مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۳، شماره ۴، پاییز۱۴۰۳، صفحات ۲۳۴ تا ۲۵۰

مقایسه ویژگی‌های ضداکسایشی و امولسیون‌کنندگی پلی ساکارید سولفاته فوکوئیدان استخراج شده از جلبک *Sargassum ilicifolium* با استفاده از روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت

مهدی آل‌بوفتیله

پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

چکـــیده

هدف از مطالعه حاضر استخراج پلی‌ساکارید سولفاته فوکوئیدان از جلبک قهوه‌ای *Sargassum ilicifolium* با استفاده از روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت و ارزیابی ویژگی‌های آن بود. بازده، طیف‌های FT-IR، ویژگی‌های ضداکسایشی (خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت کاهندگی آهن) و امولسیون کنندگی پلی ساکارید فوکوئیدان استخراج شده، سنجش شد. بازده پلی‌ساکارید فوکوئیدان استخراج شده در روش آنزیمی-فراصوت (۱۱/۴۹ درصد) بیشتر از روش آب داغ (۹/۱۵ درصد) بود. طیف‌های FT-IR هر دو پلی ساکارید، مشابه بوده و گروه‌های سولفات، هیدروکسیل و کربوکسیل در آنها مشاهده شدند. پلی ساکاریدهای استخراج شده به روش آب داغ فعالیت‌های خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد (۳۶/۲۷-۴۹/۸۱ درصد) و قدرت کاهندگی آهن (۰/۱۱۴-۰/۱۷۳ جذب) بیشتری نسبت به نمونه‌های استخراج شده به روش آنزیمی-فراصوت (۲۳/۲۰-۳۸/۸۳ درصد و ۰/۱۲۶-۰/۱۶۹ جذب) نشان دادند. نتایج همچنین نشان داد که هر دو پلی ساکارید قادر به امولسیون کردن روغن‌های مورد مطالعه بودند. در این بین پلی ساکاریدهای استخراج شده به روش آب داغ بیشترین شاخص امولسیون کنندگی را در روغن‌های آفتابگردان (۳۴/۹۳ درصد) و ذرت (۳۰/۴۹ درصد) داشتند. این در حالی است که پلی ساکاریدهای استخراج شده به روش آنزیمی-فراصوت در روغن کانولا شاخص امولسیون کنندگی بیشتری داشتند (۳۸/۸۲ درصد). نتایج مطالعه حاضر نشان داد، که پلی ساکارید فوکوئیدان استخراج شده دارای ویژگی‌های زیست فعالی و عملکردی بوده و لذا می‌تواند به عنوان جزء فعال در فرمولاسیون مکمل‌های غذایی/داروئی و همچنین محصولات غذایی فراسودمند استفاده شود.

کـــلید واژه‌ها: *Sargassum ilicifolium*، فوکوئیدان، روش آنزیمی-فراصوت، ویژگی‌های ضداکسایشی، ویژگی‌های امولسیون کنندگی

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۰

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۳/۰۹/۱۵

*نویسنده مسئول:
alboofetileh@areeo.ac.ir

مقدمه

جلبک‌ها یکی از زیستمندان مهم اقیانوس‌ها، دریاها و سایر منابع آبی در جهان هستند که تنوع گونه‌ای بسیار بالایی دارند. از دهه‌های گذشته تاکنون، جلبک‌ها به صورت مستقیم به عنوان غذا و یا برای استخراج ترکیبات غذایی و داروئی مورد استفاده قرار می‌گرفتند. بر اساس داده‌های سازمان خواربار و کشاورزی (FAO) تولید جهانی جلبک‌های دریایی (اعم از آبزی‌پروری و برداشت از محیطهای طبیعی) از سال ۲۰۰۰ تا سال ۲۰۱۹ تقریباً سه برابر شده و از ۱۸ به ۳۵/۸ میلیون تن رسیده است. ۹۷/۳۸ درصد تولید جلبک دریایی جهان عمدتاً در قاره آسیا انجام می‌شود.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

در آسیا ۹۹ درصد جلبک‌های دریایی به صورت مصنوعی کشت شده که از کشورهای این قاره، چین رتبه اول را داشته و ۵۶/۸۲ درصد از تولیدات آبزی‌پروری جلبک‌ها جهانی را به خود اختصاص داده است [۱]. اما با این حال، کشور ما در حال حاضر از کشورهای نوپا در زمینه تولید جلبک‌ها محسوب می‌شود. تولیدات جلبکی کشور ما محدود به برداشت ماکروجلبک‌ها از محیط‌های طبیعی و پرورش میکروجلبک‌ها به منظور استفاده در تغذیه لارو ماهیان دریایی و دیگر آبزیان و همچنین پرورش ریزجلبک اسپیرولینا برای مصارف دامی، خوراکی و آرایشی-بهداشتی می‌باشد. به طور کلی جلبک‌ها دارای طیف وسیعی از ترکیبات اعم از پلی ساکاریدها، فنول‌ها، رنگدانه‌ها، چربی، پروتئین‌ها و غیره هستند. پلی ساکاریدهای سولفاته در سال‌های اخیر به علت دارا بودن طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های زیستی در کانون توجه پژوهشگران قرار گرفته و مطالعات وسیعی جهت استخراج این ترکیبات انجام شده و در حال انجام می‌باشد. فوکوئیدان به پلی ساکاریدهای سولفاته استخراج شده از جلبک‌های قهوه‌ای اطلاق می‌گردد. فوکوئیدان علاوه بر جلبک‌های قهوه‌ای در بی‌مهرگان دریایی نظیر خیار دریایی نیز وجود دارد اما جلبک‌های قهوه‌ای منبع اصلی جهت استخراج این ترکیب به حساب می‌آیند. مونوساکارید فوکوز واحد اصلی سازنده فوکوئیدان می‌باشد اما مونوساکاریدهای دیگری همچون مانوز، زایلوز، گالاکتوز، آرابینوز، گلوکز و گلوکورونیک اسید نیز در ساختار فوکوئیدان وجود دارد [۲]. تاکنون فعالیت‌های زیست فعالی متعددی از قبیل ویژگی‌های ضداکسایشی، ضدانعقادی، ضدویروسی، ضدتوموری، محرک ایمنی، ضد التهابی و اثرات محافظتی گوارشی برای فوکوئیدان‌های استخراج شده از گونه‌های مختلف جلبکی گزارش شده است [۳]. علاوه بر ویژگی‌های زیست فعالی، فوکوئیدان‌ها دارای ویژگی‌های رئولوژیکی [۴] و امولسیفایری [۵] مناسبی نیز هستند. از این رو فوکوئیدان پتانسیل بالائی جهت استفاده در محصولات غذایی، داروئی و آرایشی-بهداشتی بعنوان جزء عملگرا دارد.

تاکنون روش‌های متعددی برای استخراج ترکیبات طبیعی نظیر فوکوئیدان از جلبک‌های دریایی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. روش معمول استخراج پلی ساکارید فوکوئیدان روش‌های آب داغ و استفاده از حلال‌های آلی می‌باشد. نیاز به مقادیر بالای حلال و باقی ماندن حلال در فرآورده نهایی، اتلاف ترکیبات فرار، بازده پایین، زمان استخراج طولانی و امکان تخریب ساختار ترکیبات نهایی از جمله معایب این روش‌ها می‌باشند [۶و۷]. از این رو در سال‌های اخیر میل به پیدا کردن روش‌های کارآمدتر، منجر به پیدایش و گسترش روش‌های نوین استخراج گردیده است. روش‌هایی همچون روش‌های سیال فوق بحرانی، آب زیر بحرانی، فرآیندهای فشار بالا، استخراج به کمک مایکروویو، فراصوت، آنزیمی و استخراج بر پایه تخمیر از جمله روش‌های نوین استخراج می‌باشند. این روش‌ها دارای مزایایی همچون حفظ خصوصیات کیفی ترکیبات زیست فعال، کاهش میزان مصرف انرژی، کاهش زمان فرآیند استخراج، گرادیان حرارتی کمتر، کاهش اندازه تجهیزات، کاهش مصرف حلال‌های شیمیایی و زیست سازگار بودن، هستند [۸]. اما در کنار این مزایا، هر یک از این روش‌ها دارای معایبی نیز بوده که می‌توانند فرآیند استخراج ترکیبات رو تحت تاثیر قرار دهند. محققان استفاده ترکیبی از این روش‌ها جهت رفع این معایب را پیشنهاد کرده و تحقیقات گسترده‌ای جهت بهینه سازی روش‌های استخراج ترکیبی نیز انجام شده است. این روش‌ها تاکنون برای استخراج ترکیباتی نظیر رنگدانه‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها و ترکیبات فنولی از گیاهان خشکی‌زی به کار گرفته شده‌اند اما با این حال مطالعات کمی جهت استخراج پلی ساکاریدهای سولفاته از جلبک‌ها با استفاده از این روش‌ها صورت پذیرفته است. علاوه بر اینها، تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر استخراج پلی ساکارید فوکوئیدان از جلبک *Sargassum ilicifolium* با استفاده از روش ترکیبی آنزیمی-فراصوت گزارش نشده است. بر این اساس هدف از تحقیق حاضر در وهله اول استخراج پلی ساکاریدهای فوکوئیدان از جلبک *S. ilicifolium* با استفاده از روش ترکیبی آنزیمی-فراصوت بوده و در وهله دوم مقایسه بازده، طیف سنجی FT-IR، ویژگی‌های ضداکسایشی و امولسیون کنندگی پلی ساکاریدهای استخراج شده به روش ترکیبی آنزیمی-فراصوت و روش آب داغ (به عنوان روش معمول) بود.

مواد و روش‌ها

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

جمع‌آوری، آماده‌سازی و پیش تیمار جلبک‌ها

نمونه‌برداری جلبک‌ها از منطقه ساحلی شهرستان چابهار واقع در استان سیستان و بلوچستان انجام گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده بعد از شناسایی براساس اطلس جلبک‌های خلیج فارس و دریای عمان [۹] ابتدا با آب دریا و سپس با آب شرب شسته شدند. در ادامه نمونه‌های جلبکی در دمای محیط و سایه خشک شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. در انتها نمونه‌ها پودر شده و تا زمان انجام عمل استخراج در کیسه‌های پلاستیکی زیپ کیپ در فریزر (۲±۱۸- درجه سانتیگراد) نگهداری شدند.

قبل از انجام عمل استخراج پلی ساکارید فوکوئیدان بایستی رنگدانه‌ها و چربی‌های جلبک‌ها حذف گردد. بدین منظور جلبک‌های خشک و پودر شده به نسبت ۱ به ۱۰ (گرم بر میلی لیتر) با اتانول ۸۵ درصد مخلوط شده و روی همزن مکانیکی (۲۰۰۰ دور در دقیقه) در دمای محیط قرار داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت، فاز جامد با استفاده از سانتریفیوژ (۹۰۰۰ دور در دقیقه، ۱۰ دقیقه) جدا شده، چندین نوبت با استون شستشو و در ادامه به منظور خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار داده شد.

استخراج پلی ساکارید فوکوئیدان

در این مطالعه پلی ساکارید فوکوئیدان با استفاده از دو روش آب داغ و آنزیمی–فراصوت استخراج گردید. برای استخراج پلی‌ساکاریدهای سولفاته فوکوئیدان به روش آب داغ، نمونه‌های جلبک پیش تیمار شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۶ (گرم بر میلی لیتر) مخلوط و به مدت ۶ ساعت روی همزن مکانیکی با دمای ۶۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. بعد از این زمان، فاز مایع با استفاده از سانتریفیوژ (۹۰۰۰ دور در دقیقه، ۱۰ دقیقه) جمع‌آوری و توسط دستگاه روتاری در دمای ۶۰ درجه تغلیظ گردید. جهت حذف پلی ساکارید آلژینات، پودر کلسیم کلرید (۱ درصد) به مایع تغلیظ شده اضافه و مخلوط بدست آمده به مدت یک شبانه‌روز در یخچال قرار داده شد. بعد از این زمان، آلژینات رسوب یافته توسط دستگاه سانتریفیوژ جدا و فاز مایع با اتانول ۹۶ درصد مخلوط و به مدت یک شبانه‌روز دیگر جهت بازیابی پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان قرار داده شد. نمونه‌های فوکوئیدان رسوب یافته توسط دستگاه سانتریفیوژ جدا و چندین مرتبه با اتانول و استون شستشو شدند. در پایان نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط زیر هود لامینار قرار داده شده تا خشک شوند [۱۰].

برای استخراج با استفاده از روش آنزیمی–فراصوت، ۵ گرم از پودر جلبک پیش تیمار شده به نسبت ۱ به ۱۶ به آب مقطر اضافه شد. سپس مخلوط تهیه شده ابتدا با استفاده از آنزیم آلکالاز (۲/۵ میلی لیتر آنزیم، pH ۸، دمای ۵۰ درجه سانتیگراد) و سپس دستگاه فراصوت (۳۰۰ وات، دمای ۵۰ درجه سانتیگراد، ۶۰ دقیقه) تیماردهی شدند. علت استفاده از آنزیم آلکالاز بدین جهت بود که در مطالعه مقدماتی انجام شده توسط محققین، مشخص گردید که فوکوئیدان‌های استخراج شده با آنزیم آلکالاز بازده و ویژگی‌های زیست فعالی بیشتری نسبت به دیگر آنزیم‌ها داشتند. لذا این آنزیم در روش استخراج ترکیبی آنزیمی–فراصوت استفاده گردید. بعد از تیماردهی فاز مایع با استفاده از سانتریفیوژ جمع‌آوری و با دستگاه روتاری تغلیظ شد. بعد از حذف آلژینات با استفاده از کلرید کلسیم (۱ درصد)، پلی‌ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده با استفاده از اتانول ۹۶ درصد بازیابی شدند [۱۱]. در پایان نمونه‌های بازیابی شده چندین مرتبه با اتانول و استون شستشو شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط زیر هود لامینار قرار داده شده تا خشک شوند.

ارزیابی بازده و ویژگی‌های پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده

بازده استخراج پلی ساکاریدهای سولفاته فوکوئیدان به نسبت میزان جلبک پیش تیمار شده مطابق فرمول زیر محاسبه گردید:

بازده (درصد) = (گرم پلی ساکارید÷گرم جلبک پیش تیمار شده) × ۱۰۰

گروه‌های عاملی پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده با استفاده از دستگاه FTIR اسپکتروفتومتر در گستره‌ی cm^{-1} ۴۰۰۰–۴۰۰ و در تفکیک پذیری cm^{-1} ۴ تعیین شدند.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

اندازه‌گیری فعالیت خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH طبق روش خواجوی و همکاران (۱۳۹۹) [۱۲] صورت پذیرفت. بدین منظور ۲ میلی لیتر از پلی ساکاریدها در غلظت‌های ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر میلی لیتر به ۲ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۰/۱۶ میلی مولار رادیکال آزاد DPPH اضافه و به مدت یک دقیقه تکان داده شد. سپس ۳۰ دقیقه در دمای محیط و تاریکی نگهداری و بعد از آن جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. قدرت خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH نمونه‌ها طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{قدرت خنثی کنندگی (درصد)} = ((\text{A control} - \text{A sample}) \div \text{A control}) \times ۱۰۰$$

در فرمول فوق A control برابر با جذب محلول حاوی رادیکال‌های آزاد بدون نمونه و A sample برابر با جذب نمونه‌های آزمایشی بعد از زمان موردنظر (نمونه و محلول حاوی رادیکال‌های آزاد) می‌باشد.

جهت اندازه‌گیری قدرت کاهندگی آهن فوکوئیدان‌های استخراج شده از روش شمامی و طبرسا (۱۴۰۰) [۱۳] استفاده شد. بدین منظور ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (pH = ۶/۶) و ۰/۵ میلی‌لیتر فری سیانات پتاسیم ۱ درصد با ۰/۲ میلی لیتر از نمونه‌های مختلف استخراج شده مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. سپس به این محلول ۰/۵ میلی‌لیتر اسید تری کلرو استیک ۱۰ درصد اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (۶۰۰۰ rpm) شد. بعد از اتمام سانتریفیوژ، ۰/۵ میلی لیتر از مایع بالایی برداشته و به تیوب جدید انتقال داده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر آب و ۰/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن ($FeCl_3$) ۰/۱ درصد به تیوب اضافه گردید. تیوب حاوی این محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد تا در آن ایجاد رنگ صورت بپذیرد. بعد از این مدت جذب نمونه‌ها در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد.

برای اندازه‌گیری ویژگی‌های امولسیون کنندگی فوکوئیدان‌های استخراج شده از روش Saravana و همکاران (۲۰۱۶) [۱۴] استفاده شد. جهت تهیه امولسیون روغن در آب، که ابتدا محلول ۰/۵ درصد پلی ساکاریدهای استخراج شده تهیه و به نسبت ۳:۲ (حجمی–حجمی) با روغن‌های آفتابگردان، ذرت و کانولا مخلوط گردید. مخلوط تهیه شده به مدت ۳ دقیقه با استفاده از دستگاه ورتکس با دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه هموژن شد. امولسیون تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. بعد از گذشت این زمان، شاخص امولسیفایری از رابطه ذیل محاسبه گردید. کربوکسی متیل سلولز بعنوان کنترل مثبت استفاده شد.

$$\text{شاخص امولسیفایری} = (He \div Ht) \times ۱۰۰$$

در فرمول فوق He برابر با ارتفاع لایه امولسیون (میلی‌متر) و Ht برابر با ارتفاع کل محلول (میلی‌لیتر) می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

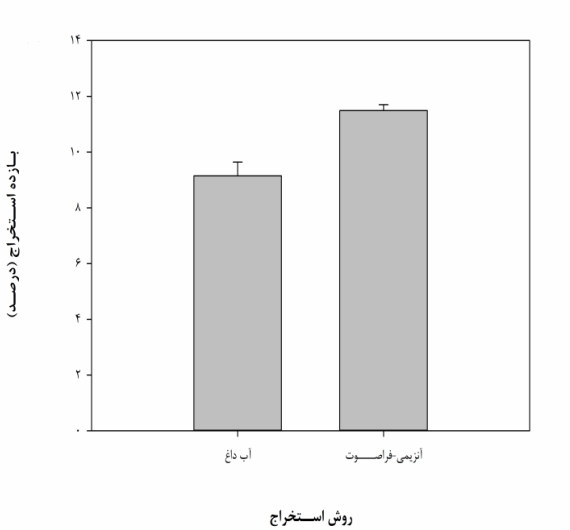
برای استخراج فوکوئیدان در هر روش و هر یک از آزمون‌های مورد مطالعه، حداقل ۳ تکرار استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند. جهت مقایسه آماری تاثیر غلظت پلی‌ساکارید بر ویژگی‌های ضداکسایشی و همچنین نوع پلی ساکارید بر ویژگی‌های امولسیون کنندگی از نرم‌افزار SPSS و آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. از آزمون کولموگروف–اسمیرنوف برای بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده گردید. برای تعیین میزان معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید.

نتایج

بازده استخراج پلی ساکاریدهای فوکوئیدان

بازده پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده با استفاده از روش‌های آب داغ و آنزیمی–فراصوت در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود بازده استخراج در روش آنزیمی–فراصوت (۱۱/۴۹ درصد) نسبت به روش آب داغ (۹/۱۵ درصد) بیشتر بود.

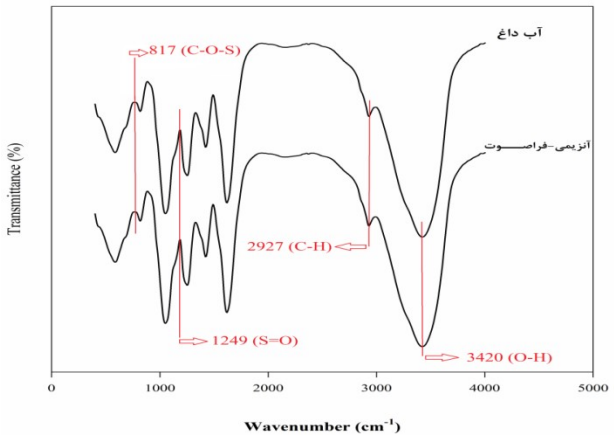
[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]



شکل ۱- بازده استخراج فوکوئیدان‌های استخراج شده از جلبک *Sargassum ilicifolium* با استفاده از روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت. داده‌ها به صورت میانگین از سه تکرار با ± انحراف معیار بیان شده‌اند.

طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR)

نتایج طیف سنجی مادون قرمز پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده با استفاده از روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود طیف هر دو پلی ساکارید مشابه می‌باشد. در این طیف‌ها باندهای مشاهده در فرکانس‌های ۸۱۷ و ۱۲۴۹ cm^{-1} به ترتیب مربوط به ارتعاش خمشی C-O-S سولفات در موقعیت محوری و ارتعاش کششی S=O گروه سولفات می‌باشند [۱۵]. ارتعاشات کششی مربوط به گروه COO^- و ارتعاش کششی CO^- در گروه COOH در ناحیه جذبی ۱۴۲۱ cm^{-1} و همچنین ارتعاش کششی نامتقارن مربوط به گروه COO^- در نمونه پلی ساکارید در طول موج ۱۶۱۹ cm^{-1} مشاهده شد. علاوه بر این باندهای ظاهر شده در ۲۹۲۷ cm^{-1} و ۳۴۲۰ cm^{-1} به ترتیب مربوط به گروه‌های C-H و O-H می‌باشند [۱۶].



شکل ۲- طیف FT-IR فوکوئیدان‌های استخراج شده از جلبک *Sargassum ilicifolium* با استفاده از روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت

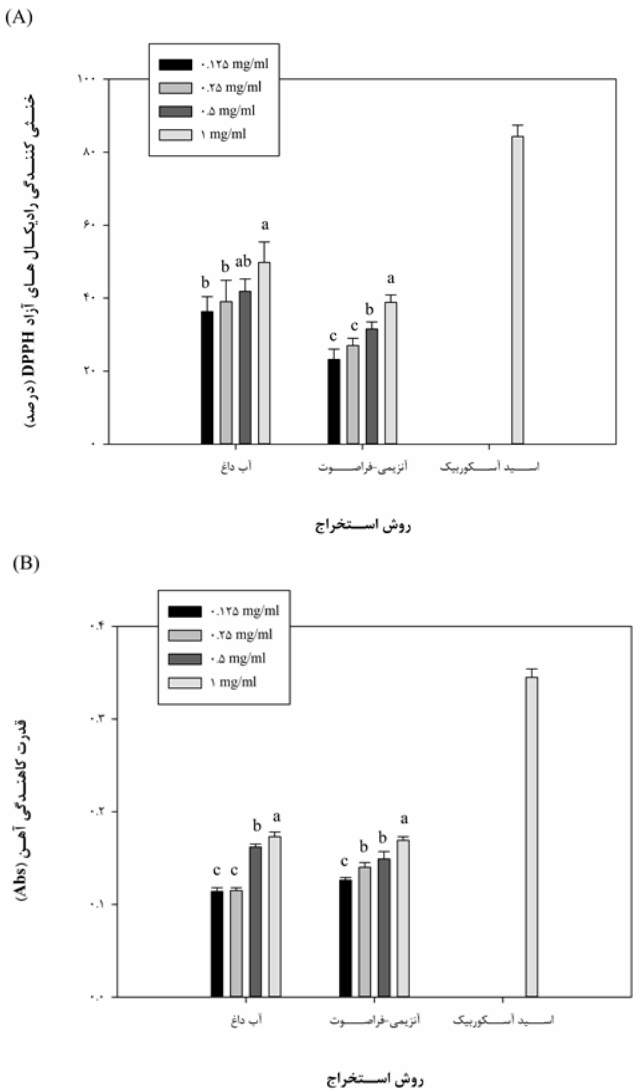
ویژگی‌های ضداکسایشی

فعالیت خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده به روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت در شکل ۳A نشان داده شده است. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود میزان خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH برای پلی ساکاریدهای سولفاته

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

استخراج شده به روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت به ترتیب ۳۶/۲۷-۴۹/۸۱ درصد و ۲۳/۲۰-۳۸/۸۳ درصد برای غلظت‌های ۰/۱۲۵-۱ میلی گرم در میلی لیتر اندازه‌گیری شد. بر این اساس فعالیت خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در نمونه‌های استخراج شده با استفاده از روش آب داغ بیشتر بود. در بین غلظت‌های مختلف فوکوئیدان‌های استخراج شده به روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت، اختلاف معنی‌داری از نظر میزان فعالیت خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH مشاهده شد ($p<0/05$).

قدرت کاهندگی آهن پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده به روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت در شکل ۳B نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود پلی ساکاریدهای استخراج شده به این دو روش قدرت‌های کاهندگی آهن متفاوتی از خود نشان دادند. میزان قدرت کاهندگی آهن در پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده به روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت به ترتیب ۰/۱۱۴-۰/۱۷۳ و ۰/۱۲۶-۰/۱۶۹(جذب) در غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری شد. غلظت‌های مختلف فوکوئیدان‌های استخراج شده بر میزان فعالیت قدرت کاهندگی آهن اثر معنی‌داری داشتند ($p<0/05$).

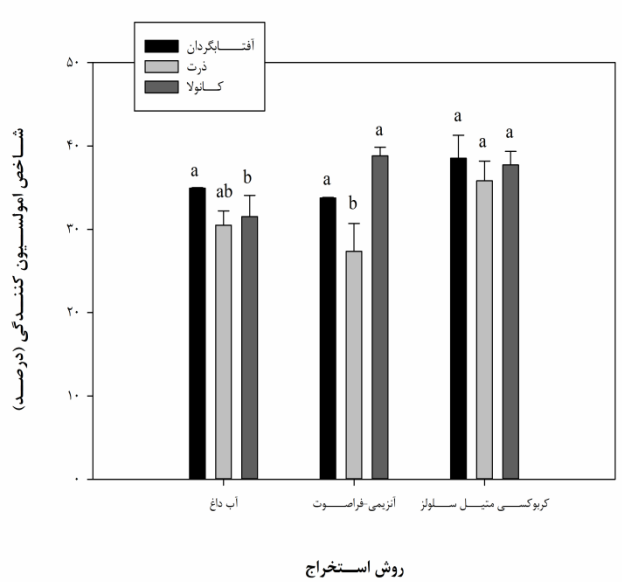


شکل ۳- فعالیت خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH (A) و قدرت کاهندگی آهن (B) فوکوئیدان‌های استخراج شده از جلبک *Sargassum ilicifolium* با استفاده از روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت. داده‌ها به صورت میانگین از سه تکرار با ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف لاتین نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف هر پلی ساکارید می‌باشد ($p<0/05$).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

ویژگی‌های امولسیون کنندگی

شکل ۴ شاخص امولسیون کنندگی پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده به روش‌های آب داغ و آنزیمی–فراصوت را برای روغن‌های آفتابگردان، ذرت و کانولا را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود هر دو پلی ساکارید قادر به امولسیون کردن روغن‌های مورد مطالعه بودند. از بین پلی ساکاریدها، پلی ساکاریدهای استخراج شده به روش آب داغ بیشترین شاخص امولسیون کنندگی را در روغن‌های آفتابگردان (۳۴/۹۳ درصد) و ذرت (۳۰/۴۹ درصد) داشتند، این در حالی است که پلی ساکاریدهای استخراج شده به روش آنزیمی–فراصوت در روغن کانولا شاخص امولسیون کنندگی بیشتری داشتند (۳۸/۸۲ درصد). شاخص امولسیون کنندگی کربوکسی متیل سلولز (بعنوان کنترل مثبت) برای روغن‌های آفتابگردان، ذرت و کانولا به ترتیب ۳۸/۵۳، ۳۵/۸۲ و ۳۷/۷۳ درصد اندازه‌گیری شد. در روغن آفتابگردان بین شاخص امولسیون کنندگی فوکوئیدان-های استخراج شده به روش‌های آب داغ و آنزیمی–فراصوت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$). برعکس، شاخص امولسیون کنندگی فوکوئیدان‌های استخراج شده در روغن‌های ذرت و کانولا اختلاف معنی‌دار داشتند ($p<0/05$).



شکل ۴- فعالیت امولسیون کنندگی فوکوئیدان‌های استخراج شده از جلبک *Sargassum ilicifolium* با استفاده از روش‌های آب داغ و آنزیمی-فراصوت. داده‌ها به صورت میانگین از سه تکرار با ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف لاتین نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین پلی ساکاریدهای مختلف در هر روغن استفاده شده، می‌باشد ($p<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر پلی ساکاریدهای فوکوئیدان جلبک *S. ilicifolium* با استفاده از روش‌های آب داغ و آنزیمی–فراصوت استخراج گردید. در این بین بازده استخراج در روش‌های آب داغ و آنزیمی–فراصوت به ترتیب ۹/۱۵ و ۱۱/۴۹ درصد اندازه‌گیری شد. در مطالعات قبلی، بازده استخراج پلی ساکارید فوکوئیدان خام از گونه‌های مختلف جلبک‌های قهوه‌ای رنج وسیعی نشان داده و بین ۰/۴ تا ۲۶/۳۰ درصد گزارش شده است. بطورکلی تفاوت در میزان بازده استخراج پلی ساکاریدهای فوکوئیدان از گونه‌های مختلف می‌تواند در نتیجه تفاوت در نوع گونه جلبکی، محل رشد جلبک، فصل برداشت جلبک، روش استخراج و خالص سازی باشد [۱۶و۱۷]. در مطالعه حاضر بازده استخراج در روش آنزیمی–فراصوت بیشتر از روش آب داغ بود. بالاتر بودن بازده استخراج پلی ساکارید فوکوئیدان در روش ترکیبی آنزیمی–فراصوت می‌تواند به این علت باشد که ابتدا بخشی از دیواره مواد جلبکی توسط آنزیم آلکالاز شکسته شده و بخشی از پلی ساکاریدها استخراج شود. در ادامه نیز با استفاده از روش فراصوت، حلال به داخل

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

مواد اولیه بیشتر نفوذ کرده و ترکیبات زیست فعال بیشتری استخراج گردد [۱۸]. اثرات هم‌افزایی[1] روش‌های آنزیمی و فراصوت برای استخراج پلی ساکاریدهای *Cucurbita moschata* گزارش شده است [۱۹].

تاکنون روش‌های متعددی برای سنجش ویژگی‌های ضداکسایشی پلی ساکاریدهای فوکوئیدان به کار رفته است. از این روش‌ها می‌توان به خنثی سازی رادیکال‌های آزاد DPPH، ABTS و هیدروکسیل، فعالیت آنتی اکسیدانی کل، کاهندگی آهن و چلاته کنندگی آهن اشاره کرد. در این مطالعه از روش‌های خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت کاهندگی آهن برای سنجش فعالیت ضداکسایشی فوکوئیدان‌های استخراج شده به روش‌های آب داغ و آنزیمی–فراصوت استفاده شد. روش مهار کنندگی رادیکال DPPH برای بررسی توانایی عملکرد ترکیب ضداکسایش اهدا کننده هیدورژن مورد استفاده قرار می‌گیرد. DPPH یک رادیکال پایدار بوده و زمانی که در معرض یک ترکیب ضداکسایش قرار می‌گیرد، یک اتم هیدروژن دریافت کرده و رنگ بنفش خود را از دست می‌دهد [۲۰]. میزان خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH فوکوئیدان‌های استخراج شده در مطالعه حاضر در محدوده ۲۳/۲۰–۴۹/۸۱ درصد اندازه‌گیری شد. در مطالعه Wang و همکاران (۲۰۱۵) [۲۱] میزان خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH فوکوئیدان‌های استخراج شده از جلبک *Sargassum cristaefolium* با استفاده از روش حلالی در غلظت ppm ۱۰۰۰، ۶۰ درصد گزارش شد. در مطالعه دیگری میزان خنثی کنندگی فوکوئیدان‌های جلبک *Sargassum glaucescens* برای رادیکال‌های آزاد DPPH در غلظت ۷ میلی گرم در میلی لیتر ۶۰–۷۰ درصد اندازه‌گیری شد [۱۵]. همچنین میزان خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده از گونه‌های *Sargassum angustifolium* و *Sargassum polycystum* در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر به ترتیب ۲۵ و ۶۱/۲۲ درصد بود [۲۲و۲۳]. میزان قدرت کاهندگی آهن پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده در مطالعه حاضر در محدوده ۰/۱۱۴ تا ۰/۱۷۳ (جذب) در غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری شد. قدرت کاهندگی آهن پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده از جلبک‌های *Laminaria japonica* و *Sargassum glaucescens* در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر به ترتیب ۰/۱۲ و ۰/۷ (جذب) گزارش شد [۱۵و۲۴]. بطور کلی فعالیت‌های ضداکسایشی پلی ساکاریدهای فوکوئیدان تحت تاثیر نوع گونه، نوع روش استخراج و ویژگی‌های ساختاری خود پلی ساکاریدها متغیر می‌باشد [۲۲]. از بین ویژگی‌های ساختاری، میزان محتوی سولفات و وزن مولکولی پلی ساکارید استخراج شده تاثیر بیشتری بر ویژگی‌های ضداکسایشی دارند [۲۵]. در این رابطه با تاثیر وزن مولکولی بر میزان فعالیت ضداکسایشی پلی ساکاریدها نتایج متناقضی توسط محققین دیگر گزارش شده است. بعضی از آنها وزن مولکولی بالاتر را دلیل فعالیت ضداکسایشی بیشتر دانسته‌اند. این در حالی است که برخی دیگر از محققین پایین بودن وزن مولکولی را دلیل بالاتر بودن فعالیت ضداکسایشی عنوان کرده‌اند [۲۶]. اما میزان محتوی سولفات رابطه مستقیمی با میزان فعالیت ضداکسایشی دارد. مطالعات نشان داده است که هرچه میزان گروه سولفات بیشتر باشد وزن مولکولی افزایش و در نتیجه افزایش، فعالیت ضداکسایشی خواهد شد. علاوه بر اینها، ترکیب مونوساکاریدها و نوع انشعابات آنها در زنجیره پلی ساکاریدی نیز می‌توانند بر میزان فعالیت‌های ضداکسایشی پلی ساکاریدها اثرگذار باشند [۲۷].

شاخص امولسیون کنندگی پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده در مطالعه حاضر در محدوده ۲۷/۳۶ تا ۳۸/۸۲ درصد در روغن‌های مختلف اندازه‌گیری گردید. شاخص امولسیون کنندگی فوکوئیدان استخراج شده از جلبک *Sargassum sp.* برای روغن‌های چوب سدر، زیتون، آفتابگردان و ذرت به ترتیب ۷۸/۱۳، ۶۲/۵، ۵۹/۳۸ و ۵۰ درصد گزارش گردید [۵]. در همین مطالعه شاخص امولسیون کنندگی برای کربوکسی میتل سلولز (بعنوان کنترل مثبت) برای روغن‌های یاد شده به ترتیب صفر، ۵۹/۳۸، ۵۹/۳۸ و ۶۲/۵ درصد گزارش شد. در مطالعه دیگری که توسط Saravana و همکاران (۲۰۱۶) [۱۴] انجام شد شاخص امولسیون کنندگی فوکوئیدان استخراج شده از جلبک *Saccharina japonica* به روش حلالی (۰/۰۵ مولار اسید کلریدریک) به میزان ۵۵/۴۷، ۴۶ و ۵۳/۱۴ درصد برای روغن‌های آفتابگردان، سویا و کلزا گزارش شد. در همین مطالعه فوکوئیدان‌های استخراج شده به روش مایع تحت فشار برای روغن‌های ذکر شده به ترتیب ۵۸/۴۲، ۴۷/۶۳ و ۵۵/۷۶ درصد اندازه‌گیری شد. شاخص امولسیون کنندگی فوکوئیدان استخراج شده به روش‌های مختلف از جلبک *Nizamuddinia zanardinii* در محدوده ۲۱/۶۰–

[1] Synergistic

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

۴۴/۴۶ درصد برای روغن‌های آفتابگردان، ذرت و کانولا گزارش گردید [۲۸]. بطورکلی تفاوت در نوع گونه جلبک و ویژگی‌های ساختاری پلی ساکاریدهای فوکوئیدان استخراج شده (مانند وزن مولکولی، گروههای عاملی، ویسکوزیته و ناخالصی‌های پروتئینی و ترکیبات فنولی) می‌تواند باعث تغییر میزان شاخص امولسیون کنندگی پلی ساکاریدها گردد [۲۹]. علاوه بر اینها، غلظت استفاده شده پلی ساکارید برای تهیه امولسیون، نوع ماده هیدروفوب استفاده شده در فرمولاسیون امولسیون، شرایط امولسیون از قبیل درجه حرارت، فشار، pH و قدرت یونی نیز بر میزان ویژگی‌های امولسیون کنندگی پلی ساکاریدها تاثیرگذار هستند [۳۰].

نتیجه گیری نهایی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فوکوئیدان‌های استخراج شده به روش آب داغ دارای فعالیت‌های ضداکسایشی و امولسیون کنندگی بالاتری نسبت به فوکوئیدان‌های استخراج شده به روش آنزیمی–فراصوت داشتند. اما بازده در روش آنزیمی–فراصوت بیشتر بود.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

منابع

[1] Zhang L, Liao W, Huang Y, Wen Y, Chu Y, Zhao C. Global seaweed farming and processing in the past 20 years. Food Production, Processing and Nutrition. 2022; 4: 23.

[2] El-Sheekh BM, Alwaleed EA, Kassem WMA, Saber H. Optimizing the fucoidan extraction using Box-Behnken Design and its potential bioactivity. International Journal of Biological Macromolecules. 2024; 277(3): 134490.

[3] Jayawardena TU, Nagahawatta DP, Fernando IPS, Kim YT, Kim JS, Kim WS, et al. A Review on Fucoidan Structure, Extraction Techniques, and Its Role as an Immunomodulatory Agent. Marine Drugs, 2022; 20(12), 755.

[4] Bak J, Yoo B. Effect of fucoidan on rheological properties of xanthan gum-guar gum mixtures. Food Bioscience, 2024; 59: 104200.

[5] Du B, Zhao Q, Cheng C, Wang H, Liu Y, Zhu F, et al. A critical review on extraction, characteristics, physicochemical activities, potential health benefits, and industrial applications of fucoidan. eFood. 2022; 3(4): e19.

[6] Hans N, Pattnaik F, Malik A, Naik S. Comparison of different green extraction techniques and their influence on chemical characteristics of sulfated polysaccharide (fucoidan) from *Padina tetrastromatica* and *Turbinaria conoides*. Algal Research. 2023; 74: 103199.

[7] Gan A, Baroutian S. Subcritical water extraction for recovery of phenolics and fucoidan from New Zealand Wakame (*Undaria pinnatifida*) seaweed. The Journal of Supercritical Fluids, 2022; 190: 105732.

[8] Rahimi F, Tabarsa M, Rezaei M. Effect of ultrasound-assisted extraction on antioxidant properties of water-soluble sulfated polysaccharides from *Enteromorpha intestinalis*. Journal of Fisheries Science and Technology. 2017; 5(4): 85-98. (In Persain).

[9] Gharanjic BM, Rohani K. Atlas of marine seaweed of the Persian Gulf and Oman sea beaches. Iranian Fisheries Organization. 2010. (In Persain).

[10] Yang C, Chung D, Shin IS, Lee HY, Kim JC, Lee YJ, et al. Effects of molecular weight and hydrolysis conditions on anticancer activity of fucoidans from sporophyll of *Undaria pinnatifida*. International Journal of Biological Macromolecules. 2008; 43(5): 433–437.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[11] Chen S, Chen H, Tian J, Wang J, Wang Y, Xing L. Enzymolysis-ultrasonic assisted extraction, chemical characteristics and bioactivities of polysaccharides from corn silk. Carbohydrate Polymers. 2014; 101: 332–341.
[12] Khajavi S, Tabarsa M, Gavlighi HA, 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(1): 31-45. (In Persain).
[13] Shemami MR, Tabarsa M. Effect of acidic hydrolysis on RAW264.7 macrophage cells stimulation and antioxidant properties of galactofucan from plant *Azolla filiculoides*. Journal of Fisheries Science and Technology. 2021; 10(3): 355-369. (In Persain).
[14] Saravana PS, Cho YJ, Park YB, Woo, HC, Chun BS. Structural, antioxidant, and emulsifying activities of fucoidan from *Saccharina japonica* using pressurized liquid extraction. Carbohydrate Polymers. 2016; 153: 518–525.
[15] Huang CY, Wu SJ, Yang WN, Kuan AW, Chen CY. Antioxidant activities of crude extracts of fucoidan extracted from *Sargassum glaucescens* by a compressional-puffing-hydrothermal extraction process. Food Chemistry. 2016; 197: 1121–1129.
[16] Lim SJ, Aida WMW, Maskat MY, Mamot S, Ropien J, Mohd DM. Isolation and antioxidant capacity of fucoidan from selected Malaysian seaweeds. Food Hydrocolloids. 2014; 42(2): 280–288.
[17] Ale MT, Mikkelsen JD, Meyer A. Designed optimization of a single-step extraction of fucosecontaining sulfated polysaccharides from *Sargassum* sp. Journal of Applied Phycology. 2012; 24(4): 715–723.
[18] Easson MW, Condon B, Dien BS, Iten L, Slopek R, Yoshioka-Tarver M, et al. The application of ultrasound in the enzymatic hydrolysis of switchgrass. Applied Biochemistry and Biotechnology. 2011; 165: 1322–1331.
[19] Wu H, Zhu J, Diao W, Wang C. Ultrasound-assisted enzymatic extraction and antioxidant activity of polysaccharides from pumpkin (*Cucurbita moschata*). Carbohydrate Polymers. 2014; 113: 314–324.
[20] Vijayabaskar P, Vaseela N, Thirumaran G. Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii*. Chinese Journal of Natural Medicines. 2012; 10(6): 421-428.
[21] Wang CY, Wu TC, Hsieh SL, Tsai YH, Yeh CW, Huang CY. Antioxidant activity and growth inhibition of human colon cancer cells by crude and purified fucoidan preparations extracted from *Sargassum cristaefolium*. Journal of Food and Drug Analysis. 2015; 23: 766-777.
[22] Borazjani NJ, Tabarsa M, You S, Rezaei M. Improved immunomodulatory and antioxidant properties of unrefined fucoidans from *Sargassum angustifolium* by hydrolysis. Journal of Food Science Technology. 2017; 54(12): 4016–4025.
[23] Palanisamy S, Vinosha M, Marudhupandi T, Rajasekar P, Prabhu NM. Isolation of fucoidan from *Sargassum polycystum* brown algae: Structural characterization, in vitro antioxidant and anticancer activity. International Journal of Biological Macromolecules. 2017; 102: 405–412.
[24] 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(2): 127–132.
[25] Peasura N, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O, Wanlapa S. Characteristics and antioxidant of *Ulva intestinalis* sulphated polysaccharides extracted with different solvents. International Journal of Biological Macromolecules. 2015; 81: 912-919.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

[26] Sun Y, Hou S, Song S, Zhang B, Ai C, Chen X, et al. Impact of acidic, water and alkaline extraction on structural features, antioxidant activities of *Laminaria japonica* polysaccharides. International Journal of Biological Macromolecules. 2018; 112: 985–995.
[27] Sun Y, Hou S, Song S, Zhang B, Ai C, Chen X, et al. Impact of acidic, water and alkaline extraction on structural features, antioxidant activities of *Laminaria japonica* polysaccharides. International Journal of Biological Macromolecules. 2018; 112, 985 – 995.
[28] Alboofetileh M, Rezaei M, Tabarsa M, Rittà M, Donalisio M, Mariatti F, et al. Effect of different non-conventional extraction methods on the antibacterial and antiviral activity of fucoidans extracted from *Nizamuddinia zanardinii*. International Journal of Biological Macromolecules. 2019; 124: 131–137.
[29] Alboofetileh M, Rezaei M, Tabarsa M, Cravotto G. Cellular antioxidant and emulsifying activities of fucoidan extracted from *Nizamuddinia zanardinii* using different green extraction methods. Journal of Food Processing and Preservation. 2022; 46(12): e17238.
[30] Freitas F, Alves VD, Carvalheira M, Costa N, Oliveira R, Reis MAM. Emulsifying behaviour and rheological properties of the extracellular polysaccharide produced by Pseudomonas oleovorans grown on glycerol byproduct. Carbohydrate Polymers. 2009; 78: 549–556.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume, Issue, Spring 2024
Pages: -

Comparison of antioxidant and emulsifying properties of fucoidan extracted from *Sargassum ilicifolium* using hot water and enzymatic-ultrasound methods

Mehdi Alboofetileh

Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran

A B S T R A C T

Purpose of present study was extraction of fucoidan from *Sargassum ilicifolium* using hot water (HWM) and enzymatic-ultrasonic (EUM) methods and evaluation of its properties. The yield, FT-IR spectra, antioxidant (DPPH radical scavenging and reducing power) and emulsifying properties of extracted fucoidan were evaluated. Results showed that the yield of fucoidan extracted by EUM (11.49%) was higher than those extracted by HWM (9.15%). The FT-IR spectra of both polysaccharides were similar and confirmed the presence of sulphate, hydroxyl and carboxyl groups. Polysaccharides extracted by HWM method showed higher DPPH radical scavenging (36.27-49.81%) and reducing power (0.114-0.173 Abs) activities than those extracted by EUM (23.20-38.83% and 0.126-0.169 Abs). Results also showed that both of the extracted fucoidan were able to emulsify the sunflower, corn, and canola oils. In this regards, fucoidan extracted by HWM showed higher emulsification index (E_{24}) in sunflower (34.93%) and corn oils (30.49%). However, fucoidan extracted by EUM showed higher E_{24} in canola oil (38.82%). The results of the present study showed that the extracted fucoidan possess biological and functional properties and therefore it can be used as an active component in the formulation of nutraceuticals supplements and functional food products.

KEYWORDS: *Sargassum ilicifolium,* Fucoidan, Enzymatic-ultrasonic method, Antioxidant properties, Emulsifying properties

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 10 September 2024
Accepted: 10 november 2024
ePublished: 05 december 2024

* Corresponding Author: Mehdi Alboofetileh
Email address: alboofetileh@areeo.ac.ir
Tel: 07633333329
© Published by Tarbiat Modares University
ISSN: 2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-12]