

ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی و ضداکسیدانی عصاره هیدروالکلی برخی جلبک‌های سواحل خلیج فارس در استان بوشهر

محسن حیدری^۱، حسین ذوالقرنین^۱، نسرین سخایی^۱، علی میرزایی^۲ و عبدالعلی موحدی نیا^۱
۱- دانش‌آموخته و استادیار گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی

خرمشهر

۲- استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی خواص ضداکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی سه گونه جلبک سبز، قهوه ای و قرمز بود. در این مطالعه بیشترین مقدار فنل تام و بهترین فعالیت ضداکسیدانی با آزمون پتانسیل ضداکسیدانی معادل ترولکس را عصاره هیدروالکلی جلبک سبز *Enteromorpha intestinalis* و کمترین این مقادیر را عصاره هیدروالکلی جلبک قرمز *Gracilaria corticata* داشت. بالاترین درصد مهار با این آزمون مربوط به جلبک سبز *E. intestinalis* و کمترین درصد مهار مربوط به جلبک قهوه ای *Cystoseira myrica* بود. بالاترین فعالیت ضداکسیدانی با استفاده از آزمون آزینو بیس اتیل تیازولین سولفونیک (با غلظت ۵۰ mg/ml) عصاره های هیدروالکلی جلبک های نمونه برداری شده مربوط به جلبک سبز *E. intestinalis* و کمترین این فعالیت با این آزمون را جلبک قهوه ای *C. myrica* داشت. هیچ یک از عصاره های هیدروالکلی جلبک های مورد مطالعه خواص ضدباکتریایی (با تاثیر روی باکتری های مورد مطالعه) را از خود نشان ندادند. کلمات کلیدی: خواص دارویی، جلبک سبز *Enteromorpha intestinalis*، جلبک قهوه‌ای *Cystoseira myrica*، جلبک قرمز *Gracilaria corticata*، لیستریا مونوسییتوزنز، اشريشیاکلی

مقدمه

جلبک‌ها علاوه بر نقش‌های بوم‌شناختی بسیار مهمی که در طبیعت دارند، به دلیل غنی بودن از مواد معدنی و ویتامین‌ها، قرن‌ها به عنوان غذایی سالم در رژیم غذایی انسان ویا برای مصارف دارویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Khan and Satam, 2003). جلبک‌های دریایی یکی از بزرگترین تولیدکننده‌گان در محیط‌های دریایی هستند (Bahadury and Wright., 2004). آنها تنوع وسیعی از حاصل‌های سوخت و سازی شیمیایی در محیط‌های آبی خود دارند که در برابر موجودات زنده‌ی ریز خارجی از خود دفاع می‌کنند. این حاصل‌های سوخت و سازی فعال به عنوان ترکیبات شیمیایی زیست‌ژنیک شناخته می‌شوند (Bhadury and Wright, 2004; Smit, 2004).

جلبک‌ها منبع غنی از ترکیبات مفید و فعال زیستی هستند. تاکنون ترکیبات زیستی متعدد و با گستره‌ی کاربردی متنوعی همچون اثرات آنتی‌بیوتیکی، ضد قارچی، ضد ویروسی و ضد سرطانی از جلبک‌های پرسلولی شناسایی و مشتق شده‌اند که بسیاری از حاصل‌های سوخت و سازینخستین ویا دومین این جانداران می‌توانند به مواد فعال مورد علاقه‌ی صنایع دارویی تبدیل شوند (Barsantiat et al., 2006).

ترکیباتی با تاثیر زیست‌شناختی و فعالیت ضد میکروبی از جلبک‌های بزرگ دریایی به صورت وسیع مطالعه شده‌اند. مواد ضدباکتریایی که به وسیله‌ی جلبک‌ها ترشح می‌شوند کشف و مشاهده شده‌اند. مطالعات زیادی در سراسر جهان برای کشف فعالیت‌های زیستی جلبک‌ها یا پیدا کردن ترکیباتی برای اهداف مختلف مانند داروسازی، آرایشی و بهداشتی، مواد نگهدارنده مواد غذایی، ضد رسوب گذاری و غیره انجام شده است (Sastry and Rao, 1994).

جلبک‌های موجود در منابع دریایی جنوب کشور یکی از ظرفیت‌های زیستی ارزشمند کشور هستند که توجه چندانی به آنها نشده است و برنامه ریزی اصولی و مدونی برای بهره‌برداری از این ذخائر دریایی وجود ندارد (سهرابی پور و ربیعی، ۱۳۸۵). حاصل‌های سوخت و سازی ثانویه مشتق شده از گیاهان مانند فنل و فنانوئید تام مشتق از گیاهان دارای پتانسیل قوی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد هستند که در تمام قسمت‌های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند (Mathew and Abraham, 2006). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در برخی از جلبک‌های قرمز، قهوه‌ای و سبز مورد مطالعه قرار گرفته و نشان داده شده است که خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک‌های دریایی مختلف با هم تفاوت دارند و متناسب با محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آنهاست (Zibia et al., 2007). فصل و دوره‌ی جمع‌آوری شده روی پاسخ‌های

ساخت و سازی و سطح تقریبی اجزاء تشکیل دهنده ی جلبک های جمع آوری شده تاثیر دارد (Orduna –Rojas et al., 2002). تنوع و ماهیت شیمیایی ضداکسیدان ها باعث می شود که جداسازی و اندازه گیری آنها در نمونه های مختلف جلبکی با یک نوع آزمایش امکان پذیر نباشد، بنابراین طراحی مجموعه ای از آزمایش هایی که بتوانند فعالیت ضداکسیدان را اندازه گیری کنند ضروری است. پتانسیل تجاری سازی ترکیبات آنتی اکسیدانی از جلبک های دریایی به عنوان مکمل های غذایی تلاش هایی جهت توسعه محصولات آنتی اکسیدانی است (Bocanegra et al., 2009).

مواد و روش‌ها

عملیات نمونه برداری طی اواخر فصل بهار و اوایل تابستان سال ۱۳۹۱ و در زمان بیشینه ی جزر صورت گرفت. برای مشخص شدن زمان حداکثر جزر در ایستگاه ها ، از وبگاه ایران آب نگاری که وضعیت جزر و مدی سواحل ایران را نشان می دهد، استفاده شد. جلبک های جمع آوری شده با آب دریا شسته شده و از شن و ماسه و جانداران اپیفیت کاملاً عاری شدند و درون کیسه های پلاستیکی با بر چسب نام ایستگاه، تاریخ نمونه برداری درون جعبه یونولیتی حاوی یخ نگه داری و سپس به آزمایشگاه در نزدیک ترین محل به منطقه نمونه برداری منتقل شدند. مقداری از جلبک ها برای نگهداری و شناسایی در فرمالین ۴٪ تا ۵٪ قرار داده شدند. در آزمایشگاه جلبکهای مورد نظر را دوباره با آب معمولی کاملاً و با دقت شستند و سپس درون آب مقطر غوطه ور کردند (برای خارج شدن املاح) و هر چند ساعت آب آنها تعویض شد. این کار تا سه مرحله تکرار و بعد از آن روی پارچه تمیزی در سایه گسترانیده و طی سه روز خشک شدند. نمونه ها بعد از خشک شدن با آسیاب برقی کاملاً به صورت پودر در آمدند (Salehi et al., 2005).

سنجش فعالیت ضداکسیدانی

الف-اندازه گیری فنل تام

مقادیر فنل تام در نمونه های عصاره جلبکی با اندکی تغییر با روش فولین سیکالتو اندازه گیری شد (McDonald et al., 2001). طبق این روش، در لوله ی آزمایش به ۰/۱ میلی لیتر عصاره اتانولی (با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) یا محلول اتانولی استاندارد اسید گالیک (غلظت ۲۵-۳۰۰ میکروگرم) ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین- سیکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) و ۰/۴ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ اضافه و مخلوط شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای

محیط آزمایشگاه، جذب نوری آن با اسپکتروفوتومتر (فارماسیا مدل ال کا بی نووا اسپکت II ساخت انگلستان) در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مقادیر فنل تام در نمونه های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان شد.

ب- اندازه گیری فلاونوئید تام

مقدار فلاونوئیدها در نمونه ی عصاره های گیاهی (جلبکی) با اندکی تغییر با روش Zhishen و همکارانش (۱۹۹۹) اندازه گیری شد. طبق این روش، فلاونوئیدها با اتصال به آلومینیوم کمپلکس زرد رنگی تشکیل می دهند. به ۱ میلی لیتر نمونه عصاره (غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) - با محلول استاندارد روتین (۵۰-۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر)، ۱ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی لیتر نیتريت سدیم ۵ اضافه شد و پس از مخلوط کردن به مدت ۶ دقیقه در دمای آزمایشگاه ۰/۲ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ اضافه کرده و پس از ۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه یک میلی لیتر هیدراکسید سدیم یک مولار افزوده و بلافاصله جذب نوری در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. مقادیر فلاونوئید تام در نمونه های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی گرم روتین به ازاء گرم عصاره (میلی گرم در گرم) محاسبه شد.

ج- ارزیابی فعالیت ضد اکسیدانی بوسیله ی رادیکال آزینو بیس اتیل تیا زولین سولفونیک (ABTS.+)

فعالیت ضد اکسیدان عصاره ی گیاهی با روش Re و همکارانش (۱۹۹۹) ارزیابی شد. به منظور تولید ABTS.+، ۷ میلی مول ABTS و ۲/۴۵ میلی مول پرسولفات پتاسیم در آب مقطر حل شد و به مدت ۱۶-۱۲ ساعت در دمای محیط و در تاریکی نگه داشته شد. محلول ABTS.+ با اتانول خالص تا حدی رقیق شد که جذب آن در طول موج ۷۳۴ نانومتر، 0.02 ± 0.07 شد. به ۰/۰۲ میلی لیتر عصاره ی اتانولی (با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) یا محلول اتانولی استاندارد ترولکس، ۲ میلی لیتر محلول اتانولی ABTS.+ اضافه و مخلوط شد. همچنین محلول ABTS.+ به عنوان نمونه ی کنترل استفاده شد. بعد از ۶ دقیقه قرار دادن نمونه ها در دمای محیط، ابتدا دستگاه اسپکتروفوتومتر فارماسیا مدل ال کا بی نووا اسپکت II ساخت انگلستان در طول موج ۷۳۴ نانومتر توسط اتانول خالص صفر شد و سپس جذب نمونه ها خوانده شدند. برای رسم منحنی استاندارد از محلول ترولکس با غلظت ۱۰۰۰-۱۰۰ میکرومول استفاده شد.

درصد فعالیت خنثی سازی رادیکالی عصاره^۱ (RSA) بر اساس فرمول زیر به دست آمد.

¹Radical Scavenging Activity

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

A Control = میزان جذب کنترل در زمان صفر (t=0).

A sample = میزان جذب نمونه در زمان ۶ دقیقه (t=6min)

فعالیت ضداکسیدان نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول ترولکس بر گرم وزن خشک عصاره ($\mu\text{mol/g}$) بیان شد.

عصاره گیری و بررسی ویژگی‌های ضدباکتریایی و ضداکسیدانی

عصاره ی هیدروالکلی جلبک‌ها به روش‌خیساندن^۱ با الکل ۷۰٪ به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه و درتاریکی انجام شد. عصاره ی تهیه شده از جلبک‌ها درون ویال ودر یخچال تا استفاده نگهداری شدند (Salehi et al., 2005).

بررسی ویژگی‌های ضدباکتریایی عصاره ی جلبک‌های مورد مطالعه

برای بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها، باکتریهای *Listeria monosytogenes* (13932) ، اشریشیاکلی (*E. coli* 25922) از پژوهش‌های علمی و صنعتی کشور (انستیتو پاستور تهران) خریداری و در فریزر نگهداری شدند. مقدار نیم سی سی از محیط کشت BHI^۲ مایع داخل ویالها تزریق کرده و سپس در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۰/۵ تا یک ساعت قرار داده شد سپس با سرنگ محتویات را کشیده و روی محیط‌های مناسب برای کشت بردیم. تست‌های ضدباکتریال به روش‌های دیسک‌دیفیوژن^۳ و چاهک^۴ انجام شد. در روش دیسک‌دیفیوژن از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط کشت مولر هینتون برات سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند تهیه شد و با استفاده از لوپ بر سطح محیط مولر هینتون آگار ، کشت یکنواختی از باکتری‌ها صورت گرفت. سپس دیسک بلانک (Padtan Teb co. 6.4mm) آغشته به ۲۵ میکرولیتر از عصاره‌های مورد نظر را در مرکز آن قرار داده شد. در ابتدا پلیت‌ها به مدت ۳۰ دقیقه برای پیش‌انتشار درون یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس قرار می‌گرفتند. بعد از این مرحله پلیت‌ها به انکوباتور انتقال و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. پس از این مدت با اندازه‌گیری

¹Maceration

²Brain Heart Infusion

³Disk diffusion

⁴Well method

هاله های عدم رشد میزان حساسیت یا مقاومت باکتری ها در غلظت های مختلف عصاره ها مشخص شدند. در روش چاهک نیز پس از آماده کردن سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند، کشت یکنواختی از باکتریها در محیط کشت مولر هینتون آگار انجام گرفت. سپس چاهک هایی به قطر ۶ میلی متر در سطح محیط ایجاد شد و ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت های متفاوت عصاره ها در چاهک ها ریخته شدند و به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. به منظور کنترل مثبت نتایج آزمون حساسیت ضدباکتریایی از آنتی بیوتیک های تجاری آمپی سیلین^۱ و تتراسایکلین به عنوان کنترل مثبت در این پژوهش استفاده شد.

تعیین کمینه غلظت بازدارندگی^۲ (MIC) و کمینه غلظت کشندگی^۳ (MBC) عصاره ها به روش رقت میکروچاهک^۴ با استفاده از چاهک های ۹۶ تایی انجام گرفت. ابتدا سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند در محیط کشت مولر هینتون برات تهیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر از آن را در چاهک ها ریخته شدند، سپس از هر کدام از عصاره ها ۱۰ سری رقت به صورت سری دوتایی^۵ تهیه شد و ۱۰۰ میکرولیتر از رقت های تهیه شده از هر عصاره، به سوسپانسیون میکروبی در میکروپلیت اضافه شد. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرماگذاری شدند. جذب نوری، قبل و بعد از انکوباسیون با استفاده از دستگاه خواننده ی الیزا (Biotek/USA) در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه گیری شد. سپس کشت گسترده ای از چاهک هایی که تغییری در جذب نوری آنها مشاهده نشد، در محیط نوترینت آگار صورت گرفت و به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. رشد در این محیط نشان دهنده ی کمینه غلظت ممانعت کنندگی و عدم رشد نشان دهنده ی کمینه غلظت کشندگی بود که می توانست باکتری را از بین ببرد.

تجزیه و تحلیل آماری

نرمال بودن داده ها به وسیله آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت. رسم نمودارها با نرم افزار Microsoft Office Excel 2007 انجام شد. برای بررسی نتایج آزمون ها و مقایسه میانگین داده ها از آزمون تجزیه تحلیل واریانس یکطرفه (one-way ANOVA) استفاده شد. گروه ها در سطح ($P < 0.05$) معنی دار هستند. ابتدا نرمال بودن داده ها بررسی شد. در صورت معنی دار بودن تحلیل داده ها با استفاده از روش های تحلیل آماری آنوای یک سوپه (One way

¹Ampicilin

²Minimum inhibitory concentration

³Minimum bacteriacide concentration

⁴Micro well dilution

⁵Two Fold Dilution

ANOVA) با استفاده از بسته‌ی نرم‌افزاری SPSS نسخه‌ی ۱۸ انجام می‌گرفت. تمامی اندازه‌گیری‌ها برای هر نمونه‌ی جلبکی سه بار تکرار شد و مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش داده شد (Jimenez et al., 2011). از آزمون T-test برای مقایسه ویژگی‌های ضداکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره جلبک‌های مورد مطالعه استفاده شد.

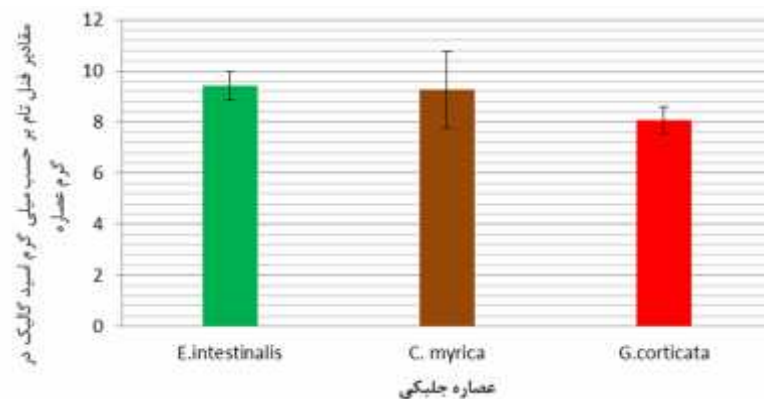
نتایج

ویژگی‌های ضداکسیدانی و ضدباکتریایی جلبک‌ها

۱- ویژگی‌های ضداکسیدانی

۱-۱ اندازه‌گیری فنل تام

مقادیر فنل تام در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره‌هیجان شد. بالاترین مقدار فنل را جلبک سبز *E. intestinalis* داشت و کمترین مقدار فنل نیز مربوط به جلبک قرمز *G. corticata* بود.

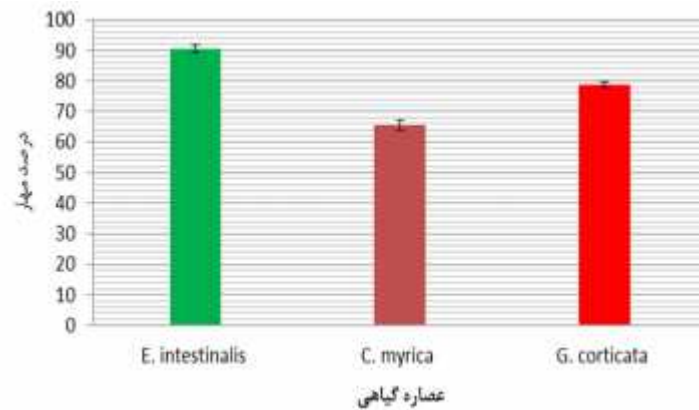


نمودار ۱- مقادیر فنل تام در نمونه جلبک‌ها (بر اساس میانگین \pm انحراف معیار)

۱-۲ اندازه‌گیری فلاونوئید تام

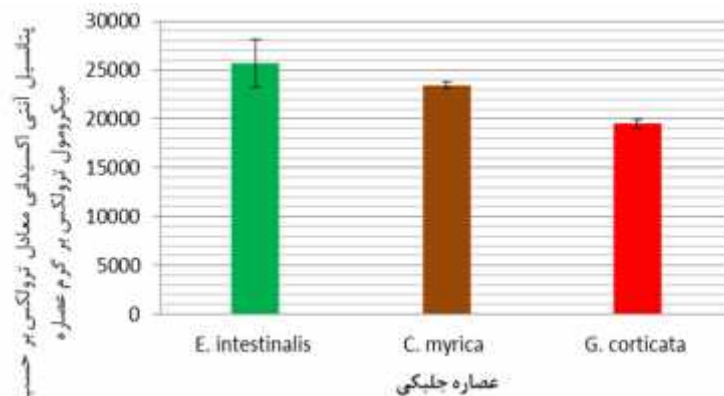
مقدار فلاونوئیدها در نمونه‌ی عصاره‌های هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه غیر قابل خواندن با دستگاه اسپکتروفتومتر بود.

۳-۱ ارزیابی فعالیت ضداکسیدان به وسیله ی پتانسیل آنتی اکسیدانی معادل ترولکس بالاترین درصد مهار بر اساس فرمول درصد RSA مربوط به جلبک سبز *E. intestinalis* و کمترین درصد مهار مربوط به جلبک قهوه ای *C. myrica* بود.



نمودار ۲- مقادیر درصد مهار در نمونه جلبک ها با آزمون پتانسیل آنتی اکسیدانی معادل ترولکس

باتوجه به جدول و نمودار شماره ۲ بالاترین فعالیت ضداکسیدانی با آزمون پتانسیل آنتی اکسیدانی معادل ترولکس با استفاده از منحنی استاندارد مربوط به جلبک سبز *E. intestinalis* و کمترین مقدار مربوط به جلبک قرمز *G. corticata* بود.



نمودار ۳- فعالیت ضداکسیدان نمونه های عصاره با آزمون پتانسیل آنتی اکسیدانی معادل ترولکس بر حسب میکرومول ترولکس بر گرم وزن خشک عصاره ($\mu\text{mol/g}$)

۲- ویژگی‌های ضدباکتریایی عصاره جلبک‌ها

۲-۱ فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ی هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه

باتوجه به جدول ۱ هیچ یک از عصاره هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه هدر روش دیسک دیفیوژن فعالیت ضدباکتریایی از خود نشان ندادند.

جدول ۱. فعالیت ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه با استفاده از روش دیسک دیفیوژن (غلظت عصاره‌های مورد استفاده ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در میلی لیتر است).

عصاره جلبکی	<i>E. intestinalis</i>			<i>C. myrica</i>			<i>G. corticata</i>			قطر هاله عدم رشد (میلی متر)	
	۰	۱	۲	۰	۱	۲	۰	۱	۲	تتراسایکلین	آمپی سیلین
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۲۷/۶±۶/۰۸	۱۷/۹۳±۶/۱۷
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۲۴/۲۶±۸/۳۸	۱۹/۶±۷/۹

باتوجه به جدول ۲ هیچ یک از عصاره هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه روش چاهک نیز فعالیت ضدباکتریایی از خود نشان ندادند.

جدول ۲. فعالیت ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی جلبک‌های مورد مطالعه با استفاده از روش چاهک (غلظت عصاره‌های مورد استفاده ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در میلی لیتر آب مقطر است).

عصاره جلبکی	<i>E. intestinalis</i>			<i>C. myrica</i>			<i>G. corticata</i>			قطر هاله عدم رشد (میلی متر)	
	۰	۱	۲	۰	۱	۲	۰	۱	۲	تتراسایکلین	آمپی سیلین
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۲۹/۶۶±۵/۰۳	۲۵/۳۳±۵/۸۵
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۲۳/۳۳±۱۰/۶۹	۲۶±۳

بحث و نتیجه گیری

مقدار عصاره ی به کار رفته برای بررسی مقدار فنل کل برابر با ۱ mg/ml بود. مقدار فنل کل در عصاره‌ی هیدروالکلی جلبک‌ها بین ۸/۰۸-۹/۴۳ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره بود. بیشترین محتوای فنلی را جلبک سبز *E. intestinalis* (با مقدار ۹/۴۳ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره) و کمترین مقدار محتوای فنلی نیز مربوط به جلبک قرمز *G. corticata* (با مقدار ۸/۰۸ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره) بود. اختلاف معنی داری بین جلبک‌ها از نظر محتوای فنلی وجود نداشت.

اصولا با افزایش ترکیبات فنل تام ویژگی آنتی اکسیدانی بیشتر می شود. ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد (تاننها) توانایی زیادی برای پاکسازی رادیکال های آزاد دارند و این توانایی بیشتر بستگی به تعداد حلقه های آروماتیک و ماهیت گروه های جابجا شونده ی هیدروکسیل دارد (Lagouri and Boskou.,1996).

ترکیبات فنلی به عنوان دهنده ی الکترون عمل می کنند و ممکن است واکنش های نا خواسته ی ایجاد شده با رادیکال های آزاد در بدن را خنثی کنند (Rajesh et al., 2008). ترکیبات فنلی در (جلبک های دریایی) در همبستگی با فعالیت آنتی اکسیدانی و وابسته به حلال و همچنین گونه ی جلبکی هستند که برای عصاره گیری استفاده می شوند. ما می توانیم به راحتی ترکیبات فنلی را با آب استخراج کنیم و با استفاده از آنها تاثیرات آنتی اکسیدانی بالایی داشته باشیم (Horincar et al.,2011).

مقادیر فلانویید در عصاره ی هیدروالکلی جلبک های مورد مطالعه بسیار ناچیز بود به طوری که قابل خواندن با دستگاه نبود، زیرا که علاوه بر پایین بودن میزان فلانوییدها به احتمال زیاد وجود ترکیبات خاص در عصاره ها باعث تداخل های زیادی شده که خواندن را مشکل ساخته است. می توان گفت مقادیر فلانویید در عصاره هیدروالکلی جلبک های دریایی خیلی کمتر از مقادیر آن در گیاهان خشکی زی است به همین دلیل خواندن آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر مشکل است.

گونه های جلبکی احتمالا دارای اجزای مختلفی هستند و می توانند در فعالیت های آنتی اکسیدانی آنزیم ها و کاهش خطر آنزیم ها استفاده شوند. اما ارتباط بین ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های جلبکی نیاز به بررسی بیشتر دارد (Al-Amoudi et al., 2009).

بالاترین درصد مهار در فصل بهار با استفاده از آزمون آزینو بیس اتیل تیازولین عصاره هیدروالکلی (با غلظت ۵۰ mg/ml) حاصل از جلبک های نمونه برداری شده (۹۰/۵۶) مربوط به جلبک سبز *E. intestinalis* و کمترین درصد مهار (۶۵/۶۱) اختصاص به جلبک قهوه ای *C. myrica* داشت. بین درصد مهار حاصل از عصاره هیدروالکلی (با غلظت ۵۰ mg/ml) جلبک های نمونه برداری شده با استفاده از آزمون آزینو بیس اتیل تیازولین سولفونیک اختلاف معنی دار است.

همچنین بین درصد مهار حاصل از عصاره هیدروالکلی (با غلظت ۴ mg/ml) دو جلبک *E. intestinalis* و *C. myrica* با استفاده از آزمون آزینو بیس اتیل تیازولین سولفونیک اختلاف معنی داری وجود داشت. بالاترین درصد مهار (۲۴/۶۵) در غلظت ۴ میلی گرم بر میلی لیتر مربوط به جلبک سبز *E. intestinalis* و کمترین درصد مهار (۱۵/۴۶) در همین غلظت اختصاص به جلبک قهوه ای *C. myrica* داشت.

بین ویژگی های ضداکسیدانی عصاره های هیدروالکلی (با غلظت ۵۰ mg/ml) حاصل از جلبک های نمونه برداری شده با استفاده از آزمون ABTS اختلاف معنی دار نبود. بالاترین فعالیت ضداکسیدانی با استفاده از آزمون آزینو بیس اتیل تیازولین سولفونیک (با غلظت ۵۰ mg/ml) عصاره های هیدروالکلی جلبک های نمونه برداری شده) مربوط به جلبک سبز *E. intestinalis* و کمترین فعالیت ضداکسیدانی را جلبک قهوه ای *C. myrica* داشت.

بین ویژگی های ضداکسیدانی عصاره های هیدروالکلی (با غلظت ۴ mg/ml) حاصل از جلبک سبز *E. intestinalis* و جلبک قهوه ای *C. myrica* نمونه برداری شده با استفاده از آزمون آزینو بیس اتیل تیازولین سولفونیک اختلاف معنی دار بود. بالاترین فعالیت ضداکسیدانی با استفاده از آزمون ABTS (در غلظت های ۴ mg/ml) عصاره های هیدروالکلی جلبک های نمونه برداری شده) مربوط به جلبک سبز *E. intestinalis* و کمترین فعالیت ضداکسیدانی را جلبک قهوه ای *C. myrica* داشت. بین محتوای فنلی و فعالیت ضداکسیدانی با آزمون ABTS ارتباط مثبتی وجود دارد. یعنی با افزایش مقدار فنل مقدار فعالیت ضداکسیدانی با این آزمون نیز مقدار بالایی را نشان داده است و با کاهش آن نیز چنین رفتاری نیز وجود دارد. ترکیبات فنلی در (جلبک های دریایی) در همبستگی با فعالیت آنتی اکسیدانی هستند و وابسته به حلال و همچنین گونه ی جلبکی هستند که برای عصاره گیری استفاده می شوند. (Horincar et al., 2011). به طور کلی الکل ۷۰ درجه از قطبیت بالایی برخوردار است عصاره استخراج شده با این حلال نیز بیشتر شامل ترکیبات قطبی است. با توجه به پژوهش های انجام شده از دیگر پژوهشگران دیگر اثبات شده است که حلال هایی با قطبیت کمتر نتایج بهتری نسبت به حلال هایی با قطبیت بیشتر دارند که می توان احتمال داد که به علت قطبیت بیشتر، بیشتر ترکیبات و اجزاء جلبکی دیگر (از جمله مقدار فراوانی کلروفیل) را همراه ماده فعال استخراج می کند و در نهایت در این نوع عصاره نسبت مواد فعال زیستی با ویژگی ضدباکتریایی نسبت به کل محلول استخراجی در قیاس با عصاره کلروفرمی (با قطبیت کمتر) کاهش می یابد. از جمله این پژوهشها می توان به نتایج درخشش پور و همکاران در سال ۱۳۹۰ اشاره کرد که نشان دادند بهترین فعالیت ضدباکتریایی با ترکیبات غیر قطبی به دست آوردند.

به طور کلی بیشترین مقدار فنل تام و بهترین فعالیت ضداکسیدانی با تست های مذکور را گونه ی *E. intestinalis* که از جلبک های سبز است، داشت. هیچ یک از عصاره های هیدروالکلی جلبک های مورد مطالعه فعالیت ضدباکتریایی با تاثیر روی باکتری های لیستریا مونوسیتوزنز (*L. monocytogenes* 13932) و اشیشیاکلی (*E. coli* 25922) را نداشت.

منابع

- [1] Amoudi OAH, Mutawie HH, Patel AV, and Blunden G. (2009). Chemical composition and antioxidant activities of Jeddah corniche algae, Saudi Arabia . Saudi Jour of Biolog Sci, 16:23-29.
- [2] Badury P, and Wright PC. (2004). Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. Planta, 219: 561-578.
- [3] Barsanti L, and Gualtieri P. (2006). Algae anatomy, biochemistry and biotechnology. New York: Taylor and Francis Group.
- [4] Bocanegra A, Bastida S, Benedí J, Ródenas S and Sanchez-Muniz FJ. (2009). Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. J. Med. Food, 12:236-258.
- [5] Horincar V, Parfene G, and Bahrim G. (2011). Evaluation of bioactive compounds in extracts obtained from three Romanian marine algae species. Romani Biotechnol Letter, 6:71-78.
- [6] Jimenez E, Dorta F, Medina C, Ramirez A, Ramirez I, and Peña-Corté H. (2011). Anti-Phytopathogenic Activities of Macro-Algae Extracts. Marine Drug, 9:739-756.
- [7] Khan SI, and Satam SB. (2003). Seaweed mariculture: scope and potential in India. Aquaculture Asia, 4 (4):26-28.
- [8] Lagouri V, and Boskou D. (1996). Nutrient antioxidants in origano. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 47:493-497.
- [9] Mathew S, and Abraham TE. (2006). In vitro antioxidant activity and scavenging effects of Cinnamomum verum leaf extract assayed by different methodologies. Food and Chemical Toxicology, 44:198-206.
- [10] McDonald S, Prenzler PD, Autolovich M, and Robards K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73:73-84.
- [11] Orduna-Rojas J, Robledo D, and Dawes CJ. (2002). Studies on the Tropical Agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales) from Yucatan, Mexico. I. Seasonal Physiological and Biochemical Responses. Botanica Marina, 45:453-458.
- [12] Rajesh M, Nagarajan A, Perumal S, and Sellamuthu M. (2008). The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis*, *Ficus ben galensis* and *Ficusra cemosia*. Food Chemistry, 107:1000-1007.

- [13] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, and Rice- Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology*, 26: 1231–1237.
- [14] Salehi P, Sonboli A, Eftekhari F, Nejad Ebrahimi S, and Yousefzadi M. (2005). Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subs. *rigida* (BOISS.) RECH. F. from Iran. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28: 1892-6.
- [15] Sastry VMVS, and Rao GRK. (1994). Antibacterial substances from marine algae: successive extraction using benzene, chloroform and methanol. *Bot. Mar*, 37: 357-360.
- [16] Smit AJ. (2004). Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: a review. *Journal of Applied Phycology*, 16: 245-262.
- [17] Zhishen J, Mengcheng T, and Jianming W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64: 555–559.
- [18] Zubia M, Robledo D, and Freile-Pelegrin Y. (2007). Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology*, 19: 449-458.

Aquatic Physiology and
Biotechnology
Vol. 1 No. 1, Fall 2013

Antibacterial and antioxidant activities of hydro-alcoholic extracts of some marine algal species from Persian Gulf coastal waters in Booshehr province

Mohsen Heydari^{1*}, Hosein Zolgharnein¹, Nasrin Sakhaei¹, Ali Mirzaei² and Abdolali Movahedinia¹

1-Msc and Assistant Professor in Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Khorramshahr University of Marine Science and Technology
2-Assistant Professor in Department of Biochemistry, Yasuj Medical University

Abstract

Antioxidant and antibacterial potential of hydro-alcoholic extracts of 3 marine green, brown and red algae species were investigated. According to the Trolox antioxidant potential test, *Enteromorpha intestinalis* (green algae) and *Gracilaria corticata* (red algae) showed the highest and the lowest amounts of total phenol and the best antioxidant activity, respectively. In this test, the most inhibitory percent were calculated in green algae and the lowest percent were from *Cystoseira myrica* (brown algae). According to the Azinobis ethyl thiazolinesolponic test (ABTS, 50mg/ml), green algae and brown algae showed the highest and the lowest amounts of total phenol and the best antioxidant activity, respectively. Hydro-alcoholic extracts from these different species had no antibacterial effect on two species of bacteria, which were tested in this study.

Keywords: Medicinal properties, Green, Red and Brown algae.

*heydari_mohsen84@yahoo.com