

(OPEN ACCESS)

**Comparison of the Effects of Hot Water, Hot Acid,
Microwave and Enzymatic Extraction Methods on the Yield of
Ulvan Extracted from the Algae *Ulva Rigida*, and Evaluation of
its Biological and Functional Properties**

**Sahar Mousavi¹, Seyed Mahdi Ojagh^{*2}, Moazame Kordjazi³,
Majid Saeedi⁴, Khosrow Jani Khalili⁵**

1. Dept. of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: mousavisahar@yahoo.com
2. Corresponding Author, Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: ojagh@ut.ac.ir
3. Dept. of Seafood Processing, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: kordjazi.m@gmail.com
4. Dept. of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. E-mail: majsaeedi@gmail.com
5. Dept. of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. E-mail: janikhalili1@yahoo.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: Green macroalgae of the genus <i>Ulva</i> , particularly the species <i>Ulva rigida</i> , are rich sources of the sulfated polysaccharide ulvan. Due to its unique bioactive and functional properties, ulvan has acquired a prominent position in the food and pharmaceutical industries. However, isolating this compound from the complex matrix of the algal cell wall poses significant challenges regarding yield optimization and maintaining the structural integrity of the polysaccharide. This study aimed to compare the extraction yield of ulvan using four different methods (hot water, hot acid, microwave-assisted and enzymatic extraction) to determine the most efficient approach, as well as to evaluate the physicochemical and biological properties of the final product.
Article history: Received: 05.13.2026 Revised: 05.28.2026 Accepted: 06.19.2026	
Keywords: Antioxidant, Emulsion, Foam, <i>Ulva rigida</i> , Ulvan	
	Materials and Methods: In this study, <i>U. rigida</i> biomass was collected from the coast of Chabahar during the maximum low tide. Following taxonomic identification and multiple washing steps, the biomass was pre-treated with ethanol. The extraction processes were performed using standard, well-defined protocols for hot water, hot acid, microwave-assisted and enzymatic methods. The extraction yield of ulvan was calculated after purification via the Sevag method and subsequent dialysis using a 3 kDa molecular weight cut-off (MWCO) membrane. Finally, parameters including proximate chemical composition (carbohydrates, proteins, sulfates and ash), techno-functional properties (water and oil holding capacities, emulsifying and foaming properties) and biological activities such as DPPH radical scavenging activity, total antioxidant capacity and antibacterial activity against <i>Escherichia coli</i> and

Staphylococcus aureus (evaluated via standard disc diffusion and minimum inhibitory concentration assays) were measured. Data analysis was performed using SPSS version 26 software.

Results: The findings indicated that the enzymatic method was significantly the most efficient extraction approach, achieving a yield of 28.40%, whereas the hot water method produced the lowest yield at 16.67%. The ulvan obtained via the enzymatic method contained 61.73% carbohydrates, 17.90% sulfates and only 1.94% proteins. The water and oil holding capacities of the extracted ulvan were recorded at 3.14 g/g and 2.67 g/g, respectively, which were lower than those of commercial alginate (used as a reference standard). Emulsifying and foaming properties improved with increasing concentration up to 4%. Furthermore, the maximum DPPH radical scavenging activity (77.75%) was observed at a concentration of 8 mg/mL. Additionally, the antibacterial activity against *E. coli* was higher than of against *S. aureus*.

Conclusion: Overall, enzymatic extraction stands out as the superior method for producing high-quality ulvan due to its specific degradation of the cell wall and its ability to preserve functional sulfate and uronic acid groups. The retention of these sulfate-containing functional groups is likely a key contributing factor to the antioxidant and antibacterial properties exhibited by the ulvan. Given its remarkable antioxidant and antimicrobial activities, ulvan extracted from *U. rigida* holds high potential for use as a natural alternative to synthetic hydrocolloids and antioxidants in novel industrial formulations.

Cite this article: Mousavi, Sahar, Ojagh, Seyed Mahdi, Kordjazi, Moazame, Saeedi, Majid, Jani Khalili, Khosrow. 2026. Comparison of the Effects of Hot Water, Hot Acid, Microwave and Enzymatic Extraction Methods on the Yield of Ulvan Extracted from the Algae *Ulva Rigida*, and Evaluation of its Biological and Functional Properties. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 15 (2), 229-251.



© The Author(s).

Doi: 10.22069/japu.2026.24800.2028

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

مقایسه تأثیر روش‌های استخراج آب گرم، اسید داغ، مایکروویو و آنزیمی بر بازده اولوان استخراج شده از جلبک *Ulva rigida* و بررسی خواص زیستی و عملکردی آن

سحر موسوی^۱، سید مهدی اجاق^{۲*}، معظمه کردجزی^۳، مجید سعیدی^۴، خسرو جانی خلیلی^۵

۱. گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران.
رایانامه: mousavisahar@yahoo.com
۲. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: ojagh@ut.ac.ir
۳. گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران.
رایانامه: kordjazi.m@gmail.com
۴. گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. رایانامه: majsaeedi@gmail.com
۵. گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
رایانامه: janikhalili1@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: جلبک‌های سبز جنس اولوا، به‌ویژه گونه <i>Ulva rigida</i> ، منابع غنی از پلی‌ساکارید سولفات اولوان هستند که به دلیل خواص زیست‌فعالی و عملکردی منحصر به فرد، جایگاه ویژه‌ای در صنایع غذایی و دارویی یافته‌اند. با این حال، جداسازی این ترکیب از ماتریکس پیچیده دیواره سلولی جلبک با چالش‌هایی در زمینه بازده و حفظ یکپارچگی ساختاری پلی‌ساکارید سولفات اولوان روبروست. هدف از این مطالعه، مقایسه بازده استخراج پلی‌ساکارید سولفات اولوان به چهار روش (آب گرم، اسید داغ، مایکروویو و آنزیمی) برای تعیین کارآمدترین روش و ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و زیستی محصول نهایی است.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۲۳	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۵/۰۳/۰۷	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۲۹	
واژه‌های کلیدی: امولسیون، آنتی‌اکسیدانی، اولوان، فوم، <i>U. rigida</i>	مواد و روش‌ها: در این پژوهش، بیومس جلبک <i>U. rigida</i> پس از شناسایی شدن از سواحل چابهار در زمان بیش‌ترین جزر جمع‌آوری و پس از چندین بار شستشو، توسط اتانول پیش‌تیمار شدند. فرآیند استخراج با روش‌های استاندارد و تعریف شده آب گرم، اسید داغ، مایکروویو و آنزیمی انجام شد. بازده استخراج پلی‌ساکارید سولفات اولوان پس از خالص‌سازی به روش سواگ و انجام دیالیز توسط غشاء ۳ KDa محاسبه گردید. در نهایت شاخص‌هایی مانند سنجش ترکیبات شیمیایی نسبی (کربوهیدرات، پروتئین، سولفات و خاکستر)، اندازه‌گیری ویژگی‌های

فنی-عملکردی (ظرفیت نگهداری آب و روغن، خواص امولسیون و فوم‌زایی) و فعالیت‌های زیستی مانند مهار رادیکال DPPH، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و فعالیت ضدباکتریایی علیه *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* با استفاده از روش‌های استاندارد انتشار دیسک و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی سنجیده شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS 26 انجام گرفتند.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که روش آنزیمی با بازده ۲۸/۴۰ درصد به طور معنی‌داری کارآمدترین روش استخراج است، در حالی که روش آب گرم با ۱۶/۶۷ درصد کم‌ترین بازده را داشت. اولوان حاصل از روش آنزیمی حاوی ۶۱/۷۳ درصد کربوهیدرات، ۱۷/۹۰ درصد سولفات و تنها ۱/۹۴ درصد پروتئین بود. ظرفیت نگهداری آب و روغن اولوان به ترتیب ۳/۱۴ و ۲/۶۷ g/g ثبت شد که کم‌تر از آلژینات تجاری (به عنوان شاخص) بود. خواص امولسیون‌کنندگی و فوم‌زایی با افزایش غلظت تا ۴ درصد بهبود یافت. همچنین، حداکثر مهار رادیکال DPPH در غلظت ۸ mg/mL (۷۷/۷۵ درصد) مشاهده شد. به علاوه فعالیت ضدباکتریایی علیه *E. coli* بیش‌تر از *S. aureus* بود.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی می‌توان گفت، استخراج آنزیمی به دلیل تخریب اختصاصی دیواره سلولی و حفظ گروه‌های عاملی سولفات و اسیدهای اورونیک، برترین روش برای تولید اولوان با کیفیت بالاست. احتمالاً حفظ گروه‌های عاملی حاوی سولفات از جمله دلایل مؤثر در بروز خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی اولوان است. با توجه به فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قابل توجه، اولوان مستخرج از *U. rigida* پتانسیل بالایی برای استفاده به عنوان جایگزین طبیعی هیدروکلوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در فرمولاسیون‌های نوین صنعتی دارد.

استناد: موسوی، سحر، اجاق، سید مهدی، کردجزی، معظمه، سعیدی، مجید، جانی خلیلی، خسرو (۱۴۰۵). مقایسه تأثیر روش‌های استخراج آب گرم، اسید داغ، مایکروویو و آنزیمی بر بازده اولوان استخراج شده از جلبک *Ulva rigida* و بررسی خواص زیستی و عملکردی آن. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۵ (۲)، ۲۵۱-۲۲۹.

Doi: 10.22069/japu.2026.24800.2028



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

جلبک‌های دریایی به عنوان منابع تجدیدپذیر و غنی از پلیمرهای زیستی و ترکیبات شیمیایی با ارزش، در سال‌های اخیر توجه گسترده‌ای را در حوزه‌های مختلف علمی و صنعتی به خود جلب کرده‌اند (۱). در این میان، جلبک‌های سبز جنس اولوا (*Ulva*) متعلق به خانواده اولواسه، به دلیل نرخ رشد بسیار بالا، بهره‌وری بیومس قابل توجه و سازگاری با شرایط مختلف جغرافیایی و فصلی، از مهم‌ترین منابع استخراج ترکیبات زیست‌فعال به شمار می‌روند (۲). این جلبک‌ها فاقد نیاز به زمین‌های کشاورزی و نهاده‌هایی مانند کود و سموم بوده و به همین جهت، بهره‌برداری از آن‌ها با اصول توسعه پایدار سازگاری کامل دارد (۳). یکی از با ارزش‌ترین ترکیبات موجود در دیواره سلولی این جلبک‌ها، پلی‌ساکارید سولفات به نام اولوان است که حدود ۹ تا ۳۶ درصد از وزن خشک بیومس را تشکیل می‌دهد (۴). اولوان عمدتاً از واحدهای تکرارشونده دی‌ساکاریدی شامل رامنوز سولفات، اسید گلوکورونیک، اسید ایدورونیک و زایلوز ساخته شده است (۵). ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ساختاری منحصر به فرد این پلی‌ساکارید، از جمله قابلیت ژل شدن و ویسکوزیته مناسب آن را به گزینه‌ای ایده‌آل برای استفاده در صنایع غذایی به عنوان قوام‌دهنده و تثبیت‌کننده تبدیل کرده است (۶). فراتر از کاربردهای عملکردی، تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که اولوان دارای خواص بیولوژیک گسترده‌ای نظیر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ایمنی‌زایی، ضدانقباضی، ضدسرطانی و ضدویروسی است که پتانسیل بالای آن را در فرمولاسیون‌های دارویی و غذاهای فراسودمند تأیید می‌کند (۷).

استخراج اولوان از ماتریکس پیچیده دیواره سلولی جلبک که حاوی سلولز و همی‌سلولز است، چالشی اساسی در مسیر تجاری‌سازی این ترکیب محسوب

می‌شود (۱). روش‌های استخراج به طور مستقیم بر بازده، خلوص، وزن مولکولی و در نهایت فعالیت زیستی اولوان استخراج شده تأثیر می‌گذارند (۴). استخراج با آب گرم سنتی‌ترین روشی است که به دلیل سادگی و عدم استفاده از مواد شیمیایی مخرب، هم‌چنان مورد توجه است. به‌طوری‌که مطالعات نشان داده‌اند این روش می‌تواند بازدهی در حدود ۱۷/۸ درصد را فراهم کند، هرچند که به دلیل برهم‌کنش‌های قوی اولوان با سایر اجزای دیواره، بازدهی آن نسبت به روش‌های نوین کم‌تر گزارش شده است (۱). در مقابل، استفاده از اسیدهای داغ با کاهش pH محیط به زیر pKa اسیدهای اورونیک، باعث تسهیل پراکندگی تجمعات اولوان و افزایش بازده استخراج می‌گردد. با این حال، ریسک بالای دپلمریزاسیون شدید و کاهش درجه سولفات‌شدن در شرایط اسیدی داغ (مثلاً دمای ۹۰ °C و pH کم‌تر از ۲) یک محدودیت جدی برای این روش محسوب می‌شود (۴). کاظمی و همکاران (۲۰۲۳) در مطالعه‌ای روی جلبک *Ulva intestinalis* نشان دادند که بهینه‌سازی شرایط استخراج اسیدی همراه با اولتراسوند می‌تواند بازدهی را به حدود ۲۶/۷۷ درصد برساند، در حالی که ساختار کلی پلی‌ساکارید حفظ شده است (۶).

روش‌های نوین استخراج مانند میکروویو و استخراج آنزیمی به عنوان جایگزین‌هایی کارآمد و دوست‌دار محیط زیست مطرح شده‌اند (۳). استخراج به کمک میکروویو با نفوذ سریع انرژی الکترومغناطیسی و ایجاد حرارت حجمی، منجر به گسیختگی ساختار سلولی و خروج سریع پلی‌ساکاریدها می‌شود. مطالعات روی جلبک‌های جنس اولوا نشان داده است که این روش می‌تواند بازده استخراج را به‌طور معنی‌داری نسبت به روش‌های سنتی افزایش داده و زمان فرآیند را به شدت کاهش دهد (۸). از سوی دیگر، روش آنزیمی

با استفاده از آنزیم‌هایی نظیر سلولاز و پروتئاز، به طور اختصاصی اجزای دیواره سلولی را تجزیه کرده و اولوان را در شرایط ایده‌آل‌تری آزاد می‌کند (۷). چن و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که استخراج آنزیمی از جلبک *U. pertusa* منجر به تولید اولوانی با بالاترین ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در مقایسه با سایر روش‌ها شده است، که نشان‌دهنده حفظ بهتر گروه‌های عاملی حساس در این روش است (۱). همچنین گویدارا و همکاران (۲۰۲۱) در مقایسه روش آنزیمی و اسیدی روی *U. lactuca* دریافتند که روش آنزیمی منجر به بازدهی حدود ۱۷/۹۵ درصد و حفظ بیش‌تر محتوای سولفات (حدود ۱۷/۲۲ درصد) می‌شود، در حالی‌که روش اسیدی منجر به تولید قطعاتی با وزن مولکولی بسیار پایین می‌گردد (۷).

با وجود مطالعات پراکنده روی هر یک از این روش‌ها، هم‌چنان یک شکاف علمی جدی در زمینه مقایسه هم‌زمان و جامع چهار روش استخراج آب گرم، اسید داغ، مایکروویو و آنزیمی روی یک نمونه واحد از جلبک *U. rigida* وجود دارد. بسیاری از تحقیقات قبلی تنها روی یک یا دو روش تمرکز کرده و یا از گونه‌های متفاوتی استفاده نموده‌اند، که به دلیل تغییرات ساختاری ناشی از گونه و محل جمع‌آوری، تعمیم نتایج را دشوار می‌سازد (۴). هدف از این مطالعه، بررسی و مقایسه جامع چهار روش استخراج شامل روش‌های آنزیمی، مایکروویو، اسید داغ و آب گرم روی جلبک دریایی سبز *U. rigida* به منظور تعیین کارآمدترین روش استخراج است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری بیومس جلبک و آماده‌سازی: نمونه‌های جلبک *U. rigida* در زمان اوج جزر و هم‌زمان با پدیده شکوفایی (بلوم) از سواحل چابهار در جنوب

ایران شناسایی و جمع‌آوری شدند. سپس به‌منظور حذف ناخالصی‌ها و گل‌ولای، نمونه‌ها با آب دریا شست‌وشو داده شده و در کنار کیسه‌های یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند. برای پاکسازی نهایی و حذف اپی‌فیت‌ها، زیست‌توده جلبکی مجدداً با آب شیرین شست‌وشو و در دمای ۳۵ °C خشک شد. در نهایت، نمونه‌های خشک‌شده آسیاب و در کیسه‌های پلی‌اتیلن زیپ‌دار بسته‌بندی شدند و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۲۰ °C - نگهداری گردیدند.

آنالیز تقریبی پودر جلبک: بعد از حذف ناخالصی‌ها، پودر جلبک به‌منظور برآورد تقریبی ترکیبات تشکیل‌دهنده شامل پروتئین، کربوهیدرات، لیپید، رطوبت، خاکستر و فیبر، با استفاده از روش‌های استاندارد AOAC مورد ارزیابی قرار گرفت (۹).

پیش‌تیمار: در ابتدا، ۲۰ گرم از نمونه پودر شده به‌منظور حذف چربی‌ها، رنگدانه‌ها و ترکیباتی با وزن مولکولی پایین، با ۲۰۰ mL اتانول ۸۰ درصد تحت شیک مستمر (تکان‌دادن مداوم) به مدت یک شب در محیطی بسته تیمار گردید. مخلوط حاصل در دمای ۱۰ °C با سرعت ۸۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و محلول رویی دور ریخته شد. رسوب باقی‌مانده مجدداً با اتانول و استون شست‌وشو داده شد و تحت شرایط مشابه سانتریفیوژ و در نهایت زیر هود لامینار در دمای اتاق خشک گردید (۱۰).

روش‌های استخراج: برای استخراج به روش آب گرم، ۲۰ g از نمونه پیش‌تیمار شده در ۴۰۰ mL آب مقطر در بشر معلق شد. سپس مخلوط به مدت ۳ ساعت در بن‌ماری شیک‌ردار در دمای ۹۰ °C قرار گرفت. پس از سرد شدن، محلول ابتدا با استفاده از پارچه صافی فیلتر شد و سپس در دمای محیط به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. سوپرناتانت جدا شده و توسط دستگاه روتاری

تحت‌خلأ تغلیظ و با اتانول رسوب‌دهی شد، سپس سانتریفیوژ گردید و رسوب با استون شست‌وشو داده شد. در ادامه، رسوب با حجم مناسبی از آب مقطر هیدراته شده، سپس منجمد و در نهایت با استفاده از فریزدرایر خشک شد (۶).

جهت انجام استخراج با حلال اسیدی داغ، میزان ۲۰ g از نمونه با ۴۰۰ mL میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و pH آن توسط اسید کلریدریک ۱ نرمال روی ۳ تنظیم گردید. سپس مخلوط به مدت ۳ ساعت در بن‌ماری با دمای ۷۰ °C قرار گرفت. پس از فیلتراسیون و سانتریفیوژ، محلول رویی توسط دستگاه روتاری تغلیظ و با اتانول رسوب داده شد. رسوب حاصل پس از سانتریفیوژ، با استون شست‌وشو داده شد و در آب مقطر هیدراته گردید. در نهایت، نمونه منجمد و توسط فریزدرایر خشک شد (۱۱).

در استخراج به روش آنزیمی، میزان ۲۰ g از پودر جلبک دریایی خشک و پیش‌تیمارشده با آنزیم سلولاز (۲/۵ mL به ازای هر گرم وزن ماده خشک) در شرایط pH=۷، نسبت جامد به حلال ۱:۳۰ و دمای ۵۰ °C به مدت ۲۴ ساعت تیمار گردید. پس از اتمام انکوباسیون، به‌منظور غیرفعال‌سازی آنزیم، مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب داغ (۹۵ °C) قرار گرفت و سپس در حمام یخ خنک شد. سوسپانسیون حاصل با سرعت ۹۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و فاز رویی پس از جمع‌آوری، توسط دستگاه روتاری تغلیظ و با اتانول ترسیب گردید.

رسوب حاصل پس از سانتریفیوژ، با استون شست‌وشو داده شد و با مقدار مناسبی آب مقطر مجدداً هیدراته گردید. در نهایت، محصول به دست آمده منجمد و با استفاده از دستگاه فریزدرایر خشک شد (۱۲).

برای استخراج به روش مایکروویو، مقدار ۲۰ g از پودر نمونه جلبکی پیش‌تیمارشده پس از مخلوط شدن با آب مقطر، به مدت ۳۰ دقیقه تحت تابش امواج مایکروویو با توان ۳۰۰ W و دمای ۹۰ °C قرار گرفت. در این مرحله، محلول حاصل از صافی عبور داده شد و سایر مراحل استخراج، مطابق با روش‌های پیش‌گفته تکرار گردید (۶).

خالص‌سازی و بازدهی استخراج: از روش سواگ با ۶ بار تکرار (۶×) برای حذف پروتئین استفاده شد. در این روش پس از افزودن معرف سواگ (به نسبت ۴ واحد کلروفرم و ۱ واحد n-بوتانول) به محلول آبی پلی‌ساکارییدی، مخلوط به‌شدت تکان داده شد و سپس سانتریفیوژ گردید. جهت اطمینان بیش‌تر از حذف پروتئین‌ها این فرآیند پنج مرتبه یا بیش‌تر تکرار شد (۱۱). پلی‌ساکارید جمع‌آوری‌شده توسط غشاء دیالیز ۳ KDa در دمای ۴ °C به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر دیالیز شد. در نهایت محصول به‌دست‌آمده برای آزمایشات بعدی توسط دستگاه فریزدرایر خشک شد. بازدهی استخراج پلی‌ساکارید استخراج شده به روش‌های آب گرم، حلال اسیدی داغ، مایکروویو و آنزیمی براساس رابطه ۱ محاسبه شد (۹).

$$(۱) \times ۱۰۰ = (\text{وزن نمونه خشک بعد از مرحله پیش تیمار با اتانول} / \text{وزن پلی‌ساکارید استخراج شده}) = \text{بازدهی استخراج} (\%)$$

از روش بیورت و آلومین سرم گاوی به عنوان استاندارد تعیین گردید (۱۳). میزان سولفات به روش کدورت‌سنجی کلرید باریم-ژلاتین و با استفاده از سولفات سدیم ارزیابی شد. هم‌چنین، سنجش میزان

تعیین ترکیب شیمیایی: به‌منظور تعیین ترکیبات شیمیایی، محتوای کربوهیدرات کل به روش فنل-سولفوریک اسید و با استفاده از منحنی استاندارد D-گلوکز اندازه‌گیری شد. محتوای پروتئین با استفاده

رطوبت و خاکستر نمونه‌ها بر اساس متدهای استاندارد AOAC صورت گرفت.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل: برای سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC)، مقدار ۰/۳ mg از نمونه با ۰/۳ mL محلول معرف (شامل اسید سولفوریک ۰/۶ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی‌مولار) در لوله‌های آزمایش مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب با دمای °C ۹۵ انکوبه شد. پس از خنک شدن نمونه‌ها در دمای اتاق، جذب نوری در طول موج ۶۹۵ nm قرائت گردید. در نهایت، قدرت آنتی‌اکسیدانی کل براساس منحنی استاندارد L-آسکوربیک اسید محاسبه و بر حسب میلی‌گرم L-آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک بیان شد (۱۴).

ختی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH): سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلی‌ساکارید بر اساس توانایی مهار رادیکال‌های آزاد ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل (DPPH)، مطابق با روش سوگانیا و همکاران (۲۰۱۶) ارزیابی گردید (۱۴). بدین منظور، ۲ mL از محلول پلی‌ساکارید با غلظت معین به ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۱۶ میلی‌مولار) افزوده و به مدت یک دقیقه به خوبی مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط و در تاریکی انکوبه شدند. در نهایت، میزان جذب نوری در طول موج ۵۱۷ nm قرائت و درصد مهار رادیکال‌های DPPH طبق رابطه ۲ محاسبه گردید.

$$\text{DPPH (\%)} = [1 - ((A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) / A_{\text{control}})] \times 100 \quad (2)$$

حسب گرم روغن بر گرم وزن خشک گزارش گردید. از آلزینات تجاری به عنوان کنترل استفاده گردید (۱۵).

خواص امولسیون‌کنندگی: سنجش شاخص‌های فعالیت امولسیون (EAI) و پایداری امولسیون (ES) براساس روش پیرس و کینسلا (۱۹۷۸) با اندکی تغییرات تعیین شدند (۱۶). بدین منظور، محلول‌های پلی‌ساکارید با غلظت‌های ۱، ۳ و ۵ درصد تهیه و ۳۰ mL از هر کدام با ۱۰ mL روغن آفتابگردان مخلوط شدند. عملیات هموژن کردن به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰۰ rpm انجام گرفت. سپس، ۵۰ µL از امولسیون در زمان‌های صفر و ۱۰ دقیقه از انتهای ظرف برداشت و با ۵ mL محلول سدیم دودسیل سولفات (SDS) ۰/۱ درصد رقیق گردید. در نهایت، جذب نوری در طول موج ۵۰۰ nm قرائت و شاخص‌های EAI و ES با استفاده از روابط ۳ محاسبه شدند.

که، A_{sample} جذب نمونه بعد از زمان موردنظر (نمونه و محلول حاوی رادیکال‌های آزاد)، A_{control} جذب محلول حاوی رادیکال‌های آزاد بدون نمونه، A_{blank} جذب نمونه بعد از زمان موردنظر (نمونه بدون محلول حاوی رادیکال‌های آزاد)

ظرفیت نگهداری آب (WHC) و روغن (OHC): جهت تعیین WHC، مقدار ۰/۵ g پلی‌ساکارید در لوله فالدکون توزین و ۵۰ mL آب مقطر به آن اضافه شد. مخلوط پس از ۱ ساعت انکوباسیون، با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از جداسازی فاز مایع، لوله‌ها به منظور تخلیه کامل آب آزاد، ۳۰ دقیقه با زاویه ۴۵ درجه روی کاغذ صافی قرار گرفتند. در نهایت، وزن رسوب هیدراته ثبت و شاخص WHC بر حسب گرم آب به‌ازای هر گرم وزن خشک محاسبه شد. برای سنجش OHC، فرآیندی مشابه با استفاده از ۱۰ mL روغن آفتابگردان (۱ ساعت انکوباسیون در °C ۲۵) انجام و نتایج بر

$$EAI (m^2/g) = [(2 \times 2.303 \times A_0) / VW] \times 100 \quad (3)$$

$$ES (\%) = [A_{10} / A_0] \times 100$$

(۱۷). بدین منظور، نمونه‌هایی با غلظت‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد (w/v) تهیه و توسط هموژنایزر با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۳ دقیقه در دمای ۲۵ °C همگن شدند. درصد افزایش حجم برای تعیین FC و میزان پایداری فوم (FS) پس از ۶۰ دقیقه طبق روابط ۴ محاسبه گردید.

$$FC (\%) = (V_1 - V_0) / V_0 \times 100 \quad (4)$$

$$FS (\%) = (V_{60} - V_0) / V_0 \times 100$$

میلی‌لیتر محیط کشت مایع نوترینت براث تلقیح شده با سوسپانسیون باکتریایی اضافه گردید. لوله‌ها به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ °C (روی شیکر با سرعت ۱۸۰ rpm) انکوبه و اثر مهاري آنها بررسی شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) انجام گرفت. به‌منظور تعیین وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین تیمارها، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و متعاقب آن آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد. در تمامی تحلیل‌ها، سطح اطمینان ۹۵ درصد لحاظ گردید و مقادیر $p < 0.05$ به عنوان تفاوت آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

بازدهی استخراج: نتایج نشان داد که نوع روش استخراج تأثیر بسزایی بر میزان بازده این پلی‌ساکارید سولفات‌ها دارد (جدول ۱). بر اساس داده‌های ارائه شده در جدول ۱، بالاترین میزان بازده متعلق به روش آنزیمی با مقدار $1/74 \pm 28/40$ درصد بود که تفاوت معنی‌داری را با سایر روش‌ها نشان داد ($p < 0.05$). در

که، A_0 جذب بلافاصله در ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود، V نماینده کسر حجمی روغن (۰/۲۵)، W وزن پلی‌ساکارید (گرم)، A_{10} جذب خوانده شده پس از ۱۰ دقیقه.

خاصیت تشکیل (FC) و پایداری فوم (FS): ظرفیت تولید فوم (FC) و پایداری فوم (FS) مطابق با روش شهیدی و همکاران (۱۹۹۵) ارزیابی گردید

که، V_0 حجم کل اولیه، V_1 حجم کل پس از همگن‌سازی، V_{60} حجم کل پس از ۶۰ دقیقه در دمای ۲۵ °C.

سنجش فعالیت ضدباکتریایی در شرایط آزمایشگاهی: قبل از انجام آزمایش، از باکتری‌های *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* کشت سطحی تازه تهیه شد تا باکتری‌های فعال به‌دست آیند. ارزیابی فعالیت ضد میکروبی پلی‌ساکارید به دو روش انتشار در دیسک و حداقل غلظت مهارکننده (MIC) تعیین گردید. نمونه‌ها در غلظت‌های مختلف (۱، ۲، ۴، ۶ و ۸) تهیه و توسط فیلتر $0.22 \mu m$ استریل شدند. در روش دیسک، سوسپانسیون باکتریایی با غلظت ۰/۵ مک‌فارلند تهیه و $100 \mu L$ از آن در سطح محیط نوترینت آگار کشت داده شد (۱۱، ۱۸). دیسک‌های حاوی $30 \mu L$ نمونه روی پلیت‌ها قرار گرفت و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ °C، قطر هاله عدم رشد توسط کولیس ورنیه اندازه‌گیری شد. از آب مقطر استریل به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد. جهت تعیین MIC، مقادیر مشخصی از نمونه به ۵ mL

مقابل، کم‌ترین میزان بازده در روش استخراج با آب داغ ($1/4 \pm 16/67$ درصد) مشاهده گردید. روش‌های استخراج با اسید داغ ($1/23 \pm 23/60$ درصد) و مایکروویو ($0/96 \pm 21/10$ درصد) در رتبه‌های میانی قرار گرفتند و هرچند تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($p > 0/05$)، اما بازده آن‌ها به طور معنی‌داری بالاتر از روش آب داغ و کم‌تر از روش آنزیمی بود ($p < 0/05$).

برتری چشمگیر روش آنزیمی در این تحقیق همسو با گزارش چن و همکاران (۲۰۲۱) می‌باشد که نشان دادند استفاده از آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی مانند سلولاز و پکتیناز، با تخریب اختصاصی و ملایم شبکه‌های سلولزی و همی‌سلولزی جلبک، دسترسی حلال به ماتریکس سلولی را افزایش داده و منجر به آزادسازی موثرتر اولوان می‌شود (۱). بر خلاف روش‌های فیزیکی-شیمیایی شدید، آنزیم‌ها در شرایط بهینه (دما و pH مناسب) عمل کرده و از هیدرولیز ناخواسته زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی جلوگیری می‌کنند (۱۹). این موضوع باعث می‌شود که نه تنها بازده وزنی افزایش یابد، بلکه احتمالاً ساختار اولوان نیز تا حد زیادی حفظ شود. همان‌طور که گویدارا و همکاران (۲۰۲۱) اشاره کرده‌اند، روش‌های آنزیمی به دلیل گزینش‌پذیری بالا، ناخالصی‌های کمتری را وارد محصول نهایی می‌کنند که این امر در بازده واقعی پلی‌ساکارید مشهود است (۷). در مورد استخراج با اسید داغ، بازده به دست آمده ($23/60$ درصد) نشان‌دهنده توانایی اسید در شکستن پیوندهای هیدروژنی و حذف کاتیون‌های دوظرفیتی مانند کلسیم است که مسئول پایداری اولوان در دیواره سلولی هستند (۴). با این حال، کاهش بازده نسبت به روش آنزیمی می‌تواند ناشی از پتانسیل بالای اسید در ایجاد هیدرولیز شدید زنجیره‌های اصلی اولوان باشد. به اعتقاد یایچ و همکاران (۲۰۱۷) شرایط اسیدی در

دمای بالا ممکن است سبب دپلمریزاسیون جزئی و تخریب قندهای خنثی شود که در نهایت منجر به کاهش بازده وزنی پلی‌ساکارید رسوب داده شده می‌گردد (۲۰). هم‌چنین احتمال تشکیل محصولات جانبی ناشی از تخریب قندها در حضور اسید داغ نباید نادیده گرفته شود. استخراج به روش مایکروویو در این مطالعه بازدهی مشابه با اسید داغ نشان داد که با یافته‌های آلبوفتیل و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت دارد (۱۲). مکانیسم مایکروویو بر پایه گرمایش سریع و حجمی ماتریکس جلبکی است که باعث افزایش فشار داخلی و گسیختگی ناگهانی دیواره‌های سلولی می‌گردد. با این وجود، برخلاف برخی مطالعات مانند یوان و همکاران (۲۰۱۸) که مایکروویو را کارآمدترین روش گزارش کرده‌اند، در این تحقیق بازده آن در سطح میانی باقی ماند (۲۱). این تفاوت احتمالاً به دلیل عدم بهینه‌سازی دقیق توان دستگاه و زمان استخراج است (۲۲)، چرا که حرارت موضعی بیش از حد در مایکروویو می‌تواند به سرعت منجر به دپلمریزاسیون زنجیره‌های حساس اولوان و کاهش بازده نهایی شود. پایین‌ترین بازده استخراج مربوط به روش آب داغ ($16/67$ درصد) بود که با نتایج تحقیق کاظمی و همکاران (۲۰۲۳) در مورد استخراج پلی‌ساکاریدهای جلبکی همخوانی دارد (۶). این روش سنتی فاقد نیروی شیمیایی یا مکانیکی کافی برای غلبه بر برهم‌کنش‌های پیچیده دیواره سلولی جلبکی است. آب داغ به تنهایی نمی‌تواند به خوبی به ماتریکس داخلی نفوذ کرده و پلی‌ساکاریدهای متصل به پروتئین یا کاتیون‌ها را آزاد کند، مگر این‌که پیش‌تیمارهای شدیدی روی جلبک صورت گیرد (۹). نتایج بررسی میزان بازده استخراج به روش‌های مختلف حاکی از آن است که روش آنزیمی به دلیل رویکرد اختصاصی و حفظ یکپارچگی مولکولی، بهترین بازده را برای جلبک *U. rigida* فراهم می‌کند.

جدول ۱- مقایسه میزان بازه استخراج اولوان از جلبک دریایی *U. rigida* به روش‌های مختلف بر حسب درصد. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده است.

Table 1. Comparison of the extraction rate of Ulvan from the seaweed *U. rigida* by different methods in percentage. Data are reported as mean $\pm$ standard deviation.

روش استخراج Extraction method	بازده (درصد) Yield (%)
روش آنزیمی Enzymatic method	28.40 $\pm$ 1.74 ^a
استخراج با اسید داغ Hot acid extraction	23.60 $\pm$ 1.23 ^b
روش مایکروویو Microwave method	21.10 $\pm$ 0.96 ^b
استخراج با آب داغ Hot water extraction	16.67 $\pm$ 1.41 ^c

ناشی از حضور گروه‌های سولفات کاتیون‌دار و یون‌های فلزی متصل به زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی باشد (۷). همسو با گزارش کاستا و همکاران (۲۰۱۲)، وجود مواد معدنی در عصاره‌های جلبکی می‌تواند نقش مکملی در ویژگی‌های تغذیه‌ای و عملکردی پلی‌ساکارید ایفا کند و می‌تواند تأکیدی بر محتوای خاکستر در پلی‌ساکارید سولفات اولوان باشد (۲۴).

کاهش محتوای پروتئین از ۱۹/۳۷ درصد در پودر جلبک به ۱/۹۴ درصد در اولوان استخراج‌شده می‌تواند حاکی از خلوص بالای پلی‌ساکارید استخراج شده اولوان و کارآمدی روش استخراج در حذف پیوندهای پیچیده پروتئین-پلی‌ساکارید موجود در دیواره سلولی باشد (۱). حذف موثر پروتئین‌ها نه تنها کیفیت اولوان را بهبود می‌بخشد، بلکه احتمالاً پتانسیل بروز واکنش‌های آلرژیک را در کاربردهای زیست‌پزشکی به حداقل می‌رساند (۵). برخلاف برخی مطالعات که سطوح بالاتری از پروتئین باقی‌مانده (بیش از ۵ درصد) را گزارش کرده‌اند، رسیدن به مقدار کم‌تر از ۲ درصد می‌تواند نشان‌دهنده گزینش‌پذیری بالای روش آنزیمی در جداسازی اختصاصی زنجیره‌های اولوان باشد (۱۹).

در مقابل، محتوای کربوهیدرات کل از ۵۱/۴۰ درصد در پودر جلبک به ۶۱/۷۳ درصد در اولوان افزایش یافت که احتمالاً تأییدی بر خلوص عصاره

آنالیز تقریبی پودر جلبک و برخی ترکیبات شیمیایی اولوان: آنالیز تقریبی ترکیبات شیمیایی پودر جلبک دریایی *U. rigida* و پلی‌ساکارید اولوان استخراج‌شده از آن در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که فرآیند استخراج و خالص‌سازی منجر به تغییرات معنی‌داری در محتوای اجزای اصلی ماتریکس جلبکی شده است. بر اساس اطلاعات ارائه شده در جدول ۲، میزان رطوبت از ۶/۶۷ درصد در پودر جلبک به ۲/۲۷ درصد در اولوان کاهش یافت است. این ممکن است نشان‌دهنده کارآمدی مراحل خشک‌کردن نهایی، به‌ویژه استفاده از اتانول مطلق و فرآیند خشک‌کردن انجمادی در حذف رطوبت باقی‌مانده است (۳). این سطح پایین از رطوبت، مشابه گزارش گارسیا مارکز و همکاران (۲۰۲۳)، برای حفظ پایداری ساختار و جلوگیری از تخریب میکروبی پلی‌ساکارید در طول نگهداری طولانی‌مدت بسیار حیاتی است (۲۳).

محتوای خاکستر در جلبک خام ۲۳/۲۳ درصد اندازه‌گیری شد که بازتابی از توانایی بالای جلبک‌های سبز در انباشت مواد معدنی از محیط دریایی است (۶). پس از استخراج، این مقدار به ۱۶/۱۷ درصد در اولوان کاهش یافت. هر چند کاهش خاکستر نشان‌دهنده حذف بخشی از مواد معدنی و نمک‌های اضافی طی مراحل شستشو و دیالیز است، اما باقی ماندن این مقدار خاکستر در اولوان امری متداول بوده و عمدتاً می‌تواند

نهایی از پلی‌ساکاریدهای هدف است. این مقدار با محدوده گزارش‌شده در تحقیقات تران و همکاران (۲۰۲۵) برای گونه‌های Ulva (بین ۵۵ تا ۶۵ درصد) کاملاً همخوانی دارد (۲۵). افزایش کربوهیدرات هم‌زمان با حذف کامل چربی در اولوان، نشان می‌دهد که پیش‌تیمار با اتانول و سایر حلال‌های آلی پیش از استخراج اصلی، ماتریکس جلبکی را به‌خوبی از ترکیبات غیرقطبی و رنگدانه‌ها پاکسازی کرده است (۶). فقدان چربی در اولوان نهایی یک ویژگی مطلوب برای کاربردهای دارویی و تشکیل فیلم‌های زیستی محسوب می‌شود.

محتوای سولفات در اولوان استخراج‌شده از جلبک *U. rigida* در حدود ۱۷/۹۰ درصد اندازه‌گیری شد. گروه‌های سولفات نقش تعیین‌کننده‌ای در فعالیت‌های بیولوژیکی اولوان از جمله خواص ضدانقباضی، آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کنندگی ایمنی ایفا می‌کنند (۴). مقدار به‌دست آمده در محدوده مطلوب (۱۶-۲۳ درصد) قرار دارد که نشان‌دهنده حفظ یکپارچگی ساختاری اولوان طی فرآیند استخراج است (۴). مطابق با جدول ۱، روش آنزیمی نه‌تنها بالاترین بازده کمی (۲۸/۴۰ درصد) را فراهم کرده، بلکه با در نظر

گرفتن شرایط استخراج (pH و دمای پایین)، مانع از تخریب ناخواسته سولفات در زنجیره‌ها شده است (۱۹). برخلاف روش‌های اسید داغ که ممکن است منجر به دپلمریزاسیون و از دست رفتن گروه‌های سولفات شوند (۲۰)، ممکن است رویکرد آنزیمی پایداری این گروه‌های عاملی را تضمین کند.

آنالیز ترکیبات شیمیایی نشان داد که اولوان حاصل از جلبک *U. rigida* با روش آنزیمی، دارای خلوص کربوهیدراتی بالا، محتوای پروتئین بسیار پایین و میزان سولفات بهینه است. اگرچه عدم اندازه‌گیری دقیق اسیدهای اورونیک به تفکیک (مانند اسید گلوکورونیک و اسید ایدورونیک) که بخشی از کربوهیدرات کل را تشکیل می‌دهند، می‌تواند به عنوان یک محدودیت در توصیف دقیق ریزساختار در نظر گرفته شود (۲۶)، اما نتایج فعلی همسو با مطالعات زرگری و همکاران (۲۰۲۶)، کاظمی و همکاران (۲۰۲۳)، آدرین و همکاران (۲۰۱۹) و لاهه و روبیک (۲۰۰۷) قرار داشت که برتری کیفی و کمی روش‌های نوین استخراج را در استحصال پلی‌ساکاریدهای زیست‌فعال جلبکی اثبات می‌کند (۶، ۱۱، ۲۷، ۲۸).

جدول ۲- آنالیز تقریبی ترکیبات شیمیایی در جلبک دریایی *U. rigida* و اولوان استخراج شده از آن به روش آنزیمی بر حسب درصد. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده است.

Table 2. Approximate analysis of chemical compounds in the seaweed *U. rigida* and Ulvan extracted from it by enzymatic method in percentage. Data are reported as mean $\pm$ standard deviation.

ترکیبات Composition	پودر جلبک Algae Powder	اولوان Ulvan
رطوبت Moisture	6.67 $\pm$ 0.31	2.27 $\pm$ 0.30
خاکستر Ash	23.23 $\pm$ 0.58	16.17 $\pm$ 0.24
پروتئین Protein	19.37 $\pm$ 0.50	1.94 $\pm$ 0.17
کربوهیدرات Carbohydrates	51.40 $\pm$ 0.43	61.73 $\pm$ 1.04
چربی Fat	2.33 $\pm$ 0.18	-
محتوای سولفات Sulfate Content	-	17.90 $\pm$ 0.36

ویژگی‌های فنی-عملکردی

ظرفیت نگهداری آب (WHC) و روغن (OHC):

مطابق با شکل ۱، نتایج حاصل از بررسی ویژگی‌های فنی-عملکردی نشان داد که ظرفیت نگهداری آب (WHC) برای اولوان استخراج‌شده از جلبک *U. rigida* برابر با 0.13 ± 0.31 گرم آب بر گرم و برای آلژینات تجاری 0.13 ± 0.33 گرم آب بر گرم بود ($p < 0.05$). همانطور که شکل ۱ نشان می‌دهد بررسی OHC اولوان مقدار 0.21 ± 0.27 گرم روغن بر گرم را ثبت کرد که به‌طور معناداری کم‌تر از آلژینات تجاری با مقدار 0.21 ± 0.37 گرم روغن بر گرم بود ($p < 0.05$). یافته‌های این پژوهش در مورد اولوان همسو با گزارش کاظمی و همکاران (۲۰۲۳) است که در بررسی جلبک *U. intestinalis*، ظرفیت نگهداری روغن توسط اولوان را به‌طور معنی‌داری کم‌تر از آلژینات گزارش کردند (۶). با این حال، مقادیر WHC و OHC در این مطالعه نسبت به یافته‌های یوان و همکاران (۲۰۱۸) که برای اولوان استخراج‌شده از جلبک *U. prolifera* مقادیر بسیار بالاتری را گزارش کرده بودند، کم‌تر است (۲۱). که این تفاوت را می‌توان به اختلاف در گونه جلبک، ساختار شاخه‌ای و روش استخراج نسبت داد.

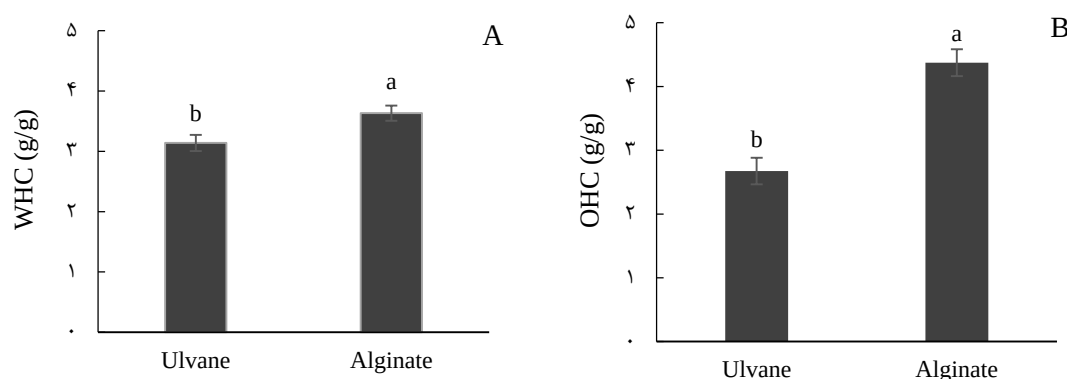
تفسیر علمی این نتایج نیازمند بررسی ساختار شیمیایی هر دو پلی‌ساکارید است. آلژینات یک پلی‌ساکارید خطی متشکل از واحدهای اسید مانورونیک و اسید گلوکورونیک است که به دلیل وزن مولکولی بالا و توانایی تشکیل شبکه‌های زنجیره‌ای محکم، پتانسیل بالایی در به دام انداختن مولکول‌های آب و روغن دارد (۲۹). در مقابل، اولوان پلی‌ساکاریدی پیچیده‌تر و منشعب است که عمدتاً از واحدهای تکرارشونده اولوانوئید و اسید (رامنوز سولفات و اسیدهای اورونیک) تشکیل شده است (۴). پایین‌تر بودن WHC در اولوان می‌تواند ناشی از نحوه توزیع

گروه‌های هیدروکسیل آزاد و شدت تخلخل در ریزساختار آن باشد که در مقایسه با آلژینات، فضای کم‌تری برای برهم‌کنش‌های هیدروژنی با آب فراهم می‌کند (۶). هم‌چنین، OHC که به شدت تحت تأثیر چگالی بار الکتریکی و ماهیت آبدوست-آبگریز اجزا قرار دارد، در اولوان به دلیل حضور گروه‌های سولفات فراوان (۱۷/۹۰ درصد) که قطبیت ساختار را افزایش می‌دهند، محدودتر می‌شود. چرا که این قطبیت بالا تمایل ساختار به اتصال با مولکول‌های غیرقطبی روغن را کاهش می‌دهد (۳۰).

ارتباط میان ویژگی‌های عملکردی فعلی و نتایج مراحل قبلی این مطالعه حائز اهمیت است. در بخش‌های پیشین گزارش شد که روش استخراج آنزیمی با بازده $28/40$ درصد، موفق‌ترین رویکرد در جداسازی اولوان بوده است. استفاده از این روش باعث حفظ یکپارچگی زنجیره‌های پلی‌ساکاریدی و گروه‌های عاملی سولفات شده است، که محتوای بالای کربوهیدرات ($61/73$ درصد) در آنالیز تقریبی مؤید این مطلب است (۱). حفظ گروه‌های سولفات و اسیدهای اورونیک طی استخراج آنزیمی، هرچند باعث بهبود فعالیت‌های زیستی می‌شود، اما به دلیل افزایش بارهای منفی روی زنجیره، منجر به ایجاد کنفورماسیون‌های توده‌ای در محلول می‌گردد که می‌تواند دسترسی به سایت‌های فعال برای اتصال به روغن را محدود کرده و دلیلی بر OHC پایین‌تر نسبت به آلژینات باشد (۷). با این وجود، مقادیر WHC به دست آمده برای اولوان (0.13 ± 0.31 گرم آب بر گرم) نشان‌دهنده توانایی رضایت‌بخش این هیدروکلوئید در اصلاح گرانبوی و جلوگیری از سینرسیس در سیستم‌های غذایی و آرایشی است (۲۱). به عبارت دیگر تفاوت عملکردی اولوان و آلژینات ریشه در ناهمگنی مولکولی و تفاوت در توالی مونوساکاریدی آن‌ها دارد. اولوان مستخرج از *U. rigida* با وجود

این تحقیق به شکل مستقیم مورد سنجش قرار نگرفت با این حال طبق نظر پیسورا و همکاران (۲۰۱۵)، وزن مولکولی بالاتر معمولاً همبستگی مثبتی با افزایش ظرفیت نگهداری آب و روغن در پلی‌ساکاریدهای جلبکی دارد (۹).

ظرفیت نگهداری کم‌تر آب و روغن نسبت به آلژینات، احتمالاً به دلیل خلوص بیش‌تر ناشی از استخراج آنزیمی و حفظ ساختار سولفات‌ها، یک گزینه ارزشمند برای کاربردهایی است که در آن‌ها حفظ پایداری گروه‌های زیست‌فعال بر ویژگی‌های فیزیکی محض اولویت دارد (۴). اگر چه وزن مولکولی در



شکل ۱- نمودارهای مربوط به ظرفیت نگهداری آب (A) و ظرفیت نگهداری روغن (B) در اولوان و آلژینات تجاری به عنوان کنترل. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده است.

Figure 1. Graphs of water holding capacity (A) and oil holding capacity (B) of Ulvan and commercial Alginate as control. Data are reported as mean $\pm$ standard deviation.

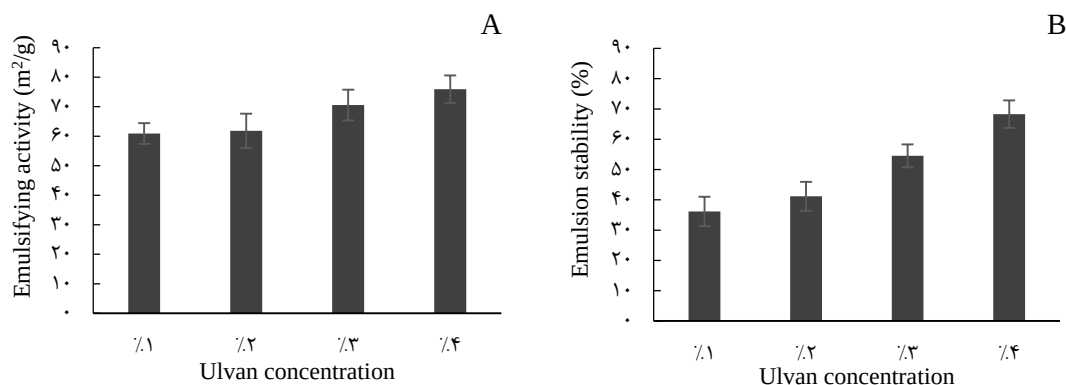
(۶۸/۲۷ درصد) مشاهده شد ($p < 0.05$). روند صعودی این پارامترها با افزایش غلظت، همسو با یافته‌های زرگری و همکاران (۲۰۲۶) و کاظمی و همکاران (۲۰۲۳) است که در بررسی پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ها جلبکی گزارش کردند افزایش غلظت منجر به بهبود معنی‌دار ویژگی‌های امولسیفایری می‌گردد (۶ و ۱۱). همچنین، مقادیر EAI به دست آمده در غلظت ۳ درصد ($70/57 \text{ m}^2/\text{g}$) با نتایج کاظمی و همکاران (۲۰۲۳) که مقدار $69/66 \text{ m}^2/\text{g}$ را گزارش کرده بودند، مطابقت نزدیکی دارد (۶).

تفسیر علمی این یافته‌ها بر مبنای تغییرات فیزیکوشیمیایی در فاز پیوسته و سطح مشترک روغن-آب استوار است. با افزایش غلظت اولوان،

خواص امولسیون‌کنندگی: نتایج حاصل از بررسی فعالیت امولسیون‌کنندگی (EAI) و پایداری امولسیون (ES) اولوان استخراج شده از جلبک *U. rigida* مطابق با شکل ۲ می‌باشد. این شکل نشان می‌دهد که فعالیت امولسیون‌کنندگی (EAI) و پایداری امولسیون (ES) به طور مستقیم تحت تأثیر غلظت پلی‌ساکارید قرار دارند. با افزایش غلظت اولوان از ۱ به ۴ درصد، شاخص EAI از $60/92 \pm 3/52 \text{ m}^2/\text{g}$ به $75/94 \pm 4/69 \text{ m}^2/\text{g}$ افزایش یافت ($p < 0.05$). به همین ترتیب، پایداری امولسیون نیز روند افزایشی مشابهی را نشان داد، به‌طوری‌که کم‌ترین میزان پایداری در غلظت‌های ۱ و ۲ درصد (به ترتیب $36/16$ و $41/16$ درصد، $p > 0.05$) و بالاترین میزان در غلظت ۴ درصد

اولوان استخراج‌شده از *U. rigida* با وجود محدودیت‌های نسبی در ظرفیت نگهداری روغن، در سیستم‌های دو فازي مانند امولسیون توانمندی بالایی از خود نشان داد. این ویژگی که با گزارش‌های یوان و همکاران (۲۰۱۸) در مورد اولوان مستخرج از *U. prolifera* نیز همخوانی دارد (۲۱)، نشان می‌دهد که این هیدروکلوئید پتانسیل بالایی برای جایگزینی با صمغ‌های تجاری در فرمولاسیون محصولات غذایی کم‌چرب و سس‌ها دارد، جایی که پایداری امولسیون در اولویت است (۶). با این حال، همان‌طور که گویدارا و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند، پایداری طولانی‌مدت این امولسیون‌ها ممکن است تحت تأثیر قدرت یونی و pH محیط تغییر کند که بررسی آن در مطالعات آتی ضروری به نظر می‌رسد (۷).

گرانروی (ویسکوزیته) محلول آبی افزایش یافته که این امر مطابق با گزارش حمزوی و همکاران (۲۰۲۰) مانع از حرکت آزادانه قطرات روغن و تجمع آن‌ها می‌گردد. از سوی دیگر، حضور گروه‌های سولفات در ساختار اولوان نقش کلیدی در القای ماهیت آمفی‌فیلیک به این پلی‌ساکارید دارد (۳۰). این گروه‌ها با ایجاد بارهای منفی در سطح مشترک، منجر به ایجاد دافعه الکترواستاتیک بین قطرات روغن شده و از به هم چسبیدن آن‌ها جلوگیری می‌کنند (۳۰). علاوه بر این، ساختار منشعب اولوان که غنی از واحدهای رامنوز و اسیدهای اورونیک است، با تشکیل یک شبکه پلیمری در فاز آبی، لایه محافظی را در اطراف قطرات روغن ایجاد کرده و پایداری سیستم کلوئیدی را به ویژه در غلظت‌های بالا بهبود می‌بخشد (۱۱).



شکل ۲- نمودارهای مربوط به فعالیت امولسیون‌کنندگی (A) و پایداری امولسیون (B) توسط اولوان در روغن گیاهی آفتابگردان. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده است.

Figure 2. Graphs of emulsifying activity (A) and emulsion stability (B) of Ulvan in rapeseed vegetable oil. Data are reported as mean $\pm$ standard deviation.

غلظت پلی‌ساکارید تأثیر تعیین‌کننده‌ای بر این شاخص‌ها دارد. میزان تشکیل فوم (شکل ۳، A) با افزایش غلظت از ۱ به ۴ درصد روند صعودی معنی‌داری را طی کرد ($p < 0.05$), به‌طوری‌که از $2/87 \pm 47/25$

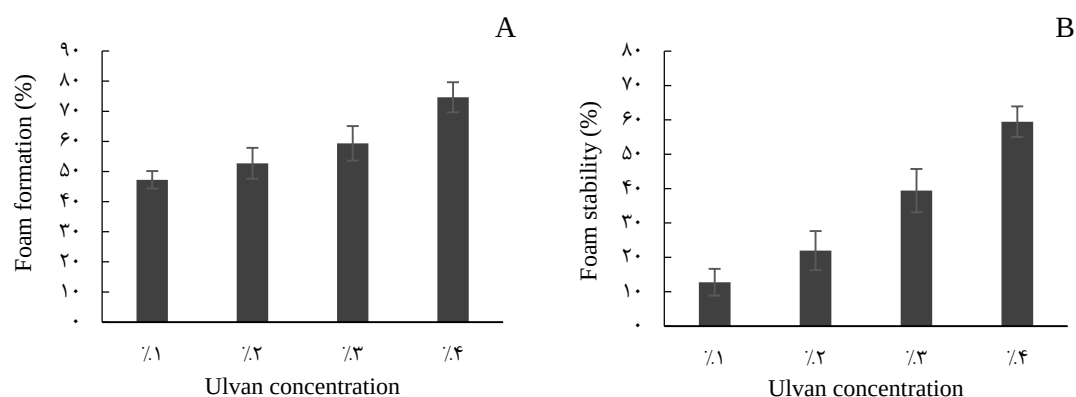
خاصیت تشکیل فوم (FC) و پایداری فوم (FS): شکل ۳ نتایج حاصل از بررسی شاخص تشکیل فوم (FC) و پایداری فوم (FS) در اولوان استخراج‌شده از جلبک *U. rigida* نشان می‌دهد. مطابق با شکل ۳

درصد در غلظت ۱ درصد به $4/99 \pm 74/65$ درصد در غلظت ۴ درصد رسید ($p < 0/05$). در این میان، غلظت ۲ درصد ($5/14 \pm 52/73$ درصد) تفاوت معنی‌داری با غلظت ۱ درصد نشان نداد ($p > 0/05$)، اما به‌طور معنی‌داری کم‌تر از غلظت‌های ۳ و ۴ درصد بود ($p < 0/05$). روند مشابهی در پایداری فوم نیز مشاهده گردید (شکل ۳، B)، به گونه‌ای که کم‌ترین میزان پایداری در غلظت‌های ۱ و ۲ درصد (به ترتیب $12/76$ و $21/95$ درصد، $p > 0/05$) و بیش‌ترین میزان در غلظت ۴ درصد ($4/43 \pm 59/48$ درصد) ثبت شد ($p < 0/05$). یافته‌های این بخش همسو با گزارش زرگری و همکاران (۲۰۲۶) و کاظمی و همکاران (۲۰۲۳) در مورد پلی‌ساکاریدهای سولفاته است که افزایش وابسته به غلظت را در ویژگی‌های فوم‌زایی گزارش کرده بودند (۶ و ۱۱). با این‌حال، مقادیر تشکیل فوم در غلظت‌های پایین در این مطالعه نسبت به یافته‌های یوان و همکاران (۲۰۱۸) که برای اولوان جلبک *U. prolifera* با وزن مولکولی پایین مقادیر بالاتری (تا ۱۴۳ درصد) را ثبت کرده بودند، کم‌تر است (۲۱). این تفاوت احتمالاً ناشی از اختلاف در وزن مولکولی و میزان انشعابات زنجیره در گونه‌های مختلف است (۳۰).

برتری خواص فوم‌زایی در غلظت‌های بالاتر بر دو مکانیسم اصلی کاهش کشش سطحی و افزایش ویسکوزیته استوار است (۳۰). حضور گروه‌های سولفات ماهیتی آمفی‌فیلیک به این پلی‌ساکارید می‌بخشد. این ماهیت دوگانه جذب سطحی پلی‌ساکارید در سطح مشترک هوا-آب را تسهیل کرده

و با کاهش کشش سطحی، تشکیل حباب‌های هوا را در مرحله همگن‌سازی بهبود می‌دهد. با افزایش غلظت به ۴ درصد، ویسکوزیته فاز مایع افزایش یافته که طبق گزارش حمزوی و همکاران (۲۰۲۰)، منجر به کند شدن سرعت تخلیه مایع از دیواره حباب‌ها می‌گردد (۳۰). اگرچه ترکیبات مونوساکاریدی به شکل مستقیم مورد سنجش قرار نگرفته است اما احتمالاً ساختار شاخه‌ای اولوان که غنی از واحدهای رامنوز و اسیدهای اورونیک است، اجازه می‌دهد تا زنجیره‌های پلی‌مریک لایه‌های الاستیک و پایداری را در اطراف حباب‌های هوا تشکیل دهند که از ادغام و فروپاشی ناگهانی فوم جلوگیری می‌کند (۶ و ۳۰).

مقایسه پایداری فوم با پایداری امولسیون نشان می‌دهد در حالی‌که پایداری امولسیون در غلظت ۴ درصد حدود ۶۸ درصد بود، پایداری فوم در همین غلظت به حدود ۵۹ درصد رسید. این اختلاف نشان می‌دهد که اولوان در تثبیت سطح مشترک روغن-آب کارآمدتر از سطح مشترک هوا-آب عمل می‌کند. این پدیده را می‌توان چنین توجیه کرد که دانسیته پایین‌تر هوا و سرعت بالاتر نشت مایع در فوم‌ها، پایداری آن‌ها را نسبت به امولسیون‌ها دشوارتر می‌سازد، به‌ویژه آن‌که ظرفیت نگهداری روغن (OHC) اولوان ($2/67$ g/g) در مقایسه با آلژینات ($4/37$ g/g) محدودتر بود و این محدودیت در اتصال فیزیکی با فاز غیرقطبی، در سطوح مشترک گازی شدت بیش‌تری می‌یابد (۲۱ و ۳۰).



شکل ۳- نمودارهای مربوط به توانایی تشکیل فوم توسط اولوان (A) و پایداری فوم (B).

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده است.

Figure 3. Graphs of Ulvan foam formation (A) and foam stability (B). Data are reported as mean $\pm$ standard deviation.

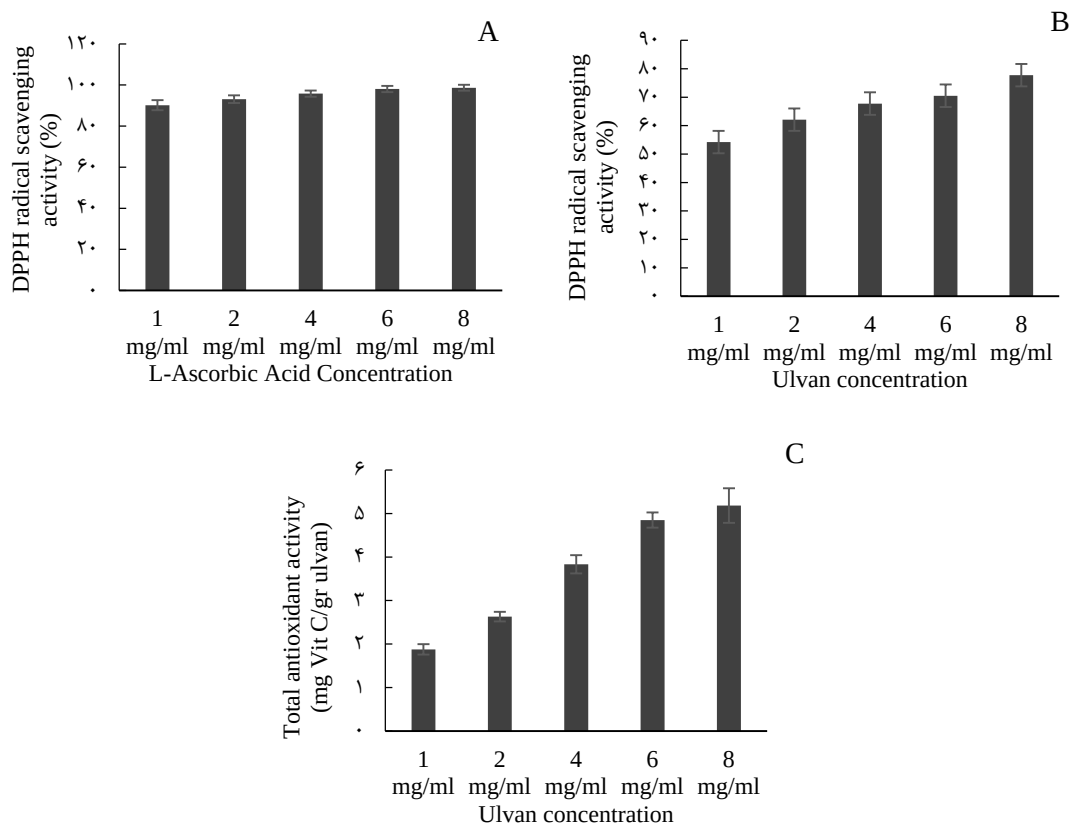
هم‌چنین، مقدار مهار ۵۴/۲۲ درصدی در کم‌ترین غلظت (۱ mg/ml) برتری محسوسی را نسبت به نتایج چن و همکاران (۲۰۲۱) نشان می‌دهد که برای اولوان مستخرج از *U. pertusa* مقدار را ۵۲/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کرده بودند (۱).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای ویژگی‌های ساختاری و گروه‌های عاملی اولوان استوار است (۱). یکی از مهم‌ترین عوامل، حضور گروه‌های سولفات در زنجیره پلی‌ساکاریدی است. این گروه‌های خنثی‌کننده الکترون (رادیکال‌های الکترون) با کاهش انرژی پیوند C-H در مجاورت پیوندهای گلیکوزیدی، توانایی اولوان را در اهدای اتم هیدروژن یا الکترون برای خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهند (۴ و ۶). علاوه بر این، محتوای بالای کربوهیدرات (۶۱/۷۳ درصد) و ساختار پلیمری با وزن مولکولی مناسب که ناشی از روش استخراج آنزیمی است، به اولوان اجازه می‌دهد تا به عنوان یک خنثی‌کننده الکترون آزاد مؤثر عمل کرده و با ایجاد یک سد فیزیکی-شیمیایی، واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداتیو را متوقف کند (۲۵). حضور اسیدهای اورونیک (از جمله اسید گلوکورونیک و ایدورونیک) در ساختار اولوان نیز نقش کلیدی ایفا می‌کند. این واحدها با برخورداری از گروه‌های کربوکسیل، توانایی کلاته

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: مطابق با شکل ۴، ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اولوان استخراج‌شده از جلبک *U. rigida* نشان داد که این پلی‌ساکارید سولفات‌ها دارای توانایی قابل‌توجهی در مهار رادیکال‌های آزاد است (شکل ۴). نتایج حاصل از آزمون مهار رادیکال DPPH (شکل ۴، A و B) حاکی از روند افزایشی کاملاً وابسته به غلظت بود. به‌طوری‌که با افزایش غلظت اولوان از ۱ mg/mL به ۸ mg/mL، درصد مهار از $3/04 \pm 54/22$ درصد به $4/65 \pm 77/75$ درصد به شکل معنادار افزایش یافت ($p < 0/05$). در مقایسه با L-آسکوربیک اسید به عنوان کنترل (شکل ۴، A)، هرچند اولوان در تمامی غلظت‌ها فعالیت کم‌تری را نسبت به L-آسکوربیک اسید نشان داد، اما روند صعودی مشابهی در هر دو مشاهده گردید (شکل ۴). علاوه بر این، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل اولوان (شکل ۴، C) بر حسب معادل L-آسکوربیک اسید از ۱/۸۸ در غلظت ۱ mg/mL به ۵/۱۸ در غلظت ۸ mg/mL افزایش یافت ($p < 0/05$) که تأییدکننده پتانسیل بالای این ترکیب در سیستم‌های بیولوژیکی پیچیده است. یافته‌های این بخش همسو با گزارش زرگری و همکاران (۲۰۲۶) و کاظمی و همکاران (۲۰۲۳) است که روند افزایشی کاملاً وابسته به غلظت را گزارش دادند (۶ و ۱۱).

آنتی‌اکسیدان ضعیف‌تری به نظر می‌رسد، اما به دلیل ماهیت پلیمری و حضور گروه‌های عاملی متنوع، ممکن است اولوان پتانسیل بالاتری برای پایداری طولانی‌مدت در سیستم‌های غذایی و مهار آنزیم‌های اکسیداتیو را داشته باشد (۲۵). این ویژگی که با گزارش‌های گویدارا و همکاران (۲۰۱۹) و یایچ و همکاران (۲۰۱۷) نیز مطابقت دارد، نشان می‌دهد که این پلی‌ساکارید می‌تواند به عنوان یک جایگزین ایمن برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد (۷ و ۲۰). با این حال، همان‌طور که کیدگل و همکاران (۲۰۱۹) اشاره کرده‌اند، درک دقیق‌تر رابطه ساختار-فعالیت نیازمند بررسی اثر توزیع وزن مولکولی بر مسیرهای سیگنالینگ آنتی‌اکسیدانی در مدل‌های درون‌تنی است که باید به آن‌ها توجه ویژه شود (۴).

کردن یون‌های فلزی واسطه (مانند آهن و مس) را داشته و از این طریق مانع از تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل از طریق واکنش فنتون و متعاقباً جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند (۴، ۱۱ و ۳۱). روش استخراج آنزیمی با حصول بالاترین بازده، می‌تواند منجر به حفظ یکپارچگی گروه‌های سولفات و اسیدهای اورونیک شده باشد. این پایداری ساختاری مستقیماً در فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده بازتاب یافته است. برخلاف روش‌های اسیدی داغ که منجر به سولفات‌زدایی و دیپلمریزاسیون ناخواسته می‌شوند، روش آنزیمی احتمالاً گروه‌های عاملی دخیل در فعالیت آنتی‌اکسیدانی را حفظ کرده است (۱). اگرچه اولوان در مقایسه با L-آسکوربیک اسید (که یک مولکول کوچک با قدرت اهدای هیدروژن بسیار سریع است)



شکل ۴- نمودارهای مربوط به اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اولوان. مقایسه فعالیت مهار رادیکال DPPH در اولوان (A) و L-آسکوربیک اسید به عنوان کنترل (B). میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در اولوان (C). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده‌اند.

Figure 4. Graphs related to the measurement of antioxidant activity of Ulvan. Comparison of DPPH radical scavenging activity of Ulvan (A) and L-ascorbic acid as control (B). Total antioxidant activity of Ulvan (C). Data are reported as mean $\pm$ standard deviation.

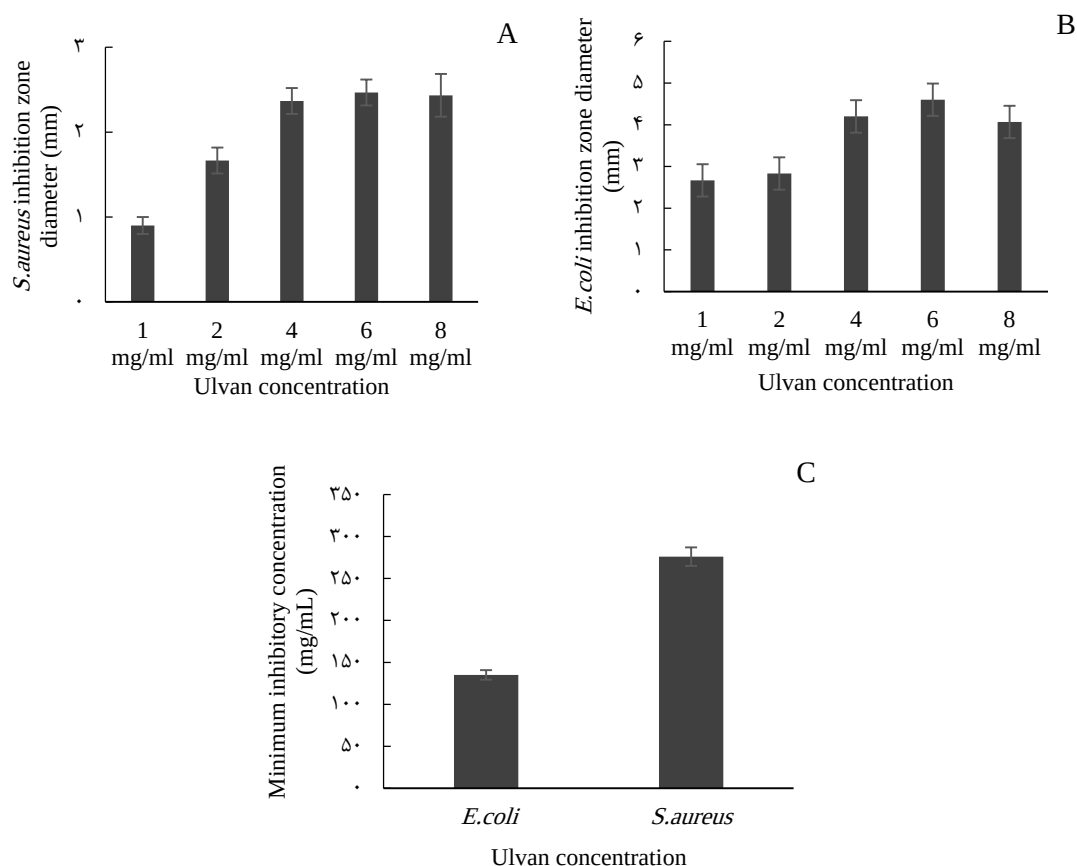
سنجش فعالیت ضدباکتریایی در شرایط آزمایشگاهی:

نتایج ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی در شکل ۵ اولوان استخراج شده از *U. rigida* نشان داده شده است. شکل ۵ نشان می‌دهد که این پلی‌ساکارید سولفات‌ها دارای توان بازدارندگی متفاوتی در برابر باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی است. نتایج حاصل از روش انتشار دیسک نشان داد که در مورد باکتری گرم‌مثبت *S. aureus* قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت اولوان از ۱ mg/mL به ۴ mg/mL به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش می‌یابد (از 0.10 ± 0.90 mm به 0.37 ± 0.15 mm)، اما در غلظت‌های بالاتر (۶ mg/mL و ۸ mg/mL) تغییر معناداری در قطر هاله مشاهده نشد ($p < 0.05$)، که می‌تواند نشان‌دهنده رسیدن به حد اشباع نفوذ پلی‌ساکارید در محیط آگار باشد (شکل ۵، A). در مقابل، فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری گرم‌منفی *E. coli* به مراتب بیش‌تر بود. به‌طوری‌که قطر هاله عدم رشد از 0.25 ± 0.67 mm در غلظت ۱ mg/mL به 0.30 ± 0.60 mm در غلظت ۶ mg/mL رسید (شکل ۵، B). این افزایش معنادار ($p < 0.05$) و تفاوت در حساسیت دو باکتری در مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) نیز منعکس گردید (شکل ۵، C). مقدار MIC برای *E. coli* برابر با ۱۳۵ mg/mL محاسبه شد که به طور قابل‌توجهی کم‌تر از مقدار آن برای *S. aureus* (۲۷۶ mg/mL) بود ($p < 0.05$).

یافته‌های فعلی در مورد حساسیت بالاتر باکتری‌های گرم‌منفی، با گزارش آلبوفتیل و همکاران (۲۰۱۹) همخوانی دارد که نشان دادند پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ها به‌دلیل برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک با غشای خارجی پیچیده باکتری‌های گرم‌منفی، اثربخشی بیش‌تری از خود نشان می‌دهند (۳۲). با این حال، نتایج به دست آمده در مورد *S. aureus* تا حدودی با مطالعات کاظمی و همکاران (۲۰۲۳) و ابراهیم و همکاران (۲۰۲۲) متفاوت است (۶ و ۳۳). آن‌ها در

پژوهش‌های خود که روی اولوان استخراج شده از *U. lactuca* و *U. intestinalis* انجام دادند، هیچ فعالیت بازدارنده‌ای علیه *S. aureus* گزارش نکردند. بروز فعالیت ضدباکتریایی در مطالعه حاضر علیه هر دو سویه، به ویژه سویه گرم‌مثبت، می‌تواند ناشی از تفاوت در گونه جلبک، زمان برداشت و به ویژه روش استخراج آنزیمی باشد. به‌نظر می‌رسد حفظ یکپارچگی ساختاری زنجیره‌ها و گروه‌های زیست‌فعال طی استخراج آنزیمی، منجر به تقویت ویژگی‌های آنتی‌میکروبی شده است (۱۹).

این تفاوت در فعالیت ضدباکتریایی به ساختار دیواره سلولی و بار سطحی باکتری‌ها باز می‌گردد. حضور گروه‌های سولفات نقش محوری در این مکانیسم ایفا می‌کند (۱۱ و ۱۹). بار منفی گروه‌های سولفات می‌تواند با غشای باکتریایی که دارای بار مثبت موضعی است (مانند لیپوپلی‌ساکارید در گرم‌منفی‌ها یا اسیدهای تیکوئیک در گرم‌مثبت‌ها) تعامل کرده و منجر به اختلال در نفوذپذیری غشا، نشت مواد درون‌سلولی مانند پروتئین و DNA و در نهایت مرگ سلول شود (۶ و ۳۴). حساسیت بیش‌تر *E. coli* احتمالاً به دلیل تعامل اختصاصی‌تر اولوان با پروتئین‌های غشای خارجی یا لیپوپلی‌ساکاریدهای سطحی این باکتری است که منجر به تخریب سد دفاعی آن می‌گردد (۵). علاوه بر این، محتوای کربوهیدرات و وزن مولکولی اولوان در روش آنزیمی، منجر به افزایش ویسکوزیته موضعی در محیط پیرامون باکتری شده که می‌تواند با محدود کردن انتقال مواد مغذی به درون سلول، رشد باکتری را مهار کند (۳۰). با این وجود، به عنوان یک محدودیت، اثر قدرت یونی و pH بر پایداری این فعالیت ضدباکتریایی باید در مطالعات آینده بررسی شود تا امکان کاربرد دقیق آن در فرمولاسیون‌های مختلف فراهم گردد (۴ و ۷).



شکل ۵- نمودارهای مرتبط با فعالیت ضدباکتریایی اولوان به روش انتشار دیسک در مقابل باکتری‌های *S. aureus* (A) و *E. coli* (B) به همراه سنجش حداقل غلظت بازدارندگی در باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* (C). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده است.

Figure 5. Graphs related to antibacterial activity of Ulvan by disc diffusion method against *S. aureus* (A) and *E. coli* (B) bacteria along with the minimum inhibitory concentration assay in *S. aureus* and *E. coli* bacteria (C). Data are reported as mean $\pm$ standard deviation.

نتیجه‌گیری

روش می‌تواند به حفظ محتوای سولفات و به پایداری گروه‌های عاملی کمک کند. در بررسی ویژگی‌های فنی-عملکردی، ظرفیت نگهداری آب و روغن در اولوان به‌طور معناداری کمتر از آلژینات تجاری بود ($p < 0.05$). علاوه بر این، خواص امولسیون‌کنندگی و فوم‌زایی وابستگی شدیدی به غلظت نشان دادند. در حوزه فعالیت زیستی اولوان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکال‌های DPPH با افزایش غلظت به شکل معنادار افزایش یافت ($p < 0.05$) و فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری *E. coli* بیش‌تر از باکتری

یافته‌های نشان داد که نوع روش استخراج تأثیر به‌سزایی بر بازده محصول دارد. به‌طوری‌که روش آنزیمی به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کارآمدترین رویکرد و روش آب گرم با کم‌ترین بازده در پایین‌ترین سطح قرار گرفت ($p < 0.05$). آنالیز ترکیبات شیمیایی اولوان حاصل از روش آنزیمی، حاکی از خلوص بالای کربوهیدرات و محتوای پروتئین بسیار ناچیز بود که نشان‌دهنده حذف موفقیت‌آمیز پیوندهای پروتئین-پلی‌ساکارید طی فرآیند استخراج و خالص‌سازی است. همچنین این

به‌عنوان جایگزینی طبیعی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنایع غذایی و دارویی استفاده شود را نشان داد. با این حال، برای تأیید یافته‌های این تحقیق، انجام مطالعات عمیق‌تری ضروری است که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به تفکیک دقیق اسیدهای اورونیک (گلوکورونیک و ایدورونیک) در آنالیز ریزساختاری، بررسی اثر قدرت یونی و pH بر پایداری فعالیت‌های زیستی و انجام مطالعات درون‌تنی (In vivo) برای تأیید مسیرهای سیگنالینگ آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد.

S. aureus ثبت شد. تفسیر یافته‌ها نشان می‌دهد که برتری روش آنزیمی ناشی از تخریب اختصاصی ماتریکس سلولزی بدون دپلمیریزاسیون شدید زنجیره‌هاست که منجر به حفظ گروه‌های سولفات و اسیدهای اورونیک و در نتیجه تقویت فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی می‌شود. تحقیق حاضر به اهمیت استخراج آنزیمی در استحصال پلی‌ساکاریدهای زیست‌فعال با کیفیت بالا از زیست‌توده جلبکی پرداخت. هم‌چنین این تحقیق، پتانسیل اولوان را به‌عنوان یک هیدروکلوئید چندمنظوره که می‌توان

منابع

- Chen, J., Zeng, W., Gan, J., Li, Y., Pan, Y., Li, J., & Chen, H. (2021). Physicochemical properties and anti-oxidation activities of ulvan from *Ulva pertusa* Kjellm. *Algal Research*, 55, 102269. [10.1016/j.algal.2021.102269](https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102269).
- Lakshmi, D. S., Sankaranarayanan, S., Gajaria, T. K., Li, G., Kujawski, W., Kujawa, J., & Navia, R. (2020). A short review on the valorization of green seaweeds and ulvan: Feedstock for chemicals and biomaterials. *Biomolecules*, 10(7), 991. <https://doi.org/10.3390/biom10070991>.
- Ottolina, G., Zaccheria, F., & Paini, J. (2025). Resource Recovery from Green Tide Biomass: Sustainable Cascading Biorefinery Strategies for *Ulva* spp. *Biomass*, 5(3), 41. <https://doi.org/10.3390/biomass5030041>.
- Kidgell, J. T., Magnusson, M., de Nys, R., & Glasson, C. R. (2019). Ulvan: A systematic review of extraction, composition and function. *Algal research*, 39, 101422. [10.1016/j.algal.2019.101422](https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101422).
- Cindana Mo'o, F. R., Wilar, G., Devkota, H. P., & Wathoni, N. (2020). Ulvan, a polysaccharide from macroalga *Ulva* sp.: a review of chemistry, biological activities and potential for food and biomedical applications. *Applied Sciences*, 10(16), 5488. <https://doi.org/10.3390/app10165488>.
- Kazemi, M., Fathi, M., Jahanbin, K., Taghdir, M., & Abbaszadeh, S. (2023). Optimization of ultrasonic-assisted hot acidic solvent extraction of ulvan from *Ulva intestinalis* of the Persian Gulf: Evaluation of structural, techno-functional, and bioactivity properties. *Food Hydrocolloids*, 142, 108837. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108837>.
- Guidara, M., Yaich, H., Amor, I. B., Fakhfakh, J., Gargouri, J., Lassoued, S., ... & Garna, H. (2021). Effect of extraction procedures on the chemical structure, antitumor and anticoagulant properties of ulvan from *Ulva lactuca* of Tunisia coast. *Carbohydrate Polymers*, 253, 117283. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117283>.
- Le, B., Golokhvast, K. S., Yang, S. H., & Sun, S. (2019). Optimization of microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Ulva pertusa* and evaluation of their antioxidant activity. *Antioxidants*, 8(5), 129. <https://doi.org/10.3390/antiox8050129>.
- Peasura, N., Laohakunjit, N., Kerdchoechuen, O., & Wanlapa, S. (2015). Characteristics and antioxidant of *Ulva intestinalis* sulphated polysaccharides extracted with different solvents. *International journal of biological*

- macromolecules*, 81, 912-919. **10.1016/j.ijbiomac.2015.09.030.**
10. Alipour, H. J., Rezaei, M., Shabanpour, B., & Tabarsa, M. (2018). Effects of sulfated polysaccharides from green alga *Ulva intestinalis* on physicochemical properties and microstructure of silver carp surimi. *Food Hydrocolloids*, 74, 87-96. **<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.038>.**
11. Zargari, A., Jahanbin, K., Abbaszadeh, S., Darabzadeh, N., Hedayati, A., Bagheri, T., & Nejatian, M. (2026). Valorization of *Sargassum tenerrimum* Biomass for the Extraction of Bioactive Sulphated Polysaccharide and Evaluation of Its Techno-functional and Biological Properties. *Waste and Biomass Valorization*, 17(6), 3397-3423. **<https://doi.org/10.1007/s12649-025-03317-w>.**
12. Alboofetileh, M., Rezaei, M., Tabarsa, M., & You, S. (2019). Bioactivities of *Nizamuddinina zanardinii* sulfated polysaccharides extracted by enzyme, ultrasound and enzyme-ultrasound methods. *Journal of food science and technology*, 56(3), 1212-1220. **<https://doi.org/10.1007/s13197-019-03584-1>.**
13. Robinson, H. W., & Hogden, C. G. (1940). The biuret reaction in the determination of serum proteins. 1. A study of the conditions necessary for the production of a stable color which bears a quantitative relationship to the protein concentration. **10.5555/19401402302.**
14. Suganya, A. M., Sanjivkumar, M., Chandran, M. N., Palavesam, A., & Immanuel, G. (2016). Pharmacological importance of sulphated polysaccharide carrageenan from red seaweed *Kappaphycus alvarezii* in comparison with commercial carrageenan. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 1300-1312. **<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.10.067>.**
15. Romdhane, M. B., Haddar, A., Ghazala, I., Jeddou, K. B., Helbert, C. B., & Ellouz-Chaabouni, S. (2017). Optimization of polysaccharides extraction from watermelon rinds: Structure, functional and biological activities. *Food Chemistry*, 216, 355-364. **10.1016/j.foodchem.2016.08.056.**
16. Pearce, K. N., & Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of agricultural and food chemistry*, 26(3), 716-723. **<https://doi.org/10.1021/jf60217a041>.**
17. Shahidi, F., Han, X. Q., & Synowiecki, J. (1995). Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). *Food chemistry*, 53(3), 285-293. **10.1016/0308-8146 (95) 93934-J.**
18. Heng, S., Nakayama, T., & Kusalaruk, W. (2025). Antibacterial activity of ethanol plant extract combined with organic acid against pathogenic and spoilage bacteria at different pH conditions. *Discover Food*, 5(1), 399. **<https://doi.org/10.1007/s44187-025-00616-y>.**
19. Hardouin, K., Bedoux, G., Burlot, A. S., Donnay-Moreno, C., Bergé, J. P., Nyvall-Collén, P., & Bourgougnon, N. (2016). Enzyme-assisted extraction (EAE) for the production of antiviral and antioxidant extracts from the green seaweed *Ulva armoricana* (Ulvales, Ulvophyceae). *Algal Research*, 16, 233-239. **10.1016/j.algal.2016.03.013.**
20. Yaich, H., Amira, A. B., Abbes, F., Bouaziz, M., Besbes, S., Richel, A., ... & Garna, H. (2017). Effect of extraction procedures on structural, thermal and antioxidant properties of ulvan from *Ulva lactuca* collected in Monastir coast. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 1430-1439. **10.1016/j.ijbiomac.2017.07.141.**
21. Yuan, Y., Xu, X., Jing, C., Zou, P., Zhang, C., & Li, Y. (2018). Microwave assisted hydrothermal extraction of polysaccharides from *Ulva prolifera*: Functional properties and bioactivities. *Carbohydrate polymers*, 181, 902-910. **<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.061>.**

22. Glasson, C. R., Sims, I. M., Carnachan, S. M., de Nys, R., & Magnusson, M. (2017). A cascading biorefinery process targeting sulfated polysaccharides (ulvan) from *Ulva ohnoi*. *Algal Research*, 27, 383-391. **10.1016/j.algal.2017.07.001.**
23. Garcia-Marquez, J., Moreira, B. R., Valverde-Guillen, P., Latorre-Redoli, S., Caneda-Santiago, C. T., Acien, G., ... & Abdala-Diaz, R. T. (2023). In vitro and in vivo effects of ulvan polysaccharides from *Ulva rigida*. *Pharmaceuticals*, 16(5), 660. **<https://doi.org/10.3390/ph16050660>.**
24. Costa, C., Alves, A., Pinto, P. R., Sousa, R. A., da Silva, E. A. B., Reis, R. L., & Rodrigues, A. E. (2012). Characterization of ulvan extracts to assess the effect of different steps in the extraction procedure. *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 537-546. **<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.12.041>.**
25. Tran, V. H. N., Nguyen, T. T., Cao, H. T. T., Vo, M. N. H., Tran, T. T. V., Pham, D. T., ... & Nguyen, D. T. (2025). Sulfated polysaccharides of green algae: Chemical composition and antioxidant activity in vitro of fractionated ulvans from *Ulva lactuca* and *Ulva papenfussii*. *Vietnam J. Mar. Sci. Technol*, 25, 207-220. **<https://doi.org/10.15625/1859-3097/22735>.**
26. Tabarsa, M. (2016). Chemical structure and biological effects of sulfated polysaccharides extracted from green seaweeds. *Journal of Fisheries Science and Technology*, 5(1), 97-116.
27. Adrien, A., Bonnet, A., Dufour, D., Baudouin, S., Maugard, T., & Bridiau, N. (2019). Anticoagulant activity of sulfated ulvan isolated from the green macroalga *Ulva rigida*. *Marine drugs*, 17(5), 291. **<https://doi.org/10.3390/md17050291>.**
28. Lahaye, M., & Robic, A. (2007). Structure and functional properties of ulvan, a polysaccharide from green seaweeds. *Biomacromolecules*, 8(6), 1765-1774. **<https://doi.org/10.1021/bm061185q>.**
29. Alboofetileh, M., & Jeddi, S. (2022). A review on commercialized algae products and their application in different industries. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 11(3), 85-108. **10.22069/japu.2022.20229.1661.**
30. Hamzaoui, A., Ghariani, M., Sellem, I., Hamdi, M., Feki, A., Jaballi, I., ... & Amara, I. B. (2020). Extraction, characterization and biological properties of polysaccharide derived from green seaweed "*Chaetomorpha linum*" and its potential application in Tunisian beef sausages. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 1156-1168. **10.1016/j.ijbiomac.2020.01.009.**
31. Qi, H., Zhao, T., Zhang, Q., Li, Z., Zhao, Z., & Xing, R. (2005). Antioxidant activity of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa* Kjellm (Chlorophyta). *Journal of applied phycology*, 17(6), 527-534. **<https://doi.org/10.1007/s10811-005-9003-9>.**
32. Alboofetileh, M., Rezaei, M., Tabarsa, M., You, S., Mariatti, F., & Cravotto, G. (2019). Subcritical water extraction as an efficient technique to isolate biologically-active fucoidans from *Nizamuddiniana zanardinii*. *International journal of biological macromolecules*, 128, 244-253. **10.1016/j.ijbiomac.2019.01.119.**
33. Ibrahim, M. I., Amer, M. S., Ibrahim, H. A., & Zaghloul, E. H. (2022). Considerable production of ulvan from *Ulva lactuca* with special emphasis on its antimicrobial and anti-fouling properties. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(7), 3097-3118. **<https://doi.org/10.1007/s12010-022-03867-y>.**
34. Rajasekar, P., Palanisamy, S., Anjali, R., Vinosha, M., Elakkiya, M., Marudhupandi, T., ... & Prabhu, N. M. (2019). Isolation and structural characterization of sulfated polysaccharide from *Spirulina platensis* and its bioactive potential: In vitro antioxidant, antibacterial activity and Zebrafish growth and reproductive performance. *International journal of biological macromolecules*, 141, 809-821. **10.1016/j.ijbiomac.2019.09.024.**

