



"بسمه تعالی"



موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی
بخش تحقیقات فرآوری آبزیان

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی
معاونت آموزش و ترویج

(دستورالعمل اجرایی)

استخراج کاروتنوئید از ضایعات میگو

ترجمه: مینا احمدی



کاروتنوئیدها

نام کاروتنوئید از نام هویج مشتق (*daucus carota*) گرفته شده است زیرا اولین بار در سال ۱۸۳۱ از این گیاه استخراج گردید. کاروتنوئیدها عبارتند از رنگدانه های طبیعی محلول در چربی که به طور عمده در گیاهان و گلها و باکتریهای فتوسنتز کننده یافت می شوند آنها نقش مهمی را در فرآیند فتوسنتز ایفا می نمایند علاوه بر آن کاروتنوئیدها در برخی از باکتری های غیر فتوسنتز کننده مخمرها و کپکها نیز مشاهده می گردند دراین موجودات رنگدانه ها نقش حفاظتی را در برابر آسیبهای وارده توسط نور و اکسیژن ارائه می نمایند گرچه جانوران ناتوان از سنتز کاروتنوئید های تامین کننده رنگ روشن هستند ولی همانند آنتی اکسید آنها عمل نموده و قادرند منبعی برای فعالیت ویتامین A باشند.

کاروتنوئیدها مسئول تغییر رنگهای زرد، نارنجی و قرمز دربرگها، گیاهان، میوه ها، گلها و رنگهای پرهای زینتی بسیاری از پرندگان، حشرات، رنگ صورتی در فلامینگو و ماهی قزل آلا و سخت پوستانی نظیر خرچنگ دریایی می باشند. کاروتنوئیدها پیچیده ترین طبقه از رنگهای مواد غذایی طبیعی با حدود ۷۵۰ ساختار متفاوت در طبیعت هستند.

کاروتنوئیدها بر اساس ساختمان شیمیایی خود معین و تعریف می شوند قسمت اعظم کاروتنوئیدها از زنجیره ۴ کربنه ترکیبات آلی مشتق می شوند که دارای پیوندهای مضاعف هستند و محور اصلی و ستون فقرات مولکول مطرح گردیده اند. زنجیر مذکور ممکن است به گروههای انتهایی حلقوی منتهی گردیده یا توسط گروههای حاوی اکسیژن. این هیدروکربنها همچون اگزانتوفیل ها شناسایی شوند بتاکاروتن که کاروتنوئید اصلی در هویج است. رنگدانه ای آشناست در حالیکه لوتئین که رنگدانه اصلی گلبرگ گل همیشه بهار است. یک اگزانتوفیل مشترک است

زندگی ما توسط رنگها قابل تغییر است. انواع رنگها از رنگ سبز علفها تا رنگهای قرمز و گلگون پائیزی جنگلهای اطراف ما را احاطه نموده اند بجز چند مورد استثنائی. موجودات زنده رنگهای مورد نیاز خود را از رنگدانه های طبیعی بدست می آورند علاوه بر خاصیت رنگ دهی. رنگدانه ها اعمال بیولوژیک متفاوت دیگری را نیز بعهده دارند در میان متعارف ترین رنگدانه ها. کاروتنوئیدها مهمترین رنگدانه طبیعی به حساب می آیند.

کاروتنوئیدها شامل دو دسته از ترکیبات هستند:

۱. هیدروکربن های غیر اشباع محلول در چربی که تحت عنوان کاروتن ها نامیده می شوند.
۲. هیدروکربن های غیر اشباع محلول در چربی که به صورت اکسید شده درآمده اند و تحت عنوان گزانتوفیل ها نامیده می شوند.

عملکرد :

بعضی از کاروتنوئیدها مخصوصاً "بتا کاروتن نقش پیش ویتامین A را ایفا کرده و در بدن تبدیل به ویتامین A می شوند. از آنجائیکه افزایش مصرف غذاهای غنی از کاروتنوئیدها با کاهش خطر ابتلا به بعضی از بیماری های تخریبی همراه است چنین برمی آید که این مواد در بهبود عملکرد سیستم ایمنی نقش ویژه ای را ایفا می کنند. حتی این احتمال وجود دارد که کاروتنوئیدها به عنوان آنتی اکسیدان های ویژه نقش موثری در جلوگیری از ابتلا به سرطان داشته باشند

ویژگی ها :

کاروتنوئیدها نسبت به عوامل محیطی و مواد حساس هستند، مثل نور (مخصوصاً اشعه ی خورشیدی و UV)، گرما، اکسیژن (از هوا)، پراکسیدها (از حلال ها) و اسیدها (که می توانند به عنوان عوامل اکسنده عمل کنند). عمل اکسایش و واکنش های ایزومراسیون، تغییر ساختمان مولکولی و تغییرات رنگ، نمونه هایی از عواملی هستند که می توانند توسط عوامل فوق تحریک شوند. تجزیه و آنالیز کاروتنوئیدها، و گاهی نگهداریشان در حلالهای خالص و ذخیره کردن کاروتنوئید تحت فشار جو نیتروژن، در درجه حرارت پایین و در غیاب نور برای کم کردن تجزیه آنها مفید است.

کاروتنوئیدها به وسیله گیاهان، قارچ ها و میکروارگانیسم ها تولید می شوند. مقدار تولید کل کاروتنوئیدها در سال توسط موجودات فوق الذکر، ۱۰۰۰۰ کیلوگرم می باشد. این در حالی است که کاروتنوئیدها در بدن مهره داران ساخته نمی شوند و باید از طریق جیره غذایی در دسترس این حیوانات قرار گیرند. کاروتنوئیدها وظایف فیزیولوژیکی مختلفی را در بدن بر عهده دارند که از آن جمله می توان به خاصیت جذب نور، خاصیت آنتی اکسیدانی و تقویت سیستم ایمنی در مقابل بیماری های مختلف، اشاره نمود. از نظر قابلیت تولید رنگ، کاروتنوئیدها اهمیت اقتصادی دارند به طوری که موفقیت تولید مثلی پرندگان وحشی و در نتیجه بقای این پرندگان تا حد زیادی به وجود کاروتنوئیدها در بدن آن ها باز می

گردد. علاوه بر این، رنگ زرده تخم مرغ و رنگ مطلوب گوشت، دو صفت اقتصادی می باشد که در حفظ کیفیت این محصولات می تواند نقش موثری را داشته باشد. قابلیت ذخیره شدن کاروتنوئیدها در بافت های بدن پرنده به قابلیت هضم، جذب و متابولیسم آن ها بازمی گردد. نکته حائز اهمیت در این ارتباط آن است که حیوانات مختلف قادر به جذب انواع مختلفی از کاروتنوئیدها می باشند.

کاربرد:

کاروتنوئیدها به طور وسیعی در داروسازی، مکملهای غذایی به عنوان رنگزاها و آنتی اکسیدانها مورد استفاده قرار می گیرند از کاروتنوئیدها برای رنگین نمودن پنیر، نوشابه های پرتقالی و بستنی نیز استفاده می شود. مقاومت و پایداری این رنگ در نوشابه های حاوی اسید آسکوربیک قابل توجه می باشد.

منابع استخراج:

کاروتنوئیدها به طور وسیعی در طبیعت یافت می شود و متداولترین رنگهای طبیعی را تشکیل می دهند . رنگ هویج ،گوجه فرنگی، زردآلو ،آب پرتقال و خرچنگ دریایی مربوط به وجود کاروتنوئیدها می باشد. تاکنون بیش از ۱۰۰ نوع کاروتنوئید شناخته شده که فقط تعداد کمی از آنها به طور خالص جدا گردیده که از آنها برای رنگین کردن مواد خوراکی استفاده می شود و مهمترین آنها عبارتند از: بتا کاروتن، آپوکاروتنال ،کانترآگزانتین، بیکسین، گزانتوفیل. یکی از جنبه های کاروتنوئیدها علاوه بر ایجاد رنگ وجود پیش ساز ویتامین A در بعضی از آنها از جمله بتاکاروتن و آپوکاروتنال می باشد.

استخراج کاروتنوئیدها از ضایعات میگو

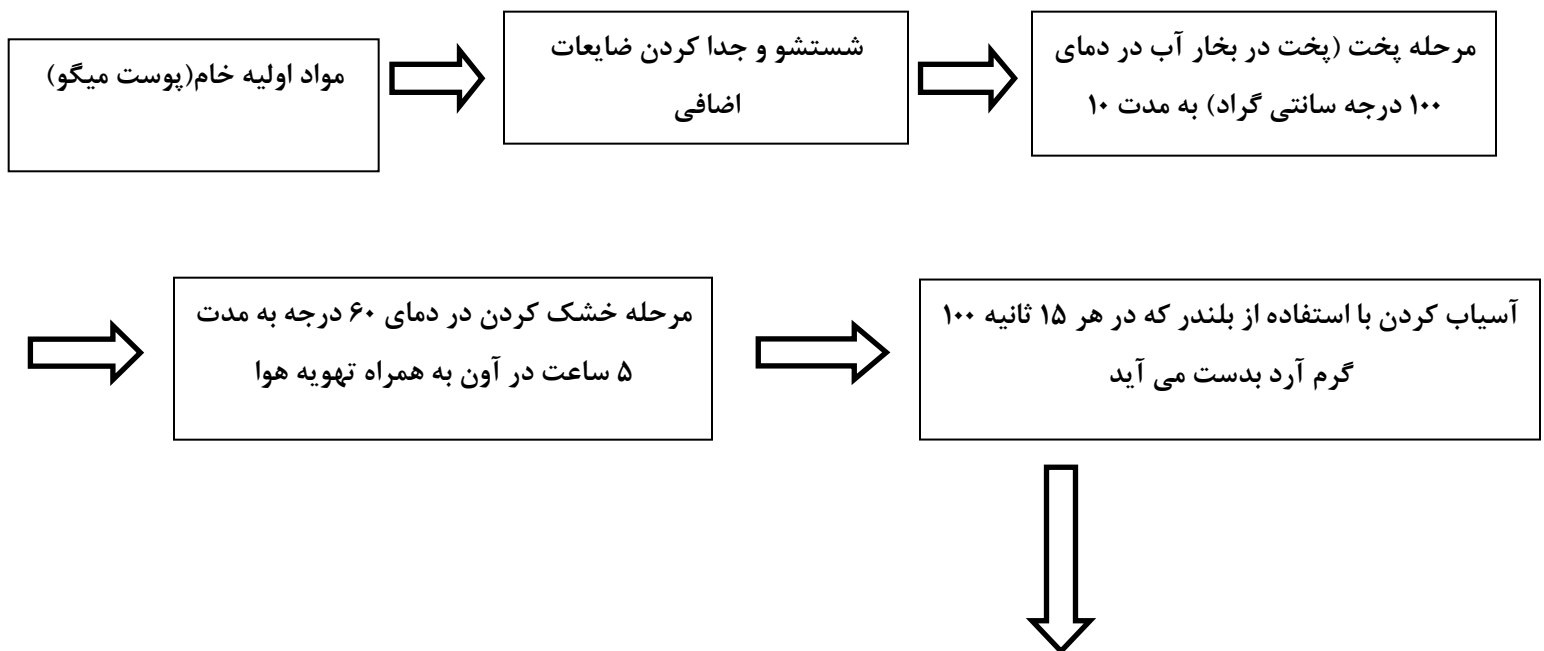
ضایعات میگو (سرو کاراپاس) ۴۵-۵۵٪ میگوی کامل را شامل می شود. بیشترین میزان ضایعات میگو در صنایع فرآوری میگو تولید می شود. ضایعات میگو یکی از منابع با ارزش طبیعی کاروتنوئید است بازیافت این ترکیبات با ارزش از ضایعات نه تنها فقط باعث بهبود اقتصادی کارخانه فرآوری میگو می شود بلکه آلودگی ناشی از ضایعات میگو را کاهش خواهد داد. توزیع کاروتانوئیدها در سخت پوستان به گونه ها و زیستگاهها بستگی دارد ضایعات میگو یکی از ارزانتترین مواد خام برای استخراج یا بازیافت کاروتنوئید می باشد استاگزانتین بعنوان رنگدانه اصلی در سخت پوستانی مثل میگو و خرچنگ دریایی و لابلستر است بتا کاروتن و زگزانتین در این گونه ها کم است و زگزانتین رنگدانه مهم در خرچنگ آبهای تازه است. طبق گزارشات کاروتنوئیدها در سخت پوستان آبهای استوایی اندک است. سخت پوستان رنگدانه ها رو از طریق

رژیم غذایی جذب می کنند کاروتنوئید استخراج شده یک جایگزین خوب برای کاروتنوئید سنتتیک خواهد بود.

طراحی آزمایش و متولوژی:

ضایعات میگو شامل سرو کاراپاس از کارخانجات فرآوری میگو جمع آوری شد و به آزمایشگاه تحت شرایط انجماد انتقال داده می شود.

ضایعات میگو به شرح ذیل عمل آوری خواهد گردید:



استخراج کل کاروتنوئید ها (TTC) - Total carotenoid content با چهار روش :



کلاسیک و سوکسله و غوطه وری و اولتراسوند

روش کلاسیک :

- ✓ ۵ گرم پوست میگو آرد شده + ۲۰۰ میلی لیتر از مخلوط حلال شامل اتر نفت و استون و آب به نسبت ۱۰:۷۵:۱۵ در ۵ درجه سیلیسوس به مدت ۲۴ ساعت (دور از نور) قرار داده
- ✓ فیلتر شدن
- ✓ جداسازی چربی در روتاری با کاهش فشار
- ✓ عصاره کاروتنوئیدهای بدست آمده با اتر نفت به حجم ۱۰۰ میلی متر رسانده و در طول موج ۴۶۸ با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری می شود
- ✓ محاسبه راندمان بر اساس وزن خشک

روش سوکسله:

- ✓ ۵ گرم ماده خام داخل کارتریج ریخته و به استخراج کننده ۲۵۰ میلی لیتری انتقال داده شد و به مدت ۸ ساعت عصاره گیری با ۱۵۰ میلی لیتر حلال در دمای جوش انجام می شود
- ✓ استخراج کاروتنوئید با حلالهای ان-هگزان و مخلوط هگزان و ایزوپروپانول به نسبت ۵۰:۵۰ انجام شد
- ✓ تغلیظ عصاره استخراج شده با روتاری
- ✓ عصاره کاروتنوئیدهای بدست آمده با اتر نفت به حجم ۱۰۰ میلی متر رسانده و در طول موج ۴۶۸ با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری می شود
- ✓ محاسبه راندمان بر اساس وزن خشک



روش غوطه وری:

- ✓ ۲۵ گرم نمونه داخل ۱۰۰ میلی لیتر حلال آلی به مدت ۵ روز در دمای اتاق (دور از نور) و گذاشتن به مدت یک روز در تاریکی روی شیکر
- ✓ استخراج کاروتنوئید با حلالهای ان-هگزان و مخلوط هگزان و ایزوپروپانول به نسبت ۵۰:۵۰ انجام شد
- ✓ جداسازی مخلوط مواد خام و حلال و عصاره با استفاده از فیلتر سلولزی
- ✓ تغلیظ عصاره تحت خلا به وسیله وکیوم
- ✓ عصاره کاروتنوئیدهای بدست آمده با اتر نفت به حجم ۱۰۰ میلی متر رسیانده و در طول موج ۴۶۸ با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری می شود
- ✓ محاسبه راندمان بر اساس وزن خشک

روش اولتراسوند:

- ✓ ریختن ۵ گرم نمونه داخل ۱۵۰ میلی اتانول
 - ✓ گذاشتن محلول در دستگاه اولتراسوند (میزان اثربخشی ۷۰۰ کیلو هرتز) برای ۱۰ دقیقه
 - ✓ جداسازی محلول از مواد خام با استفاده از سانتریفوژ با دور ۲۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه تحت خلاء
 - ✓ عصاره کاروتنوئیدهای بدست آمده با اتر نفت به حجم ۱۰۰ میلی متر رسانده و در طول موج ۴۶۸ با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری می شود
 - ✓ محاسبه راندمان بر اساس وزن خشک
- در نهایت راندمان کاروتنوئید (آستاگزانتین) از معادله ذیر بدست می آید:

$$\text{کاروتنوئید کل (گرم نمونه/میکرو گرم آستاگزانتین)} = \frac{A_{468\text{nm}} \times V_{\text{extract}} \times \text{dilution factor}}{0.2 \times W_{\text{sample}}}$$

A: طیف جذب

V_{extract}: حجم عصاره

Dilution factor: ضریب محلول

W_{sample}: وزن نمونه

سوابق تحقیق در داخل و خارج از کشور با تاکید بر نتایج آنها :

مرادی در بررسی استخراج رنگدانه های موجود در خاویار قره برون و چالباش، بهترین محلول برای استخراج آستاگزانتین را ترکیبی از آستن و آب به نسبت ۸۰-۲۰ درصد عنوان کرد و در نهایت میزان استخراج آستاگزانتین به میزان ۲۳/۵ میکروگرم بر گرم محاسبه گردید . استفاده از پروتئاز تجاری. هیدرولیز مناسبی را از کمپلکس پروتئین- رنگدانه ها به ما ارائه داده است. Sachindra و همکاران در سال ۲۰۰۵ طی تحقیقی از حلالهای آلی برای استخراج کاروتنوئیدها استفاده کردند در این تحقیق حلالهای قطبی و غیر قطبی و مخلوطی از از حلالها استفاده شد. طبق نتایج بدست آمده هگزان و ایزوپروپیل الکل بهترین حلال بود. Khanafari و همکاران (۲۰۰۷) از روشهای میکروبی و شیمیایی برای استخراج آستاگزانتین از ضایعات میگو استفاده کردند. در این تحقیق آنها برای استخراج آستاگزانتین از هگزان استفاده کردند. در تحقیقی دیگر Sachindra , Mahendrakar (۲۰۰۵) از روغنهای گیاهی برای استخراج کاروتنوئید ها از ضایعات میگو (*Penaeus indicus*) استفاده کردند و نتیجه گرفته شد روغن آفتابگردان بهترین روغن برای استخراج می باشد. Natalia Mezzomo و همکاران در تحقیقاتی که در زمینه استخراج کاروتنوئید از ضایعات میگوی صورتی داشتند به این نتیجه رسیدند که می شود از ضایعات میگو کاروتنوئیدها را بخصوص آستاگزانتین را با غلظت بالای ۲۵۲ میکروگرم استخراج کردو مناسبترین حلال آستن و هگزان بودو ایزوپروپانول به نسبت (۵۰:۵۰ V/V) در روش غوطه وری استفاده شد.

منابع:

۱- قاسمی . شهروز. شاهی فر. رضا. ۱۳۷۹. استخراج رنگدانه های موجود در خاویار قره برون

و چالباش. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۳۶ صفحه. ۶-۸

۲- دمان. جان. ۱۳۸۲. مبانی شیمی مواد غذایی. بابک قنبرزاده. تهران. آئیز. ۳۲۷ صفحه .

۱۶۶-۱۶۷

3-Sachindra.N.et al. (2005).Carotenoids in different body components of indian Shrimps. Publication: Department Of Meat, Fish and Poultry Technology (India), Pp: 167-172

4-Mezzomo, N.et al, (2011) .Pink Shrimp (P.brasiliensis and P.paulensis) residue: Influence of extraction method on carotenoid concentration. Publication: Chemical and Food Engineering Department, (Brazil).Pp:1383-1390

5-Sowmya.R, et al, (2012), Evaluation of antioxidant activity of carotenoid extract from shrimp processing by in vitro assays and in membrane model system. Publication: Department Of Meat, Fish and Poultry Technology (India), Pp: 308-314

6-Houshmand.H.et al. (2012), Extraction of carotenoids from crustacean waste using organic solvents, Publication: Department of Food Science and Technology (Iran)

7- Houshmand.H.et al. (2012), Extraction of carotenoids from crustacean waste with vegetable oils, Publication: Department of Food Science and Technology (Iran)

8- Hoffmann. (1989), the role of astaxanthin in shrimp pigmentation, Publication: Animal Nutrition and Health. (Switzerland).Pp:319-325

9- Mezzomo, N.et al, (2012) Supercritical anti-solvent precipitation of carotenoid fraction from pink shrimp residue: Effect of operational conditions on encapsulation efficiency, Pp: 342-349

10-Sachindra .N.et al. (2004) Carotenoids in crabs from marine and fresh waters of India. Publication: Department Of Meat, Fish and Poultry Technology (India), Pp: 221-225