

بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره جلبک قرمز *Gracilaria gracilis*

محمد حسین زمانی کوچصفهانی^۱، سمیه عطائی جلیسه^{۲*}، مریم زمانی کوچصفهانی^۳

تاریخ دریافت: بهمن ۹۸

تاریخ پذیرش: تیر ۹۹

چکیده

امروزه به دلیل افزایش روز افزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی پیدا کردن جایگزین‌های مناسب از مواد طبیعی ضروری است. جلبک‌ها در زمینه‌های پزشکی، داروسازی و صنایع غذایی نیز کاربردهای فراوانی دارند. از این رو، مطالعه حاضر با هدف بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره جلبک قرمز *Gracilaria gracilis* انجام پذیرفت. در این مطالعه ترکیبات موثره عصاره متانولی جلبک قرمز *G. gracilis* به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی (GC/MS) شناسایی شد. بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره جلبک روی باکتری‌ها به روش رقیق‌سازی متوالی صورت پذیرفت. آنالیز شیمیایی ترکیبات عصاره جلبک نشان داد که بیشترین اجزای عصاره را فنیل‌اتین، سیلاسیکلوپنتن، فتالیک اسید، n-Hexadecanoic Acid، دی‌بوتیل فتالات، فیتول و جیبرلین تشکیل داده است. در بررسی حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی نشان داده شد که باکتری *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* به ترتیب با حداقل غلظت مهار کنندگی ۶/۲ و ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با باکتری‌های دیگر، نسبت به عصاره جلبک حساس تر بودند. بر اساس نتایج به دست آمده، عصاره متانولی جلبک قرمز *G. gracilis* فعالیت ضد میکروبی مناسبی دارد. از این رو برای کاربردهای بالینی این عصاره انجام تحقیقات بالینی ضروری است.

واژگان کلیدی: عصاره متانولی، *Gracilaria gracilis*، ضدباکتری.

- ۱- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، گروه زیست‌شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.
- ۲- استادیار گروه زیست‌شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.
- ۳- کارشناس ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

* نویسنده مسئول: atayi.somayeh@yahoo.com

مقدمه

تاکنون ترکیبات زیستی بسیاری با کاربردهای متنوع مانند اثرات آنتی‌بیوتیکی، ضدویروسی، ضدقارچی و ضدسرطانی از جلبک‌ها جداسازی و شناسایی شده‌اند و بسیاری از متابولیت‌های اولیه و ثانویه به دست آمده از آن‌ها می‌تواند در صنایع دارویی مورد توجه قرار گیرد (Barsanti and Gualtieri, 2006).

در کشور ایران جلبک‌های دریایی از سه شاخه سبز، قهوه‌ای و قرمز هستند و تمامی این جلبک‌ها در فصول مختلفی از سال قابل بهره‌برداری هستند (Gharanjik and Abkenar, 2000). تا کنون مطالعات اندکی بر روی خواص ضدباکتریایی و عناصر تشکیل دهنده جلبک قرمز *Gracilaria gracilis* سواحل جنوبی دریای خزر انجام گرفته است. با توجه به فراوانی زیستگاه‌های دریایی در کشور، پتانسیل فراوانی برای انجام چنین مطالعاتی وجود دارد. از این رو، در این مطالعه به ارزیابی ترکیبات تشکیل دهنده جلبک‌های قرمز *G. gracilis* و اثر آن روی باکتری‌ها پرداخته شد.

در سال‌های اخیر گرایش به استفاده از ترکیبات طبیعی در درمان بیماری‌ها و عفونت‌ها، به دلیل ایجاد مقاومت عوامل بیماری‌زا به داروهای شیمیایی، افزایش یافته است. مطالعات اخیر نشان داده که جلبک‌ها سرشار از ترکیبات ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدقارچی هستند. از طرف دیگر با توجه به زیستگاه‌های وسیع دریایی در شمال و جنوب ایران و وجود منابع غنی این جلبک‌ها پتانسیل فراوانی برای شناسایی ترکیبات موثره و استخراج آن‌ها به منظور تولید این مواد در سطح صنعتی وجود دارد (ببری و همکاران، ۱۳۹۱). مطالعات نشان داده‌اند که جلبک‌های دریایی منبع غنی‌ای از مواد اولیه مورد استفاده در داروسازی، پزشکی، صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی هستند. جلبک‌های دریایی حاوی مقادیر زیادی ویتامین، مواد معدنی، پروتئین، کاروتنوئید، فیبر و اسیدهای چرب ضروری هستند و در صنایع غذایی کاربرد دارند. جلبک‌ها از نظر اقتصادی نیز ارزشمند هستند، زیرا پلی‌ساکاریدهای ارزشمندی مانند آگار، کاراژینان و آلژینات از آن‌ها به دست می‌آید (Taskin and Ozturk, 2007).

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌ها

برای انجام این مطالعه آزمایشگاهی، ابتدا نمونه‌برداری از جلبک قرمز *Gracilaria gracilis* (شاخه Rhodophyta) در فصل بهار سال ۱۳۹۷ از سواحل جنوبی دریای خزر، منطقه سیسنگان (واقع در ۲۰ کیلومتری شهر نوشهر) انجام پذیرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده در کیسه‌های نایلونی حاوی آب دریا نگهداری و به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی رشت منتقل شد. سپس نمونه‌ها به منظور از بین بردن گل و لای، نمک و اپیفیت‌های چسبیده بر روی جلبک، چند مرتبه با آب معمولی و سپس با آب مقطر شسته شدند. نمونه‌ها توسط متخصصان مربوطه از روی ویژگی‌های ظاهری و ریخت‌شناسی به کمک کلیدهای شناسایی معتبر (قرنجیک و روحانی قادیکلایی، ۱۳۸۸؛ Abbot and Hollenberg, 1976) شناسایی شد. در مرحله بعد نمونه‌ها توسط دستگاه فریز درای (آلفا، Rontgen، آلمان) به مدت ۱۸ ساعت خشک شد و با آسیاب برقی (GSC 803، Gosonic، چین) پودر شد.

عصاره‌گیری جلبک

برای تهیه عصاره هیدروالکلی از روش عصاره‌گیری گرم استفاده شد به این صورت که مقدار ۰/۱ گرم پودر جلبک به دقت وزن شد و به آن ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه شد و به خوبی مخلوط شد. سپس به مدت ۲ ساعت در بن‌ماری با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. پس از گذشت ۲ ساعت عصاره‌ها توسط کاغذ صافی واتمن ۴۰، صاف شد و در بالن ژوژه ۲۰ میلی‌لیتری با حلال متانول ۸۰ درصد به حجم رسانده شد (حاجی مهدی‌پور و همکاران، ۱۳۸۸).

بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره جلبک

Gracilaria gracilis

در این مطالعه، تعدادی نمونه از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی شهرستان رشت در پاییز و زمستان سال ۹۷ جمع‌آوری شد. این نمونه‌ها برای کشت، بر روی محیط‌های بلاد آگار و EMB انتقال داده شد. برای تعیین هویت جنس‌های باکتری از آزمون‌های متعدد ریخت‌شناسی و افتراقی بیوشیمیایی استفاده شد.

مختلف از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت داشته باشند به این ترتیب در نهایت ۵ جدایه باکتری‌های MDR (مقاوم به چند دارو) *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Klebsiella*، *Citrobacter freundii*، *Pseudomonas pneumonia* و *aeruginosa* شناسایی شد. این ۵ جدایه باکتری نسبت به کل دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی به کار برده شده مقاوم بودند.

آزمایش‌های ضد میکروبی به روش تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) و حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericide Concentration: MBC)، به روش میکرودیولوشن انجام شد (Forbes et al., 2013).

در این پژوهش همچنین به منظور ارزیابی و مقایسه فعالیت ضد میکروبی عصاره جلبک *Gracilaria gracilis* از ده گونه باکتری استاندارد آزمایشگاهی *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031، *mirabilis* ATCC 43071، *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305، *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 و *Enterobacter aerogenes* ATCC 29212

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی (آزمون آنتی‌بیوگرام)

دیسک‌های آنتی‌بیوگرام مربوط به ۹ نوع آنتی‌بیوتیک نیتروفورانترین (FM)، پیپراسیلین-تازوباکتام (PTZ)، ایمپنیم (IMP)، سفپیم (FEP)، آمیکاسین (AN)، سفتازیدیم (CAZ)، کوتری ماکسازول (SXT)، سیپروفلوکساسین (CP)، جنتامایسین (GM) بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار حاوی سوسپانسیون باکتریایی که معادل نیم مگ‌فارلند و به صورت کشت چمنی بود، قرار گرفت و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شد. پس از خارج کردن نمونه‌ها از انکوباتور قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شد و میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها بر اساس استاندارد (Clinical and Laboratory Standards Institute) سال ۲۰۲۰ مشخص شد. نمونه‌هایی که هاله عدم رشد تشکیل داده بودند، یعنی نسبت به آن آنتی‌بیوتیک مقاومت کمتری داشتند و آن آنتی‌بیوتیک درصدی از باکتری را از بین برده است. آن دسته از باکتری‌ها نیز که هاله تشکیل نداده بودند نسبت به آن آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند. باکتری‌های MDR (Multidrug Resistant): مقاوم به دارو) گونه‌هایی هستند که حداقل به سه گروه

میکروبی معادل نیم مک‌فارلند رقت ۱:۱۰۰ تهیه شد و به اندازه ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به همه چاهک‌ها اضافه شد. ردیف شماره یازده پلیت حاوی محیط کشت و سوسپانسیون باکتری بود که به عنوان شاهد مثبت (محیط کشت و باکتری) و ردیف شماره دوازده به عنوان شاهد منفی (محیط کشت به تنهایی) در نظر گرفته شد. همه آزمایش‌ها با سه تکرار انجام شد. سپس پلیت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. برای تعیین MIC میزان کدورت چاهک‌ها که بیانگر مقدار رشد باکتری بود، تعیین شد. مقدار MIC حداقل غلظت ماده ضد میکروبی را نشان می‌دهد که در آن رشد قابل مشاهده‌ای دیده نشود.

سنجش حداقل غلظت کشندگی

برای سنجش حداقل غلظت کشندگی (MBC) از چاهک‌هایی که حاوی عصاره جلبک با غلظتی بالاتر از MIC بودند، نمونه برداری شد. به این ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از چاهک‌های یاد شده توسط سمپلر نمونه‌برداری و در محیط نوترینت آگار کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون رشد یا عدم رشد باکتری بر روی پلیت‌ها بررسی شد. کمترین رقتی که باکتری نتوانست در مجاورت آن بر روی محیط، رشد

Shigella flexneri ATCC 13048
Staphylococcus aureus ATCC 12022
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853
Escherichia coli ATCC 25922 و
Salmonella typhimorium 6A55 0298
 که از بانک میکروارگانیزم‌های شرکت رویان سنجش پارسیان تهران تهیه و در محیط کشت نوترینت آگار و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شدند، استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی

حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) با روش میکرودیوژن با استفاده از پلیت‌های ۹۶ خانه انجام گرفت. به این ترتیب که ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هینتون برات در چاهک‌ها ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره جلبک با غلظت اولیه ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به چاهک‌های ردیف اول اضافه شد و پس از مخلوط کردن نانوذره نقره با محیط کشت، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول برداشته و به ردیف دوم اضافه شد و از ردیف دوم به سوم و به همین ترتیب تا ردیف دهم عصاره جلبک رقیق شد. از ردیف دهم نیز ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و بیرون ریخته شد. آنگاه از سوسپانسیون

کند به عنوان حداقل غلظت کشندگی از مواد ضد میکروبی در نظر گرفته شد.

بررسی ترکیبات عصاره

عصاره جلبک پس از آماده‌سازی به دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی (GC/MS) (Agilent, 5977, آمریکا) با کروماتوگراف گازی GC (Agilent, 7890B, آمریکا) تزریق شد تا نوع ترکیبات آن مشخص شود. آنالیز GC-MS با یک دستگاه کروماتوگرافی (Agilent, 5973N, آمریکا) مجهز به یک ستون مویرگی (۹۵ درصد پلی‌دی‌متیل سیلوکسان و ۵ درصد دی‌فنیل؛ ۳۰ متر طول، ۰/۲۵ میلی‌متر قطر و ۰/۲۵ میکرومتر ضخامت فیلم) (HP-5MS UI, Agilent, آمریکا) انجام شد. برنامه دمای ستون به این ترتیب بود که طی ۵ دقیقه دما از ۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد افزایش داده شد، سپس با سرعت ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد رسید و برای ۱۰ دقیقه در همین دما ثابت نگه داشته شد. سرعت جریان گاز حامل هلیوم نیز ۱ میلی‌متر در دقیقه بود. حالت تقسیم شده تزریق (نسبت ۱ به ۳۰) مورد استفاده قرار گرفت. طیف‌های

ماده که روی آن‌ها مورد استفاده قرار گرفت در طیف ۳۰-۵۰۰ Z با ولتاژ یونیزاسیون کننده ۷۰ الکترون ولت بود. شاخص Kovats Retention با استفاده از هیدروکربن‌های استاندارد کروماتوگرافی شده مشترک محاسبه شد. ترکیبات منفرد توسط MS شناسایی شد و ماهیت آن‌ها به وسیله مقایسه RI نسبت به آلکان‌های C8-C32n و مقایسه طیف جرمی با نمونه‌های معتبر یا با داده‌های موجود در کتابخانه طیف جرمی NIST2005 و در پیشینه آن‌ها تایید شد.

نتایج

در بررسی خاصیت ضدباکتریایی عصاره جلبک قرمز *Gracilaria gracilis* نسبت به باکتری‌های استاندارد مشخص شد که عصاره متانولی جلبک قرمز *G. gracilis* خاصیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت داشت. از بین ده باکتری استاندارد هفت باکتری نسبت به عصاره جلبک حساسیت نشان دادند. باکتری‌های *P. aeruginosa* و *S. aureus* به ترتیب با MIC ۶/۲ و ۱۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نسبت به عصاره جلبک حساس‌تر بودند و سه باکتری *E. faecalis*، *P. mirabilis* و *K. pneumonia* حساسیتی از

خود نشان ندادند (جدول ۱). باکتری‌های مقاوم به دارو جداسازی شده از نمونه‌های ادرار نسبت به عصاره جلبک مقاوم بودند. آنالیز شیمیایی ترکیبات عصاره جلبک نشان داد که بیشترین اجزای عصاره را فنیل‌اتین (Phenylethyne) ۱۱/۲ درصد، سیلاسیکلوپنتن (Sila-cyclopentene) ۲/۴۳ درصد و جیبرلین (Gibberellin) ۲/۴۳ درصد تشکیل داده است. (Phthalic Acid) ۱۳/۹۸ درصد، فتالیک اسید (Phthalate) ۳/۳۸ درصد، فیتول (Phytol) ۱۱/۵۱ درصد، دی‌بوتیل فتالات (Dibutyl n-Hexadecanoic Acid) ۴/۲۵ درصد.

جدول ۱: حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره متانولی جلبک *Gracilaria gracilis* در برابر باکتری‌های استاندارد و بالینی مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک

باکتری	(mg/mL) MIC	(mg/mL) MBC
<i>Staphylococcus aureus</i>	۱۲/۵	۲۵
<i>Streptococcus pneumonia</i>	۲۵	۵۰
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	۶/۲	۱۲/۵
<i>Salmonella typhimorium</i>	۲۵	۵۰
<i>Enterobacter aerogenes</i>	۲۵	۵۰
<i>Shigella flexneri</i>	۲۵	۵۰
<i>Escherichia coli</i>	۵۰	۱۰۰
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-
<i>Klebsiella pneumonia</i>	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-
<i>Klebsiella pneumonia</i>	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-

بحث

و گرم منفی دریافتند که اغلب عصاره‌های جلبکی اثر ضدباکتریایی داشتند.

Lavanya و Veerappan در سال ۲۰۱۱ اثرات ضد میکروبی جلبک‌ها را گزارش کردند و اعلام کردند که جلبک‌های قرمز بیش از جلبک‌های سبز و قهوه‌ای تاثیر دارند.

متاسفانه مطالعات اندکی بر روی خواص ضدباکتریایی *G. gracilis* صورت گرفته است. نتایج مطالعه Tuney و همکارانش (۲۰۰۶) نشان داد که عصاره متانولی جلبک قرمز *G. gracilis* جمع‌آوری شده از سواحل کشور ترکیه هیچ اثر بازدارندگی روی رشد *E. coli* نداشت. در صورتی که در مطالعه حاضر، عصاره متانولی این جلبک بر روی باکتری *E. coli* اثر بازدارندگی نسبتاً خوبی را نشان داد که در این مورد می‌توان روش عصاره‌گیری، فصول سال و محل رویش را موثر دانست (Taskin et al., 2010).

در مطالعه‌ای که پیمانی و همکاران در سال ۱۳۹۳ بر روی اثرات ضدباکتریایی جلبک قرمز *Gracilaria arcuata* از سواحل چابهار انجام دادند، مشخص شد که باکتری گرم منفی بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره این جلبک داشت. همچنین Rhimou و همکاران (۲۰۱۰) مطالعه‌ای را بر روی اثر ضدباکتریایی

جلبک‌های دریایی به طور بالقوه منابع حاصلخیز دارای متابولیت‌های ثانویه بسیار فعالی هستند که می‌توانند پیشرفت‌های مفیدی را در تولید محصولات دارویی ایجاد کنند و مهم‌ترین منابع ترکیبات ضد میکروبی دریایی محسوب می‌شوند (Silva et al., 2013).

عصاره‌ها یا ترکیبات جلبک‌های مختلف در محیط آزمایشگاهی فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارند (Tuney et al., 2006).

Varier و همکاران (۲۰۱۳) برای عصاره‌گیری جلبک از اتانول، متانول و کلروفرم استفاده کردند و بیان کردند که در بین این حلال‌ها، عصاره متانولی بهترین نتایج را برای هر دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی نشان داد. از این رو، در مطالعه حاضر برای بررسی فعالیت ضدباکتریایی جلبک قرمز *G. gracilis* از عصاره متانولی این جلبک استفاده شد.

Taskin و Ozturk در سال ۲۰۰۷ طی بررسی اثر ضدباکتریایی بعضی از جلبک‌ها از خانواده‌های Rhodophyceae، Phaeophyceae و Chlorophyceae جمع‌آوری شده از شمال دریای اژه (Aegean Sea) ترکیه روی بعضی باکتری‌های گرم مثبت

که این نتیجه با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مطابقت داشت.

مطابق با داده‌های این مطالعه، Prasad و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که عصاره متانولی جلبک قرمز *Gracilaria corticata* در برابر *S. aureus* و *K. pneumoniae* فعالیت ضدباکتریایی داشت.

در بررسی ترکیبات عصاره جلبک، فنیل‌اتین ۱۱/۲ درصد، سیلاسیکلوپنتن ۱۳/۹۸ درصد، فتالیک اسید ۴/۲۵ درصد، n-Hexadecanoic Acid ۱۱/۵۱ درصد، دی‌بوتیل فتالات ۳/۳۸ درصد، فیتول ۲/۴۳ درصد و جیبرلین ۲/۴۳ درصد اجزای اصلی عصاره را تشکیل می‌دادند. فنیل‌اتین دارای یک حلقه فنلی است و طبق مطالعات انجام شده ترکیبات آروماتیک از جمله فنل‌ها دارای خواص ضدباکتریایی هستند (دوستی، ۱۳۹۸).

n-Hexadecanoic Acid یا پالمیتیک اسید به طور طبیعی یک اسید چرب اشباع است که در جانوران طی لیپوژنز ساخته می‌شود. مشهور است که اسیدهای چرب خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی دارند (Aparna et al., 2012). Yff و همکارانش در سال ۲۰۰۲ در غربالگری دارویی *Pentania prunelloides* دریافتند که ترکیب اصلی در

۲۶ گونه جلبک دریایی قرمز بر برخی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی انجام دادند و مشاهده کردند که عصاره متانولی *Hypnea musciformis* بالاترین میزان مهار را از خود نشان داد. از این گونه جلبک مورد مطالعه، ۲۵ گونه (۹۶ درصد) فعالیت ضدباکتریایی داشتند. به علاوه، نتایج به دست آمده نشان داد که عصاره‌های جمع‌آوری شده در فصل بهار نسبت به فصل زمستان فعال‌تر بودند (Rhimou et al., 2010).

عصاره اتانولی *Gracilaria domingensis* و *Gracilaria sjoestedii* نیز علیه *E. coli* و *S. aureus* فعالیت ضدباکتریایی نشان داد. عصاره اتانولی *G. domingensis* در برابر *Mycobacterium smegmatis* و *Neurospora crassa* اثر ضدباکتریایی داشت. عصاره اتانولی *Gracilaria debilis* در برابر *S. aureus* فعالیت ضدباکتریایی نشان داد، ولی در مقابل *M. smegmatis* غیرفعال بود (Albuquerque et al., 1983).

در بررسی انجام شده توسط Bouhla و همکاران (۲۰۱۰) در ارتباط با اثر عصاره متانولی جلبک قرمز *Gelidiella acerosa* بر روی رشد باکتری‌های مورد مطالعه، گزارش کردند که بالاترین قدرت مهارتی مربوط به *S. aureus* بود

Lee و همکاران در سال ۲۰۱۶ گزارش کردند که فیتول جدا شده از *Aster yomena* اثر ضدباکتریایی دارد و مکانیسم آن را مرگ سلولی اکسیداتیو در *P. aeruginosa* دانستند. در جای دیگر، Ghaneian و همکاران (۲۰۱۵) فعالیت ضد میکروبی بالای فیتول را تایید کردند. همچنین Cyriac و Eswaran (۲۰۱۵) خواص ضد میکروبی و ضدسرطانی فیتول را گزارش کردند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره جلبک بر روی باکتری‌های مقاوم به دارو تاثیر خاصی نداشت. احتمالاً مکانیسم مقاومت این باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها با مکانیسم عمل در برابر عصاره جلبک مشابه باشد. البته عصاره جلبک قادر به مهار تعداد زیادی از باکتری‌ها بود. متأسفانه تا کنون مطالعات اندکی بر روی اثر ضد میکروبی جلبک قرمز *G. gracilis* صورت گرفته است، از این رو نتایج به دست آمده در این مطالعه به ناچار با نتایج گونه‌های دیگر جنس *Gracilaria* مقایسه شده است. با توجه به اجزای اصلی عصاره و توضیحاتی که داده شد، می‌توان گفت که خواص ضد میکروبی عصاره جلبک *G. gracilis* به دلیل وجود ترکیبات ضدباکتریایی است که به طور عمده در عصاره آن یافت می‌شود. اما برای

عصاره ائیل استاتی ریشه، پالمیتیک اسید است و همین دلیل خاصیت آنتی‌بیوتیکی بالای آن است. همچنین بسیاری از مطالعات بر خواص ضدباکتریایی پالمیتیک اسید اشاره دارند (Desbois and Smith, 2010).

گزارش‌هایی مبنی بر فعالیت‌های ضد میکروبی دی‌بوتیل فتالات در برابر *E. coli*، *Bacillus subtilis*، *S. aureus*، *Bacillus cereus* و *S. typhimorium* گزارش شده است. Khatiwora و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند که دی‌بوتیل فتالات استخراج شده از ساقه *Ipomoea carnea* فعالیت چشمگیری در برابر *Klebsiella pneumonia*، *Pseudomonas* و *Proteus mirabilis* داشت. همچنین Roy و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش کردند که دی‌بوتیل فتالات ساخته شده توسط *Streptomyces albidoflavus* نیز فعالیت ضدباکتریایی از خود نشان داد. در سال ۲۰۱۸ Mini Shobi و Viswanathan دی‌بوتیل فتالات را برای اولین بار از *Begonia malabarica* جداسازی و فعالیت ضدباکتریایی چشمگیر آن را گزارش کردند.

فیتول به طور گسترده‌ای به عنوان ماده تشکیل دهنده کلروفیل دسته‌بندی می‌شود.

این رو، در کشورهای در حال توسعه می‌تواند به عنوان یک گزینه قابل توجه در پیشگیری و درمان عفونت‌ها مطرح باشد. از این رو، ارزیابی‌های کلینیکی برای بررسی امکان استفاده از آن در صنایع دارویی مورد نیاز است.

یافتن علت حساسیت یا مقاومت برخی باکتری‌ها نسبت به این عصاره پیشنهاد می‌شود در گام‌های بعدی اجزای تشکیل دهنده عصاره جلبک قرمز جداسازی و اثرات ضد میکروبی هر کدام بررسی شود و مکانیسم اثر ضدباکتریایی آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد.

در مجموع، عصاره جلبک قرمز یک ماده طبیعی، غیرسمی، ارزان و در دسترس است. از

منابع

- بررسی بهترین روش استخراج ترکیبات فنلی موجود در گیاه سرخارگل. فصلنامه گیاهان دارویی، ۴(۳۲): ۱۵۲-۱۴۵.
- دوستی ب. ۱۳۹۸.** مقایسه اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی صمغ گیاه بنه (*Pistacia atlantica*) با برخی آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی. مجله پژوهش‌های سلولی مولکولی (زیست‌شناسی ایران)، ۳۲(۲): ۱۱۵-۱۲۴.
- قرنجیک ب.م. و روحانی قادیکلایی ک. ۱۳۸۸.** اطلس جلبک‌های دریایی سواحل خلیج فارس و دریایی عمان. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات. ۳۱۳ص.
- Abbot I.A. and Hollenberg G.J. 1976.** Marine Algae of California. Stanford University Press, USA. 827P.
- Albuquerque M.R., Takaki C. and Koenig M.L. 1983.** Detection of antimicrobial activity in marine seaweeds. Revista do Instituto de Antibiotics, Universidade Federal de Pernambuco, 21: 127-138.
- Aparna V., Dileep K.V., Mandal P.K., Karthe P., Sadasivan C. and Haridas M. 2012.** Anti-inflammatory property of n-hexadecanoic acid: Structural evidence and kinetic assessment. Chemical Biology and Drug Design, 80(3): 434-439.
- Barsanti L. and Gualtieri P. 2006.** Algae Anatomy, Biochemistry and Biotechnology. Taylor and Francis Group, USA. 344P.
- Bouhla R., Riadi H., Martínez J. and Bourgougnon N. 2010.** The antibacterial potential of the seaweeds (Rhodophyceae) of the Strait of Gibraltar and the Mediterranean Coast of Morocco. African Journal of Biotechnology, 9(38): 6365-6372.
- Cyriac B. and Eswaran K. 2015.** GC-MS determination of bioactive components of *Gracilaria dura* (C. Agardh) Agardh J. Science Research Reporter, 5(2): 100-105.
- Desbois A.P. and Smith V.J. 2010.** Antibacterial free fatty acids: ببری ش.، دوستی م.ج.، فاتحی ل. و سالاری ع.ا. ۱۳۹۱. تاثیر گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) بر روی رفتارهای اضطرابی و افسردگی در موش‌های سوری نر بالغ. مجله علوم دارویی، ۱۸(۲): ۱۴۰-۱۳۳.
- پیمانی ج.، قرایی ا.، غفاری م. و طاهری ع. ۱۳۹۳.** بررسی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی جلبک دریایی (*Gracilaria arcuata*) از سواحل چابهار. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، ۱۸(۱): ۶۹-۷۵.
- حاجی مهدی‌پور ه.، خانوی م.، شکرچی م.، عابدی ز. و پیرعلی همدانی م. ۱۳۸۸.**

- Activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(6): 1629–1642.
- Forbes B.A., Sahm D.F., Weissfeld A.S. and Trevino E.A. 2013.** Methods for testing antimicrobial effectiveness. P: 171–94. In: Baron E.J., Peterson L.R. and Finegold S.M. (Eds.). *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. Mosby, USA.
- Ghaneian M.T., Ehrampoush M.H., Jebali A., Hekmatimoghaddam S.D. and Mahmoudi M. 2015.** Antimicrobial activity, toxicity and stability of phytol as a novel surface disinfectant. *Environmental Health Engineering and Management*, 2(1): 13–16.
- Gharanjik B.M. and Abkenar A.M. 2000.** Identification of seaweed in Sistan and Baluchestan Province coastal zone. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 9(1): 37–49.
- Khatiwora E., Vaishali B.A., Kulkarni M., Deshpande N.R. and Kashalkar R.V. 2012.** Antibacterial activity of dibutyl phthalate: A secondary metabolite isolated from *Ipomoea carnea* stem. *Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1):150–152.
- Lavanya R. and Veerappan N. 2011.** Antibacterial potential of six seaweeds collected from Gulf of Mannar of southeast coast of India. *Advances in Biological Research*, 5(1): 38–44.
- Lee W., Woo E.R. and Lee D.G. 2016.** Phytol has antibacterial property by inducing oxidative stress response in *Pseudomonas aeruginosa*. *Free Radical Research*, 50(12): 1309–1318.
- Mini Shobi T. and Viswanathan M.B. 2018.** Antibacterial activity of di-butyl phthalate isolated from *Begonia malabarica*. *Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering*, 5(2): 97–100.
- Prasad M.P., Shekhar S. and Rindhe G. 2014.** Antibacterial activity of seaweed (*Gracilaria*) extracts against Human pathogens. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*, 3: 219–222.
- Rhimou B., Hassane R., Jose M. and Nathalie B. 2010.** The antibacterial potential of the seaweeds (Rhodophyceae) of the Strait of Gibraltar and the Mediterranean Coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology*, 9(38): 6365–6372.
- Roy R.N., Laskar S. and Sen S.K. 2006.** Dibutyl phthalate, the bioactive compound produced by *Streptomyces albidoflavus*. *Microbiological Research*, 161(2): 121–126.
- Silva G.C., Albuquerque-Costa R., Oliveira-Peixoto J.R., Pessoa-Nascimento F.E., Macedo-Carneiro P.B. and Fernandes-**

- Vieira R.H.S. 2013.** Tropical Atlantic marine macroalgae with bioactivity against virulent and antibiotic resistant *Vibrio*. Latin American Journal of Aquatic Research, 41(1): 183–188.
- Taskin E. and Ozturk M. 2007.** Antibacterial activity of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). African Journal of Biotechnology, 6(24): 2746–2751.
- Taskin E., Caki Z., Ozturk M. and Taskin E. 2010.** Assessment of in vitro antitumoral and antimicrobial activities of marine algae harvested from the eastern Mediterranean Sea. African Journal of Biotechnology, 9(27): 4272–4277.
- Tuney I., Cadirci B.H., Unal D. and Sukatar A. 2006.** Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Izmir, Turkey). Turkish Journal of Biology, 30: 171–175.
- Varier K.M., Milton M.C.J., Arulvasu C. and Gajendran B. 2013.** Evaluation of antibacterial properties of selected red seaweeds from Rameshwaram, Tamil Nadu, India. Journal of Academia and Industrial Research, 1(11): 667–670.
- Yff B.T., Lindsey K.L., Taylor M.B., Erasmus D.G. and Jager A.K. 2002.** The pharmacological screening of *Pentania prunelloides* and the isolation of the antibacterial compound palmitic acid. Journal of Ethnopharmacology, 79(1): 101–107.



Research Paper

Investigation of antibacterial effect of red algae *Gracilaria gracilis* extract

Mohammad Hossein Zamani Kochesfehani¹, Somayeh Ataei Jaliseh^{2*},
Maryam Zamani Kochesfehani³

Received: February 2020

Accepted: July 2020

Abstract

Today, due to increase in resistance of antibiotics, it is necessary to find suitable alternatives to natural materials. Algae also have many applications in medicine, pharmacy and the food industry. Therefore, the present study was performed to investigate the antibacterial activity of red algae *Gracilaria gracilis* extract. In this study, the active compounds of methanolic extract of red algae *G. gracilis* were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The Antimicrobial effect of algae extract on bacteria were investigated by sequential dilution method. The chemical analysis of the algae extract compounds showed that the major components of the extract were phenylethine, silacycloptenen, phthalic acid, n-hexadecanoic acid, dibutyl phthalate, phytol and gibberellin. In the study of minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration, it was shown that *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* with algae extract with a minimum inhibitory concentration of 6.2 and 112.5 mg/mL, respectively, compared to other studied bacteria, showed more sensitivity. Based on the results, the methanolic extract of red algae *G. gracilis* had good antimicrobial activity. Therefore, clinical research is necessary for the clinical applications of this extract.

Key words: *Methanol Extract, Gracilaria gracilis, Antibacterial.*

1- M.Sc. in Biotechnology, Department of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

2- Assistant Professor in Department of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

3- M.Sc. in Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

*Corresponding Author: atayi.somayeh@yahoo.com

