

تغلیظ و خالص سازی اسیدهای چرب امگا-۳ با روش کمپلکس اوره

*هدیه علوی طلب^۱، مهدی ارجمند^۲، عباسعلی مطلبی^۳ و رضا پورغلام^۴

^۱دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، آگروه شیمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب،

^۲مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ^۳پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری

چکیده

روغن ماهی به وسیله روش Bligh and Dyer از بافت ماهیچه ای فیتوفاگ استخراج گردید، نمونه های روغن در ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند و سپس اسیدهای چرب چند غیراشباعی به کمک روش کمپلکس اوره تغلیظ شدند. خالص سازی اسیدهای چرب امگا-۳ از روغن فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) با روش کمپلکس اوره به ترتیب در دماهای ۵- درجه سانتی گراد، ۱+ درجه سانتی گراد و ۵+ درجه سانتی گراد انجام گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که در طول فرآیند میزان استخراج امگا-۳ افزایش می یابد، در حالی که اسیدهای چرب اشباع و تک غیراشباعی به دلیل تشکیل کمپلکس با اوره کاهش می یابند. بهترین درجه حرارت برای دریافت حداکثر درصد وزنی امگا-۳ در ۱+ درجه سانتی گراد به دست آمد. میزان امگا-۳ استخراج شده در روغن فیتوفاگ قبل از خالص سازی ۲۰/۵۸ درصد وزنی از کل روغن استخراج شده بود و پس از خالص سازی به کمک روش کمپلکس اوره، این میزان در ۱+ درجه سانتی گراد به ۶۷/۸ درصد وزنی افزایش یافت که در مقایسه با درصد وزنی های امگا-۳ حاصل شده در دماهای دیگر بالاتر بود. همچنین در ۵+ درجه سانتی گراد به ۳۶/۸۲ درصد وزنی و در ۵- درجه سانتی گراد به ۲۲/۵۳ درصد وزنی از کل روغن استخراج شده رسیده بود.

واژه های کلیدی: اسیدهای چرب، امگا-۳، خالص سازی، کمپلکس اوره، فیتوفاگ

مقدمه

در سال ۱۹۶۹ دو تن از متخصصان دانمارکی به نام های 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 به رغم مصرف میزان زیاد چربی و روغن به بیماری های عروق قلب مبتلا نمی شوند. با توجه به رژیم غذایی اسکیموها که بیشتر از نهنگ، خوک دریایی و ماهی سالمون جهت خوراک خود استفاده می نمودند 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 می شود و این تحقیق آغاز پژوهش های بی شماری شد که همگی به خواص شگرف روغن ماهی و اسیدهای چرب امگا-۳ در تنظیم عملکرد زیر ساختاری و فعالیت های 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، سویا و روغن بذر کتان روغن سبزیجات روغن تخم بزرگ موجود است (۱۲). ۲- ایکوزا پنتانوئیک اسید (EPA) ۳-



تغلیظ و خالص سازی اسیدهای چرب امگا-۳ با روش کمپلکس اوره

واردات اسیدهای چرب امگا-۳ و خروج ارز از کشور جلوگیری می شود. علت استفاده از فیتوفاگ در تحقیق حاضر به دلیل آن است که این ماهی با کمترین امکانات و در دورترین مناطق رشد می کند و با شرایط محیطی کاملاً سازگار بوده و در تمام طول مدت سال در دسترس است، بنابراین به دلیل فراوانی این گونه ماهیان، تولید امگا-۳ از باقی مانده های آن نیز مقرون به صرفه است (۴ و ۵). لازم به ذکر است که علت استفاده از بافت فیتوفاگ جهت استخراج روغن در این تحقیق، به دلیل غنی بودن بافت ماهی از نظر EPA و DHA نسبت به کبد آن است (۲).

مواد و روش ها

مواد مصرفی: ماهی کپور نقره ای، 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 Laborota-۴۰۰۱، ساخت کشور آلمان.

سیستم رفلکس و انکوباتور یخچال دار، Cooled Incubator، ساخت شرکت تارا طب ایران.

روش ها: برای استخراج چربی از بافت حیوانی روش های 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 نمونه برداری و به وسیله چرخ گوشت کاملاً خرد شد و طبق روش مذکور استخراج انجام گرفت. قبل از استخراج و خالص سازی روغن ماهی کپور نقره ای، ترکیبات

دوکوزا هگزانوئیک اسید (DHA)^۱ که این دو دسته آخر، دو گروه مهم از اسیدهای چرب امگا-۳ هستند که منحصراً در ماهی به خصوص ماهیان آب های سرد و ماهی های دیگر به مقدار زیاد یافت می شوند، در صورتی که در هیچ ماده غذایی دیگری این گونه نیست (۲). آبزیان و به خصوص 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 می شود (۳). این اسیدهای چرب امگا-۳ از جمله اسیدهای چرب ضروری می باشند که در بدن انسان ساخته نمی شوند و تنها از طریق غذا تأمین می شوند. بنابراین مصرف امگا-۳ می تواند به عنوان بهترین منبع تأمین کننده 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 بیماری های قلبی و عروقی گزارش شده است. در صورتی که اگر هر ایرانی فقط در هر هفته ۲۰۰ گرم ماهی مصرف کند، درصد بیماران قلبی-عروقی به میزان چشمگیری کاهش می یابد (۲ و ۶).

در این راستا یکی از راه کارهای ممکن، استخراج و خالص سازی اسیدهای چرب امگا-۳ می باشد که در صورت تحقق این امر، امگا-۳ استخراج شده در تولید مکمل های غذایی و دارویی کاربرد وسیعی خواهد داشت. با دستیابی به تکنیک استخراج و خالص سازی امگا-۳ می توان از روغن ماهیان مختلف خصوصاً بخش هایی که مصرف غذایی ندارند و جزء ضایعات محسوب می شوند، در تولید امگا-۳ اقدام نمود. با این عمل ضمن فراهم شدن زمینه های مختلف اشتغال، به رونق و شکوفایی اقتصادی و امنیت غذایی مردم نیز کمک خواهد شد، علاوه بر این که با تولید آن، از

1- Docosa Hexaenoic Acid



گردید. پس از جداسازی فازها از هم به لایه بالایی، ۱۹ میلی‌لیتر اتانول و ۰/۳ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه و به مدت ۲ ساعت رفلاکس شد. سپس ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به مدت 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 به کار 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: هلیوم (۱۳). سپس نتایج به دست 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 به صورت میانگین \pm 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).

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، به وسیله متانول-اسیدسولفوریک غلیظ، متیل‌استر تهیه شد (۱). سپس حلال بازیابی و طبق برنامه به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق شد (۱۳). نمونه‌های تهیه شده در یخچال نگهداری و به تدریج برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها یک ساعت قبل از شروع کار از یخچال خارج و به طور 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 به مدت 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 به مدت ۲۰ دقیقه رفلاکس می‌گردد (۱۱ و ۱۲). حاصل به مدت 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^۱ به صورت قسمتی از اسیدهای چرب ترکیب شده با اوره و لایه بالایی NUCF^۲ 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

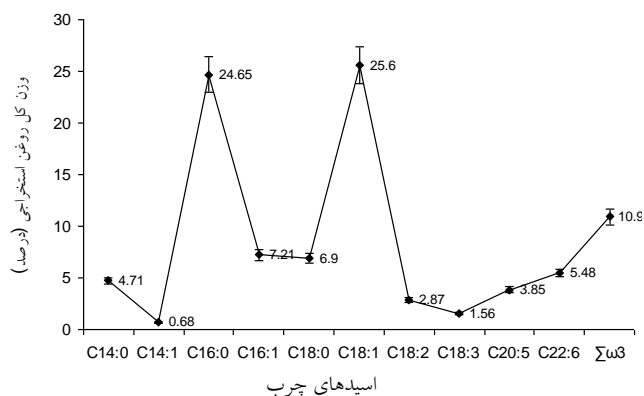
1- Urea Complex Fatty Acid

2- Non Urea Complex Fatty Acid



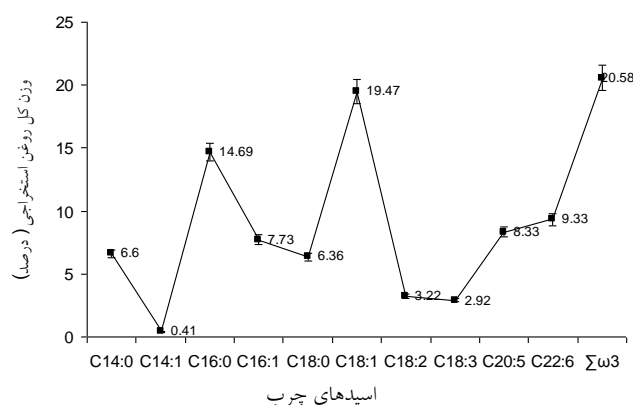
جدول ۱- آنالیز بافت ماهی کپور نقره‌ای (وزنی - درصد)

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



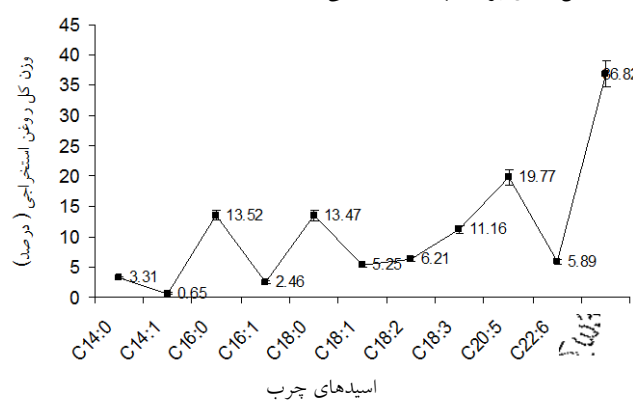
شکل ۱- پروفایل اسیدهای چرب استخراج شده از روغن کپور نقره‌ای در اولین استخراج قبل از

خالص سازی بر حسب درصد وزنی (C_{18:3}, C_{20:5}, C_{22:6})



شکل ۲- پروفایل اسیدهای چرب استخراج شده از روغن کپور نقره‌ای در دومین استخراج قبل از

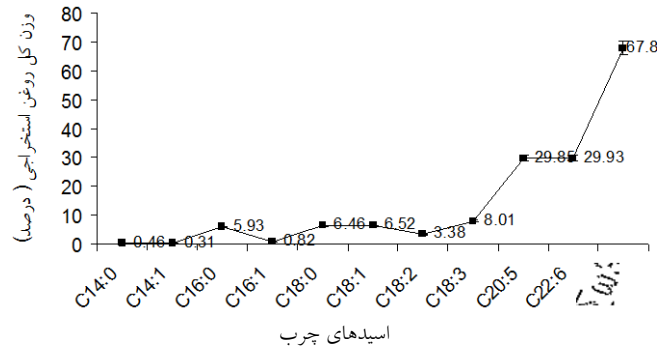
خالص سازی بر حسب درصد وزنی (C_{18:3}, C_{20:5}, C_{22:6})



شکل ۳- پروفایل اسیدهای چرب استخراج شده و خالص سازی شده به روش کمپلکس اوره

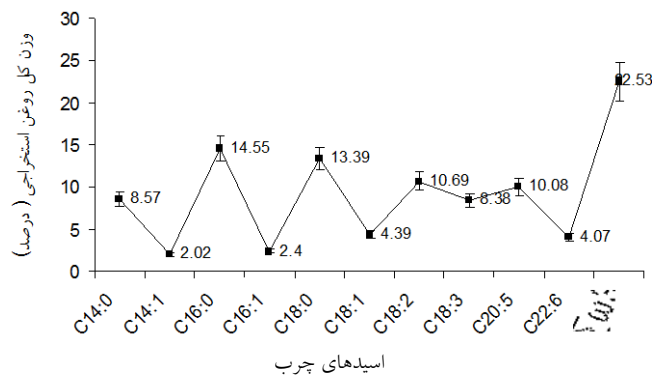
در دمای +۵ درجه سانتی گراد (C_{18:3}, C_{20:5}, C_{22:6})





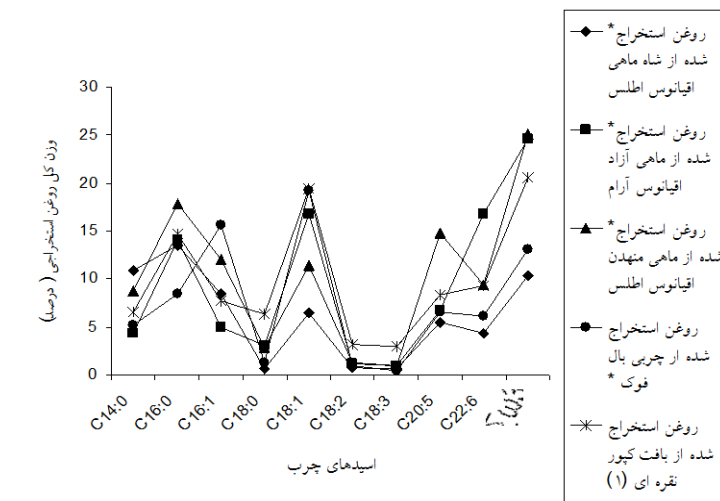
شکل ۴- پروفایل اسیدهای چرب استخراج شده و خالص سازی شده به روش کمپلکس اوره

در دمای ۱+ درجه سانتی گراد (C18:3 , C20:5 , C22:6) $\sum \omega_3$



شکل ۵- پروفایل اسیدهای چرب استخراج شده و خالص سازی شده به روش کمپلکس اوره

در دمای ۵- درجه سانتی گراد (C18:3 , C20:5 , C22:6) $\sum \omega_3$

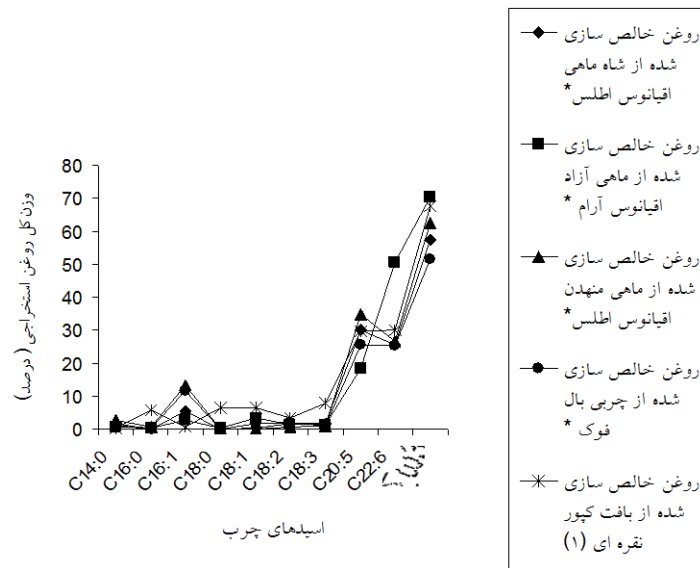


شکل ۶- مقایسه درصد وزنی اسیدهای چرب روغن استخراج شده از کپور نقره‌ای با انواع ماهیان دیگر

* نتایج به دست آمده از تحقیق Ratnayake و همکاران (۲۰۰۶) (۱۲)

(۱): نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر (C18:3 , C20:5 , C22:6) $\sum \omega_3$





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

* نتایج به دست آمده از تحقیق Ratnayake و همکاران (۲۰۰۶) (۱۲)

^(۱): نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر (C18:3, C20:5, C22:6) $\sum \omega_3$:

است. به طور مثال، مقدار C16:0 و C18:1 که در شکل ۲، به ترتیب ۱۴/۶۹ و ۱۹/۴۷ درصد بود در شکل ۳ پس از اعمال روش کمپلکس اوره به ترتیب به مقادیر ۱۳/۵۲ و ۵/۲۵ درصد رسیده است. برعکس مقدار C18:3، C20:5 و $\sum \omega_3$ که در شکل ۲ به ترتیب، ۲/۹۲، ۸/۳۳ و ۲۰/۵۸ درصد بود در شکل ۳ پس از اعمال روش کمپلکس اوره افزایش یافته و به ترتیب 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 خالص سازی شده به روش کمپلکس اوره در دمای +۱ درجه سانتی‌گراد بالاترین مقدار را دارد. به طور مثال میزان C20:5، C22:6 و $\sum \omega_3$ در شکل ۳ تحت شرایط دمایی +۵ درجه سانتی‌گراد، به ترتیب برابر ۱۹/۷۷، ۵/۸۹ و ۳۶/۸۲ درصد بود. در حالی که در شکل ۴ تحت شرایط دمایی +۱ درجه سانتی‌گراد به ترتیب به ۲۹/۸۵، ۲۹/۹۳ و ۶۷/۸۰ درصد رسیده است. بنابراین مقدار بهینه

بحث و نتیجه‌گیری

عدم به کار 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 به صورت 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 خالص سازی اسیدهای چرب امگا-۳ نتایج مطلوب تری 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 به وجود آمد که در شکل‌های ۳، ۴ و ۵ کاملاً واضح و مشخص



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.

$\Sigma\omega_3$ 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 $\Sigma\omega_3$ نسبت به $\Sigma\omega_3$ 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 $\Sigma\omega_3$ روغن کپور نقره‌ای بسیار نزدیک به $\Sigma\omega_3$ 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 $\Sigma\omega_3$ آن در حد ماهیان دریایی و اقیانوسی است. $\Sigma\omega_3$ روغن خالص‌سازی شده کپور نقره‌ای برابر ۶۷/۸ درصد می‌باشد در حالی که $\Sigma\omega_3$ روغن خالص‌سازی شده شاه ماهی، ماهی آزاد، ماهی منهدن و فوک به ترتیب برابر با ۵۷/۴، ۷۰/۴، ۶۲/۵ و

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.fao.org و www.shilat.com
- 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.



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.



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

H. Alavi Talab¹, M. Ardjmand², A.Motallebi³ and R. Pourgholam⁴

¹Islamic Azad University, Tehran Medical Branch, ²Islamic Azad University, Tehran South Branch,
³Iran Fisheries Research Organization, Tehran, ⁴Caspian 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 °C. Concentration and purification of omega-3 fatty acids from *Hypophthalmichthys molitrix* oil by urea complex formation were made at -5, +1 and +5 °C 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 °C. 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 °C, 36.82% wt at +5 °C and 22.53% wt at -5°C of total extracted oil.

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

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

