مقاله علمی – پژوهشی:

کنترل اکسیداسیون روغن کبد ماهی تون زرد باله (*Thunnus albacares*) با استفاده از عصاره هیدروالکلی جلبک *Nannochloropsis oculata* از طریق آنالیز سطح پاسخ

مهدی شریفی اصل[۱]، لاله رومیانی*[۲]

*l.roomiani@yahoo.com

۱- گروه مهندسی شیمی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.
۲- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: آذر ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۴۰۱

چکیده

در این مطالعه در بخش اول شرایط بهینه استخراج عصاره (دماهای ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد، مدت زمان ۲۰، ۷۰ و ۱۲۰ دقیقه و نسبت ماده خشک به حلال ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌لیتر بر گرم) جلبک (*Nannochloropsis oculata*) مورد بررسی قرار گرفت. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جلبکی در بخش اول به‌وسیله اندازه‌گیری قدرت مهار رادیکال DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) اندازه‌گیری شد. در بخش دوم تأثیر افزودن عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس در غلظت‌های ۰، ۳۵۰، ۵۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روغن کبد ماهی تون زرد باله مورد بررسی قرار گرفت. تیمار زمان ۱۲۰ دقیقه، درجه حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد، نسبت ماده خشک به حلال ۳۰ میلی‌لیتر بر گرم بالاترین بازده عصاره را از نظر مهار رادیکال‌های آزاد داشت. طول دوره نگهداری ۵۶ روز بود و پارامترهای پراکسید، تیوباربیتیوریک‌اسید و پی-آنیسیدین در روغن ماهی تون اندازه‌گیری شدند. بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۰/۵۵ ± ۸۵/۴۵ درصد) اندازه‌گیری شد. مقادیر شاخص پراکسید، TBA و *p*-anisidine روغن ماهی تون با افزایش زمان نگهداری روندی افزایشی داشت و در روز ۵۶ به بالاترین میزان خود رسید. تیمار شاهد، بالاترین و تیمار روغن‌ماهی دریافت کننده ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس کمترین سطح شاخص‌های اکسیدانی را داشت. با توجه به نتایج تیمارهای دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس فاکتور حفاظتی و قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه BHT داشتند که نشان می‌دهد، عصاره جلبکی در هر سه غلظت ۳۵۰، ۵۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌خوبی می‌توانند جایگزین ترکیبات سنتتیک باشد.

لغات کلیدی: بهینه‌سازی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، عصاره هیدروالکلی، نانوکلروپسیس، روغن ماهی تون زرد باله

***نویسنده مسئول**

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

مقدمه

چربی ماهیان منبع بسیار مهمی از اسیدهای چرب ضروری به‌ویژه اسیدهای چرب بلند زنجیره چند غیر اشباع از خانواده امگا-۳ می‌باشد که علاوه بر افزودن ارزش تغذیه‌ای آبزیان، سبب افزایش توجه به آنها برای مصارف تغذیه‌ای – دارویی شده است (Haliloğlu *et al*., 2019). امگا-۳ گروهی از اسیدهای چرب ضروری بوده که که منبع اصلی تأمین آنها محصولات دریایی به‌خصوص ماهیان هستند و مصرف آنها برای بدن انسان ضروری است (Belkouch *et al*., 2016). اسیدهای چرب امگا-۳ نه تنها برای بدن ضروری هستند بلکه اثرات سلامت‌بخش و درمانی آنها به‌ویژه در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی و بهبود عملکرد سامانه اعصاب مرکزی، طی تحقیقات زیادی به اثبات رسیده است (GOED, 2018).

تون ماهیان یکی از با ارزش‌ترین ماهیان صنعتی در جهان محسوب می‌شوند (Pazouki *et al*., 2012) و روغن ماهی تون به دلیل داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب امگا-۳ یکی از با ارزش‌ترین روغن‌هاست که اسیدهای چرب امگا-۳ آن جزو اسیدهای چرب غیر اشباع (PUFA) بوده که دارای زنجیره کربنی مستقیم (۲۲-۱۸ کربنه) منتهی به گروه کربوکسیلیک بوده و دارای ۳ پیوند دوگانه می‌باشند (Rubio-Rodriguez *et al*., 2008). وجود مقادیر قابل ملاحظه اسیدهای چرب ضروری منحصربه‌فرد در روغن ماهی این امکان را فراهم می‌سازد که از آن در تولید غذاهای فراسودمند به منظور تأمین نیازهای تغذیه‌ای و در عین حال اثرات سودمند بر سلامت مصرف کنندگان، استفاده نمود (Jalili *et al*., 2019). چالش اصلی در به‌کارگیری روغن ماهی جهت مصرف مستقیم یا تولید غذاهای فراسودمند، حساسیت اکسیداسیون بالای آنها به دلیل داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب چند غیر اشباعی و کمبود آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است که منجر به فساد اکسیداتیو و بد طعمی روغن ماهی می‌شود (Wanasundra and Shahidi, 1996; Mausavipour *et al*., 2021). در این فرآیند اکسیژن هوا به اسیدهای چرب اضافه می‌شود و تولید مواد واسطه ناپایداری می‌کند که در نهایت این مواد بدطعمی و بدبوِیی روغن را به‌دنبال دارد (Erickson, 2008). آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان هر ماده‌ای که به طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن از قبیل اکسیژن فعال و نیتروژن در فعالیت‌های فیزیولوژیک بدن شود و اکسیداسیون ماده را به تأخیر اندازد یا از آن جلوگیری کند، تعریف می‌شود (Venugopal, 2009; Golmakani *et al*., 2018; Oujifard *et al*., 2021). یکی از راه‌های کاهش سرعت فساد و افزایش ماندگاری روغن ماهی می‌تواند افزودن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به روغن ماهی باشد. گیاهان آبزی از مهم‌ترین تولیدکنندگان در محیط‌های دریایی بوده که اهمیت اکولوژیک وسیعی در محیط زندگی خود دارند. تعدادی از گیاهان دریایی از منابع غذایی در آسیا به‌شمار می‌روند که حاوی مواد مغذی ضروری نیز هستند (Lupoae *et al*., 2015).

فعالیت‌های بیولوژیک ناشی از وجود ترکیبات زیستی طبیعی فعال همانند پلی‌فنول‌ها، فلانوئیدها، کارتنوئیدها و توکوفرول‌ها و ترکیبات وابسته در گیاهان آبزی سبب شده است که این گیاهان به عنوان ترکیبات ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی محسوب شوند (McCune and Johns, 2017). مطالعاتی اندکی بر خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک‌ها انجام شده است که از آن جمله می‌توان به مطالعات Namiki (۲۰۱۷)، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی علف‌های‌دریایی، Golmakani و همکاران (۲۰۱۸)، تأثیر عصاره جلبک *Arthrospira platensis* به عنوان آنتی‌اکسیدانی طبیعی در بهبود پایداری اکسیداتیو روغن کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris caspia*) و Grassi و همکاران (۲۰۲۰)، تأثیر افزودن مخمر *Saccharomyces cerevisiae* و جلبک *Spirulina platensis* بر پایداری اکسیداسیونی غذای ماهی تیلاپیای حاوی روغن اشاره کرد. جلبک‌های نانوکلروپسیس *Nannochloropsis oculata* به دلیل داشتن سطوح بالای اسیدهای‌چرب و مواد آنتی‌اکسیدان به‌ویژه کارتنوئیدها و گلوتاتیون (Wang *et al*., 2016) به شکلی گسترده به عنوان غذای مکمل به‌خصوص در آبزی‌پروری استفاده می‌شوند (Harith *et al*., 2009; Khatoon *et al*., 2014; Ohse *et al*., 2015). با توجه

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

به این موضوع، در این مطالعه تأثیر افزودن عصاره جلبک نانوکلروپسیس بر کاهش اکسیداسیون روغن ماهی تون زرد باله (*Thunnus albacares*) با استفاده از آنالیز سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

استخراج روغن کبد ماهی تون زرد باله

۱۰ گرم روغن کبد ماهی درون ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتر توزین و ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول و ۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم به آنها اضافه و به مدت ۲ دقیقه به‌وسیله دستگاه همگن‌ساز (Arsan cream separator, Turkey) با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد مخلوط شد. سپس ۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه یکنواخت و در ادامه ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به نمونه‌ها اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه یکنواخت شد. قسمت رویی به همراه روغن با پمپ خلأ و قیف بوخنر از مواد جامد جداسازی و قسمت رویی با استفاده از دکانتور و لایه کلروفرمی به دو قسمت مجزا تقسیم شد که حلال کلروفروم با دستگاه روتاری خارج و روغن خارج گردید (Karim *et al*., 2016).

ترکیب اسیدهای چرب

برای شناسایی و تعیین اسیدهای چرب روغن کبد ماهی تون زرد باله از دستگاه کروماتوگراف گازی استفاده شد. آماده‌سازی نمونه به صورت مشتق متیل‌استر و به‌وسیله مونوکسیدسدیم ۰/۵ نرمال انجام گردید (Christie, 1973). جهت بررسی پروفایل اسیدهای چرب از دستگاه گاز کروماتوگرافی (مدل Agilent Technologies-7890B GC) متصل به طیف سنجی جرمی مدل Agilent Technologies-5975C با ستون کاپیلاری HP-5MS (طول ۳۰ متر × قطر بیرونی ۰/۲۵ میلی‌متر × ۲۵ میکرومتر قطر داخلی) با حد تشخیص میلی‌گرم بر لیتر استفاده شد. درجه حرارت محل تزریق نمونه ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت ستون ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و درجه حرارت آشکارکننده ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت جریان کامل هیدروژن ۰/۶ میلی‌لیتر در دقیقه و میزان تزریق ۱ میکرولیتر بود. از مقایسه زمان بازداری کروماتوگرام‌های نمونه مجهول با کروماتوگرام‌های به‌دست آمده در محلول استاندارد اسیدهای چرب متیل‌استر، اسیدهای چرب موجود در روغن ماهی مشخص گردید. شناسایی نقاط اوج در نمودار کروماتوگرام نمونه‌ها با مقایسه با نقاط اوج در نمودار کروماتوگرام استاندارد (پالمیتیک، میرستیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک، ایکوزانوئیک، میریستولئیک، پالمیتولئیک و آلفا-لینولنیک) و همچنین زمان بازداری نقاط اوج استاندارد صورت گرفت (کروماتوگرام استاندارد از تزریق مخلوط اسیدهای چرب متیله شده استاندارد به‌دست آمده است).

بهینه‌سازی شرایط استخراج عصاره هیدروالکلی جلبک

پودر ریزجلبک *N. oculata* به صورت خشک شده (انجماد در خلاء) از پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان (ایستگاه بندرلنگه) تهیه و در شرایط دمایی خنک به محل انجام تحقیق منتقل گردید. جهت تهیه عصاره هیدروالکلی مقادیر ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم پودر ریزجلبک با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و الکل اتیلیک ۹۶ درجه به نسبت ۱ به ۱ مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی نگه‌داری شد. هر ۱۶ ساعت محتویات ارلن به مدت ۲۵ دقیقه بهم‌زده شد. پس از ۴۸ ساعت محتویات ارلن به‌وسیله کاغذ صافی، صاف شد و مایع صاف شده در دستگاه تبخیرگر چرخان تحت خلأ در دماهای ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰، ۷۰ و ۱۲۰ دقیقه عصاره‌گیری گردید. عصاره تغلیظ شده در پتری‌دیش‌های استریل ریخته و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد (Salehi *et al*., 2005). عصاره‌های به‌دست آمده از نظر فعالیت مهار رادیکال DPPH[1] مورد آزمایش قرار گرفته و بهترین دما، زمان و درصد ماده خشک به حلال به عنوان شرایط بهینه استخراج مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱).

[1] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

بررسی قدرت خنثی کردن رادیکال‌های آزاد (DPPH) با استفاده از عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رادیکال‌های پایدار ۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل-هیدرازیل (DPPH) طبق روش Brand-Williams و همکاران (۱۹۹۵) انجام شد. دو میلی لیتر از عصاره جلبکی به دو میلی‌لیتر از محلول اتانولی ۱۶٪ میلی مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده و به مدت یک دقیقه با دستگاه ورتکس به‌خوبی مخلوط و ۳۰ دقیقه در دمای محیط و در تاریکی نگهداری شدند. جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر و با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH مطابق فرمول ذیل محاسبه و به صورت درصد RSA محاسبه شد:

RSA% = [1-(Asample-Asample blank)/Acontrol]*100

Asample= جذب نمونه و محلول DPPH بعد از زمان موردنظر، Acontrol= جذب محلول DPPH بدون نمونه، Asmple blank= جذب نمونه DPPH بدون محلول

تیمارهای روغن ماهی تون زردباله حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس با غلظت‌های ۳۵۰، ۵۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (Alavi and Golmakani, 2017) به میزان ۳ درصد به روغن ماهی (Jafarpour *et al*., 2017) اضافه شد. مدت زمان نگهداری ۵۶ روز بوده و نمونه‌ها در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲، ۴۹ و ۵۶ مورد آزمایش قرار گرفتند. تیمارهای مورد بررسی به قرار ذیل می‌باشند:

۱-تیمار روغن ماهی بدون افزودنی (شاهد)

۲-تیمار روغن ماهی حاوی ۳۵۰ (W/W) میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

۳- تیمار روغن ماهی حاوی ۵۵۰ (W/W) میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

۴- تیمار روغن ماهی حاوی ۱۰۰۰ (W/W) میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

۵- تیمار روغن ماهی حاوی BHT

اندازه‌گیری شاخص پراکسید در روغن ماهی تون زردباله حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

۰/۳ گرم روغن ماهی تون زرد باله داخل یک ارلن ۵۰ میلی‌لیتری توزین و ۱۰ میلی‌لیتر اسید استیک کلروفرمی به روغن ماهی تون زرد باله افزوده و همراه با تکان دادن ظرف حل گردید. ۱ میلی‌لیتر محلول یدید پتاسیم اشباع به محلول درون ارلن اضافه و به مدت ۱ دقیقه همراه با تکان شدید و ثابت، نگهداری شد. پس از طی این زمان، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. سپس به ۱ میلی‌لیتر از محلول مقدار ۱ درصد نشاسته اضافه و تکان داده شد تا رنگ محلول به صورت بنفش درآمد. محلول با استفاده از تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تا ناپدید شدن رنگ بنفش تیتر گردید. هم زمان یک آزمایش شاهد (بدون افزودن روغن یا چربی استخراجی) نیز آزمایش شد (AOAC, 2002). محاسبه PV براساس فرمول ذیل انجام شد:

$$PV= [(S-B) \times N\times 1000\}]/ W$$

S= حجم میلی‌لیتر تیوسولفات سدیم مورد نیاز برای تیتر کردن نمونه، B= حجم میلی‌لیتر تیوسولفات سدیم لازم برای نمونه شاهد، N= نرمالیته محلول تیوسولفات سدیم، W= وزن نمونه (گرم)

اندازه‌گیری شاخص تیوباربیتوریک اسید در روغن ماهی تون زرد باله حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

۱ گرم روغن ماهی تون در ۱۰ میلی‌لیتر کربن تتراکلروئید حل و ۱۰ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید (۰/۶۷ درصد محلول تیوباربیتوریک اسید با اسید سیتریک خالص مخلوط شد) به آن اضافه و به مدت ۵ دقیقه با دور g × ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شد. لایه بالایی جدا و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید. شاهد به‌وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال ۱- بوتانل پس از فیلتر شدن به‌دست آمد (AOAC, 1990).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

اندازه‌گیری شاخص اسیدهای چرب آزاد در روغن ماهی تون زرد باله حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

۳ گرم روغن در ۵۰ میلی‌لیتر مخلوط نوتریال اتر-اتانول (۱:۱ v/v) حل و مخلوط با استفاده از دست همزده شد. پس از سرد شدن در دمای اتاق، مخلوط با استفاده از پتاسیم هیدروکسید ۰/۰۱ مولار تیتر گردید. فنول فتالئین (۱۰ گرم بر لیتر) به عنوان اندیکاتور استفاده شد. میزان اسیدهای چرب آزاد (meq/kg) بر اساس فرمول ذیل محاسبه گردید (Zhang *et al*., 2015):

$$FFA\ (mg/g)=(V\times C\times 56.11)/m$$

V= میزان پتاسیم هیدروکسید (میلی‌لیتر)؛ C= غلظت پتاسیم هیدروکسید (مول در لیتر) و m جرم نمونه روغن ماهی (گرم)

اندازه‌گیری شاخص ρ-آنیسیدین در روغن ماهی تون زرد باله حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

برای اندازه‌گیری این شاخص، محلول ۰/۵ گرم روغن در بالون ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری با n- هگزان به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از این محلول با یک میلی‌لیتر از محلول ۰/۲۵ درصد ρ -آنیسیدین در اسیداستیک گلاسیال مخلوط و پس از ۱۰ دقیقه جذب در طول موج ۳۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل DR-2800 خوانده شد (AOAC, 2002).

$$\text{عدد آنیسیدین} = \frac{25\times(1.2AS-AB)}{W}$$

AS= میزان جذب محلول حاوی نمونه، AB= میزان جذب محلول حاوی نمونه خالص، W= وزن نمونه (گرم)

اندازه‌گیری شاخص Totax valve در روغن ماهی تون زرد باله حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

شاخص TV نشان دهنده مقدار کل تولید اکسیداسیونی اولیه و ثانویه بود و با استفاده از شاخص پراکسید وρ - آنیسیدین با استفاده از فرمول ذیل دست آمد (Frankel, 2012):

$$2PV + AV\ (p\text{-anisidine value}) = TV\ (meqKg^{-1})$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

طراحی آزمایش با استفاده از نرم‌افزار Design Expert (ورژن ۱۱) با استفاده از روش آماری سطح پاسخ انجام شد. در این روش برای بهینه‌سازی استخراج عصاره هیدروالکلی جلبک، زمان، دما و نسبت حلال به نمونه جلبک در نظر گرفته شد. با توجه به طراحی فاکتوریل در آنالیز سطح پاسخ، طراحی مرکب مرکزی در نظر گرفته شد. بعد از بررسی نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) انجام گرفت. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

اثرات متقابل سه گانه متغیرهای مؤثر در استخراج عصاره جلبک بر روی قدرت آنتی اکسیدانی

با توجه به جدول ۱، p-value مدل انتخابی کمتر از ۰/۰۰۰۱ بوده و معنی‌دار نبودن فاکتور عدم برازش در سطح اطمینان ۹۵٪ نیز تأیید کننده مناسب بودن مدل منتخب است. برازش داده‌های به‌دست آمده برای فعالیت مهار DPPH بر اساس مدل چند جمله‌ای درجه دوم صورت گرفت. با توجه به جدول ۲ تجزیه واریانس اثرات خطی دما، زمان و نسبت حلال به ماده خشک و اثرات متقابل دما و زمان و دما و نسبت حلال به ماده خشک در سطح ۰/۰۵ بر فعالیت مهار DPPH معنی‌دار بودند.

اثر زمان بر فعالیت مهار DPPH با استفاده از عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

تأثیر متغیر مستقل زمان در سطوح (۲۰، ۷۰ و ۱۲۰ دقیقه) بر فعالیت مهار DPPH درحالی‌که دو متغیر دما و نسبت حلال به ماده خشک در نقطه مرکزی ثابت نگه داشته شوند در شکل ۱ نشان داده شده است. افزایش

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

زمان از ۲۰ به ۱۲۰ دقیقه منجر به افزایش فعالیت مهار DPPH از ۳۱/۲۰ درصد به ۶۲/۲۶ درصد و افزایش نسبت حلال منجر به افزایش فعالیت مهار DPPH از ۲۹/۹۶ درصد به ۶۴/۸۳ درصد به‌وسیله عصاره شد. در خصوص دما، با افزایش دما تا حدود ۵۱/۹۷ فعالیت مهار DPPH به‌وسیله عصاره نانوکلروپسیس نسبتاً ثابت بود و با افزایش بیشتر دما فعالیت مهار DPPH کاهش یافت.

جدول ۱: اثرات متقابل سه گانه متغیرها بر فعالیت مهار DPPH

Table 1: Triple interactions of variables on DPPH inhibition activity

Run	زمان (دقیقه)	دما (درجه سانتی‌گراد)	نسبت حلال به ماده خشک (میلی‌لیتر در گرم)	فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH
۱	۷۰	۹۰	۱۰	۲۹/۱۴
۲	۲۰	۷۰	۱۰	۱۴/۱۵
۳	۲۰	۵۰	۲۰	۲۱/۲۱
۴	۷۰	۷۰	۲۰	۴۵/۲۴
۵	۲۰	۹۰	۲۰	۳۲/۰۲
۶	۱۲۰	۵۰	۲۰	۶۸/۳۴
۷	۷۰	۵۰	۱۰	۲۴/۵۱
۸	۷۰	۹۰	۳۰	۴۷/۱۵
۹	۷۰	۷۰	۲۰	۵۱/۱۷
۱۰	۷۰	۷۰	۲۰	۵۱/۱۹
۱۱	۷۰	۷۰	۲۰	۵۲/۹۷
۱۲	۱۲۰	۷۰	۱۰	۳۷/۲۵
۱۳	۷۰	۵۰	۳۰	۷۴/۴۹
۱۴	۷۰	۷۰	۲۰	۵۳/۲۱
۱۵	۱۲۰	۹۰	۲۰	۵۱/۳۶
۱۶	۲۰	۷۰	۳۰	۴۴/۵۴
۱۷	۱۲۰	۷۰	۳۰	۷۷/۸۱

اثرات متقابل زمان و دما بر فعالیت مهارDPPH با استفاده از عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

نمودار سه بعدی سطح پاسخ اثرات متقابل فاکتورهای زمان (۲۰-۱۲۰ دقیقه) و دما (۹۰-۵۰) بر فعالیت مهار DPPHدرحالی‌که نسبت حلال به ماده خشک در نقطه مرکزی ۲۰ میلی‌لیتر بر گرم ثابت نگه داشته شد، در شکل ۲ قابل مشاهده است. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود، افزایش زمان در سطوح پایین و دمای بالا منجر به افزایش فعالیت مهارDPPH شد. اما این تأثیر در دمای پایین بیشتر بود.

اثرات متقابل زمان و نسبت حلال به ماده خشک بر فعالیت مهار DPPH

اثرات متقابل زمان (۹۰-۲۰ دقیقه) و نسبت حلال به ماده خشک (۳۰-۱۰ میلی‌لیتر بر گرم) درحالی‌که دما در نقطه مرکزی ثابت می‌باشد در نمودارهای سه بعدی سطح پاسخ در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود، افزایش زمان در تمام سطوح نسبت حلال به ماده خشک باعث افزایش فعالیت مهار DPPH شد.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

جدول ۲: تجزیه واریانس اثرات متقابل سه گانه متغیرها بر فعالیت مهار DPPH عصاره استخراجی

Table 2: Analysis of variance of the three interactions of variables on the DPPH inhibitory activity of the extract

منبع	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
مدل	۵۰۶۴/۶۲	۹	۵۶۲/۷۴	۴۳/۸۹	<۰/۰۰۰۱	
A-Time (min)	۱۸۸۶/۲۱	۱	۱۸۸۶/۲۱	۱۴۷/۱۱	<۰/۰۰۰۱	
B-Temperature (°C)	۱۰۴/۲۶	۱	۱۰۴/۲۶	۸/۱۳	۰/۰۲۴۶	
C-Water to the raw material ratio (mL/g)	۲۴۱۳/۰۴	۱	۲۴۱۳/۰۴	۱۸۸/۲۰	<۰/۰۰۰۱	
AB	۱۹۳/۰۷	۱	۱۹۳/۰۷	۱۵/۰۶	۰/۰۰۶	significant
AC	۲۵/۸۶	۱	۲۵/۸۶	۲/۰۲	۰/۱۹۸۶	
BC	۲۵۵/۵۲	۱	۲۵۵/۵۲	۱۹/۹۳	۰/۰۰۲۹	
A^2	۶۵/۸۴	۱	۶۵/۸۴	۵/۱۳	۰/۰۵۷۸	
B^2	۵۳/۶۴	۱	۵۳/۶۴	۴/۱۸	۰/۰۸۰۱	
C^2	۴۷/۶۶	۱	۴۷/۶۶	۳/۷۲	۰/۰۹۵۲	
Residual	۸۹/۷۵	۷	۱۲/۸۲			
Lack of Fit	۴۸/۰۴	۳	۱۶/۰۱	۱/۵۴	۰/۳۳۵۴	not significant
Pure Error	۴۱/۷۱	۴	۱۰/۴۳			
Cor Total	۵۱۵۴/۳۷	۱۴				
R^2	۰/۹۸۲					
Adjusted R^2	۰/۹۶۰					
درصد تغییرات	۷/۸۵					

اثرات متقابل دما و نسبت حلال به ماده خشک بر فعالیت مهار DPPH با استفاده از هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

اثرات متقابل دمای استخراج (۹۰-۲۰) و نسبت حلال به ماده خشک (۳۰-۱۰ میلی‌لیتر بر گرم) درحالی‌که زمان در نقطه مرکزی ثابت می‌باشد در نمودارهای سه بعدی سطح پاسخ در شکل ۴ نشان داده شده است. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود، افزایش نسبت حلال به ماده خشک در تمام سطوح دما منجر به افزایش فعالیت مهار DPPH شد. اما این تأثیر سطوح پایین دما بیشتر بود.

بهینه سازی فعالیت مهار DPPH توسط عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

برای بهینه‌سازی فعالیت مهار DPPH از نرم افزار Design Expert استفاده شد. در شکل ۵ تأثیر متغیرها بصورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از روش سطح پاسخ می‌توان چنین اظهار کرد که شرایط عملیاتی بهینه برای بیشینه فعالیت مهار DPPH ۷۹/۲۵ درصد، زمان ۸۶/۰۳ دقیقه، دما ۵۰/۵۷ درجه سانتی‌گراد و نسبت حلال به ماده خشک ۲۹/۵۳ میلی‌لیتر بر گرم بود.

پروفایل اسیدچرب روغن ماهی تون زرد باله

بر اساس پروفایل اسید چرب روغن ماهی تون در جدول ۳، اسیدهای چرب C16:0، C18:1ω9 و C22:6ω3 DHA بالاترین درصد فراوانی را داشتند. اسیدهای چرب بدون پیوند دوگانه ۳۸/۲۸ درصد از اسیدهای چرب روغن تون و ۸۱/۱۶ درصد اسیدهای چرب دارای پیوند دو یا چند گانه بودند.

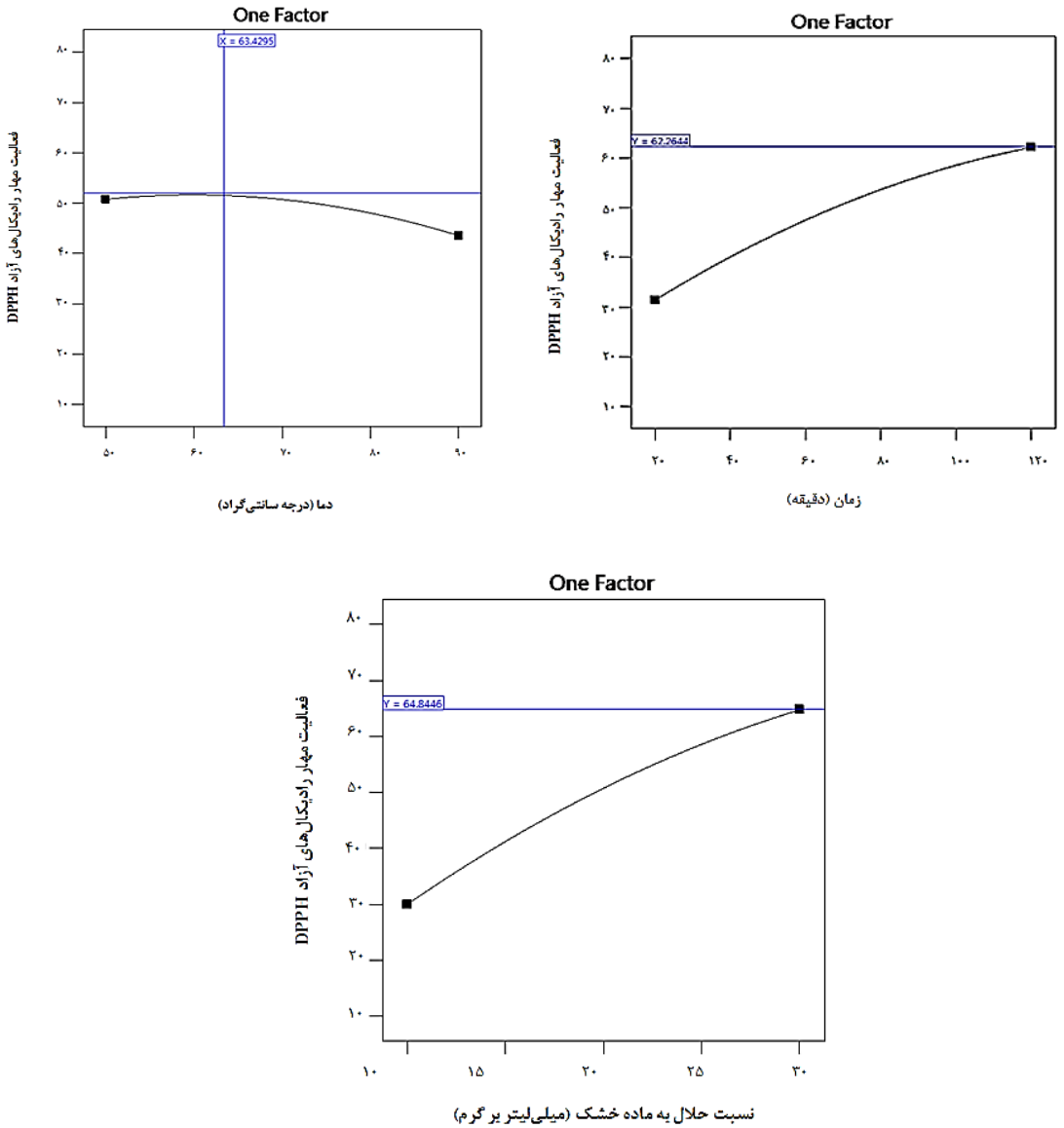
تأثیر افزودن عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس بر شاخص‌های سینتیکی روغن ماهی تون زرد باله

در جدول ۴، مقادیر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس نشان داده شده است. قدرت آنتی اکسیدانی یا AOP در تیمارهای روغن ماهی تون حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک با غلظت

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بالاترین میزان را داشت. کمترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در تیمار BHT اندازه‌گیری شد (P<۰/۰۵).



شکل ۱: اثر متغیر مستقل بر فعالیت مهار DPPH توسط هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

Figure 1: Effect of independent variable on DPPH inhibition activity by hydroalcoholic *N. oculata*

تأثیر افزودن عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس بر شاخص پراکسید، TBA[1]، ρ – Anisidine و Totax Value روغن ماهی تون زرد باله

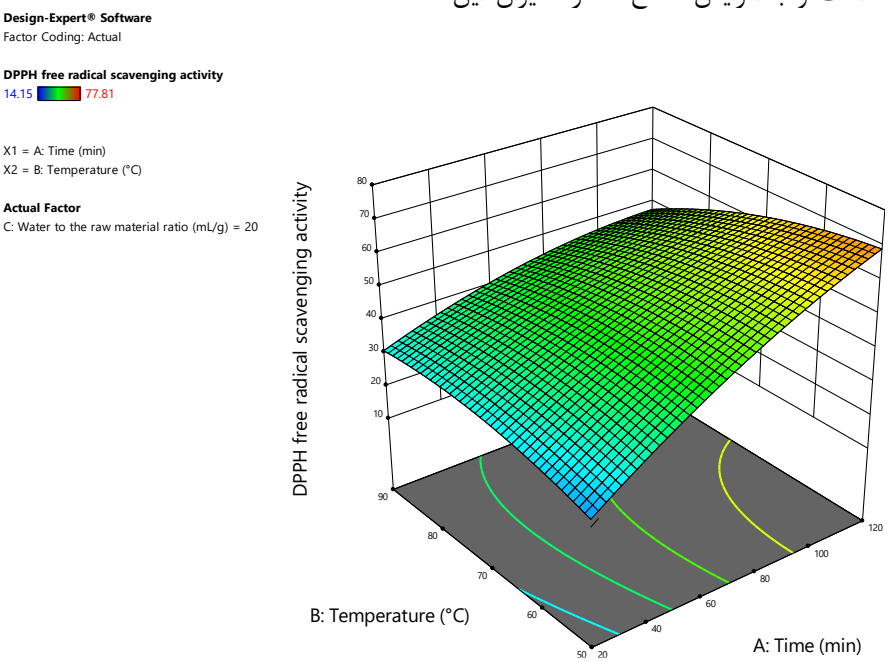
با توجه به نتایج جدول ۵، شاخص‌های اکسیداسیون پراکسید، TBA، ρ–Anisidine و Totax Value در تیمارهای دارای عصاره، شاهد و نیز BHT (Butylated

[1] Thiobarbituric Acid

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

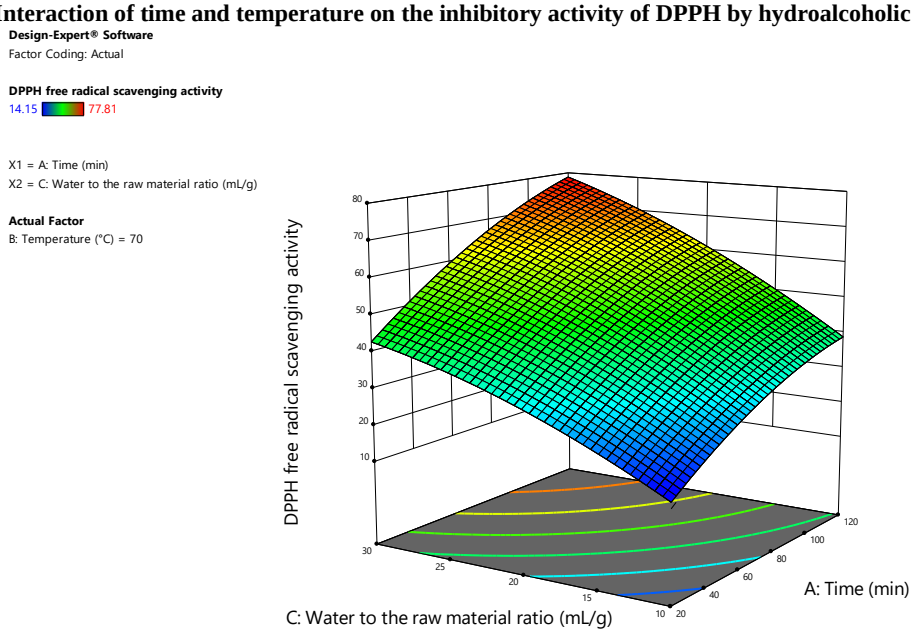
[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

hydroxytoluene) روند افزایشی داشته است و در انتهای دوره (روز ۵۶ نگهداری) به بالاترین میزان خود رسید (P<۰/۰۵) و در تمامی روزهای نگهداری به‌جز روز صفر، تیمار شاهد با اختلاف معنی‌دار در مقایسه با سایر تیمارها بالاترین میزان شاخص‌های اکسیداسیونی را در روغن ماهی تون زرد باله داشت و با افزایش سطح عصاره میزان این شاخص‌ها کاهش یافت (P<۰/۰۵). میزان پراکسید و TBA (از روز ۳۵ نگهداری) در تیمار BHT بالاتر از تیمارهای دارای ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره جلبکی بود، اما در مقایسه با غلظت‌های ۳۵۰ و ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر مقدار کمتری داشت (P<۰/۰۵) (جدول ۶).



شکل ۲: اثر متقابل زمان و دما بر فعالیت مهار DPPH به‌وسیله هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

Figure 2: Interaction of time and temperature on the inhibitory activity of DPPH by hydroalcoholic *N. oculata*

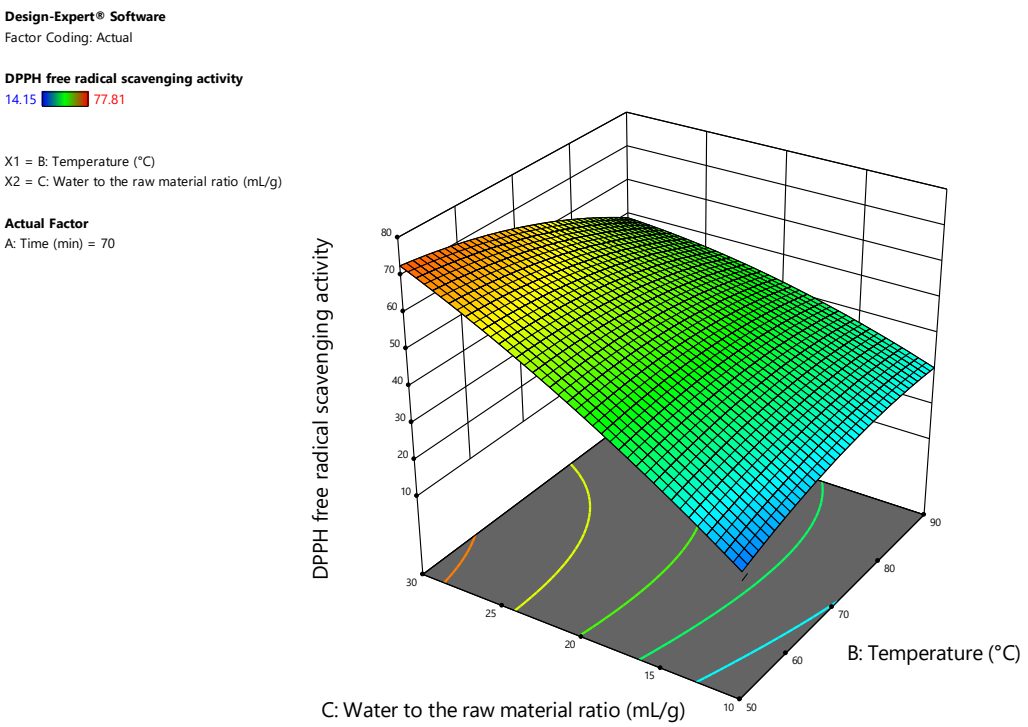


شکل ۳: اثر متقابل زمان و نسبت حلال به ماده خشک بر فعالیت مهار DPPH به‌وسیله هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

Figure 3: Interaction of time and solvent-to-dry matter ratio on DPPH inhibition activity by hydroalcoholic *N. oculata*

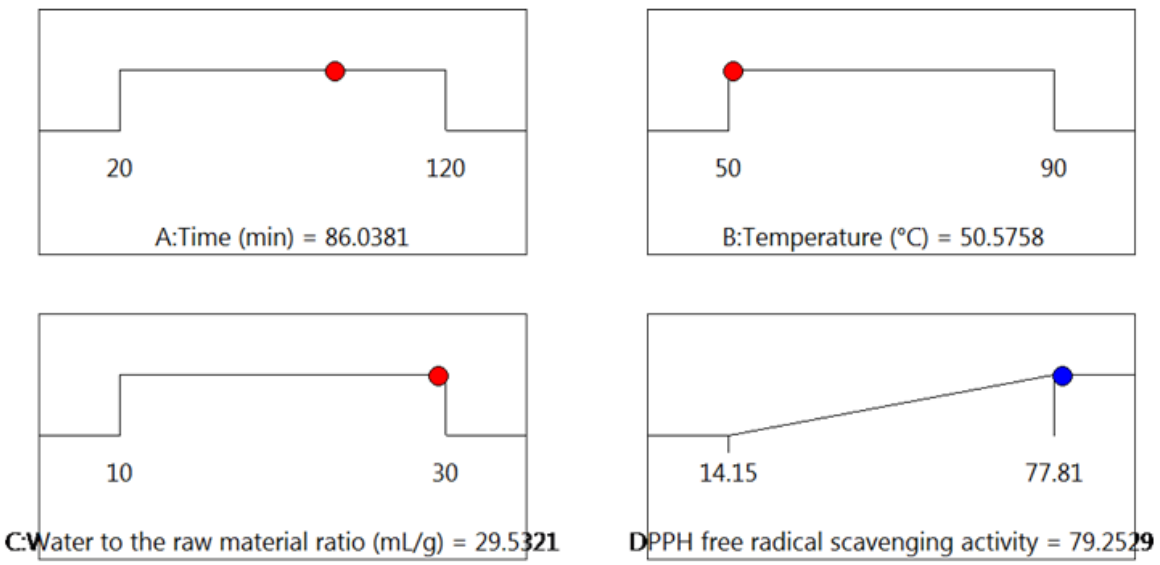
[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]



شکل ۴: اثر متقابل دما و نسبت حلال به ماده خشک بر فعالیت مهار DPPH به‌وسیله هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

Figure 4: Interaction of temperature and solvent to dry matter ratio on DPPH inhibition activity by hydroalcoholic *N. oculata*



شکل ۵: بهینه سازی فعالیت مهار DPPH به‌وسیله هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

Figure 6: Optimization of DPPH inhibition activity by hydroalcoholic *N. oculata*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

جدول ۳: پروفایل اسیدچرب روغن ماهی تون
Table 3: Fatty acid profile of tuna oil

ردیف	درصد	ترکیب	ردیف	درصد	ترکیب
۱	۰/۱۱±۳/۵۱	C14:0	۱۵	۱/۸۹±۰/۳۳	C18:3ω3
۲	۰/۲۳±۲۵/۰۸	C16:0	۱۶	۱/۴۷±۰/۰۶	C20:3ω3
۳	۰/۰۱±۰/۹۰	C17:0	۱۷	۳/۱۲±۰/۵۱	C20:4ω6
۴	۰/۲۷±۸/۱۱	C18:0	۱۸	۶/۴۱±۱/۵۳	C20:5ω3EPA
۵	۰/۰۵±۰/۶۸	C20:0	۱۹	۳/۲۱±۰/۸۴	C21:5
۶	۰/۰۳±۱/۷۲	C14:1	۲۰	۲/۶۵±۰/۰۹	C22:5ω3DPA
۷	۰/۰۵±۱/۵۰	C16:1ω9	۲۱	۳۰/۱۵±۳/۲۱	C22:6ω3 DHA
۸	۰/۱۵±۷/۱۲	C16:1	۲۲	۳۸/۲۸	ΣSFA
۹	۱/۵۴±۱۳/۱۲	C18:1ω9	۲۳	۲۷/۰۵	ΣMUFA
۱۰	۰/۲۵±۳/۵۰	C18:1ω11	۲۴	۱/۴۱	ΣPUFA
۱۱	۰/۰۱±۰/۰۹	C18:1ω12	۲۵	۰/۱۲	ω6 / ω3
۱۲	۰/۰۵±۲/۳۱	C16:3	۲۶	۵۴/۱۱	PUFA/SFA
۱۳	۰/۰۷±۰/۵۴	C16:4	۲۷	۱/۸۹±۰/۳۳	C18:3ω3
۱۴	۰/۲۰±۲/۳۶	C18:2ω6	۲۸	۱/۴۷±۰/۰۶	C20:3ω3

جدول ۴: ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس
Table 4: Antioxidant compounds of hydroalcoholic extract of Nanochloropsis algae

ترکیبات فنولی (mg/g GAE)	ترکیبات فلانوئیدی (mg/g QE)	IC_{50} عصاره هیدروالکلی جلبک (µg/ml)
۱/۲۵ ۳۹/±۳۳	۲/۰۴ ۳۹/±۳۳	۱/۷۹ ۳۹/±۳۳

جدول ۵: نتایج پارامترهای سینتیکی روغن ماهی حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس
Table 5: Results of kinetic parameters of fish oil containing hydroalcoholic extract of Nanochloropsis algae

نمونه	PF (%)	AOP (%)	AA	IP (day)
شاهد	-	-	-	۰/۹۱ ± ۰/۰۴h
۳۵۰ میلی‌گرم بر لیتر	۳/۴۱ ± ۰/۷۸ e	۶۵/۱۵ ± ۰/۱۱ e	۶۵۹۷ ± ۶۵/۲۳ f	۲/۵۱ ± ۰/۰۳f
۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر	۷/۲۳ ± ۰/۳۴c	۷۵/۲۴ ± ۰/۱۵c	۸۳۴۵ ± ۵۵/۲۳d	۵/۱۲ ± ۰/۱۲c
۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر	۸/۳۶ ± 0/۹۹a	۸۵/۴۵ ± ۰/۵۵a	۹۰۲۳ ± ۶۱/۱۸b	۷/۱۱ ± ۰/۲۱a
BHT (۰/۰۱ درصد)	۱/۹۸ ± ۰/۰۴g	۶۰/۲۴ ± ۰/۱۸f	۱۰۳۴ ± ۲۳/۹۱a	۲/۱۱ ± ۰/۰۵e

حروف غیر مشابه به معنی‌اختلاف معنی‌دار بین پارامترها در هر ستون است ($p<۰/۰۵$)

از روز ۳۵ نگهداری، میزان ρ–Anisidine در تیمار BHT به‌جز نسبت به شاهد در مقایسه با سایر روغن‌های حاوی عصاره هیدروالکلی نانوکلروپسیس مقدار بالاتری داشت. با افزایش غلظت عصاره جلبکی از ۳۵۰ به ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر میزان ρ –Anisidine و Totax Value به شکل معنی‌داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). میزان Totax Value در تمام تیمارها روند افزایشی داشته است و از مقدار ۱۲/۱۳-۱۹/۸۵ در روز صفر به ۴۴/۴۶-۱۸۶/۵۳ در روز ۵۶ نگهداری رسید. اما میزان Totax Value در تیمار BHT از روز ۲۱ نگهداری در مقایسه با تیمارهای حاوی ۳۵۰ و ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی جلبک مقدار کمتری داشت ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

جدول ۶: نتایج اندازه‌گیری شاخص‌های اکسیداسیون در روغن ماهی تون حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس

Table 6: Results of measurement of oxidation indices in tuna oil containing hydroalcoholic extract of *N. oculata*

تیمار		دوره نگهداری (روز) ۰	۷	۱۴	۲۱	۲۸	۳۵	۴۲	۴۹	۵۶
PV(meq kg^{-1})										
شاهد		۵/۱۳ ± ۰/۰۷ aI	۹/۱۱ ± ۰/۰۵ aH	۱۲/۱۰ ± ۰/۱۱ aG	۱۶/۲۳ ± ۰/۱۶ aF	۲۲/۱۳ ± ۰/۱۵ aE	۳۵/۳۳ ± ۰/۲۱ aD	۴۷/۱۷ ± ۰/۳۴ aC	۶۱/۱۱ ± ۰/۹۱ aB	۷۸/۱۰ ± ۰/۱۲ aA
نانوکلروپسیس	۲۵۰ppm	۵/۱۰ ± ۰/۰۹ aI	۷/۲۳ ± ۰/۰۳ bH	۸/۱۲ ± ۰/۱۱ bG	۱۳/۱۱ ± ۰/۱۷ bF	۱۶/۲۲ ± ۰/۲۲ bE	۱۸/۳۴ ± ۰/۳۳ bD	۲۵/۱۵ ± ۰/۸۷ bC	۲۸/۱۰ ± ۰/۵۵ bB	۳۴/۱۶ ± ۰/۱۵ bA
	۵۵۰ppm	۵/۱۴ ± ۰/۰۹ aI	۶/۱۰ ± ۰/۰۶ cH	۷/۶۵ ± ۰/۱۱ cG	۱۱/۱۶ ± ۰/۲۱ cF	۱۲/۱۵ ± ۰/۲۳ cE	۱۶/۳۳ ± ۰/۲۴ cD	۱۹/۴۵ ± ۰/۵۷ cC	۲۵/۴۱ ± ۰/۶۱ cB	۳۰/۳۴ ± ۰/۴۵ cA
	۱۰۰۰ppm	۵/۱۰ ± ۰/۰۳ aI	۵/۴۱ ± ۰/۰۴ eH	۵/۴۵ ± ۰/۱۵ dG	۶/۲۴ ± ۰/۱۱ eF	۶/۲۶ ± ۰/۲۳ eE	۷/۱۱ ± ۰/۲۳ dD	۸/۱۲ ± ۰/۲۳ dC	۱۰/۱۷ ± ۰/۲۴ dB	۱۳/۱۷ ± ۰/۵۵ dA
	BHT	۵/۳۱ ± ۰/۰۸ aI	۶/۲۹ ± ۰/۰۳ dH	۸/۱۹ ± ۰/۱۷ bG	۹/۱۱ ± ۰/۲۵ dF	۱۰/۰۹۹ ± ۰/۱۱ dE	۱۶/۱ ± ۰/۴۵ cD	۲۰/۲۳ ± ۰/۴۴ cC	۲۸/۱۸ ± ۰/۹۲ bB	۳۰/۴۳ ± ۰/۴۱ cA
TBA (mg MDA kg^{-1})										
شاهد		۰/۰۷ ± ۰/۰۱ aI	۰/۱۶ ± ۰/۰۱ aH	۰/۶۰ ± ۰/۰۱ aG	۰/۹۰ ± ۰/۰۶ aF	۱/۲۰ ± ۰/۰۴ aE	۱/۸۰ ± ۰/۰۳ aD	۲/۳۶ ± ۰/۰۴ aC	۳/۵۵ ± ۰/۱۰ aB	۴/۱۰ ± ۰/۱۱ aA
نانوکلروپسیس	۲۵۰ppm	۰/۰۵ ± ۰/۰۱ cI	۰/۱۲ ± ۰/۰۱ bcH	۰/۲۲ ± ۰/۰۴ cG	۰/۴۰ ± ۰/۰۳ cF	۰/۷۰ ± ۰/۰۳ bE	۰/۹۰ ± ۰/۰۵ bD	۱/۱۱ ± ۰/۰۲ bC	۱/۲۵ ± ۰/۰۵ bB	۱/۷۸ ± ۰/۰۶ bA
	۵۵۰ppm	۰/۰۵ ± ۰/۰ cI	۰/۱۰ ± ۰/۰۱ cH	۰/۱۴ ± ۰/۰۲ dG	۰/۲۳ ± ۰/۰۲ dF	۰/۵۰ ± ۰/۰۳ cE	۰/۷۰ ± ۰/۰۱ cD	۰/۹۰ ± ۰/۰۲ cC	۱/۰۱ ± ۰/۰۴ cB	۱/۴۱ ± ۰/۱۴ cA
	۱۰۰۰ppm	۰/۰۵ ± ۰/۰۰ cI	۰/۱۰ ± ۰/۰۱ cH	۰/۱۲ ± ۰/۰۳ dG	۰/۱۰ ± ۰/۰۱ eF	۰/۲۰ ± ۰/۰۶ dE	۰/۴۰ ± ۰/۰۵ dD	۰/۵۰ ± ۰/۰۶ eC	۰/۶۰ ± ۰/۰۱ dB	۰/۸۰ ± ۰/۱۵ eA
	BHT	۰/۰۶ ± ۰/۰۱ bcI	۰/۱۵ ± ۰/۰۲ abH	۰/۲۸ ± ۰/۰۱ bG	۰/۵۲ ± ۰/۰۳ bF	۰/۷۴ ± ۰/۰۲ bE	۰/۶۸ ± ۰/۰۲ cD	۰/۸۰ ± ۰/۰۶ dC	۱/۱۰ ± ۰/۰۸ cB	۱/۲۳ ± ۰/۰۷ dA
***p*-anisidine (mg kg^{-1})**										
شاهد		۲/۴۵ ± ۰/۰۵ bI	۶/۳۴ ± ۰/۲۳ aH	۸/۶۷ ± ۰/۹۳ aG	۱۱/۰۹ ± ۰/۰۹ aF	۱۶/۲۴ ± ۰/۵۴ aE	۲۰/۳۶ ± ۰/۲۴ aD	۲۳/۷۶ ± ۰/۸۸ aC	۲۶/۷۷ ± ۰/۲۴ aB	۳۰/۳۳ ± ۰/۴۳ aA
نانوکلروپسیس	۲۵۰ppm	۲/۱۶ ± ۰/۰۳ cI	۵/۱۴ ± ۰/۱۶ bH	۶/۳۳ ± ۰/۴۵ bG	۹/۱۶ ± ۰/۶۵ bF	۱۰/۲۵ ± ۰/۹۱ bE	۱۲/۱۱ ± ۰/۳۳ cD	۱۶/۵۱ ± ۰/۱۱ cC	۲۰/۱۸ ± ۰/۵۴ bB	۲۶/۱۱ ± ۰/۹۱ bA
	۵۵۰ppm	۲/۱۳ ± ۰/۰۲ cI	۳/۱۲ ± ۰/۲۱ dH	۴/۲۱ ± ۰/۳۳ dG	۷/۵۵ ± ۰/۶۱ cF	۹/۱۶ ± ۰/۳۴ cE	۱۱/۰۱ ± ۰/۴۵ dD	۱۴/۱۸ ± ۰/۹۹ dC	۱۷/۱۱ ± ۰/۲۲ dB	۲۳/۴۴ ± ۰/۰۳ cA
	۱۰۰۰ppm	۲/۱۱ ± ۰/۰۲ cI	۲/۱۱ ± ۰/۲۱ eH	۳/۲۲ ± ۰/۱۹ eG	۵/۲۳ ± ۰/۵۶ dF	۶/۵۵ ± ۰/۵۱ dE	۹/۳۱ ± ۰/۵۵ eD	۱۳/۱۰ ± ۰/۷۲ eC	۱۴/۱۸ ± ۰/۶۶ eB	۱۸/۱۲ ± ۰/۳۳ eA
	BHT	۳/۲۳ ± ۰/۰۴ aI	۴/۴۱ ± ۰/۱۶ cH	۵/۲۳ ± ۰/۵۴ cG	۷/۶۷ ± ۰/۳۲ cF	۹/۱۱ ± ۰/۴۳ cE	۱۵/۱۶ ± ۰/۷۱ bD	۱۷/۱۲ ± ۰/۴۴ bC	۱۹/۱۴ ± ۰/۵۲ cB	۲۲/۵۷ ± ۰/۵۴ dA
Totax valve										
شاهد		۱۲/۷۱ ± ۰/۵۶ bI	۲۴/۵۶ ± ۰/۲۳ aH	۳۲/۸۷ ± ۰/۴۱ aG	۴۳/۵۵ ± ۱/۸۴ aF	۶۰/۵ ± ۱/۲۲ aE	۹۰/۸۲ ± ۰/۰۳ aD	۱۱۸/۱ ± ۲/۷۶ aC	۱۴۸/۹۹ ± ۴/۹۵ aB	۱۸۶/۵۳ ± ۲/۹۶ aA
نانوکلروپسیس	۲۵۰ppm	۱۲/۳۶ ± ۰/۵۵ bI	۹/۶ ± ۰/۷۱ eH	۱۵/۳۲ ± ۰/۱۶ cH	۲۹/۸۷ ± ۲/۳۸ cF	۴۲/۷۳ ± ۰/۹۹ bE	۴۸/۸۷۹ ± ۰/۰۵ bD	۶۶/۸۱ ± ۰/۸۲ bC	۷۶/۳۸ ± ۱/۰۵ bB	۹۴/۴۳ ± ۲/۵۶ bA
	۵۵۰ppm	۱۲/۴۱ ± ۰/۶۶ bI	۱۲/۹۱ ± ۰/۸۱ dH	۱۹/۵۱ ± ۰/۳۵ dG	۳۳/۴۶ ± ۱/۶۳ cE	۱۹/۰۷ ± ۱/۵۴ dE	۴۳/۴۷ ± ۱/۲۷ cD	۵۳/۰۸ ± ۱/۹۲ dC	۶۷/۳۹ ± ۰/۰۲ dB	۸۴/۱۲ ± ۲/۲۴ cA
	۱۰۰۰ppm	۱۲/۳۱ ± ۰/۱۶ bI	۱۶/۹۹ ±/۵۶ bH	۱۴/۱۲ ± ۰/۵۱ eG	۱۷/۷۱ ± ۰/۳۷ eF	۲۵/۸۹ ± ۰/۶۱ dF	۳۱/۰۹ ± ۱/۰۲ cE	۴۷/۳۶ ± ۰/۱۵ bD	۵۷/۵۸ ± ۱/۸۵ cC	۷۵/۵ ± ۰/۲۸ cB
	BHT	۱۳/۸۵ ± ۰/۹۰ aI	۲۱/۶۱ ± ۰/۷۹ cG	۲۵/۸۹ ± ۰/۶۱ dF	۳۵/۳۸ ± ۰/۳۳ bF	۴۲/۷۳ ± ۰/۹۹ bE	۴۸/۸۷۹ ± ۰/۰۵ bD	۶۶/۸۱ ± ۰/۸۲ bC	۷۶/۳۸ ± ۱/۰۵ bB	۹۴/۴۳ ± ۲/۵۶ bA

حروف غیر مشابه بزرگ به معنی‌اختلاف معنی‌دار بین روزهای نگهداری است ($p<0/05$)

حروف غیر مشابه کوچک به معنی‌اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف عصاره جلبکی و BHT است ($p<0/05$)

بحث

مطالعه حاضر از دو مرحله تشکیل شده است. در مرحله اول شرایط بهینه استخراج عصاره هیدروالکلی از جلبک نانوکلروپسیس مورد بررسی و در بخش دوم تأثیر افزودن این عصاره به روغن ماهی و تأثیر آن بر کاهش اکسیداسیون مورد مطالعه قرار گرفت. آزمون شماره ۱۷ (زمان ۱۲۰ دقیقه، دما ۷۰ درجه سانتی‌گراد، نسبت ماده خشک به حلال ۳۰ میلی‌لیتر بر گرم) بالاترین بازده عصاره را از نظر مهار رادیکال‌های آزاد داشت. افزایش زمان استخراج از ۲۰ به ۱۲۰ دقیقه منجر به افزایش فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد به‌وسیله عصاره شد، زیرا درصد حضور ترکیبات فنولی موجود در عصاره با افزایش زمان استخراج افزایش می‌یابد (Rusak *et al.*, 2008). Nahvi و Babakhani (۲۰۱۶) در مطالعه بهینه‌سازی استخراج ترکیبات ضداکسیدانی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum angustifolium*) با رفلاکس حرارتی در روش تاگوچی عنوان کردند که در زمان‌های استخراج بالا میزان ترکیبات فنولی نیز افزایش می‌یابد و بهترین زمان را بین ۹۰، ۱۸۰ و ۲۷۰ دقیقه، ۲۷۰ دقیقه گزارش کردند.

در مطالعه Omidi و همکاران (۲۰۱۸) که بر استفاده از اسپیرولینا بر پایداری روغن کنجد انجام شد، میزان جذب رادیکال‌های آزاد DPPH با افزایش غلظت عصاره، افزایش معنی‌داری یافت، به شکلی که بالاترین میزان جذب در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و کمترین میزان جذب در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شد. همچنین افزایش دمای استخراج به بیش از ۵۰ درجه سانتی‌گراد (۷۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد) منجر به کاهش فعالیت مهار رادیکال‌های DPPH شد. محصولات اکسایش لیپیدی تحت شرایط حرارتی پایدار نمی‌باشد و شکسته می‌شوند که این موضوع زمینه را برای کاهش رادیکال‌های آزاد فراهم می‌آورد. در سیستم DPPH، آنتی‌اکسیدان‌ها با رادیکال پایدار DPPH واکنش می‌دهند و آن را کم‌رنگ یا بی‌رنگ می‌کنند و میزان کاهش رنگ با قدرت آنتی اکسیدانی نمونه رابطه مستقیم دارد و با افزایش غلظت ترکیبات فنلی یا درجه هیدروکسیلاسیون ترکیبات فنلی،

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

فعالیت مهار رادیکالی جلبک افزایش پیدا می‌کند (Vieira *et al*., 2001).

در مطالعه Babakhani Lashkan و همکاران (۲۰۱۳) افزایش توان ماکروویو عامل بهبود استخراج عصاره جلبکی *Sargassum angustifolium* معرفی کرد، اما توان بسیار بالا را به سبب افزایش دما عامل منفی معرفی و عنوان کردند که در دمای بالا سوختن و کف کردن نمونه‌ها رخ داده و این موضوع بازده استخراج را کاهش می‌دهد که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد.

نسبت ماده خشک به حلال یک نسبت مهم در بهینه‌سازی استخراج محسوب می‌شود. افزایش این نسبت درصد استخراج ترکیبات فنولی را افزایش می‌دهد که خود عامل افزایش توانایی مهار رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهد (Pinelo *et al*., 2005). در واقع، بالاترین نسبت ماده خشک به حلال دارای بیشترین میزان ماده جامد است (Spigno *et al*., 2007). افزایش نسبت حلال منجر به افزایش فعالیت مهار DPPH شد، زیرا در این شکل ماده مؤثر عصاره افزایش می‌یابد. در مطالعه Babakhani Lashkan و همکاران (۲۰۱۳) بر شرایط استخراج عصاره جلبکی *Sargassum angustifolium*، عصاره استخراجی با نسبت ۱ به ۲۰ جلبک به حلال دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی بود و میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی کل، خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد در این نسبت در مقایسه با سایر نسبت‌ها بالاتر بود. در واقع، شانس حضور ترکیبات زیست‌فعال در حلال با افزوده شدن حلال به سبب افزایش نرخ تراوش بالاتر می‌رود. در مطالعه حاضر، بازده فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی در نسبت حلال به ماده خشک برابر ۲۰ میلی‌لیتر بر هر گرم در مقایسه با ۳۰ میلی‌لیتر بر هر گرم بالاتر بود که به‌نظر می‌رسد، با افزایش بالای ماده خشک توانایی حلال در فرآیند، استخراج کاهش می‌یابد که این نتیجه در مطالعه Babakhani Lashkan و همکاران (۲۰۱۳) نیز مشاهد شده و افزایش میزان ماده خشک سبب کاهش توان حلال در استخراج ترکیبات فنولی از جلبک شد.

براساس پروفایل اسیدچرب، درصد بالایی (۸۱/۱۶ درصد) از روغن کبد ماهی تون زردباله، اسیدهای چرب با پیوند دوگانه است که سرعت اکسیداسیون را افزایش می‌دهد و این روغن را به‌شدت مستعد اکسیداسیون می‌کند. فرآورده حاصل از اکسایش اولیه چربی‌ها هیدروپراکسیدها هستند که این ترکیبات ناپایدارند و در مرحله دوم اکسایش پس از تجزیه، موادی نظیر آلدئیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، استرها، فوران‌ها و لاکتون‌ها را ایجاد می‌کنند. این مواد به عنوان عوامل تغییر بو و مزه در محصولات مطرح می‌باشند. پروفایل اسیدهای چرب روغن حاصل از ضایعات تن ماهیان نشان داد که حاوی مقادیر زیادی اسیدهای چرب غیراشباع با پیوند دوگانه به میزان ۲۸/۰۵ درصد است که در صورت نگهداری در شرایط نامساعد اکسیداسیون آن اتفاق می‌افتد (Taati Keley *et al*., 2018). مقادیر بالای دوکوزاهگزانوئیک اسید مشخصه اصلی خانواده تن ماهیان است. به دلیل حضور پیوندهای دوگانه زیاد در DHA و EPA اکسیداسیون آنها به‌سرعت اتفاق می‌افتد (Mahmoodi *et al*., 2017). در مطالعه‌ای دیگر بر پروفایل اسیدچرب روغن ماهی تن، میزان EPA و DHA به‌ترتیب ۶/۱۲ و ۲۵/۲۶۳ درصد مشخص گردید. در این مطالعه از طریق نانوامولسیون روغن به همراه کورکومین زردچوبه نسبت به کاهش اکسیداسیون اقدام کردند (Shehzad *et al*., 2021).

آزمایشی که به طور گسترده جهت اندازه‌گیری مقدار فساد اکسایشی چربی‌ها به‌کار گرفته می‌شود، شاخص TBA و PV[1] است (Chouliara *et al*., 2004). در مطالعه حاضر، با افزایش زمان نگهداری تا ۵۶ روز در تمام تیمارهای دارای عصاره میزان پراکسید و TBA افزایش یافت. در مطالعه Omidi و همکاران (۲۰۱۸) نیز روند افزایش مقدار پراکسید و TBA با زمان مشاهده شد و افزایش غلظت، کاهش میزان پراکسید روغن کنجد را به‌همراه داشت که با توجه به کاهش میزان اکسیداسیون با افزایش غلظت عصاره هیدروالکلی از ۳۵۰ به ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. مقدار قابل‌قبول پراکسید بر اساس استاندارد IFOMA در روغن ماهی تصفیه نشده، تا محدوده ۲۰ میلی‌اکی والان بر کیلوگرم تعیین شده است (Bimbo, 1998) که در تیمار شاهد (تا

[1] Peroxide Value

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

روز ۲۱) و در تیمار حاوی ۲۵۰ (تا روز ۲۵) میلی‌گرم بر لیتر و در تیمار حاوی ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و BHT (تا روز ۴۲) از محدوده مجاز عبور کرد. میزان پراکسید در تیمار حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تا انتهای دوره در محدوده مجاز قرار داشت.

شاخص AV[1] میزان ترکیبات کربونیل و اساساً ۲-الکالین‌ها را نشان می‌دهد. در واقع، این شاخص برای اندازه‌گیری مولکول‌های اشباع با وزن بالا به ترکیبات کربونیل در تری‌گلیسرول‌ها مربوط می‌شود (Frankel, 2012) که نشان‌دهنده اکسیداسیون چربی است که روندی مشابه با پراکسید و TBA را در نمونه‌های روغن ماهی نشان داد. در واقع، عدد پراکسید و نیز مقادیر AV و TBA به غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها بستگی دارد (Chouliara *et al*., 2004). زیرا افزایش گرادیان غلظت و در نتیجه افزایش ضریب انتشار آنتی‌اکسیدان در حضور غلظت‌های بالای عصاره اتفاق می‌افتد که باعث افزایش زمان رسیدن به حالت تعادلی می‌شود که حداکثر بازده در زمان ۱۲۰ دقیقه را نیز توجیه می‌کند. حد مجاز AV حداکثر ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین شده است (Codex, 2001) که به‌جز تیمار شاهد در روز ۵۶ در سایر روزها روغن در محدوده استاندارد قرار داشت.

همچنین کاهش TBA در روغن ماهی تون حاوی جلبک ناشی از حضور ترکیباتی آنتی‌اکسیدانی همانند الفا و بتا کاروتن، گزانتافیل، کریپتوزانتین، زئازانتین، ویتامین C، توکوفرول و ترکیبات پلی‌فنولیک است که در جلبک‌هایی با منشأ دریایی وجود دارد، باشد (Deng and Chow, 2010). براساس مطالعه Boran و همکاران (۲۰۰۶) TBA در محدوده ۸-۷ میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید بر کیلوگرم نمونه، نشان‌دهنده روغن ماهی با کیفیت خوب است که تمام تیمارها در محدوده مجاز در این محدوده قرار داشتند.

Colla و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که پورد جلبک اسپیرولینا قادر به تأخیر در فرآیند اکسیداسیون و کاهش تشکیل ترکیبات پراکسید است و می‌تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان کارآمد برای افزایش ماندگاری روغن سویا استفاده شود که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. همچنین احتمالاً زمانی که هسته (روغن ماهی) در مرکز کوآسروات (ریزکیسه‌های دارای غشای دو لایه) حاصل از برهمکنش عصاره هیدروالکلی جلبک‌ها قرار می‌گیرد، مواد دیواره به عنوان یک مانع فیزیکی از ترکیب اکسیژن با هسته جلوگیری و نرخ اکسایش را کنترل می‌نمایند (Chen *et al*., 2013). در مطالعه Jafarpour و همکاران (۲۰۱۷) افزودن نانوکپسول دارای آنتی اکسیدانی طبیعی (اسانس گل میخک) را در ایجاد ثبات و کنترل نرخ اکسایش روغن ماهی مؤثر دانستند.

افزودن عصاره هیدروالکلی جلبک سبب افزایش IP و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی شد. قدرت آنتی‌اکسیدانی ۱۰۰-۰ است و هر چقدر بزرگتر باشد، ماده مورد استفاده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری دارد. در غلظت‌های ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جلبک نانوکلروپسیس، قدرت آنتی‌اکسیدانی ۸۵/۴۵ درصد را نشان دادند که در مقایسه با BHT (۶۰/۲۴) بالاتر بود. در مطالعه Alavi و همکاران (۲۰۱۷) نیز افزودن کلرلا به روغن و افزایش غلظت آن سبب افزایش IP شد که این امر را ناشی از آزادسازی بسیار بالای ترکیبات زیست فعال از کلرلا دانستند که می‌تواند در مورد نانوکلروپسس نیز صادق باشد.

با توجه به نتایج، تیمارهای دریافت‌کننده عصاره جلبک، فاکتور حفاظتی و قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه BHT داشتند که نشان می‌دهد عصاره جلبکی در هر سه غلظت ۳۵۰، ۵۵۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر به‌خوبی می‌توانند جایگزین ترکیبات سنتتیک باشند. Golmakani و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی تأثیر عصاره جلبکی *Arthrospira platensis* بر پایداری اکسیداتیو روغن ماهی کیلکا (*Clupeonella cultriventris caspia*) ضمن بیان روند افزایشی فرآیند اکسیداسیون، حضور مواد آنتی‌اکسیدانی فنولی موجود در جلبک را عامل کاهش پراکسید و Totox value در روغن کیلکا معرفی کردند. فنول‌های موجود در عصاره جلبکی، آنتی‌اکسیدانی‌های موثری برای اسیدهای چرب چند غیراشباعی هستند و در واقع، با دادن اتم هیدروژن به

[1] Anisidine Value

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

رادیکال‌های پروکسیل، آن را تبدیل به فرم آریلوکسیل[1] می‌کنند که توانایی عملکرد به عنوان حامل زنجیره و جفت شدن با سایر رادیکال‌ها را ندارد و در نتیجه، مهار واکنش زنجیره‌ای رادیکال آزاد می‌گردد (Khatoon *et al.*, 2014). نتایج نشان داد که تفاوت در میزان پارامترهای مرتبط با اکسیداسیون در نمونه روغن حاوی عصاره جلبک نانوکلروپسیس در مقایسه با شاهد می‌تواند ناشی از حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در روغن ماهی تون مکمل شده باشد، زیرا حضور ترکیبات فلاونوئیدی (۳۹/۲۳ mg/gGAE در جلبک نانوکلروپسیس) و فلاونوئیدی (۴/۴۵ mg/gQE در جلبک نانوکلروپسیس) در ترکیب روغن سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تفاوت در دیاگرام اکسیداسیون این تیمارها در مقایسه با شاهد شده است. در مطالعه Alavi و همکاران (۲۰۱۶) حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در جلبک را عامل توانایی بالقوه روغن زیتون در برابر اکسیداسیون معرفی کردند.

یافته‌ها نشان داد زمان ۱۲۰ دقیقه، دمای استخراج ۵۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت حلال به ماده خشک (۳۰ میلی‌لیتر بر گرم) بهترین شرایط برای استخراج عصاره هیدروالکلی جلبک نانوکلروپسیس با بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. افزایش دما سبب کاهش و افزایش نسبت حلال به ماده خشک و زمان استخراج سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبکی استخراج شده، گردید. بدین‌ترتیب، غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره جلبکی نانوکلروپسیس دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با شاهد و BHT، جهت مهار افزایش شاخص‌های اکسیدانی پراکسید، TBA و *p*-anisidine بود.

منابع

Alavi, N. and Golmakani, M.T., 2017. Improving oxidative stability of olive oil: Incorporation of Spirulina and evaluation of its synergism with citric acid. *Grasas Y Aceites*, 68: 1-11. DOI: 10.3989/gya.0940162

AOAC., 1990. Official methods of analysis. AOAC, Arlington, VA: Washington DC, USA.

AOAC., 2002. Official methods of analysis of the association of the official analysis chemists. Association of Official Analytical Chemists, (14th ed.), Washington, DC New

Babakhani Lashkan, A., Rezaei, M., Rezaei, K. and Seifabadi, S.J., 2013. Use of Sargassum brown algae extract (*Angustifolium Sargassum*) as an antioxidant in keeping minced meat of common Kilka *Cultiventris clupeonella* in the refrigerator. Shilat Magazine. *Iranian Journal of Natural Resources*, 6: 1-13.

Belkouch, M., Hachem, M., Elgot, A., Van, A.L., Picq, M., Guichardant, M. and Bernoud-Hubac, N., 2016. The pleiotropic effects of omega-3 docosahexaenoic acid on the hallmarks of Alzheimer's disease. *The Journal of Nutritional biochemistry*, 38: 1-11. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2016.03.002

Bimbo, A.P., 1998. Guidelines for Characterizing Food-Grade Fish Oils. International News on Fats. *Fish Oils*, 9: 473-48. DOI: 10.3390/foods10071566

Boran, G., Karach, and Boran M., 2006. Food Chemistry.p. 94 L4 693698

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1): 25-30. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5

[1] Aryloxyl

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

Chen, Q., Mcgillivray, D., Wen, J., Zhong, F. and Quek, S.Y., 2013. Co-encapsulation of fish oil with phytosterol esters and limonene by milk proteins. *Journal of Food Engineering*, 117, 505-512. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2013.01.011

Chouliara, I., Savvaidis, I., Panagiotakis, N. and Kontominas, M., 2004. Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. *Food Microbiology*, 21: 351-359. DOI:10.1016/S0740-0020(03)00065-0

Christie, W.W., 1973. Lipid analysis: isolation, separation, identification and structural analysis of lipids. Oxford: Pergamon. p. 261-9.

Codex Alimentarius Commission, 2001. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius: Fats, Oils and Related Products, Vol. 8, Food & Agriculture Organization, Rome, Italy.

Colla L, Bertol, C.D., Ferreira, D.J., Bavaresco J. and Costa, J.A.V., 2017. Thermal and photo-stability of the antioxidant potential of *Spirulina platensis* powder. *Brazilian Journal of Biology*, 77 (2): 332-339. DOI: 10.1590/1519-6984.14315

Deng, R. and Chow, T.J., 2010. Hypolipidemic, antioxidant, and antiinflammatory activities of microalgae Spirulina. *Cardiovascular Therapeutics*, 28 (4):33-45. DOI: 10.1111/j.1755-5922.2010.00200.x.

Erickson, M.A., 2008. Lipid oxidation of muscle foods. In: Akoh, C.C., Min, D.B. (3rd Eds.), Food Lipids, Marcel Dekker. New York. pp. 299–320.

Frankel, E.N., 2012. Lipid Oxidation. Cambridge, UK, Woodhead Publishing Limited. 470 p.

GOED (Global Organization for EPA and DHA Omega-3s), 2018. About EPA and DHA. http://www.goedomega3.com/aboutepa-and-dha, March 19, 2018

Golmakani, M., Moosavi-Nasab, M., Keramat, M. and Mohammadi, M.A., 2018. Arthrospira platensis Extract as a Natural Antioxidant for Improving Oxidative Stability of Common Kilka (C*lupeonella cultriventris caspia*) Oil. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18:1315-1323. DOI: 10.4194/1303-2712-v18_11_08

Grassi, T., Sedlacek- Bassani, J. and Ponsano, E., 2020. Oxidative stability of tilapia feeds containing Saccharomyces cerevisiae and Spirulina platensis. *Animal Production*, 50:1-5. DOI: 10.1590/0103-8478cr20190344

Haliloğlu, H.I., Bayir, A., Sirkecioğlu, A.N., Aras, N.M. and Atamanalp, M., 2019. Comparison of fatty acid composition in some tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) living in seawater and freshwater. *Food Chemistry*, 86: 55-59. DOI:10.1016/j.foodchem.2003.08.028

Harith, Z.T., Yusoff, F. M. and Mohamed, M.S., 2009. Effect of different flocculants

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

on the flocculation performance of microalgae, Chaetoceros calcitrans, cells. *African Journal of Biotechnology* 8 (21): 5971-5978. DOI:10.5897/AJB09.569

Jafarpour, A., Sharifi, A. and Hosseini, M.H. 2017. Stability and control of oxidation rate of rainbow trout oil in nanocapsules containing clove essential oil (*Syzygium aromaticum*). *Iranian Journal of Fisheries*, 26: 68-57. DOI: 20.1001.1.10261354.1396.26.6.7.4

Jalili, S.H., Farhoosh, R., Koocheki, A. and Motallebi, A., 2019. Microencapsulated Kilka fish oil stability using functional properties of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin hydrolysate. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 27: 76- 86. DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118228

Karim, B., Rezaei, M. and Bahramifar, N., 2016. A comparision of yield and quality of the oil extracted from common kilka sprat (*Clupeonella cultriventris* caspia, Svetovidov, 1952) of the Caspian Sea with methods of wet reduction, soxhlet, supercritical fluid and ultrasound. Master's thesis. Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.

Khatoon, H., Rahman, N.A., Banerjee, S., Harun, N., Suleiman, S., Zakaria, N., Lananan, F., Hamid, S. and Endut, A., 2014. Effects of different salinities and pH on the growth and proximate composition of *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis sp*. isolated from South China Sea cultured under control and natural condition. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 95: 11-18. DOI:10.1016/j.ibiod.2014.06.022

Lupoae, P., Cristea, V., Borda, D., Lupoae, M., Gurau, G. and Dinica, R.M., 2015. Phytohemical Screeninj: Antioxidant and Antibacterial properties of Patampogeton species order to obtain valuablr feed additives. *Journal of Oleo Science*, 64: 1111-1123. DOI: 10.5650/jos.ess 15023.

Mahmoodi, V., Keramat, J., Hojjatoleslamy, M. and Molavi, H., 2017. Fatty acid profile and Quality of the oil extracted from Tuna Fish (*Katsuwonus pelamis, Thunnus albacares*) precooking liquid waste in canning factorys. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 70: 293-304.

McCune, L.M. and Johns, T., 2017. Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the Indigenous Peoples of the North American boreal forest. *Journal of Ethnopharmacology*, 82: 197–205. DOI: 10.1016/s0378-8741(02)00180-0.

Mousavipour, N., Bahaei, S., Moghimipour, E. and Moosavi-Nasab, M., 2021. Effect of Caulerpa sp. extract on improving the oxidation intensity of rainbow trout waste oil during storage at room temperature. *Journal of Fisheries*, 74 (2): 165- 179. DOI: 10.22059/jfisheries.2021.321311.1240**.**

Nahvi, Z. and Babakhani, A., 2016. Optimization of extraction of antioxidant compounds of brown algae (*Sargassum angustifolium*) with heat reflux. *Aquatic*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

exploitation and breeding, 5: 14-1. DOI: 20.1001.1.2345427.1395.5.3.1.0.

Namiki, M., 2017. Antioxidant/antimutagens in food science and nutrition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29: 273-300. DOI: 10.1080/10408399009527528

Ohse, S., Derner, R., Ozorio, R., Correa, R., Furlong, E. and Cunha, P., 2015. Lipid content and fatty acid profiles in ten species of microalgae. *IDESIA (Chile)*, 33: 93-101. DOI:10.4067/S0718-34292015000100010

Omidi, S.H., Sarhadi, H. and Shahdadi, F., 2018. Improvement of the Oxidative Stability of Sesame Oil Using Spirulina as a Natural Antioxidant. *Journal of Nutrition and Food Security*, 3(4): 209-217. DOI:10.18502/JNFS.V3I4.165; Corpus ID: 91309199.

Oujifard, A., Bagheri, D. and Zamani, L., 2021. Antioxidant effects of red alga (Gracilaria corticata) ethanol extract on the Shelf-life of Scomberomorus guttatus fish fillet stored at 4 ºC. *Journal of Fisheries*, 74 (2): 281-293. DOI: 10.22059/jfisheries.2021.317558.1223.

Pazouki, J., Alijani, A., Tehrani, D. and Shokri, M., 2012. Gelatin and Oil Extraction from Skin of Three Tuna Fish Species of Persian Gulf. *Fisheries Journal*, 65: 15-25. DOI: 10.22059/JFISHERIES.2012.24866

Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sinerio, J. and Josea, N.M., 2005. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2111-2117. DOI: 10.1021/jf0488110.

Rubio-Rodriguez, N., de-Diego-Rupérez, S., Beltran, S., Jaime, I., Sanz, M.T. and Rovira, J., 2008. Supercritical fluid extraction of the omega-3 rich oil contained in hake (*Merluccius capensis Merluccius paradoxus*) byproducts: study of the influence of process parameters on the extraction yield and oil quality. *Journal of Supercritical Fluids*, 47: 215-226. DOI: 10.1016/j.supflu.2008.07.007.

Rusak, G., Komes, D., Likic, S., Horzicb, D. and Kovac, M., 2008. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chemistry*, 110: 852-858. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.02.072

Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhar, F., Nejad Ebrahimi, S. and Yousefzadi, M., 2005. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and variousextracts of *Ziziphora clinopodioides* subs. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28: 1892-6. DOI: 10.1248/bpb.28.1892

Shehzad, Q., Rehman, A., Jafari, S.M., Zuo, M., Khan, M.A., Ali, A., Khan, S., Karim, A., Usman, M., Hussain, A. and Xia, W., 2021. Improvimg the oxidative stability of fish oil nanoemulsions by co-encapsulation with curcumin and

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

resveratrol. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 199: 111481-111490. DOI: org/10.1016/j.colsurfb.2020.111481

Spigno, G., Tramelli, L. and De Faveri, D.M., 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200–208. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021.

Taati Keley, M.H., Shabanppour, B. and Ojagh, M., 2018. Production of DHA-High Dosage Fish Oil from Tuna by-Products by Coupling of Supercritical Fluid Extraction (SFE) and Supercritical Fluid Chromatography (SFC). *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 13: 31-40.

Venugopal, V., 2009. Marine products for healthcare: function and bioactive nutraceutical compound from the ocean. CRC Press Taylor and Francis Group; Boca Raton, FL, USA, pp. 23-50.

Vieira, T.M.F.S., Marisa, A.B. and Regitano-d, A., 2001. Canola oil thermal oxidation during oven test and microwave heating. *LWT - Food Science and Technology*, 34: 215-221. DOI: 10.1006/fstl.2000.0735

Wanasundra, U.N. and Shahidi, F., 1996. Stabilization of seal blubber and menhaden oils by grean tea catechins extracts. *Journal of the American Oil Chemistts Society*, 7: 1183-90. DOI: 10.1007/BF02523382.

Wang, X., Yang, X., Chen, S., Li, Q., Wang, W., Hou, C., Gao, X., Wang, L. and Wang, S., 2016. Zinc oxide Nanoparticles affect biomass accumation and photosynthes in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 6: 1-9. DOI: 10.3389/fpls.2015.01243

Zhang, B., Ma, L.K., Deng, S.G., Xie, C. and Qiu, X.H., 2015. Shelf-life of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as affected by weakly acid ice electrolyzed waterice-glazing andmodified atmosphere packaging. *Food Control*, 51: 114–121. DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.11.016

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]

Oxidation control of tuna (*Thunnus albacares*) liver oil using *Nannochloropsis oculata* extract by a response surface analysis

Sharifi Asl M.[1]; Roomiani L.[2*]

*l.roomiani@yahoo.com

1–Department of Chemistry Engineering, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

2-Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

Abstract

In this study, in the first phase, the optimum extraction conditions of the extract (temperatures of 50, 70 and 90°C, duration of 20, 70 and 120 min and the ratio of dry matter to solvent of 10, 20 and 30 mL/g) algae *Nannochloropsis oculata* was examined. The antioxidant activity of the algal extracts in the first phase was calculated by measuring the radical inhibitory power of DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). In the second phase, the effect of adding the hydroalcoholic extract of *N.oculata* at 0, 350, 550 and 1000 mg/L in reducing the antioxidant activity of tuna oil was investigated. Treatment time of 120 minutes, temperature of 70°C, and dry matter to solvent ratio of 30 ml/g had the highest efficiency of the extract in terms of free radical scavenging.. The storage time was 56 days and the parameters of peroxide, TBA, and *p*-anisidine was measured in the tuna oil on 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 and 56 days. The highest antioxidant power was measured at 1000 mg/L (85.45±0.55%). The index values of peroxide, TBA, and p-anisidine of the tuna oil had an increasing trend with increasing in the storage time and reached its highest levels on day 56. The control group had the highest and the fish oil treatment 1000 mg/L hydrochloric extract of *N. oculata* had the lowest levels of oxidative indices. According to the results of treatments receiving hydroalcoholic extract of algae Nanochloropsis protective factor and antioxidant power compared to BHT, which shows that algal extract in all three concentrations of 350, 550 and 1000 mg/L can be well replaced with synthetic compounds.

Keywords: Optimization, Antioxidant avtivity, Hydroalcohyl extract, *Nanochloropsis oculata*, Yellowfin tuna oil

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2026-10-13]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.2.5.9]