

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد باکتریایی آلژینات و فوکوئیدان استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *Sargassum boveanum* جمع‌آوری شده از سواحل خلیج فارس

رضوان قره‌خان تقریبه^۱، معظمه کردجزی^{۲*}، سامان احمد نصرالهی^۲، بهاره شعبانپور^۱، افشین عادل^۱

^۱گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

^۲مرکز تحقیقات پوست و جدام، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: kordjazi.m@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۱۹

تاریخ دریافت: ۹۸/۱/۹

چکیده

استفاده از ماکروجلبک‌ها در صنایع مختلف برای محققین انگیزه و اشتیاق فراوانی جهت انجام مطالعات گسترده در مورد خواص ضدقارچی، ضد باکتری، ضد ویروس و ضد سرطان ایجاد کرده است. مطالعه حاضر جهت تعیین فعالیت‌های ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی آلژینات و فوکوئیدان استخراج شده از جلبک قهوه‌ای (*S. boveanum*) جمع‌آوری شده از سواحل خلیج فارس انجام شد. در این پژوهش سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH و سوپراکسید نشان داد که آلژینات و فوکوئیدان استخراج شده از این جلبک توانایی بالایی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان داد. همچنین فعالیت ضدباکتریایی در برابر هفت گونه باکتریایی مختلف بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا، نشان داد که باکتری *Yersinia ruckeri* نسبت به آلژینات و فوکوئیدان مقاوم است. طبق نتایج این مطالعه، عصاره جلبک قهوه‌ای *S. boveanum* می‌تواند به‌عنوان ترکیب ضد باکتری و آنتی‌اکسیدان در صنایع غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی جهت افزایش ماندگاری و جلوگیری از اکسید شدن ترکیبات مغذی استفاده گردد.

واژگان کلیدی: آلژینات، فوکوئیدان، آنتی‌اکسیدان، فعالیت ضد باکتری.

مقدمه

جلبک‌های دریایی گیاهان فتوسنتز کننده هستند و زیست‌توده‌ی اولیه در مناطق جزرومدی را تشکیل می‌دهند (Wichachucherd et al., 2010). این جلبک‌ها علاوه بر تشکیل سطوح وسیع از بیومس در مناطق ساحلی و آب‌ها به‌عنوان تولیدکنندگان اولیه در سراسر جهان نیز به شمار می‌روند و نقش مهمی را در اکوسیستم‌های دریایی ایفا می‌کنند. آن‌ها علاوه بر تولید غذا و اکسیژن برای متابولیسم موجودات مصرف کننده به فراهم‌سازی زیستگاه برای بسیاری از گونه‌های آبی نیز کمک می‌کنند. جلبک‌های دریایی ۸۵ درصد از کل تولیدات جهانی گیاهان آبی را تشکیل می‌دهند و به همین دلیل از بزرگترین تولیدکنندگان دریا به حساب می‌آیند که براساس رنگدانه به‌طور عموم به سه گروه عمده جلبک‌های قهوه‌ای (فئوفیت‌ها)، قرمز (ردوفیت‌ها) و سبز (کلروفیت‌ها) طبقه‌بندی می‌شوند (Meillisa et al., 2015). جلبک‌ها حاوی مواد مختلف آلی و معدنی هستند و از آن‌ها می‌توان برای ارتقای سطح سلامت

انسان‌ها بهره برد. جلبک‌های دریایی از جمله منابع غنی ترکیبات زیست فعال هستند که متابولیت‌های تولید شده توسط آن‌ها دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیک می‌باشند که امکان استفاده از آن‌ها به‌عنوان ترکیبات دارویی و بهداشتی را فراهم می‌سازد. تاکنون ترکیبات زیستی متعدد با کاربردهای متنوعی همچون اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد سرطانی از جلبک‌های شناسایی و جداسازی شده است. آن‌ها منبعی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که جلبک‌های قهوه‌ای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با جلبک‌های سبز و قرمز از خود نشان می‌دهند (Ale et al., 2011).

جلبک‌ها در صنایع مختلف به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم استفاده می‌شوند، اما گزارشاتی مبنی بر کاربرد تعداد محدودی از ماکروجلبک‌ها در سراسر جهان به‌صورت تجاری وجود دارد (Kumar et al., 2014). بنابراین ارزیابی ترکیبات بیوشیمیایی ماکروجلبک‌ها برای به دست آوردن اطلاعات در مورد

جغرافیایی متفاوت است، حتی در درون یک گونه ساختارهای رنجیره کربنی اصلی متفاوت به نظر می‌رسد (Ale and Meyer, 2013). آلژینات از اجزای اصلی عصاره جلبک‌های دریایی است و به عنوان مواد تثبیت کننده در صنایع مختلف به کار برده می‌شود. گونه‌های مختلفی از جلبک‌های دریایی برای استخراج این هیدروکلوئید مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما جنس‌های مربوط به گونه لامیناریا از منابع اصلی استخراج آلژینات به حساب می‌آیند می‌کنند. در مطالعات Cumashi و همکاران (۲۰۰۷)، خواص ضد التهابی، ضد آلرژی، ضد انعقادی و ضد چسبندگی فوکوئیدان ۹ گونه جلبک قهوه‌ای به منظور بررسی تأثیر منبع و ترکیب فوکوئیدان بر فعالیت‌های بیولوژیکی آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که فوکوئیدان می‌تواند در کنترل ترومبوز، التهاب و پیشرفت تومور مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه Li و همکاران (۲۰۰۶)، بر روی فوکوئیدان استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *Hizikia fusiforme* ساختار و ترکیب برخی اجزای فوکوئیدان‌ها شناسایی شد. در تحقیق Vicini و همکاران (۲۰۱۷) روشی جدید برای به دست آوردن روند تشکیل ژل کنترل شده از آلژینات سدیم، بر اساس استفاده از یون‌های دو ظرفیتی آلژینات ارائه شد. با توجه به موارد ذکر شده، این تحقیق با هدف بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی آلژینات و فوکوئیدان استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *S. boveanum* انجام شد.

مواد و روش‌ها

جلبک‌ها از منطقه بین جزر و مدی سواحل دریای عمان و خلیج فارس در زمان حداکثر جزر در فصل زمستان جمع‌آوری و با آب دریا شستشوی اولیه داده شدند. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه و شناسایی گونه توسط کارشناسان مرکز بیوتکنولوژی خلیج فارس، برای حذف گل و لای و دیگر مواد زائد شستشو و همراه با یخ به آزمایشگاه فرآوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال داده شد. نمونه‌ها بار دیگر در آزمایشگاه به‌منظور حذف مقادیر زیاد نمک، گل و لای و اپی‌فیت با آب شیرین شستشو داده شدند و بعد از خشک کردن در آون

کاربردهای بالقوه آن‌ها بسیار مهم است. پژوهش‌های اخیر روی کشف عوامل درمانی متمرکز شده‌اند و تحقیقات جدید برای کشف عوامل سودمند در منابع طبیعی به‌ویژه موجودات دریایی که به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی با ساختارهای پیچیده که از پتانسیل دارویی بی‌نظیری برخوردار هستند، در حال انجام است. از ویژگی‌های مهم جلبک‌های دریایی حضور میزان قابل توجهی از پلی-ساکاریدهای سولفات است که در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، آرایشی-بهداشتی و صنایع پزشکی و داروسازی در بخش میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرند. پلی ساکاریدهای جلبکی از جمله فوکوئیدان، آسکوفیلان، آلژینات، کاراگینان و آگار برای چندین دهه در پزشکی و داروسازی مورد استفاده بوده است. این ماکرومولکول‌ها دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی از جمله فعالیت‌های ضد میکروبی، ضد توموری، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. استفاده طولانی مدت از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی ممکن است عوارض جانبی به همراه داشته باشد به علاوه، استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ظهور میکروارگانیزم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و به دنبال آن مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها با دوز بالاتر شده است (Andersson and Hughes, 2010)، که همین امر منجر به پیدایش عوارض مختلف در موجود مصرف کننده شده است، از این رو تحقیق‌ها جهت یافتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی جایگزین با منشأ طبیعی ضروری به نظر می‌رسد.

جلبک قهوه‌ای *Sargassum boveanum*

گونه‌ای از ماکرو جلبک‌های دریایی است که سرشار از فوکوئیدان‌ها، به‌عنوان یک گروه پیچیده و ناهمگن با وزن مولکولی مختلف بین ۱۰۰ الی ۱۶۰۰ کیلودالتون (Rioux et al., 2007) و از پلی‌ساکاریدهای محلول در آب در نظر گرفته می‌شوند که به اتصال بین سلولی کمک می‌کنند و متشکل از گروه‌های سولفات با مقادیر جزئی مولکول‌های مختلف هستند که می‌توانند از مونوساکاریدها مانند مانوز، آرابینوز، گلوکز، گالاکتوز، زایلوز، و غیره در اتصال به پروتئین تشکیل شده باشند (Cardoso et al., 2014). ترکیب‌های فوکوئیدان بسته به گونه و خاستگاه

رویی جمع‌آوری و با اتانول ترکیب و تمام شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از سانتریفیوژ، بقایا که همان ترکیبات پلی‌ساکارییدی مدنظر هستند، با استون و اتانول آب‌زدایی و در دمای اتاق خشک شدند (Borazjani et al., 2018).

اندازه‌گیری میزان سولفات فوکوئیدان: به ۱/۱ میلی‌لیتر از نمونه فوکوئیدان حل شده در آب دی-یونیزه (با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ۱/۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۸ درصد اضافه شد. سپس ۰/۶ میلی‌لیتر معرف آگارز-کلرید باریم (به ترتیب با غلظت ۰/۵-۰/۰۲ درصد) به آن اضافه و پس از اختلاط کامل، نمونه‌ها به مدت ۳۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند (در این زمان میزان کدورت نمونه‌ها به حداکثر رسیده و برای بیشتر از یک ساعت پایدار خواهد ماند). پس از آن نمونه‌ها، تکان داده شده و عدد جذب آن‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۰ نانومتر قرائت شد. منحنی استاندارد سولفات با استفاده از سولفات سدیم ۱ درصد در بازده غلظتی ۱۰۰ تا ۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ترسیم شد (Jackson and Mccandless, 1978).

تست ضد باکتری به روش دیسک دیفیوژن: فعالیت ضد باکتریایی فوکوئیدان و آلژینات استخراج شده از جلبک *S. boveanum* به روش دیسک دیفیوژن علیه باکتری‌های (GQ850377) *Streptococcus iniae* (KC291153)، *Yersinia ruckeri* (AH04)، *Aeromonas hydrophila* (CIPA270)، *Micrococcus luteus* (ATCC29737)، *Staphylococcus aureus* (ATCC13076) و *Salmonella typhimurium* (ATCC10536) صورت گرفت. در این روش از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط کشت نوترینت برات سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک‌فارند تهیه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی آماده به محیط کشت مولر هیلتون آگار اضافه شد. سپس با استفاده از میله شیشه‌ای نازک، کشت یکنواختی از باکتری روی سطح محیط کشت صورت گرفت. سپس دیسک بلانک آغشته به ۳۰ میکرولیتر از ترکیبات استخراج شده از جلبک بر روی محیط کشت حاوی باکتری

توسط آسیاب برقی به حالت پودری تبدیل شدند. نمونه‌ها در نهایت به صورت جداگانه داخل ظروف استریل بسته بندی و تا شروع آزمایش‌ها در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Sanchez-Machado et al., 2004).

استخراج آلژینات از جلبک *S. boveanum*: برای استخراج آلژینات مقدار ۵۰ گرم پودر جلبک را در ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۵ درجه به منظور حذف رنگدانه‌ها و پروتئین مخلوط و به مدت ۱۲ ساعت روی شیکر قرار داده شدند. بعد از سانتریفیوژ با دور rpm ۸۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، رسوب باقی مانده جمع‌آوری و خشک شد. در مرحله بعد، ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل خنک شده به جلبک پودر شده اضافه شده و روی شیکر حرارتی در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت با سه مرتبه تکرار انجام شد. سپس سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، رسوب حاصله جمع‌آوری و به آن Na_2CO_3 ۳ درصد به حجم یک لیتر به رسوب حاصل شده اضافه شد و pH آن بر روی ۱۱ تنظیم شد. مجدداً بر روی شیکر حرارتی با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت قرار گرفت. در مرحله آخر بعد از سانتریفیوژ، برابر با حجم سوپرناتانت جدا شده به آن اتانول ۷۰ درجه اضافه شد و بعد از ۱۲ ساعت، رسوب حاصل شده به عنوان آلژینات چندین بار توسط اتانول و استون جهت حذف آب، شستشو و در زیر هود خشک شد (Rostami et al., 2017).

استخراج فوکوئیدان از جلبک *S. boveanum*: به مقدار ۲۰ گرم پودر جلبک خشک را در ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به منظور حذف رنگدانه‌ها و پروتئین مخلوط شده و در دمای اتاق روی شیکر قرار گرفت. حال عصاره‌گیری از جلبک به وسیله آب مقطر در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد همراه با تکان انجام شده و سانتریفیوژ با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. مایع روئی جمع‌آوری شده با کمک آون تحت خلأ غلیظ شد، سپس با کلرید کلسیم ۱ درصد مخلوط و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، تمام شب به منظور ته‌نشست آلژینات قرار گرفت. پس از سانتریفیوژ مایع

غلظت‌های مختلف با ۳ میلی‌لیتر از معرف متشکل از سولفوریک اسید ۰/۶ مولار، سدیم فسفات ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی‌مولار مخلوط شد. مخلوط برای مدت ۹۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه، و پس از سرد شدن جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد در این روش بر اساس اسید اسکوربیک رسم شد.

میزان فعالیت مهار کنندگی رادیکال DPPH آلژینات و فوکوئیدان: فعالیت مهار کنندگی رادیکال DPPH بر اساس روش Rodriguez-Meizoso و همکاران (۲۰۰۶) طبق رابطه ۱ سنجش شد. مقدار ۲۳/۵ میلی‌گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول مطلق حل شد. غلظت‌های مختلف از عصاره تهیه و ۰/۱ میلی‌لیتر از این محلول‌ها با ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول DPPH در لوله‌های استریل ریخته شد. مخلوط برای یک دقیقه توسط ورتکس مخلوط و برای ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی نگهداری شد. در آخر جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. از اسید گالیک و اسید اسکوربیک به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

$$100 \times \frac{A_{\text{نمونه}} - A_{\text{کنترل}}}{A_{\text{کنترل}}} = \text{توانایی مهار رادیکال}$$

(%) DPPH

رابطه ۱

اندازه‌گیری توانایی شلاته کنندگی یون آهن توانایی شلاته کنندگی یون آهن با استفاده طبق روش Wang و همکاران (۲۰۰۸) طبق رابطه ۲ محاسبه شد. برای اندازه‌گیری قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره در غلظت‌های مختلف تهیه و با ۱۳۵ میکرولیتر آب مقطر و ۵ میکرولیتر FeCl_2 ۲ میلی‌مولار مخلوط گردید. در مرحله بعد با اضافه کردن ۱۰ میکرولیتر فروزین ۵ میلی‌مولار واکنش آغاز شد و نمونه‌ها توسط ورتکس به شدت مخلوط شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در پایان جذب نمونه‌ها به روش اسپکتوفوتومتری در طول موج ۵۶۲ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد توسط اسید سیتریک و EDTA-Na_2 استفاده شد.

قرار گرفت. همچنین از دیسک‌های استاندارد اکسی‌تتراسایکلین، جنتامایسین و آموکسی‌سیلین شرکت پادتن تب به‌منظور شاهد مثبت و مقایسه با میزان خاصیت ضد باکتری سرم استفاده شد (Zargari et al., 2018). در آخر، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند و با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد توسط کولیس ورنیه به دقت ۰/۲ میلی‌متر، میزان فعالیت ضد باکتریایی ترکیبات در دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با سه تکرار مشخص گردید (Pinteus et al., 2015; Zargari et al., 2018).

سنجش پروتئین کل فوکوئیدان: برای سنجش مقدار پروتئین کل فوکوئیدان، ابتدا مقدار ۰/۰۰۲ گرم فوکوئیدان در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل کاملاً حل و ۴/۵ میلی‌لیتر محلول بیورت به آن افزوده شد و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید و در آخر جذب نمونه در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد (Lowry et al., 1951).

اندازه‌گیری کربوهیدرات کل فوکوئیدان: اندازه‌گیری کربوهیدرات کل با روش آنترون انجام شد. در این روش به‌طور خلاصه ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه با ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲/۵ نرمال ترکیب و در آبجوش به مدت سه ساعت برای هیدرولیز کامل نمونه‌ها نگهداری شد. سپس به کمک کربنات سدیم خنثی کردن نمونه‌ها انجام گرفت. حجم نمونه‌ها را به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شدند و سپس با دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. ۰/۵ تا یک میلی‌لیتر از سوپرناتانت را برداشته و حجم همه لوله‌ها را که شامل نمونه‌ها و استاندارد هستند با آب مقطر به یک میلی‌لیتر رسانده شد و مقدار ۴ میلی‌لیتر معرف آنترون به تمام نمونه‌ها افزوده گردید. در آخر به سرعت نمونه‌ها سرد شد و با دستگاه اسپکتوفوتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر مقدار کربوهیدرات به کمک نمودار استاندارد محاسبه شدند (مشایخی و آتشی، ۱۳۹۵).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل آلژینات و فوکوئیدان: فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل مطابق روش Sathya و همکاران (۲۰۱۳) سنجش شد و به صورت میلی‌گرم اسید اسکوربیک بر گرم عصاره بیان شد. به‌صورت خلاصه، ۰/۳ میلی‌لیتر نمونه در

جدول ۱- مقدار ترکیبات بیوشیمیایی فعال در فوکوئیدان استخراج شده از جلبک *Sargassum boveanum*.

سولفات	پروتئین کل	کربوهیدرات کل	نوع ترکیب در فوکوئیدان
(میلی گرم بر گرم سولفات سدیم)	(میلی گرم بر گرم آلبومین)	(میلی گرم بر گرم گلوکز)	مقدار
۳۳/۷۶±۲/۳۸	۷/۴۴±۰/۸۴	۸۲/۹۵±۳/۵۶	

(۱)

نتایج تست دیسک دیفیوژن نشان داد که آنتی بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین بیشترین اثر ممانعت کنندگی را علیه باکتری‌ها دارد ($P < 0.05$). در خاصیت ضد باکتریایی دوزهای مختلف آلژینات و فوکوئیدان علیه باکتری‌های *S. iniae*، *M. luteus*، *A. hydrophila* و *S. thphimurium* تفاوت معنی داری دیده نشد ($P > 0.05$). همچنین دوزهای مختلف آلژینات و فوکوئیدان توانایی مقابله با رشد باکتری *Y. rockeri* را از خود نشان ندادند. نتایج تست ضد باکتریایی آلژینات با غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با سایر غلظت‌ها دارای بیشترین قطر هاله بازدارندگی در *E. coli* بود. غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر فوکوئیدان استخراج شده از جلبک *S. boveanum* در مقایسه با غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از این ماده به‌طور معنی‌دار توانایی بالاتری در مقابله با باکتری *S. aureus* را داشت (جدول ۲).

در مطالعه حاضر تعیین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کل جلبک *S. boveanum* در محدوده غلظتی ۲۰ الی ۱۰۰ صورت گرفت که در این بازه غلظتی به ترتیب پتانسیل آنتی‌اکسیدانی فوکوئیدان معادل ۱۲۵/۸ تا ۲۸۲/۳۴ میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم عصاره به طور معنی‌داری بالاتر از پتانسیل آنتی‌اکسیدانی آلژینات معادل ۵۶ تا ۲۳۱/۵۷ میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم عصاره اندازه‌گیری شد ($P < 0.05$) و نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این جلبک با غلظت آلژینات و فوکوئیدان رابطه مستقیم دارد به طوری که با افزایش غلظت این دو ماده فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌طور معنی‌دار ($P < 0.05$) نیز افزایش می‌یابد (شکل ۱).

اثر مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط آلژینات در غلظت‌های ۵۰ تا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۱۰/۲۵ تا ۱۷/۵۸ درصد و برای فوکوئیدان در غلظت مشابه به ترتیب معادل ۱۴/۵۸ تا

$$\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل} = \frac{\text{جذب نمونه}}{\text{جذب کنترل}} \times 100 = \text{اثر شلاته کنندگی آهن} (\%)$$

رابطه ۲

درصد مهار رادیکال آزاد سوپراکسید: در سنجش رادیکال آزاد سوپراکسید با استفاده از روش Wang و همکاران (۲۰۰۸) به کمک رابطه ۳ محاسبه شد. به صورت خلاصه، مقدار ۳ میلی‌لیتر بافر Tris-HCl ۱۶ میلی‌مولار با pH=۸ مقدار ۳۳۸ میکرومولار NADH، ۷۲ میکرومولار NBT و ۳۰ میکرومولار PMS در غلظت‌های مختلف عصاره با هم مخلوط شد. مخلوط حاصله در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. سپس جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد.

$$\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل} = \frac{\text{جذب نمونه}}{\text{جذب کنترل}} \times 100 = \text{توانایی مهار رادیکال سوپراکسید} (\%)$$

رابطه ۳

آنالیز آماری: داده‌های بعد از بررسی همگنی توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲، جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (one way ANOVA) جهت مقایسه میانگین‌ها و آزمون دانکن جهت سنجش معنادار بودن اختلافات در سطح ۵ درصد استفاده شد و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel (Microsoft office, 2016) ترسیم شدند. نتایج بررسی شاخص‌های مورد مطالعه به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد.

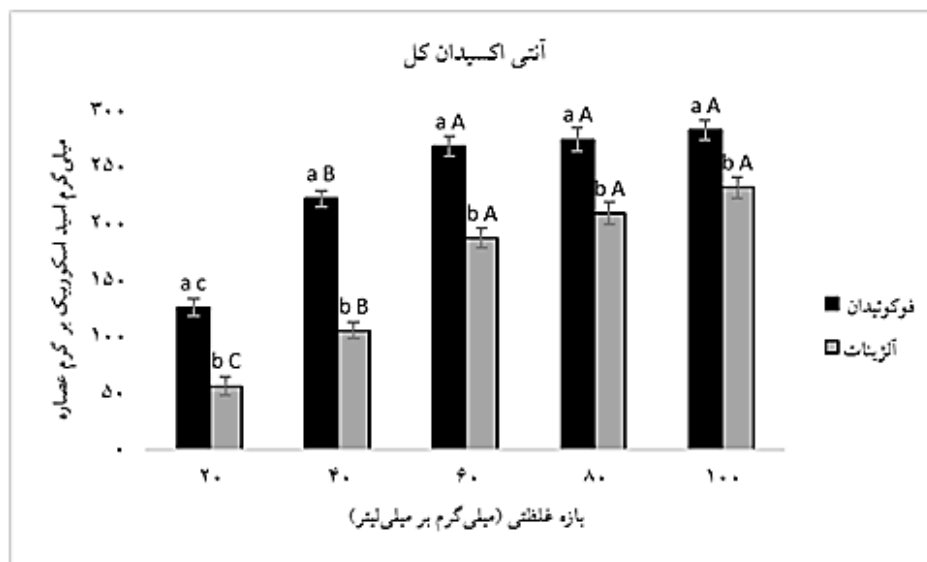
نتایج

مقدار بازده استخراج آلژینات و فوکوئیدان به ازای ۸۰ گرم پودر خشک جلبک به ترتیب برابر با ۱/۵ و ۰/۸۵ گرم به‌دست آمد. مقدار ترکیبات فوکوئیدان شامل پروتئین کل به میزان ۷/۴۴ میلی‌گرم بر گرم آلبومین، سولفات کل به مقدار ۳۳/۷۶ میلی‌گرم بر گرم سولفات سدیم و کربوهیدرات کل به مقدار ۸۲/۹۵ میلی‌گرم بر گرم گلوکز سنجش شد (جدول

جدول ۱- مقایسه فعالیت ضد باکتریایی آلژینات و فوکوئیدان جلبک *Sargassum boveanum* به روش دیسک دیفیوژن.

<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. thymurium</i>	<i>Y. rokeri</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>S. iniae</i>	<i>M. luteus</i>	
۲۱/۸۲±۴/۰۵ ^a	۳۱/۰۸±۲/۳۳ ^a	۲۸/۸۸±۲/۵۸ ^a	۱۲/۹۳±۱/۴۶ ^c	۲۲/۶۷±۳/۰۸ ^a	۳۵/۳۲±۲/۷۱ ^a	۳۱/۸۱±۴/۶ ^a	اکسی‌تراسایکلین ۳۰ mg/ml
۱۴/۰۵±۱/۷۴ ^b	۲۶/۳±۱/۶۲ ^b	۲۸/۰۹±۱/۱۳ ^a	۳۶/۴۵±۰/۹۹ ^a	۲۱/۹۱±۰/۸۸ ^a	۳۰/۸۷±۱/۰۹ ^b	۲۴/۲۳±۳/۳ ^b	کنترل آموکسیسلین ۲۵ mg/ml
۱۵/۲۳±۰/۹۱ ^b	۱۹/۳۹±۰/۹۱ ^c	۱۹/۶۸±۰/۹ ^b	۱۶/۹۸±۲/۲۱ ^b	۱۵/۲۴±۰/۴۴ ^b	۲۰/۳۷±۰/۵۴ ^c	۲۰/۴±۲/۱۳ ^c	جنتامایسین ۱۰ mg/ml
۶/۷۵±۰/۳۷ ^d	۷/۵۲±۰/۶۶ ^c	۷/۴۹±۰/۳ ^c	-	۹/۱۵±۰/۲۵ ^c	۸/۲۶±۰/۲۹ ^d	۷/۸۹±۰/۸۹ ^d	فوکوئیدان ۵۰ mg/ml
۸/۶۴±۰/۴۱ ^{cd}	۹/۸۶±۰/۴۹ ^d	۶/۹۱±۰/۱۳ ^c	-	۷/۶۵±۰/۴ ^c	۸/۲۳±۰/۲۷ ^d	۷/۰۴±۰/۳۶ ^d	ن ۲۵ mg/ml
۸/۷۲±۰/۷۲ ^{cd}	۸/۱۷±۰/۱۴ ^{de}	۷/۵۸±۰/۳۵ ^c	-	۸/۱۸±۰/۱۵ ^c	۷/۴۸±۰/۱۸ ^d	۸/۲۵±۰/۳ ^d	۵۰ mg/ml
۹/۸۶±۰/۵ ^c	۸/۱۲±۰/۱ ^{de}	۸/۱۶±۰/۱۴ ^c	-	۷/۳۳±۰/۱۸ ^c	۸/۷۹±۰/۱۴ ^d	۷/۷±۰/۱۳ ^d	آلژینات ۲۵ mg/ml

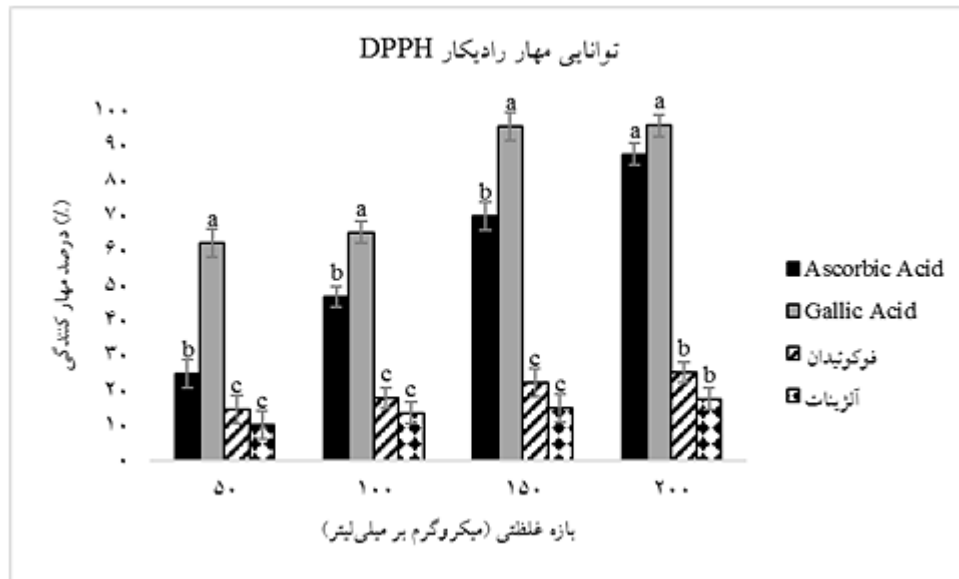
حروف متفاوت انگلیسی در بازه‌های غلظتی مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$). نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است.



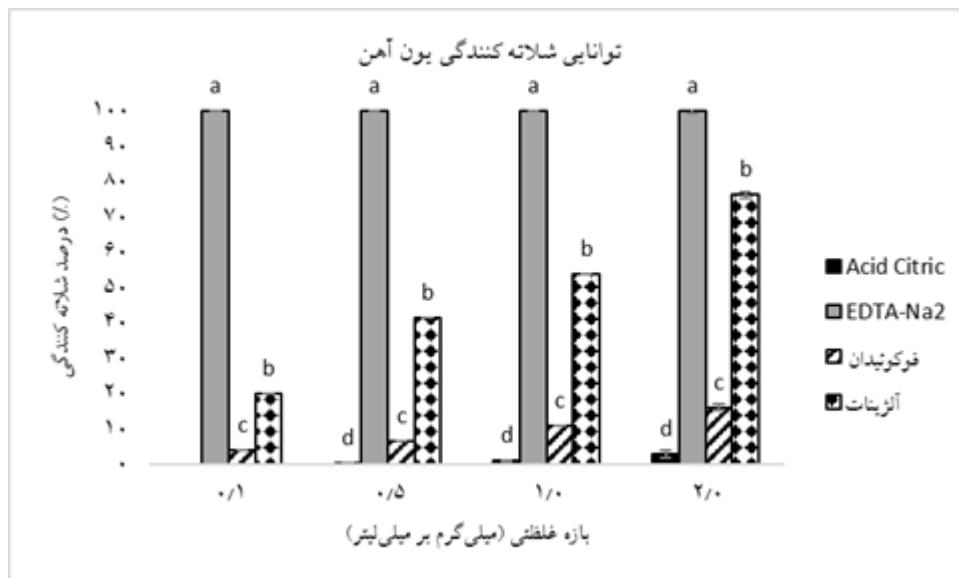
شکل ۱ - فعالیت آنتی‌اکسیدان کل آلژینات و فوکوئیدان استخراج شده از ماکرو جلبک *Sargassum boveanum*. حروف انگلیسی کوچک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در بازه‌های غلظتی مشابه ($P < 0.05$) و حروف انگلیسی بزرگ نشان دهنده اختلاف معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در آلژینات و فوکوئیدان به صورت مجزا است. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است.

آلژینات دیده نشد ($P > 0.05$) (شکل ۲). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آلژینات و فوکوئیدان بر اساس قدرت شلات کنندگی یون آهن مورد ارزیابی قرار گرفت که این توانایی وابسته به غلظت می‌باشد و با افزایش غلظت درصد شلاته کننده یون آهن نیز افزایش می‌یابد. در غلظت‌های ۰/۱ تا ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از ترکیب‌های مورد استفاده، درصد شلاته کنندگی آلژینات و فوکوئیدان به ترتیب ۱۹/۷۸ تا ۷۶ و ۳/۶۷ تا ۱۵/۹ به دست آمد. در تمامی غلظت‌ها توانایی شلات کنندگی یون آهن توسط آلژینات به صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) از فوکوئیدان بالاتر بود. برای مقایسه قدرت شلات کنندگی آلژینات

۲۵/۰۱ درصد اندازه‌گیری شد که نشان داد برای هر ترکیب با افزایش غلظت، درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد نیز افزایش می‌یابد. در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گروه‌های کنترل مثبت گالیک اسید و آسکوربیک اسید به ترتیب اثر مهارکنندگی معادل ۹۵/۵۲ و ۸۷/۳۶ درصد بود. اثر مهارکنندگی توسط گالیک اسید و آسکوربیک اسید در تمام بازه‌های غلظتی در مقایسه با آلژینات و فوکوئیدان به طور معنی‌دار ($P < 0.05$) بالاتر بود. با توجه به مقادیر بیشتر درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط فوکوئیدان، تفاوت معنی‌داری در مقایسه با درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط



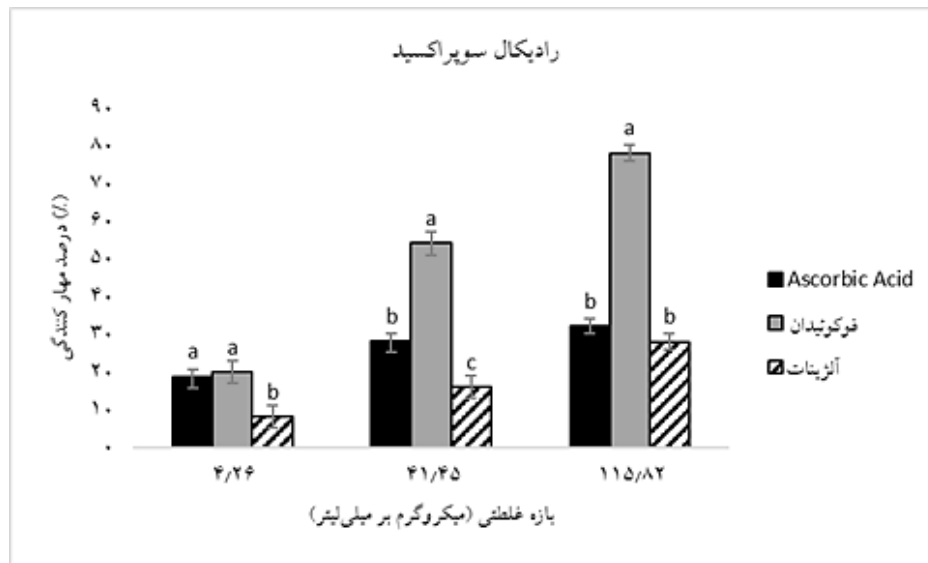
شکل ۲ - توانایی مهار کنندگی رادیکال DPPH آلژینات و فوکوئیدان استخراج شده از جلبک *Sargassum boveanum*. حروف متفاوت انگلیسی در بازه‌های غلظتی مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$). نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است.



شکل ۳ - توانایی شلاته کنندگی یون آهن توسط آلژینات و فوکوئیدان استخراج شده از جلبک *Sargassum boveanum*. حروف متفاوت انگلیسی در بازه‌های غلظتی مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$). نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است.

به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) پایین تر بود (شکل ۳). آلژینات و فوکوئیدان بیشترین درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد سوپر اکسید را به ترتیب در غلظت ۱۱۵/۸۲ میکروگرم بر میلی لیتر به میزان ۲۸ و ۷۸ درصد و کمترین درصد را در غلظت ۴/۲۶ میکروگرم بر میلی لیتر به میزان ۸ و ۲۰ درصد نشان دادند. اثر مهار کنندگی رادیکال آزاد سوپر اکسید به غلظت وابسته است و با افزایش غلظت، درصد مهار کنندگی نیز افزایش می‌یابد. برای مقایسه توانایی مهار رادیکال آزاد سوپر اکسید آلژینات و فوکوئیدان از

و فوکوئیدان جلبک مورد مطالعه با سایر آنتی‌اکسیدان‌ها از دو نوع آنتی‌اکسیدان مرجع از جمله اسید سیتریک و EDTA-Na2 استفاده شد. توانایی شلاته کنندگی آلژینات و فوکوئیدان در بازی غلظتی ۰/۵ تا ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب با مقادیر ۴۱/۱۵ الی ۷۶ و ۶/۳ الی ۱۵/۹ به صورت معنی‌دار از اسید سیتریک در همان بازی غلظتی به ترتیب با مقادیر ۰/۰۹ تا ۲/۷۶ بالاتر بود ($P < 0.05$) اما در مقایسه با EDTA-Na2 در تمام بازه‌های غلظتی قدرت شلات کنندگی یون آهن توسط عصاره



شکل ۴ - درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد سوپراکسید توسط آلژینات و فوکوئیدان استخراج شده از جلبک *Sargassum boveanum*. حروف متفاوت انگلیسی در بازه‌های غلظتی مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$). نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شده است.

اسید گلوکورونیک و حتی استیل هستند (Shao et al., 2014; Hu et al., 2014). ساختار فوکوئیدان‌ها ممکن است از یک گونه به دیگری متفاوت باشد (Cumashi et al., 2007). ترکیب این ماکرومولکول‌ها می‌تواند براساس گونه، پروتکل استخراج و شرایط رشد جلبک دریایی متفاوت باشد. این تغییرات در ساختار شیمیایی فوکوئیدان‌ها مستقیماً تأثیر گذار هستند (Li et al., 2006). طیف گسترده‌ای از اثرات درمانی برای فوکوئیدان‌ها از جمله ضد تومور، محرک سیستم ایمنی، آنتی‌اکسیدان، ضد انعقاد، ضد تومور و فعالیت ضد التهابی گزارش شده است (Hu et al., 2014; Shao et al., 2014). آلژینات پلی ساکاریدی است که در طبیعت کاملاً فراوان است و به‌عنوان جزء ساختاری در جلبک‌های قهوه‌ای دریایی و در کپسول پلی ساکاریدی برخی از باکتری‌ها یافت می‌شود (Hecht and Srebnik, 2016). با توجه به خاصیت آلژینات در حفظ آب، خاصیت ژل‌کنندگی، افزایش ویسکوزیته و خاصیت تثبیت‌کنندگی، کاربردهای صنعتی مختلف داد که عمدتاً در مواد غذایی، پزشکی، دارویی و صنایع نساجی است. علاقه به استفاده از منابع جدید با ظرفیت‌های آنتی‌اکسیدانی مانند ترکیبات طبیعی موجود در جلبک‌های دریایی در سال‌های اخیر به دلیل کاهش استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های

آسکوربیک اسید استفاده شد. در غلظت ۴/۲۶ بین درصد مهار کنندگی اسکوربیک اسید و فوکوئیدان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$)، اما در سایر غلظت‌ها درصد مهار کنندگی فوکوئیدان اختلاف معنی‌داری با درصد مهار کنندگی اسکوربیک اسید نشان داد ($P < 0.05$). در تمام غلظت‌ها درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد سوپراکسید توسط فوکوئیدان به‌طور معنی‌دار ($P < 0.05$) بالاتر از آلژینات به دست آمد (شکل ۴).

بحث

امروزه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نسبت به انواع مصنوعی آن سالم‌تر و ایمن‌تر بوده و از منابع مختلف خشکی و دریایی قابل دسترس است. براساس منابع علمی جلبک‌های دریایی منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی به‌شمار می‌رود. فوکوزها ترکیباتی غنی از پلی ساکاریدها هستند. این پلیمرهای آنیونی به‌وفور در موجودات دریایی از جمله بی‌مهرگان و جلبک یافت می‌شود (Pomin and Mourao, 2008). پلی ساکاریدی که در دیواره سلولی جلبک دریایی قهوه‌ای وجود دارد به‌عنوان یک نام کلی فوکوئیدان شناخته می‌شود (Li et al., 2006). فوکوئیدان‌ها شامل استرهای سولفات و یک یا چند جزء کوچک از گالاکتوز، مانوز، زایلوز، رامینوز،

که در ساختار خود توانایی رها سازی اتم هیدروژن (گروه‌های OH و OSO_3H) را داشته باشند (Zhang *et al.*, 2011). فعالیت پایین آلژینات در مقایسه با فوکوئیدان در مهار رادیکال آزاد را می‌توان به توانایی ضعیف آن در اهدای اتم هیدروژن نسبت داد و از طرفی اثر مهارکنندگی بالای گالیک اسید و اسکوربیک اسید به دلیل توانایی بالای آن‌ها در اهدای اتم هیدروژن می‌باشد.

ماده‌ای که با اتصال به یون‌های فلزی ساختار حلقه‌ای پایدارتری را تشکیل دهد، شلاته‌کننده گویند. به عنوان مثال در صنایع غذایی، یون‌های آهن پراکسیداسیون چربی را تحریک نموده و به عنوان شاخص مهم در سیستم‌های غذایی مطرح هستند. وقتی یون‌های آهن در حضور عوامل شلاته کننده مثل عصاره‌های پلی‌ساکاریدی قرار می‌گیرند، کمپلکس‌هایی که توسط فروزین (ماده کمپلکس دهنده) با آهن تشکیل می‌گردد، شکسته می‌شوند و در نتیجه رنگ قرمز کمپلکس کاهش می‌یابد. اثر شلاته کردن یون آهن با اندازه‌گیری میزان کاهش رنگ، تخمین زده می‌شود (Yamauchi *et al.*, 1988؛ Vinayak *et al.*, 2011). توانایی شلاته کنندگی یون آهن یکی از مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی است که باعث کاهش انتقال فلز در پروکسیداسیون چربی‌ها می‌شود. در میان عناصر واسطه، آهن به دلیل واکنش‌پذیری بالای خود مهمترین عنصر در اکسیداسیون چربی شناخته می‌شود (Mohsin *et al.*, 2016). توانایی شلاته کنندگی یون آهن در غلظت ۰/۱ کمترین قدرت و در غلظت ۲ بیشترین قدرت اتصال به فلز را نشان می‌دهند، بنابراین با افزایش غلظت اتصال به یون آهن نیز افزایش می‌یابد. در این باره آلژینات با توجه به توانایی بالا در تولید ژل و به دنبال آن افزایش گرانیروی محلول، در مقایسه با فوکوئیدان توانایی بالاتری در به دام انداختن یون‌های فلزی را دارا می‌باشد.

رادیکال‌های آزاد مانند سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و هیدروکسیل ناشی از متابولیسم هوازی در بافت‌های مختلف و میکروب‌ها به عنوان ترکیبات جانبی ایجاد می‌شوند (Kurd and Samavati, 2015). افزایش این ترکیبات در بدن موجب بروز آسیب‌های مختلف (Wang *et al.*, 2010;

مصنوعی مانند بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT)، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) و تری بوتیل هیدروکینون (TBHQ) افزایش یافته است. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشا گیاهی می‌تواند به سرعت با رادیکال‌های آزاد واکنش دهند و آنها را خنثی کنند. بنابراین تحقیقات به‌منظور دستیابی به منابع جدید آنتی‌اکسیدانی از اهمیت فراوانی برخوردار است. با توجه به تنوع فرآیندهای آنتی‌اکسیدانی مختلف استفاده از یک روش واحد برای ارزیابی آن نمی‌تواند نتیجه دقیقی در مورد پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ارائه نماید.

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل روشی برای تعیین پتانسیل آنتی اکسیدان ترکیبات طبیعی می‌باشد. گزارشات متعدد نشان داده است که محیط آبی منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌رود (El-Din *et al.*, 2019; Sujatha *et al.*, 2019). در مطالعه حاضر آلژینات و فوکوئیدان در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب معادل ۲۳۱/۵۷ و ۲۸۲/۳۴ از خود نشان دادند که بیانگر فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر فوکوئیدان در مقایسه با آلژینات در جلبک *S. boveanum* می‌باشد.

در مطالعه Chandini و همکاران (۲۰۰۸) عصاره متانولی، پترولیوم اتری، بوتانولی، اتیل استاتی و عصاره آبی حاصل از جلبک‌های *Sargassum Padina tetrastomatica marginatum* و *Turbinaria conoides* آنتی اکسیدانی کمتری در مقایسه با جلبک *S. boveanum* گزارش شد. در مطالعات انجام شده توسط Kokilam و همکاران (۲۰۱۳) مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی برای جلبک‌های *Padina tetrastomatica* معادل ۳۴/۶۶، *Chnoospora minima* معادل ۲۹/۳، و *Hormophysa triquetra* معادل ۲۴ و *Sargassum wightii* به مقدار ۲۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید بر گرم عصاره اندازه‌گیری شد.

مهار رادیکال آزاد DPPH برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی زمان نسبتاً کوتاه استفاده می‌شود. رادیکال‌های آزاد DPPH با اهدای اتم هیدروژن توسط ترکیب آنتی اکسیدانی باعث خنثی کردن فعالیت رادیکال آزاد می‌شوند. طبق برخی گزارش‌ها، ترکیباتی قادر به مهار رادیکال آزاد DPPH هستند

باکتری از بین برود (Kandhasamy and Arunachalam, 2008). بنابراین ترکیباتی مانند آلژینات و فوکوئیدان با توجه به نسبت وجود زنجیره‌های کوچک یا بزرگ، با عبور از دیواره باکتری یا تشکیل ژل بر روی غشا یا دیواره باکتری از انجام تبادلات غذای جلوگیری کرده و نشان اثرات بازدارنده‌ای بر روی پاتوژن‌های باکتریایی هستند. افزایش روزافزون مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های معمول منجر به ایجاد انگیزه‌ای برای یافتن ترکیبات جدید ضد میکروبی است و با توجه به این‌که گیاهان دارویی دارای عوارض و هزینه کمتری می‌باشند، می‌توان یکی از منابع داروهای ضد میکروبی به حساب آیند.

با توجه به نتایج و خاصیت بالای آلژینات و فوکوئیدان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی به همراه خاصیت به دام انداختن فلزات، همچنین با توجه به خاصیت مهار رشد باکتری از ترکیبات مذکور می‌توان در صنایع دارویی و آرایشی و بهداشتی به‌عنوان افزودنی ضد اکسیدانی و ترکیبات نگهدارنده بهره برد.

منابع

مشایخی ک.، آتش، ص.، ۱۳۹۵. راهنمای آزمایشات فیزیولوژی گیاهی (بررسی‌های قبل و پس از برداشت گیاهان). چاپ اول. تحقیقات آموزش کشاورزی. ۳۱۸ ص.

Ale M.T., Maruyama H., Tamauchi H., Mikkelsen J.D., Meyer A.S. 2011. Fucoindan from *Sargassum* sp. and *Fucus vesiculosus* reduces cell viability of lung carcinoma and melanoma cells in vitro and activates natural killer cells in mice in vivo. *International Journal of Biological Macromolecules* 49, 331-336.

Ale M.T., Meyer A.S. 2013. Fucoindans from brown seaweeds: An update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation. *RSC Advances* 3, 8131-8141.

Andersson D.I., Hughes D. 2010. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance?. *Nature Reviews Microbiology* 8, 260.

Borazjani N.J., Tabarsa M., You S., Rezaei M. 2018. Purification, molecular properties, structural characterization, and immunomodulatory activities of water

(Zhang et al., 2011) و در ترکیبات غذایی و آرایشی-بهداشتی منجر به کاهش کیفیت و آسیب به مصرف کننده می‌گردد.

فعالیت ضد میکروبی جلبک‌ها را می‌توان به آمینواسیدها، تریپتوفانها، فلوروئانها، ترکیبات فنولی، استروئیدها، کاتینون‌های هالوژن و پلی‌سولفیدها نسبت داد. مطابق با مطالعه حاضر عصاره اتانولی جلبک *G. arcuata* (Peymani et al., 2014) و عصاره کلروفورمی جلبک *G. edulis* (Vallinayagam et al., 2009) از رشد باکتری *S. aureus* ممانعت کرد. عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Sargassum glaucescens* فاقد اثر ضد باکتری علیه *E. coli* و *S. aureus* بود اما آلژینات و فوکوئیدان استخراج شده از جلبک *S. boveanum* در برابر باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* خاصیت ضد باکتریایی از خود نشان دادند. طبق تحقیقات صورت گرفته زنجیره‌های تشکیل دهنده آلژینات یا فوکوئیدان استخراج شده از یک گونه خاص می‌تواند از نظر ساختاری متفاوت باشد. به‌عنوان مثال در مطالعات Stewart و همکاران (۲۰۱۴)، Hecht و Srebnik (۲۰۱۶)، Sang و همکاران (۲۰۱۷) و Vicini و همکاران (۲۰۱۷) مشخص شد که پیوند زنجیره‌ها، و در نهایت ساختار ژل، سیالیت و شکل فضایی زنجیره نه تنها به نوع یون‌ها، بلکه به ترتیب و ترکیب زیرواحدهای تشکیل دهنده زنجیره‌ها نیز وابسته است که در نهایت ویژگی نهایی را مشخص می‌کند. از طرفی تفاوت در دیواره باکتری‌ها می‌تواند موجب ایجاد مقاومت آن‌ها به عوامل کشنده بشود. باکتری‌ها به گروه گرم مثبت و منفی تقسیم می‌شود. در باکتری گرم منفی به دلیل وجود لایه گلیکوپروتئینی مضاعف در دیواره سلولی باکتری امکان عبور مواد ضد باکتریایی که باعث اختلال در رونویسی DNA، ترجمه آن به پروتئین یا جلوگیری از تکثیر آن‌ها به سختی صورت می‌گیرد اما در باکتری‌های فاقد این نوع دیواره، مواد با وزن مولکولی پایین می‌توانند ساده‌تر از دیواره عبور کرده و پس از ورود به داخل سلول با بر هم زدن شرایط داخل سلولی از تقسیم شدن باکتری جلوگیری کرده یا با نفوذ به دیواره سلولی باکتری‌ها منجر به تغییر در فشار اسمزی بین دو سمت دیواره شده و در نتیجه

- Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty—An edible seaweed. *Food chemistry* 153, 353-360.
- Kurd F., Samavati V. 2015. Water soluble polysaccharides from *Spirulina platensis*: Extraction and in vitro anti-cancer activity. *International Journal of Biological Macromolecules* 74, 498-506.
- Li B., Wei X.J., Sun J.L., Xu S.Y. 2006. Structural investigation of a fucoidan containing a fucose-free core from the brown seaweed, *Hizikia fusiforme*. *Carbohydrate Research* 341, 1135-1146.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. 1951. Measurement of protein with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193, 265-275.
- Meillisa A., Woo H.C., Chun B.S. 2015. Production of monosaccharides and bioactive compounds derived from marine polysaccharides using subcritical water hydrolysis. *Journal of Food Chemistry* 171, 70-77.
- Mohsin S., Mahadevan R., Sumayya A.S., Kurup G.M. 2016. Bifunctional effect of fucoidan from *Padina tetrastrum* against human pathogenic microbes and free radicals. *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine* 1-10.
- Peymani J., Gharaei A., Ghafari M., Taheri A. 2014. Evaluation of antibacterial and antifungal effects of marine algae (*Gracilaria arcuata*) of chabahar coasts, Iran. *Qom University of Medical Sciences Journal* 8, 69-75. (In Persian)
- Pinteus S., Alves C., Monteiro H., Araujo E., Horta A., Pedrosa R. 2015. *Asparagopsis armata* and *Sphaerococcus coronopifolius* as a natural source of antimicrobial compounds. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 1-7.
- Pomin V.H., Mourão P.A. 2008. Structure, biology, evolution, and medical importance of sulfated fucans and galactans. *Glycobiology* 18, 1016-1027.
- Rioux L.E., Turgeon S.L., Beaulieu M. 2007. Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. *Carbohydrate Polymers* 69, 530-537.
- Rodriguez-Meizoso I., Marin F.R., Herrero M., Senorans, F.J., Reglero G., Cifuentes A., Ibanez E. 2006. Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano soluble polysaccharides from *Sargassum angustifolium*. *International Journal Of Biological Macromolecules* 109, 793-802.
- Cardoso M.S., Carvalho G.L., Silva J.P., Rodrigues S.M., Pereira R.O., Pereira L. 2014. Bioproducts from seaweeds: A review with special focus on the Iberian Peninsula. *Current Organic Chemistry* 18, 896-917.
- Chandini S.K., Ganesan P., Bhaskar N. 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Journal of Food Chemistry* 107, 707-713.
- Cumashi A., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., D'incecco A., Piccoli A., Totani L., Tinari N., Morozevich G.E., Berman A.E., Bilan M.I., Usov A.I. 2007. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology* 17, 541-552.
- El-Din S.M., Alagawany N.I. 2019. Phytochemical Constituents and Anticoagulation Property of Marine Algae *Gelidium crinale*, *Sargassum hornschurchii* and *Ulva linza*. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences* 1-17.
- Hecht H., Srebnik S. 2016. Structural characterization of sodium alginate and calcium alginate. *Biomacromolecules* 17, 2160-2167.
- Hu P., Xue R., Li Z., Chen M., Sun Z., Jiang J., Huang C. 2014. Structural investigation and immunological activity of a hetero polysaccharide from *Sargassum fusiforme*. *Carbohydrate Research* 390, 28-32.
- Jackson, S. G. and Mccandless, E. L. 1978. Simple, rapid, turbidometric determination of inorganic sulfate and/ or protein. *Analytical Biochemistry* 90, 802-808.
- Kandhasamy M., Arunachalam K.D. 2008. Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *African Journal of Biotechnology* 7.
- Kokilam G., Vasuki S., Sajitha N. 2013. Biochemical composition, alginic acid yield and antioxidant activity of brown seaweeds from Mandapam region, Gulf of Mannar. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3, 99-104.
- Kumar K.S., Ganesan K., Selvaraj K., Rao P.S. 2014. Studies on the functional properties of protein concentrate of

- for their cytotoxic and antioxidant activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1-9.
- Wang J., Zhang Q., Zhang Z., Li Z. 2008. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International Journal of Biological Macromolecules* 42, 127-132.
- Wang T., Jonsdottir R., Kristinsson H.G., Hreggvidsson G.O., Jonsson J.O., Thorkelsson G., Olafsdottir G. 2010. Enzyme-enhanced extraction of antioxidant ingredients from red algae *Palmaria palmate*. *LWT - Food Science and Technology* 43, 1387-1393.
- Wichachucherd B., Liddle L.B., Prathep A. 2010. Population structure, recruitment, and succession of the brown alga, *Padina boryana* Thivy (Dictyotales, Heterokontophyta), at an exposed shore of Sirinart National Park and a sheltered area of Tang Khen Bay, Phuket Province, Thailand. *Aquatic Botany* 92, 93-98.
- Yamauchi R., Tatsumi Y., Asano M., Kato K., Ueno Y. 1988. Effect of metal salts and fructose on the autoxidation of methyl linoleate in emulsions. *Journal of Agricultural and Biological Chemistry* 52, 849-850.
- Zargari A., Mazandarani M., 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
- Zhang Y., Lu X., Fu Z., Wang Z., Zhang J. 2011. Sulphated modification of a polysaccharide obtained from fresh persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit and antioxidant activities of the sulphated derivatives. *Food Chemistry* 127, 1084-1090.
- Chemical and Functional Characterization* 41, 1560-1565.
- Rostami Z., Tabarsa M., You S., Rezaei M. 2017. Relationship between molecular weights and biological properties of alginates extracted under different methods from *Colpomenia peregrina*. *Process Biochemistry* 58, 289-297.
- Sánchez-Machado D.I., López-Cervantes J., Lopez-Hernandez J., Paseiro-Losada P. 2004. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food chemistry*. 85, 439-444.
- Sang Z., Zhang W., Zhou Z., Fu H., Tan Y., Sui K., Xia Y. 2017. Functionalized alginate with liquid-like behaviors and its application in wet-spinning. *Carbohydrate Polymers* 174, 933-940.
- Sathya R., Kanaga N., Sankar P., Jeeva S. 2017. Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsskål) C. Agardh. *Arabian Journal of Chemistry* 10, S2608-S2614.
- Shao P., Chen X., Sun P. 2014. Chemical characterization, antioxidant and antitumor activity of sulfated polysaccharide from *Sargassum horneri*. *Carbohydrate Polymers* 105, 260-269.
- Stewart M.B., Gray S.R., Vasiljevic T., Orbell J.D. 2014. Exploring the molecular basis for the metal-mediated assembly of alginate gels. *Carbohydrate Polymers* 102, 246-253.
- Sujatha R., Siva D., Nawas, P. 2019. Screening of phytochemical profile and antibacterial activity of various solvent extracts of marine algae *Sargassum swartzii*. *World Scientific News* 115, 27-40.
- Usov A.I., Zelinsky N.D. 2013. Chemical structures of algal polysaccharides. In: Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals. Woodhead Publishing. Cambridge. Uk. 23-86.
- Vallinayagam K., Arumugam R., Kannan R.R.R., Thirumaran G., Anantharaman P. 2009. Antibacterial activity of some selected seaweeds from Pudumadam coastal regions. *Global Journal of Pharmacology* 3, 50-52.
- Vicini S., Mauri M., Wichert J., Castellano M. 2017. Alginate gelling process: Use of bivalent ions rich microspheres. *Polymer Engineering and Science* 57, 531-536.
- Vinayak R.C., Sabu A.S., Chatterji A. 2011. Bio-prospecting of a few brown seaweeds

Investigation of antioxidant properties and antibacterial activity of alginate and fucoïdan extracted from *Sargassum boveanum* algae collected from the Persian Gulf coast

Rezvan Gharekhan Taghar Tapeh¹, Moazameh kordjazi*¹, Saman Ahmad Nasrollahi², Bahareh Shabanpour¹, Afshin Adeli¹

¹Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

²Center for Research and Training in Skin Diseases and Leprosy, University of Tehran, Tehran, Iran.

*Corresponding author: kordjazi.m@gmail.com

Received: 2019/3/29

Accepted: 2019/6/9

Abstract

The use of macro algae in various industries has led researchers to a great deal of enthusiasm for spacious studies on anti-fungal, anti-bacterial, anti-viral, and anti-cancer properties. The present study was accomplished to determine the anti-bacterial and anti-oxidant activity of alginate and fucoïdan extracted from brown algae (*S. boveanum*) collected from the Persian Gulf coast. In this study, the antioxidant activity, iron chelating agent, DPPH and superoxide free radical inhibitory activity showed that alginates and fucoïdan extracted from these algae showed high antioxidant activity. Anti-bacterial activity against seven pathogenic and non-pathogenic bacterial species showed that, *Y. ruckeri* was resistant to alginate and fucoïdan. According to the results of this study, brown algae extract from *S. boveanum* can be used as anti-bacterial and anti-oxidant composition in food, pharmaceutical and cosmetic industries to increase the durability and prevent the oxidation of nutrients.

Keywords: Alginate, Fucoïdan, Antioxidant, Antibacterial activity.