**مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران**
**سال شانزدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰، صفحات ۷۴-۶۱**

# استخراج پلی‌ساکارید فوکوییدان از جلبک قهوه‌ای دریایی گونه *Nizimuddinia Zanardini* به کمک مایکروویو و ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی و آنتی‌اکسیدانی آن

پیام ترابی دستگردوئی[۱]، ناصر همدمی[۲]، جواد کرامت[۲]

۱- نویسنده مسئول: فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، اصفهان، ایران
پست الکترونیک: p.torabi@ag.iut.ac.ir

۲- دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/۷/۴

## چکیده

**سابقه و هدف:** در دهه گذشته پلی‌ساکاریدهای سولفاته غنی از فوکوز (فوکوییدان) به علت فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع خود، از جمله فعالیت ضد انعقادی، ضد ویروس، ضد تومور، ضد التهاب، ضد چربی خون، آنتی‌اکسیدان، اثرات محافظتی بر معده و پتانسیل درمانی در جراحی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این پژوهش از مایکروویو به عنوان یک انرژی سبز و یک فناوری بسیار کارآمد و مؤثر در زمینه استخراج ترکیبات زیست فعال برای استخراج پلی‌ساکارید فوکوییدان از جلبک بومی سواحل جنوبی کشور (*Nizimuddinia Zanardini*) استفاده گردید و اثر مایکروویو بر ترکیب شیمیایی و قدرت آنتی‌اکسیدانی فوکوییدان مورد ارزیابی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** پلی‌ساکارید فوکوییدان تحت شرایط بهینه شده از نظر توان مایکروویو، مدت زمان استخراج و درجه حرارت فرآیند استخراج گردید. سپس ویژگی‌های آن شامل راندمان استخراج، درصد فوکوز، درصد سولفات، درصد اورونیک اسید و توانایی مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت. همچنین از طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز در دمای اتاق در طول موج ۴۰۰ بر سانتی‌متر تا ۴۰۰۰ بر سانتی‌متر برای بررسی گروه‌های عاملی استفاده گردید.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که تیمار مایکروویو در بهبود راندمان استخراج فوکوییدان موثر واقع شده است. راندمان استخراج فوکوییدان تحت مایکروویو ۳/۷۱ ٪ و به روش معمول ۲/۳۵ ٪ بدست آمد. همچنین محتوای فوکوز به عنوان قند اصلی تشکیل دهنده ساختار فوکوییدان تحت مایکروویو (۳۳/۱۷ ٪) نسبت به روش معمول (۲۹/۵ ٪) افزایش معنی‌دار داشت که نشان دهنده تخریب حرارتی کمتر ساختار پلی‌ساکارید تحت مایکروویو است. همچنین مایکروویو به دلیل ایجاد پلی‌ساکارید با زنجیره کوتاه‌تر موجب بهبود قدرت آنتی‌اکسیدانی گردید.

**نتیجه‌گیری:** پلی‌ساکارید سولفاته فوکوییدان بوسیله فرآیند استخراج تحت مایکروویو در مدت زمان بسیار کوتاه‌تر نسبت به روش معمول استخراج با راندمان بالاتر و تخریب حرارتی کم‌تر استخراج گردید. علاوه بر این مدت زمان کوتاه‌تر موجب گردید میزان مصرف حلال کاهش پیدا کند.

**واژگان کلیدی:** فوکوییدان، استخراج، مایکروویو، خواص آنتی‌اکسیدان، جلبک قهوه‌ای دریایی

## • مقدمه

**فوکوییدان:** فوکوییدان اصطلاحی است که برای گروهی از پلی‌ساکاریدهای سولفاته و غنی از قند فوکوز که در دیواره سلولی و فضاهای بین سلولی جلبک‌های قهوه‌ای دریایی حضور دارند، به کار برده می‌شود. فوکوییدان، پلی‌ساکارید حاوی مقادیر قابل توجهی از قند ال- فوکوز و گروه‌های استری سولفات است که در جلبک قهوه‌ای دریایی و برخی از بی‌مهرگان دریایی (مانند توتیای دریایی و خیار دریایی) یافت می‌شود (۱). همچنین ممکن است حاوی گالاکتوز، مانوز، زایلوز، گلوکز و یا گلوکورونیک اسید در مقادیر جزئی باشد (۲). به طور کلی اعتقاد بر این است که نقش فوکوییدان در جلبک دریایی، جلوگیری از خشک شدن جلبک به هنگام قرار گرفتن در معرض هوا، زمانی که بالاتر از سطح آب قرار دارند است. برخی از مطالعات وجود رابطه بین محتوای فوکوییدان و عمقی که جلبک در آن رشد می‌کند را نشان داده‌اند. محتوای

فوکوییدان در منطقه ساحلی زیاد و در نواحی زیر خط آب کم می‌باشد. این تفاوت به دلیل نقش حفاظت در برابر کمبود آب است. علاوه بر این، فوکوییدان ثبات دیواره سلولی جلبک را افزایش داده و در تشکیل ساختار و شکل ظاهری رویان جلبک شرکت می‌کند (۳). علاوه بر این، نقش فوکوییدان در بارور کردن توتیای دریایی و حفظ یکپارچگی دیوار پیکره خیار دریایی شناخته شده است. فوکوییدان اولین بار در سال ۱۹۱۳ از جلبک دریایی قهوه ای توسط Kylin استخراج شد و فوکوییدین نام گذاری شد (۴). اکنون طبق قوانین اتحادیه بین المللی شیمی محض و کاربردی (IUPAC) با عنوان فوکوییدان نامگذاری شده است، اما توسط بعضی پژوهشگران نیز فوکان، فوکوزان یا فوکان سولفاته نامیده می‌شود (۵). در دهه گذشته فوکوییدان استخراج شده از گونه‌های مختلف جلبک قهوه‌ای دریایی فعالیت‌های بیولوژیکی متنوعی از خود نشان دادند، از جمله فعالیت ضد انعقادی (۶)، ضد ویروس (۷)، ضد تومور و ایمن‌سازی بدن (۸)، ضد التهاب (۹) و آنتی‌اکسیدان (۱۰). همچنین در برابر اختلالات کلیوی و کبدی از خود اثر محافظتی نشان می‌دهد (۱۱). در مقایسه با دیگر پلی‌ساکاریدهای سولفاته، فوکوییدان به طور گسترده‌ای در انواع مختلفی از منابع ارزان در دسترس است، بنابراین در سال‌های اخیر به منظور توسعه داروها یا غذاهای کاربردی، فوکوییدان بیشتر مورد بررسی قرار گرفته است (۱۲). فوکوییدان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی بسیار ارزشمند است و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارد. پلی‌ساکاریدهای سولفاته استخراج شده از جلبک‌های دریایی *Porphyra haitanesis* (۱۳)، *Ulva pertusa* (۱۴)، *F. vesiculosus* (۱۵) و *Laminaria japonica* (۱۶) فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی از خود نشان داده‌اند. فوکوییدان سیستم ایمنی بدن را از چندین طریق برانگیخته می‌کند، و اثرات بیولوژیکی متعدد آن به توانایی در تغییر خصوصیات سطح سلول مربوط می‌شود. ورود فوکوییدان به رژیم غذایی از طریق مصرف خوراکی‌های جلبک قهوه‌ای دریایی، از طریق مهار مستقیم تکثیر ویروس و تحریک عملکرد سیستم ایمنی اثرات محافظتی دارد (۷).

**استخراج تحت امواج مایکروویو:** امواج مایکروویو امواجی الکترومغناطیس با فرکانسی بین ۳۰۰ مگاهرتز تا ۳۰۰ گیگاهرتز و طول موجی بین ۱ میلی‌متر تا ۱۰۰ سانتی‌متر هستند. گرمایش مایکروویو در مواد دی الکتریک به علت قطبش مولکول‌های آب توسط تابش پرتو الکترومغناطیس رخ می‌دهد. مایکروویو انرژی را به مواد به وسیله سه مکانیسم پلاریزاسیون دو قطبی، هدایت یونی و پلاریزاسیون موازی انتقال می‌دهد و باعث تولید بسیار سریع حرارت می‌شود. اگر یک مولکول دو قطبی باشد مانند آب، زمانی که در معرض تابش مایکروویو قرار می‌گیرد، مولکول دو قطبی تلاش می‌کند تا با میدان الکتریکی همسو شود. در فرکانس ۲/۴۵ گیگا هرتز، مولکول‌ها زمان کافی برای هماهنگی با میدان الکتریکی را دارند، اما به درستی میدان نوسان کننده را دنبال نمی‌کنند. این تغییر مداوم مولکول‌ها، موجب ایجاد اصطکاک شده و در نتیجه حرارت تولید می‌شود. اگر یک مولکول دارای بار باشد، میدان الکتریکی مایکروویو، یون‌ها را به عقب و جلو در نمونه به حرکت در می‌آورد، که باعث برخورد آنها با یکدیگر و تولید حرارت می‌شود، این مکانیسم هدایت یونی نام دارد (۱۷). مبانی فرآیند استخراج تحت امواج مایکروویو متفاوت از روش‌های معمول است زیرا استخراج به دلیل تغییر در ساختار سلولی ناشی از امواج الکترومغناطیسی رخ می‌دهد. علاوه بر این، گرچه در استخراج‌های معمول، گرما از منبع گرمایش به داخل نمونه منتقل می‌شود، در سیستم استخراج تحت مایکروویو گرما در محدوده تابشی به صورت حجمی پراکنده می‌شود. هنگامی که امواج مایکروویو با رطوبت موجود در داخل ماتریس سلولی در تماس قرار می‌گیرد، به دلیل ایجاد گرمایش تبخیر اتفاق می‌افتد و فشار شدیدی بر دیواره سلولی ایجاد می‌کند، که باعث پارگی سلول و آزاد شدن ترکیبات زیست فعال می‌شود. با انتخاب دقیق شرایط فرآیند مانند دما، فشار و توان مایکروویو به راندمان بالاتری دست یافت زیرا افزایش دما باعث نفوذ سریع‌تر حلال در ماتریس سلول می‌شود (۱۸). مایکروویو به دلیل پتانسیل بالا برای استخراج ترکیبات زیست فعال در مدت زمان کوتاه و توانایی آن در دستیابی به محصول نهایی خالص (به عنوان مثال روغن‌ها، آنتی اکسیدان‌ها، رنگدانه‌ها و سایر موارد) می‌تواند به اهداف شیمی سبز دست یابد. مایکروویو با کاهش زمان مورد نیاز برای استخراج ترکیبات زیست فعال نه تنها باعث مصرف کمتر حلال می‌شود بلکه محصول نهایی را از تخریب بیشتر محافظت می‌کند. علاوه بر این، مایکروویو می‌تواند در مقیاس صنعتی مورد استفاده قرار گیرد که این امر تأثیر مثبتی بر سودآوری صنایع خواهد داشت زیرا راندمان استخراج در مقایسه با روش‌های معمولی بیشتر است (۱۹).

علاوه بر مایکروویو فناوری‌های دیگری نیز جهت استخراج ترکیبات زیست فعال مورد توجه هستند. از جمله آنها می‌توان به فناوری فراصوت، سیال فوق بحرانی، میدان الکتریکی پالسی، تیمار آنزیمی، تیمار الکتریکی ولتاژ بالا، فرکانس رادیویی و چندین فناوری دیگر اشاره کرد. تاکنون در مطالعات

متعددی از فناوری‌های نوین جهت استخراج پلی‌ساکارید فوکوییدان از جلبک‌های دریایی استفاده شده است. Alboofetileh و همکاران (۲۰۱۹) اثر تیمارهای مختلف را بر راندمان استخراج و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی فوکوییدان جلبک دریایی گونه *Nizimuddinia Zanardini* بررسی کردند. تیمارهای مورد مطالعه شامل تیمار فراصوت (توان ۲۰۰ وات، فرکانس ۲۰ کیلوهرتز، دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و دو سیکل زمانی ۲۰ دقیقه)، تیمار مایکروویو (توان ۷۰۰ وات، دمای ۹۰ درجه سانتیگراد و دو سیکل زمانی ۲۰ دقیقه)، تیمار سیال فوق بحرانی (توان ۱۵۰۰ وات، دمای ۱۵۰ درجه سانتیگراد و دو سیکل زمانی ۱۰ دقیقه) و تیمار آب داغ (دمای ۶۵ درجه سانتیگراد و دو سیکل زمانی ۳ ساعته) بودند. طبق نتایج بدست آمده، بیشترین (۱۳/۱۵ درصد) و کمترین (۳/۶ درصد) راندمان استخراج فوکوییدان به ترتیب توسط سیال فوق بحرانی و تیمار فراصوت بدست آمد. همچنین راندمان استخراج تحت تیمار مایکروویو ۶/۱۷ ٪ ارزیابی گردید. روش‌های مختلف استخراج منجر به بدست آوردن فوکوییدان با ترکیب شیمیایی و وزن مولکولی متفاوت شد. فوکوییدان استخراج شده توسط مایکروویو و سیال فوق بحرانی مانع از رشد *E. coli* شدند (۲۰).

**هدف پژوهش:** جلبک‌های دریایی به دلیل سرعت رشد بالا، عدم نیاز به آبیاری و زمین زراعی، توانایی در پاکسازی آلودگی‌های دریایی و جذب کربن دی اکسید، در حال تبدیل شدن به یک منبع بسیار با ارزش و جذاب برای انسان می‌باشند. علاوه بر این ویژگی‌های منحصر به فرد از آنها می‌توان جهت تولید سوخت زیستی، استخراج کربوهیدارت‌ها و ترکیبات ارزشمند دیگر استفاده کرد. در سال‌های اخیر استخراج پلی‌ساکاریدهای سولفاته نظیر فوکوییدان از جلبک‌های قهوه‌ای به دلیل داشتن ویژگی‌ها و فعالیت‌های بیولوژیکی منحصر به فرد بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در ایران سواحل جنوبی کشورمان به ویژه سواحل دریای عمان منبع عظیمی از جلبک‌های دریایی می‌باشد که گرچه تاکنون تحقیقات زیادی در زمینه شناسایی جلبک‌ها انجام گرفته است ولی توجه به ابداع روش‌های نوین جهت استخراج مواد با ارزش چون فوکوییدان و همچنین استحصال سوخت زیستی و دیگر ترکیبات با ارزش، چندان مورد توجه قرار نگرفته است. جلبک *Nizimuddinia Zanardini* در سواحل جنوبی کشور و در سه فصل سال به فراوانی یافت می‌شود. تحقیقات در مورد استخراج فوکوییدان از این گونه جلبک بسیار محدود و ابتدایی می‌باشد. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، استفاده از دانش مهندسی جهت توسعه فناوری مایکروویو برای استخراج فوکییدان از جلبک قهوه‌ای دریایی بومی سواحل ایران می‌باشد.

## • مواد و روش‌ها

**مواد:** آب دیونیزه، اتانول ۹۶٪ (زیست فرآورده سپاهان)، آسکوربیک اسید (Sigma-Aldrich)، سولفوریک اسید (۹۸٪≤، Merck)، هیدروکلریدریک اسید (۳۷٪≤، Merck)، ایزوپروپیل الکل (۹۹٪≤، Merck)، سیستئین هیدروکلراید (۹۸٪≤، Sigma-Aldrich)، اتانول ۷۰٪ (زیست فرآورده سپاهان)، ال-فوکوز (۹۹٪≤، Sigma-Aldrich)، باریم کلراید (۹۹٪≤، Sigma-Aldrich)، سدیم کلراید (۹۹٪≤، Sigma-Aldrich)، گلیسرول (۹۹٪≤، Sigma-Aldrich)، اتانول خالص (۹۹٪≤، Merck)، بنزوئیک اسید (۹۹٪≤، Merck)، اسید گلوکورونیک (۹۸٪≤، Sigma-Aldrich)، پتاسیم سولفات، سدیم تترا بورات (۹۹٪، Sigma-Aldrich)، سدیم هیدروکسید (۹۷٪≤، Merck)، کربازول (۹۵٪≤، Sigma-Aldrich)، متانول (۹۹٪، Merck)، DPPH (۹۸٪≤، Sigma-Aldrich).

**دستگاه‌ها:** آون فن‌دار (شرکت Memert، آلمان)، آون خلا (شرکت Fine Tech، کره جنوبی)، اسپکتروفوتومتر (شرکت کام اسپکت مدل M350، انگلستان)، هیتر استیرر (شرکت IKA، آلمان)، ترازوی آزمایشگاهی (شرکت Sartorius با دقت ۰/۰۰۰۱، آلمان)، حمام آب (شرکت Memert، آلمان)، سیستم استخراج تحت امواج مایکروویو (پایان نامه کارشناسی ارشد پیام ترابی، سال ۱۳۹۷)، دستگاه طیف سنجی مادون قرمز (Tensor27، ایالات متحده آمریکا)، دسیکاتور (شرکت Duran، آلمان)، ورتکس (شرکت IKA، آلمان).

**تهیه و آماده‌سازی جلبک دریایی:** جلبک قهوه‌ای گونه *Nizimuddinia zanardini* اواخر اسفند ۱۳۹۵ و اوایل فروردین ماه ۱۳۹۶ از سواحل بندر چابهار توسط مرکز تحقیقات شیلاتی آب‌های دور جمع‌آوری شده و جهت حذف شن و ناخالصی‌ها شست و شو داده شد و زیر نور آفتاب خشک گردید. پس از انتقال جلبک‌های خشک شده به اصفهان، توسط آسیاب مکانیکی پودر شده و بوسیله مش با اندازه حفرات ۲۵۰ تا ۱۴۰۰ میکرومتر برای رسیدن به نسبت سطح به حجم مناسب الک گردید. پودر جلبک آسیاب شده در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان آزمایشات نگهداری شد.

**استخراج فوکوییدان:** ۲۰ گرم پودر جلبک خشک شده دوبار در ۴۰۰ میلی لیتر اتانول خالص به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق جهت حذف ترکیبات ناخواسته (مثل پروتئین و ترکیبات

فنولیک) تحت هم زدن ثابت قرار گرفت. سپس زیست توده جلبک با آب مقطر شست و شو داده شده و در آون خلا با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید. در ادامه زیست توده جلبک دریایی مطابق با شرایط بهینه گزارش شده در پایان نامه ترابی (۲۰۱۹) با نسبت حلال/ جلبک ۲۰ میلی‌لیتر/گرم به مدت ۲۰ دقیقه در هیدروکلریدریک اسید ۰/۱ مولار تحت امواج مایکروویو با توان ۴۰۰ وات و دمای ۶۰ درجه سانتیگراد در سیستم استخراج تحت مایکروویو استخراج گردید (۲۱). همچنین به منظور استخراج فوکوییدان به روش معمول استخراج، زیست توده جلبک دریایی با نسبت حلال/ جلبک ۲۰ میلی‌لیتر/گرم به مدت ۱۶۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد (هیتر استیرر) تیمار شد. مخلوط حاصل در ظرف یخ سرد شده و توسط تیتراسیون با سدیم هیدروکسید ۲ مولار، pH آن تا ۷ افزایش یافت و خنثی گردید. سپس فاز رسوب بوسیله فیلتر خلا جداسازی شد. سوپرناتانت با دو حجم اتانول خالص در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت یک شب جهت رسوب فوکییدان تیمار شد. رسوب حاصل توسط سانتریفیوژ (۷۰۰۰ g) به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس جداسازی گردیده و جهت خالص سازی جمع آوری شد. فوکوییدان جداسازی شده با اتانول ۷۰ درصد دوبار شست و شو داده شده و در نهایت در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد در آون خلا خشک گردید (۲۲).

**اندازه‌گیری درصد اورونیک اسید:** واکنشگر سدیم تترا بورات ( ۰/۰۲۵ مولار) با حل کردن ۰/۵۰۳ گرم سدیم تترا بورات در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد تهیه شد و به مدت یک شب تحت هم زدن ثابت قرار گرفت. محلول ۰/۱۲۵ درصد کربازول با حل کردن ۰/۱۲۵ گرم کربازول در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول خالص در یک ظرف شیشه‌ای تیره تهیه شد و تا زمان نیاز در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. ۳ میلی‌لیتر محلول سدیم تترابورات به لوله‌های شیشه‌ای درب دار اضافه شد و در ظرف یخ سرد گردید، سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه‌های آماده‌سازی شده با غلظت ۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر در بنزوئیک اسید اشباع به آرامی به لوله‌ها اضافه شد. لوله‌ها به شدت هم زده شده و سریعا در ظرف یخ به مدت ۵-۱۰ ثانیه سرد شدند. سپس لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش تیمار شدند و پس از آن تا دمای اتاق سرد گردیدند. ۰/۱ میلی‌لیتر محلول کربازول به لوله‌ها اضافه شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش تیمار شدند. پس از آن لوله‌ها تا دمای اتاق سرد شدند و جذب در ۵۳۰ نانومتر پس از صفر کردن در مقابل نمونه شاهد (مشابه با نمونه‌ها تهیه گردید) خوانده شد. دی-گلوکورونیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد (۲۲).

**اندازه‌گیری درصد فوکوز:** درصد قند فوکوز در پلی‌ساکارید فوکوییدان به روش سیستئین-سولفوریک اسید اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها با غلظت ۱۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر در آب دیونیزه تهیه شدند. ۱ میلی‌لیتر از نمونه در لوله آزمایش قرار گرفت و در ظرف یخ سرد شد. ۴/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک رقیق شده ( ۶ میلی‌لیتر سولفوریک اسید و ۱ میلی‌لیتر آب) به لوله حاوی نمونه اضافه گردید و به شدت هم زده شد. سپس نمونه در آب ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه گرم شده و پس از آن به مدت ۴ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. نمونه‌ها سرد گردیده و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد سیستئین هیدروکلراید به آنها اضافه گردید و به شدت هم زده شدند. جذب اصلی از حاصل تفریق جذب در۳۹۶ و ۴۲۷ نانومتر بدست آمد. ال-فوکوز به عنوان استاندارد جهت رسم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت (۲۲).

**اندازه‌گیری درصد سولفات:** اندازه‌گیری درصد سولفات در پلی‌ساکارید فوکوییدان براساس اندازه‌گیری باریم سولفات با استفاده از باریم کلراید انجام شد. محلول واکنشگر با ترکیب کردن ۵۰ میلی‌لیتر گلیسرول، ۳۰ میلی‌لیتر هیدروکلریدریک اسید غلیظ، ۳۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۱۰۰ میلی‌لیتر ایزوپروپیل الکل و سدیم کلراید تهیه گردید و به مدت یک شب تحت هم زدن قرار گرفت. نمونه‌ها با حل کردن ۱۵ میلی‌گرم فوکوییدان در ۵ میلی‌لیتر هیدروکلریدریک اسید ۴ مولار تهیه شد. نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس تیمار شدند. سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول واکنشگر به نمونه‌ها اضافه گردید و به شدت هم زده شدند. پس از آن ۰/۳ گرم باریم کلراید به نمونه‌ها اضافه گردید و به مدت ۱ دقیقه تحت هم زدن قرار گرفتند و سپس به مدت ۴-۶ دقیقه اجازه داده شد تا باریم سولفات رسوب کند. جذب در ۴۲۰ نانومتر خوانده شد. پتاسیم سولفات به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت (۲۲).

**درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH:** توانایی فوکوییدان در مهار کردن رادیکال آزاد ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور غلظت‌های مختلفی از پلی‌ساکارید (۰/۲-۱۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) در آب دیونیزه تهیه شد. یک میلی‌لیتر از محلول نمونه به یک میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH در متانول اضافه گردید و به شدت هم زده شد. پس از آن محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی انکوبه

گذاری شد. درنهایت جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۲۳).

$$\text{درصد مهارکنندگی} = \left(1 - \left(\frac{\text{جذب نمونه}}{\text{جذب کنترل}}\right)\right) \times 100$$

**طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز:** یک میلی‌گرم از پلی‌ساکارید خشک شده در ۱۰۰ میلی‌گرم پتاسیم برماید حل شده و به صورت قرص درآمد. طیف مادون قرمز در دمای اتاق در طول موج ۴۰۰ بر سانتی‌متر تا ۴۰۰۰ بر سانتی‌متر ثبت گردید (۲۳). نمودار FT-IR با استفاده از نرم افزار GraphPad Prism نسخه ۸/۳ رسم گردید.

**طرح آماری:** به منظور بررسی تأثیر روش استخراج (مایکروویو و روش معمول) بر راندمان استخراج فوکوییدان، ترکیب شیمیایی آن (درصد اورونیک اسید، درصد فوکوز و درصد سولفات) و همچنین قدرت آنتی‌اکسیدانی فوکوییدان از طرح کاملا تصادفی استفاده شد و جداول تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ تهیه گردید. به منظور مقایسه میانگین در صورت معنی‌دار بودن، از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

## • یافته‌ها

**راندمان استخراج فوکوییدان:** به منظور مقایسه راندمان استخراج فوکوییدان تحت مایکروویو با روش معمول استخراج تیمارها در سه تکرار انجام شدند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس در جدول ۱ آمده است. طبق آنالیز واریانس انجام شده بین دو روش، تأثیر روش استخراج بر راندمان فوکوییدان در سطح اطمینان ۹۹/۹ درصد معنی‌دار گردید. راندمان استخراج فوکوییدان در روش معمول ۲/۳۵ ٪ و مدت زمان لازم برای رسیدن به این راندمان ۱۶۰ دقیقه تیمار اسیدی در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد بود. تحت تیمار مایکروویو راندمان استخراج ۳/۷۱ ٪ بدست آمد که نسبت به روش معمول ۳۶/۶۶ درصد افزایش پیدا کرد و مدت زمان استخراج نیز ۸۷/۵ درصد کاهش داشت (جدول ۲).

**درصد اورونیک اسید فوکوییدان:** میزان اورونیک اسید در فوکوییدان نقش بسیار مهمی در فعالیت ضد انعقادی دارد زیرا اورونیک اسید با افزایش انعطاف پذیری زنجیره پلیمری عملکرد ضد انعقادی را بهبود می‌بخشد (۲۵). علاوه بر این، حضور اورونیک اسید در ترکیب شیمیایی فوکوییدان نشان دهنده استخراج شدن آلژینات به همراه فوکوییدان است. بنابراین محتوای اورونیک اسید به عنوان ناخالصی در نظر گرفته می‌شود. طبق نتایج تأثیر روش استخراج بر محتوای اورونیک اسید در سطح اطمینان ۹۹/۹ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). درصد اورونیک موجود در فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو از روش معمول استخراج بیشتر بود. این میزان تحت مایکروویو ۱۶/۲۶٪ و برای روش معمول ۱۴/۵۷ ٪ بدست آمد (جدول ۲).

**درصد فوکوز و سولفات فوکوییدان:** درصد فوکوز فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو و روش معمول به روش سیستئین-سولفوریک اسید در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت و از منحنی استاندارد ال-فوکوز جهت کالیبراسیون استفاده شد. در روش استخراج معمول، محتوای فوکوز فوکوییدان ۲۹/۵۰ ٪ و برای فوکوییدان استخراج شده در نقطه بهینه مایکروویو ۳۳/۱۷ ٪ بدست آمد (جدول ۲). تأثیر روش استخراج بر درصد فوکوز در سطح اطمینان ۹۹/۹ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱).

درصد سولفات فوکوییدان استخراج شده به روش استخراج معمول ۲۴/۴۶ ٪ بود و برای نقطه بهینه مایکروویو ۲۴/۵۵ ٪ بدست آمد (جدول ۲). طبق آنالیز واریانس انجام شده بین این دو روش، تأثیر روش استخراج بر درصد سولفات معنی‌دار نشد (جدول ۱).

**جدول ۱.** نتایج تجزیه واریانس مقایسه ویژگی‌های فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو و به روش معمول استخراج

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | راندمان استخراج | درصد اورونیک اسید | درصد فوکوز | درصد سولفات |
| روش استخراج | ۱ | ۱/۹۹۵۲۷*** | ۴/۲۵۰۴۲*** | ۲۰/۱۳*** | ۰/۰۱۱۲۷ns |
| خطا | ۴ | ۰/۰۳۴۱۷ | ۰/۰۱۷۸۸ | ۰/۰۶۸۱ | ۰/۰۹۵۳۸ |

*** معنی دار در سطح اطمینان ۹۹/۹ درصد است.

**جدول ۲.** نتایج مقایسه میانگین تأثیر روش استخراج بر ویژگی‌های فوکوییدان

| ویژگی | روش استخراج | |
|---|---|---|
| | مایکروویو | روش معمول |
| راندمان استخراج | ۳/۷۱$^{A}$±۰/۱۷ | ۲/۳۵$^{B}$±۰/۱۹ |
| درصد اورونیک اسید | ۱۶/۲۶$^{A}$±۰/۱۶ | ۱۴/۵۷$^{B}$±۰/۱ |
| درصد فوکوز | ۳۳/۱۷$^{A}$±۰/۲۲ | ۲۹/۵$^{B}$±۰/۳ |
| درصد سولفات | ۲۲/۵۵$^{A}$±۰/۱۸ | ۲۲/۴۶$^{A}$±۰/۴ |

حروف بزرگ مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار در سطح اطمینان ۹۹/۹ درصد است.
اعداد، میانگین ± انحراف معیار (سه تکرار) می‌باشند.

**درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH:** گونه‌های اکسیژن فعال شامل آنیون سوپر اکسید، رادیکال هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن، اکسیژن منفرد و اکسید نیتریک هستند. به طور کلی، سطح پایین گونه‌های اکسیژن فعال، بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی را که برای تقسیم سلولی مورد نیاز هستند تنظیم می‌کند. در حالی که مقادیر بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال، هومئوستازی را مختل می‌کند و باعث تخریب لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود که این پدیده منجر به بیماری‌های مختلف فیزیولوژیکی از جمله سرطان، دیابت، بیماری‌های عصبی، بیماری‌های التهابی و بیماری‌های مرتبط با پیری می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها بدن را در برابر گونه‌های اکسیژن فعال محافظت می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌های رایج شامل BHA، BHT و TBHQ ترکیباتی سمی هستند و ممکن است سرطان‌زا باشند. فوکوییدان به عنوان یک پلی‌ساکارید طبیعی، یک مهارکننده گونه‌های اکسیژن فعال است (۲۴). توانایی فوکوییدان در مهار کردن رادیکال آزاد ۲،۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است. از احیای آن به DPP-H توسط یک ترکیب پروتون دهنده به عنوان شاخصی برای ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود. در پژوهش‌های پیشین گزارش شده است که قدرت آنتی‌اکسیدانی فوکوییدان از توانایی آن در اهدای اتم H به رادیکال آزاد ۲،۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (بنفش) و درنتیجه تشکیل ۲،۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (زرد) ناشی می‌شود (۲۵). توانایی فوکوییدان استخراج شده از جلبک *N. zanardini* تحت مایکروویو و به روش معمول استخراج در مهار کردن رادیکال آزاد در غلظت‌های مختلف (۰/۵-۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) مورد بررسی قرار گرفت. به منظور مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی فوکوییدان با آنتی‌اکسیدان‌های رایج در صنایع، از آسکوربیک اسید به عنوان نمونه استاندارد استفاده شد. تأثیر تیمار در غالب یک طرح کاملا تصادفی آنالیز شد. طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول۳)، تأثیر تیمار بر قدرت آنتی‌اکسیدانی در سطح اطمینان ۹۹/۹ درصد معنی‌دار شد.

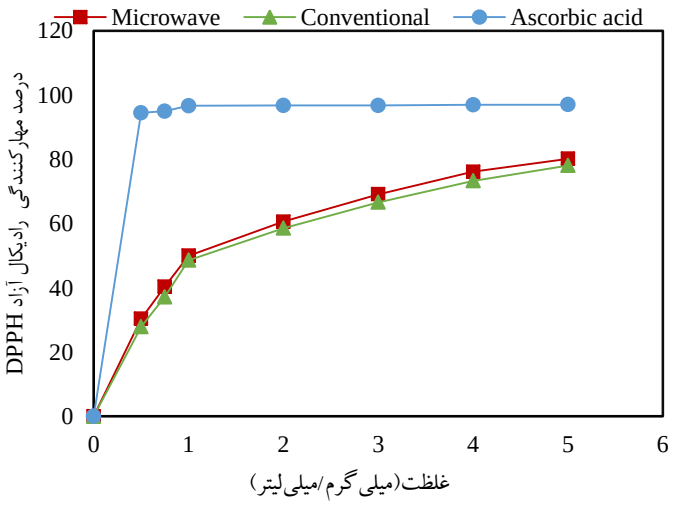
**جدول ۳.** نتایج تجزیه واریانس مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی فوکوییدان

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات |
|---|---|---|
| تیمار | ۲۰ | ۱۷۱۴/۱۹*** |
| خطا | ۴۲ | ۰/۰۵ |

***معنی دار در سطح اطمینان ۹۹/۹ درصد است.

درصد مهارکنندگی فوکوییدان استخراج شده به روش معمول از ۲۷/۸۵ ٪ در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر تا ۷۸/۰۸ ٪ در غلظت ۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر متغیر بود. این مقدار برای فوکوییدان استخراج شده به روش مایکروویو به ترتیب برابر با ۳۰/۳۸ و ۸۰/۱۵ ٪ بود (جدول ۴).

همان طور که انتظار می‌رفت با افزایش غلظت فوکوییدان در متانول، توانایی آن در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد افزایش یافت (شکل۱).




**شکل ۱.** بررسی روند تغییرات قدرت آنتی‌اکسیدانی پلی‌ساکارید فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو و به روش معمول و آسکوربیک اسید با افزایش غلظت

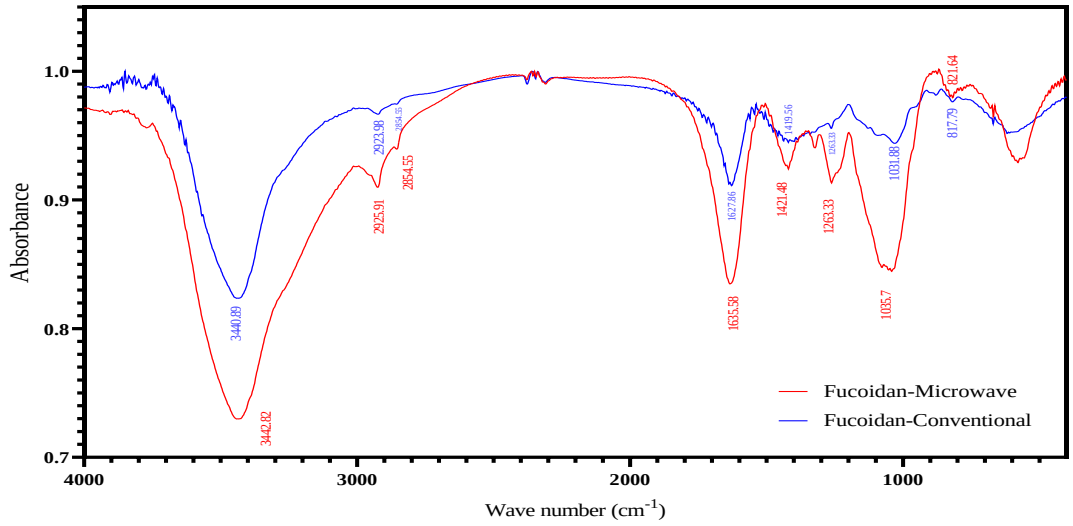
**جدول ۴.** نتایج مقایسه میانگین تأثیر تیمار بر قدرت آنتی‌اکسیدانی فوکوییدان و مقایسه آنها با آسکوربیک اسید

| نمونه | غلظت (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۰/۵ | ۰/۷۵ | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ |
| مایکروویو | ۳۰/۳۸$^{O}$±۰/۱۹ | ۴۰/۳۸$^{M}$±۰/۱۴ | ۴۹/۹۹$^{K}$±۰/۱۹ | ۶۰/۶۰$^{I}$±۰/۳۲ | ۶۹/۱۱$^{G}$±۰/۲۲ | ۷۶/۱۵$^{E}$±۰/۲۱ | ۸۰/۱۵$^{C}$±۰/۱۹ |
| روش معمول | ۲۷/۸۵$^{P}$±۰/۳۲ | ۳۷/۱۸$^{N}$±۰/۱۴ | ۴۸/۵۸$^{L}$±۰/۱۹ | ۵۸/۵۳$^{J}$±۰/۲۷ | ۶۶/۶۱$^{H}$±۰/۳۲ | ۷۳/۲۹$^{F}$±۰/۲۹ | ۷۸/۰۸$^{D}$±۰/۱۹ |
| آسکوربیک اسید | ۹۴/۴۸$^{B}$±۰/۱۹ | ۹۴/۹۴$^{B}$±۰/۱۴ | ۹۶/۶۸$^{A}$±۰/۲۳ | ۹۶/۷۴$^{A}$±۰/۲۱ | ۹۶/۷۴$^{A}$±۰/۱۴ | ۹۶/۹۵$^{A}$±۰/۱۴ | ۹۷/۰۱$^{A}$±۰/۱۹ |

حروف بزرگ مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار است.

اعداد، میانگین ± انحراف معیار (سه تکرار) می‌باشند.

**طیف سنجی مادون قرمز:** در آزمون طیف سنجی مادون قرمز هدف اصلی اندازه‌گیری میزان جذب نور نمونه در هر طول موج است که از آن برای کنترل کیفیت، اندازه‌گیری دینامیکی و نشان دادن کاربرد احتمالی ترکیبات آلی و معدنی استفاده می‌شود. نتایج داده‌های FT-IR بدست آمده از پلی‌ساکارید فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو و روش معمول در شکل ۲ نشان داده شده است. الگوی FT-IR برای فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو در مقایسه با الگوی فوکوییدان استخراج شده به روش معمول دارای پیک‌های مشخص‌تری بوده و مناسب‌تر است. باند قوی مشاهده شده در ۳۴۴۲/۸۲ (مایکروویو) و ۳۴۴۰/۸۹ (روش معمول) بر سانتی‌متر نشان دهنده ارتعاشات کششی گروه هیدروکسیل (OH) و آب ($H_2O$) است. باند ضعیف مشاهده شده در ۲۹۲۵/۹۱ (مایکروویو) و ۲۹۲۳/۹۸ (روش معمول) بر سانتی‌متر نشان دهنده پیوند هیدروژنی C-H در حلقه پیرانوئید و کربن شماره ۶ حلقه فوکوز است. جذب شدیدتر در این ناحیه برای نمونه استخراج شده تحت مایکروویو نشان دهنده تخریب حرارتی کم‌تر قند فوکوز است. جذب قوی در ۱۶۳۵/۵۸ (مایکروویو) و ۱۶۲۷/۸۶ (روش معمول) بر سانتی‌متر نشان دهنده گروه کربونیل اورونیک اسید است. باند مشاهده شده در ۱۴۲۱/۴۸ (مایکروویو) و ۱۴۱۹/۵۶ (روش معمول) بر سانتی‌متر نیز نشان دهنده حضور اورونیک اسید است. همانطور که مشاهده می‌شود فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو جذب شدیدتری را در این دو عدد موجی نشان داد که حضور بیشتر واحدهای اورونیک اسید را تأیید می‌کند. همچنین نوار در ۱۰۳۵/۷ (مایکروویو) و ۱۰۳۱/۸۸ (روش معمول) بر سانتی‌متر نشان دهنده پیوند ارتعاشی C-O پلی‌ساکارید است. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، یک تغییر شدید در جذب پیوند C-O در فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو وجود دارد که نشان دهنده پلی‌ساکارید با زنجیره کوتاه‌تر و قطبیت بالاتر است (۲۶). باند ضعیف در ۲۸۵۴/۵۵ (هردو تیمار) بر سانتی‌متر نشان دهنده گروه آمید است. نوار در ۱۲۶۳/۳۳ (هردو تیمار) بر سانتی‌متر نشان دهنده چرخش متقارن گروه‌های سولفات (S=O) و حضور استر سولفات است. جذب شدیدتر نمونه فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو در این عدد موج حاکی از حفظ بهتر گروه سولفات است. نوار در ۸۲۱/۶۴ (مایکروویو) و ۸۱۷/۷۹ (روش معمول) بر سانتی‌متر ارتعاشات خمشی C-O-S و سولفات موجود در کربن شماره ۲ و ۳ حلقه فوکوز را نشان می‌دهد (۲۶).



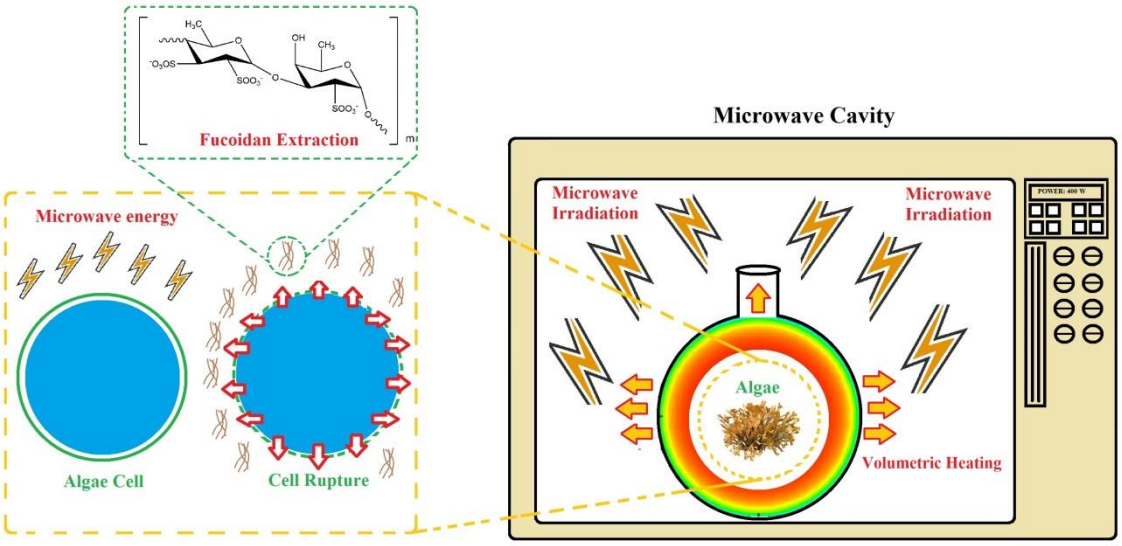

**شکل ۲.** طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز پلی‌ساکارید فوکوییدان استخراج شده تحت امواج مایکروویو و روش معمول

## • بحث

**راندمان استخراج فوکوییدان:** افزایش راندمان استخراج فوکوییدان به کمک مایکروویو می‌تواند به دلیل مبانی متفاوت فرآیند استخراج تحت امواج مایکروویو نسبت به روش معمول باشد، زیرا استخراج به دلیل تغییر در ساختار سلولی ناشی از امواج الکترومغناطیسی رخ می‌دهد. در این فرآیند، تسریع سرعت فرآیند و افزایش راندمان استخراج نتیجه ترکیب دو پدیده انتقال است: گرادیان دما و جرم که در یک جهت کار می‌کنند. به عبارتی، در روش استخراج معمول، انتقال جرم از داخل به خارج و انتقال حرارت از خارج به داخل بستر اتفاق می‌افتد. علاوه بر این، گرچه در روش استخراج معمول، گرما از محیط گرمایش به داخل نمونه منتقل می‌شود، در سیستم استخراج مایکروویو گرما در محدوده تابشی به صورت حجمی پراکنده می‌شود. حلال به وسیله دیفوزیون بسیار موثرتر به ماتریکس سلولی جلبک نفوذ کرده و ذرات حل شونده تا رسیدن به غلظتی که توسط خصوصیات ماده جامد محدود شده، حل می‌شوند. محلول حاوی ذرات حل شونده به وسیله دیفوزیون مؤثر به سطح نفوذ می‌کند. در نهایت، با همرفت طبیعی یا اجباری، محلول از سطح به حلال منتقل می‌شود.

استخراج فوکوییدان بوسیله مایکروویو اولین بار توسط Rodriguez-Jasso و همکاران (۲۰۱۱) گزارش شده است، که راندمان بالایی از ترکیب مورد نظر و زمان فرآیند کم را نشان داد؛ فوکوییدان ۱۸/۲۲ ٪ از وزن خشک توده جلبک دریایی گونه *F. vesiculosus* را با استفاده از تیمار مایکروویو (فشار اعمال شده ۱۲۰ psi در ۱ دقیقه) نشان داد که با راندمان حاصل از روش استخراج چندمرحله‌ای در ۷۰ درجه سانتیگراد قابل مقایسه بود (۲۷). با این حال، اثر مایکروویو بر ویژگی‌های ساختاری و بیولوژیک فوکوییدان ناشناخته است. فوکوییدان استخراج شده از جلبک دریایی گونه*Undaria pinnatifada* به مدت ۶۰ ثانیه در مایکروویو، توسط Hahn و همکاران (۲۰۱۲) مورد بررسی قرار گرفت و تخریب پلیمری قابل توجهی مشاهده نشد (۲۸). Yuan و Macquarrie (۲۰۱۵) از تیمار مایکروویو در سه درجه حرارت مختلف برای استخراج فوکوییدان از جلبک دریایی *Ascophyllum nodosum* استفاده کردند. آنها گزارش دادند که بیشترین راندمان فوکوییدان (۱۶/۰۸ ٪) در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد و مدت زمان ۱۵ دقیقه بدست آمد. در دماهای بالاتر و در زمان‌های طولانی‌تر فرآیند، ممکن است فوکوییدان در معرض تخریب حرارتی قرار گیرد، زیرا قند فوکوز پایدار به حرارت نیست. Okolie و همکاران (۲۰۱۹) تأثیر تیمار فراصوت، مایکروویو و آنزیم را بر راندمان استخراج فوکوییدان از جلبک دریایی گونه *Ascophyllum nodosum* بررسی نمودند. طبق نتایج آنها راندمان استخراج فوکوییدان تحت روش معمول، مایکروویو، فراصوت و آنزیم به ترتیب ۱۱/۹٪، ۵/۷۱٪، ۴/۵۶ و ۳/۸۹٪ بدست آمد (۲۹). Alboofetileh و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهش بر استخراج فوکوییدان از جلبک قهوه‌ای *N.zanardini* راندمان استخراج پلی‌ساکارید فوکوییدان را تحت مایکروویو و به روش معمول به ترتیب ۶/۱۷ و ۵/۲ درصد گزارش نمودند (۲۰). راندمان استخراج بدست آمده توسط آنها نسبت به مقادیر بدست آمده در این پژوهش بیشتر بود که می‌تواند به علت استفاده از دماهای بالاتر در فرآیند استخراج (۹۰ درجه سانتیگراد) و تفاوت در فصل و جغرافیای منطقه‌ای برداشت جلبک باشد.

فناوری مایکروویو از طریق دو مکانیسم پلاریزاسیون دوقطبی و هدایت یونی حرارت را به صورت حجمی در حلال و همچنین ماتریس جلبک تولید می‌کند. آب به دلیل قدرت حل کنندگی بالای کربوهیدرات‌ها و همچنین توانایی جذب امواج مایکروویو معمولاً به عنوان مناسب ترین حلال انتخاب می‌شود. در بعضی موارد، برای استخراج پلی‌ساکاریدهایی مثل فوکوییدان شرایط اسیدی مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال، برای جلوگیری از هیدرولیز احتمالی پلی‌ساکارید به مولکول‌های با زنجیره کوتاه، که می‌تواند اثر مثبت یا منفی بر عملکرد فوکوییدان بگذارد، باید توجه ویژه‌ای به غلظت اسید شود. گرمایش حجمی تولیده شده در اثر جذب امواج توسط هیدروکلریدریک اسید ۰/۱ مولار منجر به افزایش فشار درون سلولی می‌شود و درنتیجه افزایش فشار، ساختار سلولی جلبک دچار فروپاشی گردیده و فوکوییدان به همراه دیگر ترکیبات به درون حلال انتشار پیدا می‌کند (شکل ۳).




**شکل ۳.** استخراج فوکوییدان تحت امواج مایکروویو؛ از طریق جذب امواج مایکروویو توسط مولکول‌های آب و تبدیل انرژی الکترومغناطیس به حرارت، فشار درون سلولی افزایش می‌یابد که منجر به پارگی سلول و انتشار فوکوییدان به درون حلال می‌شود.

بنابراین مایکروویو موجب بهبود استخراج فوکوییدان از جلبک دریایی گردید. علاوه بر این مایکروویو مدت زمان فرآیند استخراج فوکوییدان را کاهش داد که این موضوع خود به دلیل گرمایش حجمی بسیار سریع در مقایسه با روش‌های رایج حرارتی است. بنابراین با کاهش مدت زمان فرآیند میزان حلال مورد نیاز برای استخراج فوکوییدان نیز به شدت کاهش یافت. برای درک بهتر این موضوع با در نظر گرفتن راندمان استخراج فوکوییدان تحت مایکروویو و روش معمول، برای بدست آوردن ۱۰۰ گرم پودر فوکوییدان، در روش معمول نیاز به ۸۵۱۰۶ میلی‌لیتر حلال اسیدی و ۱۶۰ دقیقه حرارت‌دهی در دمای ۴۵ سانتیگراد است. درحالیکه تحت تیمار مایکروویو با ۵۳۹۰۰ میلی‌لیتر حلال اسیدی و ۲۰ دقیقه حرارت‌دهی در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد می‌توان به همان مقدار فوکوییدان دست یافت که به خوبی نشان دهنده اثربخشی مایکروویو در کاهش زمان، انرژی و حلال است. بنابراین در تایید پژوهش‌های پیشین مایکروویو به عنوان فناوری دوستدار محیط زیست تعریف می‌شود.

**ترکیب شیمیایی فوکوییدان:** علارغم مزایای متعدد تیمار مایکروویو، مشکلاتی از جمله استخراج ترکیبات ناخواسته به همراه ترکیب هدف نیز وجود دارد. علاوه بر این، در پژوهش به این موضوع اشاره شد که فوکوییدان استخراج شده توسط حلال‌های اسیدی مانند هیدروکلریک اسید، دارای میزان فوکوز بالاتری هستند اما می‌تواند منجر به استخراج همزمان ترکیبات نامطلوب مانند آلژینیک اسید و فلزات شود (۳۰). طبق نتایج بدست آمده در این پژوهش حضور واحدهای اورونیک اسید (گلوکورونیک اسید و مانورونیک اسید) در فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو افزایش یافت (۱۶/۲۶ و ۱۴/۵۷ ٪ به ترتیب برای مایکروویو و روش معمول). درواقع زمانی که امواج مایکروویو توسط زیست توده جلبک جذب می‌شود و انرژی الکترومغناطیس به انرژی حرارتی تبدیل می‌شود، این گرمایش حجمی باعث افزایش نرخ استخراج ترکیبات می‌شود. در این شرایط، دمای داخل جلبک افزایش می‌یابد و منجر به پارگی سلول می‌شود که این پدیده باعث انتشار پلی ساکاریدهای داخل سلولی به محیط حلال می‌شود و درنتیجه افزایش درصد ناخالصی‌هایی از جمله اورونیک اسید به همراه فوکوییدان تحت مایکروویو اتفاق می‌افتد (۱۸). گلوکورونیک اسید و مانورونیک اسید واحدهای سازنده آلژینات هستند که از پلی‌ساکاریدهای سازنده دیواره سلولی جلبک‌های قهوه‌ای دریایی است. حضور واحدهای اورونیک اسید می‌تواند مزایایی داشته باشد از جمله افزایش فعالیت ضد انعقادی فوکوییدان به دلیل بهبود انعطاف پذیری زنجیره پلیمری (۲۵). اگرچه مایکروویو فاقد توانایی گزینشی کافی برای تفکیک کربوهیدرات‌ها است، اما مطالعات متعددی استفاده از حلال‌های مختلف (مثلاً مخلوط آب و الکل‌های مختلف) را برای استخراج انتخابی کربوهیدرات‌ها ارزیابی کرده است (۳۱). معمولا یک مرحله اضافی پس از استخراج تحت مایکروویو مانند تیمار تخمیر (۳۲)، تیمار آنزیمی (۳۳) یا ترسیب با افزودن اتانول (۳۴) مورد نیاز است. میزان اورونیک اسید کاملا به نوع جلبک دریایی، فصل برداشت، شرایط آب هوایی منطقه رشد جلبک، نوع فرآیند و شرایط استخراج

پلی‌ساکارید بستگی دارد. بنابراین میزان آن در گونه‌های مختلف بسیار متغیر است. Ganapathy و همکاران (۲۰۱۹) درصد اورونیک اسید موجود در ساختار فوکوییدان استخراج شده از جلبک *Turbinaria conoides* تحت تیمار آب داغ را ۲۷/۹۶ ٪ اندازه‌گیری کردند (۳۵). Hernández-Garibay و همکاران (۲۰۱۹) محتوای اورونیک اسید فوکوییدان استخراج شده از جلبک *Silvetia compressa* تحت تیمار اسیدی در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد را ۴/۱ ٪ گزارش کردند (۳۶). Ponce و همکاران (۲۰۱۹) درصد اورونیک اسید فوکوییدان استخراج تحت تیمار اسیدی در دمای اتاق را ۲۰/۴ ٪ ارزیابی نمودند (۳۷). Liu و همکاران (۲۰۲۰) محتوای اورونیک اسید پلی‌ساکارید فوکوییدان استخراج شده از جلبک دریایی گونه *Sargassum fusiforme* تحت تیمار آب داغ، اسید رقیق و کلسیم کلراید را به ترتیب ۸/۳۰، ۴/۴۷ و ۶/۸۲ ٪ ارزیابی کردند (۳۸).

مایکروویو محتوای فوکوز فوکوییدان را نسبت به روش معمول افزایش داد محتوای فوکوز فوکوییدان در نقطه بهینه مایکروویو ۳۳/۱۷ ٪ بدست آمد. میزان بالای فوکوز حاکی از آن است که اکثر پیوندهای گلیکوزیدی از نوع بین فوکوزی هستند. با این حال، الگوهای پیوندی مختلف بین این مونوساکاریدها وجود دارد و قبلاً گزارش شده است (۳۹). پروفایل مونوساکارید فوکوییدان بسیار متغیر است. این تغییرات می‌تواند وابسته به گونه جلبک، منطقه برداشت، فصل برداشت، شرایط نگهداری و شرایط فرآیند (دما، زمان، نوع حلال و غیره) باشد. Zvyagintseva و همکاران (۲۰۰۳) گزارش دادند که محتوای مختلف فوکوز در گونه‌های مختلف از ۵۰ تا ۸۸ ٪ متغیر است (۴۰). گذشته از فوکوز، تمام فوکوییدان‌های استخراج شده از گونه‌های مختلف حاوی گلوکز، گالاکتوز، مانوز، زایلو و رامنوز بودند (۳۹). Alboofetileh و همکاران (۲۰۱۹) پروفایل مونوساکارید فوکوییدان استخراج شده از جلبک قهوه‌ای گونه *N.zanardini* را به این صورت گزارش کردند (روش معمول استخراج): ۳۱/۲۹٪ فوکوز، ۲۸/۳۳٪ گالاکتوز، ۲/۹۷٪ گلوکز، ۳۱/۵۱٪ مانوز و ۵/۹٪ زایلوز. هنگام استفاده از تیمار مایکروویو با توان ۷۰۰ وات پروفایل مونوساکارید به ۳۶/۲۹٪ فوکوز، ۲۴/۹۶٪ گالاکتوز، ۱/۶۴٪ گلوکز، ۲۷/۲۹٪ مانوز و ۹/۸۲٪ زایلوز تغییر کرد (۲۰). بنابراین نتایج آنها افزایش محتوای فوکوز فوکوییدان را در اثر تیمار مایکروویو تایید می‌کند. فوکوز یک قند بسیار حساس به حرارت و تیمار اسیدی است و در طی استخراج به روش معمول به دلیل مدت زمان طولانی‌تر (۱۶۰ دقیقه) تماس حلال اسیدی با ماتریس جلبک نرخ تخریب فوکوز افزایش یافت درحالیکه در فرآیند استخراج تحت مایکروویو مدت زمان به مراتب کم‌تر بود (۲۰ دقیقه).

همان طور که در قسمت نتایج ذکر شد تیمار مایکروویو بر محتوای سولفات پلی‌ساکارید تأثیر معنی‌دار نداشت. درصد سولفات موجود در پلی‌ساکارید فوکوییدان بسیار مهم است زیرا افزایش میزان سولفات می‌تواند فعالیت ضد HIV و فعالیت ضد انعقادی را افزایش دهد. محتوای سولفات نقش مهمی نیز در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی دارد. گروه سولفات می‌تواند اتم هیدروژن کربن آنومریک را فعال کند، بنابراین به توانایی باند کردن هیدروژن توسط پلی ساکارید کمک می‌کند. فعالیت‌های بیولوژیکی برجسته پلی ساکارید سولفاته فوکوییدان به دلیل وجود گروه‌های سولفات است. علاوه بر این، موقعیت گروه‌های سولفات در امتداد ساختار ماکرومولکولی نیز در خواص عملکردی آنها نقش مهمی ایفا می‌کند (۴۱). Lorbeer و همکاران (۲۰۱۵) در پژوهش خود بر تأثیر امواج مایکروویو بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فوکوییدان استخراج شده از جلبک دریایی گونه *Ecklonia radiate* گزارش کردند که درصد سولفات فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو با روش معمول تفاوت معنی‌دار ندارد که کاملا با نتایج پژوهش ما همخوانی داشت (۴۲). همچنین در بررسی خود بر درصد فوکوز فوکوییدان استخراج شده به دو هر دو روش، تفاوت معنی‌دار مشاهده نکردند که با نتیاج این پژوهش مطابقت نداشت. Alboofetileh و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهش خود بر استخراج فوکوییدان از جلبک قهوه‌ای *N.zanardini* درصد فوکوز و سولفات فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو با توان ۷۰۰ وات در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد را به ترتیب ۳۶/۲۹ و ۲۴/۰۹ ٪ گزارش نمودند. همچنین طبق نتایج آنها، درصد فوکوز و سولفات فوکوییدان تحت مایکروویو نسبت به روش معمول استخراج افزایش معنی‌دار داشت. مقادیر فوکوز و سولفات فوکوییدان استخراج شده به روش معمول برابر با ۳۱/۲۹ و ۱۸/۴۴ ٪ بود (۲۰). Yuan و Macquarrie (۲۰۱۵) اثر سه درجه حرارت (۹۰،۱۲۰ و ۱۵۰ درجه سانتیگراد) و مدت زمان (۵، ۱۵ و ۳۰ دقیقه) تحت امواج مایکروویو را بر ترکیب شیمیایی فوکوییدان جلبک دریایی *Ascophyllum nodosum* بررسی کردند. طبق نتایج آنها با افزایش درجه حرارت در یک زمان ثابت و همچنین با افزایش مدت زمان فرآیند در یک درجه حرارت ثابت، محتوای فوکوز و سولفات کاهش یافت. بنابراین حساسیت حرارتی فوکوز و سولفات در فرآیند استخراج باید مورد توجه قرار گیرد. محتوای فوکوز و

سولفات استخراج شده تحت مایکروویو در شرایط بهینه به ترتیب ۴۲/۲۵ و ۲۷/۸۳ ٪ گزارش شد که در مقایسه با روش معمول استخراج (۶ ساعت تیمار اسیدی در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد) کاهش اندکی داشت (۴۲/۴۹٪ فوکوز و ۲۹/۳۳٪ سولفات) (۲۶). Okolie و همکاران (۲۰۱۹) تأثیر تیمار فراصوت، مایکروویو و آنزیم را بر ترکیب شیمیایی فوکوییدان جلبک دریایی گونه *Ascophyllum nodosum* بررسی نمودند. طبق نتایج آنها درصد فوکوز تحت تیمار فراصوت، مایکروویو، آنزیم و روش معمول به ترتیب ۲۷/۱، ۳۷، ۲۹/۱ و ۲۷/۴ ٪ و درصد سولفات به ترتیب ۱۷/۳، ۱۸/۸، ۱۵/۴ و ۲۱/۷ ٪ بدست آمد. طبق گزارش آنها تیمار مایکروویو در استخراج بیشتر فوکوز موثر واقع شد و همچنین در استخراج سولفات پس از روش معمول استخراج بیشترین کارایی را داشت (۲۹). بنابراین پژوهش‌های ذکر شده اثر بخشی تیمار مایکروویو را در افزایش محتوای فوکوز و سولفات تایید می‌کنند. در پژوهش حاضر تأثیر مایکروویو بر تخریب گروه‌های سولفات بررسی گردید و باتوجه به عدم وجود تفاوت معنی‌دار در محتوای سولفات بین دو تیمار، اثر تخریبی از مایکرویو مشاهده نگردید. با این حال به منظور بررسی دقیق‌تر تأثیر مایکروویو بر ساختار شیمیایی فوکوییدان استفاده از آنالیز HPLC و NMR توصیه می‌گردد.

درصد فوکوز و سولفات فوکوییدان استخراج شده در این پژوهش از جلبک *N. Zanardini* تقریبا در محدوده گزارش شده در پژوهش‌های پیشین قرار گرفته است. مقادیر گزارش شده برای درصد سولفات فوکوییدان بسیار متغیر بود. Liu و همکاران (۲۰۲۰) محتوای سولفات پلی‌ساکارید فوکوییدان استخراج شده از جلبک دریایی گونه *Sargassum fusiforme* تحت تیمار آب داغ، اسید رقیق و کلسیم کلراید را به ترتیب ۱۴/۷۹، ۳/۴ و ۱۳/۱۲ ٪ ارزیابی کردند (۳۸). Garibay و همکاران (۲۰۱۹) محتوای فوکوز و سولفات فوکوییدان استخراج شده از جلبک *Silvetia compressa* تحت تیمار اسیدی در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد را ۱به ترتیب ۱۶/۷ و ۵/۹ ٪ گزارش کردند (۳۶).

**قدرت آنتی‌اکسیدانی فوکوییدان:** توانایی فوکوییدان استخراج شده تحت مایکروویو در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد در غلظت مشابه نسبت به فوکوییدان استخراج شده به روش معمول افزایش معنی‌دار داشت. آسکوربیک اسید با غلظت ۵ میلی‌لیتر/ میلی‌گرم بیش‌ترین و فوکوییدان استخراج شده به روش معمول با غلظت ۰/۵ میلی‌لیتر/ میلی‌گرم کم‌ترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را داشتند (جدول ۴). درواقع امواج مایکروویو به دلیل تأثیر بر ساختار پلی‌ساکارید و شکستن آن به قطعات کوچک‌تر، می‌تواند وزن مولکولی پلی‌ساکارید را کاهش دهد (۴۳) و درنتیجه موجب افزایش توانایی آن در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد شود. عبور فوکوییدان با وزن مولکولی بالا از لایه لیپیدی و انجام فعالیت های بیولوژیکی توسط آن ممکن است دشوار باشد، در حالی که فوکوییدان با وزن مولکولی کم و مشتقات آن از قدرت آنتی اکسیدانی بالایی برخوردار هستند (۲۴). تأثیر وزن مولکولی بر قدرت آنتی‌اکسیدانی توسط Wang و همکاران (۲۰۰۸) مورد تایید قرار گرفته است. آنها در پژوهش خود بر ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی فوکوییدان استخراج شده از جلبک دریایی گونه *Laminaria japonica* گزارش کردند که توانایی فوکوییدان با وزن مولکولی پایین‌تر و با درصد سولفات بالاتر در مهار کردن اکسیداسون LDL بیشتر است (۴۴). Yuan و Macquarrie (۲۰۱۵) در پژوهش خود بر استخراج فوکوییدان به کمک مایکروویو از جلبک دریایی گونه *Ascophyllum nodosum*، اثر مایکروویو بر بهبود قدرت آنتی‌اکسیدانی فوکوییدان را مثبت ارزیابی کردند. بنابراین در تأیید نتایج گزارش شده در پژوهش‌های پیشین، استخراج تحت امواج مایکروویو در بهبود قدرت آنتی‌اکسیدانی فوکوییدان مؤثر واقع شد. این اثر می‌تواند به دلیل ایجاد پلی‌ساکارید با وزن مولکولی پایین‌تر و زنجیره کوتاه‌تر باشد. با کاهش وزن مولکولی، توانایی پلی‌ساکارید در به دام انداختن رادیکال آزاد و دادن پروتون افزایش می‌یابد (۲۶).

## • References


1. Li B, Lu F, Wei X, Zhao R. Fucoidan: structure and bioactivity. Molecules. 2008 Aug;13(8):1671-95.
2. Jiao G, Yu G, Zhang J, Ewart HS. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. Marine drugs. 2011 Feb;9(2):196-223.
3. Senthilkumar K, Manivasagan P, Venkatesan J, Kim SK. Brown seaweed fucoidan: biological activity and apoptosis, growth signaling mechanism in cancer. International journal of biological macromolecules. 2013 Sep 1;60:366-74.
4. Kylin H. Zur Biochemie der Meeresalgen. Hoppe-Seyler s Zeitschrift für physiologische Chemie. 1913;83(3):171-97.
5. Berteau O, Mulloy B. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of

sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. Glycobiology. 2003 Jun 1;13(6):29R-40R.

6. Mansour MB, Balti R, Yacoubi L, Ollivier V, Chaubet F, Maaroufi RM. Primary structure and anticoagulant activity of fucoidan from the sea cucumber Holothuria polii. International journal of biological macromolecules. 2019 Jan 1;121:1145-53.

7. Zhu Z, Zhang Q, Chen L, Ren S, Xu P, Tang Y, Luo D. Higher specificity of the activity of low molecular weight fucoidan for thrombin-induced platelet aggregation. Thrombosis Research. 2010 May 1;125(5):419-26.

8. Menshova RV, Shevchenko NM, Imbs TI, Zvyagintseva TN, Malyarenko OS, Zaporoshets TS, Besednova NN, Ermakova SP. Fucoidans from brown alga Fucus evanescens: Structure and biological activity. Frontiers in Marine Science. 2016 Aug 3;3:129.

9. Takahashi H, Kawaguchi M, Kitamura K, Narumiya S, Kawamura M, Tengan I, Nishimoto S, Hanamure Y, Majima Y, Tsubura S, Teruya K. An exploratory study on the anti-inflammatory effects of fucoidan in relation to quality of life in advanced cancer patients. Integrative cancer therapies. 2018 Jun;17(2):282-91.

10. Palanisamy S, Vinosha M, Manikandakrishnan M, Anjali R, Rajasekar P, Marudhupandi T, Manikandan R, Vaseeharan B, Prabhu NM. Investigation of antioxidant and anticancer potential of fucoidan from Sargassum polycystum. International journal of biological macromolecules. 2018 Sep 1;116:151-61.

11. Hong SW, Lee HS, Jung KH, Lee H, Hong SS. Protective effect of fucoidan against acetaminophen-induced liver injury. Archives of pharmacal research. 2012 Jun 1;35(6):1099-105.

12. Vo TS, Kim SK. Fucoidans as a natural bioactive ingredient for functional foods. Journal of Functional foods. 2013 Jan 1;5(1):16-27.

13. Khan BM, Qiu HM, Xu SY, Liu Y, Cheong KL. Physicochemical characterization and antioxidant activity of sulphated polysaccharides derived from Porphyra haitanensis. International journal of biological macromolecules. 2020 Feb 15;145:1155-61.

14. Li W, Wang K, Jiang N, Liu X, Wan M, Chang X, Liu D, Qi H, Liu S. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of purified polysaccharides from Ulva pertusa. Journal of Applied Phycology. 2018 Aug 1;30(4):2619-27.

15. Ajisaka K, Yokoyama T, Matsuo K. Structural characteristics and antioxidant activities of fucoidans from five brown seaweeds. Journal of Applied Glycoscience. 2016 Mar 17:jag-JAG.

16. Luo P, Li F, Liu H, Yang X, Duan Z. Effect of fucoidan-based edible coating on antioxidant degradation kinetics in strawberry fruit during cold storage. Journal of Food Processing and Preservation. 2020 Apr;44(4):e14381.

17. Gude VG, Patil P, Martinez-Guerra E, Deng S, Nirmalakhandan N. Microwave energy potential for biodiesel production. Sustainable Chemical Processes. 2013 Dec 1;1(1):5.

18. Ekezie FG, Sun DW, Cheng JH. Acceleration of microwave-assisted extraction processes of food components by integrating technologies and applying emerging solvents: A review of latest developments. Trends in Food Science & Technology. 2017 Sep 1;67:160-72.

19. Esquivel-Hernández DA, Ibarra-Garza IP, Rodríguez-Rodríguez J, Cuéllar-Bermúdez SP, Rostro-Alanis MD, Alemán-Nava GS, García-Pérez JS, Parra-Saldívar R. Green extraction technologies for high-value metabolites from algae: a review. Biofuels, Bioproducts and Biorefining. 2017 Jan;11(1):215-31.

20. Alboofetileh M, Rezaei M, Tabarsa M, Rittà M, Donalisio M, Mariatti F, You S, Lembo D, Cravotto G. 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 Mar 1;124:131-7.

21. Payam Torabi. Study and optimization of microwave-assisted sequential extraction of sodium alginate and fucoidan from brown macroalgae (*Nizimuddinia zanardini*) [dissertation]. Isfahan: Isfahan University of Technology, M.C. Faculty Food Science and Technology; 2019 [in Persian].

22. Mak W. Extraction, characterization and antioxidant activity of Fucoidan from New Zealand *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Doctoral dissertation, Auckland University of Technology).

23. Khajouei RA, Keramat J, Hamdami N, Ursu AV, Delattre C, Laroche C, Gardarin C, Lecerf D, Desbrières J, Djelveh G, Michaud P. Extraction and characterization of an alginate from the Iranian brown seaweed *Nizimuddinia zanardini*. International journal of biological macromolecules. 2018 Oct 15;118:1073-81.

24. Wang Y, Xing M, Cao Q, Ji A, Liang H, Song S. Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: a review of recent studies. Marine Drugs. 2019 Mar;17(3):183.

25. Koh HS, Lu J, Zhou W. Structure characterization and antioxidant activity of fucoidan isolated from *Undaria pinnatifida* grown in New Zealand. Carbohydrate polymers. 2019 May 15;212:178-85.

26. Yuan Y, Macquarrie D. Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity. Carbohydrate polymers. 2015 Sep 20;129:101-7.

27. Rodriguez-Jasso RM, Mussatto SI, Pastrana L, Aguilar CN, Teixeira JA. Microwave-assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed. Carbohydrate Polymers. 2011 Aug 30;86(3):1137-44.

28. Hahn T, Lang S, Ulber R, Muffler K. Novel procedures for the extraction of fucoidan from brown algae. Process biochemistry. 2012 Dec 1;47(12):1691-8.

29. Okolie CL, Mason B, Mohan A, Pitts N, Udenigwe CC. The comparative influence of novel extraction technologies on in vitro prebiotic-inducing chemical

properties of fucoidan extracts from *Ascophyllum nodosum*. Food Hydrocolloids. 2019 May 1;90:462-71.

30. Baba BM, Mustapha WA, Joe LS. Effects of extraction solvent on fucose content in fucoidan extracted from brown seaweed (Sargassum sp.) from Pulau Langkawi, Kedah, Malaysia. InAIP Conference Proceedings 2016 Nov 17 (Vol. 1784, No. 1, p. 030045). AIP Publishing LLC.

31. Mena-García A, Ruiz-Matute AI, Soria AC, Sanz ML. Green techniques for extraction of bioactive carbohydrates. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2019 Oct 1;119:115612.

32. Ruiz-Aceituno L, García-Sarrió MJ, Alonso-Rodriguez B, Ramos L, Sanz ML. Extraction of bioactive carbohydrates from artichoke (Cynara scolymus L.) external bracts using microwave assisted extraction and pressurized liquid extraction. Food chemistry. 2016 Apr 1;196:1156-62.

33. Chen Z, Zhang W, Tang X, Fan H, Xie X, Wan Q, Wu X, Tang JZ. Extraction and characterization of polysaccharides from Semen Cassiae by microwave-assisted aqueous two-phase extraction coupled with spectroscopy and HPLC. Carbohydrate polymers. 2016 Jun 25;144:263-70.

34. Jiang Y, Bai X, Lang S, Zhao Y, Liu C, Yu L. Optimization of ultrasonic-microwave assisted alkali extraction of arabinoxylan from the corn bran using response surface methodology. International journal of biological macromolecules. 2019 May 1;128:452-8.

35. Ganapathy S, Lingappa S, Naidu K, Selvaraj U, Ramachandiran S, Ponnusamy S, Somasundaram ST. Isolation and Bioactive Potential of Fucoidan from Marine Macroalgae *Turbinaria conoides*. ChemistrySelect. 2019 Dec 30;4(48):14114-9.

36. Hernández-Garibay E, Zertuche-González JA, Pacheco-Ruiz I. Sulfated Polysaccharides (Fucoidan) from the brown seaweed *silvetia compressa* (J. Agardh) E. Serrão, TO Cho, SM Boo & brawley. Journal of Applied Phycology. 2019 Dec 1;31(6):3841-7.

37. Ponce NM, Flores ML, Pujol CA, Becerra MB, Navarro DA, Córdoba O, Damonte EB, Stortz CA. Fucoidans from the phaeophyta *Scytosiphon lomentaria*: Chemical analysis and antiviral activity of the galactofucan component. Carbohydrate research. 2019 May 15;478:18-24.

38. Liu J, Wu SY, Chen L, Li QJ, Shen YZ, Jin L, Zhang X, Chen PC, Wu MJ, Choi JI, Tong HB. Different extraction methods bring about distinct physicochemical properties and antioxidant activities *of Sargassum fusiforme* fucoidans. International journal of biological macromolecules. 2020 Jul 15;155:1385-92.

39. Lim SJ, Aida WM, Schiehser S, Rosenau T, Böhmdorfer S. Structural elucidation of fucoidan from Cladosiphon okamuranus (Okinawa mozuku). Food chemistry. 2019 Jan 30;272:222-6.

40. Zvyagintseva TN, Shevchenko NM, Chizhov AO, Krupnova TN, Sundukova EV, Isakov VV. Water-soluble polysaccharides of some far-eastern brown seaweeds. Distribution, structure, and their dependence on the developmental conditions. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 2003 Sep 23;294(1):1-3.

41. Wijesinghe WA, Jeon YJ. Biological activities and potential industrial applications of fucose rich sulfated polysaccharides and fucoidans isolated from brown seaweeds: A review. Carbohydrate Polymers. 2012 Mar 17;88(1):13-20.

42. Lorbeer AJ, Lahnstein J, Fincher GB, Su P, Zhang W. Kinetics of conventional and microwave-assisted fucoidan extractions from the brown alga, Ecklonia radiata. Journal of Applied Phycology. 2015 Oct 1;27(5):2079-87.

43. Corsaro A, Chiacchio U, Pistara V, Romeo G. Microwave-assisted chemistry of carbohydrates. Current Organic Chemistry. 2004 Apr 1;8(6):511-38.

44. Wang J, Zhang Q, Zhang Z, Li Z. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. International Journal of Biological Macromolecules. 2008 Mar 1;42(2):127-32.

# Microwave-Assisted Extraction of Fucoidan from Brown Seaweeds of *Nizimuddinia zanardini* and Assessment of the Chemical and Antioxidant Properties of the Extracted Compound

*Torabi Dastgerdouei P*[*1] *, Hamdami N*[2] *, Keramat J*[2]

*1-*Corresponding author: MSc of Food Engineering, Department of Food Science and Technology, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran*

*2- Associate professor, Department of Food Science and Technology, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran*

**Received 14 Jun, 2020** **Accepted 25 Sept, 2020**

**Background and Objectives:** In the past decade, sulfated fucose-rich polysaccharides (fucoidan) have been much interested due to their diverse biological activities, including anticoagulant, antiviral, antitumor, anti-inflammatory, anti-blood lipid, antioxidant, gastric protection and therapeutic activities. In the present study, microwave was used as a green efficient technology for the extraction of bioactive compounds of fucoidan from Iranian macroalgae (*Nizimuddinia zanardini*). In addition, effects of microwave on chemical composition and antioxidant activity of fucoidan were assessed.

**Materials & Methods:** Fucoidan polysaccharides were extracted under optimized conditions of microwave power, processing time and temperature. The compound characteristics, including extraction efficiency, fucose content, sulfate content, uronic acid content and DPPH radical scavenging were assessed. Fourier-transform infrared spectroscopy was used at wavelengths of 400–4000 $cm^{-1}$ at room temperature.

**Results:** Results showed that microwave treatment was effective in improving the extraction yield of fucoidan. Fucoidan extraction yields under the microwave technique included 3.71 and 2.35%. The fucose content under the microwave technique (33.17%) was compared to that under the conventional technique (29.5%) with significant increases, indicating less thermal degradation of the polysaccharide structures under the microwave technique. The microwave improved fucoidan antioxidant activity by producing shorter chain polysaccharides.

**Conclusion:** In this study, fucoidan sulfated polysaccharides were extracted using microwave extraction technique in a much shorter time than the conventional extraction technique with higher efficiency and lower thermal degradation. In addition, the shorter process time decreased solvent use.

**Keywords:** Fucoidan, Extraction, Microwave, Antioxidant activity**,** Brown seaweed