شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۷، شماره ۲، پاییز ۱۳۹۲
ص ۳۶۱-۳۷۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۳

استخراج اسیدهای چرب امگا۳ از روغن ماهی کیلکای (*Clupeonella cultiventris*) دریای خزر و خالص‌سازی میزان EPA و DHA با استفاده از روش تقطیر مولکولی

❖ **حسین شاه‌بیک*:** دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران، ایران
❖ **احمد حلاجی‌ثانی:** استادیار دانشکدهٔ مهندسی شیمی، پردیس دانشکده‌های فنی، دانشگاه تهران، تهران
❖ **محمدرضا مهرنیا:** دانشیار دانشکدهٔ مهندسی شیمی، پردیس دانشکده‌های فنی، دانشگاه تهران، تهران
❖ **صبا شبان:** کارشناس دانشکدهٔ مهندسی شیمی، پردیس دانشکده‌های فنی، دانشگاه تهران، تهران

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی امکان‌سنجی استخراج اسیدهای چرب امگا۳ از روغن ماهی کیلکای معمولی انجام شده است. در این تحقیق ابتدا دستگاه تقطیر مولکولی لایه‌ریزان طراحی و ساخته شد. روغن ماهی در ابتدا متیله، سپس تحت دبی‌های حجمی ۱ml/min تا ۵ml/min، دماهای ۱۷۰- ۲۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد و فشارهای ۴۰- ۰/۰۱ میلی‌متر جیوه تقطیر مولکولی شد. نتایج آنالیز از طریق دستگاه کروماتوگراف گازی نشان داد که بهترین شرایط عملیاتی تولید اسیدهای چرب امگا۳ در دمای ۲۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد، فشار ۰/۰۲mmHg و دبی ۳/۵ml/min است. هم‌چنان مشخص شد در صورتی که روغن ماهی متیله نشود یا فشار از ۰/۱mmHg بیشتر شود، تغلیظی صورت نمی‌گیرد.

واژگان کلیدی: امگا ۳، تقطیر مولکولی، خالص‌سازی، ماهی کیلکا، متیلاسیون.

* نویسندهٔ مسئول : Email: hosseinshahbeig@gmail.com

۱. مقدمه

تحقیقات زیادی در چند دههٔ اخیر برای بررسی تأثیر اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه (PUFAs)[1] روی فیزیولوژی بدن انسان صورت گرفته است (Dervon, et al., 1993; Simopoulos, et al., 1991). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که این مواد در بدن انسان تأثیرات گوناگونی دارند. محققان دریافتند که PUFA در روغن‌های دریایی به صورت تری گلیسیرید، فسفولیپید و استرها یافت می‌شود (Bergé and Barnathan, 2005). مهم‌ترین دستهٔ این مواد، اسیدهای چرب امگا۳ است که به آن دسته از مولکول‌های اسیدهای چرب که فاصلهٔ بین آخرین پیوند دوگانه و گروه هیدروکسیل سه کربن باشد اطلاق می‌شود. دو اسید چرب ایکوزاپنتانوییک (EPA)[2] و دکوزاهگزانوییک (DHA)[3] مهم‌ترین مواد این دسته به شمار می‌روند. بدن انسان بخشی از نیاز روزانهٔ خود به این مواد را تولید می‌کند، اما قادر به تأمین همهٔ نیازهای خود نیست و ناچار باید آن را از طریق غذا تأمین کند. از جمله تأثیرات این مواد باارزش در انسان می‌توان به افزایش توانایی‌های ذهنی و مغزی به ویژه در نوزادان، افزایش صفات ثانویهٔ جنسی نظیر رشد مو و شیردهی در زنان باردار و ...، پیشگیری از افسردگی و حملات قلبی، درمان سکته‌های قلبی و بیماری‌های التهابی اشاره کرد (Nettleton, 1995; Gill and Valivety, 1997; Burr, 1929; Branden and Carroll, 1986; Schacky and Weber, 1986; Artemis, 2001; Babaei M, et al., 2013). لذا تأمین نیاز روزانهٔ بدن انسان (۱mg/day برای انسان بالغ) ضروری به نظر می‌رسد. فیتوپلانکتون‌ها و ریزجلبک‌ها توانایی سنتز این مواد را در متابولیسم خود دارند (Pigott and Tucker, 1987). ماهی‌ها با خوردن ریزجلبک‌ها و سایر آبزیانی که از آن تغذیه کرده‌اند این مواد را به بدن خود وارد و ذخیره می‌کنند. نسبت اسیدهای چرب امگا۳ در روغن ماهی بر حسب گونه و فصل صید تغییر می‌کند، اما معمولاً EPA در حدود ۳- ۷ درصد و DHA در حدود ۹- ۱۲ درصد از کل روغن ماهی را تشکیل می‌دهد. این در حالی است که نسبت مناسب این مواد در مکمل‌های غذایی در حدود ۳۰- ۳۵ درصد و در داروها حدود ۸۵ درصد است (Belarbi, et al., 2000; Molina, et al., 2003; Lebeau and Robert, 2003). لذا روغن ماهی ابتدا باید برای رسیدن به نسبت مناسب EPA و DHA صمغ‌گیری، رنگبری و بی‌بو (Cheryan, 1998; Čmolík and Pokorný, 2000; Maes, et al., 2005)، سپس تغلیظ شود. در خصوص روغن‌های گیاهی (Ranjzad, et al., 2009) نیز این روش انجام شده است. برای تغلیظ روغن ماهی روش‌های تقطیر ساده و مولکولی، استخراج با کمپکلس اوره (Alavi Talab, et al., 2010)، استخراج با سیال فوق‌بحرانی، استخراج با آنزیم لیپاز و کروماتوگرافی جذبی وجود دارد (Belarbi, et al., 2000)، اما تنها روش‌های تقطیر مولکولی و استخراج با سیال فوق‌بحرانی به علت هزینهٔ کمتر و سرعت تولید بالاتر کاربرد صنعتی یافته‌اند. تقطیر مولکولی معمولاً برای مواد آلی با وزن مولکولی و نقطهٔ جوش بالا انجام می‌شود، زیرا این مواد قبل از رسیدن به نقطهٔ جوش دچار تجزیهٔ حرارتی می‌شوند. در این

1. Poly Unsaturated Fatty Acids
2 Eicosa pentaenoic Acid
3. Docosa Hexaenoic Acid

تحقیق با کم‌کردن فشار محفظهٔ تقطیر، دمای جوش مخلوط پایین آورده و برای اجتناب از تجزیهٔ حرارتی زمان ماند به حداقل رسانده می‌شود. خوراک با دبی حجمی کم روی سطح جامد پراکنده می‌شود و گرما را به صورت غیرمستقیم و هدایتی دریافت می‌کند، اما چون ضخامت لایهٔ مایع بسیار کم و در حد چند برابر قطر مولکول است، گرما در همه جای مایع وارد و موجب تقطیر می‌شود. دستگاه تقطیر مولکولی در صنایع غذایی، دارویی، آرایشی و برای خالص‌سازی و جداسازی مواد باارزش مانند ویتامین‌ها، اسانس‌ها، داروها، سورفکتانت‌ها و غیره استفاده می‌شود. در این تحقیق با طراحی و ساخت دستگاه تقطیر مولکولی و استفاده از روغن ماهی کیلکای معمولی صیدشده در دریای خزر امکان‌سنجی استخراج و تغلیظ اسیدهای چرب امگا۳ بررسی شد و بهترین شرایط عملیاتی (دمای خوراک، فشار محفظهٔ تقطیر و زمان اقامت) برای حصول بالاترین راندمان تقطیر مولکولی به دست آمد.

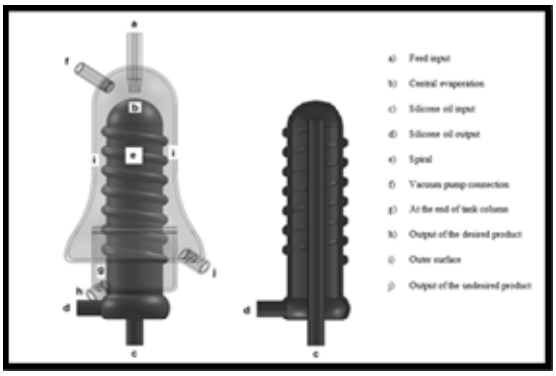
۲. مواد و روش تحقیق

۱.۲. دستگاه تقطیر مولکولی

این دستگاه از چهار قسمت اصلی تشکیل شده که شامل ستون تقطیر خلأ، حمام و مخزن روغن داغ، پمپ خلأ و کنترل‌گر PID برای دماست (شکل ۱).

شکل ۱. نمای کلی دستگاه تقطیر مولکولی

ستون تقطیر قسمت اصلی دستگاه است که شامل تبخیرکنندهٔ استوانه‌ای داخلی و بدنهٔ خارجی که به‌منزلهٔ چگالنده عمل می‌کند، است (شکل ۲).



شکل ۲. تبخیرکننده و سیلندر داخلی و بدنهٔ خارجی (قسمت اصلی دستگاه)

روغن ماهی متیله‌شده از طریق قیف مجهز به شیر (a)، روی تبخیرکنندهٔ مرکزی (b) پخش می‌شود. تبخیرکنندهٔ مرکزی دارای یک ورودی (c) و خروجی (d) برای سیال گرم‌کننده است. سطح خارجی تبخیرکنندهٔ مرکزی به شکل مارپیچی (e) ساخته شد تا سطح تبخیر و زمان ماند زیاد شود. تبخیرکننده به قطر خارجی ۳ و طول ۲۵ سانتی‌متر بوده است. خلأ مورد نیاز از طریق پمپ سانتریفیوژ دومرحله‌ای تأمین شد که توانایی ایجاد خلأ تا میزان ۰/۰۱mmHg را دارد. مسیر اتصال پمپ خلأ (f) کوتاه انتخاب شد تا از افت فشار جلوگیری شود. روغن ماهی قبل از ورود به دستگاه تا دمای ۱۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد پیش‌گرم می‌شود و به محض ورود به محفظهٔ تبخیرکننده دمای آن به دمای تبخیر می‌رسد. به علت کم‌بودن شدت حجمی روغن، سرعت افزایش دما بسیار سریع است و در کمتر از ۲ ثانیه به دمای تبخیر می‌رسد. سرعت افزایش دما به دمای روغن سیلیکون بستگی دارد و با افزایش دمای روغن، سرعت افزایش

دما بیشتر می‌شود. برای ثابت نگه‌داشتن دما طی فرایند از کنترل‌گر PID با دقت دمایی ۰/۱ و حداکثر دمای ۳۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد استفاده شد. جنس هر دو قسمت تبخیرکننده و بخش مرکزی از شیشهٔ پیرکس مقاوم در برابر دماست.

۲.۲. مواد مورد آزمایش

پروتئین روغن استفاده‌شده در این کار گرفته و در شرایط مناسب نگهداری شد تا میزان پراکسید آن بالا نرود. در این آزمایش از روغن ماهی کارخانهٔ پودر ماهی و فرآورده‌های دریایی ارس واقع در بندر انزلی استفاده شد. صید ماهی در بهار انجام و روغن ماهی حاصل از پرس و دکانتور (گرفتن مواد معلق) در محیط بدون نور و هوا و در دمای پایین نگهداری شد و بر اساس آزمایش‌های انجام‌شده مقدار EPA و DHA در آن به ترتیب ۶/۹۱ و ۱۳ درصد وزنی بود. مواد شیمیایی استفاده‌شده هگزان (C_6H_{14}) ۹۹ درصد، سدیم متواکساید ($NaOCH_3$) ۳۷ درصد، سدیم هیدروژن سولفات مونو هیدرات ($NaHSO_4,1H_2O$) ۹۵ درصد و گاز (CO_2) از محصولات شرکت زیمنس بوده است.

۳.۲. آزمایش‌های انجام‌شده

ابتدا با کمک دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) ترکیب اولیهٔ روغن ماهی تعیین شد (جدول ۱).

سپس، فرایند استخراج و تغلیظ اسیدهای چرب امگا۳ انجام شد که از دو مرحلهٔ مجزای زیر تشکیل شده است.

- مرحلهٔ متیلاسیون روغن ماهی؛
- مرحلهٔ تقطیر مولکولی روغن ماهی متیله‌شده.

اسیدهای چرب امگا۳ در دماهای بالاتر از ۲۵۰ درجهٔ سلسیوس دچار تجزیهٔ حرارتی می‌شوند و در فشار معمولی نقطهٔ جوش این ترکیبات حدود ۴۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد است، لذا محدودهٔ دمایی باید کمتر از این مقدار انتخاب می‌شد. متیلاسیون سبب حذف یک سری ترکیبات آلی سنگین با نقطهٔ جوش بالا می‌شود، زیرا دمای جوش روغن ماهی حتی در فشارهای پایین نیز بالاست و لذا امکان تجزیهٔ آن وجود دارد. برای کاهش دمای جوش، روشی که امروزه بسیار متداول است، متیلاسیون روغن ماهی است. در این کار تحقیقاتی برای انجام متیلاسیون از روش استاندارد ISO 15884, IDF 182 (چربی شیر- متیل استر اسیدهای چرب) استفاده (جدول ۲) و مراحل آن به صورت زیر انجام شد:

۱. ۱۰ گرم خوراک (روغن ماهی) در ۵۰۰ میلی‌لیتر هگزان حل شود.

۲. ۲۰ میلی‌لیتر محلول سدیم متوکساید ($NaOCH_3$) به این محلول اضافه می‌شود که پس از گذشت چند دقیقه دو فاز مجزا تشکیل می‌شود که فاز بالایی زرد و فاز پایینی قرمز است.

۳. برای حذف مواد اضافی و خالص‌سازی، ۵۰ گرم سدیم هیدروژن سولفات مونو هیدرات ($NaHSO_4,1H_2O$) به آن اضافه و ۳ دقیقه همزده می‌شود، در نتیجه فاز قرمز رنگ از بین می‌رود و مخلوط دو فازی جامد- مایع تشکیل می‌شود.

۴. فاز زرد رنگ بالا که همان روغن ماهی متیله شده است، جدا می‌شود.

۵. با واردکردن گاز بی‌اثر CO_2 در روغن ماهی متیله‌شده، هگزان در آن بخار و همراه CO_2 خارج می‌شود. بخارات خروجی با عبور از کندانسور به

مایع تبدیل می‌شوند. آنچه سبب خروج حلال هگزان می‌شود جریان گاز CO_2 است و در دمای محلول تأثیر کمی دارد. هنگام عملیات باید ظرف حاوی روغن ماهی در حمام آب گرم با دمای ۴۵ درجهٔ سلسیوس قرار داده شود. نمونهٔ به‌دست‌آمدهٔ واحد متیلاسیون در شکل ۳ قابل ملاحظه است.

شکل ۳. محصول دوفازی حاصل از متیلاسیون

جدول ۱. درصد وزنی مواد مختلف در خوراک

نام ماده	C_{14}	C_{16-0}	C_{16-1}	C_{17-0}	C_{17-1}	C_{18-0}	C_{18-1}	C_{18-2}	C_{18-3}	EPA	DHA	C_{20}
درصد وزنی خوراک	۸/۵۷	۲۰/۸۷	۱۰/۸۸	۲/۴۵	۱/۷۴	۳/۶	۲۴/۸۷	۲/۷	۱/۵۹	۶/۹۱	۱۳	۲/۸۲

جدول ۲. شرایط ISO15884

شماره استاندارد	ISO ۱۵۸۸۴
عنوان استاندارد	روش تهیه اسید های چرب
تاریخ تصویب	۲۸/۰۱/۲۰۰۳
موادی که در این روش استاندارد قرار می‌گیرند	شیر، محصولات لبنی، چربی‌ها، اسیدهای چرب، استر ها(کربوکسیلیک)، آنالیزهای شیمیایی، روش استخراج اسیدهای چرب
مراجع	ISO707, ISO2446, ISO14156, ISO15885
شماره ISB	۰۵۸۰۴۱۱۵۴۰

عملیات تقطیر مولکولی برای روغن ماهی در دماهای ۱۹۰، ۲۱۰ و ۲۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد انجام شد. همچنین، در هر دمای انتخاب‌شده، فشار محفظهٔ تقطیر در ۰/۰۲، ۰/۱ و ۱۵ mmHg قرار داده شد. همچنین، در هر دمای انتخاب‌شده محصول مطلوب به‌دست‌آمده یک بار دیگر تقطیر و شدت جریان حجمی خوراک در هر مرحله از آزمایش‌ها بین ۱ تا ۵ $\frac{ml}{min}$ انتخاب شد. علت کم‌بودن میزان دبی حجمی خوراک کم‌بودن ضخامت فیلم مایع روی سطح محفظهٔ تقطیر است. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در هر آزمایش با دستگاه کروماتوگراف جذبی آنالیز شدند که در جدول ۳ مشخصات دستگاه آورده شده است. بدیهی است که در انتها احتیاجی به دی متیلاسیون محصول نیست.

جدول ۳ . مشخصات دستگاه GC

نام دستگاه	UNICAM3800
نام ستون	BPX70
قطر سطح مقطع	۰/۲۵ میلی‌متر
قطر فیلم	۰/۲۲ میکرومتر
دمای شناساگر	۲۸۰ درجه سانتی‌گراد
فشار گاز حامل	۰/۱۷۲ اتمسفر
دمای تزریق کننده	۲۴۰ درجه سانتیگراد

۳. زمان ماند و شدت جریان

به علت اثر مستقیم زمان ماند در شدت جریان، هر دو پارامتر در یک قسمت بررسی می‌شوند. ضخامت لایهٔ مایع روی سطح تبخیرکننده در حد ضخامت چند مولکول است و سرعت متوسط فیلم مایع‌ریزان روی سطح تبخیرکننده با حل معادلهٔ حرکت در یک سیستم استوانه‌ای به دست می‌آید که عبارت است از (معادلهٔ ۱):

$$\bar{U}_x = \frac{1}{3\mu}\left[\frac{\Delta P}{L} + \rho g \times \sin(\alpha)\right] \times h^2$$ معادلهٔ ۱

که در این رابطه h ضخامت لایهٔ مایع و μ ویسکوزیته فاز مایع است. در نتیجه شدت حجمی مایع عبارت است از (معادلهٔ ۲):

$$\Phi = \frac{\pi D h^3}{3\mu}\left[\frac{\Delta P}{L} + \rho g \times \sin(\alpha)\right]$$ معادلهٔ ۲

بنابراین، شدت حجمی مایع متناسب با توان سوم ضخامت لایهٔ مایع است و چون ضخامت لایهٔ مایع باید در حد چند مولکول باشد شدت حجمی نیز در حد محدودهٔ مشخصی است.

۱. قطر سطح تبخیرکننده D =۴cm؛

۲. طول سطح تبخیرکننده L =۳۵cm.

از طرفی زمان ماند مایع در شرایط خلأ نیز نباید از ۵ ثانیه بیشتر باشد، لذا با استفاده از رابطهٔ $L = \bar{U} \times t$ طول متناسب با سرعت مناسب مایع و شدت حجمی مناسب اگر زمان اقامت مایع در ستون تقطیر بیشتر از ۵ ثانیه باشد امکان تجزیهٔ گرمایی روغن وجود دارد. شدت حجمی استفاده‌شده در آزمایش‌ها بین یک تا پنج میلی‌لیتر در هر دقیقه بوده است.

نتایج تجربی نشان داد که افزایش شدت حجمی و در نتیجه کاهش زمان ماند، اثر نامطلوبی در جداسازی می‌گذارد. این کاهش بازده ناشی از دو مورد است:

۱. افزایش سرعت و کاهش زمان ماند مایع داخل ستون تقطیرکننده؛

۲. افزایش ضخامت لایهٔ مایع و کاهش سرعت انتقال حرارت بین مایع و سطح تبخیرکننده.

کاهش دبی خوراک نیز موجب اثر نامطلوب می‌شود و آن را می‌توان در موارد زیر خلاصه کرد:

۱. کاهش دبی خوراک موجب کاهش تولید محصول می‌شود.

۲. کاهش دبی خوراک موجب افزایش زمان ماند مایع داخل ستون تقطیر مولکولی، تجزیهٔ حرارتی و شکست مولکولی مولکول‌های اسیدهای چرب امگا۳ می‌شود.

۳. کاهش دبی خوراک موجب می‌شود مایع

پیوستگی خود را روی سطح جامد از دست دهد و به شکل بخش‌های مجزا روی سطح تبخیرکننده حرکت کند. این عمل موجب می‌شود تغلیظ به شکل غیریکنواخت شکل گیرد.

با در نظر گرفتن موارد بالا و با توجه به اینکه هدف تولید آزمایشگاهی محصول با بالاترین بازدهی ممکن بود، دبی انتخاب‌شده و بهینه، ۳ تا ۳/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه است.

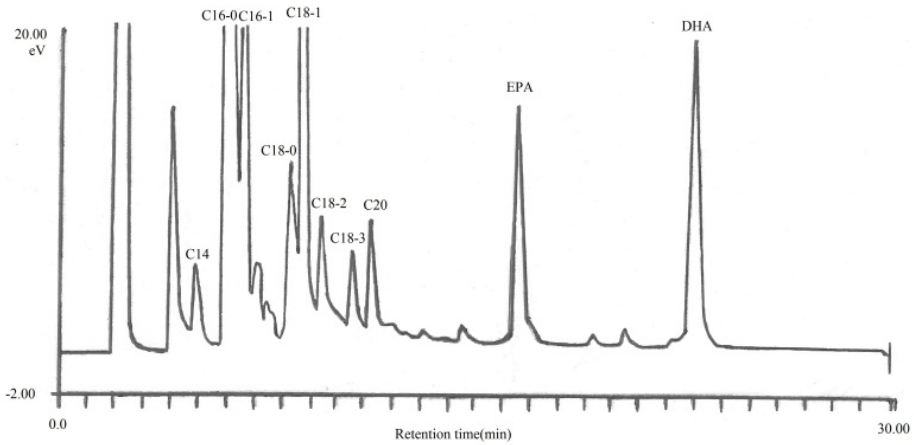
۴. نتایج

پس از آنالیز، نتیجهٔ آنالیز به صورت نمودارهایی با پیک‌های مختلف است که هر پیک نشان‌دهندهٔ مادهٔ خالص است. مقدار مواد موجود از طریق محاسبهٔ سطح زیر منحنی و مقایسه با نمونه‌های استاندارد خالص از هر جز حاصل می‌شود. نتایج آنالیز محصولات مختلف در شکل‌های ۴ و ۵ مشخص‌اند.

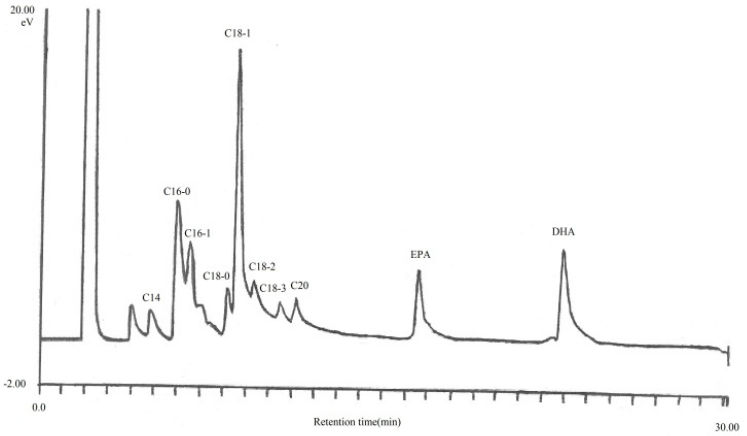
همان‌طور که از نتایج آنالیز برای محصول اصلی و جانبی برای هر دما مشخص است، در دو پیک آخر به ترتیب EPA و DHA به میزان قابل قبولی در محصول اصلی افزایش یافته است. همان‌طور که پیش‌تر بحث شد، می‌توان اثر دما را در امگا۳ و DHA محصولات مشاهده کرد. با توجه به نتایج آنالیز، برای خوراک متیله‌شده در سه دمای ۱۹۰، ۲۱۰ و ۲۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد، برای تعیین درصد مقدار اسیدهای چرب امگا۳ در محصول اصلی و جانبی، در هر نمودار به طور جداگانه، مساحت‌های زیرمنحنی مربوط به شاخه‌های کربنی مورد نظر محاسبه و پس از انجام محاسبات لازم، مقدار و درصد امگا۳ در هر نمونه هم برای محصول اصلی و هم برای محصول جانبی محاسبه شد.

میلی‌گرم هر یک از سازنده‌ها به گرم خوراک، مقدار و نسبت امگا۳ در هر نمونه و برخی موارد دیگر در جدول ۴ ذکر شده است.

در ادامه جدول‌های ۵ و ۶ برای نتایج تغلیظ خوراک متیله‌شده بدون بازیابی هگزان به منظور مقایسه آورده شده است. حضور هگزان اضافی هنگام جداشدن از سطح گرم‌کننده می‌تواند به علت دمای جوش پایین، مقداری از محصول را همراه خود به سمت محصول جانبی منتقل کند. همان‌طور که انتظار می‌رفت، زدایش هگزان به افزایش بازدهی منجر شد و کاهش زمان آزمایش و متعاقباً کاهش خطا را در پی داشت.



شکل ۴. نمونه‌ای از نتایج آنالیز برای محصول اصلی



شکل ۵. نمونه‌ای از نتایج آنالیز برای محصول جانبی

جدول ۴. میلی‌گرم هر یک از سازنده‌ها به گرم خوراک ، مقدار و نسبت امگا۳ در هر نمونه

میلی گرم/گرم روغن	خوراک	محصول مطلوب در ۱۹۰C	محصول نامطلوب در ۱۹۰ C	محصول مطلوب در ۲۱۰ C	محصول نامطلوب در ۲۱۰ C	محصول مطلوب در ۲۳۰ C	محصول نامطلوب در ۲۳۰ C
$C_{۱۴}$	۱۹/۷۱۷	۱۹/۲۲۹	۳۵/۹۰۴	۲۳/۴۶۷	۳۲/۱۲۶	۲۰/۰۴۸	۲۹/۶۷۳
$C_{۱۶-۰}$	۴۷/۹۷۴	۹۹/۹۸۷	۱۱۰/۱۱	۱۰۰/۵۳	۱۱۳/۰۷	۱۰۰/۴	۱۰۶/۴۷
$C_{۱۶-۱}$	۲۵/۰۱۳	۳۹/۱۲۶	۵/۲۶۵۳	۶۴/۳۷۲	۴۸/۴۷۱	۴۰/۱۳۶	۴۷/۲۶۷
$C_{۱۸-۰}$	۸/۲۹۳	۲۳/۹۵۷	۱۴/۶۴۹	۱۹/۹۰۱	۲۰/۸۷	۲۰/۱۴۱	۲۰/۶۲۴
$C_{۱۸-۱}$	۵۷/۱۸۲	۱۵۵/۱۱	۱۰۹/۳۴	۱۶۱/۶	۱۲۶/۱۸	۱۵۳/۱۸	۱۲۳/۱۷
$C_{۱۸-۲}$	۶/۲۰۷۳	۱۴/۱۱۴	۱۳/۵۱۲	۲۴/۹۴۱	۲۴/۲۲۲	۱۴/۹۶۹	۲۱/۴۲۹
$C_{۱۸-۳}$	۳/۶۷۱۵	۹/۲۴۱۲	۱۵/۳۶۱	۷/۲۶۹۲	۱۲/۸۸۶	۹/۸۴۵۸	۹/۲۳۹۶
$C_{۲۰}$	۶/۴۰۳۷	۱۲/۸۰۴	۹/۳۹۹۲	۱۰/۶۵۹	۱۷/۸۴۱	۱۴/۸۴۵	۱۱/۳۸۵
EPA	۱۵/۸۸۸	۴۶/۱۳	۲۳/۳۱۸	۴۲/۲۳۶	۲۷/۹۳۵	۴۲/۷۱۹	۲۸/۱۶۶
DHA	۲۹/۸۸۶	۹۳/۲۶	۳۶/۱۶۸	۷۳/۷۷۷	۵۰/۱۰۶	۹۵/۲۱۷	۴۶/۹۹۶
$\omega_۳$	۴۹/۴۴۶	۱۴۸/۶۳	۷۵/۱۱۷	۱۲۳/۲۸	۹۰/۹۲۷	۱۴۷/۷۸	۸۷/۴۰۲
ترکیبات غیر از $\omega_۳/\omega_۳$	۰/۲۴۷	۰/۳۸۴۶	۰/۲۴۰۴	۰/۲۸۷۲	۰/۲۲۵۲	۰/۳۹۳۸	۰/۲۳۳۱
بقیه مواد/(EPA+DHA)	۰/۲۴۸۶	۰/۳۵۲۲	۰/۱۸۱۱	۰/۲۶۵۸	۰/۱۸۷۳	۰/۳۵۸۲	۰/۲۰۳۴
ترکیبات غیر از $\omega_۳$	۱۸۰/۴۴	۳۸۶/۵	۳۱۲/۷۹	۴۲۹/۲۲	۴۰۳/۷۳	۳۷۵/۲۹	۳۷۴/۹۹
کل اسید چرب/اسید چرب اشباع	۲۲۹/۸۹	۵۳۵/۱۳	۳۸۷/۹۱	۵۵۲/۵	۴۹۴/۶۶	۵۲۳/۰۷	۴۶۲/۳۹
اسید چرب/ناخالصی	۰/۲۹۸۵	۱/۱۵۱۲	۰/۶۳۳۷	۱/۲۳۴۶	۰/۹۷۸۹	۱/۰۹۶۷	۰/۸۶۰۱

جدول ۵. مساحت زیر منحنی‌ها برای خوراک، محصول اصلی و جانبی متیله شده بدون بازیابی هگزان

ترکیبات	خوراک	محصول مطلوب در ۱۹۰ C	محصول نامطلوب در ۱۹۰ C	محصول مطلوب در ۲۳۰ C	محصول نامطلوب در ۲۳۰ C
$C_{۱۴}$	۱۴۴۳۳۰	۵۹۶۶۹	۸۴۳۲۵	۳۵۳۱۰	۷۴۱۸۰
$C_{۱۶-۰}$	۳۵۱۱۶۸	۲۴۷۴۳۳	۳۳۹۰۰۴	۱۹۹۵۶۵	۲۴۴۸۴۲
$C_{۱۶-۱}$	۱۸۳۰۹۷	۹۶۹۰۸	۱۳۵۲۲۵	۷۶۵۰۴	۹۷۱۳۰
$C_{۱۸-۰}$	۶۰۷۰۴	۴۰۹۵۴	۵۵۶۹۰	۴۲۲۸۰	۳۲۷۷۶
$C_{۱۸-۱}$	۴۱۸۵۷۲	۲۹۲۰۹۲	۳۶۷۳۰۲	۲۵۶۲۶۳	۲۱۵۳۱۷
$C_{۱۸-۲}$	۴۵۴۳۷	۲۶۶۲۱	۴۴۶۱۸	۲۲۵۴۴	۱۳۴۳۵
$C_{۱۸-۳}$	۲۶۸۷۵	۱۸۱۹۸	۲۳۲۸۷	۱۶۲۳۳	۱۴۹۳۴
$C_{۲۰}$	۴۶۸۷۵	۲۵۲۲۹	۳۳۹۳۴	۲۲۳۵۳	۲۲۵۱۴
EPA	۱۱۶۳۰۱	۷۸۳۰۴	۹۰۳۳۶	۷۱۸۲۳	۴۶۱۹۴
DHA	۲۱۸۷۶۴	۱۵۴۶۴۵	۱۶۱۶۰۲	۱۴۵۱۶۵	۸۰۸۹۷
W(gr)	۰/۱	۰/۱۱	۰/۱۶	۰/۱۱	۰/۱۱

جدول ۶. میلی‌گرم هر یک از سازنده ها به گرم خوراک، مقدار و نسبت امگا ۳ در هر نمونه بدون بازیابی هگزان

میلی گرم/گرم روغن	خوراک	محصول مطلوب در ۱۹۰ C	محصول نامطلوب در ۱۹۰ C	محصول مطلوب در ۲۳۰ C	محصول نامطلوب در ۲۳۰ C
$C_{۱۴}$	۱۹/۷۱۷	۲۵/۴۲	۲۶/۱۲۶	۱۹/۸۷۵	۳۶/۳۱۳
$C_{۱۶-۰}$	۴۷/۹۷۴	۱۰۵/۴۱	۱۰۵/۰۳	۱۱۲/۳۳	۱۱۹/۸۶
$C_{۱۶-۱}$	۲۵/۰۱۳	۴۱/۲۸۵	۴۱/۸۹۵	۴۳/۰۶۲	۴۷/۵۴۷
$C_{۱۸-۰}$	۸/۲۹۳	۱۷/۴۴۷	۱۷/۲۵۴	۲۳/۷۹۸	۱۶/۰۴۵
$C_{۱۸-۱}$	۵۷/۱۸۲	۱۲۴/۴۴	۱۱۳/۸	۱۴۴/۲۴	۱۰۵/۴
$C_{۱۸-۲}$	۶/۲۰۷۳	۱۱/۳۴۱	۱۳/۸۲۴	۱۲/۶۸۹	۶/۵۷۶۷
$C_{۱۸-۳}$	۳/۶۷۱۵	۷/۷۵۲۸	۷/۲۱۴۸	۹/۱۳۷۱	۷/۳۱۰۵
$C_{۲۰}$	۶/۴۰۳۷	۱۰/۷۴۸	۱۰/۵۱۳	۱۲/۵۸۲	۱۱/۰۲۱
EPA	۱۵/۸۸۸	۳۳/۳۵۹	۲۷/۹۸۸	۴۰/۴۲۷	۲۲/۶۱۳
DHA	۲۹/۸۸۶	۶۵/۸۸۲	۵۰/۰۶۸	۸۱/۷۰۹	۳۹/۶۰۱
$\omega_۳$	۴۹/۴۴۶	۱۰۶/۹۹	۸۵/۲۷	۱۳۱/۲۷	۶۹/۵۲۴
ترکیبات غیر از $\omega_۳/\omega_۳$	۰/۲۷۴	۰/۳۰۹۴	۰/۲۵۲۵	۰/۳۴۱۹	۰/۱۹۶۶
بقیه مواد /(EPA+DHA)	۰/۲۴۸۶	۰/۲۸۰۶	۰/۲۲۶۳	۰/۳۱۰۷	۰/۱۷۲۳
ترکیبات غیر از $\omega_۳$	۱۸۰/۴۴	۳۴۵/۸۶	۳۳۷/۷۱	۳۸۳/۹۷	۳۵۳/۷۲
اسید چرب غیراشباع/اسید چرب اشباع	۲۲۹/۸۹	۴۵۲/۸۶	۴۲۲/۹۸	۵۱۵/۲۵	۴۲۳/۲۵
اسید چرب/اسید غیرچرب	۰/۲۹۸۵	۰/۸۲۷۷	۰/۷۳۳۱	۱/۰۶۲۹	۰/۷۳۳۸

نتایج آنالیز محصول مطلوب و نامطلوب دماهای مختلف و در فشار ۰/۰۲mmHg با یک بار و دو بار گردش در دستگاه تقطیر مولکولی در جدول‌های ۷ و ۸ آمده است.

در فشارهای غیر از ۰/۰۲mmHg در شرایط خوراک متیله‌نشده عملاً هیچ تقطیری صورت نگرفت و نتایجی حاصل نشد. همچنین، در بین دبی‌های امتحانی از دبی حجمی ۳/۵ml/min جواب مناسب به دست آمد و جدول‌های ۶ و ۷ مربوط به این حالت است.

جدول ۷. درصد وزنی EPA و DHA در محصول مطلوب و نامطلوب با یک بار گردش خوراک در دستگاه

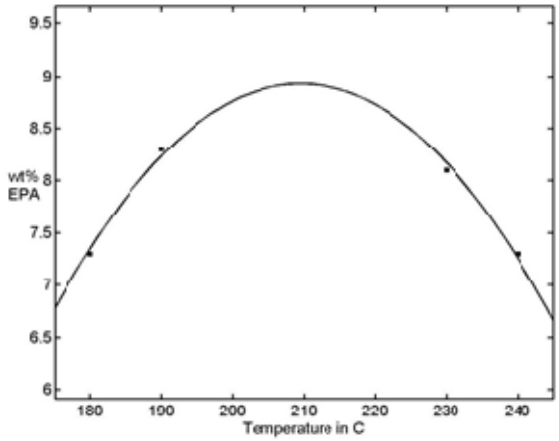
نام ماده	EPA ۱۸۰	EPA ۱۹۰	EPA ۲۱۰	EPA ۲۳۰	EPA ۲۴۰	DHA ۱۸۰	DHA ۱۹۰	DHA ۲۱۰	DHA ۲۳۰	DHA ۲۴۰
درصد وزنی در محصول اصلی	۷/۳	۸/۶	۷/۶	۸/۱	۷/۳	۱۴/۲	۱۷/۴۳	۱۳/۳۵	۱۸/۲۱	۱۶/۱
درصد وزنی در محصول جانبی	۶/۴	۶/۰۱	۵/۶۴	۶/۰۹	۶/۴	۹/۹۱	۹/۳۲	۱۰/۱۲	۱۰/۸۱	۹/۷

جدول ۸. درصد وزنی EPA و DHA در محصول مطلوب و نامطلوب با دو بار گردش خوراک در دستگاه

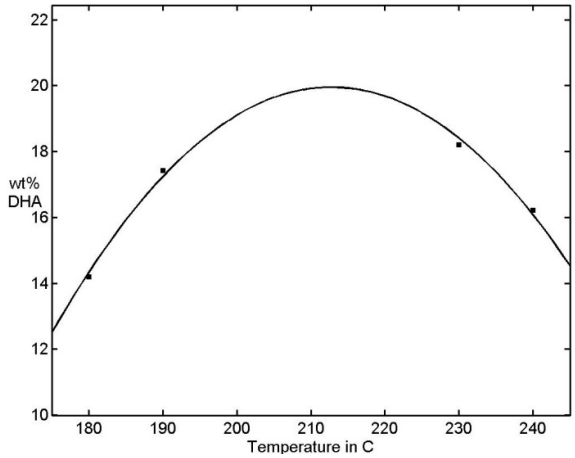
نام ماده	EPA ۱۸۰	EPA ۱۹۰	EPA ۲۱۰	EPA ۲۳۰	EPA ۲۴۰	DHA ۱۸۰	DHA ۱۹۰	DHA ۲۱۰	DHA ۲۳۰	DHA ۲۴۰
درصد وزنی در محصول اصلی	۷/۷۱	۱۰/۷	۸/۳۶	۹/۵۱	۷/۷۸	۱۵/۵۱	۲۳/۳۷	۱۳/۷۱	۲۵/۵۱	۱۹/۹۴
درصد وزنی در محصول جانبی	۵/۹۲	۵/۲۲	۴/۶۱	۵/۳۷	۵/۸۹	۷/۵۹	۶/۷۱	۹/۸	۸/۹۹	۷/۲۴

۵. بحث و نتیجه‌گیری

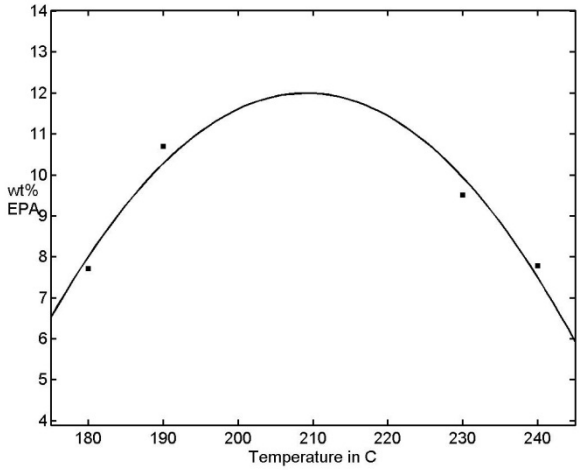
خوراک اولیهٔ استفاده‌شده در آزمایش‌ها نسبتاً غلیظ و درصد وزنی امگا۳ در خوراک حدود ۲۰ درصد بوده است. استفاده از تقطیر مولکولی با یک مرحله گردش موجب تغلیظ تا ۲۶ درصد وزنی و با دو مرحله گردش موجب تغلیظ اسیدهای چرب امگا۳ تا ۳۵ درصد وزنی خواهد شد و این نشان‌دهندهٔ افزایش ۱۵ درصدی غلظت اسیدهای چرب امگا ۳ است. بر اساس داده‌های جداول ۸ و ۹ میزان درصد وزنی EPA و DHA در محصول مطلوب بر حسب دمای خوراک اولیهٔ متیله‌شده در شکل‌های ۶ و ۷ و ۸ و ۹ رسم شده است. همچنین، درصد وزنی مجموع اسیدهای چرب امگا ۳ بر حسب دما در شکل‌های ۹ و ۱۱ رسم شده است. همان‌گونه که از جداول نتایج و شکل‌ها مشخص است با افزایش دما، میزان تغلیظ افزایش می‌یابد. بر اساس نتایج، حداکثر تغلیظ EPA در ۲۱۰، حداکثر تغلیظ DHA در ۲۳۰ و حداکثر تغلیظ اسیدهای چرب امگا۳ نیز در ۲۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد رخ می‌دهد.



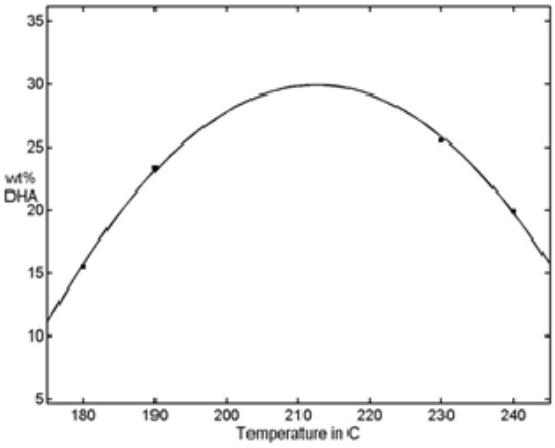
شکل ۶. درصد وزنی EPA در محصول مطلوب با یک بار گردش خوراک در دستگاه.



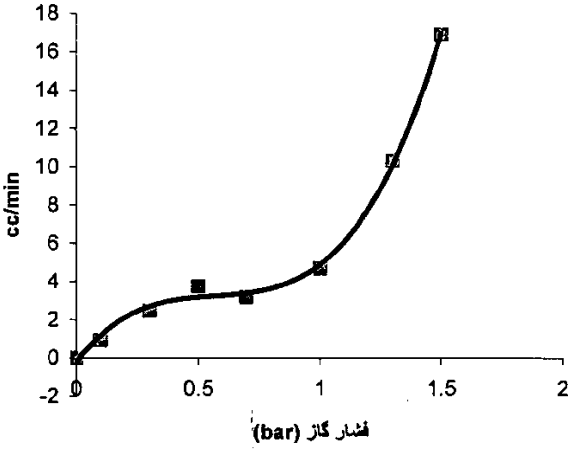
شکل ۷. درصد وزنی DHA در محصول مطلوب با یک بار گردش خوراک در دستگاه



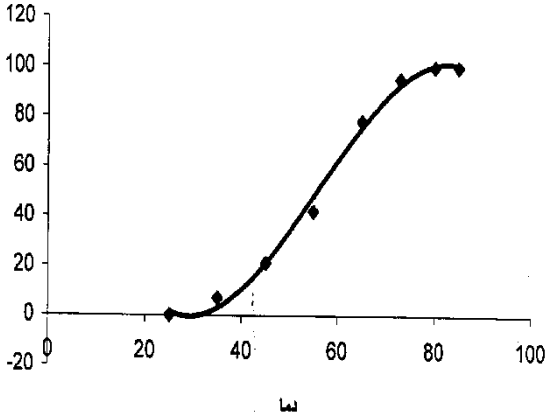
شکل ۸. درصد وزنی EPA در محصول مطلوب با دو بار گردش خوراک در دستگاه



شکل ۹. درصد وزنی DHA در محصول مطلوب با دو بارگردش خوراک در دستگاه



شکل ۱۰. اثر دبی (به صورت فشار مخزن) بر دبی هگزان حاصل‌شده



شکل ۱۱. اثر دما در میزان بازیابی هگزان

این نتایج در فشار ۰/۰۲mmHg به دست آمده است، اما انتظار می‌رود با کاهش فشار محفظهٔ تقطیر، نقطهٔ ایجاد حداکثری برای غلظت اسیدهای چرب امگا۳ به سمت دماهای کمتر میل کند. صرف هزینهٔ بالا برای ایجاد و نگهداری فشارهای بسیار پایین عملاً فشار در دستگاه‌های تقطیر مولکولی را در محدودهٔ $4-40\mu mHg$ نگه می‌دارد. روغن ماهی که روی آن عمل متیلاسیون صورت نگرفته باشد، عملاً هیچ‌گونه تغلیظی را از خود نشان نمی‌دهد. در فشارهای بالاتر از یک mmHg عملاً هیچ‌گونه تغلیظ برای اسیدهای چرب امگا۳ مشاهده نشد. شدت جریان مایع با زمان اقامت مایع در ستون تقطیر، ضخامت لایهٔ مایع روی سطح تبخیرکننده و طول ستون تقطیر از پارامترهای مرتبط با هم به شمار می‌روند. کاهش شدت جریان مایع موجب افزایش زمان اقامت، کاهش ضخامت لایهٔ مایع و کاهش سرعت مایع و غیریکنواختی در غلظت محصول نهایی و کاهش تولید محصول مطلوب می‌شود. افزایش شدت جریان مایع موجب افزایش سرعت مایع، افزایش ضخامت لایهٔ مایع، افزایش طول برج، کاهش میزان ضریب تبخیر و کاهش راندمان تولید می‌شود. بهترین شرایط تولید زمانی به دست آمد که زمان اقامت مایع حدود ۳/۵ تا ۵ ثانیه بوده است. در فرایند متیلاسیون میزان مصرف هگزان بالاست، لذا در انتهای عملیات بازیابی صورت می‌گیرد. میزان بازیابی هگزان در فشارهای مختلف گاز دی اکسید کربن و دمای خوراک بررسی شد (شکل‌های ۱۰ و ۱۱). همان‌طور که در شکل‌های ۱۰ و ۱۱ ملاحظه می‌شود با افزایش فشار میزان بازیابی افزایش می‌یابد، اما با افزایش دما ابتدا میزان بازیابی افزایش و به تدریج کاهش می‌یابد و در دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد به بالا میزان بازیابی ثابت می‌شود. تقطیر چندبارهٔ خوراک موجب تغلیظ بیشتر EPA و DHA می‌شود. در این کار تحقیقاتی نیز خوراک روغن ماهی دو بار تحت عمل تقطیر مولکولی قرار گرفت. نتایج کاملاً بیانگر آن است که ضریب تبخیر در هر دو مرحله تقریباً مساوی است و چنانکه هدف رساندن مواد اولیه به غلظت‌های بالاتر باشد می‌توان با تقطیر مولکولی چندمرحله‌ای به آن دست یافت.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از شرکت ملی شیلات ایران که پشتیبانی مالی این طرح را بر عهده داشته است تشکر و قدردانی کنند..

References

[1]. Alavi Talab, H., Ardjmand, M., Motallebi, A., Pourgholam, R., 2010. Concentration and purification of Omega-3 fatty acids by urea complex formation, Journal of Fisheries 4, 1-9.

[2]. Artemis, P., 2001. N-3 fatty acids and human health: defining strategies for public policy' Journal of chemistry and material science 36, 583-589.

[3]. Babaei, M., Osati, S., Golchoobian, A., Maleki, E., Taghvaei, T., Hosseini, V., Vahedi, H., Ghanati, K., Rashidi, A., Fakheri, H., 2013. A study on relationship between omega 3 and omega 6 fatty acids intakes in Patients with ulcerative colitis. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology 7, 25-34.

[4]. Belarbi, E.H., Molina, E., Chisti, Y., 2000. A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil. Enzyme Microb. Technol. 26, 516–529.

[5]. Bergé, J.P., Barnathan, G., 2005. Fatty acids from lipids of marine organisms: Molecular biodiversity, roles as biomarkets, biologically active compounds, and economical aspects. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology 96, 49−125.

[6]. Branden, L.M., Carroll, K.K., 1986. Dietary polyunsaturated fats in relation to mammary carcinogenesis in Rats. Lipids 21, 285-288.

[7]. Burr, G.D., Burr, M.M., 1929. A new deficiency disease produced by rigid exclusion of fat from the diet. J. Bio. Chem. 82, 345-367.

[8]. Cheryan, M., 1998. Ultrafiltration and microfiltration handbook, 2nd Ed.USA: Technomic Lacaster.

[9]. Čmolík, J., Pokorný, J., 2000. Physical refining of edible oils. European Journal of Lipid Science and Technology 102, 472 − 486.

[10]. Dervon, C.A., Baksaas, I., Krokan, H., Verlag, E., 1993. Omega-3 fatty acids: metabolism and biological effects. Birkhauser, Basel, pp. 87–343.

[11]. Lebeau, T., Robert, J.M., 2003. Diatom cultivation and biotechnology relevant products: Part I. Cultivation at various scales" Appl. Microbiol. Biotechnol., 60, 612–623.

[12]. Maes, J., De- Meulenaer, B., Van-Heerswyn ghels, P., De-Greyt, W., De-Pauw, E., & Huyghebaert, A., 2005. Removal of dioxins and PCB from fish oil by activated carbon and it's influence on the nutritional quality of the oil. Journal of the American Oil Chemists' Society 82, 593 − 597.

[13]. Molina Grima, E., Belarbi, E.H., Acién Fernández, F.G., Robles Medina, A., Chisti, Y.2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics Biotechnol. Adv., 20, 491–515.

[14]. Nettleton, J.A., 1995. Omega-3 fatty acids and health. Chapman & Hall, New York.

[15]. Pigott, G.M., Tucker, B.W., 1987. Science opens new horizon for marine lipids, in Human Nutrition. Food Rev. Inter. 3, 105-138.

[16]. Ranjzad, M., Khayami, M., Asadi, A., 2009. Measurement of omega3 and omega6 in *Linum* spp. Journal of medical plant 32, 25-32.

[17]. Schacky, C.V., Weber, P.C., 1986. Long term effects on dietary marine Omega-3 fatty acids upon plasma and cellular lipids, platelet function, and eicosanoid formation in humans. Journal of clinical investigation, 76 (4), 1626-1631.

[18]. Simopoulos, A.P., Kifer, R.R., Martin, R.E., Barlow, S.M., *1991*. Health Effects of ω-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods. 8th ed World Reviews of Nutrition and Diet 66, Karger, Basel, 205-216.

[19]. Shahidi, F., Wanasundara, U.N., 1998. Omega-3 fatty acid concentrates: nutritional aspects and production technologies. Trends Food Sci. Technol., 9 230–240.

[20]. Valivety, G.R., 1997. Polyunsaturated fatty acids: Part 1. Occurrence, biological activities and application. Trends Biotechnology 15, 401–409.