فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ٦، شمارهٔ ١، بهار ١٣٩٦، صفحه ٤٩ – ٦٠

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

معصومه عموزاد خلیلی[1]، عبدالمحمد عابدیان کناری[2*]، مسعود رضائی[3]

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

دریافت۹۵/۰۲/۱۳ پذیرش:۹۵/۱۰/۲۲

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

چکیده:

تأ ثیر آنتی‌اکسیدانی ویتامین‌های C و E بر افزایش ماندگاری خمیر جلبکی نانوکلروپسیس (*Nannochloropsis oculata*) نگه‌داری شده در دمای ٤ °C بررسی شد. ابتدا جلبک در شرایط کشت استاندارد (محیط کشت کانوی، میزان نور ۲۰۰۰ – ۱۰۰۰ لوکس، دما ۱ ± ۲٤، ۸/٦– ۷/۵ = pH، شوری ppt ٢٤ – ٢٠ و همراه با هوادهی) تولید شده و سپس در مرحله رشد لگاریتمی با روش سانتریفیوژ به وسیلهٔ دستگاه خامه‌گیر (۱۲۰۰۰ rpm) جداسازی شد. سپس به نمونه‌های خمیر جلبکی مقادیر مختلف ویتامین C وE (۰/۱w/w درصد) و مخلوط دو ویتامین به نسبت مساوی اضافه و در یخچال به‌مدت۱۲ هفته نگه‌داری شدند. نتایج بیانگر زنده‌مانی ۹۵ درصدی درتیمار ویتامین C در پایان دوره بود که از تیمار شاهد بیشتر بود (p<۰/۰۵). مجموع اسیدهای چرب آزاد و pH به‌طورمعنی‌داری در گروه حاوی ویتامین C کمتر از گروه شاهد بود. مقایسه بین تیمارهای مختلف طی زمان نگه‌داری نشان‌داد که تیمار حاوی ویتامین E در مقایسه با سایر تیمارها، طی گذشت زمان افزایش فساد اکسیداتیو کندتری دارد.در طی دوره نگهداری، میزان زنده‌مانی بالا بودهو مواد افزودنی به‌عنوان نگهدارنده مناسب این فراورده 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

مصرف آبزیان در دهه‌های اخیر به‌دلیل افزایش جمعیت و رویکرد عمومی به مصرف غذاهای حاصل از منابع آبزی همچنین در پی آشکار شدن اهمیت طبی و نقش آنها در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های صعب‌العلاج، در حال افزایش است. ریزجلبک نانوکلروپسیس به‌دلیل دارابودن

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]

اسیدهای چرب غیراشباع ومیزان بالای پروتئین، درآبزی‌پروری به‌ویژه در پرورش لارو ماهیان دریایی که قادر به سنتز اسیدهای چرب غیراشباع نیستند،ازاهمیت بالایی برخورداراست.خمیر جلبکی فراورده‌ای بسیار باارزش از میکروجلبک‌ها می‌باشد که به‌صورت یک محلول آبکی خیلی غلیظ از سلول‌های جلبکی (عمدتاً میکروجلبک‌های سبز–آبی) تهیه می‌گردد؛ این فراورده می‌تواند کاربرد وسیعی در صنایع شیلاتی و غیرشیلاتی داشته باشد. به‌طوری‌که به‌عنوان جایگزین جلبک‌های زنده برای تولید لارو گونه‌های مختلف ماهی و میگو، تولید انواع زئوپلانکتون‌ها، تولید آب سبز و نیز در تهیه بسیاری از محصولات آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. از مزایای خمیر جلبکی می‌توان به کاهش هزینه‌های تولید، کاهش فضای تولید غذای زنده، استفاده آسان، عمر نگهداری به‌نسبت طولانی آن اشاره کرد(Heasman et al., 2000).

فراورده‌های دریایی به‌دلیل 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 به‌وسیله واکنش‌های مختلف و در نتیجه تشکیل رادیکال‌های آزاد، هیدروپراکسیدها ومحصولات دیگر فساد ایجاد می‌کند(Belitz and Grosch, 1999). ترکیبات فرار حاصل از واکنش‌های اکسیداسیون و آب کافتی چربی‌ها (هیدروپراکسیدها، آلدئیدها، کتون‌ها، اسیدهای چرب، اپو اکسیدها، دایمرها، اکسی کلسترول) بو، طعم، رنگ، بافت، ارزش غذایی و به‌طور کلی کیفیت این فراورده‌ها 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 نگهداریشوند(Frankel, 1980; Frankel, 1984; Kanner et al., 1987). فساد اکسیداسیونی طی شرایط نگهداری باعث کاهش کیفیت این فراورده‌ها می‌شوند، در نتیجه انجام اقداماتی برای حفظ کیفیت این فراورده‌ها ضروریاست. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها روش مؤثریبرای 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 تغذیه‌ای و طولانی‌تر شدن زمان ماندگاری مواد خوراکی می‌شود (Gupta and Abu-Ghannam, 2011).آنتی‌اکسیدان‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که با تبدیل رادیکال‌های آزاد یا رادیکال‌های پراکسی به ترکیبات غیررادیکالی از طریق دادن الکترون، هیدروژن، چلات کردن فلزات واسطه و حل کردن ترکیبات تولیدکننده پراکسیداسیون از اکسایش جلوگیری می‌کنند.

ویتامین Cبه‌طور وسیعی برای جلوگیری از اکسیداسیون در ماهی و فراورده‌های دریایی مطالعه شده است (Gimenez et al., 2005; Gimenez et al., 2004).ویتامین Cبه‌طورمؤثری قادر به حذف سوپراکسایدها، هیدروژن پراکسایدها، هیپوکلریت‌ها، رادیکال‌های هیدروکسیل، رادیکال‌های پروکسیل و اکسیژن یگانه می‌باشد(Min and Krochta, 2007).

یکی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی دیگر که به‌طور متداول در فراورده‌های دریایی استفاده می‌شود، ویتامین Eاست. مطالعات آزمایشگاهی ثابت کرده‌اند که ویتامین Eیک آنتی‌اکسیدان زنجیره‌شکن فوق‌العاده مؤثر است و می‌تواند از چربی‌های چند غیراشباعی (PUFA) در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت کند.

دربارهٔ تولید خمیر جلبکی و روش‌های حفظ کیفیت آن مطالعات کمی در سطح دنیا انجام شده است. ontainiM و همکاران (۱۹۹۵) اثر روش‌های نگهداری مختلف رویبقا و

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]

پروفیل اسید چرب گونه *Tetraselmis sueccica*را بررسی کردند. روش‌های نگهداری آزمایش شده شامل انجماد با افزودن DMSO و بدون نگهدارنده، انجماد در نیتروژن مایع و نگهداری کنسانتره در ٤ °C بود. هیچ‌گونه اختلاف معناداری در بقا و پروفیل اسید چرب در نمونه‌های کنسانتره نگهداری شده در ٤ °C با بقیه تیمارها مشاهده نشد. Nunes و همکاران (۲۰۰۹) ماندگاری خمیر جلبکی ذخیره شده در ٤ °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 ٤ °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 بررسیتأثیرآنتی‌اکسیدانیویتامین‌های Cو E بر افزایش ماندگاری خمیر جلبکی نانوکلروپسیس در شرایط سرد (٤ °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 ۱ ± ۲٤ °C و pH = ۷/۵– ۸/٦ ، شوری ۲٤ ppt – 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 seprator، ساخت شرکت ARSAN کشور ترکیه) با شتاب ۱۲۰۰۰ rpm تغلیظ گردید. پس ازکنسانتره کردن جلبک‌ها، افزودنی‌های مورد نظر برای حفظ کیفیت آن در شرایط سرد به خمیر تولیدی اضافه شد. برای اینکار ٤ 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 ٤ (مخلوط دو ویتامین به نسبت مساوی و به میزان۰/۱ 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 به‌دلیل حلالیت در چربی به‌سادگی وجود ندارد،بنابراین برای اینکار از توئین ۸۰(۰/۱ گرم توئین + ۱ گرم ویتامین E) به‌عنوان امولسی فایر استفاده شد و سپس با خمیر مورد نظر مخلوط گردید. خمیر جلبکی آماده شده در ظروف مخصوص، در محیط تاریک و در یخچال (٤ °C) نگهداری شد تا آزمایش‌های مختلف کنترل کیفی محصول در طی مدت ۱۲ هفته انجام شود.

تعیین تراکم و درصد زنده‌مانی

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

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]

میکرولیتر از رنگ ایوانز بلو به ۱۰میلی‌لیتراز این سوسپانسیون اضافه گردید. نمونه‌ها حداقل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند و سپس زیر میکروسکوپ مشاهدات صورت گرفت. سلول‌های مرده رنگ آبی را جذب کرده و سلول‌های زنده بدون هیچ تغییر رنگی به رنگ سبز دیده می‌شوند و درصد زنده‌مانی با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید.

شمارشنمونه‌هابه‌طورهفتگیوباسهتکراربرایهرنمونه،بااستفادهازلامئوبارودرزیرمیکروسکوپنوریوبالنز ٤٠انجامشد. درصد زنده‌مانی سلولی از رابطه زیر به‌دست آمد(Heasman et al., 2000).

۱۰۰×کل سلول‌ها/تعداد سلول‌های زنده= درصد زنده‌مانی

سنجش مقادیر پراکساید (PV)

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

سنجش مقادیر عدد اسیدهای چرب آزاد (FFA)

برای سنجش مقادیر عدد اسیدهای چرب آزاد (FFA)[1] cc ۲۵ از الکل اتیلیک خنثی شده به‌وسیله سود نرمال به نمونه روغن اضافه گردید. سپس در مراحل بعدی با کمک ۲ تا ۳ قطره معرف فنل فتالئین و میزان مصرفی سود نرمال مقدار 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 میلی‌لیتر آب مقطر، مخلوط گردید، سپس pHنمونه‌ها در دمای اتاق با استفاده از دستگاه pH متر مدل ۳۵۱۰ ساخت شرکت Jenway انگلستان اندازه‌گیریشد(Suvanich et al., 2000).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ١٦ انجام شد. ابتدا بررسیطبیعی بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف[2] و سپس همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون[3] انجام شد که نتایج این آزمون‌ها برای آنالیز آماری داده‌های مربوط به تیمارهای آزمایش استفاده شد. برای تعیین اختلاف معنادار بین تیمارها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌ها 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 زنده‌مانی

غلظت خمیر جلبکی حاصل از روش سانتریفیوژ در این تحقیق $۱/۸ \times ۱۰^{۱۰}$ سلول در میلی‌لیتر به‌دست آمد.

1. Free fatty acid (FFA)

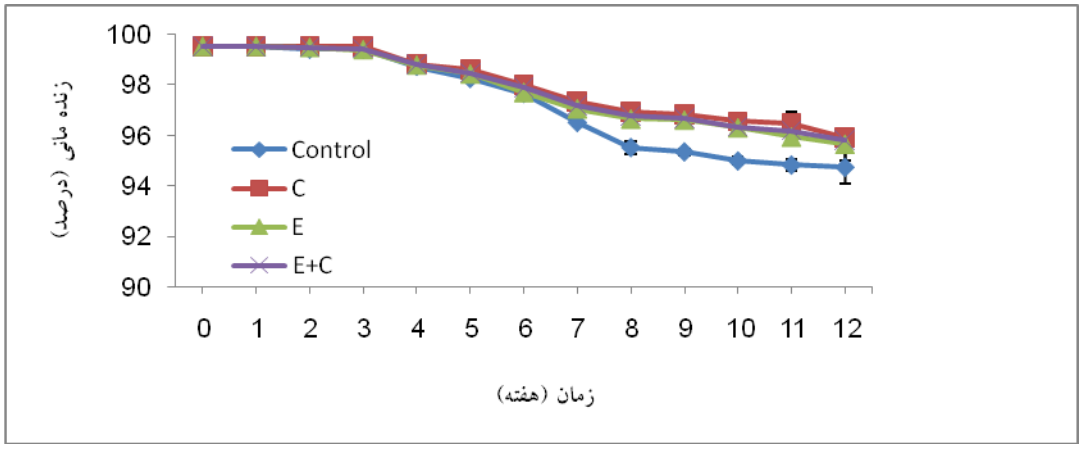
2. Kolomogorav–Smirnov

۳. Leven

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]

دربارهٔ درصد زنده‌مانی اگرچه یک روند کاهشی در طی دوره نگهداری مشاهده گردید (p<۰/۰۵)، اما با این وجود این درصد در تمامی تیمارها بالای ۹۵ درصدبود (شکل ۱). در ابتدای آزمایش و در طی دوره نگهداری تا هفته چهارم اختلاف معناداری بین تیمارها مشاهده نشد، اما پس از آن درصد زنده‌مانیسلول‌های جلبکی درخمیرهای حاوی هر دو ویتامین به‌طور معناداری از گروه شاهد بالاتر بود (p<۰/۰۵) که در بین این گروه‌های آزمایشی ویتامین C بیشترین تأثیر را بر روی این شاخصه داشت (p<۰/۰۵).



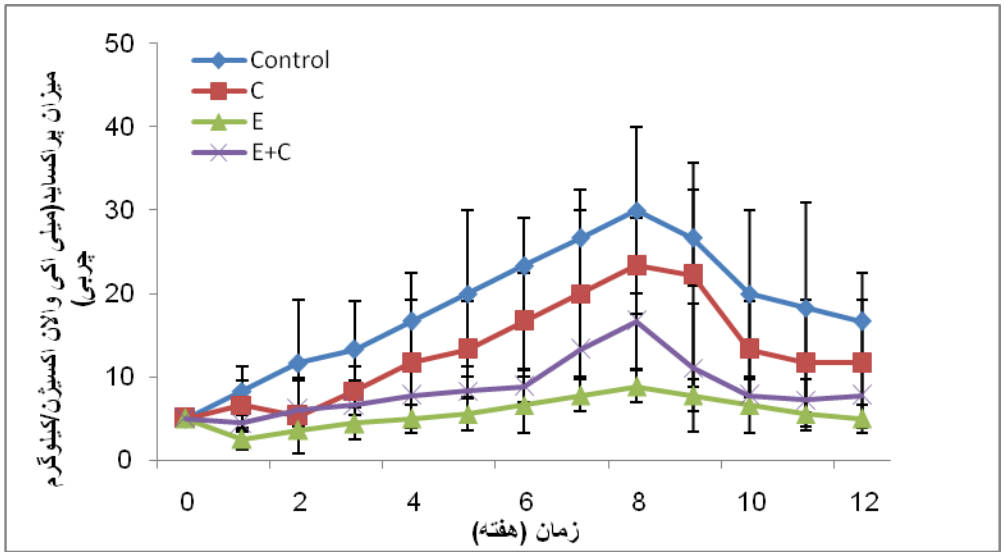
شکل ۱ تغییرات میزان درصد زنده‌مانی تیمارهای مختلف خمیر جلبکی نانوکلروپسیس نگهداری شده در دمای یخچال (٤ °C)
(Control تیمار شاهد، C خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین C، E خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین E، E+C خمیر حاوی مخلوط ویتامین‌های E و C به نسبت مساوی)

نتایج سنجش مقادیر پراکساید (PV)

در شکل۲ تغییرات میزان پراکساید تیمارهای مختلف خمیر جلبکی نانوکلروپسیس در طی زمان نگهداریدر یخچال (٤°C) مشاهده می‌شود. مقدار اولیه پراکساید نمونه‌های مورد آزمایش برای خمیرجلبکی نانوکلروپسیس ۵ میلی اکی والان اکسیژن فعال در کیلوگرم چربی بود. با گذشت زمان نگهداری این مقدار برای تیمار شاهد افزایش پیدا کرد، به‌طوری‌که در هفته هشتم نگهداری به بیشترین مقدار خود رسید (۳۰) که طی این مدت تیمار شاهد در مقایسه با سایر تیمارها به‌طور معناداری مقادیر پراکساید بالاتری داشت (p< ۰/۰۵). پس از هفته هشتم نگهداری میزان پراکساید در تیمار شاهد کاهش پیدا کرد. مقایسه بین تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری نشان‌دهندهٔ 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< ۰/۰۵).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]



شکل ۲ تغییرات میزان پراکساید تیمارهای مختلف خمیر جلبکی نانوکلروپسیس نگهداری شده در دمای یخچال (٤ °C)

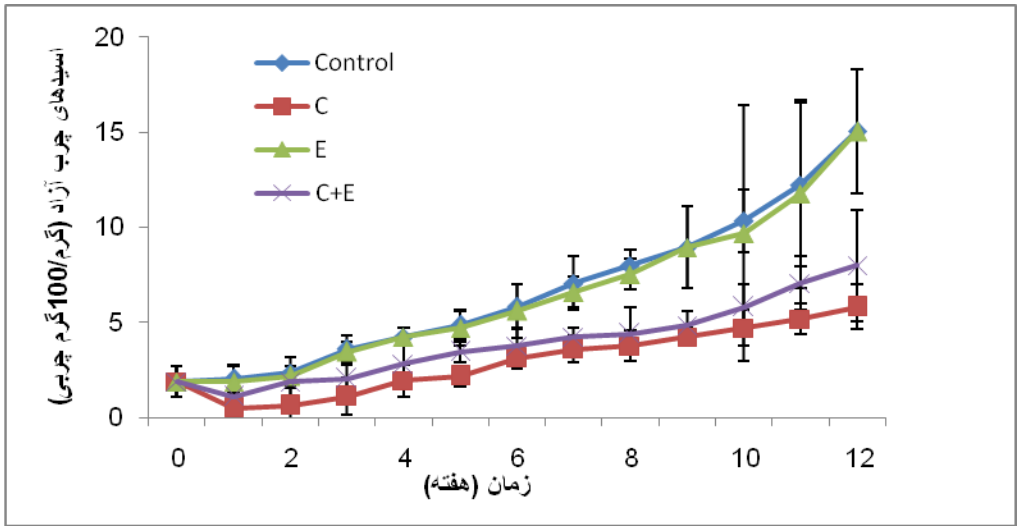
(Controlتیمار شاهد، C خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین C، E خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین E، E+C خمیر حاوی مخلوط ویتامین‌های E و C به نسبت مساوی)

سنجش مقادیر عدد اسیدهایچرب آزاد (FFA)

به‌طور کلی میزان اسیدهای چرب آزاد با گذشت زمان نگهداری در همه تیمارهای مورد آزمایش، روند افزایشی معناداری مشاهده شد (p<۰/۰۵، شکل ۳). این در حالی است که این افزایش به‌ترتیب درتیمار شاهد و در مرحله بعد در تیمار حاوی ویتامین E نسبت به سایر تیمارها از شدت بیشتری برخوردار بود. در طول دوره نگهداری تیمار حاوی ویتامین C نسبت به تیمارهای دیگر دارای میزان اسیدهای چرب آزاد کمتری بودند (p<۰/۰۵) که در این میان تیمار حاوی ویتامین C نسبت به تیمار ترکیب ویتامین E+C میزان اسیدهای چرب آزاد پایین‌تری داشت (p<۰/۰۵).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]

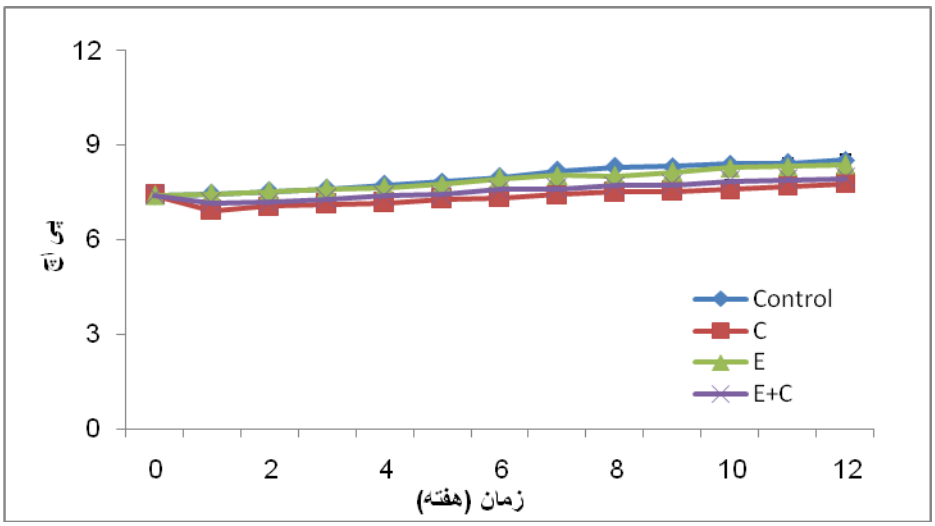


شکل ۳ مقادیر عدد اسیدهایچرب آزاد (FFA) تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری جلبک نانوکلروپسیس در یخچال

(Controlتیمار شاهد، C خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین C، E خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین E، E+C خمیر حاوی مخلوط ویتامین‌های E و C به نسبت مساوی)

نتایج سنجش pH

نتایج مربوط به تغییرات pH تیمارهای مختلف خمیر جلبکی نانوکلروپسیس در طی زمان نگهداریدر یخچال (٤°C) در شکل ٤نشان داده شده است. میزان pH در همه گروه‌های آزمایشیبه‌طور معناداری افزایش یافت (p<۰/۰۵). میانگین pH در گروه‌های آزمایشی ویتامین C و ترکیب ویتامین‌هابه‌طور معناداری از تیمارهای شاهد و ویتامین E کمتر بوده است (p<۰/۰۵).



شکل ٤ مقادیر pH تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری جلبک نانوکلروپسیس در یخچال

(Controlتیمار شاهد، C خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین C، E خمیر حاوی ۰/۱ درصد ویتامین E، E+C خمیر حاوی مخلوط ویتامین‌های E و C به نسبت مساوی)

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]

بحث

میزان و تراکم خمیر جلبکی پس از سانتریفیوژ ×١٠^١٠ ١/٨سلول در میلی‌لیتر به‌دست آمد که این تعداد نشان‌دهندهٔ کنسانتره جلبک و خمیری شدن آن است. در مطالعات گذشته ارقامی که برای تراکم خمیر جلبکی یا slurry گزارش گردید برای گونه *Chaetoceros mulleri* ٤ × ١٠^٧ (Nunes et al., 2009)و برای *Nanochloropsis*sp. ١٠^٩× ٦٥ سلول در میلی‌لیتر (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 Cو تیمار ترکیبی بیشترین بازماندگی را در مقایسه با گروه شاهد داشت. زنده‌مانیسلول‌ها تا پایان دوره نگهداری بالای ٩٥ درصد بود. نتایج مشابهی در مطالعه (Heasman et al., 2000)بر روی ١١ 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 زنده‌مانیسلول‌ها 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 نتیجهٔ اتصال اکسیژن به باندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع به‌وجود می‌آید. از این‌رو 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 به‌دنبال 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 به‌واسطهٔ اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد و کاهش آن در ادامه دوره نگهداری احتمالاً به‌دلیل تجزیهٔ هیدروپراکسایدها 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 هیدروپراکسایدها بیشتر از نرخ تجزیه آنها بوده است که افزایش میزان پراکسایدرخ می‌دهد و پس از رسیدن به مقدار بیشینه به‌دلیل 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 به‌دلیل اثرهای ضد اکسیداسیونی ویتامین C وEدانست 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

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]

می‌رسد ارزیابی آن به‌ویژه در زمان توسعه فساد مهم باشد. اثر پرواکسیدانی اسیدهای چرب آزاد نیز برروی مواد لیپیدی گزارش شده است. در واقع گروه‌های کربوکسیلی این اسیدها به‌صورت کاتالیزور عمل کرده و منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد از طریق تجزیه هیدروپراکسیدها می‌شوند(Aubourg, 2001). به‌علاوه مولکول‌های نسبتاً کوچک مانند اسیدهای چرب آزاد در مقایسه با لیپیدهای بزرگ‌تر مانند تری‌گلیسریدها و فسفولیپیدها سرعت اکسیداسیون بالاتری دارند (Losada et al., 2007).

در مطالعه حاضر، براساس نتایج به‌دست آمده میزان اسیدهای چرب آزاد با گذشت زمان در تمامی تیمارها افزایش یافت که این افزایش در تیمار شاهد شدت بیشتری داشت.به‌طور کلی در طی زمان‌های نگهداری میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمار حاوی ویتامین C در مقایسه با سایر تیمارها کمتر بود ($p<۰/۰۵$). دلیل پایین‌تر بودن اسیدهای چرب آزاد در تیمار حاوی ویتامین Cرا شاید بتوان به فعالیت ضد باکتریایی ویتامین C و در نتیجه کاهش فعالیت میکروبی و به‌دنبال آن آنزیم‌های مترشحه آنها در چربی نسبت داد. چنین افزایشی در مطالعات (Zamanian et al., 1392) و (Naghdi et al., 1393) در خمیرهای جلبکی تتراسلمیس و کیتوسروس مشاهده شد.در مطالعات دیگراز 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 طیکرد. افزایش pH در هر یک از تیمارهای کنترل و حاوی ویتامین را می‌توان به‌دلیل افزایش تولید بازهای فرار مثل آمونیاک، تری‌متیل‌آمین و دی‌متیل‌آمین و ترکیبات نیتروژن‌دار به‌دلیل فعالیت آنزیمی باکتری‌ها و آنزیم‌های داخل سلولی دانست(Kostaki et al., 2009).کمتر بودنpH در گروه آزمایشی حاوی ویتامین C در کل دوره نگهداری را می‌توان با پتانسیل بازدارندگی فعالیت باکتری‌ها و پروتئازهای آنزیمی ویتامین C مرتبط دانست. نتایج این مطالعه با تحقیق انجام گرفته روی خمیر جلبکیاز سوی(Heasman et al., 2000)مطابقت دارد.

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از ویتامین C،Eو مخلوط آنها نسبت به گروه کنترل میزان زنده‌مانی بالاتر و فساد اکسیداتیو کمتریبوده 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 Eبر میزان PV بهتر بوده است. بنابراین استفاده از ویتامین‌ها برای حفظ کیفیت خمیر جلبکی توصیه می‌گردد.

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". SpringerVerlag, 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 ± 1ºC) 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.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]

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 *Cheatoceros* 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 (-18ºC) 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. *JAOCS*, 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, Austra´lia (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-tochopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chem.* 71.229-233.

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

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

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]

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 celected 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 Assesssment 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.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 6, No. 1, Spring 2017

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

Masoumeh Amouzad Khalili[1], Abdolmohammad Abedian Kenari[2*], Masoud Rezaei[3]

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 24ºC 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 comparsion 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.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-11]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1396.6.1.4.6]