

ارزیابی رابطه وزن مولکولی و ویژگی های ضد اکسایشی فوکوئیدان هیدرولیز شده جلبک قهوه ای

*Nizamuddinina zanardinii*نقیسه سادات موسوی^۱، مهدی طبرسا^{۲*}، حسن احمدی گاولیقی^۳

۱- گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۲- گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

چکیده

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۱/۳/۳۰

*نویسنده مسئول:

m.tabarsa@modares.ac.ir

پلی ساکاریدها به دلیل پیچیدگی ساختار شیمیایی و ناهمگنی وزن مولکولی دارای ویژگی های زیستی متنوع بوده که می تواند از طریق روش های مهندسی و اعمال اصلاحات ساختاری بهبود یابد. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی ویژگی های ضد اکسایشی فوکوئیدان هیدرولیز شده جلبک *Nizamuddinina zanardinii* و بررسی رابطه وزن مولکولی با فعالیت زیستی بود. پس از حذف رنگدانه ها و ترکیبات با وزن مولکولی پایین، فوکوئیدان خام استخراج شده، در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه توسط ۰/۰۱ نرمال اسید هیدروکلریک تحت هیدرولیز قرار گرفت. میانگین وزن مولکولی فوکوئیدان خام $956/0 \times 10^3$ گرم/مول و هیدرولیزات به ترتیب FH40، FH60، FH10، FH20 برابر با ۶۸۰/۱، ۵۹۷/۳، ۵۱۲/۰، ۴۱۱/۳ $\times 10^3$ گرم/مول بود. پس از هیدرولیز و کاهش وزن مولکولی، هیدرولیزات بدست آمده نسبت به فوکوئیدان خام، به میزان قابل توجهی قادر به مهار رادیکال آزاد DPPH (۶۱/۲۷-۸۴/۵۴ درصد)، رادیکال ABTS (۴۰/۱-۸۸/۵ درصد) و احیا یون Fe^{3+} (جذب ۰/۸۱-۰/۴۹) بود. در این میان، هیدرولیزات FH20 بیشترین پتانسیل را در مهار رادیکال آزاد DPPH (۷۰/۴۵-۸۴/۵۴ درصد) و احیا یون آهن Fe^{3+} (جذب ۰/۸۱-۰/۴۹) دارا بود. به طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان داد، هیدرولیز و کاهش وزن مولکولی توانست به میزان معنی داری سبب بهبود فعالیت ضد اکسایشی فوکوئیدان شود، ولی فاکتور زمان تفاوت معنی داری را در مهار واکنش های ضد اکسایشی بین هیدرولیزات مختلف ایجاد نکرد که این می تواند به دلیل تغییرات در میزان و دسترسی گروه های عاملی باشد. کاربرد فوکوئیدان استخراج شده از گونه مورد مطالعه به عنوان ترکیب واجد فعالیت ضد اکسایشی می تواند در اشکال طبیعی و یا هیدرولیزات آن صورت پذیرد.

کلید واژه ها: پلی ساکارید، هیدرولیز، وزن مولکولی، *Nizamuddinina zanardinii*، فعالیت زیستی

مقدمه

سبک زندگی انسان ها در سده بیستم میلادی با تحولاتی روبرو بوده که روند آن با عواملی مانند انقلاب دیجیتال، افزایش رفاه اجتماعی و قدرت خرید مردم و به دنبال آن کم تحرکی تشدید شده است. تغییر در الگوی غذایی جوامع انسانی یکی از مهم ترین تغییرات در زندگی بشر بوده است. مصرف غذاهای پر کالری که دارای مقادیر فراوان شکر و چربی های اشباع هستند به تدریج افزایش یافت و با افزایش سریع آمارهای جهانی در رابطه با بیماری های مزمن از قبیل چاقی، فشارخون، دیابت، سرطان و غیره، اثرات ویرانگر آن ها بر سلامتی انسان آشکار شد [۱]. اگر منابع غذایی به دو قسمت خشکی و دریایی تقسیم شوند، پهنه های آبی به دلیل وسعت، اهمیت فراوانی در جلب نظر جوامع انسانی به عنوان منبعی برای تأمین نیازهای تغذیه ای دارند. از آنجایی که بیش از ۷۰٪ سطح کره زمین را محیط های آبی با تنوع زیستی گسترده پوشش داده است، اخیراً توجه محققان زیادی برای جستجوی ترکیبات غذا- دارو به آن ها جلب شده است [۲]. جلبک های دریایی در بین موجودات آبرزی، به صورت پرورشی و یا وحشی به عنوان یک منبع تجدیدپذیر از دیرباز در سبد غذایی نواحی مختلف کره زمین به ویژه در کشورهای آسیای شرقی مورد استفاده قرار گرفته است [۲، ۳، ۴]. آن ها به دلیل مقادیر جزئی از چربی های اشباع، کالری پایین، میزان فراوان کربوهیدرات ها و نیز ویژگی های زیستی نظیر خواص ضد باکتریایی، ضد اکسایشی، ضد ویروسی و ضد قارچی، به مواد طبیعی با کارایی بالا در صنعت غذا و دارو تبدیل شده اند [۵، ۶، ۷]. جلبک های دریایی همچنین حاوی مقادیر بالای مواد معدنی، فیبرهای رژیمی، ویتامین ها، پروتئین ها و اسیدهای

چرب چند غیراشباع هستند. [۸، ۹] به همین خاطر، اخیراً استخراج پلی‌ساکاریدها از جلبک‌های دریایی و تعیین ویژگی‌های شیمیایی و خواص زیستی آن‌ها مورد توجه پژوهشگران زیادی قرار گرفته است. فوکوئیدان و لامینارن از فتوفیت‌ها، کاراگینان‌ها از ردوفیت‌ها و اولون از کلروفیت‌ها عمده‌ترین پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده از جلبک‌های دریایی هستند [۱۰]. پلی‌ساکاریدی که در دیواره سلولی جلبک‌های دریایی قهوه‌ای وجود دارد با نام کلی فوکوئیدان شناخته می‌شود [۱۱]. فوکوئیدان حاوی درصد چشمگیری از گروه‌های L-fucose و سولفات می‌باشد که به دلیل حضور سولفات به عنوان دسته‌ای از پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ه طبقه‌بندی می‌شود. فوکوئیدان‌ها علاوه بر قند فوکوز و سولفات شامل یک یا چند جزء کوچک از گالاکتوز، مانوز، زایلوز، رامینوز، اسیدگلوکورونیک و حتی استیل نیز هستند [۱۲، ۱۳]. ترکیبات فوکوئیدان بسته به گونه و خاستگاه جغرافیایی دارای ساختاری متفاوت است، حتی در درون یک گونه ساختارهای زنجیره کربنی اصلی متفاوت به نظر می‌رسد. جلبک *Nizamuddinina zanardinii* گونه‌ای مستعد از نظر فراوانی و سهولت در دسترسی می‌باشد که به‌طور گسترده در سواحل دریای عمان به‌ویژه سواحل جنوب‌شرقی ایران پراکنده شده است و از نظر تغذیه‌ای به دلیل داشتن اسیدهای چرب چند غیراشباع، پروتئین و مواد معدنی بسیار ارزشمند می‌باشد. طبق مطالعه‌ای که اخیراً صورت گرفته بیان شده است که فوکوئیدان خام استخراج‌شده از این جلبک فعالیت‌های ضد اکسایشی، ضد ویروس، ضد سرطان و تقویت‌کننده ایمنی موثری دارد [۱۴]. با اثری که پلی‌ساکاریدهای دریایی (عمدتاً کاراگینان، کیتین، کیتوزان، فوکوئیدان و آلژینات) بر روی تکثیر و چرخه سلولی و تنظیم مسیرهای متابولیک مختلف می‌گذارد فعالیت‌های زیستی قابل توجهی همانند اثرات ضد اکسیدان، ضد باکتریایی، ضد ویروسی، تحریک‌کننده سیستم ایمنی، ضد انعقاد و ضد سرطان از آن‌ها نشان داده شده است [۱۵]. به دلیل خواص فراوان، این ترکیبات به عنوان یک افزودنی جهت استفاده در مکمل‌های خوراکی به کار گرفته می‌شوند و تحقیقات زیادی جهت دستیابی به پلی‌ساکاریدهای جدید با خواص زیستی قوی‌تر صورت گرفته است. فعالیت زیستی پلی‌ساکاریدها به شکل مستقیم یا غیرمستقیم تحت تأثیر ساختار شیمیایی آن‌ها قرار دارد [۱۶]. عواملی نظیر حلالیت در آب، وزن مولکولی، ترکیب مونوساکاریدی، پیوند گلیکوزیدی زنجیره اصلی و درجه جانشینی، نوع و درجه انشعاب و موقعیت ساختاری زنجیره اصلی بر روی فعالیت زیستی پلی‌ساکاریدها موثر واقع شده‌اند [۱۷، ۱۸]. از این رو تحقیقات متعددی بر روی اصلاح ساختار جهت ارتقاء فعالیت زیستی پلی‌ساکاریدها صورت می‌گیرد که این تحقیقات به درک درستی از رابطه میان ساختار و فعالیت زیستی نیز کمک می‌کند. پژوهشی در همین زمینه توسط Borazjani و همکاران [۲۰۱۷] صورت پذیرفت که در طی آن ابتدا پلی‌ساکارید سولفات فوکوئیدان از جلبک *S. angustifolium* با استفاده از روش حلالی استخراج‌شده و در ادامه با استفاده از محلول رقیق‌شده هیدروکلریک اسید و حرارت‌دهی به مدت ۱۰ و ۱۵ دقیقه در آب‌جوش هیدرولیز گردید. بدین صورت پلی‌ساکاریدهایی با وزن‌های مختلف مولکولی بدست آمد. نتایج تحقیق نشان داد که فوکوئیدان‌های با وزن مولکولی کمتر دارای بیش‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و تنظیم سیستم ایمنی از طریق القا تکثیر رشد سلول‌های ماکروفاژ RAW264.7 و همچنین افزایش تولید نیتریک اسید در این سلول‌ها بودند [۱۹]. در نتیجه با توجه به مطالب بیان‌شده فوق، مطالعه حاضر در پی آن خواهد بود که در ادامه تحقیق صورت گرفته پیشین (Tabarsa et al., 2020) [۲۰]، به بررسی ویژگی‌های ضد اکسایشی فوکوئیدان هیدرولیز شده جلبک قهوه‌ای *N. zanardinii* و همچنین رابطه آن با وزن مولکولی بپردازد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده سازی نمونه

جلبک قهوه‌ای *N. zanardinii* از سواحل دریای عمان در فصل پاییز به‌صورت دستی در زمان جزر کامل جمع‌آوری و با آب دریا شسته‌شد تا باقیمانده‌ای اپی‌فیت‌ها، شن، ماسه و نمک از جلبک‌ها جدا شود. سپس نمونه‌ها با آب شیرین شستشو گردیدند. نمونه‌ها جهت خشک کردن به مدت ۴ روز در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ روز قرار گرفتند. نمونه‌های خشک‌شده جلبک با آسیاب برقی پودر، از الک عبور داده و توسط ترازوی دیجیتال توزین شدند. نمونه پودر شده در نهایت درون کیسه‌های پلاستیکی زیپ کیپ جهت استخراج فوکوئیدان و تجزیه‌های شیمیایی مدنظر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. [۲۱]

استخراج فوکوئیدان

جهت استخراج فوکوئیدان ابتدا ۵۰ گرم پودر خشک جلبک به نسبت ۱ به ۴ با اتانول (۸۰٪) به مدت ۲ ساعت و دو مرتبه در دمای اتاق جهت حذف رنگدانه‌ها، ترکیبات ثانویه و چربی قرار گرفت. جداسازی فاز جامد از مایع به وسیله سانتریفیوژ (UNIVERSAL 320 R, Hettich, Germany) (۸۰۰۰ rpm، ۱۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه) انجام و این مرحله تا زمان بی‌رنگ شدن اتانول اضافی تکرار شد. در نهایت فاز جامد چندین نوبت با اتانول و استون شستشو داده و خشک شد. سپس به منظور استخراج فوکوئیدان خام، ۲۰ گرم از نمونه جلبک رنگبری شده در آب مقطر و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. در نهایت، جداسازی فاز مایع به وسیله سانتریفیوژ (۸۰۰۰ rpm، ۱۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه) انجام شد. به میزان ۱٪ کلرید کلسیم (وزن/حجم) به مایع‌رویی اضافه شده و پس از ۲ ساعت قرارگیری در دمای اتاق مجدد سانتریفیوژ شد و پس از جمع‌آوری و تغلیظ با روتاری (model Heidolph, Germany) در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، با افزودن اتانول ۹۶٪ تا رسیدن به غلظت نهایی ۷۰٪ اتانول، فوکوئیدان استخراج‌شده بازیابی گردید. [۱۹] بازده استخراج فوکوئیدان و متابولیت‌های ثانویه به ترتیب به نسبت میزان جلبک رنگبری شده و نشده استفاده شد مطابق فرمول زیر محاسبه گردید: [۱۴]

$$100 \times (\text{گرم جلبک استفاده شده} / \text{گرم پلی‌ساکارید یا عصاره}) = \text{بازده}(\%)$$

تولید هیدرولیزات

در ابتدا ۲۰۰ میلی‌گرم از فوکوئیدان خام در ۲۰ میلی‌لیتر از ۰/۰۱ نرمال اسید هیدروکلریک به منظور تولید پلی‌ساکاریدهای با وزن‌های مولکولی متفاوت، حل شد و سپس هیدرولیز در آب‌جوش به مدت ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه انجام شد. واکنش‌دهنده‌ها بلافاصله خنک و با سود ۰/۰۵ نرمال خنثی شدند. سپس هیدرولیزات بدست‌آمده در کیسه دیالیز با محدوده جداسازی ۱۰۰-۵۰۰ دالتون با آب مقطر به مدت ۳ روز دیالیز و در نهایت با استفاده از خشک کن انجمادی لیوفیلیزه شد. [۲۲]

ارزیابی پراکنش مولکولی

فوکوئیدان در آب مقطر (۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) حل شد و قبل از اندازه‌گیری مولکولی به میزان ۱۵ دقیقه در دمای جوش حرارت داده شد. نمونه‌ها بلافاصله از طریق یک غشاسلولزی فیلترشده و سیستم آشکارکننده ضریب شکست (RefractoMax 521, Thermo Scientific) متصل به سیستم کروماتوگرافی با کارایی بالا (UHPLC, Dionex UltiMate 3000) و ستون TSK G5000 PW (7.5× 600 mm; Toso) (Biosep, Montgomeryville, PA, US) برای تجزیه و تحلیل ویژگی‌های مولکولی استفاده شد. همچنین از فاز متحرکی، با سرعت جریان ۰/۴ میلی‌لیتر بر دقیقه و یک محلول آبی متشکل از ۰/۱۵ مولار NaNO_3 و ۰/۰۲ درصد NaN_3 استفاده شد.

قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)

ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی با استفاده از رادیکال‌های پایدار ۲ و ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) صورت گرفت. به این ترتیب که فوکوئیدان خام و هیدرولیزات در غلظت‌های مختلف به ۲ میلی‌لیتر از محلول اتانولی ۰/۰۶ میلی‌مولار رادیکال‌آزاد DPPH افزوده شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد تا تغییر رنگ در آن صورت گیرد. در انتها جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر (ELISA Reader Epock، آمریکا) خوانده شد. درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH مطابق فرمول زیر محاسبه گردید: [۱۹، ۱۳]

$$\text{فعالیت خنثی‌کنندگی رادیکال‌آزاد DPPH} = (\text{کنترل} - \text{نمونه}) / \text{کنترل} \times 100$$

که A جذب کنترل (۱۰۰ میکرولیتر اتانول با ۱۰۰ میکرولیتر محلول DPPH) و A_s جذب نمونه می‌باشد.

قدرت مهارکنندگی رادیکال‌آزاد ABTS

به منظور بررسی قدرت مهارکنندگی رادیکال‌آزاد ABTS پلی‌ساکاریدها، از روش Re و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد [۲۳]. برای تهیه رادیکال پایدار ABTS، ابتدا یک محلول ۷ مولار ABTS در آب مقطر تهیه شد و جهت تشکیل کاتیون رادیکال سبز-آبی، محلول حاضر با پتاسیم پرسولفات

۲/۴۵ میلی‌مولار اکسید شد و محلول در مکان تاریکی به مدت ۱۶ ساعت، قرار گرفت. سپس محلول نهایی با اتانول تا حدی که جذب آن به ۰/۷ در ۷۳۴ نانومتر برسد، رقیق شد. در ادامه ۰/۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف نمونه ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول تازه تهیه شده ABTS افزوده شد. در این آزمایش از مخلوط ABTS و اتانول به عنوان کنترل واکنش و از اسیدآسکوربیک نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

فعالیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد = (کنترل - نمونه) / کنترل $\times 100$

که A جذب کنترل (۱۰۰ میکرولیتر اتانول با ۱۰۰ میکرولیتر محلول ABTS) و A_s جذب نمونه می‌باشد.

قدرت کاهندگی یون آهن

قدرت کاهندگی آهن با استفاده از روش Oyaizu اندازه‌گیری شد [۲۴]. ۵۰۰ میکرولیتر از نمونه با غلظت‌های ۰/۲۵ تا ۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر را با ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۲ مولار، pH برابر ۶/۶ و ۵۰۰ میکرولیتر از فری‌سیانات پتاسیم ۱٪ ترکیب شد. از آسکوربیک اسید به عنوان ضد اکسیدان تجاری استفاده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از TCA، ۱٪ افزوده شد و مخلوط حاضر به مدت ۱۰ دقیقه (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد. در ادامه به ۵۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت، ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲۰۰ میکرولیتر کلرید آهن ۰/۱٪ افزوده سپس به مدت ده دقیقه در ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و در نهایت جذب در ۷۰۰ نانومتر قرائت شد.

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، در ابتدا پس از بررسی نرمال بودن به کمک تحلیل واریانس یکطرفه تاثیر غلظت‌های متفاوت فوکوئیدان بر فعالیت زیستی بررسی شده و در صورت معنی‌دار بودن، جهت مقایسه میانگین‌ها و انتخاب بهترین غلظت از آزمون دانکن استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و جهت رسم نمودارها و گراف‌ها از نرم‌افزار Sigmaplot استفاده شد.

نتایج

وزن مولکولی فوکوئیدان خام و هیدرولیزات

بازده استخراج فوکوئیدان خام جدا شده از *N. zanardinii* ۶/۵ درصد ماده اولیه بود. میزان بازده هیدرولیزات تولید شده از فوکوئیدان خام در HCl ۰/۰۱ مولار، به ترتیب ۷۲ درصد در FH10، ۷۰ درصد در FH20، ۶۴ درصد در FH40 و ۶۰ درصد در FH60 بود که روند کاهشی را با افزایش زمان هیدرولیز به دنبال داشت (جدول ۱). همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است، تغییرات قابل توجهی در نمودار شویس فوکوئیدان خام و هیدرولیزات آن‌ها به وقوع پیوست و کوچکتر شدن اندازه پلیمرها مشهود بود. به طور کلی در ستون کروماتوگرافی اندازه طردی (SEC) یا ژل تراوشی (GPC) جداسازی مولکولی بر اساس اندازه صورت می‌گیرد و مولکول‌های با اندازه بزرگتر ابتدا و مولکول‌های با اندازه کوچکتر با تاخیر از ستون خارج می‌شوند. شکل ۱ نشان می‌دهد که مولکول‌های فوکوئیدان خام (FC) از دقیقه ۱۲،۹۳ شروع به خروج از ستون کروماتوگرافی نمودند و هرچه زمان هیدرولیز افزایش یافت نقطه شروع شویس به تاخیر افتاد و نمودار نیز به سمت زمان‌های بالاتر تغییر جهت داد. نتایج اندازه‌گیری نیز نشان داد که وزن مولکولی فوکوئیدان خام به ترتیب از $10^3 \times 956/0$ گرم/مول به $10^3 \times 680/1$ ، $597/3$ ، $512/0$ ، $10^3 \times 411/3$ گرم/مول در FH60، FH40، FH20، FH10 تغییر یافت.

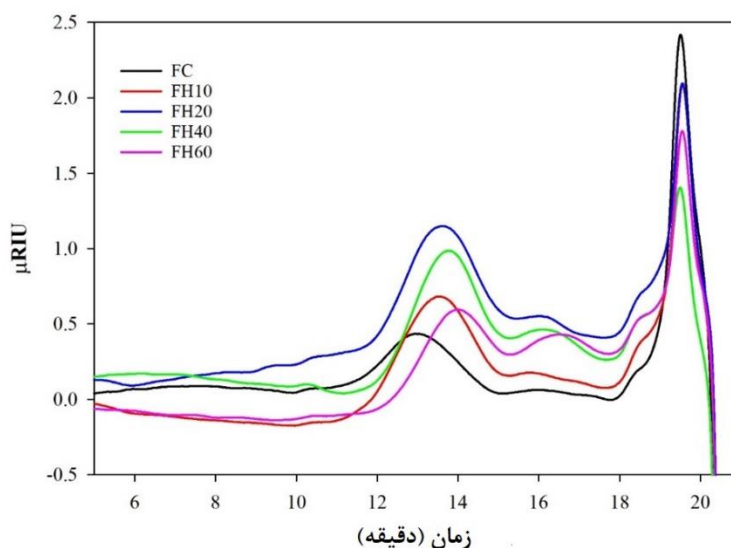
¹ - Size Exclusion chromatography

² - Gel permeation chromatography

جدول ۱. بازده و وزن مولکولی فوکوئیدان و هیدرولیزات به دست آمده از جلبک قهوه ای *N. zanardini*

	بازده (درصد)	وزن مولکولی ($\times 10^3$ g/mol)	
		پیک ۱	پیک ۲
FC	6.5	956.0 $\pm$ 5.4	104.5 $\pm$ 108
FH10	72	680.1 $\pm$ 3.9	99.1 $\pm$ 2.3
FH20	70	597.3 $\pm$ 3.4	91.7 $\pm$ 1.6
FH40	64	512.0 $\pm$ 2.9	71.1 $\pm$ 0.8
FH60	60	411.3 $\pm$ 2.3	48.9 $\pm$ 2.8

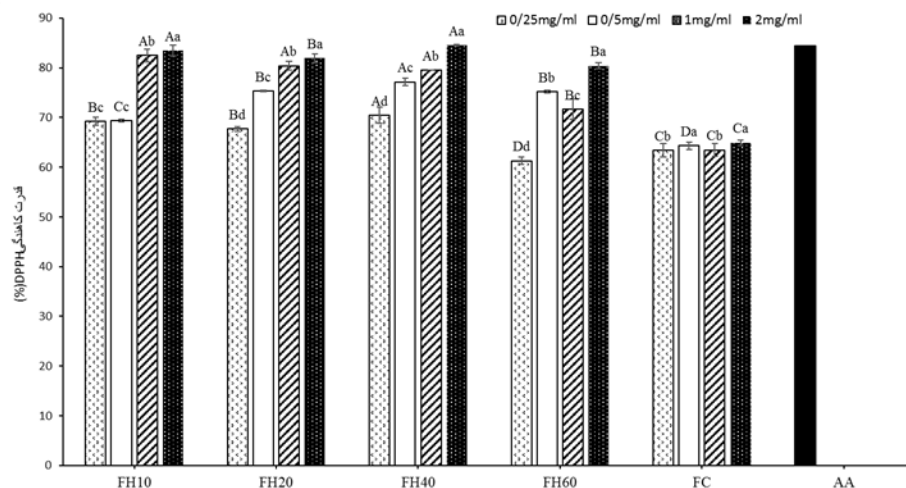
بازده هیدرولیزات عبارتست از نسبت پلی ساکارید به دست آمده پس از هیدرولیز به پلی ساکارید اولیه مورد استفاده



شکل ۱. نمودار شویش فوکوئیدان خام (FC) و هیدرولیزات (FH10, FH20, FH40, FH60) بر روی ستون TSK G5000PW.

فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

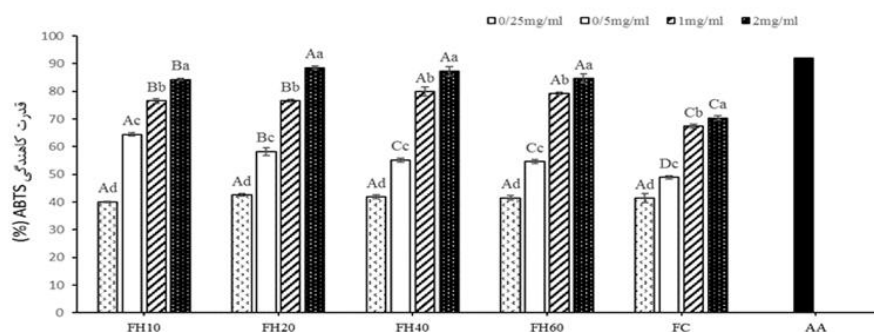
قابلیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط فوکوئیدان خام و هیدرولیزات تولیدشده از جلبک *N. zanardini* در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود کمترین فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد در فوکوئیدان خام مشاهده شد و تغییر وزن مولکولی در هیدرولیزات فوکوئیدان به میزان معنی داری از محدوده ۶۳/۴۱-۶۴/۹۴ درصد به ۶۱/۲۷-۸۴/۵۴ درصد افزایش یافت. در فوکوئیدان های هیدرولیز شده، غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر دارای بالاترین اثر ضد اکسیدانی بود ($p < 0.05$). همچنین میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد در فوکوئیدان خام و هیدرولیزات وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت ارتباط مستقیمی با درصد مهارکنندگی مشاهده شد ($p < 0.05$). میزان مهار رادیکال آزاد DPPH توسط آسکوربیک اسید در غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر ۸۶/۳۸ درصد بود.



شکل ۲. فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط فوکوئیدان خام (FC) و هیدرولیزات (FH60, FH40, FH20, FH10) حروف بزرگ نشانگر وجود اختلاف معنادار برون گروهی هر غلظت در فوکوئیدان خام و هیدرولیزات در زمان‌های مختلف است ($p < 0.05$) حروف کوچک نشانگر وجود اختلاف معنادار درون گروهی بین غلظت‌های فوکوئیدان خام و هیدرولیزات در هر تیمار زمانی است ($p < 0.05$) اسید آسکوربیک (AA) با غلظت ۱/۰ میلی گرم بر میلی لیتر به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد.

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS

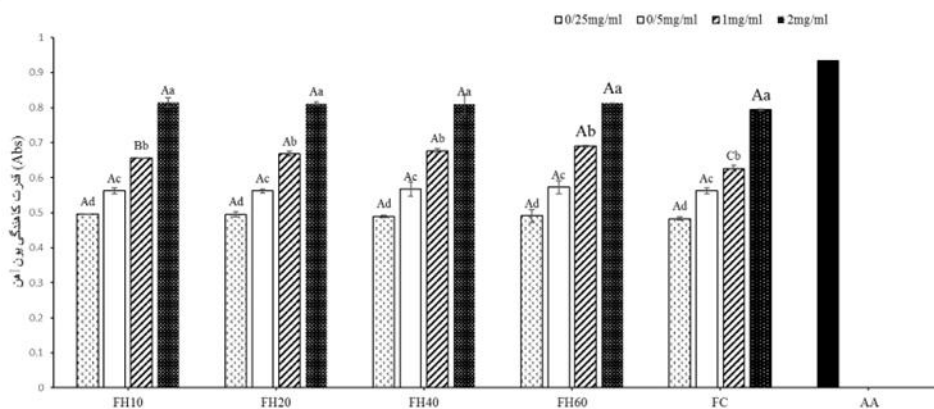
همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، قدرت مهارکنندگی فوکوئیدان خام و دیگر فراکسیون‌ها در محدوده ۱/۴۰-۸۸/۵ درصد سنجش شد. در این میان، در حالی که فوکوئیدان خام کمترین فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS را دارا بود ($p < 0.05$)، قابلیت مهار رادیکال آزاد در هیدرولیزات بدست آمده به میزان معنی داری بهبود یافت ($p < 0.05$). قابلیت مهار رادیکال آزاد ABTS در تمامی نمونه‌ها وابسته به غلظت بود و با افزایش میزان پلی ساکاریدها به میزان قابل توجهی افزایش یافت ($p < 0.05$). تطبیق نتایج، فاکتور زمان در بین فراکسیون‌ها اختلاف معناداری با درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد ایجاد نکرد ($p > 0.05$).



شکل ۳. فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS توسط فوکوئیدان خام (FC) و هیدرولیزات (FH60, FH40, FH20, FH10) حروف بزرگ نشانگر وجود اختلاف معنادار برون گروهی هر غلظت در فوکوئیدان خام و هیدرولیزات در زمان‌های مختلف است ($p < 0.05$) حروف کوچک نشانگر وجود اختلاف معنادار درون گروهی بین غلظت‌های فوکوئیدان خام و هیدرولیزات در هر تیمار زمانی است ($p < 0.05$) اسید آسکوربیک (AA) با غلظت ۱/۰ میلی گرم بر میلی لیتر به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد.

بررسی قدرت کاهندگی یون آهن

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود پتانسیل کاهندگی Fe^{3+} در فوکوئیدان خام و هیدرولیزات تولید شده تفاوت معنی داری را به طور کلی نشان نداد ($p > 0.05$). در فوکوئیدان خام و هیدرولیزات بدست آمده، با افزایش غلظت افزایش معناداری در قابلیت کاهندگی Fe^{3+} مشاهده شد ($p < 0.05$). غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر دارای بالاترین قدرت کاهندگی یون Fe^{3+} بود ($p < 0.05$)، اما فاکتور زمان در بین هیدرولیزات اختلاف معناداری با درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد ایجاد نکرد ($p > 0.05$). استفاده از آسکوربیک اسید در غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی گرم نیز توانست در مقایسه با پلی ساکاریدهای مورد مطالعه میزان کاهندگی آهن بیشتری را نشان دهد.



شکل ۴. نمودار قدرت کاهندگی آهن توسط فوکوئیدان خام (FC) و هیدرولیزات (FH60, FH40, FH20, FH10)

حروف بزرگ نشانگر وجود اختلاف معنادار برون گروهی هر غلظت در فوکوئیدان خام و هیدرولیزات در زمان‌های مختلف است ($p < 0.05$)
حروف کوچک نشانگر وجود اختلاف معنادار درون گروهی بین غلظت‌های فوکوئیدان خام و هیدرولیزات در هر تیمار زمانی است ($p < 0.05$)
اسید آسکوربیک (AA) با غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد.

بحث

در پژوهش حاضر بازده استخراج فوکوئیدان حاصل از جلبک قهوه‌ای *N. zanzardinii* بیشتر از مقادیر گزارش شده در گونه‌های غنی از پلی ساکارید مانند *Cystoseira indica* (۵/۷ درصد) و *Sargassum angustifolium* (۶/۳ درصد)، *Ecklonia cava* (۲/۳ درصد) و *Laminaria japonica* (۱/۸ درصد) بود [۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸]. بازده استخراج فوکوئیدان از جلبک‌های قهوه‌ای بسیار متغیر و وابسته به عواملی نظیر گونه جلبک، محیط رشد، فصل برداشت و شیوه استخراج می‌باشد [۲۵]. در هیدرولیز اسیدی پیوندهای گلیکوزیدی پلی ساکارید شکسته شده و به قطعات کوچک پلی ساکاریدی تبدیل می‌شود. سپس، در طی فرآیند دیالیز مولکول‌های کوچک کمتر از ۵۰۰ دالتون با استفاده از پدیده انتشار از طریق غشاهای نفوذپذیر انتخابی، از کیسه دیالیز خارج و حذف می‌شود. در مطالعه حاضر، بکارگیری هیدرولیز اسیدی با استفاده از اسید هیدروکلریک در دمای بالا توانست منجر به تولید فوکوئیدان‌های با وزن مولکولی کوچکتر شود که امکان ارزیابی تأثیر وزن مولکولی بر فعالیت ضد اکسایشی را فراهم ساخت. دلیل کاهش بازده هیدرولیزات با افزایش زمان هیدرولیز در مطالعه حاضر نیز تولید اولیگوساکاریدها و قندهای آزاد بیشتر و در نتیجه حذف توسط دیالیز می‌باشد. فعالیت ضد اکسایشی ترکیبات زیست فعال شامل مکانیسم‌های مختلفی از جمله جلوگیری از شروع فرآیند اکسیداسیون، اتصال به یون‌های فلزی، تجزیه آب اکسیژنه، جلوگیری از جداسدن هیدروژن و قدرت کاهش و مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشد [۲۹، ۳۰]. Palanisamy و همکاران [۲۰۱۷] میزان بازدارندگی DPPH را در فوکوئیدان استخراج شده از جلبک قهوه‌ای *Sargassum polycytum* را (۳۳ درصد) گزارش نمودند [۳۱]. استفاده از رادیکال آزاد ABTS دیگر روشی است که به طور گسترده جهت ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی استفاده می‌شود. مولکول بی رنگ ABTS به واسطه اکسیدان‌های مختلف نظیر پتاسیم پرسولفات به رادیکال $ABTS^+$ تبدیل شده و رنگ سبز-آبی به خود

می‌گیرد [۳۲]. براساس مطالعه‌ای که Rostami و همکاران [۲۰۱۸] بر روی جلبک قهوه‌ای *Colpomenia peregrine* انجام دادند، درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS در حلال آبی ۹۹/۷۱ در حلال اتیل استات ۹۶/۳۰ درصد گزارش شد [۳۳]. در مطالعه دیگری که توسط Sahragard و همکاران [۲۰۲۱] بر روی ویژگی‌های ضد دیابتی و ضد اکسایشی فوکوئیدان حاصل از جلبک قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium* صورت گرفت، جهت جداسازی فوکوئیدان خام و دستیابی به پلیمرهای هموزن تر از کروماتوگرافی تبادل یونی استفاده شد و دو فراکسیون مختلف بدست آمد در این بین فراکسیون F1 با مهار ۹۳/۶۸ درصد رادیکال آزاد ABTS فعالیت ضد اکسایشی بیشتری را نسبت به فراکسیون F2 نشان داد [۳۴]. تحقیقات نشان داده‌است که بین فعالیت ضد اکسایشی و قدرت کاهندگی Fe^{3+} ترکیبات طبیعی ارتباط نزدیکی وجود دارد. ارزیابی کاهندگی آهن، آزمون دیگری است که به‌طور گسترده جهت اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسایشی به کار می‌رود [۳۵، ۳۶، ۳۷]. Shan و همکاران [۲۰۱۶] طی پژوهش خود نشان دادند که وزن مولکولی فوکوئیدان می‌تواند به میزان قابل توجهی ویژگی‌های ضد اکسایشی آنها به‌خصوص قابلیت کاهندگی یون آهن و مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل را نیز تحت تاثیر قرار دهد [۳۸]. در تحقیقاتی که بر روی فوکوئیدان *Fucus vesiculosus* توسط Lim و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد، هیدرولیزات با وزن مولکولی کمتر با دو روش تابش اشعه گاما و هیدرولیزاسیدی تولید شد که در طی آن با کاهش وزن مولکولی قابلیت مهارکنندگی قابلیت کاهش یون آهن افزایش یافت. علت افزایش فعالیت ضد اکسیدانی با کاهش وزن مولکولی تغییر پیکربندی فضایی مولکولی و در دسترس قرار گرفتن گروه‌های عاملی جهت شرکت فعال در واکنش‌های مختلف را می‌توان اشاره نمود [۳۹]. طی مطالعه‌ای که توسط Khajavi و همکاران (۲۰۲۱) بر روی ارزیابی ویژگی‌های ضد اکسایشی و ضد دیابتی پلی ساکاریدهایی با منشأ دریایی و خشکی و بررسی رابطه وزن مولکولی با فعالیت زیستی انجام شد نشان داد کاهش وزن مولکولی سبب افزایش قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH و کاهندگی یون آهن در فوکوئیدان (۴۷،۹-۲۷،۸ درصد، ۰،۴۷-۰،۳۷ جذب) شد [۴۰]. در مطالعه حاضر، نتایج نشان داد که کاهش وزن مولکولی به میزان قابل توجهی می‌تواند سبب افزایش قابلیت فوکوئیدان در مهار واکنش‌های ضد اکسیدانی شود. البته، تفاوت معنی داری با افزایش زمان هیدرولیز و کاهش وزن مولکولی با فعالیت ضد اکسیدانی در میان هیدرولیزات فوکوئیدان مشاهده نشد، که این می‌تواند به دلیل تغییرات در میزان و دسترسی گروه‌های عاملی باشد.

نتیجه گیری

نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد که جلبک قهوه‌ای *N. zanardinii* حاوی فوکوئیدانی است که در حالت طبیعی خود فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و کاهندگی یون آهن قابل قبولی را دارا است. هیدرولیز اسیدی با استفاده از اسید هیدروکلریک ۰/۰۱ نرمال توانست پلیمرهایی با وزن‌های مولکولی پایین‌تر تولید نماید که این اتفاق تأثیرات مثبت و افزایشی را بر روی مهار واکنش‌های ضد اکسایشی نشان دهد. در این میان، هیدرولیزات FH20 بیشترین پتانسیل را در مهار رادیکال آزاد DPPH، ABTS و احیاء یون آهن Fe^{3+} دارا بود. به‌طور کلی می‌توان اظهار نمود که فوکوئیدان هیدرولیز شده از جلبک مورد مطالعه به دلیل کاهش وزن مولکولی نسبت به فوکوئیدان خام قادر به مهار واکنش‌های ضد اکسایشی بیش‌تری می‌باشد اما کاهش وزن مولکولی بیش از حد بهینه نمی‌تواند منجر به افزایش فعالیت ضد اکسایشی شود. بر طبق نتایج، فاکتور زمان در هیدرولیزات تولید شده تفاوت محسوسی را در مهار واکنش‌های ضد اکسایشی بین فراکسیون‌ها ایجاد نکرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور در غالب طرح تحقیقاتی با شماره ۴۰۰۵۵۴۵ تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱- Chen, L., Remondetto, G. E., Subirade, M., (2006). Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. Trends in Food Science & Technology, 272-283.

- ۲- Qi, H., Zhang, Q., Zhao, T., Chen, R., Zhang, H., Niu, X. and Li, Z. (2005). Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules*, 37: 195-199.
- ۳- Nahas, R., Abatis, D., Anagnostopoulou, M. A., Kefalas, P., Vagias, C. and Roussis, V. (2007). Radical-scavenging activity of a green sea marine algae. *Food Chemistry*, 102: 577-581.
- ۴- Wang, B. G., Zhang, W. W., Duan, X. J. and Li, X. M. (2009). In vitro antioxidative activities of extract and semi-purified fractions of the marine red alga, *Rhodomela confervoides* (Rhodomelaceae). *Food Chemistry*, 113: 1101-1105.
- ۵- Ruberto, G., Baratta, M. T., Biondi, D. M. and Amico, V. (2001). Antioxidant activity of extracts of the marine algal genus *Cystoseira* in a micellar model system. *Journal of Applied Phycology*, 13: 403-407.
- ۶- Holdt, S. L., and Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications seaweed *Ulva rigida* C. Agardh. *International Immunopharmacology*, 7(7): 879-888.
- ۷- Quiros, R. B., A., Lage-Yusty, M. A. and Lopez-Hernandez, J. (2010). Determination of phenolic compounds in macroalgae for human consumption. *Food Chemistry*, 121: 634-638.
- ۸- Kuda, T., Tsunekawa, M., Gotoa, H., and Arakib, Y. (2005). Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 625-633.
- ۹- 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: 14-21.
- ۱۰- Li, B., Lu, F., Wei, X. and Zhao, R. (2008). Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules*, 13(8): 1671-1695.
- ۱۱- Shao, P., Chen, X., Sun, P. (2014). Chemical characterization, antioxidant and antitumor activity of sulfated polysaccharide from *Sargassum horneri*. *Carbohydrate Polymers*, 260-269.
- ۱۲- Hu, P., Xue, R., Li, Z., Chen, M., Sun, Z., Jiang, J., Huang, C. (2014). Structural investigation and immunological activity of a heteropolysaccharide from *Sargassum fusiforme*. *Carbohydrate Research*, 28-32.
- ۱۳- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset CL. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 1995 Jan 1; 28(1):25-30.
- ۱۴- Alboofetileh M, Rezaei M, Tabarsa M, You S, Yelithao Kh, Dabaghian H.E, Cao R, Bitas S. (2020). The activation of NF- κ B and MAPKs signaling pathways of RAW264.7 murine macrophages and natural killer cells by fucoidan from *Nizamuddiniana zanardinii*. *International Journal of Biological Macromolecules* 148 56-67.
- ۱۵- Hosseinpouri A, Mohammadi M, Obeidi N. (2019). Fucoidan, Multifunctional Polysaccharide. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*. Summer 2019. Vol. 9. No. 2.
- ۱۶- Chen BJ, Shi MJ, Cui S, Hao SX, Hider RC, Zhou T. (2016). Improved antioxidant and anti-tyrosinase activity of polysaccharide from *Sargassum fusiforme* by degradation. *International Journal of Biological Macromolecules*. Nov 1; 92:715-22.
- ۱۷- Jiang J, Meng FY, He Z, Ning YL, Li XH, Song H, Wang J, Zhou R. (2014). Sulfated modification of longan polysaccharide and its immunomodulatory and antitumor activity in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules*. Jun 1; 67:323-9.
- ۱۸- Karnjanapratum S, Tabarsa M, Cho M, You S. Characterization and immunomodulatory activities of sulfated polysaccharides from *Capsosiphon fulvescens*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2012 Dec 1; 51(5):720-9.
- ۱۹- Borazjani NJ, Tabarsa M, You S, Rezaei M. Effects of extraction methods on molecular characteristics, antioxidant properties and immunomodulation of alginates from *Sargassum angustifolium*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017 Aug 1; 101:703-11.

- ۲۰- Tabarsa, M., Dabaghian, E. H., You, S., Yelithao, K., Cao, R., Rezaei, M., & Bitá, S. (2020). The activation of NF- κ B and MAPKs signaling pathways of RAW264. 7 murine macrophages and natural killer cells by fucoidan from *Nizamuddiniana zanardinii*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 56-67.
- ۲۱- Apostolidis E, Kwon YI, Shetty K. Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2007 Mar 1; 8(1):46-54.
- ۲۲- Khajavi S, Tabarsa M, Ahmadi H, Rezaei M. Relationship evaluation of molecular weight and antioxidant and alpha amylase inhibition properties of fucoidan and alginate from brown seaweed *Padina pavonica* in comparison with polysaccharides from Flixweed and Fennel. *Journal of Fisheries Science and Technology*. Volume March 2021; 10, Issue 1: 31-45.
- ۲۳- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999 May; 26(9-10):1231-7. doi: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3. PMID: 10381194.
- ۲۴- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315.
- ۲۵- Bahramzadeh S, Tabarsa M, You S, Li C, Bitá S. Purification, structural analysis and mechanism of murine macrophage cell activation by sulfated polysaccharides from *Cystoseira indica*. *Carbohydrate polymers*. 2019; 205: 261-270
- ۲۶- Borazjani NJ, Tabarsa M, You S, Rezaei M. Purification, molecular properties, structural characterization, and immunomodulatory activities of water soluble polysaccharides from *Sargassum angustifolium*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018; 109: 793-802.
- ۲۷- Wang J, Zhang Q, Zhang Z, Li Z. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2008; 42: 127-132.
- ۲۸- Lee SH, Ko CI, Ahn GN, You SG, Kim JS, Heu MS. Molecular characteristics and anti-inflammatory activity of the fucoidan extracted from *Ecklonia cava*. *Carbohydrate Polymers*. 2012; 89: 599-606.
- ۲۹- Siriwardhana, N., Pee, K. W., Jeon, Y. J., Kim, S. H., Haw, J. W., 2003. Antioxidant activity of *Hizikia fusiformis* on reactive oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibition. *Food Science and Technology International*, ۳۳۹-۳۴۶.
- ۳۰- Yipdirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A. A., Apgur, Ö. F., Bipapoğlu, V., 2000. Comparison of Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Tilia* (*Tilia Argentea* Desf Ex DC), *Sage* (*Salvia Triloba* L.), and *Black Tea* (*Camellia Sinensis*) Extracts. *Journap of Agricupturap and Food Chemistry*, 5030-5034.
- ۳۱- Palanisamy, S., Vinosha, M., Marudhupandi, T., Rajasekar, P., 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*, 405-412.
- ۳۲- Erel, O., 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Cpinical Biochemistry*, 277-285
- ۳۳- Rostami, Z., Tabarsa, M., Rezaei, M., 2018. Antioxidant properties of by-products of polysaccharide extraction from brown seaweed. *Colpomenia peregrina*. *Food Processing and Preservation*, 151-158.
- ۳۴- Sahragard K., Tabarsa M., Ahmadi H., 1400. Isolation, purification, anti-diabetic and antioxidant properties of fucoidan from brown seaweed *Sargassum ilicifolium*. *Journal of Fisheries* Vol. 74, No. 2, summer 2021pp. 223-234.

- ۳۵-Chandini, S. K., Ganesan, P., & Bhaskar, N. (2008). In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. Food Chemistry, 107(2), 707-713.
- ۳۶-Luo, H., Wang, B., Yu, C., Qu, Y., & Su, C. (2010). Evaluation of antioxidant activities of five selected brown seaweeds from China. Journal of Medicinal Plants Research, 4(23), 2557-2565.
- ۳۷-Ye, H., Zhou, C., Sun, Y., Zhang, X., Liu, J., Hu, Q., & Zeng, X. (2009). Antioxidant activities in vitro of ethanol extract from brown seaweed *Sargassum pallidum*. European Food Research and Technology, 230(1), 101-109.
- ۳۸-Shan X, Liu X, Hao J, Cai C, Fan F, Dun Y, Zhao X, Liu X, Li C, Yu G. In vitro and in vivo hypoglycaemic effects of brown algal fucoidans. International Journal of Biological Macromolecules. 2016 Jan 1; 82:249-55.
- ۳۹- Lim S, Choi JI, Park H. Antioxidant activities of fucoidan degraded by gamma irradiation and acidic hydrolysis. Radiation Physics and Chemistry. 2015 Apr 1; 109:23-26.
- ۴۰- Khajavi S, Tabarsa M, Ahmadi Gavlighi H, Rezaei M. Relationship evaluation of molecular weight and antioxidant and alpha-amylase inhibition properties of fucoidan and alginate from brown seaweed *Padina pavonica* in comparison with polysaccharides from Flixweed and Fennel. Journal of Fisheries Science and Technology. 2021; 10: 31-45.

Evaluation of relationship between molecular weight and antioxidant properties of hydrolyzed fucoidan from brown seaweed *Nizamuddinina zanardinii*

Nafiseh Sadat Mousavi¹, Mehdi Tabarsa^{1*}, Hassan Ahmadi Gavlighi¹

1- Department of Seafood Processing, Tarbiat Modares University, Nur, Iran

2- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Polysaccharides possess diverse biological properties, mostly owed to their structural complexity and molecular heterogeneity, that could be improved through engineering methods and application of structural modifications. The objective of the present study was the assessment of antioxidant properties of hydrolyzed fucoidan from seaweed *Nizamuddinina zanardinii* and the correlation of molecular weight with biological function. After the removal of pigments and low molecular weight compounds, crude extracted polysaccharide was hydrolyzed at 100 C for 10, 20, 40 and 60 minutes using 0.01N HCl. The average molecular weight of crude fucoidan 1254.4×10^3 g/mol and for hydrolysates FH10, FH20, FH40 and FH60 was 974.5, 891.8, 806.5 and 705.5×10^3 g/mol, respectively. With the decrease of molecular weight, hydrolysates, compared with the crude fucoidan, exerted considerable DPPH (61.27-84.54%) and ABTS (40.1-88.5%) radical scavenging and Fe^{3+} reducing power (0.49-0.81 Abs) activities. Among different samples, hydrolysate FH20 showed the greatest capacity for DPPH radical scavenging activity (70.45-84.54%) and Fe^{3+} reducing power (0.49-0.81 Abs). Overall, the results of the current study showed that hydrolysis and reduction of molecular weight significantly improved the antioxidant activities of the fucoidan while time did not result any significant differences in antioxidant properties of hydrolysates which could be due to alterations in functional groups. Hence, fucoidan isolated from the examined species could be utilized as antioxidant agents in forms of native or hydrolysates.

KEYWORDS: Polysaccharide, Hydrolysis, Molecular weight, *Nizamuddinina zanardinii*, Biological activity

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 20 February 2022

Accepted: 21 March 2022

ePublished: 20 June 2022

* Corresponding Author:

Email address: m.tabarsa@modares.ac.ir

© Published by Tarbiat Modares University