

Evaluation of the content and bioactivity of four macroalgae species from the Persian Gulf

Arman M^{1*}, Pirian K², Khosh-Eghbal F¹, Ali-Naghizadeh M¹

1- Department of Biology, Payam Noor University (PNU), Tehran, I.R. Iran.

2- Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Buali-Sina University, Hamedan, I.R. Iran.

Received: 2019/06/9 | Accepted: 2020/09/19

Abstract:

Background: Macroalgae are rich in diverse valuable compounds so they are known as the 21 century medicinal plants. In this study polar to nonpolar extracts of four macroalgae species, *Sargassum boveanum*, *Fucus trinodis*, *Galaxaura rugos* and *Laurencia denderoidea* were collected from the Persian Gulf coastlines, evaluated for their phenol and flavonoid contents and antioxidant and antibacterial activities.

Material and Methods: Phenol and flavonoid contents of species were estimated by Folin-Ciocalteu and Aluminum chloride methods, respectively. Antioxidant activities of extractions were analyzed by total antioxidant activity (TAC) and reducing power of Fe³⁺ respectively and also antibacterial activity of samples were analyzed by disc diffusion method against two gram positive and two gram negative bacteria.

Results: *F. trinodis* showed the highest phenolic (1.38 gGA/100gDW.) and flavonoid (0.798 gQE/100gDW.) contents and *G. rugosa* showed the lowest phenolic (0.240 gGA/100gDW.) and flavonoid (0.094 gQE/100gDW.) contents. Chloroform extract of *F. trinodis* (2.98 ugASA/mg) and *S. boveanum* (2.48 nm) showed the maximum level of TAC and reducing power antioxidant activities, respectively. The samples with high content of phenolic and flavonoid contents showed the highest antioxidant activity too. All the three extracts of *S. boveanum* and *F. trinodis* showed the considerable antibacterial activity against all the four examined strains of bacteria especially negative gram bacteria.

Conclusion: The studied macroalgal species showed considerable phenolic content and bioactivities suggest that they can be suitable for medical and medicinal applications.

Keywords: Macrolage, Phenol, Flavonoid, Antioxidant, Antibacterial

*Corresponding Author

Email: mitraarman2003@yahoo.com

Tel: 0098 917 367 4773

Fax: 0098 763 334 9457

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2020; Vol. 24, No 5, Pages 525-535

Please cite this article as: Arman M, Pirian K, Khosh-Eghbal F, Ali-Naghizadeh M. Evaluation of content and bioactivity's four macroalgae species from the Persian Gulf. *Feyz* 2020; 24(5): 525-35.

بررسی ترکیبات و فعالیت‌های زیستی چهار گونه ماکرو جلبک خلیج فارس

میترا آرمان^{۱*}، کیانا پیریان^۲، فاطمه خوش اقبال^۱، مصطفی علینقی‌زاده^۱

خلاصه:

سابقه و هدف: ماکرو جلبک‌ها دارای دامنه وسیعی از ترکیبات هستند که به علت دارا بودن منبع غنی از ترکیبات پایدار و جدید، عنوان گیاه دارویی قرن ۲۱ را به خود اختصاص داده‌اند. در این مطالعه، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی عصاره‌های قطبی تا غیرقطبی ماکرو جلبک‌های *Galaxaura rugosa*, *Fucus trinodis*, *Sargassum boveanum* و *Laurencia denderoidea* جمع‌آوری شده از آب‌های خلیج فارس بررسی شد.

مواد و روش‌ها: میزان فنول و فلاونوئید گونه‌ها به ترتیب براساس روش فولین - سیکالتو و کلرید آلومینیوم سنجیده شد. فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به دو روش آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) و قدرت احیاکنندگی Fe^{3+} و فعالیت آنتی‌باکتریایی آن‌ها بر دو سویه باکتری گرم مثبت و دو سویه باکتری گرم منفی براساس روش انتشار دیسک انجام شد.

نتایج: گونه *F. trinodis* بیشترین محتوای فنولی ($1.38 \text{ gGA}/100\text{gDW}$) و فلاونوئیدی ($0.798 \text{ gQE}/100\text{gDW}$) و گونه *G. rugosa* کمترین محتوای فنول ($0.240 \text{ gGA}/100\text{gDW}$) و فلاونوئید ($0.094 \text{ gQE}/100\text{gDW}$) را نشان دادند. عصاره کلروفرمی گونه *F. trinodis* ($2.98 \text{ ugASA}/\text{mg}$) و عصاره کلروفرمی *S. boveanum* (2.48 nm)، به ترتیب بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و قدرت احیاکنندگی را نشان دادند. نمونه‌های دارای بیشترین ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند. هر سه عصاره حاصل از دو گونه *F. trinodis* و *S. boveanum* بر هر چهار سویه باکتری، به خصوص دو سویه گرم منفی بررسی شده اثر بازدارندگی قابل توجهی را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: گونه‌های ماکرو جلبکی بررسی شده با نشان دادن ترکیبات فنولی و فعالیت‌های زیستی قابل توجه، می‌توانند زمینه کاربرد خوبی در پزشکی و صنایع داروسازی داشته باشند.

واژگان کلیدی: ماکرو جلبک، فنول، فلاونوئید، آنتی‌اکسیدان، آنتی‌باکتریال

دو ماهنامه علمی - پژوهشی فیض، دوره بیست و چهارم، شماره ۵، آذر - دی ۱۳۹۹، صفحات ۵۳۵-۵۲۵

مقدمه

جلبک‌ها گروهی از موجودات فتواتوتروف هستند که به عنوان تولیدکنندگان اولیه زنجیره غذایی محسوب می‌شوند. حضور و گسترش جلبک‌ها در زیستگاه‌های آبی متفاوت است و معمولاً در مناطق مرطوب یا در آب یافت می‌شوند. جلبک‌ها از نظر اندازه از گونه‌های تک‌سلولی کوچک به عنوان میکرو جلبک‌ها تا گونه‌های پرسلولی پیچیده به عنوان ماکرو جلبک‌ها متغیرند [۱]. ماکرو جلبک‌ها براساس رنگدانه به سه دسته ماکرو جلبک سبز، قهوه‌ای و قرمز طبقه‌بندی می‌شوند. ماکرو جلبک‌ها به علت تنوع زیستی بالای خود به عنوان منبعی غنی از ترکیبات فعال زیستی همچون پروتئین، ویتامین، اسیدهای چرب، مواد معدنی، فنول، فلاونوئید، کارتئونیدها و ترپنوئیدها محسوب می‌شوند.

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲. گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، همدان، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

تهران، دانشگاه پیام نور

تلفن: ۰۹۱۷۳۶۷۴۷۷۳

درونپس: ۰۷۶۳۳۳۴۹۴۵۷

پست الکترونیک: mitraarman2003@yahoo.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۶/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۱۹

بسیاری از گونه‌های ماکرو جلبکی به علت رشد در زیستگاه‌های پیچیده و دشوار محیطی و در جهت تطبیق با محیط، متابولیت‌هایی را تولید می‌کنند که در جانداران دیگر یافت نمی‌شوند [۲]. مطالعات زیادی در سراسر جهان برای شناسایی متابولیت‌های جلبک‌ها با قابلیت کاربرد در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی، مواد نگهدارنده مواد غذایی و ضد رسوب‌گذاری انجام شده است [۳]. بسیاری از جلبک‌های دریایی با داشتن خواص زیستی، از قبیل ضدتوموری، ضدویروسی و ضد میکروبی، در صنایع پزشکی و داروسازی، آرایشی و بهداشتی کاربرد دارند [۴]. تاکنون از جلبک‌ها ترکیبات بسیاری با خواص زیستی متعدد، جداسازی و شناسایی شده‌اند که عمدتاً در گروه ترکیبات پلی‌ساکاریدهای سولفات، کارتئونیدها، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و ترپنوئیدها جای دارند. جلبک‌ها به دلیل توانایی سنتز ترکیبات فنولی با تعداد حلقه‌های بیشتر، دارای ترکیباتی هستند که در گیاهان خشکی یافت نمی‌شوند [۵]. پلی‌فنول‌ها در بیشتر گیاهان به‌ویژه جلبک‌ها یافت می‌شوند [۶] که این ترکیبات جهت حفاظت در برابر شرایط محیطی، مانند استرس‌ها و علف‌خواران تولید می‌شوند [۷]. ترکیبات پلی‌فنولی از طریق دادن هیدروژن به

مواد و روش‌ها

جلبک‌ها از سه منطقه بندرعباس، جزایر قشم و هرمز در ناحیه تنگه هرمز و با توجه به جدول جزر و مد در زمان‌های پیشینه جزر در زمستان ۱۳۹۷ جمع‌آوری شدند. جلبک‌های جمع‌آوری شده پس از شستشو با آب دریا جهت حذف ذرات شن و ماسه به‌طور جداگانه در داخل کیسه‌های پلاستیکی برچسب‌گذاری شده قرار گرفتند و در جعبه‌های یونولیتی حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه با آب شور تصفیه شده جهت حذف ذرات شن و ماسه، صدف‌ها و اپی‌فیت‌ها به‌خوبی شسته و در نهایت توسط آب مقطر آب‌کشی شدند. نمونه‌ها پس از آب‌کشی، در دمای محیط خشک و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جهت انجام آنالیزها نگهداری شدند. از نمونه‌ها شیت‌های هرباریومی تهیه و پس از کدگذاری در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان هرمزگان نگهداری شدند. نمونه‌ها براساس صفات مورفولوژیکی و سلولی توسط کلیدهای معتبر و زیرنظر جلبک‌شناس متخصص شناسایی شدند [۱۶].

عصاره‌گیری جهت سنجش محتوای فنول و فلاونوئید

برای سنجش کل محتوای فنول و فلاونوئید نمونه‌های جمع‌آوری شده، ابتدا عصاره متانولی نمونه‌ها جهت استخراج ترکیبات موردنظر تهیه شد. بدین‌منظور ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های خشک و پودر شده جلبکی به همراه ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به مدت ۲ ساعت در بن‌ماری با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از گذشت ۲ ساعت، جهت حذف بافت‌های جلبک، عصاره با کاغذ صافی، فیلتر و با متانول ۸۰ درصد به حجم موردنظر رسانده شد. عصاره‌های تهیه شده برای بررسی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در یخچال نگهداری شدند.

سنجش محتوای فنولی

میزان فنول کل عصاره به‌دست‌آمده از هر نمونه، توسط واکنش‌گر فولین - سیکالتو و براساس روش Antolovich و همکاران [۱۷] با کمی تغییرات اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، به ۲۰ μL از عصاره متانولی، ۱۰۰ μL فولین - سیکالتو رقیق شده با آب به نسبت (۱:۱۰) و Na₂CO₃ ۷ درصد (۱۸۰ μL) اضافه شد و پس از ۹۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق در شرایط تاریکی، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در این بررسی، گالیک اسید به‌عنوان استاندارد در نظر گرفته شد و در نهایت مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره حاصل از نمونه‌های جلبکی برحسب گرم گالیک اسید (GA) بر ۱۰۰ گرم ماده خشک گزارش شد.

رادیکال‌های آزاد و ایجاد رادیکال‌های غیرفعال، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی هستند [۸]. عصاره‌های جلبکی دارای میزان قابل توجهی از ترکیبات فنولی هستند؛ اما مقدار آن‌ها در عصاره‌ها، به روش استخراج و گونه جلبکی بستگی دارد [۹]. عصاره‌ها و ترکیبات شناسایی شده جلبک‌ها دامنه وسیعی از فعالیت‌های زیستی، مانند ضدباکتری، ضدویروسی، ضدتوموری، آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی را شامل می‌شوند. ترکیبات اسیدهای چرب، گلیکولیپیدها، استروئیدها، فنولی و ترپنوئیدهای جدا شده از جلبک‌ها فعالیت ضدباکتریایی بالایی را نشان داده‌اند [۱۰]. آنتی اکسیدان‌های سنتزی که جهت کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد مورد استفاده قرار می‌گیرند، دارای اثرات زیان‌بار جانبی هستند که همین امر، مطالعه در مورد آنتی اکسیدان‌هایی با منشأ طبیعی و امکان جایگزینی آن‌ها با انواع سنتزی را در مرکز توجه قرار داده است [۱۱]. خلیج فارس و دریای عمان در جنوب کشورمان به وسعت ۱۳۶۰ کیلومتر امتداد دارد و دارای جزایر متعددی می‌باشد. سواحل خلیج فارس و دریای عمان دارای تنوع بالایی از گونه‌های مختلف ماکرو جلبک‌های دریایی در ناحیه جزر و مدی هستند؛ به‌طوری‌که تاکنون ۲۵۰ گونه از آن‌ها به‌صورت مورفولوژیکی شناسایی شده‌اند [۱۲]. چهار گونه *Sargassum boveanum*, *Galaxaura rugosa*, *Fucus trinodis* از جلبک‌های جمع‌آوری شده از سواحل خلیج فارس می‌باشند. دو گونه *Sargassum boveanum* و *Fucus trinodis* از گروه ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای (Phaeophyta) و دو گونه *Galaxaura rugosa* و *Laurencia denderoidea* از گروه ماکرو جلبک‌های قرمز (Rhodophyta) هستند. تاکنون تحقیقات ارزشمندی در مورد خواص آنتی اکسیدانی، آنتی ویروسی و آنتی باکتریایی این، گونه‌ها جهت درمان بیماری‌های کلیوی، سرطانی، عفونی و دیگر بیماری‌ها انجام شده است [۱۳-۱۵]. با توجه به وجود ترکیبات ارزشمند غذایی و دارویی در ماکرو جلبک‌ها و نیز تغییرات فراوان در خواص بیولوژیکی و ترکیبات شیمیایی گونه‌ها در اثر عوامل محیطی و آب و هوایی، در این مطالعه به بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی و همچنین محتوای فنولی و فلاونوئیدی چهار گونه جلبک شناسایی شده از سواحل خلیج فارس جهت کاربرد در صنایع غذایی، دارویی و پزشکی پرداخته شده است.

سنجش محتوای فلاونوئید

جهت سنجش ترکیبات فلاونوئیدی عصاره حاصل از هر یک از نمونه‌های جلبکی، از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد [۱۸]. برای این منظور $200 \mu\text{L}$ از عصاره متانولی با $200 \mu\text{L}$ کلرید آلومینیومی ۱۰ درصد، $200 \mu\text{L}$ پتاسیم استات ۱M و $1180 \mu\text{L}$ آب مقطر مخلوط شدند و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از گذشت ۳۰ دقیقه، میزان جذب محلول‌ها در طول موج ۴۱۵ nm اندازه‌گیری شد. منحنی کالیبراسیون براساس کوئرتستین رسم گردید. مقدار محتوای کل ترکیبات فلاونوئیدی عصاره حاصل از نمونه‌های جلبکی برحسب گرم کوئرتستین (QE) بر ۱۰۰ گرم ماده خشک بیان شد.

عصاره‌گیری جهت بررسی خواص زیستی

ابتدا از هر چهار نمونه جلبک خشک و پودر شده به میزان ۱۰۰ گرم به‌طور جداگانه در ارلن‌های دو لیتری ریخته شد. جهت عصاره‌گیری از ماکرو جلبک‌ها از سه حلال آلی ان‌هگزان، کلروفرم و اتانول با درجه قطبیت مختلف استفاده شد؛ به این ترتیب که ابتدا ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال ان‌هگزان به ارلن‌های حاوی جلبک اضافه و به خوبی هم‌زده شد و درب ارلن‌ها توسط فویل آلومینیومی بسته شد. پس از قرارگیری نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۴۸ ساعت، جهت جداسازی عصاره استخراج‌شده از بافت، نمونه‌ها توسط کاغذ صافی، فیلتر شدند و عصاره فیلترشده توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد جهت جداسازی حلال خشک گردید. بافت باقی‌مانده پس از خشک شدن در معرض هوا جهت خارج شدن حلال باقی‌مانده، با ۵۰۰ میلی‌لیتر حلال کلروفرم مخلوط شد و به مدت ۴۸ ساعت جهت عصاره‌گیری در دمای اتاق قرار گرفت. پس از ۴۸ ساعت عصاره کلروفرمی، فیلتر و توسط روتاری خشک گردید. جهت تهیه عصاره اتانولی نیز بر روی تفاله جلبک باقیمانده از مرحله قبل، عملیات مشابهی همانند عصاره‌های کلروفرمی و ان‌هگزانی انجام گرفت. عصاره‌های غلیظ‌شده حاصل از روتاری پس از خشک شدن کامل، در تیوب‌های شیشه‌ای ریخته و جهت بررسی فعالیت‌های زیستی در یخچال ذخیره و نگهداری شدند.

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (Total Antioxidant Capacity; TAC) عصاره‌های جلبکی براساس روش فسفومولیدنیوم و مطابق با دستورالعمل Prieto و همکاران [۱۹] انجام شد. به‌طور خلاصه، مقداری از عصاره با غلظت‌های مختلف 0.36 mg mL^{-1} ، 0.75 ، 0.5 ، 3 و 6 به همراه ۱ میلی‌لیتر محلول واکنش (حاوی $1/23$ گرم آمونیوم مولیبدات

($\text{H}_24\text{MO}_6\text{N}_6\text{O}_{24}\text{H}_2\text{O}$) به‌همراه 0.99 گرم سولفات سدیم (Na_2SO_4) و $7/45$ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک 0.6 مولار) مخلوط و با آب مقطر به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. محلول‌های واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه شدند و در نهایت خوانش جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. در این سنجش، محلول واکنش به همراه DMSO به‌جای عصاره به‌عنوان بلانک و همچنین ماده آنتی‌اکسیدانی اسید اسکوربیک به‌عنوان استاندارد در نظر گرفته شدند. تمامی سنجش‌ها با سه تکرار انجام شدند و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها براساس اسید اسکوربیک به‌صورت میلی‌گرم اسید اسکوربیک بر گرم عصاره بیان شد (mg ASA/g extract).

سنجش ظرفیت احیاکنندگی Fe^{3+}

قدرت احیاکنندگی نمونه‌ها براساس روش Oyaizu [۲۰] و با کمی تغییرات انجام شد. در این سنجش، مقداری از غلظت‌های مختلف هر یک از عصاره‌ها (0.75 ، 0.36 mg mL^{-1} ، $0.1/5$ و 3 و 6) به‌همراه ۱ میلی‌لیتر محلول فسفات بافر ($6/6 \text{ pH}$) و ۱ میلی‌لیتر پتاسیم فری‌سیانید ۱ درصد به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس ۱ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به محلول واکنش اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و دور 3000 rpm سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، مقداری از سوپرناتانت برداشته شد و همراه با $1/5$ میلی‌لیتر آب مقطر و 0.1 میلی‌لیتر محلول فریک کلرید 0.1 درصد مخلوط شدند. در نهایت خوانش جذب نمونه‌ها در طول موج 700 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. افزایش جذب محلول واکنش، نشان‌دهنده افزایش قدرت احیاکنندگی نمونه‌هاست. در این سنجش، بلانک دارای کلیه محلول‌های واکنش و DMSO به‌جای عصاره بود و اسید اسکوربیک به‌عنوان استاندارد در نظر گرفته شد. تمامی سنجش‌ها با سه تکرار انجام شد و در نهایت ظرفیت احیاکنندگی نمونه‌ها به‌صورت میزان جذب نمونه‌ها (nm) بیان شد.

بررسی خواص آنتی‌باکتریایی:

در این تحقیق از دو سویه باکتری گرم مثبت *Bacillus subtilis* و دو سویه گرم منفی (*Staphylococcus aureus*، *Shigella flexneria*، *Salmonella typhimurium*) استفاده شده است که از بانک‌های میکروبی (Persian type culture collection) PTCC و (American Type Culture Collection) ATCC گرفته شده است. به منظور تعیین خاصیت ضدباکتریایی عصاره‌ها از روش انتشار روی دیسک توسط محیط کشت مولر - هینتون آگار (Muller Hinton Agar) استفاده شد.

چهار گونه بررسی شده، بیشترین و کمترین محتوای فنولی به ترتیب در گونه‌های ($Fucus\ trinodis\ g\ GA/100g\ DW.$) (۱/۳۸) و ($Galaxaura\ rugosa\ g\ GA/100g\ DW.$) (۰/۲۴۰) مشاهده شد ($P < 0.05$). همان‌طور که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است، در میان نمونه‌ها، گونه‌های ($Fucus\ trinodis\ g\ QE/100g\ DW.$) (۰/۷۹۸) و ($Galaxaura\ rugosa\ g\ QE/100g\ DW.$) (۰/۰۹۴) از نظر محتوای فلاونوئیدی به‌طور معنی‌داری بیشترین و کمترین محتوای فلاونوئید را نشان دادند ($P < 0.05$).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC)

نتایج ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل پنج غلظت (۶ mg/mL) و ۳، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۳۶) سه عصاره کلروفرم، اتانول و ان‌هگزان چهار گونه جلبک براساس روش فسفومولیدات به‌صورت میلی‌گرم اسید اسکوربیک بر گرم عصاره (ugASA/mg) در شکل شماره ۱ و جدول شماره ۲ آمده است. همان‌طور که در شکل شماره ۱ نشان داده شده است، با افزایش غلظت نمونه‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها نیز افزایش می‌یابد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در بین عصاره‌های داخل یک گونه، اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$) (جدول شماره ۲). در میان نمونه‌های بررسی شده، عصاره کلروفرمی گونه *F. trinodis* (۲/۹۸ ug ASA/mg) و عصاره ان‌هگزانی گونه *G. rugosa* (۰/۱۱ ug ASA/mg) به‌ترتیب بالاترین و پایین‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را نسبت به دیگر نمونه‌ها نشان دادند ($P < 0.05$) (جدول شماره ۲). در مقایسه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های یک گونه، در هر چهار گونه ماکروجلبک بررسی شده، عصاره نیمه‌قطبی کلروفرم به‌طور معنی‌داری نسبت به دو عصاره دیگر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را نشان داد و دو عصاره اتانول و ان‌هگزان به ترتیب در جایگاه بعدی از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قرار گرفتند ($P < 0.05$) (جدول شماره ۲، نمودار شماره ۱). همان‌طور که در جدول شماره ۲ آمده است، با مقایسه عصاره‌های مشابه در گونه‌های مختلف، گونه *L. denderoidea* در بین عصاره‌های اتانولی (۱/۲۸ ug ASA/mg) و ان‌هگزانی (۰/۷۸ ug ASA/mg) و گونه *F. trinodis* در بین عصاره‌های کلروفرمی (۲/۹۸ ug ASA/mg)، به‌طور معنی‌داری بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را نشان دادند ($P < 0.05$).

ظرفیت احیاکنندگی Fe^{+3}

قدرت احیاکنندگی غلظت‌های مختلف (۶ mg/mL) و ۳، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰/۳۶) سه عصاره اتانول، کلروفرم و ان‌هگزانی چهار گونه جلبکی در شکل شماره ۲ و جدول شماره ۳ نشان داده شده است. در تمامی نمونه‌ها همراه با افزایش غلظت آن‌ها، میزان جذب در نتیجه ظرفیت احیاکنندگی Fe^{+3} نمونه‌ها افزایش می‌یابد (نمودار

آنالیز دیسک باکتری (Kirby-Bauer) براساس روش Forbes و همکاران [۲۱] انجام شد. بدین‌منظور سوآپ آغشته به سوسپانسیون باکتری به غلظت (1×10^8 CFU/mL) به‌طور یکنواخت و در سه جهت بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار موجود در پلیت‌های استریل حرکت داده شد تا باکتری‌ها روی پلیت‌ها کشت شوند. قابل ذکر است که کدورت لوله‌های حاوی باکتری از قبل تهیه شد و مقایسه آن‌ها با استاندارد شمار ۰/۵ مک‌فارلند (1×10^8) باکتری در یک میلی‌لیتر) انجام شد. سپس غلظت ۵ mg/mL از هر یک از عصاره‌های موردنظر روی دیسک‌های کاغذی استریل (قطر ۶ میلی‌متر) ریخته شد و دیسک‌ها روی محیط کشت آگار آلوده به باکتری‌ها قرار گرفتند. قطر هاله‌های عدم رشد بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تعیین گردید. قطر این هاله‌ها به کمک خط‌کش Hi Antibiotic Zone Scale اندازه‌گیری شد و نتایج میانگین سه بار تکرار محاسبه شدند. دیسک حاوی آنتی‌بیوتیک استاندارد آمپی‌سیلین هم به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل آماری

همه آزمایش‌ها در تمامی سنجش‌ها با سه تکرار انجام شدند. مرتب کردن داده‌ها جهت انجام آنالیزهای آماری و همچنین رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel (Microsoft Office 2010) صورت پذیرفت. شاخص IC_{50} (Inhibition Concentration of 50%) در صورت نیاز برای هر عصاره با استفاده از معادله خط آن عصاره محاسبه گردید (براساس میزان غلظت و درصد فعالیت) و برای مقایسه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها استفاده شد. درواقع IC_{50} غلظت موردنیاز برای ۵۰ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. جهت مقایسه معنی‌داری آماری بین میانگین‌های مختلف در آنالیزهای فنولی و فلاونوئیدی از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه همراه با آزمون تعقیبی دانکن و نیز برای مقایسه معنی‌داری آماری بین میانگین‌های مختلف هر یک از سنجش‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی از آنالیز واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی دانکن توسط نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد. سطح معنی‌داری کلیه آزمون‌ها ۵ درصد در نظر گرفته شد ($P < 0.05$).

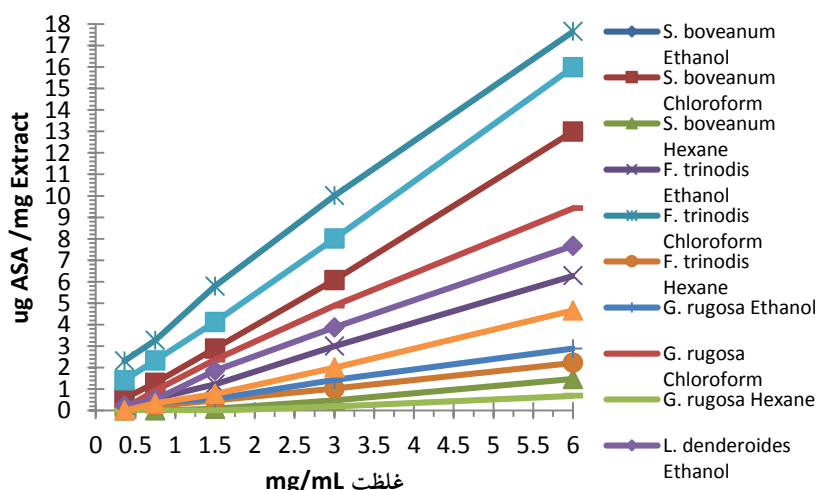
نتایج

محتوای فنول و فلاونوئید موجود در چهار گونه جلبکی مورد مطالعه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. چهار گونه بررسی شده از نظر محتوای فنولی و فلاونوئیدی، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان دادند ($P < 0.05$). در میان

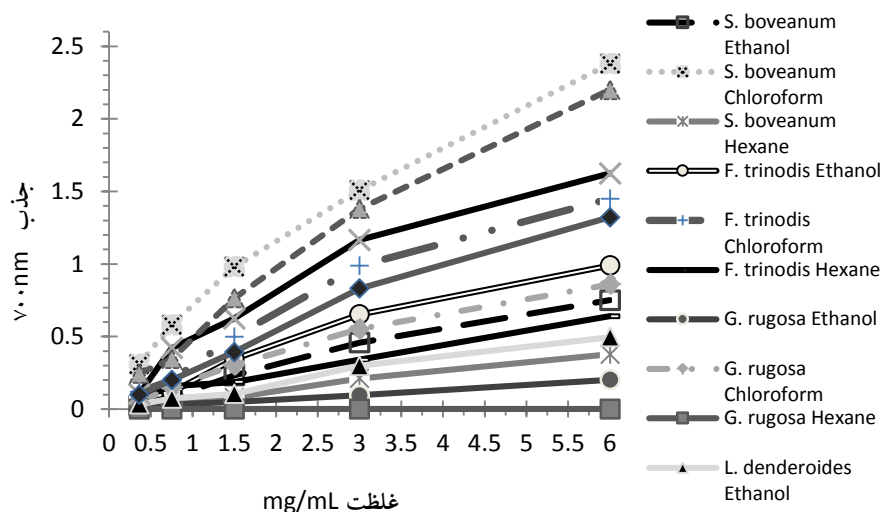
شماره ۲). همان‌طور که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است، در میان نمونه‌ها، تنها عصاره کلروفرمی *S. boveanum* ($2/48 \text{ nm}$) قدرت احیاکنندگی بالاتر مطابق با قدرت احیاکنندگی استاندارد اسید اسکوریک ($2/20 \text{ nm}$) را نشان داد؛ در حالی که دیگر نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری ظرفیت احیاکنندگی کمتری را نسبت به استاندارد نشان دادند (نمودار شماره ۲ و جدول شماره ۳). عصاره ان‌هگزانی *G. rugosa* در هیچ غلظتی فعالیت احیاکنندگی را نشان نداد و عصاره اتانولی آن ($0-2/21 \text{ nm}$) نیز کمترین فعالیت احیاکنندگی را نسبت به استاندارد اسید اسکوریک و دیگر نمونه‌ها نشان داد ($P < 0/05$). در هر چهار گونه بررسی‌شده سه عصاره اتانول، کلروفرم و ان‌هگزانی حاصل از یک گونه از نظر ظرفیت احیاکنندگی اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان داده شد؛ به‌طوری‌که در کلیه گونه‌ها عصاره کلروفرمی بالاترین فعالیت و دو عصاره اتانولی و ان‌هگزانی به‌ترتیب کمترین فعالیت را نشان دادند (جدول شماره ۳). در مقایسه عصاره‌های مشابه در گونه‌های مختلف، در میان عصاره‌های اتانولی (گونه $(0/99 F. trinodis \text{ nm})$ ، عصاره‌های کلروفرمی (گونه $(2/38 S. boveanum \text{ nm})$ و عصاره‌های ان‌هگزانی (گونه $(1/32 L. denderoidea \text{ nm})$) بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی احیایی نسبت به عصاره‌های مشابه در سه گونه دیگر نشان داده شد ($P < 0/05$).

فعالیت آنتی‌باکتریال

همان‌طور که در جدول شماره ۴ نشان داده شده است، هر سه عصاره حاصل از دو گونه *S. boveanum* و *F. trinodis* بر



نمودار شماره ۱- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (براساس میکروگرم اسید اسکوریک بر میلی گرم عصاره) غلظت‌های مختلف (میلی گرم بر میلی لیتر) سه عصاره حاصل از چهار گونه ماکرو جلبک *L. denderoidea*, *S. boveanum*, *F. trinodis*, *G. rugosa* و *U. paschima*



نمودار شماره ۲- ظرفیت احیاکنندگی Fe^{3+} استاندارد اسید اسکوریک (ASA) و همچنین سه عصاره اتانول، کلروفرم و آن‌هگزانی چهار گونه ماکرو جلبک *S. boveanum*, *F. trinodis*, *G. rugosa* و *L. denderoidea*

جدول شماره ۱- محتوای فنول و فلاونوئید چهار گونه ماکرو جلبک منطقه خلیج فارس به ترتیب براساس گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم وزن خشک (g QE/100 g DW.) و گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم وزن خشک (g GA/100 g DW.)

گونه	فنول	فلاونوئید
<i>Sargassum boveanum</i>	۰/۶۵۰ ^c	۰/۲۶۴ ^c
<i>Fucus trinodis</i>	۱/۳۸ ^a	۰/۷۹۸ ^a
<i>Galaxaura rugosa</i>	۰/۲۴۰ ^d	۰/۰۹۴ ^d
<i>Laurencia denderoidea</i>	۰/۹۰۲ ^b	۰/۴۱۲ ^b

a, ..., d حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌های داخل یک ستون می‌باشد ($P < 0.05$).

جدول شماره ۲- ظرفیت آنتی اکسیدانی یک میلی گرم عصاره (براساس میکروگرم اسید اسکوریک بر میلی گرم عصاره) سه عصاره حاصل از چهار گونه ماکرو جلبکی

گونه	عصاره		
	اتانول	کلروفرم	هگزان
<i>S. boveanum</i>	۰/۹۲ ^{b,m}	۲/۱۷ ^{a,m}	۰/۲۵ ^{c,m}
<i>F. trinodis</i>	۱/۰۵ ^{b,l}	۲/۹۸ ^{a,k}	۰/۳۷ ^{c,l}
<i>G. rugosa</i>	۰/۴۸ ^{b,n}	۱/۵۷ ^{a,n}	۰/۱۱ ^{c,n}
<i>L. denderoidea</i>	۱/۲۸ ^{b,k}	۲/۶۷ ^{a,l}	۰/۷۸ ^{c,k}

a, b, c حروف متفاوت هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین عصاره‌های مختلف یک گونه می‌باشد ($P < 0.05$).

k, l, m, n حروف متفاوت هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین عصاره یکسان در گونه‌های مختلف می‌باشد ($P < 0.05$).

جدول شماره ۳- ظرفیت احیاکنندگی Fe^{3+} سه عصاره اتانول، کلروفرم و ان هگزان (6mg/mL) چهار گونه ماکرو جلبک و استاندارد اسید اسکوربیک (ASA)

گونه	عصاره (6mg/mL)	ظرفیت احیاکنندگی Fe^{3+}
	اتانول	0.75^h
<i>S. boveanum</i>	کلروفرم	2.48^a
	ان هگزان	0.39^k
	اتانول	0.99^f
<i>F. trinodis</i>	کلروفرم	1.45^d
	ان هگزان	0.64^i
	اتانول	0.21^l
<i>G. rugosa</i>	کلروفرم	0.86^g
	ان هگزان	0
	اتانول	0.51^j
<i>L. denderoidea</i>	کلروفرم	1.63^c
	ان هگزان	1.32^e
اسید اسکوربیک		2.20^b

a, ..., k حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین نمونه های داخل یک ستون می باشند ($P < 0.05$).

جدول شماره ۴- قطر هاله بازدارندگی (mm)، براساس روش انتشار بر دیسک جهت سنجش فعالیت آنتی باکتریایی عصاره های هگزانی، کلروفرمی و اتانولی (5mg/mL) چهار گونه ماکرو جلبکی در مقایسه با استاندارد آمپی سیلین

سویه باکتری	<i>Shigella flexneria</i> -	<i>Salmonella typhimurium</i> -	<i>Staphylococcus aureus</i> +	<i>Bacillus subtilis</i> +				
عصاره (5mg/mL) ←	اتانول	کلروفرم	ان هگزان	اتانول	کلروفرم	ان هگزان	اتانول	کلروفرم
گونه ماکرو جلبک ↓	ان هگزان	کلروفرم	اتانول	ان هگزان	کلروفرم	اتانول	ان هگزان	کلروفرم
<i>Sargassum boveanum</i>	۹	۱۰	۸	۱۳	۱۱	۸	۱۰	۱۴
<i>F. trinodis</i>	۷	۹	۷	۱۰	۹	۱۲	۷	۱۲
<i>Galaxaura rugosa</i>	۱۱	۱۲	۶	-	۸	۵	۶	۱۱
<i>Laurencia denderoidea</i>	۸	۱۳	۹	۱۲	۱۰	۸	۹	-
آنتی بیوتیک آمپی سیلین	۱۳	۱۶	۱۲	۱۵	۱۴	۱۱	۱۰	۱۴

غیرفعال (-)، فعالیت متوسط (۷-۱۴)، فعالیت بالا (> 14)

بحث

دیگر گونه های جلبکی از جمله 0.3 mg/g *U. compressa* [۲۵] و $31.07\text{ mg GAE g}^{-1}$ در *U. fasciata* [۲۳] متفاوت است. از آنجایی که اطلاعات در مورد میزان محتوای فنلی ماکرو جلبک ها تنها به چند منبع محدود می شود که هر یک به روش متفاوتی جهت سنجش ترکیبات فنلی عصاره گیری را انجام داده اند، در نتیجه مقایسه آن ها دقیق نمی باشد، زیرا عوامل متغیر آزمایشگاهی، از جمله حلال عصاره گیری، شرایط عصاره گیری و نوع استاندارد بر میزان ترکیبات فنلی سنجیده شده بسیار مؤثر هستند. همچنین مطالعات نشان داده اند علاوه بر عوامل آزمایشگاهی، میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به شدت تحت تأثیر فاکتورهای محیطی، از جمله دمای هوا، مدت زمان تابش نور

ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از نظر بسیاری از فعالیت های فیزیولوژی در انسان از قبیل کاهش چربی و قند خون، فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضدتوموری بسیار مهم می باشند [۲۲]. در این مطالعه، محتوای فلاونوئید ($0.798\text{ g QE/100 g DW}$) - 0.094 نمونه های جلبکی بررسی شده تقریباً با نتایج دیگر گونه های جلبکی در مطالعات دیگر که میزان فلاونوئید را 1 mg g^{-1} در 9.85 g *U. fasciata* [۲۳]، 9.46 mg g^{-1} در *U. flexuosa* و 1.43 mg g^{-1} در *U. linza* [۲۴] گزارش دادند، مطابقت دارد. محتوای فنولی گونه های ماکرو جلبکی بررسی شده در این مطالعه ($0.1-240.38\text{ g GA/100 g DW}$) با نتایج ترکیبات فنولی

می‌شود که این تغییر رنگ مبنای آزمایشات رنگ‌سنجی قرار می‌گیرد، در نتیجه شدت رنگ، نشان‌دهنده فعالیت احیاکنندگی ترکیب می‌باشد [۳۲]. نتایج نشان داد به استثنای عصاره کلروفرمی گونه *S. boveanum* که فعالیتی بالاتر از اسید اسکوربیک (ASA) دارد، کلیه عصاره‌های مورد مطالعه، در مقایسه با اسکوربیک دارای قدرت احیایی کمتری هستند. Rumbaoa و همکاران [۳۳] گزارش کردند که عصاره‌های حاصل از حلال‌های دارای قطبیت کمتر مانند هگزان، استون و بوتانول ظرفیت آنتی اکسیدانی کمتری را نسبت به عصاره‌های قطبی‌تر نشان می‌دهند. در این مطالعه نیز در کلیه گونه‌ها، عصاره نیمه‌قطبی کلروفرمی بالاترین فعالیت را نسبت به دو عصاره دیگر نشان داد. حلال‌های نیمه‌قطبی مانند کلروفرم به علت استخراج ترکیبات دارای فعالیت آنتی اکسیدانی مثل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و ... توانایی آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به حلال‌های غیرقطبی دارند [۳۴]. امروزه میکروارگانسیم‌ها نقش مهمی را در ایجاد آلودگی ایفا می‌کنند و تبدیل به یک مشکل جهانی شده‌اند. باکتری‌ها از جمله پاتوژن‌های خطرناکی هستند که هر روزه در سراسر دنیا سبب مرگ و میر افراد زیادی می‌شوند. طبق نتایج این مطالعه، هر یک از چهار گونه ماکروجلبکی بررسی شده، اثرات قابل ملاحظه‌ای را بر چهار سویه باکتری مورد مطالعه نشان دادند. دو گونه *L. denderoidea* و *S. boveanum* اثرات بازدارندگی بالایی را بر دو سویه گرم منفی *S. flexneria* و *S. typhimurium* نشان دادند. باکتری‌های گرم منفی دارای لایه خارجی هیدروفوبیک غنی از مولکول‌های لیپیدی ساکاریدی هستند که همچون سدّی در برابر نفوذ برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها به داخل باکتری عمل می‌کنند و همچنین در فضای پری پلاسمی غشا آزیم‌هایی دارند که می‌توانند مولکول‌های وارد شده از بیرون را بشکنند؛ بنابراین باکتری‌های گرم منفی مقاومت بالایی را نسبت به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها نشان می‌دهند، در حالی که باکتری‌های گرم مثبت دارای لایه خارجی و ساختار ویژه در فضای غشایی خود نیستند و نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت کمتری را نشان می‌دهند. از آنجایی که باکتری‌های گرم منفی بیماری‌زای خطرناک بسیاری وجود دارد، بنابراین شناسایی ترکیبات آنتی‌بیوتیکی مؤثر بر باکتری‌های گرم منفی جهت درمان بیماری‌ها بسیار حائز اهمیت است [۳۵]. جلبک‌های مطالعه شده در این تحقیق، اثرات بازدارندگی قابل ملاحظه‌ای را بر باکتری‌های گرم مثبت نشان دادند؛ به‌طوری که دو گونه *F. trinodis* و *S. boveanum* بالاترین بازدارندگی را به ترتیب بر باکتری‌های گرم مثبت *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* نشان دادند. خواص آنتی باکتریایی

UV، شوری آب و ... هستند و همین عوامل، دلیلی بر وجود اختلافات میزان این ترکیبات در بین مطالعات مختلف است [۲۶،۲۴]. ظرفیت آنتی اکسیدانی کل طبق روش فسفومولیدات و براساس احیای مولبدن ۶ ظرفیتی (Mo(VI)) به کمپلکس سبزرنگ مولبدن ۵ ظرفیتی (Mo(V))، در شرایط pH اسیدی و دمای بالا توسط عوامل آنتی اکسیدانی موجود در نمونه مورد سنجش استوار می‌باشد. عصاره‌هایی که شدت جذب بالاتری دارند، ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتری را نشان می‌دهند. Meenakshi و همکاران [۲۷] وجود رابطه مثبت بین ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در گونه‌های جلبکی *U. lactuca* و *S. wightii* و ظرفیت آنتی اکسیدانی آن‌ها را گزارش دادند. نتایج به دست آمده در این تحقیق، از نظر وجود ارتباط بین مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌ها با ظرفیت آنتی اکسیدانی آن‌ها با نتایج به دست آمده توسط محققان دیگر مطابقت داشت؛ به‌طوری که دو گونه *F. trinodis* و *L. denderoidea* با داشتن بیشترین ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را نسبت به دو گونه دیگر نشان دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که قدرت آنتی اکسیدانی کل در عصاره‌ها با توجه به قطبیت آن‌ها به صورت (عصاره نیمه‌قطبی کلروفرمی < عصاره قطبی اتانولی < عصاره غیرقطبی ان‌هگزانی) از بیشترین به کمترین می‌باشد. در دیگر مطالعات، از جمله مطالعات بر روی گونه‌های جلبکی *Phyllanthus spp.* و *U. lactuca* و *S. wightii*، عصاره نیمه‌قطبی اتیل استات، فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری را نسبت به دیگر عصاره‌ها نشان داد [۲۸،۲۷]. بنابراین علاوه بر گونه جلبکی، فرآیند عصاره‌گیری، آماده‌سازی و نوع حلال جهت عصاره‌گیری نیز در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مؤثر هستند [۲۹]. یکی از مکانیسم‌هایی که ترکیبات آنتی اکسیدان از طریق آن اثر خود را اعمال می‌کنند، خاصیت احیاکنندگی می‌باشد. عوامل احیاکننده می‌توانند رادیکال‌های آزاد را به وسیله انتقال الکترون‌ها، دفع کنند. به پتانسیل اهدایی الکترون ترکیبات، به اصطلاح ظرفیت آنتی اکسیدانی گفته می‌شود [۳۰]. آزمون فعالیت آنتی اکسیدانی احیای آهن، روشی است که به‌طور مستقیم آنتی اکسیدان‌ها یا احیاکننده‌ها را در نمونه اندازه‌گیری می‌کند [۳۱]. طبق بررسی‌های انجام شده، برای ارزیابی قدرت احیایی فعالیت (آنتی اکسیدانی)، در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی از تبدیل یون فریک به یون فرو در مقایسه با استانداردهایی مانند اسید گالیک و اسید اسکوربیک استفاده می‌شود. تبدیل کمپلکس‌های فری سیانید (Fe^{3+})، به فرم فروس (Fe^{2+}) توسط ترکیبات احیاکننده، باعث ایجاد تغییر رنگ در محیط واکنش از رنگ زرد به درجات مختلفی از رنگ‌های سبز و آبی

را علیه پاتوژن‌های بیماری‌زای *S. aureus*, *S. epidermidis* و *Pseudomonas aeruginosa* نشان داد [۳۹].

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی گونه‌های ماکروجلبکی بررسی‌شده به‌خصوص دو گونه ماکروجلبک قهوه‌ای (*S. boveanum* و *F. trinodis*) با داشتن ترکیبات بالای فنول و فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی قابل‌توجهی را از خود نشان دادند که زمینه کاربرد آن‌ها را در پزشکی و صنایع داروسازی فراهم می‌سازد. مقایسه فعالیت بیولوژیک عصاره‌ها و گونه‌های مختلف، زمینه را برای مطالعات بعدی جهت خالص‌سازی و شناسایی ترکیبات مؤثر در عصاره و گونه موردنظر سهل‌تر می‌نماید.

تشکر و قدردانی

از همکاران محترم دانشگاه پیام نور بندرعباس استان هرمزگان، جهت همکاری در این مقاله کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References:

- [1] Douzery EJP, Snell EA, Baptiste E, Delsuc F, Philippe H. The timing of eukaryotic evolution: Does a relaxed molecular clock reconcile proteins and fossils? *Proc. Natl Acad Sci USA* 2004; 101(43): 15386–91.
- [2] Lordan S, Ross RP, Stanton C. Marine bioactives as functional food ingredients: potential to reduce the incidence of chronic diseases. *Mar Drugs* 2011; 9: 1056–100.
- [3] Sastry VMVS, Rao GRK. Antibacterial Substances from Marine Algae: Successive Extraction Using Benzene, Chloroform and Methanol. *Bot Marina* 1994; 37: 357–60.
- [4] Ratana-arporn P, Chirapart A. Nutritional evaluation of tropical green seaweeds *Caulerpa lentillifera* and *Ulva reticulata*. *Kasetsart J Nat Sci* 2006; 40: 75–83.
- [5] Mathew S, Abraham TE. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 198–206.
- [6] Antonisamy MJ, Raj EDS. UV–VIS and HPLC studies on *Amphiroa anceps* (Lamarck) Decaisne. *Arabian J Chem* 2011; [E Pub ahead of Print]
- [7] Li YX, Kim SK. Utilization of seaweed derived ingredients as potential antioxidants and functional ingredients in the food industry: An Overview. *Food Sci Biotechnol* 2011; 20: 1461–66.

ماکروجلبک‌ها به‌دلیل وجود متابولیت‌های ثانویه متعدد در بسیاری از مطالعات گزارش شده است. در مطالعات Patra و همکاران [۳۶]، عصاره ماکروجلبک *Sargassum sp.* نسبت به استرین‌های *B. subtilis* و *E. coli* اثر بازدارندگی قوی را نشان داد. Toney و همکاران [۳۷]، اثر ضدباکتریایی ۱۱ گونه ماکروجلبکی جداشده از دریای مدیترانه را علیه پاتوژن‌های *E. faecalis*, *P. aeruginosa* و *E. coli* بررسی کردند و دریافتند که شش گونه از ماکروجلبک‌های مورد بررسی، خاصیت ضدباکتریایی را نشان دادند. ماکروجلبک *S. boveanum* مطالعه‌شده در این تحقیق، بر دو سویه باکتری، بالاترین بازدارندگی را نشان داد که این نتایج با نتایج مطالعه دیگر محققان که بر گونه‌های *Sargassum spp.* در ایران انجام داده‌اند، مطابقت دارد. دشتی‌نسب و همکاران [۳۸] طی تحقیقی دریافتند که عصاره گونه *Sargassum latifolium* جداشده از خلیج فارس اثر ضدباکتریایی قابل‌توجهی بر باکتری‌های آلوده‌کننده کشت‌های میگو از قبیل *Vibrio alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi* عصاره آبی گونه ماکروجلبک قهوه‌ای *Sargassum oligocystum* جداشده از سواحل بوشهر خلیج فارس، خاصیت ضدباکتریایی بالایی

- [8] Gupta S, Abu-Ghannam N. Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends Food Sci Tech-nol* 2011; 22: 315–26.
- [9] Craig JS. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J Appl Phycol* 2011; 23: 371–93.
- [10] Plaza M, Santoyo S, Jaime L. Screening for bioactive compounds from alga. *J Pharm Biomed Anal* 2010; 51: 450–55.
- [11] Vijayabaskar P, Vaseela N, Thirumaran G. Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii*. *Chinese J Natur Med* 2012; 10(6): 0421–8.
- [12] Sohrabipour J, Rabiei R. The checklist of green algae of the Iranian coastal lines of the Persian Gulf and Gulf of Oman. *Iran J Bot* 2007; 13: 146–9. [in Persian]
- [13] Gazor R, Pasdaran Lashgari A, Almasi S, Ghasemi S. Effect of Brown Algae *Cystoseira trinodis* Methanolic Extract on Renal Tissue. *Pharma Sci* 2016; 22: 49–53
- [14] Al-Enazia N M, Awaadb A S, Alqasoumic S I, Alwethairi M F. Biological activities of the red algae *Galaxaura rugosa* and *Liagora hawaiiiana* butters. *Saudi Pharma J* 2018; 26: 25–32.
- [15] Akbari V, Zafari S, Yegdaneh A. Anti-tuberculosis and cytotoxic evaluation of the

seaweed *Sargassum boveanum*. **Res Pharm Sci** 2018; 13(1): 30–37.

[16] Gabrielson PW, Widdowson TB, Lindstrom SC. Keys to the seaweeds and seagrasses of Southeast Alaska, British Columbia, Washington and Oregon. **University of British Columbia**. 2006.

[17] Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. **Anal** 2002; 127: 183-98.

[18] Willet WC. Balancing life-style and genomics research for disease prevention. **Science** 2002; 296: 695–8.

[19] Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Anal Biochem** 1999; 269: 337-41.

[20] Oyaizu M. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. **Jpn J Nutr** 1986; 44: 307–15.

[21] Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Laboratory methods and strategies for antimicrobial susceptibility testing. In: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby Elsevier, St. Louis, 2007. p. 187-214.

[22] Halliwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? **Biochem J** 2007; 401: 1–11.

[23] Kokilam G, Vasuki S. Biochemical and phytochemical analysis on *Ulva fasciata* and *Caulerpa taxifolia*. **Int J Pharm Pharm Sci** 2013; 4: 7–11.

[24] Farasat M, Khavari-Nejad RA, Nabavi SMB, Namjooyan F. Antioxidant Activity, Total Phenolics and Flavonoid Contents of some Edible Green Seaweeds from Northern Coasts of the Persian Gulf. **Iran J Pharm Res** 2014; 13: 163–70. [in Persian]

[25] Mamatha BS, Namitha KK, Senthil A, Snitha J, Ravishankar GA. Studies on use of Enteromorpha in snack food. **Food Chem** 2007; 101: 1707–13.

[26] Rodriguez-Bernaldo de Quiros A, Lage-Yusty MA, Lopez-Hernandez J. Determination of phenolic compounds in macroalgae for human consumption. **Food Chem** 2010; 121: 634-8.

[27] Meenakshi S, Manicka Gnanambigai D, Tamilmozhi S, Arumugam M, Balasubramanian T. Total Flavonoid and in vitro Antioxidant Activity of Two Seaweeds of Rameshwaram Coast. **Glob J Pharm** 2009; 3(2): 59-62

[28] Kumar V, Kaladharan P. Amino acids in the seaweeds as an alternate source of protein for animal feed. **J Mar Biol Assoc India** 2007; 49(1): 35-40.

[29] Yuan YV, Bone DE, Carrington MF. Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated in vitro. **Food Chem** 2005; 91: 485-94.

[30] Zhou J, Hu N, Wu YL, Pan YJ, Sun CR. Preliminary studies on the chemical characterization and antioxidant properties of acidic polysaccharides from *Sargassum fusiforme*. **J Zhejiang Univ Sci B** 2008; 9: 721-7.

[31] Pereira L. A review of the nutrient composition of selected edible seaweeds. 2011. Nova Science Publishers Inc, New York, USA.

[32] Mensor L, Luciana M, Fabo S, Leitao G, Gilda H, Rais SA, et al. Antioxidant activity in Brazilian plants. **Phytother Res** 2001; 25: 128-30.

[33] Rumbaoa RGO, Cornago DF, Geronimo I M. Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (*Solanum tuberosum*) tubers. **J Food Composition Anal** 2009; 22: 546-50.

[34] Suzuki M, Watanabe T, Miura A, Harashima E, Nakagawa Y, Tsuji K. An extraction solvent optimum for analyzing polyphenol contents by Folin-Denis assay. **Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi** 2002; 49: 507-11.

[35] O'Sullivan L, Murphy B, McLoughlin P, Duggan P, Lawlor PG, Hughes H. Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. **Mar Drugs** 2010; 8(7): 2038-64.

[36] Patra JK., Rath SK, Jenerathud VK. Tatoi H. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Seaweed (*Sargassum* sp.) Extract: A Study on Inhibition of Glutathione-S-Transferase Activity. **Turkish J Biol** 2008; 32: 119-25.

[37] Toney I, Cadrici BH, Unal D, Suctar A. Antimicrobial Activities of the Extracts of Marine Algae from the Coast of Urla (Izmir, Turkey). **Turkish J Biol** 2006; 30: 171-5.

[38] Dashtiannasab A, Kakoolaki S, Sharif Rohani M, Yeganeh V. In vitro effects of *Sargassum latifolium* (Agardeh, 1948) against selected bacterial pathogens of shrimp. **Iran J Fish Sci** 2012; 11(4): 765-75. [in Persian]

[39] Tajbakhsh S, Pouyan M, Zandi K., Bahramian P, Sartavi K., Fouladvand M, Asayesh G, Barazesh A. "In vitro study of antibacterial activity of the alga *Sargassum oligocystum* from the Persian Gulf. **Europ Rev Med Pharma Sci** 2011; 15: 293-8.