

Khảo sát điều kiện hoạt động của Viscozyme trên rong nâu *Sargassum mcclurei* để thu nhận fucoidan

Cao Thị Thúy Hằng¹, Trần Thị Thanh Vân¹, Nguyễn Thị Khánh Vy²,
Nguyễn Thị Thuần¹, Trần Nguyễn Hà Vy¹, Võ Mai Như Hiếu¹, Phạm Đức Thịnh^{1*}

¹Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 2 Hùng Vương, phường Lộc Thọ, TP Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam

²Trường Đại học Nha Trang, 2 Nguyễn Đình Chiểu, phường Vĩnh Thọ, TP Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam

Ngày nhận bài 9/2/2022; ngày chuyển phản biện 14/2/2022; ngày nhận phản biện 2/3/2022; ngày chấp nhận đăng 7/3/2022

Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, điều kiện hoạt động của Viscozyme được khảo sát nhằm thu nhận fucoidan với hàm lượng cao từ rong nâu *Sargassum mcclurei* thu tại vùng biển Khánh Hòa. Các điều kiện khảo sát gồm nồng độ Viscozyme, tỷ lệ dịch chiết/rong nguyên liệu và thời gian chiết. Kết quả cho thấy, ở điều kiện nồng độ enzyme 1% (v/w), tỷ lệ dịch chiết/rong nguyên liệu là 25/1 (v/w), thời gian chiết 24 giờ thì hàm lượng fucoidan thu nhận được đạt 4,27%. Kết quả phân tích fucoidan chiết từ loài rong nâu *S. mcclurei* cho thấy fucoidan thu nhận được thuộc nhóm galactofucan.

Từ khóa: điều kiện tách chiết, fucoidan, *Sargassum mcclurei*, Viscozyme.

Chỉ số phân loại: 1.6

1. Đặt vấn đề

Fucoidan là một polysaccharide sulfate hóa được tìm thấy ở trong thành tế bào rong nâu. Fucoidan đã được công bố có các hoạt tính sinh học cả ở *in-vitro* và *in-vivo* như chống viêm, chống đông máu và huyết khối [1], kháng khuẩn [2], kháng vi-rút (bao gồm cả HIV) [3], điều hòa miễn dịch [4], chống oxy hóa [5] và ung thư [6]. Hoạt tính chống oxy hóa đã và đang là một chủ đề nóng được các nhà khoa học quan tâm do nhu cầu ngày càng tăng của các ngành công nghiệp thực phẩm và mỹ phẩm để phát triển các hợp chất chống lão hóa và ung thư. Từ năm 1990, B.L Tutour (1990) [7] đã công bố 2 chất chiết xuất từ rong nâu (*Laminaria digitata* và *Himanthalia elongata*) thể hiện hoạt tính cao nhất trong bảo quản dầu hướng dương và ức chế quá trình oxy hóa methyl linoleate, tăng cường tác dụng chống oxy hóa của vitamin E. Cho đến nay, đã có nhiều công trình công bố về hoạt tính chống oxy hóa và ung thư của fucoidan [8, 9]. Do đó, fucoidan là hợp chất tiềm năng để tạo nên các sản phẩm ứng dụng trong lĩnh vực thực phẩm và y dược học nhằm nâng cao sức khỏe của con người.

Đã có nhiều phương pháp tách chiết fucoidan được nghiên cứu, bao gồm phương pháp hóa học hoặc kết hợp với các kỹ thuật vật lý như chiết bằng phương pháp ngâm kiệt, ngâm dầm, tách chiết hồi lưu, tách chiết lôi cuốn hơi nước... [10]. Tuy nhiên, nhược điểm của các phương pháp này là dễ mất đi một số hoạt tính quý của fucoidan, đồng thời giá thành sản phẩm khá cao do hiệu suất chiết không cao. Ngày nay, các nhà khoa học nghiên cứu sử dụng enzyme để hỗ trợ tách chiết fucoidan. Phương pháp này không chỉ thu nhận tối đa các hoạt chất có trong rong biển, mà còn không làm biến đổi cấu trúc và hoạt tính của các hoạt chất chiết tách được.

Hiện nay, một số enzyme thương mại đã được nghiên cứu để hỗ trợ chiết xuất fucoidan từ rong nâu như carbohydrase (Viscozyme, Celluclast, Amyloglucosidase) và proteases (Flavourzyme, Alcalase, Protamex) [11-13]. Những enzyme này phá vỡ cấu trúc thành tế bào trong rong nâu và giải phóng fucoidan mà không làm ảnh hưởng đến cấu trúc của fucoidan. Tuy nhiên, thành phần các hợp chất trong mỗi loài rong nâu (cellulose, hemicellulose, alginate, fucoidan, iod, protein, acid béo) là khác nhau, do đó khi ứng dụng enzyme để hỗ trợ chiết xuất fucoidan trên các đối tượng rong khác nhau cần phải được nghiên cứu để tìm ra điều kiện và tỷ lệ chiết phù hợp.

Viscozyme là enzyme thương mại với thành phần gồm arabanase, cellulase, β -glucanase và hemi-cellulase. Enzyme này đã được nghiên cứu để hỗ trợ chiết xuất các hợp chất chống oxy hóa, trong đó có fucoidan và đã thu được những kết quả khả quan với hiệu suất thu nhận và hoạt tính tăng [12, 14, 15]. Những yếu tố ảnh hưởng đến khả năng hoạt động của enzyme và hiệu suất chiết như thời gian chiết, nồng độ enzyme, tỷ lệ enzyme/rong nguyên liệu cũng đã được nghiên cứu.

Rong nâu *S. mcclurei* được biết là một trong những loài rong phân bố rộng và có trữ lượng lớn ở vùng biển Khánh Hòa. Loài rong này có chứa các hợp chất có hoạt tính chống oxy hóa như polyphenol, fucoidan... Ở Việt Nam, đã có một số công trình nghiên cứu phương pháp chiết xuất và cấu trúc của fucoidan từ rong nâu *S. mcclurei* [16]. Tuy nhiên, các nghiên cứu này đều sử dụng phương pháp hóa học để chiết fucoidan nên có thể ảnh hưởng đến hàm lượng và cấu trúc tự nhiên, từ đó ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của chúng. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khảo sát

*Tác giả liên hệ: Email: duchthinh.nitra@gmail.com

Survey of the Viscozyme's hydrolysis conditions on brown seaweed *Sargassum mcclurei* for fucoidan assisted-extraction

Thi Thuy Hang Cao¹, Thi Thanh Van Tran¹,
Thi Khanh Vy Nguyen², Thi Thuan Nguyen¹,
Nguyen Ha Vy Tran¹, Mai Nhu Hieu Vo¹, Duc Thinh Pham^{1*}

¹Nhatrang Institute of Technology Research and Application, VAST,
2 Hung Vuong Street, Loc Tho Ward, Nha Trang City, Khanh Hoa Province, Vietnam

²Nha Trang University,

2 Nguyen Dinh Chieu Street, Vinh Tho Ward, Nha Trang City, Khanh Hoa Province, Vietnam

Received 9 February 2022; revised 2 March 2022; accepted 7 March 2022

Abstract:

In this study, the hydrolysis conditions of Viscozyme on brown seaweed *Sargassum mcclurei* collected in the Khanh Hoa sea were investigated to obtain fucoidan with a high yield. The survey conditions include the concentration of Viscozyme, the extract solution:raw seaweed ratio, and extraction time. The results showed that in the condition of 1% (v/w) enzyme concentration, the ratio of enzyme/raw seaweed was 25/1 (v/w), extraction time was 24 hours, and the obtained fucoidan content reached 4.27%. The fucoidan analysed results showed that the obtained fucoidan belongs to the galactofucan group.

Keywords: extracted condition, fucoidan, *Sargassum mcclurei*, Viscozyme.

Classification number: 1.6

điều kiện hoạt động của Viscozyme trên đối tượng rong nâu *S. mcclurei* sinh trưởng tại vùng biển Khánh Hòa nhằm thu được hàm lượng fucoidan cao, tạo tiền đề cho việc cải tiến quy trình chiết xuất hóa học thông thường.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương pháp thu và xử lý rong nguyên liệu

Rong nâu *S. mcclurei* được thu vào tháng 6/2019 tại khu vực Hòn Chồng, Vịnh Nha Trang. Mẫu rong được định danh bởi TS Võ Thành Trung (Phòng Vật liệu Hữu cơ và Tài nguyên biển, Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang). Rong nâu *S. mcclurei* sau khi đưa về được rửa sạch tạp chất bằng nước biển và rửa lại bằng nước ngọt 4 đến 5 lần để sạch hết muối, cát còn lại. Sau đó, rong được phơi khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng, trung bình 10 kg rong tươi thu được 1,3 kg rong khô với độ ẩm khoảng 25±2%. Rong khô được đem đi xay nhỏ với kích thước khoảng 1 mm, chứa trong túi PE có dán nhãn, bảo quản ở tủ đông -20°C để dùng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2. Phương pháp chiết fucoidan

Chiết fucoidan bằng phương pháp hỗ trợ enzyme được tiến hành theo [14] có cải tiến, cụ thể: rong nâu *S. mcclurei* (25 g) xay được chiết với Viscozyme (Novozyme, Đan Mạch) trong đệm acetate pH=4,5 với nồng độ enzyme là 0, 0,5, 1, 2, 5 và 7% (v/v); tỷ lệ enzyme/rong nguyên liệu là 10/1, 20/1, 25/1, 30/1, 35/1 và 40/1 (v/w); thời gian chiết là 1, 3, 6, 12, 24, 36 và 48 giờ.

Hỗn hợp rong và enzyme được để trên máy lắc có điều khiển nhiệt độ (NB-205V, N-Biotek, Hàn Quốc), với tốc độ lắc 120 rpm, nhiệt độ chiết được thực hiện ở 45°C. Sau khi kết thúc quá trình chiết, hỗn hợp được ly tâm 10.000 rpm ở nhiệt độ phòng bằng máy ly tâm (Z446K, Hermle, Đức) để thu nhận dịch lọc. Dịch chiết được trung hoà bằng NaOH 0,1 N, sau đó bổ sung CaCl₂ 2% để loại bỏ alginate. Fucoidan được thu nhận bằng cách kết tủa với cetavlon 1% và giải hấp bằng NaI bão hòa trong ethanol 96%, tiến hành trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Phần kết tủa chứa fucoidan được hoà tan lại trong nước và thẩm tách qua màng 10 kDa để loại bỏ muối, kim loại nặng, các hợp chất có khối lượng phân tử dưới 10 kDa. Dịch fucoidan thu được, đem đông khô lạnh trên thiết bị (ECO 50, Lyoquest, Tây Ban Nha) để tính hàm lượng fucoidan và hoạt tính chống oxy hóa tổng, từ đó xác định điều kiện chiết tốt nhất.

2.3. Các phương pháp phân tích

Hàm lượng carbohydrate tổng số được xác định bằng phương pháp phenol-axit sulfuric [17]; hàm lượng sulfate được xác định bằng phương pháp đo độ đục với BaCl₂/gelatin [18]; thành phần đường đơn được xác định bằng phương pháp HPLC [19]: fucoidan (5 mg) cho vào ống nghiệm có nút vặn, thêm 1 ml TFA (Triflorua acetic acid) 2 M, thủy phân trong 6 giờ ở 100°C, sau đó cho bay hơi đến gần khô bằng máy cô quay chân không, rửa lặp lại 3 lần với MeOH để loại hết TFA dư. Phần cặn còn lại hòa tan với 1 ml nước để ion, dung dịch này được dùng để phân tích thành phần đường trên thiết bị phân tích hydrat cacbon IC-500 Biotronik (Đức), sử dụng cột Shim-pack ISA-07/S2504 (0,4×25 cm), pha động là đệm borat kali, tốc độ rửa giải 0,6 ml/phút. Đường đơn được phát hiện bằng phương pháp bicinchoninate trên hệ phân tích Shimadzu C-R2 AX. Các đường đơn fucose, glucose, galactose, mannose, xylose, rhamnose được sử dụng làm chất chuẩn; phổ NMR đo trên máy Bruker AVANCEIII 500 MHz với dung môi D₂O ở nhiệt độ 70°C, sử dụng DSS làm chất chuẩn nội với kỹ thuật đo khử tín hiệu của nước.

2.4. Phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa tổng được xác định bằng phương pháp của P. Prieto và cs (1999) [20] lấy 0,5 ml mẫu thêm 0,5 ml nước và 3 ml dung dịch phản ứng (0,6 Mol axit sunfuric, 28 mM natrisulfate và 4 mM amoni molybdat) được đặt ở

95°C trong 90 phút. Đo mật độ quang của hỗn hợp phản ứng ở bước sóng 695 nm trên máy UV-Vis (6405, Jenway, Anh) với chất chuẩn là axit ascorbic (AA).

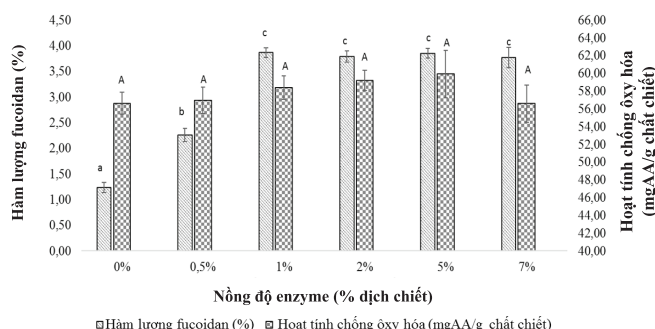
2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả biểu diễn là giá trị trung bình và độ lệch chuẩn thu được giữa các lần thí nghiệm. Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS 20.0; kiểm định Duncan được thực hiện sau phân tích ANOVA để đánh giá sự khác nhau giữa các giá trị trung bình ở mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ Viscozyme

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ Viscozyme đến hàm lượng fucoidan và hoạt tính chống oxy hóa tổng được thể hiện ở hình 1.

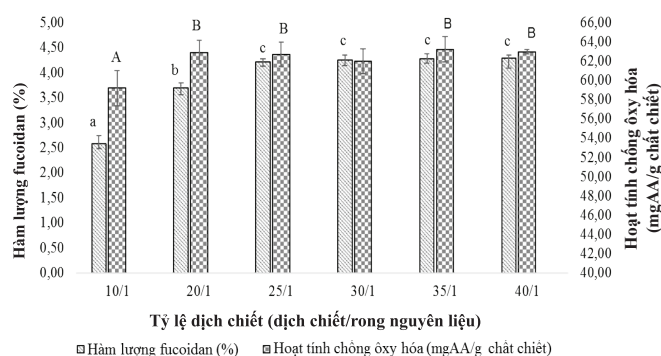


Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme đến hiệu suất và hoạt tính chống oxy hóa tổng của fucoidan từ rong nâu *S. mcclurei*. a, b, c: sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) của hàm lượng fucoidan; A: sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) của hoạt tính chống oxy hóa tổng của fucoidan thu nhận được.

Kết quả khảo sát cho thấy, nồng độ Viscozyme ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng fucoidan từ rong nâu *S. mcclurei* ($p < 0,05$). Hàm lượng fucoidan tăng từ 1,13 đến 3,97%, khi nồng độ Viscozyme xử lý là 1% thì hàm lượng fucoidan đạt cao nhất với 3,97%. Khi tăng nồng độ Viscozyme từ 2 đến 7%, hàm lượng fucoidan thay đổi không đáng kể. Do đó, nồng độ Viscozyme 1% được lựa chọn cho bước nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ Viscozyme/rong nguyên liệu

Với nồng độ Viscozyme được lựa chọn là 1%, việc tiếp tục tiến hành khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dịch chiết/rong nguyên liệu đến hiệu suất chiết và hoạt tính chống oxy hóa của fucoidan thu nhận được đã được nghiên cứu. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ dịch chiết/rong nguyên liệu đến hàm lượng fucoidan và hoạt tính chống oxy hóa tổng được thể hiện ở hình 2.



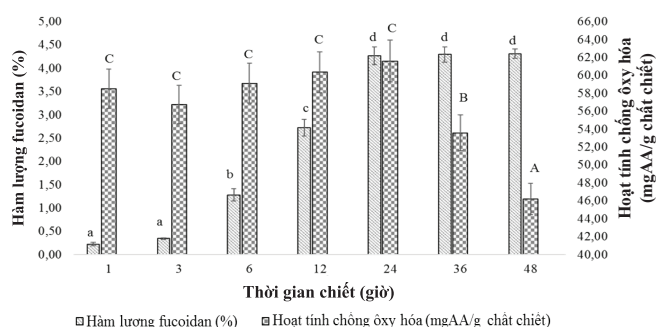
Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ dịch chiết/rong nguyên liệu đến hiệu suất và hoạt tính chống oxy hóa tổng của fucoidan từ rong nâu *S. mcclurei*. a, b, c: sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) của hàm lượng fucoidan; A, B: sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) của hoạt tính chống oxy hóa tổng.

Kết quả khảo sát cho thấy, tỷ lệ dịch chiết/rong nguyên liệu ảnh hưởng đến hàm lượng của fucoidan ($p < 0,05$). Hàm lượng fucoidan tăng từ 2,58 đến 4,29% khi tỷ lệ chiết thay đổi từ 10/1 đến 40/1. Sự ảnh hưởng của tỷ lệ chiết đến hàm lượng fucoidan có thể được giải thích là khi ở tỷ lệ chiết thích hợp enzyme phá vỡ thành tế bào và fucoidan dễ dàng khuếch tán vào pha dịch chiết hơn. Khi hàm lượng fucoidan trong rong đi vào pha chiết đã ở mức cao nhất thì việc tăng tỷ lệ chiết không còn ý nghĩa nữa. Kết quả nghiên cứu ở các loài rong khác nhau cũng cho tỷ lệ khác nhau, do hàm lượng fucoidan trong mỗi loài rong là khác nhau. Ví dụ khi sử dụng carbohydrase và protease để chiết các chất chống oxy hóa từ rong nâu *S. horneri*, tỷ lệ chiết là 50/1 hoặc 100/1 cũng đã được sử dụng [21].

Tỷ lệ dịch chiết/rong nguyên liệu là 25/1 thì hàm lượng fucoidan thu được đạt 4,22%. Khi tăng tỷ lệ chiết lên 40/1 thì hàm lượng fucoidan tăng lên 4,29%, sự khác biệt này không có ý nghĩa về mặt thống kê, do đó để tiết kiệm enzyme và chiết xuất kinh tế hơn thì chúng tôi chọn tỷ lệ dịch chiết/rong nguyên liệu là 25/1 cho các khảo sát tiếp theo.

3.3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian xử lý với Viscozyme

Khi sử dụng Viscozyme để hỗ trợ chiết các hợp chất có hoạt tính sinh học thì thời gian chiết ảnh hưởng nhiều đến hiệu suất chiết cũng như hoạt tính của mẫu nghiên cứu. Đối với rong nâu, tùy vào enzyme sử dụng và loài rong mà thời gian chiết khác nhau. Đối với rong *Scytosiphon lomentaria*, khi sử dụng carbohydrases và proteases ở điều kiện 40-60°C, pH 4,5-8, thời gian chiết là 12 giờ [22], đối với rong *S. horneri* thời gian chiết là 24 giờ [21]. Do đó, trong nghiên cứu này, việc khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến hiệu suất chiết và hoạt tính chống oxy hóa của fucoidan từ rong nâu *S. mcclurei* đã được tiến hành.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian chiết đến hiệu suất và hoạt tính chống oxy hóa tổng của fucoidan từ rong nâu *S. mcclurei*. a, b, c: sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) của hàm lượng fucoidan; A, B, C: sự sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$) của hoạt tính chống oxy hóa tổng.

Sau khi khảo sát và lựa chọn nồng độ Viscozyme, tỷ lệ dịch chiết/rong nguyên liệu, chúng tôi tiếp tục tiến hành khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết đến hiệu suất và hoạt tính chống oxy hóa của fucoidan thu nhận được. Kết quả xử lý bằng phần mềm SPSS ở hình 3 cho thấy, yếu tố thời gian ảnh hưởng đến hàm lượng fucoidan và khả năng chống oxy hóa tổng ($p < 0,05$). Động thái biến đổi theo thời gian xử lý của hàm lượng fucoidan được chia làm 3 giai đoạn: giai đoạn 1-3 giờ: ở giai đoạn này hàm lượng fucoidan thu nhận tăng không đáng kể (0,23 đến 0,35%), điều này được giải thích rằng đây là giai đoạn các enzyme trong Viscozyme tác động đến thành tế bào rong nâu, giai đoạn này một phần fucoidan thâm thấu qua thành tế bào vào môi trường chiết, một phần khác vẫn liên kết chặt chẽ với thành tế bào; giai đoạn 6-24 giờ: hàm lượng thu nhận fucoidan tăng nhanh chóng (1,28 đến 4,27%), đây là giai đoạn cấu trúc thành tế bào đã bị phá vỡ, fucoidan được giải phóng đi vào dung dịch chiết; giai đoạn 36-48 giờ: hàm lượng fucoidan thay đổi không đáng kể là do hàm lượng fucoidan vào môi trường chiết đã ở mức cao nhất (4,30 đến 4,31%), dù có kéo dài thời gian chiết thì hàm lượng fucoidan vẫn không thay đổi.

Sau khi xác định được các điều kiện chiết fucoidan tối ưu: nồng độ Viscozyme là 1% (v/w), tỷ lệ dịch chiết/rong nguyên liệu là 25:1 (v/w) và thời gian chiết là 24 giờ thì tiến hành chiết fucoidan từ rong nâu *S. mcclurei* ở điều kiện lựa chọn. Kết quả hàm lượng fucoidan thu nhận được đạt 4,27%, cao hơn khi so sánh với phương pháp hóa học (hàm lượng fucoidan thu nhận được hơn 2%) [16]. Kết quả này cũng khá tương đồng với các nghiên cứu đã công bố trước đây. S.H. Lee và cs (2012) [23] đã sử dụng Celluclast (Novozyme) để chiết xuất fucoidan từ rong *Ecklonia cava*, kết quả cho thấy hiệu suất tăng 1,3 lần so với phương pháp chiết xuất bằng nước nóng. Trong khi đó, T.T. Nguyen và cs (2020) [19] đã sử dụng hỗn hợp Cellic®CTec2 (cellulase) và alginate lyase để chiết fucoidan từ rong *Fucus evanescens* không cho thấy sự khác biệt rõ ràng về hiệu suất chiết, nhưng khối lượng phân tử và hàm lượng sulfate khi sử dụng phương pháp có sự hỗ trợ của các enzyme cao hơn so với phương pháp hóa học.

3.4. Kết quả phân tích thành phần hóa học của fucoidan thu được

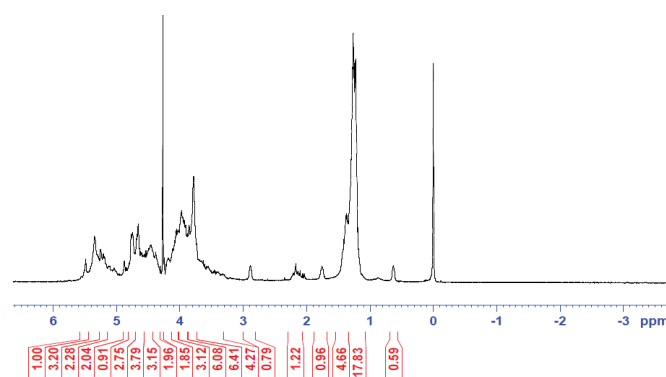
Fucoidan được chiết bằng sự hỗ trợ của Viscozyme ở điều kiện lựa chọn đã được xác định thành phần hóa học gồm thành phần đường đơn, hàm lượng sulfate và đo phổ IR. Kết quả phân tích thành phần đường đơn, hàm lượng sulfate và axit uronic được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần hóa học của fucoidan chiết từ rong nâu *S. mcclurei*.

Hàm lượng sulfate (%)	Axit uronic (%)	Thành phần monosaccharide (tỷ lệ mol)					
		Fucose	Galactose	Rhamnose	Glucose	Xylose	Mannose
25,32	10,1	1	0,71	0,003	0,04	0,005	0,007

Kết quả phân tích thành phần đường đơn ở bảng 1 cho thấy, phân tử fucoidan chiết từ rong nâu *S. mcclurei* được cấu tạo chủ yếu bởi 2 đường fucose, galactose với tỷ lệ fucose/galactose là 1/0,71 và nhóm sulfate với hàm lượng cao. Do đó, fucoidan này được gọi là sulfate galactofucan, phù hợp với công bố của P.D. Thinh và cs (2013) [16].

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton được coi như một phương pháp đặc trưng để nhận biết fucoidan dựa vào tín hiệu methyl của fucose ở vị trí C6. Kết quả đo phổ ¹H-NMR của fucoidan chiết từ rong nâu *S. mcclurei* thu nhận được trong nghiên cứu này được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Phổ ¹H-NMR của fucoidan chiết từ rong nâu *S. mcclurei*.

Phổ ¹H-NMR của fucoidan khi sử dụng phương pháp chiết với sự hỗ trợ của enzyme có đầy đủ các tín hiệu của phân tử fucoidan. Các tín hiệu proton anomeric ở khoảng 5-5,5 ppm, các tín hiệu trong vùng 3,3-4,8 ppm là thuộc về proton vòng pyranose, 1 tín hiệu ở khoảng 1,3 ppm được gán cho nhóm CH₃ của L-fucose.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, điều kiện khi sử dụng Viscozyme để hỗ trợ chiết fucoidan từ rong nâu *S. mcclurei* thu nhận tại vùng biển Khánh Hòa là 1% Viscozyme (v/w), tỷ lệ dịch chiết/rong nguyên liệu là 25/1 (v/w) và thời gian chiết xuất là 24 giờ. Ở điều kiện này, hàm lượng fucoidan thu nhận được là 4,27%; fucoidan được xác định là sulfate galactofucan

với tỷ lệ fucose/galactose là 1/0,71. Với kết quả thu được, chúng tôi nhận thấy có thể sử dụng Viscozyme để cải tiến quy trình chiết xuất fucoidan bằng phương pháp hóa học đang được sử dụng phổ biến ở Việt Nam nhằm nâng cao hiệu suất thu nhận fucoidan và đáp ứng yêu cầu mới của xã hội là tiến tới công nghệ xanh trong sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Cumashi, N.A. Ushakova, M.E. Preobrazhenskaya, et al. (2007), "A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds", *Glycobiology*, **17**(5), pp.541-552, DOI: 10.1093/glycob/cwm014.
- [2] S. Ermakova, M. Kusaykin, A. Trincon, et al. (2015), "Are multifunctional marine polysaccharides a myth or reality?", *Front. Chem.*, **3**, pp.1-4, DOI: 10.3389/fchem.2015.00039.
- [3] T.T.T. Thuy, B.M. Ly, T.T.T. Van, et al. (2015), "Anti-HIV activity of fucoidans from three brown seaweed species", *Carbohydr. Polym.*, **115**, pp.122-128, DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.08.068.
- [4] H.R.B. Raghavendran, P. Srinivasan, S. Rekha (2011), "Immunomodulatory activity of fucoidan against aspirin-induced gastric mucosal damage in rats", *Int. Immunopharmacol.*, **11**(2), pp.157-163, DOI: 10.1016/j.intimp.2010.11.002.
- [5] J. Wang, Q. Zhang, Z. Zhang, et al. (2008), "Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*", *Int. J. Biol. Macromol.*, **42**(2), pp.127-132, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2007.10.003.
- [6] T.V. Alekseyenko, S.Y. Zhanayeva, A.A. Venediktova, et al. (2007), "Antitumor and antimetastatic activity of fucoidan, a sulfated polysaccharide isolated from the Okhotsk sea *Fucus evanescens* brown alga", *Bull. Exp. Biol. Med.*, **143**(6), pp.730-732, DOI: 10.1007/s10517-007-0226-4.
- [7] B.L. Tutour (1990), "Antioxidative activities of algal extracts, synergistic effect with vitamin E", *Phytochemistry*, **29**(12), pp.3759-3765, DOI: 10.1016/0031-9422(90)85327-C.
- [8] D.S. Choi, Y. Athukorala, M. Senevirathne, et al. (2007), "Antioxidant activity of sulfated polysaccharides isolated from *Sargassum fulvellum*", *Prev. Nutr. Food Sci.*, **12**(2), pp.65-73, DOI: 10.3746/jfn.2007.12.2.065.
- [9] S. Palanisamy, M. Vinosha, M. Manikandakrishnan, et al. (2018), "Investigation of antioxidant and anticancer potential of fucoidan from *Sargassum polycystum*", *Int. J. Biol. Macromol.*, **116**, pp.151-161, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.04.163.
- [10] A. Dobrinčić, S. Balbino, Z. Zorić, et al. (2020), "Advanced technologies for the extraction of marine brown algal polysaccharides", *Mar. Drugs*, **18**(3), DOI: 10.3390/md18030168.
- [11] W.A.J.P. Wijesinghe, Y. Athukorala, J. You-Jin, et al. (2011), "Effect of anticoagulative sulfated polysaccharide purified from enzyme-assistant extract of a brown seaweed *Ecklonia cava* on Wistar rats", *Carbohydr. Polym.*, **86**(2), pp.917-921, DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.05.047.
- [12] A.M. Hammed, I. Jaswir, S. Simsek, et al. (2017), "Enzyme aided extraction of sulfated polysaccharides from *Turbinaria turbinata* brown seaweed", *Int. Food Res. J.*, **24**(4), pp.1660-1666.
- [13] M. Alboofetileh, M. Rezaei, M. Tabarsa, et al. (2019), "Effect of different non-conventional extraction methods on the antibacterial and antiviral activity of fucoidans extracted from *Nizamuddiniana zanardinii*", *Int. J. Biol. Macromol.*, **124**, pp.131-137, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.201.
- [14] S. Charoensiddhi, M.A. Conlon, C.M.M. Franco, et al. (2017), "The development of seaweed-derived bioactive compounds for use as prebiotics and nutraceuticals using enzyme technologies", *Trends Food Sci. Technol.*, **70**, pp.20-33, DOI: 10.1016/j.tifs.2017.10.002.
- [15] M. Alboofetileh, M. Rezaei, M. Tabarsa (2018), "Enzyme-assisted extraction of *Nizamuddiniana zanardinii* for the recovery of sulfated polysaccharides with anticancer and immune-enhancing activities", *J. Appl. Phycol.*, **31**, pp.1391-140, DOI: 10.1007/s10811-018-1651-7.
- [16] P.D. Thinh, R.V. Menshova, S.P. Ermakova, et al. (2013), "Structural characteristics and anticancer activity of fucoidan from the brown alga *Sargassum mclurei*", *Mar. Drugs*, **11**(5), pp.1453-1476, DOI: 10.3390/md11051456.
- [17] M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, et al. (1956), "Colorimetric method for determination of sugars and related substances", *Anal. Chem.*, **28**(3), pp.350-356, DOI: 10.1021/ac60111a017.
- [18] K.S. Dodgson, R.G. Price (1962), "A note on the determination of the ester sulfate content of sulfated polysaccharides", *Biochem. J.*, **84**(1), pp.106-110, DOI: 10.1042/bj0840106.
- [19] T.T. Nguyen, M.D. Mikkelsen, V.H.N. Tran, et al. (2020), "Enzyme-assisted fucoidan extraction from brown macroalgae *Fucus distichus* subsp. *Evanescens* and *Saccharina latissima*", *Mar. Drugs*, **18**(6), DOI: 10.3390/md18060296.
- [20] P. Prieto, M. Pineda, M. Aguilar (1999), "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E", *Anal. Biochem.*, **269**(2), pp.337-341, DOI: 10.1006/abio.1999.4019.
- [21] K.K.A. Sanjeewa, I.P.S. Fernando, E.A. Kim, et al. (2017), "Anti-inflammatory activity of a sulfated polysaccharide isolated from an enzymatic digest of brown seaweed *Sargassum horneri* in RAW 264.7 cells", *Nutr. Res. Pract.*, **11**(1), pp.3-10, DOI: 10.4162/nrp.2017.11.1.3.
- [22] C.B. Ahn, Y.J. Jeon, D.S. Kang, et al. (2004), "Free radical scavenging activity of enzymatic extracts from a brown seaweed *Scytosiphon lomentaria* by electron spin resonance spectrometry", *Food Res. Int.*, **37**(3), pp.253-258, DOI: 10.1016/j.foodres.2003.12.002.
- [23] S.H. Lee, C.I. Ko, G. Ahn, et al. (2012), "Molecular characteristics and anti-inflammatory activity of the fucoidan extracted from *Ecklonia cava*", *Carbohydr. Polym.*, **89**(2), pp.599-606, DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.03.056.