

تغلیظ و خالص سازی اسیدهای چرب امگا-۳ ماهی مرکب سپیداج (*Sepia pharaonis*) صید شده از مناطق مختلف سواحل دریای مکران و خلیج فارس با روش کمپلکس اوره

آیدا دیداران^۱، مهناز سادات صادقی^{۱*}، پریسا نجات خواه معنوی^۱، محمد ربانی^۲

^۱گروه زیست شناسی دریا، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
^۲گروه شیمی دریا، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۶

چکیده

مطالعه حاضر به تغلیظ و خالص سازی اسیدهای چرب امگا-۳ ماهی مرکب سپیداج (*Sepia pharaonis*) صید شده از مناطق گواتر، چابهار، جزیره هرمز، بندرعباس، بوشهر و هندیجان واقع در جنوب ایران با روش کمپلکس اوره در دماهای کریستالیزاسیون ۵+، ۱+ و ۵- درجه سانتی گراد پرداخت. نتایج تغلیظ و خالص سازی اسیدهای چرب امگا-۳ از روغن استخراج شده از نمونه های ایستگاه های مختلف در دمای ۵+ درجه سانتی گراد نشان داد که روغن تغلیظ شده از نمونه چابهار با اختلاف معنی داری دارای بالاترین محتوای PUFA (۴۹/۱٪)، در حالی که نمونه تغلیظ شده بوشهر حاوی بالاترین محتوای MUFA (۱۲/۶٪) و SFA (۱۸/۳۵٪) بود ($P < 0/05$). تغلیظ در دمای ۱+ درجه سانتی گراد نمونه روغن های استخراج شده نشان داد که نمونه های ایستگاه های چابهار (۶۰/۵٪)، بوشهر (۵۸/۸۵٪)، بندرعباس (۸۵٪)، بندر گواتر (۵۶/۶۷٪)، جزیره هرمز (۵۵/۵٪) و هندیجان (۵۳/۶۵٪) به ترتیب بیشترین و کمترین محتوای PUFA را دارا هستند ($P < 0/05$). محتوای MUFA، PUFA و SFA نمونه روغن های تغلیظ شده در دمای کریستالیزاسیون ۵- درجه سانتی گراد به طور معنی داری نسبت به سایر دماهای مورد بررسی برای تخلیص تغییر کرده است به صورتی که محتوای PUFA افزایش و MUFA و SFA کاهش پیدا کرده اند ($P < 0/05$). در این دما نمونه روغن تغلیظ شده از ایستگاه چابهار با مقدار (۷۱/۳٪) بالاترین و هندیجان (۶۴/۲٪) کمترین محتوای PUFA را داشته اند و نمونه های صید شده از ایستگاه بوشهر، بندرعباس، گواتر و جزیره هرمز به ترتیب از زیاد به کم در بین آنها قرار دارند ($P < 0/05$). همچنین روغن تغلیظ شده از نمونه ایستگاه چابهار کمترین مقدار MUFA (۵٪) و SFA (۸/۳۵٪) را داشت ($P < 0/05$). این مطالعه نشان می دهد روش کمپلکس اوره به ویژه در دمای ۵- درجه سانتی گراد می تواند برای تغلیظ اسیدهای چرب امگا-۳ از ماهی مرکب سپیداج مؤثر باشد.

کلید واژگان: ماهی مرکب سپیداج، روش کمپلکس اوره، دماهای کریستالیزاسیون، خلیج فارس

مقدمه

ماهی مرکب سپیداج (*Sepia pharaonis*)، گونه‌ای ارزشمند در آب‌های جنوبی ایران، به‌ویژه خلیج فارس و دریای عمان، به‌عنوان منبعی غنی از پروتئین با کیفیت بالا و اسیدهای چرب امگا-۳ شناخته می‌شود (Kavipriya and Ravitchandirane, 2021). صید این گونه در مناطق مختلف جنوب ایران، از جمله بوشهر، بندرعباس، جزیره هرمز، بندر چابهار، بندر گواتر و بندر هندیجان (اسکله بحرکان)، به‌دلیل شرایط محیطی مساعد و تنوع زیستی بالا، رواج دارد (Rahbar et al., 2018). اهمیت تغذیه‌ای ماهی مرکب سپیداج، به‌خصوص غنای آن در اسیدهای چرب امگا-۳ مانند EPA و DHA، که اثرات ضدالتهابی و محافظت‌کننده از قلب و عروق دارند، بر کسی پوشیده نیست (Kavipriya and Ravitchandirane, 2021). مصرف منظم این اسیدهای چرب با کاهش خطر بیماری‌های مزمن مانند بیماری‌های قلبی، دیابت نوع ۲ و برخی سرطان‌ها، بهبود عملکرد مغز، تقویت سیستم ایمنی و کاهش علائم افسردگی مرتبط است. از میان اسیدهای چرب امگا-۳، اسید آلفا-لینولنیک (ALA)، ایکوزاپنتانویک اسید (EPA)، و دوکوزاهگزانویک اسید (DHA) برای بدن انسان اهمیت ویژه‌ای دارند (Linder et al., 2010; Falch, 2023).

با توجه به فواید اسیدهای چرب امگا-۳ و کمبود منابع غنی و خالص شده آن، استخراج و خالص‌سازی این ترکیبات از منابع دریایی، از جمله ماهی مرکب سپیداج، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. روش‌های متعددی برای استخراج اسیدهای چرب امگا-۳ وجود دارد، از روش‌های سنتی مانند استخراج با حلال (از جمله روش سوکسله و روش فولج)، تا روش‌های پیشرفته‌تر همچون استخراج با فشار بالا، استخراج با سیال فوق بحرانی، استخراج با کمک امواج فراصوت، و استخراج با میدان الکتریکی پالسی (Linder et al., 2010; Bonilla-Mendez and Hoyos-Concha, 2018; Eskandari et al., 2024). روش کمپلکس‌آور نیز به‌عنوان یک تکنیک نوین و کارآمد در این زمینه مطرح است که با تشکیل کمپلکس بین اسیدهای چرب اشباع شده و آور، جداسازی و خالص‌سازی این ترکیبات را تسهیل می‌کند (Eskandari et al., 2024).

در این مطالعه، نمونه‌های ماهی مرکب سپیداج از مناطق مختلفی از جمله بوشهر، بندرعباس، جزیره هرمز، بندر

چابهار، بندر گواتر و بندر هندیجان (اسکله بحرکان) صید شده و برای تغلیظ و خالص‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ از نمونه‌های صید شده تکنیک کمپلکس‌آور استفاده شده تا نهایتاً بازده اسیدهای چرب امگا-۳ در ایستگاه‌های مختلف مقایسه گردند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: نمونه‌های ماهی مرکب سپیداج (*S. pharaonis*) از مناطق تخلیه صید بوشهر، بندرعباس، جزیره هرمز، بندر چابهار، بندر گواتر و بندر هندیجان (اسکله بحرکان) صید شدند (جدول ۱، شکل ۱). سپس، صدف‌های داخلی از بافت بدن جدا شده و به یخدان منتقل گردیدند. در ادامه نمونه‌ها به مرکز تحقیقات علوم دارویی-دریایی دانشگاه پزشکی جندی شاپور (شهید چمران سابق) اهواز و آزمایشگاه زیست دریا دانشگاه علوم و تحقیقات تهران منتقل شدند تا آزمایش‌های لازم روی آنها صورت گیرد.

استخراج اسیدهای چرب: برای استخراج اسیدهای چرب امگا-۳ و دیگر ترکیبات از بافت حیوانی، مقدار ۶۰ گرم از عضله دور تا دور cuttlebone و سرتاسر بازوهای *S. pharaonis* نمونه‌برداری شد. این نمونه‌ها به‌وسیله چرخ‌گوشت کاملاً خرد شده و طبق روش Bligh و Dyer (۱۹۵۹) استخراج صورت گرفت. حدوداً ۴۰ گرم از هر یک از نمونه‌ها به بالن رفلکس مناسب منتقل شد و به آن، ۵۶ میلی‌لیتر اتانول با غلظت ۹۵ درصد و همچنین ۳۴ میلی‌لیتر محلول پتاسیم با غلظت ۳۰ درصد اضافه گردید. این مخلوط به مدت دو ساعت رفلکس گردید؛ سپس این مخلوط صابونی‌شده با اضافه کردن ۵۰ میلی‌لیتر آب رقیق گردید و پس از آن مواد غیرقابل صابونی با استفاده از ۵۰ میلی‌لیتر حلال هگزان طی سه مرحله از محیط خارج گردید. به حاصل مواد صابونی‌شده، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب و ۱۳/۸ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ اضافه شد. پس از مدت زمانی، فازها از هم جدا شدند؛ سپس با افزودن ۳۷۰ میلی‌لیتر اتانول و ۱۰۰ گرم آور به مدت ۲۰ دقیقه رفلکس گردید (Bligh and Dyer, 1959; Shahidi and Wanasundara, 1998; Liu et al., 2006). در ادامه به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و همچنین به مدت مشابه در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا دو فاز کاملاً از یکدیگر متمایز شوند. برای مقایسه بهترین نتیجه در دماهای مختلف با پژوهش‌های دیگر، نمونه

جدول ۱- طول و عرض جغرافیایی تمام ایستگاههای صید ماهی مرکب سپیداج

ایستگاه صیادی	طول و عرض جغرافیایی
هندیجان	۳۰°۱۴'۱۱" N ۴۹°۴۲'۴۳" E
بوشهر	۲۸°۵۵/۵۹'۵۲" N ۵۰°۴۹/۱۶'۵۲" E
بندرعباس	۲۷°۱۱'۹۶" N ۵۶°۱۵/۵۱'۸۴" E
جزیره هرمز	۲۷°۳'۵۴" N ۵۶°۲۷'۵۴" E
چابهار	۲۵°۱۷/۴۹'۹۲" N ۶۰°۳۸/۵۷'۱۲" E
گواتر	۲۵°۷/۴۰'۸" N ۶۱°۲۸/۳۷'۹۲" E



شکل ۱- نقشه ایستگاههای صید ماهی مرکب سپیداج در خلیج فارس و دریای عمان

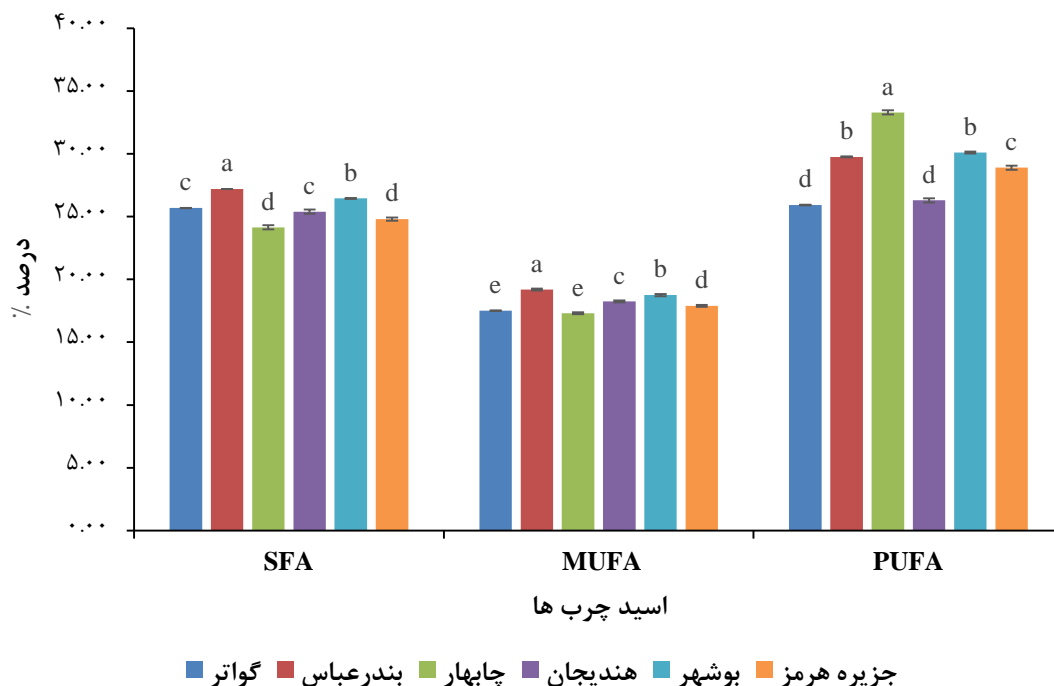
شعله‌ای (FID) منتقل گردید. ستون Capillary با ابعاد ۲۵/۰×۵۰ میلی‌متر تحت شرایط برنامه حرارتی زیر به کار گرفته شد: دمای اولیه: ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حامل هلیوم تزریق شد.

آنالیز داده‌ها: تمام اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام شد. داده‌های مربوط به هر سنجش به صورت مقدار میانگین ± انحراف معیار (mean±SD) بیان شده است. واریانس بین میانگین‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه در محیط نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۱) ارزیابی شد. تفاوت‌های آماری در سطح اطمینان ۰/۹۵ ($P < ۰/۰۵$) (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

بررسی پروفایل اسید چرب روغن استخراج شده از ماهی مرکب (سپیداج) صید شده از مناطق مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است. براساس نتایج، بالاترین محتوای اسیدچرب اشباع (SFA) و اسیدچرب تک اشباع (MUFA)

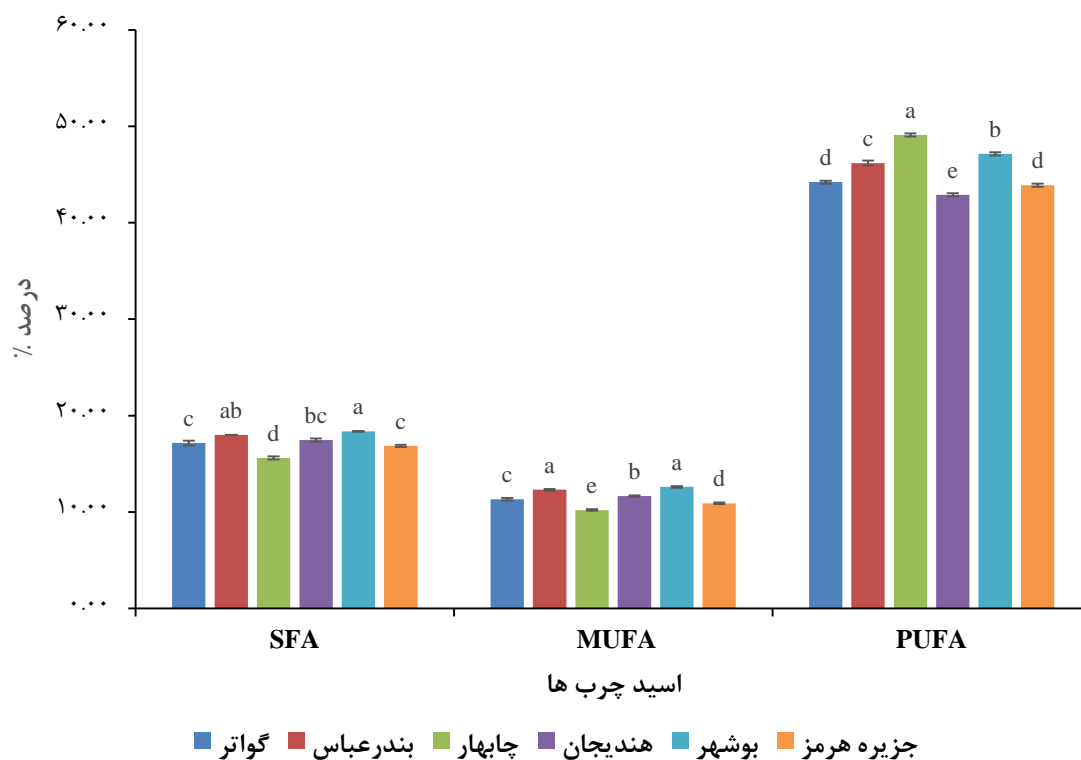
به دست آمده به مدت مشابه در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و همچنین در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد نیز تکرار گردید. قسمت کریستالی به صورت قسمتی از اسیدهای چرب ترکیب شده با اوهر بود که پس از جداسازی به لایه بالایی اسیدهای چرب ترکیب نشده با اوهر منتقل شد. مقدار ۷۲۰ میلی‌لیتر آب و همچنین ۸/۸ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ به این لایه اضافه و مخلوط گردید. پس از جداسازی فازها، به لایه بالایی، مقدار ۱۹ میلی‌لیتر اتانول و همچنین مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه گردیده و به مدت دو ساعت رفلکس شد (Bligh and Dyer, 1959; Liu et al., 2006). پس از استخراج، خالص سازی ترکیبات به روش کمپلکس اوهر انجام گرفت. برای آنالیز روغن ماهی مرکب، نمونه‌ها تحت تزریق به دستگاه گاز کروماتوگرافی طبق روش استاندارد ملی ایران قرار گرفتند که با متانول-اسید سولفوریک غلیظ تهیه شده بودند. سپس حلال بازیابی شده و طبق برنامه به دستگاه گاز کروماتوگرافی که از نوع Shimadzu GC-14A ساخت کشور ژاپن با شناساگر



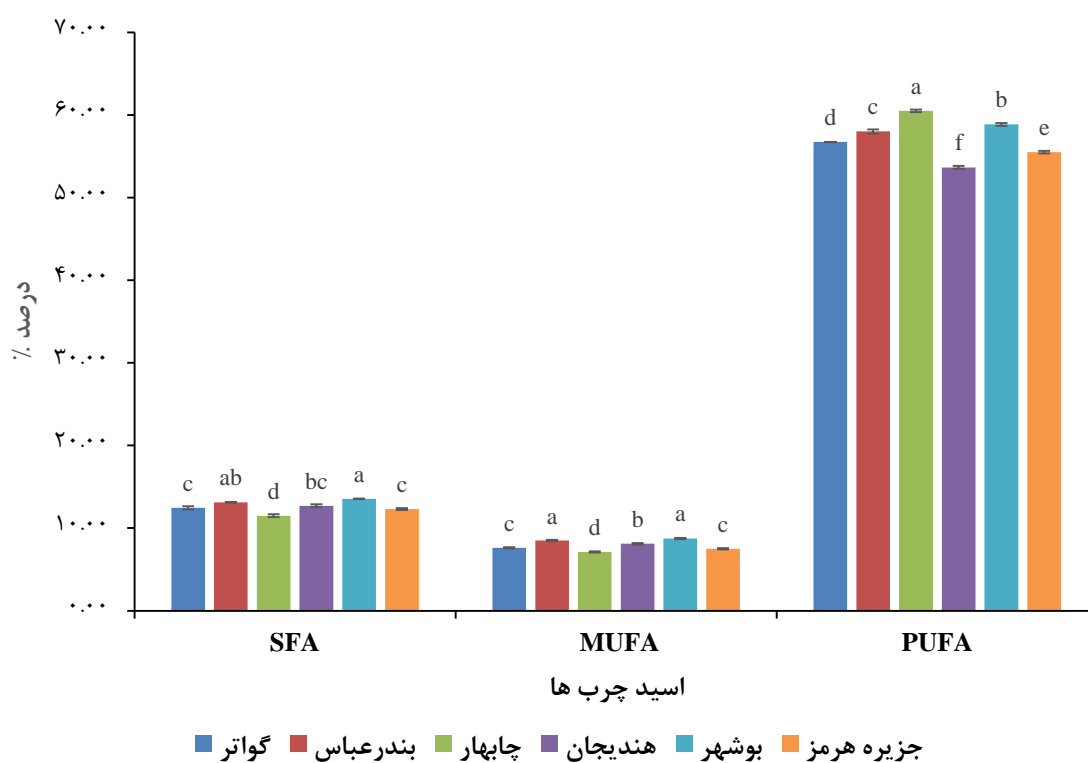
شکل ۲- محتوای اسید چرب اشباع شده و اشباع نشده در روغن خام تهیه شده از ایستگاه‌های مختلف

روغن تغلیظ شده بوشهر و بندرعباس حاوی بالاترین مقادیر MUFA بودند و اختلاف معنی‌داری نشان ندادند اما نمونه تغلیظ شده بوشهر حاوی مقادیر بالاتری (۱۲/۶٪) نسبت به نمونه بندرعباس (۱۲/۳٪) بود ($P > 0.05$). خلص‌سازی نمونه به روش کمپلکس اوره در دمای +۱ درجه سانتی‌گراد نمونه روغن‌های استخراج شده از ماهی مریک سپیداج ایستگاه‌های مختلف مورد بررسی در شکل ۳ ارائه شده است. براساس نتایج، نمونه‌های ایستگاه‌های چابهار (۶۰/۵٪)، بوشهر (۵۸/۸۵٪)، بندرعباس (۸۵٪)، بندر گواتر (۵۶/۶۷٪)، جزیره هرمز (۵۵/۵٪) و هندیجان (۵۳/۶۵٪) به ترتیب بیشترین و کمترین محتوای PUFA را دارا هستند و اختلاف معنی‌داری نیز میان آنها وجود داشت ($P < 0.05$). نمونه روغن تغلیظ شده با کمپلکس اوره ایستگاه بوشهر با ۸/۷۵٪ و نمونه حاصل از ایستگاه چابهار با محتوای ۷/۱٪ به ترتیب بیشترین و کمترین محتوای MUFA را نشان دادند ($P < 0.05$). نمونه روغن تغلیظ شده بوشهر با روغن تغلیظ شده بندرعباس (۸/۵٪) اختلاف معنی‌داری نشان نداد. مشابه با محتوای MUFA نیز محتوای روغن اشباع SFA در روغن تغلیظ شده از نمونه سپیداج صید شده از بوشهر نیز بالاترین محتوا را که (۱۳/۵۵٪) را دارا بود و کمترین مقدار را نمونه چابهار داشت ($P < 0.05$).

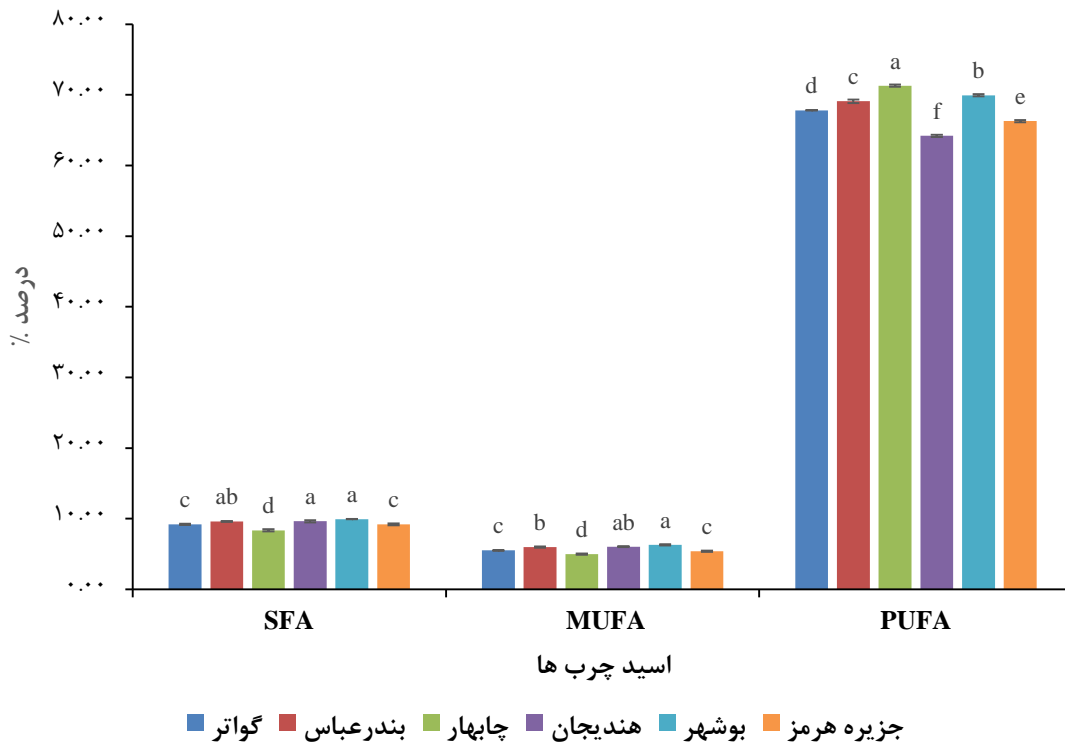
در روغن خام استخراج شده از نمونه صید شده از بندرعباس و بالاترین اسیدچرب چنداشباع (PUFA) در نمونه صید شده از چابهار به دست آمد. همچنین اختلاف بین ایستگاه‌های مختلف در اسیدهای چرب مورد بررسی معنی‌دار بود ($P < 0.05$). جالب توجه است که کمترین اسیدچرب اسیدچرب اشباع (SFA) و اسیدچرب تک اشباع (MUFA) در نمونه صید شده از چابهار مشاهده گردید. نتایج تغلیظ و خلص‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ از روغن استخراج شده از نمونه‌های ایستگاه‌های مختلف در دمای +۵ درجه سانتی‌گراد به روش کمپلکس اوره (شکل ۲) نشان داد که روغن تغلیظ شده از نمونه چابهار با اختلاف معنی‌داری دارای بالاترین محتوای PUFA (۴۹/۱٪) بود در حالی که نمونه تغلیظ شده بوشهر حاوی بالاترین محتوای MUFA (۱۲/۶٪) و SFA (۱۸/۳۵٪) بود که اختلاف معنی‌داری نیز با سایر نمونه‌ها نشان داد ($P < 0.05$). نمونه روغن تغلیظ شده از ایستگاه هندیجان کمترین محتوای PUFA (۴۲/۹٪) داشت و کمترین محتوای MUFA و SFA در روغن تخلیص شده نمونه ماهی مرکب صید شده چابهار به دست آمد ($P < 0.05$). اختلاف معنی‌داری بین PUFA و SFA روغن تخلیص شده از نمونه‌های صید شده از بندر گواتر و جزیره هرمز مشاهده نگردید ($P > 0.05$). نمونه‌های



شکل ۳- محتوای اسید چرب اشباع شده و اشباع نشده در روغن تغلیظ شده ایستگاه‌های مختلف در دمای +۵ درجه سانتی‌گراد



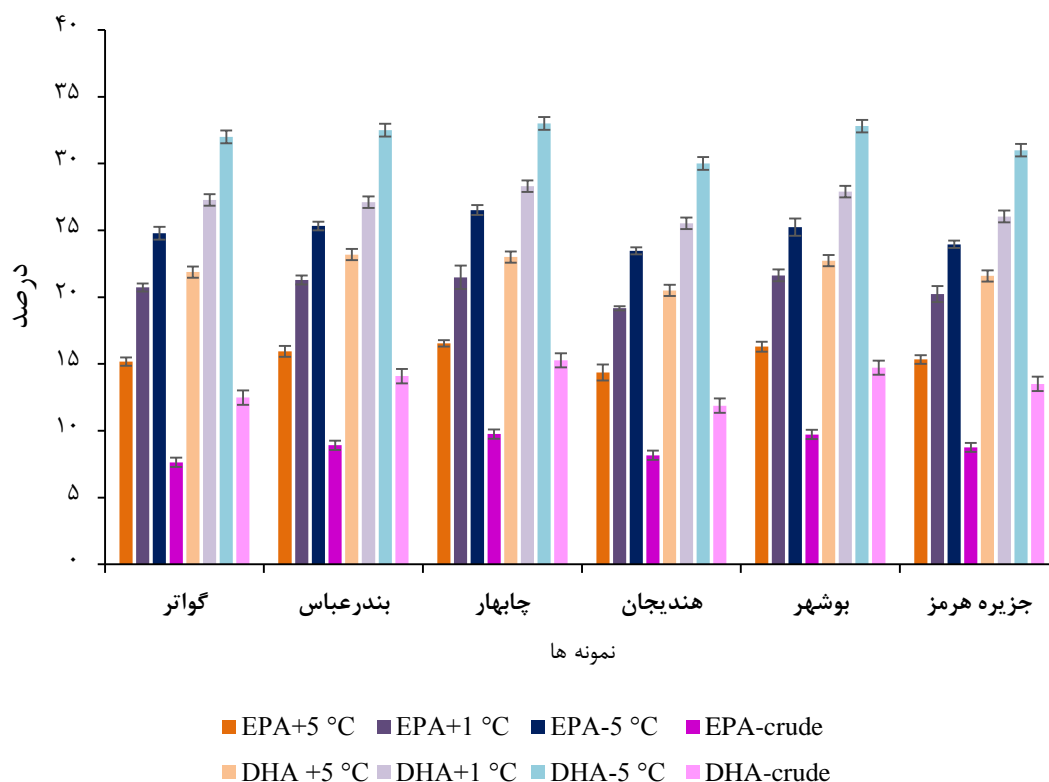
شکل ۴- محتوای اسید چرب اشباع شده و اشباع نشده در روغن تغلیظ شده ایستگاه‌های مختلف در دمای +۱ درجه سانتی‌گراد



شکل ۵- محتوای اسید چرب اشباع شده و اشباع نشده در روغن تغلیظ شده ایستگاه‌های مختلف در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد

همچنین بین محتوای SFA نمونه روغن‌های تغلیظ شده از ایستگاه‌های جزیره هرمز (۱۲/۳٪) و گواتر (۱۲/۴۴٪) اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید ($P > 0.05$). شکل ۴ محتوای اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع نمونه روغن‌های تغلیظ شده از ایستگاه‌های مختلف توسط کمپلکس اوره در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که محتوای PUFA، MUFA و SFA به صورت واضحی نسبت به سایر دماهای مورد بررسی برای تخلیص تغییر کرده است به صورتی که محتوای PUFA افزایش و MUFA و SFA کاهش پیدا کرده‌اند. در شکل ۵ مشخص است که نمونه روغن تغلیظ شده از ایستگاه چابهار با مقدار (۷۱/۳٪) بالاترین و هندیجان (۶۴/۲٪) کمترین محتوای PUFA را داشته‌اند و نمونه‌های صید شده از ایستگاه بوشهر، بندرعباس، گواتر و جزیره هرمز به ترتیب از زیاد به کم در بین آنها قرار دارند ($P < 0.05$). جالب توجه است که محتوای MUFA و SFA در نمونه روغن تغلیظ شده از نمونه صید شده از ایستگاه بوشهر به ترتیب با مقادیر ۶/۳٪ و ۹/۹۵٪ بالاترین محتوا را به خود اختصاص دادند ($P < 0.05$). روغن تغلیظ شده از نمونه ایستگاه چابهار کمترین مقدار MUFA

(۵٪) و SFA (۸/۳۵٪) را داشت ($P < 0.05$). اگرچه روغن تغلیظ شده در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد از نمونه صید شده بوشهر بالاترین SFA را داشت اما اختلاف معنی‌داری با نمونه صید شده از هندیجان (۹/۶۵٪) نشان نداد ($P > 0.05$). همچنین نمونه‌های گواتر و جزیره هرمز نیز با مقادیر ۹/۱۹٪ و ۹/۲۰٪ SFA اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$). در شکل ۶ محتوای EPA و DHA را در نمونه‌های ماهی مرکب سپیداج صید شده از ایستگاه‌های مختلف در روغن خام و تغلیظ شده آنها با کمپلکس اوره در دماهای کریستالیزاسیون مختلف نمایش می‌دهد. براساس نتایج، در نمونه‌های تمام ایستگاه‌ها محتوای EPA و DHA در آن ایستگاه پس از تخلیص نسبت به نمونه روغن خام همان ایستگاه افزایش معنی‌داری داشته است ($P < 0.05$). از طرفی دیگر در تمام نمونه‌های ایستگاه‌های مختلف روغن تغلیظ شده در دمای کریستالیزاسیون ۵- درجه سانتی‌گراد بالاترین محتوای EPA و DHA را نسبت به سایر دماهای کریستالیزاسیون داشت ($P < 0.05$). همچنین با کاهش دمای کریستالیزاسیون محتوای دو اسید چرب EPA و DHA روند افزایشی داشتند به طوری که نمونه‌های تغلیظ و تخلیص شده



شکل ۶- محتوای EPA و DHA در روغن تغلیظ شده ایستگاه‌های مختلف در دماهای +۵، +۱ و -۵ درجه سانتی‌گراد

بحث

در این مطالعه، تغلیظ و خالص‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ از نمونه‌های صید شده ماهی مرکب سپیداج از مناطق مختلف با استفاده از تکنیک کمپلکس اوره صورت گرفت تا نهایتاً بازده اسیدهای چرب امگا-۳ در ایستگاه‌های مختلف مقایسه گردند. نتایج این مطالعه نشان داد که پروفایل اسیدهای چرب روغن استخراج شده از ماهی مرکب سپیداج (*Sepia pharaonis*) در ایستگاه‌های مختلف جنوب ایران تفاوت‌های معنی‌داری دارد. بالاترین میزان اسیدهای چرب اشباع (SFA) و تک‌اشباع (MUFA) در نمونه‌های بندرعباس مشاهده شد، در حالی که بیشترین مقدار اسیدهای چرب چنداشباع (PUFA) در نمونه‌های چابهار یافت شد. این تفاوت‌ها ممکن است ناشی از عوامل محیطی مانند تفاوت در دمای آب، دسترسی به منابع غذایی، و شرایط اکولوژیکی خاص هر منطقه باشد. جالب‌ترین یافته این مطالعه، تأثیر دمای کریستالیزاسیون بر کارایی روش کمپلکس اوره در تغلیظ و خالص‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ بود. نتایج نشان داد که با کاهش دما، محتوای PUFA به‌ویژه EPA و DHA به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، در حالی که میزان SFA و MUFA کاهش پیدا کرد. این روند

در دمای کریستالیزاسیون +۱ درجه سانتی‌گراد نیز محتوای EPA و DHA بالاتری نسبت به همان نمونه در دمای کریستالیزاسیون +۵ درجه سانتی‌گراد داشت ($P > 0.05$). علاوه بر این روغن ماهی مرکب سپیداج صید شده از ایستگاه چابهار و تخلیص شده در دمای کریستالیزاسیون -۵ درجه سانتی‌گراد بالاترین محتوای EPA (۲۶/۵۱٪) و کمترین مقدار آن در نمونه روغن خام استخراج شده از ماهی مرکب سپیداج صید شده در ایستگاه گوآتر مشاهده گردید ($P < 0.05$). جالب توجه است که در دمای کریستالیزاسیون +۱ درجه سانتی‌گراد نمونه روغن ایستگاه بوشهر بالاترین مقدار EPA را (۲۱/۶۳٪) داشت که اختلاف معنی‌داری با نمونه صید شده از ایستگاه چابهار (۲۱/۴۸٪) نداشت ($P > 0.05$). محتوای DHA در نمونه‌های روغن صید شده از ایستگاه‌های مختلف و دماهای کریستالیزاسیون مختلف تفاوت معنی‌داری نشان داد و نمونه ایستگاه چابهار با مقدار ۳۳٪ بالاترین محتوای DHA را داشت. همچنین با کاهش دمای کریستالیزاسیون در تمام روغن‌های نمونه‌های مختلف محتوای DHA به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$).

خالص‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ از نمونه‌های صید شده بود که در مقایسه با مطالعات موسوی‌نوشین و عباسی (۱۳۹۷) در ماهی حلوا سفید (*Pampus argenteus*)، از مقادیر بیشتری برخوردار بود. همچنین در پژوهش Sahari و همکاران (، امگا-۳ قزل آلی رنگین کمان ۷۴/۱۷٪ ثبت شد که بیشتر از *S. pharaonis* تحقیق حاضر است. در همین راستا Chedoloh و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای نرم‌تنان را به‌عنوان گروهی که غنی از DHA و EPA هستند، گزارش نمودند. در مطالعه‌ای Khoddami و همکاران (۲۰۰۹) استخراج اسیدهای چرب PUFA (EPA و DHA) از باقی‌مانده‌های حاصل از فرآوری ماهی ساردین (*Sardinella lemuru*) را بررسی کردند و نتایج آنها نشان داد که اسید چرب تخلیص شده حاوی محتوای بالایی از دوکوزاهگزانوئیک اسید بود که با نتایج مطالعه ما همسو بود. از طرفی دیگر اختلافات مشاهده شده در بین نتایج به‌دست آمده در محتوای اسیدهای چرب ایستگاه‌های مختلف با نتایج سایر محققین به عواملی مختلفی نظیر عوامل محیطی همچون دما، عوامل زیستی نظیر گونه، سن و رژیم غذایی و نهایتاً روش استخراج و تخلیص مرتبط است (Senanayake, 2013; Bonilla-Mendez and Hoyos-Concha, 2018; Eskandari et al., 2024). برای مثال ترکیب لیپیدها در موجودات دریایی به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر دما قرار دارد. دماهای پایین با افزایش غیر اشباع بودن اسیدهای چرب همراه است که به حفظ سیالیت و عملکرد غشای سلولی کمک می‌کند. این امر می‌تواند منجر به تغییرات در انواع و غلظت‌های اسیدهای چرب موجود در گونه‌های مختلف شود (Jónasdóttir, 2019; Falch, 2023). دسترسی به مواد مغذی، به‌ویژه نیتروژن و فسفر، نقش مهمی در تولید لیپیدها دارد. مناطق با سطوح پایین مواد مغذی معمولاً شاهد افزایش بیوسنتز لیپیدها هستند، به‌ویژه در فیتوپلانکتون‌ها که منابع اولیه اسیدهای چرب ضروری هستند (Gašparović et al., 2014). همچنین محیط‌های دریایی مختلف (مانند سواحل در مقابل دریاها عمیق) می‌توانند پروفایل‌های متفاوتی از اسیدهای چرب را به‌دلیل تنوع در فلور و فون محلی و همچنین شرایط محیطی تولید کنند (Linder et al., 2010). لازم به ذکر است که گونه‌های موجودات دریایی تأثیر قابل توجهی بر ترکیب لیپیدهای آنها دارند. به‌عنوان

در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد بهینه‌ترین نتیجه را داشت، به‌طوری که نمونه‌های چابهار در این دما بالاترین محتوای PUFA (۷۱/۳٪) را نشان دادند. این یافته با مطالعات قبلی همسو است که نشان می‌دهند دماهای پایین‌تر، تشکیل کمپلکس اوره با اسیدهای چرب اشباع و تک‌اشباع را تسهیل می‌کنند و در نتیجه اسیدهای چرب چنداشباع مانند EPA و DHA با خلوص بالاتر در فاز مایع باقی می‌مانند (Bonilla-Mendez and Hoyos-Concha, 2018; Rastegari et al., 2022). به‌عنوان مثال براساس مطالعات صورت گرفته در این زمینه نتایج بهینه در دماهای حدود ۵- درجه سانتی‌گراد تا ۲۴- درجه سانتی‌گراد مشاهده شده است که در این شرایط تشکیل کمپلکس‌های اوره تسهیل می‌شود و جداسازی SFA و MUFA از PUFA به‌دلیل تفاوت‌های ساختاری آنها بهتر انجام می‌شود (Rastegari et al., 2022; Eskandari et al., 2024). در دماهای پایین، اسیدهای چرب اشباع و برخی از اسیدهای چرب تک‌اشباع می‌توانند به‌راحتی با اوره کمپلکس تشکیل دهند، در حالی که PUFAها که دارای چندین پیوند دوگانه هستند و ساختار خمیده‌ای دارند، به‌طور مؤثری کمپلکس تشکیل نمی‌دهند. این محدودیت ساختاری باعث می‌شود که PUFAها در حین کریستالیزاسیون در فاز مایع باقی بمانند و غلظت آنها در فاز غیر کمپلکس افزایش یابد (Bonilla-Mendez and Hoyos-Concha, 2018; Rastegari et al., 2022). همچنین تحقیقات نشان داده است که بهترین نتایج برای غنی‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ (EPA و DHA) تحت شرایط خاصی از دماهای پایین همراه با نسبت مناسب اوره به اسید چرب و زمان کریستالیزاسیون به‌دست می‌آید. به‌عنوان مثال، مطالعات نشان داده است که نسبت اوره به اسید چرب ۵:۱ در دمای ۹- درجه سانتی‌گراد منجر به افزایش قابل توجهی در غلظت EPA و DHA می‌شود (Eskandari et al., 2024; Estiasih et al., 2013). بر اساس مطالعه Estiasih و همکاران (۲۰۱۳) مشخص گردید که فرآیند کریستالیزاسیون در دماهای پایین نه تنها به جداسازی انواع مختلف اسیدهای چرب کمک می‌کند بلکه خلوص اسیدهای چرب امگا-۳ را نیز افزایش می‌دهد. نتایج این تحقیق نشان داد که روغن تخلیص شده از *S. pharaonis* صید شده از ایستگاه صیادی چابهار در اکثر دماهای کریستالیزاسیون دارای بالاترین مقادیر غلیظ و

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که روش کمپلکس اوره یک روش مؤثر برای تغلیظ و خالص‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ از روغن ماهی مرکب سپیداج است و دمای کریستالیزاسیون نقش کلیدی در کارایی این فرآیند دارد. بهترین نتایج در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد به دست آمد که منجر به بالاترین غلظت EPA و DHA شد. همچنین، نمونه‌های صیدشده از چابهار و بندر گوآتر به‌عنوان غنی‌ترین منابع این اسیدهای چرب شناسایی شدند که می‌تواند به دلیل شرایط محیطی مطلوب‌تر این مناطق باشد. با توجه به محتوای بالای EPA و DHA در روغن تغلیظ‌شده سپیداج، این گونه می‌تواند به‌عنوان یک منبع ارزشمند برای تولید مکمل‌های غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد. برای تحقیقات آینده، بررسی تأثیر عوامل محیطی و تغذیه‌ای بر ترکیب اسیدهای چرب این گونه و همچنین بهینه‌سازی روش‌های استخراج برای افزایش بازده پیشنهاد می‌شود.

مثال، ماهیانی که فیتوپلانکتون‌های غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ را مصرف می‌کنند، غلظت‌های بالاتری از این چربی‌های مفید را در بافت‌های خود خواهند داشت. همچنین، اسیدهای چرب خاص می‌توانند به‌عنوان نشانگرهایی برای کلاس‌های مختلف فیتوپلانکتون مصرف شده توسط موجودات دریایی عمل کنند (Linder *et al.*, 2010; Falch, 2023). علاوه بر عوامل ذکر شده روش‌هایی که برای استخراج و تصفیه اسیدهای چرب استفاده می‌شود نیز بر ترکیب نهایی و غلظت تأثیر می‌گذارد. تکنیک‌هایی مانند کمپلکس اوره، که در آن اسیدهای چرب آزاد با محلول اتانولی اوره مخلوط می‌شوند، امکان غنی‌سازی انتخابی اسیدهای چرب امگا-۳ را فراهم کرده و ناخالصی‌ها را حذف می‌کند. روش‌های دیگری مانند تکنیک‌های کروماتوگرافی (GC، HPLC) نیز برای تصفیه مؤثر استفاده می‌شوند (Sohedein *et al.*, 2023).

منابع

- موسوی‌نوشین ر.، عباسی ف. ۱۳۹۷. پروفایل اسیدهای چرب در برخی ماهیان پرمصرف سواحل جنوبی کشور. مجله علمی شیلات ایران. ۲۷(۲): ۲۲-۱۳.
- Bligh E.G., Dyer W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37(8), 911-917.
- Bonilla-Mendez J.R., Hoyos-Concha J.L. 2018. Methods of extraction, refining and concentration of fish oil as a source of omega-3 fatty acids. *Corpoica Cienc. Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 19(3), 645-668.
- Chedoloh R., Karrila T.T., Pakdeechuan P. 2011. Fatty acid composition of important aquatic animals in Southern Thailand. *International Food Research Journal* 18(2).
- Eskandari Z., Hosseini S.F., Yagmur A. 2024. Production of Omega-3 Fatty Acid Concentrates from Common Kilka Oil: Optimization of the Urea Complexation Process. *Molecules* 29(11), 1-12.
- Estiasih T., Ahmadi K., Nisa F.C. 2013. Optimizing conditions for the purification of omega-3 fatty acids from the by-product of tuna canning processing. *Advance Journal of Food Science and Technology* 5(5), 522-529.
- Falch E. 2023. Physico-Chemical Properties and Nutrition of Marine Lipids. *Foods* 12(22), 4078.
- Gašparović B., Frka S., Koch B.P., Zhu Z.Y., Bracher A., Lechtenfeld O.J., Neogi S.B., Lara R.J., Kattner G. 2014. Factors influencing particulate lipid production in the East Atlantic Ocean. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 89, 56-67.
- Jónasdóttir S.H. 2019. Fatty acid profiles and production in marine phytoplankton. *Mar. Drugs* 17.
- Kavipriya J., Ravitchandirane V. 2021. Nutritional composition and FT-IR functional group analysis of pharaoh cuttlefish (*Sepia pharaonis*) from Puducherry coastal waters, India. *Notulae Scientiae Biologicae* 13(2), 10904-10904.
- Khoddami A., Ariffin A.A., Bakar J., Ghazali H.M. 2009. Fatty acid profile of the oil extracted from fish waste (head, intestine and liver) (*Sardinella lemuru*). *World Applied Sciences Journal* 7(1), 127-131.
- Linder M., Belhaj N., Sautot P., Tehrany E.A. 2010. From krill to whale: An overview of marine fatty acids and lipid compositions. *OCL - Ol. Corps Gras Lipides* 17(4), 194-204.
- Liu S., Zhang C., Hong P., Ji H. 2006. Concentration of docosahexaenoic acid (DHA) and

- eicosapentaenoic acid (EPA) of tuna oil by urea complexation: optimization of process parameters. *Journal of Food Engineering* 73(3), 203-209.
- Rahbar N., Yazdanpanah H., Ramezani Z., Shushizadeh M.R., Enayat M., Mansourzadeh M. 2018.** Comparative and competitive adsorption of Cu(II), Cd(II) and Pb(II) onto Sepia pharaonis endoskeleton biomass from aqueous solutions. *Water and Environment Journal* 32(2), 209-216.
- Rastegari H., Espootin S., Ghaziaskar H.S., Yatim N.I., Ali N. 2022.** Fractionation of Fish Waste Oil through Low-Temperature Crystallization in Acetone Followed by Urea Complexation. *Journal of Biopolymers and Theoretical Studies* 2, 71-78.
- Sahari M.A., Farahani F., Soleimani Y., Mokhlesi A. 2013.** n-3 Fatty Acid Distribution of Commercial Fish Species Components. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 90(8), 1167-1178.
- Salimon J., Abdullah B.M., Salih N. 2012.** Selectively increasing of polyunsaturated (18: 2) and monounsaturated (18: 1) fatty acids in Jatropha curcas seed oil by crystallization using D-optimal design. *Chemistry Central Journal* 6(1), 65.
- Senanayake S.P.J.N. 2013.** Methods of concentration and purification of omega-3 fatty acids, in: Separation, Extraction and Concentration Processes in the Food, Beverage and Nutraceutical Industries. Elsevier, pp. 483-505.
- Shahidi F., Wanasundara U.N. 1998.** Omega-3 fatty acid concentrates: nutritional aspects and production technologies. *Trends in Food Science & Technology* 9(6), 230-240.
- Sohedein M.N.A., Ilham Z., Wan-Mohtar W.A.A.Q.I., Taufek N.M. 2023.** Upstream and downstream processing of essential fatty acids from microbial biomass. *Frontiers in Food Science and Technology* 3, 1258087.

Concentration and purification of Omega-3 fatty acids from Cuttlefish (*Sepia pharaonis*) caught in Southern Iran using urea complex method

Aida Didaran¹, Mahnaz Sadat Sadeghi*¹, Parisa Najatkhah Maanavi¹, Mohammad Rabani²

¹Department of Marine Biology, NT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

²Department of Marine Chemistry, NT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding author: mahnaz1348@iau.ac.ir

Received: 25.Jan.2025

Accepted: 8.Jul.2025

Abstract

The present study focused on the concentration and purification of omega-3 fatty acids from Pharaoh cuttlefish (*Sepia pharaonis*) caught in the regions of Gwatar, Chabahar, Hormuz Island, Bandar Abbas, Bushehr, and Hendijan located in southern Iran using the urea complexation method at crystallization temperatures of +5°C, +1°C, and -5°C. The results of concentrating and purifying omega-3 fatty acids from the oil extracted from samples collected at different stations at +5°C showed that the concentrated oil from the Chabahar sample had the highest PUFA content (49.1%) with a significant difference, while the concentrated sample from Bushehr contained the highest MUFA (12.6%) and SFA (18.35%) content ($P<0.05$). Concentration at +1°C of the extracted oils showed that samples from Chabahar (60.5%), Bushehr (58.85%), Bandar Abbas (58.85%), Gwatar (56.67%), Hormuz Island (55.5%), and Hendijan (53.65%) had the highest to lowest PUFA contents, respectively ($P<0.05$). The PUFA, MUFA, and SFA contents of the oils concentrated at -5°C crystallization temperature significantly changed compared to the other temperatures examined, with an increase in PUFA content and a decrease in MUFA and SFA ($P<0.05$). At this temperature, the concentrated oil from the Chabahar station had the highest PUFA content (71.3%) and Hendijan the lowest (64.2%), with the samples from Bushehr, Bandar Abbas, Gwatar, and Hormuz Island ranking in between, respectively ($P<0.05$). Moreover, the concentrated oil from the Chabahar station had the lowest MUFA (5%) and SFA (8.35%) content ($P<0.05$). This study demonstrates that the urea complexation method, particularly at -5°C, can be effective for concentrating omega-3 fatty acids from Pharaoh cuttlefish.

Keywords: *Sepia pharaonis*, Urea complex method, Crystallization temperatures, Persian Gulf