



## بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف *Ulva fasciata* Delile و *Sargassum vulgare* C.Agardh در فصل‌های زمستان و بهار

احسان نظیفی<sup>۱\*</sup>، فاطمه طریحی‌زاده<sup>۲</sup>، حسن تقوی جلودار<sup>۳</sup>، مهدی برنا<sup>۳</sup>

۱. گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲. گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۳. مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی بوشهر، ایران

### چکیده

جلبک‌های دریایی از منابع غنی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌شمار می‌روند. جمعیت‌های فراوانی از جنس *Ulva* و *Sargassum* در سواحل جنوبی ایران وجود دارد. در این پژوهش، جمعیت‌های جلبک سبز *Ulva fasciata* Delile و جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* C.Agardh از سواحل بوشهر در فصل‌های زمستان و بهار جمع‌آوری و محتوای فنل و فلاونوئید کل آنها ارزیابی شد. عصاره‌های مختلفی از این گونه‌ها تهیه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها با روش‌های DPPH و ABTS بررسی شد. نتایج نشان داد که *S. vulgare* در بهار بیشترین محتوای فنل و کمترین محتوای فلاونوئید بترتیب به میزان  $0.62 \pm 0.065$  و  $0.83 \pm 0.1088$  در زمستان بیشترین محتوای فلاونوئید و کمترین محتوای فنل بترتیب به میزان  $1.65 \pm 0.21$  و  $0.28 \pm 0.104$  میلی‌گرم بر گرم جلبک را داشت. در همه عصاره‌ها، *S. vulgare* فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به *U. fasciata* نشان داد. هر دو گونه اغلب تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنتی‌اکسیدانی در زمستان و بهار نداشتند. عصاره‌های اتانولی و متانولی ۸۰ درصد و آب جوش خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری بترتیب نسبت به عصاره‌های اتانولی و متانولی خالص و آب مقطر نشان دادند. اغلب بیشترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بترتیب در عصاره‌های اسیدی و اتانولی مشاهده شد. نتایج حاصل کمک شایانی در انتخاب و کاربرد جلبک‌ها در صنایع غذایی و دارویی خواهد نمود.

### نوع مقاله

### پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۲۲

تاریخ چاپ الکترونیک: ۱۴۰۲/۰۲/۲۶

\*نویسنده مسئول:

[e.nazifi@umz.ac.ir](mailto:e.nazifi@umz.ac.ir)

کلید واژه‌ها: اسپکتروفتومتری، آنتی‌اکسیدان، سواحل بوشهر، جلبک سبز، جلبک قهوه‌ای

### مقدمه

جلبک‌های دریایی یکی از منابع غنی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌شمار می‌روند و این پتانسیل را برای کاربرد آنها در محصولات غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی به‌وجود می‌آورد (Ahadifar et al., 2021). خاصیت آنتی‌اکسیدانی در جلبک‌ها به‌خاطر وجود توکروفرول‌ها (Miyashita and Takagi, 1987)، کاروتنوئیدها (Hosokawa et al., 2009) و پلی‌فنل‌ها (Parys et al., 2007) است. از آنجایی که ماکروجلبک‌ها همیشه در معرض نوسان عوامل محیطی از جمله شوری، دما و تابش اشعه فرابنفش قرار دارند که ممکن است منجر به استرس اکسیداتیو شود، می‌توانند در تولید مکانیسم‌های مختلف دفاعی آنتی-اکسیدانی نقش به‌سزایی داشته باشند (Martins et al., 2013).

عوامل متعددی بر ترکیبات شیمیایی جلبک‌ها موثر است. گونه‌های مختلف، مراحل رشد و نمو، موقعیت جغرافیایی، شرایط محیطی و غیره باعث اختلاف در ترکیبات شیمیایی آنها می‌شود (Peña-Rodríguez et al., 2011). دمای آب، شوری و اسیدیته از پارامترهای فیزیکی شیمیایی آب هستند که بر رشد جلبک موثر می‌باشند. از آنجا که دما روی پارامترهای فیزیکی-

شیمیایی آب تاثیرگذار است، بنابراین تغییرات این پارامترها تابعی از نوسانات دما می‌باشد. دما یکی از اساسی‌ترین عوامل محیطی به‌شمار آمده و در همه مطالعات اکولوژیکی باید در نظر گرفته شود. در فصل بهار شرایط دمایی و به به دنبال آن شوری و pH در حد نرمال هستند و این امر باعث افزایش فراوانی جلبک‌ها می‌شود. درحالی که کاهش زیاد دما در فصل پاییز و زمستان منجر به کاهش تراکم جلبک‌ها خواهد شد (Savari et al., 2010).

در تنش‌های مختلف محیطی مانند نور زیاد، فلزات سنگین، غلظت زیاد نمک و اشعه ماوراءبنفش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید می‌شود (Wu et al., 2010; Alscher et al., 1997). که می‌تواند به لیپیدهای غشایی، پروتئین‌ها و مولکول‌های اسید دئوکسی ریبونوکلیک آسیب برساند و باعث آسیب بافتی در موجودات شود. اصطلاح آنتی‌اکسیدان به هر ترکیبی که بتواند واکنش ROS را مهار کند، گفته می‌شود. جلبک‌ها از دو استراتژی دفاعی برای مقابله با ROS قبل از آسیب رساندن به اجزای مختلف سلولی استفاده می‌کنند. اولین سیستم شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دومین سیستم آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی است. آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی شامل فنل‌ها، فلاونوئید، کاروتنوئیدها، آسکوربات، گلوکاتایون و توکوفرول‌ها می‌باشند (Jahan et al., 2017; Pikula et al., 2019; Xia et al., 2008).

در سال‌های اخیر جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های مختلف زیستی، روش‌های متفاوتی به کار رفته که از جمله می‌توان به فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH (۲، ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) و ABTS (۲، ۲'-آزینو-بیس-۳-اتیل بنزوتیازولین-۶-سولفونیک اسید) اشاره کرد (Zubia et al., 2020). میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره، به نوع حلال، زمان و دمای عصاره‌گیری و ماهیت شیمیایی نمونه وابسته است. همچنین تاکید شده است که روش عصاره‌گیری نیز در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و احیا کنندگی موثر است (Sun and Ho, 2005). رادیکال آزاد DPPH، یک ترکیب رادیکالی پایدار با رنگ بنفش می‌باشد که در اثر احیاء شدن با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی زرد رنگ می‌شود. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات موجود در عصاره‌های مختلف با اندازه‌گیری میزان کاهش جذب نوری محلول حاوی DPPH در طول موج ۵۱۷ نانومتر مورد سنجش قرار می‌گیرد (Akowuah et al., 2005). با اکسیداسیون اتم نیتروژن ABTS توسط پرسولفات پتاسیم، رادیکال کاتیونی ABTS با رنگ سبز متمایل به آبی تشکیل می‌شود. در اثر احیاء شدن این رادیکال کاتیونی توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، رنگ‌زدایی صورت می‌گیرد. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات موجود در عصاره‌های مختلف با اندازه‌گیری میزان کاهش جذب نوری محلول حاوی رادیکال کاتیونی ABTS در طول موج ۷۳۴ نانومتر مورد سنجش قرار می‌گیرد (Garcia et al., 2012).

جلبک‌های سبز دریایی منبع بالقوه پروتئین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه ضروری هستند و همچنین اغلب، ترکیبات ضدباکتریایی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند از این‌رو منابعی از مواد مغذی موثر و کاربردی هستند. جنس *Ulva* جزو فراوان‌ترین جلبک‌های سبز در سواحل دریاها است و در نواحی جزر و مدی و مناطق کم‌عمق به فراوانی یافت می‌شود (Uribe et al., 2019). گونه *Ulva fasciata* Delile یکی از رایج‌ترین گونه‌های جنس *Ulva* بوده و تقریباً در هر فصلی وجود دارد. به آن کاهوی دریایی نیز می‌گویند که در بعضی کشورها برای مصرف خوراکی به عنوان مثال در سوپ و سالاد استفاده می‌شود (Lim et al., 2019; Daneshvar et al., 2017). این ماکروجلبک از جمله جلبک‌های فصلی می‌باشد که بیشترین تراکم را در فصل‌های زمستان و اوایل بهار دارد (Hillary, 2011). جلبک *U. fasciata* گونه بسیار سازگاری است که می‌تواند متابولیسم خود را به راحتی با شرایط محیطی تطبیق دهد (McCauley et al., 2016). مطالعات انجام شده در مورد عملکردهای زیستی متابولیت‌های جدا شده از گونه *U. fasciata* اثرات درمانی از جمله آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضد میکروبی، ضد ویروسی و ضدسرطانی را نشان داده است (Yu-Qing et al., 2016).

جلبک‌های جنس *Sargassum* به عنوان متنوع‌ترین جنس از جلبک‌های قهوه‌ای در سواحل جنوبی ایران محسوب می‌شود. از جمله گونه‌های این جنس در ایران می‌توان به *Sargassum vulgare* C. Agardh اشاره کرد (Kokabi and Yousefzadi, 2015). این ماکروجلبک عمدتاً در سواحل گرمسیری و نیمه گرمسیری از محدوده بالا جزر و مدی تا زیر جزر و مدی زیست می‌کند. روی آب‌سنگ‌های مرجانی، صخره‌ها و سنگ‌ها رویش می‌کند. از این جلبک به عنوان غذا برای تهیه سس‌ها، چاشنی‌ها،

ادویه‌جات، طعم دهنده‌ها و بعنوان دارو برای بسیاری از بیماری‌ها و همچنین در باغداری به عنوان کود استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات شیمیایی موجود در این جلبک‌ها باعث بهبود سیستم ایمنی و وضعیت اکسیدان/ آنتی-اکسیدانی می‌شوند (Bita et al., 2015).

جمعیت‌های فراوانی از جلبک‌های جنس *Ulva* و *Sargassum* در سواحل جنوبی کشور وجود داشته که گزارش‌هایی مبنی بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها ارائه شده است (Ahadifar et al., 2021; Bita et al., 2015). با توجه به تغییرات شدت نور و دما در فصل‌های گرم و سرد، و با توجه به حضور این جلبک‌ها در این دو فصل، در این پژوهش، جمعیت‌هایی از گونه‌های جلبک سبز *U. fasciata* و جلبک قهوه‌ای *S. vulgare* از سواحل بوشهر جمع‌آوری و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در عصاره‌های مختلف بررسی شد. نتایج این پژوهش در انتخاب بهترین زمان جمع‌آوری و روش تهیه عصاره‌های جلبکی کمک شایانی خواهد نمود.

## مواد و روش کار

### جمع‌آوری نمونه

جلبک سبز *U. fasciata* و جلبک قهوه‌ای *S. vulgare* در زمستان ۱۳۹۹ و بهار ۱۴۰۰ از نواحی جزر و مدی خلیج فارس در بوشهر (28° 57' 42.281" N, 50° 48' 32.602" E) و کاملاً تصادفی جمع‌آوری و در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی بوشهر شناسایی شدند. نمونه‌ها در ظروف حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه، ابتدا با آب شهری به منظور زدودن آلودگی‌ها و ذرات ماسه و سپس با آب مقطر شسته شدند. سپس در دستگاه آون و در دمای ۴۰ درجه سانتی-گراد به مدت دو روز خشک شدند. نمونه‌های خشک شده توسط آسیاب الکتریکی پودر و تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگه‌داری شدند.

### عصاره‌گیری

از حلال‌های متانول خالص، متانول ۸۰ درصد، اتانول خالص، اتانول ۸۰ درصد، آب مقطر، آب مقطر در حال جوشیدن و اسید کلریدریک ۲/۵ مولار جهت عصاره‌گیری استفاده شد. در همه موارد ۰/۲ گرم از جلبک خشک پودر شده و ۵ میلی لیتر حلال استفاده شد. برای عصاره‌گیری با متانول خالص، متانول ۸۰ درصد، اتانول خالص، اتانول ۸۰ درصد و آب مقطر در دمای آزمایشگاه، حلال مورد نظر به پودر جلبک افزوده و توسط دستگاه ورتکس مخلوط شدند. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه شیکر و ۳۰ دقیقه در دستگاه التراسونیک قرار گرفتند. برای عصاره‌گیری با آب مقطر در دمای جوش، پس از افزودن آب مقطر به پودر جلبک و مخلوط نمودن توسط دستگاه ورتکس، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. برای عصاره‌گیری اسیدی، پس از افزودن اسید کلریدریک ۲/۵ مولار به پودر جلبک و مخلوط نمودن توسط دستگاه ورتکس، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از خنک شدن پنج میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۲/۵ مولار به آن اضافه شد. در نهایت همه عصاره‌ها با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه و به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شدند و محلول رویی جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی جداسازی شد (Postma et al., 2018; Cho et al., 2007; Lim et al., 2019; Ye et al., 2008; Trigui et al., 2013; Farasat et al., 2014; Ziyaadini et al., 2019).

### بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش به دام‌اندازی رادیکال کاتیون ABTS

حجم ۸۸ میکرولیتر از پتاسیم پروکسی دی‌سولفات ۱۴۰ میلی‌مولار به ۵ میلی‌لیتر محلول ABTS با غلظت ۷ میلی‌مولار اضافه و به مدت ۱۶ ساعت در دمای آزمایشگاه و شرایط تاریکی قرار داده شد تا واکنش تشکیل رادیکال آزاد به طور کامل انجام شود. سپس محلول حاصل توسط آب مقطر تا حدی که میزان جذب آن در ۷۳۴ نانومتر برابر با  $0.7 \pm 0.05$  شود، رقیق

شد. برای تعیین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره یا عصاره رقیق شده به محلول ABTS رقیق شده اضافه گردید و پس از ده دقیقه، میزان جذب آن‌ها در طول موج ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شد. پس از محاسبه درصد مهار با رابطه ۱، در نهایت با استفاده از نمودار استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب میلی‌گرم معادل آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک جلبک ( $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ ) بیان گردید (Re et al., 1999; Huang et al., 2016). (I: درصد مهار،  $A_0$ : میزان جذب شاهد،  $A_s$ : میزان جذب نمونه‌ها)

رابطه ۱:

$$I = \left( \frac{A_0 - A_s}{A_0} \right) \times 100$$

### بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH

یک میلی‌لیتر از عصاره با یک میلی‌لیتر از محلول DPPH با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار مخلوط و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، میزان جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر سنجیده شد. پس از محاسبه درصد مهار با رابطه ۲، در نهایت با استفاده از نمودار استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب میلی‌گرم معادل آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک جلبک ( $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ ) بیان گردید (Wang et al., 2010). (I: درصد مهار،  $A_0$ : میزان جذب شاهد،  $A_s$ : میزان جذب نمونه‌ها)

رابطه ۲:

$$I = \left( \frac{A_0 - A_s}{A_0} \right) \times 100$$

### سنجش فنل و فلاونوئید کل

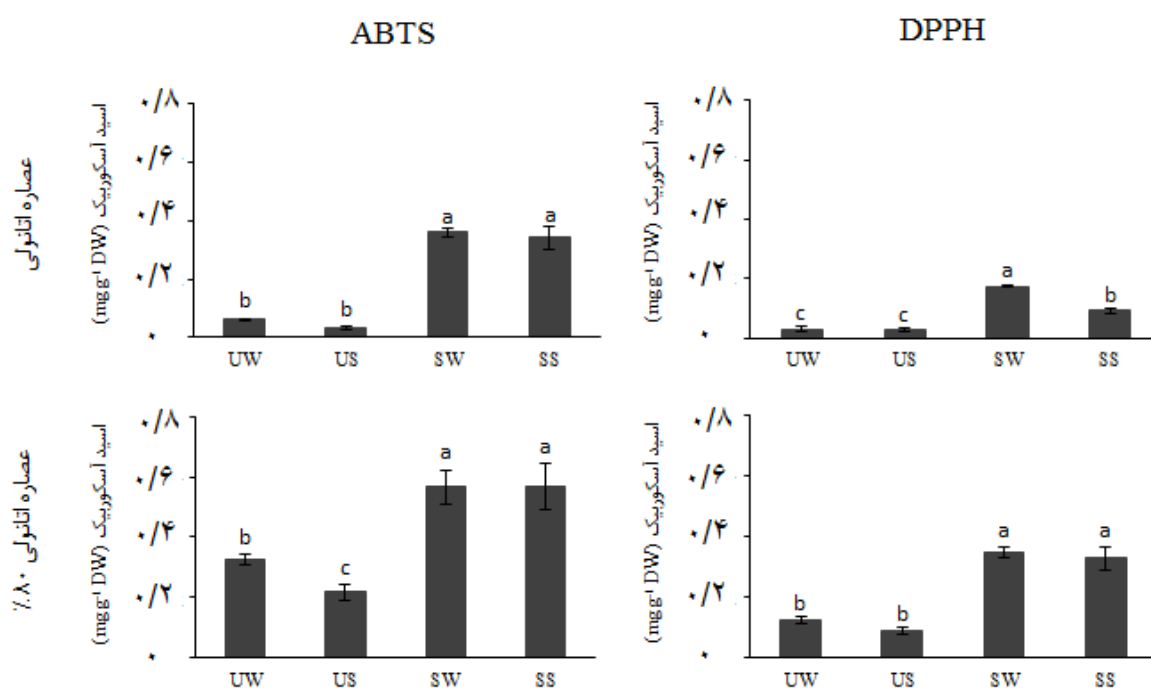
ابتدا پنج میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد و ۰/۲ گرم از نمونه‌های پودر شده توسط دستگاه ورتکس مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه شیکر قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه التراسونیک قرار گرفتند. در نهایت نمونه‌ها با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه و به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول رویی جداسازی و جهت سنجش فنل و فلاونوئید کل استفاده شد. سنجش فنل با روش رنگ‌سنجی Folin-ciocalteu انجام شد. حجم ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۱۰۰۰ میکرولیتر معرف فولین ۱۰ درصد مخلوط و پس از پنج دقیقه ۸۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن اضافه شد. بعد از ۶۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. میزان فنل با استفاده از نمودار استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف گالیک اسید محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ( $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ ) بیان شد (Ainsworth and Gillespie, 2007). سنجش فلاونوئید با روش رنگ‌سنجی کلراید آلومینیوم انجام شد. به ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره، ۴۰ میکرولیتر کلراید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۴۰ میکرولیتر پتاسیم استات یک مولار، ۶۰۰ میکرولیتر متانول ۸۰ درصد و ۱۱۲۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه و پس از ۳۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. در نهایت میزان فلاونوئید با استفاده از نمودار استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف روتین محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ( $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ ) بیان شد (Akkol et al., 2008).

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

همه اندازه‌گیری‌ها برای هر یک از نمونه‌ها با چهار تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین به همراه انحراف معیار بیان شد. نتایج بدست آمده با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) در سطح معنی‌داری ۰/۰۱ و ۰/۰۵ و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. جهت رسم نمودار از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد.

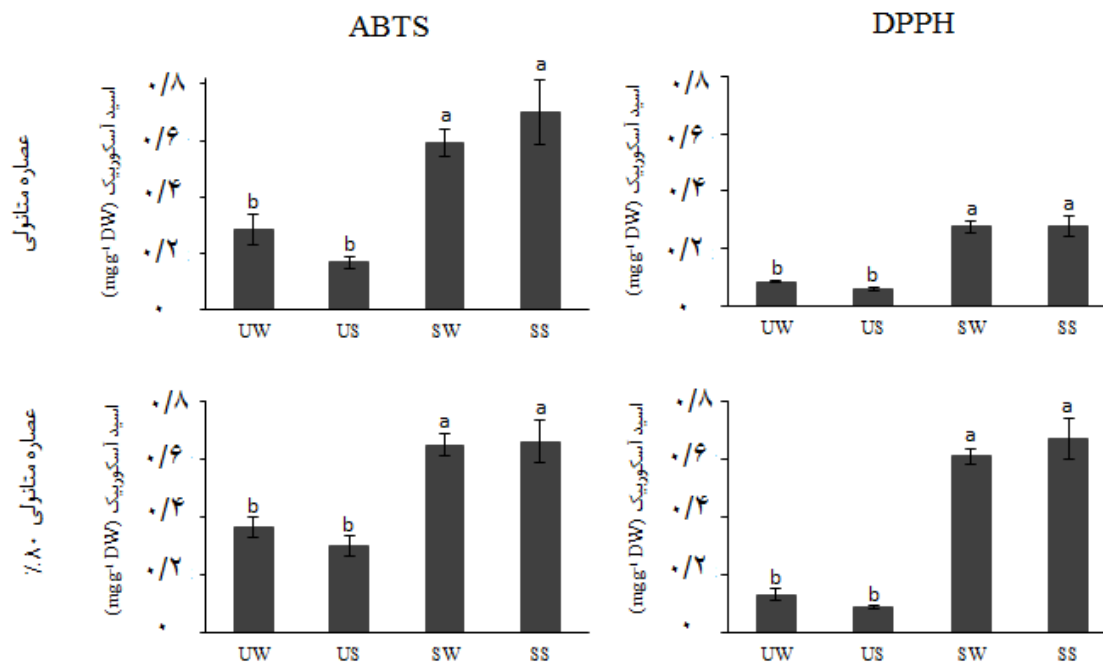
## نتایج

عصاره اتانولی و اتانولی ۸۰ درصد گونه *S. vulgare* نسبت به گونه *U. fasciata* در هر دو روش ABTS و DPPH و در هر دو فصل زمستان و بهار، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نشان داد که این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P \leq 0.01$ ). گونه *U. fasciata* در روش DPPH در هر دو عصاره و در روش ABTS در عصاره اتانولی، تفاوت معنی‌داری را در فصل زمستان و بهار نشان نداد ( $P \geq 0.01$ ) و تنها خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ۸۰ درصد آن در روش ABTS در فصل زمستان افزایش معنی‌داری را نسبت به فصل بهار نشان داد ( $P \leq 0.01$ ). گونه *S. vulgare* در روش ABTS در هر دو عصاره و در روش DPPH در عصاره اتانولی ۸۰ درصد، تفاوت معنی‌داری را در فصل زمستان و بهار نشان نداد ( $P \geq 0.01$ ) اما خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی آن در روش DPPH در فصل زمستان افزایش معنی‌داری نسبت به فصل بهار نشان داد ( $P \leq 0.01$ ). همچنین مشاهده شد که روش ABTS در هر دو عصاره خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نسبت به روش DPPH نشان داد (شکل ۱) (جدول ۱ و ۲).



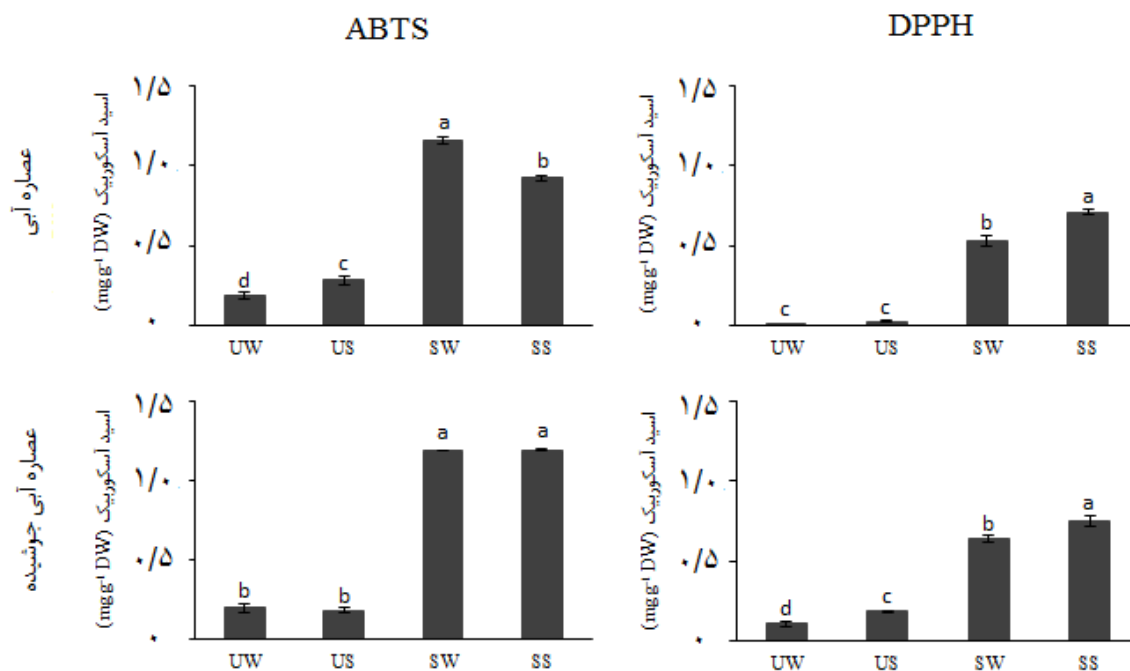
شکل ۱. میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی و اتانولی ۸۰ درصد گونه‌های *U. fasciata* و *S. vulgare* سنجش شده با روش‌های ABTS و DPPH در فصل‌های زمستان و بهار. حروف اختصاری UW: گونه *U. fasciata* فصل زمستان، US: گونه *U. fasciata* فصل بهار، SW: گونه *S. vulgare* فصل زمستان و SS: گونه *S. vulgare* فصل بهار را نشان می‌دهند. حروف متفاوت روی نمودار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها در سطح یک درصد می‌باشد.

عصاره متانولی و متانولی ۸۰ درصد گونه *S. vulgare* نیز نسبت به گونه *U. fasciata* در هر دو روش ABTS و DPPH و در هر دو فصل زمستان و بهار، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نشان داد که این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P \leq 0.01$ ). در عصاره‌های حاصل تفاوت معنی‌داری در فصل زمستان و بهار در هر گونه مشاهده نشد و در هر دو عصاره و در هر دو روش سنجش در فصل زمستان و بهار خاصیت آنتی‌اکسیدانی یکسانی را نشان دادند ( $P \geq 0.01$ ). در این عصاره‌ها نیز مشاهده شد که اغلب روش ABTS خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نسبت به روش DPPH نشان داده است (شکل ۲) (جدول ۱ و ۲).



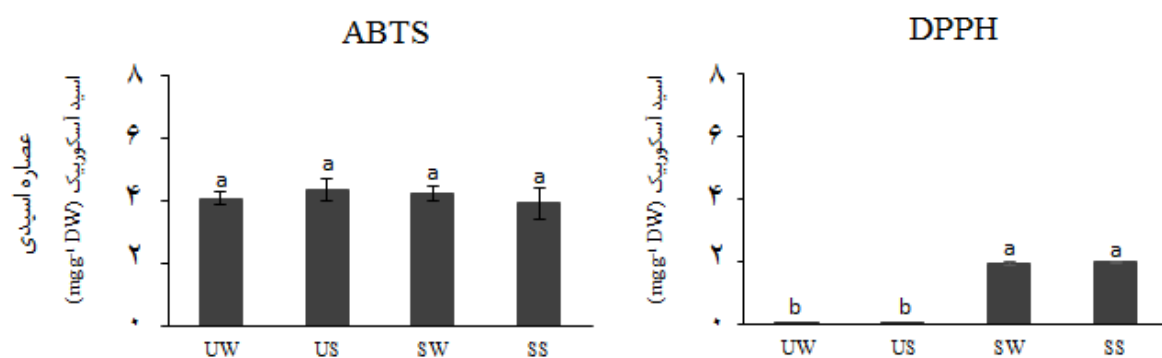
شکل ۲. میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی و متانولی ۸۰ درصد گونه‌های *U. fasciata* و *S. vulgare* سنجش شده با روش‌های ABTS و DPPH در فصل‌های زمستان و بهار. حروف اختصاری UW: گونه *U. fasciata* فصل بهار، SW: گونه *S. vulgare* فصل زمستان، US: گونه *U. fasciata* فصل زمستان، SS: گونه *S. vulgare* فصل بهار را نشان می‌دهند. حروف متفاوت روی نمودار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها در سطح یک درصد می‌باشد.

در عصاره‌های آبی و آبی جوشیده نیز گونه *S. vulgare* نسبت به گونه *U. fasciata* در هر دو روش ABTS و DPPH و در هر دو فصل زمستان و بهار، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشت که این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P \leq 0.01$ ). در روش ABTS، در عصاره آبی گونه *U. fasciata* افزایش معنی‌دار خاصیت آنتی‌اکسیدانی در فصل بهار نسبت به زمستان مشاهده شد ( $P \leq 0.01$ ) در حالی که در روش DPPH، خاصیت آنتی‌اکسیدانی در زمستان و بهار تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P \geq 0.01$ ). عصاره آبی گونه *S. vulgare* در روش ABTS، افزایش معنی‌دار خاصیت آنتی‌اکسیدانی در فصل زمستان نسبت به بهار را نشان داد در حالی که در روش DPPH، خاصیت آنتی‌اکسیدانی فصل بهار بیشتر بود ( $P \leq 0.01$ ). خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی جوشیده در هر دو گونه و در روش ABTS در فصل زمستان و بهار تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P \geq 0.01$ ) در حالی که در هر دو گونه و در روش DPPH خاصیت آنتی‌اکسیدانی در فصل بهار افزایش معنی‌داری را نسبت به زمستان نشان داد ( $P \leq 0.01$ ). به علاوه، روش ABTS در هر دو عصاره خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نسبت به روش DPPH نشان داده است (شکل ۳) (جدول ۱ و ۲).



شکل ۳. میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و آبی جوشیده گونه‌های *U. fasciata* و *S. vulgare* سنجش شده با روش‌های ABTS و DPPH در فصل‌های زمستان و بهار. حروف اختصاری UW: گونه *U. fasciata* فصل زمستان، US: گونه *U. fasciata* فصل بهار، SW: گونه *S. vulgare* فصل زمستان و SS: گونه *S. vulgare* فصل بهار را نشان می‌دهند. حروف متفاوت روی نمودار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها در سطح یک درصد می‌باشد.

عصاره اسیدی بدست آمده از نمونه‌ها با روش ABTS خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نسبت به روش DPPH نشان داد. در روش ABTS نشان داده شد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی هر دو گونه *U. fasciata* و *S. vulgare* در فصل‌های زمستان و بهار، تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P \geq 0.01$ ). در روش DPPH گونه *S. vulgare* خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نسبت به گونه *U. fasciata* نشان داد که این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P \leq 0.01$ ). در این روش تفاوت معنی‌داری در خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های زمستانی و بهاری گونه *S. vulgare* و همچنین گونه *U. fasciata* مشاهده نشد ( $P \geq 0.01$ ) (شکل ۴) (جدول ۱ و ۲).



شکل ۴. میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اسیدی گونه‌های *U. fasciata* و *S. vulgare* سنجش شده با روش‌های ABTS و DPPH در فصل‌های زمستان و بهار. حروف اختصاری UW: گونه *U. fasciata* فصل زمستان، US: گونه *U. fasciata* فصل بهار، SW: گونه *S. vulgare* فصل زمستان و SS: گونه *S. vulgare* فصل بهار را نشان می‌دهند. حروف متفاوت روی نمودار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها در سطح یک درصد می‌باشد.

مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تهیه شده از هر دو نمونه جلبکی در روش ABTS نشان داد که عصاره اسیدی و عصاره اتانولی بترتیب بیشترین و کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را در هر دو فصل داشتند. در نمونه‌های *U. fasciata* بعد از عصاره اسیدی، عصاره متانولی ۸۰ درصد و در نمونه‌های *S. vulgare* عصاره آبی جوشیده و عصاره آبی بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند. به علاوه، نتایج نشان داد که عصاره اتانولی ۸۰ درصد نسبت به عصاره اتانولی در همه نمونه‌ها خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشت. در عصاره متانولی ۸۰ درصد نیز اغلب فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به عصاره متانولی افزایش یافت. در مورد خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و آبی جوشیده نیز تفاوت معنی‌دار قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) جلبک‌های *U. fasciata* و *S. vulgare* در فصل‌های بهار و زمستان با روش ABTS

عصاره	<i>U. fasciata</i>		<i>S. vulgare</i>	
	زمستان	بهار	زمستان	بهار
اتانول	$0.061 \pm 0.005^d$	$0.033 \pm 0.007^c$	$0.036 \pm 0.015^d$	$0.043 \pm 0.004^d$
اتانول ۸۰ درصد	$0.0326 \pm 0.016^b$	$0.0218 \pm 0.025^{bc}$	$0.0566 \pm 0.055^c$	$0.0567 \pm 0.089^{cd}$
متانول	$0.0282 \pm 0.055^{bc}$	$0.0167 \pm 0.020^{bc}$	$0.0589 \pm 0.048^c$	$0.0699 \pm 0.135^{cd}$
متانول ۸۰ درصد	$0.0365 \pm 0.037^b$	$0.0302 \pm 0.034^b$	$0.0652 \pm 0.038^c$	$0.0663 \pm 0.085^{cd}$
آب	$0.0185 \pm 0.020^c$	$0.0279 \pm 0.023^b$	$0.0160 \pm 0.020^b$	$0.0922 \pm 0.015^{bc}$
آب جوش	$0.0202 \pm 0.030^c$	$0.0186 \pm 0.013^{bc}$	$0.0192 \pm 0.002^b$	$0.0194 \pm 0.002^b$
اسید کلریدریک	$0.04066 \pm 0.0197^a$	$0.04330 \pm 0.0351^a$	$0.04249 \pm 0.0246^a$	$0.03910 \pm 0.0536^a$

مقادیر برحسب میلی‌گرم هم‌ارز اسید آسکوربیک بر گرم وزن خشک جلبک می‌باشد. حروف متفاوت در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین عصاره‌های مختلف در سطح ۵ درصد می‌باشد.

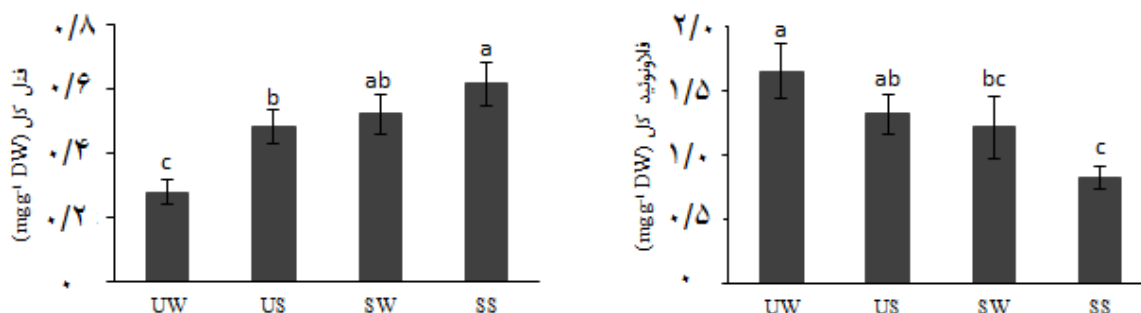
مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تهیه شده از نمونه‌های جلبکی در روش DPPH نشان داد که عصاره اسیدی در نمونه‌های *S. vulgare* بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و در نمونه‌های *U. fasciata* فعالیت بسیار پایینی را داشتند. در نمونه‌های *U. fasciata* عصاره‌های هیدروالکلی ۸۰ درصد و آب جوش، بیشترین و عصاره‌های اسیدی و آبی کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند. در نمونه‌های *S. vulgare* عصاره اسیدی و عصاره اتانولی بترتیب بیشترین و کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند. نتایج نشان داد که عصاره‌های هیدروالکلی ۸۰ درصدی اتانول و متانول خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را بترتیب نسبت به عصاره‌های اتانولی و متانولی خالص داشتند. عصاره آبی جوشیده بویژه در نمونه‌های *U. fasciata* خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نسبت به عصاره آبی نشان داد (جدول ۲).

جدول ۲. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) جلبک‌های *U. fasciata* و *S. vulgare* در فصل‌های بهار و زمستان با روش DPPH

عصاره	<i>U. fasciata</i>		<i>S. vulgare</i>	
	زمستان	بهار	زمستان	بهار
اتانول	$0.031 \pm 0.006^d$	$0.025 \pm 0.007^d$	$0.0174 \pm 0.004^e$	$0.091 \pm 0.009^f$
اتانول ۸۰ درصد	$0.0126 \pm 0.013^a$	$0.091 \pm 0.010^b$	$0.0350 \pm 0.017^d$	$0.0331 \pm 0.038^d$
متانول	$0.0084 \pm 0.003^c$	$0.057 \pm 0.004^c$	$0.0276 \pm 0.019^d$	$0.0277 \pm 0.038^e$
متانول ۸۰ درصد	$0.0133 \pm 0.020^a$	$0.090 \pm 0.003^b$	$0.0613 \pm 0.027^b$	$0.0674 \pm 0.071^c$
آب	$0.002 \pm 0.001^e$	$0.028 \pm 0.007^d$	$0.0532 \pm 0.034^c$	$0.0713 \pm 0.013^{bc}$
آب جوش	$0.0106 \pm 0.014^b$	$0.0184 \pm 0.005^a$	$0.0639 \pm 0.017^b$	$0.0750 \pm 0.029^b$
اسید کلریدریک	$0.0008 \pm 0.001^e$	$0.004 \pm 0.003^e$	$0.0917 \pm 0.067^a$	$0.0962 \pm 0.010^a$

مقادیر برحسب میلی‌گرم هم‌ارز اسید آسکوربیک بر گرم وزن خشک جلبک می‌باشد. حروف متفاوت در ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین عصاره‌های مختلف در سطح ۵ درصد می‌باشد.

سنجش ترکیبات فنولیک نشان داد که محتوای فنل و فلاونوئید در هر نمونه جلبکی، رابطه عکس با یکدیگر داشتند. بیشترین میزان فنل ( $0.62 \pm 0.065$  میلی‌گرم بر گرم جلبک) و کمترین میزان فلاونوئید ( $0.83 \pm 0.088$  میلی‌گرم بر گرم جلبک) در گونه *S. vulgare* و در فصل بهار بود در حالی که بیشترین میزان فلاونوئید ( $1.65 \pm 0.21$  میلی‌گرم بر گرم جلبک) و کمترین میزان فنل ( $0.28 \pm 0.04$  میلی‌گرم بر گرم جلبک) در گونه *U. fasciata* و در فصل زمستان بود. به‌طور میانگین گونه *S. vulgare* میزان فنل کل و گونه *U. fasciata* میزان فلاونوئید کل بیشتری را نشان دادند (شکل ۵).



شکل ۵. محتوای فنل و فلاونوئید کل گونه‌های *U. fasciata* و *S. vulgare* در فصل‌های زمستان و بهار. حروف اختصاری UW: گونه *U. fasciata* فصل زمستان، US: گونه *U. fasciata* فصل بهار، SW: گونه *S. vulgare* فصل زمستان و SS: گونه *S. vulgare* فصل بهار را نشان می‌دهند. حروف متفاوت روی نمودار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها در سطح یک درصد می‌باشد.

## بحث

ماکرو جلبک‌ها منابع غنی از ترکیبات مختلفی مانند پروتئین، لیپید، اسید چرب، اسید آمینه، کربوهیدرات، مواد معدنی و سایر مواد مغذی هستند. این منابع بیولوژیکی دریایی به دلیل وجود ترکیبات فعال زیستی با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد-باکتریایی، ضدقارچی، ضدالتهابی و ضددیابتی حائز اهمیت می‌باشند (El-Din and Alagawany, 2019; Ismail, 2017; Martins et al., 2013). بررسی سه گونه جلبک *Ulva sp.*، *Porphyra sp.* و *Sargassum sp.* نشان داد که جلبک قهوه‌ای *Sargassum sp.* بیشترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی و بالاترین محتوای ترکیبات پلی‌فنولیک را داشته است. به‌نظر می‌رسد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالای این جلبک قهوه‌ای به‌واسطه ترکیبات پلی‌فنولیک بیشتر باشد (García-Casal et al., 2008). نتایج این پژوهش نیز نشان داد که در همه عصاره‌ها و در هر دو روش ABTS و DPPH، گونه *S. vulgare* فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به گونه *U. fasciata* داشت (شکل ۱، ۲، ۳، ۴). همچنین مشخص شد که به‌طور میانگین گونه *S. vulgare* میزان فنل بیشتری نسبت به گونه *U. fasciata* داشت (شکل ۵). قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای *S. vulgare* احتمالاً به دلیل وجود فوکوگزانتین، پیروفتوفیتین، فلورتانین و فوکوئیدان‌ها به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در جلبک‌های قهوه‌ای می‌باشد. این تفاوت در میزان فنل کل جلبک‌های دریایی می‌تواند مربوط به عوامل درونی یا خارجی باشد که شامل سن، مرحله تولید مثلی و غیره است (Pirian et al., 2018; Lima et al., 2016). نتایج پیشنهاد می‌کند که جلبک قهوه‌ای می‌تواند به‌عنوان منبع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی دریایی در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

در پژوهشی پنج جلبک سبز *Caulerpa* و *Caulerpa veravalensis*، *Chaetomorpha crassa*، *Ulva fasciata*، *Ulva lactuca* و *Scalpelliformis scalpelliformis* و پنج جلبک قهوه‌ای *Stoechospermum marginatum*، *Sargassum wightii*، *Sargassum tenerrimum*، *Padina pavonica* Liin، *Padina tetrastrumatica* از خلیج مانار در هند جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفتند. بررسی متابولیت‌های ثانویه آن‌ها نشان داد که ترکیبات فنولیک در هر دو گروه جلبک‌های سبز و قهوه‌ای وجود داشته و میزان فنل کل به‌جز فلاونوئیدها در جلبک‌های قهوه‌ای بیشتر بود (Sahayaraj et al., 2014). در این پژوهش نیز مشخص شد که به‌طور میانگین گونه *S. vulgare* میزان فنل بیشتری و گونه *U. fasciata* میزان فلاونوئید بیشتری (شکل ۵) داشت؛ به‌نظر می‌رسد

احتمالا میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گونه‌ها با محتوای فنل کل رابطه مستقیم داشته باشد. فلاونوئیدها نیز بسته به ساختار مولکولی خود طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی را دارند. از اینرو پلی‌فنل‌ها می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در صنایع غذایی، برای محافظت از بدن انسان در برابر رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از گسترش بیماری‌های مزمن مورد استفاده قرار گیرند (Ismail, 2017).

در مطالعه‌ای عصاره آبی چهار گونه جلبک دریایی *Ulva lactuca*، *Sargassum sp.*، *Caulerpa racemose* و *Gracilaria tenuispiata* جمع‌آوری شده از مناطق ساحلی در جنوب تایلند با روش‌های جوشاندن و اتوکلاو کردن تهیه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها با روش‌های حذف رادیکال آزاد DPPH و رادیکال آزاد هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید بررسی شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی حذف رادیکال‌های آزاد DPPH و هیدروکسیل اغلب در عصاره اتوکلاو شده بیشتر از عصاره جوشیده بود. در بین این چهار گونه، هر دو عصاره جلبک *Sargassum sp.* بیشترین میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد. یک رابطه قوی بین قدرت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل در روش عصاره‌گیری با اتوکلاو یافت شد، درحالی‌که برای روش جوشاندن رابطه‌ی مثبت ضعیفی وجود داشت (Yangthong et al., 2009). در پژوهش حاضر نیز عصاره آبی و عصاره آب جوش تهیه و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره آب جوش در اغلب موارد خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به عصاره آبی داشته است (جدول ۱ و ۲) (شکل ۳). وجود پلی‌فنل‌های آب‌دوست مانند فلوروتانن‌ها در جلبک‌های دریایی که طبیعت دوقطبی دارند و بیشتر در جلبک‌های دریایی قهوه‌ای یافت می‌شوند، می‌تواند به عنوان اجزای آنتی‌اکسیدانی و جاذب رادیکال‌های آزاد عمل کنند و در نتیجه به جلبک‌ها برای غلبه بر استرس اکسیداتیو کمک کنند (Yangthong et al., 2009; Pirian et al., 2018; Lima et al., 2016). این نتایج مزایای بالقوه عصاره‌های آب گرم جلبک دریایی را به عنوان منبع آنتی‌اکسیدان برای مصرف انسان یا حیوان نشان می‌دهد، به ویژه هنگامی که از لحاظ ایمنی آلودگی حلال‌های آلی در نظر گرفته شود.

در پژوهشی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی، هگزانی و اتیل استاتی سه گونه ماکروجلبک *Ulva linza*، *Sargassum vulgare* و *Gracilaria corticata* جمع‌آوری شده از خطوط ساحلی خلیج فارس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای را در عصاره متانولی نشان نداد. در عصاره هگزانی، میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی *S. vulgare* بیشتر از *U. linza* و در عصاره اتیل استات میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی *U. linza* بیشتر از *S. vulgare* بود (Pirian et al., 2018). نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش در حلال‌های مختلف میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی را نشان دادند. به طور کلی در گونه *S. vulgare*، بترتیب عصاره اسیدی، عصاره‌های آبی، عصاره‌های متانولی و عصاره‌های اتانولی بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند. در گونه *U. fasciata* در روش ABTS نیز بیشترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره‌های اسیدی و اتانولی بود در حالی‌که در روش DPPH، عصاره‌های هیدروالکلی و آب جوش بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و عصاره اسیدی کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند (جدول ۱ و ۲). این نتایج اشاره دارد به اینکه احتمالا طیف وسیعی از ترکیبات بیوشیمیایی در ارتباط با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این جلبک‌ها وجود دارند که با توجه به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی هر حلال، گروه خاصی از ترکیبات بیوشیمیایی در عصاره حاصل از آن حضور خواهند داشت. بنابراین علی‌رغم متابولیت‌های متفاوت موجود در گونه‌های مختلف جلبک، فرآیند آماده‌سازی و حلال‌های مورد استفاده برای استخراج نیز تأثیر چشمگیری بر تغییرات شیمیایی دارند.

سنجش محتوای فنل کل از ماکروجلبک‌های *Sargassum sp.* و *Ulva sp.* سواحل چابهار با حلال‌های آلی متانول، اتانول، استون و آب نشان داد که بیشترین میزان فنل کل با حلال آب برای هر دو جلبک به‌دست آمد (Ziyaadini et al., 2019). در پژوهش حاضر مشاهده شد که عصاره‌های هیدروالکلی ۸۰ درصدی اتانول و متانول خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را بترتیب نسبت به عصاره‌های اتانولی و متانولی خالص داشتند (شکل ۱ و ۲). به نظر می‌رسد افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های هیدروالکلی ۸۰ درصد نسبت به عصاره‌های الکلی خالص احتمالا با حضور طیف وسیع‌تری از ترکیبات فنولیک در آنها در

ارتباط باشد. روش استخراج و میزان حلالیت متابولیت‌ها در حلال‌های مختلف منجر به تفاوت محتوای متابولیتی عصاره‌ها خواهد شد (Sahayaraj *et al.*, 2014) که به دنبال آن تفاوت در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها را ایجاد خواهد نمود. در پژوهشی گونه‌هایی از جلبک‌های سبز، قرمز و قهوه‌ای از سواحل پاراکورا در برزیل جمع‌آوری شدند و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی آنها به سه روش حذف رادیکال آزاد DPPH، قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP) و کلاته کردن یون آهن (FIC) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در روش DPPH جلبک قهوه‌ای *S. vulgare* نسبت به جلبک سبز *U. fasciata* ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشت؛ در روش FRAP هر دو گونه خاصیت آنتی‌اکسیدانی یکسانی را نشان دادند؛ و در روش FIC گونه *U. fasciata* خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نسبت به *S. vulgare* نشان داد (Lima *et al.*, 2016). در مطالعه‌ای فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی، آب و آب جوش سه گونه جلبک *Ulva fasciata*، *Sargassum vulgare* و *Palisada flagelifera* از سواحل صخره‌ای برزیل با روش‌های مختلفی نظیر مهار رادیکال کاتیون ABTS، مهار رادیکال آزاد DPPH، قدرت کاهندگی یون آهن، کاهش ترکیبات به روش فولین-سیوکالتیو، سیستم بتا-کاروتن/لینولئیک اسید و فعالیت کلاته‌کنندگی فلزات مورد بررسی قرار گرفت. روش‌های مختلف سنجش نتایج متفاوتی را نشان داد. در روش DPPH برای همه عصاره‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار پایینی گزارش شد. به‌طور کلی عصاره‌های *S. vulgare* نسبت به *U. fasciata* فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشتند و در جلبک *S. vulgare* عصاره‌های آبی و آب جوش بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند (Santos *et al.*, 2019). در پژوهش حاضر، روش ABTS در هر دو عصاره خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نسبت به روش DPPH نشان داد. از آنجائیکه هر روش سنجش آنتی‌اکسیدانی دارای یک اصل و یک میل شیمیایی خاص با اجزای عصاره‌های مختلف است؛ بنابراین، بهتر است که عصاره‌ها حداقل با دو روش رنگ سنجی مختلف آزمایش شوند تا پتانسیل آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به‌طور کامل ارزیابی شود. همچنین در هر دو روش و هر دو گونه در اغلب عصاره‌ها، تفاوت معنی‌داری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده در فصل زمستان و بهار وجود نداشت. به‌نظر می‌رسد که این موضوع در ارتباط با محتوای فنل و فلاونوئید هر نمونه باشد؛ به‌طوری که با کاهش میزان فنل در گونه *U. fasciata* در فصل زمستان، میزان فلاونوئید آن افزایش یافت و با افزایش میزان فنل در گونه *S. vulgare* در فصل بهار، میزان فلاونوئید آن کاهش یافت. میزان فنل و فلاونوئید در گونه *U. fasciata* در فصل بهار و در گونه *S. vulgare* در فصل زمستان نیز مقادیر متوسطی را نشان داد (شکل ۵).

### نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که به‌طور میانگین، میزان فنل کل در گونه *S. vulgare* و میزان فلاونوئید کل در گونه *U. fasciata* بیشتر بود. در اغلب عصاره‌ها و در هر دو روش ABTS و DPPH، گونه *S. vulgare* فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به گونه *U. fasciata* داشت و تنها در عصاره اسیدی و روش ABTS میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌ها یکسان بود. مقایسه گونه‌ها در فصل زمستان و بهار نشان داد که اغلب تفاوت معنی‌داری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده در فصل زمستان و بهار وجود نداشت. مقایسه عصاره‌های مختلف نشان داد که عصاره اسیدی در اغلب نمونه‌ها بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تنها در گونه *U. fasciata* و با روش DPPH کمترین میزان فعالیت را داشت و عصاره اتانولی غالباً کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در بین نمونه‌ها نشان داد. نتایج حاصل کمک‌شایانی به انتخاب و کاربرد صحیح این نمونه‌های جلبک دریایی در صنایع غذایی و دارویی خواهد نمود. مقادیر قابل توجه فنل و فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای این جلبک‌های دریایی می‌تواند منجر به کاربرد وسیع آنها در تولیدات دارویی، غذایی و آرایشی شود.

## منابع

- Ahadifar, M., Ojagh, S., hoseinifar, H., Kordjazi, M., khanlar, M., Alishahi, A. 2021. Evaluation of antioxidant properties of aqueous extract of brown *Sargassum vulgare* macroalgae collected from qeshm coast. Utilization and Cultivation of Aquatics. 10(3): 49-63. (In Persian)
- Ainsworth, E.A., Gillespie, K.M. 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. Nature Protocols. 2: 875-877.
- Akkol, E.K., Göger, F., Koşar, M., Başer, K.H.C. 2008. Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. Food Chemistry. 108: 942-949.
- Akouwah, G.A., Ismail, Z., Norhayati, I., Sadikun, A. 2005. The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical scavenging activity. Food Chemistry. 93(2): 311-317.
- Alscher, R.G., Donahue, J.L., Cramer, C.L. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells. Physiologia Plantarum. 100(2): 224-233.
- Bitra, S., Mesbah, M., Shahryari, A., Ghorbanpour, M. 2015. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Sargassum angustifolium* seaweed. Journal of Marine Science and Technology. 14(1): 97-107. (In Persian)
- Cho, S.H., Kang, S.E., Cho, J.Y., Kim, A.R., Park, S.M., Hong, Y.K., Ahn, D.H. 2007. The antioxidant properties of brown seaweed (*Sargassum siliquastrum*) extracts. Journal of Medicinal Food. 10(3): 479-485.
- Daneshvar, E., Vazirzadeh, A., Niazi, A., Sillanpää, M., Bhatnagar, A. 2017. A comparative study of methylene blue biosorption using different modified brown, red and green macroalgae Effect of pretreatment. Chemical Engineering Journal. 307: 435-446.
- El-Din, S.M., Alagawany, N.I. 2019. Phytochemical constituents and anticoagulation property of marine algae *Gelidium crinale*, *Sargassum hornschurchii* and *Ulva linza*. Thalassas: An International Journal of Marine Sciences. 35(2): 381-397.
- Farasat, M., Khavari-Nejad, R., Nabavi, S.M.B., Namjooyan, F. 2014. Antioxidant activity of methanolic extract of green seaweed *Caulerpa sertularioides f.farrowii*. Journal of Marine Biology. 5(4):13-20. (In Persian)
- Garcia, E.J., Oldoni, T.L.C., Alencar, S.M.D., Reis, A., Loguercio, A.D., Grande, R.H.M. 2012. Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth. Brazilian Dental Journal. 23: 22-27.
- García-Casal, M.N., Ramirez, J., Leets, I., Pereira, A.C., Quiroga, M.F. 2008. Antioxidant capacity, polyphenol content and iron bioavailability from algae (*Ulva sp.*, *Sargassum sp.* and *Porphyra sp.*) in human subjects. British Journal of Nutrition. 101(1): 79-85.
- Hillary, F.G. 2011. Determining the nature of prefrontal cortex recruitment after traumatic brain injury: a response to Turner. Frontiers in Systems Neuroscience. 5: 24.
- Hosokawa, M., Okada, T., Mikami, N., Konishi, I., Miyashita, K. 2009. Bio-functions of marine carotenoids. Food Science and Biotechnology. 18(1): 1-11.
- Huang, C.Y., Wu, S.J., Yang, W.N., Kuan, A.W., Chen, C.Y. 2016. Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffinghydrothermal extraction process. Food Chemistry. 197: 1121-1129.
- Ismail, G. A. 2017. Biochemical composition of some Egyptian seaweeds with potent nutritive and antioxidant properties. Food Science and Technology. 37: 294-302.
- Jahan, S., Yusoff, I.B., Alias, Y.B., Bakar, A.F.B.A. 2017. Reviews of the toxicity behavior of five potential engineered nanomaterials (ENMs) into the aquatic ecosystem. Toxicology Reports. 4: 211-220.
- Kokabi, M., Yousefzadi, M. 2015. Checklist of the marine macroalgae of Iran. Botanica Marina. 58(4): 307-320.

- Lim, S., Choi, A.H., Kwon, M., Joung, E.J., Shin, T., Lee, S.G., Kim, N.G., Kim, H.R. 2019. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extract from *Sargassum serratifolium* and its major antioxidant components. *Food Chemistry*. 278: 178-184.
- Lima, R.L., Pires-Cavalcante, K.M.D.S., Alencar, D.B., Viana, F.A., Sampaio, A.H., Saker-Sampaio, S. 2016. In vitro evaluation of antioxidant activity of methanolic extracts obtained from seaweeds endemic to the coast of Ceará, Brazil. *Acta Scientiarum. Technology*. 38(2): 247-255.
- Martins, C.D.L., Ramlov, F., Carneiro, N.P.N., Gestinari, L.M., dos Santos, B.F., Bento, L.M., Soares, A.R. 2013. Antioxidant properties and total phenolic contents of some tropical seaweeds of the Brazilian coast. *Journal of Applied Phycology*. 25(4): 1179-1187.
- McCauley, J.I., Meyer, B.J., Winberg, P.C., Skropeta, D. 2016. Parameters affecting the analytical profile of fatty acids in the macroalgal genus *Ulva*. *Food Chemistry*. 209: 332-340.
- Miyashita, K., Takagi, T. 1987. Tocopherol content of Japanese algae and its seasonal variation. *Agricultural and Biological Chemistry*. 51(11): 3115-3118.
- Parys, S., Rosenbaum, A., Kehraus, S., Reher, G., Glombitza, K.W., König, G.M. 2007. Evaluation of quantitative methods for the determination of polyphenols in algal extracts. *Journal of Natural Products*. 70(12): 1865-1870.
- Peña-Rodríguez, A., Mawhinney, T.P., Ricque-Marie, D., Cruz-Suárez, L.E. 2011. Chemical composition of cultivated seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh. *Food Chemistry*. 129(2): 491-498.
- Pikula, K.S., Zakharenko, A.M., Aruoja, V., Golokhvast, K.S., Tsatsakis, A.M. 2019. Oxidative stress and its biomarkers in microalgal ecotoxicology. *Current Opinion in Toxicology*. 13: 8-15.
- Pirian, K., Jeliani, Z.Z., Sohrabipour, J., Arman, M., Faghihi, M.M., Yousefzadi, M. 2018. Nutritional and bioactivity evaluation of common seaweed species from the Persian Gulf. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*. 42(4): 1795-1804.
- Postma, P.R., Cerezo-Chinarro, O., Akkerman, R.J., Olivieri, G., Wijffels, R.H., Brandenburg, W.A., Eppink, M.H. 2018. Biorefinery of the macroalgae *Ulva lactuca*: extraction of proteins and carbohydrates by mild disintegration. *Journal of Applied Phycology*. 30(2): 1281-1293.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26(9-10): 1231-1237.
- Sahayaraj, K., Asharaja, A.C., Rajesh, S., Rathi, J.A.M. 2014. Qualitative and quantitative profiles of secondary metabolites of chosen Chlorophyta and Ochrophyta from Gulf of Mannor. *Cahiers de Biologie Marine*. 55(1): 69-76.
- Santos, J.P., Torres, P.B., dos Santos, D.Y., Motta, L.B., Chow, F. 2019. Seasonal effects on antioxidant and anti-HIV activities of Brazilian seaweeds. *Journal of Applied Phycology*. 31(2): 1333-1341.
- Savari, A., Jahanpanah, M., Vazirizadeh, A. 2010. The investigation of species diversity and dominance of Decapoda of the intertidal zone of Bushehr rocky shores-the Persian Gulf. *Journal of Oceanography*. 1(3): 7-16. (In Persian)
- Sun, T. Ho, C.T. 2005. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*. 90: 743-749.
- Trigui, M., Gasmi, L., Zouari, I., Tounsi, S. 2013. Seasonal variation in phenolic composition, antibacterial and antioxidant activities of *Ulva rigida* (Chlorophyta) and assessment of antiacetylcholinesterase potential. *Journal of Applied Phycology*. 25(1): 319-328.
- Uribe, E., Vega-Gálvez, A., García, V., Pastén, A., López, J., Goñi, G. 2019. Effect of different drying methods on phytochemical content and amino acid and fatty acid profiles of the green seaweed, *Ulva spp.* *Journal of Applied Phycology*. 31(3): 1967-1979.
- Wang, T., Jónsdóttir, R., Kristinsson, H.G., Hreggvidsson, G.O., Jónsson, J.Ó., Thorkelsson, G., Ólafsdóttir, G. 2010. Enzyme-enhanced extraction of antioxidant ingredients from red algae *Palmaria palmata*. *LWT-Food Science and Technology*. 43(9): 1387-1393.

- Wolf, M.A., Sciuto, K., Andreoli, C., Moro, I. 2012. *Ulva* (Chlorophyta, Ulvales) biodiversity in the North Adriatic Sea (Mediterranean, Italy): cryptic species and new introductions. *Journal of Phycology*. 48(6): 1510-1521.
- Wu, S.C., Wang, F.J., Pan, C.L. 2010. The comparison of antioxidative properties of seaweed oligosaccharides fermented by two lactic acid bacteria. *Journal of Marine Science and Technology*. 18(4): 537-545.
- Xia, T., Kovoichich, M., Liang, M., Madler, L., Gilbert, B., Shi, H., Nel, A.E. 2008. Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. *ACS Nano*. 2(10): 2121-2134.
- Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, N., Phromkunthong, W. 2009. Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southern coast of Thailand. *Plant Foods for Human Nutrition*. 64(3): 218-223.
- Ye, H., Wang, K., Zhou, C., Liu, J., Zeng, X. 2008. Purification, antitumor and antioxidant activities in vitro of polysaccharides from the brown seaweed *Sargassum pallidum*. *Food Chemistry*. 111(2): 428-432.
- Yu-Qing, T., Mahmood, K., Shehzadi, R., Ashraf, M.F. 2016. *Ulva lactuca* and its polysaccharides: Food and biomedical aspects. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 6(1): 140-151.
- Ziyaadini, M., Baskaleh, G., Zahedi Dizaji, M. 2019. Optimizing extraction of total phenolic compounds in *Sargassum sp.* and sea lettuce (*Ulva sp.*) in chabahar coastal waters using ultrasonic method. *Journal of Oceanography*. 10(38): 1-10. (In Persian)
- Zubia, M., Thomas, O.P., Soulet, S., Demoy-Schneider, M., Saulnier, D., Connan, S., Murphy, E.C., Tintillier, F., Stiger-Pouvreau, V., Petek, S. 2020. Potential of tropical macroalgae from French Polynesia for biotechnological applications. *Journal of Applied Phycology*. 32(4): 2343-2362.



## Evaluation of antioxidant properties of different extracts of *Ulva fasciata* in winter and spring Delile and *Sargassum vulgare* C. Agardh

Ehsan Nazifi<sup>1\*</sup>, Fatemeh Toreihizadeh<sup>2</sup>, Hassan Taghavi Jelodar<sup>2</sup>, Mahdi Borna<sup>3</sup>

1. Department of Plant Sciences, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

2. Marine biology Department, Faculty of Marine Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

3. Bushehr Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Iran

### Abstract

Seaweed is a rich source of natural antioxidants. There are large populations of *Ulva* and *Sargassum* on the southern coasts of Iran. In this study, populations of green alga *U. fasciata* Delile and brown alga *S. vulgare* C. Agardh were collected from Bushehr coasts in winter and spring, and their total phenols and flavonoids were evaluated. Various extracts of these species were prepared and their antioxidant activities were investigated by ABTS and DPPH methods. The results showed that *S. vulgare* had the highest phenols and the lowest flavonoids contents in spring at  $0.62 \pm 0.065$  and  $0.83 \pm 0.088$  mg g<sup>-1</sup> of algae, respectively, and *U. fasciata* contained the highest flavonoids and the lowest phenols in winter ( $1.65 \pm 0.21$  and  $0.28 \pm 0.04$  mg g<sup>-1</sup> of algae, respectively). In all extracts, *S. vulgare* showed higher antioxidant activity than *U. fasciata*. Both species did not show significant differences in antioxidant activity in winter and spring. The 80% ethanolic, methanolic and boiling water extracts showed higher antioxidant properties than the pure ethanolic, methanolic and distilled water extracts, respectively. The highest and the lowest antioxidant activities were mostly observed in the acidic and ethanolic extracts, respectively. The results will greatly help in the selection and application of algae in the food and pharmaceutical industries.

### ARTICLE TYPE

#### Research

Received: 27 March 2022

Accepted: 13 July 2022

ePublished: 16 May 2023

\* Corresponding Author:  
[e.nazifi@umz.ac.ir](mailto:e.nazifi@umz.ac.ir)

**Keywords:** Spectrophotometry, Antioxidant, Bushehr coasts, Green algae, Brown algae