

ارزیابی تاثیر نوع حلال بر بازده استخراج، حلالیت و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره کاروتنوئیدی محصولات جانبی میگو

زهرا موسوی، سید فخرالدین حسینی*

گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

چکیده

محصولات جانبی میگو می‌تواند به عنوان یکی از ارزاترین مواد اولیه جهت استخراج ترکیبات زیست فعال مانند عصاره لیپیدی غنی از رنگدانه‌های کاروتنوئیدی مورد استفاده قرار گیرد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی ترکیبات مغذی پودر حاصل از محصولات جانبی میگو، به حداکثر رساندن راندمان استخراج عصاره کاروتنوئیدی با استفاده از حلال‌های اتانول، هگزان، هگزان/استون و هگزان/ایزوپروپیل‌الکل، و همچنین ارزیابی تاثیر نوع حلال بر حلالیت و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره کاروتنوئیدی بود. مطابق با نتایج بدست آمده، پودر محصولات جانبی میگو حاوی ۵۳/۱۱ درصد پروتئین، ۴/۵۱ درصد رطوبت، ۲۸/۵۸ درصد خاکستر، ۳/۴۵ درصد چربی و ۱۰/۴۵ درصد کربوهیدرات بود. نتایج همچنین نشان داد که استفاده از حلال ترکیبی هگزان/ایزوپروپیل‌الکل (با نسبت ۱:۱) منجر به بیشترین راندمان استخراج به میزان ۱/۸۱ گرم بر ۱۰۰ گرم پودر خشک می‌شود، در حالیکه راندمان استخراج با حلال‌های اتانول، هگزان و هگزان/استون به ترتیب ۱/۵۳، ۱/۴۲ و ۱/۱۷ گرم بر ۱۰۰ گرم پودر خشک بود. نتایج بررسی آزمون حلالیت عصاره نیز نشان داد عصاره استخراج شده با حلال اتانول دارای بیشترین میزان حلالیت در آب و بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی (تا ۹۹/۱۰ درصد) است. به طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از حلال‌های قطبی می‌تواند حلالیت عصاره کاروتنوئیدی استخراج شده از محصولات جانبی میگو را افزایش دهد و یکی از مهمترین چالش‌های استفاده از این ترکیب را در صنایع غذایی و دارویی تسهیل نماید.

کلید واژه‌ها: کاروتنوئید، رنگدانه آستازانتین، محصولات جانبی میگو، حلالیت، آنتی اکسیدان

مقدمه

میگو به طور گسترده به عنوان یک غذای دریایی لذیذ در نظر گرفته می‌شود و از ارزش بازار قابل توجهی برخوردار است. گردش مالی بازار میگو تا سال ۲۰۲۲ در حدود ۶۷/۷ میلیارد دلار گزارش شده است [۱]. در واقع پرورش سخت‌پوستان یکی از مهم‌ترین فعالیت‌های آبی‌پروری جهانی است که ارزش سالانه آن بیش از ۵۷ میلیارد دلار است که تقریباً ۲۳ درصد از کل بازار آبی‌پروری جهان را تشکیل می‌دهد [۲]. با این حال، مدیریت موثر ضایعات حاصل از عمل‌آوری میگو، به ویژه از طریق استفاده بهینه، به عنوان یک چالش بزرگ ظاهر شده است. محصولات جانبی تولید شده از صنایع فرآوری میگو شامل سفالوتوراکس، کاراپاس و دم است که یا به عنوان ضایعات دفع می‌شوند یا به خوراک دام تبدیل می‌گردند. این محصولات فرعی سرشار از ترکیبات زیست‌فعال ارزشمند از جمله اسیدهای چرب امگا-۳ و کاروتنوئیدهایی مانند بتاکاروتن و آستازانتین هستند [۳]. محققان گزارش کردند که ضایعات خرچنگ و میگو می‌تواند به عنوان ارزاترین مواد اولیه جهت استخراج رنگدانه‌های کاروتنوئیدی و جایگزینی با رنگ‌های مصنوعی استفاده شوند [۵،۴].

عصاره لیپیدی استخراج شده از محصولات جانبی میگو غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ و همچنین کاروتنوئیدهایی مانند بتاکاروتن و آستازانتین به عنوان رنگدانه‌های اصلی است که فواید سلامتی آن توسط محققان متعددی در سراسر جهان تأیید شده است [۷۶،۷۷]. آستازانتین موجود در عصاره لیپیدی میگو، که یک کاروتنوئید قرمز-نارنجی است و عامل ایجاد رنگ در سخت‌پوستان است، یک آنتی‌اکسیدان بسیار قوی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی ده برابر بیشتر از بسیاری از کاروتنوئیدهای دیگر [۷۸]، ۱۰۰ برابر بیشتر از آلفا-توکوفرول و ۱۰۰۰ برابر بیشتر از کوآنزیم Q10 [۷۹] می‌باشد. آستازانتین به عنوان یک عامل ضدالتهابی عمل می‌کند و برای درمان بیماری‌های پوستی ناشی از اشعه ماوراء بنفش استفاده می‌شود، بنابراین به سلامت پوست کمک می‌کند [۸۰]. با چنین خواص استثنایی، روغن میگو به ارزشمندترین لیپید حاوی رنگدانه مورد استفاده در صنایع غذایی و دارویی تبدیل شده است.

اجزای لیپیدی و کاروتنوئیدی عصاره میگو بین گونه‌ها، جنس، فصل و روش صید و نیز روش استخراج متفاوت است، که در آن ترکیب و مقدار روغن میگوی استخراج شده می‌تواند متغیر باشد [۸۱]. بطور سنتی روغن میگو با روش سوکسله با استفاده حلال‌های مختلف استخراج می‌شود. نوع حلال احتمالاً به طور قابل توجهی بر حلالیت اجزای تشکیل‌دهنده عصاره میگو تأثیر می‌گذارد، زیرا کاروتنوئیدهای موجود در روغن میگو بسته به قطبیت حلال، ظرفیت پیوند هیدروژنی و ساختار مولکولی، ویژگی‌های حلالیت متفاوتی را نشان می‌دهند [۸۲]. حلال‌های آلی مورد استفاده در استخراج لیپیدها و کاروتنوئیدها عبارتند از: استون، ان-هگزان، ایزوپروپانول، متانول، اتانول، پترولیوم اتر، استون، متیلن کلراید، دی‌اتیل اتر، کلروفرم، اتیل استات، اتیل متیل کتون، بنزن و سیکلو هگزان [۸۳]. استفاده از سایر حلال‌هایی که عملکرد و گزینش‌پذیری بالایی دارند به دلیل سمیت (دی‌کلرومتان، دی‌متیل سولفوکسید و کلروفرم) محدود می‌شود [۸۴]. کاروتنوئیدهای موجود در ضایعات میگو از نظر قطبیت متفاوت‌اند؛ کاروتنوئیدهای غیرقطبی (بتاکاروتن‌ها، آستازانتین) با استفاده از حلال‌های غیرقطبی مانند هگزان، اتر نفتی یا تتراهایدروفوران بازیافت می‌شوند، در حالی که استخراج کاروتنوئیدهای قطبی (زانثوفیل‌ها مانند لوتئین) با استفاده از حلال‌های قطبی (استون، اتانول، استنول و اساتیل استون) انجام می‌شود [۸۵]. ترکیب حلال‌های قطبی و غیر قطبی اثر هم‌افزایی بر استخراج کاروتنوئیدها دارد [۸۶،۸۷]. اگرچه بررسی‌های زیادی بر روی استفاده از ضایعات میگو برای استخراج ترکیبات زیست‌فعال، پروتئین‌ها، هیدرولیزات، طعم‌دهنده‌ها، کیتین و مشتقات آن و همچنین آستازانتین متمرکز شده است، در عین حال بررسی عمیقی در خصوص اثر نوع حلال بر حلالیت عصاره میگو و در نتیجه تأثیر حلالیت بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن انجام نشده است. این تحقیق، مطالعه‌ای را در مورد استخراج عصاره لیپیدی غنی از آستازانتین از ضایعات میگو با استفاده از حلال‌های قطبی و غیر قطبی (اتانول (EtOH)، هگزان (Hex)، هگزان/استون (Hex/Ace) و هگزان/ایزوپروپیل‌الکل (Hex/IPA)) و تأثیر نوع حلال بر راندمان استخراج، حلالیت عصاره و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی روغن متأثر از حلال را ارائه می‌دهد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه

ضایعات میگو ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) تازه صید شده از خلیج فارس از مراکز فرآوری میگو در استان بوشهر (ایران) تهیه شد. نمونه‌ها (۱۰ کیلوگرم) که در یک کیسه پلی‌اتیلن نگهداری می‌شدند، در ظرف پلی‌اتیلن با یخ خرد شده (۲۰ کیلوگرم) قرار گرفتند و ظرف مدت ۱ ساعت به آزمایشگاه نانوتکنولوژی، دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. پس از شستشو، ضایعات میگو (سفالوتوراکس، پوسته، دم) به مدت ۴۸ ساعت در خشک‌کن انجمادی (OPR-FDU-7012، Operon، کره) قرار داده شد و خشک گردید. ضایعات خشک شده در یک مخلوط‌کن آزمایشگاهی (Moulinex، Depose، ایتالیا) خرد شده و با یک غربال با اندازه منافذ ۴۵۰ میکرومتر الک شدند.

بررسی ترکیبات تقریبی پودر میگو

درصد رطوبت با استفاده از دستگاه آون، میزان چربی کل به روش سوسکله، درصد پروتئین به روش کج‌لدال و مقدار خاکستر نمونه نیز به وسیله کوره الکتریکی طبق روش AOAC تعیین شد [۸۸].

استخراج عصاره کاروتنوئیدی با روش سوکسله

به منظور تعیین کمیت حداکثر مقدار عصاره لیپیدی حاوی کاروتنوئید قابل استخراج از بقایای میگو، از روش سوکسله استفاده شد [۱۶]. بدین منظور، ۳ گرم ضایعات میگو در یک نگهدارنده انگشتانه قرار داده شد که به تدریج با حلال تازه غلیظ شده از یک فلاسک ۲۵۰ میلی لیتری در حال جوش پر شد. حلال در فلاسک در دمای جوش حرارت داده شد و استخراج در هر یک از حلال‌ها برای مدت زمان ۲ ساعت در نقطه جوش حلال با نسبت نمونه به حلال ثابت (۱ به ۴، وزنی/حجمی) انجام شد. در ادامه، عصاره تحت خلاء در دمای ۵۶ درجه سانتی گراد با استفاده از اواپراتور چرخشی تغلیظ شد. به منظور حذف کامل هر گونه آب و حلال، عصاره در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ تا ۳ ساعت خشک و سپس قبل از توزین کل توده چربی در دسیکاتور سرد گردید. حلال‌های مختلفی که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند عبارت بودند از: اتانول، هگزان، هگزان/استون (نسبت ۵۰:۵۰ حجمی)، هگزان/ایزوپروپیل الکل (نسبت ۵۰:۵۰ حجمی).

سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS

فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS عصاره‌های استخراج شده با حلال‌های مختلف مطابق روش Zheleva-Dimitrova و همکاران [۱۷] با کمی تغییرات ارزیابی شد. به طور خلاصه، ۷ میلی مولار ABTS در آب مقطر تهیه شد. سپس، حجم مساوی پرسولفات پتاسیم ۲/۴۵ میلی مولار که از قبل آماده شده بود با محلول ABTS مخلوط و محلول تهیه شده در جای تاریک به مدت ۱۶ ساعت نگه داشته شد. سپس، محلول ABTS با اتانول درجه HPLC رقیق شده و به جذب تقریباً 0.7 ± 0.2 در ۷۳۴ نانومتر رسید. پس از تنظیم مقدار جذب، ۱۰۰ میکرولیتر نمونه عصاره با ۳/۹ میلی لیتر محلول ABTS مخلوط شده و به مدت ۶ دقیقه در تاریکی نگه داشته شد. فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS در جذب ۷۳۴ نانومتر با توجه به معادله زیر تعیین شد:

$$ABTS = [1 - (As - Ab) / (Ac)] \times 100 \quad (۱)$$

As = میزان جذب نمونه در ۷۳۴ نانومتر

Ab = جذب روغن مخلوط با اتانول در ۷۳۴ نانومتر

Ac = جذب کنترل (حاوی تنها محلول ABTS) در ۷۳۴ نانومتر

اندازه‌گیری میزان حلالیت عصاره کاروتنوئیدی

محلول‌های سورفکتانت SDS^۱ در آب با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۳ و ۵٪ (وزنی/حجمی) تهیه شدند. مقدار ۵ میلی گرم روغن حاوی آستازانتین استخراج شده با حلال‌های مختلف در ۳ میلی لیتر از هر محلول حل شد. انحلال در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد با استفاده از یک پدال با سرعت چرخش ۱۰۰ دور در دقیقه و زمان ۳۰ دقیقه انجام شد. هر نمونه از کاغذ صافی عبور داده شد و جذب آن در طول موج حداکثر جذب (۴۴۴ نانومتر) اندازه‌گیری شد.

تحلیل آماری

اثر نوع حلال بر محتوای روغن کل در سه تکرار انجام شد و بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با هم مقایسه شد. تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) بر اساس مدل خطی عمومی SPSS (نسخه ۱۶، ۲۰۰۷) انجام شد. تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون‌های چند دامنه‌ای دانکن با مقادیر $P < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

ترکیبات تقریبی

مطابق با جدول ۱ ترکیبات مغذی پودر میگو از طریق تجزیه و تحلیل تقریبی تعیین شد. نتایج حاصل نشان داد پودر میگو حاوی اجزای تغذیه‌ای قابل توجهی است که برای کاربردهای مختلف، به ویژه در آبی‌پروری و صنایع غذایی ضروری است.

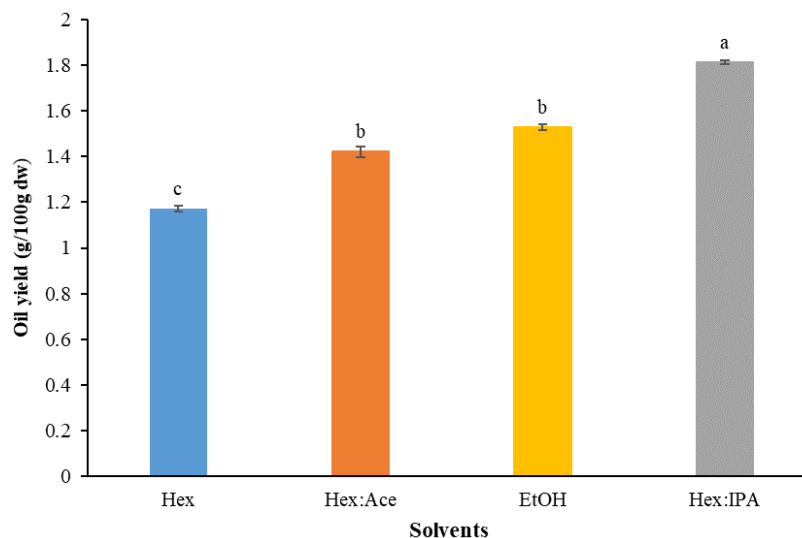
¹ Sodium dodecyl sulfate

جدول ۱- ترکیبات مغذی پودر حاصل از محصولات جانبی میگو

نوع ترکیب	مقدار (%)
رطوبت	۴/۵۱۰ ± ۰/۱۸۰
خاکستر	۲۸/۵۸۰ ± ۰/۵۷۰
پروتئین	۵۳/۱۱۱ ± ۰/۴۵۳
چربی	۳/۴۵۶ ± ۰/۴۰۸
کربوهیدرات	۱۰/۴۵۴ ± ۰/۳۹۲

روغن کل

میزان کل روغن استخراج شده از محصولات جانبی میگو در شکل (۱) آورده شده است. همان‌طور که در شکل نشان داده شده است با اعمال حلال‌های مختلف میزان بازدهی روغن به طور معناداری تغییر پیدا کرد ($P < 0.05$)، بطوریکه حلال Hex:IPA بالاترین سطح روغن (۱/۸۱ گرم/۱۰۰ گرم وزن خشک) را ارائه داد و حلال‌های EtOH، Hex: Ace و Hex به ترتیب با بازدهی ۱/۵۳، ۱/۴۲ و ۱/۱۷ گرم/۱۰۰ گرم وزن خشک رتبه‌های بعدی را به خود اختصاص دادند.

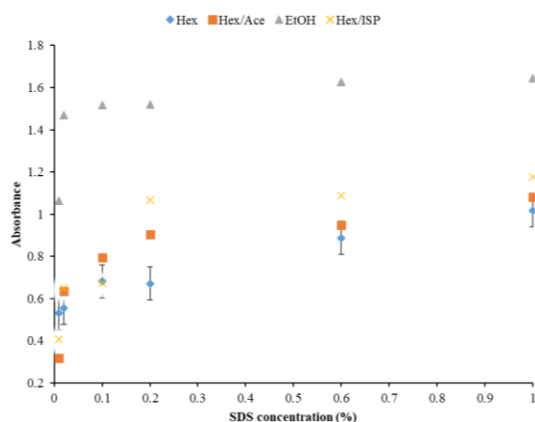


شکل ۱- بازدهی روغن با حلال‌های اتانول، هگزان، هگزان/استون و هگزان/ایزوپروپیل‌الکل

حلالیت عصاره کاروتنوئیدی

انحلال عصاره کاروتنوئیدی میگو در محلول‌های آبی سدیم دودسیل سولفات (SDS) با غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری شد (شکل ۲). حداکثر جذب عصاره حاوی کاروتنوئید در محلول‌های SDS (۵ میلی‌گرم روغن در محلول ۱٪ سورفکتانت) در ۴۴۴ نانومتر بود. شکل ۲ جذب روغن حاوی کاروتنوئید با حلال‌های مختلف را در محلول‌های سورفکتانت با غلظت‌های مختلف نشان می‌دهند. در مورد عصاره استخراج شده با حلال اتانول، جذب از ابتدا بالا بود، و جذب محلول‌ها با افزایش غلظت سورفکتانت ۱٪ از نظر آماری معنی‌دار نبود. این نشان دهنده حلالیت بالاتر روغن استخراج شده با حلال اتانول است. در صورتیکه عصاره استخراج شده با حلال هگزان پایین‌ترین حلالیت را داشت و با افزایش غلظت سورفکتانت

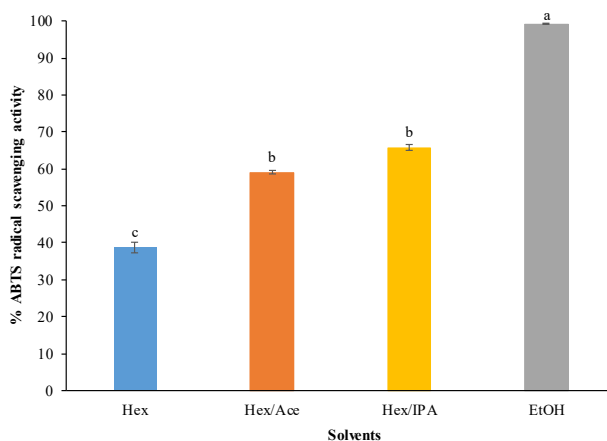
جذب این نمونه افزایش پیدا کرد. در مورد دو روغن استخراج شده با حلال‌های هگزان/استون و هگزان/ایزوپروپیل‌الکل، جذب همراه با افزایش غلظت سورفکتانت در تمام غلظت‌ها افزایش یافت و تفاوت‌ها تا زمانی که غلظت سورفکتانت به ۱٪ رسید، از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$).



شکل ۲- میزان حلالیت عصاره کاروتنوئیدی استخراج شده با حلال‌های مختلف

خاصیت آنتی‌اکسیدانی

همانطور که در شکل ۳ مشهود است، انحلال‌پذیرترین عصاره (عصاره استخراج شده با اتانول) بیشترین میزان مهار رادیکال ABTS (۹۹/۱۵ درصد) را از خود نشان داد ($P < 0.05$). عصاره‌های استخراج شده با حلال‌های Hex:IPA، Hex:ACE، و Hex نیز به ترتیب با ۶۵/۶۸، ۵۹/۰۷ و ۳۸/۰۶ درصد مهارکنندگی خوبی را از خود به نمایش گذاشتند.



شکل ۳- خاصیت مهار رادیکال آزاد ABTS عصاره‌های کاروتنوئیدی استخراج شده با حلال‌های مختلف

بحث و نتیجه‌گیری

تجزیه و تحلیل تقریبی پودر محصولات جانبی میگو شامل ارزیابی ترکیب غذایی آن است که شامل رطوبت، خاکستر، پروتئین خام، چربی و کربوهیدرات می‌شود. این تجزیه و تحلیل برای درک ارزش غذایی و کیفیت پودر محصولات جانبی میگو، که اغلب در محصولات غذایی به دلیل محتوای پروتئین بالا و سایر مزایای تغذیه‌ای آن استفاده می‌شود، بسیار مهم است [۱۸]. هر یک از این ترکیبات دارای مفاهیم قابل توجهی برای مشخصات تغذیه‌ای و خواص عملکردی پودر محصولات جانبی میگو هستند. محتوای رطوبت یک عامل مهم در ارزیابی ماندگاری و پایداری پودر محصولات جانبی میگو است. سطوح بالای رطوبت می‌تواند محصول را مستعد رشد میکروبی و تخریب آنزیمی کند. در نتیجه، حفظ رطوبت کم برای اطمینان از یکپارچگی محصول و افزایش قابلیت استفاده بسیار مهم است. محتوای پروتئین مطابق با جدول ۱ به طور قابل توجهی بالا بود (۵۳/۱۱ درصد). میگو به طور طبیعی پروتئین بالایی دارد و پودر محصولات جانبی را به منبع ارزشمندی از این درشت مغذی تبدیل می‌کند. میزان چربی موجود در پودر محصولات جانبی میگو، نقش مهمی در طعم و فواید تغذیه‌ای ایفا می‌کند. و در نهایت خاکستر نیز ترکیب معدنی پودر محصولات جانبی میگو را منعکس می‌کند و بینش‌هایی را در مورد وجود مواد معدنی ضروری مانند کلسیم، فسفر و منیزیم ارائه می‌دهد [۱۹]. Das و همکاران [۱۹] با بررسی ترکیبات مغذی پودر حاصل از محصولات جانبی میگوهای *Metapenaeus*, *Palaemon karnafuliensis* و *monoceros* و *Ferapenaeus indicus* نشان دادند که محتوای پروتئین به ترتیب ۵۷/۴۶، ۶۲/۵۰ و ۵۵/۵۰ درصد، محتوای چربی به ترتیب ۱/۹۰، ۱/۴۸ و ۱/۰۸، خاکستر به ترتیب ۱۲/۲۰، ۱۰/۲۰ و ۸/۵۷ و میزان رطوبت به ترتیب ۱۹/۷۰، ۲۰/۵۰ و ۲۴/۹۰ بود. این اطلاعات برای ارزیابی فواید تغذیه‌ای کلی محصول، به ویژه در فرمولاسیون‌هایی که مصرف‌کنندگان آگاه به سلامت را هدف قرار می‌دهند، حیاتی است. در نهایت، کربوهیدرات‌ها، اگرچه به طور کلی در مقادیر کمتری در پودر میگو وجود دارند، به ترکیب کلی کمک می‌کنند و می‌توانند بر بافت و طعم تأثیر بگذارند [۲۰]. در نتیجه، تجزیه و تحلیل تقریبی پودر میگو برای درک جامع ترکیبات غذایی و خواص عملکردی آن ضروری است. با تعیین کمیت رطوبت، پروتئین، چربی، خاکستر و کربوهیدرات‌ها، ذینفعان می‌توانند از کنترل کیفیت، بهینه‌سازی کاربردها، و ارتقای مزایای سلامتی مرتبط با پودر میگو اطمینان حاصل کنند و در نتیجه جایگاه آن را در صنایع غذایی افزایش دهند.

استخراج سوکسله به عنوان یک روش معمول شناخته شده است که بالاترین بازایی روغن و کاروتنوئیدها را فراهم می‌کند [۲۱]. مطابق شکل ۱ تفاوت معناداری بین روغن‌های استخراج شده با حلال‌های مختلف وجود داشت. انواع حلال‌ها نقش مهمی در فرآیند استخراج دارند؛ سمیت حلال، قطبیت حلال‌ها، خطر جابجایی، سهولت حذف حلال و غیره به عنوان معیارهای انتخاب حلال مورد استفاده هستند [۴]. برخی از حلال‌های آلی که برای استفاده در صنایع غذایی مجاز بوده‌اند عبارتند از: استون، اتانول، اتیل استات، ایزوپروپیل الکل، هگزان و متیل اتیل کتون. سطح باقیمانده مجاز حلال، بستگی به نوع مواد غذایی دارد [۲۲]. روغن میگو عمدتاً حاوی فسفولیپیدهایی است که طبیعت قطبی دارند، بنابراین یک حلال قطبی برای استخراج موثر مورد نیاز است. از طرف دیگر، کاروتنوئیدها در حلال‌های غیر قطبی محلول هستند و برای استخراج به حلال‌های غیر قطبی نیاز دارند [۲۱]. بنابراین مخلوطی از حلال‌های قطبی و غیر قطبی برای استخراج لیپید از محصولات جانبی میگو اثر هم‌افزایی خواهد داشت. مشابه این پژوهش، مطالعات بر روی غربالگری حلال مناسب برای استخراج لیپیدها از سفالوتوراکس میگوی سفید اقیانوس آرام (*Litopenaeus vannamei*) نشان داد که مخلوط هگزان و ایزوپروپانول در نسبت ۱:۱ (حجمی/حجمی) منجر به بالاترین بازده استخراج لیپیدها (۰/۹۰ ± ۲۵/۴۴ درصد بر اساس وزن خشک) شد [۲۳]. Hooshmand و همکاران [۲۳] پتانسیل استفاده از روغن گیاهی در مقایسه با حلال‌های آلی برای استخراج عصاره کاروتنوئیدی از ضایعات خرچنگ و میگو را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که روش حلالی کارآمدتر از روغنی بود، زیرا حلال‌ها نسبت به روغن‌ها از چگالی پایین‌تری برخوردارند و در نتیجه قدرت نفوذ بیشتری در اجزای سلولی ماده و بیرون کشیدن مواد ارزشمند آن دارند. این یافته‌ها پتانسیل محصولات جانبی میگو را به عنوان منبع ارزشمند روغن و ترکیبات فعال زیستی نشان می‌دهد که می‌تواند به استفاده پایدار از محصولات جانبی صنعت غذاهای دریایی کمک کند.

از آنجائیکه در ادبیات موجود، هیچ داده‌ای در مورد طیف جذب، حداکثر جذب و جذب مخصوص برای تعیین اسپکتروفتومتری کاروتنوئید در محلول‌های آبی سورفکتانت‌ها وجود ندارد، به همین دلیل، اصول این آزمایش در مطالعه حاضر عبارت بودند از: (۱) اندازه‌گیری طیف جذب و حداکثر جذب محلول‌های روغنی حاوی کاروتنوئید در محلول سورفکتانت، (۲) اندازه‌گیری جذب محلول‌های روغنی حاوی کاروتنوئید در آب با افزایش غلظت سورفکتانت (غلظت سورفکتانت در محلولی که جذب آن تغییر نمی‌کند، به عنوان غلظت کافی برای انحلال تمام مقدار کاروتنوئید در نظر گرفته می‌شود). استخراج ترکیبات قطبی دوست از جنس لیپید با حلال‌های قطبی بر اساس اصل "مثل در مثل حل می‌شود" انجام می‌شود [۲۴]. در این فرایند، حلال قطبی با قسمت قطبی عصاره برهم‌کنش داده و آن را از محیط غیرقطبی جدا می‌کند. انتخاب حلال مناسب و بهینه‌سازی شرایط استخراج، برای دستیابی به بهترین نتیجه بسیار مهم است [۲۵]. بنابراین حلال اتانول با استخراج بیشتر ترکیبات قطبی دوست

در این بررسی بهترین عملکرد را برای استخراج ترکیبات با حلالیت بالا داشته است. حلالیت عصاره‌های کاروتنوئیدی بر پایداری آنها نیز تأثیر می‌گذارد. به عنوان مثال، کمپلکس‌های بتاکاروتن با اسید هیومیک افزایش حلالیت در آب و پایداری نسبت به نور را نشان دادند و خواص آنتی اکسیدانی آنها را افزایش دادند [۲۶]. کاروتنوئیدهای محلول در آب می‌توانند انتقال و غلظت کاروتن‌ها را در محصولات غذایی و فرمولاسیون‌های دارویی بهبود بخشند، بنابراین جذب و فراهمی زیستی آنها را افزایش می‌دهند.

سنجش مهار رادیکال ABTS بر اساس توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها برای کاهش رادیکال با رنگ‌زدایی متعاقب آن از رنگ سبز-آبی به بی‌رنگ در جذب ۷۳۴ نانومتر است [۲۷]. در بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی روند مهار، الگوی مشابهی با نتایج سنجش حلالیت نشان داد، چرا که روش سنجش مهار رادیکال ABTS برای ترکیبات آبدوست و چربی‌دوست روشی مناسب برای سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی است [۲۷]. در واقع این بررسی نشان داد که حلالیت با میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی مثبتی دارد. از سویی محققان گزارش کرده‌اند که کاروتنوئید موجود در عصاره میگو به طور قابل توجهی فعالیت ABTS را حتی قوی‌تر از اسید آسکوربیک و BHT مهار می‌کند [۲۸]. Tan و همکاران [۲۹] توصیف کردند که نسبت بالاتر دی‌استر آستازانتین و اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFAs) در عصاره کاروتنوئید به دست آمده از پوسته *Aristeus alcocki* مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر بود. بنابراین، خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی عصاره لیپیدی حاوی کاروتنوئید ممکن است به اثر هم‌افزایی آنتی اکسیدانی آستازانتین و PUFAs موجود در عصاره نسبت داده شود. همانطور که Poonsin و همکاران [۳۰] با بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کارتنوپروتئین استخراج شده از پوسته میگوی سفید اقیانوس آرام (*Litopenaeus vannamei*) شرح دادند که کارتنوپروتئین دهنده الکترون بوده و می‌تواند با رادیکال‌های آزاد واکنش داده و آنها را به محصولات پایدارتری تبدیل کرده و واکنش زنجیره‌ای رادیکال را متوقف کنند. به طور خلاصه، خواص آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها از ساختار شیمیایی منحصر به فرد (وجود زنجیره پلی‌ان متشکل از پیوندهای دوگانه مزدوج)، توانایی حذف گونه‌های فعال اکسیژن، تغییراتی که بر واکنش‌پذیری آنها تأثیر می‌گذارد و فراهمی زیستی آنها از منابع غذایی ناشی می‌شود [۳۱]. درک این مکانیسم‌ها برای تعیین چگونگی استفاده از کاروتنوئیدها برای مزایای سلامتی بسیار مهم است.

نتیجه‌گیری نهایی

ایران دارای سطح وسیعی از منابع آبی دریایی است که می‌تواند جهت آبی‌پروری و صید در نظر گرفته شود. با این حال، ضایعات تولید شده از صنایع تبدیلی، که در حجم زیاد انباشته می‌شوند، می‌توانند نگرانی‌های زیست‌محیطی را به دنبال داشته باشند. این ضایعات منبعی از ترکیبات عملکردی طبیعی را تشکیل می‌دهند که دارای پتانسیل دارویی عظیمی می‌باشند. در نتیجه بایستی ابتکار مدیریتی مناسبی برای این ضایعات اتخاذ شود. ضایعات مشتق شده از صنایع عمل‌آوری میگو را می‌توان به عنوان مواد خام ارزان برای استخراج رنگدانه‌های کاروتنوئیدی مورد استفاده قرار داد و به عنوان جایگزینی برای رنگ‌های مصنوعی استفاده کرد. استخراج این ترکیبات ارزشمند نه تنها بخش فرآوری صنعت آبی‌پروری را رونق می‌بخشد، بلکه آلودگی زیست‌محیطی را نیز کاهش می‌دهد. با این وجود، حلالیت ضعیف عصاره‌های کاروتنوئیدی کاربرد آنها را در بخش‌های غذایی و دارویی محدود کرده است. این پژوهش باهدف مشخص کردن ترکیبات مغذی پودر محصولات جانبی میگو و استخراج عصاره کاروتنوئیدی با حلالیت بالاتر از ضایعات میگو با استفاده از حلال‌های مختلف قطبی و غیرقطبی انجام پذیرفت. نتایج نشان داد که عصاره استخراج شده با حلال اتانول بعد از حلال هگزان/ایزوپروپیل‌الکل بیشترین راندمان استخراج و بالاترین حلالیت را داشت. همچنین نتایج فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با افزایش حلالیت افزایش یافت. بنابراین استخراج به کمک حلال اتانول می‌تواند به عنوان حلالی کارآمد برای به حداکثر رساندن پتانسیل استفاده از عصاره کاروتنوئیدی میگو به عنوان یک ترکیب سلامتی بخش امیدوارکننده باشد.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس و نیز ستاد توسعه زیست‌فناوری (Biotechnology Development Council; BDC) تحت قرارداد پژوهشی شماره ۰۱/۱۷۰۱۵ 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 آموزشی نویسندگان انجام پذیرفته است.

سهم نویسندگان: زهرا موسوی (نویسنده اول)، نگارنده مقاله/پژوهشگر (۵۰٪)، سید فخرالدین حسینی (نویسنده دوم)، روش شناس/تحلیل گر آماری (۵۰٪).

منابع

- [1] Ahmadkelayeh S, Cheema SK, Hawboldt K. Extraction of astaxanthin from atlantic shrimp by-products using fish oil: Process optimization and operational parameter effects. *Journal of Cleaner Production*. 2022 Oct 15;371:133609.
- [2] Fisheries FA. Aquaculture Division. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2022.
- [3] Roy VC, Getachew AT, Cho YJ, Park JS, Chun BS. Recovery and bio-potentialities of astaxanthin-rich oil from shrimp (*Penaeus monodon*) waste and mackerel (*Scomberomous niphonius*) skin using concurrent supercritical CO₂ extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2020 May 1;159:104773.
- [4] Gulzar S, Benjakul S. Impact of pretreatment and atmosphere on quality of lipids extracted from cephalothorax of Pacific white shrimp by ultrasonic assisted process. *Food Chemistry*. 2020 Mar 30;309:125732.
- [5] Rodrigues LA, Pereira CV, Leonardo IC, Fernández N, Gaspar FB, Silva JM, Reis RL, Duarte AR, Paiva A, Matias AA. Terpene-based natural deep eutectic systems as efficient solvents to recover astaxanthin from brown crab shell residues. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2020 Jan 27;8(5):2246-59.
- [6] Sharayei P, Azarpazhooh E, Zomorodi S, Einafshar S, Ramaswamy HS. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of astaxanthin from green tiger (*Penaeus semisulcatus*) shrimp shell. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2021 Aug 1;76:105666.
- [7] Razi Parjikolaei B, Bahij El-Houri R, Fretté XC, Christensen KV. Influence of green solvent extraction on carotenoid yield from shrimp (*Pandalus borealis*) processing waste. *Journal of food engineering*. 2015.
- [8] Shao H, America BN. The World's Strongest and Highest Quality Natural Antioxidant: Astaxanthin.
- [9] Honda M, Nishida Y. In vitro evaluation of skin-related physicochemical properties and biological activities of astaxanthin isomers. *ACS omega*. 2023 May 23;8(22):19311-9.
- [10] Mizani MA, Aminlari M, Khodabandeh M. An effective method for producing a nutritive protein extract powder from shrimp-head waste. *Food science and technology international*. 2005 Feb;11(1):49-54.
- [11] Parjikolaei BR, El-Houri RB, Fretté XC, Christensen KV. Influence of green solvent extraction on carotenoid yield from shrimp (*Pandalus borealis*) processing waste. *Journal of Food Engineering*. 2015 Jun 1;155:22-8.
- [12] Saini RK, Keum YS. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food chemistry*. 2018 Feb 1;240:90-103.
- [13] Mullard A. 2017 FDA drug approvals. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2018 Feb 1;17(2):81-6.
- [14] Sathyaruban S, Uluwaduge DI, Yohi S, Kuganathan S. Potential natural carotenoid sources for the colouration of ornamental fish: a review. *Aquaculture International*. 2021 Aug;29(4):1507-28.
- [15] Thiex N, Novotny L, Crawford A. Determination of ash in animal feed: AOAC official method 942.05 revisited. *Journal of AOAC International*. 2012 Sep 1;95(5):1392-7.
- [16] Rodrigues OH, Itokazu AG, Rörig L, Maraschin M, Corrêa RG, Pimentel-Almeida W, Moresco R. Evaluation of astaxanthin biosynthesis by *Haematococcus pluvialis* grown in culture medium added of cassava wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2021 Sep 1;163:105269.
- [17] Zheleva-Dimitrova D, Simeonova R, Kondeva-Burdina M, Savov Y, Balabanova V, Zengin G, Petrova A, Gevrenova R. Antioxidant and hepatoprotective potential of *Echinops ritro* L. extracts on

- induced oxidative stress in vitro/in vivo. International Journal of Molecular Sciences. 2023 Jun 10;24(12):9999.
- [18] Yuan Y, Lawrence AL, Chehade SB, Jensen KE, Barry RJ, Fowler LA, Makowsky R, Powell ML, Watts SA. Feed intake as an estimation of attractability in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. 2021 Feb 15;532:736041.
- [19] Das P, Salman M, Islam MA, Suraiya S, Haq M. Proximate composition, amino acids, and fatty acids contents of dried shrimp products available in Jashore region, Bangladesh.
- [20] Dumbavă DG, Moldovan C, Popa VM, Raba DN, Berbecea A, Cocan I, Alexa EC, Rădoi BP, Dogaru DV. Innovative shrimp products: physico-chemical and nutritional characterisation. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies. 2020;26(3):168-74.
- [21] Wang JL, Yu ZL, Yin FW, Li DY, Liu HL, Song L, Zhou DY. Comparison of different solvents for extraction of oils from by-products of shrimps *Penaeus vannamei* and *Procambarus clarkia*. Journal of Food Processing and Preservation. 2021 Sep;45(9):e15754.
- [22] Gulzar S, Benjakul S. 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. 2018 May;120(5):1700495.
- [23] Hooshmand H, Shabanpour B, Moosavi-Nasab M, Golmakani MT. 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. 2017 Oct;41(5):e13171.
- [24] Kim S, Cho E, Yoo J, Cho E, Choi SJ, Son SM, Lee JM, In MJ, Kim DC, Kim JH, Chae HJ. β -CD-mediated encapsulation enhanced stability and solubility of astaxanthin. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. 2010 Oct;53:559-65.
- [25] Tichý E, Žabka M, Gardavska K, Halenarova A, Kontšeková Scheerová Z, Potůčková M. Dissolution and spectrophotometric determination of astaxanthin in aqueous solutions. Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences. 2011 Aug 1;66(8):560-3.
- [26] Martini S, D'Addario C, Bonechi C, Leone G, Tognazzi A, Consumi M, Magnani A, Rossi C. Increasing photostability and water-solubility of carotenoids: synthesis and characterization of β -carotene-humic acid complexes. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2010 Dec 2;101(3):355-61.
- [27] Cano A, Alcaraz O, Acosta M, Arnao MB. On-line antioxidant activity determination: comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS^{•+} assay. Redox Report. 2002 Apr 1;7(2):103-9.
- [28] Yang L, Qiao X, Liu J, Wu L, Cao Y, Xu J, Xue C. Preparation, characterization and antioxidant activity of astaxanthin esters with different molecular structures. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2021 Apr;101(6):2576-83.
- [29] Tan Y, Ye Z, Wang M, Manzoor MF, Aadil RM, Tan X, Liu Z. Comparison of different methods for extracting the astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*: Chemical composition and biological activity. Molecules. 2021 Jun 11;26(12):3569.
- [30] Poonsin T, Simpson BK, Benjakul S, Visessanguan W, Yoshida A, Klomklao S. Carotenoprotein from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shells extracted using trypsin from albacore tuna (*Thunnus alalunga*) spleen: Antioxidant activity and its potential in model systems. Journal of food biochemistry. 2018 Apr;42(2):e12462.
- [32] Taghizadeh Andevari G, Rezaei M, Tabarsa M, Rustad T. Carotenoprotein from by-product of banana shrimp (*Penaeus merguensis*) extracted using protease from viscera of rainbow trout: antiradical and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 2021 Sep 1;20(5):1510-25.

Evaluation of the effect of solvent type on extraction efficiency, solubility and antioxidant activity of carotenoid extract from shrimp by-products

Zahra Mousavi, Seyed Fakhreddin Hosseini*

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

ABSTRACT

Shrimp by-products can be used as the cheapest raw material to extract bioactive compounds such as lipid extract rich in carotenoid pigments. The aim of this study was to investigate the nutritional composition of shrimp by-product powder, maximize the extraction efficiency of carotenoid extract using ethanol, hexane, hexane/acetone, and hexane/isopropyl alcohol solvents, and also evaluate the effect of solvent type on the solubility and antioxidant properties of carotenoid extract. According to the results, the shrimp by-product powder contained 53.11% protein, 4.51% moisture, 28.58% ash, 3.45% fat, and 10.45% carbohydrate. The results also showed that using a mixed solvent of hexane/isopropyl alcohol (1:1 ratio) resulted in the highest extraction efficiency of 1.81 g/100 g of dry powder, while the extraction efficiency with ethanol, hexane, and hexane/acetone solvents was 1.53, 1.42, and 1.17 g/100 g of dry powder, respectively. The results of the extract solubility test also showed that the lipid extracted with ethanol solvent has the highest water solubility and the highest antioxidant property (up to 99.10%). In general, the results of this study showed that the use of polar solvents can increase the solubility of carotenoid extract extracted from shrimp by-products and facilitate one of the most important challenges of using this compound in the food and pharmaceutical industries.

KEYWORDS: Carotenoid, Astaxanthin pigment, Shrimp by-products, Solubility, Antioxidant

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 30 Jan
2025

Accepted: 28 Feb
2025

ePublished: 05
March 2025

* Corresponding Author:

Email address: hosseinisf@modares.ac.ir

Tel: 011 44998000

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513