

مقاله علمی - پژوهشی:

اثر روش‌های استخراج اسیدی، آنزیمی و فراصوت بر ویژگی‌های پلی ساکارید فوکوئیدان استخراجی از جلبک قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium*

مهدی آل بوفتيله*

*alboofetileh@areeo.ac.ir

۱- مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندر انزلی، ایران

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: اسفند ۱۴۰۲

چکیده

در تحقیق حاضر پلی ساکارید سولفات فوکوئیدان با استفاده از روش‌های اسیدی، آنزیمی و فراصوت از جلبک قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium* استخراج گردید. بازده استخراج مورد سنجش قرار گرفت و طیف سنجی تبدیل فوریه فرو سرخ (FTIR) برای شناسایی گروه‌های عاملی فوکوئیدان استخراجی مورد استفاده قرار گرفت. جهت سنجش ویژگی‌های ضد اکسایشی از آزمون‌های خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت کاهندگی آهن استفاده شد. ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی فوکوئیدان استخراجی برای روغن‌های آفتابگردان، ذرت و کانولا نیز اندازه‌گیری شدند. نتایج مطالعه نشان داد که بازده استخراج در روش آنزیمی (۱۱/۳۷ درصد) به طور معنی‌داری بیشتر از روش‌های اسیدی (۷/۸۷ درصد) و فراصوت (۸/۰۷ درصد) بود ($p < 0.05$). طیف سنجی FTIR نشان داد که پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی دارای گروه‌های سولفات در فرکانس‌های ۸۱۷ و 1249 cm^{-1} بودند. در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، بیشترین میزان خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH (۳۸/۰۷ درصد) و کاهندگی آهن (۰/۱۶۷ جذب) در فوکوئیدان‌های استخراجی به روش آنزیمی اندازه‌گیری شد ($p < 0.05$). ولی فوکوئیدان استخراجی به روش اسیدی دارای کمترین میزان خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH (۲۶/۴۲ درصد) و کاهندگی آهن (۰/۱۵۶ جذب) بود ($p < 0.05$). در تمامی روغن‌های مورد استفاده، بیشترین مقدار شاخص امولسیون‌کنندگی (۳۴/۶۷-۳۹/۷۵ درصد) در فوکوئیدان‌های استخراجی به روش آنزیمی اندازه‌گیری شد. با این حال، مقادیر شاخص امولسیون‌کنندگی تنها در روغن ذرت دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($p < 0.05$). به طور کلی، پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی با استفاده از روش‌های آنزیمی و فراصوت دارای بازده، ویژگی‌های ضد اکسایشی و امولسیون‌کنندگی بهتری نسبت به نمونه‌های استخراجی به روش اسیدی بودند.

کلمات کلیدی: روش‌های استخراج، ترکیبات زیست فعال، پلی ساکاریدهای سولفات، ویژگی‌های زیست فعالی، ویژگی‌های عملکردی

*نویسنده مسئول



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

مقدمه

جلبک‌های دریایی منبع مهمی از ترکیبات زیست فعال با ویژگی‌های سلامت بخش هستند. جلبک‌ها از زمان‌های دور در کشورهای جنوب شرقی آسیا به عنوان منبع غذایی مورد استفاده قرار می‌گرفتند. همچنین این منابع و ترکیبات آنها به طور گسترده در محصولات دارویی، آرایشی-بهداشتی و کود استفاده می‌شوند. ترکیبات زیست فعال جلبک دریایی شامل پلی ساکاریدهای محلول، پلی ساکاریدهای سولفاته، کاروتنوئیدها، اسیدهای چرب امگا ۳، ویتامین‌ها، توکوفرول‌ها و فیکوسیانین‌ها هستند (Kadam et al., 2015). در این بین، پلی ساکاریدها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. پلی ساکاریدها، درشت مولکول‌های بیولوژیک ضروری و مهم در گیاهان، جلبک‌ها و ... هستند. پلی ساکاریدها دارای اثرات زیست‌فعالی و درمانی مختلفی از جمله فعالیت‌های ضدالتهابی، ضدکسایشی، ضدتوموری، ضددیابتی و محافظت عصبی هستند. بیشتر این اثرات درمانی عمدتاً به دلیل فعالیت ضدکسایشی پلی ساکاریدهاست (Raza et al., 2017).

فوکوئیدان^۱ به پلی ساکاریدهای سولفاته استخراجی از جلبک‌های قهوه‌ای اطلاق می‌گردد. فوکوئیدان علاوه بر جلبک‌های قهوه‌ای در بی‌مهرگان دریایی نظیر خیار دریایی نیز یافت می‌شود (Morya et al., 2012). واحدهای سازنده فوکوئیدان شامل مونوساکاریدهای فوکوز (جزء اصلی)، مانوز، زایلوز، گالاکتوز، آرابینوز، گلوکز و گلوکورونیک اسید هستند (Bilan et al., 2010).

این پلی ساکارید تاکنون از جلبک‌های قهوه‌ای مختلفی از جمله، *Nizamuddinina zanardinii* (Alboofetileh et al., 2022)، *Sargassum sp.* (Ale et al., 2012; Hifney et al., 2016; Baba et al., 2018)، *Saccharina latissima* (Bilan et al., 2010)، *Sargassum angustifolium* (Borazjani et al., 2017)، *Sargassum glaucescens* (Huang et al., 2016)، *Sargassum polycystum* (Palanisamy et al., 2017)، *Sargassum ilicifolium* (Sahragard et al., 2021) و *Saccharina japonica* (Saravana et al., 2021).

¹ Fucoïdan

Wang et al., 2008;) *Laminaria japonica*، (2016 *Sargassum swartzii*، (Sun et al., 2018 *Sargassum* و (Vijayabaskar et al., 2012) *cristaeifolium* (Wang et al., 2015) استخراج شده است.

فوکوئیدان دارای فعالیت‌های زیست‌فعالی متعددی از قبیل ویژگی‌های ضدکسایشی، ضدانعقادی، ضدویروسی، ضدتوموری، محرک ایمنی، ضدالتهابی و اثرات محافظتی گوارشی است (Vo and Kim, 2013). علاوه بر ویژگی‌های زیست فعالی، فوکوئیدان دارای ویژگی‌های رئولوژیک (روانه‌شناسی)^۲ (Shao et al., 2015) و امولسیفایری^۳ (Hifney et al., 2016; Saravana et al., 2016) مناسبی نیز هست.

به طور کلی، میزان بازده و ویژگی‌های فوکوئیدان تحت تاثیر عوامل مختلفی هستند. یکی از مهم‌ترین این عوامل، نوع روش استخراج مورد استفاده است (Hahn et al., 2012). روش متداول استخراج پلی ساکارید فوکوئیدان، روش‌های آب داغ و استفاده از حلال‌های آلی است. این روش‌ها دارای معایبی همچون نیاز به مقادیر بالای حلال و باقی ماندن حلال در فرآورده نهایی، اتلاف ترکیبات فرار، بازده پایین، زمان استخراج طولانی و امکان تخریب ساختار ترکیبات نهایی هستند (Herrero et al., 2006; Liazid et al., 2007). از این‌رو، در سال‌های اخیر یافتن روش‌های کارآمدتر، مورد توجه محققان و بخش صنعت قرار گرفته است. در این زمینه، روش‌های نوینی همچون روش‌های سیال فوق بحرانی، آب زیر بحرانی، فرآیندهای فشار بالا، استخراج به کمک مایکروویو، فراصوت، آنزیمی و استخراج بر پایه تخمیر مورد استفاده قرار گرفته‌اند. حفظ خصوصیات کیفی ترکیبات زیست فعال، کاهش میزان مصرف انرژی، کاهش زمان فرآیند استخراج، گرادیان حرارتی کمتر، کاهش

² Rhéologie

(علم جریان و تغییر شکل جریان‌ها که برهمکنش بین نیروها، تغییر شکل و زمان را توصیف می‌کند.)

³ Emulsifier

(امولسیفایر یک افزودنی غذایی است که به فور در تولید محصولات مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. امولسیفایر ماده‌ای است که به ترکیب شدن دو ماده که به‌سختی باهم مخلوط می‌شوند، کمک می‌کند.)

علاوه بر روش استخراج، نوع گونه جلبک نیز بر میزان بازده استخراج و ویژگی‌های ترکیبات استخراجی از جمله پلی‌ساکارید فوکوئیدان اثرگذار می‌باشد. گونه *Sargassum ilicifolium* یک جلبک دریایی قهوه‌ای رنگ است که می‌تواند منبع خوبی از پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان، آلژینات، لامینارین و پلی‌فنول‌ها و رنگدانه فوکوزانتین باشد. این گونه در سواحل جنوبی کشور ما به‌ویژه سواحل استان سیستان و بلوچستان یافت می‌شود. این گونه می‌تواند به صورت مصنوعی نیز پرورش داده شود. در این زمینه، محققان موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور در حال انجام تلاش‌هایی جهت پرورش این گونه هستند. تاکنون عصاره متانولی (Yaztapeh et al., 2021) و پلی‌ساکارید فوکوئیدان با استفاده از آب داغ (Sahragard et al., 2021) از گونه *S. ilicifolium* استخراج شده است. اما تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر ارزیابی مقایسه‌ای میزان بازده و ویژگی‌های زیست‌فعالی و عملکردی پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی با استفاده از روش‌های جدید آنزیمی و فراصوت برای این گونه گزارش نشده است. لذا، هدف از مطالعه حاضر در وهله اول استفاده از روش‌های مختلف اسیدی، آنزیمی و فراصوت جهت استخراج پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان از جلبک *S. ilicifolium* بوده و در وهله دوم بررسی مقایسه‌ای اثر این روش‌ها بر میزان بازده، طیف‌های FTIR، ویژگی‌های ضداسکایشی و امولسیون‌کنندگی پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی بود.

مواد و روش کار

جمع‌آوری و آماده‌سازی جلبک

نمونه‌های جلبک از منطقه ساحلی شهرستان چابهار واقع در استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده براساس اطلس جلبک‌های دریایی خلیج فارس و دریای عمان شناسایی شدند (Gharanjic and Rohani, 2010). نمونه‌های جلبک جمع‌آوری شده ابتدا با آب دریا و سپس با آب شرب شستشو شده و گل‌ولای و ایپی‌فیت‌های متصل به آنها نیز زدوده شد. در ادامه، نمونه‌ها در دمای محیط و سایه خشک شده و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه نمونه‌های خشک شده با دستگاه

اندازه تجهیزات، کاهش مصرف حلال‌های شیمیایی و زیست‌سازگار بودن، از مزایای این روش‌ها به حساب می‌آیند (Lomartire and Gonçalves, 2022).

از امواج فراصوت^۱ با فرکانس پایین از طریق پدیده کاویتاسیون^۲ منجر به ایجاد یکسری تغییرات فیزیکی، مکانیکی، شیمیایی و بیوشیمیایی می‌شود و می‌توان از آن در فرآیندهایی از جمله خشک کردن، انجماد، ایجاد امولسیون و استخراج ترکیبات مختلف از مواد اولیه استفاده کرد. روش فراصوت روشی ساده، سریع، ارزان و کارآمد است که می‌تواند به عنوان جایگزین روش‌های استخراج متداول مورد استفاده قرار گیرد. در این روش چون از دمای پایین جهت استخراج استفاده می‌شود، محصول نهایی دارای ویژگی‌های زیست‌فعالی پایدار خواهد بود (You et al., 2014). مکانیسم استخراج با استفاده از روش فراصوت به پدیده کاویتاسیون نسبت داده می‌شود (Khajenoori and Haghighi Asl, 2014). در این روش پارامترهایی همچون قدرت فراصوت، دمای استخراج، زمان استخراج، نسبت حلال به ماده جامد و اثرات متقابل آنها در میزان بازده و میزان ویژگی‌های فرآورده نهایی نیز اثرگذار هستند (Kadam et al., 2015).

یکی دیگر از روش‌های غیرمتداول، روش آنزیمی است. اساس کار در این روش استفاده از آنزیم‌های مختلف و تجزیه مواد اولیه به‌وسیله آنزیم‌ها استوار است. بعد از تجزیه، مواد اولیه ترکیبات زیست‌فعال به حلال مورد استفاده، وارد می‌شوند. لذا، در فرآیندهای بعدی می‌توان ترکیبات مختلف را با به‌کار بردن روش‌های خالص‌سازی از یکدیگر تفکیک کرد. استخراج به کمک آنزیم نسبت به روش‌های متداول استخراج، روشی ملایم‌تر، راحت‌تر، کارآمدتر، دوست‌دار محیط‌زیست با هزینه‌های سرمایه‌گذاری و نیاز به انرژی کمتر در نظر گرفته می‌شود. علاوه بر این، تحقیقات نشان داده که این روش در بهبود بازده استخراج ترکیبات هدف، نیز مؤثر است (Ticar et al., 2015).

^۱ امواجی با فرکانس بیش از ۱۸ کیلوهرتز

^۲ Cavitation

(تشکیل، رشد و متلاشی شدن حباب‌های کوچک در اثر ایجاد فشار منفی بزرگ در محیط مایع)

خردکن به صورت پودر درآمدند و تا زمان انجام عملیات استخراج، در کیسه‌های پلاستیکی زیپ کیپ در فریزر (18 ± 2 - درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

پیش تیمار جلبک‌ها

قبل از انجام عملیات استخراج پلی‌ساکاریدها، لازم است که نمونه‌های جلبکی به منظور حذف رنگدانه و چربی‌ها پیش تیمار شوند. بدین‌منظور، نمونه‌های خشک و پودر شده به نسبت ۱ به ۱۰ با اتانول ۹۶ درصد مخلوط شده و به مدت ۲۴ ساعت در همزن مغناطیسی و دمای محیط قرار داده شدند. بعد از این زمان، فاز جامد با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (۹۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) از فاز مایع جدا شدند. فاز جامد جدا شده ابتدا با اتانول (سه مرتبه) و سپس با استون (دو مرتبه) شستشو داده شده و در نهایت به مدت یک شبانه‌روز در دمای محیط زیر هود خشک شد (Alboofetileh et al., 2019a).

روش اسیدی

ابتدا ۵۰ گرم پودر جلبک رنگ‌بری شده به آب مقطر اضافه گردید. اسید کلریدریک تا زمان رسیدن pH مخلوط به ۲، به نمونه‌ها اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۶ ساعت در همزن مغناطیسی قرار داده شدند. بعد از این زمان فاز مایع با استفاده از سانتریفیوژ جمع‌آوری و به‌وسیله دستگاه روتاری (دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد)، تغلیظ گردید. به منظور حذف آلژینات از مایع تغلیظ شده، از کلرید کلسیم (۱ درصد) استفاده شد. در نهایت پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان (۱ درصد) استفاده از اتانول ۷۰ درصد بازیابی شدند. نمونه‌های بازیابی شده چندین مرتبه با اتانول و استون شستشو شده و در نهایت به مدت یک شبانه‌روز در دمای محیط زیر هود خشک شدند (Baba et al., 2018).

روش آنزیمی

پودر جلبک رنگ‌بری شده به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر مخلوط شد. بعد از تنظیم درجه حرارت (۵۰ درجه سانتی‌گراد) و pH (۸) بهینه آنزیم آلکالاز، ۲/۵ میلی لیتر از این آنزیم به مخلوط جلبک و آب مقطر اضافه شده و مخلوط در همزن مکانیکی قرار داده شد. سپس جهت غیرفعال‌سازی آنزیم، مخلوط استخراج به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار داده شده و سپس به حمام آب-یخ انتقال داده شد. فاز مایع با استفاده از سانتریفیوژ جمع‌آوری و به‌وسیله دستگاه روتاری تغلیظ گردید. بعد از حذف آلژینات از مایع تغلیظ شده به‌وسیله کلرید کلسیم (۱ درصد)، پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان با استفاده از اتانول ۷۰ درصد استخراج شدند (Alboofetileh et al., 2019a). نمونه‌های بازیابی شده بعد از چندین مرتبه شستشو با اتانول و استون، در نهایت به مدت یک شبانه‌روز در دمای محیط زیر هود، خشک شدند.

روش فراصوت

بدین‌منظور، ابتدا به پودر جلبک رنگ‌بری شده به نسبت ۱ به ۱۰ آب مقطر اضافه شده و در ادامه با استفاده از دستگاه فراصوت تیماردهی شدند (۳۰۰ وات، زمان ۲ ساعت و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد). بعد از اتمام عمل پروتودهی فراصوت، فاز مایع از فاز جامد جدا شده و با استفاده از دستگاه روتاری تغلیظ گردید. سپس پلی‌ساکارید آلژینات از نمونه‌ها حذف شده و سپس پلی‌ساکارید فوکوئیدان با استفاده از اتانول ۷۰ درصد استخراج گردید (Florez-Fernandez et al., 2017). نمونه‌های استخراجی بعد از چندین مرتبه شستشو با اتانول و استون، در نهایت به مدت یک شبانه‌روز در دمای محیط زیر هود، خشک شدند.

اندازه‌گیری بازده استخراج

بازده استخراج پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان به نسبت میزان جلبک پیش تیمار شده مورد استفاده در عملیات استخراج مطابق فرمول ذیل محاسبه گردید:

$$100 \times (\text{گرم جلبک پیش تیمار شده} \div \text{گرم پلی ساکارید}) = \text{بازده (درصد)}$$

سانتریفیوژ، ۰/۵ میلی لیتر از مایع بالایی به تیوب جدید انتقال داده شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر آب و ۰/۵ میلی لیتر کلرید آهن (FeCl₃) ۰/۱ درصد به تیوب اضافه گردید. تیوب حاوی این محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد تا در آن ایجاد رنگ صورت بپذیرد. بعد از این مدت، جذب نمونه‌ها در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد.

ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی

جهت تهیه امولسیون روغن در آب که ابتدا محلول ۰/۵ درصد پلی ساکاریدهای مختلف استخراجی تهیه و به نسبت ۳:۲ (حجمی-حجمی) با روغن‌های آفتابگردان، کانولا و ذرت مخلوط گردید. در ادامه مخلوط تهیه شده به مدت ۳ دقیقه هموزن شد. امولسیون تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. بعد از گذشت این زمان، شاخص امولسیفایری از رابطه ذیل محاسبه گردید. کربوکسی متیل سلولوز به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (Saravana et al., 2016).

$$100 \times (\text{He} \div \text{Ht}) = \text{شاخص امولسیفایری}$$

He: ارتفاع لایه امولسیون (میلی متر)، Ht: ارتفاع کل محلول (میلی لیتر)

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

جهت مقایسه آماری میزان بازده و تاثیر غلظت پلی ساکارید و نوع روش استخراج بر بازده، ویژگی‌های ضد اکسایشی و امولسیون‌کنندگی، از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. برای تعیین میزان معنی دار بودن اختلاف میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید.

نتایج

بازده استخراج

بازده پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی به روش‌های مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طوری که مشاهده می‌شود، بازده استخراج در روش‌های مختلف متغیر بود. میزان بازده در روش‌های اسیدی، فراصوت و آنزیمی به ترتیب ۷/۸۷، ۸/۰۷ و ۱۱/۳۷ درصد اندازه‌گیری شد.

طیف‌سنجی تبدیل فوریه فرو سرخ (FTIR)¹

طیف FTIR جهت شناسایی گروه‌های عاملی پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی از دستگاه FTIR اسپکتروفتومتر در گستره ۴۰۰-۴۰۰۰ cm⁻¹ و در تفکیک پذیری ۴ cm⁻¹ استفاده شد.

ویژگی‌های ضد اکسایشی

خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH²

بررسی فعالیت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH طبق روش Brand-Willuams و همکاران (۱۹۹۵) صورت پذیرفت. بدین منظور، ۲ میلی لیتر از پلی ساکاریدها در غلظت‌های ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر به ۲ میلی لیتر از محلول متانولی ۰/۱۶ میلی مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده شده و به مدت یک دقیقه تکان داده شد. سپس ۳۰ دقیقه در دمای محیط و تاریکی نگهداری شده و سپس جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH نمونه‌ها طبق فرمول ذیل محاسبه گردید:

$$100 \times ((A \text{ control} - A \text{ sample}) \div A \text{ control}) = \text{قدرت خنثی‌کنندگی (درصد)}$$

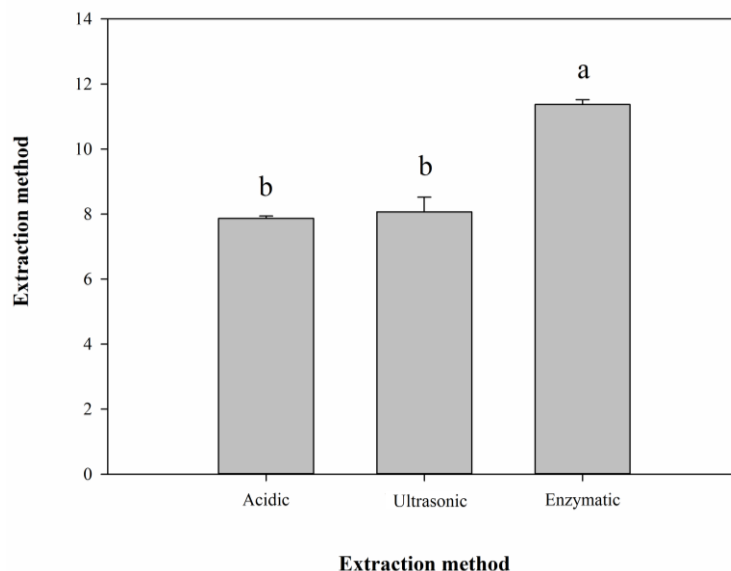
A control: جذب محلول حاوی رادیکال‌های آزاد بدون نمونه، A sample: جذب نمونه‌های آزمایشی بعد از زمان موردنظر (نمونه و محلول حاوی رادیکال‌های آزاد)

قدرت کاهندگی آهن

جهت اندازه‌گیری قدرت کاهندگی آهن فوکوئیدان‌های استخراجی از روش Oyaizu (۱۹۸۶) استفاده شد. بدین منظور، ابتدا ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (pH = ۶/۶) و ۰/۵ میلی لیتر فری سیانات پتاسیم ۱ درصد با ۰/۲ میلی لیتر از نمونه‌های مختلف استخراجی مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس به این محلول ۰/۵ میلی لیتر اسید تری کلرو استیک ۱۰ درصد افزوده شده و به مدت ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ (۶۰۰۰ دور در دقیقه) گردید. بعد از اتمام

¹ Fourier Transform Infra Red

² 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl



شکل ۱: بازده استخراج فوکوئیدان‌های استخراج شده از جلبک *Sargassum ilicifolium* به روش‌های مختلف. حروف لاتین نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین روش‌های مختلف است ($P < 0.05$).

Figure 1: Extraction yield of fucoidan extracted from *Sargassum ilicifolium* by different methods. The letters a and b indicate a significant difference ($p < 0.05$) between different extraction methods.

کششی مربوط به گروه -COO و ارتعاش کششی CO- در گروه COOH در ناحیه جذبی 1421 cm^{-1} و ارتعاش کششی نامتقارن مربوط به گروه -COO در نمونه پلی‌ساکارید در طول موج 1619 cm^{-1} مشاهده شدند. علاوه بر این، باندهای ظاهر شده در 2927 cm^{-1} و 3420 cm^{-1} به ترتیب مربوط به گروه‌های C-H و O-H هستند (Lim et al., 2014). طیف‌های مشابهی نیز برای پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی از گونه‌های *Sargassum angustifolium* و *Nizamudinia zanardinii* گزارش شده است.

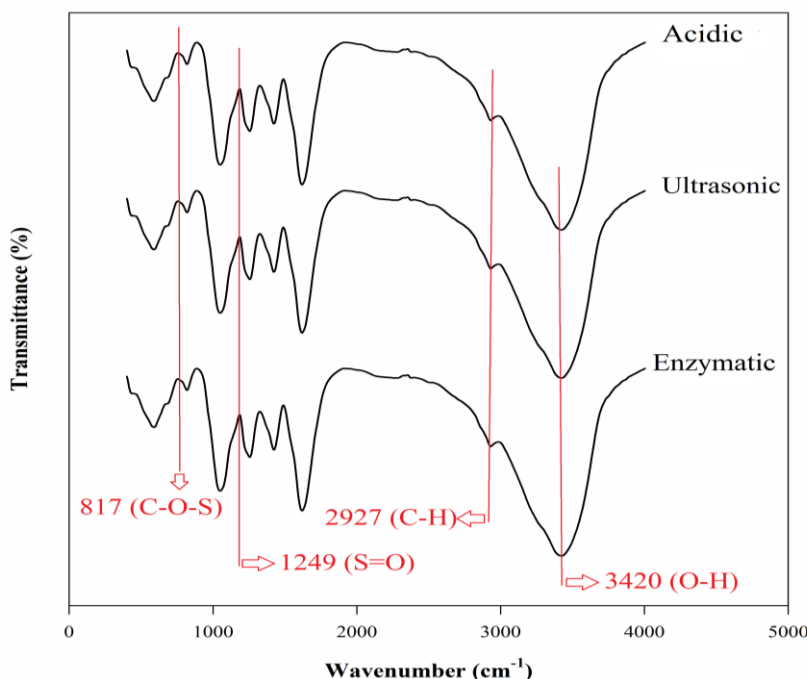
ویژگی‌های ضدکسایشی

ویژگی‌های ضدکسایشی پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی از جلبک *S. ilicifolium* به روش‌های مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است.

از بین روش‌های مختلف استخراج، روش‌های آنزیمی (آلکالاز) و اسیدی به ترتیب دارای بالاترین و کمترین بازده استخراج بودند. از نظر آماری، میزان بازده استخراج در روش آنزیمی به طور معنی‌داری بیشتر از روش‌های اسیدی و فراصوت بود ($p < 0.05$). اما روش‌های اسیدی و فراصوت با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p > 0.05$). همان‌طوری که مشاهده می‌شود، کارایی روش‌های فراصوت و آنزیمی نسبت به روش اسیدی جهت استخراج پلی‌ساکارید فوکوئیدان، بیشتر است.

طیف‌سنجی تبدیل فوریه فرو سرخ (FTIR)

در شکل ۲ نتایج طیف‌سنجی تبدیل فوریه فرو سرخ پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی به روش‌های مختلف نشان داده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌شود، طیف هر یک از پلی‌ساکاریدها با توجه به روش استخراج تغییر چندانی نکرده است و همه پلی‌ساکاریدها طیف مشابهی داشتند. در این طیف‌ها، باندهای مشاهده در فرکانس‌های 117 و 1249 cm^{-1} به ترتیب مربوط به ارتعاش خمشی C-S و O-S سولفات در موقعیت محوری و ارتعاش کششی S=O گروه سولفات هستند (Huang et al., 2016). ارتعاشات



شکل ۲: طیف FTIR فوکوئیدان‌های استخراج شده از جلبک *Sargassum ilicifolium* به روش‌های مختلف
 Figure 2: FTIR spectra of fucoidan extracted from *Sargassum ilicifolium* by different methods

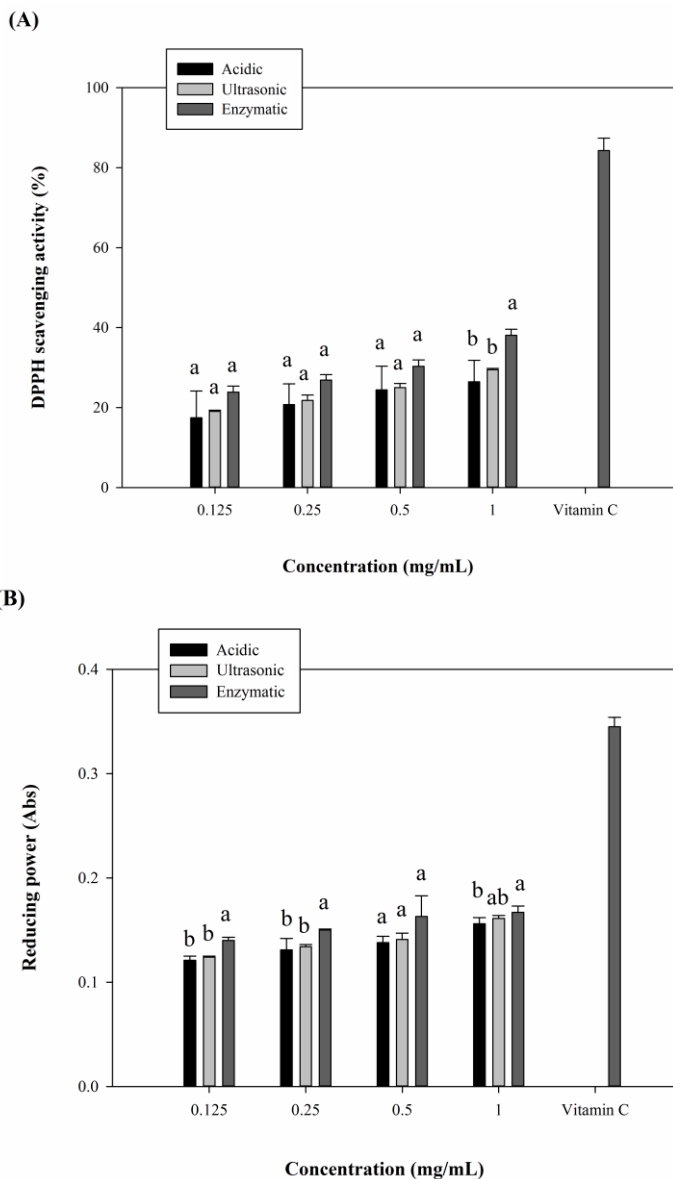
ولی کمترین قدرت مهارکنندگی آهن در پلی‌ساکاریدهای استخراجی به روش اسیدی اندازه‌گیری شد. در تمامی غلظت‌ها، میزان قدرت کاهندگی آهن در فوکوئیدان‌های استخراجی به روش آنزیمی دارای اختلاف معنی‌داری با سایر روش‌ها بود ($p < 0/05$). اما مقادیر به‌دست آمده برای فعالیت قدرت کاهندگی در فوکوئیدان‌های استخراجی به روش‌های اسیدی و فراصوت، اختلاف معنی‌دار نداشتند ($p > 0/05$). قدرت مهارکنندگی آهن نیز وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت، افزایش یافته است.

ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی

شاخص امولسیون‌کنندگی پلی‌ساکاریدهای مختلف استخراجی برای روغن‌های آفتابگردان، ذرت و کانولا در شکل ۴ نشان داده شده است. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود، تمامی پلی‌ساکاریدها قادر به امولسیون کردن روغن‌های مورد مطالعه بودند.

همان‌گونه‌که نتایج نشان می‌دهد، روش استخراج توانسته است، پلی‌ساکاریدهایی با قدرت‌های متفاوت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH تولید کند. میزان مهار رادیکال‌های آزاد در دامنه ۳۸/۰۷-۱۷/۴۲ درصد متغیر بود. در این بین، بیشترین و کمترین درصد خنثی‌کنندگی به‌ترتیب در پلی‌ساکاریدهای استخراجی به روش‌های آنزیمی و اسیدی مشاهده شد (شکل ۳A). با وجود این، مقادیر تنها در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از نظر آماری با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند ($p < 0/05$). همچنین نتایج نشان داد که میزان خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد، وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت، افزایش یافته است.

در شکل ۳B قدرت کاهندگی آهن پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی به روش‌های مختلف نشان داده شده است. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود، پلی‌ساکاریدهای استخراجی به روش‌های مختلف، قدرت‌های کاهندگی آهن متفاوتی از خود نشان دادند. میزان قدرت‌های کاهندگی آهن در پلی‌ساکاریدهای مختلف ۰/۱۶۷-۰/۱۲۱ (جذب) اندازه‌گیری شد. در این بین، پلی‌ساکاریدهای استخراجی به روش آنزیمی دارای بیشترین قدرت مهارکنندگی آهن بودند.



شکل ۳: فعالیت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH (A) و قدرت کاهندگی آهن (B) فوئیدان‌های استخراج شده از جلبک *Sargassum ilicifolium* به روش‌های مختلف. حروف لاتین نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین یک غلظت در روش‌های مختلف است ($P < 0.05$).

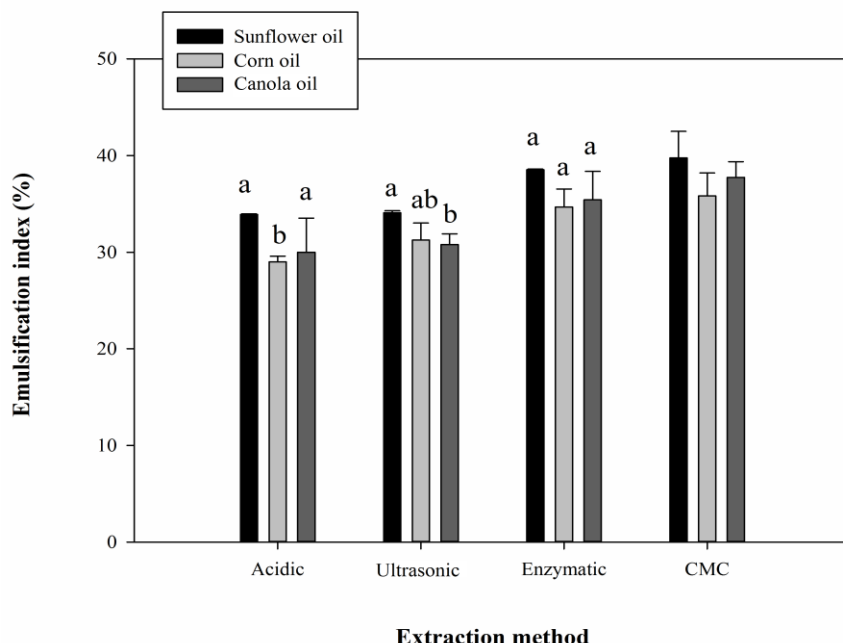
Figure 3: DPPH radical scavenging (A) and reducing power (B) of fucoidan extracted from *Sargassum ilicifolium* by different methods. The letters a and b indicate a significant difference ($p < 0.05$) between different extraction methods at each concentrations.

شاخص امولسیون‌کنندگی پلی‌ساکاریدها و کربوکسی متیل سلولز (به عنوان کنترل مثبت)، صرف نظر از نوع روغن مورد استفاده به ترتیب ۳۸/۵۳-۲۷/۳۶ و ۳۹/۷۵-۳۵/۸۲ درصد اندازه‌گیری شدند. از این‌رو، می‌توان دریافت که پلی

ساکاریدهای استخراجی دارای ویژگی‌های امولسیفایری خوبی هستند. صرف نظر از نوع پلی‌ساکارید، بیشترین شاخص امولسیون‌کنندگی در روغن آفتابگردان مشاهده شد (بر خلاف روغن ذرت). از بین پلی‌ساکاریدها، پلی‌ساکاریدهای

نمونه‌های استخراجی با استفاده از روش اسیدی مشاهده شد. با وجود این، مقادیر فقط در روغن ذرت با هم اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$).

استخراجی به روش آنزیمی در تمامی روغن‌ها، دارای بیشترین شاخص امولسیون‌کنندگی نسبت به سایر پلی‌ساکاریدهای استخراجی بودند. ولی کمترین شاخص امولسیون‌کنندگی در



شکل ۴: فعالیت امولسیون‌کنندگی فوکوئیدان‌های استخراج شده از جلبک *Sargassum ilicifolium* به روش‌های مختلف. حروف لاتین نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین روش‌های مختلف در یک روغن است ($P < 0.05$).

Figure 4: Emulsifying activity of fucoidan extracted by different methods from *Sargassum ilicifolium*. The letters a and b indicate a significant difference ($p < 0.05$) between different extraction methods at each oil.

۲/۴، ۴/۵۱، ۶/۱۶، ۱۱/۳ و ۲۶/۳ درصد گزارش شد. به طور کلی، تفاوت در میزان بازده استخراج پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان از گونه‌های مختلف می‌تواند در نتیجه تفاوت در نوع گونه جلبکی، محل رشد جلبک، فصل برداشت جلبک، روش استخراج و خالص‌سازی باشد (Ale et al., 2012; Lim et al., 2014). در مطالعه حاضر، بازده استخراج در روش آنزیمی نسبت به سایر روش‌ها بیشتر بود. بالاتر بودن بازده استخراج پلی‌ساکارید فوکوئیدان در این روش می‌تواند به دلیل قدرت تخریب دیواره مواد جلبکی به وسیله آنزیم آلکالاز نسبت به امواج فراصوت و اسید مورد استفاده باشد و این عامل باعث افزایش بازده استخراج شده است. در مطالعه Alboofetileh و همکاران (۲۰۱۹a) بازده استخراج پلی‌ساکارید فوکوئیدان از جلبک *N. zanardinii* با استفاده

بحث

در مطالعه حاضر، پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان جلبک *S. ilicifolium* با استفاده از روش‌های اسیدی، فراصوت و آنزیمی استخراج گردید. در این بین بازده استخراج در روش‌های مختلف در محدوده ۷/۸۷-۱۱/۳۷ درصد اندازه‌گیری شد. در مطالعات قبلی، بازده استخراج پلی‌ساکارید فوکوئیدان خام از گونه‌های مختلف جلبک‌های قهوه‌ای میزان زیادی نشان داده و در دامنه ۰/۴-۲۶/۳۰ درصد گزارش شده است. برای مثال، بازده استخراج فوکوئیدان گونه‌های *Agarum*، *Arthrothamnus bifidus*، *Sargassum Laminaria longipes*، *cribrosum Ascophyllum*، *Sargassum binderi polycystum* و *Undaria pinnatifida* و *nodosum* به ترتیب ۰/۴، ۱/۲،

می‌گیرد. DPPH یک رادیکال پایدار است و زمانی که در معرض یک ترکیب ضد اکسایش قرار می‌گیرد، یک اتم هیدروژن دریافت می‌کند و رنگ بنفش خود را از دست می‌دهد (Vijayabaskar et al., 2012). میزان خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH فوکوئیدان‌های استخراجی در مطالعه حاضر در محدوده ۳۸/۰۷-۱۷/۴۲ درصد اندازه‌گیری شد. در مطالعه Wang و همکاران (۲۰۱۵) میزان خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH فوکوئیدان استخراجی از جلبک *Sargassum cristaeifolium* با استفاده از روش حلالی در غلظت ۱۰۰۰، ۶۰ درصد گزارش شد. در مطالعه دیگری میزان خنثی‌کنندگی فوکوئیدان جلبک *Sargassum glaucescens* برای رادیکال‌های آزاد DPPH در غلظت ۷ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ۶۰-۷۰ درصد اندازه‌گیری شد (Huang et al., 2016). همچنین میزان خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی از گونه‌های *S. angustifolium* و *S. polycystum* در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب ۲۵ و ۶۱/۲۲ درصد بود (Borazjani et al., 2017; Palanisamy et al., 2017). میزان قدرت کاهندگی آهن پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی در مطالعه حاضر، در محدوده ۰/۱۶۷-۰/۱۲۱ (جذب) در غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری شد. قدرت کاهندگی آهن پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی از جلبک‌های *Laminaria japonica* و *S. glaucescens* در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب ۰/۱۲ و ۰/۷ (جذب) گزارش شد (Wang et al., 2016; Huang et al., 2008). به طور کلی، فعالیت‌های ضد اکسایشی پلی ساکاریدهای فوکوئیدان تحت تاثیر نوع گونه، نوع روش استخراج و ویژگی‌های ساختاری خود پلی ساکاریدها، متغیر است (Borazjani et al., 2017). از بین ویژگی‌های ساختاری، میزان محتوی سولفات و وزن مولکولی پلی ساکارید استخراجی تاثیر بیشتری بر ویژگی‌های ضد اکسایشی دارند (Peasura et al., 2015). در این رابطه سایر محققین با تاثیر وزن مولکولی بر میزان فعالیت ضد اکسایشی پلی ساکاریدها نتایج متناقضی گزارش کردند. بعضی از آنها وزن مولکولی بالاتر را دلیل فعالیت

از آنزیم آلکالاز بیشتر از روش آب داغ و آنزیم‌های سلولاز، ویسکوزایم و فلاورزایم بود. در مطالعه دیگری نیز مشخص شد که بازده استخراج پلی ساکارید فوکوئیدان در روش آنزیمی نسبت به روش فراصوت بیشتر است (Alboofetileh et al., 2019b). نتایج مشابهی نیز در مطالعه You و همکاران (۲۰۱۳) در استخراج پلی ساکاریدهای *Officinalis Cornus* با استفاده از روش‌های آنزیمی و فراصوت و مطالعه Chen و همکاران (۲۰۱۴) برای استخراج پلی ساکاریدهای *Astragalus membranaceus* با استفاده از روش‌های آنزیمی و آب داغ گزارش شد. در مطالعه حاضر، بازده استخراج فوکوئیدان با استفاده از روش‌های فراصوت (۸/۰۷ درصد) به میزان اندکی نسبت به روش اسیدی (۷/۸۷ درصد) افزایش یافت اما این افزایش، معنی‌دار نبود. عدم افزایش معنی بازده استخراج در روش فراصوت می‌تواند به دلیل کمتر مدت زمان استخراج در این روش (۲ ساعت) نسبت به روش اسیدی (۶ ساعت) باشد. نتایج مطالعه de Oliveira و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که بازده استخراج پلی ساکارید پکتین در روش فراصوت (۱۲/۶۷ درصد) بیشتر از روش متداول (۷/۹۵ درصد) بود. تفاوت در میزان بازده استخراج در روش فراصوت می‌تواند در نتیجه تفاوت در نوع ماده اولیه مورد استفاده، نوع پلی ساکارید استخراجی، شرایط استخراج از قبیل قدرت فراصوت، زمان، pH، درجه حرارت، نسبت ماده خشک به حلال و ... باشد.

تاکنون روش‌های متعددی برای سنجش ویژگی‌های ضد اکسایشی پلی ساکاریدهای فوکوئیدان به کار رفته است. از این روش‌ها می‌توان به خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد DPPH، ABTS و هیدروکسیل، فعالیت ضد اکسایشی کل، کاهندگی آهن و چلاته‌کنندگی^۱ آهن اشاره کرد. در این مطالعه از روش‌های خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت کاهندگی آهن برای سنجش فعالیت ضد اکسایشی فوکوئیدان‌های استخراجی استفاده شد. روش مهار کنندگی رادیکال DPPH برای بررسی توانایی عملکرد ترکیب ضد اکسایش اهدا کننده هیدروژن مورد استفاده قرار

¹ Chelating

بر میزان ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی پلی‌ساکاریدها تاثیرگذار هستند (Freitas *et al.*, 2009). به طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فوکوئیدان‌های استخراجی به روش آنزیمی دارای بازده استخراج، فعالیت‌های ضداکسایشی و امولسیون‌کنندگی بالاتری نسبت به روش‌های اسیدی و فراصوت بود. بازده استخراج در روش‌های فراصوت و اسیدی تفاوت معنی‌داری نداشتند. اما میزان ویژگی‌های ضداکسایشی و امولسیون‌کنندگی در فوکوئیدان‌های استخراجی به روش فراصوت نسبت به نمونه‌های استخراجی با روش اسیدی، بیشتر بودند.

منابع

- Alboofetileh, M., Rezaei, M. and Tabarsa, M., 2019a.** Enzyme-assisted extraction of *Nizamuddinina zanardinii* for the recovery of sulfated polysaccharides with anticancer and immune-enhancing activities. *Journal of Applied Phycology*, 31:1391–1402. DOI:10.1007/s10811-018-1651-7
- Alboofetileh, M., Rezaei, M., Tabarsa, M. and You, S., 2019b.** Ultrasound-assisted extraction of sulfated polysaccharide from *Nizamuddinina zanardinii*: Process optimization, structural characterization, and biological properties. *Journal of Food Process Engineering*, 42(2):e12979. DOI:10.1111/jfpe.12979
- Alboofetileh, M., Rezaei, M., Tabarsa, M. and Cravotto, G., 2022.** Cellular antioxidant and emulsifying activities of fucoidan extracted from *Nizamuddinina zanardinii* using different green extraction methods. *Journal of Food Processing and Preservation*, e17238. DOI:10.1111/jfpp.17238.

ضداکسایشی بیشتر دانستند. این در حالی است که برخی دیگر، پایین بودن وزن مولکولی را دلیل بالاتر بودن فعالیت ضداکسایشی عنوان کردند. اما میزان محتوی سولفات رابطه مستقیمی با میزان فعالیت ضداکسایشی دارد. علاوه بر این، ترکیب مونوساکاریدها و نوع انشعابات آنها در زنجیره پلی‌ساکاریدی نیز می‌توانند بر میزان فعالیت‌های ضداکسایشی پلی‌ساکاریدها اثرگذار باشند (Sun *et al.*, 2018).

شاخص امولسیون‌کنندگی پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی در مطالعه حاضر، در محدوده ۲۷/۳۶–۳۵/۸۲ درصد در روغن‌های مختلف اندازه‌گیری گردید. شاخص امولسیون‌کنندگی فوکوئیدان استخراجی از جلبک *Sargassum sp.* برای روغن‌های چوب سدر، زیتون، آفتابگردان و ذرت به ترتیب ۷۸/۱۳، ۶۲/۵، ۵۹/۳۸ و ۵۰ درصد گزارش شد (Hifney *et al.*, 2016). همچنین شاخص امولسیون‌کنندگی برای کربوکسی میتل سلولز (به عنوان کنترل مثبت) برای روغن‌های مذکور به ترتیب صفر، ۵۹/۳۸، ۵۹/۳۸ و ۶۲/۵ درصد گزارش شد. در مطالعه Saravana و همکاران (۲۰۱۶) شاخص امولسیون‌کنندگی فوکوئیدان استخراجی از جلبک *Saccharina japonica* به روش حلالی (۰/۰۵ مولار اسید کلریدریک) به میزان ۵۵/۴۷، ۴۶ و ۵۳/۱۴ درصد برای روغن‌های آفتابگردان، سویا و کلزا گزارش گردید. همچنین فوکوئیدان استخراجی به روش مایع تحت فشار برای روغن‌های مذکور به ترتیب ۵۸/۴۲، ۴۷/۶۳ و ۵۵/۷۶ درصد اندازه‌گیری شد. شاخص امولسیون‌کنندگی فوکوئیدان استخراجی به روش‌های مختلف از جلبک *zanardinii* در محدوده ۲۱/۶۰–۴۴/۴۶ درصد برای روغن‌های آفتابگردان، ذرت و کانولا گزارش گردید. به طور کلی، تفاوت در نوع گونه جلبک و ویژگی‌های ساختاری منحصربه‌فرد پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان استخراجی می‌تواند باعث تغییر میزان شاخص امولسیون‌کنندگی پلی‌ساکاریدها گردد (Alboofetileh *et al.*, 2022). علاوه بر این، غلظت مورد استفاده پلی‌ساکارید برای تهیه امولسیون، نوع ماده هیدروفوب مورد استفاده در فرمولاسیون امولسیون، شرایط امولسیون از قبیل درجه حرارت، فشار، pH و قدرت یونی نیز

- Ale, M.T., Mikkelsen, J.D. and Meyer, A., 2012.** Designed optimization of a single-step extraction of fucosecontaining sulfated polysaccharides from *Sargassum* sp. *Journal of Applied Phycology*, 24(4):715–723. DOI: 10.1007/s10811-011-9690-3
- Baba, B.M., Mustapha, W.A.W. and Joe, L.M., 2018.** Effect of extraction methods on the yield, fucose content and purity of fucoidan from *Sargassum* sp. Obtained from pulau langkawi, Malaysia. *Malaysian Journal of Analytical Science*, 22(1):87-94. DOI:10.17576/mjas-2018-2201-11
- Bilan, M.I., Grachev, A.A., Shashkov, A.S., Kelly, M., Sanderson, C.J., Nifantiev, N.E. and Usov, A.I., 2010.** Further studies on the composition and structure of a fucoidan preparation from the brown alga *Saccharina latissima*. *Carbohydrate Research*, 345:2038–2047. DOI:10.1016/j.carres.2010.07.009
- Borazjani, N.J., Tabarsa, M., You, S. and Rezaei, M., 2017.** Improved immunomodulatory and antioxidant properties of unrefined fucoidans from *Sargassum angustifolium* by hydrolysis. *Journal of Food Science Technology*, 54(12):4016–4025. DOI:10.1007/s13197-017-2867-2
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*, 28:25-30. DOI:10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Chen, H., Zhoua, X. and Zhang, J., 2014.** Optimization of enzyme assisted extraction of polysaccharides from *Astragalus membranaceus*. *Carbohydrate Polymers*, 111:567–575. DOI:10.1016/j.carbpol.2014.05.033
- de Oliveira, C.F., Giordani, D., Lutckemier, R., Gurak, P.D., Cladera-Olivera, F. and Marczak, L.D.F., 2016.** Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound. *LWT - Food Science and Technology*, 71:110e115. DOI:10.1016/j.lwt.2016.03.027
- Freitas, F., Alves, V.D., Carvalheira, M., Costa, N., Oliveira, R. and Reis, M.A.M., 2009.** Emulsifying behaviour and rheological properties of the extracellular polysaccharide produced by *Pseudomonas oleovorans* grown on glycerol byproduct. *Carbohydrate Polymers*, 78:549–556. DOI:10.1016/j.carbpol.2009.05.016
- Florez-Fernandez, N., Gonzalez-Muñoz, M.J. and Dominguez, H., 2017.** Feasibility of posthydrolysis processing of hydrothermal extracts from *Sargassum muticum*. *Algal Research*, 27:73–81. DOI:10.1016/j.algal.2017.08.002
- Gharanjic, B.M. and Rohani, K., 2010.** Atlas of marine seaweed of the Persian Gulf and Oman sea beaches. Iranian Fisheries Research Organization, Iran. 202 P. (in Persian)
- Hahn, T., Lang, S., Ulber, R. and Muffler, K., 2012.** Novel procedures for the extraction of fucoidan from brown algae. *Process Biochemistry*, 47:1691–1698. DOI:10.1016/j.procbio.2012.06.016
- Herrero, M., Cifuentes, A. and Ibanez, E., 2006.** Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae: a review. *Food Chemistry*, 98(1):136-148. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.05.058
- Hifney, A.F., Fawzy, M.A., Abdel-Gawad, K.M. and Gomaa, M., 2016.** Industrial optimization of

- fucoidan extraction from *Sargassum* sp. and its potential antioxidant and emulsifying activities. *Food Hydrocolloids*, 54:77–88. DOI:10.1016/j.foodhyd.2015.09.022
- Huang, C.Y., Wu, S.J., Yang, W.N., Kuan, A.W. and Chen, C.Y., 2016.** Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffing-hydrothermal extraction process. *Food Chemistry*, 197:1121–1129. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.11.100
- Kadam, S.U., Tiwari, B.K., Smyth, T.J. and O'Donnell, C.P., 2015.** Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive components from brown seaweed *Ascophyllum nodosum* using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 23:308–316. DOI:10.1016/j.ultsonch.2014.10.007
- Khajenoori, M. and Haghghi Asl, A., 2014.** Review of extraction of plant natural components by Microwaves and ultrasounds. *Inovative Food Technologies*, 1(3): 81-91. DOI: 10.22104/JIFT.2014.37 (In Persian)
- Liazi, A., Palma, M., Brigui, J. and Barros, C.G., 2007.** Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 1140(1):29-34. DOI:10.1016/j.chroma.2006.11.040
- Lim, S.J., Aida, W.M.W., Maskat, M.Y., Mamot, S., Ropien, J. and Mohd, D.M., 2014.** Isolation and antioxidant capacity of fucoidan from selected Malaysian seaweeds. *Food Hydrocolloids*, 42(2):280–288. DOI:10.1016/j.foodhyd.2014.03.007
- Lomartire, S. and Gonçalves, A.M.M., 2022.** Novel Technologies for Seaweed Polysaccharides Extraction and Their Use in Food with Therapeutically Applications—A Review. *Foods*, 11(17):2654. DOI:10.3390/foods11172654
- Morya, V.K., Kim, J. and Kim, E.K., 2012.** Algal fucoidan: structural and size dependent bioactivities and their perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93:71–82. DOI:10.1007/s00253-011-3666-8
- Oyaizu, M., 1986.** Studies on products of browning reaction-antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japan Journal of Nutrition*, 44:307–314. DOI:10.5264/eiyogakuzashi.44.307
- Palanisamy, S., Vinosha, M., Marudhupandi, T., Rajasekar, P. and Prabhu, N.M., 2017.** Isolation of fucoidan from *Sargassum polycystum* brown algae: Structural characterization, in vitro antioxidant and anticancer activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102:405–412. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2017.03.182
- Peasura, N., Laohakunjit, N., Kerchoechuen, O. and Wanlapa, S., 2015.** Characteristics and antioxidant of *Ulva intestinalis* sulphated polysaccharides extracted with different solvents. *International Journal of Biological Macromolecules*, 81:912-919. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2015.09.030
- Raza, A., Lib, F., Xua, X. and TangaaSchool, J., 2017.** Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant polysaccharides from the stem of *Trapa quadrispinosa* using response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94:335–344. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2016.10.033
- Sahragard, K., Tabarsa, M. and Hassan Ahmadi, H., 2021.** Isolation, purification, anti-diabetic and

- antioxidant properties of fucoidan from brown seaweed *Sargassum ilicifolium*. 74(2):223-234. DOI:10.22059/JFISHERIES.2021.319673.1233 (In Persian)
- Saravana, P.S., Cho, Y.J., Park, Y.B., Woo, H.C. and Chun, B.S., 2016.** Structural, antioxidant, and emulsifying activities of fucoidan from *Saccharina japonica* using pressurized liquid extraction. *Carbohydrate Polymers*. 153:518–525. DOI:10.1016/j.carbpol.2016.08.014
- Shao, P., Shao, J., Han, L., Lv, R. and Sun, P., 2015.** Separation, preliminary characterization, and moisture-preserving activity of polysaccharides from *Ulva fasciata*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72:924–930. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2014.09.048
- Sun, Y., Hou, S., Song, S., Zhang, B., Ai, C., Chen, X. and Liu, N., 2018.** Impact of acidic, water and alkaline extraction on structural features, antioxidant activities of *Laminaria japonica* polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112:985–995. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.02.066
- Ticar, B.F., Rohmah, Z., Ambut, C.V., Choi, Y.J., Mussatto, S.I. and Choi, B.D., 2015.** Enzyme-assisted extraction of anticoagulant polysaccharide from *Liparis tessellatus* eggs. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74:601–607. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2015.01.002
- Vijayabaskar, P., Vaseela, N. and Thirumaran, G., 2012.** Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10(6):421-428. DOI:10.1016/S1875-5364(12)60082-X
- Vo, T.S. and Kim, S.K., 2013.** Fucoidans as a natural bioactive ingredient for functional foods. *Journal of Functional Foods*, 5(1):16-27. DOI:10.1016/j.jff.2012.08.007
- Wang, C.Y., Wu, T.C., Hsieh, S.L., Tsai, Y.H., Yeh, C.W. and Huang, C.Y., 2015.** Antioxidant activity and growth inhibition of human colon cancer cells by crude and purified fucoidan preparations extracted from *Sargassum cristaefolium*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23:766-777. DOI:10.1016/j.jfda.2015.07.002
- Wang, J., Zhang, Q., Zhang, Z. and Li, Z., 2008.** Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 42(2):127–132. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2007.10.003
- Yaztapeh, E.S., Tabatabaei, M.R.H. and Abkenar, A.M., 2021.** The compression of antioxidant activity and β -carotene extracted from three species of native algae of Oman Sea (*Ulva lactuca*, *Sargassum ilicifolium* and *Nizimuddinina zanardini*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 29(6):53-63. DOI:10.22092/ISFJ.2021.123538 (In Persian)
- You, Q., Yin, X. and Zhao, Y., 2013.** Enzyme assisted extraction of polysaccharides from the fruit of *Cornus officinalis*. *Carbohydrate Polymers*, 98:607–610. DOI:10.1016/j.carbpol.2013.06.036.
- You, Q., Yin, X. and Ji, C., 2014.** Pulsed counter-current ultrasound-assisted extraction and characterization of polysaccharides from *Boletus edulis*. *Carbohydrate Polymer*, 101:379–385. DOI:10.1016/j.carbpol.2013.09.031

Effect of acidic, enzymatic and ultrasonic extraction methods on the characteristics of fucoidan from *Sargassum ilicifolium*

Alboofetileh M.¹

*alboofetileh@areeo.ac.ir

1-Fish Processing Technology Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran

Abstract

In the present study, fucoidan was extracted from *Sargassum ilicifolium* by acidic, enzymatic, and ultrasonic methods. The extraction yield was determined and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) was used to identify the functional groups of the extracted fucoidans. Antioxidant activity of fucoidan was evaluated based on the scavenging of DPPH free radical and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. Emulsifying properties of the isolated fucoidan were evaluated using sunflower, corn, and canola oils. The results showed that the extraction yield of fucoidan in the enzyme method (11.37%) was significantly higher than those obtained by acidic (7.87%) and ultrasound (8.07%) methods ($p < 0.05$). The FTIR spectra demonstrated that the extracted fucoidans possess sulphate groups at 817 and 1249 cm^{-1} . The highest DPPH radical scavenging (38.07%) and reducing power (absorption 0.167) activities were measured in the fucoidan extracted at 1 mg/ml by the enzymatic method ($p < 0.05$). On the contrary, fucoidan extracted by the acidic method had the lowest DPPH radical scavenging (26.42%) and reducing power (0.156 Abs) activities ($p < 0.05$). The highest emulsification index (34.67-39.75%) was measured in fucoidan extracted by enzymatic method. However, the emulsification index values were just significantly different in corn oil ($p < 0.05$). Generally, the fucoidan extracted using the ultrasonic and enzymatic methods showed higher yield, antioxidant, and emulsifying properties than those extracted by the acidic method.

Keywords: Extraction methods, Bioactive compounds, Sulfated polysaccharides, Bioactive properties, Functional properties

*Corresponding author