فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال چهارم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۵

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی جلبک قهوه‌ای *Iyengaria stellata* جمع‌آوری شده از سواحل خلیج فارس

عصمت محمدی[۱]*، بهاره شعبان‌پور[۲]، معظمه کردجزی[۳]

تاریخ دریافت: خرداد ۹۵ تاریخ پذیرش: مرداد ۹۵

چکیده

با توجه به توانایی جلبک‌ها در تولید متابولیت‌های ثانویه، می‌توان آن‌ها را به عنوان یک منبع بالقوه از ترکیبات طبیعی برای توسعه تولید دارو و درمان بسیاری از بیماری‌ها به کار برد. از این رو، مطالعه حاضر به منظور تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Iyengaria stellata* از سواحل قشم انجام شد. برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک، اثر مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل، توانایی شلاته کنندگی یون آهن و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت ضدباکتریایی عصاره بر چهار سویه باکتری بیماری‌زا شامل *Escherichia coli*، *Salmonella typhimurium*، *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus*، به روش انتشار از دیسک مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد مقایسه شد. بر اساس نتایج به دست آمده فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل (۱/۶۷±۲۳/۶۹)، توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل (۲/۶۲±۸۴/۸۴) و توانایی شلاته کنندگی یون آهن (۰/۴۵±۹۱/۱۴) در جلبک *I. stellata* بالا بود. اما نتایج حاصل از آزمایش‌های ضدمیکروبی نشان داد که عصاره آبی این جلبک فاقد اثر ضدباکتریایی علیه باکتری‌های استفاده شده بود. طبق نتایج این مطالعه، جلبک قهوه‌ای *Iyengaria stellata* می‌تواند به عنوان یک منبع بالقوه از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در صنایع غذایی و پزشکی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: Iyengaria stellata، *آنتی‌اکسیدان، ضدباکتریایی، خلیج فارس.*

۱- کارشناس ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
۲- استاد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
۳- استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
* نویسنده مسئول: esmat.mohammadi69@gmail.com

مقدمه

جلبک‌ها یکی از منابع تجدیدپذیر محیط زیست دریایی هستند که آن‌ها را بر اساس ترکیب تغذیه‌ای و شیمیایی به سه گروه جلبک‌های قرمز (Rhodophytes)، قهوه‌ای (Pheophytes) و سبز (Chlorophytes) طبقه‌بندی می‌کنند. مانند سایر گیاهان، جلبک‌ها حاوی مواد مختلف آلی و غیرآلی هستند که می‌توان از آن‌ها برای سلامت انسان بهره برد (Kuda et al., 2002). جلبک‌های دریایی منابع غنی از ترکیبات فعال زیستی به شمار می‌روند که قادر به تولید انواع زیادی از متابولیت‌ها با طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های زیستی هستند. ترکیباتی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدویروسی و ضدباکتریایی در جلبک‌های قهوه‌ای، قرمز و سبز شناسایی شده است (Cox et al., 2010). عصاره‌های جلبکی منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند و در این میان جلبک‌های قهوه‌ای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با جلبک‌های سبز و قرمز از خود نشان داده‌اند (Lim et al., 2002; Park et al., 2004; Kuda et al., 2005; Duan et al., 2006; Kokilam et al., 2013). ترکیبات طبیعی با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی در جلبک‌ها شامل پلی‌فنل‌ها، کاروتنوئیدها، توکوفرول‌ها، ترپن‌ها، اسید اسکوربیک و آلکالوئیدها هستند. این ترکیبات به سرعت با انواع اکسیژن واکنش‌پذیر، مانند رادیکال هیدروکسیل، سوپراکسید و پراکسید که خود در نتیجه آسیب‌های اکسیداتیو در سلول‌های انسان به وسیله عوامل درون‌زا و برون‌زا تشکیل شده‌اند، واکنش می‌دهند. این واکنش منجر به تاخیر یا کاهش اکسیداسیون می‌شود و همچنین از طیف وسیعی از بیماری‌های بشر از جمله سرطان جلوگیری می‌کند (Kokilam et al., 2013). ترکیبات فنلی با شلاته کردن یون‌های فلزی، جلوگیری از تشکیل رادیکال آزاد و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی داخلی، می‌توانند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کنند. پلی‌فنل‌ها معرف یک گروه متنوع از ترکیبات از جمله فلاونوئیدها، لگنین‌ها، توکوفرول‌ها، تانن‌ها و اسیدهای فنولیک هستند. علاقه به استفاده از منابع جدید با ظرفیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی مانند ترکیبات طبیعی موجود در جلبک‌های دریایی، در سال‌های اخیر به دلیل کاهش استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مانند بوتیل هیدروکسی تولوئن[1] (BHT) و بوتیل

1- Butylated Hydroxytoluene

هیدروکسی آنیزول[1] (BHA)، افزایش یافته است. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشا گیاهی می‌توانند به سرعت با رادیکال‌های آزاد واکنش داده، آن‌ها را سرکوب کنند (Cox et al., 2010). جلبک‌های موجود در منابع دریایی جنوب ایران یکی از ظرفیت‌های زیستی ارزشمند کشور هستند که توجه کمتری به آن‌ها شده است و برنامه‌ریزی اصولی و مدونی برای بهره‌برداری از این ذخایر دریایی وجود ندارد (حیدری و همکاران، ۱۳۹۲). اگرچه خلیج فارس از نظر زیست‌توده و تنوع جلبک‌ها غنی است، اما گزارش‌ها درباره خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی جلبک‌های دریایی موجود در ایران بسیار محدود است. از این رو، مطالعه حاضر به منظور بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی جلبک قهوه‌ای *Iyengaria stellata* (Borgesen) صورت گرفته است. جلبک *I. stellata* یک گونه از جلبک‌های قهوه‌ای متعلق به رده Phaeophyceae، راسته Scytosiphonales و خانواده Scytosiphonaceae است. محل رویش این جلبک در محدوده بین جزر و مدی به ویژه در قسمت‌های پایینی تا کم عمق زیر جزر و مدی روی سطح بسترهای صخره‌ای است. معمولا به صورت گروهی و همراه با جلبک قهوه‌ای *Colpomenia sinuosa* رشد می‌کنند. در ایران محدوده پراکنش *I. stellata* در کل استان هرمزگان و بخش‌هایی از سیستان و بلوچستان در فصل زمستان و اوایل بهار است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری از جلبک‌های *Iyengaria stellata* طی فصل زمستان سال ۱۳۹۳ از ساحل کانی (جزیره قشم) صورت گرفت و شناسایی نمونه‌ها توسط موسسه تحقیقات شیلات خلیج فارس انجام گرفت. برای تهیه عصاره، جلبک‌های جمع‌آوری شده، بلافاصله با آب دریا شستشو داده شدند و گل و لای و سایر مواد چسبیده به آن‌ها زدوده شد. سپس نمونه‌ها به مدت دو تا پنج روز در سایه خشک شدند. پس از آن، نمونه‌ها در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار قرار داده شدند. به منظور جلوگیری از نفوذ نور، کیسه‌های پلاستیکی توسط ورق‌های نازک آلومینیومی پوشانده شد و همراه با لایه‌های یخ در ظروف نگهدارنده مخصوص قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه فرآورده‌های شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی گرگان منتقل شد و تا شروع

1- Butylated Hydroxyanisole

آزمایش‌های لازم برای عصاره‌گیری و استخراج در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

عصاره‌گیری و بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی

عصاره‌گیری در سه مرحله انجام شد. مرحله اول و دوم عصاره‌گیری با استفاده از آب مقطر و مرحله سوم با اتانول (Merck، آلمان) صورت گرفت. به طور خلاصه، ۵۰ گرم از پودر نمونه جلبکی با یک لیتر آب مقطر هموژن شد (به نسبت ۱ به ۲۰) و در دمای اتاق درون انکوباتور شیکردار (KS 4000، IKA®، آلمان) با دور ۲۰۰rpm به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰rpm در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (R5810، Eppendorf، آلمان) شد و سپس با کاغذ صافی واتمن ۴ فیلتر شد. رسوب و عصاره به دست آمده، هر دو در خشک‌کن انجمادی (1-2 LD، ALPHA، آلمان) قرار داده شدند و پس از خشک شدن، وزن شدند. به رسوب به دست آمده از مرحله اول مجددا به نسبت ۱ به ۲۰ آب مقطر اضافه شد و روند بالا دوباره تکرار شد. به این ترتیب رسوب و عصاره دوم به دست آمد. رسوب و عصاره به دست آمده از مرحله دوم نیز در خشک‌کن انجمادی قرار داده شده و سپس وزن شدند. پس از افزودن اتانول به رسوب به دست آمده از مرحله دوم به نسبت ۱ به ۲۰، روند بالا تکرار شد تا تمام عصاره‌های باقی مانده استخراج شود. اتانول اضافه شده در این مرحله با استفاده از روتاری (B-480 B-169، Buchi، سوئیس) خارج شد و سپس رسوب و عصاره در خشک کن انجمادی خشک شدند. تمام عصاره‌های به دست آمده از سه مرحله با هم مخلوط شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. در زمان آزمایش، محلول استوکی از عصاره با غلظت ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد و به منظور انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی ویژگی‌های ضدباکتریایی عصاره جلبکی

به منظور بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Iyengaria stellata*، باکتری‌های *Salmonella typhimurium* (ATCC[1] 13076)، *Escherichia coli* (ATCC 10536)، *Staphylococcus aureus* (ATCC 29737) و *Bacillus cereus* (ATCC 6633) از انستیتو پاستور تهران خریداری و در فریزر نگهداری شدند. تست ضدباکتریایی به روش انتشار از دیسک انجام شد.

1- American Type Culture Collection

در این روش، از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط کشت نوترینت براث (Merck، آلمان)، سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک‌فارلند تهیه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی آماده (۰/۵ مک فارلند) برداشته شد و به محیط کشت مولر هینتون آگار (Merck، آلمان) اضافه شد. با استفاده از سواب، کشت یکنواختی از باکتری بر سطح میحط کشت صورت گرفت. سپس دیسک بلانک آغشته به ۳۰ میکرولیتر از عصاره جلبکی روی محیط کشت حاوی باکتری قرار داده شد. همچنین از دیسک‌های استاندارد آموکسی‌سیلین و جنتامایسین به عنوان استاندارد استفاده شد. در ادامه، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. پس از این مدت، با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد میزان حساسیت یا مقاومت باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف عصاره مشخص شد (Pinteus et al., 2015).

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در عصاره جلبک مورد مطالعه به روش Prieto و همکاران (۱۹۹۹)، با اندکی اصلاح، انجام شد. به طور خلاصه، ۰/۳ میلی‌لیتر از نمونه با ۳ میلی‌لیتر از محلول معرف (۰/۶ مولار اسید سولفوریک، ۲۸ میلی‌مولار فسفات سدیم و ۴ میلی‌مولار مولیبدات آمونیوم؛ Merck، آلمان)، مخلوط شد. سپس مخلوط حاصل، به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب (Libra S12، Biochrom، آلمان) با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از سرد شدن نمونه‌ها در دمای اتاق، میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom، انگلستان) در طول موج ۶۹۵ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد بر اساس اسکوربیک اسید (Merck، آلمان) رسم شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر حسب میلی‌گرم اسید اسکوربیک بر گرم عصاره بیان شد.

بررسی توانایی شلاته کنندگی یون آهن

قدرت شلاته کنندگی یون آهن در عصاره جلبکی بر اساس روش Wang و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد. به این ترتیب که ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره در غلظت‌های مختلف (۰/۱ تا ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) با ۱۳۵ میکرولیتر آب مقطر و ۵ میکرولیتر $FeCl_2$ (۲ میلی‌مولار؛ Merck، آلمان) مخلوط شد. سپس با افزودن ۱۰ میکرولیتر از فروزین (۵ میلی‌مولار؛ Merck، آلمان) واکنش آغاز شد. مخلوط به شدت ورتکس (۲۰۰۰rpm) شد و پس از ۱۰ دقیقه

قرارگیری در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۲ نانومتر خوانده شد. در نمونه شاهد به جای عصاره جلبکی از ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استفاده شد و برای بلانک نیز از ۱۰ میکرولیتر آب مقطر به جای محلول فروزین استفاده شد (بلانک شامل همه مواد به جز فروزین و عصاره بود). برای رسم منحنی استاندارد از اسید سیتریک و $EDTA\text{-}Na_2$ (Merck، آلمان) استفاده شد. توانایی شلاته کنندگی آهن بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد.

رابطه ۱:

$$\text{اثر شلاته کنندگی آهن (٪)} = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times ۱۰۰$$

A_c: جذب نمونه شاهد؛ A_t: جذب نمونه آزمایشی.

بررسی توانایی مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل

توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل بر طبق روش Wang و همکاران (۲۰۰۸) اندازه‌گیری شد. غلظت‌های مختلف نمونه (۱/۸۳-۰/۱۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) با ۰/۵ میلی‌لیتر EDTA-Fe (۲ میلی‌مولار؛ Merck، آلمان)، ۱ میلی‌لیتر H_2O_2 (۳٪)، ۱ میلی‌لیتر زعفران (۳۶۰میکروگرم در میلی‌لیتر) و ۴/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم (۱۵۰ میلی‌مولار، pH ۷/۴) مخلوط شد. 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 با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد. برای نمونه شاهد، از آب مقطر به جای نمونه آزمایشی و به جای H_2O_2 از بافر فسفات سدیم استفاده شد.

رابطه ۲:

$$\text{توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل (٪)} = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times ۱۰۰$$

تجزیه و تحلیل‌های آماری

تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و مقادیر به صورت میانگین ±انحراف معیار گزارش شد. برای تحلیل‌های آماری از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۰) استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آماری t مستقل و آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و برای بررسی اختلاف میانگین‌ها از پس‌آزمون دانکن استفاده شد (در سطح خطای ۰/۰۵). برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 استفاده شد.

نتایج

فعالیت ضدباکتریایی

در مطالعه حاضر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره آبی جلبک قهوه‌ای

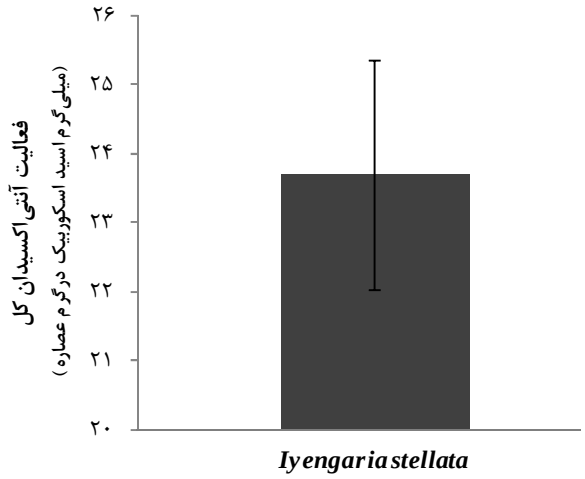
Iyengaria stellata مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمایش‌های ضدباکتریایی نشان داد که عصاره آبی *I. stellata* در هیچ غلظتی فعالیت ضدباکتریایی (با تاثیر بر باکتری‌های مورد مطالعه) از خود نشان نداد (جدول ۱).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

در مطالعه حاضر، *I. stellata* فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل ۱/۶۷±۲۳/۶۹ میلی‌گرم در گرم را نشان داد (شکل ۱).

جدول ۱: فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره آبی جلبک *I. stellata* (میانگین ± انحراف معیار)

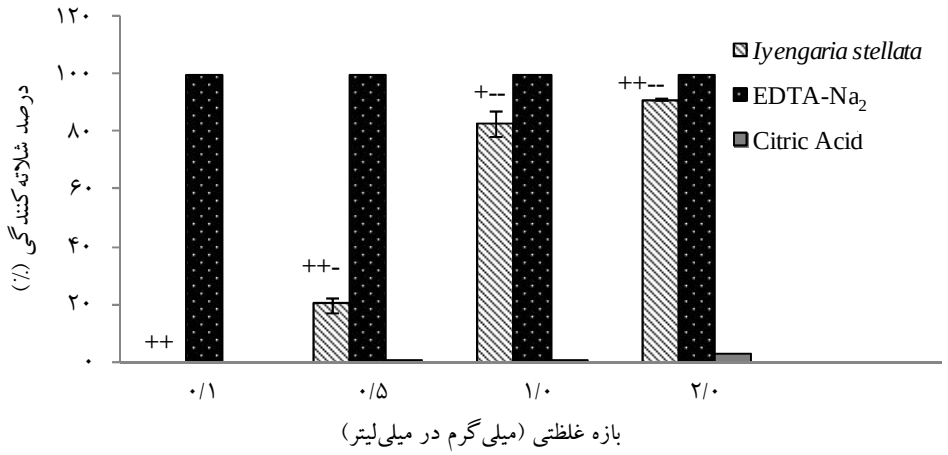
	باکتری‌ها		غلظت عصاره جلبکی (mg/ml)			آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد	
			۱۲/۵	۲۵	۵۰	آموکسی‌سیلین (کنترل مثبت)	جنتامایسین (کنترل منفی)
قطر هاله عدم رشد (mm)	باکتری‌های گرم منفی	*Escherichia coli*	-	-	-		۲۰/۷±۰/۸۶
		Salmonella typhimurium	-	-	-		۱۶/۰۹±./۴۴
	باکتری‌های گرم مثبت	*Bacillus cereus*	-	-	-	۲۷/۰۸±۲/۰۳	
		Staphylococcus aureus	-	-	-	۸/۹۸±۱/۰۳	



شکل ۱: فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در عصاره جلبکی (میانگین ± انحراف معیار)

توانایی شلاته کنندگی یون آهن

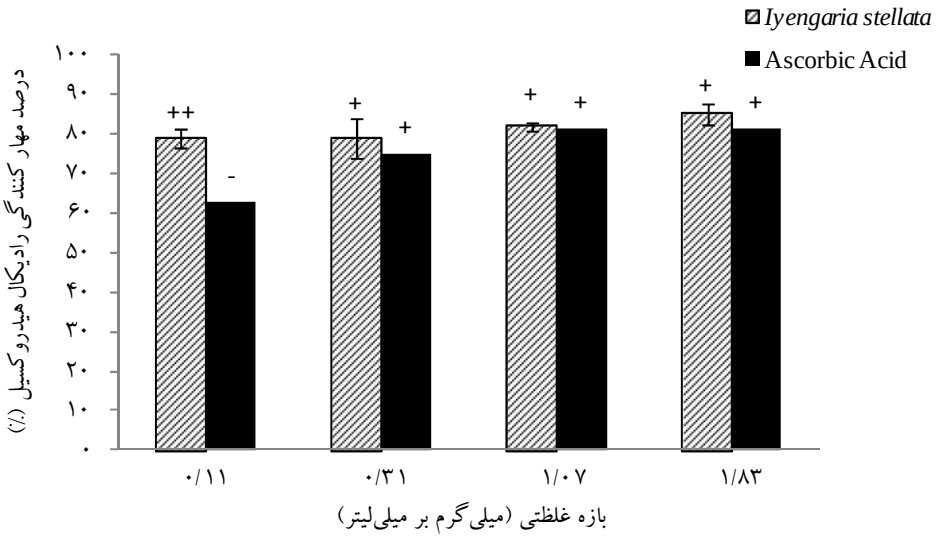
فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبکی بر اساس قدرت شلاته کنندگی آهن مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به شکل ۲ قدرت شلاته کنندگی یون آهن وابسته به غلظت بود که با افزایش غلظت درصد شلاته کنندگی آهن نیز افزایش یافت. در غلظت‌های ۰/۱ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره، درصد شلاته کنندگی آهن به ترتیب ٪۰±۰ و ٪۹۱/۱۴±۰/۴۵ بود. برای مقایسه قدرت شلاته کنندگی عصاره آبی جلبک *I. stellata* با سایر آنتی‌اکسیدان‌ها، از دو نوع آنتی‌اکسیدان مرجع شامل اسید سیتریک و $EDTA\text{-}Na_2$ استفاده شد. توانایی شلاته کنندگی عصاره جلبکی در بازه غلظتی ۲-۰/۵ (به ترتیب با مقادیر ٪۹۱/۱۴-۱۶/۳۹) به صورت معنی‌داری از اسید سیتریک در همان بازه غلظتی (با مقادیر ٪۲/۶۷-۰/۰۹۵) بالاتر بود. اما در مقایسه با $EDTA\text{-}Na_2$ در بازه غلظتی۲-۰/۱ (به ترتیب با مقادیر ٪۹۹/۸۰-۹۹/۷۱)، قدرت شلاته کنندگی آن در همان بازه (با مقادیر ٪۹۱/۱۴-۰) به صورت معنی‌داری پایین‌تر بود.



شکل ۲: توانایی شلاته کنندگی یون آهن توسط عصاره آبی جلبک *I. stellata*. علامت‌های «+» و «-» متفاوت در غلظت‌های مشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار، به ترتیب با $EDTA\text{-}Na_2$ و اسید سیتریک است (میانگین ± انحراف معیار).

توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *I. stellata* با استفاده از روش مهار رادیکال هیدروکسیل نیز مشخص شد. همان طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، فعالیت مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل به غلظت وابسته بود و با افزایش در غلظت عصاره درصد مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل نیز افزایش یافت. عصاره جلبک مورد مطالعه کمترین درصد مهار کنندگی رادیکال هیدروکسیل را در غلظت ۰/۱۱ (۷۸/۷۸±۲/۶۲٪) و بیشترین درصد را در غلظت ۱/۸۳ (۸۴/۸۴±۲/۶۲٪) از خود نشان داد. از اسید اسکوربیک برای مقایسه توانایی مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل با عصاره آبی جلبک مورد مطالعه استفاده شد. در غلظت ۰/۱۱ درصد مهار کنندگی رادیکال هیدروکسیل در عصاره جلبکی به صورت معنی‌داری (P<۰/۰۱) بالاتر بود. اما در سایر غلظت‌ها درصد مهار کنندگی مشابه بود.



شکل ۳: درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد هیدروکسیل توسط عصاره آبی جلبک *I. stellata*. علامت‌های «+» و «−» متفاوت در غلظت‌های مشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار است (میانگین ± انحراف معیار).

بحث

علاقه به استفاده از منابع جدید با پتانسیل ضدمیکروبی مانند ترکیبات طبیعی موجود در جلبک‌های دریایی در سال‌های اخیر به دلیل کاهش اثرات جانبی استفاده از آن‌ها، افزایش یافته است. حیدری و همکاران (۱۳۹۲ و ۱۳۹۴) نشان دادند که عصاره هیدروالکلی (اتانول ۷۰ درصد) حاصل از جلبک‌های *Cystoseira myrica*، *Entreromorpha intestinalis*، *Gracilaria corticata* در هیچ غلظتی اثر ضدباکتریایی (به استثنای *Escherichia coli*) از خود نشان ندادند. همچنین، Govindasamy و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که عصاره متانولی حاصل از جلبک‌های *G. corticata*، *Padina tetrastromatica* فاقد اثر ضدباکتریایی علیه *E. coli* بود. نتایج این مطالعات با مطالعه حاضر مطابقت دارد. Karthikaidevi و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند که عصاره‌های پترولیوم اتری حاصل از جلبک‌های *Codium adherens*، *Ulva reticulata*، *Halimeda tuna*، اتیل استات و استونی *C. adherens*، *U. reticulata* و دی‌اتیل اتری *H. tuna*، فاقد اثر ضدباکتریایی علیه *E. coli* بودند. عصاره‌های کلروفرمی حاصل از جلبک‌های *U. reticulate* و *H. tuna*، پترولیوم اتری *C. adherens* و *U. reticulata*، اتیل استاتی *H. tuna* و دی‌اتیل اتری *C. adherens* نیز اثر ضدباکتریایی علیه *Staphylococcus aureus* نداشتند. همچنین عصاره‌های پترولیوم اتری حاصل از جلبک‌های *H. tuna* و *U. reticulata*، دی‌اتیل اتری *C. adherens* و *U. reticulata*، کلروفرمی *C. adherens* و *H. tuna*، متانولی، اتیل استاتی و استونی *H. tuna* فاقد اثر ضدباکتریایی علیه *Salmonella* sp. بودند (Karthikaidevi et al., 2009).

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، روشی برای تعیین پتانسیل آنتی‌اکسیدان ترکیبات طبیعی است. گزارش‌های اخیر نشان داده است که عمده‌ترین ترکیبات فعال با خواص آنتی‌اکسیدانی در جلبک‌های قهوه‌ای، فلوروتانین‌ها و فوکوزانتین‌ها هستند اما فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی جلبک‌های قهوه‌ای را نمی‌توان به تنهایی به رنگدانه فوکوزانتین و یا سایر کاروتنوئیدها نسبت داد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در *I. stellata* نسبت به نتایج گزارش شده توسط Kokilam و همکاران (۲۰۱۳) برای جلبک‌های *Chnoospora minima* (۲۹/۳±۹/۸۶ میلی‌گرم در گرم)، *Hormophysa triquetra*

(۲۴±۳/۰۵ میلی‌گرم در گرم) و *Sargassum wightii* (۲۰±۲ میلی‌گرم در گرم) بالاتر بود. در مطالعه Chandini و همکاران (۲۰۰۸)، عصاره‌های متانولی، پترولیوم اتری، اتیل استاتی، دی‌کلرومتانی، بوتانولی و عصاره آبی حاصل از جلبک‌های *Sargassum marginatum*، *P. tetrastomatica*، *Turbinaria conoides* فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به عصاره آبی جلبک *I. stellata* از خود نشان دادند. درصد مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل در عصاره آبی جلبک مورد مطالعه نسبت به محلول‌های فوکوئیدانی حاصل از جلبک *Laminaria japonica* (Wang et al., 2008) نیز بالاتر بود. همچنین عصاره آبی جلبک *I. stellata* نسبت به عصاره پلی‌ساکاریدی جلبک *L. japonica* (Wang et al., 2008)، از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار بود.

فعالیت شلاته کنندگی فلز یکی از مکانسیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که باعث کاهش فعل و انفعالات 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 شلاته کنندگی یون آهن (Fe^{2+}) به تعداد هیدروکسیل وابسته است که با جایگزینی هیدروکسیل در جایگاه ارتو عمل شلاته کنندگی یون آهن صورت می‌پذیرد. جایگزینی گروه هیدروکسیل با گروه سولفونیک اسید حاصل از قارچ‌های رشته‌ای *Phoma herbarum* می‌تواند مثالی از شلاته کنندگی آهن باشد. توانایی شلاته کنندگی یون آهن در عصاره آبی جلبک مورد مطالعه نسبت به محلول‌های فوکوئیدانی حاصل از جلبک *P. tetrastromatica* بالاتر بود (Mohsin et al., 2016).

رادیکال آزاد هیدروکسیل یکی از واکنش پذیرترین رادیکال‌ها به شمار می‌رود که می‌تواند آسیب شدید به مولکول‌های مجاور خود وارد کند. مطالعات گذشته دو نوع مکانیسم آنتی‌اکسیدانی را گزارش کردند: مکانیسم اول، جلوگیری از تشکیل رادیکال هیدروکسیل و مکانیسم دوم پاکسازی رادیکال آزاد تشکیل شده. در مکانیسم نوع اول، آنتی‌اکسیدان‌ها با تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی مانع از واکنش آن‌ها با H_2O_2 می‌شوند و به این صورت از تشکیل رادیکال هیدروکسیل جلوگیری می‌کنند. با این حال در اکسیداسیون‌های شدید، در نتیجه واکنش

هیدروژن پراکسید با یون‌های فلزی از قبیل آهن و مس، رادیکال هیدروکسیل تشکیل می‌شود. مولکول‌هایی با توانایی شلاته کنندگی یون آهن، قادر به مهار رادیکال هیدروکسیل هستند. همچنین این مطالعات نشان دادند که هر دو سیستم قادر به مهار رادیکال هیدروکسیل است (Wang et al., 2008). Tsiapali و همکاران (۲۰۰۱) اظهار داشتند که فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد تا حدی به ترکیبات مونوساکاریدی مرتبط است.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل و توانایی شلاته کنندگی یون آهن در عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Iyengaria stellata* بالا است. بنابراین *I. stellata* به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به شمار می‌رود که می‌توان از این ترکیبات طبیعی در زمینه‌های گوناگونی هم چون پزشکی، داروسازی و صنایع غذایی استفاده کرد. با این وجود، عصاره آبی جلبک مورد مطالعه علیه باکتری‌های *Escherichia coli*، *Salmonella typhimurium*، *Bacillus cereus*، *Staphylococcus aureus* هیچ گونه اثر ضدباکتریایی از خود نشان نداد.

منابع

حیدری م.، ذوالقرنین ح.، سخایی ن.، میرزایی ع. و موحدی‌نیا ع. ۱۳۹۲. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی و ضداکسیدانی عصاره هیدروالکلی برخی جلبک‌های سواحل خلیج فارس در استان بوشهر. فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۱(۱): ۶۲-۴۹.

حیدری م.، ذوالقرنین ح.، سخایی ن.، میرزایی ع. و موحدی‌نیا ع. ۱۳۹۴. مقایسه قدرت ضدرادیکالی و ضدباکتریایی ماکروجلبک‌ها در سواحل شمالی خلیج فارس. مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۲): ۶۳-۵۳.

Chandini S.K., Ganesan P. and Bhaskar N. 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. Food Chemistry, 107: 707–713.

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.

Duan X.J., Zhang W.W., Li X.M. and Wang B.G. 2006. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. Food Chemistry, 95: 37–43.

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: 2076–2077.

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, 3: 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: 99–104.

Kuda T., Taniguchi E., Nishizawa M. and Araki Y. 2002. Fate of water-soluble polysaccharides in dried *Chorda filum* a brown alga during water washing. Journal of Food Composition and Analysis, 15: 3–9.

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, 18: 625–633.

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, *Surgassum 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 tetrastromatica* against human pathogenic microbes and free radicals. Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine, 2(2): 1-10.

Park P.J., Shahidi F. and Jeon Y.J. 2004. Antioxidant activities of enzymatic extracts from and edible seaweed *Sargassum horneri* using ESR spectroscopy. Journal of Food Lipids, 11: 15–27.

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, 31: 445–451.

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.

Tsiapali E., Whaley S., Kalbfleisch J., Ensley H.E., Browder I.W. and Williams D.L. 2001. Glucans exhibit weak antioxidant activity, but stimulate macrophage free radical activity. Free Radical Biology and Medicine, 30: 393–402.

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**.**

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 4, No. 3, Autumn 2016

Evaluation of antioxidant and antibacterial activity of brown seaweed *Iyengaria stellata* collected from Persian Gulf

Esmat Mohammadi[1]*, Bahareh Shabanpour[2], Moazameh Kordjazi[3]

Received: June 2016 Accepted: August 2016

Abstract

Due to the ability of algae in production of secondary metabolites, they can be a potential source of natural compounds used for drug development and treatment of many diseases. Therefore, present study has been performed to determine the antioxidant and antibacterial activity of aqueous extract of brown algae *Iyengaria stellata* from the coast of Qeshm, Iran. The evaluation of antioxidant activity of algae extract, investigated by measuring the inhibitory effect of hydroxyl radicals, chelating ability of ferrous ions and total antioxidant activity. Antibacterial activity of extract against four strains of pathogenic bacteria, including *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*, was evaluated by disc diffusion method and the results were compared with standard antibiotics. The total antioxidant activity, hydroxyl radical scavenging ability and the ability of ferrous ions chelating were high in algae. But the results of antimicrobial tests showed that the aqueous extract of *Iyengaria stellata* had no antibacterial effect on studied bacteria. According to the results, brown algae *Iyengaria stellata* can be used as a potential source of antioxidant compounds in food and pharmaceutical industries.

Key words: Iyengaria stellata, *Antioxidant, Antibacterial, Persian Gulf.*

1- M.Sc. in Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2- Professor in Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
3- Assistant Professor in Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
*Corresponding Author: esmat.mohammadi69@gmail.com