16(1) 85-92, Spring 2024

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Using the optimal oil extracted from *Sardinella sindensis* to produce health moisturizing cream

Farahnaz Lakzaei [1], Seyed Mehdi Ojagh [1*], Alireza Alishahi [1], Hadi Ghafari [2], Melika Nazemi [3]

[1] *Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran*
[2] *Department of Biotechnology, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran*
[3] *Department of Marine Biology, Persian Gulf and Oman Sea Ecological Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Bandar Abbas, Iran*

Key Words

Sardines
Fish oil
Steroids
Fatty acids
Moisturizing cream

Abstract

Introduction: The consumption of small fish such as sardines does not have a significant place in the family's food basket, but they are a very rich source of mineral salts, protein, and fat, which until now are the most consumed in the world for the production of fish meal and fish oil as feed for aquatic animals, poultry and livestock. But by processing them, especially the extraction of oil, fatty acids, and remaining fish proteins, they can be used in the production of anti-inflammatory and pain-relieving drugs, lubricants, cosmetic products, and cosmetic waxes. Industrial extraction of this product, while producing pharmaceutical products, can improve the added value of fishery products and effectively help in reducing environmental pollution.

Materials & Methods: In the present study, the isolation of unsaturated fatty acids and steroids and the identification of sardine steroids of *Sardinella sindensis* species and the production of moisturizing cream were performed in order to create value-added products. *Sardinella sindensis* was caught by coastal blockade method in January 2017 from around Qeshm Island. Bligh and Dyer method was used to extract oil from sardines. Unsaturated fatty acids were measured in extracted fish oil. Finally, the production of moisturizing cream from the extracted oil was investigated.

Results: The results showed that the amount of oil extracted from sardine fish using Bligh and Dyer method is 16%. The highest amount of fatty acids is palmitic acid C16:0 (26/905). The results of the moisturizing test of the produced creams on the skin of the volunteers showed that the moisturizing of cream with 3% fish oil is 40.12% and the moisturizing of cream with 5% fish oil is 42.31%, which according to the moisturizing creams Johnson commercial 43.85% and Dr. Jila 44.90%, no significant difference was observed and the produced creams were of good quality ($P \leq 0.05$).

Conclusion: The results show that by using cream containing 3% and 5% of optimized sardine oil, the amount of skin moisture increases, which shows the lasting effect of creams made from fish oil.

* Corresponding Author's email: mahdi_ojagh@yahoo.com
Received: 25 January 2022; Reviewed: 25 February 2023; Revised: 28 April 2023; Accepted: 31 May 2023
(DOI): 10.22034/AEJ.2023.398424.2983

مقاله پژوهشی

استخراج روغن ساردین ماهی *Sardinella sindensis*، خالص‌سازی، شناسایی اسیدهای چرب غیراشباع و استروئیدهای آن با هدف تولید کرم مرطوب‌کننده بهداشتی

فرحناز لکزائی[۱]، سید مهدی اجاق*[۱]، علیرضا عالیشاهی[۱]، هادی غفاری[۲]، ملیکا ناظمی[۳]

[۱] گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

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

[۳] پژوهشکده اکولوژی خلیج پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

کلمات کلیدی

ساردین
روغن ماهی
استروئید
اسیدهای چرب
کرم مرطوب کننده

چکیده

مقدمه: مصرف ماهیان ریز مانند ساردین ماهیان به‌صورت مستقیم در سبد غذایی خانواده جایگاه قابل توجهی ندارند، اما منبع بسیار غنی از املاح معدنی، پروتئین، چربی هستند که تاکنون بیش‌ترین مصرف آن‌ها در جهان تولید پودر ماهی و روغن ماهی به‌عنوان خوراک آبزیان، دام و طیور است. اما با فرآوری آن‌ها به‌ویژه استخراج روغن، اسیدهای‌چرب و پروتئین‌های‌باقی‌مانده ماهیان‌می‌توان، داروهای‌ضدالتهاب و ضددرد، روان‌کننده؛ محصولات آرایشی و موم‌های آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار بگیرند. با استخراج صنعتی ضمن تولید فرآورده‌های دارویی، می‌توان موجب ارتقا ارزش افزوده محصولات شیلاتی و کمک موثر در کاهش آلودگی زیست محیطی شد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر، جداسازی اسیدهای چرب غیراشباع و استروئید و شناسایی استروئیدهای ساردین ماهیان گونه *Sardinella sindensis* و تولید کرم مرطوب‌کننده به‌منظور ایجاد محصولات با ارزش افزوده انجام شد. صید گونه *Sardinella sindensis* به‌روش محاصره‌ای ساحلی در دی‌ماه سال ۱۳۹۷ از اطراف جزیره قشم انجام شد. برای استخراج روغن از ساردین ماهیان از روش بلات و دایر استفاده شد. اسیدهای چرب غیراشباع در روغن ماهی استخراج شده اندازه‌گیری شد. در نهایت، امکان تولید کرم مرطوب‌کننده از روغن استخراج شده مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که میزان روغن استخراج شده از ماهیان ساردین با استفاده از روش بلات و دایر ۱۶ درصد می‌باشد. بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب مربوط به اسیدپالمیتیک C16:0 (۲۶/۹۰۵) می‌باشد. نتایج تست مرطوب‌کنندگی کرم‌های تولیدی روی پوست داوطلبان نشان داد که میزان مرطوب‌کنندگی کرم مرطوب‌کننده با ۳ درصد روغن ماهی، ۴۰/۱۲ درصد و کرم مرطوب‌کننده با ۵ درصد روغن ماهی ۴۲/۳۱ درصد می‌باشد که با توجه به مرطوب‌کنندگی کرم‌های تجاری جانسون به‌میزان ۴۳/۸۵درصد و دکتر ژیلا ۴۴/۹۰ درصد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P<0/05$) و کرم‌های تولید شده کیفیت خوبی داشتند.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که با مصرف کرم حاوی ۳ و ۵ درصد روغن بهینه شده از ماهی ساردین مقدار رطوبت پوست افزایش پیدا می‌کند که نشان‌دهنده ماندگاری اثر کرم های تولید شده از روغن ماهی‌می باشد

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: mahdi_ojagh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۵ بهمن ۱۴۰۱؛ تاریخ داوری: ۶ اسفند ۱۴۰۱؛ تاریخ اصلاح: ۸ اردیبهشت ۱۴۰۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۰ خرداد ۱۴۰۲
(DOI): 10.22034/AEJ.2023.398424.2983

مقدمه

میزان‌صید ساردین‌ماهیان در آب‌های‌جنوبی کشور بسیار حائز اهمیت می‌باشد، استان هرمزگان از نظر میزان صید با ۴۴ درصد میزان کل کشور رتبه اول را به خود اختصاص داد. ماهیان سطح‌زی ریز (ساردین و متو ماهیان) حدود ۱۲ درصد صید کشور را تشکیل می‌دهد، ولی در مقابل فقط ۱/۴ درصد ارزش صید آبزیان کشور را دارا می‌باشد. (۱). ساردین ماهیان حدود ۲۰-۱۶ درصد پروتئین و حدود ۳۰ درصد روغن دارند، عدم پایداری چربی در این ماهیان و میزان صید بالا، باعث شده بیش‌تر صید پس از تخلیه در ساحل به پودر ماهی تبدیل شود، در حالی که با استفاده از تکنولوژی‌های پیشرفته می‌توان از این صید عظیم بهره‌برداری بیش‌تری به‌عمل آورد. ساردین ماهیان، از ماهیان چرب می‌باشند که‌عضله آن‌ها حاوی اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع است (۲). این اسیدهای چرب ضمن کاربرد در مواد غذایی خوراکی در صورت استفاده در کرم از خشکی و چروک‌خوردگی پوست‌جلوگیری می‌کنند، به‌عبارتی دیگر، این اسیدهای چرب به حفظ و سلامتی غشای سلولی، مرطوب شدن و ترمیم پوست کمک می‌کند (۳). برخلاف ماهیان کم چرب که اسیدهای چرب و استروئیدهای آن‌ها در کبد ذخیره شده، این چربی مفید در بافت گوشت ساردین اندوخته شده و قابل دسترس‌تر می‌باشد. امروزه روغن ماهی به‌عنوان یک ماده با ارزش شناخته شده و براساس کیفیت و خلوص آن برای مصارف انسان، آبزیان به‌ویژه در صنعت تکثیر و پرورش استفاده می‌شود(۴). روغن ماهی به‌دلیل دارا بودن اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند امگا ۳ (PUFA) مانند دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA)، دوکوزاپنتانوئیک اسید (DPA) و ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) یک محصول با ارزش غذایی بالایی می باشد. به‌دلیل خواص پیشگیرانه و درمانی، آن‌ها در تغذیه و بهداشت نقش بسیار ارزشمندی دارند. روغن ماهی که قبلاً محصول جانبی در پروسه تولید پودر ماهی بود که برای خوراک حیوانات استفاده می‌شد، اکنون به‌عنوان منبع اصلی اسیدهای چرب امگا ۳ شناخته می‌شود (۵). امروزه مصرف‌کنندگان بیش‌تر به محصولاتی که از مواد طبیعی تهیه شده‌اند علاقه‌مند هستند. صنعت آرایشی و بهداشتی نمونه‌ای است که در آن می توان از مقادیر کمی روغن یا عصاره هیدروالکلی گیاهان و حیوانات استفاده کرد (۶). لیپیدهای رایجی که در صنایع آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شوند عبارتند از: مونو، دی‌و تری‌گلیسیرید، اسیدهای چرب، مومها، لانولین، استرهای زنجیره‌بلند و روغن‌های‌معدنی (۷). مزایای سلامتی استفاده موضعی از روغن ماهی برای استفاده در محصولات آرایشی مطلوب است (۸). از طریق‌صید ساردین‌ماهیان و استخراج روغن و جداسازی اسیدهای چرب و سایر فرآورده‌های بیولوژیک موجود در آن می‌توان گام موثری در تولید محصولات با ارزش افزوده از ساردین ماهیان و ایجاد درآمدهای غیرنفتی برداشت. درسال‌های اخیر توجه‌زیادی‌به سلامت و زیبایی پوست شده است. پوست، بدن را از عوامل بیرونی به‌عنوان یک‌سد محافظت‌کرده و نقش‌مهمی در زیبایی‌دارد (۹). پیری‌پوست یک فرآیند طبیعی است با توجه به میزان مصرف لوازم آرایشی و بهداشتی‌و مصرف‌کرم‌های‌جوان‌کننده و ترمیم‌کننده‌پوست‌و از طرفی وجودذخایر ساردین‌ماهیان به‌عنوان منبع‌غنی‌از روغن در خلیج‌فارس و دریای‌عمان، در این تحقیق‌به‌بررسی‌اثربخشی‌روغن‌ماهی‌ساردین در تولید کرم‌مرطوب‌کننده‌با کاربرد آرایشی‌و بهداشتی پرداخته‌شده‌است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: صید ساردین ماهیان گونه *Sardinella sindensis* به‌روش محاصره‌ای ساحلی موسوم به "جل ساردین" در دی‌ماه سال ۱۳۹۷ از اطراف جزیره قشم انجام و به‌صورت منجمد به آزمایشگاه بخش زیست‌فناوری پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان منتقل شدند.

استخراج‌روغن با استفاده‌از روش بلایت و دایر: ۲۰۰۰ گرم از ماهی ساردین پاک‌شده و چرخ شد، با ۱۱۰۰ میلی‌لیتر کلروفرم و ۲۰۰۰ میلی‌لیتر متانول به‌مدت ۲-۴ دقیقه به‌خوبی مخلوط گردید، سپس ۱۰۰۰میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده و عملیات هم‌زدن تا ۳۰ ثانیه دیگر صورت گرفت و به‌مدت ۷۲ ساعت در شرایط تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس نمونه به قیف دکانتور انتقال یافت. بعد از جداشدن کامل دو فاز از یکدیگر جداسازی صورت گرفت. لایه بالائی حاوی آب و متانول و لایه زیرین حاوی کلروفرم و روغن است. فاز پایینی جدا و کلروفرم آن تبخیر گردید سپس روغن جدا شد (۱۰). درصد روغن استحصال شده براساس فرمول زیر محاسبه شد (۱۱):

درصد روغن = (روغن وزن)/(ماهی وزن)×۱۰۰

جداسازی اسیدهای چرب غیراشباع از روغن ماهیان: به منظور جداسازی اسیدهای چرب غیراشباع به ۸۰ گرم روغن خالص تهیه شده از ساردین ماهیان گونه *Sardinella Sindensis*، ۶۸ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲۰ گرم پتاس شرکت مرک آلمان و ۱۰۸ میلی‌لیتر اتانول مرک اضافه گردید و به‌مدت ۲ ساعت در هات منتل قرار گرفت، پس از گذشت زمان مذکور به آن اسیدکلریدریک مرک غلیظ به مقدار ۲۷/۶ میلی‌لیتر، ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۷۴۰ میلی‌لیتر اتانول و ۲۰۰ گرم اوره مرک اضافه گردید و به‌مدت ۲۰ دقیقه در دکانتور قرار داده شد تا محلول فوق دو فاز گردد، سپس فاز حاوی کمپلکس اوره از آن خارج شد. بعد از آن به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و

۲۴ ساعت دیگر در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، پس از گذشت زمان مذکور اسیدکلریدریک غلیظ به‌مقدار ۱۷/۶ میلی‌لیتر و ۱۴۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید، سپس به آن ۳۸ میلی‌لیتر اتانول و ۰/۶ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک شرکت مرک اضافه شد و به مدت ۲ ساعت در شرایط استراحت قرار گرفت. پس از گذشت زمان مذکور ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه‌شدو به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از آن به لایه فوقانی پترولیوم بنزن افزوده شد و از صافی عبور داده شد و در روتاری قرار گرفت. درنهایت آن‌چه باقی‌ماند اسیدهای چرب غیراشباع بود (۱۲).

کروماتوگرافی لایه‌نازک با کارایی بالا (HPTLC): شناسایی استروئیدهای نمونه‌روغن‌های آماده شده بر روی پلیت‌های سیلیکاژل HPTLC 60 F254 شیشه‌ای ۱۰×۱۰ سانتی‌متر انجام شد. نمونه‌ها به‌صورت نوارهای ۶ میلی‌متری، با فاصله ۱۰ میلی‌متر از لبه پایینی روی صفحه مشاهده شدند. صفحات TLC در یک محفظه اتوماتیک دوقلو (AMD2، CAMAG) با فازهای متحرک: هگزان: اتیل استات: اتانول (۷:۲:۱)؛ THF: تولوئن: فرمیک اسید: آب (۰/۵: ۱: ۴: ۸)؛ تولوئن:اتیل‌استات: فرمیک اسید (۷:۳:۱)؛ اتیل استات: اسید فرمیک: اسیداستیک: آب (۱۰:۱:۱:۱)؛ تولوئن: کلروفرم: اتانول (۵:۵:۲)؛ کلروفرم: اتیل استات: متانول: آب (۱۵:۴۰:۲۲:۱۰) در فاصله (۷۰ میلی‌متر) به‌مدت ۳۷ دقیقه ساخته‌شدند. صفحات توسعه یافته به‌مدت ۵ دقیقه در هوای گرم خشک شدند. سپس با استفاده از یک اسکنر CAMAG TLC3 در ۵۲۵ نانومتر اسکن شدند. در محدوده ۷۰۰-۳۰۰ نانومتر، طیف‌های نقطه‌ای با استفاده از آشکارساز آرایه‌فوتودیود (PDA) ثبت شدند. کروماتوگرام ها در ۲۵۴ و ۳۶۶ نانومتر ثبت شدند. نور سفید در هنگام توسعه و مشتق‌سازی پس از کروماتوگرافی (PCD) با محلول یا معرف آنی‌سالدئید با استفاده‌از یک CAMAG TLC Visualizer 2 مجهز به یک دوربین دیجیتال دارای یک دستگاه ۱۲ بیتی با شارژ همراه (CCD) روشن شد که توسط winCATS نرم‌افزار نسخه ۱.۴.۷.۶۳۳۷ کنترل شد (۱۳).

تولید کرم از روغن ساردین ماهیان: به‌منظور تولید کرم مرطوب کننده از روغن ساردین ماهیان، کرم پایه آرایشی مورد نیاز از شرکت دارویی و بهداشتی فارابی که از ستواستتارین الکل، ژل پترولیم (وازلین)، گلیسیرین، روغن‌های معدنی، پرزرواتیو (نگه‌دارنده و ضدمیکروب)، آنتی‌اکسیدان ساخته شده بود و دارای پروانه ساخت به شماره ۳۸۷۲ و سیب سلامت به‌معنی عاری از آلودگی میکروبی، فاقد فلزات‌سنگین می‌باشد، استفاده شد. در آزمایش اولیه روغن حاوی اسیدهای چرب تهیه شده از ماهی ساردین با درصدهای ۳ و ۵ به پایه کرم آرایشی افزوده شد. به‌منظور تهیه کرم حاوی روغن بهینه ماهی ساردین، کرم پایه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری ذوب شد و پس از رسیدن به دمای ۳۵-۳۹ درجه سانتی‌گراد که مواد طبیعی در آن ماهیت خود را حفظ می‌کنند به پایه کرم اضافه شد و به‌مدت ۷-۵ دقیقه به‌صورت دستی هم‌زده شد تا به‌صورت یکنواخت و همگن شود. سپس در شرایط استریل به شیشه‌های ۲۰ تا ۷۰ گرمی ریخته و در دمای ۲۵ درجه نگه‌داری شدند. لازم به ذکر است با توجه به آن‌که از کرم پایه استاندارد در تهیه کرم حاوی روغن بهینه ماهی ساردین استفاده شد و تنها ۳ و ۵ درصد از روغن به آن افزوده شد بنابراین دیگر نیازی به انجام مجدد تست‌های فلزات سنگین نبود و در ادامه آنالیز میکروبی و سنجش رطوبت با دستگاه آنالیزور پوست (Skin analiysis) انجام شد. به‌منظور سنجش رطوبت پوست از کرم‌های تهیه شده در این پروژه کرم مرطوب‌کننده برند جانسون و دکتر ژیلا به‌عنوان شاهد استفاده شد که پس از استفاده روی پوست آرنج افراد مورد آزمایش قرار گرفت و پس از گذشت ۱۵-۱۰ دقیقه رطوبت پوست اندازه‌گیری شد (۱۴)

آنالیز آماری: برای آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۰) استفاده شد. جهت تحلیل داده‌ها از آزمون آماری One-Way ANOVA و برای بررسی اختلاف میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel (Microsoft Office, 2010) استفاده شد.

نتایج

روغن استخراج شده از *S. sindensis*: نتایج نشان داد، استخراج روغن از ماهیان ساردین با استفاده از روش بلات و دایر به‌میزان ۱۹ میلی‌لیتر می‌باشد و راندمان روغن استحصال شده از این روش معادل ۱۶ درصد می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین نتایج روغن استخراجی از ساردین ماهی *S. sindensis* به‌روش بلات و دایر (میانگین±انحراف معیار/خطای استاندارد)

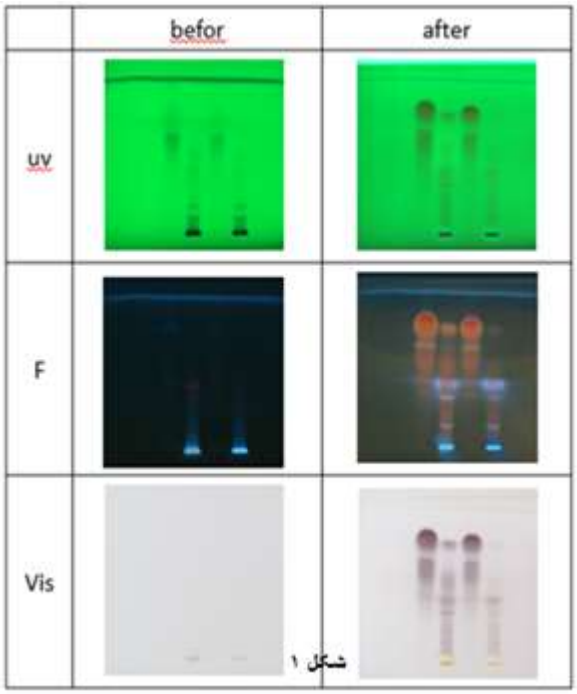
ماده اولیه	میزان روغن (ml)	میزان روغن (٪)
S. sindensis	۱۹/۰±۲۱/۳۲	۱۶/۰±۴/۱۶

کروماتوگرافی گازی و شناسایی میزان اسیدهای چرب در روغن استخراج شده: اسیدهای چرب روغن ساردین گونه *Sardinella sindensis* جمع‌آوری شده از جزیره قشم، با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی شناسایی شد (جدول ۲). مجموع ۲۷ اسید چرب شناسایی گردید. بیش‌ترین اسیدهای چرب مشاهده شده مربوط به C16:0 (اسید پالمتیک) و C18:1 (اولئیک اسید) می‌باشد.

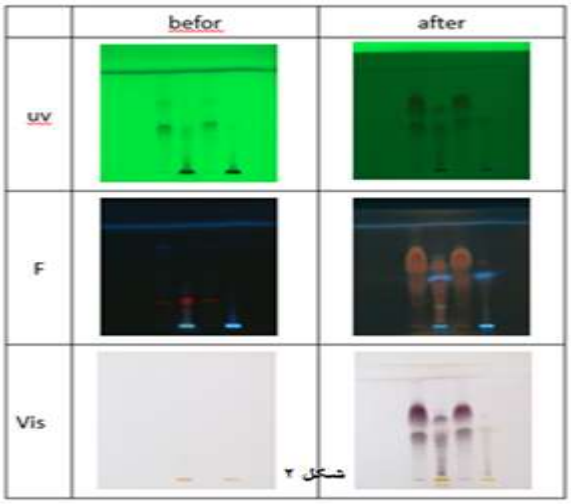
جدول ۲: شناسایی میزان اسیدهای چرب در روغن استخراج شده

اسیدهای چرب	S:O:Ch: 3	اسیدهای چرب	S:O:Ch: 3
C6:0	۸/۸۶۱	C18:3 n6	۳/۳۹۵
C8:0	۲/۸۷۰	C18:3 n3	۰/۹۰۲
C10:0	۶/۴۱۹	C20:0	۰/۱۶۲
C12:0	۳/۲۶۲	C20:1	۰/۳۰۵
C14:0	۱/۹۲۳	C20:2	۰/۶۲۲
C15:0	۰/۷۸۳	C20:3 n9	۰/۸۷۵
C16:0	۲۶/۹۰۵	C20:4 n6 ARA	۰/۴۰۸
C16:1	۳/۶۲۷	C20:5 n3 EPA	۰/۸۲۸
C17:0	۱/۸۹۷	C24:0	۰/۰۰۰
C17:1	۱/۷۴۶	C22:4 n6 DTA	۰/۰۰۰
C18:0	۱۱/۹۹۳	C22:5 n6	۰/۳۲۸
C18:1(n-9) C	۱۴/۶۹۶	C22:5 n3	۰/۰۰۰
C18:1(n-11) C	۰/۶۹۱	C22:6 n3 DHA	۴/۸۵۰
C18:2(n-6) C	۱/۶۵۱	Total	۱۰۰

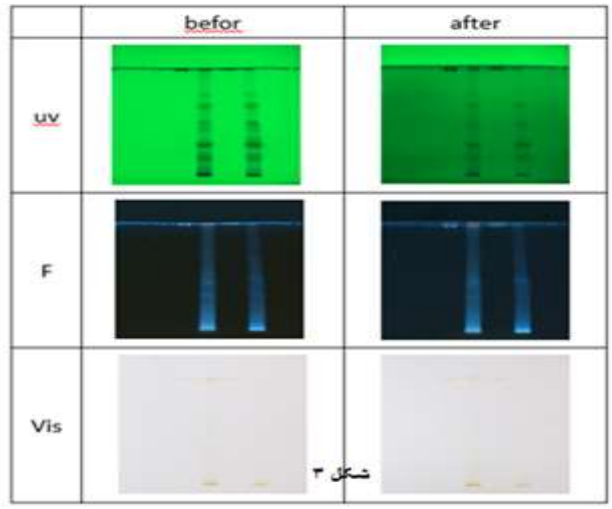
شناسایی استروید با دستگاه HPTLC: برای شناسایی استروئید روغن استخراجی، نمونه‌های مختلف روغن تهیه و سپس با دستگاه HPTLC آنالیز شد. پنج باند شناسایی شده به‌ترتیب از چپ به‌راست عبارتند از: ۱-ترپن استروئید، ۲-آمین‌ها، ۳- فنولیک اسید فلاونوئیدها، ۴- ساپونین و ۵-تانن می‌باشد. باندهای شناسایی شده در نمونه روغن با فازمتحرک: هگزان-اتیل استات- اتانول (۷-۲-۱) در نور ماورابنفش (UV)، فلورسنت (F)، نور سفید (Vis) به‌ترتیب از چپ به راست شامل ترپن استروئید، آمین‌ها، فنولیک اسید، فلاونوئیدها، ساپونین می‌باشد. در این نمونه در محدوده نور سفید در تصویر مربوط به‌قبل از مشتق‌سازی تنها دو باند آمین‌ها و ساپونین‌ها مشاهده گردید. در نمونه روغن با فاز متحرک: THF تولوئن- اسید فرمیک (آب ۵-۱-۴-۰/۸) نیز به‌ترتیب از چپ به راست باندهای ترپن استروئید، آمین‌ها، فنولیک اسید- فلاونوئیدها، ساپونین در هر یک از نورهای ماورابنفش (UV)، فلورسنت (F)، نور سفید (Vis) مشاهده گردید. در این نمونه نیز در محدوده نور سفید در تصویر مربوط به قبل از مشتق‌سازی تنها دو باند آمین‌ها و ساپونین‌ها مشاهده گردید. در نمونه روغن با فاز متحرک: اتیل اتر-اسید فرمیک-اسید استیک-آب (۱-۱-۱-۱۰) در هر سه نور ماورابنفش (UV)، فلورسنت (F)، نور سفید (Vis) دو باند آمین‌ها و ساپونین‌ها شناسایی گردید. در این نمونه باند مربوط به استروئید شناسایی نگردید. در نمونه‌های روغن با فازهای متحرک: تولوئن-کلروفرم-اتانول (۵-۵-۲) و کلروفرم- اتیل استات-متانول-آب (۱۵-۴۰-۲۲-۱۰) پنج باند ترپن استروئید، آمین‌ها، فنولیک اسید-فلاونوئیدها، ساپونین، تانن در نورهای ماورابنفش (UV)، فلورسنت (F)، نور سفید (Vis) مشاهده گردید. در این نمونه‌ها در محدوده نور سفید در تصویر مربوط به قبل از مشتق‌سازی، به‌صورت جزئی باند مربوط به تانن و دیگر ترکیبات قطبی مشاهده گردید.



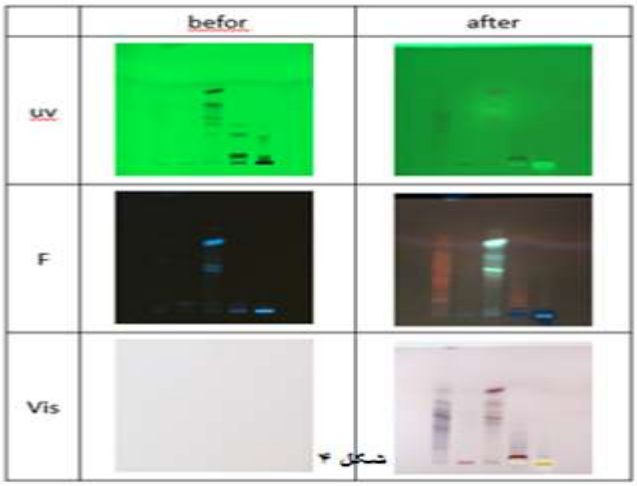
شکل ۱: کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا با فاز متحرک: THF تولوئن- اسید فرمیک (آب ۸-۴-۱-۰/۵)



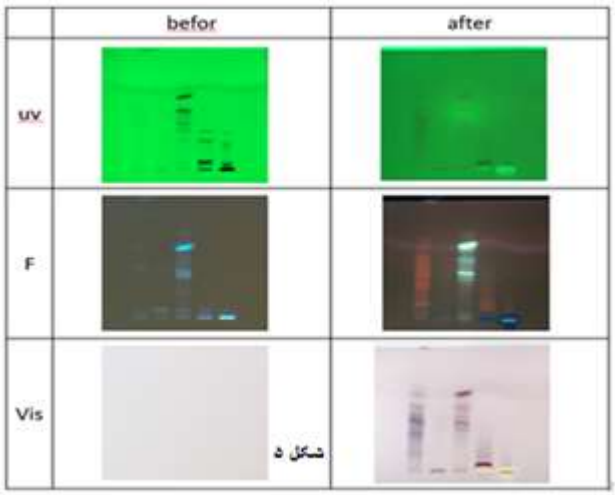
شکل ۲: کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا با فاز متحرک: هگزان-اتیل استات - اتانول (۷-۲-۱)



شکل ۳: کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا با فاز متحرک: اتیل اتر-اسید فرمیک-اسید استیک-آب (۱۰-۱-۱-۱)



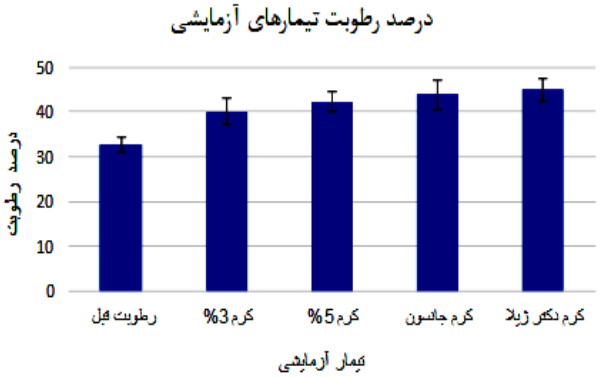
شکل ۴: کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا با فاز متحرک: تولوئن-کلروفرم-اتانول(۵-۵-۲)



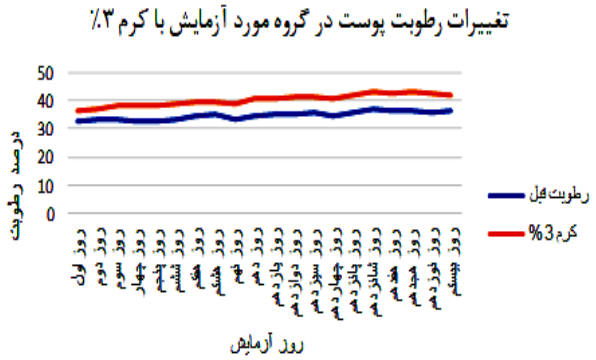
شکل ۵: کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا با فاز متحرک: کلروفرم- اتیل استات- متانول- آب (۱۵-۴۰-۲۲-۱۰)

نتایج استفاده از کرم مرطوب‌کننده تولیدشده بر پوست

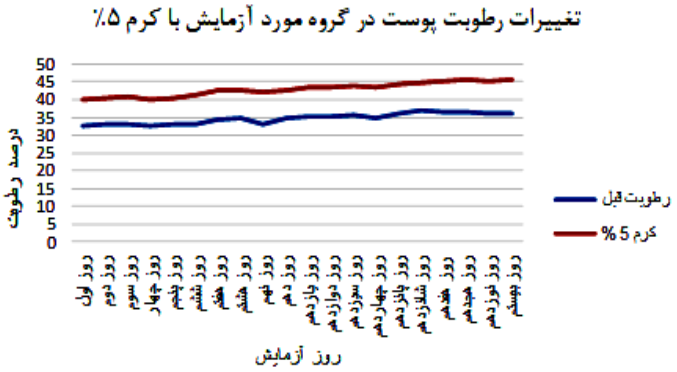
داوطلبین: کرم مرطوب‌کننده تولید شده روی پوست ۳۰ نفر از داوطلبین خانم آزمایش شد. همان‌طورکه از شکل‌های ۱ تا ۵ برداشت می‌شود. میانگین رطوبت پوست در جامعه آماری اولین فرد (خانم‌ها) مورد بررسی در کرم حاوی ۳درصد روغن به‌میزان ۴۰/۱۲ درصد و کرم حاوی ۵ درصد روغن به‌میزان ۴۲/۳۱ درصد می‌باشد که با مصرف کرم‌های تجاری با برند جانسون به ۴۳/۸۵ درصد و دکتر ژیلا به ۴۴/۹۰درصد افزایش پیدا می‌کند.



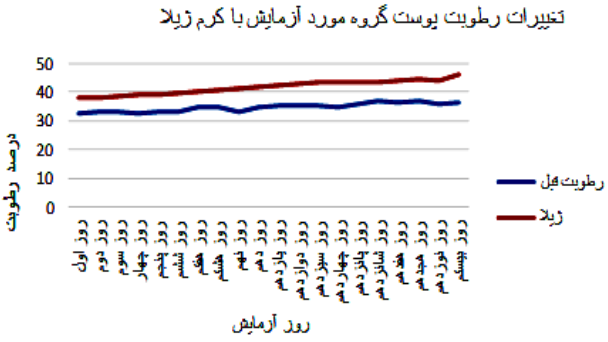
شکل ۶: مقایسه درصد رطوبت تیمارهای آزمایشی



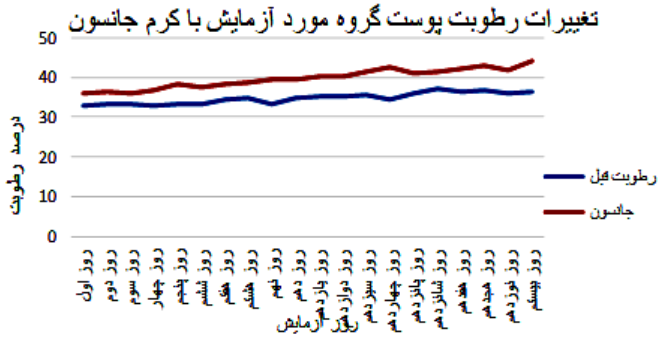
شکل ۷: مقایسه رطوبت پوست در گروه مورد آزمایش با کرم ۳٪



شکل ۸: مقایسه رطوبت پوست در گروه مورد آزمایش با کرم ۵ ٪



شکل ۹: تغییرات رطوبت پوست در گروه مورد آزمایش با کرم ژیلا



شکل ۱۰: مقایسه رطوبت پوست گروه مورد آزمایش با کرم جانسون

بحث

این مطالعه اولین بررسی در زمینه شناسایی استروئیدها در روغن ماهی ساردین با تجزیه و تحلیل HPTLC در کشور می‌باشد. از جمله مزایای این روش نسبت به سایر روش‌ها، می‌توان به کاهش مصرف حلال آلی و محدودیت‌های کم‌تر مربوط به خالص‌سازی نمونه اشاره کرد. فعالیت‌های زیستی روغن ماهی عمدتاً به‌دلیل اثر اسیدهای چرب غیراشباع (PUFA) است. مکمل روغن ماهی می‌تواند منبع مستقیمی از سری اسیدهای چرب امگا ۳ برای پوست فراهم کند و نیاز به تبدیل ALA به EPA و DHA را دور بزند، به گفته Gamez-Meza و همکاران، فراوان‌ترین اسیدهای چرب موجود در روغن ساردین خام، که در خلیج کالیفرنیا یافت می‌شود به‌ترتیب عبارتند از: پالمتیک (۱۹٪)، پالمیتولئیک (۸/۵٪)، استئاریک (۶٪)، اولئیک (۱۴٪)، اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA، ۲۰٪)، و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA، ۱۳٪) می‌باشد (۲۴) که در مطالعه حاضر نیز اسید پالمتیک نسبت به سایر اسیدهای چرب بیش‌ترین فراوانی را داشته است که نتایج Bahrani و همکاران، نیز در خصوص آنالیز اسیدهای چرب بافت ماهی کپور نشان می‌دهد در تمام تیمارهای مورد مطالعه اسید پالمتیک و اسید اولئیک به‌ترتیب بیش‌ترین اسیدهای چرب اشباع و تک غیراشباع را دارا بودند (۲۵). در مقایسه کارایی و پایداری فرمولاسیون‌های مختلف کرم دست با استفاده از ۳ و ۵ درصد روغن ماهی، ظاهر، بو، بافت و pH فرمولاسیون حاوی ۳ درصد روغن ماهی در طول ذخیره‌سازی در کیفیت بسیار خوب ثابت باقی ماند (۱۴). افزودن روغن ماهی به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) باعث افزایش اثرات مرطوب‌کنندگی کرم‌های دست شد. آزمون اثربخشی نشان داد که فرمولاسیون حاوی روغن ماهی توسط داوطلبان به‌جای فرمولاسیون بدون روغن ماهی ترجیح داده می‌شود. در ضمن در مقایسه فرمولاسیون کرم حاوی ۵ درصد روغن ماهی با کرم ۳ درصد روغن ماهی، کرم ۵ درصد در تمامی موارد مورد بررسی ظاهری از جمله رطوبت، صافی، روشنایی و احساس سلامتی نسبت به کرم ۳ درصد توسط داوطلبان دارای ارجحیت بود که تحقیقات انجام گرفته توسط Shabanikakroodi و همکاران، نیز مشابه همین نتایج به‌دست آمد (۲۶). در مطالعه دیگری بررسی خصوصیات روغن کبد و چربی‌های احشایی گربه ماهی (*Pangasianodon hypophthalmus sauvage*) و استفاده از آن در تهیه کرم دست مورد مطالعه قرار گرفت. چربی احشایی و کبد پتین، *P. hypophthalmus*، به‌عنوان ضایعات حاصل از فرآوری ماهی در نظر گرفته می‌شود. تبدیل

این محصولات جانبی به روغن ماهی نه تنها منبع خوبی از اسیدهای چرب تقویت‌کننده سلامت است، بلکه می‌تواند برای تولید محصولات با ارزش افزوده نیز استفاده شود. ترکیب اسیدهای چرب و چربی ذخیره احشایی و کبد پتین تعیین شد. میزان اسیدهای چرب اشباع روغن تصفیه شده به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیش‌تر از روغن خام بود. تجزیه و تحلیل خواص فیزیکوشیمیایی روغن تصفیه شده نشان دهنده مناسب بودن روغن پتین برای استفاده در فرمولاسیون کرم دست است که نتایج این تحقیق نیز اثربخشی روغن ماهی در کرم را تایید می‌نماید. در مطاله حاضر، در مجموع ۲۷ اسید چرب شناسایی شده است. مقادیر بیش‌ترین اسیدهای چرب مربوط C16:0 می‌باشد. این یافته‌ها با نتایج Khoddami و همکاران بر روی ضایعات ماهی زرده (*Euthynnus affinis*)(۱۹)، Parrish و همکاران بر روی دو گونه ماهی تن اسکیپ‌جک و آلباکور (۱۷)، Saito و همکاران بر روی ماهی یلوفین(۱۸) و Peng و همکاران بر روی بافت ماهیچه‌ای ماهی یلوفین و ماهی تن بیگ‌ای (۲۷) مطابقت دارد. مقدار EPA در مطالعه حاضر به‌ترتیب ۰/۸۲ درصد و DHA به‌میزان ۴/۸۵ درصد مشاهده شد که کم‌تر از مطالعه Mahmoodi و همکاران (۲۸) بود. پالمیتیک اسید یکی از چندین اسیدچرب است که در پوست طبیعی وجود دارد. این اسید چرب مفید با افزایش سن تا ۵۶ درصد کاهش پیدا می‌کند. از آن‌جاکه این اسیدچرب اشباع در محصولات آرایشی و بهداشتی به صورت یک لایه مسدودکننده روی پوست عمل می‌کند منجر به حفظ رطوبت پوست می‌گردد از طرف دیگر برای مدت زمانی طولانی‌تری روی پوست اثرگذار خواهند بود و منجر به کاهش چین و چروک‌های پوست و به‌عبارتی دیگر جوان‌سازی می‌گردد (۱۸). همان‌طورکه در بالا ذکر شد این خاصیت منجر به افزایش کیفیت محصولات آرایشی بهداشتی می‌شود پس می‌توان نتیجه گرفت از آن‌جا که مقدار اسید پالمیتیک در این پروژه تحقیقاتی به‌مقدار ۹۰۵/۲۶ درصد سنجیده شده است یکی دیگر از عوامل اثر آبرسانی در کرم تولید شده اثبات می‌گردد. اسید استئاریک به شکل موم مایع بی رنگ و یا سفید رنگ است که بوی کمی نامطبوع دارد و در آب نامحصول و در روغن محلول است که در محصولات آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود، هر چند این اسید چرب در گیاهان نیز یافت می‌شود اما از حیوانات به‌مقدار بیش‌تری قابل استخراج است (۱۹). از این اسید چرب در تولید کرم مرطوب‌کننده و آبرسان، لوسیون‌ها، پمادها، نرم‌کننده‌ها استفاده می‌شودو در محصولات آرایشی و بهداشتی سبب نرمی و ثبات محصول و ایجادرنگ مرواریدی و زیبایی آن‌ها می‌گردد. در آزمایشی که توسط Mukherjee و همکاران، انجام شد، مشخص گردید اسید استئاریک در پوست از تبخیر آب ممانعت نموده و به این ترتیب اثر آبرسانی و مرطوب‌کنندگی از خود بر جای می‌گذارد که با نتایج حاصل از این پروژه تحقیقاتی که روی ساردین ماهی انجام شد مطابقت دارد. در این پروژه یکی از عوامل ایجاد رطوبت در کرم تولید شده از روغن غنی شده با اسیدهای چرب استخراج شده از ساردین ماهیان وجود ۱۱/۹۹۳درصد اسید استئاریک می‌باشد. با توجه به چرب بودن اسید اولئیک در محصولات آرایشی و بهداشتی از آن به‌عنوان لوسیون و صابون‌های آرایشی استفاده می‌گردد (۲۲). اسیداولئیک متابولیسم چربی را فعال می‌کند و به این ترتیب باعث بازسازی پوست می‌شود به‌عبارتی دیگر منجر به استحکام اپیدرم پوست‌شده و منجر به حفظ رطوبت پوست می‌شود به این ترتیب از محصولات آرایشی و بهداشتی حاوی امگا۹ که قابلیت نفوذ بیش‌تری به پوست‌را پیدا می‌کند از آن به‌عنوان محصولات جوان‌کننده و هیدراته استفاده می‌گردد (۱۹). از آن‌جاکه در این پروژه تحقیقاتی روغن بهینه‌شده ماهی ساردین حاوی ۱۴/۶۹۴ درصد اسیداولئیک است یکی از مهم‌ترین دلایل ایجاد رطوبت در کرم تولید شده از روغن ماهی ساردین را می‌توان به وجود امگا ۹ در آن نسبت داد. اسید لینولئیک به آبرسانی و حفظ رطوبت پوست کمک می‌کند. کمبود اسید لینولئیک منجر به پوسته پوسته شدن و خارش پوست می‌شود زیرا اسیدلینولئیک با تقویت آبرسانی به پوست، تاثیر زیادی در حفظ نفوذپذیری آب در پوست دارد. اسید لینولئیک زخم‌های پوستی را می‌بندد، آکنه و التهاب پوست را کاهش می‌هد (۲۱). نتایج حاصل از این پروژه نشان می‌دهد که با مصرف کرم حاوی ۳ و ۵ درصد روغن بهینه شده از ماهی ساردین مقدار رطوبت پوست به‌مقدار درصد افزایش پیدا می‌کند که نشان‌دهنده ماندگاری اثر کرم‌های تولیدشده از روغن‌ماهی می‌باشد زیرا درصد این تغییرات در رابطه با کرم‌های تجاری برندجانسون و دکترژیلا ۵ درصد می‌باشد که می‌تواند به‌دلیل وجود اسیدهای چرب شناسایی شده در روغن بهینه شده ماهی‌ساردین و نفوذپذیری آن‌در پوست باشد. در بررسی انجام شده توسط Adejokun و همکاران نشان داد که فرمولاسیون کرم‌های مرطوب‌کننده حاوی روغن‌های طبیعی استخراج‌شده‌از گیاهان با توجه به نفوذ آن‌ها در پوست منجر به افزایش حفظ رطوبت پوست و جوانی می‌گردد (۱۵)، که نتایج آن با نتایج حاصل از این پروژه هم‌خوانی دارد. کرم‌های دست را می‌توان برای آبرسانی مجدد، صاف کردن و باقی گذاشتن یک لایه محافظ غیرچسبنده روی پوست استفاده کرد (۶).

منابع

1. **Statistical yearbooks of Iranian fisheries. 1400**. Iran Fisheries Organization. 29 p.
2. **Sarhadi, N., Motamedzadegan, A., Taheri, A. and Azad, M., 2012**. Comparison study of the proximate composition and amino acid profile in the bones of

Goldstripe sardine (*Sardinella gibossa*), Anchovy kilka (*Clupeonella engrauliformis*) and Indian anchovy (*Stolephorus indicus*). Iranian Scientific Fisheries Journal. 21(1): 101-112.

3. **Zhang, B., He., Z., Chen, H., Kandasamy, S., Xu, Z., Hu, X. and Guo, H., 2018.** Effect of acidic, neutral and alkaline conditions on product distribution and biocrude oil chemistry from hydrothermal liquefaction of microalgae. Bioresource Technology. 270: 129-137.

4. **Tacon, A.G. and Metian, M., 2008.** Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. Aquaculture. 285(1-4): 146-158.

5. **Valenzuela, R., Illesca, P., Echeverría, F., Espinosa, A., Rincón-Cervera, M.Á., Ortiz, M. and Videla, L.A., 2017.** Molecular adaptations underlying the beneficial effects of hydroxytyrosol in the pathogenic alterations induced by a high-fat diet in mouse liver: PPAR-α and Nrf2 activation, and NF-κB down-regulation. Food & function. 8(4): 1526-1537.

6. **Abamba, G., 1993.** Skin preparations. In Poucher's perfumes, cosmetics, and soaps; 3: Cosmetics, ed. H. Butler, 9th Ed. London: Chapman and Hall. 335-392.

7. **Loden, M., 2005.** The clinical benefit of moisturizers. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 19(6): 672-688.

8. **Bligh, E.G. and Dyer, W.J., 1959.** A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 37(8): 911-917.

9. **Puglia, C., Tropea, S., Rizza, L., Santagati, N.A. and Bonina, F., 2005.** In vitro percutaneous absorption studies and in vivo evaluation of anti-inflammatory activity of essential fatty acids (EFA) from fish oil extracts. International Journal of Pharmaceutics. 299(1-2): 41-48.

10. **Abdolbaghian, S., Jamili, S., Manayi, A. and Mashinchian Moradi, A., 2020.** Effect of microalga Chlorella vulgaris extract compared to vitamin C on collagen I and MMP-1 genes expression in human skin fibroblast cells. Journal of Marine Biology. 11(44): 1-10. (In Persian)

11. **Bligh, E.G. and Dyer, W.J., 1959.** A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 37: 911-917. https://doi.org/10.1139/o59-099.

12. **Kumar, S.A., Sakthinathan, G., Vignesh, R., Banu, J.R. and Ala'a, H., 2019.** Optimized transesterification reaction for efficient biodiesel production using Indian oil sardine fish as feedstock. Fuel. 253: 921-929.

13. **Salmani Jelodar, A., 2003.** Health food fish. Summary of scientific conference papers on the role of aquatics in health, public relations publication of Shilat Iran Public Relations Company. 20-22.

14. **Golfakhrabadi, F., Khaledi, M., Nazemi, M., and Safdarian, M., 2021.** Isolation, identification, and HPTLC quantification of dehydrodeoxycholic acid from Persian Gulf sponges. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 197: 113962.

15. **Adejokun, A., Adefunke, D. and Dodou, K., 2020.** A novel method for the evaluation the long-term stability of cream formulations containing natural oils. Cosmetics. 7(4): 86-92.

16. **Nekoubin, H. and Sudagar, M., 2013.** The investigation of body composition and fatty acids in muscle of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed with *Lemna* sp., Azolla filiculoides and Alfalfa and Pellet. Journal of Animal Environment. 5(3): 33-40. (In Persian)

17. **Parrish, C.C., Pethybridge, H., Young, J.W. and Nichols, P.D., 2015.** Spatial variation in fatty acid trophic markers in albacore tuna from the Southwestern Pacific Ocean potential 'tropicalization'signal. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography. 113: 199-207.

18. **Saito, H., Ishihara, K. and Murase, T., 1997.** The fatty acid composition in tuna (bonito, *Euthynnus pelamis*) caught at three different localities from tropics to temperate. Journal of the Science of Food and Agriculture. 73(1): 53-59.

19. **Khoddami, A., Ariffin, A.A., Bakar, J. and Ghazali, H.M., 2012.** Quality and fatty acid profile of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Euthynnus affinis*). African Journal of Biotechnology. 11(7): 1683-1689.

20. **Kalustian, P., 1985.** Pharmaceutical and cosmetic uses of palm and lauric products. Journal of the American Oil Chemists' Society. 62(2): 431-433.

21. **Alonso, A., Meirelles, N.C. and Tabak, M., 2000.** Lipid chain dynamics in stratum corneum studied by spin label electron paramagnetic resonance. Chemistry Physics Lipids. 104: 101-111.

22. **Mukherjee, S., Edmunds, M., Lei, X., Ottaviani, M. F., Ananthapadmanabhan, K.P. and Turro, N.J., 2010.** Original Contribution: Stearic acid delivery to corneum from a mild and moisturizing cleanser. Journal of Cosmetic Dermatology. 9(3): 202-210.

23. **Nasrollahi, S.A., Ayatollahi, A., Yazdanparast, T., Samadi, A., Hosseini, H., Shamsipour, M. and Firooz, A., 2018.** Comparison of linoleic acid-containing water-in-oil emulsion with urea-containing water-in-oil emulsion in the treatment of atopic dermatitis: a randomized clinical trial. Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology. 11: 21**.**

24. **Gamez-Meza, N., Higuera-Ciapara, I. and de la Barca, A.M.C., 1999.** Seasonal variation in the fatty acid composition and quality of sardine oil from Sardinops sagax caeruleus of the Gulf of California. Lipids. 34(6): 639-642.

25. **Bahrani, A., Ghorbani, R., Fooladi, J. and Nojavan, S., 2020.** Investigation of Amino Acids composition in Common Carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) using High-performance Liquid Chromatography (HPLC) and Thin Layer Chromatography (TLC) from the southern of Caspian Sea. Journal of Animal Environment. 12(3): 207-214. (In Persian)

26. **Shabanikakroodi, S., Christianus, A., Tan C.P., Che Man, Y.B. and Ehteshami, F., 2014.** Proximate and fatty acid composition of liver and fatty tissue of Patin catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). Iranian Journal of Fisheries Sciences. 13(3): 541-549.

27. **Peng, C., Chen, C., Shi, Z. and Wang, L., 2013.** Amino acid and fatty acid composition of the muscle tissue of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and bigeye tuna (*Thunnus obesus*) J. Food Nutr. Res. 1: 42-45.

28. **Mahmoodi, V., Keramat, J., Hojjatoleslamy, M. and Molavi, H., 2017.** Fatty acid profile and Quality of the oil extracted from Tuna Fish (*Katsuwonus pelamis*, *Thunnus albacares*) precooking liquid waste in canning factorys. Journal of food science and technology. 70(14): 293-304. (In Persian)