مقایسه خواص ضد اکسایشی آلژینات سدیم استخراج شده با حلال آب از ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica*

میترا احدی‌فر*، سید مهدی اجاق، سید حسین حسینی‌فر، محمدعلی خانلر، معظمه کردجزی، علیرضا عالیشاهی

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

*نویسنده مسئول: mitraahadifar@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۹/۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۲۵

چکیده

آلژینات سدیم یک بیوپلیمر ارزان و در دسترس می‌باشد که به‌دلیل داشتن خواصی چون تجزیه‌پذیری زیستی، خصوصیات هیدروفیلیکی، حساسیت به PH و ماهیت طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. از این‌رو مطالعه حاضر به بررسی و مقایسه خواص ضداکسایشی آلژینات در غلظت‌های مختلف ازماکروجلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica* می‌پردازد. باتوجه به نتایج، آلژینات هردو جلبک از فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی برخوردار بودند و میزان فنول کل، فعالیت آنتی اکسیدانی کل در سه غلظت (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰) میلی‌گرم بر میلی لیتر، توانایی شلاته‌کنندگی در سه غلظت (۱/۰، ۰/۵ و ۰/۱) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در آلژینات *S. vulgare* بالا بود. درحالی‌که آلژینات *P. pavonica* درصد مهار رادیکال آزاد DPPH، رادیکال آزاد هیدروکسیل در دو غلظت (۱/۸۳ و ۰/۱۱) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، قدرت احیاکنندگی در دو غلظت (۱۶۰ و ۳۲۰) میکروگرم برمیلی‌لیتر بالاتری داشت. میان آلژینات هردو جلبک درهیچ بازه‌ی غلظتی، اختلاف معنی‌داری در مهار رادیکال آزاد سوپراکسید مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

واژگان کلیدی: جلبک قهوه‌ای، آلژینات سدیم، آنتی اکسیدان‌ها، رادیکال‌های آزاد.

مقدمه

جلبک‌ها با توجه به تنوع گونه‌ای بالا، پراکندگی گسترده و اختصاصی بودن بسیاری از ویژگی‌های فیزیولوژی و زیستی دارای اهمیت ویژه‌ای در مطالعات علمی هستند. جلبک‌ها مدتهاست که در کشورهای آسیایی به عنوان تامین کننده بخشی از سبد غذایی مردم مورد استفاده هستند (Nahas *et al.*, 2007). اما آن‌چه در دهه‌های اخیر بر اهمیت جلبک‌ها افزوده است، وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی در آن‌ها می‌باشد که به منزله ترکیباتی موثر علیه استرس‌های اکسیداتیو در بدن انسان شناخته می‌شوند (Li *et al.*, 2009; López *et al.*, 2011). جلبک‌ها به دو گروه ماکروجلبک‌ها و میکروجلبک‌ها تقسیم می‌شوند (Wichachucherd *et al.*, 2010). ماکروجلبک دریایی براساس رنگدانه موجود در کلروپلاست خود به سه گروه جلبک‌های قهوه‌ای (فئوفیت‌ها)، قرمز (رودوفیت‌ها) و سبز (کلروفیت‌ها) طبقه‌بندی می‌شوند (Meillisa *et al.*, 2015).

در این بین ماکروجلبک‌های قهوه‌ای جنس *Sargassum* در مناطق دریایی معتدل و استوایی پراکنده شده‌اند. این جنس عموماً براساس گونه‌های پلانکتونی (غوطه‌ور آزاد) خود معروف هستند (Hogan and Michal, 2011). ماکروجلبک‌های جنس *Padina* نیز طور گسترده‌ای در مناطق ساحلی گرمسیری و معتدل، در مناطق بین جذر و مدی تا نواحی زیر جذر و مدی یافت می‌شوند (Ni-Ni-Win *et al.*, 2011). یکی از ویژگی‌های قابل توجه جلبک‌های آبی حضور میزان قابل توجهی از پلی‌ساکاریدهای سولفاته در آن‌ها می‌باشد که در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی، و صنایع پزشکی و داروسازی حایز اهمیت می‌باشند. پلی‌ساکاریدهای یافت شده در جلبک‌های دریایی از قبیل فوکوئیدان، آلژینات، کاراگینان و آگار برای چندین دهه در پزشکی و داروسازی مورد

استفاده بوده‌اند (Mohsin *et al*., 2016).

پلی‌ساکاریدها جزء ماکروملکول‌ها می‌باشند که دارای فعالیت زیستی متنوع با ارزش بالقوه دارویی اعم از فعالیت‌های ضدسرطانی، ضدانعقادی، ضدتوموری، ضدویروسی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Wijesekara *et al*., 2011). فعالیت زیستی پلی‌ساکاریدها به اندازه، نوع قند و محتوای سولفات آن‌ها مربوط می‌شود (Zhu *et al*., 2004). این ترکیبات در دیواره سلولی یافت می‌شوند و مقادیر آن با توجه به فصل، گونه، سن و موقعیت جغرافیایی تغییر می‌کنند. علاوه بر نقش پلی‌ساکاریدها به عنوان یک منبع غذایی، آن‌ها همچنین مقاومت گیاه در برابر امواج و حفظ تعادل یونی در سلول را افزایش می‌دهند (Gupta *et al*., 2011). عمده پلی‌ساکارید ساختاری جلبک قهوه‌ای آلژینات است، که معمولاً در دیواره سلولی به صورت ترکیبی با اشکال مختلف نمک کاتیونی یافت می‌شود (Sellimi *et al*., 2015). آلژینات از مونومرهای مانورونیک اسید و گلورونیک اسید تشکیل شده است که به صورت همگن و ناهمگن از طریق پیوند گلیکوزیدی (1→4) به یکدیگر متصل شده‌اند (Pawar and Edgar, 2012) و جلبک قهوه‌ای *S. vulgare* منبعی سرشار از آلژینات می‌باشد (Gupta *et al*., 2011).

براساس تحقیقات پیشین مهم‌ترین منابع آلژینات جنس‌های لامیناریا (*Laminaria*) و سارگاسوم (*Sargassum*) هستند (Sellimi *et al*., 2015). ویژگی‌های هیدروفیلیکی آلژینات باعث شده است که آن‌ها را با استفاده از حلال‌های بر پایه‌ی آب استخراج کنند. انتخاب روش استخراج می‌تواند بر ماهیت شیمیایی آلژینات استخراج شده موثر باشد (Rostami *et al*., 2017; Borazjani *et al.,* 2018). در مطالعه Kokilam و همکاران (۲۰۱۳) ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چهار گونه جلبک قهوه‌ای *S. wightii* و *P. tetrastromatica*، *Chnoospora minima* و *Hormophysa triquetra* جمع‌آوری شده از خلیج منار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH در تمامی گونه‌ها به میزان مناسبی است. در تحقیق Borazjani و همکاران (۲۰۱۸) فعالیت ضداکسایشی آلژینات استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *S. angustifolium* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این یافته نشان داد که آلژینات سدیم استخراج شده از این جلبک توانایی بالایی در مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت کاهندگی آهن از خود دارد. با توجه به اهمیت آنتی اکسیدان‌های طبیعی نظیر آلژینات و ضرورت استفاده از آن‌ها در صنایع غذایی، دارویی، پزشکی و بیوتکنولوژی این مطالعه با هدف سنجش و مقایسه خواص آنتی اکسیدانی آلژینات سدیم ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *S. vulgare* و *P. pavonica* به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

ماکروجلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* مورد استفاده در این تحقیق از سواحل جزیره قشم جمع‌آوری و بلافاصله با آب دریا شستشو داده و گل و لای و سایر مواد چسبیده به آن‌ها پاک گردید. نمونه‌های تمیز شده در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار بسته‌بندی و به منظور جلوگیری از تابش نور توسط ورق‌های نازک آلومینیومی پوشانده شدند. سپس با لایه‌های یخ در ظرف‌های نگه دارنده مخصوص (یونولیت) به آزمایشگاه حمل شدند. نمونه‌ها در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در آون خشک شده و در دمای اتاق به مدت ۳ روز قرار داده شدند. شناسایی جلبک‌های جمع‌آوری شده توسط پژوهشکده خلیج فارس و دریای عمان انجام گرفت. سپس نمونه‌ها به بخش آزمایشگاه فراورده‌های شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان منتقل و با آسیاب برقی پودر و تا شروع آزمایشات لازم جهت استخراج آلژینات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Sánchez-Machado *et al*., 2004). در ضمن تمام مواد شیمیایی مورد استفاده از

شرکت Merk تهیه شدند.

استخراج آلژینات سدیم به روش آبی: برای استخراج آلژینات از ۵۰ گرم پودر جلبک قهوه‌ای *S. vulgare* و *P. pavonica* استفاده شد. برای حذف رنگدانه و دیگر ترکیبات ناخالص، پودر جلبک با ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۵٪ به مدت ۸ ساعت در دمای اتاق بر روی شیکر بدون دما با دور rpm ۱۳۰ رنگبری شد. سپس با استفاده از سانتریفیوژ (Eppendorf-R5810، آلمان) با دور ۸۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، استخراج از پودر خشک رنگبری شده‌ی انجام شد. در ابتدا ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل خنک شده به پودر خشک شده اضافه و سپس استخراج در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت و در ۳ نوبت توسط شیکر انکوباتور (IKA®-KS4000، آلمان) صورت گرفت. پس از سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، مایع رویی در طی استخراج برای جداسازی محلول خالص حذف و رسوب خشک شده جمع‌آوری شد. برای استخراج آلژینات در ابتداء یک لیتر آب مقطر با افزودن کربنات سدیم ۳٪ به PH ۱۱ رسانده و رسوب خشک به آن اضافه شد. پس از آن به مدت ۳ ساعت درون شیکر انکوباتور با دمای ۶۵ سانتی‌گراد قرار گرفت. در مرحله آخر بعد از سانتریفیوژ، برابر با حجم سوپرناتانت به آن اتانول ۷۰ درصد اضافه شد. برای جداسازی آلژینات از سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. در نهایت آلژینات به دست آمده با استفاه از دستگاه خشک کن انجمادی (ALPHA 1-2LD) خشک شد (Rostami *et al.*, 2017; Borazjani *et al.*, 2018).

محتوای فنل کل: برای اندازه‌گیری میزان محتوای فنول کل ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آلژینات (۵ میلی-گرم بر میلی‌لیتر) بدون غلظت‌سازی به ۲ میلی‌لیتر از کربنات سدیم ۲ درصد اضافه شد. پس از ۲ دقیقه نگهداری به صورت ساکن در دمای اتاق، به آن ۱۰۰ میکرولیتر از معرف فولین ۵۰ درصد اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در شرایط تاریک انکوبه شد. سپس عدد جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom، انگلستان) در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده شد. بلانک شامل همه معرف‌ها و حلال‌ها به جز نمونه یا استاندارد است. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد. در انتها نتایج برحسب میلی‌گرم گالیک اسید به گرم پودر جلبکی خشک شده بیان شد (Kokilam *et al.*, 2013).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل: برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل ۰/۳ میلی‌لیتر از نمونه در غلظت‌های مختلف با ۳ میلی‌لیتر از معرف (شامل سولفوریک اسید ۰/۶ مولار، سدیم فسفات ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی‌مولار) مخلوط شد. مخلوط حاصل در دستگاه بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه انکوبه شد. بعد از سرد شدن نمونه‌ها در دمای اتاق، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر خوانش شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید اسکوربیک استفاده شد. در انتها نتایج برحسب میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم پودر جلبکی خشک شده بیان شد (Sathya *et al.*, 2017).

فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH: برای اندازه‌گیری قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH ۲۳/۵ میلی‌گرم پودر بنفش DPPH در ۱۰۰ میلی لیتر متانول (۱۰۰٪) حل و سپس به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق گردید. از محلول آلژینات غلظت‌های مختلف (۲۰، تا ۲۰۰) بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر ساخته شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌ها به ۳/۹ میلی‌لیتر از معرف DPPH برای رسیدن به حجم ۴ میلی‌لیتر اضافه و به مدت ۱ دقیقه مخلوط شدند. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق و در شرایط انکوبه، جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانش شد. از متانول برای صفر نمودن دستگاه و از معرف متانلی DPPH به

عنوان نمونه شاهد استفاده گردید. از اسید آسکوربیک و اسید گالیک به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. درصد بازدارندگی رادیکال DPPH آلژینات، طبق رابطه زیر محاسبه گردید (Wang *et al.*, 2010).

$$DPPH = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times ۱۰۰$$

رادیکال آزاد سوپراکسید: برای اندازه‌گیری میزان رادیکال آزاد سوپراکسید ۳ میلی‌لیتر بافر (Tris-Hcl ۱۶ میلی مولار PH ۸، ۳۳۸ میکرومولار NADH و ۷۲ میکرومولار NBT و ۳۰ میکرومولار PMS) در غلظت‌های مختلف محلول آلژینات (۱۵۳-۴/۲۶ میکروگرم/ یلی‌لیتر) با هم مخلوط شد. مخلوط حاصل در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه انکوبه گردید. جذب نمونه‌ها در اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر در مقابل شاهد خوانش شد. در کنترل به جای نمونه از بافر Tris-Hcl استفاده شد. از اسید آسکوربیک به عنوان گروه کنترل مثبت استفاده شد. درصد مهارکنندگی رادیکال سوپراکسید با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Wang *et al.*, 2008).

(٪) توانایی مهار رادیکال سوپراکسید

$$= \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times ۱۰۰$$

توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن: برای اندازه‌گیری قدرت شلاته کنندگی یون آهن از محلول آلژینات غلظت‌های مختلف (۲-۰/۱) بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ساخته شد. سپس ۴/۷ میلی‌لیتر از محلول آلژینات با ۰/۱ میلی‌لیتر از $FeCl_2$ (۲میلی مولار) و ۰/۲ میلی‌لیتر از فروزین (۵ میلی مولار) مخلوط گردید. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شده و عدد جذب در طول موج ۵۶۲ نانومتر خوانش گردید. در نمونه شاهد از آب دیونیزه به جای محلول آلژینات استفاده شد. از آب مقطر برای صفر نمودن دستگاه استفاده شد. همچنین از $EDTA\text{-}Na_2$ به عنوان کنترل مثبت استفاده و توانایی شلاته کنندگی براساس فرمول زیر محاسبه گردید (Wang *et al.*, 2008).

$$\text{اثرشلاته کنندگی (٪)} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times ۱۰۰$$

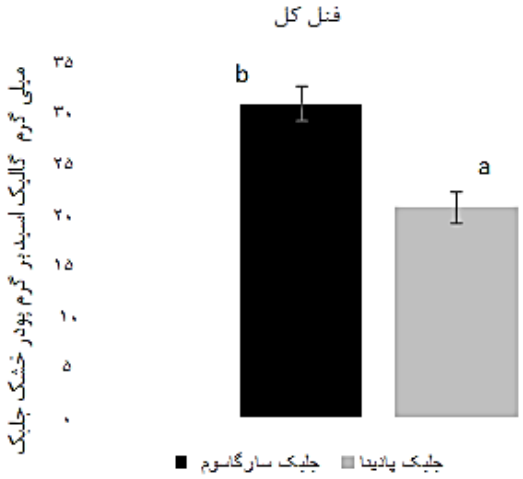
توانایی رادیکال آزاد هیدروکسیل: برای اندازه‌گیری توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل غلظت‌های مختلف نمونه (۱/۸۳-۰/۱۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) با ۰/۵ میلی‌لیتر EDTA-Fe (۲ میلی-مولار، ۱ میلی لیتر H_2O_2، (۳ درصد)، ۱ میلی‌لیتر زعفران (۳۶۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) به همراه ۴/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم (۱۵۰ میلی‌مولار PH ۷/۴) مخلوط شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه داخل آون قرارگرفت و جذب آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانش شد. اثر مهار رادیکال هیدروکسیل مشخص گردید. در کنترل به جای نمونه از آب مقطر و به جای H_2O_2 از بافر فسفات سدیم استفاده گردید. از اسید اسکوربیک به عنوان گروه کنترل مثبت استفاده شد. اثر مهار رادیکال هیدروکسیل نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Wang *et al.*, 2010).

(٪) توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل

$$= \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times ۱۰۰$$

قدرت احیاکنندگی یون آهن: برای اندازه‌گیری قدرت احیاء کنندگی نمونه‌ها، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول آلژینات در غلظت‌های مختلف با ۱/۲۵ میلی-لیتر بافر فسفات (۰/۲مولار، PH ۶/۶) و ۱/۲۵ میلی-لیتر فری سیانید پتاسیم (۱ درصد) مخلوط شد و سپس در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه گردید. پس از سرد شدن به مخلوط (۱/۲۵ میلی‌لیتر TCA (۱۰ درصد)، ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۰/۲۵ میلی‌لیتر $Fecl_3.6H_2O$ (۰/۱ درصد) اضافه گردید. مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس جذب در ۷۰۰ نانومتر خوانش شد. با افزایش جذب، قدرت احیاء کنندگی افزایش می‌یابد. از اسید آسکوربیک به عنوان گروه کنترل مثبت استفاده شد. افزایش عدد جذب، نشان دهنده افزایش قدرت احیاء است (Kumar *et al.*, 2011).

آنالیز آماری: به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، ابتدا نرمال و همگن بودن داده‌ها با استفاده از آزمون



شکل ۱ – میزان محتوای فنل کل در آلژینات های استخراج شده از ماکروجلبک‌های *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica* حروف کوچک متفاوت (a و b) نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) می‌باشد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

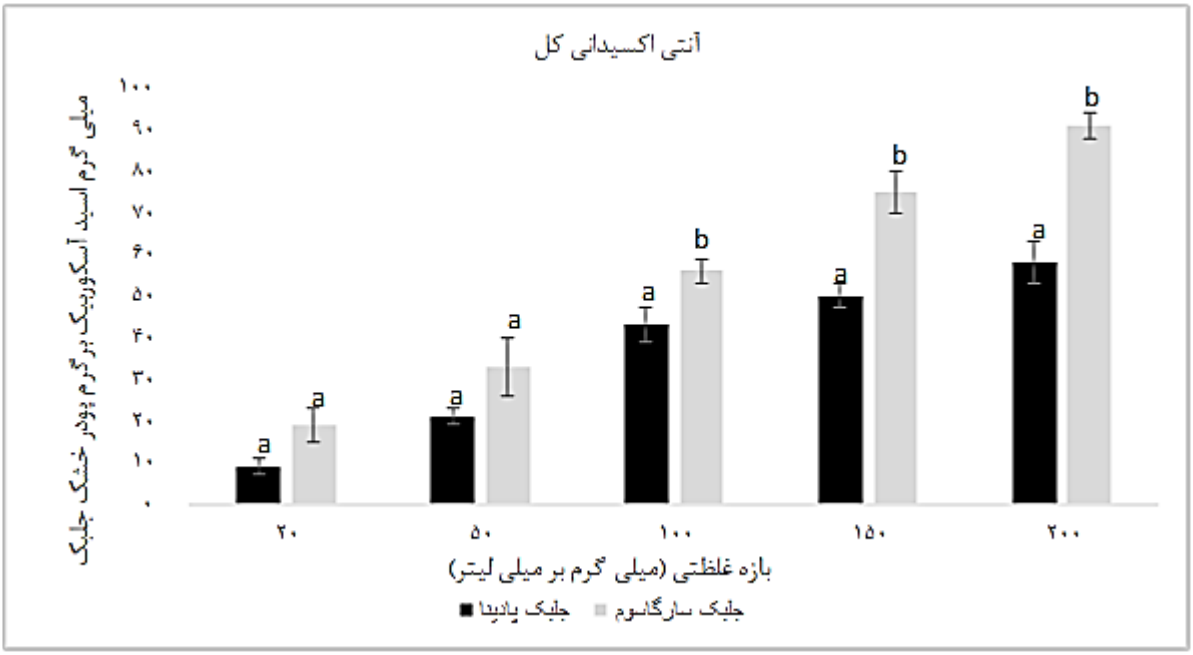
اندازه‌گیری تکراری (Repeated measure) مورد بررسی قرارگرفت. بعد از تایید نرمال و همگن بودن داده‌ها، از آنالیز واریانس یک طرفه برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. برای بررسی تفاوت معنی‌داری بین میانگین داده‌ها از آزمون توکی در سطح اختلاف معنی‌دار ۵٪ استفاده شد. تجزیه تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS انجام شد و شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شد. تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار و نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار گزارش شدند.

نتایج

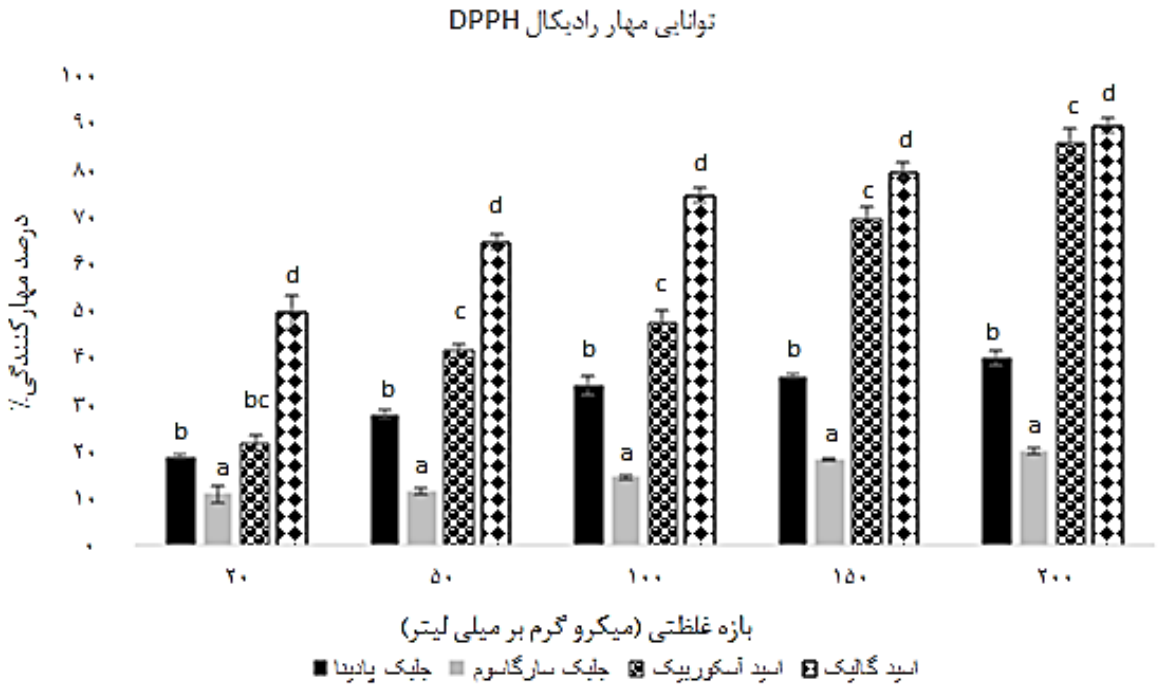
محتوای فنل کل: در شکل ۱ میزان محتوای فنل کل آلژینات سدیم ماکروجلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* نشان داده شده است. طبق نتایج محتوای فنل کل آلژینات سدیم در هر دو گونه تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$) و آلژینات *S. vulgare* فنل کل بالاتری (۱/۷±۳۱ میلی‌گرم گالیک اسید به گرم پودر جلبکی خشک شده) در مقایسه با *P. pavonica* (۸/۶±۲۰/۱ میلی‌گرم گالیک اسید به گرم پودر جلبکی خشک شده) داشت.

فعالیت آنتی اکسیدانی کل: تعیین پتانسیل آنتی اکسیدانی کل آلژینات ماکروجلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* در بازه‌های غلظتی (۲۰۰- ۲۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر) انجام شد که به ترتیب ۹۱-۱۹ و ۵۸-۹ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم پودر جلبکی خشک شده اندازه‌گیری شد که بیانگر فعالیت آنتی-اکسیدانی وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت آلژینات فعالیت آنتی اکسیدانی کل افزایش می‌یابد. بین آلژینات جلبک‌های مورد مطالعه در غلظت ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$)، اما در سایر غلظت‌ها پتانسیل فعالیت آنتی اکسیدانی کل در آلژینات جلبک *S. vulgare* به صورت معنی‌داری از آلژینات جلبک *P. pavonica* بالاتر بود ($P<۰/۰۵$) (شکل ۲).

فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH: در مطالعه حاضر اثر مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH آلژینات جلبک *S. vulgare* در غلظت‌های ۲۰ تا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۱۱/۰۹ تا ۲۰/۲۶ درصد و برای آلژینات جلبک *P. pavonica* در همان غلظت به ترتیب ۱۹/۱۳ تا ۴۰/۰۱ درصد بود. یعنی با افزایش غلظت، درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد نیز افزایش می‌یابد. آلژینات جلبک *P. pavonica* درتمامی بازه‌های غلظتی به صورت معنی‌داری از آلژینات جلبک *S. vulgare* بالاتر بود ($P<۰/۰۵$) (شکل ۳). در این تست اسید گالیک و اسید اسکوربیک به عنوان نمونه استاندارد در نظر گرفته شد که در بالاترین غلظت یعنی ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، گروه‌های کنترل مثبت گالیک اسید و آسکوربیک اسید به ترتیب اثر مهار کنندگی ۹۰ و ۸۶ درصد را از خود نشان دادند. اثر مهار کنندگی در گروه کنترل مثبت اسید گالیک در تمامی غلظت‌ها از آلژینات جلبک‌های مورد مطالعه به صورت معنی‌داری بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). در گروه کنترل مثبت اسید آسکوربیک در غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری با آلژینات جلبک *P. pavonica* مشاهده نشد. ($P>۰/۰۵$)، اما در همان بازه غلظتی مشابه از آلژینات جلبک



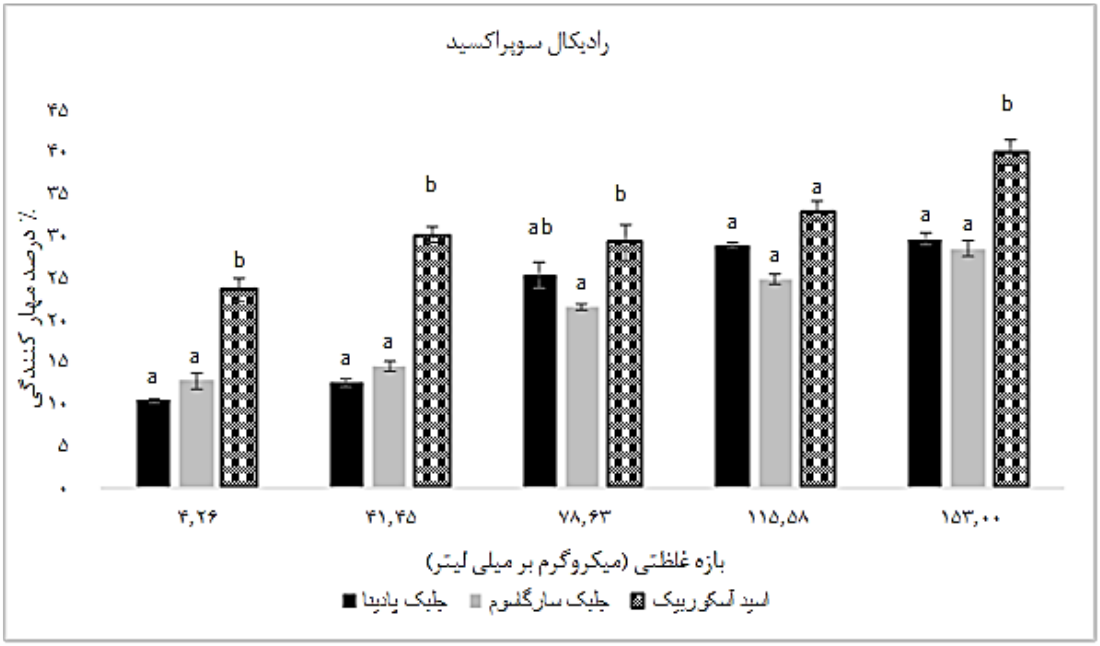
شکل ۲ – فعالیت آنتی اکسیدانی کل در آلژینات‌های استخراج شده از ماکروجلبک‌های *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica* حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری در بازه‌های غلظتی مشابه ($P<۰/۰۵$) می‌باشد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.



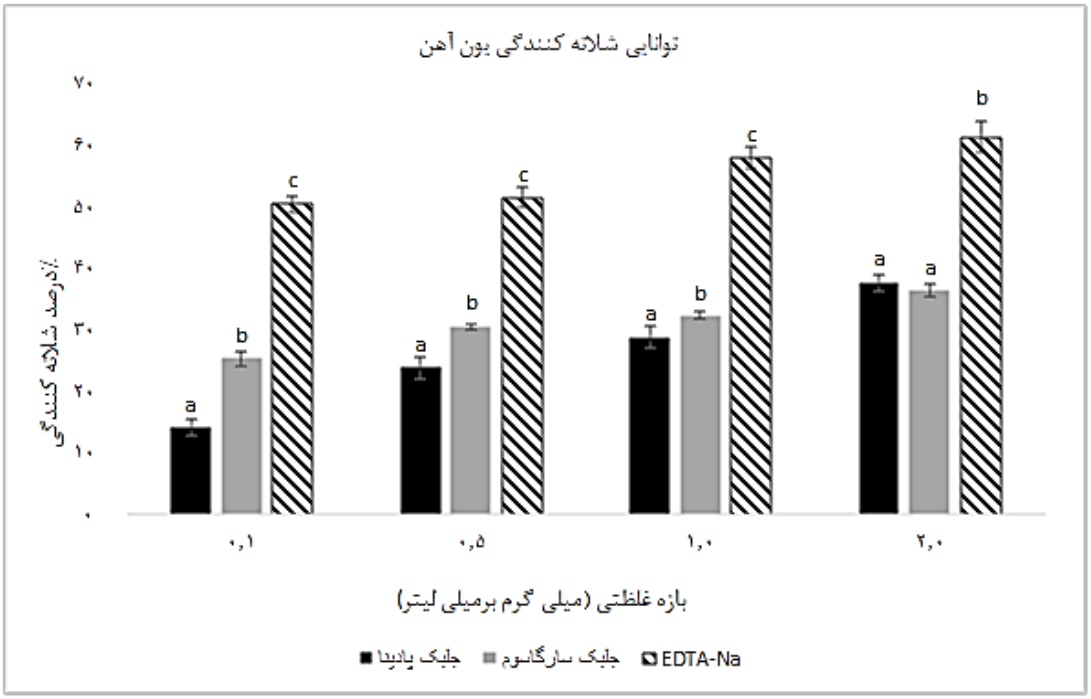
شکل ۳ – توانایی مهارکنندگی رادیکال DPPH در آلژینات‌های استخراج شده از ماکروجلبک‌های *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica* حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) می‌باشد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

S. vulgare به صورت معنی‌داری بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). اثر مهارکنندگی اسید آسکوربیک در سایر غلظت‌ها به‌صورت معنی‌داری از آلژینات هر دو جلبک بالاتر بود ($P<۰/۰۵$).

درصد مهار رادیکال آزاد سوپراکسید: شکل ۴ درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد سوپراکسید توسط

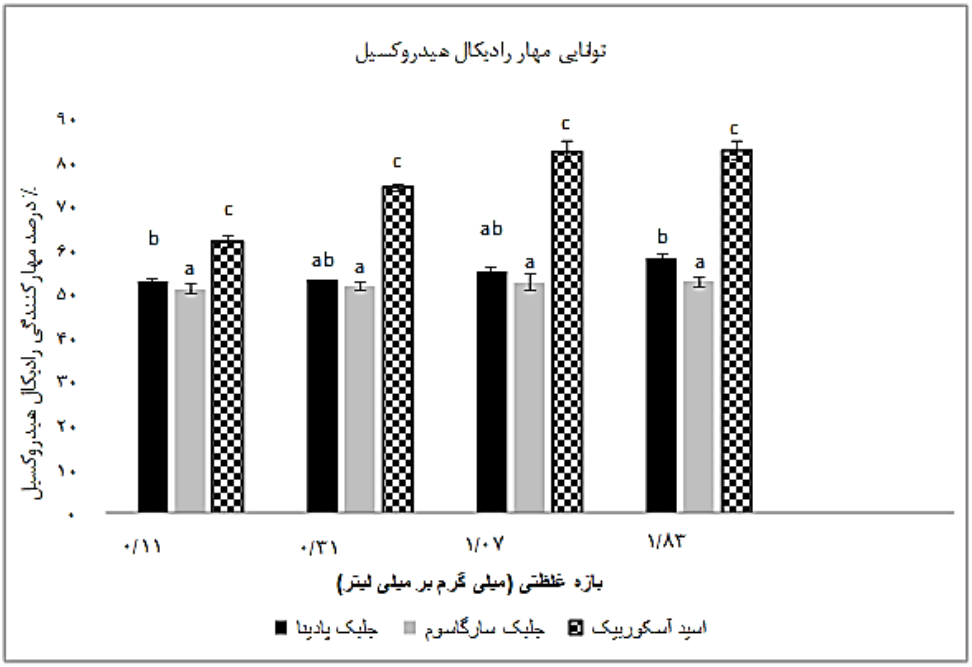


شکل ۴ – درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد سوپر اکسید توسط آلژینات‌های استخراج شده از ماکروجلبک‌های *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica* حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) می‌باشد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.



شکل ۵ – توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن توسط آلژینات‌های استخراج شده از ماکروجلبک‌های *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica* حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) می‌باشد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

آلژینات جلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* در بازه غلظتی ۱۵۳-۴/۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر را نشان می‌دهد که به ترتیب ۲۸/۵۹-۱۲/۷۵ و ۲۹/۷۷-۱۰/۳۸ درصد بودند. میان آلژینات جلبک‌های مورد مطالعه در هیچ بازه غلظتی اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($P>۰/۰۵$). از اسیدآسکوربیک برای مقایسه

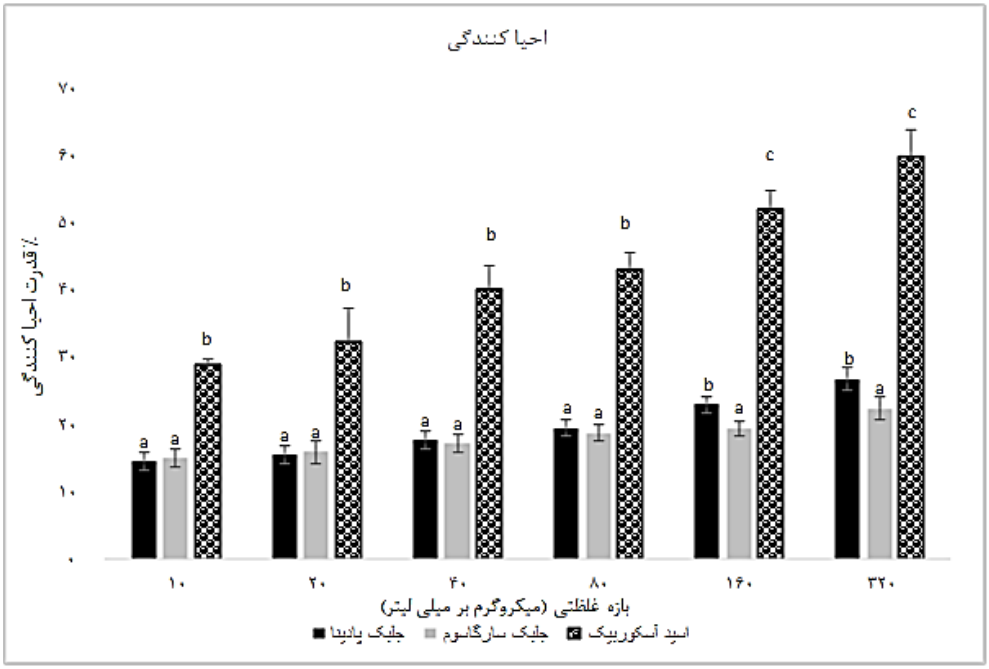


شکل ۶ – درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد هیدروکسیل توسط آلژینات‌های استخراج شده از ماکروجلبک‌های *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica* حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری (*P*<۰/۰۵) می‌باشد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

توانایی مهار رادیکال آزاد سوپراکسید با آلژینات جلبک‌های مورد مطالعه استفاده شد که در غلظت ۷۸/۶۳ با آلژینات جلبک *P. pavonica* تفاوت معنی‌داری دیده نشد (*P*>۰/۰۵)، اما در همان غلظت مشابه اسید آسکوربیک به‌صورت معنی‌داری از آلژینات جلبک *S. vulgare* بالاتر بود (*P*<۰/۰۵). همچنین اسیدآسکوربیک در غلظت ۱۱۵/۵۸ با هیچ یک از آلژینات‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت و در سایر غلظت‌ها نیز اسید آسکوربیک به صورت معنی‌داری از آلژینات جلبک‌ها بالاتر بود (*P*<۰/۰۵).

توانایی شلاته کنندگی یون آهن: در بازه غلظتی (۲-۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) درصد شلاته کنندگی آلژینات جلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* به ترتیب ۳۶/۴۴-۲۵/۴۵ و ۳۷/۸۲-۱۴/۱۴ درصد اندازه گیری شد. این نشان می‌دهد که قدرت شلاته کنندگی یون آهن وابسته به غلظت می‌باشد و با افزایش غلظت درصد شلاته کنندگی یون آهن نیز افزایش می‌یابد. در غلظت‌های ۱-۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توانایی شلاته کنندگی یون آهن توسط آلژینات جلبک *S. vulgare* به‌طور معنی‌داری از آلژینات جلبک *P. pavonica* بالاتر بود (*P*<۰/۰۵). همچنین در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تفاوت معنی‌داری در میان آلژینات جلبک‌ها دیده نشد (*P*>۰/۰۵). در مطالعه حاضر از آنتی‌اکسیدان مرجع $EDTA\text{-}Na_2$ به عنوان شاهد استفاده شد که درصد شلاته کنندگی آن در بازه‌های غلظتی ۰/۱تا ۲ میلی گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۵۰/۶۴ تا ۶۱/۶۱ درصد بود که نسبت به تمام بازه‌های غلظتی به صورت معنی‌داری بالاتر بود (*P*<۰/۰۵) (شکل ۵).

توانایی رادیکال آزاد هیدروکسیل: فعالیت مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل به غلظت وابسته می‌باشد و با افزایش در غلظت آلژینات‌ها درصد مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل افزایش می‌یابد. آلژینات ماکروجلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* به ترتیب کمترین درصد مهارکنندگی را در غلظت ۰/۱۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به ترتیب ۵۱/۲۲ و ۵۳/۰۳ و بیشترین درصد را در غلظت ۱/۸۳ به ترتیب ۵۲/۹۰ و ۵۸/۳۷ از خود نشان دادند. آلژینات جلبک *P. pavonica* در غلظت ۰/۱۱ و ۱/۸۳ به صورت معنی‌داری از آلژینات جلبک



شکل ۷ – قدرت احیا کنندگی آلژینات‌های استخراج شده از ماکروجلبک‌های *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica* حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری (*P*<۰/۰۵) می‌باشد. نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار گزارش شده است.

S. vulgare بالاتر بود (*P*<۰/۰۵) ولی در سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری میان آلژینات جلبک‌ها از هم دیده نشد (*P*>۰/۰۵) (شکل ۶). همچنین از اسید آسکوربیک به عنوان کنترل استفاده شد که در تمامی بازه‌های غلظتی به صورت معنی‌داری از آلژینات جلبک‌ها بالاتر بود (*P*<۰/۰۵).

قدرت احیا کنندگی یون آهن: در شکل ۷ قدرت کاهندگی آلژینات جلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* نشان داده شده است. با افزایش غلظت آلژینات جلبک‌ها قدرت کاهندگی نیز افزایش می‌یابد. قدرت کاهندگی *S. vulgare* و *P. pavonica* آلژینات جلبک‌های در غلظت‌های (۳۲۰-۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به ترتیب ۲۲/۵۰-۱۵ و ۲۶/۸۰- ۱۴/۶ درصد می‌باشد. در غلظت ۱۶۰ و ۳۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آلژینات جلبک و *P. pavonica* به صورت معنی‌داری از آلژینات جلبک *S. vulgare* بالاتر بود (*P*<۰/۰۵). در سایر غلظت‌ها هیچ تفاوت معنی‌داری میان آلژینات جلبک-ها دیده نشد (*P*>۰/۰۵). قدرت کاهندگی اسید آسکوربیک یا همان کنترل در تمامی غلظت‌ها در مقایسه با آلژینات جلبک‌ها به صورت معنی‌داری بالاتر بود (*P*<۰/۰۵).

بحث

آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با تبدیل رادیکال‌های آزاد یا رادیکال‌های پراکسی به ترکیبات غیر رادیکالی از طریق انتقال الکترون، هیدروژن، به دام انداختن فلزات واسطه و حل کردن ترکیبات تولید کننده پراکسیداسیون از اکسایش جلوگیری می‌کنند (Ruberto *et al*., 2001). انواع مختلفی از مشتقات اکسیژنی مانند رادیکال‌های آنیونی سوپراکسید یون اکسیژن و عامل هیدروکسیل همراه با پراکسیدها و فلزات واسطه در طول زندگی موجودات تولید می-شوند. این متابولیت‌ها اثرات تخریب کننده‌ای بر سلول‌های زنده DNA و غشاهای سلولی دارند (Rastian *et al*., 2007). این ترکیبات از دلایل اصلی فساد مواد خوراکی هستند و با اکسایش چربی-ها باعث تندی، مسمومیت و سایر آثار تخریب کننده

در سایر مولکول‌های زیستی موجود در مواد خوراکی می‌شوند. آنتی اکسیدان‌ها راه کاری موثر برای کاهش اکسایش چربی در فرآورده‌های غذایی می‌باشند (Ruberto *et al*., 2001). ترکیبات آنتی اکسیدانی که در بافت گیاهان وجود دارد به دلیل اثراتی که بر رشد و نمو می‌گذارد و همچنین به عنوان یک مکانیزم دفاعی مناسب علیه عفونت و آسیب‌دیدگی‌ها بسیار پر اهمیت می‌باشند (Ballard *et al*., 2010). تحقیقات نشان داده است که آنتی اکسیدان‌های طبیعی می‌توانند به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی اکسیدان‌های مصنوعی به کاررود (Cao *et al*., 1993).

از ترکیبات موثر جلبک‌های قهوه‌ای آنتی اکسیدان‌های فنلی می‌باشند (Kuda *et al*., 2002). ترکیبات فنولی شامل فلاونوئیدها، فلوروتانین‌ها، اسیدهای فنولی و تانین‌ها بوده که عوامل مهمی در فعالیت ضداکسیدانی جلبک‌ها هستند (Blanc *et al*., 2011). ترکیبات فنولی به دلیل عملکردهای آنتی اکسیدانی خود مورد توجه بوده و معمولاً می‌توان آن‌ها را در جلبک‌های دریایی قهوه‌ای، قرمز و سبز مشاهده کرد. تحقیقات نشان داد که مواد غذایی با افزودن ترکیبات فنلی اثرات محافظت کننده ویژه‌ای در برابر بسیاری از بیماری‌ها از خود دارد (Mariod *et al*., 2009). در این مطالعه میزان محتوای فنل کل در آلژینات جلبک *S. vulgare* درمقایسه با *P. pavonica* بالاتر بود. در بررسی O'Sullivan و همکاران (۲۰۱۱) برروی ۵ گونه جلبک قهوه‌ای، فنول کل به طور قابل ملاحظه‌ای به نوع گونه جلبک وابسته بود. در واقع میزان محتوای فنل کل حتی در گونه‌های شبیهه به‌هم می‌تواند بسیار متفاوت بوده و به اقلیم کشور، آب و هوا، تابش نور خورشید و جایگاهی که در ساحل داشته بستگی داشته باشد. بررسی‌های نشان داده است که منبع غنی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی محیط‌های آبی جلبک‌ها می‌باشند (El-Din *et al*., 2019). در مطالعه حاضر پتانسیل آنتی اکسیدانی کل آلژینات ماکروجلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* در بالاترین غلظت به ترتیب ۹۱ و ۵۸ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم پودر جلبکی خشک شده اندازه‌گیری شد. Kokilam و همکاران (۲۰۱۳) فعالیت آنتی‌اکسیدانی چهار گونه جلبک قهوه‌ای *P. tetrastromatica* را ۳۴/۶۶، *Chnoospor aminima* را ۲۹/۳ و *Hormophysa triquetra* را ۲۴ و *S. wightii* را ۲۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید بر گرم عصاره بیان داشت. مقادیر بالای فنول منجر به فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر می‌شود. البته در فعالیت آنتی اکسیدانی تداخل دیگر ترکیباتی که در عصاره آلژینات وجود دارند، را نباید نادیده گرفت (Fan *et al*., 2011). آزمون فعالیت مهارکنندگی DPPH بر پایه کاهش رادیکال‌های آزاد DPPH به عنوان یک رادیکال آزاد پایدار می‌باشد. رادیکال‌های آزاد DPPH در حضور یک دهنده هیدروژن مثل یک ضد اکسیدان مهارکننده رادیکال آزاد جفت می‌شوند. و حداکثر جذب نوری را در طول موج ۵۱۷ نانومتر دارند. هرچه میزان مهارکنندگی بالاتر باشد رنگ محول از بنفش به زرد مایل می شود (Molyneux *et al*., 2004; Borazjani *et al.,* 2018). قابلیت یک ترکیب برای جذب رادیکال DPPH به قابلیت آن ها برای به اشتراک‌گذاری با الکترون‌های غیرجفتی یک رادیکال بستگی دارد (Park *et al*., 2004). در بررسی Rostami و همکاران (۲۰۱۷) ویژگی‌های ضد اکسایشی آلژینات استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *Colpomenia peregrinea* طی فرآیندهای مختلف استخراج آبی، اسیدی و آنزیمی مورد مطالعه قرارگرفت و مشخص شد که بیشترین قابلیت در مهار رادیکال آزاد DPPH را آلژینات آبی و به دنبال آن آنزیم سلولاز دارد. در تحقیق Cox و همکاران (۲۰۱۰) برروی فعالیت آنتی اکسیدانی ۶ گونه جلبک مشخص شد که میزان فعالیت رادیکال آزاد DPPH جلبک قهوه‌ای نسبت به جلبک‌های سبز و قرمز بالاتر می‌باشد. با افزایش غلظت نمونه‌ها اثر مهارکنندگی نیز افزایش می یابد. توانایی قابل توجه

اسید گالیک و اسید آسکوربیک نسبت به آلژینات‌ها به دلیل توانایی بالا در اهدای اتم هیدروژن می‌باشد. آنیون سوپراکسید به عنوان یک اکسیژن نسبتاً ضعیف به شمار می رود اما به‌طور غیرمستقیم باعث شروع پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود آنیون سوپراکسید به طور مداوم تجزیه شده و به فرم فعال ROS تبدیل می‌شود.ROS قادر به ازبین بردن سلول، غیر فعال سازی آنزیم‌ها و تخریب پلی‌ساکارید DNA لیپدها و سایر مواد حساس موجود در سلول‌ها می‌شود. بنابراین رادیکال سوپراکسید برای ترکیبات سلولی بسیار مضر می‌باشد (Zhang *et al.,* 2011). هردو آلژینات استخراج شده توانایی قابل توجهی در مهار رادیکال آزاد سوپراکسید از خود نشان دادند. اختلاف مشاهده شده در بین گونه‌ها را می‌توان ناشی از اختلاف در نوع و مقدار ترکیبات با خاصیت مهارکنندگی درآلژینات جلبک‌ها دانست. از آن‌جا که آهن II می‌تواند موجب تولید اکسی رادیکال‌ها و پراکسیده شدن چربی‌ها شود، کاهش غلظت آن در واکنش‌های فنتون به نحوی ایجاد نوعی حفاظ در مقابل تخریب اکسیداتیو خواهد بود. در اندازه‌گیری قدرت شلاته کنندگی آهن II از توانایی تشکیل کمپلکس با آهن II بهره می‌برند. در حضور سایر شلاته کننده‌ها، تشکیل کمپلکس فروزین-آهن II کاهش یافته که منجر به کاهش رنگ قرمز ناشی از تشکیل کمپلکس خواهد شد. در این روش هم EDTA و هم عصاره آلژینات با تشکیل کمپلکس فروزین-آهن II تداخل کرده که نشان می‌دهد عصاره آلژینات دارای اثر شلاته کنندگی بوده و آهن را قبل از تشکیل کمپلکس رنگی با فروزین شلاته می‌کند (Vinayak *et al.,* 2011). رادیکال آزاد هیدروکسیل یکی از واکنش پذیرترین رادیکال ها می‌باشد. که می‌تواند موجب صدمه دیدن مولکول‌های اطراف خود شود. تحقیقات در این خصوص دو نوع عملکرد را برای رادیکال هیدروکسیل گزارش می‌دهند. عملکرد اول، جلوگیری از تشکیل رادیکال هیدروکسیل و عملکرد دوم پاکسازی رادیکال آزاد تشکیل شده می‌باشد. در مکانسیم نوع اول آنتی-اکسیدان‌ها با تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی مانع از واکنش آن‌ها به H_2O_2 می‌گردند و از تشکیل رادیکال هیدروکسیل جلوگیری می‌کنند (Zhang *et al.,* 2011). آزمایش FRAP یا قدرت احیا کنندگی آهن توانایی یک ترکیب آنتی اکسیدانی را برای کاهش اکسنده فریک (Fe^{3+}) به یک ترکیب فروس (Fe^{2+}) توسط انتقال یک الکترون اندازه‌گیری می‌کند و این قابلیت ترکیب را برای کاهش رادیکال‌های فعال نشان می‌دهد (Su *et al*., 2009). با افزایش غلظت نمونه‌ها فعالیت احیاکنندگی نیز افزایش می‌یابد. در واقع در غلظت‌های بالاتر عدد جذب نیز بیشتر می‌شود، بدین ترتیب قدرت احیاکنندگی نیز افزایش می‌یابد. در مطالعه‌ای که بر روی فعالیت ضداکسیدانی آلژینات جلبک قهوه‌ای *Cystoseira*، نتایج نشان داد که آلژینات استخراجی توانایی کاهندگی در طول موج ۷۰۰ نانومتر را دارد که روند مشابهی با نتایج این تحقیق را داشت (Sellimi *et al.*, 2015).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آلژینات سدیم استخراج شده با حلال آب از ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *S. vulgare* و *P. pavonica* نسبت به روش‌های مدرن‌تر از نظر میزان بازده تولید و به دلیل هزینه کمتر، مقرون به صرفه‌تر می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که محتوای فنل کل، آنتی اکسیدانی کل و توانایی شلاته کنندگی در آلژینات *S. vulgare* در مقایسه با آلژینات *P. pavonica* بالاتر است، در حالی که آلژینات *P. pavonica* از نظر اثر مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی قوی‌تر می‌باشد. آلژینات هر دو جلبک از توانایی فوق‌العاده‌ای در مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل و سوپراکسید برخوردار است. به دلیل مشاهده خاصیت بالای عصاره آلژینات های استخراج شده با آب در به دام انداختن فلزات و حذف رادیکال-

های آزاد می‌توان از آن‌ها به عنوان یک منبع بالقوه از ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی درسیستم‌های غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی استفاده کرد.

منابع

Ballard T.S., Mallikarjunan P., Zhou K., O'Keefe S. 2010. Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chemistry* 120(4), 1185-1192.

Blanc N., Hauchard D., Audibert L., Ar Gall E. 2011. Radical-scavenging capacity of phenol fractions in the brown seaweed *Ascophyllum nodosum*. An electrochemical approach. *Talanta* 84, 513-518.

Borazjani N.J., Tabarsa M., You S., Rezaei M. 2018. Purification, molecular properties, structural characterization, and immune-modulatory activities of water soluble polysaccharides from *Sargassum angustifolium*. *International Journal of Biological Macromolecules* 109, 793-802.

Cox S., Abu-Ghannam N., Gupta S. 2010. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. *International Food Research Journal* 17(1), 205-220.

El-Din S.M., Alagawany N.I. 2019. Phytochemical constituents and anticoagulation property of marine algae *Gelidium crinale*, *Sargassum hornschuchii* and *Ulva linza*. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences* 1-17.

Fan D., Hodges D.M., Zhang J., Kirby C., Ji X., Locke S. et al. 2011. Commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* enhances phenolic antioxidant content of spinach (*Spinacia oleracea* L.) which protects *Caenorhabditis elegans* against oxidative and thermal stress. *Food Chemistry* 124, 195-202.

Gupta S., Abu-Ghannam N. 2011. Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends in Food Science and Technology* 22(6), 315-326.

Hogan C.M. 2011. Algae, brown_algae. In: E. Monosson, C.J. Cleveland (eds). Encyclopedia of Earth. Washington DC: National Council for Science and the Environment.

Kokilam G., Vasuki S., Sajitha N. 2013. Biochemical composition, alginic acid yield and antioxidant activity of brown seaweeds from Mandapam region, Gulf of Mannar. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(11), 99-104.

Kumar M., Gupta V., Kumari P., Reddy C.R.K., Jha B. 2011. Assessment of nutrient composition and antioxidant potential of Caulerpaceae seaweeds. *Journal of Food Composition and Analysis* 24(2), 270-278.

Kuda T., Taniguchi E., Nishizawa M., Araki Y. 2002. Fate of water-soluble polysaccharides in dried Chorda filum a brown alga during water washing. *Journal of Food Composition and Analysis* 15(1), 3-9.

Li Y., Qian Z.-J., Ryu B., Lee S.-H., Kim M.-M., Kim S.-K. 2009. Chemical components and its antioxidant properties in vitro: An edible marine brown alga, *Ecklonia cava*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 17, 1963-1973.

López A., Rico M., Rivero A., Suárez de Tangil M. 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry* 125, 1104-1109.

Meillisa A., Woo H.C., Chun B.S. 2015. Production of monosaccharides and bio-active compounds derived from marine polysaccharides using subcritical water hydrolysis. *Journal of Food Chemistry* 171, 70-77.

Mohsin S., Mahadevan R., Sumayya A.S., Kurup G.M. 2016. Bifunctional eff ect of fucoidan from Padina tetrastromatica against human pathogenic microbes and free radicals. *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine* 1-10.

Mariod A.A., Ibrahim R.M., Ismail M., Ismail N. 2009. Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry* 116, 306-312.

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26, 211-219.

Nahas R., Abatis D., Anagnostopoulou M.A., Kefalas P., Vagias C., Roussis V. 2007. Radical-scavenging activity of Aegean Sea marine algae. *Food Chemistry* 102, 577-581.

Ni-Ni-Win H.T., Arai S., Uchimura M.,

Prathep A., Draisma S.G.A., Phang S.M., Abott I.A., Millar A.J.K., Kawai H. 2011. A taxonomic study of the genus *Padina (dictyotales, phaeophyceae*) including the description of four new species from Japan, Hawaii and the Andaman sea. *Journal of Phycology* 47, 1193-1209.

O'Sullivan A.M., O'Callaghan Y., O'Grady M. N., Queguineur B., Hanniffy D. 2011. In vitro and cellular antioxidant activities of seaweed extracts prepared from five brown seaweeds harvested in spring from the west coast of Ireland. *Food Chemistry* 126, 1064-1070.

Pawar S.N., Edgar K.J. 2012. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials* 33, 3279-330.

Park P.J., Shahidi F., Jeon Y.J. 2004. antioxidant activities of enzymatic extracts from an edible seaweed *Sargassum horneri* using ESR spectrometry. *Journal of Food Lipids* 11, 15-27.

Rostami Z., Tabarsa M., You S., Rezaei M. 2017. Relationship between molecular weights and biological properties of alginates extracted under different methods from Colpomenia peregrina. *Process Biochemistry* 58, 289-297.

Ruberto G., Baratta M.T., Biondi D.M., Amico V. 2001. Antioxidant activity of extracts of the marine algal genus *Cystoseira* in a micellar model system. *Journal of Applied Phycology* 13(5), 403-407.

Rastian Z., Mehranian M., Vahabzadeh F., Sartavi K. 2007. Antioxidant activity of extract from a brown alga (*Sargassum boveanum*). *African Journal of Biotechnology* 6(24), 2740-2745.

Sellimi S., Younes I., Ayed H.B., Maalej H., Montero V., Rinaudo M., Nasri M. 2015. Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed. *International Journal of Biological Macromolecules* 72, 1358-1367.

Sánchez-Machado D., López-Cervantes J., Lopez-Hernandez J., Paseiro-Losada P. 2004. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry* 85, 439-444.

Sathya R., Kanaga N., Sankar P., Jeeva S. 2017. Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsskål) C. Agardh. *Arabian Journal of Chemistry* 10, S2608-S2614.

Su X.Y., Wang Z.Y., Liu J. 2009. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of *Pinus koraiensis* seed extract containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 117, 681-686.

Vinayak R.C., Sabu A.S., Chatterji A. 2011. Bio-prospecting of a few brown seaweeds for their cytotoxic and antioxidant activities. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 1-9.

Wichachucherd B., Liddle L.B., Prathep A. 2010. Population structure, recruitment, and succession of the brown alga, Padina boryana Thivy (*Dictyotales, Heterokonto-phyta*), at an exposed shore of Sirinart National Park and a sheltered area of Tang Khen Bay, Phuket Province, Thailand. *Aquatic Botany* 92(2), 93-98.

Wijesekara I., Pangestuti R., Kim S.K. 2011. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate Polymers* 84, 14-21.

Wang T., Jónsdóttir R., Kristinsson H.G., Hreggvidsson G.O., Jónsson J.Ó., Thorkelsson G., Ólafsdóttir G. 2010. Enzyme-enhanced extraction of antioxidant ingredients from red algae Palmaria palmata. *LWT-Food Science and Technology* 43, 1387-1393.

Wang J., Zhang Q., Zhang Z., Li Z. 2008. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from Laminaria japonica. *International Journal of Biological Macromolecules* 42(2), 127-132.

Zhu W., Chiu M.C.L., Ooi V.E.C., Chan P.K.S., Angjr O.P. 2004. Antiviral property and mode of action of a sulfated polysaccharide from *Sargassum* platens against herpes simplex virus type 2. *International Journal of Antimicrobial Agents* 24, 18-25.

Zhang Y., Lu X., Fu Z., Wang Z., Zhang J. 2011. Sulphated modification of a polysaccharide obtained from fresh persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit and antioxidant activities of the sulphated derivatives. *Food Chemistry* 127(3), 1084-1090.

Comparison of antioxidant properties of sodium alginate extracted by water solvent method from brown macroalgaes of *Sargassum vulgare* and *Padina pavonic*

Mitra Ahadi far*, Seyed Mahdi Ojagh, Seyed Hosein Hoseini-far, Mohamad Ali Khanlar, Moazame Kordjazi, Ali Reza Alishahi

Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources Natural Resources, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resource, Gorgan, Iran.
*Corresponding author: mitraahadifar@gmail.com
Received: 2020/10/2 Accepted: 2021/3/15

Abstract
Sodium alginate is a cheap and available biopolymer due to its biodegradability and hydrophilic properties, PH sensitivity and natural nature received more attentions. Therefore, the present study investigates and compares the antioxidant properties of alginate in different concentrations of brown algae of *Sargassum vulgare* and *Padina pavonica*. According to the results, both algae had high antioxidant activity and the total amount of phenol antioxidant activity in three concentrations (100, 150 and 200 mg/ml), and chelating ability in three concentrations (0.1, 0.5 and 1 mg/ml) in Sargassum alginate were high. Ehereas the Padina alginate had a higher percentage of free radical scavenging DPPH, hydroxyl free radical at concentrations (0.11 and 1.83 mg/ml), regenerative power at the concentrations 160 and 320 µg/ml. There was no significant difference in the inhibition of free superoxide radicals between both algae at any concentration intervals (P>0.05).
Keywords: Brown algae, Sodium alginate, Free radicals, Antioxidants.