

## Assessment of the Quantity and Purity of Polysaccharides from Three Algal Species: *Enteromorpha clathrata*, *Laurencia snyderae*, and *Padina gymnospora* in the Persian Gulf

Ali Doosti, Ali Mashinchian Moradi<sup>1\*</sup>, Mahdi Moridi Farimani<sup>2</sup>, Mozghan Emtiazjoo<sup>3</sup>, Farnaz Rafiee<sup>3</sup>

1- Department of Natural Resources and Environment SR. C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

3- Department of Marine biology, NT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 27 October 2025

Accepted: 25 November 2025

### Extended Abstract:

**Introduction:** The marine environment is a crucial source of diverse chemical compounds, with macroalgae (seaweeds) providing a sustainable reservoir of bioactive molecules (Guiry, 2013). Algal polysaccharides are valuable for health and industrial applications, documented for their anti-inflammatory, antioxidant, and antiviral effects (Stengel et al., 2011). Iran's extensive Persian Gulf coast possesses substantial, yet underexplored, potential for exploiting native algal flora, as comprehensive local species data remains scarce. More recent research (since 2020) has emphasized advanced extraction techniques, such as Microwave-Assisted Extraction (MAE) or enzyme-assisted methods, to improve both efficiency and purity (Dobrinčić et al., 2020; Yahyavi et al., 2018). Furthermore, novel applications such as antiviral activity and effects on gut microbiota have been increasingly reported in species like *Enteromorpha clathrata* (Yao et al., 2022; Huang et al., 2025). This study addresses the research gap concerning native Persian Gulf species. Its core objective is to conduct a comparative quantitative and qualitative assessment of water-soluble polysaccharides from three endemic species: the green alga *Enteromorpha clathrata*, the red alga *Laurencia snyderae*, and the brown alga *Padina gymnospora*. Findings enable industrial use of local marine resources.

**Materials and Methods:** Specimens of the green alga *Enteromorpha clathrata*, the red alga *Laurencia snyderae*, and the brown alga *Padina gymnospora* were collected from the intertidal and subtidal zones of the Persian Gulf near Lengeh Fishery Research Center station in November 2019. Species identity was confirmed by a marine phycologist. The precise identification of the collected algal species from the Persian Gulf coasts was verified using specialized regional resources (Ghoranjik and Rouhani Ghadeiklaili, 2010). After collection, samples were washed to remove salts and adherent foreign matter, then freeze-dried (Brebion, 2013). The extraction process commenced with pigment and partial protein removal using repeated soaking in 96% ethanol at 70°C (Liu et al., 2016). Water-soluble polysaccharides were subsequently extracted using a conventional hot water method (70°C, 10:1 ratio) repeated for three cycles. The crude extract was clarified by centrifugation and filtration. Purification aimed at removing secondary metabolites and proteins involved the Sevag method (chloroform/n-butanol) (Liu et al., 2012), followed by a color removal step using Amberlite XAD7 resin (Brebion, 2013). Polysaccharides were precipitated with 96% ethanol, recovered via centrifugation, and freeze-dried for yield measurement (Hosseini-Nezhad, 2006). Total carbohydrate content and purity were determined spectrophotometrically using the Phenol-Sulfuric Acid method with Glucose as the standard (Southgate, 1991). Statistical analysis utilized one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post-hoc test, with significance set at  $p < 0.05$  (SPSS 26).

**Results and Discussion:** The investigation revealed a clear, statistically significant differentiation in both the yield and purity of extracted polysaccharides across the three species, reflecting the unique cell wall composition of the Chlorophyta, Rhodophyta, and Phaeophyta divisions. Extraction Yields were highest in the brown alga *Padina gymnospora*, which demonstrated 1.26% efficiency, consistent with the known high solubility of phaeophycean polysaccharides like fucoidans and alginates in hot water (Stengel et al., 2011). Conversely, the green alga *Enteromorpha clathrata* showed the lowest yield (0.29%), with the red alga *Laurencia snyderae* in the middle (0.46%). In terms of polysaccharide Purity, *Laurencia snyderae* was superior, achieving the highest mean purity of 82.98%, followed by *E. clathrata* (80.74%). *P. gymnospora* yielded the lowest purity at 75.83%. Statistical analysis confirmed a significant quality difference between *P. gymnospora* and *L. snyderae* ( $p=0.044$ ). The inverse relationship between high yield and low purity in *P. gymnospora* highlights a key limitation of the conventional hot water extraction method, which non-selectively co-extracts non-carbohydrate impurities, particularly phenolic compounds. However, the subsequent use of the Sevag method and Amberlite XAD7 resin was effective in reducing the final phenol content. The high purity and the observed gel-forming characteristic of the *L. snyderae* extract strongly suggest the presence of valuable phycocolloids, such as carrageenans, critical for the food and pharmaceutical industries (Van de Velde and Guinchard, 2009). These findings corroborate existing reports on the distinct functional potential of these genera, including antithrombotic activity in *E. clathrata* and antibacterial properties in *P. gymnospora*. Furthermore, the highly sulfated structures impart significant potential as prebiotics and strong antiviral capabilities (Yao et al., 2022; Huang et al., 2025). To maximize the commercial value of the high-yield *P. gymnospora* extract, future studies must explore advanced, selective extraction techniques like Microwave-Assisted Extraction (MAE) or Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) to minimize phenolic contamination (Dobrinčić et al., 2020). Finally, since the current products were prepared using Lab Grade solvents, extensive purification using Food Grade solvents and mandatory rigorous safety and cytotoxicity testing are essential prerequisites for any commercial or therapeutic application.

**Conclusion:** This research successfully established that the native Persian Gulf algal species, *Enteromorpha clathrata*, *Laurencia snyderae*, and *Padina gymnospora*, represent valuable and distinct sources of water-soluble polysaccharides. The key conclusion is that the species should be targeted based on application: *Padina gymnospora* is the optimal source for high-volume industrial applications due to its maximum extraction yield of 1.26%, while *Laurencia snyderae* is the superior candidate for high-value biomedical and pharmaceutical applications, owing to its significantly higher purity of 82.98%. The observed differences in yield and purity directly reflect the unique cell wall structures and polysaccharide composition of the Chlorophyta, Rhodophyta, and Phaeophyta divisions. These findings provide a vital, evidence-based roadmap for the targeted and sustainable exploitation of these regional marine bio-resources. Given the highly promising characteristics identified, several avenues for future research are highly recommended. Firstly, comprehensive structural elucidation of the isolated polysaccharides is necessary to fully correlate their molecular architecture with their observed or predicted biological activities. practical studies focusing on the upscaling of the extraction process using Food Grade solvents and advanced techniques (MAE/UAE) are necessary to bridge the gap between laboratory findings and commercial production, thereby supporting the growth of the national marine biotechnology sector. Finally, given the promising results, this research can inspire broader studies in the field of marine ecopharmacology and significantly contribute to the development of biotechnology industries in the country.

**Conflict of Interest:** The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this manuscript.

**Acknowledgment:** This research was financially supported by Sabzavaran Nik Company (Robot Food). Special thanks are extended to the CEO and the respected members of the company's board of directors for their valuable contribution, which was instrumental in achieving the objectives of this study.

**Key words:** Marine algae, Polysaccharide, *Enteromorpha clathrate*, *Laurencia snyderae*, *Padina gymnospora*

---

\* Corresponding Author: mashinchian@iaau.ac.ir

## "مقاله پژوهشی"

## ارزیابی مقدار و خلوص پلی ساکاریدهای سه گونه جلبک *Enteromorpha clathrate*، *Laurencia snyderae* و *Padina gymnospora* در خلیج فارس

علی دوستی<sup>۱</sup>، علی ماشینچیان مرادی<sup>۱\*</sup>، مهدی مریدی فریمانی<sup>۲</sup>، مژگان امتیازجو<sup>۳</sup>، فرناز رفیعی<sup>۳</sup>

۱- گروه منابع طبیعی و محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- گروه زیست شناسی دریا، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۸/۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۷/۵

### چکیده

امروزه کاربرد پلی ساکاریدها در حوزه سلامت مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. مشخص گردیده محیط زیست دریایی خصوصاً جلبک‌ها منبع غنی از این پلی ساکاریدها می‌باشند و تنوع بالایی از این ترکیب را شامل می‌شوند. سرزمین ایران با توجه به خطوط ساحلی زیاد در جنوب و شمال خود می‌تواند در برداشت جلبک‌های متنوع و استخراج این ترکیبات مورد توجه قرار گرفته و در پیشبرد و ارتقاء علوم و صنایع مختلف از جمله تولید مواد غذایی فراسودمند، داروهای ضدسرطان و ضد التهاب، و ترکیبات آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار گیرد. این پژوهش با هدف استخراج پلی ساکاریدهای محلول در آب از سه گونه جلبک *Enteromorpha clathrate*، *Laurencia snyderae* و *Padina gymnospora* جمع‌آوری شده از خلیج فارس با روش اتانول و آب گرم انجام شد که در این تحقیق خالص سازی، مقایسه راندمان استخراج و همچنین مقایسه مقدار پلی ساکاریدهای استخراج شده بین سه گونه جلبک صورت گرفت. در نتایج بدست آمده مشخص شد گونه *Padina gymnospora* با مقدار ۱/۲۶ درصد نسبت به وزن خشک دارای بیشترین راندمان استخراج بود. همچنین در بررسی‌های انجام شده در سه تکرار بیشترین درصد خلوص پلی ساکارید مربوط به جلبک *Laurencia snyderae* با ۸۴/۲۹ درصد و کمترین درصد خلوص مربوط به *Padina gymnospora* با ۷۱/۱۹ درصد بود. جهت مقایسه میانگین غلظت پلی ساکاریدهای این سه جلبک از آزمون واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی استفاده شد که در مقدار میانگین غلظت پلی ساکارید بین *Laurencia snyderae* و *Padina gymnospora* تفاوت معنی دار مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ) نتیجه نهایی و پیشنهاد: با توجه به بالاترین راندمان استخراج (*Padina gymnospora*) و بالاترین خلوص (*Laurencia snyderae*)، گونه *Laurencia snyderae* به دلیل خلوص بسیار بالا، کاندیدای برتر برای کاربردهای دارویی و با ارزش تر صنعتی پیشنهاد می‌شود.

**کلمات کلیدی:** جلبک‌های دریایی، پلی ساکارید، *Enteromorpha clathrate*، *Laurencia snyderae*، *Padina 16SrRNA*

## مقدمه

اقیانوس‌ها و دریاها، به‌عنوان بزرگترین زیست‌بوم‌های زمین، نه‌تنها در تعادل اکوسیستم‌های سیاره‌ای نقش حیاتی ایفا می‌کنند، بلکه منبع بی‌نظیری از تنوع زیستی و ترکیبات شیمیایی ارزشمند هستند که پتانسیل‌های بی‌شماری برای کاربردهای صنعتی و دارویی دارند (Guiry, 2013). در میان این منابع غنی، ماکرو جلبک‌ها، یا همان جلبک‌های دریایی، به دلیل ساختار سلولی منحصربه‌فرد و متابولیت‌های ثانویه متنوع خود، توجه ویژه‌ای را به خود جلب کرده‌اند. این موجودات دریایی، به‌عنوان تولیدکنندگان اولیه، نقش مهمی در زنجیره غذایی و تثبیت کربن ایفا می‌کنند (Lobban and Harrison, 1994). فراتر از نقش اکولوژیکی، جلبک‌ها به‌عنوان منبع پایدار و تجدیدپذیر برای تولید بیومس و ترکیبات زیست‌فعال شناخته می‌شوند. در سال‌های اخیر، تحقیقات گسترده‌ای بر روی پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده از جلبک‌ها متمرکز شده است، که این ترکیبات به دلیل خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی و ضدویروسی، در کانون توجه قرار دارند (Stengel et al., 2011). اگر چه مطالعات اولیه ارزش پلی‌ساکاریدهای جلبکی را به‌خوبی نشان داده‌اند (Guiry, 2013)، تحقیقات جدیدتر (از سال ۲۰۲۰ به بعد) بر روش‌های استخراج پیشرفته‌تر مانند استخراج با کمک مایکروویو یا آنزیم‌ها برای بهبود راندمان و خلوص تأکید کرده‌اند (Dobrinčić et al., 2020; Aysha et al., 2025). محیط دریایی، به‌ویژه جلبک‌های دریایی (ماکرو جلبک‌ها)، منبعی فوق‌العاده غنی و با تنوع ساختاری از این ترکیبات زیست‌فعال هستند که کاربرد آن‌ها در حوزه‌هایی مانند آبرزی پروری (مانند استفاده از

عصاره ماکرو جلبک‌ها به‌عنوان محیط کشت جایگزین ریزجلبک‌های خوراکی) نیز مورد مطالعه قرار گرفته است (Yahyavi et al., 2018). با توجه به خطوط ساحلی گسترده ایران، پتانسیل قابل توجهی برای برداشت پایدار گونه‌های جلبکی متنوع و استخراج متعاقب این ترکیبات با ارزش برای پیشرفت‌های علمی و صنعتی وجود دارد. همچنین، کاربردهای نوینی مانند فعالیت ضدویروسی و تأثیرات بر میکروبیوتای روده در گونه‌هایی مانند *Enteromorpha clathrata* به‌طور فزاینده‌ای گزارش شده است (Yao et al., 2022). با وجود این پیشرفت‌های جهانی، مطالعات کافی بر روی گونه‌های بومی خلیج فارس انجام نشده است. با توجه به خطوط ساحلی گسترده ایران، پتانسیل قابل توجهی برای برداشت پایدار گونه‌های جلبکی متنوع و استخراج متعاقب این ترکیبات با ارزش برای پیشرفت‌های علمی و صنعتی وجود دارد. این مطالعه به لزوم شناسایی و تعیین ویژگی‌های گونه‌های جلبکی بومی خلیج فارس می‌پردازد. بنابراین، این پژوهش با هدف ارزیابی و مقایسه کمی و کیفی پلی‌ساکاریدهای محلول در آب استخراج‌شده از سه گونه‌ی رایج و بومی *Laurencia snyderae*، *Enteromorpha clathrate* و *Padina gymnospora* که از خلیج فارس جمع‌آوری شده‌اند، به‌عنوان یک گام ضروری برای تکمیل شکاف تحقیقاتی موجود و ارتقاء بهره‌برداری صنعتی از ذخایر دریایی ایران انجام گرفت. با توجه به افزایش تقاضای جهانی برای منابع طبیعی و پایدار، پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده از جلبک‌های دریایی به دلیل خواص زیستی متنوع، توجه بسیاری از محققان و صنایع را به خود جلب کرده‌اند. این ترکیبات زیست‌فعال، کاربردهای گسترده‌ای در صنایع غذایی

جلبک‌های قرمز (Rhodophyta) و جلبک‌های قهوه‌ای (Phaeophyta). جلبک‌های مورد بررسی در این تحقیق به ترتیب گونه *Enteromorpha clathrata* از شاخه Chlorophyta، خانواده Ulvaceae و جنس *Enteromorpha* است. این گونه در منطقه بالادست جزر و مدی قرار دارد و زیستگاه بسیاری از جانوران کوچک منطقه ساحلی است (Dural, 1990). گونه قرمز *Laurencia snyderae* از شاخه Rhodophyta، خانواده Rhodomelaceae و جنس *Laurencia* است که در مناطق معتدل و گرمسیری ساحل، در زیستگاه‌های لیتورال تا زیرلیتورال، در اعماق تا ۶۵ متر (۲۱۳ فوت) رشد می‌کند (Guiry, 2013). گونه قهوه‌ای *Padina gymnospora* از شاخه Ochrophyta، خانواده Dictyotaceae و جنس *Padina* است که در مناطق کم عمق و زیرلیتورال سواحل یافت می‌شود (Guiry, 2009). اصطلاح 'کربوهیدرات' هم به مونومرها و هم پلیمرهای قندها و مشتقات قند اشاره دارد مانند اسیدهای اورونیک و قندهای آمینه. پلیمرها می‌توانند بسته به وزن درجه پلیمریزاسیون مولکولی به طور گسترده‌ای متفاوت باشند (Sluiter et al., 2004). محیط زیست دریایی تنوع زیستی فوق العاده‌ای دارد که از لحاظ شیمیایی با توجه به تقسیم‌بندی اشاره شده به کربوهیدرات‌ها، پلی ساکاریدهای متنوع و اصلی را در اختیار ما قرار می‌دهد. پلی ساکاریدهای دریایی با ارائه انواع عظیمی از ساختارها که هنوز هم قابل بهره‌برداری است، باید به‌عنوان یک منبع فوق العاده از پربیوتیک در نظر گرفته شود (Senni et al., 2011). پلی ساکریدها، یا پلی کربوهیدرات‌ها، فراوان‌ترین کربوهیدرات‌هایی هستند که در غذا یافت می‌شوند. آن‌ها کربوهیدرات‌های پلیمری زنجیره طولانی هستند

به‌عنوان افزودنی، تثبیت‌کننده و امولسیفایر دارند. همچنین، پتانسیل آن‌ها در تولید داروهای ضدسرطان، ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدان مورد بررسی قرار گرفته است. استفاده از این ترکیبات در صنایع آرایشی و بهداشتی نیز رو به افزایش است، زیرا می‌توانند در محصولات مراقبت از پوست و مو به کار روند. تنوع گونه‌های جلبکی و ساختارهای مولکولی منحصر به فرد آن‌ها، این موجودات را به منبعی ارزشمند برای کشف ترکیبات جدید تبدیل کرده است. جلبک‌های دریایی نقش بسیار مهمی در مناطق ساحلی با حفظ تعادل فیزیوشیمیایی و همچنین فراهم کردن سرپناه برای بسیاری از گونه‌های دریایی ایفا می‌کنند. همچنین، جلبک دریایی نیز یک منبع مواد غذایی برای بسیاری از گونه‌های زنده دریایی است (Lobban and Harrison, 1994). ارزش تغذیه‌ای ماکرو جلبک‌های دریایی از دیرباز در شرق به رسمیت شناخته شده است، اما در جهان غرب استفاده از جلبک دریایی برای مصرف انسان محدود است. جلبک دریایی کم چربی است و نشان‌دهنده منابع بسیار کامل از طیف وسیعی از درشت‌مغذی‌ها و ریزمغذی‌های کلیدی، از جمله ویتامین‌ها و مواد معدنی است (Brebion, 2013). آن‌ها همچنین حاوی بخش بزرگی از پلی ساکاریدهای موسیلاژی مشخص مانند carrageenans, alginates, agars, laminarans, galactan sulphates و fucoidans می‌باشند (Popper et al., 2011). تحقیقات علمی مستند در چند سال اخیر خواص مختلف فارماکولوژیک (دارویی) جلبک‌ها را به خوبی نشان داده است (Stengel et al., 2011). جلبک‌ها به‌طور کلی به سه شاخه اصلی تقسیم می‌شوند، که عبارتند از: جلبک‌های سبز (Chlorophyta)،

که از واحدهای مونوساکارید تشکیل شده‌اند که توسط پیوندهای گلیکوزیدی به هم متصل شده‌اند. پلی‌ساکاریدهایی با منشأ جلبکی مانند آلژینات‌ها، لامینارین‌ها، فوکان‌ها و مشتقات آن‌ها دارای پتانسیل پریبیوتیک هستند که برای دهه‌ها برای افزایش سلامت حیوانات و انسان استفاده شده‌اند (O'Sullivan and O'Connell, 2010) هدف از این تحقیق، با توجه به اهمیت کاربرد کربوهیدرات‌ها در صنایع غذایی، دارویی و... مقایسه راندمان و مقدار کربوهیدرات استخراج شده از جلبک‌های *Enteromorpha clathrata*, *Laurencia snyderae* و *Padina gymnospora* جدا شده از خلیج فارس است.

## مواد و روش‌ها

### جلبک‌های مورد استفاده

ماکرو جلبک‌ها با نام‌های گونه‌ای *Enteromorpha clathrata* از خانواده جلبک‌های سبز، گونه *Laurencia snyderae* از خانواده جلبک‌های قرمز و گونه *Padina gymnospora* از خانواده جلبک‌های قهوه‌ای بودند.

### جمع‌آوری و آماده‌سازی

جلبک‌ها در آبان ماه سال ۱۳۹۸ از منطقه بالادست جزر و مدی تا منطقه زیر جزر و مدی، ایستگاه مرکز تحقیقات شیلات بندر لنگه با مختصات جغرافیایی  $E28^{\circ}82'55.16$  و  $N29^{\circ}37'41.09$  شمالی واقع در خلیج فارس جمع‌آوری گردید و جهت اطمینان از صحت گونه‌های مورد مطالعه، هویت آنها توسط یک متخصص جلبک شناس دریایی تأیید شده است. گونه‌های مذکور با توجه به تفاوت رفتارشان نسبت به

جزر و مد در اعماق مختلف ساحل و دریا شناسایی و به صورت دستی برداشت و در کیسه‌های مخصوص جمع‌آوری و با یونولیت حاوی یخ خشک نگهداری و به آزمایشگاه سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (IROST) منتقل شدند. شناسایی دقیق گونه‌های جلبکی *Enteromorpha clathrata*, *Laurencia snyderae* و *Padina gymnospora* جمع‌آوری شده از سواحل خلیج فارس، با استفاده از منابع تخصصی منطقه‌ای تأیید گردید (Gharanjik and Rouhani Ghadeiklani, 2010). همچنین بعد از شناسایی از آن‌ها عکس برداری گردید. پس از انتقال به آزمایشگاه، جلبک‌ها جهت حذف آلودگی، نمک، ناخالصی و جانوران احتمالی چسبیده به آن با آب سرد شیرین شستشو و سپس با استفاده از دستگاه فریز درایر (مدل LYOVAC G3 و ساخت کشور آلمان) خشک گردید (Brebion, 2013).

### تهیه عصاره

جهت عصاره‌گیری وزن مشخصی از هر گونه جلبک با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم (ساخت کشور سوئیس، مدل Mettler Toldo PG 802-S) وزن گردید، سپس با استفاده از قیچی به قطعات کوچک تقریباً ۱ سانتی‌متری برش داده شد (Brebion, 2013). هر جلبک به‌طور جداگانه جهت حذف رنگدانه در داخل اتانول ۹۶ درصد با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲ ساعت بر روی هیتر استیرر (ساخت کشور آلمان، مدل Schott Instruments GmbH) قرار گرفت. جهت حذف هرچه بیشتر رنگدانه و بخشی از پروتئین‌ها این عمل سه بار تکرار شد. پس از گذشت زمان مورد نظر، محلول اتانولی موجود از طریق یک

مدت ۴ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس محلول رویی برداشته و محلول زیری دور ریخته شد (Liu et al., 2012).

### رنگ‌بری

عصاره جلبکی در مرحله رنگ‌بری و حذف کامل فنل‌ها در مجاورت رزین آمبرلیت XAD7 (محصول کشور آلمان Amberlite® XAD7) که رزین اختصاصی حذف فنل است، به مدت ۲ ساعت در داخل بشر روی دستگاه شیکر قرار گرفت. پس از جذب رنگ، جهت استخراج عصاره با استفاده از پمپ خلاء و قیف صافی، عصاره از رزین جدا گردید (Brebion, 2013).

### رسوب‌گذاری

پس از مرحله رنگ‌بری، به عصاره جلبک نهایی به میزان سه برابر حجم موجود، اتانول ۹۶ درصد اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. پس از سپری شدن زمان مورد نظر و ته‌نشین شدن کربوهیدرات‌ها، سوسپانسیون را توسط سانتریفوژ با سرعت ۴۴۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول رویی دور ریخته شد و رسوب زیرین نگهداری و جهت خشک شدن به دستگاه فریز درایر انتقال داده شد. پس از خشک شدن، کربوهیدرات استخراج شده توسط ترازو با دقت ۰/۰۱ میلی‌گرم (SartoriusExtend ED4202S) وزن و ثبت گردید (Hosseininezhad, 2006).

صافی از جلبک‌ها جدا شد (Liu et al., 2016). جلبک‌های جدا شده از اتانول در مجاورت هوا خشک گردیدند، سپس جهت انجام عصاره‌گیری داخل یک بشر و به میزان ده برابر وزن هر جلبک به‌طور جداگانه آب مقطر با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد اضافه گردید و به مدت دو ساعت بر روی هیتر استیرر قرار گرفت. این عمل سه بار تکرار گردید و هر بار آب داخل بشر تخلیه و مجدداً آب مقطر به آن اضافه شد. پس از انجام این مرحله، جلبک‌ها از آب خارج و محلول به دست آمده برای جداسازی مواد جامد و معلق ناخواسته در سانتریفوژ (ساخت کشور آلمان Eppendorph Centrifuge 5702 R) با سرعت ۴۴۰۰ دور در دقیقه و با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه سانتریفوژ شد، سپس محلول رویی برداشته و رسوب زیری دور ریخته شد. پس از جمع‌آوری، محلول رویی از کاغذ صافی عبور داده شد. عصاره آبی به دست آمده جهت تغلیظ توسط دستگاه Rotary (ساخت کشور آلمان مدل digital (Heidolph Laborota 4010) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به یک سوم حجم اولیه تقلیل داده شد (Brebion, 2013).

### حذف مواد اضافه

جهت حذف متابولیت‌های ثانویه و پروتئین موجود در عصاره، از روش سواگ (Sevag) استفاده شد. بدین منظور، به مقدار ۲۰ درصد حجم عصاره کلروفرم و به میزان ۲۰ درصد حجم کلروفرم انبوتانول به عصاره اضافه گردید. ترکیب حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در بشر توسط مگنت بر روی استیرر در دمای آزمایشگاه همزده شد. پس از این مرحله، محلول در سانتریفوژ با سرعت ۴۴۰۰ دور در دقیقه و با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به

## بررسی خلوص کربوهیدرات

به منظور اندازه گیری کربوهیدرات موجود و بررسی تست خلوص در این تحقیق، از روش فنل سولفوریک اسید استفاده گردید. ابتدا ۰/۰۰۳ گرم از نمونه پس از انحلال در آب مقطر با حجم نهایی ۱ سی سی، سپس به آن ۱ سی سی فنل ۵ درصد افزوده شد. در مرحله بعد، ۵ سی سی اسید سولفوریک ۹۸ درصد (مرک، ساخت کشور آلمان) به نمونه اضافه شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه، جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (ساخت کشور آمریکا) Biotek epoch2 در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه گیری شد. در این روش، گلوکز به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت و پس از ترسیم منحنی استاندارد، میزان کربوهیدرات کل موجود در نمونه تعیین گردید (Southgate, 1969).

## ارزیابی اندام حسی

پس از پایان فرآیند خشک کردن، پودر پلی ساکاریدهای استخراج شده مورد ارزیابی اندام حسی قرار گرفت. این ارزیابی شامل ثبت خصوصیات ظاهری مانند رنگ، قوام یا بافت (به عنوان مثال: پودر خشک، ژل مانند، یا چسبناک) و بوی عصاره خشک شده بود. هدف از این ارزیابی، ارائه توصیف اولیه از محصول نهایی و مقایسه آن با استانداردهای گزارش شده در متون علمی بود. این ارزیابی با هدف توصیف خصوصیات ظاهری محصول (و نه مصرف) شامل ثبت رنگ، بافت/قوام و بوی پودر استخراج شده بود.

## اندازه گیری فنل

برای اندازه گیری فنل با استفاده از جذب نوری و از دستگاه نانودراپ بایوتک الایز مدل epoch2 ساخت

کشور آمریکا و به همراه نرم افزار gen 5 با پلیت tack3 استفاده گردید.

## تجزیه و تحلیل آماری

از برنامه Excel 2016 جهت ثبت داده ها استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل داده ها در این تحقیق، از برنامه SPSS 26 و از آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA) برای مقایسه واریانس تیمارها و از آزمون توکی (Tukey) برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها استفاده شد (سطح اطمینان ۹۵ و ۹۹ درصد).

## نتایج

### ویژگی کربوهیدرات استخراج شده

کربوهیدرات به دست آمده حاصل از استخراج سه گونه جلبک مورد بحث دارای رنگ شیری، همچنین فاقد و یا بوی خاصی بود. در سه گونه جلبک با نام های گونه *Enteromorpha clathrata* از خانواده جلبک های سبز، گونه *Laurencia snyderae* از خانواده جلبک های قرمز و گونه *Padina gymnospora* از خانواده جلبک های قهوه ای، ماده به دست آمده از استخراج در آب با دمای ۳۵-۴۰ درجه سانتی گراد به راحتی در آب حل شدند. در دو گونه سبز و قهوه ای پس از حل شدن به صورت کاملاً مایع، اما در گونه قرمز به صورت ژل درآمد. براساس تحقیقات انجام شده، مهم ترین پلی ساکاریدهای موجود در گونه *Enteromorpha clathrata* عبارت است از  $\beta$ -L-arabinopyranose (1→4-linked) که این پلی ساکرید سولفات دار حاوی آرابینوز بالا است. ستونی از واحدهای خاص آرابینوپیرانوز تشکیل شده است. دارای یک فعالیت ضدانعقادی هستند (Qi et al.,

میانگین غلظت هیدروکربن‌های مورد سنجش در جلبک‌های *Padina*، *Enteromorpha clathrate*، *Laurencia snyderae* و *gymnospora* به ترتیب ۸۰/۷۴، ۷۵/۸۳ و ۸۲/۹۸ درصد بود. جهت مقایسه میانگین غلظت هیدروکربن‌های این سه جلبک، از آزمون واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی استفاده شد که نتایج حاصله در جدول ۲ نمایش داده شده است. این آزمون نشان داد که بین میانگین غلظت هیدروکربن‌ها در *Enteromorpha clathrate* و *Padina gymnospora* و همچنین *Laurencia snyderae* و *clathrata* اختلاف معنی داری وجود ندارد ( $p < 0.05$ ) و تنها در مقدار میانگین غلظت هیدروکربن‌ها بین *Padina gymnospora* و *Laurencia snyderae* تفاوت معنی دار مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ).

#### مقایسه راندمان استخراج

در مقایسه به عمل آمده مشاهده شد با توجه به یکسان بودن روش استخراج برای هر سه جلبک، راندمان استخراج کربوهیدرات نسبت به وزن اولیه جلبک به ترتیب گونه *Padina gymnospora* با مقدار ۱/۲۶ درصد بیشترین و گونه *Enteromorpha clathrata* با مقدار ۰/۲۹ درصد کمترین راندمان استخراج کربوهیدرات را داشتند و گونه *Laurencia snyderae* ۰/۴۶ درصد در رتبه دوم قرار گرفت. در شکل ۱ این راندمان نمایش داده شده است. همچنین می‌توان در جدول ۳ وزن اولیه جلبک‌ها را مشاهده کرد.

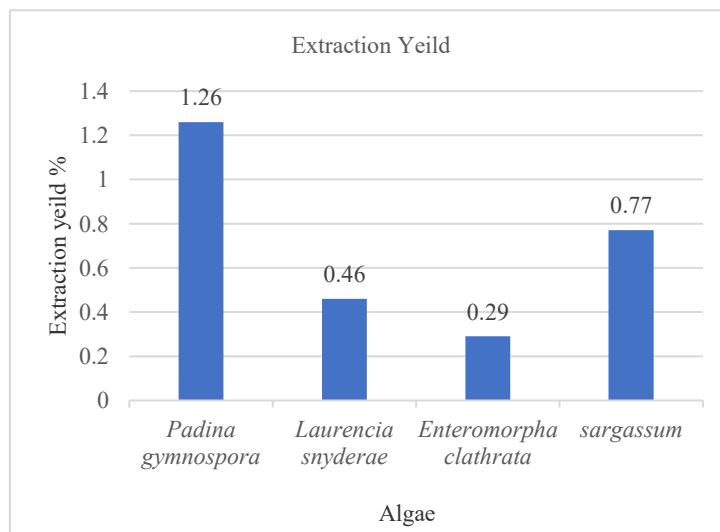
گونه *Padina gymnospora* حاوی پلی ساکاریدهای uronic acid, xylose, galactose, fucose, Mannose است. پلی ساکاریدهای موجود در *Padina gymnospora* خاصیت آنتی باکتریال دارد و در افزایش سطح ایمنی مؤثر است و می‌تواند جایگزینی برای آنتی بیوتیک‌ها باشد (Rajendran et al., 2016). پلی ساکاریدهای موجود در گونه *Laurencia snyderae* که در بررسی‌های به عمل آمده در تحقیقات موردی برای آن یافت نشده است و نیاز به بررسی بیشتر خواهد داشت.

#### فصل موجود در کربوهیدرات استخراجی

در بررسی به عمل آمده مشاهده شد که کربوهیدرات استخراجی فاقد و یا دارای مقدار فنل بسیار ناچیزی است. بر اساس این بررسی مقدار فنل موجود در گونه *Padina gymnospora* نسبت به سایر گونه‌ها کمتر بود (جدول ۱).

#### بررسی خلوص کربوهیدرات

درصد خلوص هیدروکربن‌ها در سه نمونه جلبک *Padina gymnospora*، *Enteromorpha clathrate* و *Laurencia snyderae* که در سه تکرار مورد سنجش قرار گرفت، حداقل درصد خلوص در جلبک *Enteromorpha clathrata* ۷۸/۴۷، در جلبک *Padina gymnospora* ۷۱/۱۹ و در جلبک *Laurencia snyderae* ۸۱/۵۶ درصد بود. حداکثر غلظت کربوهیدرات‌های اندازه‌گیری شده در جلبک *Enteromorpha clathrata* ۸۱/۹۵، در جلبک *Padina gymnospora* ۷۹/۰۸ و در جلبک *Laurencia snyderae* ۸۴/۲۹ درصد به دست آمد.



شکل ۱: مقایسه راندمان استخراج کربوهیدرات از سه گونه جلبک

Figure 1: Comparison of Carbohydrate Extraction Yields from Three Algae Species

جدول ۱: مقدار فنل موجود در جلبک‌های مورد مطالعه (انحراف استاندارد ± میانگین)

Table 1: Phenol Content of the Studied Algae (mean ± standard deviation)

	<i>E.clathrate</i>	<i>P. gymnospora</i>	<i>L. snyderae</i>
Concentration (mg/mg)	2.69 ± 0.92 µg/mg	0.96 ± 1.19 µg/mg	4.86 ± 0.54 µg/mg
Concentration (mg/3.5 mg)	9.42 ± 3.21 µg/mg	3.34 ± 4.16 µg/mg	17.01 ± 1.90 µg/mg

جدول ۲: مقایسه آماری مقدار کربوهیدرات استخراجی بین سه گونه مورد بررسی

Table 2: Comparison of Significant Differences in Carbohydrate Yields Among the Three Studied Species

		Significant difference	Std. Error	Sig.	95% confidence interval	
					Lower limit	Upper limit
<i>Enteromorpha clathrate</i>	<i>Padina gymnospora</i>	4.9033	2.24885	0.153	-1.9968	11.8034
	<i>Laurencia snyderae</i>	-2.2433	2.24885	0.605	-9.1434	4.6568
<i>Padina gymnospora</i>	<i>Enteromorpha clathrate</i>	-4.9033	2.24885	0.153	-11.8034	1.9968
	<i>Laurencia snyderae</i>	-7.14667*	2.24885	0.044	-14.0468	-0.2466
<i>Laurencia snyderae</i>	<i>Enteromorpha clathrate</i>	2.24333	2.24885	0.605	-4.6568	9.1434
	<i>Padina gymnospora</i>	7.14667*	2.24885	0.044	-0.2466	14.0468

\*تفاوت در سطح ۰/۰۵ معنی دار است.

\*The mean difference is statistically significant at the 0.05 level.

جدول ۳: راندمان ماده استخراجی نسبت به وزن اولیه

Table 3: Extraction Yields Based on Initial Weight

	<i>E.clathrate</i>	<i>L.snyderae</i>	<i>P. gymnospora</i>
Initial weight (g)	25	50	79
Extract yield (mg)	0.231	0.23	1
Efficiency (%)	0.29	0.46	0.126

## بحث

### استخراج و توجیه فیزیوشیمیایی

تفاوت‌های نتایج حاصل از این پژوهش به وضوح نشان داد که راندمان و خلوص پلی ساکاریدهای استخراج شده از سه گونه جلبک دریایی، تفاوت قابل توجهی با یکدیگر دارند. این تفاوت‌ها احتمالاً به ترکیب دیواره سلولی و نوع پلی ساکاریدهای موجود در هر گونه مربوط می‌شود. همان‌طور که نتایج نشان داد، گونه *Padina gymnospora* با ۱.۲۶ درصد، بالاترین راندمان استخراج را به خود اختصاص داد. این یافته از اهمیت این گونه به عنوان یک منبع بالقوه برای تولید انبوه پلی ساکاریدها حکایت دارد. این راندمان بالا در *P. gymnospora* (جلبک قهوه‌ای)، توجیه مکانیسمی دارد که به ساختار شیمیایی و سهولت حلالیت پلی ساکاریدهای غالب آن مانند آلژینات و فوکویدان در آب داغ بازمی‌گردد. با این حال، استفاده از آب داغ به عنوان یک حلال غیرانتخابی، موجب استخراج مشترک (Co-extraction) مقادیر قابل توجهی از ناخالصی‌ها، به ویژه ترکیبات فنلی و پروتئینی از دیواره سلولی این گونه شده است که در نهایت، خلوص نهایی پلی ساکارید آن را به پایین‌ترین سطح رسانده است. در مقابل، گونه *Laurencia snyderae* با داشتن ۸۲.۹۸ درصد خلوص، برترین نمونه از نظر کیفیت بود. این خلوص بالا برای کاربردهای بیوتکنولوژیک، دارویی و پزشکی که نیاز به ترکیبات خالص دارند، یک مزیت بزرگ محسوب

می‌شود. همچنین، خاصیت ژل‌شوندگی مشاهده شده در عصاره این گونه، نشانگر وجود پلی ساکاریدهایی مانند کاراگینان‌ها است که به طور گسترده در صنایع غذایی و دارویی به عنوان ژل‌کننده و تثبیت‌کننده استفاده می‌شوند (Van de Velde and Guinchard, 2009).

در مقایسه با پژوهش‌های دیگر، یافته‌های ما با تحقیقات Qi و همکاران (۲۰۱۲) که به خواص ضدانقباضی پلی ساکاریدهای *Enteromorpha clathrata* اشاره کرده‌اند، و همچنین با یافته‌های Rajendran و همکاران (۲۰۱۶) که ویژگی‌های آنتی‌باکتریال پلی ساکاریدهای *Padina gymnospora* را تأیید کرده‌اند، همخوانی دارد. این همخوانی، اعتبار علمی نتایج حاضر را افزایش می‌دهد. با در نظر گرفتن روش استخراجی که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفته است (روش آبی و اتانول)، و محدودیت آن در دستیابی به خلوص بالا (به‌ویژه در *P. gymnospora*)، لازم است سایر روش‌ها مورد بررسی قرار گرفته و کیفیت و مقدار ماده استخراجی با روش انجام شده مقایسه گردد. تحقیقات به‌روز نشان می‌دهد که می‌توان برای بهبود خلوص و راندمان، از تکنیک‌های استخراج پیشرفته مانند استخراج با کمک مایکروویو (MAE) و استخراج با امواج فراصوت (UAE) استفاده کرد. این روش‌ها با هدف قرار دادن ساختار دیواره سلولی و کاهش زمان استخراج، می‌توانند آلودگی‌های پروتئینی و فنلی را کاهش دهند و محصولی با خلوص بالاتر ارائه

مورد بررسی قرار گرفته و به این پرسش پاسخ داد که آیا استفاده از این کربوهیدرات‌ها می‌تواند در موارد مذکور مؤثر باشد و اثر آن قابل توجه است یا خیر؟

**مکانیسم ضدویروسی:** علاوه بر این، همین گروه‌های سولفات می‌توانند فعالیت ضدویروسی قوی از خود نشان دهند. مکانیسم این فعالیت به برهم کنش الکترواستاتیک بار منفی سولفات‌ها با پروتئین‌های ویروسی بازمی‌گردد که از اتصال ویروس به سلول‌های میزبان جلوگیری کرده و مانع از ورود آن به داخل سلول می‌شوند. این ویژگی پتانسیل دارویی جدیدی را برای پلی‌ساکاریدهای بومی منطقه فراهم می‌کند. اگرچه این پژوهش صرفاً بر استخراج و تعیین مشخصات کیفی و کمی پلی‌ساکاریدهای استخراج شده متمرکز است، اما پتانسیل کاربرد آن‌ها در صنایع غذایی و دارویی (Yao *et al.*, 2022) صرفاً بر اساس خواص ذاتی مولکولی پلی‌ساکاریدهای سولفات‌هاست. همچنین لازم به ذکر است که مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه (از جمله اتانول) در درجه آزمایشگاهی (Lab Grade) بوده و محصول استخراج شده در فاز کنونی، برای مصرف مستقیم غذایی (Food Grade) آماده نیست. ادعای کاربرد در صنایع غذایی و دارویی (Yao *et al.*, 2022) صرفاً بر اساس خواص ذاتی مولکولی بوده و این ترکیبات پیش از تجاری‌سازی و ورود به چرخه تولید صنعتی، نیازمند تصفیه بیشتر (Further Purification) با استفاده از حلال‌ها و مواد با درجه غذایی (Food Grade) و همچنین انجام آزمون‌های ایمنی و سمیت سلولی هستند. بنابراین، این مطالعه یک گام اساسی در مسیر شناسایی پتانسیل است و نه گام نهایی در تولید محصول قابل مصرف.

کنند، که این امر برای تجاری‌سازی استخراج مورد توجه قرار می‌گیرد (Dobrinčić *et al.*, 2020).

## مکانیسم‌های زیستی و پتانسیل کاربردی (پری‌بیوتیک و ضدویروسی)

پلی‌ساکاریدهای دریایی با ارائه انواع عظیمی از ساختارها که هنوز هم قابل بهره‌برداری است، باید به‌عنوان یک منبع فوق‌العاده از پری‌بیوتیک در نظر گرفته شود (Senni *et al.*, 2011). مکانیسم اصلی عملکرد پلی‌ساکاریدهای جلبکی در این زمینه، به حضور و توزیع گروه‌های سولفات در ساختار آن‌ها بازمی‌گردد که مولفه کلیدی فعالیت‌های زیستی این ترکیبات است. با توجه به کاربرد کربوهیدرات‌ها در صنایع غذایی و دارویی، بایستی این کربوهیدرات‌ها ابتدا جداسازی و شناسایی گردند.

**مکانیسم پری‌بیوتیکی:** پژوهش‌های جدید نشان می‌دهند که پلی‌ساکاریدهای جلبکی (به ویژه نمونه‌های سولفات‌ها)، به دلیل مقاومت در برابر هیدرولیز توسط آنزیم‌های گوارشی انسان، مستقیماً به روده بزرگ می‌رسند و در آنجا به طور انتخابی رشد باکتری‌های مفید روده را تقویت می‌کنند. این عمل پری‌بیوتیکی، منجر به افزایش تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه (SCFAs) می‌شود که برای سلامت روده و کاهش التهاب حیاتی هستند. برای مثال، فعالیت پری‌بیوتیکی گونه *Enteromorpha clathrata* با افزایش فراوانی باکتری‌های مفید در روده به اثبات رسیده است (Yao *et al.*, 2022). اثرات آن‌ها در موارد دارویی و صنایع غذایی از جمله صنایع لبنی و صنعت عمل‌آوری نان به‌عنوان استارتر و محرک رشد باکتری‌های مفید باید

## نتیجه گیری

این پژوهش نشان داد که جلبک‌های دریایی بومی خلیج فارس، از جمله گونه‌های *Enteromorpha Padina* و *Laurencia snyderae clathrate gymnospora* منابع غنی و ارزشمندی برای استخراج پلی ساکاریدهای محلول در آب هستند. یافته‌های کلیدی این تحقیق به وضوح نشان می‌دهد که هر گونه دارای ویژگی‌های منحصر به فردی است: *Padina gymnospora* به‌عنوان گونه‌ای با بالاترین راندمان استخراج و *Laurencia snyderae* به‌عنوان گونه‌ای با بالاترین خلوص شناخته شدند. این یافته‌ها، پایه و اساس ارزشمندی برای بهره‌برداری هدفمند از این منابع دریایی فراهم می‌کند. اهمیت اصلی این پژوهش در تأکید بر پتانسیل گونه‌های بومی خلیج فارس نهفته است که تاکنون کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. برای پژوهش‌های آتی، پیشنهاد می‌شود که علاوه بر تعیین ساختار دقیق پلی ساکاریدهای استخراجی، به بررسی خواص زیستی دیگر آن‌ها، مانند فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، و سمیت سلولی پرداخته شود. این مطالعات آینده‌نگرانه می‌تواند به کشف ترکیبات جدید با کاربردهای دارویی و درمانی کمک کند. در نهایت، با توجه به نتایج امیدوارکننده، این پژوهش می‌تواند الهام‌بخش مطالعات گسترده‌تری در زمینه اکوفارماکولوژی دریایی باشد و به توسعه صنایع بیوتکنولوژی در کشور کمک شایانی نماید. این گام اولیه، مسیر را برای تجاری‌سازی و استفاده بهینه از ثروت‌های زیستی خلیج فارس هموار می‌سازد. چنین مطالعاتی می‌تواند به‌طور بالقوه کاربردهای دارویی و درمانی جدیدی را برای این ترکیبات دریایی کشف کند.

## سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی شرکت سبزآوران نیک (Robat Food) انجام شده است. بدین وسیله از مدیر عامل و اعضای هیئت مدیره شرکت تشکر و قدردانی می‌نمایم.

## منابع

1. Aysha, F.K., Manivasagan, P., Kanjana, J. and Kim, M.K., 2025. Marine Algae Polysaccharides: An Overview of Characterization Techniques for Structural and Molecular Elucidation. *Marine Drugs*, 23(3), 105. DOI: 10.3390/md23030105
2. Brebion, J., 2013. Statistical analysis of the influence of extraction parameters on the extraction yields, extract and polysaccharide compositions and prebiotic activities of seaweed extracts from *Ascophyllum nodosum*. Doctoral dissertation. Galway-Mayo Institute of Technology, Galway. 141 P.
3. Dobrinčić, A., Balbino, S., Pavić, V., Zorić, M., Jović, M. and Dragović-Uzelac, V., 2020. Advanced Technologies for the Extraction of Marine Brown Algal Polysaccharides. *Marine Drugs*, 18(3), 168. DOI: 10.3390/md18030168
4. Dural, B., 1990. Taxonomic investigation of the order Ulvales in the Candarli Bay, II. Ulvaceae, B. *Enteromorpha link. Turkish Journal of Botany*, 15(1), pp.1-10.
5. Gharanjik, K. and Rouhani Ghadeiklaili, Z., 2010. Atlas of marine algae of the Persian Gulf and Oman Sea coasts. Iran Fisheries Research Organization. 135 P. [In Persian]
6. Guiry, M.D. and Guiry, G.M., 2009. *AlgaeBase: World-wide electronic publication* [Internet]. National University of Ireland, Galway. Retrieved from <https://www.algaebase.org>
7. Guiry, M.D. and Guiry, G.M., 2013. *AlgaeBase: World-wide electronic*

15. Rajendran, P., Subramani, P.A. and Michael, D., 2016. Polysaccharides from marine macroalga, *Padina gymnospora* improve the nonspecific and specific immune responses of *Cyprinus carpio* and protect it from different pathogens. *Fish and Shellfish Immunology*, 58, pp.220-228. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.09.016
16. Senni, K., Guillaume, S., Jean, C. and Laurent, P., 2011. Marine polysaccharides: A source of bioactive molecules for cell therapy and tissue engineering. *Marine Drugs*, 9(9), pp.1664-1681. DOI: 10.3390/md9091664
17. Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J. and Templeton, D., 2004. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Biomass Analysis Technology Team Laboratory Analytical Procedure. National Renewable Energy Laboratory. Report No.: NREL/TP-510-42618. Retrieved from <https://www.nrel.gov/docs/fy08osti/42618.pdf>
18. Southgate, D.A.T., 1969. Determination of food carbohydrates. I.—Available carbohydrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 20(6), pp.326-330. DOI: 10.1002/jsfa.2740200602
19. Stengel, D.B., Connan, S. and Popper, Z.A., 2011. Algal chemodiversity and bioactivity: sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advances*, 29(5), pp.483-501. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.05.016
20. Van de Velde, F. and Guinchar, L., 2009. Carrageenan. In: Philips, G.O. and Williams, P.A. (Eds.), *Handbook of Hydrocolloids* (2nd ed., pp. 287-313). Woodhead Publishing.
21. Yao, J., Sun, Y., Liu, X., Liu, C. and Zhang, J., 2022. Preparation and antiviral activity of sulfated polysaccharide from *Enteromorpha clathrata*. *Carbohydrate Polymers*, 290, 119567. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.119567
- publication [Internet]. National University of Ireland, Galway. Retrieved from <https://www.algaebase.org>
8. Hosseini-zhad, M., Nahardani, M. and Elhami Rad, A.H., 2012. Characterization of inulin extract from Iranian native chicory in comparison with some other sources. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 1(1), pp.39-46. [In Persian] DOI: 10.22101/JRIFST.2012.05.21.114
9. Liu, X., Wu, C., Lu, J., Liu, M., Zhang, Y. and Li, C., 2012. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of polysaccharides from sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Carbohydrate Polymers*, 90(4), pp.1664-1670. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.07.031
10. Liu, X., Sun, Y., Liu, Y., Zhang, W., Chen, R. and Liu, X., 2016. Extraction, fractionation, and chemical characterisation of fucoidans from the brown seaweed *Sargassum pallidum*. *Czech Journal of Food Sciences*, 34(5), pp.406-413. DOI: 10.17221/484/2015-CJFS
11. Lobban, C.S. and Harrison, P.J., 1994. *Seaweed Ecology and Physiology*. Cambridge University Press. 551 P. DOI: 10.1017/CBO9781139192637
12. O'Sullivan, L. and O'Connell, S., 2010. Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. *Marine Drugs*, 8(7), pp.2038-2064. DOI: 10.3390/md8072038
13. Popper, Z.A., Michel, G., Hervé, R. and David, L., 2011. Evolution and diversity of plant cell walls: from algae to flowering plants. *Annual Review of Plant Biology*, 62(1), pp.567-590. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042110-103809
14. Qi, X., Zhang, S., Li, Y., Yu, D. and Wang, Y., 2012. Chemical characteristic of an anticoagulant-active sulfated polysaccharide from *Enteromorpha clathrata*. *Carbohydrate Polymers*, 90(4), pp.1804-1810. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.07.032

10.1016/j.carbpol.2022.119567

22. Yahyavi, M., Ebrahimi, H, and Ranjbar, M., 2018. The effect of extract of 6 species of macroalgae as an alternative culture medium on the growth, chlorophyll a and carotenoid content of *Nanochloropsis oculata*. *Aquaculture Development*, 12(4), pp.39-50. [In Persian] DOI: 10.22109/jad.2018.113009.1133