



Influence of Different Extraction Methods on Chemical Components of Oil Obtained from By-products of Tuna Canning Factories

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Taati Keley M.M.¹ PhD,
Shabanpour B.* PhD,
Ojagh S.M.¹ PhD

How to cite this article

Taati Keley M M, Shabanpour B, Ojagh S M. Influence of Different Extraction Methods on Chemical Components of Oil Obtained from By-products of Tuna Canning Factories. Journal of Fisheries Science and Technology. 2018;7(1):157-165.

*Seafood Products Processing Department, Fisheries & Natural Resources Faculty, Gorgan University of Agriculture Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran

¹Seafood Products Processing Department, Fisheries & Natural Resources Faculty, Gorgan University of Agriculture Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran

Correspondence

Address: Gorgan University of Agriculture Sciences & Natural Resources, Basij Square, Gorgan, Golestan Province, Iran. Postal Code: 4913815739

Phone: +98 (17) 32427040

Fax: +98 (17) 32424155
bshabanpour@yahoo.com

Article History

Received: January 21, 2017

Accepted: August 11, 2017

ePublished: March 20, 2018

ABSTRACT

Aims The first step in the purification of omega-3 is to extract oil. The aim of this study was to evaluate the effects of Wet Pressing (WP), Cold Extraction (CE), and Enzyme Extraction (EE) methods on tuna by-products oil and their moisture as well as chemical parameters.

Materials & Methods The methods used in this experimental study to extract oil from primary raw materials were WP, CE, and EE and the efficiency rate of the methods was calculated. Regarding the qualitative evaluation, moisture content, volatile compounds, neutralized lipid levels, fatty acid profiles, acidity rates, and also levels of mercury, arsenic, cadmium, and lead were measured. Data analysis was performed by SPSS 22, using one way ANOVA and Duncan test.

Findings The amount of oil extracted by EE method was significantly higher than the other two methods ($p < 0.05$). The amount of oil moisture did not have a significant difference in 3 methods ($p > 0.05$). Cholesterol levels in the samples of oils obtained from these methods were not significantly different. Free fatty acid profile in these treatments did not show significant difference. Acidity value in EE group was significantly higher than 2 other treatments. Also, the amount of toxic metals like Hg and As in oils obtained by EE method was significantly higher than that of WP and CE treatments. On the other hand, Pb level did not have a significant difference in the experimental groups.

Conclusion Due to the quality of the obtained oil and the fact that EE method does not harm the environment, it can be a good method to extract fish oil.

Keywords Tuna By-products; Volatile Component; Extraction Methods

CITATION LINKS

[1] Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates ... [2] A rapid method of total lipid extraction and ... [3] Methods of extraction composition and stability of vitamin A and other components in dogfish (*Squalus acanthias*) ... [4] A quantitative lipid extraction method for residue analysis of fish ... [5] Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products ... [6] Extraction of fish oil using green extraction methods ... [7] Mackerel (*Scomber scombrus*) oil extraction and evaluation ... [8] Separation and quality of fish oil from precooked ... [9] Chemical composition and theoretical nutritional evaluation ... [10] Proteolytic extraction of salmon oil and PUFA concentration by ... [11] Identification of by-catch species of tuna purse seiners in Iranian ... [12] Fish processing by-products as a potential source of gelatin ... [13] Optimum conditions for protein extraction from tuna processing by-products using ... [14] Proximate and Elemental composition of important fish species in makkah ... [15] Determination of heavy metal accumulation in fish species in Galas ... [16] Analysis of lipids extracted from salmon (*Salmo salar*) heads by commercial ... [17] Effects of Oil extraction methods on physical and chemical properties of red salmon ... [18] Fish oil acidity reduction by enzymatic ... [19] Lipid profiles of oil from trout (*Oncorhynchus mykiss*) heads, spines and viscera ... [20] Exhaled alkanes as indices of in Vivo lipid ... [21] Optimization of the supercritical extraction of toxic elements in ... [22] Changes in Biochemical, sensory and microbiological quality indices of common sole (*Solea solea*) from the Mediterranean ... [23] Isolation of off-flavors and odors from tuna fish oil using supercritical carbon ... [24] Chemical and olfactometric characterization of volatile flavor compounds in a fish oil ... [25] Solubility in supercritical carbon ... [26] Optimization of supercritical CO₂ extraction of fish oil from viscera of African catfish ... [27] Supercritical fluid extraction of the omega-3 rich oil contained in hake ... [28] The effects of different extraction methods on composition and storage stability of sturgeon ...

تاثیر روش‌های گوناگون استخراج بر ترکیبات شیمیایی روغن به‌دست‌آمده از ضایعات کارخانجات کنسرو تن ماهیان

محمد مهدی طاعتی‌کلی PhD

گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

بهاره شعبان‌پور PhD

گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

سیدمهدی اجاق PhD

گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

چکیده

اهداف: گام اول در خالص‌سازی امگا ۳، استحصال روغن است. هدف مطالعه حاضر ارزیابی اثر روش پرس مرطوب (WP)، استخراج سرد (CE) و استخراج آنزیمی (EE) بر میزان روغن استحصالی از ضایعات تن ماهیان و نیز میزان رطوبت و پارامترهای شیمیایی آنها بود.

مواد و روش‌ها: روش‌های استفاده‌شده در مطالعه تجربی حاضر برای استحصال روغن از مواد خام اولیه، پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی بودند که نرخ بازدهی روش‌ها محاسبه شد. در راستای ارزیابی کیفی نیز مواردی چون میزان رطوبت، ترکیبات فرار، سطوح لیپیدهای خنثی، پروفایل اسیدهای چرب، نرخ اسیدیته و نیز سطوح فلزات جیوه، آرسنیک، کادمیوم و سرب سنجیده شدند. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 22 و توسط آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن انجام شد.

یافته‌ها: میزان روغن استحصالی توسط روش EE به طور معنی‌داری بالاتر از دو روش دیگر بود ($P < 0.05$). میزان رطوبت روغن‌ها اختلاف معنی‌داری را در سه روش نشان نداد ($P > 0.05$). سطوح کلسترول در نمونه روغن‌های حاصل از روش‌های مورد بررسی فاقد اختلاف معنی‌دار بود. اسیدهای چرب اندازگیری‌شده در سه گروه آزمایشی اختلاف معنی‌داری را در تیمارهای آزمایشی نشان نداد. نرخ اسیدیته در تیمار EE به‌طور معنی‌داری بالاتر از دو تیمار دیگر بود. همچنین میزان فلزات سمی جیوه و آرسنیک در روغن‌های استحصالی با روش EE به‌طور معنی‌داری بیش از تیمارهای WP و CE بود. از سوی دیگر، سطوح سرب در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

نتیجه‌گیری: می‌توان روش EE را به‌علت کیفیت روغن حاصله و عدم آسیب‌رسانی به محیط زیست، روشی مناسب برای استحصال روغن ماهی دانست.

کلیدواژه‌ها: ضایعات تن ماهیان، ترکیبات فرار، DHA، جیوه، روش‌های استخراج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۲۰

*نویسنده مسئول: bshabanpour@yahoo.com

مقدمه

اسیدهای چرب امگا ۳ جزو اسیدهای چرب غیراشباع (PUFA) دارای زنجیره کربنی مستقیم (۱۸ تا ۲۲ کربنه) منتهی به گروه کربوکسیلیک بوده و دارای ۳ پیوند دوگانه هستند. منبع اصلی تامین اسیدهای چرب ضروری (اسیدهای چربی که در بدن سنتز نمی‌شوند) امگا ۳ به‌ویژه ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) و عمدتاً منابع دریایی خصوصاً ماهیان هستند. اهمیت استفاده از امگا ۳ به‌ویژه در مطالعاتی که از سال ۲۰۰۰ به بعد انجام شده‌اند، مورد تاکید و توجه قرار گرفته است [1].

گام اول در خالص‌سازی امگا ۳، استحصال روغن است. تاکنون روش‌ها و شیوه‌های گوناگونی چون بلای و دایر [2]، استخراج با حلال ایزوپروپیل الکل [3]، استخراج با سوکسله [4]، استخراج با

دی‌اکسیدکربن فوق بحرانی [5] و غیره به‌منظور روغن‌کشی از بافت‌های مختلف ماهیان آزموده شده است. اما با توجه به استفاده مستقیم از مواد شیمیایی در برخی از روش‌ها، وجود حرارت بالا و امکان القای اکسیداسیون در بعضی دیگر و هزینه بالای برخی روش‌ها، امروزه روش‌های دیگری نیز مورد توجه قرار گرفته‌اند که تولید و کیفیت را توأمان مورد توجه قرار داده و از خطر آسیب‌رسانی به محیط زیست نیز مبرا هستند.

به‌طور کلی، فرآیندهای صنعتی به‌منظور تولید روغن ماهی شامل دو مرحله استخراج و تصفیه روغن هستند. برخی از روش‌های جدید برای استحصال مقادیر بالاتر امگا ۳ به‌منظور استفاده در صنایع دارویی و غذایی، شامل روش‌هایی هستند که در آنها از درجه حرارت‌های بالا استفاده نمی‌شود. از جمله این روش‌ها می‌توان به استخراج سرد (CE)، استخراج آنزیمی (EE) و استخراج با سیال فوق بحرانی اشاره کرد [1].

روشی که امروزه در جهان در مقیاس صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد، پرس مرطوب (WP) [6] است که مبتنی بر پخت، پرس مکانیکی مرطوب و در نهایت فیلتراسیون و سانتریفیوژ کردن به‌منظور بازیابی روغن از بافت است [7]. با کمک این روش می‌توان از انواع ماهیان کم‌مصرف و نیز ضایعات مختلف کارخانه‌های کنسروسازی یا تولید فیله ماهی برای تولید روغن بهره جست [8]. این روش با توجه به متداول بودن در جهان، به‌طور غالب در مطالعات مرتبط با استخراج روغن نیز به‌عنوان یک بیماری در نظر گرفته می‌شود.

در سال‌های اخیر مطالعات گوناگونی به‌منظور بررسی روش‌های دیگر برای جایگزینی پرس مرطوب صورت پذیرفته است که از جمله آنها می‌توان به استخراج آنزیمی (استخراج پروتئولیتیک) اشاره نمود. استفاده از آنزیم برای استخراج روغن از بافت ماهیان می‌تواند نسبت به پرس مرطوب، روشی ساده‌تر و ارزان‌تر باشد که نیازمند هزینه و انرژی کمتری است. همچنین این روش به‌علت عدم استفاده از انواع حلال‌های شیمیایی و درجه حرارت بالا به لحاظ محیط زیستی بسیار مورد توجه است [9]. آنزیم‌های پروتئولیتیک، پروتئین موجود در بافت ماهی را هضم نموده و سبب آزاد شدن گلبول‌های چربی متصل به آنها و سیالیت روغن می‌شوند [10].

استخراج سرد نیز یکی از روش‌های استخراج روغن ماهی به حساب می‌آید که تنها جنبه مطالعاتی داشته و فاقد قابلیت تعمیم به مقیاس صنعتی است. در این روش، استحصال تنها با کمک هموژن و سپس پرس‌نمودن انجام می‌شود [5]. بازدهی این روش پایین بوده و بیشتر به‌عنوان روشی مقایسه‌ای با پرس مرطوب به‌منظور مشاهده و مطالعه تاثیر درجه حرارت بر میزان روغن استحصالی و پارامترهای شیمیایی و فیزیکی محصول به‌دست‌آمده مورد استفاده قرار می‌گیرد.

از سوی دیگر، امروزه تهیه روغن ماهی عمدتاً از ضایعات کارخانجات کنسروسازی در جهان صورت می‌پذیرد [1]. بنابراین در این میان، تن ماهیان نقش بسزایی را ایفا می‌نمایند. تن ماهیان (Scombridae) یکی از بارزترین ماهیان صنعتی در جهان محسوب می‌شوند که رقم قابل توجهی از صید سالانه جهان را به خود اختصاص می‌دهند. در ایران نیز سالانه بیش از ۲۳۵ هزار تن از تن ماهیان صید می‌شود، که این میزان بیش از ۵۰٪ صید حاصل از آب‌های جنوبی کشور را شامل می‌شود [11]. بیش از ۷۰٪ ماهیان صیدشده در جهان، عمل‌آوری می‌شوند که بیش از ۵۰٪ وزن آنها به ضایعات جامد و محصولات جانبی تبدیل می‌شود [12]. در ایران نیز

مسطقی (*Euthynnus pelamis*) و تن زردباله (*Thunnus albacares*) بودند که برای کاهش‌دادن متغیرها و تفاوت‌های ناشی از محل صید، فصل صید و فرآیند عمل‌آوری، ضایعات مورد نظر از یک واحد تولیدی (کارخانه ساحل صید کنارک واقع در چابهار) تهیه شدند. مواد اولیه پس از بسته‌بندی با نسبت‌های مساوی (۱:۱:۱) و ثابت از سه گونه، منجمد شده و پس از انجماد به‌همراه یخ به محل انجام آزمایش حمل شدند و تا شروع آزمایش در فریزر 20°C - قرار گرفتند.

آنالیز ترکیبات مغذی مواد خام اولیه: مواد خام اولیه (با نسبت‌های مساوی و ثابت از سه گونه) هموژن شده و ترکیبات مغذی آنها شامل میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر طبق روش‌های استاندارد انجمن رسمی شیمی‌دانان کشاورزی اندازه‌گیری شد^[14]. برای اندازه‌گیری رطوبت از آون، برای اندازه‌گیری پروتئین از دستگاه کلدال (جهان شیمی‌گستر اصفهان؛ ایران)، برای اندازه‌گیری میزان چربی از سوکسله (جهان شیمی‌گستر اصفهان؛ ایران) و برای اندازه‌گیری خاکستر از کوره الکتریکی استفاده شد.

اندازه‌گیری فلزات موجود در مواد خام اولیه: فلزات جیوه، آرسنیک، کادمیوم و سرب نیز در مواد خام اولیه پژوهش ارزیابی شدند. بدین منظور مطابق استانداردهای انجمن بهداشت عمومی آمریکا از کوره الکتریکی استفاده شد^[15].

استخراج روغن از مواد خام اولیه با روش‌های پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی: روغن موجود در مواد خام اولیه توسط روش‌های ذیل برای مقایسه بازدهی تولید و پس از آن آنالیز کیفی روغن، استخراج شد و تیماربندی براساس روش‌های استخراج صورت پذیرفت (جدول ۱):

(۱) پرس مرطوب
در این روش ۱۰۰۰ گرم از نمونه (با نسبت‌های مساوی و ثابت از سه گونه) با آسیاب برقی کاملاً خرد و به یک بشر ۲۰۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد. سپس ۵۰۰ میلی‌لیتر آب به آن افزوده شد و به‌مدت ۲ ساعت در بن‌ماری با درجه حرارت 80°C - 70°C قرار گرفت. پس از آن، نمونه به یک کیسه پارچه‌ای انتقال یافته و با فشار پرس مرطوب و با استفاده از آب‌میوه‌گیری دستی عصاره‌گیری شد. عصاره به‌دست‌آمده با قیف بوختر حاوی کاغذ صافی با مکش صاف شد. جداسازی فاز آبی از روغن با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت ۱۰ هزار دور در دقیقه و به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در حرارت 20°C صورت گرفت و حجم روغن در پایان بر حسب میلی‌لیتر ثبت شد^[3].

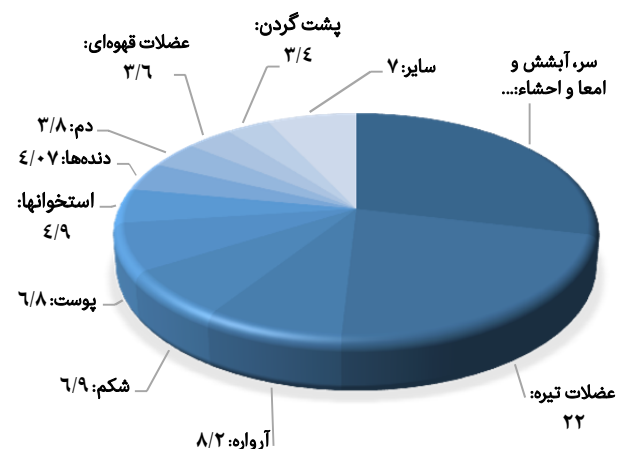
(۲) استخراج سرد
در این روش ۱۰۰۰ گرم نمونه با آسیاب برقی خرد و به میزان ۲۰۰۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه شد. سپس عمل سانتریفیوژ با سرعت ۱۰ هزار دور در دقیقه در درجه حرارت 20°C به‌مدت ۱۰ دقیقه صورت پذیرفت و پس از آن فاز روغنی جدا شد^[5].

(۳) استخراج آنزیمی

جدول ۱) تیمارهای آزمایشی استحصال روغن از محصولات جانبی تن‌ماهیان با سه روش پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی

تیمارها	شرح تیمارهای آزمایشی
۱	ترکیب مواد خام اولیه از سه گونه از تن‌ماهیان (هوور، هوور مسقطی و تن زردباله) + استخراج با روش پرس مرطوب
۲	ترکیب مواد خام اولیه از سه گونه از تن‌ماهیان (هوور، هوور مسقطی و تن زردباله) + استخراج با روش سرد
۳	ترکیب مواد خام اولیه از سه گونه از تن‌ماهیان (هوور، هوور مسقطی و تن زردباله) + استخراج با روش آنزیمی

باقی‌مانده مواد خام حاصل از کنسروسازی تن‌ماهیان حدود ۵۰٪ تا ۶۰٪ برآورد می‌شود که شامل بخش‌های جداشده از ماهی مانند سر، پوست، امعا و احشا، عضلات تیره و غیره هستند و به‌عنوان ضایعات در نظر گرفته می‌شوند^[13]. اجزای تشکیل‌دهنده ضایعات تن‌ماهیان و میزان فراوانی آنها در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱) میانگین توزیع اجزای مختلف در ضایعات تن‌ماهیان بر حسب درصد^[29]

شکل ۱) میانگین توزیع اجزای مختلف در ضایعات تن‌ماهیان بر حسب درصد^[۲۹]

میزان بالای ضایعات تن‌ماهیان در ایران و ارزش افزوده بالقوه آنها، فواید اسیده‌های چرب امگا ۳ برای سلامتی انسان و ضرورت انتخاب فرآیندهای بهینه تولید روغن ماهی برای رسیدن به محصولی با کیفیت بالا، نیاز به انجام پژوهش در این زمینه را آشکار می‌سازد.

از این رو انجام پژوهش حاضر با هدف استفاده بهینه از محصولات جانبی کارخانجات کنسرو تن‌ماهیان به‌منظور استحصال روغن ماهی از دو دیدگاه میزان کارایی فرآیندها در تولید و کیفیت‌سنجی دقیق محصولات به‌دست‌آمده (با تمرکز بر مصرف انسانی) مورد توجه قرار گرفت. روش‌های استفاده‌شده برای استحصال روغن از مواد خام اولیه، پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی بودند که نرخ بازدهی روش‌ها محاسبه شد. در راستای ارزیابی کیفی نیز مواردی چون میزان رطوبت، ترکیبات فرار (آلکان‌ها، آلدئیدها، اسیدها و آمین‌ها)، سطوح لیپیدهای خنثی (واکس استرها، تری‌اسیل گلیسریدها، اسیده‌های چرب آزاد و کلسترول)، پروفایل اسیده‌های چرب، نرخ اسیدیته و نیز سطوح فلزات جیوه (Hg)، آرسنیک (As)، کادمیوم (Cd) و سرب (Pb) سنجیده شدند. بنابراین هدف مطالعه حاضر، بررسی تاثیر روش‌های گوناگون استخراج بر ترکیبات شیمیایی روغن به‌دست‌آمده از ضایعات کارخانجات کنسرو تن‌ماهیان بود.

مواد و روش‌ها

در مطالعه تجربی حاضر، طرح کلی این آزمایش به‌صورت کاملاً تصادفی بود.

تهیه مواد خام آزمایش و پیش‌تیمار: مواد خام مورد استفاده در پژوهش، محصولات جانبی کارخانه‌های کنسروسازی شامل سر، پوست، امعا و احشا، ستون فقرات و عضلات تیره سه گونه از تن‌ماهیان پرمصرف یعنی هوور (*Thunnus tonggol*)، هوور

- اسیدهای چرب آزاد
- کلسترول

ترکیبات فوق توسط دستگاه High Pressure Liquid Chromatography مدل D-14163 (Wissenschaftliche Gerätebau؛ آلمان) آنالیز شدند.

جدول ۲) ترکیبات فرار اندازه گیری شده در روغن استحصالی از تن ماهیان با سه روش پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی

عنوان	نوع ترکیب
دکان	آلکان
۲- متیل دکان	آلکان
۳- متیل دکان	آلکان
آن دکان	آلکان
دودکان	آلکان
تری دکان	آلکان
پنتادکان	آلکان
سیکلو هگزادکان	آلکان
۱۴، ۱۰، ۶، ۲- تترامتیل- پنتادکان	آلکان
هپتانال واکسی	آلدهید
هگزانال	آلدهید
نونال	آلدهید
اسیداستیک	اسید
دی متیل آمین	آمین

تعیین پروفایل اسیدهای چرب: پروفایل اسیدهای چرب براساس روش استاندارد انجمن رسمی شیمی دانان کشاورزی و توسط دستگاه Gas Chromatography مدل 3800 (UNICAM؛ ایتالیا) تعیین شد.

تعیین نرخ اسیدیته: نرخ اسیدیته براساس روش های استاندارد مطرح شده در انجمن رسمی شیمی دانان کشاورزی سنجیده شد [18].
اندازه گیری میزان فلزات موجود در روغن: به منظور ارزیابی میزان باقی مانده فلزات در روغن استحصالی در سه روش گوناگون، میزان فلزات جیوه، آرسنیک، کادمیوم و سرب مطابق استانداردهای انجمن بهداشت عمومی آمریکا تعیین شد.

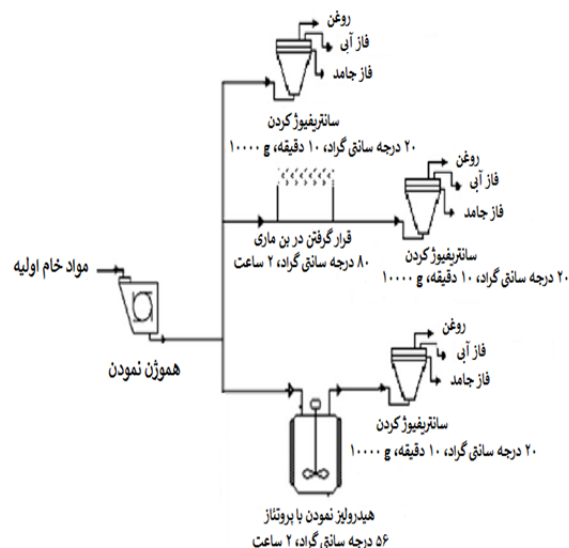
تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 22 صورت پذیرفت. برای تجزیه و تحلیل داده ها، ابتدا نرمال بودن داده ها توسط آزمون نرمالیت کولموگروف اسمیرنوف تعیین شد. برای مقایسه میانگین تیمارها نیز از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه ANOVA و برای جداسازی گروه های همگن، از آزمون های دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد.

یافته ها

نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات مغذی مواد خام اولیه: آنالیز ترکیبات مواد خام اولیه مورد آزمایش ارایه شده است (جدول ۳).

ردیف	پارامتر/واحد	انحراف معیار/میانگین
۱	رطوبت (درصد)	۵۹/۷۰±۲/۳۰
۲	پروتئین (درصد)	۲۰/۹۰±۱/۹۶
۳	چربی (درصد)	۶/۷۰±۰/۴۱
۴	خاکستر (درصد)	۳/۴۰±۱/۹۷
۵	جیوه (ppm)	۳۱/۸۰±۰/۴۰
۶	آرسنیک (ppm)	۱۲/۴۰±۷/۲۰
۷	کادمیوم (ppm)	۱/۹۴±۱/۳۰
۸	سرب (ppm)	۹/۱۰±۳/۳۱

میزان ۱۰۰۰ گرم نمونه آسیاب و آنزیم پروتئاز (آلکالاز) با درجه غذایی و با نسبت آنزیم به سوپسترای ۰/۰۵ به نمونه ها افزوده و در حرارت ۵۶°C به مدت ۱۲۰ دقیقه هیدرولیز شد. سپس عمل سانتریفیوژ با سرعت ۱۰ هزار دور در دقیقه در حرارت ۲۰°C به مدت ۱۰ دقیقه انجام و فاز آبی و روغنی جدا شد [16]. مراحل اجرایی به منظور استخراج روغن از مواد خام اولیه در شکل ۲ آورده شده است.



شکل ۲) مراحل استخراج روغن از ضایعات تن ماهیان با روش های پرس مرطوب، سرد و آنزیمی

نرخ بازدهی: پس از استحصال روغن در هر یک از سه روش یاد شده، نرخ بازدهی تولید براساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{نرخ بازدهی (\%)} = \frac{100 \times \text{میزان روغن استحصالی}}{\text{میزان مواد خام اولیه}}$$

آنالیز کیفی روغن های استحصالی: پس از استحصال روغن ماهی به روش های پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی، روغن هر یک از گروه ها کیفیت سنجی شده و عوامل رطوبت، ترکیبات لیپیدی خنثی، پروفایل ترکیبات فرار، پروفایل اسیدهای چرب، انواع فلزات، شاخص اسیدی، عدد پراکسید، عدد انیزیدین و شاخص اکسیداسیون کل مورد ارزیابی قرار گرفتند.

اندازه گیری رطوبت روغن: میزان رطوبت روغن براساس روش استاندارد اتحادیه بین المللی شیمی محض و کاربردی اندازه گیری شد [17]. در این روش، ۱۰ میلی لیتر از نمونه در آون با حرارت ۱۰۵°C به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و سپس براساس تفاضل وزن ایجاد شده، میزان رطوبت سنجیده شد.

سنجش میزان ترکیبات فرار: ترکیبات فرار از عوامل اصلی ایجاد بوی نامطبوع در روغن ماهی هستند. از این رو برای بررسی میزان تغییر سطوح آنها در روش های مختلف استخراج روغن و یافتن روش استخراج مناسب، ترکیبات فرار اندازه گیری شدند (جدول ۲):
کلیه موارد فوق با استفاده از دستگاه Gas Chromatography-Mass Spectrometry مدل CP-3800 (واریان؛ ایالات متحده) اندازه گیری شدند.

اندازه گیری میزان کل لیپیدهای خنثی: لیپیدهای خنثی اندازه گیری شده، موارد ذیل بودند:

- استرهای واکسی
- تری اسیل گلیسرولها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری لیپیدهای خنثی: سطوح استرهای واکسی، تری‌اسیل گلیسرول‌ها و اسیدهای چرب آزاد در روغن‌های استحصالی با روش‌های پرس مرطوب و استخراج آنزیمی به‌طور معنی‌داری بالاتر از روش استخراج سرد بود ($p < 0.05$; جدول ۵) از سوی دیگر، سطوح کلسترول اندازه‌گیری‌شده در تیمارهای مختلف فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند ($p > 0.05$).

جدول ۵ میزان لیپیدهای خنثی اندازه‌گیری‌شده در روغن استحصالی از ضایعات تن‌ماهیان با روش‌های پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی بر حسب درصد در روغن (انحراف معیار ± میانگین)

عنوان	استخراج آنزیمی	استخراج سرد	پرس مرطوب
استرهای واکسی	0.23 ± 0.14 a	0.17 ± 0.05 b	0.16 ± 0.19 a
تری‌اسیل گلیسرول‌ها	$5.26 \pm 9.4/18$ a	$8.4/5.7 \pm 0.26$ b	$3.1 \pm 9.3/0.6$ a
اسیدهای چرب آزاد	2.37 ± 4.68 a	1.49 ± 0.60 b	$0.9 \pm 3.4/3$ a
کلسترول	1.02 ± 2.84	3.08 ± 0.92	2.17 ± 2.46

حروف غیرمشترک بیانگر اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$)

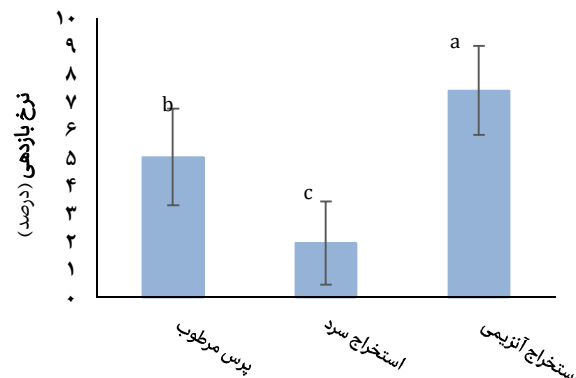
پروفاایل اسیدهای چرب در نمونه‌های روغن استحصالی: اختلاف معنی‌داری میان سطوح اسیدهای چرب از جمله مقادیر ایکوزاپنتانویک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید در سه گروه مشاهده نشد (جدول ۶: $p > 0.05$). بالاترین میزان ایکوزاپنتانویک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید در تیمار استخراج آنزیمی و کمترین آن در تیمار استخراج سرد ثبت شدند، اما این مقدار بالاتر بودن معنی‌دار نبود ($p > 0.05$).

جدول ۶ پروفاایل اسیدهای چرب در روغن استخراج شده از ضایعات کارخانه کنسرو تن‌ماهیان با روش‌های پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی

اسید چرب (%)	استخراج آنزیمی	استخراج سرد	پرس مرطوب
C12:0 (دودکانوئیک اسید)	0.05 ± 0.03	0.08 ± 0.04	0.07 ± 0.02
C14:0 (تترادکانوئیک اسید)	2.08 ± 1.33	4.16 ± 1.40	4.11 ± 1.06
C15:0 (پنتادکانوئیک اسید)	0.17 ± 0.13	0.69 ± 0.05	0.73 ± 0.20
C16:0 (پالمیتیک اسید)	16.20 ± 7.24	16.70 ± 6.19	15.83 ± 4.92
C16:1 (هگزادکانوئیک اسید)	6.53 ± 4.62	7.10 ± 4.83	6.28 ± 2.80
C17:0 (هپتادکانوئیک اسید)	1.80 ± 0.52	2.41 ± 0.85	1.67 ± 0.70
C18:0 (استئاریک اسید)	3.41 ± 2.06	3.87 ± 2.53	4.95 ± 1.17
C18:1 (اولئیک اسید)	16.35 ± 6.02	15.62 ± 5.40	16.56 ± 3.89
C18:2 (لینولئیک اسید)	2.14 ± 1.03	2.08 ± 0.90	1.35 ± 0.60
C18:3 n6 (گاما لینولئیک اسید)	1.58 ± 0.69	0.84 ± 0.49	1.03 ± 0.05
C18:3 n3 (آلفا لینولئیک اسید)	2.18 ± 0.96	2.17 ± 1.06	1.96 ± 0.80
C20:0 (آراشیدیک اسید)	0.83 ± 0.25	1.03 ± 0.92	0.18 ± 0.10
C20:1 (ایکوزنوئیک اسید)	0.17 ± 0.48	0.58 ± 0.31	0.42 ± 0.29
C20:4 n3 (ایکوزا تترا انوئیک اسید)	1.42 ± 0.53	1.53 ± 0.84	1.74 ± 0.60
C20:4 n6 (آراشیدونیک اسید)	1.78 ± 0.40	1.50 ± 0.84	1.90 ± 0.76
C20:5 n3 (EPA)	6.72 ± 2.94	5.83 ± 2.19	6.05 ± 2.19
C22:0 (دکازنوئیک اسید)	0.59 ± 0.47	0.53 ± 0.38	0.44 ± 0.30
C22:5 n3 (دکوزاپنتانوئیک اسید)	3.60 ± 2.81	1.76 ± 1.02	2.10 ± 1.09
C22:6 n3 (DHA)	2.26 ± 0.37	2.09 ± 0.48	2.12 ± 0.84

میزان فلزات سنگین در نمونه‌های روغن: اختلاف معنی‌داری میان سطوح جیوه و آرسنیک در هر سه روش پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی وجود داشت ($p < 0.05$; جدول ۷). میزان هر دو فلز سنگین یادشده در تیمار پرس مرطوب به‌صورت معنی‌داری بالاتر از تیمارهای استخراج سرد و استخراج آنزیمی و نیز در تیمار استخراج سرد به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار استخراج آنزیمی بود ($p < 0.05$). میزان کادمیوم نیز در تیمار پرس مرطوب به‌صورت معنی‌داری بالاتر از دو تیمار دیگر بود ($p < 0.05$). اما اختلاف معنی‌داری میان سطوح کادمیوم در تیمارهای استخراج

میزان نرخ بازدهی روغن: نرخ بازدهی روغن (تولید روغن از ضایعات) در روش استخراج آنزیمی به‌صورت معنی‌داری بالاتر از روش‌های پرس مرطوب و استخراج سرد بود ($p < 0.05$; نمودار ۱). همچنین استخراج روغن با روش سرد به‌صورت معنی‌داری کمتر از دو روش دیگر بود ($p < 0.05$).



نمودار ۱ نرخ بازدهی روغن حاصل از ضایعات کارخانه کنسرو تن‌ماهیان با سه روش پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی

نتایج حاصل از اندازه‌گیری رطوبت و بررسی آلکان‌ها: اختلاف معنی‌داری در میزان رطوبت موجود در روغن‌های استحصالی با سه روش وجود نداشت ($p < 0.05$; جدول ۴). همچنین دکان، آن‌دکان، دودکان، تری‌دکان، پنتادکان و $2,6,10,14$ تترا متیل پنتادکان در نمونه‌های استخراجی با هر سه روش پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی وجود داشته و ۳-متیل‌دکان در روغن‌های حاصل از ضایعات تن‌ماهیان با روش‌های یادشده مشاهده نشد. بنابراین مشابهت کامل در یافت‌شدن انواع آلکان‌ها در روغن‌های به‌دست‌آمده وجود داشت.

جدول ۴ رطوبت و آلکان‌های یافت‌شده در روغن به‌دست‌آمده از ضایعات کارخانه کنسرو تن‌ماهیان با روش‌های پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی

عنوان	استخراج آنزیمی	استخراج سرد	پرس مرطوب
رطوبت	0.90 ± 0.73	0.41 ± 0.16	0.79 ± 0.80
دکان	✓	✓	✓
۲-متیل‌دکان	✓	✓	-
۳-متیل‌دکان	-	-	-
آن‌دکان	✓	✓	✓
دودکان	✓	✓	✓
تری‌دکان	✓	✓	✓
پنتادکان	✓	✓	✓
سیکلو هگزادکان	✓	✓	-
۱۴,۱۰,۶,۲-تترامتیل-پنتادکان	✓	✓	✓

نتایج حاصل از سنجش آلدئیدها، اسیدها و آمین‌ها: در روغن‌های ماهی استحصالی با هر سه روش، هگزانال مشاهده شد. اما از سایر آلدئیدها، هگزانال واکسی تنها در تیمار پرس مرطوب یافت شد و نیز نونانول در ۲ تیمار پرس مرطوب و استخراج آنزیمی مشاهده شد. از سوی دیگر، دی‌متیل‌آمین (از آمین‌ها) در نمونه‌های روغن استحصالی با روش پرس مرطوب یافت شد و در دو تیمار استخراج سرد و استخراج آنزیمی یافت نشد. همچنین، اسیداستیک در هیچ‌یک از نمونه‌های استحصالی وجود نداشت.

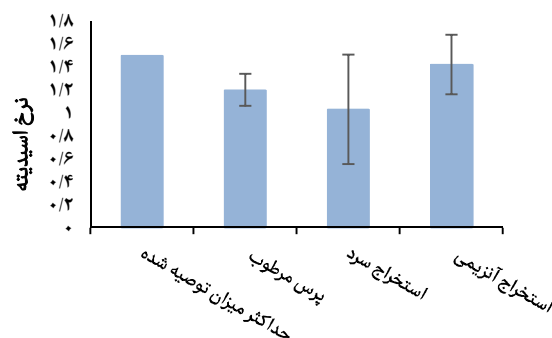
سرد و استخراج آنزیمی وجود نداشت ($p > 0.05$) و در هر دو تیمار در حد Tra سرد بود. میزان سرب اندازه گیری شده در روغن های استحصالی با سه روش پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی اختلاف معنی داری را نشان نداد ($p > 0.05$).

جدول ۷) میزان فلزات سنگین در روغن استحصالی از ضایعات تن ماهیان با سه روش پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی

عنوان	استخراج آنزیمی (ppm)	استخراج سرد (ppm)	پرس مرطوب (ppm)
جیوه	5.00 ± 1.61^c	8.00 ± 2.49^b	12.00 ± 4.63^a
آرسنیک	2.08 ± 0.70^b	2.14 ± 0.40^b	5.74 ± 3.70^a
کادمیوم	1.05 ± 0.84^b	1.43 ± 0.11^b	0.25 ± 0.09^a
سرب	1.05 ± 0.84^b	1.43 ± 0.11^b	2.12 ± 2.70^a

حروف غیرمشترک بیانگر اختلاف معنی دار است ($p < 0.05$)

نرخ اسیدیته: اختلاف معنی داری میان نرخ اسیدیته در روغن ماهیان استحصالی توسط روش استخراج آنزیمی با روش های پرس مرطوب و استخراج سرد مشاهده شد ($p < 0.05$; نمودار ۲). نرخ اسیدیته در تیمارهای پرس مرطوب و استخراج سرد به طور معنی داری پایین تر از نرخ اسیدیته در تیمار استخراج آنزیمی و نیز حداکثر میزان اسیدیته توصیه شده برای روغن ماهی بود ($p < 0.05$). از سوی دیگر، گروه استخراج آنزیمی اختلاف معنی داری با حداکثر میزان اسیدیته توصیه شده نداشت ($p > 0.05$). بالاترین نرخ اسیدیته در تیمار استخراج آنزیمی و کمترین آن در تیمار استخراج سرد ثبت شد. حداکثر نرخ اسیدیته توصیه شده برای روغن ماهی با کیفیت مطلوب ۱/۵ بود.



نمودار ۲) نرخ اسیدیته روغن استحصالی از ضایعات کارخانه کنسرو تن ماهیان با روش های پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی
حروف غیرمشترک بیانگر اختلاف معنی دار است ($p < 0.05$)

بحث

تولید روغن ماهی از دو دیدگاه مصرف انسانی و دامی حایز اهمیت است. حضور این ماده غذایی در خوراک دام و به ویژه آبزیان برای تامین بخشی از انرژی خوراک و نیز اسیدهای چرب ضروری مهم بوده و در حوزه مصرف انسانی نیز به منظور تامین اسیدهای چرب ضروری به ویژه ایکوزاپنتانویک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید مورد توجه است. از این رو، مبحث تولید روغن ماهی از دو محور میزان تولید و کیفیت محصول استحصالی مورد بررسی قرار گرفت.

نرخ بازدهی: نتایج حاصل از نرخ بازدهی روغن در روش های پرس مرطوب، استخراج سرد و استخراج آنزیمی نشان داد که میزان روغن استحصالی در روش استخراج آنزیمی بالاترین و در روش استخراج سرد کمترین بود. استخراج سرد ساده ترین روش برای استحصال روغن از بافت ماهیان است، زیرا در آن تنها فاز سانتریفیوژ پرس مرطوب عامل موثر در خروج روغن از توده مورد نظر است. اگرچه،

میزان روغن استحصالی بسیار ناچیز بوده و استخراج سرد روشی مناسب برای استحصال روغن در فازهای صنعتی به حساب نمی آید. این روش تنها قادر به استحصال روغن هایی می شود که در ضعیف ترین حالت خود به پروتئین های بافت ماهی متصل شده اند، بنابراین میزان بازدهی این روش پایین است [5].

در روش آنزیمی، ماتریکس پروتئینی موجود توسط عمل پروتئاز افزوده شده به توده ضایعات، هیدرولیز شده و در نتیجه روغن های متصل به شبکه های پروتئین رها و پس از سانتریفیوژ خالص سازی می شوند [9]. در روش پرس مرطوب نیز توده مورد نظر ابتدا در درجه حرارت بالا پخت و سپس با فشار پرس مرطوب استخراج می شود. وجود این دو پارامتر سبب خروج روغن بیشتری از توده پخت شده می شود. بنابراین وجود درجه حرارت و فشار بالاتر در روش پرس مرطوب را می توان عامل بیشتر بودن نرخ بازدهی آن نسبت به روش استخراج سرد دانست.

گرما سبب دناتوره شدن ماتریکس های پروتئینی بافت ماهی می شود که روغن به شدت با آنها باند شده است. به دنبال این فرآیند، مایعات و ذرات جامد می توانند با فشار پرس مرطوب خارج شوند. همچنین گرما سبب باز شدن گلبول ها و سلول های چربی و در نتیجه رها شدن روغن می شود که این امر می تواند افزایش بازدهی را موجب شود [8]. نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر نشان داد که هیدرولیز آنزیم پروتئاز نقشی موثر و کارآتر برای جداسازی گلبول های روغن از شبکه های پروتئینی ضایعات تن ماهیان نسبت به درجه حرارت بالا و سانتریفیوژ به تنهایی دارد، لذا نرخ بازدهی آن به طور معنی داری بالاتر از روش های پرس مرطوب و استخراج سرد بود.

نتایج حاصل از استخراج روغن از ضایعات آزاد ماهی با چهار روش پرس مرطوب، استخراج با سیال فوق بحرانی، استخراج آنزیمی و استخراج سرد نشان داد که بازده روش های استخراج با سیال فوق بحرانی (زمانی که میزان رطوبت ضایعات پیش از قرار گرفتن در مجاورت سیال فوق بحرانی به وسیله فریزر دایر به پایین تر از ۲۰٪ رسیده بود) و استخراج آنزیمی، بالاتر از دو روش دیگر بود. در این مطالعه اختلاف معنی داری میان روش های استخراج آنزیمی، پرس مرطوب و استخراج سرد وجود داشت.

رطوبت و آلکان ها: نتایج حاصل از اندازه گیری رطوبت در نمونه های روغن ماهی به دست آمده با روش های پرس مرطوب، استخراج آنزیمی و استخراج سرد اختلاف معنی داری را در روش های به کار برده شده نشان نداد که این امر را می توان به سانتریفیوژ انجام شده پس از استحصال روغن در هر دو روش نسبت داد. همین امر سبب جداسازی ناخالصی ها و فاز آبی از روغن می شود [19].

یکی از شاخص های سنجش کمی پراکسیداسیون لیپیدها که به ویژه با پراکسید شدن اسیدهای چرب چند غیراشباع تولید می شوند، آلکان ها هستند. آلکان ها حاصل شکست امگا ۶ و امگا ۳ (به ترتیب) در روغن هستند که می توانند به عنوان شاخصی ایده آل برای تشخیص پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته شوند [20].

درجه حرارت یکی از عوامل مهمی است که سبب افزایش یا کاهش تشکیل آلکان ها در پراکسیداسیون لیپیدی می شود. نتایج تحقیقات حاجب و همکاران نشان داد که میان تشکیل آلکان ها و درجه حرارت رابطه مستقیمی وجود دارد، بدین صورت که با افزایش درجه حرارت، میزان تشکیل آلکان های مختلف افزایش می یابد [21]. در پژوهش حاضر نیز در روش پرس مرطوب، به دلیل بالاتر بودن درجه حرارت در فرآیند استخراج، احتمالاً میزان ایجاد آلکان ها

این پژوهش، اکسیژن اتمسفری وجود داشته است و هیچ‌یک از فرآورده‌ها در شرایط خلاء صورت نپذیرفته‌اند، وجود اکسیژن در کلیه تیمارها را احتمالاً می‌توان به‌عنوان عامل فقدان اسیداستیک تعلیل نمود.

در سایر مطالعات، نتایج حاصل از شناسایی و ایزوله‌کردن ترکیبات فرار در روغن تن‌ماهیان نشان داد که سطوح ترکیبات فرار (شامل آلکان‌ها، آلکن‌ها، آکین‌ها، آلدئیدها، الکل‌ها و کتون‌ها) در روغن‌های تغلیظ‌شده با پرس مرطوب به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از نمونه روغن اولیه (روغن خام) بود^[23]. همچنین نتایج حاصل از مطالعه روبیکو رودگرز و همکاران نشان داد که میزان آلکان‌ها در روغن استحصالی از ضایعات گونه لیزابه‌سر (*Hoplostethus atlanticus*) با روش پرس مرطوب اختلاف معنی‌داری با روغن به‌دست‌آمده از روش‌های استخراج آنزیمی و استخراج سرد نداشت که از این نظر با نتایج مطالعه حاضر همخوانی ندارد^[5].

لیپیدهای خنثی: نتایج حاصل از اندازه‌گیری لیپیدهای خنثی در این مطالعه، اختلاف معنی‌داری را در سطوح استرهای واکسی، تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها و اسیدهای چرب آزاد موجود در روغن‌های استحصالی از ضایعات تن‌ماهیان توسط روش‌های پرس مرطوب و استخراج آنزیمی با استخراج سرد نشان داد. پایین‌بودن میزان استرهای واکسی و بالابودن سطوح تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها می‌تواند حاکی از پایین‌بودن میزان چربی درون سلولی و بالابودن چربی خارج سلولی باندشده با پروتئین‌ها در مواد خام اولیه باشد. به‌واسطه وجود پیوند ضعیف چربی‌های خارج سلولی با ماتریکس‌های پروتئینی، میزان استحصال روغن افزایش یافته و به تبع آن میزان تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها ارتقا و استرهای واکسی تنزل می‌یابد^[25].

در روش استخراج سرد، احتمالاً به‌علت عدم وجود درجه حرارت بالا یا عامل شیمیایی یا بیولوژیک موثر در رهاسازی گلبول‌های چربی (به‌ویژه درون سلولی)، میزان استرهای واکسی و نیز تری‌آسیل‌گلیسرول به‌صورت معنی‌داری پایین‌تر از دو تیمار دیگر است. از سوی دیگر، بالاتر بودن معنی‌داری تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها در روش‌های پرس مرطوب و استخراج آنزیمی نسبت به روش استخراج سرد نیز احتمالاً می‌تواند به‌دلیل وجود درجه حرارت و فشار فیزیکی بالاتر واردشده در روش پرس مرطوب و نیز هضم‌شدن پروتئین‌های باندشده با چربی‌ها در اثر فعالیت آنزیمی در روش استخراج آنزیمی باشد که سبب آزادشدن چربی‌های بیشتری از پروتئین‌های باندشده با آنها شده است^[26].

مشاهده نرخ بازدهی نسبتاً مناسب در این روش‌ها در مقایسه با میزان روغن موجود در مواد خام اولیه نیز می‌تواند حاکی از وجود پیوندهای ضعیف میان چربی و ماتریکس‌های پروتئینی در ضایعات تن‌ماهیان باشد. همچنین بالابودن میزان تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها می‌تواند نشان‌دهنده بالابودن اسیدهای چرب غیراشباع در روغن باشد^[9].

از سوی دیگر، هیدرولیز تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها سبب ایجاد اسیدهای چرب آزاد می‌شود. بنابراین هرچه میزان تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها و اسیدهای چرب غیراشباع بالاتر باشد، تولید اسیدهای چرب آزاد نیز محتمل‌تر می‌شود^[10].

در پژوهش حاضر، میزان تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها در روغن‌های حاصل از روش‌های استخراج آنزیمی و پرس مرطوب به‌صورت معنی‌داری بالاتر از استخراج سرد بوده و به تبع آن میزان اسیدهای چرب آزاد نیز بالاتر مشاهده شد. مطالعه سنجش تاثیر زمان و درجه حرارت پخت ضایعات تن‌ماهیان در روش پرس مرطوب بر پارامترهای کمی

افزایش یافته است، به گونه‌ای که وجود آلکان‌هایی چون ۲-متیل‌دکان و سیکلوهگزاডکان تنها در این روش مشاهده شد. این مورد در جدول ۳ نشان داده شده است.

آلدئیدها، اسیدها و آمین‌ها: آلدئیدها، اسیدهای آلی و آمین‌ها از مهم‌ترین ترکیبات فرار هستند که ایجاد بو و طعم نامطلوب در روغن ماهی به‌شدت به حضور آنها بستگی دارد. برخی از آلدئیدها مانند هگزانال یا نونانال در نتیجه فرآیند اتواکسیداسیون (خوداکسایشی) لیپیدها به‌وجود می‌آیند. بنابراین حضور آنها در روغن ماهی ذاتاً از روش‌های استخراج و پارامترهای دخیل در آنها (به‌ویژه درجه حرارت، اکسیژن محیط، وجود نور و نیز فلزات) متأثر می‌شود^[1]. در مقابل، برخی دیگر از ترکیبات فرار در دوره نگهداری ماهی و در اثر فعالیت‌های باکتریایی و آنزیمی بر پروتئین‌ها، آمینواسیدها و کربوهیدرات‌ها تشکیل می‌شوند. بدین ترتیب حضور آنها در روغن می‌تواند به میزان تازگی مواد خام اولیه نسبت داده شود این مورد در جدول ۸ نشان داده شده است. به‌عنوان مثال، تری‌متیل‌آمین‌اکساید در اثر فعالیت‌های باکتری‌هایی چون *Shewanella putrefaciens* بوترفاسینس و دی‌متیل‌آمین‌اکساید بر اثر فعالیت‌های آنزیمی در دوره نگهداری و اسیداستیک از طریق تجزیه غیرهوازی آمینواسیدها می‌توانند تشکیل شوند^[22].

جدول ۸) فرآورده‌های مختلف تشکیل‌دهنده ترکیبات فرار در ماهی^[22]

ترکیبات تشکیل شده	سوبسترا	فرآیند
تری‌متیل‌آمین (TMA)	تری‌متیل‌آمین‌اکساید	تجزیه باکتریایی
H ₂ S	سیستئین	
CH ₃ SH, (CH ₃) ₂ S	متیونین	
هیپوگزانتین	کربوهیدرات‌ها و لاکتات	
استرها، کتون‌ها و آلدئیدها	اینوزین	
NH ₃	گلیسین، سرین و سرین	
دی‌متیل‌آمین‌اکساید	اوره	
آلدئیدها	TMAO	فعالیت آنزیمی
کتون‌ها	لیپیدها	اتواکسیداسیون (خوداکسایشی)
الکل‌ها		
اسیدهای آلی کوتاه زنجیره		
آلکان‌ها		
NH ₃ ، اسید استیک، بوتیریک اسید پروپیونیک اسید	آمینواسیدها	غیرهوازی

در پژوهش حاضر آلدئیدهای هپتانال واکسی و دی‌متیل‌آمین تنها در روغن به‌دست‌آمده با روش پرس مرطوب تشخیص داده شدند. احتمالاً علت وجود هپتانال، تنها در تیمار پرس مرطوب می‌واند وجود درجه حرارت بالاتر در مرحله پخت این روش باشد که احتمال خوداکسایشی (به‌عنوان عامل اصلی تشکیل آلدئیدها) را افزایش می‌دهد^[23].

در مورد دی‌متیل‌آمین (عامل ایجاد بوی خاص ماهی) نیز به‌دلیل طولانی‌تر بودن فرآیند استخراج در روش پرس مرطوب نسبت به دو روش دیگر، احتمالاً مدت‌زمان تاثیر آنزیم‌های لیپازی بر تری‌متیل‌آمین‌اکساید و تشکیل DMA بیشتر بوده و در نتیجه به روغن نیز وارد شده است^[24]. از این رو دی‌متیل‌آمین تنها در نمونه‌های به‌دست‌آمده با روش پرس مرطوب یافت شد. از سوی دیگر، اسیداستیک در هیچ‌یک از تیمارهای روغن استحصالی شناسایی نشد. علت تشکیل اسیداستیک در روغن ماهیان را می‌توان به فرآیند تجزیه بی‌هوازی آمینواسیدها و تشکیل اسیداستیک نسبت داد. اما از آنجا که در سه روش مورد استفاده در

و کیفی روغن استحصالی نشان داد که با افزایش میزان تری‌اسیل گلیسرول‌ها، سطوح اسیدهای چرب آزاد نیز افزایش می‌یابد. همچنین سطوح تری‌اسیل گلیسرول‌ها و اسیدهای چرب آزاد در تیمار پخت با 95°C به مدت ۳۰ دقیقه به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود [8].

در پژوهشی دیگر، نتایج حاصل از آنالیز کیفی روغن‌های استخراج‌شده از بخش‌های مختلف قزل‌آلای رنگین کمان به‌وسیله دی‌اکسیدکربن فوق بحرانی نشان داد که اختلاف معنی‌داری میان سطوح تری‌اسیل گلیسرول‌ها و اسیدهای چرب آزاد در بخش‌های گوناگون وجود دارد [19]. در این مطالعه، میزان اسیدهای چرب آزاد روغن‌های به‌دست‌آمده از سر و ستون فقرات به‌طور معنی‌داری بالاتر از میزان آنها در روغن‌های استخراجی از امعا و احشا بود. همچنین تیمارهای حاوی تری‌اسیل گلیسرول‌های بالاتر، دارای اسیدهای چرب آزاد بیشتری نیز بودند.

پروفایل اسیدهای چرب: روییکو رودگز و همکاران استخراج روغن از ضایعات گونه قلاب‌دهان دماغه (*Merluccius capensis*) با روش‌های استخراج سیال فوق بحرانی و سوکسله با هگزان را مورد ارزیابی قرار داده و بیان کردند که اختلاف معنی‌داری میان سطوح اسیدهای چرب مختلف مشاهده نشد [27]. در پژوهش حاضر نیز اختلاف معنی‌داری میان سطوح اسیدهای چرب مشاهده نشد.

نرخ اسیدیته: اسیدیته روغن یکی از پارامترهای مهم در کیفیت روغن به حساب می‌آید که متاثر از میزان اسیدهای چرب آزاد و سایر اسیدهای غیرلیپیدی مانند اسیداستیک است. این امر نشانگر آن است که اسیدیته روغن در اثر عواملی همچون ترکیبات روغن و نیز روش‌های استخراج می‌تواند متغیر باشد [16]. به‌طور کلی، روغن‌های حاوی مقادیر بیشتر تری‌اسیل گلیسرول و اسیدهای چرب غیراشباع دارای سطوح بالاتری از اسیدهای چرب آزاد هستند، که به تبع آن اسیدیته می‌تواند کاهش یابد [21].

در پژوهش حاضر، میزان تری‌اسیل گلیسرول‌ها و اسیدهای چرب آزاد در تیمار استخراج آنزیمی و پرس مرطوب بالاتر از تیمار استخراج سرد بود. در مقابل، اسیداستیک در نمونه‌های استحصالی از هیچ‌یک از روش‌ها مشاهده نشد. بنابراین با توجه به بالاتر بودن نرخ اسیدیته در تیمارهای استخراج آنزیمی و پرس مرطوب، می‌توان بیان داشت که احتمالاً تاثیر اسیدهای چرب آزاد بر اسیدیته بیش از اسیدهای غیرلیپیدی در این مطالعه بوده و همین امر سبب بالاتر بودن نرخ اسیدیته تیمارهای استخراج آنزیمی و پرس مرطوب نسبت به استخراج سرد بوده است.

از سوی دیگر، نرخ اسیدیته در تیمارهای پرس مرطوب و استخراج سرد به‌طور معنی‌داری کمتر از نرخ مجاز توصیه‌شده برای نرخ اسیدیته روغن ماهی بود و در مقابل، نرخ اسیدیته تیمار استخراج آنزیمی فاقد اختلاف با آن بود که این حالت احتمالاً متاثر از بالاتر بودن میزان اسیدهای چرب آزاد در این تیمار بوده است. این داده‌های به‌دست‌آمده و بالاتر نبودن نرخ اسیدیته نسبت به میزان مجاز توصیه‌شده در هر سه تیمار، می‌تواند بیانگر وضعیت مناسب نگهداری مواد خام اولیه و مطلوب بودن روش‌های به‌کارگرفته‌شده برای استخراج روغن باشد. نتایج مطالعات هاو و همکاران روی روش‌های مختلف استخراج روغن از بافت ماهی خاویاری نشان داد که اسیدیته روغن‌های به‌دست‌آمده با روش استخراج توسط سیال فوق بحرانی به‌طور معنی‌داری کمتر از روش‌های پرس مرطوب و استخراج آنزیمی بود [28]. در این پژوهش، اختلاف معنی‌داری میان اسیدیته روغن‌های استحصالی با روش‌های پرس مرطوب و استخراج آنزیمی وجود نداشت که از این جهت با نتایج

مطالعه حاضر همخوانی ندارد.

میزان فلزات سنگین: جیوه، آرسنیک و کادمیوم از فلزات سمی و سنگینی هستند که می‌توانند در بافت ماهیان (به‌ویژه کبد) تجمع پیدا کنند. در این مطالعه، میزان این فلزات در نمونه‌های روغن به‌دست‌آمده با روش پرس مرطوب نسبت به روش‌های استخراج سرد و استخراج آنزیمی بالاتر بود. علت بالاتر بودن سطوح این فلزات در تیمار پرس مرطوب می‌تواند پرس (دستی) شدن کلیه توده پخت‌شده و خروج آب، روغن و بخش کمی از ذرات جامد از آن باشد که این امر احتمالاً باعث خروج بخشی از فلزات سنگین موجود در بافت و رهاشدن آنها در آب و روغن می‌شود. نتایج حاصل از سنجش فلزات سنگین آهن، مس، روی، آرسنیک، کادمیوم، جیوه و سرب در نمونه‌های روغن به‌دست‌آمده از ماهی سالمون و جامبو اسکوئید به‌وسیله روش استخراج با دی‌اکسیدکربن فوق بحرانی نشان داد که میزان کلیه این فلزات در روغن‌های استحصالی به‌صورت معنی‌داری نسبت به بافت‌های خام اولیه کاهش یافته و به میزان قابل اغماض رسیده است [5].

همان گونه که نتایج نشان دادند، استخراج روغن توسط آنزیم دارای راندمان و کیفیت قابل قبولی است که البته استفاده از آنزیم‌ها به‌صورت خالص و گرید آزمایشگاهی سبب افزایش قیمت تمام‌شده محصول تولیدی خواهد شد. همچنین، ترکیبات فرار که از شاخص‌های مهم و دقیق اکسیداسیون روغن هستند، دارای هزینه‌های نسبتاً بالایی برای آنالیز هستند. بنابراین به‌منظور فایده‌آمدن بر دو محدودیت فوق، پیشنهاد می‌شود که به‌جای استفاده از آنزیم‌های با گرید آزمایشگاهی از آنزیم‌های با گرید غذایی استفاده شود. همچنین می‌توان به‌جای آنالیز افتراقی آلکان‌ها، میزان آلکان‌های کل را اندازه‌گیری نمود و سپس براساس آن در خصوص آلکان‌ها به بحث کلی نشست.

نتیجه‌گیری

دو روش پرس مرطوب و استخراج آنزیمی برای استحصال روغن به لحاظ کمیت مناسب است. روش‌های استحصال روغن، علاوه بر کمیت، می‌توانند عامل موثری در تشکیل ترکیبات حاصل از اکسیداسیون چربی‌ها و انواع آلودگی‌ها باشند. از آنجا که فرآیند استخراج آنزیمی می‌تواند روشی سبز (بدون ایجاد آلودگی محیط زیستی بالا و نیز صرف حداقل انرژی) و نه‌چندان پرهزینه برای استخراج روغن از انواع ضایعات ماهیان باشد، می‌تواند به‌عنوان روشی کارآ در تولید روغن ماهی (از دیدگاه مصارف انسانی) در نظر گرفته شود. همچنین روغن‌های استحصالی از ضایعات تن‌ماهیان با روش استخراج آنزیمی، به لحاظ حضور و نوع ترکیبات و شاخص‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدی، فساد و رنسدیتی، میزان آلودگی‌ها (فلزات سمی) و از سوی دیگر، میزان ایکوزاپنتانوئیک‌اسید و دوکوزاهگزانوئیک‌اسید (از مهم‌ترین اسیدهای چرب ضروری برای بدن انسان) شرایط و کیفیت مناسبی را نشان می‌دهند که این موارد را می‌توان از مزایای ویژه این روش دانست. بنابراین ضایعات تن‌ماهیان دارای پتانسیل مناسبی برای استخراج روغن با رویکرد مصرف انسانی هستند. همچنین، با توجه به اختصاصات فرآیند آنزیمی در استخراج روغن (که می‌تواند منجر به تولید محصولی با کیفیت بالاتر، هزینه مناسب و نیز حداقل ایجاد آسیب به محیط زیست شود) می‌توان آن را روش مناسبی برای استخراج روغن ماهی در نظر گرفت.

تشکر و قدردانی: مقاله حاضر نتیجه رساله دکتری نویسنده اول

using isoelectric solubilization and precipitation processes. Iran J Fis Sci. 2017;16(2):774-92.

14- Shady M, Shehawey EL, Ali A, Gab A, Hamed M, Mutwally A. Proximate and Elemental composition of important fish species in makkah central fish market, saudi arabia. Food Nut Sci. 2016;7(6):429-39.

15- Baharom ZS, Ishak MY. Determination of heavy metal accumulation in fish species in Galas River, Kelantan and Beranang mining pool, Selangor. Proc Envir Sci. 2015;30:320-25

16- Gbogouri GA, Linder M, Fanni J, Parmentier M. Analysis of lipids extracted from salmon (*Salmo salar*) heads by commercial proteolytic enzymes. Eur J Lipid Sci Technol. 2006;108(9):766-75.

17- Yin H, Solval KM, Huang J, Bechtel PJ, Sathivel S. Effects of Oil extraction methods on physical and chemical properties of red salmon oils (*Oncorhynchus nerka*). J Am Oil Chem Soc. 2011;88:1641-48.

18- Mata TM, Correia D, Pinto A, Andrade S, Trovisco I, Matos E, Martins AA, Caetano NS. Fish oil acidity reduction by enzymatic esterification. Ene Pro. 2017;136:474-80.

19- Fiori L, Solana M, Tosi P, Manfrini M, Strim C, Guella G. Lipid profiles of oil from trout (*Oncorhynchus mykiss*) heads, spines and viscera: Trout by-products as a possible source of omega-3 lipids?. Food Chem. 2012;134(2):1088-95.

20- Burk RF, Ludden TM. Exhaled alkanes as indices of in Vivo lipid peroxidation. Biochem Pharmacol. 1989;38(7):1029-32.

21- Hajeb P, Jinap S, Shakibazadeh Sh, Afsah-Hejri L, Mohebbi GH, Zaidul IS. Optimization of the supercritical extraction of toxic elements in fish oil. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2014;31(10):1712-22.

22- Özogul Y, Boga EK, Tokur B, Özogul F. Changes in Biochemical, sensory and microbiological quality indices of common sole (*Solea solea*) from the Mediterranean Sea, during ice storage. Tur J of Fis and Aqu Sci. 2011;11:243-251.

23- Roh HS, Park JY, Park SY, Chun BS. Isolation of off-flavors and odors from tuna fish oil using supercritical carbon dioxide. Biotechnol Bioprocess Eng. 2006;11(6):496-502.

24- Venkateshwarlu G, Let MB, Meyer AS, Jacobsen C. Chemical and olfactometric characterization of volatile flavor compounds in a fish oil enriched milk emulsion. J. Agric. Food Chem. 2004;52:311-7.

25- Gupta RB. Solubility in supercritical carbon dioxide. Boca Raton: CRC Press; 2006.

26- Islam Sarker MZ, Selamat J, Abu Sayem Md Ahsan Habib, Ferdosh S, Haque Akanda MJ, Mohamed Jaffri J. Optimization of supercritical CO₂ extraction of fish oil from viscera of African catfish (*Clarias gariepinus*). Int J Mol Sci. 2012;13(9):11312-22.

27- Rubio-Rodríguez N, De Diego SM, Beltrán S, Jaime I, Sanz MT, Rovira J. Supercritical fluid extraction of the omega-3 rich oil contained in hake (*Merluccius capensis*-*Merluccius paradoxus*) by-products: Study of the influence of process parameters on the extraction yield and oil quality. J Supercrit Fluids. 2008;47(2):215-26.

28- Hao S, Wei Y, Li L, Yang X, Cen J, Huang H, et al. The effects of different extraction methods on composition and storage stability of sturgeon oil. Food Chem. 2015;173:274-82.

بوده و توسط دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان حمایت شده است. علاوه بر آن، نویسندگان این مقاله، مراتب سپاس و قدردانی خود را از شرکت‌های محترم و معظم ساحل صید کنارک و آمیکس به پاس حمایت‌های مالی و معنوی بی‌دریغ در اجرای این پروژه اعلام می‌دارند.

تأییدیه اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

تضاد منافع: تعارض منافعی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: محمدمهدی طاعتی‌کلی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری (۵۰٪)؛ بهاره شعبان‌پور (نویسنده دوم)، روش‌شناس/نگارنده بحث (۳۰٪)؛ سیدمهدی اجاق (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی (۲۰٪).

منابع مالی: این پژوهش با استفاده از گرنت رساله دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و شرکت‌های محترم ساحل صید کنارک و آمیکس صورت پذیرفته است.

منابع

- 1- Rubio-Rodríguez N, Beltrán S, Jaime I, De Diego SM, Sanz MT, Carballido JR. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review. Innov Food Sci Emerg Technol. 2010;11(1):1-12.
- 2- Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol. 1959;37(8):911-7.
- 3- Sunarya, Hole M, Anthony Taylor KD. Methods of extraction composition and stability of vitamin A and other components in dogfish (*Squalus acanthias*) liver oil. Food Chem. 1996;55(3):215-20.
- 4- Jensen S, Häggberg L, Jörundsdóttir H, Odham G. A quantitative lipid extraction method for residue analysis of fish involving nonhalogenated solvents. J Agric Food Chem. 2003;51(19):5607-11.
- 5- Rubio-Rodríguez N, De Diego SM, Beltrán S, Jaime I, Sanz MT, Rovira J. Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products: A comparison with other extraction methods. J Food Eng. 2012;109(2):238-48.
- 6- Ivanovs K, Blumberga D. Extraction of fish oil using green extraction methods: A short review. J Energy Pro. 2017;128:477-83.
- 7- Adeniyi OD, Bawa AA. Mackerel (*Scomber scombrus*) oil extraction and evaluation as raw materials for industrial utilization. Leonardo J Sci. 2006;5(8):33-42.
- 8- Chantachum S, Benjakul S, Sriwirat N. Separation and quality of fish oil from precooked and non-precooked tuna heads. Food Chem. 2000;69(3):289-94.
- 9- Liaset B, Julshamn K, Espe M. Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzyme hydrolysis of salmon frames with Protamex™. Process Biochem. 2003;38(12):1747-59.
- 10- Linder M, Fanni J, Parmentier M. Proteolytic extraction of salmon oil and PUFA concentration by lipases. Mar Biotechnol (NY). 2005;7(1):70-6.
- 11- Parsa M, Kamrani E, Safaie M, Paighambari S, Nishida. Identification of by-catch species of tuna purse seiners in Iranian waters of Oman Sea. Iran J Fis Sci. 2018;17(1):239-43.
- 12- Karayannakidis P, Zotos A. Fish processing by-products as a potential source of gelatin: A review. J Aqua Food Prot Tech. 2016;25(1):65-92.
- 13- Shaviklo AR, Rezapana S, Motamedzadegan A, Damavandi-Kamali N, Mozafari H. Optimum conditions for protein extraction from tuna processing by-products