

## تأثیر شیوه استخراج بر میزان چربی و ترکیب اسیدهای چرب ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مریم وفائی<sup>۱</sup>، محمود ناصری<sup>۲\*</sup>، سارا وفا<sup>۳</sup>

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، فراوری محصولات شیلاتی، بخش مهندسی منابع طبیعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
- ۲- استادیار، بخش مهندسی منابع طبیعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
- ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، فراوری محصولات شیلاتی، بخش مهندسی منابع طبیعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

دریافت: ۹۵/۰۴/۱۴ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۸

\*نویسنده مسئول مقاله: [mnaseri@shirazu.ac.ir](mailto:mnaseri@shirazu.ac.ir)

### چکیده:

تأثیر روش‌های مختلف استخراج چربی با حلال (شامل Bligh and Dyer، Smedes، Bligh and Dye با استفاده از دی‌کلرومتان، Folch، Roese Gottible، سوکسله با استفاده از اتر و سوکسله با استفاده از آن-هگزان) بر میزان چربی کل و ترکیب اسیدهای چرب قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی شد. براساس نتایج، بازدهی استحصال چربی با روش Bligh and Dyer بیش از روش‌های Smedes، Roese Gottible و سوکسله تر بود، ولی با دیگر روش‌ها اختلاف معناداری مشاهده نشد. مجموع اسیدهای چرب اشباع، تک‌غیراشباع و چندغیراشباع در چربی استخراج شده با روش‌های مختلف تفاوت معناداری نداشت. نسبت اسیدهای چرب امگا-۳ به امگا-۶ در روش‌های مختلف استخراج بین ۰/۲۰ تا ۰/۲۹ بود. بیشترین میزان شاخص پلی‌ان ۰/۳۴ بود، اما بین روش‌های مختلف تفاوت معناداری مشاهده نشد. با توجه به کمیت و کیفیت چربی، بار مالی، سمیت مواد و سهولت بهره‌برداری، روش استخراج Bligh and Dyer بهینه شده با حلال دی‌کلرومتان برای استخراج چربی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد می‌شود.

**کلید واژگان:** چربی کل، ترکیب اسید چرب، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، استخراج چربی.

## مقدمه

چربی و سنجش کیفیت آن، روش‌های مختلفی مدنظر قرار گرفته است. در صورت رعایت استانداردهای پیش‌بینی شده، حلال‌های شیمیایی از بهترین و مهم‌ترین روش‌های جداسازی و استخراج چربی ماهی محسوب می‌شوند.

اولین روش استخراج چربی با حلال، روش سوکسله بوده که از سوی دانشمندی با همین نام در سال ۱۸۷۹ طراحی شد (AOAC, 2005). پس از آن روش‌های دیگری به‌منظور استخراج چربی تدوین و بهینه‌سازی شد. از جمله این روش‌ها می‌توان به فولج اشاره کرد که در سال ۱۹۵۷، استخراج چربی با استفاده از حلال‌های کلروفرم، متانول و آب را گزارش کرد، از آن پس استفاده از سیستم سه فازی کلروفرم، متانول و آب از سوی دانشمندان مختلف مورد توجه قرار گرفت.

روش‌های متعددی برای استخراج چربی بهینه‌سازی و استفاده شد که می‌توان به بلای و دایر (Bligh and Dyer, 195)، اسمدز (اسمدز 1999، edes)، لین (Lin et al., 2004)، هارا و رادین (Hara and Radin, 1987) و رز گاتیل (Manirakiza et al., 1990) اشاره کرد. مطالعات بسیاری به بهینه‌سازی روند استحصال چربی پرداخته‌اند، اما تاکنون تغییری بنیادین در شیوه استخراج با حلال صورت نگرفته است (Ramalhosa et al., 2012). مطالعات پیشین نشان داد، روش استحصال، زمان استخراج، نوع گونه و مقدار نمونه، کمیت و کیفیت چربی و ترکیب اسیدهای چرب را دستخوش تغییر می‌کند (Helga et al., 1993).

هدف از پژوهش حاضر، انتخاب روش بهینه استخراج چربی (با توجه به سهولت، ایمنی، کیفیت و کمیت چربی و زمان استحصال) برای ارائه به آزمایشگاه‌های کنترل کیفیت و مراکز آموزشی به‌ویژه دانشگاه‌ها می‌باشد. همان‌طور که پیش از این اشاره شد، در بین گونه‌های پرورشی، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از نظر تولید بالای سالانه، قابلیت دسترسی برای

محصولات دریایی نقش قابل توجهی در تأمین غذای مردم جهان دارند و با شناسایی مطلوبیت و برتری غذایی این فراورده‌ها بر دیگر مواد پروتئینی روز به‌روز بر مصرف آنها افزوده می‌شود (Naseri et al., 2014). پرورش ماهی در ایران از سال ۱۳۳۹ با تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) آغاز شد (Alavi Yeganeh et al., 2007). ذائقه‌پسند بودن و استقبال مصرف‌کنندگان از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، موجب افزایش پرورش و مصرف این گونه در سال‌های اخیر شده است. طبق سالنامه آماری شیلات ایران، میزان تولید ماهیان سردآبی کشور از ۸۳۵ تن در سال ۱۳۷۲ به ۱۴۴ هزار تن در سال ۱۳۹۲ افزایش یافته است (Ghorbanzadehand Nazari, 2013). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌طور طبیعی دارای میزان زیادی اسیدهای چرب چندغیراشباع به‌ویژه ایکوزاپنتانویک اسید (EPA) و دکواهگزانویک اسید (DHA) است (Harlioglu, 2012). این اسیدهای چرب فواید زیادی برای سلامتی انسان دارند (Steffen, 1997). رژیم‌های غذایی حاوی این ترکیبات در پیشگیری از ابتلا به بیماری‌های قلبی، بهبود عملکرد مغز و شبکه چشم و تورم مفاصل نقش مهمی ایفا می‌کنند (Chavez-Mendoza et al., 2014).

شاخص‌های کیفی چربی از عوامل مهم بررسی کیفیت محصول نهایی تلقی شده و در مطالعات بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و عمل‌آوری مدنظر قرار گرفته است (Ramalhosa et al., 2012). به‌طور کلی لبیدها نقشی حیاتی در سلول ایفا می‌کنند و معمولاً در غشا و سیتوزول حضور دارند. چربی‌ها ترکیبات ناهمگن، با ساختار و ویژگی‌های مختلفی هستند، به همین دلیل جداسازی کامل آنها از بافت ماده غذایی دشوار است (Certic et al., 1996). با توجه به موارد یاد شده، به‌کارگیری روشی مناسب برای استخراج چربی از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. برای استخراج

اول اضافه گردید. حلال‌پرانی با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد (Bligh and Dyer, 1959). همچنین در این روش از حلال دی‌کلرومتان جایگزین کلروفرم نیز استفاده شد.

## ۲. اسمدز (Smedes)

فرایند استخراج در این روش تقریباً مشابه با روش بلای و دایر می‌باشد. در این روش حلال‌های ۲-پروپانول و سیکلو‌هگزان جایگزین حلال‌های متانول و کلروفرم می‌شود. در روش مذکور از مخلوط آب، ۲-پروپانول و سیکلو‌هگزان (۱۰:۸:۱۱) به‌عنوان حلال استفاده و به نمونه افزوده شد. استخراج دوم نیز با مخلوط ۲۰ میلی‌لیتر ۲-پروپانول و سیکلو‌هگزان انجام شد. پس از سانتریفیوژ لایه سیکلو‌هگزان به استخراج اول اضافه شد (Smedes, 1999).

## ۳. سوکسله (حلال پترولیم‌اتر و ان-هگزان) (Soxhlet)

یک گرم نمونه تر هموزن شده به‌همراه ۲ گرم سولفات سدیم در انگشت دانه، به مخزن سوکسله منتقل شد. ۳۰ میلی‌لیتر حلال مورد نظر (پترولیم‌اتر یا ان-هگزان) به مخزن سوکسله اضافه گردید. درجه حرارت سوکسله روی ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. در اثر حرارت، حلال تقطیر و روی نمونه ریخته شد. حلال مورد استفاده پس از پر شدن مخزن سوکسله از طریق سیفون نازک شیشه‌ای به بالن برگشت و به این ترتیب این چرخه تکرار می‌شد. استخراج به‌مدت شش ساعت ادامه یافت. پس از زمان لازم حرارت قطع و اجازه داده شد سیستم کمی خنک شود و همه بخارها در مبرد سرد شده و به فاز مایع وارد شوند. سپس بالن حاوی روغن با استفاده از دستگاه روتاری حلال‌پرانی گردید (AOAC, 2005). این روش برای هر دو حلال پترولیم‌اتر و ان‌هگزان با سه تکرار انجام شد.

## ۴. سوکسله با نمونه خشک

مصرف‌کننده و پراکنش مناسب از اهمیت زیادی بین پرورش‌دهندگان و مصرف‌دهندگان برخوردار است. امروزه عمده مطالعات دانشگاهی نیز بر این گونه تمرکز یافته است. از این‌رو در مطالعه حاضر تلاش بر این است تا تأثیر شیوه و نوع استخراج بر کمیت چربی و ترکیب اسیدهای چرب این ماهی بررسی شود.

## مواد و روش‌ها

**روند انجام آزمایش:** برای انجام پژوهش حاضر، تعدادی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن تقریبی ۷۰۰-۸۰۰ گرم به‌صورت زنده از فروشگاه اتکا شهر شیراز خریداری شد. بلافاصله پس از صید و یخ‌پوشی، ماهی‌ها در ظروف مناسب به آزمایشگاه فراوری محصولات شیلاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز منتقل شدند. در آزمایشگاه، آماده‌سازی اولیه شامل شستشو، پوست‌گیری، تخلیه امعا و احشا، سر و دم زنی انجام شد. با استفاده از چرخ گوشت نمونه‌ها هموزن شد. استخراج چربی به روش‌های مختلف به‌منظور تعیین درصد چربی کل و ترکیب اسید چرب انجام گردید.

## روش‌های مختلف استخراج چربی

### ۱. بلای و دایر (Bligh and Dyer) و بلای و دایر با

#### استفاده از دی‌کلرومتان

در این روش به پنج گرم نمونه، ۲۰ میلی‌لیتر متانول و ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم افزوده و به‌مدت ۲ دقیقه ورتکس شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم به مخلوط قبلی اضافه گردید و به‌مدت ۲ دقیقه ورتکس شد. پس از اضافه کردن ۱۸ میلی‌لیتر آب مقطر مجدد به‌مدت ۲ دقیقه ورتکس گردید. سپس مخلوط حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، لایه پایین به بالن حجمی انتقال داده شد. استخراج دوم با استفاده از مخلوط ۲۰ میلی‌لیتر کلروفرم و متانول انجام شد. پس از ورتکس و سانتریفیوژ فاز پایینی شامل کلروفرم و روغن به استخراج

$$\text{درصد چربی} = \frac{\text{وزن چربی}}{\text{وزن نمونه}} \times 100$$

### تعیین ترکیب اسیدهای چرب

برای بررسی اسیدهای چرب نمونه‌های روغن، از دستگاه کروماتوگرافی گازی SGE (ساخت شرکت استرالیا) با ستون BPX70 با طول ۶۰ متر، ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و شناساگر FID1075 استفاده شد. فاز ساکن آن، پلیمر Bis-cyanopropylsiloxane-silphenylene و گاز حامل سیستم، نیتروژن بود. به منظور تهیه متیل استرهای اسید چرب ۳۰۰ میلی‌گرم از نمونه روغن با ترازوی دقیق توزین گردید و ۱۰ میلی‌لیتر مخلوط متانول-استیل کلرید ۹۵ درصد به نمونه اضافه شد. پس از انحلال روغن در حلال، نمونه به مدت ۱ ساعت در دمای ۸۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس حدود ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به روغن متیله اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه با استفاده از همزن به خوبی یکنواخت گردید. ۲ میلی‌لیتر حلال هگزان حاوی TBHQ (۰/۰۱ درصد) به مخلوط اضافه و پس از یکنواخت شدن با همزن، به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس سانتی‌فیوژ گردید. با استفاده از میکروپیپت مایع فوقانی نمونه سانتی‌فیوژ شده جدا شد. پس از آماده‌سازی دستگاه و وارد کردن اطلاعات اولیه حدود ۱ میکرولیتر از مایع تزریق و شناسایی شد (Habibi et al., 2016). شرایط عملیاتی و حرارتی این سیستم به شرح ذیل بود:

حرارت ستون: ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد

حرارت قسمت تزریق: ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد

جریان گاز ازت: ۳ میلی‌لیتر در دقیقه

حرارت شناساگر: ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد

### آنالیز آماری

تمامی آزمایش‌های این تحقیق با حداقل سه تکرار انجام شد.

در این روش مقداری نمونه با دقت یک میلی‌گرم توزین و در آن  $1.03 \pm 0.2$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد (AOAC, 2005). سپس نمونه خشک شده به دسیکاتور منتقل گردید تا به دمای محیط برسد. در پایان نمونه خشک در مخزن سوکسله گذاشته شد و از پترولیم‌اتر به‌عنوان حلال استفاده گردید. بقیه مراحل همانند روش سوکسله با نمونه تر انجام شد (AOAC, 2005).

### ۵. فولج (Folch)

در این روش ۵ گرم نمونه هموژن شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر کلروفرم و متانول (۱:۲) مخلوط شد. به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتی‌فیوژ و پس از آن با استفاده از کاغذ صافی فیلتر گردید. ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به مخلوط فیلتر شده اضافه و مجدد سانتی‌فیوژ (۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰) شد. پس از حذف فاز بالایی (متانول و آب)، لایه پایینی حاوی کلروفرم و چربی جداسازی و با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور حلال‌پرانی انجام شد (Folch et al., 1957).

### ۶. رُز گاتیبیل (Roese Gottible)

در این روش ابتدا به یک گرم نمونه ۶ میلی‌لیتر آب جوش اضافه شد. سپس به مدت ۱ دقیقه ورتکس شده و اجازه داده شد تا خنک شود. ۱ میلی‌لیتر محلول ۲۵ درصد آمونیاک افزوده و به مدت ۲ دقیقه ورتکس گردید. سپس با ۷/۵ میلی‌لیتر متانول مخلوط به مدت ۲ دقیقه ورتکس شد. در نهایت ۱۷ میلی‌لیتر دی‌اتیل‌اتر و ۱۷ میلی‌لیتر پترولیم‌اتر به مخلوط حاصل اضافه گردید. سپس سانتی‌فیوژ شده و فاز بالایی به بالن حجمی انتقال داده شد. در پایان حلال‌پرانی در روتاری اوپراتور با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد انجام گردید (Manirakiza et al., 2001).

### درصد چربی کل

در تمامی روش‌های استخراج چربی، میزان چربی کل براساس رابطه زیر محاسبه شد (AOAC, 2005).

Norziah et al., Gunnlaugsdottir and Ackman, 1993؛ 2009؛ Ramolhosa et al., 2012). در مطالعه مشابهی که روی استخراج چربی از بی‌مهرگان دریایی انجام شد، همانند نتایج حاصل از تحقیق حاضر، روش بالای و دایر با استفاده از حلال دی‌کلرومتان به شکل معناداری استحصال چربی را افزایش داد (Lino et al., 2013).

در مطالعه Perez-Palacios و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر روش استخراج چربی از فراورده‌های گوشتی مختلف بررسی شد. کمترین میزان چربی استخراج شده در روش بالای و دایر مشاهده شد که دلیل آن کاهش حلالیت لیپیدهای غیرقطبی (مثل تری‌گلیسرول‌ها) در نسبت پایین حلال قطبی (کلروفرم/متانول ۱:۲) گزارش گردید. مقایسه روش فولج و بالای و دایر در آن مطالعه نشان داد که درصد چربی کل حاصل از روش فولج بیش از روش بالای و دایر بود که به دلیل استخراج هر دو گروه لیپیدهای قطبی و غیرقطبی در این روش نسبت داده شد.

در مطالعه حاضر، کاهش معنادار درصد چربی کل در روش رز گاتیبل نسبت به بالای و دایر، احتمالاً به دلیل تفاوت در نوع حلال و دمای استخراج است. همچنین پایین‌تر بودن درصد چربی کل در روش اسمدز نسبت به بالای و دایر را می‌توان به دلیل قطبیت کمتر ۲-پروپانول نسبت به متانول (Manirakiza et al., 2001) و در نتیجه حلالیت کمتر چربی‌های قطبی در آن دانست.

بسیاری از مطالعات بالا بودن زمان تماس حلال با نمونه در روش سوکسله را دلیل افزایش میزان بازده استحصال چربی بیان کرده‌اند (Manirakiza et al., 2001; Perez-؛ Palacios et al., 2008). در تحقیق حاضر پایین بودن درصد چربی در روش سوکسله با نمونه تر نسبت به بالای و دایر احتمالاً به دلیل استفاده از میزان بالای حلال غیرقطبی پترولیم‌تر و در نتیجه عدم حلالیت کامل چربی‌های قطبی می‌باشد (Grøgaard, 2011) درحالی‌که در روش بالای و دایر

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22 انجام شد. همچنین برای رسم نمودارها و جداول از نرم‌افزار Excel استفاده گردید. به منظور تجزیه و تحلیل نتایج شرط طبیعی بودن داده‌ها، پیش از انجام آزمون آنالیز واریانس از آزمون شاپیرو ویلک استفاده شد. همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون (Leven's Test) بررسی شد. مقایسه میانگین تیمارهای موردنظر با استفاده از آنالیز واریانس (One-Way ANOVA) انجام گردید. در صورت همگن بودن واریانس با آزمون دانکن و در صورت عدم همگنی واریانس از آزمون دانت تی سه استفاده شد. در تمام مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد فرض صفر ۵ درصد در نظر گرفته شد.

### نتایج و بحث

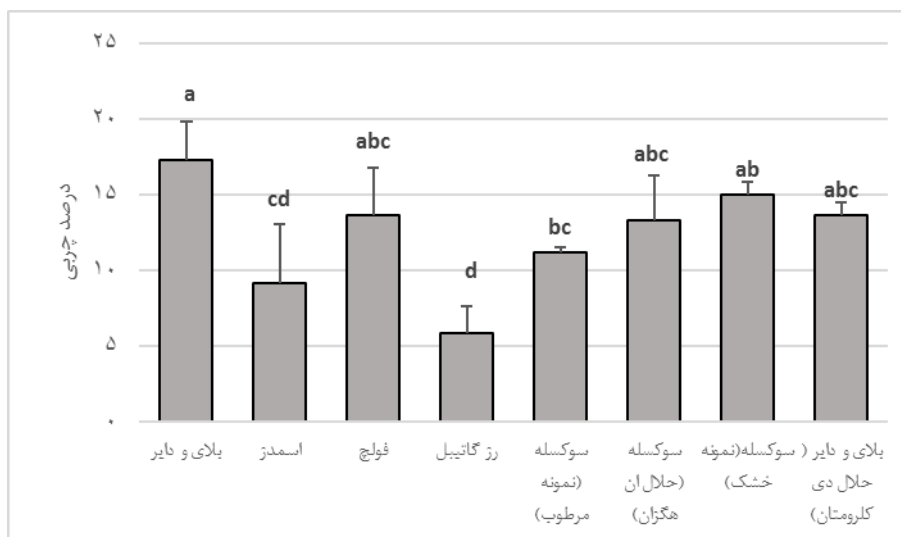
تعیین ترکیب اسیدهای چرب و چربی کل دو عامل مهم برای ارزیابی ارزش تغذیه‌ای به حساب می‌آیند (Xiao et al., 2012). چربی کل موجود در بافت ماهی علاوه بر شیوه استخراج به نوع گونه، جنسیت، وزن و فصل صید وابسته است. چربی کل ترکیبی از لیپیدهای خنثی، لیپیدهای قطبی و اجزای کوچک‌تر می‌باشد. روش استخراج باید توانایی جداسازی تمام این ترکیبات از بافت را داشته باشد (Woyewoda, 1986).

چربی کل استخراج شده تحت اعمال تیمارهای متفاوت در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد، روش بالای و دایر موجب استحصال چربی بیشتر نسبت به روش‌های سوکسله (با نمونه تر)، اسمدز و رز گاتیبل گردید و با سایر روش‌ها تفاوت معناداری نداشت.

در مطالعه‌هایی که بر روی ماهی هرینگ (*Clupea harengus*)، سالمون (*Salmo salar*)، کاد (*Gadus Morhua*)، ماکرل (*Scomber japonicus*)، ساردین (*Sardina pichardus*) و ضایعات ماهی انجام شده نیز روش بالای و دایر روشی با بیشترین بازدهی استحصال چربی کل گزارش شد (Ewald et al., 1998)؛

چربی را از غشای سلول و فیبرهای عضلانی خارج می‌کند. با این حال نمی‌توان دلیل میزان بالای استخراج چربی با این روش را تنها اجزای تشکیل‌دهنده حلال دانست. در این روش، بازیافت بهتر فاز آلی حاوی چربی احتمالاً مهم‌ترین دلیل افزایش کمیت استخراج می‌باشد (Certic et al., 1996; Norizah et al., 2009). در مطالعه حاضر، روش فولج همانند روش بلای و دایر بازده استحصال چربی بالایی داشت. نبود اختلاف معنادار بین این دو روش احتمالاً به دلیل مشابه بودن حلال‌های مورد استفاده است.

از ترکیب حلال‌های قطبی و غیرقطبی به منظور استحصال چربی استفاده می‌شود. در برخی مطالعات، مشابه با نتایج تحقیق حاضر بلای و دایر به عنوان کارآمدترین روش استخراج چربی کل گزارش شده است (Norziah et al., 2009; Cabrini et al., 1992). همچنین گزارش گردید که لیپیدهای موجود در سلول‌های بافت ماهی نسبت به سایر موجودات، بیشترین واکنش را نسبت به این روش نشان داده‌اند (Cabrini et al., 1992). در روش بلای و دایر حلال قطبی به داخل سلول نفوذ کرده و



شکل ۱ میزان چربی کل حاصل از روش‌های مختلف استخراج چربی

اعداد گزارش شده بر حسب درصد است. وجود حروف لاتین متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنادار در سطح اطمینان ۹۵ درصد می‌باشد.  $a>b>c>d$

نتایج حاصل از تأثیر روش‌های مختلف استخراج چربی بر ترکیب اسیدهای چرب ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است. در بسیاری از پژوهش‌ها پالمیتیک اسید ( $C_{16:0}$ ) عمده‌ترین اسید چرب اشباع موجود در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش شده است (Chavez-Mendoza et al., 2014; Harlioglu, 2012; Oraei et al., 2004; Haliloglu et al., 2011). نتایج تحقیق حاضر با تأیید

تأثیر روش‌های مختلف استخراج چربی بر ترکیب اسید چرب زنجیره‌های هیدروکربنی اسیدهای چرب یکی از ویژگی‌های اساسی لیپیدها هستند. حلالیت چربی با افزایش طول زنجیره در حلال غیرقطبی و با کاهش طول زنجیره در حلال قطبی، افزایش می‌یابد. تعداد پیوندهای دوگانه در اسید چرب می‌تواند روی حلالیت تأثیرگذار باشد. با افزایش تعداد پیوندهای دوگانه از میزان حلالیت چربی کاسته می‌شود (Certic et al., 1996).

بررسی تغییرات این دسته از اسیدهای چرب، برای تعیین کیفیت چربی حائز اهمیت است (Chavez-Mendoza et al., 2014). با توجه به نتایج حاصل، میزان اکوزاتری‌انوئیک اسید (C<sub>20:3</sub>) در روش سوکسله با حلال ان‌هگزان نسبت به روش‌های رز گاتیل، فولج و بلای و دایر با حلال دی‌کلرومتان کمتر بود. سایر روش‌ها تفاوت معناداری نداشتند. نتایج آماری نشان داد که روش‌های فولج و بلای و دایر دارای میزان بیشتری آراشیدونیک اسید (C<sub>20:4</sub>) نسبت به اسمدز و سوکسله با حلال ان‌هگزان بودند. همچنین میزان دکوزاهگزانوئیک اسید (C<sub>22:6</sub>) در روش فولج نسبت به سوکسله با حلال ان‌هگزان بیشتر بود، اما سایر روش‌ها با این دو روش تفاوت معناداری نداشتند. گزارش Certic و همکاران (۱۹۹۶) نشان داد میزان لینولنیک اسید (C<sub>18:3</sub>) در چربی استخراج شده با حلال‌های کلروفورم-متانول و دی‌اتیل‌تر-متانول نسبت به سایر حلال‌ها کمتر است. عدم تطابق نتایج تحقیق یاد شده با پژوهش حاضر احتمالاً به دلیل تفاوت نوع گونه ماهی، فصل، وضعیت صید و سایر موارد مرتبط با اختلاف فردی نمونه‌ها می‌باشد.

در این مطالعه بررسی مجموع اسیدهای چرب اشباع، تک‌غیراشباع و چندغیراشباع چربی حاصل از روش‌های مختلف استخراج چربی تفاوت معناداری نداشت. در مطالعه Xiao و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر روش‌های مختلف استخراج چربی (سوکسله با استفاده از پترولیم‌اتر، سوکسله با هیدرولیز اسیدی و بلای و دایر) بر ترکیب اسید چرب بررسی شد، نتایج نشان داد که تفاوت معناداری در میزان مجموع اسیدهای چرب اشباع، تک‌غیراشباع و چندغیراشباع وجود ندارد. در پژوهشی، عدم تغییر در ترکیب اسید چرب ماهی ماکرل اسبی، چاب ماکرل و ساردین پس از استخراج با روش‌های مختلف گزارش شد (Ramalhosa et al., 2012). در مطالعه Oraei و همکاران (۲۰۱۱) مجموع اسیدهای

سایر نتایج نشان داد، پالمیتیک اسید بیشترین درصد اسیدهای چرب اشباع را به خود اختصاص داده است.

مریستیک اسید (C<sub>14:0</sub>) در روش رز گاتیل به شکل معناداری بیش از روش سوکسله با نمونه خشک بود. سایر روش‌ها نسبت به این دو روش تفاوت معناداری نداشتند. میزان پالمیتیک اسید بین روش‌های مختلف تفاوت معناداری نداشت و از ۱۵/۳۳ درصد تا ۱۸/۹۰ درصد متغیر بود. روش‌های مختلف استخراج چربی بر سایر اسیدهای چرب اشباع تأثیر معناداری نداشتند. در مطالعه Axelsson و همکاران (۲۰۱۴) میزان استئاریک اسید موجود در چربی استخراج شده از میکروجلبک‌های سبز در روش بلای و دایر ۱/۴۶ درصد و در روش فولج ۱/۷۷ درصد گزارش شد. میزان پالمیتیک اسید در آن مطالعه به ترتیب ۲۳/۸۶ و ۲۵/۰۵ درصد گزارش گردید.

عمده‌ترین اسید چرب تک غیراشباع در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، اولئیک اسید (C<sub>18:1</sub>) می‌باشد. در سایر مطالعات نتایج مشابهی با تحقیق حاضر گزارش شده است (Harlioglu, 2012; Chavez-Mendoza et al., 2014). میزان مریستولئیک اسید (C<sub>14:1</sub>)، پالمیتولئیک اسید (C<sub>16:1</sub>)، اولئیک اسید (C<sub>18:1</sub>) و اروسیک اسید (C<sub>22:1</sub>) در روش‌های مختلف تفاوت معناداری نداشت. اکوزانوئیک اسید (C<sub>20:1</sub>) در روش سوکسله با نمونه تر به شکل معناداری بیش از روش‌های رز گاتیل و فولج بود. در مطالعه‌ای میزان اولئیک اسید با استفاده از روش بلای و دایر ۲۰/۴۳ درصد و در روش فولج، ۲۰/۶۸ درصد گزارش شد (Axelsson et al., 2014). در مطالعه دیگر استخراج چربی با کلروفورم، اتیل‌استات و دی‌اتیل‌اتر باعث کاهش اولئیک اسید گردید (Certic et al., 1996).

از آنجا که اسیدهای چرب چندغیراشباع دارای زنجیره کربنی طویل و پیوندهای دوگانه متعدد هستند، حساسیت بیشتری به فساد اکسیداتیو و هیدرولیتیک دارند. از همین رو

نسبت اسیدهای چرب چندغیراشباع به اشباع معیاری از میزان غیراشباعیت چربی‌ها و همچنین تمایل آنها به خود اکسایش لیپیدی در نظر گرفته می‌شود (Chavez-Mendoza et al., 2014). طبق نتایج به دست آمده، این نسبت بین روش‌های مختلف استخراج چربی تفاوت معناداری نشان نداد. پژوهش‌های پیشین حداقل میزان مجاز این شاخص را ۰/۴۵ گزارش کردند (Chavez-Mendoza et al., 2014). در مطالعه حاضر میزان این نسبت ۱/۷۵-۱/۳۵ درصد مشاهده شد. در پژوهش Chavez-Mendoza و همکاران (۲۰۱۴) نسبت اسیدهای غیراشباع به اشباع شده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۱/۸۷ درصد گزارش شد.

نسبت مجموع اسیدهای چرب اکوزاپنتانویک اسید (C<sub>20:5</sub>) و دکوزاهگزانویک اسید (C<sub>22:6</sub>) به پالمیتیک اسید (C<sub>16:0</sub>) به عنوان شاخص پلی‌ان (PI) بررسی می‌شود. این شاخص به عنوان شاخص کیفیت چربی شناخته شده است (Naseri, 2011). با توجه به نتایج، میزان شاخص پلی‌ان بین روش‌های مختلف استخراج چربی از ۰/۱۸ تا ۰/۳۴ متغیر بود، اما تفاوت معناداری مشاهده نشد. شاخص پلی‌ان چربی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تحقیق Chavez-Mendoza و همکاران (۲۰۱۴) ۱/۳۰ درصد بیان شد.

چرب اشباع، تک‌غیراشباع و چندغیراشباع استخراج شده از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از حلال‌های هگزان و استون به ترتیب ۲۹/۳۷، ۳۲/۸۶ و ۳۵/۷۵ درصد گزارش شد که با نتایج تحقیق حاضر تفاوت قابل توجهی نداشت.

نسبت امگا-۳ به امگا-۶ به عنوان یک شاخص مهم تغذیه‌ای، مدنظر قرار می‌گیرد (Sánchez-Muniz, 1987). این شاخص در رژیم غذایی به منظور تنظیم سیستم سنتز ایکوزانویدهای موجودات زنده از اهمیت بالایی برخوردار است. اسیدهای چرب امگا-۶ و امگا-۳ در غشای فسفولیپید تعادل دارند (Gudbjarnason et al., 1991). سطح اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ در غشای سلولی به سرعت تحت استرس و رژیم غذایی تغییر می‌کند (Sánchez-Muniz, 1987; Gudbjarnason et al., 1991).

طبق نتایج، تفاوت معناداری بین روش‌های مختلف استخراج چربی از نظر میزان و نسبت این دسته از اسیدهای چرب وجود نداشت. در مطالعه‌ای نسبت اسیدهای چرب امگا-۳ به امگا-۶ در چربی استخراج شده از شکم، سر و عضله ماهی سالمون به صورت آنزیمی و حرارتی در محدوده ۱/۹۶-۲/۵۰ گرم در ۱۰۰ گرم نمونه گزارش شد (Deepika et al., 2015).

جدول ۱ تأثیر روش‌های مختلف استخراج چربی بر میزان ترکیب اسیدهای چرب ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

نوع اسید چرب	رز گاتیل	فولج	بلا و دایر	اسمدز	بلا و دایر با حلال دی‌کلرومتان	سوکسله با نمونه تر	سوکسله با نمونه خشک	سوکسله با حلال ان‌هگزان
C <sub>14:0</sub>	۲/۵۳±۱/۱۳ <sup>a</sup>	۱/۵۵±۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۱/۶۱±۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۱/۷۰±۰/۰۷ <sup>ab</sup>	۱/۴۹±۰/۰۶ <sup>ab</sup>	۱/۶۴±۰/۰۳ <sup>ab</sup>	۱/۳۸±۰/۰۵ <sup>b</sup>	۱/۶۸±۰/۰۶ <sup>ab</sup>
C <sub>14:1</sub>	۰/۱۰±۰/۰۰۹ <sup>a</sup>	۰/۱۰±۰/۰۰۵ <sup>a</sup>	۰/۱۸±۰/۰۱۵ <sup>a</sup>	۰/۱۰±۰/۰۰۳ <sup>a</sup>	۰/۰۹±۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	۰/۱۰±۰/۰۰۸ <sup>a</sup>	۰/۱۰±۰/۰۰۷ <sup>a</sup>	۰/۱۲±۰/۰۰۲ <sup>a</sup>
C <sub>16:0</sub>	۱۸/۹۰±۲/۹۶ <sup>a</sup>	۱۶/۶۵±۰/۵۴ <sup>a</sup>	۱۷/۱۰±۰/۶۹ <sup>a</sup>	۱۶/۱۷±۰/۳۱ <sup>a</sup>	۱۷/۰۹±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۱۷/۴۷±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۱۵/۳۳±۲/۴۱ <sup>a</sup>	۱۷/۳۹±۱/۲۵ <sup>a</sup>
C <sub>16:1</sub>	۴/۴۱±۰/۸۷ <sup>a</sup>	۳/۹۰±۰/۰۹ <sup>a</sup>	۳/۸۴±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۴±۰/۱۱ <sup>a</sup>	۳/۸۸±۰/۱۳ <sup>a</sup>	۴/۰۲±۰/۰۵ <sup>a</sup>	۳/۶۵±۰/۱۶ <sup>a</sup>	۴/۰۴±۰/۱۲ <sup>a</sup>
C <sub>18:0</sub>	۴/۱۱±۱/۲۹ <sup>a</sup>	۴/۴۶±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۴/۵۲±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۴/۴۱±۰/۲۴ <sup>a</sup>	۴/۶۳±۰/۵۳ <sup>a</sup>	۴/۷۹±۰/۵۴ <sup>a</sup>	۵/۱۹±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۴/۴۱±۰/۴۴ <sup>a</sup>
C <sub>18:1</sub>	۲۳/۳۴±۴/۰۶ <sup>a</sup>	۲۵/۱۶±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۲۵/۳۰±۰/۳۲ <sup>a</sup>	۲۶/۳۷±۱/۸۹ <sup>a</sup>	۲۴/۵۹±۰/۲۱ <sup>a</sup>	۲۶/۳۱±۰/۹۴ <sup>a</sup>	۲۷/۵۵±۲/۶۹ <sup>a</sup>	۲۵/۹۶±۱/۵۹ <sup>a</sup>



تأثیر شیوه استخراج بر میزان چربی ... وفائی و همکاران

27/26±0/48 <sup>a</sup>	29/71±2/92 <sup>a</sup>	28/58±0/56 <sup>a</sup>	26/97±0/13 <sup>a</sup>	27/85±0/47 <sup>a</sup>	27/30±0/26 <sup>a</sup>	27/45±0/58 <sup>a</sup>	25/54±3/74 <sup>a</sup>	C <sub>18:2</sub>
2/99±0/22 <sup>a</sup>	3/29±0/03 <sup>a</sup>	3/16±0/26 <sup>a</sup>	3/13±0/09 <sup>a</sup>	3/25±0/002 <sup>a</sup>	3/10±0/02 <sup>a</sup>	3/19±0/002 <sup>a</sup>	2/85±0/65 <sup>a</sup>	C <sub>18:3</sub>
0/16±0/07 <sup>a</sup>	0/18±0/01 <sup>a</sup>	0/23±0/02 <sup>a</sup>	0/19±0/03 <sup>a</sup>	0/32±0/21 <sup>a</sup>	0/19±0/01 <sup>a</sup>	0/16±0/05 <sup>a</sup>	0/29±0/07 <sup>a</sup>	C <sub>20:0</sub>
0/72±0/06 <sup>ab</sup>	0/73±0/03 <sup>ab</sup>	0/82±0/003 <sup>a</sup>	0/73±0/03 <sup>ab</sup>	0/80±0/02 <sup>ab</sup>	0/76±0/005 <sup>ab</sup>	0/59±0/21 <sup>bc</sup>	0/41±0/11 <sup>c</sup>	C <sub>20:1</sub>
1/85±0/44 <sup>a</sup>	0/70±0/02 <sup>a</sup>	1/09±0/74 <sup>a</sup>	1/65±1/23 <sup>a</sup>	1/62±1/009 <sup>a</sup>	1/05±0/08 <sup>a</sup>	1/03±0/10 <sup>a</sup>	0/64±0/09 <sup>a</sup>	C <sub>20:2</sub>
0/68±0/02 <sup>b</sup>	0/81±0/002 <sup>ab</sup>	0/76±0/03 <sup>ab</sup>	0/86±0/005 <sup>a</sup>	0/80±0/004 <sup>ab</sup>	0/76±0/12 <sup>ab</sup>	0/83±0/05 <sup>a</sup>	0/84±0/04 <sup>a</sup>	C <sub>20:3</sub>
0/42±0/06 <sup>c</sup>	0/57±0/06 <sup>ab</sup>	0/48±0/07 <sup>bc</sup>	0/64±0/06 <sup>a</sup>	0/43±0/001 <sup>c</sup>	0/61±0/04 <sup>ab</sup>	0/67±0/04 <sup>a</sup>	0/61±0/07 <sup>ab</sup>	C <sub>20:4</sub>
0/38±0/11 <sup>a</sup>	0/30±0/03 <sup>a</sup>	0/25±0/06 <sup>a</sup>	0/28±0/007 <sup>a</sup>	0/46±0/26 <sup>a</sup>	0/26±0/02 <sup>a</sup>	0/24±0/07 <sup>a</sup>	0/32±0/03 <sup>a</sup>	C <sub>20:5</sub>
0/11±0/04 <sup>a</sup>	0/07±0/004 <sup>a</sup>	0/07±0/0004 <sup>a</sup>	0/16±0/08 <sup>a</sup>	0/07±0/01 <sup>a</sup>	0/10±0/02 <sup>a</sup>	0/14±0/06 <sup>a</sup>	0/07±0/009 <sup>a</sup>	C <sub>22:0</sub>
0/59±0/20 <sup>a</sup>	0/81±0/03 <sup>a</sup>	0/64±0/25 <sup>a</sup>	0/88±0/10 <sup>a</sup>	0/69±0/01 <sup>a</sup>	0/87±0/002 <sup>a</sup>	0/94±0/05 <sup>a</sup>	0/62±0/37 <sup>a</sup>	C <sub>22:1</sub>
2/65±1/97 <sup>b</sup>	3/05±1/62 <sup>ab</sup>	3/27±0/99 <sup>ab</sup>	5/04±1/20 <sup>ab</sup>	3/79±0/21 <sup>ab</sup>	4/89±0/09 <sup>ab</sup>	5/54±0/10 <sup>a</sup>	4/28±0/34 <sup>ab</sup>	C <sub>22:6</sub>

اعداد بر حسب گرم در صد گرم چربی بیان شد. وجود حروف لاتین متفاوت در ردیف‌ها بیانگر وجود اختلاف معنادار در سطح اطمینان 95 درصد است. a>b

جدول ۲ تأثیر روش‌های مختلف استخراج چربی بر میزان مجموع و نسبت ترکیب اسیدهای چرب ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

نوع اسید چرب	رز گائیل	فولج	بلای و دایر	اسمدز	بلای و دایر با حلال دی‌کلرومتان	سوکسله با سوکسله تر نمونه خشک	سوکسله با سوکسله با نمونه خشک	سوکسله با حلال ان هگزان
ΣSFA	25/92±2/87 <sup>a</sup>	22/98±0/49 <sup>a</sup>	23/35±0/68 <sup>a</sup>	22/69±0/22 <sup>a</sup>	23/59±0/63 <sup>a</sup>	24/23±0/63 <sup>a</sup>	22/17±2/94 <sup>a</sup>	23/76±1/89 <sup>a</sup>
ΣMUFA	28/91±3/66 <sup>a</sup>	30/70±0/03 <sup>a</sup>	30/97±0/24 <sup>a</sup>	31/97±1/76 <sup>a</sup>	30/19±0/25 <sup>a</sup>	31/91±0/64 <sup>a</sup>	32/87±2/04 <sup>a</sup>	31/44±1/47 <sup>a</sup>
ΣPUFA	35/11±4/69 <sup>a</sup>	38/97±0/55 <sup>a</sup>	38/006±0/08 <sup>a</sup>	38/22±0/59 <sup>a</sup>	38/59±0/27 <sup>a</sup>	37/61±0/05 <sup>a</sup>	38/47±1/19 <sup>a</sup>	37/27±1/42 <sup>a</sup>
SFA/PUFA	1/37±0/33 <sup>a</sup>	1/69±0/06 <sup>a</sup>	1/61±0/05 <sup>a</sup>	1/68±0/04 <sup>a</sup>	1/63±0/05 <sup>a</sup>	1/55±0/03 <sup>a</sup>	1/75±0/28 <sup>a</sup>	1/53±0/18 <sup>a</sup>
Σn-3	7/46±0/96 <sup>a</sup>	8/97±0/02 <sup>a</sup>	8/26±0/08 <sup>a</sup>	7/51±0/05 <sup>a</sup>	8/45±1/29 <sup>a</sup>	6/69±1/32 <sup>a</sup>	6/65±1/63 <sup>a</sup>	6/04±2/30 <sup>a</sup>
Σn-6	27/64±3/72 <sup>a</sup>	29/99±0/57 <sup>a</sup>	29/74±0/17 <sup>a</sup>	30/70±0/53 <sup>a</sup>	30/13±1/02 <sup>a</sup>	30/92±1/27 <sup>a</sup>	31/81±2/83 <sup>a</sup>	30/23±0/88 <sup>a</sup>
n-3/n-6	0/27±0/001 <sup>a</sup>	0/29±0/006 <sup>a</sup>	0/27±0/004 <sup>a</sup>	0/24±0/002 <sup>a</sup>	0/28±0/005 <sup>a</sup>	0/21±0/005 <sup>a</sup>	0/21±0/007 <sup>a</sup>	0/20±0/008 <sup>a</sup>
PI	0/24±0/005 <sup>a</sup>	0/34±0/009 <sup>a</sup>	0/30±0/005 <sup>a</sup>	0/26±0/002 <sup>a</sup>	0/31±0/007 <sup>a</sup>	0/20±0/005 <sup>a</sup>	0/21±0/007 <sup>a</sup>	0/18±0/13 <sup>a</sup>

اعداد بر حسب گرم در صد گرم چربی بیان شد. وجود حروف لاتین متفاوت در ردیف‌ها بیانگر وجود اختلاف معنادار در سطح اطمینان 95 درصد است. a>b

نتیجه‌گیری کلی

سوکسله با نمونه خشک و بلای و دایر با حلال دی‌کلرومتان موجب استحصال چربی با بازدهی بالا گردید. اگرچه استخراج چربی با سوکسله ساده و کارآمد بود، اما زمان زیاد

با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر، استفاده از روش‌های بلای و دایر، فولج، سوکسله با حلال ان‌هگزان،

total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37: 911-917.

**Cabrini, L., Landi, L., Stefanelli, C., Barzanti, V., and Maria, S.A. 1992.** Extraction of lipids and lipophilic antioxidants from fish tissues: A comparison among different methods. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 101: 383-386.

**Čertík, M., Andráši, P., and Šajbidor, J. 1996.** Effect of extraction methods on lipid yield and fatty acid composition of lipid classes containing  $\gamma$ -linolenic acid extracted from fungi. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73: 357-365.

**Chávez-Mendoza, C., García-Macias, J.A., Alarcón-Rojo, A.D., Ortega-Gutiérrez, J.Á., Holguín-Licón, C., and Corral-Flores, G. 2014.** Comparison of fatty acid content of fresh and frozen fillets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Walbaum. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57: 103-109.

**Deepika, D., Vegneshwaran, V., Julia, P., Sukhinder, K., Sheila, T., Heather, M., and Wade, M. 2014.** Investigation on Oil Extraction Methods and its Influence on Omega-3 Content from Cultured Salmon. *Journal of Food Processing and Technology*, 5(12):1-13.

**Ewald, G., Bremle, G., and Karlsson, A. 1998.** Differences between Bligh and Dyer and Soxhlet extractions of PCBs and lipids from fat and lean fish muscle: Implications for data evaluation. *Marine Pollution Bulletin*, 36: 222-230.

**FAO. 2012.** The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO, Rome. 230p

**Ch, J., Lees, M., and Sloane-Stanley, G. 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226:497-509.

**Grøgaard, H. C. 2011.** Extraction and Analysis of Marine Lipids with Emphasis on Phospholipids-Evaluation and Improvement of Methods. *Norwegian University of Science and Technology Department of Biotechnology*, 182p.

**Gudbjarnason, S., Benediksdottir, V., and Gudmundsdottir, E. 1991.** Balance between omega 3 and omega 6 fatty acids in heart muscle in relation to diet, stress and ageing. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 292-305.

خشک کردن نمونه و استخراج چربی از مهم‌ترین معایب آن محسوب می‌شود. در این روش میزان حلال لازم برای هر نمونه بالا است، بنابراین بار مالی بالاتری دربر خواهد داشت. استفاده کم از حلال در روش بلای و دایر نسبت به این روش و روش فولچ از نکات قابل توجه است. کلروفورم در دسته مواد شیمیایی سمی طبقه‌بندی شده است. نتایج تحقیق نشان داد ترکیب اسیدهای چرب در روش بلای و دایر اختلاف معناداری با روش اسمدز و بلای و دایر با حلال دی‌کلرومتان نداشت. به همین دلیل استفاده از دی‌کلرومتان به جای کلروفورم در روش بلای و دایر پیشنهاد می‌شود. در روش اسمدز چربی استخراج شده در بالاترین فاز قرار گرفته و جداسازی آن ساده‌تر است و از سوی دیگر نیازی به حلال‌پرانی ندارد. در روش فولچ تمامی چربی‌های قطبی و غیرقطبی استخراج می‌شوند، این روش نسبت به روش بلای و دایر از دقت بالاتری برخوردار است، اما از نظر میزان حلال مورد استفاده و در نتیجه بالا رفتن هزینه دارای محدودیت می‌باشد. با توجه به سیاست‌ها و رویکردهای متفاوت (ایمنی، سهولت، کمیت و کیفیت چربی و زمان استحصال) بازدهی استحصال چربی متفاوت خواهد بود. نتایج این تحقیق در انتخاب روش استحصال راهگشا خواهد بود.

#### منابع

**Alavi Yeganeh, M.S. Abedian, A.m. and Rezaei, M. 2007.** Effect of gammarus powder as a supplementary diet on growth and survival of rainbow trout larvae (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Pajouhesh and Sazandegi*, 77:113-123. (Abstract in English).

**AOAC. 2005.** Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical International. 18th Ed. Arlington, USA: AOAC International.

**Axelsson, M., and Gentili, F. 2014.** A single-step method for rapid extraction of total lipids from green microalgae. *Plos one*, 9(2): 1-6.

**Bligh, E.G., and Dyer, W.J. 1959.** A rapid method of

increase lipid yields. *Arquipélago. Life and Marine Science*, 31: 9-14.

**Manirakiza, P., Covaci, A., and Schepens, P. 2001.** Comparative study on total lipid determination using Soxhlet, Roesse-Gottlieb, Bligh and Dyer, and modified Bligh and Dyer extraction methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14: 93-100.

**Melton, S.L., Jafar, S., Sykes, D., and Trigiano, M.K. 1994.** Review of stability measurements of frying oils and fried food flavor. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71:1301-1308.

**Naseri, M. 2011.** Effect of different heating treatments and kind of filling media on lipid changes in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) canning. (Doctoral dissertation), Tarbiat Modares University, 144 p. (Abstract in English).

**Naseri, M., Rezaei, M., Moradi, Y. and Afshar Naderi, A. 2014.** Effect of different heating treatments during canning, on the amounts of some mineral elements (iron, zinc, copper, calcium and sodium) of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Journal of Aquatic Production and Utilization*, 1: 35-54. (Abstract in English).

**Norziah, M. H., Nuraini, J., and Lee, K. Y. 2009.** Studies on the extraction and characterization of fish oil from wastes of seafood processing industry, *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2(04): 959-973.

**Oraei, M., Motalebi, A. A., Hoseini, E., Javan, S., and Hemmasi, A. H. 2011.** Effect of gamma irradiation on fatty acid composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) filets. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10: 276-285.

**Pérez-Palacios, T., Ruiz, J., Martín, D., Muriel, E., and Antequera, T. 2008.** Comparison of different methods for total lipid quantification in meat and meat products. *Food Chemistry*, 110: 1025-1029.

**Ramalhos, M. J., Paíga, P., Morais, S., Alves, M. R., Delerue-Matos, C., and Oliveira, M. B. P. P. 2012.** Lipid content of frozen fish: Comparison of different extraction methods and variability during freezing storage. *Food Chemistry*, 131:328-336.

**Sánchez-Muniz, F. 1987.** Prevención con dieta para una vida longeva. Relevancia del consumo de pescado. *Rev Clin Esp*, 180:43-47.

**Smedley, F. 1999.** Determination of total lipid using non-chlorinated solvents. *Analyst*, 124: 1711-1718.

**Gunnlaugsdottir, H., and Ackman, R.G. 1993.** Three extraction methods for determination of lipids in fish meal: Evaluation of a hexane/isopropanol method as an alternative to chloroform-based methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61:235-240.

**Habibi, M., Golmakani, M.T., Farahnaky, A., Mesbahi, G., and Majzoubi, M. 2016.** NaOH-free debittering of table olives using power ultrasound. *Food Chemistry*, 192:775-781.

**Haliloğlu, H. İ., Bayır, A., Sirkecioğlu, A. N., Aras, N. M., and Atamanalp, M. 2004.** Comparison of fatty acid composition in some tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) living in seawater and freshwater. *Food Chemistry*, 86:55-59.

**Hara, A., and Radin, N.S. 1978.** Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical biochemistry*, 90: 420-426.

**Harlioglu, A.G. 2012.** Fatty acid composition, fat soluble, vitamins and cholesterol content of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pakistan Journal of Zoology*, 44: 1013-1019.

**Ghorbanzadeh, R., and Nazari, S. 2013.** Fisheries statistical yearbook of Iran 2002-2012. Tehran, Iran.

**Gunnlaugsdottir, H., and Ackman, R. G. 1993.** Three Extraction Methods for Determination of Lipids in Fishmeal: Evaluation of a Hexane/Isopropanol Method as an Alternative to Chloroform-Based Methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61(2): 235-240.

**Karl, H., Oehlenschläger, J., Bekaert, K., Beugnot, J.-P., Cadun, A., Duflos, G., Poli, B.M., Tejada, M., Testi, S., and Timm-Heinrich, M. 2012.** WEFTA interlaboratory comparison on total lipid determination in fishery products using the saponification method. *Journal of AOAC International*, 95: 489-493.

**Lin, J.-H., Liu, L.-Y., Yang, M.-H., and Lee, M.-H. 2004.** Ethyl acetate/ethyl alcohol mixtures as an alternative to chloroform reagent for extracting animal lipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:4984-4986.

**Lino, S.P., Solé, B., Matos, V., Pereira, R., Xavier, J., Santos, R.S., and Colaço, A. 2013.** Lipid extractions from marine deep-sea invertebrates: modifications to the Bligh and Dyer method to

**Xiao, L., Mjøs, S.A., and Haugsgjerd, B.O. 2012.** Efficiencies of three common lipid extraction methods evaluated by calculating mass balances of the fatty acids. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25:198-207.

**Steffens, W. 1997.** Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture*, 151: 97-119.

**Woyewoda, A. D., Shaw, S. J., Ke, P. J., and Burns, B. G. 1986.** Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality, Fisheries and Oceans, Canada, 143p.

---

## Extraction Method Effect on Fat Content and Fatty Acid Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Maryam vafaei,<sup>1</sup> Mahmood Naseri,<sup>2\*</sup> Sara Vafa<sup>3</sup>

1- M.Sc. Student, Department of Natural Resources and Environment Engineering, Shiraz University, Shiraz, Iran.

2- Assistant professor, Department of Natural Resources and Environment Engineering, Shiraz University, Shiraz, Iran.

3- M.Sc. Student, Department of Natural Resources and Environment Engineering, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Received: 04.07.2016 Accepted: 06.02.2017

\*Corresponding author: mnaseri@shirazu.ac.ir

---

### Abstract:

The effect of different lipid extraction methods (including, Bligh & Dyer, Smets, Bligh & Dyer using Dichloromethane, Folch, Roesse Gottlieb, Soxhlet used petroleum ether – dry and wet- and Soxhlet used N-hexane) on total fat and fatty acid composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) was investigated. According to the results, the Bligh & Dyer method showed a higher fat extraction efficiency than Soxhlet (wet), Smets and Roesse Gottlieb, while no significant difference was observed with the other methods. No significant differences were found in total SFA, total MUFA, and total PUFA of different extraction methods. The omega-3/omega-6 ratio ranged between 0.20-0.29. The highest amount of polyene index (PI) was 0.34, but no significant differences were found between different extraction methods. Taking fat quality and quantity, finance, toxicity, and the ease of operation, the most efficient method for rainbow trout lipid extraction was the “optimized Bligh & Dyer using Dichloromethane”.

**Keywords:** Total fat, Fatty acid composition, Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Different extraction methods