

اثر ویتامین‌های C و E در افزایش ماندگاری خمیر جلبکی نانوکلوپسیس (*Nannochloropsis oculata*) در طول دوره نگهداری در شرایط سرد

معصومه عموزاد خلیلی^۱، عبدالمحمد عابدیان کناری^{۲*}، مسعود رضائی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور

۲- استاد، گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور

۳- استاد، گروه فرآوری آبزیان، دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور

پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۲

دریافت: ۹۵/۰۲/۱۳

*نویسنده مسئول مقاله : aabedian@modares.as.ir

چکیده:

تأثیر آنتی‌اکسیدانی ویتامین‌های C و E بر افزایش ماندگاری خمیر جلبکی نانوکلوپسیس (*Nannochloropsis oculata*) نگهداری شده در دمای ۴ °C بررسی شد. ابتدا جلبک در شرایط کشت استاندارد (محیط کشت کانوی، میزان نور ۲۰۰۰ - ۱۰۰۰ لوکس، دما ۱۷ ± ۱ °C، pH = ۷/۵ - ۸/۶، ۲۴ ppt - ۲۰ و همراه با هوادهی) تولید شده و سپس در مرحله رشد لگاریتمی با روش سانتریفیوژ به وسیله دستگاه خامه‌گیر (۱۲۰۰۰ rpm) جداسازی شد. سپس به نمونه‌های خمیر جلبکی مقادیر مختلف ویتامین C و E (۰/۱w/w درصد) و مخلوط دو ویتامین به نسبت مساوی اضافه و در یخچال به مدت ۱۲ هفته نگهداری شدند. نتایج بیانگر زنده‌مانی ۹۵ درصدی در تیمار ویتامین C در پایان دوره بود که از تیمار شاهد بیشتر بود ($p < ۰/۰۵$). مجموع اسیدهای چرب آزاد و pH به‌طورمعنی داری در گروه حاوی ویتامین C کمتر از گروه شاهد بود. مقایسه بین تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری نشان داد که تیمار حاوی ویتامین E در مقایسه با سایر تیمارها، طی گذشت زمان افزایش فساد اکسیداتیو کمتری دارد. در طی دوره نگهداری، میزان زنده‌مانی بالا بوده و مواد افزودنی به‌عنوان نگهدارنده مناسب این فرآورده عمل کرده است. در مجموع، نتایج این تحقیق نشان از عملکرد مناسب ویتامین‌ها در حفظ و نگهداری خمیر جلبکی در شرایط سرد بود.

کلید واژگان: آنتی‌اکسیدان، خمیر جلبکی، ویتامین C، ویتامین E، *Nannochloropsis oculata*

مقدمه

همچنین در پی آشکار شدن اهمیت طبی و نقش آنها در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های صعب‌العلاج، در حال افزایش است. ریز جلبک نانوکلوپسیس به دلیل دارا بودن

مصرف آبزیان در دهه‌های اخیر به دلیل افزایش جمعیت و رویکرد عمومی به مصرف غذاهای حاصل از منابع آبی

اسیدهای چرب غیراشباع و میزان بالای پروتئین، در آبی پرووری به ویژه در پرورش لارو ماهیان دریایی که قادر به سنتز اسیدهای چرب غیراشباع نیستند، از اهمیت بالایی برخوردار است. خمیر جلبکی فراورده ای بسیار با ارزش از میکرو جلبک ها می باشد که به صورت یک محلول آبکی خیلی غلیظ از سلول های جلبکی (عمدتاً میکرو جلبک های سبز-آبی) تهیه می گردد؛ این فراورده می تواند کاربرد وسیعی در صنایع شیلاتی و غیرشیلاتی داشته باشد. به طوری که به عنوان جایگزین جلبک های زنده برای تولید لارو گونه های مختلف ماهی و میگو، تولید انواع ژئوپلانکتون ها، تولید آب سبز و نیز در تهیه بسیاری از محصولات آرایشی و بهداشتی استفاده می شود. از مزایای خمیر جلبکی می توان به کاهش هزینه های تولید، کاهش فضای تولید غذای زنده، استفاده آسان، عمر نگهداری به نسبت طولانی آن اشاره کرد (Heasman et al., 2000).

فراورده های دریایی به دلیل داشتن مقادیر بالای اسیدهای چرب چند غیراشباعی ضروری امگا-۳ مثل DHA و EPA بسیار مستعد به اکسایش هستند (Maqsood and Benjakul, 2010). اکسیداسیون چربی در مواد غذایی به وسیله واکنش های مختلف و در نتیجه تشکیل رادیکال های آزاد، هیدروپراکسیدها و محصولات دیگر فساد ایجاد می کند (Belitz and Grosch, 1999). ترکیبات فرار حاصل از واکنش های اکسیداسیون و آب کافتی چربی ها (هیدروپراکسیدها، آلدئیدها، کتون ها، اسیدهای چرب، اپو اکسیدها، دایمرها، اکسی کسترون) بو، طعم، رنگ، بافت، ارزش غذایی و به طور کلی کیفیت این فراورده ها را دستخوش تغییر قرار داده است و باعث عدم مطلوبیت این منابع مهم غذایی (Sakanaka et al., 2005; Hars et al., 2000) و همچنین بروز سمیت در این محصولات طی نگهداری شوند (Frankel, 1980; Frankel, 1984; Kanner et

al., 1987). فساد اکسیداسیونی طی شرایط نگهداری باعث کاهش کیفیت این فراورده ها می شوند، در نتیجه انجام اقداماتی برای حفظ کیفیت این فراورده ها ضروری است. استفاده از آنتی اکسیدان ها روش مؤثری برای به حداقل رساندن یا جلوگیری از اکسایش چربی در محصولات خوراکی و به تعویق انداختن تشکیل محصولات سمی ناشی از اکسایش است که موجب حفظ کیفیت تغذیه ای و طولانی تر شدن زمان ماندگاری مواد خوراکی می شود (Gupta and Abu-Ghannam, 2011). آنتی اکسیدان ها متابولیت های ثانویه ای هستند که با تبدیل رادیکال های آزاد یا رادیکال های پراکسی به ترکیبات غیررادیکالی از طریق دادن الکترون، هیدروژن، چلات کردن فلزات واسطه و حل کردن ترکیبات تولیدکننده پراکسیداسیون از اکسایش جلوگیری می کنند.

ویتامین C به طور وسیعی برای جلوگیری از اکسیداسیون در ماهی و فراورده های دریایی مطالعه شده است (Gimenez et al., 2005; Gimenez et al., 2004). ویتامین C به طور مؤثری قادر به حذف سوپراکسیدها، هیدروژن پراکسیدها، هیپوکلریت ها، رادیکال های هیدروکسیل، رادیکال های پروکسیل و اکسیژن یگانه می باشد (Min and Krochta, 2007).

یکی از آنتی اکسیدان های طبیعی دیگر که به طور متداول در فراورده های دریایی استفاده می شود، ویتامین E است. مطالعات آزمایشگاهی ثابت کرده اند که ویتامین E یک آنتی اکسیدان زنجیره شکن فوق العاده مؤثر است و می تواند از چربی های چند غیراشباعی (PUFA) در برابر رادیکال های آزاد محافظت کند.

درباره تولید خمیر جلبکی و روش های حفظ کیفیت آن مطالعات کمی در سطح دنیا انجام شده است. M. ontaini و همکاران (۱۹۹۵) اثر روش های نگهداری مختلف روی با و

پروپیل اسید چرب گونه *Tetraselmis suecica* را بررسی کردند. روش‌های نگهداری آزمایش شده شامل انجماد با افزودن DMSO و بدون نگهدارنده، انجماد در نیتروژن مایع و نگهداری کنسانتره در 4°C بود. هیچ‌گونه اختلاف معناداری در بقا و پروپیل اسید چرب در نمونه‌های کنسانتره نگهداری شده در 4°C با بقیه تیمارها مشاهده نشد. Nunes و همکاران (۲۰۰۹) ماندگاری خمیر جلبکی ذخیره شده در 4°C بدون افزودنی و با افزودن ۰/۱ درصد آسکوربیک اسید بر روی گونه‌های *Cheatoceros mulleri*، *Cheatoceros*، *calcitrans* و *Skeletonema sp.* در یک مرکز تکثیر نرم‌تنان ارزیابی کردند. ماندگاری خمیرهای جلبکی بدون افزودنی در مقایسه با خمیرهایی که در دمای 4°C در ۰/۱ درصد آسکوربیک اسید بالاتر بود.

اطلاعات اندکی از نگهداری محصول کنسانتره جلبکی موجود است، بنابراین این تحقیق برای اولین بار به بررسی تأثیر آنتی‌اکسیدان و ویتامین‌های C و E بر افزایش ماندگاری خمیر جلبکی نانوکلوپسیس در شرایط سرد (4°C) می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

تولید خمیر جلبکی

در این مطالعه ذخیره اولیه گونه *Nannochloropsis oculata* از پژوهشگاه بندر امام تهیه و به آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل گردید. پس از بررسی‌های میکروسکوپی اولیه و اطمینان از خلوص ذخیره مورد استفاده، کشت اولیه جلبک مذکور در محیط کشت کانوی (Walne) در مقادیر ۱۰۰ و سپس ۱۰۰۰ میلی‌لیتری و تحت شرایط کنترل شده (میزان نور ۲۰۰۰ - ۱۰۰۰ لوکس، دما $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ و pH = ۷/۵ - ۸/۶) ، شوری ppt ۲۴ - ۲۰ و همراه با هوادهی انجام شد

(Lavens and Sorgeloos, 1996). سپس در حجم‌های بیشتر در ظروف ۲۰ لیتری و حداقل به میزان ۲۰۰ لیتر مورد کشت انبوه قرار گرفت. پس از انجام کشت انبوه، جلبک در روز هشتم مرحله رشد لگاریتمی جمع‌آوری و با سانتریفیوژهای مخصوص (Cream separator، شرکت ARSAN کشور ترکیه) با شتاب ۱۲۰۰۰ rpm تغلیظ گردید. پس از کنسانتره کردن جلبک‌ها، افزودنی‌های مورد نظر برای حفظ کیفیت آن در شرایط سرد به خمیر تولیدی اضافه شد. برای اینکار ۴ تیمار مختلف در نظر گرفته شد. تیمارها شامل تیمار ۱ یا شاهد (بدون هیچ‌گونه افزودنی) تیمار ۲ (ویتامین C به میزان ۰/۱w/w درصد) تیمار ۳ (ویتامین E به میزان ۰/۱w/w درصد) و تیمار ۴ (مخلوط دو ویتامین به نسبت مساوی و به میزان ۰/۱ w/w درصد) بودند (Heasman et al., 2000). هر یک از افزودنی‌ها به نسبتی که اشاره شد به خمیر جلبکی تولیدی اضافه و سپس همگن شدند. از آنجا که امکان همگن کردن ویتامین E به دلیل حلالیت در چربی به‌سادگی وجود ندارد، بنابراین برای اینکار از توئین ۸۰ (۰/۱ گرم توئین + ۱ گرم ویتامین E) به‌عنوان امولسی‌فایر استفاده شد و سپس با خمیر مورد نظر مخلوط گردید. خمیر جلبکی آماده شده در ظروف مخصوص، در محیط تاریک و در یخچال (4°C) نگهداری شد تا آزمایش‌های مختلف کنترل کیفی محصول در طی مدت ۱۲ هفته انجام شود.

تعیین تراکم و درصد زنده‌مانی

درصد زنده‌مانی سلول‌ها با استفاده از روش رنگ‌آمیزی Evans Blue، به‌صورت هفتگی با استفاده از روش Heasman و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از خمیر جلبکی در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دریا فیلتر شده معلق شده سپس برای رنگ‌آمیزی، ۵۰۰

اسیدیته بر حسب درصد اسید اولئیک مشخص گردید (Egan et al., 1997).

سنجش pH

برای سنجش pH ۰/۲ گرم از نمونه با ۱/۸ میلی لیتر آب مقطر، مخلوط گردید، سپس pH نمونه ها در دمای اتاق با استفاده از دستگاه pH متر مدل ۳۵۱۰ ساخت شرکت Jenway انگلستان اندازه گیری شد (Suvanich et al., 2000).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. ابتدا بررسی طبیعی بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف^۲ و سپس همگنی واریانس ها با استفاده از آزمون لون انجام شد که نتایج این آزمون ها برای آنالیز آماری داده های مربوط به تیمارهای آزمایش استفاده شد. برای تعیین اختلاف معنادار بین تیمارها از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) استفاده گردید. برای مقایسه میانگین ها در مواردی که اثر کلی تیمارها معنادار شناخته شد از آزمون دانکن استفاده شد. گفتنی است که در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل خطای مجاز برای رد یا قبول فرضیه، ۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج تراکم و درصد زنده مانی

غلظت خمیر جلبکی حاصل از روش سانتریفیوژ در این تحقیق $10^{10} \times 1/8$ سلول در میلی لیتر به دست آمد.

میکرولیتر از رنگ ایوانز بلو به ۱۰ میلی لیتر از این سوسپانسیون اضافه گردید. نمونه ها حداقل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند و سپس زیر میکروسکوپ مشاهدات صورت گرفت. سلول های مرده رنگ آبی را جذب کرده و سلول های زنده بدون هیچ تغییر رنگی به رنگ سبز دیده می شوند و درصد زنده مانی با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید.

شمارش نمونه ها به طور هفتگی و با سه تکرار برای هر نمونه، با استفاده از لایمنو بارودر زیر میکروسکوپ نیو بالنز ۴۰ انجام شد. درصد زنده مانی سلولی از رابطه زیر به دست آمد (Heasman et al., 2000).

$100 \times \text{کل سلول ها} / \text{تعداد سلول های زنده} = \text{درصد}$

زنده مانی

سنجش مقادیر پراکساید (PV)

میزان پراکساید خمیر جلبکی به روش Egan و همکاران (۱۹۹۷) تعیین گردید. روغن استخراج شده خمیر جلبکی به دقت در یک ارلن مایر وزن شد و حدود ۲۵ میلی لیتر از محلول اسید استیک کلروفرم (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه گردید. سپس ۰/۵ میلی لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی لیتر از آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر محلول نشاسته ۱ درصد به مجموعه افزوده شد، مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۱ درصد نرمال تیترو گردید.

سنجش مقادیر عدد اسیدهای چرب آزاد (FFA)

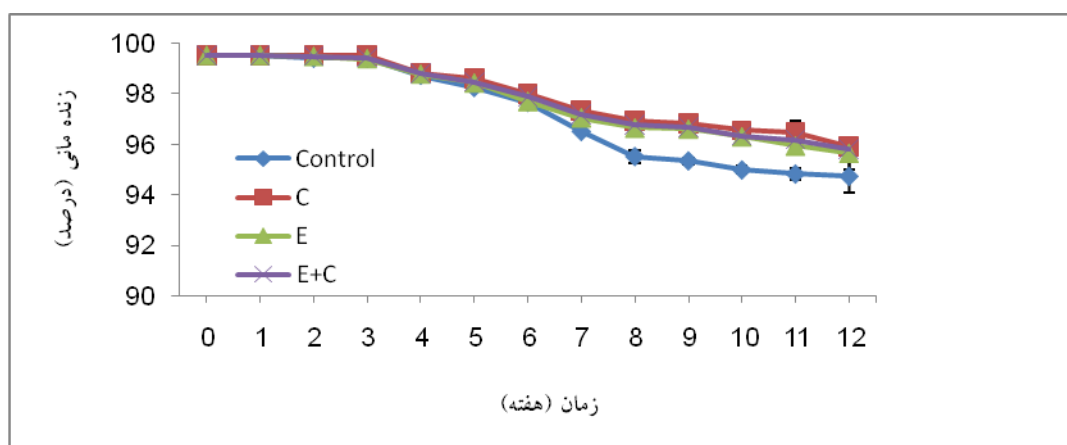
برای سنجش مقادیر عدد اسیدهای چرب آزاد (FFA)^۱ ۲۵ از الکل اتیلیک خنثی شده به وسیله سود نرمال به نمونه روغن اضافه گردید. سپس در مراحل بعدی با کمک ۲ تا ۳ قطره معرف فنل فتالین و میزان مصرفی سود نرمال مقدار

2. Kolomogorav-Smirnov
۳. Leven

1. Free fatty acid (FFA)

پس از آن درصد زنده مانده سلول های جلبکی در خمیرهای حاوی هر دو ویتامین به طور معناداری از گروه شاهد بالاتر بود ($p < 0/05$) که در بین این گروه های آزمایشی ویتامین C بیشترین تأثیر را بر روی این شاخصه داشت ($p < 0/05$).

در باره درصد زنده مانده اگرچه یک روند کاهشی در طی دوره نگهداری مشاهده گردید ($p < 0/05$)، اما با این وجود این درصد در تمامی تیمارها بالای ۹۵ درصد بود (شکل ۱). در ابتدای آزمایش و در طی دوره نگهداری تا هفته چهارم اختلاف معناداری بین تیمارها مشاهده نشد، اما

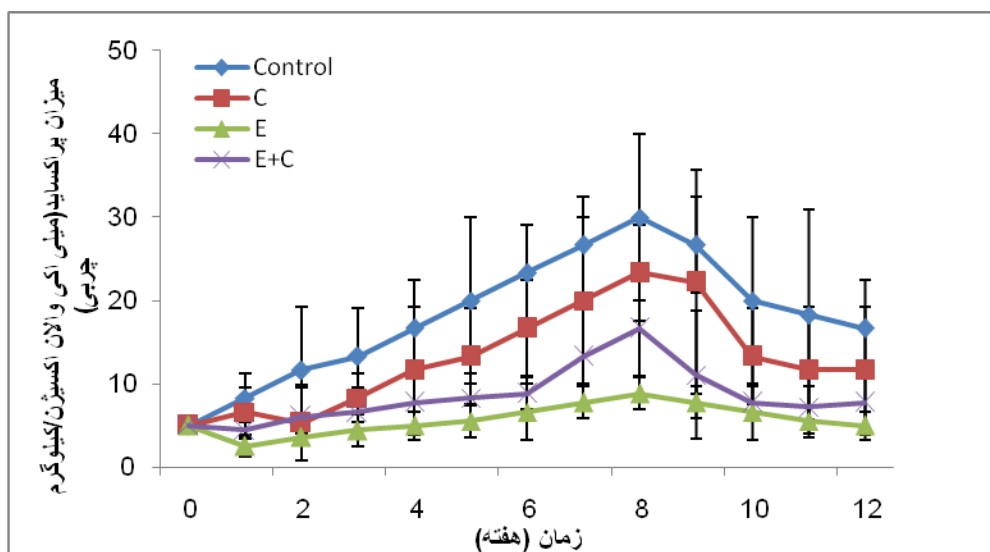


شکل ۱ تغییرات میزان درصد زنده مانده تیمارهای مختلف خمیر جلبکی نانوکلوپسیس نگهداری شده در دمای یخچال (4°C) (Control تیمار شاهد، C خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین C، E خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین E، E+C خمیر حاوی مخلوط ویتامین های E و C به نسبت مساوی)

با سایر تیمارها به طور معناداری مقادیر پراکساید بالاتری داشت ($p < 0/05$). پس از هفته هشتم نگهداری میزان پراکساید در تیمار شاهد کاهش پیدا کرد. مقایسه بین تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری نشان دهنده این مطلب بود که تیمار حاوی ویتامین E در مقایسه با سایر تیمارها، افزایش کندتری طی گذشت زمان نشان داد. در مراحل پایانی دوره نگهداری تیمار حاوی ویتامین E دارای مقادیر پراکساید کمتری بودند ($p < 0/05$).

نتایج سنجش مقادیر پراکساید (PV)

در شکل ۲ تغییرات میزان پراکساید تیمارهای مختلف خمیر جلبکی نانوکلوپسیس در طی زمان نگهداری در یخچال (4°C) مشاهده می شود. مقدار اولیه پراکساید نمونه های مورد آزمایش برای خمیر جلبکی نانوکلوپسیس ۵ میلی اکی والان اکسیژن فعال در کیلوگرم چربی بود. با گذشت زمان نگهداری این مقدار برای تیمار شاهد افزایش پیدا کرد، به طوری که در هفته هشتم نگهداری به بیشترین مقدار خود رسید (۳۰) که طی این مدت تیمار شاهد در مقایسه

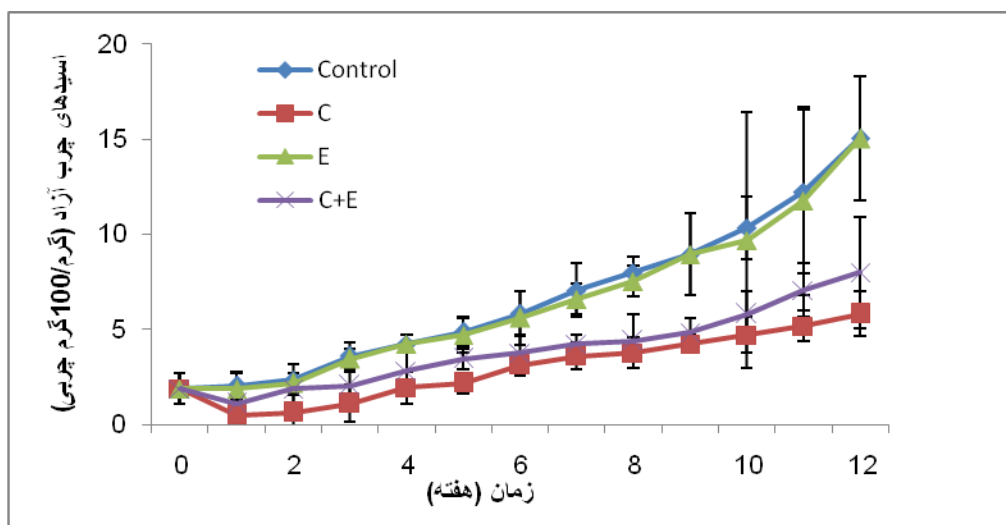


شکل ۲ تغییرات میزان پراکساید تیمارهای مختلف خمیر جلبکی نانوکروپسیس نگهداری شده در دمای یخچال (4°C) (Control تیمار شاهد، C خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین E، E خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین E، E+C خمیر حاوی مخلوط ویتامین های E و C به نسبت مساوی)

شدت بیشتری برخوردار بود. در طول دوره نگهداری تیمار حاوی ویتامین C نسبت به تیمارهای دیگر دارای میزان اسیدهای چرب آزاد کمتری بودند ($p < 0.05$) که در این میان تیمار حاوی ویتامین C نسبت به تیمار ترکیب ویتامین E+C میزان اسیدهای چرب آزاد پایین تری داشت ($p < 0.05$).

سنجش مقادیر عدد اسیدهای چرب آزاد (FFA)

به طور کلی میزان اسیدهای چرب آزاد با گذشت زمان نگهداری در همه تیمارهای مورد آزمایش، روند افزایشی معناداری مشاهده شد ($p < 0.05$ ، شکل ۳). این در حالی است که این افزایش به ترتیب در تیمار شاهد و در مرحله بعد در تیمار حاوی ویتامین E نسبت به سایر تیمارها از

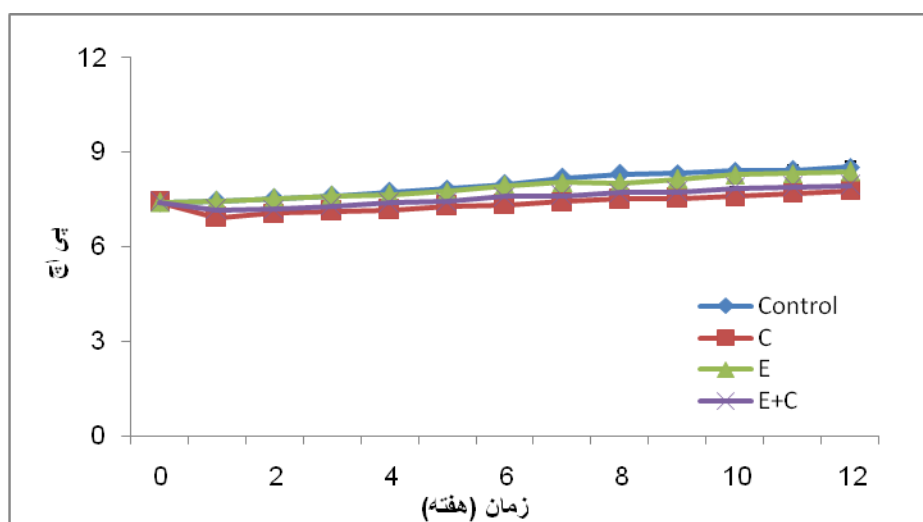


شکل ۳ مقادیر عدد اسیدهای چرب آزاد (FFA) تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری جلبک نانوکروپسیس در یخچال (Control تیمار شاهد، C خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین E، E+C خمیر حاوی مخلوط ویتامین‌های E و C به نسبت مساوی)

گروه‌های آزمایشی به‌طور معناداری افزایش یافت ($p < 0.05$). میانگین pH در گروه‌های آزمایشی ویتامین C و ترکیب ویتامین‌ها به‌طور معناداری از تیمارهای شاهد و ویتامین E کمتر بوده است ($p < 0.05$).

نتایج سنجش pH

نتایج مربوط به تغییرات pH تیمارهای مختلف خمیر جلبکی نانوکروپسیس در طی زمان نگهداری در یخچال (4°C) در شکل ۴ نشان داده شده است. میزان pH در همه



شکل ۴ مقادیر pH تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری جلبک نانوکروپسیس در یخچال (Control تیمار شاهد، C خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین E، E+C خمیر حاوی مخلوط ویتامین‌های E و C به نسبت مساوی)

بحث

میزان و تراکم خمیر جلبکی پس از سانتریفیوژ $10^{10} \times$ ۱/۸ سلول در میلی لیتر به دست آمد که این تعداد نشان دهنده کنسانتره جلبک و خمیری شدن آن است. در مطالعات گذشته ارقامی که برای تراکم خمیر جلبکی یا slurry گزارش گردید برای گونه $Chaetoceros mulleri$ $10^9 \times$ ۴ (Nunes et al., 2009) و برای $Nanochloropsis$ $10^9 \times$ ۶۵ سلول در میلی لیتر (Pfeiffer and Ludwig, 2007) بود. در مطالعه حاضر درصد زنده‌مانی در طی دوره نگهداری یک روند کاهشی را نشان داد با این حال تیمار حاوی ویتامین C و تیمار ترکیبی بیشترین بازماندگی را در مقایسه با گروه شاهد داشت. زنده‌مانی سلول‌ها تا پایان دوره نگهداری بالای ۹۵ درصد بود. نتایج مشابهی در مطالعه (Heasman et al., 2000) بر روی ۱۱ گونه خمیر جلبکی دیده شد. این در حالی است که (Nunes et al., 2009) با مطالعه اثر ویتامین C بر روی بازماندگی گونه جلبکی *Chaetoceros calcitrans*، نتایج متناقض با مطالعه حاضر گزارش کردند. بالاتر بودن درصد زنده‌مانی سلول‌ها در تیمار حاوی ویتامین C در این تحقیق را می‌توان به نقش آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داد (Heasman et al., 2000)، با این وجود با مطالعه (Nunes et al., 2009) بازماندگی گونه‌های جلبکی در پاسخ به ویتامین C به نوع گونه بستگی دارد. درواقع ویتامین C می‌تواند موجب بازگردش ویتامین E و تشدید تأثیر آن در بهبود ماندگاری محصول شود. نتایج این تحقیق با نتایج مطالعه (Naghdi et al., 1393) مطابقت داشته است.

پراکساید در مراحل اولیه اکسیداسیون و در نتیجه اتصال اکسیژن به باندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع به وجود می‌آید. از این رو اکسیداسیون اولیه چربی را می‌توان به کمک اندازه‌گیری میزان پراکساید ارزیابی

کرد (Lin and Lin, 2005). هر چند پراکساید ترکیبی بدون طعم و بو است که مصرف‌کنندگان قادر به تشخیص آن نمی‌باشند، ولی موجب تولید ترکیبات ثانویه نظیر آلدئیدها و کتون‌ها می‌شود که ایجاد تندی اکسیداتیو در محصول را به دنبال دارد (Ozyurt et al., 2007).

در مجموع نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های مربوط به پراکساید نشان داد که در طول دوره نگهداری تیمار حاوی ویتامین E و تیمار ترکیبی دارای کمترین مقدار پراکسید بودند.

افزایش میزان پراکساید به واسطه اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد و کاهش آن در ادامه دوره نگهداری احتمالاً به دلیل تجزیه هیدروپراکسیدها به محصولات ثانویه اکسیداسیون می‌باشد (Gómez et al., 2007; Chaijan et al., 2005; Rezaei and Hosseini, 2008). به عبارت دیگر در ابتدای دوره نرخ تشکیل هیدروپراکسیدها بیشتر از نرخ تجزیه آنها بوده است که افزایش میزان پراکساید رخ می‌دهد و پس از رسیدن به مقدار بیشینه به دلیل کاهش میزان سوبسترا یا ماده اولیه و ناپایدار بودن مولکول‌های پراکساید منجر به پیشی گرفتن سرعت تجزیه نسبت به تشکیل می‌شود (Pereira de Abreu et al., 2011). کم بودن میزان پراکساید در تیمارهای حاوی ویتامین C، E و مخلوط دو ویتامین رامی‌توان به دلیل اثرهای ضد اکسیداسیونی ویتامین C و E دانست که نتایج تحقیق حاضر با (Chidanandaiah et al., 2007) بر روی گوشت همخوانی دارد.

باید توجه داشت که پیشرفت هیدرولیز چربی به میزان قابل توجهی به آنزیم‌های هیدرولیزی بستگی دارد که میزان این آنزیم‌ها خود متأثر از عوامل داخلی و خارجی می‌باشد (Aubourg et al., 2005; Sikorski and Kolakowski, 2000). اگرچه تشکیل اسیدهای چرب آزاد به تنهایی منجر به کاهش ارزش تغذیه‌ای نمی‌شود، به نظر

در کل دوره نگهداری را می توان با پتانسیل بازدارندگی فعالیت باکتری ها و پروتئازهای آنزیمی ویتامین C مرتبط دانست. نتایج این مطالعه با تحقیق انجام گرفته روی خمیر جلبکیاز سوی (Heasman et al., 2000) مطابقت دارد. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از ویتامین E، C و مخلوط آنها نسبت به گروه کنترل میزان زنده مانی بالاتر و فساد اکسیداتیو کمتری بوده و موجب حفظ کیفیت خمیر جلبکی تولید شده گردیدند. ویتامین C از نظر میزان اسیدهای چرب آزاد و pH عملکرد بهتری داشته و تأثیر ویتامین E بر میزان PV بهتر بوده است. بنابراین استفاده از ویتامین ها برای حفظ کیفیت خمیر جلبکی توصیه می گردد.

منابع

- Aubourg S. 2001. Fluorescence study of the prooxidant activity of free fatty acids on marine lipids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 385-390.
- Aubourg S., Rodríguez A., and Gallardo J. 2005. Rancidity development during frozen storage of mackerel (*Scomber scombrus*): Effect of catching season and commercial presentation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107, 316-323.
- Belitz H.D., and Grosch W. 1999. Lipids. In "Food chemistry". Springer Verlag, Heidelberg, Germany. PP: 184-185.
- Chaijan M., Benjakul S., Visessanguan W., and Faustman C. 2005. Changes of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. *Food Chemistry*, 93(4), 607-617.
- Chidanandaiah K.R.C., Sanyal M.K., 2007. Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) storage. *J. Muscle Foods*, 20, 275-292.
- Egan H., Kirk R.S., and Sawyer R. 1997. *Pearsons Chemical Analysis of Food*. 9th Edn. Longman Scientific and Technical. pp. 609-634.
- Losada et al., 2007). اکسیداسیون بالاتری دارند (Losada et al., 2007). در مطالعه حاضر، براساس نتایج به دست آمده میزان اسیدهای چرب آزاد با گذشت زمان در تمامی تیمارها افزایش یافت که این افزایش در تیمار شاهد شدت بیشتری داشت. به طور کلی در طی زمان های نگهداری میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمار حاوی ویتامین C در مقایسه با سایر تیمارها کمتر بود ($p < 0.05$). دلیل پایین تر بودن اسیدهای چرب آزاد در تیمار حاوی ویتامین C را شاید بتوان به فعالیت ضد باکتریایی ویتامین C و در نتیجه کاهش فعالیت میکروبی و به دنبال آن آنزیم های مترشحه آنها در چربی نسبت داد. چنین افزایشی در مطالعات (Zamanian et al., 1392) و (Naghdi et al., 1393) در خمیرهای جلبکی ترانسلمیس و کیتوسروس مشاهده شد. در مطالعات دیگر از جمله (Kolakowska et al., 2006) نیز طی مدت نگهداری میزان اسیدهای چرب آزاد افزایش یافتند.
- در مجموع میزان pH با گذشت زمان در تمامی تیمارها روند افزایشی را طی کرد. افزایش pH در هر یک از تیمارهای کنترل و حاوی ویتامین را می توان به دلیل افزایش تولید بازهای فرار مثل آمونیاک، تری متیل آمین و دی متیل آمین و ترکیبات نیتروژن دار به دلیل فعالیت آنزیمی باکتری ها و آنزیم های داخل سلولی دانست (Kostaki et al., 2009). کمتر بودن pH در گروه آزمایشی حاوی ویتامین C

aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets, *Journal of Food Microbiology*, 26, 475-482.

Lavens, P., and Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*, 295 p.

Lin C.C., and Lin C.S. 2005. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. *Food control*, 16(2), 169-175.

Losada V., Barros-Velazquez J., Aubourg S.P. 2007. Rancidity development in frozen pelagic fish: Influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/LWT-Food Science and Technology*, 40, 991-999.

Maqsood S., Benjakul S. 2010. Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. *Food Chem.* 119(1):123-132.

Min S., Krochta J.M. 2007. Ascorbic Acid-Containing Whey Protein Film Coatings for Control of Oxidation. *Food Chemistry*, 55: 2964-2969.

Naghdi, N. 1393. Production of *Cheatoceeros mulleri* concentrated algae and evaluation of effects of vitamins C and E on increasing shelf life during preservation. M.Sc. Thesis, Khazar university, 62p.

Nunes, M., A. Pereira, J. F. Ferreira, and F. Yasumaru. 2009. Evaluation of the microalgae paste viability produced in a mollusk hatchery in Southern Brazil. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(1):87-94.

Ozyurt G., Polat A., and Tokur B. 2007. Chemical and sensory changes in frozen (-18°C) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. *International Journal of Food Science and Technology*, 42:887-893.

Pereira de Abreu D.A., Paseiro Losada P., Maroto J., and Cruz J.M. 2011. Natural antioxidant active packaging film and its effect on lipid damage in frozen blue shark (*Prionace glauca*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(1), 50-55.

Pfeiffer J. and Ludwig M. 2007. Small-Scale System for the Mass Production of Rotifers Using Algal Paste. *North American Journal of Aquaculture*, 69:239-243.

Frankel E.N. 1980. Lipid oxidation. *Prog. Lipid res.* 19: 1-22.

Frankel E.N. 1984. Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. *JAACS*, 61: 1908-1917.

Gimenez B., Roncales P., and Beltran J.A. 2004. The effects of natural antioxidants and lighting Conditions on the quality characteristics of gilt-head sea bream fillets (*Sparus aurata*) packaged in a modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84:1053-1060.

Gimenez B., Roncales P., and Beltran J.A. 2005. The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality of salmon (*Salmo salar*) fillets packaged in modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:1033-1040.

Gómez-Estaca J., Montero P., Giménez B., and Gómez-Guillén M. 2007. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*, 105(2), 511-520.

Gupta, S. & Abu-Ghannam, N. 2011. Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends in Food Science and Technology*, 22:315-326.

Heasman, M. P., T. M. Sushames, J. A. Diemar, W. A. O'Connor, and L. A. Foulkes. 2001. Production of micro-algal concentrates for aquaculture. Part 2: development and evaluation of harvesting, preservation, storage and feeding technology. NSW Fisheries Final Report Series No. 34. NSW Department of Primary Industries, Port Stephens, Australia (FRDC Project No. 93/123 & 96/342).

Hras A.R., Hadolin M., Knez Z. and Bauman D. 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effect of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chem.* 71:229-233.

Kanner J., German J.B. and Kinsella J.E. 1987. Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *CRC crit. Rev. food sci. & nutr.* 25: 317-364.

Kostaki M., Giatrakou V., Savaidis I.N., Kontominas M.G. 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically

In N. Haard & B. Simpson (Eds.), Seafood enzymes (pp. 451–487). New York, USA: Marcel Dekker.

Suvanich V., Jahncke M.L., and Marshall D.L. 2000. Changes in selected chemical quality characteristics of channel cat fish frame mince during chill and frozen storage. *Journal of Food Science*, 65(1), 24-26.

Zamanian F. 1392. Production of *Tetraselmis suecica* concentrated algae and evaluation of effects of vitamins C and E on increasing shelf life during preservation. M.Sc. Thesis Azad university, 82p.

Rezaei M., Hosseini S.F. 2008. Quality Assessment of Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) during Chilled Storage. *J. Food Science*, 73, 93-96.

Sakanaka S., Tachibana Y. and Okada Y. 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (Kakinoha-cha). *Food Chem.* 89(4): 569-575.

Sikorski Z. and Kolakowski E. 2000. Endogenous enzyme activity and seafood quality: Influence of chilling, freezing, and other environmental factors.



Effect of vitamins C and E on increasing of shelf life of microalgal paste of *Nannochloropsis oculata* during cold storage

Masoumeh Amouzad Khalili¹, Abdolmohammad Abedian Kenari^{2*}, Masoud Rezaei³

1- M.Sc Graduate, Aquaculture Department, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor.

2- Professor, Aquaculture Department, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor.

3- Professor, Department of Seafood processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor.

Received: 02.05.2016

Accepted :11.01.2017

*Corresponding author: aabedian@modares.ac.ir

Abstract:

The effect of vitamins C and E in enhancing the shelf life of the algal paste during 12 weeks cold storage (4°C) was assessed. The microalga, *Nannochloropsis oculata*, was grown in Conway media under 24°C temperature, 25ppt salinity, and continuous light intensity of 1000- 2000 lux with) and harvested at the logarithmic phase by cream separator centrifugation at 12000 rpm in the form of paste. The algal cell viability was determined by Evans blue dye. The algal paste samples were treated with different vitamin treatments, including: vitamin C and E (0.1%w/w), and an equal proportions of mixed vitamin E and C, and then stored in refrigerator for two months. The results showed that the 95% cell viability of vitamin C treated paste was significantly higher than the control group ($p<0.05$). FFA and pH in vitamin C treated group was lower than the control treatment. The comparison of between different treatments during the storage period indicating that it contains vit E had a slower increase than the other treatments in during the storage the time. Overall, it was demonstrated that vitamins functioned as suitable preservatives for the microalgal paste in cold storage (4 °C).

Keywords: Antioxidant, microalgae paste, *Nannochloropsis oculata*, vitamin C, vitamin E.