Archive of SID

تغلیظ و خالص‌سازی اسیدهای چرب امگا –۳ با روش کمپلکس اوره

*هدیه علوی‌طلب[۱]، مهدی ارجمند[۲]، عباسعلی مطلبی[۳] و رضا پورغلام[۴]

[۱]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، [۲]گروه شیمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب،

[۳]مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، [۴]پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری

چکیده

روغن ماهی به‌وسیله روش Bligh and Dyer از بافت ماهیچه‌ای فیتوفاگ استخراج گردید، نمونه‌های روغن در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و سپس اسیدهای چرب چند غیراشباعی به‌کمک روش کمپلکس اوره تغلیظ شدند. خالص‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ از روغن فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) با روش کمپلکس اوره به‌ترتیب در دماهای ۵- درجه سانتی‌گراد، ۱+ درجه سانتی‌گراد و ۵+ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در طول فرآیند میزان استخراج امگا-۳ افزایش می‌یابد، در حالی‌که اسیدهای چرب اشباع و تک غیراشباعی به‌دلیل تشکیل کمپلکس با اوره کاهش می‌یابند. بهترین درجه‌حرارت برای دریافت حداکثر درصد وزنی امگا-۳ در ۱+ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد. میزان امگا-۳ استخراج شده در روغن فیتوفاگ قبل از خالص‌سازی ۲۰/۵۸ درصد وزنی از کل روغن استخراج شده بود و پس از خالص‌سازی به کمک روش کمپلکس اوره، این میزان در ۱+ درجه سانتی‌گراد به ۶۷/۸ درصد وزنی افزایش یافت که در مقایسه با درصد وزنی‌های امگا-۳ حاصل شده در دماهای دیگر بالاتر بود. همچنین در ۵+ درجه سانتی‌گراد به ۳۶/۸۲ درصد وزنی و در ۵- درجه سانتی‌گراد به ۲۲/۵۳ درصد وزنی از کل روغن استخراج شده رسیده، بود.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای چرب، امگا-۳، خالص‌سازی، کمپلکس اوره، فیتوفاگ

مقدمه

در سال ۱۹۶۹ دو تن از متخصصان دانمارکی به نام‌های H.O.Bang و John Dyerberg که اولین بار به جهت بررسی عادات غذایی اسکیموها به گرینلند سفر کرده بودند، دریافتند که مردم این جوامع به‌رغم مصرف میزان زیاد چربی و روغن به بیماری‌های عروق قلب مبتلا نمی‌شوند. با توجه به رژیم غذایی اسکیموها که بیشتر از نهنگ، خوک دریایی و ماهی سالمون جهت خوراک خود استفاده می‌نمودند در نهایت پس از ده سال تحقیق در سال ۱۹۷۹ اعلام کردند که دلیل این مسئله، وجود اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳ است که در بدن این آبزیان یافت می‌شود و این تحقیق آغاز پژوهش‌های بی‌شماری شد که همگی به خواص شگرف روغن ماهی و اسیدهای چرب امگا-۳ در تنظیم عملکرد زیر ساختاری و فعالیت‌های اساسی حیات در بدن اذعان داشته و دارند (۶). سه اسید چرب امگا-۳ که روی آنها تحقیقات زیادی انجام شده است عبارتند از: ۱- آلفا لینولنیک اسید (ALA) که بیشتر منبع گیاهی دارد و در گیاهانی مانند گردو، جوانه گندم، سویاو روغن بذر کتان روغن سبزیجات روغن تخم‌بزرگ موجود است (۱۲). ۲- ایکوزا پنتانوئیک اسید (EPA)[۲] ۳-

* مسئول مکاتبه: hedieh_alavi@yahoo.com

1- Eicosa Pentaenoic Acid

www.SID.ir

Archive of SID

دوکوزا هگزانوئیک اسید (DHA)[1] که این دو دسته آخر، دو گروه مهم از اسیدهای چرب امگا-۳ هستند که منحصراً در ماهی به‌خصوص ماهیان آب‌های سرد و ماهی‌های دیگر به‌مقدار زیاد یافت می‌شوند، در صورتی‌که در هیچ ماده غذایی دیگری این گونه نیست (۲). آبزیان و به‌خصوص ماهیان، غنی از اسیدهای چرب غیراشباع زنجیره بلند هستند. همچنین گزارش شده است که میزان چربی در انواع ماهیان از ۱۰-۱ درصد متغیر است که در نسوج و خصوصاً در کبد ماهی ذخیره می‌شود (۳). این اسیدهای چرب امگا-۳ از جمله اسیدهای چرب ضروری می‌باشند که در بدن انسان ساخته نمی‌شوند و تنها از طریق غذا تأمین می‌شوند. بنابراین مصرف امگا-۳ می‌تواند به‌عنوان بهترین منبع تأمین‌کننده اسیدهای چرب غیراشباع در برنامه غذایی انسان مدنظر قرار گیرد تا کمبود این ماده در بدن جبران شود. مصرف سرانه آبزیان در ایران کمتر از ۵ کیلوگرم بوده و عمر متوسط ۶۸ تا ۷۰ سال است و علت اصلی مرگ و میر و بیماری‌های قلبی و عروقی گزارش شده است. در صورتی‌که اگر هر ایرانی فقط در هر هفته ۲۰۰ گرم ماهی مصرف کند، درصد بیماران قلبی- عروقی به‌میزان چشمگیری کاهش می‌یابد (۲ و ۶).

در این راستا یکی از راه‌کارهای ممکن، استخراج و خالص‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ می‌باشد که در صورت تحقق این امر، امگا-۳ استخراج شده در تولید مکمل‌های غذایی و دارویی کاربرد وسیعی خواهد داشت. با دستیابی به تکنیک استخراج و خالص‌سازی امگا-۳ می‌توان از روغن ماهیان مختلف خصوصاً بخش‌هایی که مصرف غذایی ندارند و جزء ضایعات محسوب می‌شوند، در تولید امگا-۳ اقدام نمود. با این عمل ضمن فراهم شدن زمینه‌های مختلف اشتغال، به رونق و شکوفایی اقتصادی و امنیت غذایی مردم نیز کمک خواهد شد، علاوه بر این‌که با تولید آن، از واردات اسیدهای چرب امگا-۳ و خروج ارز از کشور جلوگیری می‌شود. علت استفاده از فیتوفاگ در تحقیق حاضر به‌دلیل آن است که این ماهی با کمترین امکانات و در دورترین مناطق رشد می‌کند و با شرایط محیطی کاملاً سازگار بوده و در تمام طول مدت سال در دسترس است، بنابراین به‌دلیل فراوانی این گونه ماهیان، تولید امگا-۳ از باقی‌مانده‌های آن نیز مقرون به‌صرفه است (۴ و ۵). لازم به ذکر است که علت استفاده از بافت فیتوفاگ جهت استخراج روغن در این تحقیق، به‌دلیل غنی بودن بافت ماهی از نظر EPA و DHA نسبت به کبد آن است (۲).

مواد و روش‌ها

مواد مصرفی: ماهی کپور نقره‌ای، اتانول ۹۵ درصد، اوره خالص، اسید سولفوریک غلیظ، اسید کلریدریک، پتاس، هگزان.

لازم به توضیح است که تمام مواد شیمیایی مورد استفاده، ساخت شرکت MERCK هستند.

مواد غیرمصرفی: دستگاه گاز کروماتوگرافی با ستون Capillary، مارک Shimadzu، مدل A- ۱۴، ساخت کشور ژاپن.

دستگاه تقطیر در خلاء، مارک Heidolph، مدل ۴۰۰۱- Laborota، ساخت کشور آلمان.

سیستم رفلاکس و انکوباتور یخچال‌دار، Cooled Incubator، ساخت شرکت تارا طب ایران.

روش‌ها: برای استخراج چربی از بافت حیوانی روش‌های متفاوتی وجود دارد. یک روش مؤثر و آسان استفاده از روش Bligh و Dyer (۱۹۵۹) است که اصلاح شده روش کلاسیک Folch و همکاران (۱۹۵۷) است (۸ و ۹). از سه ناحیه سری، شکمی و دمی مقدار ۶۰ گرم از گوشت هر ماهی نمونه‌برداری و به‌وسیله چرخ گوشت کاملاً خرد شد و طبق روش مذکور استخراج انجام گرفت. قبل از استخراج و خالص‌سازی روغن ماهی کپور نقره‌ای، ترکیبات

1- Docosa Hexaenoic Acid

www.SID.ir

Archive of SID

مغذی بافت این ماهی نیز از نظر مقادیر پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایشات بر اساس روش AOAC (۱۹۹۹) انجام گرفت (۷).

جهت آنالیز روغن ماهی برای تزریق به دستگاه گاز کروماتوگرافی طبق روش استاندارد ملی ایران، به‌وسیله متانول- اسیدسولفوریک غلیظ، متیل استر تهیه شد (۱). سپس حلال بازیابی و طبق برنامه به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق شد (۱۳). نمونه‌های تهیه شده در یخچال نگهداری و به‌تدریج برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها یک ساعت قبل از شروع کار از یخچال خارج و به‌طور جداگانه بر اساس روش زیر مورد آزمایش قرار گرفت.

حدود ۴۰ گرم از هر یک از نمونه‌ها به بالن رفلاکس مناسب منتقل و به آن ۵۶ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درجه و ۳۴ میلی‌لیتر محلول پتاس ۳۰ درصد اضافه و به‌مدت ۲ ساعت رفلاکس گردید. این مخلوط صابونی شده با ۵۰ میلی‌لیتر آب رقیق گردید و سپس مواد غیرقابل صابونی با استفاده از ۵۰ میلی‌لیتر حلال هگزان طی ۳ مرحله از محیط خارج گردید. به حاصل مواد صابونی شده ۱۰۰ میلی‌لیتر آب و ۱۳/۸ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ اضافه شد. پس از مدتی فازها از هم جدا می‌شوند. سپس با افزودن ۳۷۰ میلی‌لیتر اتانول و ۱۰۰ گرم اوره به‌مدت ۲۰ دقیقه رفلاکس می‌گردد (۱۱ و ۱۲). حاصل به‌مدت ۲۴ ساعت در حرارت اتاق و ۲۴ ساعت در حرارت ۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا دو فاز کاملاً از یکدیگر متمایز گردند. قسمت کریستال شامل UCF[1] به‌صورت قسمتی از اسیدهای چرب ترکیب شده با اوره و لایه بالایی NUCF[2] اسیدهای چرب ترکیب نشده با اوره می‌باشد که پس از جداسازی به لایه NUCF مقدار ۷۲۰ میلی‌لیتر آب و ۸/۸ میلی‌لیتر اسید کلریدریک اضافه و مخلوط گردید. پس از جداسازی فازها از هم به لایه بالایی، ۱۹ میلی‌لیتر اتانول و ۰/۳ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه و به‌مدت ۲ ساعت رفلاکس شد. سپس ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به‌مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت ۳۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. مراحل فوق در درجه حرارت‌های ۵ و ۵- درجه سانتی‌گراد تکرار شد (۱۲ و ۱۴). برای شناسایی اسیدهای چرب متشکله، مقداری از هر یک از آنها را با استفاده از اتانول و اسید سولفوریک به اتیل‌استر تبدیل کرده و با استفاده از دستگاه گازکروماتوگراف، مقدار اسیدهای چرب موجود تعیین می‌شوند. خالص‌سازی نمونه در ۱ درجه سانتی‌گراد بیشترین بازدهی را داشته است. دستگاه گاز کروماتوگرافی از نوع Shimadzu GC-14A ساخت کشور ژاپن و با شناساگر شعله‌ای (FID) و ستون mm Capillary ۵۰×۰/۲۵ متر تحت شرایط برنامه حرارتی زیر به‌کار گرفته شد.

درجه حرارت اولیه: ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد درجه حرارت نهایی: ۱۹۵ درجه سانتی‌گراد، سرعت جریان: ۵۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، درجه حرارت تزریق: ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل: هلیم (۱۳).

سپس نتایج به‌دست آمده با استفاده از روش آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج

آنالیز بافت کپور نقره‌ای با استفاده از روش ۱۹۹۴، AOAC (I &II) انجام شد که نتایج آن در جدول ۱ به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد (۷).

سپس ترکیبات اسیدهای چرب روغن استخراج شده و خالص شده از بافت ماهی کپور نقره‌ای توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی و بر اساس روش AOCS (۲۰۰۵) مشخص و تعیین شد (۱۳).

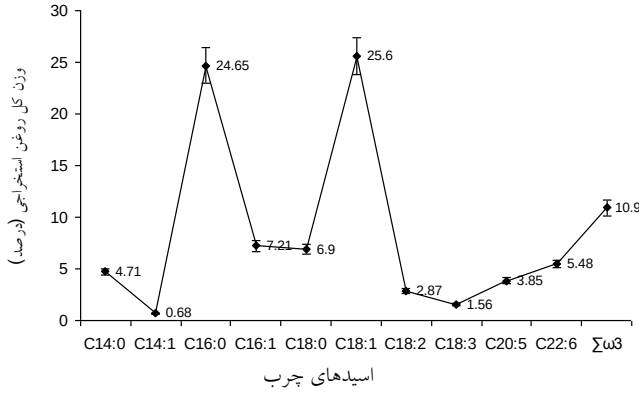
1- Urea Complex Fatty Acid
2- Non Urea Complex Fatty Acid

www.SID.ir

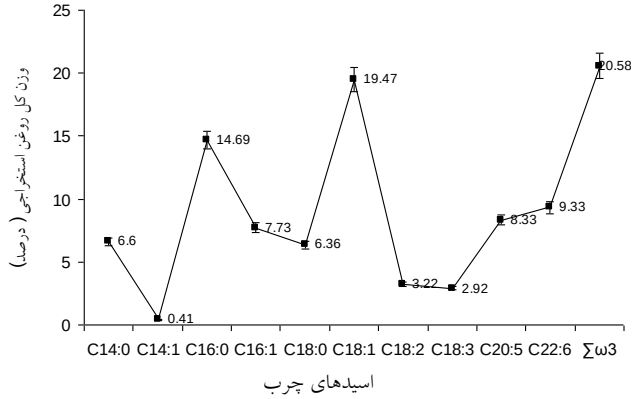
Archive of SID

جدول ۱- آنالیز بافت ماهی کپور نقره‌ای (وزنی- درصد)

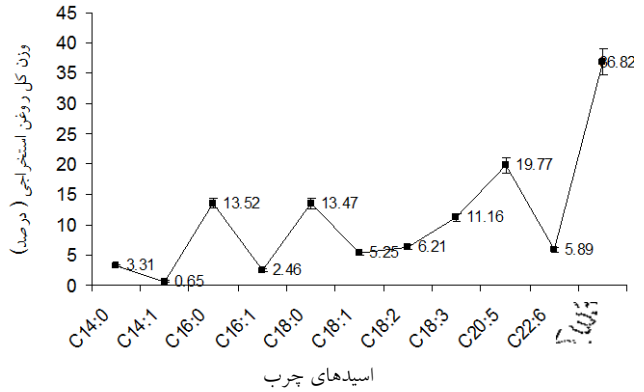
نمونه‌های بافت کپور نقره‌ای	چربی (درصد)	خاکستر (درصد)	پروتئین (درصد)	آب (درصد)
تکرار اول	۵/۴۴	۱/۰۱	۱۷/۹۹	۷۳/۲۷
تکرار دوم	۵/۹۲	۱/۰۲	۱۸/۱۲	۷۲/۸۲
میانگین	۵/۶۸± ۲/۷۲	۱/۰۱۵± ۰/۰۶	۱۸/۰۵۵±۰/۱۴	۷۳/۰۴۵±۲/۵



شکل ۱- پروفایل اسیدهای چرب استخراج شده از روغن کپور نقره‌ای در اولین استخراج قبل از خالص‌سازی برحسب درصد وزنی ($C_{18:3}$, $C_{20:5}$, $C_{22:6}$) ∑ :ω_3∑



شکل ۲- پروفایل اسیدهای چرب استخراج شده از روغن کپور نقره‌ای در دومین استخراج قبل از خالص‌سازی برحسب درصد وزنی ($C_{18:3}$, $C_{20:5}$, $C_{22:6}$)∑ :ω_3∑



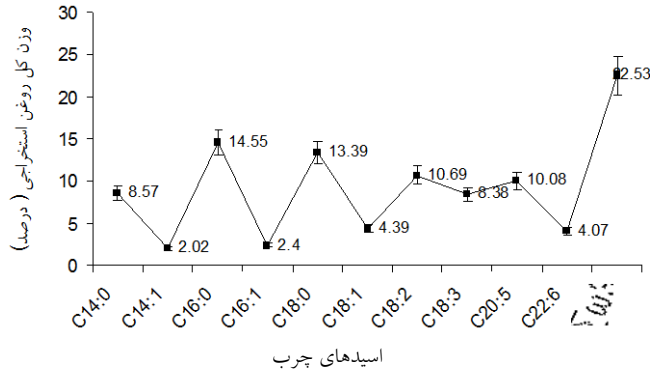
شکل۳ - پروفایل اسیدهای چرب استخراج شده و خالص‌سازی شده به‌روش کمپلکس اوره در دمای ۵+ درجه سانتی‌گراد ($C_{18:3}$, $C_{20:5}$, $C_{22:6}$)∑ :ω_3∑

www.SID.ir

Archive of SID

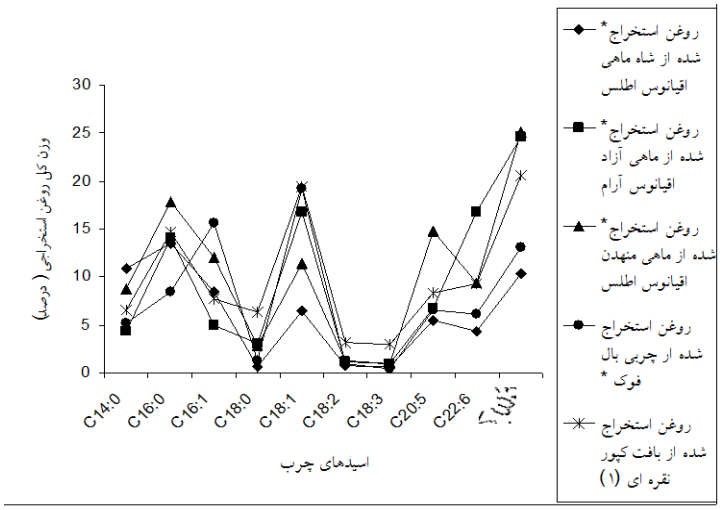
شکل ۴- پروفایل اسیدهای چرب استخراج شده و خالص‌سازی شده به‌روش کمپلکس اوره

در دمای ۱+ درجه سانتی‌گراد ($\sum\omega_3$: $\sum(C_{18:3}$, $C_{20:5}$, $C_{22:6}$)



شکل ۵- پروفایل اسیدهای چرب استخراج شده و خالص‌سازی شده به‌روش کمپلکس اوره

در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد ($\sum\omega_3$: $\sum$ ($C_{18:3}$, $C_{20:5}$, $C_{22:6}$)



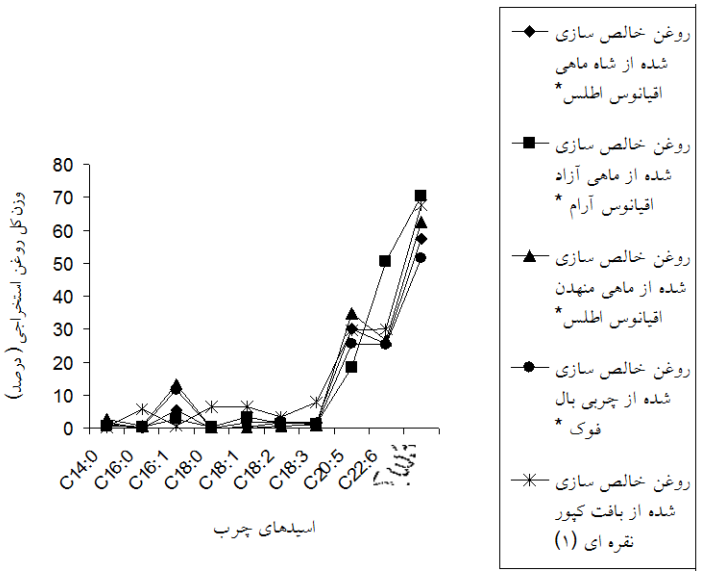
شکل ۶- مقایسه درصد وزنی اسیدهای چرب روغن استخراج شده از کپور نقره‌ای با انواع ماهیان دیگر

*: نتایج به‌دست آمده از تحقیق **Ratnayake** و همکاران (۲۰۰۶) (۱۲)

(۱): نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر ($\sum\omega_3$: $\sum$ ($C_{18:3}$, $C_{20:5}$, $C_{22:6}$)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۷- مقایسه درصد وزنی اسیدهای چرب روغن خالص‌سازی شده کپور نقره‌ای با انواع ماهیان دیگر

***: نتایج به‌دست آمده از تحقیق Ratnayake و همکاران (۲۰۰۶) (۱۲)**

(۱): نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر ($C_{18:3}$, $C_{20:5}$, $C_{22:6}$) ∑ :$\sum\omega_3$

بحث و نتیجه‌گیری

عدم به‌کار گیری از حلال‌های آلی و ارزان بودن مواد مصرفی از دلایل عمده انتخاب روش کمپلکس اوره می‌باشد. در این روش اوره با تشکیل کمپلکس با اسیدهای چرب زنجیره کوتاه، اشباع شده و اسیدهای چرب زنجیره بلند را به‌صورت کریستال در آورده و امکان جداسازی آنها را فراهم می‌کند. درجه حرارت بهینه برای بازیافت EPA و DHA در ۱+ درجه سانتی‌گراد می‌باشد که نتایج آن در شکل ۴ به وضوح مشخص است. در این درجه حرارت بازیافت EPA و DHA بالا است و به بیشتر از ۵۹/۷۸ درصد می‌رسد. درجه حرارت کریستالیزاسیون اثر مهمی بر روی نتایج حاصل از آزمایش در کمپلکس اوره دارد (۱۰). بنابراین درجه حرارت باید به دقت کنترل شود تا استخراج، تغلیظ و خالص‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ نتایج مطلوب‌تری را به همراه داشته باشد. روش کمپلکس اوره در سه درجه حرارت متفاوت انجام گرفت. در هر یک از این دماها، در مقادیر اسیدهای چرب تغییراتی به‌وجود آمد که در شکل‌های ۳، ۴ و ۵ کاملاً واضح و مشخص است. به‌طور مثال، مقدار $C_{16:0}$ و $C_{18:1}$ که در شکل ۲، به‌ترتیب ۱۴/۶۹ و ۱۹/۴۷ درصد بود در شکل ۳ پس از اعمال روش کمپلکس اوره به‌ترتیب به مقادیر ۱۳/۵۲ و ۵/۲۵ درصد رسیده است. برعکس مقدار $C_{18:3}$، $C_{20:5}$ و $\sum\omega_3$ که در شکل ۲ به‌ترتیب، ۲/۹۲، ۸/۳۳ و ۲۰/۵۸ درصد بود در شکل ۳ پس از اعمال روش کمپلکس اوره افزایش یافته و به‌ترتیب برابر ۱۱/۱۶، ۱۹/۷۷ و ۳۶/۸۲ درصد رسیده است. این موضوع نشان می‌دهد که حذف اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع زنجیره کوتاه به کمک اوره انجام گرفته است و به این ترتیب اسیدهای چرب زنجیره بلند از اسیدهای چرب زنجیره کوتاه جدا می‌شوند. با توجه به شکل ۴، میزان اسیدهای چرب خالص‌سازی شده به روش کمپلکس اوره در دمای ۱+ درجه سانتی‌گراد بالاترین مقدار را دارد. به‌طور مثال میزان $C_{20:5}$، $C_{22:6}$ و $\sum\omega_3$ در شکل ۳ تحت شرایط دمایی ۵+ درجه سانتی‌گراد، به‌ترتیب برابر ۱۹/۷۷، ۵/۸۹ و ۳۶/۸۲ درصد بود. در حالی‌که در شکل ۴ تحت شرایط دمایی ۱+ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب به ۲۹/۸۵، ۲۹/۹۳ و ۶۷/۸۰ درصد رسیده است. بنابراین مقدار بهینه

www.SID.ir

Archive of SID

$\sum\omega_3$ در دمای ۱+ درجه سانتی‌گراد حاصل شده است. همچنین اسیدهای چرب زنجیره کوتاه در این دما به حداقل میزان خود رسیده‌اند و با اوره تشکیل کمپلکس داده‌اند. شکل ۵ میزان اسیدهای چرب خالص‌سازی شده به‌روش کمپلکس اوره را در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد که در آن میزان $\sum\omega_3$ نسبت به $\sum\omega_3$ خالص‌سازی شده در ۱+ درجه سانتی‌گراد کمتر است که این امر دلیل بر بهینه بودن درجه حرارت ۱+ درجه سانتی‌گراد جهت خالص‌سازی به روش کمپلکس اوره می‌باشد. همان‌طور که شکل ۶ و ۷ نشان می‌دهد $\sum\omega_3$ روغن کپور نقره‌ای بسیار نزدیک به $\sum\omega_3$ روغن ماهی آزاد است که این امر نشان می‌دهد که کپور نقره‌ای دارای پتانسیل خوبی برای تولید امگا-۳ است و با این‌که یک ماهی پرورشی است اما $\sum\omega_3$ آن در حد ماهیان دریایی و اقیانوسی است. $\sum\omega_3$ روغن خالص‌سازی شده کپور نقره‌ای برابر ۶۷/۸ درصد می‌باشد در حالی‌که $\sum\omega_3$ روغن خالص‌سازی شده شاه ماهی، ماهی آزاد، ماهی منهدن و فوک به‌ترتیب برابر با ۵۷/۴، ۷۰/۴، ۶۲/۵ و ۵۱/۷ درصد می‌باشد. قیمت پایین کپور نقره‌ای در مقایسه با سایر ماهیان اقیانوس، در دسترس بودن این ماهی در تمام فصول سال، سطح بالای اسیدهای چرب امگا-۳ این ماهی در مقایسه با سایر ماهیان نشان می‌دهد که ماهی کپور نقره‌ای از پتانسیل خوبی برای تولید اسیدهای چرب امگا-۳ بهره‌مند است. از مباحث بالا می‌توان نتیجه گرفت که استخراج و خالص‌سازی روغن فیتوفاگ به روش کمپلکس اوره موفقیت‌آمیز بوده است. لذا پیشنهاد می‌گردد که استخراج و تغلیظ امگا -۳ از روغن ماهی فیتوفاگ در حد نیمه صنعتی نیز بررسی شود.

تشکر و قدردانی

از همکاری‌های مؤسسه تحقیقات شیلات ایران و پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ساری و کلیه عزیزانی که با همکاری‌های صمیمانه خود امکان انجام این پژوهش را فراهم نمودند تشکر و قدر دانی می‌نماییم.

منابع

۱- استاندارد ملی ایران، دی‌ماه، ۱۳۷۳. شماره ۱۷۷۱، روش تعیین ترکیب اسیدهای چرب به‌روش گاز کروماتوگرافی، چاپ دوم. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. صفحات ۱ تا ۱۸.

۲-رحیمی، م.، ۱۳۸۲. استخراج و پالایش روغن ماهی از ضایعات کارخانجات کنسرو ماهی، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران. صفحات ۵ تا ۷؛ ۱۰ تا ۱۱.

۳-روابط عمومی شیلات ایران، ۱۳۸۲. خلاصه مقالات همایش علمی نقش آبزیان در سلامت، صفحات ۱ تا ۵.

۴-روابط عمومی شیلات ایران، سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۸۴-۱۳۷۵. دفتر طرح و توسعه. صفحات ۱ تا ۶۳ و www.shilat.com و www.fao.org

۵- علیزاده، م.، نفیسی، م.، پاییز، ۱۳۸۰. پرورش کپور ماهیان در استخرهای ذخیره آب کشاورزی. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان اداره کل آموزش و ترویج، صفحات ۲ تا ۹.

۶- میرقلنج، ع.، ۱۳۸۲. مقایسه منابع مختلف اسیدهای چرب امگا-۳ جهت غنی‌سازی تخم‌مرغ. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه تربیت مدرس دانشکده کشاورزی. صفحات ۳۷ تا ۳۹.

7.Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1994. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, (I & II), Association of Analytical Chemists, Arlington. 1289p.

8.Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification .Can. J. Biochem. Physiol. 37(8), 911-917.

www.SID.ir

Archive of SID

9.Folch, J., Lees, M. and Stanley, G.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol Chem. 226, 497-509.
10.Lopez, J.C. Campara, P. and Guerrero, J.L., 2004. γ-Linolenic acid enrichment from Borago Officinalis and Echium fastuosum seed oils and fatty acids by low temperature crystallization. J. Biosci. Bioeng. 97(5), 294-298.
11.Monroy, R.J., Toro,V.F.J. Garcia, H.S. and Angulo, O., 2003 .Concentration of EPA and DHA from fish oil by hydrolysis and urea complexation . Food Research International 36, 721-727.
12.Ratnayake, W.M.N., Olsson, B., Matthews, D. and Ackman, R.G., 2006. Preparation of omega-3 PUFA concentrates from fish oil via urea complexation. European Journal of Lipid Science and Technology 90(10), 381-386.
13.The American Oil Chemists' Society (AOCS). 2005. Fatty acid composition by GLC. Official method ce 1b-89 (Marine Oils).1-5.
14.Wanasundara, U.N. and Shahidi, F., 1999. Concentration of omega-3 polyunsaturated fatty acids of seal blubber oil by urea complexation: Optimization of reaction conditions. Food Chemistry 65, 41-49.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Fisheries
Vol. 4, No. 2, Summer 2010

Concentration and purification of Omega-3 fatty acids by urea complex formation

H. Alavi Talab[1], M. Ardjmand[2], A.Motallebi[3] and R. Pourgholam[4]
[1]Islamic Azad University, Tehran Medical Branch, [2]Islamic Azad University, Tehran South Branch,
[3]Iran Fisheries Research Organization, Tehran, [4]Caspian Sea Ecology Research Center, Sari

Abstract

Fish oil was extracted by Bligh and Dyer method from the muscle tissue and after concentrating PUFAs, the oil samples were stored at -70 ºC. Concentration and purification of omega-3 fatty acids from *Hypophthalmichthys molitrix* oil by urea complex formation were made at -5, +1 and +5 ºC respectively. The observed results show that the rate of omega-3 extraction increased while saturated and long chain monosaturated fatty acids decreased during this process. The optimum temperature for maximum recovery of omega-3 is about 1 ºC. The amount of extracted omega-3 in *H.molitrix* oil was 20.58% wt of total extracted oil and by subsequent purification increased to 67.8% wt at 1 ºC, 36.82% wt at +5 ºC and 22.53% wt at -5ºC of total extracted oil.

Keywords: Fatty acids; Omega-3; Purification; Urea complexation

* Corresponding Author; E-mail: hedieh_alavi@yahoo.com

www.SID.ir