

تأثیر روش های مختلف استخراج بر کیفیت و کمیت روغن ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سارا وفا^۱، محمود ناصری^{۲*}، مریم وفائی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۲- استادیار، بخش مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۸/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۰۶)

در این مطالعه، تأثیر روش های مختلف استخراج چربی از جمله بلای و دایر (BD)، اسمدز (SM)، بلای و دایر با استفاده از دی کلرومتان (BDD)، فولج (FO)، رز-گاتیبل (RG)، سوکسله با استفاده از حلال پترولیوم اتر (با نمونه خشک و تر) (SOX-WET, SOX-DRY) و سوکسله با استفاده از حلال ان-هگزان (SOX-N) بر کمیت و کیفیت چربی ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت. شاخص های کیفی شامل میزان چربی کل، اسیدهای چرب آزاد، پراکسید، مزدوج های دی ان و تری ان، تیوباریتوریک اسید، آنزیدین، قهوه ای شدن غیر آنزیمی و تغییرات رنگ مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج حاصل، میزان چربی کل در روش بلای و دایر نسبت به روش های سوکسله با نمونه مرطوب، اسمدز و رز-گاتیبل بیشتر بود. کمترین میزان محصولات اولیه فساد پس از استخراج با روش های بلای و دایر و سوکسله با حلال پترولیوم اتر حاصل شد. مقایسه شاخص تیوباریتوریک اسید نشان داد در روش رز-گاتیبل محصولات ثانویه اکسیداسیون بیش از استخراج با سوکسله و فولج بوده است. بیشترین مقدار مزدوج های تری ان، اسیدهای چرب آزاد و تونکس نیز پس از استخراج چربی به روش رز-گاتیبل مشاهده شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد استخراج چربی با روش اسمدز و بلای و دایر با استفاده از دی کلرومتان ضمن حصول کیفیت مناسب، کمترین زمان و هزینه را در پی داشته است.

کلیدواژگان: استخراج چربی، قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، شاخص های کیفی.

*مسئول مکاتبات: mahmoodnaseri@gmail.com

۱- مقدمه

آبزیان و محصولات حاصل از آنها منبع مهم و با ارزشی از عناصر مغذی ضروری جهت تغذیه و سلامت انسان می‌باشند [۱]. شناسایی اثرات مفید تغذیه از آبزیان در سال‌های گذشته موجب توجه روزافزون به ماهی و فرآورده‌های حاصل از آن شده است [۲].

پرورش ماهی در ایران از سال ۱۳۳۹ با تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) آغاز شد [۳]. ذائقه پسند بودن و استقبال مصرف کنندگان از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، موجب افزایش پرورش و مصرف این گونه در سال‌های اخیر شده است. طبق سالنامه آماری شیلات ایران، میزان تولید ماهیان سردآبی کشور از ۸۳۵ تن در سال ۱۳۷۲ به ۱۴۴ هزار تن در سال ۱۳۹۲ افزایش یافته است [۴].

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به طور طبیعی دارای میزان زیادی اسیدهای چرب چند غیر اشباع همچون ایکوزاپنتانوئیک اسید^۱ و دکوزاهگزانوئیک اسید^۲ است [۵]. این نوع از اسیدهای چرب فواید زیادی برای سلامت انسان دارند [۶]. اما وجود مقدار زیاد آنها، ماهی قزل‌آلا را در برابر فساد اکسیداتیو مستعد ساخته است [۷]. از جمله عوامل مؤثر در فساد پس از مرگ، فعالیت آنزیم‌های درونی، فعالیت ریزسازگان‌ها و اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد که بروز هر یک از این عوامل بستگی زیادی به نوع گونه مورد استفاده دارد [۱]. افت کیفیت چربی منجر به تولید بو و طعم نامطلوب می‌گردد که در اصطلاح به این پدیده تندی^۳ گفته می‌شود. روش‌های متعددی جهت تعیین میزان محصولات ناشی از فساد چربی وجود دارد که جهت اندازه‌گیری تغییرات کیفی به عنوان شاخص‌های فساد به کار می‌روند. از مهمترین شاخص‌ها می‌توان به اسیدهای چرب آزاد (شاخص فساد هیدرولیتیک)، مزدوج‌های دی‌ان و پراکسید (جهت اندازه‌گیری محصولات اولیه فساد چربی)، مزدوج‌های تری‌ان، عدد پارا-آنیزیدین و تیوباریتوریک اسید (جهت اندازه‌گیری محصولات ثانویه فساد چربی) و قهوه‌ای شدن اشاره نمود.

منظور از استخراج چربی کل، تضعیف یا از بین بردن اتصال لیپیدها به سایر مولکول‌ها (پروتئین یا کربوهیدرات) می‌باشد که با استفاده از حلال‌های مختلف انجام می‌گیرد. حلال‌های مورد استفاده باید از قدرت بالایی جهت استخراج تمام ترکیبات لیپیدی برخوردار باشند [۸]. برای استخراج چربی، استفاده از حلال قطبی به همراه حلال غیر قطبی به دلیل از دست دادن آب، دنا توره شدن پروتئین‌ها و تخریب باندهای هیدروژنی بین چربی و پروتئین دارای اهمیت می‌باشد. همچنین بالا بودن نسبت حلال‌های غیر قطبی به قطبی منجر به استخراج بیشتر لیپیدها می‌شود. از سوی دیگر، حلال‌های مورد استفاده نباید با چربی استخراج شده واکنش دهند [۹].

امروزه از روش‌های مختلفی مبتنی بر استفاده از حلال‌ها جهت استخراج چربی استفاده می‌شود که بسیاری از آنها از نظر زمان استخراج، کیفیت و میزان چربی استخراج شده، هزینه، ایمنی و سلامت مواد مورد استفاده متفاوت می‌باشند. از همین رو بررسی تأثیر روش‌های مختلف استخراج بر کمیت و کیفیت چربی بافت ماهی و انتخاب مناسب‌ترین روش حائز اهمیت است.

هدف از پژوهش حاضر، انتخاب روش بهینه استخراج چربی جهت ارائه به صنایع عمل‌آوری کننده چربی می‌باشد. در بین گونه‌های متفاوت پرورشی، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از نظر تولید بالای سالانه، قابلیت دسترسی برای مصرف کننده و پراکنش مناسب از اهمیت زیادی بین پرورش دهندگان و مصرف دهندگان برخوردار است. بسیاری از مطالعات پژوهشی در دانشگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی بر چربی این گونه تمرکز یافته است. تاکنون گزارش مستندی در زمینه بررسی اثر حلال‌ها بر چربی این ماهی انتشار نیافته است از همین رو هدف اصلی از مطالعه حاضر بررسی تأثیر شیوه و نوع استخراج بر کمیت و کیفیت چربی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد و روش کار

در این پژوهش کلیه مواد مصرفی از شرکت مرک با بالاترین درجه خلوص تهیه شد. هجده عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن تقریبی ۷۰۰-۸۰۰ گرم به صورت زنده از فروشگاه اتکا

1. EPA
2. DHA
3. Rancidity

جایگزین حلال‌های متانول و کلروفرم می‌شوند. در روش مذکور از مخلوط آب، ۲-پروپانول و سیکلوهگزان (۱۱:۸:۱) به عنوان حلال استفاده و به نمونه اضافه گردید. استخراج دوم نیز با مخلوط ۲۰ میلی‌لیتر ۲-پروپانول و سیکلوهگزان انجام شد. پس از سانتریفیوژ لایه سیکلوهگزان به استخراج اول اضافه گردید [۱۱].

۳-۱-۱-۲- سوکسله (حلال پترولیم‌اتر و ان-هگزان) (Soxhlet)

ابتدا یک گرم از نمونه تر هموزن شده به همراه ۲ گرم سولفات سدیم در مخزن سوکسله گذاشته شد. ۳۰ میلی‌لیتر حلال مورد نظر (پترولیم‌اتر یا ان-هگزان) به مخزن سوکسله اضافه گردید. درجه حرارت سوکسله روی ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. حلال مورد استفاده پس از پر شدن مخزن سوکسله از طریق سیفون نازک شیشه‌ای به بالن برگشته و به این ترتیب این چرخه حداقل تا هشت مرتبه تکرار شد. استخراج به مدت شش ساعت ادامه یافت. در انتهای فرآیند، حرارت قطع و اجازه داده شد سیستم خنک و همی بخارات در مبرد سرد شده و به فاز مایع وارد شوند. سپس بالن حاوی روغن با استفاده از دستگاه روتاری-اوپراتور حلال پرانی گردید [۱۲]. این روش برای هر دو حلال پترولیم‌اتر (سوکسله با نمونه مرطوب) و ان-هگزان (سوکسله با حلال ان هگزان) با سه تکرار انجام شد.

۴-۱-۱-۲- سوکسله با نمونه خشک

در این روش (سوکسله با نمونه خشک شده) مقداری از بافت هموزن شده ماهی با دقت یک میلی‌گرم توزین شده و در آن 2 ± 103 درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. بعد از خشک شدن، نمونه به دسیکاتور منتقل شد. نمونه خشک شده پس از انتقال به انگشت دانه در مخزن سوکسله قرار داده شد و از پترولیم‌اتر به عنوان حلال استفاده گردید. بقیه مراحل همانند روش سوکسله با نمونه مرطوب و سوکسله با حلال ان هگزان انجام شد.

۵-۱-۱-۲- فولج (Folch)

در این روش ۵ گرم از نمونه هموزن شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر کلروفرم و متانول (۲:۱) مخلوط شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ و پس از آن با استفاده از کاغذ صافی فیلتر

شهر شیراز تهیه و با رعایت نکات بهداشتی به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انتقال یافت. پس از آماده‌سازی اولیه شامل سر و دم‌زنی، تخلیه امعاء و احشاء، پوست‌گیری و شستشو در آزمایشگاه، نمونه‌ها با استفاده از چرخ گوشت (MG1400، پارس خزر، ایران)، هموزن شدند. استخراج چربی به روش‌های مختلف (بلای و دایر، اسمدز، بلای و دایر با استفاده از دی کلرومتان، سوکسله با نمونه مرطوب، سوکسله با نمونه خشک شده، سوکسله با حلال ان هگزان، رز-گاتیل، فولج) انجام گرفت. سپس شاخص‌های پراکسید، مزدوج-های دی‌ان، مزدوج‌های تری‌ان، تیوباربتوریک اسید، آنیزیدین، قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی، اسیدهای چرب آزاد، توتکس و سنجش رنگ مورد بررسی قرار گرفت. تمامی آزمایش‌ها با حداقل سه تکرار انجام شد.

۱-۱-۲- روش‌های مختلف استخراج چربی

۱-۱-۲-۱- بلای و دایر (Bligh and Dyer) و بلای و دایر

با استفاده از دی کلرومتان

در این پژوهش از روش بلای و دایر با اندکی تغییرات بهره برداری شد. در این روش به پنج گرم از نمونه چرخ شده، ۲۰ میلی‌لیتر متانول و ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم اضافه و به مدت ۲ دقیقه با دستگاه شیکر همزده شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم به مخلوط قبلی اضافه گردیده و به مدت ۲ دقیقه همزده شد. پس از اضافه کردن ۱۸ میلی‌لیتر آب مقطر مجدداً به مدت ۲ دقیقه عملیات همزدن ادامه یافت. سپس مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، لایه پایین به بالن حجمی انتقال داده شد. استخراج دوم با استفاده از مخلوط ۲۰ میلی‌لیتر کلروفرم و متانول انجام شد. پس از سانتریفیوژ، فاز پایینی شامل کلروفرم و روغن به استخراج اول اضافه گردید. حلال پرانی با استفاده از دستگاه روتاری (B-S1-IP44، ورقا تجهیز، ایران) انجام شد [۱۰]. در پروسه مشابه به جای کلروفرم از حلال دی‌کلرومتان (بلای و دایر) برای استخراج چربی استفاده شد.

۲-۱-۱-۲- اسمدز (Smeds)

فرایند استخراج در این روش تقریباً مشابه با روش بلای و دایر می‌باشد. در این روش حلال‌های ۲-پروپانول و سیکلوهگزان

فرض صفر ۵٪ در نظر گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- درصد چربی کل

میزان چربی کل موجود در بافت ماهی علاوه بر شیوه استخراج به نوع گونه، جنسیت، وزن و فصل صید وابسته است. چربی کل ترکیبی از لیپیدهای خنثی، لیپیدهای قطبی و اجزا کوچکتر می-باشد. روش استخراج باید توانایی جداسازی کلیه این ترکیبات از بافت را داشته باشد [۲۲].

تأثیر روش های مختلف استخراج چربی بر میزان چربی کل ماهی قزل آلا^۱ رنگین کمان در نمودار ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که روش بالای و دایر موجب استحصال چربی بیشتر نسبت به روش های سوکسله با نمونه مرطوب، اسمدز و رز-گاتیل گردید و با سایر روش ها تفاوت معنی داری نداشت.

در مطالعه هایی که بر روی ماهی های هرینگ^۲، سالمون^۳، کاد^۴، ماکرل^۵، ساردین^۶ و ضایعات ماهی انجام شده روش بالای و دایر روشی با بیشترین راندمان استحصال چربی کل گزارش شده است [۲۳]، [۲۴]، [۲۵]، [۲۶]. در مطالعه مشابهی که روی استخراج چربی از بی مهره های دریایی انجام شد، همانند نتایج حاصل از تحقیق حاضر، روش بالای و دایر با استفاده از دی کلرومتان به شکل معنی داری استحصال چربی را افزایش داد [۲۷]. گزارش شده است که لیپیدهای موجود در سلول های بافت ماهی نسبت به سایر موجودات مورد آزمایش بیشترین واکنش را نسبت به این روش نشان داده اند [۲۸].

در مطالعه حاضر، کاهش معنی دار درصد چربی کل در روش رز-گاتیل نسبت به بالای و دایر، احتمالاً به دلیل تفاوت در نوع حلال و دمای استخراج بوده است. همچنین پایین تر بودن درصد چربی کل در روش اسمدز نسبت به بالای و دایر را می توان به دلیل قطبیت کمتر ۲-پروپانول نسبت به متانول [۸] و در نتیجه حلالیت کمتر چربی های قطبی در آن دانست.

گردید. ۵ میلی لیتر آب مقطر به مخلوط فیلتر شده اضافه و مجدداً سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰) شد. بعد از حذف فاز بالایی (متانول و آب)، لایه پایینی حاوی کلروفرم و چربی جداسازی، و با استفاده از دستگاه روتاری حلال پرانی شد [۱۳].

۶-۱-۱-۲- رز گاتیل (Roese Gottible)

در این روش کل چربی با استفاده از پترولیم اتر استخراج می شود. ابتدا به یک گرم از نمونه ۶ میلی لیتر آب جوش اضافه شد. سپس به مدت ۱ دقیقه در دستگاه شیکر قرار داده شد پس از خنک شدن به نمونه ۱ میلی لیتر محلول ۲۵٪ آمونیاک افزوده و به مدت ۲ دقیقه همزده شد. سپس ۷/۵ میلی لیتر متانول اضافه و مخلوط به مدت ۲ دقیقه ورتکس گردید. نهایتاً ۱۷ میلی لیتر دی اتیل اتر و ۱۷ میلی لیتر پترولیم اتر به مخلوط حاصل افزوده شد. محلول نهایی سانتریفیوژ و متعاقباً فاز بالایی به بالن حجمی انتقال داده شد. در نهایت حلال پرانی در دستگاه روتاری-اوپراتور انجام شد [۸].

پس از استخراج، درصد چربی کل با تقسیم یکصد برابر وزن چربی استحصال شده به وزن گوشت محاسبه شد [۱۲]. شاخص های کیفی چربی شامل اسیدهای چرب آزاد (FFA) [۱۴]، پراکسید [۱۵]، مزدوج های تری آن^۱ (CT) [۱۶]، تیوباریتوریک اسید (TBA) [۱۵]، [۱۷]، عدد پارا-آنیزیدین [۱۸]، قهوه ای شدن غیر آنزیمی^۲ (BFC) [۱۹]، توتکس [۲۰] و سنجش رنگ [۲۱] طبق روش های اعلام شده بررسی شدند.

۲-۲- آنالیز آماری

آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 22 انجام شد. همچنین برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید. به منظور تجزیه و تحلیل نتایج، شرط نرمال بودن داده ها قبل از انجام آزمون آنالیز واریانس با استفاده از آزمون شاپیروویلیک بررسی شد. آزمون همگنی واریانس با استفاده از آزمون لون (s Test'Leven) صورت پذیرفت. مقایسه میانگین تیمارهای مورد نظر با استفاده از آنالیز واریانس (One-Way ANOVA) انجام شد. در صورت همگن بودن واریانس ها از آزمون دانکن و در صورت عدم همگنی آنها از آزمون دانت تی سه استفاده گردید. در کلیه مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد

6 *Clupea harengus*
7 *Salmo salar*
8 *Gadus Morhua*
9 *Scomber japonicus*
10 *Sardina pichardus*

4 Conjugated triene
5 Brown color factor

اولئیک اسید بیان شد [۳۲] که همسو با نتایج این تحقیق می باشد. در مطالعه حاضر افزایش معنی دار FFA در روش رز- گاتیل نسبت به سایر روش ها احتمالاً به دلیل شکست فیزیکی اسیدهای چرب بلند زنجیره تحت تأثیر حرارت آب جوش طی فرآیند استخراج چربی می باشد [۳۳].

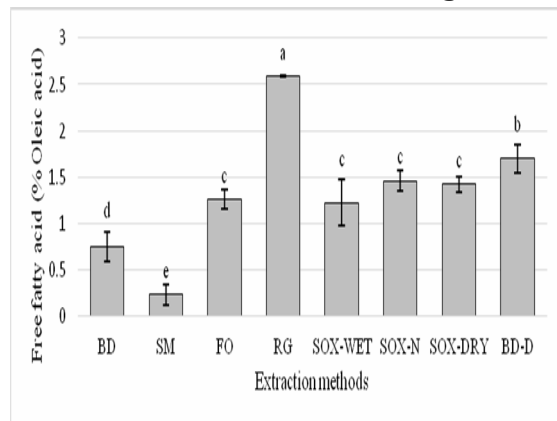


Fig 2 Free fatty acid (% Oleic acid) changes after fat extraction by various methods

BD (Bligh and Dyer), SM (Modified Bligh and Dyer, Smeds), FO (Folch), RG (Rose Gottible), SOX-WET (Soxhlet used petroleum, wet sample), SOX-N (Soxhlet used n-hexane), SOX-DRY (Soxhlet used petroleum, dry sample), BD-D (Bligh and Dyer used dichloromethane). Columns with different letters were significantly different, ($p < 0.05$)

۳-۳- محصولات اولیه اکسیداسیون چربی

برآورد محصولات اولیه فساد چربی با ارزیابی میزان پراکسید مورد بررسی قرار گرفت. شاخص پراکسید هر نمونه نشان دهنده تجمع پراکسیدها و هیدروپراکسیدهای تولید شده در مراحل اولیه اکسیداسیون چربی می باشد [۳۴]. بالا بودن میزان غیر اشباعیت روغن و چربی ها باعث افزایش اکسیداسیون آنها می شود [۳۱]. اگرچه هیدروپراکسیدها (محصولات اولیه فساد) تأثیری بر طعم چربی ندارند [۲۰] اما تجزیه این ترکیبات به محصولات ثانویه فساد چربی منجر به بد طعمی محصول نهایی خواهد شد. تأثیر روش های مختلف استخراج چربی بر میزان شاخص پراکسید چربی ماهی قزل آلائی رنگین کمان در نمودار ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد، روش استخراج رز- گاتیل دارای میزان بیشتر پراکسید نسبت به روش های بلای و دایر، اسمدز و بلای و دایر با استفاده از دی کلرومتان، سوکسله با نمونه خشک شده و

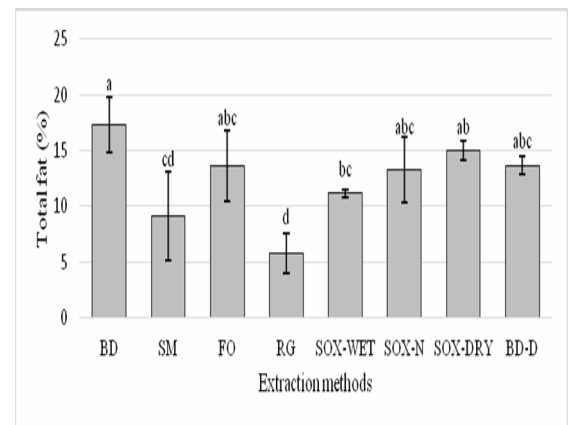


Fig 1 Total fat changes after fat extraction by various methods

BD (Bligh and Dyer), SM (Modified Bligh and Dyer, Smeds), FO (Folch), RG (Rose Gottible), SOX-WET (Soxhlet used petroleum, wet sample), SOX-N (Soxhlet used n-hexane), SOX-DRY (Soxhlet used petroleum, dry sample), BD-D (Bligh and Dyer used dichloromethane). Fat percent is expressed in wet weight. Columns with different letters were significantly different, ($p < 0.05$)

۳-۲- اسیدهای چرب آزاد

آنزیم های لیپاز و فسفولیپاز در گوشت ماهی، هیدرولیز استرهای اسید چرب گلیسرول را کاتالیز می کنند که در نهایت منجر به تشکیل اسید چرب آزاد می گردد [۲۹]. اسیدهای چرب آزاد سریع تر از لیپیدهای سنگین مولکول به ویژه تری گلیسریدها و فسفولیپیدها اکسید می شوند و در نتیجه فرآیند اکسیداسیون چربی را تشدید می کنند [۳۰]. پی اچ های اسیدی، رطوبت، دما و آنزیم های هیدرولیز کننده بخصوص لیپازها، از جمله عوامل تشدید کننده هیدرولیز روغن ها و چربی ها هستند [۳۱].

تأثیر هر یک از روش های استخراج چربی بر میزان تشکیل اسید- های چرب آزاد در نمودار ۲ نشان داده شده است. مقایسه میزان این شاخص در چربی حاصل از روش های مختلف استخراج نشان دهنده بیشترین و کمترین اسید چرب آزاد به ترتیب در روش های رز- گاتیل و اسمدز بود. میزان این شاخص بین روش های فولچ، سوکسله با نمونه مرطوب، سوکسله با حلال ان هگزان و سوکسله با نمونه خشک شده تفاوت معنی داری را نشان نداد. در پژوهشی میزان FFA موجود در چربی استخراج شده از ماهی قزل آلائی رنگین کمان به روش بلای و دایر ۱/۶۲ درصد

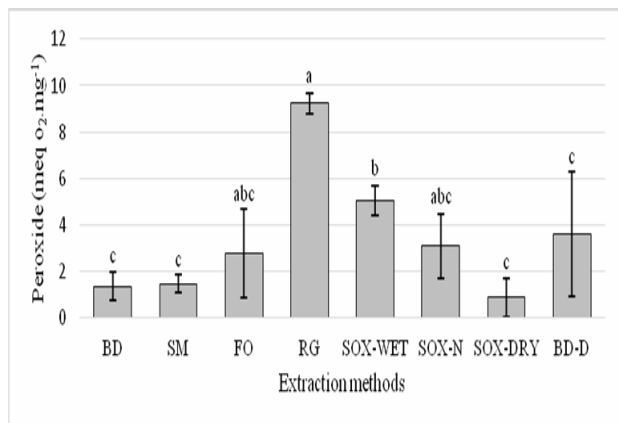


Fig 3 Peroxide (meq O₂ .Kg Fat⁻¹) changes after fat extraction by various methods.

BD (Bligh and Dyer), SM (Modified Bligh and Dyer, Smeds), FO (Folch), RG (Rose Gottible), SOX-WET (Soxhlet used petroleum, wet sample), SOX-N (Soxhlet used n-hexane), SOX-DRY (Soxhlet used petroleum, dry sample), BD-D (Bligh and Dyer used dichloromethane). Columns with different letters were significantly different, ($p < 0.05$)

۳-۴- محصولات ثانویه اکسیداسیون

۳-۴-۱- تیوباربتوریک اسید

با توجه به بی ثباتی و تجزیه پذیری سریع هیدروپراکسیدهای ایجاد شده در مراحل اولیه اکسیداسیون چربی، میزان پایین پراکسید را نمی توان دلیل بر کیفیت بالای چربی دانست بلکه این موضوع می تواند حاکی از تبدیل آنها به محصولات ثانویه فساد چربی باشد [۲۰]. یکی از شاخص های سنجش فساد ثانویه چربی ماهیان، تیوباربتوریک اسید است که به وسیله آن میزان گسترش اکسیداسیون چربی تعیین می گردد. این شاخص به صورت میلی- گرم مالون دی آلدهید در کیلوگرم نمونه یا میکرومول مالون دی آلدهید در گرم نمونه بیان می شود [۳۷].

نتایج حاصل از تأثیر روش های مختلف استخراج چربی بر میزان تیوباربتوریک اسید در نمودار ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد، میزان محصولات ثانویه فساد چربی در روش های مختلف استخراج چربی بالای و دایر، بالای و دایر با استفاده از دی کلرومتان و اسمدز تفاوت معنی داری با یکدیگر و سایر روش های استخراج نداشته است. در صورتی که روش رز- گاتیلل نسبت به برخی از روش ها (فولچ، سوکسله با نمونه خشک شده، سوکسله با نمونه مرطوب و سوکسله با حلال ان هگزان) میزان بیشتری از TBA را نشان داد.

سوکسله با نمونه مرطوب بوده است. در صورتی که تفاوت معنی داری با روش های فولچ و سوکسله با حلال ان- هگزان دیده نشد.

شرایط و نوع فرآیند استخراج می تواند در تغییر عدد پراکسید موثر باشد به صورتیکه با افزایش زمان استخراج، اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در چربی فرصت بیشتری برای جذب اکسیژن داشته و در نتیجه پراکسید بیشتری تولید می کنند [۳۱، ۳۵]. بر پایه نتایج سایر محققین مشخص گردیده که آمونیاک مورد استفاده در روش رز- گاتیلل منجر به تضعیف پیوند بین لیپید و پروتئین شده و قبل از استخراج چربی امولسیون توسط مخلوط اترها ایجاد می کند [۳۶]. در این روش همزمان با افزودن آمونیاک از آب جوش نیز استفاده می شود. به نظر می رسد درجه حرارت استفاده شده و مدت زمان لازم برای خنک شدن محلول موجب افزایش جذب اکسیژن طی این پروسه می شود و در نتیجه شاخص پراکسید افزایش می یابد.

میزان مجاز پراکسید برای مصارف انسانی کمتر از ۵ میلی اکی والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم چربی ماهی است [۲۰]، میزان پراکسید مشاهده شده در روش رز- گاتیلل در محدوده استاندارد نبوده و در نتیجه این روش نمی تواند به عنوان روشی مناسب جهت استخراج چربی انتخاب گردد. در مطالعه ای مشاهده شد که میزان این شاخص در چربی استخراج شده از ماهی سالمون به روش استخراج دمایی در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد بیشتر از حد مجاز بوده است. طبق گزارش این تحقیق، پروتئین های حاوی آهن (میوگلوبین) تحت فرآیندهای دمایی دنا توره شده و آهن موجود در آنها در یک محیط کاتالیزوری آزاد می شود. این آهن دارای پروتئین هایی است که با غشاء لیپیدها واکنش می دهد و منجر به اکسید شدن آنها می شود [۲۰]. هیدروپراکسیدها در برابر حرارت ناپایدار می باشند و به سرعت شکسته و به محصولات ثانویه فساد چربی تبدیل می شوند. کمتر بودن پراکسید در تیمار سوکسله (ماده خشک) در قیاس با برخی دیگر از روش ها به دلیل تبدیل هیدروپراکسید به ترکیبات کربونیل می باشد.

بیان گر گسترش واکنش اکسایش خودبه خودی و افزایش محصولات ثانویه حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدها و ترکیب های کربونیل دار با گذشت زمان می باشد. به منظور بررسی میزان آنیزیدین موجود در نمونه‌ها، از روش مبتنی بر واکنش بین آلدئیدهای غیر اشباع آلفا و بتا و پارا-آنیزیدین استفاده شد. میزان قابل قبول این شاخص برای مصرف انسانی ≥ 20 اعلام گردیده است [۲۰].

تأثیر روش‌های مختلف استخراج چربی بر میزان آنیزیدین در نمودار ۵ نشان داده شده است. بر اساس نتایج بدست آمده میزان این شاخص در روش سوکسله با نمونه مرطوب نسبت به روش‌های بالای و دایر، اسمدز، بالای و دایر با حلال دی کلرومتان، رز-گاتیل، سوکسله با نمونه خشک شده و سوکسله با حلال ان هگزان تفاوت معنی‌داری داشت و نسبت به آنها دارای میزان بیشتری آنیزیدین بود. میزان شاخص آنیزیدین در روش فولج با هیچکدام از روش‌های استخراج چربی اختلاف معنی‌داری نداشت. در مطالعه‌ای میزان این شاخص در روش‌های مختلف استخراج چربی از ماهی سالمون بین $1/03-1/16$ گزارش شد [۲۰] که با میزان آنیزیدین حاصل از چربی استخراج شده در همه روش‌ها (به استثناء روش سوکسله با نمونه مرطوب) در مطالعه حاضر تقریباً برابر بود.

حداکثر میزان مجاز تیوباریتوریک اسید ۲ میلی‌گرم مالون دی آلدئید بر کیلوگرم می‌باشد [۳۸]. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، چربی حاصل از همه روش‌های استخراج در محدوده مجاز تیوباریتوریک اسید قرار داشتند. در مطالعه‌ای میزان تیوباریتوریک اسید حاصل از چربی استخراج شده از ماهی قزل-آلای رنگین‌کمان به روش بالای و دایر $0/2$ گزارش گردید [۳۹] که نسبت به مطالعه حاضر بیشتر بود اما در پژوهشی دیگر $0/09$ اعلام شد [۴۰]. میزان محصولات ثانویه فساد چربی در آن مطالعه تقریباً مشابه با میزان TBA حاصل از روش‌های استخراج چربی مطالعه حاضر بود.

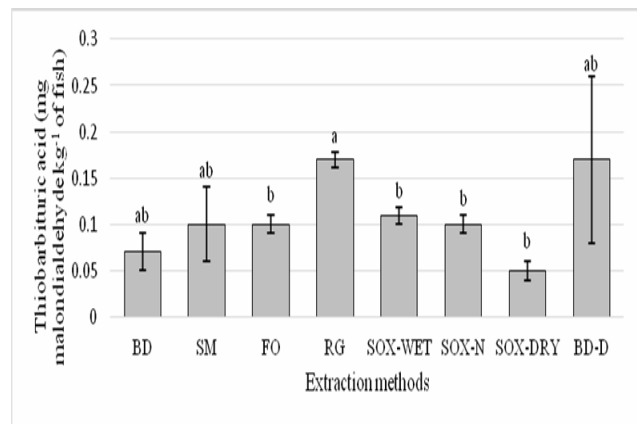


Fig 4 Thiobarbituric acid (mg malondialdehyde kg^{-1} fish) changes after fat extraction by various methods. BD (Bligh and Dyer), SM (Modified Bligh and Dyer, Smeds), FO (Folch), RG (Rose Gottible), SOX-WET (Soxhlet used petroleum, wet sample), SOX-N (Soxhlet used n-hexane), SOX-DRY (Soxhlet used petroleum, dry sample), BD-D (Bligh and Dyer used dichloromethane). Columns with different letters were significantly different, ($p < 0.05$)

۲-۳-۴- پارا-آنیزیدین

پراکسید حاصل از فساد اکسیداتیو بسیار ناپایدار بوده و به ترکیبات کربونیلی و سایر ترکیبات ثانویه تبدیل می‌شود. این ترکیبات موجب تغییرات نامطلوب در گوشت ماهی می‌شوند. بسیاری از مطالعات قبلی گزارش کرده‌اند که شاخص TBA نمی‌تواند به عنوان شاخصی دقیق جهت اندازه‌گیری محصولات ثانویه مورد استفاده قرار گیرد. دلیل این موضوع واکنش مالون دی‌آلدئید با سایر ترکیبات موجود در بافت ماهی است [۴۱]، [۴۲]. بنابراین در مطالعه حاضر علاوه بر شاخص تیوباریتوریک اسید، آنیزیدین نیز مورد بررسی قرار گرفت. اندیس آنیزیدین،

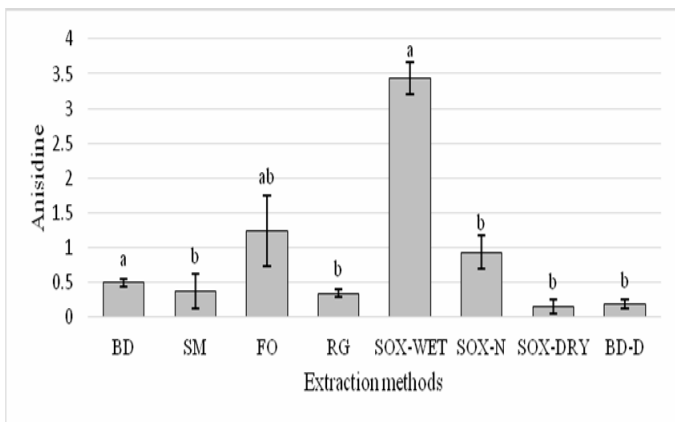


Fig 5 Anisidine changes after fat extraction by various methods:

BD (Bligh and Dyer), SM (Modified Bligh and Dyer, Smeds), FO (Folch), RG (Rose Gottible), SOX-WET (Soxhlet used petroleum, wet sample), SOX-N (Soxhlet used n-hexane), SOX-DRY (Soxhlet used petroleum, dry sample), BD-D (Bligh and Dyer used dichloromethane). Columns with different letters were significantly different, ($p < 0.05$)

۳-۵- مزدوج های تری آن

طی اکسیداسیون اسیدهای چرب چند غیر اشباع موجود در ماهی، باندهای مزدوج دوگانه و پراکسیدها تشکیل می‌شوند. میزان اکسیداسیون و فرآورده‌های حاصل از آنها را می‌توان با استفاده از قابلیت جذب ویژه تری آن‌های مزدوج (طول موج ۲۶۸ نانومتر) در طیف فرابنفش اندازه‌گیری کرد [۴۳، ۴۴].

نتایج حاصل از بررسی مزدوج‌های تری آن در نمودار ۶ آورده شده است. نتایج نشان داد که این شاخص در روش رز-گاتیل نسبت به روش‌های بالای و دایر با حلال دی کلرومتان، سوکسله با نمونه خشک شده، فولچ، بالای و دایر، سوکسله با نمونه مرطوب و اسمدز بیشتر بود اما نسبت به سوکسله با حلال آن هگزان اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین، روش‌های بالای و دایر با حلال دی کلرومتان، سوکسله با نمونه خشک شده، فولچ، بالای و دایر و سوکسله با نمونه مرطوب تفاوت معنی‌داری در میزان مزدوج‌های تری آن نداشتند. در مطالعه‌ای، روغن استخراج شده از فرآورده‌های جانبی ماهی هرینگ^{۱۱} به روش بالای و دایر در دماهای متفاوت (۲۰ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری و مشاهده شد که میزان مزدوج‌های تری آن در روغن نگهداری شده در دمای بالاتر ۴ برابر بیشتر از دمای دیگر بود [۴۵]. به طور کلی شکسته شدن سریعتر هیدروپراکسیدها و تولید محصولات ثانویه بیشتر، می‌تواند دلیل افزایش میزان شاخص مزدوج های تری آن در روش های رز-گاتیل و سوکسله با استفاده از آن هگزان باشد.

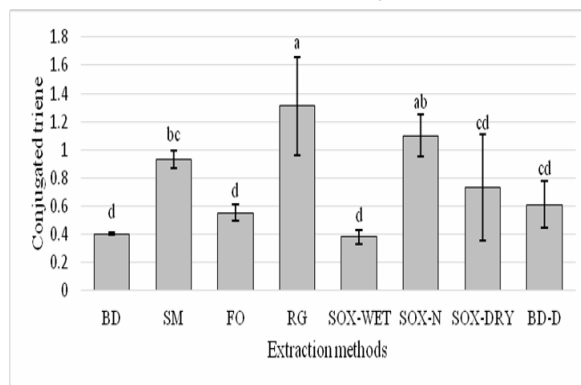


Fig 6 Conjugated triene changes after fat extraction by various methods.

BD (Bligh and Dyer), SM (Modified Bligh and Dyer, Smeds), FO (Folch), RG (Rose Gottible), SOX-WET (Soxhlet used petroleum, wet sample), SOX-N (Soxhlet used n-hexane), SOX-DRY (Soxhlet used petroleum, dry sample), BD-D (Bligh and Dyer used dichloromethane). Columns with different letters were significantly different, ($p < 0.05$)

۳-۶- شاخص قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی:

قهوه ای شدن غیر آنزیمی، در فرآیند حرارتی مواد غذایی و در هنگام ذخیره سازی و انبار مانی انجام می‌گردد [۴۶]. در حضور قندهای احیا کننده و کاتالیست ها، ترکیبات کربونیل با طعم نامطلوب تولید می‌شوند، طی فرآیند های بعدی محصولات حاصل از آن، منجر به تولید ترکیبات جدیدی می‌گردد که برای بررسی آنها از شاخص قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی استفاده می‌شود [۴۷].

تأثیر روش‌های مختلف استخراج چربی بر شاخص قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی در نمودار ۷ نشان داده شده است. میزان این شاخص بین ۰/۱۰ - ۰/۳۲ متغیر بود. با توجه به نتایج، بین روش‌های مختلف استخراج چربی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. به نظر می‌رسد میزان ناچیز قند در ترکیب بدن ماهی [۴۸] و عدم اعمال حرارت شدید، از دلایل اصلی عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف در تحقیق حاضر می‌باشد. در مطالعه‌ای میزان قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی روغن استخراج شده به روش بالای و دایر از ماهی کپور نقره‌ای پخته شده به روش‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و بیشترین میزان آن در نمونه‌هایی که به مدت زیاد در معرض دمای بالا قرار داشتند مشاهده شد [۴۹].

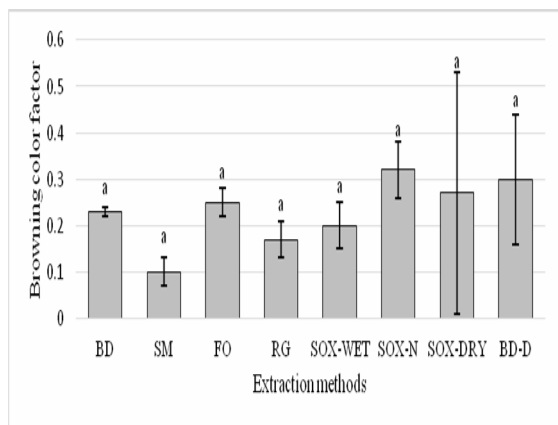


Fig 7 Browning color factor changes after fat extraction by various methods.

BD (Bligh and Dyer), SM (Modified Bligh and Dyer, Smeds), FO (Folch), RG (Rose Gottible), SOX-WET (Soxhlet used petroleum, wet sample), SOX-N (Soxhlet used n-hexane), SOX-DRY (Soxhlet used petroleum, dry sample), BD-D (Bligh and Dyer used dichloromethane). Columns with different letters were significantly different, ($p < 0.05$)

۷-۳- شاخص توتکس

شاخص توتکس (مجموع محصولات فساد چربی) بر اساس مجموع ضرایب محصولات اولیه و ثانویه فساد چربی (دوبرابر پراکسید + آنیزیدین) میزان فساد کل را تعیین می نماید. این ترکیبات از اکسید شدن اسیدهای چرب چند غیر اشباع حاصل می شوند. عواملی مثل دمای بالا، اکسیژن، فلزات و نور موجب تشدید اکسیداسیون شده و در نتیجه شاخص توتکس افزایش می یابد [۲۰]. میزان مجاز این شاخص در روغن ماهی جهت مصرف انسانی توسط سازمان خوار و بار جهانی (FAO) ≤ 26 تعیین شده است [۵۰].

نمودار ۸ میزان شاخص توتکس در چربی حاصل از روش های مختلف استخراج را نشان می دهد. نتایج نشان داد میزان توتکس در روش رز- گاتیبل به شکل معنی داری بیشتر از سایر روش های استخراج چربی بود. این شاخص در روش اسمدز نیز به صورت معنی داری کمتر از سایر روش ها به جز بلای و دایر، سوکسله با حلال ان هگزان و سوکسله با نمونه خشک شده بود.

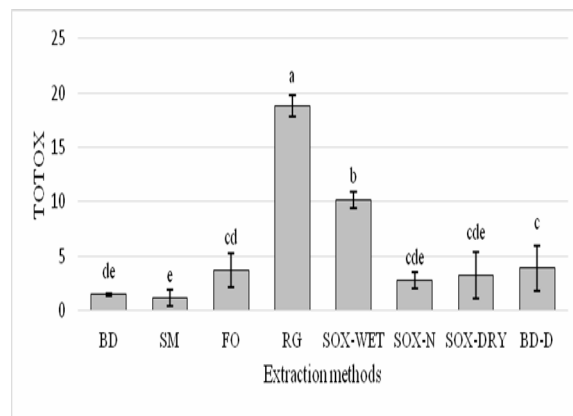


Fig 8 TOTOX changes after fat extraction by various methods.

BD (Bligh and Dyer), SM (Modified Bligh and Dyer, Smeds), FO (Folch), RG (Rose Gottible), SOX-WET (Soxhlet used petroleum, wet sample), SOX-N (Soxhlet used n-hexane), SOX-DRY (Soxhlet used petroleum, dry sample), BD-D (Bligh and Dyer used dichloromethane). Columns with different letters were significantly different, ($p < 0.05$)

در مطالعه حاضر، میزان توتکس بین ۱۸/۸۰-۱/۱۴ متغیر بود که نشان داد چربی حاصل از تمام روش های استخراج از این نظر در محدوده مجاز مصرف قرار داشتند. میزان این شاخص پس از استخراج با روش رز- گاتیبل به حداکثر میزان مجاز نزدیک تر

بود. در مطالعه ای میزان توتکس چربی استخراج شده به روش بلای و دایر از ماهی قزل آلائی رنگین کمان ۱/۳۶ گزارش شد [۴۲] که همسو با نتایج پژوهش حاضر در روش های بلای و دایر (بلای و دایر با حلال دی کلرومتان) و اسمدز بود.

۸-۳- تأثیر روش های مختلف استخراج چربی بر

رنگ چربی

از جمله عوامل مؤثر در تغییر رنگ مواد غذایی، از بین رفتن رنگدانه ها، واکنش قهوه ای شدن مانند واکنش میلارد و اکسیداسیون اسید آسکوربیک است [۵۱]. شاخص رنگ L^* بیانگر روشنایی^{۱۲}، شاخص رنگ a^* نشان دهنده میزان سبزی و قرمزی^{۱۳} و شاخص رنگ b^* میزان آبی و زردی^{۱۴} محصول را نشان می دهد.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد، میزان شاخص L^* در روش سوکسله با نمونه خشک شده نسبت به همه روش ها به جز سوکسله با حلال ان هگزان و اسمدز دارای به شکل معنی داری بیشتر بود (نمودار ۹). این افزایش نشان دهنده روشن تر بودن چربی حاصل از روش های سوکسله با نمونه خشک شده، سوکسله با حلال ان هگزان و اسمدز نسبت به سایر روش ها می باشد.

در مطالعه ای استخراج چربی با روش های مختلف از نوعی قارچ نشان دهنده میزان بالای شاخص L^* در روش اسمدز (سیکلوهگزان-ایزوپروپانول) بود، که دلیل آن میزان کمتر رنگدانه های استخراج شده با استفاده از این دو حلال بیان شد [۹]. همچنین در پژوهشی که بر استخراج چربی از دانه نارنج به روش های مختلف انجام شد، دلیل افزایش معنی دار شاخص L^* در روغن استخراج شده با کمک امواج فراصوت، کوتاه بودن زمان استخراج در این روش نسبت به سایر روش ها گزارش گردید. کوتاه بودن زمان استخراج، موجب خارج نشدن ترکیبات رنگی همچون کلروفیل و کارتینوئید از بافت و عدم انتقال به محصول نهایی می شود [۳۵].

بررسی شاخص a^* (نمودار ۱۰) نشان داد، میزان آن در روش های رز- گاتیبل و اسمدز به طور معنی داری کمتر از روش های بلای

12. Lightness

13. Redness-Greeness

14. Yellowness-Blueness

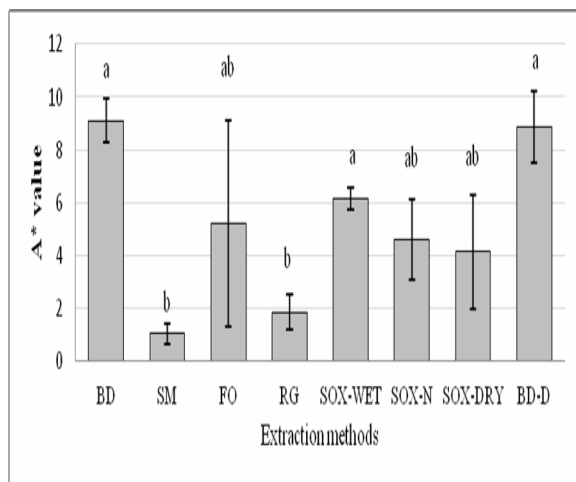


Fig 10 L* value changes after fat extraction by various methods.

BD (Bligh and Dyer), SM (Modified Bligh and Dyer, Smeds), FO (Folch), RG (Rose Gottible), SOX-WET (Soxhlet used petroleum, wet sample), SOX-N (Soxhlet used n-hexane), SOX-DRY (Soxhlet used petroleum, dry sample), BD-D (Bligh and Dyer used dichloromethane). Columns with different letters were significantly different, ($p < 0.05$)

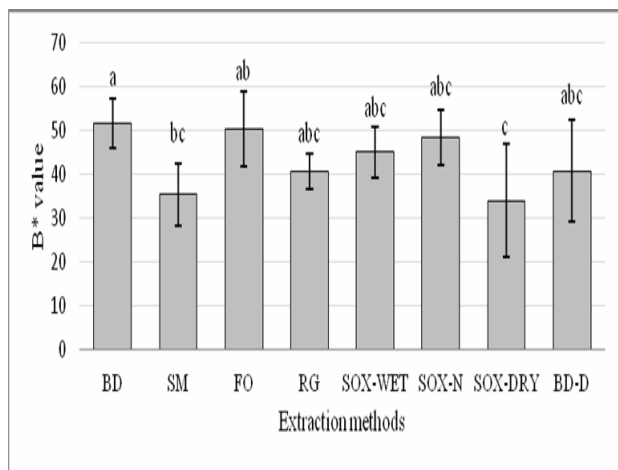


Fig 11 B* value changes after fat extraction by various methods.

BD (Bligh and Dyer), SM (Modified Bligh and Dyer, Smeds), FO (Folch), RG (Rose Gottible), SOX-WET (Soxhlet used petroleum, wet sample), SOX-N (Soxhlet used n-hexane), SOX-DRY (Soxhlet used petroleum, dry sample), BD-D (Bligh and Dyer used dichloromethane). Columns with different letters were significantly different, ($p < 0.05$)

و دایر، سوکسله با نمونه مرطوب و بالای و دایر با حلال دی کلرومتان بود اما با سایر روشها تفاوت معنی داری نداشت. بنابراین طی فرآیند استخراج با روشهای رز-گاتیل و اسمدز نحوه استحصال رنگدانهها موجب سبزی بیشتر رنگ در روغن شده است [۵۲]. میزان شاخص b^* به شکل معنی داری در روش سوکسله با نمونه خشک شده کمتر از روشهای بالای و دایر و فولج بود. تغییرات میزان این شاخص در سایر روشها (اسمدز، رز- گاتیل، فولج، سوکسله با نمونه مرطوب، سوکسله با حلال ان هگزان و بالای و دایر با حلال دی کلرومتان) معنی دار نبود (نمودار ۱۱). در مطالعات قبلی گزارش شده است که تغییر میزان روشنایی و زردی رابطه مستقیمی با میزان رطوبت دارد [۵۳]. احتمالاً کمتر بودن میزان شاخص b^* در روش سوکسله با نمونه خشک شده به دلیل کمتر بودن میزان رطوبت در این روش نسبت به روشهای بالای و دایر و فولج می باشد. در مطالعه ای میزان شاخص L^* ، a^* و b^* حاصل از چربی استخراج شده ماهی قزل آلائی رنگین کمان به روش سوکسله و با استفاده از حلال پترولیم اتر به ترتیب ۵۵/۴۱، ۹/۳۶ و ۱۲/۷۶ گزارش شد [۵۳].

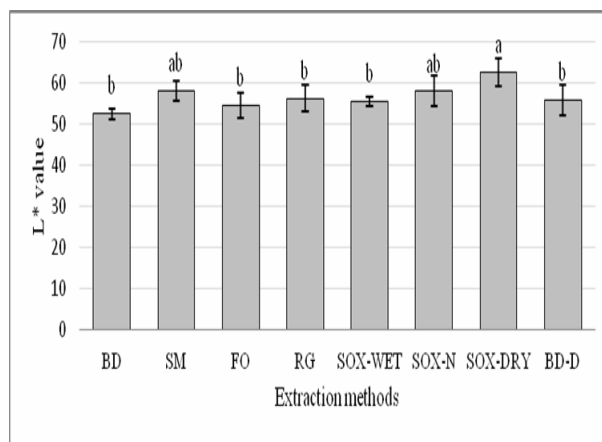


Fig 9 L* value changes after fat extraction by various methods.

BD (Bligh and Dyer), SM (Modified Bligh and Dyer, Smeds), FO (Folch), RG (Rose Gottible), SOX-WET (Soxhlet used petroleum, wet sample), SOX-N (Soxhlet used n-hexane), SOX-DRY (Soxhlet used petroleum, dry sample), BD-D (Bligh and Dyer used dichloromethane). Columns with different letters were significantly different, ($p < 0.05$)

۴- نتیجه گیری

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد، استفاده از روش‌های بلای و دایر، فولج، سوکسله با استفاده از حلال ان-هگزان، سوکسله با استفاده از حلال پترولیم اتر (نمونه خشک) و بلای و دایر با استفاده از حلال دی‌کلرومتان موجب استحصال چربی با راندمان بالا گردید. در این پژوهش، اگرچه روش‌های سوکسله ساده و کارآمد بود اما معیابی مثل آماده سازی نمونه در دمای بالا (خشک کردن) را در بر داشت. با توجه به حجم فلاسک و ابعاد دستگاه سوکسله میزان حلال مورد استفاده متغیر خواهد بود. در سایر روش‌ها میزان حلال مورد استفاده متناسب با ماده اولیه در نظر گرفته می‌شود در این رابطه استفاده کمتر از حلال در روش بلای و دایر نسبت به این روش و روش فولج از نکات قابل توجه می‌باشد. با توجه به سمیت حلال مورد استفاده در روش بلای و دایر (کلروفرم) و عدم تفاوت معنی دار میزان استحصال چربی و میزان محصولات اولیه و ثانویه فساد چربی در این روش با برخی روش‌های دیگر، استفاده از حلال سیکلوهاگزان در روش اسمدز و دی‌کلرومتان در روش بلای و دایر به جای کلروفرم پیشنهاد می‌گردد. همچنین در روش اسمدز چربی استخراج شده در بالاترین فاز قرار گرفته و جداسازی آن ساده‌تر می‌باشد از سوی دیگر نیازی به حلال پرانی ندارد. با توجه به میزان بالای شاخص‌های فساد چربی از جمله اسید چرب آزاد، پراکسید، آیزیدین و توتکس و همچنین میزان براندمان کم چربی در روش رز-گاتیل، این روش جهت استخراج چربی توصیه نمی‌شود. براساس نتایج به دست آمده، استخراج چربی با روش‌های اسمدز و بلای و دایر با استفاده از دی‌کلرومتان ضمن حصول کیفیت مناسب، از سهولت لازم برخوردار می‌باشد. از همین رو استفاده از این روش به صنایع عمل‌آوری کننده و دانشگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی توصیه می‌شود.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند صمیمانه از کمک‌های سرکار خانم مهندس رقیه حیدری و انجمن‌های علمی دانشگاه شیراز در انجام این تحقیق قدردانی نمایند.

۶- منابع

- [1] Naseri, M., Rezaei, M., Moieni, S., Hosseini, H., and Eskandari, S. 2010. Effect of different precooking methods on chemical composition and lipid damage of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) muscle. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(10): 1973-1979.
- [2] Caponio, F., Summo, C., Pasqualone, A., and Gomes, T. 2011. Fatty acid composition and degradation level of the oils used in canned fish as a function of the different types of fish. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24(8): 1117-1122.
- [3] Alavi Yeganeh, M.S., Abedian, A.m., and Rezaei, M. 2007. Effect of gammarus powder as a supplementary diet on growth and survival of rainbow trout larvae (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Pajouhesh and Sazandegi*, 77:113-123.
- [4] Ghorbanzadeh, R., and Nazari, S. 2013. *Fisheries statistical yearbook of Iran 2002-2012*. Tehran, Iran.
- [5] Harlioglu, A.G. 2012. Fatty acid composition, fat soluble, vitamins and cholesterol content of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pakistan Journal of Zoology*, 44(4): 1013-1019.
- [6] Steffens, W. 1997. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. *Aquaculture*, 151(1): 97-119.
- [7] Yildiz, M., Şener, E., and Gün, H. 2006. Effect of refrigerated storage on fillet lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a diet containing different levels of DL α -tocopherol acetate. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30(1): 143-150.
- [8] Manirakiza, P., Covaci, A., and Schepens, P. 2001. Comparative study on total lipid determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh and Dyer, and modified Bligh and Dyer extraction methods. *Journal of food composition and analysis*, 14(1): 93-100.
- [9] Čertík, M., Andráši, P., and Šajbidor, J. 1996. Effect of extraction methods on lipid yield and fatty acid composition of lipid classes containing γ -linolenic acid extracted from fungi. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(3): 357-365.
- [10] Bligh, E.G., and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8): 911-917.

1998. Differences between Bligh and Dyer and Soxhlet extractions of PCBs and lipids from fat and lean fish muscle: Implications for data evaluation. *Marine pollution bulletin*, 36(3): 222-230.
- [24] Gunnlaugsdottir, H., and Ackman, R.G. 1993. Three extraction methods for determination of lipids in fish meal: Evaluation of a hexane/isopropanol method as an alternative to chloroform - based methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61(12): 235-240.
- [25] Norziah, M., Nuraini, J., and Lee, K. 2009. Studies on the extraction and characterization of fish oil from wastes of seafood processing industry, in: *Asian Journal of Food and Agro-Industry: King Mongkut's University of Technology Thonburi (KMUTT)*, 2(4): 959-973.
- [26] Ramalhosa, M.J., Paiga, P., Morais, S., Alves, M.R., Delerue-Matos, C., and Oliveira, M.B.P.P. 2012. Lipid content of frozen fish: Comparison of different extraction methods and variability during freezing storage. *Food Chemistry*, 131(1): 328-336.
- [27] Lino, S.P., Solé, B., Matos, V., Pereira, R., Xavier, J., Santos, R.S., and Colaço, A. 2013. Lipid extractions from marine deep-sea invertebrates: modifications to the Bligh and Dyer method to increase lipid yields. *Arquipélago. Life and Marine Science*, 31: 9-14.
- [28] Cabrini, L., Landi, L., Stefanelli, C., Barzanti, V., and Maria, S.A. 1992. Extraction of lipids and lipophilic antioxidants from fish tissues: A comparison among different methods. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 101(3): 383-386.
- [29] Zolfaghari, M., Shabanpour, B., and Falahzadeh, S. 2011. Study of trend of chemical and microbial changes of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) to determine the its optimal shelf-life during storage in refrigerator temperature (4 °C). *Journal of natural environmental, Iranian journal of natural resources*, 2(64): 107-119.
- [30] Rodríguez, A., Cruz, J.M., Paseiro-Losada, P., and Aubourg, S.P. 2012. Effect of a polyphenol-vacuum packaging on lipid deterioration during an 18-month frozen storage of Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Food and Bioprocess Technology*, 5(6): 2602-2611.
- [31] Movahed, S., and Ghavami, M. 2007. Comparative and identification of fatty acid
- [11] Smedes, F. 1999. Determination of total lipid using non-chlorinated solvents. *Analyst*, 124(11): 1711-1718.
- [12] AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical International*, 18th ed. Arlington, USA: AOAC International.
- [13] Folch, J., Lees, M., and Sloane-Stanley, G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226(1): 497-509.
- [14] Egan, H., Krik, R.S., and Sawyer, R. 1997. *Pearson's Chemical Analysis of Foods*, 9: 609-634.
- [15] Chapman, R., and Mackay, K. 1949. The estimation of peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 26(7): 360-363.
- [16] Kim, R., and Labella, F. 1987. Comparison of analytical methods for monitoring autoxidation profiles of authentic lipids. *Journal of lipid Research*, 28(9): 1110-1117.
- [17] Namulema, A., Muyonga, J.H., and Kaaya, A. N. 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27 °C. *Food Research International*, 32(2): 151-156.
- [18] AOCS. 2000. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*, 5th ed. USA, AOCS Press, Champaign, Illinois.
- [19] Aubourg, S.P. 1998. Lipid changes during long-term storage of canned tuna (*Thunnus alalunga*). *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 206(1): 33-37.
- [20] Deepika, D., Vegneshwaran, V., Julia, P., Sukhinder, K., Sheila, T., Heather, M., and Wade, M. 2015. Investigation on Oil Extraction Methods and its Influence on Omega-3 Content from Cultured Salmon. *Journal of Food Processing and Technology*, 5(12):1-13.
- [21] Afshari-Jouybari, H., and Farahnaky, A. 2011. Evaluation of photoshop software potential for food colorimetry. *Journal of Food Engineerin*, 106(2): 170-175.
- [22] Woyewoda, A., Shaw, S., Ke, P., and Burns, B. 1986. *Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality*, Numeral 1448: Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences. Halifax, Canada, 143p.
- [23] Ewald, G., Bremle, G., and Karlsson, A.

- detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(9): 3617-3621
- [42] Tolouei, H., Mohtadi Nija, J., Shakibi, A., and Jalalian, H. 2013. Effect of chitosan coating farmed trout (*Oncorhynchus mykiss*) that enriched with α -tocopherol on lipid damages during refrigerated Storage. *Journal of basic and applied scientific research*, 3(1): 174-182.
- [43] Osterberg, K., Savage, G.P., and McNeil, D.L. 2001. Oxidative stability of walnuts during long term in shel storage. *Journal of Acta Hort (ISHS)*, 544: 591-597.
- [44] Wanasundara, U.N., Shahidi, F., and Jablonski, C. 1995. Comparison of standard and NMR methodologies for assessment of oxidative stability of canola and soybean oils. *Food Chemistry*, 52(3): 249-253.
- [45] Aidos, I., Lourenclo, S., Padt, A. V. D., Lutén, J. B., and Boom, R. M. 2002. Stability of crude herring oil produced from fresh byproducts: influence of temperature during storage. *Journal of food science*, 67(9): 3314-3320.
- [46] Sahari, M. A. 2002. Browning reactions chemistry, Andishmand, Tehran. 128p.
- [47] Naik, J., Raju, C., and Manjuntha, A. 2014. Studies on the quality of canned fishery products prepared using ice stored mackerel and pink perch. *Indian Journal of Science Research and Technology*, 2: 71-78.
- [48] Razavi-Shirazi, H. 2006. Seafood technology Principles of handling & processing (1), Parsnegar, Tehran. 325p.
- [49] Naseri, M., Rezaei, M., Moieni, S., Hosseini, H., and Eskandari, S. 2010. Effect of different precooking methods on chemical composition and lipid damage of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) muscle. *International journal of food science & technology*, 45(10): 1973-1979.
- [50] FAO. 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture. Fisheries and Aquaculture Department. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome
- [51] Mauron, J. 1981. The Maillard reaction in food; a critical review from the nutritional standpoint. *Progress in Food and Nutrition Science*. 5(1-6): 5.
- [53] Shabanpour, B., and Jamshidi, A. 2013. Quality characteristics of fried rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets coated with different hydrocolloids edible films. *World journal of fish and marine sciences*, 5(4): 398-4-4.
- composition of Iranian and importing grape seed oil. *Pajouhesh and sazandegi*, 75: 8-16.
- [32] Javadian, S. R., Rezaei, M., Soltani, M., Kazemiyani, M., and Pourgholam, R. 2013. Effects of thawing methods on chemical, biochemical, and microbial quality of frozen whole rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 22(2): 168-177.
- [33] Medina, I., Sacchi, R., Biondi, L., Aubourg, S.P., and Paolillo, L. 1998. Effect of packing media on the oxidation of canned tuna lipids. Antioxidant effectiveness of extra virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3): 1150-1157.
- [34] Taheri, S., Motalebi, A., and Fazlara, A. 2012. Antioxidant effect of ascorbic acid on the quality of Cobia (*Rachycentron canadum*) fillets during frozen storage. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11(3): 666-680.
- [35] Gorji, N., Golmakani, M., Mesbahi, G. R., Niakosari, M., Eskandari, M., and Mazidi, S. 2016. Evaluation of physicochemical properties of sour-orange seed oil extracted by different methods. *JFST*, 54(13): 121-133.
- [36] Heather, M., and Jonathan, W. 2007. Medallion Laboratories. Analysis of fats in foods. Retrieved from www.medallionlabs.com/Downloads/analysisoffatsinfoods.pdf.
- [37] Ersoy, B., Aksan, E., and Özeren, A. 2008. The effect of thawing methods on the quality of eels (*Anguilla anguilla*). *Food chemistry*, 111(2): 377-380.
- [38] Al-Kahtani, H.A., Abu, Tarboush, H.M., Bajaber, A.S., Atia, M., Abou-Arab, A.A., and El, Mojaddidi, M.A. 1996. Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in tilapia and Spanish mackerel. *Journal of Food Science*, 61(4): 729-733.
- [39] Tokur, B., Çaklı, Ş., and Polat, A. 2006. The quality changes of Trout (*Oncorhynchus mykiss* W., 1792) with a vegetable topping during frozen storage (-18° C). *Su Ürünleri Dergisi*, 23(3): 345-350.
- [40] Etemadi, H., Rezaei, M., Abedian Kenari, A., and Hosseini, S. F. 2013. Combined effect of vacuum packaging and sodium acetate dip treatment on shelf life extension of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during refrigerated storage. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15(5): 929-939.
- [41] Aubourg, S., and Medina, I. 1997. Quality differences assessment in canned sardine (*Sardina pilchardus*) by fluorescence

The effect of different extraction methods on the oil quality and quantity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Vafa, S.¹, Naseri, M.^{2*}, Maryam Vafaei¹

1. Master of sciences student, Department of natural resources and environmental engineering, faculty of agriculture, Shiraz University
2. Assistant professor, Department of natural resources and environmental engineering, faculty of agriculture, Shiraz University

(Received: 2016/11/02 Accepted:2017/10/28)

The effects of different fat extraction methods include Bligh and Dyer (BD), Smeds (SM), Bligh and Dyer used dichloromethane (BDD), Folch (FO), Roese-Gottible (RG), Soxhlet used petroleum ether (wet and dry samples) (SOX-WET, SOX-DRY) and Soxhlet used n-hexane (SOX-N) on total fat quantity and quality of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were investigated. Chemical properties including total fat, free fatty acid, peroxide value, conjugated diene and triene, tiobarbitoric acid, anisidine value, brown color factor, and color assessment were evaluated. According to the results, the amount of total fat was higher in Bligh and Dyer toward Soxhlet with wet sample, modified Bligh and Dyer and Roese-Gottible methods. The lowest primary lipid oxidation products were found in Bligh and Dyer and Soxhlet used petroleum ether. Comparison of tiobarbitoric acid value, showed higher secondary lipid oxidation products in Roese-Gottible toward Soxhlet and Folch methods. The highest amounts of conjugated triene, free fatty acids and TOTOX were also found in Roese-Gottible method. The results of this study showed that Smeds and Bligh and Dyer used dichloromethane extraction methods had proper fat quality, low cost and short time, as well.

Keywords: Lipid extraction, Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Quality indices.

* Corresponding Author E-Mail Address: