ارزیابی پایداری کرم موضعی حاصل از عصاره آبی جلبک قهوه‌ای (Sargassum tenerrimum)

سمیرا شاه‌حسینی[1]
معظمه کردجزی[1*]
سامان احمدنصراللهی[2]
سیدمهدی اجاق[4]
عاطفه نعیمی‌فر[2]
سلیم شریفیان[3]

۱. گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲. مرکز آموزش و پژوهش بیماری‌های پوست و جذام، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳. گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
۴. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

نویسنده مسئول:
معظمه کردجزی

گرگان، میدان بسیج، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده شیلات
پست الکترونیک:
kordjazi@gmail.com

تعارض منافع: اعلام نشده است.

زمینه و هدف: جلبک‌های دریایی منبع ارزشمندی از مواد فعال زیستی با اثرات متنوع در صنایع آرایشی و بهداشتی مانند محصولات سلامت پوست هستند. یکی از ویژگی‌های اصلی پوست رطوبت است که نقش مهمی در حفظ متابولیسم، فعالیت آنزیمی، خواص مکانیکی، ظاهر و سد محافظتی دارد. هدف از مطالعه حاضر، فرموله‌کردن عصاره آبی جلبک قهوه‌ای Sargassum tenerrimum با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی به‌عنوان کرم رطوبت‌رسان برای ارزیابی پایداری فیزیکوشیمیایی و رشد میکروبی بود.

روش اجرا: جلبک‌ها از منطقه بین جزرومدی سواحل دریای عمان و خلیج‌فارس جمع‌آوری و با آب دریا، شست‌وشوی اولیه داده شدند. بعد از انتقال به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، در آزمایشگاه فرآوری دانشکده شیلات، فرآیند عصاره‌گیری انجام گرفت و در مرکز آموزش و پژوهش بیماری‌های پوست و جذام دانشگاه علوم پزشکی تهران، فرمولاسیون کرم مرطوب‌کننده ۱ درصد تهیه شد. آنالیز آماری خواص آنتی‌باکتری عصاره آبی توسط نسخه ۲۲ نرم‌افزار SPSS صورت گرفت و جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها ازطریق آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way ANONA) انجام شد و مقایسه میانگین‌ها به‌وسیله آزمون دانکن و برای سنجش معنادار بودن اختلافات در سطح ۵ درصد استفاده شد. در نهایت نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند. نتایج بررسی شاخص‌های مورد مطالعه به‌صورت میانگین±انحراف معیار گزارش گردید.

یافته‌ها: با توجه به نتایج، کرم ۱ درصد تهیه‌شده به‌مدت ۶ ماه در دمای اتاق و آون کاملاً پایدار و همگن بود و آزمایشات میکروبی را پشت سر گذاشت.

نتیجه‌گیری: با توجه به موارد فوق، اثربخشی کرم تولیدشده به‌خوبی ثابت شد و می‌توان آن‌را به‌عنوان یک عامل مرطوب‌کننده پوست معرفی کرد.

کلیدواژه‌ها: جلبک دریایی، فرمولاسیون موضعی، مراقبت پوستی، مرطوب‌کننده

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۳/۱۸

پوست و زیبایی؛ بهار ۱۴۰۳، دوره ۱۵ (۱): ۱۳-۳

مقدمه

استخراج مواد بیولوژیکی از آبزیان دریایی و تهیه فرآورده از آنها، یکی از مهم‌ترین زمینه‌های تحقیقاتی در علوم فرآوری آبزیان است. تهیه مواد جدید با کارایی بالا از منابع طبیعی موجود، اساس تحقیقات بسیاری بوده است. در سال‌های اخیر توجه زیادی به استفاده از جلبک‌های دریایی شده است که دلیل آن، مزایای این گروه از آبزیان است که شامل ترکیبات زیست‌فعال مهمی مانند پلی‌ساکاریدها، اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و مواد مغذی می‌باشند و در تولید مواد غذایی، آرایشی و بهداشتی، دارویی و

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-04]

سایر زمینه‌های تحقیقاتی کاربرد فراوانی دارند[۱].

اهمیت جلبک دریایی و عصاره‌های تجاری آن در صنایع آرایشی و بهداشتی با توجه به اینکه تقریباً ۴۰ درصد از بازار هیدروکلوئیدی جهان را تشکیل می‌دهند، آشکار است[۲]. محصولات مراقبت از پوست و مراقبت‌های شخصی جزو دسته اصلی مواد آرایشی در اروپا می‌باشند و به‌دنبال آن‌ها محصولات مراقبت از مو و صنعت عطرسازی هستند.

در اتحادیه اروپا حداقل ۵۷۹۵ شرکت محصولات آرایشی تولید می‌کنند که بیش از ۱۰۰۰ شرکت از این محصولات در فرانسه می‌باشند[۳]. برندهای مشهوری مانندL'Oréal، Chanel و Guerlain به‌صورت محدود از مواد اولیه دریایی برای تولیدات خود استفاده می‌کنند، درحالی که برخی از شرکت‌های کوچکتر ــ که عمدتاً در بریتانیا واقع شده‌اند؛ مانند Bretagne Cosmétiques Marins، Phytomer و Seamer ـ کل بازاریابی خود را برای جذب مشتری براساس این واقعیت که تمامی محصولات آن‌ها با استفاده از محصولات طبیعی یا ارگانیک به نام «فناوری آبی» تولید شده است، انجام می‌دهند[۴].

پلی‌ساکاریدها در فرمولاسیون‌های آرایشی نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کنند. این ماکرومولکول‌ها دارای ظرفیت بالا برای ذخیره‌سازی آب هستند و به‌وسیله پیوندهای هیدروژنی به کراتین اتصال پیدا می‌کنند و درنتیجه حفظ رطوبت پوست را افزایش می‌دهند[۴]. پلی‌ساکاریدهای محلول در آب مانند آلژینات، آگار، کاراگینان و فوکوییدان حاصل از گونه‌های جلبکی به تنظیم و توزیع آب در پوست کمک می‌کنند. این ترکیبات غیرسمی و مقرون‌به‌صرفه در زیست توده جلبک‌ها هستند که می‌توان آن‌ها را به‌عنوان یک جایگزین برای روغن‌های سبک مانند استیل الکل یا مواد سیلیکونی درنظر گرفت[۵]؛ هم‌چنین در بسته‌های آرایشی بهداشتی مانند کرم‌های بدن، لوسیون، صابون و شامپو کاربرد دارند[۶].

صنایع آرایشی و بهداشتی به‌طور مداوم در جست‌وجوی محصولات جدید، با تمرکز ویژه بر مولکول‌های آنتی‌اکسیدان، ارزان‌قیمت و دوست‌دار محیط‌زیست به‌ویژه با منشأ طبیعی هستند تا به تقاضای فزاینده مصرف‌کنندگان برای طبیعی و دوست‌دار محیط‌زیست‌بودن، به‌عنوان جایگزین‌های کارآمد برای نگهدارنده‌های مصنوعی، پاسخ دهند[۱و۶].

در جهت نیل به رفع نیازهای روزمره بشر با استفاده از منابع مختلف طبیعی، کشف ظرفیت‌های جدید و ارزان‌قیمت؛ مانند جلبک‌های خوراکی، می‌توانند مورد توجه قرار گیرند. در سواحل حاشیه‌ای آب‌های جنوبی ایران، به‌خصوص سواحل خلیج فارس، تعداد زیادی از گونه‌های متعلق به خانواده جلبک‌های قهوه‌ای مانند پادینا، سارگاسوم، سیستوسریا و غیره وجود دارند که قابلیت‌ها و پتانسیل‌های بالایی دارند؛ اما تحقیقات کمتری در زمینه استخراج مواد زیست‌فعال و کاربرد آن‌ها در بخش‌های بیوتکنولوژی و نانو تکنولوژی انجام شده است. وفور جلبک Sargassum tenerrimum در سواحل جنوبی کشور، افزایش توجه به چنین تحقیقاتی در سال‌های اخیر و نیز اذعان به پتانسیل بالای جلبک‌های قهوه‌ای که می‌توانند در توسعه تولیدات در صنعت برای انسان، دام و آبزیان نقش بسزایی داشته باشند، ضرورت انجام این تحقیق را هویدا ساخت.

روش اجرا

جمع‌آوری جلبک

نمونه‌ها از سواحل خلیج فارس جمع‌آوری شده و پس از شست‌وشو همراه با یخ به آزمایشگاه فرآوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال داده شدند. جلبک‌ها به‌منظور حذف نمک و اپی‌فیت با آب شیرین شست‌وشو شده و بعداز خشک‌کردن در آون به پودر تبدیل شدند. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایشات در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-04]

استخراج عصاره جلبک

میزان مشخص از پودر جلبک با آب مقطر (به نسبت ۱ به ۲۰) ترکیب شد. انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، با ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۴ ساعت انجام گرفت. سپس با ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مایع رویی، فیلتر و توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی تبدیل به پودر شد. درنهایت عصاره‌های پودرشده به‌دست‌آمده از چند مرحله استخراج با هم مخلوط و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند[۷].

مطالعات فرمولاسیون

تهیه کرم مرطوب‌کننده

پس از توزین، همه اجزا فاز چربی (شامل ایزوپروپیل مریستات، ستیل الکل، استئاریل پالمیتات و اسپن ۶۰) با هم مخلوط شد و روی هیتر با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. استیرر با ۴ دور در دقیقه تنظیم و حدود ۱۰۰ دقیقه تا ذوب کامل اجزا تنظیم شد و به‌طور همزمان اجزا فاز آبی (شامل عصاره آبی، توین ۸۰ و بنزیل الکل) با هم مخلوط‌شده روی هیتر با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از حل‌شدن کامل، اجزای فاز آبی به مدت ۵ دقیقه خارج از هیتر قرار داده‌شده تا اختلاف دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بین اجزای فاز آبی و فاز چربی ایجاد شود. بعد از خارج‌کردن مگنت از محلول‌های حاصل، فاز چربی در میکسر با ۱۵۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد و فوری فاز آبی اضافه گردید. در مرحله آخر PAA به آن اضافه و pH آن اندازه‌گیری و درصورت نیاز تنظیم شد.

بررسی پایداری خواص فیزیکی و شیمیایی فرمول

نمونه‌های آماده‌شده برای بررسی پایداری در دماهای ۴۰ ± ۲^{oC} با رطوبت ۷۵±۵٪ (آون) و دمای ۲۵ ± ۲^{oC} با رطوبت ۶۰±۵٪ (دمای محیط) به مدت ۳ ماه، جهت بررسی خصوصیات ظاهری فرمولاسیون مانند شکل ظاهری، شفافیت، رنگ و بو و خصوصیات فیزیکوشیمیایی مانند pH، ویسکوزیته و دانسیته و بار میکروبی (۶ ماه) نگهداری شدند[۸].

نرخ افسردگی در بین کارکنان پژوهشگاه اقیانوس‌شناسی نیز رو به افزایش است. به‌طوری که طی ماه‌های گذشته روند صعودی و رو به رشدی را تجربه کرده است که در جدول شماره ۲ آمده است[۹].

تعیین pH فرآورده

اغلب کرم‌های مرطوب‌کننده در pH=۵-۶ بیشترین همخوانی با پوست را دارند و در بالاتر یا پایین‌تر از آن محدوده موجب حساسیت می‌شوند. این آزمایش به‌منظور تعیین pH فرآورده در یک دوره ۳ ماهه انجام گرفت. اگر pH فراورده طی این مدت تغییرات زیادی داشته باشد، بیانگر اشکالاتی از قبیل رشد میکروبی، تجزیه یا ناسازگاری مواد است. جهت انجام این تست ابتدا pH سنج به‌وسیله بافرهای ۴ و ۷ کالیبره شد و pH در دمای ۲۵±۲ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری گردید. به‌علت نیمه‌جامدبودن فرآورده، ۵ گرم از کرم وزن و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد (نسبت ۱ به ۱۰) و توسط یک همزن مغناطیسی محیط یکنواخت گردید[۱۰].

تعیین دانسیته

دانسیته، جرم حجمی ماده است و اندازه‌گیری آن توسط پیکنومتر انجام می‌شود. ابتدا جرم (وزن) پیکنومتر خالی را اندازه‌گیری کرده، سپس حجم دقیق توسط آب اندازه‌گیری گردید. باید توجه داشت که حباب هوایی وجود نداشته باشد. آب به‌علت داشتن دانسیته ۱، به‌عنوان استاندارد درنظر گرفته شد. در مرحله بعد پیکنومتر را پر از کرم و وزن کرم را یادداشت کرده، سپس دانسیته محاسبه می‌شود.

تعیین ویسکوزیته

ویسکوزیته توسط دستگاه پلی‌ویسک اندازه‌گیری شد. تعیین ویسکوزیته کرم با استفاده از اسپیندل R۶ با نیروی ۱۰۰ دور در دقیقه و کشتاور کرم ۵۰/۲٪ به مدت یک تا پنج دقیقه در دمای ۲۵±۲ درجه

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-04]

سانتی‌گراد انجام گردید[۱۰].

آزمایش میکروبی

جهت جلوگیری از آلودگی اتفاقی، ماده مورد آزمایش، آماده‌سازی نمونه و انجام آزمایش در شرایط عاری از میکروب طبق جدول ۱ انجام گرفت. شمارش تعداد کلنی‌های نمونه با روش شمارش در پلیت (پورپلیت) یا Surface Spread انجام شد[۱۱].

پورپلیت

مقدار ۱۰ گرم از نمونه به ۹۰ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH برابر با۷/۲ اضافه شد (مخلوط A). بعد از اینکه رقت مناسب جهت تلقیح به‌دست آمد، افزودن نمونه‌ها به محیط کشت در کمتر از ۱ ساعت انجام گرفت. از ۱۰۰ میلی‌لیترمحلول یا سوسپانسیون که رقت ۰/۱ دارد، ۱۰ میلی‌لیتر به پلیت‌های استریل (۲ عدد) اضافه شده، از این رقت ۱ میلی‌لیتر نیز به ۹ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH برابر ۷/۲ اضافه می‌گردد و رقت ۰/۰۱ به‌دست آمد، سپس از این رقت نیز به ۲ پلیت استریل ۱ میلی‌لیتر اضافه شد. یک میلی‌لیتر از رقت ۰/۱ نیز برای شمارش قارچی به دو پلیت استریل اضافه گشت، به پلیت‌های قارچی حدود ۱۵ تا ۲۰ میلی‌لیتر از محیط SDA که قبلاً تا دمای حدود ۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک شده بود در حالت مایع اضافه کرده و اجازه داده شد تا آگار در حرارت اتاق جامد شود و پس از ۷-۵ روز انکوباسیون، شمارش کلنی صورت گرفت. برای پلیت‌های باکتریال نیز ۱۵ تا ۲۰ میلی‌لیتر از محیط TSA که تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد سرد شده اضافه کرده و اجازه داده شد تا در حرارت اتاق جامد شود، سپس ۳ تا ۵ روز در دمای ۳۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. جهت شمارش کلنی‌ها پس از اینکه پورپلیت انجام شد و انکوباسیون صورت گرفت، بعد از ۳ روز پلیت را بیرون آورده و کلنی‌ها را در صورت وجود شمارش نموده، در عکس ضریب رقت ضرب کرده و بر تعداد کلونی‌ها تقسیم شد، سپس میانگین کلونی‌های رشد یافته به‌دست‌آمد. شمارش در پلیت‌هایی صورت

جدول ۱: روش آماده‌سازی نمونه جهت آزمون‌های شمارش میکروبی و تشخیص باکتری‌های غیرمجاز.

نمونه	آزمون‌ها و محدوده استاندارد		
	شمارش (Pour-plate)		شناسایی میکروارگانیسم‌های خاص
	TAMC	TYMC	Absence of
کرم مرطوب‌کننده	<100CFU/ml (2 plates)۰/۱ ۰/۰۱ (2 plates)	<10CFU/ml 0.1 (2 plates)	S. aureus P. aeruginosa

آماده‌سازی نمونه: مقدار ۱۰ گرم از نمونه داده‌شده را با ۳ گرم توئین ۸۰ استریل مخلوط کرده، سپس ۲۴ گرم توئین ۶۰ به آن افزوده و کاملاً مخلوط کرده، حجم با محیط کشت TSB به ۱۰۰ ml رسیده و جهت شمارش و تشخیص باکتری‌ها استفاده گردید (مخلوط (A)).

می‌گرفت که جهت شمارش میکروبی (TAMC) حاوی کمتر از ۱۰۰ کلنی و جهت شمارش قارچی (TYMC) حاوی کمتر از ۱۰ کلنی باشد.

تفسیر آزمایش

TAMC تعداد cfu رشدیافته در محیط کشت TSA است و اگر کلنی‌های قارچی هم در این محیط کشت وجود داشت قسمتی از TAMC به حساب می‌آمد. در مورد TYMC تعداد cfu رشدیافته در محیط کشت SDA است و اگر کلنی‌های باکتریایی هم در این محیط کشت وجود داشت قسمتی از TYMC به حساب می‌آمد. محدوده مورد قبول به ترتیب زیر تفسیر شد:

101 cfu: Maximum Acceptable Count = 20
102 cfu: Maximum Acceptable Count = 200
103 cfu: Maximum Acceptable Count = 2000

روش تشخیص باکتری‌های غیر مجاز

Bile tolerant gram negative bacteria (Enterobacteriaceae)

برای تشخیص این‌گونه از باکتری‌ها از مخلوط A، ۱۰ میلی‌لیتر در یک لوله استریل برداشته کرده و به‌مدت ۵-۲ ساعت در دمای ۲۵-۲۰ انکوبه شد. پس از آن به ۹۰ میلی‌لیتر به محیط کشت Enterobacteria Enrichment Broth Mossel انتقال داده و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در ۳۵-۳۰ سانتی‌گراد

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-04]

مجدد انکوبه گردید. درصورت مشاهده رشد از آن در محیط کشت Violet red bile glucose agar کشت داده و به‌مدت ۲۴-۱۸ ساعت در ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه‌سازی صورت می‌گرفت. درصورت عدم مشاهده رشد وجود باکتری‌های مقاوم به صفرا اثبات می‌شود.

Escherichia Coli

یک میلی‌لیتر از مخلوط A به ۱۰۰ میلی‌لیتر در محیط Soybean-Casein Digest Agar اضافه می‌شود و به مدت ۲۴ ساعت در ۴۴-۴۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. درصورت مشاهده رشد در محیط مک‌کانکی آگار کشت داده و به‌مدت ۷۲-۱۸ ساعت در دمای ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌گردید. رشد کلونی در این محیط کشت احتمال وجود باکتری فوق را نشان می‌دهد و باید با تست‌های تشخیصی افتراقی تأیید شود و درصورت عدم مشاهده رشد، عدم وجود باکتری اثبات می‌گردد.

Salmonella spp

۰/۱ میلی‌لیتر از مخلوط A به ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت Rappaport Vassiliadis Salmonella Enrichment Broth اضافه و به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه گشته، درصورت مشاهده رشد در محیط کشت XLD کشت داده شده و به مدت ۴۸-۱۸ ساعت در ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌گردید. احتمال وجود باکتری باید با تست‌های تشخیصی افتراقی تأییدشده، در صورت عدم مشاهده رشد عدم وجود باکتری اثبات می‌گردید.

Pseudomonas aeruginosa

از مخلوط A، در محیط کشت Soybean-Casein Digest Agar کشت انجام شده و به‌مدت ۷۲-۱۸ ساعت در ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. مشاهده رشد احتمال وجود باکتری فوق را نشان داده و باید با تست‌های تشخیصی افتراقی تأیید شود. در صورت عدم مشاهده رشد عدم وجود باکتری اثبات می‌شود.

Candida albicans

جهت تشخیص قارچ مذکور مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از مخلوط A را توسط محیط سابرود کستروز براث (در شرایط استریل) به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده سپس ۵-۳ روز در حرارت ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. درصورت مشاهده رشد، در محیط کشت سابرو دکستروز آگار به‌صورت کشت خطی انتقال یافته و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه می‌گردید. پس از طی دوره انکوباسیون مشاهده کلنی‌های سفید و تأیید آن با تست‌های افتراقی مانند جرم تیوب وجود کاندیدا آلبیکنز را ثابت می‌کند. در مجموع به‌دلیل عدم مشاهده کلنی‌های ذکرشده در موارد میکروبی ذکرشده، روش‌های تشخیص نهایی (افتراقی) انجام نگرفت.

آزمون کارایی نگهدارنده‌ها

تهیه شیرابه میکروبی مناسب

محیط‌های کشت مناسب و همچنین درجه حرارت‌های مناسب برای هر کدام از میکروارگانیسم‌ها در جدول ۲ نوشته شده است. جهت برداشت میکروارگانیسم‌ها از سطح محیط جامد از محلول سالین استفاده گردید؛ به‌طوری که سطح محیط کشت در مورد باکتری‌ها و کاندیدا با مقدار مناسب از نرمال سالین استریل ۹ گرم در لیتر (TS) شست‌وشو داده شد، سپس شیرابه به‌دست آمده را در یک لوله آزمایش استریل جمع‌آوری کرده و مقدار مناسب سالین استریل به آن اضافه گردید تا مقدار میکروارگانیسم‌ها به حدود 1×10^{8} CFU/ml برسد[10].

آماده‌سازی نمونه

به هر یک از ۵ ظرف اصلی محتوی ماده مورد آزمایش که دارای حجم کافی از محصول است یکی از سوسپانسیون‌های میکروبی استانداردشده (1×10^{8} cfu/ml) تلقیح گردید. میزان شیرابه میکروبی مورداستفاده ۱- ۰/۵ درصد از حجم محصول بود. غلظت نهایی میکروارگانیسم بعد از افزودن میزان کافی از شیرابه میکروبی به محصول 1×10^{5} cfu/ml تا 1×10^{6}

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-04]

جدول ۲: شرایط مناسب کشت جهت آماده‌سازی اینوکلوم.

میکروارگانیسم	محیط کشت مناسب	دمای انکوباسیون (درجه سانتی‌گراد)
Escherichia coli ATCC 8739	Soybean-Casein Digest Broth	۳۲/۵±۲/۵°C
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027		
Staphylococcus aurous ATCC 6538	Soybean-Casein Digest Agar	
Candida albicans ATCC 10231	Sabouraud Dextrose Agar	۲۲/۵±۲/۵°C
Aspergillus niger ATCC 16404	Sabouraud Dextrose Broth	

است.

پس از تلقیح میکروارگانیسم استانداردشده (1×10^8 cfu/ml) به محصول برای روز صفر غلظت میکروارگانیسم در محصول به روش شمارش در پلیت تخمین زده شد. ظروف تلقیح‌شده در دمای ۲۲/۵±۲/۵ سانتی‌گراد (دمای اتاق) انکوبه شدند و در فواصل زمانی مناسب (روز صفر، چهاردهم، بیست و هشتم) از هر ظرف نمونه برداشت کرده و تعداد CFU به روش شمارش در پلیت معین شد. مدت زمان و درجه حرارت مناسب انکوباسیون مطابق با جدول ۳ است. چون نمونه‌های مورد آزمایش حاوی مواد نگهدارنده بودند، در زمان صفر قبل از تلقیح میکروارگانیسم استانداردشده (1×10^8 cfu/ml) خنثی‌سازی به‌وسیله مواد خنثی‌کننده یا استفاده از رقت‌سازی جهت به‌دست‌آوردن رقت مناسب صورت گرفت. لگاریتم

جدول ۳: معیار استاندارد جهت بررسی میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش.

محصولات متداول مورد استفاده	
باکتری	کمتر از ۲/۰ لگاریتم کاهش از شمارش اولیه در روز ۱۴ و هیچ افزایشی از روز ۱۴ تا روز ۲۸ دیده نشد.
مخمر و کپک	افزایشی در شمارش و محاسبه اولیه در روز ۱۴ و ۲۸ دیده نشد.

نسبت تعداد واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر فرآورده در زمان تلقیح به تعداد واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر فرآورده در زمان‌های مختلف برای میکروارگانیسم‌ها تعیین و غییرات حاصل به صورت کاهش لگاریتمی بیان گردید.

تفسیر نتایج

اگر نتایج حاصل با جدول ۳ مطابقت داشت، فرآورده دارای کارایی ضدمیکروبی کافی است. در این جدول منظور از عدم افزایش، حداکثر نیم واحد لگاریتمی بالاتر از عدد تعیین شده قبلی است.

آنالیز آماری

داده‌های به‌دست‌آمده بعد از بررسی همگنی توسط نسخه ۲۲ نرم‌افزار SPSS صورت گرفت و جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها، تحلیل واریانس یک‌طرفه (one way ANONA) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها به‌وسیله آزمون دانکن و برای سنجش معناداربودن اختلافات در سطح ۵ درصد استفاده شد. درنهایت نمودارها با استفاده از نسخه ۲۰۱۶ نرم‌افزار Excel ترسیم شدند. نتایج بررسی شاخص‌های مورد مطالعه به‌صورت میانگین±انحراف معیار گزارش گردید.

مطالعات متنوعی روی منابع دریایی صورت گرفته است و ترکیبات زیست‌فعال متعددی با اثرات گوناگون هم‌چون خاصیت باکتری‌کشی، ضدسرطانی، ضدویروسی و آنتی‌اکسیدانی از ماکروجلبک‌ها شناسایی و تخلیص شده است. این ترکیبات می‌توانند در صنایع متفاوت ازجمله صنایع غذایی و صنایع آرایشی و بهداشتی کاربرد گسترده‌ای داشته باشند بنابراین، تحقیقات جهت دستیابی به منابع نوین دارویی با منشأ دریایی با توجه به تنوع بسیار بالای گونه‌های آبزی با خواص آنتی‌باکتریایی، اهمیت بالایی دارند.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-04]

بحث

بررسی پایداری کرم مرطوب‌کننده عصاره جلبک

کرم تازه تهیه‌شده دارای رنگ قهوه‌ای کم‌رنگ (به‌علت وجود ماده مؤثر) و بافت همگن بود. کرم منتخب به‌عنوان یک دستورالعمل ICH در مدت سه ماه مورد بررسی قرار گرفت. پایداری کرم تهیه‌شده در دمای۲±۴۵ درجه سانتی‌گراد (رطوبت ۵±۷۵ درصد) و دمای ۲±۲۵ (رطوبت ۵±۶۵ درصد) مورد ارزیابی قرار گرفته که در طول دوره نگهداری، فرمولاسیون تغییر رنگ، بویایی، pH و جداشدگی فاز را نشان نداد.

همان‌طور که در جدول ۴ نشان داده شده است، pH در روز صفر ۴/۶۸ و تا ماه سوم در دمای محیط (۵±۲۵) به‌ترتیب ۴/۵۹ و ۴/۶۸ و دمای آون (۲±۴۵) به‌ترتیب ۴/۶۱ و ۴/۶۵ بود. ویسکوزیته در روز صفر۹۳۵۰ و تا ماه سوم در دمای محیط ۹۹۲۰ و ۸۹۸۰ و دمای آون به‌ترتیب ۹۲۸۰ و ۸۴۲۰ بود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، کرم مرطوب‌کننده عصاره آبی جلبک پایداری لازم را طی زمان سه ماهه دارد.

جدول ۴: پایداری کرم مرطوب‌کننده عصاره آبی جلبک طی زمان ۳ ماه.

تست	مدت نگهداری				حد استاندارد
	زمان صفر	ماه ۱ (محیط)	ماه ۱ (آون)	ماه ۳ (محیط)	ماه ۳ (آون)	
خصوصیات ظاهری	مطابقت دارد	مطابقت دارد	مطابقت دارد	مطابقت دارد	مطابقت دارد	رنگ کرم ثابت و بافت کرم همگن
عطر و بو	مطابقت دارد	مطابقت دارد	مطابقت دارد	مطابقت دارد	مطابقت دارد	بوی شیمیایی ثابت
pH	۴/۶۸	۴/۵۹	۴/۶۱	۴/۶۸	۴/۶۵	NLT ۴/۵ NMT ۷/۵
ویسکوزیته (cp)	۹۳۵۰	۹۹۲۰	۹۲۸۰	۸۹۸۰	۸۴۲۰	NLT ۷۰۰۰ NMT ۱۰۰۰۰
دانسیته (g/cm^3)	۰/۹۰۴	۰/۹۴۱	۰/۹۴۷	۰/۹۵۲	۰/۹۵۴	NLT ۰/۹ NMT ۱/۱
ANTIMICROBIAL EFFECTIVENESS TEST	قابل قبول	قابل قبول	قابل قبول	قابل قبول	قابل قبول	

باکتری: کاهش کمتر از ۲ بار از شمارش اولیه در ۱۴ روز و بدون افزایش تا ۲۸ روز.
مخمر و قالب: بدون افزایش از شمارش اولیه در ۱۴ و ۲۸ روز.
حد استاندارد

آزمون میکروبی کرم

براساس جدول تست آزمون میکروبی، کرم مرطوب‌کننده تأییدشده و پایداری لازم را طی دوره نگهداری دارد.

نتایج آزمون بررسی کارایی نگهدارنده

براساس جدول ۶، این تست قابل قبول و بدون افزایش رشد باکتریایی بوده است.

عملکرد لایه شاخی پوست، محافظت از بافت‌های زیرین از عفونت، خشکی و استرس‌های مکانیکی می‌باشد. صدمه به این لایه موجب ازدست‌دادن آب لایه اپیدرمی می‌گردد و این موضوع موجب ایجاد بیماری‌های مزمن پوست می‌شود. مرطوب‌کننده‌ها ازطریق بهبود و ترمیم لایه شاخی باعث کاهش ازدست‌دادن آب پوست و جایگزینی چربی‌های پوستی و دیگر ترکیبات می‌شوند. همچنین، مرطوب‌کننده‌ها برای کاهش چین و چروک پوست و ساخت ظاهر نرم و لطیف استفاده می‌شوند.

جدول ۵: نتایج آزمون میکروبی کرم از زمان صفر تا ماه ششم در دمای محیط و آون.

Microbial limit Test	Period of storage						Limit
	Initial	1 M	2 M	3 M	6 M		
Total Aerobic Microbial Count (cfu/g)	<۱۰	<۱۰	<۱۰	<۱۰	<۵		NMT ۱۰۰
Total Yeast & Mold Count (cfu/g)	<۱۰	<۱۰	<۵	<۵	<۵		NMT ۱۰
Staphylococcus aureus	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی		باید منفی باشد
Pseudomonas aeruginosa	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی		باید منفی باشد
Esherichia Coli	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی		باید منفی باشد
Salmonella	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی		باید منفی باشد
Candida albicans	منفی	منفی	منفی	منفی	منفی		باید منفی باشد

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-04]

جدول ۶: نتایج آزمون بررسی کارایی نگهدارنده کرم طی روز صفر، چهاردهم و بیست و هشتم.

Total Viable Count CFU/ml								
Standard Log Reduction 28 Day / 14 Day	Log Reduction 28 Day / 14 Day	28 Day	Standard Log Reduction 14 Day /Initial	Log Reduction 14 Day /Initial	Day 14	0 Day	Microbial Suspension	Microorganism
بدون افزایش	بدون افزایش	<۱۰	≥2	<۵	<۱۰	2.13×10^{6}	2.16×10^{7}	Staphylococcus aureus ATCC 6538
بدون افزایش	بدون افزایش	<۱۰	≥2	<۵	<۱۰	1.12×10^{6}	2.14×10^{7}	Esherichia Coli ATCC 8739
بدون افزایش	بدون افزایش	<۱۰	≥2	<۵	<۱۰	1.90×10^{6}	2.09×10^{7}	Pseudomonas ATCC 9027
بدون افزایش	بدون افزایش	<۱۰	بدون افزایش	<۵	<۱۰	1.1×10^{6}	1.35×10^{7}	Candida albicans ATCC 10231
بدون افزایش	بدون افزایش	<۱۰	بدون افزایش	<۵	<۱۰	1×10^{6}	1.1×10^{7}	Aspergillus niger ATCC 16404

در تحقیق حاضر تاریخ انقضا کرم را می‌توان به یک سال تنظیم کرد و مصرف‌کننده می‌تواند همچنان از اثربخشی محصول اطمینان داشته باشد. با توجه به گزارشات به‌دست‌آمده از ICH عمر مفید کرم، در شرایط نگهداری به مدت یک ماه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد برابر با ۸ ماه و در شرایط نگهداری به مدت ۳ ماه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برابر با یک سال نگهداری در دمای اتاق است.

تحقیقات پوستی نشان می‌دهد که مواد زیست‌فعال دریایی ممکن است مزایای زیادی برای درمان اختلالات پوستی داشته باشند[۱۱]. عصاره Saccharina latissima، گونه‌ای از جلبک‌های قهوه‌ای، با نام تجاری Phlorogine توسط شرکت Biotech Marine، فرانسه فروخته می‌شود[۱۲].

Nurrochmad و همکاران (۲۰۱۸) با کار روی جلبک قهوه‌ای Turbinaria decurrens Bory نشان دادند که این جلبک به‌طور مؤثری از پیری پوست و چین و چروک، احتمالاً ازطریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حفظ حیات سلولی فیبروبلاست، جلوگیری می‌کند[۱۳]. Namjoyan و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی ۳ گونه از ماکروجلبک‌های قرمز سواحل خلیج فارس اعلام کردند که عصاره آن‌ها دارای خواص آنتی‌تیروزیناز (تیروزیناز عامل ایجاد ملانین در پوست) روی مدل ماهی زبرا می‌باشد[۱۴].

محصولات آرایشی دارای مواد فعال و فعالیت‌های ضدباکتری، به حفظ میکروفلور طبیعی پوست مانند استافیلوکوکوس اورئوس روی سطوح پوست انسان کمک می‌کند[۱۵]. در تحقیق حاضر هیچ‌گونه مشکل میکروبی حین دوره نگهداری کرم به‌وجود نیامد که نشان‌دهنده تأثیر ترکیبات زیست‌فعال موجود در عصاره جلبکی می‌باشد. Arguelles (۲۰۲۱) گزارش کرد که عصاره جلبک Sargassum ilicifolium اثر ضدباکتری خوبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس دارد[۲].

Agustina و همکاران (۲۰۲۱) با تحقیق روی جلبک Chlorella vulgaris اظهار داشتند که هم کرم و هم لوسیون تهیه‌شده از جلبک هیچ‌گونه آلودگی میکروبی نشان ندادند[۱۶]. همچنین Noshadi و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که عصاره argassum tenerrimum، ازطریق القای آپوپتوز و همچنین مهار بیان ژن WT۱، دارای پتانسیل ضدسرطانی علیه سلول‌های K۵۶۲ است[۱۷].

منابع دریایی با تمام جنبه‌های آن بدون شک، یک پتانسیل اقتصادی بزرگ برای جهان هستند. Obluchinskaya و همکاران (۲۰۲۱) ایجاد و بهینه‌سازی فرمولاسیون کرم مبتنی‌بر فوکویدان و بررسی پتانسیل ضدالتهابی آن پس از استفاده موضعی در داخل بدن، را بررسی کردند. آنها گزارش کردند که اثربخشی کرم مبتنی بر فوکوییدان جلبک قهوه‌ای در

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-04]

دوز بالا با اثربخشی ژل دیکلوفناک قابل مقایسه بود و این کرم را می‌توان یک فرمول ضدالتهابی امیدوارکننده درنظر گرفت[۱۸]. نتیجه اینکه، محصولات طبیعی دریایی موادی بسیار ارزشمند برای برنامه‌های کاربردی در صنعت داروسازی و غذایی می‌باشند و روزبه‌روز شرکت‌های زیادی در این زمینه سرمایه‌گذاری می‌کنند.

شکل ۱: کرم مرطوب‌کننده جلبک (Sargassum tenerrimum).

به‌دنبال همین روند، صنعت لوازم آرایشی به‌سرعت در حال جست‌وجو برای مواد تشکیل‌دهنده جدید با استفاده ترکیبات زیست فعال دریایی می‌باشد. تعداد روزافزون تأمین‌کنندگان صنعت لوازم آرایشی و بهداشتی که از ترکیبات و عصاره‌های گیاهی موجودات دریایی استفاده می‌کنند، در حال افزایش است. عصاره جلبک مورد مطالعه تست‌های موردنظر به‌عنوان مرطوب‌کننده را به‌خوبی گذرانده و می‌تواند کاندیدی جهت بررسی‌های بالینی و ورود به بازار باشد.

تشکر و قدردانی

در پایان از تمامی پرسنل و کارکنان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و مرکز تحقیقات پوست و جذام دانشگاه علوم پزشکی تهران که نهایت همکاری را داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Aguilar-Toalá J, Hernández-Mendoza A, González-Córdova A, et al. Potential role of natural bioactive peptides for development of cosmeceutical skin products. Peptides 2019; 122: 170170.
2. Arguelles E. Evaluation of antioxidant capacity, tyrosinase inhibition, and antibacterial activities of brown seaweed, Sargassum ilicifolium (Turner) C. Agardh 1820 for cosmeceutical application. J Fish Environ 2021; 45: 64-77.
3. Agustina S, Aidha NN, Oktarina E. Evaluation of antioxidant capacity, tyrosinase inhibition, and antibacterial activities of brown seaweed, *Sargassum ilicifolium* (Turner) C. Agardh 1820 for cosmeceutical application. The 6th International Symposium on Applied Chemistry (ISAC). 2021. 012057: 1-9.
4. Bedoux G, Hardouin K, Burlot AS, et al. Bioactive components from seaweeds: Cosmetic applications and future development. Adv Bot Res 2014; 71: 345-78.
5. Couteau C, and Coiffard L. Phycocosmetics and other marine cosmetics, specific cosmetics formulated using marine resources. Mar Drugs 2020; 18: 1-16.
6. Ferdouse F, Holdt SL, Smith R, et al. The global status of seaweed production, trade and utilization. FAO Globefish Res Program 2018; 124: 1-120.
7. Félix R, Carmona AM, Félix C, et al. Industry-friendly hydroethanolic extraction protocols for Grateloupia turuturu UV-shielding and antioxidant compounds. Appl Sci 2020; 10: 5304.
8. Gilbert SB, Christopher TR. Modern pharmaceutics. revised and expended, Marcel Dekker Inc. New York 2022; 503-5.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-04]

9. Hazozaki T, Laughlin LT, Swanson CL. *Laminaria saccharina* extract and vitamin b3 as whitening agents. WIPO (PCT) Patent 2012; WO2012011907A1.

10. Lachman L, Lieberman HA, Kanig JL. The theory and practice of industrial pharmacy. 2006 3rd ed. 535.

11. Jesumani V, Du H, Pei P, et al. Comparative study on skin protection activity of polyphenol-rich extract and polysaccharide-rich extract from *Sargassum vachellianum*. PLoS ONE 2020; 15: e0227308.

12. Leandro A, Pereira L, Gonçalves AM. Diverse applications of marine macroalgae. Mar Drugs 2020; 18: 1-17.

13. Namjoyan F, Farasat M, Alishahi M, et al. The antimelanogenesis activities of some selected red macroalgae from north-ern coasts of the Persian gulf. Iran J Pharm Sci 2019; 18: 383-90.

14. Noshadi A, Khaledi H, Khodadadi A, et al. The effect of *Sargassum tenerrimum* seaweed extracts on WT1 gene expression in K562 leukemia cancer cell line. J Oceanogr. 2023; 14: 112-21.

15. Nurrochmad A, Wirasti W, Dirman A, et al. Effects of antioxidant, anti-collagenase, anti-Elastase, anti-tyrosinase of the extract and fraction from Turbinaria decurrens Bory. Indones J Pharm 2019; 29: 188-97.

16. Obluchinskaya E, Pozharitskaya O, Flisyuk EV, et al. Formulation, optimization and in vivo evaluation of fucoidan-based cream with anti-inflammatory properties. Mar Drugs 2021; 19: 1-14.

17. Pradhan B, Bhuyan PP, Patra S, et al.. Bioactive metabolites from marine algae as potent pharmacophores against oxidative stress-associated human diseases: A comprehensive review. Biocatal Agric Biotechnol 2022; 26: 1-25.

18. Salehi B, SharifiRad J, Seca A, et al. Current trends on seaweeds: Looking at chemical composition, phytopharmacology, and cosmetic applications. Molecules 2019; 24: 1-50.

19. Tariq A, Athar M, Ara J, et al. Biochemical evauation of antioxidant activity in extract and polysaccharidae fractions of seaweeds. Glob J Environ Sci Manag 2015; 1: 47-62.

20. Wang HMD, Chen CC, Huynh P. Exploring the potential of using algae in cosmetics. Bioresour Technol 2015; 184: 355-62.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-04]

Evaluation of topical cream stability obtained from aqueous extract of *Sargassum tenerrimum* brown algae

Samira Shahhosseini, MSc[1]
Moazameh Kordjazi, PhD[1*]
Saman Ahmadnasrollahi, PhD[2]
Seyedmahdi Ojagh, PhD[4]
Atefe Naeimifar, PhD[2]
Salim Sharifian, PhD[3]

1. Department of Seafood Processing, Faculty of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resouces, Gorgan, Iran
2. Center for Research and Training in Skin Disease and Leprosy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Chabahar University of Maritime and Marine Sciences, Chabahar, Iran
4. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resouces, University of Tehran. Karaj, Iran

Received: May 07, 2024
Accepted: Jun 07, 2024
Pages: 3-13

Corresponding Author:
Moazameh Kordjazi, PhD

Basij Sq., Faculty of Fisheries, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
Email: kordjazi@gmail.com

Conflict of interest: None to declare

Background and Aim: Marine seaweeds are a valuable source of bioactive ingeredients with the possibility of different effects in cosmeceutical industries such as skin health products. One of the main characteristics of the skin is moisture which plays an important role in maintaining metabolism, enzymatic activity, mechanical properties, appearance and protective barrier. The objective of the present study was to formulate the water extract of brown algae Sargassum tenerrimum with antioxidant and antibacterial properties as a moisturizing cream to evaluate physicochemical stability and microbial growth.

Methods: Algae were collected from the Persian Gulf intertidal zone and was washed with seawater, then transferd to Seafood Processing Laboratory in Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources for extraction process, after that formulation of 1% moisturizing cream was made at Center for Research and Training in Skin Diseases and LeprosyTehran University of Medical Scinces. Statistical analysis of antibacterial properties of water extract was performed by SPSS software version 22 and one way ANONA was used to analyse the data. The comparison between the means were investigated by Duncan's test used for measuring significant differences at 5 percent level. Finally, the charts were created by using Excel software. The results of the study were reported as mean ± standard deviation.

Results: According to the results, the prepared 1% cream was completely stable and homogeneous in room temperature and oven for 6 months and successfully passed microbial tests.

Conclusion: In view of the above mentioned, the manufactured cream efficacy was well done and can be introduce as a skin moisturizing agent.

Keywords: seaweed, topical formulation, skin care, moisturizing

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-04]

Copyright © 2024 Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.