مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۲ شماره ۲، بهار ۱۴۰۲، صفحات ۱۳۷ تا ۱۵۲

ارزیابی راندمان استخراج و کیفیت روغن ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris caspia*) استخراج شده در زمانهای مختلف هیدرولیز با آنزیم آلکالاز

محسن نوبخت، مسعود رضائی*، شهاب نقدی

گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور، مازندران

چکـــیده

در مطالعه حاضر تاثیر زمانهای مختلف هیدرولیز (۴۵، ۹۰، ۱۳۵، ۱۸۰ و ۲۲۵ دقیقه) توسط آنزیم آلکالاز بر بازده و کیفیت روغن استخراج شده از ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris caspia*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بالاترین بازده استخراج (۴۱/۴۰ ٪) در تیمار هیدرولیز شده به مدت ۱۳۵ دقیقه درصد بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت. شاخص‌های کیفی TBA، FFA و CD روغن های استخراج شده با بالا رفتن زمان هیدرولیز افزایش پیدا کردند، به‌طوری که بالاترین مقدار شاخص‌های ذکر شده در زمان ۲۲۵ دقیقه بود، اما بیشترین میزان شاخص PV در زمان ۱۸۰ دقیقه بود. با توجه به اینکه تیمار روغن استخراج شده در زمان ۴۵ دقیقه دارای مقادیر کمتری در شاخص های فساد اکسیداتیو بررسی شده بود به عنوان تیمار منتخب انتخاب شد. ترکیب اسیدهای چرب آن بررسی شده و مشخص گردید که اسیدهای چرب تک غیراشباع اسید چرب غالب بودند. همچنین مقادیر اسیدهای چرب اشباع و چند غیر اشباعی آن تفاوت معنی داری با هم نشان ندادند ($p > ۰/۰۵$). با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردید که زمانهای هیدرولیز مختلف تاثیرات مختلفی بر بازده و کیفیت روغن بدست‌آمده دارند. لذا انجام تحقیقات و مطالعات بیشتر برای بررسی کامل تاثیر زمان هیدرولیز بر ویژگی‌های کیفی روغن استخراج شده از ماهی کیلکا نیاز است.

کـــلید واژه‌ها: هیدرولیز آنزیمی، کیلکای معمولی، روغن ماهی، استخراج

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۱

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۲/۰۳/۱۵

***نویسنده مسئول:**
rezai_ma@modares.ac.ir

مقدمه

از گذشته تا کنون انسان همیشه درک کرده است که رابطه ی مستقیمی بین رژیم غذایی و سلامت انسان وجود دارد. علیرغم نوسانات اقتصادی، جنگ ها و سیاست های اجتماعی که در قرن گذشته اتفاق افتاد، رژیم غذایی انسان ها در ۱۰۰ سال گذشته تکامل یافته است [۱]. در همین راستا شواهد امروزی نشان می‌دهد که مصرف کنندگان در زمینه مصرف مواد غذایی و ارتباط آن با سلامتی و پیشگیری بیماریها به اطلاعات بسیار ارزشمندی دست یافتند و تصمیمات آگاهانه‌ای اتخاذ می‌کنند. آنها دریافتند که مصرف غذاهای سالم مانند غلات، سبزیجات و میوه‌ها و نیز غذاهای دریایی حاوی اسید چرب اشباع نشده (PUFA[1]) نه تنها نیازهای غذایی اولیه‌ی انسان را رفع می‌کنند بلکه آنها همچنین برای ارتقاء و یا نگهداری سلامت و نیز کاهش خطر ابتلا به بیماری‌ها اهمیت دارند [۱]. در همین راستا آبزیان و بخصوص ماهی بعنوان رایج‌ترین منبع تولید امگا-۳ در رژیم غذایی مورد توجه قرار گرفتند. ماهیان درصد بالایی از اسیدهای چرب ایکوزاپنتاانوئیک اسید[۲] (EPA C20:5) و دوکوزاهگزاانوئیک اسید[۳] (DHA C22:6) را در بخش خوراکی دارا می‌باشند [۲]. این اسیدهای چرب ضروری (DHA,EPA) باعث توسعه بافت مغزی و عصبی در نوزادان، افزایش عملکرد بینایی وکاهش شیوع بیماری‌های قلبی عروقی می‌شوند [۳]. عدم مصرف چنین ترکیبات مهمی احتمال ابتلا به بیماری‌هایی نظیر نارسایی قلبی، دیابت، افسردگی، بیماری‌های تناسلی، اختلال در رشد و بیماری‌های خود ایمنی را افزایش می‌دهد

[1] Poly Unsaturated Fatty Acid
[۲] Eicosapentaenoic acid
[۳] Docosahexaenoic acid

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]

[۵،۴،۲]. بعلاوه، روغن ماهی برای تولید محصولاتی مانند مارگارین، اسیدهای چرب امگا-۳ و بیودیزل مورد استفاده قرار می‌گیرد [۶]. جالب توجه است که عواملی زیادی از قبیل نوع بافت، رژیم غذایی و فصل تخم‌ریزی بر کیفیت روغن ماهی تاثیرگذار هستند [۸،۷]. علاوه‌بر عوامل ذکر شده روش استخراج روغن یکی از عوامل بسیار مهم در تولید روغن با کیفیت بالا (غنی از امگا-۳) است بطوریکه استفاده از یک روش مناسب است می‌تواند ارزش تغذیه‌ای روغن استخراج شده از ماهی را تا حد زیادی حفظ کند [۱۰،۹]. در روش‌های معمول استخراج روغن از درجه حرارت نسبتاً بالا و حلال استفاده می‌شود که این حرارت باعث اکسیداسیون روغن‌ها می‌شود [۱۱]. همچنین استفاده از حلال با در نظر گرفتن این که حجم زیادی از آن برای استخراج استفاده می‌شود خطرات و مشکلات زیست محیطی زیادی را به بار آورده است [۱۱]. بنابراین با توجه به حساسیت بالای اسیدهای چرب روغن ماهی توصیه می‌شود استخراج روغن در دمای پایین و بدون استفاده از حلال انجام شود [۱۲]. در همین راستا روش‌های نوین متنوعی توسعه داده شده‌اند که در آنها روش هیدرولیز آنزیمی به عنوان یک روش مناسب و سبز برای بازیابی لیپید و فسفولیپید از ماهی گزارش شده است [۱۳-۱۵]. در این فرایند، هیدرولیز آنزیمی معمولاً در دماهای پایین انجام می‌شود که این امر مانع از اکسیداسیون روغن ماهی حساس به حرارت می‌شود [۹]. همچنین در هیدرولیز آنزیمی از حلال‌های سمی استفاده نمی‌شود که این مزیت می‌تواند در بازیابی روغن از مولکول‌های زیستی تاثیر گذار باشد [۱۶،۱۲]. لذا روش آنزیمی می‌تواند یک جایگزین مناسب برای روش‌هایی باشد که اجزای با ارزش روغن ماهی را تخریب می‌کنند [۱۷]. علاوه‌بر موارد ذکر شده برای استخراج روغن ماهی نیز باید هزینه های تمام شده آنرا در نظر گرفت که یکی از مواردی که در هزینه تمام شده تاثیر بسزائی دارد منابعی است که از آن استفاده می‌کنیم. به همین منظور برای کاهش هزینه‌های تمام شده می‌توان منابع کمتر استفاده شده را مورد توجه قرار داد که یکی از این منابع بی‌شمار ماهیان کوچکی است که در دریای خزر می‌باشند. فراوان‌ترین ماهیان دریای خزر ماهیان کوچکی هستند که به عنوان کیلکا ماهیان شناخته می‌شوند و شامل گونه‌های از جمله کیلکای معمولی (*C. cultriventris caspia*)[۱]، آنچوی[۲] (*C. engrauliformes*) و کیلکای چشم درشت[۳] (*C. grimmi*) می‌شوند [۱۸]. میزان صید کیلکا ماهیان در سواحل جنوبی دریای خزر در سال ۱۳۹۹، بیش از ۲۰۰۵۳ هزار تن بوده است [۱۹]. کیلکای معمولی با اختصاص ۹۷ درصد از میزان صید کیلکا ماهیان در سواحل جنوبی دریای خزر به عنوان گونه غالب صید شناخته می‌شود که تنها بخش کوچکی از صید آن برای مصارف انسانی مورد استفاده قرار می‌گیرد و مابقی آن برای تولید آرد ماهی استفاده می‌شود [۲۱،۲۰]. به منظور استفاده بهینه از این منابع و با توجه به مقادیر چربی بالای گزارش شده در این گونه (۶/۱درصد) توسط Jorjani و همکاران [۲۲]، این گونه یک منبع بالقوه برای استخراج روغن پیشنهاد شده است. از آنجایی که هر کدام از آنزیم‌های پروتئازی مورد استفاده برای استخراج روغن دارای عمکلردهای متفاوتی هستند تاثیرات مختلفی نیز بر کیفیت و بازده روغن استخراج شده اعمال می‌کنند. نه تنها نوع آنزیم بلکه سایر پارامترهای دخیل در فرایند استخراج نظیر زمان هیدرولیز، غلظت سوبسترا به آنزیم، دما و ... می‌توانند بر کیفیت و میزان راندمان تاثیرگذار باشند. به همین منظور برای بررسی تمام عوامل ذکر شده موثر بر فرایند استخراج نیاز به صرف زیاد هزینه، زمان و مواد شیمیایی است. لذا هدف از مطالعه حاضر فقط بررسی تاثیر زمانهای مختلف استخراج روغن با روش هیدرولیز آنزیمی بر میزان بازدهی و کیفیت روغن های استخراج شده بود.

مواد و روش‌ها

مواد خام و آماده سازی نمونه

[۱] Common Kilka Sprat
[۲] Anchovy Kilka
[۳] Big-eyed Kilka

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]

بدین منظور ابتدا ماهی کیلکای معمولی در اسفند ماه از بندر بابلسر و در یونولیت‌های حاوی یخ با نسبت ۱ به ۳ حمل و به آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی منتقل شدند. ماهی‌ها پس از شست و شو با آب سرد در پاکت‌های فریزری بسته بندی و در ادامه به منظور حفظ تازگی و انجام آنالیزهای آزمایشگاهی در مراحل بعد، به فریزر ۸۰°C- منتقل شدند.

ترکیبات تقریبی

آنالیز تقریبی نمونه طبق روش استاندارد تعیین گردید. برای اندازه‌گیری رطوبت ۱۰-۳ گرم از بافت چرخ شده ماهی کامل را با ترازوی دقیق (mg ۰/۱±) درون ظروف شیشه‌ای وزن کرده و از آون (°C ۱۰۵) تا ثابت شدن وزن نمونه استفاده شد. در نهایت با محاسبه اختلاف وزن ایجاد شده پس از سرد شدن نمونه‌ها درون دسیکاتور رطوبت آن بر حسب درصد محاسبه شد. برای تعیین خاکستر ۰/۵ گرم از نمونه (بعد از قرارگیری به مدت ۴۸ ساعت در آون °C ۶۵)، در بوته چینی ریخته شده و در کوره با دمای °C ۵۵۰ به مدت ۵ ساعت سوزانده می‌شود. میزان پروتئین با روش کجلدال با ضریب تبدیل ۶/۲۵ بدست آمد. چربی کل نیز با Soxtec استخراج شد [۲۳].

استخراج روغن با روش آنزیمی

این فرآیند طبق روش ارائه شده توسط Ovissipour و همکاران [۳] انجام شد. برای استخراج ۵۰ گرم ماهی چرخ شده درون ظروف شیشه‌ای ۲۵۰ میلی لیتری (ارلن) توزین شد. پس از افزودن ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر، نمونه بخوبی هموژن شد. در ادامه مخلوط به منظور غیرفعالسازی آنزیمهای داخلی در دمای °C ۹۵ به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس، ۱ درصد آنزیم آلکالاز (Alcalase® 2/4L, Proteinase from Bacillus licheniformis, Subtilisin A) (که بهینه دما برای آنزیم آلکالاز °C۵۵ وpH ۸ بود) به مخلوط فوق افزوده شد. پس از اتمام زمان هیدرولیز روغن خام از طریق سانتریفیوژ در g ۸۰۰۰ و به مدت ۲۰ دقیقه در °C ۱۰ بازیابی شد. تیمارهای مورد بررسی برای استخراج شامل زمانهای ۴۵، ۹۰، ۱۳۵، ۱۸۰ و ۲۲۵ دقیقه برای هیدرولیز آنزیمی بودند.

تعیین بازده استخراج

بازده استخراج روغن ماهی کیلکای معمولی با استفاده از معادله ارائه شده توسط Zaidul و همکاران [۴] محاسبه شد:

$$\text{بازده} = W_e / W_t * 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

W_e وزن روغن استخراج شده از نمونه (گرم)، W_t وزن کل روغن موجود در نمونه که بوسیله استخراج با دستگاه soxtec بدست آمده است (گرم).

شاخص‌های کیفی روغن استخراج شده

پراکساید (PV)

به‌منظور سنجش این شاخص از روش ارائه شده توسط Wrolstad و همکاران [۵] و برخی تغییرات استفاده شد. مقدار پراکساید در واقع بیانگر محتوای اکسیژن فعال در قالب میلی مول گرم (mmol) ید آزاد شده به ازای یک کیلوگرم چربی است. اندازه‌گیری مقادیر پراکساید از طریق تیتراسیون ید آزاد شده از یدیدپتاسیم با استفاده از محلول تیوسولفات سدیم میسر گردید. به این ترتیب که ابتدا مقدار ۰/۳ گرم روغن داخل یک ارلن ۵۰ میلی لیتری توزین شد. در ادامه ۱۰ میلی لیتر حلال (اسید استیک کلروفرمی) به نمونه افزوده گردید. سپس، مقدار ۱ میلی لیتر محلول پتاسیم یدید اشباع به محلول درون ارلن اضافه شد. سپس مقدار ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. در ادامه، ۱ میلی لیتر از محلول ۱ درصد نشاسته به محلول‌ها اضافه شد. محلول‌ها با استفاده از محلول تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تا ناپدید شدن رنگ بنفش تیتر گردید. حجم تیوسولفات سدیم نهایی اضافه شده ثبت شد. همزمان یک تست شاهد (بدون افزودن روغن یا چربی استخراجی) انجام شد.

محاسبه PV با استفاده از:

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]

رابطه (۲) $PV= [(S-B) \times N \times 1000]/W$

S = حجم (میلی لیتر) تیوسولفات سدیم مورد نیاز برای تیتر کردن نمونه

B = حجم (میلی لیتر) تیوسولفات سدیم مورد نیاز برای نمونه شاهد

N = نرمالیه محلول تیوسولفات سدیم

W = وزن نمونه (گرم)

اندازه‌گیری مقدار تیوباربیتوریک اسید (TBA)

مقدار ۵۰ میلی گرم روغن ماهی داخل بالن حجمی ۲۵ میلی لیتری توزین شد. نمونه در مقادیر کمی از ۱ـبوتانول حل و سپس به حجم رسانیده شد. محلول کاملاً مخلوط شد. ۵ میلی لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک و درب دار منتقل شد. ۵ میلی لیتر از محلول ۰/۲ درصد TBA در ۱–بوتانول به آن افزوده گردید. همزمان یک تست شاهد (۵ میلی لیتر ۱–بوتانول و محلول ۰/۲ درصد TBA) آماده شد. لوله‌ها پس از همزدن با ورتکس، به‌مدت ۲ ساعت در دمای $^{\circ}C$ ۹۵ درون حمام آب قرار گرفت. در ادامه میزان جذب نمونه، با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج nm ۵۳۲ اندازه گیری شد. مقادیر TBA با استفاده از فرمول زیر محاسبه و نتایج بصورت mg malonaldehyde/kg oil بیان می‌شود:

رابطه (۳) $TBA\ value = (50 \times A_{532})/m$

که عدد ثابت ۵۰ براساس حجم بالن حجمی ۲۵ میلی لیتری و طول سِل ۱cm است، A_{532} میزان جذب نمونه (قبلاً بر اساس میزان جذب نمونه شاهد اصلاح شده) و m وزن نمونه (به میلی گرم) است [۹].

اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد (FFA)

مقدار ۰/۱ گرم (وزن دقیق نمونه ثبت شد) از نمونه روغن درون لوله‌های آزمایش ۱۵ میلی لیتری توزین شده و با اضافه کردن ۵ میلی لیتر از حلال ایزواکتان توسط همزن کاملاً مخلوط شد. سپس ۱ میلی لیتر از معرف استات مس _ پیریدین ۵ درصد (w/v) (انحلال ۵ گرم استات مس در ۱۰۰ میلی لیتر آب، پس از فیلتر کردن pH آن با استفاده از پیریدن بین ۶/۲–۶ تنظیم شد) به محلول اضافه گردید. مخلوط به‌مدت ۹۰ ثانیه با استفاده از ورتکس تکان داده شد. در ادامه پس از توقف ۲۰ ثانیه‌ای در حالت سکون، لایه رویی درون سِل شیشه‌ای منتقل و میزان جذب آن در nm ۷۱۵ اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد نیز با استفاده از پالمیتیک اسید در محلول ایزواکتان و در غلظت‌های ۵۰–۰ µmol / 5ml آماده شد. نتایج مقادیر FFA نیز بصورت g FFA /۱ g TAG[۱] بیان g FFA/1 g شد [۱۰].

اندازه‌گیری دی‌اِن مزدوج (CD)

شاخص دی‌اِن مزدوج با اندازه‌گیری تغییرات میزان جذب در یک طول موج ثابت در ناحیه UV و برای وزن مشخصی از نمونه محاسبه شد. مقدار ۱۰ میلی گرم از نمونه روغن به بالن ۲۵ میلی لیتری منتقل شد. سپس با افزودن ایزواکتان نمونه حل و به حجم رسانده شد. محلول کاملاً مخلوط شد. در نهایت میزان جذب نمونه روغن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج nm ۲۳۳ ثبت شد [۵]. محاسبه CD با استفاده از فرمول زیر انجام گرفت:

رابطه (٤)

$$\mathbf{CD = \frac{A_{۲۳۳}}{C \times L}}$$

که $A_{۲۳۳}$ میزان جذب نمونه در طول موج nm ۲۳۳، C_L نشان دهنده غلظت محلول چربی بصورت g/۱۰۰ml و L طول سِل کوارتز به cm است.

ترکیب اسید چرب

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]

متیلاسیون چربی

مقدار ۵۰ میلی گرم از روغن استخراج شده توزین و درون لوله‌های درب دار ۱۵ میلی لیتری قرار گرفته و در ادامه به آن ۵ میلی لیتر سود متانولی ۲ درصد اضافه گردید. مدت زمان ۱۰ دقیقه درون یک بشر حاوی آب ۱۰۰ $^{\circ}C$ حرارت داده شد. پس از خنک شدن ۲/۲ میلی لیتر بور تری فلوراید متانولی به محلول اضافه شد و عمل رفلاکس ۵ دقیقه دیگر ادامه یافت. سپس مقدار ۱ میلی لیتر حلال ان- هگزان افزوده و کاملاً مخلوط شد. سپس ۱ میلی لیتر محلول نمک اشباع سدیم کلراید افزوده و پس از مخلوط کردن مجدد فاز رویی حاوی اسیدهای چرب متیل استر جدا شده و درون ویال‌های شیشه‌ای ۱/۵ میلی لیتری حاوی لایه ۱ mm سولفات سدیم منتقل و تا زمان تزریق به دستگاه GC در ۲۰ $^{\circ}C$- نگهداری شد [۳].

اندازه‌گیری اسیدهای چرب متیل استر

برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب از دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) استفاده شد. بدین صورت که دمای آون دستگاه در دمای ۱۱۵ $^{\circ}C$ تنظیم، با سرعت ۸ $^{\circ}C/min$ افزایش یافته تا به دمای ۱۸۰ $^{\circ}C$ رسیده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در این دما ثابت می‌ماند. نهایتاً با سرعت ۸ $^{\circ}C/min$ بالا می‌رود تا به دمای ۲۴۰ $^{\circ}C$ رسیده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در این دما ثابت می‌ماند. مقدار ۱μL نمونه به دستگاه تزریق و از گاز حامل هلیوم با سرعت ۱/۶ ml/min استفاده شد [۳].

تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه برای تجزیه تحلیل آماری از نرم افزار SPSS ۲۳ استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با تست شاپیروویک (Shapiro-Wilk) بررسی و از آزمون واریانس یک طرفه (ONE WAY ANOVA) برای بررسی وجود اختلاف‌های بین گروه‌های مورد نظر استفاده شد. در مواردی که نتایج آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از وجود اختلاف باشد، به‌منظور مقایسه چند گانه گروه‌ها از آزمون دانکن ($p<۰/۰۵$) استفاده گردید.

نتایج

ترکیبات تقریبی

پیش از اینکه هیدرولیز آنزیمی برای استخراج روغن انجام شود درصد ترکیب اجزاء نمونه (رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر) مورد آزمایش قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱. آنالیز ترکیب شیمیایی باقی مانده مواد ماهی کیلکا

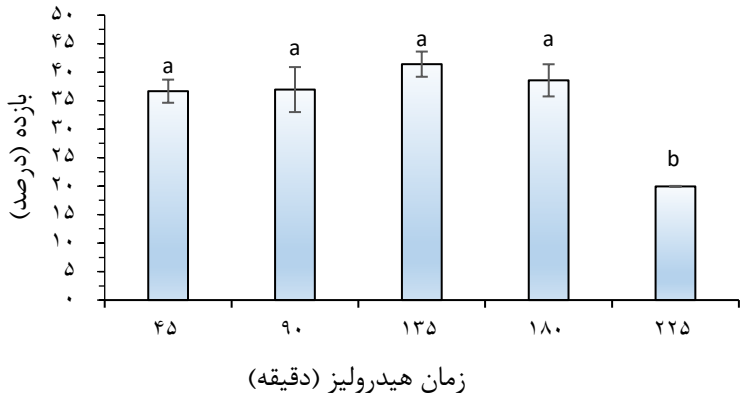
گونه	رطوبت (درصد)	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	خاکستر (درصد)
کیلکای معمولی کامل چرخ شده	۶۹/۲۷ ± ۰/۸۰	۱۹/۱۲ ± ۰/۸۵	۸/۹۳ ± ۰/۳۳	۲/۸۸ ± ۱/۷۷

بازده استخراج

با توجه به نتایج به دست آمده بازده استخراج روغن حاصل از هیدرولیز آنزیمی آلکالاز در زمان ۱۳۵ دقیقه بیشترین مقدار را داشت درحالیکه با زمان‌های ۴۵، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. جالب توجه است که کمترین مقدار راندمان روغن حاصل از هیدرولیز آنزیمی آلکالاز در زمان ۲۲۵ دقیقه اندازه گیری شد که با سایر زمان‌ها دارای تفاوت معنی‌داری بود (شکل ۱).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]

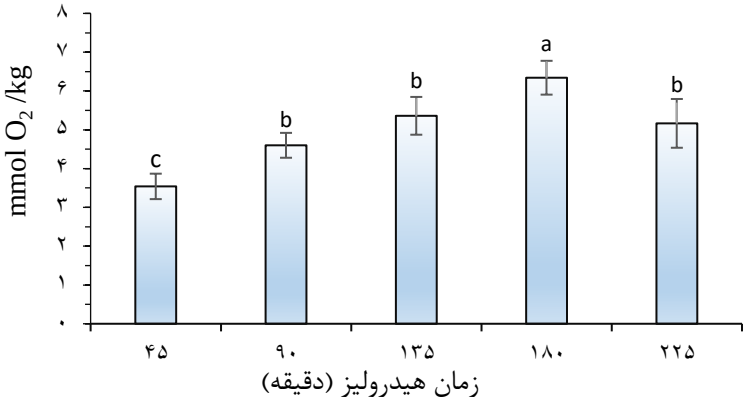
[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]



شکل ۱. بازده استخراج روغن ماهی کیلکا با استفاده از هیدرولیز آنزیمی در زمانهای مختلف هیدرولیز

شاخص پراکساید (PV)

همان طور که در شکل ۲ نمایش داده شده است روغن حاصل از هیدرولیز آنزیمی آلکالاز در زمان ۱۸۰ دقیقه دارای بیشترین میزان شاخص پراکساید می‌باشد. این در حالی است که کمترین آن برای زمان ۴۵ دقیقه می‌باشد و در سایر تیمارها هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.



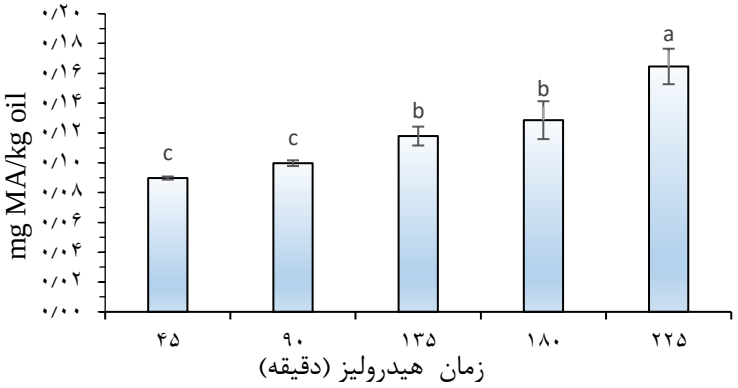
شکل۲. شاخص پراکساید در روغن استخراج شده از ماهی کیلکا با استفاده از هیدرولیز آنزیمی در زمانهای مختلف هیدرولیز

شاخص تیوبار بیتوریک اسید (TBA)

نتایج به‌دست آمده از اندازه گیری شاخص TBA در روغن حاصل از هیدرولیز آنزیمی در شکل ۳ نشان داد که بالاترین مقدار این شاخص در زمان ۲۲۵ بود و این در حالی است که در زمان‌های ۴۵ و ۹۰ دقیقه کمترین میزان TBA مشاهده شد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]

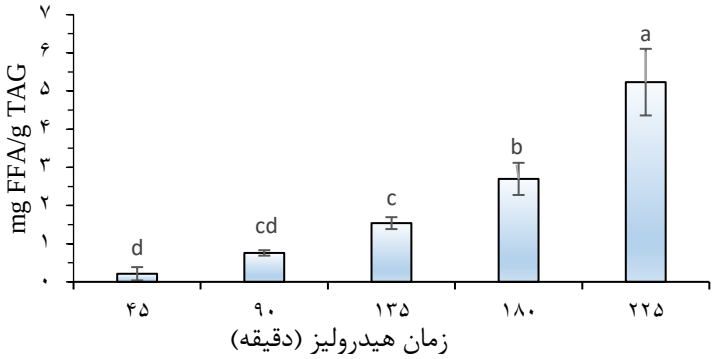
[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]



شکل ۳. تیوباربیتوریک‌اسید در روغن استخراج شده از ماهی کیلکا با استفاده از هیدرولیز آنزیمی در زمانهای مختلف هیدرولیز

شاخص اسیدهای چرب آزاد (FFA)

با توجه به نتایج به دست آمده در شکل ۴ مشخص گردید که روغن استخراج شده در زمان ۲۲۵ دقیقه و ۴۵ دقیقه به ترتیب دارای بالاترین و کمترین میزان شاخص FFA بودند و نمودار این شاخص از زمان ۴۵ تا ۲۲۵ دقیقه روند صعودی نشان داد.



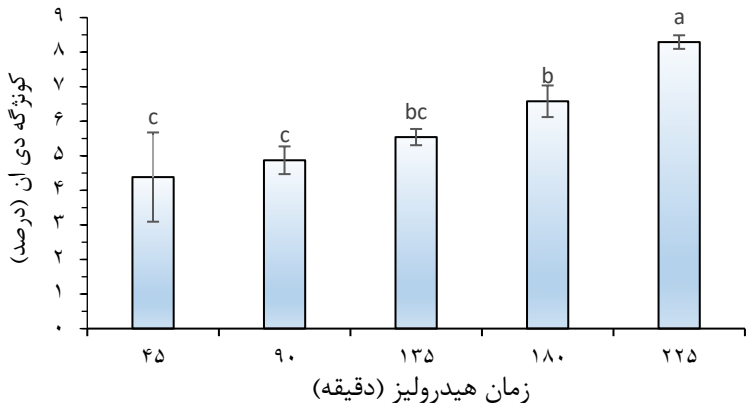
شکل ۴. شاخص اسیدهای چرب آزاد از روغن استخراج شده از ماهی کیلکا با استفاده از هیدرولیز آنزیمی در زمانهای مختلف هیدرولیز

شاخص دی ان مزدوج

این شاخص نیز همانند شاخص FFA در زمان ۲۲۵ دقیقه دارای بالاترین میزان بود و این در حالی است که در زمان ۴۵ دارای کمترین میزان بود که اختلاف معنی داری با تیمار ۹۰ دقیقه نشان نداد (شکل ۵).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]



شکل ۵. شاخص دی ان مزدوج روغن استخراج شده از ماهی کیلکا با استفاده از هیدرولیز آنزیمی

ترکیب اسیدهای چرب

با توجه به اینکه تیمار روغن استخراج شده در زمان ۴۵ دقیقه دارای مقادیر کمتری در شاخص های فساد اکسیداتیو بررسی شده بود و همچنین در بازده اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نشان نداد به عنوان تیمار منتخب انتخاب شده و ترکیب اسیدهای چرب آن بررسی شد و نتایج آن در جدول ۲ ارائه گردید. روغن استخراج شده از این تیمار دارای ۲۸/۱۳ درصد اسیدهای چرب غیر اشباع (SFA[5])، ۳۶/۰۱ درصد اسیدهای چرب تک غیراشباعی (MUFA[6]) و ۲۹/۱۶ درصد اسیدهای چرب چند غیراشباعی (PUFA[7]) بود. از مقایسه اسیدهای چرب اشباع، چند غیر اشباعی و تک غیر اشباعی که نتایج آن در شکل ۶ نمایش داده شده است می‌توان دریافت که اسیدهای چرب تک غیراشباع بیشترین مقدار را در بین دو اسید چرب دیگر داشتند، در حالیکه اسیدهای چرب اشباع و چند غیر اشباعی تفاوت معنی داری با هم نشان دادند.

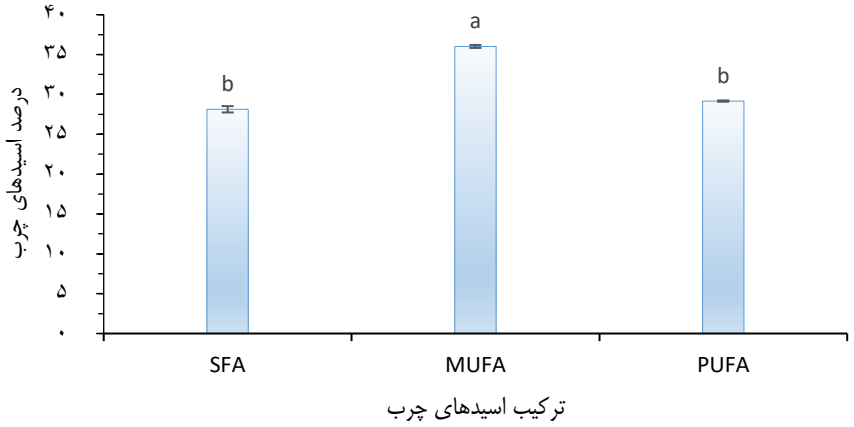
جدول ۲. ترکیب اسیدهای چرب روغن استخراج شده از ماهی کیلکای معمولی با روش هیدرولیز آنزیمی

اسید چرب	درصد	اسید چرب	درصد	اسید چرب	درصد
C14:0	۲/۶۸ ± ۰.۰۳	C14:1	۰/۳۱ ± /۳۴	C16:2n4	۰/۷۵ ± ۰/۳
C15:0	۰/۶۳ ± ۰/۰۱	C16:1	۵/۳۰ ± ۰/۰۱	C16:3n4	۰/۲۹ ± ۰/۰۹
C16:0	۱۷/۳۶ ± ۰/۴	C18:1n9	۲۶/۲۴ ± ۰/۴۶	C18:2n6	۱/۶۸ ± ۰/۱۴
C17:0	۰/۷۵ ± ۰/۰۶	C18:1n7	۲/۸۷ ± ۰/۳	C18:3n6	۰/۱۶ ± ۰/۰۹
C18:0	۳/۹۷ ± ۰/۱۵	C20:1n9	۰/۱۲ ± ۰/۰۶	C18:3n3	۱/۴۷ ± ۰/۰۱
C20:0	۲/۲۵ ± ۰/۰۸	C22:1n11	۰/۱۸ ± ۰/۱۱	C18:4n3	۰/۲۴ ± ۰/۰۱
C22:0	۰/۲۸ ± ۰/۷	C22:1n9	۰/۵۸ ± ۰/۲۱	C20:2n6	۰/۲۴ ± ۰/۰۲
∑ SFA	۲۸/۱۳ ± ۰.۴	C24:1n9	۰/۳۹ ± ۰/۰۳	C20:4n6	۰/۴۳ ± ۰/۱۵
		∑MUFA	۳۶/۰۱ ± ۰/۱۹	C20:3n3	۰/۱۶ ± ۰/۰۶
				C20:4n3	۰/۲۳ ± ۰/۰۱
				C20:5n3	۵/۵۷ ± ۰/۰۶
				C22:2n6	۰/۹۶ ± ۰/۰۱
				C22:5n3	۰/۷۳ ± ۰/۲

[5] Saturated Fatty Acid
[6] Mono Unsaturated Fatty Acid
[7] Poly Unsaturated Fatty Acid

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]

C22:6n3	۱۶/۱۷ ± ۰/۰۳
∑PUFA	۲۹/۱۶ ± ۰/۰۸



شکل ۶- میانگین درصد اسیدهای چرب غیر اشباع (SFA)، تک غیراشباعی (MUFA) و چند غیراشباعی (PUFA) روغن استخراج شده از هیدرولیز آنزیمی.

بحث و نتیجه گیری

تاثیر زمان هیدرولیز بر بازده استخراج روغن

همان‌گونه که درجدول ۱ مشاهده می‌شود در این مطالعه میزان چربی کل بر اساس وزن تر ۸/۹۳ درصد بود. باتوجه به شکل ۱ با افزایش زمان هیدرولیز آنزیمی راندمان استخراج روغن از زمان ۴۵ تا ۱۸۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری نداشت در حالیکه راندمان استخراج در زمان ۲۲۵ دقیقه کاهش پیدا کرد ($p < 0/05$). در زمان‌های ۴۵، ۹۰، ۱۳۵، ۱۸۰ و ۲۲۵ دقیقه میزان راندمان استخراج به‌ترتیب ۳۶/۶۶، ۳۶/۹۴، ۴۱/۴۰ ، ۳۸/۵۷ و ۱۹/۹۴ درصد بود. امروزه بخوبی مشخص شده است که در روش‌های استخراجی که از حرارت بالا استفاده می‌کنند به دلیل شکل گیری یک ساختار پروتئینی به هم چسبیده در مرحله پخت، آزاد شدن اسید های چرب دچار مشکل شده و پروتئین ماهی با توجه به تاثیر امولسیفایری نسبتا پایدار در محیط پخت، امکان جداسازی روغن را حتی پس مرحله سانتریفیوژ کاهش می‌دهد [۸]. این در حالی است که هیدرولیز آنزیمی توسط پروتئازها با هیدرولیز ساختار پروتئینی منجر به افزایش راندمان استخراج روغن ماهی شده است [۸]. در زمان ۲۲۵ دقیقه راندمان استخراج کاهش پیدا کرد که این امر ممکن است به این دلیل باشد که روغن به دست آمده با پپتید، فسفولیپید یا فسفاتیدیل کولین امولسیون تشکیل داده است و باعث کاهش راندمان استخراج روغن شده باشد. بعلاوه همچنین ممکن است روغن خنثی با روغن قطبی و پپتید تشکیل امولسیون داده باشد [۹]. افزایش بیشتر دما نیز به دلیل دناتوره شدن بیشتر پروتئین سبب تشکیل ساختارهای به هم چسبیده محکم‌تری شده و در نتیجه مانع آزاد شدن روغن شده است. طبق گزارشاتی که شده است در طی استخراج آنزیمی فاکتورهایی از قبیل نوع و غلظت آنزیم و زمان واکنش نقش مهمی در کیفیت و راندمان روغن دارند [۱۱،۱۰]. جالب توجه است که پس از هیدرولیز آنزیمی کیلیکای معمولی و انجام سانتریفیوز چهار لایه شامل: لایه فوقانی روغن، لایه کم چرب، لایه پروتئین محلول ولایه پسماند در کف مشاهده شد که مشابه مشاهدات گزارش شده توسط Ramakrishnan و همکاران [۹] بود. در آن مطالعه محققان به استخراج روغن از ضایعات ماهی تون با استفاده از غلظت‌های مختلف آنزیم (۰/۵، ۱ و ۲ ٪) و زمانهای ۱، ۲، ۳ و ۴ ساعت پرداختند. نتایج آنها نشان داد که بالاترین مقدار بازده استخراج (۷۶/۲۶ درصد از سر و ۷۵/۷۱ درصد از کل ضایعات)

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]

با استفاده از غلظت آنزیم ۲ درصد پس از ۴ ساعت هیدرولیز به دست آمد. همچنین Linder و همکاران [۱۰] تاثیر سه آنزیم آلکالاز نئوتراز و فلاورزیم رابر روی سر ماهی بررسی کردند که نتایج آنها نتایج نشان داد بالاترین راندمان مختص به آنزیم آلکالاز بود.

تاثیر زمان استخراج بر کیفیت روغن

محصولات اولیه اکسیداسیون چربی (PV)

نتایج حاصل از شکل ۲ نشان داد که هیدرولیز آنزیمی ماهی کیلکا سبب افزایش مقادیر پراکساید تا زمان ۱۸۰ دقیقه شد در حالیکه سیر کاهشی تا زمان ۲۲۵ دقیقه نشان داد. افزایش عدد پراکساید در طی هیدرولیز نشان دهنده‌ی بروز تندی و فساد روغن است [۱۳،۱۲]. در طی فرآیند استخراج آنزیمی روغن، اکثر آنزیم‌های موجود در محیط واکنش فعال هستند که لیپاز نیز یکی از این آنزیم‌های فعال است که با فعالیت آن میزان اسیدهای چرب آزاد افزایش می‌یابد و بنابراین با افزایش این اسیدهای چرب آزاد و حضور اکسیژن روغن موجود به راحتی اکسید می‌شود [۱۴]. همچنین کاهش عدد پراکساید می‌تواند به دلیل تجزیه محصولات حاصل از اکسیداسیون اولیه بوده و به همین دلیل اندازه گیری TBA می‌تواند روش مناسب تری برای نشان دادن محصولات ثانویه اکسیداسیون باشد [۱۶،۱۵]. طبق گزارشات Huss و همکاران [۱۴] محدوده قابل‌پذیرش مقدار اندیس پراکسید در حدود ۲۰-۱۰ میلی اکی والان پراکسید بر کیلوگرم بود. بر اساس نتایج این مطالعه کلیه زمان‌های هیدرولیز از نظر اندیس پراکساید در محدوده قابل قبول بودند. هیدروپراکسایدها محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چند غیر اشباع هستند لذا برای ارزیابی اکسیداسیون چربیها استفاده می‌شوند [۱۵]. پراکسایدها ترکیباتی بدون بو و مزه هستند که سبب به وجود آمدن ترکیبات ثانویه مانند آلدئیدها و کتون‌ها می‌شوند [۱۶]. درجه حرارت، نور واکسیژن از جمله شاخص‌های تاثیر گذار در وقوع اکسیداسیون می‌باشند که حرارت باعث سرعت بخشیدن به اکسیداسیون و تجزیه هیدروپراکسایدها می‌شود که در نتیجه آن باعث افزایش سرعت اکسیداسیون می‌شوند [۱۷]. اکسیداسیون چربی در ماهیان به دلیل دارا بودن مقادیر بالای اسید چرب غیر اشباع پس از مرگ دارای اهمیت فراوان می‌باشد و از عوامل اساسی نامطلوب شدن طعم و مزه است [۱۸]. جالب توجه است که نتایج مطالعه Aitta و همکاران (۲۰۲۱) که به استخراج روغن از ضایعات ماهی *Clupea harengus membras* با آنزیم‌های آلکالاز، نوترئاز و پروتامکس در زمانهای مختلف پرداختند مشخص شد که با افزایش زمان استخراج شاخص پراکساید نیز افزایش پیدا کرده بود [۲۲]. همچنین Senphan و همکاران [۷] که روغن گربه ماهی را با استفاده از عصاره پروتئازی گرفته شده از میگو، آنزیم آلکالاز و روش حلالی استخراج کرده بودند مشاهده کردند که بالاترین مقدار شاخص PV در روغن بدست آمده توسط آنزیم آلکالاز بود.

محصولات ثانویه اکسیداسیون چربی (TBA)

محصولات مواد اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) ناپایدار بوده و مستعد تجزیه شدن می باشند. این محصولات شامل آلدهیدها، کتون ها، الکل ها، هیدروکربن ها، اسیدهای آلی و ترکیبات اپوکسی هستند. مالون آلدهید که معمولا به عنوان شاخصی در ارزیابی روند تغییرات اکسیداسیون چربی استفاده می‌شود در اثر تجزیه اسیدهای چرب چندغیراشباعی طی اکسیداسیون چربی تشکیل می‌شود [۱۹]. به اثبات رسیده است که محصولات حاصل از اکسیداسیون چربی منجر به تصلب شراین، بیماری آلزایمر، سرطان، تورم و قرمزی و پیری شده اند [۱۹]. اندازه‌گیری عدد تیوباربیتوریک اسید روشی برای تشخیص محصولات ثانویه اکسیداسیون چربیها در محصولات غذایی چرب است [۲۰]. محصولات ثانویه با تغییر در طعم و مزه محصول باعث ایجاد فساد و اثر نامطلوب بر ارزش تغذیهای محصول خواهند داشت که بروز این پدیده استفاده از مغزها در محصولات دیگر را با مشکل مواجه می‌کند [۲۰]. شکل۳ تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید در زمان‌های مختلف طی دوره هیدرولیز را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، عدد تیوباربیتوریک اسید در نمونه های مورد بررسی طی هیدرولیز آنزیمی افزایش یافت. اندازه‌گیری تغییرات تشکیل مالون آلدهیدها در نمونه‌های مورد بررسی در طول هیدرولیز آنزیمی نشان داد که روند تشکیل ترکیبات ثانویه اکسیداسیون تقریباً مشابه تشکیل ترکیبات اولیه حاصل از اکسیداسیون است [۱۷ ,۱۶]. در تمامی نمونه‌های روغن ماهی در ابتدای زمان هیدرولیز با توجه به اینکه میزان اکسیداسیون نمونه‌های روغن پائین بود فقط محصولات اولیه اکسیداسیون وجود داشتند، لذا میزان شاخص تیوباربیتوریک اسید ناچیز بود.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]

محصولات اولیه اکسیداسیون چربی باعث تولید اسیدهای چرب آزاد می‌شوند و چون اسیدهای چرب آزاد نسبت به اکسیداسیون حساستر هستند، بنابراین اکسید شده و در نهایت تولید هیدروپراکسید و ترکیبات آلدئیدی و کتونی می‌کنند که منجر به افزایش شاخص تیوباربیتوریک اسید می‌شود [۲۱]. روند افزایش TBA در هیدرولیز آنزیمی ممکن است به دلیل افزایش آهن آزاد و پراکسیدانها در ماهیچه ماهی نیز باشد که نتایج فوق با نتایج Aubourg و همکاران [۱۹] مطابقت داشت. مقدار بالاتر از۴-۳ میلی‌گرم مالون آلدئید در کیلوگرم کیفیت پایین محصول را نشان می‌دهد [۲۲]. در مطالعه حاضر میزان TBA در تمام زمان‌های هیدرولیز از حد مجاز تعیین شده بالاتر نرفت که این نتایج مطابق با نتایج گزارش شده Ouraji و همکاران [۲۱] بود. همچنین مقادیر تیوباربیتوریک اسید در طول هیدرولیز روند افزایشی داشت که در راستای نتایج گزارش شده توسط Chaijan و همکاران [۲۳] بود. همچنین مشخص شده است که شاخص TBA نسبت به پراکساید، شاخص بهتری در خصوص تغییرات اکسایشی روغن‌ها است زیرا این ترکیبات دارای پایداری بیشتری نسبت به پراکسایدها هستند [۲۳]. جالب توجه است که بالاترین مقدار شاخص TBA در روغن های بدست آمده از گربه ماهی با روش آنزیمی و استفاده از آنزیم آلکالاز و عصاره آنزیمی میگو در مقایسه روش حلالی و نمونه کنترل در روغن استخراج شده توسط آنزیم آلکالاز مشاهده شد [۷].

اسیدهای چرب آزاد (FFA)

در روغن‌ها و چربی‌ها FFA سبب بروز بوهای نامطبوع وهمچنین تغییراتی در بافت می‌شود [۲۴]. ارزیابی اسیدهای چرب آزاد در زمان توسعه فساد مهم می‌باشد زیرا گروه پراکسیدانی این اسیدهای چرب به صورت کاتالیزور عمل کرده و منجر به تشکیل رادیکال‌های چرب آزاد از طریق تجزیه هیدروپراکسیدها می‌شود [۷،۲۴]. بر اساس نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر میزان FFA در طی هیدرولیز آنزیمی از زمان ۴۵ تا ۲۲۵ دقیقه درحال افزایش بود که با نتایج گزارش شده توسط Henna و همکاران [۲۴] و Choe و همکاران [۲۵] مطابقت داشت. Senphan و همکاران [۷] روغن گربه ماهی را با استفاده از عصاره پروتئازی استخراج شده از هپاتوپانکراس میگوی *Pacific white* در زمانهای ۰ تا ۱۸۰ دقیقه استخراج کردند. آنها دریافتند که با افزایش غلظت آنزیم و زمان هیدرولیز محتوای FFA افزایش پیدا کرده بود که همراستا با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر بود. تشکیل FFA به تنهایی باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای نمی‌شود، با این وجود ارزیابی آن در بررسی فساد ماهی مهم می‌باشد [۲۶-۲۷]. رشد برخی از باکتری‌های ویژه فساد نیز به‌دلیل تولید آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز که اغلب مسئول افزایش FFA محصولات غذایی می‌باشند تاثیر گذار هستند [۲۶-۲۸]. اگر چه غیر فعال کردن آنزیم‌ها در اثر فرآیندهای حرارتی از فعالیت لیپاز در نتیجه آزاد شدن FFA جلوگیری می‌کند اما احتمالاً طی تیمار حرارتی شکستن مولکول‌ها با وزن مولکولی بالا (تری‌گلیسیریدها وفسفولیپیدها) یکی از منابع جدید برای تشکیل FFA هستند [۲۹].

شاخص دی‌ان مزدوج (CD)

میزان دی‌ان‌های مزدوج تولید شده شاخصی از پیشرفت مراحل اولیه اکسیداسیون می‌باشد. اسیدهای دی‌ان مزدوج در اثر جابجایی پیوندهای دوگانه به هنگام اکسایش اسیدهای چرب چند غیراشباع تولید می‌شوند. درصد این ترکیبات با پیشرفت اکسایش ابتدا افزایش پیدا می‌کند و سپس روند نسبتاً ثابتی به خود می‌گیرد و در مراحل پیشرفته اکسایش به ترکیبات پلیمری و محصولات ثانویه اکسایش تبدیل می‌شوند [۳۰]. اندازه گیری عدد دی ان مزدوج شاخص مناسبی برای بررسی پایداری اکسایشی نمونه های روغن است. طی اکسایش اسیدهای چرب غیراشباع دارای چند پیوند دوگانه به صورت دی‌ان و تری‌ان جداشده با یک پیوند متیلنی، ایزومره شدن صورت گرفته و پیوندهای دی ان و تری‌ان مزدوج ایجاد می‌شود [۳۱]. با افزایش میزان پیوندهای دی‌ان مزدوج، میزان جذب در طول موج 233 نانومتر افزایش می‌یابد که این افزایش شاخصی از اکسایش می‌باشد که به عنوان افزایش جذب اکسیژن و تشکیل هیدروپروکسیدها طی مراحل اولیه اکسیداسیون گزارش گردیده است [۳۳،۳۲]. هر چه اکسیژن دریافتی بیشتر باشد، عدد دی ان مزدوج نیز افزایش می یابد. بطور کلی سطوح بیشتر عدد دی ان مزدوج نشان دهنده پایداری کمتر روغن در برابر اکسیداسیون است [۳۴]. همانطور که از شکل ۵ پیداست عدد دی ان مزدوج در زمان هیدرولیز از زمان ۴۵ تا ۲۲۵ دقیقه افزایش یافت و بیشترین میزان عدد دی‌ان مزدوج در زمان ۲۲۵ دقیقه مشاهده شد. نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر با گزارشات White و

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]

همکاران [۳۲] و Farhoosh و همکاران [۳۳] همخوانی داشت. همچنین در تحقیق Mahmoud و همکاران [۳۴] دی‌ان مزدوج چربی ماهی کپور معمولی و ماکرل در طول حرارت‌دهی مایکروویو از زمان ۰تا ۲۴ دقیقه افزایش پیدا کرد که این نتایج همانند نتایج به‌دست آمده در این مطالعه بود.

ترکیب اسیدهای چرب

فراوانی اسیدهای چرب در روغن استخراج شده نشان دادکه تقریبا ۶۰ درصد از مجموع اسیدهای چرب C18:1n9 اولئیک اسید، C16:0 یا پالمیتیک اسید و C22:6n3 دوکوزاهگزانوئیک اسید بودند که با نتایج گزارش شده توسط Jorjani و همکاران [۱] که ترکیبات شیمایی و پروفایل اسید چرب ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris caspia*) را بررسی کرده بودن مطابقت داشت. همچنین نتایج مطالعه و Pirestani و همکاران [۳۵] که به بررسی مشخصات لیپید، کلسترول و اسیدهای چرب برخی از گونه های ماهی از نظر تجاری مهم از جنوب دریای خزر پرداختنه بودند در راستای نتایج گزارش شده در مطالعه حاضر بود. علاوه بر این روغن استخراج شده دارای مقادیر بالای از اسیدهای چرب امگا–۳، ۱/۴۷ درصد C18:3n3 (ALA)، ۵/۵۷ درصد C20:5n3 (EPA) و ۱۶/۱۷ درصد C22:6n3 (DHA) است که این مقادیر بالا ممکن است به دلیل تغذیه آن‌ها از زئوپلانگتون‌های سرشار از PUFA باشد [۳۶].

نتیجه‌گیری

براساس نتایج این تحقیق استفاده از آنزیم آلکالاز در هیدرولیز آنزیمی ماهی کیلکا برای استخراج روغن، بازده قابل توجهی را از خود نشان داد. با توجه به اینکه اختلاف معنی داری در میزان راندمان استخراج در بین تیمارهای زمانی استفاده شده برای استخراج روغن مشاهده نشد و همچنین در شاخص های فساد اکسیداتیو بررسی شده تیمار روغن استخراج شده در زمان ۴۵ دقیقه کمترین مقادیر را نشان داد لذا این تیمار بعنوان تیمار منتخب معرفی انتخاب شد. علاوه بر این روغن استخراج شده به دلیل به عدم استفاده از حلال، درجه حرارت نسبتاً پایین و شرایط محیطی کنترل شده، دارای شرایط کیفی مناسبی می‌باشد که دارا بودن این ویژگی‌ها امکان استفاده از این روغن ماهی برای مصارف انسانی را امکان پذیر می‌کند. نتیجتا از آن می‌توان برای تولید امگا–۳ و مکمل‌های غذایی و دارویی استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس انجام پذیرفته است.

منابع:

1- Jorjani, S., 2014. Chemical composition and fatty acid profile of common kilka, Clupeonella cultriventris caspia. Caspian Journal of Environmental Sciences, 12(1), pp.119-128.
2- Chen, Y., Sun, Y., Ding, Y., Ding, Y., Liu, S., Zhou, X., ... & Lu, B. (2022). Recent progress in fish oil-based emulsions by various food-grade stabilizers: Fabrication strategy, interfacial stability mechanism and potential application. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-24.
3- Ovissipour, M., Rasco, B., Shiroodi, S.G., Modanlow, M., Gholami, S. and Nemati, M., 2013. Antioxidant activity of protein hydrolysates from whole anchovy sprat (*Clupeonella engrauliformis*) prepared using endogenous enzymes and commercial proteases. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(7), pp.1718-1726.
4- Zaidul, I.S.M., Norulaini, N.N., Omar, A.M. and Smith Jr, R.L., 2006. Supercritical carbon dioxide (SC-CO2) extraction and fractionation of palm kernel oil from palm kernel as cocoa butter replacers blend. Journal of Food Engineering, 73(3), pp.210-216.
5- Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D.M. and Sporns, P. eds., 2005. Handbook of food analytical chemistry, volume 1: Water, proteins, enzymes, lipids, and carbohydrates. John Wiley & Sons.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]

6- Özyurt, G., Sakarya, Y., & Durmuş, M. (2022). Chemical and physical characterization of spray dried fish oil with different combination ratios of wall component. *Journal of Food Processing and Preservation*, e17223.

7- Senphan, T. and Benjakul, S., 2015. Impact of enzymatic method using crude protease from Pacific white shrimp hepatopancreas on the extraction efficiency and compositions of lipids. Food chemistry, 166, pp.498-506.

8- Routray, W., Dave, D., Ramakrishnan, V. V., & Murphy, W. (2018). Production of high quality fish oil by enzymatic protein hydrolysis from cultured Atlantic salmon by-products: Investigation on effect of various extraction parameters using central composite rotatable design. *Waste and Biomass Valorization*, *9*(11), 2003-2014.

9- Ramakrishnan, V.V., Ghaly, A.E., Brooks, M.S. and Budge, S.M., 2013. Extraction of proteins from mackerel fish processing waste using alcalase enzyme. J Bioprocess Biotech, 3(130), p.2.

10- Linder, M., Fanni, J. and Parmentier, M., 2005. Proteolytic extraction of salmon oil and PUFA concentration by lipases. Marine Biotechnology, 7(1), pp.70-76.

11- Castejón, N., & Señoráns, F. J. (2020). Enzymatic modification to produce health-promoting lipids from fish oil, algae and other new omega-3 sources: A review. *New biotechnology*, *57*, 45-54.

12- Mkadem, H., & Kaanane, A. (2019). Recovery and characterization of fish oil from by-products of sardine (Sardina pilchardus) in the canning process. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *28*(10), 1037-1050.

13- Lanka, K., & Jayewardenepura, G. (2022). Effect of autoclaving as a pre-treatment in the wet reduction process for extracting fish oil from yellowfin tuna heads. *Sri Lanka J. Aquat. Sci*, *27*(1), 43-61.

14- Huss, H.H. ed., 1995. Quality and quality changes in fresh fish (No. 348). Food & Agriculture Org.

15- Al-Hilphy, A. R., Al-Mtury, A. A. A., Al-Shatty, S. M., Hussain, Q. N., & Gavahian, M. (2022). Ohmic Heating as a By-Product Valorization Platform to Extract Oil from Carp (Cyprinus carpio) Viscera. *Food and Bioprocess Technology*, *15*(11), 2515-2530.

16- Haq, M.A., Alam, M.J. and Hasnain, A., 2013. Gum Cordia: A novel edible coating to increase the shelf life of Chilgoza (Pinus gerardiana). LWT-Food Science and Technology,50(1),pp.306-311.

17- Ayoughi, F., Barzegar, M.O.H.S.E.N., Sahari, M.A. and Badi, H.N., 2009. Antioxidant effect of dill (Anethum graveolens Boiss.) oil in crude soybean oil and comparison with chemical antioxidants. Journal of Medicinal Plants, 8(30), pp.71-166.

18- Al-Hilphy, A. R., Al-Mtury, A. A. A., Al-Shatty, S. M., Hussain, Q. N., & Gavahian, M. (2022). Ohmic Heating as a By-Product Valorization Platform to Extract Oil from Carp (Cyprinus carpio) Viscera. *Food and Bioprocess Technology*, *15*(11), 2515-2530.

19- Aubourg, S.P., Lehmann, I. and Gallardo, J.M., 2002. Effect of previous chilled storage on rancidity development in frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*). Journal of the Science of Food and Agriculture, 82(15), pp.1764-1771.

20- Selim, K. A., Alharthi, S. S., Abu El-Hassan, A. M., Elneairy, N. A., Rabee, L. A., & Abdel-Razek, A. G. (2021). The Effect of Wall Material Type on the Encapsulation Efficiency and Oxidative Stability of Fish Oils. *Molecules*, *26*(20), 6109.

21- Ouraji, H., Shabanpour, B., Kenari, A.A., Shabani, A., Nezami, S., Sudagar, M. and Faghani, S.,2009. Total lipid, fatty acid composition and lipid oxidation of Indian white shrimp (Fenneropenaeus indicus) fed diets containing different lipid sources. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(6), pp.993-997.

22- Aitta, E., Marsol-Vall, A., Damerau, A., & Yang, B. (2021). Enzyme-assisted extraction of fish oil from whole fish and by-products of Baltic herring (Clupea harengus membras). Foods, 10(8), 1811.

23- Chaijan, M., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Faustman, C., 2006. Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. Food Chemistry, 99(1), pp.83-91.

24- Henna Lu, F.S., Nielsen, N.S., Timm-Heinrich, M. and Jacobsen, C., 2011. Oxidative stability of marine phospholipids in the liposomal form and their applications. Lipids, 46(1), pp.3-23.

25- Choe, E. and Min, D.B., 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. Comprehensive reviews in food science and food safety, 5(4), pp.169-186.

26- Naghdi, S., Rezaei, M., Bahramifar, N., & Kuswandi, B. (2022). Preparation and characterization of intelligent color-changing nanosensor based on bromophenol blue and $GONH_2$ nanosheet for freshness evaluation of minced Caspian sprat (*Clupeonella cultriventris caspia*) stored at 4° C. *Chemical Papers*, *76*(5), 3133-3146.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]

27- Salih, A. W., Najim, S. M., & Al-Noor, J. M. (2021). Some physical, chemical and sensory properties of fish oil extracted from fish wastes by physical and chemical methods. *Biol. Appl. Env. Res*, *5*(1), 152-162.
28- Xu, J., Huang, S., Zhang, Y., Zheng, Y., Shi, W., Wang, X., & Zhong, J. (2022). Effects of Antioxidant Types on the Stabilization and In Vitro Digestion Behaviors of Silver Carp Scale Gelatin-Stabilized Fish Oil-Loaded Emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 112624.
29- Lamas, D. L. (2022). Effect of enzymatic degumming process on the physicochemical and nutritional properties of fish byproducts oil. *Applied Food Research*, *2*(2), 100170.
30- Yu, L., Wang, Y., Wen, H., Jiang, M., Wu, F., & Tian, J. (2021). Synthesis and evaluation of acetylferulic paeonol ester and ferulic paeonol ester as potential antioxidants to inhibit fish oil oxidation. *Food Chemistry*, *365*, 130384.
31- Bruno, S. F., Kudre, T. G., & Bhaskar, N. (2019). Impact of pretreatment-assisted enzymatic extraction on recovery, physicochemical and rheological properties of oil from Labeo rohita head. *Journal of Food Process Engineering*, *42*(3), e12990.
32- White, P.J., 1991. Methods for measuring changes in deep-fat frying oils. Food technology (USA).
33- Farhoosh, R., Khodaparast, M.H.H. and Sharif, A., 2009. Bene hull oil as a highly stable and antioxidative vegetable oil. European journal of lipid science and technology,111(12),pp.1259-1265.
34- Mahmoud, E.A.E., Dostálová, J., Lukešová, D. and Doležal, M., 2009. Oxidative changes of lipids during microwave heating of minced fish flesh in catering. Czech Journal of Food Sciences, 27, pp.S17-S19.
35- Olugbenga, B. O., Okouzi, S., Ihuahi, J. A., Babana, A. A., Ugoala, E. R., Olokor, J. O., & Unogwu, A. Comparative Study of the Effects of Cooking Duration On Yield and Quality Of Oil Extracted From Synodontis membranacea and Clarias anguillaris. *GARDEN CITY 2021*, 424.
36- Pirestani, S., Sahari, M.A., Barzegar, M. and Nikoopour, H., 2010. Lipid, cholesterol and fatty acid profile of some commercially important fish species from south Caspian Sea. Journal of Food Biochemistry, 34(4), pp.886-895.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume12, Issue 2, spring 2023
Pages: 137-152

Evaluation of extraction efficiency and quality of common kilka fish oil (*Clupeonella cultriventris caspia*) extracted at different times of hydrolysis with alcalase enzyme

Mohsen Nobakht, Masoud Rezaei*, Shahab Naghdi
Seafood Processing Department, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Mazandaran

A B S T R A C T

In this study, the effect of different hydrolysis times (45, 90, 135, 180, and 225 minutes) by alcalase enzyme on the yield and quality of oil extracted from common kilka fish (*Clupeonella cultriventris caspia*) was investigated. The results showed that the highest extraction yield (40.41%) was in the hydrolyzed treatment for 135 minutes, which was not significantly different from other treatments. The qualitative indices of TBA, FFA, and CD of the extracted oils increased by increasing hydrolysis time, so the highest value of the mentioned indices was at 225 minutes, while the highest value of the PV index was at 180 minutes. Because the treatment of oil extracted in 45 minutes had lower values in the investigated oxidative spoilage indicators, it was selected as the treatment. The composition of its fatty acids was investigated, and it was found that monounsaturated fatty acids were the predominant fatty acids. Also, the amounts of saturated and polyunsaturated fatty acids did not show significant differences ($p < 0.05$). According to the obtained results, it was found that different hydrolysis times have different effects on the yield and quality of the obtained oil. Therefore, more research and studies are needed to fully investigate the effect of hydrolysis time on the quality characteristics of the oil extracted from Kilka fish.

KEYWORDS: Enzymatic hydrolysis, Common kilka, Fish oil, Extraction

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received:24 February 2023
Accepted:22 May 2023
ePublished:5 June 2023

* Corresponding Author:
Email address: rezai_ma@modares.ac.ir
Tel:
© Published by Tarbiat Modares University
ISSN: 2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-05-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1402.12.2.4.0]