مقاله علمی – پژوهشی:

اثر فاکتورهای دما، pH و زمان بر پایداری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین استخراج‌شده از میکروجلبک هماتوکوکوس (*Haematococcus pluvialis*)

رضا صفری*[۱]، مریم میربخش[۲]، هادی غفاری[۲]، سهیل ریحانی پول[۳]، رحیمه رحمتی[۱]، مجید ابراهیم‌زاده[۱]

*Safari1351@gmail.com

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۱

چکیده

یکی از فاکتورهای مهم در استفاده از رنگدانه‌های طبیعی در مواد غذایی مختلف، پایداری و حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها تحت شرایط تولید و نگهداری است. آستاگزانتین یکی از این رنگدانه‌های طبیعی است که ریزجلبک‌ها یکی از منابع آن محسوب می‌شوند. در تحقیق حاضر، پس از استخراج آستاگزانتین از جلبک هماتوکوکوس (*Haematococcus pluvialis*) به روش ترکیبی (HCL-استون)، اثر پارامترهای دما، pH و زمان بر پایداری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت کاهندگی یون فریک) آن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر فاکتورهای دما، pH و زمان هر یک به تنهایی و اثرات متقابل بین زمان و دما معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). اما با این وجود، تاثیرات متقابل pH با زمان، pH با دما و تأثیر متقابل سه فاکتور با یکدیگر بر غلظت و پایداری آستاگزانین معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). مطابق یافته‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پایداری رنگدانه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بیشتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد بود و با طولانی‌شدن زمان نگهداری، خواص مذکور کاهش یافته‌اند. تغییرات pH، تأثیر چندانی بر ویژگی رنگدانه نداشته است، هر چند که نتایج در pH=۵/۵ به طور نسبی بهتر از pH=۴/۵ بود. در بین تیمارهای مورد بررسی، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH و نیز قدرت کاهندگی رنگدانه مستخرج به‌ترتیب ۹۳/۱۱-۴۵/۵ درصد و جذب ۰/۸۱-۰/۳۱ در طول موج ۷۰۰ نانومتر متغیر بودند. همین خاصیت، امکان استفاده از این رنگدانه را در فرآورده‌های غذایی به عنوان آنتی‌اکسیدان مهیا می‌کند. اما با توجه به پایداری پایین رنگدانه در دمای بالاتر، استفاده از راهکارهای مختلف نظیر پوشش‌دارکردن رنگدانه، جهت استفاده در مواد غذایی واجد تیمار حرارتی، پیشنهاد می‌گردد.

لغات کلیدی: میکروجلبک هماتوکوکوس، آستاگزانتین، دما، pH، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

***نویسنده مسئول**

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

مقدمه

در سال‌های أخیر نقش رژیم‌های غذایی در سلامت انسان بسیار مورد توجه قرار گرفته است به‌ویژه این‌که برخی مواد غذایی در نتیجه حضور برخی از ترکیبات بیوشیمیایی طبیعی، تأثیرات مثبتی بر سلامت فردی، وضعیت جسمانی و روحی افراد دارند. همچنین به‌دلیل اثرات نامطلوب برخی از ترکیبات دارویی شیمیایی و نیاز مصرف‌کنندگان برای استفاده از محصولات طبیعی و بدون افزودنی، تلاش برای یافتن چنین منابعی در حال افزایش است. یافته‌های علمی حاکی از آن است که میوه‌ها، سبزیجات، دانه‌ها، بذرها، مغزها و چای حاوی انواع مختلفی از مواد مغذی و غیرمغذی هستند که در اصطلاح به آنها "ترکیبات شیمیایی گیاهی"[1] گفته می‌شود. ترکیبات شیمیایی گیاهی فعالیت‌های زیستی متنوعی دارند که به‌واسطه آنها می‌توانند اثرات مفیدی بر سلامت انسان داشته باشند و از ابتلا به برخی از بیماری‌های مزمن نظیر انواع سرطان، بیماری‌های قلبی- عروقی و دیابت جلوگیری نمایند. از مهم‌ترین عملکردهای این ترکیبات می‌توان به مهار رادیکال‌های آزاد، جلوگیری از اکسیداسیون LDL[2] و شکستن DNA، تقویت سیستم ایمنی، اثرات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی آنها اشاره نمود (Dillard and German, 2000). همچنین ظاهر مناسب به‌خصوص رنگ به‌کار رفته در هر محصولی، اثر به‌سزایی در جلب نظر مصرف‌کنندگان دارد. در این راستا، با توجه به تنوع رنگدانه‌های طبیعی و مزایای به‌کارگیری آنها در فرآورده‌های فراوری‌شده، صنعت‌گران و محققین توجه خاصی به این مقوله دارند.

قرن‌هاست که انسان از ریزجلبک‌های طبیعی (در آسیا از نوستوک و در آفریقا و آمریکای شمالی از اسپیرولینا) استفاده بسیاری می‌برد (Belay *et al*., 1993). از نظر بیوتکنولوژی، ریزجلبک‌ها توان بالایی برای تولید محصولات مختلف غذایی، صنعتی، شیمیایی، ترکیبات درمانی، محلول‌های زیست‌دارویی، رنگدانه‌های طبیعی، سوخت‌های زیستی و مکمل‌های رژیمی دارند. جلبک *Haematococcus pluvialis*، جلبک تک‌سلولی و سبز رنگ است که زیستگاه آن آبهای شیرین می‌باشد. این جلبک مهم‌ترین تولیدکننده رنگدانه آستاگزانتین است که ۳ درصد وزن خشک آن را تشکیل می‌دهد (Gouveia *et al*., 2006).

آستاگزانتین در صنعت پرورش آبزیان، طیور و نیز صنایع غذایی و دارویی کاربردهای متنوعی دارد. آستاگزانتین رنگدانه‌ای کاروتنوئیدی است که عامل ایجاد رنگ‌های قرمز و نارنجی در سخت‌پوستان و ارگانیسم‌های دریایی می‌باشد. در صنعت پرورش ماهی آزاد از آستاگزانتین طبیعی به طور گسترده استفاده می‌گردد. مطالعات نشان داده است که استفاده از آستاگزانتین باعث تغییر بهینه پوست و بافت، کیفیت تخم، سیستم آنتی‌اکسیدانی و بهبود و بقاء لارو ارگانیسم‌های دریایی نظیر ماهی آزاد، قزل آلا، میگو و ماهیان زینتی می‌شود. علاوه‌براین، پودر آستاگزانتین در صنعت پرورش طیور به منظور تغییر رنگ زرده تخم‌مرغ، افزایش تولید، تکثیر و کاهش مرگ و میر در مرغ و جوجه استفاده می‌گردد (Sheikhzadeh *et al*., 2012; Shah *et al*., 2016). از کاربردهای آستاگزانتین در صنعت غذا علاوه بر تولید رنگ طبیعی در فراورده‌های غذایی (Chen and Meyers, 1982) می‌توان به نقش آنتی‌اکسیدانی (Liu and Osawa, 2007; Ranga Rao, 2011) اشاره کرد. تحقیقات مختلف اثرات درمانی و دارویی آستاگزانیتن را بررسی و نتایج مثبتی گزارش کرده‌اند. این رنگدانه دارای فعالیت ضد سرطانی (Tanaka *et al*., 1995) است و در پیشگیری از بیماری قلبی- عروقی و التهابی (Tracy, 1999) و بهبود سلامت چشم (Jacques, 1999) نیز کارائی دارد. اثرات ضد التهابی (Bennedsen *et al*., 2000; Liu and Lee, 2003) و ضد دیابتی (Uchiyama *et al*., 2002) آستاگزانتین نیز ثابت شده است.

حفظ پایداری و خواص عملکردی آستاگزانتین در شرایط مختلف از جمله دما، pH، زمان بسیار حائز اهمیت است. برای مثال، جهت استفاده از آستاگزانتین در یک فراورده غذایی به عنوان رنگ‌دهنده یا آنتی‌اکسیدان باید مشخص

[1] Plant chemical compounds
[2] Low-Density Lipoprotein

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

شود که آیا این رنگدانه در دمای تولید و نگهداری آن فرآورده از کارائی لازم برخوردار است یا خیر. به همین دلیل در تحقیق حاضر پایداری و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانیتن تحت شرایط مختلف از نظر دما، pH و زمان مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

استخراج آستاگزانتین

بعد از تهیه پودر خالص ریزجلبک هماتوکوکوس (*H. pluvialis*) از شرکت پرتو غذای آبزیان سورنا (مازندران) و خرید مواد شیمیایی مورد نیاز، با استفاده از روش ترکیبی (پیش تیمار اولیه با اسیدکلریدریک و سپس استخراج با استون خالص) به استخراج آستاگزانتین اقدام شد (Sarada *et al*., 2006; Dong *et al*., 2014). ابتدا نمونه‌ها تحت تأثیر پیش تیمار اولیه اسیدکلریدریک قرار گرفته و ۱ میلی‌لیتر از اسید ۴ مولار به ۱۰ میلی‌گرم از پودر هماتوکوکوس اضافه و مخلوط به مدت ۱ ساعت در دمای ۷۰ درجه بن‌ماری قرار داده شد. سوسپانسون حاصله، سرد شده و به مدت ۵ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. بعد از سانتریفوژ، نمونه‌ها دو مرتبه با آب مقطر شستشو و مجدداً سانتریفوژ شدند و در نهایت عمل استخراج بر روی رسوب بدست‌آمده با استفاده از استون انجام گرفت. بدین ترتیب که ابتدا ۴ میلی‌لیتر از استون به رسوب اضافه شد و پس از ۱ ساعت هم‌زدن در دمای اتاق، با استفاده از امواج فراصوت، فرآیند سونیکاسیون به مدت ۱۰ دقیقه در فرکانس ۲۰ کیلو هرتز انجام گرفت. بعد از این مرحله، استون حاوی مایع رویی، با سانتریفوژ نمونه‌ها در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه جمع‌آوری شد. عمل استخراج مجدداً تکرار گردید. در انتهای آزمایش، حلال استون حاصل از سانتریفوژ چند مرحله‌ایی که حاوی رنگدانه آستاگزانتین بودند با هم ترکیب شدند و جهت قرائت غلظت آستاگزانتین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۸ نانومتر مورد استفاده قرار گرفتند (Sarada *et al*., 2006; Dong *et al*., 2014; Liu *et al*., 2018).

جهت تعیین غلظت آستاگزانتین از فرمول ذیل استفاده شد (Liu *et al*., 2011):

$$C= A/\alpha$$

C: غلظت آستاگزانتین، A: طول موج مورد استفاده و α: جذب قرائت شده

هیدرولیز یا صابونی‌کردن آستاگزانتین

به منظور هیدرولیز یا صابونی‌کردن رنگدانه آستاگزانتین و تبدیل فرم‌های مونواستر و دی‌استر آن به فرم آزاد، از روش Dewati و همکاران (۲۰۲۰) با کمی تغییر استفاده گردید. بدین‌ترتیب که مخلوط حاوی سود ۰/۰۲ نرمال و عصاره حاوی رنگدانه به مدت ۳ ساعت در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و مکان تاریک قرار داده شد. بعد از پایان فرآیند هیدرولیز، غلظت آستاگزانتین با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر و طول موج ۴۷۸ نانومتر قرائت گردید.

خالص‌سازی آستاگزانتین

جهت خالص‌سازی آستاگزانتین از روش Sun و همکاران (۲۰۱۵)، Yuan و Chen (۲۰۰۰) و Kang و Sim (۲۰۰۷) با اندکی تغییر استفاده شد. عصاره هیدرولیزشده حاوی آستاگزانتین به نسبت ۱:۱:۱ عصاره/آب مقطر/ان‌هگزان مخلوط شده و با سانتریفوژ در دور ۴۰۰۰g به مدت ۵ دقیقه، فرآیند جداسازی رنگدانه انجام گرفت. بعد از سانتریفوژ، هگزان جمع‌آوری شده و فرآیند جداسازی تا بی‌رنگ‌شدن کامل این بخش انجام گرفت. حلال آلی هگزان حاصل از سانتریفوژ با هم ترکیب و با استفاده از آب مقطر تا تنظیم pH در محدوده خنثی شستشو داده شد. در انتهای فرآیند، با استفاده از روتاری در دمای اتاق، حلال پراکنی انجام و سوسپانسیون حاوی رنگدانه، تغلیظ و به ۱۰ میلی‌لیتر کاهش داده شد و جهت تزریق به ستون کروماتوگرافی آماده گردید. برای خالص‌سازی آستاگزانتین از روش کروماتوگرافی ستونی استفاده شد. ستون مورد استفاده با استفاده از سیلیکاژل پر شده و بعد از تنظیم پارامترهای مختلف شامل flow rate (۰/۶۵ میلی‌لیتر در دقیقه)، فرکانس (۴۷۶ نانومتر)، دمای ستون (۳۰ درجه سانتی گراد) و میزان تزریق (۲۰

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

میکرولیتر) و نوع ستون (PDA)، دستگاه جهت تزریق آماده شد. ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه تغلیظ‌شده حاوی آستاگزانتین (حاوی یک گرم رنگدانه) جهت تزریق آماده گردید. عمل خالص‌سازی در ابتدا با هگزان/استون (نسبت ۷ به ۳ حجمی/حجمی) به مدت ۴۰ دقیقه، سپس با هگزان/دی کلرومتان/استون (به نسبت ۵ به ۲/۵ به ۱ حجمی-حجمی) انجام شد. عمل خالص‌سازی به مدت ۹۰ دقیقه انجام گردید. جهت محاسبه آستاگزانتین قابل استخراج از رابطه ذیل استفاده شد:

آستاگزانتین قابل استخراج (٪) = [۳ / (m۱۰۰/توده آستاگزانتین)] × ۱۰۰

توده آستاگزانتین: مقدار آستاگزانتین استخراج‌شده در حلال آلی، m: میزان جلبک مورد استفاده و عدد ۳ میزان تقریبی آستاگزانتین در هماتوکوکوس است.

حلال‌های جمع‌آوری‌شده در مرحله قبل، با استفاده از دستگاه روتاری خارج شده و رنگدانه باقیمانده مجدداً در ۱۰۰ میلی‌لیتر استون ترکیب شد. بعد از این مرحله، چند قطره آب مقطر به حلال اضافه گردید و ترکیب به‌دست‌آمده به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا عمل کریستالیزه‌شدن انجام گیرد. رنگ کریستال‌های تشکیل‌شده به رنگ قرمز قهوه‌ای بود. فرآیند مذکور مجدداً تکرار و در نهایت نمونه جمع‌آوری‌شده فریز درایر گردید.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین

قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH[1]

برای اندازه‌گیری شاخص DPPH، ابتدا استوک اولیه‌ای از معرف DPPH (۲ و ۲ دی‌فنیل ۱ پیکریل هیدرازیل) تهیه شد. بدین‌ترتیب، ۲۳/۵ میلی‌گرم از معرف به ۱۰۰ میلی‌لیتر از اتانول ۹۹ درصد اضافه و در دمای ۴ درجه قرار داده شد. در مرحله بعد، ۱۰۰ میکرولیتر از آستاگزانتین خالص به ۳/۹ میلی‌لیتر از معرف رقیق‌شده DPPH (۱ به ۱۰) اضافه و محلول حاصل در دور بالا هموژن و به مدت ۳۰ دقیقه در مکان تاریک قرار داده شد. شاهد یا بلانک مورد استفاده، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر آستاگزانتین در ۳/۹ میلی‌لیتر اتانول ۹۹ درصد بود. در مرحله انتهایی آزمایش، به منظور تعیین توانایی آستاگزانتین جهت مهار رادیکال DPPH، طول موج محلول تهیه‌شده در محدوده ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت و درصد مهار رادیکال DPPH از طریق رابطه ذیل محاسبه گردید (Tan *et al*., 2021):

قدرت مهار رادیکال DPPH به‌وسیله آستاگزانتین (٪) = [جذب شاهد/(جذب نمونه-جذب شاهد)] × ۱۰۰

قدرت احیاءکنندگی آهن سه ظرفیتی یا یون فریک (FRAP[2])

سنجش قدرت کاهندگی آهن با استفاده از روش Irna و همکاران (۲۰۱۸) با اندکی تغییر انجام گرفت. برای انجام این آزمایش، ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول آستاگزانتین با ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH=۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر فری‌سیانید پتاسیم ۱ درصد مخلوط و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه و پس از آن در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. بعد از این مرحله، ۲/۵ میلی‌لیتر از تری‌کلرو استیک‌اسید ۱۰ درصد، به مخلوط اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله انتهایی آزمایش، مایع رویی با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن ۰/۱ مولار مخلوط و جذب آن در طول ۷۰۰ نانومتر قرائت شد.

تأثیر پارامترهای مختلف (دما، زمان و pH) بر پایداری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین

جهت ارزیابی پایداری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین خالص از پارامترهایی نظیر دما (۴ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد)، pH (۴/۵ و ۵/۵) و زمان (صفر، ۱۵ و ۳۰ روز) استفاده شد (بر اساس مطالعات انجام‌شده توسط

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

[2] ferric-reducing antioxidant power

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

سایر محققین و پیش تیمارهای انجام‌گرفته، فاکتورهای مذکور و دامنه مورد نظر انتخاب شدند). علت انتخاب pH و دماهای مورد استفاده، بیشتر با هدف استفاده از آستاگزانتین در فرآورده‌های لبنی و دسرها بوده است. پس از تیماربندی بر اساس طرح فاکتوریل، رابطه متقابل بین متغیرهای مختلف و تأثیر آنها بر غلظت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین مورد سنجش قرار گرفت. بعد از تهیه استوک مورد نظر از آستاگزانتین خالص (۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در حلال دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO[1]) و تنظیم pH های ۴/۵ و ۵/۵، نمونه‌ها با ورق آلومینیومی پوشانده شده و در دو دمای ۴ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد در سه زمان صفر، ۱۵ و ۳۰ روز مورد بررسی قرار گرفتند. در این مرحله، ۱۲ تیمار با ۳ تکرار و در مجموع ۳۶ نمونه ارزیابی شدند. در هر مرحله از آزمایش، پس از تهیه رقت مورد نظر در حلال DMSO، جذب نوری در طول موج ۴۷۴ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. از حلال DMSO بدون رنگدانه نیز به عنوان شاهد یا بلانک استفاده گردید (Armenta and Guerrero-Legarreta, 2009; Liu *et al*., 2016; Zhao *et al*., 2016; Zhao *et al*., 2019). باقیمانده آستاگزانتین[2] با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد:

باقیمانده آستاگزانتین = (غلظت آستاگزانتین در زمان صفر /غلظت آستاگزانتین بعد از زمان t)×۱۰۰

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

از نرم‌افزار $SPSS_{22}$ به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. جهت ارزیابی تأثیر فاکتورهای pH، دما و زمان بر غلظت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی رنگدانه از آزمایش فاکتوریل در طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. بدین‌ترتیب، دو سطح از pH (۴/۵ و ۵/۵)، دو سطح از دما (۴ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد) و سه سطح از زمان (صفر، ۱۵ و ۳۰ روز) در قالب ۳ تکرار انتخاب و در نهایت رابطه متقابل بین متغیرهای مختلف و تأثیر آنها بر پایداری آستاگزانتین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن مورد سنجش قرار گرفت (۳۶ نمونه). جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده گردید.

نتایج

تأثیر پارامترهای مورد بررسی بر پایداری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین

نتایج تأثیر پارامترهای دما، pH و زمان بر پایداری رنگدانه آستاگزانتین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در جداول ۱ الی ۴ ارائه شده است. با توجه به نتایج جدول ۱، پایداری رنگدانه آستاگزانتین و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آن در pH=۵/۵ به طور نسبی بیشتر از pH=۴/۵ بوده است، اما تفاوت‌ها معنی‌دار نیست ($p>0/05$). یافته‌ها مؤید آن است که ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و پایداری رنگدانه در دمای ۴ بیشتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد ($p<0/05$). در ادامه مشخص شد که پایداری آستاگزانتین با طولانی‌ترشدن زمان نگهداری، کاهش می‌یابد، هر چند که این کاهش در دمای پائین کندتر از دمای بالاتر است. در چنین شرایطی ویژگی آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد و به نسبت کاهش می‌یابد. تغییرات مشاهده‌شده در پایداری آستاگزانتین و نیز ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی در زمان‌های مختلف معنی‌دار بوده است ($p<0/05$). با توجه به جدول ۱، قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH آستاگزانتین در تیمارهای مورد بررسی در دامنه ۹۳/۱۱-۴۵/۵ درصد متغیر می‌باشد. دامنه تغییرات قدرت کاهندگی یون فریک نیز از جذب ۳۱/۸۱-۰/۰ در طول موج ۷۰۰ نانومتر است.

نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که اثر فاکتورهای دما، pH و زمان هر یک به تنهایی و اثرات متقابل بین زمان و دما معنی‌دار بوده است ($p<0/05$). اما با این وجود، تاثیرات متقابل pH با زمان، pH با دما و تأثیر متقابل سه فاکتور با یکدیگر بر غلظت رنگدانه و پایداری آن معنی‌دار نبوده است ($p>0/05$).

نتایج جدول ۳ مؤید آن است که تأثیر فاکتورهای مورد بررسی به صورت منفرد و تأثیر متقابل زمان و دما و نیز تاثیرات متقابل سه فاکتور، بر خواص آنتی‌اکسیدانی

[1] Dimethyl sulfoxide
[2] Astaxanthin retention

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

آستاگزانتین در قالب قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵). اما تاثیرات متقابل pH با زمان و pH با دما معنی‌دار نبوده است (p>۰/۰۵). نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که تاثیرات فاکتورهای مورد بررسی به صورت منفرد و تأثیر متقابل زمان با دما، pH با زمان بر خواص آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین در قالب قدرت احیاءکنندگی یون آهن سه ظرفیتی معنی‌دار بوده است (p<۰/۰۵). اما با این وجود تاثیرات متقابل pH با دما و pH با دما و زمان معنی‌دار نیست (p>۰/۰۵).

جدول ۱: تغییرات در پایداری آستاگزانتین خالص (۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و خواص آنتی‌اکسیدانی آن در دما، زمان و pH های مورد بررسی

Table 1: Changes in the stability of pure astaxanthin (100 µg/ml) and its antioxidant properties at studied temperature, time and pH

بلوک	pH	دما (سانتی‌گراد)	زمان (روز)	باقیمانده آستاگزانتین (٪)	غلظت آستاگزانتین (µg/ml)	خواص آنتی‌اکسیدانی	
						قدرت مهار رادیکال DPPH	قدرت کاهندگی
۱[۱]	۴/۵	۴	صفر	۹۱/۵۶	۹۱/۵۶±۱/۴۴[a]	۹۲/۱۰±۱/۴۹[a]	۰/۸۰±۰/۰۱[a]
۲[۱]	۴/۵	۴	۱۵	۷۵/۸۸	۷۵/۸۸±۱/۵۵[c]	۷۴/۸۰±۱/۳۱[c]	۰/۶۶±۰/۰۱[c]
۳[۱]	۴/۵	۴	۳۰	۵۴/۳۲	۵۴/۳۲±۱/۰۵[e]	۶۰/۶۴±۱/۵۷[e]	۰/۴۵±۰/۰۲[e]
۴[۱]	۴/۵	۲۰	صفر	۸۵/۴۷	۸۵/۴۷±۰/۷۴[b]	۸۳/۵۱±۰/۹۷[b]	۰/۷۴±۰/۰۱۵[b]
۵[۱]	۴/۵	۲۰	۱۵	۶۱/۴۰	۶۱/۴۰±۰/۹۹[d]	۶۵/۲۴±۰/۸۳[d]	۰/۵۵±۰/۰۲[d]
۶[۱]	۴/۵	۲۰	۳۰	۳۵/۹۹	۳۵/۹۹±۰/۴۷[f]	۴۵/۵۰±۰/۵۶[f]	۰/۳۱±۰/۰۱۱[f]
۱[۲]	۵/۵	۴	صفر	۹۲/۰۴	۹۲/۰۴±۱/۳۵[a]	۹۳/۱۱±۱/۳۲[a]	۰/۸۱±۰/۰۱۵[a]
۲[۲]	۵/۵	۴	۱۵	۷۷/۵۴	۷۷/۵۴±۰/۸[c]	۷۵/۱۲±۰/۳۸[c]	۰/۶۸±۰/۰۱[c]
۳[۲]	۵/۵	۴	۳۰	۵۵/۷۹	۵۵/۷۹±۰/۵۹[e]	۶۲/۳۷±۰/۴۸[e]	۰/۴۴±۰/۰۱۴[e]
۴[۲]	۵/۵	۲۰	صفر	۸۶/۵۵	۸۶/۵۵±۰/۷۶[b]	۸۴/۱۳±۰/۴۰[b]	۰/۷۵±۰/۰۲[b]
۵[۲]	۵/۵	۲۰	۱۵	۶۲/۲۵	۶۲/۲۵±۰/۵۶[d]	۶۶/۱۶±۰/۴۴[d]	۰/۵۶±۰/۰۱۲[d]
۶[۲]	۵/۵	۲۰	۳۰	۳۶/۰۷	۳۶/۰۷±۰/۲۲[f]	۴۵/۶۹±۰/۴۶[f]	۰/۳۲±۰/۰۱۱[f]

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها می‌باشد (p<۰/۰۵).

Different lowercase letters in each column indicate a significant difference between the data (p<0.05).

جدول ۲: نتایج اثرات متقابل زمان، دما و pH بر پایداری آستاگزانتین

Table 2: Results of the interactions of time, temperature and pH on the stability of astaxanthin

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
Corrected Model	۱۱	۱۱۹۷/۷۸**
Intercept	۱	۱۶۶۰۱۰/۷۴**
زمان	۲	۵۶۵۶/۸۵۱**
دما	۱	۱۵۷۶/۵۵۳**
pH	۱	۷/۹۱**
دما × زمان	۲	۱۳۷/۴۰**
pH × زمان	۲	۰/۲۲۷ns
pH × دما	۱	۰/۶۳۶ ns
pH × دما × روز	۲	۰/۷۷۵ ns

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ns نشان‌دهنده اختلاف غیرمعنی‌دار است.

** Difference significant at the 5% level and ns indicates a non-significant difference.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

جدول ۳: نتایج اثرات متقابل زمان، دما و pH بر فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

Table 3: Results of interactions time, temperature and pH on DPPH free radical scavenging activity

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
Corrected Model	۱۱	۷۷۸/۹۶**
Intercept	۱	۱۸۲۴۷۹/۹۰**
زمان	۲	۳۶۵۲/۹۱**
دما	۱	۱۰۸۴/۳۸**
pH	۱	۲۸/۶۹**
دما × زمان	۲	۶۷/۲۰**
pH × زمان	۲	۰/۳۲۷ns
pH × دما	۱	۰/۱۳۲ ns
pH × دما × روز	۲	۷/۲۶۲ **

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ns نشان‌دهنده اختلاف غیرمعنی‌دار است.

** Difference significant at the 5% level and ns indicates a non-significant difference.

جدول ۴: نتایج اثرات متقابل زمان، دما و pH بر قدرت احیاکنندگی یون آهن سه ظرفیتی یا FRAP

Table 4: Results of interactions of time, temperature and pH on FRAP test

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
Corrected Model	۱۱	۰/۹۶**
Intercept	۱	۱۲/۷۹۳**
زمان	۲	۰/۴۷۴**
دما	۱	۰/۰۹۲**
pH	۱	۰/۰۰۲**
دما × زمان	۲	۰/۰۰۵**
pH × زمان	۲	۰/۰۰۱**
pH × دما	۱	۱/۱۱ ns
pH × دما × روز	۲	۰/۰۰ ns

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ns نشان‌دهنده اختلاف غیرمعنی‌دار است.

** Difference significant at the 5% level and ns indicates a non-significant difference.

بحث

هدف از ارزیابی پارامترهای فیزیکی بر پایداری آستاگزانتین، پیش‌بینی پایداری آن هنگام استفاده در مواد غذایی و انواع نوشیدنی‌ها می‌باشد. اگر آستاگزانتین مورد استفاده فاقد پایداری لازم باشد، از نظر کاربرد تجاری مورد توجه نخواهد بود. بنابراین، تأثیر پارامترهایی نظیر دما، pH، نمک و نور بر پایداری رنگدانه حائز اهمیت است. زیرا رنگدانه آستاگزانتین مانند سایر رنگدانه‌های ریزجلبکی یا رنگ‌های طبیعی، تحت تأثیر پارامترهای مذکور قرار می‌گیرد و دستخوش تغییرات می‌شود (Wackerbarth *et al*., 2009; Bustos-Garza *et al*., 2013). نتایج این مطالعه نشان داد که تغییرات آستاگزانتین در دمای پایین، کمتر بوده و غلظت و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی رنگدانه، تحت تأثیر قرار نگرفته است. اما با افزایش دما، تغییرات نسبی در غلظت و متعاقب آن فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین مشاهده گردید. زمان نگهداری، یکی دیگر از فاکتورهای مورد بررسی در این تحقیق بود. هنگام استفاده از دمای نامناسب (۲۰ درجه سانتی‌گراد در واقع، دمای محیط بوده و برای رنگدانه نامتعارف می‌باشد.) جهت نگهداری، با گذشت زمان و طولانی‌شدن نگهداری، تغییرات به وجودآمده نیز مشهودتر خواهد بود. فاکتور

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

سوم، pH بود که در این پژوهش، تغییرات مثبت در غلظت رنگدانه و نیز فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در pH=۵/۵ مشاهده شد. اما با این وجود تغییرات مذکور فاقد اختلاف معنی‌دار در pH=۴/۵ بوده است. نتایج مطالعه Armenta و Guerrero-Legarreta (۲۰۰۹) نشان داد، هنگامی که آستاگزانتین مصنوعی و طبیعی در شرایط نور، هوا، دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ هفته قرار گیرند، به‌ترتیب ۹۷ و ۸۸ درصد اکسید می‌شوند. در صورتی که در تاریکی، شرایط بی‌هوازی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، مقدار اکسیداسیون به طور معنی‌دار کاهش می‌یابد. در تحقیق مذکور مشخص گردید که در دماهای پایین مثل ۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد، کمترین تغییرات در رنگدانه رخ می‌دهد و زمانی که شرایط نگهداری (تاریکی و فقدان اکسیژن) نیز مناسب باشد، تغییرات مذکور بسیار جزئی خواهند بود. شایان ذکر است، در ارزیابی تأثیر پارامترهای مختلف بر پایداری رنگدانه‌های جلبکی به‌خصوص آستاگزانتین، بایستی آزمایش‌ها به صورت گسترده و در قالب آزمون و خطا صورت گیرد و با نتایج سایر محققین نیز مقایسه گردد تا به نتیجه واحدی رسید و صرف اینکه در چند مطالعه نتایج مشابه دیده شد، نمی‌توان ادعا کرد که نیازی به تکرار آزمایش یا آزمایش‌های تکمیلی نمی‌باشد.

نتایج مطالعه Zhao و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که باقیمانده آستاگزانتین در دمای پایین (۴ درجه سانتی‌گراد) بیشتر از دماهای ۲۵، ۴۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و بیشترین تجزیه در دمای ۶۰ درجه انجام می‌شود. نتایج تحقیق حاضر نیز تائیدکننده مطلب مذکور بوده و حاکی از تغییرات معنی‌دار بین دماهای ۴ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد است. با افزایش زمان نگهداری، تغییرات افزایش یافته و بین فاکتورهای دما و زمان اثرات متقابل معنی‌دار بود. سایر مطالعات نیز نتایج مذکور را تائید می‌کنند (Rocha *et al*, 2012; Takeungwongtrakul *et al*., 2015). در پژوهش Zhao و همکاران (۲۰۱۹) بعد از پایان ۱۰ روز، میزان آستاگزانتین باقیمانده ۷۰/۹۲ و ۵۵/۹۶ درصد بود. اما در تحقیق حاضر بعد از ۱۵ روز میزان رنگدانه باقیمانده ۷۵/۸۸ درصد در pH=۴/۵ و ۷۷/۵۴ درصد در pH=۵/۵ (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) و نیز ۶۱/۴۰ درصد در pH=۴/۵ و ۶۲/۲۵ در pH=۵/۵ (دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد) بود که نشان از پایداری بیشتر رنگدانه در این تحقیق می‌باشد (پایداری در این مقایسه بر اساس دما و pH می‌باشد).

هنگام استفاده از آستاگزانتین در روغن‌های مختلف نظیر روغن سبوس برنج، روغن بادام و روغن پالم، پایداری آستاگزانتین در دمای ۹۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد، ۹۰-۸۴ درصد می‌باشد. این ویژگی کاربرد آستاگزانتین را در غذا، مواد دارویی و پزشکی توجیه می‌کند. با افزایش دما به ۱۲۰-۱۵۰ درجه سانتی‌گراد، پایداری رنگدانه به‌شدت کاهش می‌یابد (Rao *et al*., 2007). نتایج تحقیق Villalobos-Castillejos و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که آستاگزانتین استخراجی از مخمر[1] دارای پایداری بالا در دمای پایین و pH=۴ می‌باشد. این نتیجه با یافته تحقیق حاضر مطابقت دارد و حاکی از پایداری رنگدانه در pH اسیدی و دمای پایین است. در مطالعه Liu و همکاران (۲۰۱۴) تأثیر پارامترهایی نظیر دما و pH بر تغییرات رنگ و غلظت آستاگزانتین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش دما، رنگ قرمز (a*) و غلظت آستاگزانتین نیز کاهش می‌یابد. در تحقیق حاضر، تغییرات رنگ بررسی نشد و به جای آن، غلظت آستاگزانتین مورد ارزیابی قرار گرفت که با کاهش آن، شدت رنگ رنگدانه نیز تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. تحقیقات مختلف، ارتباط بین کاهش رنگ آستاگزانتین بعد از افزایش دما را گزارش کرده‌اند (Niamnuy *et al*., 2008; Pu *et al*., 2011).

در پژوهش Liu و همکاران (۲۰۱۶) pH های ۴ و ۵ تأثیر معنی‌داری بر تغییرات غلظت و رنگ آستاگزانتین نشان نداد که تأییدکننده نتایج تحقیق حاضر است. pH های مورد استفاده در تحقیق حاضر (۴/۵ و ۵/۵)، تغییرات معنی‌داری در غلظت آستاگزانتین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نداشتند. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که تاثیرات

[1] *Phaffia rhodozyma*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

متقابل pH و دما و همچنین pH و زمان معنی‌دار نبوده است و حاکی از عدم تأثیر pH در تغییرات آستاگزانتین است. برخلاف pH، دما و زمان از عوامل تاثیرگذار در این تحقیق بودند. در مطالعه Liu و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر دمای نگهداری آستاگزانتین (۵، ۲۰، ۳۷، ۵۵ و ۷۰ درجه سانتی‌گراد) نیز مورد بررسی قرار گرفته است. تغییرات در غلظت آستاگزانتین و رنگ آن بین دو دمای ۵ و ۲۰ معنی‌دار نبود اما در سایر دماهای مورد استفاده روند کاهشی داشته است. برخلاف تحقیق مذکور، در پژوهش حاضر تغییرات در غلظت آستاگزانتین و خواص آنتی‌اکسیدانی آن در دو دمای ۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد معنی‌دار بوده است. مقایسه نتایج نشان‌دهنده آن است که دماهای بالاتر باعث تغییر ساختار مولکولی رنگدانه شده و پایداری آن را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بنابراین، استفاده از آستاگزانتین به عنوان رنگدانه طبیعی، در غذاهایی که نیاز به فرآیند حرارتی دارند، محدودیت دارد. یکی از روش‌های پایداری آن در دماهای بالاتر، پوشش‌دارکردن رنگدانه است.

در تحقیق Villalobos-Castillejos و همکاران (۲۰۱۳) گزارش گردید که آستاگزانتین در pH=۴ دارای پایداری مطلوبی است. اما با افزایش pH از ۴ به ۷، غلظت آن ۶۰ درصد کاهش می‌یابد. برخلاف تحقیق مذکور، تغییرات در pH=۵/۵ و pH=۴/۵ در پژوهش حاضر معنی‌دار نبود. هر چند که پایداری و خواص آنتی‌اکسیدانی در pH=۴/۵ اندکی پایین‌تر بود، اما ناپایداری در غلظت و خواص آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین در pH های بالاتر محتمل است.

بر اساس یافته‌های تحقیق حاضر، استفاده از آستاگزانتین در فراورده‌های غذایی مختلف به‌واسطه داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی مطلوب می‌تواند با جلوگیری از فساد اکسیداتیو به افزایش زمان نگهداری کمک ویژه‌ای کند. نتایج فاکتورهای مؤثر بر پایداری رنگدانه نشان داد که آستاگزانتین در دمای پائین دارای پایداری بسیار بالایی است و با افزایش دما (تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد که بیشتر با هدف استفاده از رنگدانه در مواد غذایی بود که فاقد تیمار حرارتی می‌باشند)، پایداری آن کاهش می‌یابد. از سویی، طولانی‌ترشدن زمان نگهداری، ویژگی‌های کیفی رنگدانه را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. بنابراین، با توجه به پایداری پائین رنگدانه در دمای بالاتر، استفاده از راهکارهای مختلف نظیر پوشش‌دارکردن رنگدانه، جهت استفاده در مواد غذایی واجد تیمار حرارتی پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

محققین پژوهش حاضر از پژوهشکده اکولوژی دریای خزر جهت حمایت مالی و در اختیار نهادن تجهیزات تخصصی آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌نمایند.

منابع

Armenta, R.E. and Guerrero-Legarreta, I., 2009. Stability studies on astaxanthin extracted from fermented shrimp byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14): 6095-6100. DOI: 10.1021/jf901083d

Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K. and Shimamatsu, H., 1993. Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. *Journal of Applied Phycology*, 5(2): 235-241. DOI: 10.1007/BF00004024

Bennedsen, M., Wang, X., Willén, R., Wadström, T. and Andersen, L.P., 2000. Treatment of H. pylori infected mice with antioxidant astaxanthin reduces gastric inflammation, bacterial load and modulates cytokine release by splenocytes. *Immunology letters*, 70(3): 185-189. DOI: 10.1016/S0165-2478(99)00145-5

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

Bustos-Garza, C., Yáñez-Fernández, J. and Barragán-Huerta, B.E., 2013. Thermal and pH stability of spray-dried encapsulated astaxanthin oleoresin from *Haematococcus pluvialis* using several encapsulation wall materials. *Food Research International*, 54(1): 641-649. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.07.061

Chen, H. M. and Meyers, S.P., 1982. Extraction of astaxanthin pigment from crawfish waste using a soy oil process. *Journal of Food Science*, 47(3): 892-896. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1982.tb12739.x

Dewati, P. R., Rohman, A. and Budiman, A., 2020. A Preliminary Study of Extraction and Purification Processes of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialisas* a Natural Antioxidant. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 778, No. 1, p. 012032). IOP Publishing. DOI: 10.1088/1757-899X/778/1/012032

Dillard, C.J. and German, J.B., 2000. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(12): 1744-1756. DOI: 10.1002/10970010(20000915)80:12%3C1744::AID-JSFA725%3E3.0.CO;2-W

Dong, S., Huang, Y., Zhang, R., Wang, S. and Liu, Y., 2014. Four different methods comparison for extraction of astaxanthin from green alga *Haematococcus pluvialis*. *The Scientific World Journal*, 1-7. DOI: 10.1155/2014/694305

Gouveia, L., Raymundo, A., Batista, A.P., Sousa, I. and Empis, J., 2006. Chlorella vulgaris and *Haematococcus pluvialis* biomass as colouring and antioxidant in food emulsions. *European Food Research and Technology*, 222(3): 362-367. DOI: 10.1007/s00217-005-0105-z

Irna, C., Jaswir, I., Othman, R. and Jimat, D.N., 2018. Comparison between high-pressure processing and chemical extraction: Astaxanthin yield from six species of shrimp carapace. *Journal of Dietary Supplements*, 15(6): 805-813. DOI: 10.1080/19390211.2017.1387885

Kang, C.D. and Sim, S.J., 2007. Selective extraction of free astaxanthin from *Haematococcus* culture using a tandem organic solvent system. *Biotechnology Progress*, 23(4): 866-871. DOI: 10.1021/bp0700354

Liu, B. H. and Lee, Y.K., 2003. Effect of total secondary carotenoids extracts from *Chlorococcum* sp. on Helicobacter pylori-infected BALB/c mice. *International Immunopharmacology*, 3(7): 979-986. DOI: 10.1016/S1567-5769(03)00096-1

Liu, X. J., Wu, Y. H., Zhao, L.C., Xiao, S. Y., Zhou, A.M. and Liu, X., 2011. Determination of astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* by first-order derivative spectrophotometry. *Journal of AOAC International*, 94(6): 1752-1757. DOI: 10.5740/jaoacint.10-177

Liu, P. H., Aoi, W., Takami, M., Terajima, H., Tanimura, Y., Naito, Y. and Yoshikawa, T., 2014. The astaxanthin-induced improvement in lipid metabolism during exercise is mediated by a PGC-1α increase in skeletal muscle. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 13-110. DOI: 10.3164/jcbn.13-110

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

Liu, X. and Osawa, T., 2007. Cis astaxanthin and especially 9-cis astaxanthin exhibits a higher antioxidant activity in vitro compared to the all-trans isomer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 357(1): 187-193. DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.03.120

Liu, X., McClements, D.J., Cao, Y. and Xiao, H., 2016. Chemical and physical stability of astaxanthin-enriched emulsion-based delivery systems. *Food Biophysics*, 11(3): 302-310. DOI: 10.1007/s11483-016-9443-6

Liu, Z.W., Zeng, X.A., Cheng, J. H., Liu, D.B. and Aadil, R.M., 2018. The efficiency and comparison of novel techniques for cell wall disruption in astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis*. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(9): 2212-2219. DOI: 10.1111/ijfs.13810

Niamnuy, C., Devahastin, S., Soponronnarit, S. and Raghavan, G.V., 2008. Kinetics of astaxanthin degradation and color changes of dried shrimp during storage. *Journal of Food Engineering*, 87(4): 591-600. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2008.01.013

Pu, J., Bankston, J.D. and Sathivel, S., 2011. Developing microencapsulated flaxseed oil containing shrimp (*Litopenaeus setiferus*) astaxanthin using a pilot scale spray dryer. *Biosystems Engineering*, 108(2): 121-132. DOI: 10.1016/j.biosystemseng.2010.11.005

Ranga Rao, A., 2011. *Production of astaxanthin from cultured green alga Haematococcus pluvialis and its biological activities* (Doctoral dissertation, University of Mysore).

Rao, A. R., Sarada, R. and Ravishankar, G. A., 2007. Stabilization of astaxanthin in edible oils and its use as an antioxidant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(6): 957-965. DOI: 10.1002/jsfa.2766

Rocha, G.A., Fávaro-Trindade, C.S. and Grosso, C.R.F., 2012. Microencapsulation of lycopene by spray drying: characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bioproducts Processing*, 90(1): 37-42. DOI: 10.1016/j.fbp.2011.01.001

Sarada, R., Vidhyavathi, R., Usha, D. and Ravishankar, G. A., 2006. An efficient method for extraction of astaxanthin from green alga *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(20): 7585-7588. DOI: 10.1021/jf060737t

Shah, M., Mahfuzur, R., Liang, Y., Cheng, J. J. and Daroch, M., 2016. Astaxanthin-producing green microalga *Haematococcus pluvialis*: from single cell to high value commercial products. *Frontiers in plant science*, 7: 1-28. DOI: 10.3389%2Ffpls.2016.00531

Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Khani Oushani, A. and Najafi Enferadi, M.H., 2012. Effects of *Haematococcus pluvialis* supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(2): 413-419. DOI: 10.1007/s10695-011-9519-7

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

Sun, W., Lin, H., Zhai, Y., Cao, L., Leng, K. and Xing, L., 2015. Separation, Purification, and Identification of (3S, 3′ S)- trans-Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Separation Science and Technology*, 50(9): 1377-1383. DOI:10.1080/01496395.2014.976873

Takeungwongtrakul, S., Benjakul, S., Santoso, J., Trilaksani, W. and Nurilmala, M., 2015. Extraction and Stability of Carotenoid-Containing Lipids from Hepatopancreas of P acific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(1): 10-18. DOI: 10.1111/jfpp.12203

Tan, Y., Ye, Z., Wang, M., Manzoor, M. F., Aadil, R. M., Tan, X. and Liu, Z., 2021. Comparison of Different Methods for Extracting the Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*: Chemical Composition and Biological Activity. *Molecules*, 26(12): 3569. DOI: 10.3390/molecules26123569

Tanaka, T., Makita, H., Ohnishi, M., Mori, H., Satoh, K. and Hara, A., 1995. Chemoprevention of rat oral carcinogenesis by naturally occurring xanthophylls, astaxanthin and canthaxanthin. *Cancer Research*, *55*(18): 4059-4064.

Tracy, R.P., 1999. Inflammation markers and coronary heart disease. *Current Opinion in Lipidology*, 10(5): 435-441. DOI: 10.1097/00041433-199910000-00008

Uchiyama, K., Naito, Y., Hasegawa, G., Nakamura, N., Takahashi, J. and Yoshikawa, T., 2002. Astaxanthin protects β-cells against glucose toxicity in diabetic db/db mice. *Redox Report*, 7(5): 290-293. DOI: 10.1179/135100002125000811

Villalobos-Castillejos, F., Cerezal-Mezquita, P., Hernández-De Jesús, M. L. and Barragán-Huerta, B. E., 2013. Production and stability of water-dispersible astaxanthin oleoresin from *Phaffia rhodozyma*. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(6): 1243-1251. DOI: 10.1111/ijfs.12083

Wackerbarth, H., Stoll, T., Gebken, S., Pelters, C. and Bindrich, U., 2009. Carotenoid–protein interaction as an approach for the formulation of functional food emulsions. *Food Research International*, 42(9): 1254-1258. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.04.002

Yuan, J.P. and Chen, F., 2000. Purification of trans-astaxanthin from a high-yielding astaxanthin ester-producing strain of the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Food Chemistry*, 68(4): 443-448. DOI: 10.1016/S0308-8146(99)00219-8

Zhao, X., Zhang, X., Fu, L., Zhu, H. and Zhang, B., 2016. Effect of extraction and drying methods on antioxidant activity of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Food and Bioproducts Processing*, 99: 197-203. DOI: 10.1016/j.fbp.2016.05.007

Zhao, X., Zhang, X., Liu, H., Zhu, H. and Zhu, Y., 2019. Enzyme-assisted extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* and its stability and antioxidant activity. *Food Science and Biotechnology*, 28(6): 1637-1647. DOI: 10.1007/s10068-019-00608-6

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]

Effect of temperature, pH, and time factors on the stability and antioxidant activity of the extracted astaxanthin from haematococcus microalgae (*Haematococcus pluvialis*)

Safari R.[1*]; Mirbakhsh M.[2]; Ghaffari H.[2]; Reyhani Poul S.[3]; Rahmati R.[1]; Ebrahimzadeh M.[1]

*safari1351@gmail.com

1-Caspian Sea Ecological Research Center, Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Sari, Iran.
2-Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Tehran, Iran.
3- Department of Processing of Fishery Products, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Abstract

One of the important factors in the use of natural pigments in various foods is their stability and preservation of their antioxidant properties under the production and storage conditions. Astaxanthin is one of these natural pigments that microalgae are one of its resources. In the present study, after the extraction of astaxanthin from hematococcus microalgae (*Haematococcus pluvialis*) by a combined method (HCL-Acetone), the effect of temperature, pH, and time parameters on its stability and antioxidant activity (DPPH free radical scavenging activity and reducing power of ferric) were evaluated. The results showed that the effect of temperature, pH and time factors alone and the interactions between the time and temperature were significant ($p<0.05$). However, the interactions of pH with time, pH with temperature, and the interaction of three factors together on the concentration and stability of astaxanthin were not significant ($p>0.05$). According to the findings, the antioxidant activity and pigment stability at 4 °C was more than 20 °C and with increasing the storage time, these properties were decreased. The pH changes did not have much effect on the pigment properties, although the results at pH=5.5 were relatively better than pH=4.5. Among the studied treatments, DPPH free radical scavenging activity as well as the reducing power of the extracted pigment ranged from 45.5-93.11% and absorption of 0.31-0.81 at 700 nm, respectively. This property makes it possible to use this pigment in food products as an antioxidant. However, use of various methods such as coating the pigment for using in heat-treated foods is recommended due to the low stability of the pigment at the higher temperatures.

Keywords: Haematococcus microalgae, Astaxanthin, Temperature, pH, Antioxidant activity

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-11]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.1.10.2]