



University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society



Aquatic Animals Nutrition

Vol. 11, No. 3, 2025, pages: 17-30
DOI: 10.22124/janb.2026.33027.1303

RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Assessment of antioxidant activity in microalgae and macroalgae using various analytical assays and extraction solvents

Hasti Beigzadeh, Omidvar Farhadian*, Eisa Ebrahimi Dorcheh, Farideh Balali

Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, 8415683111

Received 21 May 2025 Revised 14 September 2025 Accepted 16 September 2025 Published online 11 August 2026

KEYWORDS ABSTRACT

Microalgae
Macroalgae
Antioxidant
DPPH
FRAP
ABTS

Introduction: Algae are rich in bioactive compounds and can grow in harsh environments, producing secondary metabolites with high biological value. They are considered natural sources of antioxidants, offering safer alternatives to synthetic compounds like Butylated hydroxyanisole (BHA) and Butylated hydroxytoluene (BHT). Brown algae generally exhibit higher antioxidant activity than green or red algae. Green algae, such as the genus *Ulva*, are rich in proteins, minerals, fatty acids, and antimicrobial compounds.

Materials and Methods: Microalgae (*Tetraselmis tetrathele* and *Scenedesmus quadricauda*) and macroalgae (*Sargassum ilicifolium* and *Ulva lactuca*) were collected, cleaned, dried, and powdered. Ethanolic and acetone extracts were prepared using maceration. Antioxidant activity was evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP), and 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)2/2- azinobis (ABTS) assays. All experiments were performed in triplicate, and data were analyzed using t-tests in SPSS.

Results: Antioxidant activity varied significantly with algae species, solvent, and assay type. For macroalgae, *S. ilicifolium* showed higher antioxidant activity than *U. lactuca*, with acetone extracts more effective in DPPH, while ethanol extracts were stronger in ABTS. For microalgae, ethanol extracts of *T. tetrathele* and *S. quadricauda* showed higher DPPH and FRAP activity, while ABTS results showed high antioxidant capacity for both solvents. Solvent type influenced the extraction of different antioxidant compounds.

Discussion: The results confirm that antioxidant capacity depends on species, extraction solvent, and assay method. Brown algae like *S. ilicifolium* contain diverse phlorotannins, enhancing free radical scavenging. Microalgae contain polar compounds like carotenoids and chlorophylls, which are better extracted

with ethanol. Differences among assays reflect distinct mechanisms of antioxidant action.

Conclusion: All algae studied are valuable natural sources of antioxidants. *S. ilicifolium* and *T. tetrathele* are particularly potent, highlighting the importance of species selection and extraction methods. Algae can be sustainably used in food, pharmaceutical, cosmetic, and biotechnological applications.

*Corresponding author: omfarhad@iut.ac.ir





"مقاله پژوهشی"

تعیین فعالیت ضد اکسایشی ریز جلبک‌ها و درشت‌جلبک‌ها با روش‌ها و حلال‌های مختلف

هستی بیگزاده، امیدوار فرهادیان^{*}، عیسی ابراهیمی درچه، فریده بلالی

دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، ۸۴۱۵۶۸۳۱۱

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۵/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۳۱

کلمات کلیدی

ریزجلبک
درشت‌جلبک
آنتی‌اکسیدان
DPPH
FRAP
ABTS

چکیده

جلبک‌ها به عنوان منابع طبیعی غنی از ترکیبات زیست‌فعال، دارای توان بالایی در مهار رادیکال‌های آزاد و فعالیت ضد اکسایشی هستند و به همین دلیل در پژوهش‌های زیستی و کاربردی به آنها توجه شده است. هدف این مطالعه، بررسی و مقایسه کمی فعالیت ضد اکسایشی ریزجلبک‌ها و درشت‌جلبک‌ها با استفاده از دو حلال استون و اتانول و سه روش سنجش DPPH، FRAP و ABTS بود. برای این منظور، فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌های ریزجلبک‌های *Scenedesmus quadricauda* و *Tetraselmis tetraele* و درشت‌جلبک‌های *Sargassum ilicifolium* و *Ulva lactuca* ارزیابی شدند. در سنجش DPPH، بیشترین درصد مهار رادیکال‌های آزاد در درشت‌جلبک *S. ilicifolium* با حلال‌های استون و اتانول به ترتیب ۳۵/۲ و ۷۸/۲٪ به‌دست آمد. در سنجش FRAP نیز بالاترین قدرت احیاکنندگی مربوط به حلال استون *S. ilicifolium* و حلال اتانول *U. lactuca* بود که به ترتیب ۹۴ و ۹۶/۱ میکرومول در گرم اندازه‌گیری شد. در آزمون ABTS، بیشترین مهار رادیکال‌ها در حلال‌های استون و اتانول *S. ilicifolium* و *T. tetraele* با مقادیر ۱۶/۱۳ و ۹۰/۱۷٪ بود. همچنین در آزمون FRAP، بالاترین قدرت احیاکنندگی در حلال‌های استون و اتانول *S. ilicifolium* مشاهده شد که به ترتیب ۳۷/۲ و ۵۸/۲ میکرومول در گرم بود. در آزمون ABTS نیز بیشترین مقدار مهار رادیکال آزاد در حلال استون *T. tetraele* (۹۰/۸۷٪) و حلال اتانول *S. quadricauda* (۴۱/۸۶٪) ثبت شد. به‌طور کلی، اختلاف معنی‌دار بین حلال‌های استون و اتانول در سنجش‌های DPPH و FRAP مشاهده شد، در حالی که در سنجش ABTS، تفاوت آماری تنها در برخی نمونه‌ها معنی‌دار بود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که ریزجلبک‌ها و درشت‌جلبک‌های مورد بررسی ترکیبات زیست‌فعال مؤثر داشته و می‌توانند به‌عنوان منابع طبیعی، مقرون‌به‌صرفه و ایمن ضد اکسایش در صنایع غذایی، آرایشی-بهداشتی و دیگر کاربردهای زیستی استفاده شوند.

مقدمه

جلبک‌ها، به‌ویژه جلبک‌های دریایی، به‌دلیل برخورداری از طیف گسترده‌ای از ترکیبات زیست‌فعال، به‌عنوان منابعی ارزشمند برای استخراج ترکیبات با کاربردهای زیستی و دارویی مطرح هستند. این موجودات حاوی ترکیبات آلی و معدنی متنوعی بوده و به واسطه سهولت کشت، سرعت رشد بالا و توانایی تولید متابولیت‌های ویژه در پاسخ به تغییرات شرایط محیط کشت، ظرفیت بالایی برای تولید متابولیت‌های ثانویه با ارزش زیستی بالا دارند. افزون بر این، جلبک‌ها قادرند در شرایط محیطی نامساعد رشد کنند و به دلیل دارا بودن سازوکارهای حفاظتی متنوع، مقاومت قابل توجهی در برابر آسیب‌های فیزیکی از خود نشان می‌دهند. این ویژگی‌ها سبب شده است که ترکیبات حاصل از آن‌ها فعالیت‌های زیستی متنوعی از جمله خواص ضد اکسایشی، ضد میکروبی، ضد ویروسی و ضد قارچی داشته باشند. در این میان، جلبک‌های قهوه‌ای نسبت به جلبک‌های سبز و قرمز، فعالیت ضد اکسایشی بالاتری نشان می‌دهند و از این رو، منابعی مهم و راهبردی برای کاربردهای دارویی و بهداشتی به شمار می‌روند (Kuda et al. 2002; Ale et al. 2011; Gupta et al. 2012).

گیاهان همواره به‌عنوان یکی از منابع اصلی مواد اولیه مورد استفاده در پزشکی، درمان بیماری‌ها، تغذیه انسان و دیگر جانداران شناخته شده‌اند. از مهم‌ترین ویژگی‌های گیاهان می‌توان به خاصیت ضد اکسایشی آن‌ها اشاره کرد، به‌گونه‌ای که گیاهان به‌عنوان یکی از مهم‌ترین منابع طبیعی ضد اکسایش در طبیعت محسوب می‌شوند (Hwang et al. 2001; Grubišić et al. 2022). با توجه به اثرات زیان‌بار ضد اکسایش‌های صنعتی بر سلامت انسان، از جمله جهش‌زایی و ایجاد مسمومیت، استفاده از ضد اکسایش‌های طبیعی به‌عنوان جایگزین‌های ایمن‌تر مطرح شده است (Hwang et al. 2001).

ضد اکسایش‌ها ترکیباتی هستند که از طریق مهار آغاز یا توقف انتشار واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداتیو، موجب کاهش سرعت یا جلوگیری از فرایند اکسایش اجزای یاخته‌ای می‌شوند (Song et al. 2010). به‌طور معمول، در موجودات زنده برای حفظ شرایط پایدار یاخته‌ای و تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد فعالیت ضد اکسایش‌ها

برقرار است. در صورت برهم خوردن این تعادل، فرایند اکسایش یاخته‌ای از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن آغاز می‌شود. از جمله این رادیکال‌ها می‌توان به پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل، آنیون سوپراکسید و نیتریک اکسید اشاره کرد که تحت عنوان گونه‌های فعال اکسیژن شناخته می‌شوند. این رادیکال‌ها در فرآیندهای زیستی عمدتاً در اثر تنش‌ها و شرایط استرس‌زای یاخته‌ای تولید می‌شوند (O'Sullivan et al. 2011). به‌منظور مهار رادیکال‌های آزاد، ضد اکسایش‌ها به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان افزودنی‌های غذایی استفاده می‌شوند تا از مواد غذایی در برابر تخریب اکسایشی محافظت شود. از جمله ضد اکسایش‌های مصنوعی پرکاربرد می‌توان به پروپیل گالات، بوتیل هیدروکسی‌آنیزول (BHA)، بوتیل هیدروکسی‌تولون (BHT) و تری‌بوتیل هیدروکسی‌کینون (TBHQ) اشاره کرد (Banskota et al. 2019).

جلبک‌های سبز دریایی منبع بالقوه پروتئین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه ضروری هستند و همچنین اغلب، ترکیبات ضدباکتریایی با فعالیت ضد اکسایشی دارند. از این رو منابعی از مواد مغذی مؤثر و کاربردی هستند. جنس *Ulva* جزو فراوان‌ترین جلبک‌های سبز در سواحل دریاهاست و در نواحی جزر و مدی و مناطق کم عمق به فراوانی یافت می‌شود (Uribe et al. 2019). با وجود اینکه مطالعه Nekhostin Agha و همکاران (۲۰۱۶) را می‌توان از جمله پژوهش‌های پیشگام در ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی ریزجلبک‌ها دانست، این مطالعه از برخی محدودیت‌های روش‌شناختی و محتوایی برخوردار بوده است. در پژوهش مذکور، فعالیت ضد اکسایشی تنها در گونه ریزجلبکی *Dunaliella salina* بررسی شد و فرایند استخراج ترکیبات زیست‌فعال نیز صرفاً با استفاده از حلال متانول انجام شد. افزون بر این، ارزیابی خاصیت ضد اکسایشی تنها بر پایه روش FRAP انجام شد. چنین محدودیت‌هایی موجب می‌شود که امکان ارائه تحلیلی جامع از ظرفیت ضد اکسایشی گونه‌های مختلف جلبکی و نیز مقایسه دقیق‌تر آن‌ها بر اساس روش‌های متنوع سنجش فراهم نشود. بر این اساس، پژوهش حاضر در راستای تکمیل خلأهای موجود در مطالعات پیشین و با

هدف ارائه ارزیابی جامع‌تر از توان بالقوه ضد اکسایشی جلبک‌ها طراحی و اجرا شد. در این تحقیق، فعالیت ضد اکسایشی دو گونه ریز جلبک شامل *Scenedesmus quadricauda* و *Tetraselmis tetrathele* و دو گونه درشت‌جلبک شامل *Sargassum ilicifolium* و *Ulva lactuca* بررسی و مقایسه شد. همچنین، به‌منظور افزایش کارایی استخراج ترکیبات زیست‌فعال و دستیابی به ارزیابی دقیق‌تر، از دو حلال استون و اتانول استفاده شد و سنجش فعالیت ضد اکسایشی نمونه‌ها با بهره‌گیری از سه روش مکمل و معتبر FRAP، DPPH و ABTS انجام شد.

وجه تمایز و نوآوری این پژوهش در اتخاذ رویکردی جامع، مقایسه‌ای و چندبعدی نهفته است، به‌گونه‌ای که برخلاف مطالعات پیشین، این تحقیق صرفاً به بررسی یک گونه یا یک روش سنجش محدود نشده، بلکه با مقایسه هم‌زمان ریز جلبک‌ها و درشت‌جلبک‌ها، استفاده از حلال‌های استخراج متفاوت و به‌کارگیری چندین آزمون سنجش فعالیت ضد اکسایشی، ارزیابی دقیق‌تر، ساختارمندتر و مبتنی بر شواهد تجربی از ظرفیت ضد اکسایشی گونه‌های جلبکی ارائه می‌کند. نتایج این پژوهش می‌تواند افزون بر توسعه دانش موجود در حوزه زیست‌فعال‌های جلبکی، زمینه را برای شناسایی گونه‌های دارای بیشترین توان فعالیت ضد اکسایشی و بهره‌برداری از آن‌ها به‌عنوان منابع طبیعی، ایمن و کارآمد در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی-بهداشتی فراهم سازد.

مواد و روش‌ها

تهیه استوک ریز جلبک *Tetraselmis tetrathele*
استوک خالص ریز جلبک *T. tetrathele* از مرکز مطالعات دانشگاه خلیج فارس بوشهر تهیه، و در آزمایشگاه کشت و نگهداری جلبک‌های میکروسکوپی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان استفاده شد. در محل نمونه‌برداری دما، pH، اکسیژن محلول و شوری آب اندازه‌گیری شد که به‌ترتیب برابر با ۲۸ درجه سانتی‌گراد، ۸/۱، ۷/۱ میلی‌گرم در لیتر و ۳۹/۶ گرم در لیتر بود. شوری آب دریا با استفاده از آب مقطر به ۲۵ گرم در لیتر تنظیم شد و به منظور اطمینان از خالص بودن استوک، نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ اینورت بررسی شدند.

پرورش ریز جلبک به صورت اتوتروف در محیط کشت کانوی و در ارلن مایرهای ۵ لیتری انجام شد. ترکیبات محیط کشت کانوی شامل (g) ۱۰۰ NaNO_3 ، (g) ۴۵ disodium EDTA ، (g) ۳۳/۶ H_3BO_3 ، (g) ۲۰ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ، (g) ۱/۳ $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ، (g) ۰/۳۶ $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ و محلول عناصر کم‌مصرف (۱ mL) بود. محلول عناصر کم‌مصرف شامل (g) ۲/۱ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ، (g) ۰/۹ $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ، تیامین (g) ۰/۲، سیانوکوبالامین (g) ۰/۰۱ و (g) ۲۰ KNO_3 در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. به ازای هر لیتر آب دریا، ۱ میلی‌لیتر عناصر پرمصرف، ۰/۵ میلی‌لیتر عناصر کم‌مصرف و ۰/۱ میلی‌لیتر ویتامین‌ها افزوده و pH محیط در ۸ تنظیم شد. کلیه محیط‌ها و تجهیزات به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه اتوکلاو (مدل A۱۲۱، ساخت ایران) استرون شدند. پس از هم‌دما شدن، محلول ویتامین به محیط کشت افزوده و سپس ۲۰۰ میلی‌لیتر از استوک ریز جلبک *T. tetrathele* تلقیح شد. کشت‌ها در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد و در شدت نور مداوم ۳۵ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه نگهداری شدند (Schuler et al. 2020). پس از ۸ روز و در انتهای فاز رشد لگاریتمی، کشت‌ها به‌عنوان استوک اصلی استفاده شدند.

تهیه محیط کشت و شرایط پرورش ریز جلبک *Scenedesmus quadricauda*

برای کشت ریز جلبک *S. quadricauda*، به ازای هر لیتر آب مقطر، ۱۳ میلی‌لیتر از مجموع استوک‌های محیط کشت BBM شامل ۱۰ میلی‌لیتر از استوک اصلی کشت (عناصر نیتروژن و فسفر) و از هر یک از استوک‌های عناصر کم مصرف و محلول ویتامین هر کدام مقدار ۱ میلی‌لیتر مطابق دستورالعمل در ارلن مایر شیشه‌ای افزوده شد. در این مرحله، pH محیط کشت با استفاده از دستگاه pH متر (مدل لب ترون) تنظیم و کنترل شد. سپس ظروف حاوی محیط کشت به همراه لوله‌های هواده و اسفنج‌های مربوطه به مدت ۱۵ دقیقه در

نمونه به حلال ۱:۲۵ استفاده شد. به این منظور، نمونه‌های توزین شده در حضور اتانول و استون ۸۰٪ در هاون همگن‌سازی، و سپس به لوله‌های فالتون منتقل شدند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار گرفتند تا استخراج کامل شود. پس از استخراج، نمونه‌ها با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (Hettich ROTINA 380, Germany) شدند. فاز فوقانی با استفاده از کاغذ صافی واتمن فیلتر، و به فالتون‌های تازه منتقل شد و تا زمان انجام آزمایش‌ها در یخچال نگهداری شد. ظرفیت ضد اکسایشی نمونه‌ها نیز با سه روش مختلف ارزیابی شد.

ارزیابی ظرفیت ضد اکسایشی عصاره‌ها به روش DPPH

این روش بر مبنای خنثی‌سازی رادیکال آزاد DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) توسط ضد اکسایش‌هاست، فرآیندی که در غیاب هر گونه رادیکال آزاد دیگر انجام می‌شود. در نتیجه این واکنش، تغییر رنگی در محیط ایجاد می‌شود که شدت آن با استفاده از دستگاه طیف‌سنج قابل اندازه‌گیری است. در این روش، درصد مهار رادیکال آزاد از طریق سنجش میزان تغییر رنگ DPPH از بنفش به زرد در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانش و سپس درصد بازدارندگی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Olasehinde et al. 2019):

$$\text{Scavenging Activity (\%)} = (\text{AC} - \text{AS} / \text{AC}) \times 100$$

Scavenging Activity (%): درصد بازدارندگی؛ AC: جذب نمونه شاهد (متانول)؛ AS: میزان جذب نوری نمونه‌ها

شد. محلول FRAP حاوی بافر استات ۰/۳ مولار (۳/۱) گرم استات سدیم و ۱۶ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لیتر آب مقطر) با pH= ۳/۶ TPTZ، ۱۰ میلی‌مولار (۰/۳ گرم TPTZ) در ۴۰ میلی‌مولار HCl و محلول کلرید آهن (III) ۲۰ میلی‌مولار (۰/۵ گرم کلرید آهن در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به نسبت‌های ۱۰:۱:۱ بود. برای تهیه محلول استاندارد نیز از سولفات آهن (FeSO₄/7H₂O) استفاده شد. در این روش ۴۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها را درون فالتون ریخته و ۲/۵ میلی-

دستگاه اتوکلاو (مدل A۱۲۱، ساخت ایران) در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد سترون شدند. پس از سرد شدن محیط کشت، مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر از ذخیره اولیه جلبکی به هر ارن افزوده شد. کشت‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۶۰ میکروفتون بر مترمربع بر ثانیه و در دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند (Nichols 1973).

تهیه و شرایط درشت‌جلبک‌ها (*Sargassum* (*Ulva lactuca* و *ilicifolium*)

نمونه‌های مورد بررسی در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۷ از منطقه جزر و مدی بندر لنگه، در مجاورت ایستگاه تحقیقاتی تکثیر و پرورش نرم‌تنان خلیج فارس جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها بلافاصله پس از برداشت، در کیسه‌های نایلونی حاوی آب دریا نگهداری و به دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل شدند. پس از جداسازی ناخالصی‌ها، جلبک‌ها با آب مقطر شستشو داده شده و برای خشک کردن، به مدت پنج روز در سایه و در دمای اتاق قرار گرفتند. در نهایت، نمونه‌های خشک‌شده با استفاده از آسیاب برقی به‌طور کامل پودر و برای انجام آزمایش‌های بعدی استفاده شدند (Javadi, 2021).

ارزیابی ظرفیت ضد اکسایشی عصاره زی‌توده ریزجلبک‌ها و درشت‌جلبک‌ها

برای تهیه عصاره‌های اتانولی و استونی نمونه‌های جلبکی، از روش ماسراسیون (Herrero et al. 2006) با نسبت

ارزیابی ظرفیت ضد اکسایشی عصاره‌ها به روش FRAP

سنجش FRAP یکی از روش‌های اساسی برای غربالگری فعالیت ضد اکسایش است. روش FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) با TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s- triazine) انجام شد؛ به شکلی که احیای یون فریک و تبدیل آن به یون فرو در pH اسیدی و در حضور TPTZ تشکیل شد. پس از آن سنجش نوری در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری

لیتر از استوک FRAP را اضافه کرده و به مدت ۵ دقیقه در دستگاه بنماری قرار دادیم و در ادامه جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل JENW AY 6300) در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانش شد (Benzie and Strain, 1996).

ارزیابی ظرفیت ضد اکسایشی عصاره‌ها به روش ABTS

فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌ها با روش حذف رادیکال کاتیونی ABTS ((3-ethylbenzothiazoline-6-)) (2/2- azinobis(sulfonate) تعیین شد. محلول استوک، با مخلوط کردن ۷ میلی‌مولار و پتاسیم پرسولفات ۲/۴ میلی‌مولار تهیه شد و یک محلول سبز

رنگ به‌دست آمد. سپس معرف ABTS به مدت ۱۶ ساعت در شرایط تاریکی نگهداری شد تا واکنش به طور کامل انجام شده و محلول پایدار شود. در مرحله بعد محلول ABTS به کمک بافر فسفات (PBS) رقیق شد تا میزان جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر به ۰/۷ برسد. سپس، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های اتانولی و استونی با ۲ میلی‌لیتر از معرف ABTS مخلوط و به مدت ۶ دقیقه در تاریکی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت، میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل JENW AY 6300) در طول موج ۷۳۴ نانومتر خوانش شد. درصد مهار رادیکال ABTS نیز بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Re et al. 1999):

$$\text{Scavenging Activity (\%)} = (\text{AC} - \text{AS} / \text{AC}) \times 100$$

Scavenging Activity(%): درصد بازدارندگی؛ AC: جذب نمونه شاهد (متانول)؛ AS: میزان جذب نوری نمونه‌ها

سنجش آماری

اندازه‌گیری مقدار ضد اکسایشی نمونه‌های ریزجلبک و درشت‌جلبک با استفاده از روش‌های متداول و به کارگیری دو نوع حلال و با سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها که شامل مقایسه دو به دو بود، با استفاده از آزمون t-test انجام شد. تمامی آزمون‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ انجام شد و نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج

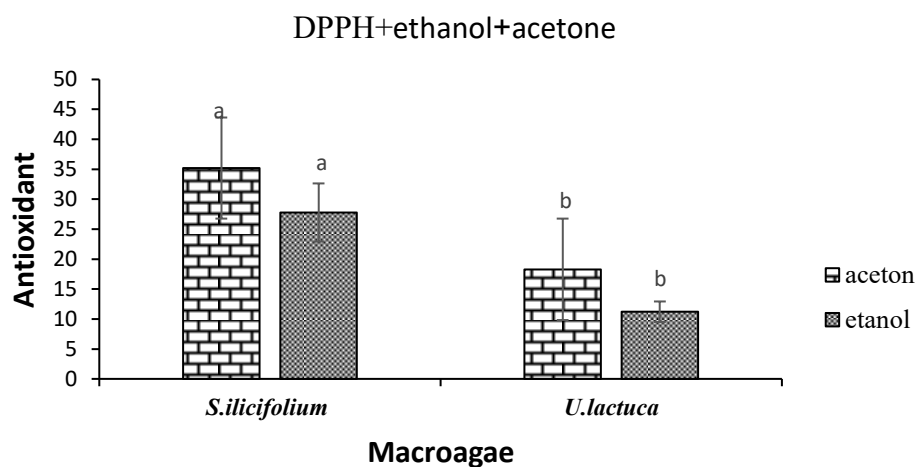
عملکرد ضد اکسایشی عصاره درشت‌جلبک‌ها

نتایج این پژوهش نشان داد که مقادیر ضد اکسایشی عصاره‌های دو گونه درشت‌جلبک *Sargassum ilicifolium* و *Ulva lactuca* به‌طور معنی‌دار تحت تأثیر نوع حلال استخراج‌کننده و گونه جلبکی قرار دارد. در سنجش مهار رادیکال آزاد DPPH، حلال استون در هر دو گونه، فعالیت ضد اکسایشی بالاتری نسبت به حلال اتانول نشان داد (شکل ۱). این موضوع می‌تواند بیانگر توانایی بیشتر استون در استخراج ترکیبات فنولی با قطبیت متوسط و ترکیبات لیپوفیل مؤثر در مهار رادیکال‌های آزاد باشد (Sarani Yaztapeh et al. 2020). همچنین، مقایسه بین دو گونه نشان داد که *S.*

ilicifolium در هر دو حلال فعالیت ضد اکسایشی بالاتری نسبت به *U. lactuca* دارد که احتمالاً به تفاوت در ترکیب شیمیایی و میزان متابولیت‌های ثانویه مانند پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها مربوط است (حدود ۳۵٪). در سنجش FRAP، الگوی متفاوتی مشاهده شد، به طوری که در *S. ilicifolium*، حلال استون ظرفیت احیایی بالاتری نسبت به حلال اتانول نشان داد (حدود ۱ میکرومول در گرم؛ شکل ۲)، در حالی که در *U. lactuca* حلال اتانول فعالیت ضد اکسایشی بیشتری نسبت به حلال استون داشت (حدود ۱/۹۶ میکرومول در گرم). این اختلاف ممکن است ناشی از تفاوت در نوع ترکیبات احیاکننده استخراج شده توسط هر حلال باشد، به طوری که اتانول احتمالاً ترکیبات قطبی‌تر با توان احیای آهن بالاتر را در *U. lactuca* استخراج می‌کند. نتایج حاصل از سنجش ABTS در شکل ۳ نیز نشان داد که در هر دو گونه، حلال اتانول فعالیت ضد اکسایشی بیشتری نسبت به حلال استون دارد. برای مثال، حلال اتانول *S. ilicifolium* فعالیت ضد اکسایشی بیشتری از خود نشان داد (حدود ۹۶/۵٪). از آنجا که سنجش ABTS قادر به شناسایی ترکیبات ضد اکسایشی قطبی و غیرقطبی است، برتری حلال اتانول ممکن است به استخراج مؤثرتر ترکیبات فنولی محلول در حلال‌های

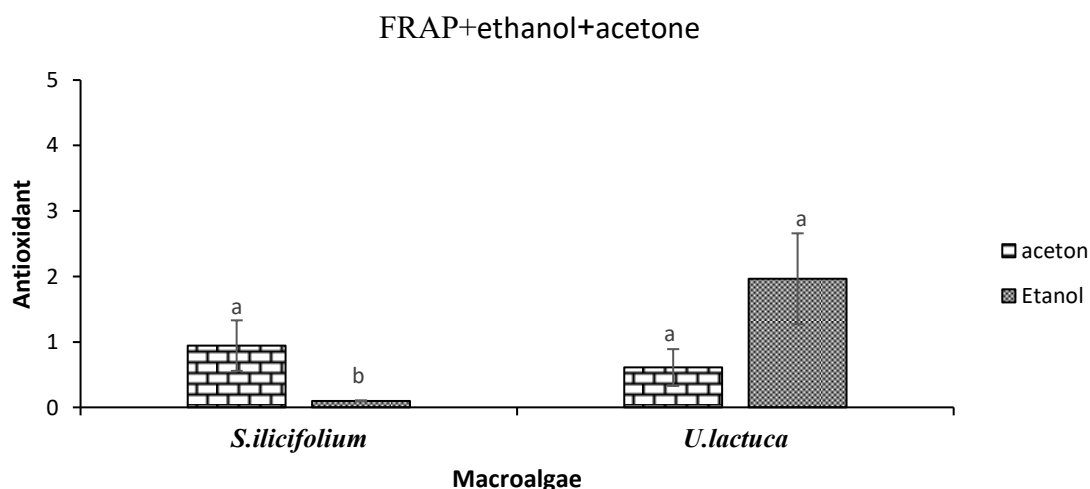
حلال در استخراج ترکیبات ضد اکسایشی در درشت جلبک‌ها باشد.

قطبی اشاره داشته باشد. به‌طور کلی، تفاوت نتایج در سنجش‌های مختلف نشان‌دهنده مکانیسم‌های متفاوت ارزیابی مقدار ضد اکسایشی و نقش تعیین‌کننده نوع



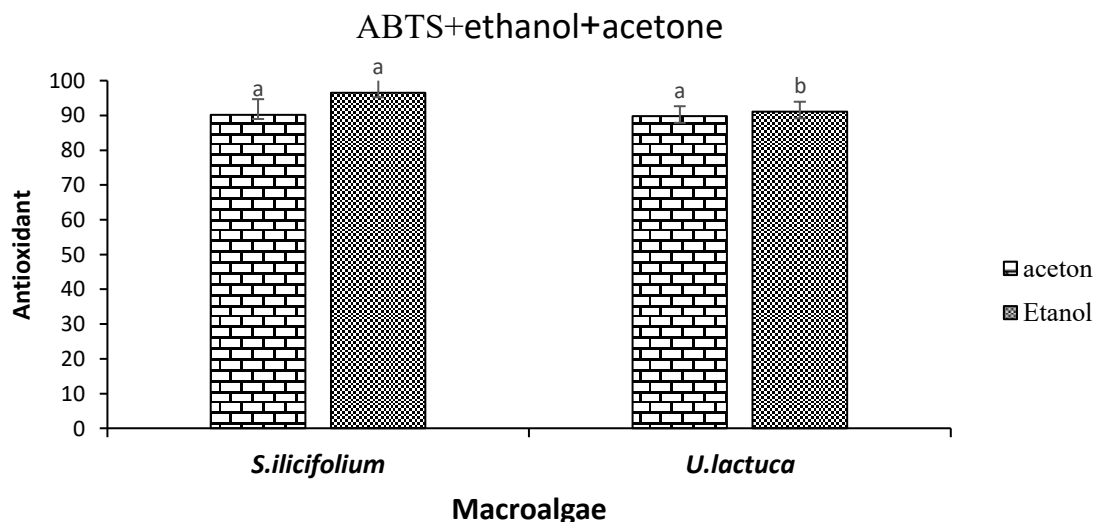
شکل ۱ میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) مقدار ضد اکسایشی DPPH درشت جلبک *S. ilicifolium* و *U. lactuca* با استفاده از حلال استون و حلال اتانول. میانگین‌هایی با حروف متفاوت، تفاوت آماری معنی‌دار با هم دارند ($P < 0.05$).

Figure 1. Mean ($\pm$ SE) DPPH antioxidant activity of the macroalgae *S. ilicifolium* and *U. lactuca* using acetone and ethanol solvents. Means followed by different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).



شکل ۲ میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) مقدار ضد اکسایشی FRAP درشت جلبک *S. ilicifolium* و *U. lactuca* با استفاده از حلال استون و حلال اتانول. میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت هستند، تفاوت آماری معنی‌دار با هم دارند ($P < 0.05$).

Figure 2. Mean ($\pm$ SE) FRAP antioxidant activity of the macroalgae *S. ilicifolium* and *U. lactuca* using acetone and ethanol solvents. Means bearing different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

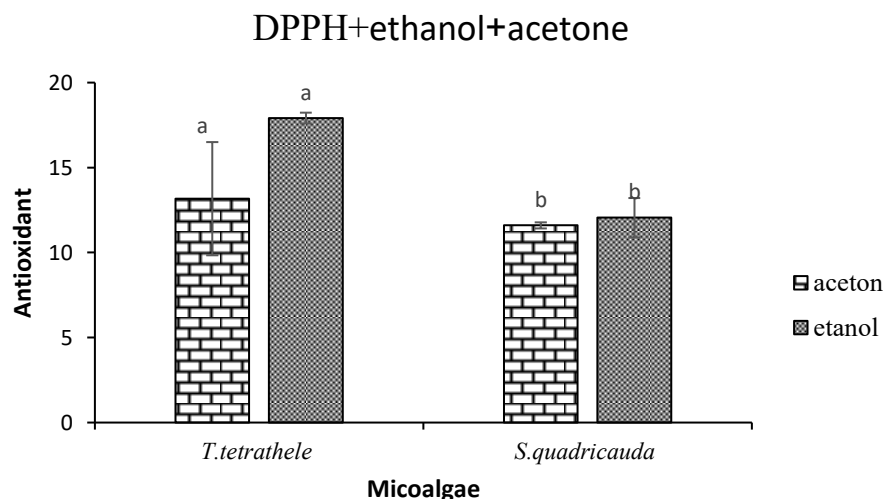


شکل ۳ میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) مقدار ضد اکسایشی ABTS درشت‌جلبک *S. ilicifolium* و *U. lactuca* با استفاده از حلال استون و حلال اتانول. میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت هستند، تفاوت آماری معنی‌دار با هم دارند ($P < 0.05$).
Figure 3. Mean ($\pm$ SE) ABTS antioxidant activity of the macroalgae *S. ilicifolium* and *U. lactuca* using acetone and ethanol solvents. Means with different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

نشان داد. در گونه *S. quadricauda* نیز حلال اتانول (حدود ۱/۶ میکرومول) فعالیت ضد اکسایشی بالاتری نسبت به حلال استون (حدود ۱/۵ میکرومول) نشان داد. به طور کلی، در هر دو گونه ریزجلبکی، حلال اتانول نسبت به حلال استون قدرت احیای بیشتری در سنجش FRAP داشتند. نتایج روش ABTS نیز نشان داد که هر دو عصاره استونی و اتانولی ریزجلبک‌ها دارای مقدار ضد اکسایش بالایی هستند (شکل ۶). در گونه *T. tetrahele* حلال استون بیشترین میزان مهار رادیکال ABTS را نشان داد (حدود ۰/۸۷)، در حالی که فعالیت ضد اکسایشی حلال اتانول این گونه (حدود ۰/۸۳) کمتر بود. در گونه *S. quadricauda* حلال اتانول (حدود ۰/۸۷) فعالیت ضد اکسایشی بالاتری نسبت به حلال استون (حدود ۰/۸۵) نشان داد. به طور کلی، نتایج سنجش ABTS بیانگر توانایی ضد اکسایشی بالای هر دو عصاره در هر دو گونه ریزجلبکی است، اگرچه اختلاف اندکی بین نوع حلال استخراج کننده مشاهده شد.

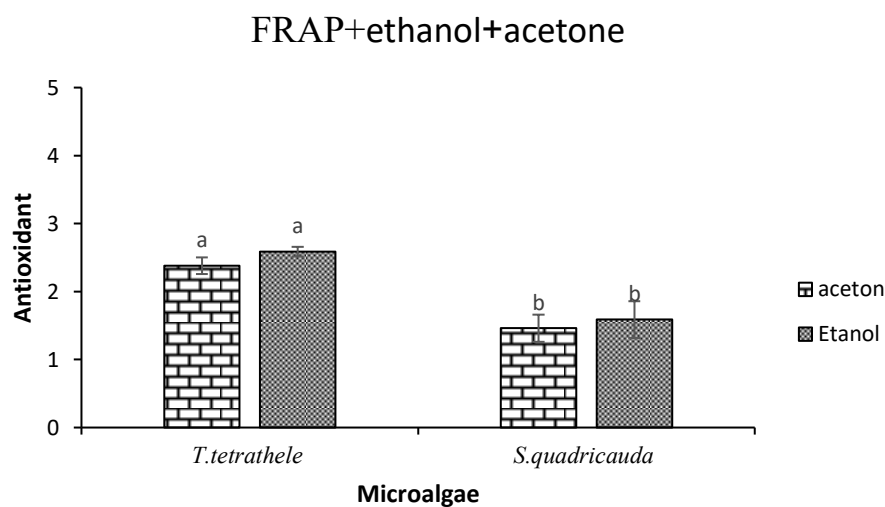
عملکرد ضد اکسایشی عصاره ریزجلبک‌ها

نتایج آزمون DPPH نشان داد که عصاره‌های استونی و اتانولی ریزجلبک‌ها دارای فعالیت ضد اکسایشی متفاوتی هستند (شکل ۴). در گونه *T. tetrahele* حلال اتانول بیشترین میزان فعالیت ضد اکسایشی را نشان داد (حدود ۰/۱۸)، در حالی که حلال استون این گونه مقدار کمتری (حدود ۰/۱۳) را به خود اختصاص داد. در گونه *S. quadricauda* نیز فعالیت ضد اکسایشی حلال اتانول (حدود ۰/۱۲) اندکی بیش از حلال استون (حدود ۰/۱۱) بود. به طور کلی، حلال اتانول در هر دو ریزجلبک نسبت به حلال استون توان مهار رادیکال آزاد DPPH بالاتری نشان داد. نتایج سنجش FRAP نشان داد که قدرت احیای آهن در عصاره استونی و اتانولی ریزجلبک‌ها متفاوت است (شکل ۵). در گونه *T. tetrahele* حلال اتانول فعالیت ضد اکسایشی بیشتری را (حدود ۲/۶ میکرومول) نسبت به حلال استون (حدود ۲/۴ میکرومول)



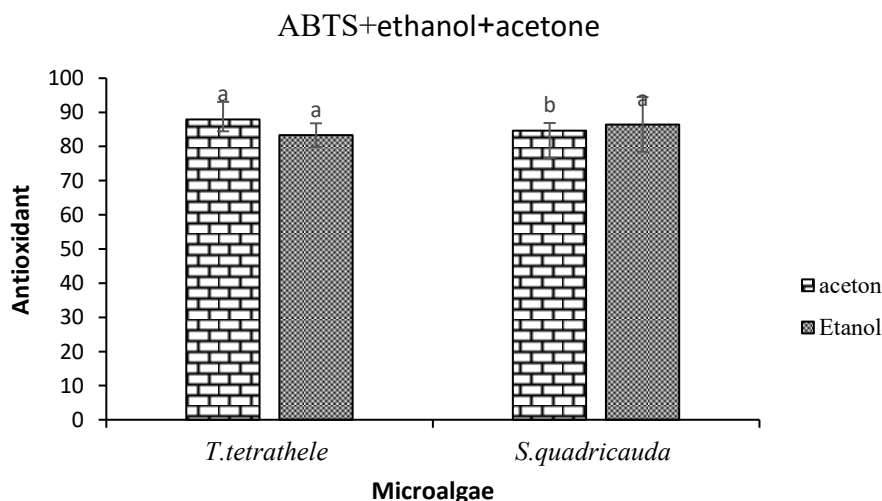
شکل ۴ میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) مقدار ضد اکسایشی DPPH ریز جلبک *T. tetrathele* و *S. quadricauda* با استفاده از حلال استون و اتانول. میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت هستند، تفاوت آماری معنی‌دار با هم دارند ($P < 0.05$).

Figure 4 Mean ($\pm$ SE) DPPH antioxidant activity of the microalgae *T. tetrathele* and *S. quadricauda* using acetone and ethanol solvents. Means with different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).



شکل ۵ میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) مقدار ضد اکسایشی FRAP ریز جلبک *T. tetrathele* و *S. quadricauda* با استفاده از حلال استون و اتانول. میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوت هستند، تفاوت آماری معنی‌دار با هم دارند ($P < 0.05$).

Figure 5 Mean ($\pm$ SE) FRAP antioxidant activity of the microalgae *T. tetrathele* and *S. quadricauda* using acetone and ethanol solvents. Means with different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).



شکل ۶ میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) مقدار ضد اکسایشی ABTS ریز جلبک *T. tetrahele* و *S. quadricauda* با استفاده از حلال استون و اتانول. میانگین‌هایی دارای حروف متفاوت، تفاوت آماری معنی‌دار با هم دارند ($P < 0.05$).

Figure 6 Mean ($\pm$ SE) ABTS antioxidant activity of the microalgae *T. tetrahele* and *S. quadricauda* using acetone and ethanol solvents. Means with different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که ظرفیت ضد اکسایشی عصاره‌های ریز جلبک‌ها و درشت‌جلبک‌ها به‌طور معنی‌دار تحت تأثیر گونه جلبکی، نوع حلال استخراج و روش سنجش فعالیت ضد اکسایشی قرار دارد. چنین وابستگی شدید به حلال و گونه، پیش‌تر نیز در مطالعات مختلف گزارش شده است، به‌طوری که نوع حلال ممکن است به‌طور قابل توجهی بر فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌های جلبک اثر بگذارد (Monteiro et al. 2020). در درشت‌جلبک‌ها، فعالیت ضد اکسایشی به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر گونه جلبکی و نوع حلال استخراج کننده قرار دارد. فعالیت ضد اکسایشی بالاتر مشاهده شده در گونه *S. ilicifolium* نسبت به *U. lactuca* را می‌توان به تفاوت‌های اساسی در ترکیب شیمیایی این دو گروه نسبت داد. جلبک‌های قهوه‌ای، از جمله گونه‌های جنس *Sargassum*، به‌طور گسترده به‌عنوان منابع غنی فلوروئان‌ها شناخته می‌شوند؛ ترکیباتی که به دلیل ساختار فنولی پیچیده، توانایی بالایی در مهار رادیکال‌های آزاد و واکنش‌های اکسایشی دارند. میزان و تنوع فلوروئان‌ها در جلبک‌های قهوه‌ای می‌تواند عامل

اصلی تفاوت در ظرفیت ضد اکسایشی آن‌ها در مقایسه با جلبک‌های سبز باشد (Heffernan et al. 2015). تفاوت عملکرد عصاره استونی و اتانولی در سنجش‌های مختلف درشت‌جلبک‌ها نشان‌دهنده آن است که هر حلال گروه متفاوتی از ترکیبات ضد اکسایشی را استخراج می‌کند. برتری حلال استون در سنجش DPPH، به ویژه در *S. ilicifolium* را می‌توان به استخراج مؤثرتر ترکیبات لیپوفیل و فنولی با قطبیت متوسط مرتبط دانست؛ ترکیباتی که تمایل بیشتری به واکنش با رادیکال‌های پایدار دارند. در مقابل، فعالیت بالاتر حلال اتانول در سنجش ABTS احتمالاً ناشی از استخراج ترکیبات فنولی قطبی‌تر و محلول در فاز آبی است. مطالعات متعدد نشان داده است که پاسخ سنجش‌های ضد اکسایشی به‌شدت به ماهیت شیمیایی ترکیبات غالب در عصاره‌ها و نوع حلال استخراج کننده وابسته است (Messyasz et al. 2018). در سنجش FRAP، اختلاف مشاهده شده بین گونه‌ها و حلال‌ها بیانگر تفاوت در نوع ترکیبات احیا کننده استخراج شده است.

فعالیت بالاتر حلال اتانول *U. Lactuca* مشاهده شده ممکن است ناشی از حضور ترکیباتی با توان بالاتر در

Chlorella sp. ED53 را با استفاده از سنجش DPPH، بررسی توانایی کلاته‌کنندگی یون آهن و مهار پراکسیداسیون چربی ارزیابی کردند. این نتایج نشان داد که عصاره اتانولی هر سه گونه ریز جلبک فعالیت ضد اکسایشی بیشتری را در مقایسه با عصاره‌های آبی دارند که ممکن است به علت حضور بیشتر مواد ضد اکسایشی همچون کاروتنوئیدها، کلروفیل a و b در این عصاره باشد. Hassan Soltan و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای از متانول و هگزان به‌عنوان حلال برای استخراج رنگدانه‌ها و ترکیبات ضد اکسایشی از چهار گونه جلبک سبز شامل *Selenastrum* sp.، *Chlorella*، *Chlamydomonas debaryana* و *sorokiniana* استفاده کردند. نتایج نشان داد که بیشترین مقادیر کلروفیل‌های a و b در عصاره‌های متانولی، در مقایسه با عصاره‌های هگزانی، مشاهده می‌شود.

نتیجه‌گیری

هدف اصلی این پژوهش، ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی علف‌های دریایی *S. ilicifolium* و *U. lactuca* و ریز جلبک‌های *S. quadricauda* و *T. tetrathele* با استفاده از سه روش DPPH، FRAP و ABTS و دو نوع حلال استون و اتانول بوده است. تمامی نمونه‌های مورد بررسی دارای توان بالقوه ضد اکسایشی قابل توجهی بودند که در میان آن‌ها نمونه‌های *S. ilicifolium* و *T. tetrathele* منابع برجسته ضد اکسایش طبیعی شناسایی بودند. این مطالعه اهمیت انتخاب گونه‌های مناسب و به‌کارگیری روش‌های بهینه استخراج و اندازه‌گیری را در تولید فرآورده‌های طبیعی با فعالیت ضد اکسایشی بالا نشان می‌دهد و تأکید می‌کند که بوم سازگان آبی، منبع غنی از ترکیبات مؤثر هستند که می‌توانند به‌طور ایمن و پایدار در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی-بهداشتی و زیست فناوری استفاده می‌شوند.

منابع

Ale, M.T., Maruyama, H., Tamauchi, H., Mikkelsen, J.D., Meyer, A.S. 2011.

انتقال الکترون و احیای یون آهن باشد. این موضوع نشان می‌دهد که حتی گونه‌هایی با فعالیت پایین‌تر در مهار رادیکال‌های آزاد ممکن است در مکانیسم‌های دیگر ضد اکسایشی، مانند قدرت احیایی، عملکرد قابل توجهی داشته باشند. در ریز جلبک‌ها، برتری حلال اتانول در سنجش‌های DPPH و FRAP در گونه‌های *S. quadricauda* و *T. tetrathele* با نتایج مطالعات پیشین همخوانی دارد. در بسیاری از ریز جلبک‌ها، حلال‌های قطبی مانند اتانول توانایی بیشتری در استخراج ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات احیاکننده دارند که نقش مهمی در مهار رادیکال‌های آزاد و افزایش ظرفیت احیایی آهن ایفا می‌کنند (Coulombier et al. 2021). این نتایج را می‌توان به ماهیت ترکیبات ضد اکسایشی غالب در ریز جلبک‌ها نسبت داد. برخلاف درشت‌جلبک‌ها، ریز جلبک‌ها اغلب حاوی ترکیبات فنولی ساده‌تر، رنگدانه‌هایی مانند کاروتنوئیدها و کلروفیل‌ها و متابولیت‌هایی با قطبیت بالاتر هستند که توسط حلال‌های قطبی مانند اتانول با کارایی بیشتری استخراج می‌شوند. مطالعات پیشین نیز نشان داده است که استخراج با اتانول منجر به افزایش محتوای ترکیبات ضد اکسایشی فعال در ریز جلبک‌ها می‌شود (Safafar et al. 2015). فعالیت بالای عصاره‌های ریز جلبکی در سنجش ABTS، همراه با اختلاف اندک بین حلال‌ها، نشان‌دهنده حضور طیف وسیعی از ترکیبات ضد اکسایشی با مکانیسم‌های متفاوت است. از آن‌جا که سنجش ABTS قادر به شناسایی ضد اکسایش‌های قطبی و غیرقطبی به‌طور همزمان است، این روش حساسیت کمتری به تفاوت نوع حلال نشان داده و تصویر جامع‌تری از ظرفیت ضد اکسایشی عصاره‌ها ارائه می‌دهد. چنین الگویی در مطالعات مرتبط با ریز جلبک‌ها نیز گزارش شده است (Prior et al. 2005).

Choochote و همکاران (۲۰۱۴) مقدار ضد اکسایش عصاره اتانولی و آبی سه گونه ریز جلبک سبز شامل *Chlorococcum* sp.، *Chlorella* sp. E53 و

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: 331-336. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2011.05.
- Banskota, A.H., Sperker, S., Stefanova, R., McGinn, P.J., O'Leary, S.J. 2019. Antioxidant properties and lipid composition of selected microalgae. *Journal of Applied Phycology* 31: 309-318. DOI: 10.1080/10408398.2022.2057415.
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76. DOI: 10.1006/abio.1996.0292.
- Choochote, W., Suklampoo, L., Ochaikul, D. 2014. Evaluation of antioxidant capacities of green microalgae. *Journal of Applied Phycology* 26: 43-48. DOI: 10.1007/s10811-013-0084-6.
- Coulombier, N., Jauffrais, T., Lebouvier, N. 2021. Antioxidant compounds from microalgae: A review. *Marine Drugs* 19: 549. DOI: 10.3390/md19100549.
- Gupta, S., Cox, S., Rajauria, G., Jaiswal, A.K., Abu-Ghannam, N. 2012. Growth inhibition of common food spoilage and pathogenic microorganisms in the presence of brown seaweed extracts. *Food and Bioprocess Technology* 5: 1907-1916. DOI: 10.1007/s11947-010-0502-6.
- Grubišić, M., Šantek, B., Zorić, Z., Čošić, Z., Vrana, I., Gašparović, B., Ivančić Šantek, M. 2022. Bioprospecting of microalgae isolated from the Adriatic Sea: Characterization of biomass, pigment, lipid & fatty acid composition, and antioxidant & antimicrobial activity. *Molecules* 27: 1248. DOI: 10.3390/molecules27041248
- Hassan Soltan, T., Noroozi, M., Amoozegar, M.A. 2016. A survey on total carotenoids, chlorophyll a and b and antioxidant activity of four strains of green algae isolated from the Golestan coasts (Caspian Sea). *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 6: 31-36. DOI: 10.29252/jmp.19.75.254. (In Persian).
- Heffernan, N., Smyth, T.J., Soler-Villa, A., Fitzgerald, R.J., Brunton, N.P. 2015. Phenolic content and antioxidant activity of fractions obtained from selected Irish macroalgae species (*Laminaria digitata*, *Fucus serratus*, *Gracilaria gracilis* and *Codium fragile*). *Journal of Applied Phycology* 27: 519-530. DOI: 10.1007/s10811-014-0291-9.
- Herrero, M., Cifuentes, A., Ibañez, E. 2006. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from plants, food by-products, algae and microalgae: A review. *Food Chemistry* 98: 136-148. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.05.058
- Hwang, J.-Y., Shue, Y.-S., Chang, H.-M. 2001. Antioxidative activity of roasted and defatted peanut kernels. *Food Research International* 34: 639-647. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2005.09.009.
- Javadi, S.N. 2021. Comparative study on antimicrobial effect of seaweeds *Sargassum ilicifolium*, *Ulva lactuca* and *Padina* sp. extracts on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Master of Science thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, 58 p. (In Persian).
- Kuda, T., Taniguchi, E., Nishizawa, M., Araki, Y. 2002. Fate of water-soluble polysaccharides in dried *Chordafilum* (a brown alga) during water washing. *Journal of Food Composition and Analysis* 15: 3-9. DOI: 10.1006/jfca.2001.1037.
- Messyasz, B., Michalak, I., Łęska, B., Schroeder, G., Górka, B., Korzeniowska, K., Lipok, J., Wieczorek, P., Rój, E., Wilk, R. 2018. Valuable natural products from marine and freshwater macroalgae obtained from supercritical fluid extracts. *Journal of Applied Phycology* 30: 591-

603. DOI: 10.1007/s10811-017-1257-5.
- Monteiro, M., Santos, R.A., Iglesias, P., Couto, A., Serra, C.R., Gouvinhas, I., Barros, A., Oliva-Teles, A., Enes, P., Díaz-Rosales, P. 2020. Effect of extraction method and solvent system on the phenolic content and antioxidant activity of selected macro- and microalgae extracts. *Journal of Applied Phycology* 32: 349-362. DOI: 10.1007/s10811-019-01927-1.
- Nekhostin Agha, M. Aghaei, A. Rashidnejad, Z. 2016. Measurement of antioxidant activity of methanolic extract of microalgae *Dunalilla salina* using iron reduction antioxidant capacity method. 11th National Congress and 7th International Congress of Biology of Iran, Tabriz. (In Persian).
- Nichols, H.W. 1973. Growth media-freshwater. Culture methods and growth measurements: 7-24.
- Olasehinde, T.A., Odjadjare, E.C., Mabinya, L.V., Olaniran, A.O., Okoh, A.I. 2019. *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella minutissima* exhibit antioxidant potentials. *Electronic Journal of Biotechnology* 40: 1-9. DOI: 10.1016/j.ejbt.2019.03.008.
- O'Sullivan, A.M., O'Callaghan, Y.C., O'Grady, M.N., Queguineur, B., Hanniffy, D., Troy, D.J., Kerry, J.P., O'Brien, N.M. 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: 1064-1070. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.11.127
- Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4290-4302. DOI: 10.1021/jf0502698.
- 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: 1231-1237. DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
- Safafar, H., Van Wagenen, J., Møller, P., Jacobsen, C. 2015. Carotenoids, phenolic compounds and tocopherols contribute to antioxidative properties of some microalgae species grown on industrial wastewater. *Marine Drugs* 13: 7339-7356. DOI: 10.3390/md13127069.
- Sarani Yaztapeh, E., Hosseini Tabatabaei, M.R., Abkenar, A.M. 2020. The compression of antioxidant activity and β -carotene extracted from three species of native algae of Oman Sea (*Ulva lactuca*, *Sargassum ilicifolium* and *Nizimuddinina zanardini*). *Iranian Scientific Fisheries Journal* 29: 53-63. DOI: 10.22092/ISFJ.2021.123538. (In Persian).
- Schuler, L.M., Santos, T., Pereira, H., Duarte, P., Gangadhar, K.N. 2020. Improved production of lutein and carotene by thermal and light intensity upshifts in the marine microalga *Tetraselmis* sp. CTP4. *Algal Research* 45: 101732. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101732
- Song, H., Zhang, Q., Zhang, Z., Wang, J. 2010. In vitro antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Bryopsis plumosa*. *Carbohydrate Polymers* 80: 1057-1061. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.01.024
- Uribe, E., Vega-Galvez, A., Garcia, V., Pasten, 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: 1967-1979. DOI: 10.1016/j.meafoo.2025.100275