

مقاله پژوهشی

ارزیابی خواص ضدباکتریایی پلی ساکارید سولفات‌ها استخراج شده از جلبک سبز  
*Ulva intestinalis* و توانایی آن در مهار آنزیم پلی فنل اکسیداز میگوی سفید  
(*Litopenaeus vannamei*) غربی

معصومه کمالی<sup>۱\*</sup>، بهاره شعبانپور<sup>۲</sup>، پرستو پورعاشوری<sup>۳</sup>، معظمه کردجزی<sup>۴</sup>

DOI: 10.22124/japb.2023.23295.1486

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: آذر ۱۴۰۱

چکیده

پلی ساکاریدهای دریایی ترکیبات طبیعی زیست‌فعال با کاربردهای ارزشمند هستند. در مطالعه حاضر پلی ساکارید سولفات‌ها از جلبک سبز *Ulva intestinalis* با استفاده از حلال‌های بر پایه آب استخراج و برخی از ویژگی‌های آن مانند گروه‌های عاملی، فعالیت ضدباکتریایی و توانایی آن در مهار آنزیم پلی فنل اکسیداز میگوی سفید غربی مورد سنجش قرار گرفت. نتایج به دست آمده از طیف‌سنجی مادون قرمز (FT-IR) وجود گروه‌های عاملی حاوی سولفات را در پلی ساکارید تایید کرد. پلی ساکارید سولفات‌ها در هر دو غلظت ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر در برابر ۲ سویه باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus* و *Micrococcus luteus* و ۲ سویه باکتری گرم منفی *Escherichia coli* و *Salmonella typhimurium* فعالیت ضدباکتریایی نشان داد ( $P < 0/05$ ). همچنین این ترکیب با غلظت ۱/۵ درصد پس از گذشت ۱ و ۳ دقیقه به ترتیب با ۶۳/۰۳ و ۴۸/۷۴ درصد بالاترین توانایی را در بازدارندگی فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز میگوی سفید غربی نسبت به غلظت‌های دیگر نشان داد ( $P < 0/05$ ). به طور کلی طبق نتایج مطالعه حاضر استفاده از پلی ساکارید سولفات‌ها به دست آمده از جلبک سبز *U. intestinalis* در صنعت فرآوری میگو پیشنهاد می‌شود.

**واژگان کلیدی:** خواص ضدباکتریایی، پلی ساکارید سولفات‌ها، آنزیم پلی فنل اکسیداز، میگوی سفید غربی.

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

۲- استاد گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۳- دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۴- استادیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

\* نویسنده مسئول: [masume.kamali91@yahoo.com](mailto:masume.kamali91@yahoo.com)

## مقدمه

محدوده وسیع درجه حرارت و غیره، مقام نخست را در بین دیگر گونه‌های پرورشی میگو در بسیاری از کشورها از جمله ایران کسب کرده است. این آبی منیع خوبی از پروتئین، اسیدهای چرب غیراشباع، آهن، سلنیوم و ویتامین است (Adachi and Hirata, 2011). با این وجود، این محصول پس از برداشت به شدت در معرض ملانوزیس (لکه سیاه) قرار دارد و به سرعت فاسد می‌شود. لکه سیاه در میگو در اثر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) ایجاد می‌شود. این آنزیم عمدتاً در کاراپاس سفالوتوراکس میگو وجود دارد و اورتو هیدروکسیلاسیون مونوهیدروکسی فنول‌ها و اکسیداسیون اورتو دی‌هیدروکسی فنول‌ها را به ارتوکینون‌ها کاتالیز می‌کند. پلیمریزاسیون غیرآنزیمی اورتوکینون‌ها منجر به تشکیل رنگدانه تیره رنگ و نامحلول در آب و بروز ملانوزیس در میگو می‌شود (Kim et al., 2000). این لکه‌های سیاه ناشی از ملانوزیس یک مشکل مهم در گونه‌های تجاری میگو است و می‌تواند تاثیر منفی روی ظاهر، کیفیت میگو، مدت زمان ماندگاری، بازارپسندی، ارزش اقتصادی و پذیرش محصول توسط مصرف‌کننده داشته باشد.

یکی از ترکیبات زیست‌فعال که اخیراً توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده، پلی‌ساکاریدهای سولفات است. پلی‌ساکاریدهای سولفات در دیواره سلولی جلبک‌ها وجود دارند و ساختار شیمیایی آنها با توجه به نوع گونه جلبکی متفاوت است. پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از جلبک‌ها شامل فوکوئیدان و لامینارین از جلبک‌های قهوه‌ای، کاراژینان‌ها از جلبک قرمز و اولوان از جلبک سبز هستند (Otero et al., 2023). جلبک سبز دریایی منبع غنی از ترکیبات فراسودمند بویژه پلی‌ساکاریدهای سولفات است. این پلی‌ساکاریدهای سولفات دارای خواص ضدانعقادی، ضدتوموری، ضدالتهایی، آنتی‌اکسیدانی و تنظیم کننده سیستم ایمنی هستند (Rodrigues et al., 2011). اخیراً خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی متابولیت ثانویه عصاره جلبک *Ulva intestinalis* و تاثیر آن بر عوامل بیماری‌زای مواد غذایی مورد بررسی قرار گرفته است (Khezri Ahmadabad et al., 2016).

میگوی سفید غربی یا وانامی با نام علمی *Litopenaeus vannamei* بومی آب‌های منطقه آمریکای لاتین است و به دلیل داشتن قابلیت پرورش متراکم، نرخ رشد بالا، تحمل

تاکنون پژوهشی در مورد ویژگی‌های ضد میکروبی جلبک سبز دریای خزر *U. intestinalis* و استفاده از آن برای مهار رشد باکتری‌ها انجام نشده است. بنابراین، هدف از پژوهش حاضر استخراج پلی ساکارید سولفات از جلبک سبز *U. intestinalis* و بررسی توانایی این ترکیبات طبیعی زیست فعال در مهار آنزیم پلی فنل اکسیداز میگو در شرایط آزمایشگاهی و خواص ضدباکتریایی آن است.

### مواد و روش‌ها

#### جمع‌آوری و آماده‌سازی جلبک

جلبک سبز *Ulva intestinalis* از امتداد سواحل دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس واقع در شهرستان نور در اواخر خردادماه جمع‌آوری شد. ابتدا جلبک‌ها با آب دریا شستشو شدند تا باقیمانده اپی فیت‌ها، شن و ماسه و نمک از جلبک‌ها جدا شوند. سپس با آب شیرین شستشو شدند و در دمای محیط و در سایه به مدت ۳ تا ۴ روز قرار گرفتند تا خشک شوند. نمونه‌های خشک شده بعد از انتقال به آزمایشگاه فرآوری دانشکده شیلات دانشگاه گرگان در یک دستگاه خردکن (ساینا، ایران) به صورت پودر درآمدند و تا زمان انجام

ترکیبات سولفیتی در سراسر جهان به عنوان مهار کننده اصلی ملانوز استفاده می‌شوند، در حالی که باعث واکنش‌های آلرژیک و حملات آسم در انسان می‌شوند (Nirmal and Benjakul, 2011). در نتیجه، یافتن جایگزین‌های طبیعی و موثر برای این ترکیبات ضروری است. تاکنون، امکان استفاده از بسیاری ترکیبات با منشا طبیعی از جمله آسکوربیک اسید، کوچیک اسید و اسانس آویشن شیرازی به عنوان جایگزین‌های ترکیبات سولفیتی بررسی شده است (Nasiri et al., 2014).

با این حال مطالعات اندکی در زمینه استخراج ترکیبات طبیعی همچون پلی ساکاریدها با قابلیت بازدارندگی آنزیمی در زمینه محصولات آبی و سخت پوستان بویژه میگو انجام شده است. در چندین مطالعه اخیر توانایی بازدارندگی آنزیم پلی فنل اکسیداز میگوی وانامی توسط عصاره‌های استخراج شده از جلبک‌های قهوه‌ای توسط Sharifian و Shahbanpour (۲۰۲۱) مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌های جلبکی با میزان فلوروتانین بالا می‌توانند به عنوان بازدارنده‌های طبیعی و سالم آنزیم پلی فنل اکسیداز میگو مطرح باشند (Sharifian and Shahbanpour, 2021).

آزمایش در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌کیپ و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

#### استخراج پلی‌ساکارید سولفات‌ها

۱۰۰ گرم نمونه آسیاب شده جلبک با اتانول ۸۰ درصد برای حذف لیپیدها، قندهای آزاد، اسیدهای آمینه و برخی از فنل‌ها در طول شب در دمای اتاق روی شیکر قرار گرفت. قسمت رسوب با سانتریفیوژ (Eppendorf, 5810R, آلمان) (۱۰ درجه سانتی‌گراد، ۴۰۰۰g، ۱۰ دقیقه) از بخش مایع جدا شد، سپس با اتانول و استون شستشو داده شد، دوباره سانتریفیوژ شد و در دمای اتاق در هود بخار خشک شد. برای استخراج پلی‌ساکاریدها، ۲۰ گرم نمونه بدون رنگدانه با آب مقطر (۴۰۰ میلی‌لیتر) در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت روی انکوباتور شیکردار (KS 4000 ic control, IKA, آلمان) هم زده شد. عصاره توسط سانتریفیوژ (۴۰۰۰g، ۱۰ دقیقه) جدا شد. استخراج دو بار انجام شد. مواد رویی با روتاری (IKA, آلمان) در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا حدود یک سوم حجم آنها تغلیظ شدند. اتانول سرد (۹۹ درصد) برای به دست آوردن غلظت نهایی ۷۰ درصد به عصاره تغلیظ شده اضافه شد و سپس یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

نگهداری شد. پس از سانتریفیوژ (۴۰۰۰g، ۱۰ دقیقه)، رسوب باقیمانده تحت شستشوی مکرر با اتانول و به دنبال آن استون برای آب‌زدایی هر چه بیشتر به منظور حصول پلی‌ساکارید سولفات‌ها قرار گرفت و سپس در دمای اتاق در هود بخار خشک شد و تا زمان استفاده در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (Jannat-Alipour et al., 2018).

#### تجزیه و تحلیل FT-IR

برای ارزیابی گروه‌های عملکردی پلی‌ساکارید سولفات‌ها از طیف‌سنجی مادون قرمز (FT-IR) استفاده شد. پلی‌ساکارید با طیف‌سنج (FT-IR, Bruker, Tensor II FT-IR, آلمان) در اعداد موجی در گستره ۴۰۰-۴۰۰۰ بر سانتی‌متر، با دقت ۴ بر سانتی‌متر اسکن شد. پلی‌ساکاریدها با KBr به عنوان یک فیلم با ضخامت ۱-۵/۰ میلی‌متر مخلوط شدند و با استفاده از حالت جذب توسط FT-IR تجزیه و تحلیل شدند.

#### ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی با روش انتشار دیسک

در این مطالعه سویه‌های باکتریایی استاندارد که باکتری‌های بیماری‌زا و غیربیماری‌زا محسوب می‌شوند، شامل باکتری‌های گرم مثبت

در میلی لیتر (وزنی/حجمی) به صورت سه بار تکرار به دقت به دیسک‌های بلانک (با قطر ۶ میلی‌متر) تزریق شد. در ادامه پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. قطر هاله عدم رشد با کولیس ورنیه به دقت ۰/۲ میلی‌متر در باکتری‌های مختلف بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است به منظور کنترل نتایج آزمون انتشار دیسک و مقایسه نتایج آنها از دیسک‌های استاندارد اکسی‌تتراسایکلین، جنتامایسین و آموکسی‌سیلین (پادتن‌طب، ایران) به عنوان شاهد مثبت و مقایسه با میزان خاصیت ضدباکتری سرم استفاده شد. دیسک‌های بلانک نیز به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد (Pinteus et al., 2015; Zargari et al., 2018).

#### استخراج آنزیم پلی‌فنول اکسیداز و سنجش میزان مهار آنزیم

استخراج آنزیم با استفاده از روش Nirmal و Benjakul (۲۰۰۹) با تغییرات جزئی صورت گرفت. برای این منظور سفالوتوراکس‌های چندین میگو جدا و با نیتروژن مایع در مخلوط کن آسیاب و پودر شدند. به مخلوط به دست آمده ۱۵۰ میلی‌لیتر از بافر فسفات سدیم (با pH

*Micrococcus luteus* (ATCC9341) *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) و *Streptococcus iniae* (GQ850377) و باکتری‌های گرم منفی *Escherichia coli* (ATCC25922)، *Salmonella typhimurium* (ATCC13076) و *Aeromonas hydrophila* (AH04) *Yersinia ruckeri* (GQ85037) از موسسه پاستور (تهران) تهیه شدند. کشت تازه از این باکتری‌ها، با قرار دادن یک کلنی باکتری بر روی محیط جامد مولر هینتون آگار به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در آون تهیه شد. سپس یک لوپ از کلنی باکتری به یک میلی‌لیتر محیط نوترینت برات انتقال یافت و در آون با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. غلظت سوسپانسیون باکتری معادل نیم مک‌فارلند تعیین شد. محلول حاوی سوسپانسیون میکروبی بر روی پلیت‌های مولر هینتون آگار با سواب استریل شده در کنار شعله به صورت یکنواخت کشت داده شد تا فعالیت ضدباکتریایی در روش انتشار دیسک مورد ارزیابی قرار گیرد. دیسک‌های آماده استریل توسط پنس استریل روی محیط کشت باکتریایی قرار داده شدند. ۳۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌های تهیه شده ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم

۷/۲، حاوی NaCl ۱ مولار و ۰/۲ درصد بریج-۳۵) اضافه شد. سپس مخلوط به طور مداوم در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه هم‌زده شد و سپس در سانتریفیوژ یخچال‌دار (Eppendorf, 5810R، آلمان) با دور ۸۰۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس سولفات آمونیوم جامد به مایع رویی اضافه شد تا ۴۰ درصد اشباع به دست آید و به مدت نیم ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. رسوب به دست آمده با سانتریفیوژ یخچال‌دار با دور ۸۰۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه جمع‌آوری شد. نمونه با بافر فسفات سدیم در سه برابر حجم خود در کیسه دیالیز مخلوط و ۱۲ ساعت در یخچال نگهداری شد تا دیالیز انجام شود، سه بار عمل دیالیز با جایگزینی بافر جدید با بافر قبلی صورت گرفت. در نهایت مواد غیرقابل حل با سانتریفیوژ (۱۰g، ۴۰۰۰ دقیقه) جدا شد و از فاز آبی به عنوان آنزیم پلی‌فنل اکسیداز خالص استفاده شد.

پلی‌ساکارید سولفات‌ها با غلظت‌های مختلف با ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم پلی‌فنل اکسیداز خالص مخلوط شد تا غلظت‌های نهایی ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد (وزنی-حجمی) به دست آید. این محلول واکنش به مدت نیم ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس بافر سنجش و L-DOPA ۱۵ میلی‌مولار با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به آن اضافه شد. جذب به مدت ۳ دقیقه (هر ۳۰ ثانیه) اندازه‌گیری شد. اثر غلظت‌های مختلف پلی‌ساکارید بر فعالیت آنزیم PPO میگو تعیین شد و فعالیت بازدارنده از رابطه ۱ محاسبه و به صورت درصد مهار (IE) بیان شد (Nirmal and Benjakul, 2009).

رابطه ۱:

$$IE(\%) = [(A_C - A_P) / A_C] \times 100$$

AC: فعالیت آنزیم شاهد؛ AP: فعالیت آنزیم در حضور پلی‌ساکارید.

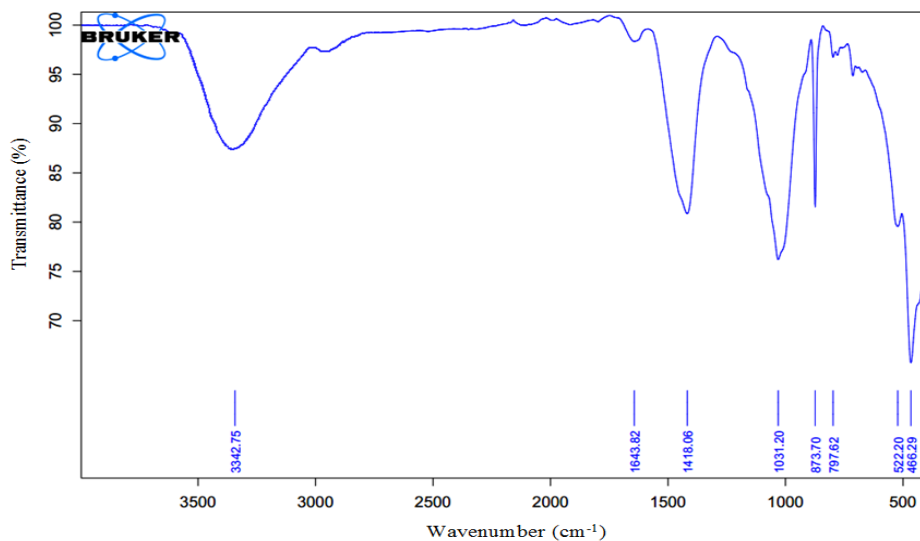
توانایی فعالیت آنزیم به دست آمده با استفاده از L-DOPA به عنوان یک سوبسترا با تکنیک Nirmal و Benjakul (۲۰۰۹) با اندکی تغییر تعیین شد. عملکرد آنزیم در ترکیبی با L-DOPA، بافر فسفات سدیم، آب دیونیزه به صورت رنگ‌سنجی توسط اسپکتروفتومتر UV

## تجزیه و تحلیل آماری

بعد از بررسی همگنی داده‌ها با آزمون Standard Normal Homogeneity Test (SNHT) توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد ( $P < 0.05$ ) استفاده شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 ترسیم شدند و نتایج بررسی شاخص‌های مورد مطالعه به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شد.

## نتایج

طیف‌سنجی مادون قرمز FT-IR پلی‌ساکارید سولفات به دست آمده از جلبک سبز *U. intestinalis* در شکل ۱ نشان داده شده است. نوار قوی و اصلی تقریباً ۳۳۴۲ بر سانتی‌متر موجود در پلی‌ساکارید سولفات، معمولاً به ارتعاشات کششی هیدروکسیل یا الکل (O-H) اختصاص دارد. قله‌های متمایز در ۱۶۴۳ و ۸۷۳ بر سانتی‌متر به ترتیب به ارتعاش کششی آمید I یا گروه عاملی کربونیل، (C=O) و سولفات (C-O-S) نسبت داده می‌شوند.



شکل ۱: طیف‌سنجی مادون قرمز (FT-IR) پلی‌ساکارید سولفات به دست آمده از جلبک سبز *Ulva intestinalis*

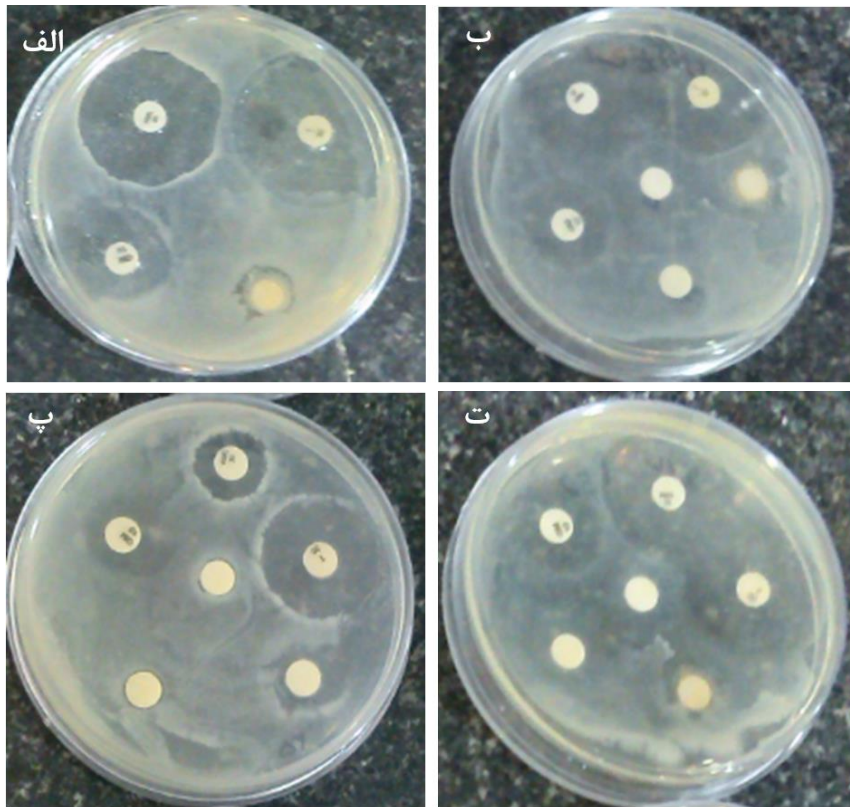
قله‌های ۱۴۱۸ و ۱۰۳۱ بر سانتی‌متر به وضوح توسط ارتعاش کششی الکل (C-O) و هیدروکسیل (C-O-H) ایجاد می‌شوند. دیسک مورد آزمایش قرار گرفت. فعالیت ضدباکتریایی این عصاره‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. در میان هفت سویه باکتری مورد آزمایش، پلی‌ساکارید سولفات به دست آمده از *U. intestinalis* با غلظت‌های مختلف با استفاده از روش انتشار برابر چهار سویه باکتریایی نشان داد (شکل ۲).

جدول ۱: فعالیت ضد باکتریایی پلی‌ساکارید سولفات به دست آمده از *Ulva intestinalis* در برابر سویه‌های باکتریایی و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

قطر مهار رشد باکتری (mm)							
شاهد	شاهد مثبت	شاهد منفی	تیمار ۲	تیمار ۱	سویه‌های باکتری		
سرم فیزیولوژی	اکسی‌تتراسایکلین (۲۰mg/mL)	آموکسی‌سیلین (۲۵mg/mL)	جنتامایسین (۱۰mg/mL)	دیسک بلانک	پلی‌ساکارید (۵۰mg/mL)	پلی‌ساکارید (۲۵mg/mL)	
۸/۸۸ ±۰/۲۲ <sup>c</sup>	۲۵/۰۹±۱/۵۳ <sup>a</sup>	۱۳/۵۶±۱/۳۰ <sup>b</sup>	۲۳/۵۸ ±۱/۱۸ <sup>a</sup>	-	۱۱/۷۴ ±۰/۳۹ <sup>bc</sup>	۱۰/۹۸ ±۰/۲۵ <sup>bc</sup>	<i>Escherichia coli</i>
-	۴۰/۷۶±۰/۱۹ <sup>a</sup>	۳۲/۲۱±۱/۸۱ <sup>b</sup>	۲۲/۴۹ ±۰/۱۲ <sup>c</sup>	-	-	-	<i>Streptococcus iniae</i>
۱۱/۴۵ ±۰/۳۵ <sup>d</sup>	۳۰/۳۳±۰/۶۶ <sup>a</sup>	۲۷/۷۲±۰/۴۸ <sup>b</sup>	۲۰/۱۲ ±۰/۵۰ <sup>c</sup>	-	۱۱/۷۷ ±۰/۰۹ <sup>d</sup>	۱۱/۸۲ ±۰/۰۸ <sup>d</sup>	<i>Staphylococcus aureus</i>
-	۱۰/۶۳±۰/۹۳ <sup>c</sup>	۳۴/۶۷±۳/۶۷ <sup>a</sup>	۱۶/۱۷ ±۰/۸۰ <sup>b</sup>	-	-	-	<i>Yersinia ruckeri</i>
-	۲۸/۹۵±۰/۸۹ <sup>a</sup>	۱۹/۴۴±۰/۷۳ <sup>b</sup>	۲۹/۱۷ ±۰/۹۱ <sup>a</sup>	-	۱۱/۵۱ ±۰/۱۳ <sup>c</sup>	۱۰/۰۳ ±۰/۱۶ <sup>c</sup>	<i>Salmonella typhimurium</i>
-	۱۷/۰۰±۱/۵۰ <sup>ab</sup>	۱۳/۷۴±۰/۶۲ <sup>b</sup>	۱۹/۵۲ ±۱/۷۶ <sup>a</sup>	-	-	-	<i>Aeromonas hydrophila</i>
-	۳۲/۷۱±۰/۳۵ <sup>a</sup>	۱۷/۱۷±۰/۷۷ <sup>c</sup>	۲۷/۰۶ ±۱/۰۶ <sup>b</sup>	-	۱۲/۰۰ ±۰/۰۸ <sup>d</sup>	۹/۳۳ ±۰/۱۰ <sup>e</sup>	<i>Micrococcus luteus</i>

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).





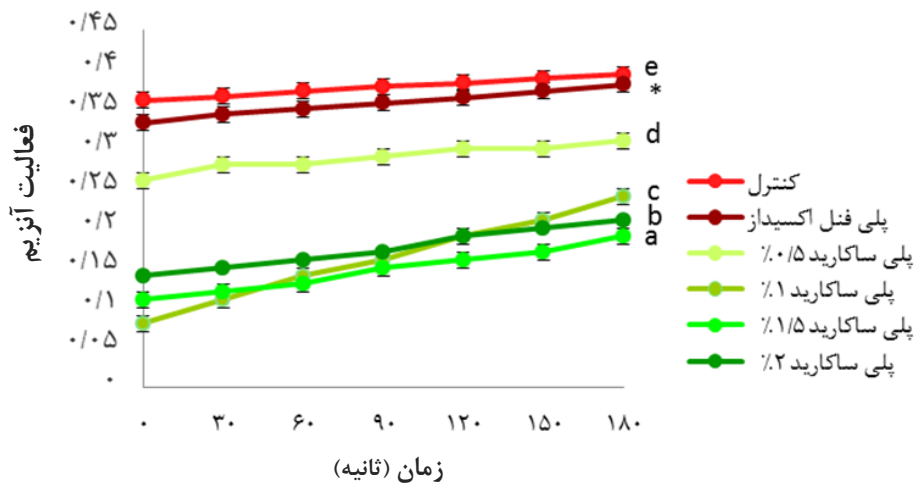
شکل ۲: تصاویر پلیت‌های باکتریایی مربوط به تشکیل هاله عدم رشد پلی ساکارید سولفات به دست آمده از *Ulva intestinalis* و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در برابر سویه‌های باکتریایی الف) *Micrococcus luteus* ب) *Staphylococcus aureus* پ) *Escherichia coli* ت) *Salmonella typhimurium*

تفاوت قابل توجهی بین دو غلظت پلی ساکارید در باکتری‌های دیگر مشاهده نشد. پلی ساکارید سولفات در دو غلظت ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر به ترتیب به طور متوسط ۱۰/۹۸ و ۱۱/۷۴ میلی متر قطر هاله عدم رشد در برابر باکتری *E. coli*، ۱۱/۸۲ و ۱۱/۷۷ میلی متر قطر منطقه مهار رشد در برابر باکتری

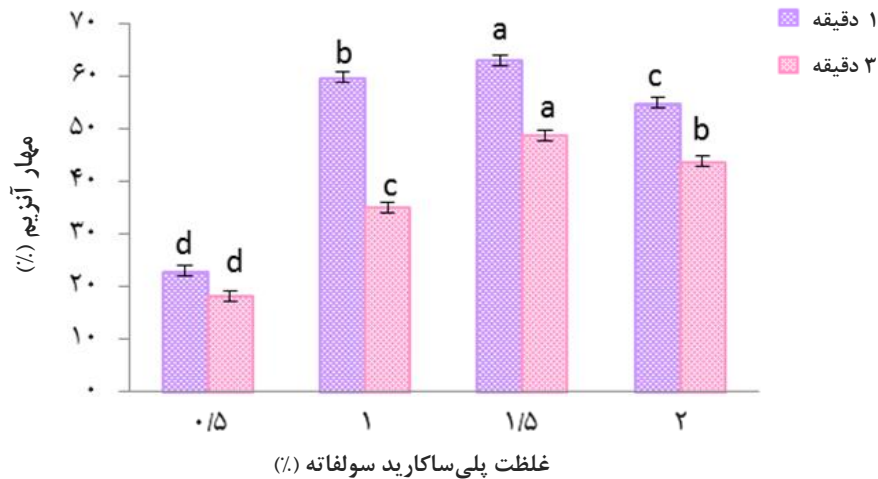
در غلظت ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر پلی ساکارید به طور متوسط ۱۲ میلی متر قطر منطقه مهار علیه باکتری *M. luteus* نشان داده شد که به طور معنی داری بالاتر از غلظت ۲۵ میلی گرم در میلی لیتر با قطر هاله عدم رشد ۹/۳۳ میلی متر به دست آمد، اما از شاهد‌های مثبت پایین تر بود ( $P < 0/05$ ).

*S. aureus* و همچنین ۱۰/۰۳ و ۱۱/۵۱ میلی‌متر قطر عدم رشد در برابر باکتری *S. typhimurium* نشان داد. توانایی ضدباکتری پلی‌ساکارید سولفات‌ها به طور قابل توجهی بالاتر از شاهد و شاهد منفی بود. با این حال، این ترکیب زیست‌فعال سویه‌های باکتریایی *A. hydrophila*، *S. iniae* و *Y. ruckeri* را مهار نکرد. اکسی‌تتراسایکلین بیشترین فعالیت را در برابر *E. coli*، *S. aureus*، *M. luteus* و *S. iniae* نشان داد. جنتامایسین بالاترین فعالیت ضدباکتریایی را در مقابل *Y. ruckeri*

و *S. typhimurium*، *A. hydrophila* و *Y. ruckeri* در مقابل *S. typhimurium* آموکسی‌سیلین در مقابل *Y. ruckeri* نشان داد ( $P < 0.05$ ). تغییرات فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز میگو در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد پلی‌ساکارید سولفات‌ها در ۳ دقیقه در شکل ۳ نشان داده شده است. کاهش مقدار جذب (فعالیت) و شیب خط نشان می‌دهد که مهار آنزیم توسط پلی‌ساکارید افزایش یافته است. شکل ۴ نیز میزان مهار و بازدارندگی آنزیم را در همان غلظت‌ها به نمایش گذاشته است.



شکل ۳: سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در حضور غلظت‌های مختلف پلی‌ساکارید سولفات‌ها به دست آمده از *Ulva intestinalis* در طول موج ۴۷۵ نانومتر (میانگین  $\pm$  انحراف معیار). حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ( $P < 0.05$ ).



شکل ۴: میزان مهار آنزیم پلی فنل اکسیداز با غلظت‌های مختلف پلی ساکارید سولفات به دست آمده از *Ulva intestinalis* (میانگین  $\pm$  انحراف معیار). حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در زمان‌های مختلف است ( $P < 0.05$ ).

باشند. به علاوه، انتخاب شیوه استخراج نیز می‌تواند ماهیت شیمیایی پلی ساکاریدهای استخراج شده را تحت تاثیر قرار دهد. به طور کلی این دسته از پلی ساکاریدها به دلیل ویژگی‌های آب‌دوستی فوق العاده بالایی که دارند با استفاده از حلال‌های بر پایه آب استخراج می‌شوند (Albuquerque et al., 2004). در مطالعه حاضر، بیشتر ویژگی‌های طیف‌سنجی مادون قرمز پلی ساکارید با دیگر پلی ساکاریدهای سولفات به دست آمده از *Ulva lactuca* و *Enteromorpha prolifera* سازگار است (Han et al., 2018). همچنین با توجه به مطالعات قبلی نوارهای ۷۹۴-۸۵۰ بر سانتی‌متر

در غلظت ۱/۵ درصد پلی ساکارید سولفات، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز میگو (PPO) به کمترین مقدار خود رسید. به عبارت دیگر، این غلظت پلی ساکارید پس از ۱ و ۳ دقیقه (به ترتیب ۶۳/۰۳ و ۴۸/۷۴ درصد) بالاترین توانایی بازدارندگی از فعالیت آنزیم PPO میگو را نسبت به غلظت‌های دیگر نشان داد ( $P < 0.05$ ).

#### بحث

پلی ساکاریدهای سولفات در دیواره سلولی جلبک‌های دریایی وجود دارند و با توجه به نوع گونه جلبکی می‌توانند ساختار شیمیایی و به دنبال آن ویژگی‌های زیستی متفاوتی را داشته

زیست‌پزشکی و غیره به خود جلب کرده است. در سال‌های اخیر استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث به وجود آمدن سویه‌های مقاوم میکروارگانیسم‌ها و افزایش روز افزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سراسر جهان شده است (Gonzalez et al., 2001). امروزه، به دلیل تغییر فرم مقاومتی باکتری‌ها و مقاوم شدن آنها به آنتی‌بیوتیک‌های معمول، گرایش به جایگزینی آنها با آنتی‌بیوتیک‌های نوین وجود دارد. از این رو مطالعات در رابطه با عوامل ضد میکروبی جدید که به طور طبیعی تولید می‌شوند به منظور دستیابی به منابع نوین دارویی از اهمیت فراوانی برخوردار است. فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های به دست آمده از جلبک‌های سبز، قرمز و قهوه‌ای با استفاده از حلال‌های مختلف، نسبت به باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی توسط تعدادی از پژوهشگران گزارش شده است. مشابه با مطالعه حاضر، پلی‌ساکارید سولفات‌ها به دست آمده از *Enteromorpha prolifera* فعالیت ضدباکتریایی در برابر *S. aureus* و *E. coli* در غلظت ۸۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نشان داد که قطر هاله عدم رشد ۱۲/۱۳ و ۱۴/۵۰ میلی‌متر اندازه‌گیری شد (Lu et al., 2014). با این حال، در یک مطالعه دیگر منطقه مهار عصاره متانولی

ناشی از ارتعاش خمشی سولفات (C-O-S) در موقعیت محوری است که منسوب به استرهای سولفات بوده و نشان دهنده وجود گروه‌های سولفات در ساختار پلی‌ساکارید است (Morelli et al., 2016). مشابه یک مطالعه دیگر، وجود اولوان توسط پیک‌های ۱۰۵۵ و ۱۲۶۰ بر سانتی‌متر به دلیل ارتعاشات کششی C-O-C و ارتعاش کششی S=O به ترتیب پلی‌ساکارید سولفات‌ها را تایید می‌کند (Pengzhan et al., 2003). این نتایج همچنین تایید کرد که پلی‌ساکارید به دست آمده از جلبک سبز *U. intestinalis* یک پلی‌ساکارید بسیار سولفات‌هاست. اولوان یک پلی‌ساکارید اسیدی محلول در آب است که در جلبک‌های خانواده Ulvaceae یافت می‌شود. مطالعات انجام شده بر روی پلی‌ساکاریدهای به دست آمده از جلبک‌های سبز *Enteromorpha Ulva rigida*، *Ulva lactuca*، *compressa* و *Ulva arasaki* نشان داد که این گونه‌ها حاوی مقادیر متفاوتی از رامنوز، زایلوز، گلوکز و سولفات هستند (Lahaye and Robic, 2007).

پلی‌ساکاریدهای جدا شده از جلبک‌ها به دلیل طیف گسترده‌ای از خواص درمانی و سمیت نسبتاً کم، توجه زیادی را در آبی‌پروری،

مطالعات خود گزارش کردند که عصاره‌های متانولی و استونی جلبک سبز *Halimeda tuna* نسبت به عصاره‌های اتیل استات، اتانول و کلروفرم از فعالیت ضدباکتریایی بهتری نسبت به باکتری *E. coli* برخوردار بودند. استفاده از مواد ضد میکروبی مانند سدیم بی سولفات به منظور جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها امروزه در مواد غذایی متداول شده است. اما به دلیل مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و مضراتی همچون اثرات سرطان‌زایی نگهدارنده‌های شیمیایی، تمایل برای استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی برای افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی افزایش یافته است (Jebeshingh et al., 2011). در این میان گیاهان دارویی و جلبک‌ها به عنوان بهترین منابع برای به دست آوردن انواع مختلف داروها معرفی شده‌اند. یکی از منابعی که پتانسیل استفاده در مواد غذایی به عنوان نگهدارنده را دارند عصاره یا ترکیبات فراسودمند جلبک‌ها است.

مطالعات اخیر اثر ضدملانوژنز را در پلی‌ساکاریدهای جلبک‌های دریایی گزارش داده‌اند. سخت‌پوستان عمدتاً میگو، به ویژه در طول نگهداری و پردازش، مستعد ایجاد ملانوز سریع هستند. پلی‌فنل اکسیداز در فرآیند

*U. intestinalis* علیه *S. aureus* ۸/۴۱ میلی‌متر در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد (Srikong et al., 2017). با بررسی توانایی ضدباکتریایی پلی‌ساکاریدهای سولفات، می‌توان نتیجه گرفت که گروه سولفات ممکن است بر عملکرد مهار باکتری تأثیر داشته باشد.

حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت به عصاره‌های جلبکی ناشی از اختلاف و تفاوت در ساختار دیواره سلولی و ترکیب آن است (Taskin et al., 2007). باکتری‌های گرم منفی به دلیل داشتن لایه لیپوپلی‌ساکاریدی غشای خارجی و همچنین داشتن کانال‌های درگیر در حمل و نقل مواد، ذاتاً نسبت به مواد سمی، رنگ‌های آب‌دوست و آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت بیشتری دارند. نتایج به دست آمده در این مطالعه برای باکتری *E. coli* با نتایج مطالعات قبلی مطابقت دارد. به طوری که برای گونه‌های *Halimeda gracilis*, *Gracilaria edulis*, *Hypnea*, *Turbinaria conoides* و *Sargassum myriocystum* و *musciiformis* با عصاره استونی فعالیت ضدباکتریایی خوبی نسبت به باکتری *E. coli* مشاهده شد (Kolanjinathan and Stella, 2009). علاوه بر این Karthikaidevi و همکاران (۲۰۰۹) طی

فوکوئیدان استخراج شده از جلبک قهوه‌ای بسته به غلظت، درجات متفاوتی از بازدارندگی آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPO) را نشان داد (Yu and Sun, 2014). نتایج مطالعه حاضر با پژوهش Wang و همکاران (۲۰۱۹) قابل مقایسه است که نشان دادند عصاره غنی از فوکوئیدان جلبک قهوه‌ای *Undaria pinnatifida* با غلظت‌های مختلف توانایی مهار آنزیم تیروزیناز قارچ را دارد. توانایی مهار آنزیم پلی‌فنل اکسیداز میگوی سفید غربی توسط عصاره‌های به دست آمده از جلبک‌های قهوه‌ای در مطالعات دیگری نیز بیان شده است. اخیراً Sharifian و Shahbanpour (۲۰۲۱) گزارش کردند که عصاره‌های استخراج شده از جلبک‌های قهوه‌ای *Nizamuddinia Sargassum cristaeifolium*, *zanardinii* و *Stoechospermum marginatum* توانایی بازدارندگی آنزیم پلی‌فنول اکسیداز میگوی سفید غربی را دارند. در پژوهش دیگری Li و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که عصاره پلی‌فنولی به دست آمده از جلبک *Porphyra yezoensis* توانایی مهار آنزیم پلی‌فنول اکسیداز میگو را در طی نگهداری در یخچال دارد.

در مجموع، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که جلبک سبز *U. intestinalis* جمع‌آوری

ملانوزیس یک کمپلکس آنزیمی است که ترکیبات فنلی را با حضور اکسیژن به کینون تبدیل می‌کند. همان کینون‌ها سپس اکسید می‌شوند و رنگدانه‌های سیاه تولید می‌کنند. در یک مطالعه اثر ضدملانوزنز گالاکتان‌های سولفات‌ه جلبک *Gracilaria fisheri* با مهار تیروزیناز سلولی و در نتیجه کاهش تولید ملانین گزارش شده است (Pratoomthai et al., 2018). همچنین عصاره جلبک *Undaria pinnatifida* تیروزیناز قارچ را مهار کرد (Wang et al., 2019). در مطالعه دیگری، فوکوئیدان (یک پلی‌ساکارید سولفات‌ه پیچیده) به عنوان یک مهارکننده تیروزیناز گزارش شد (Yu and Sun, 2014). به طور خلاصه، تاثیر مهاری پلی‌ساکارید سولفات‌ه بر آنزیم پلی‌فنل اکسیداز ممکن است مربوط به ساختارهای هیدروکسیل یکسان پلی‌ساکارید و L-DOPA باشد که برای محل اتصال آنزیم با هم رقابت می‌کنند و یا این که برهمکنش پلی‌ساکارید سولفات‌ه با مس (II) در محل کاتالیزوری آنزیم پلی‌فنل اکسیداز باعث عملکرد مهاری واکنش اکسیداسیون می‌شود.

مطالعه مهار آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در میگو با استفاده از ترکیبات طبیعی همواره مورد توجه پژوهشگران بوده است. در مطالعات قبلی نیز

شده از سواحل دریای خزر با منبع غنی از پلی ساکارید سولفات را می توان به عنوان جایگزین احتمالی مواد شیمیایی در صنعت فرآوری میگو پیشنهاد کرد، اما در زمینه جایگزینی کامل آن با متابی سولفیت سدیم و ابعاد اقتصادی آن، نیاز به مطالعه بیشتری است.

گرگان است و از تمامی کارشناسان آزمایشگاه فرآوری، آبی پروری و مرکزی این دانشگاه تقدیر و تشکر می گردد.

### تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر بخشی از نتایج رساله دکتری در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی

## منابع

- Adachi K. and Hirata T. 2011.** Blackening of crustaceans during storage: Mechanism and prevention. P: 110–118. In: Alasalvar C., Shahidi F., Miyashita K. and Wanasundara U. (Eds.). Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications. Blackwell Publishing Ltd., USA. 576P. doi: 10.1002/9781444325546.ch9
- Albuquerque I.R.L., Queiroz K.C.S., Alves L.G., Santos E.A., Leite E.L. and Rocha H.A.O. 2004.** Heterofucans from *Dictyota menstrualis* have anticoagulant activity. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 37: 167–171. doi: 10.1590/s0100-879x2004000200002
- Gonzalez A., Basilio A. and Cabello A. 2001.** Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). International Journal of Food Microbiology, 4: 35–40. doi: 10.1007/s101230100006
- Han F., Wang Y., Han Y., Zhao J., Han F., Song G. and Miao H. 2018.** Effects of whole-grain rice and wheat on composition of gut microbiota and short-chain fatty acids in rats. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 66(25): 6326–6335. doi: 10.1021/acs.jafc.8b01891
- Jannat-Alipour H., Rezaei M., Shabanpour B. and Tabarsa M. 2018.** Effects of sulfated polysaccharides from green alga *Ulva intestinalis* on physicochemical properties and microstructure of silver carp surimi. Food Hydrocolloids, 74: 87–96. doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.07.038
- Jebeshingh S.E.J., Rosemary S., Elaiyaraja S., Sivaraman K., Lakshmikandan M., Murugan A. and Raja P. 2011.** Potential antibacterial activity of selected green and red seaweed. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences, 5(14): 1–7.
- Karthikaidevi G., Manivannan K., Thirumaran G., Anantharaman P. and Balasubaramanianm 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.
- Khezri Ahmadabad M., Rezaei M. and Zolfaghari M. 2016.** Studying the possibility of using the extract of *Enteromorpha intestinalis* in order to control some food-borne pathogens. Journal of Food Science and Technology, 13(58): 81–91.
- Kim J., Marshall M.R. and Wei C. 2000.** Polyphenoloxidase. P: 271–315. In: Haard N.F. and Simpson



- B.K. (Eds.). Seafood Enzyme Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality. Marcel Dekker, USA. doi: 10.1201/9781482289916
- Kolanjinathan K. and Stella D. 2009.** Antibacterial activity of marine macro algae against human pathogens. Recent Research in Science and Technology, 1(1): 20–22.
- Lahaye M. and Robic A. 2007.** Structure and functional properties of Ulvan, a polysaccharide from green seaweeds. Biomacromolecules, 8(6): 24–30. doi: 10.1021/bm061185q
- Li Y., Yang Z. and Li J. 2017.** Shelf-life extension of Pacific white shrimp using algae extracts during refrigerated storage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 97(1): 291–298. doi: 10.1002/jsfa.7730
- Lu H., Gao Y., Shan H. and Lin Y. 2014.** Preparation and antibacterial activity studies of degraded polysaccharide selenide from *Enteromorpha prolifera*. Carbohydrate Polymers, 107: 98–102. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.02.045
- Morelli A., Betti M., Puppi D. and Chiellini F. 2016.** Design, preparation and characterization of ulvan based thermosensitive hydrogels. Carbohydrate Polymers, 136: 1108–1117. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.09.068
- Nasiri E., Moosavi-Nasab M., Shekarforoush S.S. and Golmakani M.T. 2014.** The effects of *Zataria multiflora* on inhibition of polyphenoloxidase and melanosis formation in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Iranian Scientific Fisheries Journal, 23(3): 109–118. doi: 10.22092/ISFJ.2014.103556
- Nirmal N.P. and Benjakul S. 2009.** Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage. Food Chemistry, 116: 323–331. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.02.054
- Nirmal N.P. and Benjakul S. 2011.** Inhibitory effect of mimosine on polyphenoloxidase from cephalothoraxes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(18): 10256–10260. doi: 10.1021/jf201603k
- Otero P., Carpena M., Garcia-Oliveira P., Echave J., Soria-Lopez A., Garcia-Perez P., Fraga-Corral M., Cao H., Nie S., Xiao J. and Simal-Gandara J. 2023.** Seaweed polysaccharides: Emerging extraction technologies, chemical modifications and bioactive properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 63(13): 1901–1929. doi: 10.1080/10408398.2021.1969534

- Pengzhan Y., Quanbin Z., Ning L., Zuhong X., Yanmei W. and Zhien L. 2003.** Polysaccharides from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) and preliminary studies on their antihyperlipidemia activity. *Journal of Applied Phycology*, 15: 21–27. doi: 10.1023/A:1022997622334
- 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. doi: 10.1007/s11274-015-1797-2
- Pratoomthai B., Songtavisin T., Gangnonngiw W. and Wongprasert K. 2018.** In vitro inhibitory effect of sulfated galactans isolated from red alga *Gracilaria fisheri* on melanogenesis in B16F10 melanoma cells. *Journal of Applied Phycology*, 30(4): 2611–2618. doi: 10.1007/s10811-018-1469-3
- Rodrigues J.A.G., Vanderlei E.S.O., Bessa E.F., Magalhaes F.A., Paula R.C.M., Lima V. and Benevides N.M.B. 2011.** Anticoagulant activity of a sulfated polysaccharide isolated from the green seaweed *Caulerpa cupressoides*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(4): 691–700. doi: 10.1590/S1516-89132011000400007
- Sharifian S. and Shahbanpour B. 2021.** Antioxidant properties and Vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) polyphenoloxidase inhibitory activity of different brown seaweeds extracts. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 30(2): 23–33.
- Srikong W., Bovornreungroj N., Mittraparparthorn P. and Bovornreungroj P. 2017.** Antibacterial and antioxidant activities of differential solvent extractions from the green seaweed *Ulva intestinalis*. *Science Asia*, 43: 88–95. doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.2017.43.088
- Taskin E., Ozturk M. and Kurt O. 2007.** Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African Journal of Biotechnology*, 6(24): 2746–2751.
- Wang L., Cui Y.R., Yang H.W., Lee H.G., Ko J.Y. and Jeon Y.J. 2019.** A mixture of seaweed extracts and glycosaminoglycans from sea squirts inhibits  $\alpha$ -MSH-induced melanogenesis in B16F10 melanoma cells. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 22: 1–8. doi: 10.1186/s41240-019-0126-3
- Yu P. and Sun H. 2014.** Purification of a fucoidan from kelp polysaccharide and its inhibitory kinetics for tyrosinase. *Carbohydrate Polymers*, 99: 278–283. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.08.033

**Zargari A., Mazandarani M. and Hoseini S.M. 2018.** Effects of safflower (*Carthamus tinctorius*) extract on serum antibacterial activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against

*Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus iniae* and *Yersinia ruckeri*. International Journal of Aquatic Biology, 6: 1–7. doi: 10.22034/ijab.v6i1.392



Research Paper

**Evaluation of antibacterial properties of sulfated polysaccharide extracted from green alga *Ulva intestinalis* and its ability to inhibit polyphenol oxidase enzyme of western white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)**

Masume Kamali<sup>1\*</sup>, Bahareh Shabanpour<sup>2</sup>, Parastoo Pourashouri<sup>3</sup>,  
Moazame Kordjazi<sup>4</sup>

DOI: 10.22124/japb.2023.23295.1486

Received: December 2022

Accepted: March 2023

**Abstract**

Marine polysaccharides are natural bioactive compounds with valuable applications. In the current study, sulfated polysaccharide from green alga *Ulva intestinalis* was extracted using water-based solvents, and some of its properties such as functional groups, antibacterial activity, and its ability to inhibit the western white shrimp polyphenol oxidase enzyme were measured. The results of Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) confirmed the presence of sulfate-containing functional groups in the polysaccharide. Sulfated polysaccharide in both concentrations of 25 and 50 mg/mL showed antibacterial activity against 2 strains of gram-positive bacteria *Micrococcus luteus* and *Staphylococcus aureus* and 2 strains of gram-negative bacteria *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* ( $P < 0.05$ ). Also, this combination with a concentration of 1.5% after 1 and 3 minutes showed the highest ability in inhibiting the activity of the western white shrimp polyphenol oxidase enzyme with 63.03 and 48.74%, respectively, compared to other concentrations ( $0.05 > P$ ). In general, according to the results of the present study, the use of sulfated polysaccharide obtained from green alga *U. intestinalis* is suggested in the shrimp processing industry.

**Key words:** *Antibacterial Properties, Sulfated Polysaccharide, Polyphenol Oxidase Enzyme, Western White Shrimp.*

1- Ph.D. Student in Fishery Products Processing, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

2- Professor in Department of Fishery Products Processing, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

3- Associate Professor in Department of Fishery Products Processing, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

4- Assistant Professor in Department of Fishery Products Processing, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

\*Corresponding Author: [masume.kamali91@yahoo.com](mailto:masume.kamali91@yahoo.com)