

Effect of solvent type on extraction efficiency and antioxidant properties of polyphenols and alginate from brown seaweeds *Sargassum cristaefolium* and *Nizimudinia zanardinii* collected from the northern coasts of the Oman Sea

Sharifian S.^{1*}; Nazemi M.²

*sharifian.salim@hotmail.com

1-Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran

2-Persian Gulf and Oman Sea Ecological Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran

Received: January 2025

Accepted: February 2025

Published: March 2025



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introduction

Among all marine organisms, seaweeds are considered as one of the sources of bioactive compounds. The most important compounds found in brown seaweed include phenolic compounds, polysaccharides, polyunsaturated fatty acids, proteins, peptides, pigments, vitamins, terpenoids and sterols (Sadeghi *et al.*, 2024). Phlorotannins are compounds containing a benzene ring with one or more hydroxyl group substitutions, which are found only in brown seaweeds. So far, more than 150 algal polyphenol structures have been reported (Asaduzzaman *et al.*, 2020). Reports indicate that these compounds have several medicinal properties such as antimicrobial and antioxidant (Milledge *et al.*, 2015). Phycocolloids or hydrocolloids are another group of bioactive compounds found in brown seaweeds. The most important hydrocolloids found in seaweeds include alginate, agar, and carrageenan (Cmikova *et al.*, 2022). *Sargassum cristaefolium* and *Nizimudinia zanardinii* are brown seaweeds species with good distribution on the southern coasts of Iran that can be considered as potential options for investigating the presence of compounds with antioxidant and functional properties. Therefore, the objectives of the present study included 1) extraction of bioactive compounds (including phenolic compounds and alginate) using different solvents and 2) investigation of the extraction efficiency and antioxidant properties of the extracted compounds.

Methodology

Brown seaweeds *S. cristaefolium* and *N. zanardinii* were collected from the Chabahar coast, washed and dried in the shade. Extraction was performed using methanol (100%, 70%, and 30%), ethyl acetate (100%, 70%, and 30%) and water (100%) and the extraction yield, phlorotannins content, DPPH free radical scavenging activity and copper chelating ability of different extracts were measured. To purify phenolic compounds in *N. zanardinii*, the methanol extract was fractionated using chloroform, dichloromethane and ethyl acetate solvents. Alginate was extracted using distilled water and the

residue obtained from the extraction in the previous section was used for extraction. Total phenol content was measured based on the standard phloroglucinol (PHG) and using the Folin-Ciocalteu indicator. DPPH free radical scavenging activity was measured according to the method of Shimada *et al.* (1992). Cupric chelating ability of different extracts was measured according to the method mentioned by Wong *et al.* (2006).

Results

In *S. cristaefolium*, among the different treatments, the highest extraction yield was obtained in 70% methanol solvent (5.50 g/100 g), while in *N. zanardinii* the highest yield was in 100% methanol solvent and equal to 43.6 g/100 g seaweed. The extract yield in *N. zanardinii* was higher than *S. cristaefolium* in most treatments. In both seaweeds, the highest phlorotannins content was observed in 100% ethyl acetate treatment and the lowest in 100% water treatment. The highest DPPH scavenging activity was obtained in 100% ethyl acetate treatment of *N. zanardinii* at 84.38%. The lowest DPPH scavenging activity was observed in 100% water extract. Among the different fractions, the highest extraction yield by weight was associated with the ethyl acetate fraction (2.54 g). The highest amount of phlorotannins, i.e. 19.14 mg phloroglucinol/g extract, was found in the ethyl acetate fraction, while the lowest amount (1.35 mg PHG/g) was found in the chloroform fraction. The highest radical scavenging activity, 98.95%, was found in the ethyl acetate fraction. When comparing the fractions with the first extract, only the cupric chelation rate in the ethyl acetate fraction (73.44%) was higher than in the first extract (43.45%), and lower chelating ability was observed in the other fractions.

Discussion and conclusion

In the present study, organic solvents in pure form were more effective than those mixed with water in both *S. cristaefolium* and *N. zanardinii*. These results are in agreement with the study of El-Sheekh *et al.* (2023) who reported that the extraction yield and antioxidant properties varied depending on the type of solvent and seaweed species, and in most species, the highest yield and antioxidant properties were in methanol extracts. The results of purification of the first extract of *N. zanardinii* using different solvents showed that the ethyl acetate fraction had a higher phlorotannins content, DPPH free radical scavenging activity, and cupric chelating ability than other fractions. Previous studies show that ethyl acetate has a better ability to separate phenolic compounds, especially phlorotannins, from the first extract compared to other solvents (Sadeghi *et al.*, 2024). Therefore, it seems that the higher antioxidant properties in this fraction were due to the accumulation of polyphenols in it (Chakraborty *et al.*, 2015). In the present study, the amount of alginate extracted from *N. zanardinii* was higher than in similar studies and the extracted alginate had a good ability to chelate cupric ions. This property was probably due to the high ability of alginate to form gels and subsequently increase the viscosity of the solution and trap ions (Jayakody *et al.*, 2020). In general, the results of this study showed that the type of solvent had a significant effect on the extraction yield of phenolic compounds and alginate from brown seaweed, and the amount of these compounds and their antioxidant properties varied depending on the species and extraction conditions.

Conflict of Interest

There is no conflict of interest.

Acknowledgment

We sincerely appreciate and thank all the experts at the Central Laboratory of Chabahar Maritime University and the Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center who helped us in conducting this research.

مقاله علمی - پژوهشی:

تأثیر نوع حلال بر میزان بازده استخراج و خواص آنتی اکسیدانی پلی فنول ها و آلژینات از جلبک های قهوه ای *Sargassum cristaeifolium* و *Nizimudinia zanardinii* جمع آوری شده از سواحل شمالی دریای عمان

سلیم شریفیان^{۱*}، ملیکا ناظمی^۲

*sharifian.salim@hotmail.com

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

۲- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

تاریخ چاپ: اسفند ۱۴۰۳

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۳

چکیده

در مطالعه حاضر تأثیر نوع حلال بر میزان بازده استخراج و خواص آنتی اکسیدانی پلی فنول ها و آلژینات استخراجی از جلبک های قهوه ای *Sargassum cristaeifolium* و *Nizimudinia zanardinii* جمع آوری شده از سواحل شمالی دریای عمان مورد بررسی قرار گرفت. جلبک های قهوه ای از سواحل چابهار جمع آوری، شستشو و در سایه خشک گردید. در ادامه استخراج عصاره از جلبک ها با استفاده از حلال های متانول (۷۰ و ۳۰ درصد)، اتیل استات (۷۰ و ۳۰ درصد) و آب (۱۰۰ درصد) انجام شده و میزان استخراج عصاره، میزان فلوروتانین، توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH و توانایی کلاته کنندگی مس در عصاره های مختلف سنجش گردید. نتایج نشان داد که نوع حلال (متانول یا اتیل استات) و نسبت ترکیب آن (۷۰، ۳۰ و صفر درصد) با آب تأثیر زیادی بر میزان استخراج عصاره، فلوروتانین، آلژینات و خواص آنتی اکسیدانی آنها دارد. در هر دو جلبک، حلال های آلی در شکل خالص کارایی بهتری نسبت به شکل ترکیب با آب داشتند. نتایج مقایسه دو جلبک نیز نشان داد که جلبک *N. zanardinii* نسبت به *S. cristaeifolium* دارای میزان فلوروتانین، آلژینات و خواص آنتی اکسیدانی بالاتری بوده است. بنابراین، از جلبک *N. zanardinii* و عصاره حاصل از حلال متانول ۱۰۰ درصد برای استخراج فلوروتانین و در ادامه آلژینات استفاده گردید. نتایج ادامه پژوهش نشان داد که در فرکشن های مختلف حاصله از عصاره اولیه جلبک *N. zanardinii*، فرکشن اتیل استاتی دارای میزان فلوروتانین، مهار رادیکال آزاد و کلاته کنندگی یون مس بالاتری نسبت به سایر فرکشن ها بوده است. به طور کلی، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که نوع حلال تأثیر معنی داری بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و آلژینات از جلبک قهوه ای دارد و میزان این ترکیبات و خواص آنتی اکسیدانی آنها بسته به نوع گونه و شرایط استخراج متفاوت است.

لغات کلیدی: پلی فنول ها، آلژینات، جلبک های قهوه ای، دریای عمان

*نویسنده مسئول



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

مقدمه

در میان تمام جانداران دریایی، جلبک‌ها به عنوان یکی از منابع قابل استخراج از نظر غذاهای کاربردی و دارای ترکیبات فعال فراسودمند در نظر گرفته می‌شوند (Cmikova et al., 2022). جلبک‌ها گیاهان پرسولوی هستند که در بستر دریا رشد می‌کنند. این گیاهان به صورت گسترده در جنوب شرق آسیا، اروپا و آمریکا به عنوان غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند (Sadeghi et al., 2024). جلبک‌ها به دلیل میزان پایین کالری و میزان بالای ویتامین‌ها مواد معدنی، پروتئین‌ها، پلی‌فنول‌ها، پلی‌ساکاریدها و فیبرها از لحاظ تغذیه‌ای بسیار سودمند هستند (Cotas et al., 2020). علاوه بر ارزش تغذیه‌ای، این گیاهان دارای استفاده‌های صنعتی، دارویی، آرایشی نیز هستند. جلبک‌های دریایی براساس نوع رنگدانه موجود در آنها به سه گروه قهوه‌ای، سبز و قرمز تقسیم‌بندی می‌گردند. جلبک‌های قهوه‌ای در مقایسه با جلبک‌های سبز و قرمز دارای میزان بالاتری از ترکیبات زیست‌فعال هستند (Liu, 2015). مهم‌ترین ترکیبات موجود در جلبک‌های قهوه‌ای شامل ترکیبات فنولی، پلی‌ساکاریدها، اسیدهای چرب غیراشباع، پروتئین‌ها، پپتیدها، رنگدانه‌ها، ویتامین‌ها، ترپنوئیدها و استرول‌هاست (Emu et al., 2023).

پلی‌فنول‌ها ترکیباتی دارای یک حلقه بنزن با یک یا چند استخلاف گروه هیدروکسیل هستند که ساختار طبیعی آنها می‌تواند از مولکول‌های ساده‌ای مانند اسید فنولیک تا ترکیبات پیچیده‌ای مانند تانین‌ها متغیر باشد. اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها دو گروه مهم از پلی‌فنول‌های تغذیه‌ای (موجود در مواد غذایی) هستند (Asaduzzaman et al., 2020). تاکنون بیش از ۱۵۰ ساختار پلی‌فنولی جلبکی گزارش شده است. گزارش‌ها نشان می‌دهد که این ترکیبات دارای خصوصیات دارویی متعددی از قبیل ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد قارچی، ضد HIV، ضد دیابت، ضد التهاب و ضد آلرژی هستند (Cmikova et al., 2022). فیکوکلوئیدها یا هیدروکلوئیدها گروهی دیگر از ترکیبات زیست‌فعال هستند که در جلبک‌های قهوه‌ای یافت می‌شوند. این

ترکیبات، پلی‌ساکاریدهایی با وزن مولکولی بالا هستند که عمدتاً از قندهای ساده تشکیل شده‌اند. مهم‌ترین هیدروکلوئیدهای موجود در جلبک‌ها شامل آلژینات (E400)، آگار (E406) و کاراژینان (E407) است. آلژینات‌ها پلیمرهای هیدروکلوئیدی با وزن مولکولی ۱۸۰۰۰-۱۲۰۰۰ دالتون هستند که به دو شکل اسیدی و نمکی عمدتاً از جلبک‌های قهوه‌ای استخراج می‌گردند (Milledge et al., 2015). واحدهای سازنده این ترکیبات دی‌مونورونیک و ال-گلورونیک اسید است. این پلیمرها با یون‌های کلسیم واکنش می‌دهند و ژل‌های پایداری را ایجاد می‌کنند. آلژینات از دسته پلیمرهای تأیید شده در سازمان غذا و دارو ایالات متحده (FDA) بوده که دارای برخی از مهم‌ترین ویژگی‌های مواد زیستی است به‌طوری‌که نه تنها در صنایع غذایی و آرایشی بلکه در سایر صنایع از قبیل چرم‌سازی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پلیمرها در تولید محصولات پزشکی از قبیل چسب زخم نیز کاربردهای فراوانی دارد. تولید سالانه آلژینات حدود ۳۰۰۰ تن تخمین زده می‌شود (Bojorges et al., 2023).

طی تحقیقات انجام شده تاکنون بیش از ۲۵۰ گونه جلبک در سواحل جنوب کشور شناسایی شده است (Eghbal et al., 2020). جلبک‌های *Sargassum cristaefolium* و *Nizimudinia zanardinii* از گونه‌های جلبکی قهوه‌ای با پراکنش خوب در سواحل جنوبی ایران است که عموماً از آنها در تهیه سوپ و برخی دیگر از فرآورده‌های دریایی استفاده می‌گردد (Taheri, 2016). این دو گونه جلبک با توجه به پراکنشی که در جنوب ایران به‌ویژه در سواحل دریای عمان دارند، می‌توانند به عنوان گزینه‌های بالقوه برای بررسی وجود ترکیبات با خواص آنتی‌اکسیدانی و کاربردی مطرح باشند. از این‌رو، اهداف پروژه حاضر شامل (۱) استخراج ترکیبات زیست‌فعال (ترکیبات فنولی و آلژینات) با استفاده از حلال‌های مختلف و (۲) بررسی بازده استخراج و خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات استخراجی بوده است.

مواد و روش کار

جمع‌آوری جلبک و عصاره‌گیری

گونه‌های جلبک *N. zanardinii* و *S. cristaeifolium* به صورت دستی در فروردین و اردیبهشت ۱۴۰۰ از منطقه بین جزر و مدی سواحل شهر چابهار جمع‌آوری و به آزمایشگاه دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل گردید. نمونه‌ها جهت پاک شدن گل‌ولای و سایر رسوبات با آب شیرین شستشو و جهت خشک شدن در سایه قرار داده شد. پس از خشک شدن، نمونه‌ها در ابتدا با با خردکن خانگی Philips (ساخت ژاپن) پودر و در ادامه در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار بسته بندی و تا هنگام عصاره‌گیری در فریزر (۲۰- درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید. برای عصاره‌گیری از حلال‌های متانول ۱۰۰ درصد، متانول ۷۰ درصد، متانول ۳۰ درصد، آب ۱۰۰ درصد، اتیل‌استات ۱۰۰ درصد، اتیل‌استات ۷۰ درصد، اتیل‌استات ۳۰ درصد استفاده گردید. در ابتدا ۱۰۰ گرم جلبک، توزین و با نسبت ۱ به ۵ (وزنی-حجمی) با حلال مورد نظر مخلوط گردید و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در شیکر قرار داده شد. در ادامه عصاره حاصل از هر تیمار با کمک کاغذ صافی از مواد جلبکی جدا گردید. محلول حاصل پس از کاهش حلال با استفاده از دستگاه تبخیرکننده تحت خلأ (روتاری اواپراتور) به عنوان عصاره اولیه در نظر گرفته شد. برای خالص‌سازی ترکیبات فنولی، ابتدا به عصاره اولیه به میزان ۱/۴ حجم محلول، آب مقطر دوبار تقطیر اضافه گردید، سپس به ترتیب با کلروفرم، دی کلرومتان و اتیل‌استات (هر حلال سه بار) شستشو داده شد. محلول‌های حاصل از هر بار شستشو به کمک قیف جداکننده از هم جدا گردید. محلول انتهایی به عنوان محلول آبی در نظر گرفته شد. عصاره‌های حاصل از هر محلول پس از تبخیر حلال، جمع‌آوری و تا هنگام آزمایش در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (Gall et al, 2015).

استخراج آلزینات

استخراج آلزینات از گونه‌های جلبکی با استفاده از آب مقطر و تفاله حاصله از عصاره‌گیری در بخش قبل و بر

اساس روش کار Rostami و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد. به ۵۰ گرم تفاله جلبک حاصل شده از مرحله قبل، ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل شده اضافه و به مدت سه ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر حرارتی قرار داده شد. این فرایند، دو بار دیگر تکرار و تفاله‌های هر سه بار انجام آزمایش با کمک سانتریفیوژ (۵۰۰۰ دور در دقیقه؛ ۱۰ دقیقه) جمع‌آوری گردید. به تفاله حاصله تا حجم یک لیتر آب مقطر و در ادامه ۳ درصد Na_2CO_3 اضافه و pH بر ۱۱ تنظیم گردید. مخلوط حاصله سانتریفیوژ و برابر با حجم بخش مایع جدا شده به آن اتانول ۷۰ درجه اضافه و پس از گذشت ۱۲ ساعت رسوبات ته‌نشین شده به عنوان آلزینات جداسازی شد. برای حذف آب، آلزینات حاصله چندین بار با آب و استون شستشو و پس از خشک شدن در زیر هود، جمع‌آوری گردید.

فنل کل

میزان فنول کل بر اساس استاندارد فلوروگلوکوسینول (Phloroglucinol, PHG) و با استفاده از شناساگر فولین-سیوکالتو (Folin-Ciocalteu) به روش Singleton و همکاران (۱۹۹۹) با اندکی تغییرات اندازه‌گیری گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر نمونه (۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) با ۱ میلی‌لیتر شناساگر فولین سیوکالتو (۱۰ درصد در آب مقطر) در لوله‌های پوشیده درب‌دار مخلوط و پس از ۳ دقیقه، ۳ میلی‌لیتر بیکربنات سدیم ۱ درصد اضافه و همگن گردید. در ادامه نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق در تاریکی انکوبه گردید. جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر ثبت شد. برای کالیبراسیون و رسم منحنی استاندارد از محلول فلوروگلوکوسینول (غلظت‌های ۰ تا ۱۰۰ میکروگرم/میلی لیتر) استفاده شد.

فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH^۱

سنجش فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH بر اساس روش Shimada و همکاران (۱۹۹۲) انجام گرفت (شکل ۵). به طور خلاصه، ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH (۷۵ میکرومولار)

^۱ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای رسم نمودارها از نرم‌افزار میکروسافت اکسل (۲۰۱۰) استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۰۱۹) انجام شد. برای تعیین تفاوت معنی‌دار بین میانگین متغیرهای مختلف از آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس از آزمون توکی در سطح ۵ درصد استفاده گردید. تمامی داده‌ها به صورت میانگین حاصل از سه تکرار همراه با انحراف معیار گزارش گردید.

نتایج

میزان استخراج عصاره (گرم/ ۱۰۰ گرم جلبک) از جلبک‌های قهوه‌ای *N. zanardinii* و *S. cristaefolium* با استفاده از نسبت‌های مختلف حلال‌های متانول و اتیل استات در شکل ۱ نشان داده شده است. در جلبک *S. cristaefolium* در میان تیمارهای مختلف بالاترین میزان استخراج عصاره با ۵/۵۰ گرم در حلال متانول ۷۰ درصد به دست آمد درحالی‌که در جلبک *N. zanardinii* بالاترین میزان عصاره در حلال متانول ۱۰۰ درصد به میزان ۶/۴۳ گرم وجود داشت. در هر دو جلبک، حلال متانول در مقایسه با اتیل استات کارایی بهتری در استخراج عصاره داشت. در مقایسه دو جلبک، میزان عصاره در جلبک *N. zanardinii* نسبت به *S. cristaefolium* در اکثر تیمارها بالاتر بود.

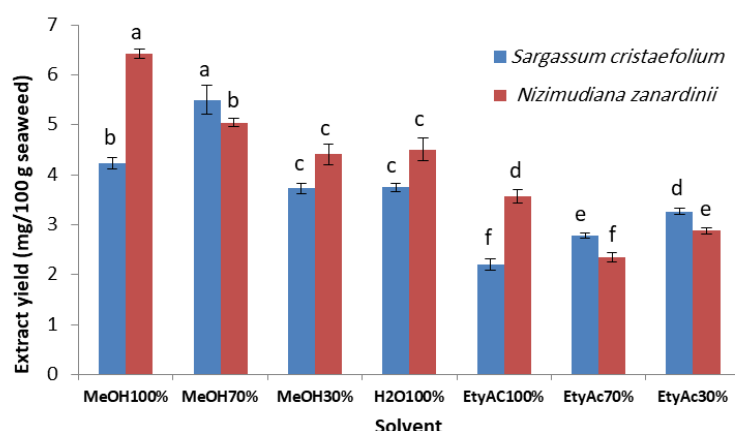
با ۱ میلی‌لیتر عصاره (۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) مخلوط و در تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه در ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و پس از ۳۰ دقیقه جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. درصد فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH به صورت معادله ذیل محاسبه گردید:

$$\text{فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH} = 1 - \frac{A_0 - A_1}{A_0}$$

A_0 و A_1 به ترتیب جذب کنترل محلول و جذب عصاره است. برای مقایسه از آلفا-توکوفرول به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

توانایی کلاته‌کنندگی مس

سنجش توانایی کلاته‌کنندگی عصاره‌های مختلف بر اساس روش Wong و همکاران (۲۰۰۶) انجام گرفت. در ابتدا عصاره در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با بافر هگزامین- HCl (۱۰ میلی مولار با pH = ۵) مخلوط گردید. یک میلی‌لیتر از مخلوط آماده شده با ۱ میلی‌لیتر سولفات مس II (۰/۴ میکرومولار)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول TMM (۲ میلی مولار) مخلوط و میزان جذب در ۴۶۰ و ۵۳۰ نانومتر قرائت گردید. در ادامه پس از محاسبه نسبت جذب با استفاده از منحنی استاندارد، مقدار کلاته‌کنندگی بر اساس درصد کلاته‌کنندگی یون‌های مس گزارش گردید.

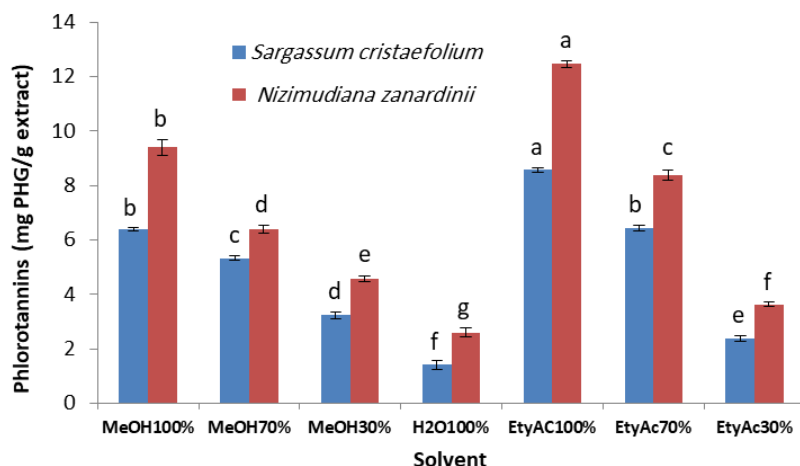


شکل ۱: میزان استخراج عصاره (گرم/ ۱۰۰ گرم جلبک) از جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum cristaefolium* و *Nizimudiana zanardinii* (MeOH: متانول، H₂O: آب، EtYAc: اتیل استات)

Figure 1: Extraction yield (gram/ 100 gram seaweed) from brown seaweeds *Sargassum cristaefolium* and *Nizimudiana zanardinii* (MeOH: methanol, H₂O: water, WtyAc: ethyl acetate)

استات، در هر دو جلبک میزان فلوروتانین در عصاره‌های استخراجی با اتیل استات نسبت به متانول بالاتر بود. در مقایسه دو جلبک، میزان فلوروتانین در تمامی حلال‌ها در جلبک *N. zanardinii* نسبت به *S. cristaefolium* بالاتر بود.

میزان فلوروتانین بر حسب میلی گرم فلوروگلوکوسینول در عصاره‌های مختلف جلبک‌های قهوه‌ای *S. cristaefolium* و *N. zanardinii* در شکل ۲ نشان داده شده است. در هر دو جلبک بالاترین میزان فلوروتانین در تیمار اتیل استات ۱۰۰ درصد و کمترین آن در تیمار آب ۱۰۰ درصد مشاهده گردید. از نظر مقایسه دو حلال متانول و اتیل

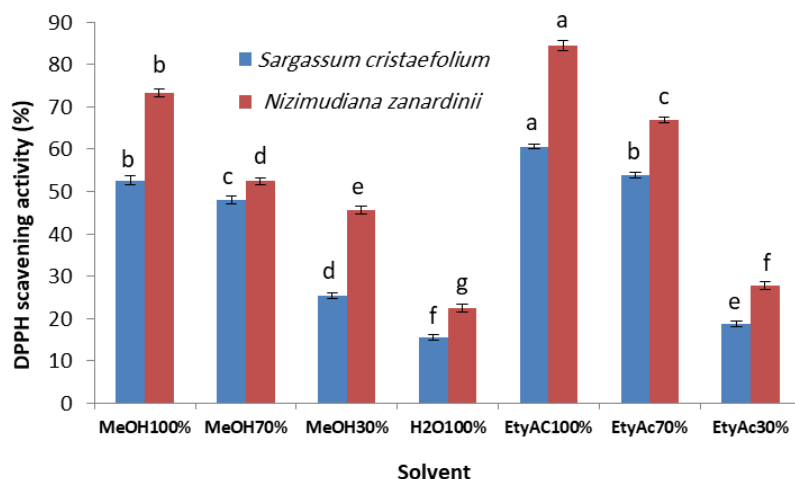


شکل ۲: میزان فلوروتانین (میلی گرم فلوروگلوکوسینول/ گرم عصاره) در عصاره‌های مختلف جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum cristaefolium* و *Nizimudiana zanardinii* (MeOH: متانول، H₂O: آب، EtYAc: اتیل استات)

Figure 2: Phlorotannin content (milligram Phloroglucinol/ gram extract) in the extracts of brown seaweeds *Sargassum cristaefolium* and *Nizimudiana zanardinii* (MeOH: methanol, H₂O: water, WtyAc: ethyl acetate)

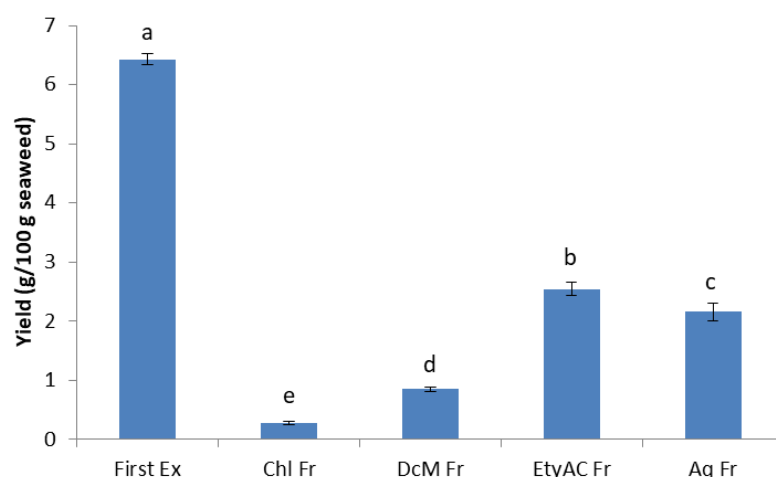
نتایج نوع حلال و گونه‌های مورد آزمایش نشان داد که جلبک *N. zanardinii* در مقایسه با *S. cristaefolium* و حلال‌های اتیل استات و متانول به شکل خالص (۱۰۰ درصد) در مقایسه با ترکیب آنها با آب یا آب خالص، کارایی بهتری داشته است. از این‌رو، ادامه آزمایش‌ها، با توجه به نتایج قبلی، در دسترس و ارزان‌تر بودن و سمیت کمتر متانول در مقایسه با اتیل استات، با استفاده از متانول ۱۰۰ درصد و گونه *N. zanardinii* انجام گرفت. میزان استحصال فراکشن‌های مختلف از عصاره اولیه متانولی جلبک *N. zanardinii* با استفاده از روش استخراج مایع-مایع و با کمک حلال‌های مختلف در شکل ۴ نشان داده شده است. در میان فراکشن‌های مختلف، از نظر وزنی بالاترین میزان استخراج، مرتبط با فراکشن اتیل استاتی و به میزان ۲/۵۴ گرم بود.

میزان مهار رادیکال آزاد DPPH (درصد) در عصاره‌های مختلف به دست آمده از جلبک‌های قهوه‌ای *S. cristaefolium* و *N. zanardinii* در شکل ۳ نشان داده شده است. بالاترین میزان مهار، به میزان ۸۴/۳۸ درصد در تیمار اتیل استات ۱۰۰ درصد جلبک *N. zanardinii* به دست آمد. در عصاره‌های استخراجی از جلبک *S. cristaefolium* نیز بالاترین میزان مهار در عصاره استخراجی با اتیل استات ۱۰۰ درصد به میزان ۶۰/۶۳ درصد ثبت گردید. در مقایسه دو حلال، عصاره‌های استخراجی با اتیل استات در هر دو جلبک، توانایی بیش‌تری در مهار رادیکال آزاد داشتند. در هر دو جلبک، کمترین میزان مهار در عصاره‌های استخراجی با آب ۱۰۰ درصد مشاهده گردید. از نظر نوع گونه، در تمامی تیمارها، میزان مهار رادیکال آزاد در *N. zanardinii* نسبت به *S. cristaefolium* بالاتر بود.



شکل ۳: میزان مهار رادیکال آزاد DPPH (درصد) در عصاره‌های مختلف جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum cristaefolium* و *Nizimudiana zanardinii* (MeOH: متانول، H₂O: آب، EtYAc: اتیل استات)

Figure 3: DPPH radical scavenging activity (percentage) in the extracts of brown seaweeds *Sargassum cristaefolium* and *Nizimudiana zanardinii* (MeOH: methanol, H₂O: water, WtyAc: ethyl acetate)

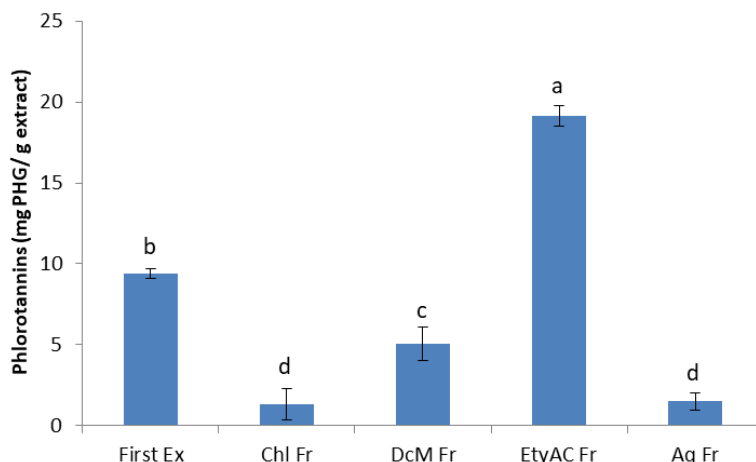


شکل ۴: میزان استحصال (گرم در ۱۰۰ گرم جلبک) فراکشن‌های مختلف از عصاره متانولی جلبک *Nizimudiana zanardinii* (First Ex: First extract, Chl Fr: Chloroform fraction, DcM Fr: Dichloromethane fraction, EtYAc Fr: Ethyl acetate fraction, Aq Fr: Aqueous fraction)

Figure 4: Extraction yield (g/ 100 g seaweed) of different fractions from methanolic extract of *Sargassum cristaefolium* (First Ex: First extract, Chl Fr: Chloroform fraction, DcM Fr: Dichloromethane fraction, EtYAc Fr: Ethyl acetate fraction, Aq Fr: Aqueous fraction)

میلی گرم فلوروگلوکوسینول در گرم عصاره در فراکشن اتیل استاتی وجود داشت جایی که کمترین میزان آن (۱/۳۵) در فراکشن کلروفرمی ثبت گردید. به جز از فراکشن اتیل استاتی، میزان فلوروتانین در سایر فراکشن‌ها نسبت به عصاره اولیه متانولی (۹/۳۹) کمتر بود.

در ادامه بیشترین میزان استخراج به ترتیب در فراکشن آبی، دی کلرومتانی و کلروفرمی مشاهده گردید. مقدار فلوروتانین (میلی گرم فلوروگلوکوسینول در گرم عصاره) در فراکشن‌های مختلف استخراجی از عصاره متانولی جلبک *N. zanardinii* در شکل ۵ نشان داده شده است. بالاترین میزان فلوروتانین یعنی ۱۹/۱۴

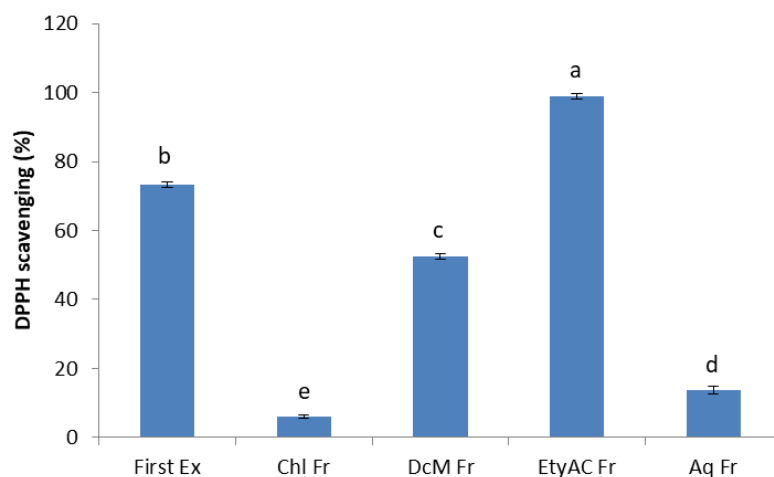


شکل ۵: میزان فلوروتانین (میلی گرم فلوروگلوکوسینول در گرم عصاره) فراکشن‌های مختلف از عصاره متانولی جلبک *Nizimudiana zanardinii* (First Ex: عصاره اولیه، Chl Fr: فراکشن کلروفرمی، DcM Fr: فراکشن دی کلرومتانی، EtyAC Fr: فراکشن اتیل استاتی، Aq Fr: فراکشن آبی)

Figure 4: Extraction yield (gram/ 100 gram seaweed) of different fractions from methanolic extract of *Sargassum cristaefolium* (First Ex: First extract, Chl Fr: Chloroform fraction, DcM Fr: Dichloromethane fraction, EtyAC Fr: Ethyl acetate fraction, Aq Fr: Aqueous fraction)

داشت. در ادامه میزان مهار رادیکال آزاد در فراکشن‌های دی کلرومتانی، آبی و کلروفرمی به ترتیب برابر ۵۲/۵۲، ۱۳/۶۶ و ۵/۹۸ درصد اندازه‌گیری شد که نسبت به عصاره اولیه متانولی (۷۳/۲۷ درصد) کمتر بود.

میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در فراکشن‌های مختلف استخراجی از عصاره متانولی جلبک *N. zanardinii* در شکل ۶ نشان داده شده است. بالاترین میزان مهار رادیکال به مقدار ۹۸/۹۵ درصد در فراکشن اتیل استاتی وجود

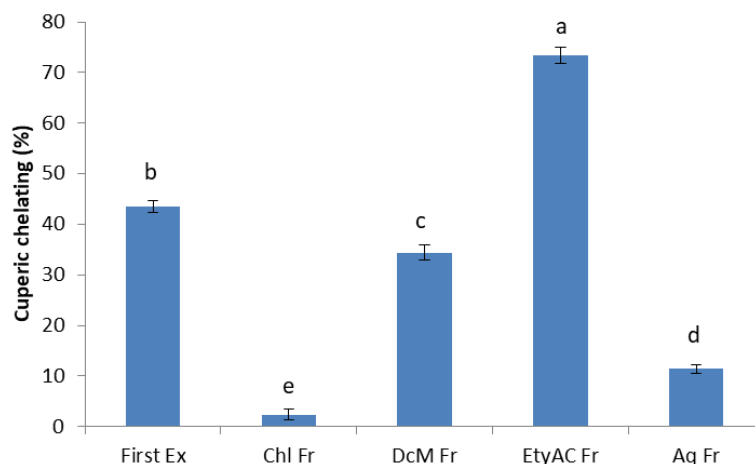


شکل ۶: میزان مهار رادیکال آزاد DPPH (درصد) در فراکشن‌های مختلف از عصاره متانولی جلبک *Nizimudiana zanardinii* (First Ex: عصاره اولیه، Chl Fr: فراکشن کلروفرمی، DcM Fr: فراکشن دی کلرومتانی، EtyAC Fr: فراکشن اتیل استاتی، Aq Fr: فراکشن آبی)

Figure 6: DPPH free radical scavenging (percentage) of different fractions from methanolic extract of *Sargassum cristaefolium* (First Ex: First extract, Chl Fr: Chloroform fraction, DcM Fr: Dichloromethane fraction, EtyAC Fr: Ethyl acetate fraction, Aq Fr: Aqueous fraction)

اولیه (۴۳/۴۵ درصد) بالاتر بود و در سایر فراکشن‌ها، توانایی کلاته‌کنندگی کمتری مشاهده شد. کمترین توانایی کلاته‌کنندگی در فراکشن کلروفرمی به میزان ۲/۳۴ درصد وجود داشت.

در شکل ۷ توانایی کلاته‌کنندگی مس (درصد) فراکشن‌های مختلف استخراجی از عصاره متانولی جلبک *N. zanardinii* نشان داده شده است. در مقایسه فراکشن‌ها با عصاره اولیه، تنها میزان کلاته‌کنندگی در فراکشن اتیل استاتی (۷۳/۴۴ درصد) نسبت به عصاره



شکل ۷: توانایی کلاته‌کنندگی مس (%) فراکشن‌های مختلف از عصاره متانولی جلبک *Nizimudiana zanardinii* (First Ex: عصاره اولیه، Chl Fr: فراکشن کلروفرمی، DcM Fr: فراکشن دی‌کلرومتانی، EtyAC Fr: فراکشن اتیل استاتی، Aq Fr: فراکشن آبی)

Figure 7: Cupric chelating activity (%) of different fractions from methanolic extract of *Sargassum cristaefolium* (First Ex: First extract, Chl Fr: Chloroform fraction, DcM Fr: Dichloromethane fraction, EtyAC Fr: Ethyl acetate fraction, Aq Fr: Aqueous fraction)

گرم از هر ۱۰۰ گرم جلبک بود. میزان فنول در آلزینات برابر یا ۴/۶۴ میلی گرم فلوروگلوسینول در گرم به دست آمد. توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH و کلاته‌کنندگی یون مس در آلزینات‌های استخراجی به ترتیب برابر ۲۳/۰۷ و ۴۳/۴۷ درصد محاسبه گردید.

میزان استحصال آلزینات با استفاده از آب مقطر به عنوان حلال از جلبک قهوه‌ای *N. zanardinii* و خواص آنتی‌اکسیدانی آن شامل میزان فنول، توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH و توانایی کلاته‌کنندگی مس در جدول ۱ ارائه شده است. میزان استحصال آلزینات برابر با ۴/۷۳

جدول ۱: میزان استحصال و خواص آنتی‌اکسیدانی آلزینات استخراج شده از جلبک *Nizimudiana zanardinii*

Table 1: Yield and antioxidants properties of alginate extracted from *Nizimudiana zanardinii*

Cupric chelating (%)	DPPH scavenging (%)	Phenol content*	Yield (%)	
0.99 ±43.47	1.67 ±23.07	0.41 ±6.64	0.38 ±4.73	Alginate

* میزان فنول (میلی گرم فلوروگلوسینول در گرم نمونه)

غلظت مورد استفاده در آزمایش‌های خواص آنتی‌اکسیدانی ۱ میلی گرم آلزینات در هر میلی لیتر محلول است.

*Phenol content is expressed as milligram Phloroglucinol per gram of sample

The concentration used in antioxidant tests was 1 milligram of alginate per milliliter of solution

روش‌های استخراج ترکیبات فنولی از جلبک‌های دریایی را می‌توان به دو گروه سنتی (به کمک حلال‌های آلی و آب) و نوین (با استفاده از آنزیم، مایکروویو، مایع فوق بحرانی و فشار)، تقسیم‌بندی نمود. با توجه به هزینه‌های بالا و

بحث

میزان استخراج عصاره و فعالیت آنتی‌اکسیدانی جلبک‌های دریایی به میزان زیادی در ارتباط با روش استخراج است.

Gracilaria folifera است. تفاوت در میزان بازده استخراج در بین گونه‌های مختلف جلبک‌ها ممکن است به دلیل متفاوت بودن قطبیت ترکیبات موجود در جلبک‌ها و تفاوت‌های بین گونه‌ای باشد (Afrin et al., 2023). پلی‌فنول‌ها گروهی از ترکیبات آلی تشکیل شده از حلقه‌های آروماتیک و گروه‌های هیدروکسیل هستند. ساختار طبیعی این ترکیبات می‌تواند از مولکول‌های ساده‌ای مانند اسید فنولیک تا ترکیبات پیچیده‌ای مانند تانین‌ها متغیر باشد (Sadeghi et al., 2024). ترکیبات فنولی شامل فلاونوئیدها، ترپنوئیدهای فنولیک، فلوروتانین‌ها و آمینواسیدهای شبه-میکوسکپورین در ماکروجلبک‌ها و سایر منابع مانند اسفنج‌ها، مرجان‌ها، میوه‌ها، سبزیجات و گیاهان دارویی فراوان هستند. ترکیبات فنولی در منابع دریایی ساختار متنوعی دارند و از اسیدهای فنولی ساده تا ترکیبات پیچیده فلوروتانین‌ها متغیر است. فلوروتانین‌ها متابولیت‌های پلی‌فنولی ثانویه‌ای هستند که تنها در جلبک‌های قهوه‌ای یافت می‌شوند (Subbiah et al., 2022). میزان این ترکیبات در جلبک‌های قهوه‌ای ۲۰-۵۰ درصد با توجه گونه جلبک و شرایط محیطی متفاوت است. تحت شرایط استرس در محیط زیست، تولید پلی‌فنول‌ها در جلبک‌های قهوه‌ای افزایش یافته و ساختارهای پیچیده‌تری تشکیل می‌شود (Cotas et al., 2020). در مطالعه حاضر، میزان فنول کل (فلوروتانین) در عصاره اولیه دو گونه مورد بررسی (*N. zanardinii* و *S. cristaefolium*) با توجه به نوع گونه و نوع و نسبت حلال به شدت متغیر و در بازه ۱۲/۴۶-۱/۴۱ میلی گرم فلوروگلوسینول در گرم عصاره بود. در مقایسه دو گونه و نوع حلال نیز، در کل میزان بالاتری از فلوروتانین در جلبک *N. zanardinii* نسبت به *S. cristaefolium* و حلال اتیل استات و متانول خالص (۱۰۰ درصد) نسبت به ترکیب آنها با آب یا آب به‌تنهایی مشاهده گردید. در هر دو جلبک کمترین میزان ترکیبات فنولی در عصاره آبی ۱۰۰ درصد وجود داشت. نتایج این پژوهش قابل مقایسه با پژوهش Wirawn و Sasadara (۲۰۲۱) است که میزان ترکیبات فنولی در عصاره خام استخراجی از جلبک *Gracilaria* sp. با استفاده از حلال‌های آب، متانول

دسترسی پایین در روش‌های نوین، استفاده از حلال‌های آلی به شکل خالص یا در ترکیب با آب، تاکنون مرسوم‌ترین روش عصاره‌گیری از گونه‌های مختلف جلبک‌های دریایی و سایر گیاهان دارویی بوده است (El-Sheekh et al., 2023). با این حال، باید ذکر نمود که با توجه به گستردگی گونه در بین جلبک‌های دریایی و پیچیده بودن ترکیبات زیست‌فعال موجود در آنها، تعیین یک روش و حلال مناسب و یکسان برای استخراج ترکیبات طبیعی به‌ویژه پلی‌فنول‌ها از جلبک‌های مشکل و گاهی غیرممکن است (Lashkan et al., 2012). در مطالعه حاضر در جلبک *S. cristaefolium* بالاترین میزان عصاره اولیه با استفاده از حلال متانول ۷۰ درصد (۵/۵۰ گرم) به‌دست آمد درحالی‌که در *N. zanardinii* بیش‌ترین مقدار عصاره در حلال متانول ۱۰۰ درصد (۶/۴۳ گرم) وجود داشت. همچنین در هر دو جلبک، حلال متانول، کارایی بهتری در استخراج عصاره نسبت به اتیل استات و آب داشت. در مقایسه دو جلبک، میزان عصاره در جلبک *N. zanardinii* نسبت به *S. cristaefolium* در اکثر تیمارها بالاتر بود. در پژوهشی مشابه El-Sheekh و همکاران (۲۰۲۳) تأثیر نوع حلال (اتانول، متاتول، آب سرد، آب گرم، هگزان، دی‌اتیل‌اتر) بر میزان استخراج عصاره از گونه‌های مختلف جلبک‌های دریایی (۱۵ گونه) جمع‌آوری شده از سواحل مصر را بررسی و گزارش نمودند که میزان استخراج عصاره با توجه به نوع حلال و گونه جلبکی متفاوت در اکثر گونه‌ها بالاترین میزان عصاره در عصاره‌های آبی و متانولی بوده است. نتایج این پژوهش نشان افزایش قطبیت حلال، بازده استخراج را بهبود می‌بخشد. بالاتر بودن میزان عصاره در حلال متانولی نسبت به اتیل استات و آب، در مطالعه حاضر می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که اغلب ترکیبات محلول موجود در جلبک‌ها دارای قطبیت بالا بوده است (Taheri, 2016). در پژوهشی دیگر Thanigaivel و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که اتانول در مقایسه با سایر حلال‌ها از قبیل پترولئوم اتر، دی‌کلرومتان، کلروفرم و آب، گزینه بهتری برای استخراج ترکیبات زیست‌فعال از جلبک قهوه‌ای *Sargassum longifolium* و جلبک قرمز

فرایند خالص‌سازی فلوروتانین در گیاهان دریایی از کلروفرم یا ان-هگزان برای حذف رنگدانه‌ها و لیپیدها استفاده می‌گردد (Liu, 2015). بنابراین، پایین بودن میزان ترکیبات فنولی در این فراکشن، می‌تواند بیانگر وجود ترکیبات غیر قطبی از قبیل ترکیبات چربی دوست و رنگدانه‌ها باشد (Sadeghi et al., 2024).

مطالعات پیشین نشان داده است که شاخص‌های متعددی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر دارد و استفاده از یک مدل آنتی‌اکسیدانی به‌تنهایی نمی‌تواند به طور کامل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تمامی نمونه‌ها را منعکس نماید (Afrin et al., 2023). بنابراین، مدل‌های آنتی‌اکسیدانی متعدد با مکانیسم‌های مختلف برای سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی پیشنهاد شده است. در مطالعه حاضر، برای سنجش بهتر خواص آنتی‌اکسیدانی از دو روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و کلاته‌کنندگی یون مس (کوپریک) استفاده گردید. سنجش میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به عنوان یکی از رادیکال‌های پایدار، یکی از پرکاربردترین روش‌های بررسی فعالیت مهار رادیکال آزاد در ترکیبات احیاءکننده (پلی‌فنول‌ها) در جلبک‌هاست (Asaduzzaman et al., 2020). نتایج میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در میان عصاره‌های اولیه مختلف به‌دست آمده از دو جلبک (*N. zanardinii* و *S. cristaeifolium*) نشان داد که عصاره‌های استحصالی از حلال‌های آلی به شکل خالص کارایی بهتری در مقایسه با حلال در ترکیب با آب یا آب به‌تنهایی داشته است. در هر جلبک توانایی مهار رادیکال آزاد به صورت آب ۱۰۰ درصد > اتیل‌استات ۳۰ درصد > متانول ۳۰ درصد > متانول ۷۰ درصد > اتیل‌استات ۱۰۰ درصد > اتیل‌استات ۷۰ درصد > متانول ۱۰۰ درصد > اتیل‌استات ۱۰۰ درصد به‌دست آمد. در مقایسه دو جلبک نیز *N. zanardinii* توانایی بهتری در مهار رادیکال آزاد داشت. در پژوهشی مشابه، Afrin و همکاران (۲۰۲۳) توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH در عصاره‌های خام استونی، متانولی و اتانولی شش گونه مختلف جلبک قهوه‌ای را بررسی و گزارش نمودند که بالاترین میزان مهار رادیکال آزاد در عصاره متانولی نسبت به دو حلال دیگر وجود داشته است. در پژوهشی دیگر Subuj و همکاران

(۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد)، اتانول (۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد) و استون (۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد) را در محدوده ۳۶/۲۷۳-۴/۷۲۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش و نشان دادند که کارایی حلال‌های آلی به شکل خالص در استخراج ترکیبات فنولی بالاتر از حلال در ترکیب با آب یا آب خالص بوده است. Chan و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان دادند که آب به عنوان یک حلال کارایی کمتری در استخراج ترکیبات فنولی از جلبک *Gracilaria changii* در مقایسه با حلال‌های آلی از قبیل اتیل‌استات و متانول داشته است. مطالعات پیشین نشان می‌دهد که فلوروتانین‌ها بخش اعظمی از ترکیبات فنولی موجود در جلبک‌های قهوه‌ای را تشکیل می‌دهند (Sadeghi et al., 2024). از این‌رو، به‌نظر می‌رسد که دلیل کارایی بالاتر حلال‌های آلی (اتیل‌استات یا متانول خالص)، قابلیت بالای حل شدن فلوروتانین‌ها در این حلال در مقایسه با سایر حلال‌ها از قبیل آب باشد (Maqsood et al., 2013). در ادامه پژوهش، خالص‌سازی بیشتر عصاره متانولی اولیه حاصل از جلبک *N. zanardinii* با حلال‌های کلروفرم، دی‌کلرومتان و اتیل‌استات نشان داد که بالاترین میزان استحصال فراکشن (۲/۵۴ گرم در ۱۰۰ گرم عصاره اولیه) و فلوروتانین (۱۹/۱۴ میلی‌گرم فلوروگلوکوسینول در گرم عصاره) در فراکشن اتیل‌استاتی وجود داشته است. این نتایج در تطابق با Kwon و همکاران (۲۰۱۳) است که نشان دادند که میزان فنول کل در فراکشن اتیل‌استاتی عصاره متانولی استخراجی از جلبک *Eisenia bicyclis* به طور معنی‌داری نسبت به سایر فراکشن‌ها (بوتانول، هگزان، کلروفرم و آب)، بالاتر بوده است. Chakraborty و همکاران (۲۰۱۵) نیز در تلاش خود برای خالص‌سازی ترکیبات فنولی عصاره متانولی جلبک‌های *Hypnea musciformis* و *Jania rubens* و *valentiae* نشان دادند که در بالاترین میزان تجمع فنول‌ها در فراکشن اتیل‌استاتی در مقایسه با فراکشن‌های ان-هگزانی و دی‌کلرومتانی بوده است. در مقایسه فراکشن‌های مختلف در مطالعه حاضر، پایین‌ترین میزان فلوروتانین (۱/۳۵ میلی‌گرم فلوروگلوکوسینول در گرم عصاره) در فراکشن کلروفرمی وجود داشت. عموماً طی

غیرفعال سازی رادیکال‌های آزاد به اشتراک بگذارند (Liu, 2015). مشابه سنجش مهار رادیکال آزاد DPPH، سنجش کلاته‌کنندگی یون مس (کوپریک) نیز یکی از روش‌های مفید برای سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی است و به عنوان یکی از روش‌های مبتنی بر انتقال الکترون طبقه‌بندی می‌گردد. مزایایی از قبیل عدم واکنش با قندهای احیاء‌کننده بدون خواص آنتی‌اکسیدانی و نزدیک بودن pH محیط واکنش آن به pH فیزیولوژیک هنگام استفاده از این روش برای سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک‌های دریایی ذکر شده است (Yalçın et al., 2020). در مطالعه حاضر، مقایسه فراکشن‌های مختلف حاصل از عصاره متانولی جلبک *N. zanardinii* نشان داد که کلاته‌کنندگی یون مس فراکشن اتیل‌استاتی (۷۳/۴۴ درصد) به طور معنی‌داری نسبت به سایر فراکشن‌ها بالاتر بوده است. این نتایج با پژوهش Emu و همکاران (۲۰۲۳) قابل مقایسه است که نشان دادند، توانایی کلاته‌کنندگی یون مس در عصاره‌های متانولی، اتانولی و استونی گونه‌های مختلف جلبک‌های قهوه‌ای جمع‌آوری شده از سواحل بنگلادش متأثر از نوع حلال، گونه و میزان فنول موجود در عصاره بوده است. از آنجایی که فراکشن اتیل‌استاتی جلبک *N. zanardinii* دارای میزان فلوروتانین بالایی بود، احتمالاً توانایی بالاتر کلاته‌کنندگی به دلیل تغلیظ پلی‌فنول‌ها در این فراکشن بوده است. ارتباط مستقیم بین میزان پلی‌فنول‌ها و خواص آنتی‌اکسیدانی در مطالعات گذشته محققین مختلف نیز گزارش شده است (Cotas et al., 2020; Afrin et al., 2023).

آلژینات یکی از پلی‌ساکاریدهای فراوان در دیواره سلولی جلبک‌های قهوه‌ای است. با این حال، میزان آلژینات استحصال و خواص فیزیکی و شیمیایی آن، با توجه به نوع گونه جلبک، شرایط زیست آن و شیوه استخراج متفاوت است (Rostami et al., 2017). مرسوم‌ترین شیوه برای استخراج این پلی‌ساکارید، در مرحله اول استفاده از حلال‌های آلی برای حذف ترکیباتی از قبیل رنگدانه و پلی‌فنول‌ها و در ادامه استفاده از آب برای استخراج است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان

(۲۰۲۱) نیز گزارش نمودند که میزان مهار رادیکال آزاد عصاره خام متانولی جلبک قهوه‌ای *Padina tetrastrumatica* نسبت به عصاره متانولی بالاتر بوده است. در مقایسه فراکشن‌های مختلف عصاره متانولی جلبک *N. zanardinii* نیز بالاترین مهار رادیکال، مشابه با میزان فنول فراکشن‌ها، در فراکشن اتیل‌استاتی وجود داشت. بالا بودن میزان مهار رادیکال آزاد عصاره متانولی احتمالاً به دلیل ویژگی به اشتراک گذاری یون هیدروژن این عصاره و توانایی آن در متوقف کردن فرایند اکسیداسیون از مسیر تبدیل رادیکال‌های آزاد به ترکیبات پایدار است (Afrin et al., 2023). در ادامه پژوهش حاضر، نتایج خالص‌سازی عصاره متانولی با حلال‌های کلروفرم، دی‌کلرومتان و اتیل‌استات نشان داد که مشابه میزان فنول، میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در فراکشن اتیل‌استاتی (۹۸/۹۵ درصد) به طور معنی‌داری نسبت به سایر فراکشن‌ها (۵۲/۵۲-۵/۹۸ درصد) و عصاره اولیه (۷۳/۲۷ درصد) بالاتر بوده است. در تحقیقی مشابه، Taheri (۲۰۱۶) در خالص‌سازی عصاره متانولی با استفاده از حلال‌های ان-هگزان، دی‌کلرومتان و اتیل‌استاتی نیز میزان بالاتری از مهار رادیکال آزاد در فراکشن اتیل‌استاتی نسبت به سایر فراکشن‌ها را گزارش نمود. مطالعات پیشین نشان می‌دهد که اتیل‌استات توانایی بهتری در جداسازی ترکیبات فنولی به‌ویژه فلوروتانین‌ها از عصاره اولیه در مقایسه به سایر حلال‌ها دارد (Sadeghi et al., 2024). در مطالعه حاضر، فراکشن اتیل‌استاتی دارای میزان بالاتری از فلوروتانین در مقایسه با سایر فراکشن‌ها نیز بود (نمودار ۵). از این‌رو، به نظر می‌رسد که بالاتر بودن میزان مهار رادیکال آزاد در این فراکشن به دلیل تجمع پلی‌فنول‌ها در آن بوده است. Chakraborty و همکاران (۲۰۱۵) نیز ارتباط مشابهی بین میزان بالای پلی‌فنول‌ها و خواص آنتی‌اکسیدانی در فراکشن‌های اتیل‌استاتی عصاره‌های اولیه متانولی به‌دست آمده از گونه‌های مختلف جلبک‌های دریایی را گزارش نمودند. پلی‌فنول‌های دریایی دارای گروه‌های هیدورکسیل هستند که با اتصال ضعیف به حلقه‌های آروماتیک فنول متصل هستند. از این‌رو، به‌راحتی می‌توانند یک اتم هیدروژن یا الکترون را برای

استخراج ترکیبات فنولی از جلبک قهوه‌ای دارد و میزان این ترکیبات با توجه به نوع گونه و شرایط استخراج متفاوت است.

تشکر و قدردانی

از تمامی کارشناسان آزمایشگاه مرکزی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار و پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

- Afrin, F., Ahsan, T., Mondal, M.N., Rasul, M.G., Afrin, M., Silva, A.A., Yuan, C. and Shah, A.K.M.A., 2023. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of some selected seaweeds from Saint Martin's Island of Bangladesh. *Food Chemistry Advances*, 3:100393. DOI:10.1016/j.focha.2023.100393.
- Asaduzzaman, A.K.M., Hasan, I., Rahman, M.H. and Tareq, A.R.M., 2020. Antioxidant and antiproliferative activity of phytoconstituents identified from *Sargassum binderi* seaweed extracts cultivated in Bangladesh. *International Journal of Biosciences*, 16(3):481-494. DOI:10.12692/ijb/16.3.481-494
- Bojorges, H., Lopez-Rubio, A., Martinez-Abad, A. and Fabra, M.J., 2023. Overview of alginate extraction processes: Impact on alginate molecular structure and techno-functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 140:104142. DOI:10.1016/j.tifs.2023.104142

استحصال آلژینات از جلبک *Nizimudiana zanardinii* برابر با ۴/۷۳ گرم به ازاء هر ۱۰۰ گرم جلبک بوده است. Gharekhan و همکاران (۲۰۲۰) مقدار استخراج آلژینات از ۸۰ گرم جلبک قهوه‌ای *Sargassum boveanum* را ۱/۵ گرم ذکر کردند که نسبت به مطالعه حاضر بسیار کمتر است. آنها همچنین میزان توانایی آلژینات در بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH در محدوده غلظت‌های ۵۰-۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر را به ترتیب ۱۰/۲۵ و ۱۷/۵۸ گزارش نمودند که تفاوت اندکی با مطالعه حاضر (۲۳/۰۷ درصد)، دارد. تفاوت در دو مطالعه احتمالاً به دلیل متفاوت بودن گونه و شرایط آزمایش است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آلژینات توانایی مناسبی در مهار یون مس دارد. این ویژگی احتمالاً به دلیل قابلیت بالای آلژینات در تشکیل ژل و متعاقباً گراندروی محلول و به دام انداختن یون‌های بوده است (Jayakody et al., 2020).

نتایج این تحقیق نشان داد که نوع حلال (متانول و اتیل استات) و نسبت ترکیب آن (۷۰، ۳۰ و صفر درصد) با آب تأثیر زیادی بر میزان استخراج عصاره، فلوروتانین و خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک‌های مورد بررسی (S. *cristaefolium* و *N. zanardinii*) دارد. در هر دو جلبک حلال‌های آلی در شکل خالص کارایی بهتری نسبت به شکل ترکیب با آب داشتند. نتایج مقایسه دو جلبک نیز نشان داد که جلبک *N. zanardinii* نسبت به *S. cristaeofolium* دارای میزان فلوروتانین و خواص آنتی‌اکسیدانی بالاتری است. از این‌رو، از جلبک *N. zanardinii* و عصاره حاصل از حلال متانول ۱۰۰٪ برای استخراج فلوروتانین و در ادامه آلژینات استفاده گردید. نتایج ادامه پژوهش نشان داد که در فراکشن‌های مختلف حاصله شده از عصاره اولیه جلبک *N. zanardinii*، فراکشن اتیل استاتی دارای میزان فلوروتانین، مهار رادیکال آزاد و کلاته‌کنندگی یون مس بالاتری نسبت به سایر فراکشن‌ها بوده است. همچنین آلژینات استخراجی از این جلبک با استفاده از آب مقطر توانایی مناسبی در کلاته کردن یون مس داشت. به طور کلی، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که نوع حلال تأثیر شگرفی بر میزان

- Chakraborty, K., Joseph, D. and Praveen, N.K., 2015.** Antioxidant activities and phenolic contents of three red seaweeds (Division: Rhodophyta) harvested from the Gulf of Mannar of Peninsular India. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4):1924-1935. DOI:10.1007/s13197-013-1189-2
- Chan, P.T., Matanjun, P., Yasir, S.M. and Tan, T.S., 2015.** Antioxidant activities and polyphenolics of various solvent extracts of red seaweed, *Gracilaria changii*. *Journal of Applied Phycology*, 27:2377-2386. DOI:10.1007/s10811-014-0493-1
- Cmikova, N., Galovicova, L., Miskeje, M., Borotova, P., Kluz, M. and Kacaniova, M., 2022.** Determination of antioxidant, antimicrobial activity, heavy metals and elements content of seaweed extracts. *Plants*, 11(11):1493. DOI:10.3390/plants11111493
- Cotas, J., Leandro, A., Monteiro, P., Pacheco, D., Figueirinha, A. and Gonçalves, A.M., 2020.** Seaweed phenolics: from extraction to applications, *Marine Drugs*, 18:384, DOI:10.3390/md18080384.
- Eghbal, H., Jahani, N., Mohammadnejad-Khiavi, N., Ahmadi-Sabegh, M. and Ghazi-Tabatabaei, Z., 2020.** Investigating the importance and role of Seaweeds in industry and their pharmaceutical and environmental applications. *The Application of Chemistry in Environment*, 40:9-17. (In Persian)
- El-Sheekh, M.M., Bases, E., El Shafay, S.M. and El-shenody, R., 2023.** Influence of Seasonal Variations on Extract Yield and Antioxidant Activities of Some Seaweed Species. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 93:915–923. DOI:10.1007/s40011-023-01493-0
- Emu, S.A., Dual, M.A., Kali, T.D., Ghadni, M.S., Rasul, M.G., Mondal, M.N., Ahsan, M.E., Khan, M. and Shah, A.K.M.A., 2023.** Effects of extracting solvents on phytochemical, antioxidant, and antibacterial activity of some seaweeds from the Bay of Bengal offshore Island. *Food and Humanity*, 1:1157–1166. DOI:10.1016/j.fooohum.2023.09.005
- Gall, E.A., Lelchat, F., Hupel, M., Jegou, C. and Stiger-Pouvreau, V., 2015.** Extraction and Purification of Phlorotannins from Brown Algae. *Methods in Molecular Biology*, 1308:131-143. DOI:10.1007/978-1-4939-2684-8_7
- Gharekhan, T.R., Kordjazi, M., Nasrollahi, S.A., Shabanpour, B. and Adeli, A., 2020.** Investigation of antioxidant properties and antibacterial activity of alginate and fucoidan extracted from *Sargassum boveanum* algae collected from the Persian Gulf coast. *Aquaculture Sciences*, 7(2), 64-76. (In Persian)
- Jayakody, M.M., Vanniarachchy, M.P.G. and Wijesekara, I., 2020.** Seaweed derived alginate, agar, and carrageenan based edible coatings and films for the food industry: a review. *Food Measure*,

- 16:1195–1227. DOI:10.1007/s11694-021-01277-y
- Kwon, T.H., Kim, T.W., Kim, C.G. and Park, N.H., 2013.** Antioxidant activity of various solvent fractions from edible brown algae, *Eisenia bicyclis* and its active compounds. *Journal of Food Science*, 78(5):C679–C684. DOI:10.1111/1750-3841.12109
- Lashkan, A.B., Rezaei, M., Rezaei, K. and Seifabadi, S.J., 2012.** Optimization of extraction of antioxidant compounds in microwave-assisted extracts of brown algae *Sargassum angustifolium*. *Journal of Fisheries*, 65(3):243-255. (In Persian)
- Liu, X., 2015.** Extraction and antioxidant activity of phlorotannins from edible brown algae. MSc. thesis, North Carolina State University, USA. 127 P.
- Maqsood, S., Benjakul, S. and Shahidi, F., 2013.** Emerging role of phenolic compounds as natural food additives in fish and fish products. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. 53:162-79.
- Milledge, J.J., Nielsen, B.V. and Bailey, D., 2015.** High-value products from macroalgae: the potential uses of the invasive brown seaweed, *Sargassum muticum*. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. DOI:10.1007/s11157-015-9381-7
- Rostami, Z., Tabarsa, M., You, S. and Rezaei M., 2017.** Relationship between molecular weights and biological properties of alginates extracted under different methods from *Colpomenia peregrina*. *Process Biochemistry*, 58:289-297. DOI:10.1016/j.procbio.2017.04.037
- Sadeghi, A., Rajabiyan, A., Nabizade, N., Meygoli Nezhad, N. and Zarei-Ahmady, A., 2024.** Seaweed-derived phenolic compounds as diverse bioactive molecules: A review on identification, application, extraction and purification strategies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 266:131147. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2024.131147
- Sasadara, M.M.V. and Wirawan, I.G.P., 2021.** Effect of extraction solvent on total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Bulung Sangu* (*Gracilaria* sp.) Seaweed. 3rd international conference on bioscience and biotechnology, IOP Conf. Series: *Earth and Environmental Science*, 712:012005. DOI:10.1088/1755-1315/712/1/012005
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T., 1992.** Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40:945-948. DOI:10.1021/jf00018a005
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M., 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299:152-178. DOI:10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- Sobuj, M.K.A., Islam, M., Mahmud, Y. and Rafiquzzaman, S.M., 2021.** Effect of solvents on bioactive compounds and

antioxidant activity of *Padina tetrastromatica* and *Gracilaria tenuistipitata* seaweeds collected from Bangladesh. *Scientific Reports*, 11(1):1-13. DOI:10.21203/rs.3.rs-557313/v1

(HPLC) with a cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) assay. *Analytical Letters*, 54(14):2239-2258. DOI:10.1080/00032719.2020.1855439

Subbiah, V., Xie, C., Dunshea, F.R., Barrow, C.J. and Suleria, H.A.R., 2022. The quest for phenolic compounds from seaweed: nutrition, biological activities and applications. *Food Reviews International*, 39(2):1-28. DOI:10.1080/87559129.2022.2094406

Taheri, A., 2016. Antioxidant activity in some Iranian seaweed species from Chabahar. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(2):802-817. DOI:10.1001.1.15622916.2016.15.2.14.0

Thanigaivel, S., Vidhya Hindu, S., Vijayakumar, S., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N. and Thomas, J., 2015. Differential solvent extraction of two seaweeds and their efficacy in controlling *Aeromonas salmonicida* infection in *Oreochromis mossambicus*: A novel therapeutic approach. *Aquaculture*, 443:56–64. DOI:10.1016/j.aquaculture.2015.03

Wong, S.P., Leong, L.P. and William Koh, J.H., 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*, 99(4):775-783.

Yalçın, S., Uzun, M., Karakaş, Ö., Sözgen Başkan, K., Okudan, E. Ş. and Apak, M.R., 2020. Determination of total antioxidant capacities of algal pigments in seaweed by the combination of high-performance liquid chromatography