱/۶-۰/۴ میکرومول)، ۱ میلی‌لیتر از محلول معرف (اسید سولفوریک ۰/۶ مول، فسفات سدیم ۲۸ میلی‌مول و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی‌مول) اضافه و مخلوط شد. نمونه‌ها به‌مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر در مقابل محلول شاهد قرائت شد. فعالیت ضد اکسیدان نمونه‌های 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 باکتریایی عصاره جلبک‌های مورد مطالعه استفاده شد. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت. گروه‌ها در سطح $P<۰/۰۵$ معنی‌دار می‌باشند. در صورت معنی‌دار بودن آنالیز داده‌ها با استفاده از روش‌های آنالیز آماری ANOVA یک سویه با استفاده از بسته نرم‌افزاری SPSS (USA، Il، Chicago،SPSS Inc) ویرایش ۱۸ برای بررسی نتایج آزمون‌ها و مقایسه میانگین عصاره‌های مختلف استفاده شد. تمامی اندازه‌گیری‌ها برای هر نمونه جلبکی سه بار تکرار و مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد (۱۹).

یافته‌ها

خواص ضد اکسیدانی

ارزیابی فعالیت ضد اکسیدان به‌وسیله رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)

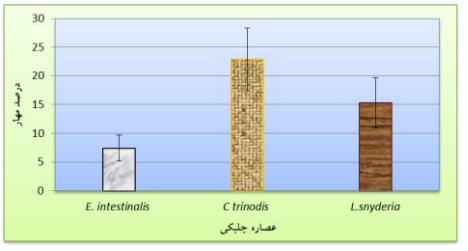
با توجه به نمودار ۱ و ۲ بالاترین درصد مهار (۲۲/۸۷±۵/۴) و بیشترین فعالیت ضداکسیدانی (۰/۹۴±۰/۲۳) مربوط به جلبک قهوه‌ای *C. Trinodis* و

[10] Ferric reducing ability of plasma

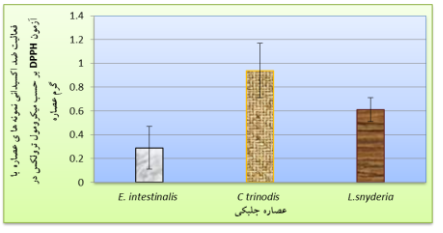
www.SID.ir

Archive of SID

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



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

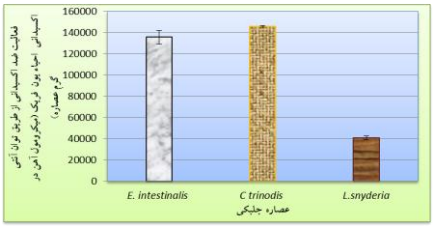


نمودار ۲) فعالیت ضد اکسیدان نمونه‌های عصاره به‌وسیله آزمون رادیکال آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (µmol/g)

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

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

با توجه به نمودار ۳ بیشترین فعالیت ضداکسیدانی (۱۴۵۹۷۳/۳±۷۴۴/۱۳ میکرومول آهن در گرم عصاره) با آزمون فوق مربوط به جلبک قهوه‌ای *C. Trinodis* و کمترین مقدار (۴۰۷۶۶/۶۷±۱۷۹۴/۴۷ میکرومول آهن در گرم عصاره) مربوط به جلبک قرمز *Laurencia snyderia* بود.



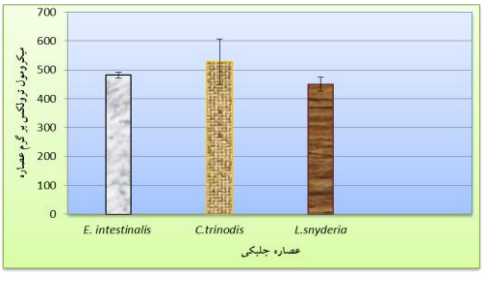
نمودار ۳) فعالیت ضد اکسیدانی نمونه‌های عصاره از طریق آزمون توان آنتی اکسیدانی احیاء یون فریک (µmol/g)

بین خواص ضد اکسیدانی عصاره هیدروالکلی (با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) جلبک‌های نمونه‌برداری شده با استفاده از آزمون توان آنتی‌اکسیدانی احیاء یون فریک اختلاف معنی‌دار بود.

اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدان به طریق فسفومولیبدنم (PMB)

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

بین خواص ضد اکسیدانی عصاره هیدروالکلی (با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) حاصل از جلبک‌های غالب نمونه‌برداری شده با استفاده از آزمون فسفومولیبدنم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.



نمودار ۴) فعالیت ضد اکسیدانی نمونه‌های عصاره به طریق فسفومولیبدنم

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه

با توجه به جدول ۱ و ۲ به غیر از عصاره هیدروالکلی جلبک سبز *E. intestinalis* (با اثرگذاری بر روی باکتری *L. monocytogenes* و بدون تأثیر بر روی باکتری *E. coli*) هیچ‌یک از عصاره هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه در روش دیسک دیفیوژن و چاهک فعالیت ضد باکتریایی از خود نشان ندادند.

جدول ۱) فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (غلظت عصاره‌های مورد استفاده بر حسب میلی‌گرم در میلی لیترآب مقطر است)

عصاره جلبکی	*E. intestinalis*			*C. trinodis*			*L.snyderia*			قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	
قطر هال عدم رشد	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	آمپی سیلین	تتراسایکلین
L.monocytogenes	۸±۱	۹±۱	۸/۵±۰/۵	–	–	–	–	–	–	۱۳/۹۳±۱۵/۳	۲۳/۶±۱
E.coli	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۱۷/۹۳±۷/۰۲	۲۸/۷۶±/۷۶

جدول۲) فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه با استفاده از روش چاهک (غلظت عصارها بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتراست)

عصاره جلبکی	*E. intestinalis*			*C. trinodis*			*L.snyderia*			قطر هاله عدم رشد(میلی‌متر)	
قطر هال عدم رشد	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	آمپی سیلین	تتراسایکلین
L.monocytogenes	۵/۵±۰/۵	۸/۱۶±۰/۷۶	۱۰/۵±۰/۵	–	–	–	–	–	–	۱۹/۲۶±۱۳/۰۵	۲۸/۹۳±۵/۵
E.coli	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۱۶/۱±۸/۰۷	۲۴/۲۶±۸/۳۸

بین نتایج حاصل از عصاره هیدروالکلی جلبک *E. intestinalis* به‌روش دیسک دیفیوژن و چاهک علیه باکتری *L .monocytogenes* و نتایج کنترل مثبت (آنتی‌بیوتیک‌های به‌کار رفته) اختلاف معنی‌دار بود.

بحث

اختلاف معنی‌داری بین درصد مهار حاصل از عصاره‌های هیدروالکلی (با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) جلبک سبز *E. intestinalis* و جلبک قهوه‌ای *C. trinodis* با استفاده از آزمون دی فنیل پیکریل هیدرازیل گزارش گردید.

در مطالعه حاضر فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلبک *E. intestinalis*، پایین بود. می‌توان پایین بودن فعالت آنتی اکسیدانی را به‌دلیل پایین بودن میزان فنل و فلانوئید تام دانست. به‌علاوه مطالعات نشان داده که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی عصاره‌ها از جمله ترکیبات قطبی است (۲۱).

دی فنیل پیکریل هیدرازیل ترکیبی است بنفش رنگ که به‌دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختارش به راحتی به‌صورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می‌باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH، در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند که از قانون بیر لامبرت پیروی می‌کنند و کاهش جذب آن‌ها با میزان ماده آنتی‌اکسیدان رابطه خطی دارد. هر چه بر مقدار ماده آنتی اکسیدان افزوده شود، DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش بیشتر به سمت زرد میل می‌کند. آزمون آنتی اکسیدانی معادل ترولکس و دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل هر دو رادیکال آزاد سنتزی می‌باشند که کاربرد آن‌ها مشابه بوده هر چند

www.SID.ir

Archive of SID

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

فعالیت آنتی اکسیدانی 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 هوا دانست (۲۲ و ۲۳).

آزمون فعالیت آنتی اکسیدانی احیاء آهن روشی است که به‌طور مستقیم آنتی اکسیدان‌ها و یا احیاء کننده‌ها را در نمونه‌ها اندازه‌گیری می‌کند و رابطه خطی با غلظت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها دارد (۲۴).

زوبیا (Zubia) و همکاران در سال ۲۰۰۷ در پی تحقیق خود بر روی ۴۸ گونه جلبک دریایی کمترین فعالیت ضداکسیدانی 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 ضداکسیدانی 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 pHهای مختلف، قطبیت، زمان و درجه حرارت عصاره‌گیری و همچنین ترکیبات شیمیایی نمونه دارد (۲۸). در حقیقت ترکیبات آنتی اکسیدانی همانند محتوای فنلی از چندین فاکتور بیرونی (فشار گیاه خواران، در معرض آفتاب بودن، عمق، شوری، مواد و غیره) و عوامل داخلی و ذاتی (شامل گونه، سن و مراحل تولید مثلی) پیروی می‌کنند (۲۹). جلبک سبز *E. intestinalis* در بالاترین سطح مناطق جزر و مدی که متحمل استرس‌های محیطی همچون تابش خورشید، درجه حرارت بالا و در معرض خشکی‌زدگی است رویش پیدا می‌کند (۳۰). قرار گرفتن در معرض بالاترین استرس‌های محیطی شاید از جمله دلایلی باشد که دارای کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی را از خود نشان داده است. بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی 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 متابولیت‌های ثانویه است (۳۱) اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها قابل قیاس با جلبک‌های دیگر نبود و مطالعات قبلی فعالیت ضداکسیدانی بالایی را از این جنس نشان نداده‌اند (۳۲). در مطالعه اخیر نیز جلبک قرمز *L. Snyderia* در مقایسه با جلبک قهوه‌ای *C. trinodis* فعالیت ضد اکسیدانی 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 به‌عنوان یک سد در مقابل تعداد زیادی اجسام خارجی مانند آنتی بیوتیک عمل می‌کنند (۳۴). باکتری‌های گرم منفی به‌دلیل داشتن لایه لیپوپلی ساکاریدی غشاء خارجی و همچنین داشتن کانال‌های درگیر در حمل ونقل مواد، ذاتاً نسبت به مواد سمی و رنگ‌های آبدوست و آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت بیشتری دارند (۳۵). حلال‌هایی با قطبیت کمتر نتایج بهتری نسبت به حلال‌هایی با قطبیت بیشتر دارند که می‌توان احتمال داد که به‌علت قطبیت بیشتر، اکثر ترکیبات و اجزاء جلبکی دیگر (از جمله مقدار فراوانی کلروفیل) را همراه ماده فعال استخراج می‌کند. در این نوع عصاره هیدروالکلی با توجه به وجود آب و الکل، ترکیبات قطبی

www.SID.ir

Archive of SID

بیشتری استخراج گردید که می‌توان حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت را به‌علت 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 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 متوسطی از خود نشان دادند. به‌طوری که بالاترین فعالیت ضداکسیدانی را جلبک قهوه‌ای *C. Trinodis* نشان داد. هر چند که تمام عصاره‌های جلبکی مورد مطالعه به استثنای جلبک سبز *E. intestinalis* (که فعالیت ضد باکتریایی ضعیفی داشت) فاقد فعالیت‌های ضد باکتریایی بودند.

References:

1.Nabipour I. marine medicine .1st ed.Bushehr: Bushehr univ med sci 2008;157(persian).

2.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.

3.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.

4.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.

5.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.

6.Bourgeois CF. Antioxidant vitamins and health: cardiovascular disease, cancer, cataracts, and aging. New York: Hnb Pub, 2003.

7.Lee J, Koo N, Min DB. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. Compr Rev Food Sci Food Saf 2004; 3: 21-33.

8.Blomhoff R. Dietary antioxidants and cardiovasular disease. Curr Opin Lipidol 2005; 16: 47-54.

9.Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. J Clin Pathol 2001; 54: 176-86.

10-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.

11.Bocanegra A, Bastida S, Benedí J, et al. Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. J Med Food 2009; 12: 236-58.

12.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.

13.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.

14.Salehi P, Sonboli A, Eftekhar F, et al. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and variousextracts of Ziziphora clinopodioides subsp. rigida (BOISS.) RECH. f. from Iran. Biol Pharm Bul 2005; 28: 1892-6.

www.SID.ir

Archive of SID

15.Androw JM, BSAC Working Party on Susceptibility Testing. BSAC Standardized disc suceptibility 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 Rooibosed tea (Aspalathon linearis), a-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. Anti-phytopathogenic 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.
28Yuan 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 ahlneriana. 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)

www.SID.ir

Archive of SID

ISMJ 2015; 18(2): 383-392

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. Zolgharnine [1], N. Sakhaei [1], A. Mirzaei [2], AA. movahedinia [1]*

[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

www.SID.ir