مقایسه فعالیت آنتی آکسیدانی آلژینات استخراج شده به روش اسیدی از دو گونه جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica*

میترا احدی‌فر*، سیدمهدی اجاق، سیدحسین حسنی فر، علیرضا عالیشاهی، معظمه کردجزی، محمدعلی خانلر

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

*نویسنده مسئول: mitraahadifar@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۷/۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۱

چکیده

آلژینات‌ها پلی‌ساکاریدهایی هستند که در جلبک‌های قهوه‌ای یافت می‌شوند و بیشترین فراوانی را در بین بیوپلیمرهای دریایی دارا می‌باشند. مطالعه حاضر به استخراج آلژینات به روش اسیدی در pH= ۲ و مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی آلژینات استخراج شده در غلظت‌های مختلف از ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *S. vulgare* و *P. pavonica* می‌پردازد. با توجه به نتایج سنجش آنتی اکسیدانی میزان محتوای فنل کل، رادیکال آزاد هیدروکسیل، فعالیت آنتی اکسیدانی کل در سه غلظت (۲۰۰، ۱۰۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، رادیکال آزاد سوپراکسید در دو غلظت (۴۱/۴۵ و ۴/۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، قدرت شلاته کنندگی در سه غلظت (۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در آلژینات جلبک *S. vulgare* در مقایسه باآلژینات جلبک *P. pavonica* به صورت معنی‌داری بالاتر مشاهده شد (P<۰/۰۵) همچنین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت (۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) توسط آلژینات جلبک *S. vulgare* و در غلظت (۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) توسط آلژینات جلبک *P. pavonica* بالاتر می‌باشد (P<۰/۰۵). در آزمون فعالیت احیاکنندگی بین آلژینات هر دو جلبک در هیچ یک از بازه‌های غلظتی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). با توجه به توانایی بالای آنتی اکسیدانی آلژینات‌های مورد مطالعه دراین تحقیق می‌توان آلژینات را به عنوان یک منبع بالقوه از ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی در صنایع غذایی، پزشکی، آرایشی و بهداشتی معرفی کرد.

واژگان کلیدی: آلزینات، آنتی‌اکسیدان، ماکروجلبک‌ها، رادیکال آزاد.

مقدمه

جلبک‌های دریایی زی‌توده اولیه در مناطق جزر و مدی را شامل می‌شوند (Wichachucherd *et al.,* 2010). آن‌ها علاوه بر تولید غذا و اکسیژن برای موجودات مصرف کننده، به فراهم‌سازی زیستگاه برای بسیاری از گونه‌های آبزی نیز کمک می‌کنند. ماکروجلبک دریایی براساس رنگدانه‌ها به سه گروه جلبک‌های قهوه‌ای (فئوفیت‌ها)، قرمز (رودوفیت‌ها) و سبز (کلروفیت‌ها) طبقه‌بندی می‌شوند (Meillisa *et al.,* 2015). جلبک‌ها حاوی مواد مختلف آلی و غیر آلی می‌باشند که می‌توان از آن‌ها برای سلامت انسان بهره برد. این گیاهان دریایی منبع سرشار از ترکیبات زیست فعال با پتانسیل دارویی و زیست پزشکی به شمار می‌روند. عصاره جلبک‌ها منبع غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌باشند که جلبک‌های قهوه‌ای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با جلبک‌های سبز و قرمز دارند (Ale *et al.,* 2011). جلبک‌های قهوه‌ای در ۱۳ راسته طبقه‌بندی شده‌اند و به عنوان یک گروه بزرگ از جلبک‌های پر سلولی به شمار می‌روند و به طور وسیع در آب‌های نیمکره شمالی پراکنده شده‌اند. این جلبک‌ها منبع غنی از مواد فعال زیستی به شمار می‌روند. مواد فعال زیستی در جلبک‌ها شامل متابولیت‌های اولیه و ثانویه می‌باشد. این متابولیت‌ها در صنایع مختلف از جمله کشاورزی، صنعت و به خصوص داروسازی و پزشکی کاربرد فراوان دارند. از جمله استفاده این نوع جلبک‌ها در داروسازی و پزشکی به کارگیری آن‌ها به عنوان داروهای ضد سرطان، ضد ویروس، ضد قارچ، بهبود

ایمنی، مهار آنزیمی و غیره می‌باشد (Rahimi *et al.*, 2013). جلبک‌های جنس *Sargassum* به عنوان یک جنس از ماکروجلبک‌های قهوه‌ای در راسته Fucales هستند که رنگ آن‌ها عموماً قهوه‌ای یا سبز تیره بوده و شامل یک ناحیه قلاب مانند، یک بخش گوشواره‌ای و یک ساقه برگی شکل هستند (Hogan and Michal, 2011). ماکروجلبک‌های جنس *Padina* از راسته Dictyotales که به رنگ قهوه‌ای متمایل به زرد دیده می‌شوند، به دلیل شکل برگ (بادبزنی) به راحتی از سایر جلبک‌های دریایی قابل شناسایی هستند و همچنین دارای سلول‌های مریستمی می‌باشند (Ni-Ni-Win *et al.*, 2011).

اسید آلژنیک یا آلژینات نامی است که به پلی-ساکاریدهای خطی حاوی D-b- مانورونیک اسید و L-a گالارونیک اسید داده می‌شود (Andrade *et al.*, 2004). اسید آلژنیک به دلیل دارا بودن وزن مولکولی بالا جزو پلی‌ساکاریدهای محلول در قلیا می-باشد. آلژینات تولید شده به وسیله جلبک‌های قهوه-ای، به ویژه در فرم آلژینات سدیم و کلسیم، به دلیل توانایی جذب یون‌های فلزی، به طور گسترده در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این بیوپلیمرها با مکانیسم تبادل یونی و گروه‌های کربوکسیل خود قادر به اتصال یون‌های فلزی از محلول‌های آبی هستند (Łabowska *et al.*, 2019). جلبک *S. vulgare* غنی از آلژینات است (Gupta *et al.*, 2011) و قابلیت آلژینات‌ها در اتصال و نگه داشتن مولکول‌های آب سبب گردیده که محققان این ترکیبات را در دسته هیدروکلوییدها قرار دهند و برای آن‌ها کاربردهای تجاری مختلفی را در صنایع غذایی به عنوان ثبیت کننده، قوام دهنده، امولسیفایر، کاهنده چربی، تشکیل دهنده فیلم و میکروانکپسولاسیون ترکیبات غذا و دارو را متصور باشند (Brownlee *et al.*, 2005).

به علت ویژگی‌های آبدوستی آلژینات، آن‌ها را با استفاده از حلال‌های بر پایه‌ی آب استخراج می‌کنند. استفاده از pH متفاوت و به کارگیری نمک‌های چند ظرفیتی می‌تواند در استخراج انواع مختلف آلژینات موثر باشد. انتخاب شیوه استخراج نیز می‌تواند بر ماهیت شیمیایی آلژینات استخراج شده تاثیرگذار باشد (Rostami *et al.*, 2017; Borazjani *et al.*, 2018)). در مطالعات Rostami و همکاران (۲۰۱۷) بر روی ویژگی‌های ضداکسایشی آلژینات استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *Colpomenia peregrinea* فعالیت‌های ضداکسایشی هیدروکلوئیدهای استحصالی توسط آزمایش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت کاهندگی آهن سنجیده و نتایج نشان داد که پلی‌ساکارید این جلبک قهوه‌ای واجد پتانسیل ضداکسایشی می‌باشد. همچنین در مطالعه Sellimi و همکاران (۲۰۱۵)، اثر آنتی‌اکسیدانی آلژینات استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *Cystoseria barbara* مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که آلژینات سدیم استخراج شده از این جلبک‌ها توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت کاهندگی آهن را از خود دارد. تفاوت در میزان استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌تواند به نوع حلال ترکیبات هدف و نوع گونه جلبک بستگی داشته باشد. بنابراین تحقیق حاضر با هدف ارزیابی و مقایسه فعالیت آنتی آکسیدانی آلژینات استخراج شده به روش اسیدی از دو گونه جلبک قهوه‌ای *S. vulgare* و *P. pavonica* به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

جلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* مورد مطالعه از جلبک‌های قهوه‌ای جنوب کشور هستند و از سواحل جزیره قشم جمع‌آوری شده و بلافاصله با آب دریا شستشو داده شدند. نمونه ها پس از انتقال به آزمایشگاه و شناسایی گونه‌ها توسط پژوهشکده خلیج فارس و دریای عمان، برای حذف گل ولای و دیگر مواد زائد شستشو و در کیسه های پلاستیکی زیپ‌دار بسته‌بندی شدند. به منظور جلوگیری از نفوذ نور توسط ورق‌های نازک آلومینیومی پوشانیده شدند. همچنین با لایه‌های یخ در ظرف‌های نگه دارنده

مخصوص (یونولیت) حمل و پس از انتقال به بخش آزمایشگاه فراورده‌های شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان، نمونه‌ها بار دیگر به منظور حذف مقادیر نمک، گل‌ولای و اپی‌فیت با آب‌شیرین شستشو داده شد. سپس در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در درون آون خشک شده و در دمای اتاق به مدت ۳ روز قرار داده شدند. سپس با آسیاب برقی پودر و تا شروع آزمایشات لازم جهت استخراج آلژینات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در داخل ظرف استریل در فریز نگهداری شدند (Sánchez-Machado *et al.*, 2004). در ضمن تمام مواد آزمایشگاهی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت Merk آلمان تهیه شدند.

شرایط استخراج آلژینات سدیم: 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 روی شیکر بدون دما با دور ۱۳۰rpm رنگبری شد. بعد از سانتریفیوژ (EppendorfR5810، آلمان) با دور ۸۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، رسوب باقی مانده جمع‌آوری و در زیر هود خشک شد. در مرحله‌ی بعد ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با افزودن هیدروکلریک اسید ۰/۱ مولار به pH ۲ رسیده و به جلبک پودر شده اضافه شد. درون شیکر انکوباتور (KS 4000، IKA®،آلمان) در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت با سه تکرار گذاشته شد. بعد 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 حاصله جمع‌آوری و به آن کربنات سدیم ۳ درصد به حجم یک لیتر اضافه گردید و pH آن برروی ۱۱ تنظیم شد. سپس مجدداً درون شیکرانکوباتور با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعتقرار گرفت. در نهایت بعد از سانتریفیوز، برابر با حجم سوپرناتانت جدا شده به آن اتانول ۷۰ درصد اضافه و بعد از ۱۲ ساعت نگهداری در یخچال، سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد و آلژینات به دست آمده با استفاه از دستگاه خشک کن انجمادی (ALPHA 1-2LD، آلمان)، خشک شد (Rostami *et al.*, 2017; Borazjani *et al.,* 2018). مقدار بازده آلژینات دراین تحقیق دردوگونه جلبک *S. vulgare* و *P. pavonica* به ازای ۵۰ گرم پودر خشک جلبک معادل ۱۲/۱ و ۱۰/۶۶ درصد بود.

محتوای فنل کل: برای اندازه‌گیری میزان فنول کل به طور خلاصه ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آلژینات (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) 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. 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 به طور خلاصه، ۰/۳ میلی‌لیتر از نمونه در غلظت های (۲۰۰ -۲۰ میلی‌گرم بر میلی-لیتر) 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 بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه انکوبه شد. سپس 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 و نتایج برحسب میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم پودر جلبکی خشک شده بیان شد (Sathya *et al.*, 2017).

فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH: برای اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH به طور خلاصه ۲۳/۵ میلی‌گرم پودر بنفش DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول (۱۰۰٪) حل و سپس به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق گردید. از محلول آلژینات، غلظت‌های مختلف (۲۰ تا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) ساخته شد و ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌ها با ۳/۹ میلی‌لیتر از معرف DPPH برای رسیدن به حجم ۴ میلی‌لیتر مخلوط گردید و سپس 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).

$$\text{توانایی رادیکال آزاد DPPH}\ (\%) = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$

رادیکال آزاد سوپراکسید: برای اندازه‌گیری میزان رادیکال آزاد سوپراکسید به طور خلاصه ۳ میلی‌لیتر بافر (Tris-Hcl ۱۶ میلی‌مولار PH ۸، ۳۳۸ میکرومولار NADH و ۷۲ میکرومولار NBT و ۳۰ میکرومولار PMS) در غلظت‌های مختلف محلول آلژینات (۱۵۳-۴/۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با هم مخلوط شد. مخلوط حاصل در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه انکوبه گردید. جذب نمونه‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر در مقابل شاهد خوانده گردید. 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).

$$\text{توانایی مهاررادیکال آزاد سوپراکسید}\ (\%) = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$

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

$$\text{اثرشلاته کنندگی یون آهن}\ (\%) = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$

توانایی رادیکال آزاد هیدروکسیل : برای اندازه‌گیری توانایی مهار رادیکال هیدروکسیل به طور خلاصه غلظت‌های مختلف نمونه (۱/۸۳-۰/۱۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۰/۵ میلی‌لیتر EDTA-Fe (۲ میلی-مولار، ۱ میلی‌لیتر H_2O_2 (۳ درصد)، ۱ میلی‌لیتر زعفران (۳۶۰ میکروگرم / میلی‌لیتر) به همراه ۴/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم (۱۵۰ میلی‌مولار pH ۷/۴) مخلوط شد و مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه داخل آون قرار گرفته و جذب آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانش شد و 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).

$$\text{توانایی مهاررادیکال آزاد هیدروکسیل}\ (\%) = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$

قدرت احیاکنندگی یون آهن: برای اندازه‌گیری قدرت احیا کنندگی نمونه‌ها به طور خلاصه ۰/۵ میلی لیتر از محلول آلژینات در غلظت‌های (۳۲۰-۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با ۱/۲۵ میلی‌لیتر بافر فسفات

(۰/۲مولار، pH ۶/۶) و ۱/۲۵ میلی‌لیتر فری سیانید پتاسیم (۱ درصد) مخلوط شد. سپس در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه گردید. پس از سرد شدن به این مخلوط (۱/۲۵ میلی‌لیتر TCA ۱۰ درصد)، ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۰/۲۵ میلی‌لیتر $Fecl_3.6H_2O$ (۱ درصد) اضافه گردید. این مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و سپس جذب در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. با افزایش جذب قدرت احیا کنندگی افزایش می‌یابد. از اسید آسکوربیک به عنوان گروه کنترل مثبت استفاده شد. افزایش عدد جذب، نشان دهنده افزایش قدرت احیا است (Kumar *et al.*, 2011).

آنالیز آماری: به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، ابتدا نرمال بودن و همگنی داده‌ها با استفاده از آزمون اندازه‌گیری تکراری (Repeated measure) مورد بررسی قرار گرفت. بعد از تایید نرمال بودن و همگنی داده‌ها، از آنالیز واریانس یک طرفه برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. برای بررسی اختلاف معنی‌داری بین میانگین داده‌ها از آزمون توکی در سطح ۵٪ استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. شکل‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج

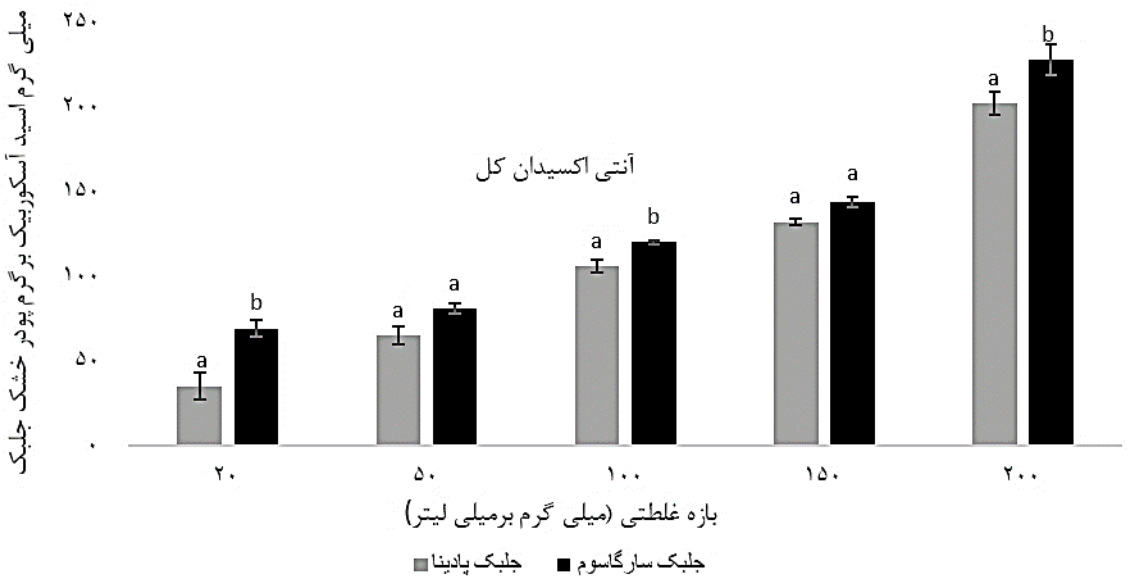
محتوای فنل کل: محتوای فنل کل آلژینات سدیم ماکروجلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* در شکل ۱ ارائه شده است. براساس نتایج محتوای فنل کل آلژینات سدیم در هر دو گونه جلبک اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$) و آلژینات جلبک *S. vulgare* میزان محتوای فنل کل بالاتری (۵۶/۱±۷/۹ میلی‌گرم گالیک اسید به گرم پودر جلبکی خشک شده) در مقایسه با آلژینات جلبک *P. pavonica* (۳۷/۱±۶/۵ میلی‌گرم گالیک اسید به گرم پودر جلبکی خشک شده) داشت.

فعالیت آنتی اکسیدانی کل: در مطالعه حاضر تعیین پتانسیل آنتی اکسیدانی کل آلژینات ماکروجلبک-

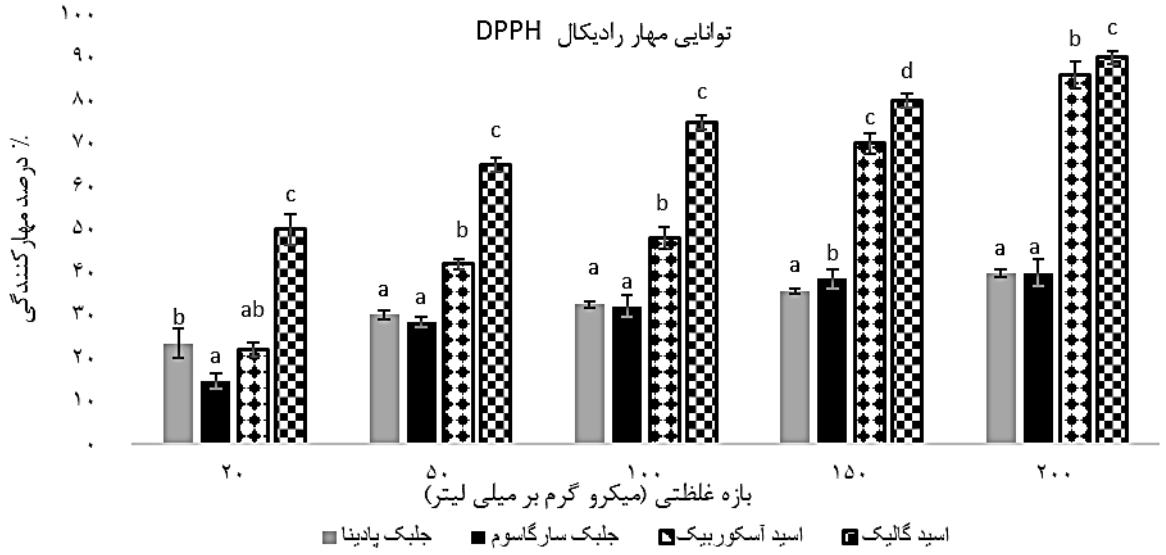
شکل ۱ – میزان محتوای فنل کل در آلژینات‌های استخراج شده از ماکروجلبک‌های *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica* حروف کوچک متفاوت (a, b) نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) می‌باشد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

های *S. vulgare* و *P. pavonica* در بازه‌های غلظتی (۲۰۰–۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) انجام شد. که به ترتیب معادل ۲۲۸-۶۹ و ۲۰۲-۳۵ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم پودر جلبکی خشک شده اندازه‌گیری شدند که بیانگر آن است که فعالیت آنتی اکسیدانی کل به غلظت وابسته بوده و با افزایش غلظت فعالیت آنتی اکسیدانی کل نیز افزایش می‌یابد. بین آلژینات جلبک‌های مورد مطالعه در غلظت‌های ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$)، اما در سایر غلظت‌ها پتانسیل فعالیت آنتی اکسیدانی در آلژینات جلبک *S. vulgare* به صورت معنی‌داری از آلژینات جلبک *P. pavonica* بالاتر بود ($P<۰/۰۵$) (شکل ۲).

فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH: توانایی مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط آلژینات از ماکرو جلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* در شکل ۳ نشان داده شده است. در مطالعه حاضر اثر مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH آلژینات جلبک *S. vulgare* در غلظت‌های ۲۰ تا۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب معادل ۱۴/۶۹ تا ۳۹/۹۴ درصد و برای آلژینات جلبک *P. pavonica* در همان غلظت به ترتیب معادل ۲۳/۵۵ تا ۳۹/۸۶ درصد اندازه‌گیری شد. که نشان داد با افزایش غلظت، درصد



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.

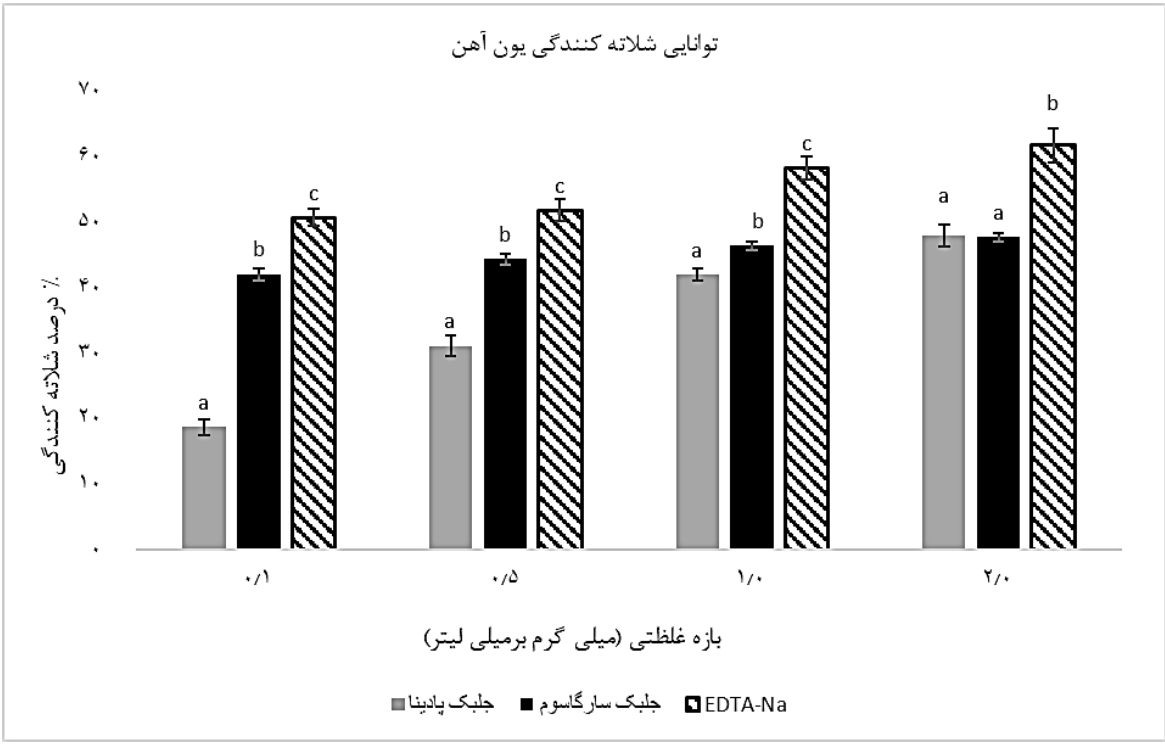
مهارکنندگی رادیکال آزاد نیز افزایش می‌یابد. در غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آلژینات جلبک *P. pavonica* به صورت معنی‌داری از آلژینات جلبک *S. vulgare* بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). اما درغلظت ۱۵۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر درصد مهار رادیکال آزاد DPPH توسط آلژینات جلبک *S. vulgare* به صورت معنی‌داری بالاتراز آلژینات *P. pavonica* مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). و در سایر غلظت‌ها هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در آلژینات جلبک‌ها مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). در این تست اسید گالیک و اسید آسکوربیک به عنوان نمونه استاندارد در نظر گرفته شد. که در بالاترین غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گروه‌های کنترل مثبت گالیک اسید و آسکوربیک اسید به ترتیب اثر مهارکنندگی

شکل ۴ – درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد سوپر اکسید توسط 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.

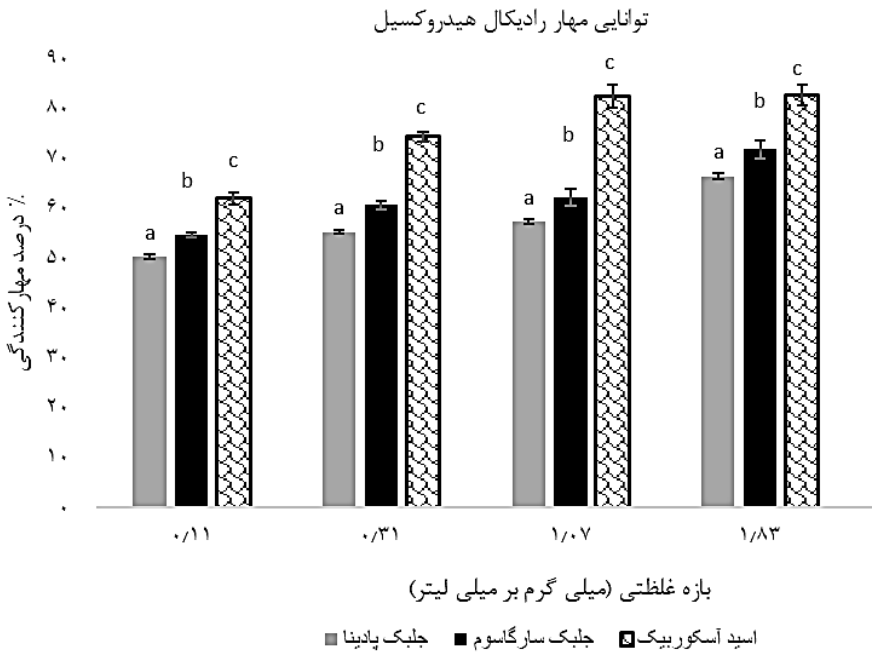
معادل ۹۰ و ۸۶٪ را از خود نشان دادند. اثر مهار کنندگی در گروه کنترل مثبت اسید گالیک در تمامی غلظت‌ها از آلزینات جلبک های مورد مطالعه به صورت معنی‌داری بیشتر بود (*P*<۰/۰۵). همچنین اسید آسکوربیک درغلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اختلاف آماری معنی‌داری با آلژینات جلبک‌ها نداشت (*P*>۰/۰۵) و در سایر غلظت‌ها به صورت معنی‌داری بالاتر مشاهده شد (*P*<۰/۰۵).

رادیکال آزاد سوپراکسید: درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد سوپراکسید توسط آلژینات جلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* در بازه غلظتی ۱۵۳-۴/۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر انجام شد. شکل ۴ که به ترتیب معادل ۳۷/۴۰-۲۴/۰۴ درصد و ۳۵/۴۷-۱۱/۳۱ درصد اندازه‌گیری شد. آلژینات جلبک *S. vulgrare* در بازه غلظتی ۴۱/۴۵ و ۴/۲۶ به صورت معنی‌داری (*P*<۰/۰۵) از آلژینات *P. pavonica* بالاتر بود و در سایر غلظت‌ها هیچ اختلاف معنی‌داری میان آلژینات جلبک‌ها مشاهده نشد (*P*>۰/۰۵).

توانایی شلاته کنندگی یون آهن: فعالیت آنتی اکسیدانی آلژینات جلبک‌ها براساس تست قدرت شلاته کنندگی یون آهن مورد ارزیابی قرارگرفت. با توجه به شکل ۵ قدرت شلاته کنندگی یون آهن وابسته به غلظت می‌باشد که با افزایش غلظت درصد شلاته کنندگی یون آهن نیز افزایش می‌یابد. در غلظت‌های ۲-۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، درصد شلاته کنندگی آلژینات جلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* به ترتیب معادل ۴۷/۶۲-۴۱/۹۹ و ۶۸/۹۰-۱۸/۴۷ درصد اندازه‌گیری شد. در غلظت‌های ۱-۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توانایی شلاته کنندگی یون آهن توسط آلژینات جلبک *S. vulgare* به صورت معنی‌داری از آلژینات جلبک *P. pavonica* بالاتربود (*P*<۰/۰۵). همچنین در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری در میان آلژینات جلبک‌ها دیده نشد (*P*>۰/۰۵). در مطالعه حاضر از آنتی اکسیدان مرجع $EDTA\text{-}Na_2$ استفاده شد. که

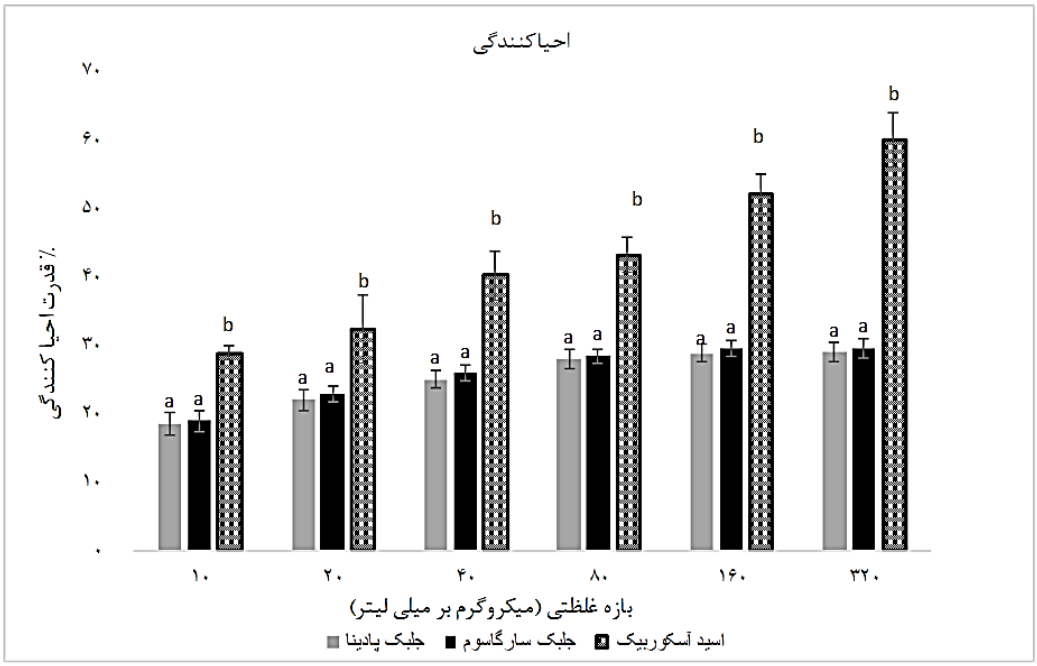


شکل ۵ – توانایی شلاته کنندگی یون آهن توسط آلژینات‌های استخراج شده از ماکروجلبک‌های *Sargassum vulgare* و *Padina pavonica* حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری (*P*<۰/۰۵) می‌باشد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.



شکل ۶ – درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد هیدروکسیل توسط 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..

درصد شلاته کنندگی آن در بازه‌های غلظتی ۰/۱ تا ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب معادل ۵۰/۶۴ و ۶۱/۶۱ درصد مشاهده شد. که نسبت به تمام بازه‌های غلظتی به صورت معنی‌داری بالاتر بود (*P*<۰/۰۵).



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.

توانایی رادیکال آزاد هیدروکسیل: درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد هیدروکسیل توسط آلژینات جلبک‌های قهوه‌ای *S. vulgare* و *P. pavonica* در شکل ۶ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل دیده می‌شود، 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 معادل ۵۴/۷۸ و ۵۰/۳۷ و بیشترین درصد را در غلظت ۱/۸۳ میلی‌گرم بر میلی-لیتر به ترتیب معادل ۷۱/۸۶و ۶۶/۴۸ از خود نشان دادند. در غلظت‌های ۱/۸۳-۰/۱۱ میلی‌گرم بر میلی لیتر درصد مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل در آلژینات *جلبک S. vulgare* به صورت معنی‌داری از آلژینات جلبک *P. pavonica* بالاتر بود (*P*<۰/۰۵). در این تست اسیدآسکوربیک به عنوان نمونه استاندارد در نظر گرفته شد که در تمامی غلظت از آلژینات جلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* به صورت معنی‌داری بالاتر بود (*P*<۰/۰۵).

قدرت احیا کنندگی یون آهن: در شکل ۷ قدرت احیا کنندگی آلژینات جلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* نشان داده شده است. با افزایش غلظت آلژینات جلبک‌ها قدرت احیاکنندگی نیز افزایش می‌یابد. قدرت احیاکنندگی *S. vulgare* و *P. pavonica* آلژینات جلبک‌ها در غلظت‌های ۳۲۰-۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب معادل۲۹/۶۰-۱۹ و ۲۹-۱۸/۶۰ درصد می‌باشد. میان آلژینات جلبک‌ها در هیچ بازه غلظتی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (*P*>۰/۰۵). اسید آسکوربیک در تمامی غلظت‌ها در مقایسه با آلژینات جلبک‌ها به صورت معنی‌داری بالاتر بود (*P*<۰/۰۵).

بحث

جلبک‌های دریایی منبعی سرشار از ترکیبات آنتی-اکسیدان طبیعی به شمار می‌روند (Kokilam *et al.*, 2013). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در جلبک‌های دریایی، در سال‌های اخیر به دلیل کاهش استفاده از آنتی اکسیدان های مصنوعی مانند

بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT)، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) و ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) رو به افزایش می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌هایی که منشا آن‌ها گیاهی می‌باشد می‌توانند با سرعت با رادیکال‌های آزاد واکنش دهند و آن‌ها را نابود کنند (Cox *et al.*, 2010). پلی‌ساکاریدهایی که در جلبک‌های قهوه‌ای وجود دارند مثل آلژینات‌ها، فوکان‌ها و لامینارین فیبرهای محلول در آب بوده که دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشند (Ahn *et al.*, 2004). آلژینات پلی‌ساکاریدی است که در ساختار جلبک‌های قهوه‌ای دریایی و کپسول پلی ساکاریدی برخی از باکتری‌ها یافت می‌شود (Hecht and Srebnik, 2016). با توجه به قابلیت آلژینات در حفظ آب، خاصیت تشکیل ژل، افزاینده ویسکوزیته و خاصیت تثبیت کنندگی، کاربردهای صنعتی مختلفی دارد که عمدتاً در مواد غذایی، پزشکی، دارویی و صنایع نساجی حائز اهمیت می‌باشد. بررسی‌های اخیر نشان داده است که عصاره جلبک‌های دریایی از جمله عصاره آلژینات دارای آنتی‌اکسیدان‌های فنلی می‌باشد (Lim *et al.*, 2002). پلی‌فنل‌ها معرف یک گروه متفاوت از ترکیبات که عبارتند از فلاونوئیدها، لگنین-ها، توکروفول‌ها، تانن‌ها و اسیدهای فنولیک می‌باشند. ترکیبات فنلی با به دام انداختن یون‌های فلزی و جلوگیری از تشکیل رادیکال آزاد و بهبود سیستم‌های داخلی به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند (Cox *et al.*, 2010). همچنین اطلاعات اندکی در مورد قدرت آنتی اکسیدانی کل وجود دارد. که نمی-توان مقایسه جامعی در این فاکتور انجام داد. وجود اختلافات متعدد در نتایج مطالعات انجام گرفته در این سنجش می‌تواند به دلیل نحوه استخراج و نوع گونه مورد بررسی باشد. در مطالعه حاضر پتانسیل آنتی اکسیدانی کل آلژینات ماکروجلبک‌های *S. vulgare* و *P. pavonica* در بالاترین غلظت به ترتیب معادل ۲۲۸ و ۲۰۲ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم پودر جلبکی خشک شده مشاهده شد. بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی کل در مطالعه‌ای برروی جلبک‌های هند معادل ۰/۳۱ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم پودر جلبکی خشک شده گزارش شد (Chandini *et al.*, 2008) که نسبت به آلژینات جلبک‌های مورد مطالعه پایین تر بود. همچنین در بررسی انجام شده توسط Kokilam و همکاران (۲۰۱۳)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی چهار گونه جلبک قهوه‌ای *P. tetrastromatica* معادل ۳۴/۶۶ *Chnoospor aminima* ۲۹/۳ و *Hormophysa triquetra* ۲۴ و *Sargassum wightii* ۲۰ میلی گرم اسکوربیک اسید برگرم عصاره اندازه‌گیری شد. در تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره آلژینات روش فسفومولیبدنوم، مولیبدنوم VI (MO^{6+}) به فرم ترکیب فسفات / مولیبدنوم V (MO^{5+}) سبز رنگ کاهش پیدا کرد (Ganesan *et al.*, 2008). فعالیت مهار رادیکال DPPH به طور گسترده‌ای جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی مورد استفاده قرار می-گیرد (Sánchez-Moreno *et al.*, 2002). در این تحقیق ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره آلژینات با اهدای اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد DPPH آن را به فرم پایدار DPPH-H تبدیل می-کنند. در واقع مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با اهدای اتم هیدروژن به وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها و تبدیل آن‌ها به فرم پایدار DPPH-H انجام می‌شود. بیشتر نمونه-هایی قادر به مهار رادیکال آزاد DPPH می‌باشند که در ساختار خود دارای گروه‌های OH– و $-OSO_3H$ هستند. جایگزینی گروه OH– با گروه و$-OSO_3H$ باعث تقویت اثر مهار کنندگی می‌شود. بنابراین هرچه تعداد گروه OH– بیشتر باشد اثر مهار کنندگی نیز قوی‌تر خواهد بود (Zhang *et al.*, 2011). همچنین کاهش در جذب رادیکال DPPH ناشی از حضور آنتی‌اکسیدان ها به دلیل مهار رادیکال توسط هیدروژن اهدایی است. که به صورت تغییر رنگی قابل توجه از بنفش به زرد نمایان می‌شود (Ganesan *et al.*, 2018). در مطالعه Sellimi و همکاران (۲۰۱۵) برروی فعالیت ضداکسیدانی آلژینات جلبک قهوه‌ای *Cystoseira barbata* نتایج نشان داد که

آلژینات سدیم استخراج شده از این جلبک‌ها توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت کاهندگی آهن را از خود دارد که با نتایج این مطالعه هم خوانی داشت. همچنین آلژینات سدیم به عنوان یک ترکیب آنتی-اکسیدانی خوب به حساب می‌آید که می‌تواند مانع از آسیب اکسیداتیو مولکول‌های زیستی شود (limi *et al.*, 2015). در مطالعات Borazjani و همکاران (۲۰۱۸)، بروی ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی آلژینات استخراج شده به روش شیمیایی از جلبک *S. anustifolium* نتایج نشان داد که خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و قدرت کاهندگی آهن در روش استخراج اسیدی آلژینات بالاتر از استخراج آبی می‌باشد. در مطالعه Chew و همکاران (۲۰۰۸)، مشاهده شد که جلبک *P. antillarum* از خانواده جلبک‌های قهوه‌ای نسبت به جلبک سبز *Caulerpa racemosa* و جلبک قرمز *Kappaphycus alvarezii* توانایی حذف رادیکال آزاد DPPH را دارد. که این نتیجه ممکن است به دلیل حضور ماده فلورتانین (Phlorotannin) در این جلبک باشد. در تحقیقی دیگر توسط Rostami و همکاران (۲۰۱۷)، بر روی ویژگی‌های ضد اکسایشی آلژینات استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *Colpomenia peregrinea* طی فرآیندهای مختلف استخراج آبی، اسیدی و آنزیمی با استفاده از آنزیم آلکالاز و سلولاز نتایج ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی نشان داد که بیشترین قابلیت در مهار رادیکال آزاد DPPH را آلژینات با حلال آبی و به دنبال آن آنزیم سلولاز دارد. همچنین بالاترین فعالیت در قابلیت احیاکنندگی یون‌های آهن مربوط به استخراج پلی ساکارید آلژینات طی فرآیند اسیدی و آبی بود که به طور کلی این یافته نشان داد. که پلی ساکارید جلبک قهوه‌ای *Colpomenia peregrinea* واجد پتانسیل ضد اکسایشی می باشد. فسفات و سولفات گلوکان از جمله ترکیبات شناسایی شده در جلبک‌ها با خاصیت مهارکنندگی رادیکال سوپراکسید می‌باشند (Wang *et al.*, 2008). رادیکال آزاد مانند سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و هیدروکسیل ناشی از متابولیسم هوازی در بافت‌های مختلف و میکروب‌ها به عنوان ترکیبات جانبی تشکیل می‌شوند (Kurd and Samavati, 2015). افزایش این ترکیبات در بدن موجب بروز آسیب‌های جدی و در ترکیبات غذایی، آرایشی بهداشتی منجر به کاهش کیفیت و آسیب به مصرف کننده می‌گردد (Wang *et al.,* 2010). آنیون سوپراکسید اکسیدان نسبتاً ضعیفی می‌باشد که نقش غیر مستقیمی در شروع پراکسیداسیون لیپیدی ایفا می‌کند. آنیون سوپراکسید به طور مداوم شکسته شده و به فرم فعال ROS تبدیل می‌شود. ROS (گونه فعال اکسیژن) مولکول-های کوچک، ناپایدار و بسیار واکنش پذیری هستند که می‌توانند پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA را اکسید کنند (Zhang *et al.,* 2011). تبدیل سوپراکسید و H_2O_2 به گونه‌های واکنش‌پذیرتر مانند رادیکال هیدروکسیل، یکی از نامطلوب‌ترین اثرات ناشی از رادیکال سوپراکسید است (Zhang *et al.,* 2011).

فعالیت شلاته‌کنندگی فلز یکی از مکانسیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که باعث کاهش فعل و انفعالات انتقال فلز در پراکسیداسیون چربی می‌شود (Mohsin *et al.,* 2016). شلاته کنندگی ماده‌ای نام دارد که با اتصال به یون‌های فلزی ساختار حلقه‌ای استواری را تشکیل دهد (Vinayak *et al.,* 2011). عوامل شلاته‌کننده موجود در عصاره آلژینات با کاهش پتانسیل احیا می‌توانند باعث پایداری فرم اکسید شده یون فلزی شوند (Gordon, 1990). شناساگر این واکنش فروزین نام دارد که با آهن II موجود در محیط، کمپلکس قرمز رنگی تشکیل می-دهد. غلظت آهن محیط درصورت عوامل شلاته کننده کاهش می‌یابد و رنگ قرمز کمپلکس آهن-فروزین را کم می‌کند (Vinayak *et al.,* 2011). یون‌های فلزی واسطه دو ظرفیتی، نقش مهمی را به عنوان کاتالیزور فرایندهای اکسیداتیو بازی می‌کنند و همین‌طور منجر به تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل و واکنش‌های تجزیه هیدروژن پراکسید از طریق شیمی فنتون می‌شوند (Halliwell, 1996). در

مطالعه حاضر قدرت شلاته کنندگی یون آهن در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کمترین قدرت و در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشترین قدرت اتصال به فلز را نشان داد. بنابراین با افزایش غلظت اتصال به یون آهن نیز بالاتر می‌رود. در این باره هر دو آلژینات باتوجه به قدرت بالای تشکیل ژل و به دنبال آن افزایش گرانروی محلول توانایی بالایی در به دام انداختن یون‌های فلزی از خود نشان دادند.

Tsiapali و همکاران (۲۰۰۱)، در مطالعات خود بیان کردند که فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد تاحدی به ترکیبات مونوساکاریدی مرتبط می‌باشند. در واقع مولکول‌هایی با توانایی شلاته کنندگی یون آهن قادر به مهار رادیکال هیدروکسیل هستند. همچنین رادیکال آزاد هیدروکسیل، نوع خنثی از یون هیدروکسید و بسیار واکنش‌پذیر است که موجب آسیب جدی به مولکول‌های مجاور خود می‌شود (Wang *et al.*, 2008). در این تحقیق آلژینات جلبک‌های مورد مطالعه قدرتی مشابه با آلژینات استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *Cystoseira barbata* را در مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل از خود نشان دادند (Sellimi *et al.*, 2015). همچنین قدرت احیاکنندگی می‌تواند یک شاخص خوبی از فعالیت آنتی اکسیدانی محسوب شود. در این روش کاهشی، حضور عوامل احیا کننده در عصاره آلژینات سبب کاهش کمپلکس Fe^{3+} و تبدیل آن به فرم ferrous می‌شود، بنابراین Fe^{2+} می‌تواند با اندازه-گیری میزان جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر بررسی شود (Zhang *et al.,* 2011).

نتیجه گیری

طبق نتایج آلژینات ماکروجلبک‌های قهوه‌ای *S. vulgare* و *P. pavonica* استخراج شده به روش اسیدی باتوجه به خاصیت بالا در مهار رادیکال‌های آزاد و حذف فلزات سنگین می‌تواند به عنوان یک ترکیب زیست فعال و یک ابزار درمانی موثر استفاده گردد. که این امر نیازمند تحقیقات گسترده و شناخت موثرترین روش‌های استخراج آلژینات از جلبک‌های قهوه‌ای می‌باشد.

منابع

Ahn C.-B., Jeon Y.-J., Kang D.-S., Shin T.-S., Jung B.-M. 2004. Free radical scavenging activity of enzymatic extracts from a brown seaweed *Scytosiphon lomentaria* by electron spin resonance spectrometry. *Food Research International* 37(3), 253-258.

Ale M.T., Maruyama H., Tamauchi H., Mikkelsen, J. D., Meyer, A.S. (2011). Fucoidan from *Sargassum* sp. and Fucus vesiculosus reduces cell viability of lung carcinoma and melanoma cells in vitro and activates natural killer cells in mice in vivo . *International Journal of Biological Macromolecules* 49(3), 331-336

Andrade L.R., Salgado L.T., Farina M., Pereira M.S., Mourao, P.A., Amado Filho G.M. 2004. Ultrastructure of acidic polysaccharides from the cell walls of brown algae. *Journal of Structural Biology,* 145(3), 216-225

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

Brownlee I., Allen A., Pearson J., Dettmar P., Havler M., Atherton M., Onsøyen E. 2005. Alginate as a source of dietary fiber. *Critical reviews in food science and nutrition, 45*(6), 497-510.

Chandini S.K., Ganesan P., Bhaskar N. 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry* 107(2), 707-713

Chew Y.L., Lim Y.Y., Omar M., Khoo K.S. 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT-Food Science and Technology* 41(6), 1067-1072.

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.

Ganesan P., Kumar C.S., Bhaskar N. 2008. Antioxidant properties of methanol extract

fucoidan from *Padina tetrastromatica* against human pathogenic microbes and free radicals. *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine* 2, 1-10.

Rahimi Z., Rahimi Z., Mozafari H., Parsian A. 2013. Preeclampsia and angiotensin converting enzyme (ACE) I/D and angiotensin II type-1 receptor (AT1R) A1166C polymorphisms: association with ACE I/D polymorphism. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System,* 14(2), 174-180.

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

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(3), 439-444.

Sánchez-Moreno C. 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International* 8(3), 121-137.

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.

Seaweeds E.B., Gupta S., Abu-ghannam, N. 2011. Bioactive Potential and Possible Health Effects of Edible Brown Seaweeds. *Trends in Food Science and Technology* 22, 315-326.

Sellimi S., Younes I., Ayed H.B., Maalej H., Montero V., Rinaudo M., Dahia M., Mechichi T., Hajji 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.

Tsiapali E., Whaley S., Kalbfleisch J., Ensley H.E., Browder I.W., Williams D.L. 2001. Glucans exhibit weak antioxidant activity, but stimulate macrophage free radical activity. *Free Radical Biology and Medicine* 30(4), 393-402.

Vinayak R.C., Sabu A., Chatterji A. 2011. Bio-prospecting of a few brown seaweeds and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technolog,* 99(8), 2717-2723.

.Gordon, M. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. In *Food antioxidants*, Springer. pp: 1-18.

.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.

Halliwell B. 1996. Antioxidants: the basics-what they are and how to evaluate them. *Advances in Pharmacology* 38, 3-20.

Hecht H., Srebnik S. 2016. Structural characterization of sodium alginate and calcium alginate. *Biomacromolecules* 17(6), 2160-2167.

Hogan C., Michael M. 2011. Monosson. In: E. Cleveland (ed.). Algae- 1.3 Brown_algae". 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., Jha B. 2011. Assessment of nutrient composition and antioxidant potential of Caulerpaceae seaweeds. *Journal of Food Composition and Analysis* 24(2), 270-278.

Kurd F., Samavati V. 2015. Water soluble polysaccharides from Spirulina platensis: Extraction and in vitro anti-cancer activity. *International Journal of Biological Macromolecules 74*, 498-506

Łabowska M.B., Michalak I., Detyna J. 2019. Methods of extraction, physicochemical properties of alginates and their applications in biomedical field–a review. *Open Chemistry* 17(1), 738-762.

Lim S., Cheung P., Ooi,V., Ang P. (2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(13), 3862-3866

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

Mohsin S., Mahadevan R., Sumayya A., Kurup G.M. 2016. Bifunctional eff ect of

for their cytotoxic and antioxidant activities. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine,* 2011.

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

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.

Wichachucherd B., Liddle L.B., Prathep A. 2010. Population structure, recruitment, and succession of the brown alga, *Padina boryana* Thivy (Dictyotales, Heterokontophyta), 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.

Win N.N., Hanyuda T., Arai S., Uchimura M., Prathep A., Draisma S., Phang S.M., Abbott I.A., Millar A., Kawai H. 2011. A taxonomic study of the genus *Padina* (Dictyotales, Phaeophyceae) including the descriptions of four new species from Japan, Hawaii, and the Andaman Sea (1). *Journal of Phycology* 47(5), 1193-1209.

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 activity of alginate extracted by acidic method from two species of brown algae, *sargassum vulgare* and *Padina pavonic*

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

Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resource, Gorgan, Iran.
*Corresponding author: mitraahadifar@gmail.com
Received: 2020/9/26 Accepted: 2021/5/22

Abstract
Alginates are polysaccharides found in brown algae having the most content in marine biopolymers. The present study investigates to extract the alginate using acidic method at PH=2 and comparing antioxidants activity of the extracted alginate at different concentrations from the brown macroalgae of *S. vulgare* and *P. pavonica*. According to results of the antioxidant measurement of total phenol content, free hydroxyl radical content, free, total antioxidant activity in three concentrations (20, 100, 200 mg/ml), free superoxide radicals in two concentrations (4.26, 41.45 µg/ml), chelating power in three concentrations (0.1, 0.5 and1 mg/ml), *S. vulgare* algae alginate was higher than *P. pavonica* algae alginate ($P<0.05$). Also, percentage of the free radical scavenging of DPPH was observed at a concentration of (150 µg/ml) by *S. vulgare* alginate and a concentration of (20 µg/ml) by algae alginate *P. pavonica* ($P<0.05$). No significant difference was found between the algae alginates in the reduction test in any of the concentration intervals ($P>0.05$). Due to the high antioxidants capacity of the studied alginates in this study, alginate can be introduced as a potential source of natural antioxidant compounds in the food, medical, cosmetic and health industries.

Keywords: Alginate, Antioxidant, Macroalgae, Free Radica.