

اثربخشی پیش‌تیمار اولتراسوند در بهبود استخراج عصاره لیپیدی غنی از آستازانتین از ضایعات میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*)

مهدی مغیثی^۱، سید فخرالدین حسینی^{۲*}، زهرا موسوی^۲

۱- گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۲- گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

چکیده

این پژوهش به بررسی تأثیر پیش‌تیمار اولتراسوند (UAE) بر استخراج عصاره لیپیدی غنی از آستازانتین از ضایعات میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*) پرداخت. همچنین اثر نوع حلال (هگزان، اتانول و مخلوط هگزان/اتانول) و شرایط استخراج (زمان و توان امواج فراصوت) بر بازده استخراج، میزان آستازانتین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پایداری اکسایشی عصاره مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌ها تحت تیمار اولتراسوند در زمان‌های ۵ تا ۱۵ دقیقه و توان ۲۰ تا ۱۰۰ وات با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) بررسی شدند. استخراج لیپید با روش سوکسله و حلال‌های مختلف انجام شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون DPPH و پایداری اکسایشی با شاخص‌های پراکسید (PV) و تیوباربیتریک اسید (TBARS) سنجیده شد. تحلیل آماری نشان داد مدل درجه دوم طراحی مرکب مرکزی (CCD) قادر به پیش‌بینی بازده استخراج است. شرایط بهینه در زمان ۷ دقیقه و توان ۱۰۰ وات به دست آمد. بالاترین بازده لیپید (۰/۳۳ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) و بیشترین غلظت آستازانتین (۸۴۳/۶۳ میکروگرم در ۱۰۰ گرم) با پیش‌تیمار اولتراسوند و مخلوط حلال هگزان/اتانول حاصل شد. این تیمار همچنین بالاترین فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH (۷۷٪) و کمترین شاخص‌های PV و TBARS را نشان داد. نتایج نشان داد پیش‌تیمار اولتراسوند همراه با حلال دوگانه هگزان/اتانول، بازده استخراج، غلظت آستازانتین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. بنابراین، پیش‌تیمار UAE به‌عنوان یک فناوری سبز و کارآمد می‌تواند راهکار مؤثری برای بازیابی ترکیبات زیست‌فعال با ارزش افزوده بالا از ضایعات میگو و ارتقای بهره‌وری اقتصادی و زیست‌محیطی صنایع آبی‌پروری باشد.

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۳۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۰/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۳۰

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۴/۱۲/۱۵

*نویسنده مسئول:

hosseinisf@modares.ac.ir

کلید واژه‌ها: آستازانتین، ضایعات میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*)، استخراج به کمک اولتراسوند

(UAE)، عصاره لیپیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

آستازانتین (۳،۳'-دی‌هیدروکسی-بتا، بتا-کاروتن-۴،۴'-دیون) یک کاروتنوئید زانتوفیل است که علاوه بر کربن و هیدروژن، حاوی اتم‌های اکسیژن نیز می‌باشد و به‌عنوان یک کاروتنوئید چربی‌دوست طبقه‌بندی می‌شود. فرمول مولکولی آن $C_{40}H_{52}O_4$ با جرم مولی ۵۹۶/۸۴ گرم بر مول است. آستازانتین ترکیبی است که در صنایع غذایی، خوراک دام، داروسازی و مواد مغذی مورد توجه قرار گرفت است (Oh et al., 2023). آستازانتین توسط اتحادیه اروپا کد شناسایی ویژه E161j دریافت کرده و به‌عنوان یک رنگ‌دهنده غذایی طبقه‌بندی شده است (Ghateau et al., 2017). بازار آستازانتین بر اساس منابع به دو بخش طبیعی و مصنوعی تقسیم می‌شود. آستازانتین مصنوعی ارزان‌تر است (حدود ۱۰۰۰ دلار در هر کیلوگرم، بیشتر از منابع پتروشیمی ساخته می‌شود)، و بیش از ۹۵٪ از بازار را تشکیل می‌دهد. اما استفاده از آن صرفاً به مکمل‌های غذایی برای دام، طیور و آبی‌پروری محدود شده است، که به منظور افزایش ارزش غذایی (از جمله تولید ویتامین A، افزایش رشد و بهبود رفتار تولید مثلی) و عملکرد بیولوژیکی (مانند جلوگیری از اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع) استفاده می‌شود (Mousavi and Hosseini 2025a). به دلیل نگرانی‌ها در مورد فرآیند پیچیده سنتز، اثربخشی محدود آنتی‌اکسیدانی، تأثیر قابل توجه زیست‌محیطی و خطرات ایمنی آستازانتین مصنوعی در مواد غذایی، اخیراً توجه زیادی به آستازانتین مشتق شده از منابع طبیعی معطوف شده است (Khoo et al., 2019). جلبک *pluvialis* *Haematococcus* منبع طبیعی اصلی آستازانتین طبیعی است. این جلبک که معمولاً در محیط‌های کنترل‌شده مانند فتوبیوراکتورها یا استخرهای روباز رشد می‌کند، برای دستیابی به بازده بالای آستازانتین نیاز به کنترل دقیق شرایط محیطی، از جمله شدت نور، دما، در دسترس بودن مواد

مغذی و القای استرس دارد (Dikel and Yanar 2025). این پیچیدگی می‌تواند هزینه‌های تولید را افزایش دهد. منبع طبیعی دیگر آستازانتین، پوسته میگو است. در واقع، اگرچه اسکلت خارجی صدف‌داران، به ویژه میگو، حاوی کاروتنوئیدهایی مانند بتاکاروتن، لوتئین، زاکسانتین و آستازانتین است، آستازانتین ۷۴ تا ۹۸ درصد از کاروتنوئیدهای موجود در پوسته میگو را تشکیل می‌دهد (Sila et al., 2017). میگو، یک محصول دریایی با ارزش جهانی بالا، در طول فرآوری ضایعات زیادی تولید می‌کند. از آنجایی که سفالوتوراکس و پوسته میگو تا حدود ۶۰ درصد از وزن آن را تشکیل می‌دهند، توجه به استفاده از آنها در فرآوری بسیار مهم است (Mousavi and Hosseini 2025b). بنابراین، بازیابی آستازانتین از ضایعات میگو می‌تواند محصولات جانبی ارزشمندی تولید کند، اقتصاد صنعت شیلات را بهبود بخشد و مشکلات زیست‌محیطی ناشی از ضایعات میگو را به حداقل برساند.

میگوهای خانواده پنائیده از شاخه سخت‌پوستان بوده و شامل دو ابرخانواده پنائیده و سرژستوئیده می‌شوند. جنس پنائیده یکی از برجسته‌ترین و مهم‌ترین جنس‌های این خانواده است. گونه میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*) به‌عنوان یکی از گونه‌های کلیدی این جنس شناخته می‌شود (Mousavi and Hosseini 2025a). در آب‌های خلیج فارس، به ویژه استان خوزستان، میگوی سرتیز فراوان‌ترین گونه محسوب شده و از نظر اقتصادی اهمیت زیادی در صید منطقه دارد. با این حال، اطلاعات موجود در خصوص میزان کاروتنوئیدها و آستازانتین در میگوهای دریایی وحشی هنوز محدود است (Mousavi and Hosseini 2025b).

Nair و Gopakumar (2009) گزارش کردند که میانگین کل محتوای کاروتنوئید در چهار گونه پنائیده شامل *Metapenaeus dopsoni*، *Penaeus indicus* و *Parapenaeopsis stylifera* برابر با ۱۳/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در *Metapenaeus monoceros* برابر با ۴/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است. Yanar و همکاران (2004) نیز میانگین محتوای کاروتنوئید در *Penaeus semisulcatus* و *Metapenaeus monoceros* را به ترتیب ۱۴/۱ و ۱۶/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش کردند، که این مقادیر به طور قابل توجهی بالاتر از سایر غذاهای دریایی هستند. Hooshmand و همکاران (2017) استخراج کاروتنوئیدها از محصولات جانبی خرچنگ آبی (*Portunus pelagicus*) و میگو (*Penaeus semisulcatus*) را با استفاده از حلال‌هایی مانند هگزان، ایزوپروپیل‌الکل و استون به صورت جداگانه و همچنین مخلوط‌های هگزان/استون (۱:۱ v/v) و هگزان/ایزوپروپیل‌الکل (۱:۱ v/v) بررسی کردند و بالاترین بازده را با استون به ترتیب ۶/۶۳ و ۶۱/۳۲ میکروگرم بر گرم برای خرچنگ آبی و میگو گزارش نمودند. علاوه بر این، این محققان کاروتنوئیدها را با استفاده از روغن‌های خوراکی مختلف (کنجد، آفتابگردان، سویا و سبوس برنج) استخراج کردند که در این میان روغن آفتابگردان بالاترین بازده را به ترتیب ۰/۲۱ و ۴/۰۳ میکروگرم بر گرم برای خرچنگ آبی و میگو ارائه کرد، هرچند این مقادیر به مراتب کمتر از بازده حاصل از حلال‌ها بود.

ترکیبات زیست‌فعال با استفاده از طیف وسیعی از تکنیک‌ها استخراج شده‌اند که راندمان و کیفیت محصول نهایی آن‌ها به طور چشمگیری متفاوت بوده است. از آنجاییکه کاروتنوئیدها به دلیل خاصیت آبریزی، حلالیت محدودی در آب دارند و معمولاً با استفاده از حلال‌های آلی استخراج می‌شوند (Ishida et al., 2009)، حلال‌های متعددی برای استخراج آستازانتین از ضایعات میگو و خرچنگ به کار رفته‌اند، از جمله: n-هگزان-ایزوپروپیل‌الکل (6:4 v/v) (Sánchez-Camargo et al., 2011)، استون و n-هگزان: ایزوپروپیل‌الکل (1:1 v/v) (Sánchez-Camargo et al., 2011)، و همچنین روغن‌هایی مانند روغن آفتابگردان، روغن سویا و روغن ماهی (Sachindra and Mahendrakar, 2007)، (Gimeno et al., 2007)، با این حال، انتخاب حلالی با ویسکوزیته پایین، حلالیت مناسب و پایداری کافی، همراه با روش استخراج بهینه، از عوامل کلیدی برای دستیابی به استخراج کارآمد آستازانتین با خلوص و فعالیت زیستی بالا محسوب می‌شوند (Ahmadkelayeh et al., 2022).

در سال‌های اخیر، تکنیک‌های نوینی مانند استخراج با کمک اولتراسونیک (UAE) برای جداسازی اجزای فعال از منابع طبیعی توسعه یافته‌اند. این روش امکان استفاده از استخراج‌کننده کمکی و افزایش قطبیت فاز مایع را فراهم می‌کند (Dikel and Yanar 2025). با این حال، گزارش‌های متناقضی در مورد اثربخشی UAE برای استخراج آستازانتین منتشر شده است (Khoo et al., 2019; Tsiaka et al., 2015).

و هنوز مشخص نیست که آیا این روش می‌تواند راندمان استخراج آستازانتین از پوسته میگوی سرتیز را افزایش دهد یا خیر. فرآیند UAE تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله نسبت مایع به جامد، دمای استخراج، زمان استخراج، فرکانس و قدرت فراصوت، توزیع موج اولتراسونیک و سایر پارامترها قرار دارد (Dikel and Yanar 2025).

در این پژوهش برای ارزیابی تأثیر متغیرهای قدرت و زمان فراصوت، رویکرد بهینه‌سازی و روش‌شناسی سطح پاسخ (RSM) مورد استفاده قرار گرفت. بر این اساس، هدف این مطالعه، انتخاب حلال مناسب از میان گزینه‌های قطبی و غیرقطبی (هگزان، اتانول، هگزان/اتانول (۱:۱) حجمی/حجمی)) و بهینه‌سازی روش UAE جهت پیش‌تیمار و استخراج با سوکسله با استفاده از حلال منتخب بود، به گونه‌ای که استخراج آستازانتین به حداکثر رسیده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن حفظ شود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه

باقی‌مانده‌های مواد خام شامل سفالوتوراکس، پوسته و دم میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*) از کارخانه فرآوری خریداری شده و بلافاصله در جعبه‌های حاوی یخ قرار داده شدند. سپس این جعبه‌ها به آزمایشگاه عمل‌آوری آبیان دانشگاه تربیت مدرس منتقل و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای استخراج عصاره لیپیدی غنی از آستازانتین، ضایعات مذکور در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد تحت فرآیند خشک کردن انجمادی قرار گرفتند. پس از خشک شدن، نمونه‌ها با استفاده از هموژنایزر مکانیکی خرد شده و سپس با الک استیل ضد زنگ با اندازه مش ۴۵۰ میکرومتر غربال شدند (Mousavi and Hosseini 2025a).

پیش‌تیمار با کمک اولتراسوند (UAE)

روش پیش‌تیمار با کمک اولتراسوند با استفاده از روش پیشنهادی توسط Sharayei و همکاران (2021) با کمی تغییرات انجام شد. برای پیش‌تیمار، ۱۰ گرم نمونه پوسته میگو آسیاب شده در فلاسک ۱۰۰ میلی‌لیتری قرار داده شد و ۴۰ میلی‌لیتر از حلالهای اتانول، هگزان بصورت جداگانه و اتانول/هگزان (۱:۱ حجمی/حجمی) به آن اضافه گردید و مخلوط بر اساس روش‌شناسی سطح پاسخ (RSM) برای زمان‌های مختلف (۵ تا ۱۵ دقیقه)، دامنه (۲۰ تا ۱۰۰٪) و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تحت تیمار UAE قرار گرفت.

استخراج عصاره لیپیدی غنی از آستازانتین با روش سوکسله

به منظور تعیین کمیت حداکثر مقدار قابل استخراج عصاره لیپیدی از بقایای میگوی سرتیز، استخراج کامل عصاره توسط روش سوکسله انجام شد (Rodrigues et al., 2020). بدین منظور، تقریباً ۵ گرم ضایعات میگو در کاپ‌های مخصوص دستگاه قرار داده شد که به تدریج با حلال تازه غلیظ شده از یک فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری در حال جوش پر می‌شد. حلال در فلاسک در دمای جوش (۴۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد) حرارت داده شد. استخراج برای مدت زمان ۲ ساعت در نقطه جوش حلال با نسبت نمونه به حلال ثابت (۱ به ۸، وزنی/حجمی) انجام شد. در ادامه، عصاره متشکل از لیپیدها، ASX و سایر ترکیبات محلول تحت خلاء در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد با استفاده از اواپراتور چرخشی تغلیظ گردید.

بازبایی روغن و بازدهی کل

با استفاده از جرم عصاره بدست آمده از استخراج سوکسله و وزن مواد زائد مورد استفاده برای استخراج، بازدهی کل با استفاده از معادله زیر تعیین شد (Roy et al., 2021).

$$\text{وزن عصاره لیپیدی} (\%) = \frac{\text{وزن عصاره لیپیدی}}{\text{وزن مواد زائد}} \times 100$$

اندازه‌گیری میزان آستازانتین

جهت اندازه‌گیری میزان آستازانتین به روش اسپکتوفتومتری، از روش Hooshmand و همکاران (2017) بهره گرفته شد. ابتدا ۱۰ میلی‌گرم عصاره استخراج شده در حلال ان‌هگزان (۳ میلی‌لیتر) حل شد و میزان جذب آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر (لانداي مکث) خوانده و سپس مقدار آستازانتین با استفاده از معادله (۲) محاسبه شد.

$$\text{AST} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{A \times D \times 10^6}{100 \times G \times d \times E_{1\text{cm}}^{1\%}} \quad (2)$$

AST: غلظت آستازانتین بر حسب میکروگرم در گرم، A: جذب، D: حجم عصاره در هگزان، ۱۰^۶: رقت چندگانه، G: وزن نمونه بر حسب گرم، d: عرض کووت، E: ضریب انقراض که ۲۱۰۰ است.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت تخریب‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با سنجش DPPH برآورد شد. سنجش مهار رادیکال DPPH بر اساس روش Roy و همکاران (2021) انجام شد و به عنوان درصد تغییر رنگ DPPH با استفاده از معادله ۳ محاسبه گردید.

(۳)

$$\text{DPPHsc}\% = \left[\frac{A_{\text{DPPH}} - A_s}{A_{\text{DPPH}}} \right] \times 100$$

که در آن A_s جذب محلول هنگامی که نمونه در یک سطح خاص اضافه می‌شود و A_{DPPH} جذب محلول DPPH است.

ارزیابی پایداری اکسایشی عصاره لیپیدی حاوی آستازانتین

سنجش مقادیر پراکسید (PV)

میزان پراکسید نمونه‌ها بر اساس روش Gulzar و Benjakul (2018) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور، ۵۰ میکرولیتر از نمونه با اتانول ۷۵٪ (v/v) به نسبت ده برابر رقیق شد. سپس، حدود ۲/۳۵ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده با ۵۰ میکرولیتر تیوسیانات آمونیوم ۳۰٪ (v/v) و ۵۰ میکرولیتر محلول کلرید فروس ۲۰ میلی‌مولار در HCl با غلظت ۳٫۵٪ (w/v) مخلوط گردید. پس از ورتکس کامل محلول، تغییر رنگ ایجادشده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت هیدروپراکسید، از منحنی استاندارد تهیه‌شده با هیدروپراکسید کومن در دامنه غلظتی ۰/۵ تا ۲ ppm استفاده شد. نتایج نهایی به صورت میلی‌اکی‌والان پراکسید به ازای هر کیلوگرم لیپید (meq kg^{-1}) بیان گردید.

اندازه‌گیری مواد واکنش دهنده اسید تیوباربتوریک (TBARS)

میزان TBARS در عصاره لیپیدی تغلیظ شده طبق روش Takeungwongtrakul و همکاران (2015) اندازه گیری شد. بدین منظور، ۰/۵ گرم از نمونه لیپید با ۲/۵ میلی لیتر از محلول حاوی ۰/۳۷۵٪ (w/v) اسید تیوباریتوریک (TBA)، ۱۵ درصد (w/v) اسید تری کلرواستیک و ۰/۲۵ مولار HCl مخلوط گردید. سپس مخلوط در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شد تا رنگ صورتی ایجاد شود. واکنش با سرد کردن در آب متوقف شد و مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ گردید. جذب رنگ صورتی در لایه رویی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد. مقدار TBARS با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از ۱،۱،۳،۳-tetramethoxypropane در محدوده غلظتی ۰ تا ۶ ppm محاسبه گردید. نتایج نهایی به صورت میلی گرم مالون آلدئید (MDA) به ازای هر کیلوگرم لیپید (mg MDA/kg lipid) بیان شدند.

طرح آماری

به منظور بررسی اثرات متغیرهای مستقل بر متغیرهای پاسخ در فرآیند استخراج با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) و نرم افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۷ جهت آنالیز آماری طرح، آنالیز واریانس داده های طرح، انتخاب مدل طرح، اطلاعات و رسم نمودارهای مربوط به روش سطح پاسخ استفاده شد. خطای خالص با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵ درصد برای همه متغیرها ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل داده ها برای تعیین تفاوت آماری با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و همچنین آزمون دانکن در سطح معنی داری $P < 0.05$ تنظیم شد.

نتایج

بهینه یابی بیش تیمار با اولتراسوند

در این پژوهش، اثر متغیرهای مستقل شامل زمان (A: min) و توان (B: W) اولتراسوند بر بازده استخراج لیپید (g/100g) با حلال های مختلف (هگزان، اتانول و هگزان/اتانول (۱:۱ حجمی/حجمی)) با استفاده از طراحی مرکب مرکزی (CCD) مورد بررسی قرار گرفت (جدول و شکل ۱). نتایج تحلیل واریانس برای مدل درجه دوم نشان داد که معادله رگرسیون برازش شده دارای معنی داری آماری قابل توجهی است ($P < 0.05$). مقدار ضریب تعیین ($R^2 = 0.92$) بیانگر آن است که مدل توانسته است ۹۲ درصد تغییرات بازده استخراج را به خوبی توضیح دهد. همچنین مقدار ضریب تعیین تعدیل شده (R^2_{adj}) نزدیک به R^2 به دست آمد که نشان دهنده کفایت مدل و عدم وجود بیش برازش است. داده های حاصل از ۲۰ آزمایش نشان داد که بازده استخراج در بازه ۰/۰۹ تا ۰/۱۷ g/100g برای حلال هگزان، ۰/۰۵ تا ۰/۱۲ g/100g برای حلال اتانول ۰/۰۵ تا ۰/۱۱ g/100g و ۰/۱۹ تا ۰/۳۳ برای حلال هگزان/اتانول متغیر بود. مقدار بهینه بازده در شرایط زمان ۷ دقیقه و توان ۱۰۰ وات به دست آمد. تحلیل رگرسیون نشان داد که مدل درجه دوم پاسخ (Quadratic Model) توانایی مناسبی در برازش داده های تجربی دارد. معادله مدل به صورت کلی به شکل زیر بیان می شود:

$$Yield = \beta_0 + A\beta_1 + B\beta_2 + A^2\beta_{11} + B^2\beta_{22} + AB\beta_{12} \quad (4)$$

جدول ۱- چیدمان و پاسخ طراحی کامپوزیت مرکزی برای حداکثر بازده روغن در حلال های مختلف.

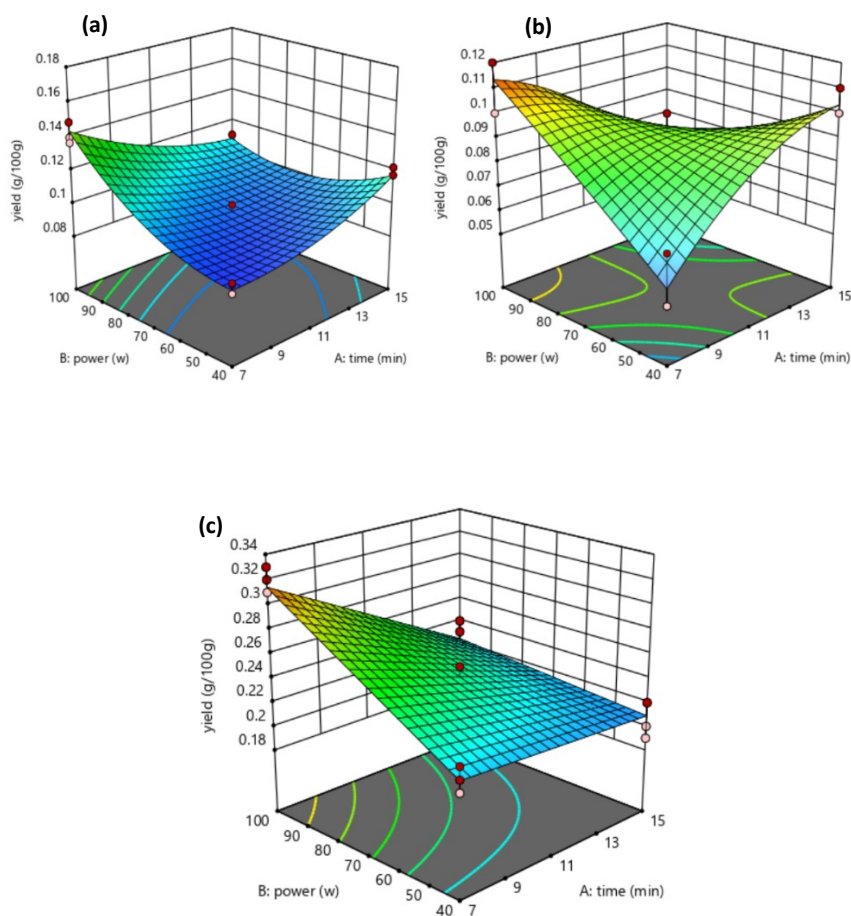
Table 1 - Layout and response of the central composite design for maximum oil yield in different solvents.

Run	Variables		Experimental response (oil yield)		
	A: t (min)	B: P (W)	Hexane (g/100g dw)	Ethanol (g/100g dw)	Hexane/ethanol (g/100g dw)
1	15	100	0.10	0.05	0.23
2	19	70	0.10	0.25	0.21

3	11	70	0.09	0.10	0.21
4	3	70	0.10	0.06	0.22
5	7	40	0.09	0.05	0.21
6	7	40	0.09	0.07	0.22
7	7	100	0.14	0.12	0.34
8	11	70	0.10	0.09	0.24
9	15	40	0.14	0.10	0.20
10	15	100	0.11	0.05	0.20
11	11	130	0.17	0.44	0.28
12	7	100	0.14	0.12	0.31
13	11	70	0.09	0.09	0.25
14	7	100	0.15	0.10	0.32
15	11	10	0.12	0.34	0.03
16	11	70	0.10	0.09	0.23
17	7	40	0.09	0.05	0.23
18	15	40	0.12	0.11	0.22
19	15	100	0.11	0.06	0.24
20	15	40	0.12	0.10	0.19

داده‌های خط خورده توسط مدل به عنوان داده‌های پرت شناسایی و در فرآیند نادیده گرفته شدند تا نتایج پیش‌بینی‌های مدل از دقت بهتری برخوردار باشد.

The crossed-out data were identified by the model as outliers and ignored in the process to ensure better accuracy of the model's prediction results.

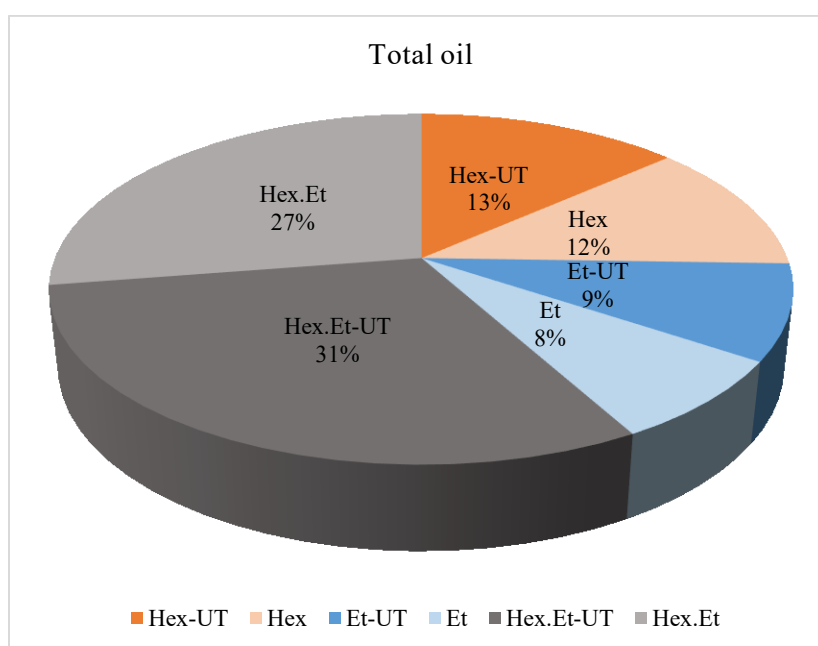


شکل ۱- نمودارهای سه‌بعدی سطح پاسخ، اثرات متغیرهای مستقل بر بازده روغن (گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک) حاصل از ضایعات میگو با حلال‌های مختلف: (الف) اتانول، (ب) هگزان، (ج) هگزان/اتانول (۱:۱ حجمی/حجمی)

Figure 1- Three-dimensional response surface plots, effects of independent variables on oil yield (g/100g dry weight) from shrimp waste with different solvents: (a) ethanol, (b) hexane, (c) hexane/ethanol (1:1 v/v)

روغن کل

نتایج مربوط به درصد روغن کل استخراج شده از ضایعات میگو با استفاده از پیش تیمار اولتراسوند در شرایط بهینه (توان ۱۰۰، مدت ۷ دقیقه) و حلال‌های مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است. بیشترین مقدار روغن کل مربوط به تیمار Hex.Et-UT با ۳۱٪ و پس از آن تیمار Hex.Et با ۲۷٪ بود. تیمارهای Hex و Hex-UT به ترتیب ۱۳٪ و ۱۲٪ روغن کل را به خود اختصاص دادند. در حالی که کمترین مقادیر مربوط به تیمارهای Et-UT و Et با مقادیر ۹٪ و ۸٪ بودند.

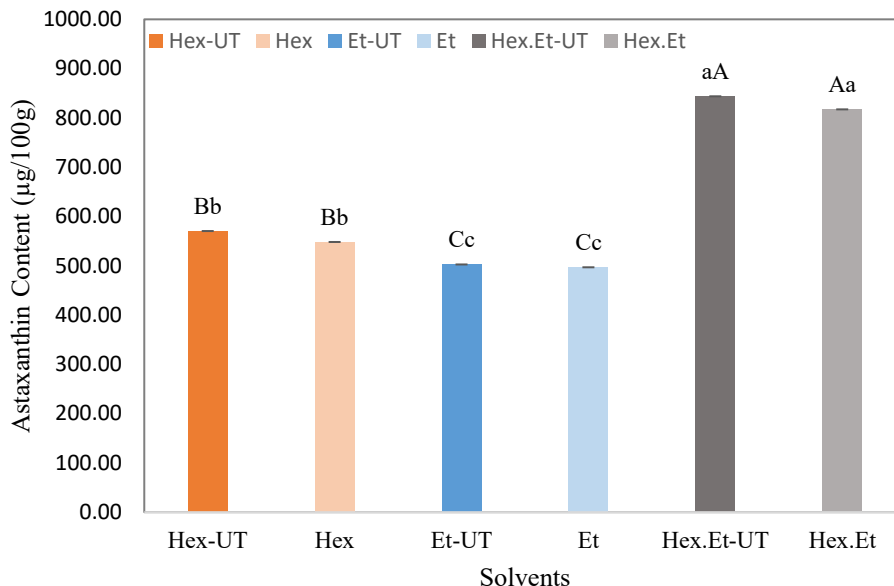


شکل ۲- میزان روغن کل بدست آمده در شرایط پیش تیمار با اولتراسوند در شرایط بهینه و بدون پیش تیمار با حلال‌های مختلف. اختصارات: Hex: هگزان، Et: اتانول، Hex:Et: هگزان/اتانول (۱:۱)، UT: پیش تیمار اولتراسوند.

Figure 2- Total oil yield obtained under ultrasound pretreatment conditions under optimal conditions and without pretreatment with different solvents. Abbreviations: Hex: hexane, Et: ethanol, Hex:Et: hexane/ethanol (1:1), UT: ultrasound pretreatment.

میزان آستازانتین

همان گونه که در شکل ۳ نشان داده شده است، شرایط استخراج از جمله نوع حلال و اعمال امواج فراصوت (در شرایط بهینه استخراج، ۷ دقیقه و توان ۱۰۰ وات) نقش تعیین کننده‌ای در افزایش میزان آستازانتین داشته و تفاوت‌های معنی داری میان تیمارها مشاهده شد ($P < 0.05$). بیشترین غلظت آستازانتین مربوط به تیمارهای Hex.Et و Hex.Et-UT بود که به ترتیب ۸۴۳/۶۳ و ۸۱۷/۱۳ $\mu\text{g}/100\text{g}$ را نشان دادند. در مقابل، کمترین مقدار آستازانتین در تیمارهای Et-UT و Et مشاهده شد (حدود ۵۰۰ $\mu\text{g}/100\text{g}$). تیمارهای Hex و Hex-UT نیز مقادیر متوسطی از آستازانتین (به ترتیب ۵۷۰/۳۷ و ۵۴۸/۱۹ $\mu\text{g}/100\text{g}$) داشتند.

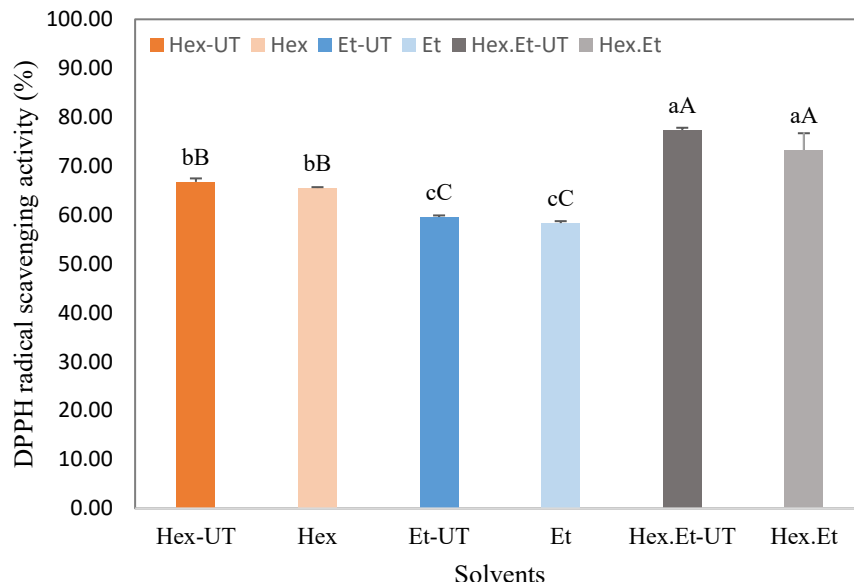


شکل ۳- میزان آستازانتین بدست آمده در لیپید استخراج شده تحت شرایط پیش تیمار با اولتراسوند در شرایط بهینه و بدون پیش تیمار با حلال‌های مختلف. حروف کوچک نشان دهنده اختلاف معنی داری هر تیمار با خودش در شرایط پیش تیمار با اولتراسوند و بدون پیش تیمار و حروف بزرگ نشان دهنده اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف می‌باشد ($P < 0.05$). اختصارات: Hex: هگزان، Et: اتانول، Hex:Et: هگزان/اتانول (۱:۱)، UT: پیش تیمار اولتراسوند.

Figure 3- Amount of astaxanthin obtained in lipid extracted under ultrasound pretreatment conditions in optimal conditions and without pretreatment with different solvents. Lowercase letters indicate significant differences of each treatment with itself under ultrasound pretreatment conditions and without pretreatment and uppercase letters indicate significant differences between different treatments ($P < 0.05$). Abbreviations: Hex: hexane, Et: ethanol, Hex:Et: hexane/ethanol (1:1), UT: ultrasound pretreatment.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی (فعالیت مهار رادیکال DPPH) تیمارهای مختلف در شکل ۴ نشان می‌دهد که بین نمونه‌ها تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$). بالاترین میزان فعالیت مهار رادیکال آزاد در تیمارهای Hex.Et-UT و Hex.Et مشاهده شد که به ترتیب حدود ۷۷٪ و ۷۳٪ بود. پس از آن، تیمارهای Hex-UT و Hex با مقادیر حدود ۶۷٪ بیشترین میزان مهار را داشتند. کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمارهای Et-UT و Et بود که مقادیر آن‌ها به ترتیب حدود ۵۹٪ و ۵۸٪ بود.



شکل ۴- میزان بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH لیپید استخراج شده تحت شرایط پیش تیمار با اولتراسوند در شرایط بهینه و بدون پیش تیمار با حلال‌های مختلف. حروف کوچک نشان دهنده اختلاف معنی داری هر تیمار یا خودش در شرایط پیش تیمار با اولتراسوند و بدون پیش تیمار و حروف بزرگ نشان دهنده اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف می‌باشد ($P < 0.05$). اختصارات: Hex: هگزان، Et: اتانول، Hex:Et: هگزان/اتانول (۱:۱)، UT: پیش تیمار اولتراسوند.

Figure 4- DPPH free radical scavenging activity of extracted lipids under ultrasound pretreatment conditions in optimal conditions and without pretreatment with different solvents. Lowercase letters indicate significant differences of each treatment or itself in ultrasound pretreatment conditions and without pretreatment, and uppercase letters indicate significant differences between different treatments ($P < 0.05$). Abbreviations: Hex: hexane, Et: ethanol, Hex:Et: hexane/ethanol (1:1), UT: ultrasound pretreatment.

مقادیر پراکسید (PV) و تیوباربتوریک اسید (TBARS)

بررسی شاخص پراکسید (PV) و تیوباربتوریک اسید (TBARS) در تیمارهای مختلف نشان داد که نوع حلال و کاربرد پیش تیمار اولتراسوند اثر معنی داری بر پایداری اکسایشی روغن داشت ($P < 0.05$) (جدول ۲). پایین ترین مقدار PV مربوط به تیمار Hex.Et (0.62 ± 0.01 میلی گرم هیدروپروکسید کومن/کیلوگرم لیپید) بود. در مقابل، بالاترین شاخص PV در تیمار Et (1.91 ± 0.02 میلی گرم هیدروپروکسید کومن/کیلوگرم لیپید) مشاهده شد.

از نظر شاخص TBARS، کمترین مقادیر به تیمارهای Hex.Et-UT (0.06 ± 0.01 میلی گرم مالون آلدئید (MDA) بر کیلوگرم لیپید) و Hex.Et (0.03 ± 0.01 میلی گرم مالون آلدئید (MDA) بر کیلوگرم لیپید) اختصاص داشت که مؤید تأثیر مثبت ترکیب هگزان و اتانول در کاهش فرآورده‌های ثانویه اکسیداسیون است.

جدول ۲- شاخص‌های کیفیت لیپید استخراج شده از ضایعات میگو تحت شرایط پیش تیمار با اولتراسوند در شرایط بهینه و بدون پیش تیمار با حلال‌های مختلف.

Table 2- Quality indicators of lipid extracted from shrimp waste under ultrasound pretreatment conditions in optimal conditions and without pretreatment with different solvents.

Treatments	PV Index (mg cumene hydroperoxide/kg lipid)	TBARS index (mg malonaldehyde (MDA)/kg lipid)
Hex-UT	1.16 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.01 ^a
Hex	0.72 ± 0.04 ^b	0.07 ± 0.02 ^a
Et-UT	1.26 ± 0.02 ^a	0.06 ± 0.04 ^b
Et	1.91 ± 0.02 ^a	0.03 ± 0.06 ^c
Hex.Et-UT	0.75 ± 0.03 ^b	0.06 ± 0.01 ^b
Hex.Et	0.62 ± 0.01 ^c	0.03 ± 0.01 ^c

اختصارات: Hex: هگزان، Et: اتانول، Hex:Et: هگزان/اتانول (1:1)، UT: پیش تیمار اولتراسوند.

Abbreviations: Hex: hexane, Et: ethanol, Hex:Et: hexane/ethanol (1:1), UT: ultrasound pretreatment.

بحث و نتیجه گیری

همانطور که در جدول و شکل ۱ ارائه شده است، از یک طرح مرکب مرکزی (CCD) برای بررسی رابطه بین متغیرها و پاسخ (بازده روغن) استفاده شد. نتایج بینش‌های ارزشمندی در مورد بهینه‌سازی فرآیندهای استخراج لیپید ارائه داد که برای کاربرد در صنایع غذایی و دارویی بسیار مهم است. استفاده از CCD، یک روش سطح پاسخ (RSM) که به طور گسترده پذیرفته شده است، امکان کاوش کارآمد در فضای آزمایش را با تعدادی از اجراها (۲۰ آزمایش) فراهم کرد. CCD به ویژه برای مدل‌سازی روابط درجه دوم مؤثر بود و امکان شناسایی شرایط بهینه و تعاملات بین متغیرها را فراهم نمود. ضریب تعیین بالا ($R^2=0/92$) نشان داد که ۹۲٪ از تغییرپذیری در عملکرد استخراج روغن را می‌توان با مدل توضیح داد که این نشان‌دهنده کفایت مدل است. شرایط استخراج بهینه در زمان استخراج ۷ دقیقه و توان ۱۰۰ وات شناسایی شد که بالاترین بازده روغن (۰/۳۳ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) را به همراه داشت. این نشان می‌دهد که زمان استخراج متوسط همراه با توان بالا، راندمان حل کردن و آزادسازی لیپید را احتمالاً به دلیل افزایش تخریب ماتریس نمونه و بهبود نفوذ حلال افزایش می‌دهد (Dikel and Yanar 2025). بطوریکه Mienis و همکاران (2024) با بررسی تأثیر اولتراسوند و حضور حلال هگزان/ایزوپروپانول بر راندمان استخراج و پایداری لیپید از جلبک *Nannochloropsis* گزارش کردند، UAE با توان بالا (۰/۴۵ W/mL) به طور قابل توجهی منجر به راندمان استخراج بالاتر لیپید نسبت به تیمار بدون اعمال UAE شد. در واقع فراصوت با توان بالا می‌تواند برای سرعت بخشیدن به استخراج لیپید و کاهش مدت زمان پیش تیمار مورد نیاز استفاده شود. بطور مشابه در پژوهشی دیگر، Guo و همکاران (2025) اثرات استخراج به کمک اولتراسوند (UAE) را بر سینتیک استخراج لیپید و کیفیت عصاره‌های لیپیدی از دانه مصرفه شده غلات را بررسی کردند. نتایج نشان داد، UAE استخراج لیپید را عمدتاً از طریق "افزایش دمای ناشی از اولتراسوند" افزایش داد. عصاره‌های لیپیدی به دست آمده توسط UAE در توان بالا، کمترین میزان FFA و بیشترین میزان ترکیبات فنلی را داشتند و هیچ نشانه‌ای از لیپولیز یا اکسیداسیون لیپید در طول UAE مشاهده نشد.

مخلوط حلال‌های هگزان/اتانول (۱:۱ حجمی/حجمی) به طور معنی‌داری برای استخراج لیپید از حلال‌های منفرد (هگزان، اتانول) عملکرد بهتری داشت و به بالاترین محدوده بازده روغن (۰/۳۳ - ۰/۱۹ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) دست یافت ($P < 0/05$). این نشان دهنده اثر هم‌افزایی بین هگزان (یک حلال غیرقطبی) و اتانول (یک حلال قطبی) است که احتمالاً استخراج طیف وسیع‌تری از طبقات لیپید، از جمله لیپیدهای قطبی و غیرقطبی را افزایش می‌دهد (da Silva et al., 2025). هگزان که معمولاً برای استخراج لیپیدهای غیرقطبی استفاده می‌شود، نتایج متوسطی (۰/۰۹-۰/۱۷ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) به همراه داشت، در حالی که اتانول که لیپیدهای قطبی بیشتری را هدف قرار می‌دهد، کمترین بازده (۰/۰۵-۰/۱۲ گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) را داشت. راندمان پایین‌تر اتانول ممکن است به توانایی محدود آن در حل کردن لیپیدهای غیرقطبی نسبت داده شود که اغلب در سخت‌پوستان خاصی غالب هستند (Ahmadkelayeh and Hawboldt 2020). بطور مشابه Wang و همکاران (2021) با به کارگیری حلال‌های مختلف (هگزان، استون، اتانول، ترکیبات n-هگزان + اتانول (۱:۲، ۱:۱، ۱:۲، ۱:۴ حجمی/حجمی) و

استون + اتانول (۲:۱، ۱:۱، ۱:۲، ۱:۴ حجمی/حجمی) بصورت جداگانه و مخلوط باهم) برای استخراج لیپید از *Penaeus vannamei* و *clarcia Procambaru* گزارش نمودند که استفاده از حلال‌های قطبی و غیرقطبی بصورت همزمان اثر بهتری در استخراج لیپیدهای غنی از اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA) و غنی از فسفاتیدیل کولین داشت و استون حلال مناسبی برای استخراج روغن غنی از آستازانتین بود. در پژوهشی دیگر Ahmadkelayeh و همکاران (2023). برای تعیین امکان‌سنجی، کیفیت و کمیت لیپیدها/آستازانتین در فرآورده جانبی میگوی *Pandalus borealis* از پیش‌تیمار حذف آب و استخراج حلالی استفاده نمودند. نتایج نشان داد، بازده لیپید از ۲ تا ۸/۶۹٪ (wt) برای فرآورده جانبی مرطوب و ۱ تا ۴٪ (wt) برای فرآورده جانبی خشک متغیر بود. بالاترین بازده لیپید (۸/۶۹٪ وزنی خشک) با مخلوطی از حلال‌های قطبی- غیرقطبی (هگزان/استون) با نسبت ۶۰:۴۰ درصد حجمی از باقیمانده‌های مرطوب استخراج شد. بازده آستازانتین از ۵۷ تا ۸۸ (μg/gwaste) برای فرآورده جانبی مرطوب و ۱۱۸ تا ۲۱۸ (μg/gwaste) برای فرآورده جانبی خشک متغیر بود. همچنین عصاره‌های لیپیدی غنی از اسیدهای چرب امگا ۳ و فسفولیپیدها بودند و کلاس‌های لیپیدی با توجه به حلال‌ها (هگزان، اتانول، استون و ایزوپروپیل) و پیش‌تیمار متفاوت بودند. بطور کلی این یافته‌ها به بهینه‌سازی فرآیندهای استخراج لیپید کمک می‌کند و بر اهمیت انتخاب حلال و پارامترهای فرآیند در دستیابی به بازده بالا تأکید می‌کند.

نتایج گزارش شده در شکل ۳ نشان می‌دهد که هم نوع حلال و هم پیش‌تیمار فراصوت نقش تعیین‌کننده و معنی‌داری در بازده استخراج آستازانتین دارند ($P < 0.05$). این الگوی کلی یعنی افزایش بازده با کاربرد امواج فراصوت و کارایی بالاتر حلال‌های قطبی/غیرقطبی نسبت به حلال‌های منفرد بر پایه سه سازوکار قابل توضیح است: (۱) کارایی انحلال‌پذیری آستازانتین نسبت به قطبیت حلال (Nisya et al., 2024)، (۲) نفوذ بهتر حلال ترکیبی هگزان/اتانول به ماتریس بیولوژیک (Hai and Van Man 2024) و (۳) تأثیر مکانیکی/هیدرودینامیکی فراصوت (کاویتاسیون) در شکستن ساختار سلولی و آزادسازی آستازانتین (Linares and Rojas 2022). آستازانتین یک کاروتنوئید لیپوفیلیک است و بنابراین در حلال‌های غیرقطبی/نیمه‌غیرقطبی بهتر حل می‌شود؛ اما حلال‌های کاملاً غیرقطبی مثل هگزان گاهی در نفوذ به ماتریس‌های اسکلت سخت‌پوستان (مثل پوسته میگو/خرچنگ) ناکارآمدند (Ahmadkelayeh et al., 2023). مطالعات پیشین گزارش کرده‌اند که مخلوط‌های حلال با قطبیت متوسط (مثلاً هگزان/ایزوپروپانول یا هگزان/اتانول در نسبت‌های مناسب) اغلب بازده بالاتری از لیپید نسبت به حلال‌های منفرد به‌دست می‌دهند، زیرا ترکیب خواص حل‌کنندگی فاز غیرقطبی (برای حل آستازانتین) و توان نفوذ فاز قطبی (برای جدا کردن لیپیدها و ماتریس بیولوژیک) را فراهم می‌آورند (Sánchez-Camargo et al., 2011; Feizi et al., 2025). از طرفی امواج فراصوت از طریق پدیده کاویتاسیون حبابی باعث ایجاد تلاطم موضعی و گسست مکانیکی دیواره‌های سلولی می‌شوند؛ این پدیده نفوذ حلال به ماتریس و آزادسازی ترکیبات داخل سلولی مانند کاروتنوئیدها را تسهیل می‌کند. بنابراین ترکیب هم‌افزایی بین سازوکار فیزیکی (فراصوت) و شیمیایی (مخلوط حلال) رخ می‌دهد (Linares and Rojas 2022). مطالعات مروری و پژوهشی متعددی نشان داده‌اند که UAE می‌تواند بازده استخراج کاروتنوئیدها را در مقایسه با استخراج سنتی افزایش دهد. Rathod و Dey (2013) پارامترهای مختلفی مانند زمان استخراج، نوع حلال، نسبت زیست توده به حلال، دما، شدت آکوستیک الکتریکی، طول نوک پروب فرو رفته در حلال و اثر پیش‌تیمار برای استخراج بتاکاروتن از جلبک *Spirulina platensis* کمک فراصوت را مورد آزمایش قرار دادند. شرایط بهینه بدست آمده برای استخراج بتاکاروتن از اسپیرولینا: ۱/۵ گرم اسپیرولینا (۲ دقیقه خیسانده در متانول) در ۵۰ میلی‌لیتر هپتان، دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، شدت صوت ۱۶۷ وات/سانتی‌متر، زمان ۸ دقیقه، نوک پروب ۰/۵ سانتی‌متر در حلال فرو رفته بود. نتایج نشان داد حداکثر استخراج به دست آمده تحت پارامترهای بهینه ذکر شده ۴۷/۱۰٪ بود. زمان پیش‌تیمار تأثیر امیدوارکننده‌ای بر بازده نشان داد، به طوری که پیش‌تیمار افزایش ۱۲ برابری در بازده استخراج بتاکاروتن را نشان داد. همچنین Chuyen و همکاران (2019) به بررسی تأثیر زمان استخراج، دما و قدرت اولتراسونیک بر بازیابی کل کاروتنوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از پوست میوه گاک (*Momordica cochinchinensis* Spreng.) پرداختند. نتایج نشان داد که زمان استخراج ۷۶ دقیقه، دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و قدرت اولتراسونیک ۲۵۰ وات شرایط بهینه برای استخراج بودند. بازده تجربی کاروتنوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به‌دست‌آمده تحت این شرایط به ترتیب

۲۶۹ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک و ۸۲۲ میکرومولار TE (معادل ترولوکس) بر ۱۰۰ گرم وزن خشک بود. بنابراین، استخراج به کمک اولتراسوند و با استفاده از حلال اتیل استات تحت شرایط بهینه فوق برای بازیابی کاروتنوئیدها از پوست گاک پیشنهاد شد.

فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده در تیمارهای Hex.Et-UT و Hex.Et (شکل ۴) را می‌توان به افزایش استخراج آستازانتین از ضایعات میگو توسط این سیستم‌های حلال نسبت داد (همانطور که در بخش بازده استخراج آستازانتین بحث شد). آستازانتین، یک کاروتنوئید و آنتی‌اکسیدانی قوی است، که هنگام استفاده از ترکیبی از حلال‌هایی مانند هگزان و اتانول که می‌تواند ترکیبات آبریز و آبدوست را همزمان حل کند، با کارایی بالاتری استخراج می‌شود (Mousavi and Hosseini 2025a). این سیستم حلال دوتایی احتمالاً در مقایسه با اتانول یا هگزان به تنهایی، محیط حل‌کننده بهتری برای آستازانتین فراهم کرد و غلظت بالاتری از آستازانتین را در عصاره ایجاد نمود که به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر منجر گردید. استخراج با کمک اولتراسوند با مختل کردن ماتریس ضایعات میگو، بهبود نفوذ حلال و سرعت انتقال جرم، این اثر را بیشتر تقویت کرد. این امر امکان آزادسازی و انحلال کارآمدتر آستازانتین را در مخلوط حلال فراهم می‌کند (Sharayei *et al.*, 2021).

مطالعات نشان داده‌اند که ترکیب اولتراسوند با حلال‌های مناسب مانند روغن‌های گیاهی یا سیستم‌های حلال مخلوط، بازیابی آستازانتین از محصولات جانبی میگو را به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد و به بهبود فعالیت مهار رادیکال در سنجش‌های آنتی‌اکسیدانی کمک می‌کند (Sharayei *et al.*, 2021; Chuyen *et al.*, 2019). بنابراین، ترکیب حلال هگزان و اتانول، به ویژه هنگامی که با اولتراسوند (Hex.Et-UT) اعمال می‌شود، محتوای آستازانتین بالاتری را از ضایعات میگو استخراج می‌کند، که مسئول فعالیت برتر مهار رادیکال DPPH مشاهده شده در این نمونه‌ها است (Deng *et al.*, 2022). این امر نقش حیاتی انتخاب حلال و روش استخراج را در به حداکثر رساندن بازده آستازانتین و اثرات آنتی‌اکسیدانی مرتبط با آن برجسته می‌کند. در این زمینه Panagiotakopoulos و همکاران (2023) با استفاده از روغن‌های گیاهی (زیتون، آفتابگردان، روغن بذر کتان) به عنوان حلال‌های سبز، استخراج آستازانتین از محصولات جانبی میگو را بررسی نمودند. آنها دریافتند که روغن زیتون به دلیل ترکیب لیپیدی خود که حلالیت کاروتنوئید را افزایش می‌دهد، بالاترین بازده آستازانتین را دارد. این امر منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده توسط سنجش‌های مهار رادیکال آزاد شد. در ادامه، Roy و همکاران (2021) نشان دادند که استخراج به کمک اولتراسوند با حلال‌های یوتکتیک عمیق (NaDES) به طور موثری آستازانتین را از ضایعات میگو استخراج می‌کند. آنها نشان دادند که پارامترهای اولتراسوند در شرایط بهینه و نسبت‌های حلال، بازده آستازانتین را افزایش می‌دهند که این، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی قابل تشخیصی با سنجش DPPH را به همراه داشت. این مطالعات از یافته‌های این پژوهش مبنی بر اینکه حلال‌های مخلوط یا با قطبیتی شبیه به قطبیت لیپید همراه با اولتراسوند، استخراج ترکیبات زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را ارائه می‌دهند پشتیبانی می‌کند.

جدول ۲، نتایج عدد پراکسید (PV) و مواد واکنش‌پذیر با تیوباربیتریک اسید (TBARS) برای نمونه‌های لیپید استخراج شده از ضایعات میگو، تأثیر واضح نوع حلال و پیش تیمار فراصوت را بر پایداری اکسیداتیو روغن‌های استخراج شده نشان می‌دهد. اگرچه تمامی مقادیر بدست آمده پایین‌تر از حد مجاز بودند ($PV = \leq 5 \text{ meq O}_2/\text{kg}$, $TBARS = \leq 1 \text{ MDA}/\text{kg}$)، با این وجود کمترین میزان PV در تیمار ترکیبی هگزان-اتانول (Hex.Et) مشاهده شد (0.01 ± 0.62 میلی‌گرم هیدروپروکسید کومن/کیلوگرم لیپید). وجود اتانول (یک حلال قطبی) احتمالاً ویژگی‌های غیرقطبی حلال هگزان را تکمیل می‌کند و یک محیط با حلالیت متعادل برای استخراج لیپیدها با کاهش قرار گرفتن در معرض شرایط القاننده اکسیداسیون ایجاد می‌کند (Oh *et al.*, 2023). هنگامی که پیش تیمار اولتراسوند در کنار مخلوط حلال (Hex.Et-UT) اعمال شد، PV همچنان پایین باقی ماند (0.03 ± 0.75 میلی‌گرم هیدروپروکسید کومن/کیلوگرم لیپید)، که این نشان می‌دهد اولتراسوند اکسیداسیون اولیه را تسریع نکرد. در مقابل، بالاترین میزان PV در تیمار اتانول (Et) ثبت شد (0.02 ± 1.91 میلی‌گرم هیدروپروکسید کومن/کیلوگرم لیپید)، که نشان دهنده درجه بالاتری از تشکیل هیدروپراکسید لیپید و افزایش حساسیت به اکسیداسیون است. قطبیت اتانول ممکن است استخراج ترکیبات پیش اکسیداتیو مانند یون‌های فلزی یا پیش اکسیدان‌های قطبی را که می‌توانند تشکیل پراکسید را تسریع کنند، تسهیل کند (Durand *et al.*, 2025). در بررسی اکسیداسیون ثانویه (TBARS) نیز، ترکیب حلال‌های هگزان-اتانول عملکرد برتر را نشان داد (جدول ۲). تیمارهای Hex.Et-

UT و Hex.Et کمترین غلظت مالون دی آلدئید (MDA) را نشان دادند (به ترتیب ۰/۰۶ و ۰/۰۳ میلی گرم مالون آلدئید (MDA) بر کیلوگرم لیپید)، که اثربخشی مخلوط حلال را در جلوگیری از پیشرفت اکسیداسیون اولیه لیپید به ثانویه تأیید می کند. این نشان می دهد که محیط حلال ایجاد شده توسط Hex.Et نه تنها تشکیل هیدروپراکسید اولیه را محدود می کند، بلکه تجزیه به آلدئیدهای واکنش پذیر مانند MDA که به ترشیدگی و طعم نامطلوب کمک می کنند، را نیز کاهش می دهد (Mozzon et al., 2024). همچنین پیش تیمار با امواج فراصوت در ترکیب با حلال هگزان-اتانول (Hex.Et-UT) مقادیر PV و TBARS پایینی را در لیپید حفظ کرد، که این نشان می دهد امواج فراصوت تحت پارامترهای بهینه (توان ۱۰۰، ۷ دقیقه)، راندمان استخراج را بدون تشدید اکسیداسیون افزایش می دهند (شکل ۲). از نظر مکانیکی، امواج فراصوت در صورت کنترل دقیق پارامترها، تخریب سلول و نفوذ حلال را از طریق کاونتاسیون صوتی بدون گرمای بیش از حد یا تشکیل رادیکال آزاد افزایش می دهند (Deng et al., 2022). امواج فراصوت می تواند سرعت انتقال جرم را افزایش دهد، بنابراین به طور بالقوه زمان قرار گرفتن لیپیدها در معرض اکسیژن و پرواکسیدانها را نسبت به استخراجهای مرسوم طولانی تر، کاهش می دهد. با این حال، امواج فراصوت همچنین می تواند دماها و رادیکالهای بالای موضعی را القا کند که در صورت عدم بهینه سازی شرایط فرآیند، ممکن است اکسیداسیون را تسریع کنند (Chemat et al., 2019). در مقایسه با سایر مطالعات استخراج لیپید از منابع دریایی، مقادیر PV و TBARS به دست آمده در این مطالعه به طور قابل توجهی پایین تر بود که نشان دهنده حفظ مؤثر کیفیت لیپید استخراج شده است، که این برای کاربردهای لیپید میگو در مواد غذایی و مواد مغذی ضروری است (Kamali et al., 2024; Awad et al., 2018). این یافتهها بر مزیت بهینه سازی حلال و پیش تیمار فراصوت برای به دست آوردن عصاره های لیپیدی با کیفیت بالا از محصولات جانبی دریایی با حداقل آسیب اکسیداتیو دلالت دارند.

نتیجه گیری نهایی

نتایج این مطالعه نشان داد که پیش تیمار با کمک اولتراسوند (UAE) همراه با مخلوط حلال هگزان/اتانول (۱:۱ حجمی/حجمی) بیشترین کارایی را در استخراج لیپید و آستازانتین از ضایعات میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*) داشت. این روش باعث افزایش چشمگیر بازده استخراج و محتوای آستازانتین شد و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره لیپیدی را حفظ نمود. علاوه بر این، استفاده از ترکیب حلال مناسب و اعمال فراصوت، پایداری اکسایشی روغن استخراج شده را نیز بهبود بخشید و مقادیر پراکسید (PV) و مواد واکنش پذیر با اسید تیوباربیئوریک (TBARS) کاهش یافت. نتایج نشان می دهد که امواج فراصوت از طریق تخریب ماتریس سلولی و افزایش نفوذ حلال، فرآیند استخراج را تسریع کرده و بدون تشدید اکسیداسیون، میزان ترکیبات زیست فعال را افزایش می دهد. این یافتهها اهمیت انتخاب حلال و شرایط فرآیند در دستیابی به استخراج کارآمد و حفظ کیفیت عصاره لیپیدی را برجسته می کند. بازیابی آستازانتین از ضایعات میگو نه تنها ارزش اقتصادی محصولات جانبی صنایع آبی پروری را افزایش می دهد، بلکه به کاهش مشکلات زیست محیطی ناشی از ضایعات کمک می کند. این مطالعه تأکید می کند که ترکیب روشهای نوین مانند UAE با حلالهای دوگانه می تواند به عنوان یک رویکرد پایدار و مؤثر برای تولید عصاره های غنی از آستازانتین با کاربردهای غذایی، دارویی و تغذیه ای به کار رود. این یافتهها همچنین می توانند راهنمای بهینه سازی فرآیندهای صنعتی برای بازیابی ترکیبات زیست فعال از دیگر محصولات جانبی دریایی باشند.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس و نیز بنیاد ملی علم ایران (INSF) تحت قرارداد پژوهشی شماره ۴۰۴۲۸۵۹ انجام پذیرفته است.

تأییدیه اخلاقی: همه نویسندگان در انتشار مقاله حاضر اتفاق نظر دارند.

تعارض منافع: هیچگونه تعارض منافی بین نویسندگان این مطالعه وجود ندارد.

منابع مالی: پژوهش حاضر از محل گرنت پژوهشی نویسندگان انجام پذیرفته است.

سهم نویسندگان: مهدی مغیثی (نویسنده اول)، انجام کارهای آزمایشگاهی، فراهم آوردن داده‌ها (۳۵٪)، سید فخرالدین حسینی (نویسنده دوم)، استاد راهنمای دانشجو، تصحیح و ویرایش نسخه نهایی مقاله (۳۵٪)، زهرا موسوی (نویسنده سوم)، نوشتن نسخه اولیه مقاله، فراهم آوردن داده‌ها، تجزیه و تحلیل داده‌ها (۳۰٪).

منابع:

- Ahmadkelayeh, S., & Hawboldt, K. (2020). Extraction of lipids and astaxanthin from crustacean by-products: A review on supercritical CO₂ extraction. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 94–108.
- Ahmadkelayeh, S., Cheema, S. K., & Hawboldt, K. (2022). Extraction of astaxanthin from atlantic shrimp by-products using fish oil: Process optimization and operational parameter effects. *Journal of Cleaner Production*, 371, 133609.
- Ahmadkelayeh, S., Cheema, S. K., & Hawboldt, K. (2023). Evaluation of conventional solvent processes for lipid and astaxanthin extraction from shrimp processing by-products. *Chemical Engineering Communications*, 210(3), 398–411.
- Awad, H. A., & Hindi, M. J. (2018). Effect of carotenoids extracted from shrimp shell on lipid oxidation in sesame oil. *Plant Archives*, 18, 2324–2328.
- Chemat, F., & Vorobiev, E. (Eds.). (2019). *Green food processing techniques: Preservation, transformation and extraction*. Academic Press.
- Chuyen, H. V., Roach, P. D., Golding, J. B., Parks, S. E., & Nguyen, M. H. (2019). Ultrasound-assisted extraction of GAC peel: An optimization of extraction conditions for recovering carotenoids and antioxidant capacity. *Processes*, 8(1), 8.
- da Silva, H. R. P., Costa, I. G., Oliveira, A. C., Severo, I. A., Nanclares, J. C., Ordonez, J. C., et al. (2025). Towards sustainable biodiesel production: Modeling, simulation, and profit optimization of microalgae oil extraction. *Biochemical Engineering Journal*, 109902.
- Deng, Y., Wang, W., Zhao, S., Yang, X., Xu, W., Guo, M., et al. (2022). Ultrasound-assisted extraction of lipids as food components: Mechanism, solvent, feedstock, quality evaluation and coupled technologies—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 122, 83–96.
- Dey, S., & Rathod, V. K. (2013). Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 271–276.
- Dikel, Ç., & Yanar, Y. (2025). Ultrasound-assisted extraction (UAE) for the utilization of deep-water pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) processing waste: Comprehensive characterization of carotenoid astaxanthin rich extract. *Veterinary Medicine and Science*, 11(4), e70498.
- Durand, E., Laguerre, M., Bourlieu-Lacanal, C., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2025). Navigating the complexity of lipid oxidation and antioxidation: A review of evaluation methods and emerging approaches. *Progress in Lipid Research*, 97, 101317.
- Feizi, P., Maghsoudlou, Y., ShahiriTabarestani, H., Jafari, S. M., & Bahri, A. H. (2025). Green astaxanthin extraction using microwave and ultrasound pretreatments. *NPJ Science of Food*, 9(1), 147.
- Ghateau, H., Solymosi, K., Marchand, J., & Schoefs, B. (2017). Carotenoids of microalgae used in food industry and medicine. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 17(13), 1140–1172.
- Gimeno, M., Ramírez-Hernández, J. Y., Martínez-Ibarra, C., Pacheco, N., García-Arrazola, R., Bárzana, E., et al. (2007). One-solvent extraction of astaxanthin from lactic acid fermented shrimp wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(25), 10345–10350.
- Gopakumar, K., & Nair, M. R. (2009). Lipid composition of five species of Indian prawns. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26(3), 319–325.
- Gulzar, S., & Benjakul, S. (2018). Ultrasound waves increase the yield and carotenoid content of lipid extracted from cephalothorax of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(5), 1700495.

- Guo, C., Brijs, K., Mienis, E., & Foubert, I. (2025). Ultrasound-assisted lipid extraction and antioxidant co-extraction from Brewer's spent grain. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 104160.
- Hai, T. C., & Van Man, P. (2024). Optimization of ultrasound-assisted extraction of astaxanthin from black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) shells using deep eutectic solvent and ethanol as a co-solvent. *LWT*, 212, 116965.
- Hooshmand, H., Shabanpour, B., Moosavi-Nasab, M., & Golmakani, M. T. (2017). Optimization of carotenoids extraction from blue crab (*Portunus pelagicus*) and shrimp (*Penaeus semisulcatus*) wastes using organic solvents and vegetable oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), e13171.
- Ishida, B. K., & Chapman, M. H. (2009). Carotenoid extraction from plants using a novel, environmentally friendly solvent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(3), 1051–1059.
- Kamali, M., Shabanpour, B., Pourashouri, P., & Kordjazi, M. (2024). Evaluating shelf life and anti-browning of shrimp by chitosan-coated nanoliposome loaded with licorice root extract. *Food Chemistry X*, 23, 101532.
- Khoo, K. S., Lee, S. Y., Ooi, C. W., Fu, X., Miao, X., Ling, T. C., et al. (2019). Recent advances in biorefinery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, 288, 121606.
- Linares, G., & Rojas, M. L. (2022). Ultrasound-assisted extraction of natural pigments from food processing by-products: A review. *Frontiers in Nutrition*, 9, 891462.
- Mienis, E., Vandamme, D., & Foubert, I. (2024). Ultrasound assisted extraction of Nannochloropsis: Effects on lipid extraction efficiency and lipid stability. *Algal Research*, 80, 103520.
- Mousavi, Z., & Hosseini, S. F. (2025a). Evaluation of the effect of solvent type on extraction efficiency, solubility and antioxidant activity of carotenoid extract from shrimp by-products. *Journal of Fish Science and Technology*, 14(1), 37–46. [In Persian]
- Mousavi, Z., & Hosseini, S. F. (2025b). Investigation of sterols, fatty acids and qualitative indicators of lipid extract from green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) by-products. *Innovative Food Technology*, 12(4), 415–431. [In Persian]
- Mozzon, M., Foligni, R., Mannozi, C., & Vittori, S. (2024). Assessment of lipid oxidation in fish and fish products processed by cold plasma technologies. *Applied Food Research*, 100646.
- Nisya, A. F., Rochmadi, R., & Budiman, A. (2024). Mass transfer phenomena during the ultrasound-assisted extraction of algal oil from *Spirulina* sp. *International Journal of Technology*, 15(4), 927–936.
- Oh, W. Y., Kim, M. J., & Lee, J. (2023). Approaches of lipid oxidation mechanisms in oil matrices using association colloids and analysis methods for the lipid oxidation. *Food Science and Biotechnology*, 32(13), 1805–1819.
- Panagiotakopoulos, I., Karantonis, H. C., Kartelias, I. G., & Nasopoulou, C. (2023). Ultrasonic-assisted extraction of astaxanthin from shrimp by-products using vegetable oils. *Marine Drugs*, 21(9), 467.
- Rodrigues, L. A., Pereira, C. V., Leonardo, I. C., Fernandez, N., Gaspar, F. B., Silva, J. M., et al. (2020). Terpene-based natural deep eutectic systems as efficient solvents to recover astaxanthin from brown crab shell residues. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(5), 2246–2259.
- Roy, V. C., Ho, T. C., Lee, H. J., Park, J. S., Nam, S. Y., Lee, H., et al. (2021). Extraction of astaxanthin using ultrasound-assisted natural deep eutectic solvents from shrimp wastes and its application in bioactive films. *Journal of Cleaner Production*, 284, 125417.
- Sachindra, N. M., & Mahendrakar, N. S. (2005). Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils. *Bioresource Technology*, 96(10), 1195–1200.
- Sánchez-Camargo, A. P., Martínez-Correa, H. A., Paviani, L. C., & Cabral, F. A. (2011). Supercritical CO₂ extraction of lipids and astaxanthin from Brazilian redspotted shrimp waste (*Farfantepenaeus paulensis*). *The Journal of Supercritical Fluids*, 56(2), 164–173.
- Sharayei, P., Azarpazhooh, E., Zomorodi, S., Einafshar, S., & Ramaswamy, H. S. (2021). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of astaxanthin from green tiger (*Penaeus semisulcatus*) shrimp shell. *Ultrasonics Sonochemistry*, 76, 105666.
- Sila, A., Kamoun, Z., Ghilissi, Z., Makni, M., Nasri, M., Sahnoun, Z., et al. (2015). Ability of natural astaxanthin from shrimp by-products to attenuate liver oxidative stress in diabetic rats. *Pharmacological Reports*, 67(2), 310–316.
- Takeungwongtrakul, S., Benjakul, S., Santoso, J., Trilaksani, W., & Nurilmala, M. (2015). Extraction and stability of carotenoid-containing lipids from hepatopancreas of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(1), 10–18.

- Tsiaka, T., Zoumpoulakis, P., Sinanoglou, V. J., Makris, C., Heropoulos, G. A., & Calokerinos, A. C. (2015). Response surface methodology toward the optimization of high-energy carotenoid extraction from *Aristeus antennatus* shrimp. *Analytica Chimica Acta*, 877, 100–110.
- Wang, J. L., Yu, Z. L., Yin, F. W., Li, D. Y., Liu, H. L., Song, L., et al. (2021). Comparison of different solvents for extraction of oils from by-products of shrimps *Penaeus vannamei* and *Procambarus clarkia*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(9), e15754.
- Yanar, Y., Çelik, M., & Yanar, M. (2004). Seasonal changes in total carotenoid contents of wild marine shrimps (*Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monoceros*) inhabiting the eastern Mediterranean. *Food Chemistry*, 88(2), 267-269.

The effectiveness of ultrasound pretreatment in improving the extraction of astaxanthin-rich lipid extract from Jinga shrimp (*Metapenaeus affinis*) waste

Mehdi Moghisi¹, Seyed Fakhreddin Hosseini^{2*}, Zahra Mousavi²

1- Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

2- Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

ABSTRACT

This study investigated the effect of ultrasound pretreatment (UAE) on the extraction of astaxanthin-rich lipid extract from the waste of the Jinga shrimp (*Metapenaeus affinis*). The effect of solvent type (hexane, ethanol, and hexane/ethanol mixture) and extraction conditions (time and power of ultrasound waves) on the extraction efficiency, astaxanthin content, antioxidant activity, and oxidative stability of the extract was evaluated. The samples were subjected to ultrasound treatment for 5 to 15 minutes and a power of 20 to 100 watts using response surface methodology (RSM). Lipid extraction was performed by the Soxhlet method and different solvents. Antioxidant activity was measured by DPPH assay, and oxidative stability was measured by peroxide (PV) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) indices. Statistical analysis showed that the quadratic central composite design (CCD) model was able to predict the extraction efficiency. The optimal conditions were obtained at 7 minutes and 100 watts. The highest lipid yield (0.33 g/100 g dry weight) and the highest astaxanthin concentration (843.63 µg/100 g) were obtained with ultrasound pretreatment and hexane/ethanol mixed solvent. This treatment also showed the highest DPPH free radical scavenging activity (77%) and the lowest peroxide and TBARS indices. The results showed that ultrasound pretreatment with hexane/ethanol dual solvent significantly increased the extraction yield, astaxanthin concentration, and antioxidant activity of the extract. Therefore, UAE, as a green and efficient technology, can be an effective solution for recovering high-value-added bioactive compounds from shrimp waste and improving the economic and environmental efficiency of aquaculture industries.

KEYWORDS: Astaxanthin, Jinga shrimp (*Metapenaeus affinis*) wastes, Ultrasound-assisted extraction (UAE), Lipid extract, Antioxidant activity

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 2025/12/21

Revised :2026/01/10

Accepted: 2026/02/19

ePublished:
2026/03/06

* Corresponding Author:

Email address: hosseinisf@modares.ac.ir

Tel: 08132355330

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513