بررسی خواص ضدمیکروبی جلبک *Dictyita cervicornis* علیه باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنز، سودوموناس آئروژینوزا و اشرشیا کولی

مصطفی غفاری[1]*، علی طاهری[2]، سعیده پولادی[3]

۱. دانشیار بهداشت و بیماری‌های آبزیان، گروه شیلات، دانشکدهٔ علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ایران
۲. دانشیار، عمل‌آوری فرآورده‌های دریایی، گروه شیلات، دانشکدهٔ علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ایران
۳. دانش‌آموختهٔ فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکدهٔ علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۲۵
تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۹/۲۰

چکیده

زمینه و هدف افزایش مقاومت باکتری‌های پاتوژن به آنتی‌بیوتیک‌ها و پیدایش بیماری‌های جدید از چالش‌های بشر است. از طرفی، فراوانی و تنوع متابولیت‌های ثانویه در جلبک دریایی، آن‌ها را به مادهٔ اولیه برای ساخت دارو در صنعت تبدیل کرده است. عمدهٔ متابولیت‌های ثانویهٔ جلبک‌های دریایی ترکیبات هالوژنه است که خواص ضدمیکروبی، ضدقارچی و ضدویروسی دارد.

مواد و روش‌ها عمل عصاره‌گیری با حلال‌های آلی متانول و ان‌هگزان به دو روش اولتراسوند و خیساندن انجام شد. از آزمون‌های انتشار دیسک، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی به‌منظور بررسی خواص ضدمیکروبی علیه باکتری‌های موردمطالعه استفاده شد. آنالیز داده‌ها از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد.

یافته‌ها: باکتری لیستریا مونوسایتوژنز بیشترین میزان حساسیت را نسبت به عصارهٔ ان‌هگزانی جلبک *Dictyota cervicornis* در رقت ۱/۵ (جرم/ حجم) از خود نشان داد که در مقایسه با سایر رقت‌ها اختلاف معناداری نداشت ($p>0/05$). عصاره‌های استخراج‌شده به روش خیساندن هیچ گونه هالهٔ عدم‌رشدی علیه باکتری‌های مورد مطالعه ایجاد نکرد.

نتیجه‌گیری با توجه به استانداردها عصاره‌های الکلی جلبک *Dictyota cervicornis* خاصیت ضدباکتریایی مطلوبی ندارد، اما در صورت خالص‌سازی ترکیبات عصاره، می‌توان به نتایج مطلوب‌تری رسید.

کلیدواژه‌ها:
جلبک Dictyota cervicornis، حداقل غلظت کشندگی، حداقل غلظت مهارکنندگی، عصاره.

مقدمه

افزایش مقاومت باکتری‌های پاتوژن به آنتی‌بیوتیک‌ها و پیدایش بیماری‌های جدید از چالش‌های بشر است. مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها معمولاً بر اساس سازوکارهایی نظیر تولید آنزیم‌های تخریب‌کنندهٔ دارو، تغییر در گیرنده‌های دارو در سطح باکتری، تغییر در ساختار دیوارهٔ سلولی باکتری و دستیابی به مسیرهای متابولیکی فرعی صورت می‌گیرد که جبران‌کنندهٔ واکنش مهارشدهٔ داروست، که یا به‌صورت موتاسیون (جهش) خودبه‌خودی روی ژن‌های کنترل‌کنندهٔ حساسیت باکتری یا از طریق انتقال پلاسمید، از یک باکتری به باکتری دیگر منتقل می‌شود [۱].

در مقابل، پوشش گیاهی زمینی و فلور دریایی به‌منزلهٔ منبعی ارزشمند برای کشف داروهای جدید است. از قرن‌ها پیش، بسیاری از جلبک‌های دریایی با توجه به پتانسیل درمانی بالا برای داروهای سنتی استفاده شده‌اند. فراوانی و تنوع متابولیت‌های ثانویه در جلبک دریایی، آن‌ها را به مادهٔ اولیه برای ساخت دارو در صنعت تبدیل کرده است. عمدهٔ متابولیت‌های ثانویهٔ جلبک‌های دریایی ترکیبات هالوژنه است که از خود خواص ضدمیکروبی، ضدقارچی و ضدویروسی به

* **نویسندهٔ مسئول: مصطفی غفاری**
نشانی: چابهار، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار
تلفن: ۰۹۸۵۴۳۱۲۷۲۰۹۵ **دورنگار:** ۰۰۹۸۵۴۳۵۳۲۴۲۶۴
رایانه: mgmostafaghaffari@gmail.com
شناسه ORCID: 0000-0001-9776-5971

مجلهٔ علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۵، شمارهٔ ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۷، ص ۱۵۱-۱۵۸
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

Archive of SID
www.SID.ir

نمایش می‌گذارد [۲].

در سال ۲۰۱۰ مطالعه‌ای در زمینهٔ فعالیت ضدمیکروبی دو گونه جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* و *Laminaria digitata* علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی انجام شد. عصاره‌گیری با استون و متانول انجام شد. عملکرد عصارهٔ متانولی بهتر بود. عصارهٔ جلبک‌ها فعالیت ضدمیکروبی قوی‌تری در برابر باکتری‌های گرم مثبت (*Listeria monocytogenes* و *S.aureus*) نسبت به باکتری‌های گرم منفی (*E.coli* و *Pseudomonas aeruginosa*) از خود نشان داد. عصارهٔ متانولی جلبک *Ascophyllum nodosum* بر لیستریا و ای کولای به‌ترتیب با هالهٔ عدم‌رشدی به قطر mm ≤۷ و ۲۰ بیشترین تأثیر را داشت [۳].

در سال ۲۰۱۰، مطالعه‌ای در زمینهٔ بررسی خواص ضدمیکروبی گروهی از جلبک‌های قرمز در برابر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ‌ها انجام شد. عصاره‌ها به‌طور میانگین منطقهٔ مهاری ۹-۱۴ میلی‌متری داشت. MIC و MBC گونه‌های باکتری انتخابی به‌ترتیب دامنه‌ای بین mg/ml ۱۰۰۰-۲۵ و mg/ml ۵۰۰-۲۰۰ داشت [۴].

طبق مطالعات انجام‌شده، فراوانی و تنوع متابولیت‌های ثانویه در جلبک‌های دریایی، آن‌ها را به مادهٔ اولیه برای ساخت دارو در صنعت تبدیل کرده است. در ایران هیچ فعالیت صنعتی در جهت استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی جلبک‌های دریایی انجام نشده است. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی خواص ضدمیکروبی جلبک قهوه‌ای *Dictyota cervicornis* انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های جلبکی

نمونه‌برداری از جلبک قهوه‌ای *Dictyota cervicornis* از منطقهٔ بین جزر و مدی پلاژ ساحلی تیس با موقعیت جغرافیایی $N=25^{0}21'$ و $E=060^{0}36'$ در فصل پاییز و در آذر ۱۳۹۴ در چابهار انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در کیسه‌های نایلونی حاوی آب دریا نگه‌داری و سپس به آزمایشگاه دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل شد.

نخست، جلبک‌ها با دقت با آب شیرین شسته شد تا املاح، شن، ماسه و سایر جانوران از آن جدا شود. در نهایت، جلبک‌ها به‌مدت دو هفته در سایه در دمای ۱۶-۱۸درجهٔ سانتی‌گراد خشک شد. سپس، جلبک‌های خشک‌شده با آسیاب برقی کاملاً پودر شد.

عصاره‌گیری

عمل عصاره‌گیری به دو روش اولتراسوند و خیساندن انجام شد.

عصاره‌گیری به‌روش خیساندن

به‌میزان ۲۰ گرم از پودر نمونه‌های جلبکی به درون ارلن‌مایر منتقل شد. ۲۰۰ میلی‌لیتر از حلال‌های آلی متانول، ان‌هگزان، اتیل‌استات، آب- متانول و آب ۵۰ درجه به‌طور جداگانه به این پودرها اضافه و به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد [۵]. بعد از ۲۴ ساعت محتویات ارلن با کاغذ صافی واتمن شمارهٔ ۱ صاف و از فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون رد شد. برای هر تیمار جلبک‌ها توزین و به بشرهای ml ۵۰ منتقل شد. عملیات استخراج با نسبت جلبک به حلال (۱:۵، ۱:۱۰ و۱:۱۵) انجام شد. استخراج با حلال‌های آلی قطبی متانول و حلال غیرقطبی ان‌هگزان صورت گرفت. عصاره‌گیری از جلبک با دستگاه هموژنایزراولتراسونیک (شرکت فناوری ایرانیان پژوهش نصیر) به‌مدت ۱۰ دقیقه با طول‌موج ۵۰ با دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد انجام شد. بعد از پایان این مرحله محلول‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی مطلق نگه‌داری شد. سپس، نمونه‌ها با استفاده از لوله‌های استریل به‌مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ شد. مایع رویی با فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون فیلتر و در فریزر. ۲۰- نگه‌داری شد [۶].

تهیهٔ باکتری

باکتری‌های مورد مطالعه در این تحقیق شامل باکتری‌های گرم منفی *E.coli* (PTCC 1399)، *Pseudomonas aeruginosa* (PTCC1430) و باکتری گرم مثبت *Listeriamonocytogenes* (PTCC 1163) بود که از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد. نخست، از استوک‌های اصلی این باکتری‌ها کشت ۲۴ ساعته به‌روش خطی تهیه شد. سپس، در شرایط استریل از باکتری‌های مورد مطالعه تک‌کلونی با لوپ استریل در کنار شعله برداشته و در لولهٔ آزمایش حاوی آب مقطر استریل یا محیط کشت نوترینت براث کشت داده شد. این لوله‌ها در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد تا باکتری رشد کند. کدورت محیط حاوی باکتری با مک‌فارلند (۱/۵×۱۰^{۸} باکتری) سنجش شد [۷].

آزمون ضدمیکروبی با روش انتشار دیسک (disc diffusion test)

در بررسی آثار ضدباکتریایی از تست آنتی‌بیوگرام استفاده شد. در این آزمون محیط کشت مورد استفاده نوترینت آگار بود. نخست، عمل تلقیح باکتریایی با سوآپ استریل در تمام سطح پتری دیش‌های حاوی محیط کشت نوترینت آگار در سه زاویهٔ مختلف به‌صورت چمنی کشت داده شد. در مرحلهٔ بعد با استفاده از پنس‌استریل دیسک‌های آمادهٔ بلانک (شرکت پادتن طب) با فاصلهٔ مناسب بر سطح محیط کشت قرار داده شد و با

Archive of SID
www.SID.ir

کمی فشار روی محیط کشت ثابت شد. مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصارهٔ استریل‌شدهٔ جلبک‌ها با استفاده از سمپلر به دیسک‌های بلانک اضافه شد. برای کنترل مثبت از آنتی‌بیوتیک استاندارد جنتامایسین و نئومایسین (ساخت شرکت پادتن طب) استفاده شد. دیسک‌های بارگذاری‌شده بر سطح محیط کشت به‌صورت وارونه به‌مدت ۳۰ دقیقه در یخچال با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از این مرحله، پلیت‌ها به انکوباتور با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت منتقل شد. سپس، قطر هالهٔ عدم‌رشد اطراف دیسک با کولیس ورنیه به‌دقت اندازه‌گیری شد. قابل‌ذکر است تمام آزمایش‌ها با سه بار تکرار انجام شد [۸].

تعیین کمترین غلظت مهارکنندگی (minimum inhibitory concentration)

برای تعیین MIC از روش استاندارد میکرودایلوشن استفاده شد. نخست، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از بالاترین غلظت عصاره‌ها (بالاترین غلظت مورد نظر برای تست MIC، که ۰/۲۲ بود) را به چاهک نخست پلیت‌های میکروتیتر اضافه کردیم که قبلا حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت نوترینت براث بود. بعد از مخلوط‌کردن محتویات چاهک نخست، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به چاهک دوم اضافه شد. این کار تا آخرین رقت مورد نظر عصاره انجام و از چاهک آخر ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و دور ریخته شد. بعد از آن ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم مک‌فارلند به چاهک‌های محیط کشت نوترینت براث و رقت‌های مختلف عصاره‌ها اضافه شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد. میکروپلیت‌ها در زمان صفر و ۲۴ ساعت با دستگاه الایزا ریدر (مدل DA-3200) شرکت مهندسی پزشکی گارنی) در طول موج ۵۴۰ nm خوانده شد. بعد از مقایسهٔ اعداد بین زمان صفر و ۲۴ پایین‌ترین غلظتی که در آن هیچ گونه رشد باکتری مشاهده نشد، یعنی خانه‌هایی از میکروپلیت که اعداد زمان ۲۴ آن نسبت به زمان صفر کاهش یافته یا ثابت مانده بود، MIC در نظر گرفته شد [۹]. ردیف‌های کنترل مثبت (محیط کشت نوترینت براث، باکتری وDMSO) و کنترل منفی (عصاره، محیط کشت و DMSO) در نظر گرفته شد. تمام آزمایش‌ها برای سه بار تکرار شد و میانگین داده‌های به‌دست‌آمده نتایج نهایی MIC گزارش شد [۱۰].

تعیین حداقل غلظت کشندگی (minimum bactericidal concentration)

میزان ۵ میکرولیتر از چاهک‌هایی که رشد باکتری در آن متوقف شده بود، در پلیت‌های حاوی محیط کشت نوترینت آگار به‌روش پورپلیت کشت داده و به‌مدت ۲۲-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد در انکوباتور نگه‌داری شد. پایین‌ترین غلظت عصاره که در آن ۹۹/۹ درصد باکتری‌ها رشد نداشت MBC در نظر گرفته شد [۱۱].

محاسبات آماری

تجزیه‌وتحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار Spss نسخهٔ ۲۱ با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد. عمل مقایسهٔ میانگین با پس‌آزمون توکی سنجیده شد.

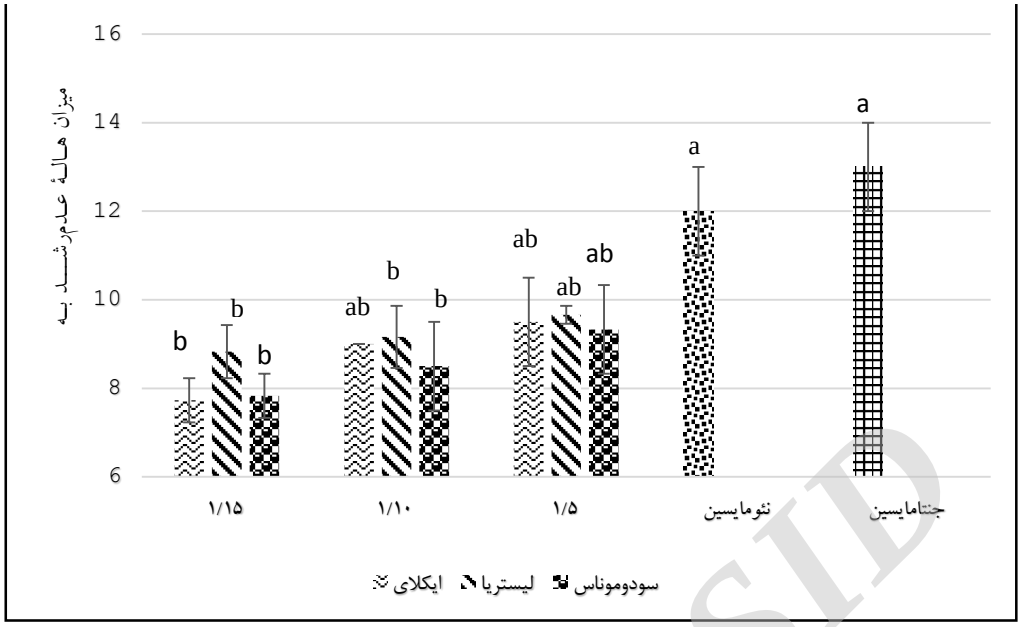
یافته‌ها

نتایج مربوط به دیسک دیفوژن عصاره‌های تهیه‌شده به روش خیساندن. هیچ گونه هالهٔ عدم‌رشدی در برابر باکتری‌های مورد مطالعه مشاهده نشد.

نتایج مربوط به دیسک دیفوژن عصاره‌های تهیه‌شده به روش اولتراسوند.

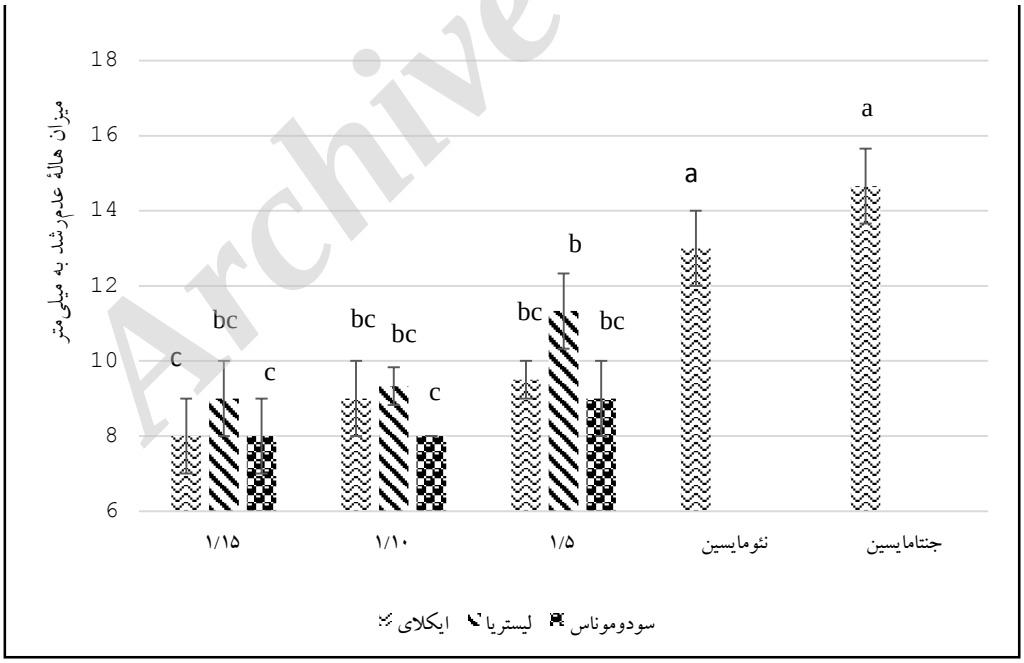
در مطالعهٔ حاضر باکتری *Listeria monocytogenes* بیشترین میزان حساسیت را نسبت به عصارهٔ ان‌هگزانی جلبک *Dictyota cervicornis* با قطر هالهٔ عدم‌رشدی برابر با ۱±۱۱/۳۳ میلی‌متر در رقت ۱/۵ جرم/ حجم از خود نشان داد که در مقایسه با رقت‌های ۱/۱۰ و ۱/۱۵ جرم/ حجم اختلاف معناداری نداشت ($p>0/05$). عصارهٔ متانولی جلبک *Dictyota cervicornis* توانست بیشترین میزان هالهٔ عدم‌رشد را علیه باکتری ایکولای به‌میزان ۰/۲±۹/۶۶ میلی‌متر ایجاد کند که با آنتی‌بیوتیک استاندارد جنتامایسین و نئومایسین اختلاف معناداری نداشت ($p>0/05$). به‌طور کلی، عصارهٔ متانولی در رقت ۱/۵ جرم/ حجم جلبک *Dictyota cervicornis* علیه باکتری‌های ایکلای، لیستریا مونوسیتوژنز و سودوموناس آئروژینوزا به‌ترتیب هالهٔ عدم‌رشدی برابر با ۰/۲±۹/۶۶، ۱±۹/۵ و۱± ۹/۳۳ میلی متر ایجاد کرد که با آنتی‌بیوتیک استاندارد جنتامایسین و نئومایسین اختلاف معناداری نداشت ($p>0/05$).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱. اثر ضدباکتریایی عصارهٔ متانولی جلبک *Dictyota cervicornis* علیه باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنز، ای کولای و سودوموناس آئروزینوزا

آنتنک‌ها نشان‌دهندهٔ انحراف معیار است. حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنادار آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.



شکل ۲. اثر ضدباکتریایی عصارهٔ ان‌هگزانی جلبک *Dictyota cervicornis* علیه باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنز، ای کولای و سودوموناس آئروزینوزا

آنتنک‌ها نشان‌دهندهٔ انحراف معیار است. حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر تفاوت معنادار آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت‌کشندگی

جدول ۱. مقادیر MIC و MBC عصاره‌های جلبکی علیه باکتری‌های مورد مطالعه

باکتری‌های مورد مطالعه	*E.coli*		*Listeria monocytogenes*		*Pseudomonas aeruginosa*	
عصاره‌های جلبکی (mg/ml)	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC
عصارهٔ متانولی *Dictyita cervicornis*	۰/۱۱	۰/۰۵	۰/۱۱	۰/۰۵	۰/۲۲	۰/۱۱
عصارهٔ ان‌هگزانی *Dictyita cervicornis*	۰/۲۲	۰/۱۱	۰/۲۲	۰/۱۱	۰/۲۲	۰/۱۱

بر اساس نتایج ذکرشده در جدول ۱، کمترین میزان MIC و MBC عصارهٔ متانولی و ان‌هگزانی جلبک *Dictyota cervicornis* برای باکتری ای کولای و لیستریا مونوسیتوژنز به‌ترتیب در غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر به‌دست آمد. بیشترین میزان MIC و MBC مشاهده‌شده در تحقیق حاضر متعلق به باکتری سودوموناس آئروژینوزا به‌ترتیب در غلظت‌های ۰/۱۱ و ۰/۲۲ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر بود.

بحث

نتایج دیسک دیفوژن در مطالعهٔ حاضر حاکی از آن است که عصارهٔ ان‌هگزانی جلبک *Dictyota cervicornis* بیشترین تأثیر را بر باکتری لیستریامونوسایتوژنز داشت و عصارهٔ متانولی جلبک *Dictyota cervicornis* بر سه گونه باکتری مورد مطالعه با یکدیگر اختلاف معناداری نداشت. بر اساس جدول ۱، عصارهٔ متانولی حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت‌کشندگی بهتری نسبت به عصارهٔ ان هگزانی داشت

سالوادور و همکاران [۱۲] اثر آنتی‌باکتریال چندین گونه از جلبک‌ها علیه مجموعه‌ای از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را بررسی کردند. عمل عصاره‌گیری از جلبک‌ها به دو صورت تازه و لیوفیلیزه در چهار فصل پاییز، زمستان، بهار و تابستان با حلال آلی متانول- تولوئن به روش خیساندن انجام شد. عصارهٔ هیچ‌کدام از جلبک‌های *Dictyota spiralis*, *Dictyota fascial Dictyotaa* *dichtomamontagne* هیچ گونه اثر مهاری علیه *E.coli* و *Pseudomonas aeruginosa* نداشت که مشابه با نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش بود.

دمیرل و همکاران [۱۳] نیز با بررسی عصاره‌های متانولی، ان‌هگزانی و دی‌کلرومتانی دو گونه از جلبک‌های قهوه‌ای *Dictyotad ichotoma* و *Dictyotavar.implexa* علیه چند سویه باکتری گرم مثبت و گرم منفی نشان دادند که عصاره‌های متانولی و ان‌هگزانی هیچ کدام از این جلبک‌ها بر دو سویهٔ متفاوت از ایکولای تأثیر مهاری نداشت.

تونی و همکاران [۱۴]در بررسی فعالیت آنتی‌باکتریال عصارهٔ استونی، متانولی، دی‌اتیل اتر و اتانول گونه‌های جلبکی قرمز و قهوه‌ای و سبز علیه چندین سویه باکتری گرم منفی و گرم مثبت نشان دادند که فقط عصارهٔ اتانولی جلبک قهوه‌ای *Dictyota linearis* بر باکتری *E.coli* اثر مهاری داشت، این در حالی است که بقیهٔ عصاره‌ها، به‌ویژه عصارهٔ متانولی این جلبک، هیچ تأثیری بر این باکتری نداشت که با نتایج این پژوهش مغایر بود. علت تفاوت در نتایج را می‌توان به تفاوت در گونه‌ها نسبت داد.

کادام و همکاران [۱۵] استخراج ترکیب لامینارین از دو گونه جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* و *Laminari ahyperborea* را با دو روش اولتراسوند و جامد - مایع با حلال‌های آب و Hcl ۰/۱ مولار انجام دادند. استخراج به روش اولتراسوند در مقایسه با روش جامد– مایع روش کارآمدتری برای استخراج لامینارین بود و به‌مدت زمان کمتری برای استخراج نیاز بود، به‌طوری که مدت زمان استخراج در روش اولتراسوند ۱۵ دقیقه و در روش جامد– مایع دو ساعت و نیم بود [۱۵].

کادام و همکاران [۱۶] در مطالعهٔ دیگری به‌منظور استخراج ترکیبات بیواکتیو از جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* به روش اولتراسوند، این روش را روش موفقی برای افزایش راندمان استخراج ترکیبات فنولی و اورونیک اسید معرفی کردند.

هانگ کایو و همکاران [۱۷] روش اولتراسوند را روش مطلوبی برای استخراج ترکیبات فنولی از گیاه هفت‌بند ژاپنی معرفی کردند. استخراج ساپونین، گالوتانین و ترکیبات فنولی کل به‌روش اولتراسوند در سه طول موج ۴۵KHZ، ۲۱۰ KHZ و ۱MHZ از *Spirogyra sp.* با حلال‌های آب ۹۵ درجه، استون، متانول و اتانول را چامپا و همکاران [۱۸] در سال ۲۰۱۶ انجام داند. بیشترین میزان استخراج ساپونین، گالوتانین و ترکیبات فنلی کل به‌ترتیب متعلق به عصارهٔ اتانولی، استونی و متانولی در طول موج KHZ ۴۵ بود. در بررسی آنتی‌باکتریال این

Archive of SID
www.SID.ir

عصاره‌ها علیه باکتری گرم منفی ایکلای عصارهٔ استونی و بعد از آن متانولی به‌ترتیب با قطر هالهٔ عدم‌رشدی برابر با ۱۱/۷ و ۱۱ میلی‌متر بیشترین تأثیر مهاری را علیه ایکولای داشت، اما عصارهٔ آبی هیچ گونه تأثیر مهاری علیه این باکتری نداشت

طبق مطالعات رودریگز و همکاران [۱۹] استخراج ترکیبات فنولی کل از جلبک *Codium tomentosum* و ترکیبات قندی از جلبک *Osmundea pinnatifida*، همچنین استخراج قندهای سولفاته از جلبک *Sargassum muticum* با روش اولتراسوند نسبت به روش آنزیمی موفق‌تر بود. طبق بررسی دانهٔ زیره، راندمان استخراج Carvone و Limone به روش اولتراسوند بیش از روش سوکسله بود [۲۰].

امروزه، روش اولتراسوند برای استخراج ترکیبات یا مولکول‌های ارزش‌مند مانند روغن، پروتئین، قند و پلی‌ساکارید استفادهٔ گسترده‌ای دارد، به‌طوری که می‌توان به استخراج بتا کاروتن از جلبک *Spirulina platensis*، فلاوونویید از گیاه نعنا چمنی و لیپید از جلبک *Nannochloropis oculata* اشاره کرد. عمل استخراج به روش اولتراسوند به‌شدت تحت تأثیر دما، فرکانس و زمان استخراج است [۲۱].

طبق بررسی‌های گروسو و همکاران [۲۲]، استخراج فوکوزانتین و کلروفیل از میکروجلبک *Cylindrothecaclosterium*، کلروفیل و کاروتنوئید از *Dunaliella salina* و *Nannochloropsis gaditana*، استخراج بتاکاروتن و کلروفیل a و b از *Dunaliellater tiolecta* به‌روش اولتراسوند در مقایسه با روش‌های سنتی مثل خیساندن راندمان استخراج را افزایش می‌دهد. این در حالی است که مدت زمان استخراج کاهش می‌یابد. براساس این پژوهش استخراج ترکیبات آنتی‌باکتریال از جلبک‌ها به‌روش اولتراسوند فناوری مناسبی است [۲۲].

آلتمیمی و همکاران [۲۳] به‌منظور استخراج ترکیبات فنولی از کدو تنبل و هلو از دستگاه اولتراسونیک با موج‌های ۳۷ KHZ و ۸۰ استفاده کردند. نتایج نشان داد که بالاترین میزان استخراج ترکیبات فنولی کل متعلق به موج ۳۷KHZ بود که اختلاف معناداری با موج ۸۰ KHZ داشت. فرکانس‌های بالای ۸۰ KHZ ممکن است موجب فروپاشی حباب در نمونه طی فرایند سونیکیت شود. در نتیجه فرکانس‌های بالا زمان کافی به حباب‌های کاویتاسیون برای استخراج همهٔ ترکیبات هدف نمی‌دهد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق قسمتی از پایان‌نامهٔ کارشناسی‌ارشد (با کد ثبت ۲۳۵۱۸۱۸) است. بدینوسیله نویسندگان مقاله از حمایت‌های مالی و معنوی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار تشکر می‌کنند.

References

[1]. Dzidic S, Suskovic J, Kos B. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects, antibiotic resistance in bacteria, food technol. Biotechnol. 2008: 11-21 .
[1]. Manilal A, Sujith S, Sabarathnam BS, Kiran G, Selvin J, Shakir C, Lipton A. Biological activity of the red alga *Laurencia brandenii*. ActaBot.Croat., 2011: 81-90.
[2]. Qiao J. Antibacterial effect of extracts from two icelandic algae (*Ascophyllum nodosum* and *Laminaria digitata*). Fisheries Training Programme. 2010: 1-37.
[3]. Nurul ZA, Darah I, Shaida SF, Nor SR. Screening for antimicrobial activity of various of A ccanthophora spicifera (Rhodomelaceae,Ceramiales) from Malaysian Waters. Research journal of Bioligical Science. 2010: 368-375.
[4]. Karthikeyan K, Shweta K, Jayanthi G, Prabhu K, Thirumaran G. Antimicrobial and antioxidant potential of selected seaweeds from Kodinar, Southern Coast of Saurashtra, Gujarat, India. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2015: 035-040.
[5]. Wang F,Yu Guo X, Ni Zhang N, Wu Y, Wu T, Gang Chen Z. Ultrasound-assisted extraction and purification of taurine from the red. Ultrasonics Sonochemistry. 2015: 36-42.
[6]. Mohammadpour Vashvaei R, Sepehri Z, Jahantigh M, Javadi F. Study the effect of ethanol extract of achillea, green tea and Ajowan on *pseudomonas aeruginosa*. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research. 2015: 145-148.
[7]. Hwan Eom S, Hong Park J, Ung Yu D, Il Choi J, Duck Choi J, Suk Lee M, Mog Kim Y. Antimicrobial Activity of Brown Alga *Eisenia bicyclis* against. Fisheries and Aquatic Science. 2011: 251-256.
[8]. Xiaoxi C. Determination of the minimum inhibitory concentrations (MICs) and the minimum bactericidal concentrations (MBCs) for a novel antibiotic. African Journal of Microbiology Research. 2011: 572-575.
[9]. Guenther E. The production of essential oils. Methods of distillation, enfleurage, maceration, and extraction with volatile solvents. The Essential Oils, Van Nostrand Co Inc(Reprint), Princeton, New Jersey. 1965: 92-5.
[10]. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 3rd ed. Approved Standard M7A6. NCCLS, Villanova, PA, USA. 2004.
[11]. Salvador N, Gomez garreta, A, Lavelli L, AntoniaRibera M. Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. Scientia Marina. 2007: 101-113.
[12]. Demirel ZF, Yilmaz-koz F, N.Karabay-yavasoylu U, Ozdemir G, Sukatra A. Antimicrobial and antioxidant activity of brown algae from the Aegean Sea. Journal of the Serbian Chemical Society. 2009: 619-628.
[13]. Tuney I, Bilge hilal C, Unal D, Sukatra A. Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir, Turkey). 2006: 171-175 .
[14]. U. Kadam S, K. Tiwari B, J. Smyth T, P. O'Donnell C. Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive components from brown seaweed *Ascophyllum nodosum* using response surface methodology. Ultrasonics Sonochemistry. 2015: 308-316.
[15]. U. Kadam S, P. O'Donnell S, K. Rai D, B. Hossain M, M. Burgess C, Walsh D, K. Tiwari B. Laminarin from Irish Brown Seaweeds *Ascophyllum nodosum* and *Laminaria hyperborea*: Ultrasound Assisted Extraction, Characterization and Bioactivity. Marine Drugs. 2015: 4270-4280.

Archive of SID
www.SID.ir

[16]. Hung Kuo C, Yuan Chen B, Chuan Liu Y, Ming J, Chang C, Shing Deng T, Hwa Chen J, Jen Shieh C. Optimized ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *polygonum cuspidatum*. Molecules. 2014: 67-77.
[17]. Champa P, Whangchai N, Jaturonglumlert S, Nakao N, Whangchai K. Determination of phytochemical compound from spirogyra sp. using ultrasonic assisted extraction. *I*nternational Journal of Geomate. 2016: 2391-2396 .
[18]. Rodrigues D, Sousa S, Silva A, Amorim M, Pereira L, P. Rocha-Santos T, M.P. Gomes MC, Duarte M, Cristina Freitas A. Impact of enzyme- and ultrasound-assisted extraction methods on biological properties of red, brown, and green seaweeds from the Central West Coast of Portugal. Agricultural & Food Chemistry. 2015: 3177-3188.
[19]. Wang L, L. Weller C. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science & Technology. 2006: 300-312.
[20]. Gil-Chavez G, A.Villa J, Ayala-Zavala J, Heredia J, Sepulveda DM, Yahia E, Gonz´alez-Aguilar G. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. Institute of Food Technologists. 2012: 5-23.
[21]. Grosso C, Valentão P, Ferreres F, B. Andrade P. Alternative and efficient extraction methods for marine-derived vompounds. Mar. Drugs. 2015: 3182-3230.
[22]. Altemimi AG, Watson D, Choudhary RR, Dasari M, A. Lightfoot D. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins. Journal Pone. 2016: 1-20.

.

Archive of SID

www.SID.ir

Antimicrobial properties of *Dictyota cervicornis* algae against *Listeria monocytogenes, Pseudomonas aeruginosa and E. coli*

Mostafa Ghaffari[*1], Ali Taheri[1], Saeedeh Pouladi[2]

1. Associate Professor, Fisheries Department, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran
2. Ms.C of Fish Processing Technology, Fisheries Department, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

Abstract

Background Increasing the resistance of pathogenic bacteria to antibiotics is the new challenges for human Bing. Seaweeds are good sources of raw material for drug products due to the abundance and diversity of secondary metabolites. The major secondary metabolites of marine algae are halogenated compounds, which show antimicrobial, antifungal and antiviral properties.

Materials and Methods The extraction procedure was conducted by maceration and ultrasounication with organic solvents include methanol and n-hexane. The disk diffusion test, MIC and MBC study was conducted to evaluate the antimicrobial properties against bacteria. Data analysis was performed by One Way ANOVA.

Results In this study, *Listeria monocytogenes* showed highest sensitivity to n-hexanic extract of algae *Dictyota cervicornis* in 1/5 dilution W/V, in compare to the dilution of 1/10 and 1/15W/V (p>0.05). Soaking method extracts didn't show any significant effect against the studied bacteria.

Conclusion Based on the results, n-Hexanic extract of the *Dictyota cervicornis* algae showed better antibacterial effects in compare to the Methanolic extract and soaking method. But if biochemical composition of the extract could be recognize, the antibacterial effect of the extract could be enhanced.

Received:2017/10/17
Accepted:2017/12/11

Keywords: algae, *Dictyota cervicornis*, MBC, methanolic extract, MIC.

Archive of SID

www.SID.ir