

مقاله پژوهشی

فعالیت ضدباکتریایی عصاره فلوروتانینی جلبک قهوه‌ای *Sargassum tenerrimum* و کرم غنی شده با آن در مقابل باکتری‌های مرتبط با آکنه

عصمت محمدی^{۱*}، بهاره شعبان‌پور^۲، پرستو پورعاشوری^۳، وحیده پیام‌نور^۴، سلیم شریفیان^۵

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۹

چکیده

توجه به ارگانسیم‌های دریایی به عنوان منبع بالقوه ترکیبات زیست‌فعال و عوامل دارویی در سال‌های اخیر افزایش یافته است. پوست بزرگ‌ترین و سریع‌ترین اندام در حال رشد بدن انسان است که نقش مهمی در محافظت از بیماری‌ها و عوامل محیطی دارد. به دلیل سطح بالای آن، این اندام به بیماری‌های مختلفی از جمله آکنه، درماتیت و غیره حساس است. بنابراین، مطالعه حاضر جهت بررسی تاثیر عصاره فلوروتانینی جلبک قهوه‌ای و امولسیون حاوی عصاره در برابر ۶ سویه باکتری بیماری‌زای پوست انجام گرفت. ابتدا محتوای فلوروتانین عصاره با استفاده از معرف فلوروگلوکوسینول اندازه‌گیری شد. سپس، فعالیت ضدباکتریایی عصاره و امولسیون آن در برابر ۶ سویه باکتریایی *Pseudomonas*، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Bacillus subtilis*، *aeruginosa*، *Propionibacterium acnes* و *Staphylococcus epidermidis* انجام شد. محتوای فلوروتانین عصاره $13/94 \pm 0/29$ بود. نتایج نشان داد که میزان MIC و MBC در باکتری‌های *S. aureus*، *P. aeruginosa* و *P. acnes* نسبت به باکتری‌های *E. coli*، *B. subtilis* و *S. epidermidis* کمتر بود که گویای عملکرد بهتر عصاره فلوروتانینی در برابر آن‌ها است. همچنین، امولسیون حاوی عصاره در برابر باکتری‌های *E. coli*، *P. acnes*، *B. subtilis* و *P. aeruginosa* دارای قطر هاله عدم رشد بود. این نتایج نشان می‌دهد که فرمولاسیون حاوی عصاره فلوروتانین دارای پتانسیل‌هایی در درمان عفونت‌های باکتریایی پوستی است.

واژگان کلیدی: *Sargassum tenerrimum*، ترکیب زیست‌فعال، کرم حاوی عصاره، فعالیت ضدباکتریایی.

۱- دانشجوی دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲- استاد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۳- دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۴- دانشیار گروه جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۵- استادیار گروه شیلات، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران.

* نویسنده مسئول: esmat.mohammadi69@gmail.com

مقدمه

مشکل افزایش مقاومت، هزینه بالا و عوارض جانبی مرتبط با کرم‌های ضدباکتریایی مصنوعی موجود در بازار، بسیاری از پژوهشگران سعی کرده‌اند عوامل درمانی هدفمند بدون عوارض جانبی و با فعالیت ضدباکتریایی بالا را توسعه دهند. بنابراین، تهیه فرمولاسیون گیاهی غنی شده با ترکیبات طبیعی که برای مصرف کننده مقرون به صرفه، اثرگذار و ایمن باشد، امری ضروری به شمار می‌رود (Henrietta et al., 2020). جلبک‌های قهوه‌ای دامنه وسیعی از ترکیبات فعال شامل متابولیت‌های ثانویه منحصر به فرد مانند فلوروتانین‌ها را تولید می‌کنند و بسیاری از آن‌ها دارای فعالیت‌های زیستی خاص هستند که امکان استفاده اقتصادی آن‌ها را فراهم می‌آورد (Wijesinghe and Jeon, 2011). پلی‌فنل‌های موجود در جلبک‌ها شامل اسیدهای فنولیک، تانن‌ها، فلاوونوئیدها، کاتچین‌ها و فلوروتانین‌ها هستند (Kadam et al., 2013). فلوروتانین‌ها از مشتقات تانن‌ها به شمار می‌روند که از ترکیبات فنلی با واحدهای سازنده فلوروگلوکزینول تشکیل شده‌اند (Haug and Larsen, 1958) که وزن مولکولی آن‌ها از ۱۲۶ دالتون تا ۶۵۰ کیلودالتون متغیر است (Kadam et al., 2013). محتوای

آکنه و لگاریس یک بیماری پوستی رایج در کودکان و نوجوانان است. بیماری‌زایی آکنه چندوجهی و پیچیده است. از عوامل موثر در ایجاد آکنه می‌توان به افزایش ترشحات سبوم (Sebum)، کراتینه شدن فولیکول، باکتری و التهاب اشاره کرد (Lee et al., 2014). باکتری‌های *Propionibacterium acnes*، *Staphylococcus epidermidis* و *Staphylococcus aureus* اغلب در افزایش کراتینه شدن فولیکول‌های غیرطبیعی و التهاب دخیل هستند (Yamaguchi et al., 2009). باکتری‌های *P. acnes* و *S. epidermidis* به عنوان ارگانسیم‌های تشکیل‌دهنده عفونت چرکی شناخته شده‌اند که باعث التهاب در آکنه می‌شوند. *P. acnes* یکی از ارگانسیم‌های معمول جدا شده پوست، باعث التهاب غدد چربی در صورت، گردن و غیره در انسان می‌شود (Park et al., 2004). ضدمیکروب‌های موضعی اصلی‌ترین پایه در درمان عفونت‌های پوستی ناشی از ارگانسیم‌های باکتریایی، قارچی و ویروسی است که این ضدمیکروب‌ها به صورت کرم، پماد، پودر و اسپری در دسترس هستند. با این حال، به دلیل

متحده (۶۴ میلیارد دلار) و برزیل (۲۴ میلیارد دلار) در جایگاه‌های بعدی قرار داشتند (Pimentel et al., 2018). در دهه‌های اخیر، توجه مصرف‌کنندگان به مسائل مربوط به محیط زیست، منشاء محصولات، فرایندهای تولید و پیامدهای زیست‌محیطی آن‌ها، همراه با مسائل ایمنی منجر به جستجو محصولات طبیعی با اهداف گوناگون، از جمله غذایی، دارویی و آرایشی-بهداشتی شده است (Nunes et al., 2017). بنابراین می‌توان به‌کارگیری ترکیبات زیست‌فعال موجود در ماکرو جلبک‌ها در فرمولاسیون لوازم آرایشی-بهداشتی گام موثری در تولید محصولی باکیفیت و مناسب برای حفاظت و زیباسازی پوست برای استفاده آحاد مردم برداشت. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی ترکیب زیست‌فعال به دست آمده از ماکرو جلبک قهوه‌ای *Sargassum tenerrimum* با نام فلوروتانین و فرمولاسیون کرم حاوی آن در برابر ۶ سویه باکتری مرتبط با آکنه صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و حمل و نقل جلبک‌های دریایی *Sargassum tenerrimum* جلبک قهوه‌ای از نواحی بین جذر و مدی سواحل دریای عمان

فلوروتانین‌ها می‌تواند از ۱ تا ۱۴ درصد در گونه‌های مختلف جلبک دریایی متفاوت باشد. عموماً جلبک‌های قهوه‌ای حاوی مقادیر بالاتری از فلوروتانین‌ها در مقایسه با سایر جلبک‌ها هستند (Mabeau and Fleurence, 1993). ترکیبات زیست‌فعال جدا شده از جلبک‌های قهوه‌ای مانند فلوروتانین‌ها خواص عملکردی مختلفی مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدچروک، سفیدکنندگی، ضدالتهابی، ضددیابتی، ضدسرطانی، ضدویروسی، مهار آنزیمی و ضدحساسیت را از خود نشان داده‌اند (Li et al., 2011; Kadam et al., 2013). علاوه بر این، فلوروتانین‌ها فعالیت ضد میکروبی قوی در برابر چندین میکروارگانیسم را نشان دادند (Eom et al., 2008). وجود این خواص زیستی توجه صنعت لوازم آرایشی-بهداشتی را برای به‌کارگیری این ترکیبات در فرمولاسیون محصولات آرایشی-بهداشتی به خود معطوف کرده است. محصولات آرایشی و بهداشتی دارای بازار جهانی و بسیار رقابتی است که ارزش آن به بیش از ۴۲۵ میلیارد دلار در سراسر جهان می‌رسد. در سال ۲۰۱۶، اروپا بزرگ‌ترین بازار لوازم آرایشی و بهداشتی و محصولات مراقبت از پوست با ارزشی معادل ۷۷ میلیارد دلار را در جهان به خود اختصاص داد و سپس ایالات

و خلیج فارس به صورت دستی جمع‌آوری شد. پس از جمع‌آوری، بلافاصله با آب دریا شسته و گل و لای و دیگر مواد چسبیده به آن‌ها زدوده شد. پس از شناسایی گونه، جلبک‌ها در سایه در دمای اتاق خشک شدند. جلبک‌های خشک شده با استفاده از خردکن برقی تا حد ممکن ریز شدند.

شناسایی گونه‌ها توسط مرکز بیوتکنولوژی خلیج فارس انجام گرفت. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه فرآورده‌های شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی گرگان منتقل شد و تا شروع آزمایش‌های لازم برای عصاره‌گیری و استخراج در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

عصاره‌گیری

استخراج فلوروتانین به روش Shibata و همکاران (۲۰۰۲) با کمی اصلاح انجام شد. به طور خلاصه، ۱۰۰ گرم پودر جلبک در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت با ۴۰۰ میلی‌لیتر متانول (۱۰۰ درصد) مخلوط و شیک (ic 4000 control, IKA, آلمان) شد. سپس ۴۰۰ میلی‌لیتر کلروفرم به آن اضافه و مخلوط مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه شیک شد. مخلوط به دست آمده سپس با کاغذ صافی (شماره ۴) فیلتر شد. پس از صاف کردن، ترکیب به دست آمده با

اضافه کردن ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به دو لایه (بالا و پایین) تقسیم شد. لایه بالایی عصاره متانولی و لایه پایینی کلروفرم بود. لایه بالایی دو بار با اتیل استات شستشو داده شد. به این صورت که به عصاره متانولی، ۳۰۰ میلی‌لیتر اتیل استات اضافه شد و مخلوط به قیف دکانتور انتقال داده شد. مخلوط در دکانتور به دو لایه تفکیک شد. لایه بالایی فرکشن اتیل استاتی بود که حاوی فلوروتانین خام بود. فرکشن اتیل استاتی با روتاری (Buchl, B-480 B-169, سوئیس) تغلیظ و فلوروتانین خام به دست آمد.

میزان فلوروتانین کل

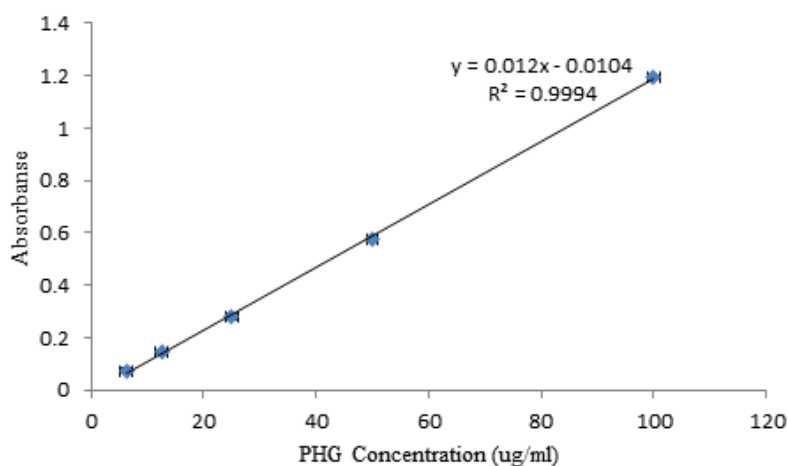
میزان فلوروتانین کل (Total Phlorotannins Content: TPC) بر اساس استاندارد فلوروگلوکوسینول (Phloroglucinol: PHG) و با استفاده از شناساگر فولین-سیوکالتو به روش Singleton و همکاران (۱۹۹۹) با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر نمونه (۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر متانول) با ۱ میلی‌لیتر شناساگر فولین-سیوکالتو (۱۰ درصد در آب مقطر) در لوله‌های پوشیده درب‌دار مخلوط و پس از ۳ دقیقه، ۳ میلی‌لیتر بیکرنات سدیم ۱ درصد به آن اضافه و همگن شد. در ادامه نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت

از روش براث به این شرح انجام شد: سویه‌های باکتریایی مرتبط با آکنه شامل *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Bacillus Pseudomonas aeruginosa* و *Propionibacterium acnes subtilis* از انستیتو پاستور تهران تهیه و در محیط مولر هینتون براث کشت داده شد. سویه‌های باکتریایی در انکوباتور شیکردار با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت قرار گرفتند. سپس سوسپانسیون باکتریایی با رقت 10^5 باکتری تهیه و خواص ضدباکتریایی عصاره فلوروتانیی در غلظت‌های (۱۰۰-۴۰۰) میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بررسی شد. با این روش میزان MIC

در دمای اتاق در تاریکی انکوبه شدند. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر ثبت شد. برای کالیبره کردن و رسم منحنی استاندارد از محلول فلوروگلوکوسینول (غلظت‌های ۰ تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) استفاده شد. پس از رسم منحنی استاندارد (شکل ۱)، میزان فلوروتانین کل عصاره بر اساس معادله رگرسیون $(y = 0.012x - 0.0104)$ محاسبه و به صورت میلی‌گرم فلوروگلوکوسینول در هر گرم عصاره (mg PHG/g) بیان شد. تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام گرفت.

بررسی خواص ضدباکتریایی

بررسی خواص ضدباکتریایی با استفاده



شکل ۱: منحنی استاندارد فلوروگلوکوسینول

پک نوع A برای بی‌هوای کردن محیط استفاده شد) به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

آماده‌سازی فرمولاسیون کرم

فرمولاسیون کرم آرایشی-بهداشتی حاوی عصاره فلوروتانیینی به روش Henrietta و همکاران (۲۰۲۰) با کمی اصلاح انجام شد. فرمولاسیون تهیه شده، امولسیون روغن در آب (O/W) بود. ابتدا، فازهای روغنی و آبی به صورت مجزا آماده و تا دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند. فاز روغنی به آرامی به فاز آبی در حین هم زدن مداوم اضافه شد تا پراکندگی همگن فاز روغن در فاز آبی ایجاد شود. این مخلوط به طور مداوم هم زده شد تا زمانی که امولسیون مورد نظر تشکیل شود. سپس در دمای اتاق خنک شد. امولسیون تولیدی در ظروف ویژه کرم ریخته شد. ترکیب و مقدار ماده تشکیل دهنده برای تهیه ۱۰۰ گرم پایه کرم عبارت بودند از آب دیونیزه (۷۳/۸ گرم)، پروپیلن پارابن (۰/۱ گرم)، تری‌تانول آمین (۱ گرم)، اتیلن گلیکول منواستئارات (۱ گرم)، پارافین مایع خوراکی (۸ گرم)، ستیل الکل (۳ گرم)، گلیسرین منواستئارات (۳ گرم)، گلیسرین (۱ گرم)، متیل پارابن (۰/۱ گرم). نوع

(Minimum Inhibitory Concentration) که به معنای توانایی ممانعت از رشد و افزایش تعداد باکتری‌ها است و (Minimum Bactericidal Concentration) که به معنای غلظت موثر در از بین بردن باکتری است، مشخص شد. به این ترتیب غلظت ماده موثره ترکیبات که دارای خواص ضدباکتریایی بودند، شناسایی شد (Rosenblatt, 1991). به طور خلاصه، در این روش، پس از تهیه رقت باکتریایی مورد نظر، ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه رقیق شده در داخل میکروپلیت از خانه A-H ریخته شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هینتون برات از خانه ۱۲-۲ ریخته شد. در ادامه، رقیق‌سازی افقی نمونه از خانه ۱ تا ۱۰ صورت گرفت. پس از رقیق‌سازی افقی نمونه، ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی به تمام خانه‌ها به جز خانه ۱۲ اضافه شد. میکروپلیت‌های آماده شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور میکروبی قرار داده شدند. جذب نمونه با استفاده از خوانشگر الایزا (Biochrom، انگلستان) خوانده شد. برای باکتری بی‌هوای *Propionibacterium acnes* از جار بی‌هوای برای کشت اولیه باکتری استفاده شد. سپس، بعد از آماده‌سازی میکروپلیت‌ها به روش فوق، میکروپلیت‌ها در محیط جار بی‌هوای (از گاز

ترکیبات فاز آبی و روغنی در امولسیون حاوی عصاره با پایه کرم مشابه بود با این تفاوت که در امولسیون حاوی عصاره، به میزان ۳/۵۶ گرم عصاره وارد شد.

فعالیت ضدباکتریایی کرم تولیدی به روش چاهک

ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی امولسیون غنی شده با عصاره فلوروتانین در برابر باکتری‌های *Staphylococcus*، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *aureus*، *Propionibacterium*، *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus epidermidis* به روش چاهک انجام شد. ابتدا، محیط کشت مولر هینتون آگار در پلیت‌های استریل ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل ۰/۵ مک فارلند از هر یک از سویه‌های باکتریایی بر روی محیط کشت پخش شد. پس از ایجاد چاهک بر روی پلیت‌ها، درون چاهک‌ها با کرم پر شد. از پماد تتراسایکلین به عنوان شاهد مثبت و از پایه کرم به عنوان شاهد منفی استفاده شد (Henrietta et al., 2020).

نتایج

فلوروتانین کل

محتوای فلوروتانین کل در عصاره ماکرو جلبک *Sargassum tenerrimum* برابر با $13/94 \pm 0/29$ میلی‌گرم فلوروگلوکوسینول بر گرم عصاره بود.

فعالیت ضدباکتریایی

فعالیت ضدباکتریایی عصاره فلوروتانینی جلبک قهوه‌ای *S. tenerrimum* با غلظت سوسپانسیون باکتری 10^5 CFU/mL در برابر ۶ سویه باکتری بیماری‌زای *E. coli*، *S. aureus*، *P. acnes*، *B. subtilis*، *P. aeruginosa* و *S. epidermidis* به روش MIC و MBC اندازه‌گیری شد و نتایج آن در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان MIC و MBC برای باکتری‌های *S. aureus*، *S. epidermidis* و *P. aeruginosa* نسبت به باکتری‌های *S. epidermidis*، *B. subtilis* و *E. coli* کمتر بود. در واقع، قدرت مهار و کشندگی عصاره فلوروتانینی در برابر باکتری‌های *S. aureus*، *S. epidermidis* و *P. aeruginosa* بیشتر بود. این باکتری‌ها بیشترین

ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی کرم تولیدی نتایج به دست آمده از بررسی فعالیت ضدباکتریایی امولسیون تولیدی در جدول ۲ و شکل ۳ نشان داده شده است. امولسیون تولیدی در برابر باکتری‌های *E. coli*، *P. acnes*، *B. subtilis* و *P. aeruginosa* دارای خاصیت ضدباکتریایی بود و قطر هاله عدم رشد آن به ترتیب برابر با $5/50 \pm 0/6$ ، $4/17 \pm 0/18$ ، $2/85 \pm 1/34$ و $2/43 \pm 1/14$ میلی‌متر بود. پایه کرم (شاهد منفی) در برابر هیچ یک از سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه هاله عدم رشد تشکیل نداد، اما پماد تتراسایکلین (شاهد مثبت) در برابر تمام باکتری‌های مورد مطالعه هاله عدم رشد تشکیل داد که به صورت معنی‌داری نسبت به عصاره جلبکی بالاتر بود.

حساسیت را نسبت به عصاره از خود نشان دادند و به غلظت پایین‌تری برای از بین بردن آن‌ها نیاز بود. اگرچه عصاره فلوروتانینی مورد مطالعه در برابر تمام باکتری‌های مورد مطالعه فعالیت مهارکنندگی و قدرت کشندگی از خود نشان داد اما این ترکیب زیست‌فعال عملکرد بهتری را در برابر باکتری‌های *S. aureus*، *P. aeruginosa* و *P. acnes* نسبت به *S. epidermidis* و *B. subtilis* از خود نشان داد.

فرمولاسیون کرم

پایه کرم و کرم غنی شده با عصاره فلوروتانینی جلبک *S. tenerrimum* مطابق با فرمولاسیون ذکر شده در جدول ۱ تهیه شد و تصاویر امولسیون‌های تولیدی در شکل ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱: حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره فلوروتانینی جلبک *Sargassum tenerrimum* در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای پوست

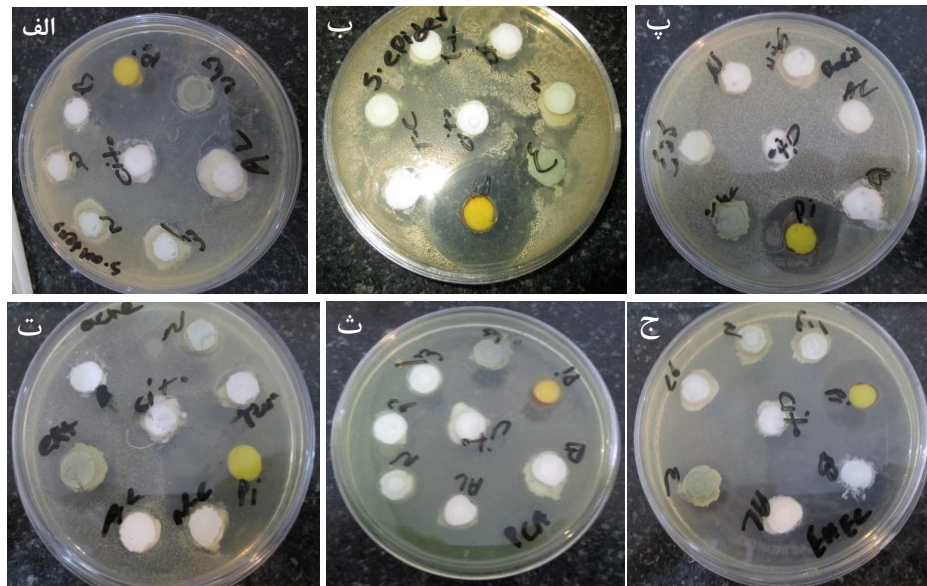
فعالیت عصاره فلوروتانین		سویه‌های باکتری
(mg/mL) MIC	(mg/mL) MBC	
۱۵۰	۳۰۰	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
۲۰۰	۳۰۰	<i>Escherichia coli</i>
۱۵۰	۲۰۰	<i>Staphylococcus aureus</i>
۱۵۰	۲۰۰	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
۲۰۰	۳۰۰	<i>Bacillus subtilis</i>
۱۵۰	۲۰۰	<i>Propionibacterium acnes</i>



شکل ۲: پایه کرم (ظرف درب قرمز) و کرم حاوی عصاره فلوروتانین (ظرف درب صورتی)

جدول ۲: قطر هاله عدم رشد امولسیون حاوی عصاره فلوروتانینی جلبک *Sargassum tenerrimum* شاهد منفی و شاهد مثبت در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای پوست (میانگین \pm انحراف معیار)

قطر هاله عدم رشد (mm)			سویه‌های باکتری
شاهد مثبت	شاهد منفی	عصاره فلوروتانین	
۱۱/۱۹ \pm ۰/۸۳	-	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
۸/۷۸ \pm ۳/۱۶	-	۴/۱۷ \pm ۰/۱۸	<i>Escherichia coli</i>
۹/۷۲ \pm ۱/۱۲	-	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
۲/۷۵ \pm ۱/۰۸	-	۲/۴۳ \pm ۱/۱۴	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
۸/۰۲ \pm ۱/۹۴	-	۲/۸۵ \pm ۱/۳۴	<i>Bacillus subtilis</i>
۱۶/۵۲ \pm ۰/۷۶	-	۵/۵۰ \pm ۰/۱۶	<i>Propionibacterium acnes</i>



شکل ۳: تصاویر پلیت‌های باکتریایی مربوط به تشکیل یا عدم تشکیل هاله عدم رشد فرمولاسیون کرم. الف) *Staphylococcus aureus* (ب) *Staphylococcus epidermidis* (پ) *Bacillus subtilis* (ت) تتراسایکلین؛ B: پایه کرم. ج) *Escherichia coli* (Pi) د) *Propionibacterium acnes* (ث) ه) *Pseudomonas aeruginosa* (ج) و) *Escherichia coli* (Pi).

بحث

فنلی هستند (Lim et al., 2002). آنتی‌اکسیدان‌های فنلی از موثرترین ترکیبات در جلبک‌های قهوه‌ای به شمار می‌روند (Kuda et al., 2005). پلی‌فنل‌ها معرف یک گروه متنوع از ترکیبات از جمله فلاونوئیدها، لگنین‌ها، توکوفرول‌ها، تانن‌ها و اسیدهای فنولیک هستند. ترکیبات فنلی با شلاته کردن یون‌های فلزی، جلوگیری از تشکیل رادیکال آزاد و بهبود سیستم آنتی‌اکسیدان داخلی، می‌توانند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کنند (Cox et al.,

جلبک‌های دریایی منبعی غنی از متابولیت‌های ثانویه زیست‌فعال مانند ترکیبات پلی‌فنولی هستند. فلوروتانین‌ها ترکیبات اصلی و غالب در میان متابولیت‌های ثانویه مختلف تولید شده در جلبک‌های دریایی هستند (Wijesinghe and Jeon, 2011). ترکیبات فنلی معمولا در گیاهان یافت می‌شوند، اما گزارش‌های اخیر نشان داده است که عصاره جلبک‌های دریایی نیز حاوی آنتی‌اکسیدان‌های

به دست آمده از *Ecklonia kurome* با موفقیت رشد باکتری‌های *Campylobacter jejuni* و *Vibrio parahaemolyticus* را کاهش دادند (Nagayama et al., 2002). از بین باکتری‌هایی که به روش براث مورد آزمایش قرار گرفتند، *Campylobacter* spp. بیشترین حساسیت را به فلوروتانین‌ها نشان دادند. علاوه بر این، فرکشن هگزان فلوروتانین به دست آمده از جلبک *Ecklonia stolonifera* به طور موثر باعث کاهش رشد *Staphylococcus aureus* شدند (Eom et al., 2008). فعالیت ضدباکتریایی فلوروتانین‌ها به وزن مولکولی آن‌ها بستگی دارد. عصاره حاوی فلوروتانین به دست آمده از جلبک دریایی قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* شیوع باکتری *E. coli* را در مدفوع گوساله کاهش داد (Braden et al., 2004). Lee و همکاران (۲۰۱۴) اثر ضدباکتریایی فلوروتانین‌های جدا شده از جلبک قهوه‌ای *Eisenia bicyclis* در برابر باکتری‌های مرتبط با آکنه را در شرایط *In vitro* مورد مطالعه قرار دادند. عصاره متانولی *E. bicyclis* فعالیت ضدباکتری بالقوه را علیه باکتری‌های مرتبط با آکنه به نمایش گذاشت. فرکشن اتیل استات قوی‌ترین فعالیت ضدباکتریایی را در برابر باکتری‌ها در بین فرکشن‌ها نشان داد.

2010). گونه جلبکی مورد مطالعه در این پژوهش نیز یکی از گونه‌های غنی از ترکیبات فنلی است که نتایج محتوای فلوروتانین کل به دست آمده در مطالعه حاضر، این موضوع را تایید می‌کند.

اگرچه اکثر بیماری‌های عفونی باکتریایی با انواع قابل توجهی از آنتی‌بیوتیک‌ها قابل درمان هستند، اما به دلیل افزایش روز افزون مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، این عوامل بیماری‌زا همچنان یکی از مهم‌ترین چالش‌های بهداشتی در سراسر جهان هستند. به دلیل افزایش روز افزون مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، شناسایی ترکیبات ضد میکروبی با منشاء طبیعی مورد توجه فراوان قرار گرفته است. از گذشته تا کنون، جلبک‌های دریایی به عنوان یک منبع مهم از مواد طبیعی زیست‌فعال مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Smit, 2004; Plaza et al., 2008). علاوه بر این، بسیاری از متابولیت‌های جدا شده از جلبک‌های دریایی دارای اثرات زیست‌فعال هستند. جلبک‌های قهوه‌ای (Phaeophyta) انواع پلی‌فنول‌های متشکل از فلوروگلوکوسینول را به عنوان فلوروتانین ذخیره می‌کنند. فلوروتانین‌ها در برابر بعضی از پاتوژن‌های باکتریایی موجود در مواد غذایی موثر هستند. Dieckol و Bieckol-۸،۸

قهوه‌ای *S. tenerrimum* در مقابل باکتری‌های مرتبط با آکنه همسو است. Henrietta و همکاران (۲۰۲۰) فعالیت ضدباکتریایی عصاره متانولی برگ‌های *Urtica dioica*، *Amaranthus viridis* و *Aloe vera* فرمولاسیون کرم‌های آرایشی حاوی این عصاره‌ها را در برابر باکتری‌های *S. aureus*، *B. subtilis*، *Staphylococcus albus*، *Klebsiella*، *Proteus mirabilis*، *E. coli* و *Enterococcus faecalis*، *oxytoca* و *P. aeruginosa* مورد مطالعه قرار دادند. عصاره برگ‌ها و کرم‌های فرموله شده با آن‌ها فعالیت ضد میکروبی قابل مقایسه‌ای را با ترکیبات و فرمولاسیون‌های ضد میکروبی استاندارد به نمایش گذاشت. عصاره متانولی *U. dioica* بالاترین فعالیت ضدباکتریایی را به نمایش گذاشت. فرمولاسیون کرم حاوی ترکیبی از ۲۰ درصد از هر یک از گیاهان *U. dioica* و *A. vera* قوی‌ترین فرمولاسیون در برابر باکتری‌های استفاده شده به نظر می‌رسد. Taofiq و همکاران (۲۰۱۶) فعالیت ضدباکتریایی عصاره متانولی قارچ و کرم غنی شده با آن را در برابر باکتری‌های *E. faecalis*، *S. aureus*، *E. coli* و *P. aeruginosa* مورد مطالعه قرار دادند. تمام عصاره‌های قارچ مورد

Fucofuroeckol-A (FF) بالاترین فعالیت ضدباکتری را در برابر باکتری‌های مرتبط با آکنه با حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) از ۳۲ تا ۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر به نمایش گذاشت. علاوه بر این، Fucofuroeckol-A نسبت به اریترومایسین و لینکومایسین در برابر *P. acnes* از فعالیت کشندگی بسیار بالاتری برخوردار بود. مقادیر MIC اریترومایسین در مقابل *P. acnes* هنگام ترکیب با Fucofuroeckol-A (با MIC ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر) به طور چشمگیری از ۲۰۴۸ به ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر کاهش یافت. شاخص‌های غلظت مهارکنندگی فرکشن‌های اریترومایسین و لینکومایسین از ۰/۵ تا ۰/۷۵۱ (میکروگرم در میلی‌لیتر) در ترکیب با ۳۲ یا ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر از FF در برابر همه سویه‌های *P. acnes* مورد آزمایش قرار گرفتند، نتایج نشان داد که ترکیبات FF-اریترومایسین و FF-لینکومایسین اثر هم‌افزایی قوی در مقابل *P. acnes* داشتند. نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیبات به دست آمده از *E. bicyclis* می‌توانند منبع بالقوه‌ای از عوامل ضدباکتریایی طبیعی و یک جزء دارویی در برابر باکتری‌های مرتبط با آکنه باشند (Lee et al., 2014) که با نتایج مطالعه حاضر بر روی عصاره فلوروتانینی استخراج شده از جلبک

استفاده بر روی پوست است و به عنوان یک محصول بی خطر و از نظر زیبایی نیز برای مشتری جذاب است. همچنین می توان با افزایش غلظت عصاره در فرمولاسیون کرم ایمنی بالایی را در برابر تمام باکتری های مورد مطالعه ایجاد کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور به جهت حمایت مالی از این پژوهش با شماره طرح «۹۸۰۰۲۰۰۳» که ما را در انجام این پژوهش یاری دادند، اعلام نمایند.

مطالعه در برابر باکتری های استفاده شده فعالیت ضدباکتریایی نشان دادند. اما در فرمولاسیون کرم تنها فرمولاسیون های حاوی عصاره های متانولی *Lentinula* و *Pleurotus ostreatus* و *edodes* آن هم در غلظت های بالاتر نسبت به عصاره تنها، فعالیت ضدباکتریایی نشان دادند (Taofiq et al., 2016) که این نتایج با نتایج مطالعه حاضر همسو است.

مطالعات اخیر شواهدی را ارائه کرده اند که فلوروتانین های به دست آمده از جلبک های قهوه ای دریایی نقش کلیدی را به عنوان مواد فعال زیستی ایفا می کنند و نقش حیاتی در خود جلبک ها و همچنین سلامت و تغذیه انسان دارند. فرمولاسیون کرم حاوی این عصاره نیز به عنوان یک ترکیب ضدباکتریایی مناسب برای

منابع

- Braden K.W., Blanton Jr.J.R., Allen V.G., Pond K.R. and Miller M.F. 2004.** *Ascophyllum nodosum* supplementation: A preharvest intervention for reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in feedlot steers. *Journal of Food Protection*, 67(9): 1824–1828.
- 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.
- Eom S.H., Kang M.S. and Kim Y.M. 2008.** Antibacterial activity of the Phaeophyta *Ecklonia stolonifera* on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(1): 1–6.
- Haug A. and Larsen B. 1958.** Phenolic compounds in brown algae. *Acta Chemica Scandinavica*, 12(4): 650–657.
- Henrietta I.N., Olusola I.A., Bayonle A.U., Aminat O.B. and Kingsley I. 2020.** Antibacterial profiling of methanolic leaf extracts and herbal cosmetic cream formulations containing the leaf extracts of *Urtica dioica*, *Amaranthus viridis* and *Aloe vera*. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*, 2(3): 019–029.
- Kadam S.U., Tiwari B.K. and O'Donnell C.P. 2013.** Application of novel extraction technologies for bioactives from marine algae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(20): 4667–4675.
- 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.
- Lee J.H., Eom S.H., Lee E.H., Jung Y.J., Kim H.J., Jo M.R., Son K.T., Lee H.J., Kim J.H., Lee M.S. and Kim Y.M. 2014.** In vitro antibacterial and synergistic effect of phlorotannins isolated from edible brown seaweed *Eisenia bicyclis* against acne-related bacteria. *Algae*, 29(1): 47–55.
- Li Y.X., Wijesekara I., Li Y. and Kim S.K. 2011.** Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochemistry*, 46(12): 2219–2224.
- 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, *Sargassum siliquastrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3862–3866.
- Mabeau S. and Fleurence J. 1993.** Seaweed in food products:

- Biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 4(4): 103–107.
- Nagayama K., Iwamura Y., Shibata T., Hirayama I. and Nakamura T. 2002.** Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50(6): 889–893.
- Nunes M.A., Rodrigues F. and Oliveira M.B.P. 2017.** Grape processing by-products as active ingredients for cosmetic proposes. P: 267–292. In: Galanakis C.M. (Ed.). *Handbook of Grape Processing By-Products*. Academic Press, USA.
- Park J., Lee J., Jung E., Park Y., Kim K., Park B., Jung K., Park E., Kim J. and Park D. 2004.** In vitro antibacterial and anti-inflammatory effects of honokiol and magnolol against *Propionibacterium* sp. *European Journal of Pharmacology*, 496(1-3): 189–195.
- Pimentel F., Alves R., Rodrigues F. and P.P. Oliveira M. 2018.** Macroalgae-derived ingredients for cosmetic industry- An Update. *Cosmetics*, 5(1): 2–18.
- Plaza M., Cifuentes A. and Ibanez E. 2008.** In the search of new functional food ingredients from algae. *Trends in Food Science and Technology*, 19(1): 31–39.
- Rosenblatt J.E. 1991.** Laboratory tests used to guide antimicrobial therapy. In *Mayo Clinic Proceedings*, 66(9): 942–948.
- Shibata T., Yamaguchi K., Nagayama K., Kawaguchi S. and Nakamura T. 2002.** Inhibitory activity of brown algal phlorotannins against glycosidases from the viscera of the turban shell *Turbo cornutus*. *European Journal of Phycology*, 37(4): 493–500.
- Singleton V.L., Orthofer R. and Lamuela-Raventos R.M. 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152–178.
- Smit A.J. 2004.** Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. *Journal of Applied Phycology*, 16(4): 245–262.
- Taofiq O., Heleno S.A., Calheta R.C., Alves M.J., Barros L., Barreiro M.F., Gonzalez-Paramas A.M. and Ferreira I.C. 2016.** Development of mushroom-based cosmeceutical formulations with anti-inflammatory, anti-tyrosinase, antioxidant, and antibacterial properties. *Molecules*, 21(10): 1372–1381.
- Wijesinghe W.A.J.P. and Jeon Y.J. 2011.** Biological activities and potential cosmeceutical applications of bioactive components from brown seaweeds:

- A review. *Phytochemistry Reviews*, 10(3): 431–443.
- Yamaguchi N., Satoh-Yamaguchi K. and Ono M. 2009.** In vitro evaluation of antibacterial, anticollagenase, and antioxidant activities of hop components (*Humulus lupulus*) addressing acne vulgaris. *Phytomedicine*, 16(4): 369–376.



Research Paper

**Antibacterial activity of phlorotannin extract of brown algae
Sargassum tenerrimum and its enriched cream against
acne-related bacteria**

Esmat Mohammadi^{1*}, Bahareh Shabanpour², Parastoo Pourashouri³,
Vahideh Payamnoor⁴, Salim Sharifian⁵

Received: September 2020

Accepted: April 2021

Abstract

Consideration of marine organisms as potential sources of bioactive compounds and drug agents has increased in recent years. Skin is considered to be the largest and fastest growing organ in the human body and it plays the most important role in protecting of diseases and environmental factors. Due to the large surface area of the skin, it is sensitive to various diseases, including acne, dermatitis, and so on. Therefore, the present study was performed to evaluate the effect of brown algae phlorotannin extract and emulsion containing the extract against 6 pathogenic bacteria. Phlorotannin content was measured using phluoroglucinol reagent. Then, the antibacterial activity of the extract and its emulsion against 6 bacterial strains including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* were evaluated. The phlorotannin content was 13.94 ± 0.29 . The results showed MIC and MBC levels were lower in *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *P. acnes* than in *E. coli*, *B. subtilis* and *S. epidermidis*, indicating better performance of phlorotannin extract against them. Also, the emulsion containing the extract had a diameter of inhibition zone against *P. acnes*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*. The results show that the formulation containing phlorotannin extract has potentials in the treatment of bacterial skin infections.

Key words: *Sargassum tenerrimum*, Bioactive Compound, Cream Containing Extract, Antibacterial Activity.

1- Ph.D. Student in Fishing Products Processing, Department of 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- Associate Professor in Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

4- Associate Professor in Department of Forestry and Forest Ecology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

5- Assistant Professor in Department of Fisheries, Chabahar Maritime and Marine University, Chabahar, Iran.

*Corresponding Author: esmat.mohammadi69@gmail.com

