

مطالعه عوامل موثر بر استخراج سوپر آنتی اکسیدان آستاگزانتین از ضایعات میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

فاطمه صابر باغبان^a، شاهرخ شعبانی^{b*}، رضا عزیزی نژاد^c

^a دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^b مربی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^c استادیار گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۴/۲۱

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۱/۱۵

DOI: 10.30495/jftn.2022.65507.11176

<https://dorl.net/dor/20.1001.1.20080123.1401.20.1.4.8>

چکیده

مقدمه: ضایعات میگو می‌توانند به عنوان ارزان‌ترین مواد اولیه جهت استخراج رنگدانه‌های کاروتنوئیدی آستاگزانتین قرمز و جایگزینی با رنگ‌های مصنوعی استفاده شوند. در پژوهش حاضر هدف ارزیابی عوامل موثر بر راندمان استخراج آنتی‌اکسیدان آستاگزانتین از ضایعات میگوی پاسبید غربی بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش استخراج با نسبت ماده جامد (میگوی پخته/خشک/آسیاب/الک) به حلال اتانول (g/ml) در ۳ سطح یک به پنج، یک به هفت و یک به نه، با مدت زمان همزدن ۱، ۵ و ۱۰ دقیقه در حمام فراصوت در ۳ سطح ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه و دمای سانتیگراد ۴، ۱۲ و ۲۱ درجه سلسیوس با ۳ بار تکرار انجام گردید. پس از بررسی راندمان استخراج کاروتنوئید ضایعات خشک و تر در دستگاه اسپکتوفتومتر، بهترین روش استخراج از طریق تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS.20 به روش میانگین چند دامنه‌ای دانکن، انتخاب شد و در پایان آستاگزانتین تیمار ۱ (پخته/خشک/آسیاب/الک) و تیمار ۲ (خام/آسیاب) با دستگاه HPLC بهینه‌سازی، خالص‌سازی، اندازه‌گیری و شناسایی شدند و تیمار بهینه انتخاب گردید.

یافته‌ها: آزمایش‌ها نشان داد نسبت نمونه به حلال ۱:۵ و یک دقیقه زمان همزدن، ۱۰ دقیقه فراصوت و سانتیگراد ۲۱ درجه سلسیوس برای استخراج بهینه مناسب می‌باشد. داده‌های حاصل از آنالیز HPLC نیز نشان داد، آستاگزانتین حاصل از استخراج تیمار ۱ (mgastaxanthin/gextract) ۳ و تیمار ۲ (mgastaxanthin/gextract) ۲/۷ بوده است.

نتیجه گیری: از ضایعات میگو می‌توان به عنوان مواد اولیه در دسترس و اقتصادی جهت استخراج رنگدانه‌های کاروتنوئیدی و جایگزینی آنها با رنگ‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی در صنعت غذا استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: استخراج آستاگزانتین، ضایعات میگو، کاروتنوئید، میگو یا سفید غربی، HPLC

مطالعه عوامل موثر بر استخراج سوپر آنتی‌اکسیدان آستاگزانتین از ضایعات میگو

مقدمه

میگو، از گروه سخت پوستان دریایی حاوی آستاگزانتین می‌باشد (Dang et al., 2018)، میگوی پاسبید با نام علمی *لیتوپنئوس پاسبید* و با نام عمومی میگوی پاسبید غربی، بومی سواحل غربی آمریکای لاتین در اقیانوس آرام از پرو در جنوب تا مکزیک در شمال است. گونه پاسبید قادر به تحمل دامنه وسیعی از درجه حرارت و شوری و مصرف پروتئین کمتر نسبت به سایر گونه‌ها به عنوان گونه مهم تجاری صید و پرورش می‌باشد، بیشترین میانگین تولید میگوی پاسبید در سیستم مدار بسته فوق متراکم تا ۶۳ تن در هکتار گزارش شده است (Emami et al., 2013).

قدمت تکثیر و پرورش میگو در ایران زیاد نبوده ولی به دلیل شرایط مناسب آب و هوایی و زمین‌های وسیع سواحل جنوبی کشور از ظرفیت قابل توجهی جهت پرورش میگو برخوردار می‌باشد، تولید و تکثیر میگو از روند رو به رشدی برخوردار شده است. در این راستا در سال‌های اخیر پرورش میگو در کشورمان مورد توجه سازمان شیلات قرار دارد (Gholam Hosseini et al., 2006).

در گستره پهناور سواحل جنوبی کشور و امتداد کرانه‌های خلیج فارس و دریای عمان، اراضی مستعد و مساعدی جهت پرورش میگو وجود دارد که با توجه به برآوردها و تخمین‌های اولیه توسط کارشناسان شیلات حدوداً به بیش از ۱۰۰ هزار هکتار بالغ می‌گردد. این اراضی مساعد شناسایی شده در ۴ استان خوزستان، بوشهر، هرمزگان و سیستان و بلوچستان واقع شده اند (Gholam Hosseini et al., 2006).

میگو یکی از آبزیانی است که از نظر ارزش غذایی و تجاری بسیار حائز اهمیت است و مانند سایر آبزیان در کشور از سرانه مصرف پائینی برخوردار می‌باشد. میزان سرانه مصرف میگو در کشور در سال ۲۰۱۳، ۱۴۰ گرم و میزان سرانه مصرف در جهان ۳۲۰ گرم در سال ۲۰۱۳ گزارش شده است که بیش از دو برابر مصرف در ایران است (Reyhani Pool et al., 2019).

در طی مراحل فرآوری میگو بسته به نوع، اندازه و روش پوست گیری میگوها، حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد از وزن

میگو (سر، پوسته و دم) دور ریخته می‌شود و هر ساله نیز ۶ تا ۸ میلیون تن ضایعات از سخت پوستان در جهان تولید می‌شود (Mao et al., 2017). این ضایعات شامل مولکول‌های فعال زیستی با ارزش افزوده بالایی هستند. ضایعات زیستی انباشته شده بدون استفاده مناسب از آن منجر به هدر رفتن منابع و مشکلات دفع زباله و آلودگی محیط زیست خواهند شد و در ضایعات میگو نمک‌های معدنی (۱۵ تا ۳۰ درصد)، پروتئین‌ها (۱۸ تا ۴۰ درصد)، کیتین (۱۴ تا ۳۰ درصد)، لیپیدها و کاروتنوئیدها از جمله آستاگزانتین، ترکیبات طعم دهنده و کربنات کلسیم موجود می‌باشد (Mao et al., 2017; Brandão et al., 2019). بیشترین مقدار کاروتنوئید موجود در میگوها آستاگزانتین قرمز رنگ است و کاربرد این ضایعات میگو بیشتر در صنعت آبی پروری در بهبود رنگ در گوشت‌های ماهی قزل آلا، پوسته میگو و خرچنگ بوده است و به تازگی کاربرد آستاگزانتین، در صنایع غذایی، کشاورزی، نساجی، دارویی، آرایشی و بهداشتی نیز برجسته شده است (Brandão et al., 2019). آستاگزانتین به عنوان پادشاه کاروتنوئیدها شناخته شده است (Capelli, 2007). قدرت آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئید آستاگزانتین ۱۰ برابر بیشتر از سایر کاروتنوئیدها (مانند زئاکسانتین^۲، لوتئین^۳، کانتازانتین^۴، بتاکاروتن^۵) و ۱۰۰ برابر بیشتر از آلفاتوکوفرول (Martínez-Delgado et al., 2017) و بیش از ۵۰۰ برابر ویتامین E می‌باشد. بنابراین آستاگزانتین، سوپر آنتی‌اکسیدان لقب گرفته است (Ushakumari and Anarjan, 2013; Ramanujan, 2013). این ترکیب برخلاف برخی کاروتنوئیدها، در بدن به ویتامین A (رتینول) تبدیل نمی‌شود، با توجه به این که مصرف بیش از حد ویتامین A برای انسان سمی است پس بنابراین آستاگزانتین باعث مسمومیت نمی‌شود (Dalei et al., 2015). در حال حاضر آستاگزانتین تجاری از جلبک‌های کلروفیل‌دار^۶ استخراج می‌شود که بیشترین مقدار آستاگزانتین را در خود ذخیره دارد، اما کشت آن در مقیاس بزرگ دشوار است (HU et al., 2019) همچنین، بیشترین محتوای آستاگزانتین میگو را در ضایعات میگو در نظر می‌گیرند (Hushmand Seabra and Pedrosa, 2010); Hushmand et al., 2018 و همکاران در بررسی بهینه

¹ Shrimp ² Zeaxanthin ³ Lutein ⁴ Cantaxanthin

⁵ Beta-carotene

⁶ *Haematococcus pluvialis*

تاکنون در ایران استخراج آستاگزانتین از ضایعات میگوی پاسبید انجام نشده است و نیز بهینه سازی آماده سازی و استخراج به طور همزمان از ضایعات میگو پاسبید در هیچ پژوهشی انجام نشده است. در مطالعه حاضر بازدهی استخراج آستاگزانتین از ضایعات میگوی پاسبید در شرایط عملیاتی آماده سازی متفاوت از تحقیقات گذشته و استخراج با روش فراصوت با کمک حلال اتانول در شرایط فنی متفاوت از تحقیقات گذشته بهینه سازی شد و بهترین نمونه از نظر اقتصادی، فنی و حسی مطابق با شرایط آزمایشگاه انتخاب گردید.

با توجه به اینکه آستاگزانتین معمولاً توسط اسپکتروفوتومتری فرابنفش - مرئی و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) با ویژگی‌های ساده و سریع تعیین می‌شود، به نحوی که سایر محققین تنها از HPLC برای بررسی‌های خود (بهینه‌سازی استخراج آستاگزانتین با نسبت‌ها و شرایط مختلف) در تمامی تیمارها استفاده نمودند (Hu *et al.*, 2019) و HPLC نیز روشی نسبتاً هزینه بر تلقی می‌شود، لذا در این پژوهش از اسپکتروفوتومتر فرابنفش - مرئی برای بهینه سازی استخراج، تعیین میزان جذب ضایعات تر و خشک و تعیین راندمان ضایعات تر و خشک با هدف راندمان اقتصادی بالاتر استفاده شد و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) صرفاً برای تاییدی در جهت حضور آستاگزانتین (شناسایی) و انتخاب نمونه مناسب تر بین روش‌های آماده سازی و در نهایت تعیین مقدار آستاگزانتین استفاده شد.

مواد و روش‌ها

میگوی تازه گونه لیتوپنائوس پاسبید از استخر میگوی استان بوشهر تهیه شد. پس از انجام عملیات آماده سازی (استاندارد شماره ۵۷۵۰ ایران) و بعد از جداسازی ضایعات شامل سر، پوسته بدنه پشت، شکم و دم به دو قسمت ضایعات و گوشت تقسیم شد و شستشوی ضایعات میگو انجام شد. در نهایت، ضایعات در دردمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند (Ushakumari and Ramanujan, 2013). نمونه‌ها به وسیله یخ دان از بوشهر با هواپیما به مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی واقع در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران منتقل

سازی استخراج رنگدانه‌های کاروتنوئیدی از ضایعات خرچنگ آبی^۱ و میگوی ببری سبز^۲ به کمک امواج فراصوت و مایکروویو نشان دادند، ضایعات خرچنگ و میگو می‌توانند به عنوان ارزان ترین مواد اولیه جهت استخراج رنگدانه‌های کاروتنوئیدی و جایگزینی با رنگ‌های مصنوعی استفاده شوند (Hushmand *et al.*, 2018). Cahú و همکاران در سال ۲۰۱۲ بازیابی پروتئین، کیتین، کاروتنوئیدها و گلیکوزآمینوگلیکان^۳ از ضایعات فرآوری شده میگوی سفید اقیانوس آرام^۴ را مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند که، ضایعات سر میگو یک محصول مهم بدست آمده از فرآوری سخت پوستان در شمال شرقی برزیل است و منبع جالب توجهی از مولکول‌های فعال زیستی را نشان می‌دهد که استفاده از آن پایداری محصولات شیلات را افزایش می‌دهد (Cahú *et al.*, 2012). برای استخراج آستاگزانتین از ضایعات میگو تحقیقات بسیاری از جمله استخراج به وسیله حلال‌های مختلف با کمک فراصوت (Gulzar *et al.*, 2018)، تخمیر میکروبی (Saber *et al.*, 2006)، استخراج با روغن میکروبی (Handayani *et al.*, 2008)، مایع یونی (Bi *et al.*, 2010)، خیساندن، سوکسله و فراصوت (Mezzomo *et al.*, 2011)، سیال فوق بحرانی (Mezzomo *et al.*, 2013)، فراصوت به روش حلال سبز (Zhang *et al.*, 2014) و روش‌های استخراج آنزیمی، ماکروویو و پالس الکتریکی (Saini and Keum, 2018) مورد مطالعه قرار گرفته است. به طور کلی، چندین فناوری می‌تواند در فرآیند استخراج کارآمد آستاگزانتین مورد استفاده قرار گیرد. مشاهده شده است که استخراج آستاگزانتین از طریق ترکیب روش‌های مختلف عملکرد را به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهد (Routray, 2019) و با توجه به کارایی دوروش همزمان با هم در این پژوهش از روش فراصوت حمام دار با کمک خیساندن با حلال اتانول (روش مرسوم) استفاده شد.

در این پژوهش ضایعات میگوی پاسبید با هدف استخراج آستاگزانتین جهت خاصیت فراسودمندی و سوپرآنتی اکسیدانی و مصرف غذایی و دارویی آن و نیز ضایعات فراوان میگوی پاسبید به علت مساعد بودن شرایط برای پرورش میگوی پاسبید در ایران، انتخاب شد.

¹ *Penaeus semisulcatus* ² Glycosaminoglycans

³ *Litopenaeus vannamei* ⁴ Glycosaminoglycans

مطالعه عوامل موثر بر استخراج سوپر آنتی‌اکسیدان آستاگزانتین از ضایعات میگو

۳۰ دقیقه، دمای سانتیفریوژ در ۳ سطح ۴، ۱۲، ۲۱ درجه سلسیوس انجام گرفت و کلیه مراحل برای هر تیمار ۳ بار تا بی رنگ شدن کامل نمونه (میگوی پخته، خشک، آسیاب، الک) انجام شد. هر تیمار با سه بار تکرار انجام گرفت و با اندازه‌گیری مقدار جذب هر تیمار در طول موج ۴۶۸ و ۴۸۷ نانومتر جهت محاسبه راندمان استخراج ضایعات تر (برحسب وزن تر) و خشک (برحسب وزن خشک) از طریق ۲ فرمول زیر محاسبه شد و داده‌های به دست آمده به صورت مقادیر میانگین \pm انحراف استاندارد به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ محاسبه شد. آنالیز واریانس با استفاده از آزمون ANOVA و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح معنی دار ($P < 0.05$) انجام گردید. تیمار بهینه برای روش استخراج نمونه‌ها ی HPLC انتخاب شد. فرمول ۱

$$A = \frac{\mu g \text{ astaxanthin}}{g \text{ sample}} \times \text{Dilution factor} \\ = \frac{A_{468} \times V \times \text{Dilution factor}}{0.2 \times w}$$

A: جذب در ۴۶۸ نانومتر

V: حجم عصاره

Dilution factor: فاکتور رقت سازی

A_{468} : از یک میکروگرم در میلی لیتر استاندارد

آستاگزانتین (Sowmya et al., 2012)

W: وزن نمونه در گرم (Sachindra et al., 2006)

فرمول ۲

$$A = \frac{\mu g \text{ astaxanthin}}{g \text{ waste}} \times \text{Dilution factor} \times 106 \\ = \frac{A_{487} \times V \times \text{Dilution factor} \times 106}{100 \times w \times E}$$

A: جذب در ۴۸۷ نانومتر

V: حجم عصاره

Dilution factor: فاکتور رقت سازی

W: وزن ضایعات تر میگو پاشیده برای یک گرم

E: ۲۲۹۰ عدد ثابت برای سل (Sachindra et al., 2006).

– مراحل آماده‌سازی نمونه برای شناسایی و اندازه‌گیری

کاروتنوئید آستاگزانتین با دستگاه HPLC

آماده‌سازی نمونه به دو صورت بر روی ضایعات میگو

شدند. ضایعات میگو در بسته‌های پلاستیکی یک کیلو گرمی بسته بندی شد و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس در فریزر تا زمان مصرف جهت انجام آزمایشات نگهداری شدند.

مواد شیمیایی مورد استفاده اتانول ۹۵ درصد تهیه شده از اتانول ۹۹/۶ درصد (سپاهان، ایران)، ماده استاندارد آستاگزانتین (سیگما آلدریچ)، اتیل استات، استونیتریل و متانول گرید HPLC (Merck) بود.

– آماده‌سازی نمونه ضایعات میگوی پاشیده برای بهینه‌سازی با روش اسپکتوفتومتر فربانفش – مرئی

ابتدا نمونه ضایعات به روش حمام آب گرم در دمای جوش آب و به مدت ۳۰ دقیقه (Mezzomo et al., 2011) پخته شد و سپس عمل خشک کردن در دمای ۵۰ درجه سلسیوس در آون به مدت ۲۴ ساعت انجام گردید (Ushakumari and Ramanujan, 2013). نمونه‌ها در مرحله بعد به وسیله دستگاه آسیاب، آسیاب شدند به طوری که، در هر نوبت ۱۰۰ گرم نمونه به مدت ۱۵ ثانیه آسیاب شد (Mezzomo et al., 2011). نمونه آسیاب شده از الک مش ۳۰ عبور داده شد (Hu et al., 2019) و در نهایت با بسته بندی در ظروف مناسب، در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان مصرف جهت انجام آزمایشات نگهداری شد (Mezzomo et al., 2011).

– اندازه‌گیری راندمان استخراج کاروتنوئید آستاگزانتین توسط متغیرهای مختلف با روش اسپکتوفتومتر فربانفش – مرئی

بهینه سازی با استفاده از روش Hu (Hu et al., 2019) و Mezzomo (Mezzomo et al., 2011) با اندکی تغییر انجام گردید. به طوری که بهینه سازی استخراج با ۴ متغیر نسبت ماده جامد به حلال (اتانول)، مدت زمان همزدن، مدت زمان فراصوت و دمای سانتیفریوژ و نسبت ماده جامد به حلال در ۳ سطح مقدار ۱ گرم ماده جامد در ۵ میلی لیتر حلال، ۱ گرم ماده جامد در ۷ میلی لیتر حلال و ۱ گرم ماده جامد در ۹ میلی لیتر حلال، مدت زمان همزدن در ۳ سطح ۱، ۵ و ۱۰ دقیقه، حمام فراصوت (Wise clean, Ultrasonic Cleaner Set, Model WUC- A03H, Watts 296 W) در ۳ سطح ۱۰، ۲۰ و

(سر و پوسته) انجام گردید:

عبور داده شدند و با HPLC (Waters- Alliance e) مجهز به یک ستون فاز معکوس ترموستادی (2695 Vydac-Biorad , 218 TP54, 250 mm) C₁₈ (40°C) (4.6 mm, 5 m) و یک آشکارساز فرابنفش - مرئی با طول موج ۴۶۰ نانومتر، فاز متحرک مخلوط استونیتریل: متانول (HPLC grade - Merck 90:10, v/v)، سرعت جریان دستگاه 0.8 ml/min آستاگزانتین شناسایی و اندازه‌گیری شد. ماده استاندارد آستاگزانتین (سیگما آلدریج) نیز پس از آماده سازی و عبور از فیلتر ۰/۴۵ با همان شرایط و ویژگی‌های تنظیم شده دستگاه برای عصاره‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش، تجزیه و تحلیل نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شد. داده‌های به دست آمده به صورت مقادیر میانگین \pm انحراف استاندارد به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ محاسبه شد. آنالیز واریانس با استفاده از آزمون ANOVA و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح معنی‌دار ($P < 0/05$) انجام گردید.

یافته‌ها

بر طبق نتایج به دست آمده در جدول شماره یک، بررسی میزان جذب در بین سه نمونه (ضایعات میگوی پخته شده + خشک شده + آسیاب شده) با نسبت‌های مختلف، نشان داد که جذب در طول موج ۴۶۸ نانومتر در بین هر سه نمونه تفاوت معناداری داشته است ($P \leq 0/05$). به طوری که بیشترین میزان جذب در نمونه جامد در حلال (گرم/ میلی لیتر) به نسبت ۱ به ۵ و کمترین میزان جذب به نمونه جامد در حلال (گرم/ میلی لیتر) به نسبت ۱ به ۹ تعلق داشت. همچنین، پس از بررسی زمان همزدن بر حسب دقیقه مشاهده شد که در بین نمونه‌ها این متغیر از تاثیرگذاری معناداری برخوردار نمی‌باشد ($P \geq 0/05$). بیشترین میزان جذب در طول موج ۴۶۸ نانومتر در مدت زمان ۱۰ دقیقه همزدن و کمترین میزان جذب در مدت زمان ۵ دقیقه همزدن در همان طول موج مشاهده شد، در طول موج ۴۸۷ نانومتر بیشترین میزان جذب در مدت زمان ۱ دقیقه همزدن و کمترین میزان جذب به مدت زمان ۵

تیمار ۱ (پخته/خشک/آسیاب/الک): ابتدا نمونه‌ها به روش حمام آب گرم در دمای جوش آب و به مدت ۳۰ دقیقه (Mezzomo *et al.*, 2011) پخته شد و سپس عمل خشک کردن در دمای ۵۰ درجه سلسیوس در آون به مدت ۲۴ ساعت انجام گردید (Ushakumari and Ramanujan, 2013). نمونه‌ها در مرحله بعد به وسیله دستگاه آسیاب، آسیاب شدند به طوری که، در هر نوبت ۱۰۰ گرم نمونه به مدت ۱۵ ثانیه آسیاب شد (Mezzomo *et al.*, 2011). نمونه آسیاب شده از الک مش ۳۰ عبور داده شد (Hu *et al.*, 2019) و در نهایت با بسته بندی در ظروف مناسب، در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان مصرف نگهداری شد (Mezzomo *et al.*, 2011). روش آماده سازی این تیمار مشابه تعیین راندمان استخراج توسط روش اسپکتروفوتومتر بود.

تیمار ۲ (ضایعات میگوی خام/ آسیاب شده): نمونه به وسیله دستگاه آسیاب، آسیاب گردید و سپس در ظرف مناسب بسته‌بندی و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

- روش استخراج از دو تیمار ۱ (پخته/ خشک/ آسیاب/ الک) و تیمار ۲ (خام/ آسیاب)

نمونه‌ها از طریق دو روش آماده سازی برای استخراج با روش فراصوت حمام دار آماده شد و نسبت نمونه به حلال ۱:۵ (g/ml) و یک دقیقه زمان همزدن، ۱۰ دقیقه فراصوت با دستگاه فراصوت حمام دار و سانتریفیوژ ۲۱ درجه سلسیوس که برای استخراج با روش اسپکتروفوتومتر بهینه سازی شده بود را جهت انجام فرآیند استخراج به کار گرفته شد.

- شناسایی و تعیین مقدار آستاگزانتین توسط HPLC

عصاره‌های میگو به دست آمده از طریق پروتکل‌های ذکر شده طبق دو روش آماده سازی، تیمار ۱ (پخته/خشک/ آسیاب/الک) و تیمار ۲ (خام/ آسیاب) و روش استخراج بهینه شده توسط روش اسپکتروفوتومتر فرابنفش-مرئی (نسبت نمونه به حلال ۱:۵ و یک دقیقه زمان همزدن، ۱۰ دقیقه فراصوت و سانتریفیوژ ۲۱ درجه سلسیوس) به طور کامل در اتیل استات (Merck) حل شدند و سپس از فیلتر ۰/۴۵

مطالعه عوامل موثر بر استخراج سوپر آنتی‌اکسیدان آستاگزانتین از ضایعات میگو

مختلف فراصوت نیز نشان داد که استخراج در زمان ۰ و ۲۰ دقیقه اختلاف معناداری نسبت به میزان استخراج در مدت زمان ۳۰ دقیقه داشته است ($P \leq 0.05$) و زمان ۱۰ دقیقه و ۳۰ دقیقه نسبت به هم اختلاف معناداری را نشان ندادند. در بین سه زمان ۰، ۱۰ و ۲۰ دقیقه، بیشترین میزان استخراج در زمان ۱۰ دقیقه و کمترین میزان استخراج در زمان ۰ بود. در نهایت، طبق نتایج به دست آمده از بررسی دمای سانتیفریوژ بر حسب درجه سلسیوس مشاهده شد که در بین نمونه‌ها، دمای سانتیفریوژ از تاثیرگذاری معناداری برخوردار نبوده است ($P \geq 0.05$). در طول موج ۴۶۸ نانومتر بیشترین میزان جذب در دمای ۱۲ درجه سلسیوس و کمترین میزان جذب در دمای ۴ درجه سلسیوس بود. همچنین، راندمان استخراج ضایعات خشک نشان داد که بیشترین میزان استخراج در دمای ۱۲ درجه سلسیوس و کمترین میزان در دمای ۴ درجه سلسیوس بوده است و داده‌های حاصل از استخراج کاروتنوئید ضایعات خام در دو دمای ۱۲ و ۲۱ درجه سلسیوس بیشترین میزان استخراج را به طور مساوی نشان دادند و کمترین میزان استخراج در دمای سانتیفریوژ ۴ درجه سلسیوس مشاهده شد.

دقیقه همزدن اختصاص یافت. میزان راندمان استخراج در ضایعات خشک نشان داد که بیشترین راندمان استخراج در مدت زمان ۱۰ دقیقه همزدن و کمترین راندمان با اختلاف بسیار ناچیز در مدت زمان ۱ دقیقه همزدن بود. مدت زمان همزدن در کاروتنوئید استخراج شده از ضایعات تر نیز نشان داد، بیشترین میزان استخراج در طی ۱ دقیقه همزدن و کمترین میزان استخراج در طی ۵ دقیقه همزدن به دست آمده است. اما به طور کلی می‌توان با توجه به عدم تاثیرگذاری معنادار این متغیر بر میزان استخراج، از در نظر گرفتن آن صرفه نظر نمود. بر طبق نتایج بررسی زمان فراصوت بر حسب دقیقه در بین نمونه‌ها، این متغیر در طول موج جذب ۴۶۸، ۴۸۷ نانومتر از تاثیرگذاری معناداری برخوردار نبوده است ($P \geq 0.05$). اما نتایج آنالیز آماری حاکی از آن بود که تفاوت زمان فراصوت بر راندمان استخراج کاروتنوئید ضایعات تر معنادار می‌باشد ($P \leq 0.05$). بررسی کاروتنوئید ضایعات خشک نشان داد راندمان استخراج در ۰ دقیقه با میزان استخراج در زمان ۳۰ دقیقه تفاوت معناداری داشته است و میان زمان‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه اختلاف معنادار نبود. بررسی ضایعات تر در زمان‌های

۴۴

جدول ۱- ارزیابی متغیرهای مختلف نسبت به مقدار نمونه جامد در حلال، مدت زمان شیکر، مدت زمان فراصوت و دمای سانتیفریوژ

Table 1- Evaluation of different variables in relation to the amount of solid sample in the solvent, duration of shaker and ultrasound, centrifuge temperature

		Absorbance 468	Absorbance 487	Carotenoid efficiency of dry waste ($\mu\text{g/gastaxanthin}$)	Carotenoid efficiency of wet waste ($\mu\text{g/gastaxanthin}$)
Sample- Solvent (g/ml)	1*5	1.26 \pm 0.19 ^a	1.10 \pm 0.15 ^a	96.99 \pm 18.002 ^a	20.55 \pm 2.94 ^a
	1*7	0.96 \pm 0.15 ^b	0.83 \pm 0.11 ^b	99.81 \pm 12.06 ^a	21.68 \pm 2.64 ^b
	1*9	0.74 \pm 0.09 ^c	0.65 \pm 0.21 ^c	99.99 \pm 13.36 ^a	22.02 \pm 2.74 ^b
Shaker Time (min)	1	0.99 \pm 0.28 ^a	0.87 \pm 0.22 ^a	98.38 \pm 12.23 ^a	21.56 \pm 2.05 ^a
	5	0.97 \pm 0.24 ^a	0.85 \pm 0.20 ^a	99.12 \pm 17.79 ^a	21.25 \pm 3.34 ^a
	10	1.00 \pm 0.27 ^a	0.86 \pm 0.22 ^a	99.32 \pm 13.58 ^a	21.46 \pm 2.97 ^a
Ultrasonic Time (min)	0	0.98 \pm 0.25 ^a	0.83 \pm 0.20 ^a	98.05 \pm 12.56 ^a	20.90 \pm 2.96 ^a
	10	1.00 \pm 0.27 ^a	0.86 \pm 0.22 ^a	100.32 \pm 15.33 ^{ab}	21.35 \pm 3.06 ^a
	20	0.93 \pm 0.24 ^a	0.84 \pm 0.22 ^a	95.60 \pm 18.30 ^{ab}	20.92 \pm 2.62 ^a
	30	1.03 \pm 0.28 ^a	0.90 \pm 0.21 ^a	101.80 \pm 11.04 ^b	22.53 \pm 2.39 ^b
Centrifuge Temperature (C°)	4	0.96 \pm 0.26 ^a	0.84 \pm 0.21 ^a	97.07 \pm 16.09 ^a	21.09 \pm 2.99 ^a
	12	1.00 \pm 0.26 ^a	0.86 \pm 0.21 ^a	100.29 \pm 11.56 ^a	21.59 \pm 2.54 ^a
	21	0.99 \pm 0.26 ^a	0.87 \pm 0.22 ^a	99.47 \pm 15.90 ^a	21.59 \pm 2.94 ^a

Different letters within a column indicate significant different ($P < 0.05$)

میانگین‌های موجود در هر ستون که با حروف متفاوت نشان داده شده اند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

بود به حداکثر میزان خود (۳۶/۴ میکرو گرم بر گرم) رسید. نتایج این پژوهش نشان داد که دمای بهینه برای استخراج بین ۴۰ تا ۶۰ درجه سلسیوس بوده است (Hu et al., 2019). همانطور که در جدول ۱ مشاهده شد، در پژوهش حاضر نیز میزان جذب، در نسبت نمونه به حلال ۱ به ۷ راندمان قابل قبولی را نشان داد و در نسبت ۱ به ۹ راندمان استخراج در هر دو کاروتنوئید استخراج شده از ضایعات خشک و تر تفاوت معناداری را نشان نداد. همچنین، بیشترین میزان استخراج کاروتنوئید از ضایعات خام در مدت زمان ۳۰ دقیقه فراصوت به دست آمد که با پژوهش Hu و همکاران مطابقت داشت. Zhang و همکاران در سال ۲۰۱۴ در بررسی استخراج آستاگزانتین از محصولات جانبی میگو با استفاده از حلال های یوتکتیک عمیق با رویکرد سبز به کمک فراصوت گزارش کردند که نتایج استخراج به وسیله حلال یوتکتیک حاصل از پوسته، ۱۴۶ میکروگرم در گرم ضایعات و آستاگزانتین استخراجی از قسمت سر، ۲۱۸ میکروگرم بر گرم ضایعات است. این درحالیست که، استخراج با حلال آلی اتانول نشان داد، میزان استخراج آستاگزانتین در قسمت پوسته به میزان ۱۰۲ میکروگرم در گرم ضایعات و در قسمت سر ۱۵۸ میکروگرم در گرم بوده است و مقدار آستاگزانتین استخراج شده با افزایش زمان فراصوت به ۴۰ دقیقه، افزایش یافت. از سوی دیگر، افزایش بهره‌وری از ۳۰ دقیقه به ۴۰ دقیقه در مقایسه با مقدار انرژی ناچیز بود و بنابراین ۳۰ دقیقه از نظر ملاحظات اقتصادی، بهینه مدنظر قرار گرفت (Zhang et al., 2014). در پژوهش حاضر نیز با توجه به اینکه بیشترین میزان راندمان استخراج کاروتنوئید از ضایعات میگو در حالت خشک و تردد مدت زمان فراصوت ۳۰ دقیقه بوده است با پژوهش انجام شده مطابقت دارد.

کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC)، توان و سرعت بسیار بالایی در تفکیک پذیری و جداسازی ترکیبات کاروتنوئیدی دارد (Meléndez- Martínez et al., 2007). در پژوهش حاضر، برای منحنی استاندارد از رگرسیون خطی استفاده شد. ضرایب تعیین (R²) مقدار (۰/۹۸۶۹) خطی بودن مطلوب را در محدوده انتخابی برای آستاگزانتین (۵۰ - ۰ میکروگرم بر میلی لیتر) نشان داد. همانطور که در کروماتوگرام شکل (a: ۱) و شکل (b: ۱) مشاهده می‌شود، میزان آستاگزانتین شناسایی شده طی روش HPLC، برای نمونه شماره یک حاصله از استخراج یک مرحله‌ای میگوی پخته خشک، آسیاب و الک شده با مش ۳۰ با نسبت ماده جامد در حلال اتانول ۱:۵، زمان همزدن ۱ دقیقه، مدت زمان حمام فراصوت ۱۰ دقیقه و دمای سانتریفیوژ ۲۱ درجه سلسیوس، ۳ میلی‌گرم آستاگزانتین در یک گرم عصاره بود و نمونه شماره ۲ استخراج شده از ضایعات میگوی خام آسیاب شده با شرایط یکسان، ۲/۷ میلی‌گرم آستاگزانتین در ۱ گرم عصاره بود.

بحث

در پژوهش حاضر بین نمونه‌ها، متغیرهای مورد بررسی (نسبت نمونه به حلال، دور شیکر برحسب دقیقه، زمان فراصوت و دمای سانتریفیوژ) نسبت به هم در میزان جذب و استخراج از تاثیرگذاری معناداری برخوردار نبودند ($P \geq 0/05$). در پژوهش Hu و همکاران در بررسی استخراج و تصفیه آستاگزانتین از پوسته میگو و تاثیر تیمارهای مختلف بر محتوای آن، گزارش کردند که برای استخراج آستاگزانتین نسبت نمونه به حلال ۱ به ۷ و مدت زمان ۳۰ دقیقه فراصوت بهینه می باشد، آنها دریافتند کاهش نسبت جامد به مایع باعث افزایش چشمگیر بازده نخواهد شد. همچنین میزان استخراج، زمانی که دما ۵۰ درجه سلسیوس

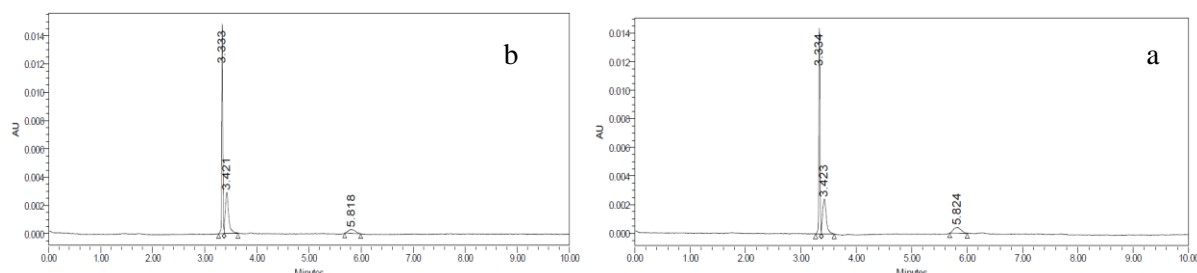


Figure 1- a: Astaxanthin carotenoid chromatogram extracted from cooked, dried and ground wastes; b: Astaxanthin carotenoid chromatogram extracted from raw and ground waste.

شکل ۱- a: کروماتوگرام مربوط به کاروتنوئید آستاگزانتین استخراج شده از ضایعات پخته و خشک و آسیاب شده؛ b: کروماتوگرام مربوط به کاروتنوئید آستاگزانتین استخراج شده از ضایعات خام و آسیاب شده.

مطالعه عوامل موثر بر استخراج سوپر آنتی‌اکسیدان آستاگزانتین از ضایعات میگو

Hushmand و همکاران در سال ۲۰۱۸، در بررسی بهینه سازی استخراج رنگدانه‌های کاروتنوئیدی از ضایعات خرچنگ آبی^۱ و میگوی ببری سبز^۲ با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، آنالیز مقدار رنگدانه‌های استخراجی توسط امواج فراصوت و میکروویو را با توجه به فاکتورهای تعداد دفعات و مدت زمان استخراج، توان دستگاه فراصوت و میکروویو و نسبت حلال به ضایعات مورد بررسی قرار دادند، آنها جهت استخراج رنگدانه‌ی کاروتنوئیدی به وسیله امواج فراصوت از ضایعات خرچنگ، ۳ بار استخراج را با نسبت ۱۵ برابر حلال به ضایعات با توان ۹۰ وات به مدت ۳۰ ثانیه انجام دادند. که در نهایت مقدار رنگدانه‌ی $0.584 \pm 1407/12 \mu\text{g/g}$ به دست آمد و از ضایعات میگو یک بار استخراج با نسبت ۱۰ برابر حلال به ضایعات با توان ۱۵۰ وات به مدت ۱۰۵ ثانیه انجام گرفت که در نهایت مقدار رنگدانه‌ی $0.23 \pm 1257/43 \mu\text{g/g}$ به دست آمد (Hushmand et al., 2018).

در پژوهش Bi و همکاران در سال ۲۰۱۰، آستاگزانتین، به عنوان یک آنتی‌اکسیدان برجسته، با استفاده از مایعات یونی و با کمک دستگاه فراصوت با موفقیت از ضایعات میگو استخراج شد. هفت نوع مایعات یونی ایمیدازولیوم، با کاتیون‌ها و آنیون‌های مختلف، در این کار مورد بررسی قرار گرفتند و مایع یونی در اتانول با 0.50 مول بر لیتر به عنوان حلال، انتخاب شد. در شرایط استخراج فراصوت بهینه شده، مقدار استخراج آستاگزانتین 98% ($92/7$ میکروگرم در گرم) در مقایسه با روش مرسوم ($46/7$ میکروگرم در گرم) افزایش یافت. در این پژوهش انتخاب حلال با استفاده از آب، متانول، اتانول، n- هگزان، اتیل استات، استون و دی کلرومتان انجام شد. در طول این تجزیه و تحلیل، ۲ میلی لیتر از حلال برای استخراج 0.2 گرم ضایعات میگو به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق استفاده شد. قدرت فراصوت ۷۵ وات در مدت زمان ۶۰ دقیقه تعیین گردید. در این پژوهش در مقایسه مقادیر استخراج شده آستاگزانتین در حلال‌های مختلف، اتانول بهترین حلال شناخته شد و بنابراین برای ادامه آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت (Bi et al., 2010). در پژوهش حاضر نیز اتانول به عنوان حلال استفاده شد.

بیشتر حلال‌ها (از جمله اتانول، هگزان و استون) که برای استخراج مورد استفاده قرار می‌گیرند، دارای خطرات زیست محیطی (هوا، آب و پایداری)، سلامتی (سمیت مزمن و حاد و تحریک حاد) و ایمنی (تجزیه و انفجار) هستند. با این حال، براساس مسائل زیست‌محیطی و بهداشتی و ایمنی، اتانول و استون در مقایسه با هگزان، دی اتیل اتر، دی کلرو متان و کلروفرم که عموماً برای استخراج کاروتنوئیدها استفاده می‌شوند، حلال‌هایی ارجح هستند (Saini and Keum, 2018). در عین حال استون ممکن است باعث ایجاد مشکلات ایمنی و سلامتی در فرآیند مواد غذایی شود (Zhao et al., 2019).

Sahoo و Dalei در سال ۲۰۱۵ در بررسی آستاگزانتین استخراج شده از ضایعات پوسته سخت پوستان با استفاده از حلال‌های آلی با قطب‌های مختلف (هگزان، متانول، اتانول، اتر نفتی، کلروفرم و استون) گزارش کردند که عملکرد آستاگزانتین بدست آمده از عصاره استون در مقایسه با سایر عصاره‌های حلال با $48/64$ میکروگرم بر گرم بیشترین بود. در این پژوهش میزان کاروتنوئید استخراج شده به وسیله حلال اتانول به میزان $28/61$ میکروگرم در گرم به دست آمده است (Dalei and Sahoo, 2015). در پژوهش حاضر استخراج کاروتنوئید با استفاده از حلال آلی اتانول بود و با پژوهش انجام شده مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

ایران دارای محدوده وسیعی از سواحل دریایی به عنوان یک منبع طبیعی برای آبی‌پروری دریایی سودمند می‌باشد، اما زباله‌های تولید شده از صنایع فرآوری دریایی با انباشت به مقدار زیاد، خطر زیست محیطی بیشتری را به همراه دارد. این زباله‌ها منبع بزرگی از کاروتنوئیدهای طبیعی هستند که دارای پتانسیل دارویی عظیمی می‌باشند. بنابراین بایستی ابتکار مناسبی برای ضایعات حین فرآوری انجام پذیرد. آستاگزانتین طبیعی حاصل از ضایعات سخت پوستان جایگزین بهتری برای رنگدانه مصنوعی نارنجی - قرمز است. میگو می‌تواند به عنوان ارزان‌ترین مواد اولیه جهت استخراج رنگدانه‌های کاروتنوئیدی و جایگزینی با رنگ‌های

¹ *Portunus pelagicus*² *Penaeus semisulcatus*

and Persian Gulf banana, Science and Research Branch Islamic Azad University, 1:324. [In Persian]

Gholam Hosseini, B., Sohrabi Haghdoost, I., Afshar Nasab, M., Motalebi, A. A. & Rezvani, S. (2006). Histopathological and molecular study (PCR) of disease lesions caused by White Spotted Disease virus in four species of green tiger shrimp *Penaeus semisulcatus*, *Parapenaeopsis stylifeus* dagger shrimp, *Metapenaeus affinis* white shrimp, Indian *Penaeus indus* shrimp in the shores of the Persian Gulf (Choubdeh Abadan region). Tehran Research Sciences, pp 166-1. [In Persian]

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.

Handayani, A. D., Indraswati, N. & Ismadji, S. (2008). Extraction of astaxanthin from giant tiger (*Panaeus monodon*) shrimp waste using palm oil: studies of extraction kinetics and thermodynamic. *Bioresource Technology*, 99(10), 4414-4419.

Hu, J., Lu, W., Lv, M., Wang, Y., Ding, R. & Wang, L. (2019). Extraction and purification of astaxanthin from shrimp shells and the effects of different treatments on its content. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29, 24-29.

Hushmand, H., Shabanpour, B., Musavi Nasab, M., Aalishahi, A. & Golmakani, M.T (2018) The optimization of extraction of carotenoids pigments from blue crab (*Portunus pelagicus*) and shrimp (*Penaeus semisulcatus*) wastes using ultrasound and microwave: 42. 1. [In Persian]

Mao, X., Guo, N., Sun, J. & Xue, C. (2017). Comprehensive utilization of shrimp waste based on biotechnological methods: A review. *Journal of Cleaner Production*, 143, 814-823.

Martínez-Delgado, A. A., Khandual, S. & Villanueva-Rodríguez, S. J. (2017). Chemical stability of astaxanthin integrated into a food matrix: Effects of food processing and methods for preservation. *Food Chemistry*, 225, 23-30.

Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M. & Heredia, F. J. (2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 57(2), 109-117.

Mezzomo, N., Maestri, B., dos Santos, R. L., Maraschin, M. & Ferreira, S. R. (2011). Pink shrimp (*P. brasiliensis* and *P. paulensis*) residue: Influence of extraction method on carotenoid concentration. *Talanta*, 85(3), 1383-1391.

Mezzomo, N., Martínez, J., Maraschin, M. & Ferreira, S. R. (2013). Pink shrimp (*P. brasiliensis* and *P. paulensis*) residue: Supercritical fluid extraction of carotenoid fraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 74, 22-33.

Ushakumari, U. N. & Ramanujan, R. (2013). Isolation of astaxanthin from marine yeast and

مصنوعی استفاده شود. استخراج این ترکیبات ارزشمند از ضایعات آبزیان نه تنها موجب رونق صنعت فرآوری آبزیان می‌شود، بلکه آلودگی زیست محیطی را نیز کاهش خواهد داد.

در این پژوهش نیز با توجه به بهینه سازی استخراج فراصوت حمام دار با کمک حلال اتانول، بهترین تیمار لحاظ اقتصادی و فنی با توجه به شرایط آزمایشگاه تیمار آماده سازی شده به شکل پخته/خشک /آسیاب/الک شده و استخراج یک مرحله ای با نسبت ماده جامد در حلال اتانول ۱:۵، زمان همزدن ۱ دقیقه، مدت زمان حمام فراصوت ۱۰ دقیقه و دمای سانتریفیوژ ۲۱ درجه سلسیوس بود، و مقدار آستاگزانتین در این شرایط بهینه ۳ میلی گرم آستاگزانتین در یک گرم عصاره بود.

منابع

Anarjan, N. (2013). Astaxanthin as a natural antioxidant, 21st National Congress of Food Science and Technology of Iran, pp 1-6. [In Persian]

Bi, W., Tian, M., Zhou, J. & Row, K. H. (2010). Task-specific ionic liquid-assisted extraction and separation of astaxanthin from shrimp waste. *Journal of Chromatography B*, 878(24), 2243-2248.

Brandão, L. B., Coêlho, D. F., Souza, R. R., & Silva, C. F. (2019). Technological Prospection of Astaxanthin Recovery of Shrimp Waste *Litopenaeus Vannamei* by the Vegetable Oil Extraction Xtraction Process. *Revista INGI-Indicação Geográfica e Inovação*, 3(4), 465-475.

Cahú, T. B., Santos, S. D., Mendes, A., Córdula, C. R., Chavante, S. F., Carvalho Jr, L. B. & Bezerra, R. S. (2012). Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste. *Process Biochemistry*, 47(4), 570-577.

Capelli, B. & Cysewski, G. (2007). Natural astaxanthin: king of the carotenoids. *Cyanotech Corporation. USA*, 4-19.

Dalei, J. & Sahoo, D. (2022, January). Extraction and characterization of astaxanthin from the crustacean shell waste from shrimp processing industries. In *International Conference on Public Health and Medical Sciences*.

Dang, T. T., Gringer, N., Jessen, F., Olsen, K., Bøknæs, N., Nielsen, P. L. & Orlien, V. (2018). Emerging and potential technologies for facilitating shrimp peeling: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 45, 228-240.

Emami, M., Matin Far, A., Kamali, A. & Soltani, Mahdi, (2013). Comparison of nutritional value of Vanami shrimp and sea tiger green shrimp

study of its pharmacological activity. *International Current Pharmaceutical Journal*, 2(3), 67-69.

Routray, W., Dave, D., Cheema, S. K., Ramakrishnan, V. V. & Pohling, J. (2019). Biorefinery approach and environment-friendly extraction for sustainable production of astaxanthin from marine wastes. *Critical reviews in biotechnology*, 39(4), 469-488.

Reyhani Pool, S., Alishahi, A., Adeli, A., Nargesian, A. & Ajagh, M. (2019). Study and evaluation of shrimp consumers in the country based on the theory of planned behavior. *Gorgan: Journal of Food Science and Technology*, No. 90, Volume 16, pp 13-1. [In Persian]

Saini, R. K. & Keum, Y. S. (2018). Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food chemistry*, 240, 90-103.

Seabra, L. M. A. J. & Pedrosa, L. F. C. (2010). Astaxanthin: structural and functional aspects. *Revista de Nutrição*, 23, 1041-1050.

Saberi, A., Khanafari, A., Jamili, Sh. & Vosughi, Gh. (2006). Microbial extraction of astaxanthin from shrimp waste. [In Persian]

Sowmya, R. & Sachindra, N. M. (2012). Evaluation of antioxidant activity of carotenoid extract from shrimp processing byproducts by in vitro assays and in membrane model system. *Food Chemistry*, 134(1), 308-314.

Sachindra, N. M., Bhaskar, N. & Mahendrakar, N. S. (2006). Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents. *Waste Management*, 26(10), 1092-1098.

Zhao, T., Yan, X., Sun, L., Yang, T., Hu, X., He, Z. & Liu, X. (2019). Research progress on extraction, biological activities and delivery systems of natural astaxanthin. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 354-361.

Zhang, H., Tang, B. & Row, K. H. (2014). A green deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted method to extract astaxanthin from shrimp byproducts. *Analytical Letters*, 47(5), 742-749.

Study of Effective Factors on Extraction of Astaxanthin Super Antioxidant from White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

F. Saber Baghban^a, Sh. Shabani^{b*}, R. AziziNejad^c

^a M. Sc. Student of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^b Academic Member of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^c Assistant Professor of the Biotechnology and Plant Breeding Department, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 25 January 2022

Accepted: 12 July 2022

Abstract

Introduction: Shrimp waste might be used as the cheapest raw material to extract the carotenoid pigments, astaxanthin and employed to replace the synthetic dyes. In the present study, effective factors on extraction of astaxanthin super antioxidant from white shrimp was evaluated.

Materials and Methods: In this study, extraction with solid material ratio (cooked/ dried shrimp/ mill/ sieve) to ethanol solvent (g/ml) in 3 levels of one to five, one to seven and one to nine, with stirring time of 1, 5 and 10 minutes in ultrasonic bath was performed in 3 levels of 10, 20 and 30 minutes and centrifuge temperature 4, 12 and 21 °C in triplicate order. After evaluating the carotenoid extraction efficiency of dry and wet wastes in the spectrophotometer, the best extraction method was selected by data analysis using SPSS.20 software using Duncan's multiple range method, finally, astaxanthin treatment 1 (cooked/ Dry/ mill/ sieve) and treatment 2 (crude/ mill) were optimized, purified, measured and identified by HPLC and the optimal treatment was selected.

Results: Experiments showed that the sample to solvent ratio of 1: 5 and one minute stirring time, 10 minutes ultrasonic and 21 ° C centrifuge are suitable for optimal extraction. Data from HPLC analysis also showed that astaxanthin was extracted from treatment 1, 3 mg_{astaxanthin}/g_{extract} and treatment 2, 2.7 mg_{astaxanthin}/g_{extract}.

Conclusion: Shrimp waste might be used as an available and economical raw material to extract carotenoid pigments to replace the synthetic dyes and antioxidants in the food industry.

Keywords: *Astaxanthin Extraction, Carotenoids, HPLC, Shrimp Waste, White-Footed Shrimp.*

* Corresponding Author: shahrokhshabani2013@yahoo.com