

## ارزیابی کیفیت روغن استخراج شده از فراورده‌های جنبی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با استفاده از روش‌های پخت، حلالی، فراصوت و سوکسله

حسین نورانی<sup>۱</sup>، سید علی جعفرپور<sup>۲\*</sup>، مسعود رضایی<sup>۳</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد فراآوری محصولات شیلاتی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- دانشیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- استاد گروه شیلات دانشکده علوم دریایی و منابع طبیعی نور دانشگاه تربیت مدرس

دریافت: ۹۵/۱۰/۲۸ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۰

\*نویسنده مسئول مقاله: a.jafarpour@sanru.ac.ir

### چکیده

اثر روش‌های مختلف استخراج (سوکسله، فراصوت، حلالی و پخت) بر بازدهی، کیفیت و ترکیب اسیدهای چرب روغن استخراج شده از فراورده‌های جنبی کپور معمولی (سر و امعا و احشا) مقایسه شد. برای تعیین کیفیت روغن استخراجی، شاخص‌های پراکساید، تیوباریتوریک اسید، اسیدهای چرب آزاد، مزدوج‌های دی‌ان و قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی و همچنین ترکیب اسید چرب اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد روش‌های سوکسله و فراصوت بالاترین بازدهی را در مقایسه با سایر روش‌ها داشت. علاوه بر این، روش پخت با بازدهی ۳/۲۲ درصد دارای کمترین بازدهی نسبت به سایر روش‌ها بود ( $p < 0/05$ ). اندازه‌گیری شاخص‌های کیفی بیانگر بیشترین و کمترین مقادیر شاخص‌های پراکساید، تیوباریتوریک اسید، اسیدهای چرب آزاد و قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی به ترتیب در روغن استخراج شده به روش فراصوت و پخت بود ( $p < 0/05$ ). بر این اساس، بیشترین و کمترین کیفیت روغن استخراجی به ترتیب متعلق به روش پخت و فراصوت بود. در روغن استخراج شده به روش‌های مختلف از فراورده‌های جنبی کپور معمولی، مقادیر بالایی از اسیدهای چرب تک غیراشباع وجود داشت. علاوه بر این، روغن استخراجی به روش فراصوت دارای مقادیر بیشتری از دو اسید چرب EPA و DHA نسبت به سایر روش‌ها بود.

کلید واژگان: کپور معمولی، استخراج روغن، فراصوت، پخت، حلالی

## مقدمه

اکسیدکننده، اشعه، سطح تماس اکسیژن و فشار جزئی اکسیژن و اختلاط اکسیژن با آن و همچنین حضور یون‌های فلزی در اکسیداسیون چربی‌ها دخالت دارند. در این بین، مهم‌ترین عامل درجه غیراشباعیت خود چربی است. به‌طور کلی اکثر فسفولیپیدهای فرآورده‌های غذایی دارای اسیدهای چرب چندغیراشباعی هستند که در نتیجه وجود اکسایارها<sup>۱</sup> بیشتر از تری‌آسیل گلیسرول در معرض اتواکسیداسیون هستند (Wrolstad و همکاران، ۲۰۰۵). مطالعه روش‌های مختلف استخراج روغن شامل روش‌های مکانیکی، هضم قلیایی، استخراج با حلال و روش Bligh & Dyer از کبد کوسه و ماهی کیلکا از سوی Henry و همکاران (۱۳۸۳) نشان داد از بین روش‌های انجام شده، بیشترین بازدهی روغن متعلق به روش Bligh & Dyer و معادل ۴۵/۳ درصد در نمونه کبد کوسه ماهی و ۶/۶۳ درصد در نمونه ماهی کیلکا است. مقایسه روش‌های مختلف سوکسله، آنزیمی، فراصوت، پخت و سیال فوق بحرانی برای استخراج روغن از ماهی کیلکا و تعیین شاخص‌های کیفی روغن استخراج شده به روش‌های مذکور از سوی کریم و همکاران (۱۳۹۴) نشان داد که بازدهی روش سوکسله نسبت به سایر روش‌ها بیشتر می‌باشد، در حالی‌که شاخص‌های کیفی و میزان اسیدهای چرب امگا-۳ در روغن استخراج شده با روش سوکسله به‌طور معناداری کمتر از سایر روش‌های استخراج بود. Wu و همکاران (۲۰۰۹) به بررسی کیفیت روغن حاصل از ضایعات فراوری ماهی پولاک (*Theragra chalcogramma*) پرداختند. آنها تأثیر دما و زمان نگهداری مواد خام را به‌عنوان عوامل اصلی در کیفیت روغن، بررسی کردند. در این بررسی نمونه‌ها را در دماهای ۴ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ تا ۱۰ روز نگهداری و در هر بار

روغن ماهی یکی از منابع موجود در دسترس برای اسیدهای چرب چند غیراشباعی بلند زنجیره<sup>۱</sup> است که عمدتاً شامل اسیدهای چرب امگا-۳ نظیر ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA)، می‌باشند (Farraro و همکاران، ۲۰۱۳). اسیدهای چرب امگا-۳ دارای فواید زیست‌فعال زیادی از جمله پیشگیری از تصلب شرایین، کاهش فشار خون، حفاظت در برابر آریتمی‌ها، سودمند برای بیماران دیابتی، محافظت در برابر بیماری‌های روانی، کاهش علائم در بیماران آسمی، محافظت در برابر بیماری‌های مزمن انسداد ریوی، بهبود بقا در بیماران سرطانی، کاهش بیماری‌های قلبی عروقی و بهبود توانایی یادگیری است (Kim و Mendis، ۲۰۰۶). روش‌های متداول و سنتی استخراج روغن ماهی اغلب نیازمند زمان استخراج طولانی، استفاده زیاد از حلال‌های آلی و تخریب حرارتی ترکیبات حساس است که همواره استفاده از آنها را با محدودیت مواجه می‌کند (Azmir و همکاران، ۲۰۱۳). علاوه بر اینها، احتمال باقی ماندن حلال سمی در فرآورده نهایی نیز وجود دارد (Sarker و همکاران، ۲۰۱۲). بنابراین به‌منظور غلبه بر محدودیت‌های ذکر شده در روش‌های معمول استخراج، روش‌های پیشرفته‌ای مانند استفاده از امواج فراصوت<sup>۲</sup>، آنزیم‌ها<sup>۳</sup>، مایکروویو<sup>۴</sup> و سیال فوق بحرانی<sup>۵</sup> با اهدافی همچون افزایش انتخاب‌پذیری، مصرف کمتر حلال‌های آلی و افزایش بازدهی توسعه داده شده است. اکسیداسیون می‌تواند منجر به ترشیدگی چربی‌های مواد غذایی شود. عوامل زیادی از جمله وجود برخی کاتالیزورها، آنزیم‌های

1. Long chain polyunsaturated fatty acid
2. ultrasound
3. enzymes
4. microwave
5. Supercritical fluid

6. prooxidant

کیفیت روغن را با شاخص‌های  $FFA^A$ ،  $TBA^V$  و عدد پراکسید اندازه‌گیری کردند. آنها دریافتند طولانی شدن زمان نگهداری باعث بالا رفتن شاخص  $FFA$  و یک افزایش در سطح شاخص پراکسید و کاهش ۵۰ درصد میزان آلفا توکوفرول تا روز سوم نگهداری می‌شود. استخراج روغن در این بررسی به روش الگوی صنعتی در کارخانه پودر ماهی انجام شد.

نتایج مطالعه Aidos و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی کیفیت روغن خام حاصل از ضایعات فراوری ماهی هرینگ که در دماهای مختلف نگهداری شد، نشان داد که افزایش زمان نگهداری فرآورده‌های جنبی حاصل از فراوری ماهی سبب افزایش اسیدهای چرب آزاد می‌شود. Hole و همکاران (۱۹۹۶) در بررسی روش‌های استخراج روغن از کبد بزماهی (*Squalus acanthias*) و پایداری ترکیبات آن دریافتند که بازدهی روغن در روش بخار (۲۲ درصد وزنی-وزنی) کمتر از روش حلال (۶۸ درصد وزنی-وزنی) می‌باشد. میزان فسفولپید در روش حلال (۱۲ درصد) بسیار بیشتر از روش سوکسله (۴ درصد) و بخار (۱ درصد) بود. براساس آمار فائو (۲۰۱۶) در سال ۲۰۱۴ از مجموع کل ۲۱ میلیون تن تولیدات شیلاتی که به مصرف انسانی نرسیدند؛ حدود ۷۶ درصد تبدیل به پودر و روغن ماهی شده که نشان از اهمیت و حجم بالای روغن ماهی تولید شده از منابع شیلاتی غیرخوراکی است. فرآورده‌های جنبی غیرخوراکی حاصل از فراوری ماهی که مقدار آن نسبت به نوع فرایند فراوری (همچون فیله‌کنی، دودی کردن، کنسرو کردن و...) بین ۳۰ تا ۷۵ درصد است، نیز یکی از منابع مستعد برای استخراج روغن می‌باشند. کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از اصلی‌ترین ماهیان پرورشی دنیا است. براساس آمار فائو میزان تولید کپور

معمولی در ایران تا انتهای سال ۲۰۱۴ حدود ۶۵۵۶۸ تن بوده است (فائو، ۲۰۱۶). این ماهی به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین ماهیان پرورشی در دنیا شناخته شده و به‌طور گسترده‌ای در اروپا و آسیا پرورش داده می‌شود. همچنین تولید کپور ماهیان در کشور در سال ۱۳۹۲، ۱۶۷۸۸۳ تن گزارش شده است (سالنامه شیلات، ۱۳۹۳). باتوجه به این‌که ماهی کپور معمولی در سیستم پرورشی کپور ماهیان در کشور به میزان ۲۵-۲۰ درصد ترکیب کشت را به خود اختصاص می‌دهد، می‌توان گفت سهم قابل توجهی از پرورش کپور ماهیان در کشور به کپور معمولی تعلق دارد. در طی فرایند آماده‌سازی ماهی کپور معمولی از باقیمانده‌های خام شامل سر، امعا و احشا، پوست و اسکلت حاوی گوشت، که در حدود ۴۰ درصد از وزن اولیه ماهی را تشکیل می‌دهد (Gerl و همکاران، ۱۹۹۵)، می‌توان مقدار قابل توجهی روغن استخراج کرد که در حالت عادی از آنها استفاده مناسبی نشده و به قیمت بسیار پایینی به فروش می‌رسد. بنابراین با توجه به موارد گفته شده در بالا استخراج روغن از باقیمانده‌های خام راهکار مناسبی به‌نظر می‌رسد. در نتیجه هدف از این تحقیق در وهله اول استفاده از منابع زیستی در دسترس ماهیان برای تولید فرآورده‌های با ارزش غذایی بالاتر (روغن ماهی)، و در وهله دوم تعیین بازده و کیفیت این فرآورده برای امکان‌سنجی معرفی به بخش صنعت است.

در طی فرایند آماده‌سازی ماهی کپور معمولی مقادیر قابل توجهی فرآورده‌های جنبی شامل سر، امعا و احشا، پوست و اسکلت حاوی گوشت حاصل می‌شود که مواد پروتئینی و چربی دارد. با توجه به قیمت پایین این فرآورده‌های جنبی، استخراج روغن می‌تواند راهکار مناسبی برای ایجاد ارزش افزوده در محصولات جنبی این ماهی و غلبه بر مشکل زیست‌محیطی ناشی از دورریز آن

7. Thiobarbituric acid

8. Free Fatty Acid

به مدت ۵ ساعت سوزانده می‌شود. میزان پروتئین با روش کج‌دال با ضریب تبدیل ۶/۲۵ به دست آمد. چربی کل نیز با سوکسله<sup>۹</sup> استخراج شد (AOAC، ۲۰۰۲).

### روش‌های استخراج

#### روش استخراج حلالی

به منظور بهینه‌سازی و به دست آوردن بازدهی حداکثر برای استخراج روغن، پس از انجمادزدایی نمونه‌ها در دمای محیط میزان ۵۰ گرم از مواد چرخ شده درون ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری توزین شده و ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول و ۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم به آنها اضافه شده و به مدت ۲ دقیقه به وسیله دستگاه همگن‌ساز<sup>۱۰</sup> مخلوط شدند. سپس میزان ۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم دوباره به مجموعه اضافه شده و به مدت ۳۰ ثانیه یکنواخت شدند. در ادامه میزان ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به نمونه‌ها اضافه شده و به مدت ۳۰ ثانیه یکنواخت شدند. سپس قسمت مایع (حلال‌های مختلف به همراه روغن) با پمپ خلأ و کیف بوخنر از مواد جامد جداسازی گردید. قسمت مایع به دکانتور انتقال داده شد تا به دو قسمت مجزا درآید. پس از جداسازی کامل لایه‌ها از یکدیگر، لایه کلروفرمی حاوی روغن از بقیه حلال‌ها جدا شده و حلال کلروفرم با دستگاه روتاری خارج و روغن جمع‌آوری گردید (کریم و همکاران، ۱۳۹۴).

#### روش استخراج پخت

به منظور بهینه‌سازی و به دست آوردن بازدهی حداکثر برای استخراج روغن، پس از انجمادزدایی نمونه‌ها در دمای محیط میزان ۱۰۰ گرم از مواد چرخ شده درون بشرهای ۵۰۰ میلی‌لیتری توزین شده و ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر نیز به آن اضافه شد. در ادامه ظروف به مدت ۶۰ دقیقه درون حمام آب با دمای ۸۵ °C قرار گرفت. مخلوط هر ۱۰ دقیقه

باشد. در مطالعه پیش‌رو روغن از فراورده‌های جنبی کپور معمولی با استفاده از ۴ روش شامل حلالی، پخت، سوکسله و فراصوت استخراج می‌گردد و در ادامه بازدهی و کیفیت روغن استحصالی به روش‌های مذکور بررسی می‌شود تا ضمن معرفی روش بهینه برای استخراج روغن از فراورده‌های جنبی کپور معمولی، کارآمدی روش فراصوت به عنوان روشی نوین نسبت به روش‌های متداول ارزیابی گردد.

### مواد و روش‌ها

#### تهیه و آماده‌سازی نمونه

تعداد ۴ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی  $100 \pm 150$  گرم در فصل زمستان از مزارع پرورشی موجود در استان مازندران صید گردیده و پس از یخ‌گذاری درون جعبه‌های یونولیت به نسبت ۱:۱ بلافاصله به آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. در ادامه پس از فیله کردن ماهیان، فراورده‌های جنبی (سر، امعا و احشا) آن جمع‌آوری و پس از شستشو با آب سرد چرخ شده و در پاکت‌های فریزری درب‌دار بسته‌بندی و به منظور حفظ تازگی و انجام آنالیزهای آزمایشگاهی در مراحل بعد، به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

#### تعیین ترکیبات تقریبی

برای اندازه‌گیری رطوبت ۱۰-۳ گرم از بافت چرخ شده سر، امعا و احشا را با ترازوی دقیق ( $1 \text{ mg} \pm 0$ ) درون ظروف شیشه‌ای وزن کرده و از آون ( $105^\circ \text{C}$ ) تا ثابت شدن وزن نمونه (۲۴ ساعت) 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 خشک شده را در بوته چینی ریخته و در کوره الکتریکی با دمای  $550^\circ \text{C}$

9. Soxtec  
10. Homogenizer

به طور کامل پیش تیمار و آماده سازی شد، به منظور استخراج چربی درون دستگاه سوکسله قرار گرفتند. وزن فنجان های استخراج که کاملاً تمیز و خشک شده بودند، برای استفاده در محاسبات نهایی ثبت شد. حلال کلروفرم با نسبت ۱:۲۰ نمونه به حلال به دستگاه تزریق و فرایند استخراج آغاز شد. مراحل قرارگیری در نقطه جوش (زمان تنظیم شده برای این مرحله از استخراج ۴۰ دقیقه در نظر گرفته شد)، شستشو (مدت زمان تنظیم شده برای این مرحله به منظور اطمینان از استخراج کامل تمامی مواد قابل استخراج ۵۰ دقیقه در نظر گرفته شد) و تبخیر حلال (مدت زمان این فرایند ۱۳ دقیقه در نظر گرفته شد) به صورت خودکار با دستگاه انجام می شود. پس از تکمیل فرایند استخراج، فنجان های دستگاه خارج شده و حلال باقیمانده با گاز نیتروژن حلال پرانی شدند. محاسبه نتیجه نهایی براساس وزن نمونه اصلی و وزن فنجان های استخراج پیش و پس از استخراج است.

$$W_1 = \frac{W_2 - W_3}{W_3} \times 100 = \text{درصد چربی وزن فنجان استخراج}$$

وزن فنجان استخراج + ماده استخراجی =  $W_2$ ، وزن نمونه =  $W_3$

#### تعیین بازده استخراج روغن

بازده روغن استخراج شده با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:  $W_e = \frac{W_i}{W_f} \times 100 = \text{بازده}$ ،  $W_e = \text{وزن روغن}$

استخراج شده از نمونه (گرم)،  $W_f = \text{وزن کل روغن موجود در نمونه که به وسیله استخراج با دستگاه سوکسله به دست آمده است (گرم)}$

#### شاخص های ارزیابی کیفیت روغن

##### پراکساید

ابتدا مقدار ۰/۳ گرم روغن (وزن دقیق ثبت شود) داخل یک ارلن ۵۰ میلی لیتری توزین شد. در ادامه ۱۰ میلی لیتر حلال (اسید استیک کلروفرمی) به نمونه افزوده و همراه با

با همزن شیشه ای هم زده شد. در نهایت روغن خام از طریق سانتریفیوژ در ۵۰۰۰ g و به مدت ۱۰ دقیقه در  $4^\circ\text{C}$  بازیابی شد (Hao et al, ۲۰۱۵).

#### روش استخراج فراصوت

به منظور بهینه سازی و به دست آوردن بازدهی حداکثر برای استخراج روغن، ابتدا نمونه ها با فریز درایر خشک (به مدت ۷۲ ساعت در دمای  $65^\circ\text{C}$  - و فشار ۱۵/۰/۰۱۵) و سپس با مخلوط کن کاملاً خرد شدند. سپس در هر آزمایش، ۱۰ گرم نمونه خشک درون ارلن ۲۵۰ میلی لیتری توزین شده و با نسبت ۱:۵ نمونه به حلال، ۵۰ میلی لیتر حلال اتانول به آن اضافه شد. در ادامه با پوشاندن درپوش ظروف به حمام فراصوت (Ultrasonic cleaner. Soner 206H) منتقل شدند (شکل ۳-۳). تیمار فراصوت با قدرت ۱۸۰ وات، حلال اتانول و مدت زمان ۶۰ دقیقه به عنوان شرایط استخراج استفاده شد. شاخص های استخراج با توجه به گزارش Abdullah و همکاران (۲۰۱۰) و با تغییرات کمی انتخاب شد. در ضمن حلال پرانی نهایی روغن استخراج شده با روش های سوکسله و فراصوت به وسیله گاز نیتروژن ( $N_2$ ) انجام شد و نمونه های روغن تا زمان انجام آنالیزهای کیفی در دمای  $20^\circ\text{C}$  - نگهداری شدند.

#### استخراج سوکسله

به منظور بهینه سازی و به دست آوردن بازدهی حداکثر برای استخراج روغن، ابتدا نمونه ها توسط فریزدرایر خشک شدند (به مدت ۷۲ ساعت در دمای  $65^\circ\text{C}$  - و فشار ۱۵/۰/۰۱۵) و سپس نمونه های خشک شده با استفاده از ترازوی دیجیتال و با دقت ۰/۱ میلی گرم توزین شده و مستقیماً درون کارتوش های سلولزی دستگاه قرار گرفتند. وزن نمونه مورد نظر برای استخراج برحسب میزان تقریبی چربی آن انتخاب شد (Luthria, ۲۰۰۴). زمانی که نمونه ها

با ورتکس، به مدت ۲ ساعت در دمای ۹۵ °C درون حمام آب قرار گرفت. پس از طی شدن زمان مذکور لوله‌ها را از حمام آب بیرون آورده و با نگهداری زیر شیر آب تا رسیدن به دمای محیط خنک شدند. سپس به منظور اندازه‌گیری میزان جذب نمونه، دستگاه اسپکتروفتومتر روشن و بر روی طول موج ۵۳۲ nm تنظیم شد. دستگاه پیش از هرگونه خواندن جذب به مدت ۱۵ دقیقه گرم شد. دستگاه با استفاده از شاهد آب مقطر صفر شده و سپس میزان جذب نمونه اندازه‌گیری شد. مقادیر TBA با استفاده از فرمول زیر محاسبه و نتایج به صورت mg malonaldehyde/kg oil بیان می‌شود:  $TBA\ value = (50 \times A_{532}) / m$  عدد ثابت ۵۰ براساس حجم بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری و طول کووت ۱cm است،  $A_{532}$  میزان جذب نمونه (از قبل براساس میزان جذب نمونه شاهد اصلاح شده) و m وزن نمونه (به میلی‌گرم) است (Pokorny و Dieffenbacher, ۱۹۸۹).

#### اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد

مقدار ۰/۱ گرم (وزن دقیق نمونه ثبت شود) از نمونه روغن درون لوله‌های آزمایش ۱۵ میلی‌لیتری توزین شده و با اضافه کردن ۵ میلی‌لیتر از حلال ایزواکتان توسط همزن کاملاً مخلوط شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از معرف استات مس - پیریدین ۵ درصد (w/v) (انحلال ۵ گرم استات مس در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب، پس از فیلتر کردن pH آن با استفاده از پیریدین بین ۶/۲-۶ تنظیم شد) به محلول اضافه گردید. مخلوط با شدت و به مدت ۹۰ ثانیه با استفاده از ورتکس تکان داده شد. در ادامه پس از توقف ۲۰ ثانیه‌ای در حالت سکون، لایه رویی درون کووت شیشه‌ای منتقل و میزان جذب آن در ۷۱۵ nm اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد نیز با استفاده از پالمیتیک اسید در محلول ایزواکتان و در غلظت‌های ۵۰-۰ μmol / ۵ml آماده شد. نتایج مقادیر

تکان دادن ظرف حل گردید. سپس، مقدار ۱ میلی‌لیتر محلول پتاسیم ید اشباع به محلول درون ارلن اضافه شده و به مدت دقیقاً یک دقیقه همراه با تکان شدید و ثابت، نگهداری شد. پس از طی شدن زمان مذکور، مقدار ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. در ادامه، ۱ میلی‌لیتر از محلول ۱ درصد نشاسته به محلول‌ها اضافه و توأمأً تکان داده شد. در این زمان رنگ محلول به صورت بنفش در خواهد آمد. سپس محلول‌ها با استفاده از محلول تیوسولفات ۰/۱٪ نرمال تا ناپدید شدن رنگ بنفش تیترو گردید. به منظور تکان دادن ممتد و مؤثر محلول حاوی نمونه و همچنین مشاهده بهتر تغییر رنگ طی مراحل تیتراسیون از یک همزن مغناطیسی و آهن‌ریا استفاده شد. حجم تیوسولفات سدیم نهایی اضافه شده ثبت شد. هم‌زمان یک آزمایش شاهد (بدون افزودن روغن یا چربی استخراجی) انجام شد. محاسبه PV با استفاده از:  $PV = [(S - B) \times N \times 1000] / W$  حجم (میلی‌لیتر) تیوسولفات سدیم مورد نیاز برای تیترو کردن نمونه، B = حجم (میلی‌لیتر) تیوسولفات سدیم لازم برای نمونه شاهد، N = نرمالیه محلول تیوسولفات سدیم، W = وزن نمونه (گرم)

#### اندازه‌گیری مقدار تیوباریتوریک اسید

مقدار ۵۰ میلی‌گرم روغن ماهی (وزن دقیق نمونه ثبت شود) داخل بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری توزین شد. نمونه در مقادیر کمی از ۱-بوتانول حل و سپس به حجم رسانیده شد. محلول کاملاً مخلوط شد. به منظور اطمینان از انحلال کامل، بالن حجمی حاوی نمونه درون دستگاه حمام فراصوت قرار گرفت. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک و درب‌دار منتقل شد. ۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۲ درصد TBA در ۱-بوتانول به آن اضافه گردید. هم‌زمان یک آزمایش شاهد (۵ میلی‌لیتر ۱-بوتانول و محلول ۰/۲ درصد TBA) آماده شد. لوله‌ها پس از همزدن

### ترکیب اسید چرب متیلاسیون چربی

مقدار ۵۰ میلی گرم از روغن استخراج شده توزین و درون لوله‌های درب‌دار ۱۵ میلی‌لیتری با درپوش تفلون قرار گرفته و در ادامه به آن ۵ میلی‌لیتر سود متانولی ۲ درصد اضافه گردید. مدت زمان ۱۰ دقیقه درون یک بشر حاوی آب  $100^{\circ}\text{C}$  حرارت داده شد. پس از خنک شدن  $2/2$  میلی‌لیتر بور تری فلوراید متانولی به محلول اضافه شد و عمل رفلاکس ۵ دقیقه دیگر ادامه یافت. سپس مقدار ۱ میلی‌لیتر حلال ان-هگزان افزوده و کاملاً مخلوط شد. سپس ۱ میلی‌لیتر 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  $1/5$  میلی‌لیتری حاوی لایه ۱ mm سولفات سدیم منتقل و تا زمان تزریق به دستگاه GC در  $20^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شد (Metcalf و همکاران، ۱۹۶۶).

### 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  $115^{\circ}\text{C}$  تنظیم، با سرعت  $8^{\circ}\text{C}/\text{min}$  بالا افزایش یافته تا به دمای  $180^{\circ}\text{C}$  رسیده و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما ثابت می‌ماند. در نهایت با سرعت  $8^{\circ}\text{C}/\text{min}$  بالا می‌رود تا به دمای  $240^{\circ}\text{C}$  رسیده و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما ثابت می‌ماند. مقدار  $1\mu\text{L}$  نمونه به دستگاه تزریق و از گاز حامل هلیوم با سرعت  $1/6\text{ ml}/\text{min}$  استفاده شد (Khoddami و همکاران، ۲۰۱۱).

### تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS 16.0 استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگراف-اسمیرنوف بررسی و با توجه به تأیید پیش‌فرض‌های لازم، آزمون واریانس یک طرفه (ONE

FFA نیز به صورت  $1\text{ g TAG}/1\text{ g FFA}$  بیان شد (Sebphan و Benjakul، ۲۰۱۵).

### اندازه‌گیری دی‌ان مزدوج

مقدار ۱۰ میلی گرم (وزن دقیق نمونه ثبت شود) از نمونه روغن به بالن ۲۵ میلی‌لیتری منتقل شد. سپس با افزودن ایزواکتان نمونه حل و به حجم رسانده شد. محلول کاملاً مخلوط شد (برای این منظور از حمام فراصوت استفاده شد). در ادامه با روشن کردن دستگاه اسپکتروفتومتر و تنظیم طول موج  $233\text{ nm}$  برای اندازه‌گیری CD، دستگاه به مدت ۱۵ دقیقه گرم شد. صفر کردن دستگاه با استفاده از حلال شاهد (ایزواکتان) و کووت کوارتز انجام شد. در نهایت میزان جذب نمونه روغن حل شده اندازه‌گیری شد (Wrolstad و همکاران، ۲۰۱۵). محاسبه CD با استفاده از فرمول:  $CD = \frac{A_{233}}{C_L \times L}$ ،  $233\text{ nm}$   $C_L$  نشان‌دهنده غلظت محلول چربی به صورت  $100\text{ ml}/\text{g}$  و  $L$  طول سیل کوارتز به  $\text{cm}$  است.

### اندازه‌گیری قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی

اندازه‌گیری شاخص قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی نمونه‌ها به کمک روش طیف‌سنجی و در طول موج  $420\text{ nm}$  نانومتر صورت گرفت. پس از استخراج چربی با روش‌های اشاره شده، محلول ۱ درصد روغن در حلال ایزواکتان آماده شد. سپس با انتقال محلول مذکور به کووت اسپکتروفتومتر، میزان جذب قرائت شده در طول موج  $420\text{ nm}$  تعیین شد. با قرارگیری مقادیر جذب در رابطه ذیل میزان قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی محاسبه شد (Aubourg و همکاران، ۱۹۹۸). در این رابطه  $B$  جذب قرائت شده،  $V$  حجم چربی

$$NEB = B \frac{V}{W}$$

و  $W$  وزن چربی به کار گرفته شده است.

WAY ANOVA) برای بررسی وجود اختلاف‌های کلی بین گروه‌های موردنظر استفاده شد. در مواردی که نتایج آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از وجود اختلاف باشد، به‌منظور مقایسه چندگانه گروه‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید.

### نتایج

#### ترکیب تقریبی نمونه

پیش از فرایند استخراج روغن میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر هر یک از نمونه‌ها ارزیابی شد. مقادیر رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر در فراورده‌های جنبی ماهی کپور در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱ آنالیز تقریبی ترکیب شیمیایی فراورده‌های جنبی ماهی کپور معمولی

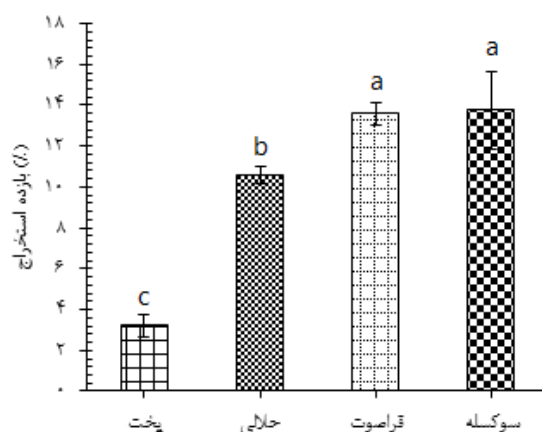
گونه	رطوبت (درصد)	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	خاکستر (درصد)
فراورده‌های جنبی ماهی کپور	67/07 ± 0/18	14/98 ± 1/12	13/75 ± 1/92	4/08 ± 0/2

نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (n=3) بیان شده است.

#### بازدهی استخراج

بازدهی استخراج روش‌های سوکسله (Soxtec)، فراصوت، پخت و حلالی در شکل ۱ نشان داده شده است. میزان بازده روش‌های سوکسله، فراصوت، پخت و حلالی

به‌ترتیب ۱۳/۷۵، ۱۳/۵۸، ۳/۲۲ و ۱۰/۵۹ درصد (وزن تر ماده) می‌باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، روش سوکسله بیشترین بازده و روش پخت کمترین بازده را دارا بود ( $p < 0/05$ ).



شکل ۱ بازده استخراج روغن در فراورده‌های جنبی ماهی کپور معمولی با استفاده از روش‌های مختلف

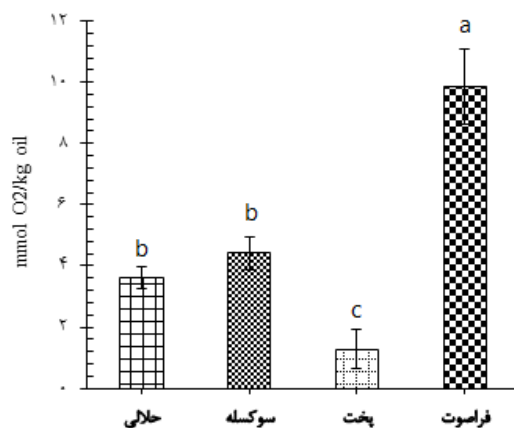
#### شاخص‌های کیفی روغن استخراج شده

##### شاخص پراکساید

تغییرات میزان پراکساید (PV) روغن استخراج شده با روش‌های متفاوت در شکل ۲ نشان داده شده است. در روغن استخراج شده با روش فراصوت بالاترین مقدار PV معادل میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی ۹/۸۶ در

روغن استخراج شده به روش فراصوت و کمترین مقدار معادل میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی ۱/۲۸ در روغن استخراج شده به روش پخت ثبت گردید. مقدار پراکساید در روغن استخراج شده به روش فراصوت به‌طور قابل ملاحظه‌ای بیش از سایر روغن‌ها بود ( $p < 0/05$ ).



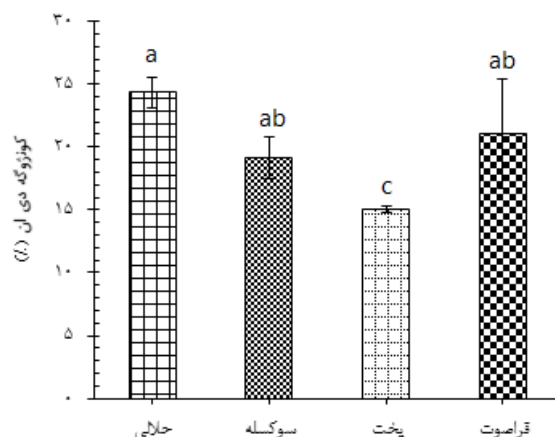


شکل ۲ شاخص پراکساید در روغن استخراج شده از فراورده‌های جنینی ماهی کپور معمولی با استفاده از روش‌های مختلف

۲۱/۰۲، ۱۹/۱۳ و ۱۵/۰۲ درصد (وزن تر ماده) می‌باشد. همان‌طور که مشاهده شد، روش حلالی بیشترین میزان و روش پخت کمترین مزدوج‌های دی‌ان را دارا می‌باشند ( $p < 0/05$ ).

#### شاخص مزدوج‌های دی‌ان

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مزدوج‌های دی‌ان در شکل ۳ نشان داده شده است. میزان مزدوج‌های دی‌ان در روغن استخراج شده به روش‌های حلالی، فراصوت، سوکسله و پخت و به ترتیب ۲۴/۳۲،

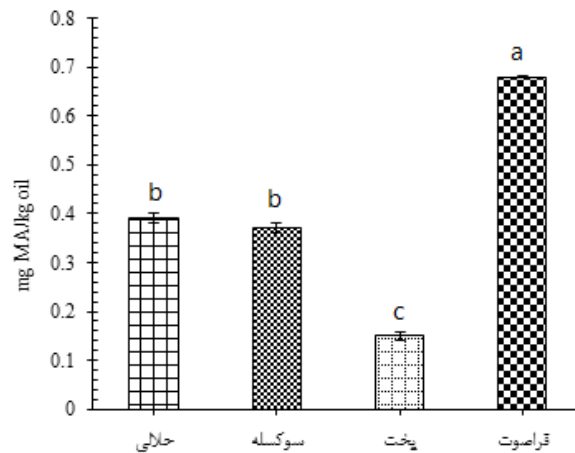


شکل ۳ شاخص مزدوج‌های دی‌ان در روغن استخراج شده از فراورده‌های جنینی ماهی کپور معمولی با استفاده از روش‌های مختلف

روغن استخراج شده به روش فراصوت و برابر با ۰/۶۸ mg of malonaldehyde/kg of oil و کمترین میزان این شاخص نیز در روغن استخراج شده با روش پخت (۰/۱۵ mg of malonaldehyde/kg of oil) تعیین گردید ( $p < 0/05$ ).

#### شاخص تیوباریتوریک اسید

میزان شاخص تیوباریتوریک اسید در روغن استخراج شده از نمونه‌های مختلف با استفاده از روش‌های متفاوت در شکل ۴ نشان داده شده است. بیشترین مقدار تیوباریتوریک اسید در



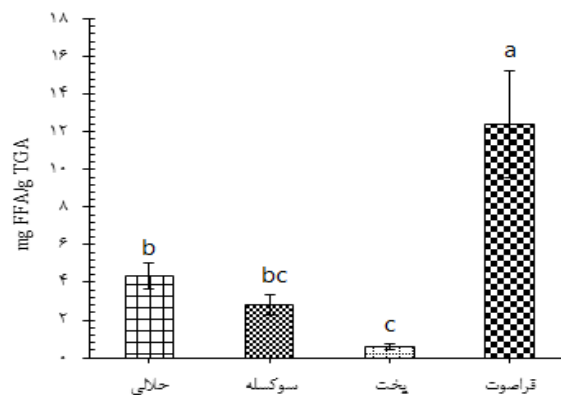
شکل ۴ شاخص تیوباریتوریک اسید در روغن استخراج شده از فراورده‌های جنبی ماهی کپور معمولی با استفاده از روش‌های مختلف

#### شاخص اسیدهای چرب آزاد

mg FFA/g TAG و روش پخت و برابر ۱۲/۳۹ TAG

۵/۶۴ به دست آمد ( $p < 0/05$ ).

همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است، بیشترین و کمترین مقدار اسیدهای چرب آزاد به ترتیب در نمونه‌های روغن استخراج شده به روش فراصوت و برابر mg FFA/g



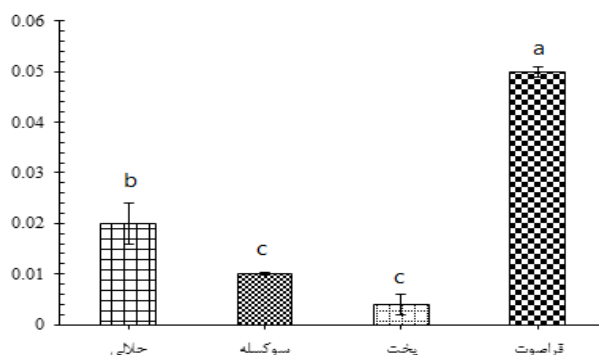
شکل ۵ شاخص اسیدهای چرب آزاد در روغن استخراج شده از فراورده‌های جنبی ماهی کپور معمولی با استفاده از روش‌های مختلف

#### شاخص قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی

مقدار قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی در روغن استخراج شده

به روش فراصوت بالاترین مقدار (۰/۰۵) و در روغن استخراج شده با استفاده از روش پخت کمترین مقدار (۰/۰۰۴) را نشان داد ( $p < 0/05$ ).

میزان شاخص قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی در روغن استخراج شده از نمونه‌های مختلف با استفاده از روش‌های متفاوت در شکل ۶ نشان داده شده است.



شکل ۶ شاخص قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی در روغن استخراج شده از فراورده‌های جنبی ماهی کپور معمولی با استفاده از روش‌های مختلف

**ترکیب اسیدهای چرب** روش‌های مختلف در جدول ۲ و برخی شاخص‌های مربوط

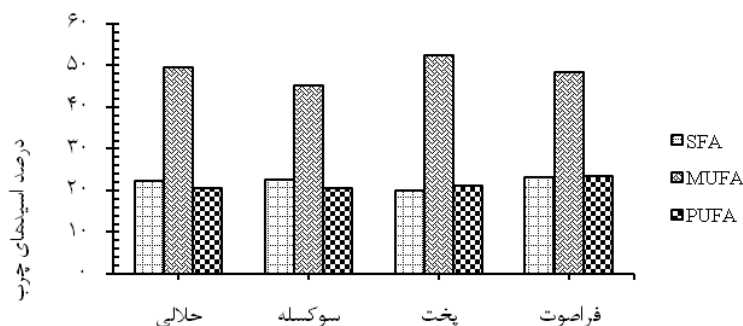
ترکیب و میزان اسیدهای چرب در روغن استخراج شده از فراورده‌های جنبی ماهی کپور معمولی با استفاده از روش‌های مختلف در شکل ۷ نشان داده شده‌اند.

جدول ۲ ترکیب و میزان اسیدهای چرب در روغن استخراج شده از فراورده‌های جنبی ماهی کپور معمولی به روش‌های مختلف

اسید چرب در روغن (g/100 g)				اسید چرب
سوکله	پخت	فراصوت	حلالی	
۰/۶۵	۰/۵۴	۰/۷۶	۰/۶۴	C۱۴:۰
۰/۱۴	۰/۲۵	۰/۱۶	۰/۱۴	C۱۴:۱n۷
۱۶/۶۶	۱۵/۴۳	۱۷/۴۷	۱۶/۵۸	C۱۶:۰
۶/۰۸	۶/۳۷	۶/۹۶	۶/۰۸	C۱۶: ۱n۷
۴/۶۵	۳/۷۹	۴/۵۴	۴/۵۱	C۱۸:۰
۳۸/۷۸	۴۵/۷۹	۴۱/۰۸	۴۳/۱۲	C۱۸:۱n۹ + C۱۸:۱n۷
۱۳/۲۲	۱۵/۴۹	۱۳/۸۷	۱۲/۶۷	C۱۸:۲n۶
۰/۶۳	۰/۵۵	۰/۷۷	۰/۶۳	C۱۸:۳n۳
۰/۱۱	۰/۰۸	۰/۰۳	۰/۱۱	C۲۰:۱n۹
۳/۲۱	۲/۸۱	۲/۴۵	۳/۰۸	C۲۰:۲n۶
۰/۴۵	۰/۴۸	۰/۵۹	۰/۴۷	C۲۰:۳n۳
۱/۴	۰/۶۴	۲/۴۷	۱/۶۳	C۲۰:۴n۶
۰/۱۱	۰/۱	۰/۱۹	۰/۱۳	C۲۰:۵n۳
۰/۲۳	۰/۲۱	۰/۲۴	۰/۲۱	C۲۲:۰
۰/۱۶	۰/۱۲	۰/۱۱	۰/۱۶	C۲۲:۱n۹
۱/۴۸	۰/۹۴	۳/۱۳	۲/۰۸	C۲۲:۶n۳
۰/۳۱	۰/۳۳	۰/۱۹	۰/۳۷	C۲۴:۰
۰/۶۵	۰/۵۴	۰/۷۶	۰/۶۴	C۱۴:۰
۰/۱۴	۰/۲۵	۰/۱۶	۰/۱۴	C۱۴:۱n۷
۱۶/۶۶	۱۵/۴۳	۱۷/۴۷	۱۶/۵۸	C۱۶:۰

همان‌طور که مشاهده می‌شود مقدار اسید چرب غیراشباع (PUFA) روغن استخراج شده از فراورده‌های جنبی ماهی کپور معمولی با استفاده از روش‌های متفاوت نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود صرف‌نظر از روش استخراج اسیدهای چرب غالب، اسیدهای چرب تک غیراشباع می‌باشند. همچنین اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چند غیراشباع تفاوت چندانی با هم نشان ندادند ( $p > 0.05$ ).

همان‌طور که مشاهده می‌شود مقدار اسید چرب غیراشباع دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) در روغن‌های استخراج شده به روش‌های حلالی و فراصوت بیش از دو روغن استخراج شده دیگر است. همچنین میزان اسیدچرب غیراشباع ایکوزاپنتانوئیک اسید در روغن استخراج شده به روش فراصوت بیش از روغن‌های استخراجی دیگر است. در شکل ۷ میانگین ترکیب اسیدهای چرب غیراشباع (SFA)، تک غیراشباع (MUFA) و چند غیراشباع



شکل ۷ میانگین ترکیب اسیدهای چرب اشباع (SFA)، تک غیراشباع (MUFA) و چند غیراشباع (PUFA) روغن استخراج شده از فراورده‌های جنبی ماهی کپور معمولی

حلال‌پرانی می‌شود. علاوه براین، مزیت‌های اصلی این روش مصرف حلال کمتر، کاهش زمان استخراج و تماس دائم نمونه با حلال داغ است که سبب افزایش بازدهی در این روش می‌شود (Aryee و Simpson, ۲۰۰۹). حلال‌هایی که در این روش استفاده می‌شوند، حلال‌های غیرقطبی مانند هگزان و کلروفرم بوده که با نفوذ به درون سلول، چربی‌ها را از غشای سلول استخراج می‌کنند (Norziah و همکاران، ۲۰۰۹). پس از روش سوکسله بالاترین مقدار استخراج روغن از بافت‌های مورد مطالعه را روش فراصوت داشت. Vilku و همکاران (۲۰۰۸) نیز کاربرد اصلی تیمار فراصوت را تسهیل فرایند استخراج بسیاری از ترکیبات غذایی (روغن، پروتئین، پلی‌ساکاریدها)

#### بحث

#### تأثیر روش استخراج بر بازدهی استخراج روغن

در بین روش‌های استخراج، روش معمول برای تعیین مقدار روغن کل در نمونه‌های استخراجی، روش سوکسله است و مقدار روغن حاصل شده از این روش به‌عنوان روغن کل نمونه در نظر گرفته می‌شود (Adeniyi و Bawa, ۲۰۰۶). بر این اساس همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، در تحقیق حاضر نیز روش سوکسله بالاترین میزان بازدهی استخراج روغن را در مقایسه با سایر روش‌ها داشت. در این روش میزان زیادی از حلال استفاده شده بازبایی می‌شود و تنها بخش کمی از آن در روغن باقی می‌ماند که در ادامه به‌وسیله گاز نیتروژن،

استفاده می‌گردد که این مسئله در نهایت می‌تواند منجر به کاهش بازده استخراج شود. علاوه بر این، در بافت‌هایی که مقدار چربی بالاتر از ۲ درصد دارند این روش کارایی کمتری در استخراج روغن را نشان داده است (Iverson و همکاران، ۲۰۰۱). روش پخت کمترین بازده استخراج روغن را نشان داد. این پدیده می‌تواند به دلیل شکل‌گیری یک ساختار پروتئینی به هم چسبیده در مرحله پخت باشد که از آزاد شدن روغن جلوگیری می‌کند. علاوه بر این، این احتمال نیز وجود دارد که پروتئین ماهی با توجه به تأثیر امولسیفایری به نسبت پایدار در محیط پخت امکان جداسازی روغن را حتی پس از مرحله سانتریفیوژ کاهش دهد (Hao و همکاران، ۲۰۱۵) چنین تأثیر مشابهی در محلول استخراجی دانه‌های روغنی سویا، نارگیل و بادام‌زمینی نیز مشاهده شده است. در ضمن، طبق نتایج Chantachum و همکاران (۲۰۰۰) افزایش بیشتر دما نیز سبب کاهش بازدهی خواهد شد زیرا با دنا توره شدن بیشتر پروتئین، ساختارهای به هم چسبیده محکمی شکل می‌گیرند که از آزاد شدن روغن جلوگیری می‌کند. در نتیجه، پروتئین‌ها می‌توانند با مسدود و محصور کردن چربی‌ها مانع آزاد شدن آنها شوند.

روغن ماهی به دلیل دارا بودن مقادیر بسیاری از اسیدهای چرب چندغیراشباعی، به ویژه بسته به شرایط تولید و نگهداری بسیار مستعد فساد است (Rubio-Rodriguez و همکاران، ۲۰۰۸). اکثر روش‌های سنتی استخراج چربی‌های دریایی نیازمند دماهای بالا و یا مصرف حلال هستند. چنین تیمارهایی روند تخریب و یا اکسیداسیون اسیدهای چرب چندغیراشباعی را تسریع می‌کنند. اکسید شدن روغن ماهی باعث تشکیل ترکیبات واسطه ناپایداری، همچون رادیکال‌های آزاد و هیدروپراکسیدها می‌شود که مستعد تجزیه بیشتر و تبدیل

و همچنین ترکیبات زیست‌فعال از منابع گیاهی و جانوری معرفی کردند. احتمالاً یکی از دلایل افزایش بازدهی در این روش، آماده‌سازی نمونه پیش از فرایند استخراج و حذف بخش قابل توجهی از آب موجود در نمونه خام (خشک کردن با خشک کن انجمادی) است که سبب تخریب ساختار سلول شده و جداسدن چربی را از غشای سلول و لیپوپروتئین‌ها تسهیل می‌کند (Batista و همکاران، ۲۰۰۱). امواج فراصوت با ایجاد حفره‌های صوتی باعث تخریب دیواره سلول و افزایش سطح تماس حلال و ترکیبات هدف می‌شوند در نتیجه سرعت و بازدهی استخراج را نسبت به روش‌های شیمیایی به‌طور قابل توجهی افزایش می‌دهند (Khan و همکاران، ۲۰۱۰). Converti و همکاران (۲۰۰۹) چندین روش استخراج زیست توده از *Nannochloropsis oculata* را در زمان‌های مختلف بررسی کردند. پس از ۶ ساعت استخراج، روش استخراج با حلال و با کمک امواج فراصوت در مقایسه با روش‌هایی که تنها از حلال برای استخراج استفاده شد، بازدهی بالاتری داشت. در واقع، این روش از طریق ایجاد حفره و عملکرد هم‌زمان مکانیکی و حرارتی زمان فرایند استخراج را کاهش و کارایی را افزایش می‌دهد به همین دلیل جزء روش‌های استخراج سریع محسوب می‌شود (Dos Santos و همکاران، ۲۰۱۵) علاوه بر این، دارای مزایایی همچون مصرف کم حلال و استفاده از حلال‌های ایمن، قابلیت اجرا در مقیاس صنعتی و مقرون به صرفه بودن نیز هستند که توجه به توسعه چنین روش‌هایی می‌تواند نقش مهمی را در امر توسعه پایدار ایفا کند (Ibanez و همکاران، ۲۰۱۲)؛ Awad و همکاران (۲۰۱۲). در تحقیق حاضر روش حلالی دارای بازده کمتری نسبت به روش‌های فراصوت و سوکسله بود. دلایلی که می‌توان در توجیه این مسئله به آن اشاره کرد این است که در این روش از حلال کمتری

می‌شود (Chantachum و همکاران، ۲۰۰۰). علاوه بر این، نتایج Zuta و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد دما تأثیر معناداری بر شکل‌گیری محصولات اکسیداسیون دارند به طوری که ارتباط مستقیمی بین مقادیر شاخص PV و افزایش دما وجود داشت. اکسیداسیون چربی‌ها می‌تواند با سازوکارهای مختلفی از جمله تشکیل اکسیژن یگانه، تولید آنزیمی و غیر آنزیمی رادیکال آزاد و اکسیژن فعال آغاز و تشدید گردد. شکل‌گیری دی‌ان مزدوج معمولاً در مراحل اولیه فرایندهای اکسیداسیون و با شکستن پیوندهای دوگانه و آرایش مجدد آنها ایجاد می‌شوند که نشان‌دهنده شروع اتواکسیداسیون است (Morrissey و Okada، ۲۰۰۷). همچنین تیوباربتوریک اسید (TBA) از شاخص‌های اندازه‌گیری اکسیداسیون ثانویه چربی‌ها براساس محتوای مالون دی‌آلدئید می‌باشد. مالون دی‌آلدئید به واسطه اکسید شدن هیدروپروکسیدها به موادی نظیر آلدئید و کتون، تشکیل می‌شود (Naseri و همکاران، ۲۰۱۰). چنین ترکیباتی می‌توانند شامل آمین‌ها، نوکلوتیدها و نوکلئیک اسید، پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و همچنین دیگر آلدئیدهای تولیدی در پایان اکسیداسیون چربی باشند. (Roig و همکاران، ۱۹۹۹؛ Smith؛ و همکاران، ۱۹۹۰). در همین راستا، Naseri و همکاران (۲۰۱۰) نیز سنجش جذب دی‌ان مزدوج را به‌عنوان روش بسیار حساسی برای تشخیص شروع اکسیداسیون چربی معرفی کردند. بنابراین سنجش سطوح نسبی دی‌ان مزدوج با اندازه‌گیری جذب نمونه در طول موج ۲۳۳ nm نشان داد بیشترین و کمترین درصد این شاخص به ترتیب مربوط به روغن استخراج شده با روش‌های حلالی و پخت می‌باشد. علاوه بر این، بیشترین و کمترین میزان تیوباربتوریک اسید به ترتیب در روغن استخراج شده به روش‌های فراصوت و پخت بود که روند تغییرات مشابه تغییرات مقدار پراکساید بود. شاخص

شدن به آلدئیدها و کتون‌ها هستند. این فرآورده‌های تجزیه‌ای به شدت بر طعم، مزه، ارزش تغذیه‌ای و به‌طور کلی کیفیت روغن ماهی تأثیرگذارند. در نتیجه استخراج روغن با فرایندهای غیرحرارتی با حداقل کردن تجزیه اسیدهای چرب چندغیراشباعی و تشکیل فرآورده‌های متنوع حاصل از اکسیداسیون، کیفیت بالاتری در مقایسه با سایر روش‌های استخراج براساس حرارت دارند (Ferraro و همکاران، ۲۰۱۳). بر همین اساس، اغلب رهیافت‌های جلوگیری از اکسیداسیون روغن ماهی شامل حفظ دمای حداقلی در روند فراوری آنها است که با کاهش اکسیداسیون از تخریب آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی جلوگیری کرده و سبب حفظ آنها خواهد شد (Okada و Morrissey، ۲۰۰۷). تعیین شاخص پراکسید یکی از معمول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری هیدروپراکساید‌های چربی است. این ترکیبات در واقع محصولات اولیه حاصل از اکسیداسیون چربی (شاخص پراکساید، PV) نیز نام دارند (Ibrahim Sallam، ۲۰۰۷). در تحقیق Young (۱۹۸۶) مقادیر PV برای روغن ماهی خام بین ۳ تا ۲۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی گزارش شد. در این تحقیق، PV نمونه‌های روغن بررسی شده کمتر از ۱۰ mmol/kg oil بود. مقایسه نتایج شاخص PV در روش‌های متفاوت استخراج نشان داد که کمترین میزان PV مربوط به روغن استخراج شده با روش پخت می‌باشد (شکل ۲). مقادیر بالاتر شاخص پراکساید در روش‌های فراصوت و سوکسله احتمالاً به دلیل افزایش دما در فرایند استخراج می‌باشد. زیرا فرایندهای دمایی با دنا توره کردن پروتئین‌های حاوی آهن، به‌ویژه میوگلوبین، باعث آزاد شدن آهن و تأثیر کاتالیزوی آن می‌شوند. در نتیجه با آزاد شدن آهن ارتباط آن با غشاهای چربی بیشتر شده و محیط برای اعمال فعالیت کاتالیزوی اکسیداسیون چربی فراهم

قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی در این روش باشد. البته در برخی از موارد افزایش جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر مربوط ترکیبات قهوه‌ای ایجاد شده در طی فرایند نیست و برخی از ترکیبات استخراج شده همراه با نمونه اصلی از جمله کارتنوئیدها سبب افزایش میزان جذب می‌شوند (Kostaki و همکاران، ۲۰۰۹). نتایج تحقیق حاضر با تحقیقات عنوان شده همخوانی دارد.

مقایسه انجام شده در این تحقیق نشان داد روش‌های متفاوت استخراج نه تنها بر بازدهی و کیفیت روغن استخراج شده بلکه بر ترکیب اسیدهای چرب نیز تأثیرگذار هستند (جدول ۲)، به طوری که در روغن استخراج شده به روش فراصوت مقادیر دو اسید چرب غیراشباع مهم شامل دکوزاهگزانوئیک اسید و ایکوزاپنتانوئیک اسید بیش از سایر روش‌ها است. علاوه بر این فراوان‌ترین اسیدهای چرب در روغن استخراج شده به روش‌های مختلف اسیدهای چرب تک غیراشباع (MUFA) بودند که این نتیجه را می‌توان به ماهیت ماده اولیه نسبت داد، چنانچه ماهی کپور معمولی به دلیل این که جزء ماهیان آب شیرین می‌باشد دارای مقادیر بیشتری از اسیدهای چرب تک غیراشباع است (Abdul و Farhat، ۲۰۱۱).

#### نتیجه‌گیری کلی

در مجموع و براساس نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر روش سوکسله، بازدهی استخراج روغن به مراتب بالاتری نسبت به روش‌های فراصوت، حلالی و پخت داشت و پس از روش سوکسله بیشترین بازدهی مربوط به روش فراصوت بود. نتایج سنجش شاخص‌های کیفی شامل پراکساید، تیوباریتوریک اسید، اسیدهای چرب آزاد و قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی نشان داد که روغن استخراج شده با روش پخت بالاترین کیفیت و روغن استخراج شده با روش فراصوت پایین‌ترین کیفیت را دارند. فراوان‌ترین

اسیدهای چرب آزاد (FFA) یکی از مهم‌ترین عوامل بررسی کیفیت چربی است. کمترین FFA نشان‌دهنده بالاترین کیفیت و کمترین میزان اکسیداسیون است (Khoddami و همکاران، ۲۰۰۹). تشکیل FFA اغلب در نتیجه فعالیت آنزیم‌های داخلی و باکتریایی است. اگرچه، غیرفعال کردن آنزیم‌ها، در اثر فرایند حرارتی از آزاد شدن FFA در نتیجه فعالیت لیپاز جلوگیری می‌کند. اما احتمالاً طی تیمار حرارتی، شکستن مولکول‌های با وزن مولکولی بالا (تری‌گلیسریدها و فسفولیپیدها) منابع جدیدی برای تشکیل FFA هستند (Naseri و همکاران، ۲۰۱۰). همان‌گونه که در شکل ۵ نیز نشان داده شده، شاخص FFA در روش استخراج با فراصوت به طور معناداری بیشتر از سایر روش‌ها است که احتمالاً مدت زمان تیمار استخراج با فراصوت (۶۰ دقیقه) نقش مهمی در افزایش شاخص مذکور دارد. زیرا Abdullah و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی شاخص FFA در روغن استخراج شده با تیمار فراصوت بیان کردند که زمان اعمال تیمار فراصوت ارتباط مستقیمی با مقادیر این شاخص در روغن استخراجی دارد. همان‌گونه که در شکل ۶ نیز نشان داده شده است. روش استخراج با فراصوت بالاترین میزان شاخص قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی را به خود اختصاص داد. افزایش دما حین فرایند استخراج و همچنین مقادیر بالای ترکیبات کربونیلی حاصل از اکسیداسیون (آلدهید و کتون) نیز می‌تواند سبب افزایش تشکیل رنگ‌دانه‌های قهوه‌ای در نمونه شود. بر همین اساس، نتایج مطالعه Smith و همکاران (۱۹۹۰) نشان داد محصولات حاصل از اکسیداسیون چربی با ترکیبات آمینی واکنش می‌دهند و ترکیبات قهوه‌ای رنگ شکل می‌گیرند. در نتیجه، علی‌رغم عدم استفاده از دمای بالا در فرایند استخراج با روش فراصوت، بالا بودن شاخص محصولات ثانویه اکسیداسیون می‌تواند از دلایل افزایش شاخص

**K., Norulaini, N., Omar, A. 2013.** Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering* 117: 426–436.

**Chantachum, S., Benjakul, S., Sriwirat, N. 2000.** Separation and quality of fish oil from precooked and non-precooked tuna heads. *Food Chemistry* 69: 289–294.

**Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P., Del Borghi, M. 2009.** Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48: 1146–1151.

**Dos Santos, R.R., Moreira, D.M., Kunigami, C.N., Aranda, D.A.G., Teixeira, C.M.L.L. 2015.** Comparison between several methods of total lipid extraction from *Chlorella vulgaris* biomass. *Ultrasonics sonochemistry* 22: 95–99.

**Farhat, Abdul. 2011.** Investigation the chemical composition and fatty acid profiles of *Cyprinus carpio*, *Labeo rohita* and *Oreochromis mossambicus* from the Indus River, Pakistan.

**Ferraro, V., Carvalho, A.P., Piccirillo, C., Santos, M.M., Castro P.M.L., Pintado M.E. 2013.** Extraction of high added value biological compounds from sardine, sardine-type fish and mackerel canning residues-A review. *Materials Science and Engineering: C33*: 3111–3120.

**Hao, S., Wei, Y., Li, L., Yang, X., Cen, J., Huang, H., Lin, W., Yuan, X. 2015.** The effects of different extraction methods on composition and storage stability of sturgeon oil. *Food chemistry* 173: 274–282.

**Henry S., Ma'moori m., Akbari c., Enayatifard R., Heidari M., 1383.** Comparison of different oil extraction methods from shark liver and kilka fish based on their vitamin A and D content. *University of Medical Sciences. Volume VI, Issue II, pp. 59-50*

**Hole, M., Taylor, K.D. 1996.** Methods of extraction composition and stability of vitamin A and other components in dogfish (*Squalus acanthias*) liver oil. *Food Chemistry*, 55(3): 215-220.

**Ibanez, E., Herrero, M., Mendiola, J.A., Castro-Puyana, M. 2012.** Extraction and characterization of bioactive compounds with health benefits from marine resources: macro and micro algae,

اسیدهای چرب در روغن استخراج شده در تمامی روش‌ها اسیدهای چرب تک غیراشباع (MUFA) بودند و مقدار دو اسید چرب دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) و ایکوزاپتانوئیک اسید (EPA) در روغن استخراج شده به روش فراصوت بیش از سایر روش‌ها بود.

#### منابع

**Abdullah, S., Mudalip, S.A., Shaarani, S.M., Pi, N.C. 2010.** Ultrasonic extraction of oil from *Monopterus albus*: Effects of different ultrasonic power, solvent volume and sonication time. *Journal of Applied Sciences (Faisalabad)* 10: 2713–2716.

**Adeniyi, O., Bawa, A. 2006.** Mackerel (*Scomber Scrombrus*) oil extraction and evaluation as raw materials for industrial utilization. *Leonardo J Sci* 8: 33–42.

**Adeniyi, O., Bawa, A. 2006.** Mackerel (*Scomber Scrombrus*) oil extraction and evaluation as raw materials for industrial utilization. *Leonardo J Sci* 8: 33–42.

**Aidos, I., Krebs, N., Boonman, M., Lutén, J.B., Boom, R.M., van-der-Padt, A. 2003.** Influence of production process parameters on fish oil quality in a pilot plant. *Journal of food science* .68.581–587.

**AOAC. 2002.** Official Method of Analysis (17th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical.

**Aryee, A.N., Simpson, B.K. 2009.** Comparative studies on the yield and quality of solvent-extracted oil from salmon skin. *Journal of food engineering* 92: 353–358.

**Aubourg, S.P., Sotelo, C.G., Pérez-Martín, R. 1998.** Assessment of quality changes in frozen sardine (*Sardina pilchardus*) by fluorescence detection. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(5): 575-580.

**Awad, T., Moharram, H., Shaltout, O., Asker, D., Youssef, M. 2012.** Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International* 48: 410–427.

**Azmir, J., Zaidul, I., Rahman, M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M., Ghafoor,**



- Okada, T., Morrissey, M.T. 2007.** Recovery and characterization of sardine oil extracted by pH adjustment. *Journal of agricultural and food chemistry* 55: 1808–1813.
- Roig, M., Bello, J., Rivera, Z., Kennedy, J. 1999.** Studies on the occurrence of non-enzymatic browning during storage of citrus juice. *Food Research International* 32: 609–619.
- Rubio-Rodriguez, N., Sara, M., Beltrán, S., Jaime, I., Sanz, M.T., Rovira, J. 2008.** 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. *The Journal of Supercritical Fluids* 47: 215–226.
- Sarker, M.Z.I., Selamat, J., Habib, A.S.M.A., Ferdosh, S., Akanda, M.J.H., Jaffri, J.M. 2012.** Optimization of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of fish oil from viscera of African catfish (*Clarias gariepinus*). *International journal of molecular sciences* 13: 11312–11322.
- Senphan, T., 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: 498–506.
- Pokorny J, Dieffenbacher A. 1989.** Determination of 2-thiobarbituric acid value: direct method-results of a collaborative study and the standardised method. *Pure and Applied Chemistry* 61: 1165–1170.
- Smith, G., Hole, M., Hanson, S.W. 1990.** Assessment of lipid oxidation in Indonesian salted-dried marine catfish (*Arius thalassinus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 51: 193–205.
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., Bates, D. 2008.** Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 9: 161–169.
- Wrolstad RE, Decker EA, Schwartz SJ, Sporns P. 2005.** Handbook of food analytical chemistry, water, proteins, enzymes, lipids, and carbohydrates. John Wiley & Sons. 1397pp.
- Wu, T.H., Bechtel, P.J. 2009.** Quality of Crude Oil Extracted from Aging Walleye Pollock (Theragra cyanobacteria, and invertebrates. *Marine Bioactive Compounds*. Springer, 55–98.
- Ibrahim Sallam, K. 2007.** Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control* 18: 566–575.
- Iverson, S.J., Lang, S.L.C., Cooper, M.H. 2001.** Comparison of the Bligh and Dyer and Folch Methods for Total Lipid Determination in a Broad Range of Marine Tissue. *Lipids* 36, 1283–1287.
- Karim b., Rezaei M., Bahramifar n., 1394.** A comparison of yield and quality of the oil extracted from common kilka sprat (*Clupeonella cultriventris caspia*, Svetovidov, 1952) of the Caspian Sea with methods of wet reduction, soxhlet, supercritical fluid and ultrasound. Master's thesis. Tarbiat Modarres University in Tehran.
- Khan, M.K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A.S., Dangles, O., Chemat, F. 2010.** Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavonone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry* 119: 851–858.
- Khoddami, A., Ariffin, A., Bakar, J., Ghazali, H. 2011.** Quality and fatty acid profile of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Euthynnus affinis*). *African Journal of Biotechnology* 11: 1683–1689.
- Kim S-K, Mendis E. 2006.** Bioactive compounds from marine processing byproducts—a review. *Food Research International* 39: 383–393.
- Luthria, D.L. 2004.** Oil extraction and analysis: critical issues and comparative studies. AOCs Press. 279pp.
- Metcalf L. D, Schmitz A. A, and Pelka J. R. 1966.** Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*, 38(3): 514-515.
- Naseri, M., Rezaei, M., Moieni, S., Hosseni, H., Eskandari, S. 2010.** Effect of different pre-cooking methods on chemical composition and lipid damage of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) muscle. *International journal of food science & technology* 45: 1973–1979.
- Norziah, M., Nuraini, J., Lee, K. 2009.** Studies on the extraction and characterization of fish oil from wastes of seafood processing industry. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*. 959–973.

**Young F. 1986.** Refining and hydrogenation of fish oil. Fish oil Bulletin. No 180.

**Zuta P., Simpson B., Zhao X., Leclerc L. 2007.** The effect of  $\alpha$ -tocopherol on the oxidation of mackerel oil. Journal of Food Chemistry, Vol, 100(2), 300-305.

chalcogramma) Byproducts. J Am Oil Chem Soc (AOCS), 86(903-908).

**WWW.FAO.COM, 1960-2014.**  
<http://www.fao.org/fishery/statistics/global-production/en>.

---

## Investigation of Oil extracted from Common Carp Fish (*Cyprinus carpio*) by-products using wet rendering, Solvent, ultrasound and Soxtec method extraction

Hossein Nourani<sup>1</sup>, Seyed Ali Jafarpour\*<sup>2</sup>, Masoud Rezaei<sup>3</sup>

1- M.Sc Student, Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Naturla Resources University, Iran

2- Associate Professor, Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Naturla Resources University, Iran

3- Proressor, Department of Fisheries, Faculty of Naturla Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modarres University, Iran

Received: 17.01.2017 Accepted:

\*Corresponding author: a.jafarpour@sanru.ac.ir

---

### Abstract:

The effect of different extraction methods (soxtec apparatus, ultrasound, solvent and wet rendering) on yield, quality and fatty acids composition of oil extracted from the offal of common carp (*Cyprinus carpio*) was compared. For determination of the oil quality, PV, TBA, FFA, conjugated diene, non-enzymatic browning indexes and fatty acids composition were measured. Results showed that soxtec apparatus had the highest efficiency compared to other extraction methods. In addition, ultrasound extraction had higher yield in comparison to solvent methods. Moreover, the wet rendering method had lower oil yield. The quality indexes of oil extracted with ultrasound had significantly lower quality compared to other extraction methods. Hence, the oil extracted with wet rendering methods had better quality. Oil extracted with all of the methods contained high amounts of MUFA, also oil extracted by ultrasound method had the highest content of DHA and EPA as compared with other extraction methods.

**Keywords:** Common Carp, Oil extraction, Ultrasound, Rendering, Solvent