https://journals.rifst.ac.ir
ISSN: 2252-0937(print), 2538-2357(online)
پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۴۰۲، جلد ۱۲، شماره ۱، صفحات ۱۲۰-۱۰۵
https://doi.org/10.22101/JRIFST.2022.354652.1382

JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

بررسی ارزش غذایی، ویژگی‌های میکروبی و حسی پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای (*Hipophthalmichthys molitrix*) پرورشی

مینا سیف‌زاده[1*]

۱- مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان، پژوهشکده آبزی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، انزلی، ایران
* نویسندهٔ مسئول (m_seifzadeh_ld@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۲۲
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۷/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۲۴
تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۲/۰۳/۲۳

واژه‌های کلیدی
ارزش تغذیه‌ای
استخراج قلیایی
زائدات ماهی
غنی‌سازی
ماهی پرورشی

OPEN ACCESS
CC BY

چکیده

مطالعهٔ حاضر با هدف تهیهٔ پودر از استخوان ماهی کپور نقره‌ای با روش قلیایی و بررسی ویژگی‌های تغذیه‌ای، حسی و میکروبی انجام شد. در این پژوهش کربنات کلسیم به‌عنوان شاهد استفاده شد. مقادیر پروتئین (۱۸/۵۱ درصد)، چربی (۵/۱۱ درصد)، رطوبت (۵/۵۸ درصد) و خاکستر (۷۰/۸۲ درصد) در پودر استخوان ماهی بودند. راندمان تهیهٔ پودر ۶۶/۹۸ درصد تعیین شد. برخلاف پودر استخوان ماهی عناصر معدنی سیلیسیوم، آلومینیوم، باریم و کروم در نمونهٔ شاهد مشاهده نشدند. فسفر در پودر استخوان (۸۱۵۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با شاهد (۳۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیشتر بود (P<۰/۰۵). اما کلسیم در تیمار آزمایشی (۳۲۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با شاهد (۳۸۸۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) کمتر بود (P<۰/۰۵). ازنظر رنگ و پذیرش کلی بین تیمارهای آزمایشی و شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (P<۰/۰۵). در میان اسیدهای چرب اشباع، تک‌زنجیرهٔ غیراشباع و چند غیراشباع به‌ترتیب اسیدهای پالمیتیک (۲۲/۷۳ درصد)، الایدیک (۴۳/۷۴ درصد) و لینولئیک (۷/۳۵ درصد) بالاترین مقادیر را در پودر استخوان دارا بودند. همچنین مقادیر کل اسیدهای آمینهٔ ضروری شامل ترئونین، والین، لیزین، ایزولوسین، متیونین، هیستیدین و فنیل آلانین ۲۱۸/۲۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. هیچ‌گونه میکرواورگانیسمی شامل قارچ، *اشریشیاکلی* و *سالمونلا* در تیمارها مشاهده نشد. ازآنجاکه پودر استخوان به شکل انبوه از گونه‌های مختلف ماهی قابل تولید بوده و سرشار از ترکیبات تغذیه‌ای است، ازاین‌رو برای غنی‌سازی محصولات به صنعت غذایی پیشنهاد می‌گردد.

مقدمه

در ایران طی سال‌های ۱۳۹۹-۱۳۹۴ و در جهان طی سال‌های ۲۰۱۰–۲۰۱۸ تولید ماهیان گرم آبی از ۱۸۴۰۶۴ به ۲۲۱۰۹۰ تن و از ۳۹۷۲ به ۴۷۸۸/۵ هزار تن رسید، ازاین‌رو با اکتساب ۸/۸ درصد از کل تولید آبزی‌پروری جهان مقام دوم را برای تولید ماهیان پرورشی به خود اختصاص دادند (FAO, 2020; IFO, 2021). باتوجه‌به حجم زیاد تولید کپور ماهیان، مصرف مقدار زیادی از این ماهی به شکل تازه‌خوری و اینکه هم‌اکنون کپور نقره‌ای به‌عنوان مادهٔ اولیه برای تولید فراورده‌های خمیری در بعضی از کارخانه‌های فراوری غذاهای دریایی مورد استفاده قرار می‌گیرد که مقدار زیادی زائدات جامد ازجمله استخوان تولید می‌گردد. همچنین براساس اینکه استخوان به‌عنوان مادهٔ اصلی باقی‌مانده از محصولات فراوری ماهی شناخته شده است که مقدار زیادی از وزن ماهی را (۱۰ تا ۱۵ درصد) تشکیل می‌دهد (Asikin *et al.*, 2019)، و

مطالعه‌های انجام‌شده توسط سایر پژوهشگران نیز به اثبات رسانده است که حدود نیمی از وزن آبزیان از زائدات خام مانند پوست، سر، امعاواحشا، استخوان و باله‌ها تشکیل یافته است (Amitha, 2019)، و با درنظرگرفتن حجم تولید زائدات، استفادهٔ اقتصادی از زائدات آبزیان، تولید فراورده‌های باارزش افزوده و کاهش آلودگی محیط‌زیست و اینکه ساختار و ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ استخوان در همهٔ آبزیان تقریباً مشابه است، و فراوردهٔ تولیدی از زائدات گونه‌های استخوانی را می‌توان به سایر گونه‌ها گسترش داد، می‌طلبد که دراین‌راستا تولید پودر استخوان ماهی را از زائدات کارخانه‌های فراوری آبزیان به منزلهٔ مادهٔ اولیه تولید فراورده‌ای جهت غنی‌سازی محصولات غذایی و مصارف انسانی موردتوجه قرار داد و دراین‌زمینه برنامه‌ریزی کرد.

به‌طور معمول حجم زیادی از باقی‌مانده‌های فراوری دور ریخته می‌شود و منجربه‌ایجاد اثرات نامطلوب زیست‌محیطی و همچنین ازبین‌رفتن منابع می‌شود. درحال‌حاضر مدیریت زائدات و به‌کارگیری آنها به‌عنوان مادهٔ اولیه برای تهیهٔ غذای انسان به منزلهٔ چالش بزرگی برای استفادهٔ اقتصادی از فراورده‌های حاصل از صنعت عمل‌آوری آبزیان مطرح هستند. استخوان ماهی به‌عنوان منبع بالقوه و طبیعی از کلسیم به حساب می‌آید (Asikin *et al.*, 2019). همچنین سرشار از فسفر و فسفات کلسیم است. از سایر ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ استخوان ماهی هیدروکسی آپاتیت را می‌توان نامبرد، که نقش آن کمک به ترمیم استخوان‌ها بعد از اعمال ضربه‌های بزرگ یا جراحی است. با اینکه تحقیق‌ها ثابت کرده است کلسیم استخوان ماهی از فراهمی‌زیستی بالایی برخوردار هست، اما هنوز هم قسمت اعظم استخوان ماهی به‌عنوان مادهٔ خام برای تولید پودر ماهی که دارای ارزش اقتصادی پایینی است، به مصرف می‌رسد. ولی استخوان ماهی ممکن است به منزلهٔ مادهٔ اولیه‌ای برای افزایش درآمد ناشی از ماهیگیری و تولید محصولات باارزش افزوده باشد، و به‌این‌ترتیب می‌توان به ایجاد شرایط پایدار در محیط‌زیست نیز دست یافت (Malde *et al.*, 2010).

مطالعه‌های انجام‌شده توسط سایر محققین به اثبات رسانده است که استخوان‌های ماهی حاوی مقادیر قابل‌ملاحظه‌ای مواد معدنی (۲۱ تا ۵۷ درصد)، مواد آلی (۲۰ تا ۳۰ درصد) و پپتیدها بوده و مقدار کربوهیدرات در آنها ناچیز می‌باشد (Pyz-Łukasik & Paszkiewicz, 2018). ازاین‌رو ممکن است در مقایسه با کلسیم مصنوعی فواید بیشتری را برای حفظ سلامتی استخوان داشته باشند. بنابراین غنی‌سازی غذاهای اصلی مورد مصرف انسان می‌تواند به‌عنوان روش کارآمدی برای تأمین نیازمندی‌های غذایی روزانه به‌دلیل بهره‌برداری از بسیاری از ویتامین‌ها و مواد معدنی پذیرفته شود. محصولات غنی‌سازی‌شده با پودر استخوان می‌تواند در افزایش مقدار دریافت کلسیم به‌ویژه در افراد مبتلابه عدم تحمل لاکتوز که به اندازهٔ کافی شیر و محصولات لبنی مصرف نمی‌کنند، مفید واقع شود (Murillo *et al.*, 2022; Pyz-Łukasik & Paszkiewicz, 2018).

شیر و فراورده‌های آن، آرد گندم و ذرت، نمک، شکر، چربی‌ها و روغن‌ها از فراورده‌های غذایی رایج در کشورهای درحال‌توسعه هستند که به‌طور موفقیت‌آمیزی با استفاده از نمک‌های کلسیم تجاری مانند کربنات کلسیم، سیترات کلسیم و فسفات تری‌کلسیم غنی‌سازی شده‌اند. درحالی‌که استفاده از منابع طبیعی کلسیم مانند پودر استخوان ماهی به‌دلیل برخورداری از ترکیبات دیگری مانند بعضی از اسیدهای آمینه که ممکن است منجربه‌افزایش متابولیسم کلسیم گردد، در مقایسه با کربنات کلسیم خالص و مصنوعی برای سلامت استخوان انسان مؤثرتر بوده و می‌تواند توسط مصرف‌کنندگان موردقبول واقع شود. همچنین به‌دلیل دارابودن فسفات کلسیم مشابه به ترکیبات استخوان انسان ممکن است که اثرات بیشتری داشته باشد. پژوهشگران نشان داده‌اند که دسترسی‌زیستی به بخش معدنی استخوان ماهی امکان‌پذیر است، بنابراین این قسمت توانایی دارد که مزایایی را برای سلامتی انسان ایجاد کند. علاوه‌بر این، مصرف غذاهای سرشار از کلسیم طی زندگی برای جلوگیری یا به‌تأخیرانداختن پوکی استخوان در افراد مسن (زنان و مردان) مؤثر بوده و توصیه می‌شود (Bhenjapaipong, 2021; Desai *et al.*, 2018).

ترکیبات سازندهٔ استخوان ماهی ازجمله مواد معدنی (غیرآلی) و پروتئین‌های کلاژن و ژلاتین را برای تهیهٔ محصولات فراسودمند و سلامت انسان می‌توان مفید درنظرگرفت. ازاین‌رو، افزایش علاقه به بهره‌مندی از مزایای سلامتی زائدات ماهی منجربه استفاده از فراورده‌های جانبی آبزیان در صنعت غذایی و تولید پودر استخوان ماهی شد (Nuraeni, 2020; Ratnamanjari Senapati, 2014).

علاوه‌بر این، طی سال ۱۳۹۹ سرانهٔ مصرف آبزیان در

ایران به ۱۳/۳۸ کیلوگرم و میزان پروتئین مصرفی به ۶/۹۲ گرم رسید که در مقایسه با سرانهٔ مصرف جهانی ۲۰/۳ کیلوگرم پایین‌تر است (IFO, 2021). غنی‌سازی فراورده‌های غذایی با پودر استخوان ماهی می‌تواند به منزلهٔ گامی مؤثر برای افزایش مصرف پروتئین آبزیان به حساب آید (Gupta, 2018). بااین‌حال مطالعه‌های محدودی درمورد بررسی ارزش غذایی پودر استخوان ماهی و اثرات مفید به‌کارگیری آن در برنامهٔ غذایی انسان انجام شده است و مطالعه‌ای برای بررسی اثرات مصرف استخوان ماهی بر سلامت انسان گزارش نشده است. ازاین‌رو، مطالعهٔ حاضر با هدف تهیهٔ پودر از استخوان ماهی کپور نقره‌ای و بررسی ارزش غذایی آن در مقایسه با کربنات کلسیم به‌عنوان منبع تجاری کلسیم انجام شد.

مواد و روش‌ها

عمل‌آوری پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای

۱۰ کیلوگرم ماهی کپور نقره‌ای[1] در فصل پاییز صید شد. برای اجرای این مطالعه، ۲ تیمار درنظرگرفته شد که در ۳ تکرار عمل‌آوری شدند. تیمارها شامل پودر استخوان و شاهد بودند. برای تهیهٔ پودر استخوان روش قلیایی به‌کارگرفته شد. استخوان‌ها بعد از گوشت‌گیری شسته شدند. سپس در آب با دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شدند. باقی‌مانده‌های گوشت و ماهیچه از ستون‌فقرات ماهی جدا شدند. مجدد در آب با دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت جوشانده شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در اتوکلاو (مدل RT-2، ساخت ایران) و دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. در مرحلهٔ بعدی در آب مخلوط‌شده با سود ۱ نرمال به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شدند. آنگاه تیمارها طی مدت زمان ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد خشک شدند. سپس با استفاده از آسیاب برقی (مولینکس، ساخت فرانسه) به پودر تبدیل شدند. پودر به‌دست‌آمده در مقادیر ۲۰۰ گرمی با استفاده از پلاستیک‌های پلی‌اتیلن به روش هوازی بسته‌بندی شدند و به مدت ۶ ماه در دمای محیط نگهداری گردیدند. از پودر تجاری کربنات کلسیم (مرک، ساخت آلمان) به‌عنوان نمونهٔ شاهد استفاده شد (Wulandari & Kusumasari, 2019).

ارزش غذایی تیمار آزمایشی و ویژگی‌های حسی و میکروبی آن در مقایسه با تیمار شاهد ازطریق آزمون‌های زیر موردارزیابی قرار گرفتند. لازم به ذکر است که در این پژوهش تمامی مواد شیمیایی موردنیاز برای انجام آزمایش‌های شیمیایی و همچنین محیط‌های کشت میکروبی از شرکت مرک تهیه شدند.

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری برای انجام آزمایش‌های شیمیایی، حسی و میکروبی طی زمان نگهداری هر ماه یک بار در زمان مشخص و به مدت ۶ ماه انجام شد. همچنین بعد از تولید در زمان صفر نیز از تیمارهای آزمایشی و شاهد جهت انجام آزمایش‌ها نمونه‌برداری شد.

پروتئین

از ماکرو کجلدال (Gerhardt-behr، ساخت آلمان) برای اندازه‌گیری پروتئین استفاده شد. برای هضم نمونه‌ها مقادیر ۲ گرم نمونه به اضافه ۸ گرم کاتالیزور و ۲۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به بالن هضم دستگاه انتقال یافتند. در مرحلهٔ بعدی مایع شفاف و متمایل به سبز به‌همراه دو سوم حجم بالن آب‌مقطر و تعدادی سنگ جوش تقطیر شد. بخارها در ارلن حاوی ۵۰ میلی‌لیتر اسید بوریک ۲ درصد به‌همراه ۳ تا ۴ قطره بروموکروزول به‌عنوان معرف جمع‌آوری‌شده و تیتراسیون توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال انجام گردید (AOAC, 2005).

چربی

چربی به روش هیدرولیز اسیدی اندازه گیری شد. برای تعیین چربی به ۵ گرم نمونهٔ همگن‌شدهٔ ماهی، ۵۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۴ نرمال اضافه شد و بعد از قرارگرفتن به مدت ۱ساعت در بن‌ماری با دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد با استفاده از کاغذ واتمن صاف گردید. در مرحلهٔ بعدی کاغذ صافی به قسمت استخراج‌کنندهٔ سوکسله (Behr-AK5، ساخت آلمان) انتقال یافت. پس از متصل‌کردن بالن با وزن مشخص، دو سوم از حجم آن با حلال (هگزان) پُرشده و به مدت ۶ تا ۸ ساعت هیدرولیز صورت پذیرفت (AOAC, 2005).

خاکستر

خاکستر به روش تعیین گراویمتریک اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری خاکستر بوته‌های تمیز در کوره (Fine tech، ساخت کره) با دمای ۶۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت قرار گرفتند. بوته‌های خنک‌شده به خشک‌کن انتقال

[1] *Hipophthalmichthys molitrix*

داده شدند و تا دمای اتاق خنک شدند. سپس به سرعت وزن شده و به‌همراه ۱۰ گرم از غذای خشک‌نشده به مدت ۱۲ تا ۱۸ ساعت در دمای ۵۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد در کورهٔ الکتریکی (Fine tech، کره) قرار داده شدند. بعد از طی این مدت و سردشدن بوته‌ها وزن شدند و درصد خاکستر محاسبه شد (AOAC, 2005).

رطوبت

رطوبت به روش آون خشک تعیین شد. برای تعیین رطوبت نمونه، ۱۰ گرم از ماهی در پتری دیش با وزن مشخص و در آون (Memert، ساخت آلمان) با دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از رسیدن به وزن ثابت، به مدت ۱ ساعت در دسیکاتور قرار داده شد تا خنک و توزین شود (AOAC, 2005).

پروفایل اسیدهای چرب

۵۰ میلی‌گرم نمونه به ظرف حجمی نشانه‌دار منتقل گشت. چند عدد سنگ جوش و ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم متوکسید در متانول (با غلظت ۰/۲ مول بر لیتر) به آن اضافه شد. سردکنندهٔ برگردان به آن متصل‌شده، بعد از جوشیدن تا زمان شفاف‌شدن مخلوط گردید. بعد از قطع حرارت و توقف هم‌زدن، ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی فنول فتالئین به آن اضافه شد. جهت بی‌رنگ‌شدن محلول اسید سولفوریک در متانول (۱ مول در لیتر) به آن اضافه گشت و ۵ دقیقه جوشانده شد. در مرحلهٔ بعدی برای خنک‌شدن زیر جریان آب سرد قرارگرفته و به انضمام ۴ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم ۴۰ درصد مخلوط گردید. سپس ۱ میلی‌لیتر ایزواکتان به آن اضافه شده، به مدت ۱۵ ثانیه به شدت هم‌زده و محلول تا زمان تبدیل به ۲ فاز در دمای محیط قرار گرفت. جهت رسیدن فاز آبی به انتهای پایینی گردن ظرف، مجدد محلول کلرید سدیم اضافه شد و فاز رویی شامل ایزواکتان از سایر فازها جهت اندازه‌گیری پروفایل اسیدهای چرب جدا گردید. گاز کروماتوگرافی (2010Pro، ساخت ژاپن) با ستون موئینهٔ ۶۰ میلی‌متری و دتکتور یونی شعله‌ای برای اندازه‌گیری پروفایل اسیدهای چرب به‌کارگرفته شد (Iran National Standards Organization, 2022).

پروفایل اسیدهای آمینه

مقادیر اسیدهای آمینه به روش یونیزاسیون الکترواسپری اندازه‌گیری شد. به‌این‌ترتیب که ۰/۵ گرم از نمونه به‌همراه ۴ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد هیدرولیز اسیدی شد. هنگامی که دمای نمونه به ۲۴ درجهٔ سانتی‌گراد رسید، با استفاده از سانتریفیوژ (Hettich Universal 320، ساخت آلمان) با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه (گرم نیرو:۳۷۵۶/۴۸) طی مدت زمان ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. در مرحلهٔ بعدی ۱۰ میکرولیتر از مایع رویی به انضمام ۱ میلی‌لیتر آب‌مقطر به نمونه انتقال یافت. به‌استثنای ایزولوسین و هیستیدین که شامل لوسین IS و ۳-متیل هیستیدین بود، مخلوط‌های ایزوتوپ پایدار از هر اسیدآمینه به‌عنوان استاندارد داخلی (IS) برای کالیبراسیون درنظرگرفته شد. بعد از هیدرولیز استانداردهای کالیبراسیون و نمونه‌ها ازطریق انتقال ۵۰ میکرولیتر از استاندارد هیدرولیزشده یا رقیق‌شده به نمونه آماده شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از مخلوط ایزوتوپ‌های پایدار نشان‌دار به‌عنوان استاندارد داخلی و ۷۰۰ میکرولیتر از معرف سانتریفیوژنشده به مدت ۵ ثانیه به نمونه اضافه شدند. سپس ۳ میکرولیتر از نمونهٔ آماده که در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری‌شده بود، برای آنالیز اسیدآمینه به ستون C18 از HPLC (HP 1100، ساخت آلمان) تزریق شد. فازهای متحرک جاسم A و B و شستشوی گرادیان با سرعت جریان ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه برای جداسازی ازطریق کروماتوگرافی به‌کارگرفته شدند، و اسیدهای آمینه در طول موج ۲۵۴ نانومتر تعیین گردیدند (Iran National Standards Organization, 2016a; Zhao *et al.*, 2010).

تعیین فلزهای سنگین سرب و کادمیوم

مقادیر فلزهای سنگین سرب و کادمیوم نیز به روش هضم شیمیایی اسیدی تعیین شدند. برای اندازه‌گیری مقادیر فلزهای سنگین سرب و کادمیوم مقدار ۲۰ گرم از نمونه مورد استفاده قرار گرفت. مقدار ۵۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۶ مولار به نمونه افزوده شد. به‌طوری‌که تمام محتوای خاکستر داخل کروزه به اسید آغشته گردید. کروزه در بن‌ماری تا تبخیر اسید اضافه‌شده، قرار داده شد. سپس ۳۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک ۰/۱ مولار به نمونه افزوده شد. به‌طوری‌که نمونه به‌طورکامل با اسید پوشانده شد. جهت انحلال بهتر نمونه و اسید کروزه در بن‌ماری جوش به مدت ۱۵ دقیقه گذاشته شد. بعد از این مرحله کروزه حاوی نمونه با فویل آلومینیومی پوشانده‌شده و به مدت ۲ ساعت در فضای آزمایشگاه قرار داده شد. بعد از این مدت محتوای

داخل کروزه با استفاده از یک میلهٔ شیشه‌ای مخلوط شد. نمونهٔ خنک‌شده با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید. نمونه به بالن حجمی انتقال داده شد و تا خط نشانه با آب ۲ بار تقطیر بدون یون پُرشد. سپس جهت همگن‌شدن بالن به‌خوبی تکان داده شد. سپس از دستگاه طیف‌سنجی جذب اتمی نوری با کورهٔ گرافیتی (ZA3700، ساخت ژاپن) استفاده شد. برای اندازه‌گیری میزان جذب نور طول موج ۲۲۸/۸ نانومتر برای کادمیوم و طول موج برای سرب ۲۸۳/۳ نانومتر برای محلول‌های استاندارد تعیین شد و براساس منحنی کالیبراسیون غلظت هر عنصر در نمونه تعیین شد. محدودهٔ اندازه‌گیری دستگاه برای فلز سرب ۳۰-۵-۱۰ بخش در میلیون و درصد بازیافت ۱۰۷ درصد و برای فلز کادمیوم ۱/۵-۱-۰/۵ بخش در میلیون و درصد بازیافت دستگاه ۸۰ درصد است. مقادیر بازیافت دستگاه برای سرب ۰/۰۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و برای کادمیوم ۰/۰۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (AOAC, 2000b; Iran National Standards Organization, 2016b).

روش اندازه‌گیری فسفر

برای اندازه‌گیری فسفر از دستگاه اسپکتروفتومتر (LAMBDA 365، ساخت آمریکا) استفاده شد. ۵/۲ گرم از نمونه با ۱ گرم کربنات کلسیم مخلوط شد. این مخلوط در کورهٔ الکتریکی (دمای ۵۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد) جهت به‌دست‌آوردن خاکستر از نمونه‌ها قرار گرفت. به خاکستر ۲۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک و ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک اضافه گردید و به مدت ۲ تا ۵ دقیقه جوشانده شد. محلول حاصله را به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانده، و سپس صاف شد. مقدار مشخصی از محلول صاف‌شده با آب‌مقطر تا رسیدن غلظت فسفر در هر میلی‌لیتر به کمتر از ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر رقیق شد. به ۱۰ میلی‌لیتر محلول به‌دست‌آمده، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر معرف مولیبدو وانادات افزوده شد و بعد از مخلوط‌کردن به مدت ۱۰ دقیقه در حرارت ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. جذب محلول حاصله را با استفاده از سل‌های ۴ با قطر ۱۰ میلی‌متری و اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۳۰ نانومتر خوانده شد. به‌عنوان شاهد محلول ۱۰ میلی‌لیتر معرف مولیبدو وانادات و ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر استفاده شد. برای تهیهٔ محلول استاندارد فسفر که حاوی ۱ میلی‌گرم فسفر در میلی‌لیتر است، در بالن ژوژه ۱ لیتری مقدار ۳۹۴/۴ گرم فسفات دی هیدروژن پتاسیم که قبل از توزین در حرارت ۱۰۳ درجهٔ سانتی‌گراد خشک شده است را در مقداری آب‌مقطر حل‌کرده و حجم آن به ۱ لیتر رسانده شد (AOAC, 1990).

روش اندازه‌گیری عناصر معدنی

برای تعیین عناصر معدنی روش طیف‌سنجی جذب اتمی (PU9100X، ساخت هلند) مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها بعد از تبدیل به پودر سفید رنگ با استفاده از کورهٔ الکتریکی در ۱ میلی‌لیتر محلول اسید نیتریک حل شدند. محتوای بوته‌چینی به بالن ۲۵۰ میلی‌لیتری نشانه‌دار به‌وسیلهٔ شستشو با آب منتقل گردید و به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بعد از مخلوط‌کردن، مراحل رقیق‌سازی ادامه یافت. به میزان ۰/۱ حجم بالن، محلول لانتانیوم تری‌کلرید به آن افزوده شد. محلول با استفاده از آب در بالن حجمی به حجم رسانده شد. تمام مراحل با روش و میزان مواد یکسان و واکنش‌گرهای افزوده‌شده به‌عنوان شاهد به‌کارگرفته شد. طیف‌سنج شعله با مشعل هوا استیلن (PinAAcle900F، ساخت آمریکا) که مناسب برای اندازه‌گیری در طول موج‌های مختلف (۴۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر) است برای تعیین مقادیر عناصر معدنی مورد استفاده قرار گرفت. محلول‌های کالیبراسیون برای هر عنصر ازطریق انحلال ۱۰۰۰ گرم از عنصر خالص در ۱ لیتر آب دیونیزه تهیه شد. با استفاده از میکروپیپت حجم‌های صفر، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی‌لیتر از محلول را به ۶ بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل و ۱۰ محلول لانتانیوم تری‌کلرید به هر بالن اضافه‌شده و سپس با آب به حجم رسانده شد و مخلوط گردید (AOAC, 2000a; Iran National Standards Organization, 2008).

رنگ‌سنجی

رنگ نمونه‌ها توسط دستگاه هانترلب (مدل Colorflex، ساخت آمریکا) تعیین شد. شدت رنگ‌ها با استفاده از پارامترهای هانتر برحسب روشنایی (L)، قرمزی-سبزی (a) و زردی-آبی (b) بیان شد (Gilbert, 2013).

ارزیابی حسی

بو، بافت، رنگ، طعم و مزه، وضعیت ظاهری و پذیرش کلی برای تعیین ویژگی‌های حسی به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای به‌کارگرفته شدند. ویژگی‌های حسی توسط ۳۰ ارزیاب زن و مرد در ردهٔ سنی ۳۰ تا ۴۰ سال انجام شد، که در آن اعداد ۵، ۴، ۳، ۲ و ۱ به‌ترتیب نشانگر کیفیت عالی، خیلی خوب، خوب، متوسط و ضعیف بودند (Gilbert, 2013).

کپک و مخمر

برای بررسی آلودگی پودر استخوان تولیدی به کپک و مخمر از روش کشت سطحی استفاده شد. بدین‌منظور ابتدا مقدار ۲۵ گرم نمونه با استفاده از ۲۲۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی هموژن شد. سپس رقت‌سازی متوالی از سوسپانسیون تهیه‌شده تا رقت 10^{-3} انجام شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از هر رقت به روی محیط اختصاصی سابورد دکستروز کلرآمفنیکال آگار[1] کشت‌شده، درب پلیت با استفاده از چسب کاغذی به آن چسبانده شد و به مدت ۱ هفته در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است برای افزودن آنتی‌بیوتیک به محیط‌کشت ۰/۱ گرم از کلرآمفنیکال در ۴۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر حل شد. محلول آنتی‌بیوتیک به ۹۶۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت قبل از فرایند استریل‌سازی انتقال یافت (Tournas *et al.*, 2001).

سالمونلا[2]

باکتری سالمونلا در ۲ مرحله شامل پیش‌غنی‌سازی و غنی‌سازی کشت شد. در مرحلهٔ اول مقدار ۲۵ گرم نمونه با ۲۲۵ میلی‌لیتر لاکتوز براث[3] ۰/۵ درصد مخلوط شد. این سوسپانسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری گردید. در مرحلهٔ غنی‌سازی نمونه به آرامی مخلوط شد و مقدار ۱ میلی‌لیتر از آن به ۱۰ میلی‌لیتر سلنت F براث[4] و تتراتیونات براث[5] انتقال داده شد و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد گذاشته شد. در مرحلهٔ نهایی ۰/۳ میلی‌لیتر از سوسپانسیون سلنت F براث و آبگوشت تتراتیونات براث به روی محیط‌های کشت *سالمونلا شیگلا* آگار[6] و بیسموت سولفیت آگار به روش سطحی کشت داده شد. محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه با دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند (Andrews *et al.*, 2022).

اشریشیاکلی

برای تشخیص وجود باکتری‌های *کلی‌فرم* و *اشریشیاکلی*[7] مقدار ۵۰ گرم نمونه با استفاده از ۴۵۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی هموژنیزه شد. تهیهٔ رقت‌های متوالی تا رقت 10^{-3} ادامه یافت. سپس ۱ میلی‌لیتر از هر رقت روی محیط‌های اختصاصی مک‌کانکی آگار و مک‌کانکی اگار حاوی سوربیتول، سفکسیم و تلوریت کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری گردید. برای تهیهٔ محیط‌کشت مک‌کانکی آگار حاوی ترکیبات مختلف، ابتدا میزان ۰/۰۵ گرم ۴-متیل لامبلیفریل گالاکتوپیرانوزید[8] در ۴۹۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر مخلوط شد. سپس ۵ گرم سوربیتول، ۵ گرم سالیسین و ۲۰ گرم مک‌کانکی آگار پایه به آن افزوده شد. محیط بعد از انتقال به اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. در مرحلهٔ بعدی هنگامی که دمای محیط به ۵۰ تا ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد رسید، ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تجاری سفکسیم تلوریت (CT[9]) به آن افزوده گردید (Feng *et al.*, 2002).

اندازه‌گیری بازده

بازده با استفاده از فرمول r=P/C محاسبه شد، که در آن P مقدار محصول تولیدشده به ازای مادهٔ اولیه (C) است. برای تعیین بازده ۵۰۰ گرم از مادهٔ اولیه مورد استفاده قرار گرفت. با تقسیم مقدار پودر تولیدشده بر مقدار مادهٔ اولیه (۵۰۰ گرم) و ضرب عدد به‌دست‌آمده در ۱۰۰ بازده برحسب درصد تعیین شد (Demerjian, 2018).

آنالیز آماری

در مطالعهٔ حاضر نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۵ مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. نتایج در سطح معنی‌دار ۹۵ درصد موردبررسی قرار گرفتند. روش غیرپارامتریک کروسکال والیس و درصورت نیاز آزمون من‌ویتنی برای بررسی مقایسهٔ میانگین بین تیمارها و ارزیابی تفاوت آماری بین نتایج آنالیز حسی به‌دست‌آمده ازطریق هدونیک به‌کارگرفته شد. برای بررسی مقایسهٔ میانگین‌های نتایج آزمایش‌های رنگ نمونه‌های آزمایشی و شاهد از آزمون t-Test در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده گردید. نتایج به شکل میانگین±انحراف معیار بیان گردیدند.

[1] Sabouraud Dextrose Choramphenicol Agar
[2] *Salmonella*
[3] Lactose Broth
[4] Selenite F broth
[5] Tetrathionate broth
[6] *Salmonella-Shigella* agar
[7] *E. Coli*
[8] 4-methyllumbeliferyl B-D-galactopyranoside
[9] Cefixime Tellurite

جدول ۱- بررسی ارزش غذایی و راندمان پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای (درصد)

نمونه	ویژگی غذایی				
	پروتئین	چربی	رطوبت	خاکستر	راندمان
پودر استخوان	۱۸/۵۱± ۱/۵۶	۵/۱۱ ± ۱/۱۲	۵/۳۸ ± ۱/۳۶	۷۰/۸۲ ± ۱/۹۵	۶۶/۹۸ ± ۱/۷۵

نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده است.

نتایج و بحث

در مطالعهٔ حاضر برای تهیهٔ پودر استخوان از اتوکلاو استفاده گردید. برای استفادهٔ مؤثر و تهیهٔ پودر استخوان، استخوان ماهی باید نرم شود. استخوان‌ها ممکن است ازطریق حرارت اتوکلاو یا تیمار با سود هنگام پخت نرم شوند و نرم‌شدن با زمان پخت افزایش یافت. نرم‌شدن استخوان ماهی پخته‌شده در آب را می‌توان با شستشوی مقدار کمی از پروتئین‌های استخوان در آب و درنتیجه تغییر در بافت استخوانی توضیح داد (Benjakul *et al.*, 2017). Nawaz و همکاران (۲۰۲۰) پودر استخوان را از ماهی کپور علف‌خوار[1] با استفاده از فرایند اتوکلاو تهیه کردند. این محققین امکان استفاده از اتوکلاو را به‌عنوان جایگزینی برای عملیات حرارتی برای تهیهٔ پودر استخوان ماهی پیشنهاد کردند، که با نتایج مطالعهٔ حاضر مطابقت دارد (Nawaz *et al.*, 2020). در مطالعهٔ حاضر پودر تولیدی به روش قلیایی از استخوان ماهی عمل‌آوری شد، که با نظر بسیاری از محققین که بیان کردند می‌توان روش قلیایی را برای تهیهٔ پودر از زائدات فراوری ماهی به‌کارگرفت، مطابقت دارد (Amitha, 2019).

در این مطالعه طی زمان نگهداری با اینکه بسته‌بندی از نوع هوازی بود و کپک و مخمر از میکروارگانیسم‌های هوازی اجباری هستند و توانایی رشد در شرایط موردمطالعه را دارند اما در پودر استخوان مشاهده نشدند. زیرا علاوه بر شرایط هوازی رطوبت نیز از سایر عوامل موردنیاز برای رشد کپک و مخمر است که به‌دلیل کاهش رطوبت به زیر حد موردنیاز برای رشد کپک و مخمر این میکروارگانیسم‌ها مشاهده نشدند. *اشریشیاکلی* و *سالمونلا* نیز از باکتری‌هایی هستند که قادر به رشد در شرایط هوازی هستند اما مقدار رطوبت تیمار آزمایشی نیز برای رشد این باکتری‌ها مناسب نبود، ازاین‌رو میکروارگانیسم‌های موردنظر در تیمار آزمایشی مشاهده نشدند. علاوه‌بر این، *اشریشیاکلی* و *سالمونلا* از میکروارگانیسم‌هایی بشمار می‌روند که آلودگی ثانویه بوده و در اثر آلودگی با آب‌های آلوده با فاضلاب به فراورده منتقل می‌شوند و همچنین این امکان وجود دارد که *اشریشیاکلی* تحت‌تأثیر عمل‌آوری مکانیکی نیز به فراورده منتقل شود، ولی در مطالعهٔ حاضر ماهی کپور نقره‌ای از نوع ماهیان پرورشی بوده که با آب زیرزمینی تغذیه‌شده و همچنین به‌کارگیری آب‌شرب برای فراوری و رعایت بهداشت سبب شدند که این باکتری مشاهده نشود (Odeyemi *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2017). درمورد بررسی ویژگی‌های میکروبی پودر استخوان ماهی ازنظر وجود کپک و مخمر، *سالمونلا* و *اشریشیاکلی* در مطالعه‌های پیشین گزارشی منتشر نشده است.

در مطالعه‌ها قابلیت هضم پودر تجاری کربنات کلسیم به منزلهٔ منبع کلسیم موردپذیرش قرارگرفته و به‌کارگرفته می‌شود و همچنین با درنظرگرفتن اینکه پودر ماهی برای مصارف انسانی در ایران تولید نمی‌شود، ازاین‌رو، در مطالعهٔ حاضر پودر کربنات کلسیم به‌عنوان نمونهٔ شاهد استفاده شد (Murillo *et al.*, 2022). براساس نتایج جدول (۱) پودر استخوان ماهی برخلاف پودر کربنات کلسیم حاوی چربی (۵/۱۱ درصد) و پروتئین (۱۸/۵۱ درصد) است و دارای ارزش غذایی بالا به‌عنوان مادهٔ اولیه برای تولید پودر خوراکی است. در روش استخراج قلیایی، جوشاندن با محلول سود محتوای پروتئین از پودر استخوان ماهی حذف می‌شود. همچنین علاوه بر پروتئین، دیگر مولکول‌های آلی مانند چربی در پودرهای کلسیم تهیه‌شده با استفاده از تیمار قلیایی به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد، بنابراین این روش برای عمل‌آوری پودر استخوان موردبررسی قرار گرفت (Idowu *et al.*, 2020). اما مقدار خاکستر در تیمار آزمایشی ۷۰/۸۲ درصد تعیین شد که در مقایسه با کلسیم مصنوعی (۹۹/۵۰ درصد) کمتر بود، که به روش استخراج پودر برمی‌گردد. Wulandari و Kusumasari (۲۰۱۹) تأثیر استخراج قلیایی را روی ارزش غذایی پودر تهیه‌شده از استخوان خامه ماهی[2] بررسی کردند. مقادیر پروتئین (۲۷/۸۸ درصد)، چربی (۷/۸۵

[1] *Ctenopharyngodon idella*

[2] *Chanos chanos*

درصد) و خاکستر (۱/۴۲ درصد) در پودر خامه ماهی مشاهده شد که در مقایسه با مطالعهٔ حاضر مقادیر پروتئین و چربی بیشتر اما مقدار خاکستر کمتر بود. باتوجه‌به اینکه از روش یکسانی برای تهیهٔ پودر استفاده شده بود تفاوت حاصل را می‌توان به گونهٔ ماهی، فصل صید، تغذیهٔ ماهی و سایر عوامل ارتباط داد (Wulandari & Kusumasari, 2019). Yin و همکاران (۲۰۱۶) پودر استخوان کپور نقره‌ای را با استفاده از آسیاب تهیه کردند. این محققین خاکستر (۶۳/۷۲ درصد) و پروتئین (۵۲/۵۲ درصد) را به‌عنوان اجزای اصلی تشکیل‌دهندهٔ پودر مطرح کردند که با نتایج مطالعهٔ حاضر هم‌خوانی دارد. در این مطالعه نیز پروتئین و خاکستر به‌عنوان ترکیبات مهم پودر شناسایی شدند. ترکیبات شیمیایی گونه‌های ماهی، سن، جنس، محیط و تغییرات فصلی از عواملی هستند که می‌توانند به تفاوت در ارزش غذایی پودر به‌دست‌آمده در مطالعهٔ حاضر در مقایسه با مطالعه‌های انجام‌شده توسط سایر پژوهشگران را منجر شوند (Nuraeni, 2020).

جدول ۲ - نتایج عناصر معدنی پودر به‌دست‌آمده از استخوان کپور نقره‌ای پرورشی در مقایسه با شاهد (کربنات کلسیم) (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

ترکیبات معدنی	تیمار	
	پودر استخوان	شاهد (کربنات کلسیم)
سدیم	۶۶۳۰/۰۰ A	۶۵۰/۰۰ B
فسفر	۸۱۵۸۰/۰۰ A	۳۱۰/۰۰ B
کلسیم	۳۲۵۰۰۰/۰۰ B	۳۸۸۰۰۰/۰۰ A
پتاسیم	۴/۵۸ A	۰/۴۱ B
سیلیسیوم	۳/۳۵	-
آلومینیوم	۳/۵۳	-
باریم	۰/۲۸	-
آرسنیک	۰/۲۰ A	۰/۱۲ A
کروم	۵/۸۵	-
مس	۰/۹۲ B	۲۴۹۶/۰۰ A
آهن	۵۷/۰۰ B	۱۷۰۱/۰۰ A
منگنز	۰/۲۶ B	۱۰۷/۰۰ A
روی	۱۴۷/۰ A	۲۶/۰۰ B
کادمیوم	۰/۰۱> A	۰/۰۹ A

حروف غیرمشابه در یک ردیف نشان‌دهندهٔ وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است (P<۰/۰۵).

بررسی حضور عناصر معدنی در پودر تولیدی نشان داد که سرب و کادمیوم در تیمار آزمایشی شناسایی نشدند (جدول ۲). کادمیوم در اندام‌های مختلف ماهی تجمع می‌یابد اما کلیه و کبد جایگاه اصلی تجمع کادمیوم بوده، ازاین‌رو، عدم مشاهدهٔ آن را در استخوان‌های ماهی می‌توان انتظار داشت. اما ازآنجاکه استخوان‌ها به منزلهٔ مکان اصلی تجمع سرب در ماهی بشمار می‌روند، وجود آن در این قسمت دور از انتظار نیست، ولی عوامل متعددی دسترسی‌زیستی و جذب این عنصر به ماهی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. همچنین اکثر مزارع پرورش ماهی در مکان‌هایی واقع شده‌اند که اطراف آن را گیاهان پوشانده‌اند و نقش آنها را نمی‌توان نادیده گرفت. این پوشش بر کاهش غلظت فلزات سنگین در آب ورودی به استخرهای پرورشی اثر داشته، اما قادر به حذف کامل عناصر سنگین از آب نبوده و باتوجه‌به اینکه جذب فلز سرب ازطریق غذا اندک بوده و بیشترین مقدار آن ازطریق آب به ماهی جذب می‌شود و با درنظرگرفتن اینکه ماهی کپور نقره‌ای از آبزیان پرورشی بوده و آب‌های زیرزمینی به‌عنوان منبع آب برای استخرهای پرورش ماهی به‌کار می‌روند، عدم وجود سرب در استخوان‌ها قابل توجیه است (Seifzadeh *et al.*, 2018). Malde و همکاران (۲۰۱۰) وجود کادمیوم را در استخوان ماهی سالمون[1] گزارش نکردند و سرب (۰/۱۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را در مقایسه با استانداردهای مرجع پایین‌تر بیان کردند. Nemati و همکاران (۲۰۱۷) از ضایعات ماهی تن بالهٔ زرد[2] و با استفاده از روش قلیایی پودر را تولید کردند و گزارش آنها نشان داد که سرب و کادمیوم در پودر مشاهده نشده است. کلسیم، فسفر، روی و آهن مقام‌های اول تا چهارم را ازنظر مقدار در پودر استخوان به خود اختصاص دادند. در مقایسه با پودر استخوان در کربنات کلسیم عناصر سیلیسیوم، آلومینیوم، باریم و کروم یافت نشدند. باریم، منگنز و آرسنیک به منزلهٔ عناصری شناسایی شدند که کمترین مقادیر را در پودر استخوان داشتند. علی‌رغم اینکه مقادیر عناصری ازجمله فسفر، آرسنیک و سدیم در تیمار آزمایشی در مقایسه با شاهد بیشتر تعیین شدند اما مقادیر آهن، منگنز، مس و کلسیم در کربنات کلسیم، بیشتر گزارش شدند (جدول ۲).

کربنات کلسیم، نمک کلسیم است که به‌دلیل دارابودن مقدار زیادی از کلسیم (تقریباً ۴۰ درصد) به‌عنوان مکمل غذایی با استقبال زیاد مصرف‌کنندگان مواجه شده است. براساس مطالعه‌های انجام‌شده توسط سایر پژوهشگران

[1] *Salmo salar*
[2] *Thunnus albacares*

مقدار کلسیم در استخوان‌های ماهی در مقایسه با کربنات کلسیم کمی کمتر است (Murillo *et al.*, 2022). همان‌طورکه در جدول (۲) نشان داده شده است پودر استخوان حاوی ۳۲۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کربنات کلسیم شامل ۳۸۸۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلسیم و همچنین پودر استخوان حاوی ۸۱۵۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کربنات کلسیم حاوی ۳۱۰/ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر بودند. به‌طوری‌که در جدول (۲) مشاهده می‌شود این عناصر بیشترین مقادیر را در ساختار پودر به خود اختصاص داده‌اند. Nemati و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی پودر ضایعات ماهی تن بالهٔ زرد تهیه‌شده به روش قلیایی، کلسیم (۳۸/۱۶ درصد) را به‌عنوان بیشترین عنصر پودر معرفی کردند. Yin و همکاران (۲۰۱۶) میزان کلسیم کل را ۲۳۶/۹۰ میلی‌گرم در گرم در پودر استخوان کپور نقره‌ای تولیدشده توسط آسیاب گزارش کردند. Savlak و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی تأثیر ترکیبات مختلف ازجمله سود خالص و سود در ترکیب با اسید سیتریک، هیپوکلریت سدیم، اتانول، کلرید هیدروژن و آب شرب روی ترکیبات معدنی پودر ماهی پورگی[1] دریافتند که پودر تهیه‌شده با سود ۲۱/۴۶ درصد بیشترین ترکیبات معدنی را داشت و حاوی مقادیر بالایی از کلسیم (۲۳۲/۱۳ گرم بر کیلوگرم) و فسفر (۱۱۱/۶۳ گرم بر کیلوگرم) بود. این محققین نسبت کلسیم به فسفر را ۲/۰۷ تعیین کردند. Njoroge و Lokuruka (۲۰۲۰) از استخوان ماهی تیلاپیا با استفاده از سود ۲ درصد (به نسبت ۵ برابر اسکلت) پودر تهیه کردند و نشان دادند که پودر استخوان تیلاپیا تقریباً حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم بر گرم کلسیم بود. Nemati و همکاران (۲۰۱۶) پودر استخوان ماهی تن را به روش قلیایی تولیدکرده و دریافتند که پودر حاوی ۳۸/۱۶ و ۲۳/۳۱ گرم بر ۱۰۰ گرم کلسیم و فسفر بود. همچنین نسبت مقادیر کلسیم به فسفر محصول را ۱/۲۵ محاسبه کردند، درحالی‌که در مطالعهٔ حاضر این نسبت ۳/۹۳ بود که به‌دلیل نسبت بالاتر مقادیر کلسیم و فسفر در پودر استخوان در مقایسه با کربنات کلسیم می‌باشد. شرایط شیمیایی و فرایندهای حرارتی از عواملی بودند که تغییر سطوح کلسیم و فسفر و همچنین نسبت آنها را در مطالعه‌های اخیر در مقایسه با نتایج مطالعهٔ حاضر سبب شدند. از اثرات ترکیبات قلیایی و همچنین کاربرد غلظت‌های متفاوت آنها برای تولید پودر نیز نمی‌توان چشم‌پوشی کرد (Nemati *et al.*, 2016).

جدول ۳ - نتایج پروفایل اسیدهای آمینهٔ پودر به‌دست‌آمده از استخوان ماهی کپور نقره‌ای پرورشی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

نمونهٔ اسیدآمینه	پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای
اسید آسپارتیک	۵۵/۶۹ ± ۲/۱۲
سرین	۲۶/۴۹ ± ۲/۸۷
اسید گلوتامیک	۱۰۰/۱۶ ± ۲/۳۵
گلیسین	۲۸/۷۸ ± ۱/۲۴
سیستئین	۷/۵۲ ± ۱/۹۶
آرژنین	۴۴/۹۹ ± ۱/۵۶
پرولین	۱۸/۶۷ ± ۱/۷۹
آلانین	۲۳/۵۳ ± ۱/۸۶
تیروزین	۲۷/۶۸ ± ۲/۱۸
والین	۲۸/۳۹ ± ۲/۶۷
ایزولوسین	۲۴/۸۲ ± ۲/۷۵
هیستیدین	۱۳/۳۱ ± ۲/۳۸
لیزین	۴۵/۸۰ ± ۱/۸۲
لوسین	۴۵/۸۷ ± ۱/۶۹
متیونین	۱۱/۳۱ ± ۱/۷۴
فنیل آلانین	۲۳/۵۸ ± ۲/۹۰
ترئونین	۲۵/۲۱ ± ۲/۱۶
مجموع اسیدآمینه	۵۵۱/۸۰
مجموع اسیدهای آمینهٔ ضروری	۲۱۸/۲۹
مجموع اسیدهای آمینهٔ غیرضروری	۳۳۳/۵۱
نسبت مجموع اسیدآمینه‌های ضروری به کل اسیدآمینه	۰/۳۹
نسبت مجموع اسیدهای آمینهٔ غیرضروری به کل اسیدآمینه	۰/۶۰

نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده است.

براساس نتایج جدول (۳) اسیدهای آمینه از انواع ضروری و غیرضروری در تیمار شاهد یافت نشدند. در تیمار آزمایشی لوسین، لیزین و والین که در گروه اسیدهای آمینهٔ ضروری قرار گرفته‌اند، به‌ترتیب مقام‌های اول تا سوم را به خود اختصاص دادند. در این تیمار اسیدهای گلوتامیک و آسپارتیک و آرژنین که در قسمت اسیدهای آمینهٔ غیرضروری طبقه‌بندی شده‌اند، به‌عنوان عناصر حائز رتبه‌های اول تا سوم معرفی شدند. در مجموع بین اسیدهای آمینهٔ ضروری و غیرضروری اسید گلوتامیک بیشترین میزان بود. اسیدهای آمینهٔ غیرضروری در مقایسه با اسیدهای آمینهٔ ضروری ازنظر مقیاس جایگاه

[1] *Sparus aurata*

بالاتری داشتند. برخلاف اسیدهای آمینهٔ ضروری که تمام انواع آن در پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای شناسایی شده‌اند، گلوتامین و آسپارژین که از اسیدهای آمینهٔ غیرضروری بشمار می‌روند، در این تیمار یافت نشدند.

براساس پروفایل اسیدهای آمینهٔ ضروری، تیمار آزمایشی بیان شده است (جدول ۳). کاربرد اتوکلاو در مراحل عمل‌آوری پودر علاوه‌بر کاهش اندازهٔ ذرات آن همچنین منجربه بروز تغییراتی در ساختار اسیدهای آمینهٔ ضروری پودر می‌شود. علاوه‌بر این، امکان دارد که تغییر ایجادشده ناشی از اثرات به‌کارگیری آسیاب برای تولید پودر باشد که تجزیه و جداسازی پپتیدهای کلاژن را آسان می‌کند. کلاژن یکی از ترکیبات اصلی تشکیل‌دهندهٔ استخوان است و وجود اسیدهای آمینهٔ خاصی در آن (به‌عنوان مثال، گلیسین، لوسین، پرولین، هیدروکسی پرولین و لیزین) و منوساکاریدها جذب کلسیم را ازطریق روده افزایش می‌دهند. ازاین‌رو، کلسیم پودر استخوان تهیه‌شده از ماهی کپور نقره‌ای توانایی جذب بیشتری را ازطریق دیوارهٔ روده در مقایسه با کلسیم مصرف‌شده ازطریق پودر کربنات کلسیم دارد (Murillo *et al.*, 2022; Nemati *et al.*, 2016). فشار بخار آب اتوکلاو نیز می‌تواند یکی دیگر از دلایلی باشد که باندهای پپتیدی پروتئین‌های پودر را بازکرده و دسترسی‌زیستی آن را افزایش دهد. علاوه‌بر این، فراوری با استفاده از اتوکلاو جمع‌شدگی و تغییر بیشتر در ساختار پروتئین را ممکن می‌سازد (Nawaz *et al.*, 2020). Nemati و همکاران (۲۰۱۷) پودر ضایعات ماهی تن بالهٔ زرد تهیه‌شده به روش تیمار قلیایی را بررسی کردند، و به وجود اسیدهای آمینه ازجمله لیزین، والین، لوسین، ایزولوسین، متیونین، ترئونین، هیستیدین، فنیل آلانین و تریپتوفان (اسیدهای آمینهٔ ضروری) در ترکیب پودر پی‌بردند. این پژوهشگران سطوح اسیدهای آمینهٔ غیرضروری شامل اسید گلوتامیک، آرژنین، آلانین، آسپارتیک اسید و سرین را در مقایسه با اسیدهای آمینهٔ غیرضروری مانند گلیسین و پرولین و همچنین هیدروکسی پرولین که در ساخت کلاژن مؤثر بودند، بیشتر گزارش کردند (Nemati *et al.*, 2017). در مطالعهٔ حاضر نیز تمام انواع اسیدهای آمینه از گروه ضروری در پودر استخوان یافت شدند. همچنین گلیسین و پرولین مورد شناسایی قرار گرفتند و اسیدهای گلوتامیک و آسپارتیک نیز در سطوح بالایی در پودر استخوان وجود داشتند، به‌دنبال آنها آرژنین، آلانین و سرین بیشترین میزان را در مقایسه با سایر اسیدهای آمینه به خود اختصاص دادند. ولی هیدروکسی پرولین در تیمار آزمایشی مشاهده نشد. براساس نظر سایر محققین روش قلیایی به‌عنوان عاملی است که اثرات قابل‌ملاحظه‌ای در کاهش ترکیبات آلی پودرهای حاوی کلسیم دارد، این پدیده قابل توجیه است.

باتوجه‌به نتایج، وجود اسیدهای چرب در تیمار شاهد (کربنات کلسیم) گزارش نشد (جدول ۴). در مطالعهٔ حاضر اسید پالمیتیک و به‌دنبال آن اسید استئاریک که در دستهٔ اسیدهای چرب اشباع طبقه‌بندی شده‌اند، در مقایسه با سایر اسیدهای چرب این گروه بیشترین میزان را در تیمار آزمایشی داشتند. اسیدهای ایکوزنوئیک و پالمیتولئیک (سیس) و اسیدهای لینولئیک و آلفا-لینولنیک به‌ترتیب از گروه اسیدهای چرب تک‌زنجیرهٔ غیراشباع و چندغیراشباع هستند که بالاترین مقام را در این دسته‌ها به خود اختصاص دادند.

براساس نتایج جدول (۴)، اسیدهای چرب ضروری در تیمار آزمایشی مشاهده شده است. وجود این اسیدهای چرب در پودر را می‌توان تحت‌تأثیر کاربرد مادهٔ اولیه با منشأ آبزیان برای تولید پودر و اینکه آبزیان سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع هستند، دانست. هرچند براساس مطالعه‌های سایر پژوهشگران اسیدهای چرب به حرارت حساس هستند و طی عمل‌آوری پودر حرارت به روش‌های مختلف مانند اتوکلاو و جوشاندن استخوان در آب و آب همراه با سود به‌کارگرفته شد، اما اسیدهای چرب در پودر استخوان به وفور وجود داشتند (Kandyliari *et al.*, 2020). Nemati و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی پودر ضایعات ماهی تن بالهٔ زرد تهیه‌شده به روش قلیایی دریافتند که در پودر میزان اسیدهای اولئیک، پالمیتیک و گوندوئیک در مقایسه با مقادیر اسیدهای هگزادکاترینوئیک، گاما-لینولنیک و دی هومو-گاما-لینولنیک بیشتر بود. همچنین این محققین میزان اسیدهای میریستیک، استئاریک، ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزانوئیک را در مقایسه با اسیدهای گفته‌شده نسبتاً بیشتر دانستند (Nemati *et al.*, 2017). در مطالعهٔ حاضر نیز اسیدهای الایدیک، پالمیتیک، پالمیتولئیک (سیس) و آلفا-لینولنیک پودر آزمایشی ازنظر مقدار مقام‌های اول تا چهارم را به خود اختصاص دادند. مقادیر اسیدهای ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزانوئیک تیمار آزمایشی در مقایسه با سایر اسیدهای چرب تعیین‌شده بالاتر بود. تفاوت در نتایج مطالعهٔ حاضر با سایر تحقیق‌های انجام‌شده را می‌توان به‌دلیل گونهٔ ماهی مورد استفاده برای تهیهٔ پودر،

ترکیبات شیمیایی ماهی، فصل صید، تغذیهٔ ماهی، دما و زمان به‌کاررفته برای تولید پودر، pH، مراحل عمل‌آوری، اتوکلاو و سایر عوامل احتمالی دانست (Nemati *et al.*, 2017).

جدول ۴ - پروفایل اسیدهای چرب پودر به‌دست‌آمده از استخوان ماهی کپور نقره‌ای پرورشی (درصد)

نمونهٔ اسید چرب	پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای
اسید مریستیک	۲/۶۵
اسید لوریک	۰/۱۱
اسید تری دکانوئیک	۰/۰۹
اسید پنتادسیکلیک	۰/۸۵
اسید آراشیدیک	۰/۲۴
اسید لینگوسریک	۰/۰۳
اسید مارگاریک	۰/۷۵
اسید پالمیتیک	۲۲/۷۳
اسید استئاریک	۵/۱۲
اسید بهنیک	۰/۰۹
مجموع اسیدهای چرب اشباع	۳۲/۶۶
اسید واکسنیک	۵/۶۵
اسید الایدیک	۴۳/۷۴
اسید ایکوزنوئیک	۰/۱۴
اسید مریستولئیک	۰/۰۹
اسید جینگولیک	۰/۰۷
اسید پالمیتولئیک (ترانس)	۰/۷۳
اسید پالمیتولئیک (سیس)	۱۱/۲۳
اسید جینگ کولیک	۰/۹۹
مجموع اسیدهای چرب تک‌زنجیرهٔ غیراشباع	۶۲/۶۴
لینولئیک اسید	۷/۳۵
ایکوزادینوئیک اسید	۰/۳۵
اسید آلفا-لینولنیک	۵/۹۷
اسید گاما-لینولنیک	۰/۲۷
دی هومو-گاما-اسید لینولنیک	۰/۵۶
اسید آراشیدونیک	۱/۹۶
دوکوزاپنتانوئیک اسید	۰/۷۵
مجموع اسیدهای چرب چندغیراشباع	۱۷/۲۱
نسبت اسیدهای چرب چندغیراشباع به اسیدهای چرب اشباع	۰/۵۲
ایکوزاپنتانوئیک اسید	۲۷۱/۹۵
دوکوزاهگزانوئیک اسید	۲۵۳/۶۷

براساس نتایج جدول (۵) روشنی رنگ در پودر استخوان در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری ندارد ($P>۰/۰۵$). پودر حاصل از استخوان ماهی از رنگ سفید برخوردار بود. همچنین این ویژگی طی ۶ ماه نگهداری پودر استخوان تغییر معنی‌دار نداشت ($P>۰/۰۵$). Bhenjapaipong (۲۰۲۱) هنگام تهیهٔ پودر استخوان ماهی از قزل‌آلای صورتی[1] و ماهی آزاد اقیانوس اطلس[2] خشک‌کردن در دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ دقیقه را که منجربه‌تولید پودری با بیشترین رنگ سفیدی در مقایسه با سایر پودرها شده بود، انتخاب کردند (Bhenjapaipong, 2021). اما در مطالعهٔ حاضر دما و زمان خشک‌کردن پودر ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت بود، که پودر حاصل از رنگ سفید بسیار مطلوبی برخوردار بود. تفاوت در نتایج این محققین در مقایسه با نتایج به‌دست‌آمده از مطالعهٔ حاضر به‌دلیل شرایط تولید متفاوت و استفاده از زودپز تحت فشار است.

براساس نتایج جدول (۶) بین بافت، طعم و مزهٔ پودر استخوان و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). همچنین ویژگی‌های حسی در پودر استخوان ماهی و تیمار شاهد طی زمان نگهداری کاهش معنی‌داری نشان ندادند ($P>۰/۰۵$). پودر استخوان به مقدار کمی از بوی ماهی برخوردار بود، اما ویژگی بو در پودر استخوان در مقایسه با کربنات کلسیم تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P>۰/۰۵$). به‌دلیل عدم استفاده از ترکیبات کاهش‌دهندهٔ بو در تهیهٔ پودر استخوان و همچنین عدم تأثیر هیدروکسید سدیم در حذف بوی محصول، ازاین‌رو پودر تولیدشده به مقدار جزئی بوی ماهی را به‌همراه داشت (Savlak *et al.*, 2020). باتوجه‌به اینکه ویژگی‌های حسی بین پودر و تیمار شاهد تقریباً یکسان بود، ازاین‌رو شاخص پذیرش کلی بین پودر و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). Bhenjapaipong (۲۰۲۱) هنگام تهیهٔ پودر استخوان ماهی در شرایط بهینه از ماهی قزل‌آلای صورتی و ماهی آزاد اقیانوس اطلس تحت فشار زودپز و حرارت در دمای ۱۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه دریافتند که پودر حاصل از سفتی کم برخوردار است. در مطالعهٔ حاضر از اتوکلاو به مدت ۶۰ دقیقه استفاده شد، که پودر حاصل از سفتی نسبی برخوردار بود، ازاین‌رو با نتایج مطالعهٔ حاضر مطابقت دارد. درمورد ارزیابی ویژگی‌های حسی بو، طعم و مزه و پذیرش کلی پودر استخوان ماهی تاکنون گزارشی منتشر نشده است.

[1] *Oncorhynchus gorbuscha*
[2] *Salmo salar*

جدول ۵- نتایج ارزیابی فاکتورهای رنگی پودر به‌دست‌آمده از استخوان ماهی کپور نقره‌ای پرورشی طی ۶ ماه نگهداری در دمای محیط در مقایسه با کربنات کلسیم (شاهد)

زمان نگهداری	پودر استخوان			شاهد		
نمونه (ماه)	L	a	b	L	a	b
صفر	۹۳/۶۸±۰/۸۹ aA	۱/۹۸±۰/۷۹ aA	۱/۸۶±۰/۹۳ aA	۹۲/۷۶±۰/۹۸ aA	۱/۷۳±۰/۹۰ aA	۱/۸۲±۲/۹۵ aA
۱	۹۳/۶۶±۰/۷۸ aA	۱/۹۵±۰/۷۲ aA	۱/۸۵±۰/۴۲ aA	۹۲/۷۴±۰/۲۶ aA	۱/۷۱±۰/۴۲ aA	۱/۸۱±۰/۲۴ aA
۲	۹۳/۶۲±۰/۳۲ aA	۱/۹۳±۰/۵۸ aA	۱/۸۲±۰/۷۷ aA	۹۲/۷۱±۰/۳۸ aA	۱/۷۱±۰/۳۷ aA	۱/۷۹±۰/۷۱ aA
۳	۹۳/۴۴±۰/۹۶ aA	۱/۹۳±۰/۶۳ aA	۱/۷۲±۰/۸۸ aA	۹۲/۶۵±۰/۳۷ aA	۱/۶۷±۰/۸۹ aA	۱/۷۹±۰/۹۹ aA
۴	۹۳/۴۱±۰/۹۷ aA	۱/۹۱±۰/۷۲ aA	۱/۷۰±۰/۸۶ aA	۹۲/۶۱±۰/۹۴ aA	۱/۶۴±۰/۸۱ aA	۱/۷۷±۰/۹۱ aA
۵	۹۳/۴۱±۰/۹۴ aA	۱/۸۷±۰/۹۷ aA	۱/۷۰±۰/۸۳ aA	۹۲/۵۳±۰/۹۲ aA	۱/۶۴±۰/۸۷ aA	۱/۶۸±۰/۸۹ aA
۶	۹۳/۳۶±۰/۸۵ aA	۱/۸۵±۰/۴۹ aA	۱/۶۹±۰/۷۸ aA	۹۲/۴۹±۰/۶۹ aA	۱/۶۱±۰/۷۴ aA	۱/۶۲±۰/۷۶ aA

حروف کوچک متفاوت در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد (P<۰/۰۵). نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده است.

جدول ۶ - نتایج ویژگی‌های حسی پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای پرورشی در مقایسه با شاهد طی ۶ ماه نگهداری در دمای محیط

زمان نگهداری	پودر استخوان ماهی				شاهد (کربنات کلسیم)			
تیمار (ماه)	بافت	بو	طعم و مزه	پذیرش کلی	بافت	بو	طعم و مزه	پذیرش کلی
صفر	۴/۳۱±۱/۱۳aA	۴/۹۱±۱/۳۹aA	۴/۵۶±۱/۳۵aA	۴/۵۲±۰/۴۱aA	۴/۴۱±۱/۱۳aA	۴/۹۴±۱/۳۹aA	۴/۶۸±۱/۳۵aA	۴/۵۵±۰/۴۱aA
۱	۴/۳۱±۱/۴۱aA	۴/۹۱±۱/۴۱aA	۴/۵۵±۱/۲۷aA	۴/۵۲±۰/۴۷aA	۴/۴۱±۱/۴۱aA	۴/۹۴±۱/۴۱aA	۴/۶۸±۱/۲۷aA	۴/۵۵±۰/۴۷aA
۲	۴/۳۱±۱/۲۹aA	۴/۸۷±۱/۵۵aA	۴/۴۶±۱/۲۱aA	۴/۴۸±۰/۶۸aA	۴/۴۱±۱/۲۹aA	۴/۹۴±۱/۵۵aA	۴/۶۸±۱/۲۱aA	۴/۵۵±۰/۶۸aA
۳	۴/۲۷±۱/۳۲aA	۴/۷۳±۱/۶۷aA	۴/۳۷±۱/۵۲aA	۴/۴۶±۰/۷۹aA	۴/۳۵±۱/۳۲aA	۴/۹۳±۱/۶۷aA	۴/۶۵±۱/۵۲aA	۴/۵۱±۰/۷۹aA
۴	۴/۲۱±۱/۱۷aA	۴/۶۲±۱/۶۳aA	۴/۲۵±۱/۵۷aA	۴/۳۸±۰/۴۹aA	۴/۳۱±۱/۱۷aA	۴/۹۳±۱/۶۳aA	۴/۶۵±۱/۵۷aA	۴/۵۱±۰/۴۹aA
۵	۴/۱۵±۱/۲۸aA	۴/۵۹±۱/۵۴aA	۴/۲۲±۱/۹۳aA	۴/۳۵±۰/۶۸aA	۴/۳۰±۱/۲۸aA	۴/۹۱±۱/۵۴aA	۴/۶۲±۱/۹۳aA	۴/۵۰±۰/۶۸aA
۶	۴/۱۲±۱/۲۵aA	۴/۵۳±۱/۵۳aA	۴/۲۰±۱/۹۸aA	۴/۳۰±۰/۲۸aA	۴/۲۸±۱/۲۳aA	۴/۸۵±۱/۵۹aA	۴/۵۵±۱/۹۰aA	۴/۴۸±۰/۶۲aA

حروف کوچک متفاوت در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد (P<۰/۰۵). نتایج به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده است.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد که پودر استخوان ماهی تولیدی از استخوان کپور نقره‌ای در مقایسه با پودر کربنات کلسیم تجاری که به‌عنوان منبع کلسیم شناخته شده است، سرشار از املاح معدنی مختلف و همچنین غنی از اسیدهای چرب و اسیدهای آمینهٔ ضروری بدن انسان بوده و می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی به نیازهای سلامت انسان کمک کند. علاوه‌بر این، زائدات فیله‌سازی دارای اثرات مفید زیادی هستند، که به‌عنوان مادهٔ اولیه برای تولید محصولات باارزش افزوده و تجاری استفاده می‌شوند، که ممکن است علاوه‌بر کاهش بار آلی ناشی از صنعت فراوری ماهی کاربرد بالقوه‌ای در صنعت و پزشکی داشته باشند. ازاین‌رو، برای بهره‌مندی بیشتر از کلسیم غنی‌سازی مواد غذایی با پودر استخوان ماهی کپور نقره‌ای قابل پیشنهاد است.

تشکر و قدردانی

از شرکت الماس آدرین پارس به‌دلیل فراهم‌کردن زائدات و استفاده از خط تولید و از آقای مهندس صفری به‌دلیل همکاری در تولید پودر استخوان سپاسگزاری می‌گردد.

مشارکت نویسندگان

جمع آوری داده، تجزیه‌وتحلیل و تفسیر داده‌ها، نوشتن پیش‌نویس مقاله، آنالیز داده‌ها، ارائهٔ ایدهٔ پژوهشی و طراحی مطالعه، بازبینی و اصلاح مقاله، نظارت بر مطالعه و تأیید نسخهٔ نهایی توسط **مینا سیف‌زاده** انجام شده است.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

منابع

Amitha, C. V., Raju, I. P., Lakshmisha, P., Kumar, A., Gajendra, A. S., & Pal, J. (2019). Nutritional composition of fish bone powder extracted from three different fish filleting waste boiling with water and an alkaline media. *Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *8*(2), 7.

Andrews, W. H. r., Wang, H., Jacobson, A., Ge, B., Zhang, G., & Hammack, T. S. (2022). Chapter 5-*Salmonella*. In *FDA's Bacteriological Analytical Manual*. Food and Drug Adminastration.

AOAC. (1990). AOAC Official Methods of Analysis, Association Official Agriculture Chemists.AOAC Standard No.9.CFR 318.19 (b). In *Official Methods of Analysis of AOAC International* U.S. Patent and Trademark Office.

AOAC. (2000a). Calcium, copper, iron, magnesium, manganese, phosphorus, potassium, and zinc in infant formula. Inductively coupled plasma emission spectroscopic method. Method 984.27. In *Official Methods of Analysis of AOAC International*. U.S. Patent and Trademark Office.

AOAC. (2000b). Fish and Marine Products Treatment and Preparation of Sample No. 937.07. In *Official Methods of Analysis of AOAC International.* U.S. Patent and Trademark Office.

AOAC. (2005). Official Methods of Analysis Manual, AOAC Standard No. 935.14 and 992.24. In *Official Methods of Analysis of AOAC International.* U.S. Patent and Trademark Office.

Asikin, A. N., Kusumaningrum, I., & Hidayat, T. (2019). Effect of knife-fish bone powder addition on characteristics of starch and seaweed kerupuk as calcium and crude fiber sources. *Current Research in Nutrition and Food Science*, *7*(2), 584. https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.7.2.27

Benjakul, S., Mad-Ali, S., Senphan, T., & Sookchoo, P. (2017). Biocalcium powder from precooked skipjack tuna bone: Production and its characteristics. *Journal of Food Biochemistry*, *41*(6), e12412. https://doi.org/10.1111/jfbc.12412

Bhenjapaipong, S., Puttisaowapak, N., Sutloet, P., & Sompongse, W. (2021). Production of fish ball fortified with fish bone powder from Salmon. *Thai Science and Technology Journal,*, *29*(4), 11.

Demerjian, P. R. (2018). Calculating efficiency with financial accounting data: Data envelopment analysis for accounting researchers. *Available at SSRN 2995038*.

Desai, A. S., Brennan, M. A., & Brennan, C. S. (2018). Effect of fortification with fish (Pseudophycis bachus) powder on nutritional quality of durum wheat pasta. *Foods*, *7*(4), 62. https://doi.org/10.3390/foods7040062

FAO. (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture.* United Nations: Food and Agricultural Organisation of the United Nations.

Feng, P., Weagant, S. D., Grant, M. A., Burkhardt, W., Shellfish, M., & Water, B. (2002). BAM Chapter 4: Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria. *Bacteriological analytical manual*, *13*(9), 1-13.

Gilbert, S. W. (2013). *Applying the Hedonic Method Technical Note 1811*. USA: Department of Commerce, National Institute of Standards and Technology.

Gupta, K., Kutagulla, T., Shwetha, K., & Nm, S. (2018, December). *Fortification of Extruded Food Products Using Fish Bone Powder as the Natural Calcium Source* 8th International Food Convention (IFCON),

Idowu, A. T., Benjakul, S., Sinthusamran, S., Sae-leaw, T., Suzuki, N., Kitani, Y., & Sookchoo, P. (2020). Effect of alkaline treatment on characteristics of bio-calcium and hydroxyapatite powders derived from salmon bone. *Applied Sciences*, *10*(12), 4141. https://doi.org/10.3390/app10124141

IFO. (2021). *Statistical yearbook of Iranian fisheries during the years 2014-2016*. Iranian Fisheries Organization. (in Persian)

Iran National Standards Organization (INSO). (2008). *Milk and its products-determination of calcium, sodium, potassium and magnesium- atomic absorption spectrometry method. (INSO Standard No. 10780, 1st Edition)*. http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=7407 (in Persian)

Iran National Standards Organization (INSO). (2016a). *Livestock, poultry and aquatic feed - measurement of amino acids cotent. (INSO Standard No. 10699, 1st Edition)*. http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=8910 (in Persian)

Iran National Standards Organization (INSO). (2016b). *Measurement of lead, cadmium, copper, iron and zinc by atomic absorption spectrophotometry. (INSO Standard No. 9266, 1st Edition)*. http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=182 (in Persian)

Iran National Standards Organization (INSO). (2022). *Vegetable oils and fats - gas chromatography of methyl esters of fatty acids. Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids. (INSO Standard No. 13126-2, 1st Revision)*. http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=56816 (in Persian)

Kandyliari, A., Mallouchos, A., Papandroulakis, N., Golla, J. P., Lam, T. T., Sakellari, A., Karavoltsos, S., Vasiliou, V., & Kapsokefalou, M. (2020). Nutrient composition and fatty acid and protein profiles of selected fish by-products. *Foods*, *9*(2), 190. https://doi.org/10.3390/foods9020190

Malde, M. K., Bügel, S., Kristensen, M., Malde, K., Graff, I. E., & Pedersen, J. I. (2010). Calcium from salmon and cod bone is well absorbed in young healthy men: a double-blinded randomised crossover design. *Nutrition & metabolism*, *7*(1), 1-9. https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-61

Murillo, S., Ardoin, R., Watts, E., & Prinyawiwatkul, W. (2022). Effects of Catfish (Ictalurus punctatus) Bone Powder on Consumers' Liking, Emotions, and Purchase Intent of Fried Catfish Strips. *Foods*, *11*(4), 540. https://doi.org/10.3390/foods11040540

Nawaz, A., Li, E., Irshad, S., Hammad, H., Liu, J., Shahbaz, H. M., Ahmed, W., & Regenstein, J. M. (2020). Improved effect of autoclave processing on size reduction, chemical structure, nutritional, mechanical and in vitro digestibility properties of fish bone powder. *Advanced Powder Technology*, *31*(6), 2513-2520. https://doi.org/10.1016/j.apt.2020.04.015

Nemati, M., Huda, N., & Ariffin, F. (2017). Development of calcium supplement from fish bone wastes of yellowfin tuna (Thunnus albacares) and characterization of nutritional quality. *International Food Research Journal*, *24*(6), 2419-2426.

Nemati, M., Kamilah, H., Huda, N., & Ariffin, F. (2016). In vitro calcium availability in bakery products fortified with tuna bone powder as a natural calcium source. *International journal of food sciences and nutrition*, *67*(5), 535-540. https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1179269

Njoroge, J. G., & Lokuruka, M. N. (2020). Sensory acceptability of cookies fortified with tilapia fish bone powder. *Food and Nutritional Sciences Research*, *2*(1), 94-101. https://doi.org/10.37512/800

Nuraeni, A., Rostini, I., Dhahiyat, Y., & Pratama, R. I. (2020). Milkfish bone flour fortification as a source of calcium on don't preference level. *Global Scientific Journal*, *8*(4), 269-270.

Odeyemi, O. A., Burke, C. M., Bolch, C. C., & Stanley, R. (2018). Seafood spoilage microbiota and associated volatile organic compounds at different storage temperatures and packaging conditions. *International Journal of Food Microbiology*, *280*, 87-99. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.029

Pyz-Łukasik, R., & Paszkiewicz, W. (2018). Species variations in the proximate composition, amino acid profile, and protein quality of the muscle tissue of grass carp, bighead carp, siberian sturgeon, and wels catfish. *Journal of Food Quality*, *2018*. https://doi.org/10.1155/2018/2625401

Ratnamanjari Senapati, S., Swain, H. S., & Mishra, R. (2014). By products from fish bone. *Aquaculture International*, *2014*(2), 3.

Savlak, N., Çağındı, Ö., Erk, G., Öktem, B., & Köse, E. (2020). Treatment Method Affects Color, Chemical, and Mineral Composition of Seabream (Sparus aurata) Fish Bone Powder from by-Products of Fish Fillet. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *29*(6), 592-602. https://doi.org/10.1080/10498850.2020.1775742

Seifzadeh, M., Golshahi, E., & Safiyari, S. (2018). Study the concentrations of lead and cadmium in farmed rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) in Talesh of Guilan. *Journal of Animal Science Research*, *28*(2), 65-79. (in Persian)

Tournas, V., Stack, M. E., Mislivec, P. B., Koch, H. A., & Bandler, R. (2001). BAM Chapter 18: yeasts, molds and mycotoxins. *Bacteriological analytical manual*, *8*.

Wang, F., Fu, L., Bao, X., & Wang, Y. (2017). The spoilage microorganisms in seafood with the existed quorum sensing phenomenon. *Journal of Food Microbiology*, *1*(1), 14-19.

Wulandari, P., & Kusumasari, S. (2019). Effect of extraction methods on the nutritional characteristics of milkfish (Chanos chanos Forsskal) bone powder. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science,

Yin, T., Du, H., Zhang, J., & Xiong, S. (2016). Preparation and characterization of ultrafine fish bone powder. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *25*(7), 1045-1055. https://doi.org/10.1080/10498850.2015.1010128

Zhao, F., Zhuang, P., Song, C., Shi, Z.-h., & Zhang, L.-z. (2010). Amino acid and fatty acid compositions and nutritional quality of muscle in the pomfret, Pampus punctatissimus. *Food Chemistry*, *118*(2), 224-227. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.110

Investigating the Nutritional Value, Microbial, and Sensory Properties of Cultured Silver Carp Fish Bone Powder (*Hipophthalmichthys molitrix*)

Mina Seifzadeh[1*]

1- National Aquatic Processing Research Center, Inland Aquaculture Research Institute, Fisheries Science Research Institute, Agricultural Education and Extension Research Organization, Anzali, Iran

* Coressponding author (m_seifzadeh_ld@yahoo.com)

Abstract

The present study aimed to prepare powder from silver carp fish bone applying alkaline method and investigate its nutritional, sensory, and microbial characteristics. In this research, calcium carbonate was used as a control. The amounts of protein (18.51%), fat (5.11%), moisture (5.58%) and ash (70.82%) were determined in the fish bone powder. The efficiency of powder preparation was determined to be 66.98%. Unlike fish bone powder, the mineral elements silicon, aluminum, barium, and chromium were not observed in the control sample. Phosphorus in bone powder (81580 mg/kg) was more than the control (310 mg/kg) ($P<0.05$). However, calcium in the experimental treatment was lower (325000 mg/kg) compared to the control (388000 mg/kg) ($P<0.05$). In terms of overall acceptance and color no significant difference was observed between experimental and control treatments ($P<0.05$). Among saturated fatty acids, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids, respectively, palmitic acid (22.73%), elaidic acid (43.74%) and linoleic acid (7.35%) had the highest amounts in bone powder. Also, the total amount of essential amino acids including threonine, valine, lysine, isoleucine, methionine, histidine, and phenylalanine was 218.29%. The no microorganisms such as fungi, *Escherichia coli*, and *Salmonella* in the treatments were observed. Since bone powder can be produced in large quantities from different types of fish and is rich in nutritional compounds, it is suggested to the food industry for enriching food products.

Key words: Alkaline extraction, Cultured fish, Enrichment, Fish waste, Nutritional value

© 2023, Research Institute of Food Science and Technology. All rights reserved.
This is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0). To view a copy of this license, visit (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).