

## ارزیابی پتانسیل دی اکسید کربن فوق بحرانی در استخراج روغن از ضایعات تن ماهیان و مقایسه آن با روش پرس مرطوب

محمد مهدی طاعتی کلی<sup>۱</sup>، بهاره شعبانپور\*<sup>۲</sup>، سید مهدی اجاق<sup>۳</sup>

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

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

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

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۱۰ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۷/۳۰

### چکیده

روغن ماهی یکی از ارزشمندترین محصولات دریایی می باشد که هم به صورت تصفیه نشده برای خوراک دام، طیور و آبزیان مورد استفاده قرار گرفته و هم به واسطه داشتن اسیدهای چرب ایکوزاپنتانویک اسید (EPA) و دکوزاهگزانویک اسید (DHA) می تواند به عنوان مکمل غذایی توسط انسان مصرف گردد. در پژوهش حاضر، استخراج روغن با دو روش سیال فوق بحرانی (SFE) و پرس مرطوب (WP) از ضایعات کارخانجات کنسرو تن ماهیان، از دو دیدگاه بازدهی و کیفیت محصول، با تمرکز بر مصارف انسانی مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور، نسبت روغن بدست آمده از مواد خام اولیه و نیز شاخص ها و ترکیبات حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی و نیز آلودگی های بر مبنای فلزات سمی ارزیابی شدند. نرخ بازدهی محصول و میزان رطوبت روغن اختلاف معنی داری را در هر ۲ روش نشان نداد. برخی از ترکیبات فرار مانند آلدهیدها تنها در روش WP مشاهده شد و تعداد آلکان های یافت شده در این روش نیز بیشتر از SFE بود. در مقابل اسید سیتریک به عنوان اسید آلی غیر لیپیدی تنها در تیمار SFE یافت گردید و DMA به عنوان عامل اصلی ایجاد بوی ویژه ماهی در هر ۲ تیمار مشاهده شد. لیپیدهای خنثی اندازه گیری شده در این پژوهش (شامل استرهای واکسی، TAG، FFA و CHOL) و نیز نرخ اسیدیته اختلاف معنی داری را نشان ندادند. میزان DHA در پروفایل اسیدهای چرب تیمار SFE، به طور معنی داری بالاتر از تیمار WP بود. همچنین، میزان فلزات سمی جیوه، آرسنیک، کادمیوم و سرب نیز در تیمار SFE به طور معنی داری پایین تر از تیمار WP بود. بنابراین، نتایج حاصل از این مطالعه، حاکی از پتانسیل مناسب ضایعات تن ماهیان برای استخراج روغن ماهی در حوزه مصارف انسانی و روش SFE برای استخراج آن بود.

**واژگان کلیدی:** ضایعات تن ماهیان، پراکسیداسیون لیپیدی، ترکیبات فرار، DHA، دی اکسید کربن فوق بحرانی.

## ۱. مقدمه

تن ماهیان (Scombridae) یکی از با ارزش ترین ماهیان صنعتی در جهان محسوب می‌شوند که رقم قابل توجهی از صید سالانه جهان را به خود اختصاص می‌دهند. بیش از ۹۰ درصد تن ماهیان صید شده برای تبدیل شدن به کنسرو به کارخانه‌های کنسرو سازی در استان‌های مختلف کشور فرستاده شده و بقیه به بازارهای ماهی وارد می‌گردند (Pazouki *et al.*, 2012). در جهان بیش از ۷۰ درصد ماهیان صید شده عمل‌آوری می‌شوند که بیش از ۵۰ درصد وزن آن‌ها به ضایعات جامد و محصولات جانبی بدل می‌گردد (Shahidi, 2007). در ایران نیز باقی‌مانده‌ی مواد خام حاصل از کنسرو سازی تن ماهیان حدود ۶۰-۵۰ درصد برآورد می‌شود که از این مقدار ۲۰-۱۰ درصد مربوط به عضله‌ی تیره و مابقی بخش‌های جدا شده از ماهی (مانند سر، پوست، امعاء و احشا و ...) هستند که به عنوان ضایعات در نظر گرفته می‌شوند (Kamali, 2013). امروزه با وجود فناوری‌های گوناگون در جهان امکان استفاده از این محصولات جانبی (By-Products) برای تولید محصولات مختلف و ایجاد ارزش افزوده وجود دارد. تولید پودر ماهی مورد استفاده در خوراک دام و آبزیان (مرسوم در ایران)، ایزوله‌های پروتئین ماهی (FPI)، کلاژن، ژلاتین، برخی آنزیم‌ها، سیلاژ، انواع ترکیبات بیواکتیو، رنگیزه‌ها، لکتین، چرم و روغن ماهی و اسیدهای چرب آن از این گونه مواد هستند (Blanco *et al.*, 2007).

از جمله موارد فوق، تولید روغن ماهی با کیفیت می‌باشد که به دلیل داشتن امگا ۳ از مهمترین آن‌ها است. اسیدهای چرب امگا ۳ جزء اسیدهای چرب غیراشباع (PUFA) هستند که دارای زنجیره کربنی مستقیم (۱۸ تا ۲۲ کربنه) منتهی به گروه کربوکسیلیک بوده و دارای ۳ پیوند دوگانه می‌باشند. منبع اصلی تامین اسیدهای چرب ضروری (اسیدهای چربی که در بدن سنتز نمی‌شوند) امگا ۳ (به ویژه EPA و DHA) عمدتاً منابع دریایی خصوصاً ماهیان می‌باشند. اهمیت استفاده از امگا ۳ به ویژه در مطالعاتی که از سال ۲۰۰۰ به بعد انجام شده‌اند مورد تاکید و توجه قرار گرفته است (Rubio-Rodriguez *et al.*, 2010).

گام اول در خالص سازی امگا ۳ استحصال روغن می‌باشد. تاکنون روش‌ها و شیوه‌های گوناگونی چون بلای و دایر (Bligh and Dyer, 1959)، استخراج با حلال ایزوپروپیل الکل (Hole *et al.*, 1990)، استخراج با سوکسله (Jensen *et al.*, 2003)، استخراج آنزیمی (Gbogouri *et al.*, 2006)، استخراج سرد (Rubio-Rodriguez *et al.*, 2012) و ... در جهت روغن کشی از بافت‌های مختلف ماهیان آزموده شده است. روشی نیز که امروزه در جهان در مقیاس صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد پرس مرطوب (Wet Pressing=WP) (FAO, 1986) می‌باشد که مبتنی بر پخت و پرس مکانیکی 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 نوین دیگری نیز مورد توجه قرار گرفته‌اند که تولید و کیفیت را به طور توأم مورد توجه قرار داده و از خطر آسیب‌رسانی به محیط زیست نیز مبری هستند. جدیدترین فرآیندی که اکنون در جهان در جهت تولید روغن ماهی مورد توجه و استفاده قرار گرفته است، فرآیند استخراج با سیال فوق بحرانی (Supercritical Fluid Extraction=SFE) می‌باشد. در این روش، نمونه در مدت زمان مشخص با سیالی (عموماً دی اکسید کربن) که به لحاظ درجه حرارت و فشار به نقطه فوق بحرانی خود رسیده است در تماس بوده و ماده مورد نظر را در خود حل نموده و از آن استخراج می‌کند (Eduardo *et al.*, 2012). نقطه بحرانی به درجه حرارت و یا فشاری گفته می‌شود که در آن مرزی بین دو فاز ماده وجود ندارد. یک سیال فوق بحرانی خالص ماده‌ای است که بالاتر از دما و فشار بحرانی خودش قرار دارد. ماده در بالاتر از دمای بحرانی تبخیر یا کندانسه نمی‌شود و یک مایع یا گاز را به وجود نمی‌آورد، اما سیال است و ویژگی‌های آن دائماً از حالت گازی به حالت مایع با افزایش فشار تغییر می‌کند. این ویژگی، استخراج را انتخابی می‌کند (Fiori *et al.*, 2012).

سیال فوق بحرانی از نظر خواص انتقالی مانند گازها (نفوذپذیری بالا و ویسکوزیته کم) و از نظر قدرت حلالیت، شبیه حلال‌های مایع هستند. با توجه به این خواص، سیالات فوق بحرانی برای گستره وسیعی از

میزان کارآیی فرآیندها در تولید و کیفیت سنجی دقیق محصولات بدست آمده (با تمرکز بر مصرف انسانی) در هر یک از ۲ فرآیند مورد توجه قرار گرفت. در ابتدا میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر محصولات جانبی تن ماهیان برای آنالیز مواد خام اولیه اندازه گیری شد. روش های استفاده شده برای استحصال روغن از مواد خام اولیه، پرس مرطوب (WP) و استخراج با سیال فوق بحرانی (SFE) بودند که نرخ بازدهی (Yield) هر دو روش محاسبه گردید. در راستای ارزیابی کیفی نیز مواردی چون میزان رطوبت، ترکیبات فرار (Volatile Compounds) (آلکانها، آلدئیدها، اسیدها و آمینها)، سطوح لیپیدهای خنثی (Neutral Lipids) (واکس استرها (WE=Wax Esters)، تری-اسیل گلیسریدها (TAG=Triacyl Glycerides)، اسیدهای چرب آزاد (FFA=Free Fatty Acids) و کولسترول (CHOL=Cholesterol)، پروفایل اسیدهای چرب، نرخ اسیدیته و نیز سطوح فلزات جیوه (Hg)، آرسنیک (As)، کادمیوم (Cd) و سرب (Pb) سنجیده شدند.

## ۲. مواد و روش ها

### ۱.۲. تهیه مواد خام آزمایش و پیش تیمار

مواد خام مورد نیاز در این پژوهش محصولات جانبی کارخانه های کنسروسازی شامل سر، پوست، امعاء و احشاء، ستون فقرات و عضلات تیره سه گونه از تن ماهیان پرمصرف یعنی هورور (*Thunnus tonggol*)، هورور مسقطی (*Euthynnus pelamis*) و تن زرد باله (*Thunnus Albacares*) بودند، که برای کاهش دادن متغیرها و تفاوت های ناشی از محل صید، فصل صید و فرآیند عمل آوری، ضایعات مورد نظر از یک واحد تولیدی (کارخانه ساحل صید کنارک واقع در چابهار) تهیه گردیدند. مواد اولیه پس از بسته بندی با نسبت های مساوی (۱:۱:۱) و ثابت از سه گونه منجمد گردیده و پس از انجماد به همراه یخ به محل انجام آزمایش حمل شدند و در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد تا شروع آزمایش قرار گرفتند.

### ۲.۲. آنالیز ترکیبات مغذی مواد خام اولیه

مواد خام اولیه (با نسبت های مساوی و ثابت از

مواد در خالص سازی، استخراج و تفکیک استفاده می-شوند. چگالی سیال فوق بحرانی تقریباً ۱۰۰۰ برابر چگالی حالت گازی می باشد، که همین دلیل قدرت حل کنندگی سیال فوق بحرانی را بیشتر از گازها و مشابه مایعات می نماید. سیال فوق بحرانی دارای نفوذ پذیری زیادتر و ویسکوزیته کمتری نسبت به حلال های مایع است. از این رو، این دو عامل انتقال جرم را کنترل کرده و باعث می شود که سیال فوق بحرانی بسیار سریع عمل نماید (Gironi and Maschietti, 2006).

دی اکسید کربن یک سیال فوق بحرانی بسیار مناسب می باشد، زیرا نسبت به مواد مشابه دارای دما و فشار بحرانی کمتری است. از آنجا که این ماده غیرقطبی است به عنوان یک حلال غیرقطبی تلقی می-گردد (Eduardo et al., 2012). چون دی-اکسید کربن تمایل کمی به مواد قطبی دارد (بدلیل بزرگی ملکول چهار وجهی) می توان از آن برای استخراج ملکول های آلی بزرگ حتی آنهایی که کمی قطبی هستند نیز استفاده کرد (Passos et al., 2009).

دی اکسید کربن فوق بحرانی، حلال بسیار خوبی برای چربی ها و روغن ها است، و بسیاری از پژوهش ها حلالیت انواع ترکیبات روغنی به ویژه روغن ماهی و ترکیبات مرتبط با آن را تایید نموده اند (Rubio-Rodriguez et al., 2010). روغن ماهی ترکیبی طبیعی از انواع ترکیبات لیپیدی گوناگون می باشد که در دمای محیط به صورت مایع بوده و در حلال های غیرقطبی (مانند دی اکسید کربن، هگزان، اتر و ...) محلول و در حلال های قطبی (مانند آب) نامحلول است. از این رو، استفاده از دی اکسید کربن فوق بحرانی برای استخراج آن امری کاملاً علمی است.

بنابر آنچه ذکر گردید، میزان بالای ضایعات ماهی در ایران و ارزش افزوده بالقوه آنها، فواید اسیدهای چرب امگا ۳ برای سلامتی انسان، ظهور روش های نوین استخراج و تخلیص ترکیبات در جهان، و ضرورت انتخاب فرآیندهای بهینه تولید روغن ماهی در جهت رسیدن به محصولی با کیفیت بالا، نیاز به انجام پژوهشی در این زمینه را آشکار می کند.

از این رو، انجام پژوهش حاضر با هدف استفاده بهینه از محصولات جانبی کارخانه های کنسرو تن- ماهیان در جهت استحصال روغن ماهی از دو دیدگاه

رطوبت نمونه‌ها به زیر ۲۰ درصد) قرار داده شد و پس از آن درون Extractor دستگاه SFE قرار گرفت. شرایط استخراج به صورت: حلال دی‌اکسیدکربن، میزان فشار ۲۵ MPa، درجه حرارت ۴۰ درجه سانتی-گراد (به طور ثابت)، میزان جریان ثابت حلال  $1 \pm 10$  گرم در دقیقه و مدت زمان ۳ ساعت در نظر گرفته شد (Rubio-Rodriguez et al., 2012).

در این دستگاه، پس از آغاز حرکت دی‌اکسید-کربن در پایپ اصلی، پمپ فزاینده و کمپرسور CO<sub>2</sub> سرعت حرکت و فشار دی‌اکسید کربن مایع را ارتقا بخشیده و پس از آن سیال وارد مبدل حرارتی (هیتر) تعبیه شده در سیستم گردید و درجه حرارت آن تا میزان تنظیم شده (متفاوت در استخراج ترکیبات گوناگون) افزایش یافت. سیال با فشار و حرارت مورد نظر وارد Extractor (که مواد خام فریزدرایر شده در آن قرار گرفتند) گشته و به علت داشتن ماهیت مایع-گازی وارد خلل و فرج مواد خام شد و بسته به وزن ملکولی، ترکیبات هدف را در خود به صورت محلول درآورده و خارج نمود. جریان سیال با فشار و درجه-حرارت تنظیم شده برای آن، به صورت پیوسته از میان مواد خام عبور کرده و به تدریج عملیات استخراج به انجام رسید. سیال خارج شده از Extractor وارد Collector شد و بر روی سیلیکاژل (رطوبت‌گیر مورد استفاده در این پژوهش) جمع‌آوری گردید. اختلاف فشار ایجاد شده در این محفظه سبب جدا شدن دی-اکسید کربن از روغن ماهی (و کاهش فشار CO<sub>2</sub> به تقریباً ۵ MPa و درجه حرارت کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد) و خروج آن گردید. CO<sub>2</sub> خروجی از طریق پایپ خروجی به سمت محفظه اولیه دی‌اکسید کربن حرکت کرده و پس از گذر از خنک کننده (کولر) به صورت مایع درآمد و مجدداً وارد سیستم گشت (شکل ۱).

## ۵.۲. نرخ بازدهی

پس از استحصال روغن در هر یک از ۲ روش یاد شده، نرخ بازدهی تولید بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید:

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

سه گونه) هموژن گردیده و ترکیبات مغذی آن‌ها شامل میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر طبق روش-های استاندارد AOAC (2005) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری رطوبت از آون، پروتئین از دستگاه کلدال، برای اندازه‌گیری میزان چربی از سوکسله و خاکستر از کوره الکتریکی استفاده گردید.

## ۳.۲. اندازه‌گیری فلزات موجود در مواد خام

### اولیه

فلزات Cd, As, Hg و Pb نیز در مواد خام اولیه پژوهش ارزیابی شدند. بدین منظور مطابق استانداردهای APAH (2005) از کوره الکتریکی استفاده شد.

## ۴.۲. استخراج روغن از مواد خام اولیه با روش-

### های WP و SFE

روغن موجود در مواد خام اولیه توسط روش‌های ذیل در جهت مقایسه بازدهی تولید و پس از آن آنالیز کیفی روغن، استخراج گردید و تیماربندی بر اساس روش‌های استخراج صورت پذیرفت (جدول ۱):

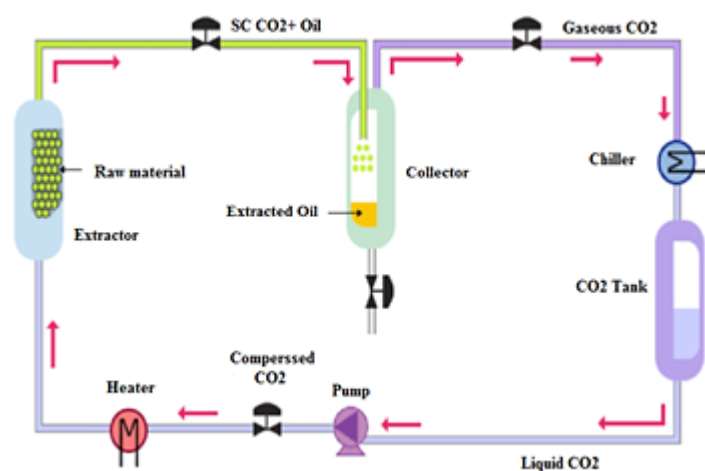
### a) استخراج مکانیکی (WP)

در این روش ۱۰۰۰ گرم از نمونه (با نسبت‌های مساوی و ثابت از سه گونه) با آسیاب برقی کاملاً خرد شد و به یک بشر ۲۰۰۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. سپس، ۵۰۰ میلی‌لیتر آب به آن افزوده شد و به مدت ۲ ساعت در بن‌ماری با درجه حرارت ۸۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از آن، نمونه به یک کیسه پارچه‌ای انتقال یافته و با فشار مکانیکی و با استفاده از آب میوه‌گیری دستی عصاره‌گیری شد. عصاره بدست آمده با قیف بوختر حاوی کاغذ صافی با مکش صاف شد. جداسازی فاز آبی از روغن با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت  $10^4 \times g$  و به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در درجه حرارت ۲۰ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت و حجم روغن در پایان بر حسب میلی‌لیتر ثبت گردید (Hole et al., 1990).

### b) استخراج توسط سیال فوق بحرانی (SFE)

در این مطالعه، میزان ۱۰۰۰ گرم از نمونه‌های خام اولیه (با نسبت‌های مساوی و ثابت از سه گونه) به مدت ۷۲ ساعت در فریزدرایر (به جهت کاهش دادن

تیمارها	شرح تیمارهای آزمایشی
۱	ترکیب مواد خام اولیه از سه گونه از تن ماهیان (هوور، گیدر و هوور مسقطی) + استخراج بوسیله WP
۲	ترکیب مواد خام اولیه از سه گونه از تن ماهیان (هوور، گیدر و هوور مسقطی) + استخراج بوسیله SFE



شکل ۱- دیاگرام شماتیک استخراج روغن ماهی با استفاده از سیال فوق بحرانی (SFE).

کلیه موارد فوق با استفاده از دستگاه GC/MS (Gas Chromatography/Mass Spectrometry) کمپانی Varian مدل CP-3800 اندازه گیری شدند. اندازه گیری میزان کل لیپیدهای خنثی لیپیدهای خنثی اندازه گیری شده در این مطالعه موارد ذیل بودند:

استرهای واکسی (WE)  
تری اسیل گلیسرولها (TAG)  
اسیدهای چرب آزاد (FFA)  
کلسترول (CHOL)

ترکیبات فوق توسط دستگاه High HPLC (Pressure Liquid Chromatography) کمپانی Wissenschaftliche Gerätebau مدل D-14163 آنالیز شدند. تعیین پروفایل اسیدهای چرب

پروفایل اسیدهای چرب بر اساس روش استاندارد AOAC و توسط دستگاه GC (Gas Chromatography) کمپانی UNICAM مدل 3800 تعیین گردید. تعیین نرخ اسیدیته (AV)

نرخ اسیدیته بر اساس روش های استاندارد مطرح شده در AOAC (Perrin, )

## ۶.۲. آنالیز کیفی روغن های استحصالی

پس از استحصال روغن ماهی به روش های WP و SFE، 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 که در ادامه به ذکر ترکیبات و نحوه اندازه گیری آنها پرداخته شده است.

### اندازه گیری رطوبت روغن

میزان رطوبت روغن بر اساس روش استاندارد IUPAC (Paquot and Hautfenne, 1987) اندازه گیری شد. در این روش میزان ۱۰ میلی لیتر از نمونه در آون با درجه حرارت ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و سپس بر اساس 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 در جهت بررسی میزان تغییر سطوح آنها در روش های مختلف استخراج روغن و یافتن روش استخراج مناسب، ترکیبات فرار ذکر شده در جدول ۲ اندازه گیری شدند.

جدول ۲- ترکیبات فرار اندازه‌گیری شده در روغن استحصالی از تن ماهیان با ۲ روش WP و SFE

عنوان	نوع ترکیب
Decane	آلکان
2-Methyl-decane	آلکان
3-Methyl-decane	آلکان
Undecane	آلکان
Dodecane	آلکان
Tridecane	آلکان
Pentadecane	آلکان
Cyclohexadecane	آلکان
2,6,10,14-Tetramethyl-pentadecane	آلکان
Heptanal Waxy	آلدهید
Hexanal	آلدهید
Nonanal	آلدهید
Acetic acid	اسید
Dimethyl amine	آمین

اختلاف معنی‌داری در میزان رطوبت موجود در روغن-های استحصالی با ۲ روش وجود ندارد ( $P > 0.05$ ). همچنین، نتایج حاصل از شناسایی آلکان‌های (از جمله ترکیبات فرار مهم ایجاد شده در اکسیداسیون چربی‌ها) موجود در روغن‌ها نیز نشان داد که Decane، Undecane، Dodecane، Tridecane و 2,6,10,14-Tetramethyl-pentadecane در نمونه‌های استخراجی با هر ۲ روش WP و SFE وجود داشته و 3-Methyl-Decane در روغن‌های حاصل از ضایعات تن ماهیان با روش‌های یاد شده مشاهده نگردیدند. از سوی دیگر، 2-Methyl-Decane و Decane در نمونه‌های بدست آمده از روش SFE یافت شد و در روغن‌های حاصل از روش WP مشاهده نگردیدند. بنابراین، می‌توان بیان داشت، که عدم مشابهت کامل در یافت شدن انواع آلکان‌ها در روغن‌های بدست آمده وجود داشت.

نتایج حاصل از سنجش آلدهیدها، اسیدها و آمین‌ها بررسی وجود یا عدم وجود آلدهیدها در مطالعه حاضر نشان داد که در روغن‌های ماهی استحصالی با روش WP (جدول ۵)، Hexanal، Nonanal و Heptanal Waxy (از آلدهیدها) وجود دارند که در روغن‌های بدست آمده از روش SFE یافت نشدند. همچنین، Dimethyl amin (از آمین‌ها) در نمونه‌های روغن استحصالی با هر دو روش یافت گردید. از سوی دیگر، Acetic acid تنها در نمونه‌های حاصل از روش

1996).

اندازه‌گیری میزان فلزات

در جهت ارزیابی میزان باقی مانده فلزات در روغن استحصالی در ۲ روش گوناگون، میزان فلزات Hg، As، Cd و Pb همانند بخش ۳،۲ مطابق استانداردهای APAH (2005) تعیین گردید.

### ۳. نتایج

#### ۱.۳. نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات مغذی مواد خام اولیه

آنالیز ترکیبات مواد خام اولیه مورد آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است.

#### ۲.۳. میزان نرخ بازدهی روغن

میزان تولید روغن در هر ۲ روش WP و SFE در شکل ۲ نشان داده شده است. نرخ بازدهی در روش پرس مرطوب کمی بالاتر از روش استخراج با سیال فوق بحرانی بود که البته این اختلاف چشمگیر و معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ).

#### ۳.۳. نتایج آنالیز کیفی روغن‌های بدست آمده

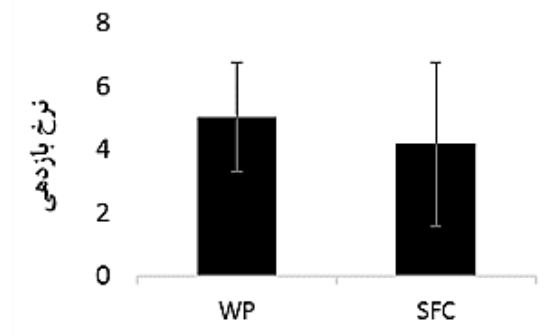
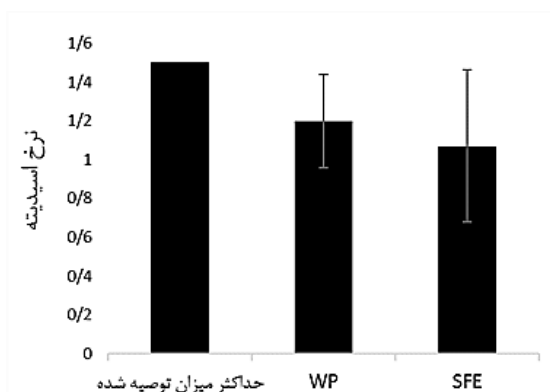
نتایج حاصل از اندازه‌گیری رطوبت و بررسی آلکان‌ها همان‌گونه که در جدول ۴ نشان داده شده است،

جدول ۳- آنالیز ترکیبات و فلزات سنگین مواد خام اولیه (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

پارامتر / واحد	رطوبت (درصد)	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	خاکستر (درصد)	جیوه (ppm)	آرسنیک (ppm)	کادمیوم (ppm)	سرب (ppm)
نتایج	۵۹/۷ $\pm$ ۲/۳	۲۰/۹ $\pm$ ۱/۹۶	۶/۷ $\pm$ ۰/۴۱	۳/۴ $\pm$ ۱/۹۷	۳۱/۸ $\pm$ ۰/۴	۱۲/۴ $\pm$ ۷/۲	۱/۳ $\pm$ ۱/۹۴	۹/۱ $\pm$ ۳/۲۱

جدول ۴- رطوبت و آلکان‌های یافت شده در روغن بدست آمده از ضایعات کارخانه کنسرو تن ماهیان با روش‌های WP و SFE

عنوان	WP	SFE
رطوبت	۵/۷۹ $\pm$ ۰/۱۸	۵/۴۴ $\pm$ ۰/۶۲
Decane	✓	✓
2-Methyl-Decane	-	✓
3-Methyl-Decane	-	-
Undecane	✓	✓
Dodecane	✓	✓
Tridecane	✓	✓
Pentadecane	✓	✓
Cyclohexadecane	-	✓
2,6,10,14-Tetramethyl-pentadecane	✓	✓



شکل ۲- نرخ بازدهی روغن حاصل از ضایعات کارخانه کنسرو تن ماهیان با روش WP و SFE.

شکل ۳- نرخ اسیددیتته روغن استحصالی از ضایعات کارخانه کنسرو تن ماهیان با روش WP و SFE.

این ۲ اسید چرب در روغن ماهی بدست آمده با روش WP بود ( $P < 0.05$ ).

نرخ اسیددیتته

اختلاف معنی‌داری میان نرخ اسیددیتته (شکل ۳) در روغن ماهیان هر دو تیمار مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ). اما، نرخ اسیددیتته هر ۲ گروه با حداکثر نرخ اسیددیتته توصیه شده (۱/۵) دارای اختلاف معنی‌دار و کمتر از آن بودند ( $P < 0.05$ ). نرخ اسیددیتته روغن ماهی استحصالی با روش SFE نیز کمتر از نرخ اسیددیتته در تیمار WP بود، که البته این اختلاف معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ).

میزان فلزات سنگین در نمونه‌های روغن

همانگونه که در جدول ۸ نشان داده شده است،

SFE وجود داشت.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری لیپیدهای خنثی

همانگونه که در جدول ۶ ملاحظه می‌گردد، سطوح لیپیدهای خنثی اندازه‌گیری شده در این پژوهش فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند ( $P > 0.05$ ).

پروفایل اسیدهای چرب در نمونه‌های روغن استحصالی

نتایج حاصل از آنالیز اسیدهای چرب موجود در روغن ماهیان استحصال شده با روش‌های WP و SFE نشان داد (جدول ۷) که اختلاف معنی‌داری میان سطوح EPA و DHA در ۲ گروه مشاهده گردید، به گونه‌ای که مقادیر ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) در روغن‌های استحصالی با SFE به طور معنی‌داری بالاتر از مقادیر

جدول ۵- آلدئیدها، اسیدها و آمین‌های یافت شده در روغن‌های استخراجی با روش‌های WP و SFE از ضایعات کارخانه کنسرو تن ماهیان

عنوان	نوع ترکیب	WP	SFE
Heptanal Waxy	آلدئید	✓	-
Hexanal	آلدئید	✓	-
Nonanal	آلدئید	✓	-
Acetic acid	اسید	-	✓
Dimethyl amin	آمین	✓	✓

جدول ۶- میزان لیپیدهای خنثی اندازه‌گیری شده در روغن استحصالی از ضایعات تن ماهیان با روش WP و SFE (انحراف معیار ± میانگین)

عنوان	WP	SFE
استرهای واکسی (WE)	۱/۹۱±۰/۶	۱/۴۴±۰/۵۶
تری اسیل گلیسرول‌ها (TAG)	۹۳/۰۶±۳/۰۱	۹۲/۵۸±۰/۵
اسیدهای چرب آزاد (FFA)	۳/۴۳±۰/۹	۲/۷۶±۰/۸۴
کلسترول (CHOL)	۲/۴۶±۲/۱۷	۱/۸۵±۱/۱

جدول ۷- پروفایل اسیدهای چرب در روغن استخراج شده از ضایعات کارخانه کنسرو تن ماهیان با روش WP و SFE (انحراف معیار ± میانگین)

اسید چرب (%)	WP	SFE
C12:0 (دودکانوئیک اسید)	۰/۰۷±۰/۰۲	۰/۰۵±۰/۰۲
C14:0 (تترادکانوئیک اسید)	۴/۱۱±۱/۰۶	۲/۹۸±۱/۲۳
C15:0 (پنتادکانوئیک اسید)	۰/۷۳±۰/۰۲	۰/۸۱±۰/۴۲
C16:0 (پالمیتیک اسید)	۱۵/۸۳±۴/۹۲	۱۲/۵۴±۵/۶۳
C16:1 (هگزادکانوئیک اسید)	۶/۲۸±۲/۸	۵/۶۷±۳/۱
C17:0 (هپتادکانوئیک اسید)	۱/۶۷±۰/۰۷	۱/۰۹±۰/۴۸
C18:0 (استئاریک اسید)	۴/۹۵±۱/۷	۳/۲۶±۱/۲۴
C18:1 (اولئیک اسید)	۱۶/۵۶±۳/۸۹	۱۴/۰۹±۴/۷
C18:2 (لینولئیک اسید)	۱/۳۵±۰/۰۶	۱/۹۳±۰/۴۱
C18:3 n6 (گاما لینولنیک اسید)	۱/۰۳±۰/۰۵	۰/۸۱±۰/۰۲
C18:3 n3 (آلفا لینولنیک اسید)	۱/۹۶±۰/۰۸	۲/۳±۱/۵۴
C20:0 (آراشیدیک اسید)	۰/۱۸±۰/۰۱	۱/۹۵±۰/۶۷
C20:1 (ایکوزنوئیک اسید)	۰/۴۲±۰/۰۲۹	۰/۶۱±۰/۰۴
C20:4 n3 (ایکوزا تترانوئیک اسید)	۱/۷۴±۰/۰۶	۱/۱۸±۰/۰۹
C20:4 n6 (آراشیدونیک اسید)	۱/۹±۰/۰۷۶	۱/۲۴±۰/۰۸۲
C20:5 n3 (EPA)	۶/۰۵±۲/۱۹	۷/۹۴±۱/۰۵
C22:0 (دکازنوئیک اسید)	۰/۴۴±۰/۰۳	۰/۶۵±۰/۰۲۹
C22:5 n3 (دکوزاپنتانوئیک اسید)	۲/۰۱±۱/۰۹	۳/۸۲±۲/۴
C22:6 n3 (DHA)	۲۱/۲۵±۴/۸۴ <sup>b</sup>	۲۸/۰۵±۳/۵۷ <sup>a</sup>
EPA+DHA	۲۷/۳ <sup>b</sup>	۳۵/۹۹ <sup>a</sup>

حروف غیرمشترک بیانگر اختلاف معنی‌دار است ( $P < 0.05$ ).

#### ۴.۳. تجزیه و تحلیل آماری

طرح کلی این آزمایش به صورت کاملاً تصادفی بود و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 22 صورت پذیرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط تست نرمالیتیه Kolmogrov-Smirnov تعیین شد. برای مقایسه

اختلاف معنی‌داری میان میزان فلزات سنگین جیوه، آرسنیک، کادمیوم و سرب میان دو گروه آزمایشی وجود داشت. به‌گونه‌ای که میزان هر ۴ فلز سنگین اندازه‌گیری شده در روغن‌های استحصالی با روش WP به‌طور معنی‌داری بالاتر از روغن‌های استحصالی با روش SFE بود ( $P < 0.05$ ).



جدول ۸- میزان فلزات سنگین در روغن استحصالی از ضایعات تن ماهیان با ۲ روش WP و SFE

SFE (ppm)	WP (ppm)	عنوان
۳±۱/۵۴ <sup>b</sup>	۱۲±۴/۶۳ <sup>a</sup>	جیوه (Hg)
۱/۰۲±۰/۳۸ <sup>b</sup>	۵/۷۴±۳/۲ <sup>a</sup>	آرسنیک (As)
Trace <sup>b</sup>	۰/۲۵±۰/۰۹ <sup>a</sup>	کادمیوم (Cd)
۰/۸±۰/۱۵ <sup>b</sup>	۲/۱۲±۲/۷ <sup>a</sup>	سرب (Pb)

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

که میزان رطوبت ضایعات پیش از قرار گرفتن در مجاورت سیال فوق بحرانی به وسیله فریزدرایر به پایین تر از ۲۰٪ می رسد) و WP، بالاتر از دو روش دیگر بود. در این مطالعه اختلاف معنی داری میان بازده روش WP و SFE مشاهده نشده بود، که از این جهت با نتیجه مطالعه حاضر همخوانی دارد (Rodriguez *et al.*, 2012).

#### رطوبت و آلکانها

با توجه به پایین تر بودن میزان رطوبت (کمتر از ۲۰٪) در مواد خام به کار رفته در روش SFE (به علت انجام فریزدرایر قبل از تغذیه دستگاه) و نیز عدم تماس مواد خام با آب به منظور پخت، پایین تر بودن میزان رطوبت در روغن خروجی از دستگاه SFE مورد انتظار بود. اما، نتایج حاصل از اندازه گیری رطوبت در نمونه های روغن ماهی بدست آمده 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، که همین امر سبب جدا شدن ناخالصی ها و فاز آبی از روغن می گردد (Farjo *et al.*, 2012).

یکی از شاخص های سنجش کمی پراکسید-اسیون لیپیدها که به ویژه با پراکسید شدن اسیدهای چرب چند غیر اشباع تولید می شوند آلکانها هستند. آلکانها حاصل از 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 (Burk and Ludden, 1989).

میزان اکسیژن یکی از عوامل مهمی است که سبب افزایش یا کاهش تشکیل آلکانها در پراکسیداسیون لیپیدی می گردد. نتایج تحقیقات Kostrucha و Kappus (۱۹۹۶) نشان داد که میان تشکیل آلکانها و سطح اکسیژن رابطه معکوسی وجود دارد، بدان صورت که با کاهش میزان اکسیژن، میزان تشکیل آلکانهای مختلف افزایش می یابد. در پژوهش

میانگین بین تیمارها نیز از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه One-Way ANOVA و برای جداسازی گروه های همگن از آزمون های دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید.

#### ۴. بحث و نتیجه گیری

تولید روغن ماهی از دو دیدگاه مصرف انسانی و دامی مورد اهمیت می باشد. حضور این ماده غذایی در خوراک دام و به ویژه آبزیان به جهت تامین بخشی از انرژی خوراک و نیز اسیدهای چرب ضروری مهم بوده و در حوزه مصرف انسانی نیز به جهت تامین اسیدهای چرب ضروری بالاخص EPA و DHA مورد توجه می باشد. 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 WP و SFE نشان داد که این میزان در روش WP بالاتر می باشد، اگرچه این اختلاف معنی دار نبود. علت این امر را می توان در ابتدا به فشار مکانیکی وارد آمده در روش WP مرتبط دانست که این امر سبب خروج روغن بیشتری از توده پخت شده می گردد. همچنین، وجود درجه حرارت بالاتر در روش WP نسبت به SFE را می توان عامل دیگر در این امر دانست. گرما سبب دناتور شدن ماتریکس های پروتئینی بافت ماهی می گردد که روغن به شدت با آن ها باند شده است. به دنبال این فرآیند، مایعات و ذرات جامد می توانند با فشار مکانیکی خارج گردند. همچنین، گرما سبب باز شدن گلبول ها و سلول های چربی و در نتیجه رهایش و سیال شدن روغن می گردد که این امر می تواند افزایش بازدهی را موجب شود (Chantachum *et al.*, 2000). نتایج حاصل از استخراج روغن از ضایعات آزاد ماهی با ۴ روش WP، SFE، استخراج آنزیمی و استخراج سرد نشان داد که بازده روش SFE (زمانی

سیال فوق بحرانی وجود نداشته و این امر می‌تواند تجزیه بی‌هوازی را تحت تاثیر قرار دهد. در مورد دی‌متیل آمین (عامل ایجاد بوی خاص ماهی) نیز احتمالاً این ماده پس از تشکیل در بافت مواد خام اولیه، در اثر درجه حرارت بالا در روش WP از بین نرفته و در روغن نیز وارد گردیده است. در اکسترکتور دستگاه SFE نیز به علت فشار بالا و جریان مداوم سیال دی‌اکسید کربن، این ماده از بافت مواد اولیه جدا شده و بخشی از آن توسط روغن استحصالی جذب گردیده است (Chun *et al.*, 2014)، از این رو، دی‌متیل آمین در نمونه‌های بدست آمده از هر ۲ روش یافت شد. نتایج حاصل از شناسایی و ایزوله کردن ترکیبات فرار در روغن تن ماهیان هم نشان داد که سطوح ترکیبات فرار (شامل آلکان‌ها، آلکن‌ها، آکین‌ها، آلدهیدها، الکل‌ها و کتون‌ها) در روغن‌های تغلیظ شده با SFE به طور معنی‌داری پایین‌تر از نمونه روغن اولیه (روغن خام) بود (Roh *et al.*, 2006).

#### لیپیدهای خنثی

نتایج حاصل از اندازه‌گیری لیپیدهای خنثی در این مطالعه اختلاف معنی‌داری را در سطوح استرهای واکسی، تری‌آسیل گلیسرول‌ها، اسیدهای چرب آزاد و کلسترول روغن‌های استحصالی از ضایعات تن ماهیان در هر ۲ روش نشان نداد. پایین بودن میزان استرهای واکسی و بالا بودن تری‌آسیل گلیسرول‌ها می‌تواند حاکی از پایین بودن میزان چربی درون سلولی و بالا بودن چربی خارج سلولی باند شده با پروتئین‌ها در مواد خام اولیه باشد. به واسطه وجود پیوند ضعیف چربی‌های خارج سلولی با ماتریکس‌های پروتئینی، میزان استحصال روغن افزایش یافته و به تبع آن میزان تری-آسیل گلیسرول‌ها ارتقا و استرهای واکسی تنزل می‌یابد (Gupta and Shim, 2007). بالاتر بودن غیر معنی‌دار تری‌آسیل گلیسرول‌ها در روش WP نیز می‌تواند احتمالاً به دلیل درجه حرارت و فشار فیزیکی بالاتر وارد شده در این روش باشد که سبب آزاد شدن چربی‌های بیشتری از پروتئین‌های باند شده با آن‌ها گردیده است. مشاهده نرخ بازدهی نسبتاً مناسب در این پژوهش در مقایسه با میزان روغن موجود در مواد خام اولیه نیز می‌تواند حاکی از وجود پیوندهای ضعیف میان چربی و ماتریکس‌های پروتئینی در ضایعات تن ماهیان باشد. همچنین، بالا بودن میزان تری‌آسیل

حاضر نیز در روش SFE، به دلیل وجود دی‌اکسید کربن به عنوان سیال و نیز وجود شرایط خلأ در سیستم، اکسیژن در محیط وجود نداشته و بنابراین در طی فرآیند استخراج، احتمالاً میزان ایجاد آلکان‌ها افزایش یافته است، به گونه‌ای که وجود آلکان‌هایی چون 2-Methyl-Decane و Cyclohexadecane تنها در این روش مشاهده گردید.

#### آلدهیدها، اسیدها و آمین‌ها

آلدهیدها، اسیدهای آلی و آمین‌ها از مهمترین ترکیبات فرار هستند که ایجاد بو و طعم نامطلوب در روغن ماهی به شدت به حضور آن‌ها بستگی دارد. برخی از آلدهیدها مانند هگزانال یا نونانال در نتیجه فرآیند اتواکسیداسیون (خود اکسایشی) لیپیدها بوجود می‌آیند. بنابراین، حضور آن‌ها در روغن ماهی ذاتاً از روش‌های استخراج و پارامترهای دخیل در آن‌ها (به-ویژه درجه حرارت، اکسیژن محیط، وجود نور و نیز فلزات) متأثر می‌گردد (Rubio-Rodriguez *et al.*, 2010). در مقابل برخی دیگر از ترکیبات فرار در طول 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. به‌عنوان مثال تری‌متیل آمین اکساید در اثر فعالیت‌های باکتری‌هایی چون *Shewanella putrefaciens*، دی‌متیل آمین اکساید بر اثر فعالیت‌های آنزیمی در طول دوره نگهداری و اسید استیک از طریق تجزیه غیرهوازی آمینواسیدها می‌توانند تشکیل شوند (Huss, 1995).

در پژوهش حاضر، آلدهیدهای هپتانال، هگزانال و نونانال تنها در روغن بدست آمده با روش WP تشخیص داده شدند. علت این امر می‌تواند احتمالاً به دلیل عدم وجود اکسیژن فضا در فرآیند SFE و نیز درجه حرارت ملایم در طی استخراج با آن باشد که احتمال خود اکسایشی (به عنوان عامل اصلی تشکیل آلدهیدها) را کاهش می‌دهد (Roh *et al.*, 2006). از سوی دیگر، اسید استیک تنها در روغن استحصالی با روش SFE شناسایی شد. علت این امر را احتمالاً می‌توان به فرآیند تجزیه بی‌هوازی آمینواسیدها و تشکیل اسید استیک نسبت داد. همان‌گونه که در قبل نیز ذکر شد، اکسیژن اتمسفری در طول فرآیند استخراج با

شرایط سیال مانند نوع سیال، درجه حرارت، فشار، مدت زمان تماس و میزان ورود و مصرف سیال برای انحلال DHA بوده است. همانطور که در ابتدا نیز ذکر گردید، دستکاری پارامترهای ذکر شده می تواند استخراج را انتخابی نماید و سبب خروج مولکول هایی با ویژگی ها و وزن های مولکولی مخصوصی گردد. Pettinello و همکاران (۲۰۰۰) بیان نمودند که دی اکسید کربن به علت غیر سمی، ارزان و در دسترس بودن، پایین بودن درجه حرارت و فشار بحرانی آن و انحلال PUFA ها در آن می تواند سیال مناسبی برای استخراج اسیدهای چرب باشد. آن ها عنوان کرد که انتخابی بودن انحلال اسیدهای چرب در فرآیند SFE می تواند به واسطه تعداد کربن های مولکول و به تبع آن وزن مولکولی باشد. لذا، با تغییر شرایط سیال، به ویژه درجه حرارت و فشار آن می توان تولید بیشتر را به سمت اسید چربی خاص سوق داد.

#### نرخ اسیدیته

اسیدیته روغن یکی از پارامترهای مهم در بحث کیفیت روغن می باشد که متأثر از میزان اسیدهای چرب آزاد و سایر اسیدهای غیرلیپیدی مانند اسید استیک است. این امر نشانگر آن است که اسیدیته روغن در اثر عواملی همچون ترکیبات روغن و نیز روش های استخراج می تواند متغیر باشد (Gbogouri *et al.*, 2006). به طور کلی، روغن های حاوی مقادیر بیشتر تری آسید گلیسرول و PUFA دارای سطوح بالاتری از اسیدهای چرب آزاد هستند، که به تبع آن اسیدیته می تواند کاهش یابد (Hajeb *et al.*, 2014). در پژوهش حاضر، میزان تری آسید گلیسرول ها و اسیدهای چرب آزاد در تیمار WP بالاتر از تیمار SFE بود. در مقابل، اسید استیک تنها در نمونه های استحصالی از روش SFE مشاهده گردید. بنابراین، با توجه به بالاتر بودن نرخ اسیدیته در تیمار WP، می توان بیان داشت که احتمالاً تأثیر اسیدهای چرب آزاد بر اسیدیته بیش از اسیدهای غیرلیپیدی در این مطالعه بوده و همین امر سبب کمی بالاتر بودن اسیدیته تیمار WP نسبت به SFE بوده است. از سوی دیگر، نرخ اسیدیته در هر ۲ تیمار به طور معنی داری کمتر از نرخ مجاز برای اسیدیته روغن ماهی بودند. این حالت نیز می تواند بیانگر وضعیت مناسب نگهداری مواد خام اولیه و مطلوب بودن روش های به کار گرفته شده برای

گلیسرول ها می تواند نشان دهنده بالا بودن PUFA ها در روغن باشد.

از سوی دیگر، هیدرولیز تری آسید گلیسرول ها سبب ایجاد اسیدهای چرب آزاد می گردد. بنابراین، هرچه میزان تری آسید گلیسرول ها و PUFA ها بالاتر باشد، تولید اسیدهای چرب آزاد نیز محتمل تر می گردد. در پژوهش حاضر، میزان تری آسید گلیسرول ها در روغن های حاصل از روش WP بالاتر از SFE بوده و احتمالاً به تبع آن میزان اسیدهای چرب آزاد نیز بالاتر مشاهده شد که البته این اختلاف معنی دار نبود. در مطالعه سنجش تأثیر زمان و درجه حرارت پخت ضایعات تن ماهیان در روش WP بر پارامترهای کمی و کیفی روغن استحصالی نشان داد که با افزایش میزان تری آسید گلیسرول ها، سطوح اسیدهای چرب آزاد نیز افزایش یافت که از این جهت با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. همچنین، سطوح تری آسید گلیسرول ها و اسیدهای چرب آزاد در تیمار پخت با ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه به طور معنی داری بالاتر از سایر تیمارها بود (Chantachum *et al.*, 2000). در پژوهشی دیگر، نتایج حاصل از آنالیز کیفی روغن های استخراج شده از بخش های مختلف قزل آلی رنگین کمان بوسیله دی اکسید کربن فوق بحرانی نشان داد، که اختلاف معنی داری میان سطوح تری آسید گلیسرول ها و اسیدهای چرب آزاد در بخش های گوناگون داشت. در این مطالعه، میزان اسیدهای چرب آزاد روغن های بدست آمده از سر و ستون فقرات به طور معنی داری بالاتر از میزان آن ها در روغن های استخراجی از امعاء و احشاء بود. همچنین، تیمارهای حاوی تری آسید گلیسرول های بالاتر، دارای اسیدهای چرب آزاد بیشتری نیز بودند (Fiori *et al.*, 2012).

#### پروفایل اسیدهای چرب

Rubio-Rodriguez و همکاران (۲۰۰۸) استخراج روغن از ضایعات گونه *Merluccius capensis* با روش های SFE و سوکسله با هگزان را مورد ارزیابی قرار داده و بیان کردند که اختلاف معنی داری میان سطوح اسیدهای چرب مختلف مشاهده نشد. در پژوهش حاضر نیز به غیر از میزان DHA، اختلاف معنی داری میان سطوح سایر اسیدهای چرب مشاهده نگردید. بالاتر بودن میزان DHA در تیمار SFE نسبت به WP احتمالاً به دلیل نزدیک تر بودن

وسیله روش‌های WP و SFE مبین مناسب بودن هر ۲ روش برای استحصال روغن به لحاظ کمیت بود. به طور کلی، 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 در دستگاه SFE در شرایط خلا و بدون اکسیژن اتمسفری انجام می‌گیرد، و نمونه‌ها به واسطه فریزدرایر شدن با میزان رطوبت کمی وارد این دستگاه می‌شوند، SFE می‌تواند به عنوان روشی کارا برای جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدی (به ویژه روغن-های دارای سطوح بالای TAG و PUFA) باشد. در مطالعه حاضر نیز، روغن‌های استحصالی با روش SFE، به لحاظ حضور و نوع ترکیبات و شاخص‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدی، فساد و رنسدیتی، میزان آلودگی‌ها (فلزات سمی) و از سوی دیگر، میزان DHA (یکی از مهمترین اسیدهای چرب ضروری بدن انسان)، شرایط و کیفیت بهتری را نشان دادند، که این موارد را می‌توان از مزایای ویژه این روش دانست. بنابراین، با توجه به نتایج بدست آمده، می‌توان در وهله نخست بیان داشت که ضایعات تن ماهیان دارای پتانسیل مناسبی برای استخراج روغن با رویکرد مصرف انسانی هستند. همچنین، با توجه به اختصاصات فرآیند SFE در استخراج روغن (که می‌تواند منجر به تولید محصولی با کیفیت بالاتر و مقادیر بیشتر PUFA گردد)، می‌توان آن را روش مناسبی برای استخراج روغن ماهی در نظر گرفت.

## ۶. تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله، مراتب سپاس و قدردانی خود را از شرکت‌های ساحل صید کنارک و امیکس به پاس حمایت‌های مالی و معنوی بی دریغ در اجرای این پروژه اعلام می‌دارند.

استخراج روغن باشد. نتایج مطالعات Hao و همکاران (۲۰۱۵) بر روی روش‌های مختلف استخراج روغن از بافت ماهی خاویاری نشان داد که اسیدیته روغن‌های بدست آمده با روش SFE به طور معنی‌داری کمتر از روش‌های WP و استخراج آنزیمی بود، که از این جهت با نتایج مطالعه حاضر همخوانی ندارد.

## میزان فلزات سنگین

جیوه، آرسنیک، کادمیوم و سرب از فلزات سنگین و سمی هستند که می‌توانند در بافت ماهیان (به ویژه کبد) تجمع پیدا کنند. در مطالعه حاضر، میزان این فلزات در نمونه‌های روغن بدست آمده با روش WP نسبت به SFE بالاتر بود. علت بالاتر بودن سطوح این فلزات در تیمار WP می‌تواند به علت پرس (دستی) شدن کلیه توده پخت شده و خروج آب، روغن و بخش کمی از ذرات جامد از آن باشد، که این امر احتمالاً سبب خروج بخشی از فلزات سنگین موجود در بافت و رها شدن آن‌ها در آب و روغن باشد. از سوی دیگر، دی‌اکسید کربن فوق بحرانی دارای حساسیت بالایی برای ترکیبات غیرقطبی می‌باشد (Schemeisser *et al.*, 2005) که همین امر احتمالاً باعث کمتر بودن معنی‌دار فلزات سنگین در تیمار SFE نسبت به WP می‌باشد. نتایج حاصل از سنجش فلزات سنگین آهن، مس، روی، آرسنیک، کادمیوم، جیوه و سرب در نمونه‌های روغن بدست آمده از ماهی سالمون و جامبو اسکوئید بوسیله روش SFE نشان داد، که میزان کلیه این فلزات در روغن‌های استحصالی به صورت معنی‌داری نسبت به بافت‌های خام اولیه کاهش یافته و به میزان قابل اغماض رسیده است (Rodriguez *et al.*, 2012).

## ۵. نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، مقایسه کمی و نرخ بازدهی روغن‌های استخراج شده از ضایعات تن ماهیان به

## References

- OAC (Association of Official Analytical Chemists), 2005. Official methods of analysis, Arlington, Virginia.
- APHA, A.W.W.A., 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 21th Edition. WPCF, New York.
- Aune, T., 1992. NFringsmiddeltoksikologi. Kompendium iNFringsmiddeltoksokolgi, 180s. Norges veterinFrhoykskole, Oslo. Introduction, tables and figures in English.
- Blanco, M., Sotelo, C.G., Chapela, M.J., Perez-Martin, R.I., 2007. Towards sustainable and efficient use of fishery resources: present and future trends, Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC), Eduardo Cabello. 6, 36208 Vigo, Spain.

- Aune, T., 1992. NFringsmiddeltoksikologi. Kompendium iNFringsmiddeltoksokolgi, 180s. Norges veterinFrhoyskole, Oslo. Introduction, tables and figures in English.
- Blanco, M., Sotelo, C.G., Chapela, M.J., Pe'rez-Marti'n, R.I., 2007. Towards sustainable and efficient use of fishery resources: present and future trends, Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC), Eduardo Cabello. 6, 36208 Vigo, Spain.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37, 911-917.
- BP., 2008. Omega-3-Marine Triglycerides. British Pharmacopoeia Commission., 2007, vol. 1, London, UK.
- Burk, F.B., Ludden, T.M., 1989. Exhaled alkanes as indices of In Vivo lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacology* 38(7), 129-132.
- Chantachum, S., Benjakul, B., Sriwirat, N., 2000. Separation and quality of fish oil from precooked and non-precooked tuna heads. *Food Chemistry* 69, 289-294.
- Chun, B.S., Roh, H.S., Kang, K.Y., Kwon, M.J., Weber, A., Wilkinson, G., 2014. Identification and removal of off flavors from sardine oil with supercritical fluid extraction. *Food Processing and Technology* 5, 331-337.
- Eduardo, B.P., Eliane, M.Z.M., Fernanda, B., Sandra, R.S.F., Danilo, W.F., Rozangela, C.P., 2012. The antitumor activity of extracts from *Cordia verbenacea* D.C. obtained by supercritical fluid extraction. *Journal of Supercritical Fluids* 61, 101-107.
- FAO, F.I.D., 1986. The production of fish meal and oil. F. F. T. Paper, vol. 142. Rome (Italy): FAO 63 p.
- Fiori, L., Solana, M., Tosi, P., Manfrini, M., Strim, C., Guella, G., 2012. Lipid profiles of oil from trout (*Oncorhynchus mykiss*) heads, spines and viscera: Trout by-products as a possible source of omega-3 lipids? *Food Chemistry* 134, 1088-1095.
- Gbogouri, G.A., Linder, M., Fanni, J., Parmentier, M., 2006. Analysis of lipids extracted from salmon (*Salmo salar*) heads by commercial proteolytic enzymes. *European Journal of Lipid Science and Technology* 108: 766-775.
- Gironi, F., Maschietti, M., 2006. Separation of fish oils ethyl esters by means of supercritical carbon dioxide: Thermodynamic analysis and process modelling. *Journal of Chemical Engineering Science* 61, 5114-5126.
- Gupta, R.B., Shim, J.-J., 2007. Solubility in Supercritical Carbon Dioxide. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Hajeb, P., Jinap, S., Shakibazadeh, Sh., Afsah-Hejri, L., Mohebbi, GH., and Zaidul, IS., 2014. Optimization of the supercritical extraction of toxic elements in fish oil. *Food Additives and Contaminants* 31, 1712-1722.
- 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. *Journal of Food Chemistry* 173, 274-282.
- Hole, S., Hole, M., Taylor, K.D., 1990. Method of extraction composition and stability of vitamin A and other components in dog fish (*aqualus acanthias*) liver oil. *Food Chemistry* 55, 215-20.
- Huss, H.H., 1995. Quality and Quality Changes in Fresh Fish. FAO, Fisheries and Aquaculture Department, Rome (Italy).
- Jensen, S., Haggberg, L., Jorundottir, H., Odham, G., 2003. A quantitative lipid extraction method for residue analysis of fish involving nonhalogenated solvents. *Journal Agricultural Food Chemistry* 51, 5607-5611.
- Kamali, N., 2013. Extraction of protein from tuna dark muscle by pH changes. M.Sc thesis. Faculty of marine science. University of Tarbiat Modares. Noor, Iran.
- Kostrucha, J., Kappus, H., 1996. Inverse relationship of ethane or n-pentane and malondialdehyde formed during lipid peroxidation in rat liver microsomes with different oxygen concentrations. 14, 120-125.
- Passos, C.P., Silva, R.M., Silva, F.A.D., Coimbra, M.A. Silva, C.M., 2009. Enhancement of the supercritical fluid extraction of grape seed oil by using enzymatically pre-treated seed. *Journal of Supercritical Fluids* 48, 225-229.
- Paquot, C., Hautfenne, H., 1987. Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives. 7th ed. Blackwell Science, 7th ed. Section 2.601.
- Pazouki, J., Alijani, A., Tehrani, D., Shokri, M., 2012. Extraction of gelation and oil from skin of three species of Persian Gulf tuna. *Fisheries Journal* 65, 15-25.
- Perrin, J.L., 1996. Determination of alteration. In: Karleskind, A., Wolff, J.-P. (Eds.), Oils and Fats, Manual vol. 2. Lavoisier Publishing, Paris (France).
- Pettinello, G., Bertucco, A., Pallado, P., Stassi, A., 2000. Production of EPA enriched mixtures by supercritical fluid chromatography: from the laboratory scale to the pilot plant. *Journal of Supercritical Fluids* 19, 51-60.
- Roh, H.S., Park, J.Y., Park, S.Y., Chun B.S., 2006. Isolation of off-flavors and odors from tuna fish oil using supercritical carbon dioxide. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 11, 496-502.
- Rubio-Rodríguez, N., de-Diego-Rupérez, S., Beltran, 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*) byproducts: study of the influence of process parameters on the extraction yield and oil quality. *Journal of Supercritical Fluids* 47, 215-226.
- Rubio-Rodríguez, N., Diego, S., Beltran, S., Jaime, I., Sanz, M., Rovira, J., 2012. Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products: A comparison with other extraction methods. *Journal of Food Engineering* 109, 238-248.
- Rubio-Rodríguez, N., Beltrán, S., Jaime, I., Diego,

- S., Sanz, M., Rovira Carballido, J., 2010. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11, 1-12.
- Schemeisser, E., Goessler, W., Kienzl, N., Francesconi, K.A., 2005. Direct measurement of lipid-soluble arsenic species in biological samples with HPLC-ICP-MS. *Analyst* 130, 948-955.
- Shahidi, F., 2007. Maximizing the value of marine by-products. CRC Press, Boca Raton (USA).

