

Optimization of sodium alginate extraction conditions using a central composite design from the brown seaweed *Sargassum angustifolium*

Norozi A.¹; Shamsaie Mehrgan M.^{1*}; Roomiani L.^{2*}; Rajabi Islami H.¹; Raissy M.³

*m.shamsaie@srbiau.ac.ir; Laleh.roomiani@iau.ac.ir

1-Department of Agriculture Science and Engineering, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Fisheries, Ahv.C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

3- Department of Aquatic Health, Sha.C., Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Received: March 2025

Accepted: May 2025

Published: July 2025



Copyright: © 2025 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

Marine algae, with large size and wide variety of species, are marine ecosystems. They are cultivated both naturally and commercially in the coastal areas of the world. 25,000 tons of algae are produced worldwide each year and its economic value is about 6.5 billion, which appears to reach \$ 1.07 billion by 2028 (Yang *et al.*, 2025). Marine algae are mainly used as food in most Asian countries such as China, Japan, South Korea and North Korea, Indonesia, Philippines, Vietnam and Thailand, and for the first time in Japan in 1670 they were raised (Khan *et al.*, 2024). Due to their high consumption in Asia, brown algae make up 47.3 percent of the world's cultivation level with 16.4 million tonnes (Nam *et al.*, 2024; Radulovich *et al.*, 2015).

Marine macroalgae are a sustainable raw material with antioxidant, antimicrobial, non-condensed, biodegradable and biological properties. The most important polysaccharide in algae cell is alginate (40 % dry weight), laminarin and fukoidan (Faidi *et al.*, 2025). In algae, the percentage of alginate can reach up to 60 % dry weight. Alginates contain sodium, calcium, magnesium, barium and monomeric acid units D-mannuronic (M) and L-guluronic (G). Uronic acids are often organized in the forms of heteropolymer block (MG) or homopolymer (MM or GG) (Fawzy *et al.*, 2017).

Methodology

From the shallow and lower parts of the tide of the rocky beds of the Persian Gulf and the Oman Sea (Chabahar area), the *S. angustifolium* algae was carried out. The Persian Gulf and Oman Sea Atlas and Algae base platform data were used to confirm the species. The algae were washed with distilled water several times to remove impurities and algae sand. Then in the dry sun, they were powdered with a mill. Then, in polyethylene bags, they were transferred to the laboratory under 10°C (Fig. 1).

Figure 1: *Sargassum angustifolium*

Central Composite Design (CCD) using Response Surface Methodology (RSM) to optimize the process of extraction of sodium alginate in brown algae *S. angustifolium* by considering 3 factors or independent variables temperature (A), time (b) and pH (c) consisting of 19 points and 5 repeats at point the central was used with 19 treatments. In RSM it is selected for each domain variable. The third level as the central level or (0) is minimal and maximum (Table 1).

Table 1: Experiment design levels for independent variables using CCD

Control factors		Surface		
		-1	0	+1
A	Temperature (°C)	40	65	90
B	Time (h)	1	2.5	4
C	pH	8	9	10

Results

The results of the CCD test plan with 19 repetitions are presented in Table 2 to evaluate the optimum parameters of sodium alginate extraction from *S. angustifolium*. As Table 2 shows, the actual and coded values of each factor and 19 experimental points include three repetitions of central points. Independent variables were the study of temperature (A), time (b) and pH (c). The second -degree polynomial equation shows the correlation between the independent variable and the responses. Multiple regression analysis and analysis of variance (ANOVA) were performed on experimental data and two multi -order multi -order equations were created in terms of encoded factors (Table 3). Second -degree equations for alginate efficiency and acidic amount were obtained as follows:

Alginate yield: $14.6029 + 2.0921 A + 1.0935 B + 9.3055 C - 0.41 AB + 1.6825 AC + 0.7995 BC - 1.15968 A^2 + 0.0553247 B^2 + 6.60732 C^2$

Uronic acid content: $14.0044 - 0.8655 A + 0.1275 B + 8.9599 C - 1.247 AB - 1.8205 AC - 0.413 BC - 4.59434 A^2 + 1.19566 B^2 + 4.29266 C^2$

Table 2: CCD design from RSM and the observed responses; Sodium alginate yield and uronic acids (%)

Std	Run	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Response 1	Response 2
		A: Temperature	B: Time	C: pH	Sodium alginate yield	Uronic acid content
		°C	h		%	%
10	1	90	2.5	9	15.501	8.981
18	2	65	2.5	9	13.407	17.208
9	3	40	2.5	9	12.104	10.070
2	4	90	1	8	12.184	7.167
11	5	65	1	9	12.778	14.435
13	6	65	2.5	8	11.652	9.278
7	7	40	4	10	26.902	27.881
14	8	65	2.5	10	31.487	27.547
4	9	90	4	8	10.559	6.489
3	10	40	4	8	11.183	6.122
15	11	65	2.5	9	16.318	12.608
17	12	65	2.5	9	14.277	13.027
8	13	90	4	10	34.648	18.743
12	14	65	4	9	17.257	16.196
1	15	40	1	8	9.528	4.035
19	16	65	2.5	9	12.825	11.413
16	17	65	2.5	9	14.75	15.304
5	18	40	1	10	23.689	25.223
6	19	90	1	10	31.435	23.296

Table 3: Analysis of variance (ANOVA) for CCD model of sodium alginate extraction yield and uronic acid content

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model of yield	1123.64	9	124.85	77.75	< 0.0001	significant
A-Temperature	43.77	1	43.77	27.26	0.0005	
B-Time	11.96	1	11.96	7.45	0.0233	
C-pH	865.92	1	865.92	539.28	< 0.0001	
AB	1.34	1	1.34	0.8375	0.3840	
AC	22.65	1	22.65	14.10	0.0045	
BC	5.11	1	5.11	3.18	0.1080	
A ²	3.67	1	3.67	2.29	0.1646	
B ²	0.0084	1	0.0084	0.0052	0.9440	
C ²	119.29	1	119.29	74.29	< 0.0001	
Residual	14.45	9	1.61			
Lack of Fit	7.20	5	1.44	0.7952	0.6046	not significant
Pure Error	7.25	4	1.81			
Cor Total	1138.09	18				
Model of uronic content	934.89	9	103.88	36.12	< 0.0001	significant
A-Temperature	7.49	1	7.49	2.60	0.1410	
B-Time	0.1626	1	0.1626	0.0565	0.8174	
C-pH	802.80	1	802.80	279.16	< 0.0001	
AB	12.44	1	12.44	4.33	0.0673	
AC	26.51	1	26.51	9.22	0.0141	
BC	1.36	1	1.36	0.4745	0.5083	
A ²	57.68	1	57.68	20.06	0.0015	
B ²	3.91	1	3.91	1.36	0.2738	
C ²	50.35	1	50.35	17.51	0.0024	

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Residual	25.88	9	2.88			
Lack of Fit	4.35	5	0.8703	0.1617	0.9643	not significant
Pure Error	21.53	4	5.38			
Cor Total	960.77	18				

Discussion and conclusion

Optimizing the process conditions to achieve maximum efficiency and uronic acid amount can be obtained by analyzing multiplication using utility function. Under the experimental conditions, the projected extraction efficiency of sodium alginates was 33.54 % and 0.956, respectively. High desirability ($0 \leq d \leq 1$) indicates better accuracy of independent variables in optimization. Both responses were empirically approved under optimal parameters, indicating that the model is sufficient to predict these responses and are comparable with other researchers: *Sargassum natans* 23 %, *Sargassum vulgare* 17 %, *Padina gymnospora* 16 %, *Padina antillarum* 22 %, *Laminaria digita* 29 %, *Macrocystis pyrifera* 26 % (Rhein-Knudsen *et al.*, 2017), *Sargassum vulgare* 40 % (Sari-chmaysme *et al.*, 2016), 19% *Sargassum natans* (Mohammed *et al.*, 2018). Kanagesan *et al.* (2022) gained the efficiency of 13.55 % alginate by alkaline with 3 % carbonate extraction. Changes in alginate extraction efficiency among various studies, including the current study, may be due to differences in sargassum species, growth conditions, or extraction conditions (Khan *et al.*, 2024). The efficiency of the extracted alginate is different among the brown marine algae, as these algae have physiological and metabolic processes that allow it to produce different metabolites. The concentration of nutrients in the environment directly affects the amount of polysaccharide in different metabolites. The production of polysaccharides is influenced by several factors such as species, age, sampling time and extraction method (El-Sheekh *et al.*, 2024).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment

The authors would like to thank the Islamic Azad University, Ahvaz Branch for arranging the experimental samples.

مقاله علمی - پژوهشی:

بهینه‌سازی استخراج آلزینات‌سدیم با استفاده از طرح مرکب مرکزی (CCD)^۱ از جلبک دریایی قهوه‌ای *Sargassum angustifolium*

اکبر نوروزی^۱، مهدی شمسایی مهرجان^{۱*}، لاله رومیانی^{۲*}، هومن رجبی اسلامی^۱، مهدی رئیسی^۳

*m.shamsaie@srbiau.ac.ir; Laleh.roomiani@iau.ac.ir

۱-گروه دانشی، علوم و مهندسی کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲-گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۳-گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

تاریخ چاپ: تیر ۱۴۰۴

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۴۰۴

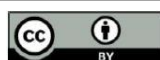
تاریخ دریافت: اسفند ۱۴۰۳

چکیده

جلبک‌های دریایی قهوه‌ای منبع ارزشمندی از بیوپلیمرهای مختلف هستند که آلزینات به عنوان یک فیکوکلونید از اهمیت صنعتی بالایی برخوردار است. این تحقیق به منظور بهینه‌سازی استخراج آلزینات‌سدیم از جلبک دریایی قهوه‌ای *Sargassum angustifolium* با استفاده از طرح مرکب مرکزی (CCD) روش سطح پاسخ (RSM)^۲ با در نظر گرفتن متغیرهای مستقل زمان، دما و pH انجام شد. بازده استخراج آلزینات‌سدیم و میزان اسیدیورونیک پاسخ‌های مدل بودند. نتایج نشان داد که شرایط بهینه ۴ ساعت، ۹۰ درجه سانتی‌گراد و pH ۱۰ منجر به ۳۴/۶۴ درصد بازده آلزینات‌سدیم شد درحالی‌که شرایط بهینه برای بیشترین میزان اسیدیورونیک با ۲۷/۱۲ درصد در pH ۱۰، زمان ۴ ساعت و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد. نتایج نشان داد که pH دارای بیشترین تاثیر در بین سایر متغیرهای مستقل بر پاسخ‌ها بود و به دنبال آن دما و زمان قرار داشتند. نتایج نشان داد که مدل درجه دوم قادر است، بازده آلزینات‌سدیم و میزان اسیدیورونیک را با R^2 ، R^2_{Adj} و R^2_{Pre} به ترتیب با مقادیر ۰/۹۷۴۴، ۰/۹۴۸۹، ۰/۹۲۲۳ پیش‌بینی کند. افزایش pH منجر به آلزینات‌های با رنگ روشن‌تر شد. نتایج این مطالعه نشان داد، استخراج آلزینات‌سدیم با استفاده از طرح مرکب مرکزی برای بهینه‌سازی آن و بهبود شرایط استخراج، رضایت‌بخش بود.

لغات کلیدی: آلزینات‌سدیم، اسیدیورونیک، جلبک، *Sargassum angustifolium*

*نویسنده مسئول



Copyright: © 2025 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/>).

¹ Central Composite Design (CCD)

² Response Surface Methodology (RSM)

مقدمه

جلبک‌های دریایی، با اندازه بزرگ و تنوع گونه‌ای بسیار گسترده، اکوسیستم‌های آب‌های دریایی هستند. آنها به صورت طبیعی و تجاری در مناطق ساحلی دنیا کشت می‌شوند. هر ساله ۲۵ هزار تن جلبک دریایی در سراسر جهان تولید می‌شود و ارزش اقتصادی آن حدود ۶/۵ میلیارد است که به‌نظر می‌رسد تا سال ۲۰۲۸ به ۱/۰۷ میلیارد دلار برسد (Yang et al., 2025). جلبک دریایی عمدتاً به عنوان غذا در اکثر کشورهای آسیایی (چین، ژاپن، کره جنوبی و شمالی، اندونزی، فیلیپین، ویتنام و تایلند)، استفاده می‌شود و برای اولین بار در ژاپن در سال ۱۶۷۰ پرورش یافت (Khan et al., 2024). جلبک‌های قهوه‌ای به دلیل مصرف زیاد در آسیا، ۴۷/۳ درصد از سطح زیرکشت جهان را با ۱۶/۴ میلیون تن تشکیل می‌دهند (Nam et al., 2024; Sugiura et al., 2025).

ماکرو جلبک‌های دریایی به عنوان یک ماده خام پایدار با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، غیرسمی، زیست‌تخریب‌پذیر و زیست‌سازگار هستند. مهم‌ترین پلی‌ساکارید در دیواره سلولی جلبک‌های قهوه‌ای آلژینات (۴۰ درصد وزن خشک)، لامینارین و فوکوئیدان است (Faidi et al., 2025). در جلبک‌ها درصد آلژینات می‌تواند تا ۶۰ درصد وزن خشک برسد. آلژینات حاوی یون‌های سدیم، کلسیم، منیزیم، باریوم و واحدهای مونومریک اسیداورونیک (D-mannuronic (M) و L-guluronic (G) هستند. اسیدهای اورونیک اغلب به شکل‌های بلوک هتروپلیمری (MG) یا هموپلیمری (MM یا GG) سازماندهی می‌شوند (Fawzy et al., 2017).

کاربرد آلژینات در بسته‌بندی مواد غذایی به صورت تثبیت‌کننده، تغلیظ‌کننده و ژل‌کننده برای تهیه پوشش‌های محصولات رژیمی و فیلم‌های خوراکی است. آلژینات دارای فعالیت‌های زیستی متعددی از جمله، آنتی‌اکسیدان (Nguyen et al., 2021)، ضدقارچ، محافظت‌کننده عصبی، ضدسرطان و تحریک‌کننده ایمنی (El-Sheekh et al., 2023)، است. محققان علاقه‌مند به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند آلژینات هستند، زیرا بسیاری از مواد مصنوعی که به عنوان مهارکننده رادیکال‌های آزاد عمل

می‌کنند، دارای عوارض جانبی قابل توجهی هستند. میزان و فعالیت آلژینات ارتباط مستقیمی با روش و بازده استخراج دارد. این موضوع به دلیل نحوه سازماندهی انواع اسیداورونیک در آلژینات مرتبط است. شرایط استخراج آلژینات بر خصوصیات رئولوژیک آن تاثیر بسیار زیادی می‌گذارد. استخراج قلیایی یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای بهبود بالقوه عملکرد و خواص فیزیکوشیمیایی آلژینات است (Liu et al., 2019).

تاکنون مطالعه‌ای در ایران بر بهینه‌سازی استخراج آلژینات از جلبک *S. angustifolium* انجام نشده است، اما در سایر نقاط جهان محققان مطالعاتی بر سایر گونه‌های این جنس انجام داده‌اند که می‌توان به مطالعه Kolahdoozan و همکاران (۲۰۲۴) بر استخراج اسیدآلژینیک از *S. angustifolium* با استفاده از شرایط مختلف استخراج اشاره کرد که آنها نتیجه گرفتند که دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین تاثیر را بر استخراج دارد. استخراج آلژینات سدیم از جلبک قهوه‌ای *Padina pavonica* در مطالعه Faidi و همکاران (۲۰۲۵) که نتیجه گرفتند، pH بیشترین تاثیر را در استخراج آلژینات دارد. Queiroz و همکاران (۲۰۲۴) بهینه‌سازی استخراج آلژینات از *Dictyota mertensii* را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که با افزایش دما و زمان، بازده استخراج آلژینات کاهش می‌یابد. استخراج اسیدآلژینیک به شیوه اولتراسوند از جلبک *S. angustifolium* انجام گردید و نشان داده شد که توان اولتراسوند دارای بیشترین تاثیر در فرایند استخراج بود (Mousavi et al., 2023).

با توجه به موارد مذکور و اهمیت شرایط استخراج آلژینات سدیم بر بازده آن و نوآوری مطالعه به دلیل استخراج آلژینات سدیم و اسیدیورونیک جلبک مورد مطالعه، هدف از مطالعه حاضر، تعیین اثرات موثر بر روش استخراج قلیایی از جمله دما، زمان و pH بر بازده استخراج آلژینات سدیم و میزان اسیدیورونیک از جلبک قهوه‌ای (*S. angustifolium*) بود تا بتوان با تیمارهای کمتر، سبب کاهش وقت و هزینه استخراج شد.

مواد و روش کار

جمع‌آوری جلبک

از قسمت‌های کم‌عمق و پایین بین جزر و مدی بسترهای صخره‌ای سواحل خلیج فارس و دریای عمان (منطقه چابهار) جمع‌آوری جلبک *S. angustifolium* انجام شد. جهت تایید گونه از اطلس جلبک‌های دریایی خلیج فارس و دریای عمان و داده‌های پلت فرم *algaebase* استفاده گردید (Guiry et al., 2021). برای حذف ذرات ناخالصی و ماسه‌های چسبیده به جلبک، جلبک‌ها چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس در آفتاب خشک و با آسیاب به صورت پودر درآمدند. سپس در کیسه‌های پلی اتیلن در شرایط دمایی زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شدند.

استخراج آلزینات سدیم

استخراج آلزینات سدیم با استفاده از روش Khan و همکاران (۲۰۲۴) با اندکی تغییرات انجام شد. ۱۲ گرم جلبک تازه شسته و خشک‌شده با ۲۵۰ میلی‌لیتر کلرید کلسیم (۲ درصد) به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق معلق شدند. پس از شستشو، ۱۶ میلی‌لیتر فرمالدئید (۳۷ درصد) به آن اضافه و به مدت ۲ ساعت معلق ماند. سپس سه بار با آب یونیزه شسته و فیلتر شد. ۲۰۰ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۳ درصد)

به محلول پس از شستشو اضافه و تحت دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به صورت حمام آب گرم (۲/۵ ساعت) قرار گرفت. ماده باقیمانده به مدت ۱، ۲/۵ و ۴ ساعت در آون با دمای ۴۰، ۶۵ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از شستشو، باقیمانده مجدداً در مخلوط ۲۰۰ میلی‌لیتری مولار کربنات سدیم و ۰/۵ گرم اسید اتیلن دی‌آمین تتراستیک به مدت دو شبانه‌روز معلق شد. pH با استفاده از محلول بافر اسید کلریدریک (نرمالیت ۰/۱) و کلرید پتاسیم (نرمالیت ۱) در حدود ۸، ۹ و ۱۰ تنظیم شد. محلول مجدداً فیلتر شد و با ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول به مدت ۱۵ دقیقه هم‌زده شد. رسوب در محلول اتانول به صورت نمک سدیم ظاهر شد که صاف شده و باقیمانده ۳/۴۶ وزن و با ۳۰ میلی‌لیتر استون به مدت ۳۰ دقیقه دو بار شستشو داده شد. پس از استخراج، عصاره خام پلی‌ساکارید جلبک به مدت زمان ۱۰ دقیقه با دور ۴۵۰۰× سانتریفیوژ و مایع رویی با اتانول ۹۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد رسوب گردید. پس از سانتریفیوژ دوباره با دور ۵۰۰۰× به مدت ۱۵ دقیقه، ماده باقیمانده در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شد و بازده استخراج از طریق فرمول ذیل به‌دست آمد:

وزن آلزینات

$$\text{وزن زیست توده خشک شده جلبک} \times 100 = \text{بازده استخراج (درصد)} \quad (\text{رابطه ۱})$$

طرح آزمایش‌ها

طرح مرکب‌مرکزی (CCD) با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) برای بهینه‌سازی فرایند استخراج آلزینات سدیم موجود در جلبک قهوه‌ای *S. angustifolium* با در نظر گرفتن ۳ عامل یا متغیرهای مستقل دما (A)، زمان (B) و pH (C) (جدول ۱) متشکل از ۱۹ نقطه و ۵ تکرار در نقطه مرکزی با ۱۹ تیمار استفاده شد.

جدول ۱: سطوح طرح آزمایش برای متغیرهای مستقل با

استفاده از CCD

Table 1: Experiment design levels for independent variables using CCD

Control factors		Surface		
		-1	0	+1
A	Temperature (°C)	40	65	90
B	Time (h)	1	2.5	4
C	pH	8	9	10

میزان اسیدیورونیک با استفاده از اسید گلوکورونیک به عنوان استاندارد، طبق روش Bitter و Muir (۱۹۶۲) انجام شد. ۰/۵۰ گرم سدیم تترا بورات با واکنش گر سدیم تترا بورات ۰/۲۵ مولار در یکصد میلی‌لیتر اسید سولفوریک حل گردید. سپس محلول کربازول (با حل کردن ۰/۱۲۰ گرم کربازول) در یکصد میلی‌لیتر اتانول خالص در ظرف شیشه‌ای تیره قرار داده شد. سپس محلول سدیم تترا بورات به لوله‌های شیشه‌ای منتقل و نمونه‌های آماده‌شده در اسید بنزوئیک اشباع به لوله‌ها اضافه گردید. لوله‌ها به مدت ۱۰ ثانیه سرد و بعد به مدت ۱۲ دقیقه در حمام آب‌جوش قرار گرفتند. پس از خنک‌شدن، جذب در ۵۳۰ نانومتر قرائت گردید.

معادله مدل تعیین‌شده و ضرایب آن پیش‌بینی خواهند شد. داده‌های تجربی به یک مدل چندجمله‌ای مرتبه دوم (رابطه ۲) برازش داده شد که متغیرها و پاسخ‌های مستقل را به هم مرتبط می‌کند:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum \sum \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon \quad (\text{رابطه ۲})$$

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)^۲
برای تشخیص خصوصیات مورفولوژیک آلزینات سدیم استخراجی از جلبک موردنظر از میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل KYKY-EM3200 ساخت کشور چین استفاده شد. نمونه جلبک خشک‌شده روی پایه‌های آلومینیومی دستگاه لایه نشانی طلا با استفاده از چسب کربنی دوطرفه نصب شده و با لایه‌ای از فلز طلا پوشش داده شد. تصاویر عکس‌برداری شده با بزرگنمایی دلخواه ثبت گردید (Benslimam et al., 2021).

تجزیه و تحلیل رنگ

نتایج به دست‌آمده از تجزیه و تحلیل رنگ با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج CR 10, Minolta ساخت کشور ژاپن انجام شد. پودر آلزینات سدیم استخراجی روی صفحه سفید استاندارد قرار گرفت. نتایج حاصله در تجزیه و تحلیل رنگ با شاخص‌های a^* ، b^* و L بیان می‌شوند که L : نشان‌دهنده سفیدی، a^* : نشان‌دهنده رنگ قرمز تا سبز (مثبت قرمز، منفی سبز) و b^* : نشان‌دهنده مختصات زرد یا آبی (مثبت زرد، منفی آبی) است.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

شرایط بهینه برای استخراج آلزینات سدیم با استفاده از تکنیک تابع مورد نظر Derringer پیش‌بینی شده و آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. دقت و قابلیت کاربردی مدل‌ها با مقایسه مقادیر تجربی و پیش‌بینی‌شده، ارزیابی شدند. معنی‌دار بودن آماری ضرایب در معادله رگرسیون با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) بررسی شد. تناسب

در روش سطح پاسخ برای هر متغیر دامنه‌ای انتخاب می‌شود. سطح سوم به عنوان سطح مرکزی یا (۰)، کمینه و بیشینه است. متغیرهای وابسته یا پاسخ‌های ارزیابی شده شامل بازده آلزینات سدیم (درصد) (پاسخ ۱) و میزان اسیدیورونیک (درصد) (پاسخ ۲) بودند. پس از انتخاب طرح،

در روش سطح پاسخ، معمولاً، معادله مدل درجه دوم کامل است. β_0 ، β_i ، β_{ii} و β_{ij} به ترتیب ضرایب ثابت، خطی، درجه دوم و اثر متقابل رگرسیون هستند. x_i و x_j متغیرهای مستقل هستند. ϵ خطای مدل است. k شمارنده متغیرهاست. i و j اندیس‌های متغیرهای مستقل و i کوچک‌تر از j است. از ضریب تبیین پیش‌بینی‌شده (R^2) برای تعیین قدرت پیش‌بینی مدل استفاده می‌شود. از جنبه آماری، مدلی مناسب است که دارای بالاترین مقدار R^2 و R^2_{adj} تصحیح‌شده و R^2_{pre} باشد و هرچه مقادیر این ضرایب به عدد ۱ نزدیک‌تر باشد، قدرت مدل برازش یافته در توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل بیشتر است.

طیف‌سنجی فوری تبدیل مادون قرمز (FTIR)^۱

برای تعیین گروه‌های عاملی تیمار بهینه از روش طیف‌سنجی FTIR استفاده شد. در این مطالعه داده‌های FTIR آلزینات سدیم استخراجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Perkin Elmer Frontier ساخت کشور انگلستان اندازه‌گیری شد. ۲ میلی‌گرم پودر آلزینات سدیم با ۱۵۰ گرم پودر بروماید پتاسیم (KBr) ترکیب و بعد مخلوط حاصله با استفاده از دستگاه پرس هیدرولیک ۱۵ تن (Orpington, UK) به صورت قرص تبدیل شد. طیف FTIR در حالت عبور با استفاده از دستگاه FTIR اسپکتروفتومتر در محدوده $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ و با تفکیک‌پذیری 4 cm^{-1} به دست آمد. قبل از تجزیه و تحلیل FTIR، نمونه‌های آلزینات سدیم یک شبانه‌روز در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در زیر آون خشک شدند.

^۲ Scanning Electron Microscope (SEM)

^۱ Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR)

شاخص‌های بهینه استخراج آلژینات سدیم از *S. angustifolium* و مقادیر واقعی و کدشده هر عامل و ۱۹ نقطه آزمایشی شامل سه تکرار از نقاط مرکزی در جدول ۲ ارائه شده است. متغیرهای مستقل مطالعه شامل دما (A)، زمان (B) و pH (C) بودند. معادله چندجمله‌ای درجه دوم همبستگی بین متغیر مستقل و پاسخ‌ها را نشان می‌دهد. تجزیه و تحلیل رگرسیون چندگانه و تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) بر داده‌های تجربی انجام شد (جدول ۳) و دو معادله چندجمله‌ای مرتبه دوم بر حسب عوامل کدگذاری شده ایجاد شد.

معادله چندجمله‌ای با پاسخ‌ها با ضرایب تعیین (R^2) و عدم تناسب با آزمون F (ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p > 0.05$) ارزیابی شد. طرح آزمایش‌ها با استفاده از نرم‌افزار Design Expert 10 انجام شد. برای مدل‌هایی که $F_{\text{calculated}}$ بیشتر از $F_{\text{tabulated}}$ و $R^2 \geq 0.90$ است، سطوح پاسخ ایجاد و تحلیل می‌شوند.

نتایج

نتایج طرح آزمایش CCD با ۱۹ تکرار برای ارزیابی

جدول ۲: طرح مرکب مرکزی RSM و پاسخ‌های مشاهده شده: بازده آلژینات سدیم و اسید یورونیک (درصد)

Table 2: CCD design from RSM and the observed responses; Sodium alginate yield and uronic acids (%)

Std	Run	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Response 1	Response 2
		A: Temperature	B: Time	C: pH	Sodium alginate yield	Uronic acid content
		°C	h		%	%
10	1	90	2.5	9	15.501	8.981
18	2	65	2.5	9	13.407	17.208
9	3	40	2.5	9	12.104	10.070
2	4	90	1	8	12.184	7.167
11	5	65	1	9	12.778	14.435
13	6	65	2.5	8	11.652	9.278
7	7	40	4	10	26.902	27.881
14	8	65	2.5	10	31.487	27.547
4	9	90	4	8	10.559	6.489
3	10	40	4	8	11.183	6.122
15	11	65	2.5	9	16.318	12.608
17	12	65	2.5	9	14.277	13.027
8	13	90	4	10	34.648	18.743
12	14	65	4	9	17.257	16.196
1	15	40	1	8	9.528	4.035
19	16	65	2.5	9	12.825	11.413
16	17	65	2.5	9	14.75	15.304
5	18	40	1	10	23.689	25.223
6	19	90	1	10	31.435	23.296

معادلات درجه دوم برای بازده آلژینات و میزان اسید یورونیک با استفاده از رابطه ذیل به دست آمد:

$$\text{Alginate yield: } 14.6029 + 2.0921 A + 1.0935 B + 9.3055 C - 0.41 AB + 1.6825 AC + 0.7995 BC - 1.15968 A^2 + 0.0553247 B^2 + 6.60732 C^2$$

$$\text{Uronic acid content: } 14.0044 - 0.8655 A + 0.1275 B + 8.9599 C - 1.247 AB - 1.8205 AC - 0.413 BC - 4.59434 A^2 + 1.19566 B^2 + 4.29266 C^2$$

با توجه به جدول ۲ بازده استخراج آلژینات سدیم بر اساس ۱۹ تیمار در نظر گرفته شده، در محدوده ۹/۵۲۸-۳۴/۶۴۸ درصد بود. بیشترین میزان بازده آلژینات سدیم در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۴ ساعت تحت pH ۱۰ به دست آمد. میزان اسیدیورونیک در محدوده ۲۷/۸۸۱-۴/۰۳۵ درصد به دست آمد که بیشترین میزان آن در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۴ ساعت و در pH ۱۰ حاصل گردید. در جدول ۳ رابطه بین متغیرهای مستقل (دما، زمان و pH) و پاسخ‌ها (بازده و اسیدیورونیک) ارائه شده است. ضرایب تعیین (R^2) برای مدل بازده (۰/۹۸) و اسیداورونیک (۰/۹۷)

بالا بود (جدول ۴) در حالی که مقادیر p پایین برای بازده و اسیدیورونیک ($p = ۰/۰۰۰۲$) تأیید شد که نشان‌دهنده برازش خوب مدل با داده‌های آزمایش بود. ضرایب تخمین زده شده برای معادله بهینه شده نشان می‌دهد که متغیر مستقل pH ($p < ۰/۰۰۰۱$) و عبارت درجه دوم آن ($p < ۰/۰۰۰۱$) مهم‌ترین شاخص مؤثر بر بازده آلژینات بود و به دنبال آن دما ($p = ۰/۰۰۰۵$) و زمان (۰/۲۳۳) ($p = ۰/۰۰۰۱$) در مراحل بعدی بودند. برهمکنش قابل توجهی بین pH و دمای استخراج به دست آمد ($p = ۰/۰۰۴۵$) (جدول ۳).

جدول ۳: تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) برای طرح CCD بازده استخراج آلژینات سدیم و میزان اسیدیورونیک

Table 3: Analysis of variance (ANOVA) for CCD model of sodium alginate extraction yield and uronic acid content						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model of yield	1123.64	9	124.85	77.75	< 0.0001	significant
A-Temperature	43.77	1	43.77	27.26	0.0005	
B-Time	11.96	1	11.96	7.45	0.0233	
C-pH	865.92	1	865.92	539.28	< 0.0001	
AB	1.34	1	1.34	0.8375	0.3840	
AC	22.65	1	22.65	14.10	0.0045	
BC	5.11	1	5.11	3.18	0.1080	
A ²	3.67	1	3.67	2.29	0.1646	
B ²	0.0084	1	0.0084	0.0052	0.9440	
C ²	119.29	1	119.29	74.29	< 0.0001	
Residual	14.45	9	1.61			
Lack of Fit	7.20	5	1.44	0.7952	0.6046	not significant
Pure Error	7.25	4	1.81			
Cor Total	1138.09	18				
Model of uronic content	934.89	9	103.88	36.12	< 0.0001	significant
A-Temperature	7.49	1	7.49	2.60	0.1410	
B-Time	0.1626	1	0.1626	0.0565	0.8174	
C-pH	802.80	1	802.80	279.16	< 0.0001	
AB	12.44	1	12.44	4.33	0.0673	
AC	26.51	1	26.51	9.22	0.0141	
BC	1.36	1	1.36	0.4745	0.5083	
A ²	57.68	1	57.68	20.06	0.0015	
B ²	3.91	1	3.91	1.36	0.2738	
C ²	50.35	1	50.35	17.51	0.0024	
Residual	25.88	9	2.88			
Lack of Fit	4.35	5	0.8703	0.1617	0.9643	not significant
Pure Error	21.53	4	5.38			
Cor Total	960.77	18				

در مورد میزان اسیدیورونیک، pH ($p = ۰/۰۰۰۱$) و حتی زمانی که با متغیرهای دما ($p = ۰/۰۱۴۱$) و زمان ($p = ۰/۰۶۷۳$) ترکیب شد، اثر خطی قابل توجهی بر

میزان اسیدیورونیک داشت. با توجه به جدول ۴، pH دارای بیشترین تاثیر بر میزان اسیدیورونیک و بازده آلژینات سدیم بود.

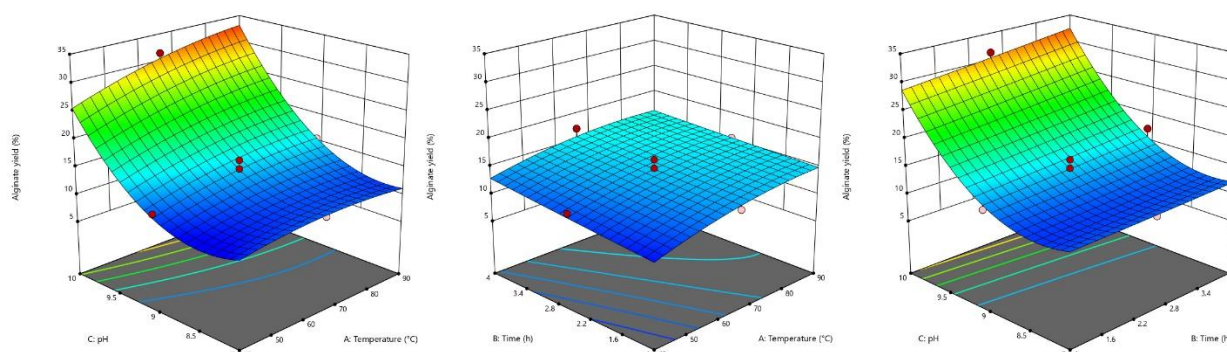
جدول ۴: مدل درجه دوم برای پاسخ‌های بازده آلژینات سدیم و میزان اسیدیورونیک

Table 4. Quadratic model for the responses of Alginate yield and Uronic acid content											
Y	Intercept	A	B	C	A ²	B ²	C ²	A×B	A×C	B×C	R ²
Alginate yield (%)	14.60	2.09*	1.09*	9.31*	-1.16	0.05	6.61*	-0.41	1.68*	0.79	0.98
Uronic acid (%)	14.00	-0.86	0.12	8.96*	-4.59*	1.20	4.29*	-1.25	-1.82*	-0.41	0.97

*Significant (p<0.05); A: Temperature; B: Time; C: pH.

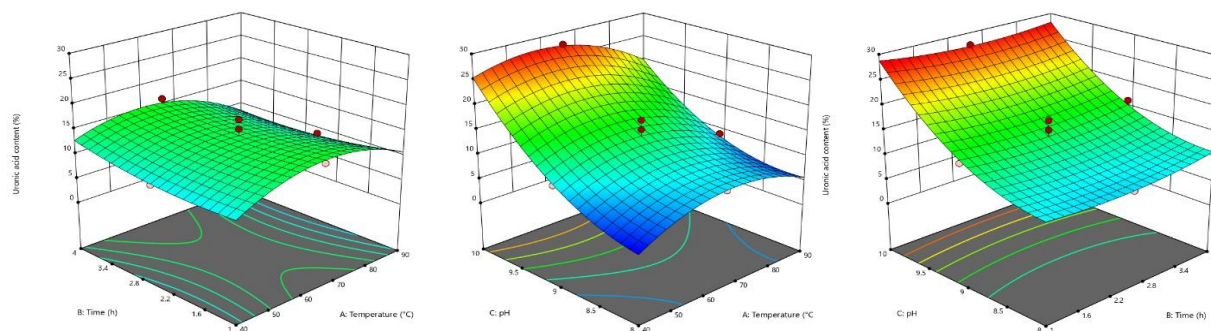
دما و زمان استخراج آلژینات سدیم افزایش یافت. با افزایش pH میزان اسیدیورونیک افزایش یافته، اما با افزایش دما میزان اسیدیورونیک کاهش یافت.

نمودارهای سه‌بعدی سطح پاسخ، برای پاسخ‌های بازده آلژینات و میزان اسیدیورونیک بر اساس معادله چند جمله‌ای درجه دوم را نشان می‌دهد (شکل‌های ۲ و ۳). بر اساس نتایج، بازده آلژینات سدیم با افزایش pH با حداقل مشارکت



شکل ۲: اثر همزمان دما، زمان و pH بر بازده آلژینات سدیم استخراجی از جلبک *S. angustifolium*

Figure 2: The simultaneous effect of temperature, time and pH on the yield of sodium alginate extracted from *S. angustifolium* algae

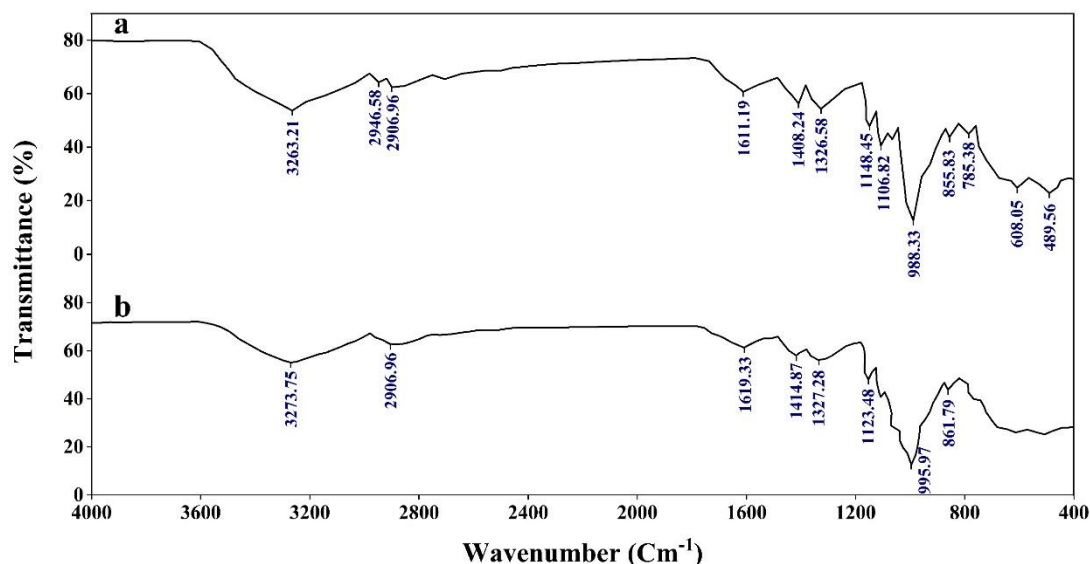


شکل ۳: اثر همزمان دما، زمان و pH بر درصد اسیدیورونیک جلبک *S. angustifolium*

Figure 3: The simultaneous effect of temperature, time and pH on the percentage of uronic acid in the *S. angustifolium*

گروه C-H است. باند ایجادشده در محدوده 1600 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات نامتقارن و متقارن گروه $\text{O}=\text{C}=\text{O}$ است که می‌تواند مربوط به وجود اسیدیورونیک باشد (Mohammad *et al.*, 2018). باندهای ایجادشده در محدوده 1106 cm^{-1} و 1123 cm^{-1} می‌تواند متعلق به خمش OH، کشش C-C پیرانوز متعلق به اسیدگلوکورونیک باشد.

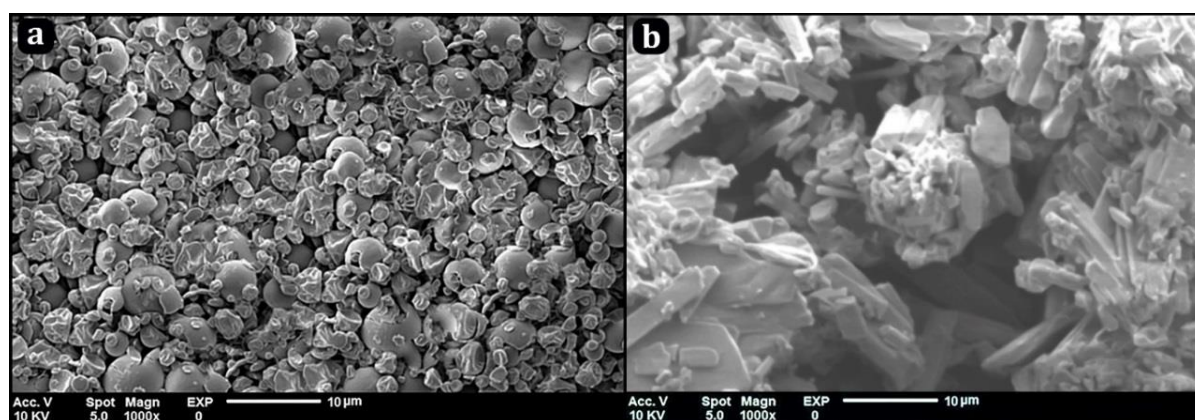
شناسایی گروه‌های عاملی آلژینات سدیم استخراجی و مقایسه آن با آلژینات تجاری بر اساس طیف FTIR در شکل ۴-a و ۴-b نشان داده شده است. باندهای قوی ایجاد شده در 1600 cm^{-1} و 1276 cm^{-1} به ترتیب مربوط به گروه‌های هیدروکسیل O-H طیف آلژینات سدیم تجاری و استخراجی است (Yang *et al.*, 2025). باند 2906 cm^{-1} در هر دو طیف مربوط به



شکل ۴: طیف FTIR آلژینات سدیم تجاری (a) و آلژینات سدیم استخراجی (b)
Figure 4: FTIR spectra of commercial sodium alginate (a) and extracted sodium alginate (b)

استخراجی نشان داده شده است. ریخت‌شناسی سطح جلبک به‌وضوح فیبرهای آلژینات سدیم را در شکل ۵ (a) نشان نمی‌دهد در حالی که در شکل ۵ (b) مورفولوژی سطح الیاف آلژینات سدیم استخراجی را می‌توان به‌وضوح مشاهده کرد. ذرات کوچک آلژینات سدیم دارای سطحی ناهموار به صورت شبه‌کروی بودند.

باند 995 cm^{-1} می‌تواند مرتبط با ارتعاش کششی $\text{C}=\text{O}$ اسیدیورونیک باشد که مربوط به ارتعاش حلقه نامتقارن α -L-گلوکورونیک است. باند ظاهر شده در محدوده 855 cm^{-1} می‌تواند به β -D-اسیدمانورونیک مرتبط باشد (Mohammad *et al.*, 2020). در شکل ۴ ریخت‌شناسی سطح جلبک قهوه‌ای و آلژینات سدیم



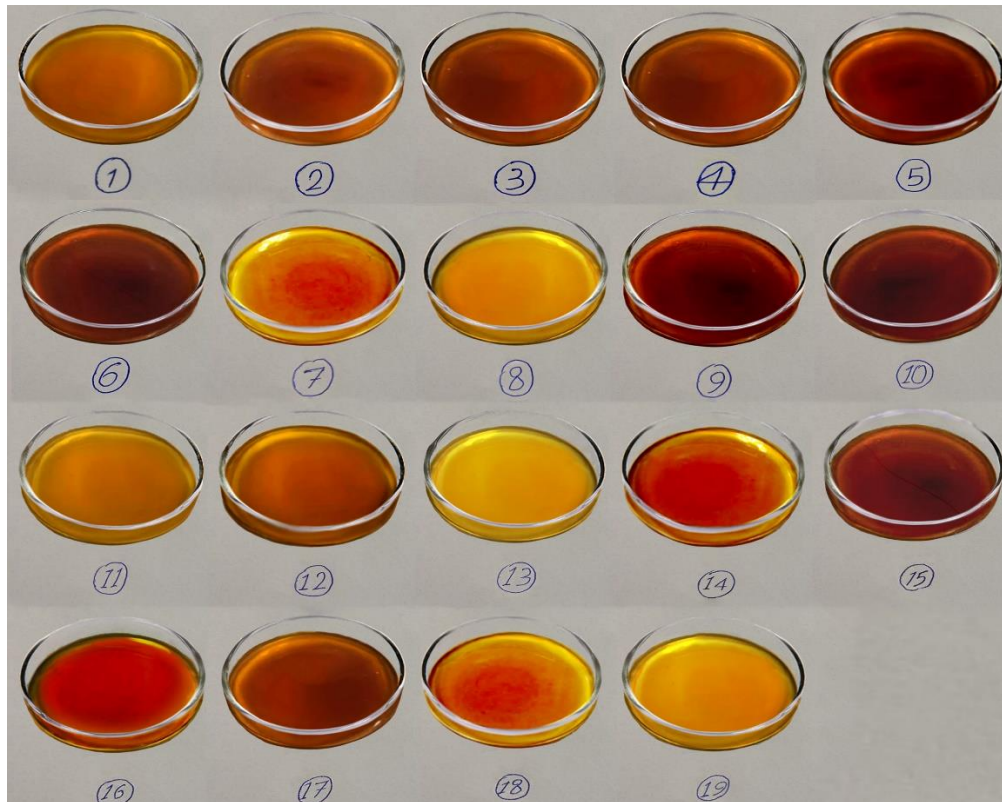
شکل ۵: تصویر SEM سطح جلبک *S. angustifolium* (a) و آلژینات سدیم استخراجی (b)
Figure 5: SEM image of the surface of *S. angustifolium* algae (a) and extracted sodium alginate (b)

و pH نشان داده شده است. در بین متغیرهای مورد مطالعه، pH دارای بیشترین تأثیر بود و افزایش مقادیر pH منجر به

در شکل ۶ تجزیه و تحلیل رنگ آلژینات سدیم استخراجی به‌واسطه طرح مرکب مرکزی با متغیرهای مستقل دما، زمان

بالاتر، استخراج قلیایی در مقادیر pH بالاتر، رنگ روشن‌تری به آلژینات داد.

محلول‌های آلژینات با رنگ روشن‌تر شد همان‌طوری که در نمونه‌های شماره ۷، ۸، ۱۳، ۱۸ و ۱۹ نشان داده شده است که در pH=۱۰ به‌دست آمده‌اند. بنابراین، علاوه بر بازده



شکل ۶: رنگ آلژینات سدیم استخراجی تحت تاثیر شاخص‌های متفاوت استخراج دما، زمان و pH

Figure 6: Color of extracted sodium alginate affected by different extraction parameters temperature, time, and pH

این جلبک و سایر گونه‌ها از سوی سایر محققان قابل مقایسه است: *Sargassum natans* ۲۳ درصد، *Sargassum* ۱۶ درصد، *Padina gymnospora* ۱۷ درصد، *Padina antillarum* ۲۲ درصد، *Laminaria digitata* ۲۹ درصد، *Macrocytis pyrifera* ۲۶ درصد (Rhein-)، *Sargassum vulgare* (Knudsen et al., 2017) ۴۰ درصد (Sari-Chmayssem et al., 2016)، *Sargassum natans* ۱۹ درصد (Mohammed et al., 2018)، *Sargassum cymosum* با ۵۱/۸۴ درصد (Nogueira et al., 2022) و *Dictyota mertensii* با ۲۸/۲۹ درصد (Queiroz et al., 2024). Kanagesan و همکاران (۲۰۲۲) از طریق استخراج قلیایی با ۳ درصد کربنات سدیم، بازده ۱۸/۵۵ درصد آلژینات را از جلبک *Sargassum* sp. ۴۹

بحث

بهینه‌سازی شرایط فرایند برای رسیدن به حداکثر بازده و مقدار اسیدیورونیک را می‌توان با تجزیه و تحلیل چندپاسخ با استفاده از تابع مطلوبیت به‌دست آورد. در شرایط آزمایشی مورد مطالعه، بازده استخراج پیش‌بینی شده آلژینات سدیم به ترتیب ۳۳/۵۴ درصد و با مقدار مطلوب ۰/۹۵۶ بود. مقدار مطلوبیت بالا ($0 \leq d \leq 1$) حاکی از دقت بهتر متغیرهای مستقل در بهینه‌سازی است. هر دو پاسخ به صورت تجربی تحت شاخص‌های بهینه تایید شدند که نشان می‌دهد، مدل برای پیش‌بینی این پاسخ‌ها کافی است. میزان استخراج آلژینات سدیم از جلبک *S. angustifolium* تحت شاخص‌های مطالعه حاضر، در محدوده آلژینات استخراجی از

به‌دست آوردند. تغییرات در بازده استخراج آلژینات در میان مطالعات مختلف، از جمله مطالعه حاضر، ممکن است به دلیل تفاوت در گونه‌های سارگاسوم، شرایط رشد یا شرایط استخراج باشد (Khan et al., 2024). بازده آلژینات استخراجی در بین جلبک‌های دریایی قهوه‌ای مورد بررسی متفاوت است، زیرا این جلبک‌ها دارای فرایندهای فیزیولوژیک و متابولیک مختلفی هستند که به آنها اجازه می‌دهد، متابولیت‌های زیست‌فعال تولید کنند. غلظت مواد مغذی در محیط به طور مستقیم بر میزان تولید پلی‌ساکارید از نظر متابولیت‌های مختلف تأثیر می‌گذارد. تولید پلی‌ساکاریدها تحت تأثیر چندین عامل مانند گونه، سن، زمان نمونه‌برداری و روش استخراج، متفاوت است (El-Sheekh et al., 2024).

اثر دما

نقطه بحرانی در استخراج قلیایی، دمای مورد استفاده در طول عملیات است که معمولاً در محدوده ۱۰۰-۲۰۰ درجه سانتی‌گراد متغیر است. افزایش دمای استخراج می‌تواند منجر به آزادسازی بیشتر آلژینات از جلبک قهوه‌ای شود که در بازده بالاتر منعکس می‌شود. با این حال، افزایش دما می‌تواند تخریب زنجیره‌های پلیمری آلژینات را افزایش داده و در نتیجه ویسکوزیته محلول آلژینات مربوطه را کاهش دهد (Bojorges et al., 2023). در مطالعه حاضر، دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد بهترین بازده استخراج آلژینات را به همراه داشت. Chee و همکاران (۲۰۱۱) بازده استخراج آلژینات از *Sargassum siliquosum* را در شرایط ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت ۴۹/۹ درصد به‌دست آوردند. Fertah و همکاران (۲۰۱۷) سه دمای مختلف (۲۵، ۴۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد) برای استخراج آلژینات از *Laminaria digitata* را مقایسه کردند و بالاترین بازده استخراج در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به میزان ۵۱/۸ درصد را گزارش کردند. Torres و همکاران (۲۰۰۷) حداکثر بازده آلژینات را ۱۷/۷ درصد در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد از *Sargassum vulgare* گزارش کردند. نتایج مشابهی از Caballero و همکاران (۲۰۲۱) گزارش شده است که بازده آلژینات بالاتر (۲۱ درصد) برای *Durvillaea antarctic* در

دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به دماهای بالاتر (۱۱ درصد آلژینات در ۸۰ درجه سانتی‌گراد) به‌دست آوردند که با مطالعات قبلی هم‌خوانی داشت. در مقابل، Mohammad و همکاران (۲۰۲۰) بازده استخراج بالاتری را از گونه‌های *Sargassum* گزارش کردند (۲۰/۸ درصد در ۸۰ درجه سانتی‌گراد). این نتایج با نتایج گزارش شده از Mazumder و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت دارد که مشاهده کردند که عملکرد به طور قابل توجهی در بالای ۷۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت (همخوانی با مطالعه حاضر) درحالی‌که حداکثر بازده آلژینات از *Sargassum muticum* بین ۹۲ و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۱۲/۶ و ۱۳/۵ درصد به‌دست آمد که کمتر از نتیجه مطالعه حاضر بود. با این حال، گزارش شده است که دمای بالاتر از ۶۰ درجه سانتی‌گراد می‌تواند تجزیه آلژینات را تحریک کند و وزن مولکولی آن را کاهش دهد (Abraham et al., 2019). دمای بهینه برای دستیابی به بازده استخراج بالاتر به گونه‌های جلبک قهوه‌ای و سایر متغیرها (زمان، قلیائیت، pH) و اثر متقابل آنها با یکدیگر بستگی دارد. علاوه بر این، دستیابی به راندمان استخراج بالا همیشه هدف مورد نظر نیست. اغلب، هدف به‌دست آوردن آلژینات با کیفیت بالاست. بنابراین، نسبت M/G، وزن مولکولی و ویسکوزیته، شاخص‌های حیاتی برای کاربرد آلژینات هستند. در نتیجه، بهینه‌سازی دما در طول فرایند استخراج باید همراه با بهینه‌سازی سایر متغیرها انجام شود (Bojorges et al., 2023).

اثر زمان

زمان استخراج یک شاخص مهم است که به طور قابل توجهی بر عملکرد آلژینات و خواص فیزیکوشیمیایی آن تأثیر می‌گذارد. به طور کلی، فرایند استخراج به چندین ساعت نیاز دارد که در محدوده ۱۲-۲ ساعت متغیر است. با این حال، تحقیقات نشان داده‌اند که برای استخراج آلژینات از *Macrocystis pyrifera* زمان استخراج بهینه ۳/۵ ساعت بود و پس از آن زمان، بازده استخراج کاهش یافت (Gomez et al., 2009). Mazumder و همکاران (۲۰۱۶) نتایج مشابهی را گزارش کردند که ارتباط مستقیمی بین زمان استخراج و بازده استخراج یافتند جایی‌که حداکثر بازده

از آن جایی که تنظیم pH در استخراج آلژینات می‌تواند پیچیده باشد، Mazumder و همکاران (۲۰۱۶) اثر غلظت Na_2CO_3 را بر بازده استخراج آلژینات از *Sargassum muticum* تجزیه و تحلیل کردند. آنها به این نتیجه رسیدند که غلظت قلیایی بهینه برای به دست آوردن عملکرد بالاتر از ۳ درصد است. بالاتر از این غلظت، عملکرد به طور قابل توجهی کاهش یافت که در مطالعه حاضر نیز از ۳ درصد کربنات سدیم استفاده شد. سایر مطالعات نیز این موضوع را ثابت کردند (Hernandez-Carmona et al., 2002; Mazumder et al., 2016). Mohammed و همکاران (۲۰۱۸) استفاده از غلظت بالاتر ۱۰-۵ درصد کربنات سدیم را برای استخراج آلژینات از *Sargassum natans* بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که در غلظت ۵ درصد به بالا، بازده استخراج کمی افزایش یافته، ولی بازده آلژینات به طور معنی داری کاهش یافت. کربنات سدیم طی استخراج قلیایی با پیوندهای β -گلیکوزیدی واکنش می‌دهد و باعث تخریب آلژینات و تشکیل اسیدهای مونوکربوکسیلیک و دی‌کربوکسیلیک می‌شود. کربنات سدیم باعث جایگزینی سدیم در گروه‌های کربوکسیلیک اسید آلژینیک شده و نمک آلژینات سدیم حاصل می‌شود. افزایش غلظت کربنات سدیم سبب جایگزین شدن بیشتر یون کلسیم می‌شود و راندمان استخراج آلژینات افزایش می‌یابد. این افزایش تا جایگزین شدن کامل گروه‌های کربوکسیلیک با یون سدیم ادامه می‌یابد و سپس دپلمریزه شدن آلژینات، موجب کاهش راندمان می‌شود. پس تاثیر زمان در این مرحله اهمیت دارد، زیرا برای نفوذ کربنات سدیم و تبدیل اسید آلژینیک به آلژینات سدیم به زمان نیاز است. نشان داده شد که زمان بالاتر از ۳ ساعت بالاترین بازده استخراج آلژینات را به دست می‌آورد (مطابق با نتایج مطالعه حاضر). ولی بعد از آن به دلیل اثر سوء pH قلیایی کربنات سدیم و دپلمریزاسیون آلژینات، راندمان کاهش می‌یابد (Kanagesan et al., 2022). بنابراین، توصیه می‌شود pH تا حدود ۱۰ کنترل شود که در مطالعه حاضر نیز همین مقدار بیشترین بازده آلژینات و اسیدیورونیک را به همراه داشت. این موضوع در مطالعه Tiemi و همکاران (۲۰۲۲) نیز تایید شد که استفاده از ۲ درصد کربنات سدیم برای تنظیم pH=۱۰ را گزارش

استخراج آلژینات از *Sargassum muticum* پس از ۳ ساعت استخراج به دست آمد که با نتیجه مطالعه حاضر همخوانی داشت. Mohammed و همکاران (۲۰۲۰) رابطه قوی بین متغیرهای دما و زمان را گزارش کردند جایی که زمان استخراج بهینه ۶ ساعت برای دستیابی به بازده بالای آلژینات از *Sargassum* نیاز بود. اثر زمان استخراج نه تنها بر عملکرد بلکه بر خواص رئولوژیک آلژینات نیز تأثیر می‌گذارد. Vauchel و همکاران (۲۰۰۸) کاهش قابل توجهی در ویسکوزیته دینامیک آلژینات پس از ۲ ساعت استخراج مشاهده کردند و نتیجه گرفتند که زمان استخراج طولانی می‌تواند منجر به پلیمریزاسیون آلژینات و کاهش ویسکوزیته شود. Truus و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که زمان استخراج طولانی و دماهای بالا باعث پلیمریزاسیون زنجیره پلیمری آلژینات می‌شود و آلژینات‌هایی با ویسکوزیته کمتر تولید می‌کند. به طور متناقض، Torres و همکاران (۲۰۰۷) آلژینات را از گونه‌های *Sargassum* استخراج کردند. در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، آلژینات‌های استخراجی با زمان استخراج کوتاه‌تر (۱ ساعت) را به عنوان "ویسکوزیته کم" شناسایی کردند در حالی که آلژینات‌ها به مدت ۵ ساعت به عنوان "ویسکوزیته بالا" استخراج می‌شوند. افزایش زمان استخراج منجر به انحلال ماکرومولکول‌هایی با وزن مولکولی بالا در محلول استخراج قلیایی می‌شود. علاوه بر این، مقادیر نسبت M/G بالاتر بود (به ترتیب ۱/۶ و ۱/۳) در مقایسه با اکثر موارد گزارش شده برای گونه‌های *Sargassum* که در محدوده ۰/۸-۰/۲ است (Łabowska et al., 2019). این نتیجه، مطابق با گزارش Fawzy و همکاران (۲۰۱۷) بود که نشان داد، افزایش زمان استخراج منجر به افزایش قابل توجهی در MM و کاهش GG شد که در نتیجه نسبت M/G بالاتری ایجاد می‌شود.

اثر pH

آلژینات با محلول‌های قلیایی، معمولاً با Na_2CO_3 به دلیل هزینه کم و توانایی آن برای رسیدن به pH بالای ۱۰ استخراج می‌شود (Łabowska et al., 2019). pH خنثی منجر به تبدیل اسید آلژینیک به آلژینات سدیم محلول در آب می‌شود که حالت ژل دارد (Fenoradosoa et al., 2010).

نسبت به نمونه تجاری آلژینات دیده شد. برای تجزیه و تحلیل پلی‌ساکاریدها، ناحیه آنومری بین 950 cm^{-1} و 700 cm^{-1} است. به طور کلی، آلژینات دو پیک در این ناحیه نشان می‌دهد، یکی حدود $995/97\text{ cm}^{-1}$ و دیگری به صورت یک پیک شانه‌ای کوچک حدود $861/79\text{ cm}^{-1}$ که به ترتیب مربوط به مانورونیک‌اسید و گلوکورونیک‌اسید است. این پیک‌ها در طیف آلژینات تجاری نیز شناسایی شدند، اما در مقایسه با آلژینات استخراجی، شدت آنها افزایش یافته است. علاوه بر این، پیک‌های شانه‌ای با شدت‌های کوچک در $608/05\text{ cm}^{-1}$ و پیک شانه‌ای در $489/56\text{ cm}^{-1}$ در طیف FTIR آلژینات تجاری یافت شد که به ترتیب به ارتعاش کششی C-O اسید اورونیک و ارتعاش تغییر شکل C1-H اسید مانورونیک نسبت داده می‌شوند (Nesic et al., 2023). تغییر شکل پیک از شانه پهن به پیک باریک و شدت پیک از ضعیف به قوی، نشان می‌دهد که این مسئله می‌تواند مربوط به گروه عاملی دیگری در آلژینات باشد. در مقالات یافت شده است که پیک‌های $880-870\text{ cm}^{-1}$ نمونه‌ای از ارتعاشات یون‌های کربنات هستند (Fleet, 2009; Database of ATR-FT-IR, 2022).

منابع

- Abraham, R.E., Su, P., Puri, M., Raston, C.L. and Zhang, W., 2019. Optimisation of biorefinery production of alginate, fucoidan and laminarin from brown seaweed *Durvillaea potatorum*. *Algal Research*, 38:101389. DOI:10.1016/j.algal.2018.101389
- Benslim, A., Sellimi, S., Hamdi, M., Nasri, R., Jridi, M., Cot, D., Li, S., Nasri, M. and Zouari, N., 2021. The brown seaweed *Cystoseira schiffneri* as a source of sodium alginate: chemical and structural characterization, and antioxidant activities. *Food Bioscience*, 40:100873, DOI:10.1016/j.fbio.2020.100873

کردند که برای به‌دست آوردن بازده بالا $45/8\%$ درصد آلژینات از *Sargassum cymosum* بهینه بود. با توجه به ناهمگونی جلبک‌های قهوه‌ای، اجماع در مورد بهترین محدوده pH نمی‌تواند برای همه گونه‌های جلبک قهوه‌ای اعمال شود. در مطالعه Youssouf و همکاران (۲۰۱۷) بازده آلژینات در $pH=12$ ، $33/54-4\%$ درصد بود که در مقایسه با $pH=10$ ، $0/3-6/3\%$ درصد از *Sargassum binderi* و *Turbinaria ornata* بود (Youssouf et al., 2017). Mohammed و همکاران (۲۰۲۰) با استفاده از کربنات سدیم $5/5\%$ درصد توانستند بازده $21/7\%$ درصد آلژینات را بدون تجزیه آن از گونه‌های *Sargassum* به‌دست آورند. آنها به این نتیجه رسیدند که در آن غلظت و با افزایش دما، محلول قلیایی به دیواره‌های سلولی جلبک نفوذ نمود و حلالیت و انتشار آلژینات را در محلول قلیائیت بهبود بخشید. علاوه بر این، سایر فعل‌وانفعالات بین زمان، نسبت قلیایی به جلبک و دما می‌تواند باعث ایجاد تغییراتی در M/G شود. به طور خاص، افزایش محتوای MM بلوک‌های هموپلیمری و کاهش محتوای GG برای زمان‌های استخراج طولانی و نسبت قلیایی به جلبک بالا در مقایسه با بلوک‌های MG که دارای نوسانات متناوب اندکی هستند، گزارش شد. به عبارت دیگر، بلوک‌های G هموپلیمری به دلیل شکستن پیوندهای گلیکوزیدی مرتبط با اسیدگولورونیک، نسبت به بلوک‌های هتروپلیمری به شرایط استخراج حساس‌تر هستند (Fawzy et al., 2017).

طیف‌سنجی FTIR

نتایج به‌دست آمده از داده‌های FTIR آلژینات سدیم در مطالعه حاضر، با پیک‌های مربوط به ارتعاش کششی نامتقارن $1610-1600\text{ cm}^{-1}$ بر سانتی‌متر) و متقارن $1410-1400\text{ cm}^{-1}$ (گروه کربوکسیلات آلژینات سدیم O-C-O در طیف آلژینات‌های استخراجی از مطالعات مطابقت داشت (Sagukawa et al., 2004; Gomwz et al., 2009; Yang et al., 2013). در استخراج قلیایی آلژینات امکان انحلال اسید آلژینیک به شکل گروه‌های کربوکسیله فراهم می‌شود. علاوه بر این، پیک‌های موجود در ناحیه $1100-1000\text{ cm}^{-1}$ مربوط به ارتعاشات کششی C-C، C-O و C-O-C حلقه پیرانوز، به صورت قوی‌تر در نمونه استخراجی

- Beratto, A., Agurto, C., Freer, J., Peña-Farfal, C., Troncoso, N., Agurto, A. and Castillo, R.D.P., 2017.** Chemical characterization and determination of the anti-oxidant capacity of two brown algae with respect to sampling season and morphological structures using infrared spectroscopy and multivariate analyses. *Applied Spectroscopy*, 71:2263–227. DOI:10.1177/0003702817715654.
- Bitter, T. and Muir, H.M., 1962.** A modified uronic acid carbazole reaction. *Analytical Biochemistry*, 4 330–334. DOI:10.1016/0003-2697(62)90095-7.
- Bojorges, H., Lopez-Rubio, A., Martínez-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
- Caballero, E., Flores, A. and Olivares, A., 2021.** Sustainable exploitation of macroalgae species from Chilean coast: Characterization and food applications. *Algal Research*, 57:102349. DOI:10.1016/J.ALGAL.2021.102349
- Chee, S.Y., Wong, P.K. and Wong, C.L., 2011.** Extraction and characterisation of alginate from brown seaweeds (Fucales, Phaeophyceae) collected from Port Dickson, Peninsular Malaysia. *Applied Phycology*, 23(2):191–196. DOI:10.1007/s10811-010-9533-7
- Database of ATR-FT-IR Spectra of Various Materials, 2022.** Available online: <https://spectra.chem.ut.ee/> (accessed on 22 July 2022)
- El-Sheekh, M., Fathy, A., Saber, H. and Saber, A., 2023.** Medicinal and pharmaceutical applications of seaweeds. *Egyptian Journal of Botany*, 63 (1):1–29. DOI:10.21608/ejbo.2022.145631.2022.
- El-Sheekh, M., Kassem, W.M.A., Alwaleed, E.A. and Saber, H., 2024.** Optimization and characterization of brown seaweed alginate for antioxidant, anticancer, antimicrobial, and antiviral properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 278:134715. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2024.134715
- Faidi, A., Becheikh, M.E.H., Lassoued, M.L., Stumbé, J.F., Safta, F. and Sfar, S., 2025.** Isolation of sodium alginate-like polysaccharide from *Padina pavonica*: Optimization, characterization and antioxidant properties. *Journal of Molecular Structure*, 139737. DOI:10.1016/j.molstruc.2024.139737
- Fawzy, M.A., Gomaa, M., Hifney, A.F. and Abdel-Gawad, K.M., 2017.** Optimization of alginate alkaline extraction technology from *Sargassum latifolium* and its potential antioxidant and emulsifying properties. *Carbohydrate Polymers*, 157: 1903-1912. DOI:10.1016/j.carbpol.2016.11.077
- Fenoradosa, T.A., Ali, G., Delattre, C., Laroche, C., Petit, E., Wadouachi, A. and Michaud, P., 2010.** Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed *Sargassum turbinarioides* Grunow. *Applied Phycology*, 22(2):131–137. DOI:10.1007/S10811-009-9432-Y/FIGURES/4
- Fertah, M., Belfkira, A., Taourirte, M. and Brouillette, F., 2017.** Extraction and characterization of sodium alginate from

- Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed. *Arabian Journal of Chemistry*, 10:S3707–S3714. DOI:10.1016/j.arabjc.2014.05.003
- Fleet, M.E., 2009.** Infrared spectra of carbonate apatites: v2-Region bands. *Biomaterials*, 30:1473–1481.
- Gomez, C.G., P´erez Lambrecht, M.V., Lozano, J.E., Rinaudo, M. and Villar, M.A., 2009.** Influence of the extraction–purification conditions on final properties of alginates obtained from brown algae (*Macrocystis pyrifera*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 44(4):365–371. <http://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2009.02.005>
- Guiry, M.D., Guiry, M.D. and Guiry, G.M., 2021.** AlgaeBase, World-Wide Electronic Publication, National University of Ireland, Galway. https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=11385 (accessed August 27, 2023).
- Hernandez-Carmona, G., McHugh, D.J., Arvizu-Higuera, D.L. and RodríguezMontesinos, Y.E., 2002.** Pilot plant scale extraction of alginates from *Macrocystis pyrifera* 4. Conversion of alginic acid to sodium alginate, drying and milling. *Applied Phycology*, 14(6):445–451. <http://doi.org/10.1023/A:1022372807813>
- Kanagesan, K., Abdulla, R., Derman, E., Sabullah, M.K., Govindan, N. and Gansau, J.A., 2022.** A sustainable approach to green algal bioplastics production from brown seaweeds of Sabah, Malaysia. *Journal of King Saud University-Science*, 34:102268. DOI:10.1016/j.jksus.2022.102268.
- Khan, M.A.A., Hasan, M.M., Hossain, M.K., Adhikery, D., Hakim, M. Mohanta, L.C., Sharif, A.S.M., Ashish, A.S.M. and Sarker, A.K., 2024.** Extraction and characteristic properties analyses of sodium alginate derived from the *Sargassum oligocystum* brown seaweed alga of the Bay of Bengal. *Next Materials*, 6:100417. DOI:10.1016/j.nxmte.2024.100417
- Kolahdoozan, M., Mousavi, S.E., Hatamipour, M.S. and Yegdaneh, A., 2024.** Enhancing the antioxidant activity of alginic acid extracted from *Sargassum angustifolium* brown algae based on optimizing the extraction. *Advanced Biomedical Research*, 13:49. DOI:10.4103/abr.abr_491_23.
- Łabowska, M.B., Michalak, I. and Detyna, J., 2019.** Methods of extraction, physicochemical properties of alginates and their applications in biomedical field - a review. *Open Chemistry*, 17(1):738–762. DOI:10.1515/chem-2019-0077
- Liu, J., Yang, S., Li, X., Yan, Q., Reaney, M.J.T. and Jiang, Z., 2019.** Alginate oligosaccharides: production, biological activities, and potential applications. *Comprehensive Reviews Food Science and Food Safety*, 18:1859–1881. DOI:10.1111/1541-4337.12494
- Mazumder, A., Holdt, S.L., de Francisci, D., Alvarado-Morales, M., Mishra, H.N. and Angelidaki, I., 2016.** Extraction of alginate from *Sargassum muticum*: Process optimization and study of its functional activities. *Applied Phycology*, 28 (6):3625–3634. DOI:10.1007/s10811-016-0872-x
- Mohammed, A., Bissoon, R., Bajnath, E., Mohammed, K., Lee, T., Bissram, M., John,**

- N., Jalsa, N.K., Lee, K.Y. and Ward, K., 2018. Multistage extraction and purification of waste *Sargassum natans* to produce sodium alginate: An optimization approach. *Carbohydrate Polymers*, 198:109–118. DOI:10.1016/j.carbpol.2018.06.067.
- Mohammed, A., Rivers, A., Stuckey, D.C. and Ward, K., 2020. Alginate extraction from *Sargassum* seaweed in the Caribbean region: Optimization using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 245:116419. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.116419
- Mousavi, S.E., Hatamipour, M.S. and Yegdaneh, A., 2023. Ultrasound-assisted extraction of alginic acid from *Sargassum angustifolium* harvested from Persian Gulf shores using response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 226:660-669. DOI: DOI:10.1016/j.ijbiomac.2022.12.070
- Nam, H.B., Lee, K.H., Yoo, H.Y., Park, C., Lim, J.M. and Lee, J.H., 2024. Rapid and high-yield recovery of sodium alginate from *Undaria pinnatifida* via microwave-assisted extraction. *Processes*, 12:208. DOI:10.3390/pr12010208
- Nesic, A., De Bonis, M.V., Dal Poggetto, G., Ruocco, G. and Santagata, G., 2023. Microwave assisted extraction of raw alginate as a sustainable and cost-effective method to treat beach-accumulated *Sargassum* algae. *Polymers*, 15:2979. DOI:10.3390/polym15142979
- Nguyen, D.T., Vu, N.B., Nguyen, X.H. Dang, T.T.T., Do, T.K. Nguyen, K.N. Nguyen, T.T., Pham, N.B.H., Pham, T.T. and Dang, X.C., 2021. The content, antioxidant activity, and structural characteristics of sodium alginate extracting from *Sargassum polycystum* grew in Vietnam: effect of various extraction conditions. *Pharmaceutical Research International*, 33 (41A):197–206. DOI: 10.9734/jpri/2021/v33i41A32318
- Nogueiraa, M.T., Chicaa, L.R., Yamashitaa, C., Nunes, N.T.S., Moraes, I.S.F., Brancoa, C.C.Z. and Brancoa, I.G., 2022. Optimal conditions for alkaline treatment of alginate extraction from the brown seaweed *Sargassum cymosum* C. Agardh by response surface methodology. *Applied Food Research*, 2:100141. DOI:10.1016/j.afres.2022.100141
- Queiroz, L.P.O., Aroucha, E.M., Santos, F.K.G. and Leite, R.H.L., 2024. Optimization of alginate extraction conditions from the brown seaweed *Dictyota mertensii* using a central composite design. *Algal Research*, 79:103482. DOI:10.1016/j.algal.2024.103482
- Radulovich, R., Neori, A., Valderrama, D., Reddy, C.R.K., Cronin, H. and Forster, J., 2015. Farming of seaweeds. Seaweed sustainability; Chapter 3. Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2015, pp. 27–59.
- Rhein-Knudsen, N., Ale, M.T., Ajallouecian, F. and Meyer, A.S., 2017. Characterization of alginates from Ghanaian brown seaweeds: *Sargassum* spp. and *Padina* spp. *Food Hydrocoll*, 71:236–244. DOI:10.1016/j.foodhyd.2017.05.016.
- Sakugawa, K., Ikeda, A., Takemura, A. and Ono, H., 2004. Simplified method for estimation of composition of alginates by FTIR.

- Applied Polymer Science*, 93(3):1372–1377. DOI:10.1002/app.20589
- Sari-Chmaysem, N., Taha, S., Mawlawi, H., Guégan, J.P., Jeftić, J. and Benvegnu, T., 2016.** Extracted and depolymerized alginates from brown algae *Sargassum vulgare* of Lebanese origin: Chemical, rheological, and antioxidant properties. *Journal of Applied Phycology*, 28:1915–1929. DOI: 10.1007/s10811-015-0676-4
- Sugiura, Y., Misumi, S., Yamatani, H., Kusakawa, M., Katsuzaki, H., Hayashi, Y. and Murase, N., 2025.** Three antiallergic meroterpenoids derived from the brown alga *Sargassum macrocarpum*. *Applied Phycology*, 9: (39). 251-259 DOI:10.1007/s10811-025-03476-2
- Tiemi, N.M., Rustici, C.L., Yamashita, C., Sawada, N.N.S., Freitas, M.I.C., Zanini, B.C.C. and Guilherme, B.I., 2022.** Optimal conditions for alkaline treatment of alginate extraction from the brown seaweed *Sargassum cymosum* C. Agardh by response surface methodology. *Applied Food Research*, 2(2):100141. DOI:10.1016/J.AFRES.2022.100141
- Torres, M.R., Sousa, A.P.A., Silva Filho, E.A.T., Melo, D.F., Feitosa, J.P.A., de Paula, R.C.M. and Lima, M.G.S., 2007.** Extraction and physicochemical characterization of *Sargassum vulgare* alginate from Brazil. *Carbohydrate Research*, 342(14):2067–2074. DOI:10.1016/J.CARRES.2007.05.022
- Truus, K., Vaher, M. and Taure, I., 2001.** ALGAL biomass from fucus vesiculosus (phaeophyta): Investigation of the mineral and alginate components. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences Chemistry*, 50(2):95–103. DOI:10.3176/chem.2001.2.04
- Vauchel, P., Arhaliass, A., Legrand, J., Kaas, R. and Baron, R., 2008.** Decrease in dynamic viscosity and average molecular weight of alginate from *Laminaria digitata* during alkaline extraction. *Phycology*, 44:515-517. DOI:10.1111/j.1529-8817.2008.00482.x
- Yang, M., Deng, Q., Chen, R., Sun, Y., Zhou, X. and Chen, H., 2025.** Extraction, purification, structural characteristics, and biological activities of seaweed polysaccharides: A Review. *Starch*, 77, 2400029: 1-13. DOI:10.1002/star.202400029
- Yang, Y., Campanella, O.H., Hamaker, B.R. and Zhang, G.G.Z., 2013.** Rheological investigation of alginate chain interactions induced by concentrating calcium cations. *Food Hydrocolloid*, 30(1):26–32. DOI:10.1016/J.Foodhyd.2012.04.006
- Youssef, L., Lallemand, L., Giraud, P., Soul'e, F., Bhaw-Luximon, A., Meilhac, O., D'Hellencourt, C. L., Jhurry, D. and Couprie, J., 2017.** Ultrasound-assisted extraction and structural characterization by NMR of alginates and carrageenans from seaweeds. *Carbohydrate Polymers*, 166:55–63. DOI:10.1016/j. carbpol.2017.01.041