مقاله کامل علمی- پژوهشی

بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دهم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۰
۴۹-۶۳
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2021.19111.1587

ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی ماکروجلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* جمع‌آوری‌شده از سواحل قشم

میترا احدی‌فر*[۱]، سید مهدی اجاق[۲]، سید حسین حسینی‌فر[۲]، معظمه کردجزی[۳]، محمدعلی خانلر[۴] و علیرضا عالیشاهی[۵]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،
[۲]دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،
[۳]استادیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،
[۴]دانش‌آموخته دکتری گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،
[۵]استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۰۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۹

چکیده

آنتی‌اکسیدان‌ها از عوامل اصلی خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد که موادی فعال و مضر برای انسان هستند می‌باشند. این پژوهش با هدف بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی جلبک قهوه‌ای سارگاسوم ولگر جمع‌آوری‌شده از سواحل قشم در مقیاس آزمایشگاهی صورت گرفت. پس از جمع‌آوری جلبک از سواحل قشم و شستشو با آب شیرین عصاره‌گیری از جلبک سارگاسوم ولگر انجام شد. سپس عصاره مورد نظر در خشک‌کن انجمادی خشک و به‌صورت پودر حاصل گردید. پارامترهای فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدان کل، فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، رادیکال آزاد سوپراکسید، توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن و رادیکال آزاد هیدروکسیل در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفت. بر طبق نتایج به‌دست آمده میزان محتوای فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدان کل، رادیکال آزاد DPPH، درصد رادیکال آزاد سوپراکسید، توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن و رادیکال آزاد هیدروکسیل نیز در بالاترین غلظت‌های خود به‌ترتیب معادل ۱۶/۲۲ میلی‌گرم اسیدگالیک بر ۱۰۰ گرم عصاره، ۵۲۱/۷۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم عصاره، ۲۴/۰۸، ۱۴/۰۳ و ۳۳/۶۵ درصد محاسبه گردید. با توجه به توانایی بالای عصاره جلبک قهوه‌ای سارگاسوم ولگر در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره این جلبک می‌تواند به‌عنوان یک منبع سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی در صنایع غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی معرفی گردد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، رادیکال‌های آزاد، عصاره آبی، ماکروجلبک قهوه‌ای

* مسئول مکاتبه: mitraahadifar@gmail.com

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که از طریق مهار شروع و یا جلوگیری از انتشار واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیدکننده می‌توانند سبب تاخیر و یا جلوگیری از اکسیداسیون لایه‌های سلولی شوند (سونگ و همکاران، ۲۰۱۰). معمولاً این مواد درون بدن موجود زنده جهت حفظ شرایط پایدار در برابر عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها تولید می‌شود اکسیداسیون سلولی از طریق شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن[۱]، رادیکال هیدروکسیل[۲]، آنیون سوپراکسید[۳] و نیتریک اکسید[۴] که به عنوان گونه‌های اکسیژن فعال[۵] شناخته می‌شوند آغاز می‌شوند این رادیکال‌ها در سیستم‌های بیولوژیکی به‌دلیل تنش‌های سلولی مختلف ساخته می‌شوند (اسولیوان و همکاران، ۲۰۱۱). جهت مهار این رادیکال‌ها از آنتی‌اکسیدان‌ها به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان افزودنی مواد غذایی جهت حفاظت در برابر تخریب اکسیداتیو در مواد غذایی استفاده می‌شود آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی که بیش‌ترین استفاده را دارند شامل پروپیل گالات[۶]، بوتیل هیدروکسی آنیزول[۷]، بوتیل هیدروکسی تولوئن[۸] و ترشری بوتیل هیدروکسی کوئینون[۹] می‌باشند (شروین، ۱۹۹۰). اما به‌نظر می‌رسد که، بوتیل هیدروکسی آنیزول و بوتیل هیدروکسی تولوئن مسول آسیب‌های کبدی و سرطان باشند (گرایس، ۱۹۸۸). اثرات سمی و جهش‌زای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی و در کنار آن تمایل مصرف‌کنندگان به افزودنی‌های غذایی طبیعی سبب شده است که تلاش‌هایی جهت توسعه آنتی‌اکسیدان‌های جایگزین با منشأ طبیعی صورت گیرد (هوآنگ و وانگ، ۲۰۰٤؛ میناکشی و همکاران، ۲۰۱۲). جلبک‌های دریایی یکی از منابع غنی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌روند (ویجسکارا و همکاران، ۲۰۱۱؛ بالبوا و همکاران، ۲۰۱۱). خاصیت آنتی‌اکسیدانی در جلبک‌ها به‌خاطر وجود توکروفول ها (میاشیتا و تاکاگی، ۱۹۸۷). کارتنوئیدها (هوسوکاوا و همکاران، ۲۰۰۹) پلی‌فنول‌ها (پاریس و همکاران، ۲۰۰۷) است. توکروفول‌ها و پلی‌فنول‌ها گیرنده رادیکال‌های آزاد هستند و با شکستن زنجیره اکسیداسیون به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند. در حالی که کارتنوئیدها با فراهم کردن اکسیژن یگانه و یا به دام انداختن رادیکال‌های آزاد، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند (سورش و همکاران، ۲۰۱۲). خاصیت آنتی‌اکسیدانی در برخی از جلبک‌های قهوه‌ای مورد مطالعه قرار گرفته و نشان داده شده است که خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها متناسب با محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌باشد (زوبیا و همکاران، ۲۰۰۷). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره جلبک‌های قهوه‌ای با مهار رادیکال‌های آزاد و هم‌چنین مکانیسم تبادل یونی و گروه‌های کربوکسیل خود قادر به اتصال یون‌های فلزی از محلول‌های آبی هستند (لابوسکا و همکاران، ۲۰۱۹). با توجه به خواص متعدد گزارش شده از عصاره جلبک‌های قهوه‌ای، بهره‌برداری از آن‌ها به‌عنوان منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی در صنایع مختلف صنعتی، پزشکی، داروسازی و آرایشی نیز توصیه شده است (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹). جلبک‌های قهوه‌ای یا فئوفیت‌ها[۱۰] گروه متفاوت (ناهمگون)[۱۱] و گسترده‌ای از جلبک‌ها را تشکیل می‌دهند. که شامل دیاتوم[۱۲]ها و کریسفیتز[۱۳] نیز می‌شوند. رنگ قهوه‌ای جلبک‌های قهوه‌ای به‌خاطر وجود رنگدانه‌های

1- H_2O_2
2- OH
3- O_2
4- NO
5- ROS
6- PG
7- BHA
8- BHT
9- TBHT

10- *Phaeophyceae*
11- Heterogeneous
12- Diatom
13- *Chrysophytes*

کاروتنوئید و فوکوزانتین می‌باشد. تاکنون، مطالعات زیادی در مورد طبقه‌بندی جلبک‌های قهوه‌ای انجام گرفته است. در حال حاضر، جلبک‌های قهوه‌ای در بیش از ۲۰۰۰ گونه، در حدود ۳۰۰ جنس، حداقل ۵۰ خانواده و ۱۹ راسته طبقه‌بندی شده‌اند (سیلبرفلد و همکاران، ۲۰۱٤). جنس جلبک‌های سارگاسوم به‌عنوان متنوع‌ترین جنس از جلبک‌های قهوه‌ای در سواحل جنوبی ایران محسوب می‌شود. از جمله گونه‌های جنس سارگاسوم در ایران می‌توان به *Sargassum virgatum*، *Sargassum vulgare*، *Sargassum tenerrimum* و *Sargassum glaucescens* اشاره کرد (کوکبی و یوسف‌زادی، ۲۰۱۵). هم‌چنین دریای سارگاسو واقع در اقیانوس اطلس براساس وجود بسیار زیادی از انواع جلبک‌های *Sargassum* نام‌گذاری شده است (هوگان و مایکل، ۲۰۱۱). براساس گزارش‌های به‌دست آمده تاکنون حدود ۲۲۰۰۰ ترکیبات طبیعی از موجودات دریازی شناسایی شده است. ترکیبات طبیعی به‌دست آمده از جلبک‌های قهوه‌ای دارای خواص ضدویروسی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد سرطانی، ضد انعقادی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی هستند (رحیمی و همکاران، ۲۰۱۳). براساس مطالعات آل و همکاران (۲۰۱۱) عصاره ماکروجلبک‌های قهوه‌ای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با ماکروجلبک‌های سبز و قرمز دارند. در بررسی نقدی و همکاران (۱۳۹۷) بر روی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی چهار گونه جلبک دریایی *Sargassum angustifolium*، *Padina astraulis*، *Cystoseria merica* و *Colopomenia sinuosa*، نتایج نشان داد که هر چهار گونه جلبک مورد مطالعه دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی مناسبی بودند. و دو گونه جلبک *Sargassum angustifolium* و *Cystoseria merica* دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تری نسبت به سایر گونه جلبک‌ها می‌باشند. در مطالعه دیگر بر روی عصاره‌های متانولی، پترولیوم اتری، اتیل استاتی، دی کلرو متانی، بوتانولی و عصاره آبی حاصل از جلبک‌های *Sargassum marginatum*، *Padina tetrastomtica* و *Turbinaria conoides* نتایج نشان داد که هر سه جلبک دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (چاندینی و همکاران، ۲۰۰۸). زوبیا و همکاران (۲۰۰۷) در پی پژوهش خود برروی ٤۸ گونه جلبک دریایی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را برای جلبک‌های قهوه‌ای ثبت کردند. در بررسی دیگر توسط حیدری و همکاران (۱۳۹٤) بر روی اثرات ضداکسیدانی عصاره سه گونه جلبک سبز، قرمز و قهوه‌ای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را جلبک قهوه‌ای *Cystoseira trinodis* ازخود نشان داد.

با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک‌های قهوه‌ای در مهار رادیکال‌های آزاد و حذف فلزات سنگین هدف از این پژوهش ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* و معرفی این جلبک به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی و بهداشتی می‌باشد.

مواد روش‌ها

جلبک سارگاسوم ولگر[1] مورد مطالعه در این پژوهش از جلبک‌های قهوه‌ای جنوب کشور می‌باشد که از سواحل کانی جزیره قشم ($26^0$34344N, $55^0$23765E) به‌صورت دستی در زمستان ۹٦ جمع‌آوری شد. سپس بلافاصله با آب دریا شستشو اولیه داده شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه و شناسایی گونه توسط پژوهشکده خلیج‌فارس و دریای عمان، برای حذف گل ولای و دیگر مواد زائد، شستشو و در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار بسته‌بندی گردید. سپس به‌منظور جلوگیری از نفوذ نور، توسط ورق‌های نازک آلومینیومی پوشانده

1- *Sargassum vulgare*

شد. نمونه‌های آماده شده با لایه‌هایی از یخ در ظرف‌های نگه دارنده مخصوص (یونولیت) حمل شده و پس از انتقال به بخش آزمایشگاه فراورده‌های شیلاتی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان، نمونه‌ها بار دیگر در آزمایشگاه به‌منظور حذف مقادیر زیاد نمک، گل‌ولای با آب شیرین شستشو داده شد سپس در درون آون در دمای ٤٨ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٢٤ ساعت خشک و در دمای اتاق به مدت ۳ روز قرار داده شد و سپس با آسیاب برقی پودر شده و تا شروع آزمایش‌های لازم در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در داخل ظرف نمونه‌گیری تیره استریل نگهداری شد (سنچز- ماچادو و همکاران، ٢٠٠٤). هم‌چنین تمام مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از شرکت[1] مرک آلمان تهیه گردید.

استخراج عصاره از جلبک سارگاسوم ولگر: ۵۰ گرم پودر جلبک با ۱ لیتر آب مقطر (به نسبت ۱ به ۲۰) مخلوط و یک‌دست شد. این سوسپانسیون روی شیکر انکوباتور (KS 4000، IKA®، آلمان) با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دور ۲۰۰rpm به‌مدت ٢٤ ساعت انکوبه شد. سپس سانتریفیوژ (EppendorfR5810، آلمان) با دور ۳۵۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انجام شد مایع رویی یا همان (عصاره) به وسیله کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر و توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی (ALPHA 1-2LD، آلمان) به مدت ۷۲ ساعت کاملاً خشک و به پودر تبدیل شد. پودر جلبک ته‌نشین شده حاصل از سانتریفیوژ خشک و وزن گردید و بار دیگر به نسبت ۱ به ۲۰ با آب مقطر همگن‌سازی شد. و تمامی مراحل بالا بار دیگر تکرارشد. و در پایان تمام عصاره‌های آبی پودر شده به‌دست آمده از مراحل فوق با هم مخلوط و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگه‌داری شد (فلورنس و همکاران ۱۹۹۵).

1- Merck

سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی

محتوای فنل کل: اندازه‌گیری میزان فنل کل با استفاده از روش کوکیلام و همکاران (۲۰۱۳) انجام گرفت. به‌طور خلاصه ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به ۲ میلی‌لیتر از کربنات سدیم[2] ۲ درصد اضافه شد. پس از ۲ دقیقه نگهداری به صورت ساکن در دمای اتاق به آن ۱۰۰ میکرولیتر از معرف فولین[3] ۵۰ درصد اضافه شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در شرایط تاریک، انکوبه شد. سپس عدد جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom، انگلستان) در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک[4] استفاده شد و در انتها نتایج برحسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بیان شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل: میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل مطابق روش ساتیا و همکاران (۲۰۱۷) سنجش شد. در این روش ۰/۳ میلی‌لیتر از نمونه در غلظت‌های (۲۰۰-۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با ۳ میلی‌لیتر از معرف (شامل: سولفوریک اسید[5] ۰/٦ مولار، سدیم فسفات[6] ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات[7] ٤ میلی‌مولار) مخلوط شد. مخلوط حاصل در دستگاه بن‌ماری (Biochrom LibraS12، آلمان) با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه، انکوبه شد. بعد از سرد شدن نمونه‌ها در دمای اتاق، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom، انگلستان) جذب نمونه‌ها در طول موج ٦٩٥ نانومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید اسکوربیک استفاده شد و در انتها نتایج برحسب میلی‌گرم آسکوربیک اسید[8] بر گرم عصاره بیان شد.

2- Na_2Co_3
3- $C_{10}H_5NaO_5S$
4- $C_7H_6O_5$
5- H_2SO_4
6- $Napo_4$
7- $(NH_4)_6Mo_7o_{24}.4H_2O$
8- $C_6H_8O_8$

فعالیت مهارکنندگی رادیکال پایدار ۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل- هیدرازیل DPPH[1]: اثر مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH براساس روش وانگ و همکاران (۲۰۱۰) سنجش شد. در این روش ۲۳/۵ میلی‌گرم پودر بنفش DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول (۱۰۰٪) حل و سپس به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق گردید. از نمونه غلظت‌های مختلف (۲۰ تا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) ساخته شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌ها با ۳/۹ میلی‌لیتر از معرف DPPH برای رسیدن به حجم ٤ میلی‌لیتر مخلوط گردید و به مدت ۱ دقیقه مخلوط شدند. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق و در شرایط انکوبه، جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom، انگلستان) در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. از متانول برای صفر نمودن دستگاه و از معرف متانولی DPPH به عنوان نمونه شاهد استفاده گردید. از اسید آسکوربیک و اسید گالیک به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. درصد بازدارندگی رادیکال DPPH عصاره جلبکی، طبق رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{توانایی رادیکال آزاد DPPH}(\%) = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100 \qquad (۱)$$

رادیکال آزاد سوپراکسید: درصد مهار رادیکال آزاد سوپر اکسید طبق روش وانگ و همکاران (۲۰۰۸) انجام گرفت. در این روش ۳ میلی‌لیتر بافر تریس هیدرو کلراید[2] ۱٦ میلی‌مولار PH ۸، ۳۳۸ میکرومولار ان ای دی اچ[3] و ۷۲ میکرومولار ان بی تی[4] و ۳۰ میکرومولار پی ام اس[5] در غلظت‌های مختلف نمونه (۱۵۳-٤/۲٦ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با هم مخلوط شد. مخلوط حاصل در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه انکوبه گردید. جذب نمونه‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom، انگلستان) در طول موج ۵٦۰ نانومتر در مقابل شاهد خوانده شد. در شاهد به‌جای نمونه از بافر تریس هیدرو کلراید استفاده شد. از اسید آسکوربیک به‌عنوان گروه کنترل مثبت استفاده شد. درصد مهارکنندگی رادیکال سوپراکسید با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\text{توانایی مهار رادیکال آزاد سوپراکسید}(\%) = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100 \qquad (۲)$$

توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن: قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن درعصاره جلبکی براساس روش وانگ و همکاران (۲۰۰۸) انجام گرفت. در این روش از عصاره غلظت‌های مختلف (۲-۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) ساخته شد. سپس ٤/۷۰۰ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۰/۱ میلی‌لیتر از کلرید آهن (II) (۲ میلی‌مولار) و ۰/۲ میلی‌لیتر از فروزین[6] (۵ میلی‌مولار) مخلوط گردید. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. و عدد جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom، انگلستان) در طول موج ۵٦۲ نانومتر خوانده شد. در نمونه شاهد از آب دیونیزه به جای محلول عصاره استفاده شد. از آب مقطر برای صفر نمودن دستگاه استفاده گردید. هم‌چنین از ادتا دی سدیم[7] به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. و توانایی شلاته‌کنندگی براساس رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{اثر شلاته‌کنندگی یون آهن}(\%) = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100 \qquad (۳)$$

1- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH
2- Hcl-Tris
3- NADH
4- NBT
5- PMS
6- $C_{20}H_{12}N_4Na_2O_6S_2$
7- EDTA-Na_2

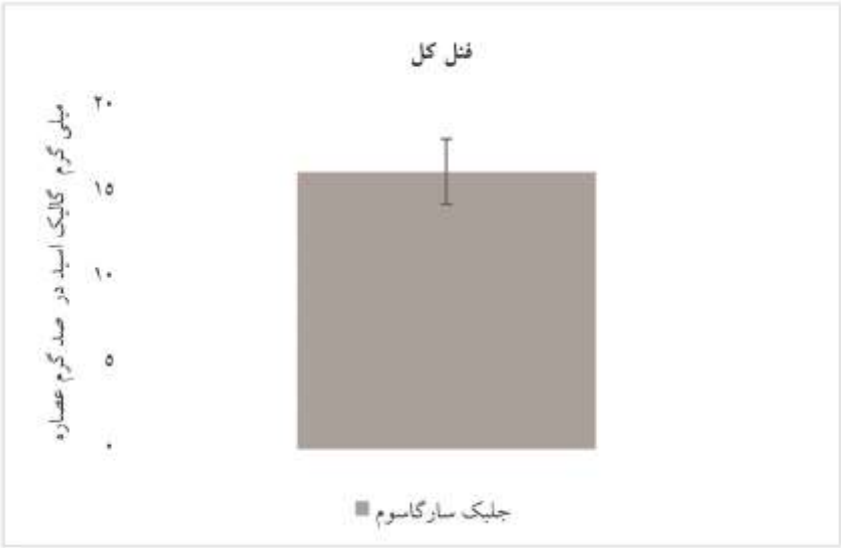
رادیکال آزاد هیدروکسیل: توانایی رادیکال آزاد هیدروکسیل با استفاده از روش وانگ و همکاران (۲۰۱۰) انجام گرفت. در این روش غلظت‌های مختلف نمونه (۱/۸۳-۰/۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با ۰/۵ میلی‌لیتر ادتا آهن[1] (۲ میلی‌مولار)، ۱ میلی‌لیتر هیدروژن پراکسید، (۳ درصد)، ۱ میلی‌لیتر زعفران (۳۶۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر) به همراه ٤/٥ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم (۱۵۰ میلی‌مولار pH ۷/٤) مخلوط شد. و مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه داخل آون قرار گرفت و جذب آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. اثر مهار رادیکال هیدروکسیل مشخص گردید. در کنترل به جای نمونه از آب مقطر و به جای هیدروژن پراکسید از بافر فسفات سدیم استفاده گردید. از اسید اسکوربیک به‌عنوان گروه کنترل مثبت استفاده شد اثر مهار رادیکال هیدروکسیل با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\text{توانایی مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل (٪)} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100 \qquad (٤)$$

آنالیز آماری: تیمارهای این مطالعه در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. همگنی داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ مورد تأیید قرارگرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد و برای بررسی اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. شکل‌ها بااستفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شد.

نتایج

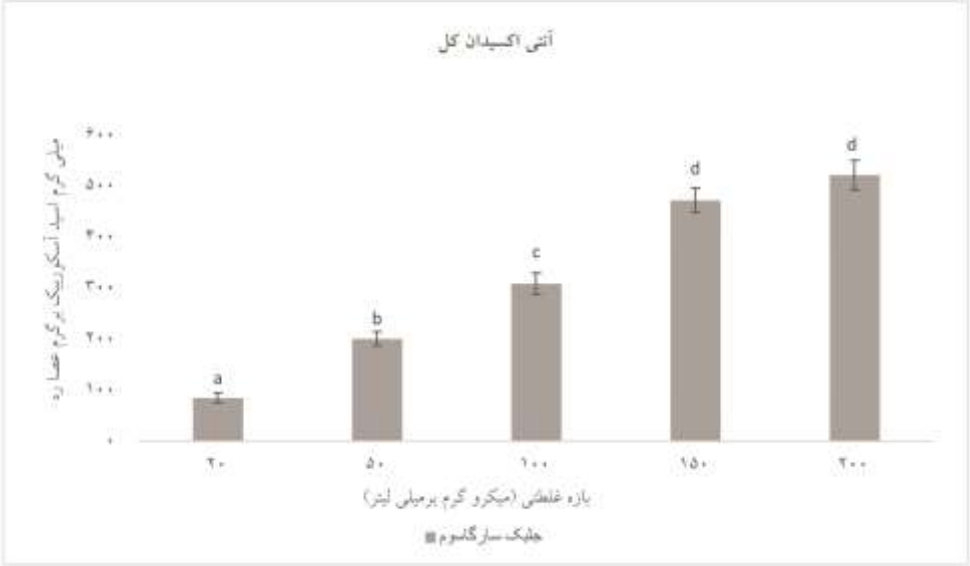
محتوای فنل کل: در شکل ۱ میزان محتوای فنل کل در عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* نشان داده شده است. مقدار فنل کل به مقدار ۱/۹۱±۱۶/۲۲ میلی‌گرم اسیدگالیک بر ۱۰۰ گرم عصاره محاسبه شد.



شکل ۱- میزان محتوای فنل کل در عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر صد گرم عصاره
نتیجه به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

1- EDTA-Fe

خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل: شکل ۲ میزان پتانسیل آنتی‌اکسیدانی در بازه غلظتی ۲۰ الی ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در جلبک *Sargassum vulgare* را نشان می‌دهد. که متناسب با افزایش غلظت از حدود ۸٤/۳۳ به ۵۲۱/۷۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم عصاره افزایش می یابد.

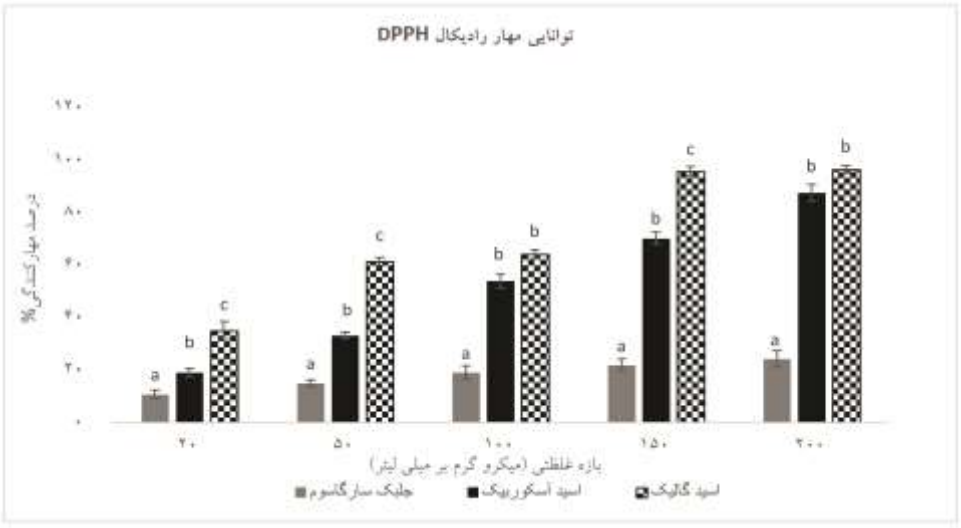


شکل ۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare*
حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵).

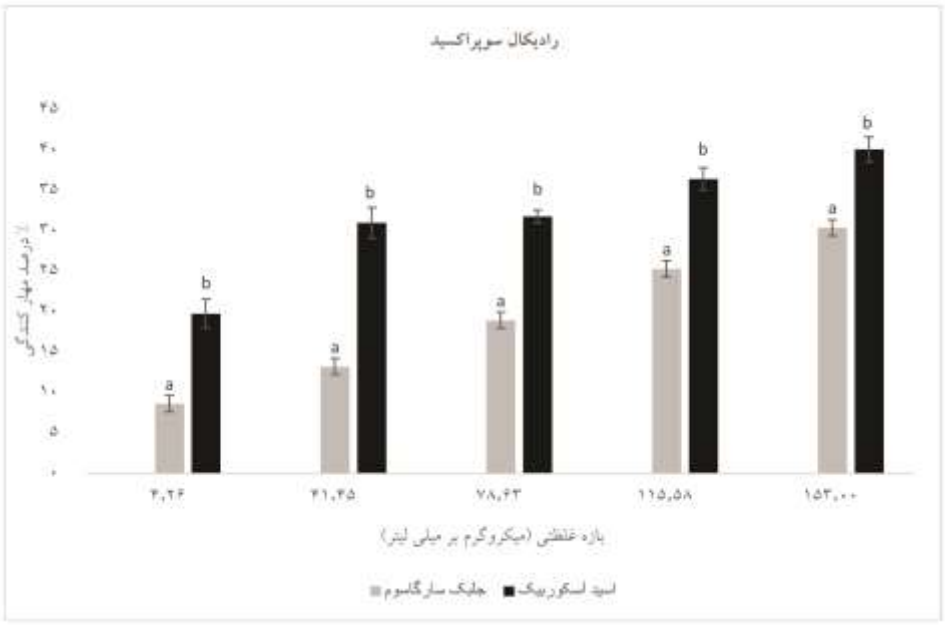
فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH: سطح توانایی مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* در شکل ۳ نشان داده شده است. در این سنجش که با استانداردهای اسیدآسکوربیک و گالیک اسید انجام گرفت. عصاره این جلبک در غلظت‌های ۲۰ الی ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب معادل ۱۰/٦۵، ۱٤/۹۳، ۱۸/۸٦، ۲۱/۷٤، ۲٤/۰۸ درصد محاسبه شد. در بالاترین غلظت عصاره که بیش‌ترین فعالیت مهارکنندگی را نشان داد گروه‌های شاهد مثبت گالیک اسید و آسکوربیک اسید به‌ترتیب دارای ۹٦/۳۳ و ۸۷/٤۳ درصد اثر مهارکنندگی بودند. اثر مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط اسیدگالیک و اسید آسکوربیک در تمامی غلظت‌ها به‌صورت معناداری از عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* بالاتر بود (P<۰/۰۵). هم‌چنین میان اسیدگالیک و اسید آسکوربیک در غلظت ۲۰۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اختلاف آماری معناداری دیده نشد (P>۰/۰۵). اما در سایر غلظت‌ها درصد مهارکنندگی اسیدگالیک به‌صورت معناداری از اسیدآسکوربیک بالاتر بود (P<۰/۰۵).

رادیکال آزاد سوپراکسید: مهار رادیکال آزاد سوپراکسید توسط عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* در شکل ٤ نشان داد شد. درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد سوپر اکسید در غلظت ٤/۲٦ تا ۱۵۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌ترتیب معادل۸/٦۲ تا ۳۰/٤۰ درصد بود که نشان می‌دهد. با افزایش غلظت درصد مهارکنندگی افزایش می‌یابد. هم‌چنین اسید آسکوربیک به‌عنوان شاهد مثبت دارای فعالیت معنی‌داری بیش‌تری در مقایسه با عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* می‌باشد (P<۰/۰۵).

توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن: خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* براساس قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن مورد ارزیابی قرار گرفت. شکل ۵ نشان‌دهنده قدرت شلاته‌کنندگی یون آهن متناسب با غلظت است. با افزایش غلظت از ۰/۱ به ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر فعالیت شلاته‌کنندگی یون آهن نیز از ۵/۹۸ به ۱۴/۰۳ درصد افزایش یافت هم‌چنین در مطالعه حاضر از آنتی‌اکسیدان مرجع $EDTA\text{-}Na_2$ به عنوان کنترل یا شاهد استفاده شد. که درصد شلاته‌کنندگی آن در تمام غلظت‌ها به‌صورت معناداری از عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* بالاتر بود ($P<0/05$).

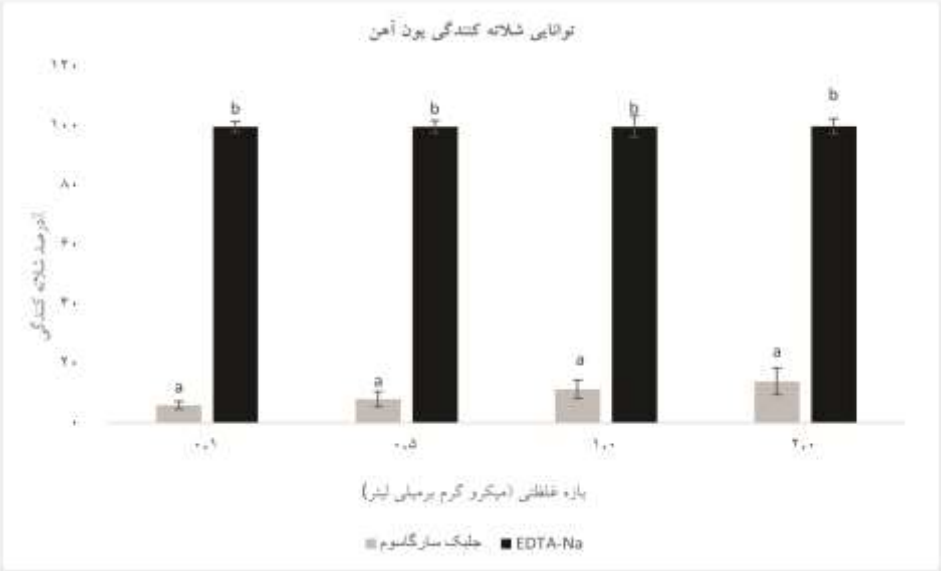


شکل ۳- توانایی مهارکنندگی رادیکال DPPH در عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare*
حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$).

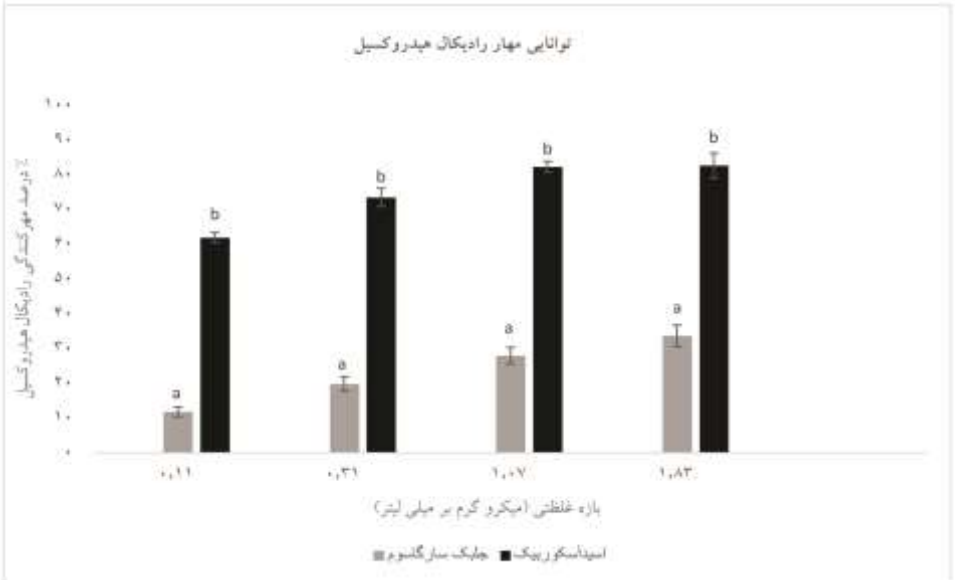


شکل ٤- درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد سوپر اکسید توسط عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare*
حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$).

توانایی رادیکال آزاد هیدروکسیل: درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد هیدروکسیل توسط عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* در شکل ٦ نشان داده شده است. مطابق با شکل، فعالیت مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل به غلظت وابسته بوده و با افزایش غلظت عصاره درصد مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل افزایش می‌یابد. عصاره جلبک قهوه‌ای به‌ترتیب کم‌ترین درصد مهارکنندگی را در غلظت ۰/۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر معادل ۱۱/۷۸ و بیش‌ترین درصد را در غلظت ۱/۸۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر معادل ۳۳/٦٥ از خود نشان داد. هم‌چنین از اسید آسکوربیک به‌عنوان شاهد استفاده شد. که در تمام غلظت‌ها به‌صورت معناداری از عصاره جلبک *Sargassum vulgare* قهوه‌ای بالاتر بود (P<۰/۰۵).



شکل ٥- توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن توسط عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare*
حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵).



شکل ٦- درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد هیدروکسیل توسط عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare*
حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵).

بحث

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که برای پیش‌گیری و یا کند نمودن آسیب‌های ناشی از واکنش‌های اکسیداسیون در بدن به‌کار می‌روند و به عنوان خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل نموده و ازاین‌رو باعث پیش‌گیری از آسیب‌های ناشی از این ترکیبات در بدن می‌شوند (اخباری و همکاران، ۲۰۱٦). خاصیت آنتی‌اکسیدانی جلبک‌ها به حضور ترکیبات فنلی در آن‌ها وابسته می‌باشد (ابراهیم‌زاده و خلیلی ۲۰۱۵). ترکیبات فنلی شامل فنل‌های ساده (با یک حلقه آروماتیک دارای دست‌کم یک گروه هیدروکسی) با دو بخش فنلی هستند که فلاونوئیدها را تشکیل می‌دهند. پژوهش‌ها همبستگی قوی بین مقدار فنل کل و توان آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک‌های دریایی نشان داده‌اند (زانگ و همکاران، ۲۰۰۷). در این پژوهش مقدار فنل کل عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* معادل ۱٦/۲۲ میلی‌گرم اسیدگالیک بر ۱۰۰ گرم عصاره محاسبه شد. در مطالعه سوجاتا و همکاران (۲۰۱۹) عصاره *Sargassum swartzii* به مقدار ۱۵/۵۳ میلی‌گرم اسیدگالیک بر ۱۰۰ گرم عصاره اندازه‌گیری شد که این مقدار نزدیک به مقدار فنل کل عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* مورد بررسی در این پژوهش می‌باشد. در بررسی دیگر توسط باباخانی و همکاران بر روی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی جلبک *Sargassum angustifolium* میزان فنل کل معادل ۲/٦۰ میلی‌گرم اسید تانیک بر حسب ماده خشک محاسبه گردید. اسولیوان و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه بر روی پنج گونه جلبک قهوه‌ای بیان کردند که میزان فنول کل به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای به نوع گونه جلبکی وابسته می‌باشد. در واقع میزان محتوای فنل کل حتی در گونه‌های مشابه می‌تواند بسیار متفاوت بوده و به اقلیم کشور، آب هوا، میزان تابش نور خورشید و جایگاهی که در ساحل داشته است بستگی داشته باشد. فلاح و همکاران (۲۰۱۲) در یک گزارش بیان کردند که ترکیبات فنلی تقریباً در تمام بخش‌های گیاه وجود دارند و در اکثر فرآیندهای فیزیولوژیک نقش دارند. از مهم‌ترین مشخصه‌های این گروه می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها اشاره کرد که به آن‌ها امکان از دست دادن هیدروژن و به دام انداختن رادیکال آزاد را می‌دهد (مازاری و همکاران، ۲۰۱۸). بررسی‌های مختلف نشان داده است که منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی محیط‌های آبی می‌باشند (ال‌دین و همکاران، ۲۰۱۹). در مطالعه حاضر پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کل عصاره جلبک *Sargassum vulgare* در بالاترین غلظت یعنی ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر معادل ۵۲۱/۷۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم عصاره محاسبه گردید. در مطالعه‌ای برروی جلبک‌های هندی *Sargassum marginatum*، *Padina tetrastomtica* و *Turbinaria conoides* بیش‌ترین قدرت آنتی‌اکسیدانی کل مربوط به جلبک *Sargassum marginatum* معادل ۰/۳۱ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم پودر جلبکی خشک شده گزارش شد (چاندینی و همکاران، ۲۰۰۸) که نسبت به عصاره آبی جلبک مورد مطالعه در این آزمایش پایین‌تر بود. در پژوهش Kokilam و همکاران (۲۰۱۳)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی چهار گونه جلبک قهوه‌ای *Padina tetrastromatica* معادل ۳٤/٦٦ *Chnoospor aminima* معادل ۲۹/۳ و *Hormophysa triquetra* معادل ۲٤ و *Sargassum wightii* معادل ۲۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید بر گرم عصاره اندازه‌گیری شد. در بررسی دیگر توسط قره‌خانی و همکاران (۱۳۹۸) بر روی عصاره آلژینات جلبک قهوه‌ای *Sargassum boveanum* جمع‌آوری شده از سواحل خلیج‌فارس فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل معادل ۲۸۲/۳٤ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم

عصاره محاسبه شد. هم‌چنین در مطالعه احدی‌فر و همکاران (۱۳۹۹) بر روی عصاره آلژینات جلبک قهوه‌ای *Padina pavonica* خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل معادل ۵۸ میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم پودر جلبکی خشک شده گزارش شد. وجود این اختلافات متعدد در نتایج مطالعات انجام گرفته در سنجش آنتی‌اکسیدانی کل جلبک‌ها می‌تواند. به‌دلیل نحوه استخراج و نوع گونه مورد بررسی باشد. با توجه به اطلاعات اندکی که در مورد قدرت آنتی‌اکسیدانی کل وجود دارد نمی‌توان مقایسه کاملی در این فاکتور انجام داد. هم‌چنین در تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره آبی جلبکی *Sargassum vulgare* روش فسفومولیبدنوم، مولیبدنوم[1] به فرم ترکیب فسفات / مولیبدنوم[2] سبز رنگ کاهش پیدا کرد (گانیسان و همکاران، ۲۰۰۸). DPPH به‌طور گسترده برای ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد استفاده می‌شود (جائو و همکاران، ۲۰۰۲). DPPH یک رادیکال ناپایدار بوده که الکترون یا هیدروژن می‌پذیرد تا به یک مولکول پایدار تبدیل شود، هم‌چنین فعالیت مهاری آنتی‌اکسیدان را با دادن هیدروژن (میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر) که با تغییر رنگ از بنفش به زرد مشخص می‌شود، کاهش می‌دهد (مگالهس و همکاران، ۲۰۰۸). در این پژوهش درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره جلبک قهوه‌ای در بالاترین غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر معادل ۲٤/۰۸ درصد محاسبه شد. در مطالعات حیدری و همکاران (۱۳۹٤) بر روی ماکروجلبک‌های سواحل شمالی خلیج‌فارس درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در جلبک قهوه‌ای *Cystoseira myrica* معادل (۷/۸ میکرومول ترولوکس[3] بر گرم وزن خشک عصاره) اندازه‌گیری شد که نسبت به جلبک مورد مطالعه در این پژوهش پایین‌تر مشاهده شد. در بررسی دیگر توسط جاسبی و همکاران (۲۰۱۳) بر روی سه گونه جلبکی سبز، قرمز و قهوه‌ای نتایج نشان داد که بالاتر ین پتانسیل رادیکالی با رادیکال آزاد DPPH را عصاره متانولی جلبک قهوه‌ای *Sargassum boveanum* ازخود دارد. برازجانی و همکاران (۲۰۱۸) در نتایج خود درصد مهار رادیکال آزاد بر روی عصاره آلژینات جلبک قهوه‌ای *Sargassum angustifolium* استخراج شده با حلال آب را معادل ۳٤/۲۸ درصد اندازه‌گیری کردند. هم‌چنین در مطالعه‌ای که بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره آلژینات جلبک قهوه‌ای *Cystoseira barbata* انجام شد نتایج نشان داد که عصاره آلژینات این جلبک توانایی مهارکنندگی ۷٤ درصد رادیکال DPPH در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم از خود دارد (سلیمی و همکاران، ۲۰۱۵). آنیون سوپراکسید به عنوان یک اکسیژن نسبتاً ضعیف به‌شمار می‌رود اما به‌طور غیرمستقیم باعث شروع پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود آنیون سوپراکسید به‌طور مداوم تجزیه شده و به فرم فعال ROS تبدیل می‌شود ROS قادر به از بین بردن سلول، غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها و تخریب پلی‌ساکارید، DNA، لیپیدها و سایر مواد حساس موجود در سلول‌ها می‌شود. بنابراین رادیکال سوپراکسید برای ترکیبات سلولی بسیار مضر می‌باشد (زانگ و همکاران، ۲۰۱۱). در این مطالعه عصاره جلبک *Sargassum vulgare* از قدرت بالایی در مهار رادیکال آزاد سوپراکسید برخوردار می‌باشد در مطالعه تاریق و همکاران (۲۰۱۵) بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و شکستن پلی‌ساکاریدی نه گونه جلبک قهوه‌ای و چهار گونه جلبک سبز و دو گونه جلبک قرمز نتایج نشان داد که تمام عصاره‌های آبی جلبک‌های مورد مطالعه از نظر درصد مهارکنندگی رادیکال سوپراکسید قدرتی

1- VI (MO_{6+})
2- V (MO_{5+})
3- $C_{14}H_{18}O_4$

مشابه با آنتی‌اکسیدان‌های اسیداسکوربیک و اسیدگالیک را از خود نشان دادند. فعالیت شلاته‌کنندگی فلزات یکی از مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که فعالیت شلاته‌کنندگی مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره جلبک موجب مهار تشکیل رادیکال‌ها و صدمات ناشی از آن‌ها می‌شود. بیان شده است که عوامل شلاته‌کننده موجود در عصاره بافلزات پیوند می‌دهند و به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های ثانویه موثر هستند (لیم و همکاران، ۲۰۰۲). در شکل ۵ توانایی شلاته‌کنندگی عصاره جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* نشان داده شده است در غلظت ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره جلبک *Sargassum vulgare* کم‌ترین قدرت و در غلظت ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیش‌ترین قدرت شلاته‌کنندگی را از خود نشان داد. بنابراین با افزایش غلظت عصاره جلبک *Sargassum vulgare* توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن نیز افزایش می‌یابد. در بررسی محمدی و همکاران (۱۳۹۵) بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک قهوه‌ای *Iyengaria stellate* توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن در عصاره جلبکی معادل ۹۱/۱٤ درصد محاسبه شد که نسبت به عصاره آبی جلبک *Sargassum vulgare* که معادل ۱٤/۰۳ درصد می‌باشد بالاتر می‌باشد. هم‌چنین در پژوهش دیگری از محمدی و همکاران (۱۳۹۷) قدرت شلاته‌کنندگی در عصاره آبی جلبک قهوه‌ای *Nizimuddinia zanardini* معادل ۷٦/۲٤ درصد محاسبه گردید. در پژوهشی دیگر در ایران توسط طاهری و همکاران (۱۳۹٦) بر روی عصاره جلبک *Cystoseira trinodis* بیش‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در آزمون شلاته‌کنندگی یون آهن مربوط به عصاره اتیل استاتی این جلبک معادل ٦۰/۹۲ درصد گزارش شد. رادیکال آزاد هیدروکسیل یکی از واکنش‌پذیرترین رادیکال‌ها می‌باشد که می‌تواند موجب صدمه دیدن مولکول‌های اطراف خود شود. پژوهش‌های انجام شده در این خصوص دو نوع عملکرد را برای رادیکال هیدروکسیل گزارش می‌دهند. عملکرد اول، جلوگیری از تشکیل رادیکال هیدروکسیل و عملکرد دوم پاکسازی رادیکال آزاد تشکیل شده می‌باشد. در مکانسیم نوع اول، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود درعصاره با تشکیل کمپلکسی با یون‌های فلزی مانع از واکنش آن‌ها با هیدروژن پراکسید می‌گردند و به این صورت از تشکیل رادیکال هیدروکسیل جلوگیری می‌کنند (زانگ و همکاران، ۲۰۱۱). جاسبی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که عصاره آبی *Cystoseira myrica* بالاترین خاصیت پاکسازی رادیکالی و عصاره متانولی کم‌ترین خاصیت پاکسازی رادیکالی را از خود دارد. در پژوهش محمدی و همکاران (۱۳۹۵) درصد مهارکنندگی رادیکال هیدروکسیل در عصاره جلبک *Iyengaria stellate* معادل ۸٤/۸٤ درصد اندازه‌گیری شد که نسبت به عصاره آبی جلبک *Sargassum vulgare* که معادل ۳۳/٦۵ درصد می‌باشد بالاتر گزارش شد.

نتیجه‌گیری کلی

ماکروجلبک‌های دریایی منبعی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌شمار می‌روند و این پتانسیلی را برای کاربرد آن‌ها در محصولات غذایی، دارویی و آرایشی و بهداشتی به‌وجود می‌آورد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که استفاده از حلال آب می‌تواند تأثیر معنی‌داری را روی خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک قهوه‌ای *Sargassum vulgare* داشته باشد. هم‌چنین عصاره جلبک *Sargassum vulgare* از میزان محتوای فنل کل قابل‌توجهی برخوردار است. در این پژوهش میزان سنجش آنتی‌اکسیدان کل، فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، رادیکال آزاد سوپراکسید، توانایی شلاته‌کنندگی یون آهن و رادیکال

آزاد هیدروکسیل نشان داد که عصاره آبی جلبک مورد مطالعه در این پژوهش توانایی بالایی در خاصیت آنتی‌اکسیدانی از خود دارد. این مطالعه به عنوان یک بررسی اولیه می‌تواند جهت استفاده از ماکروجلبک قهوه‌ای ***Sargassum vulgare*** به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی و به‌منظور توسعه و تولید محصولات غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در صنایع متعدد توصیه گردد.

منابع

Akhbari, M., Aghajani, Z., Karimi, E., and Mazochi, A. 2016. Study of chemical compoundsof essential oil and Antioxidant andantimicrobial activity of oily compounds ofmenthe longifolia. Cell Mol. Biol. Let. 6: 44-9.

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

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

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

El-Din, S.M., and Alagawany, N. 2019. Phytochemical constituents and anticoagulation property of marine algae gelidium crinale, *sargassum* hornschuchii and ulva linza. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 35: 2. 381-397.

Falleh, H., Ksouri, R., Lucchessi, M.E., Abdelly, C., and Magné, C. 2012. Ultrasound-assisted extraction: Effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of Mesembryanthemum edule L. Aizoaceae shoots. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11: 2. 243-249.

Fleurence, J., Le Coeur, C., Mabeau, S., Maurice, M., and Landrein, A. 1995. Comparison of different extractive procedures for proteins from the edible seaweeds Ulva rigida and Ulva rotundata. *Journal of Applied Phycology*, 7: 6. 577-582.

Ganesan, P., Kumar, C.S., and Bhaskar, N. 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource technology*, 99: 8. 2717-2723.

Grice, H. 1988. Enhanced Tumor Development by Butylated Hydroxyanisole (BHA) from the Perspective of Effects on Forestomach and Esophageal Squamous Epithelium. *Food Chem. and Toxicol.* 26: 717-723.

Hogan, C.M. 2011. Monosson, E.; Cleveland, C.J., eds. "Algae- 1.3 Brown_algae". *Encyclopedia* of Earth. Washington DC: National Council for Science and the Environment.

Hosokawa, M., Okada, T., Mikami, N., Konishi, I., and Miyashita, K. 2009. Bio-functions of marine carotenoids. *Food Science and Biotechnology*, 18: 1. 1-11.

Huang, H.L., and Wang, B.G. 2004. Antioxidant capacity and lipophilic content of seaweeds collected from the Qingdao coastline. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 16. 4993-4997.

Jao, C.L., and Ko, W.C. 2002. 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging by protein hydrolyzates from tuna cooking juice. *Fisheries Science*, 68: 2. 430-435.

Jassbi, A.R., Mohabati, M., Eslami, S., Sohrabipour, J., and Miri, R. 2013. Biological activity and chemical constituents of red and brown algae from the Persian Gulf. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 12: 3. 339.

Khalili, M., and Ebrahimzadeh, M.A. 2015. A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 24: 120. 188-208.

Kokabi, M., and Yousefzadi, M. 2015. Checklist of the marine macroalgae of Iran. *Botanica Marina*, 58: 4. 307-320.

Kokilam, G., Vasuki, S., and Sajitha, N. 2013. Biochemical composition, alginic acid yield and antioxidant activity of brown seaweeds from Mandapam region, Gulf of Mannar. *Journal of applied pharmaceutical science*, 3: 11. 99-104.

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

Magalhães, L.M., Segundo, M.A., Reis, S., and Lima, J.L. 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica chimica acta*, 613: 1. 1-19.

Mazarie, A., Mousavi-Nik, S.M., and Fahmideh, L. 2018. Assessments of phenolic, flavonoid and antioxidant activity of aqueous, alcoholic, methanol and acetone extracts of thirteen medicinal plants .*Nova Biologica Reperta*, 4: 4. 299-309.

Meenakshi, S., Umayaparvathi, S., Arumugam, M., and Balasubramanian, T. 2011. In vitro antioxidant properties and FTIR analysis of two seaweeds of Gulf of Mannar. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1: 1. 66-70.

Miyashita, K., and Takagi, T. 1987. Tocopherol content of Japanese algae and its seasonal variation. *Agricultural and Biological Chemistry*, 51: 11. 3115-3118

O'sullivan, A., O'callaghan, Y., O'grady, M., Queguineur, B., Hanniffy, D., Troy, D., Kerry, J., and O'brien, N. 2011. In vitro and cellular antioxidant activities of seaweed extracts prepared from five brown seaweeds harvested in spring from the west coast of Ireland. *Food chemistry*, 126: 3. 1064-1070.

Parys, S., Rosenbaum, A., Kehraus, S., Reher, G., Glombitza, K.W., and König, G.M. 2007. Evaluation of quantitative methods for the determination of polyphenols in algal extracts. *Journal of natural products*, 70: 12. 1865-1870.

Sellimi, S., Younes, I., Ayed, H.B., Maalej, H., Montero, V., Rinaudo, M., Dahia, M., Mechichi, T., Hajji, M., and Nasri, M. 2015. Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed. *International journal of biological macromolecules*, 72: 1358-1367.

Tariq, A., Athar, M., Ara, J., Sultana, V., Ehteshamul-Haque, S., and Ahmad, M. 2015. Biochemical evaluation of antioxidant activity and polysaccharides fractions in seaweeds. *Global Journal of Environmental Science and Management*, 1: 1. 47-62.

Sánchez-Machado, D., López-Cervantes, J., Lopez-Hernandez, J., and Paseiro-Losada, P. 2004. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*, 85: 3. 439-444

Sathya, R., Kanaga, N., Sankar, P., and Jeeva, S. 2017. Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsskål) C. Agardh. *Arabian Journal of Chemistry*, 10: 2608-2614.

Sherwin, E.R. 1990. *Antioxidants. In: Food Additives*. Branen R. (ed.), New York: Marcel Dekker; Pp: 139-193.

Sujatha, R., Siva, D., and Nawas, P. 2019. Screening of phytochemical profile and antibacterial activity of various solvent extracts of marine algae *Sargassum swartzii*. *World Scientific News*, 115: 27-40.

Song, H., Zhang, Q., Zhang, Z., and Wang, J. 2010. In vitro antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Bryopsis plumosa*. *Carbohydrate Polymers*, 80: 4. 1057-1061.

Suresh, V., Kumar, N.S., Murugan, P., Palani, P., Rengasamy, R., and Anbazhagan, C. 2012. Antioxidant properties of sequential extracts from brown seaweed, *Sargassum plagiophyllum*, C. Agardh. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2: 937-939.

Wang, J., Zhang, Q., Zhang, Z., and Li, Z. 2008. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International journal of biological macromolecules*, 42: 2. 127-132.

Wang, T., Jónsdóttir, R., Kristinsson, H.G., Hreggvidsson, G.O., Jónsson, J.Ó., Thorkelsson, G., and Ólafsdóttir, G. 2010. Enzyme-enhanced extraction of antioxidant ingredients from red algae *Palmaria palmata*. *LWT-Food Science and Technology*, 43: 9. 1387-1393.

Wijesekara, I., Pangestuti, R., and Kim, S.K. 2011. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. Carbohydrate Polymers, 84: 1. 14-21.

Zhang, W.W., Duan, X.J., Huang, H.L., Zhang, Y., and Wang, B.G. 2007. Evaluation of 28 marine algae from the Qingdao coast for antioxidative capacity and determination of antioxidant efficiency and total phenolic content of fractions and subfractions derived from Symphyocladia latiuscula (Rhodomelaceae). *Journal of applied phycology*, 19: 2. 97-108.

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

Zubia, M., Robledo, D., and Freile-Pelegrin, Y. 2007. Antioxidant activities in tropical marinemacroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. J. Appl. Phycol. 19: 449-58.