



University of Tehran

Role of Extraction methods on the purity and Sulfate content of Fucoïdan in brown algae harvested from the Makran coasts in Iran

Rezvan Mousavi Nadushan^{1*} | Parisa Sardashti²

1. Corresponding Author, Department of Fishery and Marine Sciences, Faculty of Natural Resources and Environment, Islamic Azad University, Tehran North Branch, Tehran, Iran. Email: mousavi.nadushan@gmail.com

2. Department of Department of Fishery and Marine Sciences, Faculty of Natural Resources and Environment, Tehran North Branch, Islamic Azad University Tehran, Iran. Email: sardashti.p@gmail.com

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article History:

Received: 02 July 2025

Revised: 27 August 2025

Accepted: 13 September 2025

Published online: 22 November 2025

Keywords:

Brown algae,
Fucoïdan,
Oman Sea,
Sulfate,
Uronic acid.

ABSTRACT

Fucoïdan is a complex sulfate biopolymer and one of the active structural components found in the cell walls of brown algae. The unique structural features of fucoïdan, especially the level of impurities and sulfate content, are used as determining factors in its potential activity and biological performance in the food and pharmaceutical industries. In the present study, fucoïdians were extracted from the brown algae *Padina australis*, *Nizimuddinina zanardinii*, and *Sargassum latifolium* using various extraction methods, including water, dilute hydrochloric acid, and calcium chloride solution. The results indicated that the highest fucoïdan content was obtained through acid extraction from *Nizimuddinina zanardinii*. Subsequently, protein impurities were assessed using the BCA method, uronic acid impurities through the carbazole method, and sulfate content via turbidimetry, utilizing gelatin and barium chloride reagents in the fucoïdians extracted with water, acid, and salt from *N. zanardinii*. The analyses revealed that the fucoïdan obtained through acid extraction produces the highest level of uronic acid impurities. Additionally, the acid-extracted fucoïdan exhibited the lowest protein impurity content while achieving the highest sulfate content compared to samples extracted with water and salt. Given that the biomass of *Sargassum latifolium* and *Padina australis* is significantly higher along the southern coasts of the country than that of *Nizimuddinina zanardinii*, it is recommended that acid extraction be considered the optimal method, with *Sargassum latifolium* identified as a rich source of fucoïdan with high sulfate content for human consumption and aquaculture applications.

Cite this article: Mousavi Nadushan, R., Sardashti, P. (2025). Role of extraction methods on the purity and Sulfate content of Fucoïdan in brown algae harvested from the Makran coasts in Iran. *Journal of Fisheries*, 78 (4), 301-311. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.397957.1463>



© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.397957.1463>



دانشگاه تهران

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۷۸۰۹

سایت نشریه: <https://jfisheries.ut.ac.ir>

ارزیابی میزان خلوص و محتوای سولفات فوکویدان تولیدی به روش‌های مختلف از جلبک‌های قهوه‌ای جمع‌آوری شده از سواحل مکران در ایران

رضوان موسوی ندوشن^{۱*} | پریسا سردشتی^۲

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم دریایی و شیلاتی، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد، تهران، ایران. رایانامه: mousavi.nadushan@gmail.com
۲. گروه علوم دریایی و شیلاتی، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه: sardashti.p@gmail.com

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۲

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۹/۰۱

کلیدواژه:

اسید یورونیک،

جلبک قهوه‌ای،

دریای عمان سولفات،

فوکویدان.

فوکویدان یک بیوپلی‌ساکارید پیچیده سولفات و یکی از ترکیبات ساختاری فعال موجود در دیواره سلولی جلبک‌های قهوه‌ای به‌شمار می‌رود. ویژگی‌های ساختاری منحصر به فرد فوکویدان، به‌ویژه میزان ناخالصی‌ها و محتوای سولفات، به‌عنوان عوامل تعیین‌کننده در پتانسیل فعالیت و عملکرد زیستی آن در صنایع غذایی و داروسازی استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر، فوکویدان‌ها از جلبک‌های *Padina australis*، *Nizimuddinina zanardinii* و *Sargassum latifolium* با استفاده از روش‌های مختلف شامل آب، اسید هیدروکلریک رقیق و محلول کلرید کلسیم استخراج شدند. نتایج نشان داد که بیشترین محتوای فوکویدان با استفاده از استخراج اسیدی در *N. zanardinii* به‌دست می‌آید. سپس، ناخالصی‌های پروتئینی با استفاده از روش BCA، ناخالصی اسید یورونیک با روش کاربازول و محتوای سولفات نیز به روش توربیدیتری و با استفاده از معرف‌های ژلاتین و کلرید باریم در فوکویدان‌های استخراج‌شده با آب، اسید و نمک از جلبک *N. zanardinii* ارزیابی گردید. تحلیل نتایج نشان داد که فوکویدان حاصل از استخراج اسیدی بیشترین سطح ناخالصی اسید یورونیک را تولید می‌کند. به‌علاوه، فوکویدان استخراجی با روش اسیدی نسبت به روش‌های آب و نمک، کمترین محتوای ناخالصی پروتئینی و در عین حال بیشترین محتوای سولفات را دارد. نهایتاً با توجه به اینکه زی‌توده *S. latifolium* و *P. australis* در سواحل جنوبی کشور به‌طور قابل توجهی بیشتر از *N. zanardinii* است، پیشنهاد می‌شود که روش استخراج اسیدی به‌عنوان بهترین روش و جلبک *S. latifolium* به‌عنوان منبع غنی از فوکویدان با محتوای سولفات فراوان برای مصارف انسانی و آبی‌پرووری در نظر گرفته شود.

استناد: موسوی ندوشن؛ رضوان، سردشتی؛ پریسا (۱۴۰۴). ارزیابی میزان خلوص و محتوای سولفات فوکویدان تولیدی به روش‌های مختلف از جلبک‌های قهوه‌ای جمع‌آوری شده از سواحل مکران در ایران. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۸ (۴)، ۳۰۱-۳۱۱. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.397957.1463>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.397957.1463>



۱. مقدمه

جلبک‌های دریایی به‌طور گسترده‌ای در سواحل جنوبی کشور ایران پراکنده شده‌اند. جلبک‌های قهوه‌ای متعلق به خانواده Phaeophyceae در سواحل خلیج فارس و دریای عمان غالب هستند (Alavian et al., 2018). فوکویدان یک پلی‌ساکارید سولفاته است که در دیواره‌های سلولی چندین گونه جلبک قهوه‌ای یافت می‌شود. در سال‌های اخیر، رنگدانه‌های زانتوفیلی خاص از جمله فوکوزانتین و کربوهیدرات‌های خاص از جمله فوکویدان در گروه‌های مختلف ماکرو و میکرو جلبک‌های قهوه‌ای مورد توجه دانشمندان قرار گرفته‌اند (Mousavi Nadushan and Hosseinzade 2020; Saeed et al., 2021). بسیاری از مطالعات نشان می‌دهند که فوکویدان خواص بیواکتیو متنوعی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد انعقادی، ضد میکروبی، آنتی‌تومور و خواص تعدیل و تقویت سیستم ایمنی را نشان می‌دهد. تحقیقات روی فوکویدان نشان داده است که این ماده غیرسمی، غیر آلرژیک و هیچ گونه تأثیر منفی بر سلامتی انسان ندارد (Senthil, 2024). مکمل‌های این ترکیب سال‌ها است که به مصرف می‌رسد و هیچ گونه گزارشی مبنی بر مضرات و مشکلات آن گزارش نشده است (Shen et al., 2018). این ماده از جلبک‌های دریایی با استفاده از ترکیبات اسیدی، قلیایی، آنزیمی و آب استخراج شده است. جلبک‌های قهوه‌ای قادر هستند در میان سایر پلی‌ساکاریدها، پلیمرهای خاص سولفاته به نام فوکویدان تولید کنند. فوکویدان یک پلی‌ساکارید پلی‌فوکوز سولفاته و طبیعی است که L-fucose و سولفات استر مهمترین اجزای ساختاری آن به‌شمار می‌رود (Du et al., 2022). فوکویدان علاوه بر ال فوکوز، ممکن است حاوی قندهای دیگری مانند D-زایلوز، D-گالاکتوز و D-گلوکورونیک اسید باشند و قندهای اضافی مانند D-مانوز و D-گلوکز نیز مشاهده شده‌اند. بدین ترتیب مونوساکاریدهای تشکیل‌دهنده مختلف منجر به تشکیل پلیمرهای بزرگ از فوکویدان با فعالیت‌های بیولوژیک و فیزیولوژیک مختلف می‌شوند (Tanna et al., 2019). بیشتر انواع فوکویدان دارای ترکیبات شیمیایی پیچیده هستند و فقط بخش کوچکی از اجزای ساختاری آن شناخته شده است و فعالیت‌های زیستی فوکویدان به‌شدت بستگی به میزان ترکیبات و گروه‌های سولفات دارد (Wang et al., 2019; Nagahawatta et al., 2023).

به‌طور کلی، استخراج پلی‌ساکاریدهای سولفاته از جلبک‌های دریایی معمولاً با استفاده از آب داغ، اسید رقیق یا قلیای رقیق انجام می‌شود. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد بازده فوکویدان بسته به گونه، فصل، مکان رشد جلبک‌های قهوه‌ای و همچنین روش استخراج متفاوت است (Ptak et al., 2021; Jayawardena et al., 2022). علاوه بر این، ساختار بیوپلیمر فوکویدان بین گونه‌های جلبک‌های قهوه‌ای متفاوت است. در ایران در مورد بازده استخراج و ترکیب فوکویدان در گونه‌های مختلف جلبک‌های قهوه‌ای موجود در سواحل خلیج فارس-دریای عمان اطلاعاتی وجود ندارد. بنابراین، در مطالعه حاضر سه گونه مختلف *Nizimuddinina zanardinii* و *Sargassum latifolium* و *Padina australis* از جلبک‌های قهوه‌ای سواحل چابهار، برای استخراج فوکویدان با استفاده از سه روش استخراج مختلف انتخاب و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲-۱. منطقه نمونه‌برداری

جلبک‌های قهوه‌ای مورد نیاز از مناطق ساحلی تیس در خلیج چابهار (۲۴ درجه و ۱۶ دقیقه و ۴۴ ثانیه عرض شمالی و ۶۰ درجه و ۳۹ دقیقه طول شرقی) در فصل زمستان به هنگام بیشینه جزر برداشت شد. جلبک‌ها ابتدا در همان محل با آب دریا شسته شدند، درون کیسه‌های پلاستیکی قرار گرفتند و به آزمایشگاه منتقل گردیدند جلبک‌های آماده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا خشک شوند. پس از خشک شدن ساییده، توزین و تا زمان استفاده درون ظروف پلاستیکی نگهداری گردیدند.

۲-۲. روش‌های استخراج

۲-۲-۱. استخراج با آب

جلبک‌های خشک شده (۵/۰ گرم) در سایه با اتانول ۸۵ درصد به‌طور مداوم به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق مخلوط شدند تا پروتئین‌ها و رنگدانه‌ها حذف شوند. جلبک‌های تیمار شده با اتانول و استون شسته و پس از سانتریفوژ (Universal, PIT320, Iran) در دمای اتاق خشک شدند. سپس فرآیند استخراج روی زی‌توده خشک شده با آب مقطر در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت دو بار

صورت گرفت و عصاره‌های دو بار استخراج شده باهم مخلوط شدند. سوپرناتانت به‌دست آمده پس از سانتریفوژ با ۱ درصد CaCl_2 مخلوط و به‌مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا اسید آلزینیک رسوب کند. پس از سانتریفوژ به عصاره به‌دست آمده اتانول اضافه شد تا غلظت نهایی به ۳۰ درصد برسد و محلول پس از خنک شدن در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و برای حذف ناخالصی‌های باقیمانده مجدداً عملیات سانتریفوژ انجام شد. در نهایت، اتانول به سوپرناتانت حاصل اضافه شد تا غلظت نهایی به ۷۰ درصد برسد و سپس به‌مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا فوکویدان رسوب کند. بعد از سانتریفوژ، فوکویدان باقیمانده با اتانول و استون شسته و در دمای اتاق خشک شد. بازده براساس معادله زیر محاسبه شد (Lee et al., 2012).

$$Y (\%) = C \times 100$$

که در این رابطه Y: بازده استخراج و C: نسبت وزن خشک فوکویدان به‌دست آمده به وزن زی‌توده خشک جلبک می‌باشد.

۲-۲-۲. استخراج با اسید

پودر جلبک خشک (۰/۵ گرم) با مخلوط حلال متشکل از الکل اتیل، کلروفرم و آب مقطر در نسبت ۴:۲:۱ در دمای اتاق به‌مدت ۴ ساعت با همزن مغناطیسی ه هم زده شدند. پس از تخلیه مایع، باقیمانده جلبک‌ها به‌مدت یک شب خشک شدند. زی‌توده جلبک خشک سپس با ۰/۰۳ مول اسید هیدروکلریک (HCl) در نسبت ۱:۲۰ تحت حرارت ۹۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ ساعت در حمام آب قرار داده شد. مخلوط به‌دست آمده سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و مایع حاصل جمع‌آوری گردید. باقیمانده جامد دوباره با آب مقطر شسته شد و مجدداً سانتریفوژ گردید. مایعات رویی جمع‌آوری شد و ۹۹ درصد اتانول به آن اضافه شد تا غلظت اتانول به ۶۰ درصد برسد و فوکویدان خام رسوب کند. رسوب با آب مقطر شسته شد و برای حذف اسید آلزینیک بلافاصله با کلرید کلسیم یک مولار مخلوط شد. رسوب چسبناک کلسیم آلزینات دور ریخته شد. مایع حاصل مجدداً در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد تا رسوب فوکویدان جمع‌آوری شود. رسوب جمع‌آوری شده سپس با الکل و دی‌اتیل‌تر شسته شد و به‌مدت یک شب در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. میزان فوکویدان طبق توضیحات فوق محاسبه شد (Lee et al., 2012).

۲-۲-۳. استخراج با نمک

در این روش استخراج با کلرید کلسیم در محلول آبی ۲ درصد در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ ساعت انجام شد (۰/۵ گرم). استخراج در این مرحله دو بار انجام شد و هر دو عصاره با هم ترکیب شدند. عصاره‌ها به‌مدت سانتریفوژ شدند و سوپرناتانت جمع‌آوری شد. مایع بالایی با کلرید کلسیم ۴ مولار مخلوط شد و محلول به‌مدت یک شب در دمای ۴ درجه سلسیوس برای رسوب دادن اسید آلزینیک نگهداری شد. پس از سانتریفوژ، مایع بالایی هر جلبک جمع‌آوری شد و سپس با روتاری در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد فرایند تغلیظ انجام شد. اتانول (۹۵ درصد) به‌تدریج با نسبت حجمی ۴:۱ به محلول عصاره تغلیظ شده اضافه شد و مخلوط به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا فوکویدان رسوب داده شود. و در نهایت رسوب جمع‌آوری شده در دمای محیط خشک گردید (Bilan et al., 2006).

۲-۳. اندازه‌گیری مقدار پروتئین، یورونیک اسید و سولفات

در این مرحله در فوکویدان حاصل از جلبک استخراج شده با آب، اسید و نمک، میزان ناخالصی پروتئینی با اندازه‌گیری جذب در طول موج ۲۸۰ نانومتر و براساس روش BCA اندازه‌گیری شد (Mousavi Nadushan and Hellatabadi Frahani 2019, Roohi-). سپس اندازه‌گیری ناخالصی اسید یورونیک براساس روش کاربازول صورت پذیرفت (DuBois et al., 2020). و مقدار گروه عملکردی سولفات با استفاده از معرف‌های ژلاتین-کلرید باریم و روش توربیدیتری مشخص گردید (1956) و مقدار گروه عملکردی سولفات با استفاده از معرف‌های ژلاتین-کلرید باریم و روش توربیدیتری مشخص گردید (Dodgson and Price, 1962).

۲-۴. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

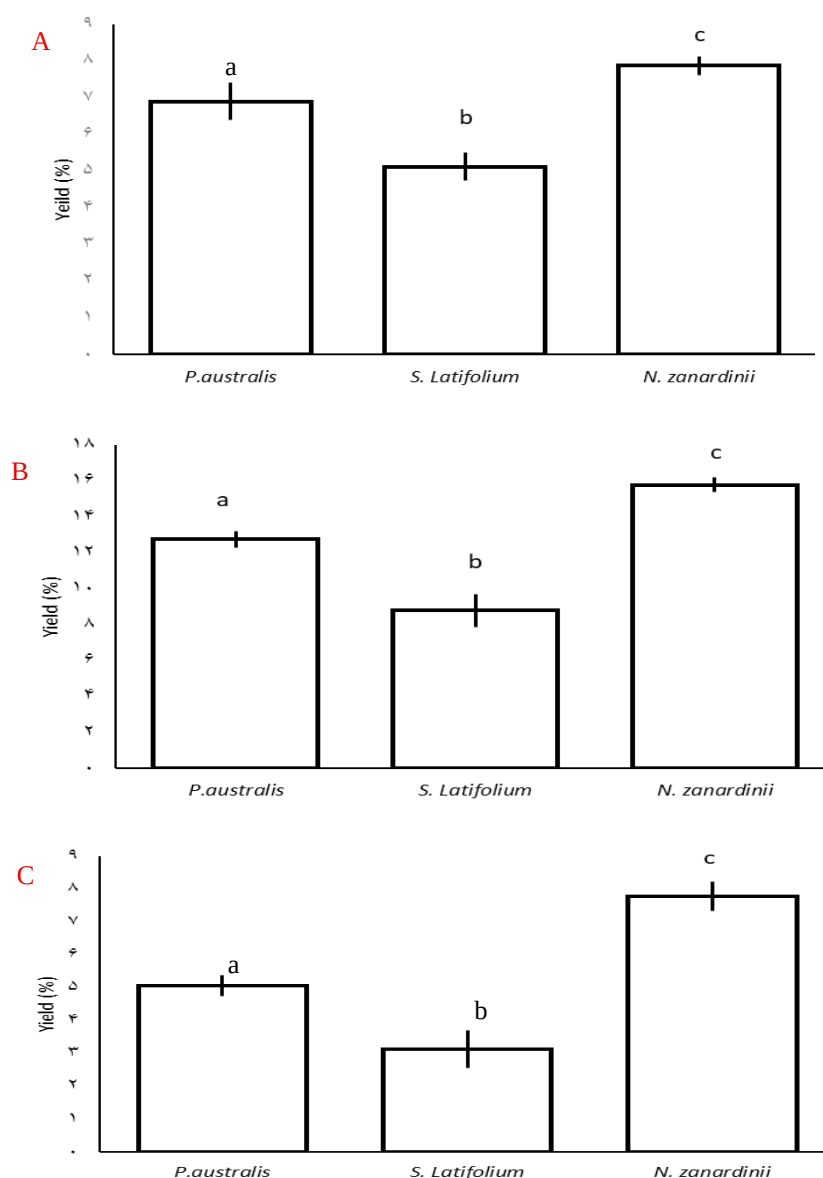
تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شدند و داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (SD) ارائه گردید. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار (SPSS v.19) انجام شد. معنی‌داری آماری با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) بررسی گردید و

سطح ۰/۰۵ ($P < ۰/۰۵$) به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد. در نهایت جهت مقایسه تیمارها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد و نمودارها در نرم افزار Excel نسخه رسم گردید.

۳. یافته‌های پژوهش

۳-۱. تأثیر روش‌های استخراج بر بازدهی استحصال فوکویدان در گونه‌های جلبکی مورد مطالعه

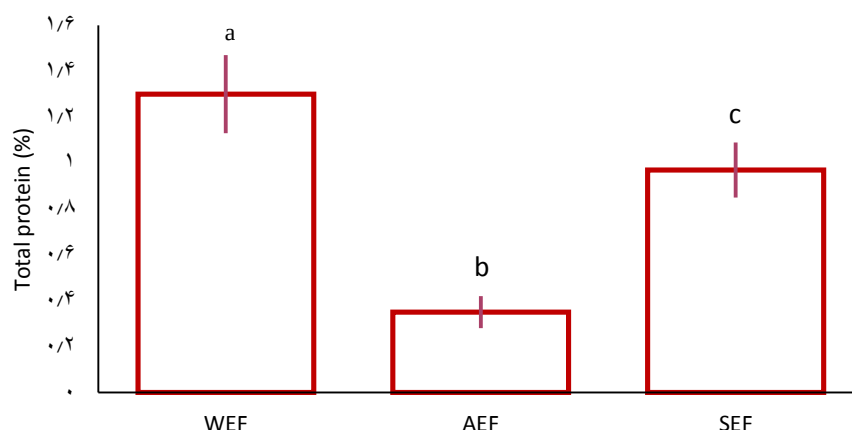
اثر روش‌های استخراج مختلف بر بازده فوکویدان در شکل‌های ۱ (A, B, C) نشان داده شده است. این تصاویر نشان می‌دهند که روش‌های استخراج بر بازده فوکویدان در هر سه گونه تأثیر گذاشتند. در میان روش‌های آزمایش، استخراج با اسید هیدروکلریک بیشترین بازده فوکویدان را نشان داد به طوری که در این روش بازدهی استخراج از ۸/۵۷ درصد در جلبک *S. latifolium* تا ۱۵/۷۷ درصد در جلبک *N. zanardinii* متغیر بود. در حالی که پایین‌ترین بازده توسط استخراج با نمک کلرید کلسیم به دست آمد و اختلاف در بازده فوکویدان بین ۴/۱۲ در جلبک *P. australis* تا ۶/۷۷ در جلبک *S. latifolium* متغیر بود.



شکل ۱- نمودارهای بازدهی استخراج فوکویدان با استفاده از آب (A)، اسید هیدروکلریک (B) و نمک کلرید کلسیم (C) در جلبک‌های قهوه‌ای مورد مطالعه. داده‌ها براساس میانگین و انحراف معیار سه تکرار نشان داده شده است و حروف مختلف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

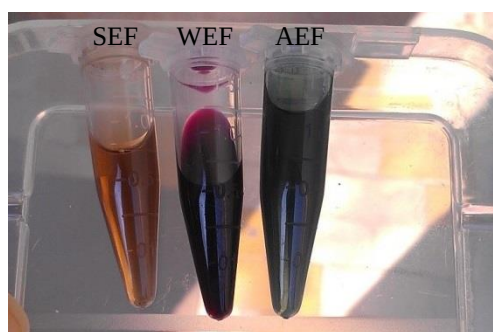
۳-۲. تأثیر روش استخراج بر میزان ناخالصی‌ها و خلوص گروه‌های عملکردی در یک گونه جلبکی (*N. zanardinii*)

در مرحله دوم تحقیق، با توجه به محتوای بالای فوکویدان در جلبک *N. zanardinii* در مقایسه با دو جلبک دیگر، مقادیر مساوی فوکویدان حاصل از آن استخراج با سه روش نمک (SEF: Salt Extracted Fucooidan)، اسید (AEF: Acid Extracted Fucooidan) و آب (WEF: Water Extracted Fucooidan) جهت بررسی میزان ناخالصی‌های پروتئینی و اسید یورونیک و از سوی دیگر جهت اندازه‌گیری میزان گروه عملکردی سولفات مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین آلودگی پروتئینی در فوکویدان حاصل از استخراج با آب از جلبک *N. zanardinii* به میزان ۱/۳ درصد اندازه‌گیری شد و اختلاف معنی‌داری با درصد آلودگی در سایر روش‌های استخراج نشان داد ($P < 0.05$ ، شکل ۲).



شکل ۲- نمودار محتوای کل پروتئین موجود در فوکویدان حاصل از استخراج با نمک (SEF)، اسید (AEF) و آب (WEF) در جلبک *N. zanardinii*. داده‌ها براساس میانگین و انحراف معیار سه تکرار نشان داده شده است و حروف مختلف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

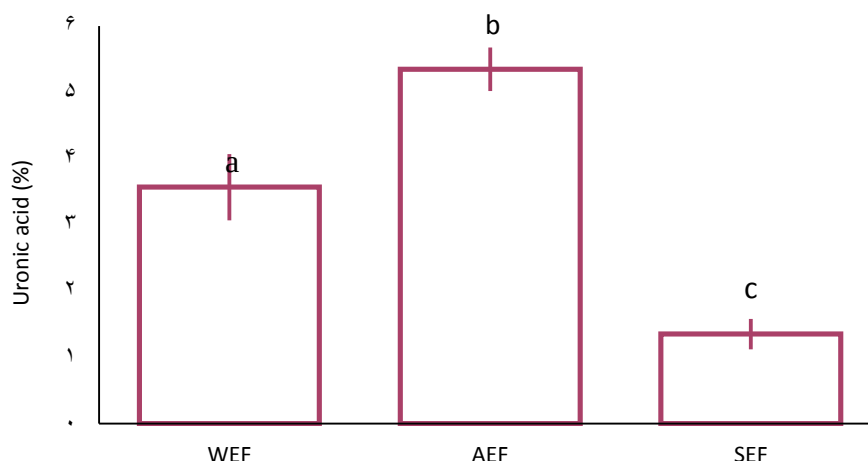
شکل ۳ تفاوت غلظت و رنگ ناشی از واکنش کاربازول-اسید یورونیک موجود در ساختار مولکولی فوکویدان حاصل از استخراج در جلبک *N. zanardinii* به سه روش آب، اسید و نمک را نشان می‌دهد.



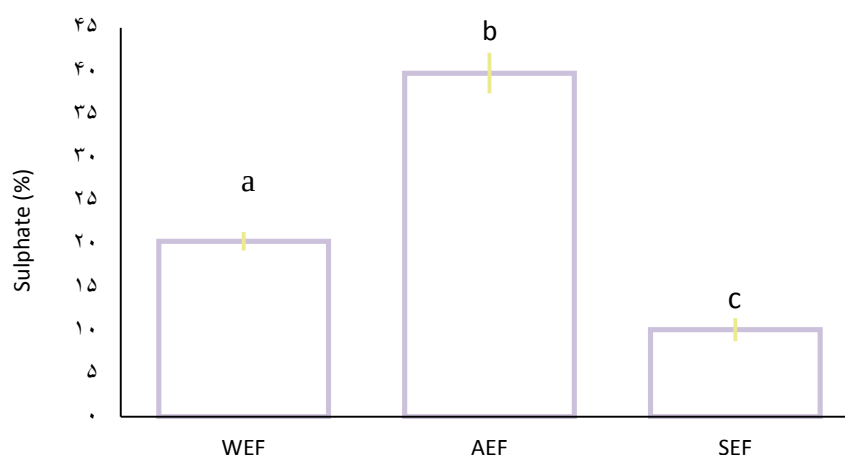
شکل ۳- تصویر واکنش اسید یورونیک موجود در نمونه‌های فوکویدان با کاربازول استخراج شده از جلبک *N. zanardinii* به سه روش نمک (SEF)، اسید (AEF) و آب (WEF)

در نهایت حداکثر محتوای اسید یورونیک در فوکویدان حاصل از استخراج با اسید به میزان ۵/۳۵ درصد اندازه‌گیری شد که به‌طور قابل توجهی بیشتر ($P < 0.05$) از اسید یورونیک موجود در ساختار مولکولی نمونه‌های فوکویدان استخراج شده به روش‌های آب و نمک بود (شکل ۴).

همان‌طور که در نمودار شکل ۵ نشان داده شده است، حداکثر محتوای سولفات در فوکویدان استخراج شده با اسید و به میزان 39.77 ± 2.37 درصد اندازه‌گیری شد و مشخص گردید محتوای سولفات فوکویدان حاصل از استخراج با اسید تفاوت معنی‌داری را با میزان سولفات فوکویدان استخراج شده با آب و نمک نشان می‌دهد ($P < 0.05$).



شکل ۴- نمودار محتوای اسید یورونیک موجود در ساختار فوکویدان استخراج شده با نمک (SEF)، اسید (AEF) و آب (WEF) در جلبک *N. zanardinii*. داده‌ها براساس میانگین و انحراف معیار سه تکرار نشان داده شده است و حروف مختلف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۵- نمودار محتوای سولفات موجود در ساختار بیوپلیمر فوکویدان حاصل از استخراج شده با نمک (SEF)، اسید (AEF) و آب (WEF) در جلبک *N. zanardinii*. داده‌ها براساس میانگین و انحراف معیار سه تکرار نشان داده شده است و حروف مختلف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

۴. بحث و نتیجه گیری نهایی

تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که روش‌های استخراج می‌توانند تأثیر زیادی بر ترکیب فوکویدان تولید شده باشند و بنابراین ممکن است به‌طور قابل توجهی بر فعالیت زیستی آنها تأثیرگذار باشند (January et al., 2019). در این تحقیق مشخص گردید که روش‌های استخراج بر بازدهی استحصال، میزان ناخالصی و میزان گروه‌های عاملی عملکردی (سولفات) فوکویدان حاصل تأثیرگذار بوده است و در میان روش‌های آزمایش شده، استخراج با اسید هیدروکلریک بیشترین راندمان فوکویدان (۱۵/۷۷٪) را به‌دنبال دارد. همچنین بازدهی استخراج در جلبک *N. zanardinii* از بازدهی استخراج گزارش شده از جلبک *S. fusiforme* توسط Liu و همکاران (۲۰۲۰) بیشتر بود. و این در حالی است که پایین‌ترین بازدهی استخراج با کلرید کلسیم در جلبک *P. australis* (۳/۱۲٪) به‌دست آمد. در تحقیق دیگری که توسط Rani و همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام شد، سه روش استخراج شامل آب، اسید و CaCl_2 مورد مقایسه قرار گرفت، که در آن کمترین بازده مربوط به استخراج با CaCl_2 و بالاترین بازده در روش استخراج اسیدی به‌دست آمد. مطالعه Rani و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که استخراج با آب، بدون توجه به نوع گونه، مناسب‌ترین روش برای استخراج فوکویدان از جلبک‌های قهوه‌ای است، هرچند ممکن است بازدهی استخراج اندک و فرآیند استخراج کند باشد. بازدهی استخراج بالای

فوکویدان در روش اسیدی در مقایسه با دو روش دیگر، ممکن است به دلیل تخریب بیشتر ماتریس دیواره سلولی توسط اسید هیدروکلریک باشد. به طور کلی، بازده استخراج، ترکیب و ساختار فوکویدان بسته به گونه جلبک، موقعیت جغرافیایی و فصل برداشت متغیر است. علاوه بر این، استخراج و خالص سازی با روش های مختلف نیز ممکن است ویژگی های فیزیکوشیمیایی و فعالیت بیولوژیکی فوکویدان را تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین، انتخاب یک روش استخراج مناسب، گامی حیاتی برای جداسازی فوکویدان است، چرا که روش های مختلف استخراج از یک گونه جلبک مشخص و ثابت نیز بازده، ترکیب، ساختار و اثرات زیست فعال فوکویدان را تحت تأثیر قرار می دهد. (Husni et al., 2022).

تحقیقات متعدد نشان داده اند که فوکویدان فعالیت ضد سرطانی نشان داده است (Oliveira et al., 2017)، و سطح سولفات به عنوان یک عامل کلیدی مشخص گردیده است (Van Weelden et al., 2019). مقادیر بالاتر گروه های سولفات باعث می شود که مولکول دارای بار منفی بالایی باشد، به طوری که از این طریق این امکان فراهم می شود که کمپلکس های پروتئین-فوکویدان تشکیل شود. این کمپلکس ها می توانند از تکثیر سلول جلوگیری کند و بدین ترتیب به طور غیرمستقیم فعالیت های زیستی مانند خواص آنتی اکسیدانی را به وجود آورند و یا تحت تأثیر قرار دهند. در همین راستا ویژگی های "فوکویدان با کیفیت خوب" از طریق ارزیابی درجه بالای گروه های سولفات و سطوح پایین ناخالصی هایی مانند اسید یورونیک و پروتئین صورت گرفته است (Zayed et al., 2020; Yu et al., 2021). علاوه بر این، حفظ ساختار اصلی و اختصاصی فوکویدان اهمیت دارد زیرا همین اجزای ساختاری معمولاً خصوصیات بیواکتیو را در سیستم های بیولوژیک بالاتر فراهم می کنند. اسید یورونیک یکی از اجزای اصلی آلژینات (اسید آلژینیک) است که در ماکروجلیک های قهوه ای فراوان است. هم اسید یورونیک و هم پروتئین به راحتی همراه با فوکویدان استخراج می شوند. بنابراین خلوص فوکویدان استخراج شده از *N. Zanardinii* به سه روش با تعیین محتوای اسید یورونیک و پروتئین مورد بررسی قرار گرفت تا تأثیر روش استخراج در یک گونه جلبک خاص بر میزان ناخالصی ها و میزان گروه عملکردی سولفات مشخص گردد. براساس تحقیقات گذشته، گروه سولفات قابلیت بار منفی به فوکویدان می دهد که برای خصوصیات عملکردی فوکویدان مهم است. اما محتوای کل اسید یورونیک به عنوان یک ناخالصی در نظر گرفته می شود. در این تحقیق استخراج با اسید منجر به بالاترین آلودگی اسید یورونیک شد، در حالی که در فوکویدان استخراج شده با نمک از جلبک *N. Zanardinii* مقدار اسید یورونیک ناچیز و به میزان ۱/۳۵ درصد اندازه گیری شد (شکل ۴) که به طور قابل توجهی کمتر از محتوای اسید یورونیک فوکویدان استخراج شده به دو روش دیگر بود. اما استخراج اسیدی مقدار بسیار ناچیز و حداقل آلودگی پروتئینی را به همراه داشت و فوکویدان استخراج شده تقریباً خالص در نظر گرفته شد، هرچند که استخراج های آب داغ هم سطوح اندک ولی بالاتری از ناخالصی پروتئینی را نشان دادند (شکل ۲).

در این تحقیق روش ژلاتین-کلرید باریم برای تعیین محتوای سولفات فوکویدان حاصل از سه روش استخراج استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان می دهد که محتوای سولفات فوکویدان با استخراج توسط اسید رقیق افزایش معنی داری را نشان می دهد (شکل ۵) و این روند توسط Jing و همکاران (۲۰۲۱) نیز گزارش شده است. سولفات یک جزء ساختاری اصلی و بسیار مهم در فوکویدان است و محتوای سولفات در فوکویدان تحت تأثیر عوامل زیادی قرار دارد که مهمترین آنها شامل گونه، فصل برداشت و روش استخراج هستند (Lee et al., 2012). January و همکاران (۲۰۱۹) اثرات روش های مختلف استخراج بر محتوای سولفات فوکویدان ایزوله شده از جلبک *Undaria pinnatifida* را مقایسه کردند و نشان دادند که فوکویدان به دست آمده با روش استخراج اسیدی دارای محتوای سولفاتی بالاتر است، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در تحقیق Graikini و همکاران (۲۰۲۳) نیز مشخص گردید که محتوای سولفات فوکویدان خام از ۵/۶ تا ۴۲/۳ درصد برای *Sargassum swartzii* متغیر بود. مقادیر سولفات به دست آمده در این مطالعه کمتر و یا مشابه با محدوده هایی بود که Graikini و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کرده اند. از سوی دیگر محتوای سولفات در فوکویدان حاصل از استخراج از *N. zanardinii* بیشتر از مقادیر فوکویدان (۳۷/۳۹±۰/۰۳٪) استخراج شده از اسپوروفیل جلبک *Undaria pinnatifida* بود. تحقیقات نشان داده است که علاوه بر گونه و روش استخراج، زمان و فصل برداشت جلبک یک پارامتر بسیار مهم است که بویژه برای تولید فوکویدان با مقادیر بالای سولفات در مقیاس وسیع باید مدنظر قرار گیرد (Jing et al., 2021).

نکته جالب توجه اینکه در استخراج با نمک، فوکویدان حاصل دارای کمترین میزان ناخالصی اسید یورونیک و کمترین محتوای سولفات بود. برعکس، در استخراج با آب، فوکویدان حاصل دارای بالاترین میزان ناخالصی پروتئینی، آلودگی متوسط اسید یورونیک و محتوای سولفات بیشتر بود. این موضوع به‌طور مشابه در مورد فوکویدان استخراج شده از جلبک *Fucus evanescens* نیز گزارش شده است. این نتایج نشان می‌دهد که فوکویدان خام استخراج شده از جلبک *N. zanardinii* جمع‌آوری شده از سواحل مکران در مورد محتوای سولفات، محتوای اسید یورونیک و ناخالصی پروتئینی ناهمگن است، اما استفاده از اسید رقیق می‌تواند منجر به استحصال فوکویدان با ساختار نسبتاً همگن با محتوای بیشتر سولفات گردد. این امر در مطالعات پیشین روی فوکویدان حاصل از جلبک *Fucus evanescens* نیز تأیید شده است (Trang et al., 2022).

۵. نتیجه‌گیری نهایی

در این مطالعه، تأثیر روش‌های مختلف استخراج بر بازده، خلوص و محتوای سولفات فوکویدان‌های استخراج‌شده از سه گونه جلبک قهوه‌ای، شامل *P. australis*، *N. zanardinii* و *S. latifolium*، در سواحل مکران بررسی گردید. نتایج نشان داد که روش‌های استخراج مختلف منجر به ایجاد ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی متفاوتی در فوکویدان‌ها می‌شود. به‌ویژه، تفاوت‌های معنی‌داری در گروه‌های عملکردی و ناخالصی‌های موجود در فوکویدان‌های استخراج‌شده از *N. zanardinii* مشاهده گردید. همچنین استخراج فوکویدان با استفاده از اسید هیدروکلریک رقیق از جلبک *N. zanardinii* به نمونه‌هایی با کمترین میزان ناخالصی پروتئینی و اسید یورونیک منجر شد و محتوای پایین اسید یورونیک در این استخراج‌ها نشان‌دهنده وجود ناچیز آلژینات است. علاوه بر این، محتوای فوکویدان استخراج‌شده با روش اسیدی، بیشترین بازده را در میان سایر روش‌ها به‌خود اختصاص داد. این مطالعه حاکی از آن است که در دریای عمان پتانسیل فوق‌العاده‌ای برای استخراج فوکویدان از جلبک‌های دریایی وجود دارد. این روش می‌تواند به‌طور موفقیت‌آمیز برای استخراج مقادیر بالایی از فوکویدان با خلوص بالا از سایر گونه‌های جلبک قهوه‌ای که به‌طور گسترده در دسترس هستند، به کار رود.

در ضمن باید توجه نمود که در فصل گرم گاهی نیاز است تا فرصت زادآوری و توسعه زیست‌توده به این جلبک‌ها داده شود تا جمعیت پایداری را در سال‌های پیش‌رو داشته باشد.

References

- Alavian, Z., Riahi, H., Musavi Nadushan, R., Reesi, B., Fatemi, S.M.R., 2018. Evaluation of ecological status of the Persian Gulf inshore waters (Hormozgan rocky bottoms) using macrophytic communities and a macroalgae biological index, *EI. Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(1), 228-238. DOI: 10.22092/ijfs.2018.115619
- Bilan, M.I., Grachev, A.A., Shashkov, A.S., Nifantiev, N.E., Usov, A.I., 2006. Structure of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus serratus* L. *Carbohydrate Research*, 341(2), 238-245. DOI: 10.1016/j.carres.2005.11.009
- Dodgson, K.S., Price, R.G., 1962. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. *Biochemical Journal*, 84(1), 106. DOI: 10.1042/bj0840106
- DuBois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.
- Du, B., Zhao, Q., Cheng, C., Wang, H., Liu, Y., Zhu, F., Yang, Y., 2022. A critical review on extraction, characteristics, physicochemical activities, potential health benefits, and industrial applications of fucoidan. *eFood*, 3(4), e19. DOI: 10.1002/efd2.19
- Graikini, D., Soro, A.B., Sivagnanam, S.P., Tiwari, B.K., Sánchez, L., 2023. Bioactivity of fucoidan-rich extracts from *Fucus vesiculosus* against rotavirus and foodborne pathogens. *Marine Drugs*, 21(9), 478. DOI: 10.3390/md21090478
- Husni, A., Izmi, N., Ayunani, F.Z., Kartini, A., Husnayain, N. & Isnansetyo, A., 2022. Characteristics and antioxidant activity of fucoidan from *Sargassum hystrix*: Effect of extraction method. *International Journal of Food Science*, 2022(1), 3689724. DOI: 10.1155/2022/3689724

- January, G.G., Naidoo, R.K., Kirby-McCullough, B., Bauer, R., 2019. Assessing methodologies for fucoidan extraction from South African brown algae. *Algal Research*, 40, 101517. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101517
- Jayawardena, T.U., Nagahawatta, D.P., Fernando, I.P.S., Kim, Y.T., Kim, J.S., Kim, W.S., Jeon, Y.J., 2022. A review on fucoidan structure, extraction techniques, and its role as an immunomodulatory agent. *Marine Drugs*, 20(12), 755. DOI: 10.3390/md20120755
- Jing, X., Sun, Y., Ma, X., Hu, H., 2021. Marine polysaccharides: Green and recyclable resources as wound dressings. *Materials Chemistry Frontiers*, 5(15), 5595-5616. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127331
- Lee, S.H., Ko, C.I., Ahn, G., You, S., Kim, J.S., Heu, M.S., Kim, J., Jee, Y., Jeon, Y.J., 2012. Molecular characteristics and anti-inflammatory activity of the fucoidan extracted from *Ecklonia cava*. *Carbohydrate Polymers*, 89(2), 599-606. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.03.056
- Liu, J., Wu, S.Y., Chen, L., Li, Q. J., Shen, Y. Z., Jin, L., Tong, H.B., 2020. Different extraction methods bring about distinct physicochemical properties and antioxidant activities of *Sargassum fusiforme* fucoidans. *International Journal of Biological Macromolecules*, 155, 1385-1392. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.113
- Mousavi Nadushan, R., & Hellat, R. 2019. Production of iron-chelating proteinous hydrolysate from freshwater prawn, *Macrobrachium nipponense*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 28(1), 9-18. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118537
- Mousavi Nadushan, R., Hosseinzade, I., 2020. Optimization of production and antioxidant activity of fucoxanthin from marine haptophyte algae, *Isochrysis galbana*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(6), 2901-2908. DOI: 10.22092/ijfs.2020.122837
- Nagahawatta, D.P., Liyanage, N.M., Jayawardena, T.U., Yang, F., Jayawardena, H.H.A.C.K., Kurera, M.J.M.S., Jeon, Y.J., 2023. Functions and values of sulfated polysaccharides from seaweed. *Algae*, 38(4), 217-240. DOI: 10.4490/algae.2023.38.12.1
- Oliveira, C., Ferreira, A.S., Novoa- Carballal, R., Nunes, C., Pashkuleva, I., Neves, N.M., Silva, T.H., 2017. The key role of sulfation and branching on fucoidan antitumor activity. *Macromolecular Bioscience*, 17(5), 1600340. DOI: 10.1002/mabi.201600340
- Ptak, S.H., Hjuler, A.L., Ditlevsen, S.I., Fretté, X., Errico, M., Christensen, K.V., 2021. The effect of seasonality and geographic location on sulphated polysaccharides from brown algae. *Aquaculture Research*, 52(12), 6235-6243. DOI: 10.1111/are.15485
- Rani, V., Shakila, R.J., Jawahar, P., Srinivasan, A., 2017. Influence of species, geographic location, seasonal variation and extraction method on the fucoidan yield of the brown seaweeds of Gulf of Mannar, India. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 79, 65-71. DOI: 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000202
- Roohi-Shalmaee, N., Mousavi-Nadushan, R., Mostafavi, P.G., Shahbazzadeh, D., Pooshang Bagheri, K., 2020. Ecological adaptation of the Persian Gulf polychaete in a polluted area: proteomics concerning dominant defensive biomarkers. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17(4), 1937-1946. DOI: 10.1007/s13762-019-02508-y
- Saeed, M., Arain, M.A., Ali Fazlani, S., Marghazani, I.B., Umar, M., Soomro, J., Bhutto, Z.A., Soomro, F., Noreldin, A.E., Abd El- Hack, M.E., Elnesr, S.S., 2021. A comprehensive review on the health benefits and nutritional significance of fucoidan polysaccharide derived from brown seaweeds in human, animals and aquatic organisms. *Aquaculture Nutrition*, 27(3), 633-654. DOI: 10.1111/anu.13233
- Senthil, S.L., 2024. A comprehensive review to assess the potential, health benefits and complications of fucoidan for developing as functional ingredient and nutraceutical. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134226. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.134226
- Shen, P., Yin, Z., Qu, G., Wang, C., 2018. Fucoidan and its health benefits. In *Bioactive seaweeds for food applications* (pp. 223-238). Academic Press. 10.1016/B978-0-12-813312-5.00011-X
- Tanna, B., Mishra, A., 2019. Nutraceutical potential of seaweed polysaccharides: Structure, bioactivity, safety, and toxicity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(3), 817-831. DOI: 10.1111/1541-4337.12441

- Trang, V.T.D., Mikkelsen, M.D., Vuillemin, M., Meier, S., Cao, H.T.T., Muschiol, J., Perna, V., Nguyen, T.T., Tran, V.H.N., Holck, J. and Van, T.T.T., 2022. The endo- α (1, 4) specific fucoidanase Fhf2 from *Formosa haliotis* releases highly sulfated fucoidan oligosaccharides. *Frontiers in Plant Science*, 13, 823668. DOI: 10.3389/fpls.2022.823668
- Van Weelden, G., Bobiński, M., Okla, K., Van Weelden, W.J., Romano, A., Pijnenborg, J.M., 2019. Fucoidan structure and activity in relation to anti-cancer mechanisms. *Marine Drugs*, 17(1), 32. DOI: 10.3390/md17010032
- Wang, Y., Xing, M., Cao, Q., Ji, A., Liang, H., Song, S., 2019. Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies. *Marine Drugs*, 17(3), 183. DOI: 10.3390/md17030183
- Yu, J., Li, Q., Wu, J., Yang, X., Yang, S., Zhu, W., Lu, J., 2021. Fucoidan extracted from sporophyll of *Undaria pinnatifida* grown in Weihai, China—chemical composition and comparison of antioxidant activity of different molecular weight fractions. *Frontiers in Nutrition*, 8, 636930. DOI: 10.3389/fnut.2021.636930
- Zayed, A., El-Aasr, M., Ibrahim, A.R.S., Ulber, R., 2020. Fucoidan characterization: Determination of purity and physicochemical and chemical properties. *Marine Drugs*, 18(11), 571. DOI: 10.3390/md18110571