



Synthesis of silver nanoparticles in an environmentally friendly method using *Laurencia caspica* hydroalcoholic extract and evaluation of its antioxidant properties and antibacterial activity

Shahab Ojani¹ | Farid Gholamreza Fahimi² | Mohsen Mohammadi³ | Meysam Pashae⁴

1. Corresponding Author, Institute of Nano Science and Nano Technology, University of Kashan, Kashan, Iran. E-mail: shahab_ojani@yahoo.com

2. Department of Environment, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran. E-mail: fg.fahim63@gmail.com

3. Department of Biology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran. E-mail: mohsenmohammadi580101@gmail.com

4. Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, Karaj Branch. Karaj. Iran. E-mail: pashaeemeysam@yahoo.com

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 10 August 2024
Received in revised form 02 October 2024
Accepted 22 October 2024
Published online 01 July 2025

Keywords:

Antioxidant properties,
Environment,
Escherichia coli,
Laurencia caspica,
Silver nanoparticles.

ABSTRACT

Nanotechnology has seen significant advances in nanomaterials today, with the development and discovery of new methods, concerns about environmental pollution by nanoparticles through chemical and physical methods have increased. So the need for green chemistry methods that are non-toxic and environmentally friendly is felt. Hence, the aim of the present project is to synthesize silver nanoparticles in an environmentally friendly way using *Laurencia caspica* (*L. caspica*) hydroalcoholic extract and evaluation its antioxidant and antibacterial properties. To do this research, the red algae *L. caspica* was collected from the beaches of Tonekabon and used the microwave assisted extraction (MAE) method to make the extract. Then, in order to identify the bioactive compounds (secondary metabolites) in the extract based on Pharmacopoeia, available methods such as trease and evans were used. Next, the measurement of the total amount of phenolic and flavonoid compounds of the extract was determined by the folin-ciocalteu and aluminum chloride colorimetric methods respectively. An environmentally friendly phytosynthesis method was then used as a reducing agent for the center of silver nanoparticles and was characterized by UV-VIS, FT-IR, XRD and TEM synthesized nanoparticles. Next, the antioxidant properties were then calculated by DPPH⁰ and finally the diffusion disc method was used to evaluate antibacterial activity against bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Phytochemical screening of *L. caspica* hydroalcoholic extract confirmed the presence of secondary metabolites such as flavonoids, phenols, tannins, quinones, terpenoids and saponins. The total amount of phenolic and flavonoid compounds of *L. caspica* hydroalcoholic extract was calculated at 95.61±4 and 69.23±2 mg/mL respectively. The images and patterns of the peaks obtained from the devices showed that silver nanoparticles have a roughly spherical shape and with a nanoparticle size of 15 nanometers. The percentage of free radical inhibition related to *L. caspica* hydroalcoholic extract and silver nanoparticles synthesized 76.35±0.5 and 88.54±0.1 respectively, and their IC₅₀ value was also obtained 0.47 and 0.32 µg/ml respectively. The results of the antibacterial activity revealed that in each of the two strains of bacteria, the zone of inhibition (mm) in the sample related to silver nanoparticles increased significantly compared to pure extract, and this amount was higher in both samples in gram negative bacteria than in gram positive bacteria. Therefore, according to the results, the proposed phytosynthesis method, which is environmentally friendly and can be used in various fields as an antibacterial and antioxidant agent, taking into account the secondary metabolites present in *L. caspica* and its significant bioactivity by conducting supplementary studies.

Cite this article: Ojani, S., Gholamreza Fahimi, F., Mohammadi, M., & Pashae, M. (2025). Synthesis of silver nanoparticles in an environmentally friendly method using *Laurencia caspica* hydroalcoholic extract and evaluation of its antioxidant properties and antibacterial activity. *Journal of Natural Environment*, 78 (Monitoring and Management of Natural Environmental Pollutants), 87-100.
DOI: <https://doi.org/10.22059/jne.2024.379541.2697>



سنتر نانوذرات نقره به روش سازگار با محیط زیست با استفاده از عصاره هیدروالکلی *Laurencia caspica* و ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد باکتریایی آن

شهاب اوجانی^۱ | فرید غلامرضا فهیمی^۲ | محسن محمدی^۳ | میثم پاشایی^۴

۱. نویسنده مسئول، پژوهشگاه علوم و فناوری نانو، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران. رایانامه: shahab_ojani@yahoo.com

۲. گروه محیط زیست، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران. رایانامه: fg.fahim63@gmail.com

۳. گروه زیست شناسی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران. رایانامه: mohsenmohammadi580101@gmail.com

۴. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. رایانامه: pashaemeysam@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	نانوفناوری امروزه شاهد پیشرفت های چشم گیری در زمینه نانومواد بوده است که با توسعه و کشف روش های جدید نگرانی ها در مورد آلودگی محیط زیست به وسیله نانوذرات از طریق روش های شیمیایی و فیزیکی بیشتر شده است. بنابراین نیاز به روش های شیمی سبز که غیر سمی و دوست دار محیط زیست هستند احساس می شود. از این رو، هدف از پژوهش حاضر سنتر نانوذرات نقره به روش سازگار با محیط زیست با استفاده از عصاره هیدروالکلی جلبک قرمز دریای خزر (<i>Laurencia caspica</i> (<i>L. caspica</i>) و ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی آن است. برای انجام این پژوهش، جلبک قرمز <i>L. caspica</i> از سواحل تنکابن جمع آوری و جهت تهیه عصاره از روش مایکروویو استفاده گردید. سپس به منظور شناسایی ترکیبات زیست فعال (متابولیت های ثانویه) موجود در عصاره براساس فارماکوپه از روش های موجود نظیر Trease and Evans استفاده شد. در ادامه، اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره به ترتیب با روش های فولین سیوکالتیو و رنگ سنجی آلومینوم کلراید تعیین گردید. سپس از یک روش فیتوسنتر سازگار با محیط زیست به عنوان عامل کاهنده جهت سنتر نانوذرات نقره استفاده و با کمک دستگاه (های) UV-VIS، FT-IR، XRD و TEM نانوذرات سنتر شده مشخصه یابی شدند. در ادامه، خواص آنتی اکسیدانی با روش DPPH ⁰ محاسبه شد و در نهایت جهت ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی در برابر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی از روش دیسک دیفیوژن استفاده گردید. غربالگری فیتوشیمیایی عصاره هیدروالکلی <i>L. caspica</i> حضور متابولیت های ثانویه مانند فلاونوئیدها، فنول ها، تانن ها، کینون ها، ترپنوئیدها و ساپونین ها را تایید کرد. مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره هیدروالکلی <i>L. caspica</i> به ترتیب $95/61 \pm 4$ و $69/23 \pm 2$ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه گردید. تصاویر و الگوی پیک های حاصل از دستگاه (ها) نشان داد که نانوذرات نقره دارای شکل تقریباً کروی و با اندازه نانوذرات ۱۵ نانومتر می باشد. درصد مهار رادیکال آزاد مربوط به عصاره هیدروالکلی <i>L. caspica</i> و نانوذرات نقره سنتر شده به ترتیب $76/35 \pm 0/5$ و $88/54 \pm 0/1$ و مقدار IC ₅₀ آن ها نیز به ترتیب $0/47$ و $0/32$ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد. همچنین نتایج حاصل از فعالیت ضد باکتریایی نشان داد که در هر ۲ سویه باکتری مقدار قطر هاله عدم رشد در نمونه مربوط به نانوذرات نقره نسبت به عصاره خالص به صورت معنی داری افزایش یافته است و این مقدار در هر دو نمونه در باکتری گرم منفی نسبت به باکتری گرم مثبت بیشتر حاصل شد. بنابراین، براساس نتایج روش فیتوسنتر پیشنهادی که سازگار با محیط زیست بوده و همچنین با در نظر گرفتن متابولیت های ثانویه موجود در <i>L. caspica</i> و فعالیت زیستی قابل ملاحظه آن، با انجام مطالعات تکمیلی قابلیت استفاده در زمینه های مختلف را به عنوان عامل ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی دارد.

کلیدواژه ها:

اشریشیاکلی،

جلبک قرمز دریای خزر،

خواص آنتی اکسیدانی،

محیط زیست،

متابولیت های ثانویه،

نانوذرات نقره.

استاد: اوجانی، شهاب؛ غلامرضا فهیمی، فرید؛ محمدی، محسن؛ و پاشایی، میثم (۱۴۰۴). سنتر نانوذرات نقره به روش سازگار با محیط زیست با استفاده از عصاره هیدروالکلی *Laurencia caspica* و ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد باکتریایی آن. محیط زیست طبیعی، ۷۸ (ویژه نامه پایش و

مدیریت آلاینده های محیط زیست طبیعی)، ۸۷-۱۰۰.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jne.2024.379541.2697>



© نویسندگان.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

مشکلات عمده محیط زیست بر روی سلامتی انسان ها و اکوسیستم ها تأثیر منفی دارد و حفظ محیط زیست و توسعه پایدار آن به اقدامات فوری و استفاده از روش های نوین نیازمند است که از جمله مهم ترین، پیشرفته ترین و پویاترین دانش های حال حاضر دنیا، می توان به فناوری نانو اشاره کرد که با توجه به ظرفیت زیاد، کارایی بالا و فراوانی جهت بهره گیری در دانش های گوناگون نظیر دانش پزشکی، داروسازی، آرایشی - بهداشتی، کشاورزی، محیط زیست و غیره مورد استفاده قرار می گیرد. در رابطه با کاربردهای نانوذرات در حوزه محیط زیست می توان به مواردی مانند حذف آلودگی های آب، فاضلاب و هوا و همچنین از طرفی نیز می توان به استفاده از آن ها در وسایل محیط زیستی مانند حسگرهای شیمیایی جهت تشخیص آلاینده ها و کاهش گازهای گلخانه ای اشاره کرد (Som et al., 2011; Pattanayak et al., 2021; Dong et al., 2021). در واقع، به توانمندی ساخت، کنترل و بهره بردن از ماده های مختلف در اندازه های نانومتری که در این ابعاد مواد ویژگی های فیزیکی شیمیایی خاصی دارند، فناوری نانو می گویند که در این شرایط، این ذرات از همان ترکیب متمایز خواهد بود (Atwan and Hayder, 2020). از جمله ویژگی های متمایز مواد در ابعاد نانومتری می توان به سبک و کوچک بودن ابعادی آن، انحلال و پراکندگی سریع، بهره بردن از مقادیر اندک، کاربری چندگانه و صرفه جویی در ماده های مصرفی اشاره نمود (Montazeri and Ojani, 2018). نانوذرات با مولکول های آلی و غیرآلی بیشتر واکنش نشان می دهند چرا که ساخت و به وجود آوردن ذره ها در ابعاد نانو سبب زیاد شدن نسبت سطح به حجم در نانوذرات می گردد. در راستای آماده سازی نانوذرات، دامنه گسترده ای از پلیمرهای سنتزی و طبیعی مورد بهره برداری قرار می گیرند و جهت ایجاد نانوذرات، اکثراً از روش های فیزیکی و شیمیایی استفاده می گردد. هر چند این روش ها با معایبی همراه هستند که از این میان می توان به مصرف ماده های سمی و زیان آور، تلف شدن انرژی، طولانی بودن، خطرناک بودن برای انسان و محیط زیست، اشاره نمود. در حقیقت علاوه بر نگرانی هایی درباره ایمنی مواد جدید، ساخت آن ها نیاز به قابلیت های پیچیده فناوری و امکانات تخصصی دارد که بیشتر در کشورهای توسعه یافته وجود دارند. بنابراین شناخت خطرات استفاده از نانو مواد و هزینه های ناشی از خسارات آنها بسیار مهم و حیاتی می باشد به طوری که ارزیابی خطرات ناشی از تجزیه نانو مواد، شناخت ساختار شیمیایی و کاهش تولید ضایعات در فناوری برای پیش بینی اثرات مثبت و منفی احتمالی فرآورده های نانو لازم است (Ojani, 2024). به همین جهت، دست یافتن به شیوه ای با بازده بالا، هزینه پایین، عدم ایجاد مواد سمی و فاقد زبان های محیط زیست مد نظر قرار گرفته است (Pattanayak et al., 2022). در این بین، تولید به شیوه زیستی یکی از همین روش های مورد توجه جهت تولید نانوذرات می باشد که در این روش از گیاهان، جلبک ها، قارچ ها و میکروارگانیسم ها در تولید زیستی نانوذرات استفاده می شود (Ojani, 2015). در واقع، ترکیبات زیستی فراوانی در گیاهان و جلبک ها مانند پلی فنول ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها و غیره وجود دارند که قادرند نقش مهمی را در کاهش زیستی، شکل گرفتن و تثبیت نانوذرات ایفا کنند (Murugesan et al., 2017; Jain and Mehata, 2017). در سال های گذشته، به دلیل افزایش آمار مرگ به وجود آمده در اثر سرطان ها و پیامدهای مربوط به حوزه شیمی درمانی و رادیوتراپی، نیاز به دستیابی به روش های نوین جهت کنترل سرطان و بیماری های صعب العلاج حس می گردد که از جمله این روش ها می توان به روش بهره گیری از نانوذرات زیستی به ویژه نانوذرات نقره اشاره نمود (Zafar & Zafar, 2019). در واقع، نانوذرات نقره به دلیل ابعاد ویژه ای که دارند دارای ویژگی های فیزیکی و شیمیایی منحصر به فردی هستند که از این میان می توان به ویژگی ضد باکتریایی، آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی آن ها اشاره کرد (Martinez-Gutierrez et al., 2010). در حقیقت، نانوذرات نقره، از جمله پرکاربردترین نانوذرات در زمینه درمان است که براساس تحقیقات صورت گرفته در سال های اخیر نشان می دهند که این نانوذرات با اختلال در منتقل کردن پیام سلولی، موجب به وجود آمدن اختلال در شبکه ارتباطی سلولی گردیده و نقش به سزایی در صدمه و آسیب به DNA، زیاد شدن مولکول های پروتئینی آپوپتوز و پیاده سازی مرگ برنامه ریزی شده سلولی (آپوپتوزیس) دارند (Titus et al., 2019). در نتیجه موجب زیاد شدن سیگنال های مرگ شده که این موضوع در درمان سرطان از اهمیت فراوانی برخوردار است (Ojani, 2024). از طرفی نیز، یکی از شیوه های تأثیرگذار در درمان بیماری سرطان، القا مرگ برنامه ریزی شده می باشد که به وسیله مسیر درونی به واسطه واکنش لیگاند با گیرنده مرگ در سطح سلول یا مسیر بیرونی به وسیله طیف گسترده ای از عوامل کنترل می گردد (Ojani, et al., 2023). زیست بوم دریایی از منظر ترکیب های طبیعی گرفته شده از نباتات و جانوران، محصولات طبیعی با کاربری های درمانی،

منبع بسیار ارزشمندی است. این ترکیبها در برگیرنده ترکیبهای فعال زیستی و توکسینهای میکروبی هستند (Blunt et al., 2013). ترکیبهای فعال زیستی که در زیست بوم دریا وجود دارند در برگیرنده پروتئینها، قندها، اسیدهای چرب، آنزیمها، ماده های معدنی، رنگدانه ها، پلیمرهای مختلف و غیره می باشند که در حوزه پیشگیری از بیماری های صعب العلاج، تحریک نمودن سیستم ایمنی بدن، کنترل وضعیت استرس آفرین، کنترل وزن بدن، کنترل سطح قند خون و به تأخیر انداختن مرحله پیری به کار می روند (Blunt et al., 2015). از سوی دیگر گرایش محققین به طب دریا به علت در دسترس بودن منابع دارویی برآمده از آن و هزینه کم آنها در مقایسه با داروهای مصرفی پزشکی جدید، راه تازه ای را در درمان بیماری های صعب العلاج گشوده است (Mišurcová et al., 2012). در دانش پزشکی، از فرآورده های طبیعی، بیشتر در تولید داروهای ضد سرطان و مبارزه با بیماری های دیگر عوامل عفونی مورد استفاده قرار می گیرد (Freitas et al., 2012). در حال حاضر نیز بهره بردن از ترکیبهای طبیعی گرفته شده از گیاهان و جانوران به علت ناچیز بودن و یا عدم وجود پیامدهای جانبی زیان آور، اهمیت بسیاری در درمان سرطان، بیماری های صعب العلاج را داراست. جلبکها و فرآورده های تهیه شده از آنها، شامل ترکیبهای طبیعی هستند که تحقیقات گوناگون ثابت نموده اند که ویژگی های ضد باکتریایی، ضد ویروسی و البته ضد سرطانی قابل توجهی دارند (Liu et al., 2015). در بین خانواده های گوناگون جلبکها، جلبکهای قرمز پر سلولی در طب سنتی مصرف های درمانی بسیاری دارند. در این میان، جلبک قرمز با نام علمی *L. caspica* از جمله موجودات زنده بومی ساحل دریای خزر بوده که ویژگی های مخصوص این جلبک شامل پر سلولی بودن، زاد و ولد جنسی، سلول های یوکاریوتی فاقد تاژک و میانک، تغذیه نمودن از نشاسته فلوریدن، بهره گیری از فیکوبیلی پروتئین در رنگدانه ها (که سبب قرمز شدن رنگ آنها می گردد) می باشد (Manilal et al., 2009; Lunt et al., 2011; Lunt et al., 2012). همچنین این جلبک یک منبع سرشار از مواد معدنی نظیر منیزیم، کلسیم، مس، پتاسیم، سلنیوم، روی، ید و آهن و همچنین دارای ویتامین هایی مانند E، C، B، A و K است (Li et al., 2012). شایان ذکر است که تحقیقات اخیر نشان داده شده است مصرف این نوع از جلبک در رژیم غذایی به دلیل وجود ترکیبات مؤثر که سرشار از مواد آنتی اکسیدان است، می تواند بر روی فاکتورهای خون و سیستم ایمنی بدن تأثیرات مثبتی داشته باشد (Khanzadeh et al., 2022). در همین راستا در طی پژوهشی، اثرات زیست فعال عصاره اتانولی *L. caspica* بررسی شد که براساس نتایج مشخص گردید عصاره اتانولی *L. caspica* دارای بالاترین ظرفیت حذف رادیکال آزاد بوده و نرخ ضد تکثیر آن بر رشد سلول های سرطانی A549 و HepG2 به ترتیب ۶۱/۳ و ۵۳/۹ درصد گزارش شد همچنین از نظر فعالیت ضد باکتریایی قطر هاله عدم رشد آن بر روی باکتری های اشریشیاکلی و باسیلوس سرئوس به ترتیب ۱۶/۱ و ۱۰/۷ میلی متر اندازه گیری گردید و براساس این خواص و اثرات زیستی مشخص شد که عصاره *L. caspica* می تواند باعث ارتقاء سلامت و بهبود سیستم ایمنی شود (Tahmasebi and Mofid, 2021). از این رو، هدف از پژوهش حاضر، سنتز نانوذرات نقره به روش سازگار با محیط زیست با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica* و ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی آن می باشد.

روش شناسی پژوهش

الف) نمونه برداری جلبک قرمز *L. caspica*:

در پژوهش حاضر *L. caspica* از سواحل تنکابن در فصل تابستان سال ۱۴۰۱ جمع آوری شد. سپس با آب مقطر کاملاً شستشو داده شد و با استفاده از دستگاه فریز درایر (شرکت سازنده: Christ، مدل Alpha-12 LD Plus) خشک گردید.

ب) تهیه عصاره هیدروالکلی *L. caspica*:

بدین جهت، مقدار ۳۰ گرم از پودر *L. caspica* به همراه ۳۰۰ میلی لیتر حلال (اتانول - آب مقطر) داخل ارلن اضافه و سپس دهانه آن پوشانده شد. بدین منظور، ظرف حاوی پودر گیاه و حلال، به مدت ۱۰ دقیقه به فاصله ۳ دقیقه یک بار، در درون دستگاه مایکروویو (شرکت سازنده: Samsung، مدل دستگاه: GE280S) با توان ۱۰۰ قرار گرفت و این مرحله سه بار تکرار شد. پس از صاف کردن عصاره به دست آمده به کمک کاغذ واتمن شماره ۱، با استفاده از دستگاه روتاری (شرکت سازنده: Efficient، مدل دستگاه: LABOROTA 4001) تغلیظ گردید و در نهایت عصاره خشک توزین و تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۴ درجه سانتی گراد در

یخچال (شرکت سازنده: Samsung، مدل دستگاه: RT790 BAEW) نگهداری شد (García-Sarrió M.J et al., 2017; Ojani, 2024).

پ) غربالگری فیتوشیمیایی مقدماتی (روش کیفی) عصاره هیدروالکلی *L. caspica*:

به منظور شناسایی متابولیت‌های ثانویه موجود در عصاره هیدروالکلی *L. caspica* براساس فارماکوپه از روش‌های موجود مانند Trease and Evans "با کمی تغییر" استفاده شد (Trease and Evans, 2002). در این راستا، هر یک از متابولیت‌های ثانویه زیر طبق دستورالعمل ارائه شده شناسایی شدند.

شناسایی کیفی فلاونوئیدها: به ۱ میلی‌لیتر از عصاره، چند قطره محلول آمونیاک ۱ درصد (سیگما آلدریج، آلمان) در یک لوله آزمایش اضافه شد. مشاهده رنگ زرد، نشان‌دهنده وجود فلاونوئیدها است.

شناسایی کیفی کینون‌ها: به ۱ میلی‌لیتر از عصاره، ۱ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ در یک لوله آزمایش افزوده شد. مشاهده رنگ قرمز، مشخصه وجود کینون‌ها است.

شناسایی کیفی تانن‌ها: به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره، ۱ میلی‌لیتر آب مقطر در یک لوله آزمایش اضافه گردید و همچنین چند قطره محلول فریک کلرید ۰/۱ درصد به آن افزوده شد. مشاهده رنگ سبز مایل به قهوه‌ای و یا آبی - مشکی، مشخصه وجود تانن‌ها می‌باشد.

شناسایی کیفی ساپونین‌ها: به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره، ۵ میلی‌لیتر آب مقطر در یک لوله آزمایش افزوده و سپس محلول به خوبی تکان داده شد. مشاهده کف پایدار و مداوم، نشان‌دهنده وجود ساپونین‌ها است.

شناسایی کیفی فنول‌ها: به ۱ میلی‌لیتر از عصاره، ۳ قطره محلول فریک کلرید ۰/۱ درصد (سیگما آلدریج، آلمان) در یک لوله آزمایش اضافه شد. مشاهده رنگ آبی - مشکی، نشان‌دهنده وجود فنول‌ها است.

شناسایی کیفی ترپنوئیدها: در یک لوله آزمایش، به ۵ میلی‌لیتر از عصاره، ۲ میلی‌لیتر کلروفرم (سیگما آلدریج، آلمان) اضافه گردید. سپس به مقدار ۳ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ (سیگما آلدریج، آلمان) به‌دقت به محلول فوق به‌صورت یک لایه افزوده شد. وجود رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز، در سطح مشترک محلول‌ها، مشخصه وجود ترپنوئیدها می‌باشد.

ت: سنجش مقدار فنول کل عصاره هیدروالکلی *L. caspica* به روش رنگ‌سنجی فولین - سیوکالتیو

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره از طریق رنگ‌سنجی به روش فولین - سیوکالتیو مورد بررسی قرار گرفت. بدین‌منظور، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره تهیه گردید. سپس ۰/۲۵ میلی‌لیتر از عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر ۰/۲ نرمال فولین سیوکالتیو (سیگما آلدریج، آلمان) ترکیب شده و پس از گذشت ۵ دقیقه ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات (سیگما آلدریج، آلمان) به آن اضافه شد. در نهایت نیز جذب نمونه حاصل پس از ۱۵ دقیقه در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت سازنده: Rayleigh، مدل دستگاه: 1601) در مقابل بلانک قرائت شد. سپس گالیک اسید (سیگما آلدریج، آلمان) به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به‌کار رفت و مقدار فنول کل براساس میزان معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره گزارش گردید.

ث: سنجش مقدار فلاونوئید کل عصاره هیدروالکلی *L. caspica* به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید:

مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره با استفاده از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید مورد ارزیابی قرار گرفت (Chang et al., 2002). بدین‌منظور، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره تهیه گردید. سپس به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (سیگما آلدریج، آلمان) و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید (سیگما آلدریج، آلمان) ۱۰ درصد اضافه شد. سپس در مرحله بعد ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات (سیگما آلدریج، آلمان) ۱ مولار و همچنین ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. در ادامه، جذب نمونه حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. در نهایت، مقادیر کل ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم روتین (سیگما آلدریج، آلمان) بر گرم عصاره گزارش شد.

ج: تعیین خواص آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی *L. caspica* به روش $DPPH^0$:

فعالیت آنتی اکسیدانی از طریق اندازه گیری ظرفیت مهار رادیکالی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱۰۱ - پیکریل هیدرازیل مورد بررسی قرار گرفت (Brand-Williams et al., 1995). بدین منظور، ۱ میلی لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار ۲ و ۲ دی فنیل - ۱۰۱ - پیکریل هیدرازیل (سیگما آلدریچ، آلمان) به ۱ میلی لیتر از نمونه اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. سپس جذب مخلوط با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر با بلانک متانول قرائت شد. در این سنجش از آسکوربیک اسید (سیگما آلدریچ، آلمان) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. در نهایت، مقدار به دام اندازی رادیکال $DPPH^0$ با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$RSA = (A_B - A_S) / A_B \times 100$$

A_B = میزان جذب نوری کنترل منفی =

A_S = میزان جذب نوری نمونه های مورد آزمایش =

RSA = درصد مهار رادیکال ۲ و ۲ دی فنیل - ۱۰۱ - پیکریل هیدرازیل =

فعالیت آنتی اکسیدانی به صورت مقدار IC_{50} بیان می گردد. در واقع IC_{50} نشان دهنده غلظتی از نمونه است که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکال آزاد می گردد (Sharma and Bhat, 2009).

چ: بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی *L. caspica* به روش انتشار دیسک:

ابتدا باکتری های مورد نظر از مرکز کلکسیون های میکروبی صنعتی ایران خریداری شد. سپس، آزمون فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی *L. caspica* بر روی یک باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس با کد 29213 و همچنین یک باکتری گرم منفی اشیریشیاکلی با کد 25922 با استفاده از روش انتشار دیسک و براساس استاندارد NCCLS انجام گردید (Pfaller et al., 2016; Salari, 2010). برای این منظور، در ابتدا سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند (1.5×10^3 CFU/ml) از تمامی سویه های باکتری تهیه شد. در مرحله بعد با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون تهیه شده، کشت باکتری ها به صورت یکنواخت در سطح محیط مولر هینتون آگار انجام شد. سپس دیسک های استریل در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر از نمونه غوطه ور شدند. در نهایت دیسک های آماده شده با فاصله مشخصی از یکدیگر در داخل پلیت ها قرار گرفتند. پس از این مرحله، پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. سپس قطر هاله عدم رشد براساس میلی متر ارزیابی و ثبت شد. شایان ذکر است که در این سنجش از آنتی بیوتیک آمپی سیلین (سیگما آلدریچ، آلمان) به عنوان کنترل استفاده گردید.

(ح) سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica*:

محلول ۱- مقدار ۰/۱ گرم عصاره به همراه ۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه به مدت ۱ ساعت در دمای محیط بر روی هیتراسیتر (شرکت سازنده: FALC، مدل دستگاه: F60) قرار گرفت. سپس به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ (شرکت سازنده: Sigma، مدل دستگاه: 2-16PK) شد.

محلول ۲- محلول نقره نیترات (سیگما آلدریچ، آلمان) ۰/۱ میلی مولار تهیه شد.

در ادامه، مقادیر مشخصی از محلول های ۱ و ۲ با یکدیگر مخلوط گردید و برای کامل شدن واکنش، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق سانتریفوژ شد تا نانوذرات نقره رسوب کنند. زمانی که مقادیر مشخصی از عصاره با مقادیر مشخصی از محلول نقره نیترات در دمای محیط با یکدیگر ترکیب شدند، نانوذرات نقره تشکیل می شوند.

(خ) مشخصه یابی نانوذرات نقره (بخش دستگاهی):

در این پژوهش، با استفاده از دستگاه (های) طیف سنجی مرئی-ماوراء بنفش^۱ (شرکت سازنده: Analytic jena، مدل دستگاه: SPECORD 250)، طیف سنجی مادون قرمز-تبدیل فوریه^۲ (شرکت سازنده: Bruker، مدل دستگاه: Tensor 27)، پراش

^۱Ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis)

^۲Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)

پرتوی ایکس^۳ (شرکت سازنده: PANalytica، مدل دستگاه: X'Pert Pro MPD)، و میکروسکوپ الکترونی عبوری^۴ (شرکت سازنده: Philips، مدل دستگاه: EM 208) نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica* شناسایی شدند. بدین منظور، در این بخش به اختصار به هر یک از روش‌های مشخصه‌یابی نانوذرات نقره پرداخته شد. طیف‌سنجی مرئی-ماوراء بنفش:

یک تکنیک مهم برای تجزیه و تحلیل نانوذرات سنتز شده است. در این روش، پس از تغییر رنگ مخلوط واکنش، سنتز نانوذرات نقره به وسیله دستگاه مذکور در طول موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت (Asif, et al., 2022). طیف‌سنجی مادون قرمز-تبدیل فوریه: به منظور شناسایی گروه‌های عاملی که مسئول تثبیت کردن نانوذرات سنتز شده هستند. بررسی طیف‌سنجی مادون قرمز - تبدیل فوریه در محدوده ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ نانومتر انجام شد (Basolgu and Iskefiyeli, 2023). پراش پرتوی ایکس:

آزمون پراش پرتوی ایکس، روشی مطمئن و قابل اعتماد است که برای بررسی تشکیل شدن و نوع فاز جامدات پودری به کار می‌رود. بدین منظور، نمونه مربوط به نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica* ابتدا خشک شده و سپس به صورت پودر تهیه شد. پس از آماده‌سازی تصویربرداری از نمونه بر روی بستر شیشه‌ای با زاویه ۲ تا و محدوده ۱۰ تا ۸۰ درجه انجام گردید (Balážová et al., 2022). میکروسکوپ الکترونی عبوری:

جهت بررسی شکل و اندازه از میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد. بدین منظور، یک قطره از نمونه مربوط به نانوذرات نقره سنتز شده بر روی گرید قرار گرفت و پس از خشک شدن با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری تصویربرداری انجام شد (Nie, et al., 2023).

د: تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica* به روش DPPH⁰

فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق اندازه‌گیری ظرفیت مهار رادیکالی ۲ و ۲ دی فنیل - ۱ و ۱ - پیکریل هیدرازیل مورد بررسی قرار گرفت (Brand-Williams et al., 1995). بدین منظور، ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار ۲ و ۲ دی فنیل - ۱ و ۱ - پیکریل هیدرازیل (سیگما آلدیج، آلمان) به ۱ میلی‌لیتر از نمونه (نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica*) اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. سپس جذب مخلوط با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر با بلانک متانول قرائت گردید. در این سنجش از آسکوربیک اسید (سیگما آلدیج، آلمان) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. در نهایت، مقدار به دام‌اندازی رادیکال DPPH⁰ با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$RSA = (A_B - A_S) / A_B \times 100$$

A_B = میزان جذب نوری کنترل منفی

A_S = میزان جذب نوری نمونه‌های مورد آزمایش

درصد مهار رادیکال ۲ و ۲ دی فنیل - ۱ و ۱ - پیکریل هیدرازیل $RSA =$

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت مقدار IC_{50} بیان می‌گردد. در واقع IC_{50} نشان‌دهنده غلظتی از نمونه است که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکال آزاد می‌گردد (Sharma and Bhat, 2009).

ذ: بررسی فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica* به روش انتشار دیسک:

ابتدا باکتری‌های مورد نظر از مرکز کلکسیون‌های میکروبی صنعتی ایران خریداری شد. سپس، آزمون فعالیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica* بر روی یک باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس با کد

³X-ray diffraction spectroscopy (XRD)

⁴Transmission electron microscopy (TEM)

29213 و همچنین یک باکتری گرم منفی اشریشیاکلی با کد 25922 با استفاده از روش انتشار دیسک و براساس استاندارد NCCLS انجام شد (Pfaller et al., 2010; Salari, 2016). بدین منظور، در ابتدا سوسپانسیونی معادل نیم مک فارلند (1.5×10^3 CFU/ml) از تمامی سویه های باکتری تهیه شد. در مرحله بعد با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون تهیه شده، کشت باکتری ها به صورت یکنواخت در سطح محیط مولر هینتون آگار انجام شد. سپس دیسک های استریل در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر از نمونه غوطه ور شدند. در نهایت دیسک های آماده شده با فاصله مشخصی از یکدیگر در داخل پلیت ها قرار گرفتند. پس از این مرحله، پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. سپس قطر هاله عدم رشد براساس میلی متر ارزیابی و ثبت شد. شایان ذکر است که در این سنجش از آنتی بیوتیک آمپی سیلین (سیگما آلدیج، آلمان) به عنوان کنترل استفاده گردید.

ر: محاسبات آماری:

اطلاعات به دست آمده به صورت (انحراف معیار $\pm$ میانگین) برای سه بار تکرار محاسبه و از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ به منظور تجزیه و تحلیل داده ها استفاده شد.

یافته های پژوهش

جدول ۱ نتایج حاصل از بررسی آزمایش های فیتوشیمیایی عصاره هیدروالکلی *L. caspica* را به صورت کیفی نشان می دهد. مطابق نتایج، غربالگری فیتوشیمیایی عصاره هیدروالکلی *L. caspica* حضور متابولیت های ثانویه نظیر فلاونوئیدها، فنول ها، تانن ها، کینون ها، ترپنوئیدها و ساپونین ها را تأیید کرد (جدول ۱). مطابق نتایج جدول ۲ مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره هیدروالکلی *L. caspica* با استفاده از روش فولین سیوکالتیو به صورت اکی والان گالیک اسید در یک گرم عصاره براساس معادله خط منحنی استاندارد ($Y=47/0 \cdot X$, $R^2=0/979$) محاسبه و مقدار $95/61 \pm 4$ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد. در ادامه نیز، مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی عصاره هیدروالکلی *L. caspica* استفاده از روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید به صورت اکی والان روتین در یک گرم عصاره براساس معادله خط منحنی استاندارد ($Y=8/26X$, $R^2=0/995$) تعیین و مقدار $69/23 \pm 2$ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه گردید (جدول ۲). در این پژوهش نظارت بر فرآیند احیای زیستی یون نقره به نانوذرات نقره به وسیله روش طیف سنجی مرئی-ماوراء بنفش انجام شد. بر این اساس، مطابق نتایج شکل ۱ پیک جذب ناشی از پلاسمون سطحی نانوذرات نقره حداکثر پیکی در طول موج ۳۹۰ نانومتر را نشان می دهد.

جدول ۱- غربالگری فیتوشیمیایی عصاره هیدروالکلی *L. caspica*

ردیف	متابولیت های ثانویه	نتایج
۱	فلاونوئیدها	+
۲	کینون ها	+
۳	تانن ها	+
۴	ساپونین ها	+
۵	فنول ها	+
۶	ترپنوئیدها	+

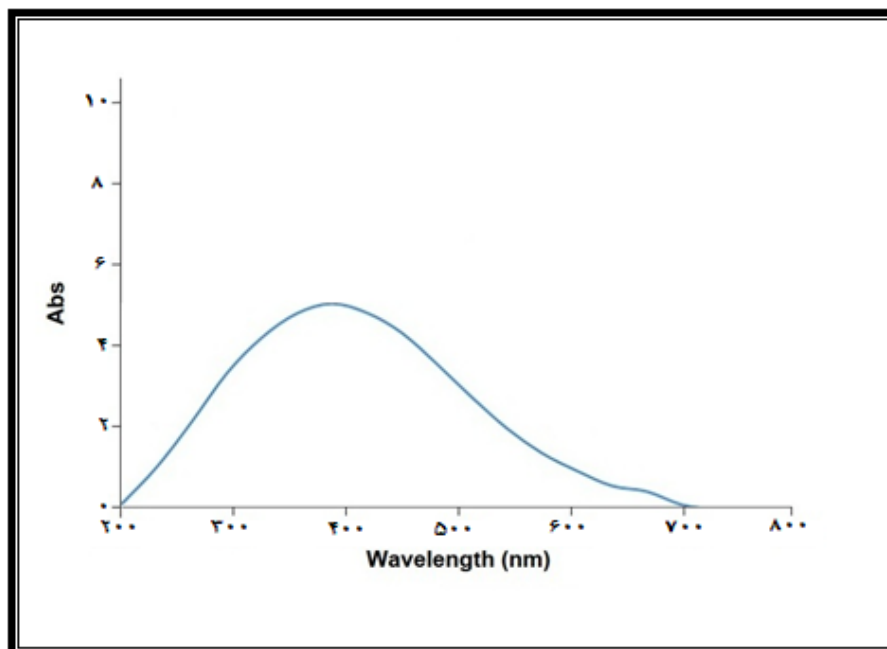
+ : وجود ترکیب مورد نظر / - : عدم وجود ترکیب مورد نظر

جدول ۲- مقادیر فنول و فلاونوئید کل عصاره هیدروالکلی *L. caspica*

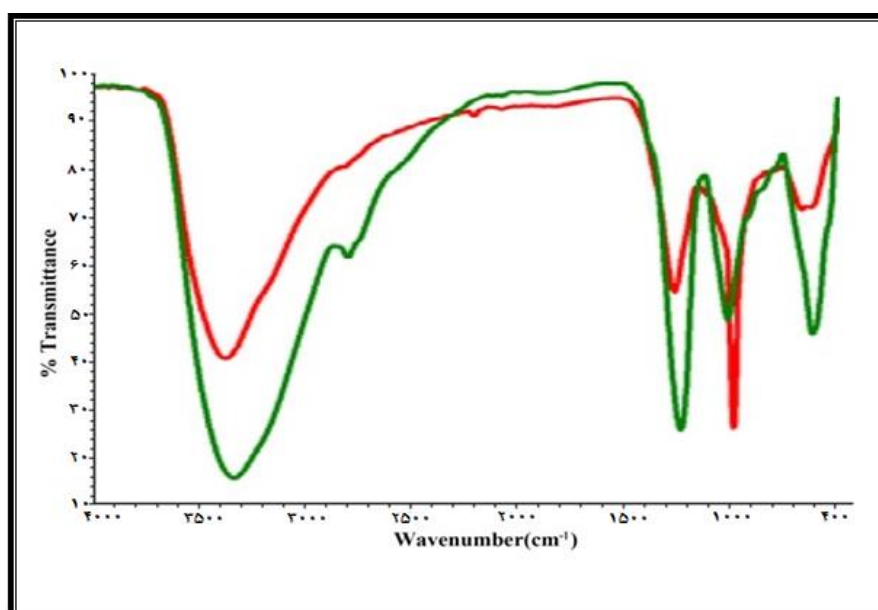
مقدار فلاونوئید کل	مقدار فنول کل
(mg Ru/g)	(mg GAE/g)
$69/23 \pm 23$	$95/4 \pm 61$

بررسی طیف سنجی فروسرخ-تبدیل فوریه: طیف مربوط به فروسرخ تبدیل فوریه، عصاره هیدروالکلی *L. caspica* قبل و بعد از انجام واکنش با نقره نیترات در شکل ۲ نشان داده شده است. مقایسه این دو طیف توان عصاره هیدروالکلی *L. caspica*

در سنتز نانوذرات نقره را نشان می دهد. همان طور که در شکل ۲ مشاهده می شود، پیک های مربوط به گروه های عاملی فعال در نواحی مختلف وجود دارند که بیانگر این است که نانوذرات نقره به وسیله زیست مولکول های موجود در عصاره هیدروالکلی *L. caspica* (متابولیت های ثانویه) عامل دار شده اند. (رنگ سبز: مربوط به عصاره خالص و رنگ قرمز: مربوط به عصاره + نمک فلز است).



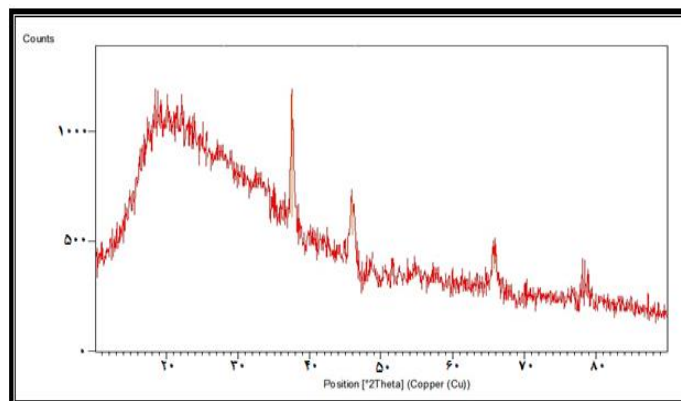
شکل ۱- طیف سنجی مرئی-ماوراء بنفش نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica*



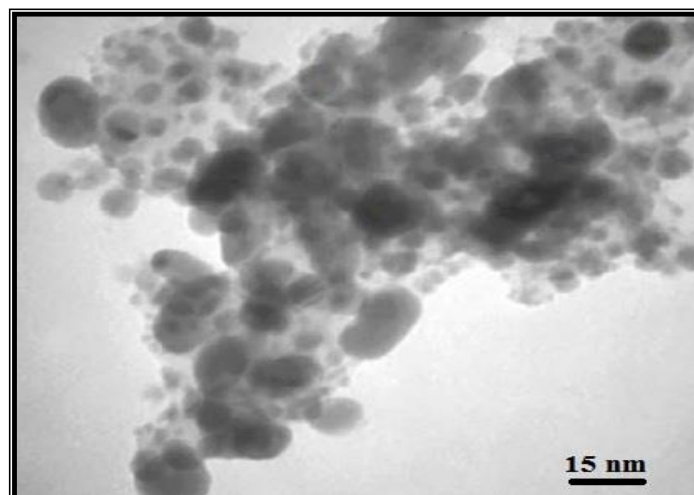
شکل ۲- طیف سنجی فروسرخ-تبدیل فوری نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica*

بررسی الگوی پراش پرتو اشعه ایکس: برای اطمینان از سنتز نانوذرات نقره با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica* ساختار نانوذرات با دستگاه پراش پرتو ایکس مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به شکل ۳ حضور پیک های ظاهر شده مربوط به صفحات کریستالی از قبیل (۱۱۱)، (۲۰۰)، (۲۲۰) و (۳۱۱) در نمونه سنتز شده مشاهده می شود.

بررسی میکروسکوپ الکترونی عبوری: شکل ۴ تصویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی عبوری نانوذرات نقره سنتز شده را با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. capsica* نشان می دهد که ساختار نانوذرات تقریباً کروی است و اندازه نانوذرات ۱۵ نانومتر می باشد.



شکل ۳- الگوی پراش پرتو اشعه ایکس نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. capsica*



شکل ۴- تصویر مربوط به TEM نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. capsica*

همچنین نتایج خواص آنتی اکسیدانی به روش DPPH⁰ براساس معادله خط منحنی استاندارد ($Y=44/42 X, R^2=0/998$) محاسبه شد. در این سنجش از آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید که مقدار IC₅₀ آن ۰/۱۱۶ میکروگرم بر میلی لیتر گزارش گردید. از این رو، بر اساس نتایج جدول ۳، درصد مهار رادیکال آزاد مربوط به عصاره هیدروالکلی *L. capsica* و نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره آن به ترتیب ۷۶/۳۵±۰/۵، ۸۸/۵۴±۰/۱ و همچنین مقدار IC₅₀ نیز ۰/۴۷ و ۰/۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد (جدول ۳). در نهایت جدول ۴ مقدار قطر هاله عدم رشد در عصاره هیدروالکلی *L. capsica* را نمایش می دهد که این مقدار در باکتری گرم منفی نسبت به باکتری های گرم مثبت بیشتر است و مقدار قطر هاله عدم رشد آنتی بیوتیک آمپی سیلین ۶ میلی متر گزارش شد (جدول ۴).

جدول ۳- درصد مهار رادیکال آزاد و IC₅₀ عصاره هیدروالکلی *L. capsica*

ردیف	نوع نمونه	درصد مهار رادیکال آزاد	IC ₅₀ (میکروگرم/میلی لیتر)
۱	عصاره	۷۶/۳۵±۰/۵	۰/۴۷
۲	نانو	۸۸/۵۴±۰/۱	۰/۳۲

جدول ۴- مقادیر قطر هاله عدم رشد عصاره هیدروالکلی *L. caspica*

ردیف	میکروارگانیزم	نوع	عصاره	قطر هاله عدم رشد (میلی متر)
۱	استافیلوکوکوس اورئوس	گرم مثبت	۱۳	۱۸
۲	اشریشیا کلی	گرم منفی	۲۴	۲۸

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از مطالعات پژوهشی نشان می‌دهند که جلبک قرمز دریایی افزون بر چربی کم، دارای اسیدهای چرب امگا ۳ و اسیدهای آمینه ضروری برای بدن است (Cian et al., 2015). جلبک دریایی به عنوان یک ماده فعال زیستی غنی به شمار می‌رود. به عنوان مثال جلبک‌های دریایی مانند جلبک قهوه‌ای دربرگیرنده پلی ساکاریدهای سولفات (فوکوئیدان‌ها) بوده و جهت کنترل التهاب مورد استفاده قرار می‌گیرند (Kim et al., 2016). شیوه زیستی تولید نانوذرات نقره برخلاف شیوه‌های شیمیایی و فیزیکی با طبیعت منطبق بوده و موجب آلودگی محیط زیستی نمی‌شود و افزون بر راحتی و سهولت دسترسی، هزینه کم و قابلیت کنترل دارند (Devaraj et al., 2013). با توجه به نکات فوق، بار دیگر اهمیت مطالعه و پیدا کردن شیوه کارآمدتر و کاربردی تر تولید زیستی نانوذرات نقره مشخص گردید. در این میان، Hong و همکاران (۲۰۱۱) عنوان نمودند که جلبک دریایی *Phaeophyta* و کلروفیتا، تأثیرات ضد التهاب در انسان‌ها و در حیوانات تأثیرات مزمن ضد التهابی دارد. Zaleta-Pinet و همکاران (۲۰۱۴) نیز روی گونه دیگری از خانواده جلبک قرمز با عنوان *Laurencia pacifica*، پژوهشی را در کشور استرالیا مبتنی بر آنالیز تأثیرات ضد سرطانی فرآورده‌های تولیدی جلبک، طراحی نمودند و نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که فرآورده‌های تولیدی جلبک *L. pacifica* حاوی تأثیرات ضد تکثیری روی سلول‌های سرطانی معده، پستان، روده، تخمدان، ریه، پانکراس، پروستات، پوست و نوروبلاستوما در وضعیت آزمایشگاهی است. Kladi و همکاران (۲۰۰۵) نیز به صورت مستقل، اثر ضد تکثیری دو متابولیت ثانویه کوپارن و الاتول مشتق گردیده از جلبک قرمز *Laurencia microcladia* را بر روی رده سلولی A549 سرطان ریه تحت بررسی قرار دادند. در این راستا، تحقیقات گوناگون صورت گرفته روی مشتقات جلبک‌های قرمز، نشان‌دهنده این است که عصاره یا متابولیت‌های ثانویه جلبک‌های قرمز دریایی جهت بهره‌گیری در داروهای ضد سرطانی و ضد التهابی دارای پتانسیل خوبی هستند (Galmarini et al., 2014). بر همین اساس، مطابق با جدول ۱ غربالگری فیتوشیمیایی عصاره هیدروالکلی *L. caspica* حضور متابولیت‌های ثانویه نظیر فلاونوئیدها، فنول‌ها، تانن‌ها، کینون‌ها، ترپنوئیدها و ساپونین‌ها را تأیید کرد و شایان ذکر است که هر یک از این متابولیت‌های ثانویه دارای خواص زیستی متنوعی هستند که در صنایع مختلف از جمله پزشکی، داروسازی، آرایشی - بهداشتی، کشاورزی و غیره کاربرد فراوانی دارند (Pourshamsian and Ojani, 2016). در همین راستا، مطابق با جدول ۲ نتایج حاکی از این است که مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره هیدروالکلی *L. caspica* بیشتر از مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشد که این موضوع نیز با نتایج سایر پژوهشگران مطابقت دارد (VI, 1999). همچنین در بخش فعالیت ضد باکتریایی نیز همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده شد نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از عصاره هیدروالکلی *L. caspica* فعالیت ضد باکتریایی قابل توجهی دارد و این موضوع بیانگر این است که عصاره هیدروالکلی *L. caspica* شامل مواد مؤثره مختلفی است که به واسطه داشتن هر یک از آن‌ها این گونه ویژگی‌ها و خواص‌های زیستی مشاهده می‌شوند. از این‌رو، نانوذرات به دست آمده از این روش به دلیل مزایایی مانند افزایش فراهمی زیستی، کاهش عوارض جانبی، غیرسمی بودن، مقرون به صرفه، پایداری بالا و از همه مهم‌تر سازگار با محیط زیست، توجه محققان را به خود جلب می‌کنند. در طی مطالعه‌ای مشخص گردید که عصاره *L. caspica* باعث ایجاد مقاومت ماهی *Nile tilapia* در برابر *Streptococcus iniae* و *Aeromonas hydrophila* می‌شود و می‌تواند در روند رشد آن تأثیرگذار باشد. همچنین، از طرفی نیز پارامترهای ایمنی مانند لیزوزیم، Ig مخاط را بهبود بخشید و در نهایت باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی مانند تریپسین، α -آمیلاز و لیپاز گردید (Khanzadeh et al., 2024). در طی پژوهشی که در سال ۲۰۲۴ انجام شد، مشخص گردید که عصاره *L. caspica* می‌تواند به عنوان یک محرک زیستی در صنعت کشاورزی مورد استفاده قرار بگیرد. به طوری که نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره *L. caspica* می‌تواند باعث افزایش قابل توجه صفات رویشی و زایشی، از جمله سطح برگ، طول ریشه و ساقه، و زیست توده و همچنین منجر به افزایش سطح فنول و فلاونوئید کل و افزایش

فعالیت آنزیم های کلیدی مانند فنیل آلانین آمونیاک لیاژ (PAL) و دیواره سلولی پراکسیداز (POD)، همراه با افزایش تجمع لیگنین در برگ ها و از طرفی نیز منجر به تجمع بیشتر تیمول و کارواکرول در بافت های گیاهی گیاه *Thymus vulgaris* L. شود (Shariatmadari et al., 2025). با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعات، جلبک قرمز بومی ساحل دریای خزر، تأثیرات زیستی بالایی دارد که به عنوان مثال می توان به ویژگی ضد تکثیر و وابسته به غلظتی که دارد، اشاره نمود که ظاهراً قادر است به عنوان یک ایمونوتوکسین در درمان بیماری ها از جمله سرطان مورد استفاده قرار گیرد؛ هر چند این موضوع نیاز به تحقیقات مولکولی بیشتر در حوزه آنالیز مسیرهای القا آپوپتوز و سازوکار القا آن دارد. بنابراین در مجموع براساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر، روش فیتوستنر پیشنهادی سازگار با محیط زیست بوده و با در نظر گرفتن متابولیت های ثانویه موجود در *L. caspica* و فعالیت زیستی قابل ملاحظه آن می توان با طراحی تحقیقات فارماکولوژی بیشتر در آینده از جلبک قرمز به عنوان دارویی با فعالیت ضد سرطانی و با کمترین پیامدهای منفی جانبی استفاده نمود.

References

- Atwan, Q.S., Hayder, N.H., 2020. Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles by using green method: Improved interaction and application *in vitro* and *in vivo*. The Iraqi Journal of Agricultural Science 51(Special), 201-216.
- Balázsová, L., Čižmarová, A., Baláž, M., Daneu, N., Salayová, A., Bedlovičová, Z., Tkáčiková, L., 2022. Green synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity. Chemické Listy 116 (2), 135-140.
- Basoglu, A., Iskefiyeli, Z., 2023. Green biosynthesis, characterization of silver nanoparticles using a green alga *Spirogyra* sp., and their antioxidant and enzyme activities. International Advanced Researches and Engineering Journal 7(1), 41-51.
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Keyzers, R.A., Munro, M.H., Prinsep, M.R., 2013. Marine natural products. Natural Product Reports 34(2), 237-323.
- Blunt, J. W., Copp, B. R., Keyzers, R. A., Munro, M. H., & Prinsep, M. R. 2015. Marine natural products. Natural Product Reports 32(2), 116-211.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C.L.W.T., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology 28(1), 25-30.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., Chern, J. C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. Journal of Food and Drug Analysis 10(3), 178-182.
- Cian, R. E., Drago, S. R., Sanchez de Medina, F., Martínez-Augustin, O. 2015. Proteins and carbohydrates from red seaweeds: evidence for beneficial effects on gut function and microbiota. Marine Drugs 13(8), 5358-5383.
- Devaraj, P., Kumari, P., Aarti, C., Renganathan, A. 2013. Synthesis and characterization of silver nanoparticles using cannonball leaves and their cytotoxic activity against MCF-7 cell line. Journal of Nanotechnology 2013(6), 598328.
- Dong, J., Xu, W., Liu, S. Du, L., Chen, Q., Yang, T., Gong, Y., Li, M., Tan, X., Liu, Y. 2021. Recent advances in applications of nonradical oxidation in water treatment: mechanisms, catalysts and environmental effects. Journal of Cleaner Production 321 (18), 128781.
- Freitas, A. C., Rodrigues, D., Rocha-Santos, T. A., Gomes, A. M., Duarte, A. C. 2012. Marine biotechnology advances towards applications in new functional foods. Biotechnology Advances 30(6), 1506-1515.
- Galmarini, C. M., D'Incalci, M., Allavena, P. 2014. Trabectedin and plitidepsin: Drugs from the sea that strike the tumor microenvironment. Marine Drugs 12(2), 719-733.
- García-Sarrió, M.J., Sanz, M.L., Sanz J., González-Coloma, A., Cristina Soria, A. A. 2018. New method for microwave assisted ethanolic extraction of *Mentha rotundifolia* bioactive terpenoids. Electrophoresis 39(15), 1957-1965.
- Hong, D. D., Hien, H. M., Anh, H. T. L. 2011. Studies on the analgesic and anti-inflammatory activities of *Sargassum swartzii* (Turner) C. Agardh (*Phaeophyta*) and *Ulva reticulata* Forsskal (*Chlorophyta*) in experiment animal models. African Journal of Biotechnology 10(12), 2308-2313.

- Jain, S., Mehata, M. S. 2017. Medicinal plant leaf extract and pure flavonoid mediated green synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property. *Scientific Reports* 7(1), 15867.
- Khanzadeh, M., Beikzadeh, B., Hoseinifar, S.H. 2023. The Effects of *Laurencia caspica* Algae extract on hemato immunological parameters, antioxidant defense, and resistance against *Streptococcus agalactiae* in *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition* (10), 1-13.
- Kim, B. M., Park, J. H., Kim, D. S., Kim, Y. M., Jun, J. Y., Jeong, I. H., Chi, Y. M. 2016. Effects of the polysaccharide from the sporophyll of brown alga *Undaria pinnatifida* on serum lipid profile and fat tissue accumulation in rats fed a high fat diet. *Journal of Food Science* 81(7), H1840-H1845.
- Kladi, M., Vagias, C., Furnari, G., Moreau, D., Roussakis, C., Roussis, V. 2005. Cytotoxic cuparene sesquiterpenes from *Laurencia microcladia*. *Tetrahedron Letters* 46(34), 5723-5726.
- Khanzadeh, M., Beikzadeh, B. Hoseinifar, S.Y. 2024. Investigating the effect of hydroalcoholic extract of red algae (*Laurencia caspica*) on growth performance, mucosal immunity, digestive enzyme activity and resistance to *Streptococcus iniae* and *Aeromonas hydrophila* in *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Reports* 35, 101984.
- Li, X. D., Miao, F. P., Li, K., Ji, N. Y. 2012. Sesquiterpenes and acetogenins from the marine red alga *Laurencia okamurai*. *Fitoterapia* 83(3), 518-522.
- Liu, Q. A., Zheng, J. J., Gu, Y. C., Wang, C. Y., Shao, C. L. 2015. The chemistry and bioactivity of macrolides from marine microorganisms. *Studies in Natural Products Chemistry* 44, 353-401.
- Lunt, J. W., Copp, B. R., Keyzers, R. A., Munro, M. H., Prinsep, M. R. 2012. Marine natural products. *Natural Product Reports* 29(2), 144-222.
- Lunt, J. W., Copp, B. R., Munro, M. H., Northcote, P. T., Prinsep, M. R. 2011. Marine natural products. *Natural Product Reports* 28(2), 196-268.
- Manilal, A., Sujith, S., Kiran, G. S., Selvin, J., Shakir, C. 2009. Cytotoxic potentials of red alga, *Laurencia brandenii* collected from the Indian coast. *Global Journal of Pharmacology* 3(2), 90-94.
- Martinez-Gutierrez, F., Olive, P. L., Banuelos, A., Orrantia, E., Nino, N., Sanchez, E. M., Av-Gay, Y. 2010. Synthesis, characterization, and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effect of silver and titanium nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 6, 681-688.
- Mišurcová, L., Škrovánková, S., Samek, D., Ambrožová, J., Machů, L. 2012. Health benefits of algal polysaccharides in human nutrition. *Advances in Food and Nutrition Research* 66, 75-145.
- Moodley, J.S., Krishna, S.B.N., Pillay, K., Sershen, P., Govender. 2018. Green synthesis of silver nanoparticles from *Moringa oleifera* leaf extracts and its antimicrobial potential. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology* 9(1), 015011.
- Montazeri, N., Ojani, Sh. 2018. Application of catalysts in the synthesis of heterocyclic compounds. Islamic Azad University (Tonekabon) Publications, First Edition. (In Persian)
- Murugesan, S., Bhuvaneswari, S. U. N. D. A. R. E. S. A. N., Sivamurugan, V. 2017. Green synthesis, characterization of silver nanoparticles of a marine red alga *Spyridia fusiformis* and their antibacterial activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 9(5), 192-197.
- Nie, P., Zhao, Y. Xu, H. 2023. Synthesis, applications, toxicity and toxicity mechanisms of silver nanoparticles: a review *Ecotoxicol. Ecotoxicology and Environmental Safety* 253, 114636.
- Ojani, S., Montazeri, N., Mohammadi Zeydi, M., Ghane, M. 2023. Phytochemical examination of the hydroalcoholic extract of *Polylophium involucreatum* (Pall.) Boiss. harvested from the heights of the Javaherdeh - Ramsar and determination of its cytotoxic effects on chronic myeloid leukemia. *Iranian Journal of Biological Sciences* 18(2), 49-62. (In Persian)
- Ojani, Sh. 2015. Quantitative and qualitative study of the essential oil and alcoholic extract of the *Polylophium involucreatum* (Pall.) Boiss. harvested in the highlands of Ramsar using microwave irradiation and its use to synthesis of silver nanoparticles. (M.Sc) Thesis: Islamic Azad University, Tonekabon Branch. (In Persian)
- Ojani, Sh. 2024. Evaluation of antibacterial effect and toxicity of synthesized selenium nanoparticles using *Polylophium involucreatum* (Pall.) Boiss. seed hydro alcoholic extract on K562 & 8305C cancer cell lines (Ph.D.) Thesis: Islamic Azad University, Tonekabon Branch. (In Persian)
- Pattanayak, D. S., Pal, D., Thakur, C., Kumar, S., Devnani, G. L. 2021. Bio-synthesis of iron nanoparticles for environmental remediation: Status till date. *Materials Today: Proceedings* 44(2), 3150-3155.

- Pattanayak, D. S., Pal, D., Thakur, C., Raut, P., Wasewar, K. L. 2022. Catalytic potential of phyto-synthesized silver nanoparticles for the degradation of pollutants. *Sustainable Engineering, Energy, and the Environment*, 465-481.
- Pfaller, M. A., Diekema, D. J., Gibbs, D. L., Newell, V. A., Ellis, D., Tullio, V., Ling, T. A. 2010. Results from the artemis disk global antifungal surveillance study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *Journal of Clinical Microbiology*. 48(4), 1366-1377.
- Pourshamsian, K., Ojani, S. 2016. Phytochemical screening of the aqueous extract of seeds of *Polylophium involucratum* (Pall.) Boiss. from RAMSAR-IRAN. *Planta Medica* 82(05), PC62.
- Sharma, O. P., Bhat, T. K. 2009. DPPH⁰ antioxidant assay revisited. *Food Chemistry* 113(4), 1202-1205.
- Salari, Z., Danafar, F., Dabaghi, S., Ataei, S. A. 2016. Sustainable synthesis of silver nanoparticles using macroalgae *Spirogyra varians* and analysis of their antibacterial activity. *Journal of Saudi Chemical Society* 20(4), 459-464.
- Shariatmadari, Z., Rasuli, N., Riahi, H., Ghorbani Nohooji, M., Dehestani, Ali. 2025. Enhancing thymol and carvacrol biosynthesis in *Thymus vulgaris* L. using *Laurencia caspica* seaweed extract: biostimulant potential and gene expression insights. *Journal of Applied Phycology*.
- Som, C., Wick, P., Krug, H., Nowack, B. 2011. Environmental and health effects of nanomaterials in nanotextiles and facade coatings. *Environment International* 37 (6), 1131-42.
- Tahmasebi, M., Mofid V. 2021. Innovative synbiotic fat-free yogurts enriched with bioactive extracts of the red macroalgae *Laurencia caspica*: formulation optimization, probiotic viability, and critical quality characteristics. 15(6), 4876-4887.
- Titus, D., Samuel, E. J. J., Roopan, S. M. 2019. Nanoparticle characterization techniques. In *Green synthesis, characterization and applications of nanoparticles*, Elsevier, 303-319.
- Trease, G. E., Evans, W. C. 2002. *Pharmacognosy*. London: Saunders Publishers. 15th edition 584 p.
- VI, S. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299, 152-178.
- Zafar, S., Zafar, A. 2019. Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Phoenix dactylifera* fruits extract and their *in vitro* antimicrobial and cytotoxic effects. *The Open Biotechnology Journal* 13(1), 37-46.
- Zaleta-Pinet, D. A., Holland, I. P., Muñoz-Ochoa, M., Murillo-Alvarez, J. I., Sakoff, J. A., van Altna, I. A., McCluskey, A. 2014. Cytotoxic compounds from *Laurencia pacifica*. *Organic and Medicinal Chemistry Letters* 4: (1), 1-7.