



بهینه‌سازی استفاده از عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس در کاهش اکسیداسیون روغن ماهی تون زردباله با استفاده از آنالیز سطح پاسخ

مهدی شریفی اصل^۱، لاله رومیانی^{۲*}

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی شیمی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲. دانشیار گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۷

تاریخ ارسال: ۱۴۰۱/۰۲/۰۲

چکیده

هدف از این مطالعه، بهینه‌سازی شرایط استخراج عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس (*Tetraselmis suecica*) تحت شرایط دمایی ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۲۰، ۷۰ و ۱۲۰ دقیقه بود. تعیین نسبت ماده خشک به حلال ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌لیتر بر گرم و سپس بررسی تأثیر افزودن عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس در غلظت‌های ۰، ۳۵۰، ۵۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به روغن ماهی تون زردباله (*Thunnus albacares*) در طول ۵۶ روز نگهداری نیز انجام شد. بالاترین درصد مهار رادیکال‌های آزاد با ۶۹/۱۹ درصد در زمان ۱۲۰ دقیقه، دمای استخراج ۵۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت ۳۰ میلی‌لیتر بر گرم حلال به ماده خشک اندازه‌گیری شد. عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس به ترتیب حاوی ۲۵/۱۵ میلی‌گرم/گرم اکسی‌والان اسید گالیک از ترکیبات فنولی و $0/85 \pm 0/05$ میلی‌گرم/گرم اکسی‌والان کوئر سیتین ترکیبات فلاونوئیدی بود. بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس ($81/14 \pm 0/16$ درصد) اندازه‌گیری شد که بالاتر از قدرت آنتی‌اکسیدانی BHT با غلظت ۰/۰۱ درصد ($60/24 \pm 0/18$ درصد) بود. تیمار شاهد، بالاترین و تیمار روغن ماهی تون زردباله حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم/لیتر عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس، کمترین سطح شاخص‌های اکسیداسیون (پراکسید، تیوباربیتوریک‌اسید و p -آنیسیدین) را داشتند. نتایج آزمایش‌های کینتیکی، عامل حفاظتی، قدرت آنتی‌اکسیدانی و دوره‌القائه را در هر سه غلظت عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس بالاتر از شاهد و BHT نشان داد. یافته‌های این آزمایش نشان داد که تیمارهای حاوی سه غلظت ۳۵۰، ۵۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس شاخص یا عامل حفاظتی و قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با BHT دارد و این عصاره می‌تواند جایگزین ترکیبات سنتتیک یا کارخانه‌ای شود.

واژگان کلیدی: بهینه‌سازی، اکسیداسیون روغن، جلبک تتراسلمیس، تحلیل سطح پاسخ، روغن ماهی تون زردباله



Optimizing the use of hydroalcoholic extract of *Tetraselmis suecica* algae in reduction of yellowfin tuna oil oxidation using response surface analysis

Mehdi Sharifi Asl¹, Laleh Roomiani^{2*}

1. M.Sc. Student, Department of Chemical Engineering, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

2. Associate Professor, Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

Received: 22-Apr-2022

Accepted: 22-Dec-2022

Abstract

The aim of this study was to optimize the extraction conditions of hydroalcoholic extract of *Tetraselmis suecica* under 50, 70 and 90°C, duration 20, 70 and 120min and dry matter to solvent ratio of 10, 20 and 30 mL/g. The effect of adding hydroalcoholic extract of *Tetraselmis* algae at concentrations of 0, 350, 550 and 1000ppm to *Thunnus albacares* oil were investigated during 56 days of storage as well. The highest percentage of free radical scavenging of 69.19% was measured at 120min, extraction temperature of 50°C and ratio of 30 mL/g solvent to dry matter. The hydroalcoholic extract of *Tetraselmis* contained 25.15 mg/g GAE phenolic compounds and 0.85±0.05mg/g QE flavonoid compounds, respectively. The highest antioxidant power was measured at a concentration of 1000ppm of hydroalcoholic extract of *Tetraselmis* algae (81.14±0.16 %) which was higher than the antioxidant power of BHT with a concentration of 0.01% (60.24±0.18%). The control treatment had the highest and the yellowfin tuna oil treatment containing 1000ppm hydroalcoholic extract of *Tetraselmis* had the lowest level of oxidation indices (peroxide, thiobarbituric acid and *p*-anisidine). The results of kinetic experiments, protective factor, antioxidant power and induction period (IP) in all three concentrations of hydroalcoholic extract of *Tetraselmis* were higher than control and BHT. The results showed that treatments containing three concentrations of 350, 550 and 1000ppm hydroalcoholic extracts of *Tetraselmis* algae had a higher protective factor and antioxidant power compared to BHT and this extract could replace synthetic compounds.

Keywords: Optimization, Oil oxidation, *Tetraselmis suecica*, Response Surface Analysis, *Thunnus albacares* oil.

۱. مقدمه

پایداری روغن طی نگهداری و یا گرما، معیار مهمی جهت ارزیابی آن به‌عنوان یک روغن خوب است. اکسیداسیون به‌عنوان مشکل اصلی پایداری روغن‌های خوراکی و ایجاد تغییرات مخرب در خصوصیات شیمیایی، حسی و تغذیه‌ای آن شناخته شده است. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی با مهار رادیکال‌های آزاد سبب جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها می‌شوند، اما استفاده از این ترکیبات به‌دلیل سمیت احتمالی و گزارش‌هایی مبنی بر سرطان‌زایی و تأثیر بر فعالیت‌های آنزیمی کبد، محدود شده است (Konsoula et al., 2010).

پایداری اکسیداتیو روغن را می‌توان به‌وسیله تغییر ترکیب اسیدهای چرب روغن و یا افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها به آن بهبود داد. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که اغلب از طریق دادن هیدروژن به ترکیبات رادیکالی آن‌ها را احیاء نموده و از پیشرفت اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند. به‌دلیل اثرات مضر ترکیبات شیمیایی سنتزی و گرایش مردم به سمت مواد غذایی طبیعی، در سال‌های اخیر تلاش برای شناخت آنتی‌اکسیدان‌هایی با منشأ طبیعی افزایش یافته است (Penalver et al., 2020).

روش‌های استخراج ریزجلبک‌ها ترکیبی از فناوری‌های جدید و سنتی هستند که در آن زیست‌توده جلبکی علاوه بر این که به‌عنوان منبع پروتئینی استفاده می‌شود، منبع ترکیبات فیتوشیمیایی از قبیل پروتئین‌ها، کربوهیدرات، آلکالوئیدها، استروئیدها، فنول‌ها، ساپونین و فلاونوئیدها نیز است (Mishra et al., 2018). از این‌رو، از ریزجلبک می‌توان به‌عنوان یک منبع مفید برای تولید غذاهایی جدید و محصولات غذایی فراسودمند استفاده کرد و به‌دلیل داشتن ترکیب شیمیایی متعادل، می‌تواند به‌منظور افزایش ارزش تغذیه‌ای غذاها مورد استفاده قرار گیرند (Morsy et al., 2018). مقاومت بالای سلول‌های جلبکی در برابر نور خورشید و اکسیژن محلول بالا به‌عنوان عوامل تحریک‌کننده اکسیداسیون، نشان می‌دهد که سلول‌های جلبک دارای سیستم حفاظت بالایی در برابر اکسایش هستند (Grassi et al., 2020). مطالعاتی

روی خواص آنتی‌اکسیدانی جلبک‌ها انجام شده است که از آن جمله می‌توان به تحقیقات Namiki و هم‌کاران (۲۰۱۷) بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی علف‌های دریایی، Golmakani و هم‌کاران (۲۰۱۸) بر تأثیر عصاره جلبک *Arthrospira platensis* به‌عنوان آنتی‌اکسیدانی طبیعی در بهبود پایداری اکسیداتیو روغن کیلکا (*Clupeonella cultriventris caspia*) و Grassi و هم‌کاران (۲۰۲۰) در مورد تأثیر افزودن مخمر *Saccharomyces cerevisiae* و جلبک *Spirulina platensis* بر پایداری اکسیداسیونی غذای ماهی تیلاپپای حاوی روغن اشاره کرد.

تون ماهیان به‌واسطه داشتن مقادیر بالایی از اسیدهای چرب امگا ۳، یکی از با ارزش‌ترین ماهیان صید صنعتی در جهان محسوب می‌شوند (Pazouki et al., 2012). با توجه به تنوع پهنه‌های آبی ایران و حضور انواع مختلف جلبک‌ها، هدف از این مطالعه، کاهش اکسیداسیون روغن ماهی تون زرد باله (*Thunnus albacares*) با استفاده از افزودن عصاره جلبک تتراسلمیس بود.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. استخراج روغن ماهی تون زردباله

استخراج روغن از ماهی تون زرد باله در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از دکانتور انجام شد. بدین‌منظور ۱۰ گرم کبد ماهی درون ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتر توزین و ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول و ۵۰ میلی‌لیتر کلروفورم به آن‌ها اضافه شد سپس به‌وسیله دستگاه همگن‌ساز (Arasan cream separator, Turkey) به مدت ۲ دقیقه مخلوط و پس از افزودن ۵۰ میلی‌لیتر کلروفورم، به مدت ۳۰ ثانیه یکنواخت گردید. در ادامه، ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به نمونه‌ها اضافه و مجدداً به مدت ۳۰ ثانیه یکنواخت شد. قسمت رویی به همراه روغن با پمپ خلأ و کیف بوختر از مواد جامد جداسازی و قسمت رویی با استفاده از دکانتور و لایه کلروفومی به دو قسمت مجزا تقسیم شد که حلال کلروفورم با دستگاه روتاری (مدل

۲.۲. بهینه‌سازی شرایط استخراج عصاره هیدروالکلی

جلبک تتراسلمیس (*Tetraselmis suecica*)

پودر خشک‌شده جلبک تتراسلمیس از پژوهشکده سازمان تحقیقات شیلات (بندرلنگه) تهیه و در شرایط دمایی خنک شد و به محل انجام تحقیق منتقل گردید. ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم پودر ریزجلبک تتراسلمیس 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. سپس محتویات ارلن به وسیله کاغذ صافی، صاف 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 و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد (Salehi et al., 2005). با توجه به میزان مهار رادیکال DPPH^۱ عصاره‌های به دست آمده در دما، زمان و درصد ماده خشک نسبت به حلال مشخص شد (جدول ۱) و بهترین گروه به‌عنوان شرایط بهینه استخراج تعیین گردید.

D3، ساخت کشور سوئیس) خارج و از روغن جدا گردید (Karim et al., 2016). برای شناسایی و تعیین اسیدهای چرب روغن کبد ماهی از دستگاه کروماتوگراف گازی استفاده شد. آماده‌سازی نمونه به صورت مشتق متیلاستر به روش Christie و توسط مونوکسید سدیم ۰/۵ نرمال انجام گردید. جهت بررسی پروفایل اسیدهای چرب از دستگاه گاز کروماتوگرافی (مدل Agilent Technologies-7890B GC متصل به طیف‌سنجی جرمی مدل Agilent Technologies-5975C با ستون کاپیلاری HP-5MS (طول ۳۰ متر×قطر بیرونی ۰/۲۵ میلی‌متر×۲۵ میکرومتر قطر داخلی) انتقال و در حد تشخیص میلی‌گرم بر لیتر) استفاده شد. دمای محل تزریق نمونه ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد، دمای ستون ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای آشکارکننده ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت جریان کامل هیدروژن ۰/۶ میلی‌لیتر در دقیقه و میزان تزریق ۱ میکرولیتر بود.

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

تعداد آزمایش	زمان (دقیقه)	دما (درجه سانتی‌گراد)	نسبت آب به موادخام (میلی‌گرم بر لیتر)	فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH (درصد)
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

^۱2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

۵.۲. اندازه‌گیری شاخص‌های پراکسید

شاخص پراکسید برا ساس روش تیترا سیون و میزان تیوسولفات سدیم محاسبه شد. بدین منظور، ۰/۳ گرم روغن ماهی تون زردباله داخل ارلن ۵۰ میلی‌لیتری توزین و ۱۰ میلی‌لیتر اسید استیک کلروفومی به روغن افزوده شد و با تکان دادن ظرف، حل گردید. ۱ میلی‌لیتر محلول پتاسیم ید 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 ۱ میلی‌لیتر از محلول ۱ درصد نشاسته به محلول‌ها اضافه و تکان داده شد تا رنگ محلول به صورت بنفش تغییر کند. محلول با استفاده از تیوسولفات سدیم ۰/۱٪ نرمال تا ناپدید شدن رنگ بنفش ادامه یافت. همزمان یک آزمایش شاهد (بدون افزودن روغن یا چربی استخراجی) نیز به همین روش انجام شد (AOAC, 2002). محاسبه PV براساس رابطه ۲ انجام شد:

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

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

۶.۲. اندازه‌گیری شاخص تیوباریتیوریک اسید

یک گرم روغن ماهی تون در ۱۰ میلی‌لیتر کربن تتراکلروئید حل و ۱۰ میلی‌لیتر تیوباریتیوریک اسید (۰/۶۷ درصد محلول تیوباریتیوریک اسید با اسید سیتریک خالص مخلوط شد) به آن اضافه و به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰×۱۰۰۰ 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 به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال ۱-بوتانل پس از فیلتر شدن به دست آمد (Association of Official Analytical Chemists, 1990).

۳.۲. اندازه‌گیری قدرت مهار رادیکال‌های آزاد

(DPPH) عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

این شاخص طبق روش Brand-Williams و همکاران (۱۹۹۵) و با استفاده از رادیکال‌های پایدار ۲ و ۲ دی فنیل ۱ پیکریل-هیدرازیل ۳ (DPPH) انجام شد. ۲ میلی‌لیتر از عصاره هیدروالکلی جلبکی به ۲ میلی‌لیتر از محلول اتانولی ۱۶ درصد میلی‌مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده و به مدت یک دقیقه با دستگاه ورتکس به خوبی مخلوط و ۳۰ دقیقه در دمای محیط و در تاریکی نگهداری شدند. جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر و با استفاده از اسپکتروفتومتر (DR 2000, HACK, Germany) خوانش و به صورت درصد (رابطه ۱) محاسبه شد.

$$RSA\% = [1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

A_{sample} = جذب نمونه و محلول DPPH بعد از زمان مورد نظر

A_{control} = جذب محلول DPPH بدون نمونه

A_{sample blank} = جذب نمونه DPPH بدون محلول

۴.۲. تیمارهای روغن ماهی حاوی عصاره

هیدروالکلی جلبک

عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس 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 روغن ماهی ۵۶ روز و نمونه‌ها در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲، ۴۹ و ۵۶ مورد آزمایش قرار گرفتند. تیمارهای مورد بررسی شامل:

۱- تیمار روغن ماهی بدون افزودنی (شاهد)

۲- تیمار روغن ماهی حاوی ۳۵۰ میلی‌گرم بر لیتر

عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

۳- تیمار روغن ماهی حاوی ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر

عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

۴- تیمار روغن ماهی حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر

عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

۵- تیمار روغن ماهی حاوی BHT

۱۰.۲. شاخص‌های سنتتیکی روغن ماهی

دور القاء (IP^1) به تعداد روزهایی، گفته می‌شود که شاخص پراکسید از میزان عدد ۲۰ میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم تجاوز کند (Keramat and Golmakani, 2016). فاکتور حفاظت (PF) براساس رابطه ۶ محاسبه شد:

$$PF = \frac{IP_a}{IP_c}$$

که در آن IP_a : میزان IP نمونه KO شامل آنتی‌اکسیدان‌های (عصاره جلبکی و BHT) و IP_c ، IP شاهد بود (Hras et al., 2000).
فعالیت آنتی‌اکسیدانی (AA) با غلظت آنتی‌اکسیدان ارتباط دارد و با استفاده از رابطه ۷ محاسبه شد:

$$AA = \frac{IP_a - IP_c}{[AH] \times IP_c}$$

[AH]: غلظت آنتی‌اکسیدانی بر حسب میلی‌گرم در لیتر (Antolovich et al., 2002).
قدرت آنتی‌اکسیدانی (AOP) با استفاده از رابطه ۸ محاسبه شد (Silva et al., 2001).

$$AOP = 100 - \left(\frac{IP_c}{IP_a} \times 100 \right)$$

در این آزمایش اثر سه عامل دما، زمان و نسبت حلال به ماده خشک در سه سطح و بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس به روش DPPH بررسی شد. بدین منظور محدوده متغیرهای مورد بررسی مشخص و بعد از وارد کردن آن‌ها به نرم‌افزار Design Expert نقشه آزمایش‌ها (Run) به دست آمد.

۱۱.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمام آزمایشات در ۳ تکرار انجام شدند. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۱ تعیین شد. داده‌های مختلف به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شدند.

۷.۲. اندازه‌گیری شاخص اسیدهای چرب آزاد

سه گرم روغن در ۵۰ میلی‌لیتر مخلوط نوتریال اتر-اتانول (۱:۱ حجم/حجم) حل و مخلوط با دست همزده شد. پس از سرد شدن در دمای اتاق، مخلوط با استفاده از پتاسیم هیدروکسید ۰/۰۱ مولار تیتر گردید. فنول فتالین (۱۰ گرم بر لیتر) به عنوان شاخص استفاده شد. میزان اسیدهای چرب آزاد (میلی اکی‌والان بر گرم) بر اساس رابطه ۳ محاسبه گردید (Zhang et al., 2015):

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

که در این رابطه V: میزان پتاسیم هیدروکسید (میلی‌لیتر)؛ C: غلظت پتاسیم هیدروکسید (مول بر لیتر) و m: جرم نمونه روغن ماهی (گرم) است.

۸.۲. اندازه‌گیری شاخص p-آنیسیدین

پنج میلی‌لیتر از این محلول با ۱ میلی‌لیتر از محلول ۰/۲۵ درصد p-آنیسیدین در اسیداستیک گلاسیال مخلوط و پس از ۱۰ دقیقه جذب در طول موج ۳۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل DR-2800 و رابطه ۴ خوانده شد (AOAC, 2002).

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

AS: میزان جذب محلول حاوی نمونه، AB: میزان جذب محلول حاوی نمونه خالص و W: وزن نمونه بر حسب گرم.

۹.۲. اندازه‌گیری شاخص تو تاکس

نوعی شاخص محاسبه‌ای است که نشان‌دهنده مقدار کل تولید اکسیداسیونی اولیه و ثانویه است و با استفاده از شاخص پراکسید و p-آنیسیدین (رابطه ۵) به دست آمد (Frankel, 2012).

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

¹ Induction Period

اثرات متقابل سه عامل دما (درجه سانتی‌گراد)، زمان (دقیقه) و نسبت عصاره به روغن (میلی لیتر بر لیتر) بر فعالیت مهار DPPH در جدول ۲ نشان داده شده است همچنین مقدار پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار و مقادیر باقیمانده (تفاضل مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده) قابل مشاهده است (جدول ۲). بر اساس نتایج، مقادیر پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار بسیار نزدیک به مقادیر واقعی بود. بیشترین فعالیت مهار DPPH در آزمون شماره ۱۴ با اثرات سه‌گانه زمان (۱۲۰ دقیقه)، دما (۵۰ درجه سانتی‌گراد) و نسبت حلال به ماده خشک (۲۰ میلی‌لیتر بر گرم) برآورد شد.

تفاوت بین میانگین‌ها توسط آنالیز واریانس یکطرفه انجام و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها، از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ استفاده شد.

۳. نتایج

۱.۳. بررسی تأثیر شرایط استخراج روی توانایی مهار رادیکال‌های آزاد عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس
بررسی تأثیر شرایط استخراج روی توانایی مهار رادیکال‌های آزاد عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

جدول ۲- اثرات متقابل سه عامل دما (درجه سانتی‌گراد)، زمان (دقیقه) و نسبت عصاره به روغن (میلی لیتر بر لیتر) بر فعالیت مهار DPPH

تعداد آزمایش	زمان (دقیقه)	دما (درجه سانتی‌گراد)	نسبت آب به موادخام (میلی گرم بر لیتر)	فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH (درصد)	مقدار پیش‌بینی شده	مقدار باقی‌مانده
۱	۷۰	۹۰	۱۰	۵۱/۶۴	۵۰/۸۹	۰/۷۵۳۷
۲	۱۲۰	۹۰	۲۰	۵۱/۱۴	۵۱/۹۲	-۰/۷۷۵۱
۳	۷۰	۷۰	۲۰	۴۴/۶۴	۴۳/۱۶	۱/۴۸
۴	۱۲۰	۷۰	۳۰	۶۲/۵۸	۶۲/۷۴	-۰/۱۵۷۶
۵	۲۰	۵۰	۲۰	۲۱/۲۳	۲۱/۸۰	-۰/۵۶۷۶
۶	۷۰	۷۰	۲۰	۴۳/۱۱	۴۳/۱۶	-۰/۰۴۸۸
۷	۲۰	۷۰	۱۰	۴۵/۲۲	۴۳/۹۶	۱/۲۶
۸	۲۰	۷۰	۳۰	۱۰/۳۱	۸/۷۴	۱/۵۷
۹	۷۰	۵۰	۳۰	۳۸/۰۶	۳۹/۵۵	-۱/۴۹
۱۰	۷۰	۷۰	۲۰	۴۴/۴۷	۴۳/۱۶	۱/۳۱
۱۱	۷۰	۷۰	۲۰	۴۳/۳۷	۴۳/۱۶	۰/۲۱۱۲
۱۲	۷۰	۷۰	۲۰	۴۲/۱۵	۴۳/۱۶	-۱/۰۱
۱۳	۲۰	۹۰	۲۰	۲۸/۳۹	۳۰/۹۰	-۲/۵۱
۱۴	۱۲۰	۵۰	۲۰	۶۹/۱۹	۶۸/۰۳	۱/۱۶
۱۵	۷۰	۹۰	۳۰	۳۲/۳۷	۳۱/۹۲	۰/۴۴۶۲
۱۶	۷۰	۵۰	۱۰	۴۹/۰۹	۵۰/۲۷	-۱/۱۸
۱۷	۱۲۰	۷۰	۱۰	۵۶/۷۴	۵۷/۲۱	-۰/۴۶۵۱

و نسبت حلال به ماده خشک و زمان و نسبت حلال به ماده خشک در سطح 0.05 بر فعالیت مهار DPPH معنی‌دار بودند (جدول ۳). در این مطالعه با بکارگیری تجزیه رگرسیون چندگانه در داده‌های مورد آزمون، متغیر پاسخ و متغیرهای مورد بررسی با استفاده از رابطه ۹ به هم مرتبط شدند:

نتایج ارزیابی اثرات متغیرهای فرآیند بر فعالیت مهار DPPH در جدول ۳ ارائه شده است. معنی‌دار نبودن عامل عدم برازش در سطح اطمینان ۹۵ درصد نیز تأییدکننده مناسب بودن مدل منتخب است. با توجه به نتایج، تجزیه واریانس اثرات خطی دما، زمان و نسبت حلال به ماده خشک و همچنین اثرات متقابل دما و زمان استخراج، دما

$$Y = +23/824 + 0/369 A + 0/559 B - 1/447 C - 0/006 AB + 0/020 AC - 0/010 BC$$

استخراج، C: نسبت حلال به ماده خشک
 Y: فعالیت مهار DPPH، A: زمان استخراج، B: دمای

جدول ۳- ارزیابی اثرات متغیرهای فرآیند بر بر فعالیت مهار DPPH

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار-F	مقدار-p	تفاوت
مدل	۳۳۱۷/۴۹	۶	۵۵۲/۹۱	۲۴۸/۶۸	<0/0001	معنی دار
زمان (دقیقه) A	۲۲۶۱/۲۸	۱	۲۲۶۱/۲۸	۱۰۱۷/۰۶	<0/0001	معنی دار
دما (درجه سانتی گراد) B	۲۴/۶۱	۱	۲۴/۶۱	۱۱/۰۷	0/0077	معنی دار
نسبت آب به مواد خام (میلی گرم بر لیتر) C	۴۴۰/۶۰	۱	۴۴۰/۶۰	۱۹۸/۱۷	<0/0001	معنی دار
AB	۱۵۸/۸۹	۱	۱۵۸/۸۹	۷۱/۴۶	<0/0001	معنی دار
AC	۴۱۵/۱۴	۱	۴۱۵/۱۴	۱۸۶/۷۲	<0/0001	معنی دار
BC	۱۶/۹۷	۱	۱۶/۹۷	۷/۶۳	0/0200	معنی دار
باقیمانده	۲۲/۲۳	۱۰	۲/۲۲			
عدم برازش	۱۸/۰۱	۶	۳/۰۰	۲/۸۵	0/1654	غیر معنی دار
خطا	۴/۲۲	۴	۱/۰۶			
امتیاز کل	۳۳۳۹/۷۲	۱۶				
R ²	0/9933					
Adjusted R ²	0/9893					
C.V. %	۳/۴۵					

متغیر مستقل نسبت حلال به ماده خشک افزایش نسبت حلال منجر به افزایش فعالیت مهار DPPH شد.

۳.۳. بررسی تأثیر متغیرهای زمان، دما بر فعالیت مهار

DPPH توسط عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

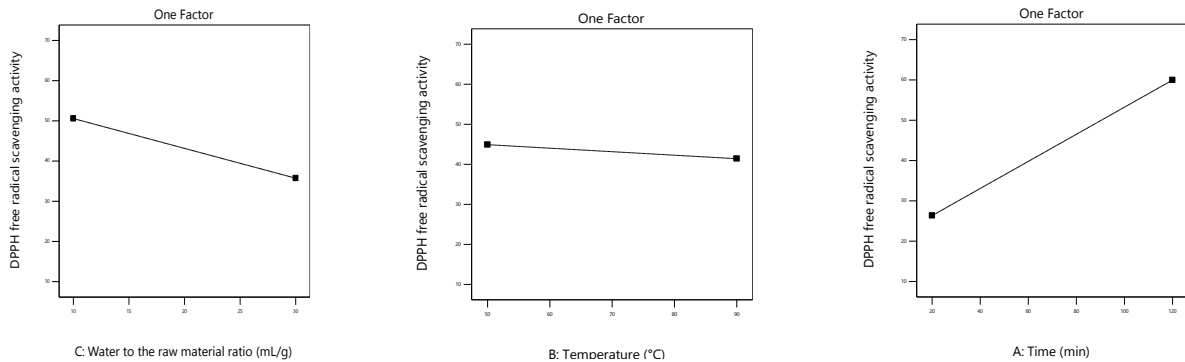
نمودار سه بعدی سطح پاسخ و کانتور اثرات متقابل عامل های زمان (۱۲۰-۲۰ دقیقه) و دما (۵۰-۹۰ درجه سانتی گراد) بر فعالیت مهار DPPH در حالی که نسبت حلال به ماده خشک در نقطه مرکزی ۲۰ میلی لیتر بر گرم ثابت نگه داشته شد، در شکل ۲ نشان داده شده است. اثر متقابل این دو عامل بر فعالیت مهار DPPH افزایشی بود. افزایش زمان در دماهای پایین تر دارای تأثیر بیشتری در مقایسه با دماهای بالاتر بر میزان فعالیت مهار بود.

۲.۳. بررسی تأثیر متغیرهای زمان، دما و نسبت

حلال به ماده خشک بر بر فعالیت مهار DPPH توسط

عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

تأثیر متغیر مستقل زمان در سطوح (۲۰، ۷۰ و ۱۲۰ دقیقه)، تأثیر متغیر دما در سطوح (۵۰، ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی گراد) و اثر متغیر مستقل نسبت حلال به ماده خشک در سطوح (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی لیتر بر گرم) بر فعالیت مهار DPPH زمانی که به ترتیب دو متغیر دما و نسبت حلال به ماده خشک، دو متغیر زمان و نسبت حلال به ماده خشک و متغیرهای زمان و دما در نقطه مرکزی ثابت نگه داشته شوند، در شکل ۱ نشان داده شده است. در بررسی تأثیر متغیر مستقل زمان، افزایش زمان از ۲۰ به ۱۲۰ دقیقه منجر به افزایش فعالیت مهار DPPH، در بررسی تأثیر متغیر دما، افزایش متغیر دما منجر به کاهش فعالیت مهار DPPH و در بررسی اثر

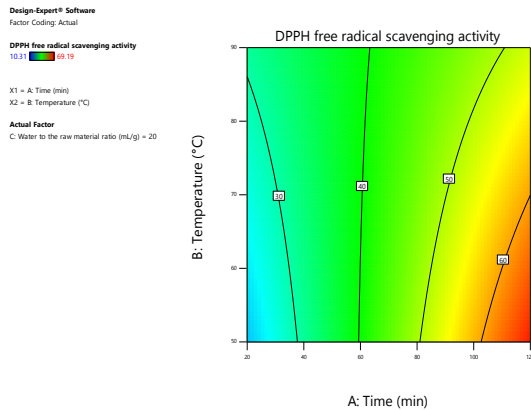


حلال به ماده خشک

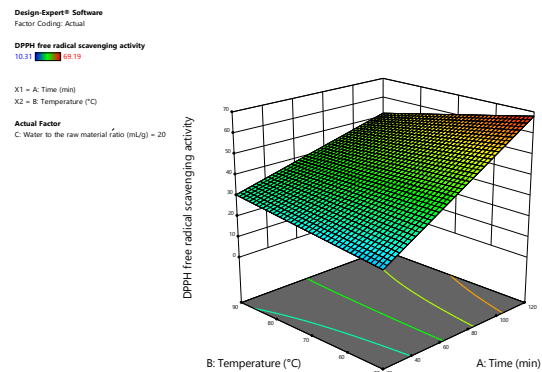
دما

زمان

شکل ۱- نمودار های اثرات متغیرهای مستقل بر فعالیت مهار DPPH توسط عصاره هیدروالکی جلبک تتراسلمیس



کانتور



نمودار سه بعدی

شکل ۲- نمودار های تأثیر همزمان زمان و دما بر فعالیت مهار DPPH توسط عصاره هیدروالکی جلبک تتراسلمیس

۵.۳. بررسی تأثیر متقابل متغیرهای دما و نسبت

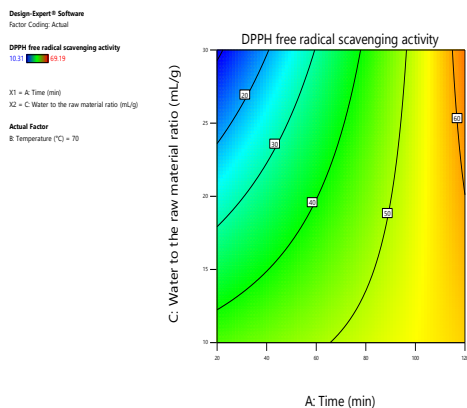
حلال به ماده خشک بر فعالیت مهار DPPH توسط عصاره هیدروالکی جلبک تتراسلمیس

در شرایطی که زمان در نقطه مرکزی ثابت و دمای استخراج در محدوده ۲۰-۹۰ درجه سانتیگراد و نسبت حلال به ماده خشک در محدوده ۱۰-۳۰ میلی لیتر بر گرم باشد، افزایش نسبت حلال به ماده خشک در سطوح بالای دما منجر به کاهش فعالیت مهار DPPH خواهد شد (شکل ۴).

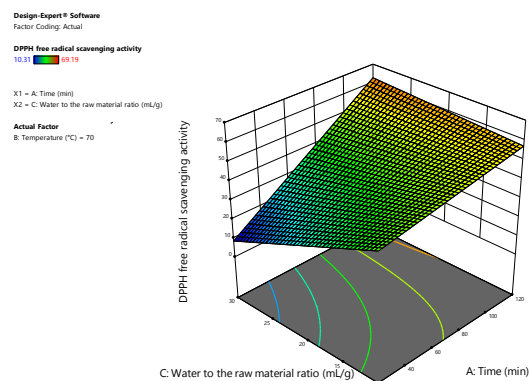
۴.۳. بررسی تأثیر متقابل متغیرهای زمان و نسبت

حلال به ماده خشک بر فعالیت مهار DPPH توسط عصاره هیدروالکی جلبک تتراسلمیس

شکل ۳، اثرات متقابل زمان (۲۰-۹۰ دقیقه) و نسبت حلال به ماده خشک (۱۰-۳۰ میلی لیتر بر گرم) در شرایطی که دما در نقطه مرکزی ثابت است را نشان می دهد. بر اساس نتایج، افزایش زمان در سطوح بالاتر نسبت حلال به ماده خشک، دارای تأثیر بیشتری بر افزایش فعالیت مهار DPPH بود.

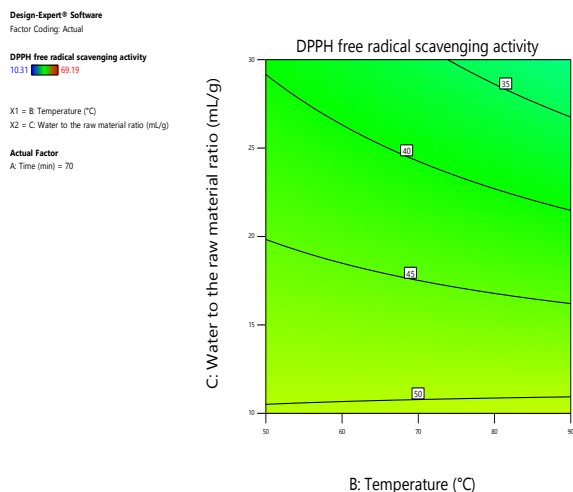


کانتور

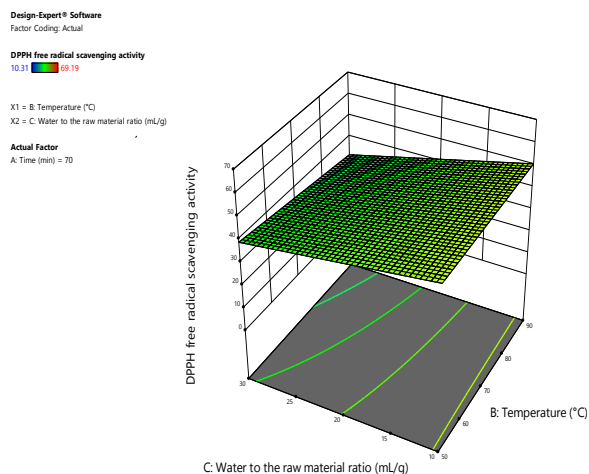


نمودار سه بعدی

شکل ۳- نمودار های تأثیر همزمان زمان و نسبت حلال به ماده خشک بر فعالیت مهار DPPH توسط عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس



نمودار کانتور



نمودار سه بعدی

شکل ۴- نمودار های تأثیر همزمان دما و نسبت حلال به ماده خشک بر فعالیت مهار DPPH توسط عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

۷.۳. بررسی پروفایل اسید چرب روغن ماهی

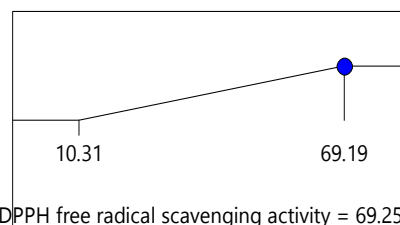
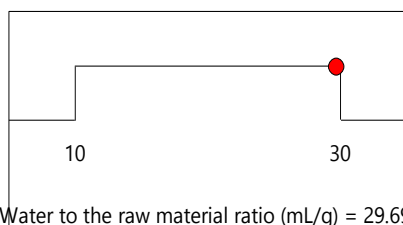
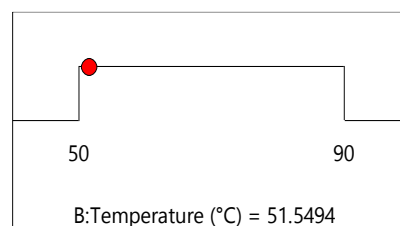
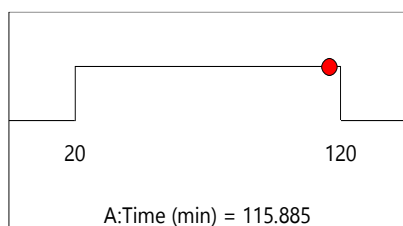
تون زردباله

اسیدهای چرب C16:0، C18:1ω9، DHA و C22:6ω3 بالاترین درصد فراوانی را در پروفایل روغن ماهی تون زردباله داشتند. اسیدهای چرب حاوی ۳۸/۲۸ درصد اسیدهای چرب بدون پیوند دوگانه (اسیدهای چرب اشباع) و ۸۱/۱۶ درصد اسیدهای چرب دارای پیوند دو یا چندگانه (اسیدهای چرب غیراشباع) بودند (جدول ۴).

۶.۳. بهینه‌سازی فعالیت مهار DPPH توسط

عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

در شکل ۵، تأثیر متغیرها به صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت که با توجه به نتایج می‌توان چنان بیان کرد که شرایط بهینه برای بیشینه فعالیت مهار DPPH ۶۹/۱۹ درصد شامل زمان ۱۱۵/۸۸ دقیقه، دمای ۵۱/۵۴ درجه سانتی‌گراد و نسبت حلال به ماده خشک ۲۹/۶۹ میلی‌لیتر بر گرم بود.



شکل ۵- نمودار های بهینه‌یابی اثر فاکتورهای مورد بررسی جهت حصول بیشترین فعالیت مهار DPPH توسط عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

جدول ۴- میانگین درصد پروفایل اسیدچرب روغن ماهی تون زردباله

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

فلاونوئیدی به شکل معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0.05$).

۹.۳. بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

بر شاخص‌های سینتیکی روغن ماهی تون زردباله

قدرت آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای روغن ماهی تون

۸.۳. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی

جلبک تتراسلمیس

با توجه به نتایج جدول ۵، مقدار ترکیبات فنولی

عصاره جلبک تتراسلمیس در مقایسه با ترکیبات

قدرت آنتی‌اکسیدانی را داشت ($P < 0/05$) (جدول ۶).

دریافت‌کننده، حاوی عصاره هیدروالکلی جلبکی با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بالاترین میزان و تیمار BHT کمترین

جدول ۵- میانگین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس

ترکیبات فنولی (میلی‌گرم بر گرم اکی‌والان اسید گالیک)	ترکیبات فلاونویدی (میلی‌گرم بر گرم اکی‌والان کوئرستین)	IC ₅₀ عصاره هیدروالکلی جلبک (میکروگرم بر لیتر)
۲۵۲۵±۰/۴۷ ^a	۰/۸۵±۰/۰۵ ^b	۱۸/۵۵±۰/۹۸

حروف غیرمشابه در بالای اعداد در یک ردیف به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

جدول ۶- میانگین نتایج شاخص‌های سینتیکی روغن ماهی حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد

نمونه	فاکتور حفاظت (درصد)	قدرت آنتی‌اکسیدانی (درصد)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	دوره‌القاء (روز)
شاهد	-	-	-	۰/۹۱±۰/۰۴ ^b
۳۵۰ میلی‌گرم بر لیتر	۳/۱۰±۰/۵۶ ^f	۶۱/۱۷±۰/۲۲ ^e	۶۰۳۴±۵۱/۳۴ ^e	۲/۸۷±۰/۰۸ ^e
۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر	۶/۱۷±۰/۴۶ ^d	۷۲/۹۳±۰/۱۳ ^d	۷۱۲۳±۲۴/۵۶ ^e	۴/۴۳±۰/۱۱ ^d
۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر	۸/۱۲±۱/۳۴ ^b	۸۱/۱۴±۰/۱۶ ^b	۸۹۳۲±۸۱/۹۱ ^c	۶/۳۷±۰/۱۳ ^b
BHT (۰/۰۱ درصد)	۱/۹۸±۰/۰۴ ^e	۶۰/۲۴±۰/۱۸ ^f	۱۰۳۴±۱/۹۱ ^a	۲/۱۱±۰/۰۵ ^c

حروف انگلیسی غیر مشابه در یک ردیف به معنی اختلاف معنی‌دار بین شاخص‌ها در هر ستون است ($P < 0/05$)

کیلوگرم در روز ۵۶ نگهداری رسید. تیمار شاهد در تمام دوره نگهداری بالاترین میزان TBA را در بین تیمارها داشت. روغن ماهی در تیمارهای حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی جلبکی در مقایسه با سایر تیمارها و BHT، TBA کمتری داشت. اما میزان TBA در تیمار BHT از روز ۳۵ نگهداری در مقایسه با تیمارهای حاوی ۳۵۰ و ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی جلبکی مقدار کمتری داشت ($P < 0/05$) (جدول ۷).

در طول دوره نگهداری میزان p -آنیسیدین در تیمار BHT در مقایسه با روغن حاوی غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس با اختلاف معنی‌دار مقدار بالاتری داشت ($P < 0/05$). از روز ۳۵ نگهداری، میزان این پارامتر در تیمار BHT به‌جز نسبت به شاهد در مقایسه با سایر روغن‌های حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس مقدار بالاتری داشت. با افزایش غلظت عصاره جلبکی از ۳۵۰ به ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میزان p -آنیسیدین به شکل معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). در تمام گروه‌های مورد بررسی میزان

۱۰.۳. بررسی تأثیر افزودن عصاره هیدروالکلی

جلبک تتراسلمیس بر شاخص‌های اکسیداسیونی

روغن ماهی تون زردباله

با توجه به نتایج جدول ۷، مقدار پراکسید با افزایش زمان نگهداری در تمام تیمارها روندی افزایشی داشت و در روز ۵۶ نگهداری به بالاترین میزان خود رسید ($P < 0/05$). در تمامی روزهای نگهداری به‌جز روز صفر، تیمار شاهد با اختلاف معنی‌دار در مقایسه با سایر تیمارها بالاترین میزان پراکسید روغن ماهی تون زردباله را داشت و با افزایش سطح عصاره، میزان پراکسید کاهش یافت ($P < 0/05$). میزان پراکسید 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 ($P < 0/05$). میزان TBA در تمام تیمارها روندی افزایشی داشته و از مقدار ۰/۰۷-۰/۰۵ میلی‌اکی‌والان مالون دی‌آلدئید بر کیلوگرم در روز صفر به ۰/۴-۸۰/۱۰ میلی‌اکی‌والان مالون دی‌آلدئید بر

میلی گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی جلبکی در مقایسه با سایر تیمارها و BHT. شاخص توتاکس کمتری داشت. اما میزان شاخص توتاکس در تیمار BHT از روز ۲۱ نگهداری در مقایسه با تیمارهای حاوی ۳۵۰ و ۵۵۰ میلی گرم بر لیتر عصاره هیدروالکلی جلبکی مقدار کمتری داشت ($P < 0.05$) (جدول ۷).

شاخص اکسیدانی p -آنیسیدین با افزایش زمان نگهداری روند افزایشی داشت (جدول ۷).

میزان شاخص توتاکس در تمام تیمارها روندی افزایشی با دامنه تغییرات ۱۳/۸۵-۱۲/۱۹ در روز صفر به ۱۸۶/۵۳ - ۴۴/۴۶ در روز ۵۶ نگهداری را نشان داد. تیمار شاهد در تمام دوره نگهداری بالاترین میزان شاخص توتاکس را در بین تیمارها داشت. روغن ماهی در تیمارهای حاوی ۱۰۰۰

جدول ۷- میانگین نتایج شاخص‌های سینتیکی روغن ماهی حاوی عصاره هیدروالکلی جلبک ترانسلمیس ذخیره شده در دمای ۴۰ درجه سانتی-

گراد

دوره نگهداری (روز)										
تیمار	۰	۷	۱۴	۲۱	۲۸	۳۵	۴۲	۴۹	۵۶	
شاخص پراکسید (میلی اکی‌والان بر کیلوگرم)										
شاهد	۵/۱۳±۰/۰۷ ^{ai}	۹/۱۱±۰/۰۵ ^{ah}	۱۲/۱۰±۰/۰۱ ^{ag}	۱۶/۲۳±۰/۱۶ ^{af}	۲۲/۱۳±۰/۱۵ ^{ae}	۳۵/۲۳±۰/۲۱ ^{ad}	۴۷/۱۷±۰/۳۴ ^{ac}	۶۱/۱۱±۰/۹۱ ^{ab}	۷۸/۱۰±۰/۱۲ ^{aa}	
عصاره هیدروالکلی ترانسلمیس ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر	۵/۰۱±۰/۰۶ ^{ai}	۷/۳۲±۰/۰۴ ^{bh}	۹/۱۸±۰/۰۱ ^{bg}	۱۳/۱۴±۰/۲۱ ^{bf}	۱۶/۴۵±۰/۳۳ ^{be}	۲۰/۱۲±۰/۲۳ ^{bd}	۲۶/۱۶±۰/۵۶ ^{bc}	۳۰/۳۴±۰/۳۶ ^{bb}	۳۵/۳۳±۰/۲۴ ^{ba}	
عصاره هیدروالکلی ترانسلمیس ۵۵۰ میلی گرم بر لیتر	۵/۰۲±۰/۰۳ ^{ai}	۶/۱۲±۰/۰۹ ^{ch}	۸/۴۳±۰/۱۳ ^{cg}	۱۲/۱۰±۰/۱۹ ^{cf}	۱۴/۳۳±۰/۵۱ ^{ce}	۱۶/۶۷±۰/۵۱ ^{cd}	۲۰/۲۴±۰/۳۴ ^{cc}	۲۷/۱۶±۰/۶۷ ^{cb}	۳۰/۶۷±۰/۱۶ ^{ca}	
عصاره هیدروالکلی ترانسلمیس ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر	۵/۱۱±۰/۰۱ ^{ai}	۵/۵۴±۰/۰۵ ^{ch}	۶/۱۱±۰/۱۵ ^{dg}	۸/۵۵±۰/۱۶ ^{cf}	۱۰/۰۱±۰/۲۲ ^{ce}	۹/۷۱±۰/۵۶ ^{dd}	۱۴/۳۳±۰/۹۱ ^{dc}	۱۸/۸۸±۰/۳۴ ^{db}	۲۲/۲۲±۰/۶۳ ^{da}	
BHT	۵/۳۱±۰/۰۸ ^{ai}	۶/۲۹±۰/۰۳ ^{dh}	۸/۱۹±۰/۱۷ ^{cg}	۹/۱۱±۰/۲۵ ^{df}	۱۰/۹۹±۰/۱۱ ^{de}	۱۶/۱۱±۰/۴۵ ^{cd}	۲۰/۲۳±۰/۴۴ ^{cc}	۲۸/۱۸±۰/۹۲ ^{cb}	۳۰/۴۳±۰/۴۱ ^{ca}	
پارینیتوریک اسید (میلی اکی‌والان بر کیلوگرم)										
شاهد	۰/۰۷±۰/۰۱ ^{ai}	۰/۱۶±۰/۰۱ ^{ah}	۰/۲۰±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±۰/۰۱ ^{ab}	۴/۱۰±۰/۰۱ ^{aa}	
عصاره هیدروالکلی ترانسلمیس ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر	۰/۰۵±۰/۰۱ ^{ai}	۰/۱۳±۰/۰۱ ^{bh}	۰/۲۵±۰/۰۲ ^{bg}	۰/۴۱±۰/۰۵ ^{bf}	۰/۷۶±۰/۰۵ ^{be}	۰/۹۶±۰/۰۲ ^{bd}	۱/۲۲±۰/۰۳ ^{bc}	۱/۶۵±۰/۰۱ ^{bb}	۲/۱۱±۰/۰۱ ^{ba}	
عصاره هیدروالکلی ترانسلمیس ۵۵۰ میلی گرم بر لیتر	۰/۰۶±۰/۰۱ ^{bi}	۰/۱۱±۰/۰۱ ^{ch}	۰/۲۰±۰/۰۱ ^{cg}	۰/۳۳±۰/۰۲ ^{cf}	۰/۶۲±۰/۰۲ ^{ce}	۰/۸۰±۰/۰۲ ^{cd}	۰/۹۱±۰/۰۵ ^{cc}	۱/۱۲±۰/۰۶ ^{cb}	۱/۵۰±۰/۰۱ ^{ca}	
عصاره هیدروالکلی ترانسلمیس ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر	۰/۰۵±۰/۰۰ ^{ai}	۰/۱۰±۰/۰۱ ^{dh}	۰/۱۳±۰/۰۱ ^{dg}	۰/۲۰±۰/۰۱ ^{ef}	۰/۳۰±۰/۰۱ ^{de}	۰/۵۳±۰/۰۳ ^{cd}	۰/۶۱±۰/۰۴ ^{cc}	۰/۹۰±۰/۰۳ ^{db}	۱/۰۱±۰/۰۱ ^{ca}	
BHT	۰/۰۶±۰/۰۱ ^{ai}	۰/۱۵±۰/۰۲ ^{ahi}	۰/۲۸±۰/۰۱ ^{bg}	۰/۵۲±۰/۰۳ ^{bf}	۰/۷۴±۰/۰۳ ^{be}	۰/۶۸±۰/۰۲ ^{bd}	۰/۸۰±۰/۰۶ ^{dc}	۱/۱۰±۰/۰۸ ^{cb}	۱/۲۳±۰/۰۷ ^{da}	
p -آنیسیدین (میلی گرم بر کیلوگرم)										
شاهد	۲/۴۵±۰/۰۵ ^{ci}	۶/۳۴±۰/۲۳ ^{ah}	۸/۶۷±۰/۹۳ ^{ag}	۱۱/۰۹±۰/۰۹ ^{af}	۱۶/۲۲±۰/۵۴ ^{ae}	۲۰/۳۶±۰/۷۴ ^{ad}	۲۳/۷۶±۰/۸۸ ^{ac}	۲۶/۷۷±۰/۴۴ ^{ab}	۳۰/۳۳±۰/۴۳ ^{aa}	
عصاره هیدروالکلی ترانسلمیس ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر	۲/۲۱±۰/۰۶ ^{di}	۵/۲۷±۰/۱۲ ^{bh}	۶/۵۴±۰/۵۶ ^{bg}	۹/۲۲±۰/۷۷ ^{bf}	۱۱/۳۳±۰/۶۵ ^{be}	۱۳/۲۲±۰/۶۶ ^{bd}	۱۸/۴۴±۰/۲۳ ^{bc}	۲۲/۲۷±۰/۷۷ ^{bb}	۲۷/۱۸±۰/۶۵ ^{ba}	
عصاره هیدروالکلی ترانسلمیس ۵۵۰ میلی گرم بر لیتر	۲/۱۵±۰/۰۵ ^{ei}	۴/۲۲±۰/۱۸ ^{ch}	۵/۱۸±۰/۳۴ ^{cg}	۸/۱۱±۰/۳۴ ^{cf}	۹/۲۹±۰/۱۹ ^{ce}	۱۱/۱۰±۰/۳۱ ^{dd}	۱۵/۲۳±۰/۶۴ ^{dc}	۱۷/۱۴±۰/۳۳ ^{db}	۲۴/۳۳±۰/۳۱ ^{ca}	
عصاره هیدروالکلی ترانسلمیس ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر	۳/۰۱±۰/۰۷ ^{di}	۳/۱۸±۰/۳۳ ^{dh}	۴/۱۲±۰/۲۳ ^{dg}	۶/۷۱±۰/۳۳ ^{ef}	۷/۳۲±۰/۷۷ ^{de}	۱۰/۴۱±۰/۶۱ ^{cd}	۱۳/۱۵±۰/۸۱ ^{cc}	۱۶/۲۳±۰/۱۹ ^{cb}	۲۰/۱۷±۰/۹۳ ^{ca}	
BHT	۳/۲۳±۰/۰۴ ^{bi}	۴/۴۱±۰/۱۶ ^{ch}	۵/۲۳±۰/۵۴ ^{cg}	۷/۶۷±۰/۳۲ ^{df}	۹/۱۱±۰/۴۳ ^{ce}	۱۵/۱۶±۰/۷۱ ^{bd}	۱۷/۱۲±۰/۴۴ ^{cc}	۱۹/۱۴±۰/۵۲ ^{cb}	۲۲/۵۷±۰/۵۴ ^{da}	
شاخص توتاکس										
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}	
عصاره هیدروالکلی ترانسلمیس ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر	۱۲/۲۳±۰/۹۸ ^{bi}	۱۹/۹۱±۰/۴۶ ^{bh}	۲۴/۹±۰/۲۵ ^{bg}	۳۵/۵±۱/۴۵ ^{bf}	۴۴/۲۳±۱/۰۵ ^{be}	۵۳/۴۶±۰/۰۲ ^{bd}	۷۰/۷۶±۱/۹۳ ^{bc}	۸۲/۹۵±۲/۷۱ ^{bb}	۹۷/۸۴±۳/۲۷ ^{ba}	
عصاره هیدروالکلی ترانسلمیس ۵۵۰ میلی گرم بر لیتر	۱۲/۱۹±۰/۸۹ ^{bi}	۱۶/۴۶±۰/۱۴ ^{ch}	۲۲/۰۴±۰/۷۵ ^{cg}	۳۲/۳۱±۱/۷۲ ^{cf}	۳۷/۹۵±۰/۷۲ ^{ce}	۴۴/۴۴±۰/۱۵ ^{dd}	۵۵/۷۱±۰/۳۸ ^{dc}	۷۱/۴۶±۰/۰۶ ^{db}	۸۵/۶۷±۱/۱۳ ^{ca}	

۶۴/۶۱±۱/۳۳ ^{ca}	۵۳/۹۹±۰/۰۳ ^{cb}	۴۱/۸۱±۱/۵۵ ^{cc}	۲۹/۸۳±۰/۵۳ ^{cd}	۲۷/۳۴±۲/۷۹ ^{ce}	۲۳/۸۱±۰/۵۹ ^{cf}	۱۶/۳۴±۰/۶۴ ^{cg}	۱۴/۲۶±۰/۴۳ ^{ch}	۱۳/۲۳±۰/۳۳ ^{ci}	۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر
۸۳/۴۳±۰/۳۶ ^{ca}	۷۵/۵±۰/۲۸ ^{cb}	۵۷/۵۸±۱/۸۵ ^{cc}	۴۷/۳۶±۰/۱۵ ^{cd}	۳۱/۰۹±۱/۰۳ ^{de}	۲۵/۸۹±۰/۶۱ ^{df}	۲۱/۶۱±۰/۷۹ ^{cg}	۱۶/۹۹±۰/۵۶ ^{ch}	۱۳/۸۵±۰/۹۰ ^{ci}	BHT

حروف غیر مشابه بزرگ به معنی اختلاف معنی دار بین روزهای نگهداری است ($P < 0.05$).
حروف غیر مشابه کوچک به معنی اختلاف معنی دار بین غلظت‌های مختلف عصاره جلبکی و BHT است ($P < 0.05$).

۴. بحث و نتیجه گیری نهایی

با توجه به نتایج به دست آمده، آزمون شماره ۱۴ با زمان ۱۲۰ دقیقه، دمای استخراج ۵۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت حلال به ماده خشک ۳۰ میلی‌لیتر بر گرم، بالاترین بازده عصاره را از نظر مهار رادیکال‌های آزاد داشت. در مطالعه Nahvi و Babakhani (۲۰۱۶) روی بهینه‌سازی استخراج ترکیبات ضد اکسیداسیونی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum angustifolium*) افزایش زمان استخراج از ۲۰ به ۱۲۰ دقیقه منجر به افزایش فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد و افزایش ترکیبات فنولی عصاره شد. در مطالعه Omidi و همکاران (۲۰۱۸)، افزایش جذب رادیکال‌های آزاد DPPH را با افزایش غلظت عصاره *Spirulina* (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و دمای استخراج (۵۰، ۷۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد) گزارش کردند که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت و ناشی از ناپایداری و شکسته شدن محصولات اکسایش لیپیدی در دماهای بالا عنوان کردند که زمینه را برای کاهش فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد فراهم می‌آورد (Vieira et al., 2001).

یافته‌های پژوهش حاضر افزایش نسبت ماده خشک به حلال را عامل افزایش در صد مهار رادیکال‌های آزاد نشان داد که می‌تواند ناشی از تأثیر افزایش این نسبت، در افزایش ترکیبات فنولی و افزایش توانایی مهار رادیکال‌های آزاد (Pinelo et al., 2005) و نیز افزایش درصد ماده مؤثر عصاره باشد. از طرفی بازده فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی در نسبت حلال به ماده خشک ۲۰ میلی‌لیتر بر هر گرم در مقایسه با ۳۰ میلی‌لیتر بر هر گرم بالاتر بود که به نظر می‌رسد با افزایش بالای ماده خشک توانایی حلال در فرآیند استخراج کاهش می‌یابد. این نتیجه‌گیری در مطالعه Babakhani Lashkan و همکاران (۲۰۱۲) (بهترین عملکرد در نسبت ۱ به ۲۰ جلبک به حلال) نیز

گزارش و عنوان شد که افزایش میزان ماده خشک سبب کاهش توان حلال در استخراج ترکیبات فنولی جلبک خواهد شد.

با توجه به نتایج جدول ۵، عصاره جلبک تتراسلمیس حاوی ۲۵/۱۵ میلی‌گرم بر گرم اکسی‌والان گالیک‌اسید ترکیبات فنولی و ۰/۸۵ میلی‌گرم بر گرم اکسی‌والان کوئرسیتین ترکیبات فلاونوئیدی به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بود که موجب مهار ۶۹/۱۹ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH از طریق تشکیل و تغییر شکل رادیکال‌های آزاد (Alavi et al., 2016) شدند. حضور ترکیبات فنولی از طریق تأثیرات سینرژیک، مهار رادیکال‌های آزاد و مکانیسم چلاته‌کنندگی با فلزات مانع از اکسیداسیون شده و این فرآیند را به تأخیر می‌اندازد (Samad Lui, 2007).

با توجه به حضور ۸۱/۱۶ درصد اسیدهای چرب با پیوند دوگانه (اسیدهای چرب اشباع)، این روغن به شدت در برابر اکسیداسیون و فساد چربی حساس است به نحوی که با افزایش زمان نگهداری میزان پراکسید و TBA (به‌عنوان شاخص‌های فساد) افزایش یافت. در مطالعه Omidi و همکاران (۲۰۱۸)، مقادیر پراکسید و TBA با افزایش زمان نگهداری، افزایش یافت و افزایش غلظت عصاره جلبک *Spirulina* کاهش میزان پراکسید روغن کدجد را به همراه داشت که با توجه به کاهش میزان اکسیداسیون با افزایش غلظت عصاره هیدروالکلی جلبک از ۳۵۰ به ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. p -آنیسیدین به‌عنوان شاخصی که میزان ترکیبات کربونیل و اساساً ۲-آلکالین‌ها را نشان می‌دهد، روندی مشابه با پراکسید و TBA داشت (Frankel, 2012) بدین ترتیب افزایش غلظت عصاره تأثیر مثبتی بر کاهش سطح p -آنیسیدین داشت. از طرفی کاهش سطح شاخص‌های اکسیدکننده در روغن ماهی

این مواد با دادن اتم هیدروژن به رادیکال‌های پروکسیل، آن را به فرم آریلوکسیل تبدیل می‌کنند که توانایی عملکرد به‌عنوان حامل زنجیره و جفت‌شدن با دیگر رادیکال‌ها را ندارد در نتیجه مهار واکنش زنجیره‌ای رادیکال آزاد را به‌دنبال دارد (Siriwardhana *et al.*, 2003). قدرت آنتی‌اکسیدانی بین ۰ تا ۱۰۰ است و هر چقدر این عدد بزرگتر باشد، ماده مورد استفاده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری دارد که با توجه به نتایج جدول ۶ و قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتر غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در مقایسه با غلظت ۳۵۰ و ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌توان عنوان کرد که این غلظت بالاترین حفاظت را در روغن ماهی تون زردباله در مقایسه با سایر غلظت‌ها ایجاد می‌کند.

۱.۴. نتیجه‌گیری نهایی

بهترین شرایط برای استخراج عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس با بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی زمان استخراج ۱۲۰ دقیقه، دمای استخراج ۵۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت حلال به ماده خشک (۳۰ میلی‌لیتر بر گرم) به‌دست آمد و افزایش دما سبب کاهش و افزایش نسبت حلال به ماده خشک و زمان استخراج سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های جلبکی استخراج شده خواهد شد. همچنین افزایش غلظت عصاره جلبکی سبب افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک شد. بدین ترتیب روغن ماهی تون حاوی غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره جلبک تتراسلمیس بالاترین مقاومت را در برابر اکسیداسیون و مهار رادیکال‌های آزاد نشان داد.

تون زردباله حاوی جلبک، به‌حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدان‌کننده از جمله آلفا و بتاکاروتون، گزانتوفیل، کریبتوزانتین، زئازانتین، ویتامین C، توکوفرول و ترکیبات پلی‌فنولیک و غیره نیز مربوط است (Deng and Chow, 2010). Colla و همکاران (۲۰۱۷) بیان داشتند که پورد جلبک *Spirulina* قادر به تأخیر در فرآیند اکسیداسیون و کاهش تشکیل ترکیبات پراکسید است و می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان کارآمد برای افزایش ماندگاری روغن سویا استفاده شود.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی جلبک تتراسلمیس در مقایسه با BHT بالاتر بود. در حالی که در مطالعه Golmakani و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی تأثیر عصاره جلبکی *Arthrospira platensis* میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبکی کمتر از BHT گزارش شده است که نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره‌های جلبک‌ها در مقایسه با جلبک *Arthrospira platensis* است. همچنین یافته‌ها نشان داده‌اند که افزودن عصاره هیدروالکلی جلبک سبب افزایش دوره‌ی انقضاء نیز خواهد شد که در مطالعه دیگر نیز تایید گردید (Alavi *et al.*, 2022). Sharifi Asl and Roomiani, 2022). در مطالعه Alavi و همکاران (۲۰۱۷) نیز افزودن *Spirulina* به روغن و افزایش غلظت آن سبب افزایش دوره‌ی انقضاء شد که این امر را ناشی از آزادسازی بسیار بالای ترکیبات زیست‌فعال جلبک عنوان کردند.

Golmakani و همکاران (۲۰۱۸) حضور مواد آنتی‌اکسیدانی فنولی موجود در جلبک *Arthrospira platensis* را عامل پایداری اکسیداتیو روغن ماهی کیلکا (*Clupeonella cultriventris caspia*) معرفی کردند، زیرا

References

- Alavi, N., 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), 1-11.
- Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K., 2002. 3. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst* 127(1), 183-198.

۵. منابع

- 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., Seifabadi, S.J., 2012. Optimization of extraction of antioxidant compounds in microwave-assisted extracts of brown algae *Sargassum angustifolium*. *Fisheries* 65(3), 243-255. (In Persian)
- Babakhani Lashkan, A., Nahvi, Z., 2016. Optimization of extraction of antioxidant compounds of brown algae (*Sargassum angustifolium*) with heat reflux. *Aquatic Exploitation and Breeding* 5(3), 14-1. (In Persian)
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28(1), 25-30.
- Christie, W.W., 1973. Lipid analysis: isolation, separation, identification and structural analysis of lipids. Oxford: Pergamon. 261 p.
- Colla, L., Bertol, C.D., Ferreir, D.J., Bavaresco, J., Costa, J.A.V., Bertolin, T.E., 2017. Thermal and photostability of the antioxidant potential of *Spirulina platensis* powder. *Brazilian Journal of Biology* 77 (2), 332-339.
- Deng, R., Chow, T., 2010. Hypolipidemic, antioxidant and anti-inflammatory activities of microalgae *Spirulina*. *Cardiovascular Therapeutics* 28(4), 33-45.
- Frankel, E.N., 2012. Lipid Oxidation. Cambridge, UK, Woodhead Publishing Limited, 470 p.
- Golmakani, M., Moosavi-Nasab, M., Keramat, M., Mohammadi, M.A., 2018. *Arthrospira platensis* extract as a natural antioxidant for improving oxidative stability of common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) oil. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 18(11), 1315-1323
- Grassi, T., Sedlacek- Bassani, J., Ponsano, E., 2020. Oxidative stability of tilapia feeds containing *Saccharomyces cerevisiae* and *Spirulina platensis*. *Ciência Rural, Santa Maria* 50(1), 1-5.
- Hras, A.R., Hadolin, K., Knez, Ž., Bauman, D., 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemistry* 71(2), 229-233.
- Jafarpour, A., Sharifi, A., 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(6), 68-57. (In Persian)
- Karim, B., Rezaei, M., Bahramifar, G., 2016. A comparison 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. 121 p.
- Keramat, M., Golmakani, M.T., 2016. Effect of *Thymus vulgaris* and *Bunium persicum* essential oils on the oxidative stability of virgin olive oil. *Grasas Aceites* 67(4), 162-170.
- Konsoula, Z., Liakopoulou-Kyriakides, M., 2010. Effect of endogenous antioxidants of sesame seeds and sesame oil to the thermal stability of edible vegetable oils. *LWT-Food Science and Technology* 43(9), 1379-1386.
- Mishra, R., Harish, K., Sharma, B., Sarkar, C., Singh, C., 2018. Thermal oxidation of rice bran oil during oven test and microwave heating. *Journal of Food Science and Technology* 49(2), 221-227.
- Morsy, M.K., Morsy, O.M., Elbarbary, H.A., Saad, M.A., 2018. Enhancing of oxidative stability and quality attributes of olive oil using spirulina (*Arthrospira platensis*) nanoparticles. *LWT - Food Science and Technology* 101(2), 444-455.
- Namiki, M., 2017. Antioxidant/antimutagens in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 29(4), 273-300.

- Omidi, S., Sarhadi, H., 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
- Pazouki, J., Alijani, A., Tehrani, D., Shokri, M., 2012. Extraction of gelation and oil from skin of three species of Persian Gulf tuna. *Fisheries Journal* 65(1), 15-25. (In Persian)
- Penalver, R., Lorenzo, J., Ros, G., Amarowicz, R. Pateiro, M., Nieto, G., 2020. Seaweeds as a functional ingredient for a healthy diet. *Marine Drugs* 18(6), 301.
- Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sinerio, J., 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. *Agricultural and Food Chemistry* 53(6), 2111-2117.
- Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad Ebrahimi, S., Yousefzadi, M., 2005. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. rigida (BOISS) RECH.f. from Iran. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 28(10), 1892-1896.
- Samadlouhatn, M., Barzegar Bafroji, M., 2007. Antioxidant effect of pomegranate phenolic compounds on soybean oil. *Agricultural Sciences and Natural Resources* 14(4), 193-200
- Sharifi Asl, M., Roomiani, L., 2022. Oxidation control of tuna (*Thunnus albacares*) liver oil using *Nannochloropsis oculata* extract by a response surface analysis. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 31 (2), 63-81. In Persian.
- Silva, F.A., Borges, F., Ferreira, M.A., 2001. Effects of phenolic propyl esters on the oxidative stability of refined sunflower oil. *Agricultural and Food Chemistry* 49(8), 3936-3941.
- Siriwardhana, N., Lee, K.W., Jeon, Y.J., Kim, S.H., Haw, J.W., 2003. Antioxidant activity of *Hizikia fusiformis* on reactive oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibition. *Food Science and Technology International* 9(5), 339-346.
- Vieira, T.M.F.S., Marisa, A.B., Regitano-d, A., 2001. Canola oil thermal oxidation during oven test and microwave heating. *LWT-Food Science and Technology* 34(4), 215-221.
- Zhang, B., Ma, L.K., Deng, S.G., Xie, C., Qiu, X.H., 2015. Shelf-life of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as affected by weakly acid ice electrolyzed water ice-glazing and modified atmosphere packaging. *Food Control* 51(3), 114-121.

