

Journal Pre-proofs

Investigation of sterols, fatty acids and qualitative indicators of lipid extract from green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) by-products

Zahra Mousavi, Seyed Fakhreddin Hosseini

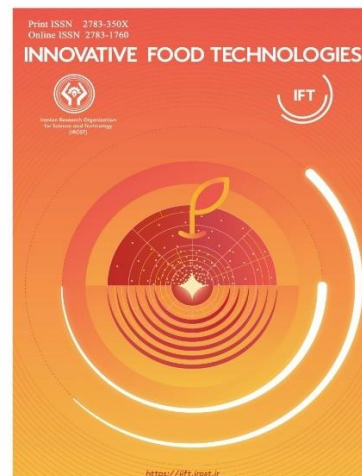
DOI: <https://doi.org/10.22104/ift.2025.7605.2214>

To appear in: Innovative Food Technologies (IFT)

Received Date: 4 May 2025

Revised Date: 16 August 2025

Accepted Date: 16 August 2025



Please cite this article as: Zahra Mousavi, Seyed Fakhreddin Hosseini, Investigation of sterols, fatty acids and qualitative indicators of lipid extract from green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) by-products, *Innovative Food Technologies* (2025), doi: <https://doi.org/10.22104/ift.2025.7605.2214>

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2023 The Author(s). Published by irost.org.

مقاله پژوهشی

بررسی استرول‌ها، اسیدهای چرب و شاخص‌های کیفی عصاره لیپیدی حاصل از محصولات جانبی میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*)

زهرا موسوی^۱، سید فخرالدین حسینی^{۲*}^۱. دانشجوی دکتری، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران^۲. دانشیار، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران*نویسنده مسئول: hosseinisf@modares.ac.ir

چکیده

باقی‌مانده‌های مواد خام حاصل از فرآوری میگو منبعی از مواد زیست‌فعال ارزشمند (مانند لیپیدها و آستازانتین، یک کاروتنوئید با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی) جهت استفاده در صنایع غذا دارویی و آرایشی بهداشتی هستند. استخراج این ترکیبات نه تنها می‌تواند اثرات زیست‌محیطی مرتبط با ضایعات حاصل از فرآوری میگو را کاهش دهد، بلکه منجر به مزایای اقتصادی نیز می‌گردد. لذا، هدف از مطالعه حاضر، استخراج عصاره لیپیدی غنی از آستازانتین از محصولات جانبی میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) و بررسی استرول‌ها، اسیدهای چرب، میزان آستازانتین و شاخص‌های کیفی عصاره لیپیدی استخراج‌شده بود. نتایج نشان داد بازده استخراج لیپید ۲/۸۱٪، میزان بازیابی آستازانتین ۱۰/۳۴ میلی‌گرم/صد گرم روغن و شاخص رنگ‌سنجی a^* که بیانگر کیفیت مناسب رنگی است ۱۸/۱۳ بود. بررسی ترکیب اسیدهای چرب با آنالیز کروماتوگرافی گازی (GC) نیز نشان داد عصاره لیپیدی میگو غنی از اسیدهای چرب چندغیراشباع امگا-۳ (ω-3 PUFA) (۱۳/۰۳٪) می‌باشد که اهمیت این منبع لیپیدی را نشان می‌دهد. مقدار کلسترول موجود در عصاره لیپیدی میگو در حدود ۵۷۰ میلی‌گرم/صد گرم روغن بود که مطابق مقادیر گزارش شده در خصوص محصولات دریایی بود. همچنین، آنالیز ترکیبات لیپیدی نشان داد که عصاره لیپیدی از ۱۳ ترکیب مختلف تشکیل شده است که بیشترین مقدار مربوط به ترکیب Cholesta-3,5-diene می‌باشد. بررسی پایداری اکسایشی عصاره لیپیدی نیز مؤید آن بود که مقادیر شاخص‌های اکسیداسیون (پراکسید: ۲/۲۱ میلی‌گرم هیدروپراکسید کومن/کیلوگرم لیپید و اسید تیوباربیتوریک: ۰/۳۱ میلی‌گرم مالون‌آلدئید/کیلوگرم لیپید) در سطح مطلوبی قرار دارد. این ویژگی‌ها، محصولات جانبی میگوی ببری سبز را به‌عنوان یک منبع با ارزش از ترکیبات زیست‌فعال و اسیدهای چرب مفید معرفی می‌کند که می‌تواند در صنایع غذایی، غذا دارویی و آرایشی بهداشتی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: محصولات جانبی میگو؛ عصاره لیپیدی؛ آستازانتین؛ اسیدهای چرب چندغیر اشباع؛ کلسترول.

۱- مقدمه

افزایش تقاضای میگو، به ویژه به شکل آماده برای طبخ یا آماده مصرف، منجر به افزایش میزان فرآوری میگو شده است [۱]. طی فرآوری میگو، در حدود ۵۰-۴۰٪ محصولات جانبی به شکل سفالوتوراکس، کاراپاس، دم و اندام‌های داخلی تولید می‌شود که غالباً دور ریخته می‌شوند و باعث مشکلات زیست‌محیطی می‌گردند [۲]. در این راستا، مدیریت بهینه محصولات جانبی میگو نه تنها می‌تواند آلودگی‌های زیست‌محیطی ناشی از دفع ضایعات را به حداقل رساند، بلکه با استخراج ترکیبات با ارزش از محصولات جانبی، می‌تواند به توسعه پایدار و افزایش سودآوری صنعت منجر شود [۳]. باقی‌مانده‌های مواد خام حاصل از فرآوری میگو حاوی تقریباً ۱۵-۵٪ چربی، ۴۰٪ پروتئین، ۳۵٪ مواد معدنی، ۱۴ تا ۳۰٪ کیتین و آستازانتین (۲۳-۱۴ میکروگرم/گرم ضایعات خشک) است [۴]. عصاره لیپیدی میگو حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب چندغیر اشباع امگا-۳ (۳ PUFA-3 ω) به ویژه ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) است [۵]. عصاره لیپیدی میگو همچنین حاوی اسیدهای چرب اشباع شده (SFAs) است که می‌تواند منجر به افزایش سطح لیپوپروتئین با چگالی کم و تغییر پاسخ التهابی شود [۶]. راجو و همکاران [۷] گزارش کردند که سفالوتوراکس میگو دارای محتوای چربی $0.41 \pm 0.11/79\%$ است، در حالی که کاراپاس و دم حاوی $0.34 \pm 0.3/73\%$ چربی می‌باشند.

به‌علاوه، لیپید میگو سرشار از آستازانتین می‌باشد که برای بهبود سلامت انسان بسیار مفید می‌باشد. آستازانتین یک کاروتنوئید مهم با توانایی تخریب‌کنندگی رادیکال‌های آزاد و ۵۰۰ برابر فعالیت ضداکسیدانی بالاتر از توکوفرول (ویتامین E) می‌باشد (Zuluaga و همکاران، ۲۰۱۸). بنابراین، آستازانتین یک "سوپر ویتامین E" نامیده می‌شود که به دلیل ساختار مولکولی منحصر به فرد خود، دارای قابلیت‌های آنتی‌اکسیدانی عالی است [۸].

اگرچه عصاره لیپیدی میگو غنی از ترکیبات زیست‌فعال است، در عین حال حاوی کلسترول نیز می‌باشد [۹]. گزارش شده است لیپید استخراج شده از سفالوتوراکس میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) حاوی ۶۵-۷۰ میلی‌گرم کلسترول/صد گرم لیپید است [۷، ۴]. علی‌رغم نیاز بدن به کلسترول به منظور ساخت هورمون‌ها، ویتامین D و غیره، سطوح بالای کلسترول می‌تواند با مواد دیگر ترکیب و باعث تصلب شرایین و پلاک خون شود [۱۰]. در این راستا، راجو و همکاران [۱۱]، جهت بهبود کیفیت تغذیه ایی لیپید استخراج شده از سفالوتوراکس میگوی پاسفید غربی (*L. vannamei*) مقادیر کلسترول را با بکارگیری ساپونین و بتا سیکلودکسترین کاهش دادند، بطوریکه در حدود ۹۸/۴ درصد کلسترول از عصاره لیپیدی غنی از کلسترول که در آن از سیکلودکسترین (b-CD) /حلال‌های مخلوط (اتیل استات/آب، ۱:۱) به نسبت ۱:۱۰:۲۰ (حجمی/وزنی/وزنی) استفاده شده بود، حذف شد. همچنین، محتوای آستازانتین در مقایسه با نمونه حاوی لیپید، سه برابر و ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) نیز به طور قابل توجهی افزایش یافتند. عارف و همکاران [۱۲] نیز اثرات تجویز مکمل روغن میگو بر عوامل خطر قلبی-متابولیک در کودکان و نوجوانان دارای اضافه‌وزن را به مدت ۸ هفته (روزانه ۵۰۰ میلی‌گرم) بررسی کردند. یافته‌های این مطالعه نشان داد که مصرف روغن میگو تأثیر معنی‌داری بر سطوح کلسترول کل، تری‌گلیسیرید، $LDL-C^2$ و $HDL-C^3$ نشان نداد. همچنین، تفاوت آماری معنی‌داری در فشار خون سیستولیک^۴ و دیاستولیک^۵ بین دو گروه مشاهده نشد و تغییراتی در شاخص توده بدنی (BMI^6) نیز ایجاد نشد. در مطالعه‌ای دیگر، اثرات محافظتی لیپیدهای مشتق شده از میگو (SL^7) در برابر آسیب سلول‌های اندوتلیال^۸ ناشی از استرس شبکه آندوپلاسمی، که یک عامل کلیدی در بیماری‌های قلبی عروقی است، بررسی شد. نتایج نشان داد که پیش درمانی با SL (۲۵۰-۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) به طور قابل توجهی زنده ماندن سلول‌های

¹ Saturated fatty acids

² High-density lipoprotein cholesterol

³ Low-Density Lipoprotein Cholesterol

⁴ Systolic

⁵ Diastolic

⁶ Body Mass Index

⁷ Shrimp-derived lipids

⁸ Endothelial cells

اندوتلیال تحت استرس را بهبود می‌بخشد. بطوریکه سلول‌هایی که به تنهایی در معرض تاپسیگارگین (Tg^1) قرار گرفتند، ۴۴/۹۷٪ زنده‌مانی را نشان دادند، در حالی که پیش‌تیمار SL زنده‌مانی را به ۷۷/۲۶٪ (۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و ۷۲/۴۲٪ (۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) افزایش داد [۱۳].

میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) یکی از گونه‌های مهم تیره پنائوس است که بیشترین فراوانی و اهمیت اقتصادی را در صید استان‌های بوشهر و خوزستان دارد. طبق آمار سازمان تحقیقات شیلات ایران (IFRO)، میزان تخمینی صید این گونه در سال ۱۴۰۰ حدود ۷۹۴۲ تن بود [۱۴]. با این حال، ترکیب اسیدهای چرب و محتوای کلسترول موجود در عصاره لیپیدی محصولات جانبی میگوی ببری سبز مورد مطالعه قرار نگرفته است. لذا، مشخص نمودن ترکیب اسیدهای چرب، کلسترول، محتوای آستازانتین و شاخص‌های آکسایشی می‌تواند اطلاعات مفیدی در خصوص خواص تغذیه‌ای عصاره لیپیدی در اختیار قرار دهد. در مطالعه حاضر، برای اولین بار ترکیب اسیدهای چرب، مقدار کلسترول، محتوای آستازانتین، میزان باقی‌مانده حلال و شاخص‌های کیفیتی عصاره لیپیدی (پراکسید، PV و تیوباربیتوریک اسید، TBA) میگوی ببری سبز جهت کاربردهای غذا دارویی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- استخراج عصاره لیپیدی میگو

ضایعات میگوی ببری سبز از مراکز فرآوری میگو در استان بوشهر تهیه شد. نمونه‌ها در ظرف پلی‌اتیلن حاوی یخ (با نسبت ۱:۴) قرار گرفتند و به آزمایشگاه فناوری نانو، دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. محصولات جانبی میگو (سفالوتوراکس، پوسته و دم) پس از شستشو، به مدت ۴۸ ساعت در خشک‌کن انجمادی (OPR-FDU-7012، Operon، کره) خشک گردید. سپس در یک خردکن آزمایشگاهی (Moulinex، Depose، ایتالیا) خرد شده و با یک غربال با اندازه منافذ ۴۵۰ میکرومتر الک شدند. به منظور استخراج عصاره لیپیدی از ضایعات میگو، از روش سوکسله استفاده شد [۱۵]. بدین منظور، ۳ گرم ضایعات میگو در فنجان‌های مخصوص سوکسله قرار داده شد که به تدریج با حلال هگزان/استون (نسبت ۵۰:۵۰ حجمی) پر شدند. استخراج برای مدت زمان ۲ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد با نسبت نمونه به حلال ثابت (۱ به ۴، وزنی/حجمی) انجام شد. در ادامه، لیپیدهای بدست آمده تحت خلاء با استفاده از تبخیرکننده چرخشی تغلیظ شدند.

۲-۲- بازدهی لیپید کل

بازدهی کل با استفاده از معادله زیر با محاسبه جرم عصاره بدست آمده از استخراج سوکسله و وزن ضایعات مورد استفاده برای استخراج، تعیین شد [۱۶].

$$(۱) \quad \text{وزن عصاره لیپیدی} \\ \text{وزن ضایعات} \times 100 = (\%) \text{بازدهی کل}$$

۲-۳- تعیین غلظت آستازانتین

غلظت آستازانتین با اندازه‌گیری جذب در طول موج ۴۶۲ نانومتر با استفاده از یک اسپکتروفتومتر ۲۵ Perkin Elmer lambda انجام شد. از استاندارد آستازانتین (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) برای تعیین منحنی کالیبراسیون استفاده شد. محلول مادر استاندارد آستازانتین با حل کردن ۱ میلی‌گرم ماده در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول تهیه شد. محلول‌های مادر به صورت سریالی با متانول رقیق شدند تا محلول‌های استاندارد به منظور کالیبراسیون تهیه شوند [۱۷].

۲-۴- سنجش رنگ

رنگ عصاره لیپیدی با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج قابل حمل (Sheen 181/3, Micromatch™ Plus، آلمان) اندازه‌گیری شد. نتایج به صورت L^* ، a^* و b^* بیان شد که در آن مقدار L^* «روشنایی» یک نمونه از ۰ تا ۱۰۰ است که عدد ۱۰۰ نمایانگر رنگ سفید خالص است، مقدار a^* قرمز (+) تا سبز (-) و مقدار b^* نشان دهنده زرد (+) تا آبی (-) است [۱۸].

¹ Thapsigargin

۵-۲- پروفایل اسیدهای چرب

به منظور بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه از روش Metcalfe و همکاران [۱۹] استفاده شد. حدود ۱۵۰ میلی گرم نمونه با ۴ میلی لیتر محلول متانولی سود (۵/۰ مولار) مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در حمام آب با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد. سپس، ۵ میلی لیتر محلول متانولی بورون تری فلوئوراید (BF₃) (۱۲٪) اضافه شد و مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه گرم شد. جداسازی فاز با ۵ میلی لیتر محلول کلرید سدیم اشباع و با استفاده از ۱ میلی لیتر هگزان به عنوان حلال استخراج کننده انجام شد. از دستگاه کروماتوگرافی گازی با آشکارساز یونش شعله (GC-FID) با استفاده از ستون مویرگی BPX70 SGE (قطر ۰/۲۵ میلی متر، ضخامت فیلم ۰/۱ میکرومتر، طول ۶۰ متر، کمپانی SGE، انگلستان) جهت شناسایی اسیدهای چرب استفاده شد. دمای ستون به مدت ۵ دقیقه روی ۱۶۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد، که پس از آن با سرعت ۲۰ درجه سانتی گراد در دقیقه به ۱۸۰ درجه سانتی گراد افزایش یافت و به مدت ۹ دقیقه در ۱۸۰ درجه سانتی گراد حفظ شد. سپس، دما با سرعت ۱ درجه سانتی گراد در دقیقه به ۱۹۰ درجه سانتی گراد افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه حفظ شد. دمای آشکارساز و تزریق کننده به ترتیب در ۲۴۰ و ۲۸۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد. هلیوم به عنوان گاز حامل GC استفاده شد. در نهایت از نرم افزار Varian Star Chromatography (نسخه ۶.۴۱) برای محاسبه مساحت پیکها استفاده شد.

۶-۲- اندازه گیری باقی مانده حلال در عصاره لیپیدی استخراج شده

اندازه گیری ترکیبات فرار در نمونه به روش استخراج بخار با استفاده از دستگاه GS-MS انجام شد. ابتدا مقدار ۰/۵ گرم نمونه را برداشته و به ظرف مخصوص نمونه برداری دستگاه منتقل کرده و به صورت حرارتی استخراج و بخارات آن به دستگاه GC-MS (capillary Column: 30m, 0.25mm, 0.5µm) تزریق شد [۲۰].

۷-۲- سنجش میزان استرول

جهت سنجش استرول های موجود در عصاره لیپیدی حاصل از محصولات جانبی میگو، از استاندارد ملی ایران به شماره ۹۶۷۰ [۲۱] و روش مبتنی بر GC-FID استفاده گردید. نمونه لیپیدی با محلول هیدروکسید پتاسیم (۵/۰ مولار/لیتر) در اتانول (۹۵٪) حرارت داده شد تا فرآیند صابونی سازی انجام شود. سپس، استرول های آزاد شده با استفاده از اتر (۱۰ میلی لیتر) استخراج شدند. در ادامه، استرول های استخراج شده جهت بهبود جداسازی، به مشتقات سیلیله تبدیل و به دستگاه GC تزریق شدند. جداسازی بر روی ستون موئینه با فاز ساکن غیرقطبی انجام شد و از آشکارساز FID برای تشخیص استفاده گردید.

۸-۲- بررسی پروفایل عصاره لیپیدی

برای تعیین پروفایل یک روغن ناشناخته، می توان از روش های مختلفی استفاده کرد که یکی از رایج ترین آن ها کروماتوگرافی گازی (GC) است. بدین منظور از دستگاه GC-MS Capillary Column: 30m, 0.25mm, 0.5µm استفاده شد. زمان بازداری هر پیک با استانداردهای شناخته شده مقایسه شد تا ترکیبات موجود شناسایی شوند. در نتیجه مساحت زیر هر پیک برای تعیین غلظت نسبی یا مطلق هر ترکیب مورد استفاده قرار گرفت.

۹-۲- بررسی شاخص های کیفیت عصاره لیپیدی میگو

۱-۹-۲- سنجش مقادیر پراکسید (PV^۱)

میزان پراکسید نمونه های لیپیدی با استفاده از روش گلزار و بنجاکول [۲۲] تعیین شد. ۵۰ میکرو لیتر نمونه با استفاده از اتانول ۷۵٪ (حجمی - حجمی) ده برابر رقیق شد. در ادامه، حدود ۲/۳۵ میلی لیتر نمونه آماده شده به ۵۰ میکرو لیتر تیوسیانات آمونیوم ۳۰٪ (حجمی - حجمی) و ۲۰ میلی مولار کلرید فروس در ۵٪ HCl (وزنی - حجمی) اضافه شد. این مخلوط کاملاً هم زده شد و تغییرات رنگ آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (طول موج ۵۰۰ نانومتر) تشخیص داده شد. غلظت

¹ Peroxide value

هیدروپراکسید با رسم منحنی استاندارد ساخته شده از هیدروپراکسید کومن (۵-۲/۰) تعیین و مقادیر به صورت میلی گرم هیدروپروکسید کومن/کیلوگرم عصاره لیپید بیان شد.

۲-۹-۲- اندازه گیری مواد واکنش دهنده اسید تیوباربیتوریک (TBARS)

مقادیر TBARS عصاره لیپیدی استخراج شده از محصولات جانبی میگو با روش راجوو و بنجاکول [۲۳] تعیین شد. ابتدا نمونه چربی (۵/۰ گرم) با ۲/۵ میلی لیتر محلول اسید تیوباربیتوریک (TBA ۳۷۵/۰٪ (وزنی- حجمی)، اسیدتری کلرواستیک ۱۵٪ (وزنی- حجمی) و HCl (۲۵/۰ مولار) مخلوط شده و سپس در آب جوش در ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شد. پس از ایجاد رنگ صورتی، واکنش با خنک سازی از طریق آب متوقف شد. در ادامه، مخلوط در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتیفریوژ شد. رنگ صورتی مایع رویی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و غلظت TBARS با رسم منحنی استاندارد ۱،۱،۳،۳-tetramethoxypropane (۶-۰ ppm) محاسبه شد. TBARS به صورت میلی گرم مالون آلدئید (MDA)/کیلوگرم لیپید بیان شد.

۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) بر اساس مدل خطی عمومی SPSS (نسخه ۱۶.۰، ۲۰۰۷) انجام شد. تفاوت معنی داری بین میانگین ها با استفاده از آزمون های چند دامنه ای دانکن با مقادیر $P < 0.05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- لیپید کل

استخراج با سوکسله به عنوان یک روش معمول استخراج منجر به بالاترین بازایی روغن و کاروتنوئیدها می گردد. برخی از حلال های آلی که برای استفاده در صنایع غذایی مجاز هستند عبارتند از: استون، اتانول، اتیل استات، ایزوپروپیل الکل، هگزان و متیل اتیل کتون [۴]. مطابق جدول (۱) استخراج به کمک حلال استون-هگزان منجر به بازایی مقدار بالایی از عصاره لیپیدی (۲/۸۱٪) از ضایعات میگوی ببری سبز گردید. طبق مطالعات صورت گرفته [۲۴]، نوع حلال و قطبیت آن نقش مهمی در فرآیند استخراج عصاره های حاوی کاروتنوئید دارد. عصاره لیپیدی میگو عمدتاً حاوی فسفولیپیدهایی است که طبیعت قطبی دارند؛ بنابراین، یک حلال قطبی برای استخراج موثر مورد نیاز است. از طرف دیگر، کاروتنوئیدها در حلال های غیرقطبی محلول هستند و برای استخراج به حلال های غیرقطبی نیاز دارند [۲۵]. لذا، مخلوطی از حلال های قطبی/غیر قطبی برای استخراج عصاره لیپیدی میگو می تواند اثر هم افزایی داشته باشد. مشابه این پژوهش، مطالعه بر روی غربالگری حلال مناسب جهت استخراج لیپیدها از سفالوتوراکس میگوی پاسبید غربی (*L. vannamei*) نشان داد که مخلوط حلال های غیرقطبی-قطبی (هگزان/ایزوپروپانول با نسبت ۱:۱، حجمی/حجمی) منجر به بالاترین بازده استخراج لیپیدها ($25/44 \pm 0/90$ درصد بر اساس وزن خشک) می گردد [۲۶]. اثرات حلال های مختلف (هگزان، استون، اتانول، مخلوط هگزان/اتانول (۴:۱، ۲:۱، ۱:۱، ۱:۲، ۱:۴ حجمی/حجمی) و مخلوط استون/اتانول (۴:۱، ۲:۱، ۱:۱، ۱:۲، ۱:۴ حجمی/حجمی) بر عملکرد استخراج و ترکیب شیمیایی عصاره لیپیدی استخراج شده از محصولات جانبی میگوی دریایی پاسبید غربی (*L. vannamei*) و میگوی آب شیرین (*Procambarus clarkia*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مخلوط اتانول/هگزان (قطبی/غیرقطبی) (۴:۱، حجمی/حجمی) حلال مناسبی جهت استخراج همزمان لیپیدهای قطبی و غیرقطبی است [۲۵]. این یافته ها پتانسیل محصولات جانبی میگو را به عنوان منبع ارزشمند روغن و ترکیبات فعال زیستی برجسته می کنند که به استفاده پایدار از محصولات جانبی صنعت غذاهای دریایی کمک می کند.

جدول (۱) میزان بازدهی، غلظت آستازانتین و شاخص های رنگی عصاره لیپیدی استخراج شده.

Table 1 Yield, astaxanthin concentration and color indices of shrimp lipid extract.

۲-۳- میزان غلظت آستازانتین

¹ Thiobarbituric acid reactive substances

² Malondialdehyde

همانطور که در جدول (۱) نشان داده شده است، محتوای آستازانتین عصاره لیپیدی استخراج شده از محصولات جانبی میگوی ببری سبز در حدود ۱۰/۳۴ میلی گرم/صد گرم روغن بود که بسیار بالاتر از مطالعات سانتوس و همکاران [۲۷] و هو و همکاران [۲۸] بود که به ترتیب ۳/۲ میلی گرم/صد گرم روغن با استفاده از حلال اتانول/کولین کلراید برای ضایعات میگوی پاسفید غربی (*L. vannamei*) و ۴/۳ میلی گرم/صد گرم روغن با حلال اتانول برای ضایعات میگوی آب شیرین (*P. clarkia*) بود. همچنین، نتایج این تحقیق در تطابق با مطالعات قبلی که مقادیر بالای آستازانتین را در عصاره لیپیدی استخراج شده از ضایعات میگو با استفاده از حلال استون گزارش نمودند، می باشد [۲۹، ۳۰]. در میان حلال های مورد استفاده جهت استخراج آستازانتین مانند استون، اتانول، متانول، استونیتریل و هگزان، پیشنهاد شده استون به عنوان مناسب ترین حلال می باشد، زیرا ساختار آن حاوی گروه های کربونیل زیادی است که بسیار شبیه به آستازانتین هستند [۳۱]. همچنین به خوبی شناخته شده است که آستازانتین کاروتنوئید اصلی در میگو است و عمدتاً به عنوان استرهای آستازانتین در اسیدهای چرب مختلف وجود دارد؛ بنابراین، مخلوط حلال های قطبی/غیرقطبی ممکن است قطبیتی مشابه با استرهای آستازانتین داشته باشد، و آن را به حلال مناسبی برای استخراج آستازانتین از سخت پوستان (عمدتاً میگو و خرچنگ) تبدیل کند [۲۵].

۳-۳- رنگ عصاره لیپیدی استخراج شده

نتایج رنگ سنجی در جدول (۱) نشان داده شده است. پرکاربردترین معیارهای سنجش رنگ شامل روشنایی (L^*)، قرمزی (a^*) و زردی (b^*) است. مقدار a^* به طور کلی بهترین همبستگی را با سطوح کاروتنوئید نشان می دهد [۳۲]. در مطالعه حاضر، مقدار بالای a^* (۱۸/۱۳) عصاره لیپیدی استخراج شده با حلال استون-هگزان احتمالاً به دلیل محتوای بالای رنگدانه آستازانتین است. چندین مطالعه دیگر نیز همبستگی بین شاخص قرمزی (مقدار a^*) مواد غذایی و غلظت کاروتنوئید کل را گزارش کرده اند [۱۶، ۳۳، ۳۴]. در واقع رنگ توسط محتوای رنگدانه، ناخالصی ها، اکسیداسیون و فرآیند استخراج تعیین می شود [۱۶]. در مورد اثر اکسیداسیون، عظیمی و همکاران [۳۵] با بررسی تغییرات رنگ روغن های خوراکی (زیتون، آفتابگردان، پالم و سویا) با استفاده از بررسی تصویر دیجیتال و تحلیل تشخیص خطی (LDA^1)، نشان دادند که تغییرات شاخص a^* و b^* در طول اکسیداسیون ثانویه به طور معنی داری با افزایش پراکسید و ترکیبات کربونیل مرتبط است. در مورد رنگدانه نیز، سوکاسیو و همکاران [۳۶] به بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی (مانند پلی فنول ها، توکوفرول ها و اسکوالن) در هشت دسته از روغن های خوراکی (شامل روغن آفتابگردان، کدوتنبیل، دانه کتان، شاهدانه، سویا، گردو، خولان دریایی و زیتون) پرداخته و از روش های کروماتوگرافی و طیف سنجی جرمی برای تحلیل ترکیبات شیمیایی استفاده کردند. همچنین، تأثیر این ترکیبات بر شاخص های رنگی L^* ، a^* و b^* و کیفیت کلی روغن ها را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که حضور رنگدانه هایی مانند کاروتنوئیدها و کلروفیل تأثیر مستقیمی بر شاخص های رنگی دارد بطوریکه روغن هایی با مقادیر بالای کاروتنوئیدها، شاخص a^* بالاتری داشتند (رنگ قرمزتر) در صورتیکه روغن های حاوی کلروفیل شاخص b^* بالاتری داشتند (رنگ سبزتر). همچنین روغن هایی با مقادیر بالای این ترکیبات مقاومت بیشتری در برابر اکسیداسیون نشان دادند. بطور کلی یافته های رنگ سنجی نشان می دهد که عصاره لیپیدی استخراج شده از محصولات جانبی میگوی ببری سبز از محتوای رنگ و غلظت کاروتنوئید مناسبی برخوردار می باشد که آن را برای کاربردهای غذایی و آرایشی-بهداشتی مناسب می سازد.

۳-۴- بررسی اسیدهای چرب

جدول (۲) نشان می دهد که انواع اسیدهای چرب (FAS^2) در عصاره لیپیدی استخراج شده متعلق به اسیدهای چرب چندغیراشباع ($PUFA^3$)، اسیدهای چرب تک غیراشباع ($MUFA^4$) و اسیدهای چرب اشباع (SFA^5) هستند. طبق نتایج، عصاره لیپیدی استخراج

¹ Linear discriminant analysis

² Fatty acid synthase

³ Polyunsaturated fatty acids

⁴ Monounsaturated fatty acids

⁵ Saturated fatty acid

شده حاوی مقادیر بالایی از PUFA (۳۳/۰۵٪)، به ویژه PUFA ۳-۵ (۱۳/۰۳٪) شامل آلفالینولنیک اسید (ALA) (۲/۷۳٪) و ایکوزاپنتانویک اسید (EPA) (۲/۲۹٪) بود. ترکیب اسیدهای چرب بسته به حلال استخراج کننده، گونه، اندازه، سن، رژیم غذایی، جنسیت، فصل و موقعیت جغرافیایی میگو می تواند متفاوت باشد [۳۷]. علاوه بر این، قطبیت حلال ها با بازده اسیدهای چرب رابطه مستقیم دارد، به این معنی که استفاده از حلال های قطبی تر می تواند به طور مؤثرتری کیفیت عصاره لیپیدی را به حداکثر برساند. [۳۹]. مثلاً، مخلوط حلال های اتانول و استون استخراج ترکیبات لیپیدی با ارزش را افزایش می دهند و نسبت های بالاتری از فسفولیپیدها و توکوفرول ها را تولید می کند [۳۹]. در این زمینه، وانگ و همکاران [۲۵] گزارش کردند اتانول در مقایسه با هگزان حلال مناسب تری برای استخراج عصاره لیپیدی غنی از اسیدهای چرب چندغیراشباع (۴۲/۷۸ - ۳۶/۱۰٪ از کل اسیدهای چرب برای میگوی پاسفید غربی (*L. vannamei*) و ۲۵/۵۸ - ۲۳/۵۷٪ برای میگوی آب شیرین (*P. clarkia*)) است. محتوای بالاتر PUFA (۴۲/۷۸ و ۳۷/۵٪) از کل اسیدهای چرب برای ضایعات میگوی پاسفید غربی (*L. vannamei*) و میگوی آب شیرین (*P. clarkia*) که به ترتیب با هگزان-ایزوپروپیل الکل و اتانول استخراج شده بود، نیز گزارش شده است [۲۲]. بطور کلی این یافته ها به عنوان یک نتیجه امیدوارکننده در نظر گرفته می شود زیرا PUFA ها به دلیل نقش های محافظتی از انسان در برابر بیماری های قلبی عروقی و سرطان مورد توجه قرار گرفته اند.

جدول (۲) میزان اسیدهای چرب عصاره لیپیدی استخراج شده میگو.

Table 2 Fatty acids content of shrimp lipid extract.

۳-۵- بررسی میزان باقی مانده حلال در لیپید

بر اساس فارماکوپه ایالات متحده (^۱USP)، حلال های باقی مانده (^۲RS) به حلال های آلی گفته می شود که در ساخت مواد دارویی، مواد غذایی و محصولات گیاهی استفاده یا تولید می شوند و به طور کامل توسط فرآیندهای تولید حذف نمی شوند [۴۰]. نکته مهم این است که ممکن است مقداری RS هم در مواد تشکیل دهنده و هم در محصولات نهایی باقی بماند. روش های تولید خوب نیازمند آزمایش مواد تشکیل دهنده عصاره های گیاهی یا جانوری مورد استفاده در تولید محصولات نهایی برای تشخیص آلودگی هستند [۴۱]. از آنجایی که RS احتمالاً خطرات سلامتی دارد و سمیت نشان می دهد، کمیت آن ها برای اطمینان از اینکه سطح آنها کمتر از حد قابل قبولی است که در شورای بین المللی هماهنگی الزامات فنی داروها برای استفاده انسان (ICH) تعیین شده است، مهم است [۴۲]. مطابق شکل (۱)، تجزیه و تحلیل عصاره لیپیدی استخراج شده از محصولات جانبی میگو نشان می دهد که عصاره لیپیدی با کیفیت بالا و بدون حلال باقی مانده است. باقی ماندن حلال در عصاره های جانوری یا گیاهی ممکن است به دلایل زیر رخ دهد: (۱) ناکافی بودن فرآیند تبخیر؛ اگر حلال به طور کامل تبخیر نشود، ممکن است مقداری از آن در عصاره باقی بماند [۴۳]. (۲) استفاده از حلال های با نقطه جوش بالا: حلال هایی مانند آب یا برخی از حلال های آلی ممکن است به طور کامل تبخیر نشوند [۴۴]. (۳) عدم استفاده از روش های تغلیظ مناسب: عدم استفاده از روش های مناسب برای تغلیظ عصاره، مانند خشک-انجمادی یا تبخیر در خلاء، می تواند منجر به باقی ماندن حلال شود [۴۵]. بطور کلی روش استخراج به کار گرفته شده در این پژوهش و گونه انتخاب شده میگو، بازده و خلوص بالا را تضمین می کند که در عین حال خواص مفید لیپید را حفظ می کند.

شکل (۱) میزان باقی مانده حلال استون/هگزان در عصاره لیپیدی استخراج شده میگو.

Fig. 1. Residual amount of acetone/hexane solvent in shrimp lipid extract.

۳-۶- بررسی میزان استرول

در روغن های خوراکی، استرول ها عمدتاً به صورت آزاد و استری هستند که ممکن است اثرات فیزیولوژیکی متفاوتی داشته باشند. همچنین، خواص فیزیکی استرول های آزاد و استری نیز متفاوت است؛ به عنوان مثال، استرول های استری به راحتی در مخلوط روغن و آب محلول هستند [۳۶]. در مطالعه حاضر، محتوای استرول با استفاده از کروماتوگرافی گازی با آشکارساز یونش شعله ای (GC-FID) مطابق استاندارد ملی ایران (شماره ۹۶۷۰) تعیین شد. نتایج نشان داد که عصاره لیپیدی استخراج شده از محصولات

¹ United States Pharmacopeia

² Residual solvents

جانبی میگو حاوی سطح بالایی از کلسترول (۵۷۰ میلی گرم/صد گرم روغن) است (شکل ۲). به عنوان یک استرول غالب در چربی های جانوری، کلسترول حدود ۹۰٪ از کل استرول موجود در میگو را تشکیل می دهد [۲۳]. میزان کلسترول در لیپید میگو بسته به گونه، تغذیه، سن، جنس، دمای آب، موقعیت جغرافیایی، فصل و روش استخراج متفاوت است [۴۶]. گومزاستاکا و همکاران [۸] گزارش نمودند عصاره لیپیدی استخراج شده از ضایعات میگوی پاسفید غربی (*L. vannamei*) حاوی ۶۵ میلی گرم/صد گرم روغن، کلسترول می باشد. در حالیکه پیرس و همکاران [۴۷] سطح بالاتری از کلسترول (۴۰۱ میلی گرم/صد گرم روغن) را در عصاره لیپیدی میگوی سفید (*Litopenaeus schmitti*) گزارش کردند. مشابه با این پژوهش، مورا و تنوتا فیلهو [۴۸] کلسترول را در عصاره میگوی صورتی (*Penaeus brasiliensis*)، ۵۵۰ میلی گرم/صد گرم روغن گزارش نمودند. میگوها سطح کلسترول بالایی دارند، اما بر خلاف گوشت قرمز حاوی سطوح پایینی از چربی های اشباع شده هستند [۴۷]. تحقیقات نشان دادند که مصرف میگو تأثیر منفی قابل توجهی بر سطح کلسترول خون ندارد؛ این به دلیل وجود ویتامین B12، سلنیوم، اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳ و آستازانتین در میگو است که می توانند به بهبود سلامت قلب و عروق کمک کنند [۴۹]. در این راستا، یک مطالعه بالینی نشان داد که مصرف متوسط میگو در افراد دارای سطح کلسترول نرمال، تأثیر منفی بر پروفایل کلی لیپوپروتئین نخواهد داشت و می تواند در دستورالعمل های تغذیه ای «سلامت قلب» گنجانده شود [۵۰].

شکل (۲) میزان استرول و کلسترول عصاره لیپیدی استخراج شده.

Fig. 2. Sterol and cholesterol levels of shrimp lipid extract.

۳-۷- بررسی ترکیب لیپید

هر لیپید دارای یک ترکیب منحصربه فرد از اسیدهای چرب، استرول ها، توکوفرول ها و سایر ترکیبات لیپیدی است که ویژگی های فیزیکوشیمیایی و عملکردی آن را تعیین می کند؛ لذا، درک دقیق ترکیب یک روغن از طریق سنجش پروفایل لیپیدی می تواند به شناسایی ویژگی های تغذیه ای، پایداری اکسایشی و کاربردهای بالقوه آن در صنایع مختلف کمک کند [۵۱]. بطور کلی ۱۳ ترکیب مختلف بوسیله GC-MS در عصاره لیپیدی استخراج شده از محصولات جانبی میگوی ببری شناسایی شد. در این میان Cholesta-3,5-diene ترکیب اصلی (۹۲٪) موجود در نمونه استخراج شده بود (شکل ۳) که یک ترکیب استروئیدی با چندین ویژگی بیولوژیکی مربوط به بیوشیمی و تحقیقات علوم زیستی است [۵۲]. این ترکیب نقش های مختلفی در؛ (۱) بهبود زخم؛ نشان داده شده است که Cholesta-3,5-diene، همراه با سایر لیپیدها، با تسهیل مهاجرت فیبروبلاست و جذب نوتروفیل به محل زخم، موجب بهبود زخم می شوند که نشان دهنده نقش بالقوه آن در فرآیندهای ترمیم بافت است [۵۲]. (۲) هموستاز کلسترول؛ به عنوان یک اکسی سترول^۱، Cholesta-3,5-diene در تنظیم سطح کلسترول در بدن نقش دارد. اکسی سترول ها عموماً به عنوان مولکول های سیگنالی برای حفظ تعادل کلسترول عمل می کنند [۵۳]. (۳) پتانسیل نشانگر زیستی: Cholesta-3,5-diene می تواند از پیرولیز بافت های خاص آزاد شود و به طور بالقوه به عنوان یک نشانگر مولکولی در زمینه های خاص عمل کند [۵۴]. (۴) خواص شیمیایی: در تولید اسیدهای چرب استفاده می شود و به عنوان مایع بی رنگ متعلق به کلاس متیل کتون ها طبقه بندی می شود، اگرچه این طبقه بندی ممکن است اشتباه باشد زیرا در درجه اول به عنوان اکسی سترول شناخته می شود [۵۵]. بنابراین نتایج بررسی پروفایل عصاره لیپیدی مورد تحقیق نشان می دهد که اگرچه ترکیب عمده تشکیل دهنده این لیپید یک جزء تغذیه ای مستقیم نیست، اما نقش آن در مسیرهای بیوشیمیایی و کاربردهای بالقوه در ترمیم زخم اهمیت آن را در تحقیقات مرتبط با سلامت برجسته می کند.

شکل (۳) ترکیبات لیپید حاصل از محصولات جانبی میگوی ببری سبز. رنگ آبی: لیپید استخراج شده، رنگ قرمز: استاندارد کلسترول

Fig. 3. Lipid compositions of green tiger shrimp by-products. Blue: extracted lipid, red: cholesterol standard

۳-۸- بررسی شاخص های کیفیت عصاره لیپیدی میگو

در مرحله نهایی تحقیق حاضر، شاخص های اکسیداسیون روغن شامل اکسیداسیون اولیه (PV) و ثانویه (TBARS) مورد بررسی قرار گرفت. مطابق جدول (۳)، مقادیر اولیه PV و TBARS به ترتیب ۲/۲۱ میلی گرم هیدروپروکسید کومن/کیلوگرم لیپید و ۰/۳۱

¹ Oxysterol

میلی گرم مالون آلدئید (MDA) / بر کیلوگرم لیپید تعیین شد که نشان دهنده کیفیت خوب عصاره لیپیدی حاصل از محصولات جانبی میگوی ببری سبز است. نتایج به دست آمده در تطابق با مقادیر PV (۱/۵۰ میلی اکی والان اکسیژن فعال/کیلوگرم لیپید) و TBARS (۰/۳۰ میلی گرم MDA / بر کیلوگرم لیپید) گزارش شده توسط بالتی و همکاران [۶۰] برای عصاره لیپیدی میگوی پاسفید غربی (*P. vannamei*) است. گزارش شده است زنجیره های اسیدهای چرب چندغیراشباع (PUFAs) بسیار واکنش پذیر هستند و در ابتدا توسط رادیکال های هیدروکسیل تشکیل شده از طریق مکانیسم انتزاع تک الکترون^۱ مورد حمله قرار می گیرند [۵۷]. این منجر به تولید هیدروپراکسیدهای متعدد که نشان دهنده اکسیداسیون اولیه (افزایش PV) می باشد، می گردد. هیدروپراکسیدهای حاصل ناپایدار هستند و باعث واکنش های بیشتر برای تولید گونه های اکسیداسیون ثانویه از جمله MDA، ۴-هیدروکسی-۲-نونال (HNE^۲)، هیدروکربن ها، آلدئیدها و کتون ها (افزایش مقادیر TBARS) می شوند [۵۹]. پیشرفت اکسیداسیون لیپید به وضوح با کاهش کیفیت محصول، مانند ترشیدگی، بی طعمی، تشکیل ترکیبات سمی، کاهش ارزش غذایی و کاهش پذیرش مصرف کننده مرتبط است. بطور کلی، بررسی دقیق چگونگی تأثیر رادیکال های هیدروکسیل بر تجزیه چربی ها و محصولات جانبی حاصل از این واکنش، به دلیل وجود هزاران نوع لیپید مختلف و واکنش متفاوت هر کدام با رادیکال ها کار دشواری است [۵۹]. بنابراین فهم ارتباط بین تأثیر اکسیداسیون چربی ها روی ترکیبات چربی در ضایعات میگو، می تواند در توضیح تغییر ویژگی های چربی (مثل طعم، ماندگاری یا کیفیت) محصولات جانبی میگو کمک نماید.

جدول (۳) شاخص های کیفیت عصاره لیپیدی استخراج شده میگو.
Table 3 Lipid quality indices of shrimp lipid extract.

۴- نتیجه گیری

بهره برداری از محصولات جانبی میگو که اغلب دور ریخته می شوند، می تواند با ایجاد ارزش افزوده به توسعه پایدار صنایع عمل آوری آبزیان کمک نماید. نتایج آزمون های سنجش میزان آستازانتین و اسیدهای چرب نشان داد که عصاره لیپیدی استخراج شده از محصولات جانبی میگو سرشار از رنگدانه کارتنوئیدی آستازانتین به عنوان یک سوپر آنتی اکسیدان و اسیدهای چرب ضروری، به ویژه اسیدهای چرب چندغیراشباع (PUFAs) می باشد که دارای فواید قلبی-عروقی و خواص ضدالتهابی هستند. تحلیل استرول ها نیز نشان دهنده وجود مقدار قابل توجهی کلسترول بود که با ترکیب های لیپیدی سخت پوستان همخوانی دارد. همچنین بررسی ترکیب لیپیدی مؤید حضور ۱۳ ماده مختلف و Cholesta-3,5-diene به عنوان ترکیب اصلی (۹۲٪) موجود در نمونه استخراج شده بود. شاخص های کیفیت عصاره لیپیدی (PV و TBARS) نیز در محدوده قابل قبولی قرار داشتند که نشان می دهد با رعایت شرایط نگهداری مناسب، عصاره لیپیدی می تواند در کاربردهای مختلف مورد استفاده قرار گیرد. در مجموع، مطالعه حاضر پتانسیل محصولات جانبی میگوی ببری سبز را به عنوان منبعی ارزشمند جهت استخراج آستازانتین و اسیدهای چرب امگا-۳ با کیفیت بالا جهت کاربردهای غذا دارویی برجسته می نماید.

تشکر و قدردانی

این پروژه با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری های علمی بین المللی وزارت علوم تحقیقات و فناوری برگرفته شده از طرح "۴۰۲۰۵۶۱" و معاونت پژوهش دانشگاه تربیت مدرس انجام پذیرفته است.

منابع

- [1] Shiekh, K. A., Benjakul, S., & Gulzar, S. (2021). Impact of pulsed electric field and vacuum impregnation with Chamuang leaf extract on quality changes in Pacific white shrimp packaged under modified atmosphere. *LWT*, 149, 111899.
- [2] Mittal, A., Singh, A., Aluko, R. E., & Benjakul, S. (2021). Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shell chitosan and the conjugate with epigallocatechin gallate: Antioxidative and antimicrobial activities. *J. Food Biochem*, 45(1), e13569. 226

¹ Single-electron abstraction

² 4-Hydroxynonenal

- [3] Cabanillas-Bojórquez, L. A., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Castillo-López, R. I., Contreras-Angulo, L. A., Angulo-Escalante, M. A., López-Martínez, L. X., Ríos-Irbe, E. Y., & Heredia, J. B. (2021). Bioprocessing of shrimp waste using novel industrial by-products: Effects on nutrients and lipophilic antioxidants. *Ferment*, 7(4), 312.
- [4] Gulzar, S., Raju, N., Nagarajarao, R. C., & Benjakul, S. (2020). Oil and pigments from shrimp processing by-products: Extraction, composition, bioactivities and its application-A review. *Trends Food Sci Technol*, 100, 307-319.
- [5] Subramanian, B., Thibault, M. H., Djaoued, Y., Pelletier, C., Touaibia, M., & Tchoukanova, N. (2015). Chromatographic, NMR and vibrational spectroscopic investigations of astaxanthin esters: application to "Astaxanthin-rich shrimp oil" obtained from processing of Nordic shrimps. *Analyst*, 140(21), 7423-7433.
- [6] Miniadis-Meimaroglou, S., & Sinanoglou, V.J. (2013). Lipid profile and nutritional evaluation of shrimps. *AFSci*, 661(2), 21-40.
- [7] Raju, N., Gulzar, S., Buamard, N., Ma, L., Ying, X., Zhang, B., & Benjakul, S. (2021). Comparative study of astaxanthin, cholesterol, fatty acid profiles, and quality indices between shrimp oil extracted from hepatopancreas and cephalothorax. *Front. Nutr*, 8, 803664.
- [8] Gómez-Estaca, J., Calvo, M. M., Álvarez-Acero, I., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2017). Characterization and storage stability of astaxanthin esters, fatty acid profile and α -tocopherol of lipid extract from shrimp (*L. vannamei*) waste with potential applications as food ingredient. *Food Chem*, 216, 37-44.
- [9] Wu, H., Niu, H., Shao, A., Wu, C., Dixon, B. J., Zhang, J., ... & Wang, Y. (2015). Astaxanthin as a potential neuroprotective agent for neurological diseases. *Mar. Drugs*, 13(9), 5750-5766.
- [10] Björkegren, J. L., & Lusis, A. J. (2022). Atherosclerosis: recent developments. *Cell*, 185(10), 1630-1645.
- [11] Raju, N., Sae-leaw, T., Osako, K., & Benjakul, S. (2022). Improved cholesterol depletion with enhanced astaxanthin and polyunsaturated fatty acids of lipid from Pacific white shrimp cephalothorax using prior ethanolic separation of polar lipid and β -Cyclodextrin. *JFST*, 59(6), 2255-2262.
- [12] Aref, M., Movahedi, A., Heidari-Beni, M., & Kelishadi, R. (2023). Effects of shrimp oil on cardio-metabolic risk factors in children and adolescents. *IJVN*, 93 (6), 490-497.
- [13] Ei, Z. Z., Benjakul, S., Buamard, N., Visuttijai, K., & Chanvorachote, P. (2022). Shrimp Lipid Prevents Endoplasmic Reticulum-Mediated Endothelial Cell Damage. *Foods*, 11(19), 3076.
- [14] Sharayei, P., Azarpazhooh, E., Zomorodi, S., Einafshar, S., & Ramaswamy, H. S. (2021). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of astaxanthin from green tiger (*Penaeus semisulcatus*) shrimp shell. *Ultrason. Sonochem*, 76, 105666.
- [15] Rodrigues, L. A., Pereira, C. V., Leonardo, I. C., Fernández, N., Gaspar, F. B., Silva, J. M., ... & Matias, A. A. (2020). Terpene-based natural deep eutectic systems as efficient solvents to recover astaxanthin from brown crab shell residues. *ACS Sustain. Chem. Eng*, 8(5), 2246-2259.
- [16] Roy, V. C., Getachew, A. T., Cho, Y. J., Park, J. S., & Chun, B. S. (2020). Recovery and bio-potentialities of astaxanthin-rich oil from shrimp (*Penaeus monodon*) waste and mackerel (*Scomberomus niphonius*) skin using concurrent supercritical CO₂ extraction. *J. Supercrit. Fluids*, 159, 104773.
- [17] Haque, F., Dutta, A., Thimmanagari, M., & Chiang, Y. W. (2016). Intensified green production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Food Bioprod. Process*, 99, 1-11.
- [18] Haq, M., Ahmed, R., Cho, Y. J., & Chun, B. S. (2017). Quality properties and bio-potentiality of edible oils from Atlantic salmon by-products extracted by supercritical carbon dioxide and conventional methods. *Waste Biomass Valori*, 8, 1953-1967.
- [19] Metcalfe, L. D., Schmitz, A. A., & Pelka, J. R. (1966). Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem*, 38(3), 514-515.
- [20] Pérez Pavón, J. L., del Nogal Sanchez, M., García Pinto, C., Fernández Laespada, M. E., & Cordero, B. M. (2006). Use of mass spectrometry methods as a strategy for detection and determination of residual solvents in pharmaceutical products. *Anal. Chem.*, 78(14), 4901-4908.
- [21] Iranian National Standard No. 9670: Determination of cholesterol and sterols in edible fats and oils - Gas chromatography method.
<https://standard.inso.gov.ir/Search.aspx?standardnumber=9670&subject=&ics=&year=&course=%d9%87%d9%85%d9%87%20%d8%b1%d8%b4%d8%aa%d9%87%20%d9%87%d8%a7&courseid=0&statusid=1&status=%d9%85%d8%b9%d8%aa%d8%a8%d8%b1&target=>
- [22] Gulzar, S., & Benjakul, S. (2020). Impact of pretreatment and atmosphere on quality of lipids extracted from cephalothorax of Pacific white shrimp by ultrasonic assisted process. *Food Chem*, 309, 125732.
- [23] Raju, N., & Benjakul, S. (2020). Use of beta cyclodextrin to remove cholesterol and increase astaxanthin content in shrimp oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 122(2), 1900242.

- [24] Ahmadkelayeh, S., & Hawboldt, K. (2020). Extraction of lipids and astaxanthin from crustacean by-products: A review on supercritical CO₂ extraction. *Trends Food Sci Technol*, 103, 94-108.
- [25] Wang, J. L., Yu, Z. L., Yin, F. W., Li, D. Y., Liu, H. L., Song, L., & Zhou, D. Y. (2021). Comparison of different solvents for extraction of oils from by-products of shrimps *Penaeus vannamei* and *Procambarus clarkia*. *JFPP*, 45(9), e15754.
- [26] Gulzar, S., & Benjakul, S. (2018). Ultrasound waves increase the yield and carotenoid content of lipid extracted from cephalothorax of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 120(5), 1700495.
- [27] Santos, C. A. D., Padilha, C. E., Damasceno, K. S., Leite, P. I., Araújo, A. C. D., Freitas, P. R., ... & Assis, C. F. D. (2021). Astaxanthin recovery from shrimp residue by solvent ethanol extraction using choline chloride: Glycerol deep eutectic solvent as adjuvant. *J. Braz. Chem. Soc*, 32(5), 1030-1039.
- [28] Hu, J., Lu, W., Lv, M., Wang, Y., Ding, R., & Wang, L. (2019). Extraction and purification of astaxanthin from shrimp shells and the effects of different treatments on its content. *Rev. Bras. Farmacogn*, 29, 24-29.
- [29] Gimeno, M., Ramírez-Hernández, J. Y., Martínez-Ibarra, C., Pacheco, N., García-Arrazola, R., Bárzana, E., & Shirai, K. (2007). One-solvent extraction of astaxanthin from lactic acid fermented shrimp wastes. *J. Agric. Food Chem*, 55(25), 10345-10350.
- [30] Ruen-ngam, D., Shotipruk, A., & Pavasant, P. (2011). Comparison of extraction methods for recovery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Sep. Sci. Technol*, 46(1), 64-70.
- [31] Huang, J., & Hui, B. (2020). Feed-induced Variation in the Carotenoid Composition of Brine Shrimp. *eFood*, 1(3), 247-253.
- [32] Liu, X., McClements, D. J., Cao, Y., & Xiao, H. (2016). Chemical and physical stability of astaxanthin-enriched emulsion-based delivery systems. *Food Biophys*, 11(3), 302-310.
- [33] Bengtsson, A., Alminger, M. L., & Svanberg, U. (2009). *In vitro* bioaccessibility of β -carotene from heat-processed orange-fleshed sweet potato. *J. Agri. Food Chem*, 57(20), 9693-9898.
- [34] Silva, H. D., Cerqueira, M. A., Souza, B. W. S., Ribeiro, C., Avides, M. C., Quintas, M. A. C., Coimbra, J. S. R., Carneiro-Da-Cunha, M. G., & Vicente, A. A. (2011). Nanoemulsions of β -carotene using a high-energy emulsification- evaporation technique. *J. Food Eng*, 102(2), 130-135.
- [35] Azimi, O., Mohebbi, M., Farhoosh, R., & Saadatmand-Tarzan, M. (2020). Discerning expiration status of edible vegetable oils based on color changes during oxidation process: Using digital image and linear discriminant analysis in both primary and secondary oxidations. *IFSTRJ*, 15(6), 145-158.
- [36] Socaciu, C., Dulf, F., Socaci, S., Ranga, F., Bunea, A., Fetea, F., & Pintea, A. (2022). Phytochemical profile of eight categories of functional edible oils: A metabolomic approach based on chromatography coupled with mass spectrometry. *Appl. Sci*, 12(4), 1933.
- [37] Hossein, O., Abolghasem Esmacili, F., Majid, S., & Shima Masoudi, A. (2011). Comparison of fatty acid composition between farmed and wild Indian white shrimps, *Penaeus indicus*. *FNS*, 2, 824-829.
- [38] Semenoglou, I., Katsouli, M., Giannakourou, M., & Taoukis, P. (2024). Recovery of omega-3-rich lipids: toward the sustainable valorization of sea-bass industry side streams. *Separations*, 11(4), 101.
- [39] Aubourg, S. P., Rodríguez, A., Trigo, M., & Medina, I. (2023). Yield Enhancement of Valuable Lipid Compounds from Squid (*Doryteuthis gahi*) Waste by Ethanol/Acetone Extraction. *Foods*, 12(14).
- [40] Al-Taher, F., & Nemzer, B. (2018). Determination and quantitation of residual solvents in natural food ingredients using a static headspace gas chromatography with flame ionization detection and mass spectrometric detection method. *J. Food Prot*, 81(10), 1573-1581.
- [41] U.S. Food and Drug Administration. (2012). Current good manufacturing practice in manufacturing, packing, or holding human food, In: *FDA*, Washington, DC. <https://www.ecfr.gov/current/title-21/part-110>
- [42] Pharmacopeia, U. S. (2009). Particulate matter in injections. USP/NF General Chapter. In: USP 788. Rockville.
- [43] Wypych, G. (2001). Handbook of solvents. (1th ed.). Toronto: ChemTec Publishing.
- [44] Starciuc, T., Correia, N. T., Guinet, Y., Paccou, L., & Hédoux, A. (2018). Freeze drying of pharmaceuticals and biologicals. (2th ed.). Garmisch-Partenkirchen: In Freeze Drying of Pharmaceuticals and Biologicals.
- [45] Bhatnagar, B. S., Tchessalov, S., Lewis, L. M., & Johnson, R. (2013). Freeze drying of biologics. (4th ed.). Boca Raton: Encyclopedia of pharmaceutical science and technology.
- [46] Sampaio, G. R., Bastos, D. H. M., Soares, R. A. M., Queiroz, Y. S., & Torres, E. A. F. S. (2006). Fatty acids and cholesterol oxidation in salted and dried shrimp. *Food Chem*, 95(2), 344-351.
- [47] Pires, D. R., De Moraes, A. C. N., Coelho, C. C. S., Marinho, A. F., Góes, L. C. D. S. A., Augusta, I. M., ... & Saldanha, T. (2018). Nutritional composition, fatty acids and cholesterol levels in Atlantic white shrimp (*Litopenaeus schmitti*). *Int. Food Res. J*, 25(1), 151-157.
- [48] Moura, A. F. P. D., & Tenuta-Filho, A. (2002). Effects of processing on free cholesterol and 7-ketocholesterol concentrations in pink-shrimp. *Food Sci. Technol*, 22, 117-121.

- [49] Dayal, J. S., Ponniah, A. G., Khan, H. I., Babu, E. M., Ambasankar, K., & Vasagam, K. K. (2013). Shrimps—a nutritional perspective. *Curr. Sci*, 1487-1491.
- [50] e Silva, E. D. O., Seidman, C. E., Tian, J. J., Hudgins, L. C., Sacks, F. M., & Breslow, J. L. (1996). Effects of shrimp consumption on plasma lipoproteins. *AJCN*, 64(5), 712-717.
- [51] Zhu, Y., Li, P., Meng, R., Li, X., Qiu, Y., Wang, L., Zhang, S., Zhang, X., Lin, H., Zhai, H., & Liu, K. (2022). Lipid profiles of the heads of four shrimp species by UPLC–Q–Exactive Orbitrap/MS and their cardiovascular activities. *Molecules*, 27(2), 350.
- [52] Al-Hassan, J. M., Hinek, A., Renno, W. M., Wang, Y., Liu, Y. F., Guan, R., Wen, X. Y., Litvack, M. L., Lindenmaier, A., Afzal, M., Paul, B., Oommen, S., Nair, D., Kumar, J., Khan, M. A., Palaniyar, N., & Pace-Asciak, C. (2020). Potential mechanism of dermal wound treatment with preparations from the skin gel of arabian gulf catfish: a unique furan fatty acid (F6) and Cholesta-3,5-Diene (S5) recruit neutrophils and fibroblasts to promote wound healing. *Front. pharmacol*, 11, 899.
- [53] Sigma-Aldrich. (n.d.). Cholest-5-en-3-ol (3 β)-, 3-(carbonochloridate) [C6012]. Retrieved March 1, 2025, from <https://www.sigmaaldrich.com/US/en/product/sigma/c6012>
- [54] Bae, M. S., Park, J. K., Kim, K. H., Cho, S. S., Lee, K. Y., & Shon, Z. H. (2018). Emission and cytotoxicity of surgical smoke: Cholesta-3,5-diene released from pyrolysis of prostate tissue. *Atmosphere*, 9(10), 381.
- [55] MedChemExpress. (n.d.). Cholesta-3,5-diene. Retrieved March 1, 2025, from <https://www.medchemexpress.com/cholesta-3-5-diene.html>
- [56] Balti, R., Ben Mansour, M., Zayoud, N., Le Balc'h, R., Brodu, N., Arhaliass, A., & Massé, A. (2020). Active exopolysaccharides based edible coatings enriched with red seaweed (*Gracilaria gracilis*) extract to improve shrimp preservation during refrigerated storage. *Food Biosci*, 34, 100522.
- [57] Mariutti, L. R., & Bragagnolo, N. (2017). Influence of salt on lipid oxidation in meat and seafood products: A review. *Food. Res Int*, 94, 90-100.
- [58] Tu, C. hai, Qi, X. er, Shui, S. shan, Lin, H. min, Benjakul, S., & Zhang, B. (2022). Investigation of the changes in lipid profiles induced by hydroxyl radicals in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) muscle using LC/MS-based lipidomics analysis. *Food Chem*, 369, 130925.
- [59] Pascual-Silva, C., Alemán, A., López-Caballero, M. E., Montero, M. P., & Gómez-Guillén, M. del C. (2022). Physical and oxidative water-in-oil emulsion stability by the addition of liposomes from shrimp waste oil with antioxidant and anti-inflammatory properties. *Antioxidants*, 11(11), 2236.

جدول (۱) میزان بازدهی، غلظت آستازانتین و شاخص‌های رنگی عصاره لیپیدی استخراج شده میگو.

Table 1 Yield, astaxanthin concentration and color indices of shrimp lipid extract.

مقدار	شاخص
$2/81 \pm 0/00$	بازدهی لیپید (%)
$10/34 \pm 0/00$	غلظت آستازانتین (میلی-گرم/۱۰۰ گرم روغن)
	رنگ
$23/21 \pm 0/05$	L^*
$18/13 \pm 0/04$	a^*
$19/74 \pm 0/08$	b^*

داده‌ها به صورت میانگین ۳ نمونه $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند.

جدول (۲) میزان اسیدهای چرب عصاره لیپیدی استخراج شده میگو.

Table 2 Fatty acids content of shrimp lipid extract.

مقدار (%)	اسید چرب
$1/44 \pm 0/18^{de}$	اسید میریستیک (C14)
$1/19 \pm 0/01^e$	اسید پنتادکانوئیک (C15)
$1/88 \pm 0/57^d$	اسید پالمیتیک (C16)
$15/90 \pm 0/21^a$	هپتادکانوئیک اسید (C17)
$2/40 \pm 0/01^c$	اسید استئاریک (C18)
$8/42 \pm 0/02^b$	اسید آراشیدیک (C20)
$8/46 \pm 0/06^b$	هئیکوزانوئیک اسید (C21)
$5/07 \pm 0/00^c$	اسید بهنیک (C22)
$2/42 \pm 0/00^c$	اسید تریکوزانوئیک (C23)
$1/76 \pm 0/10^d$	اسید لیگنوسریک (C24)
48/94	ΣSFA
$5/49 \pm 0/32^b$	اسید الایدیک (C18:1n9t)
$1/53 \pm 0/09^c$	اسید اولئیک (C18:1n9c)
$1/01 \pm 0/10^d$	سیس-۱۱-ایکوزانوئیک اسید (C20:1)
$1/74 \pm 0/10^c$	اسید اوریک (C22:1n9)
$8/23 \pm 0/06^a$	اسید نورونیک (C24:1)
18/00	$\Sigma MUFA$
$11/42 \pm 0/12^a$	اسید لینولئیک (C18:2n6c)
$1/03 \pm 0/05^e$	اسید γ -لینولئیک (C18:3n5)
$2/73 \pm 0/07^d$	اسید لینولئیک (C18:3n3)
$2/48 \pm 0/05^d$	سیس، ۷، ۱۱، ۱۴-ایکوزاترینوئیک اسید (C20:3n6)
$6/98 \pm 0/07^b$	سیس ۱۱، ۱۴، ۱۷-ایکوزاترینوئیک اسید (C20:3n3)
$3/36 \pm 0/06^c$	اسید آراشیدونیک (C20:4n6)
$1/73 \pm 0/05^c$	سیس ۱۳، ۱۶-دکوزا دی‌انوئیک اسید (C22:2)

$2/29 \pm 0/07^d$	ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) (C20:5n3)
$1/03 \pm 0/01^e$	اسید دوکوزاهگزانوئیک (DHA) (C22:6n3)
33/05	Σ PUFA
13/03	ω -3 PUFA Σ
20/02	ω -6 PUFA Σ

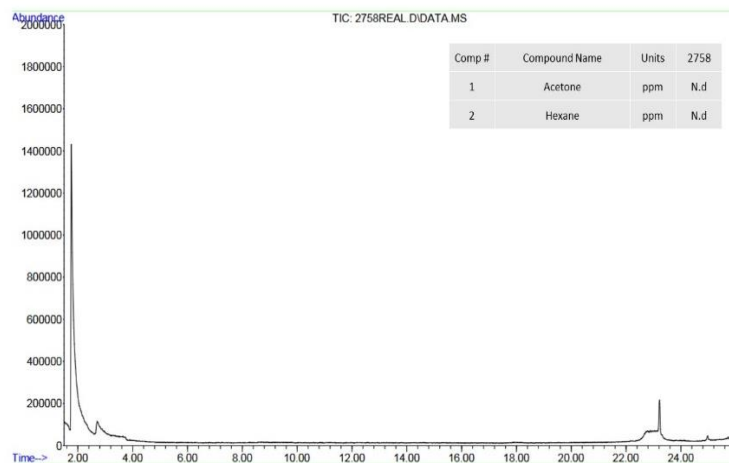
داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند. حروف متفاوت در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری در سطح ($p < 0.05$) هستند.

جدول (۳) شاخص‌های کیفیت عصاره لیپیدی استخراج شده میگو.

Table 3 Lipid quality indices of shrimp lipid extract.

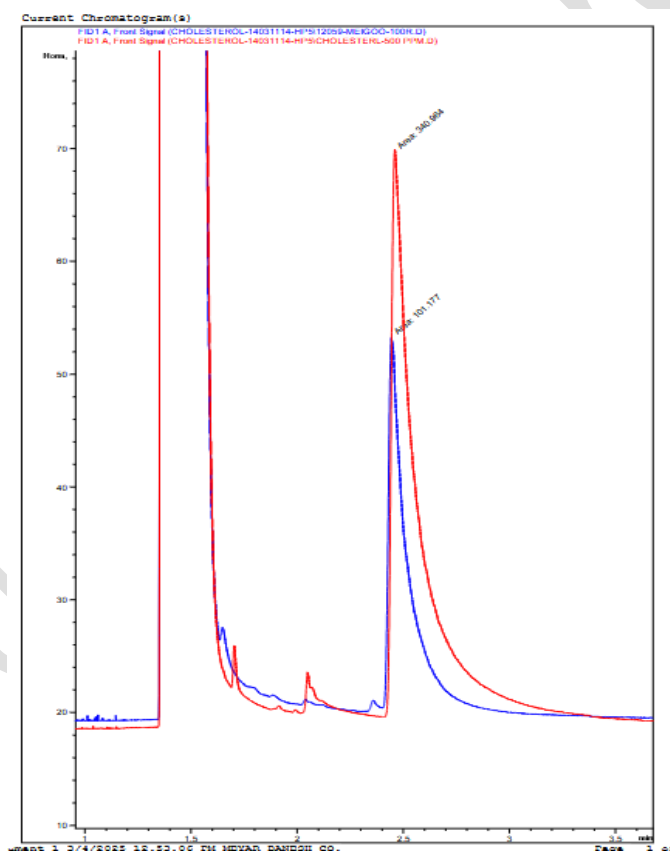
نام	شاخص PV (میلی گرم	شاخص TBA
هیدروپروکسید کومن/کیلوگرم	(میلی گرم مالون‌آلدئید (MDA)/	
لیپید)	بر کیلوگرم لیپید)	
لیپید	$2/21 \pm 0/47$	$0/31 \pm 0/16$
محصولات جانبی میگو		

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند.



شکل (۱) میزان باقی مانده حلال استون/هگزان در عصاره لیپیدی استخراج شده میگو.

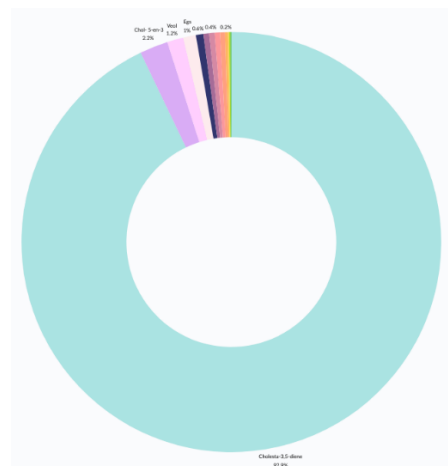
Fig. 1. Residual amount of acetone/hexane solvent in shrimp lipid extract.



شکل (۲) میزان استرول و کلسترول عصاره لیپیدی استخراج شده.

Fig. 2. Sterol and cholesterol levels of shrimp lipid extract.

No	Area%	Name
1	0.40	Nonane
2	0.42	trans, trans-1,6-Dimethylspiro [4.5] decane
3	0.38	5,7-Dodecadiene, (Z, Z)-
4	0.09	Undecane
5	0.08	Methyl-3-indazolone2
6	0.10	Decane
7	1.24	Verticiol
8	0.21	cis, cis, cis-7,10,13-Hexadecatrienal
9	2.16	Cholest-5-en-3-ol (3 β)-, carbonochloridate
10	0.97	5 α -Ergost-14-ene
11	0.44	(-)-Sinularene
12	0.57	Andrographolide
13	92.01	Cholesta-3,5-diene



شکل (۳) ترکیبات لیپید حاصل از محصولات جانبی میگوی ببری سبز. رنگ آبی: لیپید استخراج شده، رنگ قرمز: استاندارد کلسترول

Fig. 3. Lipid compositions of green tiger shrimp by-products. Blue: extracted lipid, red: cholesterol standard

Investigation of sterols, fatty acids, and qualitative indicators of lipid extract from green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) by-products

Zahra Mousavi¹, Seyed Fakhreddin Hosseini^{2*}

1. Ph.D. Student, Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
2. Associate Professor, Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

*Corresponding author: hosseinisf@modares.ac.ir

Abstract

Raw material residues from shrimp processing are a valuable source of bioactive compounds, such as lipids and astaxanthin (a carotenoid with potent antioxidant properties) for applications in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. Extracting these compounds not only mitigates the environmental impact of shrimp processing waste but also offers significant economic benefits. The present study aimed to extract astaxanthin-rich lipids from green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) by-products and evaluate their sterol and fatty acid profiles, astaxanthin content, and quality indices. The results demonstrated a lipid extraction efficiency of 2.81%, with an astaxanthin recovery rate of 10.34 mg/100 g of oil and a favorable colorimetric index ($a^* = 18.13$), indicating high color quality. Gas chromatography (GC) analysis revealed that the lipid extract was rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids (ω -3 PUFAs) (13.03%), underscoring its nutritional significance. The cholesterol content of the shrimp lipid extract was approximately 570 mg/100 g of oil, consistent with typical values reported for marine-derived products. Lipid composition analysis identified 13 distinct compounds, with Cholesta-3,5-diene being the most abundant. Furthermore, the oxidative stability of the extract was confirmed by low oxidation indices (peroxide value: 2.21 mg cumene hydroperoxide/kg lipid; thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS): 0.31 mg malonaldehyde (MDA)/kg lipid), indicating good shelf-life potential. These findings highlight green tiger shrimp by-products as a promising source of bioactive compounds and beneficial fatty acids, suitable for utilization in food, pharmaceutical, and cosmetic applications.

Keywords: Shrimp by-products; Lipid extract; Astaxanthin; Polyunsaturated fatty acids; Cholesterol

Extended Abstract

Investigation of sterols, fatty acids and qualitative indicators of lipid extract from green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*) by-productsZahra Mousavi¹, Seyed Fakhreddin Hosseini^{2*}

1. Ph.D. Student, Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
 2. Associate Professor, Department of Seafood Processing, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
 *Corresponding author: hosseini@modares.ac.ir

Introduction: In recent years, there has been growing interest in utilizing aquatic by-products as valuable sources of bioactive compounds for the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. Green tiger shrimp (*Penaeus semisulcatus*), a commercially important species, generates significant amounts of processing waste (including heads, shells, and viscera) rich in valuable compounds such as sterols, essential fatty acids, and carotenoids. Characterizing these compounds serves dual purposes: it enables the development of novel functional products while promoting sustainable management of fishery by-products. Marine sterols, as bioactive lipid components, play crucial roles in steroid hormone synthesis and cellular membrane integrity. The fatty acid profile of green tiger shrimp waste is particularly notable for its high concentrations of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), including eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), which demonstrate cardioprotective effects. Recent studies report that saturated fatty acids constitute 35.04-52.43% of total lipids, with variations depending on processing conditions such as temperature and extraction methods. Astaxanthin, recognized as the most potent natural antioxidant in shrimp waste, contributes not only to the species' characteristic pigmentation but also offers significant health benefits, including anti-inflammatory properties and visual system protection. Lipid quality indices, particularly peroxide value (PV) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) as measures of oxidative stability, are critical determinants of shelf-life and industrial applicability. This study represents the first comprehensive investigation of the lipid profile and quality parameters of green tiger shrimp by-products, addressing a significant gap in current research.

Materials and Methods: To investigate the lipid composition of green tiger shrimp by-products, skin, head, and tail samples were collected from shrimp farming centers in southern Iran and subjected to lyophilization (freeze-drying). The ground samples were homogenized using a 42-mesh sieve. Lipids were then extracted via Soxhlet extraction with acetone/hexane (1:1, v/v) at 50°C for 2 hours. Sterols were analyzed by GC-MS following saponification and derivatization with BSTFA. Fatty acid profiles were determined by preparing fatty acid methyl esters (FAME) using BF₃-methanol catalysis, followed by GC-FID analysis (CP-Sil 88 column). Astaxanthin was quantified spectrophotometrically at $\lambda_{\text{max}} = 462$ nm using a standard calibration curve. Color indices (L, a, b*) were measured with a portable colorimeter. Lipid quality assessment included: Solvent residue analysis by GC-MS, peroxide value determination via iodometric titration (AOCS Cd 8-53) TBARS measurement at 532 nm after reaction with 2-thiobarbituric acid. All experiments were conducted in triplicate under controlled temperature and light conditions. Data were analyzed using SPSS v.26 with Tukey's test ($p < 0.05$).

Results and Discussion: The results of this study showed that the lipid extraction efficiency from green tiger shrimp waste was 2.81% using the acetone-hexane (50:50, v/v) solvent system. The astaxanthin concentration of 10.34 mg/100 g oil, a potent antioxidant, indicates the high potential of this source for the food and cosmetic industries. This value is consistent with the findings of Sachindra et al., who used acetone as a solvent for astaxanthin extraction. The PUFA content of 33.05%, particularly the ω -3 PUFA (13.03%), reinforces the value of this lipid as a beneficial source for preventing cardiovascular diseases. The cholesterol content (570 mg/100 g oil) is higher than that reported in the cephalothorax of Vanami shrimp (65-70 mg) but remains within a safe range for human consumption. For pharmaceutical applications, the use of cholesterol-lowering agents such as saponins or β -cyclodextrins is recommended. Lipid profile analysis revealed that up to 92% of the extracted lipid consists of cholesta-3,5-diene, a minor steroid compound commonly found in cholesterol-containing samples. This compound has several biological properties relevant to biochemistry and life science research. The lipid exhibited favorable oxidative stability, with a peroxide index of 2.21 mg hydroperoxide/kg and a TBARS value of 0.305 mg MDA/kg, indicating good quality and the effective role of natural antioxidants such as astaxanthin. These results align with the study by Gulzar and Benjakul, who confirmed the stability of marine lipids for up to 30 days. The color index a (18.13) reflects the high astaxanthin concentration, which is crucial for industrial applications as a natural colorant. Furthermore, the absence of solvent residues in the extracted lipid, in compliance with United States Pharmacopeia (USP) standards, ensures its safety for use in the food and pharmaceutical industries.

Conclusion: This study demonstrates that green tiger shrimp by-products are a rich source of bioactive compounds with broad applications in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries. The high lipid extraction efficiency,

elevated astaxanthin content, and significant omega-3 fatty acid contribution highlight their potential for developing health-promoting products. Although the cholesterol content is higher than in some other species, it remains within safe limits for human consumption. Moreover, the natural antioxidants (e.g., astaxanthin) ensure favorable oxidative stability, enhancing shelf life and industrial applicability. The acetone-hexane solvent system proved effective for the simultaneous extraction of polar and non-polar compounds, while compliance with USP standards guarantees the absence of solvent residues, ensuring product safety. These findings represent a significant step toward a circular economy, as 40–50% of shrimp processing waste can be converted into value-added products. Future research should focus on optimizing green extraction technologies and assessing compound toxicity in animal models to further validate their applicability.

Keywords: Shrimp by-products; Lipid extract; Astaxanthin; Polyunsaturated fatty acids; Cholesterol