فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ۵، شمارهٔ ٤، زمستان ۱۳۹۵، صفحه ۸۵- ۹۸

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

فاطمه رحیمی[۱]، مهدی طبرسا[۲*]، مسعود رضایی[۳]

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: ۹٤/۱۱/۰۲ 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 (٤ 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 به‌دست 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 ٤، ۷ و ۸ که واجد اختلاف معنادار در بازده بودند، ارزیابی شد. برای ارزیابی فعالیت ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدها، قدرت جذب رادیکال آزاد DPPH، قدرت کاهندگی 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 (۷۵/٦۱ درصد) مشاهده شد. بیشترین قدرت کاهندگی آهن در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد (۸۹/۹۹ درصد)، زمان ۵۰ دقیقه (۹۹/۰۵ درصد) و pH ۸ (۹۷/٤۹ درصد) به‌دست آمد. فعالیت ضداکسیدانی کل در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد (٤۹/۹۷)، زمان ۱۰ دقیقه (٦۲/۳۲) و pH ۷ (۵۹/۱۱ میلی‌گرم آسکوربیک‌اسید/گرم جلبک خشک) در بیشترین میزان خود بود. به‌طورکلی، 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

مقدمه

رادیکال‌های آزاد، مولکول‌های بسیار واکنش‌پذیری هستند که دارای یک یا تعداد بیشتری الکترون جفت‌نشده

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

می‌باشند و در طی استرس‌های اکسیداسیونی آزاد می‌شوند. رادیکال‌های آزاد سبب آسیب به مواد زیستی و در نتیجه به‌وجود آمدن بیماری‌های مختلفی از جمله سرطان، بیماری قلبی و عروقی، اختلالات سیستم ایمنی، تصلب شرائین و پیری زودرس و همچنین فساد مواد غذایی می‌شوند (Tsai et al., 2007 ; Wu and Hansen، 2008). بنابراین، به‌منظور 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 BHT[1]، BHA[2]، TBHQ[3] و PG[4] 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 به‌علت دارابودن ترکیبات زیست‌فعال سودمند، در صنایع دارویی و غذایی بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (Chandini et al., 2008 ; 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 جلبک‌های دریایی پرورشی در سال ۲۰۱۱ بیش از ۲۱ میلیون تن بوده است (FAO, 2013). این گیاهان آبزی، کم کالری بوده و به‌علت محتوای چربی پایین و مقادیر فراوان کربوهیدرات، سالیان متمادی در برخی کشورهای آسیایی به‌صورت سبزیجات خشک یا تازه مصرف می‌شوند (Holdt et al., 2011). یکی از ترکیبات زیست‌فعالی که به‌تازگی توجه پژوهشگران را به‌خود جلب کرده است، پلی‌ساکاریدهای سولفاته می‌باشد. پلی‌ساکاریدهای سولفاته در دیوارهٔ سلولی جلبک‌ها وجود دارند و ساختار شیمیایی آنها با توجه به نوع گونه جلبکی متفاوت می‌باشد (Burtin, 2003). پلی‌ساکاریدهای سولفاته دارای کاربردهای تجاری متنوعی هستند و در صنعت به‌عنوان تثبیت‌کننده و قوام‌دهنده، امولسیفایر در مواد غذایی و نوشیدنی‌ها استفاده می‌شوند (Tseng, 2001). پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از جلبک‌ها شامل فوکوئیدان[5] و لامینارن[6] از جلبک‌های قهوه‌ای، کاراژینان‌ها[7] از جلبک قرمز و اولون[8] از جلبک سبز می‌باشند (Wijesekara et al., 2011). این پلی‌ساکاریدهای سولفاته دارای خواص ضدانعقادی، ضدتوموری، ضدالتهابی، ضداکسیدانی و تنظیم‌کننده سیستم ایمنی هستند (Zubia et al., 2009 ; Cumashi et al., 2007; Rodrigues 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 به‌ویژه در طی مراحل آماده‌سازی و جداسازی پلی‌ساکاریدها به‌طور گسترده‌ای به‌وقوع

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

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

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

می‌پیوندد و نبود یک پروتکل استخراج یکسان و مناسب از نظر شرایط دمایی و زمانی، می‌تواند سبب به‌دست آوردن پلی‌ساکاریدی با ویژگی‌های مولکولی و زیستی متفاوت شود (Tutor Ale et al., 2011). به‌منظور استخراج پلی‌ساکاریدها از جلبک‌ها روش‌های متنوعی پیشنهاد شده است. یکی از روش‌های متداول در جداسازی پلی‌ساکاریدها، استفاده از آب گرم است که از معایب آن می‌توان به درجه حرارت بالا و زمان استخراج طولانی اشاره کرد (Zhang et al., 2013). برای مثال، در مطالعه‌ای که بر پلی‌ساکارید منان از جلبک *Capsosiphon fulvescens* صورت پذیرفت، استخراج دو مرتبه به‌مدت ۲ ساعت در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد انجام شد (Karnjanapratum et al., 2012). به‌همین منظور روش‌های جدیدی برای استخراج پلی‌ساکاریدها توسعه یافته است که شامل استخراج سیال فوق بحرانی، استخراج به کمک مایکروویو و استخراج فراصوت می‌باشند (Ying et al., 2011 ؛ Lai et al., 2010). این روش‌ها دارای ویژگی‌های مطلوبی از جمله زمان کوتاه‌تر، 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 ویژگی‌های ساختاری و مولکولی پلی‌ساکاریدهای استخراج شده و نیز حفظ خواص زیستی آنها می‌شود (Khan et al., 2010 ؛ Zhou and Ma, 2006). بنابراین روش فراصوت می‌تواند یک روش مؤثر و مناسب برای استخراج پلی‌ساکارید از جلبک‌های دریایی باشد.

گونه *Enteromorpha intestinalis* یکی از جلبک‌های سبز با پراکنش وسیع در سواحل دریای خزر است که باوجود فراوانی و سهولت دسترسی تاکنون مطالعه‌ای دربارهٔ امکان استفاده از پلی‌ساکاریدهای آن صورت نگرفته است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر استخراج پلی‌ساکاریدهای جلبک سبز *Enteromorpha intestinalis* به کمک امواج فراصوت و بررسی تأثیر شرایط مختلف استخراج بر فعالیت ضداکسیدانی آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

نمونه‌های جلبک از امتداد ساحل شهرستان نور جمع‌آوری و به‌سرعت به آزمایشگاه فراوری دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انتقال داده شد. شست‌وشوی نمونه‌ها ابتدا با آب دریا و سپس با آب شیرین انجام شد تا باقیمانده شن و ماسه و ناخالصی‌های دیگر از جلبک‌ها حذف شوند. جلبک‌ها در آون (Memmert-UFE-400، آلمان) در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤ روز قرار داده شد تا خشک شوند. نمونه‌های خشک شده در دستگاه خردکن (Arshia BL110-1458، ایران) تا حد امکان پودر شد و سپس به‌وسیله ترازوی دیجیتال توزین و تا زمان انجام آزمایش در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌کیپ در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند(Tabarsa et al., 2013).

استخراج پلی‌ساکاریدهای سولفاته

۵۰ گرم پودر جلبک آسیاب‌شده به‌منظور حذف رنگدانه‌ها، متابولیت‌های ثانویه و چربی در اتانول ۹۵ درصد و در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ ساعت قرار داده شد. سپس فاز جامد با استفاده از سانتریفوژ (Universal 320R، آلمان) از فاز مایع جدا گردید و پس از شست‌وشو با اتانول و استون خشک شد. ۵ گرم پودر رنگبری‌شده جلبک با آب مقطر تحت شرایط مختلف دمایی (۳۰ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد)، زمان (۱۰ تا ۷۰ دقیقه) و pH (٤ تا ۹) به کمک دستگاه امواج فراصوت (Soner206H، تایوان) با فرکانس ۵۰ هرتز (۱۸۰W) استخراج شد. فاز رویی محلول

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

استخراج به‌وسیلهٔ سانتریفوژ با دور ۹۰۰۰ بر دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد. عصاره به‌دست آمده با روتاری تا حجم ٦٠-۷۰ میلی‌لیتر تغلیظ شد، سپس عصاره تغلیظ‌شده به داخل ظرف دیگری منتقل و تا سه برابر حجم آن اتانول سرد اضافه گردید. پلی‌ساکاریدهای 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 پلی‌ساکاریدها با رابطهٔ زیر محاسبه شد Tabarsa (et al., 2013).

$$\text{Yield\%} = \frac{w_0}{w} \times 100$$

W_0وزن پلی‌ساکارید خشک (گرم)

W وزن پودر اولیه جلبک (گرم)

ظرفیت ضداکسیدانی کل(TAC)

ظرفیت ضداکسیدانی کل پلی‌ساکاریدهای جلبکی با روش (Prieto et al., 1999) اندازه‌گیری شد. ۳۰ میکرولیتر نمونه با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۳۰۰ میکرولیتر محلول معرف (٦/. مولار اسیدسولفوریک، ۲۸ میلی‌مولار فسفات سدیم و ٤ میلی‌مولار آمونیوم مولیبدات) مخلوط و محلول حاصل در حمام آبی (دما ۹۵ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۹۰ دقیقه قرار گرفت و پس از سردشدن در دمای اتاق در هر چاهک میکروپلیت ۱۰۰ میکرولیتر نمونه ریخته شد و جذب آن در طول موج ٦۹۵ نانومتر با دستگاه الایزاریدر (Epock، آمریکا) خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول آسکوربیک‌اسید در غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر استفاده شد و نتایج براساس میلی‌گرم آسکوربیک‌اسید بر گرم پودر جلبکی خشک‌شده بیان شد.

قدرت خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد (DPPH)

بررسی فعالیت ضداکسیدانی با استفاده از رادیکال‌های پایدار ۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل- هیدرازیل (DPPH) طبق روش (۱۹۹۵) Brand-Williams انجام شد. ۱۰۰ میکرولیتر نمونه پلی‌ساکارید با غلظت (۱، ۳ و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به ۱۰۰ میکرولیتر محلول اتانولی ۰/۱ میلی‌مولار رادیکال آزاد DPPH در هر چاهک میکروپلیت اضافه شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک نگهداری شد تا تغییر رنگ در آن صورت گیرد. جذب نمونه در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه الایزاریدر خوانده شد. میزان فعالیت ضد اکسیدانی رادیکالی پلی‌ساکاریدها مطابق رابطهٔ زیر محاسبه شد.

RSA=(A control -A sample)/A 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)[9]

قدرت کاهندگی آهن در پلی‌ساکاریدهای جلبکی با روش (Chew et al., 2008) تعیین شد. ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (٦/٦ =pH) و ۵۰۰ میکرولیتر فری سیانات پتاسیم ۱ درصد به ۲۰۰ میکرولیتر نمونه پلی‌ساکارید با غلظت (۱، ۳ و ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اضافه شد. این محلول در حمام آبی(Memmert-WNB14 ،آلمان) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر اسید تری‌کلرواستیک ۱۰ درصد به مخلوط اضافه شد و با دور ۱۵۰۰۰ بر دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. ۵۰۰ میکرولیتر از فاز رویی برداشته و به آن ۵۰۰ میکرولیترآب مقطر و ۱۰۰میکرولیتر کلریدآهن

9. Ferric reducing power activity

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

($FeCl_3$) ۰/۱درصد اضافه شد و به‌مدت ۱۰دقیقه 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 الایزاریدر خوانده شد و نتایج براساس جذب صد میکروگرم آسکوربیک‌اسید بر گرم پودر جلبکی خشک‌شده بیان شد. معادله منحنی استاندارد برابر با رابطه زیر می‌باشد:

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

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[10] استفاده شد. سپس برای بررسی بهترین فعالیت ضداکسیدانی 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 Excel (Microsoft office, 2010) و Sigma plot 12) استفاده شد.

نتایج و بحث

تأثیر شرایط استخراج بر بازده پلی ساکاریدها

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 از دیوارهٔ 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 (٤ 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، ٤۰، ۵۰، ٦۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سایر شرایط استخراج نیز شامل زمان استخراج ٤۰ 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 (۲/٦۸۲ درصد) و بیشترین میزان بازده مربوط به دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد (۸/۵۷ درصد) بود ($p<۰/۰۵$). فرایند استخراج شامل سه مرحله نفوذ حلال به فضای درون سلولی، حل‌شدن 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

10. Kolomograv-Smirnov

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

(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 (Zhu and Liu, 2013 ;Sun et al., 2010; Jiang et al., 2014).

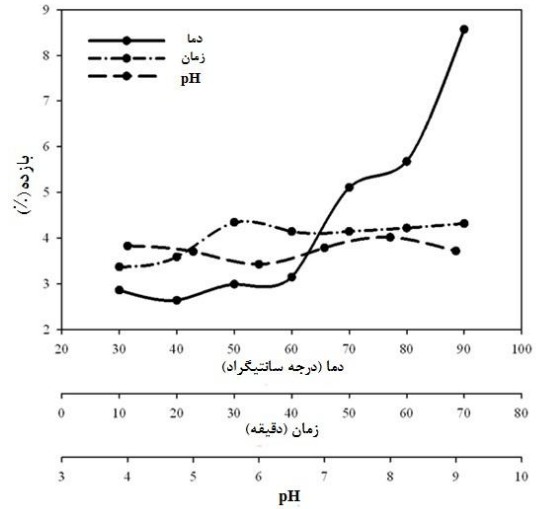
تأثیر زمان‌های مختلف استخراج (۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤۰، ۵۰، ٦۰، ۷۰ دقیقه) روی بازده استخراج پلی‌ساکاریدها بررسی شد. در این شرایط دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد، نسبت آب به مواد خام ۱:۲۰ میلی‌لیتر بر گرم و pH ۷ در نظر گرفته شد. با به‌کارگیری زمان‌های مختلف در فرایند استخراج نیز میزان پلی‌ساکاریدهای به‌دست آمده با افزایش 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 (٤/۳٤٤ درصد) و سپس با اندگی کاهش به ٤/۳۱۸ درصد در زمان ۷۰ دقیقه رسید ($p<۰/۰۵$). 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 دمای ٦۵ 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 میسیلیوم قارچ *Boletus edulis* بررسی شد و نتایج نشان داد که با افزایش زمان، بازده تولید پلی‌ساکاریدها افزایش می‌یابد.

همچنین، در این پژوهش pH مختلف (٤، ۵، ٦، ۷، ۸، ۹) بر روی بازده استخراج پلی‌ساکاریدها بررسی شد. سه عامل دمای استخراج ٦۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ٤۰ 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 استخراج‌شده تأثیر گذاشت (شکل ۱). در شرایط اسیدی ضعیف (pH ٤) 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 (٤/۰۱۸ درصد) رسید ($p<۰/۰۵$) 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

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

داد که با افزایش pH تا ٤، بازده استخراج افزایش یافت اما با افزایش بیشتر، میزان استخراج پلی‌ساکارید کاهش پیدا کرد که می‌تواند به دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های موجود در حلال و در نتیجه کاهش بازده استخراج باشد.



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

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 ٤، 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.

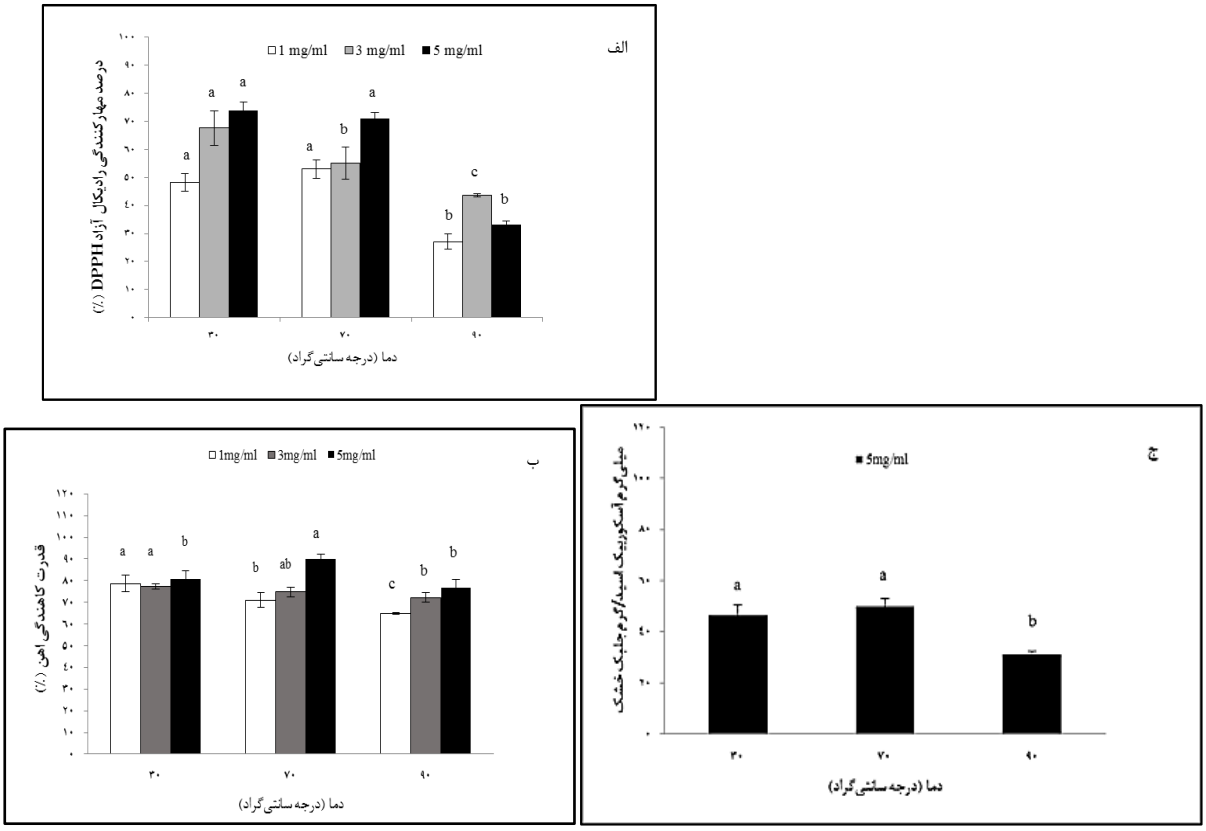
تأثیر دمای استخراج بر فعالیت ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدها

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 تبدیل‌شدن 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 به‌وسیلهٔ پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، به‌طور معناداری کمتر بود ($p<0/05$). به‌طور

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

مشابه‌ای، پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد کمترین قابلیت را در کاهش یون‌های آهن ۳ ظرفیتی و فعالیت ضداکسیدانی کل از خود نشان دادند (شکل ۲–ب، ج). همچنین نتایج آنالیز آماری نشان داد که در هر کدام از دماهای به‌کار گرفته شده، با افزایش غلظت‌های تهیه شده از نمونه فعالیت ضداکسیدانی افزایش یافت و اختلاف معنادار مشاهده شد ($p<۰/۰۵$) (شکل ۲). تأثیر دمای استخراج بر فعالیت ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدهای به‌دست‌آمده 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 سانتی‌گراد انجام شد، قابلیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به میزان قابل توجهی بیشتر از دماهای دیگر بود.



شکل ۲ نمودار فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (الف)، قدرت کاهندگی آهن (ب) و فعالیت ضداکسیدانی کل (ج) پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده در دماهای مختلف ۳۰، ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر تفاوت معنادار در تیمارهای مختلف است ($p<۰/۰۵$). داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

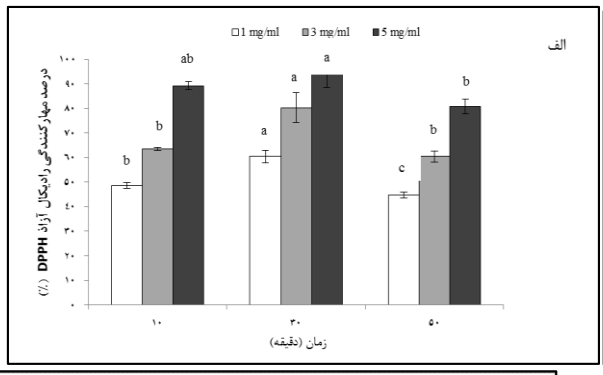
تأثیر زمان استخراج بر فعالیت ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدها

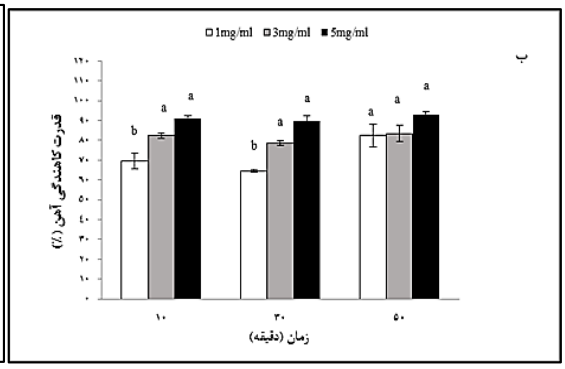
نتایج ارزیابی‌های ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده در زمان‌های مختلف ۱۰، ۳۰ و ۵۰ دقیقه نشان

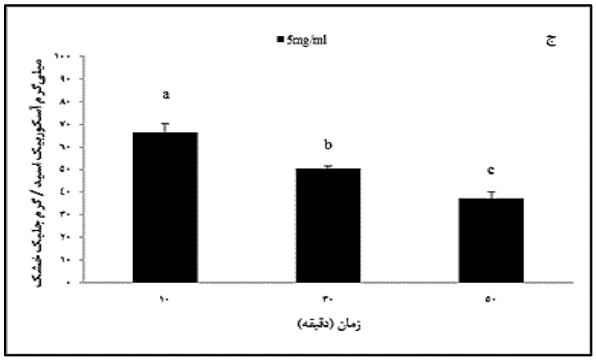
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

داد کـه بـا افـزایش مـدت فراینـد اسـتخراج، میـزان فعالیـت مهارکننـدگی رادیکـال آزاد DPPH ابتـدا افـزایش و سـپس کاهش می‌یابد (شکل ۳-الف). بیشترین قـدرت مهارکننـدگی رادیکال آزاد در تیمـار ۳۰ دقیقـه بـه میـزان ۹۵/۰۸ درصـد و کمترین مقـدار در تیمـار ۵۰ دقیقـه بـه میـزان ٤٤/٨١ درصـد مشاهده شد. همچنین با افزایش غلظت پلی‌سـاکارید، فعالیـت مهارکنندگی رادیکال آزاد در تمامی زمان‌ها به‌طـور معنـاداری افزایش یافـت ($p<0/05$) (شـکل ۳-الـف). البتـه ایـن رونـد ضداکسیدانی پلـی‌سـاکاریدها در ارزیـابی قابلیـت کاهنـدگی آهن مشاهده نشد (شکل ۳-ب). ارزیابی کاهندگی آهـن نیـز از جمله آزمایش‌هـایی اسـت کـه بـه‌صـورت متـداول بـرای اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدانی استفاده مـی‌شـود و در طـی آن در حضور یک کاهنده قـوی، آهـن موجـود در کمـپلکس Fe^{3+}/فری‌سیانید به Fe^{2+} کاهش می‌یابـد کـه حـداکثر جـذب نوری آن در طول مـوج ۷۰۰ نـانومتر مـی‌باشـد (Ganesan و همکاران، ۲۰۱۱). همسو با مطالعه حاضـر، قابلیـت کاهنـدگی آهن (FRAP) پلی‌ساکاریدهای اسـتخراج‌شـده در گونـه‌هـای *Ulva pertusa*، *Enteromorpha linza* و *Bryopsis plumose* نیز اندازه‌گیری شد که نشـان‌دهنـدهٔ پتانسـیل بـالای این پلی‌ساکاریدها در کاهش آهـن سـه ظرفیتـی بـه آهـن دو ظرفیتـی بـود (Zhang et al., 2010). نتـایج فعالیـت ضداکسیدانی کل نیز نشـان داد کـه بـا افـزایش زمـان، میـزان فعالیت ضداکسیدانی کاهش معناداری یافت و کمتـرین میـزان (۳۷/۱۸ میلی‌گرم آسـکوربیک‌اسـید/ گـرم پـودر جلبکـی) در زمان ۵۰ دقیقه مشاهده شد (شکل ۳-ج). تأثیر زمـان طـولانی در فرایند استخراج بر فعالیت ضداکسیدانی پلـی‌سـاکاریدهای به‌دست آمده می‌تواند بـه‌دلیـل تخریـب زنجیـره اصـلی و در نتیجـه کـاهش وزن مولکـولی و یـا از دسـت رفـتن گـروه سولفات باشد (Li et al., 2013; Zhang et al., 2011).







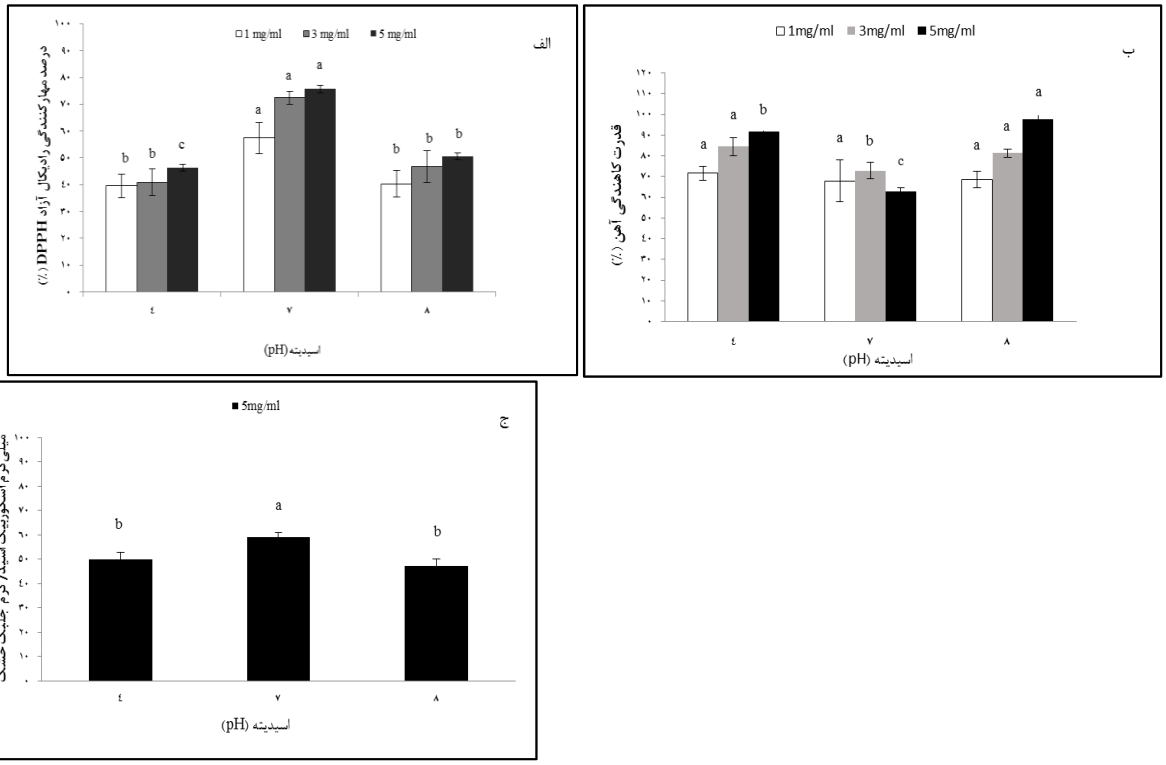
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

شکل ۳ نمودار فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (الف)، قدرت کاهندگی آهن (ب) و فعالیت ضداکسیدانی کل (ج) پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده در زمان‌های مختلف ۱۰، ۳۰ و ۵۰ دقیقه. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر تفاوت معنادار در تیمارهای مختلف است ($p<۰/۰۵$). داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

تأثیر pH استخراج بر فعالیت ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدها

شکل ٤، فعالیت ضداکسیدانی پلی‌ساکاریدهای به‌دست‌آمده در شرایط مختلف از نظر pH را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در شرایط متفاوت از نظر pH، پلی‌ساکاریدهایی با ظرفیت متفاوت از نظر فعالیت ضداکسیدانی به‌دست آمد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، برای پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده در pH ٤، ۷ و ۸ بین ٤۰-۷۵ درصد اندازه‌گیری شد (شکل ٤-الف). در این میان، بیشترین فعالیت مهارکنندگی مربوط به پلی‌ساکاریدهای به‌دست‌آمده در pH ۷ و کمترین میزان مربوط به پلی‌ساکارید به‌دست‌آمده در pH ٤ بود ($p<۰/۰۵$). البته، همانند پلی‌ساکاریدهای استخراج شده در شرایط دمایی و زمانی مختلف، قدرت کاهش یون آهن نیز متفاوت از الگوی مشاهده شده در مهار رادیکال آزاد بود (شکل ٤-ب). ظرفیت کاهش یون آهن در پلی‌ساکاریدهای حاصل از pH ۷ به‌طور معناداری کمتر از پلی‌ساکاریدهای pH ۸ و ٤ بود ($p<۰/۰۵$). اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدانی کل نیز نشان داد که پلی‌ساکارید حاصل از pH ۷ (۵۹ میلی‌گرم آسکوربیک‌اسید/گرم پودر جلبک) در احیای مولیبدات ٦ ظرفیتی به ۵ ظرفیتی بیشترین پتانسیل را دارد ($p<۰/۰۵$) (شکل ٤-ج).



[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

شکل ٤ نمودار فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH (الف)، قدرت کاهندگی آهن (ب) و فعالیت ضداکسیدانی کل (ج) پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده در شرایط مختلف pH ٤، ٧ و ٨. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر تفاوت معنادار در تیمارهای مختلف است ($p<0/05$). داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

در پژوهشی که بر روی پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده از *Grifola frondosa* انجام شد، نتایج نشان داد که به‌کارگیری شرایط مختلف از نظر زمان و pH در فرایند استخراج می‌تواند ترکیباتی با ویژگی‌های متفاوت ضداکسیدانی در اختیار قرار دهد (Chen et al., 2012) و این امر می‌تواند به‌دلیل استخراج پلی‌ساکاریدهای با ویژگی‌های متفاوت مولکولی و ساختاری باشد.

از این‌رو با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که با افزایش دما و زمان استخراج میزان بازده پلی‌ساکاریدهای به‌دست‌آمده از *E. intestinalis* افزایش می‌یابد. نتایج آزمایش‌های ضداکسیدانی بیانگر آن بود که این پلی‌ساکاریدها دارای قابلیت مهارکنندگی رادیکال DPPH، پتانسیل کاهندگی آهن و پتانسیل ضداکسیدانی کل می‌باشند. از طرف دیگر، اعمال دماهای بالا (٩٠ درجه سانتی‌گراد)، زمان‌های طولانی (٥٠ دقیقه) و pH اسیدی و قلیایی در فرایند استخراج می‌تواند به‌شدت 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 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/FI/new/GlobalAquacultureProduction Statistics2011.pdf.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

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 *Dictyopteris divaricata* (Jeju seaweeds) on the HL-60 tumour cell line. *International Journal of Pharmacology*, 5(5): 298–306.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

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. *Internatioal 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-

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 5, No. 4, Winter 2017

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

Fateme Rahimi[1] , Mehdi Tabarsa[2*] , Masoud Rezaei[3]

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

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-12-01]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.9.0]