استخراج و بررسی فعالیت ضدباکتری عصاره‌های اتری و هگزانی ریزجلبک *Chlorella vulgaris* در شرایط آزمایشگاهی بر باکتری‌های *Aeromonas hydrophila* و *Micrococcus luteus*

زهرا شعبانزاد[1*]، جاوید ایمانپور نمین[1]، زهره رمضانپور[2]

۱ – گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران

۲– موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۵/۲۵

چکیده

افزایش روزافزون سویه‌های مقاوم به دارو در بین میکروارگانیسم‌ها، یافتن ترکیبات طبیعی با ویژگی ضدمیکروبی و اثرات جانبی اندک را اجتناب‌ناپذیر کرده است. ریزجلبک‌ها منابع غنی از متابولیت‌های فعال طبیعی می‌باشند که می‌توانند در این زمینه در صنعت داروسازی استفاده شوند. در این مطالعه سویه ریزجلبک *Chlorella vulgaris* از موسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری تهیه شد. فعالیت ضدباکتری عصاره‌های هگزانی و اتری علیه باکتری گرم مثبت *Micrococcus luteus* و باکتری گرم منفی *Aeromonas hydrophila* ارزیابی شد. برای این منظور جلبک به طور خالص کشت داده شده و پس از تامین حجم مناسب طبق روش Channell و همکاران عصاره‌ی هگزانی و اتری آن استخراج گردید. ارزیابی خاصیت آنتی‌باکتریال به روش چاهک انتشار انجام شد. نتایج نشان داد که عصاره‌های هگزانی و اتری جلبک *C. vulgaris* دارای خاصیت مهارکنندگی علیه باکتری *M. luteus* و *A. hydrophila* می‌باشد. قطر هاله عدم رشد عصاره هگزانی علیه باکتری‌های *M. luteus* و *A. hydrophila* به ترتیب در دامنه ۱۱/۶-۹/۳ و ۱۱- ۶/ ۹ میلی‌متر و عصاره اتری ۲۰/۳-۲۵و ۱۶-۷/۶ میلی‌متر بود. ترکیبات عصاره‌های دی‌اتیل‌اتر و هگزانی توسط کروماتوگرافی جرمی استخراج شد. بخش اصلی ترکیبات در عصاره اتری، کتون، استر، هیدروکربن، سیلوکسان، سایلیل، ترپن و هیدروسایلیل استر و در عصاره هگزانی استر، هیدروکربن، سیلوکسان، سایلیل و هیدروسایلیل استر می‌باشند. عصاره اتری اثر مهارکنندگی بیشتری نسبت به عصاره هگزانی داشت و می‌تواند به عنوان حلال مناسب جهت استخراج ترکیبات ضدمیکروبی بشمار آید.

کلمات کلیدی: *Chlorella vulgaris*، مهار کنندگی، عصاره، *Micrococcus luteus*، *Aeromonas hydrophila* .

* عهده‌دار مکاتبات (✉). Zahra.shabanzad@hotmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.1.6]

مقدمه

تنوع وسیعی از از آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک با ساختارهای شیمیایی متفاوت برای کنترل عفونتها و بیماری‌های مختلف در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده طولانی‌مدت از این آنتی‌بیوتیک‌ها باعث بروز مقاومتهای دارویی شده و باکتری‌های مقاوم نیز به وجود می‌آیند. از طرفی اثرات جانبی این آنتی-بیوتیک‌ها باعث بروز مشکلات فراوانی میشود (Moniri *et al*., 2006). ریزجلبک‌ها منابع غنی از پروتئین و سایر مواد مغذی شبیه به گیاهان آلی هستند و نقش مهمی را به عنوان تولیدکنندگان اولیه برای مصرف‌کنندگان مختلف در شبکه غذایی ایفا می‌کنند. همچنین منبع غنی از پروتئین، کربوهیدرات و به ویژه اسیدهای چرب ضروری می‌باشند (Priya, 2012). متابولیت‌های اولیه یا ثانویه تولید شده توسط این ارگانیسم‌ها از مواد فعال زیستی بالقوه قابل استفاده در صنعت داروسازی هستند(Ely *et al*., 2004, Febles *et al*., 1995, Pratt *et al*., 1944). اسیدهای چرب، ترکیبات آلیفاتیک هالوژنه، کربوهیدرات‌ها، فنول‌ها و ساپونین‌ها در جلبک‌ها دارای فعالیت ضدمیکروبی هستند(Kannan *et al*., 2012). عصاره سلولی و ترکیبات فعال جلبک‌های مختلف در شرایط آزمایشگاهی فعالیت ضدباکتری نشان داده اند (Borowitzka *et al*., 1992, Ostensvik *et al*., 1998 and Goud *et al*., 2007). *Chlorella vulgaris* یکی از مشهورترین ریز جلبک‌هاست. این جلبک میکروسکوپی با قطر ۲ تا ۱۰ میکرون ساکن آ های شیرین، مشابه سایر گیاهان از فعال‌ترین موجودات فتوسنتزکننده و دارای کلروفیل با تراکم بالا و پروتئین-های با ارزش است که در تولید از آن استفاده می‌شود. بخشی از خواص درمانی آن مربوط به غلظت بالای کلروفیل و ساختمان دیواره‌ی سلولی، بویژه مواد تشکیل دهنده دیواره‌ی سلولی آنها می‌باشد. از عصار ه‌ی جلبک *Chlorella* در تهیه لوازم آرایشی، بهداشتی و با توجه به پلی‌ساکاریدهای موجود در آن در داروسازی استفاده میگردد (صفری، ۱۳۸۳). مطالعات زیادی بر روی فعالیت ضدباکتری ریز جلبک‌ها انجام شده است. Prakash و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت ضدباکتری ۸ گونه جلبک آب شیرین را علیه ۶ گونه از باکتری‌های بیماری‌زای انسانی مورد بررسی قرار دادند. Nair و Krishnika (۲۰۱۱)، فعالیت ضدباکتری اعضای *Chlorophycea* مانند *Chlorella* sp. *Chlamydomonas* sp. و *Scenedesmus* sp. را علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی بررسی کردند. Cakmak و همکاران (۲۰۱۴) فعایت ضدباکتری جلبک *Dunaliella salina* را علیه باکتری‌های بیماری‌زای ماهی و انسان بررسی کردند. اولین بررسی فعالیت ضدباکتری از جلبک *Chlorella* Sp. توسط Pratt و همکاران (۱۹۴۴) انجام شده است، که فعالیت ضدباکتری را به ترکیبی از اسید چرب یعنی کلرولین[1] نسبت دادندکه فعالیت مهاری بر روی هر دو گونه باکتری گرم منفی و گرم مثبت دارد. *M. luteus* از پوست انسان، محصولات لبنی و حیوانی و آب جو جدا شده و قادر است در خیلی از محیط‌ها مثل آب، گردوغبار و خاک حضور داشته باشد و در دمای ۳۷ درجه رشد می‌کنند. *M. luteus* بر روی پوست انسان باعث شکسته شدن ترکیبات عرق و تبدیل آن ها به بوی بد می‌شود و گمان می‌شود که باکتری مضری نباشد اما این باکتری می‌تواند سیستم ایمنی بدن انسان را مثل

[1] Chlorellin

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.1.6]

بیماری HIV به خطر بیاندازد (Yang *et al.*, 2001; Smith *et al.*, 1999). *Aeromonas hydrophila* باکتری گرم منفی متحرک هوازی و بی‌هوازی اختیاری است که در محیط‌های آبی و دستگاه گوارش ماهیان سالم یافت می‌شود. این باکتری در شرایط استرس‌زا عامل اصلی مرگ و میر در ماهیان آب شیرین بوده و موجب سپتیسمی همراه با خونریزی‌های جلدی و احشایی و تورم روده و مرگ می‌گردد(Tavakoli *et al.*, 2010). مطالعات، نشان داده که عصاره *C. vulgaris* بر اکثر باکتری‌های بیماریزا تاثیرمعنی داری نشان داده است (صفری و همکاران، ۱۳۹۰). از این رو با توجه به کشت آسان و تولید انبوه این ریزجلبک در شرایط آزمایشگاهی و به عنوان یک منبع تجدیدپذیر در تولید مواد دارویی مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثر ضدباکتری عصاره‌های اتری و هگزانی *C. vulgaris* بر علیه دو سویه از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی انجام شد.

مواد و روش ها

کشت و نگهداری نمونه‌ها: در این مطالعه تجربی سویه ریزجلبک *Chlorella vulgaris* از مجموعه ریزجلبک‌ها از انسیتو ماهیان خاویاری تهیه شد. ابتدا برای اطمینان از خالص بودن نمونه‌ها، خالص-سازی به روش پلیت آگار بر روی محیط کشت جامد Zehnder انجام شد (Kotai, 1972). این کار برای به دست آوردن کلونی‌های خالص چندین بار تکرار شد. کلنی‌های موجود در پتری‌دیش، در لوله‌های آزمایش کشت داده شد بدین‌منظور ۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع Zehnder به هر لوله آزمایش تزریق شد. سلول-های جلبک با استفاده از آنس استریل شده روی شعله به هر لوله آزمایش منتقل شدند. نمونه‌ها زیر لامپ فلورسنت (با شدت نوری ۲۵۰۰ لوکس) به مدت ۱۰ روز در دمای۰/۵± ۲۴ درجه سانتی‌گراد پرورش یافتند. مراحل بعدی کشت به ترتیب در ارلن مایرهای ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر انجام شد. سرانجام کشت در داخل ارلن مایرهای ۴۰۰۰ میلی‌لیتر با اعمال هوادهی صورت گرفت. پس از رسیدن به حجم و تراکم سلولی مناسب (۵۰×۱۰^{۴} سلول در میلی‌لیتر) از کشت برداشت شدند.

عصاره‌گیری: برای گرفتن عصاره ریزجلبک از روشCannell و همکاران (۱۹۸۸)، استفاده شد. تغلیظ جلبک به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه با سانتریفیوژ (RPM- 4000) انجام شد. برای تهیه بیومس نمونه‌ها به مدت ۸ ساعت در دستگاه فریزدرای (ALPHR 1-2 LO) قرار داده شدند. سپس در هاون ساییده شدند. مقدار ۰/۲ گرم از بیومس خشک شده جلبک با ۵ میلی‌لیتر از حلال‌های هگزان و اتر به صورت جداگانه به مدت ۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد بر روی دستگاه هیتر استیرر (HMS-300) قرار داده شد. مایع رویی با سانتریوفوژ جدا و برای خارج شدن حلال در دمای محیط قرار داده شد. تمام عصاره‌های خشک شده در میکروتیوپ‌های استریل جمع‌آوری و تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

میکروارگانیسم‌های مورد بررسی: باکتری بیماریزای آبزیان *Aeromonas hydrophila* و باکتری بیماریزای انسانی *Micrococcus luteus* از آزمایشگاه کاوشگران طبیعت پاک(CNE)تهیه شدند. محیط

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.1.6]

نوترینت آگار[۱] و تریپتون سوی آگار[۲] برای رشد باکتری استفاده شد. محیط کشت باکتری‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه (فن‌آوران سهند آذر FSA) شد. فعالیت ضدمیکروبی با استفاده از روش چاهک‌گذاری تعیین شد. پس از طی مدت زمان لازم برای رشد باکتری‌ها در محیط نوترینت آگار و تریپتون سوی آگار ۴۰ میکرولیتر از هر باکتری بر روی محیط کشت نوترینت آگار و تریپتون سوی آگار اضافه و با استفاده از سوآپ پنبه‌ای به صورت سفره‌ای کشت داده و در هر پلیت به وسیله انتهای پیپت پاستور سه چاهک در وسط محیط کشت ایجاد شد و از غلظت-های (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) عصاره در چاهک‌ها ریخته و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد انکوبه شدند. پس از ۲۴ ساعت هاله عدم رشد باکتری‌ها بررسی و قطر آنها با خط کش شفاف در حد میلی‌متر اندازه‌گیری شد. تمام مراحل در کنار شعله و شرایط استریل انجام پذیرفت (Tuney *et al*., 2006. Sharma *et al*., 2011, Nair *et al*., 2011).

کروماتوگرافی جرمی – حجمی: شناسایی و تخمین ترکیبات موجود در عصاره‌ها با استفاده از کروماتوگرافی جرمی- حجمی[۳] با دستگاه 5975c Agilent انجام شد. ستون HP-5MS استفاده شد. برای آشکارسازی از سیستم یونیزاسیون الکترون با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت استفاده شد. گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل و سرعت جریان آن ۳ میلی‌لیتر در دقیقه تنظیم شده و تزریق نیز در دمای محفظه تزریق ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. تغییرات دمایی آون به‌صورت دمای ابتدایی ۵۰ درجه سانتی‌گراد، سپس ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود. ولتاژ مطلق ۱۱۱۸ ولت بود. تخمین کمی ترکیبات شناخته شده بر اساس سطح پیک نسبی انجام شد. تعیین ترکیبات بر اساس مقایسه زمان بازداری نسبی و طیف جرمی با کتابخانه موجود در دستگاه (WILLY, NIST) انجام شد.

آنالیزهای آماری: کلیه داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS 16 تجزیه و تحلیل شدند. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون K-S و همگن بودن واریانس ها با آزمون Levene بررسی شدند. برای مشخص کردن اختلاف معنی‌دار برای ۳ غلظت از آنالیز واریانس یک‌طرفه[۴] استفاده شد (Kokou *et al*., 2012).

نتایج

اثرات ضدباکتری عصاره *C. vulgaris* علیه گونه-های باکتریایی *M. luteus* و *A. hydrophyla* به وسیله ارزیابی قطر هاله عدم رشد مورد سنجش قرار گرفت (شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ۴). نتایج حاصل از فعالیت ضدباکتری عصاره هگزانی و اتری ریزجلبک *C. vulgaris* درجدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که عصاره هگزانی و اتری ریزجلبک *C. vulgaris* فعالیت ضدباکتری علیه باکتری های *M. luteus* و *A. hydrophila* دارند و اثرگذاری عصاره اتری بر روی هر دو گونه باکتری بیشتر از عصاره هگزانی بود. چنانچه در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود فعالیت ضدباکتری با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت. این

[۱] Nutrient agar
[۲] Tryptone soya agar
[۳] Gas Chromatography- Mass Spectrum
[4] One-Way ANOVA

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.1.6]

ویژگی یک فعالیت وابسته به دوز تا غلظت ۲۰۰ میلی-گرم بر میلی‌لیتر بود. غلظت‌های مختلف عصاره هگزانی روی باکتری‌های *M. luteus* و *A. hydrophyla* تغییرات معنی‌داری را نشان نداد (P>0/05). اثرگذاری عصاره اتری این ریزجلبک در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی_لیتر بر باکتری‌های *M. luteus* و *A. hydrophyla* به طور معنی‌داری بیشتر از سایرغلظت‌ها بود (P<0/05). درتجزیه و تحلیل نتایج حاصل از گاز کروماتوگرافی، عصاره اتری *C. vulgaris* درصد بالایی از ترکیبات دی اتیل فتالات[۱] (۹۸٪)، سیکلو پنتاتیک اسید[۲] (۹۸٪)، ۷-استیل – ۶- اتیل ۱ و ۱و ۴و۴ – تترا متیل تترالین[۳] (۹۶٪)، لیمونن[۴] (۹۶٪) ،ایکوسان[۵] (۹۳٪)، ۱- هیدرو ایزوایندول ۱ و ۳- (۲ هیدرو) دی تی یون و دو اتیل[۶] (۹۰٪) را نشان داد (جدول۲). در حالی که در عصاره هگزانی لیمونن (۹۸٪)، دی هیدرو متیل جاسمونات[۷] (۹۶٪) ترکیبات غالب بودند (جدول۳).

جدول ۱: نتایج حاصل از فعالیت ضدباکتری عصاره هگزانی و اتری ریزجلبک *C. vulgaris*

	عصاره هگزانی			عصاره اتری		
غلظت(mg/ml)	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۵۰	۱۰۰	۲۰۰
M. luteus	۹/۳	۱۱	۱۱/۶	۲۰/۳	۲۲/۶	۲۵
A.hydrophila	۹/۶	۱۰	۱۱	۷/۶	۱۱/۳	۱۶

[۵] Diethyl Phthalate
[۶] Cyclopentaneacetic acid
[۷] 7-acetyl-6-ethyl-1,1,4,4-tetramethyltetralin
[۸] Limonene
[۹] Eicosane
[۱۰] 1H-Isoindole-1,3(2H)- dithione, 2-ethyl
[۱۱] Dihydro methyl jasmonate



شکل ۱: هاله عدم رشد عصاره هگزانی جلبک *C. vulgaris* علیه باکتری *M. luteus* (غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)



شکل ۲: هاله عدم رشد عصاره اتری *C. vulgaris* علیه باکتری *M. luteus*(غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)



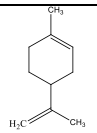
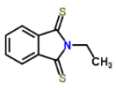
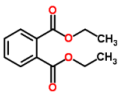
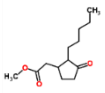
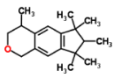
شکل ۳: هاله عدم رشد عصاره اتری جلبک *C. vulgaris* علیه باکتری *A. hydrophila*(غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)



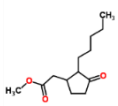
شکل ۴: هاله عدم رشد عصاره هگزانی جلبک *C. vulgaris* علیه باکتری *A. hydrophila*(غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.1.6]

جدول۲: ترکیبات حاصل از کروماتوگرافی گازی – جرمی عصاره اتری ریزجلبک *C.vulgaris*

دسته ترکیبات شیمیایی	ساختار	فرمول بسته	٪	اسم ترکیب
هیدروکربن		$C_{10}H_{16}$	96	Limonene
هتروسیکل		$C_{10}H_9NS_2$	90	1H-Isoindole-1,3(2H)-dithione, 2-ethyl
هیدروکربن		$C_{20}H_{42}$	93	Eicosane
استر		$C_{12}H_{14}O_4$	98	Diethyl Phthalate
استر		$C_{13}H_{22}O_3$	98	Cyclopentaneacetic acid
هتروسیکل		$C_{18}H_{26}O$	95	Galaxolide
کتون		$C_{18}H_{26}O$	96	7-acetyl-6-ethyl-1,1,4,4-tetramethyltetralin

جدول۳: ترکیبات حاصل از کروماتوگرافی گازی–جرمی عصاره هگزانی ریزجلبک *C.vulgaris*

دسته ترکیبات شیمیایی	ساختار شیمیایی	فرمول بسته	درصد	اسم ترکیب
هیدروکربن		$C_{10}H_{16}$	98	Limonene
استر		$C_{13}H_{22}O_3$	96	Dihydro methyl jasmonate

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.1.6]

بحث

با توجه به مقاومت روزافزون ریزجلبک‌ها به آنتی-بیوتیک‌ها و گرایش عمومی به بکارگیری ترکیبات طبیعی در نواحی متعددی از دنیا، شناسایی میکروارگانیسم‌ها و بررسی اثرات ضدمیکروبی آنها اهمیت خاصی پیدا کرده است. بسیاری از ریز جلبک-های آب شیرین به عنوان منبع بالقوه از مواد ضدباکتری شناخته شده اند (Bhagavathy *et al.*, 2011). در بررسی حاضر مشاهده شد که عصاره اتری و هگزانی حاصل از ریز جلبک *C. vulgaris* فعالیت مهاری بر روی باکتری *M. luteus* و *A. hydrophila* را دارد. در مقایسه اثر ضدباکتریایی دو نوع عصاره بر روی دو سویه از باکتری، تمامی غلظت‌های عصاره‌های *C. vulgaris* علیه باکتری‌های *M. luteus* و *A. hydrophila* خاصیت مهارکنندگی متوسط تا بالا را نشان دادند. عصاره هگزانی در تمامی غلظت‌ها بر باکتری‌های *M. luteus* و *A. hydrophila* فعالیت مهارکنندگی متوسطی (میانگین۱۰/۴ میلی‌متر) را نشان داد. عصاره اتری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری *M. luteus* (میانگین ۲۵میلی‌متر) و *A. hydrophila* (میانگین ۱۶ میلی‌متر) فعالیت مهار-کنندگی بالایی نشان داد تاثیر این عصاره در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر باکتری *A. hydrophila* ضعیف بود. در مقایسه بین دو عصاره، بزرگ‌ترین قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم مثبت (میانگین ۲۵میلی-متر) و گرم منفی (۱۶میلی متر) مربوط به عصاره اتری بود. فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های اتری این ریزجلبک برباکتری گرم مثبت *M. luteus* با مطالعه صفری و همکاران (۱۳۹۰) مقایسه شد. با این تفاوت که در مطالعه حاضر از دی‌اتیل اتر به جای استون استفاده شد. عصاره استونی فعالیت بیشتری را از خود نشان داد که تقریبا مشابه فعالیت دی اتیل‌اتر بر باکتری *M. luteus* در این مطالعه می‌باشد. با توجه به استفاده از حلال‌های مختلف برای فعالیت‌های ضدباکتریایی، هنوز نوع مؤثر حلال برای استخراج عصاره نامشخص است (Zheng *et al.*, 2001). تاثیر نوع حلال در عصاره-گیری جلبک روی میزان خواص ضدباکتریایی در تحقیق Rania و همکاران (۲۰۰۸) به خوبی مشهود است. آنها سه گونه سیانوباکتری *Anabaena oryzae*، *Spirulina platen*، *Tolypothrx ceitonica* و دو ریزجلبک *Chlorella* sp. و *Scenedesmus quadricauda* را با چهار حلال متانول، اتانول، دی اتیل‌اتر و استون عصاره‌گیری کردند. عصاره‌ی جلبک-ها علیه باکتری *M. luteus* فعال بود. عصاره‌های مختلف *Chlorella* sp. به ترتیب هاله عدم رشدی معادل ۱۵، ۲۰،۲۵ و۲۵ میلی‌متر تشکیل دادند. مشاهده می‌شود که عصاره استونی و اتری بالاترین فعالیت را بر باکتری گرم مثبت دارند. نتایج حاصل از مطالعه Kokou و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که تاثیر عصاره اتری بر روی باکتری‌های گرم منفی بیشتر است در مقابل مطالعه Al-Wathnani و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که تاثیر عصاره اتری بر باکتری گرم مثبت بیشتر از سایر عصاره‌هاست که با نتایج این مطالعه موافق است. شاید علت آن طبیعت قطبی ترکیبات ضدمیکروبی جلبک و خاصیت قطبی‌تر دی اتیل‌اتر می‌باشد. باکتری *M. luteus* از باکتری‌های گرم مثبت است که برخلاف باکتری‌های گرم منفی دیواره سلولی چند لایه ندارد که این خود می‌تواند سبب شود که ترکیبات فعال به

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.1.6]

آسانی در آن نفوذ کند (Ordog,*et al*., 2004). Priya (۲۰۱۲) اثرات ضدمیکروبی عصاره اتری *C. vulgaris* علیه گونه‌های باکتریایی *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus*، *Micrococcus luteus* و *Klebsiella pnemoniae* به وسیله ارزیابی هاله عدم رشد، قطر هاله و ارزش MIC مورد سنجش قرار داد. به طور کلی همه عصاره‌های اتری *C. vulgaris* در برابر همه باکتری‌ها تست شد و فعالیت ضدباکتری به عنوان عامل وابسته به دوز موثر گردید. در بررسی‌های انجام شده توسط Uma و همکاران (۲۰۱۱) بر روی جلبک سبز *Chlorococcum humicola, Chlorella vulgaris, Desmococcus Olivaceous*, با استفاده از عصاره‌های اتری، متانولی، اتانولی و دی متیل سولفواکسید[۱۲] علیه ۵ باکتری گرم منفی و یک باکتری گرم مثبت حداکثر فعالیت ضدباکتری توسط عصاره اتری ریز جلبک *C. vulgaris* بر روی باکتری‌های گرم مثبت مشاهده شد. ترکیبات ضدمیکروبی مشتق شده از جلبک‌های آب شیرین شامل گروه‌های مختلفی از مواد شیمیایی مانند ترکیبات آلیفاتیک هالوژنه، ماکرولیدها، پپتید حلقوی، پروتئین‌ها، پلی‌کتیدها، ترپن‌ها، ساپونین‌ها،کربوهیدرات‌ها، فنول‌ها و اسیدهای چرب می‌باشند (Wijesinghe and Jeon, 2012; Kannan *et al*., 2012) که اثرات ضدباکتری آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی بر باکتری‌های گرم مثبت و منفی اثبات شده است (Kolanjinathan *et al*., 2009; Borowitzka *et al*., 1992; Goud *et al*., 2007) و این فعالیت‌ها وابسته به عوامل بسیاری ازجمله گونه جلبک، اندام مورد استفاده جلبک، حلال‌های مورد استفاده، میکروارگانیسم‌ها، فصل و شرایط رشد و نگهداری جلبک‌ها هستند (Nelson *et al*., 2002; Freile-Pelegrín Morales, 2004; Prakash *et al*., 2011; Radhika *et al*., 2012). در بررسی کروماتوگرافی جرمی- حجمی عصاره ها ترکیب لیمونن با درصد بالا در هر دو عصاره مشترک است. Camarda و همکاران (۲۰۰۷) و Shao و همکاران (۱۹۹۸) بیان کردند که لیمونن موجود در عصاره یکی از اجزای اصلی مسئول فعالیت ضدباکتری است. لیمونن به عنوان رایحه و طعم دهنده در داروها، مواد غذایی و شوینده‌ها و به عنوان حلال در آزمایشگاههای بافت-شناسی استفاده می‌شود. باعث افزایش عملکرد در تحریک گیاهان شده و دارای فعالیت ضدباکتری قوی در مقایسه با ترکیبات تجاری مصنوعی می‌باشد و به عنوان یک منبع طبیعی از مواد ضدمیکروبی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد، احتمالا خاصیت ضدمیکروبی از عصاره‌های این ریز جلبک را می‌توان به آن نسبت داد (Rancic *et al*.,۲۰۰۳). حضور اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع ممکن است اثر ضدمیکروبی *C. vulgaris* را اثبات کند. Desbois و همکاران (۲۰۰۸)، حضور پلی اسید چرب غیراشباع در عصاره متانولی از ریزجلبک *C. vulgaris* را گزارش دادند که یک اسید چرب اشباع نشده در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بوده و بسیار فعال است. اثر ضدمیکروبی می-تواند مربوط به ترکیبات فرار در نمونه مانند ترپنوئید و اسیدهای چرب فرار باشد. Cho و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که ترکیبات فنولی و ترپنوئیدها دارای فعالیت ضدباکتریایی هستند و قادرند از طریق تخریب غشاء از رشد میکروارگانیسم جلوگیری کنند. Uma و همکاران (۲۰۱۱) و Bhagavathy و همکاران (۲۰۱۱)

[۱۲] Dimethyl sulfoxide

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.1.6]

فعالیت ضدباکتری از *C. vulgaris* را به اسیدهای چرب، ترپن‌ها، فنول‌ها و کربوهیدرات‌ها نسبت دادند. بررسی حاضر نشان داد که می‌توان از عصاره‌های *C. vulgaris* برای کنترل عوامل بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا در صنعت داروسازی و آبزی‌پروری استفاده کرد. از لحاظ اکولوژیکی این احتمال وجود دارد که متابولیت‌های ثانویه تولیدشده توسط جلبک‌های مختلف، می‌توانند در حفاظت از بیماری‌های انسان و ماهی‌ها نقش داشته باشند. تجدیدپذیر بودن ریزجلبک-ها (با کشت یا به‌طور طبیعی) برای توسعه محصولات ضدباکتری مزیت دیگر این متابولیت‌ها است و به لحاظ اقتصادی می‌توان روش‌های استاندارد تهیه عصاره در مقیاس بزرگ با راندمان ضدباکتری بالا و تجدیدپذیر را توسعه داد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. صفری، ر.، ابطحی، ب.، طیبی، پ.، ۱۳۹۰. بررسی اثرات بازدارندگی عصار ی جلبک *Chlorella vulgaris* در محیط کشت آزمایشگاهی روی باکتری *Bacillus subtilis* . مجله علمی پژوهشی علوم و فناوری غذایی. ۲ (۳)، ۳۳-۲۷.

۲. صفری، ر.، ۱۳۸۳. تاثیر *Chlorella vulgaris* بر برخی از باکتر های بیماریزا و مولد مسمومیت غذایی. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ۶۹ صفحه.

3. Al-Wathnani, H., Ara, I., Tahmaz, R., Al-Dayel, T., Bakir, M., 2012. Bioactivity of natural compounds isolated from cyanobacteria and green algae against human pathogenic bacteria and yeast. Journal Medicinal Reserarch, 6 (18), 3425-3433.
4. Bhagavathy, S., Sumathi, P., Bell, I., 2011. Green algae Chlorococcum humicola-a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pacific* Journal of Tropical Biomedicine, 1(1), 1-7.
5. Borowitzka, M., 1992. Algal biotechnology products and processes—matching science and economics. Journal of applied phycology, 4(3), 267-279.
6. Cakmak, Y., Murat, K., Meltem, A., 2014. Biochemical composition and bioactivity screening of various extracts from dunaliella salina, a green microalga. Experimentl and clinical Sciences, 13, 679-690.
7. Camarda, L., Dayton, T., Di Stefano, V., Pitonzo, R., Schillaci, D., 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of some oleogum resin essential oils from *Boswellia spp*. (Burseraceae). Annali di chimica, 97(9), 837-44.
8. Cannell, R., Ania, M., Owsianka, M., 1988. Results of a large-scale screening programme to detect antibacterial activity from freshwater algae. British Phycological Journal, 23(1), 41-44.
9. Cho, W., Choi, J., Lee, K., Chung, M., Pyun, Y., 2008. Antimicrobial activity of Toilin Isolated from Torilis japonica Fruit against *Bacillus subtilis*. JFS M: Food Microbiology and Safety, 1, 37- 43.
10. Desbois, A., Mearns-Spragg, A., Smith, V., 2009. A fatty acid from the diatom Phaeodactylum tricornutum is antibacterial against diverse bacteria including multi-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Marine Biotechnology, 11(1), 45-52.
11. Ely, R., Tilvi, S., Naik, G., 2004. Antimicrobial activity of marine organisms collected off the coast of South East India. Journal of experimental marine biology and ecology, 309(1), 121-127.
12. Febles, C., 1995. In vitro study of antimicrobial activity in algae

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.1.6]

Németh, L., 2004. Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. Journal of Applied Phycology, *16*(4), 309-314.
23. Ostensvik, O., 1998. Antibacterial properties of extracts from selected planktonic freshwater cyanobacteria-a comparative study of bacterial bioassays. Journal of applied microbiology, 84(6), 1117-1124.
24. Prakash, J., Johnson, M., Jeeva, S., 2011. Antimicrobial activity of certain fresh water micro-algae from river Thamirabarani, Tamilnadu, South India. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 1(2), 168-171.
25. Pratt, R., John, F., Oneto, J., 1944. Studies on Chlorella vulgaris. X. Influence of the age of the culture on the accumulation of chlorellin. American Journal of Botany, 32(7), 405-408.
26. Priya, S., 2012. Analysis of value–added biochemical compounds and antimicrobial activity of green algae *Chlorella vulgaris*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Reserach, 4:2577-2579.
27. Radhika, D., Veerabahu, C., Priya, R., 2012. Antibacterial activity of some selected seaweeds from the Gulf of Mannar coast, South India. *Asian Journal* Pharm Clinnical Research, *5*(4), 276-282.
28. Rania, M., Abedinhala, A., Taha, M., 2008. Antibacterial and Antifungal Activity of Cyanobacteria and Green Microalgae. Global Journal of Biotechnology and Biochemistry, 3(1), 22-31.
29. Shao, Y., Ho, C., Chin, C., Badmaev, V., Huang, M., 1998. Inhibitory activity of boswellic acids from Boswellia serrata against human leukemia HL-60 cells in culture. Planta medica, 64(4), 328-331.
30. Sharma, A., Kanika, Sh., 2011. Should solubility and zone of inhibition be the only criteria for selection of solvent in antimicrobial assay. Advances in Biological Research, 5(5), 241-247.
31. Smith, K. J., Neafie, R., Yeager, J., Skelton, H. G., 1999. Micrococcus (Chlorophyta, Phaeophyta and Rhodophyta) collected from the coast of Tenerife. Anuario del Instituto de Estudios Canarios, 34(2), 181-192.
13. Freile-Pelegrin, Y., Morales, J., 2004. Antibacterial activity in marine algae from the coast of Yucatan, Mexico. Botanica Marina, 47(2), 140-146.
14. Goud, M., Prakash, J., Seshikala, D. and Singara Charya, MA. 2007. Antibacterial activity and biomolecular composition of certain fresh water microalgae collected from River Godavari (India). International Journal on Algae, 9(4), 350-358.
15. Kannan, R., Ragupathi, R., Rajasekaran, A., Perumal, A., 2012. In vitro antioxidant activities of ethanol extract from Enhalus acoroides (LF) Royle. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 3(11), 898-901.
16. Kokou, F., Makridis, P., Kentouri, M., Divanach, P., 2012. Antibacterial activity in microalgae cultures. Aquaculture Research, 43(10), 1520-1527.
17. Kolanjinathan, K., Ganesh, P., Govindarajan, M., 2009. Antibacterial activity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 13(3), 173-177.
18. Kotai, J. 1972. Instructions for preparation of modified nutrient solution Z8 for algae. Norwegian Institute for Water Research, 11(69), 5-11.
19. Moniri, R., Mosayebi, Z., Movahedian, A.H., Mossavi, Gh. A., 2006. Increasing trend of antimicrobial drug-resistance in *Pseudomonas aeruginosa* causing septicemia. Iranian Journal Pub Health, 35(1), 58-62.
20. Nair, B., Krishnika, A., 2011. Antibacterial activity of freshwater Microalga (Sc e ne de sm us sp.) against three bacterial strains. Journal Bioscience Research, 2(4), 160-165.
21. Nelson, M., Phleger, C., Nichols, P., 2002. Seasonal lipid composition in macroalgae of the northeastern Pacific Ocean. Botanica Marina, 45(1), 58-65.
22. Ördög, V., Stirk, W., Lenobel, R., Bancířová, M., Strnad, M., Van Staden, J.,

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.1.6]

folliculitis in HIV-1 disease. *British* Journal of Dermatology, *141*, 558-561.
32. Tavakoli, H., Akhlaghi, M., 2010. Evaluation of changes in lysozyme, immunoglobulins, and hematocrit blood cells in *rainbow trout* after experimental infection with the pathogen *Aeromonas hydrophila*. Journal of Veterinary Research, 64(2), 157-162.
33. Uma, R., Sivasubramanian, V., Niranjali Devaraj, S., 2004. Preliminary phycochemical analysis and in vitro antibacterial screening of green micro algae, Desmococcus olivaceous, Chlorococcum humicola and Chlorella vulgaris. Journal Algal Biomass Utln, 2, 74-81.
34. Wijesinghe, W., Jeon, Y., 2012. Biological activities and potential industrial applications of fucose rich sulfated polysaccharides and fucoidans isolated from brown seaweeds: A review. Journal Carbohydrate Polymers, 88(1), 13-20.
35. Yang, L., Zhang, L. M., 2009. Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. Carbohydrate polymers, 76(3), 349-361.
36. Zheng, Y., Chen, Y., Lu H., 2001. Screening for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the Fujian coast of China with threedifferent solvents. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 19(4), 327-331.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-05]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.3.1.6]