جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

الفعالية المضادة للمستخلصات والجسيمات النانوية لبعض الطحالب الخضراء تجاه أنواع من البكتريا والفطريات في مدينة الموصل

ضمياء حازم محمد الراوي

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بإشراف

الأُستاذ المساعد

الدكتورة مِرا أسامة أحمد الكاتب

١٤٤٥هـ ٢٠٢٣م

الخلاصة

عزل وشخيص المركبات الفعّالة للمستخلص الميثانولي لبعض أنواع الطحالب الخضراءالكبيرة.*sp* *Spirogyra*،*Chara braunii* والنوع .*Cosmarium sp*،كما درست امكانية استخدام وسط زراعي اقتصادي متوفر محليا لتنمية طحلب *Cosmarium* الذي نجح بالنمو في الوسط البديل(Chu10+MgO) وكانت كثافة النمو عند الطول الموجي 463 nm لهذا الوسط بامتصاصيةnm0.680 وبشكل مقارب للنمو في الوسط القياسي عند nm0.815،وعمل مستخلصات ميثانولية وهكسانية لأنواع الطحالب الثلاث وكما حضر المستخلص الفينولي للطحالب واستخدم تقنية كروموتوغرافيا الغاز–مطياف الكتلةGC-MS لتحديد المركبات الفعّالة فيها.

شخصّت عدد من المركبات الفعّالة والتي بلغت 48–30–43 مركب فعال لكل من جَنْس*Chara*و *Spirogyra*و *Cosmarium* على التوالي، وشخصت عدد من المركبات الفينولية للطحالب باستخدام تقنية HPLC وتبين وجود هذه المركبات في مستخلصات فينولات الطحالب وهي(L/Quercetin– Gallic acid/ Tanic acid_R /Tanic acid_L /Kaempferol /Rutin- R/ Rutin) وكان تركيز مركب(Rutin- R) هو الاعلى في المستخلص الفينولي الميثانولي لطحلب*Cosmarium* بتركيز304. 86 ppm وفي مستخلص الفينول الهكساني بتركيز 101. 681 ppm.

استخدمت تقنية التصنيع الحيوي لجسيمات الفضة النانوية باستخدام مستخلصات الطحالب ،أذ تم اضافة محلول نترات الفضة1ملي مولر الى المستخلص الخام (الميثانولي والهكساني) وبنفس الطريقة تم اضافته الى فينولات الطحالب الميثانولية والهكسانية وتم دراسة الفعالية المضادة لمستخلصات الطحالب الخام والفينولية لوحدها وبعد اضافة محلول نترات الفضة لها على البكْتريْا والفطريات المستخدمة في الدراسة حيث اظهرت النتائج بان افضل مستخلص ميثانولي خام كان لطحلب *Spirogyra* اذ سجل اعلى قطر تثبيط ضد بكتريا*Bacillus coagulanse* وبقطر25ملم اما المستخلص الخام الهكساني للطحالب سجل طحلب *Chara* اعلى قطر تثبيط ضد بكتيريا *Salmonella typhi* وبقطر25ملم ولوحظ تغير اقطار التثبيط بعد اضافة محلول نترات الفضة الى المستخلصات الخام وتفوق مستخلص طحلب *Spirogyra* الميثانولي النانوي على بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وبقطر11 ملم، اما افضل مستخلص هكساني نانوي هو لطحلب *Chara* بقطر تثبيط 30ملم على بكتيريا *S. typhi*.

درست فعالية فينولات الطحالب الخام(الميثانولية والهكسانية) لوحدها وبعد اضافة محلول نترات الفضة على البكْتريا حيث اظهرت النتائج ان افضل مستخلص فينولي ميثانولي لطحلب *Spirogyra* على بكتيريا*Klebsiella pneumonia* وبقطر تثبيط 23 ملم كما تفوق الفينول الهكساني لطحلب*Chara*على بكتيريا *S. typhi* وبقطر تثبيط 28 ملم اما فعالية الفينولات بعد اضافة محلول نترات الفضة لها ازدادت وذلك من خلال زيادة اقطار التثبيط حيث سجل الفينول الميثانولي النانوي لطحلب*Chara* اعلى قطر تثبيط على بكتريا *B. coagulanse* وبقصر تثبيط 24ملم اما اعلى تاثير للفينول الهكساني النانوي لطحلب*Spirogyra*على بكتريا*K.pneumoniae* و *Staphylococcus aureus* وبقطر تثبيط 25 ملم لكليهما،كذلك تم دراسة الفعالية المضادة للمستخلصات الخام للطحالب (الميثانولية والهكسانية)على الفطريات المستخدمة في الدراسة حيث تفوق المستخلص الميثانولي لطحلب *Spirogyra* وبقطر تثبيط 22ملم على فطر *Trichoderma asperallum*،اما المستخلص الهكساني الخام لطحلب *Chara* تفوق على بقية انواع الطحالب وبقطر تثبيط 25 ملم على فطر *T. asperallum*.

ازدادت فعالية المستخلصات الخام للطحالب بعد اضافة محلول نترات الفضة اليها وذلك من خلال زيادة اقطار التثبيط حيث اظهرت النتائج تفوق المستخلص الميثانولي النانوي لطحلب *Spirogyra*وبقطر تثبيط 30ملم على فطر *Candida albicans* و *T. asperallum*،كما سجل المستخلص الهكساني النانوي لطحلب *Spirogyra* اعلى فعالية ضد الفطريات وبقطر تثبيط 26ملم على فطر *T. asperallum*،اما فعالية فينولات الطحالب(الميثانولية والهكسانية) على الفطريات اظهرت النتائج تفوق الفينول الميثانولي لطحلب*Chara* وبقطر تثبيط 26ملم على فطر *C. albicans* بالاضافة الى الفينول الهكساني لطحلب*Chara* وبقطر تثبيط 26ملم على فطر *Trichoderma harzianum* و*Mucor racemosu*،كما اظهرت النتائج فعالية الفينولات(الميثانولية والهكسانية) ضد الفطريات بعد اضافة محلول نترات الفضة اليها حيث تفوق الفينول الميثانولي النانوي لطحلب*Spirogyra*وبقطر تثبيط 30ملم على فطر *T. harzianum* اما الفينول الهكساني النانوي للطحالب كان اعلى قطر تثبيط له لمستخلص طحلب *Cosmarium* وبقطر تثبيط 26 ملم على فطر *T .harzianum*.

لقد شخصت، صفات الجسيمات النانوية المحضرة باستعمال تقنيات طيف الامتصاص بالاشعه فوق البنفسجيةUV-VISIBLE وطيف الاشعه تحت الحمراءFTIR والمجهر الالكتروني الماسح بمجال الانبعاث(FE-SEM) وحيود الاشعة السينيةEDX،وتم الاستدلال الاولي على تكوين الجسيمات النانوية بالتغير اللوني للمستخلصات المضاف اليها محلول نترات الفضة اذ تغير اللون للمستخلص الى البني الغامق والزيتوني، كما ظهرت قمم امتصاص باطوال موجية مختلفة سجلت فيها اعلى قمة امتصاص nm422 لجسيمات الفضة المحضرة من الفينول الميثانولي لطحلب جَنْس *Cosmarium* وقمم امتصاص خاصة بالفضة النانوية لبقية المستخلصات عند استعمال طيف الاشعة فوق البنفسجية – المرئية، كما تم تحديد شكل وحجم الجسيمات النانوية المتَكُوّنة بوساطة المجهر الالكتروني الماسح بمجال الانبعاث(FE-SEM) ظهرت الجسيمات النانوية بشكل مضلع وكروي وعصوي باحجام منnm50.55-33.66 وnm45.98-41.61 وnm77.38-50.48 للأنواع *Chara* و *Spirogyra*و *Cosmarium*على التوالي واستعمل طيف الاشعة تحت الحمراء لتحديد المجاميع الفعّالة التي تقوم باختزال ايونات الفضة الى جسيمات نانوية وكانت اهم المجاميع مجموعة أصرة (OH) بقيمة امتصاص 3000–3300سم$^{-1}$.

Abstract

The current study concluded to isolate and characterize the active compounds of the methanolic extract of some genera of macro green algae (*Chara braunii*, *Spirogyra sp*) and microscopic (*Cosmarium sp*) available in the local environment of the city of Mosul/Iraq. It also studied the possibility of using an economical medium available locally to grow alga *Cosmarium*, Who succeeded in growing in the alternative medium (Chu10 + MgO) and the growth intensity was at a wavelength of 463 nm for this medium with an absorbance of 0.680 nm and similar to the growth in the standard medium at 0.815 nm, and he made methanonic and hexane extracts for the three algae species, and the phenolic extract of the algae was also prepared and used Gas chromatography-mass spectrometry GC-MS to determine the active compounds in it. We have identified a number of active compounds, which amounted to 48-30-43 active compounds for each genus. *Cosmarium*, *Spirogyra* and *Chara* respectively, and a number of algae phenolic compounds were identified using HPLC technology and the presence of these compounds was found in algae phenolic extracts (Quercetin/ L- Rutin / Rutin-R / Kaempferol/ Tanic acid_L/ Tanic acid_R / Gallic acid) and the concentration of (Rutin-R) was highest in the phenolic methanolic extract of *Cosmarium* with a concentration of 86 .304 ppm and in the phenol-hexane extract with a concentration of 681.101 ppm.

This study also included the application of the bio-manufacturing technology of silver nanoparticles using algae extracts, which is one of the newly approved methods and has inhibitory effectiveness against bacteria and fungi. Where a 1mmollar silver nitrate solution was added to the crude extract (methanolic and hexane) and in the same way it was added to the methanolic and hexane algae phenols The antifungal activity of the crude and phenolic algae extracts alone and after adding a solution of silver nitrate to the bacteria and fungi used in the study was studied, as the results showed that the best crude methanolic extract was for *Spirogyra* algae, as it recorded the highest inhibition diameter against bacteria *Bacillus coagulanse* with a diameter of 25 mm, while the crude hexane extract of algae recorded algae *Chara* had the highest diameter of inhibition against *Salmonella typhi* with a diameter of 25 mm. The change of inhibition diameters was observed after adding silver nitrate solution to the crude extracts. The extract of *Spirogyra* alga methanolic nanoparticles was superior to *Pseudomonas aeruginosa* with a diameter of 11 mm. The best nano-hexane extract is for algae. *Chara* with an inhibition

diameter of 30 mm on *S. typhi*. The effectiveness of crude algae phenols (methanolic and hexane) alone and after adding silver nitrate solution to the bacteria was also studied The results showed that the best phenolic methanolic extract of *Spirogyra* was effective against bacteria *Klebsiella pneumoniae* with an inhibition diameter of 23 mm. *Chara* on bacteria *S. typhi* with an inhibition diameter of 28 mm. As for the effectiveness of phenols after adding a solution of silver nitrate to them, it increased by increasing the diameters of inhibition, as nano-methanolic phenol was recorded for algae. *Chara* had the highest diameter of inhibition on bacteria *B. coagulanse* with a short inhibition of 24 mm, while the highest effect of phenol-hexane nanoparticles of *Spirogyra* on *K.pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* with a diameter of inhibition of 25 mm for both.

The antifungal activity of the crude extracts of algae (methanolic and hexane) was also studied against the fungi used in the study, where the methanolic extract of *Spirogyra* with a diameter of 22 mm was superior to the fungus *Trichoderma asperallum*. As for the crude hexane extract of algae *Chara* was superior to the rest of the algae species with an inhibition diameter of 25 mm on the fungus *T. asperallum*. The effectiveness of the crude extracts of algae increased after adding silver nitrate solution to it by increasing the diameters of inhibition, as the results showed that the methanolic nano-extract of algae *Spirogyra* had superiority with an inhibition diameter of 30 mm on *Candida albicans* and *T. asperallum*, and the hexane nano-extract of *Spirogyra* was higher Antifungal activity with an inhibition diameter of 26 mm on *T. asperallum*. As for the effectiveness of algae phenols (methanolic and hexane) on fungi, the results showed that methanolic phenols were superior to algae *Chara* with an inhibition diameter of 26 mm on *C. albicans* in addition to phenol-hexane moss *Chara* and an inhibition diameter of 26 mm on *Trichoderma harzianum* and *Mucor racemosu*.

The results also showed the effectiveness of phenols (methanolic and hexane) after adding a solution of silver nitrate to it, where the methanolic phenol of *Spirogyra* had superiority over fungi with a diameter of 30 mm inhibition on *T. harzianum*. As for the nano-hexane phenol of algae, the highest inhibition diameter was in the extract of moss *Cosmarium* and an inhibition diameter of 26 mm on *T.harzianum*.

The properties of the prepared nanoparticles were characterized using UV-VISIBLE, FTIR, scanning electron microscopy, field emission (FE-SEM) and X-ray diffraction (EDX).

The formation of nanoparticles was first inferred by the color change of the extracts to which the silver nitrate solution was added, as the color of the extract changed to dark brown and olive. Absorption peaks appeared at different wavelengths, in which the highest absorption value of 422nm was recorded for silver particles prepared from phenol-methanolic algae of the genus *Cosmarium*. Absorption peaks Specific to the silver nanoparticles for the rest of the extracts when using the ultraviolet-visible spectrum.

The shape and size of the formed nanoparticles were determined by field emission scanning electron microscopy (FE-SEM). The nanoparticles appeared polygonal, spherical and sticky with sizes from 33.66-5055 nm, 41.61-45.98 nm and 50.48-77.38 nm for the genus *Chara*, *Spirogyra*, and *Cosmarium*, respectively. Infrared spectroscopy was used to determine the active groups that reduce the alpha ions into nanoparticles, and the most important aggregates were a bond group (OH) with an absorption value of 3000-3300 cm-1.

University of Mosul

College of Education

for Pure Sciences

Antibiotic activity of extracts and nanoparticles of some green algae against types of bacteria and fungi in the city of Mosul

Damia Hazem Mohammed Al-Rawi

M.Sc. thesis

Biology

Supervised by

Assist.Prof

Dr.Mira Ausama Ahmed Al.katib

2023A.D 1445 A.H