

## تأثیر شرایط استخراج به کمک امواج فراصوت بر ویژگی‌های ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ه محلول در آب جلبک سبز *Enteromorpha intestinalis*

فاطمه رحیمی<sup>۱</sup>، مهدی طبرسا<sup>۲\*</sup>، مسعود رضایی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فرآوری آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

۲- استادیار، گروه فرآوری آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

۳- استاد، گروه فرآوری آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

دریافت: ۹۴/۱۱/۰۲ پذیرش: ۹۵/۰۸/۲۲

\*نویسنده مسئول مقاله: m.tabarsa@modares.ac.ir

### چکیده:

تأثیر شرایط مختلف دما (۳۰ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد)، زمان (۱۰ تا ۷۰ دقیقه) و pH (۴ تا ۹) بر روی بازده استخراج پلی‌ساکاریدهای جلبک *E. intestinalis* مطالعه شد. نتایج نشان داد که دمای استخراج بیشترین تأثیر را در افزایش میزان پلی‌ساکاریدهای به دست آمده بر عهده داشت. بیشترین بازده استخراج پلی‌ساکارید در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۳۰ دقیقه و pH ۸ بود. بنابراین، فعالیت ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدهای شرایط دمایی ۳۰، ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد، زمانی ۱۰، ۳۰ و ۵۰ دقیقه و pH ۴، ۷ و ۸ که واجد اختلاف معنادار در بازده بودند، ارزیابی شد. برای ارزیابی فعالیت ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدها، قدرت جذب رادیکال آزاد DPPH، قدرت کاهش آهن و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل سنجیده شد. بیشترین فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد (۷۳/۹۰ درصد)، زمان ۳۰ دقیقه (۹۵/۰۸ درصد) و pH ۷ (۷۵/۶۱ درصد) مشاهده شد. بیشترین قدرت کاهش آهن در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد (۸۹/۹۹ درصد)، زمان ۵۰ دقیقه (۹۹/۰۵ درصد) و pH ۸ (۹۷/۴۹ درصد) به دست آمد. فعالیت ضداکسیدانی کل در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد (۴۹/۹۷)، زمان ۱۰ دقیقه (۶۲/۳۲) و pH ۷ (۵۹/۱۱ میلی‌گرم آسکوربیک‌اسید/گرم جلبک خشک) در بیشترین میزان خود بود. به‌طور کلی، یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که پلی‌ساکاریدهای جلبک سبز *E. intestinalis* واجد پتانسیل ضداکسیدانی بوده و استفاده از دمای بالا، زمان طولانی و pH اسیدی یا قلیایی در فرایند استخراج، می‌تواند سبب کاهش پتانسیل ضداکسیدانی شود.

**کلید واژگان:** *Enteromorpha intestinalis*، پلی‌ساکارید، استخراج، فعالیت ضداکسیدانی

رادیکال‌های آزاد، مولکول‌های بسیار واکنش‌پذیری هستند

که دارای یک یا تعداد بیشتری الکترون جفت‌نشده

مقدمه

جلبک‌های دریایی پرورشی در سال ۲۰۱۱ بیش از ۲۱ میلیون تن بوده است (FAO, 2013). این گیاهان آبی، کم کالری بوده و به علت محتوای چربی پایین و مقادیر فراوان کربوهیدرات، سالیان متمادی در برخی کشورهای آسیایی به صورت سبزیجات خشک یا تازه مصرف می‌شوند (Holdt et al., 2011). یکی از ترکیبات زیست‌فعالی که به تازگی توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است، پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ها می‌باشد. پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ها در دیواره سلولی جلبک‌ها وجود دارند و ساختار شیمیایی آنها با توجه به نوع گونه جلبکی متفاوت می‌باشد (Burtin, 2003). پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ها دارای کاربردهای تجاری متنوعی هستند و در صنعت به عنوان تثبیت‌کننده و قوام‌دهنده، امولسیفایر در مواد غذایی و نوشیدنی‌ها استفاده می‌شوند (Tseng, 2001). پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از جلبک‌ها شامل فوکوئیدان<sup>۵</sup> و لامیناران<sup>۶</sup> از جلبک‌های قهوه‌ای، کاراژینان‌ها<sup>۷</sup> از جلبک قرمز و اولون<sup>۸</sup> از جلبک سبز می‌باشند (Wijesekara et al., 2011). این پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ها دارای خواص ضدانعقادی، ضدتوموری، ضدالتهابی، ضداکسیدانی و تنظیم‌کننده سیستم ایمنی هستند (Zubia et al., 2009; Rodrigues et al., 2009; Cumashi et al., 2011). از میان پلی‌ساکاریدهای منابع دریایی، اولون‌ها علی‌رغم پتانسیل بالا در درمان بیماری‌های مختلف، کمتر مورد توجه دانشمندان قرار گرفته‌اند (Cho et al., 2010; Karnjanapratum and You, 2010).

ارتباط تنگاتنگی بین ساختارهای شیمیایی و مولکولی پلی‌ساکاریدها با نوع و قدرت فعالیت زیستی آنها وجود دارد. تغییراتی که به ویژه در طی مراحل آماده‌سازی و جداسازی پلی‌ساکاریدها به‌طور گسترده‌ای به وقوع

می‌باشند و در طی استرس‌های اکسیداسیونی آزاد می‌شوند. رادیکال‌های آزاد سبب آسیب به مواد زیستی و در نتیجه به وجود آمدن بیماری‌های مختلفی از جمله سرطان، بیماری قلبی و عروقی، اختلالات سیستم ایمنی، تصلب شرایین و پیری زودرس و همچنین فساد مواد غذایی می‌شوند (Tsai Wu and Hansen, 2008; et al., 2007). بنابراین، به منظور کاهش آسیب به بدن انسان و همچنین افزایش مدت ذخیره‌سازی مواد غذایی از ضداکسیدان‌های مصنوعی در صنعت استفاده می‌شود. البته، در سال‌های اخیر، به سبب احتمال بروز آسیب‌های کبدی و پیشرفت سرطان، مصرف ضداکسیدان‌های مصنوعی مانند<sup>۱</sup> BHT،<sup>۲</sup> BHA،<sup>۳</sup> TBHQ و<sup>۴</sup> PG که به‌طور تجاری در دسترس می‌باشند، محققان در پی یافتن ضداکسیدان‌های جایگزین با استفاده از منابع طبیعی هستند (Cheung et al., 2003). نتایج مطالعات دانشمندان نشان داده است که میوه‌ها و سبزیجات دارای ترکیبات ضداکسیدانی می‌باشند که از جمله آنها آسکوربیک‌اسید، توکوفرول، B کاروتن، فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی و پلی‌ساکاریدها را می‌توان نام برد (Xu et al., 2009).

در سال‌های اخیر، در بین گیاهان دریایی، جلبک‌ها به علت دارا بودن ترکیبات زیست‌فعال سودمند، در صنایع دارویی و غذایی بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (Chandini et al., 2008; et al., 2010; Cho et al., 2010). تاکنون، انواع متنوعی از جلبک‌های دریایی شناسایی شده‌اند که در سه گروه جلبک‌های سبز (Chlorophyta)، جلبک‌های قهوه‌ای (Pheophyta) و جلبک‌های قرمز (Rhodophyta) طبقه‌بندی می‌شوند (Chandini et al., 2008). میزان تولید جهانی

5. Fucoïdan  
6. Laminaran  
7. Carrageenans  
8. Ulvan

1. Butylated hydroxytoluene  
2. Butylated hydroxyanisole  
3. Tert-Butylhydroquinone  
4. Propyl gallate

درباره امکان استفاده از پلی ساکاریدهای آن صورت نگرفته است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر استخراج پلی ساکاریدهای جلبک سبز *Enteromorpha intestinalis* به کمک امواج فراصوت و بررسی تأثیر شرایط مختلف استخراج بر فعالیت ضداکسیدانی آن می باشد.

#### مواد و روش ها

##### جمع آوری نمونه

نمونه های جلبک از امتداد ساحل شهرستان نور جمع آوری و به سرعت به آزمایشگاه فراوری دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انتقال داده شد. شست و شوی نمونه ها ابتدا با آب دریا و سپس با آب شیرین انجام شد تا باقیمانده شن و ماسه و ناخالصی های دیگر از جلبک ها حذف شوند. جلبک ها در آون (Memmert-UFE-400، آلمان) در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴ روز قرار داده شد تا خشک شوند. نمونه های خشک شده در دستگاه خردکن (*Arshia* BL110-1458، ایران) تا حد امکان پودر شد و سپس به وسیله ترازوی دیجیتال توزین و تا زمان انجام آزمایش در کیسه های پلاستیکی زیپ کیپ در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (Tabarsa et al., 2013).

##### استخراج پلی ساکاریدهای سولفات

۵۰ گرم پودر جلبک آسیاب شده به منظور حذف رنگدانه ها، متابولیت های ثانویه و چربی در اتانول ۹۵ درصد و در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. سپس فاز جامد با استفاده از سانتریفوژ (Universal 320R، آلمان) از فاز مایع جدا گردید و پس از شست و شو با اتانول و استون خشک شد. ۵ گرم پودر رنگبری شده جلبک با آب مقطر تحت شرایط مختلف دمایی (۳۰ تا ۹۰ درجه سانتی گراد)، زمان (۱۰ تا ۷۰ دقیقه) و pH (۴ تا ۹) به کمک دستگاه امواج فراصوت (Soner206H، تایوان) با فرکانس ۵۰ هرتز (۱۸۰W) استخراج شد. فاز رویی محلول

می پیوندد و نبود یک پروتکل استخراج یکسان و مناسب از نظر شرایط دمایی و زمانی، می تواند سبب به دست آوردن پلی ساکاریدی با ویژگی های مولکولی و زیستی متفاوت شود (Tutor Ale et al., 2011). به منظور استخراج پلی ساکاریدها از جلبک ها روش های متنوعی پیشنهاد شده است. یکی از روش های متداول در جداسازی پلی ساکاریدها، استفاده از آب گرم است که از معایب آن می توان به درجه حرارت بالا و زمان استخراج طولانی اشاره کرد (Zhang et al., 2013). برای مثال، در مطالعه ای که بر پلی ساکارید منان از جلبک *Capsosiphon fulvescens* صورت پذیرفت، استخراج دو مرتبه به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد انجام شد (Karnjanapratum 2012). به همین منظور روش های جدیدی برای استخراج پلی ساکاریدها توسعه یافته است که شامل استخراج سیال فوق بحرانی، استخراج به کمک مایکروویو و استخراج فراصوت می باشند (Ying et al., 2011؛ Lai et al., 2010). این روش ها دارای ویژگی های مطلوبی از جمله زمان کوتاه تر، سادگی عملیات، کاهش انرژی ورودی و کاهش مصرف حلال است (Vilkhu et al., 2008). در این میان، روش فراصوت با تسریع بیشتر فرایند استخراج و استفاده در دماهای پایین باعث وارد آمدن آسیب کمتری به ویژگی های ساختاری و مولکولی پلی ساکاریدهای استخراج شده و نیز حفظ خواص زیستی آنها می شود (Zhou and Ma, 2010؛ Khan et al., 2006). بنابراین روش فراصوت می تواند یک روش مؤثر و مناسب برای استخراج پلی ساکارید از جلبک های دریایی باشد.

گونه *Enteromorpha intestinalis* یکی از جلبک های سبز با پراکنش وسیع در سواحل دریای خزر است که با وجود فراوانی و سهولت دسترسی تاکنون مطالعه ای

بررسی فعالیت ضد اکسیدانی با استفاده از رادیکال‌های پایدار ۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل - هیدرازیل (DPPH) طبق روش (Brand-Williams ۱۹۹۵) انجام شد. ۱۰۰ میکرولیتر نمونه پلی ساکارید با غلظت (۱، ۳ و ۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به ۱۰۰ میکرولیتر محلول اتانولی ۰/۱ میلی مولار رادیکال آزاد DPPH در هر چاهک میکروپلیت اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک نگهداری شد تا تغییر رنگ در آن صورت گیرد. جذب نمونه در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه الیزاریدر خوانده شد. میزان فعالیت ضد اکسیدانی رادیکالی پلی ساکاریدها مطابق رابطه زیر محاسبه شد.

$$RSA = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} * 100$$

A control جذب کنترل پس از زمان موردنظر (محلول واکنش و آب)

A sample جذب نمونه و محلول DPPH پس از زمان مورد نظر

#### قدرت کاهندگی آهن (FRAP)<sup>۹</sup>

قدرت کاهندگی آهن در پلی ساکاریدهای جلبکی با روش (Chew et al., 2008) تعیین شد. ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (pH= ۶/۶) و ۵۰۰ میکرولیتر فری سیانات پتاسیم ۱ درصد به ۲۰۰ میکرولیتر نمونه پلی ساکارید با غلظت (۱، ۳ و ۵ میلی گرم بر میلی لیتر) اضافه شد. این محلول در حمام آبی (Memmert-WNB14، آلمان) در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر اسید تری کلرواستیک ۱۰ درصد به مخلوط اضافه شد و با دور ۱۵۰۰۰ بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. ۵۰۰ میکرولیتر از فاز رویی برداشته و به آن ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر کلرید آهن

استخراج به وسیله سانتریفوژ با دور ۹۰۰۰ بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد. عصاره به دست آمده با روتاری تا حجم ۶۰-۷۰ میلی لیتر تغلیظ شد، سپس عصاره تغلیظ شده به داخل ظرف دیگری منتقل و تا سه برابر حجم آن اتانول سرد اضافه گردید. پلی ساکاریدهای حاصل با اتانول و استون شستشو داده شده، سپس در معرض هوا در دمای اتاق خشک شدند تا وزن آنها ثابت شود. درصد بازده استخراج پلی ساکاریدها با رابطه زیر محاسبه شد (Tabarsa et al., 2013).

$$\text{Yield\%} = \frac{W_0}{W} \times 100$$

W<sub>0</sub> وزن پلی ساکارید خشک (گرم)

W وزن پودر اولیه جلبک (گرم)

#### ظرفیت ضد اکسیدانی کل (TAC)

ظرفیت ضد اکسیدانی کل پلی ساکاریدهای جلبکی با روش (Prieto et al., 1999) اندازه گیری شد. ۳۰ میکرولیتر نمونه با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر با ۳۰۰ میکرولیتر محلول معرف (۶/۱ مولار اسید سولفوریک، ۲۸ میلی مولار فسفات سدیم و ۴ میلی مولار آمونیوم مولیبدات) مخلوط و محلول حاصل در حمام آبی (دما ۹۵ درجه سانتی گراد) به مدت ۹۰ دقیقه قرار گرفت و پس از سرد شدن در دمای اتاق در هر چاهک میکروپلیت ۱۰۰ میکرولیتر نمونه ریخته شد و جذب آن در طول موج ۶۹۵ نانومتر با دستگاه الیزاریدر (Epock، آمریکا) خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول آسکوربیک اسید در غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر استفاده شد و نتایج براساس میلی گرم آسکوربیک اسید بر گرم پودر جلبکی خشک شده بیان شد.

#### قدرت خنثی کردن رادیکال‌های آزاد (DPPH)

9. Ferric reducing power activity

از دیواره سلولی، استفاده از درجه حرارت‌های بالا و زمان طولانی می‌تواند سبب تخریب ساختار پلی‌ساکاریدها و کاهش خواص زیست‌فعالی آنها شود. بنابراین استفاده از روش‌های جدید مانند امواج فراصوت که واجد مزایایی مانند کاهش دما و زمان استخراج است، ضروری می‌باشد (Jiang et al., 2014).

در این پژوهش تأثیر شرایط مختلف دما (۳۰ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد)، زمان (۱۰ تا ۷۰ دقیقه) و pH (۴ تا ۹) بر روی بازده استخراج پلی‌ساکاریدها با استفاده از دستگاه فراصوت مطالعه شد. مقادیر متفاوت بازده استخراج پلی‌ساکاریدها در شکل ۱ نشان داده شده است. به‌منظور مطالعه اثر دما بر بازده استخراج پلی‌ساکاریدها، فرایند استخراج با استفاده از درجه حرارت‌های مختلف استخراج ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سایر شرایط استخراج نیز شامل زمان استخراج ۴۰ دقیقه، نسبت حلال آب به پودر جلبکی خشک شده ۱:۲۰ و pH ۷ بود. همان‌طور که مشاهده می‌شود، اعمال شرایط دمایی مختلف نشان داد که با افزایش دما، میزان استخراج پلی‌ساکاریدها افزایش معناداری نشان داد که در این میان کمترین میزان بازده مربوط به دمای ۳۰ درجه (۲/۶۸۲ درصد) و بیشترین میزان بازده مربوط به دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد (۸/۵۷ درصد) بود ( $p < 0.05$ ). فرایند استخراج شامل سه مرحله نفوذ حلال به فضای درون سلولی، حل شدن پلیمرها در حلال و در نهایت انتشار مولکول‌های حل‌شده به فضای بیرون سلولی می‌باشد. از این‌رو، تأثیر دما بر افزایش بازده استخراج را می‌توان ناشی از حلالیت بهتر مولکول‌های پلیمر در حلال و در نتیجه انتشار بیشتر آن به بیرون از سلول نسبت داد

(FeCl<sub>3</sub>) ۰/۱ درصد اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی قرار داده شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر نمونه در هر چاهک میکروپلیت ریخته و جذب نمونه در طول موج ۷۰۰ نانومتر با دستگاه الیزاریدر خوانده شد و نتایج براساس جذب صد میکروگرم آسکوربیک‌اسید بر گرم پودر جلبکی خشک‌شده بیان شد. معادله منحنی استاندارد برابر با رابطه زیر می‌باشد:

$$\text{Reducing power\%} = \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

Acontrol جذب کنترل پس از زمان مورد نظر (محلول

واکنش و آب)

Asample جذب نمونه پس از زمان مورد نظر

### تجزیه و تحلیل آماری

برای سنجش طبیعی بودن داده‌ها، از آزمون کلموگراف-اسمیرنوف<sup>۱۰</sup> استفاده شد. سپس برای بررسی بهترین فعالیت ضداسیدانی بین تیمارهای مختلف پلی‌ساکاریدهای استخراج شده آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) به‌کار برده شد. برای مقایسه بین میانگین داده‌ها، آزمون دانکن به‌کار برده شد و در نهایت برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excell (Microsoft office, 2010) و Sigma plot 12 استفاده شد.

### نتایج و بحث

#### تأثیر شرایط استخراج بر بازده پلی‌ساکاریدها

پلی‌ساکاریدها ماکرومولکول‌هایی با وزن مولکولی بالا هستند که در دیواره سلولی جلبک‌ها وجود دارند و ساختار شیمیایی آنها با توجه به نوع گونه جلبکی متفاوت است (Burtin, 2003). در طی فرایند استخراج

10. Kolomograv-Smimov

دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت، برای انجام فرایند استخراج مدت ۲ ساعت استفاده شد. اما نتایج مطالعه حاضر حداکثر میزان استخراج را پس از طی ۳۰ دقیقه در اختیار قرار داد که نشان‌دهنده کارایی بهتر روش فراصوت است. همچنین، در مطالعه Chen و همکاران (۲۰۱۲) نیز تأثیر زمان‌های مختلف بر بازده استخراج پلی‌ساکاریدها از میسلیوم قارچ *edulis Boletus* بررسی شد و نتایج نشان داد که با افزایش زمان، بازده تولید پلی‌ساکاریدها افزایش می‌یابد.

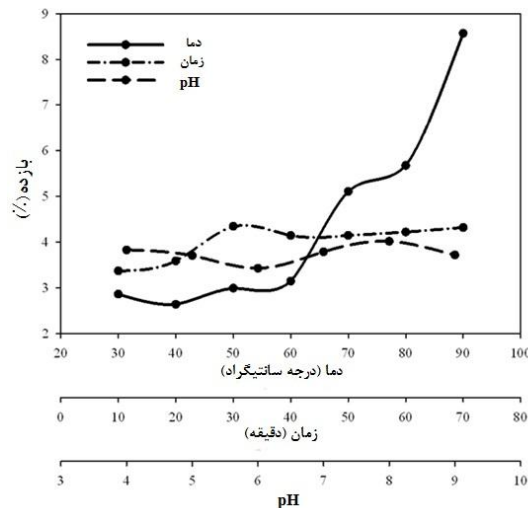
همچنین، در این پژوهش pH مختلف (۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹) بر روی بازده استخراج پلی‌ساکاریدها بررسی شد. سه عامل دمای استخراج ۶۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۴۰ دقیقه و نسبت آب به مواد خام (۱:۲۰ میلی‌لیتر بر گرم) ثابت در نظر گرفته شد. بر خلاف نتایج به‌دست آمده در شرایط فوق، تغییرات میزان pH با الگویی متفاوت بر میزان بازده پلی‌ساکاریدهای استخراج شده تأثیر گذاشت (شکل ۱). در شرایط اسیدی ضعیف (pH ۴) بازده استخراج ۳/۸۲۸ درصد بود که این میزان با افزایش pH به سمت شرایط خنثی دچار کاهش (۳/۷۸۸ درصد) شد. البته این میزان از بازده در pH ۸ به حداکثر (۴/۰۱۸ درصد) رسید ( $p < 0/05$ ) و سپس به ۳/۷۱۸ درصد در pH ۹ کاهش یافت. بیان شده است که استفاده از محلول‌های قلیایی و اسیدی می‌تواند سبب شکستن پیوندهای هیدروژنی و در نتیجه افزایش حلالیت پلی‌ساکاریدها شود (Hernández-Garibay et al., 2011). در پژوهشی مشابه، Fan و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر سطوح مختلف pH (۲ تا ۷) را بر روی استخراج آنزیمی پلی‌ساکاریدهای گونه *Momordica charabtia* L. به کمک امواج فراصوت مطالعه کردند. نتایج نشان

(Wang et al., 2014). همچنین، افزایش دمای استخراج نیز با کاهش ویسکوزیته حلال از یک طرف می‌تواند سرعت انتشار مولکول‌ها را افزایش دهد و از طرف دیگر منجر به نفوذپذیری بیشتر دیواره سلولی نسبت به حلال شود (Sun et al., 2010; Zhu and Liu, 2013; Jiang et al., 2014).

تأثیر زمان‌های مختلف استخراج (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰ دقیقه) روی بازده استخراج پلی‌ساکاریدها بررسی شد. در این شرایط دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، نسبت آب به مواد خام ۱:۲۰ میلی‌لیتر بر گرم و pH ۷ در نظر گرفته شد. با به‌کارگیری زمان‌های مختلف در فرایند استخراج نیز میزان پلی‌ساکاریدهای به‌دست آمده با افزایش مدت زمان فرایند افزایش یافت. البته این افزایش بازده، که از نقطه کمترین در مدت زمان ۱۰ دقیقه (۳/۳۷ درصد) شروع شد پس از ۳۰ دقیقه به بیشترین میزان خود رسید (۴/۳۴۴ درصد) و سپس با اندکی کاهش به ۴/۳۱۸ درصد در زمان ۷۰ دقیقه رسید ( $p < 0/05$ ). با توجه به پیچیدگی بالای دیواره سلولی جلبک‌ها که در ساختار آن پلیمرهای سلولز، پروتئین، همی‌سلولز و لیگنین‌ها با پیوندهای یونی، هیدروژنی و غیره در هم تنیده می‌باشند، فرایند جداسازی پلی‌ساکاریدها از شبکه دیواره سلولی فرایندی آهسته است که نیازمند صرف زمان به‌نسبت طولانی است (Rodrigues et al., 2015). البته استفاده از تسهیل‌کننده‌های مکانیکی نظیر امواج فراصوت موجب می‌شود که در زمان کوتاه‌تری بازده استخراج مناسب به‌دست آید. در پژوهشی که بر روی استخراج پلی‌ساکاریدهای گونه *Codium fragile* از سوی Tabarsa و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از آب مقطر در

پیدا کرد که می‌تواند به دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های موجود در حلال و در نتیجه کاهش بازده استخراج باشد.

داد که با افزایش pH تا ۴، بازده استخراج افزایش یافت اما با افزایش بیشتر، میزان استخراج پلی‌ساکارید کاهش



شکل ۱ نمودار بازده استخراج پلی‌ساکاریدهای سولفاته در شرایط مختلف دمایی، زمانی و pH

نتایج ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدهای به‌دست‌آمده نشان داد که تمامی پلیمرهای استخراج‌شده در دماهای ۳۰، ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد دارای پتانسیل مهار رادیکال آزاد DPPD، کاهش آهن و فعالیت ضداکسیدانی کل در غلظت‌های ۱، ۳ و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شده از نمونه پلی‌ساکارید می‌باشند (شکل ۲). رادیکال آزاد DPPH به میزان وسیعی برای ارزیابی فعالیت ضداکسیدانی ترکیبات مختلف استفاده می‌شود که در طی واکنشی شیمیایی یک اتم هیدروژن دریافت کرده و با تبدیل شدن به حالت پایدار خود، حداکثر جذب نوری در طول موج ۵۱۷ نانومتر را منجر می‌گردد (Blois, ۱۹۸۵). در آزمایش مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، پلی‌ساکاریدها توانستند ۲۸ تا ۷۷ درصد از رادیکال‌های موجود را غیرفعال کنند (شکل ۲-الف). البته، برخلاف پلی‌ساکاریدهای به‌دست‌آمده در دماهای ۳۰ و ۷۰ درجه سانتی‌گراد، قابلیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH به‌وسیله پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، به‌طور معناداری کمتر بود ( $p < 0.05$ ). به‌طور

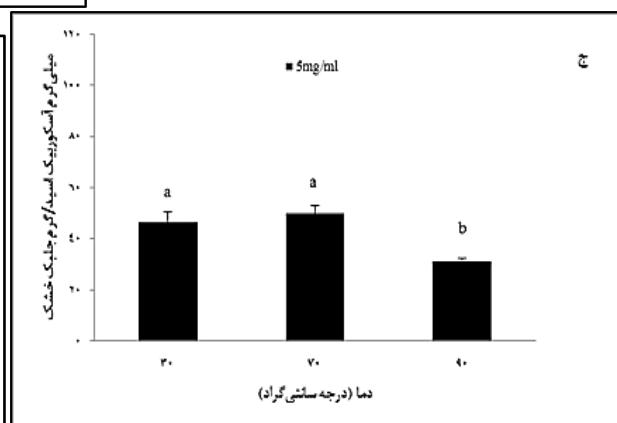
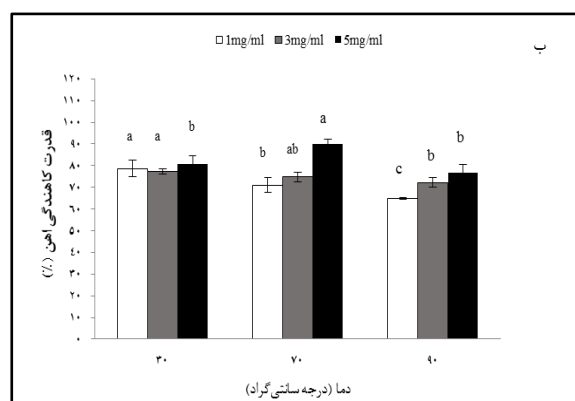
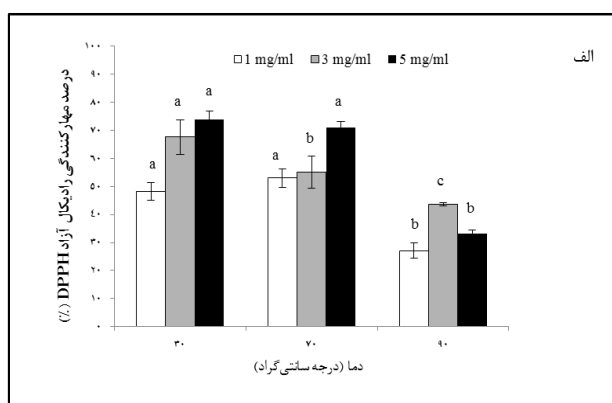
#### فعالیت ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدها

مطالعات انجام‌شده بر روی پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده از جلبک‌های سبز حاکی از آن است که خواص فیزیکوشیمیایی و ویژگی‌های ساختاری پلی‌ساکاریدها از عوامل مهم و تأثیرگذار بر فعالیت‌های زیستی آنها است (Karnjanapratum et al., 2011). در پژوهش حاضر، با اعمال شرایط مختلف در طول فرایند استخراج مقادیر متفاوتی از پلی‌ساکارید به‌دست آمد که ممکن است واجد ویژگی‌های متفاوت ضداکسیدانی باشند. بنابراین، شرایط استخراج پلی‌ساکاریدها در دمای ۳۰، ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۱۰، ۳۰ و ۵۰ دقیقه و pH ۴، ۷ و ۸ که دارای بیشترین اختلاف در بازده استخراج بوده‌اند، انتخاب و فعالیت ضداکسیدانی آنها با استفاده از آزمایش‌های مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، قدرت کاهندگی آهن و فعالیت ضداکسیدانی کل ارزیابی شد.

تأثیر دمای استخراج بر فعالیت ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدها

پلی ساکاریدهای به دست آمده از جلبک *Ascophyllum nodosum* نیز مشاهده شده است (Yuan et al., 2015). در این مطالعه که فرایند استخراج با استفاده از امواج مایکروویو در دماهای ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ درجه سانتی گراد انجام شد، قابلیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH پلی ساکاریدهای استخراج شده در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد به میزان قابل توجهی بیشتر از دماهای دیگر بود.

مشابه‌ای، پلی ساکاریدهای استخراج شده در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد کمترین قابلیت را در کاهش یون‌های آهن ۳ ظرفیتی و فعالیت ضد اکسیدانی کل از خود نشان دادند (شکل ۲-ب، ج). همچنین نتایج آنالیز آماری نشان داد که در هر کدام از دماهای به کار گرفته شده، با افزایش غلظت‌های تهیه شده از نمونه فعالیت ضد اکسیدانی افزایش یافت و اختلاف معنادار مشاهده شد ( $p < 0.05$ ) (شکل ۲). تأثیر دمای استخراج بر فعالیت ضد اکسیدانی



شکل ۲ نمودار فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (الف)، قدرت کاهندگی آهن (ب) و فعالیت ضد اکسیدانی کل (ج) پلی ساکاریدهای استخراج شده در دماهای مختلف ۳۰، ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی گراد. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر تفاوت معنادار در تیمارهای مختلف است ( $p < 0.05$ ). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار می‌باشد.

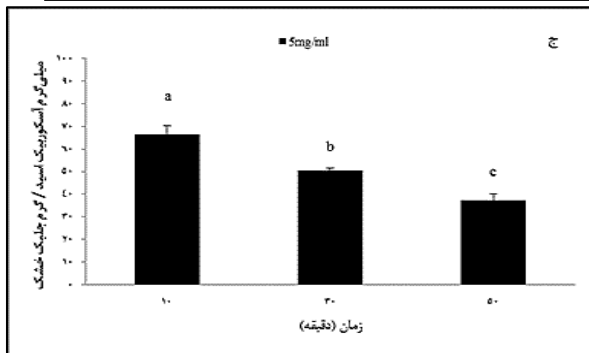
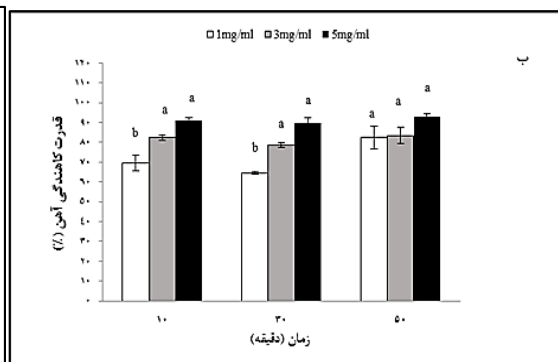
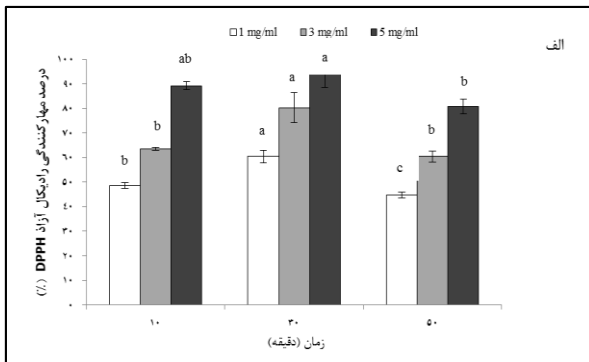
نتایج ارزیابی‌های ضد اکسیدانی پلی ساکاریدهای استخراج شده در زمان‌های مختلف ۱۰، ۳۰ و ۵۰ دقیقه نشان

تأثیر زمان استخراج بر فعالیت ضد اکسیدانی پلی ساکاریدها



همکاران، ۲۰۱۱). همسو با مطالعه حاضر، قابلیت کاهندگی آهن (FRAP) پلی ساکاریدهای استخراج شده در گونه‌های *Bryopsis* و *Enteromorpha linza*, *Ulva pertusa plumose* نیز اندازه‌گیری شد که نشان‌دهنده پتانسیل بالای این پلی ساکاریدها در کاهش آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی بود (Zhang et al., 2010). نتایج فعالیت ضداکسیدانی کل نیز نشان داد که با افزایش زمان، میزان فعالیت ضداکسیدانی کاهش معناداری یافت و کمترین میزان (۳۷/۱۸ میلی‌گرم آسکوربیک اسید/ گرم پودر جلبکی) در زمان ۵۰ دقیقه مشاهده شد (شکل ۳-ج). تأثیر زمان طولانی در فرایند استخراج بر فعالیت ضداکسیدانی پلی ساکاریدهای به‌دست آمده می‌تواند به دلیل تخریب زنجیره اصلی و در نتیجه کاهش وزن مولکولی و یا از دست رفتن گروه سولفات باشد (Li et al., 2013; Zhang et al., 2011).

داد که با افزایش مدت فرایند استخراج، میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH ابتدا افزایش و سپس کاهش می‌یابد (شکل ۳-الف). بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد در تیمار ۳۰ دقیقه به میزان ۹۵/۰۸ درصد و کمترین مقدار در تیمار ۵۰ دقیقه به میزان ۴۴/۸۱ درصد مشاهده شد. همچنین با افزایش غلظت پلی ساکارید، فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد در تمامی زمان‌ها به‌طور معناداری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ) (شکل ۳-الف). البته این روند ضداکسیدانی پلی ساکاریدها در ارزیابی قابلیت کاهندگی آهن مشاهده نشد (شکل ۳-ب). ارزیابی کاهندگی آهن نیز از جمله آزمایش‌هایی است که به‌صورت متداول برای اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدانی استفاده می‌شود و در طی آن در حضور یک کاهنده قوی، آهن موجود در کمپلکس  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  فری‌سیانید به  $Fe^{2+}$  کاهش می‌یابد که حداکثر جذب نوری آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر می‌باشد (Ganesan و

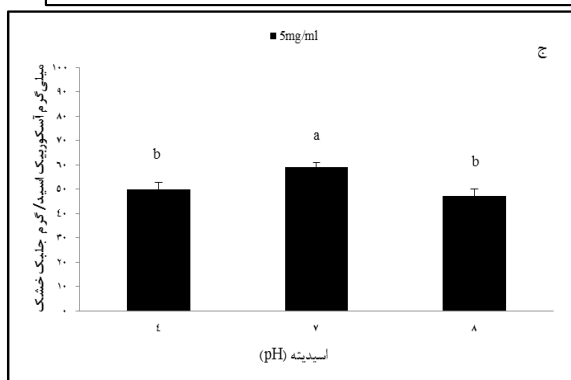
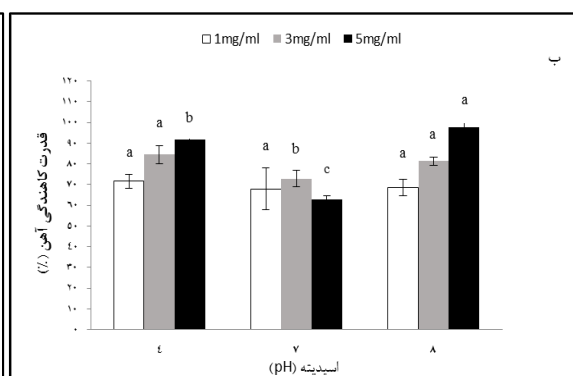
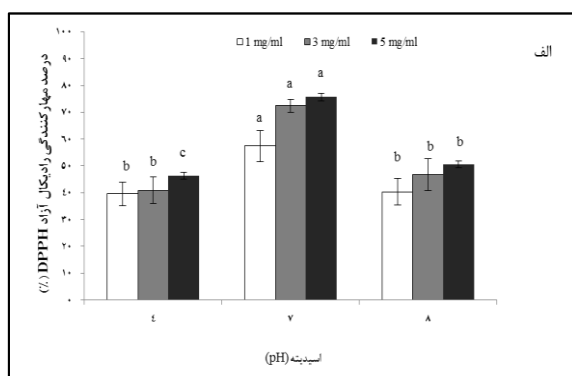


شکل ۳ نمودار فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (الف)، قدرت کاهندگی آهن (ب) و فعالیت ضداکسیدانی کل (ج) پلی ساکاریدهای استخراج شده در زمان‌های مختلف ۱۰، ۳۰ و ۵۰ دقیقه. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر تفاوت معنادار در تیمارهای مختلف است ( $p < 0/05$ ). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار می‌باشد.

### تأثیر pH استخراج بر فعالیت ضداکسیدانی پلی ساکاریدها

شکل ۴، فعالیت ضداکسیدانی پلی ساکاریدهای به دست آمده در شرایط مختلف از نظر pH را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در شرایط متفاوت از نظر pH، پلی ساکاریدهایی با ظرفیت متفاوت از نظر فعالیت ضداکسیدانی به دست آمد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، برای پلی ساکاریدهای استخراج شده در pH ۴، ۷ و ۸ بین ۴۰-۷۵ درصد اندازه‌گیری شد (شکل ۴-الف). در این میان، بیشترین فعالیت مهارکنندگی مربوط به پلی ساکاریدهای به دست آمده در pH ۷ و کمترین میزان

مربوط به پلی ساکارید به دست آمده در pH ۴ بود ( $p < 0/05$ ). البته، همانند پلی ساکاریدهای استخراج شده در شرایط دمایی و زمانی مختلف، قدرت کاهش یون آهن نیز متفاوت از الگوی مشاهده شده در مهار رادیکال آزاد بود (شکل ۴-ب). ظرفیت کاهش یون آهن در پلی ساکاریدهای حاصل از pH ۷ به طور معناداری کمتر از پلی ساکاریدهای pH ۴ و ۸ بود ( $p < 0/05$ ). اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدانی کل نیز نشان داد که پلی ساکارید حاصل از pH ۷ (۵۹ میلی‌گرم آسکوربیک اسید/گرم پودر جلبک) در احیای مولیبدات ۶ ظرفیتی به ۵ ظرفیتی بیشترین پتانسیل را دارد ( $p < 0/05$ ) (شکل ۴-ج).



شکل ۴ نمودار فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (الف)، قدرت کاهندگی آهن (ب) و فعالیت ضداکسیدانی کل (ج) پلی ساکاریدهای استخراج شده در شرایط مختلف pH، ۷ و ۸. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر تفاوت معنادار در تیمارهای مختلف است ( $p < 0.05$ ). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار می باشد.

brown seaweeds of India. *Food Chemistry*, 107(2): 707–713.

**Chen, G.T., Ma, X.M., Liu, S.T., Liao, Y.L. and Zhao, G.Q. 2012.** Isolation, purification and antioxidant activities of polysaccharides from *Grifola frondosa*. *Carbohydrate polymers*, 89(1):61–66.

**Chen, W., Wang, W.P., Zhang, H.S. and Huang, Q. 2012.** Optimization of ultrasonic-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from *Boletus edulis* mycelia using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 87(1): 614–619.

**Cheung, L. M., Cheung, P. C. and Ooi, V.E. 2003.** Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, 81(2): 249–255.

**Chew, Y.L., Lim, Y.Y., Omar, M. and Khoo, K.S. 2008.** Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6): 1067–1072.

**Cho, M., Yang, C., Kim, S.M. and You, S. 2010.** Molecular characterization and biological activities of watersoluble sulfated polysaccharides from *Enteromorpha prolifera*. *Food Science and Biotechnology*, 19(2): 525–533.

**Cumashi, A., Ushakova, N.A., Preobrazhenskaya, M.E., D'Incecco, A., Piccoli, A., Totani, L. and Tinari, N. 2007.** A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, 17(5): 541–552.

**Fan, T., Hu, J., Fu, L. and Zhang, L. 2015.** Optimization of enzymolysis-ultrasonic assisted extraction of polysaccharides from *Momordica charabtia* L. by response surface methodology. *Carbohydrate polymers*, 115: 701–706.

**FAO, Fisheries and Aquaculture Department, 2013.** Global aquaculture production statistics for the year 2011 [online]. <ftp://ftp.fao.org/Fl/new/GlobalAquacultureProductionStatistics2011.pdf>.

در پژوهشی که بر روی پلی ساکاریدهای استخراج شده از *Grifola frondosa* انجام شد، نتایج نشان داد که به کارگیری شرایط مختلف از نظر زمان و pH در فرایند استخراج می تواند ترکیباتی با ویژگی های متفاوت ضداکسیدانی در اختیار قرار دهد (Chen et al., 2012) و این امر می تواند به دلیل استخراج پلی ساکاریدهای با ویژگی های متفاوت مولکولی و ساختاری باشد.

از این رو با توجه به نتایج به دست آمده می توان این گونه نتیجه گیری کرد که با افزایش دما و زمان استخراج میزان بازده پلی ساکاریدهای به دست آمده از *E. intestinalis* افزایش می یابد. نتایج آزمایش های ضداکسیدانی بیانگر آن بود که این پلی ساکاریدها دارای قابلیت مهارکنندگی رادیکال DPPH، پتانسیل کاهندگی آهن و پتانسیل ضداکسیدانی کل می باشند. از طرف دیگر، اعمال دماهای بالا (۹۰ درجه سانتی گراد)، زمان های طولانی (۵۰ دقیقه) و pH اسیدی و قلیایی در فرایند استخراج می تواند به شدت فعالیت ضداکسیدانی را کاهش دهد.

#### منابع

**Blois, M. S. 1958.** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 26: 1199–1200.

**Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/Food Science and Technology*, 28: 25–30.

**Burtin P. 2003.** Nutritional value of seaweeds, electronic journal of environmental. *Agricultural and Food Chemistry*, 2(4): 498–503.

**Chandini, S.K., Ganesan, P. and Bhaskar, N. 2008.** *In vitro* antioxidant activities of three selected

- Kuda, T., Taniguchi, E., Nishizawa, M. and Araki, Y. 2002.** Fate of water-soluble polysaccharides in dried chorda filum a brown alga during water washing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(1): 3–9.
- Lai, F., Wen, Q., Li, L., Wu, H. and Li, X. 2010.** Antioxidant activities of water-soluble polysaccharide extracted from mung bean (*Vigna radiata* L.) hull with ultrasonic assisted treatment. *Carbohydrate Polymers*, 81(2): 323–329.
- Lee, H.J., Kim, H.C., Vitek, L. and Nam, M.C. 2010.** Algae consumption and risk of type 2 diabetes, Korean National Health and Nutrition Examination Survey in 2005. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*, 56(1): 13–18.
- Li, B., Liu, S., Xing, R., Li, R., Qin, Y., Wang, X., Wei, Z. and Li, P. 2013.** Degradation of sulfated polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* and their antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers*, 92: 1991–1996.
- Miyake, Y., Sasaki, S., Ohya, Y., Miyamoto, S., Matsunaga, I. and Yoshida, T. 2006.** Dietary intake of seaweed and minerals and prevalence of allergic rhinitis in Japanese pregnant females, baseline data from the osaka maternal and child health study. *Annals of Epidemiology*, 16(8): 614–621.
- Prieto, P., Pineda, M. and Aguilar, M. 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2): 337–341.
- Rodrigues, J.A.G., Vanderlei, E.S.O., Bessa, É.F., Magalhães, F.A., Paula, R.C.M., Lima, V. and Benevides, N.M.B. 2011.** Anticoagulant activity of a sulfated polysaccharide isolated from the green seaweed *Caulerpa cupressoides*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(4): 691–700.
- Rodrigues, D., Souna, S., Silva, A., Amorim, M., Pereira, L., Rocha-Santos, T.A.P., Gomes, A.M.P., Duarte, A.C. and Freitas, A.C. 2015.** Impact of enzyme- and ultrasound-assisted extraction methods on biological properties of red, brown, and green seaweeds from the central west coast of Portugal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63: 3177–3188.
- Fleurence, J. 1999.** Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science & Technology*, 10(1): 25–28.
- Ganesan, k., Suresh Kumar, k. and Subba Rao, P.V. 2011.** Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12 (1): 73–78.
- Hernández-Garibay, E., Zertuche-González, J.A. and Pacheco-Ruíz, I. 2011.** Isolation and chemical characterization of algal polysaccharides from the green seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh. *Journal of Applied Phycology*, 23(3): 537–542.
- Holdt, S.L. and Kraan, S. 2011.** Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23(3): 543–597.
- Jiang, C., Li, X., Jiao, Y., Jiang, D., Zhang, L., Fan, B. and Zhang, Q. 2014.** Optimization for ultrasound-assisted extraction of polysaccharides with antioxidant activity in vitro from the aerial root of *Ficus microcarpa*. *Carbohydrate polymers*, 110: 10–17.
- Karnjanapratum, S. and You, S.G. 2011.** Molecular characteristics of sulfated polysaccharides from *Monostroma nitidum* and their *in vitro* anticancer and immunomodulatory activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48(2): 311–318.
- Karnjanapratum, S. Tabarsa, M., Cho, M.L., You, S.G. 2012.** Characterization and immunomodulatory activities of sulfated polysaccharides from *Capsosiphon fulvescens*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51: 720–729.
- Khan, M.K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A.S., Dangles, O., Chemat, F. 2010.** Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119(2): 851–858.
- Kim, K.N., Ham, Y.M., Moon, J.Y., Kim, M.J., Kim, D.S. and Lee, W.J. 2009.** *In vitro* cytotoxic activity of *Sargassum thunbergii* and *Dictyopteria divaricata* (Jeju seaweeds) on the HL-60 tumour cell line. *International Journal of Pharmacology*, 5(5): 298–306.

soluble polysaccharide purified from *Pteridium aquilinum*. *Carbohydrate research*, 344(2): 217–222.

**Ying, Z., Han, X. and Li, J. 2011.** Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *mulberry leaves*. *Food Chemistry*, 127(3): 1273–1279.

**Yuan, Y. and Macquarrie, D. 2015.** Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers*, 129, 101-107.

**Zhang, Z., Wang, F., Wang, X., Liu, X., Hou, Y. and Zhang, Q. 2010.** Extraction of the polysaccharides from five algae and their potential antioxidant activity *in vitro*. *Carbohydrate Polymers* 82: 118–121.

**Zhang, Z., Wang, X., Yu, S., Yin, L., Zhao, M. and Han, Z. 2011.** Synthesized oversulfated and acetylated derivatives of polysaccharide extracted from *Enteromorpha linza* and their potential antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49: 1012–1015.

**Zhang, Z., Wang, X., Zhao, M., Yu, S. and Qi, H. 2013.** The immunological and antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Enteromorpha linza*. *International journal of biological macromolecules*, 57: 45–49.

**Zhou, C. and Ma, H. 2006.** Ultrasonic degradation of polysaccharide from a red algae (*Porphyra yezoensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(6): 2223–2228.

**Zhu, C. and Liu, X. 2013.** Optimization of extraction process of crude polysaccharides from Pomegranate peel by response surface methodology. *Carbohydrate polymers*, 92(2):1197–1202.

**Zubia, M., Fabre, M.S., Kerjean, V., Lann, K.L., Stiger-Pouvreau, V., Fauchon, M. and Deslandes, E. 2009.** Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts. *Food Chemistry*, 116(3): 693–701.

**Sun, Y., Liu, J. and Kennedy, J.F. 2010.** Application of response surface methodology for optimization of polysaccharides production parameters from the roots of *Codonopsis pilosula* by a central composite design. *Carbohydrate polymers*, 80(3): 949–953.

**Tabarsa, M., Karnjanapratum, S., Cho, M.L., Kim, J.K. and You, S.G. 2013.** Molecular characteristics and biological activities of anionic macromolecules from *Codium fragile*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59: 1–12.

**Tsai, M. C., Song, T. Y., Shih, P. H. and Yen, G. C. 2007.** Antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from *Antrodia cinnamomea* in submerged culture. *Food Chemistry*, 104(3): 1115–1122.

**Tseng, C.K. 2001.** Algal biotechnology industries and research activities in China. *Journal of Applied Phycology*, 13(4): 375–380.

**Tutor Ale, M., Mikkelsen, J. D., & Meyer, A. S. 2011.** Important determinants for fucoidan bioactivity: A critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Marine drugs*, 9 :2106–2130.

**Wang, Y., Liu, Y. and Hu, Y. 2014.** Optimization of polysaccharides extraction from *Trametes robiniophila* and its antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers*, 111: 324–332.

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

**Wu, X. J. and Hansen, C. 2008.** Antioxidant capacity, phenolic content, and polysaccharide content of *Lentinus edodes* grown in whey permeate-based submerged culture. *Journal of food science*, 73(1): 1–8.

**Xu, W., Zhang, F., Luo, Y., Ma, L., Kou, X. and Huang, K. 2009.** Antioxidant activity of a water-



---

## Effect of ultrasound-assisted extraction on antioxidant properties of water-soluble sulfated polysaccharides from *Enteromorpha intestinalis*

Fateme Rahimi<sup>1</sup>, Mehdi Tabarsa<sup>2\*</sup>, Masoud Rezaei<sup>3</sup>

- 1- M.Sc . Student, Department of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Nur, Iran
- 2- Assistant Prof., Department of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Nur, Iran
- 3- Professor, Department of Seafood Science and Technology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Nur, Iran

Received: 22.01.2016

Accepted: 12.11.2016

\*Corresponding author: m.tabarsa@modares.ac.ir

---

### Abstract:

Effect of different temperature (30 to 90 °C), time (10 to 70 min) and pH (4 to 9) conditions were investigated on the extraction efficiency of polysaccharides from seaweed *E. intestinalis*. Results showed that the extraction temperature had the highest effect on the enhancement of polysaccharide content. The highest polysaccharide extraction yield was achieved at 90 °C, 30 min and pH 8. Therefore, antioxidant effects of polysaccharides obtained at temperatures 30, 70 and 90 °C, times 10, 30 and 50 min, and pH 4, 7 and 8 with significant yield differences were evaluated. DPPH radical scavenging activity, ferric reducing power and total antioxidant activity were employed in order to evaluate the antioxidant properties of polysaccharides. The maximum DPPH radical scavenging activity was obtained for polysaccharides of 30 °C (73.90%), 30 min (95.08%) and pH 7 (75.61%). The highest reducing power was achieved for polysaccharides of 70 °C (97.49%), 50 min (99.05%) and pH 8 (97.49%). The maximum total antioxidant activity was obtained for polysaccharides of 70 °C (49.97), 10 min (62.32) and pH 7 (59.11 mg ascorbic acid/ g dried seaweed powder?). Overall, findings of current study suggest that the polysaccharides from green seaweed *E. intestinalis* possess antioxidant capacity and that the use of high temperature, long time and acidic or basic pH in extraction process results in diminishing this antioxidant capacity.

**Keywords:** *Enteromorpha intestinalis*, Polysaccharides, Extraction, Antioxidant activity